



T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ENDEMİK *Bellevalia sasonii* BİTKİSİNDE
FİTOKİMYASAL BİLEŞİKLER İLE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Metin TEKİN

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Selçuk KURU

Haziran-2022
BATMAN
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Metin TEKİN tarafından hazırlanan “Endemik *Bellevalia sasonii* Bitkisinde Fitokimyasal Bileşikler İle Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 22/06/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Çiğdem IŞIKALAN

.....

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Selçuk KURU

.....

Üye

Prof. Dr. Filiz AKBAŞ

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Osman PAKMA
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdür V.

*Bu tez çalışması Batman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından BTÜBAP-2021-YL03 numaralı proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Metin TEKİN

22/06/2022

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ENDEMİK *Bellevalia sasonii* BİTKİSİNDE FİTOKİMYASAL BİLEŞİKLER İLE
ANTIOKSİDAN AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ**

Metin TEKİN

**Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı**

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Selçuk KURU

2022, 66 Sayfa

Jüri
Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Selçuk KURU
Prof. Dr. Çiğdem IŞIKALAN
Prof. Dr. Filiz AKBAS

Bu çalışmada, endemik *Bellevalia sasonii* türünün soğan, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarının antioksidan aktivite kapasiteleri ve LC-MS/MS yöntemiyle 53 adet fitokimyasal bileşiğin varlığı araştırılmıştır. Ekstrelerin toplam fenolik miktarları gallik asite, toplam flavonoid miktarları kersetine eşdeğer olarak tayin edildikten sonra antioksidan aktiviteleri DPPH serbest radikali giderim, ABTS katyon radikali giderimi ve CUPRAC (Cu^{2+} İyonu İndirgeme Kapasitesi) yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir.

Bellevalia sasonii bitkisinde en yüksek fenolik içerik soğan ekstresinde (117.28 ± 0.135 µg GAEs/mg ekstre), en düşük fenolik içerik gövde ekstresinde (45.11 ± 0.089 µg GAEs/mg ekstre); en yüksek flavonoid içerik yaprak ekstresinde (79.44 ± 0.081 µg QEs/mg ekstre), en düşük flavonoid içerik gövde ekstresinde (22.77 ± 0.054 µg QEs/mg ekstre) tespit edilmiştir. Antioksidan kapasite çalışmaları incelendiğinde DPPH yönteminde AA > BHA > çiçek > soğan > yaprak > gövde > BHT; CUPRAC yönteminde BHT > AA > çiçek > yaprak > soğan > BHA > gövde; ABTS yönteminde AA > BHT > çiçek > soğan > yaprak > BHA > gövde şeklinde olduğu gözlenmiştir. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde çiçek kısmının genel olarak daha yüksek, gövde kısmının ise diğer organ kısımlarına göre daha düşük aktivite gösterdiği ve ayrıca gövde dışındaki kısımların pozitif kontrol olarak kullanılan BHA'dan daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği gözlenmiştir.

Standart olarak kullanılan 53 fitokimyasaldan 27 tanesi hiçbir ekstrede görülmezken 26 tanesi en az bir ekstrede görülmekle birlikte bunlardan 15 tanesi bitkinin tüm kısımlarında (soğan, gövde, yaprak, çiçek) görülmüştür. Bitki organlarını ayrı ayrı değerlendirdiğimizde 53 fitokimyasaldan soğanda 19, gövdede 19, yaprakta 22 ve çiçekte 21 tanesi görülmüştür. LC-MS/MS analizi sonucunda, yaprakta fumarik asit (5267 µg/g ekstrakt), soğanda kafeik asit (1948 µg/g ekstrakt), çiçekte kosmosiin (2374 µg/g ekstrakt) ve kinik asit (1085 µg/g ekstrakt) gibi metabolitlerin iyi değerler gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, *Bellevalia sasonii*, fitokimyasal bileşikler, LC-MS/MS

ABSTRACT

MS THESIS

DETERMINATION OF PHOTOCHEMICAL COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN ENDEMIC *Bellevalia sasonii* PLANT

Metin TEKİN

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES OF BATMAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER SCIENCE IN BIOLOGY

Advisor: Asst. Prof. Dr. İbrahim Selçuk KURU

2022, 66 Pages

Jury

Asst. Prof. Dr. İbrahim Selçuk KURU

Prof. Dr. Çiğdem IŞIKALAN

Prof. Dr. Filiz AKBAS

In this study, antioxidant activity capacities of bulb, stem, leaf and flower parts of endemic *Bellevalia sasonii* species and the presence of 53 phytochemical compounds were investigated by LC-MS/MS method. After determining the total phenolic amounts of the extracts as equivalent to gallic acid and the total flavonoid amounts to quercetin, their antioxidant activities were determined using DPPH free radical removal, ABTS cation radical removal and CUPRAC (Cu^{+2} Ion Reducing Capacity) methods.

In *Bellevalia sasonii*, the highest phenolic content was in the bulb extract (117.28 ± 0.135 µg GAEs/mg extract), the lowest phenolic content was in the stem extract (45.11 ± 0.089 µg GAEs/mg extract); the highest flavonoid content was found in the leaf extract (79.44 ± 0.081 µg QEs/mg extract), the lowest flavonoid content was found in the stem extract (22.77 ± 0.054 µg QEs/mg extract). When the antioxidant capacity studies are examined, in the DPPH method, AA > BHA > flower > bulb > leaf > stem > BHT; In the CUPRAC method, BHT > AA > flower > leaf > bulb > BHA > stem; In ABTS method, it was observed that AA > BHT > flower > bulb > leaf > BHA > stem. When the results were evaluated in general, it was observed that the flower part generally showed higher activity, the stem part showed lower activity than the other organ parts, and also the parts outside the stem showed higher antioxidant activity than BHA, which was used as a positive control.

While 27 of the 53 phytochemicals used as standard were not seen in any extract, 26 of them were seen in at least one extract, and 15 of them were seen in all parts of the plant (bulb, stem, leaf, flower). When we evaluated the plant organs separately, 19 of the 53 phytochemicals were seen in the bulb, 19 in the stem, 22 in the leaf and 21 in the flower. As a result of LC-MS/MS analysis, such as fumaric acid in leaves (5267 µg/g extract), caffeic acid in bulbs (1948 µg/g extract), cosmosinin in flowers (2374 µg/g extract) and quinic acid (1085 µg/g extract) metabolites have been found to show good values.

Keywords: Antioxidant activity, *Bellevalia sasonii*, LC-MS/MS, phytochemical compounds

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez danışmanlığımı üstlenerek araştırmanın başlangıcından sonuna kadar hem arazi hem de laboratuvarla ilgili çalışmalarım süresince, karşıma çıkan her türlü sorunun çözülmesinde yardımcı olan, her konuda desteğini aldığım, tecrübe ve bilgilerini esirgemeyen değerli danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Selçuk KURU'ya çok teşekkür ederim.

Eğitim ve öğretim hayatım boyunca maddi, manevi desteklerini hiç esirgemeyen çok kıymetli annem Hacı Aynurhayat TEKİN, çok değerli babam Hacı Ömer TEKİN ve birbirinden değerli kardeşlerime en derin sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Metin TEKİN
BATMAN-2022



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Bellevali Cinsi Hakkında Genel Bilgi	5
2.1.1. <i>Bellevalia sasoni</i> hakkında genel bilgi	7
2.2. Sekonder Metabolitler	9
2.2.1. Terpenler	12
2.2.2. Fenolik bileşikler	13
2.2.3. Azotlu bileşikler	15
2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	16
2.3.1. Antioksidan test yöntemleri	18
2.3.1.1. Hidrojen atom transferine dayanan metot (HAT)	19
2.3.1.2. Singlet elektron transferine dayanan metot (SET)	19
2.4. Literatür Özetleri	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1. Materyal	22
3.2. Yöntem	23
3.2.1. Ekstrelerin hazırlanması	23
3.2.2. Toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin belirlenmesi	24
3.2.3. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi	26
3.2.4. ABTS katyon radikal giderim aktivitesi yöntemi	27
3.2.5. CUPRAC yöntemi (Cu^{2+} İyonu indirgeme antioksidan kapasitesi)....	28
3.2.6. Fitokimyasal bileşiklerin analizi	28
3.2.6.1. Fitokimyasal bileşiklerin analizinde kullanılan standart çözeltiler	29
3.2.6.2. LC-MS/MS cihazı kromatografik şartları	29
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	30
4.1. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Madde Miktar Tayini Bulguları..	30
4.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi Bulguları	31
4.3. ABTS Yöntemi (Katyon Radikali Giderim Aktivitesi) Bulguları	33
4.4. CUPRAC (Cu^{2+} İyonu İndirgeme Kapasitesi) Yöntemi Bulguları	36
4.5. Fitokimyasal İçerik Bulguları	39
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	48
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	56

ÇİZELGELER LİSTESİ

SAYFA

Çizelge 2.1. Bellevalia taksonlarının etnobotanik kullanım alanları	7
Çizelge 2.2. Metabolizma sırasında üretilen bazı ROT ve RNT türleri	17
Çizelge 4.1. <i>B. sasonii</i> bitki ekstralarının toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri	30
Çizelge 4.2. <i>B. sasonii</i> soğan ekstralarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	32
Çizelge 4.3. <i>B. sasonii</i> gövde ekstralarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	32
Çizelge 4.4. <i>B. sasonii</i> yaprak ekstralarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	33
Çizelge 4.5. <i>B. sasonii</i> çiçek ekstralarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	33
Çizelge 4.6. <i>B. sasonii</i> soğan ekstralarının ABTS yöntemiyle belirlenen inhibisyon değerleri	34
Çizelge 4.7. <i>B. sasonii</i> gövde ekstralarının ABTS yöntemiyle belirlenen inhibisyon değerleri	35
Çizelge 4.8. <i>B. sasonii</i> yaprak ekstralarının ABTS yöntemiyle belirlenen inhibisyon değerleri	35
Çizelge 4.9. <i>B.sasonii</i> yaprak ekstralarının ABTS yöntemiyle belirlenen inhibisyon değerleri	36
Çizelge 4.10. <i>B. sasonii</i> soğan ekstralarının CUPRAC yöntemiyle belirlenen absorbans değerleri	37
Çizelge 4.11. <i>B. sasonii</i> gövde ekstralarının CUPRAC yöntemiyle belirlenen absorbans değerleri	38
Çizelge 4.12. <i>B. sasonii</i> yaprak ekstralarının CUPRAC yöntemiyle belirlenen absorbans değerleri	38
Çizelge 4.13. <i>B. sasonii</i> çiçek ekstralarının CUPRAC yöntemiyle belirlenen absorbans değerleri	39
Çizelge 4.14. <i>B. sasonii</i> ekstralarında fitokimyasal bileşen içerikleri	40

ŞEKİLLER LİSTESİ

SAYFA

Şekil 2.1. <i>Bellevalia sasonii</i> türünün kısımları	8
Şekil 2.2. <i>B. sasonii</i> 'nin ve ilgili taksonominin dağılımı	8
Şekil 2.3. Bitkilerde primer ve sekonder metabolizma arasındaki ilişkiler	9
Şekil 2.4. Bitki sekonder metabolitlerinin sınıflandırılması	12
Şekil 2.5. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması	13
Şekil 2.6. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar	17
Şekil 3.1. <i>Bellevalia sasonii</i>	22
Şekil 3.2. Bitkilerin kurutulması	23
Şekil 3.3. Bitki ekstrelerinin hazırlanması	23
Şekil 3.4. Gallik asit ölçü grafiği	25
Şekil 3.5. Kerasetin ölçü grafiği	26
Şekil 4.1. <i>B. sasonii</i> bitki ekstrelerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ...	30
Şekil 4.2. <i>B. sasonii</i> bitki ekstrelerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	31
Şekil 4.3. <i>B. sasonii</i> bitki ekstrelerinin ABTS yöntemiyle belirlenen inhibisyon değerleri	34
Şekil 4.4. <i>B. sasonii</i> bitki ekstrelerinin CUPRAC yöntemiyle belirlenen absorbans değerleri	37
Şekil 4.5. Toplam iyon kromatogramı	40
Şekil 4.6. <i>B. sasonii</i> ekstrelerinde yüksek miktarda bulunan fitokimyasal bileşikler	42
Şekil 4.7. <i>B. sasonii</i> soğan iyon kromatogramı	42
Şekil 4.8. <i>B. sasonii</i> gövde iyon kromatogramı	43
Şekil 4.9. <i>B. sasonii</i> yaprak iyon kromatogramı	43
Şekil 4.10. <i>B. sasonii</i> çiçek iyon kromatogramı	43

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

L	:	Litre
M	:	Molar
mg	:	Miligram
ml	:	Mililitre
mM	:	Milimolar
nm	:	Nanometre
µg	:	Mikrogram
µl	:	Mikrolitre
ppm	:	Milyonda bir kısım

Kısaltmalar

AA	:	Askorbik asit
ABTS	:	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
BHA	:	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	:	Bütil hidroksitoluen
CUPRAC	:	Bakır(II) İndirgeme Esaslı Antioksidan Kapasite
DPPH	:	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
GAE	:	Gallik asit eşdeğeri
LC-MS/MS	:	Sıvı Kromatografi- Kütle Spektrometresi
RNT	:	Reaktif nitrojen türleri
ROT	:	Reaktif oksijen türleri
SM	:	Sekonder metabolit
QE	:	Kersetin eşdeğeri

1. GİRİŞ

Türkiye çok sayıda bitki türü çeşitliliğine sahip bir ülke olup zengin bir floraya sahiptir. Bu floristik çeşitlilik her dönem yerli ve yabancı araştırmacıların oldukça ilgisini çekmiştir. Türkiye floristik zenginliğinin nedeni sınırları içerisinde Akdeniz, İran-Turan ve Avrupa-Sibirya fitocoğrafik bölgelerini bulundurmasından kaynaklanmaktadır. Akdeniz ve İran-Turan fitocoğrafik bölgeleri Batı Asya'daki ana gen merkezi olup birçok tarla-süs bitkisi ve meyve ağacının menşei sahasıdır. Anadolu florası bu yüzden, sadece akademik çalışmalar için değil aynı zamanda bitki yetiştiriciliği ve tarımla uğraşanlar için de oldukça önemlidir (Özhatay, 2002).

Türkiye'de doğal olarak yetişen 12.000'den fazla bitki taksonu olup, bunların yaklaşık 3649'u (3/1'lik oranı) endemik taksonlardan oluşmaktadır. Ancak Türkiye'nin endemik zenginliği bu sayı ile sınırlı kalmayıp, ortalama her 10 günde yeni bir endemik taksonun varlığının keşfedilmesiyle artmaktadır (Güner ve ark., 2012). 2019 yılında yayınlanan son kontrol listesine göre günümüzde ülkemiz sınırları içerisinde yayılışı bulunan toplam takson sayısı 12.345, endemik takson sayısı 4.157'ye ulaşmış ve endemizm oranı % 33.67 olarak belirtilmiştir (Özhatay ve ark., 2019). Endemik bitkilerin Türkiye'deki 7 coğrafi bölgeye göre dağılımı incelendiğinde, endemik bitkilerin dağılışına dair en yüksek sayıya ve orana sahip bölgenin Akdeniz Bölgesi (3321 endemik lokasyonu ve %34,3 oranla), en az ise Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin (246 endemik lokasyonu ve %2,5 oranla) olduğu tespit edilmiştir (Şenkul ve Kaya, 2017).

Ülkemizdeki bitki çeşitliliğinin fazla olması bu alanda birçok araştırma yapılmasını teşvik etmektedir. Bir yandan keşfedilmemiş yeni taksonlar kayıt altına alınırken, diğer yandan bu taksonlar farklı bilim dallarının temel araştırma konusu olmaktadır. Her geçen gün doğada bulunan bitkilerden farklı alanlarda yararlanılmakta, çeşitli araştırmalar neticesinde bu bitkiler tespit edilmekte, yayın haline dönüştürülerek kayıt altına alınmaktadır. Bitkilerin farklı amaçlarla kullanılmasına neden olan en önemli faktör bünyelerinde bulundurmuş oldukları sekonder metabolitlerden kaynaklanır.

Bitkiler yaşamsal faaliyetlerini sürdürmek için karbohidrat, lipit, protein gibi primer metabolitlerin yanı sıra sekonder metabolit olarak adlandırılan bileşiklere de sahiptirler. Sekonder metabolitler, genel olarak çevresel koşullara uyum sağlama,

savunma, hayatta kalma, neslini devam ettirme ve ekosistemle ilişkilerini düzenlemek amacıyla bitkiler tarafından sentezlenen önemli maddelerdir.

Sekonder metabolitler olarak adlandırılan bu maddeler, genellikle bitkiler alemi içinde sınırlı taksonomik gruplar arasında farklı şekilde dağılım göstermektedir. Bitki metabolitlerinin kullanımı MÖ 2600 yıllarında başlamış ve onu takip eden 4000 yıl içinde bitki kaynaklı sekonder metabolitler gıdanın yanı sıra ağırlıklı olarak tıbbi amaçlarla kullanılmaya başlanmıştır. Morfin, 1806 yılında haşhaştan (*Papaver somniferum*) izole edilen ilk doğal ürün olup sekonder metabolit araştırmalarında yeni bir çığır açmıştır. Böylece, bu araştırma sonuçları doğal ürün araştırmalarını başlatmış ve bugüne kadar, tıbbi ürünlerin %30'dan fazlasının doğrudan veya dolaylı olarak doğal ürünlerden elde edilmesinde bitki sekonder metabolitleri önemli bir rol oynamıştır (Cragg ve Newman 2013). Son yıllarda, yüksek teknoloji araştırma ekipmanlarının mevcudiyeti nedeniyle bitki metabolit araştırmalarında hızlı bir artış olmuştur.

Metabolitler biyolojik işlevleri, bitkilerde sıklıkla düşük konsantrasyonları nedeniyle geniş çapta tanınmamış ve daha önceleri metabolik atık veya detoksifikasyon ürünleri olarak kabul edilmişlerdir. Önceleri hayvan hücreleri üzerindeki toksik etkileriyle bilinen ancak daha sonra ekolojik önemleri ve birçok alandaki kullanım imkanıyla bilinen sekonder metabolitler hakkındaki bilgilerin birçoğu son kırk yılda ortaya çıkmıştır (Pawlikowski, 2010). Sekonder metabolitler biyosentetik orijinlerine göre sınıflandırılmakta, farklı biyolojik aktivite göstermekte ve endüstriyel alanda ilaç (antibiyotik, antitümör ajan, antiviral ve antiparazitik ajan, bağışıklık sistemini baskılayıcı ajan vb.), aroma, koku, renk verici, gıda katkı maddesi ve biyopestisit olarak kullanılmaktadır (Murthy ve ark., 2014).

Sekonder metabolitlerin birçok biyolojik aktivitesi bilinmekle birlikte en çok bilinen etkilerinden biride antioksidan aktivite göstermeleridir. Bitkisel ürünlerin antioksidan etkileri özellikle flavonoidler başta olmak üzere sinamik asit türevleri, kumarinler gibi fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Canlı organizmalarda oksijenin doğal metabolik süreci sırasında reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Bu reaktif türlerin hücre ve dokularda üretimi ve birikimi ile biyolojik bir sistemin bu formları detoksifiye etme yeteneği arasında bir denge olmalıdır. Bu dengenin olmaması oksidatif stres olarak adlandırılır ve oksidatif strese bağlı olarak birçok hastalık (nörodejeneratif, kardiyovasküler, mitokondriyal hastalıklar, kanser vs.) meydana gelebilir (Pham-Huy ve ark., 2008; Chaturvedi ve Beal, 2013). Bu gerçeklik, serbest radikal etki mekanizmasını anlama ve canlı organizmaları bu radikallerin zararlı

etkilerine karşı koruyan antioksidanlara olan ilginin artmasına neden olmuştur. Antioksidan maddelerin koruyucu rolü; reaktif türlerin oluşumundan önce önlenmesi, serbest radikallerin temizlenmesi, prooksidan metaller, singlet oksijen ve şelat komplekslerinin oluşumu, söndürme, enzim deaktivasyonu veya aktivasyonu, reaktif türlerin neden olduğu hasarların giderilmesi ve onarılması şeklinde olabilir (Polumbryk ve ark., 2013; Olszowy, 2019).

Antioksidan özelliğe sahip olan maddeler bitkilerde doğal olarak bulunabileceği gibi sentetik olarakta piyasada bulunmaktadır. Ancak sentetik antioksidanların insan vücudu üzerinde zararlı bir etkiye sahip olduğu şüphesi, bitkilerde bulunan doğal antioksidan bileşiklere giderek daha fazla önem verilmesine neden olmuştur. Bunlar arasında en popüler olanı, yapısında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren polifenolik bileşiklerdir. Bu bileşikler yapısal olarak fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki ana sınıfa ayrılabilir (Lobo ve ark., 2010; Cheynier ve ark., 2013). Yapılan araştırmalar fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklerinin yanı sıra antialerjik, antienflamatuar, antidiyabetik, antimikrobiyal, antiviral özelliklerini ve kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve nörodejeneratif hastalıklarda koruyucu etkilerini göstermektedir (Kolaç ve ark., 2017).

Bitki sekonder metabolitlerinin belirlenmesi, biyolojik aktivitelerinin tespiti, ilaç, kozmetik, gıda vs. sektörlerinde kullanılabilirliğinin araştırılması her zaman dikkat çeken bir araştırma konusu olmuştur. Bu tespitlerden yola çıkarak araştırmamızda *Bellevalia sasonii* bitkisinin antioksidan etkinliğinin tespiti ve LC-MS/MS yöntemiyle 53 adet fitokimyasal bileşiğin kantitatif tayininin yapılması amaçlanmıştır. *Bellevalia sasonii*, Batman ili Sason bölgesinde bulunan ve meşe ormanlarında yetişen endemik tür olarak tanımlanmaktadır. *Bellevalia* cinsi, Asparagaceae familyası içerisinde yer alan, çoğunluğu Akdeniz Bölgesinde (Fas ve Cezayir'den başlayıp doğuda Kafkasya ve İran'a kadar) yayılış gösteren yaklaşık 74 kadar türle temsil edilen bir taksondur (Johnson, 2003). Cinsin ait olduğu Asparagaceae familyası 7 alt familya, 114 cins ve yaklaşık 2900 tür ile temsil edilen, kurak alanlarda dahil Dünyada geniş bir alanda yayılış gösteren yarı kozmopolit bir familyadır (Christenhusz ve Byng, 2016).

Bu çalışmada daha önce hiçbir araştırmaya konu olmamış endemik tür olan *Bellevalia sasonii* bitkisinin farklı kısımlarının (soğan, gövde, yaprak, çiçek) etanol ekstresinin toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi, kapsamlı ve doğrulanmış bir LC-MS/MS yöntemiyle 53 adet fitokimyasal bileşiğin belirlenmesi ve

antioksidan aktivitelerinin tespiti amaçlanmıştır. Bu doğrultuda araştırmamızda erişilmek istenen hedeflerimiz;

- *Bellevalia sasonii* bitki kısımlarında 53 adet fitokimyasal bileşenlerinin tespiti yapılarak ilgili metabolitlerin nicel ve nitel olarak belirlenmesi ve gelecekte bu bitki türünde yapılacak olan fitokimyasal çalışmalara temel oluşturması,
- Toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi,
- Üç farklı yöntem kullanılarak (DPPH, CUPRAC, ABTS) bitkinin soğan, gövde, yaprak ve çiçek organlarının antioksidan aktivite kapasitesinin tayini,
- Elde edilen sonuçların literatüre kazandırılmasıyla *B.sasonii* ile ilgili yeni araştırmaların da alt yapısı oluşturulmuş ve bu bitkinin ekonomiye nasıl kazandırılacağı yönünde değerlendirmeler ile öneriler ortaya konmuştur.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Bellevalia Cinsi Hakkında Genel Bilgi

Bellevalia cinsi bilim dünyasına ilk olarak 1808 tarihinde Fransız doğa bilimci Philippe-Isidore Picot de Lapeyrouse tarafından tanımlanmıştır. Lapeyrouse ünlü Fransız Botanikçi Pierre Richer de Belleval'ı onure etmek için bu cinse Bellevalia ismini vermiştir (Pignatti, 1982).

Bellevalia cinsi morfolojiye dayalı sınıflandırma sisteminde Liliaceae (Zambakgiller) familyası içerisinde yer alırken, daha sonra yapılan çalışmalar neticesinde Hyacinthaceae (Sümbülgiller) familyasına dahil edilmiştir. Ancak yapılan son moleküler revizyon çalışmaları sonucunda günümüzde Hyacinthaceae (Sümbülgiller) ismi artık kullanılmamaktadır. Bunun yerine Scilloideae alt familyası olarak Asparagaceae (Kuşkonmazgiller) familyası içerisinde yer almaktadır (APG III, 2009; Chase ve ark., 2009).

Bellevalia cinsi, Asparagaceae familyası içerisinde yer alan, çoğunluğu Akdeniz Bölgesinde (Fas ve Cezayir'den başlayıp doğuda Kafkasya ve İran'a kadar) yayılış gösteren yaklaşık 74 kadar türle temsil edilen bir taksondur (Johnson, 2003). Cinsin ait olduğu Asparagaceae familyası 7 alt familya, 114 cins ve yaklaşık 2900 tür ile temsil edilen, kurak alanlarda dahil Dünyada geniş bir alanda yayılış gösteren yarı kozmopolit bir familyadır (Christenhusz ve Byng, 2016). Bu cins ile ilgili yapılan ilk monografi çalışmasında Dünya genelinde yayılış gösteren 44 türün 8 tanesinin Türkiye'de varlığından bahsedilmektedir (Feinbrun, 1940). Daha sonra 2012 yılındaki check-list çalışmasından sonra Bellevalia cinsine özellikle yerli botanikçiler tarafından 12 yeni tür (1 yeni kayıt daha sonra yeni tür olmuş) daha eklenerek Türkiye'deki Bellevalia cinsine ait tür sayısı 34'e yükselmiş olup bu türlerin 23 tanesi endemiktir ve ülkemizdeki endemizm oranı yaklaşık % 67.6'dır (Pınar ve ark., 2016; Şahin ve ark., 2016).

Hyacinthaceae familyası alt gruplarından Hyacinthoideae alt grubu homoizoflavonlar ve spirosiklik nortriterpenoidler, Urgineoideae alt grubu bufadienolidler ve Ornithogaloideae alt grubu ise kardenolid ve steroidal glikozit grubu maddeler taşımaktadır. Bellevalia türleri ile yapılan çalışmalarda ise genellikle homoizoflavonoidlerin varlığı tespit edilmiş ve bu maddelerin antioksidan, sitotoksik ve antifungal etkilerinden söz edilmiştir. Bellevalia cinsinin üyeleri, oldukça biyoaktif olan homoizoflavonoid içerikleri nedeniyle farmakolojik olarak önemlidir.

Homoizoflavonoidler, iskeletlerinde fazladan bir karbon atomuna sahip flavonoidlerin nadir bir alt sınıfıdır. Mevcut literatür taramasına göre şu anda sappanin, scillascillin, brazilin, caesalpin ve protosappanin türleri olmak üzere beş yapısal kategoriye ayrılabilen yaklaşık 250 doğal homoizoflavonoid rapor edilmiş ve çoğunluğu Asparagaceae ve Fabaceae'nin birkaç türünden izole edilmiştir. Homoizoflavonoidler, antioksidan, anti-inflamatuar, antimutajenik, antimikrobiyal, antialerjik ve antihistaminik, anti-diyabetik, sitotoksik ve anti-anjiyojenik etkilerinin yanı sıra protein tirozin kinaz inhibisyon aktivitesi gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri nedeniyle dikkat çekmiştir (Mulholland ve ark., 2013; Lin ve ark., 2014; El-Elmat ve ark., 2018).

Bellevalia saviczii, Irak'da anti-romatizmal ve anti-inflamatuar olarak kullanılan şifalı bir bitki olarak bilinir. Bu bitkinin içerdiği homoizoflavonoid bileşeninin (drakol) anti-inflamatuar etkisinin araştırıldığı çalışmada, hücre içi Ca^{2+} salınımının bloke edildiği ve sitokin salınımının azaldığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar, *B. saviczii*'nin geleneksel anti-inflamatuar etkinliğini doğrulamakta ve bu aktiviteden sorumlu görünen ekstredeki moleküllerden birini (drakol) tanımlamaktadır (Savio ve ark., 2019). Endemik *Bellevalia mauritanica* bitkisinin antioksidan, antikolinesteraz ve antibakteriyel aktivitelerinin yanı sıra fitokimyasal içeriklerinin araştırıldığı çalışmada; 91 fitokimyasal kalitatif olarak belirlenmiş; temel bileşen olarak kafeik asit ve vanilin bulunmuştur. Vanilinin kozmetikte, yiyeceklerde, içeceklerde, ilaçlarda sıklıkla kullanılan ve antimutajenik, antianjiyogenetik, anti-kolit ve antianaljezik gibi birçok aktivite sergileyen önemli bir metabolit olduğu ifade edilmiştir (Ouelbani ve ark., 2020). *Bellevalia* (*B. macrobotrys*, *B. tauri*, *B. gracilis*) türlerinde flavon, tanen ve kardiyotonik glikozitler olduğu belirlenmiştir (Demirci, 2014). *Bellevalia gracilis*'in yapraklarının yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Yıldırım ve ark. 2013). *Bellevalia eigii* bitkisinin soğan kısmından 8 yeni bileşik izole edilmiştir. Ayrıca, kükürt içeren bir bileşiğin (metiltiyoakrilat bellegimisin) Scilloideae familyasında tespit edildiği ilk araştırma olarak kayıtlara geçmiştir (Alali ve ark., 2015). *Bellevalia flexuosa* soğan ekstresinde homoizoflavonoid grubuna ait 4 yeni bileşik tanımlanmıştır (El-Elmat ve ark., 2018). *Bellevalia romana* soğan ekstresinden diğer bir sekonder metabolit türü olan norterpeneoidler izole edilmiştir (Adinolfi ve ark., 1990). Bu literatür bilgilerine ek olarak bazı *Bellevalia* türlerinin hem Türkiye'de hem de farklı ülkelerde etnobotanik kullanımı da mevcuttur (Çizelge 2.1.).

Çizelge 2.1. Bellevalia taksonlarının etnobotanik kullanım alanları

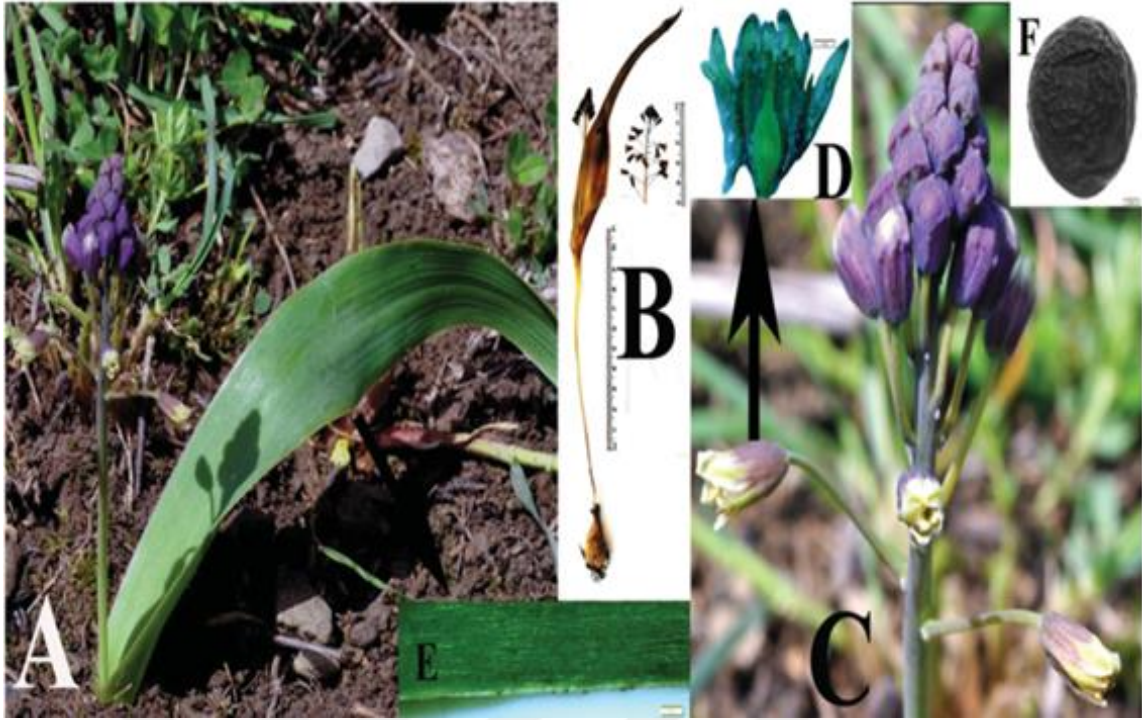
Tür Adı	Kullanılan Kısım	Kullanım Alanı	Kullanım Şekli	Ülke	Referans
<i>B. forniculata</i>	Yaprak Soğan	Gıda	Yapraklar süt ve pirinçle pişirilir. Soğanları taze olarak yenir.	Türkiye (Iğdır)	(Altundağ, 2009)
<i>B. pycnantha</i>	Yaprak	Gıda	Yaprakları pişirilir	Türkiye (Iğdır)	(Altundağ, 2009)
<i>B. sarmatica</i>	Çiçek Soğan	Gıda	Taze olarak yenir.	Türkiye (Kars)	(Güneş ve ark., 2011)
<i>B. sarmatica</i>	Yaprak	Gıda	Yapraklar süt ve pirinçle pişirilir. Soğanları taze olarak yenir.	Türkiye (Iğdır)	(Altundağ, 2009)
<i>B. romana (L.) Reichb</i>	Tamamı	Gıda	Gıda olarak kullanılır	Arnavutluk İtaya	(Quave ve Pieroni, 2007)
<i>B. saviczii Boronow</i>	Tamamı	Süs bitkisi	Süs bitkisi olarak	İran	(Mehrabian ve ark., 2008)

2.1.1. *Bellevalia sasonii* hakkında genel bilgi

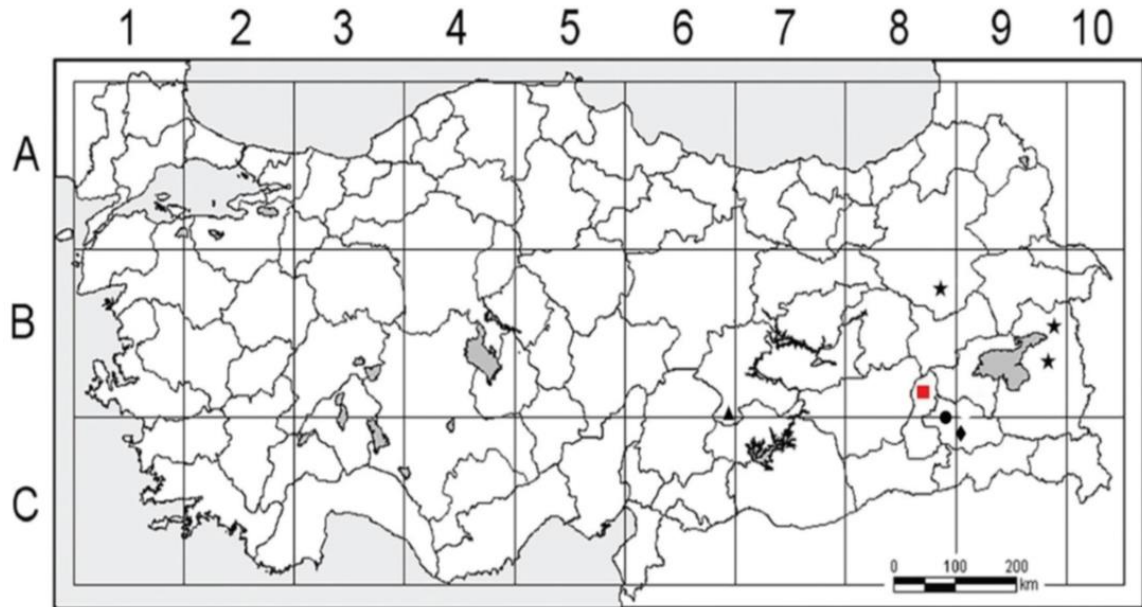
Bellevalia sasonii, Güneydoğu Anadolu Bölgesinin Batman ili Sason ilçesi Karamiş Köyü kırsalında yalnızca meşe ormanlarında yetişen yeni bir tür olarak tanımlanmaktadır. Araştırmacı bulduğu bu yeni endemik türe yetiştirdiği yöreden (Batman ili Sason ilçesi) esinlenerek *Bellevalia sasonii* ismini vermiştir. *B.sasonii* morfolojik olarak *B. malatyaensis*'e benzer, ancak soğan, yaprak, pedikül, tomurcuk lobları ve kapsül karakterleri ile ayırt edilir (Şekil 2.1. ve 2.2.). *B. sasonii* bitkisinin çiçeklenme dönemi Mart ayında başlayıp Nisan ayına kadar devam edebilir. *B. sasonii*'nin 2 yıldan fazla süren saha gözlemlerinde çok az sayıda rastlanıldığı tespit edilmiş olup bu nedenle, IUCN kriterlerine (IUCN, 2014) dayalı olarak D kriterine (250'den az olgun birey sayısı) göre "Tehlike Altında" (EN) olarak kategorize edilmiştir (Fidan, 2019).

Bellevalia sasonii türünün sistematikteki yeri;

Alem	:	Plantae
Bölüm	:	Magnoliophyta
Sınıf	:	Liliopsida
Takım	:	Asparagales
Familya	:	Asparagaceae
Altfamilya	:	Scilloideae
Cins	:	Bellevalia
Tür	:	<i>Bellevalia sasonii</i>



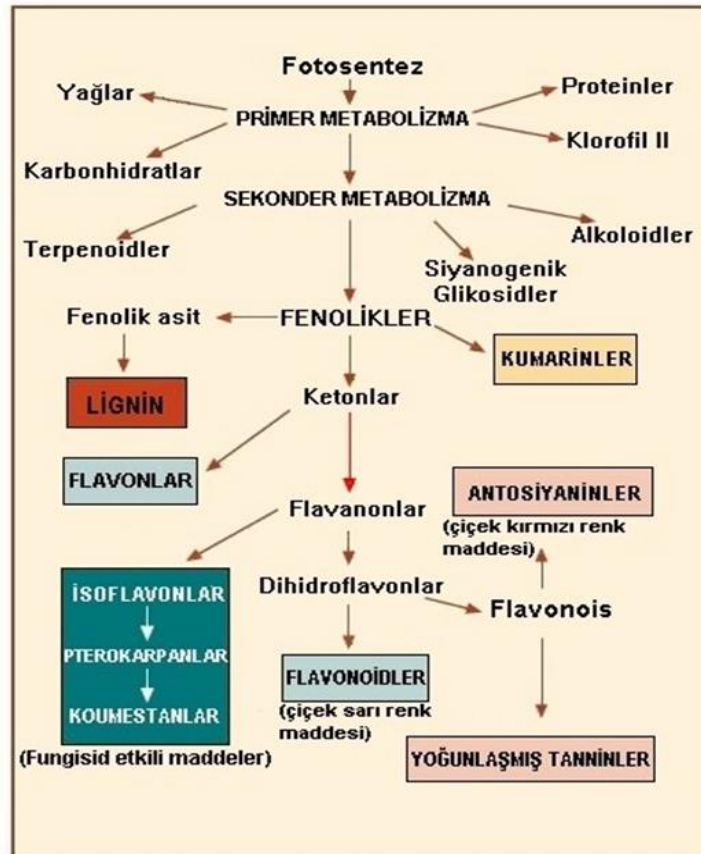
Şekil 2.1. *Bellevalia sasonii* sp. kas. A. doğada genel habitus, B. tüm bitki C. çiçeklenme detayı, D. çiçek, E. yaprak marjı, F. tohum (Fidan, 2019)



Şekil 2.2. *B. sasonii* 'nin ve ilgili taksonominin dağılımı; *B. sasonii* (■), *B. longipes* (□), *B. malatyaensis* (▲), *B. pseudolongipes* (●) *B. vuralii* (□) (Fidan, 2019).

2.2. Sekonder Metabolitler

Bitkiler yaşamsal faaliyetlerini sürdürmek için primer metabolitlerin yanı sıra sekonder metabolit olarak adlandırılan bileşiklere de sahiptirler (Şekil 2.3.). Primer metabolitler; nükleik asit, protein, karbohidrat ve lipit bileşiklerini ifade eder ve bitkilerin büyüme-gelişme olaylarında önemli rolleri vardır. Sekonder metabolitler (SM), bir organizmanın büyümesi ve yaşaması için gerekli temel metabolitler olmayıp, organizmanın çevresiyle etkileşiminde rol oynayarak ekosistemde varlığını sürdürmesini sağlar. Genel olarak bitkilerin çevresel koşullara uyum sağlama, savunma, hayatta kalma, neslini devam ettirme amacıyla sentezlenen önemli maddelerdir. Bitkileri hem biyotik (bakteriler, mantarlar, nematodlar, böcekler vs.) hem de abiyotik (yüksek sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, yaralanma, ağır metaller vs.) streslere karşı korurlar. Karotenoid ve flavonoidler ayrıca çiçek tozlayıcıları ve tohum dağıtıcıları çeken hücre pigmentasyonunda rol oynayarak bitki üremesinde de görev alırlar (Croteau ve ark., 2000; Winkel-Shirley, 2001).



Şekil 2.3. Bitkilerde primer ve sekonder metabolizma arasındaki ilişkiler (Morris, 1997)

SM'ler düşük moleküler ağırlıklı bileşikler olup biyosentezleri genellikle organ, doku ve hücreye özgüdür. Bu bileşikler genellikle aynı bitki popülasyonunda ki bireyler arasında miktarları ve türleri açısından farklılık gösterir. İlgili bitki türleri genellikle SM'lerin profillerinde benzerlik gösterdiğinden, bitki sistematğinde taksonomik (kemotaksonomi) araç olarak kullanılmıştır. Bununla birlikte, sistematik açıdan yakın bitkilerin metabolit profilleri önemli ölçüde farklılık gösterebilir veya uzak bitki gruplarının profilleri güçlü benzerlikler gösterebilir. Bu durum, sekonder metabolitlerin sistematik belirteçler olmadığını, ancak evrimsel süreç ve seçici gen ekspresyonunun ortak temada olduğunu açıkça göstermektedir (Pagare ve ark., 2015).

SM'ler suda çözünür (hidrofilik) bileşikler veya lipofilik (organik çözücülere ihtiyaç duyar) olabilir, bu nedenle taşınmaları, depolanmaları ve devirleri için farklı hücresel mekanizmalara ihtiyaç duyarlar. Hidrofilik SM'ler genellikle sitoplazmada oluştuktan sonra vakuolde depolanırken, lipofilik maddeler reçine kanallarında, latisiferlerde, glandüler tüylerde, trikomlarda, tilakoid membranlarda veya kütikülde tutulur. Çoğu durumda, biyosentez bölgesi kökler, yapraklar veya meyveler gibi tek bir organla sınırlıdır, ancak ürünlerin birikimi diğer birkaç bitki dokusunda tespit edilebilir. Bu durumlarda uzun mesafelere taşınmaları gerekir ki ksilem veya floemler muhtemel taşınma yollarıdır (Pagare ve ark., 2015).

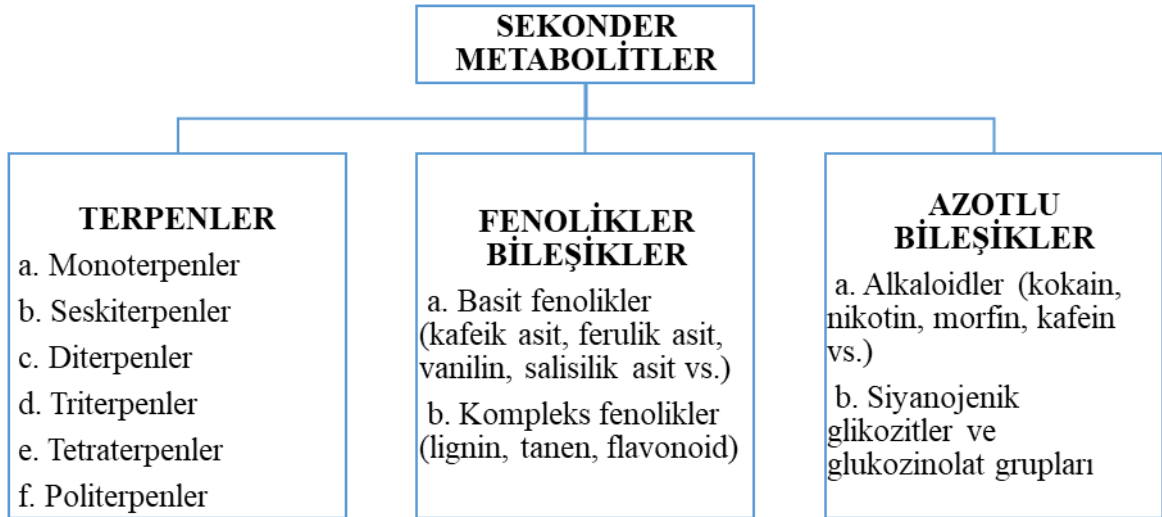
Bazı sekonder metabolit türlerine (terpenoidler, alkaloidler ve flavonoidler) ait bileşikler, çeşitli hastalıkları tedavi etmek veya önlemek için ilaç veya diyet takviyesi olarak kullanılmaktadır. Özellikle bu bileşiklerin bazılarının çeşitli kanser türlerini önlemede ve inhibe etmede etkili olduğu bildirilmiştir (Reddy ve ark., 2003). Bitkilerde uçucu monoterpenlerin veya uçucu yağların varlığı, bitkilere, özellikle otçul böcek zararlılarına ve patojenik mantarlara karşı önemli bir savunma stratejisi sağlar. Bu uçucu terpenoidler ayrıca bitki-bitki etkileşimlerinde hayati bir rol oynayarak tozlayıcılar için cezbedici olarak hizmet eder. Siyanojenik glikozitler, izoflavonoidler ve alkaloidler gibi çözünür sekonder bileşikler de hayvanlar için toksik olabilir (Tholl 2006).

Bitki sekonder metabolitlerinin bitki büyümesi ve gelişimindeki işlevlerinin yanı sıra insanlar tarafından bu bileşikler farmasötik/biyomedikal, tarım ve gıda endüstrilerinde kullanılırlar. Bitkiler, binlerce yıldır insanlar tarafından belirli hastalıkların tedavisi gibi tıbbi amaçlar için kullanılmıştır. Örneğin, eski Mısır'da, bitkisel ilaçların kullanımına ilişkin ilk kayıtların mezar resimlerinde MÖ 2686 – MÖ 2181 tarihlerine kadar uzandığı söylenebilir. Geleneksel Çin Tıbbında ise 1046-1600

yıllarına dayanan “Shouwen Jiezi” kitabına kadar uzanabilir. Bu erken zaman dilimlerinde, bitkisel ilaçlar öncelikle çaylar, tozlar, tentürler ve hatta bütün bitki dokusu biçiminde kullanılmış, ancak hastalıkları iyileştirmekten sorumlu spesifik bileşiklerin ne olduğu bilinmemekteydi. Ancak modern çağda, analitik kimya ve tıptaki ilerlemeler, araştırmacıların tıbbi bitkilerin aktif bileşenlerini çıkarmalarına, karakterize etmelerine ve nihayetinde bu bileşikleri farmasötik olarak kullanmalarına olanak sağlamıştır. SM'ler, antimalariyal, antiinflamatuvar, antikanser, antifungal, antibakteriyel, antiviral gibi tıbbi amaçlarla kullanılırlar (Nunn, 2002; Heitefuss, 2011; Zhao ve ark., 2016).

SM'lerin, tarımsal faaliyetlerde pestisit (insektisit, herbisit, fungusit vs.) olarak kullanımları bilinmektedir. Ayrıca bazı bitkiler (brassicaceae familyası üyeleri) içerdikleri sekonder metabolitlerin fitohormon etkisinden dolayı, başka bitkilerin büyüme ve gelişimlerini teşvik edici amaçlarla da kullanılabilir. SM'ler farmasötik/biyomedikal ve tarım endüstrilerinde kullanılmasının yanı sıra insanlar tarafından çok çeşitli diğer endüstrilerde kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde, birçok içecek veya gıda ürünlerine tat, aroma ve/veya renk sağlar. Örneğin kahve, neredeyse tüm lezzet ve duyuşal özelliklerin SM'ler tarafından sağlandığı değeri yüksek bir gıda ürünüdür. Kahvenin aroması, sahip olduğu çok sayıda uçucu metabolitten kaynaklanır ve bu içeceğin asitliği/acılığı ise alkaloid kafein, klorojenik asitler, dikaffeyolkinik asitler ve diğer fenolik bileşiklerden kaynaklanır (Sunarharum ve ark., 2014). SM'ler aynı zamanda birçok baharatın aromasından sorumludur ve yemeklerde kullanılan bitkilerin çoğuna aromaları monoterpenlerin (biberiye, nane, karabiber, adaçayı) birikimi yoluyla verilir. Alkaloid bileşik olan kapsaisin, acı biberin baharatlı tadından sorumludur. Vanilin (vanilya bitkilerinden ekstrakte edilen bir fenolik aldehit), gıda endüstrisinde, özellikle unlu mamüllere tat vermek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca hem gıda hem de kozmetik endüstrilerinde aroma ve koku sağlamak için kullanılırlar. Gül yağı, lavanta yağı gibi uçucu yağlar, parfümlere veya gıda ürünlerine hoş bir aroma vermek için kullanılabilir (Freeman ve Beattie, 2008; Heitefuss, 2011). Ayrıca besinlerin raf ömrünü uzatmak için gıdaların içerisinde gıda katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır (Bourgaud ve ark., 2001).

Sekonder metabolitler, biyosentetik orijinlerine göre terpenler, fenolikler ve azotlu bileşikler olmak üzere 3 grup altında sınıflandırılır (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. Bitki sekonder metabolitlerinin sınıflandırılması (Harborne, 1999)

2.2.1. Terpenler

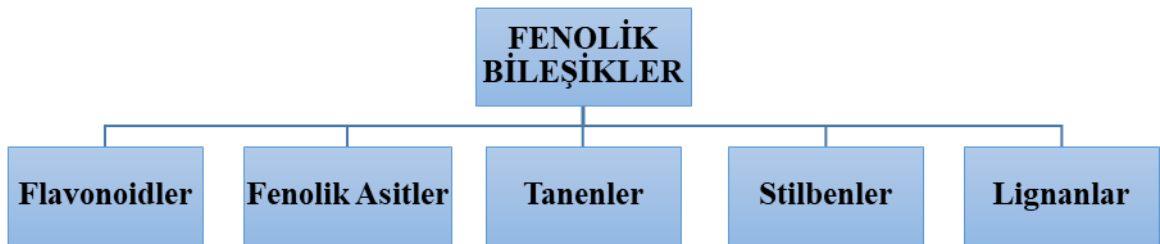
Terpenler, bitkilerde bulunan 23.000'den fazla önemli aktif bileşiklerden oluşur. Lamiaceae familyası taksonlarında bol miktarda bulunur. Polimerik izopren türevleri olup mevalonik asit yolu ile asetattan sentezlenirler. Bu gruptaki bileşiklerin çoğu farmakolojik aktiviteye sahip olduğundan hem insanlarda hem de hayvanlarda hastalıkların tedavisi için kullanılır (Gershenzon ve Dudareva, 2007). Bazı terpenler aroma-koku verici ve baharat olarak sanayi sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır. Bitkilerin abiyotik ve biyotik streslere karşı adaptasyonunda rol alır. Bununla birlikte, bazı terpenoidler yüksek uçuculuğa sahip olup atmosferde yayılarak aktivite gösterebilir. Terpenlerin uçuculuğu, bitkilerde tozlaşmayı ve kimyasallar aracılığıyla bitkiler ile diğer organizmalar arasındaki iletişimi sağlar. Ayrıca antibakteriyel, antifungal ve antiviral gibi çeşitli farmakolojik etkilere sahip oldukları bilinmektedir (Kabera ve ark., 2014).

Terpenler, molekülde bulunan 5 C'lu izopren birimlerinin sayısına göre sınıflandırılır: hemiterpenler (5 C), monoterpenler (10 C), seskiterpenler (15 C), diterpenler (20 C), triterpenler (30 C), tetraterpenler (40 C) ve politerpenler. Bazı bitkiler kendine özgü koku veren uçucu ya da eterik yağlar olarak bilinen mono ve seskiterpen karışımı içerirler (nane, limon, reyhan, adaçayı vs.).

2.2.2. Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkiler tarafından sentezlenen önemli metabolitlerdir. Hemen hemen tüm bitkilerde bulunan fenolik bileşikler çok sayıda kimyasal, biyolojik, tarımsal ve tıbbi araştırmaya konu olmuşlardır. Bitkileri hem biyotik hem de abiyotik streslere karşı korur (Borowska ve Szajdek, 2003; Dietrich ve ark., 2004). Fenolik bileşikler antioksidan, antimutajen, antimikrobiyal ve antikarsinojenik etki gösterdiklerinden dolayı insan sağlığında çok önemli bir yer tutarlar. Flavonoidler ve sinnamik asit en önemli antioksidan, serbest radikal tutucu ve zincir kırıcılar olarak tanınmaktadır (Naczki ve Shahidi, 2003). Araştırmalar sonucunda bazı fenolik antioksidanların, oksidatif baskı sonucu meydana gelen hücre ölümlerini büyük ölçüde engellediği tespit edilmiştir (Parihar ve Hemnani, 2003). Ayrıca bazı fenolik bileşiklerin antioksidan vitaminlerden bile daha etkili oldukları tespit edilmiştir (Bravo, 1998).

Kimyasal yapıları, hidrobenzoik asit türevleri ve katekoller gibi basit fenoller ile katekol melaninler, ligninler, tanenler gibi yüksek moleküler ağırlığa sahip uzun zincirli polimerler dahil olmak üzere büyük ölçüde değişebilir. İçerdikleri halka sayısı ve yapısal unsurlara göre isim alan polifenolik maddeler genellikle fenolik asit ve alkollerde olduğu gibi bir fenol halkasına sahiptirler. Polifenollerin ana grupları: flavonoidler, fenolik asitler, tanenler, stilbenler (resveratrol) ve lignanlar'dır (Şekil 2.5.). Ayrıca fenolik asitler, gıda bitkilerinde flavonoidler, alkoller, hidroksi yağ asitleri, steroller ve glukozitler gibi diğer doğal bileşiklerle konjuge edilmiş esterler veya glikozitler şeklinde oluşabilir (D'Archivio ve ark., 2007; Dai ve Mumper, 2010).



Şekil 2.5. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

Flavonoidler, insan sağlığı üzerine olumlu etkileri olan ve bitkilerin yaprak, çiçek, meyve gibi kısımlarında bulunan düşük molekül ağırlıklı polifenolik antioksidanlardır (Felicia ve ark., 1997; Sghaiera ve ark., 2011). Temel kaynakları, sebzeler, meyveler, baharatlar, kahve çekirdeği ve soya ürünleridir (Güven ve ark.,

2010). Flavonoidler genel olarak 6 gruba ayrılırlar. Bunlar; flavonlar, flavanonlar, flavanoller, izoflavonoidler, antosiyaninler ve flavonollerdir (Iwashina, 2000). Flavonoidler; antioksidan, antimutajenik, antiproliferatif, antitümör, antiviral ve antienflamatuar gibi özellikleri nedeniyle birçok araştırmacının dikkatini üzerine çekmiştir. Salgın hastalıklar, kalp damar hastalıkları ve özellikle kanser hastalıkları riskini düşürmesi nedeniyle flavonoidler çok önemli bir yer edinmiştir (Garcia-Lafuente, 2009). Ayrıca yakın zamanda yapılan araştırmalar sonucunda flavonoidlerin, antidiyabetik etkisinin olduğu ve obezite üzerinde de olumlu etkiler ortaya koyduğu tespit edilmiştir (Jennings ve ark., 2017).

Fenolik asitler, bitkilerde bulunan doğal antioksidan aktivite gösteren bileşikler olup hidroksibenzoik asit ve hidroksisinnamik asit olmak üzere iki gruba ayrılır. Hidroksibenzoik asitlere örnek olarak gallik asit, salisilik asit, vanilik asit verilebilir. Hidroksisinnamik asitlerin en yaygın olanları ise ferulik asit, kafeik asit, o-kumarik asit ve p-kumarik asittir (Balasundram, 2006). Sinnamik ve benzoik asit türevleri hemen hemen tüm bitkisel gıdalarda (meyveler, sebzeler ve tahıllar) bulunur ve bitkilerin tohum, yaprak, kök ve gövdelerinde dağılım gösterirler. Sadece küçük bir kısım “serbest asitler” olarak bulunur. Çoğunlukla bitkinin selüloz, protein, lignin gibi yapısal bileşenleri, flavonoidler, alkoller, hidroksi yağ asitleri, steroller ve glukozitler gibi bileşiklerle konjuge esterler şeklinde bulunur. Bu bağlantılar, çok çeşitli türevlere yol açmakla birlikte fenolik asitlerin analizinin karmaşıklığındaki ana faktörlerden biri bu çeşitliliiktir (Robbins, 2003).

Tanenler, bitki yapraklarında, ağaç kabuklarında, meyvelerde, ve köklerde yüksek moleküler ağırlığa sahip suda çözünür fenolik bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Protein, nişasta, selüloz ve minerallerle kompleks oluşturabilirler. Memeli otçullara, kuşlara ve böceklerle karşı bitki savunma mekanizmalarıyla yakından ilişkilidirler (Hassanpour ve ark., 2011). Tanenler ayrıca bitki bazlı ilaçlarda aktif bileşik olarak bulunurlar. Literatürde, tanen içeren bitkiler ishale karşı önleyici, mide ve oniki parmak bağırsağı tümörlerine karşı ve iltihap önleyici olarak kullanılmaktadır (Kabera ve ark., 2014).

Stilbenler, çeşitli bitki familyalarında bulunan fenolik bileşiklerdir. Bu sekonder metabolitlerin bazıları, fitoaleksinler olarak kabul edilmiş ve patojenler tarafından enfeksiyondan veya UV radyasyonuna maruz kaldıktan sonra üretildikleri ve antifungal aktivite gösterdikleri için bitkilerin savunma mekanizmaları ile ilişkilendirilmiştir. En çok bilinen ve en iyi karakterize edilen stilben resveratrol'dür. Resveratrol, hücre

proliferasyonu, anjiyogenez, redoks durumu, mitokondriyal aktivite, adiposit lipolizinin uyarılması ve inflamasyonun baskılanması gibi geniş biyolojik aktiviteleri nedeniyle son 20 yılda kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Vang ve ark., 2011). Bununla birlikte, insan diyetinde stilbenlerin varlığı, üzüm, kırmızı şarap, yer fıstığı ve bazı çilek türleri gibi birkaç gıda ile sınırlıdır. Kanseri, kardiyovasküler ve nörodejeneratif patolojiler dahil birçok kronik hastalığa karşı koruma sağladığı ileri sürülmektedir. Antioksidan özelliklere sahip bazı stilbenlerin antioksidan enzimleri indüklediği bildirilmiştir (El-Khawand ve ark., 2018).

Lignanlar, steroid benzeri kimyasal yapıları nedeniyle fitoöstrojenler olarak kabul edilirler. Lignanlar çeşitli tohumlar, tahıllar, meyveler ve sebzelerde nispeten düşük konsantrasyonlarda bulunurken, susam ve keten tohumlarında daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Anti-inflamatuar, antioksidan ve antitümör aktiviteleri dahil olmak üzere çeşitli biyolojik özellikler sergileyen biyoaktif bileşiklerdir (Ionkova ve ark., 2011).

2.2.3. Azotlu bileşikler

Azot içeren sekonder metabolitler alkaloidleri, siyanogenik glikozitleri ve protein olmayan amino asitleri içermektedir. Alkaloidler, bir veya daha fazla heterosiklik nitrojen atomu içeren ve farmakolojik olarak aktif olan bazı bileşikler olarak tanımlanır. Kafein, nikotin, morfin ve reserpin gibi birçok alkaloid molekülü, yiyecek, içecek ve farmasötik ürünlerde bulundukları için ekonomik olarak önemlidir (Roberts, 2013). Alkaloidlerin çoğu toksik etki göstermekte ve mikrobiyal enfeksiyona karşı savunmada görev almaktadır. Antibiyotik aktivite, antidepresanlar (rezerpin) ve halüsinojen (meskalin) etki gösteren çeşitli alkaloidler bulunmaktadır. Siyanogenik glikozitler, acı tadı ve toksik hidrojen siyanür (HCN) salınımı nedeniyle otçullara karşı bitki savunmasında önemli bir role sahip oldukları düşünülmektedir. Diğer yandan, amigdalın ve linamarin gibi bazı siyanogenik bileşiklerin terapötik etkileri vardır ve kanser gibi çeşitli hastalıkları tedavi etmek için geleneksel bir ilaç olarak kullanılmaktadır (Mosayyebi ve ark., 2020). Serbest formlar halinde bulunan ve koruyucu savunma maddesi olarak işlev gören kanavanin ve azetidin-2 karboksilik asit gibi protein yapısına girmeyen amino asitlerde azotlu bileşikler içerisinde yer almaktadır (Pagare ve ark., 2015).

2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

“Radikal” terimi ilk olarak 1786'da Guyton de Morveau tarafından tanımlanmış ve daha sonra Gay-Lussac, Liebig ve Berzelius tarafından birçok maddede değişmeden bulunan atom gruplarını belirtmek için kullanılmıştır. Radikallere ve kimyalarına olan ilgiye rağmen, izole edilmeleri imkansız olarak kabul edilmiş ve on dokuzuncu yüzyılın sonuna kadar bağımsız varlıklarına dair doğrudan bir kanıt bulunamamıştır. Kimyacılar, 20. yüzyılın ortalarında, serbest radikallerin organik reaksiyonlara dahil olduğunu ve biyolojik sistemlerde üretimlerini tespit etmişlerdir (Di Meo ve Venditti, 2020).

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren atom, molekül veya iyonlar olup, yüksek enerjiye sahip olmalarından ötürü dikkat çekici reaktivite göstermektedirler. Bu atom veya molekül ortaklanmamış elektronunu bir başka moleküle vererek veya başka bir molekülden alarak daha kararlı hale gelme eğilimindedir. Kendisi elektron alışverişi sonucunda kararlı duruma geçerken etkileşimde bulunduğu molekül kararsız hale geçer ve canlı sistemlerde zincirleme reaksiyon başlatabilirler. Serbest radikaller, oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilir. Oksijen kökenli olanlar reaktif oksijen türleri (ROT), nitrojen kökenli olanlar reaktif nitrojen türleri (RNT) olarak adlandırılır (Çizelge 2.2.). ROT/RNT, canlı sistem için hem faydalı hem de toksik bileşikler olarak iki yönlü bir iş görürler. Orta veya düşük seviyelerde ROT/RNT bağışıklık işlevi (yani patojenik mikroorganizmalara karşı savunma), çeşitli hücrel sinyal yolları, mitojenik yanıt ve redoks düzenlemesi gibi çeşitli fizyolojik işlevlerde yer alır. Ancak yüksek konsantrasyonda hem ROT hem de RNT, sırasıyla oksidatif stres ve nitroztatif stres oluşturarak biyomoleküllerde potansiyel hasara neden olur (Valko ve ark., 2007).

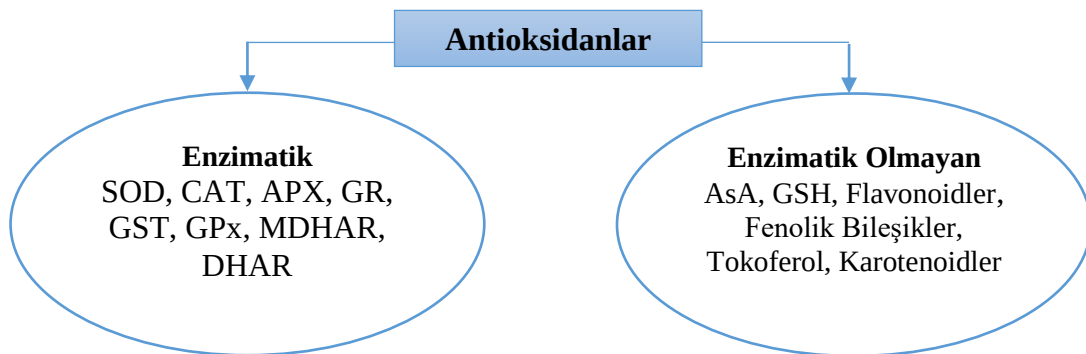
Yaşam için çok önemli olan oksijen, enerji üretimi için kullanıldığında reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Reaktif oksijen türleri, süperoksit ($O_2^{\bullet}$), hidroksil ($OH^{\bullet}$) ve peroksiller ($ROO^{\bullet}$) gibi radikal özellik gösterebilir ya da hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen ($^1O_2$) gibi radikal olmayan moleküllerden oluşabilir. Hücrel metabolizmanın bir sonucu olarak meydana gelen ROT'un %90'ından fazlasının mitokondri tarafından üretildiği belirtilmiştir. Mitokondri tarafından sürekli üretilen ve enerji üretimi sonucu oluşan bu serbest radikaller lipidlerin, proteinlerin, nükleik asitlerin yapısında ve gen ekspresyonunda değişiklik meydana getirebilir (Shinde ve ark., 2012). Protein oksidasyonu, sülfidril gruplarının kaybı ve amino asitlerin modifikasyonuna neden olarak proteinleri işlevsiz hale getirebilir. Ayrıca

hidroperoksitler, malondialdehit (MDA) gibi toksik türlere ayrışabilir ve bu da hücre zarında çoklu patolojik sonuçlara yol açar (Stadtman ve Levine, 2003).

Çizelge 2.2. Metabolizma sırasında üretilen bazı ROT ve RNT türleri (Lushchak, 2014)

	Radikaller	Radikal Olmayanlar
Reaktif oksijen türleri (ROT)	► Süperoksit $O_2^{\cdot-}$ ► Hidroksil $OH^{\cdot}$ ► Peroksil $ROO^{\cdot}$ ► Alkoksil $RO^{\cdot}$ ► Hidroperoksil $HO_2^{\cdot}$ ► Lipid peroksil $LOO^{\cdot}$	► Hidrojen peroksit H_2O_2 ► Hipokloroz asit $HOCl$ ► Hipobromöz asit $HOBr$ ► Singlet oksijen $^1O_2$ ► Ozon O_3
Reaktif nitrojen türleri (RNT)	► Nitrik oksit NO ► Nitrojen dioksit NO_2	► Nitrik asit HNO_2 ► Nitrosil katyonu NO^+ ► Nitrosil anyonu NO^- ► Dinitrojen tetroksid N_2O_4 ► Dinitrojen trioksit N_2O_3 ► Peroksinitrit $ONOO^-$

Canlı organizmalar, reaktif oksijen türlerinin miktarını kararlı seviyede tutmak, ortadan kaldırmak ve olumsuz etkilerini en aza indirmek için enzimatik ve enzimatik olmayan karmaşık bir antioksidan sisteme sahiptir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-s-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) enzimatik yapıda olan antioksidanlar arasında yer alırken; karotenoid, flavonoid, α -tokoferol, askorbik asit (AsA) ve glutatyon (GSH) enzimatik olmayan antioksidanlar olarak etki gösterirler (Şekil 2.6.). Enzimatik olmayan antioksidan bileşenler, ROT ile etkileşime giren ve böylece serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandıran moleküllerden oluşur (Hasanuzzaman ve ark., 2020).



Şekil 2.6. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar

Antioksidanlar, canlılarda bulunan karbohidrat, yağ, protein ve nükleik asit gibi oksitlenmeye yatkın olan maddelerin oksidasyonunu önleyen, gerileten ve serbest radikalleri yok eden kimyasal bileşiklerdir (Kattappagari ve ark., 2015). Antioksidanlar, serbest radikallerin vücutta meydana getirdiği olumsuz etkileri engellemekte, oksidasyonun neden olduğu zararları da engelleyerek yok etmektedir. Antioksidanların rolleri arasında serbest radikallerin fazlasını etkisizleştirmek, serbest radikallerin toksik etkilerine karşı hücreleri korumak ve hastalıkları önlemede katkı sağlamak olarak sayılabilir (Pham-huy ve ark., 2008). Hem doğal hem de yapay birçok bileşik antioksidan özellik taşımaktadır. Özellikle endüstri alanında gıdaların raf ömrünü uzatmak için gıda katkı maddesi olarak genellikle BHA, BHT, PG (Propil gallat) gibi sentetik antioksidanlar çok kullanılmaktadır. Günümüzde ise araştırmalar neticesinde sentetik olarak üretilen antioksidanların fiziksel, kimyasal ve biyolojik zarar verme kapasiteleri nedeniyle doğal antioksidanlara olan ilgi giderek artmaktadır (Turhan ve ark., 2006).

Günümüzde, bitki bazlı gıdaların temel beslenmenin ötesinde sağladığı faydalar konusunda tüketicilerin artan farkındalığı ve içerdikleri biyoaktif bileşiklerin sağlığa olumlu etkileri nedeniyle bu konuda çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Bitki bazlı gıdalar, sinerjik etkileşimler nedeniyle tek başına sentetik antioksidanların tüketiminden daha olumlu fizyolojik etkilere katkıda bulunabilen ve antioksidan kapasite sergileyen çeşitli biyoaktif bileşikler içerir. Bu bileşikler arasında en yaygın ve önemli olanı polifenol gibi doğal antioksidanlardır. Fenolikler açısından zengin gıdaların tüketilmesinin, oksidatif stresle ilişkili dejeneratif, kronik, ve patolojik komplikasyonların önlenmesine katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (Shahidi ve Peng, 2018). Bu nedenle, insan sağlığına önemli katkılar sağlayan bitki kökenli biyoaktif bileşiklerin nicel ve nitel analizlerinin yapılması son yılların en popüler araştırma konusu haline gelmiştir.

2.3.1. Antioksidan test yöntemleri

Antioksidan aktivite belirlemek için birden fazla yöntem ve teknik kullanılmaktadır. Kullanılan yöntemin kimyasal özelliğine bağlı olarak hazırlanan ekstrelerin bileşenlerine, fonksiyonel gruplarına, kimyasal etkilerine göre farklı sonuçlar ortaya çıkacağından antioksidan aktivite ölçümleri yapılırken en uygun yöntem belirlenmelidir (Öztürk ve ark., 2007). Antioksidan kapasite tayinleri iki gruba ayrılır.

2.3.1.1. Hidrojen atom transferine dayanan metot (HAT)

Antioksidan kapasite (AOK), serbest radikallerin antioksidan maddenin hidrojeni ile etkisiz hale getirilerek ölçülmesi sonucu tayin edilir. Bu yöntemeye dayalı olan metotlar; ORAC (Oksijen radikal absorbans kapasitesi), TRAP (Toplam radikal yakalama antioksidan parametresi), Linoleik asit oksidasyonunun inhibisyonu, LDL oksidasyonunun inhibisyonu, IOU (İnhibe edilmiş oksijen alımı) şeklinde sınıflandırılmıştır (Prior ve ark., 2005; Huang ve ark., 2005).

2.3.1.2. Singlet elektron transferine dayanan metot (SET)

Antioksidanların elektron transfer etmesiyle karbonil, metal ve radikal içeren bileşiklerin indirgenmesine dayanan metot şeklindedir. Singlet elektron transferine dayanan metotlar şunlardır; TEAC/ABTS (Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi), DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), CUPRAC (Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite), FRAP (Ferrik iyon indirgeme antioksidan parametresi), Folin-Ciocalteu ayracı ile toplam fenol tayini şeklinde sınıflandırılmaktadır (Prior ve ark., 2005; Huang ve ark., 2005).

2.4. Literatür Özetleri

Delazar ve ark. (2002), İran'ın yerel bitkilerinden olan *Bellevalia longistyla* soğanının kimyasal bileşenlerini araştırdıkları çalışmada alkaloid ve flavonoidlerin tespit edildiğini, flavonoidlerin tespit edilmesi amacıyla saflaştırdıkları bileşiği HNMR spektrumunda inceleyerek elde ettikleri bileşiğin kimyasal yapısını 4,S-dihidroksi 7,8 dimetoksi 3-benzil 4-kroman olarak önerdiklerini bildirmişlerdir.

Muscari parviflorum türünün soğan ve yapraklarının farklı çözücülerdeki (etanol, metanol) toplam fenolik içerikleri araştırılmıştır. Yapılan çalışmanın sonucunda soğan ve yaprak özütlerinden hazırlanan etanolik ekstraktların fenolik içeriği, metanolik ekstraktların fenolik içeriğinden daha yüksek çıktığı tespit edilmiştir (Mammadov ve ark., 2012).

Yıldırım ve ark. (2013), Munzur Vadisi'nde yetişen *Bellevalia gracilis*, *Muscari aucheri*, *Tulipa armena* var. *lycica* endemik bitkilerinin soğan ve yaprak kısımlarının toplam antioksidan kapasite ve antifungal aktivitelerini değerlendirdikleri çalışmada; tüm numuneler arasında en yüksek toplam antioksidan aktivitenin *B. gracilis*'in yaprak ekstrelerinde, en düşük aktiviteninde *M. aucheri* bitkisinde görüldüğünü bildirmişlerdir.

Demirci (2014), *Bellevalia gracilis*, *Bellevalia macrobotrys*, *Bellevalia tauri* türlerinde aralarında bulunduğu Hyacinthaceae familyasına ait 39 taksonun soğan ve toprak üstü kısımlarında antrasen glikozitleri, flavon glikozitleri, saponinler, tanenler, alkaloit, kardiotonik glikozit ve musilaj türevlerinin tarandığı çalışmada, *B. gracilis*'in toprak üstü kısımlarında flavon ve kardiotonik glikozit, soğanında kardiotonik glikozit; *B. macrobotrys*'in toprak üstü kısımlarında flavon, soğanında kardiotonik glikozit; *B. tauri*'nin toprak üstü kısımlarında flavon, soğanında tanen tespit etmiştir.

Alali ve ark. (2015), Ürdün'ün yerli bitkilerinden olan *Bellevalia eigii*'nin soğanında bulunan fitokimyasalları tespit etmek için yaptıkları araştırmada, 8 yeni 10 bilinen bileşiğin tespit edildiğini, bileşiklerden 16 tanesinin homoizoflavonoid grubu olduğunu, bileşiklerin antikanser etkisini araştırmak amacıyla sitotoksik aktivitelerinin ve ayrıca antimikrobiyal etkilerinin umut verici nitelikte olduğunu ifade etmişlerdir.

Crocus chrysanthus, *Hyacinthella campanulata*, *Muscari armaniacum*, *Ornithogalum armaniacum*, *Gagea granatelli*, *Hyacinthella holdreichii*, *Muscari ihmalmum*, *Ornithogalum lenceolatum* türlerinin toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada, en yüksek antioksidan aktivitenin *Crocus chrysanthus*'da; en yüksek toplam fenolik içeriğinde *Muscari armaniacum*'da tespit edildiği bildirilmiştir (Özcan ve ark., 2018).

Savio ve ark. (2019), Irak'da anti-romatizmal ve anti-inflamatuar olarak kullanılan *Bellevalia saviczii* bitkisinin soğan ekstresinde homoizoflavonoid bileşiğin (drakol) izole edildiği ve bu bileşiğin anti-inflamatuar etkisinin araştırıldığı çalışmada, elde edilen sonuçların *Bellevalia saviczii* soğanlarının anti-inflamatuar etkinliğini doğruladığı ifade edilmiştir.

Üç farklı *Ornithogalum* türünün (*Ornithogalum sigmoideum*, *Ornithogalum orthophyllum*, *Ornithogalum oligophyllum*) soğan ve toprak üstü kısımlarının antioksidan kapasite ile fenolik bileşiklerinin araştırıldığı çalışmada, en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı (GAE, 11.0 mg/g ekstrakt) ve en yüksek antioksidan kapasitenin *O. orthophyllum*'un toprak üstü kısmında gözlemlendiği, fitokimyasal analiz sonucuna göre protokateşik asit, p-hidroksibenzoik asit, vanilik asit ve p-kumarik asitin tüm ekstraktlarda en çok bulunan bileşikler olduğu bildirilmiştir (Renda ve ark., 2019).

Ouelbani ve ark. (2020), endemik tür olan *Bellevalia mauritanica* Pomel'in farklı ekstraktlarının antioksidan, antibakteriyel, antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmek ve 37 fitokimyasal standart kullanılarak LC-MS/MS yöntemi ile fenolik-flavonoid içeriğinin belirlenmesini amaçladıkları çalışmada, tüm ekstraktlar arasında en aktif

olanının soğan-kök kısmının etil asetat ekstresi olduğunu; orta seviyede antibakteriyel etki, iyi seviyede antioksidan ve asetilkolin esteraz inhibisyonu gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca LC-MS/MS analizi sonucuna göre etil asetat ekstresinin önemli miktarda kafeik asit (1240.7 µg/g ekstrakt), kloroform ekstresinde vanilin (2048.5 µg/g ekstrakt) içerdiğini ve yine protokateşik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve kemferol gibi belirli fitokimyasalları iyi miktarda içerdiği bildirilmiştir.

Bellevalia pseudolongipes bitkisinin soğan, yaprak ve çiçek kısımları kullanılarak üç farklı çözücü (su, etanol, hekzan) ekstresinde toplam fenolik-flavonoid madde miktarı ile antioksidan aktivitenin araştırıldığı çalışmada; en yüksek toplam fenolik ve flavonoid madde içeriği, çiçeğin, su ve etanol ekstrelerinde görülürken en düşük içerik soğan kısmında gözlenmiştir. DPPH antioksidan aktivite sonuçları incelendiğinde fenolik madde içeriğinde olduğu gibi çiçek>yaprak>soğan sıralaması olduğu gözlenmiştir. Aynı çalışmada LC-MS/MS yöntemiyle belirlenen fenolik maddeler içerisinde en fazla bulunan ilk 3 bileşik hidroksisinnamik asit, vanilik asit ve fumarik asit olmak üzere yaprak kısmında tespit edilmiştir (Balos, 2021).

Bellevalia dichroa ve *Bellevalia longistyla* bitkilerinde aralarında bulunduğu 30 farklı bitki türünün antioksidan potansiyelleri DPPH, FRAP, ABTS ve TAC olmak üzere dört farklı yöntemle belirlenmiştir. İncelenen bitkiler arasında *Pimpinella kotschyana*, *Bellevalia dichroa* ve *Muscari ihmalum*'un en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Sanei ve ark., 2021).

Geofit bitkilerin, fitokimyasal içerikleri ve bu bileşiklerin biyoaktivite potansiyellerinin belirlenmesi her zaman merak uyandıran araştırmalar arasında yer almıştır. Bu kapsamda değerlendirilen tez çalışmamızda, geofit ve endemik bir bitki olan *B. sasonii* bitkisinin soğan, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarının ayrı ayrı fitokimyasal içerikleri ve antioksidan aktivite kapasitesi araştırılmıştır. Batman ili Sason ilçesinde yayılış gösteren bu bitkide, daha önce böyle bir araştırmanın yapılmamış olması araştırmamızı özgün kılmaktadır. Ayrıca gelecekte bu bitki üzerinde yapılacak her türlü çalışmaya referans olması bakımından önem arz etmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmamızda materyal olarak *Bellevalia sasonii* (Şekil 3.1.) bitkisinin soğan, gövde, yaprak ve çiçek kısımları kullanıldı. *B. sasonii*, 15 Nisan 2021 tarihinde Batman ili Sason ilçesi Karamiş köy yolu 1. km, 38°17'48.29"K, 41°19'53.97"D, 733 m rakımda Doç. Dr. Mehmet FİDAN tarafından toplanıp teşhis edildi. Bu çalışma Batman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.



Şekil 3.1. *Bellevalia sasonii*

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekstrelerin hazırlanması

Laboratuvara getirilen bitki örnekleri saf su ile yıkanıp tozlarından arındırılarak soğan, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarına ayrılıp kurutulmaya bırakıldı. Kurutulan bitki materyalleri toz haline getirildikten sonra etanol ile üçer kez (24 saat) masere edildi (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Bitkilerin kurutulması

Daha sonra ekstreler Whatman No:1 filtre kağıtlarından süzülerek rotary evaporatörde çözücü kısmı uçuruldu (Şekil 3.3.). Elde edilen ekstrelerden toplam fenolik, flavonoid ve antioksidan aktivite (DPPH, ABTS, CUPRAC) tayininde kullanılmak üzere 1000 µg/ml konsantrasyonda stok çözeltiler hazırlandı. Fitokimyasal bileşiklerin LC-MS/MS yöntemiyle belirlenmesi amacıyla kuru ekstre örneği analiz edilinceye kadar buzdolabında muhafaza edildi.

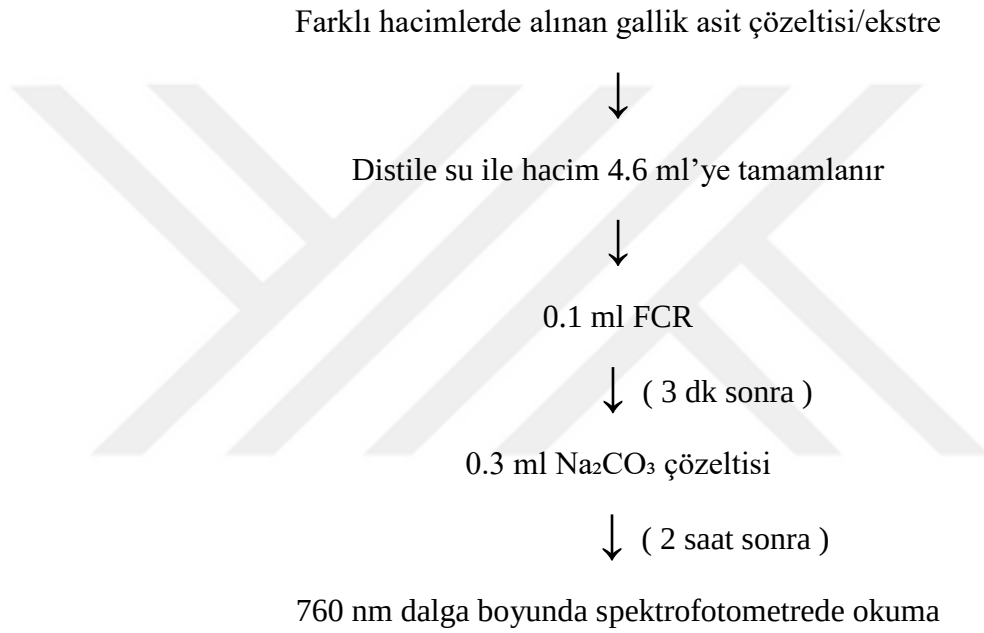


Şekil 3.3. Bitki ekstrelerinin hazırlanması

3.2.2. Toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin belirlenmesi

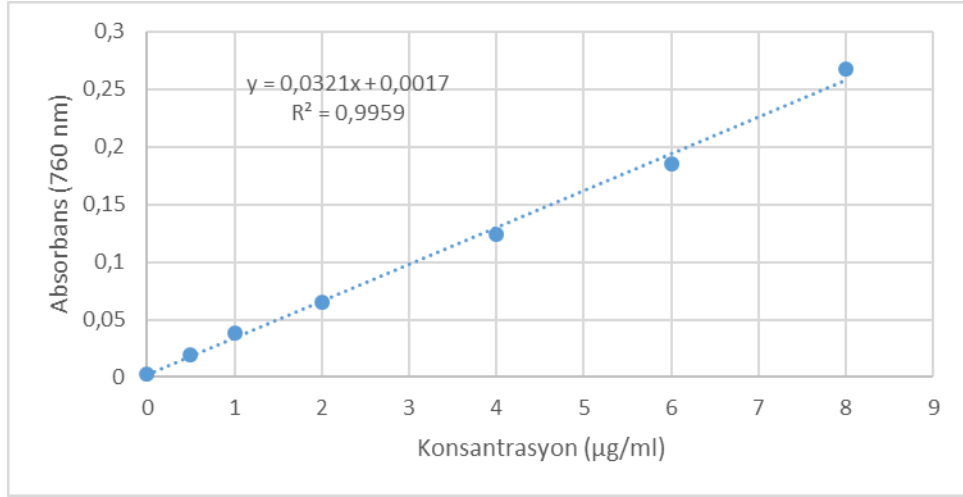
Bitki ekstralarının toplam fenol içeriğinin belirlenmesinde Slinkard ve Singleton (1977)'un önerdikleri metot kullanıldı. Ekstrelerin stok çözeltilerinden 100 μL alınarak distile su ile 4.6 mL'ye tamamlandı. Bu karışıma 100 μL Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ve 3 dakika sonra %2'lik Na_2CO_3 çözeltisinden 300 μL ilave edilerek oda sıcaklığında iki saat boyunca inkübe edildi. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltileri için de aynı işlem uygulanarak inkübasyon sonrasında 760 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm alındı.

Yöntem:



Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri standart gallik asit grafiğinden elde edilen eşitlik kullanılarak belirlendi (Şekil 3.4.).

Gallik asite eşdeğer fenolik içerik ($y=0.0321x+0.0017$; $R^2=0.9959$).



Şekil 3.4. Gallik asit ölçü grafiği

Her bir ekstrenin toplam flavonoid içeriği alüminyum nitrat yöntemi kullanılarak tespit edildi. Ekstrelerin stok çözeltilerinden 100 µL alınarak %80'lik etanol ile hacmi 4.8 mL'ye tamamlandı. Daha sonra karışımın üzerine 100 µL 1 M potasyum asetat ve bir dakika sonra 100 µL %10'luk alüminyum nitrat ilave edildi. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan kersetin çözeltisi için de aynı işlemler uygulanarak 40 dakika inkübasyon süresinden sonra 415 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm alındı (Moreno ve ark., 2000).

Yöntem:

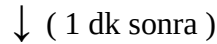
Farklı hacimlerde alınan kersetin çözeltisi/ekstre



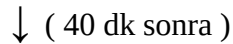
%80'lik etanol ile hacim 4,8 ml'ye tamamlanır



100 µl 1 M potasyum asetat çözeltisi



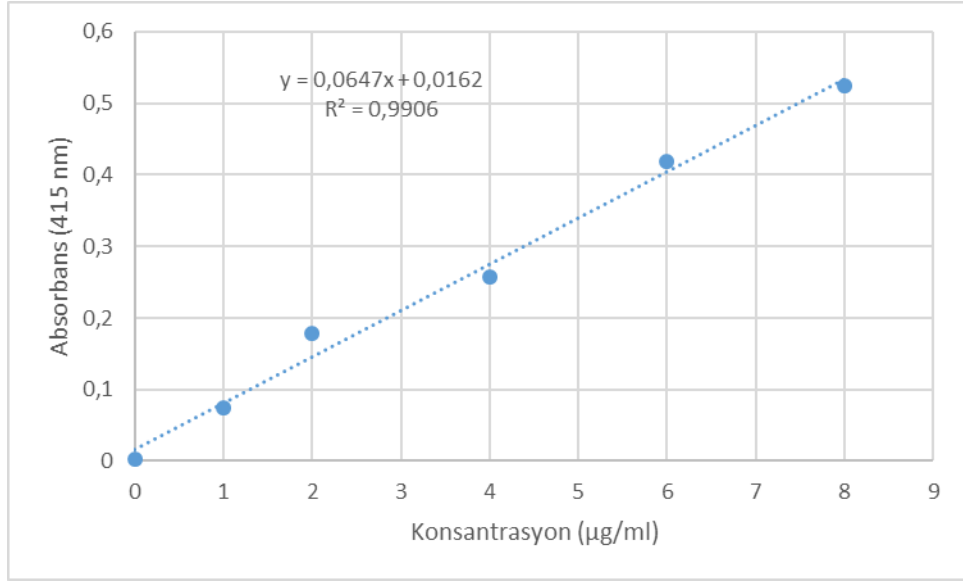
100 µl %10'luk Alüminyum nitrat çözeltisi



415 nm dalga boyunda spektrofotometrik okuma

Ekstrelerin toplam flavonoid miktarları standart kersetin grafiğinden elde edilen eşitlik kullanılarak belirlendi (Şekil 3.5).

Kersetine eşdeğer flavonoid içerik ($y=0.0647x+0.0162$; $R^2=0.994$).



Şekil 3.5. Kersetin ölçü grafiği

3.2.3. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi

Ekstrelerin serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlendi. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan her bir bitki ekstresinden 1 ml deney tüpüne konularak üzerine 4 ml 100 µM DPPH radikal çözeltisi ilave edildi. Reaksiyon karışımı vortekslenerek karanlık ortamda ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda karışımların absorbansı spektrofotometre ile 517 nm'de ölçüldü. Pozitif kontrol olarak Askorbik asit, BHT ve BHA kullanıldı. Serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon), aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı (Blois, 1958).

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100 \quad (A = \text{Absorbans})$$

Akontrol, bitki ekstresi veya pozitif kontrol içermeyen (1ml metanol + 4 ml DPPH) tüpün absorbans değerini, Aörnek ise farklı konsantrasyonlarda bitki ekstresi veya pozitif kontrol içeren tüpün absorbans değerini ifade etmektedir.

Yöntem:

1 ml farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstre/pozitif kontrol



4 ml DPPH çözeltisi



(30 dk karanlıkta bekletilir)

517 nm dalga boyunda spektrofotometrik okuma

3.2.4. ABTS kasyon radikal giderim aktivitesi yöntemi

Ekstrelerin ABTS kasyon radikal giderim aktiviteleri 2,2'-azino-bis(3- etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) kullanılarak belirlendi. Bu yöntem ABTS kromojen radikal kasyonu aborbansının, antioksidanlar tarafından inhibisyonu temeline dayanır. İlk olarak ABTS kasyon radikalının oluşturulması için ABTS ve potasyum peroksidisülfat ($K_2S_2O_8$) uygun miktarlarda karıştırılarak, karanlıkta ve oda sıcaklığında 12-16 saat bekletildi. Bu süre sonunda çözeltinin 734 nm'de absorbans değeri ~0.70 olacak şekilde seyreltilti. ABTS radikali hazır hale geldikten sonra 1 ml farklı konsantrasyonlardaki ekstre üzerine 4 ml ABTS ilave edilerek 30 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Daha sonra reaksiyon karışımları 734 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında okunarak, örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak Askorbik asit, BHT ve BHA kullanıldı. ABTS kasyon radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı (Ree ve ark., 1999).

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100 \quad (A=\text{Absorbans})$$

Akontrol, bitki ekstresi veya pozitif kontrol içermeyen (1ml metanol + 4 ml ABTS) tüpün absorbans değerini, Aörnek ise farklı konsantrasyonlarda bitki ekstresi veya pozitif kontrol içeren tüpün absorbans değerini ifade etmektedir.

Yöntem:

1 ml farklı konsantrasyonlardaki ekstre/pozitif kontrol

↓

4 ml ABTS

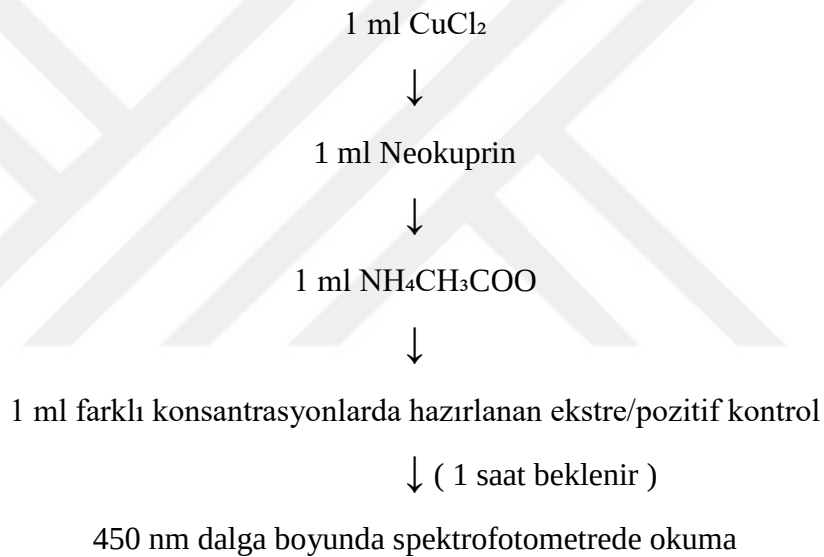
↓ (30 dk karanlıkta bekletilir)

734 nm dalga boyunda spektrofotometrede okuma

3.2.5. CUPRAC yöntemi (bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi)

CUPRAC yönteminde, örneklerdeki antioksidan bileşikler varlığında Cu(II)-Neokuproin (Nc) kompleksi, renkli Cu(I)-Nc kelatına indirgenir ve bu kelatın 450 nm dalga boyunda absorbens ölçümü yapılır. Bu yöntemde spektrofotometrik ölçümden elde edilen absorbens değerleri doğrudan aktivite sonucu olarak kullanılır (Apak ve ark. 2004). 1 mL 10 mM bakır klorür, 1 mL 7.5 mM neokuproin, 1 mL 1M amonyum asetat (pH: 7) ve 1 mL farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstreler deney tüpünde karıştırıldı. Daha sonra numuneler oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilerek 450 nm'de absorbens ölçüldü ve kontrole karşı değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak Askorbik asit, BHT ve BHA kullanıldı.

Yöntem:



3.2.6. Fitokimyasal bileşiklerin analizi

Fitokimyasal bileşiklerin LC-MS/MS yöntemiyle kantitatif tayininde, 33 tane tıbbi ve aromatik bitki türünde 53 fitokimyasalın belirlenmesinde kullanılan kapsamlı ve doğrulanmış bir metot uygulandı (Yılmaz, 2020). Toplam fenolik-flavonoid ile antioksidan aktivitelerde kullanılmak üzere hazırlanan *B.sasonii* bitki kısımlarına ait ekstreler, aynı zamanda LC-MS/MS yöntemiyle fitokimyasal bileşiklerin tespitinde de kullanıldı. Elde edilen ekstreler ferulik asit D3 (20 µg/mL), rutin D3 (1 µg/mL) ve kersetin D3 (5 µg/mL) eklenerek son konsantrasyon metanol ile 1000 µg/mL'ye seyreltildi ve 0.2 µm por çapına sahip şırınga filtreden geçirilip viallere aktarıldı.

3.2.6.1. Fitokimyasal bileşiklerin analizinde kullanılan standart çözeltiler

Bu yöntemde 53 doğal fitokimyasal bileşik (kinik asit, fumarik asit, akonitik asit, gallik asit, epigallokateşin, protokateşik asit, kateşin, gentisik asit, klorojenik asit, protokateşik aldehit, tannik asit, epigallokateşin gallat, 1,5-dikaffeoilkinik asit, 4-hidroksi benzoik asit, epikateşin, vanilik asit, kafeik asit, siringik asit, vanilin, siringik aldehit, daidzin, epikateşin galat, piseid, p-kumarik asit, ferulik asit, sinapinik asit, kumarin, salisilik asit, sinarosid, miquelianin, rutin, izokersitrin, hesperidin, o-kumarik asit, genistin, rosmarinik asit, ellagik asit, kosmosiin, kersitrin, astragalin, nikotiflorin, fisetin, daidzein, kersetin, naringenin, hesperetin, luteolin, genistein, kemferol, apigenin, amentoflavon, krisin, akasetin) ve iç standart olarak kullanılan 3 izotop etiketli fenolik bileşik (ferulik asit D3, rutin D3, kersetin D3) standart çözelti olarak kullanıldı.

3.2.6.2. LC-MS/MS cihazı kromatografik şartları

LC-MS/MS sistemi, Shimadzu LCMS üçlü dört kutuplu kütle spektrometresi (8040 modeli) ile birleştirilmiş Shimadzu U-HPLC'den oluşmaktadır. U-HPLC; gradient pompası (LC-30 AD modeli), gaz giderici (DGU-20A3R modeli), kolon fırını (CTO-10ASvp modeli) ve otomatik numune alıcıdan (SIL-30AC modeli) oluşmaktadır. Kromatografik ayırma, bir RPC18 Inertsil (ODS-4 modeli) ters faz kolonunda (100 mm x 2.1 mm, 2 µm) gerçekleştirildi ve analiz boyunca kolon sıcaklığı 35°C'de tutuldu. Mobil faz olarak A (su; 10 mM amonyum format, %0.1 formik asit) ve B (asetonitril; %0.1 formik asit) fazları kullanıldı. Uygulanan gradient programı; %5-20 B (0-10 dk), %20 B (10-22 dk), %20-50 B (22-36 dk), %95 B (36-40 dk) ve %5 B (40-50 dk) olarak ayarlandı. Mobil faz akış hızı 0.25 mL/dk ve enjeksiyon hacmi 4 µL olarak belirlendi.

Kütle spektrometresinin çalışma parametreleri:

- DL sıcaklığı: 250 °C
- Isı bloğu (heat blok) sıcaklığı: 400 °C
- Ara yüz (interface) sıcaklığı: 350 °C
- Kuru gaz (N₂) akış hızı: 15 L/dk
- Nebulizer gaz (N₂) akış hızı: 3 L/dk

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Madde Miktar Tayini Bulguları

Tüm ekstrelerin toplam fenolik miktarı gallik asite, toplam flavonoid içeriği ise kersetine eşdeğer olarak belirlenmiştir. *Bellevalia sasonii* bitkisinde en yüksek fenolik içerik soğan ekstresinde (117.28 ± 0.135 μg GAEs/mg ekstre), en düşük fenolik içerik gövde ekstresinde (45.11 ± 0.089 μg GAEs/mg ekstre) tespit edilmiştir. Bitki ekstreleri kendi aralarında kıyaslandığında toplam fenolik madde içeriği sıralaması soğan > çiçek > yaprak > gövde şeklinde olduğu görülmektedir (Çizelge 4.1.).

B. sasonii bitkisinde en yüksek flavonoid içerik yaprak ekstresinde (79.44 ± 0.081 μg QEs/mg ekstre), en düşük flavonoid içerik gövde ekstresinde (22.77 ± 0.054 μg QEs/mg ekstre) tespit edilmiştir. Bitki ekstreleri kendi aralarında kıyaslandığında toplam flavonoid madde içeriği sıralaması yaprak > çiçek > soğan > gövde şeklindedir.

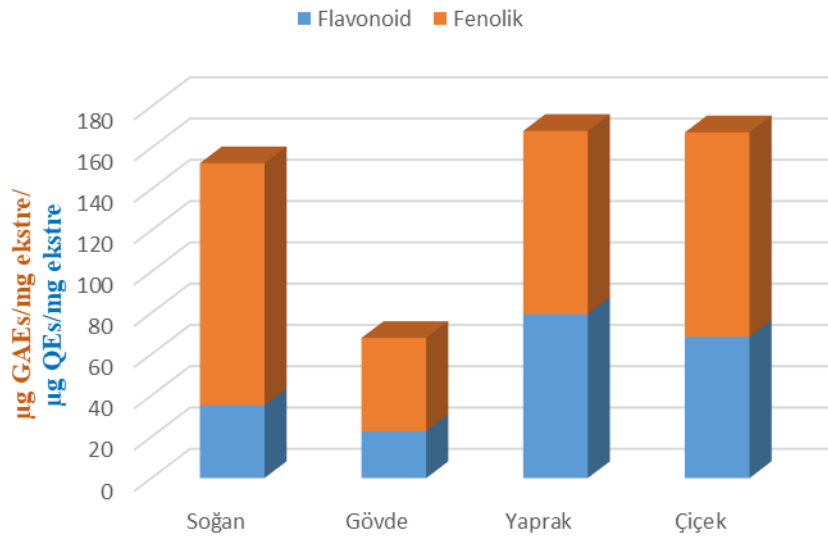
Çizelge 4.1. *B. sasonii* bitki ekstrelerinin toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri^a

Ekstreler	Fenolik içerik (μg GAEs/mg ekstre) ^b	Flavonoid içerik (μg QEs/mg ekstre) ^c
Soğan	117.28 ± 0.135	35.25 ± 0.023
Gövde	45.11 ± 0.089	22.77 ± 0.054
Yaprak	88.73 ± 0.047	79.44 ± 0.081
Çiçek	99.11 ± 0.15	68.36 ± 0.10

a Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

b Gallik asite eşdeğer fenolik miktarı

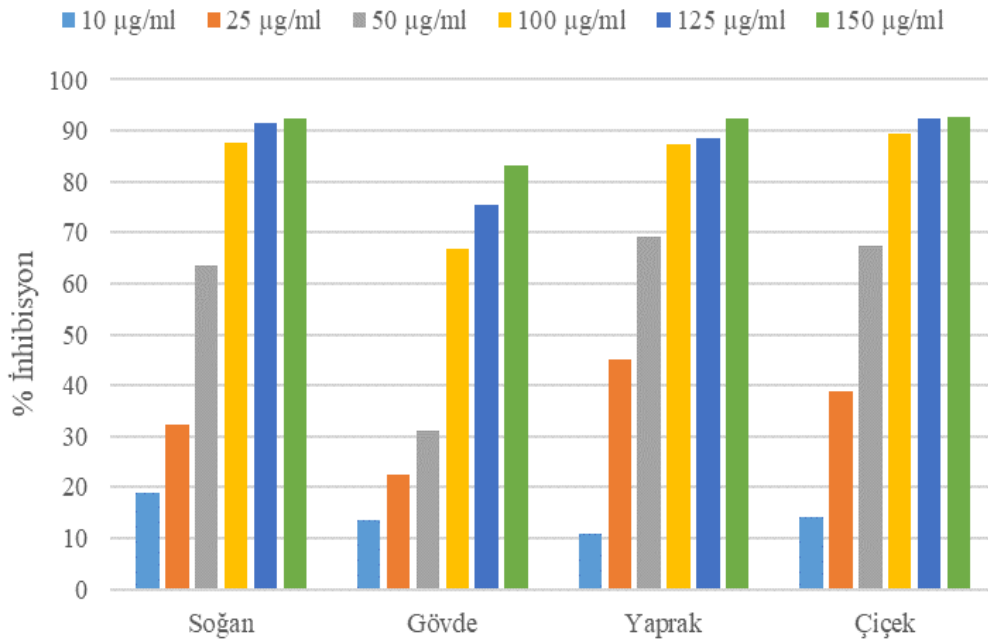
c Kersetine eşdeğer flavonoid miktarı



Şekil 4.1. *B. sasonii* bitki ekstrelerinin toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri

4.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi Bulguları

Bitki ekstralarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 100, 125, 150 µg/ml) ortamdaki radikallerin süpürülme yüzdesine (% I) göre değerlendirilmiştir. Bitki ekstralarının (soğan, gövde, yaprak, çiçek) aktiviteleri kendi aralarında ve pozitif kontrol olarak kullanılan BHT, BHA, Askorbik asite göre karşılaştırmaları yapılmıştır. Bitki ekstraları kendi aralarında değerlendirildiğinde soğan, yaprak, çiçek ekstralarının antioksidan açıdan iyi aktivite gösterdiği ancak gövde ekstrasının çok aktif olmadığı tespit edilmiştir. En yüksek konsantrasyonda (150 µg/ml) en iyi aktiviteler gözlenmiş olup % inhibisyon değerlerinin soğan ekstrasında % 92.51 ± 0.18 , gövde ekstrasında % 83.16 ± 1.18 , yaprak ekstrasında % 92.25 ± 0.72 ve çiçek ekstrasında % 92.83 ± 0.09 olduğu görülmüştür (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. *B. sasonii* bitki ekstralarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi

Pozitif kontrollerden Askorbik asit 20 µg/ml (% 94.06 ± 0.18), BHT 150 µg/ml (% 74.96 ± 0.18), BHA 100 µg/ml (% 92.90 ± 0.36) konsantrasyonda en yüksek aktiviteleri göstermişlerdir (Çizelge 4.2.). Aynı konsantrasyondaki (150 µg/ml) bitki ekstralarını kendi arasında karşılaştırdığımızda aktivite sıralaması çiçek > soğan > yaprak > gövde şeklindedir (Şekil 4.2.).

Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde Askorbik asit ve BHA'nın bitki ekstraktlarından daha yüksek aktivite gösterdiği, BHT'nin ise daha düşük aktivite gösterdiği görülmektedir. Bu veriler ışığında ekstre ve pozitif kontrollerin antioksidan aktivite sıralaması Askorbik asit > BHA > çiçek > soğan > yaprak > gövde > BHT şeklinde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2; 4.3; 4.4; 4.5).

Çizelge 4.2. *B. sasonii* soğan ekstraktlarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi (%I)^a

Soğan	% I	BHT	% I	BHA	% I	Askorbik Asit	% I
10 µg/ml	18.83±1.27	10 µg/ml	18.19±0.91	2 µg/ml	21.93±0.54	1 µg/ml	13.35±0.63
25 µg/ml	32.32±1.18	25 µg/ml	33.22±1.00	5 µg/ml	45.54±0.18	2 µg/ml	25.41±0.72
50 µg/ml	63.61±0.91	50 µg/ml	48.38±1.09	10 µg/ml	65.41±0.63	5 µg/ml	45.93±0.54
100 µg/ml	87.61±0.54	100 µg/ml	67.29±1.00	25 µg/ml	76.25±0.45	10 µg/ml	72.64±0.54
125 µg/ml	91.54±0.27	125 µg/ml	72.83±0.27	50 µg/ml	87.35±0.09	15 µg/ml	90.51±0.27
150 µg/ml	92.51±0.18	150 µg/ml	74.96±0.18	100 µg/ml	92.90±0.36	20 µg/ml	94.06±0.18

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.3. *B. sasonii* gövde ekstraktlarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi (%I)^a

Gövde	% I	BHT	% I	BHA	% I	Askorbik Asit	% I
10 µg/ml	13.41±0.72	10 µg/ml	18.19±0.91	2 µg/ml	21.93±0.54	1 µg/ml	13.35±0.63
25 µg/ml	22.51±0.82	25 µg/ml	33.22±1.00	5 µg/ml	45.54±0.18	2 µg/ml	25.41±0.72
50 µg/ml	31.09±2.18	50 µg/ml	48.38±1.09	10 µg/ml	65.41±0.63	5 µg/ml	45.93±0.54
100 µg/ml	66.70±1.27	100 µg/ml	67.29±1.00	25 µg/ml	76.25±0.45	10 µg/ml	72.64±0.54
125 µg/ml	75.35±1.09	125 µg/ml	72.83±0.27	50 µg/ml	87.35±0.09	15 µg/ml	90.51±0.27
150 µg/ml	83.16±1.18	150 µg/ml	74.96±0.18	100 µg/ml	92.90±0.36	20 µg/ml	94.06±0.18

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.4. *B. sasonii* yaprak ekstrelerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi (%I)^a

Yaprak	% I	BHT	% I	BHA	% I	Askorbik Asit	% I
10 µg/ml	10.83±0.72	10 µg/ml	18.19±0.91	2 µg/ml	21.93±0.54	1 µg/ml	13.35±0.63
25 µg/ml	45.09±1.73	25 µg/ml	33.22±1.00	5 µg/ml	45.54±0.18	2 µg/ml	25.41±0.72
50 µg/ml	69.16±0.36	50 µg/ml	48.38±1.09	10 µg/ml	65.41±0.63	5 µg/ml	45.93±0.54
100 µg/ml	87.29±0.27	100 µg/ml	67.29±1.00	25 µg/ml	76.25±0.45	10 µg/ml	72.64±0.54
125 µg/ml	88.51±0.18	125 µg/ml	72.83±0.27	50 µg/ml	87.35±0.09	15 µg/ml	90.51±0.27
150 µg/ml	92.25±0.72	150 µg/ml	74.96±0.18	100 µg/ml	92.90±0.36	20 µg/ml	94.06±0.18

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.5. *B. sasonii* çiçek ekstrelerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi (%I)^a

Çiçek	% I	BHT	% I	BHA	% I	Askorbik Asit	% I
10 µg/ml	14.06±1.27	10 µg/ml	18.19±0.91	2 µg/ml	21.93±0.54	1 µg/ml	13.35±0.63
25 µg/ml	38.83±1.09	25 µg/ml	33.22±1.00	5 µg/ml	45.54±0.18	2 µg/ml	25.41±0.72
50 µg/ml	67.48±2.37	50 µg/ml	48.38±1.09	10 µg/ml	65.41±0.63	5 µg/ml	45.93±0.54
100 µg/ml	89.29±0.36	100 µg/ml	67.29±1.00	25 µg/ml	76.25±0.45	10 µg/ml	72.64±0.54
125 µg/ml	92.25±0.18	125 µg/ml	72.83±0.27	50 µg/ml	87.35±0.09	15 µg/ml	90.51±0.27
150 µg/ml	92.83±0.09	150 µg/ml	74.96±0.18	100 µg/ml	92.90±0.36	20 µg/ml	94.06±0.18

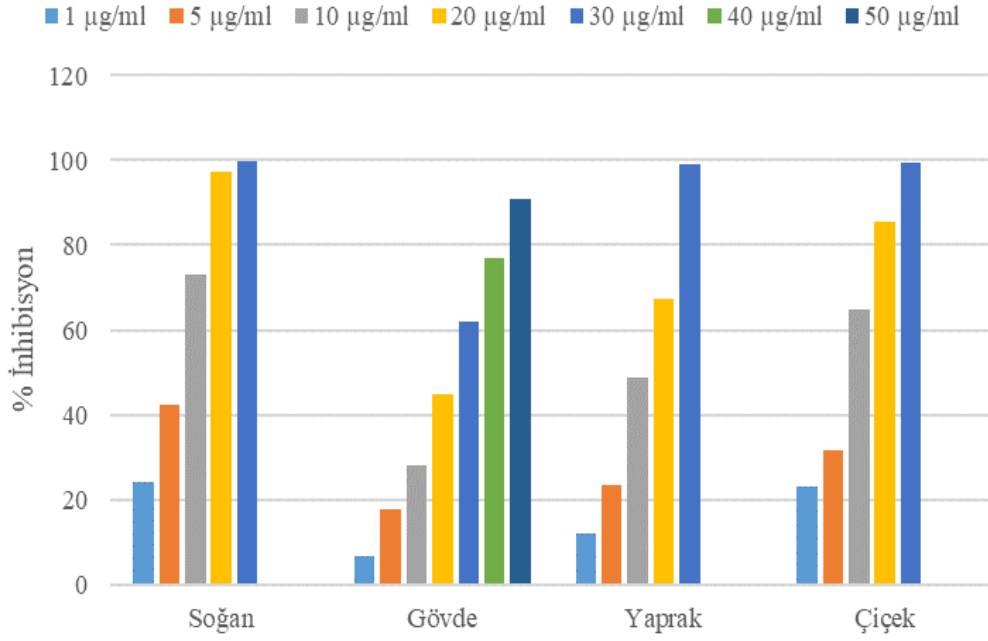
a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

4.3. ABTS Yöntemi (Katyon Radikali Giderim Aktivitesi) Bulguları

Bitki ekstrelerinin ABTS yöntemiyle serbest radikali giderim aktivitesi farklı konsantrasyonlarda (1, 5, 10, 20, 30, 40, 50 µg/ml) ortamdaki radikallerin süpürülme yüzdesine (% I) göre değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan BHT, BHA ve Askorbik asite göre aktivite karşılaştırmaları yapılmıştır.

Bitki ekstrelerinden (soğan, gövde, yaprak, çiçek) elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde antioksidan aktivitelerinin gövde hariç iyi olduğu tespit edilmiştir.

20 µg/ml konsantrasyonda soğan ekstresinde %97.14±0.13, gövde ekstresinde %44.87±0.19, yaprak ekstresinde %67.25±0.35 ve çiçek ekstresinde %85.50±0.16 inhibisyon değeri ölçülmüştür. Bu veriler ışığında bitki ekstralarını kendi aralarında değerlendirdiğimizde aktivite sıralaması soğan > çiçek > yaprak > gövde şeklindedir (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. *B.sasonii* bitki ekstralarının ABTS yöntemiyle belirlenen inhibisyon değerleri

Pozitif kontrollerin aktivitesini kendi arasında değerlendirdiğimizde 4 µg/ml konsantrasyonda Askorbik asit %99.30±0.12, BHT %96.54±0.35 ve BHA %5.02±0.09) olarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.6. *B. sasonii* soğan ekstralarının ABTS yöntemiyle belirlenen inhibisyon değerleri (%I)^a

Soğan	% I	BHT	% I	BHA	% I	Askorbik Asit	% I
1 µg/ml	24.16±0.97	0.5 µg/ml	6.31±0.04	4 µg/ml	5.02±0.09	0.5 µg/ml	3.74±0.23
5 µg/ml	42.30±0.41	1 µg/ml	11.34±0.11	10 µg/ml	22.09±0.14	1 µg/ml	17.94±0.27
10 µg/ml	73.07±0.69	2 µg/ml	35.40±0.19	20 µg/ml	57.79±0.05	2 µg/ml	58.57±0.54
20 µg/ml	97.14±0.13	3 µg/ml	65.77±0.08	30 µg/ml	75.14±0.45	3 µg/ml	71.30±0.15
30 µg/ml	99.70±0.13	4 µg/ml	96.54±0.35	40 µg/ml	92.60±0.09	4 µg/ml	99.30±0.12

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

Pozitif kontrolleri kendi arasında değerlendirdiğimizde aktivite sıralamasının Askorbik asit > BHT > BHA şeklinde, ekstre ve pozitif kontrolleri birlikte değerlendirdiğimizde aktivite sıralamasının Askorbik asit > BHT > soğan > çiçek > yaprak > BHA > gövde şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Gövde dışında diğer bitki kısımlarının pozitif kontrol olarak kullanılan BHA'dan daha yüksek aktivite gösterdiği görülmüştür (Çizelge 4.6; 4.7; 4.8; 4.9).

Çizelge 4.7. *B.sasonii* gövde ekstralarının ABTS yöntemiyle belirlenen inhibisyon değerleri (%I)^a

Gövde	% I	BHT	% I	BHA	% I	Askorbik Asit	% I
1 µg/ml	6.80±0.21	0.5 µg/ml	6.31±0.04	4 µg/ml	5.02±0.09	0.5 µg/ml	3.74±0.23
5 µg/ml	17.65±0.97	1 µg/ml	11.34±0.11	10 µg/ml	22.09±0.14	1 µg/ml	17.94±0.27
10 µg/ml	28.00±1.11	2 µg/ml	35.40±0.19	20 µg/ml	57.79±0.05	2 µg/ml	58.57±0.54
20 µg/ml	44.87±0.19	3 µg/ml	65.77±0.08	30 µg/ml	75.14±0.45	3 µg/ml	71.30±0.15
30 µg/ml	62.13±0.15	4 µg/ml	96.54±0.35	40 µg/ml	92.60±0.09	4 µg/ml	99.30±0.12
40 µg/ml	77.12±0.41						
50 µg/ml	90.82±0.22						

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.8. *B.sasonii* yaprak ekstralarının ABTS yöntemiyle belirlenen inhibisyon değerleri (%I)^a

Yaprak	% I	BHT	% I	BHA	% I	Askorbik Asit	% I
1 µg/ml	12.13±0.63	0.5 µg/ml	6.31±0.04	4 µg/ml	5.02±0.09	0.5 µg/ml	3.74±0.23
5 µg/ml	23.57±0.13	1 µg/ml	11.34±0.11	10 µg/ml	22.09±0.14	1 µg/ml	17.94±0.27
10 µg/ml	48.91±0.83	2 µg/ml	35.40±0.19	20 µg/ml	57.79±0.05	2 µg/ml	58.57±0.54
20 µg/ml	67.25±0.35	3 µg/ml	65.77±0.08	30 µg/ml	75.14±0.45	3 µg/ml	71.30±0.15
30 µg/ml	99.11±0.18	4 µg/ml	96.54±0.35	40 µg/ml	92.60±0.09	4 µg/ml	99.30±0.12

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.9. *B.sasonii* yaprak ekstralarının ABTS yöntemiyle belirlenen inhibisyon değerleri (%I)^a

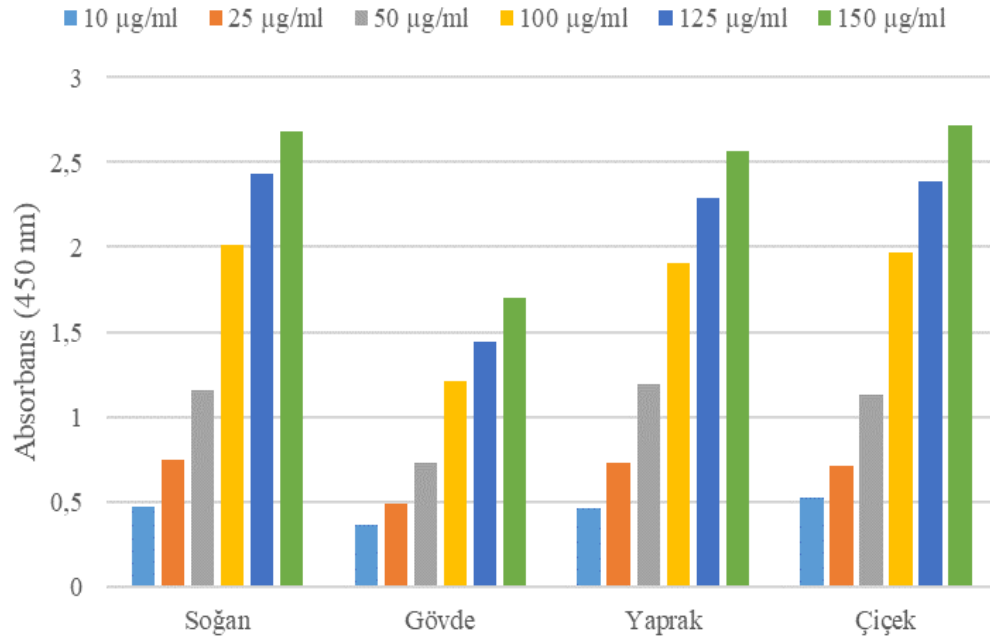
Çiçek	% I	BHT	% I	BHA	% I	Askorbik Asit	% I
1 µg/ml	22.97±0.27	0.5 µg/ml	6.31±0.04	4 µg/ml	5.02±0.09	0.5 µg/ml	3.74±0.23
5 µg/ml	31.65±0.09	1 µg/ml	11.34±0.11	10 µg/ml	22.09±0.14	1 µg/ml	17.94±0.27
10 µg/ml	64.99±0.37	2 µg/ml	35.40±0.19	20 µg/ml	57.79±0.05	2 µg/ml	58.57±0.54
20 µg/ml	85.50±0.16	3 µg/ml	65.77±0.08	30 µg/ml	75.14±0.45	3 µg/ml	71.30±0.15
30 µg/ml	99.30±0.18	4 µg/ml	96.54±0.35	40 µg/ml	92.60±0.09	4 µg/ml	99.30±0.12

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

4.4. CUPRAC (Cu²⁺ İyonu İndirgeme Kapasitesi) Yöntemi Bulguları

Ekstrelerin CUPRAC yöntemiyle antioksidan aktivitesi farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 100, 125, 150 µg/ml) belirlenmiş olup pozitif kontrol olarak kullanılan BHT, BHA, Askorbik asite göre karşılaştırmaları yapılmıştır. Bu yöntemde elde edilen absorbans değerleri aktiviteyi ifade etmekte ve yüksek absorbans değeri yüksek aktivite anlamına gelmektedir.

Bu yöntemde 150 µg/ml konsantrasyonda soğan ekstresinde 2.68±0.06, gövde ekstresinde 1.70±0.03, yaprak ekstresinde 2.57±0.01 ve çiçek ekstresinde 2.72±0.02 absorbans değeri ölçülmüştür. Şekil 4.4.'te görüldüğü gibi soğan, yaprak ve çiçek ekstralarının absorbans değerleri birbirine yakın olmakla birlikte, en yüksek aktivite çiçek ekstresinde tespit edilmiştir. Bitki ekstralarının 150 µg/ml konsantrasyondaki aktivite sonuçlarını karşılaştırdığımızda çiçek > soğan > yaprak > gövde şeklinde olduğu görülmüştür (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. *B. sasonii* bitki ekstralarının CUPRAC yöntemiyle belirlenen absorban değerleri

Pozitif kontrollerin aktivitelerini değerlendirdiğimizde 10 µg/ml konsantrasyonda BHT 2.17±0.07 absorban değeri, BHA 0.40±0.02 absorban değeri, Askorbik asit 0.57±0.02 absorban değeri sergilemiştir (Çizelge 4.10.).

Çizelge 4.10. *B. sasonii* soğan ekstralarının CUPRAC yöntemiyle belirlenen absorban değerleri^a

Soğan	Absorbans	BHT	Absorbans	BHA	Absorbans	Askorbik Asit	Absorbans
10 µg/ml	0.47±0.04	1 µg/ml	0.46±0.03	10 µg/ml	0.40±0.02	1 µg/ml	0.37±0.01
25 µg/ml	0.75±0.04	2 µg/ml	0.57±0.02	20 µg/ml	0.53±0.03	2 µg/ml	0.40±0.03
50 µg/ml	1.16±0.02	4 µg/ml	1.15±0.04	40 µg/ml	0.73±0.04	5 µg/ml	0.51±0.01
100 µg/ml	2.01±0.04	6 µg/ml	1.33±0.09	60 µg/ml	0.81±0.07	10 µg/ml	0.57±0.02
125 µg/ml	2.43±0.08	8 µg/ml	1.70±0.02	80 µg/ml	1.21±0.09	20 µg/ml	1.18±0.04
150 µg/ml	2.68±0.06	10 µg/ml	2.17±0.07	100 µg/ml	1.53±0.05	40 µg/ml	2.59±0.01

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

Bitki ekstraları ve pozitif kontrolleri birlikte değerlendirdiğimizde 10 µg/ml konsantrasyondaki aktivite sıralamasının BHT > Askorbik asit > çiçek > soğan > yaprak > BHA > gövde şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında çiçek, soğan ve yaprak kısımlarının pozitif kontrol olarak kullanılan BHA'dan daha yüksek aktivite gösterdiği gözlenmiştir. (Çizelge 4.10; 4.11; 4.12; 4.13).

Çizelge 4.11. *B. sasonii* gövde ekstralarının CUPRAC yöntemiyle belirlenen absorbens değerleri^a

Gövde	Absorbans	BHT	Absorbans	BHA	Absorbans	Askorbik Asit	Absorbans
10 µg/ml	0.36±0.02	1 µg/ml	0.46±0.03	10 µg/ml	0.40±0.02	1 µg/ml	0.37±0.01
25 µg/ml	0.49±0.01	2 µg/ml	0.57±0.02	20 µg/ml	0.53±0.03	2 µg/ml	0.40±0.03
50 µg/ml	0.73±0.03	4 µg/ml	1.15±0.04	40 µg/ml	0.73±0.04	5 µg/ml	0.51±0.01
100 µg/ml	1.21±0.01	6 µg/ml	1.33±0.09	60 µg/ml	0.81±0.07	10 µg/ml	0.57±0.02
125 µg/ml	1.44±0.05	8 µg/ml	1.70±0.02	80 µg/ml	1.21±0.09	20 µg/ml	1.18±0.04
150 µg/ml	1.70±0.03	10 µg/ml	2.17±0.07	100 µg/ml	1.53±0.05	40 µg/ml	2.59±0.01

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.12. *B. sasonii* yaprak ekstralarının CUPRAC yöntemiyle belirlenen absorbens değerleri^a

Yaprak	Absorbans	BHT	Absorbans	BHA	Absorbans	Askorbik Asit	Absorbans
10 µg/ml	0.46±0.03	1 µg/ml	0.46±0.03	10 µg/ml	0.40±0.02	1 µg/ml	0.37±0.01
25 µg/ml	0.73±0.03	2 µg/ml	0.57±0.02	20 µg/ml	0.53±0.03	2 µg/ml	0.40±0.03
50 µg/ml	1.19±0.01	4 µg/ml	1.15±0.04	40 µg/ml	0.73±0.04	5 µg/ml	0.51±0.01
100 µg/ml	1.91±0.04	6 µg/ml	1.33±0.09	60 µg/ml	0.81±0.07	10 µg/ml	0.57±0.02
125 µg/ml	2.29±0.01	8 µg/ml	1.70±0.02	80 µg/ml	1.21±0.09	20 µg/ml	1.18±0.04
150 µg/ml	2.57±0.01	10 µg/ml	2.17±0.07	100 µg/ml	1.53±0.05	40 µg/ml	2.59±0.01

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.13. *B. sasonii* çiçek ekstrelerinin CUPRAC yöntemiyle belirlenen absorbens değerleri^a

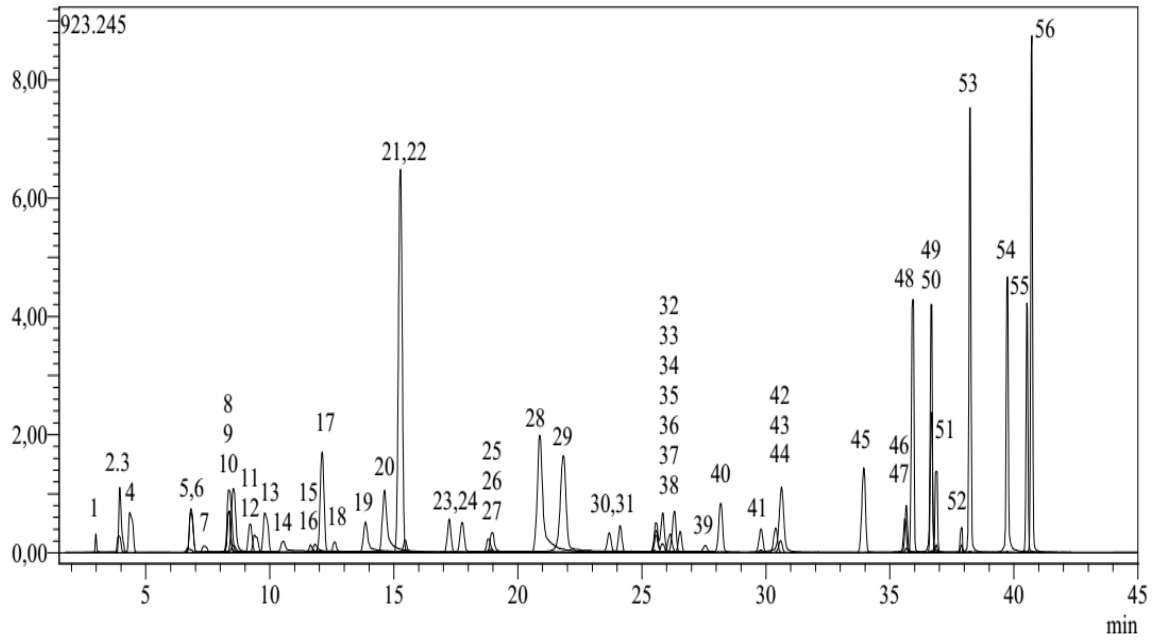
Çiçek	Absorbans	BHT	Absorbans	BHA	Absorbans	Askorbik Asit	Absorbans
10 µg/ml	0.52±0.01	1 µg/ml	0.46±0.03	10 µg/ml	0.40±0.02	1 µg/ml	0.37±0.01
25 µg/ml	0.71±0.04	2 µg/ml	0.57±0.02	20 µg/ml	0.53±0.03	2 µg/ml	0.40±0.03
50 µg/ml	1.13±0.01	4 µg/ml	1.15±0.04	40 µg/ml	0.73±0.04	5 µg/ml	0.51±0.01
100 µg/ml	1.97±0.06	6 µg/ml	1.33±0.09	60 µg/ml	0.81±0.07	10 µg/ml	0.57±0.02
125 µg/ml	2.39±0.01	8 µg/ml	1.70±0.02	80 µg/ml	1.21±0.09	20 µg/ml	1.18±0.04
150 µg/ml	2.72±0.01	10 µg/ml	2.17±0.07	100 µg/ml	1.53±0.05	40 µg/ml	2.59±0.01

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

4.5. Fitokimyasal İçerik Bulguları

Bellevalia sasonii bitkisinin farklı kısımlarının (soğan, gövde, yaprak, çiçek) fitokimyasal içeriğinin belirlenmesi LC-MS/MS yöntemiyle 53 fitokimyasal standart kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Değerler µg analit / g ekstrakt olarak hesaplanmıştır. Standart olarak kullanılan 53 fitokimyasaldan 27 tanesi hiçbir ekstrede görülmezken 26 tanesi en az bir ekstrede görülmekle birlikte bunlardan 15 tanesi bitkinin tüm kısımlarında (soğan, gövde, yaprak, çiçek) görülmüştür. Bitki organlarını ayrı ayrı değerlendirdiğimizde 53 fitokimyasaldan soğanda 19, gövdede 19, yaprakta 22 ve çiçekte 21 tanesi tespit edilmiştir (Çizelge 4.14.).

Şekil 4.5.'de verilen toplam iyon kromatogramında, numaralandırılan piklerin hangi bileşiği ifade ettiği Çizelge 4.14.'de sırasıyla verilmiştir.



Şekil 4.5. Toplam iyon kromatogramı

Çizelge 4.14. *B. sasonii* ekstrelerindeki fitokimyasal bileşen içerikleri (µg analit/g ekstrakt)

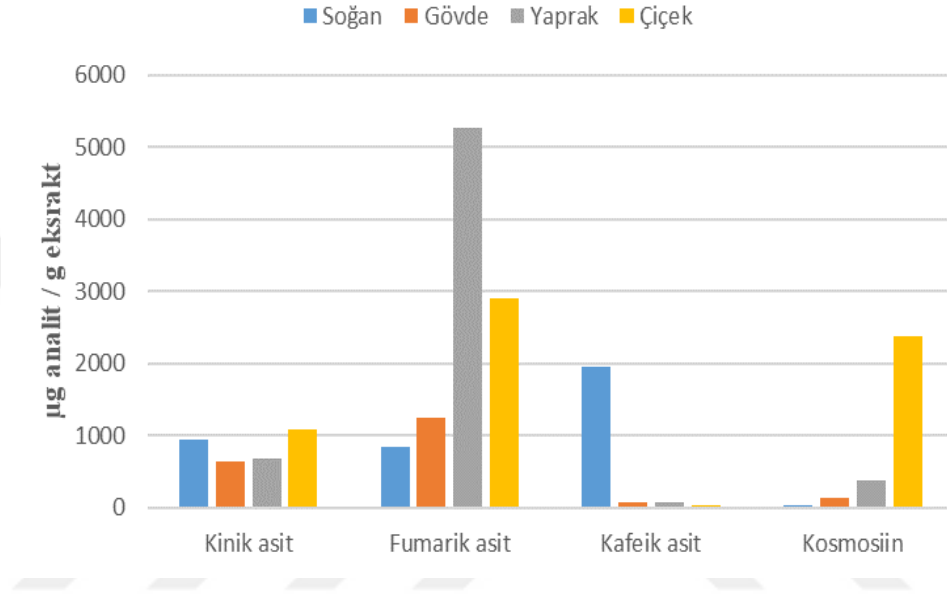
Metabolit	Soğan	Gövde	Yaprak	Çiçek
1 Kinik asit	944	649	679	1085
2 Fumarik asit	837	1243	5267	2906
3 Akonitik asit	82	416	875	511
4 Gallik asit	----	135	124	30
5 Epigallokateşin	----	----	----	----
6 Protokateşik asit	64	50	69	539
7 Kateşin	----	----	----	----
8 Gentisik asit	----	----	----	----
9 Klorojenik asit	----	----	----	----
10 Protokateşik aldehit	132	13	19	28
11 Tannik asit	----	43	35	----
12 Epigallokateşin gallat	----	----	----	----
13 1,5-dikaffeoilkinik asit	----	----	----	----
14 4-Hidroksi benzoik asit	----	----	----	----
15 Epikateşin	----	----	----	----
16 Vanilik asit	416	----	----	----
17 Kafeik asit	1948	75	82	46
18 Siringik asit	----	----	----	----
19 Vanillin	59	----	----	----
20 Siringik aldehit	----	----	----	----
21 Daidzin	----	----	----	----

B. sasonii ekstrelerindeki fitokimyasal bileşen içerikleri (µg analit/g ekstrakt) (Çizelgenin devamı)

22	Epikateşin galat	----	----	----	----
23	Piseid	----	----	----	----
24	p-Kumarik asit	239	350	664	110
25	*Ferulik asit-D3-IS^h	----	----	----	----
26	Ferulik asit	----	----	----	----
27	Sinapinik asit	----	----	----	----
28	Kumarin	----	----	14	7
29	Salisilik asit	11	----	5	15
30	Sinarosid	17	247	554	885
31	Miquelianin	----	----	----	----
32	*Rutin-D3-IS^h	----	----	----	----
33	Rutin	----	----	----	----
34	İzokersitrin	----	----	----	----
35	Hesperidin	----	----	----	----
36	o-Kumarik asit	----	----	----	----
37	Genistin	----	11	24	145
38	Rosmarinik asit	----	----	----	----
39	Ellagik asit	----	----	----	----
40	Kosmosiin	30	138	390	2374
41	Kersitrin	----	----	----	----
42	Astragalin	----	----	----	----
43	Nikotiflorin	----	----	----	17
44	Fisetin	----	73	44	----
45	Daidzein	----	----	----	----
46	*Kersetin-D3-IS^h	----	----	----	----
47	Kersetin	22	29	38	21
48	Naringenin	112	31	33	28
49	Hesperetin	79	----	----	8
50	Luteolin	9	86	210	153
51	Genistein	----	----	----	----
52	Kemferol	176	56	94	69
53	Apigenin	11	43	140	190
54	Amentoflavon	----	----	----	----
55	Krisin	----	----	3	----
56	Akasetin	21	10	21	32

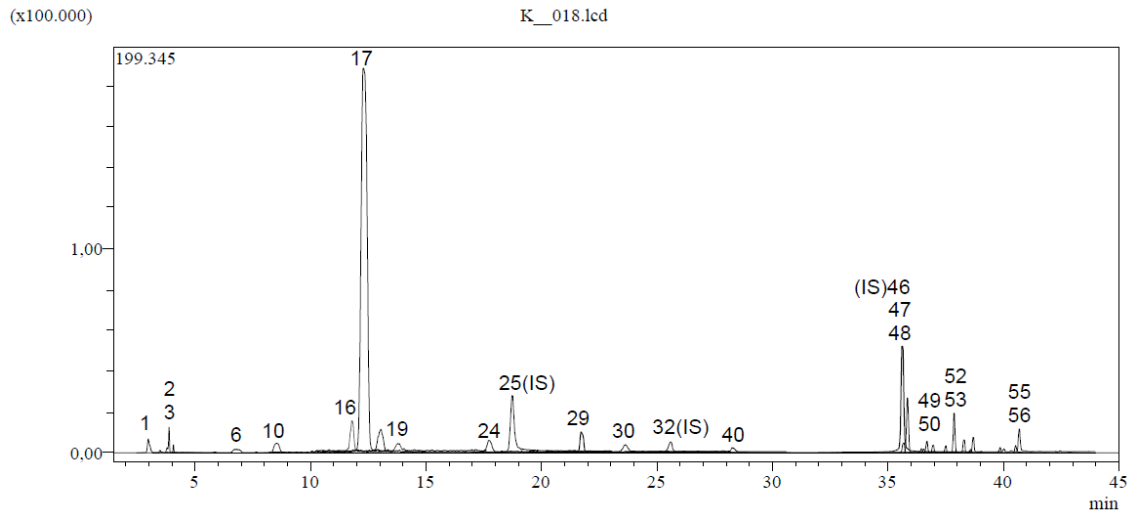
* İç standart olarak kullanılan izotop etiketli fenolik bileşikler.

LC-MS/MS analizi sonucunda tespit edilen bazı metabolitlerin önemli miktarlarda olduğu gözlenmiştir. Bunlardan fumarik asit bileşiği 5267 $\mu\text{g/g}$ ile en yüksek değeri yaprakta göstermiştir. Ayrıca soğanda kafeik asit (1948 $\mu\text{g/g}$ ekstrakt), çiçekte kosmosiin (2374 $\mu\text{g/g}$ ekstrakt) ve kinik asit (1085 $\mu\text{g/g}$ ekstrakt) gibi metabolitlerin iyi değerler gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.6.).

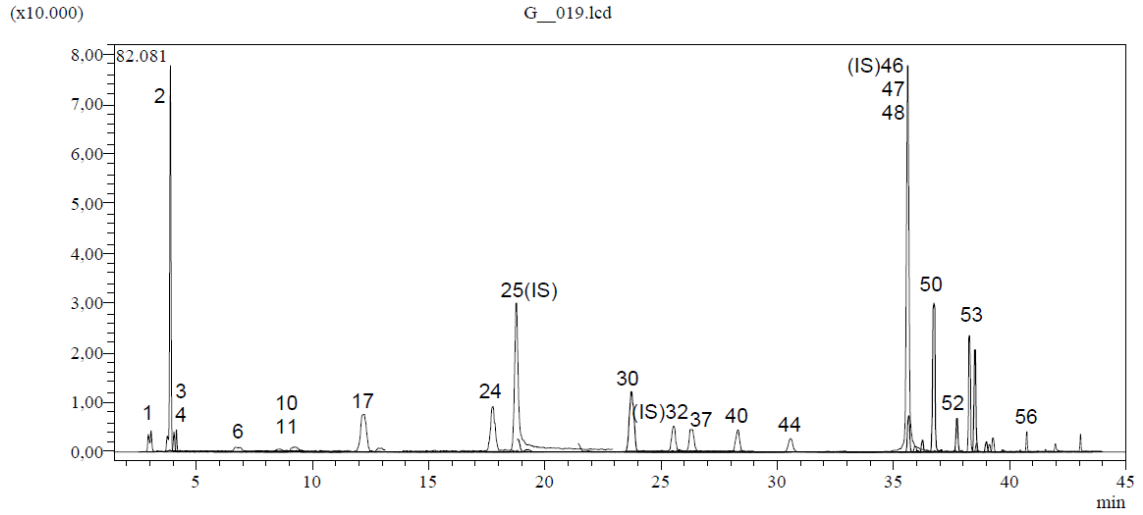
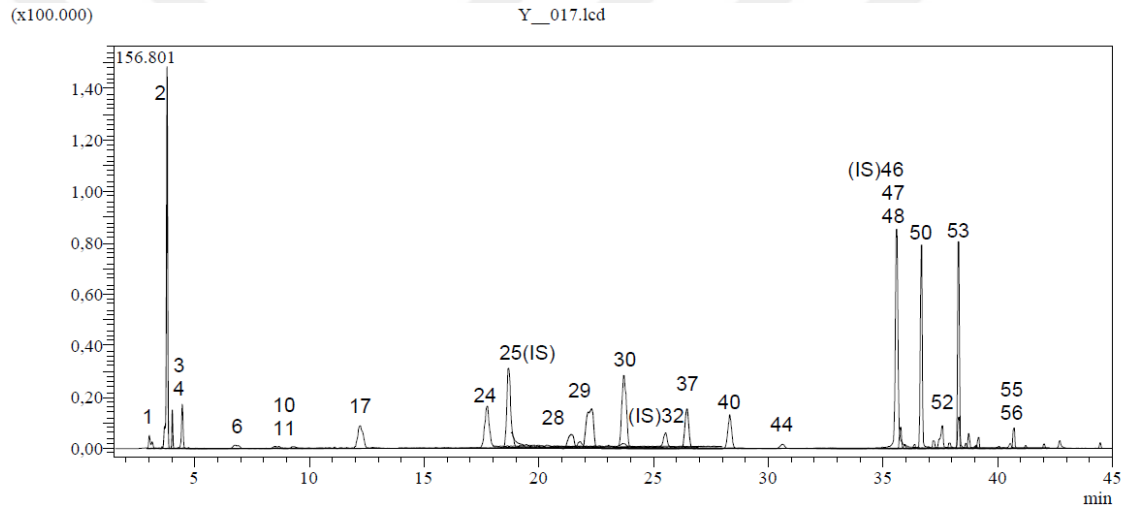
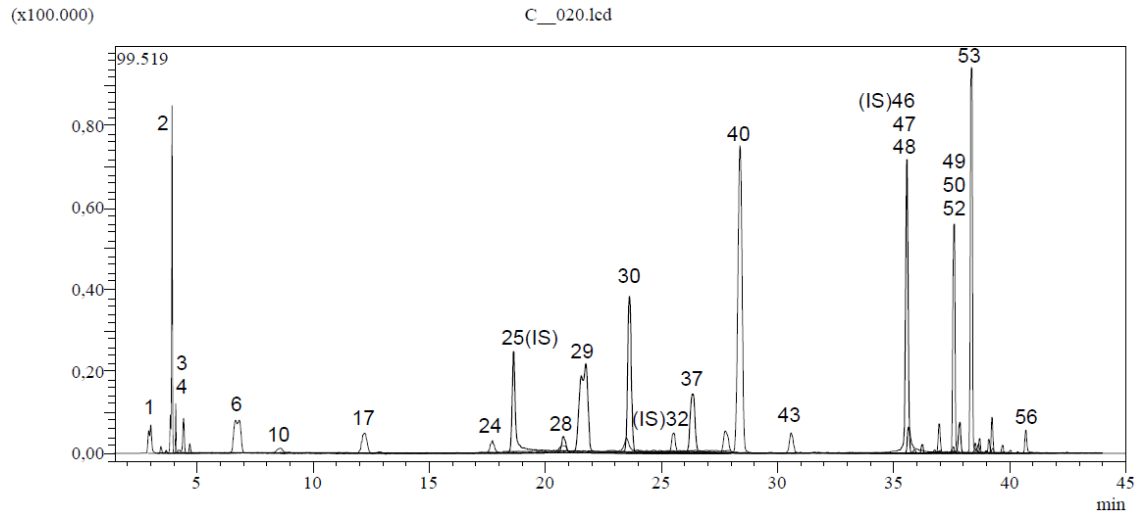


Şekil 4.6. *B.sasonii* ekstrelerinde yüksek miktarda bulunan fitokimyasal bileşikler

B.sasonii bitkisinin soğan, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarına ait LC-MS/MS cihazından elde edilen kromatogramlar ayrıca verilmiştir (Şekil 4.7; 4.8; 4.9; 4.10.).



Şekil 4.7. *B. sasonii* soğan iyon kromatogramı

Şekil 4.8. *B. sasonii* gövde iyon kromatogramıŞekil 4.9. *B. sasonii* yaprak iyon kromatogramıŞekil 4.10. *B. sasonii* çiçek iyon kromatogramı

Serbest radikaller, dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunduran hem organik hem de inorganik yapıda olan atom veya moleküllerdir (Jensen, 2003). Serbest radikallerin meydana getirdiği zararları ortadan kaldırmak için canlı sistemlerde antioksidan savunma mekanizmaları bulunmaktadır (Altay, 2016).

Antioksidanlar, vücudumuz tarafından doğal olarak üretilen, bir veya birden fazla eşlenmemiş elektronu bulunan, yüksek derecede reaktif yapıda olan serbest radikallerin oksidatif zararlarına karşı koruyucu özellik gösteren kimyasallardır. Antioksidanlar, başta kanser, kalp-damar ve iltihaplı hastalıklar olmak üzere birçok hastalığın önlenmesinde önem teşkil ederler (Bessada ve ark., 2015). Antioksidan maddelerin en önemli kaynağı bitkisel kökenli gıdalardır. Bitkilerdeki doğal antioksidan bileşenler; indirgen ajan, serbest radikal bağlayıcı, singlet oksijen tutucu mekanizmalarla antioksidan etkilerini göstermektedirler (Lee, 2004).

BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanlar, gıda ürünlerinin bozulmasını önlemek için güçlü antioksidan yeteneklere sahip olsalar da canlı enzim sistemleri ve DNA üzerinde olumsuz etkileri olduğu da bildirilmektedir (Liu ve ark., 2016). Bundan dolayı bitkilerden kolaylıkla elde edilebilen ve antioksidan aktivitesi güçlü olan doğal antioksidanlara olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Bitkilerde yaygın olarak bulunan ve güçlü antioksidan aktivite gösteren fenolik bileşikler, genellikle flavonoidler ve fenolik asitlerle temsil edilen sekonder metabolitlerdir. Her geçen gün bu maddelere artan yoğun ilgi, temel olarak antioksidan potansiyelleri ve tüketimleri ile bazı hastalıkların (kanser, kalp-damar, iltihaplı ve bulaşıcı hastalıklar) önlenmesi arasındaki ilişkiden kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşiklerin, antioksidan, antimikrobiyal, mutajenez ve karsinogenезin inhibisyonu dahil olmak üzere insan sağlığı için birçok faydalı etkisi mevcuttur. Bu nedenle bitkilerin antioksidan kapasiteleri araştırılırken aynı zamanda fenolik ve flavonoid içeriklerini tespit eden birçok çalışma mevcuttur (Renda ve ark., 2019; Ouelbani ve ark., 2020; Balos, 2021).

Araştırmamızdan elde edilen verilere göre fenolik içeriği yüksek olan bitki kısımlarının (soğan, yaprak, çiçek), fenolik içeriği düşük olan (gövde) bitki kısımlarına göre antioksidan aktivitelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bazı bitki ekstrelerinin toplam fenolik içeriği ile antioksidan aktivitesi arasında pozitif korelasyon olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur (Koley ve ark., 2016; Shao ve ark., 2018; Jiao ve ark., 2018; Stafussa ve ark., 2018). Bu raporlar araştırmamızda elde ettiğimiz fenolik içeriklerle antioksidan aktiviteler arasındaki korelasyon ilişkisini destekler niteliktedir. Fenolik bileşiklerin, serbest radikallere elektron transferi sağlayarak

radikallerin kararlı hale geçmede yardımcı oldukları, metal şelatörleri olarak rol üstlendikleri ve antioksidan enzim seviyelerini artıran endojen antioksidan mekanizmaları aktive ettiği bilinmektedir (Adebo ve Medina-Meza, 2020). Literatür verilerinden de anlaşılabacağı üzere fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteyi doğrudan etkilediğini ve bu yargının çalışma sonuçlarımızla da uyumlu olduğunu söyleyebiliriz.

Araştırmamızda toplam antioksidan aktiviteyi belirlemek amacıyla DPPH, ABTS ve CUPRAC olmak üzere 3 farklı yöntem kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde DPPH yönteminde AA > BHA > çiçek > soğan > yaprak > gövde > BHT; CUPRAC yönteminde BHT > AA > çiçek > yaprak > soğan > BHA > gövde; ABTS yönteminde AA > BHT > çiçek > soğan > yaprak > BHA > gövde şeklinde olduğu gözlenmiştir. Kullanılan her test yönteminde elde edilen antioksidan aktivite sıralamasının farklı olduğu görülmektedir. Bu durum test yöntemlerinin çalışma prensiplerindeki değişkenliğe bağlanabilir. Örneğin, DPPH'ın yalnızca organik çözücülerde çözünüp sulu ortamda çözünmemesi hidrofilik antioksidanların belirlenmesini sınırlandırırken; ABTS ve CUPRAC yöntemleri hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanların ölçümü için uygun metotlardır. Ayrıca DPPH ile peroksil radikallerinin yavaş tepkime vermesi, karotenoidlerle 515 nm dalga boyunda çakışabilmesi gibi dezavantajlarda bulunmaktadır (Büyüktuncel, 2013). Ek olarak, ekstraksiyon yöntemi, çalışılan bitkinin bölümleri, bitkinin yaşı ve bitkinin çevresel koşulları, antioksidan aktiviteyi ölçmek için önemli faktörlerdir (Esmaili ve ark., 2015). Sonuç olarak, bitkisel dokularda bulunan antioksidan etkinliğe sahip bileşiklerdeki çeşitliliğin bu metotlardan elde edilecek sonuçların farklı olmasına neden olduğunu söylemek mümkündür. Fenolik bileşenlerin aynı bitkinin farklı bölümlerinde farklı konsantrasyonlarda olduğu ve bunların artışlarının antioksidan aktivitedeki artışlarla pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Hatamnia ve ark., 2016). Literatürdeki bu veriler, mevcut çalışmamızda elde edilen verilerle karşılaştırılabilir ve aktivite için kullanılan organlar (soğan, gövde, yaprak, çiçek) ile yöntemler arasındaki antioksidan aktivite farklılıklarını açıklayabilir.

Yıldırım ve ark. (2013), *Bellevalia gracilis*'in soğan ve yaprak ektresinin antioksidan aktivitesini araştırdıkları çalışmada, yaprak ekstresinin daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. *Bellevalia pseudolongipes*, bitkisinin DPPH yöntemiyle soğan, yaprak ve çiçek kısımlarının antioksidan aktivite sonuçları incelendiğinde çiçek>yaprak>soğan sıralaması olduğu görülmüştür (Balos, 2021). *Scilla bifolia* bitkisinin soğan, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarının antioksidan

aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada, DPPH radikali süpürme aktivite sıralamasının gövde > yaprak > çiçek > soğan şeklinde olduğu bildirilmiştir (Öğretmen, 2022).

Bitkilerin antioksidan aktivite potansiyellerinin belirlenmesi konusunda araştırmalar yapılırken aynı zamanda antioksidan aktivitesi bilinen/bilinmeyen bileşiklerin tespit edilmesi de önem arz etmektedir. Bu kapsamda araştırmamızda antioksidan özelliğiyle bilinen ve sekonder metabolitlerin en büyük grubunu oluşturan fenolik bileşiklerden bir kısmı LC-MS/MS yöntemiyle tespit edilmiştir. *B.sasonii* bitkisinin fitokimyasal içeriğini belirlemek amacıyla 53 standart madde kullanılmış ve bunlardan 26 tanesi bitki kısımlarının (soğan, gövde, yaprak, çiçek) en az birinde görülmüştür. Tespit edilen bileşiklerin bitkinin organ kısımlarına göre nicelik olarak dağılımları incelendiğinde yüksek antioksidan aktivite gösteren ekstraktlarla uyum içinde olduğu görülmüştür. Bitki organlarını ayrı ayrı değerlendirdiğimizde, 53 fitokimyasalın organlarda nicel olarak görülme durumu soğanda 19, gövdede 19, yaprakta 22 ve çiçekte 21 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.14.). Özellikle fumarik asitin yaprakta 5267 µg/g, çiçekte 2906 µg/g; kafeik asitin soğanda 1948 µg/g; kosmosiin çiçekte 2374 µg/g ve kinik asitin çiçekte 1085 µg/g gibi önemli miktarlarda bulunduğu belirlenmiştir.

Kosmosiin bileşiğinin, antioksidan ve immünomodülatör aktivitelere sahip olduğu yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (Mikhaeil ve ark., 2004). Kosmosiin'in, arttırılmış adiponektin sekresyonu, insülin reseptör- β tirozin fosforilasyonu ve GLUT4 translokasyonu yoluyla diyabetik komplikasyonlar için faydalı olabileceği düşünülmektedir (Li ve ark., 2007). Kafeik asit fenil esterinin (CAPE), antiviral, antitümoral, antiinflamatuvar, antioksidan, nöroprotektif, antiaterosklerotik, immünomodülatör ve faydalı tıbbi özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Bu özelliği ile önemli bir potansiyel ilaç adayı olabileceği bildirilmiştir (Cho ve ark., 2014). Fumarik asit (FA), flora ve faunada her yerde bulunan ve doğal olarak oluşan bir organik asittir. Farmakolojik yönden aktif bileşiklerin araştırılmasında, FA ve türevleri, terapötik olarak aktif farmasötiklere dönüştürülmek için yüksek potansiyele sahip önemli ve umut verici bileşiklerdir. Fumarik asit ve türevleri, güçlü serbest radikal süpürücü özellikleri, anti-inflamatuvar, immünomodülatör ve kemopreventif etkileri nedeniyle sağlık açısından fayda sağlayan ve iyi bilinen antioksidanlardır (Ahuja ve ark., 2016; Kronenberg ve ark., 2019). Karaman ve ark. (2021), tarafından yapılan çalışmada, kinik asidin aktif olarak umut verici antioksidan potansiyel sergilediği bildirilmiştir. Araştırmamızda özellikle yüksek miktarlarda bulunan fumarik asit, kafeik asit, kinik asit ve kosmosiin bileşiklerinin literatürde iyi bir antioksidan kaynağı olduğu

bildirilmiştir. Bu bileşiklerin bulunduğu bitki organ kısımlarının yüksek antioksidan aktivite gösterdiği göz önünde bulundurulduğunda sonuçlarımızın literatür verilerini desteklediğini ve uyum içinde olduğunu söyleyebiliriz.

Araştırmamızda 53 fitokimyasal bileşiğin organ bazında dağılımları incelendiğinde, hem nicel hem de nitel açıdan homojen bir dağılım olmadığı görülmektedir (Çizelge 4.14.). Demirci (2014), *Bellevalia gracilis*, *Bellevalia macrobotrys*, *Bellevalia tauri* türlerinde; Ouelbani ve ark. (2020), *Bellevalia mauritanica*'da; Balos (2021), *Bellevalia pseudolongipes*'in farklı organlarında değişen oranlarda fitokimyasallar tespit etmişlerdir. Bir organda tespit edilen bileşiğin diğer organlarda olmaması ya da bileşiğin miktarındaki farklılıkların literatür verilerine göre olası bir durum olduğu açıkça ifade edilmektedir. Bitkilerde çeşitli fenolik bileşiklerin biyosentezi; tür özgüllüğü, vejetasyon dönemi ve büyüme koşullarından (iklim faktörleri, su, ışık, rakım ve toprak özellikleri vb.) doğrudan etkilenmektedir. Bitkiler farklı büyüme evrelerinde çeşitli fenolik bileşikler sentezleyebilmekte ve bunları soğanlarında ve/veya diğer kısımlarında biriktirebilmektedir. Ayrıca meyve verme aşamasında, yapraklar ve generatif kısımların kök ve gövdelere göre 3-7 kat daha fazla fenolik bileşik biriktirdiği bildirilmiştir (Feduraev ve ark., 2019). *Elaeagnus angustifolia* L.'nin farklı kısımlarının (meyve ve yaprak) toplam fenolik-flavonoid içerikleri, antioksidan ve antidiyabetik aktivitelerinin incelendiği çalışmada; meyvenin yaprağa göre toplam fenolik-flavonoid içeriğinin daha zengin olduğu, bu özelliğinin antioksidan ve antidiyabetik aktivitesine de yansıdığı görülmüştür (Berktas ve Çam, 2020). *Spirea nipponica* bitkisinin yaprak, çiçek ve gövde kısımlarının polifenol içeriği, antioksidan aktivitesi ve fenolik kompozisyonunun araştırıldığı çalışmada, fenolik içerik ve aktivite sıralaması yaprak>çiçek>sap olarak belirlenmiştir. Çiçekte vanilik asit, sinamik asit; yaprakta kateşin, p-Kumarik asit, luteolin; gövde kısmında ise rutin fenoliğinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Keskin ve ark., 2019).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Literatürü incelediğimizde *Bellevalia* türleri ve bu türlerin biyolojik ve fitokimyasal özellikleri üzerine çalışmalara rastlamak mümkündür. Ancak *Bellevalia sasonii* türüyle ilgili yapılmış çalışmalar çok az olup, antioksidan aktivite ve fitokimyasal içerik üzerine yapılmış bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Araştırma sonuçlarımız genel olarak değerlendirildiğinde elde edilen sonuçlar ve öneriler şu şekilde sıralanabilir:

- Bitkinin farklı organlarının (soğan, gövde yaprak, çiçek) farklı düzeyde aktivite gösterdiği belirlenmiş olup gövde dışındaki kısımların pozitif kontrol olarak kullanılan BHA'dan daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.
- Organların antioksidan aktiviteleri arasındaki bu farklılığın, içermiş oldukları fenolik miktarı ve çeşidiyle ilgili olduğu düşünülmektedir. Bitki fenolik miktar ve çeşidi her bitkiye göre değişmekle birlikte, büyüme koşullarındaki farklılıklar (ısı, ışık, toprak yapısı vs.), farklı vejetasyon dönemlerinde farklı organ ve miktarlarda sentezlenebileceği bilinmektedir. Bu bilgiler ışığında araştırma sonuçlarımızdan elde edilen soğan, gövde, yaprak ve çiçek organlarının antioksidan aktiviteleri arasındaki farklılık yukarıdaki veriyi destekler niteliktedir.
- Araştırmamıza konu olan endemik *Bellevalia sasonii* bitkisi Batman ili Sason ilçesi Karamiş mevkiinde keşfedilmiş olup 2019 yılında yeni tür olarak literatüre kazandırılmıştır. Bitkinin toplam fenolik-flavonoid miktarı, antioksidan aktiviteleri ve fitokimyasal içeriği ile ilgili literatürde herhangi bir veriye rastlanmamış olması araştırmamızın özgün değerini arttırmaktadır.
- Araştırmamızda bitki ekstresi elde etmek için çözücü olarak etanol kullanıp antioksidan aktiviteleri saptamaya çalıştık. Bitki ekstrelerinin antioksidan aktivite potansiyellerini belirlemeye yönelik çalışmalarda farklı çözücüler kullanılmaktadır. Bu kapsamda, ayrı bir araştırma konusu olarak farklı polariteye sahip çözücüler kullanılıp söz konusu bitkinin antioksidan aktivite potansiyeli daha detaylı bir şekilde araştırılabilir.
- Fumarik asit, kafeik asit ve kosmosiin açısından zengin olan bitkimiz söz konusu bileşiklerin kullanıldığı farmakolojik ve endüstriyel proseslerdeki kullanımı araştırılabilir.
- Araştırmamıza konu olan bitkiyle ilgili çok sınırlı olan literatür bilgilerine katkı sağlayarak, bundan sonra yapılacak çalışmalar için önemli bir basamak olacağı düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- Adebo, O. A., Gabriela Medina-Meza, I., 2020, Impact of fermentation on the phenolic compounds and antioxidant activity of whole cereal grains: A mini review, *Molecules*, 25(4), 927.
- Adinolfi, M., Barone, G., Dela Greca, M., Mangoni, L., 1990, Isolation and Structure of Bellevalliosides, *Gazz. Chim. Ital.*, 120, 427-433.
- Ahuja, M., Kaidery, N. A., Yang, L., Calingasan, N., Smirnova, N., Gaisin, A., Thomas, B., 2016, Distinct Nrf2 signaling mechanisms of fumaric acid esters and their role in neuroprotection against 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-induced experimental Parkinson's-like disease. *Journal of Neuroscience*, 36(23), 6332-6351.
- Alali, F., El-Elimat, T., Albataineh, H., Al-Balas, Q., Al-Gharaibeh, M., Falkinham III, J.O., Chen, W.L., Swanson, S.M., Oberlies, N.H., 2015, Cytotoxic Homoisoflavones From The Bulbs Of *Bellevallia eigii*, *J Nat Prod*, 78(7), 1708-1715.
- Altay, Z., 2016, Siklofosfamid uygulanan ratlarda nefrotoksisite üzerine propolisin etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ.
- Altundağ, E., 2009, Iğdır İlinin (Doğu Anadolu Bölgesi) Doğal Bitkilerinin Halk Tarafından Kullanımı, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Farmasötik Botanik ABD, İstanbul.
- Angiosperm Phylogeny Group, 2009, An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 105-121.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food chemistry*, 99(1), 191-203.
- Balos, M., 2021, Mardin ili geofit florası ile etnobotanik özellikleri ve bazı taksonlar üzerinde fitokimyasal araştırmalar, Doktora Tezi, Harran Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa.
- Berktaş, S., Çam, M., 2020, İğde (*Elaeagnus angustifolia* L.) meyve ve yapraklarının antioksidan ve antidiyabetik özellikleri, *Akademik Gıda*, 18(3), 270-278.
- Bessada, S.M., Barreira, J.C., Oliveira, M.B.P., 2015, Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review, *Industrial Crops and Products*, 76, 604-615.
- Blois, M.S., 1958, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Borowska, J., Szajdek, A., 2003, Antioxidant activity of berry fruits and beverages, *Polish journal of natural sciences*, 14.
- Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E., 2001, Production of plant secondary metabolites: a historical perspective, *Plant science*, 161(5), 839-851.
- Bravo, L., 1998, Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance, *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.
- Büyüktuncel, E., 2013, Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17(2), 93-103.
- Chase, M.W., Reveal, J.L., Fay, M.F., 2009, A subfamilial classification for the expanded asparagalean families Amaryllidaceae, Asparagaceae and Xanthorrhoeaceae, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 132-136.

- Chaturvedi, R.K., Beal, M.F., 2013, Mitochondrial diseases of the brain, *Free Radical Biology and Medicine*, 63, 1-29.
- Cheynier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., Martens, S., 2013, Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant physiology and biochemistry*, 72, 1-20.
- Cho, M.S., Park, W.S., Jung, W.K., Qian, Z.J., Lee, D.S., Choi, J.S., Choi, I.W., 2014, Caffeic acid phenethyl ester promotes anti-inflammatory effects by inhibiting MAPK and NF- κ B signaling in activated HMC-1 human mast cells, *Pharmaceutical Biology*, 52(7), 926-932.
- Christenhusz, M. J., Byng, J.W., 2016, The number of known plants species in the world and its annual increase, *Phytotaxa*, 261(3), 201-217.
- Cragg, G. M., Newman, D. J., 2013, Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(6), 3670-3695.
- Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G., 2000, Natural products (secondary metabolites), *Biochemistry and molecular biology of plants*, 24, 1250-1319.
- D Archivio, M., Filesì, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R., 2007, Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348.
- Dai, J., Mumper, R.J., 2010, Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties, *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- Delazar, A., Nazemieh, H., Afshar, J., Syiyedi, G., 2002, Identification of a new homoisoflavanone from *Bellevalla longistyla*, *Pharmaceutical sciences*, 1, 33-38.
- Demirci, S., 2014, Hyacinthaceae familyası (Kahramanmaraş) üzerinde farmasötik botanik araştırmalar, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, İstanbul.
- Di Meo, S., Venditti, P., 2020, Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Volume 2020, 32, Article ID 9829176.
- Dietrich, A., 2004, The cognitive neuroscience of creativity, *Psychonomic bulletin & review*, 11(6), 1011-1026.
- El Khawand, T., Courtois, A., Valls, J., Richard, T., Krisa, S., 2018, A review of dietary stilbenes: Sources and bioavailability. *Phytochemistry Reviews*, 17(5), 1007-1029.
- El-Elmat, T., Rivera-Chávez, J., Burdette, J.E., Czarnecki, A., Alhawarri, M.B., Al-Gharaibeh, M., Alali, F., Oberlies, N.H., 2018, Cytotoxic homoisoflavonoids from the bulbs of *Bellevalia flexuosa*, *Fitoterapia*, 127, 201-206.
- Esmaili, A.K, Taha, R.M, Mohajer, S., Banisalam, B., 2015, Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of various solvent extracts from in vivo and in vitro grown *Trifolium pratense* L.(Red Clover), *BioMed Research International*, vol. 2015, 11, Article ID 643285.
- Feduraev, P., Chupakhina, G., Maslennikov, P., Tacenko, N., Skrypnik, L., 2019, Variation in phenolic compounds content and antioxidant activity of different plant organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at different growth stages, *Antioxidants*, 8(7), 237.
- Feinbrun, N.D., 1940, A monographic study on the genus *Bellevalia* Lapeyr., *Palestine journal of botany*, 1(4), 336-409.
- Felicia, N.D., Okar, D.A., Gui, L., Lange, A.J., 1997, Labeling of recombinant protein for NMR spectroscopy: global and specific labeling of the rat liver fructose 2, 6-bisphosphatase domain, *Protein expression and purification*, 11(1), 79-85.

- Fidan, M., 2019, *Bellevia sasonii* (Asparagaceae): a new species from Turkey, *Phytotaxa*, 394(2), 126-132.
- Freeman, B.C., Beattie, G.A., 2008, An overview of plant defenses against pathogens, *Plant Health Instr.*, <https://doi.org/10.1094/phi-i-2008-0226-01>.
- García-Lafuente, A., Guillaumon, E., Villares, A., Rostagno, M.A., Martínez, J.A., 2009, Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease, *Inflammation Research*, 58(9), 537-552.
- Gershenzon, J., Dudareva, N., 2007, The Function of Terpene Natural Products in the Natural World, *Nature Chemical Biology*, 3 (7), 408-14.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T., 2012, Türkiye bitkileri listesi, *Damarlı Bitkiler, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*, 262.
- Güneş, F., Özhatay, N., 2011, An ethnobotanical study from Kars Eastern Turkey, *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 4 (1), 30-41.
- Güven, E. Ç., Otkun, G. T., Boyacıoğlu, D., 2010, Flavonoidlerin biyoyararlılığını etkileyen faktörler, *Gıda*, 35(5), 387-394.
- Harborne, J.B., 1999, Classes and functions of secondary products from plants, *Chemicals from plants*, 26, 1-25.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Parvin, K., Bhuiyan, T. F., Anee, T. I., Nahar, K., Fujita, M., 2020, Regulation of ROS metabolism in plants under environmental stress: A review of recent experimental evidence, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8695.
- Hassanpour, S., Sadaghian, M., Maheris, N., Eshratkhah, B., ChaichiSemsari, M., 2011, Effect of condensed tannin on controlling faecal protein excretion in nematode-infected sheep: in vivo study, *Journal of American Science*, 7(5), 896-900.
- Hatamnia, A.A., Rostamzad, A., Malekzadeh, P., Darvishzadeh, R., Abbaspour, N., Hosseini, M., Mehr, R.S.A., 2016, Antioxidant activity of different parts of *Pistacia khinjuk* Stocks fruit and its correlation to phenolic composition, *Natural Product Research*, 30(12), 1445-1450.
- Heitefuss, R., 2011, Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites, 2nd edn, Annual Plant Reviews, *Journal of Phytopathology*, 159(1), 72-72.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., 2005, The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Ionkova, I., 2011, Anticancer lignans-from discovery to biotechnology, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 11(10), 843-856.
- IUCN, 2014, *IUCN Standards and Petitions Subcommittee. Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria*, Version 11. Gland & Cambridge, 107.
- Iwashina, T., 2000, The structure and distribution of the flavonoids in plants, *Journal of Plant Research*, 113, 287-299.
- Jennings, A., MacGregor, A., Spector, T., Cassidy, A., 2017, Higher dietary flavonoid intakes are associated with lower objectively measured body composition in women: evidence from discordant monozygotic twins, *The American journal of clinical nutrition*, 105(3), 626-634.
- Jensen, S.J.K., 2003, Oxidative stress and free radicals, *Journal of Molecular Structure: Theochem*, 666, 387-392.
- Jiao, Y., Kilmartin, P.A., Fan, M., Quek, S.Y., 2018, Assessment of phenolic contributors to antioxidant activity of new kiwifruit cultivars using cyclic voltammetry combined with HPLC, *Food Chemistry*, 268, 77-85.

- Johnson, M.A., 2003, Polyploidy and karyotype variation in Turkish *Bellevalia* (Hyacinthaceae), *Botanical Journal of the Linnean Society*, 143(1), 87-98.
- Kabera, J.N., Semana, E., Mussa, A.R., He, X., 2014, Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2, 377-392
- Karaman, M., Tesanovic, K., Gorjanovic, S., Pastor, F.T., Simonovic, M., Glumac, M., Pejin, B., 2021, Polarography as a technique of choice for the evaluation of total antioxidant activity: The case study of selected *Coprinus comatus* extracts and quinic acid, their antidiabetic ingredient, *Natural Product Research*, 35(10), 1711-1716.
- Kattappagari, K.K., Teja, C.R., Kommalapati, R.K., Poosarla, C., Gontu, S.R., Reddy, B.V.R., 2015, Role of antioxidants in facilitating the body functions: A review, *Journal of Orofacial Sciences*, 7(2), 71.
- Keskin, S., Sirin, Y., Cakir, H.E., Kaya, G., Keskin, M., 2019, Phenolic composition and antioxidant properties of *Spiraea nipponica*, *Int. J. Sci. Technol, Res*, 5, 87-92.
- Kolaç, T., Gürbüz, P., Yetiş, G., 2017, Doğal ürünlerin fenolik içeriği ve antioksidan özellikleri, *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, 5(1), 26-42.
- Koley, T. K., Kaur, C., Nagal, S., Walia, S., Jaggi, S., 2016, Antioxidant activity and phenolic content in genotypes of Indian jujube (*Zizyphus mauritiana* Lamk.), *Arabian Journal of Chemistry*, 9, 1044-1052.
- Kronenberg, J., Pars, K., Brieskorn, M., Prajeeth, C.K., Heckers, S., Schwenkenbecher, P., Stangel, M., 2019, Fumaric acids directly influence gene expression of neuroprotective factors in rodent microglia, *International journal of molecular sciences*, 20(2), 325.
- Lee, J., Koo, N., Min, D.B., 2004, Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals, *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 3(1), 21-33.
- Li, Y., Wang, P., Xu, J., Gorelick, F., Yamazaki, H., Andrews, N., Desir, G.V., 2007, Regulation of insulin secretion and GLUT4 trafficking by the calcium sensor synaptotagmin VII, *Biochemical and biophysical research communications*, 362, 658-664.
- Liu, R., Xing, L., Fu, Q., Zhou, G.H., Zhang W.G., 2016, A review of antioxidant peptides derived from meat muscle and by-products, *Antioxidants*, 5(3), 32.
- Lobo, V., Patil, A. Phatak, A. Chandra, N., 2010, Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health, *Pharmacogn. Rev.*, 4, 118-126.
- Lushchak, V.I., 2014, Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification, *Chemico-Biological Interactions*, 224,164-175.
- Mammadov, R., Ili, P., Dusen, O., 2012, Phenolic contents and antioxidant properties of *Muscari parviflorum* Desf. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 34(3), 651-655.
- Mehrabian, A., Abdoli, A., Liaghati, H., Mostafvi, H., Ahmadzadeh, F., 2008, *Bushehr Province (NE Persian Gulf) as an Important Reservoir for Plant Biodiversity in Iran*, Competition for resources in changing world: new drive for rural development, Tropentag, 7-9 October, Hohenheim.
- Mikhaeil, B.R., Badria, F.A., Maatooq, G.T., Amer, M.M., 2004, Antioxidant and immunomodulatory constituents of henna leaves, *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59(7-8), 468-476.

- Moreno, C.E., 2000, *Métodos para medir la biodiversidad, Volumen 1*. Manualesy tesis SEA.
- Morris, P., Robbins, M., 1997, Manipulating the Chemical Composition of Plants, *Iger Innovate*, 12-15.
- Mosayyebi, B., Imani, M., Mohammadi, L., Akbarzadeh, A., Zarghami, N., Edalati, M., Alizadeh, E., Rahmati, M., 2020, An update on the toxicity of cyanogenic glycosides bioactive compounds: Possible clinical application in targeted cancer therapy, *Materials Chemistry and Physics*, 246, 122841.
- Mulholland, D.A., Schwikkard, S.L., Crouch, N.R., 2013, The chemistry and biological activity of the Hyacinthaceae, *Natural product reports*, 30(9), 1165-1210.
- Murthy, H.N., Lee, E.J., Paek, K.Y., 2014, Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 118(1), 1-16.
- Naczk, M., Shahidi, F., 2003, Phenolic compounds in plant foods: chemistry and health benefits, *Preventive Nutrition and Food Science*, 8(2), 200-218.
- Nunn, J.F., 2002, Ancient Egyptian Medicine. University of Oklahoma Press.
- Olszowy, M., 2019, What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? *Plant Physiology and Biochemistry*, 144, 135-143.
- Ouelbani, R., Bensari, S., Yilmaz, M.A., Bensouici, C., Gökalp, E., Ahmedchaouch, M., Khelifi, D., 2020, Chemical Profiling and In Vitro Antioxidant, Antibacterial And Anticholinesterase Activities of An Endemic North African Species *Bellevia mauritanica* Pomel, *Acta Scientifica Naturalis*, 7(3), 26–45.
- Öğretmen, Ö.Y., 2022, *Scilla bifolia* L. (Orman Sümbülü) Bitki Kısımlarının Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi, *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 7(1), 9-14.
- Özcan, M.M., Doğu, S., Uslu, N., 2018, Effect of species on total phenol, antioxidant activity and phenolic compounds of different wild onion bulbs, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(2), 902-905.
- Özhatay, N., 2002, Diversity of bulbous monocots in Turkey with special reference, Chromosome numbers, *Pure and Applied Chemistry*, 74(4), 547-555.
- Özhatay, N., Kültür, Ş., Gürdal, B., 2019, Check-list of additional taxa to the supplement flora of Turkey IX. *Istanbul Journal of Pharmacy*, 49(2), 105-120.
- Öztürk, M., Aydoğmuş-Öztürk, F., Duru, M.E., Topçu, G., 2007, Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant, *Food chemistry*, 103(2), 623-630.
- Pagare, S., Bhati, M., Tripathi, N., Pagare, S., Bansal Y.K., 2015, Secondary Metabolites of Plants and their Role: Overview, *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 9(3), 293-304.
- Parihar, M. S., Hemnani, T., 2003, Phenolic antioxidants attenuate hippocampal neuronal cell damage against kainic acid induced excitotoxicity, *Journal of biosciences*, 28(1), 121-128.
- Pawlikowski, T., 2010, Pollination activity of bees (Apoidea: Apiformes) visiting the flowers of *Tilia cordata* Mill. and *Tilia tomentosa* Moench in an urban environment, *J. Apic. Sci.*, 54, 73–79.
- Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C., 2008, Free radicals, antioxidants in disease and health, *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.
- Pignatti, S., 1982, Flora d' Italia, Edagricole, Bologna (Nachdruck), 3, 374.
- Pinar, S. M., Eroğlu, H., Fidan, M., 2016, *Bellevia behcetii* sp. nov.(Asparagaceae): a new species from South Eastern Anatolia, Turkey, *Phytotaxa*, 270(2), 127-136.

- Polumbryk, M., Ivanov, S., Polumbryk, O., 2013, Antioxidants in food systems. Mechanism of action, *Ukr. J. Food Sci.*, 1, 15-40.
- Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K., 2005, Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Quave, C.L., Pieroni, A., 2007, Traditional health care and food and medicinal plant use among historic Albanian migrants and Italians in Lucania, Southern Italy, *Traveling Cultures and Plants The Ethnobiology and Ethnopharmacy of Human Migrations*, 204, 227.
- Reddy, L., Odhav, B., Bhoola, K.D., 2003, Natural product for cancer prevention: global perspective, *Pharmacol Therapeut*, 99(1), 1-13.
- Ree, M., Bae, J. Y., Jung, J.H., Shin, T.J., 1999, A new copolymerization process leading to poly (propylene carbonate) with a highly enhanced yield from carbon dioxide and propylene oxide. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 37(12), 1863-1876.
- Renda, R., Özel, A., Turumtay, E.A., Barut, B., Korkmaz, B., Ayvaz, M.Ç., Demir, A., 2019, Comparison of phenolic profiles and antioxidant activity of three *Ornithogalum* L. Species, *Turk J Biochem.*, 44(3), 299–306.
- Robbins, R.J., 2003, Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology, *J. Agric. Food Chem.*, 51(10), 2866-2887.
- Roberts, M.F., 2013, *Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications*, Springer Science & Business Media, 11-14.
- Sanei, M., Ghasemnezhad, A., Mahounak, A.S., Masoumi, M., Ghorbani, K., 2021, Screen of Antioxidant Activity Leads to Recognition of High Valuable Medicinal Plants: A Case Study of Pavah and Ormanat, West of Iran, *Journal of Genetic Resources*, 7(1), 87-105.
- Savio, M., Ibrahim, M.F., Scarlata, C., Orgiu, M., Accardo, G., Sardar, A.S., Moccia, F., Stivala, L.A., Brusotti, G., 2019, Anti-inflammatory Properties of *Bellevalia saviczii* Root Extract and its Isolated Homoisoflavonoid (Dracol) are Mediated by Modification on Calcium Signaling, *Molecules*, 24(18), 3376.
- Sghaier, M.B., Skandrani, I., Nasr, N., Franca, M.G.D., Chekir-Ghedira, L., Ghedira, K., 2011, Flavonoids and sesquiterpenes from *Tecurium ramosissimum* promote antiproliferation of human cancer cells and enhance antioxidant activity: A structure–activity relationship study, *Environmental toxicology and pharmacology*, 32(3), 336-348.
- Shahidi, F., Peng, H., 2018, Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds, *Journal of Food Bioactives*, 4, 11–68.
- Shao, Y., Hu, Z., Yu, Y., Mou, R., Zhu, Z., Beta, T., 2018, Phenolic acids, anthocyanins, proanthocyanidins, antioxidant activity, minerals and their correlations in non-pigmented, red, and black rice, *Food Chemistry*, 239, 733-741.
- Shinde, A., Ganu, J., Naik, P., 2012, Effect of free radicals and antioxidants on oxidative stress: a review, *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), 63.
- Slinkard, K., Singleton, V.L., 1977, Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods, *American journal of enology and viticulture*, 28(1), 49-55.
- Stadtman, E.R., Levine, R.L., 2003, Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins, *Amino Acids*, 25(3), 207-218.
- Stafussa, A.P., Maciel, G.M., Rampazzo, V., Bona, E., Makara, C.N., Junior, B.D., Haminiuk, C.W.I., 2018, Bioactive compounds of 44 traditional and exotic Brazilian fruit pulps: phenolic compounds and antioxidant activity, *International Journal of Food Properties*, 21(1), 106-118.

- Sunarharum, W.B., Williams, D.J., Smyth, H.E., 2014, Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective, *Food Research International*, 62, 315-325.
- Şahin, B., Aslan, S., Karabacak, O., Martin, E., 2016, *Bellevalia vuralii* (Asparagaceae) a new species from SE Turkey, *Turkish Journal of Botany*, 40(4), 394-401.
- Şenkul, Ç., Kaya, S., 2017, Türkiye endemik bitkilerinin coğrafi dağılışı, *Türk Coğrafya Dergisi*, (69), 109-120.
- Tholl, D., 2006, Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism, *Current opinion in plant biology*, 9(3), 297-304.
- Turhan, S., Üstün, N.Ş., 2006, Doğal Antioksidanlar ve Gıdalarda Kullanımları, 9. *Gıda Kongresi*, Bolu-Türkiye, 273.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The international journal of biochemistry and cell biology*, 39(1), 44-84.
- Vang, O., Ahmad, N., Baile, C.A., Baur, J.A., Brown, K., Csiszar, A., Wu, J.M., 2011, What is new for an old molecule? Systematic review and recommendations on the use of resveratrol, *Plos one*, 6(6), e19881.
- Winkel-Shirley, B., 2001, Flavonoid biosynthesis, A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology, *Plant physiology*, 126(2), 485-493.
- Yıldırım, N.C., Paksoy, M.Y., Yüce, E., Yıldırım, N., 2013, Total antioxidant status and antifungal activities of endemic geophytic plants collected from Munzur valley in Tunceli, Turkey, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 8(1), 403 - 408.
- Yılmaz, C., Gökmen, V., 2020, Neuroactive compounds in foods: Occurrence, mechanism and potential health effects, *Food Research International*, 128, 108744.
- Zhao, Q., Chen, X.Y., Martin, C., 2016, *Scutellaria baicalensis*, the golden herb from the garden of Chinese medicinal plants, *Science Bulletin*, 61(18), 1391-1398.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Metin TEKİN
Uyruğu : T.C.

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi, Konya	2007
Yüksek Lisans	: Batman Üniversitesi, Batman	2022
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2010 – 2013	Acırlı Çok Programlı Anadolu Lisesi	Öğretmen
2013 – 2015	Midyat Anadolu Lisesi	Öğretmen
2015 – 2016	Midyat Anadolu Lisesi	Müdür Yrd.
2016 – 2021	Midyat Fen Lisesi	Öğretmen
2021 -	Midyat Anadolu Lisesi	Öğretmen

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR