

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SCORZONERA SEMICANA DC. (YEMLİK)'NİN *IN VITRO* ANTİRADİKAL, ANTİMİKROBİYAL, ANTİKANSER
ÖZELLİKLERİ VE FİTOKİMYASAL İÇERİĞİNİN SAPTANMASI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Oğuzhan KAK

Anabilim Dalı: Kimya

Programı: Biyokimya

Danışman: Doç. Dr. Serhat KESER

ELAZIG - 2019

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SCORZONERA SEMICANA DC. (YEMLİK)'NİN *IN VITRO* ANTİRADİKAL,
ANTİMİKROBİYAL, ANTİKANSER ÖZELLİKLERİ VE FİTOKİMYASAL
İÇERİĞİNİN SAPTANMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Oğuzhan KAK

Anabilim Dalı: Kimya

Programı: Biyokimya

Danışman: Doç. Dr. Serhat KESER

TEMMUZ-2019

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SCORZONERA SEMICANA DC. (YEMLİK)'NİN *IN VİTRO* ANTİRADİKAL,
ANTİMİKROBİYAL, ANTİKANSER ÖZELLİKLERİ VE FİTOKİMYASAL
İÇERİĞİNİN SAPTANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Oğuzhan KAK

(131117103)

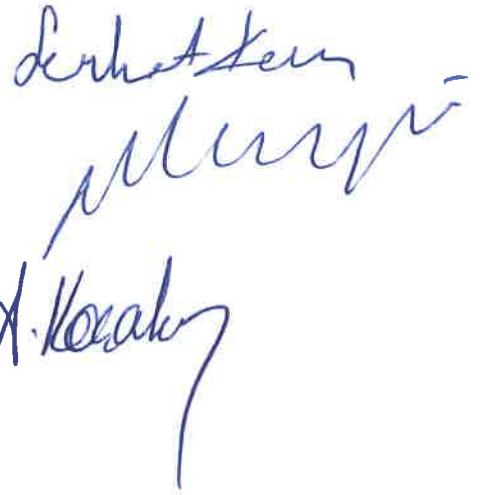
Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 08 Temmuz 2019

Tezin Savunulduğu Tarih: 25 Temmuz 2019

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serhat KESER
(Fırat Üni.)

Diğer Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Mustafa KARATEPE
(Fırat Üni.)

Dr. Öğr. Üyesi Alpaslan KOÇAK
(Bingöl Üni.)



TEMMUZ-2019

ÖNSÖZ

TÜBİTAK tarafından desteklenen bu tezde (TÜBİTAK Proje No:114Z124) Elazığ'da yetişen endemik *Scorzonera semicana* (yemlik), bitkisinin su, etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının antiradikal, antimikrobiyal ve antikanser özellikleri ve içerdikleri fitokimyasal bileşikler saptanmıştır. Bu tezin yürütülmesinde, çalışmalarımı yönlendiren, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen danışmanım sayın Doç. Dr. Serhat KESER'e, deneysel aşamaların gerçekleştirilmesinde katkıları olan Prof. Dr. Mustafa KARATEPE, Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ, Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ, Prof. Dr. Süleyman SANDAL, Doç. Dr. İsmail TÜRKOĞLU, Doç. Dr. Ömer KAYĞILI, Doç. Dr. Suat TEKİN ve Dr. Öğretim Üyesi Ersin DEMİR, ayrıca Kimya Bölüm Şefi Mehmet ORHAN ve Teknisyen Abdurrahman ÖKSÜZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans çalışmama 114Z124 nolu proje ile mali destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Oğuzhan KAK
ELAZIĞ – 2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET	V
SUMMARY	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
SEMBOLLER LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Genel Bilgiler	5
1.2. Serbest Radikaller.....	5
1.3. Antioksidanlar	6
1.4. <i>Scorzonera semicana</i> DC. (Yemlik)	8
2. MATERYAL ve METOD.....	10
2.1. Arazi Çalışmaları.....	10
2.1.1. Bitki Örneğinin Toplanma Detayları	10
2.2. Ekstraksiyon İşlemleri.....	10
2.3. Antiradikal Özelliklerin Belirlenmesi	10
2.3.1. DPPH* Yok Etme Aktivitesi	10
2.3.2. ABTS ^{•+} Yok Etme Aktivitesi	11
2.3.3. OH (Hidroksil) Yok Etme Aktivitesi	11
2.4. Fitokimyasal İçeriklerin Saptanması	12
2.4.1. Total Fenolik Bileşik Tayini	12
2.4.2. Total Flavonoid Tayini.....	12

2.4.3. Total Proantosiyanidin Tayini.....	12
2.4.4. Flavonoid ve Fenolik Asit Analizi.....	12
2.4.5. Fitosterol ve Yağda Çözünen Vitamin Analizi.....	13
2.4.6. Yağ Asidi İçeriğinin Belirlenmesi	13
2.4.6.1. Lipitlerin Ekstraksiyonu	13
2.4.6.2. Metil Esterleri Oluşumu	13
2.4.6.3. Metil Esterlerin Gaz Kromatografik Analizi	13
2.5. Antimikrobiyal Aktivitenin Saptanması.....	13
2.6. Antikanser Aktivitenin Saptanması.....	14
2.6.1. Hücre Tipleri	14
2.6.2. Hücrelerin Beslenmesi	14
2.6.3. Hücrelerin Pasajlanması.....	14
2.6.4. Örneklerin Kültür Ortamına Eklenmesi	14
2.6.5. MTT Testi	15
2.7. İstatistiksel Analizler	15
3. SONUÇLAR.....	16
3.1. <i>Scorzonera semicana</i> (Yemlik)'ya Ait Analiz Sonuçları.....	16
3.1.1. <i>S. semicana</i> 'nın Antiradikal Aktivite Sonuçları	16
3.1.2. <i>S. semicana</i> 'nın Fitokimyasal İçerik Sonuçları.....	16
3.1.3. <i>S. semicana</i> 'nın Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	18
3.1.4. <i>S. semicana</i> 'nın Antikanser Aktivite Sonuçları	19
4. TARTIŞMA	22
4.1. Antiradikal Aktivite.....	22
4.2. Fitokimyasal İçerik.....	24
4.3. Antimikrobiyal Aktivite	25
4.4. Antikanser Aktivite	26

5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	28
6. KAYNAKLAR.....	29
7. ÖZGEÇMİŞ.....	36

ÖZET

***Scorzonera semicana* DC. (Yemlik)'nın *In Vitro* Antiradikal, Antimikrobiyal, Antikanser Özellikleri ve Fitokimyasal İçeriğinin Saptanması**

Bu çalışmada Elazığ ve çevresinde yetişen ve sebze olarak tüketilen *Scorzonera semicana* (yemlik) bitkisinin su, etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının antiradikal, antimikrobiyal, antikanser özellikleri ile içerdiği fitokimyasal bileşikler incelendi. Ekstraktların antiradikal özellikleri DPPH, ABTS ve OH radikali yok etme testleri ile; antimikrobiyal özellikleri *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* bakterileri ve *Candida albicans* mayasına karşı saptandı. Bu bitkinin antikanser özellikleri MCF-7 (insan meme kanseri), HCT-116 (insan kolon kanseri), PC-3 (insan prostat kanseri) ve LNCaP (insan testis kanseri) hücreleri üzerinde *in vitro* şartlar altında MTT testiyle saptandı. Ayrıca bu bitkinin içerdiği vitaminler, steroller, flavonoidler, fenolik asitler ve yağ asitleri de tayin edildi.

Sonuçlara göre *S. semicana* su ve metanol ekstraktları ABTS radikali yok etmede; su, etanol ve metanol ekstraktları ise OH radikali yok etmede standart antioksidan BHT'den daha yüksek aktivite gösterdiği saptandı. Total flavonoid, total proantosiyanidin ve total fenolik içeriğin en yüksek *S. semicana* metanol ekstraktında olduğu belirlendi. *S. semicana* çiçeklerinin tüm ekstraktlarının *L. monocytogenes* bakterisine karşı standart antibiyotiklerden daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları gözlemlendi. Aynı bitkinin MCF-7, HCT-116 ve LNCaP kanser hücreleri üzerinde artan doza bağlı olarak çok etkili antikanser aktivite gösterdikleri belirlendi ($p<0.05$; $p<0.001$).

Anahtar Kelimeler: *S. semicana*, yemlik, antiradikal, antikanser, antimikrobiyal

SUMMARY

The Determination of *In Vitro* Antiradical, Antimicrobial, Anticancer Properties and Phytochemical Contents of *Scorzonera semicana* DC.

In this study, it was investigated that the antiradical, antimicrobial and anticancer properties with phytochemical compounds of the water, ethanol, methanol and acetone extracts of *Scorzonera semicana*, which grown in Elazig around and consumed as vegetables. The antiradical properties of the extracts were investigated via DPPH, ABTS, OH radical scavenging activities, their antibacterial properties were determined against several microorganisms, which are caused infection, such as *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* bacteria and *Candida albicans* yeast. Anticancer properties of these plants were determined by MTT assay on the MCF-7 (human breast cancer), HCT-116 (human colon cancer) and LNCaP (human prostate cancer) cells under *in vitro* conditions. In addition, it was assayed vitamins, sterols, flavonoids, phenolic acids and fatty acids contents of this plant.

According to study results, it was determined that *S. semicana* water and methanol extracts for scavenging of ABTS radical; *S. semicana* water, ethanol and methanol extracts for scavenging of OH radical showed higher activity than standard antioxidant BHT. It was observed that total flavonoid, total proanthocyanidin and total phenolic contents were found to be highest in *S. semicana* methanol extract. It was found that all extracts of *S. semicana* had higher antimicrobial activity than standard antibiotics against *L. monocytogenes*. It was determined that this plant showed very effective anticancer activity increasing dose-dependently on LNCaP, MCF-7, HCT-116 cancer cell lines ($p < 0.05$; $p < 0.001$).

Keywords: *S. semicana*, yemlik, antiradical, anticancer, antimicrobial

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Antioksidan gruplar ve görevleri 8

Şekil 1.2. *Scorzonera semicana* bitkisinin genel görünüşü..... 9

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.1. Antioksidanların sınıflandırılması.....	7
Tablo 3.1. <i>Scorzonera semicana</i> ekstraktlarının ABTS ^{•+} , OH [•] , DPPH [•] radikali yok etme aktiviteleri.....	16
Tablo 3.2. <i>Scorzonera semicana</i> 'nın total flavonoid, total proantosiyanidin ve total fenolik bileşik değerleri	17
Tablo 3.3. <i>Scorzonera semicana</i> 'nın flavonoit ve fenolik asit içerikleri (µg/g).....	17
Tablo 3.4. <i>Scorzonera semicana</i> 'nın yağda çözünen vitaminler, fitosterol ve yağ asidi içerikleri.....	18
Tablo 3.5. <i>Scorzonera semicana</i> ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri (mm zone) ...	19
Tablo 3.6. <i>Scorzonera semicana</i> ekstraktlarının insan prostat kanseri (LNCaP) üzerindeki antikanser aktiviteleri (Canlı hücre sayısı/24 saat).....	20
Tablo 3.7. <i>Scorzonera semicana</i> ekstraktlarının insan meme kanseri (MCF-7) üzerindeki antikanser aktiviteleri (Canlı hücre sayısı/24 saat).....	20
Tablo 3.8. <i>Scorzonera semicana</i> ekstraktlarının insan kolon kanseri (HCT-116) üzerindeki antikanser aktiviteleri (Canlı hücre sayısı/24 saat).....	21

SEMBOLLER LİSTESİ

A₀	: Kontrol absorbansı
A₁	: Numune absorbansı
ABTS	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ABTS^{•+}	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikali
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
DPPH	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil
DPPH[•]	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil radikali
GSH	: Redükte glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz enzimi
GSSG	: Okside glutatyon
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
LPO	: Lipid peroksidasyon
MDA	: Malondialdehit
O₂^{•-}	: Süperoksit radikali
OH[•]	: Hidroksil radikali
PBS	: Fosfat tamponu
SOD	: Süperoksit dismutaz enzimi
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TCA	: Triklorasetik asit

1. GİRİŞ

Bilimdeki hızlı gelişmelerle beraber sentetik antioksidanların hem tedavi amacıyla hem de gıda sektöründeki kullanımı da doğru orantılı bir şekilde artmıştır. Ancak sentetik antioksidanların neden oldukları toksik etkiler ve ileri dönemlerde neden oldukları kanser hastalığı bu antioksidanların kullanımına çeşitli sınırlamalar ve/veya yasaklamalar getirilmesine neden olmuştur. Bunun sonucunda doğal antioksidanlara özellikle bitkilerden elde edilen antioksidanlara yönelik ilgi artmış ve bu alandaki çalışmalar büyük bir ivme kazanmıştır. Ayrıca bitkisel kökenli antioksidan özelliğe sahip maddelerin aynı zamanda antimikrobiyal ve antikanser özellikler de taşıdığı saptanmıştır. Böylece doğal antioksidanların başlıca kaynağı bitkiler olmuştur. Çok sayıda meyve, sebze, bitkisel çay, tohumlar, yapraklar, çiçekler, baharatlar bu tip çalışmaların konusunu oluşturmuş ve bu bitki kısımlarının ihtiva ettiği vitaminler, steroller, yağ asitleri, flavonoidler, fenolik asitler, tokoferoller, karotenler vb. bileşiklerin miktar tayini, izolasyonu ve tanımlanması yapılmaya çalışılmıştır.

Canlı organizmalar yaşamlarını devam ettirmeye çalışırken fizyolojik ve metabolik olayları enzimler, hormonlar, vitaminler ve eser elementler gibi çeşitli bileşenler yardımıyla gerçekleştirip, bazı indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarını yapmak zorundadırlar. Canlıdaki bu redoks dengesindeki herhangi bir aksaklık veya değişim hücrelerin, dolayısıyla doku ve organların fonksiyonlarının bozulmasına neden olur. Eğer bu durum düzeltilmez ise ölüme bile sebebiyet verebilir (Gülçin, 2002). Bu sebeple canlılarda özellikle hücresel düzeyde birçok savunma ve koruma mekanizması mevcuttur. Bunlar canlıyı yaşamının devamlılığı için gerekli olan oksijen metabolizmasının toksik etkilerine karşı da korumaktadırlar (Fridovich, 1975). Oksijen metabolizmasının sonucu olarak meydana gelen ve koruma mekanizmaları tarafından etkisiz hale getirilemeyen oksidatif hasar yaşlanma, kanser vb. durumların da ana sebebini oluşturmaktadır. Bu sebeple canlı sistemlerde antioksidan savunma sistemlerinin incelenmesi ve geliştirilmesi ile alakalı bilimsel araştırmalar şimdilerde çok büyük bir önem taşımaktadır.

Bir canlı organizmada sürekli olarak reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller meydana geldiği gibi, bazı durumlarda çevre şartlarından dolayı da bu tür maddeler vücutta oluşabilmektedir. Serbest radikaller insanlarda damar tıkanıklığı, kanser, romatizma, sıtma vb. çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir. Ayrıca reaktif oksijen türlerinin aşırısı vücut dokularına ciddi ve kalıcı zararlar verebilmektedir. DNA, RNA, proteinler, karbohidratlar

ve lipitler gibi biyomoleküller oksidatif hasara uğradıklarında bazı zararlı ürünlere dönüşebilmektedirler. Örneğin, DNA 8-hidroksideoksiguanozine, lipitler izoprostanlara, proteinler ise yapıları değişen amino asitlere dönüşebilirler (Gülçin vd., 2002). Bu tip reaktif oksijen türlerinin üretilmesini ve oluşturacakları hasarı önlemek için canlı organizmalar çeşitli savunma sistemleri geliştirmişlerdir. Bu savunma sistemine antioksidan savunma sistemi, bu sistemdeki üyelere de antioksidanlar adı verilmektedir. Antioksidanlar reaktif oksijen türleri ve bunların oluşturacakları reaksiyonları belirli bir dengede tutmak için sürekli bir aktivite halindedirler. Canlı sistemlerdeki antioksidanlar oksijen metabolizması sırasında meydana gelen radikallerin de yok edilmelerine katkı sağlar. Bu antioksidan maddeler arasında E, A, C vitaminleri, Se elementi, GSH, katalaz, GSH-Px ve SOD enzimleri gibi maddeler sayılabilir (Byung, 1994).

Bitkiler içerdikleri çeşitli vitaminler (A, C, E, D, K gibi), karotenler, tokoferoller, fenoller ve flavonoidler sayesinde birçok hastalığa karşı koruma sağlarlar (Abushita vd., 1997). Canlı organizmalar besinler aracılığıyla askorbik asit, β -karoten ve α -tokoferol gibi antioksidanları alırlar ve bu maddeler SOD, GSH-Px ve CAT gibi antioksidan enzimlerle beraber oksidatif hasarı önleyip canlıyı korurlar (Meyer vd., 1998; Nakagawa vd., 1999). Bu bilgilere ek olarak antioksidan özelliğe sahip bileşiklerin ayrıca antibakteriyel, antimikrobiyal, antitümör, antiviral, antikanser, antialerjik, antiülser, antiproliferatif, antimetastaz ve antitümör aktivitelere sahip oldukları, kan basıncını düşürme gibi çeşitli fizyolojik özellikler gösterdiği birçok çalışma ile gösterilmiştir (Miyake vd., 1999).

Bitkilerin yaprak, meyve, çiçek, kabuk, gövde ve tohum gibi kısımlarında doğal antioksidanların bulunduğu ve bu bileşiklerin çok yüksek antioksidan aktivitelere sahip oldukları bilinmektedir (Larson, 1988; Ramarathnam vd., 1988; Pratt ve Hudson, 1990). Geçmişte yapılan ve halen devam eden çalışmalar, bolca meyve sebze tüketiminin bazı hastalıkların görülme riskini azalttığını, kanser, kalp damar hastalıkları ve ölüm oranlarında ciddi azalmalara sebep olduğunu göstermiştir. Ayrıca adı geçen hastalıklara yakalanma riski ile sebze-meyve tüketimi arasında ters bir orantının olduğu da belirlenmiştir. Bu özelliklerin sebze ve meyvelerin içerdiği tokoferoller, askorbik asit, vitaminler, karotenler, steroller, flavonoidler ve fenolikler gibi bazı temel bileşik gruplarından kaynaklandığı belirtilmiştir. Bu tür bileşikler bitkilerde bol miktarda bulunduğu için son yıllarda bitkilerin ve bitkilerden elde edilen doğal ürünlerin antioksidan, antimikrobiyal, antiradikal, antibakteriyel, antikanser ve antitümör aktivitelerinin incelenmesi, bu özellikleri sağlayan bileşiklerin izolasyonu ve

karakterizasyonu son zamanlarda büyük bir ilgi kazanmıştır. Özellikle halk arasında tedavi amaçlı kullanılan ve/veya gıda olarak tüketilen bitkiler bu tür çalışmaların odak noktasını teşkil etmektedir (Ames vd., 1993; Dragsted vd., 1993; Gülçin, 2002).

Bitkiler enfeksiyon vb. durumlarla karşılaştıkları zaman savunma tepkisi olarak çeşitli biyaktif maddeler üretirler ve bu maddeler antimikrobiyal etkiye de sahiptirler. Gelişmekte olan ve gelişmemiş ülkelerin çok büyük bir kısmında nüfuslarının yarısından fazlası halen bitkilerden elde edilen geleneksel ilaçları kullanmaktadırlar. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre dünya nüfusunu 4/5'lik kısmı günümüz şartlarında bile birincil sağlık bakımı için şifalı bitkilerden yararlanmaktadır. Ayrıca şifalı bitkiler dünyanın birçok ülkesinde büyük bir ekonomik gelir kaynağını da teşkil etmektedir. Bu nedenlerle son zamanlarda birçok bitkinin çiçek, yaprak, tohum, meyve, gövde vb. kısımlarının farklı çözücülerde hazırlanan ekstraktlarının Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve bazı maya mantarlarına karşı antimikrobiyal özelliklerinin incelendiği görülmektedir (Modi vd., 2012).

Doğal olmayan yollarla üretilen sentetik antibiyotiklerin kontrolsüz bir şekilde gelişigüzel kullanımı, bu antibiyotiklere dirençli birçok mikroorganizmanın ortaya çıkmasına sebep olmuştur (Karaman vd., 2003). Buna ek olarak istenmeyen yan etkiler, yüksek maliyet, sentetik antibiyotik kaynaklı aşırı hassasiyet, alerji ve bazı bağışıklık sistemi rahatsızlıkları bu tarz doğal olmayan antibiyotiklere olan ilgiyi ve bunların kullanımını azaltmıştır (Schinor vd., 2007). Bu sebeplerle bilim insanları yeni antibiyotiklerin üretilmesi için çalışmaya başlamışlardır. Bu amaçla biyoaktif olarak büyük potansiyeller taşıyan, maliyeti düşük ve daha az yan etkilere sahip olan bitkisel kökenli ilaçların keşfine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Sonuç olarak bilim dünyası halk arasında kullanılan tıbbi bitkilerin biyolojik özelliklerine ve bunlardan elde edilen bileşiklerin izolasyon ve karakterizasyonuna yönelmiştir (Essawi ve Srour, 2007). Bitkilerden elde edilen antimikrobiyal maddeler yüksek tedavi edici potansiyel taşırlar ve yıllardan beri halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde bu bitkiler kullanılmaktadırlar (Iwu vd., 1999). Bitkilerden veya bitki özlerinden elde edilen doğal ürünlerin kimyasal çeşitlilikleri oldukça fazladır ve bu nedenle yeni bir ilacın keşfi için sayısız olanak sunabilirler. Bu yüzden bilim insanları mikrobiyal enfeksiyonlar karşısında daha etkili ilaçlar üretmek için halk tıbbına daha ilgili yaklaşmaktadırlar. Bu amaçla bitkilerden elde edilen çeşitli fitokimyasal maddeler sağlık açısından çok büyük potansiyele sahip

olabilecekleri ve bazı enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecekleri düşünülmektedir (Modi vd., 2012).

Modern dünyadaki ölümlerin 1/5'inden fazlasını kanser oluşturur ve dünya nüfusunun yaklaşık 1/3'ünden fazlasını etkilemektedir. Kanserinin nedenleri arasında viral enfeksiyonlar, tütün (sigara) kullanımı, çeşitli kimyasallar, radyasyon, beslenme alışkanlıkları ve çevresel faktörler önde gelmektedir (Lemkebthomas vd., 2008). Kanserinin tedavisi dünyanın birçok yerinde kemoterapi, cerrahi müdahale ve radyoterapi ile gerçekleştirilmeye çalışılırken, geleneksel halk tıbbı gibi bazı alternatif tedavi yöntemleri de denenmektedir (Hilal vd., 2012). Kanserinin tedavisinde kullanılan en eski ilaçlar bitkilerdir. İlk olarak 1970lerde yapılan bilimsel araştırmalarda akciğer, lenfoma ve testis kanserine karşı etkili oldukları gösterilmiştir (Wen vd., 2011). Bu çalışmalar sonucunda bitkilerin hastanın vücut dengesini düzenledikleri, dokularda oluşan kanser kaynaklı tahribata karşı hastaların direncini yükselttikleri belirlenmiştir. Araştırma sonucunda bu bitkilerin antikanser özelliklerinin içerdikleri fitokimyasal bileşiklerden kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Tıbbi bitkiler hem ucuz hem de kolay ulaşılabilir olmaları sebebiyle kanser tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadırlar (Prema vd., 2011). Bu nedenle bilim insanları bitki kökenli doğal maddelerin araştırılması için bunların izolasyonu, karakterizasyonu ve antikanser özelliklerinin belirlenmesi için büyük çabalar sarfetmektedirler (Pandey ve Madhuri, 2009).

Sunulan tezde, halk arasında tüketilen *Scorzonera semicana* (yemlik) bitkisinin toprak üstü kısımlarının su, etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının antiradikal özelliklerinin (ABTS, OH ve DPPH radikallerine karşı), fitokimyasal bileşiklerinin (total fenolik bileşik, total flavonoid, total proantosyanidin, fenolik asitler, flavonoidler, yağda çözünen vitaminler, steroller ve yağ asitleri), antimikrobiyal özelliklerinin (*B. megaterium*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *S. aureus* bakterileri ve *C. albicans* mayasına karşı) ve antikanser özelliklerinin (LNCaP (insan prostat kanseri), MCF-7 (insan göğüs kanseri) ve HCT-116 (insan kolon kanseri) hücre serilerine karşı) *in vitro* olarak incelenmesi amaçlandı. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların kimya, biyokimya, tıp, biyoloji, botanik, mikrobiyoloji, eczacılık, onkoloji ve farmakoloji gibi bilim dallarındaki çalışmalara büyük katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

1.1. Genel Bilgiler

Bitkiler yaşamın sürmesi için elzem olan O₂'nin ve besinin büyük bir kısmını sağlarlar. Bunlara ek olarak antik çağlardan beri bitkiler tedavi amacıyla da kullanılmışlar ve bu durum günümüze kadar süregelmiştir. Son yıllarda hareketsiz yaşam, sağlıksız beslenme, ekolojik dengedeki bozulmalar ve aşırı stres insanların yaşam kalitesini düşürmüş ve birçok hastalığın görülme sıklığını da arttırmıştır. Bilim ve teknoloji alanındaki gelişmeler insanların yaşam kalitesini artırırken, insan sağlığına ve ömrüne aynı şekilde olumlu etki etmemiştir. Tıp alanında gerçekleşen büyük gelişmelerin insan sağlığına ve insan ömrüne büyük faydaları olmasına karşın, teknolojik gelişmelerin yanında yeni hastalıklar, rahatsızlıklar ve yaşam kalitesini azaltan çeşitli durumlar da ortaya çıkmıştır. Bu nedenle tıptaki gelişmelere rağmen son yıllarda alternatif tedavi deneyimleri ilgi çekmeye ve önemli hastalıkların tedavisinde uygulama alanı bulmaya başlamıştır. Bu uygulamalar sonunda olumlu ve önemli sonuçlar da elde edilmiştir. İnsanoğlu her hastalığın çaresinin olduğuna ve bunu doğada arayıp bulması gerektiğine antik çağlardan bu yana inanmakta ve buna yönelik araştırmalar yapmaktadır.

Türkiye’de tıbbi açıdan önem arz eden bitkilerin sayısı yaklaşık 1000 civarında olup bunların çok büyük bir kısmı doğada kendiliğinden yetişebilmektedir. Daha azı ise kültür bitkisi olarak üretilmekte ve ticareti yapılmaktadır (Baytop, 1984). Tıbbi ve aromatik bitkiler gıda ve meşrubat üretimi, ilaç sanayi, parfüm ve diğer kozmetiklerin sanayisi gibi birçok alanda kullanım alanı bulmaktadır. Günümüzde ilaç sektöründe üretilen ilaçların bir kısmının tedaviyi sağlayan etken maddesinin bitkisel kökenli olduğu belirtilmektedir. Bitkisel kökenli ilaçlar sentetik ilaçlara göre daha az yan etkiye sahiptirler ve daha az maliyetlidirler. Bu nedenle bitkisel kökenli ilaçlar ilgi odağı olmaya devam etmektedir (Çöllü, 2007).

1.2. Serbest Radikaller

Kimyasal olarak bir serbest radikal, bir veya birden fazla eşleşmemiş elektrona sahip atom veya moleküllerdir. Bu türlerin boş orbitalleri vardır ve bunu doldurup kararlı hale gelebilmek için başka moleküllerdeki elektronlara ihtiyaç duymaktadırlar. Bu sebeple serbest radikaller aşırı derecede reaktif ve kararsız moleküllerdir (Willcox vd, 2004). Bu radikaller canlı organizmalarda normal metabolik tepkimelerin sonucunda özellikle oksijen

metabolizması sırasında oluşabildikleri gibi bazen çevresel dış etkenler sebebiyle de oluşmaktadırlar. Serbest radikaller kısa yarılanma sürelerine sahiptirler, ancak çok kararsız ve aşırı reaktif olmaları nedeniyle çok kısa sürelerde canlı bir hücrenin bütün bileşenlerini etkileyebilirler. Örneğin memeliler oksijen metabolizmasına bağımlı oldukları için bu canlılardaki serbest radikaller oksijen kökenlidirler (Uysal, 1998). Bilindiği gibi oksijen canlıların çok büyük bir kısmının yaşamını sürdürebilmeleri için gereklidir ve bazı hücrel reaksiyonlar sonucunda suya dönüşmekte ve böylece hücre kendisi için gerekli olan enerjiyi kazanmaktadır. Fakat bu zincirleme reaksiyonlar sırasında hücredeki oksijenin yaklaşık %1-3 kadarı suya dönüşmez ve hidroksil radikali, süperoksit anyonu gibi serbest radikallere dönüşür (Nakazawa vd., 1996). Sayılan olumsuz etkilerinin yanında, serbest radikaller hücrelerin normal metabolik reaksiyonları sırasında bazı faydalı biyokimyasal olaylara da katkı sağlarlar. Örneğin oksijen metabolizması sonucunda meydana gelen serbest radikaller bağışıklık sisteminin antijenlere mücadelesine yardımcı olurlar. Serbest radikaller normal metabolik yollarla veya dış etmenlerin etkisiyle hücrenin etkisiz hale getirebileceğinden daha fazla miktarda oluşursa hücrede oksidatif stres denen durum oluşur ve bu durum hücre tahribatına yol açabilir. Bu tahribattan hücredeki bütün bileşenler karbohidratlar, yağlar, nükleik asitler ve proteinler geri dönüşümsüz olarak etkilenebilirler (Nelson ve Cox, 2004).

1.3. Antioksidanlar

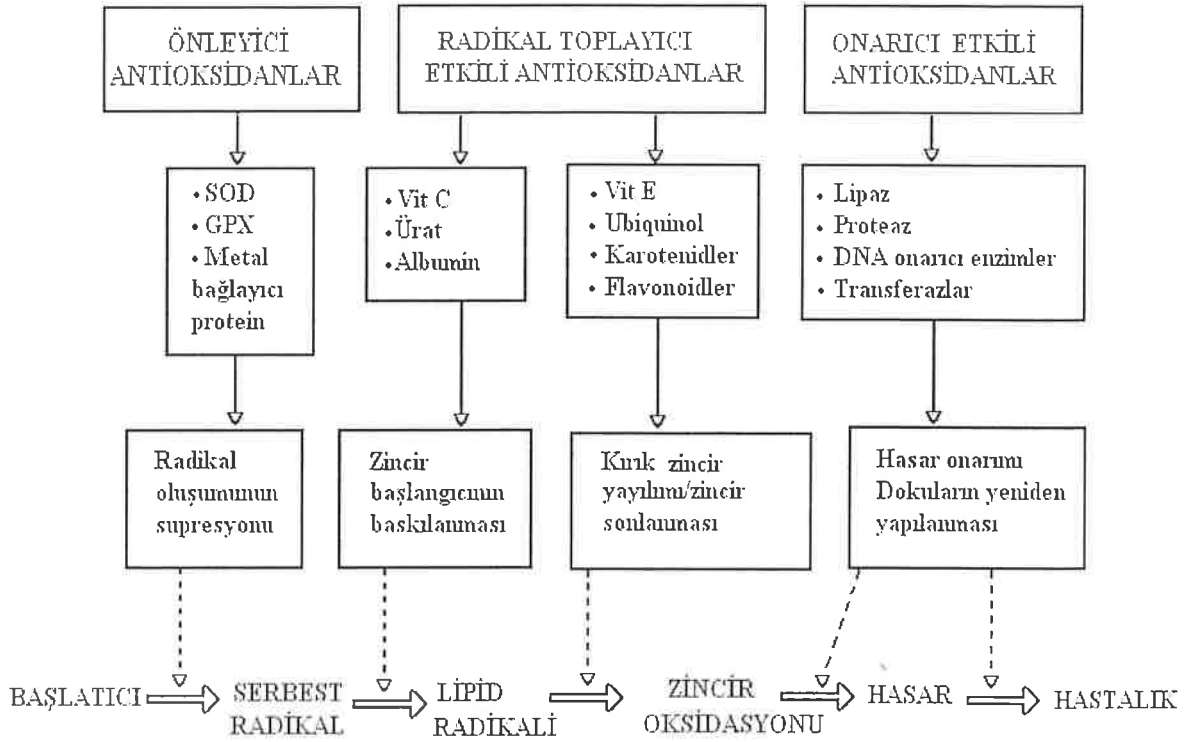
Biyokimyasal olarak antioksidanlar karbohidratlar, nükleik asitler, proteinler ve lipitler gibi biyomoleküllerin oksidasyonuna önleyen ve onları koruyan maddelere denir (Çavdar vd., 1997). Sebze ve meyvelerde antioksidan moleküller bol miktarda bulunduğu için bunların tüketilmesi insanları serbest radikallerin oluşturabileceği doku ve hücre hasarlarına karşı korumaktadır (Rang vd., 2006). Antioksidanların sentetik olanları işlenmiş gıdalarda oksidasyonla bozulmayı önleyip raf ömrünü uzattığı için katkı maddesi olarak kullanılırlar. Örneğin propil gallat (PH), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), *t*-bütillhidrokinon (TBHQ) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) sıklıkla gıda işleminde kullanılan sentetik antioksidanlar arasında yer almaktadırlar. Ancak sentetik antioksidanların ve oluşturdukları bazı yan ürünlerin birçok kanser türünün görülmesini tetiklediği yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Öztürk vd., 2007; Tepe vd., 2007). Bu nedenle sentetik antioksidanlar yerine bitkisel ürünlerden elde edilen doğal

antioksidanların keşfedilmesi, tanımlanması ve üretilmesi son yıllarda büyük bir ivme kazanmıştır. Örneğin askorbik asit (C vitamini) ve tokoferoller (E vitamini türevleri) bu amaçlar için kullanılan doğal antioksidan maddeler arasında yer almaktadırlar. Ayrıca fenolik bileşikler, bazı aminoasitler, flavonoidler, karotenoidler ve bazı enzimler (SOD, GSH-Px ve CAT) diğer önemli doğal antioksidanlardır (Riesche vd., 2002).

Tablo 1.1. Antioksidanların sınıflandırılması

ANTIOKSIDANLAR			
Vücutta Bulunan Antioksidanlar		Besin Kaynaklı Antioksidanlar	
Enzimler	Küçük Moleküller	Sentetik	Doğal
Katalaz	Askorbik Asit	BHA	Tokoferoller
Peroksidaz	Glutasyon	BHT	Karotenler
Süperoksit Dismutaz	Ürik Asit	TBHQ	Fenoller
Glutasyon Peroksidaz	Metal Bağlayıcılar	Propil Gallat	Flavonlar
Glutasyon Redüktaz	(Hmg ve Myg gibi)	Kuersetin	Kateşin

Organizmada serbest radikal ve türevleri oluştuğu zaman canlıyı oluşabilecek oksidatif strese korumak için antioksidan savunma sistemi devreye girmektedir. İlk savunma hattını serbest radikallerin oluşmasını engelleyecek antioksidanlar oluşturmaktadır. İkinci savunma hattını ise C ve E vitamini gibi antioksidanlar oluşturur ve bunlar zincir oksidasyonun başlamasını önlemeye ve yayılımını engellemeye çalışırlar. Üçüncü ve son savunma hattını ise oluşan hasarı onarmaya ve/veya eski haline getirmeye çalışan proteazlar, transferazlar, lipazlar ve DNA onaran enzimler gibi antioksidanlar oluşturlar (Şekil 1.1 ve Tablo 1.1) (Fridovich, 1975).



Şekil 1.1. Antioksidan gruplar ve görevleri

1.4. *Scorzonera semicana* DC. (Yemlik)

Papatyagiller (Asteraceae) familyasına ait bitki genusu olan *Scorzonera*, Akdeniz Bölgesi orijinli olup, Orta Avrupa'dan Orta Asya'ya kadar olan alanda geniş bir yayılım göstermektedir. Adını, İspanyolca siyah kabuk manasına gelen “escorza nera” kelimelerinden almaktadır. Bu cins Dünya üzerinde 175'den fazla türle temsil edilmekte, Türkiye'de ise 49 türü bulunmaktadır. Ülkemizdeki türlerin bazıları endemiktir (Davis, 1988; Makbul vd., 2010; Makbul vd., 2011).

Scorzonera genusuna ait bazı türlerin kökleri ve yeşil tomurcukları yenilebilmektedir. 17. yüzyıldan beri Avrupa ülkelerinin bazılarında sebze olarak yetiştirilip, gıda olarak tüketilmektedirler. Yine Avrupa ve Asya'da kahvenin yanında, çesni olarak ve tat arttırıcı içecek takviyesi olarak tüketilmektedirler (Bader vd., 2011; Paraschos vd., 2001; Zidorn vd., 2003).

Scorzonera türlerinin halk arasında akciğer hastalıklarının, soğuk algınlığının, mide rahatsızlıklarının ve yaraların tedavisinde kullanıldıkları belirtilmektedir. Ayrıca diüretik, antipiretik ve iştah açıcı özelliklerinin olduğu da bilinmektedir (Zidorn vd., 2000; Zidorn vd., 2003).

Ülkemizde ise *Scorzonera* türlerinin kültürü yapılmakta ve sebze olarak tüketildikleri bilinmektedir. Anadolu’da bazı türlerin kökleri ve taze sürgünleri yemlik adıyla taze veya pişmiş olarak tüketilmektedir. Gıda olarak tüketilmelerinin yanı sıra halk arasında damar sertliği, yüksek tansiyon, romatizma, böbrek ve şeker hastalıklarının tedavisinde kullanıldıklarına dair kayıtlar vardır (Bahadır, 2009).

Şekil 1.2’de *Scorzonera semicana* türünün genel görünüşü yer almaktadır. *Scorzonera* türleri üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde 49 türün yetiştiği ülkemizde *S. latifolia*, *S. tomentosa*, *S. mollis* ve *S. ruberosa* türlerinin biyolojik aktivitelerinin belirlenmeye çalışıldığı görülmektedir (Bahadır, 2009). Ayrıca *S. undulata* bitkisinin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin (Harkati vd., 2010; Abdelkader vd., 2010), *S. divaricata* bitkisinin ise radikal yok etme ve sitotoksikite aktivitelerinin (Yang vd., 2013) incelendiği tespit edilmiştir.



Şekil 1.2. *Scorzonera semicana* bitkisinin genel görünüşü

2. MATERYAL ve METOD

2.1. Arazi Çalışmaları

Elazığ ili, Sivrice ilçesi ve çevresinden aşağıda detayları belirtildiği gibi *Scorzonera semicana* (Yemlik) endemik bitkisi toplanmıştır.

2.1.1. Bitki Örneğinin Toplanma Detayları

Scorzonera semicana (Yemlik): **05.05.2016** Elazığ-Sivrice arası, Gözeli Ovası, Şirinyazı-Kamışlık Dağı Arası, Yol Kenarı. Rakım:1650 metre

Toplanan bitki oda sıcaklığında ve gölgede kurutuldu. Kurutulan bitki örnekleri ekstraksiyon işlemlerine kadar saklandı.

2.2. Ekstraksiyon İşlemleri

S. semicana bitkisinin ekstraksiyonu için blendırda öğütölüp toz haline getirilen örnekler 25 g ağırlığında tartıldı ve 250 mL çözücü ile (su, etanol, metanol ve aseton) homojenize edildi. Oluşan homojenat 5000 rpm’de santrifüj edildi. Santrifüj sonunda supernatant kısımlar alınarak çözücüleri uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstraktlar derin dondurucuda muhafaza edildi ve çalışılacağı zaman µg/mL konsantrasyonunda çözölerek analize hazır hale dönüştürölldü.

2.3. Antiradikal Özelliklerin Belirlenmesi

Ekstraktların antiradikal özellikleri Shimadzu marka UV-1700 Spectrophotometer cihazı yardımıyla spektrofotometrik olarak belirlendi.

2.3.1. DPPH• Yok Etme Aktivitesi

DPPH• radikali yok etme aktivitesi Shimada vd. (1992) metoduna göre gerçekleştirildi. Bunun için 1 mM’lık DPPH• çözeltisi hazırlandı. Deney tüplerine 3 mL DPPH• çözeltisi ilave edilip üzerine 500 µg/mL ekstrakt eklendi. Örnekler 30 dk karanlıkta

ve oda sıcaklığında bekletildikten sonra 517 nm’de absorbensları UV spektrofotometresinde ölçülerek kaydedildi. Bitki ekstraktlarının DPPH• radikali yok etme aktiviteleri aşağıdaki formül yardımıyla % cinsinden hesaplandı:

$$\% \text{DPPH}^\bullet \text{ Yok Etme Aktivitesi} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

A_0 = Kontrolün absorbens değeri

A_1 = Ekstre ilave edildikten sonraki absorbens değeri

2.3.2. ABTS^{•+} Yok Etme Aktivitesi

ABTS^{•+} radikali yok etme aktivitesi Yu vd. (2002) metoduna göre gerçekleştirildi. Bunun için K₂S₂O₈ ve ABTS çözeltileri 1:1 (v/v) oranında karıştırılarak karanlıkta ve oda sıcaklığında 12-16 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda oluşan ABTS^{•+} radikali çözeltisi etil alkolle seyreltilerek absorbensı 1.660±0.02 değerine ulaştırıldı. Elde edilen bu seyreltik çözelti kontrol olarak kullanıldı. Deney tüplerine bu çözeltiden 4 mL bırakıldı ve üzerlerine 500 µg/mL ekstrakt eklendi. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat inkübe edilen örneklerin UV spektrofotometresinde 734 nm’de absorbensları ölçülerek kaydedildi. Bitki ekstraktlarının ABTS^{•+} radikali yok etme aktiviteleri aşağıdaki formül yardımıyla % cinsinden hesaplandı:

$$\% \text{ABTS}^{\bullet+} \text{ Yok Etme Aktivitesi} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

A_0 = Kontrolün absorbens değeri

A_1 = Ekstre ilave edildikten sonraki absorbens değeri

2.3.3. OH (Hidroksil) Yok Etme Aktivitesi

OH• radikali yok etme aktivitesi Halliwell vd. (1987) metoduna göre gerçekleştirildi. Buna göre reaksiyon karışımı 500 µL bitki ekstraktı, 500 µL 3.6 mM deoksiriboz, 200 µL 100 µM FeCl₃, 200 µL 104 mM EDTA, 100 µL 1 mM H₂O₂ ve 100 µL 1 mM askorbik asit çözeltilerinin sırasıyla deney tüplerine eklenip vortekste iyice karıştırılmasından oluşturuldu. Daha sonra 37 °C’deki etüvde 1 saat bekletilen örneklerin üzerine 1 mL %2.8 TCA ve 1 mL %1.0 TBA çözeltileri ilave edildi. 50 °C’deki su banyosunda 30 dk bekletilen örneklerin üzerine 3 mL bütanol eklendi ve reaksiyon ortamı bütanol fazına alındı. Örneklerin absorbensı 532 nm’de UV spektrofotometresi yardımıyla ölçülerek

kaydedildi. Bitki ekstraktlarının OH[•] radikali yok etme aktiviteleri aşağıdaki formül yardımıyla % cinsinden hesaplandı

$$\% \text{ OH}^{\bullet} \text{ Yok Etme Aktivitesi} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ = Kontrolün absorbans değeri

A₁ = Ekstre ilave edildikten sonraki absorbans değeri

2.4. Fitokimyasal İçeriklerin Saptanması

2.4.1. Total Fenolik Bileşik Tayini

S. semicana ekstraktlarının içerdiği total fenolik bileşik miktarları tayini Slinkard ve Singleton (1977) metoduna göre gerçekleştirildi. Örneklerin içerdikleri total fenolik bileşik miktarları gallik asit eşdeğeri (mg gallik asit/g ekstrakt) olarak hesaplandı.

2.4.2. Total Flavonoid Tayini

S. semicana ekstraktlarının içerdiği total flavonoid miktarları tayini Kim vd. (2003) metoduna göre gerçekleştirildi. Bitki ekstraktlarının ihtiva ettiği total flavonoid miktarları µg catechin/g ekstrakt olarak hesaplandı.

2.4.3. Total Proantosiyanidin Tayini

S. semicana ekstraktlarının içerdiği total proantosiyanidin miktarları tayini Amaeze vd. (2011) metoduna göre gerçekleştirildi. Bitki örneklerinin içerdiği total proantosiyanidin miktarları µg catechin / g ekstrakt olarak hesaplandı.

2.4.4. Flavonoid ve Fenolik Asit Analizi

S. semicana ekstraktlarının içerdiği flavonoid ve fenolik asitlerin analizi HPLC cihazı yardımıyla Zu vd. (2006) metoduna göre gerçekleştirildi. Analiz sonunda elde edilen kromatogramların analizi alıkonma sürelerinin ve UV spektrumlarının standartlarla karşılaştırılması ile yapıldı. Sonuçlar µg/g ekstrakt şeklinde ifade edildi.

2.4.5. Fitosterol ve Yağda Çözünen Vitamin Analizi

S. semicana'nın içerdiği fitosteroller ve yağda çözünen vitaminlerin analizi Katsanidis ve Addis (1999) metoduna göre HPLC cihazında gerçekleştirildi. UV dedektörde analiz edilen örneklerin içerdiği fitokimyasallar $\mu\text{g/g}$ ekstrakt şeklinde hesaplandı ve ifade edildi.

2.4.6. Yağ Asidi İçeriğinin Belirlenmesi

2.4.6.1. Lipitlerin Ekstraksiyonu

S. semicana'nın içerdiği yağ asitlerinin belirlenebilmesi için, bitki örneklerinden lipitlerin ekstraksiyonu yapılmalıdır. Bunun Hara ve Radin (1978) metoduyla lipitler bitkisel örneklerden ekstrakte edildi.

2.4.6.2. Metil Esterleri Oluşumu

Yağ asitlerinin gaz kromatografisi cihazıyla analiz edilebilmesi için metil esterlerine dönüştürülmeleri gerekmektedir. Metil esterlerine dönüşüm Christie (1992) metoduna göre gerçekleştirildi.

2.4.6.3. Metil Esterlerin Gaz Kromatografik Analizi

S. semicana'nın yağ asitleri metil esterlerine çevrildikten sonra SHIMADZU marka gaz kromatografisi cihazıyla analiz edildi. Sonuçlar, hem bitkinin içerdiği yağ asitlerinin tespitini hem de bu yağ asitlerinin % cinsinden miktarlarını içerecek şekilde hesaplandı ve ifade edildi.

2.5. Antimikrobiyal Aktivitenin Saptanması

S. semicana ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerin *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* bakterileri ve *Candida*

albicans mayasına karşı disk difüzyon metoduyla belirlendi (Collins ve Lyne, 1989). Standart antibiyotikler olarak streptomisin sülfat (10 mg/disk) ve nystatin (30 mg/disk) kullanıldı. Analiz sonunda besiyerinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak değerlendirildi.

2.6. Antikanser Aktivitenin Saptanması

2.6.1. Hücre Tipleri

S. semicana ekstraktlarının antikanser aktivitelerinin belirlenebilmesi için insan prostat kanseri (LNCaP), insan meme kanseri (MCF-7) ve insan kolon kanseri (HCT-116) hücre serileri American Type Culture Collection (ATCC)'den temin edildi ve kullanıldı.

2.6.2. Hücrelerin Beslenmesi

Besiyeri olarak içine %10 FBS, %1 penisilin streptomisin ve %1 non esansiyal amino asitler eklenen RPMI-1640 medyum kullanıldı.

2.6.3. Hücrelerin Pasajlanması

Hücrelerin üzerine tripsin eklendi ve tripsinin etkisini azaltmak için medyumla ortam seyreltilti. Daha sonra hücrelerin canlılık oranları %0.4 tryphan blue ile belirlendi ve canlılık oranı %90 ve üzerinde olunca deneylere başlandı. Ardından hücreler falkon tüplerine alındı, santrifüj edildi ve 96 well platelere ekimleri yapıldı.

2.6.4. Örneklerin Kültür Ortamına Eklenmesi

S. semicana (Yemlik) toprak üstü kısımlarının su, etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının 1, 5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL'lik konsantrasyonları hücrelerin içinde bulunduğu 96 well platelere eklendi ve 24 saat 37 °C'de inkübe edildi. Bu sürenin sonunda hücrelerin canlılık oranlarında meydana gelen değişimler % olarak MTT testiyle saptandı.

2.6.5. MTT Testi

MTT testi için steril PBS içindeki stok MTT çözeltisinden 0.5 mg/mL çalışma çözeltisi hazırlandı ve bitki ekstraktı ile çözücü/kontrol hücrelerinin bulunduğu well plate'lere eklendi. İnkübatörde 3 saat bekletilen hücrelerin optik dansiteleri UV spektrofotometresinde 550 nm'de ölçüldü (Mosmann, 1983). Örneklerden elde edilen absorbanslar kontrol absorbansına oranlandı ve yüzde canlılık olarak ifade edildi.

2.7. İstatistiksel Analizler

Analiz sonuçları SPSS Statistics 17.0 for Windows paket programı ile değerlendirildi. Radikal giderme testlerinde gruplar arasındaki karşılaştırma varyans analizi (ANOVA) ve DMRT testleri kullanılarak gerçekleştirildi. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.S (standard sapma) olarak ifade edildi.

Antikanser aktivite sonuçları ise KOLMOGOROV SMİRNOV testi ile değerlendirildi. Grupların karşılaştırılması tek yönlü varyans analizi ile yapıldı. Varyansların homojenliği ise LEVENE testi ile analiz edildi. Tek yönlü varyans analizi sonrası varyansların homojen olmadığı gözlemlendi ve çoklu karşılaştırmalar için TAMHANE T2 testi kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi. Veriler ortalama $\pm$ S.S (standard sapma) olarak alındı.

3. SONUÇLAR

3.1. *Scorzonera semicana* (Yemlik)'ya Ait Analiz Sonuçları

3.1.1. *S. semicana*'nın Antiradikal Aktivite Sonuçları

S. semicana'nın su, etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının 500 µg/mL'lik konsantrasyonda antiradikal aktivite sonuçları Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Buna göre ABTS^{•+} radikali yok etme testinde *S. semicana* su ve metanol ekstraktları (%94.81, %98.87, sırasıyla) standart antioksidan BHT'den (%93.24) daha yüksek radikal yok etme aktivitesi gösterirken, OH[•] radikali yok etme testinde *S. semicana* su, etanol ve metanol ekstraktları (%84.97, %84.29, %84.62, sırasıyla) BHT'den (%75.77) daha yüksek aktivite göstermiştir. DPPH[•] radikali yok etme testinde ise standart antioksidan BHT, bütün ekstraktlardan daha yüksek aktivite göstermiştir.

Tablo 3.1. *Scorzonera semicana* ekstraktlarının ABTS^{•+}, OH[•], DPPH[•] radikali yok etme aktiviteleri

Örnekler	ABTS ^{•+} Yok Etme (%) (500 µg/mL)	OH [•] Yok Etme (%) (500 µg/mL)	DPPH [•] Yok Etme (%) (500 µg/mL)
<i>S. semicana</i> Su	94.81±0.94 ^b	84.97±0.73 ^a	75.07±0.92 ^c
<i>S. semicana</i> Etanol	74.24±0.56 ^c	84.29±0.52 ^a	30.14±1.85 ^d
<i>S. semicana</i> Metanol	98.87±0.21 ^a	84.62±0.25 ^a	89.48±0.74 ^b
<i>S. semicana</i> Aseton	29.49±4.05 ^d	47.28±1.02 ^c	24.10±1.33 ^c
BHT	93.24±0.20 ^b	75.77±0.12 ^b	95.21±0.33 ^a

Aynı harfli gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktur; p<0.001

3.1.2. *S. semicana*'nın Fitokimyasal İçerik Sonuçları

S. semicana bitkisinin total flavonoid, total proantosiyanidin ve total fenolik bileşik içerikleri Tablo 3.2'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre *S. semicana* su, etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarları sırasıyla, 122.92 mg GAE/g ekstrakt, 76.31 mg GAE/g ekstrakt, 134.89 mg GAE/g ekstrakt ve 50.75 mg GAE/g ekstrakt şeklinde, toplam flavonoid miktarları sırasıyla, 4953.45 µg CE/g ekstrakt, 1621.58 µg CE/g ekstrakt, 5555.34 µg CE/g ekstrakt ve 927.25 µg CE/g ekstrakt şeklinde, toplam

proantosiyonidin miktarları sırasıyla, 826.33 µg CE/g ekstrakt, 1034.11 µg CE/g ekstrakt, 1860.78 µg CE/g ekstrakt ve 1669.67 µg CE/g ekstrakt şeklinde belirlenmiştir.

Tablo 3.2. *Scorzonera semicana*'nın total flavonoid, total proantosiyonidin ve total fenolik bileşik değerleri

Örnekler	Total Flavonoid	Total Proantosiyonidin	Total Fenolik
<i>S. semicana</i> Su	4953.45±5.85	826.33±1.07	122.92±0.93
<i>S. semicana</i> Etanol	1621.58±2.92	1034.11±2.23	76.31±0.85
<i>S. semicana</i> Metanol	5555.34±4.74	1860.78±2.79	134.89±0.69
<i>S. semicana</i> Aseton	927.25±1.99	1669.67±1.75	50.75±0.32

Total flavonoid ve total proantosiyonidin sonuçları µg catechin/g ekstrakt, total fenolik bileşik sonucu ise mg gallik asit/g ekstrakt şeklinde ifade edilmiştir.

S. semicana'nın flavonoid ve fenolik asit içerikleri Tablo 3.3'de gösterilmiştir. Buna göre *S. semicana* bitkisinin flavonoid olarak morin (1.10 µg/g), kuersetin (2.05 µg/g), kaempferol (6.65 µg/g), naringin (0.90 µg/g), naringenin (1.05 µg/g) ve resveratrol (1.05 µg/g) ihtiva ettiği, fenolik asit olarak ise vanilik asit (9.90 µg/g), kafeik asit (39.40 µg/g) ve ferulik asit (243.65 µg/g) içerdiği belirlenmiştir.

Tablo 3.3. *Scorzonera semicana*'nın flavonoid ve fenolik asit içerikleri (µg/g)

İçerik	Miktar
Morin	1.10±0.10
Kuersetin	2.05±0.15
Kaempferol	6.65±0.20
Naringin	0.90±0.05
Naringenin	1.05±0.05
Resveratrol	1.05±0.10
Vanilik Asit	9.90±0.25
Kafeik Asit	39.40±1.05
Ferulik Asit	243.65±2.20

S. semicana'nın vitamin, sterol ve yağ asidi içerikleri Tablo 3.4'de gösterilmiştir. Buna göre *S. semicana*'nın yağda çözünen vitamin olarak retinol (0.10 µg/g), α-tokoferol (0.05 µg/g), δ-tokoferol (0.05 µg/g), D (0.10 µg/g) ve K vitamini (0.10 µg/g) içerdiği, fitosterol olarak ise ergosterol (89.70 µg/g) ve stigmasterol (4.95 µg/g) ihtiva ettiği saptanmıştır. *S. semicana*'nın yağ asitlerinin ise %20.66 palmitik asit (16:0), %4.21 palmitoleik asit (16:1), %10.16 stearik asit (18:0), %25.58 oleik asit (18:1), %30.42

linoleik asit (18:2), %8.97 linolenik asit (18:3), %30.82 toplam doymuş yağ asitleri, %69.18 toplam doymamış yağ asitleri şeklinde olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.4. *Scorzonera semicana*'nın yağda çözünen vitaminler, fitosterol ve yağ asidi içerikleri

Fitokimyasal İçerik (µg/g)	<i>Scorzonera semicana</i>
Retinol	0.10±0.00
δ-tocopherol	0.05±0.00
α-tocopherol	0.05±0.00
Vitamin K	0.10±0.00
Vitamin D	0.10±0.00
Ergosterol	89.70±1.35
Stigmasterol	4.95±0.05
Yağ Asitleri (%)	
16:0	20.66±1.22
16:1	4.21±0.07
18:0	10.16±0.84
18:1	25.58±2.00
18:2	30.42±2.24
18:3	8.97±0.94
Doymuş FA	30.82
Doymamış FA	69.18

3.1.3. *S. semicana*'nın Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

S. semicana ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 3.5'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre *S. semicana*'nın su ekstraktının *E. coli*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae* ve *B. megaterium* bakterileri üzerinde, aseton ekstraktının ise *E. coli*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* ve *B. megaterium* bakterileri üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *S. semicana* etanol ve metanol ekstraktlarının ise *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *B. megaterium* ve *S. aureus* bakterileri ve *C. albicans* mayası üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Tablo 3.5. *Scorzonera semicana* ekstrelerinin antimikrobiyal aktiviteleri (mm zone)

Örnekler	<i>S. semicana</i> Su	<i>S. semicana</i> Etanol	<i>S. semicana</i> Metanol	<i>S. semicana</i> Aseton	Standart
<i>Escherichia coli</i>	8	10	11	9	10
<i>Proteus vulgaris</i>	-	8	9	-	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	9	10	8	15
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	11	12	9	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	8	10	8	9
<i>Bacillus subtilis</i>	-	8	9	8	9
<i>Bacillus megaterium</i>	8	9	10	8	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	8	9	-	12
<i>Candida albicans</i>	-	8	9	-	10

Streptomisin sülfat (10 mg/disk) ve Nystatin (30 mg/disk) standart antibiyotik diskler olarak kullanılmıştır.

3.1.4. *S. semicana*'nın Antikanser Aktivite Sonuçları

S. semicana'nın su, etanol, metanol ve aseton çözücülerinde ayrı ayrı hazırlanan ekstraktlarının LNCaP hücre canlılığında meydana getirdiği değişiklikler Tablo 3.6'da gösterilmiştir. Su ve asetonda hazırlanan ekstraktların sadece 25, 50, 75 ve 100 µg/mL'lik konsantrasyonlarının hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı belirlenirken, etanol ekstraktının 1 ve 5 µg/mL'lik konsantrasyonlar hariç, metanol ekstraktının ise 1 µg/mL'lik konsantrasyon hariç geriye kalan bütün konsantrasyonlarda (5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL) hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı gözlemlendi.

Tablo 3.6. *Scorzonera semicana* ekstraktlarının insan prostat kanseri (LNCaP) üzerindeki antikanser aktiviteleri (Canlı hücre sayısı/24 saat)

Örnekler (n=10)	<i>S. semicana</i> Su	<i>S. semicana</i> Etanol	<i>S. semicana</i> Metanol	<i>S. semicana</i> Aseton
Çözücü/Kontrol	95.61±1.73	95.87±1.81	92.12±1.58	91.94±2.16
1 µg/mL	97.96±3.58	101.45±5.74	86.60±3.40	93.99±2.90
5 µg/mL	93.48±5.21	99.37±2.45	74.53±3.39*	93.69±2.22
10 µg/mL	90.19±0.89	65.99±2.00*	49.85±3.05*	88.15±2.47
25 µg/mL	81.03±5.23*	50.36±3.82*	14.04±2.04**	73.18±3.73*
50 µg/mL	60.17±4.26*	3.09±0.50**	2.63±0.39**	2.92±0.84**
75 µg/mL	39.12±1.84**	3.07±0.21**	2.55±0.71**	2.59±0.12**
100 µg/mL	22.13±1.67**	2.97±0.47**	2.24±0.29**	2.44±0.29**

(Değerler ortalama ± SS olarak ifade edildi. *p<0.05, **p<0.001; Çözücü kontrole kıyasla diğer gruplar)

S. semicana'nın MCF-7 hücreleri üzerindeki etkileri Tablo 3.7'de sunulmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda *S. semicana* etanol ekstraktının 1 ve 5 µg/mL'lik konsantrasyonlar hariç, metanol ekstraktının ise 1 µg/mL'lik konsantrasyon hariç geriye kalan bütün konsantrasyonlarda (5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL) hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı gözlemlendi. *S. semicana* su ve aseton ekstraktlarının bütün konsantrasyonlarda (1, 5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL) MCF-7 hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı saptandı.

Tablo 3.7. *Scorzonera semicana* ekstraktlarının insan meme kanseri (MCF-7) üzerindeki antikanser aktiviteleri (Canlı hücre sayısı/24 saat)

Örnekler (n=10)	<i>S. semicana</i> Su	<i>S. semicana</i> Etanol	<i>S. semicana</i> Metanol	<i>S. semicana</i> Aseton
Çözücü/Kontrol	94.46±2.79	93.11±2.00	94.18±2.39	93.64±3.28
1 µg/mL	80.05±3.48*	93.06±3.41	87.53±3.52	79.04±5.08*
5 µg/mL	70.52±6.32*	91.58±4.60	77.88±5.76*	62.94±5.46*
10 µg/mL	62.24±2.22*	70.18±2.99*	71.24±2.65*	50.97±5.02*
25 µg/mL	56.24±1.62*	30.91±8.31**	65.97±4.28*	13.36±2.66**
50 µg/mL	25.92±3.31**	4.29±1.29**	18.99±3.35**	7.40±1.54**
75 µg/mL	20.17±0.87**	4.22±1.01**	11.17±1.36**	7.31±1.09**
100 µg/mL	12.57±1.47**	4.19±1.06**	5.22±1.05**	7.34±2.11**

(Değerler ortalama ± SS olarak ifade edildi. *p<0.05, **p<0.001; Çözücü kontrole kıyasla diğer gruplar)

S. semicana'nın HCT-116 hücreleri üzerindeki etkileri Tablo 3.8'de gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda *S. semicana* su ekstraktının sadece 25, 50, 75 ve 100 µg/mL'lik konsantrasyonlarının hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı belirlenirken, aseton ekstraktının ise 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL'lik konsantrasyonlarının hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı gözlemlendi. Etanol ekstraktının 1 µg/mL'lik konsantrasyonlar hariç, metanol ekstraktının ise bütün konsantrasyonlarda (1, 5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL) hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı saptandı.

Tablo 3.8. *Scorzonera semicana* ekstraktlarının insan kolon kanseri (HCT-116) üzerindeki antikanser aktiviteleri (Canlı hücre sayısı/24 saat)

Örnekler (n=10)	<i>S. semicana</i> Su	<i>S. semicana</i> Etanol	<i>S. semicana</i> Metanol	<i>S. semicana</i> Aseton
Çözücü/Kontrol	96.21±2.17	94.66±1.92	93.58±2.27	93.19±1.14
1 µg/mL	90.75±2.18	90.19±1.42	80.66±2.35*	94.64±1.08
5 µg/mL	88.96±2.19	76.10±1.95*	68.66±2.34*	85.61±2.06
10 µg/mL	85.26±2.44	64.87±1.58*	50.97±1.78*	72.44±3.69*
25 µg/mL	81.73±2.98*	24.27±2.02**	11.54±1.27**	65.90±2.08*
50 µg/mL	46.34±1.97*	10.40±1.29**	10.23±1.23**	23.99±1.27**
75 µg/mL	35.29±1.69**	9.52±0.77**	9.00±0.47**	20.78±0.95**
100 µg/mL	24.82±1.94**	8.35±1.04**	6.47±1.04**	16.35±1.02**

(Değerler ortalama ± SS olarak ifade edildi. *p<0.05, **p<0.001; Çözücü kontrole kıyasla diğer gruplar)

4. TARTIŞMA

4.1. Antiradikal Aktivite

Organizmada normal metabolik yollar sırasında veya çevresel etkiler sonucu oluşan serbest radikallerin canlı hücrelere zarar vermeden etkisizleştirilmesi ya da yok edilmesi büyük öneme sahiptir. Çünkü serbest radikaller sayesinde başlayan radikalik reaksiyonlar zincir özelliğe sahiptir ve bir kere başlayıp geliştiği zaman yağ asitleri, proteinler, karbohidratlar ve nükleik asitler gibi çok önemli biyomakromoleküllerin yapısını bozmakta ve geri dönüşümsüz bazı durumlara (yaşlanma, kanser, damar tıkanıklığı vb.) neden olmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Bu nedenle serbest radikalleri gideren endojen veya eksojen kökenli antioksidan maddeler ve bunların antiradikal özelliklerinin incelenmesi büyük bir öneme sahiptir.

Bu yüksek lisans tezinde ABTS^{•+}, OH[•] ve DPPH[•] serbest radikal olarak kullanılmıştır. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH[•]) serbest radikali bir elektron alarak kararlı bir moleküle dönüşme ilgisi taşımaktadır (Soares vd., 1997; Gülçin, 2002). Bu radikallerin miktarında meydana gelen herhangi bir azalma spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Bu yüzden antiradikal aktivite belirlenmesinde çoğunlukla bu radikal kullanılabilmektedir.

2,2'-azino-bis(etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu, ABTS^{•+} radikalidir ve bu bileşiğin yok edilmesi başka bir deyişle inhibe edilmesi spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir. Bu nedenle bu radikal de antiradikal aktivite belirleme çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır.

OH[•] (hidroksil) radikali canlılarda normal O₂ metabolizması esnasında kendiliğinden oluşmaktadır. Bu radikal diğer serbest radikallere kıyasla en reaktif radikal olarak kabul edilmektedir. Bunun nedeni OH[•] radikalinin oluştuğu yerdeki hemen hemen bütün moleküllere saldırması ve çok büyük hasarlara neden olabilmesidir (Kawanishi vd., 2001; Imahori vd., 2008). Hidroksil radikalinin iki farklı oluşum reaksiyonu mevcuttur: Birincisi Fenton Reaksiyonu, H₂O₂'nin geçiş metallerinin bulunduğu ortamda indirgenmesi ile ikincisi Haber-Weiss Reaksiyonu ise H₂O₂'nin O₂^{•-} ile verdiği tepkime sonucunda hidroksil radikali oluşmaktadır. İkinci reaksiyonun gerçekleşme hızı çok yavaştır, ancak ortamda Fe⁺³ varsa katalizör etkisi yapar ve çok hızlı gerçekleşir. Yine suyun (H₂O) yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalmasıyla da hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Bir OH[•]

radikali yüzlerce yağ asidini ve/veya onların yan zincirlerini lipid peroksida çevirebilmektedir. Oluşan bu hidroperoksitler hücrede biriktiği zaman membran yapısını bozarak hücrelerin parçalanmasına sebep olabilirler. Bu etkileri nedeniyle canlı organizmalarda OH[•] radikalının yok edilmesi veya etkisizleştirilmesi büyük öneme sahiptir (Cheeseman ve Slater, 1993; Matsuzaki vd., 2009).

Çalışma sonuçlarına göre, *S. semicana* su ve metanol ekstraktlarının (%94.81, %98.87, sırasıyla) standart antioksidan BHT'den (%93.24) daha yüksek ABTS^{•+} radikali yok etme aktivitesine, *S. semicana* su, etanol ve metanol ekstraktlarının (%84.97, %84.29, %84.62, sırasıyla) BHT'den (%75.77) daha yüksek OH[•] radikali yok etme aktivitesine sahip olduğu anlaşılmıştır. DPPH[•] radikali yok etme testinde ise standart antioksidan BHT, bütün ekstraktlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Yapılan literatür araştırmasında *S. semicana* bitkisine ait herhangi bir antioksidan aktivite çalışması bulunamadı. Ancak *Scorzonera* genusuyla alakalı çalışmalar incelendiğinde, Harkati vd. (2010) *S. undulata* ssp. *deliciosa* köklerinin metanol ekstraktlarının standart antioksidan trolokstan daha yüksek oranda DPPH radikali yok ettiğini belirlemişlerdir. Saltan (2015) ise *S. latifolia*, *S. mollis* ssp. *szowitsii* ve *S. tomentosa* türlerinin DPPH radikali giderme aktivitelerine sahip olduklarını saptamıştır. Milella vd. (2014) *S. papposa* toprak üstü kısımlarının kloroform, kloroform/metanol ve bütanol ekstraktlarının yüksek oranda DPPH radikali giderdiğini ileri sürmüşlerdir. Açıkara vd. (2017) ise *S. latifolia*'nın toprak üstü kısımlarının metanol/su (80/20) ekstraktlarının yüksek DPPH radikali yok etme aktivitesi gösterdiğini saptamışlardır. Başka bir çalışmada ise *S. divaricata* köklerinden elde edilen bileşiklerin standart antioksidan trolokstan daha düşük oranda ABTS ve DPPH radikali yok ettiği belirlenmiştir (Yang vd. 2013). Beceren vd. (2016) ise *S. veratrifolia*'nın toprak üstü kısımlarının metanol ekstraktlarının DPPH ve ABTS radikali yok etme aktivitesine sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Nasserî vd. (2015) *S. paradoxa* yaprak su ekstraktlarının yüksek oranda DPPH radikali giderebildiği belirlemişlerdir. Diğer bir çalışmada *S. suberosa*, *S. latifolia* ve *S. laciniata* toprak üstü kısımlarının metanol ekstraktlarının DPPH radikali giderme aktivitesine sahip oldukları saptanmıştır (Erden vd. 2013). Daha önceden yapılmış bu çalışma sonuçlarının bu tezde sunulan sonuçlardan farklılık göstermesinin ana nedeni olarak aynı cinsin farklı türlerinin çalışılmış olması söylenebilir. Ayrıca ekstraktın hazırlandığı çözücü, bitkinin yetiştiği coğrafik bölgenin farklılığı da sonuçları açık bir şekilde etkileyebilmektedir.

4.2. Fitokimyasal İçerik

Bitki kısımları (yaprak, tohum, çiçek, meyve, kabuk, gövde vb) doğal antioksidan aktivite gösterebilen fenoller, flavonoidler, steroller, vitaminler, fenolik asitler, karotenoidler, yağ asitleri gibi bileşikler bol miktarda içermektedirler (Larson, 1988; Ramarathnam vd., 1988; Pratt ve Hudson, 1990). Yapılan araştırmalar artan meyve-sebze tüketiminin kalp damar rahatsızlıkları, kanser, yaşlanma vb. durumlarla karşılaşmayı azalttığını göstermiştir. Sebze ve meyvelerin bu özellikleri içerdikleri proantosiyanidinler, fenoller, tokoferoller, vitaminler, flavonoidler, steroller, fenolik asitler ve yağ asitleri gibi önemli biyoaktif bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Ames vd., 1993; Dragsted vd., 1993; Gülçin, 2002). Bu nedenle bitkilerin içerdiği ve fitokimyasal bileşik adı verilen yukarıda bahsi geçen maddelerin nitel ve nicel analizlerinin yapılması, bu maddelerin izolasyonu, karakterizasyonu, tanımlanması ve sentezlenmesi bilim dünyası açısından büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla sunulan tezde, *S. semicana* bitkisinin toplam flavonoid, toplam proantosiyanidin, toplam fenolik, fenolik asit, flavonoid, vitamin, sterol ve yağ asidi içeriği saptanmaya çalışılmıştır.

Bu çalışmada, *S. semicana* su, etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarları sırasıyla, 122.92 mg GAE/g ekstrakt, 76.31 mg GAE/g ekstrakt, 134.89 mg GAE/g ekstrakt ve 50.75 mg GAE/g ekstrakt şeklinde; toplam flavonoid miktarları sırasıyla, 4953.45 µg CE/g ekstrakt, 1621.58 µg CE/g ekstrakt, 5555.34 µg CE/g ekstrakt ve 927.25 µg CE/g ekstrakt şeklinde; toplam proantosiyanidin miktarları ise sırasıyla, 826.33 µg CE/g ekstrakt, 1034.11 µg CE/g ekstrakt, 1860.78 µg CE/g ekstrakt ve 1669.67 µg CE/g ekstrakt şeklinde belirlenmiştir. *S. semicana* bitkisinin flavonoid olarak morin (1.10 µg/g), kuersetin (2.05 µg/g), kaempferol (6.65 µg/g), naringin (0.90 µg/g), naringenin (1.05 µg/g) ve resveratrol (1.05 µg/g) ihtiva ettiği; fenolik asit olarak ise vanilik asit (9.90 µg/g), kafeik asit (39.40 µg/g) ve ferulik asit (243.65 µg/g) içerdiği saptanmıştır. *S. semicana*'nın yağda çözünen vitamin olarak retinol (0.10 µg/g), α-tokoferol (0.05 µg/g), δ-tokoferol (0.05 µg/g), D (0.10 µg/g) ve K vitamini (0.10 µg/g) içerdiği, fitosterol olarak ise ergosterol (89.70 µg/g) ve stigmasterol (4.95 µg/g) ihtiva ettiği, aynı bitkinin yağ asitlerinin ise %20.66 palmitik asit (16:0), %4.21 palmitoleik asit (16:1), %10.16 stearik asit (18:0), %25.58 oleik asit (18:1), %30.42 linoleik asit (18:2), %8.97 linolenik asit (18:3), %30.82 toplam doymuş yağ asitleri, %69.18 toplam doymamış yağ asitleri şeklinde olduğu gözlenmiştir. *S. semicana* bitkisiyle alakalı çalışmalar incelendiğinde herhangi bir

fitokimyasal içerik sonucuna ulaşamadı. Ancak *Scorzonera* genusuyla ilgili çalışmalar incelendiği zaman, Milella vd. (2014) *S. papposa* toprak üstü kısımlarının kloroform, kloroform/metanol ve bütanol ekstraktlarının sırasıyla 54.5 mg GAE/g ekstrakt, 65.3 mg GAE/g ekstrakt, 94.0 mg GAE/g ekstrakt toplam fenolik bileşik ihtiva ettiğini saptamışlardır. Başka bir çalışmada *S. paradoxa* yaprak su ekstraktının 6.29 mg Tannik Asit Ekvivalent (TAE)/g ekstrakt toplam fenolik, 2.22 mg Rutin Ekvivalent/g ekstrakt toplam flavonoit içerdiği tespit edilmiştir (Nasseri vd. 2015). Aynı çalışmada *S. paradoxa* yapraklarının %0.76 palmitik asit (16:0), %1.24 palmitoleik asit (16:1), %14.13 stearik asit (18:0), %20.19 oleik asit (18:1), %1.04 linoleik asit (18:2), %1.19 linolenik asit (18:3) ve %15.43 araşidonik asit (20:4) yağ asidi içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir (Nasseri vd. 2015). Diğer bir çalışmada ise *S. suberosa* toprak üstü kısımlarının metanol ekstraktının 15.38 µg/g rutin, 3.12 µg/g myrisetin, 0.91 µg/g morin, 6.54 µg/g kuersetin, 0.25 µg/g retinol, 0.43 µg/g α-tokoferol, 1.01 µg/g vitamin K, 3.77 µg/g, 3.06 µg/g ergosterol, 10.80 µg/g stigmasterol ve 50.75 µg/g β-sitosterol içerdiği belirlenmiştir (Erden vd. 2013). Aynı çalışmada *S. laciniata* toprak üstü kısımlarının metanol ekstraktının 4.45 µg/g myrisetin, 0.17 µg/g morin, 0.17 µg/g kuersetin, 3.55 µg/g kaempferol, 0.02 µg/g retinol, 0.08 µg/g α-tokoferol, 0.65 µg/g vitamin K, 1.19 µg/g vitamin D, 2.44 µg/g ergosterol, 21.67 µg/g stigmasterol ve 4.26 µg/g β-sitosterol içerdiği tespit edilmiştir (Erden vd. 2013). Yine aynı çalışmada *S. latifolia* toprak üstü kısımlarının metanol ekstraktının 16.16 µg/g myrisetin, 0.23 µg/g morin, 0.65 µg/g kuersetin, 0.62 µg/g kaempferol, 0.12 µg/g retinol, 0.60 µg/g α-tokoferol, 1.59 µg/g vitamin K, 3.41 µg/g vitamin D, 3.22 µg/g ergosterol, 30.76 µg/g stigmasterol ve 35.55 µg/g β-sitosterol içerdiği saptanmıştır (Erden vd. 2013). Yapılan literatür araştırması sonucunda yukarıda bahsi geçen çalışma sonuçlarının sunulan tezde yer alan sonuçlarla gösterdiği farklılıkların sebepleri arasında aynı cinsin farklı türlerinin çalışılması, kullanılan ekstraksiyon çözücülerinin farklı olması ve bitkinin yetiştiği çevresel ortamın aynı olmaması sayılabilir.

4.3. Antimikrobiyal Aktivite

Bitkilerin kendilerini korumak için antibiyotik özellik taşıyan biyolojik olarak aktif maddeler ürettiği bilinmektedir. Son yıllarda antibiyotik tedavi için antimikrobiyal aktivite gösteren bitkilerin kullanımı büyük oranda artmıştır. Bu artışa sentetik antibiyotiklerin maliyetlerinin yüksek olması, alerjik tepkilere ve bazı bağışıklık sistemi rahatsızlıklarına

neden olmaları da katkı sağlamıştır. (Schinor vd., 2007; Karaman vd., 2003). Bu yüzden biyolojik yönden potansiyeli yüksek, düşük maliyetli ve etkili bitki kökenli antibiyotiklerin kullanımına yönelim gerçekleşmiştir (Essawi ve Srouf, 2007). Bitkilerden elde edilen doğal antibiyotikler tedavi edici özellik taşırlar ve halk arasında da birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadırlar (Iwu vd., 1999). Bütün bu bilgiler ışığında günümüzde birçok bitkinin meyve, tohum, çiçek, yaprak, kabuk, gövde vb. kısımlarının mikroorganizmalara karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteler belirlenmeye çalışılmaktadır (Modi vd., 2012). Sunulan tezde *S. semicana* toprak üstü kısımlarının su, etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının *P. vulgaris*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *K. pneumoniae*, *B. megaterium* ve *S. aureus* bakterileri ile *C. albicans* mayasına karşı antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre, *S. semicana*'nın su ekstraktının *E. coli*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae* ve *B. megaterium* bakterileri üzerinde, aseton ekstraktının ise *E. coli*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* ve *B. megaterium* bakterileri üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *S. semicana* etanol ve metanol ekstraktlarının ise *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *B. megaterium* ve *S. aureus* bakterileri ve *C. albicans* mayası üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Yapılan literatür araştırmasında *S. semicana* ile alakalı herhangi bir antimikrobiyal çalışmaya rastlanmadı. Ancak *Scorzonera* cinsiyle ilgili antimikrobiyal çalışmalar incelendiğinde, Abdelkader vd. (2010) *S. undulata*'nın *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii* ve *Enterococcus faecalis* bakterileri üzerinde, Sari vd. (2009) *S. latifolia*'nın *S. aureus*, *Shigella flexneri* ve *C. albicans* üzerinde, *S. veratrifolia*'nın ise *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Salmonella typhi*, *S. flexneri* ve *C. albicans* üzerinde, Boussaada vd. (2008) *S. undulata*'nın *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *S. typhi* ve *E. coli* üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu saptamışlardır.

4.4. Antikanser Aktivite

Kanser modern dünyadaki ölümlerin 1/5'inden fazlasını oluşturur ve yaklaşık olarak dünyanın 1/3'ünden fazlasını etkilemektedir. Kanser tedavisi için radyoterapi, kemoterapi ve cerrahi müdahalenin yanında geleneksel halk tıbbı gibi alternatif tedavi yöntemleri de yapılmaktadır (Hilal vd., 2012). Bitkilerden elde edilen doğal ürünlerin

kanser tedavisi de dahil olmak üzere bilinen en eski ilaçlar olduğu ileri sürülmektedir (Wen vd., 2011). Bitkilerin bu tedavi edici özelliklerinin ihtiva ettikleri çeşitli biyoaktif bileşiklerden kaynaklandığına inanılmaktadır. Tıbbi bitkiler kolay ulaşılabilir ve ucuz olmaları nedeniyle kanser tedavilerinde alternatif bir metot olarak tercih edilmektedirler (Prema vd., 2011). Bilimsel çalışmalar bitki kaynaklı doğal ürünlerin antikanser özelliklerinin belirlenmesi için büyük çabalar sarf etmektedir (Pandey ve Madhuri, 2009). Bu nedenle sunulan tezde *S. semicana* toprak üstü kısımlarının su etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının insan meme kanseri (MCF-7), insan kolon kanseri (HCT-116) ve insan prostat kanseri (LNCaP) üzerinde antikanser özellikleri saptanmaya çalışılmıştır.

Çalışma sonuçlarına göre, *S. semicana* bitkisinin su ve aseton ekstraktlarının sadece 25, 50, 75 ve 100 µg/mL'lik konsantrasyonlarının LNCaP hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı, etanol ekstraktının 1 ve 5 µg/mL'lik konsantrasyonlar hariç, metanol ekstraktının ise 1 µg/mL'lik konsantrasyon hariç geriye kalan bütün konsantrasyonlarda (5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL) hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı saptandı. *S. semicana* etanol ekstraktının 1 ve 5 µg/mL'lik konsantrasyonlar hariç, metanol ekstraktının ise 1 µg/mL'lik konsantrasyon hariç geriye kalan bütün konsantrasyonlarda (5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL) hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı, *S. semicana* su ve aseton ekstraktlarının ise bütün konsantrasyonlarda (1, 5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL) MCF-7 hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı saptandı. *S. semicana* bitkisinin su ekstraktının sadece 25, 50, 75 ve 100 µg/mL'lik konsantrasyonlarının HCT-116 hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı, aseton ekstraktının 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL'lik konsantrasyonlarının hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı, etanol ekstraktının 1 µg/mL'lik konsantrasyonlar hariç, metanol ekstraktının ise bütün konsantrasyonlarda (1, 5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL) hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı saptandı. Yapılan literatür araştırmasında *S. semicana* ile alakalı herhangi bir antikanser çalışma bulunamadı. Ancak *Scorzonera* cinsiyle alakalı antikanser çalışmalar incelendiğinde, Yang vd. (2013) *S. divaricata* bitkisinden elde edilen metabolitlerin promiyelositik lösemi (HL-60) ve karaciğer kanseri (Hep-G2) hücre serileri üzerinde antitümör aktivite gösterdiğini saptamışlardır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan tezde Elazığ'da yetişen endemik *S. semicana* (yemlik)'nin toprak üstü kısımlarının su, etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının antiradikal özellikleri DPPH, ABTS ve OH radikallerine karşı, antimikrobiyal özellikleri *B. megaterium*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *S. aureus* bakterileri ve *C. albicans* mayasına karşı belirlendi. Ayrıca aynı bitkinin antikanser özellikleri insan meme kanseri (MCF-7), insan kolon kanseri (HCT-116) ve insan prostat kanseri (LNCaP) hücre serilerine karşı *in vitro* olarak saptandı. Son olarak bu bitkinin içerdiği fitokimyasal bileşikler, toplam flavonoid, toplam fenolik, toplam proantosiyanidin, steroller, vitaminler, flavonoidler, fenolik asitler ve yağ asitleri olarak tespit edildi.

Çalışma sonuçlarına göre *S. semicana* su ve metanol ekstraktları ABTS radikali yok etmede; su, etanol ve metanol ekstraktları ise OH radikali yok etmede standart antioksidandan daha yüksek aktivite gösterdi. Total flavonoid, total proantosiyanidin ve total fenolik içeriğin *S. semicana* metanol ekstraktında en yüksek miktarda olduğu belirlendi. *S. semicana* toprak üstü kısımlarının tüm ekstraktlarının *L. monocytogenes* bakterisine karşı standart antibiyotikten daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları gözlemlendi. Aynı bitkinin MCF-7, HCT-116 ve LNCaP kanser hücreleri üzerinde artan doza bağlı olarak çok etkili antikanser aktivite gösterdikleri belirlendi.

Bütün bu sonuçlar ışığında *S. semicana* endemik bitkisinin biyokimyasal önemi belirlenmiş ve literatürde yer almayan bilimsel sonuçlar rapor edilmiştir. Bu tezde elde edilen sonuçların *S. semicana*'nın ihtiva ettiği etken maddelerin izolasyon, karakterizasyon ve sentezi çalışmalarına öncülük edebileceği ve *in vitro* olarak belirlenen antiradikal ve antikanser özelliklerin ileri aşamalarda *in vivo* olarak araştırılması için bir başlangıç noktası teşkil edebileceği söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Abdelkader, H.B., Salah, K.B.H., Liouane, K., Boussaada, O., Gafsi, K., Mahjoub, M.A., Aouni, M., Hellal, A.N. and Mighri, Z., 2010. Antimicrobial activity of *Rhaponticum acaule* and *Scorzonera undulata* growing wild in Tunisia. *African Journal of Microbiology Research*. **4**, 1954-1958.
- Abushita, A.A., Hebshi, E.A., Daood, H.G. and Biacs, P.A., 1997. Determination of antioxidation vitamins in tomatoes. *Food Chemistry*. **60**, 207-212.
- Açıkara, Ö.B., Öz, B.E., Bakar, F., Çitoğlu, G.S. and Nebioğlu, S., 2017. Evaluation of antioxidant activities and phenolic compounds of *Scorzonera latifolia* (Fisch. & Mey.) DC. collected from different geographic origins in Turkey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. **14**, 179-184.
- Amaze, O.U., Ayoola, G.A., Sofidiya, M.O., Adepoju-Bello, A.A., Adegoke, A.O. and Coker, H.A.B., 2011. Evaluation of antioxidant activity of *Tetracarpidium conophorum* (Müll. Arg) Hutch & Dalziel leaves. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **2011**, Article ID 976701, 7 pages.
- Ames, B.M., Shigena, M.K. and Hagen, T.M., 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of ageing. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*. **90**, 7915-7922.
- Bader, A., De Tommasi, N., Cotugno, R. and Braca, A., 2011. Phenolic compounds from the roots of Jordanian viper's grass, *Scorzonera judaica*. *Journal of Natural Products*. **74**, 1421-1426.
- Bahadır, Ö., 2009. Türkiye'de yetişen bazı *Scorzonera* L. türleri üzerinde farmakognozik araştırmalar. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Baytop, T., 1999. Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. 2. Baskı, Nobel Tıp Yayınevi, İstanbul, Türkiye.
- Beceren, A., Gecim, M., Ozakpinar, O.B., Taskin, T., Dogan, A. and Sardas, S., 2016. Antioxidant and *in vitro* wound healing activities of *Scorzonera veratrifolia*. *Toxicology Letters*. **258S**, S73-S73.
- Boussaada, O., Saidana, D., Chriaa, J., Chraif, I., Ammar, Mahjoub, M.A., Mighri, Z., Daami, M. and Helal, A.N., 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of volatile components of *Scorzonera undulata*. *Journal of Essential Oil Research*. **20**, 358-362.

- Byung, P.Y., 1994. Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological Reviews*. **74**, 139-172.
- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F., 1993. An Introduction to radical biochemistry. *British Medical Bulletin*. **49**, 481-493.
- Christie, W.W., 1992. Gas chromatography and lipids. The Oil Press, Glasgow.
- Collins, C.M. and Lyne, P.M., 1987. Microbiological methods. Butterworths & Co Ltd., London.
- Çavdar, C., Sifil, A. and Çamsari, T., 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. **3-4**, 92-95.
- Çöllü, Z., 2007. *Urtica pilulifera* L. bitkisinin antioksidan aktivitesinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Davis, P.H., 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Vol. 10). Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Dragsted, L.O., Strube, M. and Larsen, J.C., 1993. Cancer-protective factors in fruits and vegetables: Biochemical and biological background. *Pharmacological Toxicology*. **72**, 116-135.
- Erden, Y., Kirbag, S. and Yilmaz, Ö., 2013. Phytochemical composition and antioxidant activity of some *Scorzonera* species. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B: Biological Sciences*. **83**, 271-276.
- Essawii, T. and Srour, M., 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. **46**, 343-349.
- Fridovich, I., 1975. Superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*. **44**, 147-159.
- Gülçin, İ., 2002. Isırgan otunun (*Urtica dioica*) antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, oksidatif enzimlerin karakterizasyonu ve bazı *in vivo* etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö.İ. and Aslan, A., 2002. Determination of antioxidant activity of Lichen *Cetraria islandica* (L). *Journal of Ethnopharmacology*. **79**, 325-329.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1989. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, London, 36-245.

- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. and Aruoma, O., 1987. The deoxyribose method: a simple "test tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Analytical Biochemistry*. **165**, 215-219.
- Hara A. and Radin, N.S., 1978. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical Biochemistry*. **90**, 420-426.
- Harkati, B., Akkal, S., Bayat, C., Laouer, H. and Franca, M.G.D., 2010. Secondary metabolites from *Scorzonera undulata* ssp. *deliciosa* (Guss.) Maine (Asteraceae) and their antioxidant activities. *Records of Natural Products*. **4**, 171-175.
- Hilal, Z., Michael, S., Ben, A.E. and Bashar, S., 2012. Greco-Arab and Islamic herbal-derived anticancer modalities: from tradition to molecular mechanisms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. **2012**, Article ID 349040, 13 pages.
- Imahori, Y., Takemura, M. and Bai, J., 2008. Chilling-induced oxidative stress and antioxidant responses in mume (*Prunus mume*) fruit during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*. **49**, 54-60.
- Iwu, M.W., Duncan, A.R. and Okunji, C.O., 1999. New antimicrobials of plant origin. In: Janick J., eds., Perspectives on New Crops and New Uses. Alexandria, VA, ASHS Press.
- Karaman, L., Sahin, F., Gulluce, M., Ogutcu, H., Songul, M. and Adiguzel, A., 2003. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of Ethnopharmacology*. **85**, 231-235.
- Katsanidis, E. and Addis, P.B., 1999. Novel HPLC analysis of tocopherols and cholesterol in tissue. *Free Radical Biology and Medicine*. **27**, 1137-1140.
- Kawanishi, S., Hiraku, Y. and Oikawa, S., 2001. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mutation Research*. **488**, 65-76.
- Kim, D.O., Chun, O.K., Kim, Y.J., Moon, H.Y. and Lee, C.Y., 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. **51**, 6509-6515.
- Larson, R.A., 1988. The antioxidants of higher plants. *Pytochemistry*. **27**, 969-978.
- Lemkebthomas, L., Williams, D.A., Roche, V.F. and William, Z.S., 2008. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 6th edition.

- Makbul, S., Coskuncelebi, K., Türkmen, Z. and Beyazoglu, O., 2011. Comparison of foliar anatomy of *Scorzonera* L. (Asteraceae) taxa from North East Anatolia. *Pakistan Journal of Botany*. **43**, 135-155.
- Makbul, S., Turkmen, Z., Coskuncelebi, K. and Beyazoglu, O., 2010. Amorphometric study on *Scorzonera* L. taxa (Asteraceae) from northeast Anatolia. *Acta Botanica Croatica*. **69**, 237-247.
- Matsuzaki, S., Szweda, P.A., Szweda, L.I. and Humphries, K.M., 2009. Regulated production of free radicals by the mitochondrial electron transport chain: Cardiac ischemic preconditioning. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **61**, 1324-1331.
- Meyer, A.S., Heinonen, M. and Frankel, E.N., 1998. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chemistry*. **61**, 71-75.
- Milella, L., Bader, A., De Tomassi, N., Russo, D. and Braca, A., 2014. Antioxidant and free radical-scavenging activity of constituents from two *Scorzonera* species. *Food Chemistry*. **160**, 298-304.
- Miyake, Y., Murakami, A., Sugiyama, Y., Isobe, M., Koshimizu, K. and Ohigashi, H., 1999. Identification of coumarin from lemon fruit (*Citrus limon*) as inhibitors of *in vitro* tumor promotion and superoxide and nitric oxide generation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **47**, 3151-3157.
- Modi, C., Mody, S., Patel, H., Dudhatra, G., Kumar, A. and Awale, M., 2012. Herbal antibacterials: a review. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. **1**, 52-61.
- Mosmann, T., 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. **65**, 55-63.
- Nakagawa, K., Ninomiya, M., Okubo, T., Aoi, N., Nuneja, L.R., Kim, M., Yamanaka, K. and Miyazawa, T., 1999. Tea catechin supplementation increases antioxidant capacity and prevents phospholipid, hydroperoxidation in plasma in human. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **47**, 3967-3973.
- Nakazawa, H., Genka, C. and Fujishima, M., 1996. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *The Japanese Journal of Physiology*. **46**, 15-32.

- Nasseri, M.A., Bigy, S.S., Allahresani, A. and Malekaneh, M., 2015. Assesment of antioxidant activity, chemical characterization and evaluation of fatty acid compositions of *Scorzonera paradoxa* Fisch and C.A. Mey. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. **10**, e19781.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M., 2004. Lehninger Principles of Biochemistry. Fourth edition. W.H. Freeman and Company, New York.
- Öztürk, M., Öztürk, F.A., Duru, M.E. and Topçu, G., 2007. Antioxidant activity of stem and root extracts of rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chemistry*. **103**, 623-630.
- Pandey, G. and Madhuri, S., 2009. Some medicinal plants as natural anticancer agents. *Pharmacognosy Review*. **3**, 259-263.
- Paraschos, S., Magiatis, P., Kalpoutzakis, E., Harvala, C. and Skaltsounis, A.L., 2001. Three new dihydroisocoumarins from the Greek endemic species *Scorzonera cretica*. *Journal of Natural Products*. **64**, 1585-1587.
- Pratt, D.E. and Hudson, B.J.F., 1990. Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants. Hudson B.J.F. Ed.; Elsevier; Amsterdam, 171-192.
- Prema, R., Sekar, S.D. and Sekhar K.B.C., 2011. Review on: Herbs as anticancer agents. *International Journal of Pharmacy & Industrial Research*. **1**, 105-108.
- Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M. and Kawakishi, S., 1988. Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 1. Isolation, fractionation, and partial characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **36**, 732-737.
- Rang, R.Y., Tsou, S.C.S., Lee, T.C., Wu, W.J., Hanson, P.M., Kuo, G., Engle, L.M., and Lai, P.Y., 2006. Distribution of 127 edible plant species for antioxidant activities by two assays. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **86**, 2395-2403.
- Reische, D.W., Lillard, D.A., Eitenmiller, R.R., Akoh, C.C. and Min, D.B., 2002. Food Lipids Chemistry. Nutrition and Biotechnology, New York, Marcel Dekker Inc, p. 489-516.
- Saltan, H.G., 2015. Assesment of antioxidant and anti-inflammatory activities of *Scorzonera* species. *Toxicology Letters*. **238S**, S383-S383.
- Sari, A., Özbek, B. and Özgökçe, F., 2009. Antimicrobial activities of two *Scorzonera* species growing in Turkey. *Asian Journal of Chemistry*. **21**, 4785-4788.

- Schinor, E.C., Salvador, M.J., Ito, I.Y. and Dias, D.A., 2007. Evaluation of the antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents from *Chresta scapigera*. *Brazilian Journal of Microbiology*. **38**, 145-149.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T., 1992. Antioxidant properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **40**, 945-948.
- Slinkard, K. and Singleton, V.L., 1977. Total phenol analysis-automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*. **28**, 49-55.
- Soares, J.R., Dinis, T.C.P., Cunha, A.P. and Ameida, L.M., 1997. Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research*. **26**, 469-478.
- Tepe, B., Eminagaoglu, O., Akpulat, H.A. and Aydin, E., 2007. Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia verticillata* (L.) subsp. *verticillata* and *S. verticillata* (L.) subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm. *Food Chemistry*. **100**, 985-989.
- Uysal, M., 1998. Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidan-antioksidan dengesi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim*. **11**, 336-341.
- Wen, T., Jinjian, L., Mingqing, H., Yingbo, Li., Meiwan, C., Guosheng, W., Jian, G., Zhangfeng, Z., Zengtao, X., Yuanye, D., Jiajie, G., Xiuping, C. and Yitao, W., 2011. Anti-cancer natural products isolated from Chinese medicinal herbs. *Chinese Medicine*. **6**, 1-15.
- Willcox, J.K., Ash, S.L. and Catignani, G.L., 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **44**, 275-295.
- Yang, Y.J., Liu, X., Wu, H.R., He, X.F., Bi, Y.R., Zhu, Y. and Liu, Z.L., 2013. Radical scavenging activity and cytotoxicity of active quinic acid derivatives from *Scorzonera divaricata* roots. *Food Chemistry*. **138**, 2057-2063.
- Yu, L.L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. and Qian, M., 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **50**, 1619-1624.
- Zidorn, C., Ellmerer, E.P., Sturm, S. and Stuppner, H., 2003. Tyrolobibenzyls E and F from *Scorzonera humilis* and distribution of caffeic acid derivatives, lignans

- and tyrolbibenzyls in European taxa of the subtribe Scorzonerinae (Lactuceae, Asteraceae). *Phytochemistry*. **63**, 61–67.
- Zidorn, C., Ellmerer-Muller, E.P. and Stuppner, H.**, 2000. Sesquiterpenoids from *Scorzonera hispanica*. *Pharmazie*. **55**, 550–551.
- Zu, Y.G., Li, C.Y., Fu, Y.J. and Zhao, C.J.**, 2006. Simultaneous determination of catechin, rutin, quercetin, kaempferol and isorhamnetin in the extract of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf by RP-HPLC with DAD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **41**, 714-719.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı	
KİŞİSEL BİLGİLER	OĞUZHAN KAK
ADRES :	<i>Aksaray Mah. Sümer Sok. No:2 23150- Merkez/Elazığ</i>
TELEFON :	<i>+90 (554 121 4350)</i>
EPOSTA :	<i>oguzhan.kak@gmail.com</i>
DOĞUM YERİ/TARİHİ:	<i>ELAZIĞ / 02.09.1990</i>
MEDENİ HALİ:	<i>Bekar</i>
EĞİTİM BİLGİLERİ	
LİSANSÜSTÜ	<i>(2013-Devam Ediyor), Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya, ELAZIĞ</i>
LİSANS :	<i>2011, FIRAT ÜNİVERSİTESİ, Fen Edebiyat Fak., Kimya Böl., ELAZIĞ</i>
LİSE :	<i>2006, Elazığ Lisesi, ELAZIĞ</i>
İŞ DENEYİMİ	
2012 - 2013	<i>B. Kolordu Komutanlığı Yemekhanesi/ELAZIĞ Kimyager</i>
2013 -.....	<i>Elazığ Çalışma ve İşkurumu İl Müdürlüğü, ELAZIĞ İş ve Meslek Danışmanı</i>
BİLDİĞİ YABANCI DİLLER	
	<i>İngilizce(A1)</i>
İLGİLENDİĞİ DİĞER BİLİMLER	
<i>✓ Spor, Sanat</i>	