

TC.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

TRIGONELLA L. (LEGUMINOSAE) CİNSİ BUCERATES
SEKSİYONU ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Uzm. Biyolog Başak KALAYCIOĞLU

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gamze KÖKDİL

Tez No: 42

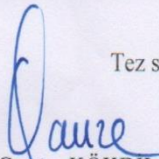
Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP-SBE EMBB (BÖ) 2009-3 DR nolu proje olarak desteklenmiştir.

MERSİN-2015

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Prof. Dr. Gamze KÖKDİL danışmanlığında Uzm. Biyolog Başak KALAYCIOĞLU tarafından hazırlanmış olan “*Trigonella L. (Leguminosae) Cinsi Bucerates Seksiyonu Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar*” başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

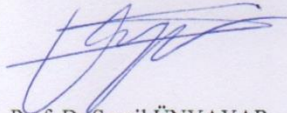
Tez savunma tarihi: 11.03.2015


Prof. Dr. Gamze KÖKDİL

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Farmakognozi Anabilim Dalı

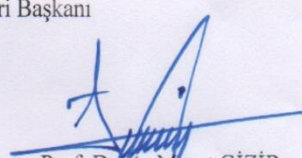
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Serpil ÜNYAYAR

Mersin Üniversitesi Fen-Edb. Fakültesi

Biyoloji Bölümü


Jüri Üyesi


Prof. Dr. A. Murat GİZİR

Mersin Üniversitesi Fen-Edb. Fakültesi

Kimya Bölümü

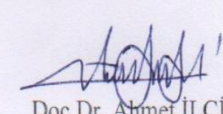
Jüri Üyesi


Prof. Dr. Ayşe EVEREST

Mersin Üniversitesi Fen-Edb. Fakültesi

Biyoloji Bölümü

Jüri Üyesi


Doç. Dr. Ahmet İLÇİM

Mustafa Kemal Üniversitesi

Fen-Edb. Fakültesi Biyoloji Bölümü

Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 25/03/2015 tarih ve 2015/148 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Fehmi ATEŞ

Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Canım Babam hakkını asla ödeyemem sonsuz teşekkürler bu tez için...

Tez çalışmamın bütün aşamalarında derin bilgi birikimi, tecrübesi ile yanımda olan Sayın Hocam Prof. Dr. Gamze KÖKDİL'e çok teşekkürler.

Canım Annem, Sevgili Eşim ve Canım Abim yardımlarınız ve sabrınız için minnettarım, sonsuz teşekkürler.

Yine YBSK analizleri çalışmasında destek aldığım MEİTAM'a, Müdürü Prof. Dr. Ali Döndaş'a ve Uzman arkadaşım Esmâ Yorulmaz'a teşekkürler.

Araştırmalarımın YBSK analizleri kısmında analizlerin yapılabilmesi için laboratuvar imkanlarını istifademize sunan Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Serpil Ünyayar'a ve arkadaşım Arş.Gör. Ayşin Güzel Değer'e teşekkürler.

Antioksidan çalışmalarım için UV Spektrumlarını kullanmamızı sağlayan Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Serap Yalın'a teşekkürler.

Çalışma materyallerimin teşhisinde yardımlarından dolayı Doç Dr. Ahmet İlcim'e (Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü) teşekkür ederim.

Bu araştırmanın gerçekleşmesi için mali destek sağlayan Mersin Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
ÖZET	xviii
ABSTRACT	xix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	4
2.1 Botanik Bilgiler	4
2.1.1 Leguminosae (Fabaceae) Familyası	4
2.1.2 <i>Trigonella</i> L. Cinsi	5
2.1.2.1 <i>T. aurantiaca</i> Boiss.	12
2.1.2.2 <i>T. arenicola</i> Hub.-Mor.	12
2.1.2.3 <i>T. fischeriana</i> Ser.	13
2.1.2.4 <i>T. tenuis</i> Fisch.	13
2.1.2.5 <i>T. cancellata</i> Desf.	13
2.1.2.6 <i>T. astroites</i> Fisch.& Mey.	14
2.1.2.7 <i>T. halophila</i> Boiss.	14
2.1.2.8 <i>T. crassipes</i> Boiss.	15
2.1.2.9 <i>T. polycarpa</i> Boiss.	15
2.1.2.10 <i>T. rigida</i> Boiss.	15
2.1.2.11 <i>T. pamphylica</i> Hub.-Mor.	16
2.1.2.12 <i>T. carica</i> Hub.-Mor.	16
2.1.2.13 <i>T. arcuata</i> C.A. Meyer	17
2.1.2.14 <i>T. monantha</i> C.A. Meyer	17
2.1.2.15 <i>T. orthoceras</i> Kar.&Kir.	18
2.2 <i>Trigonella</i> Taksonlarının Geleneksel Tıpta Kullanımları	19
2.3 <i>Trigonella</i> Taksonları Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Araştırmalar	21
2.3.1 Sabit Yağ	21
2.3.2 Proteinler	25

2.3.3 Mineraller	27
2.3.4 Fenolik Bileşikler	27
2.3.4.1 Flavonoitler ve İzoflavonoitler	28
2.3.4.1.1 Total Flavonoit Miktar Tayin Çalışmaları	28
2.3.4.1.2 İzole Edilmiş veya Çeşitli Analiz Yöntemleri Kullanılarak Tespit Edilmiş Flavonoit ve İzoflavonoit Çalışmaları	29
2.3.4.2 Fenolik asitler	37
2.3.4.3 Diğerleri	39
2.3.4.4 Total Fenol Çalışmaları	40
2.3.5 Saponozitler	44
2.3.6 Alkaloitler	50
2.3.7 Uçucu yağ	51
2.3.8 Kumarin	55
2.4 <i>T. foenum-graecum</i> Taksonunun Yan Etki ve Toksisitesi	55
2.5 Türkiye’de Yetişen <i>Trigonella</i> Taksonları İle İlgili Yapılmış Çalışmalar	56
2.6 <i>Trigonella</i> Taksonları Üzerindeki Biyolojik Aktivite Araştırmaları	56
2.6.1 Antidiyabetik ve Hipolipidemik etki	57
2.6.2 Antioksidan Etki	67
2.6.3 Sitotoksik ve Antitümör Etki	70
2.6.4 Antimikrobiyal Etki Çalışmaları	73
2.6.5 Toksisite	75
2.6.6 Adjuvant Etki	75
2.6.7 Antienflamatuar, Analjezik ve Antipiretik Etki	75
2.6.8 Nematosit Etki	77
2.6.9 Gastroprotektif Etki	78
2.6.10 İmmunomodülatör Etki	78
2.6.11 Antifertilite Etki	78
2.6.12 Dayanıklılık Kapasitesine Etki	79
2.6.13 Böbrek Taşı Oluşumunu Engelleyici Etki	79
3. GEREÇ ve YÖNTEM	80
3.1 Gereç	80
3.1.1 Bitkisel Materyal	80

3.1.2 Kullanılan Kimyasallar	98
3.1.3 Kullanılan Reaktifler	99
3.1.4 Kullanılan Cihazlar	99
3.2 Yöntem	100
3.2.1 Fitokimyasal Çalışmalar	100
3.2.1.1 Ana Etken Madde Gruplarının Taranması	100
3.2.1.1.1 Alkaloit Teşhisi	100
3.2.1.1.2 Kardiyoaktif Heterozit Teşhisi	100
3.2.1.1.3 Saponozit Teşhisi	101
3.2.1.1.4 Flavonozit teşhisi	102
3.2.1.1.5 Antosiyanozit Teşhisi	102
3.2.1.1.6 Siyanogenetik Heterozit Teşhisi	103
3.2.1.1.7 Tanen Teşhisi	103
3.2.1.1.8 Antrasen Türevi Heterozitlerin Teşhisi	103
3.2.1.1.9 Kumarin Teşhisi	104
3.2.1.1.10 Sabit yağ Teşhisi	104
3.2.1.1.11 Oz Tanıma Reaksiyonları	104
3.2.1.1.12 Nişasta Aranması	105
3.2.1.2 Ekstraksiyon İşlemleri	105
3.2.1.2.1 Total Fenol, Total Flavonoit ve DPPH Çalışmaları İçin Ekstrelerin Hazırlanması	105
3.2.1.2.2 Fenolik Bileşiklerin YBSK Analizleri İçin Ekstrelerin Hazırlanması	106
3.2.1.2.3 YBSK ile Diosgenin Analizi İçin Ekstrelerin Hazırlanması	106
3.2.1.3 Total Fenol Miktar Tayini	107
3.2.1.4 Total Flavonoit Miktar Tayini	107
3.2.1.5 Fenolik Bileşiklerin YBSK Analizleri	108
3.2.1.6 Ekstrelerin YBSK ile Diosgenin Açısından Analizi	109
3.2.2 Biyoaktivite Çalışmaları	109

3.2.2.1 DPPH [·] (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) Testi ile Antioksidan Aktivite Tayini	109
4. BULGULAR	111
4.1 Ana Etken Madde Gruplarının Tarama Sonuçları	111
4.2 Ekstrelerin Verim Sonuçları	114
4.2.1 Total Fenol, Total Flavonoit Miktar Tayini ve DPPH Deneylerine Ait Bulgular	114
4.3 Fenolik Bileşiklerin YBSK Analiz Sonuçları	117
4.4 Ekstrelerin YBSK ile Diosgenin Açısından İncelenmesi	145
4.5 DPPH [·] (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) Testi ile Antioksidan Etki Sonuçları	151
5. TARTIŞMA	154
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	158
7. KAYNAKLAR	160
ÖZGEÇMİŞ	173

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 . Flora of Turkey and the East Aegean Islands Vol 3’de kayıtlı <i>Trigonella</i> L. cinsine ait seksiyon ve taksonlar	8
Çizelge 2.2. <i>Trigonella</i> L. cinsinin taksonlarının gruplara göre dağılımı	10
Çizelge 2.3. <i>T. foenum-graecum</i> yağlarının yağ asidi bileşim yüzdeleri	21
Çizelge 2.4. <i>T. cretica</i> tohum tokokromanollerin bileşimi	22
Çizelge 2.5. Hindistan kaynaklı <i>T. foenum-graecum</i> tohumlarında nötral ve polar yağ bileşimi	23
Çizelge 2.6. Hindistan kaynaklı <i>T. foenum-graecum</i> tohumlarının total lipidinin yağ asidi bileşimi	23
Çizelge 2.7. <i>T. foenum-graecum</i> tohum içeriği ve miktarları	24
Çizelge 2.8. <i>T. foenum-graecum</i> tohum metanol ekstralarında bulunan 4-hidroksiizolösün miktarları	26
Çizelge 2.9. <i>T. foenum-graecum</i> üzerinde yapılmış çalışmalarda tesbit edilmiş total flavonoit miktarları	28
Çizelge 2.10. Bazı <i>Trigonella</i> taksonları ve flavonoit içerikleri	31
Çizelge 2.11. <i>T. foenum-graecum</i> tohumlarında tespit ve izole edilmiş flavonoitler	36
Çizelge 2.12. <i>T. foenum-graecum</i> tohumlarında tespit edilmiş flavonoitler	36
Çizelge 2.13. <i>T. foenum-graecum</i> bitkisinin 100 g’ının farklı kaplarda pişirildiğinde değişen demir ve ilgili bileşiklerin miktarı	39
Çizelge 2.14. <i>Trigonella</i> L. taksonları üzerinde tespit edilmiş total fenol miktarları	40
Çizelge 2.15. <i>T. foenum-graecum</i> kısımlarının ekstre verimi ve total fenol miktarları	43
Çizelge 2.16. Yapılan literatür çalışmalarında <i>T. foenum-graecum</i> ’un çeşitli kısımlarının içerdiği diosgenin miktarları (mg/g bitki)	45
Çizelge 2.17. <i>T. foenum-graecum</i> ’un çeşitli kısımlarının içerdiği diosgenin	

miktarları (% bitki)	45
Çizelge 2.18. <i>T. foenum-graecum</i> tohum metanol ekstresinde bulunan trigonellin miktarları	51
Çizelge 2.19. <i>T. disperma</i> taksonunun uçucu yağ bileşenlerinin yüzdeleri	52
Çizelge 2.20. <i>T. hamosa</i> bitkisinin topraküstü kısmının uçucu yağ bileşenleri	54
Çizelge 2.21. <i>T. monantha</i> subsp. <i>monantha</i> bitkisinin uçucu yağ bileşimi ve yüzdeleri	54
Çizelge 2.22. <i>T. foenum-graecum</i> tohum ekstresinin yüksek kolesterollü hastaların günlere göre kan lipit değerlerine etkisi	58
Çizelge 2.23. <i>T. foenum-graecum</i> SDF ekstresinin Tip 2 diabetik ratların serum glikozu ve diğer parametrelerine etkisi	60
Çizelge 2.24. Karıştırılan bitki tohum toz karışımlarının hastaların serum lipit değerlerine etkisi	61
Çizelge 2.25. TFG içeren antidiabetik etkili formüle edilmiş bitkisel ilaçlar	63
Çizelge 2.26. FSE'nin diabetik farelerdeki kan glikoz seviyesine etkisi	65
Çizelge 2.27. <i>T. foenum-graecum</i> tohum etanol ekstresinin ratların kan değerlerine etkisi	65
Çizelge 2.28. <i>T. foenum-graecum</i> tohumlarının kan değerleri üzerine etkisi	66
Çizelge 2.29. <i>T. monantha</i> subsp. <i>Monantha</i> bitkisinin antimikrobiyal etki sonuçları	74
Çizelge 2.30. <i>T. foenum-graecum</i> tohum metanol ekstresinin kimyasal içeriği	77
Çizelge 3.1. Bitkisel materyallerin toplandığı lokaliteler	81
Çizelge 3.2. Analizlerde standart olarak kullanılan fenolik asit ve flavonoidler	108
Çizelge 4.1. <i>Trigonella</i> L. Bucerates seksiyonuna ait taksonların taşıdığı etken maddeler	112
Çizelge 4.2. <i>Trigonella</i> L. Bucerates seksiyonuna ait taksonların taşıdığı etken maddeler (devamı)	113
Çizelge 4.3. <i>Trigonella</i> L. Seksiyon Bucerates taksonlarının ekstre verimleri	114
Çizelge 4.4. <i>Trigonella</i> L. Seksiyon Bucerates taksonlarında tesbit edilen total fenol ve total flavonoid miktarları	116
Çizelge 4.5. Standartların maximum dalga boyları ve retansiyon zamanları	117
Çizelge 4.6. <i>Trigonella</i> L. Seksiyon Bucerates taksonlarının tohumlarında tesbit	

edilen fenolik bileşik miktarları (mg/g)	143
Çizelge 4.7. <i>Trigonella</i> L. Seksiyon Bucerates taksonlarının topraküstü kısımlarında tesbit edilen fenolik bileşik miktarları (mg/g)	144
Çizelge 4.8. <i>Trigonella</i> L. Seksiyon Bucerates taksonlarının tohum ve topraküstlerinde tesbit edilen diosgenin miktarları (mg/g)	151
Çizelge 4.9. <i>Trigonella</i> L. Seksiyon Bucerates taksonlarının DPPH antioksidan testi % inhibisyonları	152

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Türkiye haritası üzerinde tez çalışmasını oluşturan taksonların toplandığı yerler	18
Şekil 2.2. <i>T. foenum-graecum</i> tohumlarında bulunan izoflavonoitler	30
Şekil 2.3. <i>T. foenum-graecum</i> tohumlarından izole edilmiş flavonoitler	30
Şekil 2.4. <i>T. foenum-graecum</i> tohumlarında tesbit edilmiş C glikozit flavonoitleri	34
Şekil 2.5. <i>T. foenum-graecum</i> ve <i>T. corniculata</i> bitkilerinin toprak üstü kısımlarında tespit edilmiş fenolik asitler	38
Şekil 2.6. Trigonellinin kimyasal yapısı	51
Şekil 3.1. <i>T. aurantiaca</i> Boiss. genel ve tohum görünüşü	82
Şekil 3.2. <i>T. arenicola</i> Hub.-Mor. genel (çiçekli), meyve ve tohum görünüşü	83
Şekil 3.3. <i>T. fischeriana</i> Ser. genel ve tohum görünüşü	84
Şekil 3.4. <i>T. tenuis</i> Fisch. genel ve tohum görünüşü	85
Şekil 3.5. <i>T. cancellata</i> Desf. genel ve tohum görünüşü	86
Şekil 3.6. <i>T. astroites</i> Fisch.& Mey. genel ve tohum görünüşü	87
Şekil 3.7. <i>T. halophila</i> Boiss. Genel, çiçek ve tohum görünüşü	88
Şekil 3.8. <i>T. crassipes</i> Boiss. genel ve tohum görünüşü	89
Şekil 3.9. <i>T. polycarpa</i> Boiss. genel ve tohum görünüşü	90
Şekil 3.10. <i>T. rigida</i> Boiss. genel ve tohum görünüşü	91
Şekil 3.11. <i>T. pamphylica</i> Hub.-Mor. genel ve tohum görünüşü	92
Şekil 3.12. <i>T. carica</i> Hub.-Mor. genel, çiçek ve tohum görünüşü	93
Şekil 3.13. <i>T. arcuata</i> C.A. Meyer genel ve tohum görünüşü	94
Şekil 3.14. <i>T. monantha</i> subsp. <i>monantha</i> C.A. Meyer genel ve tohum görünüşü	95
Şekil 3.15. <i>T. monantha</i> subsp. <i>noeana</i> C.A. Meyer genel ve tohum görünüşü	96
Şekil 3.16. <i>T. orthoceras</i> Kar.&Kir. genel ve tohum görünüşü	97
Şekil 4.1. Rutin standartının kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi (Total flavonoit)	115
Şekil 4.2. Gallik asit standartının kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi (Total fenol)	115
Şekil 4.3. Gallik asit standartına ait kromatogram	118

Şekil 4.4. Kateşin standartına ait kromatogram	118
Şekil 4.5. Şiringik asit standartına ait kromatogram	119
Şekil 4.6. Protokateşuik asit standartına ait kromatogram	119
Şekil 4.7. Viteksin standartına ait kromatogram	120
Şekil 4.8. Mirsetin standartına kromatogram	120
Şekil 4.9. Luteolin standartına ait kromatogram	121
Şekil 4.10. Kersetin standartına ait kromatogram	121
Şekil 4.11. Apigenin standartına ait kromatogram	122
Şekil 4.12. Kemferol standartına ait kromatogram	122
Şekil 4.13. İzoramnetin standartına ait kromatogram	123
Şekil 4.14. Gallik asitin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	123
Şekil 4.15. Şiringik asitin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	124
Şekil 4.16. Protokateşik asitin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	124
Şekil 4.17. Kateşinin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	125
Şekil 4.18. Viteksinin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	125
Şekil 4.19. Mirsetinin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	126
Şekil 4.20. Luteolölün kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	126
Şekil 4.21. Kersetin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	127
Şekil 4.22. Apigeninin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	127
Şekil 4.23. Kemferölün kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	128
Şekil 4.24. İzoramnetinin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	128
Şekil 4.25. Formononetinin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	129
Şekil 4.26. <i>T. tenuis</i> tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	129
Şekil 4.27. <i>T. noeana</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	130
Şekil 4.28. <i>T. aurantiaca</i> tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	130
Şekil 4.29. <i>T. cancellata</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	131
Şekil 4.30. <i>T. fischeriana</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	131
Şekil 4.31. <i>T. arcuata</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	132
Şekil 4.32. <i>T. aurantiaca</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	132

Şekil 4.33. <i>T. arenicola</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	133
Şekil 4.34. <i>T. pamphylica</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	133
Şekil 4.35. <i>T. rigida</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	134
Şekil 4.36. <i>T. carica</i> tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	134
Şekil 4.37. <i>T. astroites</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	135
Şekil 4.38. <i>T. carica</i> tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	135
Şekil 4.39. <i>T. polycarpa</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	136
Şekil 4.40. <i>T. halophila</i> tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	136
Şekil 4.41. <i>T. astroites</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	137
Şekil 4.42. <i>T. halophila</i> tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	137
Şekil 4.43. <i>T. arcuata</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	138
Şekil 4.44. <i>T. halophila</i> tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	138
Şekil 4.45. <i>T. halophila</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	139
Şekil 4.46. <i>T. fisheriana</i> tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	139
Şekil 4.47. <i>T. astroites</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	140
Şekil 4.48. <i>T. rigida</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	140
Şekil 4.49. <i>T. polycarpa</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	141
Şekil 4.50. <i>Trigonella</i> L. Bucerates seksiyonuna ait taksonların YBSK analizinde tesbit edilen fenolik bileşikler	142
Şekil 4.51. Diosgeninin molekül yapısı	145
Şekil 4.52. Diosgeninin YBSK analizine ait kromatogram	146
Şekil 4.53. Diosgenin standartının kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemleri-tohum numuneleri için	146
Şekil 4.54. <i>T. rigida</i> tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	147
Şekil 4.55. <i>T. carica</i> tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	147
Şekil 4.56. Diosgenin YBSK analizine ait kromatogram	148

Şekil 4.57. Diosgenin standart eğrisi ve regresyon denklemi topraküstü numuneleri için	148
Şekil 4.58. <i>T. tenuis</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	149
Şekil 4.59. <i>T. noeana</i> topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram	149
Şekil 4.60. Ekstredeki diosgeninin MS spektrumu	150
Şekil 4.61. Diosgenin MS spektrumu	150
Şekil 4.62. Diosgeninin önünde çıkan bilinmeyen maddenin MS spektrumu	150
Şekil 4.63. BHA için kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	152

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

cm	Santimetre
cm²	Santimetrekaire
DAD	Diode Array Dedektörü
dk.	Dakika
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
ESI	Elektrospray İyonizasyon
FID	Alev İyonizasyon Dedektörü
g	Gram
GAE	Gallik asit ekivalanı
GC/MS	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
Kg	Kilogram
L	Litre
LC/MS/MS	Sıvı Kromatografisi/Kütle/Kütle Spektrometresi
M	Molarite
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
MS	Kütle Spektrometresi
nm	Nanometre
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
RP-HPLC	Ters Faz Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
RT	Retansiyon zamanı
SGPT	Serum glutamik pirüvik asit transaminaz
SGOT	Serum glutamik oksalasetik transaminaz

TFG	<i>Trigonella foenum-graecum</i>
UHPLC	Ultra Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
UV	Ultraviyole Spektroskopisi
Q-TOF MS	Quadrupole Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi
W	Watt
YBSK	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

ÖZET

Trigonella cinsi yeryüzünde 135 kadar türle temsil edilmektedir. Cins ait türler Akdenizden Güney Afrika'ya ve Avustralya'ya kadar geniş bir yayılış göstermektedir. Türkiye'de 21'i endemik olmak üzere 54 türü bulunmaktadır.

Bu çalışmada *Trigonella* cinsinin *Bucerates* seksiyonuna ait 16 taksonun tohum ve topraküstü kısımlarında ana etken madde tarama testleri yapılmıştır. Ekstrelerin hiçbirinde siyanogenetik, antrasenozit, kardiyooaktif heterozit, tanen ve nişasta tesbit edilmemişken bazı ekstrelerde antosiyanozitler ve ozlara rastlanmıştır. Ekstrelerin tamamında flavonoit, kumarin heterozitleri ve saponin olduğu belirlenmiştir.

16 taksonun ekstrelerinde total fenol (Folin-Ciocalteu's yöntemi) ve total flavonoit miktarları belirlenmiştir. Total fenol miktarları tohumlarda 114.6-177 mg/g, topraküstü kısımlarında 59.74-168.75 mg/g, total flavonoit miktarı ise tohumlarda 43.55-122.14 mg/g topraküstü kısımlarında 41.05- 117.78 mg/g aralığında değişmektedir.

YBSK analizleri ile bitkilerin fenolik bileşik ve diosgenin içerikleri kalitatif ve kantitatif olarak incelenmiştir. Taksonların hepsinde tohum ve topraküstü kısımlarında gallik asit, kateşin ve şiringik asit (sırasıyla 0.6-20.1, 1.6-20.4, 0.03-7.04 mg/g aralığında) tesbit edilmiştir. Bunun yanısıra bitkilerin bazılarının tohumlarında ve/veya topraküstü kısımlarında protokateşik asit, viteksin, mirsetin, kersetin, luteolin, apigenin, kemferol, izoramnetin ve formononetin olduğu belirlenmiştir. İncelenen taksonlardan *T. pamphylica*'nın topraküstü kısmı dışında bütün taksonların her iki kısımların da diosgenin içerdiği bulunmuştur. Tohum kısımlarında bulunan diosgenin miktar aralığı 0.91-8.42 mg/g iken topraküstü kısımlarında bulunan miktar aralığı 0.04-0.23 mg/g'dır.

Ekstrelerin serbest radikal süpürücü aktivitesini belirlemek için DPPH testi kullanılmıştır. Ekstrelerin % inhibisyonu 16.88-71.38 aralığında değişmektedir. Anahtar kelimeler: *Trigonella*, *Bucerates*, Leguminosae, YBSK, Fenolik bileşikler, Diosgenin, DPPH

ABSTRACT

The genus *Trigonella* is represented by up to 135 species on earth. The species belonging to this genus show a wide distribution from Mediterranean to South Africa and Australia. There are 54 species in Turkey, including 21 endemic species.

In this study of 16 taxa Bucerates sections of the genus *Trigonella* L. seed and aerial parts of the main active ingredient screening tests were performed. While, cyanogenetic, anthrasenoside, cardioactive glycoside, tannins and starch were detected in none of the extracts, anthocyanins and os were found in some extracts. Flavonoid coumarin heterosides, and saponin were determined in all of the extracts.

In extracts of 16 taxa were quantitated the amounts total phenol (Folin-Ciocalteu's method) and total flavonoid. Amount of total phenol in seeds 114.6-177 mg/g, from the aerial parts 59.74-168.75 mg / g, while the amount of total flavonoids in seeds 43.55-122.14 mg/g, in aerial parts 41.05- 117.78 mg / g ranges from.

Phenolic compounds and diosgenin content of plants were analyzed by HPLC analysis of qualitative and quantitative. In all of the taxa seeds and aerial parts gallic acid, catechin and syringic acid (respectively 0.6-20.1, 1.6-20.4, 0.03-7.04 mg/g range) were determined. In addition, in the seeds and/or aerial parts of some plants protocatechuic acid, vitexin, myricetin, quercetine, luteolin, apigenin, kaempferol, isorhamnetine and formononetine were determined. In examined taxa, except *T. pamphylica*'s aerial parts, diosgenin was found in both part of all taxa. Diosgenin amounts range from 0.91-8.42 mg/g in seeds while in the aerial parts of 0.04-0.23 mg/g.

DPPH test was used to determine free radical scavenging activity of extract. The extract varies in the range of 16.88-71.38% inhibition.

Keywords:*Trigonella*, *Bucerates*, Leguminosae, HPLC, Phenolic compounds, Diosgenin, DPPH

1. GİRİŞ

Trigonella L. cinsi, Leguminosae (Fabaceae) familyasına ait bir cins olup yeryüzünde Akdeniz'den Güney Afrika'ya ve Avustralya'ya kadar uzanan geniş bir yayılış alanı göstermekte ve 135 kadar takson ile temsil edilmektedir (1, 2). Türkiye'de 21'i endemik olmak üzere 54 taksonu bulunmaktadır. Bu taksonlar 8 gruba ve 13 seksiyona ayrılmaktadır (3-5).

Trigonella cinsinin dünyada çok tanınan ve kullanılan taksonu *T. foenum-graecum* L.'dur. *T. foenum-graecum* Hindistan ve Kuzey Afrika kökenli en eski tıbbi bitkilerden biridir (6). Ebers Papyruslarında (MÖ. 1500) bu bitki doğurganlığı arttırıcı olarak kaydedilmiştir (1). Bu takson Türkçe'de "Çemenotu", Latince'de "Fenugreek", Fransızca'da "Fenugrec", Hintçe'de "Methi", Almanca'da "Bockshorklee", İtalyanca'da "Fieno greco", Rusça'da "Pazhitnik", İspanyolca'da "Alholva", Japonca'da "Koroha", Arapça'da "Hulba", Malayca'da "Halba", Çince'de ise "K'u-Tou" olarak bilinir (7).

Trigonella taksonları üzerinde yapılmış kimyasal çalışmalar incelendiğinde; primer metabolitlerden yağ, lif, karbonhidrat, müsilaj, protein, fosforlu organik bileşikler, kolin sekonder metabolitlerden ise flavonoit, saponin, alkaloid, kumarin ve steroller içerdiği görülmektedir. Çalışmaların daha çok diosgenin ve flavonoitleri üzerine olduğu da göze çarpmaktadır (7-15).

Bu primer ve sekonder madde çeşitliliği *Trigonella* taksonlarında farklı aktivitelerin olabileceğini göstermiş ve birçok biyoaktivite çalışmaları yapılmıştır. Antidiyabetik, hipokolesterolemik, antioksidan, antitümör, antimikrobiyal, immunomodülatör, antienflamatuvar, antipiretik, gastroprotektif, antifertilite ve nematosit etkilerinin çeşitli çalışmalarla saptanmış olması *Trigonella* taksonlarının potansiyel tıbbi bitkiler arasına girmesine ve bilimsel açıdan da çekici hale gelmesine neden olmuştur (7, 16- 22).

Çok tanınan, baharat olarak kullanılan ve geleneksel tıpta da birçok ülkede çeşitli kullanımlara sahip olan *T. foenum-graecum* taksonu üzerinde yoğunlaşan çalışmalar dışında, diğer *Trigonella* taksonlarının öncelikle fenolik bileşikler (*T. grandiflora*, *T. corniculata*, *T. cylindracea*, *T. maritima*, *T. stellata*, *T. anguina*, *T.*

occulta, *T. polyceratia*, *T. cretica*) ve sonrasında saponinleri (*T. calliceras*, *T. caerulea*, *T. melilotus caeruleus*, *T. monspeliaca*) açısından incelendiği az sayıda araştırmamanın yapılmış olması diğer *Trigonella* taksonlarının fitokimyasal ve biyoaktivite açısından incelenmesinin *Trigonella* taksonlarının gerek etken madde gerekse aktivite açısından değerlendirilip değerlendirilemeyeceklerinin belirlenmesi konusunu gündeme getirmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasında “ Flora of Turkey and the East Aegean Islands” da kayıtlı *Trigonella* L. cinsine ait kısım incelenerek en fazla takson (16 takson) ve endemik takson (6 takson) sayısına sahip olan Bucerates seksiyonu araştırma konusu olarak belirlenmiştir. Bu seksiyon Flora of Turkey and the East Aegean Island’da belirtilen gruptan üç takson hariç olmak üzere Grup H’ a giren tüm taksonları da içine almaktadır. Aynı zamanda 3 seksiyona dağılmış olan (Sect. Reflexae, Sect. Falcatulae ve Sect. Bucerates) Grup D’ ninde en fazla taksonu Bucerates seksiyonunda bulunmaktadır. Bu seksiyonun seçilmesi ile 8 gruptan H ve D grubuna ait taksonların çoğu incelenmiş olacaktır.

Bugüne kadar tek takson hariç (*T. monantha* subsp. *monantha*) bu taksonlar üzerinde fitokimyasal ve biyolojik açıdan bir çalışma yapılmamıştır. *Trigonella* cinsi Bucerates seksiyonuna giren 16 takson yetiştikleri lokalitelerden toplanıp, teşhislerinin yapılması planlanmıştır. Taksonlarda bulunan ana etken madde grupları tarama yöntemleri kullanılarak araştırılacaktır. Detaylı kimyasal çalışmalar ise steroidal saponinler ve fenolik bileşikler üzerinde yapılması planlanmış taksonların kalitatif ve kantitatif olarak diosgenin, fenolik bileşikler (flavonoitler; mirsetin, luteolin, formononetin, kersetin, kemferol, rutin, viteksin, naringenin, orientin, homoorientin, biokanin, genistein, daidzein ve fenolik asitler ise; kafeik asit, klorojenik asit, sinamik asit, elajik asit, ferulik asit, gallik asit ve protokateşuik asit) içeriği açısından YBSK (Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi) ile incelenmesi ayrıca diosgenin açısından kaynak olabilecek taksonun bulunup bulunmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Diosgenin, steroidlerin sentezinde hammadde olarak kullanılan bir bileşik olup antienflamatuvar, antiviral, immunomodülatör, sitotoksik etkilere sahiptir, aynı zamanda antineoplastik olarak da bilinmektedir. Kolesterol metabolizması kontrolünde de önemli rol oynamaktadır. Kortizon ve seks hormonları gibi steroidal ilaçların yarı sentez başlangıç maddeleri olması nedeniyle ekonomik açıdan da önemli bir bileşiktir (2). Bu sekonder metabolitlerin *Trigonella* cinsi Bucerates seksiyonu açısından

kemotaksonomik önemi olup olmadığının belirlenmesine çalışılacaktır. Tez çalışmamızda fenolikleri açısından incelenecek olan taksonların bu içeriklerinden dolayı antioksidan özelliklere de sahip olup olmadıkları, bitkinin her iki kısmının (tohum ve toprak üstü) ekstralarının araştırılması ile belirlenecektir. Ekstrelerin radikal süpürücü aktiviteleri DPPH yöntemi ile saptanacaktır. Ekstrelerin fenolik bileşiklerinin analizlerinin yanı sıra total fenol ve total flavonoid miktarları da belirlenerek etken madde-antioksidan etki ilişkisi saptanmaya çalışılacaktır. Böylelikle incelenen *Trigonella* taksonları antioksidan etki açısından değerlendirilmiş olacaktır.

2. GENEL BİLGİ

2.1 Botanik Bilgiler

2.1.1 Leguminosae (Fabaceae) Familyası

Spermatophyta bölümünün Angiospermae alt bölümü, Dicotyledonae sınıfı, Dialypetalae alt sınıfı Rosales takımında yer alan Leguminosae familyası çiçekli bitkiler arasında en büyük familyalardan biridir. Yaklaşık 700 cins, 17.000 taksona sahip olan familya tropik, subtropik ve ılıman bölgelerde dağılım göstermektedir. Legüminosae familyası 3 altfamilyaya ayrılır. En zengini Papilionoidae olmak üzere (400-500 veya daha fazla cins ve 10.000 kadar takson), diğerleri Mimosoideae (56 cins ve 500-3000 kadar takson) ve Caesalpinioideae (180 kadar cins ve 2.500-3.000 kadar takson)'dir (23).

Leguminosae familyası bitkileri odunsu veya otsudur. Yapraklar alternat, genellikle stipulalı, bipennat, pennat, dijitat, trifoliolat veya basit (çoğu zaman tek yaprakçıklı veya yaprak benzeri bir organ taşır). Çiçekler aktinomorf veya zigomorf simetrlili, hipogin veya bazen perigin, genellikle hermafrodit. Çiçek durumu rasemoz, spika, umbella veya tek. Sepaller 4-5, Petaller (1)-5, tomurcukta birbirine değen veya birbirinin kenarını kiremit gibi örten, serbest veya nadiren birbirine doğru yönelmiştir. Stamenler 4 veya daha çok genellikle 10, hepsi bir tüpte birleşmiş (monadelphous) veya üstteki stamen serbest (diadelphous) veya hepsi serbest. Karpel 1, üst durumlu, kenarsal plasentalanmalı. Meyve bir legümen (hem karın hemde sırt boyunca açılmış) veya açılmamış, bazen meyve tek tohumlu boğumlara ayrılır. Meyveler 1 veya çok tohumludur.

Leguminosae familyası cinsleri yaprak, çiçek ve meyve özellikleri dikkate alınarak 6 gruba (Grup A-F) ayrılarak incelenmektedir. Tez konusunu oluşturan *Trigonella* cinsi Grup A'ya girmektedir (3).

2.1.2 *Trigonella* L. Cinsi

Trigonella L. cinsi, Leguminosae familyasına ait bir cins olup yeryüzünde 135 kadar takson ile temsil edilmektedir (1, 2). Türkiye’de 21’i endemik olmak üzere 54 taksonu bulunmaktadır. Bu taksonlardan 49’u 8 gruba ve 13 seksiyona ayrılmak üzere Flora of Turkey and the East Aegean Islands Vol. 3 yer almaktadır. 2 *Trigonella* taksonu (*T. pseudocapitata*, *T. rechingeri*) Vol. 10 ve 11 ciltlerinde bulunmaktadır (3-5).

Ayrıca yapılan literatür çalışmasında Türkiye’ye yeni kayıt edilmiş ve Bucerates seksiyona ait olan *T. monantha* subsp. *incisa* taksonunun varlığı tespit edilmiştir. Ancak taksonu toplamak üzere geçilen irtibatlarda, toplandığı lokalizasyonda bitkiye tekrar rastlanmamıştır. Urfa-Siverek’te de görülen bu takson coğrafyanın durumundan dolayı toplanamadığı için tez kapsamına alınmamıştır (24).

Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Biyoloji bölümünde yapılmış bir yüksek lisans tezinde Mersin, Güzeloluk-Sorgun arası vejetasyon çalışması yapılmıştır. Yeni kayıt olarak bu bölgede *T. mesopotamica* taksonuna rastlanmıştır (25).

Diğer ülkelerin floraları *Trigonella* cinsi açısından incelendiğinde Kıbrıs florasında *T. spruneriana*, *T. strangulata*, *T. spinosa*, *T. spicata*, *T. monspeliaca*, *T. foenum*, *graecum* ve *T. berythea* olmak üzere 7 takson olduğu belirlenmiştir (26).

Filistin florasında *Trigonella* cinsine ait bir takson yoktur (27).

Flora Orientalis’de 10’u tez araştırma materyali içerisinde olan toplam 69 *Trigonella* taksonu bulunmaktadır (28).

Flora Europaea’da ise 3’ü tez araştırma materyali içinde olan toplam 23 *Trigonella* taksonu bulunmaktadır (29).

Trigonella cinsine ait taksonlar tüylü veya tüysüz tek yıllık bitkilerdir. Yaprakları pennat trifoliat, kumarin kokuludur. Yaprakçıklar genellikle dişli; yaprak stipulaları petiole birleşiktir. Çiçekler yaprak koltuklarında tek veya tepede başlıca, spika veya kısa rasemoz durumunda, tohum dökme mekanizmasız. Kaliks 5 dişli, çan şeklinde veya bazen tüpsü, düzenli veya 2 dudaklı. Petaller sarı, beyaz, mor veya mavi, bayrakçık oblong veya obovat. Kayıkçık obtus, oblong kanattan daha kısa, kayıkçık ve kanat sıkıca birbirine bağlı veya serbest. Stamenler petallerden bağımsız, iki demet halinde, üstte olan tamamen bağımsız. Filamentler tepede genişlememiş. Meyve boyu kaliksi aşmış, dışarı uzamış, düz veya kıvrılmış (asla halkalaşmış değil), lineardan

oblong veya ovata, bazen yarı ovattan yarı hilale kadar değişir, silindirik veya yassı, nadiren yer yer boğumlu. Gagalı veya gagasız, meyve yüzeyi bariz veya bariz olmayan damarlı, çoğunlukla düz, kanatsız, meyveler 1 veya çok tohumlu, açılan veya nadiren açılmayan tipte. Tohumlar çoğunlukla kabarcıklı veya kırışıklı, nadiren düz. Kotiledonlar tabanda şişkin. Tayin için iyi gelişmiş meyveli örneklere ihtiyaç vardır.

Trigonella cinsi aşağıdaki seksiyonlara ayrılarak incelenmektedir;

1. Samaroideae Boiss.
2. Pectinatae Boiss.
3. Lunatae Boiss.
4. Falcatulae Boiss.
5. Verae Sirj.
6. Cylindricae Boiss.
- 7. Bucerates Boiss.**
8. Reflexae (Sirj.) Vass.
9. Isthmocarpae Boiss.
10. Uncinatae Boiss.
11. Capitatae Boiss.
12. Biebersteinianae (Sirj.) Grossh.
13. Foenum-graecum Ser.

Trigonella cinsi seksiyon ayırımı aşağıdaki gibidir;

Samaroideae-tek yıllık. Stipulası dentat. Meyve geri kıvrık ince derimsi, yuvarlak kanatlı

Pectinateae-tek yıllık. Stipulası tam veya dentat. Meyve geri kıvrık ince derimsi dikişler dentikulat, kanatsız

Lunatae-tek yıllık. Stipulası tam veya dentat. Meyveler geri kıvrık veya dik, yassı, yarı ovattan semilunara, dikişler dikensiz, kanatsız.

Falcatulae-tek yıllık. Stipulası dentat veya sivri loplarla kesilmiş. Karina ve kanat birbirine bağlı değil. Meyve geri kıvrık, yassı, dikişler kalınlaşmış.

Verae-tek yıllık. Stipulası dentat. Karina ve kanat birbirine bağlı değil. Meyveler dik, silindirik, uzunluğuna damarlı, dikişler bariz.

Cylindricae- tek yıllık. Stipulası tam. Karina ve kanatlar birbirine bağlı değil. Meyve geri kıvrık, bariz gagalı, dikişler bariz değil.

Bucerates-tek yıllık. Stipulası dentat veya sivri loplarla kesilmiş. Karina ile kanat sıkıca bağlı. Legümenler dik veya yayılmış, linear, retikulat veya enine damarlı, dikişi kalınlaşmış.

Reflexae-tek yıllık. Alttaki stipulalar ince loplarla kesilmiş. Karina kanatlar sıkıca birbirine bağlı. Meyveler geri kıvrık, yıldız şeklinde yaygın, linear, ağımsı damarlı, dikişler kalınlaşmış.

Isthmocarpace-tek yıllık. Stipulalar dentat. Karina ve kanatlar sıkı sıkıya bağlı. Meyveler linear, geri kıvrık, tohumlar arası daralmış, kısa gagalı, ucu kanca şeklinde.

Uncinatae-tek yıllık. Stipulalar tam veya dentat. Karina ve kanat bağlı değil. Meyveler geri kıvrık, ovat-oblong, yassı, kancalı gagalı, 1-2 tohumlu, başta yoğun veya salkım.

Capitatae-tek yıllık. Stipulalar dentat. İnfloresans baş şeklinde. Kaliks kampanulat. Korolla mavi. Karina ve kanatlar bağlı değil. Legümenler küçük, oblongdan obovata, kısa gagalı, 1-3 tohumlu.

Biebersteinianae- kadife gibi tüylü. tek yıllık. Stipulalar dentikulat. İnfloresans baş şeklinde, ovattan oblonga, brakteli. Kaliks tüp şeklinde. Korolla mavi. Karina ve kanatlar birbirine bağlı değil. Legümenler lanseolat, 4-6 tohumlu.

Foenum-graecum-tek yıllık. Stipulalar tam. Çiçekler yaprak koltuklarında 1-2 tane. Kaliks tüp şeklinde. Korolla sarımsı beyaz veya soluk mor. Karina ve kanat bağlı değil. Legümenler lineardan lanseolata, uzun gagalı.

Türkiye florasında kayıtlı *Trigonella* L. cinsine ait seksiyon ve bu seksiyonlara giren taksonlar Çizelge 2.1.'de verilmiştir (3, 4).

Çizelge 2.1. Flora of Turkey and the East Aegean Islands Vol 3’de kayıtlı *Trigonella* L. cinsine ait seksiyon ve taksonlar (3, 4).

<u>Samaroideae</u>	<u>Pectinatae</u>	<u>Lunatae</u>	<u>Falcatulae</u>	<u>Verae</u>	<u>Cylindricae</u>	<u>Foenum-graecum</u>	<u>Bucerates</u>
* 1. <i>cretica</i>	* 2. <i>plicata</i>	3. <i>brachycarpa</i> * 4. <i>sirjaevii</i> *5. <i>rostrata</i> 6. <i>lunata</i>	7. <i>corniculata</i> 8. <i>balansae</i> * 9. <i>lycica</i> 10. <i>spinosa</i>	11. <i>coelesyriaca</i>	12. <i>spruneriana</i> *13. <i>kotschyi</i> 14. <i>mesopotamica</i> 15. <i>cylindracea</i> * 16. <i>cilicica</i> 17. <i>filipes</i> 18. <i>velutina</i> 19. <i>strangulata</i> *20. <i>smyrnea</i>	44. <i>gladiata</i> 45. <i>cariensis</i> 46. <i>foenum-graecum</i> *47. <i>macrorrhyncha</i> *48. <i>cassia</i> * 49. <i>raphanina</i>	21. <i>aurantiaca</i> * 22. <i>arenicola</i> 23. <i>fischeriana</i> 24. <i>tenuis</i> 25. <i>cancellata</i> 26. <i>astroites</i> * 27. <i>halophila</i> 28. <i>crassipes</i> *29. <i>polycarpa</i> * 30. <i>rigida</i> *31. <i>pamphylica</i> *32. <i>carica</i> 33. <i>arcuata</i> 34. <i>monantha</i> subsp. <i>monantha</i> subsp. <i>noeana</i> 35. <i>orthoceras</i>
<u>Capitatae</u> 41. <i>procumbens</i> 42. <i>capitata</i>	<u>Biebersteinianae</u> 43. <i>coerulescens</i>	<u>Isthmocarpae</u> * 37. <i>isthmocarpa</i> 38. <i>rhytidocarpa</i>	<u>Uncinatae</u> 39. <i>spicata</i> *40. <i>cephalotes</i>	<u>Reflexae</u> 36. <i>monspeliaca</i>			

* Endemik taksonlar

Trigonella L. cinsi grup ayrımı aşağıdaki gibidir;

1. Çiçekler mavi topaç şeklinde **Grup A**
1. Çiçekler sarı, beyaz ve soluk mor. tek veya çift
 2. Çiçekler sarımsı-beyaz veya soluk leylak, sapsız tek veya çift, kaliks tüpsü 4.5-12 mm **Grup B**
 2. Çiçekler sarı veya beyaz, kaliks çan şeklinde 2-7 mm
 3. Meyve yassı ince dişli veya dikensiz, meyveler yarı ovattan yarı hilale değişir **Grup C**
 3. Meyve silindirik veya yassı lineardan oblong ovata dikensiz
 4. Çiçek sapı yok veya çok kısa (4 mm'den çok değil) meyve linear **Grup D**
 4. Çiçek sapı 5 mm'den fazla, meyve ovat oblong, linear oblong veya linear
 5. Meyve ovat-oblong kanca şeklinde, gagalı 1-2 tohumlu geri kıvrık, yoğun baş şeklinde **Grup E**
 5. Meyve lineardan linear oblonga kadar değişken, 1-çok tohumlu
 6. Meyve açıkça gagalı damarlar belirsiz, stipulası tam **Grup F**
 6. Meyve çoğunlukla gagasız ya da belirsiz şekilde gagalı, damarlar belirgin, stipullar dişli veya parçalı
 7. Karina ve kanat bağlanmamış, meyve yassı, kıvrık veya oraksı, geriye kıvrık 2-3.5 mm eninde **Grup G**
 7. Karina ve kanat sıkıca bağlı, meyve silindirik, yassılaştırmış veya boğumlu, çoğunlukla dik veya yayvan 1-3 mm eninde **Grup H**

Trigonella L. cinsinin taksonlarının gruplara göre dağılımı Çizelge 2.2.'de verilmiştir (3, 4).

Çizelge 2.2. *Trigonella* L. cinsinin taksonlarının gruplara göre dağılımı (3, 4).*

A	B	C	D	E	F	G	H
<i>43. coerulescens</i>	<i>44. gladiata</i>	<i>1. cretica</i>	<i>10. spinosa</i>	<i>39. spicata</i>	<i>12. spruneriana</i>	<i>7. corniculata</i>	<i>11. coelesyriaca</i>
<i>41. procumbes</i>	<i>45. cariensis</i>	<i>2. plicata</i>	30. rigida**	<i>40. cephalotes</i>	<i>13. kotschyi</i>	<i>8. balansae</i>	21. aurantiaca
<i>42. capitata</i>	<i>46. foenum-graecum</i>	<i>3. brachycarpa</i>	33. arcuata		<i>14. mesopotamica</i>	<i>9. lycica</i>	22. arenicola**
	<i>47. macrorrhyncha</i>	<i>4. sirjaevii</i>	34. monantha		<i>15. cylindracea</i>		23. fischeriana
	<i>48. cassia</i>	<i>5. rostrata</i>	35. orthoceras		<i>16. cilicica</i>		24. tenuis
	<i>49. raphanina</i>	<i>6. lunata</i>			<i>17. filipes</i>		25. cancellata
					<i>18. velutina</i>		26. astroites
					<i>19. strangulata</i>		27. halophila**
					<i>20. smyrnea</i>		28. crassipes
							29. polycarpa**
							31. pamphylica**
							32. carica**
							<i>37. isthmocarpa</i>
							<i>38. rhytidocarpa</i>

*Tez konusunu oluşturan Bucerates seksiyonuna ait taksonlar koyu olarak gösterilmiştir.

**Endemik Türler

Cins ile ilgili Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabının taraması sonucunda, içerisinde araştırmamız kapsamında endemik taksonlardan *T. arenicola* ve *T. halophila*'nın da bulunduğu 3 taksonun **çok tehlikeli kategorisinde**, yine endemik olan *T. polycarpa* taksonunun da içinde olduğu 2 taksonun **tehlikeli kategorisinde**, 2 taksonun **veri yetersiz kategorisinde**, 1 taksonun ise **endemik olmayan nadir bitkiler kategorisinde** olduğu gözlenmiştir (30).

Bu tez çalışması *Trigonella* cinsinin Bucerates seksiyonuna ait 16 taksonu üzerinde yapılmıştır. Bu taksonlardan 11 tanesi Grup H'a ve 5 tanesi de Grup D'ye girmektedir. Bucerates seksiyonundaki endemik takson sayısı ise 6'dır (3).

Bucerates seksiyonuna ait taksonların ayırım anahtarı aşağıdaki gibidir;

Infloresans bariz rasemoz, 8-14 çiçekli, pedunkul (1.5-)3-4 cm, meyveler arkuat veya semisirküler, 2-3x0.1-0.15 cm, kaliks dişleri tüp kadar ***T. aurantiaca***

Infloresans kısa salkım, hemen hemen umbellat, 4-6 çiçekli, Çiçek sapı 0.5-1 cm. legümenler yer yer kıvrık. 1-1.5x0.15-0.2 cm, kaliks dişleri tüpten daha kısa

T. arenicola

Legümenler az eğri bögürü, yassı, dikişler undulat. (korolla 5-7 mm)

T. fischeriana

Legümenler az kıvrık, ağımsı damarlı, korolla 4.5-6 mm

T. tenuis

Infloresans umbellat, 3-8 çiçekli, korolla 4-6 mm, meyveler falkattan semisirküle

T. cancellata

Meyveler çoğunlukla düz, bazen arkuata, infloresans 6-12 çiçekli, korollanın kanatları 2 dişli. Kaliks dişleri lanseolat-subulat, tüpten daha uzun

T. astroites

Legümenler yay şeklinde, infloresans 6-7 çiçekli. Korollanın kanatları tam. Kaliks dişleri üçgen lanseolat. Tüpten daha kısa

T. halophila

Infloresans 4-10 çiçekli, pedunkul 0.2-0.3(-1) cm, legümenler linear, kısa akuminat

T. crassipes

Infloresans 8-20 çiçekli. Pedunkul 1-5 cm. Legümenler derece derece daralmaktadır

T. polycarpa

Legümenler 0.6-1 cm, düz, kısaca kıvrılmış ve ucu kancalı. Infloresans 7-12 çiçekli

T. rigida

Legümenler kapalı enine damarlı

T. pamphylica

Legümenler düz, kapalı enine damarlı, korolla 8-10 mm	<i>T. carica</i>
Legümenler arkuattan semisirkülere. 1.5-2.5 cm, infloresans 4-8 çiçekli	<i>T. arcuata</i>
Legümenler 4-10 cm, kıvrık veya arcuat, yaygın veya değil	<i>T. monantha</i>
Legümenler tek veya nadiren 2 si birarada, dar ağımsı damarlı, linear adacıklı	subsp. monantha
Legümenler iki tane nadiren 3 ü bir arada. Daha geniş ağımsı damarlı, oblong adacıklı	subsp. noeana
Legümenler az kıvrık veya düz, 2-3.5 cm, infloresans 2-5 çiçekli	<i>T. orthoceras</i>

2.1.2.1 *T. aurantiaca* Boiss.

Bitki yatık kısa yumuşak tüylü, tabanda dallanmış, gövde toprak üzerine yatık veya dik, 5-30 cm. stipulalar lanseolat-akuminat, alt kısmı dişli. Yaprakçıklar oblong-kuneattan genişçe obovat-kuneata kadar değişken, uca doğru dişli, 5-10x3-8 mm. Pedunkul 1.5-3-4 cm. Çiçekler 8-14 adet, kısa rasemoz, küresel formda. Kaliks çan şeklinde, 3.5-4 mm; dişler linear-lanseolat, tüp kadar. Korolla sarı-turuncu, 7-10 mm. Legümenler linear. Düzenli arkuat-yarı dairemsi, az yassılmış, 1-3x0.1-0.15 cm, enine ağımsı damarlı. 6-8 tohumlu. Tohumlar oblong-silindirel, kırışıklı kabarcıklı. 2x1 mm. Çiçeklenme zamanı 4-7. aylar arası.

2.1.2.2 *T. arenicola* Hub.-Mor.

Bitki yatık kısa yumuşak tüylü tabanda dallanmış, gövde toprak üzerine yayık, 3-10 cm. Stipulalar yarı oksu, düz veya dişli. Yaprakçıklar çok küçük obovat-obkordat-kuneat, uca doğru ince dişli, 2-5x2-4 mm. Pedunkul 0.5-1 cm. çiçekler 4-6, yarı şemsiye, tepesi küresel. Kaliks çan şeklinde, 3 mm, eşit boyda lanseolat dişli. Tüpten daha kısa. Korolla sarı 6-7 mm. Legümenler yaygın linear, az yassılmış, hafif kıvrık, yatık kısa tüylü, ağımsı damarlı, 1-1.5x0.15-0.2 cm. 4-6 tohumlu, düz. Tohumlar oblong, kırışıklı 2x1 mm. Çiçeklenme zamanı 5. ay.

2.1.2.3 *T. fischeriana* Ser.

Bitki yatık kısa tüylü tabanda dallanmış. Gövde toprak üzerine yatık, 3-10 cm. Stipulalar lanseolat- akuminat veya yarı oksu, dişli. Yaprakçıklar oblong, genişçe obovat-kuneat, uç kısmı ince dişli. 5-10x3-7 mm. Pedunkul 1-3 cm. Çiçekler 4-10, kısa rasemoz, tepesi küresel-ovat. Kaliks çan şeklinde 3.5-5mm, dişler linear-subulat, tüp kadar. Korolla sarı, 5-7 mm. Legümenler linear, yassılmış, arkuat, hafif eğri büğrü, dikişleri undulat veya değil. 1.2-2.5x0.1 cm. enine ağsı damarlı, 5-8 tohumlu. Tohumlar silindirsil 2.5x1 mm, kabarcıklı.

Çiçeklenme zamanı 4-6. aylar arası.

2.1.2.4 *T. tenuis* Fisch.

Bitki seyrek yatık tüylü, tabanda sık dallanmış, gövde dik veya yükselici dik, 5-30 cm. Stipulalar yarı oksu, düz veya dişli. Yaprakçıklar az çok tüysüz, oblong veya obovat, ince dişli 5-12x3-8 mm. Pedunkul 0.5-1.7 cm. Çiçekler (1-)2(-4) şemsiye şeklinde. Kaliks kampanulat, 4-5 mm; dişler linear subulat, tüpten biraz uzun. Korolla sarı, 4.5-6 mm. legümenler linear, yassılaştırılmış, dik çok az kıvrık, yatık tüylü, ağımsı damarlı, 1.5-3.5x0.15-0.2 cm, 10-14 tohumlu. Tohum rhomboit silindirsil 2.5x1 mm, kabarcıklı.

Çiçeklenme zamanı 5-7. aylar arası.

2.1.2.5 *T. cancellata* Desf.

Bitki yatık, kısa tüylü, tabanda dallanmış, gövde yükselici dik, 5-30 cm. Stipulalar yarı oksu, dentat. Yaprakçıklar tüysüz, obovat-obkordat, ince dişli, 5-10x4-8 mm. Pedunkul 1-3 cm. Çiçekler 4-5(-8), umbellat. Kaliks çan şeklinde, 3-4 mm; dişler lanseolat-linear, tüpten az uzun. Korolla sarı, 4-6 mm. legümenler linear, yatık tüylü, az yassılmış, oraksı-yarı dairesi, ağımsı damarlı, 1.5-2.5x0.12-0.15 cm, 6-8 tohumlu. Tohumlar oblong silindirel, 2.5x1 mm, kabarcıklı.

Çiçeklenme zamanı 6-7. aylar arası

2.1.2.6 *T. astroites* Fisch.& Mey.

Bitki yatık, kısa yumuşak tüylü, tabanda dallanmış gövde toprak üzerine yatıktan yükselişe geçmiş, 5-25 cm. Stipulalar lanseolat-akuminat, dişli veya düz. Yaprakçıklar oblanseolat-obkordat, uca doğru sivri dentikulat, 4-8x2.5-8 mm. Pedunkul 1-2 cm. Çiçekler 6-12, umbellat-kapitat. Kaliks 2-3.5 mm, çan şeklinde, dişler lanseolat-subulat, tüpten biraz daha uzun. Korolla sarı, 4-5 mm, kanatlar iki dişli veya emarginat. Legümenler linear, düz veya bazen kıvrılmış, çok az yassılmış, yıldız gibi yayık, 10-20x0.8-1.5 mm., enine ağ şeklinde kırışıklı, 4-6 tohumlu. Tohum bulunan kısım düz, diğer taraflar dalgalı. Tohumlar oblong, kabarcıklı. 2x1 mm. Çiçeklenme zamanı 4-7. aylar arası.

2.1.2.7 *T. halophila* Boiss.

Bitki yatık, kısa yumuşak tüylü, tabanda dallanmış, gövde toprak üzerine yatıktan yükselişe geçmiş, 3-15 cm. Stipulalar lanseolat-akuminat, dentat. Yaprakçıklar obovat kuneattan-obkordat-kuneata kadar değişen ince dikişli, uca doğru ince dişli. 2-4x2-3 mm. Pedunkul 0.5-1 cm. Çiçekler 6-7, umbellat-kapitat. Kaliks çansı 2-2.5 mm, dişler triongular-lanseolat, tüpten biraz daha kısa. Korolla sarı, 5 mm, kanatlar düz. Legümenler linear, arkuat, biraz yassılmış, yıldız gibi yayık. 10-13x1-1.5 mm, enine ağ şeklinde kırışıklı. 3-4 tohumlu. Tohumlar dikişli, düzenli kıvrık, bazıları hemen hemen dalgalı. Tohumlar oblong ince kabarcıklı. 2x1 mm. Çiçeklenme zamanı 4-6. aylar arası.

2.1.2.8 *T. crassipes* Boiss.

Bitki yatık kısa tüylü, tabanda dallanmış, gövde toprak üzerine yatıktan yükselişe geçmiş, 5-20 cm. Stipulalar lanseolat-akuminat, dişli. Yaprakçıklar obovattan obkordata kadar değişken kuneat, trunkat veya emarginat, uca doğru ince dişli, 5-8x3-7mm. Pedunkul 2-3(-10) mm. Çiçekler 4-10 umbellat. Kaliks çansı 3.5-4mm, dişler lanseolat-subulat, tüp kadar. Korolla sarı 4-5 mm. Legümenler linear, çok az yassılmış, düz, dik, kümedeki meyveler sık dizilişli, ağsı damarlı. 1.2-3.5x0.1-0.2 cm, 8-10 tohumlu. Tohumlar oblong veya romboid, 2x1.5 mm, kırışıklı. Çiçeklenme zamanı 4-7. aylar arası.

2.1.2.9 *T. polycarpa* Boiss.

Bitki yatık kısa tüylü, tabanda dallanmış; gövde toprak üzerine yatık sonra yükselici, 10-30 cm. Stipulalar lanseolat, dişli. Yaprakçıklar obovat, dairemsi, ince dişli, dentikulat. 4-8x3-4 mm. Pedunkul 1-5 cm. Çiçekler 8-10-20 küresel formda veya ovat salkım dizilişli. Kaliks çansı, 3-4 mm, dişleri lanseolat-akuminat, tüp kadar. Korolla sarı 5.5-7 mm, legümenler linear, az yassılaştırmış, dik sık dizilişli. 1.5-3x0.1-0.12 cm. Ağsı damarlı, çok tohumlu. Tohumlar oblong-silindir, 2x1 mm, son kısmı kabarcıklı. Çiçeklenme zamanı 3-5. aylar arası.

2.1.2.10 *T. rigida* Boiss.

Bitki yatık kısa yumuşak tüylü, tabanda dallanmış, gövde toprak üzerine yatık veya dik. 5-15 cm. Stipulalar lanseolat-akuminat dişli, derin parçalı. Yaprakçıklar obovat-obkordat, ince dişli, 5-8x4-7 mm. Pedunkul 2-4 mm. Çiçekler 7-12, küresel dizilişli, yoğun. Kaliks çansı, 3-4 mm, dişler linear subulat, tüpten uzun. Korolla sarı, 5-6 mm. Legümenler geniş linear, yassı, dik, düz fakat hafifçe kıvrılmış ve uç kısma doğru çengel şeklinde, sıkı kümelenmiş, 0.6-1x0.2-0.3 cm, ağsı damarlı, 2-3 tohumlu. Tohumlar ovat-oblong. 2-2.5x1-1.5 mm, düz. Çiçeklenme zamanı 4-6. aylar arası.

2.1.2.11 *T. pamphylica* Hub.-Mor.

Bitki yatık kısa yumuşak tüylü, tabanda dallanmış, gövde dik yükselici, 10-30 cm. Stipulalar semisagitat, düz veya dişli. Yaprakçıklar obovat veya obkordat-kuneat, ince dişli veya pinnatifit, 3-10x3-8 mm. Pedunkul 1-5 cm. Çiçekler 3-6, kısa salkımsı küresel formda. çansı, 3.5-4 mm, dişler lanseolat-linear, tüp kadar. Korolla sarı, 6-9 mm. Legümenler tüysüz dik veya yayılmış, linear, düz veya az kıvrık, yassı, dalgalı, 1.7-3x0.15-0.2 cm, yaklaşık 80 taneye yakın birleştirici enine damarlı, 9-11 tohumlu. Tohumlar oblong-romboit, kırışıklı, 2x1 mm. Çiçeklenme zamanı 5-7. aylar arası.

2.1.2.12 *T. carica* Hub.-Mor.

Bitki yatık kısa yumuşak tüylü, tabanda dallanmış, gövde dik yükselici, 10-20 cm. Stipulalar lanseolat, dişli veya parçalı. Yaprakçıklar obovat-kuneat üst yarısında ince dişli, 5-9x3-7 mm. Pedunkul 1-3 cm. Çiçekler 2-3. Kaliks çansı, 5-6 mm, dişler lanseolat-linear, tüp kadar. Korolla sarı, 8-10 mm. Legümenler yatık tüylü, dik, linear, düz, yassılmış, 2-3.5x0.2-0.3 cm, 100'den fazla sık enine birleştirici damarlı, 8-12 tohumlu. Tohumlar oblong, düz, 1.5x1 mm. Çiçeklenme zamanı 3-5. aylar arası.

2.1.2.13 *T. arcuata* C.A. Meyer

Bitki yatık kısa tüylü, tabanda dallanmış. Gövde yatık veya dik yükselici, 10-30 cm. Stipulalar yarı oksu. Yaprakçıklar oblong-obkordat, ince dişli, 5-10x3-7 mm. Pedunkul 0-3 mm. Çiçekler 4-8 umbellat. Kaliks çansı, 3.5-4 mm, dişler linear subulat, tüp kadar. Korolla sarı, 4.5-5 mm. Legümenler linear, yatık, kısa tüylü, az yassılmış, falkat-semisirküler, ağımsı damarlı, 1.5-2.5x0.12 cm. 7-8 tohumlu. Tohumlar oblong-silindirel, 2-2.5x1-1.2 mm, kabarcıklı veya kırışıklı.

Çiçeklenme zamanı 5-7. aylar arası.

2.1.2.14 *T. monantha* C.A. Meyer

Bitki yatık kısa yumuşak tüylü, tabanda dallanmış. Gövde yatık veya dik, 5-30 cm. Stipulalar semisagitat, dentikulat. Yaprakçıklar oblong-kordat-kuneat, dentat, parçalı veya pinnatifit, 5-12x3-8 mm. Pedunkul 0(-4)mm. Çiçekler 1-3 yaprak koltuklarında. Kaliks çansı. 5-6 mm, dişler lanseolat-akuminat, tüp kadar. Korolla sarı, 6-8 mm. Legümenler dik yaygın, kıvrımlı, az yassılmış, 4-10x0.1-0.2 cm. uzunluğuna ağımsı damarlı, linear-oblong, yüzeyi alancıklara bölünmüş, çok tohumlu. Tohumlar oblong-silindirel, 2-2.5x1 mm, kabarcıklı.

1. Legümenler tek veya nadiren ikisi birlikte, dar ağımsı damarlı, linear yüzey adacıklı, *T. monantha* subsp. *monantha*

Çiçeklenme zamanı 4-7. aylar arası.

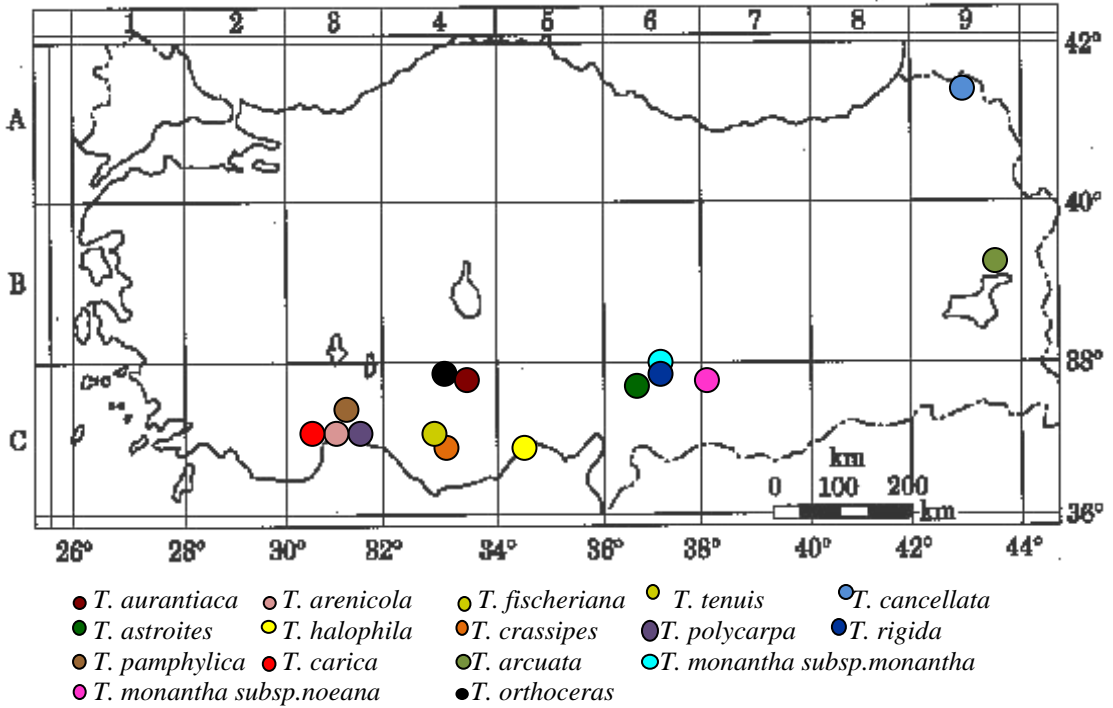
2. Legümenler iki, nadiren üçü birlikte, geniş ağımsı damarlı, oblong yüzey adacıklı, *T. monantha* subsp. *noeana*

Çiçeklenme zamanı 5-6. aylar arası

2.1.2.15 *T. orthoceras* Kar.&Kir.

Yatık kısa tüylü, tabanda dallanmış, gövde yatay olarak büyüyenden-dike doğru, 5-35 cm. Stipulalar semisagitat, dişli. Yaprakçıklar obovat-kuneat, üst yarısı dentat, 6-15x3-8 mm. Pedunkul 0-4 mm. Çiçekler 2-5. Kaliks çansı, 3-4 mm, dişler lanseolat-akuminat, tüp kadar. Korolla sarı, 4-5 mm. Legümenler dik yaygın, linear, az yassılmış düz veya az kıvrık, 2-3.5x0.1-0.15 cm, ağımsı damarlı, yüzey alancıkları uzunlamasına oblong, kısa gagalı, çok tohumlu. Tohumlar oblong-romboid, 2x1 mm, pürüzlü kırışık. Çiçeklenme zamanı: 6. ay

Tez konusunu oluşturan Bucerates seksiyonuna ait *Trigonella* taksonlarının toplama yerleri Çizelge 3.1.'de ve Şekil 2.1'de harita üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Türkiye haritası üzerinde tez çalışmasını oluşturan taksonların toplandığı yerler

2.2 *Trigonella* Taksonlarının Geleneksel Tıpta Kullanımları

Bitki, Türkiye’de halk tıbbında göğüs yumuşatıcı, balgam söktürücü ve müshil etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. Kuvvet verici ve cinsel arzuyu artırıcıdır. Pastırmanın üzerine sürülen “Çemen” isimli karışımın ana maddesini oluşturur. Bazı baharatların bileşimine girer, tohum şeker hastalığına karşı kullanılmaktadır. Tohumlardan hazırlanan lapa haricen çibanların olgunlaştırılmasında kullanılmaktadır (8).

Jouad ve arkadaşları Morocco’nun kuzey merkez bölgesinde 1527 hasta (1095’i diabet, 274’ü böbrek, 158’i kalp hastası) ve 25 geleneksel bitki tedavicileri ile görüşmüşler toplam hastaların 1153’ü düzenli olarak tıbbi bitki kullandıklarını söylemişlerdir. Yapılan görüşmeler sonucu sadece %12’sinin toksik bitkiler hakkında bilgi sahibi olduğu ortaya çıkmıştır. Yapılan bu çalışmada konumuzla ilgili bölgede “halba” olarak bilinen *T. foenum-graecum* bitkisinin tohumlarını 173 hastanın diabet ve hipertansiyonda kullandıklarını belirtmişlerdir (31).

Lev ve Amar İsrail Jordan krallığında satılan geleneksel ilaçlarla ilgili etnofarmakolojik bir çalışma yapmışlar. Marketlerde arabik fenugreek olarak bilinen *T. arabica* tohumlarının tıbbi kullanımları bilinmeden satıldığını bunun yanında fenugreek olarak bilinen *T. foenum-graecum* bitkisinin tohumlarının şeker düzenleyici ve diüretik olarak, yağının ise zayıflama amaçlı satıldığını kaydetmişlerdir (32).

T. foenum-graecum Eski Mısır’da tütsü olarak ve mumyalamada kullanılmışken, geleneksel Çin tıbbında bacaklardaki güçsüzlük ve ödemleri tedavi etmenin yanı sıra tonik olarak da kullanılmıştır. *T. foenum-graecum* tohumlarının hazımsızlık ve kellik için kullanımı gibi halk arasında sayısız kullanımı vardır. Halk arasında diüretik, analjezik, antitümör ajan olarak kullanılmıştır. Gut, karında su toplaması ve epilepside de kullanımları olmuştur (33).

Ghorbani İran’ın kuzeyi, Sahra’nın Türkmen bölgesinde farmasötik etnobotanik çalışması yapmış ve bölgede Boy-dana yerel ismi ile bilinen kültür olarak yetiştirilen *T. foenum-graecum* toprak üstü kısmının infüzyonunun solunum şikayetlerine, enfeksiyona, kan yağlanmasına ve kadın infertilitesine karşı kullanıldığını belirtmiştir (34).

Yaprak ve tohumlarının ekstresi tıbbi olarak kullanılmıştır. *T. foenum-graecum* tohumları aromatik, acı, karminatif, süt arttırıcı özelliktedir ve çiğ veya pişmiş yenebilir. Birçok geleneksel tıp sisteminde antibakteriyal, gastrik uyarıcı, anoreksia'ya karşı, antidiyabetik ve hipokolesterolemik ajan olarak kullanılmıştır. Dünyada tohumları baharat olarak yaprakları ise sebze olarak kullanılmaktadır. Hindistan bu bitkinin en çok üretildiği yerdir ve tıbbi kullanımlarından dolayı bitkinin birçok alıcısı vardır. Tohumlar çorba ve keklerde tat verici ajan olarak kullanılmaktadır (7).

Banakar ve arkadaşları 2007 yılında Kuzey Karnataka'da 150 diabet hastası ile görüşmüşler ve diabet hastalıkları için kullandıkları bitkileri sormuşlardır. Bu bölgedeki hastalardan 20 farklı bitkiyi tedavileri için kullandıklarını öğrenmişlerdir. 150 hastanın %57.33'ünün *T. foenum-graecum* tohumunun antidiyabetik etkisinin olduğunu duydukları ya da bu bitkiyi kullandıkları ortaya çıkmıştır. Bu yüzde oranı, 20 bitkinin arasındaki farkındalığının en yüksek olduğu yüzde oranıdır. Aynı hastalara kullandıkları bu bitkilerin herhangi bir yan etkisini görüp görmedikleri de sorulmuş, 20 bitkiden de bir yan etki bildiren olmamıştır. 1987 yılında yapılmış benzer bir çalışmada *T. foenum-graecum* tohumu kullanan birkaç hasta karın şişkinliği yan etkisini yaşadıklarını bildirmişlerdir (35).

Kumar ve arkadaşları Hindistan'da halk tarafından yara iyi edici etkisi için kullanılan bitkileri araştırmışlardır. *T. foenum-graecum* bitkisinin tohumlarının sulu ekstresinin halk tarafından kesik, yarıklarda kullanıldığını belirtmişlerdir (36).

Pieroni ve arkadaşları kuzey İngiltere'de Bradford bölgesinde yaşayan güney Asya göçmenlerinin tükettikleri sebzeleri ve tüketme amaçlarını araştırmışlardır. Halk tarafından *T. foenum-graecum*'unda içinde bulunduğu 21 sebze belirtilmiştir. *T. foenum-graecum* yapraklarının genel sağlık için etkili olduğunu aynı zamanda acı lezzetinden dolayı soğuk havalarda yenildiğinde içlerini ısıttığını belirtmişlerdir (37).

Singh ve arkadaşları batı Himalaya'nın Lahaul-Spiti bölgesinde 4 yaygın hastalığın (mide rahatsızlıkları, romatizma, karaciğer ve seksüel bozukluklar) tedavisinde halk tarafından kullanılan bitkileri araştırmak amaçlı etnofarmakolojik bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucunda 45 cinse ve 24 familyaya ait olan 58 takson tesbit etmişlerdir. Bu taksonlardan 29'unun mide rahatsızlığında, 18'inin romatizmada, 15'inin karaciğer, 9'unun ise seksüel rahatsızlıklarda kullanıldığını ayrıca bazı bitkilerin birden fazla rahatsızlığa kullanıldığını da belirlemişlerdir. Çalışmada "Rebuxu" yerel

ismi ile bilinen *T. emodi*'nin yaprak ve çiçeklerinin tozunu sarılık tedavisinde bir hafta günde iki kez birer kaşık olarak kullanmışlardır (38).

2.3 *Trigonella* Taksonları Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Araştırmalar

Trigonella taksonları üzerinde yapılmış kimyasal çalışmalar incelendiğinde; primer metabolitlerden yağ, lif, karbonhidrat, müsülaj, protein, fosforlu organik bileşikler, kolin sekonder metabolitlerden ise fenolik bileşikler, saponin, alkaloid ve steroller içerdiği görülmektedir (7-14).

2.3.1 Sabit yağ

Sridhar ve Lakshminarayana *T. foenum-graecum* genç yapraklarını yağ, yağ asidi ve tokoferollerini açısından incelemişlerdir. Nötral lipiti % 0.98, glikolipiti %0.38, fosfolipit ise % 0.14 olmak üzere toplam lipit yüzdesini %1.5 bulmuşlardır. Lipitlerin yağ asitlerinin yüzdeleri Çizelge 2.3.'de gösterilmiştir. Ayrıca YBSK kullanılarak ekstredeki α -tokoferol (0.87 mg/g bitki) ve β -tokoferol (0.37 mg/g bitki) miktarları da tesbit edilmiştir (39).

Çizelge 2.3. *T. foenum-graecum* lipitlerinin yağ asidi bileşim yüzdeleri (39).

Yağlar	12:0	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3
Nötral lipit	1.3	2.2	7.6	-	4.3	7.1	44.6	32.9
Glikolipit	0.2	0.3	5.0	0.4	-	0.4	0.3	93.4
Fosfolipit	-	0.6	11.1	1.6	2.8	0.8	20.2	62.9

Nötral lipitte majör yağ asidinin 18:2 ve 18:3, glikolipitte 18:3, fosfolipitte ise 18:3, 18:2 ve 16:0 olduğu gözlenmiştir (39).

Brummer ve arkadaşları tohum ağırlığının yaklaşık % 22'sini oluşturan ve bileşiminde yağ, protein ve karbonhidrat bulunan zamklarının ekstraksiyonu, izolasyonu

ve karakterizasyonu üzerine bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda %7.24 lipit, %22.57 galaktomannan bulmuşlardır (10).

Bağcı ve arkadaşları *T. cretica* tohumlarının YBSK ve GC kullanarak yağ asidi, tokoferol, tokotrienol ve plastokromanol-8 içeriğini incelemişlerdir. Tohumun toplam %32.3 yağ içerdiği bulunmuştur (40).

Çizelge 2.4. *T. cretica* tohum tokokromanollerin bileşimi (40).

Tokokromanoller										
α -T	β -T	γ -T	δ -T	α -T ₃	β -T ₃	γ -T ₃	δ -T ₃	P-8	TToc	TT ₃
89.4	0.3	8.4	0.4	0	0	0	0	0.8	98.5	0

Yağ asidi majör bileşeni; 18:1 Δ 9 (%46.9), 18:2 (%24.2), 16:0 (%12.9) olarak tesbit edilmiştir (40).

Suliman ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının yağlarını ekstre etmişler ve GC' de incelemişlerdir. Ekstrakte edilebilen yağ yaklaşık % 8'dir ve bu yağda linoleik asit % 43.2, linolenik asit % 22, oleik asit % 16.7, palmitik asit %11 oranlarında bulunmuştur. Bunların dışında daha az miktarlarda olmak üzere miristik asit, palmitoleik asit, stearik asit, araşidik asit, eikosamonoenoik asit, behenik asit, lignoserik asit tesbit edilmiştir (9).

Chatterjee ve arkadaşları Hindistan'da lokal bir marketten aldıkları *T. foenum-graecum* tohumlarını kloroform/metanol (2:1) ile ekstre edip nötral ve polar lipitlerini analiz etmişlerdir. TLC ile yağ gruplarını belirleyip GC-MS ile yağ bileşiklerini analiz etmişlerdir. GC-MS analizinde 30 m'lik DB-5 kapiler kolon kullanmışlardır. Buna göre bitkide tesbit edilen lipit ve yağ asidi metil esterleri ve bunların miktarları Çizelge 2.5. ve Çizelge 2.6.'da gösterilmiştir (41).

Çizelge 2.5. Hindistan kaynaklı *T. foenum-graecum* tohumlarında nötral ve polar yağ bileşimi (41).

Lipit türleri	Miktarları (g/100g tohum)
Triaçilgliserol	4.33
Diaçilgliserol	0.28
Monoaçilgliserol	0.18
Fosfotidilkolin	0.11
Fosfotidiletanolamin	0.036
Fosfotidilinozitol	0.009
Serbest yağ asitleri	0.160

Çizelge 2.6. Hindistan kaynaklı *T. foenum-graecum* tohumlarının total lipidinin yağ asidi bileşimi (41).

Yağ asidi metil esterleri	Miktarı (mg/g tohum)
C _{14:0}	0.16
C _{16:0}	8.95
C _{16:1}	0.15
C _{18:0}	3.67
C _{18:1}	12.93
C _{18:2}	35.81
C _{18:3}	18.1
C _{20:0}	1.17
C _{20:1}	0.06
C _{22:0}	0.36
C _{24:0}	0.07

Çizelgeler incelendiğinde major yağ asidi %36 ile linoleik asit iken onu %18 ile linolenik asit takip etmektedir. Daha sonra %13 ile oleik ve %9 ile palmitik asit gelmektedir. Bunların yanı sıra bu tohumdan ilk kez N-açilfosfatidiletanolamin (NAPE) ve yağ asidi amidi tanımlanmış ve izole edilmiştir. NAPE olarak N-linoleyilfosfatidiletanolamin bulunurken yağ asidi amidi olarak ise oleamid bulunmuştur (41).

Naidu ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumunun endospermini ve tohum kabuğunu birbirinden ayırarak ayrı ayrı kimyasal bileşimlerini araştırmışlardır. Buna

göre 16 saat petrol eteri ile soxhelette yaptıkları ekstreden yağ miktar analizi, çözünebilir ve çözünemeyen diyet lifleri miktarı sonuçları Çizelge 2.7.'de verilmiştir.

Çizelge 2.7. *T. foenum-graecum* tohum içeriği ve miktarları (42).

Numune	Nem miktarı (g/100 g)	Total kül (g/100 g)	Yağ (g/100 g)	Çözünebilir lif (g/100 g)	Çözünemeyen lif (g/100 g)
Tohum	11.44 ± 0.01	3.9 ± 0.14	6.71 ± 0.01	30.6 ± 0.14	20.6 ± 0.14
Tohum kabuğu	11.53 ± 0.01	2.17 ± 0.03	1.30 ± 0.07	45.2 ± 0.14	31.9 ± 0.14
Endosperm	10.78 ± 0.02	4.58 ± 0.14	6.59 ± 0.01	20.75 ± 0.07	13.57 ± 0.14

Sonuçlar incelendiğinde görülmektedir ki, yağ en fazla tohum kısmında, toplam lif (77.1 g/100g) en fazla miktarı ise tohum kabuğu kısmındadır (42).

Çiftçi ve arkadaşları Kanada'da farklı 9 coğrafik bölgede yetiştirdikleri *T. foenum-graecum* bitki tohumlarının yağ bileşenlerini araştırmışlardır. Kloroform-MeOH (2:1) ile ekstre edilen yağ numunelerini 100 mX0.25 mm fused silika kapiler kolon kullanarak gaz kromatografisinde incelemişlerdir. Buna göre tohumların toplam lipid içeriği % 5.8-15.2 arasında değişmekte olduğu tesbit edilmiştir. Major yağ asidi olarak linoleik asit (%45.1-47.5), α-linolenik asit (%18.3-22.8), oleik asit (%12.4-17), palmitik asit (%9.8-11.2) ve stearik asit (%3.8-4.2) tesbit edilmiştir (43).

Liu ve arkadaşları TFG tohumunun hekzan, etilasetat, metanol ve sulu ekstresini oluşturan bileşikler NMR ve MS ile aydınlatılmıştır. Buna göre ekstrelerde tesbit edilen bileşiklerin trigliserit, yağ asiti, polisakkarit olduğu görülmüştür ve şunlardır; (11Z,14Z)-11, 14-eikosadienoik asit 2,3-bis [((9Z,12Z,15Z)-1-oxo-9,12,15-oktadekatrien-1-yl)oksi] propil ester, **1**; (11Z,14Z)-11,14-nondekanoik asit 2,3-bis[((9Z,12Z,15Z)-1-okso-9,12,15-oktadekatrien-1-yl)oksi] propil ester, **2**; (3Z,6Z)-dekanoik asit 2,3-bis-(1-okso-pentil-1-il)oil propyl ester, **3**; (7Z,10Z)-7,10-ene-pentadekanoik asit, **4**; hekzadekanoik asit, **5**; β-fruktofuranozil-(1→2)-O-α-glukopiranozil-(1→6)-O-α-D-galaktopiranozil-(1→6)-galaktopiranozit, **6**; β-

fruktofuranozil-O- α -glukopiranozil-(1 \rightarrow 2)-O- α -D-galaktopiranozit, **7**; b-D-fruktofuranozil 2-O-bütül- α -D-glukopiranozit, **8** (44).

2.3.2 Proteinler

Brummer ve arkadaşları tohum ağırlığının yaklaşık % 22'sini oluşturan ve bileşiminde yağ, protein ve karbonhidrat bulunan zamklarının ekstraksiyonu, izolasyonu ve karakterizasyonu üzerine bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda %34.10 protein içerdiğini bulmuşlardır (10).

Nasri ve Tinay yağı uzaklaştırılmış *T. foenum-graecum* tohumlarından bir protein ekstresi hazırlamışlardır. Bunların yaklaşık bileşimini ve fizikokimyasal özelliklerini belirlemişlerdir. Bu özelliklere P_H ve/veya NaCl konsantrasyonlarının etkisi de araştırılmıştır. *T. foenum-graecum* tohumlarının %28.4 oranında protein içerdiği bulunmuştur. Ham lif bileşiği %9.3, ham yağ bileşimi ise %7.1 oranında tesbit edilmiştir. Minimum protein çözünürlüğü (%18.5) P_H'ın 4.5 olduğu noktada gözlenmişken maksimum protein çözünürlüğü (%91.3) P_H'ın 11 olduğu noktada gözlenmiştir. *T. foenum-graecum* protein ekstresinin emülsiyon ve köpürme özelliğinin ölçümünde P_H'ın ve tuz konsantrasyonunun büyük ölçüde etkisinin olduğu ortaya çıkmıştır. Hem emülsiyon hemde köpürme özelliği minimum değeri, proteinlerin izoelektrik noktası olan PH 4.5'te tesbit edilmiştir. Maksimum değer ise P_H 2 ve P_H 12'de gözlenmiştir. Bu sonuçlar *T. foenum-graecum* tohum proteinlerinin, yüksek yağ (1.56 ml yağ/g protein) ve yüksek su absorpsiyon kapasitesinin olduğunu (1.68 ml su/g protein) göstermiştir. Yoğunluğu ise 0.66 g/ml'dir (45).

Naeem ve arkadaşları da *T. foenum-graecum* tohumunda affinite kromatografisi kullanarak lektin, total protein ve mannoz-glikoz bileşimlerini incelemişlerdir ve bitkide bu maddelerin olduğunu tesbit etmişlerdir (11).

Gopu ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarında HPTLC kullanarak 4-hidroksiizolösün aminoasitinin miktarını tesbit etmişlerdir. Tohumlar eczane ve lokal bir satıcı olmak üzere iki farklı yerden temin edilmiştir. Bu tohumlardan elde edilen metanol ekstrelerine sırasıyla FGS1 ve FGS2 ismi verilmiştir. Bu tohumlardan debitterilize edilip DFG1 ve DFG2 ismi ile metanollü ekstreler hazırlanmıştır.

Stasyonier faz olarak silika gel GF₂₅₄ mobil faz olarak ise n-bütanol-metanol-asetik asit-su (4:1.5:1:1 v/v/v/v) kullanılmıştır. Plaklar 4-hidroksiizolösün için 395 nm'de taranmıştır. Buna göre ekstrelerde bulunan aminoasit miktarları Çizelge 2.8.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.8. *T. foenum-graecum* tohum metanol ekstrelerinde bulunan 4-hidroksiizolösün miktarları (46).

Ekstreler	4HI (% a/a)
FGS1	0.259±0.025
FGS2	0.207±0.017
DFG1	0.014±0.003
DFG2	Tesbit edilememiştir

Çizelge incelendiğinde en yüksek aminoasit miktarının (0.259 % a/a) ezcaneden alınan bitkiden elde edilen metanol ekstresinde bulunduğu görülmüştür (46).

Manda ve arkadaşları içerisinde *T. foenum-graecum*' unda bulunduğu 6 bitkinin tohumlarını serin borat tamponunda süspanse ettikten sonra santrifüj edip süpernatant kısmından YBSK yardımıyla bitkilerde bulunan glutasyon (GSH), sistein (CYS), N-asetilsistein (NAC), homosistein (HCYS), γ -glutamil sistein (GGC) gibi tiyollerini analiz etmişlerdir. Bununla birlikte çeşitli antioksidan testler yaparak tiyol içeren bitkinin antioksidan etki ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır. *T. foenum-graecum* tohumunda 519 nM/g GSH, 57nM/g CYS, 62 nM/g HCYS, 42 nM/g GGC tesbit edilmiştir. Ancak tiyoller ve antioksidan etkileri açısından analizleri yapılan diğer bitkilerde incelendiğinde antioksidan etki ile tiyoller arasında bir korelasyon belirlenmemiştir (47).

Naidu ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumunun endospermini ve tohum kabuğunu birbirinden ayırarak ayrı ayrı kimyasal bileşimlerini araştırmışlardır. Buna göre Kjeldahl metodu ile yaptıkları protein miktar analizinde tohum kısmında 27.57 ± 0.09 , tohum kabuğu kısmında, 7.9 ± 0.10 , endosperminde ise 43.78 ± 0.16 g/100g protein bulunduğu görülmüştür (42).

Haeri ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının petrol eteri ile yağının uzaklaştırılmasından sonra %70 etanol ile ekstresinde bulunan 4-hidroksiizolösün aminoasitinin gaz kromatografisi ile miktar analizini yapmışlardır. ZB-PAAC kolon (10mX0.25mm) ve FID dedektörle yapılan analiz sonucunda tohumda bulunan 4-hidroksiizolösün aminoasitinin miktarı kuru tohumda 279 mg/100g olarak bulunmuştur (48).

2.3.3 Mineraller

T. foenum-graecum bitkisinin Ca, P, Mg, Fe bakımından çok zengin olduğu, aynı zamanda Mn, Al, Zn içerdiği bulunmuştur (49).

Başka bir çalışmada *T. foenum-graecum* taksonunun Tunus'un 6 farklı bölgesinden toplanan 38 kültür bitkisinin yaprakları mineralleri açısından incelenmiş ve farklı yerlerden toplanan bu bitkilerin hepsinin yapraklarının belirli oranlarda K, Na, Mg, P, Ca, Fe içerdiği tespit edilmiştir (50).

2.3.4 Fenolik Bileşikler

Epidemiyolojik çalışmalar sonucunda *T. foenum-graecum* bitkisinde kanser ve koroner kalp hastalığı gibi oksidatif strese bağlı hastalıkları iyileştirmede aktif rol oynadıkları belirtilen, in vitro olarak radikal süpürücü ve oksidatif strese karşı koruyucu, kanser hücrelerinin büyümesini inhibe edici, hidrojen verici ve tekli oksijeni yok edici kimyasal yapılarından dolayı yükseltgenme-indirgenme özellikli antioksidan bileşikler olan fenolik bileşikler de bulunmaktadır.

2.3.4.1 Flavonoitler ve İzoflavonoitler

2.3.4.1.1 Total Flavonoit Miktar Tayin Çalışmaları

Trigonella taksonları üzerinde yapılmış tesbit edilmiş çalışmalarda total flavonoit miktarları Çizelge 2.9.' da gösterilmiştir.

Çizelge 2.9. *T. foenum-graecum* üzerinde yapılmış çalışmalarda tesbit edilmiş total flavonoit miktarları

<i>T. foenum-graecum</i>	Total flavonoit (mg/g bitkideki miktar)	Literatür
Tohum	19.14	(51)
Tohum	1.5	(14)
Tohum	9.8	(52)
Tohum	19.01	(53)
Tohum	0.950	(54)
Yaprak	5	(55)
Yaprak	3	(56)

Dixit ve arkadaşları Hindistan'da lokal bir marketten aldıkları *T. foenum-graecum* tohumlarının sulu ve sıcak sulu ekstralarında sırasıyla 19.14 mg/g bitki ve 17.49 mg/g bitki total flavonoit içerdiğini bulmuşlardır (51).

Dasgupta ve De Hindistan'nın Kolkati bölgesinde doğal olarak yetişen *T. foenum-graecum* yapraklarını 5 dk sıcak su ile kaynatarak ekstre etmişler ve ekstrede 5mg/g total flavonoit tesbit etmişlerdir (55).

Prati ve arkadaşları kültüre alınmış *T. foenum-graecum* tohumlarının %70'lik etanolik ekstresinde; solvent A olarak su-asetik karışımı solvent B olarak ise asetonitril-su-asetik asit karışımı kullanılarak ve Waters XTerra MS RP C18 kolonla yapılan YBSK analizinde bitkide bulunan total flavonoit miktarını 1.5 mg/g bitki olarak tesbit etmişlerdir (14).

Dixit ve arkadaşları Hindistan'da bulunan Plethico laboratuvarı tarafından üretilen *T. foenum-graecum* tohum tozu içeren Syndrex® isimli ilacın total flavonoit

miktarını araştırmışlardır. Öncelikle ilaçtan 5 farklı ekstre hazırlamışlardır. Sulu ekstre (S1), suda kaynatılmış ekstre (S2), petrol eterli ekstre (E1), kloroformlu ekstre (E2) ve metanollü ekstre (E3) olarak isimlendirilmiştir. Bu ekstrelerden en fazla total flavonoit içeren ekstre 9.8 mg/g miktarı ile sulu ekstre (S1). S2 ekstresinde 7.4 mg/g kuru ekstre E1 ekstresinde 1.6 mg/g kuru ekstre, E2 ekstresinde 1.2 mg/g, E3 ekstresinde 1.8 mg/g ve E4 ekstresinde 1.5 mg/g olarak bulunmuştur (52).

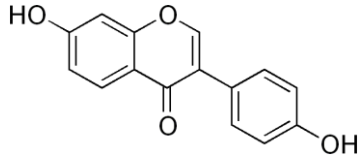
Subhasree ve arkadaşları Hindistan'nın Coimbatore bōlgesinde doğal olarak yetişen *T. foenum-graecum* metanolle ekstre edilmiş yapraklarının total flavonoit miktarını 3 mg/g bitki olarak bulmuşlardır (56).

Hadriche ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının etilasetatlı ekstresinden 19.01 mg/g bitki total flavonoit bulmuşlardır (53).

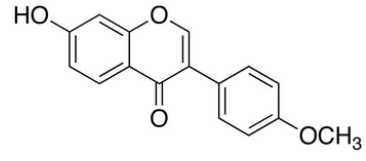
Tohamy ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohum ekstresinin %80 metanol ekstresinde bulunan total flavonoit miktarını 0.950 mg/g olarak belirlemişlerdir (54).

2.3.4.1.2 İzole Edilmiş veya çeşitli Analiz Yōntemleri Kullanılarak Tesbit Edilmiş Flavonoit ve İzoflavonoit alışmaları

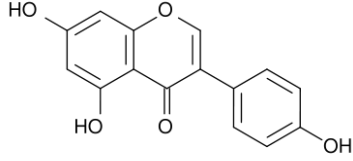
Mazur ve arkadaşları satın alınmış *T. foenum-graecum* tohumlarının eterli ekstresinden GC-MS yardımıyla hormon benzeri bisfenolik fitoōstrojenleri analiz etmişlerdir. Buna gōre bitkide eser miktarda formononetin, biokanın A tesbit edilirken, 10.2 μg/100g daidzein, 9.8 μg/100g genistein izoflavonoitleri belirlenmiştir (57).



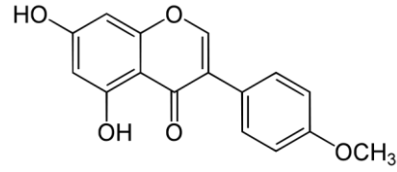
daidzein



formononetin



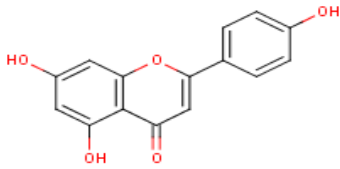
genistein



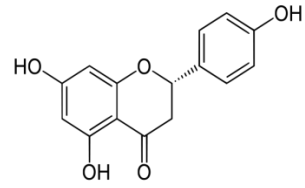
biochanin A

Şekil 2.2. *T. foenum-graecum* tohumlarında bulunan izoflavonoitler

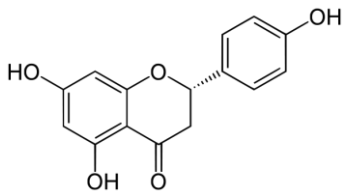
Shang ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarından silikajel, poliamid ve Sephadex LH-20 kromatografi kullanarak viteksin, trisin, naringenin, kersetin, trisin 7-O-beta-D-glikopiranozit flavonoitlerini izole etmişler ve yapılarını fiziksel, kimyasal ve spektral analizlerle belirlemişlerdir (58).



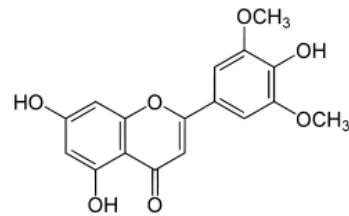
kersetin



viteksin



naringenin



trisin

Şekil 2.3. *T. foenum-graecum* tohumlarından izole edilmiş flavonoitler

Kawashty ve arkadaşları sadece *T. foenum-graecum*'un kültür olduğu diğerleri doğal olan ve Mısır'da çeşitli bölgelerden toplanan 8 *Trigonella* taksonunun toprak üstü kısımlarının flavonoidlerini %70'lik etanol ve ardından %50'lik etanolle ekstraksiyonu yapılan ekstrelerde incelemiştir. Flavonoidleri, asit, alkali hidrolizleri, hidrojen peroksit oksidasyonu, enzimatik hidroliz, UV spektrometre ve ¹H-NMR gibi standart metotlarla tanımlamışlardır. Buna göre taksonlar ve içerdikleri flavonoidler miktarları Çizelge 2.10.'da verilmiştir. Belirtilen örnek numaraları bazı bitkilerin 1 bazılarının 2 bazılarının ise 3 farklı lokaliteden toplandığını göstermektedir ve bunlar arasındaki fenolik bileşik içerikleri farkları da Çizelge 2.10.'da belirtilmiştir.

Çizelge 2.10. Bazı *Trigonella* taksonları ve flavonoid içerikleri (59).

Seksiyonlar/ taksonlar	Örnek no	K 3-G	K 7-G	K 3-Gal-G	K 3,7-di-G	K 7-di-G-3- <i>p</i> -kumaril-G	Q 3-G	Q 7-G	Q 3-Gal-G	Q 3,7-di-G	Q 7-di-G-3- <i>p</i> -kumaril-G	7,4'-dihidroksiflavan	7,3',4'-trihidroksiflavan	Formononetin
Sect. Falcatulae														
<i>T. maritima</i>	1			++	++						t	+	+	++
	2			++	+						t	+	+	+
	3			+	+				+++		t	+	+	+
<i>T. laciniata</i>	1			+++	+				++		t	+	+	++
	2			+++	+				++		t	+	+	+
<i>T. glabra</i>	1			+	+++				+		+++	-	-	+
	2			++	+++				+		++	-	-	+
<i>T. stellata</i>	1			+++	+++				++		++	+	+	+
	2			++	+++				+		t	+	+	+
	3			+++	++				++		+	+	+	+
Sect. Cylindracea														
<i>T. cylindracea</i>	1		t	+	+++			t	+	+++		+	+	+
	2		t	+	+			t	+	+		+	+	+
Sect. Foenum-graecum														
<i>T. foenum-graecum</i>	1	+++	+	+		+	+++	+	+	+++		+	+	+
<i>T. polyceratia</i>	1	t	+		+++	t	t	++	+++	+++		-	-	+
Sect. Pectinatae														
<i>T. arabica</i>	1			++	++				++	+++		+	+	+
	2			+	+				+	+++	+	+	+	+

+++=çok; ++=güçlü; +=var; t=eser; -=yok.

K 3-G=Kaempferol 3-glikozit; K 7-G=kemferol 7-glikozit; K 3-Gal-G=kemferol 3-galaktoz glikozit; K 3,7-di-G=kemferol 3,7-diglikozit; K 7-di-G-3-*p*-kumaril-G=kemferol 7-diglikozit-3-*p*-kumarilglikozit; Q 3-G=kersetin 3-glikozit; Q 7-G=kersetin 7-glikozit; Q 3-Gal-G=kersetin 3-galaktoz glikozit; Q 3,7-di-G=kersetin 3,7-diglikozit; Q 7-di-G-3-*p*-coumaryl=kersetin 7-diglikozit-3-*p*-kumaril glikozit.

Çizelgedeki sonuçlara göre farklı seksiyonlarda bulunan taksonlar kemosisistematik açıdan incelendiğinde bütün taksonların bir izoflavonoit olan formononetin içerirken 7,4'-dihidroksiflavon ve 7,3',4'-trihidroksiflavon *T. glabra* ve *T. polyceratia* hariç bütün taksonlarda bulunmaktadır. Ayrıca bütün taksonlar kemferol 3,7-diglikozit kemferol 3-galaktozlikozit kersetin 3-galaktozlikozit içerirken kersetin 3,7-diglikozit Sect. Cylindracea, Sect. Foenum-graecum ve Sect. Pectinatae olmak üzere sadece üç seksiyonda bulunmaktadır. Çizelge 2.10. incelendiğinde Falcatulae seksiyonu ile Pectinatae seksiyonunun flavonoit profillerinin çok benzediği, Cylindracea ile Foenum-graecum seksiyonlarının da kendi aralarında birbirine benzediği görülmektedir (59).

Huang ve Liang 4 farklı lokaliteden (Anhui, Jiangsu, Ningxia, Shaanxi) toplanmış *T. foenum-graecum* bitkisinin tohumlarındaki orientin ve viteksin miktarlarını YBSK ile belirlemişlerdir. Buna göre %9 orientin, %4 viteksin ile en yüksek oran Jiangsu bölgesinden toplanan bitkinin tohumlarında tesbit edilmiştir (60).

Han ve arkadaşları Çin'de doğal olarak yetişen *T. foenum-graecum* bitkisinin toprak üstünün önce sıcak metanol ile yapılan ekstraksiyonundan sonra çeşitli şekillerde yapılan fraksiyonlarından hareketle izole edilen flavonoitlerin yapılarının NMR analizi ile aydınlatılmasının sonucunda bitkide üç kemferol glikozit (kemferol 3-O-β-D-glukozil(1→2)-β-D-galaktoz, kemferol 3-O-β-D-glukozil(1→2)-(6''-O-asetil)-β-D-galaktoz 7-O-β-D-glikozit ve kemferol 3-O-β-D-glukozil (1→2)-β-D-galaktoz) ve bir kersetin glikozit (kersetin-3-O-β-D-glukozil (1→2)-β-D-galaktoz 7-O-β-D glikozit) olduğu görülmüştür (61).

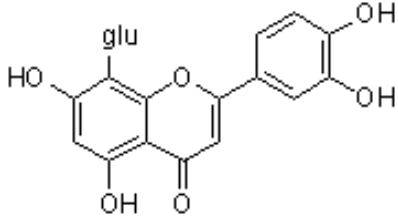
Baggett ve arkadaşları Amerika'da Peaceful Valley Farm Supply'da kültüre alınmış *T. foenum-graecum*'un da satın alındığı 4 bitkinin izoflavanoitlerini araştırmışlardır. Bitkinin kökünün ekstresini hazırlamak için kökleri önce düşük nitrat hidroponik solüsyonu ile ıslatılmış daha sonra *Rhizobium meliloti* süspansiyonu ile inoküle edilmiştir. 4 hafta sonra kökler aseton ile ekstre edilmiş ve aseton rotaryevaporatör ile uzaklaştırılmıştır. Kalan sulu faz aynı hacimde etil asetat ile 3 kez ekstre edilmiş ve etil asetat da ortamdan uzaklaştırılmıştır. Kalan artık 1 ml metanol ile çözülmüş ve analizler bu ekstre üzerinde yapılmıştır. Araştırmacılar analizi YBSK'nin yanı sıra ve kapiler elektroforez ile yapıp iki cihazın sonuçlarını karşılaştırmak istemişlerdir. *T. foenum-graecum* köklerinde her iki cihazla da formononetin-7-O-glikozit (FG), formononetin-7-O-glikozit-6'-malonat (FGM), medikarpin-7-O-malonat

(MG), medikarpin-7-O-glikozit-6'malonat (MGM) izoflavonoitlerini tesbit etmişlerdir fakat pik alanları FG, MG, MGM için iki cihazda farklılık göstermektedir. MGM ve MG YBSK'de daha yüksek pik alanına sahip iken sırasıyla (9.456, 0.515) kapiler elektroforezde bu değer MGM için 8.848, MG için ise 1.149'dur. Bunun tersi olarak FG'nin pik alanı ise kapiler elektroforezde (0.303) YBSK'den (0.228) daha fazladır (62).

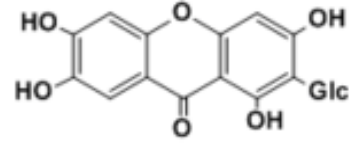
Yuldashev Kazakistan'da Alimtau dağlarının çevresinden topladığı *T. grandifolia* taksonunun toprak üstü kısmının etanol ekstresinden biokanin A, luteolin, kersetin, sinarozit, kersetin-7-O-β-D-glukopiranozit, viteksin ve izoorientin flavonoitlerini izole etmiştir (33).

Bajpai ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada kültüre alınan *T. corniculata* ve *T. foenum-graecum* bitkilerinin toprak üstü ve tohum kısımlarının %50'lik sulu metanol ekstresinde fenolik bileşiklerini YBSK-MS-MS ile tespit etmişlerdir. Ekstreler 1.2 N HCl ile 1 saat hidroliz edildikten sonra etil asetat ile ekstre edilerek hazırlanmıştır. Phenomenex Luna RP ve C 18 kolonları kullanılarak yapılan analizde çözücü sistemi olarak %1 asetik asit içeren su ve asetonitril gradient sisteminden yararlanılmıştır. *T. corniculata* toprak üstü kısmında; 105.3µg/g kemferol, 48.8 µg/g kersetin bulunmuştur. Tohum kısmında toprak üstü kısmından farklı olarak 524.7 µg/g rutin içerirken, kersetin içermemektedir. Tohum kemferol miktarı ise 100.6 µg/g'dır. *T. foenum-graecum* toprak üstü kısmında ise 120.3 µg/g kersetin, 143.5 µg/g rutine rastlanmıştır. Tohumunda flavonoite rastlanmamıştır (63).

Yukarda bahsedilen Prati ve arkadaşlarının yapmış olduğu total flavonoit çalışmasına ilaveten aynı çalışmada *T. foenum-graecum* tohumlarının %70'lik etanolik ekstresinde bulunan flavonoitleri hem hidroliz ederek hemde etmeden YBSK-DAD ve YBSK ESI-MS sistemleri kullanılarak tesbit etmişlerdir. Pinnacle ODS YBSK kolonu kullanılarak ve solvent A olarak asetonitril solvent B olarak ise 0.1'lik formik asitli su kullanılarak yapılan analiz sonucunda hidroliz edilen ve edilmeyen ekstrede viteksin, orientin, homoorientin, orientin-homorientin C-ramnosil türevi, viteksin C-ramnosil türevi gibi flavonoitler tesbit edilmişken hidroliz edilmeden yapılan ekstrenin analizinde ayrıca viteksin-0-ksilosil türevi de tespit etmişlerdir (14).



orientin



homoorientin

Şekil 2.4. *T. foenum-graecum* tohumlarında tesbit edilmiş C glikozit flavonoitleri

Wojdylo ve arkadaşları *T. foenum-graecum* bitkisinin tohumlarındaki flavonoit ve fenolik asitleri kalitatif ve kantitatif olarak tesbiti için YBSK kullanarak analiz etmişlerdir. Bunun için bitkinin 500 mg'ını 2 ml enzim karışımı (β -glikozidaz, β -ksilosidaz, β -galaktosidaz, β -hesperidinaz) ile bir test tüpünde karıştırmıştır ve üzerine 0.5 ml PH 5.5 sitrat tamponu ile dilüe edilmiş H-2 tip sülfataz ilave edilmiştir. Ayrıca fenoliklerin oksidatif kaybını önlemek için SO_2 eklenmiştir. Enzimli test örnekleri 37°C 'de 1 saat su banyosunda hidroliz edildikten sonra 2 ml metanol ile ekstre etmişler ve böylece analiz edilecek örnekleri hazırlamışlardır. Solvent A olarak %4.5'lik formik asitin, solvent B olarak ise %80'lik asetonitril ve %20 solvent A'nın mobil faz olarak kullanıldığı analizde kolon olarak RP-18 kullanılmıştır. İzokratik elüsyon kullanılarak yapılan analiz sonucunda *T. foenum-graecum* tohumlarının 100 gr'ında 53.3 mg neoklorojenik asit, 29.4 mg p-kumarik asit, 2.95 mg kersetin, 512 mg luteolin, 731 mg ise apigenin tesbit edilmiştir. Bu sonuçlara göre bitkide %100 flavonoit-fenolik asit içeriği bakımından %94 flavonoit bulunurken %6 fenolik asit bulunmaktadır (64).

Tsiri ve arkadaşları Yunanistan'da yerel bir marketten satın aldıkları *T. foenum-graecum* tohumlarını CuCl_2 ile muamele ederek hücre kültürlerini hazırlamışlardır. Çalışmalarının amacı bakırın tohumda bulunan bir izoflavonoit olan medikarpin miktarında artış oluşturup oluşturmayacağını tesbit etmektir. Biriken izoflavonoit aglikonları veya onların glikozitlerini YBSK ile belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucu göstermiş ki bakır konsantrasyonuna bağlı olarak medikarpinin yeniden sentezlenmesi artmıştır. Bakırın yüksek miktarda köklerde birikmesi nedeniyle medikarpin köklerde yeniden sentezlenirken bitkinin diğer kısımlarında malonil glikoziti harcanmıştır. Tam tersi olarak filizler gibi az konsantrasyonda bakır içeren

dokular veya az CuCl_2 ile muamele edilmiş köklerde medikarpin sadece yeniden sentezlenerek oluşmuştur. Kalkon sentaz ve vestiton redüktaz spesifik transkriptazların birikmesinin yanı sıra fenilalanin amonyum liyaz aktivitesinin artması, bakır tarafından medikarpinin yeniden sentezlenmesini sağlamaktadır. Medikarpin salınımının miktarı ile çalışılan bakır konsantrasyonunun linear olmayan negatif korelasyonu tohumun büyüme ortamında bakır konsantrasyonu ile düzenlenen medikarpin salgılama prosesinin var olduğunu gösterir. Bakırın medikarpinin salgılanmasını indüklemesinde ATP'ye bağlı transporterların muhtemel ilgisinin olduğu düşünülmektedir. RP-YBSK ile yapılan analizde Lichrosorb RP 18 kolon kullanılmıştır, asetonitril ve % 0.1 asetik asit içeren su ile gradient çözücü sistemi kullanılarak analiz gerçekleştirilmiştir. Sonuçta bakır içeren ortamda medikarpin miktarı 134.2 nmol/g olarak tesbit edilmiştir (65).

Chatterjee ve arkadaşları C18 ters faz çelik kolon ile ve solvent A olarak %1.5'lik H_3PO_4 solvent B olarak ise asetik asit/ $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{O}$ 20:24:1.5:54.5 kullanılarak Hindistan'da lokal bir marketten aldıkları *T. foenum-graecum* tohumlarının metanol ekstresinde bulunan flavonoidlerin YBSK analizlerini yapmışlardır. Sonuç olarak 13 flavonoid veya glikozitleri miktarları ile tesbit etmişlerdir. Aynı zamanda bu 13 flavonoidten 6 (1, 3, 6, 7, 8, 9) tanesini izole edip NMR'da incelemişlerdir. Buna göre tesbit edilen flavonoidler, retansiyon zamanları ve miktarları Çizelge 2.11.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.11. *T. foenum-graecum* tohumlarında tesbit ve izole edilmiş flavonoidler (66).

No	Bileşikler	Retansiyon	Miktarı
		zamanı	(mg/kg)
1	Kersetin 3-O-β-D-glikozil (1→2)-β-D-galaktozit 7-O-β-D-glikozit	15.74	10.1
2	Viteksin	19.78	8.64
3	Kemferol 3-O-β-D-glikozil (1→2)-β-D-galaktozit 7-O-β-D-glikozit	20.75	12.66
4	Kemferol 3-O-glikozit-7-O-ramnozid	21.50	5.38
5	İzoviteksin	23.30	4.28
6	Kersetin 3,7-O-α-L-diramnozid	25.68	10.02
7	3-O-α-L-ramnozid kersetin	27.01	4.96
8	Kemferol 3,7-O-α-L-diramnozid	28.08	5.84
9	Kemferol 3-O-α-L-ramnozid	29.78	8.74
10	Kersetin	32.44	4.91
11	Luteolin	34.15	2.44
12	Kemferol	37.79	1.62
13	Apigenin	39.01	28.9

Çizelge incelendiğinde apigeninin, kemferol 3-O-β-D-glikozil (1→2)-β-D-galaktozit 7-O-β-D-glikozitin ve kersetin 3,7-O-α-L-diramnozitin bitkide en yüksek miktardaki flavonoidler olduğu gözlenmiştir (66).

Hadriche ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının etilasetatlı ekstresi ile LC-MS/MS kullanarak bitkide bulunan flavonoidleri teşhis etmişlerdir. Analizde Zorbax 300 A Extend-C-18 kolonu kullanılırken solvent A olarak % 0.1'lik formik asitli su, solvent B olarak % 0.1'lik formik asitli asetonitril kullanılmıştır. Tesbit edilen flavonoidler ve miktarları Çizelge 2.12.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.12. *T. foenum-graecum* tohumlarında tesbit edilmiş flavonoidler (53).

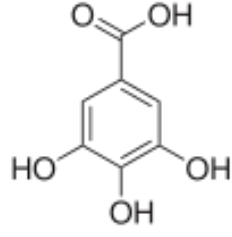
Flavonoidler	Retansiyon	UV λ _{max}	Miktarı
	Zamanı	(nm)	(mg/g)
Kemferol 3-O-glikozit	8.7	265, 345	3.2
Apigenin 7-O-rutinozit	12.3	338, 266	5.11
Naringenin	13	288, 330	7.23

Çizelge incelendiğinde bitkide en yüksek miktarda apigenin olduğu görülmektedir (53).

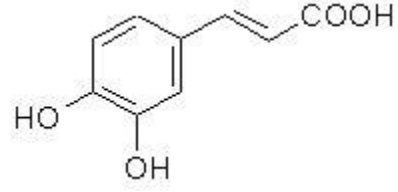
Liu ve arkadaşları TFG tohumunun metanol ekstresinde NMR ve MS kullanarak apigenin 8-C- β -glucopyranoside, apigenin 6-C-di- β -glucopyranoside, apigenin 6, 8-C-di- β -glucopyranoside flavonoit C glikozitlerini tesbit etmişlerdir (44).

2.3.4.2 Fenolik asitler

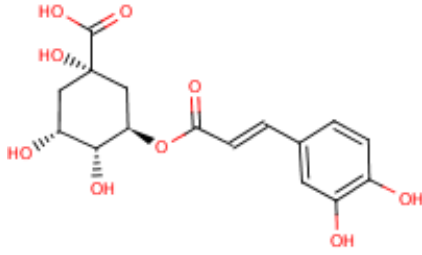
Yukarda flavonoitleri açısından incelenen Bajpai ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada araştırmacılar bitkileri fenolik asitleri açısından da aynı yöntemle incelemişlerdir. Buna göre *T. corniculata* toprak üstü ve tohum kısmında; sırasıyla 151.4 $\mu\text{g/g}$, 358.6 $\mu\text{g/g}$ kafeik asit, 228.5 $\mu\text{g/g}$, 253.4 $\mu\text{g/g}$ klorojenik asit, 260.2 $\mu\text{g/g}$, 110.2 $\mu\text{g/g}$ elajik asit, 112.1 $\mu\text{g/g}$, 194.3 $\mu\text{g/g}$ ferulik asit, 238.1 $\mu\text{g/g}$, 108.1 $\mu\text{g/g}$ gallik asit, 40.1 $\mu\text{g/g}$, 59.7 $\mu\text{g/g}$ protokateşuik asit bulunmuştur. *T. foenum-graecum* toprak üstü kısmında ise 96.1 $\mu\text{g/g}$ kafeik asit, 228.2 $\mu\text{g/g}$ ferulik asit, 207.9 $\mu\text{g/g}$ gallik asit, 60.7 $\mu\text{g/g}$ protokateşik asite rastlanmıştır. Tohumunda ise sadece 223.1 $\mu\text{g/g}$ gallik ve 79.5 $\mu\text{g/g}$ protokateşik asit bulunmaktadır (63).



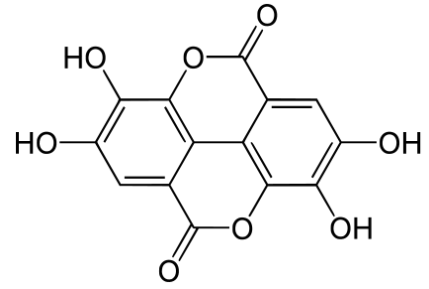
gallik asit



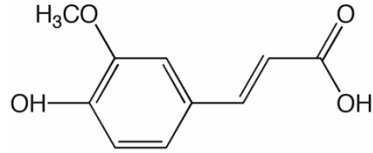
kafeik asit



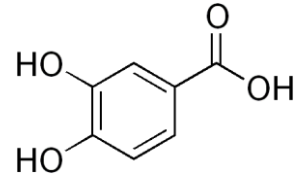
klorojenik asit



elajik asit



ferulik asit



protokateşik asit

Şekil 2.5. *T. foenum-graecum* ve *T. corniculata* bitkilerinin toprak üstü kısımlarında tesbit edilmiş fenolik asitler

Dixit ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının sulu ve sıcak sulu ekstralarının C18 kolon ile ve solvent A olarak %1'lik asetik asit içeren %25'lik metanol, solvent B olarak %1'lik asetik asit %75'lik metanol kullanılarak yaptıkları YBSK analizinde fenolik bileşik içeriğini aydınlatmışlardır. Buna göre sulu ve sıcak sulu ekstrede gallik asit ve O-kumarik asit tesbit edilmişken, sulu ekstrede aynı zamanda kafeik asit, p-kumarik asit ve rutin de bulunmuştur (51).

Rababah ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının metanol ekstresinin ile yaptıkları YBSK analizinde 250X4.6mm Ultrabase C18 kolon ve solvent A olarak su:asetonitril:trifloroasetikasit (50:50:0.1), solvent B olarak ise asetonitril:su:trifloroasetikasit (10:90:0.1) kullanmışlardır. Analizin sonucunda ekstrede 1.7 mg/100g gallik asit, 4 mg/100g protokateşik asit, 0.4 mg/100g kateşin, 35.8 mg/100g gentisik asit, 0.7 mg/100g klorojenik asit, 55.8 mg/100g vanilik asit, 0.3 mg/100g şiringik asit tesbit edilmiştir (67).

2.3.4.3 Diğerleri

Kumari ve arkadaşları içerisinde Hindistan’da lokal bir marketten aldıkları *T. foenum-graecum*’unda bulunduğu 5 yeşil yapraklı sebzenin alüminyum, demir ve çelik kaplarda pişirildiğinde, kullanılan bu kapların biyoyararlı demir ve total demir miktarına etkisini araştırmışlardır. Bunun yanı sıra farklı kaplarda pişirilen ve taze bitkideki nem, askorbik asit, diyet lifi, tanen, total okzalit ve çözünür okzalit miktarlarını değerlendirmişlerdir. Buna göre sonuçlar Çizelge 2.13.’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.13. *T. foenum-graecum* bitkisinin 100 g’ının farklı kaplarda pişirildiğinde değişen demir ve ilgili bileşiklerin miktarı (68).

Bileşikler	Taze	Alüminyumda Pişirilmiş	Demirde pişirilmiş	Çelikte pişirilmiş
Nem (g)	80.9	89.1	88.3	87.8
Diet lifi (g)	10.7	12.30	11.9	12.1
Total okzalit (g)	0.031	0.026	0.026	0.026
Çözünür okzalit (g)	0.017	0.014	0.023	0.014
Tanen (mg)	166	139	144	132
Askorbik asit (mg)	88.3	56.3	28.2	35.7
Total demir (mg)	13.2	12.65	15.4	11.8
İyonize demir (mg)	2.69	1.75	6.15	3.31
Biyoyararlı demir (mg)	1.92	0.89	2.96	1.63
Total demir yüzdesi	14.5	7.04	19.3	13.8

Sonuç olarak demir kaplarda pişirilmiş sebzelerde diğer kaplarda pişirilmişlere göre total, iyonize, biyoyaralı demir ve tanen miktarı en fazladır. Ancak taze sebzede pişirilmiş sebzelere göre daha fazla tanen miktarı tesbit edilmiştir (68).

2.3.4.4 Total Fenol Çalışmaları

Literatürde *Trigonella* taksonu ile ilgili yapılmış bütün total fenol çalışmalarının Folin Ciocalteu's yöntemi ile yapıldığı görülmüştür. Bu çalışmalarda bulunmuş total fenol miktarları Çizelge 2.14.'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.14. *Trigonella* L. taksonları üzerinde tesbit edilmiş total fenol miktarları

Takson	Total fenol	Literatür No
<i>T. foenum-graecum</i>		
Tohum	2.17*	(69)
Tohum	0.48*	(70)
Tohum	8.3*	(63)
Tohum	64.61*	(51)
Tohum	52****	(71)
Tohum	78.6*	(72)
Tohum	0.076*	(64)
Tohum	1.94*	(73)
Tohum	2.47*	(74)
Tohum	51.5*	(52)
Tohum	81.3*	(66)
Tohum	85.88*	(42)
Tohum	150***	(47)
Tohum	13*	(75)
Tohum	75.6*	(53)
Tohum	141.1*****	(67)
Tohum	0.447*	(54)
Yaprak	74.33*	(76)
Yaprak	110*	(55)
Yaprak	16*	(56)
Yaprak	1.58*	(77)
Toprak üstü	15.3*	(63)
Toprak üstü	180**	(78)
<i>T. corniculata</i>		
Tohum	6*	(63)
Toprak üstü	16.1*	(63)
<i>T. monantha</i>		
Toprak üstü	22.36*	(79)

* mg/g bitkideki miktar ** mg/g ekstredeki miktar *** µg/ml ekstredeki miktar
**** µmol ekstredeki miktar *****mg/100g ekstre

Kaur ve Kapoor Hindistan'da farklı marketlerden satın aldıkları 36 farklı bitki üzerinde yaptıkları total fenol miktar tayin çalışmasında *T. foenum-graecum* tohumlarının %80 sulu etanol ekstresinde 2.17 mg/g total fenol tesbit etmişlerdir (69).

Kaviarasan ve arkadaşları Hindistan'da Chidambaram'da yerel bir marketten satın aldıkları *T. foenum-graecum* tohumlarının %80'lik metanolik ekstrelerinde 0.48 mg/g total fenol bulmuşlardır (70).

Yukarıda flavonoit ve fenolik asitleri açısından incelenen Bajpai ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bilim adamları *T. foenum-graecum* ve *T. corniculata* bitkilerinin aynı ekstrelerinde total fenol miktar tayini de yapmıştır ve miktarları Çizelge 2.14.'te belirtilmiştir (63).

Dixit ve arkadaşları total flavonoit çalışmasının yanında aynı zamanda total fenol çalışması da yapmışlardır. *T. foenum-graecum* tohumlarının sulu ve sıcak sulu ekstrelerinde sırasıyla 64.61 mg/g bitki ve 47.55 mg/g bitki total fenol içerdiğini bulmuşlardır (51).

Aqil ve arkadaşları New Delhi'deki Himalaya ilaç şirketinden alınmış veya lokal olarak toplanmış, içerisinde *T. foenum-graecum*'un da bulunduğu 12 bitkinin metanol ekstrelerinde total fenol çalışması yapmışlardır. Bitkinin yapraklarında 74.33 mg/g total fenol tesbit etmişlerdir (76).

Khatun ve arkadaşları içerisinde *T. foenum-graecum* tohumunun da bulunduğu 16 baharatın farklı ısıtma sürelerindeki total fenol miktarlarını belirlemişlerdir. Baharatları Japonya- Osaka'da bulunan House Foods şirketinden temin etmişlerdir. 1 gr baharat ağzı kapalı bir tüpte üzerine 20 ml %20'lik sulu etanol koyarak ısı kontrolü olan bir fırında 100 C°'de 1, 3 ve 6 saat ısıtıldı. Kontrol olarak bir seri baharat ise ısıtılmadı. Soğuduktan sonra %20'lik sulu etanol ile karıştırılarak 30 dk. santrifüjde karıştırıldı ve süpernatant kısmı ölçüm için kullanıldı. *T. foenum-graecum* için sonuç olarak en fazla fenol miktarı ısıtılmayan tohumda (52 µmol), daha sonra 6 saat ısıtılan tohumda (45 µmol), 1 ve 3 saat ısıtılan tohumların ekstresinde ise eşit ve en az miktarda (30 µmol) total fenole rastlanmıştır (71).

Wojdylo ve arkadaşları içerisinde *T. foenum-graecum*'un da bulunduğu Polonya'da yetiştirilen ve toplanan 32 bitkinin total fenol miktarlarını tesbit etmişlerdir. Bitkilerin %80 metanol ekstresinden total fenol miktarını tesbit eden araştırmacılar *T. foenum-graecum* bitkisinin tohumlarında %7.6 mg total fenol tesbit etmişlerdir (64).

Dasgupta ve De *T. foenum-graecum* yapraklarını 5 dk sıcak su ile kaynatılarak ekstre etmişler ve bu ekstrede 110 mg/g total fenol varlığını belirlemişlerdir (55).

Kaviarasan ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının %80'lik metanol ekstresinde 78.6 mg/g total fenol tesbit etmişlerdir (72).

Kırca ve Arslan Çanakkale'nin farklı bölgelerinden toplanmış içerisinde *T. foenum-graecum*'un da bulunduğu 28 farklı bitkinin metanol ekstrelerinde total fenol miktarını araştırmışlar ve *T. foenum-graecum* tohumlarında 2.47 mg/g bulmuşlardır (74).

Nautiyal ve arkadaşları Hindistan ulusal botanik araştırma enstitüsü (National Botanical Research Institute) koşullarında kültüre alınmış *T. foenum-graecum* bitkisinin taze ve pişirilmiş ve derfezde bekletilmiş toprak üstü kısmının %50 sulu etanol ekstresinin total fenol tayin çalışmasında 180 mg/g miktarı ile en fazla fenol taze materyalde tesbit etmişlerdir (78).

Souri ve arkadaşları içerisinde *T. foenum-graecum*'un da bulunduğu 24 bitkinin total fenol miktar tayinini araştırmışlardır. Tahran'da yerel bir marketten bitkinin tohumlarını almışlar ve metanol ekstrelerini hazırlamışlardır ve bu ekstrede 1.94 mg/g total fenol miktarı tesbit etmişlerdir. Ekstre verimini ise %11.12 olarak bulmuşlardır (73).

Yukarıda total flavonoit başlığı altında belirtilen Dixit ve arkadaşlarının Syndrex ilacı ile yaptığı çalışmada, araştırmacılar aynı zamanda bu çalışmaya ilacın total fenol miktar çalışmasını da eklemişlerdir. Buna göre en yüksek total fenol miktarını 51.5 mg/g ile S1 ekstresinde, 25.9 mg/g E2 ekstresinde, 10.3 mg/g E1 ekstresinde, 10 mg/g E2 ekstresinde, 20.4 mg/g E3 ekstresinde, 12 mg/g ise E4 ekstresinde bulmuşlardır (52).

Total flavonoit kısmında da bahsedilen Subhasree ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *T. foenum-graecum* bitkisinin yapraklarında 16 mg/g total fenol tesbit edilmiştir (56).

Chatterjee ve arkadaşları Hindistan'da lokal bir marketten aldıkları *T. foenum-graecum* tohumlarının radyasyon ışınına maruz tutulan ve tutulmayan metanol ekstresinde total fenol miktarlarını sırasıyla 83.7 ve 81.3 mg/g olarak tesbit etmişlerdir (66).

Gupta ve Parakash Hindistan'da Mysora şehrinde yerel bir marketten aldıkları *T. foenum-graecum* bitkisinin topraküstü kısmının metanol ekstresinin total fenol miktarını 1.58 mg/g olarak tesbit etmiştir (77).

Manda ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarını serin borat tamponunda süspanse ettikten sonra santrifüj edip süpernatant kısmın total fenol miktarını araştırmışlardır. Ekstrenin bir mililitresinde 150 µg total fenol tesbit etmişlerdir (47).

Naidu ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumunun endospermini ve tohum kabuğunu birbirinden ayırarak ayrı ayrı kimyasal bileşimlerini incelemişlerdir. Folin Ciocalteu metodu kullanarak ölçülen total polifenol miktar analizi sonuçları ve ekstre verimleri Çizelge 2.15.'de verilmiştir.

Çizelge 2.15. *T. foenum-graecum* kısımlarının ekstre verimi ve total fenol miktarları (43).

Numune	Bitki verim (g/100 g)	Ekstre verim (g/100 g)	Total Polifenol (mg/g gallik asit)
Tohum	–	22.63 ± 0.01	85.88 ± 0.01
Tohum kabuğu	45	14.84 ± 0.01	103.88 ± 0.01
Endosperm	55	36.56 ± 0.01	65.81 ± 0.01

Total polifenolün en fazla miktarı (103.8 mg gallik asit equivalent/g) tohum kabuğu kısmındadır (43).

Casal ve Zevallos Amerika'da Winslow'dan satın alınan *T. foenum-graecum* bitkisinin tohumlarının farklı çimlenme zamanlarında içerdikleri fenolik bileşik seviyelerindeki değişimi incelemişlerdir. Dormant (tohumun uyku hali) tohumda, su çekmiş tohumda ve 7 günlük filizdeki total fenol miktarlarının değiştiğini tesbit etmişlerdir. Buna göre dormant tohumda bitkide sentezlenen toplam fenolün sadece %13'ü sentezlenirken, %27'si su çekmiş tohum halinde iken sentezlenmiştir. Geri kalan %60'ı ise 7 günlük filizlenme zamanında sentezlenmiştir. 7 günlük filizken 1 gr kuru bitkide 13 mg total fenol olduğu tesbit edilmiştir (75).

Hadriche ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının etilasetatlı ekstresinden 75.6 mg/g bitki total fenol bulmuşlardır (53).

Rababah ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının metanol ekstresinde 141.1 mg/100 g bitki total fenol tesbit etmişlerdir (67).

Esmaeili ve arkadaşları tez bitkilerinden biri olan İran'dan topladıkları *T. monantha* subsp. *monantha* bitkisinin toprak üstü kısmının metanol, kloroform ve hekzan ekstralarının total fenol tayinini yapmışlardır. En çok total fenol miktarının metanol ekstresinde olduğu (22.6 mg/g bitki), en az miktarın ise kloroform ekstresinde olduğu (2.6 mg/g bitki) görülmüştür (79).

Tohamy ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının %80 metanol ekstresinde 0.447 mg/g total fenol olduğunu tesbit etmişlerdir (54).

2.3.5 Saponozitler

Çalışmalarımıza yön veren literatür incelemesinde Hindistan kökenli olan *T. foenum-graecum* üzerinde yapılan çalışmalarda bitkinin ekonomik olarak çok değerli olan diosgenin kaynağı olduğu görülmüştür. Diosgenin, steroidlerin sentezinde hammadde olarak kullanılan bir bileşik olup antiinflamatuvar, antiviral, immunomodülatör, sitotoksik etkilere sahiptir, aynı zamanda antineoplastik olarak da bilinmektedir. Kolesterol metabolizması kontrolünde de önemli rol oynamaktadır. Kortizon ve seks hormonları gibi steroidal ilaçların yarı sentez başlangıç maddeleri olması nedeniyle ekonomik açıdan da önemli bir bileşiktir (2).

Çizelge 2.16. Yapılan literatür çalışmalarında *T. foenum-graecum*'un çeşitli kısımlarının içerdiği diosgenin miktarları (mg/g bitki)

Takson	Diosgenin	Literatür No
<i>T. foenum-graecum</i>		
Tohum	5	(80)
Yaprak	9	(80)
Yaprak	21	(81)
Yaprak	2.3	(82)
Yaprak	2	(83)
Yaprak	3.5	(84)
Gövde	6	(80)
Gövde	5	(81)
Gövde	0.6	(82)
Meyve	4	(80)
Tüm bitki	1.13	(81)

Çizelge 2.17. *T. foenum-graecum*'un çeşitli kısımlarının içerdiği diosgenin miktarları (% bitki)

<i>T. foenum-graecum</i>	Diosgenin	Literatür No
Tohum	0.3-0.7	(85)
Tohum	0.3-0.8	(86)
Tohum	0.2	(13)
Yaprak	0.1	(13)

Çizelge 2.16. ve Çizelge 2.17.'de belirtilen çalışmaların bazılarında ayrıca *T. foenum-graecum* bitkisinin kök kısmında 0.5-2.5 mg/g arasında ve başka bir çalışmada ise % 0.04 diosgenin miktarı bulunmuştur (87, 80-82, 13).

Merklii ve arkadaşları *T. foenum-graecum*'un saçak kök kültürü ile diosgenin üretimini araştırmışlardır. Bu çalışma için *Agrobacterium rhizogenes* A4 suşu kullanmışlardır. 14 farklı sıvı ortamda araştırmalarını yapmışlardır. En hızlı büyümenin %3 sükroz ile desteklenmiş McCown's woody bitki ortamında olduğu görülmüştür. Bu koşullar altında 17 µg diosgenin üretilmiştir. Ayrıca diosgenin üretimine kolesterolün, ortam PH'sının ve kitosan (bir polisakkarit) ilavesinin etkisi de araştırılmıştır. 40 mg/lt kitosan ilavesinin diosgenin miktarını arttırdığını tesbit etmişlerdir. Kolesterol ilavesinin bir etkisinin olmadığı bulunurken PH'ın diosgenin üretiminde önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Ph 5 iken %0.042, Ph 5.5 iken %0.037, Ph 5.9 iken ise %0.018 diosgenin üretildiği belirlenmiştir (87).

Ortuno ve arkadaşları *T. foenum-graecum*'un gelişimi sırasında bir fitohormon olan benzilaminopürin muamelesi ile yaprak ve gövdedeki diosgenin dağılımının ve değişiminin etkilenmesini araştırmışlardır. Ayrıca benzilaminopürin muamelesi olmadan bitkinin gelişimi sırasında (15, 30, 45, 60. gün) tohum, kök, gövde, yaprak ve meyvedeki diosgenin miktarlarını LC-MS ile analiz etmişlerdir. Bondapak C18 kolonu ile yapılan analizde izokratik ayırım yöntemi kullanılmıştır. Mobil faz olarak asetonitril:su (90:10), kullanılırken UV-DAD dedektör 214 nm'de diosgenini teşhis etmiştir. Çalışma sonucunda bu şartlarla yapılan analizde diosgenin retensiyon zamanı 12.27. dk iken en yüksek max absorpsiyon 200 nm olduğu tesbit edilmiştir. En fazla diosgenin miktarının 30. günde 20 mg/g miktarı ile yapraklarda olduğu görülmüştür. Bu miktar 45. günde 10 mg/g iken 60. günde ise 7 mg/g'a düşmüştür. Gövde ve meyvede 30-45. gün arasında sırasıyla 7 mg/g ve 4 mg/g diosgenin tesbit edilmiştir. Kökte ise max. diosgenin 45. günde 4.5 mg/g olarak bulunmuştur. Bunun dışında bir fitohormon olan 6-benzilaminopürin muamelesiyle yapılan diosgenin analizinde 15. günde yapraklarda kontrol grubuna göre %47 daha fazla diosgenin tesbit edilirken bitki gövdesindeki diosgenin miktarındaki bu artış %113 oranıyla 30. günde olmuştur. Köklerde ise bu hormonun herhangi bir etkisi gözlenmemiştir (80).

Ortuno ve arkadaşları İspanya'da kültür bitkisi olarak yetiştirilen *T. foenum-graecum* bitkisinin büyümesine ve diosgenin üretimine indol-3-asetik asit, giberellik asit, ethephon gibi bitki büyüme regülatörlerinin etkisini incelemişlerdir. Bondapak C18 25 cm'lik kolon ve asetonitril:su (90:10) solvan kullanılarak yapılan YBSK analizinde akış hızı 1 ml/dk'dır. 214 nm'de bu şartlar altında diosgenin 12.27. dk da kromatogramda pik vermiştir. Yapılan analizler sonucunda 10^{-5} ve 10^{-4} M giberellik asit diosgenin üretiminde 30 günlük tüm bitkide sırasıyla %43 ve %19 artış oluşturmuştur. Bu artışın giberellik asitin bitki büyümesini ve bu sapogeninin biyosentez yolağını stimüle etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. 10^{-5} M indol-3-asetik asit ile ise diosgenin üzerinde küçük bir artış (%6) oluşmasını sağlamıştır. Araştırmacılar bu az artışı indol-3-asetik asitin sadece diosgenin biyosentez yolağını stimüle ettiğine, bitki büyümesi üzerinde bir etki oluşturmadığına bağlamaktadırlar. 50 ppm ethephon muamelesi sonucu ise 15 ve 30 günlük bitkideki diosgenin miktarı sırasıyla %77 ve %68 oranında artmıştır. Kontrol bitkisinde tesbit edilen diosgenin miktarı 15. günde 0.26 mg/tüm bitki, 30. günde ise 1.13 mg/tüm bitkidir (81).

Oncina ve arkadaşları *T. foenum-graecum*'un kallus kültüründeki diosgenin miktarını YBSK-MS ile tespit etmişlerdir. Çalışmada kültürün ekildikten sonra 15., 27., 37., 45. ve 60. günlerinde bitkinin yaprak, gövde ve kökünde ne oranda diosgenin miktarının biriktiği araştırılmıştır. Bondapak C18 kolonu kullanılan analizde asetonitril:su (90:10) karışımı ile izokratik olarak yapılan çalışma sonucunda yaprak, gövde ve kökteki maksimum diosgenin miktarı 45. günde tespit edilmiştir. Bu miktarlar sırasıyla 2.2 mg, 0.74 mg ve 0.60 mg'dır. İn vitro olarak en verimli diosgenin üretimi yaprak kültüründe olmuştur (82).

Murakami ve arkadaşları Mısır'da kültürü yapılan *T. foenum graecum* bitkisinin tohumlarının metanollü ekstresinden 6'sı bilinen (trigoneosit Ia, Ib, Va, glikozit D, bileşik C) 6'sı yeni (trigoneosit Xa, Xb, XIb, XIIa, XIIb, XIIIa) olan 12 saponin izole etmiştir. Bütün bu saponinlerin yapılarını NMR ile aydınlatmışlardır (88).

Oncina ve arkadaşları bu kez *T. foenum-graecum*'un kallus kültüründe diosgenin birikiminde etilenin farklı konsantrasyonlarının etkisini araştırmışlardır. LC-MS ile yapılan ters faz kromatografik analizde Bondapak C18 kolonu kullanılmıştır. Analiz asetonitril:su (90:10) karışımı ile izokratik olarak ve 1 ml/dk akış oranı ile 35°C'de gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak diosgenin sentezinin 5, 15 ve 25 ppm etepon (etilen açığa çıkaran bileşik) ile uyarıldığı tesbit edilmiştir. 25 ppm uygulamasında %195 diosgenin sentez artışı gözlenmiştir. 50 ppm ve 100 ppm konsantrasyonlarında diosgenin seviyesi redüklenmiştir. Etilenle muamele kallus hücrelerinde morfolojik ve ultrayapısal değişiklikler meydana getirmiştir. Işık ve elektron mikroskobu kullanılarak hücre çapında artış, hücre paketlemesinde (cell packing) azalış (çalışılan bütün konsantrasyonda), sitoplazmik yoğunlukta artış (25 ppm konsantrasyonunda) ve membran yapısında değişiklikler (50 ve 100 ppm) gözlenmiştir (83).

Taylor ve arkadaşları Batı Kanada'da farklı bölgelerde yetiştirilen ve orijini farklı ülke olan *T. foenum-graecum* tohumlarının %80'lik etanol ekstresine hidroliz işlemi uygulanarak diosgenin miktarlarındaki değişimleri incelemişlerdir. 6-metildiosgenin internal standardı ve HP-5 kolon kullanılarak GC ile yapılan tohumların analizinde % 0.3-0.8 aralığında diosgenin miktarı tesbit etmişlerdir (86).

De ve De bitkinin büyümesine, diosgenin üretimi ve antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz aktivitesi üzerine etilenin etkisini araştırmak için *T. foenum-graecum* tohumlarına farklı konsantrasyonlarda ethephon muamele etmişlerdir.

Ethephonun konsantrasyonu arttıkça tohumların taze ağırlığı ve genişliği azalırken kuru ağırlığı artmıştır. Water Symmetri C18 15 cm'lik kolon kullanılarak ve metanol solventi ile yapılan YBSK analizi sonucunda 100 mg/lit konsantrasyonundaki ethephon, diosgenin miktarını ve enzim aktivitesini düşürürken konsantrasyon arttıkça bu değerlerde de artış meydana geldiği görülmüştür. Fakat hangi konsantrasyon olursa olsun ethephon muamelesi sonrası diosgenin üretimi kontroldeki miktarı geçememiştir. Bu sonuç *T. foenum-graecum* tohumlarında diosgenin miktarının artmasına ethephonun etkisinin olmadığını göstermiştir (89).

Gomez ve arkadaşları *T. foenum-graecum* hücre süspansiyonlarında diosgenin seviyesine ethephonun farklı konsantrasyonlarının etkisini araştırmışlardır. Bondapak C18 25 cm kolon ile YBSK'de yapılan analizde asetonitril:su (90:10) solvan sistemi kullanılmıştır. Diosgenin maximum dalga boyu olan 214 nm'de taranmıştır. Analiz sonuçları incelendiğinde 5 ppm ethephon muamelesi ile diosgenin sentezi veya birikimi artmıştır (%126). 25 ppm ve 50 ppm ethephon muamelesinde ise bu sekonder bileşiğin seviyesi azalmıştır (84).

Saxena ve Shalem 2 kg *T. foenum-graecum* tohumunun soxhelet aparatı ile petrol eteri kullanarak yağını uzaklaştırmışlardır. Çözücüsü uzaklaştırılmış tohumları metanol ile ekstre etmişlerdir. Ekstre kloroform ile çalkalanmış ve filtre edildikten sonra n-bütanol ile ekstre edilmiştir. Kolon kromatografi yöntemi ile bu ekstrede yamogenin 3-0-β-D-glukopiranozil (1→4)-0-α-D-ksilopiranozit steroidal saponini izole etmişlerdir (90).

Kaufmann ve arkadaşları kültüre alınan *T. foenum-graecum* tohum, kuru yaprak, taze yaprak ve kökünde bulunan diosgenin miktarını GC-MS kullanarak tesbit etmişlerdir. Çalışmalarında aynı zamanda ekstraksiyon süresini, uygulanan mikrodalga gücünü ve ekstraksiyon çözücüsü olan 2-propanolün yüzdesini değiştirerek bitkideki diosgenin miktarının artıp artmadığını da tesbit etmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda uygulanan mikrodalga gücünün ve 2-propanolün yüzdesinin tesbit edilen diosgenin miktarını önemli derecede etkilediği ortaya çıkmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılan, 1 ml/dk akış oranına sahip, splitless modu kullanılarak 7-310°C arasında sıcaklık programına sahip ve HP-5MS kolon kullanılarak gerçekleştirilen analizde tohum için en fazla diosgenin miktarı 30 dk ekstraksiyon süresi ile, %50'lik 2-propanol çözücüsü ve 47.5 w güç kullanılarak yapılan ekstre denemesinde bulunmuştur.

(%0.159) . Kuru yaprakta (%0.093), taze yaprakta (%0.057) ve kökte (%0.039) ise aynı şartlarda yapılan denemede yani 20 dk ekstraksiyon süresi ile, %36.36'lık 2-propanol çözücüsü ve 40 w güç kullanılarak yapılan denemede en fazla diosgenin tespit edilmiştir (13).

Adham ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarından elde edilen diosgenine veya diosgeninin prekürsörü furastanol glikozitlerine karşı mikroorganizmaların biotransformasyon aktivitelerini taramışlardır. Çalışmalarının amacı daha öncede diğer araştırmacılar tarafından bir çok mikroorganizmanın diosgenini ve diosgenin glikozitlerini seks hormonlarının üretimi için gerekli olan diosgenon, 1-dehidrodiosgenon, androst-4-en-3,17-dion (AD) ve androsta-1,4-dien-3,17-dion (ADD) ürünlerine indirgeme özelliklerinden dolayı seçtikleri mikroorganizmalarında bu özelliklerinin olup olmadığının araştırılması ve aynı zamanda bazı transformasyon parametrelerinin optimize edilmesidir. Adham ve arkadaşları mikroorganizmalar ve diosgenin ekstresini uygun ortamda 48 saat fermente ettirerek transformasyon sürecini tamamlamışlardır. Süre sonunda ortamı homojenize ettikten sonra etil asetat ile steroidleri ekstre etmişlerdir. Steroitlerin kalitatif belirlenmesi için ince tabaka kromatografisi, kantitatif belirleme için ise spektrofotometre ve YBSK kullanmışlardır. Çalışmalarının sonucunda substrat olarak diosgenin kullanıldığında *Cunninghamella elegans* ve *Aspergillus nidulans* mantarlarının α - α' -dipiridil ortamında diosgenini, ADD, diosgenon, progesteron gibi bazı androstene dönüştürdüğünü, substrat olarak glikozitlerin kullanılması sonucunda ise *Rhizopus* taksonlarının glikozitlerin %90'ından fazlasını diosgenine çevirdiğini tesbit etmişlerdir (91).

Naidu ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumunun endospermini ve tohum kabuğunu birbirinden ayırarak ayrı ayrı kimyasal bileşimlerini araştırmışlardır. Metanol ekstresinden spektrofotometrik olarak ölçülen saponin miktar analizi sonucu tohum kısmında 5.12, tohum kabuğu kısmında 1.12, endosperm kısmında ise 4. 63 g/100g saponin içerdiği görülmüştür (42).

De ve De ağır metallerin tohum büyümesi ve diosgenin üretimi üzerine etkili olup olmadığını araştırmak için *T. foenum-graecum* tohumlarını 4 ağır metal tuzları ile (CdCl₂, CoCl₂, K₂Cr₂O₇, NiCl₂) muamele etmiştir. Tohum ağırlık ve uzunluğunu ölçerek büyümeye etkisini, YBSK ile de diosgenin miktarında artış olup olmadığını tesbit etmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarının sonucunda CdCl₂ ve CoCl₂'nin büyüme üzerine

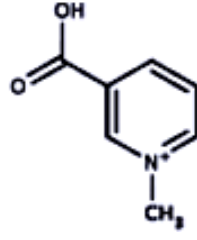
önemli bir etkisinin olmadığını fakat diosgenin miktarının kontrole göre sırasıyla 40 ve 41 kat arttığını belirlemişlerdir. $K_2Cr_2O_7$ ve $NiCl_2$ 'nin ise büyüme ve diosgenin üretiminde toksik etki yapıp olumsuz etkilediğini göstermişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda tohumdaki diosgenin üretimine metil yasmonat (MeJa) ve Ca iyonlarının etkisini de araştırmışlardır. 100 µl/l konsantrasyondaki MeJa'nın diosgenin üretimini 10.5 kat arttırdığını fakat sitozolik Ca iyonlarının bu üretimi inhibe ederken Ca şelat veya Ca kanal inhibitörlerinin diosgenin üretimini redüklediğini tesbit etmişlerdir (92).

Kang ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının %70'lik sıcak etanol ektresinde bulunan saponinleri UHPLC/Qtof MS cihazı kullanarak belirlemişlerdir. Bunun için UPLC HSS T3 (100mmX2.1mm, 1.8 µm) kolon ve mobil faz A olarak %0.1 formik asitli su, mobil faz B olarak ise asetronitril kullanılmıştır. Ekstrede daha önce aydınlatılmamış farklı saponinler teşhis edilmiştir (93).

2.3.6 Alkaloitler

T. foenum-graecum yaklaşık %1 alkaloit içerir. Trigonellin diabette glikozüriyi (idrarda glikoz bulunması) redüklediği düşünülen bir alkaloittir (7). Ayrıca alkaloitin hipoglisemik, hipokolesterolemik, antimigren, antitümör, mutajenik etkili olduğu rapor edilmiştir (46).

Chopra ve arkadaşları HPTLC kullanarak metot geliştirmişler ve Hindistan'da iki farklı üreticiden alınan *T. foenum-graecum* bitkisinin metanol ekstrelerinde trigonellini tesbit etmişlerdir. Mobil faz olarak n-propanol-metanol-su (4:1:4 v/v/v), stasyonier faz olarak ise silika gel 60F-254 kullanmışlardır. Trigonellinin analizinde plaklar 269 nm'de spektrodensitometrik olarak taranmıştır. Bu şartlara göre trigonellinin $R_f=0.46$ olarak bulunurken, ilk üreticiden alınan bitkideki trigonellin miktarı %1.99 (a/a), ikinci üreticiden alınanda ise %2.10 (a/a) olarak bulunmuştur (94).



Şekil 2.6. Trigonellinin kimyasal yapısı

Gopu ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarında HPTLC kullanarak trigonellin alkaloidinin miktarını tesbit etmişlerdir. Tohumlar eczane ve lokal bir satıcı olmak üzere iki farklı yerden temin edilmiştir. Bu tohumlardan elde edilen ekstrelere ise sırasıyla FGS1 ve FGS2 ismi verilmiştir. Bu tohumlardan debitterilize edilip DFG1 ve DFG2 ismi ile de metanollü ekstreler hazırlanmıştır. Stasyonel faz olarak silika gel GF₂₅₄ mobil faz olarak ise n-bütanol-metanol-asetik asit-su (4:1.5:1:1 v/v/v/v) kullanılmıştır. Trigonellin analizi için plaklar 266 nm’de taranmıştır. Buna göre ekstrelerde bulunan alkaloidin miktarı Çizelge 2.18.’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.18. *T. foenum-graecum* tohum metanol ekstrelerinde bulunan trigonellin miktarları (46).

Ekstreler	Trigonellin (% a/a)
FGS1	0.373±0.021
FGS2	0.295±0.018
DFG1	0.068±0.006
DFG2	0.030±0.011

Buna göre ekstreler arasında en yüksek trigonellin miktarının eczaneden alınan tohumdan elde edilen ekstrede olduğu tesbit edilmiştir (46).

2.3.7 Uçucu yağ

Ahmediani ve arkadaşları tarafından *T. foenum-graecum* bitkisinin toprak üstü kısmının distilasyonu sonucu % 0.3 uçucu yağ elde edilmiş ve uçucu yağ bileşimleri incelenmiştir. Araştırmacılar GC-MS analiz sonucuna göre uçucu yağın α -murolen

(%3.9), γ -kadinen (%27.6), liguloksit (%7.6), γ -ödesmol (%11.2), kubenol (%5.7), α -murolol (%4.2), α -kadinol (%12.1) α -bizabolol (%10.5), ve epi- α -bizabolol (%5.7) içerdiğini bulmuşlardır (12).

Ranjbar ve arkadaşları İran'da endemik olan *T. disperma* taksonu yapraklarının uçucu yağ bileşenlerini GC ve GC-MS kullanarak analiz etmişlerdir. Çalışma sonucunda elde edilen yağın %87.1'ini tanımlanabilen 18 bileşen, geri kalan yüzdeyi ise bilinmeyen 5 bileşik oluşturduğu bulunmuştur. Bileşenler elüsyon sıralarına göre Çizelge 2.19.'da görülmektedir.

Çizelge 2.19. *T. disperma* taksonunun uçucu yağ bileşenlerinin yüzdeleri (96).

Bileşenler	%	Bileşenler	%
p-ksilen	1.0	Bilinmeyen	3.1
Dekanal	0.6	Bilinmeyen	1.8
Timol	1.1	Bilinmeyen	1.3
Neril asetat	0.7	Miristik asit	2.1
B-Lonen	2.9	Oktadekan	1.2
Pentakosan	27.3	Hekzahidroksifarnesil aseton	6.7
Spatulenol	17.8	Nonadekan	0.9
Karyofillen oksit	7.9	Dibütilfitalat	3.9
Hekzadekan	3.9	Palmitik asit	1.8
Bilinmeyen	5.3	Fitol	4.0
Bilinmeyen	1.4	Trikosan	0.9
Heptadekan	2.4	Toplam	100

Hidrokarbonların toplam yüzdesi %35.7 iken oksijenlenmiş seskiterpenlerin toplam yüzdesi %32.4'dür. Diterpen olan fitol %4 iken oksijenlenmiş monoterpen yüzdesi %1.8'dir. Sonuçlar *T. disperma*'nın ana bileşenlerinin *T. foenum-graecum*'dan farklı olduğunu göstermektedir. 2004 yılında yine İran'da yapılmış çalışmada *T. foenum-graecum*'un toprak üstünden elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri; δ -kadinen (%27.6), α -kadinol (%12.1), γ -ödesmol (%11.2), α -bisabolol (%10.5) olarak belirlenmiştir (95).

Mebazaa ve arkadaşları Tunus'da yerli bir yetiştiriciden aldıkları *T. foenum-graecum* tohumlarını DCM, metanol, etanol ile solvent ekstraksiyonu ve solid-faz

mikroekstraksiyonu yaparak bu ekstrelerin uçucu bileşenlerini GC-MS ile incelemişlerdir. Apolar RTx-5MS kolonu ile yaptıkları analizde tohumlarda 67 bileşik tanımlamışlardır. Bileşiklerden bazıları (piridin, m-ksilen, furfiril alkol, β -picoline, 2,3-dimetilpirazin, 2-etilpirazin, 5-metilfurfural, 2-etil-6-metilpirazin, trimetilpirazin, 1-epi-cubenol gibi) *T. foenum-graecum* tohumunda ilk kez tesbit edilmiştir. Standart analizi ile doğruluğu onaylanan bileşikler ise; asetik asit, piridin, dimetilsülfoksit, 2-heptanon, 6-metil-5-hepten-2-one, 2-pentilfuran, δ -3-karen, diklorobenzen, p-simen, limonen, 3-octen-2-one, sotolon, menton, naftalen, karvon, öjenol, α -ionon, transgeranilaseton, dodekanoik, tetradekanoik, pentadekanoik, hegzadekanoik asit, linoleik asit, oktadekanoik asit, linolenik asit, oleik asittir. Elde edilen sonuçlar yüksek ve orta kaynama noktasına sahip uçucu bileşiklerin ekstraksiyonu için metanolün daha iyi olduğunu göstermiştir. Solid faz mikroekstraksiyon için ise 4 farklı filmde en iyisinin divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS) olduğu gözlenmiştir (96).

Al-Mazroa ve arkadaşları 2012 yılında yayınladıkları çalışmalarında Suudi Arabistan'da yetişmiş *T. hamosa* bitkisinin uçucu yağ bileşenlerini incelemişlerdir. Bitkinin toprak üstü kısmının distilasyonu sonucu %0.04 v/w miktarda sarı renkte bir yağ elde etmişlerdir. Bu yağın GC/MS-QP 5050 cihazı ile DB-1 kolonu kullanarak yaptıkları analiz sonucunda 12 bileşik tesbit etmişlerdir. Bu bileşiklerin toplamı elde edilen yağın %91.1'ini oluşturduğunu belirlemişlerdir (97).

Çizelge 2.20. *T. hamosa* bitkisinin topraküstü kısmının uçucu yağ bileşenleri (97).

Bileşikler	%	Molekül ağırlığı
Dekanoik asit	7.3	200
Tetradekanoik asit	15.9	228
Sikloheksanol, dodesil	0.8	268
Palmitik asit	38.4	256
Eter, heptil heksil	1.1	200
Fito	17.6	296
Linolenik asit, metil ester	11.3	292
Izopregol	1.5	154
Oleik asit	1.4	282
Pentatrikontan	0.9	492
Dokazae	1.5	310
Hekzatrikontan	3.4	506

Esmaeili ve arkadaşları İran'dan topladıkları aynı zamanda bizimde araştırdığımız taksonlardan biri olan *T. monantha* subsp *monantha* bitkisinin tohum ve toprak üstü kısımlarını karıştırıp hekzan ile ekstre etmişlerdir.

Çizelge 2.21. *T. monantha* subsp. *monantha* bitkisinin uçucu yağ bileşimi ve yüzdeleri (79).

Bileşik	%pik alanı	Bileşik	%pik alanı	Bileşik	%pik alanı
Hekzanal	9.5	oktanal	1.1	nonenal	1.0
2-heptanon	0.8	1,8-sineol	1.2	borneol	1.8
3,5-dimetilfenol	1.5	oktilin	0.8	1-nonanol	2.5
Benzaldehit	0.8	linalol	1.5	naftalin	1.4
Vinilamil keton	2.7	nonanal	6.6	2-dekanon	1.2
Oktanon	2.6	kamfor	0.6	dekanal	5.5
2-amilfuran	3.1	tiyofen	0.9	Asetik asit	1.0
Nonanoik asit	1.5	2-undekanon	1.3	Heptenil akrolein	1.2
Undekanal	1.3	kaprikasit	3.8	Benzenpropanoik asit	2.1
Hekzilrezorsinol	1.4	nerilaseton	1.8	Lauric asit	4.9
Tetrakosametil-siklodekasilokzan	1.1	dibütülfталat	10.3	Pentakosan	1.3
Pentadekanon	0.6	Palmitik asit	3.7	Heptakosan	0.9
Tetradekanoik asit	2.4	5-dodesildihidro furanon	1.4		

Gaz kromatografisi ile DB-5 kolon kullanarak yapılan uçucu yağ analizinde en yüksek pik alanına sahip %10.3 ile dibütilfitalat bileşiği olmuştur (79).

2.3.8 Kumarin

Khurana ve arkadaşları *T. foenum-graecum* bitkisinin gövde kısmından 3,4,7-trimetil kumarin izole etmişlerdir (15).

Parmar ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarından trigokumarin adı verilen kumarin tesbit etmişlerdir (98).

2.4 *T. foenum-graecum* Taksonunun Yan Etki ve Toksisitesi

T. foenum-graecum tohumlarının kullanımının güvenli olduğu ve iyi tolere edildiği düşünülmesine rağmen bazı yan etkileri vardır. Muhtemel çapraz reaktivitesinden dolayı nohuta allerjisi olan hastaların *T. foenum-graecum* kullanması tehlikelidir. *T. foenum-graecum* içeren curry tozunun bronkospazmı, hırıltılı solunması ve ishali olan hastalarda allejik olduğu bulunmuştur. Geçici diyareye, gaz ve baş dönmesine sebep olduğu da rapor edilmiştir. Hipoglisemi beklenen etkisidir. Bu nedenle kullanmaya başlandığında kan glikoz seviyesi ölçülmelidir. Vücut ağırlığını azalttığı da rapor edilmiştir ve T3 te azalmaya neden olmuştur. *T. foenum-graecum* preparatları, kumarin türevleri içerebildiğinden dolayı kanama riskini arttıran protrombin zamanı için teorik olarak bir risktir. Aynı zamanda uterusu uyarıcı özelliğinden dolayı hamilelerin kullanılması tehlikelidir. Toksikolojik olarak *T. foenum-graecum* tohumlarının uzun süreli kullanımı hayvan çalışmaları ile incelenmiştir. 90 gün boyunca diyetlerinin %5-20'sinin *T. foenum-graecum* tohumu olan ratların kontrol grupları ile karşılaştırılması sonucunda hematolojik parametreler, histolojik gözlemler, karaciğer fonksiyon parametreleri ve besin etkinliği oranında kontrol grubu ile arasında fark gözlenmemiştir. Başka bir çalışmada farelere 2 g/kg vücut ağırlığı, ratlara ise 5 g/kg vücut ağırlığı oranında, ayrıca bir kümülatif toksisite çalışmasında %10 oranında acılığı azaltılmış *T. foenum-graecum* oral olarak verilmiş ve güvenliği kanıtlanmıştır (6).

Khalki ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının sulu ekstresinin gebe farelerde potansiyel toksik etki çalışmasını yapmışlardır. Farelere günde 500 ve 1000 mg/kg dozda ekstre verilmiş, 0, 7, 14 ve 21 günlerinin sonunda fetalın boyutu, ağırlığı ve canlılığı incelenmiştir. Çalışma sonunda gebe fareler üzerinde ekstreye bağlı ölüm veya makroskopik bir anamoli gibi toksik semptomlar gözlenmemiştir. Ancak fetalın ölüm oranında ve morfolojik anormalliklerde az da olsa bir artış olduğu ek olarak fetalın vücut ağırlığında da artış gözlenmiştir (99).

2.5 Türkiye’de Yetişen *Trigonella* Taksonları İle İlgili Yapılmış Çalışmalar

Literatür bilgileri göz önüne alındığında Türkiye’de de *T. foenum-graecum* ile ilgili bazı çalışmalar yapıldığı dikkat çekmektedir.

Tuğrul ve Özer 1984’de bu taksonun ilaç hammaddesi olarak kullanılabilme olanaklarını araştırmışlardır. Tohumunun etanol ekstresinin YBSK ile incelenmesi sonucunda diosgenin miktarını saponozit ekstresinde %40, kuru droğa oranla ise %1.93 olarak bulmuşlardır. Aynı zamanda %6.5 sabit yağ, %32.3 müsilaj karakterli polisakkarit karışımı elde etmişlerdir (100).

Ceyhan ve arkadaşları kültüre alınmış *T. foenum-graecum* L. bitkisinin tohumlarında atomik absorpsiyon spektrometri yöntemi ile element analizini yapmışlar ve 2341 µg/g Ca, 1372 µg/g Mg, 62 µg/g Fe, 54 µg/g Zn, 9 µg/g Cu elementlerini tespit etmişlerdir (101).

Özcan 2004 yılında tohumların mineral bileşimi üzerine yaptığı çalışmada 9913 mg/kg K, 5744 mg/kg Ca, 3212 mg/kg P, 2812 mg/kg Mg, 2101 mg/kg S, 118 mg/kg Fe ve daha az miktarlarda Na, Al, Zn, Sr, B, Ba, Cu tesbit etmiştir (102).

2.6 *Trigonella* Taksonları Üzerindeki Biyolojik Aktivite Araştırmaları

Bugüne kadar *Trigonella* taksonları üzerinde birçok biyoaktivite çalışmaları yapılmıştır. Antidiyabetik, hipolipidemik, antioksidan, antitümör, antimikrobiyal,

immunomodulator, antiinflamatuvar, antipiretik, gastroprotektif, antifertilite ve nematosit etkiler araştırılmıştır (7, 16-22).

2.6.1 Antidiyabetik ve Hipolipidemik etki

T. foenum-graecum tohumlarının yararlı hipoglisemik ve hipolipidemik etkisi diyabetik ratlarda, diyabetik farelerde, diyabetik tavşanlarda ve diyabetik köpeklerde yapılan deneyler sonucu gözlenmiştir. Bir çok hayvan çalışmasının yanı sıra tip I ve tip II diyabette bu baharatın potansiyel yararlı hipoglisemik etkisi insan deneylerinde de gösterilmiştir. Diyabetik hasta ve hayvan diyetlerine *T. foenum-graecum* tohumu eklenerek sayısız çalışma yapılmış ve kan glikozunda ve glikoz toleransında önemli düşüş gözlenmiştir. Önceleri hipoglisemik etkiden bitkide bulunan major alkaloid olan trigonellinin sorumlu olduğu düşünülmekteyse de yapılan çalışmalarda bu etkinin aynı zamanda tohumun yaklaşık %52'sini oluşturan lif ve zamktan da kaynaklandığı bulunmuştur. Tohumun hem çözünebilir (%20), hem de çözünemeyen (%30) fraksiyonunda çoğunluğu galaktomannan olan lif bulunur. Tohum içeriğinin %7.5'u yağ, %6.3'ü trigliserit, 450 mg/100g fosfolipittir (7, 104, 103).

Sauvaire ve arkadaşlarının bir araştırmasında alloksan ile diyabetik hale getirilmiş köpekler 21 gün boyunca steroid saponinlerce zengin *T. foenum-graecum* altfraksiyonu ile beslenmiştir. Çalışmalarının amacı ekstre içerisindeki saponinler ve/veya diosgenin ve diğer steroid saponinlerin sindirim sistemi boyunca geçişlerindeki kimyasal değişimi inceleyip, bu bileşiklerin hipokolesterolemik etkiye katkısını değerlendirmektir. Bunun için köpeklerin dışkıları kapiler GC-MS ile analiz edilmiştir. Sonuçlar sindirim sistemi boyunca saponinlerin %57'sinin saponinlere hidroliz olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda plazma kolesterol seviyelerinde önemli derecede düşüş gözlenmiştir. Bu sonuçlar hipokolesterolemik etkiye saponinlerin katkısını açıkça göstermiştir (105).

Sharma ve arkadaşları 60 insüline bağımlı olmayan diyabet hastasına 7 gün boyunca izokalorik diyet içermeyen ardından da 24 hafta boyunca *T. foenum-graecum* vermişlerdir. 25 gr *T. foenum-graecum* tohum tozu içeren beslenme sonucu hastaların total kolesterol, LDL ve trigliserit seviyelerinde sırasıyla %15, %16, %15 oranında

düşüşler gözlenirken, HDL seviyesinde %10 oranında artış gözlenmiştir. Bu sonuçlar diyabetli kişilerde *T. foenum-graecum* tohumunun yararlı etkilerini göstermiştir (106).

Al-Habori ve arkadaşları 9 hafta boyunca yüksek yağ diyeti ile beslenen tavşanlar üzerinde *T. foenum-graecum* tohumlarının üç fraksiyonunun antihiperlipidemik etkisini incelemiştir. İlk fraksiyon yağı çıkarılmış tohum, ikinci fraksiyon saponin içermeyen tohum, üçüncü fraksiyon ise ham saponin ekstresi olarak hazırlanmıştır. Hem kontrol hemde yağ diyeti ile beslenmiş tavşan grubunda plazma kolesterol seviyesi düşerken, trigliserit seviyesi sadece yağ diyeti ile beslenmiş tavşan grubunda düşmüştür. Analiz edilen ekstratlar arasında en fazla etkiyi üçüncü fraksiyon yani ham saponin ekstresinin gösterdiğini bulmuşlardır. Antihiperkolesterolemik etkinin yarısının saponinden, diğer yarısının ise tohumun içermiş olduğu liften kaynaklandığını düşünmektedirler (107).

Prasanna *T. foenum-graecum* tohumlarını toz etmiş, yağ ve saponini uzaklaştırmak için hekzan ile ekstre etmiştir. Geri kalan toz ile üç grup hiperkolesterol hastası üzerinde antilipidemik etki çalışması yapmıştır. Günde ilk gruba 50 g placebo, ikinci gruba 25 g *T. foenum-graecum* tozu+25 g plasebo, üçüncü gruba ise 50 g *T. foenum-graecum* tozu oral olarak vermiş ve çalışmanın ilk günü 10. günü ve 20. günü hastalardaki kan lipit profillerini incelemiştir (108).

Çizelge 2.22. *T. foenum-graecum* tohum ekstresinin yüksek kolesterolü hastaların günlere göre kan lipit değerlerine etkisi (108).

	Grup	Günlere göre serum lipid seviyeleri (mg%)		
		0	10	20
Kolesterol	I	263	254	255
	II	303	252	224
	III	290	235	194
Trigliserit	I	144	134	140
	II	249	222	183
	III	242	207	147
LDL	I	167	168	168
	II	209	174	145
	III	191	159	118
VLDL	I	29	27	28
	II	49	45	36
	III	49	41	29
HDL	I	58	59	59
	II	45	34	42
	III	50	35	47

Grup I ile kıyaslandığında Grup II ve III'deki hastaların lipit profillerinde önemli değişimler gözlenmiştir. *T. foenum-graecum* tohum tozunun hiperkolesterolemi hastalarına günde oral olarak 25 ya da 50 g verilmesi hipolipidemik bir etki göstermektedir. Ayrıca Prasanna daha önceki araştırmasında saponin içeren ekstre ile de aynı çalışmayı yapmış ve yine hipolipidemik etkiyi gözlemiştir. Bu sonuç *T. foenum-graecum* tohumlarının hipolipidemik etkisinin birden fazla mekanizmasının olduğunu göstermektedir (108).

Basch ve arkadaşlarının hazırladığı review çalışmasında da belirttiği gibi Gupta ve arkadaşları, glisemik kontrol üzerine *T. foenum-graecum* tohumlarının etkisini değerlendirmişlerdir. Tip 2 diabetes hastası olduğu yeni teşhis edilmiş 25 hastaya ya günde 1g bu tohumların sulu alkol ekstresi ya da diyet ve egzersiz uygulanmıştır. 2 ay sonra iki grup arasında fark olmadan açlık kan glikoz seviyesinde düşüş (*T. foenum-graecum* uygulanan grupta 148.3 mg/dl'den 119.9 mg/dl'ye, diyet ve egzersiz uygulanan grupta ise 137.5'den 113.0 mg/dl'ye) gözlenmiştir. İki grup arasında glikoz tolerans test değeri arasında fark gözlenmemiştir. Bu çalışma tip 2 diabetes hastalığında glisemik kontrol çalışmalarında, *T. foenum-graecum* tohum uygulaması ile diyet ve egzersiz uygulamasının eşit etkiye sahip olduğunu göstermiştir (6).

Devi ve arkadaşları *T. foenum-graecum* yapraklarının diabetik ratlar üzerinde hipoglisemik ve antihiperglisemik etkisini araştırmışlardır. Yaprakların streptozotosin ile oluşturulmuş diabetik ratlarda hiperglisemia, hipoinsülinemia ve glikosillenmiş hemoglobin üzerine yararlı etkisi ortaya konmuştur. Ayrıca yaprakların vücut ağırlığını, karaciğer glikojenini iyileştirdiği ve diabetik ratlarda karbonhidrat metabolik enzimleri üzerine etkili olduğu bulunmuştur (109).

Mohamad ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohum tozu ile vanadat (0.2 mg/ml) karışımını 21 gün boyunca alloxan diabetik ratlara vererek kan glikozu ve karaciğer ve böbrek enzimleri değerlendirilmiştir. Kontrol grubuna ise yüksek doz vanadat (0.6 mg/ml) verilmiştir. Deney periyodu sonucunda vanadat ve *Trigonella* kombine dozu verilen diabetik ratların kan glikoz seviyeleri (440 mg/dl'den 105 mg/dl'ye) kontrol grubundan (111 mg/dl) daha da düşmüştür. Pürivat kinaz, fosfoenolpürivat karboksikinaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, süperoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin aktivitesi ise kontrol grubu ile çok benzer çıkmıştır. Yüksek doz vanadatin toksik olmasından dolayı düşük doz vanadati etkinleştirmek için planlanan çalışmada

T. foenum-graecum tohum tozu ile vanadatın kombinasyonu yan etki olmaksızın yüksek etki gösterdiği tesbit edilmiştir (110).

Boban ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarından izole ettiği galaktomannan yapısındaki müsilağ ile, *Dioscorea esculenta* yumrularında izole ettiği glukomannan yapısındaki müsilağ ile ve *Colocasia esculenta* yumrularından izole ettiği arabinogalakton yapısındaki müsilağ ile ratları 8 hafta boyunca 4mg/100g dozunda beslemiştir. Sürecin sonunda ratların serum, karaciğer ve aort total kolesterol ve triağılglicerol değerlerindeki değişimleri araştırmıştır. Sonuçta farklı kimyasal yapısındaki bu üç müsilağın da hipolipidemik etkiye sahip olduğunu ancak maksimum etkiyi glukomannan yapısındaki, onu takiben galaktomannan yapısındaki ve en az etkiyi ise arabinogalakton yapısındaki müsilağın gösterdiğini tespit etmiştir (111).

Hannan ve arkadaşları, *T. foenum-graecum* tohumlarının çözülebilir diyet lifi (SDF) fraksiyonunun antidiabetik etkisini araştırmışlardır. SDF fraksiyonunun 0.5g/kg dozunun, normal ve Tip 2 diabetik ratlarda oral glikoz toleransında önemli iyileşme sağladığı gözlenmiştir. Gastrointestinal yolda absorblanmadan kalan total sükröz artığına ilaveten ayrıca oral sükröz yüklemesi de (2.5g/kg) yapılmıştır. SDF fraksiyonu, diabetik olmayan ve Tip 2 diabetik ratlarda oral sükröz sindiriminden sonra kan glikoz seviyesinin yükselişini baskılamıştır. İntestinal disakkarit aktivitesi ve glikoz absorpsiyonu azalmış, gastrointestinal hareket ise artmıştır. SDF'nin günlük oral alınımlı Tip 2 diabetik ratlarda 28 günde serum glikozunda azalma, karaciğer glikojen miktarında artma ve total antioksidan durumunda iyileşme sağladığı gözlenmiştir. Serum insülin ve insülin salınımına herhangi bir etki yapmamıştır.

Çizelge 2.23. *T. foenum-graecum* SDF ekstresinin Tip 2 diabetik ratların serum glikozu ve diğer parametrelerine etkisi (112).

Parametreler	0. gün		28. gün	
	Kontrol	SDF	Kontrol	SDF
Glikoz (mmol/l)	8.8	8.9	9.2	7.2
İnsülin (ng/ml)	0.4	0.4	0.4	0.5
Pankreatik insülin (nmol/g)	-	-	0.88	0.96
Karaciğer glikojen (g/100g doku)	-	-	1.69	2.2
Total antioksidan (mmol/l)	0.8	0.9	0.8	1.33

Bu bulgular *T. foenum-graecum* tohum SDF fraksiyonunun karbonhidrat sindirim ve absorpsiyonunu inhibe ettiğini, periferik insülin aksiyonunda ise artış meydana getirdiğini göstermiştir (112).

Kochhar ve arkadaşları 3 bitkinin (*Mamordica charantia*, *T. foenum-graecum*, *Eugenia jambolana*) tohum tozlarını eşit miktarda karıştırmışlar ve bu karışımı, iki gruba ayırdıkları insüline bağlı olmayan diabetik 60 erkek hastaya 90 gün boyunca oral olarak verip, hastaların serum lipit seviyelerini araştırmışlardır. İlk gruba seviye I olarak ilk 45 gün boyunca günde toplam 1 gr çiğ olarak bu karışımdan içeren 2 kapsül verilmiş, seviye II olarak ise takip eden ikinci 45 gün boyunca günde toplam 2 gr çiğ karışım içeren 4 kapsül verilmiştir. İkinci gruba ise seviye I olarak ilk 45 gün boyunca karışımdan yine günde 1 gr, fakat bu kez 2 büküvi içerisinde pişmiş şekilde, seviye II olarak ise ikinci 45 gün boyunca günde 2 gr karışım içeren 4 büküvi verilmiştir. Hastaların serum lipit değerlerindeki değişim Çizelge 2.24.'de belirtilmiştir.

Çizelge 2.24. Karıştırılan bitki tohum toz karışımlarının hastaların serum lipit değerlerine etkisi (113).

Serum lipit profili (mg/dl)	Grup I (çiğ formda n=30)			Grup II (pişmiş formda n= 30)		
	Başlangıç seviyesi	Seviye I	Seviye II	Başlangıç seviyesi	Seviye I	Seviye II
Total trigliserit	180	166.5	148.7	179.3	171.8	161.6
Total kolesterol	211	195.2	179.76	209.0	198.3	187.9
HDL	37.3	48.8	58.5	35.1	42.9	50.9
LDL	138.0	112.5	91.3	139.1	121.1	104.8
VLDL	35.9	33.1	29.9	35.6	34.3	32.3

Her iki grupta da serum lipit değerleri, çiğ formda ve seviye II'de daha yüksek etki göstermek üzere, normal değerlere ulaşmıştır. *T. foenum-graecum* tohumlarının bu etkisinin içeriğindeki saponin ve zamktan kaynaklandığı bilinmektedir. Zamk, pektin, müsilaj gibi çözülebilir lifler bağırsaktan kolesterol emilimini bloke etmektedir (113).

Kaviarasan ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının polifenol içeren %80'lik metanol ekstresinin, alkolle karaciğerleri yağlandırılmış hepatotoksik ratların,

plazma ve karaciğer yağları bunun yanında kolojen miktarları üzerine etkisini araştırmışlardır. Pozitif kontrol olarak kullanılan silymarin ile karşılaştırıldığında *T. foenum-graecum* tohum ekstresinin, serum lipit değerlerinde, kolojen miktarında, çapraz bağlamada, aldehit içeriğinde ve peroksidasyonda iyileştirici etkisi gözlenmiştir. Bu protektif etkinin ekstre içeriğindeki polifenollerden (naringenin, kersetin, viteksin, tricinin, gliserol monopalmitat, stearik asit, glikopiranozit, sükröz, gallik asit, kumarik asit, rutin, kafeik asit) kaynaklandığı düşünülmektedir. Özellikle naringenin ve kersetin, indüklenmiş hepatik stellat hücrelerindeki dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) yolağını inhibe ederek antifibrojenik etki göstermektedir (114).

Modak ve arkadaşları 2007 yılında diabette kullanılan Hindistan bitkileri ve bitkisel ilaçlar üzerine derleme hazırlamışlardır. Etkili bitkilerden olan *T. foenum-graecum*'nin (TFG) içeriğinde bulunan yeni bir aminoasit olan 4-hidroksilösinin insülin salınımını artırarak kan glikoz seviyesini azalttığını belirtmişlerdir. Oral olarak 2-8 g/kg bitki ekstresinin hem normal hemde diabetik ratlarda kan glikoz seviyesini doza bağlı olarak azalttığını belirtmişlerdir. TFG tohumlarının ratların glikoz metabolizmasını aynı zamanda kalp, iskelet kası ve karaciğerdeki normalize edilmiş kreatin kinaz aktivitesini iyileştirdiğini tesbit etmişlerdir. Ayrıca hepatik ve renal glikoz-6-fosfataz ve fruktoz-1,6-bifosfataz aktivitesini redüklediğini, bunun yanında bitkinin antioksidan etki gösterdiğini kaydetmişlerdir. Ayrıca Modak ve arkadaşları anti diabetik amaçla hazırlanan ve kullanılan bitkisel ilaçları da araştırmışlardır. Bu ilaçlardan içeriğinde TFG bulunanlar, ilaçları üreten şirket ve ilaçların içerikleri Çizelge 2.25.'de verilmiştir (115).

Çizelge 2.25. TFG içeren antidiabetik etkili formüle edilmiş preparatlar (115).

Preparat	Şirket	İçerik
Diasulin	-	<i>Cassia auriculata</i> , <i>Coccinia indica</i> , <i>Curcuma longa</i> , <i>Embllica officinalis</i> , <i>Gymnema sylvestre</i> , <i>Momordica charantia</i> , <i>Scoparia dulcis</i> , <i>Syzygium cumini</i> , <i>Tinospora cordifolia</i> , <i>Trigonella foenum-graecum</i>
Pancreatic tonic 180 cp	Ayurvedic herbal supplement	<i>Pterocarpus marsupium</i> , <i>Gymnema sylvestre</i> , <i>Momordica charantia</i> , <i>Syzygium cumini</i> , <i>Trigonella foenum graecum</i> , <i>Azadirachta indica</i> , <i>Ficus racemosa</i> , <i>Aeglemarmelos</i> , <i>Cinnamomum tamala</i>
Ayurveda alternative herbal formula to Diabetes:	Chakrapani Ayurveda	Gurmar (<i>Gymnema sylvestre</i>) Karela (<i>Momordica charantia</i>) Pushkarmool (<i>Inula racemosa</i>) Jamun Gutli (<i>Syzygium cumini</i>) Neem (<i>Azadirachta indica</i>) Methika (<i>Trigonella foenum-graecum</i>) Guduchi (<i>Tinospora cordifolia</i>)
Diabetes-Daily Care	Nature's Health Supply	Alpha Lipoic Acid, Cinnamon 4% Extract, Chromax, Vanadium, Fenugreek 50% extract, <i>Gymnema sylvestre</i> 25% extract <i>Momordica</i> 7% extract, LicoriceRoot 20% extract
Syndrex	Plethico Laboretaries	Germinated Fenugreek seed extract

Venkasetan ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohum tozu, guar sakızı ve buğday kepeğinden oluşan bir diyet lif karışımının erkek wistar albino ratların, aterosklerozun gelişmesinde başlıca tetikleyici faktör olan, LDL oksidasyonları üzerindeki etkisini araştırmışlardır. İlk gruba liften yoksun bir kontrol diyeti, ikinci gruba % 1.5 kolesterol ve %0.1 kolik asit içeren bir aterojenik diyet, üçüncü gruba ise bu aterojenik diyete ilave olarak lif verilmiştir. LDL'deki peroksidatif değişiklikler, LDL'nin oksidatif hassasiyeti ve LDL+VLDL miktarı değerlendirilmiştir. Oksidatif modifikasyonun doğal bir sonucu olarak okside olmuş LDL ve oluşan otoantikolar çalışmanın çeşitli zamanlarında ölçülmüştür. Ek olarak plazma hemosisteini, lipoproteini, apoproteini, kolesterolü, trigliseriti, fosfolipit ve LDL'nin α -tokoferol içeriği de değerlendirilmiştir. Grup III grup II ile kıyaslandığında malonaldehit

içeriğinde ve LDL'nin bağlı elektroforetik hareketi (REM)'nde azalma gözlenmiştir. Aynı zamanda oksidasyona uğrama süresinde artış, maximum oksidasyonda ve oksidasyon oranında azalış gözlenmiştir. LDL'nin apolipoprotein içeriğinde %37 oranında bir azalma bunun yanında serbest ve bağlı kolesterolde ve plazma homosisteininde de azalma, glutatyonda (GSH) ise artış gözlenmiştir. Diyet tedavisi olarak etkili olduğu görülen bu yeni lif karışımı üzerine daha çok araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır (116).

Eidi ve arkadaşları normal ve streptozotosin ile indüklenmiş diabetik ratlarda *T. foenum-graecum* tohumlarının etanol ekstresinin antidiabetik etkisini araştırmışlardır. Oral olarak 14 gün boyunca (0.1, 0.25, 0.5 g/kgvücut ağırlığı) ekstre verilmiş ve ratlardaki serum glikoz, total kolesterol, triaçilgliserol, üre, ürik asit, kreatin, AST, ALT enzim değerleri değerlendirilmiştir. Ratların süre sonunda kilo kaybettiği bunun yanında araştırılan bu değerler azalırken, serum insülin seviyesinin arttığı gözlenmiştir. İyi bilinen bir antidiabetik ilaç olan glibenclamide (600 µg/kg) ile benzer etki göstermesi *T. foenum-graecum* tohumlarının iyi bir antidiabetik ilaç olabileceğinin göstergesi olmuştur (117).

Vijayakumar ve Bhat, *T. foenum-graecum* sulu ekstresinin (FSE) alloksan diabetik farelerde uzun süreli tedavide (çoklu doz etkisi) kan glikoz seviyesi ve vücut ağırlığına etkisini, streptozotozin diabetik farelerde ise kısa süreli tedavide (tek doz etkisi) ise serum insülin ve hepatik enzim seviyelerine etkisini araştırmışlardır. Farelere 5 gün boyunca 15mg/kg FSE intraperitoneal uygulanmıştır. FSE'nin hipoglisemiye indüklemeye etkisi vücut ağırlığında herhangi bir değişim olmayan fare grubu ile vücut ağırlığı önemli derecede azalan fare grubunun kıyaslanması ile ölçülmüştür ve 5 gün sonunda farelerde hipergliseminin redüklendiği görülmüştür. FSE'nin hepatik glukokinaz ve heksokinaz enzimlerine tek doz etkisi için farelere yine 15mg/kg dozunda ekstre verildi ve insülin enjekte edilmiş fareler kontrol grubu farelerle karşılaştırıldığında, deney farelerinde 90 dk sonra kan glikoz seviyelerinde önemli ölçüde azalma gözlenmiştir. Bu etkinin glukokinaz ve heksokinaz aktivitesinin iyileşmesi ile de ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır.

Çizelge 2.26. FSE'nin diabetik farelerdeki kan glikoz seviyesine etkisi (118).

Gruplar	Açlık kan glikoz seviyeleri (mg/dL)	
	0. dakika	90. dakika
Normal fare (diabetik olmayan)	96	87
Diabetik+PBS (kontrol grubu)	241	267
Diabetik+İnsülin (1.5U/kg)	210	104
Diabetik+FSE (15mg/kg)	220	156

Çıkan bütün bu sonuçlar, FSE'nin diabetik hastalarda metabolik değişim süreci sağladığı ve bu ekstre'nin klinik uygulamada kullanılabilecek potansiyel bir ilaç olabileceğini göstermiştir (118).

2012 yılında Wehash ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohum etanol ekstresinin 50 mg/kg streptozotosin ile tip 1 diabet yapılan rat grubuna olan etkisini incelemişlerdir. Diğer diabetli rat kontrol grubuna ise 500mg/kg Sidofaj® (Metformin HCl) verilmiştir. Etanol ekstresi ve Sidofaj® 4 hafta boyunca günde 1 kez oral olarak rat gruplarına verilmiştir. Biyokimyasal analizler için iki gruptaki ratlardan serum örnekleri alınmıştır (119).

Çizelge 2.27. *T. foenum-graecum* tohum etanol ekstresinin ratların kan değerlerine etkisi (119).

Grup	Glukoz mg/dl	İnsülin uU/mL	AST IU/L	ALT IU/L	Kreatin Mg/dL	Kolesterol mg/dl	Trigliserit mg/dL	LDL Mg/dL	HDL Mg/dL
Normal kontrol	98.33	5.29	30.66	8.33	0.54	114.33	119	48.53	42
Diabetik kontrol	611.33	2.11	81	38.33	1.56	204.67	245.67	141.51	14.03
Sidofaj®	106.33	4.61	31	12	0.61	97.33	111	34.61	40.53
TFG ekstre	130.33	4.18	35.33	13.66	0.6	106	118	45.10	37.3

Normal ve diabetli ratlarla yapılan karşılaştırmalarda diabetli ratlarda kan glikoz seviyesinin önemli miktarda azaldığı, bunun yanında ALT ve AST enzimlerinin çalışma boyunca sabit kaldığı ve kreatin değerlerinin azaldığı görülmüştür. Aynı zamanda ekstre verilen ratlarda kolesterol, trigliserit ve LDL değerleri azalırken, HDL değerlerinin arttığı gözlenmiştir (119).

Haeri ve arkadaşları kültüre alınmış *T. foenum-graecum* tohumlarının 70'lik etanol ekstresinden izole ettikleri 4-hidroksiizolösün aminoasitinin tip 1 diabetli ratlarda karaciğer fonksiyonlarına ve kan glikozuna etkisini araştırmışlardır. Bunun için streptozotosin ile diabetik hale getirilmiş ratlara günde 50 mg/kg aminoasiti 4 hafta boyunca vermişlerdir. Normal kontrol grubuna göre %65 oranında daha fazla insüline sahip ratlarda 4 hafta sonra diabetli kontrol grubuna göre %60-70 oranında insülin seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Bunun yanısıra yüksek olan kolesterol, LDL, HDL, ve trigliserit değerleri de kontrol grubuna göre azalmıştır (120).

Hamza ve arkadaşları su:etanol (2:8) ile ekstre edilmiş *T. foenum-graecum* tohumları ile günde 2g/kg miktarında oral olarak besledikleri tip 2 diabetli farelerin plazma glikoz, lipit, insülin ve insülin direncini ölçmüşlerdir (121).

Çizelge 2.28. *T. foenum-graecum* tohumlarının kan değerleri üzerine etkisi (121).

Değerler	SDF kontrol	YYDF kontrol	YYDF-TFG
Kilo (g)	35.4	53.3	49
Plazma glikoz (mg/dL)	125.3	229	170.4
İnsülin (ng/mL)	0.7	3.3	1.7
Trigliserit (mg/dL)	29.9	62.8	17.9
Total kolesterol (g/L)	0.7	1.8	1.3
HDL-kolesterol (g/L)	1.4	1.2	1.6

SDF:Standart diyetli fareler

YYDF:Yüksek yağ diyetli fareler

YYDF-TFG:Yüksek yağ diyetli fareler- *T. foenum-graecum* ile tedavi edilmiş fareler

Sonuçlar incelendiğinde *T. foenum-graecum* tohumlarının antidiyabetik ve hipolipidemik etkisinin olduğu gözlenmiştir (121).

2.6.2 Antioksidan Etki

T. foenum-graecum tohumları, glutasyon, β -karoten ve α -tokoferol gibi antioksidan maddelerin yapısının değişmesini ve lipit peroksidasyonun artmasını engellemektedir (122).

Oksijen serbest radikalleri diyabetin ciddi komplikasyonlarının sebebidir. *T. foenum-graecum* tedavisi ile diyabetik ratların dokularında oksidatif zararın yanı sıra katalaz, süperoksitdismutaz ve glutasyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesindeki değişim incelenmiştir. 3 hafta sonra diyabetik ratların kalbinde kolesterol açıl transferaz aktivitesi önemli ölçüde (yaklaşık 6 kat) artmıştır fakat karaciğerde azalmıştır. Süperoksitdismutaz aktivitesi de karaciğerde önemli ölçüde azalmış fakat beyinde artmıştır. Yine glutasyon peroksidaz aktivitesi de karaciğerde azalırken böbrekte artmıştır. Kalp ve böbrekte oksidatif zarar çok artarken beyinde çok az artmakta, karaciğer ve kaslarda ise azalmaktadır. *T. foenum-graecum*'in antioksidan seviyeyi ve peroksidatif hasarı iyileştirdiği gözlemlenmiştir (123).

Kaur ve Kapoor, *T. foenum-graecum* tohum sulu ve alkollü ekstralarının β -karoten ve linoleik asit içeren bir model kullanılarak antioksidan etkileri araştırmışlar, etanollü ekstre daha yüksek olmak üzere iki ekstre de antioksidan etki gözlemişlerdir. Total fenol içerikleri de araştırılmış ve 2 g tohumda 217.5 mg total fenol tespit edilmiştir. Bu da total fenol bileşikleri ile antioksidan özellikleri arasında yüksek bir korelasyon olduğunu göstermektedir (69).

Thirunavukkarasu ve arkadaşları, *T. foenum-graecum* tohumlarının sulu ekstresinin, etanol toksisiteli ratlarda lipit peroksidasyonu ve antioksidan durumu açısından etkisini araştırmışlardır. Tohum ekstresinin lipit peroksidasyonu önleme etkisi in vitro çalışılmıştır. 60 gün boyunca etanol verilen ratların serum aspartat transaminaz, alanin transaminaz ve alkalın transaminaz aktivitelerinde önemli artışlar gözlenmiştir. Serum lipit hidroperoksidaz ve karaciğer ve beyin tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri seviyesinde yükselme gözlenmiştir. Karaciğer ve beyinde glutasyon, askorbik asit ve α -tokoferolün azalması ile birlikte süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz aktiviteleri de azalmıştır. Ayrıca beyinde Ca^{+2} ATPaz aktivitesi de azalmıştır. Tohumun sulu ekstresinin uygulanmasından hemen sonra enzimatik kayıpta azalma, lipit peroksidasyonda ve antioksidan potansiyelinde artma meydana gelmiştir.

İn vitro çalışmada glutatyonun ve α -tokoferolün redüklendiği zamanla kıyaslandığında, tohumlar fark edilir derecede antioksidan özellik göstermiştir. Dahası karaciğer ve beyinin histopatolojik incelenmesi sonucunda tohumların sulu ekstresinin etanol toksisitesine karşı önemli bir koruyucu özellikte olduğu ortaya çıkmıştır (124).

Sabu ve arkadaşları alloksan monohidrat ile diyabetik hale getirilmiş ratlara %75'lik metanol ile ekstre edilmiş *T. foenum-graecum* tohumu verip süperoksit süpürücü, hidroksil radikal süpürücü ve lipid peroksidasyonu yöntemleri ile test etmişler ve ekstrenin antioksidan etki gösterdiğini bulmuşlardır (125).

Aqil ve arkadaşları, *T. foenum-graecum* yaprak metanol ekstresinin ferri tiyosiyanat (FTC), tiyobarbitürük asit (TBA), difenilpikril hidrazil (DPPH) yöntemleri ile antioksidan etkisini incelemişlerdir. Ayrıca bitkinin total fenolik bileşiklerini de araştırılmışlardır. Düşük fenolik bileşik içermesine rağmen yüksek antioksidan etki bulmuşlardır (76).

Dasgupta ve arkadaşları ise *T. foenum-graecum* yapraklarının sulu dekoksilyonunu hidroksil radikal süpürücü, süperoksit radikal süpürücü, DPPH, lipid peroksidasyon (TBARS), total antioksidan kapasitesi, total fenol içeriği, total flavonoid içeriği yöntemleri ile antioksidan açıdan değerlendirmişler ve orta derecede aktivite gözlemişlerdir (55).

Khalaf ve arkadaşları *T. foenum-graecum* yapraklarının metanol ekstresinde DPPH testi kullanarak düşük oranda antioksidan aktivite tespit etmişlerdir (126).

Naidu ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumunun endospermini ve tohum kabuğunu birbirinden ayırarak ayrı ayrı DPPH yöntemleri ile antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Buna göre tohum kabuğu, tohum ve endosperm aktiviteleri sırasıyla, %72, %64 ve %56 sonuçları ile en aktif kısmının tohum kabuğu olduğu gözlenmiştir (42).

Xue ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohum sulu ekstresinin diabetik ratların böbrek morfoloji ve fonksiyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. Öncelikle ratların insülin direncini inhibe etmek için 8 hafta boyunca sükröz ve kolesterol diyeti uygulamışlardır. Streptozotosin ile de muamele edilen ratlara ekstrenin etkisini görebilmek için 6 hafta boyunca 440, 870, 1740 mg/kg miktarlarında ekstre verilmiştir. Ekstre verilen ratların kan glikozu, böbrek/vücut ağırlık oranı, serum kreatini, kan üresi, 24 saatlik üriner proteini ve kreatin miktarında önemli miktarda azalma meydana

gelmiştir. Aynı zamanda ekstre ile muamele edilen ratların süperoksit dismutaz ve katalaz yöntemleri ile yapılan çalışmada ekstrenin antioksidan özelliği gözlenmiştir. Dahası ekstre ile beslenen diabetik ratların böbreklerindeki ultramorfolojik anormalliklerde düzelme meydana gelmiştir. Çalışma sonucunda araştırmacılar tohumların sulu ekstresinin diabetik nefropatinin önlenmesinde potansiyel bir ilaç olacağını belirlemişlerdir (127).

Rababah ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının metanol ekstresinin DPPH yöntemi ile antioksidan etkisini araştırmışlardır. Ekstrenin %inhibisyonunu 12.6 olarak tesbit etmişlerdir (67).

Reddy ve Srinavasan *T. foenum-graecum* tohumlarının yüksek kolesterol diyeti ile beslenmiş farelerdeki hepatoprotektif ve antioksidan etkisini araştırmışlardır. 10 hafta boyunca fareler yüksek kolesterolü diyet ile beslendikten sonra %6 veya %12 oranında *T. foenum-graecum* tohumu içeren diyetler uygulanmıştır. Yüksek kolesterol diyeti nedeniyle karaciğer enzimlerinden aspartat amino transferaz, alanin amino transferaz, laktat dehidrogenaz ve alkalın fosfataz seviyelerinin yükseldiği fakat tohum diyetinden sonra bu değerlerin tekrar düştüğü görülmüştür. Bunun yanında hepatik lipit peroksidazın azaldığı, antioksidan moleküllerin ise arttığı gözlenmiştir. Ayrıca hepatik antioksidan enzimlerden glutatyon redüktaz, glutatyon S-transferaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinde artış belirlenmiştir (128).

Liu ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumunun hekzan, etilasetat, metanol ve sulu ekstresinin antienflamatuar ve antioksidan etkisini araştırmışlardır. Ekstrelerin lipit peroksidasyon yöntemi ile yapılan antioksidan çalışmasında 250µg/ml konsantrasyonunda hekzan, etanol, methanol ve sulu ekstrelerde sırasıyla %55, %43, %65, %95 etki gözlenmiştir. Siklooksigenaz-1 enzim inhibisyon testinde ise hekzan, etanol, methanol ve sulu ekstrelerde sırasıyla %18, %70, %87, %51 etki gözlenirken, Siklooksigenaz-2 enzim inhibisyon testinde ise sırasıyla %6, %36, %18, %63 etki gözlenmiştir (44).

Sindhu ve arkadaşları kireçlenmesi indüklenmiş ratlarda *T. foenum-graecum* tohumlarından elde edilen müsilajın anti-inflamatuar ve antioksidan etkisini araştırmışlardır. Antiinflamatuar aktiviteyi hayvandaki siklooksigenaz, lipoksigenaz ve miyeloperoksidaz enzim seviyelerine göre ayrıca nitrit ve C-reaktif protein seviyelerine göre değerlendirmişlerdir. Oksidatif stresi ise katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon

peroksidaz, glutatyon, C vitamini ve lipit peroksidasyonu değerleri ile belirlemişlerdir. Kireçlenmesi yüksek olan deney ratlarına 21 gün boyunca 75 mg/kg dozunda *T. foenum-graecum* müsilajı verilmiştir. Msilajın standart ilaç olan indometazinden daha yüksek etki gösterdiği belirlenmiştir. Siklooksigenaz-2, miyeloperoksidaz ve tiyobarbütirik asit aktiviteleri tedavi sonrası azalırken, antioksidan enzimleri, C vitamini ve redüklenmiş glutatyon seviyeleri ise artmıştır (129).

Esmaeili ve arkadaşları tez konusunu oluşturan bitkilerden biri olan *T. monantha* subsp. *monantha* bitkisinin topraküstü ve tohum kısmının metanol, kloroform ve hekzan ekstrelerinin DPPH yöntemi kullanarak antioksidan etkisini araştırmışlardır. Pozitif kontrol olarak kullanılan BHT maddesinin radikal süpürücü etkisine (IC₅₀: 18.3 µg/ml) en yakın etkiyi topraküstü methanol ekstresi ekstresinin (IC₅₀: 49.6 µg/ml), en düşük etkiyi ise topraküstü kloroform ekstresinin (IC₅₀: 20520 µg/ml) gösterdiğini tesbit etmişlerdir (79).

2.6.3 Sitotoksik ve Antitümör Etki

Sathiyamoorthy ve arkadaşları, *T. foenum-graecum* tohumunun melanoma ve malaria parazite karşı olan etkisini araştırmak için bunlara uygun hücre dizileri üzerinde sitotoksisite testi yapmışlar ve %89 oranında etki gösterdiğini tespit etmişlerdir (16).

Devasena ve Menon, *T. foenum-graecum* tohumunun, ratlarda 1,2-dimetilhidrazin (DMH) ile indüklenmiş kolon karsinogenezisi boyunca β-glukuronidaz ve musinaz aktivitesini araştırmışlardır. Ratlara ağırlıklarına göre 15 hafta boyunca haftada bir olmak üzere 20 mg/kg dozunda derialtı enjeksiyonu ile DMH verilmiştir. *T. foenum-graecum* tohum tozu ise yine ratların ağırlığına göre 2g/kg dozunda verilmiştir. 30 hafta sonra kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kolonda, bağırsakta ve karaciğerde β-glukuronidaz aktivitesinin önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir. β-glukuronidazdaki bu artış karsinojen-glukuronit konjigatının hidrolizini ve kolonik lümen içindeki karsinojen ve/veya ko-karsinojeni arttırabilecektir. *T. foenum-graecum* tohum tozunun diyete eklenmesi ile çalışılan bütün dokularda β-glukuronidaz aktivitesinde önemli ölçüde azalma meydana gelmiştir. Bu azalış ise serbest karsinojenlerin kolonositteki

faaliyetini önleyebilecektir. Musinaz ise koruyucu olan musinin hidrolizine yardımcıdır. Musinaz aktivitesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DMH verilen hayvanların kolon ve dışkı içeriğinde arttığı görülmüştür. DMH ile *T. foenum-graecum* tohum karışımının verildiği hayvanlarda, sadece DMH verilen hayvanlar ile kıyaslandığında ise aktivite önemli derecede redüklenmiştir. Çalışma göstermiştir ki diyetlere *T. foenum-graecum* tohumunun eklenmesi, β -glukuronidaz ve musinaz aktivitesinin değişimi ile kolon karsinogenezinde inhibisyon meydana getirmiştir (130).

Raju ve arkadaşları %1'lik *T. foenum-graecum* tohum tozunun veya major bileşiği diosgenin olan %0.05'lik ve %0.1'lik diyetinin azoksimetan ile oluşturulmuş rat kolon karsinogenezinde başlangıç ve ileri safhada önleyici etkisini araştırmışlardır. Aynı zamanda HT-29 insan kolon kanser hücrelerinde diosgeninin, tümör büyüme inhibisyonunu da değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda %1'lik *T. foenum-graecum* tohumu, %0.05'lik ve %0.1'lik diosgenin diyetinin total kolonik Aberrant Crypt Foci (ACF)'yi sırasıyla %32, %24, %42 oranında baskılamıştır. Doza bağlı bir sonuç elde etmişlerdir. Aynı zamanda diosgeninin HT-29 insan kolon kanser hücrelerini apoptoze uğrattığı bulunmuştur. Bütün bu bulgular diosgeninin potansiyel bir kolon kanseri önleme ajanı olduğunu göstermiştir (131).

Amin ve arkadaşları ratlardaki 7,12-dimetilbenzantrazen (DMBA) ile oluşturulmuş göğüs kanseri üzerine 200 mg/kg miktarındaki *T. foenum-graecum* tohumunun sulu ekstresinin önemli ölçüdeki inhibisyon etkisini gözlemlemişlerdir (132).

Aggarwal ve Shishodia, Amerika'da yapmış oldukları bir derlemede içerisinde *T. foenum-graecum*'un da bulunduğu birçok bitkinin aktif bileşiklerinin kanseri önleme ve tedavi etmedeki etkilerini incelemişlerdir. *T. foenum-graecum* tohumunun etkili bileşiği olan diosgeninin antitümöral bir etkisi olmadığı sonucuna varmışlardır (133).

Sebastian ve arkadaşları, *T. foenum-graecum* etanol ve sulu ekstresinin spesifik östrojen bağlama etkisinden dolayı MCF-7 hücrelerini apoptosize teşvik ettiğini bulmuşlardır. Bu etkiyi de bitkide bulunan flavonoit ve izoflavonoit bileşiklerinin sağladığını düşünmektedirler (134).

Frias ve arkadaşları, *T. foenum-graecum* tohumlarını önce çimlendirmişler daha sonra YBSK (Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi) ile biyolojik aminlerini analiz

etmişlerdir. Sulu çözeltilisinin HL60 sitotoksik etkisi araştırmışlardır. Sonuç olarak HL60 lösemi hücrelerinde apoptozis gözlenmiştir (135).

Raju ve arkadaşları diosgeninin HCT-116 insan kolon karsinoma hücrelerinde MTT assay testi ile sitotoksik çalışma yapmışlar ve 35µM konsantrasyonundaki diosgeninin maksimum etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda düşük doz diosgeninin erken apoptozisi sağladığını da bulmuşlardır (136).

Sur ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumun alkollü ekstresini Ehrlich ascites melanomasında (EAC) değerlendirmişlerdir. Tümör hücre büyümesinde %70'den fazla inhibisyon gözlenmiştir. Ekstre ile tedavi sonucunda peritoneal salgı hücresi ve makrofaj hücre sayısında da artış tesbit etmişlerdir (137).

Kaviarasan ve Anuradha *T. foenum-graecum* tohum fenolik ekstresinin, ratlarda etanol kaynaklı karaciğer yaralanması ve apoptozise karşı hepatoprotektif etkisini araştırmışlardır. Kronik etanol uygulaması (6g/kg/günx60gün) sonucu karaciğer disfonksiyonu markerlarının (plazmadaki AST, ALT, ALP, LDH, GGT değerleri ve karaciğer glikojenindeki redüksiyon) yükselmesi ile açığa çıkan karaciğer zararı oluşturulmuştur. Alkol uygulanan grupta, alkol dehidrogenaz ve aldehit dehidrogenaz gibi alkol metabolik enzimlerin etkisinin değiştiği gözlenmiştir. Etanol verilmesi, sitokrom p450, sitokrom-b₅ aktivitelerinin iyileşmesine, Sitokrom-c-redüktaz ve bir faz II enzimi olan glutatyon-S-transferazda redüksiyona neden olmuştur. Dahası, trypan blue boyası ile canlılık oranı hesaplandığında etanol uygulaması sonrasında izole edilen hepatositlerin sayılarının redüklendiği (canlılık yüzdesi %50.84), propidium iodide staining testi ile ise hepatosit apoptozisinin arttığı gözlenmiştir. *T. foenum-graecum* tedavisi sonrasında karaciğer yaralanma markerlarının seviyesinde iyileşme, alkol metabolizmasında ve detoksifikasyon enzimlerinin değişiminde ve sitokrom-c redüksiyonunda azalma gözlenmiştir. Aynı zamanda tedavi sonrasında ratların apoptotik nükleuslarının redüklendiği ve hepatosit canlılık oranlarının arttığı (canlılık yüzdesi %71.14) tesbit edilmiştir. Bütün bu sonuçlar etanolün sebep olduğu karaciğer abnormalitelerine karşı *T. foenum-graecum* tohumunun koruyucu bir ajan olarak aktif olduğunu göstermiştir (114).

2.6.4 Antimikrobiyal Etki Çalışmaları

Mansouri ve arkadaşları *T. foenum-graecum* yapraklarının etanollü ekstresinin *Staphylococcus aureus* 'a hiçbir etkisinin olmadığını bulmuştur (138).

Packiyasothy ve Kyle *T. foenum-graecum* tohumlarının uçucu yağlarının *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* ve *Aspergillus flavus* mikroorganizmaları üzerine düşük etkisi gözlenmiştir (139).

Aqil ve Ahmad *T. foenum-graecum* yapraklarının %70'lik etanollü ekstresinin *S. aureus*, *Salmonella paratyphi*, *Shigella dysenteria*, *Salmonella typhimurium* ve *E. coli* üzerinde orta ve yüksek aktivitesi görülürken *Pseudomonas aureginosa*, *Salmonella typhi* üzerinde hiçbir etkisi görülmemiştir. Antifungal etki çalışmasında ise sadece *Aspergillus niger* üzerine orta derecede aktivite görülmüş, *Candida albicans*, *Fusarium chlamydosporum*, *Trichoderma viride*, *Rhizoctonia bataticola*, *Alternaria alternata* mantarlarına hiç aktivite gözlenmemiştir (17).

Alzoreky ve Nakahara *T. foenum-graecum* tohumlarının aseton ve metanol ekstresinin *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Salmonella infantis* bakterilerine karşı disk difüzyon ve MIC yöntemleriyle herhangi bir etki gözlememiştir (140).

Haouala ve arkadaşları *T. foenum-graecum*'un toprak üstü, kök, öğütülmüş tohum ve öğütülmemiş tohum kısımlarının sulu ekstresinin ve ayrıca toprak üstü kısmının petrol eterli, etil asetatlı ve metanollü ekstrelerinin antifungal potansiyellerini araştırmışlardır. *Botrytis cinerea*, *Fusarium graminearum*, *Alternaria sp.*, *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctinia solani* mantarlarının kullanıldığı çalışmada bütün mantarlara en güçlü inhibisyonu öğütülmemiş tohum ekstresi (ort.%71.44) sağlarken en düşük etkiyi ise kök ekstresi (ort.%30.38) göstermiştir. Öğütülmüş tohum %58.56, toprak üstü ekstresi ise %57.1 etki sağlamıştır. Aktiviteler mantar kolonilerinin çapları ölçülerek değerlendirilmiştir. Çalışmalar *T. foenum-graecum* bitkisinin zararlı patojenik mantarlara karşı potansiyel bir ilaç olabileceğini göstermiştir. Araştırmacılar çalışmalarında ayrıca sulu ekstrelerin stabilite testlerini de yapmışlardır. 1 ay önce hazırlanmış ve 4°C'de saklanmış ekstreler taze hazırlanmış ekstrelerle göre aktivitelerini %50 kaybederken, 1 ay önce hazırlanmış fakat bu kez oda sıcaklığında bekletilmiş

ekstreler ise aktivitelerinin %60-90'ını kaybetmişlerdir. Yapılan çalışmalar ekstrelerin taze hazırlanması ve düşük sıcaklıkta bekletilmesi gerektiğini göstermiştir (141).

Kanan ve Al-Najar *T. foenum-graecum* tohumlarının absölu etanol ekstresinin limon çürüğünden izole edilen *Penicillium italicum* mantarının Pi.1, Pi.3, Pi.5, Pi.6 izolatlarının büyümesine olan inhibisyonunu araştırmışlardır. İn vitro (agar metot) ve in vivo metotlar ile aktivite değerlendirilmesi yapılmıştır. Sonuç olarak bitki ekstresinin 130µg/ml konsantrasyonunda Pi.3 ve Pi.5 izolatlarının büyümesini tamamen inhibe ederken, 390µg/ml konsantrasyonun ise Pi.1 izolatını inhibe ettiğini tesbit etmişlerdir (142).

Esmaeili ve arkadaşları *T. monantha* subsp. *monantha* bitkisinin tohum ve toprak üstü kısmını karıştırarak hekzan ile ekstraksiyonu ile elde ettikleri yağın, tohum ve topraküstü kısımlarının ayrı ayrı metanol, hekzan, kloroform ile ekstrelerinin antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. MIC ve agar disk difüzyon metotları kullanılarak yapılan aktivite testlerinde en yüksek etki *Bacillus antracila* ve *Escherichia coli* bakterileri üzerine yağ ekstresinde görülmüştür. Ayrıca topraküstü kloroform ekstresinin *B. subtilis* üzerine yüksek etkisi görülmüştür (79).

Çizelge 2.29. *T. monantha* subsp. *monantha* bitkisinin antimikrobiyal etki sonuçları (mm inhibisyon zonu) (79).

Mikroorganizmalar	Yağ	Metanol		Hekzan		Kloroform	
		Tohum	Toprak üstü	Tohum	Toprak üstü	Tohum	Toprak üstü
<i>Bacillus antracila</i>	25	5	5	-	5	-	5
<i>Bacillus cereus</i>	20	-	-	-	-	-	20
<i>Bacillus subtilis</i>	5	5	-	20	10	20	25
<i>Escherichia coli</i>	25	-	-	-	10	Hafif	10
<i>Pseudomonas sp.</i>	Orta	5	5	10	5	Hafif	-
<i>Salmonella typhi</i>	10	-	-	-	10	-	10
<i>Shikla fleksheneri</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	Hafif	-	5	-	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	20	-	-	10	-	-

2.6.5 Toksikite

Sharma ve arkadaşlarının bir toksikolojik değerlendirme çalışmasında 60 diabet hastasına 4, 8, 12, 24 hafta boyunca günde 25 gr *T. foenum-graecum* tohumu diyeti uygulanmış, vücut ağırlığı, klinik sinyaller ve semptomlar, SGOT, SGPT, alkalinfosfataz, bilirubin, kreatinin, kan üresi değerlerindeki değişimler gözlenmiştir. Çalışma sonucunda renal ve hepatik bir toksisite gerçekleşmemiştir. Yalnızca 12. haftada kan üre seviyelerinde %16'lık bir azalma gözlenmiştir (143).

Tahiliani ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının *Allium sativum* (sarımsak) ile kombinasyonunun hipertroidizm düzenlenmesindeki etkisini araştırmışlardır. T₃, T₄, glikoz, hepatik glikoz 6-fosfat ve oksijen tüketimi gibi parametreler incelenmiştir. Aynı zamanda ilaçların toksik etkilerinin incelenmesi için süperoksit dismutaz, katalaz, lipit peroksidaz ve reduced glutatyon yöntemleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda iki ekstrenin birbirini olumsuz etkilediği, ayrı ayrı hayvanlara verildiğinde ise aynı derecede etkili oldukları görülmüştür (144).

2.6.6 Adjuvant Etki

Oda ve arkadaşları *T. foenum-graecum* toprak üstünden steroid yapıda 3,26-bisdesmozit tipinde 10 saponin (trigoneozit Ia, trigoneozit Ib, trigoneozit IIa, trigoneozit IIb, trigoneozit IIIa, trigoneozit IVa, trigoneozit Va, trigoneozit VI, trigoneozit VIIb, trigoneozit VIIIb) izole etmişlerdir. Adjuvant (ilaç etkisini artırıcı etki) ve hemolitik aktivitesini ölçmüşlerdir. Farelere 4 hafta boyunca intramusküler olarak saponin verildikten sonra serum örnekleri ölçülmüş ve ekstrenin orta derecede aktif olduğu görülmüştür (145).

2.6.7 Antienflamatuar, Analjezik ve Antipiretik Etki

Ahmadiani ve arkadaşları *T. foenum-graecum* yaprak sulu dekoksiyonunun antienflamatuar ve antipiretik (ateş düşürücü) etkisini incelemişlerdir. Formolin induced edema modeli kullanılarak yapılan antienflamatuar çalışmasında pozitif kontrol olarak sodyum salisat kullanılmıştır. Ekstre ve sodyum salisat tek dozda (ekstre 1000 mg/kg

sodyum salisat 300mg/kg) bira mayası ile indüklenmiş yüksek ateşli ratlarda önemli derecede iyileşme göstermiştir. Yapılan fitokimyasal çalışma sonucu major bileşik olarak alkaloid, kardiyoaktif glikozit ve fenol bileşikler bulunmuştur. Bu bileşikler ekstrenin hem antienflamatuvar hem de antipiretik etkili olmasından sorumlu tutulmaktadır (19).

Parvizpur ve arkadaşları *T. foenum-graecum* (TFG) yapraklarının sulu ekstresinin analjezik etkisini araştırmışlardır. Bu çalışma için TFG ekstresinin; 1-agregasyonu indükleyen ADP'ye tavşan plateletlerinin cevabı, 2- α , β , Me-ATP tarafından indüklenen farenin vas deferensinin kasılmasına etkisi, 3-dişi ratlarda kuyruk fiske testinde α , β , Me-ATP'nin hiperaljezia'yı (ağrıya karşı duyarlılığın yüksek olması) indüklemesine etkisi, 4-COX1 ve COX2'nin spesifik inhibisyonuna etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar 0.5, 1, 1.5, 3 mg/ml TFG ekstresinin, platelet agregasyonunu indükleyen ADP'yi inhibe ettiğini göstermiştir. Vas deferensde izometrik kasılmayı indükleyen α , β , Me-ATP'yi de önemli derecede inhibe etmiştir. Dahası, kuyruk fiske testinde hiperaljeziyi indükleyen α , β , Me-ATP'nin, suramin veya TFG ekstresi ile birlikte enjeksiyonu hiperaljeziyi baskılamıştır. Bu sonuçlar TFG ekstresinin analjezik etkisinde, spinal purinoseptörlerin bloke edilmesinin katkı sağlayabileceğini göstermiştir (146).

Mandegary ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohum ekstresinin metanol ekstresinden sıvı-sıvı ekstraksiyonla elde edilmiş 6 farklı fraksiyonun fitokimyasal taramasını bunun yanında antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkilerini araştırmışlardır. Fitokimyasal tarama sonucu ekstre içerikleri, ekstre renklerinin yoğunluğuna ve çökelme durumlarına bakarak değerlendirilmiş ve sonuç Çizelge 2.30.'da gösterilmiştir.

Çizelge 2.30. *T. foenum-graecum* tohum metanol ekstresinin kimyasal içeriği (147).

Ekstre	Saponin	Flavonoit	Alkaloit	Terpenoit
Total ekstre	+++	++	+++	+++
n-Hekzan	+	-	-	+++
CCl4	-	-	++	++
DCM ^a	-	-	+	++
ACC ^b	-	+++	-	-
AKC ^c	-	-	+++	-
Sulu fraksiyon	-	+++	-	-

a Diklorometan.

b Asitli kloroform fraksiyon.

c Alkali kloroform fraksiyon; (+++: yüksek içerik; ++: orta içerik; +: düşük içerik; -: içerik yok)

Ekstrelerin aktivite çalışmaları incelendiğinde antinosiseptif aktivite için formalin testi, anti-inflamatuar aktivite için ise carrageenan-induced paw edema testi ile çalışıldığı görülmüştür. Metanol ekstresinin 100 mg/kg dozu hem antinosiseptif hemde anti-inflamatuar etki göstermiştir. Fakat fraksiyonlar arasında alkaloit açısından yüksek içeriğe sahip AKC fraksiyonu 5 mg/kg dozdaki morfinin gösterdiği etki kadar etki göstermesiyle en fazla antinosiseptif etkiyi göstermiştir. Fraksiyonlardan yüksek flavonoit içeriğine sahip olan ACC ve sulu fraksiyonun ise önemli derecede anti-inflamatuar etki gösterdiği belirlenmiştir (147).

2.6.8 Nematosit Etki

Zia ve arkadaşları bitkinin tohumlarının sulu, metanollü, kloroformlu ekstrelerinin tahıl bitkilerinin köklerine zarar veren *Meloidogyne* türü nematotlar üzerine öldürücü etkisinin olduğunu mikroskop altında inceleyerek gözlemişlerdir (103).

2.6.9 Gastroprotektif Etki

Pandian ve arkadaşları tohumların sulu ekstresinden izole edilen jel fraksiyonunun ülserik ratlardaki gastroprotektif etkilerini incelemiştir. Önemli derecede ülser koruma etkisi bulunmuştur. Etkinin sadece anti-sekresyon aktivitesinden değil aynı zamanda mukozal glikoproteine etkisinden kaynaklandığını düşünmektedirler (20).

2.6.10 İmmunomodülatör Etki

Hafeez ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının sulu ekstresinin fareler üzerinde immunomodülatör etkisini incelemiştir. PFC testinde (plaque-forming cell assay) 100 mg/kg ekstre dozu immunomodülatör etki gösterirken 50 ve 250 mg/kg dozları etki göstermemiştir. Ancak HT testinde (haemagglutination titre) bütün dozlar etki göstermiştir (18).

2.6.11 Antifertilite Etki

Kassem ve arkadaşları erkek ve dişi tavşanda *T. foenum-graecum* tohumlarının potansiyel antifertilite etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda tohumların FSH'ı uyarması ile plazmadaki progesteron seviyesini yükselttiği, corpus luteum sayısının arttığı görülmüştür. Fakat erkek tavşanların testesteron seviyelerinin, tohumdaki bir bileşiğin toksik etki göstermesinden dolayı düştüğü görülmüştür. Testesteron miktarı ve sperm konsantrasyonu azalmıştır (21).

2.6.12 Dayanıklılık Kapasitesine Etki

Ikeuchi ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohum etanol ekstresinin (FG) dişi fareler üzerinde dayanıklılık kapasitesine etkisini incelemişlerdir. Farelere oral olarak ya ilaç ya da FG verilmiştir (150, 300 mg/kg vücut ağırlığı) 300 mg FG verilen grubun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüzme yorulma zamanında artış, kan laktat konsantrasyonunda ise önemli derecede azalma meydana gelmiştir. Kontrol grubunda yüzme egzersizi sonucunda plazma esterleşmemiş yağ asidi ve glikozunda azalma gözlenirken FG grubunda artış gözlenmiştir. Aynı zamanda FG grubunda yağ birikiminde önemli azalma tesbit edilmiştir. Bu sonuçlar, FG uygulanarak yüzme dayanıklılığının artmasında enerji kaynağı olarak yağ asitlerinin kullanımının arttığını göstermiştir (148).

2.6.13 Böbrek Taşı Oluşumunu Engelleyici Etki

Laroubi ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının metanolik ekstresinin ratlardaki renal taş oluşumu üzerine koruyucu etkisini incelemiştir. Ratlara verilen sulu ekstre sonucunda ratların böbrekleri tamamen çıkarılmış ve ışık mikroskopunda incelenmiştir. Muhtemel kristallerin ve taşların kontrol grubuna göre çok azaldığı görülmüştür. Ayrıca kanda kalsiyum, fosfor, kreatin ve üre seviyelerinde düzelmeler gözlenmiştir (149).

3 GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Bitkisel Materyal

Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Vol. 3) ve herbaryum (Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Herbaryumu, Hacettepe Üniversitesi Herbaryumu ve Ankara Fen Fakültesi Herbaryumu) kayıtları incelenerek taksonların toplanacağı lokaliteler belirlendi, çiçekli ve tohumlu oldukları aylarda arazi çalışması yapıldı. Herbaryum örnekleri hazırlanarak morfolojik özellikleri incelendi, teşhisler Doç. Dr. Ahmet İlçim (Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edb. Fak. Biyoloji Bölümü) ile birlikte yapıldı ve herbaryum numuneleri hazırlandı. Ayrıca bu taksonlardan ekstre hazırlamaya yetecek miktarlarda da toplanarak gölgede kurutuldu, toprak üstü kısımlar ve tohumlar ayrıldı, değirmende öğütülerek çalışma materyalleri hazırlandı. Bitkisel materyallerin toplandığı lokaliteler ve herbaryum numaraları Çizelge 3.1.'de belirtildiği gibidir. Aynı zamanda numunelerin genel ve tohum görünüşleri Şekil 7-22'de gösterilmiştir.

Araştırma materyalini oluşturan taksonlar aşağıda belirtilmiştir.

Trigonella L. Sect. Bucerates;

<u>Takson</u>	<u>Grup</u>
21. <i>T. aurantiaca</i> Boiss.	Grup H
22. <i>T. arenicola</i> * Hub.-Mor.	Grup H
23. <i>T. fischeriana</i> Ser.	Grup H
24. <i>T. tenuis</i> Fisch.	Grup H
25. <i>T. cancellata</i> Desf.	Grup H
26. <i>T. astroites</i> Fisch.	Grup H
27. <i>T. halophila</i> * Boiss.	Grup H
28. <i>T. crassipes</i> Boiss.	Grup H
29. <i>T. polycarpa</i> * Boiss.	Grup H
30. <i>T. rigida</i> * Boiss.	Grup D
31. <i>T. pamphylica</i> * Hub.-Mor.	Grup H
32. <i>T. carica</i> * Hub.-Mor.	Grup H
33. <i>T. arcuata</i> C.A. Meyer	Grup D
34. <i>T. monantha</i> C.A. Meyer	Grup D
<i>T. monantha</i> subsp. <i>monantha</i> Sirj.	
<i>T. monantha</i> subsp. <i>noeana</i> (Boiss) Hub.-Mor.	
35. <i>T. orthoceras</i> Kar.&Kir.	Grup D

* Endemik taksonlar

Çizelge 3.1. Bitkisel materyallerin toplandığı lokaliteler

Takson	Lokalite
<i>T. aurantiaca</i> Boiss.	C4:Aksaray , Kızılkaya köyü, Selime yolu kenarı, 1150m MKU1433
<i>T. arenicola</i> Hub.-Mor.*	C3:Antalya , Lara plajı MKU1434
<i>T. fischeriana</i> Ser.	C4:Karaman , Değirmenbaşı köyü etrafı, ardıç-çam ormanı, 1500m MKU1435
<i>T. tenuis</i> Fisch.	C4:Karaman , Değirmenbaşı köyü etrafı, ardıç-çam ormanı, 1500m MKU1436
<i>T. cancellata</i> Desf.	A9:Ardahan , Posof, Doğrular-Demirdöven köyleri arası. 1850 m MKU1437
<i>T. astroites</i> Fisch.	C6: Gaziantep , Sülüklü köyü civarı MKU1438
<i>T. halophila</i> Boiss.*	C5:Mersin , Tarsus, Kulak köyü, eksibeler arası, kumluk alan MKU1439
<i>T. crassipes</i> Boiss.	C4:Mersin , Mut, Alahan kilisesi levhasını 1 km geçince, taşlı yol kenarı, 1100m MKU1440
<i>T. polycarpa</i> Boiss.*	C3:Antalya , Lara plajı MKU1441
<i>T. rigida</i> Boiss.*	C6: Kahramanmaraş Zeytin MKU1442
<i>T. pamphylica</i> Hub.-Mor.*	C3:Antalya , Akseki, Geyran yaylası, Aşağıalan mevki, 1250 m MKU1443
<i>T. carica</i> Hub.-Mor.*	C3:Antalya , Kalkan-Elmalı 5. km, 400m MKU1454
<i>T. arcuata</i> C.A.Meyer	B9:Van , Gürpınar, Zerneke barajının kıyısı, kumluk alan, 1750 m MKU1455
<i>T. monantha</i> subsp. <i>monantha</i> Sirj.	C6:Kahramanmaraş , Karabıyıklı köyü civarı MKU1456
<i>T. monantha</i> subsp. <i>noeana</i> (Boiss.) Hub.Mor	C7:Adıyaman , Gölbaşı MKU1748
<i>T. orthoceras</i> Kar.&Kir.	C4:Konya , Karapınar-Aksaray 2.km, yol kenarı, tuzlu, çorak topraklar, 1000m. MKU1749

*Endemik türler



Şekil 3.1. *T. aurantiaca* Boiss. genel ve tohum görünüşü



Şekil 3.2. *T. arenicola* Hub.-Mor. Genel (çiçekli), meyve ve tohum görünüşü



Şekil 3.3. *T. fischeriana* Ser.genel ve tohum görünüşü



Şekil 3.4. *T. tenuis* Fisch. genel ve tohum görünüşü



Şekil 3.5. *T. cancellata* Desf. genel ve tohum görünüşü



Şekil 3.6. *T. astroites* Fisch.& Mey.genel ve tohum görünüşü



Şekil 3.7. *T. halophila* Boiss. genel, çiçek ve tohum görüntüsü



Şekil 3.8. *T. crassipes* Boiss. genel ve tohum görünüşü



Şekil 3.9. *T. polycarpa* Boiss. genel ve tohum görünüşü



Şekil 3.10. *T. rigida* Boiss. genel ve tohum görünüşü



Şekil 3.11. *T. pamphylica* Hub.-Mor. genel ve tohum görünüşü



Şekil 3.12. *T. carica* Hub.-Mor. genel, çiçek ve tohum görünüşü



Şekil 3.13. *T. arcuata* C.A. Meyer genel ve tohum görünüşü



Şekil 3.14. *T. monantha subsp. monantha* C.A. Meyer genel ve tohum görünüşü



Şekil 3.15. *T. monantha* subsp. *noeana* C.A. Meyer genel ve tohum görünüşü



Şekil 3.16. *T. orthoceras* Kar.&Kir. genel ve tohum görünüşü

3.1.2 Kullanılan Kimyasallar

<u>Adı</u>	<u>Markası</u>	<u>Adı</u>	<u>Markası</u>
Alüminyum klorür	Fluka	Luteolin	Sigma
Amil alkol	Merck	Magnezyum tozu	Sigma
Amonyak	Merck	Metanol	Merck
Apigenin	Fluka	Mirsetin	Sigma
Asetik asit	Merck	Morin	Riedel-de Haen
Asetonitril	Merck	Naringenin	Sigma
BHA	Aldrich	n-Hekzan	Merck
Biokanin A	Sigma	Orientin	Sigma
Daidzein	Sigma	Petrol eteri	Merck
Demir III Klorür	Aklar kimya	Pikrik asit	Sigma
Diosgenin	Sigma	<i>p</i> -Kumarik asit	Merck
DMSO	Fluka	Potasyum hidroksit	Kimetsan
Elajik asit	Fluka	Protokateşik asit	Fluka
Etanol	Merck	Rutin	Fluka
Ferulik asit	Merck	Sodyum hidroksit	Aklar kimya
Folin Ciocalteu reaktifi	Merck	Sodyum hidrojen fosfat	Kimetsan
Formik asit	Merck	Sodyum Karbonat	Kimetsan
Formaldehit	Merck	Sodyum nitrit	Aklar kimya
Formononetin	Fluka	Susuz Sodyum Sülfat	Kimetsan
Gallik asit	Sigma	Sülfürik asit	Merck
Genistein	Sigma	Şiringik asit	Fluka
Glasiyal asetik asit	Merck	Toluen	Merck
HCl	Merck	Trans-sinamik asit	Sigma Aldrich
Hidroklorik asit	Merck	Trans-2-hidroksisinamik asit	Sigma Aldrich
Homorientin	Sigma	Trifloroasetik asit	Merck
İzopropanol	Merck	Vanilik asit	Fluka
İzorannetin	Fluka	Viteksin	Fluka
Kafeik asit	Fluka	α -naftol	Merck
Kemferol	Fluka	1,1 Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH')	Sigma
Kersetin	Fluka	3,4-Dihidroksi benzoik asit	Merck
Kloroform	Merck	2,6-Di-tert-bütül-4-metilfenol (BHT)	Merck
Klorojenik asit	Sigma	(-)-Epikateşin	Fluka
Kurşun asetat	Horasan kimya	(+)-Kateşin	Sigma
Kurşun sub asetat	Sigma		

3.1.3 Kullanılan Reaktifler

Baljet reaktifi

Dragendorf reaktifi

Fehling A reaktifi

Fehling B reaktifi

Mayer reaktifi

Seliwanoff reaktifi

3.1.4 Kullanılan Cihazlar

Rotary Evaporatör	Rotar TVP 200
Su banyosu	Elektro-mag
Ultrasonik Banyo	Bandelin Sonorex
Elektrikli Terazî	Denver Instrument
Kolon1	Water X MS RP C18 Terra (150mmX2.1 mm, I.D 5µm)
Kolon 2	Bondapak C18 (250 mmX4.6mm, I.D 5µm)
Kolon 3	Agilent Poroshell SB-C18 (3mmX100X2.7mikron)
Q-TOF LC-MS	Agilent 6540 model
YBSK	Agilent 1200 series
Öğütücüler	IKA 11 basic, Retsch SK 100
UV-VIS	Analytic Jena Specord 50
Etüv	Memmert RS 232
Ph Metre	Mettler Toledo
Çekerocak	Nurgaz
Spektrofotometre	Specord
Saf su cihazı	Millipore, milli-qa-10

3. 2. Yöntem

3.2.1 Fitokimyasal Çalışmalar

3.2.1.1 Ana Etken Madde Gruplarının Taranması

Bitkisel materyali oluşturan 16 *Trigonella* taksonunun, taşıdığı ana etken madde gruplarının taranması için toprak üstü ve tohumlardan ayrı ayrı ekstreler hazırlandı ve bu ekstrelerde alkaloit, kardiyoaktif heterozit, siyanogenetik heterozit, antrasenozit, flavonozit, kumarin, antosiyanidol, tanen, oz, nişasta, saponozit, sabit yağ ve uçucu yağ, terpenik bileşikler bulunup bulunmadığı saptandı.

3.2.1.1.1 Alkaloit Teşhisi

Bitkilerin toz edilmiş toprak üstü veya toprak altı kısımlarından 0.5 g alınarak %6 H₂SO₄ içeren %70'lik etanolün 10 ml'si ile 1 dakika kaynatıldı, soğutuldu ve çökmeye bırakıldı. Süzüldü ve süzüntü eşit miktarlarda 2 tüpe alındı. Mayer ve Dragendorf reaktifleri eklendi. Çökelek meydana gelip gelmediği kontrol edildi (Birinci aşama). Bu kontrolden sonra etanollü ekstre küçük bir ayırma hunisine alındı. Ardından %25'lik Na₂CO₃ çözeltisinden yeteri kadar ilave edilerek alkalilendirildi. 15 ml kloroformla çalkalandı. Tabakalar tamamen ayrıldıktan sonra kloroformlu faz bir ayırma hunisinde 15 ml %10'luk asetik asit çözeltisiyle tüketildi. Asetik asitli faz 3 ayrı tüpe ayrıldı. Bunlardan biri kontrol için saklanırken, ikincisine Mayer, üçüncüsüne ise Dragendorf reaktiflerinden birkaç damla eklenerek çökelek meydana gelip gelmediği gözlemlendi (İkinci aşama) (150).

3.2.1.1.2 Kardiyoaktif Heterozit Teşhisi

2 g toz materyal, 10 ml %70'lik etanolle su banyosunda 2 dakika kaynatılıp süzüldü. Süzüntü 2 misli suyla seyreltilip, 1 ml derişik kurşunsubasetat çözeltisi

eklendi ve süzöldü. Böylece klorofilden ve diğer pigmentlerden kurtarılmış oldu. Süzöntü 10 ml kloroformla ekstre edildi, kloroformlu faz 3 ayrı kapsöle alındı ve aşağıdaki reaksiyonlar uygulandı (150).

a. Keller Kiliani Reaksiyonu: Kapsödeki çözeltili kuruluğa kadar uçuruldu. Üzerine 3 ml %3.5'luk glasiyal asetik asitli FeCl₃ çözeltilisi ilave edilip 1 dakika bekletildi. Sonra deney tüpünde bulunan 2 ml kadar derişik sülfürik asit üzerine bir tabaka yapacak şekilde dikkatle aktarıldı, meydana gelen renk gözlendi. Bekledikçe tabakaların ayrılma yüzeyinde esmer bir tabaka ve asetik asitli üst tabakada soluk yeşil bir olup olmadığı kaydedildi.

b. Baljet Reaksiyonu: Kapsödeki çözeltili uçurulup atık 1 ml etanolde çözüldükten sonra üzerine Baljet reaktifi damlatıldı (Damlatıldığında turuncu kırmızı bir renk oluşur). Renklenmenin meydana gelip gelmediği gözlendi.

c. Lieberman- Buchard Reaktifi: Kapsödeki çözeltili uçurulup artık 1 ml glasiyal asetik asitte çözüldü. Tüpe alınan bu çözeltili 1-2 damla derişik sülfürik asit ile tabakalandırıldı, meydana gelen renk gözlendi. Kloroform ile asetik asit anhidritli ortamda sülfürik asitle önce menekşe, mavi, daha sonra yeşil renk verip vermediği gözlendi.

3.2.1.1.3 Saponozit Teşhisi

Bitkilerin toz edilmiş toprak üstü veya toprak altı kısımlarının 0.5 g'ı 10 ml sıcak su ile beraber bir deney tüpüne konup, soğuduktan sonra yaklaşık 10 saniye kadar kuvvetle çalkalandı. Saponozit varsa en az 10 dakika sabit kalan 1-10 cm yüksekliğinde ve üzerine 1-2 damla 2N HCl damlatıldığında kaybolmayan bir köpük tabakasının meydana gelip gelmediği kontrol edildi (151).

3.2.1.1.4 Flavonozit teşhisi

1. 0.2 g droğa 10 ml su ilavesiyle %2'lik dekoksasyon hazırlandı, süzöldü ve soğutularak bu çözeltili 3'e ayrıldı ve aşağıdaki reaksiyonlar yapıldı:

- Çözeltiliye birkaç damla % 10'luk amonyak çözeltilisi konuldu ve meydana gelen renk gözlemlendi.
- Çözeltiliye bazik kurşun asetat ilave edildi ve oluşan renk gözlemlendi.
- Çözeltiliye sulu FeCl₃ damla damla ilave edildi ve oluşan renk gözlemlendi.

2. Toz numune (0.1 g) 5 ml etanol ile iyice çalkalanarak ve hafifçe ısıtılarak ekstre edildi. Ekstre süzöldükten sonra süzöntü üzerine 0,5 ml derişik HCl ve spatül ucu Mg tozu ilave edildi. Hidrojen çıkışı ile köpükte oluşan renkler gözlemlendi (Siyanidin Reaksiyonu) (150).

3.2.1.1.5 Antosiyanozit Teşhisi

0.5 g drog % 50'lik 20 ml etanol ile hafif alevde ekstre edildi, süzöldü. Süzöntü 4'e ayrıldı. Aşağıdaki işlemler uygulandı.

- Dilüe H₂SO₄ ilave edildi. Pozitif sonuçta kırmızı renk oluşumu gözölür.
- Kurşun asetat çözeltilisi eklendi. Pozitif sonuçta yeşil çökelek oluşumu gözölür.
- Bir miktar amil alkol konularak çalkalandı. Antosiyanozit varlığında amil alkol tabakası renksiz, sulu etanollü tabaka pembe- violedir.
- Dilüe H₂SO₄ ile hafifçe ısıtıldı. Soğutulduktan sonra amil alkolle çalkalandı.

Antosiyanozit varlığında amil alkol tabakası açık pembe ve sulu etanollü tabaka pembe renk alır (150).

3.2.1.1.6 Siyanogenetik Heterozit Teşhisi

Bitkisel materyal (1 g) 100 ml'lik erlene kondu ve içerisine droğu ıslatacak kadar su ilave edildi. Pikrik asit emdirilmiş bir süzgeç kağıdı %1'lik sodyum karbonat çözeltisiyle ıslatıldı. Ve bir mantarla erlenin boynuna sıkıştırılarak ıslatılmış droğun yakınına kadar sarkıtıldı. Erlen hafif ısıtıldı. Süzgeç kağıdında meydana gelen renk gözlendi (150).

3.2.1.1.7 Tanen Teşhisi

Bitki örneklerinin toz edilmiş toprak üstü kısımları ve tohumlarından %5'lik infüzyon hazırlandı. Bu infüzyon üzerinde aşağıdaki incelemeler yapıldı:

- Bromlu su ilave edilerek oluşan çökelek gözlendi.
 - %5'lik $FeCl_3$ çözeltisi ile verdiği renk gözlendi.
 - %1'lik tuzlu jelatin çözeltisi ile verdiği çökelek gözlendi.
 - Stiasny reaktifi ile meydana gelen çökelek gözlendi
- (151).

3.2.1.1.8 Antrasen Türevi Heterozitlerin Teşhisi

Toz halindeki numuneden 0.1 g alınır, 5 ml %5'lik seyreltik sülfürik asitte iki dakika kaynatıldı. Böylece heterozit hidroliz olur ve aglikonlar serbest hale geçer. Aglikon sıcak suda erir, soğukta çöker. Hidroliz ürünü sıcak iken süzüldü. Süzüntü soğutuldu ve biraz kloroform ile ekstre edildi (5 ml kloroform ile ekstre edildi). Kuvvetle çalkalanmamalıdır. Kloroform tabakası alındı ve %10'luk 10 ml amonyak çözeltisi ile çalkalandı. Alttaki amonyak tabakasının rengi gözlendi (150).

3.2.1.1.9 Kumarin Teşhisi

Toz edilmiş bitki örneğinden 1 g alındı, bunun üzerine 10 ml etanol ilave edildi. Su banyosunda 10 dakika kaynatıldı ve sıcakken süzüldü. Kapsüle alındı, süzüntü kuruluğa kadar uçuruldu. 1 N NaOH damla damla ilave edildi. Çözelti 5 dakika bekletildikten sonra UV₃₆₅ nm’de mavi-yeşil floresans verip vermediği kontrol edildi (152).

3.2.1.1.10 Sabit yağ Teşhisi

Toz edilmiş yaprak ve dala ait 1 gr materyal 10 ml toluen ile sık sık çalkalayarak ekstre edildi, süzüldü. Süzüntüden 5 ml alındı. Su banyosunda 1-2 damla kalıncaya kadar yoğunlaştırıldı. Yoğun ekstreler süzgeç kağıtlarına küçük lekeler halinde tatbik edildi. Süzgeç kağıdı 100°C’lik etüvde 10-15 dk tutuldu. Kağıtlarda yağsı bir iz olup olmadığı kontrol edildi (152).

3.2.1.1.11 Oz Tanıma Reaksiyonları

Toz edilmiş numune (5 g) bir beherde, kalın bir baget yardımıyla 10 ml su ile iyice ezilir, sulu kısım süzülerek alındı. Bakiye 2 defa 10 ml su ile aynı şekilde ezildi ve ekstreler süzülerek alındı ve birleştirildi. Bu süzüntü bek üzerinde yaklaşık 10 ml kalıncaya kadar yoğunlaştırıldı. Yoğun ekstre üzerine kurşun asetatın sudaki %10’luk çözeltisinden 5 ml ilave edildi. Çökelti süzülerek atıldı, süzüntüye Na₂HPO₄’ün doymuş çözeltisinden damla damla ilave edildi ve kurşunun fazlası çöktürüldü, süzüldü, süzüntü balon jodede 25 ml’ye tamamlandı. Bu test çözeltisi ile aşağıdaki deneyler yapıldı.

a)Fehling reaksiyonu

Test çözeltisinden 1 ml deney tüpüne alındı, üzerine 2 ml Fehling A ve Fehling B çözeltileri ilave edildi. Bek üzerinde dikkatli olarak ısıtıldı, kırmızı renkli Cu_2O çökeliş çökemediği kaydedildi.

b)Molish reaksiyonu

1 ml test çözeltisine α -naftolün alkoldeki %15'lik çözeltisinden 1-2 damla ilave edildi, bu karışımın üstüne 1 ml kadar derişik H_2SO_4 tabaka teşkil edecek şekilde dikkatlice ilave edildi. İki tabaka arasında mor halka meydana gelip gelmediği kontrol edildi.

c)Seliwanoff reaksiyonu

1) 1 ml test çözeltisi, 1 ml seliwanoff reaktifi ile karıştırıldı, karışım bek üzerinde dikkatlice kaynatıldı, gözlenen renk kaydedildi.

2) 1 ml test çözeltisi, birkaç ml dilüe H_2SO_4 ile kaynatıldıktan sonra Seliwanoff reaktifi ilave edildiğinde oluşan renk kaydedildi (150, 152).

3.2.1.1.12 Nişasta Aranması

Taksonların tohum ve toprak üstü kısımlarından 0.5 gr tartıldı, 5 mL su ile ısıtıldı. 45 mL sıcak su ilave edildi ve iyot çözeltisinden 1-2 damla ilave edildiğinde oluşan renk gözlemlendi (150).

3.2.1.2 Ekstraksiyon İşlemleri

3.2.1.2.1 Total Fenol, Total Flavonoit ve DPPH Çalışmaları İçin Ekstrelerin Hazırlanması

Kurutulmuş ve toz edilmiş bitkisel materyallerin tohum ve toprak üstü kısımları ayrı ayrı 1 g tartılarak 30 ml %70'lik etanol ile 3 kez ekstre edildi. Her ekstraksiyon basamağı oda sıcaklığında 3 saat beklenerek yapıldı. Formik asit ile pH 2.0'ye ayarlandı. Elde edilen ekstre 3 kez 30 ml petrol eteri ile ekstraksiyona tabi tutularak,

petrol eterli fazlar ayrılarak numunelerin yağı uzaklaştırıldı. Kuruluğa kadar tamamen uçurulup balon jode son hacmi 50 ml'ye tamamlandı (14, 153).

3.2.1.2.2 Fenolik Bileşiklerin YBSK Analizleri İçin Ekstrelerin Hazırlanması

1 gr toz edilmiş bitkisel materyal 40 ml %70'lik metanol ile 1 saat ultrasonik banyoda oda ısısında bekletildi. Süre sonunda üzerine 10 ml hidroklorik asit ve 10 ml %70'lik metanol eklenip 90 C°'de 2 saat geri çeviren soğutucu altında ekstrelerin hidroliz olması sağlandı. Daha sonra süzülen ekstreler %70'lik metanol ile 100ml'ye tamamlandı. 800µl ekstre ile 800µl %1 trifloroasetik asit içeren su:metanol (90:10) bir vialde karıştırıldı. Hazırlanan numuneler 0,45 µm'lik filtrelerden geçirilerek YBSK'ye enjekte edildi (154).

3.2.1.2.3 YBSK ile Diosgenin Analizi İçin Ekstrelerin Hazırlanması

Tez konusunu oluşturan *Trigonella* taksonlarının tohum ve toprak üstü kısımlarında steroidal bir sapogenin olan diosgeninin kalitatif ve kantitatif analizi için ekstreler aşağıda belirtildiği şekilde hazırlandı.

Kurutulmuş, toz edilmiş 1 g numune petrol eteri ile soxhelet cihazında 6 saat yağından uzaklaştırıldı. Numunenin kurutulduktan sonra tamamı 100 ml %80 etanol ile 80°C'de 3 saat geriçeviren soğutucu ile ısıtılarak ekstre edildi. Süzüldü, çözücü uçuruldu. Kalan ekstrakt 40 ml %70 izopropanolle hazırlanmış 1M H₂SO₄ ile 2 saat 100°C'de hidroliz edildi. Çözücü uçuruldu. Ekstre 30 ml hekzanda çözüldü. Ekstre 3 kez 10 ml 4N NaOH ile ve sonrasında yine 3 kez 10 ml su ile yıkandı. Hekzan uçuruldu. Ekstre 2 ml metanolde çözüldü, filtre edilip YBSK'ye enjekte edildi (85, 155).

3.2.1.3 Total Fenol Miktar Tayini

Yukarda anlatıldığı şekilde hazırlanmış olan bitki ekstralarının her biri için 1 ml ekstre alındı ve üzerine 9 ml deiyonize distile su ilave edildi. Daha sonra üzerine 1 ml Folin-Ciocalteu's fenol reaktifi eklendi. Ardından 5dk sonra %7'lik Na_2CO_3 çözeltisinden 10 ml eklendi, karıştırıldı ve 25 ml'ye balon jode deiyonize distile su ile tamamlandı. 23°C 'de 90 dk beklendikten sonra 750 nm'de köre karşı absorbansları ölçüldü. Kör olarak distile su kullanıldı. Standart eğri, gallik asitin farklı konsantrasyonları (25, 50, 100, 200, 300, 400 mg/L) kullanılarak hazırlandı ve mg/g gallik asit ekivalanı (GAE) olarak total fenol miktarına geçildi (78, 156, 157).

3.2.1.4 Total Flavonoit Miktar Tayini

Ekstrelerin hazırlanışı kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanan ya da standart olarak kullanılan rutin farklı konsantrasyon çözeltilerinden (25, 50, 100, 150, 200, 250 mg/L) 0.5 ml'si 3 ml distile su içeren 10 ml'lik balon jodeye eklendi ve hemen balona 0.3 ml %5'lik NaNO_2 ilave edildi. 5 dk sonra 0.3 ml %10'luk AlCl_3 ilave edilerek, 6 dk sonra ise 2 ml 1M NaOH karışıma eklendi ve daha sonra hemen 10 ml'ye distile su ile tamamlandı. Pembe renkteki karışımın, kör olarak %70'lik etanol kullanılarak 510 nm'deki absorbansı ölçüldü. Ekstrenin total flavonoit miktarı mg/g kuru bitki cinsinden hesaplandı (156, 56).

3.2.1.5 Fenolik Bileşiklerin YBSK Analizleri

Bitkisel materyalin tohum ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin flavonoit ve fenolik asitleri YBSK ile TFA (trifloroasetikasit) yöntemi kullanılarak tesbit edildi. Buna göre analiz şartları aşağıdaki gibidir; (158).

Kolon: C18 Symmetry kolon,(15cmx3.9mm, I.D 5µm)

Mobil faz A: %15 Asetonitril %85 Su (Ph:2.5 TFA ile)

Mobil faz B: %35 Asetonitril %65 Su (Ph:2.5 TFA ile)

Mobil faz değişimi: 0.dk A→B (100→0), 20.dk A→B (0→100), 30.dk A→B (0→100)

Mobil faz akış hızı: 1ml/dk

Enjeksiyon hacmi: 20µl

Dedektör: DAD (370, 349, 325, 250, 290, 280, 310, 270nm)

Fenolik bileşiklerin analizi Çizelge 3.2.'de görüldüğü gibi gradient mobil faz değişimine göre yapıldı.

Çizelge 3.2. Analizlerde standart olarak kullanılan fenolik asit ve flavonoitler (Elüsyon sırasına göre)

Fenolik asitler		Flavonoitler	
Klorojenik asit	p-kumarik asit	Homoorientin	Kersetin
Gallik asit	Elajik asit	Orientin	Genistein
Benzoik asit	Ferulik asit	Rutin	Biokanin A
Şiringik asit	2-hidroksisinnamik asit	Viteksin	Apigenin
Kateşin	Protokateşik asit	Mirsetin	Naringenin
Kafeik asit	Sinnamik asit	Morin	Kemferol
Vanilik asit		Daidzein	İzoramnetin
Trans-sinnamik asit		Luteolin	Formononetin

Daidzein, genistein, biokanin A izoflavonoit standartları metanolle hazırlanmış %5'lik DMSO, apigenin DMSO, diğer bütün standartlar ise metanolde 5mg/100ml ana stok konsantrasyonu olmak üzere hazırlandı. Standart çözeltiler aynı koşullarda YBSK'ye enjekte edildi ve kalibrasyon eğrileri hazırlandı. Bu eğriler yardımı ile ekstrelerdeki miktarları hesaplandı.

3.2.1.6 Ekstrelerin YBSK ile Diosgenin Açısından Analizi

Çalışma sırasında kullanılan YBSK koşulları; (82, 88, 83).

Kolon: μ Bondapak C 18 kolon, (250mmX 4,6 mm, I.D 5 μ m)

Mobil faz: Asetonitril/Su (95:5 h/h), izokratik

Mobil faz akış hızı: 1 ml/dk- tohum ekstreleri için

: 0.6 ml/dk-topraküstü ekstreleri için

Detektör: DAD-200 nm

Enjeksiyon hacmi: 10 μ l

Eksternal standart olarak diosgenin kullanıldı ve farklı konsantrasyonlarda diosgenin ile kalibrasyon eğrisi oluşturularak bu eğri yardımı ile ekstrelerdeki diosgenin miktarı saptandı.

Ayrıca bulgular kısmında daha detaylı belirtilmiş olan YBSK analizinde tesbit ettiğimiz ve diosgenin izomeri olduğunu tahmin ettiğimiz bileşiğin saptanabilmesi için LC-MS analizlerinde aşağıda belirtilen analiz koşulları kullanılmıştır; (159).

Cihaz: Agilent 6540 model Q-TOF LC-MS Dual ESI iyon kaynağı (pozitif iyonlaşma)

Kolon: Agilent Poroshell SB-C18 (3mmX100X2.7 mikron)

Mobil faz A: 10mM Amonyum Asetat (Su)

Mobil faz B: Metanol

Mobil faz akış hızı: 0.5mL/dk

Mobil faz değişimi:0→20.dk % 10 B→% 100 B

3.2.2 Biyoaktivite Çalışmaları

3.2.2.1 DPPH' (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) Testi ile Antioksidan Aktivite Tayini

Yukarda anlatıldığı şekilde hazırlanan ekstrelerin ve standart çözeltilerinin 0.1 ml'si taze hazırlanmış 2.9 ml DPPH çözeltisi ile karıştırıldı. 45 dk karanlıkta bekletildi. İnkübasyon sonucunda 517 nm dalga boyunda ekstrelerin absorbansı ölçüldü. Standart olarak 0.5 g bütillenmiş hidroksianizol (BHA) 1 lt metanolde çözüldü, bu çözeltilerden

0.5ml, 1ml, 2ml, 3ml, 4 ml ve 5 ml'si ayrı ayrı 10ml'lik balon jodelere alındı hacim metanol ile tamamlanarak standart çözeltileri hazırlandı (160, 161).

4. BULGULAR

4.1 Ana Etken Madde Gruplarının Tarama Sonuçları

Bitkilerin tohum ve toprak üstü kısımlarında bulunan ana etken maddeler Çizelge 3.3. ve Çizelge 3.4.'te belirtilmiştir.

Çizelgeler incelendiğinde tüm ekstrelerde kumarin, saponin ve flavonoit gözlenmiştir. Saponin için yapılan köpürme tayininde bazı ekstreler daha fazla köpük oluşturduğu için ++ olarak gösterilmiştir ve bu sonuçlar YBSK ile elde ettiğimiz diosgenin sonuçlarıyla genel anlamda uyumlu çıkmıştır. Flavonoit teşhisi için yapılan deneyde ekstrelerde hangi flavonoit türü olduğunu tesbit etmek için siyanidin reaksiyonları da yapılmıştır. Bu reaksiyonlara göre ekstre flavon içeriyor ise turuncu, flavonol içeriyor ise kırmızı renk gözlenmiştir. Ekstreler flavonon içerse idi pembe-mor renk gözlenecekti ancak hiçbir ekstrede bu renk gözlenmedi. Bazı ekstreler turuncu-kırmızı arasında bir renk verdi. Bu da bu ekstrelerde hem flavon hem de flavonol içerdiğini göstermektedir. YBSK analizi ile fenolik bileşiklerin tesbiti sonucunda da bu sonuç doğrulanmaktadır.

Ekstrelerden bazılarında antosiyan ve oz tesbit edilmiştir. Tohum ekstrelerinin hepsinde sabit yağ gözlenmişken, topraküstü ekstrelerinin hiç birinde gözlenmemiştir.

Ayrıca araştırılan ana etken bileşiklerinden siyanogenetik heterozit, kardiyoaktif heterozit, antrasenozit, tanen, nişasta ve alkaloit hiçbir ekstrede tesbit edilmemiştir. Alkaloit deney yönteminde de anlatıldığı gibi deneyin birinci aşamasında oluşan çökelti ekstrelerde protein varlığını gösterirken ikinci aşaması alkaloitin varlığını gösterir. Ancak ekstrelerin hepsinde de deneyin birinci aşamasında çökeltme gözlenirken hiçbirinde ikinci aşamada çökeltme gözlenmemiştir.

Çizelge 4.1. *Trigonella* L. Bucerates seksiyonuna ait taksonların taşıdığı etken maddeler

Taksonlar	Kullanılan Kısım	Flavonoit				Antosiyanozit	Siyanogenetik	Antrasenozit	Kardiyoaktif	Kumarin	Saponin
		Flavonol	Flavonol-Flavon	Flavon	Pembe-Mor (Flavanon)						
<i>T. aurantiaca</i>	Tohum	-	-	+	-	+	-	-	-	+	++
	Topraküstü	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>T. arenicola</i>	Tohum	+	-	-	-	+	-	-	-	+	++
	Topraküstü	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+
<i>T. fischeriana</i>	Tohum	-	+	-	-	+	-	-	-	+	++
	Topraküstü	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>T. tenuis</i>	Tohum	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	+	++
<i>T. cancellata</i>	Tohum	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+
	Topraküstü	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+
<i>T. astroites</i>	Tohum	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	Topraküstü	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
<i>T. halophila</i>	Tohum	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
	Topraküstü	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
<i>T. crassipes</i>	Tohum	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
	Topraküstü	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>T. polycarpa</i>	Tohum	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
	Topraküstü	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
<i>T. rigida</i>	Tohum	-	-	+	-	-	-	-	-	+	++
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+
<i>T. pamphylica</i>	Tohum	-	+	-	-	+	-	-	-	+	++
	Topraküstü	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
<i>T. carica</i>	Tohum	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+
<i>T. arcuata</i>	Tohum	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
	Topraküstü	-	-	+	-	-	-	-	-	+	++
<i>T. monantha</i>	Tohum	-	+	-	-	-	-	-	-	+	++
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+
<i>T. noeana</i>	Tohum	-	+	-	-	-	-	-	-	+	++
	Topraküstü	-	+	-	-	+	-	-	-	+	++
<i>T. orthoceras</i>	Tohum	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
	Topraküstü	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+

Çizelge 4.2. *Trigonella* L. Bucerates seksiyonuna ait taksonların taşıdığı etken maddeler (devamı)

Taksonlar	Kullanılan Kısım	Sabit yağ	Tanen	Alkaloit				Nişasta	Oz tanıma		
				Mayer reaktifi		Dragendorf reaktifi			Fehling reaksiyonu	Molish reaksiyonu	Seliwanoff reaksiyonu
				Birinci aşama	İkinci aşama	Birinci aşama	İkinci aşama				
<i>T. aurantiaca</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
<i>T. arenicola</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	+	+	-	
<i>T. fischeriana</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
<i>T. tenuis</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	+	+	-	
<i>T. cancellata</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
<i>T. astroites</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
<i>T. halophila</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	+	+	-	
<i>T. crassipes</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	+	+	-	
<i>T. polycarpa</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
<i>T. rigida</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
<i>T. pamphylica</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
<i>T. carica</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
<i>T. arcuata</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	+	+	-	
<i>T. monantha</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
<i>T. noeana</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
<i>T. orthoceras</i>	Tohum	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
	Topraküstü	-	-	+	-	+	-	+	+	-	

4.2 Ekstrelerin Verim Sonuçları

4.2.1 Total Fenol, Total Flavonoit ve DPPH Deneilerine Ait Bulgular

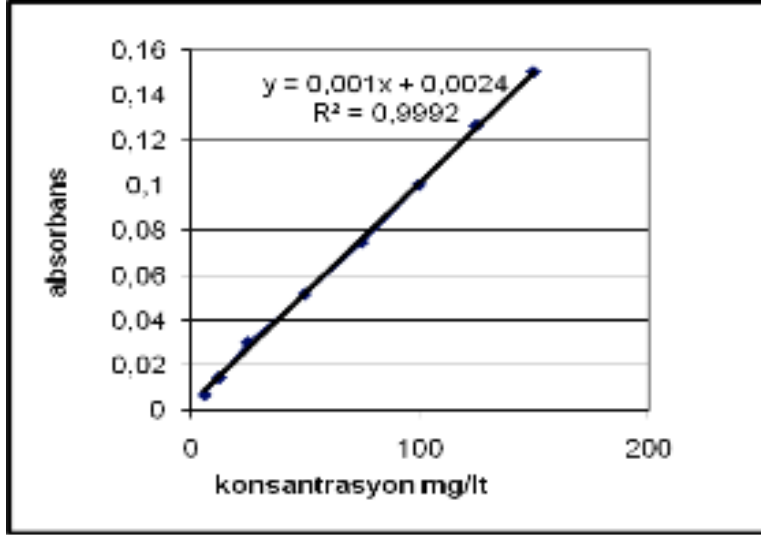
3.2.1.2.1 bölümünde belirtildiği gibi hazırlanan ekstrelerin verimleri Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. *Trigonella* L. Seksiyon Bucerates taksonlarının ekstre verimleri

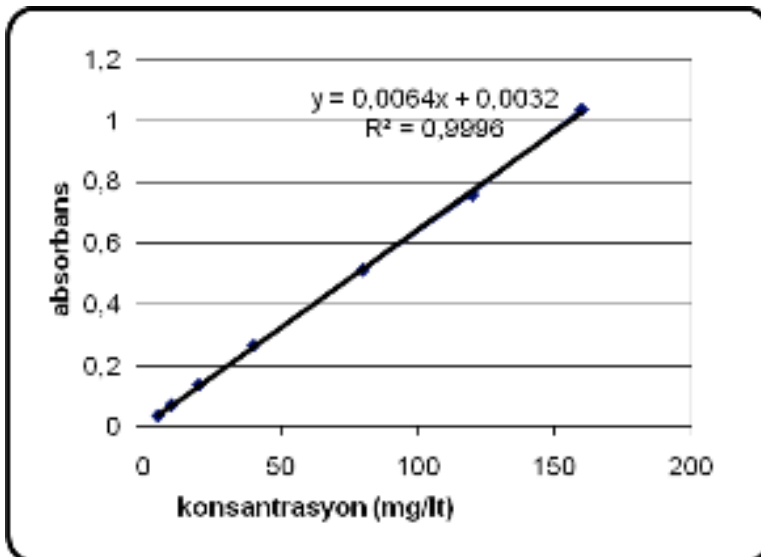
Taksonlar	Tohum (%)	Topraküstü (%)
<i>T. aurantiaca</i>	15.8±2.98	11.6±4.13
<i>T. arenicola</i>	12.16±3.78	16.5±2.56
<i>T. fischeriana</i>	19.76±0.8	9.3±3.9
<i>T. tenuis</i>	21.43±2.48	9±2.83
<i>T. cancellata</i>	19.6±2.82	14.86±2.45
<i>T. astroites</i>	18.23±2.73	20.6±0.28
<i>T. halophila</i>	23.33±2.43	22.3±3.26
<i>T. crassipes</i>	18.83±2.66	7.93±1.3
<i>T. polycarpa</i>	24.76±1.56	25.56±1.15
<i>T. rigida</i>	22.16±2.02	13.36±4.33
<i>T. pamphylica</i>	23.06±3.19	16.1±2.45
<i>T. carica</i>	18.8±1.21	19.93±4.3
<i>T. arcuata</i>	18.93±2.65	7.7±2.78
<i>T. monantha</i> subsp. <i>monantha</i>	18.63±1.17	12.63±1.16
<i>T. monantha</i> subsp. <i>noeana</i>	17.8±0.91	14.43±0.75
<i>T. orthoceras</i>	21.3±3.86	4.63±1.02

Çizelge incelendiğinde en yüksek ekstre veriminin *T. polycarpa* taksonunun tohum ve topraküstü kısmında (sırasıyla %24.76 ve %25.56) en düşük ekstre veriminin ise tohumda *T. arenicola*, topraküstü kısımlarında ise *T. orthoceras*'da olduğu görülmüştür.

Ekstrelerin total flavonoit ve total fenol miktarlarının hesaplanabilmesi için rutin ve gallik asit standartlarının kalibrasyon eğrileri hazırlanmış ve Kalibrasyon eğrisi 1 ve 2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Rutin standartının kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi (Total flavonoit)



Şekil 4.2. Gallik asit standartının kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi (Total fenol)

Buna göre ekstrelerde hesaplanan total fenol ve total flavonoit miktarları Çizelge 4.4'de görülmektedir.

Çizelge 4.4. *Trigonella* L. Seksiyon Bucerates taksonlarında tesbit edilen total fenol ve total flavonoit miktarları

Takson	Total fenol (mg/g)		Total flavonoit (mg/g)	
	Tohum	Topraküstü	Tohum	Topraküstü
<i>T. aurantiaca</i>	140.05±4.92	94.93±2.32	74.90±6.40	58.37±4.89
<i>T. arenicola</i> *	118.17±5.07	129.73±4.41	71.67±2.56	107.80±2.59
<i>T. fischeriana</i>	150.40±7.31	76.70±0.36	90.29±7.62	47.62±2.10
<i>T. tenuis</i>	134.12±4.91	93.80±0.82	90.11±3.66	75.74±1.88
<i>T. cancellata</i>	118.71±7.75	95.35±4.51	84.24±8.03	71.71±2.64
<i>T. astroites</i>	152.86±0.84	138.96±3.75	93.16±10.34	91.83±1.92
<i>T. halophila</i> *	177.00±3.36	168.75±1.90	122.14±5.67	117.78±4.10
<i>T. crassipes</i>	116.66±6.15	88.88±2.44	87.38±4.38	62.05±3.28
<i>T. polycarpa</i> *	115.46±4.53	152.8±3.86	71.76±8.48	104.53±7.88
<i>T. rigida</i> *	119.26±3.21	74.32±3.93	57.18±6.84	44.45±4.50
<i>T. pamphylica</i> *	156.93±4.22	108.58±6.35	118.92±6.75	65.72±3.27
<i>T. carica</i> *	131.77±4.55	113.93±4.17	43.55±3.71	94.90±1.88
<i>T. arcuata</i>	110.53±4.47	66.82±4.84	71.25±9.52	41.05±1.38
<i>T. monantha</i>	114.65±3.71	82.47±4.77	68.16±5.03	48.78±1.45
<i>T. noeana</i>	120.55±7.64	96.08±7.17	59.73±5.23	48.42±2.91
<i>T. orthoceras</i>	119.04±7.83	59.74±2.04	72.05±1.29	46.66±2.56

(Ortalama±Standart sapma)

* Endemik türler

Ekstrelerdeki total fenol miktarlarının 59-177 mg/g arasında, total flavonoit miktarlarının ise 41-122 mg/g arasında değiştiği görülmektedir (Çizelge 4.4.). En yüksek total fenol ve total flavonoit değerine *T. halophila* tohum ve topraküstü ekstresinin sahip olduğu belirlenmiştir.

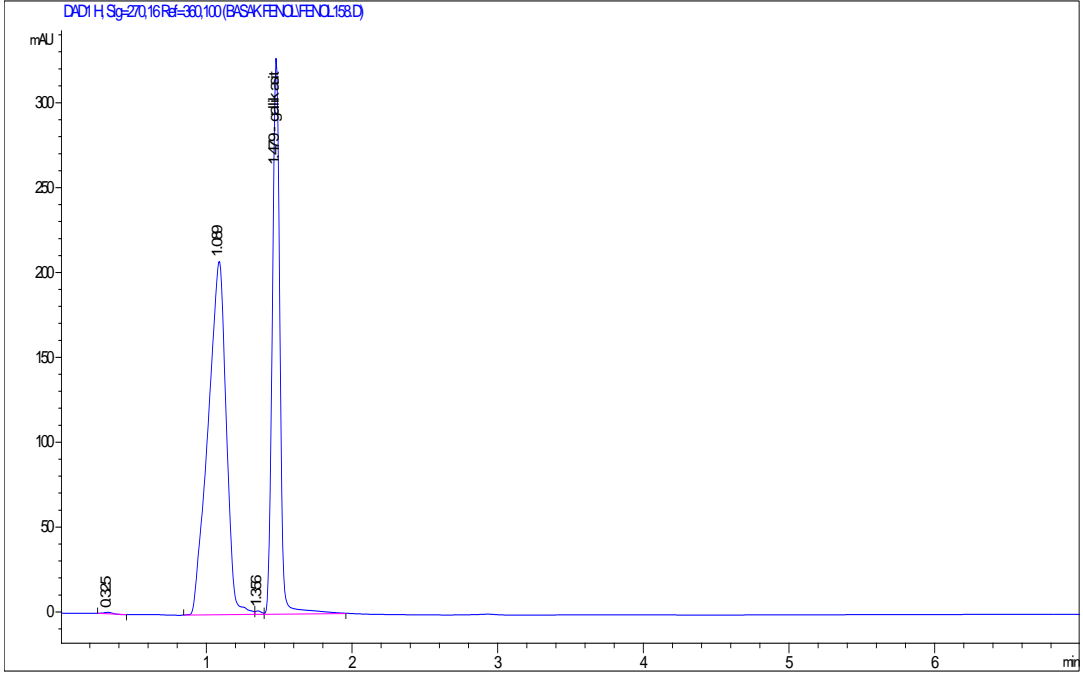
4.3 Fenolik Bileşiklerin YBSK Analiz Sonuçları

Yapılan YBSK analizlerine göre kullanılan fenolik asit ve flavonoit standartlarının maximum dalga boyları ve retansiyon zamanları Çizelge 4.5.'de gösterilmiştir.

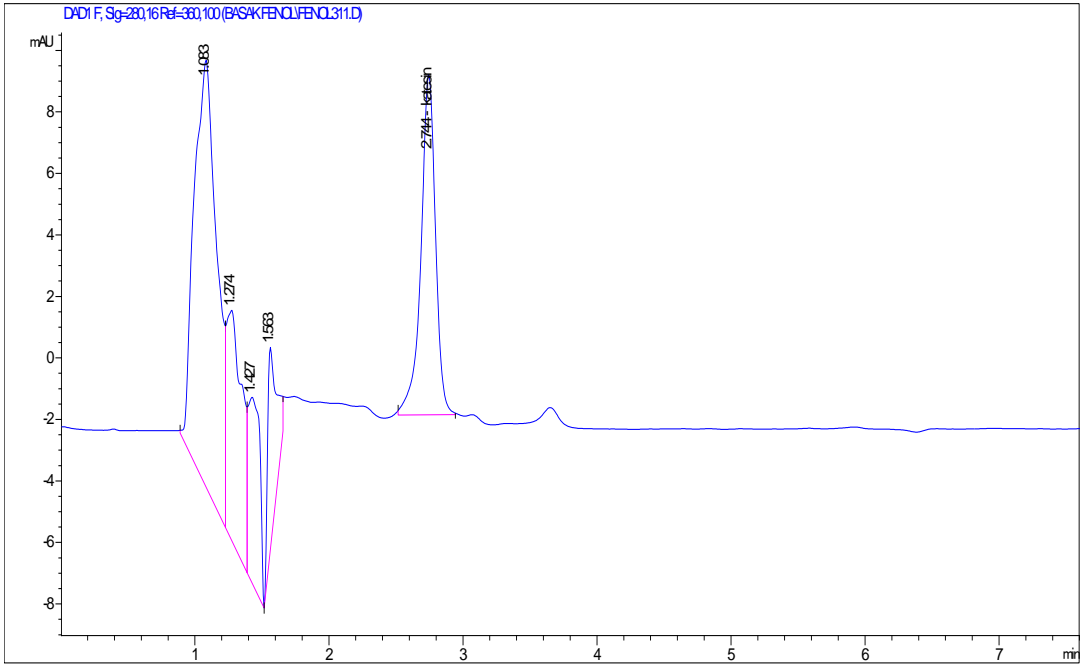
Çizelge 4.5. Standartların maximum dalga boyları ve retansiyon zamanları

Fenolik Asitler			Flavonoitler		
Standart	λ_{Max} (nm)	Rt	Standart	λ_{Max} (nm)	Rt
Klorojenik asit	325	1.422	Homoorientin	349	4.303
Gallik asit	270	1.479	Orientin	349	4.686
Benzoik asit	250	1.896	Rutin	250	5.840
Kateşin	280	2.744	Viteksin	325	6.167
Kafeik asit	325	3.421	Mirsetin	370	9.608
Vanilik asit	270	3.508	Morin	250	12.280
Şiringik asit	280	3.934	Daidzein	250	12.370
P-kumarik asit	310	5.611	Luteolin	349	14.543
Elajik asit	250	5.959	Kersetin	370	14.673
Ferulik asit	325	6.525	Genistein	250	17.956
2-hidroksisinnamik asit	280	8.974	Biokanin A	250	18.244
Protokateşik asit	250	10.647	Apigenin	325	18.350
Sinnamik asit	280	15.368	Naringenin	290	18.462
Trans-sinnamik asit	280	15.379	Kemferol	370	19.202
			İzoramnetin	370	19.915
			Formononetin	250	23.010

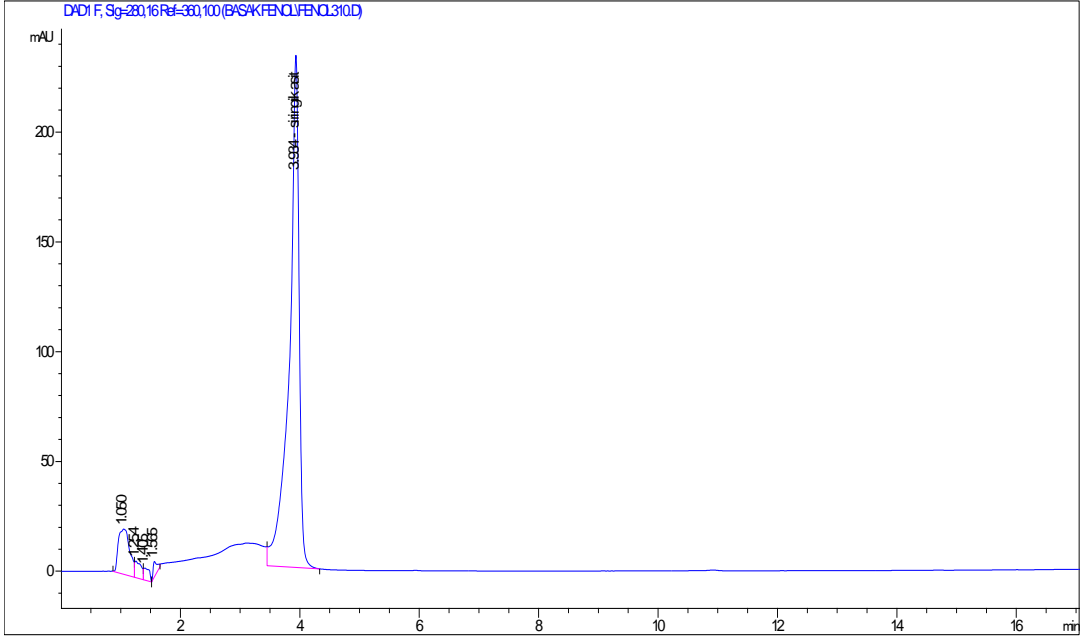
Standartların retansiyon zamanları belirlendikten sonra ekstrelerde bulunduğunu tesbit ettiğimiz standart maddelerin kromatogramları verilmiştir (Krom.1-11).



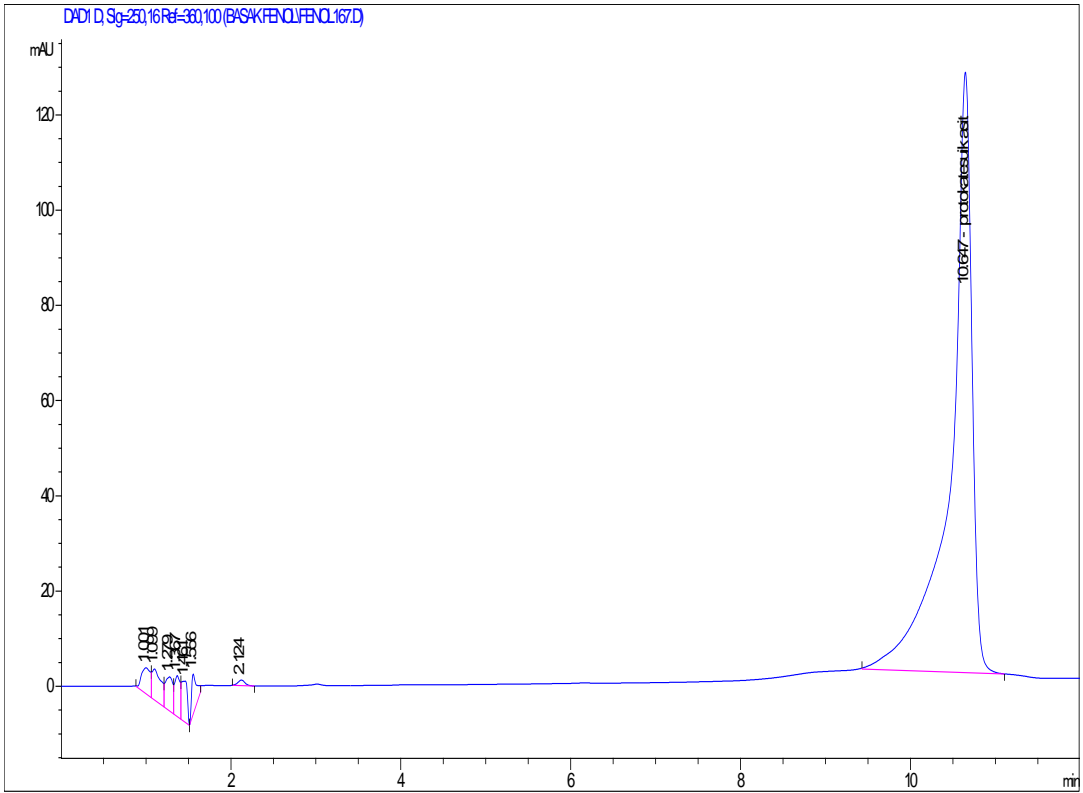
Şekil 4.3. Gallik asit standartına ait kromatogram



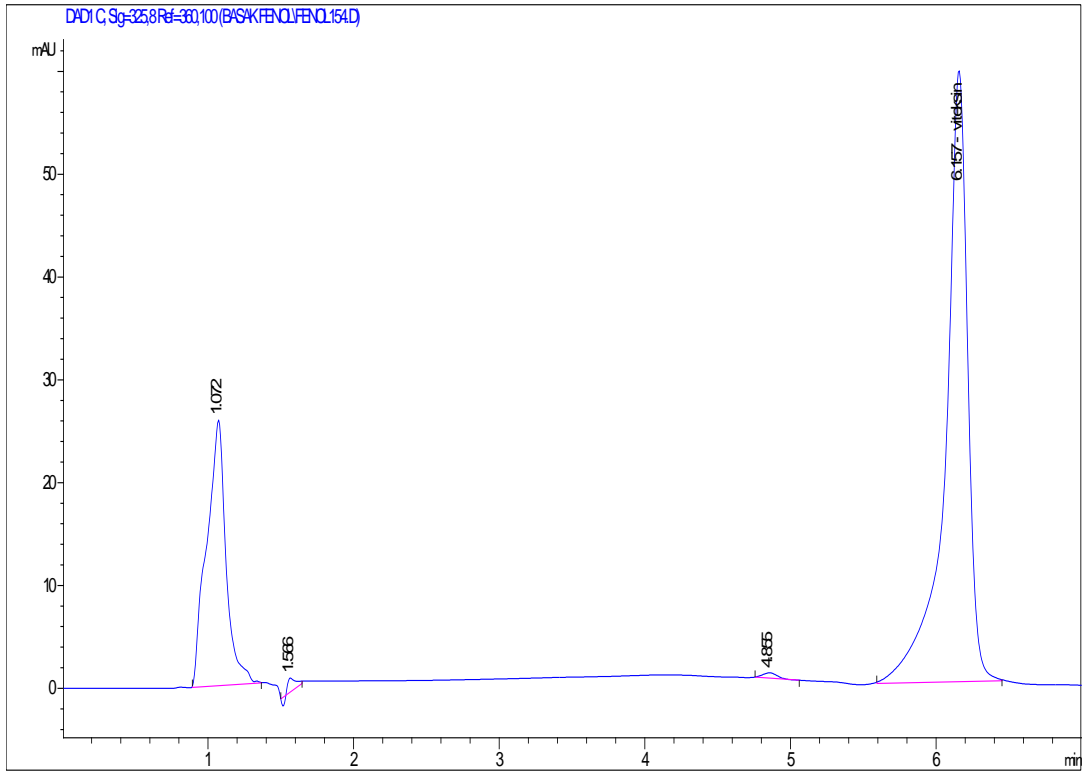
Şekil 4.4. Kateşin standartına ait kromatogram



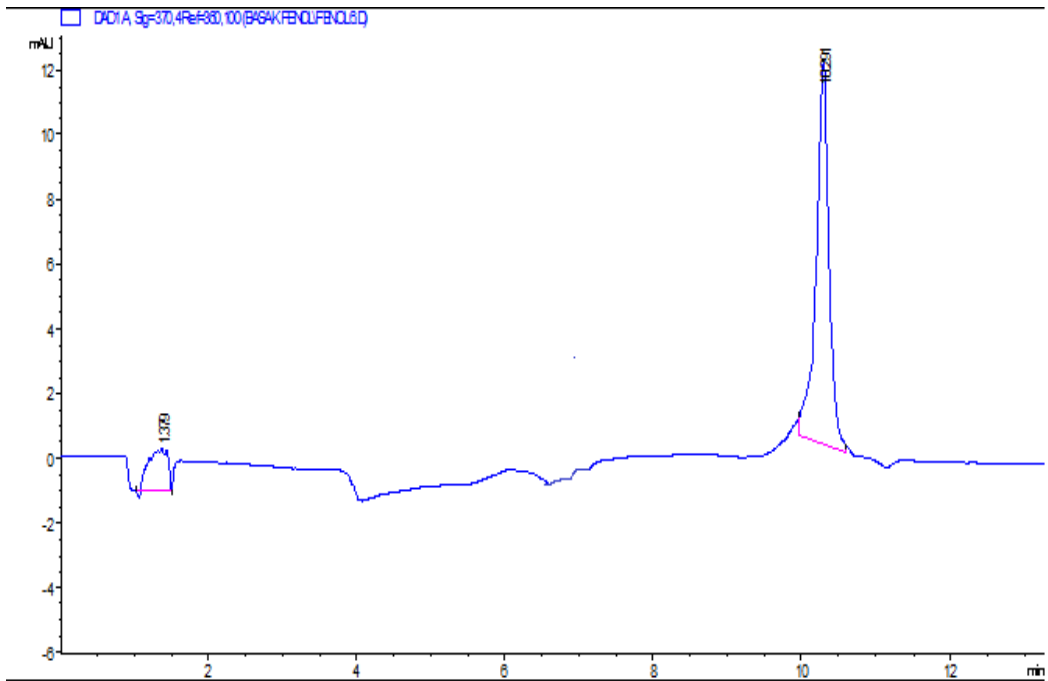
Şekil 4.5. Şingik asit standartına ait kromatogram



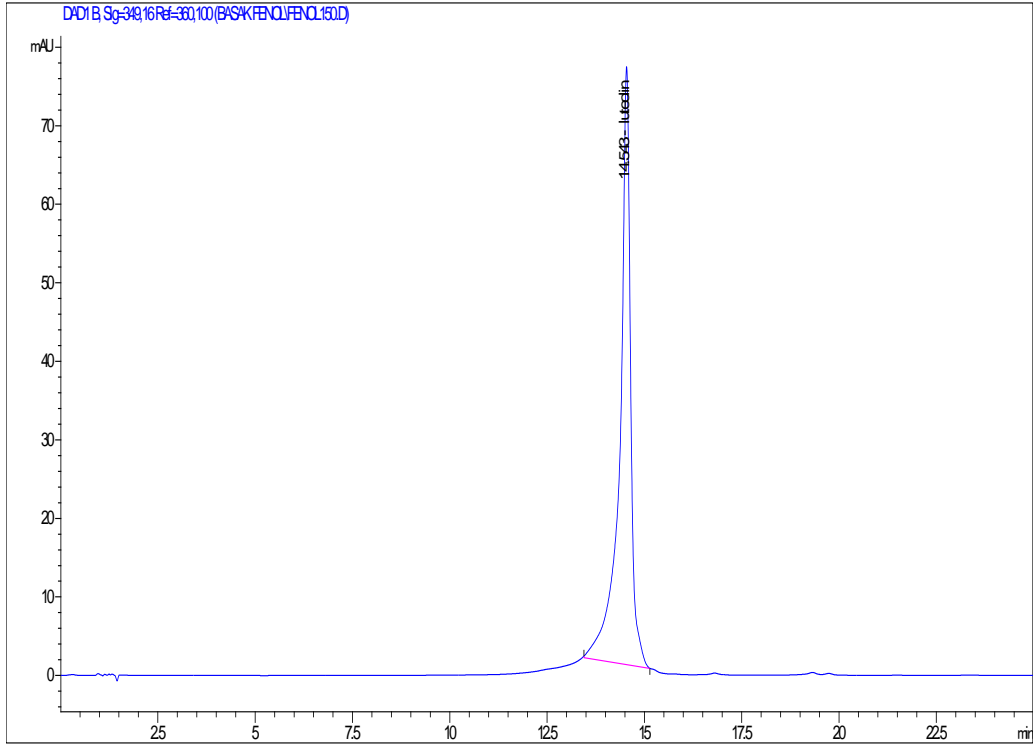
Şekil 4.6. Protokatesik asit standartına ait kromatogram



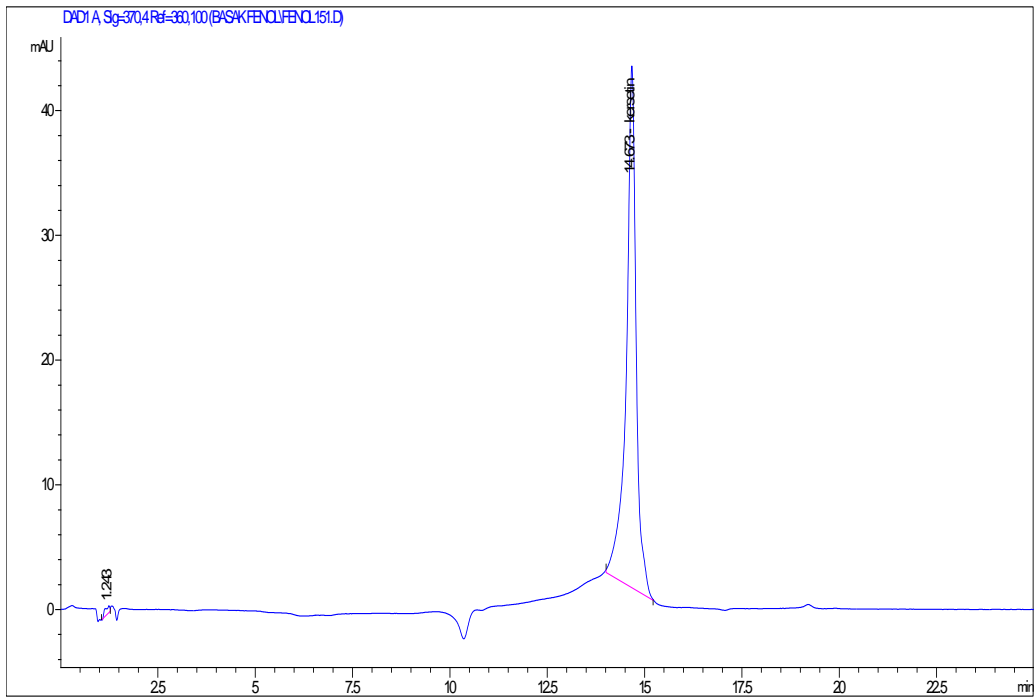
Şekil 4.7. Viteksin standartına ait kromatogram



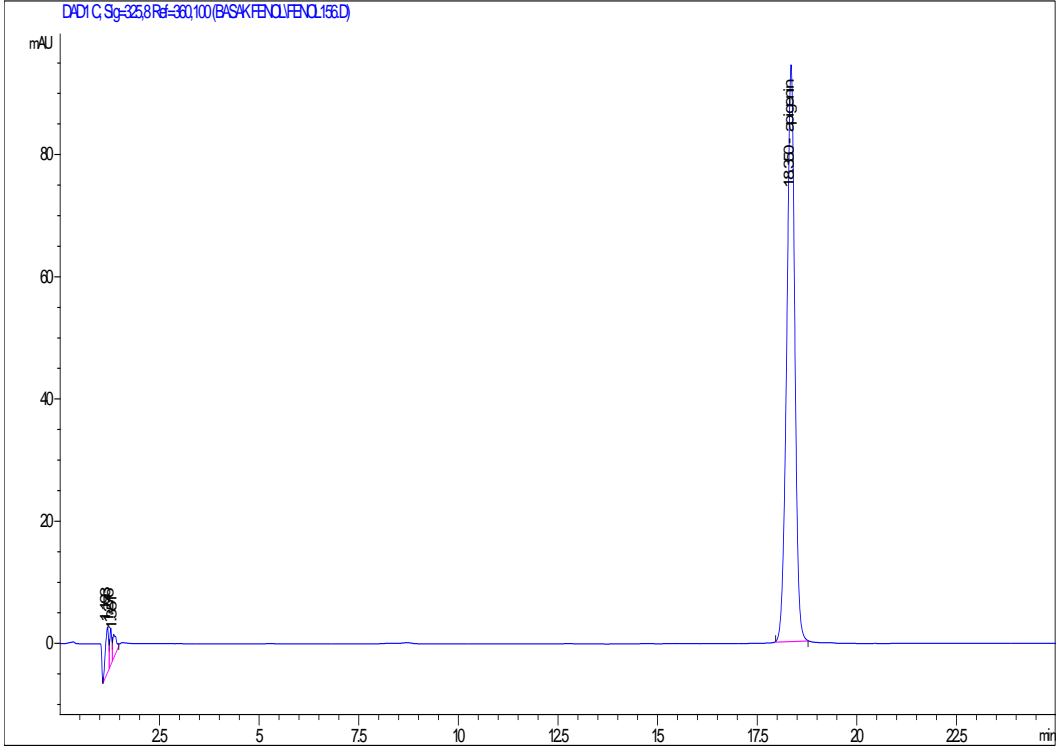
Şekil 4.8. Mirsetin standartına ait kromatogram



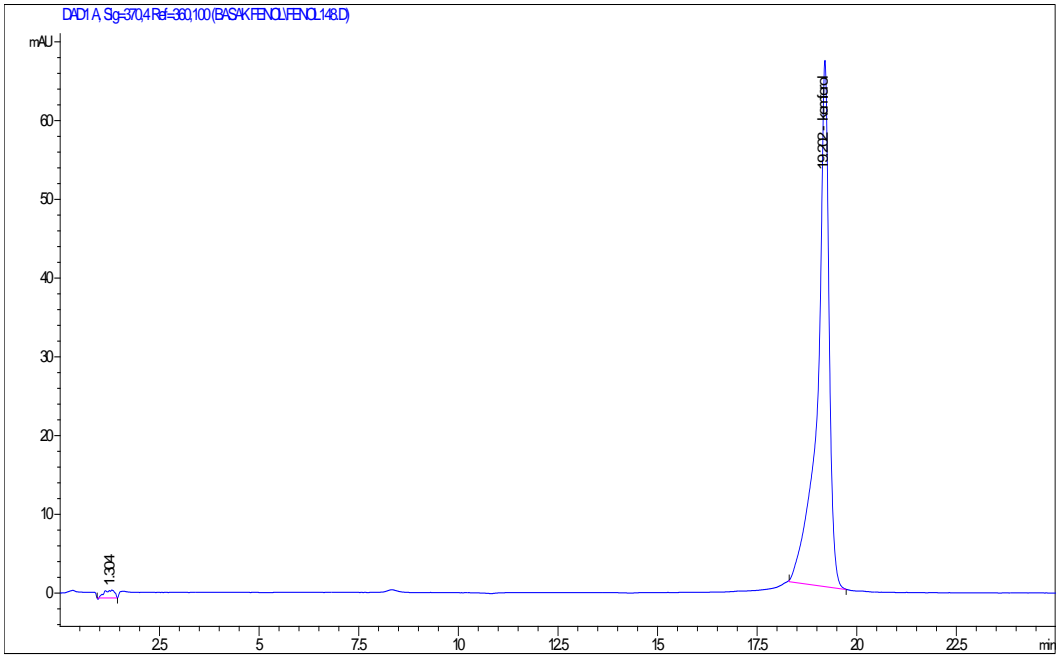
Şekil 4.9. Luteolin standartına ait kromatogram



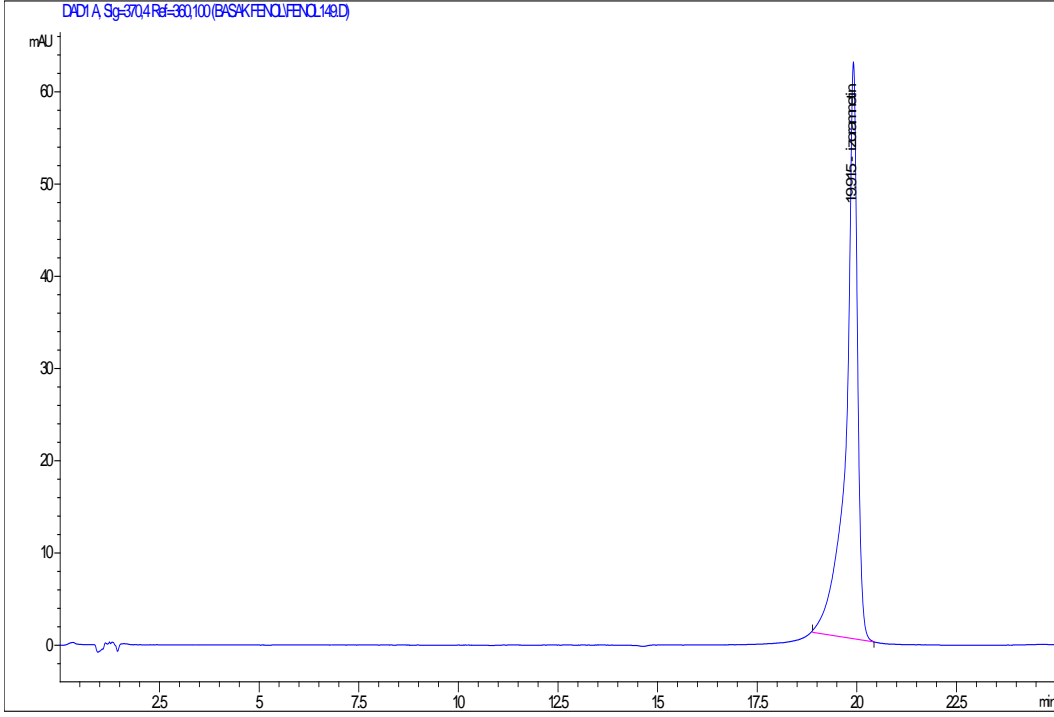
Şekil 4.10. Kersetin standartına ait kromatogram



Şekil 4.11. Apigenin standartına ait kromatogram

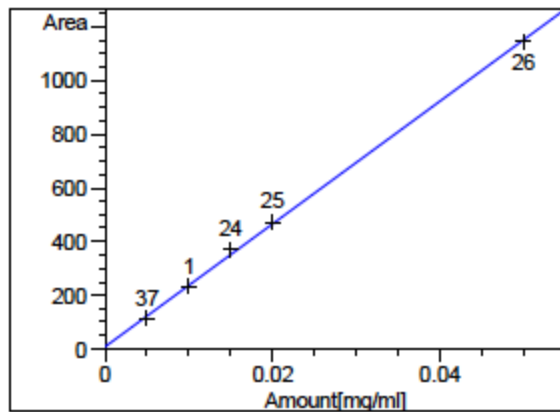


Şekil 4.12. Kemferol standartına ait kromatogram



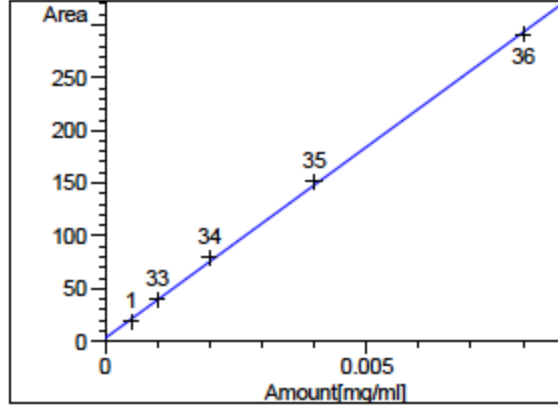
Şekil 4.13. İzoramnetin standartına ait kromatogram

Tesbit edilen bu standartların kalibrasyon eğrileri ve regresyon denklemleri Şekil 4.14-4.25’de verilmiştir.



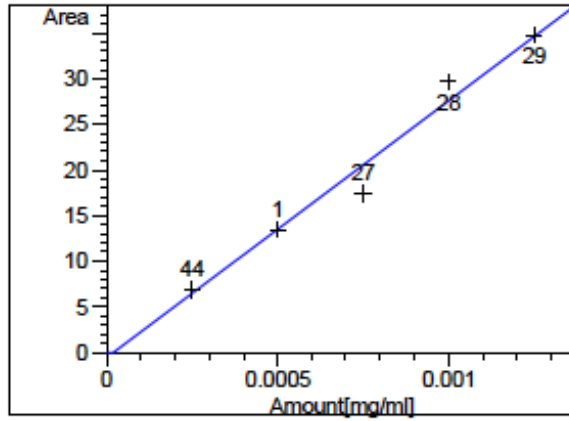
Gallik asit RT:1.550 $R^2:0.9996$, $y:22900.6079x+7.4516$ Sig=270,16

Şekil 4.14. Gallik asitin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi



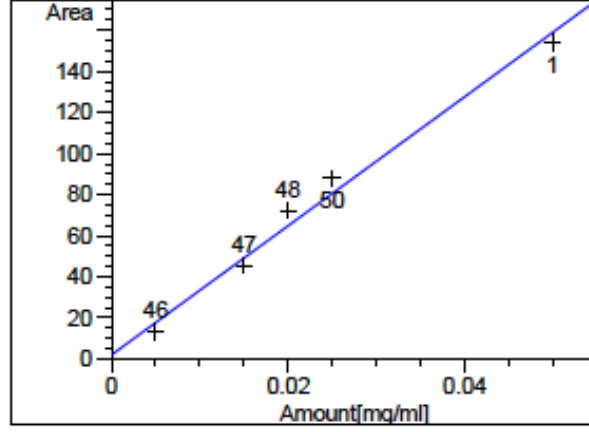
Şiringik asit RT: 3.264 R²:0.99956, y: 36388.76212x+2.59248 Sig=370,4

Şekil 4.15. Şiringik asitin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi



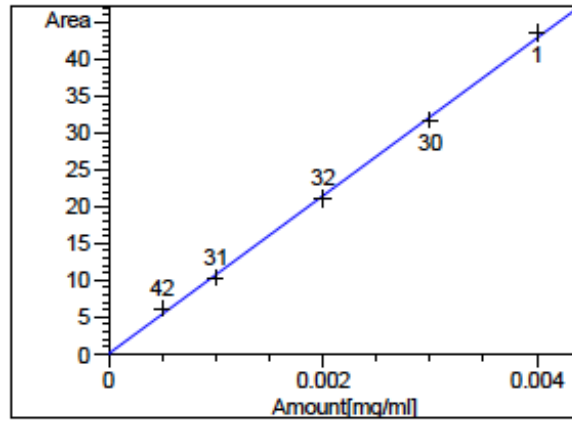
Protokateşik asit RT: 10.754 R²: 0.99136, y: 28193.00908x+-5.73459e-1 Sig=250,16

Şekil 4.16. Protokateşik asitin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi



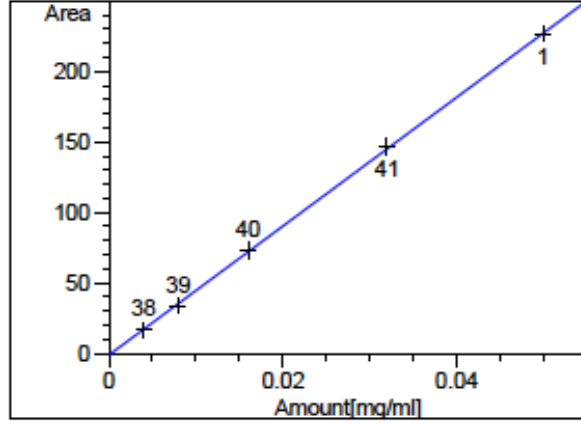
Kateşin RT:2.469 R²: 0.99460, y: 3147.91564x+1.84898 Sig=280,16

Şekil 4.17. Kateşinin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi



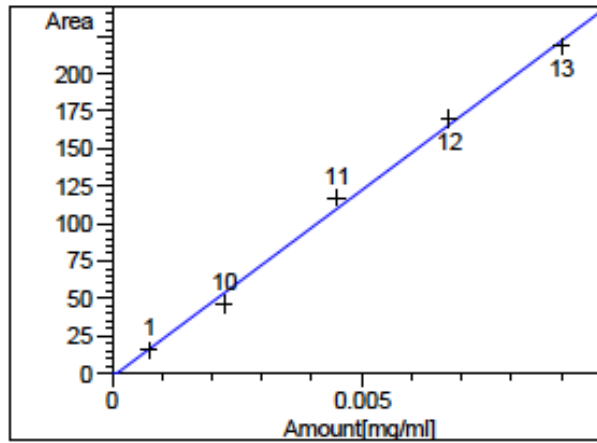
Viteksin RT: 5.794 R²:0.99937, y: 10753.84564x+1.73280e-2 Sig=325,8

Şekil 4.18. Viteksinin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi



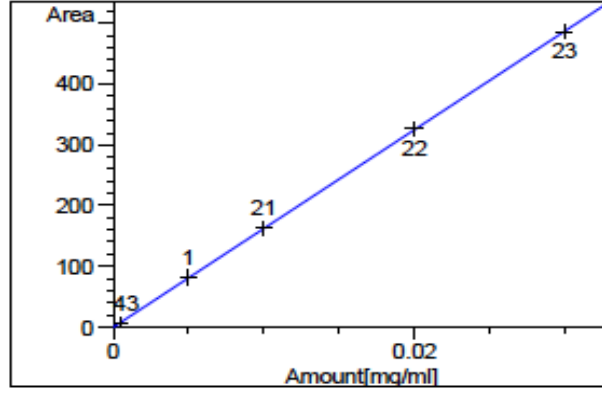
Mirsetin RT: 9.826 R²: 0.99990, y: 4567.96444x+7.99173e-1 Sig=370,4

Şekil 4.19. Mirsetinin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi



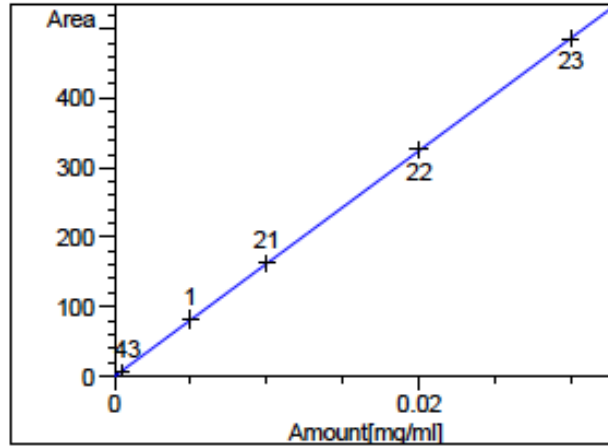
luteolin RT:14.803 R²:0.99815, y: 24974.93603x+2.15958 Sig=349,16

Şekil 4.20. Luteololün kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi



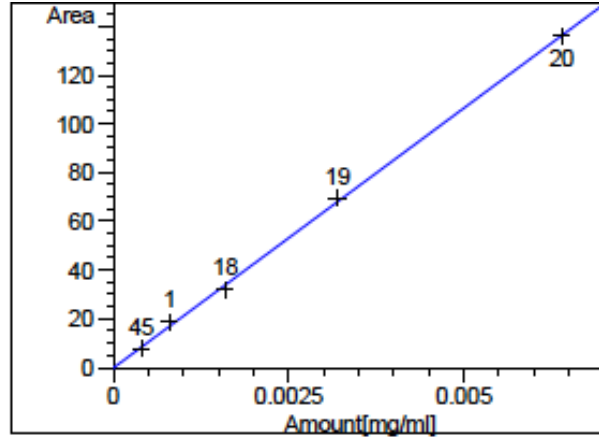
Kersetin RT: 14.919 $R^2:0.99997$, $y: 16260.56474x+3.64887e^{-1}$ Sig=370,4

Şekil 4.21. Kersetinin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi



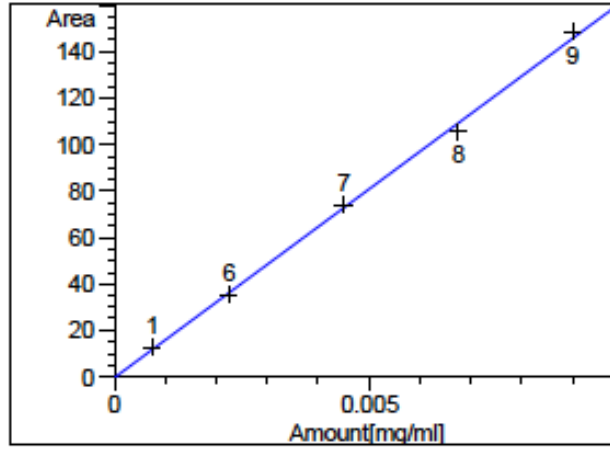
Apigenin at exp. RT: 18.483 $R^2:0.99978$, $y: 25691.27140x+7.45452e^{-1}$ Sig=325,8

Şekil 4.22. Apigeninin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi



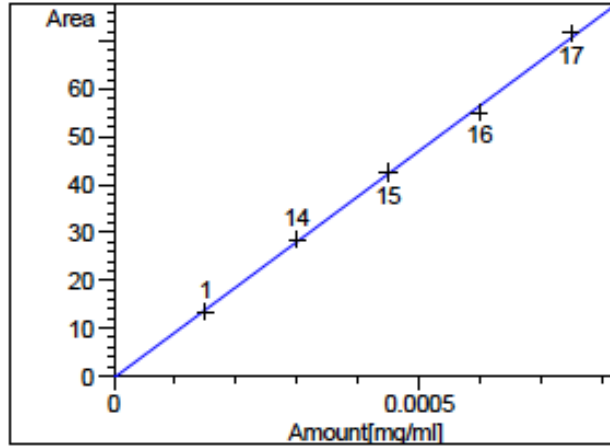
Kemferol RT: 19.452 R²:0.99966, y: 21352.84002x+1.39148e⁻¹ Sig=370,4

Şekil 4.23. Kemferolün kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi



İzoramnetin RT: 20.113 R²:0.99935, y: 16276.27692x+4.21323e⁻¹ Sig=370,4

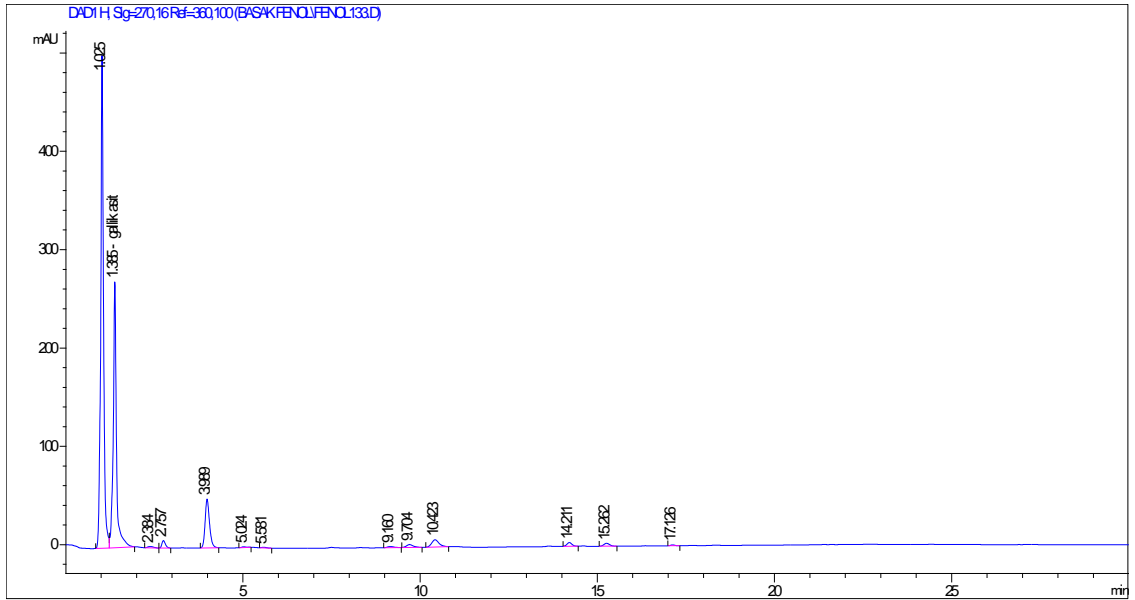
Şekil 4.24. İzoramnetinin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi



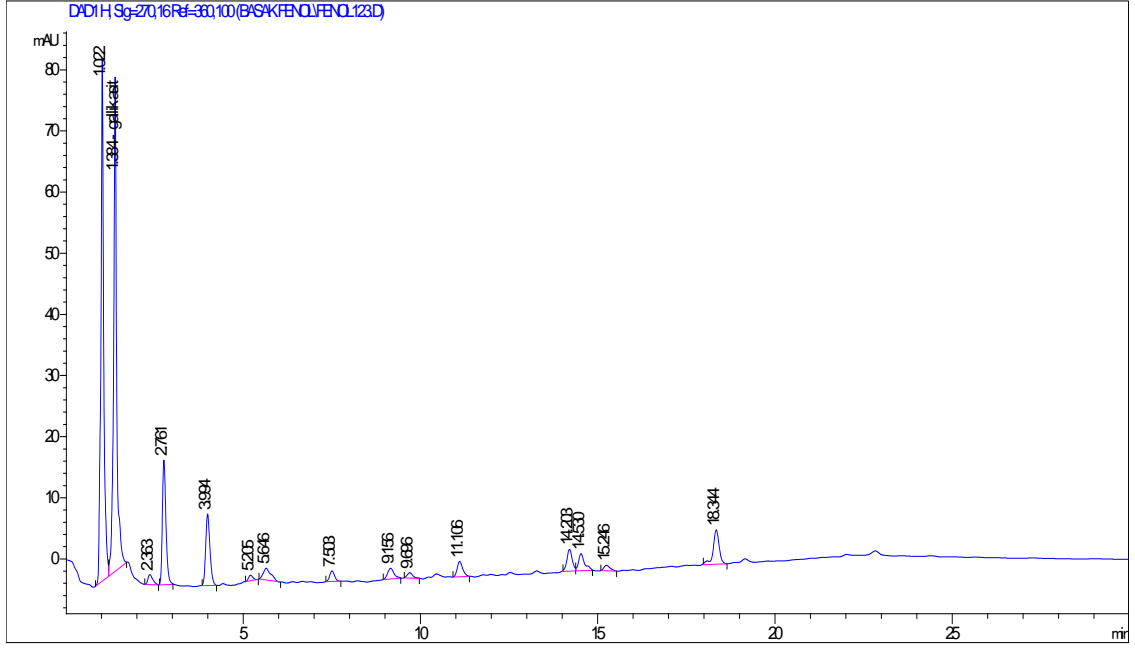
Formononetin RT: 19.452 R²: 0.99952, y: 94923.49207x+3.85615e⁻¹ Sig=250,16

Şekil 4.25. Formononetinin kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi

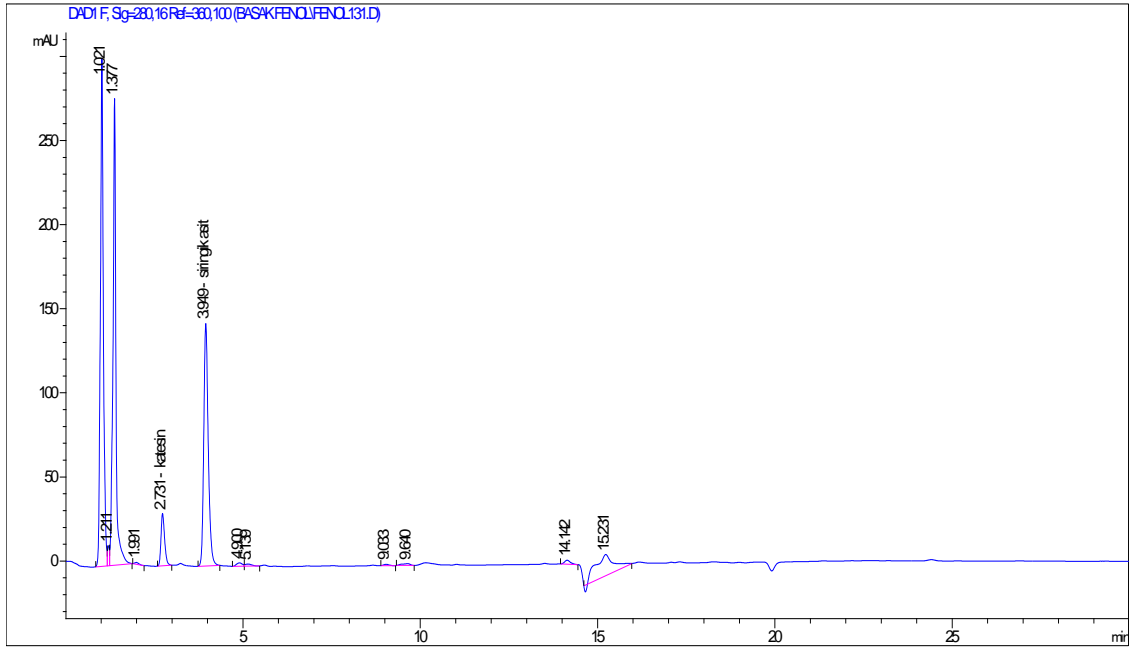
Ekstrelerde tesbit edilen fenolik bileşiklerin en büyük piki verdiği tohum ve topraküstü ekstrelerinin YBSK analizine ait kromatogramlar Şekil 4.26-4.49'da verilmiştir.



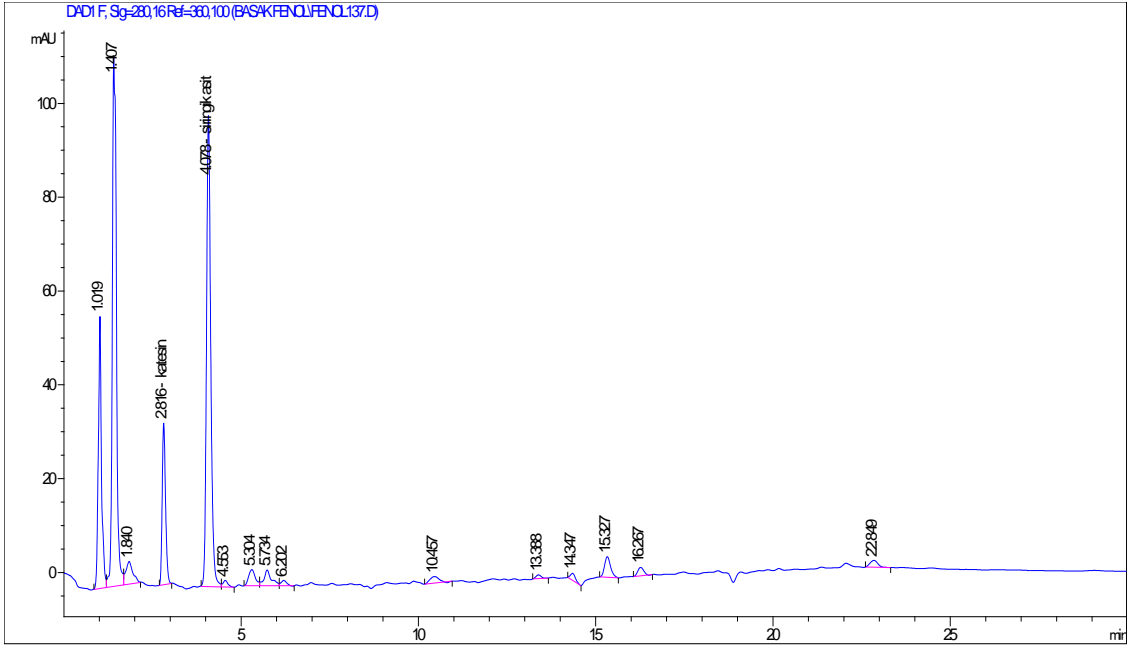
Şekil 4.26. *T. tenuis* tohum ekstrelerinin YBSK analizine ait kromatogram



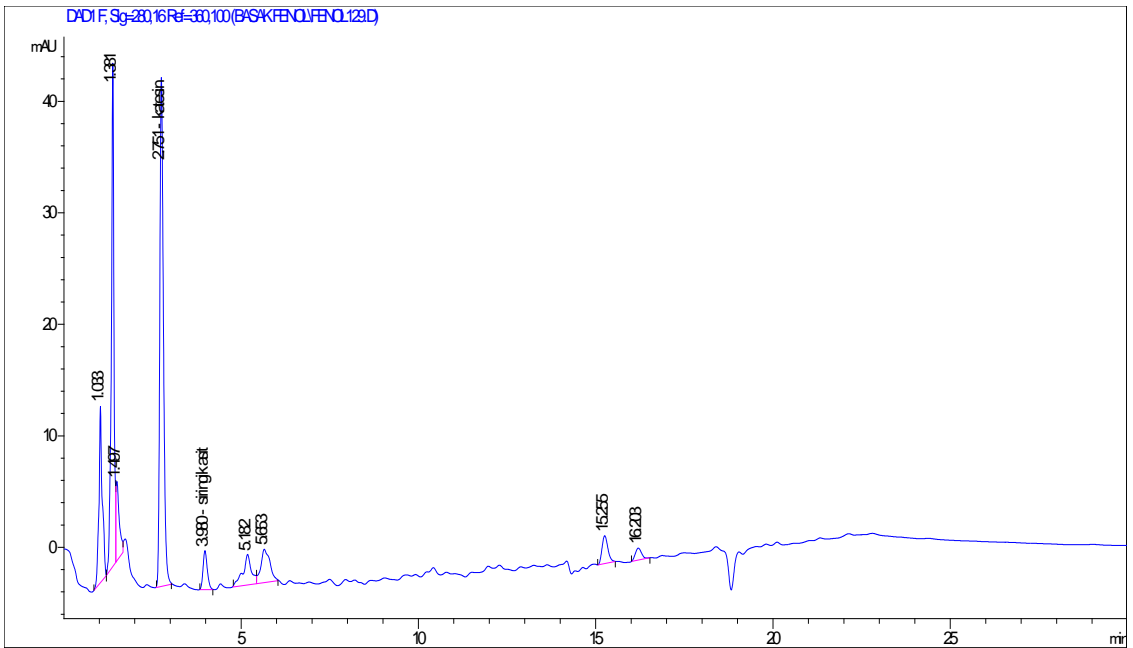
Şekil 4. 27. *T. noeana* topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



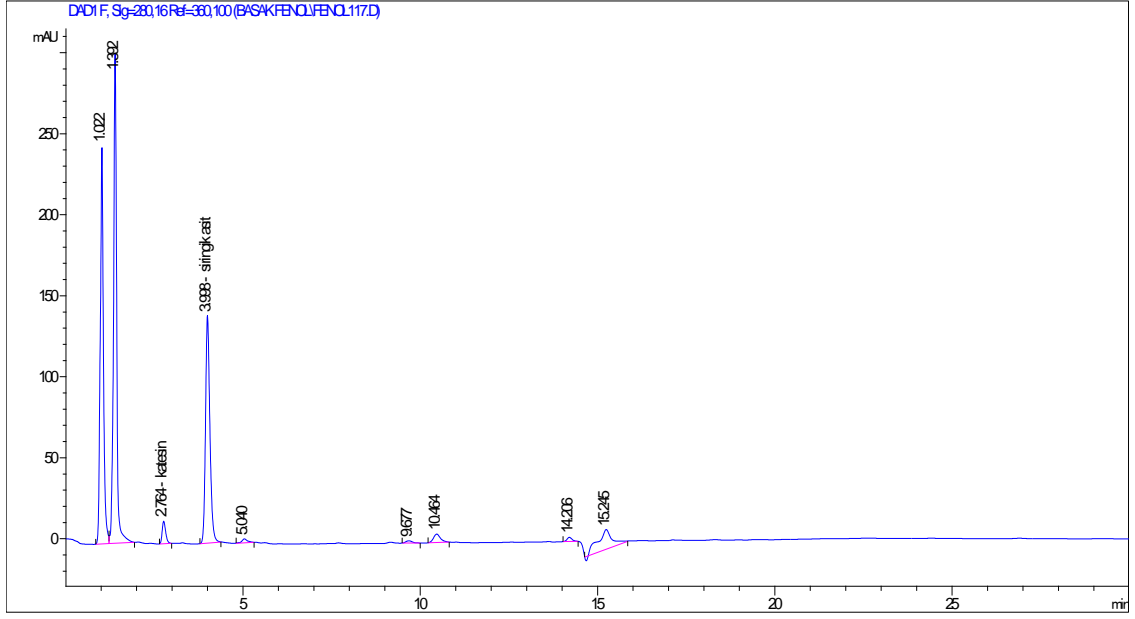
Şekil 4.28. *T. aurantiaca* tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



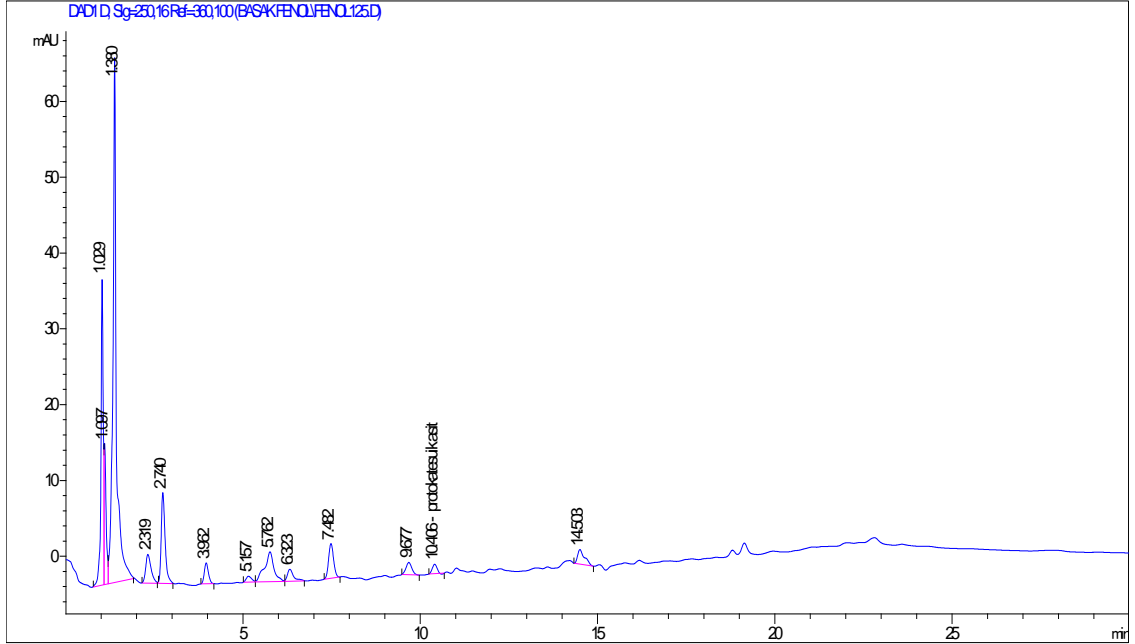
Şekil 4. 29. *T. cancellata* topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



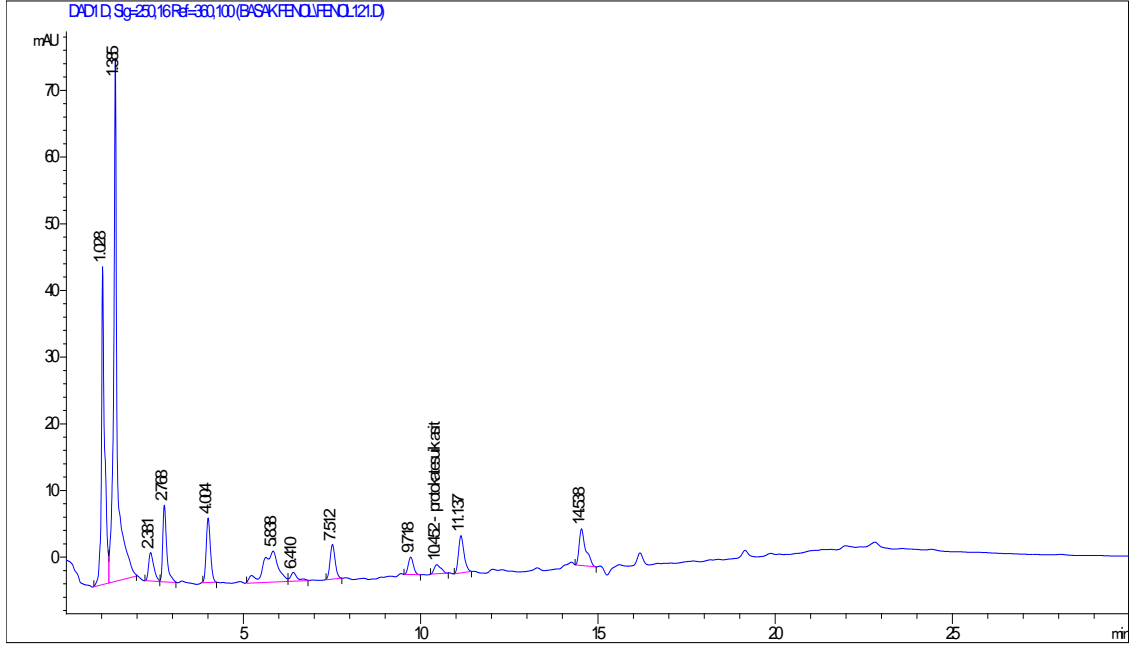
Şekil 4.30. *T. fischeriana* toprak üstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



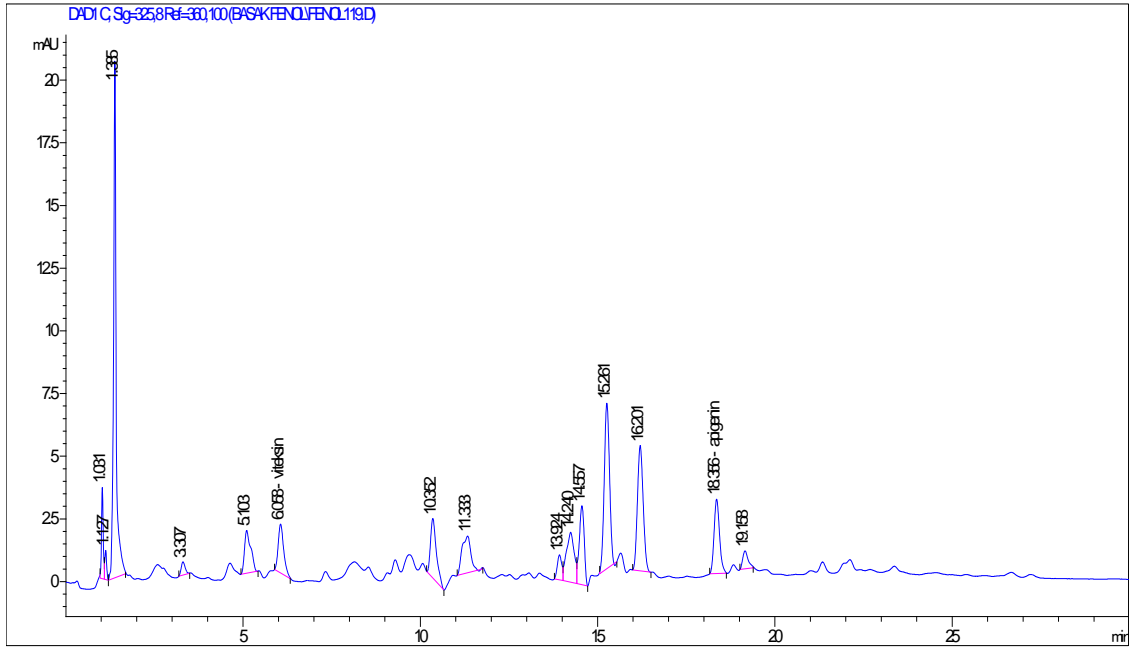
Şekil 4.31. *T. arcuata* tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



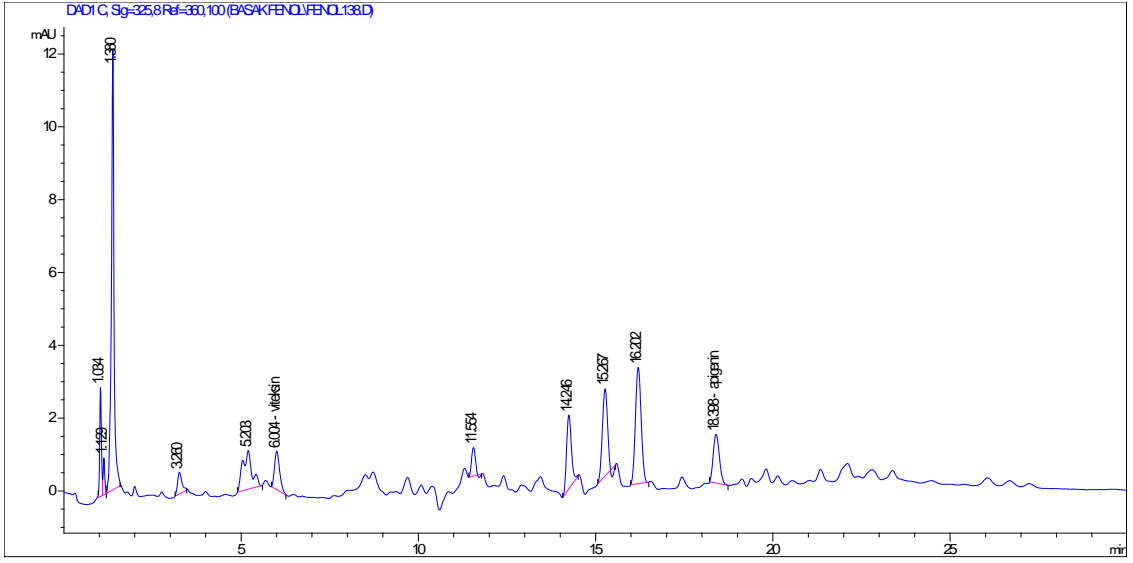
Şekil 4.32. *T. aurantiaca* toprak üstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



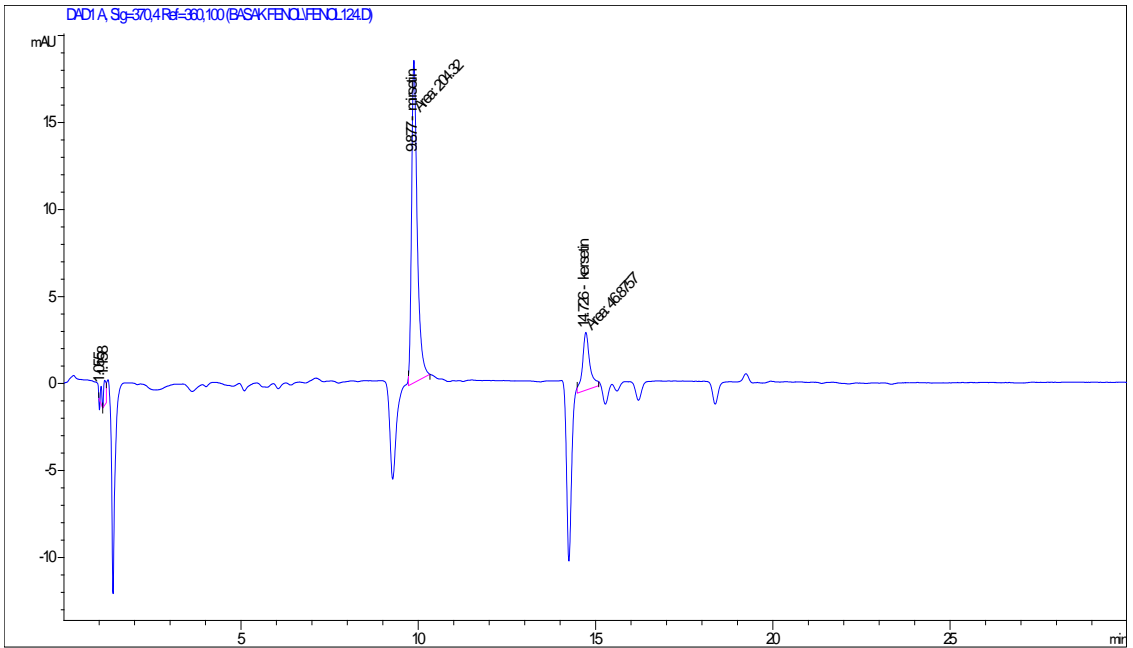
Şekil 4.33. *T. arenicola* topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



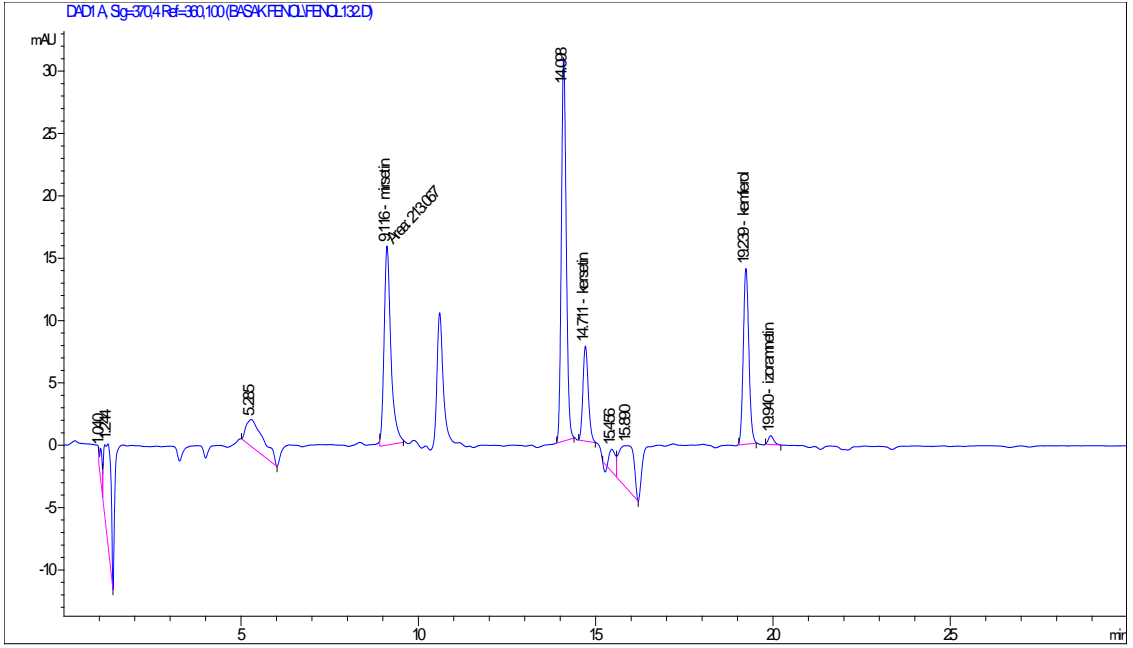
Şekil 4.34. *T. pamphylica* toprak üstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



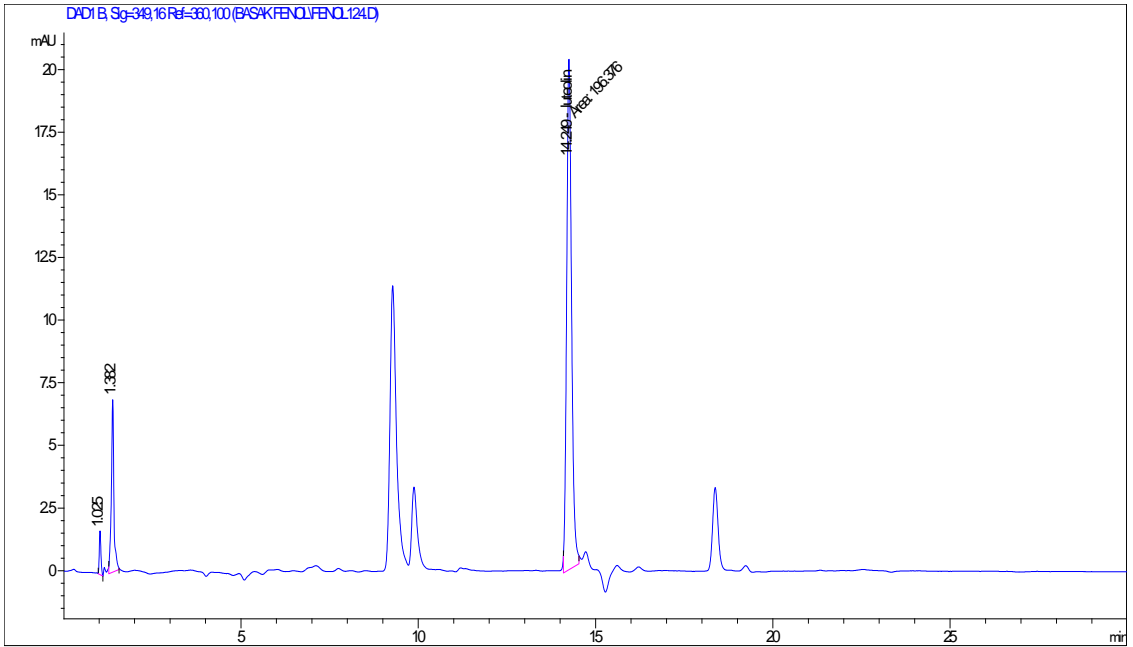
Şekil 4.35. *T. rigida* topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



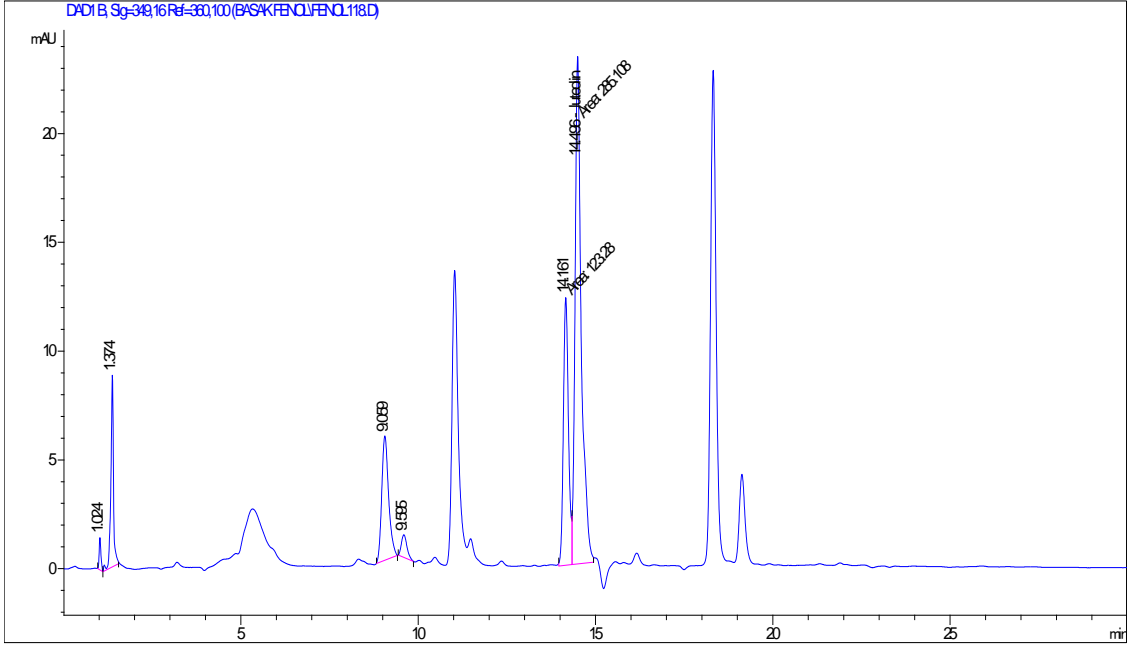
Şekil 4.36. *T. carica* tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



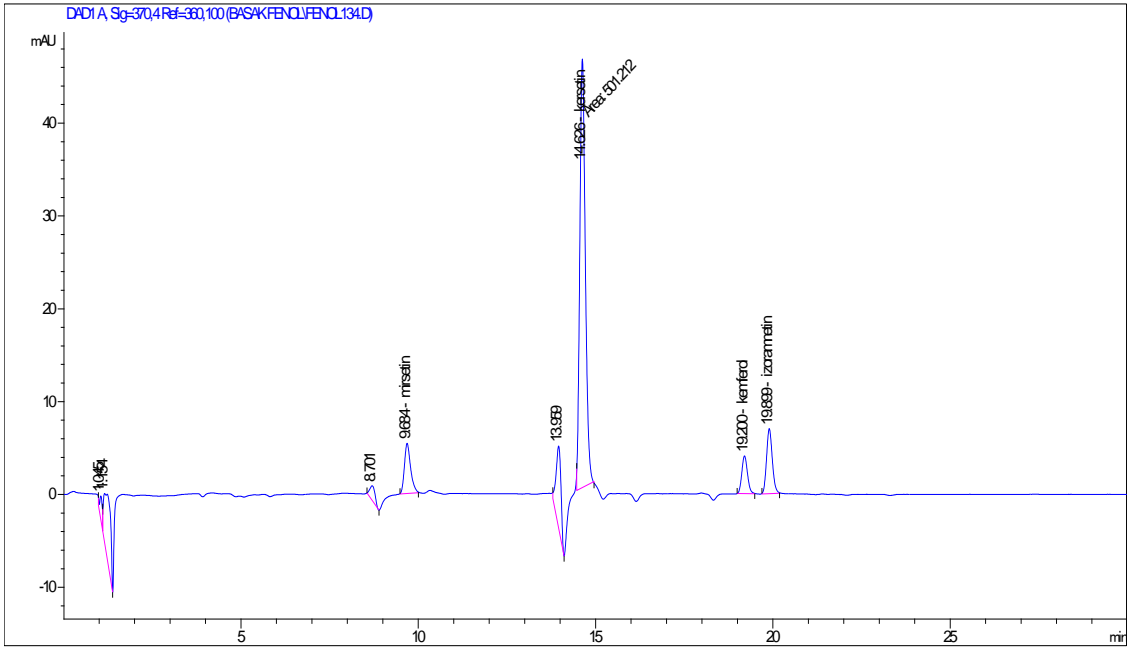
Şekil 4.37. *T. astroites* topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



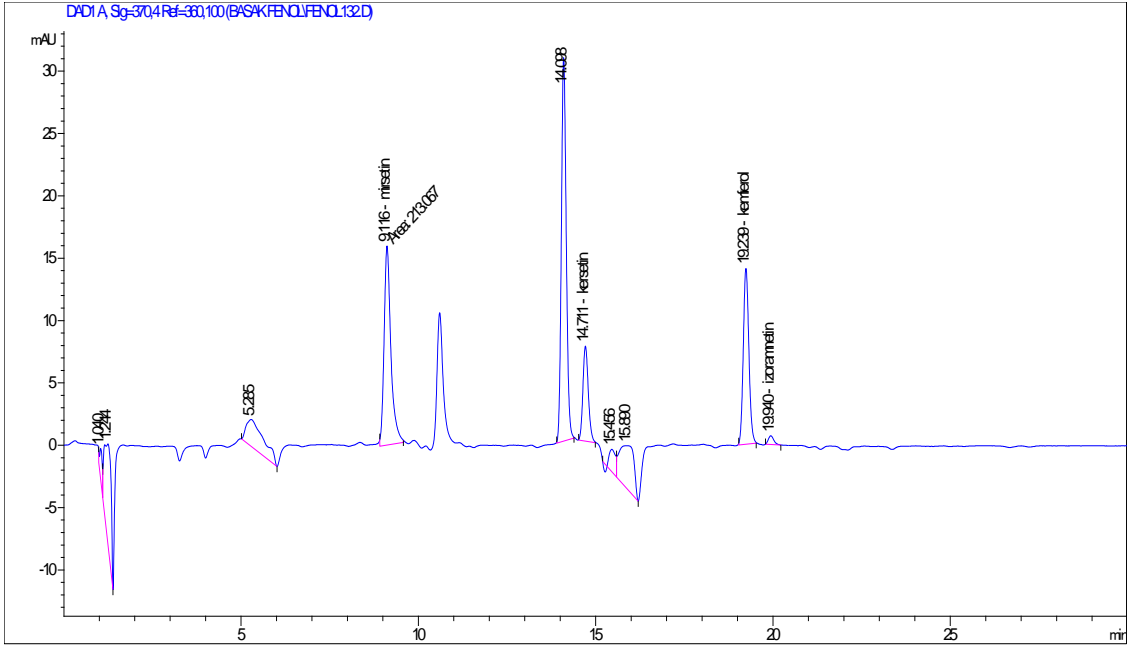
Şekil 4.38. *T. carica* tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



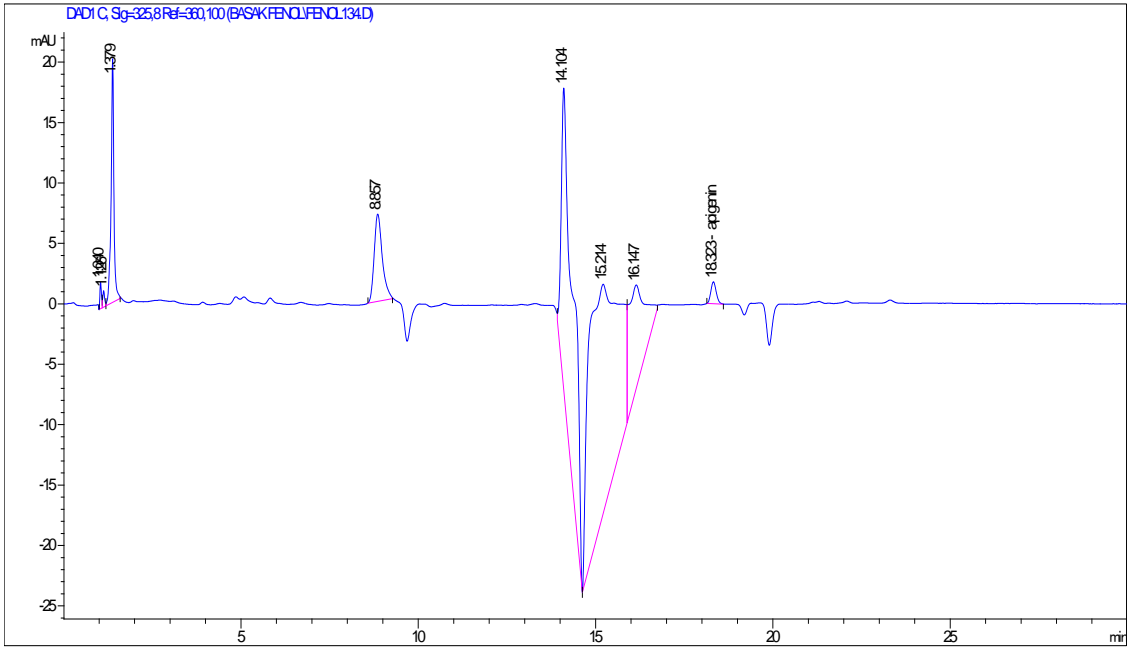
Şekil 4.39. *T. polycarpa* topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



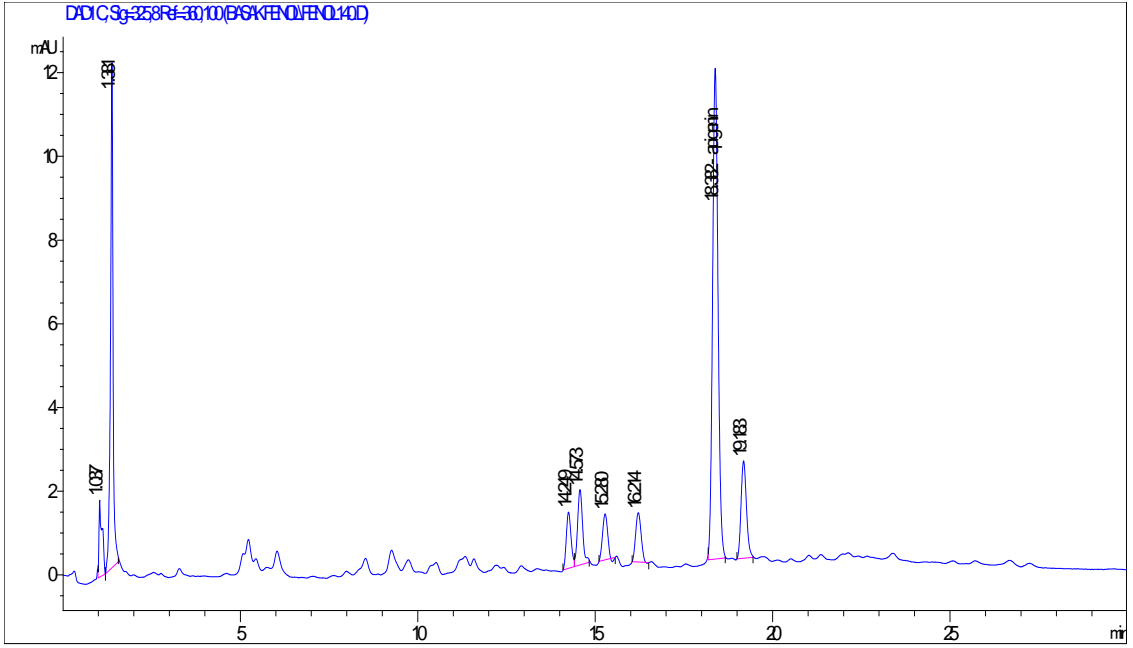
Şekil 4.40 *T. halophila* tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



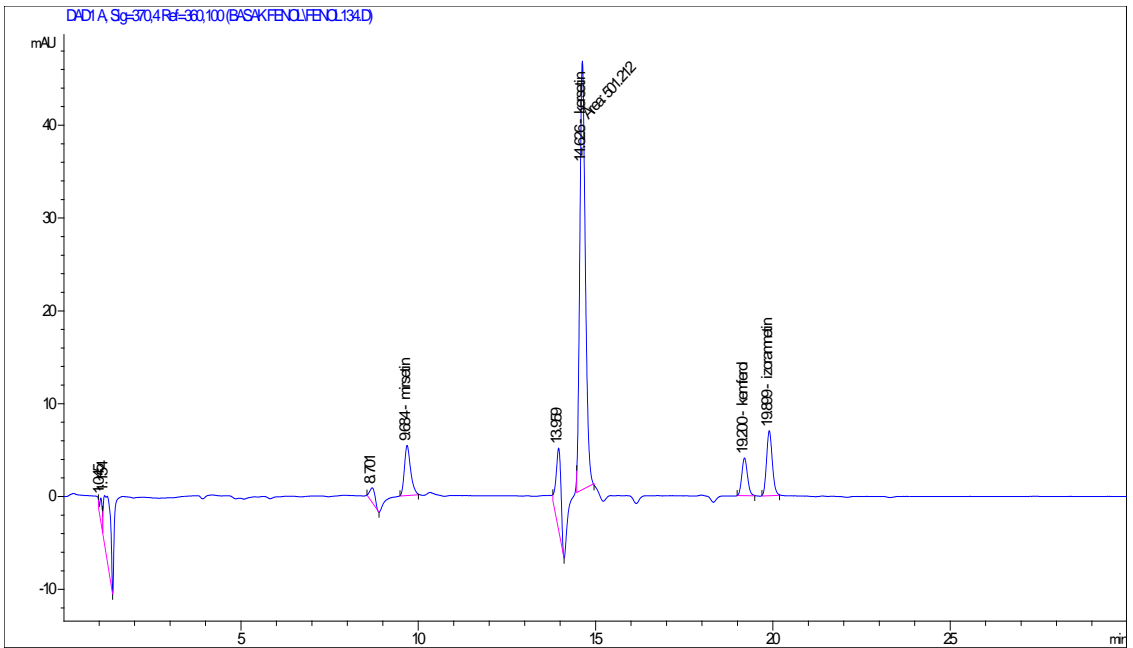
Şekil 4.41. *T. astroites* topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



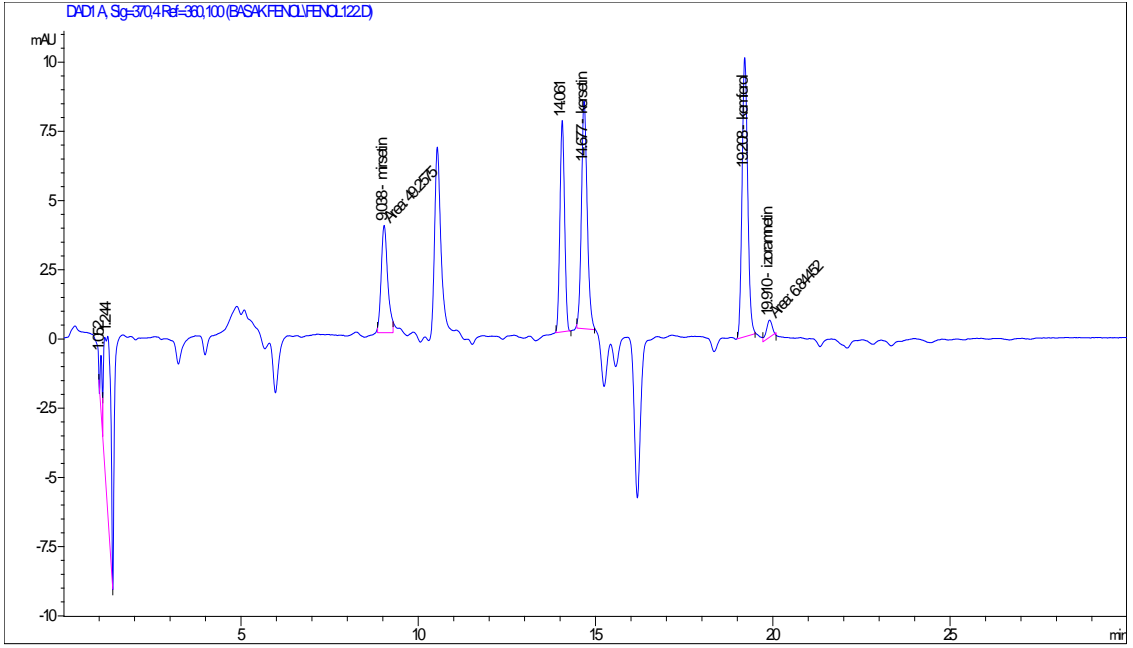
Şekil 4.42. *T. halophila* tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



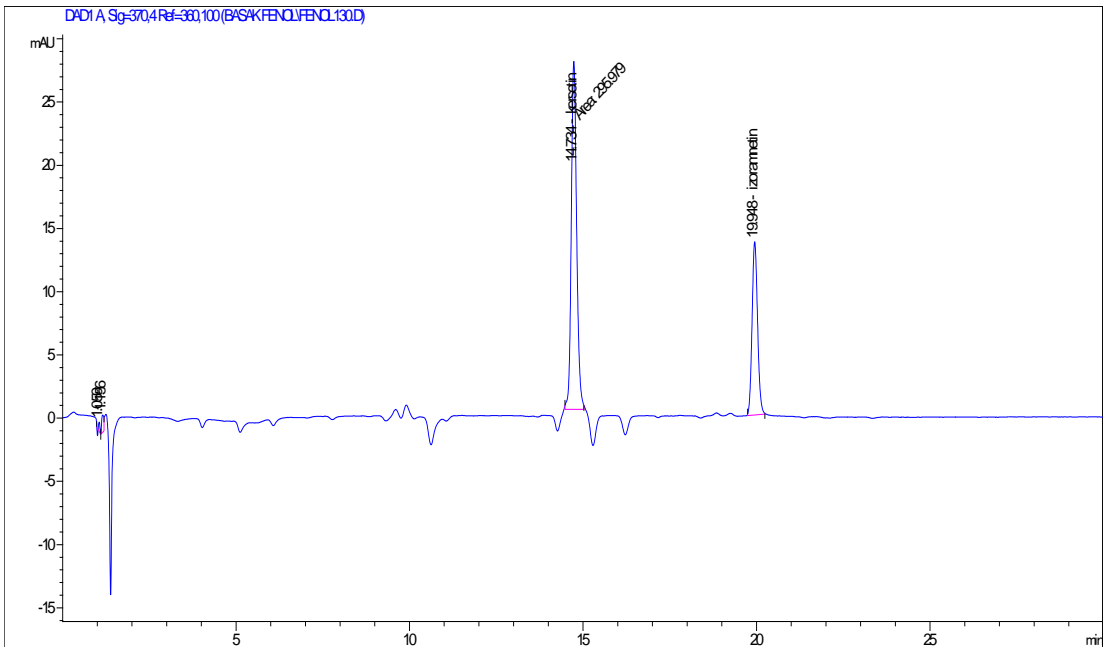
Şekil 4.43. *T. arcuata* topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



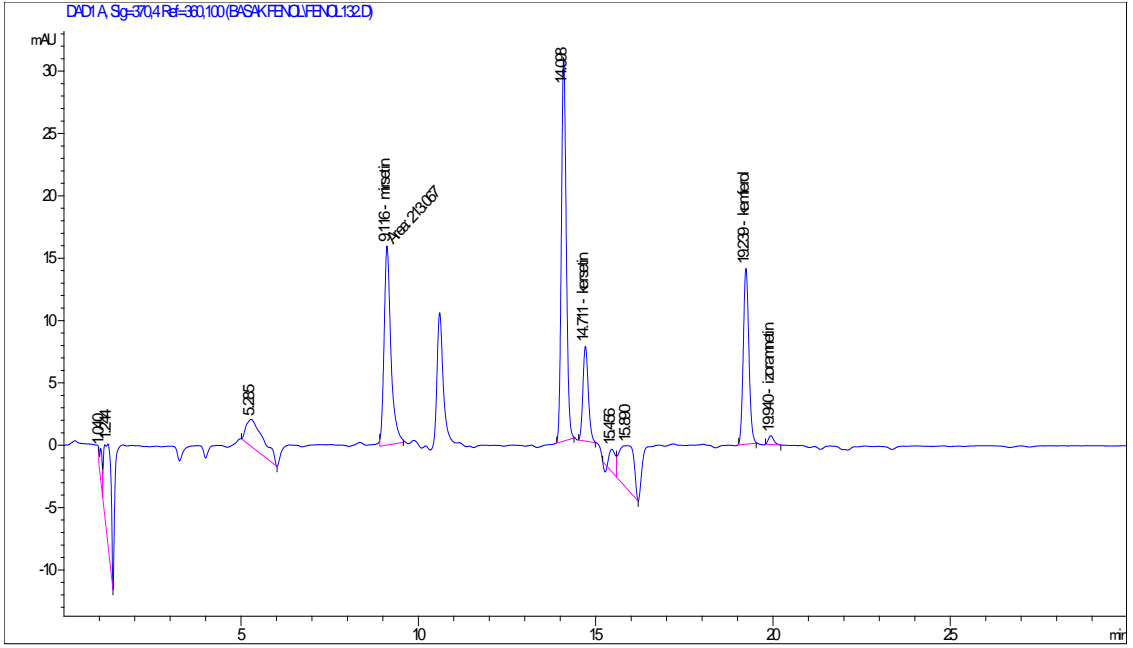
Şekil 4.44. *T. halophila* tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



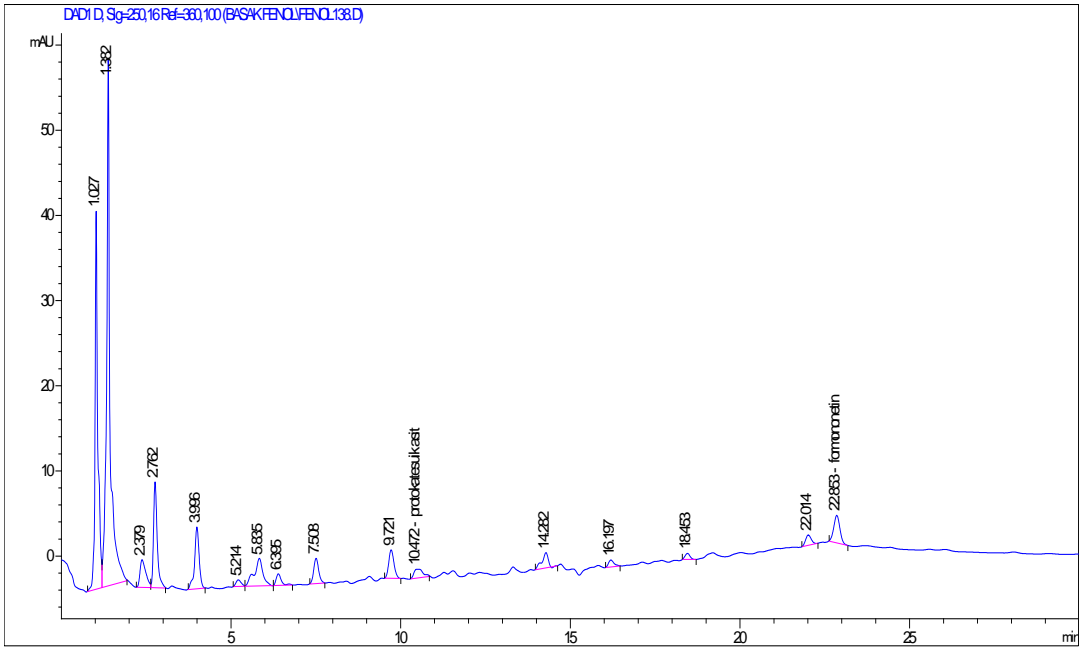
Şekil 4.45. *T. halophila* topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



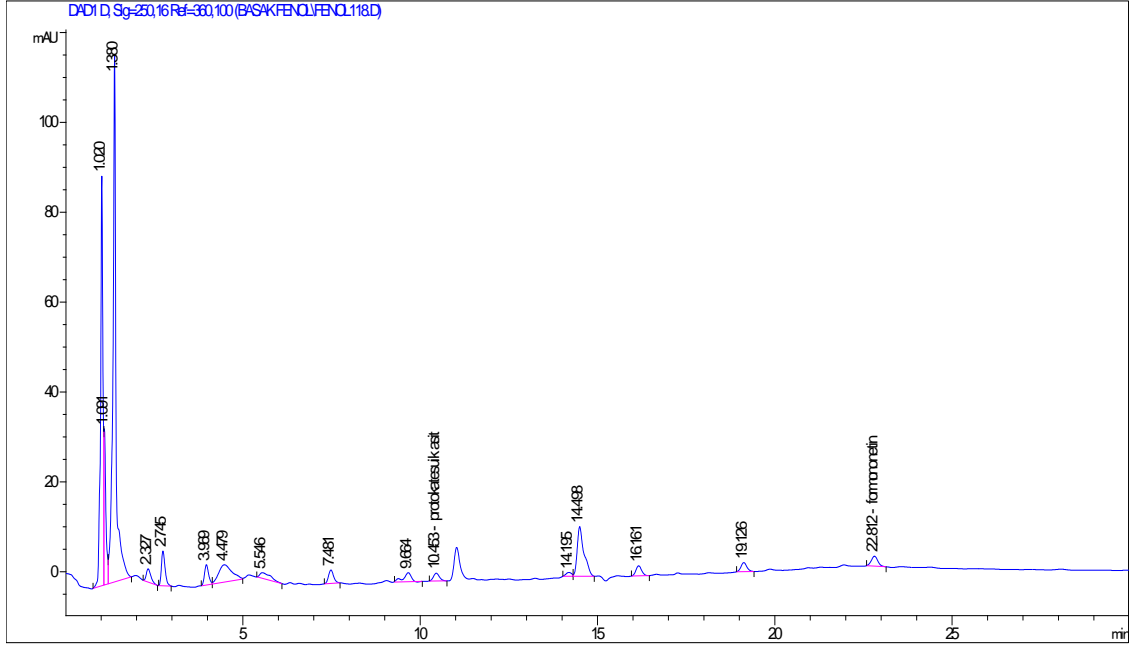
Şekil 4.46. *T. fisheriana* tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



Şekil 4.47. *T. astroites* topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram

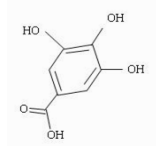


Şekil 4.48. *T. rigida* topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram

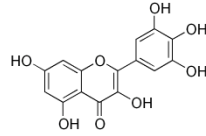


Şekil 4.49. *T. polycarpa* topraküstü ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram

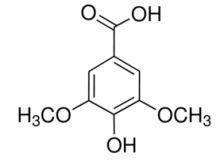
Ekstrelerde tesbit edilen fenolik bileşiklerin molekül yapıları aşağıdaki gibidir.



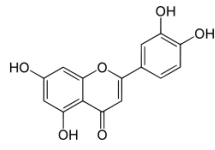
Gallik asit



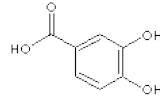
Mirsetin



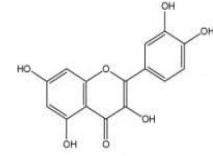
Şiringik asit



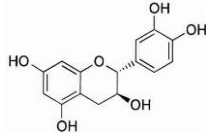
Luteolin



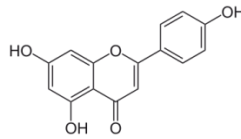
Protokateşuik asit



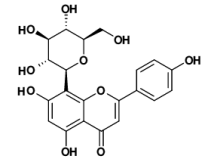
Kersetin



Kateşin



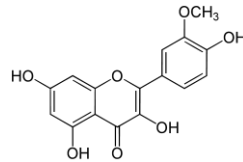
Apigenin



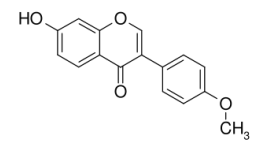
Viteksin



Kemferol



İzoramnetin



Formononetin

Şekil 4.50. *Trigonella* L. Bucerates seksiyonuna ait taksonların YBSK analizinde tesbit edilen fenolik bileşikler

Çizelge 4.6. *Trigonella* L. Seksiyon Bucerates taksonlarının tohumlarında tesbit edilen fenolik bileşik miktarları (mg/g)

Takson	Gallik Asit	Kateşin	Şiringik Asit	Mirsetin	Luteolin	Kersetin	Apigenin	Kemferol	İzoramnetin
<i>T. aurantiaca</i>	17.5±3.0	13.8±0.09	7.04±0.08	-	0.3±0.05	4.3±0.8	0.1±0.005	-	1.1±0.03
<i>T. arenicola*</i>	11.8±2.4	5.7±0.009	4.5±0.04	-	0.3±0.02	2.1±0.09	0.1±0.006	-	0.4±0.05
<i>T. fischeriana</i>	18.1±3.5	3.5±0.03	4.2±0.05	-	-	3.8±0.3	-	-	1.8±0.01
<i>T. tenuis</i>	17.2±3.2	3.4±0.1	3.1±0.06	-	0.3±0.04	4.3±0.1	0.031±0.007	-	-
<i>T. cancellata</i>	14.2±2.3	1.8±0.1	1.6±0.05	-	0.02±0.004	2.1±0.3	-	-	-
<i>T. astroites</i>	10±1	1.9±0.1	0.9±0.06	3.1±0.5	1.06±0.04	4.8±0.4	0.18±0.004	0.16±0.002	0.65±0.03
<i>T. halophila*</i>	16.4±2	2.3±0.1	2.5±0.02	3.4±0.6	1.5±0.06	6.3±0.1	0.14±0.002	0.4±0.004	0.9±0.1
<i>T. crassipes</i>	19±4.1	1.6±0.04	1.9±0.06	-	0.4±0.01	4.3±0.4	-	-	-
<i>T. polycarpa*</i>	18.3±0.1	4.2±0.2	3.2±0.05	-	0.3±0.01	3.5±0.3	0.14±0.007	-	0.7±0.01
<i>T. rigida*</i>	20.1±2.5	2.6±0.02	4.7±0.02	4.6±1.1	-	0.5±0.01	-	-	-
<i>T. pamphylica*</i>	13.7±0.4	3.7±0.03	4.5±0.03	-	0.1±0.01	5.1±0.08	-	-	0.4±0.03
<i>T. carica*</i>	11.3±1.2	4±0.5	1.2±0.02	10.6±1.9	1.5±0.04	0.5±0.05	0.27±0.006	-	-
<i>T. arcuata</i>	13.7±1.0	5.8±0.1	6.5±0.06	-	0.4±0.006	2.3±0.1	0.1±0.001	-	-
<i>T. monantha</i>	14.4±2.8	2.6±0.1	1.8±0.04	-	0.3±0.05	3.4±0.2	-	-	-
<i>T. noeana</i>	4.4±0.1	3.2±0.2	2.1±0.06	-	0.5±0.04	2.8±0.07	0.07±0.004	-	0.3±0.01
<i>T. orthoceras</i>	14.7±2.9	7.9±0.3	4.9±0.1	-	0.3±0.02	3.4±0.1	0.1±0.004	-	-

*Endemik türler

**Ortalama±Standart sapma

Çizelge 4.7. *Trigonella* L. Seksiyon Bucerates taksonlarının topraküstü kısımlarında tesbit edilen fenolik bileşik miktarları (mg/g)

Takson	Gallik Asit	Kateşin	Şiringik Asit	Protokateşik asit	Viteksin	Mirsetin	Luteolin	Kersetin	Apigenin	Kemferol	İzoramnetin	Formononetin
<i>T. aurantiaca</i>	6.1±1.5	17.6±0.1	0.6±0.02	0.1±0.01	-	-	0.4±0.01	-	0.3±0.01	-	-	-
<i>T. arenicola*</i>	7.4±1.8	17±0.1	2.3±0.04	0.1±0.01	0.4±0.05	-	1.1±0.01	-	0.6±0.01	-	-	-
<i>T. fischeriana</i>	5.7±0.2	20.4±0.07	0.1±0.01	-	-	-	0.2±0.02	-	0.08±0.005	-	-	-
<i>T. tenuis</i>	5.8±1.9	12.9±0.1	1±0.04	-	-	-	1.4±0.004	-	0.7±0.01	-	-	-
<i>T. cancellata</i>	9.8±2.5	14.4±0.2	4.6±0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	0.09±0.003
<i>T. astroites</i>	14.8±1.5	7±0.3	6.2±0.2	-	-	8.9±0.4	-	1±0.05	-	1.4±0.01	0.09±0.01	-
<i>T. halophila*</i>	12.8±1.9	10.5±0.2	4.4±0.04	-	-	2.2±0.03	-	1.2±0.1	0.09±0.004	1±0.03	0.08±0.009	0.09±0.001
<i>T. crassipes</i>	5.7±1.4	5.4±0.04	0.2±0.01	-	-	-	0.5±0.02	-	1±0.02	-	-	-
<i>T. polycarpa*</i>	7.3±1.5	11.2±0.1	1.1±0.03	0.1±0.02	-	-	2±0.2	-	2±0.05	-	-	0.05±0.001
<i>T. rigida*</i>	5.7±1.06	18.7±0.3	1.6±0.02	0.1±0.03	0.2±0.03	-	-	-	0.1±0.009	-	-	0.08±0.001
<i>T. pamphylica*</i>	0.6±0.06	14.1±0.1	0.7±0.02	-	0.4±0.08	-	0.6±0.01	-	0.2±0.006	-	-	-
<i>T. carica*</i>	7.9±1.4	11.5±0.05	1.9±0.06	-	-	-	0.5±0.02	-	0.1±0.002	-	-	0.04±0.008
<i>T. arcuata</i>	2.7±0.1	7.8±0.07	0.2±0.01	-	-	-	0.4±0.01	-	0.9±0.02	-	-	-
<i>T. monantha</i>	4.5±1.3	9.7±0.03	2±0.01	-	-	-	0.1±0.005	-	0.1±0.001	-	-	-
<i>T. noeana</i>	5.5±1.6	9.3±0.05	0.6±0.03	-	-	-	1±0.01	-	0.8±0.01	-	-	-
<i>T. orthoceras</i>	2.4±0.2	12.1±0.03	0.03±0.009	-	-	-	0.2±0.003	-	0.09±0.003	-	-	-

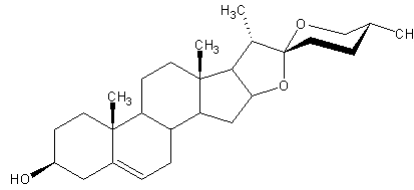
*Endemik türler

**Ortalama±Standart sapma

Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7’de ekstrelerde bulunan fenolik bileşiklerin mg/g kuru bitki cinsinden değeri verilmektedir. Çizelgeler incelendiğinde tohum kısımlarında protokateşik asit, viteksin ve formononetin hiçbir ekstrere rastlanmamışken gallik asit, kateşin, şiringik asit ve kersetin bütün ekstrelerde görülmektedir. Topraküstü kısımlarında ise gallik asit, kateşin ve şiringik asit bütün ekstrelerde tesbit edilmiştir.

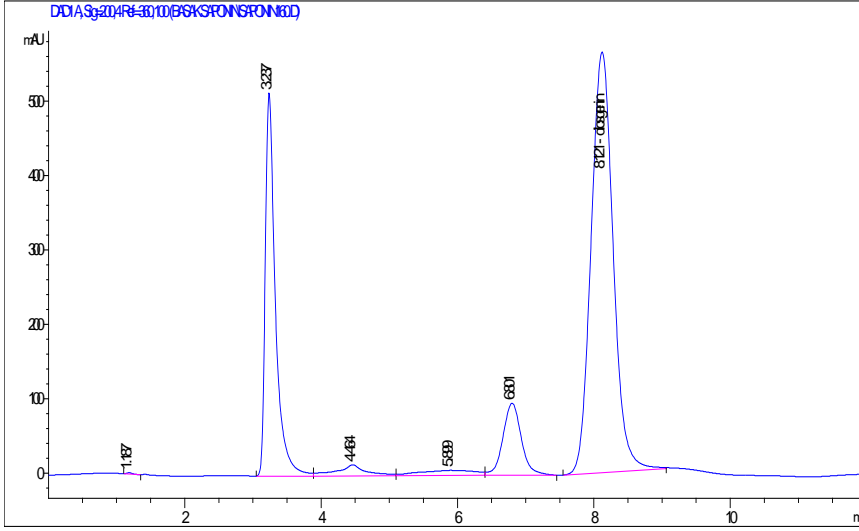
4.4 Ekstrelerin YBSK ile Diosgenin Açısından İncelenmesi

Ekstrelerin YBSK analizleri sonucunda bir tek ekstre hariç (*T. pamphylica*-topraküstü) diğer bütün ekstrelerde diosgenin tesbit edilmiştir.



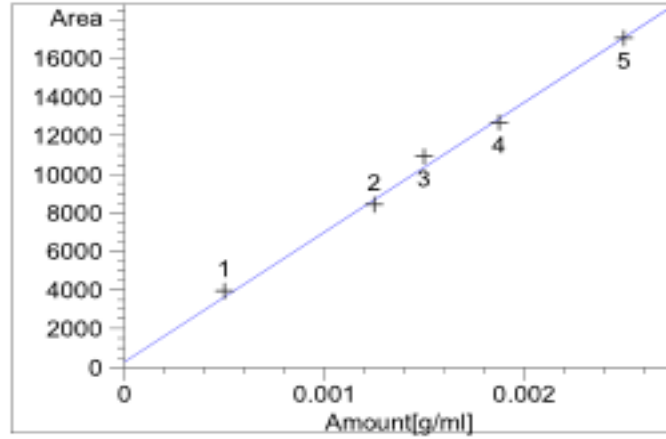
Şekil 4.51. Diosgeninin molekül yapısı

Tohum ekstrelerinin YBSK analizinde, mobil faz 1 ml/dk olarak belirlenmiştir. Bu şartlara göre bu ekstrelerin analizi için diosgenin standart YBSK kromatogramı aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.52. Diosgeninin YBSK analizine ait kromatogram (akış hızı: 1 ml/dk; tohum numuneleri için)

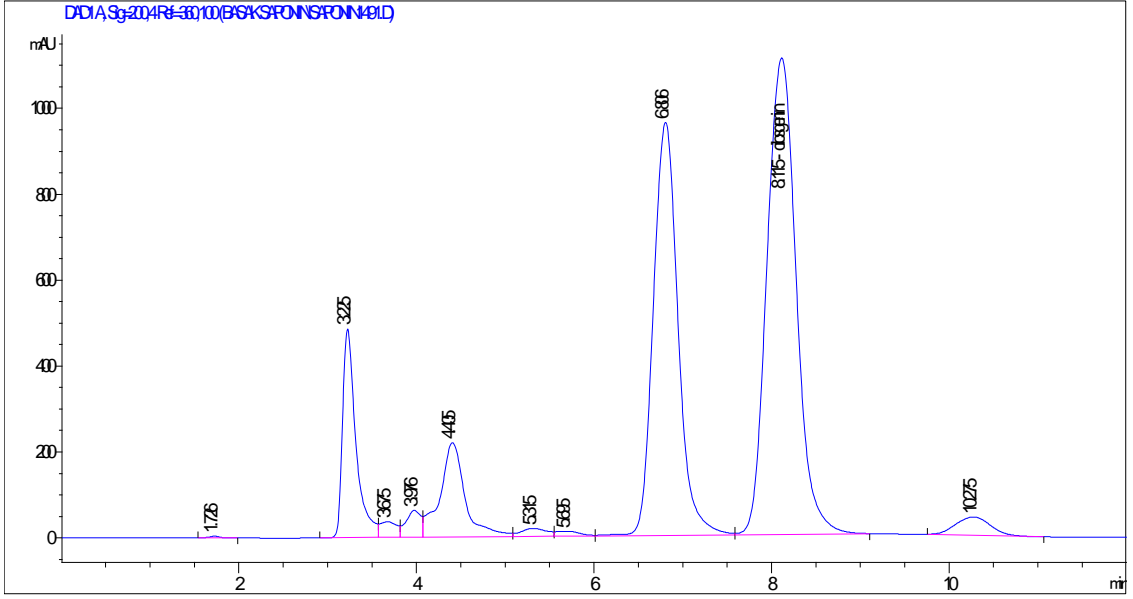
Diosgenin tohum numunelerinde miktar olarak toprak üstü numunelerinden daha fazla bulunduğu için bitkilerin bu iki kısmı için ayrı ayrı kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Tohum numuneleri için olan kalibrasyon eğrisi aşağıdaki gibidir.



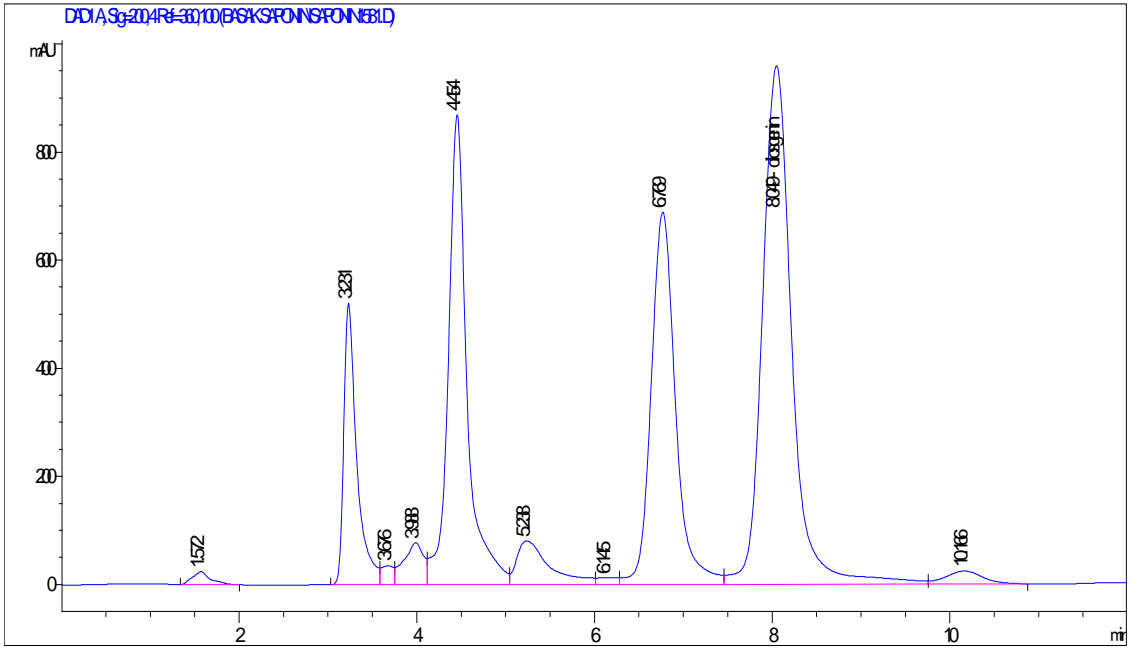
Diosgenin-tohum numuneleri için RT:8.121 R²:0.99841, y: 6.74086e⁶x+273.69007 Sig=200,4

Şekil 4.53. Diosgenin standartının kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemleri-tohum numuneleri için

Tohum numunelerine ait YBSK analizine ait kromatogramlardan bazıları Şekil 4.54 ve Şekil 4.55’de gösterilmiştir.

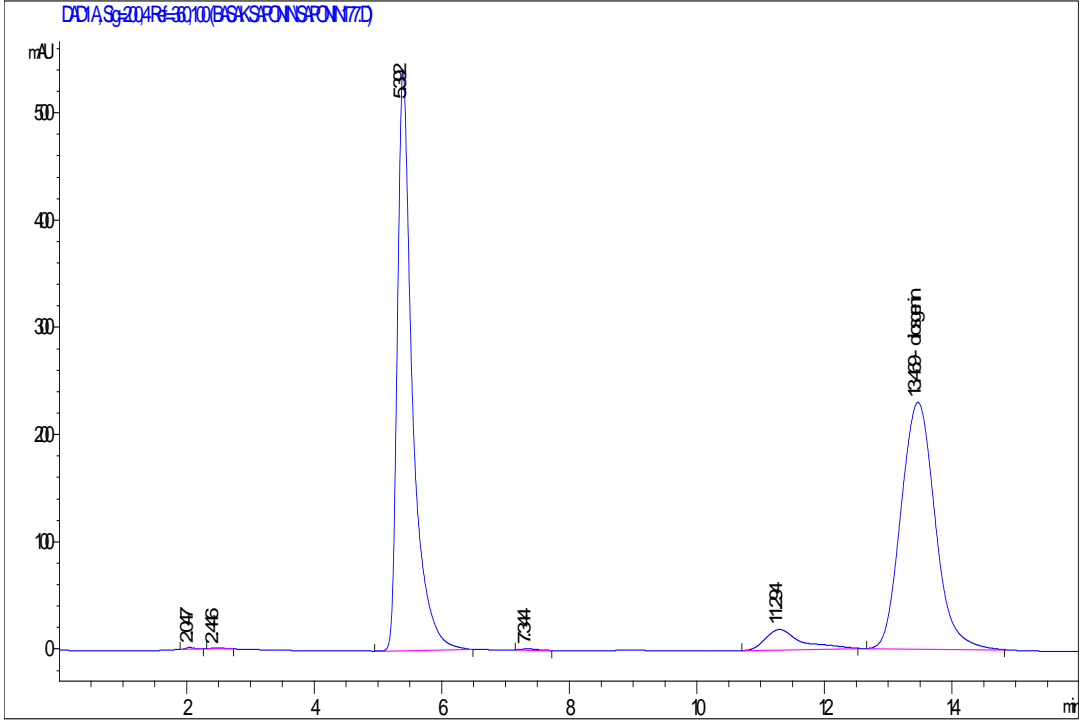


Şekil 4.54. *T. rigida* tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram



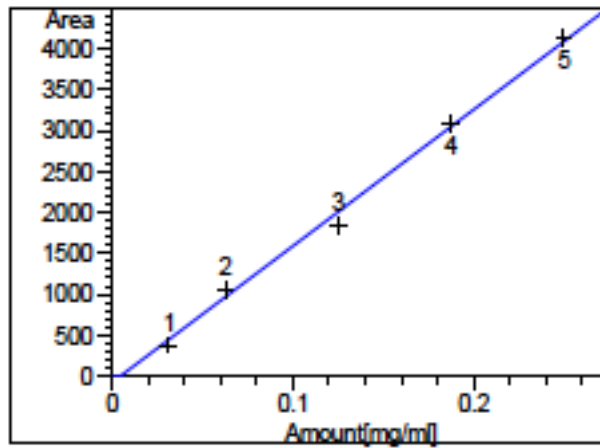
Şekil 4.55. *T. carica* tohum ekstresinin YBSK analizine ait kromatogram

Topraküstü kısımlarında diosgenin pikini önünde çıkan pikten ayırmak için bu ekstrelerde mobil faz akış hızı 0.6 ml/dk olarak YBSK analizleri yapıldı. Buna göre topraküstü numuneleri için hazırlanan diosgenin standart kromatogramı aşağıda gösterildiği gibidir.



Şekil 4.56. Diosgenin YBSK analizine ait kromatogram (akış hızı:0.6 ml/dk; topraküstü numuneleri için)

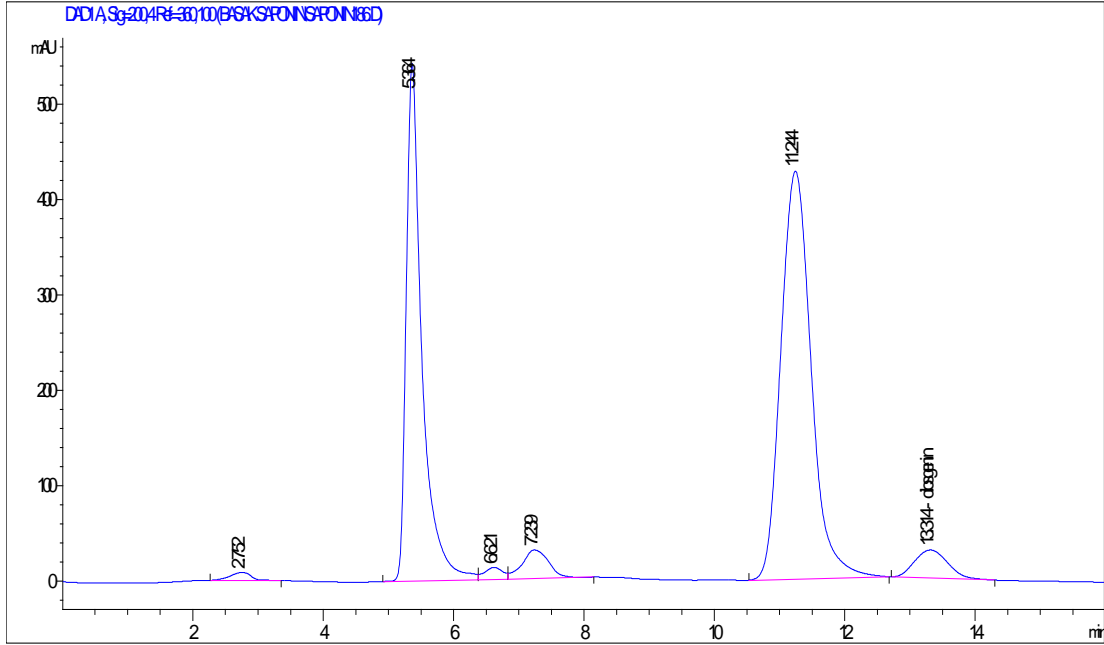
Topraküstü numuneleri için hazırlanan diosgenin standardının kalibrasyon eğrisi aşağıdaki gibidir.



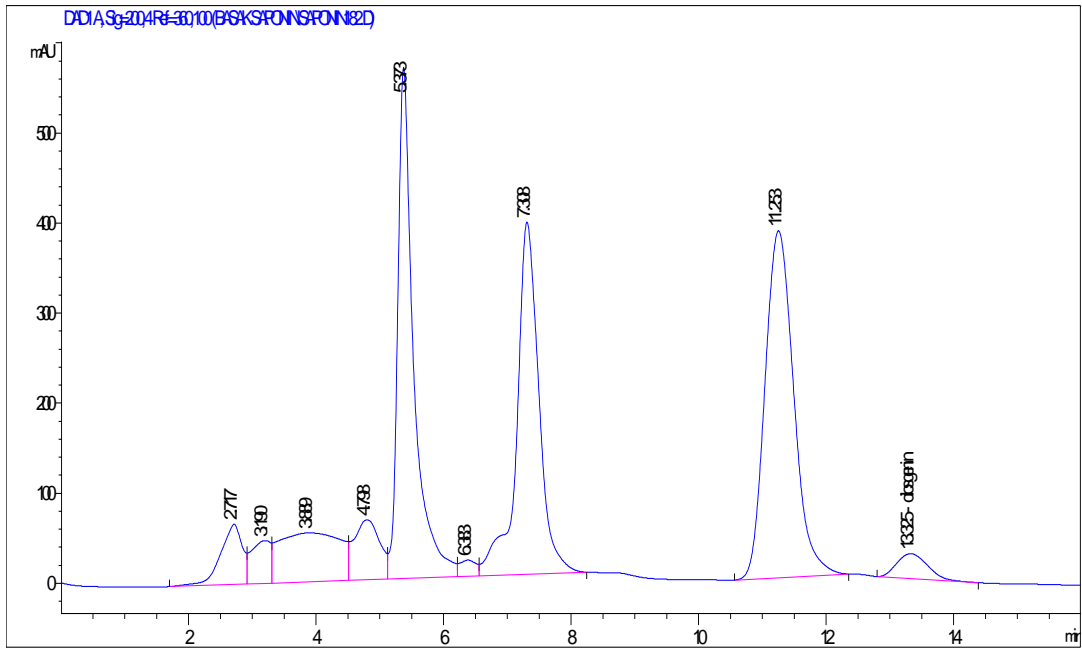
Diosgenin-topraküstü numuneleri için RT:13.469 R²: 0.99801, y: 16679.46256x+72.30034 Sig=200,4

Şekil 4.57. Diosgenin standart eğrisi ve regresyon denklemini-topraküstü numuneleri için

Topraküstü numunelerine ait YBSK analizine ait kromatogramlardan bazıları Şekil 4.58. ve Şekil 4.59.'da gösterilmiştir.

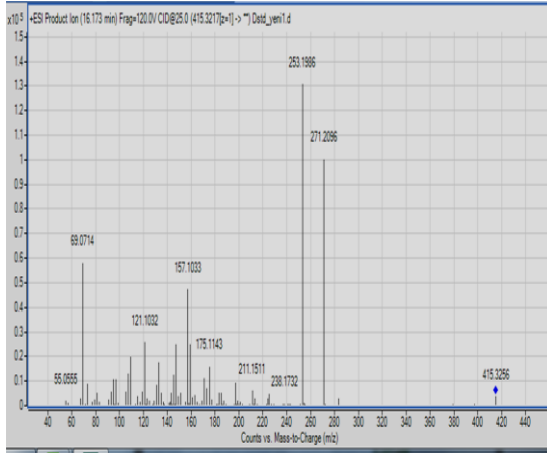


Şekil 4.58. *T. tenuis* topraküstü ekstrelerinin YBSK analizine ait kromatogram

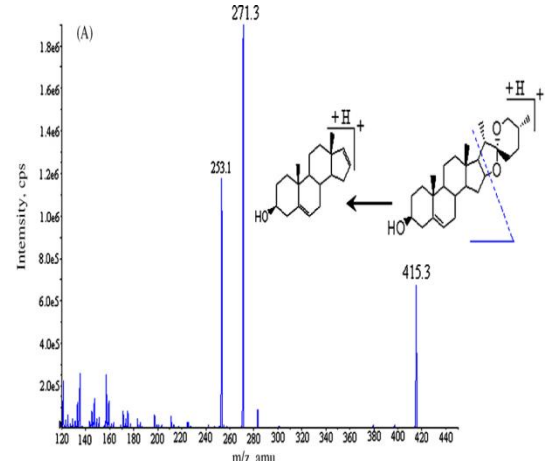


Şekil 4.59. *T. noeana* topraküstü ekstrelerinin YBSK analizine ait kromatogram

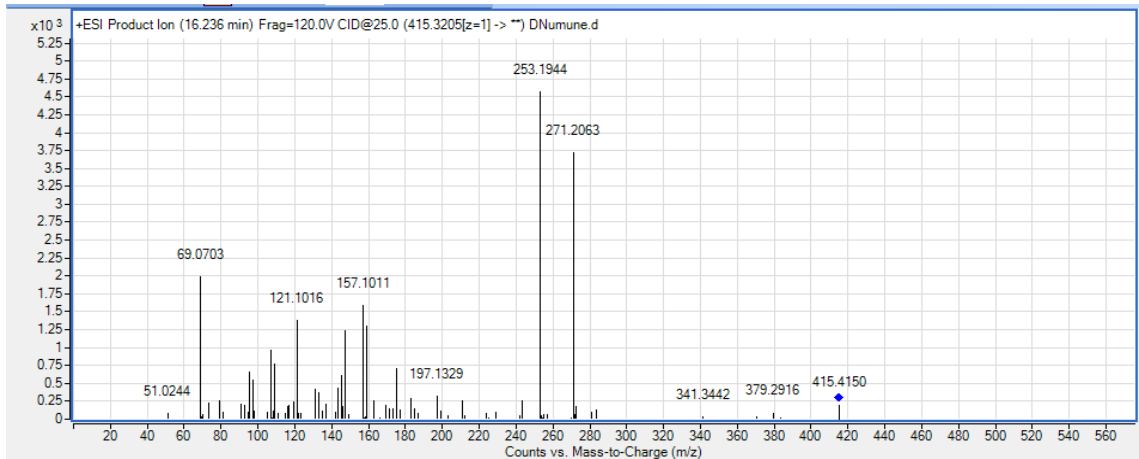
Bitkilerin toprak üstü kısımlarında daha fazla olmak üzere bütün ekstrelerde diosgenin pikinden hemen önce çıkan pikin aydınlatılabilmesi için Q-TOF LC-MS kullanılarak diosgeninin ve izomeri olduğunu düşündüğümüz bu maddenin LC-MS-MS spektrumları alınmıştır. Şekil 4.61 ve Şekil 4.62’de görüldüğü gibi bu iki maddenin birbirine çok benzer kimyasal yapıda olduğu görülmektedir.



Şekil 4.60. Ekstredeki diosgeninin MS spektrumu



Şekil 4.61. Diosgenin MS spektrumu



Şekil 4.62. Diosgeninin önünde çıkan bilinmeyen maddenin MS spektrumu

Ekstrelerde tesbit edilen diosgenin miktarları Çizelge 4.8’de görülmektedir.

Çizelge 4.8. *Trigonella* L. Seksiyon Bucerates taksonlarının tohum ve topraküstlerinde tesbit edilen diosgenin miktarları (mg/g).

Takson	Tohum	Topraküstü
<i>T. aurantiaca</i>	6.78±0.26	0.17±0.006
<i>T. arenicola</i>	5.32±0.22	0.07±0.005
<i>T. fischeriana</i>	8.42±0.51	0.06±0.003
<i>T. tenuis</i>	2.89±0.09	0.13±0.001
<i>T. cancellata</i>	2.15±0.12	0.12±0.02
<i>T. astroites</i>	3.74±0.02	0.23±0.01
<i>T. halophila</i>	2.23±0.02	0.06±0.001
<i>T. crassipes</i>	3.82±0.49	0.16±0.01
<i>T. polycarpa</i>	0.91± 0.04	0.04±0.004
<i>T. rigida</i>	7.48±0.16	0.07±0.01
<i>T. pamphylica</i>	7.47±0.70	-
<i>T. carica</i>	6.43±0.10	0.04±0.003
<i>T. arcuata</i>	3.26±0.12	0.09±0.007
<i>T. monantha</i>	6.62±0.21	0.13±0.01
<i>T. noeana</i>	2.13±0.06	0.12±0.002
<i>T. orthoceras</i>	5.46±0.11	0.14±0.007

Ortalama±Standart sapma

Bitkilerin tohum kısımlarında 0.9-8 mg/g aralığında, topraküstü kısımlarında ise 0.04-0.2 mg/g aralığında diosgenin tesbit edilmiştir. *T. pamphylica* toprak üstü kısmında diosgenin bulunmadığı belirlenmiştir.

4.5 DPPH* (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) Testi ile Antioksidan Etki Sonuçları

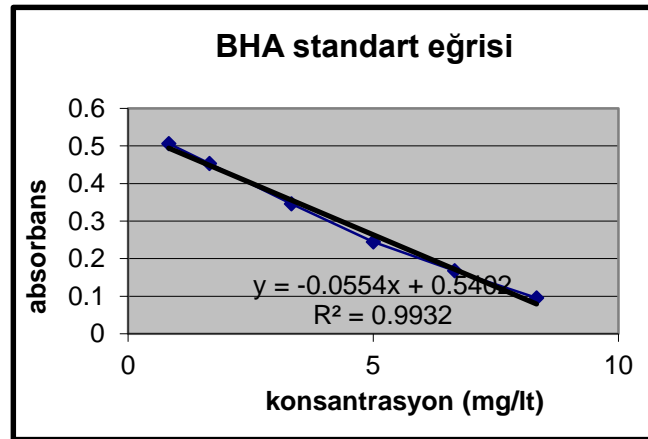
Ekstrelerin DPPH antioksidan testi %inhibisyon sonuçları Çizelge 4.9'da gösterilmektedir. Buna göre tohum ekstrelerinin %inhibisyon aralığı 36-71 arasında değişirken toprak üstü ekstrelerinde bu aralık 16-82 arasında değişmektedir.

Çizelge 4.9. *Trigonella* L. Seksiyon Bucerates taksonlarının DPPH antioksidan testi % inhibisyonları

Taksonlar	Tohum	Topraküstü
<i>T. aurantiaca</i>	54.21±5.29	32.38±4.78
<i>T. arenicola*</i>	67.61±1.51	58.91±5.50
<i>T. fischeriana</i>	60.82±.73	16.88±2.91
<i>T. tenuis</i>	61.78±4.84	37.02±6.09
<i>T. cancellata</i>	50.71±6.36	33.28±3.24
<i>T. astroites</i>	64.72±5.75	50.38±4.46
<i>T. halophila*</i>	58.61±5.41	54.17±3.92
<i>T. crassipes</i>	56.81±3.65	26.67±4.27
<i>T. polycarpa*</i>	60.23±1.7	82.43±0.23
<i>T. rigida*</i>	68.50±4.54	19.36±1.43
<i>T. pamphylica*</i>	61.37±3.76	47.06±6.42
<i>T. carica*</i>	71.38±4.20	49.13±3.75
<i>T. arcuata</i>	41.47±3.53	19.98±4.60
<i>T. monantha subsp. monantha</i>	51.93±4.10	22.18±4.30
<i>T. monantha subsp. noeana</i>	45.91±3.85	32.98±4.82
<i>T. orthoceras</i>	36.28±5.24	21.24±3.55

Ortalama±Standart sapma

* Endemik türler



Şekil 4.63. BHA için kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi

Yapılan tüm deneylerin istatistik çalışmalarında tüm ölçümleri temsil edecek bir değer verebilmek için öncelikle seriler arasındaki farklılıklar Tekrarlanan Ölçümlü Varyans analizi testi ile değerlendirildi ve anlamlı farklılıklar tespit edildi. Bu sonuca göre ortalama ve standart sapma değerleri serilerden elde edilen ortalama değerlerinin ortalaması ve standart sapması şeklinde hesaplandı.

5. TARTIŞMA

Trigonella taksonları üzerinde yapılmış araştırmalar incelendiğinde en çok çalışma yapılan ve tanınan taksonun *T. foenum-graecum* olduğu bunun yanı sıra *T. corniculata*, *T. disperma*, *T. hamosa*, *T. grandifolia*, *T. maritima*, *T. laciniata*, *T. glabra*, *T. stellata*, *T. cylindracea*, *T. polyceratia*, *T. arabica*, *T. cretica* taksonlarının da çalışmalara konu olduğu gözlenmiştir. Ayrıca tez konusu oluşturan Bucerates seksiyonuna ait *T. monantha* sub. sp *monantha* taksonu ile de çalışma yapıldığı tesbit edilmiştir.

Bugüne dek araştırılan *Trigonella* taksonlarında primer metabolitlerden yağ, lif, karbonhidrat, müsilaj, protein, fosforlu organik bileşikler, kolin, sekonder bileşiklerden ise flavonoit, saponin, alkaloid, kumarin ve steroller içerdiği görülmektedir. Antidiyabetik, hipokolesterolemik, antioksidan, antitümör, antimikrobiyal, immunomodülatör, antienflamatuar, antipiretik, gastroprotektif, antifertilite ve nematosit etkilerinin saptanmış olması *Trigonella* taksonlarının bilimsel açıdan araştırılmaya açık bitki grubu olduğunu ortaya koymaktadır (7-22, 79).

Bu tez konusunu *Trigonella* cinsinin Bucerates seksiyonunun 6'sı endemik olan 16 farklı taksonu oluşturmuştur ve bu bitkilerden günümüze kadar sadece bir taksonu fitokimyasal ve biyoaktivite açısından incelenmiştir.

Bu çalışmada öncelikle *Trigonella* cinsinin Bucerates seksiyonuna ait bitkilerin tohum ve topraküstü kısmının ana etken madde tarama testleri yapılmıştır. Ekstrelerin hiçbirinde siyanogenetik, antrasenozit, kardiyoaktif heterozitler, tanen, alkaloid ve nişasta tesbit edilmemişken, bazı ekstrelerde antosiyanozitlere ve oza rastlanmıştır. Ayrıca ekstrelerin hepsinde flavonoit, kumarin heterozitleri ve saponin olduğu belirlenmiştir. Ana etken madde çalışmalarının literatür verileriyle uyumlu olduğu ancak diğer çalışmalarda alkaloid tesbit edilmişken tezi oluşturan taksonlarda bulunmadığı tesbit edilmiştir (7-15).

Trigonella cinsine ait dünyada yapılmış total flavonoit ve total fenol çalışmaları incelendiğinde çok farklı sonuçlar göze çarpmaktadır. Özellikle total flavonoit açısından aynı takson (*T. foenum-graecum*) üzerinde yapılmış olan çalışmaların sonuçlarının farklı olması bu çalışmayı tekrar yapma gereği doğurmuştur. Yapılmış olan

araştırmalarda *T. foenum-graecum* tohumlarının farklı ekstrelerinde bulunan maksimum flavonoit miktarı 0.9-19 mg/g arasında bulunmuş iken, tez alışmamızda Bucerates seksiyonuna ait taksonların total flavonoit miktarları en düşük *T. rigida* ve *T. orthoceras* bitkilerinin toprak üstü kısımlarında olmak üzere 45 mg/g civarında en yüksek ise *T. halophila* tohum kısmında olmak üzere 120 mg/g civarında bulunmuştur (51).

řu ana kadar yapılmış total fenol çalışmaları total flavonoit çalışmalarından daha fazladır ve bu çalışmalarda da farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Tez alışmamızda elde edilen total fenol sonuçları diğer bir çok araştırıcının elde ettiği sonuçlara çok yakındır. Genellikle *T. foenum-graecum* üzerine yapılmış çalışmalarda bitkinin tohumunda 0.48-81.3 mg/g arasında total fenol sonuçları gözlenirken toprak üstü ve yaprak kısmında bu miktar 1.58-180 mg/g arasında gözlenmektedir. Yaptığımız total fenol çalışmasında ise Bucerates seksiyonu taksonlarında bu miktar total flavonoit sonuçları ile uyumlu olarak yine en düşük *T. orthoceras* toprak üstü kısmında (60 mg/g) en yüksek ise *T. halophila* tohum kısmında (175 mg/g) total fenol bulunmuştur. Ancak araştırma bitkilerinden olan *T. monantha* subsp. *monantha* ile yapılmış bir çalışmada topraküstü kısmında total fenol değer 22.36 mg/g bulunmuş iken tez çalışmamızdaki değer 82.47 mg/g olarak tesbit edilmiştir (79).

YBSK analizleri ile bitkilerin fenolik bileşik içerikleri kalitatif ve kantitatif olarak incelenmiştir. Bitkilerin hepsinin tohum ve topraküstü kısımlarında gallik asit, kateşin ve şiringik asit (sırasıyla 0.6-20.1, 1.6-20.4, 0.03-7.04 mg/g aralığında) tesbit edilmiştir. En yüksek değerler gallik asit açısından *T. rigida* bitkisinin tohum kısmı, kateşin için *T. fischeriana* topraküstü kısmı, şiringik asit için *T. aurantiaca* tohum kısmında bulunmaktadır. Bunun yanısıra bitkilerin bazılarının tohumlarında ve/veya topraküstü kısımlarında protokateşik asit, viteksin, mirsetin, kersetin, luteolin, apigenin, kemferol, izoramnetin ve formononetin olduğu belirlenmiştir. Protokateşik asit sadece 4 bitkinin, viteksin ise sadece 3 bitkinin, formononetin ise 5 bitkinin topraküstü kısımlarında tesbit edilmiştir. Bitkilerin tohum kısımlarında bu üç standarta (protokateşik asit, viteksin, formononetin) rastlanmamıştır. Protokateşik asit bitkilerde 0.1 mg/g, viteksin 0.2-0.4 mg/g, formononetin ise 0.04-0.09 mg/g civarında bulunduğu belirlenmiştir. Bunların dışında bitkilerde mirsetin 2.2-10.6 mg/g, kersetin 0.5-6.3 mg/g, luteolin 0.1-2 mg/g, apigenin 0.031-2 mg/g, izoramnetin 0.08-1.8 mg/g aralığında

olduğu bulunmuştur. Kemferol ise sadece *T. astroites* ve *T. halophila* bitkilerinin tohum ve topraküstü kısımlarında tesbit edilmiştir. (0.16-1.4 mg/g aralığında)

Dünyada *Trigonella* cinslerinin fenolik bileşikleri ile ilgili yapılmış çalışmalar incelendiğinde tez çalışmamızda tesbit ettiğimiz bileşiklerin hepsi diğer araştırmacılar tarafından diğer *Trigonella* taksonlarında tesbit edilmiştir. Rababah ve arkadaşları *T. foenum-graecum* tohumlarının metanol ekstresinin YBSK analizinde 1.7 mg/100g gallik asit, 4 mg/100g protokateşik asit, 0.4 mg/100g kateşin, 35.8 mg/100g gentisik asit, 0.7 mg/100g klorojenik asit, 55.8 mg/100g vanilik asit, 0.3 mg/100g şiringik asit tesbit etmişlerdir (67). Tez çalışmamızın sonuçları ile kıyasladığımızda şiringik asit değeri açısından çok benzer, gallik asit, kateşin, protokateşik asit, viteksin değerlerinin çalışmamızda daha yüksek, klorojenik asitin ise çalışmalarda incelediğimiz taksonların ekstralarında hiç bulunmadığı tesbit edilmiştir. Diğer bir çalışmada *T. corniculata* bitkisinin tohumlarında 45 µg/g kemferol, 105µg/g kersetin, *T. foenum-graecum* tohumlarında ise 100µg/g kemferol, 120µg/g kersetin bulunurken, çalışmamızda incelediğimiz bitkilerde kersetin miktarı en az 5 kat daha fazla, kemferol miktarı ise bu çalışmaya yakın değerler olarak tespit edilmiştir (63).

Bunların dışında yapılmış diğer çalışmalarda *T. foenum-graecum* tohumlarında daidzein, genistein, biokanin A, orientin, naringenin gibi fenolik bileşikler bulunurken, araştırma bitkilerimizde bu maddeler bulunmamaktadır (57, 58, 60).

YBSK analizi ile diosgenin içerikleri tespit analizlerimizde *T. pamphylica* bitkisinin topraküstü kısmı dışında bütün bitkilerin her iki kısımlarında da diosgenin içeriği bulunmuştur. Tohum kısımlarında bulunan diosgenin miktar aralığı 2.13-8.42 mg/g iken topraküstü kısımlarında bulunan miktar aralığı 0.04-0.23 mg/g'dır. En yüksek diosgenin değeri *T. fischeriana* bitkisinin tohum, en düşük diosgenin değeri ise *T. carica* bitkisinin topraküstü kısmında olduğu belirlenmiştir. Literatürde *Trigonella* cinsi ile ilgili yapılmış diosgenin çalışmaları incelendiğinde sadece *T. foenum-graecum* bitkisi ile araştırmaların bulunduğu görülmüştür. *T. foenum-graecum*'un çeşitli kısımlarında 0.6-21 mg/g aralığında diosgenin içerdiği kayıtlıdır (81, 82). Bu değerlerin bizim tesbit ettiğimiz tohum kısımları için olan değerlerle uyumlu olduğu görülürken, topraküstü kısımlar için elde ettiğimiz diosgenin değerlerinden yüksek olduğu görülmüştür. Dünyada Meksika, Orta Amerika, Çin, Hindistan, Japonya gibi ülkeler için *Dioscorea* sp, Hindistan'da *Costus speciosus* türü, Tropik Amerika, Brezilya gibi

ülkelerde *Kallstroemia pubescens* türü, Güney Amerika'da *Trillium* türleri diosgenin kaynağı olan türlerdir (2). Diosgenin, steroidlerin sentezinde hammadde olarak kullanılan bir bileşik olup antienflamatuvar, antiviral, immunomodülatör, sitotoksik etkilere sahiptir, aynı zamanda antineoplastik olarak da bilinmektedir. Kolesterol metabolizması kontrolünde de önemli rol oynamaktadır. Kortizon ve seks hormonları gibi steroidal ilaçların yarı sentez başlangıç maddeleri olması nedeniyle ekonomik açıdan da önemli bir bileşiktir (2). Ülkemizde yetişmeyen bu türlerin boşluğunu *Trigonella* türlerinin özellikle tohum kısımlarının doldurabileceği sonucu elde edilen sonuçlarda görülmektedir.

Tez konusunu oluşturan taksonlardan hazırlanan ekstrelerin serbest radikal süpürücü aktivitesini belirlemek için DPPH testi kullanılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde görülmüştür ki bitkilerin tohum kısımlarının antioksidan aktivitesi topraküstü kısımlarından daha fazladır. Ekstrelerin % inhibisyonu 16.88-82.43 aralığında değişmektedir. Naidu ve arkadaşlarının *T. foenum-graecum* tohumları ile yaptığı çalışmada % 64 inhibisyon tesbit etmiştir ve bizim elde ettiğimiz değerlerle uyumluluğu dikkat çekicidir (42). Etken madde-aktivite ilişkisi açısından ekstreler değerlendirilirse analiz ettiğimizde total fenol miktarı yüksek olan *T. astroites* tohum ekstresinin DPPH aktivitesinin de yüksek olduğu görülmüştür. *T. polycarpa*, *T. astroites*, *T. arenicola* bitkilerinin topraküstü ekstrelerinin total fenol ve total flavonoit değerleri yüksek iken DPPH aktivitelerinin de yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Bunun yanında total flavonoit açısından *T. arcuata*, *T. noeana*, *T. orthoceras* tohum ekstrelerinin düşük değeri karşısında bu ekstrelerin DPPH aktivitelerinin de düşük olduğu görülmüştür. Aynı şekilde total fenol değeri açısından *T. fischeriana*, *T. rigida*, *T. arcuata*, *T. monantha* ve *T. orthoceras* bitkilerinin topraküstü kısımlarının değerlerinin düşük olduğu görülürken, aynı ekstrelerin DPPH aktiviteleri de düşüktür. Genel olarak ekstrelerin çoğunda total fenol ve total flavonoit değerleri ile DPPH aktiviteleri arasında pozitif bir korelasyon görülmüştür (42).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Legüminosae familyasının bir cinsi olan *Trigonella* cinsinin taksonları içerdiği etken maddeler ve sahip olduğu aktiviteler nedeniyle ilgi çekici hale gelmektedir. Literatür incelendiğinde *Trigonella* taksonlarında primer metabolitlerden yağ, lif, karbonhidrat, müsilaj, protein, fosforlu organik bileşikler, kolin, sekonder bileşiklerden ise flavonoit, saponin, alkaloid, kumarin ve steroller içerdiği görülmektedir. Ayrıca antidiyabetik, hipokolesterolemik, antioksidan, antitümör, antimikrobiyal, immunomodülatör, antienflamatuar, antipiretik, gastroprotektif, antifertilite ve nematosit etkileri saptanmıştır (7-22).

Türkiye’de *Trigonella* cinsinin 21’i endemik olmak üzere 54 taksonu bulunmaktadır, bu taksonlardan ülkemizde sadece dünyada da en çok tanınan ve araştırılan takson olan *T. foenum-graecum* araştırılmıştır. *Trigonella* cinsinin özellikle fenolik bileşikleri ve diosgenin içerikleri açısından zengin olduğu görüldüğü için etken madde açısından araştırmamız bu yönde planlanmıştır.

Tez materyalleri ile yaptığımız etken madde tarama çalışmamızda incelediğimiz bütün taksonlarda olduğu gibi *T. halophila*, *T. astroites* ve *T. pamphylica* taksonun her iki kısmında da flavonoitin olduğunu gösteren renkler görülmüştür. Total fenol ve total flavonoit çalışmalarımız sonucunda tohum ve topraküstü kısımlarının her ikisinde de en yüksek miktarın *T. halophila*, *T. astroites* ve *T. pamphylica* taksonlarında olduğu görülmüştür.

Fenolik bileşiklerin YBSK analiz sonuçları incelendiğinde taksonların hepsinde araştırılan bileşiklerin bir çoğu tespit edilmiştir. Total fenol ve total flavonoit açısından en zengin taksonlar olan *T. halophila* ve *T. astroites*’in tohum kısmında protokateşik asit ve vitesin dışında araştırılan bütün bileşiklere rastlanmıştır. Bu iki bitkinin tohum kısımlarının fenolik bileşikler açısından değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Taksonların her iki kısmının diosgenin açısından YBSK ile analiz sonuçları incelenmiştir. Bütün bitkilerin tohum kısımlarının içerdiği diosgenin miktarının (2.13-8.42 mg/g), dünyada yapılmış *T. foenum-graecum* bitkisinin çeşitli kısımlarının diosgenin miktarı (0.6-21 mg/g) ile kıyaslandığında, diosgenin maddesinin tez konusunu oluşturan bitkilerin tohum kısımlarının dikkat çekici yönü olduğu

görülmektedir. Özellikle *T. fischeriana*, *T. rigida*, *T. pamphylica* taksonlarının tohum kısımlarının (8.42, 7.48, 7.47 mg/g) önemli diosgenin kaynağı olduğu görülmektedir.

Çalışma taksonlarının ekstrelerinin DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Ekstrelerin radikal süpürücü aktivitesinin ortaya konması için belirlenen % inhibisyon sonuçları 16.88-82.43 aralığında değiştiği görülmektedir. *T. polycarpa* topraküstü, *T. rigida* ve *T. arenicola* tohum kısımlarının (% inh. 82.43, 68.50, 67.61) söz konusu aktivite için değerlendirilmesi önerilmektedir. Özellikle bu etkiden sorumlu bileşiklerin fenolik bileşikler olabileceği ve daha ileri çalışmalarda bu araştırmaların yapılmasının uygun olduğu sonucuna ulaşılmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. **Bown D.** “Encyclopedia of Herbs&Their Uses” London, First Edition, *Darling Kindersley Limited*, **2002**; 393.
2. **Evans WC.** Trease and Evans Pharmacognosy. *University of Nottingham*, UK. 15. Edition, **2002**; 26.
3. **Huber-Morath A.** *Trigonella L.* in:., Flora of Turkey and The East Aegean Island Vol.3. (Davis PH, ed.) **1969**; Edinburgh: *Edinburgh University Press*.; 452-482.
4. **Davis PH, Mill RR, Tan K.** Flora of Turkey and the East Aegean Island. Edinburgh: *Edinburgh University Press*, Vol 10, **1988**; 191-193.
5. **Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC.** Legüminosae. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. (Suplement 2)Edinburgh: *Edinburgh University Press*, Vol 11.**2000**; 193.
6. **Basch E, Ulbricht C, Kuo G, Szapary P, Smith M.** Therapeutic application of fenugreek. *Alternative Medicine Review*. **2003**; 8, 1, 20-27.
7. **Srinivasan K.** Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): A review of health beneficial physiological effects. *Food Reviews International*. **2006**; 22, 203-224
8. **Baytop T.** Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün. İstanbul: *Nobel Tıp Kitapevleri*, **1999**; 171.
9. **Sulieman AME, Ali AO, Hemavathy J.** Lipid content and fatty acid composition of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds grown in Sudan. *Intenational Journal of Food Science and Technology*. **2008**; 43, 380-382.
10. **Brummer Y, Cui W, Wang Q.** Extraction, purification and physicochemical characterization of fenugreek gum. *Food Hydrocolloids*. **2003**; 17, 229-236.
11. **Naeem A, Ahmad E, Ashraf MT, Khan RH.** Purification and characterization of mannose/glucose-specific lectin from seeds of *Trigonella foenum-graecum*. *Biochemistry*. **2007**; 72, 1, 44-48.
12. **Ahmadiani A, Rustaiyan A, Karimian M, Kamalinejad M.** Volatile constituents from the oil of *Trigonella foenum-graecum L.* *J.Essent.Oil Res*. **2004**; 16, 356-357.

13. **Kaufmann B, Rudaz S, Cherkaoui S, Veuthey J, Christen P.** Influence of Plant Matrix on Microwave-assisted extraction process. The case of diosgenin extracted from (Fenugreek) (*Trigonella foenum-graecum* L.) *Phytochem. Anal.* **2007**, 18, 70-76.
14. **Prati S, Baravelli V, Fabbri D, Schwarzinger C, Brandolini V, Maietti A, Tedeschi P, Benvenuti S, Macchia M, Marotti I, Bonetti A, Catizone P, Dineli G.** Composition and content of seed flavonoids in forage and grain legume crops. *J. Sep. Sci.* **2007**; 30, 491-501.
15. **Khurana SK, Krishnamoorthy V, Parmar VS, Sanduja R, Chawla HL.** 3,4,7-Trimethylcoumarin from *Trigonella foenum-graecum* stems. *Phytochemistry*, **1982**; 21 ,8, 2145-2146
16. **Sathiyamoorthy P, Evgi HL, Schlesinger P, Kedar I, Gopas J, Pollack Y, Goldhirsh AG.** Screening for cytotoxic and antimalarial activities in desert plants of the negev and bedouin market plant products. *Pharmaceutical Biology.* **1999**, 37, 3, 188-195.
17. **Aqil F, Ahmad I.** Broad-spectrum antibacterial and antifungal properties of certain traditionally used Indian medicinal plants. *World Journal of Microbiology&Biotechnology.* **2003**; 653-657.
18. **Bin-Hafeez B, Haque R, Parvez S, Pandey S, Sayeed I, Raisuddin S.** Immunomodulatory effects of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) extract in mice. *International Immunopharmacology.* **2003**; 3, 57-265.
19. **Ahmadiani A, Javan M, Semnianian S, Barat E, Kamalinejad M.** Anti-inflammatory and antipyretic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaves extract in the rat. *Journal of Ethnopharmacology.* **2001**; 75, 283-286.
20. **Pandian RS, Anuradha CV, Viswanathan P.** Gastroprotective effect of fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*) on experimental gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology.* **2002**; 81, 393-397.
21. **Kassem A, Al-Aghbari A, Al-Habori M, Al-Mamary M.** Evaluation of the potential antifertility effect of fenugreek seeds in male and female rabbits. *Contraception.* **2006**; 73, 301-306.
22. **Zia T, Siddiqui IA, Hasnain N.** Nematicidal activity of *Trigonella foenum-graecum* L. *Phytotherapy Research.* **2001**; 15, 538-540.
23. **Heywood VH.** Flowering Plants of the World. *Oxford:Oxford University*, **1979**
24. **Akan H, Ekici M, Aytac Z.** Türkiye'nin Yabani Çemenleri. **2009**; Ece Matbaası, Ankara
25. **Öztürk E.** Güzeloluk-sorgun arasında kalan bölgenin floristik yapısı.Yüksek Lisans Tezi, Me. Ü. Fen Blm Enst. Biyoloji Anabilim Dalı sf:73.

26. **Viney DE.** An Illustrated Flora of North Cyprus, Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Germany, **1994**; 162-165
27. **Koppel R, Huber E, Benyamini L, Ferber I, Stein Y.** *Flora Palaestina Part 3*, **1977**, Jerusalem
28. **Boissier E.** Floras Orientalis, **1963**
29. **Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moore DM, Valentine DH, Walters SM, Webb DA.** Flora Europaea Vol.2, *Cambridge University Press*, **1968**, 150-152
30. **Ekim T, Koyuncu M, Vural M, Duman H, Aytaç Z, Adıgüzel N.** Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı. *Barişcan ofset*. Ankara **2000**.
31. **Jouad H, Haloui M, Rhiouani H, Hilaly JE, Eddouks M.** Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez-Boulemane). *Journal of Ethnopharmacology*. **2001**; 77, 175-182
32. **Lev E, Amar Z.** Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in the Kingdom of Jordan. *Journal of Ethnopharmacology*. **2002**, 82, 131-145
33. **Yuldashev MP.** Flavanoids of the aerial part of *Trigonella grandiflora*. *Chemistry of Natural Compounds*. **2002**, 38, 3, 291-292.
34. **Ghorbani A,** Studies on pharmaceutical ethnobotany in the region of Turkmen Sahra, North of Iran (Part 1): General results. *Journal of Ethnopharmacology*. **2005**; 102, 58-68
35. **Banakar V, Malagi U, Naik RK.** Awareness and usage of indigenous hypoglycemic plant materials by diabetics of North Karnataka. *J.Hum.Ecol.* **2007**; 22, 4, 313-316
36. **Kumar B, Vijayakumar M, Govindarajan R, Pushpangadan P.** Ethnopharmacological approaches to wound healing-Exploring medicinal plants of India. *Journal of Ethnopharmacology*. **2007**; 114, 103-113.
37. **Pieroni A, Houlihan L, Ansari N, Hussain B, Aslam S.** Medicinal perceptions of vegetables traditionally consumed by South-Asian migrants living in Bradford, Northern England. *Journal of Ethnopharmacology*. **2007**; 113, 100-110
38. **Singh KN, Lal B.** Ethnomedicines used against four common ailments by the tribal communities of Lahaul-Spiti in western Himalaya. *Journal of Ethnopharmacology*. **2008**; 115, 147-159
39. **Sridhar R, Lakshminarayana G.** Lipid classes, fatty acid and tokopherols of leaves of six edible plant species. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, 41, 61-63

40. **Bageci E, Bruchi L, Özçelik H, Aitzetmuller K, Vural M, Şahim A.** A study of fatty acid and tocopherol patterns of some Fabaceae (Leguminosae) plants from Turkey. *Grasas y Aceites*. **2004**; 378-384
41. **Chetterjee S, Variyar PS, Sharma A.** Bioactive lipid constituents of fenugreek. *Food Chemistry*, **2010**; 119, 349-353
42. **Naidu MM, Shyamala BN, Naik JP, Sulochanamma G, Srinivas P.** Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *Food Science and Technology*. **2010**; 1-6
43. **Ciftci ON, Przybylski MR, Acharya S.** Characterization of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed lipids. *J.Am.Oil Chem.Soc.* **2011**; 88, 1603-1610
44. **Liu Y, Kakani R, Nair GM.** Compounds in functional food fenugreek spice exhibit anti-inflammatory and antioxidant activities. *Food chemistry*. **2012**; 131, 1187–119
45. **El Nasri NA, El Tinay AH.** Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) protein concentrate. *Food chemistry*. **2007**; 103, 2
46. **Gopu CL, Gilda SS, Paradkar AR, Mahadik KR.** Development and validation of a densitometric TLC method for analysis of trigonelline and 4-hydroxyisoleucine in fenugreek seeds. *Acta Chromatographica*. **2008**; 20, 4, 709-719.
47. **Manda KR, Adams C, Ercal N.** Biologically important thiols in aqueous extracts of spices and evaluation of their in vitro antioxidant properties. *Food Chemistry*. **2010**; 118, 589-593
48. **Haeri MR, Izaddoost M, Ardekani MRS, White K.** Improved isolation of 4-hydroxyisoleucine from *Trigonella foenum-graecum* seeds. *Chemistry of Natural Compounds*. **2011**; 47, 1, 157-158
49. **Gupta KK, Bhattacharjee S, Kar S, Chakrabarty S, Thakur P, Bhattacharyya G, Srivastava SC.** Mineral composition of eight common spices. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. **2003**; 34, 5&6, 681-693.
50. **Marzougui N, Ferchichi A, Guasmi F, Beji M.** Morphological and chemical diversity among 38 Tunisian cultivars of *Trigonella foenum-graecum* L. *Journal of Food Agriculture & Environment*. **2007**; 5, 248-253.
51. **Dixit P, Ghaskadbi S, Mohan H, Devasagayam TPA.** Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds. *Phytother. Res.* **2005**; 19, 977-983.
52. **Dixit PP, Devasagayam PA, Ghaskadbi S.** Formulated antidiabetic preparation Syndrex® has a strong antioxidant activity. *European Journal of Pharmacology*. **2008**; 581, 216-225

53. **Hadriche O, Bouaziz M, Jamoussi K, ElFeki A, Sayadi S, Makni-Ayedi F.** Lipid-lowering and antioxidant effects of an ethyl acetate extract of fenugreek seeds in high-cholesterol-fed rats. *J. Agric. Food. Chem.* **2010**; 58, 2116-2122
54. **Tohamy AA, Ibrahim SR, Moneim AEA.** Studies on the effect of *Salvia aegyptiaca* and *Trigonella foenum-graecum* extracts on adult male mice. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* **2012**; 02, 05, 36-43
55. **Dasgupta N, De B.** Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: a comparative study. *Food Chemistry.* **2007**; 101, 471-474.
56. **Subhasree B, Baskar R, Keerthana RL, Susan RL, Rajasekaran P.** Evaluation of antioxidant potential in selected green leafy vegetables. *Food Chemistry.* **2009**; 115, 1213-1220
57. **Mazur WM, Duke JA, Wahala K, Rasku S.** Isoflavonoids and lignans in legumes: Nutritional and health aspects in humans. *Nutritional Biochemistry.* **1998**; 9, 193-200
58. **Shang M, Cai S, Han J, Zhao Y, Zheng J, Namba T, Kadota S, Tezuka Y, Fan Z.** Studies on flavonoids from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) *Zhongguo Zhongyao Zazhi,* **1998**; 23, 10, 614-616
59. **Kawashyt SA, Abdalla MF, Din EMGE, Saleh NAM.** The chemosystematic of Egyptian *Trigonella* species. *Biochemical Systematics and Ecology.* **1998**; 26, 851-856
60. **Huang W, Liang X.** Determination of two flavone glycosides in the seeds of *Trigonella foenum-graecum* L. from various production localities. *Journal of Plant Resources and Environment.* **2000**; 9, 4, 53-54
61. **Han Y, Nishibe S, Noguchi Y, Jin Z.** Flavonol glycosides from the stems of *Trigonella foenum-graecum.* *Phytochemistry.* **2001**; 58, 577-580
62. **Baggett BR, Cooper JD, Hogan ET, Carper J, Paiva NL, Smith JT.** Profiling isoflavonoids found in legume root extracts using capillary electrophoresis. *Electrophoresis.* **2002**; 23, 1642-1651.
63. **Bajpai M, Mishra A, Prakash D.** Antioxidant and free radical scavenging activities of some leafy vegetables. *International Journal of Food Sciences and Nutrition.* **2005**; 56, 7, 473-481.
64. **Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R.** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry.* **2007**; 105, 940-949
65. **Tsiri D, Chinou I, Halabalaki M, Haralampidis K.** The origin of copper-induced medicarpin accumulation and its secretion from roots of young fenugreek seedlings are regulated by copper concentration. *Plant Science.* **2009**; 176, 367-374

66. **Chatterjee S, Variyar PS, Sharma A.** Stability of lipid constituents in radiation processed fenugreek seeds and turmeric: role of phenolic antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* **2009**; 57, 9226-9233
67. **Rababah TM, Ereifej KI, Esoh RB, Muhammad HA, Muhammad AA, Yang W.** Antioxidant activities, total phenolic and YBSK analyses of the phenolic compounds of extracts from common mediterranean plants. *Natural Product Research.* **2011**; 25, 6, 596-605
68. **Kumari M, Gupta S, Lakshmi J, Prakash J.** Iron bioavailability in green leafy vegetables cooked in different utensils. *Food Chemisrty.* **2004**; 86, 217-222
69. **Kaur C, Kapoor HC.** Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Sciences and Technology.* **2002**; 37, 153-161.
70. **Kaviarasan S, Vijayalakshmi K., Anuradha CV.** Polyphenol-rich extract of fenugreek seeds protect erythrocytes from oxidative damage. *Plant Foods for Human Nutrition.* **2004**; 59, 143-147
71. **Khatun M, Eguchi S, Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T.** Effect of thermal treatment on radical-scavenging activity of some spices. *Food Sci. Technol. Res.* **2006**; 12, 3, 178-185
72. **Kaviarasan S, Naik GH, Gangabhairathi R, Anuradha CV, Priyadarsini.** In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds. *Food Chemistry.* **2007**; 103, 31-37
73. **Souri A, Amin G, Farsam H, Barazandeh TM.** Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *Daru.* **2008**; 16, 2, 83-87
74. **Kırca A, Arslan E.** Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey. *International Journal of Food Science and Technology.* **2008**; 43, 2038-2046
75. **Casals BAC, Zevallos LC.** Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemisrty.* **2010**; 119, 1485-1490
76. **Aqil F, Ahmad I, Mehmood Z.** Antioksidant and free radical scavenging properties of twelve traditionally used indian medicinal plants. *Turk J. Biol.* **2006**; 30, 177-183
77. **Gupta S, Prakash J.** Studies on Indian Green Leafy Vegetables for Their Antioxidant Activity. *Plant Foods Hum Nutr.* **2009**; 64, 39-45.
78. **Nautiyal CS, Govindarajan R, Lavania M, Pushpangadan P.** Novel mechanism of modulating natural antioxidants in functional foods:involvement of plant growth promoting rhizobacteria NRRL B-30488. *J. Agric. Food Chem.* **2008**; 56, 4474-4481.

79. **Esmaeili A, Rashidi B, Rezazadeh S.** Biological activities of various extracts and chemical composition of *Trigonella monantha* subsp. *monantha* grown in Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research.* **2012**; 11, 4, 1127-1136
80. **Ortuno A, Oncina R, Botia JM, DelRio JA.** Distribution and changes of diosgenin during development of *Trigonella foenum-graecum* plants. Modulation by benzylaminopurine. *Food Chemistry.* **1998**; 63, 1, 51-54.
81. **Ortuno A, Oncina R, Botia JM, Rio JAD.** Regulation of the diosgenin expression in *Trigonella foenum-graecum* plants by different plant growth regulators. *Food Chem.* **1999**; 65, 227-232
82. **Oncina R, Botia JM, DelRio JA, Ortuno A.** Bioproduction of diosgenin in callus cultures of *Trigonella foenum-graecum* L. *Food Chemistry.* **2000**; 70, 489-492.
83. **Oncina R, Rio JAD, Gomez P, Ortuno A.** Effects of ethylene on diosgenin accumulation in callus cultures of *Trigonella foenum-graecum* L. *Food Chemistry.* **2002**; 76, 475-479.
84. **Gomez P, Ortuno A, Rio JAD.** Ultrastructural changes and diosgenin content in cell suspensions of *Trigonella foenum-graecum* L. by ethylene treatment. *Plant Growth Regulation.* **2004**; 44,93-99
85. **Taylor WG., Elder JL., Chang PR., Richards KW.** Microdetermination of Diosgenin from Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) Seeds. *J.Agric. Food Chem.* **2000**; 48, 5206-5210.
86. **Taylor WG, Zulyniak HJ, Richards KW, Acharya SN, Bittman S, Elder JL.** Variation in diosgenin levels among 10 accessions of fenugreek seeds produced in western Canada. *Journal Agricultural and food chemistry.* **2002**; 50, 21, 5994-5997
87. **Merklii A, Christen P, Kapetanidis I.** Production of diosgenin by hairy root cultures of *Trigonella foenum-graecum* L. *Plant Cell Reports.* **1997**; 16:632-636
88. **Murakami T, Kihisi A, Matsuda H, Yoshikawa M.** Medicinal foodstuffs Fenugreek seeds. (3):Structures of new furostanol-type steroid saponins, trigoneosides Xa, Xb, XIb, XIIa, XIIb, XIIIa, from the seeds of Egyptian *Trigonella foenum-graecum* L. *Chem. Pharm. Bull.* **2000**; 48,7,994-1000
89. **De D, De B,** Effect of ethephon on antioxidant enzymes and diosgenin production in seedlings of *Trigonella foenum-graecum*. *Food Chemistry,* **2003**; 82, 211-216
90. **Saxena VK, Shalem A.** Yamogenin 3-0- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 4)-0- α -D-xylopyranoside from the seeds of *Trigonella foenum-graecum*. *J.Chem.Sci.* **2004**; 116, 2, 79-82
91. **Adham NZ, Zaki RA, Naim N.** Microbial transformation of diosgenin and its precursor furastanol glycosides. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2009**; 25: 481-487

92. **De D, De B.** Elicitation of diosgenin production in *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings by heavy metals and signaling molecules. *Acta Physiol Plant.* **2011**; 33:1585–1590
93. **Kang L, Zhao Y, Pang X, Yu H, Xiong C, Zhang J, Gao Y, Yu K, Liu C, Ma B.** Characterization and identification of steroidal saponins from the seeds of *Trigonella foenum-graecum* by ultra high-performance liquid chromatography and hybrid time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* **2013**; 74, 257-267
94. **Chopra S, Ahmad FJ, Khar RK, Motwani SK, Mahdi S, Iqbal Z, Talegaonkar S.** Validated high-performance thin-layer chromatography method for determination of trigonelline in herbal extract and pharmaceutical dosage form. *Analytica Chimica Acta.* **2006**; 577, 46-51
95. **Ranjbar M, Karamian R, Hajmoradi Z.** Composition of the essential oil of *Trigonella disperma* from Iran. *Chemistry of Natural Compounds.* **2009**; 45, 1,116-117
96. **Mebazaa R, Mahmoudi A, Fouchet M, Santos MD, Kamissoko F, Nafti A, Cheikh RB, Rega B, Camel V.** Characterisation of volatile compounds in tunisian fenugreek seeds. *Food Chemistry,* **2009**; 1326-1336
97. **Al-Mazroa SA, Al-Wahaibi LH, Mousa AA, Al-Khathlan HZ.** Essential Oil of Some Seasonal Flowering Plants Grown in Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry,* **2012**
98. **Parmar VS, Jha HN, Sanduja SK, Sanduja R.** Trigo Coumarin a New Coumarin from *Trigonella foenum-graecum*. *Zeitschrift fuer Naturforschung Teil B Anorganische Chemie Organische Chemie* **1982**; 37, 521-3
99. **Khalki L, Mohamed S, Bennis M, Chait A, Sokar Z.** Evaluation of the developmental toxicity of the aqueous extract from *Trigonella foenum-graecum* (L.) in mice. *Journal of Ethnopharmacology.* **2010**; 131, 2, 321-325
100. **Tuğrul L, Özer A.** *Trigonella foenum-graecum* L. bitkisinin tohumlarının yurdumuzda ilaç hammaddesi olarak kullanılabilme olanakları. V. Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı 15-17 Kasım **1984**, Sanem matbaacılık. Ankara, sf 135-136.
101. **Ceyhan T, Sayar E, Kan Y, Kartal M, Altun ML, Aslan S, Cevheroğlu Ş.** Kültüre alınmış *T. foenum-graecum* L. bitkisinin tohumlarında atomik absorpsiyon spektrometri yöntemi ile element analizleri. XV. Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı, 6-9 Ekim **2004**, *Alp ofset matbaacılık*. Belek, Antalya, sf 112-115
102. **Özcan M.** Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey. *Food Chemistry.* **2004**, 84, 437-440.
103. **Zia, T, Hasnain, SN, Hasan, SK.** Evaluation of the oral hypoglycemic effect of *T. foenum-graecum* L. (Methi) in normal mice. *J. Ethnopharmacol.* **2001**; 75, 191–195.

104. **Vats V, Grover JK, Rathi SS.** Evaluation of antihyperglycaemic and hypoglycemic effect of *T.foenum-graecum* L., *Ocimum sanctum* L., *Pterocarpus marsupium* Linn in normal and alloxanized diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* **2002**; 79, 95–100.
105. **Sauvaire Y, Ribes G, Baccou JC, Loubatieeres-Mariani MM.** Implication of steroid saponins and saponinins in the hypocholesterolemic effect of fenugreek. *Lipids* **1991**; 26, 191–197.
106. **Sharma RD, Sarkar A, Hazra DK, Misra B, Singh JB, Maheshwari BB, Sharma K.** Hypolipidemic effect of fenugreek seeds:Chronic study in non-insulin dependent diabetic patients. *Phytotherapy Research*, **1996**; 10, 332-334
107. **Al-Habori M, Al-Aghbari M, Al-Mamary M.** Effects of fenugreek seeds and its extracts on plasma lipid profile:A study on rabbits. *Phytotherapy Research.* **1998**; 12, 572-575
108. **Prasanna M.** Hypolipidemic effect of Fenugreek:A clinical study. *Indian Journal of Pharmacology*, **2000**; 32:34-36
109. **Devi BA, Kamalakkannan N, Stanely P, Prince SM.** Supplementantation of fenugreek leaves to diabetic rats. Effects on carbonhydrate metabolic enzymes in diabetic liver and kidney. *Phytotherapy Research.* **2003**; 17, 1231-1233.
110. **Mohamad S, Taha A, Bamezai RNK, Basir SF, Baquer NZ.** Lower doses of vanadate in combination with *Trigonella* restore altered carbohydrate metabolism and antioxidant status in alloxan-diaetic rats. *Clinica Chimica Acta.* **2004**, 342, 105-114
111. **Boban PT, Nambisan B, Sudhakaran PR.** Hypolipidemic effect of chemically different mucilages in rats:a comparative study. *British Journal of Nutrition.* **2006**; 96, 1021-1029
112. **Hannan JMA, Ali L, Rokeya B, Khaleque J, Akhter M, Flatt PR, Abdel-Wahah YHA.** Soluble dietary fibre fraction of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed improves glucose homeostasis in animal models of type 1 and type 2 diabetes by delaying carbohydrate digestion and absorption, and enhancing insulin action. *British Journal of Nutrition.* **2007**, 97, 514-521
113. **Kochhar A, Nagi M, Sachdeva R.** Effect of supplementation of traditional medicinal plants on serum lipid profile in non-insulin dependent diabetics. *J. Hum.Ecol.*, **2007**; 22(1):35-40
114. **Kaviarasan S, Anuradha CV.** Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed polyphenols protect liver from alcohol toxicity:A role on hepatic detoxification system and apoptosis. *Pharmazie.* **2007**; 62, 299-304
115. **Modak M, Dixit P, Londhe J, Ghaskadbi S, Devasagayam TPA.** Indian herbs and herbal drugs used for the treatment of diabetes. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **2007**; 40, 163-173

116. **Venkatesan N, Devaraj NS, Devaraj H.** A fibre cocktail of fenugreek, guar gum and wheat bean reduces oxidative modification of LDL induced by an atherogenic diet in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **2007**; 294:145-153
117. **Eidi A, Eidi M, Sokhteh M.** Effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L) seeds on serum parameters in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition Research*. **2007**; 27, 728-733
118. **Vijayakumar MV, Bhat MK.** Hypoglycemic effect of a novel dialysed fenugreek seeds extracts is sustainable and is mediated, in part, by the activation of hepatic enzymes. *Phytotherapy Research*. **2008**; 22, 500-505.
119. **Wehash FE, Ismail I, Abo-Ghanema, and Rasha MS.** Some Physiological Effects of Momordica charantia and *Trigonella foenum-graecum* Extracts in Diabetic Rats as Compared with Cidophage®. *World Academy of Science, Engineering and Technology*. **2012**; 64
120. **Haeri MR, Limaki HK, White CJB, White KN.** Non-insulin dependent anti-diabetic activity of (2S, 3R, 4S) 4-hydroxyisoleucine of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *Phytomedicine*. **2012**; 571-574
121. **Hamza N, Berke B, Cheze C, Garrec RL, Umar A, Agli AN, Lassalle R, Jove J, Gin H, Moore N.** Preventive and curative effect of *T. foenum-graecum* L. Seeds in C57BL/6J models of type 2 diabetes induced by high-fat diet. *Journal of Ethnopharmacology*. **2012**; 142, 516-522
122. **Ravikumar P, Anuradha, CV.** Effect of fenugreek seeds on blood lipid peroxidation and antioxidants in diabetic rats. *Phytother. Res.* **1999**, 13, 197–201.
123. **Genet S, Kale RK, Baquer NZ.** Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: effect of vanadate and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). *Mol. Cell. Biochem.* **2002**; 236, 7–12.
124. **Thirunavukkarasu V, Anuradha CV, Viswanathan P.** Protective effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds in experimental ethanol toxicity. *Phytotherapy research*. **2003**; 17, 737-743
125. **Sabu MC, Kuttan R.** Antioxidant activity of Indian herbal drugs insrats with aloxan-induced diabetes. *Pharmaceutical Biology*. **2003**; 41 500-505.
126. **Khalaf NA, Shakya AK, El-Agbar Z, Farah H.** Antioxidant activity of some common plants. *Turk J. Biol.* **2008**, 32, 51-55.
127. **Xue W, Lei J, Li X, Zhang R.** *Trigonella foenum-graecum* seed extract protects kidney function and morphology in diabetic rats via its antioxidant activity. *Nutrition Research*. **2011**; 31, 555-562

128. **Reddy R, Srinivasan K.** Hepatoprotective and antioxidant effect of fenugreek (*Trigonella Foenum-Graecum*) seeds in mice under lithogenic condition. *Journal of Food Biochemistry*. **2011**; 35, 1619-1626
129. **Sindhu G, Ratheesh M, Shyni GL, Nambisan B, Helen A.** Anti-inflammatory and antioxidative effects of mucilage of *Trigonella foenum-graecum* (Fenugreek) on adjuvant induced arthritic rats. *International Immunopharmacology*. **2012**; 12, 205-211
130. **Devasena T, Menon VP.** Fenugreek affects the activity of β -glucuronidase and mucinase in the colon. *Phytotherapy Research*. **2003**; 17, 1088-1091
131. **Raju J, Jagan MR, Patlolla, Malisetty VS, Chinthalapally VR.** Diosgenin, a steroid saponin of *Trigonella foenum-graecum* (Fenugreek), Inhibits Azoxy methane-Induced Aberrant Crypt Foci Formation in F344 Rats and Induces Apoptosis in HT-29 Human Colon Cancer Cells. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. **2004**; 13 (8), 1392-1398
132. **Amin A, Alkaabi A, Al-Falasi S, Daoud SA.** Chemopreventive Activities of *Trigonella foenum-graecum* (Fenugreek) against breast cancer. *Cell Biology International*. **2005**, 29, 687-694.
133. **Aggarwal B., Shishodia S.** Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical Pharmacology*, **2006**; 71, 1397-1421
134. **Sebastian KS, Thampan RV.** Differential effects of soybean and fenugreek extracts on the growth of MCF-7 cells. *Chemico-Biological Interactions*. **2007**; 170, 135-143.
135. **Frias J, Villaluenga CM, Gulewicz P, Romero AP, Pilarski R, Gulewicz K, Valverde CV.** Biogenic amines and HL60 cytotoxicity of alfalfa and fenugreek sprouts. **2007**; 105, 959-967.
136. **Raju J, Bird RP.** Diosgenin, a naturally occurring furostanol saponin suppresses 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase expression and induces apoptosis in HCT-116 human colon carcinoma cells. *Cancer Letters*. **2007**; 255, 194-204.
137. **Sur P, Das M, Gomes A, Vedasiromoni JR, Sahu NP, Banerjee S, Sharma RM, Ganguly DK.** *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed extract as an antineoplastic agent. *Phytotherapy research*. **2001**; 15, 3, 257-259
138. **Mansouri S.** Inhibition of *Staphylococcus aureus* mediated by extracts of Iranian plants. *Pharmaceutical Biology*. **1999**, 37, 375-377.
139. **Packiyasothy EV, Kyle S.** Antimicrobial properties of some herb essential oils. *Food Australia*. **2002**; 54, 9, 384-387.
140. **Alzoreky ve Nakahara K.** Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*. **2003**; 80, 223-230

141. **Haouala R, Hawala S, El-Ayeb A, Khanfir R, Boughanmi N.** Aqueous and organic extracts of *Trigonella foenum-graecum* L. inhibit the mycelia growth of fungi. *Journal of Environmental Sciences*. **2008**; 20, 1453-1457
142. **Kanan GJM, Al-Najar RAWK.** In vitro and in vivo activity of selected plant crude extracts and fractions against *Penicillium italicum*. *Journal of Plant Protection Research*. **2009**; 49, 4, 341-352
143. **Sharma RD, Sarkar A, Hazra DK, Misra B, Singh JB, Maheshwari BB.** Toxicology evaluation of fenugreek seeds: a long term feeding experiment in diabetic patients. *Phytotherapy Research*, **1996**; 10, 519-520
144. **Tahiliana P, Kar A.** The combined effects of *Trigonella* and *Allium* extracts in the regulation of hyperthyroidism in rats. *Phytomedicine*. **2003**; 10, 665-668.
145. **Oda K, Matsuda H, Murakami T, Katayama S, Ohgitani T, Yoshikawa M.** Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. *Biol. Chem.* **2000**; 381, 67-74.
146. **Parvizpur A, Ahmadiani A, Kamalinejad M.** Probable role of spinal purinoceptors in the analgesic effect of *Trigonella foenum* (TFG) leaves extract. *Journal of Ethnopharmacology*. **2006**; 104, 108-112
147. **Mandegary A, Pournamdari M, Sharififar F, Pournourmohammadi S, Fardiar R, Sedigheh S.** Alkaloid and flavonoid rich fractions of fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum* L.) with antinociceptive and anti-inflammatory effects. *Food and Chemical Toxicology*. **2012**; 50, 2503–2507
148. **Ikeuchi M, Yamaguchi K, Koyama T, Sono Y, Yazawa K.** Effects of fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*) extract on endurance capacity in mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **2006**; 52, 287-292
149. **Laroubi A, Touhami M, Farouk L, Zrara I, Aboufatima R, Benharrel A, Chait A.** Prophylaxis effect of *Trigonella foenum-graecum* L. seeds on renal Stone formation in rats. *Phytotherapy Research*. **2007**; 21, 921-925.
150. **Tanker M, Şarer E, Atasi E, Yenen M, Özkal N, Kurucu S.** Farmakognozi Uygulama Örnekleri, *Ankara Üniversitesi Basımevi*, **1986**; Ankara
151. **Çubukçu B.** Analitik Farmakognozi (Bitkisel drogların kalitatif Fitokimyasal Analizleri). Üniversite yayın no: 3710, Fakülte yayın no: 62, Cilt I, II, Bakış, İstanbul, *İ.Ü. Basımevi ve Film merkezi*. **1992**
152. **Şener B, Tosun F, Küsmenoğlu Ş, Ergun F, Türköz S, Toker G, Baykal T, Bingöl F.** Drogların Morfolojik, Anatomik ve Kimyasal Analiz Örnekleri. *Gazi Üniversitesi, Seldem Ofset*, **1985**; Ankara

153. **Romani A, Vignolini P, Galardi C, Mulinacci N, Benedettelli S, Heimler D.** Germplasm characterization of zolfino landraces (*Phaseolus vulgaris* L.) by flavonoid content. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 3838-3842.
154. **Gikas E, Bazoti FN, Papadopoulos N, Alesta A, Economou G, Tsarbopoulos.** Quantitation of the flavonols quercetin and kaempferol in the leaves of *Trigonella foenum-graecum* by high-performance liquid chromatography-Diode array detection. *Analytical Letters.* **2011**; 44:1463-1472
155. **Yang DJ, Lu TJ, Hwang LS.** Effect of endogenous glycosidase on stability of steroidal saponins in Taiwanese yam (*Dioscorea pseudojaponica* Yamamoto) during drying processes. *Food Chemistry.* **2009**; 113, 155-159.
156. **Kim DO, Jeong SW, Lee CY.** Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry.* **2003**; 81, 321-326.
157. **Kahkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M.** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 3954-3962.
158. **Crozier A, Jensen E, Lean MEJ, Mc Donald MS.** Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* **1997**; 761, 315-321
159. **Broecker S, Herre S, Pragst F.** Toxicological Screening with the Agilent 6500 Series Accurate-Mass Q-TOF LC/MS and Personal Compound Database and Library using the Broecker, Herre and Pragst Accurate Mass Spectral Library. Institut für Rechtsmedizin. Berlin, Germany. **2010**
160. **Proestos C, Boziaris IS, Nychas GJE, Komaitis M.** Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Food Chemistry.* **2006**, 95, 664-671.
161. **Yen GC, Duh PD.** Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, 42, 629-632.

ÖZGEÇMİŞ

04.12.1981 yılında Kayseri’de doğdu. İlkokulu Kayseri Anayurt İlkokulunda, orta okul ve liseyi Mersin Atatürk Lisesinde tamamladıktan sonra 1999 yılında Mersin Üniversitesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2003 yılında lisans eğitiminden mezun olduktan sonra aynı yıl Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2004 yılında Meslek Bilimleri bölümünde araştırma görevlisi olarak göreve başladı. 2006 yılında aynı bölümde doktora eğitimine başladı. 2010 yılında araştırma görevliliğinden ayrılmış olup Kocaeli ilinde Biyoloji öğretmeni olarak halen görev yapmaktadır.