

T. C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI

**TRIGONELLA L. (LEGUMINOSAE) CİNSİ CYLINDRICA
SEKSIYONU ÜZERİNDE FARMAKOĞNOZİK
ARAŞTIRMALAR**

Uzm. Biyolog Ş. Selma URAS GÜNGÖR

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gamze KÖKDİL

Tez No: ..39..

MERSİN-2013

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan **“Trigonella L. (Leguminosae) Cinsi Cylindrica Seksiyonu Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar”** başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez savunma tarihi: 30/12/2013


Prof. Dr. Gamze Kökdil

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Farmakognozi Anabilim Dalı

Jüri Başkanı


Prof. Dr. A. Murat GİZİR

Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi

Kimya Bölümü


Jüri Üyesi


Prof. Dr. Serap YALIN

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri Üyesi


Doç. Dr. F. Nazlı DİNÇER KAYA

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Jüri Üyesi


Doç. Dr. Ahmet İlçim

Mustafa Kemal Üniversitesi

Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun ..31.12.2013..... tarih ve 2013/3.13.....sayılı kararı ile kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Ş. Necati YILMAZ
Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca bilgisinden faydalandığım. Tez konumun seçilmesinde ve çalışmalarımın yönlendirilmesinde bilgi, görüş ve önerilerini esirgemeyen, tez süresince derin bilgi birikimi ve tecrübesi ile bana fazlasıyla yardımcı olan, sürekli yanımda hissettiğim, Sayın Hocam Prof. Dr. Gamze KÖKDİL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma materyallerimin lokalitesinin tespiti, toplanması ve teşhisinde değerli yardımlarını gördüğüm Sayın Hocam Doç Dr. Ahmet İLÇİM'e (Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezindeki çalışmalarım esnasında benden yardımlarını esirgemeyen, her konuda destek olan arkadaşlarım Uzm. Cihan GEÇGEL, Uzm. F. Defne YALDIZ, Uzm. Esmâ YORULMAZ, Uzm. Tuncay İNCEM'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Herzaman yanımda olan, sabırla beni destekleyen, yaşamı paylaştığım hayat arkadaşım,
yoldaşım, eşim

Altu GÜNGÖR'e...

Teşekkür ederim hayatımda olduğun için...

Varoluşuma vesile olan, beni sevgiyle büyüten, ellerini omuzumda, yüreklerini
yüreğimde hissettiğim, dualarını benden esirgemeyen,

Canım Annem Sultan URAS ve Canım Babam A. Cengiz URAS'a...

Kendimi yoğun bir çalışmaya kaptırmışken tekmeleriyle hep yanımda olduğunu
hissettiren, dünyaya gözlerini açmasını sabırsızlıkla beklediğimiz, mutluluk kaynağımız

Oğluma...

Hayallerime ortak olan, yetiş demeden yardımına koşup gelen, can dost

Sibel SİLAHTAROĞLU'na....

Hayatı anlamlı ve güzel kılan can dostlar

Esin YILDIZ EREN ve Ergün EREN'e...

Sohbetlerini, dualarını, enerjilerini paylaşan, desteklerini hep hissettiğim arkadaşlarım
Didem YÜKSEK, Gonca TEKE MENGÜÇ, Özge ŞAHİN, Hatice GEDİK ve Leman
ÇELİK SÜREN'e...

SONSUZ TEŞEKKÜRLER...

Selma URAS GÜNGÖR

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
ÖZET	xvi
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1 Botanik Bilgiler	5
2.1.1 Leguminosae Familyası	5
2.1.2 <i>Trigonella</i> L. Cinsi	5
2.1.3 <i>Trigonella</i> L. Cinsine Ait Seksiyonlar	7
2.1.4 Çalışılan Türlerin Özellikleri	10
2.2 <i>Trigonella</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Araştırmalar	27
2.2.1 Fenolik Bileşikler	27
2.2.1.1 Flavonoitler	27
2.2.1.2 Fenolik Asitler	30
2.2.1.3 Total Fenol Miktar Tayini	30
2.2.1.4 Total Flavonoit Miktar Tayini	33
2.2.2 Saponozitler	33
2.2.3 Alkaloidler	41
2.2.4 Kumarinler	43
2.2.5 Uçucu Yağ	44
2.2.6 Sabit Yağ ve Steroller	45
2.2.7 Protein ve Aminoasitler	50
2.2.8 Mineraller	52

2.2.9 Vitaminler	54
2.2.10 Tanenler	55
2.2.10 Diğer Bileşikler	56
2.3 <i>Trigonella</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Biyolojik Aktivite Çalışmaları	56
2.3.1 Antioksidan Etki	57
2.3.1.1 İn vitro antioksidan etki	57
2.3.1.2 İn vivo antioksidan etki	61
2.3.2 Antidiyabetik Etki	64
2.3.3 Hipokolesterolemik ve Hipolipidemik Etki	71
2.3.4 Antitümör Etki	82
2.3.5 Antihepato ve Nefrotoksik Etki	83
2.3.6 Antienflamatuar ve Antipiretik Etki	86
2.3.7 Antimikrobiyal, Antibakteriyel ve Antifungal Etki	87
2.3.8 Antisestod Etki	88
2.3.9 Antiplazmoidal Etki	89
2.3.10 Gastrointestinal Sistem Üzerine Etki	89
2.3.11 Nöroprotektif Etki	90
2.3.12 İmmunomodulator Etki	92
2.3.13 Antinosiseptif ve Analjezik Etki	92
2.3.14 Antifertilite Üzerine Etki	93
2.3.15 Hipertiroidizmin Düzenlenmesi Üzerine Etki	94
2.3.16 Hemolitik Etki	94
3. GEREÇ VE YÖNTEM	95
3.1 Gereç	95
3.1.1 Bitkisel Materyal	95
3.1.2 Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Reaktifler	96
3.1.2.1 Kimyasal Malzemeler	96
3.1.2.2 Kullanılan Reaktifler	96
3.1.3 Kullanılan Cihazlar	97
3.2 Yöntem	97
3.2.1 Fitokimyasal Çalışmalar	97
3.2.1.1 Ana Etken Madde Gruplarının Taranması	97

3.2.1.1.1 Alkaloit Teşhisi	97
3.2.1.1.2 Kardiyoaktif Heterozit Teşhisi	98
3.2.1.1.3 Saponozit Teşhisi	98
3.2.1.1.4 Flavonozit Teşhisi	99
3.2.1.1.5 Antosiyanozit Teşhisi	99
3.2.1.1.6 Siyanogenetik Heterozit Teşhisi	99
3.2.1.1.7 Tanen Teşhisi	100
3.2.1.1.8 Antrasen Türevi Heterozitlerin Teşhisi	100
3.2.1.1.9 Kumarin Teşhisi	100
3.2.1.1.10 Sabit yağ Teşhisi	100
3.2.1.1.11 Oz Tanıma Reaksiyonları	100
3.2.1.1.12 Nişasta Teşhisi	101
3.2.1.2 Ekstraksiyon Çalışmaları	101
3.2.1.2.1 Total Fenol, Total Flavonoit ve DPPH* İçin Ekstre Hazırlanması	101
3.2.1.2.1.1 Total Fenol Miktarının Belirlenmesi	102
3.2.1.2.1.2 Total Flavonoit Miktarının Belirlenmesi	102
3.2.1.2.2 Fenolik Bileşiklerin HPLC Analizleri için Ekstre Hazırlanması	102
3.2.1.2.2.1 Ekstrelerin Fenolik Bileşiklerinin HPLC ile İncelenmesi	102
3.2.1.2.3 Diosgeninin HPLC Analizleri için Ekstre Hazırlanması	103
3.2.1.2.3.1 Ekstrelerin Diosgenin Açısından HPLC ile İncelenmesi	104
3.2.2 Biyoaktivite Çalışmaları	104
3.2.2.1 DPPH* Yöntemi ile Antioksidan Etki Tayini	104
4. BULGULAR	105
4.1 Fitokimyasal Çalışmalar	105
4.1.1 Ana Etken Madde Gruplarının Taranması	105
4.1.1.1 Alkaloit Teşhisi	105
4.1.1.2 Kardiyoaktif Heterozit Teşhisi	106
4.1.1.3 Saponozit Teşhisi	107
4.1.1.4 Flavonozit Teşhisi	108
4.1.1.5 Antosiyanozit Teşhisi	109
4.1.1.6 Siyanogenetik Heterozit Teşhisi	110
4.1.1.7 Tanen Teşhisi	111

4.1.1.8 Antrasen Türevi Heterozitlerin Teşhisi	112
4.1.1.9 Kumarin Teşhisi	113
4.1.1.10 Sabit Yağ Teşhisi	114
4.1.1.11 Oz Tanıma Reaksiyonları	115
4.1.1.12 Nişasta Teşhisi	116
4.1.2 Ekstraksiyon Çalışmaları	117
4.1.2.1 Total Fenol ve Total Flavonoit Miktarları	117
4.1.2.2 Ekstrelerin Fenolik Bileşiklerinin HPLC Analizleri	118
4.1.2.3 Ekstrelerin Diosgenin Açısından HPLC ile Analizleri	128
4.2 Biyoaktivite Çalışmaları	134
4.2.1 DPPH* Yöntemi ile Antioksidan Etki Tayini	134
5. TARTIŞMA	136
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	142
7. KAYNAKLAR	144
8. ÖZGEÇMİŞ	157

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Trigonella spruneriana</i> türü 1: genel görünüş (çiçekli-meyvalı); 2: meyvalı görünüş; 3: tohum	17
Şekil 2.2. <i>Trigonella sibthorpii</i> türü 1: genel görünüş; 2: çiçekli-meyvalı görünüş; 3: tohum.	18
Şekil 2.3. <i>Trigonella kotschyi</i> türü 1-2: çiçekli-genel görünüş; 3: meyvalı görünüş; 4: tohum	19
Şekil 2.4. <i>Trigonella mesopotamica</i> türü 1: çiçekli-genel görünüş; 2: çiçekli görünüş; 3: tohum	20
Şekil 2.5. <i>Trigonella cylindrica</i> türü 1: genel görünüş; 2: çiçekli-meyvalı görünüş; 3: meyvalı görünüş; 4: tohum	21
Şekil 2.6. <i>Trigonella cilicica</i> türü 1: genel görünüş; 2: çiçekli görünüş; 3: meyvalı görünüş; 4: tohum	22
Şekil 2.7. <i>Trigonella filipes</i> türü 1: genel görünüş (çiçekli-meyvalı); 2: meyvalı görünüş; 3: tohum	23
Şekil 2.8. <i>Trigonella velutina</i> türü 1: genel görünüş (çiçekli-meyvalı); 2: tohum.	24
Şekil 2.9. <i>Trigonella strangulata</i> türü 1: genel görünüş (çiçekli-meyvalı); 2: meyvalı görünüş; 3: tohum.	25
Şekil 2.10. <i>Trigonella symrnea</i> türü 1: meyvalı görünüş; 2: tohum.	26
Şekil 2.11. Trigonellinin molekül yapısı	42
Şekil 4.1. Gallik asit için kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi- Total fenol için	117
Şekil 4.2. Rutin için kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi- Total flavonoit için	117
Şekil 4.3. 2-Hidroksisinnamik asit standardının HPLC analizine ait kromatogram	119
Şekil 4.4. Apigenin standardının HPLC analizine ait kromatogram	120
Şekil 4.5. Biokanin A standardının HPLC analizine ait kromatogram	120

Şekil 4.6. Daidzein standardının HPLC analizine ait kromatogram	121
Şekil 4.7. Elajik asit standardının HPLC analizine ait kromatogram	121
Şekil 4.8. Ferulik asit standardının HPLC analizine ait kromatogram	122
Şekil 4.9. Morin standardının HPLC analizine ait kromatogram	122
Şekil 4.10. Naringenin standardının HPLC analizine ait kromatogram.	123
Şekil 4.11. <i>T. cylindrica</i> e tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	123
Şekil 4.12. <i>T. cylindrica</i> e toprak üstü ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	124
Şekil 4.13. <i>T. filipes</i> tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	124
Şekil 4.14. <i>T. filipes</i> toprak üstü ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	125
Şekil 4.15. <i>T. kotschy</i> i tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	125
Şekil 4.16. <i>T. sibthorpii</i> toprak üstü ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	126
Şekil 4.17. <i>T. spruneriana</i> tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	126
Şekil 4.18. <i>T. strangulata</i> tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	127
Şekil 4.19. <i>T. velutina</i> tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	127
Şekil 4.20. Diosgeninin molekül yapısı	128
Şekil 4.21. Diosgeninin HPLC analizine ait kromatogram (akış hızı: 1 mL/dk).	129
Şekil 4.22. Diosgenin standardının kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	129
Şekil 4.23. <i>T. cilicica</i> tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	130
Şekil 4.24. <i>T. mesopotamica</i> tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	130
Şekil 4.25. <i>T. spruneriana</i> tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	131
Şekil 4.26. <i>T. sibthorpii</i> toprak üstü ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	131
Şekil 4.27. <i>T. cylindrica</i> e tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	133
Şekil 4.28. Diosgenin standardı eklenmiş <i>T. cylindrica</i> e tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	133
Şekil 4.29. <i>T. filipes</i> toprak üstü ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram	134

- Şekil 4.30.** Diosgenin standardı eklenmiş *T. filipes* toprak üstü ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram. 134
- Şekil 4.31.** BHA için kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi 135

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. <i>Cylindricae</i> Seksiyonunda bulunan türler ve grupları	9
Çizelge 2.2. <i>Trigonella</i> türlerinden elde edilen sabit yağlardaki yağ asidi bileşimi	49
Çizelge 2.3. <i>Trigonella foenum-graecum</i> bitkisinin in vivo Antidiyabetik etkisinin 1974-2000 yılları arası literatür özetleri	67
Çizelge 2.3. Devam <i>Trigonella foenum-graecum</i> bitkisinin in vivo Antidiyabetik etkisinin 1974-2000 yılları arası literatür özetleri.	68
Çizelge 2.4. <i>Trigonella foenum-graecum</i> bitkisinin in vivo hipokolesterolemik ve hipolipidemik etkisinin 1982-2000 yılları arası literatür özetleri	76
Çizelge 2.4. Devam <i>Trigonella foenum-graecum</i> bitkisinin in vivo hipokolesterolemik ve hipolipidemik etkisinin 1982-2000 yılları arası literatür özetleri	77
Çizelge 3.1. Çalışılan türlerin toplandığı lokaliteler, toplama zamanları ve herbaryum numaraları	95
Çizelge 3.2. Analizlerde standart olarak kullanılan flavonoit ve fenolik asit standartları	103
Çizelge 4.1. Çalışılan <i>Trigonella</i> türlerinde alkaloit teşhis reaksiyonları sonuçları	105
Çizelge 4.2. Çalışılan <i>Trigonella</i> türlerinde kardiyooktif heterozit teşhis reaksiyonları sonuçları	106
Çizelge 4.3. Çalışılan <i>Trigonella</i> türlerinde saponozit teşhis reaksiyonları sonuçları	107
Çizelge 4.4. Çalışılan <i>Trigonella</i> türlerinde flavonozit teşhis reaksiyonları sonuçları	108
Çizelge 4.5. Çalışılan <i>Trigonella</i> türlerinde antosiyanozit teşhis reaksiyonları sonuçları	109
Çizelge 4.6. Çalışılan <i>Trigonella</i> türlerinde siyanogenetik heterozit teşhis reaksiyonları sonuçları	110

Çizelge 4.7. Çalışılan <i>Trigonella</i> türlerinde tanen teşhis reaksiyonları sonuçları	111
Çizelge 4.8. Çalışılan <i>Trigonella</i> türlerinde antrasen türevi heterozit teşhis reaksiyonları sonuçları	112
Çizelge 4.9. Çalışılan <i>Trigonella</i> türlerinde kumarin teşhis reaksiyonları sonuçları	113
Çizelge 4.10. Çalışılan <i>Trigonella</i> türlerinde sabit yağ teşhis reaksiyonları sonuçları	114
Çizelge 4.11. Çalışılan <i>Trigonella</i> türlerinde oz tanıma reaksiyonları sonuçları	115
Çizelge 4.12. Çalışılan <i>Trigonella</i> türlerinde nişasta teşhis reaksiyonları sonuçları.	116
Çizelge 4.13. <i>Trigonella</i> L. Seksiyon <i>Cylindricae</i> taksonlarında tesbit edilen total fenol ve total flavonoit miktarları.	118
Çizelge 4.14. Fenolik asit ve flavonoit standartlarının 0.6 mL/dk akış hızındaki maksimum dalga boyları ve alıkonma süreleri.	119
Çizelge 4.15. <i>Trigonella</i> L. Seksiyon <i>Cylindricae</i> türlerinin tohum ve toprak üstü kısımlarında tesbit edilen diosgenin miktarları (mg/g).	132
Çizelge 4.16. <i>Trigonella</i> L. Seksiyon <i>Cylindricae</i> türlerinin DPPH * antioksidan testi sonucundaki % inhibisyonları.	135
Çizelge 5.1. Çalışılan türlerin tohum ve toprak üstü kısımlarında incelenen ana etken madde grupları tarama sonuçları.	138
Çizelge 5.2. <i>T. foenum-graecum</i> bitkisi üzerinde yapılmış çalışmalar sonucu saptanan total fenol ve total flavonoit miktarları.	140

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

a	Ağırlık
cm	Santimetre
cm²	Santimetrekaire
DAD	Diode Array Detection
dk.	Dakika
DPPH ·	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
ESI/MS	Elektrospray Ionization Mass Spectrometry
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
G	Gram
GAE	Gallik Asit Ekvivalanı
GAZI	Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumu
GC/MS	Gaz Kromatografisi/Kütle Spectrometresi
GI	Büyüme İndeksi
GLC	Gas Liquid Chromatography
H	Hacim
HILIC	Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation Spectroscopy
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPTLC	High Performance Thin Layer Chromatography
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry

IR	Infrared
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
Kg	Kilogram
L	Litre
LC/MS/MS	Sıvı Kromatografisi/Kütle/Kütle Spektrometresi
LDL	Low-density Lipoprotein
LFT	Liver Function Test
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
MS	Kütle Spektrometresi
nm	Nanometre
NMR	Nüleer Manyetik Rezonans Spektrometresi
RP-HPLC	Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography
RSD	Relative Standard Deviation
SHS-SPME	Static Headspace Solid-Phase Microextraction
SSS	Santral Sinir Sistemi
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TLC	Thin Layer Chromatography
UHPLC	Ultra High Performance Liquid Chromatography
UV	Ultraviyole Spektroskopisi
VLDL	Very-low-density Lipoprotein

ÖZET

Trigonella L. Sect. *Cylindricae* (Leguminosae) Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar

Bu çalışmanın amacı Leguminosae familyası *Trigonella* L. cinsine ait 10 türün farklı kısımlarını fitokimyasal açıdan araştırmak ve antioksidan aktivitelerini değerlendirmektir. *Cylindricae* seksiyonu cinsin en büyük ikinci seksiyonudur. Bu seksiyon 3'ü endemik olmak üzere 10 taksona (*T. spruneriana*, *T. sibthorpii*, *T. kotschyi*, *T. mesopotamica*, *T. cylindracea*, *T. cilicica*, *T. filipes*, *T. velutina*, *T. strangulata*, *T. smyrnea*) sahiptir. Bu çalışmada doğal olarak yetişen bu türlerin tohum ve toprak üstü kısımlarının, bir steroidal sapogenin olan diosgenin içeriği HPLC ile belirlenmiştir. Tohum ekstrelerindeki diosgenin miktarlarının 0.06-0.52 mg/g arasında, toprak üstü ekstrelerindeki diosgenin miktarlarının ise 0.03-0.16 mg/g arasında değiştiği saptanmıştır. En yüksek diosgenin miktarı tohumda da toprak üstünde de *T. cilicica*'de görülmüştür.

10 türün %80'lik metanollü ekstrelerinin total fenol ve total flavonoit miktarı sırasıyla, Folin-Ciocalteu ve AlCl₃ yöntemleri kullanılarak saptanmıştır. Ekstrelerdeki total fenol miktarlarının 79.90-201.35 mg/g arasında, total flavonoit miktarlarının ise 61.51-128.04 mg/g arasında değiştiği gözlenmiştir. En yüksek total fenol miktarı tohumda *T. strangulata*, toprak üstünde ise *T. velutina*'da gözlenmiştir. *T. spruneriana* tohum ve *T. velutina* toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstreler en yüksek flavonoit miktarını göstermiştir. Metanollü ekstreler ayrıca DPPH[•] DPPH[•] (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi ile radikal süpürücü etkileri için araştırılmıştır. Bütün bu çalışmalardan sonra radikal süpürücü aktivite ile total flavonoit miktarı arasında bir korelasyon gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Trigonella* L., *Cylindricae*, diosgenin, total fenol ve flavonoit, DPPH[•]

ABSTRACT

Pharmacognostical Studies on *Trigonella* L. Sect. *Cylindrica* (Leguminosae)

The aim of this study was to investigate different parts of ten *Trigonella* L. species which belong to the family Leguminosae, phytochemically and to evaluate their antioxidant activity. *Cylindrica* Boiss. is the second largest section of the genus. This section has 10 taxa (*T. spruneriana*, *T. sibthorpii*, *T. kotschyi*, *T. mesopotamica*, *T. cylindracea*, *T. cilicica*, *T. filipes*, *T. velutina*, *T. strangulata*, *T. smyrnea*) which three of them are endemic. In this study, a steroidal saponin diosgenin content of the seeds and the aerial parts of these species were determined by using RP-HPLC. Diosgenin content was ranged from 0.06-0.52 mg/g in the seeds and 0.03-0.16 mg/g in the aerial parts. The highest diosgenin content was revealed in *T. cilicica*.

The content of the total phenolic and total flavonoid of the 80% methanolic extracts of 10 species were determined using Folin-Ciocalteu and AlCl₃ methods, respectively. Total phenolic content of extracts was ranged from 79.90-201.35 mg GAE/g and the total flavonoid content was ranged from 61.51-128.04 mg RU/g. The seeds of *T. strangulata* and the aerial parts of *T. velutina* extracts had the highest phenolic content. The extracts obtained from the seeds of *T. spruneriana* and the aerial parts of *T. velutina* exhibited the highest flavonoid content. The methanolic extracts were also investigated for their radical scavenging activity by DPPH[•] (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) methods. After all this studies, a correlation between radical scavenging activity and amounts of total flavonoid content of the extracts was observed.

Keywords: *Trigonella* L., *Cylindrica*, diosgenin, total phenolic and flavonoid, DPPH[•]

1. GİRİŞ

Leguminosae familyası yaklaşık 700 cins ve 17000 kadar tür ile temsil edilen büyük bir familyadır. Familya bitkileri tropik, subtropik ve ılıman bölgelerde dağılım göstermektedir (1). Leguminosae familyası cinsleri Türkiye Florası'nda 6 gruba (Grup A-F) ayrılarak incelenmektedir. Bu tez konusunu oluşturan *Trigonella* L. cinsi ise Grup A'ya girmekte olup dünyada 135 kadar tür ile temsil edilmektedir. Türlerin büyük bir bölümü Doğu Akdeniz, Batı Asya, Güney Avrupa, Kuzey ve Güney Afrika'ya yayılmıştır (2-4).

Bu türler arasında Latince'de fenugreek olarak adlandırılan *Trigonella foenum-graecum* L. türü *Trigonella* cinsi içinde en yaygın kullanılan türdür. Bu türün Akdeniz ülkeleri, Orta Doğu, Rusya, Balkanlar, Batı Asya ve Çin'de baharat olarak kültürü yapılmaktadır (2). Tohumlar Ayurvedik, Çin ve Unani tıp sistemlerinde karminatif, tonik ve afrodizyak olarak kullanılmaktadır (2, 5, 6). Ayrıca geleneksel olarak diyabet, yüksek kolesterol, yaralar, enflamasyon ve gastrointestinal hastalıkların tedavilerinde de kullanılmaktadır (7-9). Yapraklar ise kabartılar (şişlikler), yanıklar ve kellik tedavisinde kullanılmıştır (10, 11).

Çemenotu tohumu Hindistan'da baharat olarak, Mısır'da ekmek yapımı için buğday ve mısır unu takviyesi olarak ve Yemen'de genel popülasyonda normal günlük diyetin ana bileşenlerinden biri olarak kullanılmaktadır. Yaprakları ise Hindistan'da yeşil, lifli bir sebze olarak bilinir ve Ca, Fe, β -karoten ve diğer vitaminlerce zengin bir kaynaktır (12).

Leguminosae familyası bitkisi olan çemenotu Hindistan ve Kuzey Avrupa ülkelerinde tarımı yapılan bir bitkidir. Tohumları, çorba ve pankek yapımında baharat, tatlandırıcı ajan ve daha birçok özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır. Tohumlar 2500 yıldan fazla kullanımda olmakla birlikte, bu tohum baharatı pek çok geleneksel tıp sisteminde özellikle antibakteriyel, gastrik stimülan, antidiyabetik ajan, galaktogog ve anoreksi karşıtı olarak kullanılmaktadır. Son 10 yıldır, pek çok sağlığa yararlı fizyolojik etkileri insan deneyleriyle olduğu kadar hayvan deneyleriyle de kanıtlanmıştır. Bunlar, antidiyabetik etki, hipokolesterolemik etki, antioksidan potansiyel, digestif stimülan

etki, hepatoprotektif etkiyi içermektedir. Bu yararlı fizyolojik etkiler arasında diyet lif içeriğine bağlanabilecek antidiyabetik ve hipokolesterolemik özellikler nutrasötik değeri arttırmaktadır (13).

Tek yıllık bir bitki olan çemenotunun, genellikle hayvan yemi olarak kültürü yapılır çünkü yüksek miktarda protein, vitamin, önemli aminoasitler içerir ve sığırlar için iyi bir hazım imkanı sunar (14).

Çemenotu tohum yağı keskin kokulu ve acı tada sahiptir ve sıklıkla hububat ve kumaşlarda böcek uzaklaştırıcı olarak kullanılır. Çemenotu tohumları ayrıca yaygın olarak yiyecek hazırlamada baharat ve gıda renklendirici olarak kullanılmaktadır (14).

Çemenotu ayrıca birçok tıbbi özelliklere sahiptir ve birçok Asya ve Afrika ülkelerinde kullanılan en eski tıbbi bitkilerden biridir. Nutrasötik özellikler ve sağlığa yararları hakkında yapılan birçok iddia bilimsel çalışmalarla desteklenmiştir. Bu, çemenotunun üretimi ve satışına olan ilginin büyümesine olanak sağlamıştır (14).

Çemenotu Eski Mısır'da tütsü olarak ve mumyalamada kullanılmışken, geleneksel Çin tıbbında bacaklardaki güçsüzlük ve ödemleri tedavi etmenin yanı sıra tonik olarak da kullanılmıştır (15).

Bitki, Türkiye'de halk tıbbında göğüs yumuşatıcı, balgam söktürücü ve müşil etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. Kuvvet verici ve afrodisyaktır. Pastırmanın üzerine sürülen "Çemen" isimli karışımın ana maddesini oluşturur. Bazı baharatların bileşimine girer, tohum şeker hastalığına karşı kullanılmaktadır. Tohumlardan hazırlanan lapa haricen çıbanların olgunlaştırılmasında kullanılmaktadır (16).

Çemenotu tohumları Sudan'da, etkili çevresel şartların müsait olması nedeniyle ülkenin kuzey bölümlerinde yetiştirilir. Sudan'ın çemenotu tohumları farklı büyüklük, şekil ve renklere sahiptir. Bu tohumlar, daha çok diosgenin ve yamogenin olmak üzere ticari bir sapogenin kaynağı olarak önemli bir kaynaktır. Diosgenin steroidlere dönüşüm için başlangıç maddesidir. Bu olay, seks hormonları, karotenoid ve kontraseptif üretimi için farmasötik endüstride önemli bir role sahiptir. Çemenotu tohumları yaygın olarak baharat özelliği nedeniyle kullanılır ve köri tozu ve sosların içeriğine girer. Taze yaprakları ve çimlenmiş tohumları yenilebilir. Çemenotu tohumları yiyecek olarak iştahı artırır, kan gücünü iyileştirir ve vücut güçsüzlüğünü ve pek çok göğüs hastalıklarını tedavi eder. Sudan'da özellikle emziren anneler tarafından lapa olarak ve tatlılarda kullanılır (17). Bitkide diosgeninden başka bileşiklerde bulunmaktadır. Bunlar

arasında *Trigonella* türleri üzerinde yapılmış kimyasal çalışmalar incelendiğinde; primer metabolitlerden yağ, lif, karbonhidrat, müsilaç, protein, fosforlu organik bileşikler, kolin, sekonder metabolitlerden ise flavonoit, saponin, alkaloit, kumarin ve steroller içerdiği görülmektedir (8, 16-24).

T. foenum-graecum bitkisinin halk tıbbında kullanımı hakkında ki birçok iddia bilimsel olarak test edilmiş ve klinik çalışmalarla çemenotunun antidiyabetik, antioksidan, antienflamatuar, antipiretik, antiülser, hipokolesterolemik, immunomodulator, yara-iyileştirici, SSS-stimulanı, antikanser, gastroprotektif ve kemopreventif etkilerinin olduğu saptanmıştır (8-11, 24-26).

Literatürde bahsi geçen çalışmalar genellikle *T. foenum-graecum* L. türü üzerinde yoğunlaşan çalışmalardır. Bunun dışında *T. grandiflora*, *T. corniculata*, *T. cylindracea*, *T. maritima*, *T. stellata*, *T. anguina*, *T. occulta*, *T. polyceratia* ve *T. cretica* fenolik bileşenleri açısından, *T. calliceras*, *T. caerulea*, *T. melilotus caeruleus* ve *T. monspeliaca* saponinleri açısından incelenmiştir. Çalışmaların birkaç tür ile sınırlı kalmış olması bu cinse ait diğer türler üzerinde de detaylı araştırmaların yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Ayrıca yapılan fitokimyasal araştırmalarda genellikle tohumun çalışılmış olduğu, bitkinin toprak üstü kısmının yeterince incelenmediği görülmektedir.

Trigonella L. cinsinin Türkiye’de 21’i endemik olmak üzere 54 taksonu bulunmaktadır. Bu taksonlar 8 gruba ve 13 seksiyona ayrılmaktadır (4, 27-30). Bu tez çalışmamızda literatürde yer alan çalışmalardan farklı olarak “Flora of Turkey and the East Aegean Islands” da kayıtlı *Trigonella* cinsine ait kısım incelenerek 10 tür ve 3 endemik tür sayısına sahip olan, cinsin ikinci büyük seksiyonu *Cylindricae* seksiyonu araştırma konusu olarak belirlenmiştir. Bu seksiyonda bulunan bütün türler Grup F’ye girmektedir. *Trigonella* L. cinsi *Cylindricae* seksiyonuna giren türler doğal yayılış alanlarından toplanıp, teşhisleri yapılmış, tohum ve toprak üstü kısımlarının fitokimyasal ve biyolojik aktivite açısından detaylı olarak incelenmesi planlanmıştır. Tohumların çok bilinen tür olan *T. foenum-graecum* türünde olduğu gibi fenolik bileşenlerce zengin olup olmadığı ve diosgenin içerip içermediği araştırılacak, varsa bunların kalitatif ve kantitatif olarak HPLC ile tayin edilmesi, bu bileşenler yönünden çalışılan türlerin değerli olup olmadığını, tıbbi amaçla kullanılıp kullanılmayacağını ortaya koyacaktır. Türlerde bulunan ana etken madde grupları tarama yöntemleri

kullanılarak araştırılacaktır. Ekstrelerin ayrıca radikal süpürücü aktivitelerinin DPPH' yöntemi ile tayin edilmesi amaçlanmıştır. Ekstrelerin total fenol ve total flavonoid miktarları belirlenerek biyofenolik bileşen-antioksidan etki arasındaki ilişki saptanacaktır. Elde edilecek tüm sonuçlar literatür bulguları ile kıyaslanarak incelenen *Trigonella L. Cylindrica* Seksiyonuna ait 10 türün endüstriyel ve tıbbi olarak kullanılma potansiyelinin olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1 Leguminosae Familyası

Spermatophyta bölümünün Angiospermae alt bölümü, Dicotyledonae sınıfı, Dialypetalae alt sınıfı Rosales takımında yer alan Leguminosae familyası çiçekli bitkiler arasında en büyük familyalar arasındadır. 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 (1).

Leguminosae familyası bitkileri odunsu veya otsudur. Yapraklar alternat, genellikle stipulalı, bipennat, sadece pennat, dijitat, trifoliolat veya basit (çoğu zaman tek yaprakçıklı veya yaprak benzeri bir organ taşır). Çiçek durumu aktinomorf veya zigomorf, hipogin veya bazen perigin, genellikle hermafrodit, 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 (monadelf) veya üstteki stamen serbest (diadelf) veya hepsi serbest. Karpel 1 üst durumlu, kenarsal plasentalanmalı. Meyve bir legümen (hem karın hemde sırt boyunca açılmış) veya açılmamış, bazen meyve tek tohumlu kısımlara ayrılır. Tohumlar 1 veya çok tohumludur.

Leguminosae familyası cinsleri yaprak, çiçek ve meyva özellikleri dikkate alınarak 6 gruba (Grup A-F) ayrılarak incelenmektedir. Tez konusunu oluşturan *Trigonella* cinsi Grup A'ya girmektedir (4).

2.1.2. *Trigonella* L. Cinsi

Tüylü veya tüysüz, tek yıllık otsu bitkiler (Türkiye'de), yapraklar pinnat üç yaprakçıklı, çoğu zaman kumarin kokulu. Folioller genellikle dişli; yapraksı stipullar (kulakçık) yaprak sapı ile birleşik. Çiçekler yaprak koltuklarında, tek veya başlıca baş

şeklinde, spika (başak) veya kısa rasem (salkım), tohum dökme tertibatından yoksun. Kaliks 5-dişli, çan şeklinde veya bazen tüpsü, muntazam veya 2-dudaklı. Petaller sarı veya beyaz, menekşe veya mavi. Standart oblong veya obovat. Kayıkçık (karina) obtus, oblong, kanatçıklardan (alalardan) daha kısa, kayıkçık veya kanatçık sıkıca birleşik veya serbest. Stamenler petallerden bağımsız, iki küme halinde, üstteki kısım tamamen serbest, filamentler uçlarda genişlememiş. Meyvelerin boyu kaliksin boyunu aşmış, dik (düz) veya yay şeklinde kıvrılmış (hiçbir zaman helisel şeklinde kıvrılmamış), lineardan oblong veya ovata, bazen yarı ovat veya semilunara (yarım ay şeklinde) kadar değişir, silindirik veya yassı, nadiren yer yer boğumlu, gaga var veya yok, belli veya belirsiz kenarları tam, bazen dentikulat (küçük dişli) dikiş yeri, kanatsız, 1-fazla tohumlu, açılan veya nadiren açılmayan. Tohumlar başlıca küçük yumru veya kırışık, nadiren düz yüzeyli. Kotiledonlar (tohumdan süren fidede) tabanda şişkin. Tayin için iyi gelişmiş meyvalı örnekler ihtiyacı vardır. Akdeniz bölgesi cinsin merkezidir (4).

1. Çiçekler mavi, baş şeklinde Grup A
1. Çiçekler sarı, beyaz veya soluk menekşe ve tek veya çift.
 2. Çiçekler sarımsı-beyaz veya soluk leylak rengi, sapsız, tek veya çift; kaliks tüp şeklinde, 4.5-12 mm Grup B
2. Çiçekler sarı, veya beyaz (*cilicica*, *kotschyi*); kaliks çan şeklinde, 2-7 mm
3. Meyvalar düz, çoğu zaman ince derimsi, dikiş yeri dentikulat (küçük dişli) veya eğer dikensizse ozaman meyvalar dairemsi yarı-ovat veya yarım ay şeklinde Grup C
3. Meyvalar silindirik veya yassı, lineardan oblong-ovata kadar değişken; dikiş yeri dikensiz
4. Çiçek durumu sapı yok veya çok kısa (4 mm'den fazla değil); meyvalar linear Grup D
4. Çiçek durumu sapı 5 mm'den fazla; meyvalar ovat-oblong, linear-oblong veya linear
5. Meyvalar ovat-oblong çengelli gagalı, 1-2-tohumlu, geri kıvrık, sık bir baş oluşturuyor Grup E
5. Meyvalar lineardan linear-oblonga değişken, 1-çok-tohumlu

6. Meyvalar bariz bir şekilde gagalı, dikiş yeri belirsiz; stipullar tam

Grup F

6. Meyvalar çoğunlukla gagasız veya belirsiz gagalı, dikiş yeri bariz bir şekilde; en azından alt stipullar dentat veya dik derin dişli

7. Kayıkçık ve kanatçık birleşik değil; meyvalar yassı, yay şeklinde kıvrılmış veya oraksı, aşağı doğru kıvrık, 2-3.5 mm eninde

Grup G

7. Kayıkçık ve kanatçık sıkıca birleşmiş; meyvalar silindirik, yassı veya yer yer boğumlu, başlıca dik veya yayık, 1-2 (-3: *carica*) mm eninde

Grup H

2.1.3. *Trigonella* L. Cinsine Ait Seksiyonlar

Sect. *Samaroideae* Boiss.

Sect. *Pectinatae* Boiss.

Sect. *Lunatae* Boiss.

Sect. *Falcatulae* Boiss.

Sect. *Verae* Širj.

Sect. *Cylindricae* Boiss.

Sect. *Bucerates* Boiss.

Sect. *Reflexae* (Širj.) Vass.

Sect. *Isthmocarpae* Boiss.

Sect. *Uncinatae* Boiss.

Sect. *Capitatae* Boiss.

Sect. *Biebersteinianae* (Širj.) Grossh.

Sect. *Foenum-graecum* Ser.

Sect. *Samaroideae* Tek yıllık. Stipullar dentat. Meyvalar geri kıvrık, ince-derimsi, etrafı neredeyse kanatlı.

Sect. *Pectinatae* Tek yıllık. Stipullar tam veya dentat. Meyvalar geri kıvrık, ince-derimsi, dikiş yeri dentikulat, kanatsız.

Sect. *Lunatae* Tek yıllık. Stipullar tam veya dentat. Meyvalar geri kıvrık veya dik, düz, yarı ovattan yarım ay şekline, dikiş yeri dikensiz, kanatsız.

Sect. Falcatulae Tek yıllık. Stipullar dentat veya dik derin dişli. Kayıkçık ve kanatçık birleşik değil. Legumenler geri kıvrık, yassı, dikiş yeri kalınlaşmış.

Sect. Verae Tek yıllık. Stipullar dentat. Kayıkçık ve kanatçık birleşik değil. Legumenler dik, silindirik, uzunluğuna damarlı, dikiş yeri bariz.

Sect. Cylindrica Tek yıllık. Stipullar tam. Kayıkçık ve kanatçıklar birleşik değil. Legumenler geri kıvrık, bariz gagalı, dikiş yeri belirsiz.

Cylindrica seksiyonunda bulunan türler ve grupları Çizelge 2.1.'de görülmektedir.

Sect. Bucerates Tek yıllık. Stipullar en azından kısmen dentat veya dik derin dişli. Kayıkçık ve kanatçıklar sıkıca birleşik. Legumenler dik veya yayık, linear, retikulat veya enine damarlı, dikiş yeri kalın.

Sect. Reflexae Tek yıllık. Alt stipullar dik derin dişli. Kayıkçık ve kanatçıklar sıkıca birleşik. Legumenler geri kıvrık, yıldız şeklinde yayık, linear, ağımsı damarlı, dikiş yeri kalın.

Sect. Isthmocarpae Tek yıllık. Stipullar dentat. Kayıkçık ve kanatçıklar sıkıca birleşik. Legumenler linear, geri kıvrık, tohumlar arasında daralmış, kısa gagalı, uçta çengelli.

Sect. Uncinatae Tek yıllık. Stipullar tamdan dentata. Kayıkçık ve kanatçıklar birleşik değil. Legumenler geri kıvrık, ovat-oblong, yassı, çengelli gagalı, 1-2 tohumlu, sık bir baş veya raşem oluşturmuş.

Sect. Capitatae Tek yıllık. Stipullar dentat. Çiçek durumu baş şeklinde. Kaliks ça şeklinde. Korolla mavi renkli. Kayıkçık ve kanatçıklar birleşik değil. Legumenler küçük, oblongdan ovata, kısa gagalı, 1-3 tohumlu.

Sect. Biebersteinianae Kadifemsi tek yıllık. Stipullar dentikulat. Çiçek durumu baş şeklinde, ovattan oblonga, brakteollü, Kaliks tüp şeklinde. Korolla mavi renkli. Kayıkçık ve kanatçıklar birleşik değil. Legumenler lanseolat, 4-6 tohumlu.

Sect. Foenum-graecum Tek yıllık. Stipullar tam. Çiçekler yaprak koltuğunda 1-2 tane. Kaliks tüp şeklinde. Korolla sarımsı-beyaz veya soluk menekşe. Kayıkçık ve kanatçıklar birleşik değil. Legumenler lineardan lanseolata, uzun gagalı.

Çizelge 2.1. *Cylindricae* Seksiyonunda bulunan türler ve grupları

Türler	Grubu
12. <i>T. spruneriana</i> Boiss.	F
<i>T. sibthorpii</i> Boiss.	F
13. <i>T. kotschy</i> Fenzl*	F
14. <i>T. mesopotamica</i> Hub.-Mor.	F
15. <i>T. cylindracea</i> Desv.	F
16. <i>T. cilicica</i> Hub.-Mor.*	F
17. <i>T. filipes</i> Boiss.	F
18. <i>T. velutina</i> Boiss.	F
19. <i>T. strangulata</i> Boiss.	F
20. <i>T. smyrnea</i> Boiss.*	F

*Endemik türler

Grup F

1. Bitki yoğun olarak ince uzun yumuşak tüylü; yaprakçıklar oblongdan lineara kadar değişken, 18. *velutina*
1. Bitki az çok tüysüz veya \pm tüylü fakat ince uzun yumuşak tüylü değil; yaprakçıklar geniş, genellikle obovat-kuneat
 2. Bitki az çok tüysüz; meyvalar tohumlar arasında daralmış
 3. Çiçek sapı 3-7 mm aristalı; meyvalar gagalı 1-2.5 cm, gevşek bir rasem oluşturur 19. *strangulata*
 3. Çiçek sapı aristasız veya 1mm'den fazla olmayan aristalı; meyvalar gagalı 0.6-1 cm, sık bir baş oluşturur 20. *smyrnea*
 2. Bitkiler \pm tüylü; meyvalar tohumlar arasında daralmamış
 4. Korolla beyaz
 5. Korolla 3.5-4 mm; legumenler gagalı 0.5-0.7 cm 16. *cilicica*
 5. Korolla 6-9 mm; legumenler gagalı 2-2.5 cm 13. *kotschy*
 4. Korolla sarı
 6. Korolla 3-4 mm; legumenler, tohum taşıyan kısmın iki katı kadar uzunlukta, biz şeklinde gagalı 17. *filipes*
 6. Korolla 4-8 mm; legumenler, tohum taşıyan kısımdan daha kısa linear-akuminat gagalı
 7. Kaliks dişi genişçe üçgen şeklinde, túbün yarısı kadar uzunlukta veya daha kısa; tohumlar silindirik, 3x1 mm 15. *cylindracea*

7. Üstteki iki kaliks dişi tüpten biraz kısa; tohumlar ovattan oblonga, 2-2.5x1-1.5 mm
8. Tüy örtüsü seyrek, hemen hemen yatık; yaprakçıklar oblongdan-ovata kadar değişir, korolla 7-8 mm; üstteki kaliks dişi lanseolat-akuminat; legumen gagası dik veya yay şeklinde kıvrılmış, çengelli değil 14. *mesopotamica*
8. Tüy örtüsü \pm sık, dağınık; yaprakçıklar obovattan obkordata kuneata kadar değişir, korolla 5-7 mm; kaliks dişi üçgen şeklinde; legumen gagası zayıfça çengelli 12. *spruneriana*

2.1.4. Çalışılan Türlerin Özellikleri

12. *T. spruneriana* Boiss.

Bitki yoğun olarak veya orta derecede zayıf \pm yayık tüylü, tabandan itibaren dallı; gövde toprak üzerinde yatık, yükselici veya dik olarak yükselmiş, 5-30 cm. Stipullar lanseolat-subulat, tam. Yaprakçıklar obovattan obkordat-kuneata, dentikulat, 5-20 x 3-15 mm. Çiçek durumu sapı (0.5-) 1.5-3 (-4) cm. Çiçekler 5-12, kısaca rasem. Kaliks çan şeklinde, 2.5-4 mm, tüp 1.5-2.2 mm; dış üçgen şeklinde, eşit olmayan (düzensiz), üstteki iki diş neredeyse tüp kadar veya daha kısa (1.5-2.2 mm), alttaki üç diş tüpün yarısı kadar veya daha kısa (0.6-1.2 mm). Korolla sarı, 4-7 mm. Legumenler linear, silindirik, yay şeklinde kıvrık, yarı dairemsi veya dairemsi, 1-2.5 x 0.15-0.25 cm, tohum taşıyan kısım 0.8-2 cm, gagada daralmış 0.3-0.8 cm, gaga ucu zayıfça çengelli. Tohumlar 3-4, oblong, 2.5 x 1.25 mm, ince kabarcıklı.

1. Bitki orta derecede zayıf yayık tüylü; çiçek durumu sapı 1.5-3 (-4) cm; legumenler yarı dairemsiden dairemsiye, 2-2.5 cm var. *spruneriana*

1. Bitki yoğun olarak kısa yumuşak tüylü veya ince uzun yumuşak tüylü; çiçek durumu sapı 0.5-1.5 cm; legumenler yay şeklinde kıvrık, 1-2 cm var. *sibthorpii*

var. *spruneriana*. Kayalık yamaçlar, maki, çam ormanları, step, nadasa bırakılmış tarlalarda deniz seviyesinden 1900 m'ye kadar olan yükseltilerde yayılış gösterir. Çiçeklenme Nisan-Haziran.

Türkiye'nin kuzey batısı, Batı, Güney, Orta ve Doğu (Mezopotamya) Anadolu. A1(E) Çanakkale: Suvla'dan Anzak'a, A1(A) Çanakkale: Renköy, A2(A) İstanbul: İstanbul, A2(E) Bilecik: Bilecik, Kara-su valley, 300-400 m, A4 Ankara: Ankara'dan Çankırı'ya, Ankara'nın 15 km kuzeyi, A5 Çorum: İskilip'in 8 km güneyi, 800 m. B1 İzmir: İzmir, B2 Uşak: Uşak, 910 m, B3 Eskişehir: Boz Dağı Eskişehir'in kuzeyi, 800 m, B4 Ankara: Ankara, B9 Bitlis: Van Gölü Erciş'in 24 km batısı, 1900 m. C2 Aydın: Karacasu, 400-500 m, C3 Antalya: Pınarbaşı Kahve Antalya'nın 29 km kuzeyi, 280-310 m, C4 İçel: Gülnar'dan Gilindire'ye, Gülnar'ın 12 km güneyi, 600-700 m, C5 Adana: Adana, Kurt Tepe, 150 m, C6 Gaziantep: Dülük Baba Gaziantep'in 7 km kuzeyi, 1100 m, C8 Mardin: Mardin'den Nusaybin'e, Mardin'den 12 km, 750 m, C9 Mardin: Cizre, 400 m. Yunanistan, Batı Suriye, Irak, Kuzey batı ve batı İran, Transcaucasia, Transcaspia. İran-Turan elementi.

var. sibthorpii (Boiss.). Kumlu deniz kıyısı, kayalık yamaçlar yakınında yayılış gösterir. Çiçeklenme Nisan-Haziran.

Güney Anadolu, Adalar. C3 Antalya: Antalya ve Serik arasında Kumköy, kumluklar, C4 İçel: Silifke, kalenin yanındaki tepe, C5 İçel: Mersin, deniz kıyısı; Soli, kumluklar. Kıbrıs, Lübnan, Suriye, Doğu Akdeniz Elementi (4).

13. T. kotschy Fenzl in Boiss.

Bitki dağınık bir şekilde yatık-kısa yumuşak tüylü, tabandan itibaren dallı, gövde toprak üzerinde yatık veya yükselici-dik olarak yükselmiş, 10-30 cm. Stipullar lanseolat-akuminat, tam. Yaprakçıklar oblongdan obovat-kuneata kadar değişken, dentikulat, 7-20 x 3-10 mm, çoğu zaman az çok tüysüz. Çiçek durumu sapı 2.5-6 cm. Çiçekler 7-10, kısa ± gevşek bir rasem oluşturuyor. Kaliks çan şeklinde, 3-4.5 mm, tüp 1.7-2.2 mm; diş tüpten daha kısa (1-1.3 mm). Korolla beyaz, 6-9 mm. Legümenler linear, silindirik, oraksıdan yarı dairemsiye, 2-2.5 x 0.1-0.2 cm, ± belirsiz ağımsı-damarlı, 4-5 tohumlu, tohum taşıyan kısım 1.5-2 cm, dik daralmış veya az çok yay şeklinde kıvrılmış gaga 0.5 cm. Tohumlar oblong-silindirik, 2-3 x 1-1.5 mm, ince kabarcıklı. Kayalık kireç taşı yamaçlar, nadasa bırakılmış tarlalar, meşe çalılıklarında, deniz seviyesi-2000 m'ye kadar olan yükseltilerde yayılış gösterir. Çiçeklenme Nisan-Haziran.

Güney ve Doğu Anadolu. B6 Malatya: Hekimhan, 1300 m. B7 Malatya: Malatya'nın güney doğusu, Elazığ: Elazığ'dan Malatya'ya, Elazığ'ın 62 km batısı, 980 m. C5 Niğde: Ala Dağ, Çukurbağ'dan Narpız'a, 1900-2060 m, İçel: Çukurova, Tarsus'un 90 km batısı, Adana: Şekerpinar Kahve, Pozantı'nın 5 km kuzeyi, 870 m. C6 Adana: Osmaniye'den Fevzipaşa'ya, 1100 m, Hatay: Belen, 400 m, Maraş: Narlı'dan Karabıyıklı'ya, 600-700 m. C7 Malatya: Asyrge, Samsat'ın kuzeyi.

Endemik; İran-Turan bölgesine özgü bir takson. Türkiye'nin dışında beyaz olmayan çiçekli *Trigonella* olarak bilinir. Suriye, Lübnan ve Filistin'de *T. kotschy* adı altında yayınlanmış olan bitki sarı çiçeklidir ve *T. spruneriana* Boiss., *T. mesopotamica* Hub.-Mor. ve *T. hierosolymitana* Boiss.'e bağlıdır. *T. kotschy* son türe çok yakından benzemektedir (4).

14. T. mesopotamica Hub.-Mor.

Bitki dağınık bir şekilde hafifçe yatık-kısa yumuşak tüylü, başlıca tabandan itibaren dallı; gövde yükselici-dik, 10-40 cm. Stipullar lanseolat-akuminat, tam. Yaprakçıklar oblongdan obovata, dentikulat, 7-20 x 3-10 mm. Çiçek durumu sapı 2-6 cm. Çiçekler 5-15, gevşek bir küre şekli oluşturur, ovat veya oblong rasem. Kaliks çan şeklinde, 3-4 mm, tüp 1.8-2.2 mm; dişler eşit değil, üstteki iki diş lanseolat-akuminat, tüpten daha kısa (1.2-2 mm), alttaki üç diş lanseolat-üçgen şeklinde neredeyse tüpün yarısı kadar uzunlukta (0.5-1.1 mm). Korolla sarı, 7-8 mm. Legümenler linear, silindirik, kısa yatık yay şeklinde kıvrık tüylü, oraksıdan yarı dairemsiye kadar değişken şekilli. 2-2.5 x 0.15-0.2 cm, belirsiz ağimsı-damarlı, 4-5 tohumlu, tohum taşıyan kısım 1.5-1.8 cm, dik daralmış veya az çok yay şeklinde kıvrılmış gaga 0.5-0.7 cm. Tohumlar oblong, 2-2.5 x 1-1.5 mm, ince kabarcıklı. Kayalık yamaçlar, meşe çalılığı, step, nadasa bırakılmış tarlalarda, 300-1500 m'ler arasında yayılış gösterir. Çiçeklenme Nisan-Mayıs.

Türkiye C8 Mardin: Midyat'tan Gercüş'e 11 km, 1100 m, kireçtaşı step.

Doğu Anadolu. B8 Siirt: Siirt'ten Baykan'a 37 km, 800-900 m. C6 Gaziantep: Gaziantep'in 6 km doğusu, 700 m. C7 Urfa: Sürüş'ten Urfa'ya, 600 m. C8 Siirt: Siirt'in 3 km güneyi, 800 m, Mardin: Kızıltepe, 600 m. C9 Siirt: Şırnak'ın üstü, 1400-1500 m.

Lübnan, Suriye. İran-Turan elementi. Kısmen *T. spruneriana* Boiss. (küçük çiçekleri ve kısa kaliks dişleri ile) ve *T. hierosolymitana* Boiss. (8-10 mm çiçekleri ve uzun hemen hemen eşit kaliks dişleri ile) arasında (4).

15. T. cylindracea Desv.

Bitki yatık tüylü, çoğu- tabandan itibaren dallı; gövde toprak üzerine yatık, 5-25 cm. Stipullar lanseolat-subulat, tam. Yaprakçıklar oblong-kuneattan obovata kadar değişken, dentikulat, 4-8 x 2-5 mm. Çiçek durumu sapı ipliksi, 0.5-2 cm. Çiçekler 5-15, rasem baş oluşturur 8-15 mm. Kaliks çan şeklinde, 2-2.5 mm; dişler üçgen şeklinde, tüpün yarısı kadar uzunlukta. Korolla sarı, 4-6 mm. Legumenler bir araya toplanmış, yatık-kısa tüylü, retikulat (ağımsı)-damarlı, silindirik, yay şeklinde kıvrık, tohum taşıyan kısım 7-15 x 1-1.5 mm, 2-4 tohumlu; gaga subulat, 3-5 mm. Tohumlar çok ince noktacıklı-kabarcıklı, silindirik, 3x1 mm. Deniz kenarındaki kumluk alanlarda yayılış gösterir. Çiçeklenme Nisan-Haziran.

Güney Anadolu. C5 İçel: Soli'den Mersin'e, kumsal. Egemen, Tarsus'un yanı, kumluk alan. C5 Adana: Tuzla, kumlu alanlar.

Batı Suriye, Kuzey Mısır. Doğu Akdeniz elementi (4).

16. T. cilicica Hub.-Mor.

Bitki yatık-kısa yumuşak tüylü, dik, tabandan itibaren dallı veya üst yarısında dallanmış; gövde ipliksi, 10-20 cm. Stipullar lanseolat-subulat, tam. Yaprakçıklar, oblanseolattan genişçe obovat-kuneata kadar değişken, keskin bir şekilde dentikulat, 4-8 x 6-10 mm. Çiçek durumu sapı ipliksi, 0.5-1.5 cm. Çiçekler 5-15, gevşek bir kapitulum şeklinde rasem oluşturuyor. Kaliks çan şeklinde, 2.5-3.5 mm; dişler linear-subulat (biz şeklinde) eşit uzunlukta, tüp kadar uzunlukta. Korolla beyaz, 3.5-4 mm. Legumenler linear, silindirik, yay şeklinde kıvrılmış, 5-7 x 1-1.5 mm, 1-2 tohumlu. Tohumlar silindirik, düz yüzeyli, 1.5 x 0.5 mm. *Pinus brutia* ormanında, 820 m'ye kadar olan yükseltilerde yayılış gösterir. Çiçeklenme Mayıs.

Türkiye C5 İçel: Tarsus ilçesi, *Pinus brutia* ormanı Gülek Boğazı, 820 m.

Endemik; Doğu Akdeniz elementi. Sadece toplanan materyalin tipinden biliniyor. *T. filipes* Boiss.'e yakın fakat çiçekleri beyaz, kaliks dişi eşit uzunlukta, biz şeklinde, tüp kadar uzun (4).

17. T. filipes Boiss.

Bitki yatık-kısa yumuşak tüylü, tabandan itibaren dallı, gövde ipliksi, yatık veya dik yükselici, 5-15 cm. Stipullar lanseolat-subulat, tam. Yaprakçıklar oblongtan obovat-kuneata, dentikulat, 5-12 x 2-6 mm. Çiçek durumu sapı ipliksi, 1.5-3 cm. Çiçekler (5-) 10-20, kısa bir küre şeklinden ovata kadar değişken rasem oluşturur. Kaliks çan şeklinde, 2-3 mm; dişler üçgen şeklinde, eşit değil, genellikle tüpten kısa. Korolla sarı, 3-4 mm. Legumenler linear, silindirik, yay şeklinde kıvrık, 8-15 x 1-1.5 mm, tohum taşıyan kısım 3-5 mm, 1-2 tohumlu, subulat gagaya doğru daralıyor 5-10 mm. Tohumlar oblongdan silindirike kadar değişken, 2.5-3 x 1 mm, ince kabarcıklı. Kayalık kireç taşı yamaçlar, kalkerli step, nadasa bırakılmış tarlalarda, 400-1100 m'ler arasında yayılış gösterir. Çiçeklenme Nisan-Haziran.

Amanos'lar ve Mezopotamya'ya dağılmış. C6 Gaziantep: Gaziantep'in 6 km doğusu, 700 m, Urfa: Birecik, Hatay: Şenköy, Antakya ve Yayladağ arası, 800 m. C8 Mardin: Savur, 900 m.

Batı Suriye, Kuzey Irak, Batı İran. İran-Turan elementi (4).

18. T. velutina Boiss.

Bitki yoğun olarak ince uzun yumuşak tüylü, çoğu zaman tabandan itibaren dallı; gövde dik, dik yükselici veya bazen toprak üzerine yatık, 5-20 cm. Stipullar lanseolat-akuminat, tam. Yaprakçıklar lineardan oblanseolat veya oblonga kadar değişken, akut veya yuvarlak, dentikulat, 5-15 x 1-4 mm. Çiçek durumu sapı 0.5-3 cm. Çiçekler 4-10, geri kıvrık, gevşek bir küre veya oblong kısaca aristalı rasem oluşturur. Kaliks üçgen şeklinde, 3.5-6 mm; dişler lineardan lanseolat-subulata kadar değişken, tüp kadar uzunlukta veya daha uzun. Korolla sarı, 5-6 mm. Legumenler linear, silindirik, yay şeklinde kıvrıktan yarı dairemsiye, gagalı, yoğun olarak ince uzun yumuşak tüylü, 0.8-1.5 x 0.15-0.2 cm, tohum taşıyan kısım 5-10 mm, 2 tohumlu, gaga 3-5 mm. Tohumlar oblong, 3 x 1.5 mm, kabarcıklı. Kireç taşı kayalıklar, kayalık yamaçlar, step, üzüm bağlarında, 500-1900 m'ler arasında yayılış gösterir. Çiçeklenme Mayıs-Temmuz.

Batı, Güney ve Orta Anadolu, daha da nadiren Doğu'da. A4 Çankırı: Çankırı, 800 m. A5 Çorum: Kırkdilim boğazı, Çorum'un 22 km kuzeyi, 1120-1250 m, B1 Manisa: Spil Dağı. B2 Uşak: Uşak, 950 m. B3 Eskişehir: Polatlı'dan Sivrihisar'a 29 km, 800 m. B4

Ankara: Ankara'dan Polatlı'ya 32 km, 900 m. B5 Niğde: Ortaköy, 1200 m. B6 Sivas: Gürün'den Sivas'a, Gürün'ün 34 km kuzeyi, 1750 m. B7 Malatya: Malatya, 1260 m. B9 Bitlis: Van Gölü Erciş'in 24 km batısı, 1900 m. C2 Muğla: Muğla'dan Kale'ye, Muğla'nın 7 km kuzeyi, 1250-1300 m. C3 Antalya: Çubuk boğazı, Hafispaşa yanı, 800 m. C4 İçel: Gülnar'dan Silifke'ye, Gülnar'ın 32 km doğusu, 900 m. C5 Adana: Şencan Dere'si, Gürümze yanı, 1300 m. C8 Diyarbakır: Diyarbakır.
Anti-Lübnan. İran-Turan elementi (4).

19. T. strangulata Boiss.

Bitki seyrek yatık-kısa yumuşak tüylü, çoğunlukla tabandan dallı; gövde yükselmişden dike, 8-40 cm. Stipullar lanseolat-akuminat, tam. Yaprakçıklar az çok tüysüz, obovattan obkordat-kuneata kadar değişken şekilli, dentikulat, trunkat veya emerginat, 7-13 x 4-11 mm, aşağıda hafifçe mavimsi yeşil. Çiçek durumu sapı 2-5 cm. Çiçekler 4-8, sonunda geri kıvrık, gevşek uzun aristalı bir rasem oluşturuyor, arista 3-7 mm. Kaliks üçgen şeklinde, 3 mm; dişler lanseolat neredeyse tüp kadar. Korolla parlak sarı, (5-) 6-7 mm. Legumenler gevşek bir rasem oluşturur, silindirik, yay şeklinde kıvrılmış veya oraksı, yatık-kısa tüylü, uzunluğuna damarlı, tohum araları daralmış, 10-25 x 2-3 mm, tohum taşıyan kısım 7-20 mm, 2-5 tohumlu, gagaya doğru çok dik bir şekilde daralmış 3-5 mm. Tohumlar ovattan oblonga, 2-2.5 x 1.5 mm, en sonunda kabarcıklı. Kayalık yamaçlar, meşe topluluğu, sulu çayırarda, 300-1500 m'ler arasında yayılış gösterir. Çiçeklenme Nisan-Haziran.

Başlıca Güney ve Doğu Anadolu, nadiren Batı ve Orta Anadolu. A5 Amasya: Amasya, 400-700 m. B7 Erzincan: Eğin (Kemaliye). C2 Muğla: Muğla'dan Kale'ye, Muğla'nın 17 km kuzeyi, 1300 m. C3 Antalya: Antalya'dan Buçak'a, Pınarbaşı Kahvesi, Antalya'nın 29 km kuzeyi, 280-310 m. C4 İçel: Gülnar, 980 m. C6 Malatya: Doğanşehir'den Pazarcık'a, 900 m, Maraş: Maraş, Gaziantep: Gaziantep'den Fevzipaşa'ya, 1200 m. Hatay: Latik, Belen yanı, 1000 m. C8 Mardin: Savur'un 10-12 km batısı, 900 m. C9 Siirt: Şırnak'ın üstü, 1400-1500 m.

Suriye Çölü, Anti-Lübnan, Kuzey Irak, Güney Kafkasya. İran-Turan elementi (4).

20. *T. smyrnea* Boiss.

Bitki seyrek yatık-kısa yumuşak tüylü, tabandan dallı; gövde toprak üzerine yatık veya dik olarak yükselmiş, 5-15 cm. Stipullar ovattan lanseolat-akuminata kadar değişken şekilli. Yaprakçıklar az çok tüysüz, obovattan obkordat-kuneata kadar değişken şekilli, dentikulat, trunquat veya emerginat, 5-8 x 3-6 mm. Çiçek durumu sapı 1.5-2 cm. Çiçekler 4-8, sonunda geri kıvrık, kısa bir başa benzer rasem oluşturur, arista 0-1 mm. Kaliks üçgen şeklinde, 2-2.5 mm; dişler lanseolat tüpten daha kısa. Korolla parlak sarı, 5.5-6 mm. Legumenler sık bir baş oluşturuyor, silindirik, gagalı, oraksıdan-yarı dairemsiye, yatık-kısa tüylü, uzunluğuna damarlı, tohum araları daralmış, 6-10 x 2-3 mm, tohum taşıyan kısım neredeyse gaga kadar. Tohumlar ovat, 2.5 x 1.5 mm, kabarcıklı. Taşlık yamaçlar, kireçtaşı kayalıklarda, deniz seviyesi-1150 m'ler arasında yayılış gösterir. Çiçeklenme Mayıs-Haziran.

Batı ve Güneybatı Anadolu, Adalar. B1 İzmir: Kavaklı Dere, İzmir'in batısı. C1 İzmir: Samsun Dağı, Güzelçamlı üstü, 800 m. C2 Antalya: Gömbe, Elmalı'nın güneybatısı, 1150 m. C3 Antalya: Antalya.

Endemik; Doğu Akdeniz elementi. *T. strangulata* Boiss. ile yakından ilişkili (4).



1



2



3

Şekil 2.1. *Trigonella spruneriana* türü 1: genel görünüş (çiçekli-meyvalı); 2: meyvalı görünüş; 3: tohum.



1



2



3

Şekil 2.2. *Trigonella sibthorpii* türü 1: genel görünüş; 2: çiçekli-meyvalı görünüş; 3: tohum.



1



2



3



4

Şekil 2.3. *Trigonella kotschyi* türü 1-2: çiçekli-genel görünüş; 3: meyvalı görünüş; 4: tohum.



1



2



3

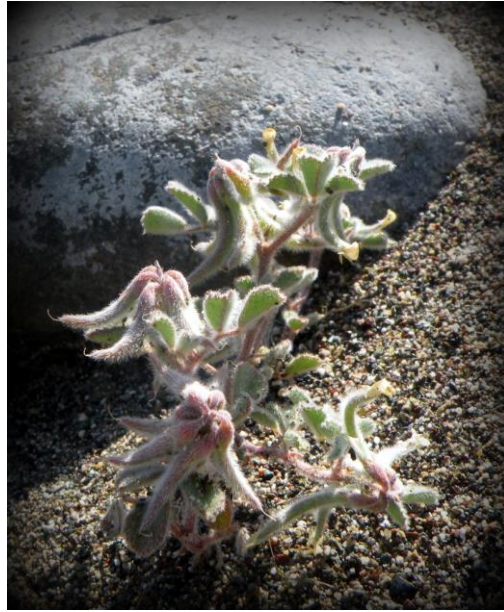
Şekil 2.4. *Trigonella mesopotamica* türü 1: çiçekli-genel görünüş; 2: çiçekli görünüş; 3: tohum.



1



2



3



4

Şekil 2.5. *Trigonella cylindrica* türü 1: genel görünüş; 2: çiçekli-meyvalı görünüş; 3: meyvalı görünüş; 4: tohum



1



2



3



4

Şekil 2.6. *Trigonella cilicica* türü 1: genel görünüş; 2: çiçekli görünüş; 3: meyvalı görünüş; 4: tohum



1



2



3

Şekil 2.7. *Trigonella filipes* türü 1: genel görünüş (çiçekli-meyvalı); 2: meyvalı görünüş; 3: tohum



1



2

Şekil 2.8. *Trigonella velutina* türü 1: genel görünüş (çiçekli-meyvalı); 2: tohum.



1



2



3

Şekil 2.9. *Trigonella strangulata* türü 1: genel görünüş (çiçekli-meyvalı); 2: meyvalı görünüş; 3: tohum.



1



2

Şekil 2.10. *Trigonella symrnea* türü 1: meyvalı görünüş; 2: tohum.

2.2 *Trigonella* Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Araştırmalar

2.2.1 Fenolik Bileşikler

2.2.1.1 Flavonoidler

Kawashty ve ark. 1998 yılında yaptıkları bir çalışmada Leguminosae familyasının 4 seksiyonuna ait Mısır kökenli 8 *Trigonella* türünün flavonoid glikozitlerini araştırmışlardır. Bunun için bitkinin toprak üstü kısımları önce %70'lik etanolla daha sonra da %50'lik etanolla ekstre edilmiş ve vakum altında kurutulmuştur. Standart metotlar kullanılarak flavonoid bileşikleri teşhis edilmiştir. *Trigonella* tohumlarının C-glikozil-flavon içerdiği bildirilmiştir. Ayrıca izoflavonoid formononetin ve 5-deoksiflavon, 7,4'-dihidroksiflavon ve 7, 3', 4'-trihidroksiflavon da içermektedir. Bu sekiz *Trigonella* türü 2 flavanol glikoziti kemferol ve kersetin içermektedir. Bütün *Trigonella* türleri formononetin içerirken, *T. glabra* ve *T. polyceratia*'nın 5-deoksiflavonlardan iki tanesi olan 7, 4'-dihidroksiflavon ve 7, 3', 4'-trihidroksiflavon içermediği gözlenmiştir. Çalışılan *Trigonella* türleri kemferol 3, 7-diglukozit, kemferol-3-galaktoglukozit ve kersetin-3-galaktoglukozit içermekte; yalnız içlerinden sadece 3 seksiyon *Cylindrica*, *Foenum-graecum* ve *Pectinatae* aynı zamanda kersetin-3,7-diglukozitini de içermektedir. Yapılan incelemeler göstermiştir ki *T. foenum-graecum* ve *T. polyceratia* flavonoid profili açısından benzerlik göstermektedir (31).

Shang ve ark. 1998 yılında Çin'de üretilen çemenotu flavonoidleri ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Flavonoidler silika jel, poliamid ve Sephadex LH-20 kromatografisi ile izole edilmiştir. Yapıları ise fiziksel ve kimyasal özellikler ve spektral analizlerle tayin edilmiştir. Çemenotu tohumundan 5 flavonoid bileşik izole edilmiş ve viteksin, trisin, naringenin, kersetin ve trisin-7-O-beta-D-glukopiranozit olarak teşhis edilmiştir. Bunların arasında trisin, naringenin ve trisin-7-O-beta-D-glukopiranozit çemenotu ve *Trigonella* bitkileri içerisinden ilk defa izole edilmiştir (32).

Wen-zhe ve Xu 2000 yılında yaptıkları bir araştırmada dört üretim bölgesinden çemenotu tohumlarındaki 2 flavon glikozitini belirlemişlerdir. İlk kez bu tohumlardaki orientin ve viteksin içerikleri HPLC kullanılarak belirlenmiştir. Jiangsu, orientin ve viteksinleri sırasıyla 0.025 %9 ve 0.018 %4 olarak saptanmıştır. Anhui, Shaanxi ve

Ningxia isimli diğerk 3 üretim bölgesinin içerikleri ise sırasıyla %8 0.014 ve %4 0.004; %9 0.008 ve %9 0.002; %6 0.017 ve %9 0.008 olarak bulunmuştur (33).

Han ve ark. 2001 yılında yaptıkları bir araştırmada Çin'den toplanan çemenotu gövdelerinden 2 kemferol glikoziti, [kemferol 3-O-β-D-glukosil(1→2)-β-D-galaktozit 7-O-β-D-glukozit ve kemferol 3-O-β-D-glukosil(1→2)-(6''-O-asetil)-β-D-galaktozit 7-O-β-D-glukozit] ve kersetin glikoziti, [kersetin 3-O-β-D-glukosil(1→2)-β-D-galaktozit 7-O-β-D-glukozit] izole etmişlerdir. Yapıları ise kimyasal ve spektral yöntemlerle belirlenmiştir (34).

Yuldashev 2002 yılında yapmış olduğu bir çalışmada çiçeklenme döneminde toplanan *T. grandifolia* bitkisini oda sıcaklığında etanolla ekstre etmiştir. Vakum altında uçurulan ekstre daha sonra su ile seyreltilmiş ve CHCl₃, etil asetat ve *n*-butanol ile muamele edilmiştir. Bu fraksiyonlara silika jel kolon kromatografisi uygulanarak bazı flavonoidler izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapısı ise NMR, UV ve kütle spektrumu kullanılarak aydınlatılmıştır. *T. grandifolia* türünün toprak üstü kısmının etanol ekstresinden biokanin A, luteolin, kersetin, sinarozit, kersetin-7-O-β-D-glukopiranozit, viteksin ve izoorientin flavonoidlerini izole etmiştir (15).

Baggett ve arkadaşları 2002 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu bitkisinin köklerinin aseton ekstresini elde ederek ekstredeki izoflavonoidleri HPLC ve kapiler elektroforez kullanarak teşhis etmişlerdir. Formononetin-7-O-glikozit, formononetin-7-O-glikozit-6'-malonat, medikarpin-7-O-malonat, medikarpin-7-O-glikozit-6'-malonat izoflavonoidlerini bulmuşlardır (35).

2007 yılında Prati ve ark. yaptıkları bir çalışmayla çemenotu tohumlarının %70'lik etanolik ekstresindeki flavonoid içeriği ve bileşimini HPLC -DAD ve HPLC -ESI-MS kullanarak aydınlatmışlardır. Bitkinin tohum ekstresi pek çok flavonoid içermektedir. Viteksin, viteksin-O-ksilosil türevleri, orientin, homoorientin, orientin-homoorientin C-ramnozil türevleri, viteksin C-ramnozil türevleri gibi flavonoidleri tespit etmişlerdir (22).

Wojdylo ve ark. 2007 yılında yaptıkları bir araştırmada Polonya'da yetişen çemenotu tohumlarının fenolik içeriğini incelemişlerdir. HPLC analizleri göstermiştir ki kersetin, luteolin ve apigenin major flavonoidlerdir (2.95±1.23 mg/100 g kuru ağırlık, 512±1.02 mg/100 g kuru ağırlık, 731±0.23 mg/100 g kuru ağırlık). Bu değerler bitkinin fenolik asitlerine oranla flavonoid açısından daha zengin olduğunu göstermiştir (36).

Wang ve ark. 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu tohumlarının etanollü ekstralarının etilasetatlı çözülebilir fraksiyonundan 10 flavonoit izole etmişlerdir. Yapıları ise spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır. Flavonoitler; 5,7,3'-trihidroksi-5'-metoksilizoflavon, biokanin A, formononetin, irilon, trisin, daidzein, kalikosin, orientin-2"-*O-p-trans*-kumarat, viteksin-2"-*O-p-trans*-kumarat ve trisin-7-*O*- β -D-glukopiranozit. Bunlardan 5,7,3'-trihidroksi-5'-metoksilizoflavon ve orientin-2"-*O-p-trans*-kumarat yeni flavonollerdir. Orientin-2"-*O-p-trans*-kumarat ve viteksin-2"-*O-p-trans*-kumarat bileşikleri, H₂O₂ indüklü 2BS hücre proliferasyonunu desteklemiştir (37).

Belguith-Hadriche ve ark. 2010 yılında yaptıkları bir araştırmada sıvı kromatografisi-kütle-kütle spektrometresi cihazını kullanarak üç flavonoit (kemferol 3-*O*-glikozit, apigenin-7-*O*-rutinozit ve naringenin) teşhis etmişlerdir. Naringenin etil asetat ekstresinde en çok bulunan flavonoit bileşiğidir. Konsantrasyonu 7.23±0.09 mg/g kuru ağırlığa ulaşmıştır (38).

Gikas ve ark. 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada *T. foenum-graecum* L. bitkisinin yapraklarındaki kersetin ve kemferol flavonollerinin miktar tayinini HPLC kullanarak belirlemişlerdir. Hem flavonoit içeriği belirlenmiş hem de bitkinin vejetatif, çiçeklenme ve meyva verme dönemlerinde yapraklarda bulunan flavonoitlerdeki mevsimsel değişikliği gözlemlemişlerdir. Örnekler öncelikle metanol:su 80:20 (h/h) ile ekstre edilmiş ve HCl ile glikozit hidrolizi yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda en yüksek flavonoit içeriğinin çiçeklenme dönemindeki çemenotu yapraklarından elde edildiği görülmüştür. Bu dönemdeki total flavonoit miktarı 12.6 mg/g'dır, bunu vejetatif dönem 11.2 mg/g ile takip etmiştir. Çiçeklenme döneminde ise total flavonoit miktarı 7.6 mg/g'dır. Her üç dönemde de ana flavonoit %57 vejetatif dönem, %56 çiçeklenme dönemi ve %67 meyva verme dönemi ile kemferoldür. Meyva verme döneminde kemferol miktarı kersetin miktarının iki katından fazla görülmüştür (39).

Mandegary ve ark. (2012) çemenotu tohumunun etanollü ekstresini bir sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak fraksiyonlara ayırmışlardır. Bu fraksiyonlar; *n*-hekzan fraksiyonu, CCl₄ fraksiyonu, diklorometan fraksiyonu (DCM), asit kloroform fraksiyonu (ACC), alkali kloroform fraksiyonu (AKC) ve sulu fraksiyon olmak üzere 6 tanedir. Flavonoid içeriği ACC ve sulu fraksiyonda yüksek miktarda gözlenirken, diğer fraksiyonlarda gözlenmemiştir (40).

2.2.1.2 Fenolik Asitler

Bajpai ve arkadaşları yaptıkları bir araştırmada *T. corniculata*, *T. foenum graecum* bitkilerinin toprak üstü ve tohum kısımlarının %50'lik sulu metanol ekstresinde total fenolik bileşikleri HPLC-MS-MS ile tespit etmişlerdir. *T. corniculata* toprak üstü kısmında kafeik asit, klorojenik asit, elajik asit, ferulik asit, gallik asit, protokateşuik asit, kemferol, kersetin bulunmuştur. Tohum kısmında ise toprak üstü kısmından farklı olarak kersetin bulunmamaktadır, ancak toprak üstü kısmı farklı olarak rutin içermektedir. *T. foenum graecum* toprak üstü kısmında ise kafeik asit, ferulik asit, gallik asit, protokateşuik asit, kersetin ve rutine rastlanmıştır. Tohumunda ise sadece gallik ve protokateşuik asit bulunmaktadır (41).

Dixit ve ark. 2005 yılında çemenotu ile bir çalışma yapmışlardır. Tohumların HPLC analizleri göstermiştir ki bu ekstratlar gallik asit, kafeik asit, *o*-kumarik asit, *p*-kumarik asit ve rutin içermektedir (42).

Wojdylo ve ark. 2007 yılında yaptıkları bir araştırmada Polonya'da yetişen çemenotu tohumlarının fenolik içeriğini incelemişlerdir. Major fenoliklerin kalitatif ve kantitatif analizleri ters-faz HPLC kullanılarak yapılmıştır. Major fenolik asitler neoklorojenik asit ve *p*-kumarik asit olarak belirlenmiştir (53.3±0.23 mg/100 g kuru ağırlık ve 29.4±0.21 mg/100 g kuru ağırlık sırasıyla) (36).

Marusk ve ark. 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu diploidal tıbbi bitkisinin ham materyalinin biyolojik olarak aktif bileşiklerinin miktarı ve bileşimi ile ilgili önemli bilgiler vermişlerdir. Deneysel olarak bitkinin poliploid meristemlerini hazırlamışlardır. Metanollü ekstratlarından total fenolik ve flavonoid içeriği spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Bu diploid ve poliploid formların sadece kantitatif açıdan değil aynı zamanda kalitatif açıdan da farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Ekstratların kalitatif analizleri için HPLC ve kapiler elektroforez metotları kullanılmıştır. Çemenotunun poliploidal meristemlerinde gallik asite rastlanmıştır (43).

2.2.1.3 Total Fenol Miktar Tayini

Kaur ve Kapoor, çemenotu ekstratlarının total fenol içeriklerini araştırmışlar ve 2 g çemenotunda 217.5 mg total fenol tespit etmişlerdir (44).

Dixit ve ark. 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu tohumlarının total fenol miktarını analiz etmişlerdir. Sulu ve kaynamış sulu ekstratlarında total fenol bileşimi

Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak bulunmuştur. Ölçümler çemenotu tohum tozunun her gramındaki mg gallik asit ekivalanı şeklinde ifade edilmiştir. Olgunlaşmış çemenotu tohumunun sulu ve kaynatılmış sulu ekstrelerdeki total fenolik bileşimi ise sırasıyla 64.61 ± 0.31 ve 47.55 ± 0.75 mg gallik asit ekivalanı/g çemenotu tozu olarak bulunmuştur (42).

Aqil ve ark. 2006 yılında Hindistan'da geleneksel olarak kullanılan tıbbi çemenotu bitkisinin metanollü ekstresinin fitokimyasal analizini yapmışlardır. Bitki ekstresinin fitokimyasal analizi fenolikler, alkaloid, glikozitler ve flavonoidleri içeren ana bitki bileşenlerinin varlığına işaret etmiştir. Total fenol içeriği 74.33 ± 5.13 mg/g kuru bitki ekstresi olarak bulunmuştur (45).

Wojdylo ve ark. 2007 yılında yaptıkları bir araştırmada Polonya'da yetişen çemenotu tohumlarının fenolik içeriğini incelemişlerdir. Total fenolikler Folin-Ciocalteu deneyi kullanılarak gallik asit ekivalanı olarak ölçülmüştür. Çemenotu tohumundaki total fenol miktarı 7.60 ± 0.11 mg GAE/100 g kuru ağırlık olarak bulunmuştur (36).

Dasgupta ve De yaptıkları bir çalışmada *T. foenum graecum* yapraklarının total fenol ve total flavonoid içeriğini değerlendirmişlerdir. Total fenol miktarı 110 µg GAE/mg kuru ağırlık olarak bulunmuştur (46).

Nautiyal ve ark. 2008 yılında yaptığı bir çalışmada bitki büyümesini arttıran *Bacillus lentimorbus* NRRL B-30488 (B-30488) bakterisini, total fenol içeriğini değerlendirmek için test etmişlerdir. Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalar göstermiştir ki B-30488 uygulanan çemenotu bitkisinde fenol içeriği (33.34-180.7 GAE µg/mg) çok yüksek bulunmuştur (47).

Gupta ve Prakash 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotunun metanollü ekstrelerini askorbik asit, total ve β-karoten ve total polifenol içerikleri açısından analiz etmişlerdir. Çemenotunda polifenol içeriği 158.33 mg tannik asit/100 g olarak saptanmıştır (48).

Cevallos-Casals ve Cisneros-Zevallos 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada farklı olgunlaşma dönemlerinde (dinlenme, soğurma ve 7 günlük filizlenme) çemenotu tohumlarının fenolik bileşen seviyelerini test etmişlerdir. Tohumların metanollü ekstresi ile Folin-Ciocalteu kullanılarak total fenolik içeriğine bakılmıştır. Fenolik miktarları mg klorojenik asit ekivalanı kullanılarak ifade edilmiştir. Kuru ağırlıkta fenolik bileşenlerin

dağılım durumu yedi günlük filiz>durağan tohum>soğurma durumu olarak bulunmuştur (49).

Shakuntala ve ark. 2011 yılında yaptıkları bir çalışmayla Folin-Ciocalteu yöntemini kullanarak, yağından uzaklaştırılmış filizlenmiş çemenotu tohum ve endospermasından, filizlenmemiş çemenotu tohum kabuğundan arta kalan tomurcuk, endosperm ve tohum kabuğunun %70'lik sulu etanollü ekstresinden polifenol içeriğini belirlemişlerdir. Filizlenmiş ve filizlenmemiş çemenotu tohum fraksiyonunun bu sulu etanollü ekstrelerinin polifenol içeriği, filizlenmiş endospermde %25.22, filizlenmiş tohum kabuğunda %9.23, tomurcuklarda %39, filizlenmemiş endospermde %37.13 ve filizlenmemiş tohum kabuğunda %14.61 olarak saptanmıştır. Filizlenmiş çemenotu tohumlarının endosperm ve tohum kabuğunun polifenol içeriği filizlenmemiş çemenotu tohumlarının endosperm ve tohum kabuğuyla karşılaştırıldığında azalmış olarak gözlenmiştir. Tomurcuklar ise polifenoller (97.55 mg/100 g) açısından zengin bulunmuştur (26).

Marathe ve ark. 2011 yılında Hindistan'da genel olarak tüketilen çemenotunun fenolik içeriğini bulmak için Folin-Ciocalteu yöntemini kullanmışlardır. Sonuç olarak total fenol miktarı 4.298 ± 0.072 mg GAE/g olarak saptanmıştır (50).

Naidu ve ark. 2011 yılında çemenotu tohumlarının endosperma ve kabuğunun kimyasal kompozisyonunu araştırmışlardır. Çemenotu tohum, kabuk ve endospermasının total polifenol içeriği Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak gallik asit ekivalanı olarak sırasıyla 85.88 ± 0.01 mg GAE/g, 103.88 ± 0.01 mg GAE/g, 65.81 ± 0.007 mg GAE/g olarak bulunmuştur. En yüksek fenolik bileşimine görüldüğü üzere yine kabukta rastlanmıştır (51).

Tohamy ve ark. 2012 yılında çemenotunun etkili bileşiklerinden tanen, total flavonoit ve total fenolikleri ile in vitro ortamda çalışmışlardır. Total fenol Folin Ciocalteu metodu kullanılarak yapılmış ve miktarı 0.44702 mg GAE/g olarak bulunmuştur (52).

Naidu ve ark. 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada farklı kurutma tekniklerinin çemenotu yapraklarının kimyasal bileşimine etkisini incelemişlerdir. Yapraklar sıcak hava (HA, 40°C, %58-63 rölatif nem), düşük nemli hava (LHA, 40°C ve %28-30 rölatif nem) ve radyofrekans (RF, 40°C, %56-60 rölatif nem) ile kurutulmuştur. Düşük nemli havada kurutulmuş çemenotu yapraklarının metanol, etanol ve izopropanol ile

ekstraksiyonlarından elde edilen total fenol içeriği sırasıyla 48, 44, 28 mg/100 g gallik asit ekivalanı olarak saptanmıştır. Verim ise sırasıyla %27, %15 ve %22 olarak kaydedilmiştir. Aynı çalışmada düşük nemli havada kurutulan çemenotu yapraklarının metanollü sulu ekstreleri hazırlanarak verim ve polifenol içeriğine bakılmıştır. Optimum verim ve polifenol içeriği 60:40 metanol:su karışımıyla hazırlanan ekstreden elde edilmiştir (sırasıyla %34 ve %68) (53).

2.2.1.4 Total Flavonoit Miktar Tayini

Dixit ve ark. 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu tohumlarının total flavonoitlerini analiz etmişlerdir. Ekstrelerin flavonoit içeriği, Luximon-Ramma metodu kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen değerler çemenotu tohum tozunun her gramındaki mg kersetin ekivalanı olarak ifade edilmiştir. Olgunlaşmış çemenotu tohumunun sulu ve kaynatılmış sulu ekstrelerdeki total flavonoit bileşimi sırasıyla 19.14 ± 0.021 ve 17.49 ± 0.19 mg kersetin/g çemenotu tozu olarak bulunmuştur (42).

Dasgupta ve De yaptıkları bir çalışmada *T. foenum graecum* yapraklarının total flavonoit içeriğini değerlendirmişlerdir. Total flavonoit miktarı $5.08 \mu\text{g}$ kateşin ekivalanı/mg kuru ağırlık olarak bulunmuştur (46).

Gikas ve ark. 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada *T. foenum-graecum* L. bitkisinin yapraklarındaki total flavonoit miktarını belirlemişlerdir. Yapılan çalışmalarda en yüksek flavonoit içeriğinin çiçeklenme dönemindeki çemenotu yapraklarından elde edildiği görülmüştür. Bu dönemdeki total flavonoit miktarı 12.6 mg/g 'dır, bunu vejetatif dönem 11.2 mg/g ile takip etmiştir. Meyvalanma döneminde ise total flavonoit miktarı 7.6 mg/g 'dır (39).

Tohamy ve ark. 2012 yılında çemenotunun etkili bileşiklerinden tanen, total flavonoit ve total fenolikleri ile in vitro ortamda çalışmışlardır. Total fenol AlCl_3 kullanılarak yapılmış ve miktarı 0.95064 mg kersetin/g olarak bulunmuştur (52).

2.2.2 Saponozitler

Pasich ve ark. 1983 yılında yaptıkları bir çalışmayla çemenotu tohumunda diosgenin ve yamogenin saponinlerini araştırmışlardır. Aseton-eter (2:1) karışımıyla çöktürülen etanol ekstraksiyonu ve mobil faz olarak kloroform:metanol:su (65:40:10) karışımının kullanıldığı kolon kromatografisi ile çemenotu tohumlarından steroidal

sapogenin fraksiyonu elde edilmiştir. Bu izolasyon işleminin verimi %3.5'e ulaşmıştır. Yedi steroid sapogenin bulunmuştur. Fraksiyondan asit hidrolizi yoluyla (2 N H₂SO₄) %1.2 verimle bir genin fraksiyonu izole edilmiştir. Bahsedilen fraksiyondaki ana bileşenler ağırlık oranları sırasıyla 2:1 olan diosgenin ve yeni izomeri yamogenindir. Tıbbi bitkideki bu bileşiklerin içeriği %0.94'tür (54).

Tuğrul ve Özer 1984'de çemenotunun ilaç hammaddesi olarak kullanılabilme olanaklarını araştırmışlardır. Tohumunun etanol ekstresinin HPLC ile incelenmesi sonucunda diosgenin miktarının saponozit ekstresinde %40, kuru droga oranla ise %1.93 olarak bulmuşlardır. Aynı zamanda %6.5 sabit yağ, %32.3 müsilaj karakterli polisakkarit karışımı elde etmişlerdir (55).

Varshney ve Jain 1984 yılında yürüttükleri bir çalışmayla çemenotu yapraklarının saponinlerini incelemişlerdir. Çemenotu yaprakları İTK üzerinde 7 noktayla kendini gösteren bir steroidal saponin karışımı vermiştir. Ham karışım kolon kromatografisi ile saflaştırılmış ve 5 saf saponin vermiştir. Saponinler graecunin-B, -C, -D, -E, ve -G olarak adlandırılmıştır. Tüm saponinlerin spektrumu bir spirostanol yan zinciri absorpsiyonu göstermiştir. Saponinlerin hiçbiri İTK'de Ehrlich's reaktifi ile reaksiyona girmemiştir. Bu sonuçlar göstermiştir ki bütün saponinler spirostanol glikozitleridir. Her saponin diosgenin ve şeker verimi için asit hidrolizle ayrılmıştır. Kağıt kromatografisi ve gaz-sıvı kromatografisi ile belirlenmiş ve rölatif özellikleri gaz-sıvı kromatografi ile saptanmıştır. Graecunin -G ve -E'nin yapıları sırasıyla, (diosgenin) 3-O- α -D-glukopiranozil (1→2) α -L-ramnopiranozil (1→6) α -D-glukopiranozit ve (diosgenin) 3-O- α -D-glukopiranozil (1→4) α -D-glukopiranozil (1→2) α -L-ramnopiranozil (1→6) α -D-glukopiranozit olarak bulunmuştur (56).

Elujoba ve Hardman 1987 yılında çemenotu tohumlarıyla birtakım çalışmalar yürütmüşlerdir. Çemenotundan asit ve enzimatik hidrolizlerle diosgenin üretimini denemişlerdir. İnkübasyon yapılmaksızın çemenotu tohumunun direkt asit hidrolizi %0.90 diosgenin vermiştir. Asit uygulanmaksızın tüm tohumun endojen enzimatik inkübasyonu ile %0.59 ile maksimum verim elde edilmiştir. Asit hidrolizi sonrasında endojen enzimatik inkübasyon yapıldığı zaman %1.64 sapogenin elde edilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada optimum inkübasyon şartları (pH ve sıcaklık) araştırılmıştır (57).

Jain ve Agrawal 1988 yılında yaptıkları bir çalışmada *T. corniculata* ve *T. foenum-graecum* bitkilerinin önceden yıkanmış tohumlarına farklı konsantrasyonlarda

GA3 ve IAA uygulamışlardır. 2 ve 8 hafta aralıklardan sonra steroidal sapogeninlerine bakmak için olgunlaştırılmış ve toplanmıştır. Her iki *Trigonella* türlerinde de GA3'ün maximum 100 ppm'e arttırılan dozlarında steroidal sapogeninler (diosgenin ve tigogenin) artan seviyelerde gözlenmiştir (58).

Gupta ve ark. 1989 yılında çemenotu ile yaptıkları çalışmada bitkideki saponinin yine bitkide bulunan şeker, Fe ve Zn içerikleri ile pozitif bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur (59).

Zafar ve Garg 1990 yılında yaptıkları çalışmada çemenotunun kök kültürlerini, Street ve McGroger'in vitaminli besiyerlerinden 4 kez pasaj olarak oluşturmuşlardır. Kültüre alınmış kökler diosgenin içeriği açısından analiz edilmiş ve %0.52 olarak bulunmuştur. Besiyeri kolesterol ile kuvvetlendirildiğinde diosgenin içeriği %0.62'ye yükselmiştir (60).

Mahna ve ark. 1994 yılında yaptıkları çalışmada *T. corniculata* bitkisinin uyarılmış mutantlarında diosgenin üretimini incelemiştir. Alkilleyici ajanlar ve γ ışınlarını kullanarak *T. corniculata*'nın normal ve uyarılmış mutant bitki tohumlarındaki diosgenin konsantrasyonlarını değerlendirmişlerdir. Uzun, heterofil yapraklı ve anormal mutantlarda diosgenin seviyelerinde anlamlı bir artış gözlenirken, virina xanthescens mutantında diosgenin seviyesinde anlamlı düşüş kaydedilmiştir. Bodur, aşırı derecede dallanmış, tek yapraklı, tohuma kalkmış, yüksek yumrulu, düşük yumrulu mutantlarda diosgenin içeriğinde küçük varyasyonlar gözlenmiştir (61).

Brenac ve Sauvaire 1996 yılında yaptıkları bir çalışmada tohum zarfının gelişimi ve olgunlaşması sırasında çemenotu tohum ve perikarpında toplanan sterol ve steroidal sapogeninleri araştırmışlardır. Perikarp ve tohumların gelişimi sırasında azalan bu maddelere, çiçekler ve genç tohum zarflarında yüksek oranda rastlanmıştır. Tohumlarda sterol artışı çok önemsizken steroidal sapogeninler (başlıca diosgenin, tigogenin ve onların C-25 epimerleri) güçlü bir şekilde toplanmışlardır. Polinastanol (14 α -metil-9 β , 19-siklo-5 α -kolestan-3 β -ol) ve dihidroksilli sapogeninleri içeren diğer pekçok sterollere de tohumların gelişimi ve olgunlaşması sırasında rastlanmıştır. Temizlenmiş olgun tohum zarfları üzerinde [2-C-14]-asetat ile etiketleme deneyleri yapılmıştır. Tohumlardaki 4 sterolik formu, mono- ve dihidroksilli sapogeninlerde radyoaktivite bulunmuştur. Spesifik radyoaktiviteyi sabitlemek için etiketlenmiş diosgenin izole edilmiş ve saflaştırılmıştır. Böylelikle yaptıkları çalışmalarla çemenotu olgun tohum

zarfından, sterol ve steroidal sapogeninleri biyosentezleyebileceğini göstermişlerdir (62).

Taylor ve ark. 1997 yılında yaptıkları bir çalışmayla Amber çemenotunun steroidal sapogeninlerini kapiler gaz kromatografisi ve kombine GC/MS ile analiz etmişlerdir. Çemenotu tohumu ve birleştirilmiş toprak üstü kısımlarından izole edilen steroidal sapogenin karışımını kapiler kolon GC/MS ve alev iyonizasyon dedektörleri ile incelemişlerdir. Diosgenin [(25R)-spirost-5-en-3 β -ol], HCl ile hidrolize edilmiş tohum ve yaprak ekstresinin ana bileşeni olarak saptanmıştır. Ayrıca yamogeninin varlığı da gözlenmiştir. Ekstrelerde tigogenin, neotigogenin, smilagenin ve sarsapogenin varlığı teşhis edilmiştir. Belli belirsiz teşhis edilen yukkagenin, gitogenin ve neogitogenin gibi dihidroksi steroidal sapogeninler tohum hidrolize ekstresinin minör bileşenleri olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada kuru ağırlık üzerinden tohumların ortalama diosgenin seviyesi %0.54 olarak belirlenmiştir. Bir mevsimin tohumlanma sonrası 9, 15 ve 19. haftalarında tarlalarda yetişen yapraklı örneğin diosgenin seviyeleri sırasıyla %0.16, %0.07 ve %0.07 olarak bulunmuştur (63).

Merkli ve ark. 1997 yılında yapmış oldukları bir çalışmada çemenotunun saçak kök kültürlerinden diosgenin üretimini sağlamışlardır. Çemenotunun saçak kök kültürleri *Agrobacterium rhizogenes* suş A₄ ile sağlanmıştır. Saçak kökün ürettiği diosgenin steroid hormonların yarı sentezi için önemli bir spirostanoldür. 14 farklı sıvı besiyeri araştırılmıştır. En hızlı gelişim %3 sükröz eklenmiş McCown's odunsu bitki besiyerinde gözlenirken, en yüksek diosgenin içeriği %1 sükrözlü (%0.040 kuru ağırlık) yarı-etkili odunsu bitki besiyerinden elde edilmiştir. Bu yarı etkili besiyeri ayrıca 8 aylık değişime uğramamış köklerde (%0.024) belirlenen miktardan neredeyse 2 kat daha fazla diosgenin içerir. %3 sükrözlü odunsu bitki sıvı besiyerinde bir süreç çalışması başlatılmış. Bu koşullar altında 17 μ g diosgenin/g taze ağırlık üretilmiştir. Araştırmacılar kolesterol, pH ortamı ve sitozanında diosgenin üretimine etkisini araştırmışlardır. Kolesterol ve pH'ın diosgenin üretimine anlamlı bir etkisi olmazken 40 mg/L sitozan ilavesinin diosgenin içeriğini eklenmeyen saçak köklerden 3 kat daha fazla arttırdığını gözlemlemişlerdir (64).

Ortuno ve ark. 1998 yılında çemenotu bitkisinin gelişimi sırasında diosgeninin bitkinin farklı organlarındaki dağılımı ve bu saponindeki değişiklikleri incelemişlerdir. Ortalama diosgenin içeriği tohumlarda 5.65 mg/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. 45

günlük bitkide en yüksek diosgenin içeriği yapraklardan elde edilmiştir (9.56 mg/g kuru ağırlık), bunu 6.55 mg/g ile gövde, meyva (4.30 mg/g kuru ağırlık) ve kökler (2.30 mg/g kuru ağırlık) izlemiştir. Bu sonuçlar göstermiştir ki yapraklar endüstriyel amaçlı diosgenin izolasyonu için en iyi kaynaktır. Aynı araştırmacılar 6-benzilaminopürin uygulamasının diosgenin içeriğine etkisini de incelemişlerdir. Çalışma koşullarında 6-benzilaminopürin (20ppm) uygulamasının kontrol ile karşılaştırıldığında bu bitkilerin büyümesinde anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. *Trigonella* bitkisinin diosgenin seviyeleri üzerine bu fitohormonun etkisine nazaran sonuçlar 15 günlük uygulamadan sonra yapraklarda, aynı yaşta kontrol bitki yapraklarındaki seviyeye kıyasla diosgeninde %47 artış görülmüştür. Bununla birlikte, 30. günde 6-benzilaminopürinin uyarıcı etkisi yapraklarda gözlenmemiştir. Fakat gövde de kontrolde gözlenenden %113 daha fazla artış görülmüştür. Bunun diosgeninin yapraklardan gövdeye translokasyonu ile ilgili olduğunu düşünmüşlerdir. Fakat bu fitohormon gövdenin kendisinde de diosgenin sentezini stimüle etmektedir. Deneyin 15. ve 30. günlerinde köklerdeki diosgenin seviyesi 6-benzilaminopürin uygulamasından sonra kontrole kıyasla anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Sonuç olarak, 6-benzilaminopürin uygulamasının bitki büyümesine anlamlı bir etkisinin olmaması gerçeği göstermiştir ki bu sitokinin *Trigonella*'da diosgenin biyosentez ve/veya translokasyonunu etkileyerek onun ekspresyonunda rol oynamaktadır (65).

Taylor ve ark. 2000 yılında çemenotu tohumlarından diosgenin tayini yapmışlardır. Amber çemenotunun steroidal glikozitlerinin sülfürik asit hidrolizleri için 100 mg tohum materyali örneği kullanılarak diosgenin ve izomerik spirostadien yapısının gaz kromatografik analizleri yapılmıştır. %60-80 2-propanol içeren su ile hazırlanan 1 M sülfürik asit içerisinde yapılan hidrolizlerle, ekstraksiyona %80 etanolle devam edilerek diosgeninin en yüksek miktarları oluşturulmuştur. Sulu HCl ile yapılan bir önceki metoda kıyasla, 100°C'de 2 saat %70 2-propanol sülfürik asit hidrolizinin belirli koşullarında dien oluşumu azalmıştır. Fakat bu yapıları tamamen elimine etmemiştir. Steroidal saponinlerin çeşitli alkol/su karışımları ile ekstraksiyonu sülfürik asit hidrolizi ile benzer miktarda diosgenin vermiştir. Amber, Quatro ve ZT-5 çemenotu deneysel örneklerine kantitatif metotlar uygulanmıştır. Bunun için petrol eteri ile yeniden yağdan arındırılan ezilmiş 10 mg tohum kullanılıp, 60°C'de kurutulmuştur. Bunlar sırasıyla %0.55, %0.42 ve %0.75 diosgenin seviyelerini vermiştir. Bir Kanada

çemenotu üretim noktası olan ZT-5 hidrolize tohum ekstresinde smilagenin ve sarsapogenin seviyeleri çok düşük bulunmuştur (66).

Murakami ve ark. 2000 yılında yaptıkları çalışmalar sonucu Mısır kökenli çemenotu tohumlarından yeni furostanol-tip steroid saponinlerini izole etmişlerdir. Mısır kökenli çemenotu tohumlarından 6 tane bilinen furostanol-steroid saponin olan trigoneozit Ia, Ib, ve Va, glikozit D, trigonellozit C ve bileşik C ile birlikte trigoneozit Xa, Xb, XIb, XIIa, XIIb, ve XIIIa diye adlandırılan 6 yeni furostanol-tip steroid saponin izole etmişlerdir. Trigoneozit Xa, Xb, XIb, XIIa, XIIb, ve XIIIa'nın yapıları kimyasal ve fizikokimyasal kanıtlara dayanılarak sırasıyla, 26-O-β-D-glukopiranozil-(25S)-5α-furostan-2α,3β,22ζ,26-tetraol 3-O-α-L-ramnopiranozil (1→2)-β-D-glukopiranozit, 26-O-β-D-glukopiranozil-(25R)-5α-furostan-2α,3β,22ζ,26-tetraol 3-O-α-L-ramnopiranozil(1→2)-β-D-glukopiranozit, 26-O-β-D-glukopiranozil-(25R)-5α-furostan-2α,3β,22ζ,26-tetraol 3-O-β-D-ksilopiranozil(1→4)-β-D-glukopiranozit, 26-O-β-D-glukopiranozil-(25S)-furost-4-en-3β,22ζ,26-triol 3-O-α-L-ramnopiranozil(1→2)-β-D-glukopiranozit, 26-O-β-D-glukopiranozil -(25R)-furost-4-en-3β,22ζ,26-triol 3-O-α-L-ramnopiranozil (1→2)-β-D-glukopiranozit, ve 26-O-β-D-glukopiranozil -(25S)-furost-5-en-3β,22ζ,26-triol 3-O-α-L-ramnopiranozil (1→2)-[β-D-glukopiranozil (1→3)-β-D-glukopiranozil (1→4)]-β-D-glukopiranozit olarak belirlenmiştir. Bunun için tohumlar ezilmiş ve refluks altında metanolle 3 kez ekstre edilmiştir. Kolon kromatografisi ile gerekli analizler yapılmıştır (67).

Oncina ve arkadaşları *T. foenum graecum* 'un kallus kültüründeki diosgenin miktarını HPLC- 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. Yaprak, gövde ve kökteki maksimum diosgenin miktarı 45. günde tespit edilmiştir. Bu miktarlar sırasıyla 2.2 mg/g, 0.74 mg/g ve 0.60 mg/g'dır. İn vitro olarak en verimli diosgenin üretimi yaprak kültüründe olmuştur (68).

Shang ve ark. 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu tohumlarının etanol ekstresinden trigoneosit VIII isimli yeni bir furostanol saponini bileşik silika jel kromatografi kullanarak izole etmişlerdir. Yapısı ise fiziksel, kimyasal özellikler ve spektral analizlerle belirlenmiştir. Yapısı 26-O-β-D-glukopiranozil-25(R)-5α-furostan-20(22)-en-2α,3β,26-triol-3-O-β-D-ksilopiranozil (1→6)-β-D-glukopiranozit olarak tayin edilmiştir (69).

Taylor ve ark. 2002 yılında Batı Kanada'da üretilen 10 koleksiyon çemenotu tohumu arasında diosgenin seviyelerindeki değişimleri incelemek üzere çeşitli çalışmalar yapmışlardır. Bunun için Kanada'nın 3 pilot bölgesinde, 2 yaz boyunca yetişen 10 koleksiyon çemenotundaki bir steroidal sapogenin olan diosgeninin seviyesine, genetik (koleksiyon) ve çevresel faktörlerin (bölge ve üretim yılı) etki edip etmediğini incelemişlerdir. Yağı alınmış ve kurutulmuş tohum materyalinin 3 alt örneği üzerinde ayırma tayinleri ile herbiri analiz edilen 60 hasat edilmiş tohum örneği, 2-propanol (%70) ve sülfürik asit (1 M) içeren suda küçük ölçekli bir işlemle hidrolize edilmiştir. Ekstreler iç standart olarak 6-metildiosgeninin kullanıldığı kapiler gaz kromatografisi ile analiz edilmiştir. Ham tohumdan elde edilen diosgenin seviyeleri %0.28-0.92 (28-92 µg/10 mg) aralığındadır. 3 bölgeden ve 2 yılda elde edilen kombine diosgenin seviyelerinin varyans analizleri göstermiştir ki koleksiyon, koleksiyon x yıl, ve bölge x yıl etkileri diosgenin bileşimi için önemliyken, bölge, yıl ve bölge x koleksiyon etkileri önemli olmamıştır. 4 koleksiyon, CN 19062, CN 19067, CN 19070 ve CN19071'de iki yılda elde edilen verilere dayanarak yüksek diosgenin seviyeleri elde edilmiştir. Bu koleksiyonlarda 7 bölge ve yıldan ortalama diosgenin + yamogenin seviyeleri sırasıyla %0.70, 0.98, 0.84, ve 0.87 olarak belirlenmiştir (70).

De ve De 2003 yılında etilenin, büyüme, diosgenin üretimi ve iki antioksidan enzim katalaz ve peroksidaz aktivitesi üzerine etkisini çalışmak için çemenotu fidelerine farklı konsantrasyonlarda etefon (etilen oluşturucu ajan) uygulamışlardır. Etefon konsantrasyonundaki artışla, fidelerin taze ağırlığı ve uzunluğu anlamlı şekilde azalmış ve kuru ağırlığı artmıştır. Etefonun 100 mg/L konsantrasyonunda, enzim aktivitesi ve diosgenin içeriği anlamlı bir şekilde azalmıştır. Sonuç olarak, etefon konsantrasyonunda artma ile enzim aktivitesi ve diosgenin içeriği artmıştır. Fakat diosgenin içeriği kontrol üzerinde artmamıştır. Sonuçlar etefon konsantrasyonu, etefon indüklü katalaz ve peroksidaz aktiviteleri ve diosgenin içeriği arasında bir ilişki olmasına rağmen, çemenotu fidelerinde diosgenin içeriğinin indüksiyonu için etilenin gerekli olmadığı sonucuna varılmıştır (71).

Saxena ve Shalem 2004 yılında yürüttükleri bir çalışmada çemenotu tohumlarını petrol eteri ile Soxhlet kullanılarak yağı alındıktan sonra metanolla ekstre etmişlerdir. Konsantre ekstre kolon kromatografisi ile çalışılmıştır. Bu yöntemi kullanarak bitkinin

tohumlarından yamogenin 3-O- β -D-glukopiranozil (1 \rightarrow 4)-O- α -D-ksilopiranozil olarak nitelendirilen SA-III isimli steroidal saponini izole ve teşhis etmişlerdir (72).

Gomez ve ark. 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotunun hücre süspansiyonlarındaki steroidal saponin olan diosgenin seviyesi üzerine bir etilen-salıcı bileşen olan etefonun farklı konsantrasyonlarının etkisini araştırmışlardır. Sonuçlar göstermiştir ki 5 ppm etefon uygulanması %126'lık bir artışla diosgenin sentez ve/veya akümülyasyonunu uyarmıştır. Fakat 25 ppm ve 50 ppm konsantrasyonlarda bu sekonder bileşiğin seviyeleri azalmıştır (73).

2005 yılında Yang ve ark. çemenotundaki total saponinin içeriğini belirlemek için bir çalışma yapmışlardır. Bileşenler kolon kromatografisi ile izole edilmiş ve fiziksel ve kimyasal bulgular ve spektroskopik analizlerle aydınlatılmışlardır. Analizler sonucunda metil-protodioskin ve metil-protodeltonin bitkiden ilk defa izole edilmiştir (74).

Hamed, 2007 yılında yaptığı bir araştırmada *T. hamosa* L. tohumlarının steroidal saponinlerini incelemiştir. Hamoside A ve B olarak adlandırılan 2 yeni furostan saponinleri, yağı alınmış *T. hamosa* L. tohumlarının %80'lik etanollü ekstresinden izole edilmiştir. Kimyasal ve spektral analizler temelinde (IR, H-1 NMR, C13 NMR, HSQC, HMBC ve pozitif iyon MS), hamoside A(1) (22 xi)-2(x, 30, 26-triol-3-O-beta-D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 4)-O-P-D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 2)-O-ct-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)-O-P-D-ksilopiranozil-furost-5-en, ve hamoside B (2) (224)-2 alfa, 3 beta, 26-triol-3-O-beta-D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow +4)-O-beta-D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 4)-O-beta-D-ksilopiranozil-furost-5-en olarak saptanmıştır (75).

Trivedi ve ark. 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada bir spiroketal saponin olan diosgeninin kantitatif analizi için duyarlı ve tekrarlanabilir bir İTK metodu geliştirmişlerdir. Bu metot çemenotu kurutulmuş tohum, yaprak, gövde, tohum ekstreleri ve çemenotu tozu içeren bir bitkisel antidiyabetik formülasyonunun örneklerindeki diosgeninin belirlenmesi için kullanılmıştır. Metot %98.11 \pm 1.4 doğruluk oranında çeşitli çemenotu bitki örneklerine başarıyla uygulanmıştır. Kurutulmuş bitki örnekleri ve market formülasyonu analiz edilmiştir. Sırasıyla çemenotu tohum tozunda %0.529-0.658 (a/a), yaprak tozunda %0.087 (a/a), gövde tozu ve ekstresinde %0.015 ve %1.27 (a/a), tohum tozu içeren market formülasyonunda %0.586 (a/a) diosgenin bulunmuştur. Hiçbir matris etkileşimi gözlenmemiştir (76).

Tohumlar progesteron gibi birçok steroidin üretiminde kullanılabilen steroidal saponin olan diosgeninin kaynağıdır. Kaufmann ve arkadaşları çemenotu tohum, yaprak ve kökünde bulunan diosgenin miktarını tespit etmişlerdir. En fazla diosgenin miktarı (%0.13) tohumda bulunmuştur, yaprak ve kökte daha az ve yaklaşık aynı miktarda (%0.09-0.01) diosgenin tespit edilmiştir (21).

Naidu ve ark. 2011 yılında çemenotu tohumlarının, endosperma ve kabuğunun kimyasal kompozisyonunu araştırmışlardır. Kabuğun, endospermanın ve tüm çemenotu tohumunun sulu etanollü ekstresinin verimi sırasıyla 14.84, 36.56 ve 22.63 g/100 g olarak bulunmuştur. Kabuğun en düşük saponin içeriğine sahip olduğu (1.12 g/100 g) ve bunu endosperma (4.63 g/100 g) ve tohumların (5.12 g/100 g) izlediği bulunmuştur (51).

Mandegary ve ark. (2012) alkaloid ve flavonoid açısından zengin çemenotu tohumlarının bileşenlerini değerlendirmek için bir çalışma yapmışlardır. Bitki tohumunun metanollü ekstresi bir sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak fraksiyonlara ayrılmıştır. Bu fraksiyonlar; *n*-hekzan fraksiyonu, CCl₄ fraksiyonu, diklorometan fraksiyonu (DCM), asit kloroform fraksiyonu (ACC), alkali kloroform fraksiyonu (AKC) ve sulu fraksiyon olmak üzere 6 tanedir. Saponin içeriği *n*-hekzan fraksiyonunda düşük miktarda gözlenirken, diğer fraksiyonlarda gözlenmemiştir (40).

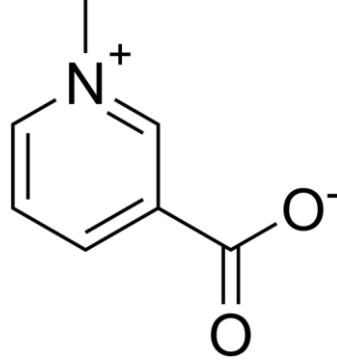
Kang ve ark. 2013 yılında ultra yüksek basınçlı sıvı kromatografi (UHPLC) ve QtofMS kullanarak çemenotu tohumlarının ham ekstresinde bulunan steroidal saponinlerin hızlı ayrımı ve teşhisini sağlamışlardır. Literatürde verilen tam kütle, parça iyonlar, alıkonma zamanlarına ve yapılarına bakılarak 95 bileşik teşhis edilmiştir. Bunlardan 24 tanesi çemenotunda ilk defa teşhis edilmiştir (77).

2.2.3 Alkaloidler

Atal ve Sood 1964 yılında *T. corniculata* L. bitkisi üzerinde fitokimyasal araştırmalar yapmışlardır. Bu araştırmaların sonucunda *T. foenum-graecum* L. bitkisinin ana alkaloidi olan trigonellinin bu bitkide bulunmadığını saptamışlardır (78).

Radwan ve Kokate 1980 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu bitkisinden alkaloid miktarını daha yüksek miktarda elde etmek için çeşitli çalışmalar yapmışlardır. Çemenotu kallus kültürlerinde, tohumlarından 3-4 kat; kök ve gövdesinden ise 12-13 kat daha fazla trigonellin elde edilmiştir. Bu alkaloidin daha yüksek miktarı ise

süspansiyon kültürlerinden elde edilmiştir. Bu yüksek üretim 8 ay boyunca başarılı hücre süspansiyonları ve kallı subkültürleme sırasında elde edilmiştir (79).



Şekil 2.11. Trigonellinin molekül yapısı.

Mehra ve ark. 1996 yılında yaptıkları bir çalışmada *Trigonella polycerata* doku kültüründen elde edilen trigonellinin üretimine nikotinic asitin etkisini araştırmışlardır. RT besiyerinden elde edilen *T. polycerata* toprak üstü, kök, tohum ve kallus kültürleri trigonellin içeriği açısından analiz edilmiştir. Büyüme indeksi (GI) ile birlikte trigonellin içeriği taze alt kültür sonrası kallus yaşıyla artmıştır. Kallus daha sonra nikotinic asitin çeşitli dozlarının uygulandığı RT besiyerine transfer edilmiş ve farklı zaman aralıklarında toplanmıştır. Kallus kontrolle karşılaştırıldığında nikotinic asit ile beslenmiş besiyerinde büyümesinde anlamlı bir azalma görülmüştür. Tüm uygulanan dozlarda trigonellin içeriğinde anlamlı bir artış görülmüştür. Ancak trigonellindeki maksimum artış %50 uygulama dozunda kaydedilmiştir (80).

Zhao ve ark. 2002 yılında çemenotundaki trigonellin içeriğini belirlemek için bir HPLC metodu oluşturmuşlardır. Bitkisel materyal petrol eteri-etanol ile ekstre edilmiştir. Standart eğri 0.9999 korelasyon katsayısı ile 3.68-73.60 µg/mL aralığında lineardır. Ortalama kazanım oranı ve RSD sırasıyla, %97.4 ve %1.83'tür (n=6) (81).

2004 yılında Hashem ve Amean yaptıkları bir araştırmada çemenotu tohumlarının belli mutajenlere kimyasal ve genetik cevabını incelemişlerdir. Kimyasal ve gama-irradiyasyon mutasyonundan sonra çemenotu tohumlarının fitokimyasal araştırmaları total alkaloid miktarının kimyasal olarak mutasyona uğramış bitkilerde azaldığını göstermiştir (kontrol 0.960, kimyasal 0.704). Gama- irradiyasyonlu bitkilerde ise artmıştır (1.072, 1.280 ve 1.488 mg/100 g kuru toz). Bu hesaplamalar trigonellin temel alınarak yapılmıştır. Bir bileşik gama- irradiyasyon mutajeninden etkilenen

bitkinin kloroform ekstresinden izole edilmiştir. Kontrol örneğinde bu bileşen yoktur (82).

Chopra ve ark. 2006 yılında yüksek performanslı ince tabaka kromatografi metoduyla çemenotu bitki ekstresinden trigonellini izole etmişlerdir. İTK trigonellin için sık noktalar vermiştir (Rf değeri 0.46 ± 0.02) (83).

2010 yılında Zhuo ve ark. hidrofilik etkileşim kromatografisi (HILIC) ile çemenotu bitkisindeki trigonellin miktarını belirlemişlerdir. Sonuçlar, metodun bitkideki güçlü polar trigonellinin belirlenmesi açısından basit ve hızlı olduğunu göstermiştir (84).

SatheeshKumar ve ark. tarafından 2010 yılında yürütülen araştırmada yüksek performanslı İTK kullanılarak çemenotu ekstresindeki trigonellin miktarını ölçmüşlerdir. Çemenotunun sulu-alkollü ekstresinde trigonellin konsantrasyonunun 13 mg/g (a/a) olduğu bulunmuştur (85).

Shailajan ve ark. 2011 yılında çemenotu tohumlarının metanol ekstresini hazırlayarak ters faz HPLC yöntemiyle analiz etmişlerdir. Bu analiz sonrasında tohumlarda trigonellin adlı alkaloidin varlığını saptamışlardır (98.36 ± 0.0154 mg/mL) (86).

Mandegary ve ark. (2012) alkaloid ve flavonoid açısından zengin çemenotu tohumlarının antinösetif ve antiinflamatuvar etkilerini değerlendirmek için bir çalışma yapmışlardır. Bitki tohumunun metanollü ekstresi bir sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak fraksiyonlara ayrılmıştır. Bu fraksiyonlar; *n*-hekzan fraksiyonu, CCl₄ fraksiyonu, diklorometan fraksiyonu (DCM), asit kloroform fraksiyonu (ACC), alkali kloroform fraksiyonu (AKC) ve sulu fraksiyon olmak üzere 6 tanedir. Alkaloid içeriği AKC fraksiyonunda yüksek miktarda, CCl₄ fraksiyonunda orta düzeyde, DCM fraksiyonunda ise düşük miktarda gözlenirken, diğer fraksiyonlarda gözlenmemiştir (40).

2.2.4 Kumarinler

Khurana ve ark. 1982 yılında yaptıkları bir araştırmada, çemenotu gövdesinden ilk defa bazı bilinen bileşenlerle birlikte bir trimetilkumarin izole etmişlerdir. Analitik ve spektral veriler temelinde ve sentetik bir örnekle karşılaştırılarak, bu kumarinin yapısı 3, 4, 7-trimetilkumarin olarak belirlenmiştir (87).

2004 yılında Hashem ve Amean yaptıkları bir araştırmada çemenotu tohumlarının belli mutajenlere kimyasal ve genetik cevabını incelemişlerdir. Kimyasal olarak mutasyona uğramış bitkinin etil asetat ekstresinden kumarin olarak bilinen vajinol ve 3-senesiol-cis-kellakton isimli iki bileşik izole edilmiştir (82).

2.2.5 Uçucu Yağ

Mazza ve ark. 2002 yılında Sicilya kökenli çemenotu tohumlarının uçucu bileşenleri üzerine bir çalışma yapmışlardır. Metanol, su ve diklorometan ekstralarında GC/MS kullanılarak 175 bileşen belirlenmiştir. Bunların 66 tanesi çemenotu tohumlarında ilk kez keşfedilmiştir. Analizler önemli karbonil bileşenleri (hekzanal, 2-metil-2-bütenal, 3-okten-2-on, trans-cis- ve trans-trans-3,5-oktadien-2-on), delta-elemen, γ -kadinen ve α -muurolen gibi seskiterpen hidrokarbonlar, alkoller (pentanol, hekzanol, 2-metil-2-büten-1-ol, 1-okten-3-ol) özellikle aromaya katkısı olan 3-hidroksi-4,5-dimetil-2(5H)-furanon (sotolon), dihidro-5-pentil-2(3H)-furanon (gama nonalakton), dihidro-5-etil-2(3H)-furanon (gama kaprolakton) ve diğer furan bileşikleri gibi heterosiklik bileşenlerin varlığını göstermiştir (88).

Ahmadiani ve ark. tarafından çemenotu 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 -muurolen (%3.9), ω -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 (89).

Ranjbar ve ark. 2009 yılında İran kökenli *Trigonella disperma* bitkisinin uçucu yağının kimyasal bileşimini araştırmışlardır. Uçucu yağı Hindistan halk tıbbında antipiretik, diüretik olarak ve ödem, kalp hastalığı ve kronik öksürük tedavisinde kullanılan oksijenlenmiş seskiterpenler, spatulenol ve fitol içermektedir (90).

Mebazaa ve ark. 2009 yılında yaptıkları bir araştırmada Tunus kökenli çemenotu tohumlarının uçucu bileşenlerinin karakterizasyonunu belirlemişlerdir. Bu amaçla basit ve hızlı analitik yöntemler geliştirilmiştir. Farklı koşullarda iki yöntem, solvan ekstraksiyonu ve statik headspace katı-faz mikroekstraksiyon SHS-SPME kullanılmıştır. Ekstre edilen uçucu bileşenler, farklı polaritedeki iki kolonda kütle spektrumları ve Kovats indeksi esas alınarak GC-MS ile teşhis edilmiştir. Bazıları (örn;

pekçok pirazinler, 2,5-dimetil-4-hidroksi-3(2H)-furanon veya 1-epi-kubenol) çemenotu tohumlarında ilk kez rastlanan toplamda 67 bileşen izole edilmiştir. Stolon ve nitrojen bileşikleri gibi yüksek ve orta kaynama noktalı uçucu bileşikler için tercih edilen solvan metanol olarak bulunmuştur. Öğütülmüş tohumlardan uçucu bileşiklerin ekstraksiyonu için SHS-SPME'de kullanılmak üzere divinilbenzen/ karboksen/ polidimetilsiloksan 2 cm ile kaplı kolon en uygun olarak saptanmıştır. Kolonun etkinliği, çemenotu tohumlarına benzer genel bir kokuyla direk etkili gaz kromatografi-alfaktometri kullanılarak değerlendirilmiştir (91).

Mandegary ve ark. (2012) alkaloit ve flavonoit açısından zengin çemenotu tohumlarının kimyasal bileşimini değerlendirmek için bir çalışma yapmışlardır. Bitki tohumunun metanollü ekstresi bir sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak fraksiyonlara ayrılmıştır. Bu fraksiyonlar; *n*-hekzan fraksiyonu, CCl₄ fraksiyonu, diklorometan fraksiyonu (DCM), asit kloroform fraksiyonu (ACC), alkali kloroform fraksiyonu (AKC) ve sulu fraksiyon olmak üzere 6 tanedir. Terpenoit içeriği *n*-hekzan fraksiyonunda yüksek miktarda, CCl₄ ve DCM fraksiyonlarında orta düzeyde gözlenirken, diğer fraksiyonlarda gözlenmemiştir (40).

Al-Mazroa ve ark. 2013 yılında Suudi Arabistan'da yetişen *Trigonella hamosa* bitkisinin uçucu yağının bileşenlerini çalışmışlardır. *Trigonella hamosa* bitkisinin taze toprak üstü kısımları buhar distilasyonu ile taze ağırlık esas alındığında %0.04 verimle sarı renkli bir yağ vermiştir. GC/MS ile yağın %91.1'ini oluşturan 12 bileşen keşfedilmiştir. Bu yağın ana bileşeni palmitik asit (%38.4), tetradekanoik asit (%15.9), linolenik asit metil ester (%11.3), fitol (%7.6) ve dekanik asit (%7.3)'tir (92).

2.2.6 Sabit Yağ ve Steroller

El-Sebaiy ve El-Mahdy 1983 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu tohumlarının filizlenme sırasında lipid değişimlerini incelemişlerdir. Serbest yağ asidi, total klorofil ve karotenoid pigmentleri filizlenme sonrası artmıştır. Diğer taraftan trigliseritler, fosfolipitler ve sabunlaşmayan kısım azalmıştır. Filizlenme sonrası fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin azalırken, fosfatidik asit ve fosfogliserik asit artmıştır. Yağ asidi içeriği göstermiştir ki, filizlenme ile total doymamış yağ asitleri azalırken, total doymuş yağ asitleri artmıştır. Filizlenme sonrası linoleik ve α -linolenik asit sırasıyla %41.2'den %31.8'e ve %23.2'den %14.4'e düşmüştür. Filizlenme sonrası

yağ asidinin minör bileşenleri araşidik asit, behenik asit ve eikozamonoenoik asit 3.3-, 3.0- ve 7.8'e yükselmiştir (93).

1993 yılında Sridhar ve Lakshminarayana çemenotu yapraklarının kloroform-metanol ekstraksiyonu ile total lipid verimini %1.50 (kuru ağırlık) olarak bulmuşlardır. Total lipitler sırasıyla kloroform, aseton ve metanol kullanılarak silika jel kolon kromatografisi yoluyla nötral lipid (NL), glikolipid (GL), ve fosfolipid (PL) fraksiyonlarına ayrılmıştır. Sonuçlar sırasıyla NL %0.98, GL %0.38 ve PL %0.14 olarak saptanmıştır. Nötral lipidlerin yağ asidi bileşiminde birinci sırayı linoleik asit (%44.6) alırken, glikolipid ve fosfolipidler sırasıyla %93.4 ve % 62.9 oranıyla α -linolenik asit almıştır (94).

Billaud ve Adrian'ın 2001 yılında özellikle Avrupa, Afrika ve Asya'da tarımı yapılan çemenotu ile yaptıkları çalışmada, tohumların çoklu doymamış yağ asitleri açısından (linoleik ve linolenik asit) önemli bir kaynak olduğunu göstermişlerdir (95).

Gaz-sıvı kromatografi ve HPLC tekniklerini kullanan Bağcı ve ark. 2004 yılında Türkiye'den elde edilen *T. cretica* L. tohumlarının yağ asidi ve tokokromanol içeriğini belirlemişlerdir. Total lipid %32.3 olarak bulunmuştur. Total doymamış yağ asidi ve total doymuş yağ asidi verimi sırasıyla %78 ve %21.5 olarak saptanmıştır. Ana doymamış yağ asidi oleik asit (%46.9), ana doymuş yağ asidi ise palmitik asit (%12.9) olarak bulunmuştur (96).

2007 yılında Wagh ve ark. GC ve GC-MS kullanarak çemenotu tohum yağlarının içeriğini belirlemişlerdir. Tohum yağlarının kromatografik analizleri göstermiştir ki, doymuş yağ asitleri palmitik (%17.47) ve stearik (%3.72) asit, doymamış yağ asitleri ise linoleik (%21.48), oleik (%14.29) ve metalinik (benzensulfonik) (%14.24) asitlerdir. Ana doymamış yağ asidi linoleik asit, doymuş yağ asidi ise palmitik asittir (97).

Sulieman ve ark. 2008 yılında Sudan'da yetişen çemenotu tohumlarının lipid içeriği ve yağ asidi bileşimi üzerine bir araştırma yapmışlardır. Total lipidler %8.4 olarak bulunmuştur. Total lipidin fizikokimyasal özelliklerine bakıldığında, 40°C'deki refraksiyon indeksi 1.4245, sabunlaşamayan kısmı %9.08 ve serbest yağ asidi 1.3 g oleik asit/100 g total lipid olarak bulunmuştur. Gaz likit kromatografisi analizleri sonucu total lipidlerin yağ asidi bileşimleri araştırılmıştır. Total doymuş yağ asitleri total yağların %17.7'sini oluştururken, total doymamış yağ asitleri ise %82.3'ünü

oluşturmaktadır. Doymamış yağ asitleri arasında linoleik asit (%43.2) en yüksek miktarda bulunurken bunu linolenik (%22) ve oleik (%16.7) asit izlemiştir. Ana doymuş yağ asidi ise palmitik (%11) asit olarak belirlenmiştir (17).

Chatterjee ve ark. 2010 yılında çemenotu tohumunun kloroform/metanol ekstresini hazırlayarak İTK metodu ile nötral ve polar lipidlerini araştırmışlardır. Nötral ve polar lipid fraksiyonlarında sırasıyla triaçilgliserol ve fosfatidiletanolamin ana moleküler türler olarak teşhis edilmiştir. Yağ asidi profili, total yağ asidinin %16.3, %50 ve %24.4'ü miktarında sırasıyla oleik, linoleik ve linolenik asit olarak adlandırılan doymamış asitlerdir. Ana moleküler türler yanında N-açilfosfatidiletanolamin (NAPE) ve yağ asidi aminleri bu baharattan ilk defa izole ve teşhis edilmiştir. N-linoleilfosfatidiletanolamin ana NAPE olarak bulunmuşken, oleamidin ise lipid fraksiyonundaki ana yağ asidi amidi olduğu görülmüştür (98).

2011'de Shakuntala ve ark. çemenotunun filizlenmiş ve filizlenmemiş tohumunda çeşitli incelemeler yapmışlardır. Filizlenmiş endosperm, filizlenmiş tohum kabuğu ve filizlenmiş tomurcuklarının yağ verimi sırasıyla %11.44, %1.75 ve %6.65 iken, filizlenmemiş tohum endospermi ve filizlenmemiş tohum kabuğunun sırasıyla %12.26 ve %1.22 olarak bulunmuştur. Ester türevlerinin GC analizleri ile elde edilen yağ asidi bileşiminin sonuçları göstermiştir ki, filizlenmemiş endosperm ve tohum kabuğu doymamış yağ asitleri açısından zengindir (%79.5 ve %82.0). Linoleik asit bu iki kısmın ana bileşenidir (%46.6 ve %46.8). Diğer yağ asitleri ise oleik ve linolenik asittir. Doymuş yağ asitleri arasında ise başta palmitik asit olmak üzere az miktarda stearik ve araşidik asit, eser miktarda ise laurik ve miristik asit vardır. Filizlenmiş tohum endosperminin yağ asidi bileşimi filizlenmemiş tohum endospermine kıyasla daha az değişiklik göstermiştir. Filizlenmemiş ve filizlenmiş endospermde, linoleik ve linolenik asit sırasıyla %46.6'dan %44.9'a ve %18.8'den %17.6'ya düşerken, oleik ve stearik asit %14.1'den %17.0'ye ve %4.0'ten %5.5'e çıkmıştır. Filizlenmemiş çemenotu tohum endospermi %65.2 çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) ve %18.80 omega 3 yağ asidi içerirken, filizlenmiş tohum endospermi %62.5 PUFA ve %17.6 omega 3 yağ asidi içermektedir. Filizlenmiş tomurcuklar ve filizlenmiş tohum kabuğu sırasıyla %67.5 ve %61.1 PUFA ve %17.90 ve %17.80 omega 3 yağ asidi içermektedir. Filizlenme sırasında tekli doymamış yağ asidi değerleri tohum kabuğunda anlamlı şekilde artmıştır, fakat endospermdeki değişiklik ise çok düşüktür (26).

Çiftçi ve ark. 2011 yılında filizlenmiş tohum yağlarının bileşimi ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Lipid, yağ asidi, triaçilgliserol, tokoferol ve sterol kompozisyonu ve içeriği analiz edilmiştir. Çemenotu tohumunun lipid içeriği %5.8-15.2 olarak bulunmuş. Ana yağ asitleri ise; linoleik asit (%45.1-47.5), α -linolenik (%18.3-22.8), oleik (%12.4-17), palmitik (%9.8-11.2) ve stearik (%3.8-4.2) asitlerdir. Major yağ asidi linoleik asittir. 620-910 mg/kg lipid vardır. β -sitosterol örnekteki ana steroldür, lipidin 14.203-18.833 mg/kg'ı kadardır. Kampesterol ve sikloarterol diğer ana sterollerdir ve bu bileşikler ile β -sitosterol bütün sterollerin %56-72'si kadardır. Çalışmanın sonucu, çemenotu tohum lipidlerinin yemek uygulamaları için nutrasötik içerik kaynağı olabileceğini göstermiştir (14).

2011 yılında Koçak ve ark. çemenotu tohumlarının ekstreleri ile yaptıkları çalışmalarda yağ asidi içeriği GC ile belirlenmiştir. Doymamış yağ asitlerinin %85.06 olduğu ve bunların içerisindeki ana bileşenin linoleik asit (%69.5) olduğu saptanmıştır. Doymuş yağ asitleri bileşimi ise %15.06'dır. Bunlar içerisinde ise palmitik (%12.4) ve stearik (%2.66) asit ana bileşenlerdir. *Trigonella L.* türlerinden elde edilen sabit yağlardaki yağ asidi bileşimi Çizelge 2.2'de görülmektedir (99).

Çizelge 2.2. *Trigonella* türlerinden elde edilen sabit yağlardaki yağ asidi bileşimi.

Literatürler	94	96	97	17	98	26	14	99
Kullanılan Bitki	<i>T. foenum</i> (%)	<i>T. cretica</i> (%)	<i>T. foenum</i> (%)	<i>T. foenum</i> (%)	<i>T. foenum</i> (mg/g)	<i>T. foenum</i> (%)	<i>T. foenum</i> (%)	<i>T. foenum</i> (%)
Yağ asitleri								
Doymuş yağ asidi								
C _{14:0} (miristik asit)	0.3-2.2	0.3	-	0.2	0.2	0.0-0.3	0.1-0.1	-
C _{16:0} (palmitik asit)	5.0-11.1	12.9	17.5	11.0	9.0	8.6-15.5	9.8-11.2	12.4
C _{18:0} (stearik asit)	2.8-4.3	3.6	3.7	4.5	3.7	3.7-5.6	3.8-4.2	2.7
C _{20:0} (araşidik asit)	-	0.9	-	1.5	1.2	1.3-3.2	-	-
C _{22:0} (behenik asit)	-	2.7	-	0.5	0.4	-	0.5-0.7	0.1
C _{24:0} (lignoserik asit)	-	1.3	-	0.1	0.1	-	0.2-0.3	-
Total Doymuş Yağ Asidi	5.3-14.5	21.7	21.2	17.8	14.4	14.2-23.1	14.5-16.2	15.1
Doymamış Yağ Asidi								
C _{16:1n7} (palmitoleik asit)	0.4-1.6	0.2	-	0.2	0.2	0.0-0.7	0.1-0.2	-
C _{18:1n9} (oleik asit)	0.4-7.1	46.9	14.3	16.7	12.9	9.0-23.3	12.6-17.1	12.0
C _{18:2n6} (linoleik asit)	0.3-44.6	24.2	21.5	43.2	35.8	43.6-50.0	45.1-47.5	69.5
C _{18:3n3} (α - linolenik asit)	32.9-93.4	3.5	-	22.0	18.1	17.6-18.8	18.3-22.8	3.5
C _{18:3n6} (γ - linolenik asit)	-	-	-	-	-	-	1.1-1.3	-
C _{20:1n9} (11-eikosenoik asit)	-	-	-	0.1	0.1	-	0.2-0.3	-
C _{20:2n6} (11, 14- eikozadienoik asit)	-	-	-	-	-	-	0.1-0.1	-
Total Doymamış Yağ Asidi	84.6-94.5	74.8	35.8	82.2	67.1	76.9-84.7	83.1-84.8	85.1

2.2.7 Protein ve Aminoasitler

1989 yılında Gupta ve ark. yaptıkları çalışmalarda çemenotunun yeşil yapraklarındaki kimyasal bileşime bakmışlardır. Çalışmalar sonucunda yapraklarda protein, kül, nötral arıtıcı lif (NDF) ve asit arıtıcı lif (ADF) bulunduğu saptanmıştır. Ayrıca amino asitlerin değişen miktarlarına da rastlanmıştır (59).

Broca ve ark., çemenotunda bulunan, 4-hidroksiizolösin (4-OH-Ile) amino asidinin, hem insülinotropik hem de antidiyabetik özelliklere sahip olduğunu göstermişlerdir. Bu amino asit sadece bitkilerden izole edilmektedir ve çemenotu tohumlarında % 0.56 a/a konsantrasyonlarda bulunmuştur (100, 101).

Billaud ve Adrian'ın 2001 yılında özellikle Avrupa, Afrika ve Asya'da tarımı yapılan çemenotu ile yaptıkları çalışmada, tohumların lizince zengin proteini yüksek seviyelerde içerdiğini bulmuşlardır. Kuru ağırlığın %50'sinden fazlasını karbonhidratlar oluşturmaktadır. Kuru tohumdaki depo karbonhidrat başlıca galaktomannan içermektedir. 4-hidroksiizolösin ise tohumdan elde edilen özel bir serbest amino asittir (95).

Brummer ve arkadaşları 2003 yılında çemenotu tohum ağırlığının yaklaşık % 22'sini oluşturan ve bileşiminde yağ, protein ve karbonhidrat bulunan zamkların ekstraksiyonu, izolasyonu ve karakterizasyonu üzerine bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda %7.24 lipit, %34.10 protein, %22.57 galaktomannan bulmuşlardır (18).

2004 yılında Hashem ve Amean yaptıkları bir araştırmada çemenotu tohumlarının belli mutajenlere kimyasal ve genetik cevabını incelemişlerdir. Kimyasal ve gama-irradiyasyon mutasyonundan sonra çemenotu tohumlarının protein içeriğine bakılmıştır. Kontrolle kıyaslandığı zaman kimyasal olarak mutasyona uğramış çemenotu tohumlarındaki ham protein miktarında anlamlı bir artış olmuştur (kontrol %17.07; kimyasal mutasyon %18.04; gama-irradiyasyon 17.6; 17.7; ve 17.9). Gama irradiyasyonlu bitkilerin protein içeriğinde bazı artışlar gözlenmiştir. Farklı mutasyonlu bitkiler arasında pek çok değişiklik gösteren çemenotu tohumlarında 18 amino asit belirlenmiştir (82).

El Nasri ve Tinay tarafından 2007 yılında yapılan bir araştırmada çemenotu tohumundan hazırlanan protein özütünün bileşimi ve fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir. Bu özelliklere pH ve/veya NaCl konsantrasyonunun etkileri araştırılmıştır. Çemenotunun protein içeriği %28.4 olarak bulunmuştur. Ham lif içeriği %9.3, ham yağ %7.1, nem %6.87, kül %3.28 ve total karbonhidrat %47.4 olarak bulunmuştur. Minimum protein çözünübilirliği %18.5 olarak pH 4.5'de gözlenirken maksimum protein çözünübilirliği %91.3 olarak pH 11'de gözlenmiştir. Çemenotunun protein özütünün emülsiyon ve köpük oluşturma

özelliklerinin ölçümü göstermiştir ki bu özellikler pH seviyeleri ve tuz (NaCl) konsantrasyonundan çok fazla etkilenmektedir. Hem emülsiyon hem de sabunlaşma özelliklerinin minimum değerleri proteinin izoelektrik noktası olan pH 4.5’de belirlenmiştir. Maksimum değerler ise pH 2 ve pH 12’de gözlenmiştir. Sonuçlar göstermiştir ki çemenotu protein özütü yüksek yağ absorpsiyon kapasitesi (1.56 mL yağ/g protein), su absorpsiyon kapasitesi (1.68 mL su/g protein) ve hacim yoğunluğuna (0.66 g/mL) sahiptir (102).

Suliman ve ark. 2008 yılında Sudan’da yetişen çemenotu tohumlarının nem, yağ, ham lif, kül ve protein içeriklerine AOAC metodunu kullanarak bakmışlardır. Nem %9, protein %25, ham yağ %8.4, ham lif %8.0, kül %3.0 ve karbonhidrat %47.5 olarak bulunmuştur (17).

Naidu ve ark. 2011 yılında çemenotu tohumlarının endosperma ve kabuğunun kimyasal kompozisyonunu araştırmışlardır. Çemenotu tohumlarının, kabuk ve kotiledonlarının kısmi bileşimi göstermiştir ki endosperma (43.8 g/100 g), kabuğa (7.9 g/100 g) kıyasla yüksek protein içeriğine sahiptir. Kabuk ve endospermanın verimi sırasıyla 45 ve 55 g/100 g olarak belirlenmiştir. Örneklerin nem içeriği 10.78 ve 11.53 g/100 g arasında değişmektedir. Total kül içeriği, endospermada (4.58 g/100 g), tüm çemenotu (3.9 g/100 g) ve kabuk (2.17 g/100 g) kısmına kıyasla biraz daha yüksektir. Kabuk (1.3 g/100 g), endospermaya (6.5 g/100 g) kıyasla daha düşük yağ içeriği göstermiştir. Kabuk total diyet lifi (TDF, 77.1 g/100 g) açısından zengindir. Çözülebilir diyet lifi (SDF) 45.2 g/100 g ve çözülemez diyet lifi (IDF) 31.9 g/100 g olarak saptanmıştır. Endosperma ise düşük lif içeriğine (34.32 g/100 g) sahiptir. Sırasıyla, SDF ve IDF 20.75 ve 13.57 g/100 g’dır. Değerler, kabuğun lif için ana kaynak olduğunu göstermiştir (51).

Shakuntala ve ark. 2011 yılında yaptıkları bir araştırmada, filizlenmiş çemenotu tohum fraksiyonunun karakterizasyonunu incelemişlerdir. Bunun için filizlenmiş tohum endospermi, tohum kabuğu ve tomurcuğu ile filizlenmemiş tohumun endospermi ve tohum kabuğu üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Filizlenmemiş çemenotu tohumlarının endospermi ve tohum kabuğu ile karşılaştırıldığı zaman filizlenmiş çemenotu tohumlarında endospermdeki protein içeriğinde %8.90 azalma ve tohum kabuğunda %3.1 artış gözlenmiştir. Proteinlere Kjeldahl metoduyla bakılmıştır. Filizlenmiş tomurcuğun (%36.12) yüksek protein içeriğine sahip olduğu görülmüştür.

Nem içeriğine toluen distilasyon metoduyla bakılmıştır. Filizlenmemiş tohumun endospermi (%7.44) ve tohum kabuğunda (%8.42) nem içeriği filizlenmiş tohum kısımlarına kıyasla artış göstermiştir (sırasıyla %6.31 ve %8.22).

Total kül, asitte çözünmeyen kül, ham lif ve nişasta için AOAC metotları kullanılmıştır. Kül miktarı ise filizlenmiş endospermlere (%2.92) kıyasla filizlenmemiş endospermlerde (%4.02) daha yüksek oranda gözlenmiştir. Ham lif ise aksine filizlenmiş tohum kabuğunda, filizlenmemiş tohum kabuğuna kıyasla daha fazladır. Tomurcuktaki ham lif %5.15 olarak bulunmuştur. Tomurcuktaki kül içeriği %4.14 olarak bulunmuştur. Tüm fraksiyonlardaki asitte çözünmeyen kül içeriğinde ise küçük değişiklikler olmuştur.

İndirgen şekerlere ise Lane ve Eynon's metoduyla bakılmıştır. Filizlenmemiş çemenotu tohum endosperm ve tohum kabuğuyla karşılaştırıldığı zaman filizlenmiş çemenotu endospermde indirgen olmayan şekerlerde %15.1 azalma; indirgen şekerlerde ise %3.1 artma gözlenmiştir. Tohum kabuğunda ise indirgen şekerde %9.4; indirgen olmayan şekerde ise %14.1 azalma gözlenmiştir.

Filizlenmiş çemenotu tohumlarının endospermdeki nişasta değişikliği gözardı edilebilir düzeydedir. Filizlenmemiş tohum kabuğuna kıyasla filizlenmiş çemenotu tohum kabuğundaki nişasta içeriği %29'dan daha düşüktür.

Endosperm ve tohum kabuğunun çözülemez lif içeriği filizlenme döneminde gözle görülür derecede artmıştır. Fakat yine de çözülebilir diyet lif içeriği düşük bulunmuştur. Protein açısından zengin olan tomurcuklar lif içeriği açısından düşük bulunmuştur. Endosperm ve tohum kabuğunda çözülemeyen diyet liflerindeki artış göstermektedir ki suda çözülemeyen selüloz ve lignin filizlenme sırasında kullanılamaz (26).

2011 yılında Koçak ve arkadaşlarının çemenotu tohumlarının ekstreleri ile yaptıkları çalışmalarda protein içeriğine bakılmıştır. Çemenotu tohumlarındaki protein içeriği %24.8, olarak bulunmuştur (99).

2.2.8 Mineraller

Gupta ve ark. 1989 yılında çemenotu ile yaptıkları çalışmalarda bitkinin makro ve mikro elementler için zengin bir kaynak olduğu bulunmuştur. Ca, P ve Zn minerallerine önemli oranda rastlanmıştır (59).

Yadav ve Sehgal 1999 yılında çemenotu yapraklarında total ve ekstre edilebilir Ca ve Zn içeriği üzerine bölgesel proseslerin etkisini araştırmışlardır. Çemenotunun bir buzdolabında, 24 ya da 48 saat boyunca polietilen torbalarda olsun/olmasın saklanması, 30°C'de polietilen torbalarda saklanması ya da güneşte ya da fırında kurutulması Ca ve Zn içeriklerinde anlamlı bir farklılığa ($p < 0.05$) neden olmamıştır. Kaynatılmış yaprakların Ca içeriği taze yapraklara göre anlamlı bir şekilde azalmıştır. Kaynatma ile Ca içeriği

%35.87'den %17.04'e inmiştir. Basınç altında pişen yaprakların Ca içeriği, üstü açık pişirme kazanlarında olanından daha yüksektir. Pişirme sırasında yağ, baharat, çeşni eklenmesi ağırlığı arttırmış, yalnız mineralleri azaltmıştır. Bu yaprakların 5, 10 ya da 15 dk. kaynatılması, üstü açık pişirme kazanlarında ya da basınç altında pişmesi çinko içeriğinde anlamlı bir değişiklik yaratmamıştır. Haşlanmış çemenotu yaprakları HCl ile ekstre edildiğinde Ca içeriği taze yapraklardakinden anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır. Yine aynı koşullarda Zn içeriği de anlamlı bir şekilde yükselmiştir (103).

Gupta ve ark. 2003 yılında asit hidrolizi uygulandıktan sonra ICP-OES kullanılarak çemenotu tohumunun mineral bileşimi üzerine bir araştırma yapmışlardır. Fe, Al, P, Ca ve Mg g/kg olarak; Mn, Zn, Cu, Co, Ni, Pb, Cr ve Mo mg/kg yüzdeleri olarak belirtilmiştir. Tohumun Zn içeriği açısından zengin olduğu saptanmıştır. Ayrıca P, Ca ve Mg elementleri açısından da zengin bulunmuştur. Pb'ye ise hemen hemen hiç rastlanmamıştır (104).

Ceyhan ve arkadaşları 2004 yılında 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 (105).

Özcan 2004 yılında çemenotu tohumlarının 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 (106).

Kan ve ark. 2005 yılında Türkiye'de farklı şartlarda kültüre alınmış 13 farklı çemenotu tohum örneğinde atomik absorpsiyon spektrometri yöntemi ile mineral analizleri yapmışlardır. Analizler sonucunda en fazla miktarda bulunan mineral Ca ve Mg (sırasıyla 2030.706-2695.596 µg/g ve 1235.323-1521.036 µg/g aralığında) olarak belirlenmiştir. Tohumların mineral bileşimine bakıldığında Ca, Fe, Mg, Mn ve Zn içerikleri açısından herhangi bir fark gözlenmezken; Al, Cd, Cr, Co, Cu, Ni ve Pb içerikleri açısından anlamlı farklılıklar gözlenmektedir. Fakat tüm mineral içeriği dikkate alındığında günlük alım miktarından çok daha az miktarlarda bulunduğundan yeni bir mineral kaynağı olamayacakları tespit edilmiştir (107).

Srinivasan 2006 yılında yaptığı bir çalışmada çemenotu tohum ve yapraklarının mineral içeriğini incelemiştir. Yapraklarda bulunan ana element Ca (395 mg/100 g) olarak belirlenirken, tohumlarda ise ana mineralin K (530 mg/100 g) olduğu saptanmıştır. Yapraklardaki diğer elementler Mg (67 mg/100 g), P (51 mg/100 g), Fe (16.5 mg/100 g), Na (76 mg/100 g), K (31 mg/100 g), Cu (0.26 mg/100 g), S (167 mg/100 g) ve Cl (165 mg/100

g). Tohumlarda ise Ca ve Mg (160 mg/100 g), P (370 mg/100 g), Fe (14 mg/100 g), Na (19 mg/100 g), Cu (33 mg/100 g), S (16 mg/100 g), Cl (165 mg/100 g), Mn (1.5 mg/100 g), Zn (7.0 mg/100 g), Cr (0.1 mg/100 g) olarak saptanmıştır. Yapraklarda Mn, Zn ve Cr'ye rastlanmamıştır (8).

Marzougui ve ark. 2007 yılında çemenotunun 38 Tunus kültürü arasındaki kimyasal çeşitliliği araştırmışlardır. Yapraklarda K, Na, Ca, Mg ve Fe mineralleri alevli atomik absorpsiyon metodu ile, P ise spektrofotometri yoluyla ölçülmüştür. Kültürlerin %65.8'inde K içeriğinin %1'den daha az, %34.2'sinde Na içeriğinin %0.2'den fazla, %34.2'sinde Mg içeriğinin %0.05'den fazla, %23.7'sinde P içeriğinin %0.3'den fazla, %39.5'inde Ca içeriğinin %0.3 düzeyinde, %26.3'ünde Fe içeriğinin %0.03'den fazla olduğu saptanmıştır (108).

Shakuntala ve ark. atomik absorpsiyon spektroskopi analizlerini kullanarak 2011 yılında filizlenmiş ve filizlenmemiş tohum kısımlarının mineral içeriğini incelemişlerdir. Sonuçlar göstermiştir ki Ca seviyeleri filizlenmiş tohum kabuğu ve endospermde filizlenmemişe göre artmıştır. K seviyeleri ise filizlenmiş tohum kabuğu ve endospermde filizlenmemiş tohum fraksiyonlarına göre daha da azalmıştır. Mg, Zn, Mn ve Cu filizlenmiş endospermada filizlenmemiş endospermaya göre daha azdır. Filizlenmiş tohum kabuğunda ise bütün bu mineraller önemsiz sayılabilecek artışlar göstermiş; Cu ve Mn elementlerinde ise önemsiz değişimler olmuştur. Filizlenmiş endosperma, tohum kabuğu ve tomurcukta çarpıcı bir şekilde Fe mineraline rastlanmıştır. Filizlenmemiş kısma göre tomurcukların, yüksek K, Zn ve Fe içeriğine ancak düşük Mg ve Ca seviyelerine sahip olduğu bulunmuştur (26).

Naidu ve ark. 2012 yılında yaptığı bir araştırmada kurutma metodlarının çemenotu yapraklarının bileşenlerine etkisini incelemişlerdir. Bunun için sıcak hava (HA, 40°C, %58-63 rölatif nem), düşük nemli hava (LHA, 40°C ve %28-30 rölatif nem) ve radyofrekans (RF, 40°C, %56-60 rölatif nem) etkili kurutma yöntemleri ile mineraller AAS kullanılarak ölçülmüştür. Yapılan araştırmalar göstermiştir ki düşük nemli hava ile kurutulan çemenotu yaprakları maximum kalsiyum içeriğine sahip olmuştur (56.3 mg/100 g). Fakat potasyum ve demir düşük miktarlarda bulunmuştur (4.7 ve 3.5 mg/100 g, sırasıyla). Çinko, manganez ve bakır gibi diğer minerallere eser miktarda rastlanmıştır (53).

2.2.9 Vitaminler

1993 yılında Sridhar ve Lakshminarayana çemenotu yapraklarının HPLC analizi ile tokoferol içeriğini incelemişler, α ve β tokoferol açısından zengin olduklarını saptamışlardır.

α -tokoferol 0.87mg/g kuru ağırlık ve β -tokoferol 0.37 mg/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur (94).

Gaz-sıvı kromatografi ve HPLC tekniklerini kullanan Bağcı ve ark. 2004 yılında Türkiye'den elde edilen *T. cretica* L. tohumlarının HPLC ile tokokromanollerine (tokoferol ve tokotrienol) bakılmıştır. α -tokoferol (%89.4) ve γ -tokoferol (%8.4) en baskın tokoferoller olarak belirlenmiştir. Tokotrienollere rastlanmazken plastokromanol (%0.8) de çok az miktarda bulunmuştur (96).

Gupta ve Prakash 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotunun metanollü ekstrelerini askorbik asit ve total ve β -karoten içerikleri açısından analiz etmişlerdir. Çemenotunda nem içeriği (%87.92) çok yüksek bulunmuştur. Askorbik asit ise 101.36 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Total karoten ve β -karoten miktarı sırasıyla, 34.78 mg/100 g ve 4.23 mg/100 g olarak saptanmıştır (48).

Çiftçi ve ark. 2011 yılında filizlenmiş tohum yağlarının bileşimi ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Lipid, yağ asidi, triaçilgliserol, tokoferol ve sterol kompozisyonu ve içeriği analiz edilmiştir. Çemenotu lipid antioksidanları arasında en baskın bileşik α -tokoferol olarak bulunmuş ve total tokoferol miktarının %84'ünün üzerinde olduğu bulunmuştur (14).

2012 yılında yürütülen bir araştırmada Naidu ve ark. farklı kurutma yöntemlerinin çemenotu taze yapraklarının etkili dehidrasyonu üzerine etkisini incelemişlerdir. Buna göre sıcak hava (HA, 40°C, %58-63 rölatif nem), düşük nemli hava (LHA, 40°C ve %28-30 rölatif nem) ve radyofrekans (RF, 40°C, %56-60 rölatif nem) uygulanarak kurutma yapılmıştır. Klorofil, askorbik asit ve karotenoid açısından en iyi sonuçlar LHA ile alınmıştır. En düşük sonuçlar ise RF ile kurutmada alınmıştır. Taze çemenotu yaprakları 161.5±0.6 mg/100 g askorbik asit ve 15.2±0.5 g/100 g total klorofil içermektedir. Nem içeriği taze yapraklarda yaklaşık olarak 8.1kg/kg'dır. Bu çalışmada ayrıca askorbik asit (152.4 mg/100 g) ve β -karotenin (22.5 mg/100 g) yüksek miktarları LHA ile kurutma sonucu gözlenmiştir (53).

2.2.10 Tanenler

2011 yılında Koçak ve ark. çemenotu tohumlarının ekstreleri ile yaptıkları çalışmalarda tanen içeriğine bakılmıştır. Çemenotu tohumlarındaki tanen içeriği %0.67 olarak bulunmuştur (99).

Tohamy ve ark. 2012 yılında çemenotunun etkili bileşiklerinden tanen ile in vitro ortamda çalışmışlardır. Çemenotu ekstresi kateşol tanenler için negatif sonuç verirken, gallik tanenler için pozitif sonuç vermiştir (52).

2.2.11 Diğer Bileşikler

1995 yılında yapılan bir çalışmada tohumların kuru ağırlığının neredeyse %50'si beslenme lifidir ve bu onu tüm doğal lif kaynakları arasında en yüksek konsantrasyonda bulunan bitki yapar. Tohumların %30'u (a/a) guar zamkı, yulaf kepeği ve pisilyum lifine benzer şekilde jel formu çözünebilir lif şeklindedir. Tohumun %20'sini içeren çözünmeyen lif, buğday kepeği gibi kitle arttırıcıdır (109).

Brummer ve ark. 2003 yılında çemenotu zamkı ile bazı çalışmalar yapmışlardır. Çemenotu zamkı, 2 saat 10°C'de deaktive edilen ve yağı alınan çemenotu tohumlarından (Kanada'da yetişen) sadece %2.36'sı protein kontamineleri olan %22 verimle ekstre edilmiştir. Çemenotu zamkının daha ileriki saflaştırma işlemi protein kontaminelerini %0.57'ye düşürmek için zamk solüsyonunun pronaz ile muamelesi yoluyla yapılmıştır. Yüksek performanslı boyut eleme kromatografisi göstermiştir ki enzim muamelesi galaktomannanların molekül ağırlığını etkilememektedir. Monosakkarit ve metilasyon analizleri ekstre edilmiş çemenotu galaktomannanlarının yüksek seviyede substitüe olduğunu ve galaktoz-mannoz oranlarının 1.00:1.02'den 1.00:1.14'e ulaştığını göstermektedir. Çemenotu zamkı, keçiyoynuzu zamkı ve guar zamkına kıyasla daha yüksek moleküler ağırlığı gösterse de çemenotu zamkının içsel vizkozite ve reolojik davranışları azalmıştır. Bu, mannozil temel zincirinde galaktozun yerine geçen modellerin etkisine bağlanabilir. Saflaştırılmış çemenotu zamkı literatürdeki sonuçlarla çelişkili olarak saflaştırılmamış zamka kıyasla daha az yüzey aktivitesi göstermiştir (18).

Manda ve ark. (2010) hassas bir HPLC tekniği kullanarak çemenotunun sulu ekstresinin biyolojik açıdan önemli olan tiyollerinin seviyelerini belirlemişlerdir. Ölçümü yapılmış biyolojik açıdan önemli tiyoller ve biyotiyoller, glutasyon (GSH), sistein (CYS), homosistein (HCYS) ve γ -glutamil sistein (GGC) içermektedir. N-(1-pirenil) maleimid (NPM) metodu kullanılarak HPLC ile bu enzimlerin NPM-GSH, NPM-GGC, NPM-CYS ve NPM-HCYS ayrımları gerçekleştirilmiştir. Ana tiyol GSH (519±52 nM/g kuru veya yaş ağırlık) olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla, 62±1 nM/g, 57±4 nM/g ve 42±10 nM/g ile HCYS, CYS ve GGC izlemiştir (110).

2.3 *Trigonella* Türleri Üzerinde Yapılmış Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Literatürde farklı *Trigonella* türleri üzerinde çok sayıda fitokimyasal araştırmalar yapıldığı yukarıda anlatıldığı üzere görülmektedir. Bu kimyasal içerik araştırmalarının yanı sıra aşağıda belirtilen etkiler yönünden de çeşitli araştırmalar yapıldığı görülmektedir.

2.3.1 Antioksidan Etki

Yapılan in vitro ve in vivo araştırmalar sonucunda bitkinin antioksidan etkilere sahip olduğu gösterilmiştir.

2.3.1.1 İn vitro antioksidan etki

Kaur ve Kapoor, emenotu sulu ve alkollü ekstrelerinin (3-karoten ve linoleik asit içeren bir model kullanılarak) antioksidan etkilerini araştırmışlardır. Etanollü ekstre daha yüksek olmak üzere iki ekstre de antioksidan etki göstermişlerdir. Total fenol içerikleri de araştırılmış ve 2 g çemenotunda 217.5 mg total fenol tespit edilmiştir. Bu da total fenol bileşikleri ile antioksidan özellikleri arasında yüksek bir korelasyon olduğunu göstermektedir (44).

Dixit ve ark. 2005 yılında olgunlaşmış emenotu tohumlarının antioksidan etkileri üzerine bir çalışma yapmışlardır. Tohumların çeşitli fraksiyonlarının farklı seviyelerde antioksidan etkileri belirlenmiştir. Radikal süpürücü etki DPPH• kullanılarak değerlendirilmiştir. Yapılan alışmalar göstermiştir ki çemenotunun sulu fraksiyonu diğer fraksiyonlarla karşılaştırıldığında daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bu durumun içerdiği fenolik ve flavonoid içeriğiyle ilgili olduğu düşünülmektedir. Sulu Soxhlet fraksiyonunun DPPH• süpürücü etkisi 1.72 ± 0.04 $\mu\text{g/mL}$ askorbik asit ekivalan antioksidan kapasite (AEAC) olarak belirlenirken bunu 1.22 ± 0.02 $\mu\text{g/mL}$ troloks ekivalan antioksidan kapasite (TEAC) olarak metanollü fraksiyon izlemiştir. Diğer fraksiyonlar ve ekstreler ise daha az antioksidan aktivite göstermiştir (42).

Aqil ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada Hindistan'da geleneksel olarak kullanılan tıbbi emenotu bitkisinin metanollü ekstresinin α -tokoferol ve butil hidroksi toluen (BHT) kullanılarak antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkilerini araştırmışlardır. Antioksidan aktivite ferri tiyosiyanat (FTC) ile lclmştr ve tiobarbitürik asit (TBA) ile karşılaştırma yapılmıştır. Serbest radikal süpürücü aktivite difenil pikril hidrazil (DPPH•) radikalleri kullanılarak değerlendirilmiştir. emenotunun aktivitesi (%57) ticari antioksidan α -tokoferol (%58) ve btil hidroksi tolüen (%49) ile karşılaştırıldığı zaman başabaş değerdedir (45).

Siklofosfamid (CP), akrolein ve fosfamid hardalı gibi reaktif metabolitler aracılığıyla toksisiteye neden olan yaygın olarak kullanılan bir antikanser ilaçtır. emenotu ekstresinden elde edilen CP ve L-butionin-SR-sulfoksimine (BSO) eşzamanlı maruz kalmaktan kaynaklanan toksisitenin değişimi çalışması, farelerde idrar torbasındaki lipid

peroksidasyon (LPO) ve antioksidanları değerlendirilmiştir. Yaygın bir besinsel ve tıbbi bitki olan çemenotu sadece LPO üzerinde değil aynı zamanda enzimatik antioksidanlar üzerinde de koruyucu etki göstermiştir. CP uygulanmış hayvanlar kontrollere kıyasla glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidaz (GP) ve katalaz (CAT), aktivitelerinde önemli bir azalma göstermiştir. CP uygulanmış hayvanlarda artan LPO ile, azalmış glutatyon (GSH) seviyesi ayrıca düşmüştür. CP uygulanmış hayvanlarda, BSO uygulaması bağımlılık yapan bir toksik etki göstermiştir. Bitki ekstresinin ön uygulaması bütün enzimlerin aktivitelerini düzenlemiştir ve böylece CP ve BSO'nun bağımlılık yapan etkisi üzerine ayrıntılı bir koruyucu etki göstermiştir. Ekstre uygulanmasıyla GSH restorasyonu idrar torbasında CP-indüklü apoptosis ve LPO aracılıklı serbest radikallerin tersine döndürülmesinde önemli bir rol oynayabilmektedir (111).

Kaviarasan ve ark. 2007 yılında yaptıkları bir araştırmada çemenotu tohumlarının ekstresini izole etmişler ve çeşitli in vitro deney sistemleri ile antioksidan aktiviteleri değerlendirmişlerdir. Tohum ekstresi hidroksil radikalının ($\cdot\text{OH}$) süpürücü etkisini ve rat karaciğer mitokondrisinde lipit peroksidasyon indüklü hidrojen peroksit inhibisyonunu ortadan kaldırmıştır. Ekstrenin hidroksil süpürücü aktivitesi puls radyolizi ve deoksiriboz sistemi ile değerlendirilmiştir. Ekstrenin antimitojenik aktivitesi pBR322 DNA plazmidinin bir dizi ara şekli ile indüklü γ -radyasyonunun inhibisyonunun takibi ile kayıt edilmiştir. Ekstrenin yüksek konsantrasyonları, DPPH \cdot ve ABTS \cdot^- radikallerini süpürücü olarak rol oynamıştır. Sonuçlar göstermiştir ki çemenotu tohum ekstresi antioksidan içermekte ve oksidatif zarardan hücrel yapıları korumaktadır. Çemenotu tohumlarının sulu metanollü ekstresi farklı model sistemlerinde antiradikal ve in vitro antioksidan aktiviteleri için çalışılmıştır. Antiradikal aktivitenin ekstrede bulunan polifenolik bileşenler ile ilişkili olabileceği bulunmuştur. Bu metotlarla elde edilen sonuçlar, çemenotu tohumlarının antioksidan potansiyelinden bazı önemli faktörlerin sorumlu olduğunu sağlamışlar ve çalışmada açıklanan, tohumların çok sayıda in vivo yararlı etkileri için kanıt olabileceğini öne sürmüşlerdir (112).

Dasgupta ve De ise *T. foenum graecum* yapraklarının sulu deoksiyonunu hidroksil radikal süpürücü, süperoksit radikal süpürücü, DPPH \cdot , lipit peroksidasyon (TBARS), total antioksidan kapasitesi, total fenol içeriği, total flavonoid içeriği yöntemleri ile antioksidan açıdan değerlendirmişlerdir. Orta derecede aktivite gözlenmiştir. Hidroksil radikal süpürücü aktivite IC₅₀ değeri 1429 $\mu\text{g}/\text{mL}$, süperoksit radikal süpürücü aktivite IC₅₀ değeri 1048 $\mu\text{g}/\text{mL}$, DPPH \cdot radikal süpürücü aktivite IC₅₀ değeri 847 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lipit peroksidasyon (TBARS) IC₅₀

değeri 956 µg/mL olarak bulunmuştur (46).

Wojdylo ve ark. 2007 yılında yaptıkları bir araştırmada Polonya'da yetişen çemenotu tohumlarının total antioksidan kapasitelerini incelemişlerdir. Bitkideki total antioksidan kapasiteleri, ABTS^{•+}, DPPH[•] ve FRAP metotları kullanılarak ölçülmüştür. Sonuç olarak bitkinin ABTS^{•+} 6.74±1.01 µM troloks/100 g kuru ağırlık, DPPH[•] 364±7.02 µM troloks/100 g kuru ağırlık ve FRAP 21.6±1.00 µM troloks/100 g kuru ağırlık, yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (36).

Dixit ve ark. 2008 yılında formüle edilmiş bir preparasyon olan Syndrex[®]'in güçlü antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Syndrex[®] olgunlaşmış çemenotu tohum tozunu içeren formüle edilmiş bitkisel antidiyabetik bir preparasyondur. Syndrex[®] Soxhlet aparatıyla fraksiyonlanmış ve fraksiyonları farklı seviyelerdeki antioksidan etkilerini belirlemek için kullanılmıştır. In vitro aktivite demir azaltıcı antioksidan güç deneyi, DPPH[•] ile radikal süpürme, ABTS ve puls radyolizi ile değerlendirilmiştir. Rat karaciğerindeki mitokondrial preparatlarda Syndrex[®]'in lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi kontrol edilmiştir. Diğer fraksiyonlara kıyasla Syndrex[®]'in metanol fraksiyonu en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Bu fraksiyon maksimum fenolik ve flavonoid içeriği göstermektedir. İzole fare pankreatik adacıkları Syndrex[®]'in antioksidan aktivitesini değerlendirmek için kullanılmıştır. Adacıklar streptozotosin ile muamele edilmiştir. Syndrex[®] alan adacıklar streptozotosinin hasarından korunmuştur. Bu adacıklar streptozotosin alan adacıklarla karşılaştırıldığında fonksiyonelliğini sürdürmüş ve daha sağlam kalmıştır (113).

Khalaf ve arkadaşları ise *T.foenum graecum* yapraklarının metanol ekstresinde DPPH[•] testi kullanarak düşük oranda antioksidan aktivite tespit etmişlerdir (114).

Subhasree ve ark. 2009 yılında yaptıkları bir araştırmada çemenotu metanol ekstresinin in vitro sistemlerde radikalleri süpürme ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme yetenekleri yardımıyla bu bitkinin serbest radikal süpürücü aktivitesini araştırmışlardır. Standart spektrofotometrik metotlarla non-enzimatik antioksidan seviyeleri belirlenmiştir. Bu antioksidanların bazıları ve bitki ekstresinin in vitro serbest radikal süpürücü aktivitesi arasında korelasyon ve regresyon analizleri ile bir pozitif korelasyon oluşmuştur (115).

Gupta ve Prakash 2009 yılında Hindistan kökenli çemenotu yeşil yapraklı bitkisinin antioksidan etkileri üzerine bir çalışma yapmışlardır. DPPH[•] kullanılarak serbest radikal süpürücü etkisi incelenmiştir. Total antioksidan aktivitesi 1292.28±92.86 µmol askorbik asit/g olarak bulunmuştur. 4-20 mg/mL konsantrasyonlarda, çemenotu %15.23-%41.46 oranlarında

serbest radikal süpürücü aktivite göstermiştir. Çemenotu için IC₅₀ değeri 27.69 mg/mL olarak saptanmıştır (48).

Marathe ve ark. 2011 yılında Hindistan'da genel olarak tüketilen çemenotunun fenolik içeriğini ve antioksidan aktivitesini DPPH^{*}, ABTS⁺⁺, demir indirgeyici antioksidan güç (FRAP) ve metal iyon bağlama (Fe²⁺) yöntemlerini kullanarak taramışlardır. Çemenotu yüksek DPPH^{*} radikal süpürücü aktivite (>400 unite/g) göstermiştir. Diğer sonuçlar ise ABTS⁺⁺ 20.209±0.856 µmol TEAC/g ve FRAP 37.852±0.399 µmol/g olarak bulunmuştur (50).

Naidu ve ark. 2011 yılında çemenotu tohumlarının endosperma ve kabuğunun antioksidan aktivitesini araştırmışlardır. 200 µg konsantrasyonda kabuk, çemenotu tohumu ve endosperma serbest radikal süpürme metoduyla antioksidan aktivitelerini sırasıyla %72, %64 ve %56 olarak göstermiştir. Bu sonuçlara göre kabuk gibi çemenotu fraksiyonları serbest radikalleri süpürme üzerinde dikkate değer bir etki göstermiştir (51).

Shakuntala ve ark. 2011 yılında yaptıkları bir araştırmada, filizlenmiş çemenotu tohum fraksiyonunun antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. 200 ppm konsantrasyonda filizlenmiş tohum endospermi, tohum kabuğu ve tomurcuğunun antioksidan aktivitesi sırasıyla, %13.42, %79.87 ve %49.05 iken, filizlenmemiş tohumun endospermi ve tohum kabuğunun ise %10.13 ve %90.94 olarak bulunmuştur (26).

2012 yılında yürütülen bir araştırmada Naidu ve ark. farklı kurutma yöntemlerinin çemenotu taze yapraklarının antioksidan özelliğine etkisini DPPH^{*} kullanarak göstermişlerdir. Buna göre sıcak hava (HA, 40°C, %58-63 rölatif nem), düşük nemli hava (LHA, 40°C ve %28-30 rölatif nem) ve radyofrekans (RF, 40°C, %56-60 rölatif nem) uygulanarak kurutma yapılmıştır. Bu çalışmadaki çemenotu yapraklarının ekstraları DPPH^{*} deneyleriyle en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Düşük nemli havada kurutulan çemenotu yaprak ekstraları %18-56 aralığında değişen iyi bir serbest radikal süpürücü aktivite göstermiştir. Aktivite artan konsantrasyonlarda yükselmiştir. Çeşitli solvanların kullanıldığı bu çalışmada, çemenotu yapraklarının metanol ekstresi %42 aktivite göstermiştir. Bunu etanol ve izopropanol ekstraları izlemiştir. Metanol, etanol ve izopropanol ekstralarının IC₅₀ değerleri sırasıyla, 280, 355 ve 555 ppm olarak saptanmıştır. Çemenotu yapraklarının sulu metanollü ekstresi (metanol:su; 60:40) daha yüksek (%56) serbest radikal aktivite göstermiştir (53).

Esmaili ve ark. 2012 yılında yaptıkları bir araştırmada *Trigonella monantha* C. A. Mey. subsp. *monantha* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen çeşitli ekstralarının ve uçucu yağın kimyasal bileşiminin biyolojik aktivitesini GC ve GC/MS ile çalışmışlardır. T.

monantha deneylerinin tüm sonuçları, total fenolik, ABTS, DPPH' ve β -karoten deneylerinde çeşitli ekstrelerden (hekzan ekstresi, metanol ekstresi ve kloroform ekstresi) en fazla antioksidan özelliği göstereni karar vermelerinde etkili olmuştur. Ekstreler hem elektron transfer hem de hidrojen transfer mekanizmalarının her ikisine dayanarak antioksidan özellik göstermektedir (116).

2.3.1.2 *In vivo* antioksidan etki

Çemenotu tohumlarının, kan lipid peroksidasyonu ve antioksidanlar üzerindeki etkisi diyabetik ratlarda araştırılmıştır. Ratlarda alloksan-indüklü diyabet, yüksek lipid peroksidasyonuna ve dolaşım antioksidanlarında değişimlere yol açmıştır. Bu ratlara yapılan çemenotu tohumu ilavesi, lipid peroksidasyonunu önemli derecede düşürmüştür. Buna ek olarak, glutasyon ve β -karoten içerikleri artarken, α -tokoferol seviyeleri düşmüştür. Bu çalışma, diyabetik ratlarda bozulmuş serbest-radikal metabolizmanın; çemenotu tüketimiyle normale dönebileceğini göstermiştir (117).

Oksijen serbest radikalleri diyabetin ciddi komplikasyonlarının sebebidir. Çemenotu 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. Çemenotunun antioksidan seviyeyi ve peroksidatif hasarı iyileştirdiği gözlemlenmiştir (118).

Sabu ve Kuttan (2003) alloksan indüklü diyabetik ratlarda Hindistan kökenli çemenotu metanol ekstresinin antioksidan aktivitesini çalışmışlardır. Bu ekstrenin lipid peroksidasyonunun güçlü inhibitörü ve *in vitro* hidroksil ve süperoksit radikal süpürücü olduğu bulunmuştur. Ekstrenin oral uygulanması (100 mg/kg vücut ağırlığı) normal ve alloksan indüklü (120 mg/kg) diyabetik ratlarda 4 saat boyunca serum glukoz seviyesini anlamlı bir şekilde düşürmüştür. İlacın uygulanmasına devam edilmesi etkiyi sürdürmüştür. Çemenotunun aktivitesi (%52.5) ile serum glukozunun azalması insülin aktivitesi (%60.4) kadar yüksek bulunmuştur (119).

Kaviarasan ve ark. 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada normal ve diyabetik insan eritrositlerinde (RBCs) hidrojen peroksit (H_2O_2) indüklü oksidasyona karşı çemenotu tohumlarının polifenolce zengin bir ekstresinin koruyucu etkisi değerlendirilmiştir. RBCs, çemenotu tohum ekstresinin artan miktarları ile preinkübe edilen ve H_2O_2 ile uyarılan, hemoliz ve lipid peroksidasyonu için analiz edilmiştir. Normal deneklerinkine göre diyabetik deneklerin RBCs'leri oksidatif hemoliz ve lipid peroksidasyonuna daha yatkındır. Ancak polifenolce zengin ekstre ile preinkübasyon her iki grupta da oksidatif modifikasyonları anlamlı derecede azaltmıştır. Lipid peroksidasyon inhibisyonu, fenolik bileşikleri 0.75 mM gallik asit ekivalanı miktarında içeren ekstrenin 100 μ L'siyle konsantrasyon-bağımlı olarak gerçekleşmiştir (120).

Belguith-Hadriche ve ark. 2010 yılında yaptıkları bir araştırmada yüksek kolesterolü yiyeceklerle beslenen ratlarda etil asetat ekstresinin lipid düşürücü ve anti-oksidan etkilerini çalışmışlardır. Lipid etkileri, fenolik bileşen ve antioksidan etkiler arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. 16 hafta boyunca standart laboratuvar diyeti veya kolesterolce zengin yiyeceklerle beslenen Wistar ratlar kullanılmıştır. Plazma lipid seviyeleri, total fenolikler ve total flavonoid içeriği ölçülmüştür. Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) ve antioksidan aktiviteler incelenmiştir. Çemenotu etil asetat ekstresinin uygulanması total kolesterol, trigliserit ve düşük dansiteli lipoprotein kolesterol plazma seviyelerini düşürmüştür. Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol plazma seviyesini ise arttırmıştır. Daha da ötesi, karaciğer, kalp ve böbrekteki TBARS içeriği, katalaz ve süperoksit dismutaz aktiviteleri, kolesterolce zengin bir diyetle beslenen ratlarla karşılaştırıldığında ekstrenin oral yoldan uygulanmasından sonra anlamlı derecede azalmıştır. Bu lipid etkiler ve in vivo antioksidan etkiler, in vitro fenolik içerik, süpürücü yeteneği ile ilişkili bulunmuştur. Bu sonuçlar çemenotu tohumunun etil asetat ekstresinin önemli hipokolesterolemik etkileri ve antioksidan aktiviteleri olduğunu ortaya koymaktadır. Bu etkiler kısmen flavonoidlerin varlığından, özellikle de naringenin, kaynaklanmış olabilmektedir (38).

Reedy ve Srinivasan'ın 2011 yılında yaptıkları çalışmada besinsel çemenotu tohumlarının yüksek kolesterolü farelerde kolesterol safra taşı (CGS) sıklığını azalttığını belirtmişlerdir. Ayrıca bu tohumlar önceden oluşturulmuş CGS'yi azaltmaktadır. Bu çalışmada, çemenotu, yüksek kolesterolü yiyeceklerle beslenen farelerde (HCD) hepatoprotektif ve antioksidan etkileri açısından değerlendirilmiştir. HCD'ler 10 hafta beslendikten sonra, %6 veya %12 çemenotu içeren basal diyet/basal diyet ile beslenen HCD'ler 10 haftadan fazla korunmuştur. Sürekli HCD ile beslenenlerde serum aspartat

aminotransferaz, alanin aminotransferaz, laktat dehidrogenaz ve alkalın fosfataz aktiviteleri artmıştır. Bu enzimlerin aktiviteleri, HCD'ye ilk maruz kaldıktan sonra, bazal kontrol/çemenotu içeren dietlerle beslenen hayvanlarda daha dūřuktur ve çemenotu gruplarında öne çıkmışlardır. Çemenotu alan gruplarda hepatik lipid peroksitler azalmış ve antioksidan moleküller artmıştır. Hepatik antioksidan enzimler- glutasyon redüktaz, glutasyon-S-transferaz ve glutasyon peroksidazların aktiviteleri çemenotu tedavisinde daha yüksektir. Bu sonuçlar litojenez koşulları altında çemenotu tohumlarının hepatoprotektif ve antioksidan etkilerinin var olduğunu öne sürmektedir (13).

Sindhu ve ark. 2012 yılında ratlarda adjuvan indüklü artritte çemenotu müsilağının anti-enflamatuar ve antioksidan etkilerini araştırmak üzere bir çalışma yapmışlardır. Artrit, eklem enflamasyonu oluşturmak için sağ arka pençe içerisine Freund's adjuvanının intradermal enjeksiyonu ile indüklenmiştir. Katalaz, süperoksit dizmutaz, glutasyon peroksidaz ve glutasyon seviyeleri ve Vitamin C ve lipid peroksidasyon aktivitesi analiz edilerek oksidatif stres ölçülmüştür. Siklooksijenaz-2 ve miyeloperoksidaz aktiviteleri ve tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) konsantrasyonu azalmıştır. Çemenotu müsilağı uygulanması ile antioksidan enzimlerin aktivitesi, Vitamin C ve azaltılmış glutasyon seviyesi artmıştır (121).

Tohamy ve ark. 2012 yılında çemenotunun etkili bileşiklerinden tanen, total flavonoit ve total fenolikleri ile in vitro ortamda çalışmışlardır. Ek olarak normal yetişkin erkek farelerde Mısır kökenli çemenotu ekstrelerinin antioksidan etkisi de değerlendirilmiştir. Ayrıca bu ekstrenin erkek fertilitesi üzerine pozitif ve/veya negatif etkisi hakkında hiçbir bulgu bulunmamaktadır. Bu ekstrenin yararlı etkilerini değerlendirmek amacıyla karaciğer ve böbrek fonksiyonları, lipid peroksidasyonu, nitrik oksit, glutasyon (GSH), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon redüktaz (GR) ve glutasyon-S-transferaz (GST) gibi non-enzimatik ve enzimatik oksidan moleküller değerlendirilmiştir. Ayrıca, testislerin histolojik incelemesi yapılmıştır. Sonuçlar, çemenotu ekstresinin farelerin testis dokularında lipid peroksidasyon ve nitrik oksit formasyonunu azaltarak etkili bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bu aktiviteler GSH, CAT, SOD, GR ve GST gibi non-enzimatik ve enzimatik antioksidan savunma bileşikleri ile genişletilmiştir. Buna ek olarak çemenotu, spermatozoa ve seminifer tübüllerin gelişmesiyle testis yapısında güçlenmeye neden olmuştur (52).

2.3.2 Antidiyabetik Etki

İnsan deneklerle yürütülen çalışmalar; çemen otunun, postprandial glukoz cevabını hem sağlıklı hem de diyabetik bireylerde azalttığını göstermiştir. Sharma (122), akut çalışmalarında; reçinesi izole edilmiş ve yağı alınmış bütün çemenotu tohumlarının, glukoz eğrisi altındaki alanları %35-42 oranında azalttığını ve postprandial insülin seviyelerini anlamlı bir şekilde düşürdüğünü gözlemlemiştir. Buna karşın, reçinesi alınmış tohumların az da olsa glisemik cevap üzerine etkileri olmuştur. Madar ve ark. (123), yemek tolerans testine 15 g öğütülmüş çemenotu tohumu eklendiğinde; insüline bağımlı olmayan diyabetiklerde (NIDDM) de benzer sonuçları rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar, hem insüline bağımlı olmayan diyabetlilerde (NIDDM) hem de insüline bağımlı diyabetlilerde (IDDM), 10 günden-2 aya kadar daha uzun süreli metabolik çalışmalarda, günde 100 g acısı alınmış çemenotu veya çemenotu ekstresi tüketilmesiyle de onaylanmıştır (124-126). Çemenotunun; nispeten düşük dozlarda ve hem akut hem de uzun süreli müdahalelerde çok etkili olduğu görülmüştür.

Sharma ve Raghuram, tip 2 diyabetli hastalarda 2 randomize, kontrollü ve çaprazlamalı çalışmalar yürütmüşlerdir. 15 hastanın antidiyabetik ilacı glibenklamid/glipizid/metformin dozları %20'den fazla azaltılmıştır. Hem tedavi dozu hem de diyetle alım mevcut çalışma periyodundan önce 1 hafta boyunca stabilize edilmiştir. İlk çalışmada, öznel 10 gün boyunca iki eşit doza bölünen 100 g yağı alınmış çemenotu tohum tozu ile veya olmaksızın yemek yemişlerdir. Hastalar daha sonra ilave 10 günle çaprazlanmıştır. 15 hastanın yedisi ilk başta çemenotu diyeti almıştır; herhangi bir başarısız periyot gözlenmemiştir (124).

2. çalışma, çalışma süresinin 20 gün olması ve toplam özne sayısının 25 olması (3 hasta ilk önce çemenotu almıştır) dışında benzer bir çalışma dizaynına sahiptir (124). Çemenotu alan hastalarda açlık kan şekeri seviyesi ve glukoz tolerans testi sonuçlarında anlamlı ortalamaya sahip gelişmeler gözlenmiştir. 1. çalışmada açlık kan şekeri 179±24 mg/dL'den 137±20.2 mg/dL'ye oranlanırken 2. çalışmada 157±22.2 mg/dL'den 116±17.1 mg/dL (p<0.05) arasında oranlanmıştır. Her iki çalışmada da 24 saatlik üriner glukoz sekresyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çemenotu alan hasta grubunda ayrıca polidipsi ve poliürede öznel gelişmeler bildirilmiştir.

Sharma ve ark. (1990) Tip 1 diyabetli 10 hastayla randomize, kontrollü ve çaprazlamalı deneme çalışmaları yürütmüşlerdir (125). 10 günlük periyot sonrası, deneklere her gün ikiye bölünmüş (öğle ve akşam yemeği) dozda 100 g çemenotu tohum tozu içeren, çemenotu içermeyen yemekler verilmiştir. Çalışmanın sonunda, çemenotu alan grupta 24-

saatlik ürün glukoz seviyesinde %54 azalma, glukoz-tolerans test değerleri ve açlık kan-glukoz değerlerinde (15.1 ± 2.4 mM/L – 10.9 ± 2.75 mM/L; $p < 0.01$) ortalama azalmaları içine alan pek çok parametrede anlamlı gelişmeler not edilmiştir. Bu çalışma çemenotunun hayvan çalışmalarında görüldüğü üzere insülin sekresyonuna yardımcı olabilir.

Raghuran ve ark. (1994) Tip 2 diyabetli 10 hastada çemenotu tohumlarının randomize, kontrollü ve çapraz geçişli (çaprazlamalı) denemelerinin sonuçlarını ortaya çıkarmışlardır (127). Bu hastaların antidiyabetik ilacı, glibenklamidin dozları günde 2.5-7.5 mg arasında değişmiştir; hem tedavi dozu hem de diyetle alım mevcut çalışma periyodundan önce stabilize edilmiştir. Hastalara 15 gün boyunca iki eşit dozda yemeklerle 25 g toz edilmiş çemenotu tohumu veya çemenotu alımı içermeyen verilmiştir. Çemenotu tozu deneysel diyetle diyet lifi olarak eklenmiştir. Bu diyetle deneysel diyet kontrol diyetine göre daha yüksek lif içeriğine sahiptir. 5 diyabetik hasta ilk 15 günlük periyotta çemenotu alarak rastgele seçilmiştir. Diğer 5 hasta bunu ikinci periyotta almışlardır. Özneler daha sonra ilave 15 gün boyunca başarısız periyotsuz çaprazlanmıştır. Çemenotu alan hastalarda, glukoz tolerans test skorları ve glukoz serum-klerans oranlarında (kontrol grubu, 153 ± 11.92 mg/mL/dk; çemenotu grubu 136.4 ± 6.36 mg/mL/dk) istatistiksel olarak anlamlı ortalamaya sahip gelişmeler belirtilmiştir. İki grup arasında glukoz açısından tam bir farklılıktan bahsedilmemiştir.

Neeraja ve Rajyalakshmi (1996) 6 tane tip 2 diyabetli, ve 6 diyabetsiz denek içeren yetersiz dizayn edilmiş kompleks olay dizisi sunmuşlardır (128). Olaylar, diyabetli hastalarda çemenotunun postprandiyal hiperglisemiye öncelikli olarak fakat diyabetsiz deneklerde daha az azalttığını öne sürmüştür.

Broca ve ark. (100, 101), çemenotunda bulunan, 4-hidroksiizolösin (4-OH-Ile) amino asidinin, hem insülinotropik hem de antidiyabetik özelliklere sahip olduğunu göstermişlerdir. Bu amino asit sadece bitkilerden izole edilmektedir ve çemenotu tohumlarında % 0.56 a/a konsantrasyonlarda bulunmuştur. Sağlıklı köpek ve ratlarda yapılan intravenöz ve oral glukoz tolerans testlerinde, 4-OH-Ile'nin eklenmesi glukoz toleransını arttırmıştır. Ayrıca, IDDM ratlara yalnız 4-OH-Ile uygulanması glukoz-indüklü insülin tepkisini kısmen restore etmiştir. 4-OH-Ile'nin 6 günlük sub-kronik uygulanması; bazal hiper-glisemiye azaltmış, bazal insülinemi değerlerini düşürmüş ve tüm glukoz toleransını artırma eğiliminde olmuştur. Aynı araştırmacılar in vitro yaptıkları çalışmalarla; 4-OH-Ile'nin, doğrudan, pankreatik β hücre stimülasyonuna neden olduğuna işaret etmişlerdir. Bu stimülasyon aynı zamanda amino asidin doğrusal izoformunda mikromolar oranlarda görülmüştür (101). Çemenotunun protein

fraksiyonunun, diyabetin hem engellenmesi hem de tedavi edilmesinde kullanışlı olabilecek biyolojik olarak aktif içeriklere sahip olduğu gör÷lmektedir.

Trigonella foenum-graecum bitkisinin in vivo antidiyabetik etkisinin 1974-2000 yılları arası literatür özetleri Çizelge 2.3.'de gör÷lmektedir.

Çizelge 2.3. *Trigonella foenum-graecum* bitkisinin in vivo Antidiyabetik etkisinin 1974-2000 yılları arası literatür özetleri.

Bitkinin kullanılan kısmı	Uygulanan hayvan/insan modeli	Kullanılan Doz	Gözlenen Etki	Referans
Çemenotu tozu	Diyabetik olmayan ratlar	2 hafta boyunca diyetin %20'si	Antihiperglisemik	129
Çemenotu tozu	Normal ve Diyabetik ratlar	250 mg tez doz	Antihiperglisemik	130
Çemenotu tozu	Normal ve Diyabetik insanlarda	25 g tek doz	Antihiperglisemik	122
Çemenotu tozu	NIDDM insanlarda	4-7 gün boyunca hergün 15 g	Antihiperglisemik/plazma insulin seviyesinde artış yok	123
Çemenotu tozu	NIDDM insanlarda	15 gün boyunca hergün 25 g	i.v. GTT'ye karşı antihiperglisemik	127
Çemenotu tozu	NIDDM insanlarda	3 hafta boyunca hergün 25 g	Antihiperglisemik	122
Çemenotu tozu	IDDM insanlarda	10 gün boyunca hergün 100 g	Hipoglisemik ve antihiperglisemik	125
Süspansiyon	Diyabetik olmayan ratlarda	Her 5 mL'ye 0.25 g	OGTT'de hiçbir etki görülmez	136
Süspansiyon	Diyabetik ratlarda	Her 5 mL'ye 0.25 g	Antihiperglisemik	136
Dekoksiyon	Normal ve Diyabetik ratlar	%40-%80 dilüsyon	Antihiperglisemik	131
Yağ fraksiyonu	Diyabetik ve diyabetik olmayan	Tüm çemenotu tohumlarının %7'sine karşılık gelen kısım	Kan glukozu üzerinde etki görülmemiş	132, 133
Yağı alınmış fraksiyon	Diyabetik olmayan köpeklerde	Tüm çemenotu tohumlarının %93'üne karşılık gelen kısım	Kan glukozu üzerinde etki görülmemiş	133
Yağı alınmış fraksiyon	Diyabetik köpeklerde	Tüm çemenotu tohumlarının %93'üne karşılık gelen kısım	Antihiperglisemik	132, 133
Yağı alınmış fraksiyon	NIDDM insanlarda	3 hafta boyunca hergün 25 g	Antihiperglisemik	122

Çizelge 2.3. Devam *Trigonella foenum-graecum* bitkisinin in vivo Antidiyabetik etkisinin 1974-2000 yılları arası literatür özetleri.

Bitkinin kullanılan kısmı	Uygulanan hayvan/insan modeli	Kullanılan Doz	Gözlenen Etki	Referans
Yağı alınmış alt fraksiyonlar				
Lif	Diyabetik köpeklerde	3 hafta boyunca total yağı alınmış fraksiyona karşılık gelen miktar	Antihiperglisemik	134, 135
Protein+saponin	Diyabetik köpeklerde	3 hafta boyunca total yağı alınmış fraksiyona karşılık gelen miktar	OGTT'de hiçbir etki görülmez	134, 135
Protein	Diyabetik köpeklerde	3 hafta boyunca total yağı alınmış fraksiyona karşılık gelen miktar	OGTT'de hiçbir etki görülmez	135
Saponin	Diyabetik köpeklerde	3 hafta boyunca total yağı alınmış fraksiyona karşılık gelen miktar	OGTT'de hiçbir etki görülmez	135
Lif + Saponin	Normal tavşanlarda		Antihiperglisemik	136
Etanol ekstresi	Normal ve Diyabetik ratlar	200-400 mg/kg	Antihiperglisemik	131
Etanol ekstresi	Diyabetik olmayan	250 mg/kg	Antihiperglisemik	130
Etanol ekstresi	Normal ve Diyabetik ratlarda	3 hafta boyunca 5 mg/kg	Antihiperglisemik	137
Çemenotu	NIDDM insanlarda	Her gün 15 gr	Antihiperglisemik, insülin seviyelerinde değişim yok	138
Olgunlaşmış tohumlar	Normal ve NIDDM insanlarda		Antihiperglisemik	128
Çemenotu tohum tozu	NIDDM insanlarda	3 haftalık uygulama	Antihiperglisemik/hipolipidemik	139
Çemenotu yaprakları	Normal ve Diyabetik ratlar	0.06, 0.2 , 0.5, 1 g/kg i.p. / 1, 2, 8 g/kg p.o.	Antihiperglisemik	140

Çemenotu tohumlarının alkollü ekstresinin hipoglisemik etkisi hem normal hem de alloksan-indüklü diyabetik ratlarda araştırılmıştır. Kan glukoz seviyelerinde anlamlı düşüşler gözlenmiştir. Normal ratlarda 74.33 ± 4.77 'den 60.56 ± 1.9 'a düşerken, diyabetik ratlarda 201.25 ± 7.69 'dan 121.25 ± 6.25 'e düşmüştür ($p < 0.001$). Ayrıca ekstre glukozla beslenen hiperglisemik ratlarda glukoz yapısında olumlu bir etki göstermiştir (141).

Çemenotunun çözülebilir diyet lifi fraksiyonunun (SDF), Tip 2 model diyabetik ratların kan glukoz seviyelerindeki postprandial yükselişi, sükroz sindiriminin gecikmesi yoluyla azalttığı görülmüştür. Çemenotu, Tip 2 diyabetik ratlarda serum fruktozamin, insülin ve lipid seviyelerinin kronik etkileri ve platelet agregasyonu için araştırılmıştır. Çemenotu 28 gün boyunca günde 2 kere 0.5 g/kg dozda uygulanmıştır. Kontrole kıyaslandığında insülin seviyesinde önemli bir değişiklik olmazken serum fruktozamin seviyesi ($p < 0.05$) düşmüştür. Düşük agregasyon eğilimi ($p < 0.069$) olmasına rağmen platelet agregasyonunda önemli bir etki görülmemiştir. Çemenotunun Tip 2 model diyabetik ratlarda platelet agregasyonunu inhibe etme eğilimine sahiptir (142).

Diyabetik ratlara vanadat uygulanmasının, bozulmuş karbonhidrat metabolizması ve antioksidan durumlarını düzelttiği açıklanmıştır. Bununla birlikte, vanadat bu etkileri oldukça yüksek dozlarda ortaya koymaktadır ve birtakım toksik etkiler meydana getirmektedir. Vanadatın düşük dozlarının çemenotu tohum tozu (TSP) ile birlikte kullanılması, diyabetik ratlarda enzim değişiklikleri üzerinde etkili olmuştur. Alloksan diyabetli ratlara ayrı ayrı insülin, vanadat (0.6 mg/mL), TSP ve vanadatın kombine bir dozu (0.2 mg/mL) ve TSP, 21 gün süreyle uygulanmıştır. Deneysel sürenin sonunda, kan glukoz seviyeleri ve pirüvat kinaz (PK) aktiviteleri, fosfoenolpirüvat karboksikinaz (PEPCK), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), superoksit dizmutaz (SOD) ve katalaz (CAT), karaciğer ve böbrek sitosolik fraksiyonunda ölçülmüştür. Kan glukoz seviyeleri diyabetik ratlarda önemli derecede artmıştır. Antidiyabetik bileşiklerle tedavi, glukoz seviyelerinde azalmayla sonuçlanmıştır. Vanadat ve Trigonella'nın kombine bir dozuyla tedavi edilen ratların kontroldekilerle kıyaslanabilir glukoz seviyelerine sahip olduğu görülmüştür. Benzer sonuçlar diyabetik ratların karaciğer ve böbreklerdeki PK, PEPCK, SOD, GPx, GR ve CAT aktiviteleri ile de elde edilmiştir. Vanadat ve Trigonella'nın kombine dozunun bu değişikliklerin düzeltilmesinde çok etkili olduğu bulunmuştur (143).

Mowla ve ark. 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu tohum ekstresinin alloksan-indüklü diyabetik ratlardaki antihiperglisemik etkisini ve bunun şeker hastalığında kullanımını araştırmışlardır. Alloksan indüklü diyabetik ratlarda kan glukoz seviyeleri üzerine

çemenotu tohumlarının etanollü ekstrelerinin farklı dozlarının (2 g/kg, 1 g/kg, 0.5 g/kg ve 0.1 g/kg) etkileri çalışılmıştır. Ekstrenin hipoglisemik etkisi standart antidiyabetik ilacın (glimepiride, 4 mg/kg) tek dozu ile karşılaştırılmıştır. Ekstre alloksanla indüklenmiş diyabetik durumlara karşı önemli bir aktivite göstermiş fakat hipoglisemik etkinin şiddeti dozdan doza farklılık göstermiştir. En etkili doz 1 g/kg kabul edilmiş fakat yine de standart antidiyabetik ilaçtan daha düşük olduğu görülmüştür. Çemenotu tohumunun etanol ekstresinin yüksek dozda (3 g/kg vücut ağırlığı) oral olarak uygulanması hiçbir akut toksisiteye neden olmamıştır. Bu doz, etkili antihiperlisemik dozdan daha yüksektir. Ayrıca bu doz, 24 saat boyunca herhangi bir ölüm olayına sebep olmaz ve sonraki 10 gün boyunca bir düzine davranışsal aktiviteler üzerine herhangi bir gecikmiş toksik etkiye neden olmayan dozdur. Fitokimyasal grup testleri ayrıca alkaloid, steroid ve karbonhidratların ekstrede bulunduğunu göstermiştir (144).

Haeri ve ark. 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada ilk kez streptozotosin-indüklü tip-1 diyabetik ratlarda çemenotu içerisindeki (2S, 3R, 4S) 4-hidroksiizolösinin (4HO-Ile) insülin bağımsız antidiyabetik aktivitesini araştırmışlardır. Tip-1 diyabetlilerde, normal hayvanlara göre insülin seviyesi %65'ten fazla azalmıştır. 4 hafta boyunca diyabetik ratlara günlük 50 mg/kg dozda 4HO-Ile uygulanması diyabetik grupta plazma glukozunu azaltmıştır. Bu sonuçlar 4HO-Ile'nin insülin bağımsız diyabette anlamlı bir antidiyabetik aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir ve Tip-1 ve Tip-2 diyabetlilerde, diyabet tedavisine yardımcı olarak etkili olabileceğine işaret etmektedir (145).

Hamza ve ark. 2012 yılında çemenotu tohumunun hidro-alkollü ekstresinin etkilerini standardize yüksek yağ içerikli diyetle (HFD) uyarılmış diyabetik C57/BL6J fare modelindeki etkilerini test etmişlerdir. Bunun için bitki ekstresi (2 g/kg günlük) erkek C57BL/6J farelere HFD başlangıcında veya diyabet oluşturulduğundan emin olduktan sonra (17. hafta) sırasıyla 20 veya 18 hafta boyunca gavaj yoluyla oral olarak uygulanmıştır. (2g/kg günlük). Hayvanlar tartıldı; yiyecek alımı ve plazma glukoz, lipid profili, insülin ve insülin direnci ölçüldü. Çemenotu ekstreleri, HFD uygulanmayan farelere kıyasla çemenotu uygulanmış HFD farelerde diyabet gelişimine karşıt özellik göstermiştir. Çemenotu uygulanan HFD fareler, plazma glukoz (129.3±39.4 vs. 183.1±19.1 mg/dL, p<0.05), plazma insülin (1.3±0.8 vs. 3.1±1.8 ng/mL, p<0.05) ve trigliseritin (18.9±12.9 vs. 48.9±12.1 mg/dL, p<0.05) daha düşük ortalamasına (±SD) sahiptir ve homeostaz modelinde belirlenen değerde olduğu üzere (HOMA: 9.7±11.1 vs. 38.3±26.6 p<0.05) daha az insülin direnci göstermiştir. Diyabetik farelerde çemenotu, açlık plazma glukozunu (170.4±24.1 vs. 222.9±20.8 mg/dL, p<0.05),

plazma insülinini (1.77 ± 1.3 vs. 3.3 ± 14.3 ng/mL, $p < 0.05$) ve insülin direncini (HOMA:TFG: 19.2 ± 15.7 vs. HFD kontrol: 38.5 ± 30.3 , $p < 0.05$) azaltmıştır. Bitki ekstresi kalori alımı ve vücut ağırlığında herhangi bir etki göstermemiştir (146).

Bera ve ark 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu tohumlarının sulu ekstresinin ayrı ayrı ya da birleştirilmiş bir şekilde streptozotosin (STZ)-indüklü diyabetik ratlarda antidiyabetik etkisini araştırmışlardır. Diyabet, STZ'nin 40 mg/mL sitrat tamponu/kg vücut ağırlığı i.m. enjeksiyonu ile oluşturulmuştur. Açlık kan şekeri (FBG), glikolat hemoglobin (HbA_{1C}) ve hekzokinaz aktiviteleri, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ve glukoz-6-fosfat, deneysel hayvanların karaciğerlerinde değerlendirilmiştir. Diyabetik kontrol hayvanlarında, tedavi uygulanmamış kontrollere göre glukoz-6-fosfatta bir yükselme görülmüştür (147).

2.3.3 Hipokolesterolemik ve Hipolipidemik Etki

Çemenotunun neden olduğu hipoglisemik etki yoluyla mekanizmaları araştırmak için hayvanlar üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Streptozotosinli diyabetik ratlar (IDDM modeli) üzerinde öğütülmüş çemenotu tohumuyla yapılan çalışmalar, standart bir nişasta çözeltisiyle yapılan bileşimin entübasyonunun; postprandial glukoz tolerans eğrisini çarpıcı bir biçimde azalttığını ve ayrıca gastrik boşaltım oranını önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir (148). Tersine çevrilmiş fare bağırsağı bölümleri çemenotuyla beslendiğinde; in vitro inhibe edilmiş glukoz transferi gözlenmiştir (148). Ayrıca galaktomannanlar açısından zengin, yüksek viskoziteli çemenotu fraksiyonu da etkili bir hipoglisemik ajandır (149) ve serpiştirilmiş ince bağırsak kıvrımlarından glukoz absorpsiyonunu önemli ölçüde inhibe etmiştir (150).

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmaların sonuçları, çemenotu ve çemenotu fraksiyonlarının hipokolesterolemik ajan olarak rol oynadığı potansiyel mekanizmaları açıklamamıza yardımcı olmaktadır. Sharma (151), ratların hiperkolesterolemi-indükleyici diyetlerine eklenen öğütülmüş çemenotu tohumlarının; fekal safra asidi ve kolesterol boşaltımını artırarak plazma kolesterol seviyelerinin yükselmesini engellediğini öngörmüştür. Çeşitli çemenotu fraksiyonları test edildiğinde, ne lipid ekstresi ne de izole trigonellinin bu özelliğin sorumlusu olmadığı görülmüştür (152). Yağı alınmış tohumlar, reçine izolatu (diyet lifleri açısından zengin) ve ham saponin ekstresinin hepsinin; bütün çemenotu tohumlarının hipokolesterolemik özelliklerini taşıdıkları görülmüştür. Stark ve Madar (153), öğütülmüş çemenotu tohumlarından elde ettikleri etanollü ekstreyi kullanarak, saponince zengin izolatu, hiperkolesterolemik ratlarda plazma kolesterol seviyelerini % 18-26 oranında düşürdüğünü

bulmuşlardır. Etanol ekstresi; tersine çevrilmiş rat bağırsağı kıvrımlarında, doza bağlı olarak, safra asidi emilimini inhibe etmiştir. Bu durum, sindirim yolunda saponinlerle, safra asitleri arasında bir etkileşim olabileceği önermesini ortaya koymaktadır. Misellerin, boyutlarından ötürü emilimi mümkün olmayan saponinler ve safra asitlerinden oluştuğu varsayılmıştır. Bu mekanizma, soya gibi yine hipokolesterolemik özelliğe sahip diğer saponin içeren gıdalar için de öngörülmektedir (154).

Sharma ve ark. (1990) Tip 1 diyabetlilerde yukarıdaki gibi yaptıkları denemelerde total kolesterol (yaklaşık olarak 1.3 mM/L; $p<0.001$) ve LDL kolesterol seviyelerinde (yaklaşık olarak 1.0 mM/L; $p<0.01$) küçük fakat istatistiksel açıdan anlamlı azalmalar not edilmiştir. Fakat HDL kolesterol seviyesinde değişim gözlenmemiştir (125).

Sharma ve ark. (1991) ayrıca hiperkolesterolemik etkilerin oral çemenotu ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (155). Denekler 3 hafta boyunca her gün 100 g yağı alınmış çemenotu tozu aldıktan sonra trigliseritleri ve LDL kolesterol seviyeleri başlangıç değerlerinden daha düşük olmuştur. Ayrıca HDL seviyelerinde hafif bir azalma da gözlenmiştir.

1991 yılında Sauvaire ve ark. çemenotunun steroid saponin ve sapogeninlerinin hipokolesterolemik etkisini incelemişlerdir. Çemenotu alt fraksiyonları ile beslenen alloxan diyabetik köpeklerin dışkıları analiz edilmiştir. Diosgenin, smilagenin ve gitogenin teşhis edilmiş ve kapiler GC/MS kullanılarak ölçülmüştür. Araştırma sonuçları göstermiştir ki saponinler kısmen (%57) sindirim sisteminde sapogeninlerine hidroliz olmaktadır. Öyle görünmektedir ki saponinler yalnız ya da diosgenin ile birlikte diyabetik köpeklerde çemenotu tohumlarının gözlenen hipokolesterolemik etkisi nedeniyle uygulanabilir (156).

Evans ve ark. (1992) araştırmaları, çemenotu tohumlarının reçine fraksiyonu veya diyet lif fraksiyonunun, kolesterol seviyelerini düşürücü etkisinin olduğunu ortaya koymuşlardır. Ratlarda hiperkolesterolemi-indüklü diyet uygulanmasının, çemenotu galaktomannanları ile beslendiğinde; hem karaciğer hem de plazma kolesterol seviyelerini düşürdüğü ve kolesterolün hepatik sentez oranını azalttığı gözlenmiştir. Tüm çemenotu tohumlarının kolesterol düşürücü yeteneklerine, hem diyet lif hem de saponince zengin fraksiyonun katkıda bulunması oldukça mümkün olmuştur (150).

1995 yılında Petit ve ark. yaptıkları çalışmada saflaştırılmış steroid saponinlerin kolesterol düşürmedeki spesifik rolünü araştırmışlardır. Bu amaçla steroid saponinlerin ekstraksiyon ve saflaştırması için orijinal teknikler uygulanmıştır. Daha sonra bu steroidal saponinlerin normal ve diyabetik ratlarda beslenme davranışları ve metabolik endokrin değişiklikler üzerine etkisi araştırılmıştır. Tüm steroid saponinler (furostanol tip) tohumdan

ekstre edilmiş ve en az %90 steroid saponin içeren bir ekstre elde etmek için pek çok saflaştırma prosedürleri kullanılarak ekstredeki tüm bileşenlerden ayrılmıştır. Farmakolojik deneyler in vivo normal ve streptozotosin diyabetik ratlarda yürütülmüştür. Steroid saponinler yiyeceklerle karıştırılarak (12.5 mg/gün, her 300 g vücut ağırlığına) kronik olarak uygulanmıştır. Deney verileri göstermiştir ki steroid saponin uygulanması normal ratlarda yiyecek alımı ve yeme motivasyonunu arttırmıştır. Aynı zamanda beslenme davranışının 24 saatlik ritmini modifiye etmiştir. Ayrıca ekstreyi almayan diyabetik kontrollerin aksine, diyabetik ratlarda gitgide artan kilo alımı ile sonuçlanan yiyecek tüketimini stabilize etmiştir. Hem normal hem de diyabetik ratlarda steroidal saponinler trigliseritlerde hiçbir değişim yapmaksızın total plazma kolesterolünü azaltmıştır (157).

Daha sonra yapılan bir çalışmada, 24 hafta boyunca her gün 25 g toz edilmiş çemenotu tohumları ile beslenen 60 hastanın lipit profilinin normaleştiği gözlenmiştir (158, 159). Ortalama total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit seviyeleri çalışma boyunca %14-16'dan fazla azalırken ortalama HDL kolesterol seviyeleri %10'un üzerinde artmıştır. Benzer bir şekilde Sowmya ve Rajyalakshmi 1 ay boyunca 12.5-18.0 g toz edilmiş, olgunlaşmış çemenotu tohumları alan hiperkolesterolemili 20 yetişkinde total kolesterol ve LDL kolesterol seviyelerinde anlamlı azalmalar gözlemişlerdir. Fakat HDL kolesterol, VLDL veya trigliserit seviyelerinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir (160).

Bir başka çalışmada Sharma, 21 gün boyunca her gün oral yoldan 25 g çemenotu tohum tozu alan 5 diyabetik hastada total kolesterol seviyelerinde anlamlı bir azalma olduğunu belirtmiştir (152). Bordia ve ark. (1997) 40 denek içeren bir alt grupta 3 ay boyunca günde 2 kez 2.5 g çemenotu tohum tozu uygulamasının etkilerini çalışmışlardır (161). Koroner arter hastalığı ve tip 2 diyabetli öznelerde total kolesterol ve trigliserit seviyelerinde anlamlı azalmalar gözlenmiştir. HDL kolesterol seviyesinde herhangi bir değişiklik olmamıştır.

Çemenotu yapraklarının sulu ve alkollü ekstraları normal ve alloksan indüklü ratlarda hipoglisemik aktiviteleri için çalışılmıştır. Çemenotu yapraklarının sulu ekstralarının kademeli miktarları (0.06, 0.2, 0.5, 1 g/kg i.p. ve 1, 2, 8 g/kg p.o.) hem normal hem de alloksan diyabetik ratlara verildiğinde kan glukoz konsantrasyonlarında önemli bir azalma kaydedilmiştir. Diğer taraftan, çemenotu yapraklarının etanollü ekstresi normal ratlarda kan glukoz konsantrasyonunda bir düşüş meydana getirmemiştir, fakat diyabetik ratlara etanollü yaprak ekstresinin 0.8 g/kg i.p. uygulanması yalnız 2 ve 24 saatte kan glukoz konsantrasyonunda ($p<0.02$) önemli bir düşüş meydana getirmiştir. Farelerde, çemenotu

yapraklarının sulu ekstresinin, i.p. ve oral olarak akut toksisite (LD₅₀) ve hedef organ etkileri çalışılmıştır. I.p. ve oral LD₅₀ sırasıyla 1.9 ve 10 g/kg uygulanmıştır. Çemenotunun sulu ekstresinin oral uygulaması organ hasarında hiçbir belirti göstermezken, sulu ekstrenin i.p. uygulanmasından sonra etkilenen ana organ karaciğer olmuştur. Bu sonuçlar, çemenotu yapraklarının sulu ekstresinin hem oral hem de i.p. olarak verilmesinin, normoglisemik ve alloksan indüklü hiperglisemik ratlarda hipoglisemik etkiye sahip olduğunu göstermiştir (140).

1998 yılında yapılan bir çalışmada, hem hayvan hem insan modellerinde çemenotu tohumunun antidiyabetik ve hipokolesterolemik özelliklerinin bulunduğu belirtilmiştir. Aktivite, çemenotunun saponin ve yüksek lif içeriğinden kaynaklıdır, ana alkaloid trigonellin ile ilişkili olmayabilir. Antihiperglisemik etki lif içeriğinden dolayı gastrik boşalmanın gecikmesi ve karbonhidrat dijestif enzimleri inhibe eden (teşhis edilmemiş) bileşenlerle ilişkilendirilmiştir. Çemenotu uygulaması invivo plazma insülin seviyesini arttırabilir. Ana serbest amino asidi 4-hidroksiizolösün invitro perfüze pankreastan insülin salınımını stimüle eder. Hipokolesterolemik etki, çemenotunun lif ve saponinleri ile hepatik kolesterolün dışkı kaybından dolayı safra tuzuna dönüşümünün artmasına yolulmuştur. Çemenotu tedavisi selektif olarak total kolesterol LDL ve VLDL fraksiyonlarını azaltır. Alloksan-indüklü diyabetik ratlarda ve çemenotu ile tedavi olan Tip-2 diyabetik bireylerde HDL-kolesterolü yükselttiği belirlenmiştir. Çemenotu uygulamasının herhangi bir toksik etkiye sebep olduğu belirtilmemiştir. Düzenli kullanımı ayrıca diyabet yönetimi, ateroskleroz ve koroner arter hastalığının önlenmesinde yararlı olabilir (162).

Çemenotunun etanol ekstresinin kronik oral uygulanması (300g vücut ağırlığı için 10mg/gün) tohumun aromatik özellikleriyle ilişkili olabilecek şekilde farelerde yiyecek alımı ve yeme motivasyonunu arttırmıştır (162).

Çemenotu, öncelikli olarak insanlarda olduğu kadar laboratuvar hayvalarında da antihiperglisemik bir bitki olarak tanımlanmaktadır (125, 161). Ayrıca kolesterol düşürücü etkisi de iyi bilinmektedir (151). Bu çalışmada çemenotu, farelerde spesifik ve spesifik olmayan immun fonksiyonları üzerine kapsamlı bir stimulatör etki göstermiştir. Stimulatör etkiler, 100 mg/kg vücut ağırlığı dozda ve bazı durumlarda 250 mg/kg dozda gözlenmiştir. Karaciğer ağırlığında bir artış olmasına rağmen LFT enzimlerinin değerlendirilmesi hiçbir toksisite göstermemektedir. Benzer şekilde çemenotu tozu, 90 güne kadar acısı alınmış çemenotu tozunun %1, %5 ve %10'uyla bakılan ratların ya serum ya da karaciğerlerinde

GOT, GPT ve alkali fosfataz (ACP) seviyelerini değiştirmemiştir. Tedavi uygulanmış hayvanların karaciğer ağırlıklarında hiçbir önemli artış görülmemiştir (163).

Trigonella foenum-graecum bitkisinin in vivo hipokolesterolemik ve hipolipidemik etkisinin 1982-2000 yılları arası literatür zetleri izelge 2.4.'de görülmektedir.

Çizelge 2.4. *Trigonella foenum-graecum* bitkisinin in vivo hipokolesterolemik ve hipolipidemik etkisinin 1982-2000 yılları arası literatür özetleri.

Bitkinin kullanılan kısmı	Uygulanan hayvan/insan modeli	Kullanılan Doz	Gözlenen Etki	Referans
Çemenotu tozu	Normal ratlar	2 haftalık diyetin %50'si	Plazma kolesterolünde azalma	164
Çemenotu tozu	Hiperkolesterolemik ratlar	2 haftalık diyetin %50'si	Plazma kolesterolünde azalma	164
Çemenotu tozu	Hiperkolesterolemik ratlar	4-6 haftalık diyetin %10-%60'ı	Plazma kolesterol, VLDL-ve LDL-kolesterolde azalma	151
Çemenotu tozu	Hiperkolesterolemik ratlar	4 haftalık diyetin %30'u	Plazma kolesterolünde azalma	152
Çemenotu tozu	NIDDM insanlarda	24 hafta boyunca hergün 25 g	Plazma kolesterol, trigliserit, VLDL-ve LDL-kolesterolde azalma	158
Çemenotu tozu	NIDDM insanlarda	4-7 gün boyunca hergün 15 g	Plazma lipidleri üzerine etki görülmez	123
Çemenotu tozu	IDDM insanlarda	10 gün boyunca hergün 100 g	Plazma kolesterol ve trigliseritlerde azalma	125
Yağ fraksiyonu	Normal ve Diyabetik köpeklerde	Tüm çemenotu tohumlarının %7'sine karşılık gelen kısım	Plazma kolesterolü üzerine etki görülmez	133
Yağı alınmış fraksiyon (lif+saponin)	Normal ve Diyabetik köpeklerde	Tüm çemenotu tohumlarının %93'üne karşılık gelen kısım, 3 gün boyunca	Plazma kolesterolünde azalma, hipokolesterolemik etki	133
Yağı alınmış fraksiyon	Hiperlipidemik deneklerde	20 gün boyunca yağı alınmış çemenotunun 100 g'ı	Plazma kolesterol, trigliserit, VLDL-ve LDL-kolesterolde azalma	125
Yağı alınmış alt fraksiyonlar				
Lif	Diyabetik köpeklerde	Total yağı alınmış fraksiyona karşılık gelen miktar, 3 hafta	Plazma kolesterolünde azalma	135

Çizelge 2.4. Devam *Trigonella foenum-graecum* bitkisinin in vivo hipokolesterolemik ve hipolipidemik etkisinin 1982-2000 yılları arası literatür özetleri.

Bitkinin kullanılan kısmı	Uygulanan hayvan/insan modeli	Kullanılan Doz	Gözlenen Etki	Referans
Protein+Saponin	Diyabetik köpeklerde	Total yağı alınmış fraksiyona karşılık gelen miktar, 3 hafta	Plazma kolesterolü ve trigliseritlerde azalma	135
Protein	Diyabetik köpeklerde	Total yağı alınmış fraksiyona karşılık gelen miktar, 3 hafta	Plazma lipidleri üzerine etki görülmez	135
Saponin	Diyabetik köpeklerde	Total yağı alınmış fraksiyona karşılık gelen miktar, 3 hafta	Plazma kolesterolü ve trigliseritlerde azalma	135
Saponin	Diyabetik köpeklerde		Hipokolesterolemik etki	156
Zamk	Kolesterollü ratlarda	80 g/kg galaktomannan	Kan ve karaciğer kolesterolünde azalma	150
Etanol ekstresi	Normal ratlarda	2 hafta boyunca hergün 10 mg	Plazma kolesterol, VLDL-ve LDL-kolesterolde azalma ve plazma insülinde artış	165
Etanol ekstresi	Normal ratlarda	4 hafta boyunca 30 g/kg	Açlık plazma kolesterolünde azalma	153
Etanol ekstresi	Hiperkolesterolemik ratlar	4 hafta boyunca 30/50 mg/kg	Kan ve karaciğer kolesterolünde azalma	153
Çemenotu tohum tozu	Kolesterollü ratlarda		Hipokolesterolemik etki	166
Çemenotu tohum tozu	NIDDM insanlarda	10 gün boyunca hergün 25 g	Plazma kolesterol, trigliserit, VLDL-ve LDL-kolesterolde azalma	124
Çemenotu tohumu	NIDDM insanlarda	21 gün boyunca günde 25 g	Kan kolesterolünde azalma	122
Çemenotu tohumu	İnsan deneklerde	1 ay boyunca hergün 12.5 g ve 18.0 g	Total ve LDL-kolesterolde azalma	160
Çemenotu yaprakları	Diyabetik ratlarda	45 gün boyunca 0.5 ve 1 g/kg vücut ağırlığı	Plazma kolesterol ve trigliseritlerde azalma	167

Prasanna 2000 yılında yaptığı bir çalışmada hiperkolesterolemik hastalarda çemenotunun hipolipidemik etkisini araştırmıştır. Çemenotu tohumları toz edilmiş, lipit içeriğini uzaklaştırmak için hekzanla; saponinleri uzaklaştırmak içinse alkolle ekstre edilmiştir. Çalışma için bu toz kullanılmıştır. Hastalar her biri 6 kişi içeren 3 gruba ayrılmıştır. Grup I, 50 g placebo aldı (eşit ölçümlerle pirinç tozu ve Bengal gram tozu); Grup II, 25 g placebo + 25 g çemenotu ve Grup III, 50 g çemenotu almıştır. Hastalara 20 gün boyunca hergün öğle ve akşam yemeğinden önce oral olarak her 50 g'lik paketi almaları söylenmiştir. Kan örnekleri lipid profilini değerlendirmek için test süresi boyunca geceyarısı açlığından sonra 0, 10 ve 20. günlerde toplanmıştır. I. grup hastaların lipit profilinde herhangi bir önemli değişim gözlenmemiştir. II. ve III. grubun serum kolesterol, trigliserit ve VLDL seviyelerinde I. gruba kıyaslandığında anlamlı azalışlar gözlenmiştir (168).

Çemenotunun lipid metabolizma üzerindeki etkisi kesinleşmiştir. 10 gün boyunca 100 g yağsız çemenotu tozu verilen insan deneklerle yapılan çalışmalarda serum total kolesterol, LDL- ve VLDL- kolesterol ve trigliserit seviyelerinde düşüş gözlenirken, HDL- kolesterol seviyelerinde değişiklik olmamıştır (124). Hipokolesterolemik hastaların diyetine, 30 gün boyunca (günde 12.5 ya da 18 g), filizlenmiş çemenotu tohumu eklendiğinde, total kolesterol seviyeleri ve LDL- kolesterol seviyelerinin önemli ölçüde düştüğü görülmüştür (160). Tip 2 diyabetli hastaların diyetlerine 2 ay boyunca günde 1 g hidrokalkollü ekstre eklendiğinde serum trigliseritlerinde azalma ve HDL-kolesterolde artma gözlenmiştir (126).

Zia ve ark. 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotunun normal farelerde oral hipoglisemik etkisini değerlendirmişlerdir. Çemenotu bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır. Tohumlar karminatif, tonik ve antidiyabetik etkileriyle bilinirler. Çemenotunun iyileştirici bir dozu ayrıca antiülser etkiyi üretmektedir. Araştırmacılar bu çalışmada çemenotu tohumlarının sulu ekstresinin hipoglisemik etkilerinin normal farelerde oral yolla uygulanarak kullanılmasını araştırmışlardır. Aynı yolla uygulanmış metanollü ekstre hipoglisemik etkiyi sadece 1 g/kg vücut ağırlığı dozda üretmiştir. Sulu ekstre başka araştırmalarda aktif bileşenlerin kimyasal yapısının tayininde kullanılmıştır. Sulu ve metanollü ekstredeki hipoglisemik aktivitenin varlığı aktif bileşenlerin doğada polar olduklarına işaret etmektedir. Çemenotu tohumlarının sulu ekstresinin 0.5 g ve 1 g/kg vücut ağırlığı dozda oral uygulanmasının normal perhizli hayvanlarda 1-4 saat için önemli hipoglisemik etki ürettiği gözlenmiştir. Çemenotu tohumlarının metanollü ekstresinin oral uygulanması 0.5 g/kg vücut ağırlığı dozda önemli bir hipoglisemik etki üretmezken, 1 g/kg vücut ağırlığında önemli bir hipoglisemik etki ürettiği görülmüştür (24).

Gupta ve arkadaşları, glisemik kontrol üzerine çemenotu tohumlarının etkisini değerlendirmişlerdir. Tip 2 diabetes hastası olduğu yeni teşhis edilmiş 25 hastaya ya günde 1 g çemenotunun sulu alkollü ekstresi ya da diyet ve egzersiz uygulanmıştır. 2 ay sonra iki grup arasında fark olmadan açlık kan glikoz seviyesinde düşüş (çemenotu uygulanan grupta 148.3 mg/dL'den 119.9 mg/dL'ye, diyet ve egzersiz uygulanan grupta ise 137.5 mg/dL'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 çemenotu tohum uygulaması ile diyet ve egzersiz uygulaması eşit etkiye sahip olduğunu göstermiştir (126).

Madar ve Stark 2002 yılında yaptıkları bir çalışmada Batı'ya ait diyetlerde nadiren görülen ve genellikle işlevsel besinler olarak görmezden gelinen çemenotunun sağlığa potansiyel faydalarını değerlendirmektedir. Çemenotu ve izole edilmiş çemenotu fraksiyonlarının, hem insan hem de hayvan deneylerinde, hipoglisemik ve hipokolesterolemik olarak rol oynadıkları gözlenmiştir. Bu terapötik özelliklerin sebebi; çemen otundaki benzersiz diyet lifi bileşimi ve yüksek saponin içeriğidir (169).

Hipoglisemik ve antihiperglisemik etki aynı zamanda bitkinin yapraklarında da normal ve diabetik ratlar üzerinde yapılmış bir çalışmada gözlenmiştir. Çemenotu yapraklarının streptozotosin ile oluşturulmuş diabetik ratlarda hiperglisemia, hipoinsülinemia ve glikosillenmiş hemoglobin üzerine yararlı etkisi ortaya konmuştur. Ayrıca çemenotu yaprakları vücut ağırlığını, karaciğer glikojenini iyileştirdiği ve diabetik ratlarda karbonhidrat metabolik enzimleri üzerine etkili olduğu bulunmuştur. Çemenotu yaprakları ayrıca diabetik ratlarda anahtar karbonhidrat metabolik enzimleri üzerine önemli bir etki göstermiştir. Çemenotu yapraklarının etkisinin glibenklamid ile aynı olduğu bulunmuştur. Böylelikle çemenotu yaprakları streptozotosin-indüklü diabetik ratlarda antidiyabetik etki göstermiştir (170).

Çemenotu, Tip 2 diabetik ratlarda serum fruktozamin, insülin ve lipid seviyelerinin kronik etkileri ve platelet agregasyonu için araştırılmıştır. Çemenotu 28 gün boyunca günde 2 kere 0.5 g/kg dozda uygulanmıştır. Çemenotuyla beslenen ratlarda trigliserit, kolesterol ve LDL-kolesterol gibi aterosjenik lipidlerde önemli derecede azalma olduğu bulunmuştur ($p<0.01$). HDL-kolesterol karşıt eğilim göstermiştir ($p<0.024$) fakat serum esterifiye edilmemiş yağ asidi (NEFA) değerleri aterosjenik lipidlerle ($p<0.001$) paraleldir. Düşük agregasyon eğilimi ($p<0.069$) olmasına rağmen platelet agregasyonunda önemli bir etki

görülmemiştir. Çemenotunun dislipidemi üzerinde yararlı etkileri vardır ve Tip 2 model diyabetik ratlarda platelet agregasyonunu inhibe etme eğilimine sahiptir (142).

Çemenotu tohumlarından 4-hidroksiizolösün 5 adında orijinal bir amino asit izole edilmiştir. Bu çemenotu dislipidemik hamster modelinde plazma trigliserit düzeylerini %33'ten ($p<0.002$), total kolesterolü %22'den ($p<0.02$) ve serbest yağ asitlerini %14'ten fazla azaltırken HDL kolesterol/total kolesterol oranını %39'dan fazla arttırmıştır (171).

Yapılan bir başka çalışmada çemenotunun sadece deneysel hayvan modellerinde değil ayrıca insanlarda da önemli bir hipokolesterolemik etkiye sahip olduğu görülmüştür (8). Besinsel çemenotu tohumu iyi bir kolagog olarak gösterilmektedir (172). Son zamanlarda, besinsel çemenotu tohumlarının kolesterol safra taşlarının formasyonu ile indüklü besinsel kolesterolü azaltmada ve ayrıca farelerde deneysel olarak indüklü kolesterol safra taşlarının azaltılmasında yardımcı antilipolitik etkileri gösterilmiştir (173, 174). Yararlı etki bu hayvanların safralarında değişmiş lipid homeostazını faydalı bir şekilde geri döndürme özelliklerine bağlanabilir. Tohumlar eski zamanlardan beri geleneksel Hindistan ve halk tıbbında olduğu kadar Hindistan diyetinde bir parçası olarak kullanılır (8).

Belguith-Hadriche ve ark. 2010 yılında yaptıkları bir araştırmada yüksek kolesterollü yiyeceklerle beslenen ratlarda etil asetat ekstresinin lipid düşürücü ve anti-oksidan etkilerini çalışmışlardır. Lipid etkileri, fenolik bileşen ve antioksidan etkiler arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. 16 hafta boyunca standart laboratuvar diyeti veya kolesterolce zengin yiyeceklerle beslenen Wistar ratlar kullanılmıştır. Plazma lipid seviyeleri, total fenolikler ve total flavonoid içeriği ölçülmüştür. Tiobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) ve antioksidan aktiviteler incelenmiştir. Çemenotu etil asetat ekstresinin uygulanması total kolesterol, trigliserit ve düşük dansiteli lipoprotein kolesterol plazma seviyelerini düşürmüştür. Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol plazma seviyesini ise arttırmıştır. Daha da ötesi, karaciğer, kalp ve böbrekteki TBARS içeriği, katalaz ve süperoksit dismutaz aktiviteleri, kolesterolce zengin bir diyetle beslenen ratlarla karşılaştırıldığında ekstrenin oral yoldan uygulanmasından sonra anlamlı derecede azalmıştır. Bu lipid etkiler ve in vivo antioksidan etkiler, in vitro fenolik içerik süpürücü yeteneği ile ilişkili bulunmuştur. Bu sonuçlar çemenotu tohumunun etil asetat ekstresinin önemli hipokolesterolemik etkileri ve antioksidan aktiviteleri olduğunu ortaya koymaktadır. Bu etkiler kısmen flavonoidlerin varlığından, özellikle de naringenin, kaynaklanmış olabilmektedir (38).

Muraki ve ark. 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotunun diyet indüklü metabolik bozukların olduğu ratlarda doza bağlı etkilerini, güvenilirliğini ve dayanma gücünü

araştırmışlardır. Bu çalışmada kullanılan diyet, yüksek yağ yüksek sükröz diyeti (HFS; domuz yağı/hayvansal yağ %50 kcal, sükröz %25 kcal), kontrol grubu (Ctrl grup) olarak veya HFS içeriği %0.25 (VL grup), %1.25 (L grup), %2.50 (M grup), %5.00 (H grup) ve %12.30 (VH grup) çemenotu AIN-93G saflaştırılmış diyetin modifiye edilmiş versiyonuna dayandırılmıştır. Çemenotu doza bağlı olarak hepatik trigliserit ve total kolesterol seviyelerini azaltmıştır. Çemenotu ayrıca doza bağlı olarak dışkıdaki total safra asidi ve kolesterol salgılanmasını arttırmıştır. Ancak, glukoz toleransı çemenotu uygulanmasıyla kayda değer bir değişiklik göstermemiştir. VL ve L gruplarının karaciğerlerinde trigliserit veya total kolesterol seviyelerinde önemli bir değişiklik olmamıştır. VL grubu dışkısında trigliserit, total kolesterol veya safra asitleri salgısında artış görülmemiştir. M grubunda hiçbir yan etki veya semptom görülmezken VH grubunda iştah kaybı ve diyare görülmüştür (175).

Haeri ve ark. 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada ilk kez streptozotosin-indüklü tip-1 diyabetik ratlarda çemenotu içerisindeki (2S, 3R, 4S) 4-hidroksiizolösinin (4HO-Ile) lipid düşürücü etkisini çalışmışlardır. 4HO-Ile alan diyabetiği olmayan kontrollerdekine göre daha yüksek lipid (kolesterol, HDL, LDL ve trigliserit) ve ürik asit seviyeleri bulunmuştur (145).

Hamza ve ark. 2012 yılında çemenotu tohumunun hidro-alkollü ekstresinin etkilerini standardize yüksek yağ içerikli diyetle (HFD) uyarılmış diyabetik C57/BL6J fare modelindeki etkilerini test etmişlerdir. Bunun için bitki ekstresi (2 g/kg günlük) erkek C57BL/6J farelere HFD başlangıcında veya diyabet oluşturulduğundan emin olduktan sonra (17. hafta) sırasıyla 20 veya 18 hafta boyunca gavaj yoluyla oral olarak uygulanmıştır. (2g/kg günlük). Hayvanlar tartıldı; yiyecek alımı ve plazma glukoz, lipid profili, insülin ve insülin direnci ölçüldü. Çemenotu ekstresinin uygulanması trigliserit (17.9±9.7 vs. 62.8±18.3 mg/dL, p<0.05) ve total kolesterolde (1.30±0.20 vs. 1.80±1.10 g/L, p<0.05) anlamlı bir azalma ve HDL-kolesterolde (1.6±0.2 vs. 1.2±0.1 g/L) anlamlı bir artma sağlamıştır. Bitki ekstresi kalori alımı ve vücut ağırlığında herhangi bir etki göstermemiştir (146).

Bera ve ark 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu tohumlarının sulu ekstresinin ayrı ayrı ya da birleştirilmiş bir şekilde streptozotosin (STZ)-indüklü diyabetik ratlarda lipid üzerine etkisini araştırmışlardır. Diyabet, STZ'nin 40 mg/mL sitrat tamponu/kg vücut ağırlığı i.m. enjeksiyonu ile oluşturulmuştur. Deneysel diabetik ratlarda hiperlipidemik durum serumda total kolesterol, trigliserit ve lipoprotein ölçülmesiyle değerlendirilmiştir. Hepatik heksokinaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitelerindeki azalmayla birlikte, FBG, (HbA_{1C}) ve lipid profil seviyelerinde anlamlı artış gözlenmiştir (147).

2.3.4 Antitümör Etki

Çemenotu tohum ekstresinin antineoplastik etkisi; Balb-C farelerinde Ehrlich assit karsinom (EAC) modeliyle değerlendirilmiştir. Çemenotu alkollü ekstresinin, farelere, EAC hücrelerinin inokülasyonundan hem önce hem de sonra intraperitoneal olarak uygulanmasının; kontrole göre tümör hücrelerinin büyümesini %70'ten fazla engellediği gözlenmiştir. Ekstre ile tedavinin, hem peritoneal eksüda hücrelerini hem de makrofaj hücre sayımını arttırdığı bulunmuştur. Ekstre, ayrıca, önemli bir antiinflamatuar etki üretmiştir (176).

Devasena ve Menon 2003 yılında yaptıkları bir araştırmada çemenotu tohumlarının, ratlarda 1,2-dimetilhidrazin (DMH) indüklü kolon karsinogenezinde β -glukuronidaz ve musinaz aktiviteleri üzerine etkisini çalışmışlardır. Ratlara 15 hafta boyunca 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda DMH haftada bir subkutan olarak enjekte edilmiştir. Çemenotu tohum tozu tek tek ratların ağırlığına dayanılarak tartılmıştır ve 2 g/kg vücut ağırlığı dozunda toz edilmiş tablet diyet içerisinde birleştirilmiştir. 30 haftalık deneysel bir periyottan sonra kolon, bağırsak ve karaciğerde β -glukuronidaz aktivitesi anlamlı derecede artmıştır. DMH içerisinde kolon içeriği tedaviyi almamış kontrol grubuna karşı ratlara uygulanmıştır. β -glukuronidazdaki artış, karsinojen-glukuronid konjugatının hidrolizini ve karsinojen ve/veya co-karsinojenin kolik lümen içerisine salınmasını arttırabilmiştir. Çemenotu tohum tozunun diyetle inkübasyonu bütün çalışılan dokularda β -glukuronidaz aktivitesini anlamlı derecede azaltmıştır. Bu durum serbest karsinojenlerin kolonositler üzerinde rol oynamasını önleyebilir. Musinaz aktivitesi, kontrolle karşılaştırıldığında DHM verilen hayvanlarda kolon içeriği ve fekal içeriğinde artmıştır. Aktivite, sadece DHM verilen hayvanlarla karşılaştırıldığında DHM+çemenotu alan hayvanlarda anlamlı derecede azalmıştır. Bu çalışma göstermiştir ki, diyetle varolan çemenotu tohumları β -glukuronidaz ve musinaz aktivitelerini düzenleyerek kolon karsinogenezini inhibe etmiştir (177).

Raju ve arkadaşları %'lik çemenotu tohum tozunun veya majör bileşiği olan %0.05'lik ve %0.1'lik diosgenin 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 %'lik çemenotu, %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 apoptozise uğrattığı bulunmuştur. Bütün bu bulgular diosgeninin potansiyel bir kolon kanseri önleme ajanı olduğunu göstermiştir (178).

Çemenotu tohum ekstresinin 200 mg/kg vücut ağırlığı uygulanması ratlarda 7,12-dimetilbenz (a) antrasen (DMBA)-indüklü göğüs kanserine karşı potansiyel koruyucu etki göstermiştir. Çemenotu tohum ekstresi DMBA-indüklü memeli hiperplazisini önemli bir şekilde inhibe etmiş ve bunun etkilerini azaltmıştır. Epidemiyolojik çalışmalar ayrıca çemenotunun göğüs kanserine karşı koruyucu etkilerine aracılık edebilen bir mekanizma olarak apoptozisi kapsamaktadır (179).

Frias ve arkadaşları, çemenotu tohumlarını önce çimlendirmişler daha sonra HPLC ile biyolojik aminlerini analiz etmişlerdir. Sulu çözeltilisinin HL60 sitotoksik etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak HL60 lösemi hücrelerinde apoptozis gözlenmiştir (180).

Raju ve Bird, 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 (181).

Sebastian ve arkadaşları, çemenotu 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 (182).

Son yıllarda, kanserden korunma ve tedavi için potansiyel olarak kullanılabilir çeşitli beslenme komponentleri araştırılmış. Bu çalışmada, çemenotu olarak adlandırılan *Trigonella foenum-graecum* bitkisinin tohumlarının ekstresinin normal hücrelerde değil, kanserde in vitro sitotoksik olduğunu göstermiş. 72 saat 10-15 µg/mL ekstre ile tedavinin meme, pankreas ve prostat kanser hücrelerini inhibe etmesi artmıştır. 15-20 µg/mL gibi yüksek dozlarda test edildiğinde, ekstrenin prostat kanser hücre dizilerini inhibe etmesi artmıştır (183).

2.3.5 Antihepatoto ve Nefrotoksik Etki

1991 yılında Nakhla ve ark., Hisex-tip tavuklarda çemenotu ham tohum saponinlerinin çeşitli dozlarının po ve parenteral uygulamasının etkilerini ölçmüşlerdir. 7 günlük 49 adet tavuk 5 gruba ayrılmıştır. Bunlar: çemenotu almayan, 10 mg çemenotu/kg vücut ağırlığı im; 50 mg çemenotu/kg vücut ağırlığı ip; 50 mg çemenotu/kg vücut ağırlığı sc; veya 500 mg çemenotu/kg vücut ağırlığı içme suyunda. Günlük dozajlama 21 gün içindir. Vücut ağırlığı azalmıştır. Serum LDH ve GOT aktiviteleri ve ürik asit konsantrasyonu anlamlı derecede artmıştır. Patolojik değişimler; karaciğer yağlı sitoplazmik boşluk oluşumu, lenfositik

infiltrasyon ile hepatosit nekrozu, renal tübüllerin epitelyal dejenerasyonu, akıntılı barsak iltihabı ve kalça ve göğüs hemorajinin çeşitli dereceleridir. Miyozit ve peritonit, çemenotu ham saponininin sırasıyla im ve ip verildiği tavuklarda gözlenmiştir (184).

Ratların çemenotu tohumları ile insanlar için önerilen (25 g/gün) birbirine eşit 2 ve 4 terapötik dozun ratlara kısa dönem (90 gün) verilmesi normal karaciğer fonksiyon testleri, karaciğerde herhangi bir histopatolojik değişikliğin olmaması ve hematolojik parametrelerde herhangi bir değişikliğin olmaması ile kanıtlandığı üzere herhangi bir toksik etki üretmemiştir (185). Daha da ötesi, çemenotu tohumlarının 25 g/gün dozunda uzun dönem (24 hafta) uygulanması diyabetik deneklerde hiçbir klinik hepatik veya renal toksisite veya hematolojik anomaliteler göstermemiştir (159). Bu doz glukoz toleransı ve NIDDM olan insanlarda lipit profili (158) geliştirmek için yeterli bir dozdur (122, 127). Yiyecek alerjisi olan çemenotu tohum tozu alan hastalarda birçok reaksiyonun 2 durumu belirtilmiştir (186). Birincisi tozun inhalasyonunu takiben rinore, hırıltılı solunum ve bayılma gözlenmiştir. İkincisi konak tedavisinde saçlı deriye çemenotu macununun uygulanmasından sonra başta uyuşma, fasiyal anjiyoödem ve hırıltılı solunum geliştirmiştir. Bazı hastaların serumunda immün-globülinlerin çemenotundaki proteinlere bağlama yeteneği gözlenmiştir. 20 mg i.v. dozda çemenotu ekstresi anesteziye edilmiş ratlarda ortalama arteriyel kan basıncında hiçbir etki göstermemiştir. Aynı zamanda izole kalpte perfüzyon sıvısına eklenen 2.5 mg çemenotu ekstresi de etki göstermemiştir (187). Erkek ve dişi farelerde çemenotu yaprağının sulu ekstresinin LD₅₀'si oral uygulama için 10 g/kg vücut ağırlığı ve i.p. uygulama için 2 g/kg olarak bildirilmiştir. 4 g/kg benzer ekstrenin aynı yolla farelerde LD₅₀ oluşturduğu sulu ekstrenin yüksek dozları ile orta şiddette santral sinir stimülasyonu, hızlı soluma ve sarsıntılar gözlenmiştir (140, 188).

Sharma ve ark. 1996 yılında yaptıkları bir çalışmayla çemenotu tohumlarını toksikolojik açıdan değerlendirmişlerdir. Değerlendirme 24 haftalık çalışmayla 60 NIDDM deneklerinin vücut ağırlığı, klinik belirtiler ve semptomlarla, SGOT, SGPT, alkalın fosfataz, bilirubin, kreatinin ve kan-üre gibi serum parametreleri ile beraber hematolojik parametrelerdeki değişimler üzerinden yapılmıştır. 25 çemenotu tohum tozu içeren bir deneysel diyetin alınmasıyla herhangi bir renal ya da hepatik toksisiteye rastlanmamış; fakat ilginç olarak kan-üre seviyeleri 12 haftadan sonra azalmıştır (159).

Çemenotunun yaprak glikozidik ekstresinin farelere oral ve intraperitoneal uygulanmasından sonra ortalama letal dozunu (LD₅₀) değerlendirerek akut toksisitesini belirlemek için bir çalışma yürütülmüştür. Ayrıca olası toksik etkilerine karşı hedef organların

teşhisi de belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışılan 4 organ arasından (karaciğer, böbrek, karın, ince ve kalın bağırsak) etkilenen ana hedef organ karaciğer olmuştur. Karaciğerde glikozidik ekstrenin toksik dozlarını alan bazı hayvanlarda mononükleer ve hafif hepatitin infiltrasyonu ile erken dejenerasyon gözlenmiştir. Bu çalışmayla çemenotu yapraklarının glikozidik ekstrelerinin güvenli olduğu ve en az yan etkiye sahip olduğu düşünülmüştür (189).

Tahiliani ve Kar, çemenotu tohumlarının *Allium sativum* (sarımsak) ile kombinasyonunun hipertiroidizm düzenlenmesindeki etkisini araştırmışlardır. Serum triiyodotironin (T3), tiroksin (T4), glikoz, hepatik glikoz 6-fosfat (G-6-Pase) ve oksijen tüketimi gibi parametreler incelenmiştir. Aynı zamanda ilaçların toksik etkilerinin incelenmesi için süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), lipid peroksidaz (LPO) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) yöntemleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda iki ekstrenin birbirini olumsuz etkilediği, ayrı ayrı hayvanlara verildiğinde ise aynı derecede etkili oldukları görülmüştür (190).

Laroubi ve arkadaşları çemenotu 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 (191).

Reedy ve Srinivasan'ın 2011 yılında yaptıkları çalışmada besinsel çemenotu tohumlarının yüksek kolesterolü farelerde kolesterol safra taşı (CGS) sıklığını azalttığını belirtmişlerdir. Ayrıca bu tohumlar önceden oluşturulmuş CGS'yi azaltmaktadır. Bu çalışmada, çemenotu, yüksek kolesterolü yiyeceklerle beslenen farelerde (HCD) hepatoprotektif ve antioksidan etkileri açısından değerlendirilmiştir. HCD'ler 10 hafta beslendikten sonra, %6 veya %12 çemenotu içeren basal diyet/basal diyet ile beslenen HCD'ler 10 haftadan fazla korunmuştur. Sürekli HCD ile beslenenlerde serum aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz, laktat dehidrogenaz ve alkalın fosfataz aktiviteleri artmıştır. Bu enzimlerin aktiviteleri, HCD'ye ilk maruz kaldıktan sonra, bazal kontrol/çemenotu içeren dietlerle beslenen hayvanlarda daha düşüktür ve çemenotu gruplarında öne çıkmışlardır. Çemenotu alan gruplarda hepatik lipid peroksidler azalmış ve antioksidan moleküller artmıştır. Hepatik antioksidan enzimler- glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz ve glutatyon peroksidazların aktiviteleri çemenotu tedavisinde daha yüksektir. Bu sonuçlar litojenez koşulları altında çemenotu tohumlarının hepatoprotektif ve antioksidan etkilerinin var olduğunu öne sürmektedir (13).

2.3.6 Antienflamatuar ve Antipiretik Etki

İran'ın tıbbi bitkilerinden biri çemenotunun yaprak ekstresinin antienflamatuar ve antipiretik etkileri çalışılmıştır. Antienflamatuar aktivite için formalin-indüklü ödem modeli kullanılmıştır. Hipertermi, bira mayasının sulu süspansiyonunun %20 (a/h) i.p. enjeksiyonu kullanılarak azaltılmıştır. Sodyum salisilat (SS) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Hem çemenotu hem de SS'nin tek doz (çemenotu 1000 ve 2000 mg/kg, SS 300 mg/kg) ve kronik uygulaması (çemenotu 1000 mg/kg ve SS 300 mg/kg) formalin indüklü ödemi önemli derecede düşürmüştür. Çemenotu ve SS, uygulandıktan 1 ve 2 saat sonra bira mayası yoluyla indüklenmiş hipertermiyi önemli derecede azaltmıştır. Fitokimyasal çalışmalar ekstredeki ana bileşenlerin alkaloidler, kardiyak glikozitler ve fenoller olduğuna işaret etmiştir. Bununla birlikte, ekstrede antienflamatuar, analjezik ve antipiretik gibi 3 etkinin varlığı, bunun için NSAID benzeri bir mekanizma öne sürmektedir, fakat alkaloidlerin varlığı, flavonoid, saponin, steroid gibi diğer etkili bileşiklerin yokluğu ve ayrıca genellikle NSAID'ler yoluyla meydana gelmeyen kuyruk çekme testi üzerine analjezik etkisi, bu ekstre için başka bir mekanizma ileri sürmektedir. Bu nedenle alkaloidlerin bu ekstredeki etkili bileşikler olma olasılığı artmıştır (192).

Sindhu ve ark. 2012 yılında ratlarda adjuvan indüklü artritte çemenotu müsilajının anti-enflamatuar ve antioksidan etkilerini araştırmak üzere bir çalışma yapmışlardır. Artrit, eklem enflamasyonu oluşturmak için sağ arka pençe içerisine Freund's adjuvanının intradermal enjeksiyonu ile indüklenmiştir. Siklooksijenaz, lipooksijenaz ve miyeloperoksidaz gibi enflamatuar enzim aktivitesi ve nitrit ve C-reaktif protein seviyeleri gözlenmiştir. Çemenotu müsilajı adjuvan artrit 21. gününde 75 mg/kg dozda maksimum ödem inhibisyonu yüzdesi göstermiştir. Etki standart ilaç indometasinden daha yüksektir. Çemenotu müsilajı ile beslenme ile pençe dokusunun histopatolojisi ödem formasyonu ve hücrel infiltrasyonda azalma göstermiştir (121).

Mandegary ve ark. (2012) alkaloid ve flavonoid açısından zengin çemenotu tohumlarının antienflamatuar etkilerini değerlendirmek için bir çalışma yapmışlardır. Bitki tohumunun metanollü ekstresi bir sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 6 ana fraksiyon vermek üzere kısımlara ayrılmıştır. İzole fraksiyonların fitokimyasal taramasını takiben, total ekstre ve her fraksiyonun antienflamatuar etkisi sırasıyla karragenan-indüklü pençe ödem testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Metanollü ekstre 100 mg/kg dozda antienflamatuar etkiyi göstermiştir. Sulu ve asitli kloroform fraksiyonlarının (ACC) her ikisinde farklı bir dozda pençe ödemi anlamlı bir şekilde inhibe etmiştir. Asitli kloroform fraksiyon

karragenan-indüklü pençe ödemeni doz-bağımlı bir şekilde inhibe etmiştir. Fitokimyasal tarama testlerinin sonuçları ACC ve sulu fraksiyonların her ikisinde de flavonoidlerin varlığını düşündürmektedir. Bu çalışmayla çemenotu tohumundaki alkaloit ve flavonoidlerin antienflamatuar etkiden sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır (40).

Liu ve ark., çemenotu tohumlarının fonksiyonel kalitesini, hekzan, etil asetat, metanol ve sulu ekstralarının lipid peroksidasyon (LPO) ve siklooksijenaz enzim (COX) inhibitör aktivitelerini, MTT, LPO, COX-1 ve 2 enzim inhibitör deneyleri ile belirleyerek araştırmışlardır. Ekstreler 250 µg/mL'de, LPO'yu %55-95 oranında, COX-1'i %6-87 oranında, COX-2'yi %36-70 oranında inhibe etmiştir. Bu ekstraların bioassay-rehberli saflaştırması, trigliseritler, yağ asitleri, sakkaritler ve flavonoid-C-glikozitleri vermiştir. Sakkaritler hariç izole edilenler, LPO ve COX-1 ve 2 enzimlerini 25 µg/mL'de sırasıyla %8-89, %4-51, %15-70 aralıklarında inhibe etmiştir (193).

2.3.7 Antimikrobiyal, Antibakteriyel ve Antifungal Etki

Trigonella türleri üzerinde yapılmış diğer bir biyoaktivite çalışmasında Sathiyamoorthy ve arkadaşları, çemenotu tohumunun melanoma ve malaria parazitine karşı olan etkisini araştırmak için bunlara uygun hücre dizileri üzerinde sitotoksikite testi yapmışlar ve %89 oranında etki gösterdiğini tespit etmişlerdir (194).

T. foenum graecum'un antimikrobiyal aktivitesi de çeşitli mikroorganizmalara karşı incelenmiştir. Mansouri, çemenotu yapraklarının etanollü ekstresinin *Staphylococcus aureus* 'a hiçbir etkisinin olmadığını bulmuştur (195). Aqil ve Ahmad çemenotu 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 chlamyosporum*, *Trichoderma viride*, *Rhizoctonia bataticola*, *Alternaria alternata* mantarlarına hiç aktivite gözlenmemiştir (196). Packiyasoorthy ve Kyle çemenotu tohumlarının uçucu yağlarının *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* ve *Aspergillus flavus* mikroorganizmaları üzerine düşük etkisi gözlenmiştir (197).

2007 yılında Wagh ve ark. yaptığı çalışmada çemenotu yağının biyoaktivitesine bakmışlardır. Çemenotundan elde edilen yağların farklı konsantrasyonları *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı MIC determinasyon ve kuru-ağırlık metodu yoluyla antifungal ve antibakteriyel aktivitelerini

değerlendirmişlerdir. Çemenotu yağı *A. niger*, *A. fumigatus*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı güçlü inhibisyon göstermiştir. Ayrıca 24 saatlik inkübasyon sonrası *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı çok etkilidir. Bu yağ *A. fumigatus*'a kıyasla *A. niger*'e karşı daha etkili olmuştur. Bu sonuçlar yağın etkili bir antibiyotik olabileceğini göstermiştir. Bu minimum inhibitör konsantrasyonları yağın bakteriostatik aktiviteyi yüksek dilüsyon faktöründe gösterdiğini ortaya koymaktadır. Çemenotu daha ileriki çalışmalarda doğal antimikotik olarak kullanılabilir. Düşük konsantrasyonlarda, bu bitkinin tohum sabit yağı *A. fumigatus* ve *A. niger*'e karşı çok önemli antimikotik aktivite göstermiştir (97).

Kanan ve Al-Najar 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu ham ekstresinin ve fraksiyonlarının *Penicillium italicum*'a karşı in vitro ve in vivo aktivitesini araştırmışlardır. Ekstrenin 130 mu g/mL konsantrasyonu Pi.1 ve Pi.3 izolatu tarafından enfekte edilen portakal suyundaki mantar büyümesini tam olarak inhibe etmiştir. 130 mu g/mL çemenotu ekstresi Pi.3 ve Pi.5 izolatları tarafından enfekte olan limon meyvalarındaki büyümeyi tam olarak inhibe etmiştir. Ancak Pi.1 izolatının büyümesinin inhibisyonu için 390 mu g/mL konsantrasyona ihtiyaç duyulmaktadır (198).

Esmaili ve ark. 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada *Trigonella monantha* C. A. Mey. subsp. *monantha* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen çeşitli ekstralarının ve uçucu yağının kimyasal bileşiminin biyolojik aktivitesini GC ve GC/MS ile çalışmışlardır. *T. monantha* deneylerinin tüm sonuçları, total fenolik, ABTS, DPPH' ve β -karoten deneylerinde çeşitli ekstralardan (hekzan ekstresi, metanol ekstresi ve kloroform ekstresi) en fazla antioksidan özelliği göstereni karar vermelerinde etkili olmuştur. Ekstreler hem elektron transfer hem de hidrojen transfer mekanizmalarının her ikisine dayanarak antioksidan özellik göstermektedir. Her iki örneğin ekstralarının antimikrobiyal aktivitesi 7 Gram-pozitif ve Gram -negatif bakteriye karşı belirlenmiştir. En güçlü aktiviteyi gösteren *T. monantha* metanol ekstresi 49.58 mu g/mL olarak tayin edilmiştir (116).

2.3.8 Antisestod Etki

Zia ve arkadaşları bitkinin tohumlarının sulu, metanollü, kloroformlu ekstralarının tahıl bitkilerinin köklerine zarar veren *Meloidogyne* türü nematotlar üzerine öldürücü etkisinin olduğunu mikroskop altında inceleyerek gözlemişlerdir (24).

2.3.9 Antiplazmoidal Etki

Palaniswamy ve ark. 2008 yılında yaptıkları bir araştırmada çemenotunun in vitro anti-plazmoidal aktivitesini incelemişlerdir. Bitki Koimbatır, Tamilnadu ve Hindistan'dan toplanmıştır. Çemenotu yapraklarının ekstre edilmiş fraksiyonlarının in vitro anti-plazmoidal deneyi laboratuvar uyumlu klorokin duyarlı ve dirençli *Plasmodium falciparum* izolatları kullanılarak yürütülmüştür. Ekstrenin potansiyelini analiz etmek için Schizont olgunlaşma inhibisyon deneyi uyarlanmıştır. Klorokin duyarlı ve dirençli *P. falciparum* izolatlarına karşı sırasıyla 8.75 ± 0.35 $\mu\text{g/mL}$ ve 10.25 ± 0.35 $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} değerleriyle, etanol ekstresinin (%50) etkili anti-plazmoidal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Bitki ekstresinin araştırılan altı fraksiyonu arasından etanol ve bütanol ekstralarının 10 $\mu\text{g/mL}$ 'den küçük IC_{50} değerleri ile anlamlı bir anti-plazmoidal etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Kloroform ve etil asetat ekstraları 10 - 20 $\mu\text{g/mL}$ arasında değişen IC_{50} değerleriyle orta derecede aktivite göstermiştir. Diğer iki ekstre hekzan ve su, 85 $\mu\text{g/mL}$ 'den büyük IC_{50} değerleri ile inaktif olarak bulunmuştur (199).

2.3.10 Gastrointestinal Sistem Üzerine Etki

Çemenotu tohumu, progesteron gibi pek çok farmasötik maddenin üretiminde, sentezinde kullanılabilen steroidal saponin olan diosgenin kaynağıdır. Tohumlar kavrulduğunda niasin'e dönüşen trigonellin alkaloidi ortaya çıkar. Araştırmacılar, çemenotu tohumlarının sindirimde faydalı digestif enzimlerin salınımı amacıyla pankreası uyaran maddeler içerdiğini göstermektedirler. Tohumların sakinleştirici etkisi gastrit ve gastrik ülserin tedavisindeki değerlerini arttırmaktadır (200).

Etanol indüklü gastrik ülserde çemenotu tohumunun etkisi omeprazolle kıyaslanmıştır. Sulu ekstre ve çemenotunda izole edilen bir jel fraksiyonu, anlamlı bir ülserden koruyucu etki göstermiştir. Tohumların sitoprotektif etkisi sadece anti-sekretuar etkiyle değil mukozal glukoproteinlerle de ilişkilidir. Çemenotu tohumları ayrıca büyük olasılıkla mukozal hasarı azaltıp gastrik mukozanın antioksidan etkisini arttırmak suretiyle etanolla oluşan lipid peroksidasyonunda artışı önlemiştir. Çalışma göstermiştir ki tohumdan elde edilen çözülebilir jel fraksiyonu lezyon oluşumunun önlenmesi açısından omeprazolden daha etkilidir (9).

Sudha ve ark. 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu ekstresinin potansiyel α -amilaz inhibitör aktivitesini araştırmışlardır. PPA (domuz pankreatik α -amilaz) inhibisyon analizleri nişasta-iyot renk analizi yoluyla öncelikle kalitatif olarak yapılmıştır. Soğuk sulu ekstrede 1.5 mg/mL konsantrasyonda %13.4 PPA inhibisyon, sıcak sulu ekstrede 3.5 mg/mL

konsantrasyonda %10.8 PPA inhibisyon, metanol ekstresinde 5.2 mg/mL konsantrasyonda %11.8 PPA inhibisyon, isopropanollü ekstrede 3.6 mg/mL konsantrasyonda %13.2 PPA inhibisyon ve sikloheksan ekstresinde 1.9 mg/mL konsantrasyonda %19.3 PPA inhibisyon gözlenmiştir (201).

2.3.11 Nöroprotektif Etki

Natarajan ve ark. 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu tohumunun nörofarmakolojik aktivitesini değerlendirmişlerdir. Total alkollü ekstre (TA), total sulu ekstre (TQ), petrol eterli ekstre (PE), total alkaloid ekstre (TK), total glikozidal ekstre (TG), çemenotu yağı (FO), diosgenin (DI) ve trigonellin (TR) albino Wistar ratlar kullanılarak lokomotor aktivite ve fenobarbiton indüklü uyku zamanı gibi birincil tarama çalışmalarında nörofarmakolojik aktiviteleri için değerlendirilmiştir. TA, TQ, PE ve FO ekstreleri 100 mg/kg vücut ağırlığı ve TK, TQ, DI ve TR ekstreleri 50 mg/kg vücut ağırlığı, intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Kafein (CF) (48 mg/kg) ve Klorpromazin hidroklorit (CP) (150 mg/kg) standart ilaçlar olarak kullanılmıştır. Tüm çalışmalarda; bütün ekstreler ve TQ hariç aktif kaynaklar anlamlı bir SSS uyarıcı aktivite gösterirken, sadece TQ anlamlı bir SSS depresan etki göstermiştir. Bu çalışmalar çemenotu tohum ekstresinde bulunan aktif bileşiklerin, SSS uyarıcı ve depresan etkilere sahip olduğunu göstermiştir (202).

SatheeshKumar ve ark. tarafından 2010 yılında yürütülen araştırmanın amacı yüksek performanslı İTK kullanılarak trigonellin ile çemenotunun ekstresini standardize etmek ve bir referans olan galantamini kullanarak çemenotu ve bileşenlerinin in vitro AChE inhibitör etkisini belirlemektir. Çemenotu ve trigonellinin farklı konsantrasyonlarda sulu-alkollü ekstreleri, mobil faz olarak n-propanol, metanol ve su (4:1:2, h/h) kullanılarak yüksek performanslı İTK ile çalışılmıştır. Trigonellin Rf'i 0.43 olarak bulunmuştur. Çemenotunun sulu-alkollü ekstresinde trigonellin konsantrasyonunun 13 mg/g a/a olduğu bulunmuştur. Ham çemenotu tohum ekstresi, fraksiyonları ve trigonellinin AChE inhibitör aktivitesi Ellman's metodu ve İTK bioassay dedeksiyon kullanılarak değerlendirilmiştir. Alkol ekstresinin etil asetat fraksiyonu (IC_{50} 53.00±17.33 µg/mL) ve total alkaloid fraksiyonu (IC_{50} 9.230±6.08 µg/mL) güçlü AChE inhibisyonu göstermiştir. Trigonellinin IC_{50} değeri 233±0.12 µM olarak bulunmuştur. Galantamin standart olarak kullanılmıştır ve 1.27±0.21 µM, IC_{50} değeri ile asetilkolinesteraz inhibisyonu göstermiştir (25).

Belaid-Nouira ve ark. 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu tohumlarının $AlCl_3$ indüklü nörotoksisitede etkisini araştırmışlardır. Ratlara 5 ay boyunca $AlCl_3$ 'ün oral

uygulanması (1 ay için 500 mg/kg vücut ağırlığı ig, sonra su içirme yoluyla 1600 ppm) arka beyin, karaciğer ve plazmada laktat dehidrojenaz aktivitesi, total kolesterol, trigliserit ve düşük dansiteli lipoprotein seviyeleriyle birlikte lipit peroksidasyon seviyesini arttırmıştır. Bütün bu parametreler hem çemenotu tohum tozu hem de çemenotu tohum ekstresi gibi çemenotu tohum besin takviyesinin alımını takiben azalmıştır. Bir taraftan beyindeki ve karaciğerdeki lipit peroksidasyon ile LDL kolesterol arasında anlamlı bir korelasyon görülmüştür (203).

Khalki ve ark. 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada çemenotu tohumlarının gelişimsel nörodavranışsal etkilerine doğum öncesi maruz kalan fareleri araştırmışlardır. Çemenotu tohumunun gebelik süresince tüketimi, hidrosefali, anansefali ve spina bifida gibi bir dizi konjenital malformasyonla ilişkilendirilmiştir. Araştırmacıların daha önce yaptığı çalışmada, hamile farenin çemenotu tohumunun sulu ekstresine (AEFS) maruz kalması, doğum oranının azalması, intrauterin gelişme geriliği ve sakatlığa neden olmuştur. Yine de, bugüne kadar uzun vadeli nörodavranışsal etkileri hakkında hiçbir çalışma bulunmamaktadır. Araştırmacılar bu çalışmada, bu etkilere doğum öncesi maruz kalmış fareleri araştırmışlardır. Hamile bayanlar gavaj yoluyla günde 0, 500 veya 1000 mg/kg AEFS'ye bütün hamilelik süresi boyunca maruz bırakılmıştır. Yavruların vücut ağırlıkları yaşamlarının 1, 7, 14, 21 ve 28. günlerinde ölçülmüştür. Nesil davranışı doğduktan 3 hafta sonra open field (açık alan), the rotarod test ve T-maze yoluyla the continuous alternation task (sürekli dönüşüm görevi) ile ölçülmüştür. 28 doğum sonrası gün yaşında, nesil beyni histolojik değerlendirme için çıkarılmış ve kesilmiştir. Maruz kalan fare nesli doğduğunda azalmış vücut ağırlığı (1000 mg/kg grup; %27, 500 mg/kg grup; %32) ve azalmış beyin ağırlığı (her iki tedavi grubunda da %10) gözlenmiştir. Doğum öncesi AEFS'ye maruz kalmış hem dişi hem de erkek farede lokomotor aktivitede önemli bir artış görülmüştür. Bu sonuçlar AEFS'ye maruz kalmanın yavrularda depresif etkiye neden olduğunu göstermiştir (204).

Morani ve ark. 2012 yılında standardize edilmiş çemenotu tohum ekstresinin (IND01), periferik nöropatili hayvan modellerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. IND01, çemenotu tohumlarından hazırlanmış ve marker bileşen trigonellin için yüksek performanslı likit kromatografi ile standardize edilmiştir. IND01'in günlük (50, 100, 200 mg/kg) oral uygulamalarının etkisi ratlarda, bölgesel siyatik sinir bağlanması (PSNL) ve siyatik sinir sıkışma sakatlığı (SNCI)'ndan sonra 30 günlük periyot boyunca incelenmiştir. Termal hiperaljezi (TH), motor fonksiyon testi (MFT) skoru ve motor sinir iletim hızı (MNCV) ölçümleri kaydedilmiştir. IND01, her iki modelde de 7 günlük kullanımın ardından, TH ve

dengelesiz MFT skorlarına karşı sürdürülebilir bir koruma sağlamıştır. IND01'in 15 günlük oral uygulaması; PSNL'li ratlarda değil ama SNCI'lı olan ratlarda motor sinir iletim hızının (MNCV) azalmasını düzeltmiştir. Sonuç olarak, IND01'in, ağrılı periferik nöropatili rat modellerinde etkili olduğu bulunmuştur (6).

2.3.12 İmmunomodulator Etki

Çemenotu ekstresi farelerde kanıtlanmış bir immunomodulator etkiye sahiptir. Bin-Hafeez ve arkadaşları çemenotunun sulu ekstresinin fareler üzerinde immunomodulator etkisini incelemişlerdir. PFC testinde (plaque-forming cell assay) 100 mg/kg ekstre dozu immunomodulator etki gösterirken 50 ve 250 mg/kg dozları etki göstermemiştir. Ancak HT testinde (haemagglutination titre) bütün dozlar etki göstermiştir (205).

Farelerde deltametrinin immunotoksik etkisi üzerine çemenotu tohum ekstresi modulator etki göstermiştir. Swiss albino erkek fare oral olarak sulu ekstre (15 gün boyunca günlük 100 mg/kg vücut ağırlığı) ile tedavi edilmiştir. Deltametrin, mısırözü yağında 18 mg/kg vücut ağırlığı tek bir doz oral olarak uygulanmıştır. Tedavi görmüş hayvanlarda, vücut ağırlığı, bağıntılı organ ağırlığı, lenfoid organ selülarite, hemaglutasyon titre (HT), plak oluşturucu hücre (PFC) deneyi ve SRBC'nin kantitatif hemolizi (QHS) deneyi çalışılmıştır. Deltametrin lenfoid organ ağırlığı ve selülarite ve humoral immun fonksiyonları üzerinde önemli supresif etki göstermiştir. Bitki ekstresinin kendisi yukarıda bahsedilen dozda hiçbir immunotoksik etki meydana getirmemiştir. Oysaki deltametrin uygulanmış hayvanlarda QHS'nin yanısıra PFC tepkisinde önemli bir artışla ($p<0.01$) deltametrin uygulanmış hayvanların humoral tepkilerinin değişimiyle sonuçlanmıştır. Bu sonuçlar, deltametrine maruz kalmanın farelerde immunosupresyona neden olduğunu ve çemenotu ekstrelerinin bu parametreler üzerinde modulator etkilere sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Çemenotu tohumlarının antioksidan özelliği, immunosupresif farelerde koruyucu etkiyle sonuçlanan modulator aktiviteye katkıda bulunmuştur (206).

2.3.13 Antinosiseptif ve Analjezik Etki

Parvizpur ve ark. 2006 yılında yaptıkları bir araştırmada çemenotu yaprak ekstresi hem formalin (F.T.) hem de kuyruk-çekme testlerinde (T.F.) analjezik etki gösterdiğini öne sürmüşlerdir. Spinal serotonerjik sistem, endojen opioid sistem değil, çemenotu indüklü analjeziyi (formalin testinin 2. fazında) kapsamaktadır. Birçok farmakolojik etki açısından NSAID'ler ve çemenotu ekstresi arasındaki benzerlik veya NSAID'ler ve pürinerjik sistem

arasındaki etkileşimle ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır. Bu yüzden bu çalışmada da çemenotu ekstresi ve purinerjik sistem veya siklo-oksijenaz (COX) inhibisyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Dört şeye bakılmıştır; birincisi ADP indüklü agregasyona tavşan plateletlerinin cevabı, ikincisi α - β -Me-ATP indüklü fare vas deferans kontraksiyonu, üçüncüsü erkek ratlarda kuyruk çekme testinde α - β -Me-ATP indüklü fare hiperaljezi, dördüncüsü ise COX-1 ve COX-2'lerin spesifik inhibisyonu. Sonuçlar göstermiştir ki çemenotu ekstresi (0.5, 1, 1.5, 3 mg/mL) ADP (10^{-5} mol) indüklü platelet agregasyonunu ($IC_{50}=1.28$ mg/mL) inhibe etmiştir. Suramin (bir P_2 reseptör antagonisti, 50, 150, 300 μ M) veya çemenotu ekstresi (0.5, 1, 2, 3 mg/mL) vas deferensdeki isometrik kontraksiyonu anlamlı bir şekilde inhibe ederken (IC_{50} sırasıyla 91.07 μ M ve 1.57 mg/mL), α - β -Me-ATP (30 μ M) bu etkiyi azaltır. Daha da ötesi, α - β -Me-ATP (3 μ g/rat, i.t.) kuyruk çekme testinde hiperaljezi oluşturmuştur, fakat bu, suramin (120 μ g/rat, i.t.) veya çemenotu ekstresi (1 mg/rat, i.t.) ile α - β -Me-ATP co-injeksiyonu ile önlenmiştir. Çemenotu ekstresinin etkili konsantrasyonları yukarıdaki bahsedilen deneylerde EIA testlerindeki COX enzimlerini inhibe etmemiştir. Sonuç olarak bu çalışmalar göstermiştir ki spinal purinoseptörlerin blokajı çemenotu yapraklarının ekstresinin analjezik etkisinde rol oynayabilir (207).

Mandegary ve ark. (2012) alkaloid ve flavonoid açısından zengin çemenotu tohumlarının antinosiseptif etkisini değerlendirmek için bir çalışma yapmışlardır. Bitki tohumunun metanollü ekstresi bir sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 6 ana fraksiyon vermek üzere kısımlara ayrılmıştır. İzole fraksiyonların fitokimyasal taramasını takiben, total ekstre ve her fraksiyonun antinosiseptif etkisi formalin kullanılarak değerlendirilmiştir. Metanollü ekstre 100 mg/kg dozda antinosiseptif etkiyi göstermiştir. Test edilen fraksiyonlar arasında, tarama testlerinde alkaloid pozitif olan alkalik kloroform fraksiyonu (AKC) doz-bağımlı yöntemde en etkili antinosiseptif etkiyi göstermiştir. AKC fraksiyonu bu yönde morfin (5 mg/kg) kadar etkili bulunmuştur. Fitokimyasal tarama testlerinin sonuçları ACC ve sulu fraksiyonların her ikisinde de flavonoidlerin varlığını düşündürmektedir. Bu çalışmayla çemenotu tohumundaki alkaloid ve flavonoidlerin antinosiseptif etkiden sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır (40).

2.3.14 Antifertilite Üzerine Etki

Kassem ve arkadaşları erkek ve dişi tavşanda çemenotu tohumlarının potansiyel antifertilite etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda tohumların FSH'ı uyarması ile plazmadaki progesteron seviyesini yükselttiği, corpus luteum sayısının arttığı görülmüştür.

Fakat erkek tavşanların testosteron seviyelerinin, tohumdaki bir bileşimin toksik etki göstermesinden dolayı düştüğü görülmüştür. Testosteron ağırlığı ve sperm konsantrasyonu azalmıştır (208).

2.3.15 Hipertiroidizmin Düzenlenmesi Üzerine Etki

Tahiliani ve Kar, çemenotu tohumlarının *Allium sativum* (sarımsak) ile kombinasyonunun hipertiroidizm düzenlenmesindeki etkisini araştırmışlardır. Serum triiyodotironin (T3), tiroksin (T4), glikoz, hepatik glikoz 6-fosfat (G-6-Pase) ve oksijen tüketimi gibi parametreler incelenmiştir. Çalışma sonucunda iki ekstrenin birbirini olumsuz etkilediği, ayrı ayrı hayvanlara verildiğinde ise aynı derecede etkili oldukları görülmüştür (190).

2.3.16 Hemolitik Etki

Oda ve arkadaşları çemenotu toprak üstünden steroid yapıda 3,26-bisdesmozit tipinde 10 saponin (trigoneozit Ia, trigoneozit Ib, trigoneozit Ha, trigoneozit IIb, trigoneozit İlla, 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 (209).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Bitkisel Materyal

Trigonella cinsi *Cylindricae* seksiyonuna ait olan 10 takson; *T. spruneriana*, *T. sibthorpii*, *T. kotschy*, *T. mesopotamica*, *T. cylindracea*, *T. cilicica*, *T. filipes*, *T. velutina*, *T. strangulata*, *T. smyrnea* çalışma materyali olarak seçildi. Türlerin toplandığı lokaliteler; Flora of Turkey and The East Aegean Islands Vol: 3 ve Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumu (GAZI) herbaryum kayıtları incelenerek belirlendi, örnekler doğal habitatında fotoğraflandı, çiçekli ve tohumlu oldukları aylarda ayrı ayrı toplandı ve gölgede kurularak çalışma materyalleri hazırlandı (Çizelge 3.1.). Kurutulan bitkisel materyallerin teşhisi Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ahmet İLÇİM tarafından yapıldı ve bitkisel materyallere ait herbaryum örnekleri Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Herbaryumuna bırakıldı.

Çizelge 3.1. Çalışılan türlerin toplandığı lokaliteler, toplama zamanları ve herbaryum numaraları.

Türler	Lokaliteler, Toplama zamanları ve Herbaryum numaraları
<i>T. spruneriana</i> Boiss.	C4 İçel: Gülnar'dan Aydıncık'a, Gülnar'ın 12 km güneyi, çayırılık alan, 600-700 m, 11.06.2011, Ş.S.Uras Güngör, MKU1751
<i>T. sibthorpii</i> Boiss.	C5 İçel: Soli'den Mersin'e, kumsal, 11.05.2012, Ş.S.Uras Güngör, MKU1752
<i>T. kotschy</i> Fenzl*	C6 Maraş: Kozludere Köyü, 1300-1500 m, 06.06.2011, A. İlçim, MKU1753
<i>T. mesopotamica</i> Hub.-Mor.	C6 Maraş: Çağlayancerit, Erince Dağı, Aksu Mahallesi, meşelik alan, 1300-1500 m, 06.06.2011, Ş.S.Uras Güngör, Ahmet İlçim, MKU1754
<i>T. cylindracea</i> Desv.	C4 İçel: Tömük, deniz kıyısı, kumsal, 11.05.2012, Ş.S.Uras Güngör, MKU1755
<i>T. cilicica</i> Hub.-Mor.*	C5 İçel: Tarsus'dan Namrun'a, Sarıkavak Köyü, çalılık alan, 800-900 m, 29.05.2011, Ş.S.Uras Güngör, MKU1756
<i>T. filipes</i> Boiss.	C6 Maraş: Büyüknacar Köyü, yol kenarı, 1300 m, 06.06.2011, Ş.S.Uras Güngör, Ahmet İlçim, MKU1757
<i>T. velutina</i> Boiss.	C4 İçel: Gülnar'dan Mut'a, Gülnar'ın 4 km kuzeyi, işlenmemiş arazi, 900-1000 m, 11.06.2011, Ş.S.Uras Güngör, MKU1758
<i>T. strangulata</i> Boiss.	C4 İçel: Silifke'den Gülnar'a, Silifke'nin 18 km batısı, çalılık alan, 900 m, 11.06.2011, Ş.S.Uras Güngör, MKU1766
<i>T. smyrnea</i> Boiss.*	C2 Antalya: Gömbe, çalılık alan, 1150 m, 08.07.2012, Ş.S.Uras Güngör, MKU1782

*Endemik türler

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Reaktifler

3.1.2.1. Kimyasal Malzemeler

Adı	Markası	Adı	Markası
1,1 Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH')	Sigma	(+)-Kateşin (\geq %98)	Sigma
AlCl ₃ (%99.9)	Fluka	Kloroform (\geq %99)	Merck
Amil alkol (\geq %99)	Lachema	Klorojenik asit (\geq %98)	Sigma
Apigenin (\geq %97)	Fluka	Kurşun asetat (%99.9)	Sigma-Aldrich
Asetik asit (\geq %99)	Climax	Kurşun sub-asetat (\geq %33)	Sigma-Aldrich
Asetonitril (\geq %99)	Merck	Metanol (%99.8)	Merck
Benzen (extra pure)	Merck	Mirsetin (\geq %96)	BioChemika
Benzoik asit (\geq %99.5)	Fluka	Morin (%95)	Riedel-de Haën
Biokanin A (\geq %97)	Fluka	α -naftol (\geq %99)	Merck
Brom (\geq %99.9)	Merck	NaOH (\geq %99.9)	Sigma-Aldrich
Bütıl hidroksianizol (BHA) (\geq %98.5)	Sigma	Na ₂ CO ₃ (\geq %99.5)	Sigma-Aldrich
Daidzein (\geq %98)	Fluka	Na ₂ HPO ₄ (\geq %99.95)	Kimetsan
Diklorometan (\geq %99.9)	Carlo Erba	NaNO ₂ (\geq %99)	Merck
Diosgenin (\geq %98)	Santa Cruz	NH ₃ (%28-30)	Climax
Elajik asit (\geq %95)	Fluka	Naringenin (%98)	Aldrich
Etanol (%96)	Merck	Orientin (\geq %97)	Sigma
FeCl ₃ (%97)	Aklar kimya	Petrol eteri (40-60°C)	Merck
Ferulik asit (%99)	Merck	Pikrik asit (\geq %99)	Fluka
Folin-Ciocalteu's fenol reaktifi	Merck	Rutin (\geq %95)	Fluka
Formononetin (\geq %99)	Fluka	Sinnamik asit (\geq %99)	Aldrich
Genistein (\geq %98)	Fluka	Sodyum asetat (\geq %99)	Aklar kimya
Glasiyel asetik asit (%99)	Climax	Şiringik asit (\geq %98)	Merck
H ₂ SO ₄ (%98)	Merck	Trans-sinnamik asit (\geq %99)	Aldrich
HCl (%37)	Merck	Trifloroasetik Asit (TFA) (%99)	Merck
n-Hekzan (%98.5)	Merck	Toluen (%99.8)	Merck
Homorientin (\geq %98)	Sigma	Trans-2-hidroksisinnamik asit (\geq %97)	Aldrich
İzopropanol (\geq %99.7)	Merck	Vanilik asit (\geq %97)	Fluka
Kafeik asit (\geq %98)	Fluka	Viteksin (\geq %95)	Fluka

3.1.2.2. Kullanılan Reaktifler

Baljet A/B reaktifi	Molisch reaktifi
Dragendorff reaktifi	Seliwanoff reaktifi
Fehling A/B reaktifi	Stiasny reaktifi
Mayer Reaktifi	

3.1.3. Kullanılan Cihazlar

Cihaz	Markası
Rotary Evaporatör	Rotar TVP 200
Su banyosu	Elektro-mag
Ultrasonik Banyo	Bandelin Sonorex
Elektrikli Terazı	Denver Instrument
HPLC	Agilent Technologies 1200 series
Dedektör	Diode array detector (DAD)
Kolon	C18 Symmetry kolon (15 cm x 3.9 mm, I.D 5 µm) µBondapak C18 kolon, (250 mm x 4.6 mm, I.D 10 µm)
Öğütücüler	IKA 11 basic, Retsch SK 100
pH metre	Thermo Scientific Orion 5 Star
Mantolu Isıtıcı	J.P. SELECTA
Spektrofotometre	Analytik Jena, Specord 210 Plus
Saf Su Cihazı	Millipore

3.2. Yöntem

3.2.1 Fitokimyasal Çalışmalar

3.2.1.1 Ana Etken Madde Gruplarının Taranması

Bitkisel materyali oluşturan 10 *Trigonella* taksonunun, taşıdığı ana etken madde gruplarının taranması için toprak üstü ve tohumlardan ayrı ayrı ekstreler hazırlandı ve bu ekstrelerde alkaloid, kardiyooaktif heterozit, siyanogenetik heterozit, antrasenozit, flavonozit, kumarin, antosiyanidol, tanen, oz, nişasta, saponozit, sabit yağ ve uçucu yağ, terpenik bileşikler bulunup bulunmadığı kalitatif olarak saptandı.

3.2.1.1.1 Alkaloid Teşhisi

Bitkilerin toz edilmiş tohum ve toprak üstü 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 Dragendorff 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, İkincisine Mayer, üçüncüsüne ise Dragendorff reaktiflerinden birkaç damla eklenerek çökelek meydana gelip gelmediği gözlemlendi (İkinci aşama) (210).

3.2.1.1.2 Kardiyoaktif Heterozit Teşhisi

Toz edilmiş 2 g örnek, 10 mL %70'lik etanolle su banyosunda 2 dakika kaynatılıp süzüldü. Süzüntü 2 misli suyla seyreltilip, 1 mL derişik kurşunsubasetat çözeltisi eklendi ve süzüldü. Böylece klorofilden ve diğer pigmentlerden kurtarılmış oldu. Süzüntü 10 mL kloroformla ekstre edildi, kloroformlu faz 3 ayrı kapsüle alındı ve aşağıdaki reaksiyonlar uygulandı (210).

a. Keller Kiliani Reaksiyonu: Kapsüldeki çözelti kuruluğa kadar uçuruldu. Üzerine 3 mL %3.5'luk glasiyal asetik asitli $FeCl_3$ çözeltisi 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 gözlemlendi. Bekledikçe tabakaların ayrılma yüzeyinde esmer bir tabaka ve asetik asitli üst tabakada soluk yeşil bir renk oluşur.

b. Baljet Reaksiyonu: Kapsüldeki çözelti uçurulup artık 1 mL etanolde çözüldükten sonra üzerine Baljet reaktifi damlatıldı (Damlatıldığında turuncu kırmızı bir renk oluşur). Renklenmenin meydana gelip gelmediği gözlemlendi.

c. Liebermann- Burchard Reaktifi: Kapsüldeki çözelti uçurulup artık 1 mL glasiyal asetik asitte çözüldü. Tüpe alınan bu çözelti 1-2 damla derişik sülfürik asit ile tabakalandırıldı, meydana gelen renk gözlemlendi. Kloroform ile asetik asit anhidritli ortamda sülfürik asitle önce menekşe, mavi, daha sonra yeşil renk verip vermediği gözlemlendi.

3.2.1.1.3 Saponozit Teşhisi

Bitkilerin toz edilmiş tohum ve toprak üstü 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 (211).

3.2.1.1.4 Flavonozit Teşhisi

1. 0.2 g droga 10 mL su ilavesiyle %2'lik dekoksasyon hazırlandı, süzüldü ve soğutularak bu çözelti 3'e ayrıldı ve aşağıdaki reaksiyonlar yapıldı:

- Çözeltiye birkaç damla % 10'luk amonyak çözeltisi konuldu ve meydana gelen renk gözlemlendi.
- Çözeltiye bazik kurşun asetat ilave edildi ve oluşan renk gözlemlendi.
- Çözeltiye sulu $FeCl_3$ damla damla ilave edildi ve oluşan renk gözlemlendi.

2. Siyanidin Reaksiyonu: 0.1 g toz drog 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 (210).

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.

- Seyreltik H_2SO_4 ilave edildi. Pozitif sonuçta kırmızı renk oluşumu görülür.
- NaOH çözeltisi ilavesiyle önce sarı, sonra seyreltik HCl ile asitlendirildiğinde pembe renk oluşumu görülür.
- Kurşun asetat çözeltisi eklendi. Pozitif sonuçta yeşil çökelek oluşumu görülür.
- Bir miktar amil alkol konularak çalkalandı. Pozitif sonuçta amil alkol tabakası renksiz, sulu etanollü tabaka pembe- violedir.
- Seyreltik H_2SO_4 ile hafifçe ısıtıldı. Soğutulduktan sonra amil alkolle çalkalandı. Pozitif sonuçta amil alkol tabakası açık pembe ve sulu etanollü tabaka pembe renk alır (210).

3.2.1.1.6 Siyanogenetik Heterozit Teşhisi

1 g toz drog 100 mL'lik erlene kondu ve içerisine drogu ıslatacak kadar su ilave edildi. Pikrik asit emdirilmiş bir süzgeç kağıdı %1'lik sodyum karbonat çözeltisiyle ıslatıldı. Ve bir mantarla erlenin boynuna sıkıştırılarak ıslatılmış drogun yakınına kadar sarkıtıldı. Erlen hafif ısıtıldı. Süzgeç kağıdında meydana gelen renk gözlemlendi (210).

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 gözlemlendi.
- %5'lik FeCl₃ çözeltisi ile verdiği renk gözlemlendi.
- %1 'lik tuzlu jelatin çözeltisi ile verdiği çökelek gözlemlendi.
- Stiasny reaktifi (formol+derişik HCl) meydana gelen çökelek gözlemlendi (211).

3.2.1.1.8 Antrasen Türevi Heterozitlerin Teşhisi

Toz halindeki numuneden 0.1 g alınır, 5 mL seyreltik sülfürik asitle 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 gözlemlendi (210).

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 (212).

3.2.1.1.10 Sabit yağ Teşhisi

Toz edilmiş tohum ve toprak üstü kısımlarından 0.5 gr materyal 5 mL toluen ile sık sık çalkalayarak ekstre edildi, süzüldü. Süzüntüden 2.5 mL alındı. Su banyosunda 1-2 damla kalıncaya kadar yoğunlaştırıldı. Yoğun ekstralar 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 (212).

3.2.1.1.11 Oz Tanıma Reaksiyonları

5 gr toz edilmiş numune bir beherde, kalın bir baget yardımıyla 10 mL su ile iyice ezildi, 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 jode 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 Cu₂O çökelişi çökmediği kaydedildi.

b) Molisch reaksiyonu

1 mL test çözeltisine a-naftolün alkoldeki %15'lik çözeltisinden 1-2 damla ilave edildi, bu karışımın üstüne 1 mL kadar derişik H₂SO₄ 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 seyreltik H₂SO₄ ile kaynatıldıktan sonra Seliwanoff reaktifi ilave edildiğinde oluşan renk kaydedildi (210,212).

3.2.1.1.12 Nişasta Teşhisi

Çalışılan türlerin tohum ve toprak üstü kısımlarından elde edilen toz materyallerden 0.5 g tartıldı, 5 mL su ile ısıtıldı. 45 mL sıcak su ilave edildi ve iyot çözeltisinden 1-2 damla ilave edildiğinde oluşan renk gözlemlendi (212).

3.2.1.2 Ekstraksiyon Çalışmaları

3.2.1.2.1 Total Fenol, Total Flavonoit ve DPPH' için Ekstre Hazırlanması

Kurutulmuş ve toz edilmiş bitkisel materyalin tohum ve toprak üstü kısmı ayrı ayrı 3 g tartılarak 40 mL %80'lik metanol ile 1 saat ultrasonik banyoda oda ısısında bekletilerek bu şekilde 2 kez ekstre edildi. Daha sonra süzülen ekstreler %80'lik metanol ile 100 mL'ye tamamlandı (39).

3.2.1.2.1.1 Total Fenol Miktarının Belirlenmesi

Ekstrelerin hazırlanışı kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanan ekstrelerin herbiri için 1 mL ekstre bir test tüpüne konuldu 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 jodede deiyonize distile su ile tamamlandı. 23°C 'de 90 dakika beklendikten sonra 750 nm'de köre karşı absorbansları ölçüldü. Kör olarak distile su kullanıldı. Standart eğri gallik asitin farklı konsantrasyonları (25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 225, 250, 300, 350, 450 ve 500 mg/L) kullanılarak hazırlandı ve mg/g gallik asit ekivalanı (GAE) olarak total fenol miktarına geçildi (213).

3.2.1.2.1.2 Total Flavonoit Miktarının Belirlenmesi

Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanmış olan bitki ekstrelerinin herbirinin ve standart olarak kullanılan rutin farklı konsantrasyon çözeltilerinin (25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 ve 500 mg/L) 0.5 mL'si 3 mL distile deiyonize su içeren 10 mL'lik balon jojeye eklendi ve hemen balona 0.3 mL %5'lik NaNO_2 ilave edildi. 5 dakika sonra 0.3 mL %10'luk AlCl_3 ilave edildi, 6 dakika sonra 2 mL 1M NaOH karışıma eklendi. Daha sonra hemen 10 mL'ye distile deiyonize su ile tamamlandı. Pembe renkteki karışımın, kör olarak %80'lik metanol kullanılarak 510 nm'deki absorbansı ölçüldü, ekstrenin total flavonoit miktarı mg/g kuru bitki cinsinden hesaplandı (115, 213).

3.2.1.2.2 Fenolik Bileşiklerin HPLC Analizleri için Ekstre Hazırlanması

Kurutulmuş ve toz edilmiş bitkisel materyalin tohum ve toprak üstü kısmı ayrı ayrı 3 g tartılarak 40 mL %80'lik metanol ile 1 saat ultrasonik banyoda oda ısısında bekletilerek bu şekilde 2 kez ekstre edildi. Süre sonunda üzerine 10 mL HCl (%37) eklenerek 90°C 'de 2 saat geri çeviren soğutucu altında ekstrelerin hidroliz olması sağlandı. Daha sonra süzülen ekstreler %80'lik metanol ile 100 mL'ye tamamlandı (39).

3.2.1.2.2.1 Ekstrelerin Fenolik Bileşiklerinin HPLC ile İncelenmesi

Ekstrelerin hazırlanışı kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanan ekstreler 0.45 μm 'lik filtrelerden geçirildi. 800 μL ekstre ile 800 μL %1 trifloroasetik asit içeren su:metanol (90:10) bir vialde karıştırıldı. Hazırlanan numune filtre edilip HPLC'ye enjekte edildi (39, 214). Analizlerde standart olarak kullanılan flavonoit ve fenolik asit standartları Çizelge 3.2.'de görülmektedir.

Çizelge 3.2. Analizlerde standart olarak kullanılan flavonoit ve fenolik asit standartları.

Flavonoit Standartları	Fenolik Asit Standartları
Mirsetin	Kafeik asit
Formononetin	Klorojenik asit
Rutin	Elajik asit
Viteksin	Ferulik asit
Orientin	Şiringik asit
Homoorientin	Benzoik asit
Naringenin	Sinamik asit
Apigenin	Trans-sinamik asit
Morin	2-hidroksisinamik asit
Genistein	Vanilik asit
Daidzein	Kateşin
Biokanin A	

Fenolik asit ve flavonoit için uygun piklerin elde edilebilmesi için fenolik bileşiklerin analizinde kabul gören TFA (trifloroasetik asit) yöntemi uygulandı (214).

Kolon: C18 Symmetry kolon (15 cm x 3.9 mm, I.D 5 µm)

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 akış hızı: 1 mL/dk

Enjeksiyon hacmi: 20 µL

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

Program:

Zaman	A	B
0 dk	100	0
20 dk	0	100
30 dk	0	100

3.2.1.2.3 Diosgeninin HPLC Analizleri için Ekstre Hazırlanması

Kurutulmuş ve toz edilmiş tohum ve toprak üstü kısımlarının 3 g'ı petrol eteri ile Soxhlet cihazında 6 saat boyunca ekstre edilerek yağından uzaklaştırıldı. Numunenin kurutulduktan sonra tamamı 300 mL %80'lik etanol ile 80°C'de 3 saat geri çeviren soğutucu ile ısıtılarak ekstre edildi. Süzüldü, çözücü uçuruldu. Kalan ekstrakt 120 mL %70

izopropanolle hazırlanmış 1M H₂SO₄ ile 2 saat 100 °C’de hidroliz edildi. Çözücü uçuruldu. Uçurulduktan sonra kalan ekstrakt 90 mL hekzanda çözüldü. Ekstre 3 kez 30 mL 4N NaOH ile ve sonrasında yine 3 kez 30 mL distile su ile yıkandı. Hekzan uçuruldu. Tohum ekstraktları 3 mL, toprak üstü ekstraktları ise 2 mL metanolde çözüldü, filtre edilip HPLC’ye enjekte edildi (66, 215).

3.2.1.2.3.1 Ekstrelerin Diosgenin Açısından HPLC ile İncelenmesi

Çalışma sırasında kullanılan HPLC koşulları aşağıda belirtildiği gibidir; (216)

Kolon: µBondapak C18 kolon, (250 mm x 4.6 mm, I.D 10 µm)

Mobil faz: Metanol/Su (85:15 h/h), izokratik

Mobil faz akış hızı: 1 mL/dk

Dedektör: DAD- 200 nm

Enjeksiyon hacmi: 10 µL

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

3.2.2. Biyoaktivite Çalışmaları

3.2.2.1. DPPH[•] (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) Yöntemi ile Antioksidan Etki Tayini

Yukarıda anlatılan şekilde hazırlanan ekstraktların herbirinin ve standart olarak kullanılan bütillenmiş hidroksianizol (BHA)’ün farklı konsantrasyon çözeltilerinin (25, 50, 100, 150 ve 200 mg/L) 0.1 mL’si taze hazırlanmış 2.9 mL DPPH[•] çözeltisi ile karıştırıldı. 1 saatlik inkübasyon sonunda 517 nm dalga boyunda ekstraktın absorbansı ölçüldü. Kalibrasyon grafiği çizildi (217, 218).

4. BULGULAR

4.1 Fitokimyasal Çalışmalar

4.1.1 Ana Etken Madde Gruplarının Taranması

4.1.1.1 Alkaloit Teşhisi

Trigonella L. Cylindricae Seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarına uygulanan alkaloit reaksiyonları sonuçları Çizelge 4.1.'de görülmektedir.

Çizelge 4.1. Çalışılan *Trigonella* türlerinde alkaloit teşhis reaksiyonları sonuçları.

Tür	Kullanılan Kısım	Dragendorff Reaktifi		Mayer Reaktifi	
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	+	-	+	-
	Toprak üstü	+	-	+	-
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	+	-	+	-
	Toprak üstü	+	-	+	-
<i>T. kotschyi*</i>	Tohum	+	-	+	-
	Toprak üstü	+	-	+	-
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	+	-	+	-
	Toprak üstü	+	-	+	-
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	+	-	+	-
	Toprak üstü	+	-	+	-
<i>T. cilicica*</i>	Tohum	+	-	+	-
	Toprak üstü	+	-	+	-
<i>T. flipes</i>	Tohum	+	+	+	+
	Toprak üstü	+	-	+	-
<i>T. velutina</i>	Tohum	+	+	+	+
	Toprak üstü	+	-	+	-
<i>T. strangulata</i>	Tohum	+	+	+	+
	Toprak üstü	+	-	+	-
<i>T. smyrnea*</i>	Tohum	+	+	+	+
	Toprak üstü	+	-	+	-

* Endemik türler

4.1.1.2. Kardiyoaktif Heterozit Teşhisi

Trigonella L. Cylindraceae Seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarına uygulanan kardiyoaktif heterozit teşhis reaksiyonu sonuçları Çizelge 4.2.'de görülmektedir.

Çizelge 4.2. Çalışılan *Trigonella* türlerinde kardiyoaktif heterozit teşhis reaksiyonları sonuçları.

Tür	Kullanılan Kısım	Keller-Kliani Reaksiyonu	Baljet Reaksiyonu	Liebermann- Burchard Reaksiyonu
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-
<i>T. kotschyi*</i>	Tohum	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-
<i>T. cilicica*</i>	Tohum	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-
<i>T. filipes</i>	Tohum	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-
<i>T. velutina</i>	Tohum	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-
<i>T. strangulata</i>	Tohum	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-
<i>T. smyrnea*</i>	Tohum	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-

*Endemik türler

4.1.1.3. Saponozit Teşhisi

*Trigonella L. Cylindrica*e Seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarına uygulanan saponozit teşhis reaksiyonu sonuçları Çizelge 4.3.'de görülmektedir.

Çizelge 4.3. Çalışılan *Trigonella* türlerinde saponozit teşhis reaksiyonları sonuçları.

Tür	Kullanılan Kısım	Saponozit	
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	+	+
	Toprak üstü	+	+
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	+	+
	Toprak üstü	+	+
<i>T. kotschyi*</i>	Tohum	+	+
	Toprak üstü	+	+
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	+	+
	Toprak üstü	+	+
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	+	+
	Toprak üstü	+	+
<i>T. cilicica*</i>	Tohum	+	+
	Toprak üstü	+	+
<i>T. flipes</i>	Tohum	+	+
	Toprak üstü	+	+
<i>T. velutina</i>	Tohum	+	+
	Toprak üstü	+	+
<i>T. strangulata</i>	Tohum	+	+
	Toprak üstü	+	+
<i>T. smyrnea*</i>	Tohum	+	+
	Toprak üstü	+	+

*Endemik türler

4.1.1.4. Flavonozit Teşhisi

Trigonella L. Cylindrica Seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarına uygulanan flavonozit teşhis reaksiyonu sonuçları Çizelge 4.4.'de görülmektedir.

Çizelge 4.4. Çalışılan *Trigonella* türlerinde flavonozit teşhis reaksiyonları sonuçları.

Tür	Kullanılan Kısım	%10'lük NH ₃	Kurşun asetat	%5'lik FeCl ₃	Siyanidin Reaksiyonu
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	+	+	+	-
	Toprak üstü	+	+	+	-
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	+	+	+	-
	Toprak üstü	+	+	+	-
<i>T. kotschy*</i>	Tohum	+	+	+	-
	Toprak üstü	+	+	+	-
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	+	+	+	-
	Toprak üstü	+	+	+	-
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	+	+	+	-
	Toprak üstü	+	+	+	-
<i>T. cilicica*</i>	Tohum	+	+	+	-
	Toprak üstü	+	+	+	-
<i>T. filipes</i>	Tohum	+	+	+	-
	Toprak üstü	+	+	+	+ ^a
<i>T. velutina</i>	Tohum	+	+	+	-
	Toprak üstü	+	+	+	-
<i>T. strangulata</i>	Tohum	+	+	+	-
	Toprak üstü	+	+	+	+ ^a
<i>T. smyrnea*</i>	Tohum	+	+	+	-
	Toprak üstü	+	+	+	+ ^a

*Endemik türler; ^a: Flavonon

4.1.1.5. Antosiyanozit Teşhisi

Trigonella L. Cylindrica Seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarına uygulanan antosiyanozit teşhis reaksiyonu sonuçları Çizelge 4.5.'de görülmektedir.

Çizelge 4.5. Çalışılan *Trigonella* türlerinde antosiyanozit teşhis reaksiyonları sonuçları.

Tür	Kullanılan Kısım	Seyreltik H ₂ SO ₄	NaOH-HCl	Kurşun asetat	Amilalkol	Seyreltik H ₂ SO ₄ Amilalkol
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	-	-	+	-	-
	Toprak üstü	-	-	+	-	-
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	-	-	+	-	-
	Toprak üstü	-	-	+	-	-
<i>T. kotschyi*</i>	Tohum	-	-	+	-	-
	Toprak üstü	-	-	+	-	-
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	-	-	+	-	-
	Toprak üstü	-	-	+	-	-
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	-	-	+	-	-
	Toprak üstü	-	-	+	-	-
<i>T. cilicica*</i>	Tohum	+	+	+	+	+
	Toprak üstü	-	-	+	-	-
<i>T. filipes</i>	Tohum	-	-	+	-	-
	Toprak üstü	-	-	+	-	-
<i>T. velutina</i>	Tohum	+	+	+	+	+
	Toprak üstü	-	-	+	-	-
<i>T. strangulata</i>	Tohum	+	+	+	+	+
	Toprak üstü	-	-	+	-	-
<i>T. smyrnea*</i>	Tohum	+	+	+	+	+
	Toprak üstü	-	-	+	-	-

*Endemik türler

4.1.1.6. Siyanogenetik Heterozit Teşhisi

Trigonella L. Cylindraceae Seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarına uygulanan siyanogenetik heterozit teşhis reaksiyonu sonuçları Çizelge 4.6.'de görülmektedir.

Çizelge 4.6. Çalışılan *Trigonella* türlerinde siyanogenetik heterozit teşhis reaksiyonları sonuçları.

Tür	Kullanılan Kısım	Siyanogenetik Heterozit
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. kotschy*</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. cilicica*</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. filipes</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. velutina</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. strangulata</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. smyrnea*</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-

*Endemik türler

4.1.1.7. Tanen Teşhisi

Trigonella L. Cylindrica Seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarına uygulanan tanen teşhis reaksiyonu sonuçları Çizelge 4.7.'de görülmektedir.

Çizelge 4.7. Çalışılan *Trigonella* türlerinde tanen teşhis reaksiyonları sonuçları.

Tür	Kullanılan Kısım	%5'lik FeCl ₃	Tuzlu Jelatin	Stiasny Reaktifi	Bromlu Su
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	+	+	+ ^a	+
	Toprak üstü	-	-	-	-
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	+	+	+ ^a	+
	Toprak üstü	-	-	-	-
<i>T. kotschyi</i> *	Tohum	+	+	- ^b	+
	Toprak üstü	-	-	-	-
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	+	+	+ ^a	+
	Toprak üstü	-	-	-	-
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	-	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-	-
<i>T. cilicica</i> *	Tohum	+	+	+ ^a	+
	Toprak üstü	-	-	-	-
<i>T. filipes</i>	Tohum	+	+	+ ^a	+
	Toprak üstü	-	-	-	-
<i>T. velutina</i>	Tohum	-	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-	-
<i>T. strangulata</i>	Tohum	-	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-	-
<i>T. smyrnea</i> *	Tohum	-	-	-	-
	Toprak üstü	-	-	-	-

*Endemik türler; ^a: Katesik tanen; ^b: Gallik tanen

4.1.1.8. Antrasen Türevi Heterozitlerin Teşhisi

Trigonella L. Cylindraceae Seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarına uygulanan antrasen türevi heterozit teşhis reaksiyonu sonuçları Çizelge 4.8.'de görülmektedir.

Çizelge 4.8. Çalışılan *Trigonella* türlerinde antrasen türevi heterozit teşhis reaksiyonları sonuçları.

Tür	Kullanılan Kısım	Antrasenozit
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. kotschy*</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. cilicica*</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. filipes</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. velutina</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. strangulata</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. smyrnea*</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-

*Endemik türler

4.1.1.9. Kumarin Teşhisi

Trigonella L. Cylindraceae Seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarına uygulanan kumarin teşhis reaksiyonu sonuçları Çizelge 4.9.'de görülmektedir.

Çizelge 4.9. Çalışılan *Trigonella* türlerinde kumarin teşhis reaksiyonları sonuçları.

Tür	Kullanılan Kısım	Kumarin
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	+
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	+
<i>T. kotschy*</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	+
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	+
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	+
<i>T. cilicica*</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	+
<i>T. filipes</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	+
<i>T. velutina</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	+
<i>T. strangulata</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	+
<i>T. smyrnea*</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	+

*Endemik türler

4.1.1.10. Sabit Yağ Teşhisi

Trigonella L. Cylindricae Seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarına uygulanan sabit yağ teşhis reaksiyonu sonuçları Çizelge 4.10.'da görülmektedir.

Çizelge 4.10. Çalışılan *Trigonella* türlerinde sabit yağ teşhis reaksiyonları sonuçları.

Tür	Kullanılan Kısım	Sabit Yağ
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	-
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	-
<i>T. kotschy*</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	-
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	-
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	-
<i>T. cilicica*</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	-
<i>T. filipes</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	-
<i>T. velutina</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	-
<i>T. strangulata</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	-
<i>T. smyrnea*</i>	Tohum	+
	Toprak üstü	-

*Endemik türler

4.1.1.11. Oz Tanıma Reaksiyonları

*Trigonella L. Cylindrica*e Seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarına uygulanan oz tanıma reaksiyonu sonuçları Çizelge 4.11.'de görülmektedir.

Çizelge 4.11. Çalışılan *Trigonella* türlerinde oz tanıma reaksiyonları sonuçları.

Tür	Kullanılan Kısım	Fehling Reaksiyonu	Molisch Reaksiyonu	Seliwanoff Reaksiyonu
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	-	+	- -
	Toprak üstü	-	+	- -
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	-	+	- -
	Toprak üstü	+ ^a	+	- -
<i>T. kotschyi</i> *	Tohum	-	+	- -
	Toprak üstü	+ ^a	+	- -
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	-	+	- -
	Toprak üstü	-	+	- -
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	-	+	- -
	Toprak üstü	-	+	- -
<i>T. cilicica</i> *	Tohum	-	+	- -
	Toprak üstü	-	+	- -
<i>T. filipes</i>	Tohum	-	+	- -
	Toprak üstü	-	+	- -
<i>T. velutina</i>	Tohum	-	+	- -
	Toprak üstü	+ ^a	+	- -
<i>T. strangulata</i>	Tohum	-	+	- -
	Toprak üstü	-	+	- -
<i>T. smyrnea</i> *	Tohum	-	+	- -
	Toprak üstü	-	+	- -

*Endemik türler; ^a: Aldo

4.1.1.12. Nişasta Teşhisi

Trigonella L. Cylindricae Seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarına uygulanan nişasta teşhis reaksiyonu sonuçları Çizelge 4.12.'de görülmektedir.

Çizelge 4.12. Çalışılan *Trigonella* türlerinde nişasta teşhis reaksiyonları sonuçları.

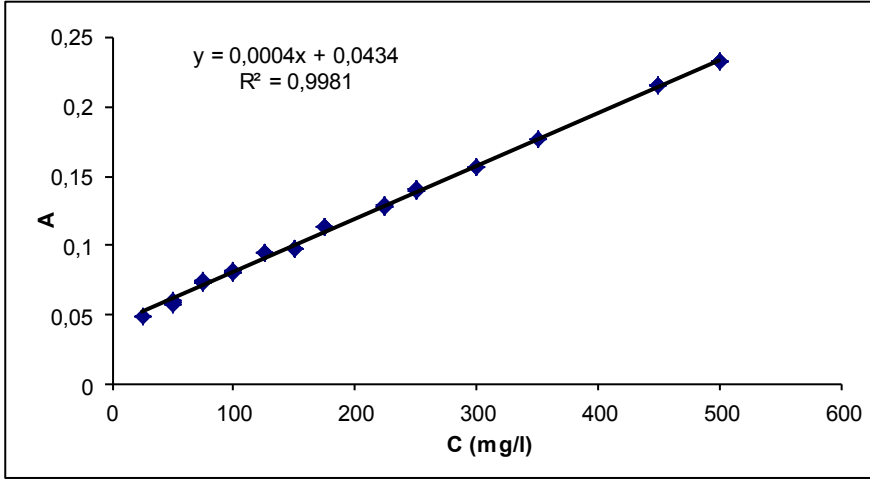
Tür	Kullanılan Kısım	Nişasta
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. kotschy*</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. cilicica*</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. filipes</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. velutina</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. strangulata</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-
<i>T. smyrnea*</i>	Tohum	-
	Toprak üstü	-

*Endemik türler

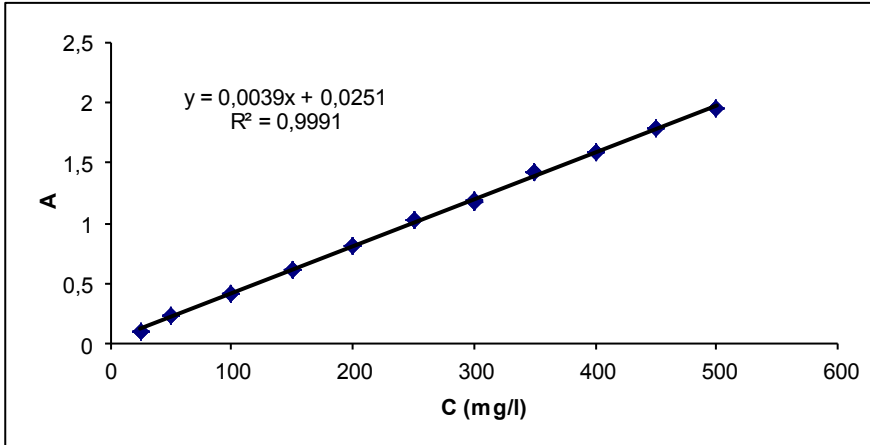
4.1.2. Ekstraksiyon Çalışmaları

4.1.2.1. Total Fenol ve Total Flavonoit Miktarları

Ekstrelerin total fenol ve total flavonoit miktarlarının hesaplanabilmesi için sırasıyla, gallik asit ve rutin standartlarının kalibrasyon eğrileri hazırlanmış ve Şekil 4.1. ve 4.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Gallik asit için kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemleri- Total fenol için



Şekil 4.2. Rutin için kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemleri- Total flavonoit için

Buna göre ekstrelerde hesaplanan total fenol ve total flavonoit miktarları Çizelge 4.13.'de görülmektedir.

Çizelge 4.13. *Trigonella* L. Seksiyon *Cylindricae* taksonlarında tesbit edilen total fenol ve total flavonoit miktarları.

Türler	Tohum		Toprak üstü	
	Total fenol (mg/g)	Total flavonoit (mg/g)	Total fenol (mg/g)	Total flavonoit (mg/g)
<i>T. spruneriana</i>	191.90±0.86	128.04±0.09	83.46±0.24	62.85±0.03
<i>T. sibthorpii</i>	137.34±0.34	104.27±0.09	113.32±1.13	73.15±0.07
<i>T. kotschyi</i> *	166.06±1.45	109.75±0.05	97.30±0.43	86.29±0.13
<i>T. mesopotamica</i>	94.83±0.08	84.00±0.93	107.16±0.52	82.95±0.13
<i>T. cylindracea</i>	125.80±0.85	109.21±0.12	90.91±0.94	73.72±0.04
<i>T. cilicica</i> *	158.86±1.75	118.89±0.03	139.35±0.36	64.01±0.17
<i>T. filipes</i>	109.79±1.08	92.72±0.03	138.69±1.15	107.25±0.04
<i>T. velutina</i>	138.95±0.55	121.21±0.11	139.88±0.38	110.31±0.09
<i>T. strangulata</i>	201.35±0.51	121.84±0.05	84.99±0.58	71.64±0.04
<i>T. smyrnea</i> *	145.33±0.83	112.22±0.20	79.90±0.38	61.51±0.06

*Endemik türler. (Ortalama±Standart Sapma)

Çizelge incelendiğinde ekstrelerdeki total fenol miktarlarının 79.90-201.35 mg/g arasında, total flavonoit miktarlarının ise 61.51-128.04 mg/g arasında değiştiği görülmektedir. En yüksek total fenol miktarı tohumda *T. strangulata*, toprak üstünde ise *T. velutina*'da görülmektedir. En yüksek total flavonoit miktarı ise tohumda *T. spruneriana*, toprak üstünde ise *T. velutina*'da görülmektedir.

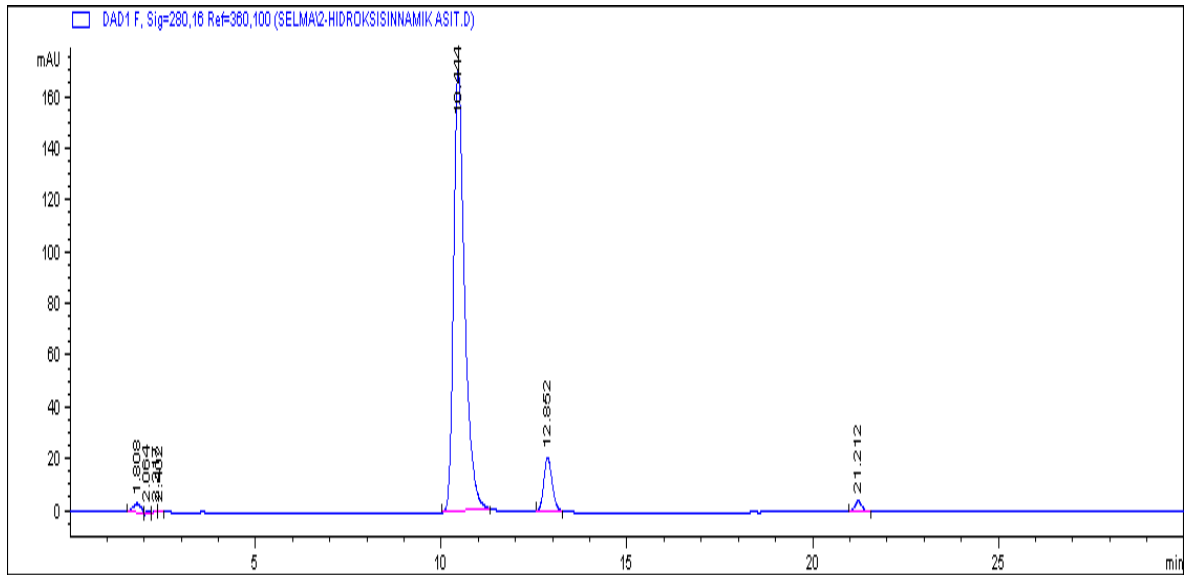
4.1.2.2. Ekstrelerin Fenolik Bileşiklerinin HPLC Analizleri

Trigonella L. *Cylindricae* seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstlerinden deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan ekstrelerin HPLC'de analizleri için standart olarak kullanılan fenolik asit ve flavonoitlerin maksimum dalga boyları ve alıkonma süreleri Çizelge 4.14.'de görülmektedir.

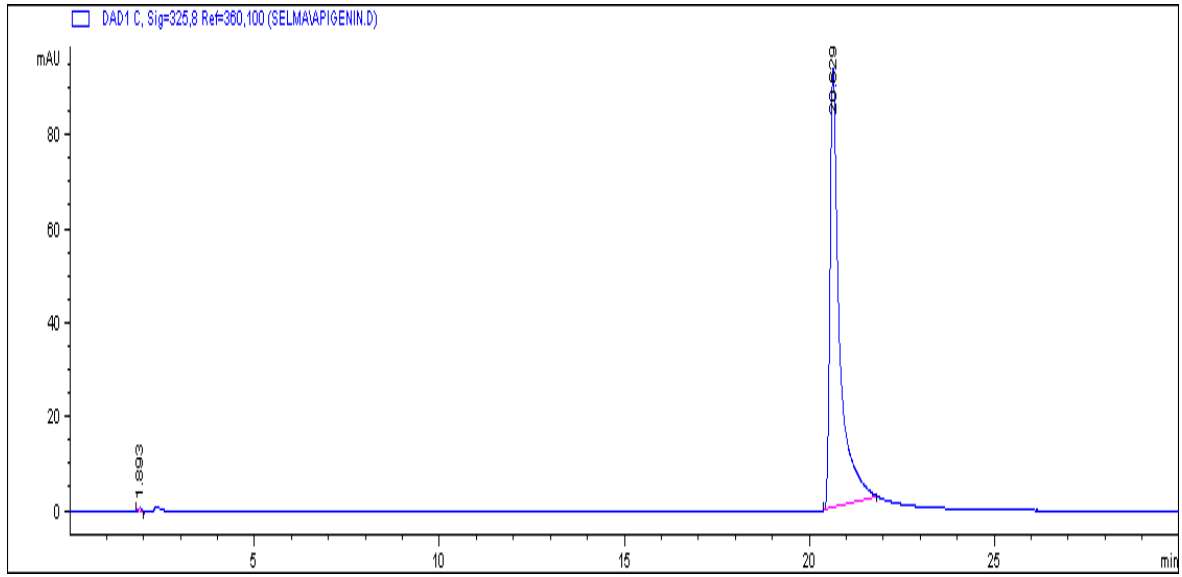
Çizelge 4.14. Fenolik asit ve flavonoit standartlarının 0.6 mL/dk akış hızındaki maksimum dalga boyları ve alıkonma süreleri.

Flavonoitler			Fenolik Asitler		
Standartlar	λ_{Max} (nm)	Rt	Standartlar	λ_{Max} (nm)	Rt
Homoorientin	349	2.188	Kateşin	280	2.226
Orientin	349	2.232	Klorojenik asit	325	2.233
Viteksin	325	2.237	Kafeik asit	325	2.266
Mirsetin	370	10.448	Benzoik asit	250	2.282
Morin	250	13.524	Elajik asit	250	2.328
Daidzein	250	14.222	Şiringik asit	280	2.358
Naringenin	290	20.146	Vanilik asit	270	2.403
Genistein	250	20.284	Ferulik asit	325	5.945
Biokanin A	250	20.335	2-hidroksisinnamik asit	280	10.444
Apigenin	325	20.629	Trans-sinnamik asit	280	17.774
Rutin	250	22.988	Sinnamik asit	280	17.778
Formononetin	250	25.204			

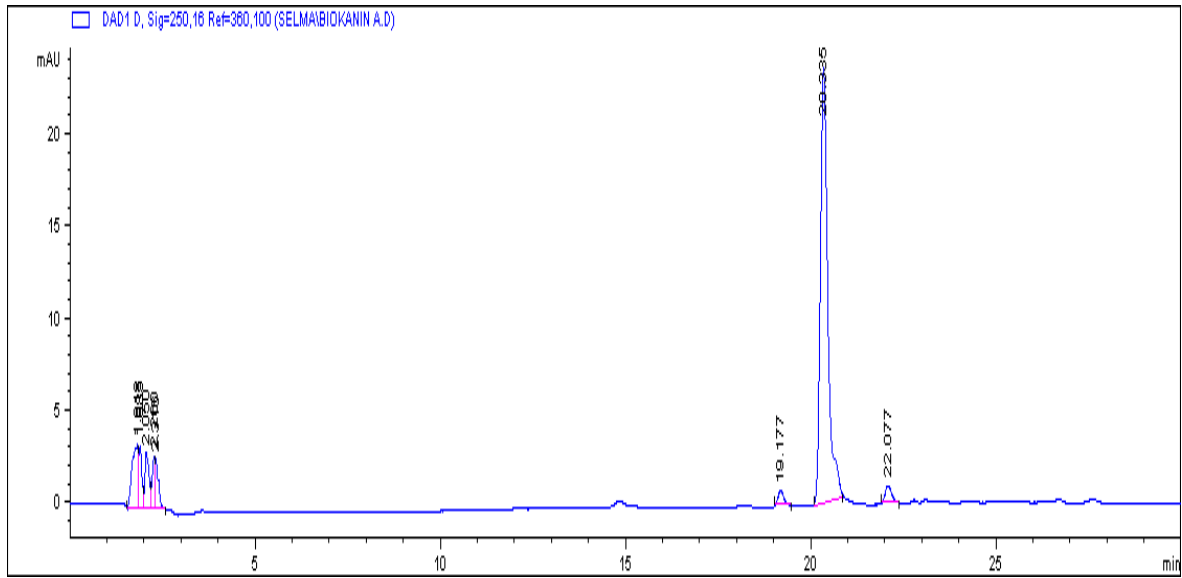
Standartlardan bazılarının kromatogramları Şekil 4.3.-Şekil 4.10.'da görülmektedir.



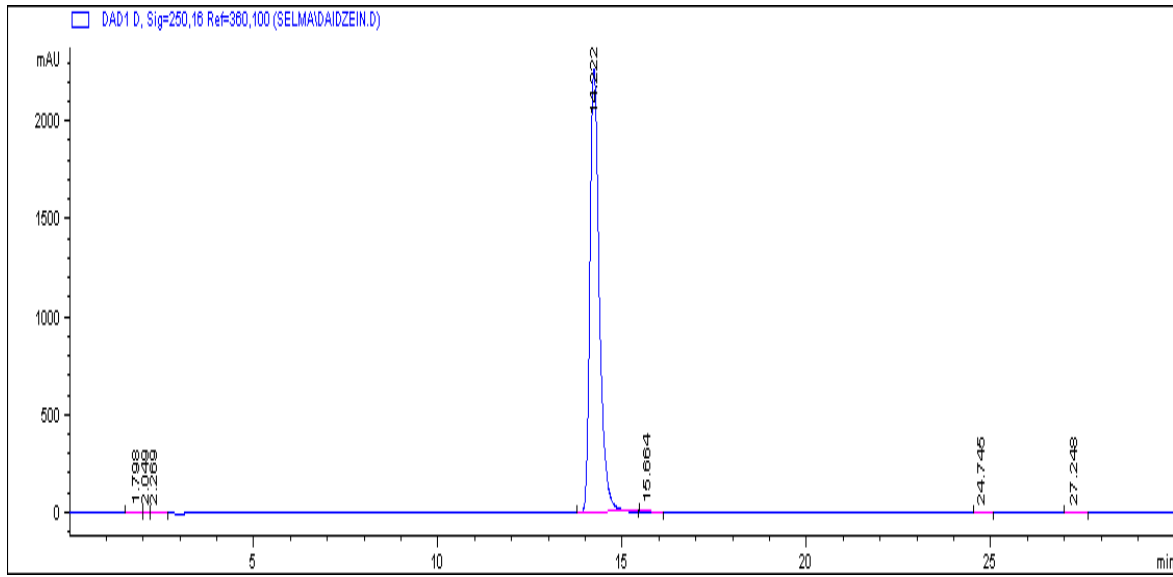
Şekil 4.3. 2-Hidroksisinnamik asit standardının HPLC analizine ait kromatogram.



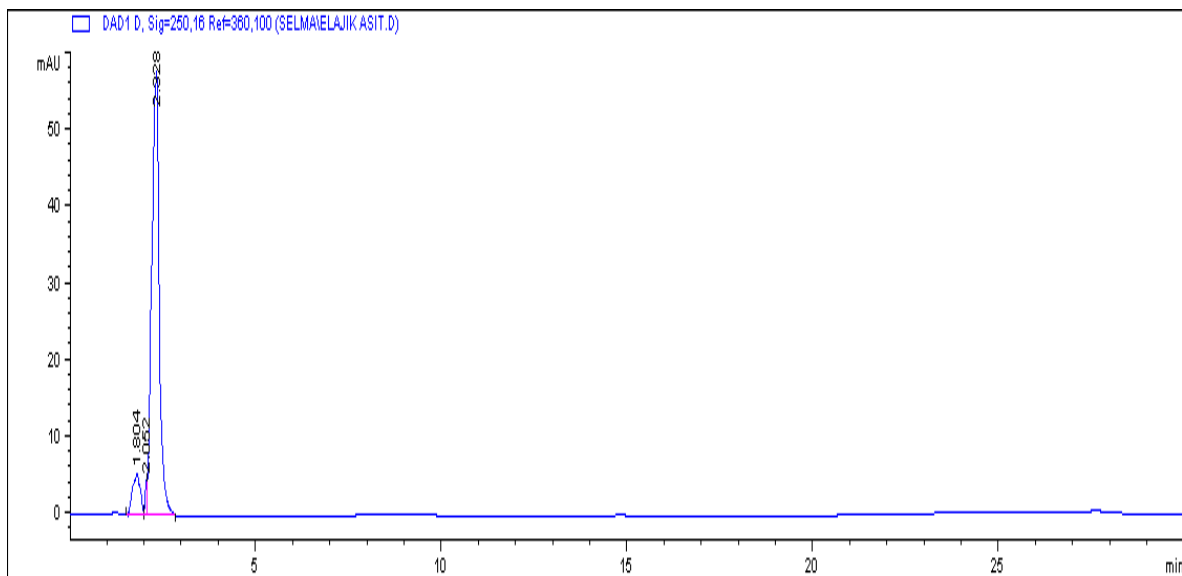
Şekil 4.4. Apigenin standardının HPLC analizine ait kromatogram.



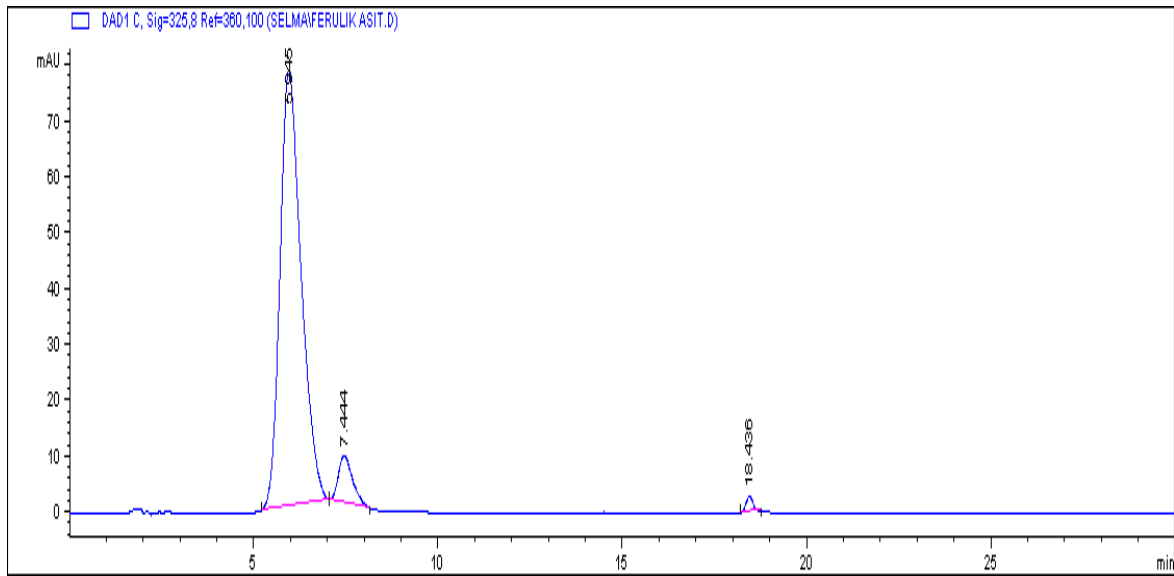
Şekil 4.5. Biokanin A standardının HPLC analizine ait kromatogram.



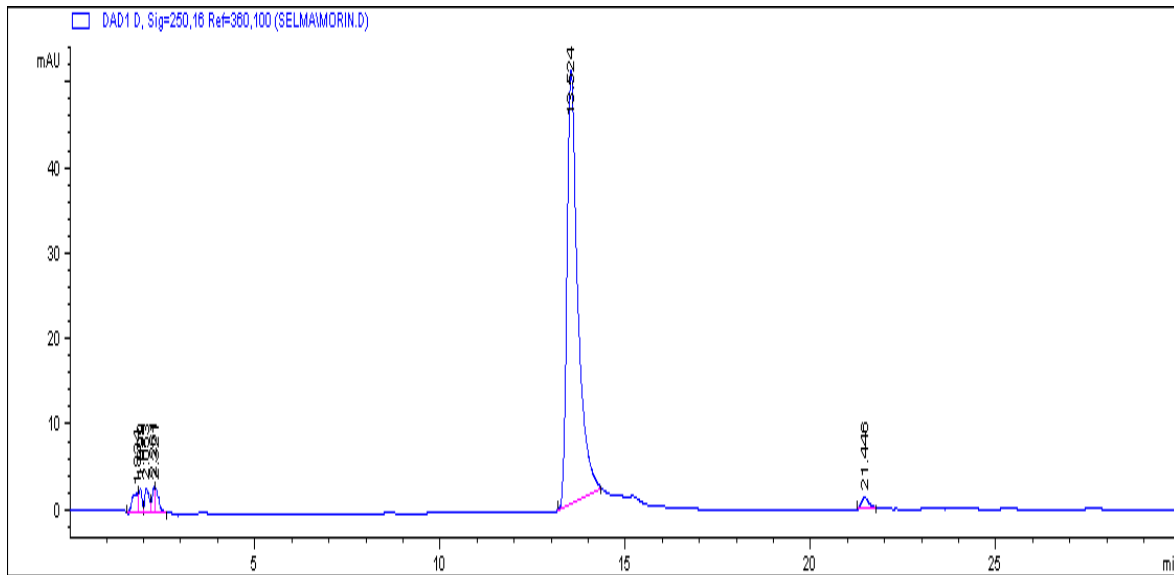
Şekil 4.6. Daidzein standardının HPLC analizine ait kromatogram.



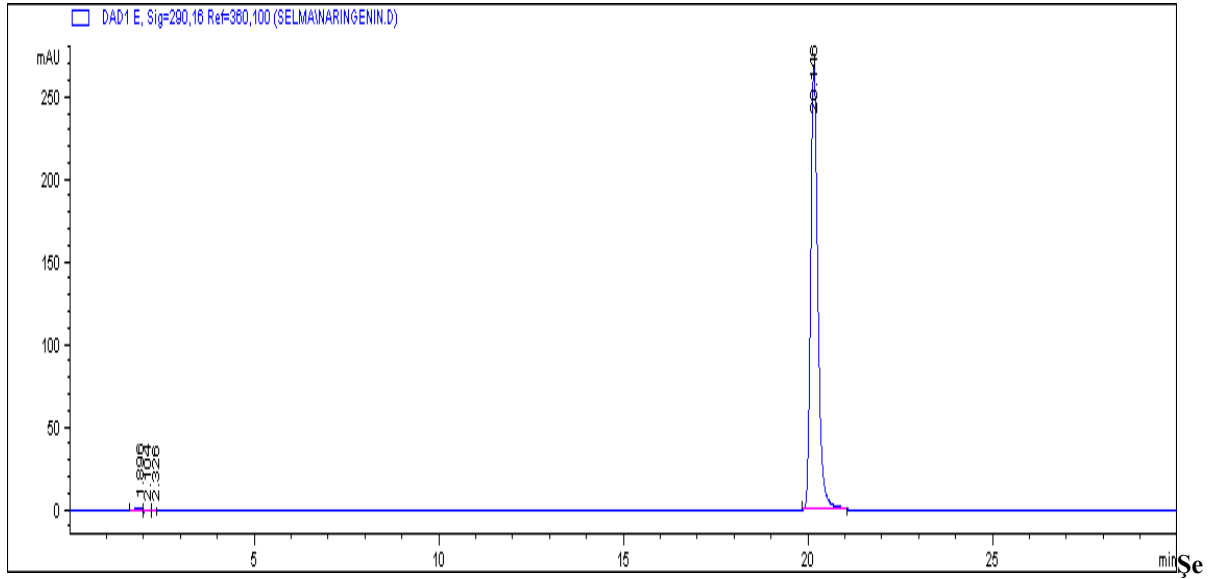
Şekil 4.7. Elajik asit standardının HPLC analizine ait kromatogram.



Şekil 4.8. Ferulik asit standardının HPLC analizine ait kromatogram.

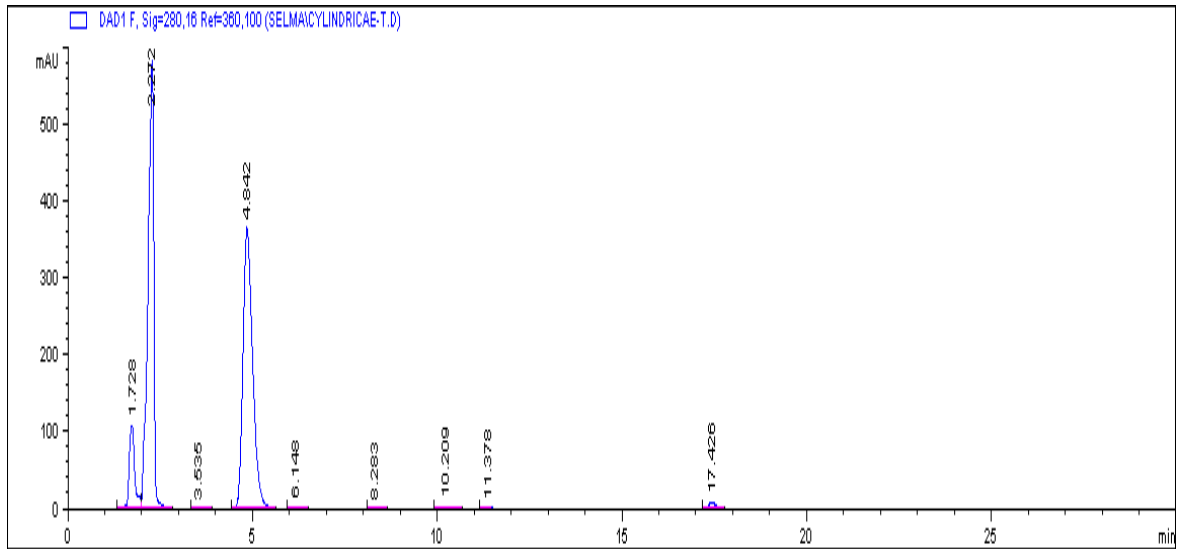


Şekil 4.9. Morin standardının HPLC analizine ait kromatogram.

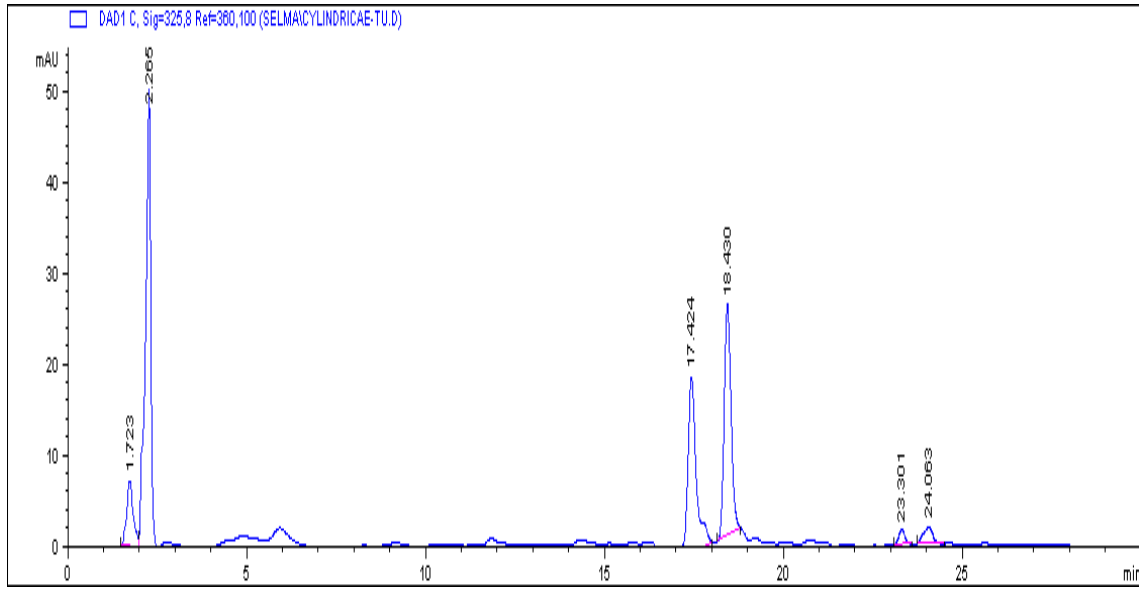


Şekil 4.10. Naringenin standardının HPLC analizine ait kromatogram.

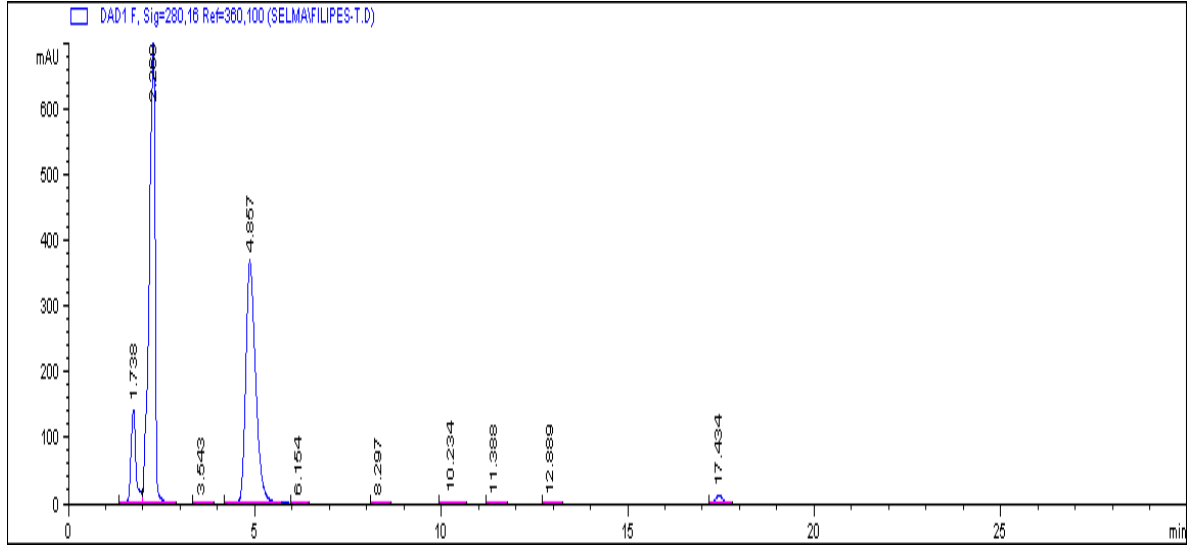
Bitkilerin deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan ekstrelerinden bazılarının fenolik bileşen profili Şekil 4.11. – Şekil 4.19.’de görülmektedir.



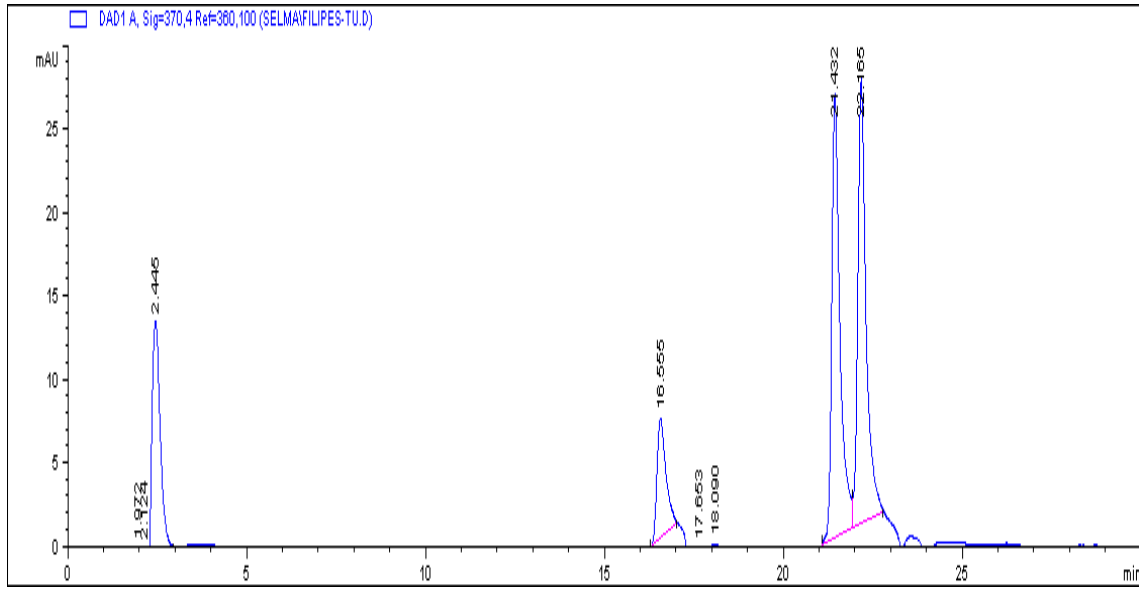
Şekil 4.11. *T. cylindrica* tohum ekstrisinin HPLC analizine ait kromatogram



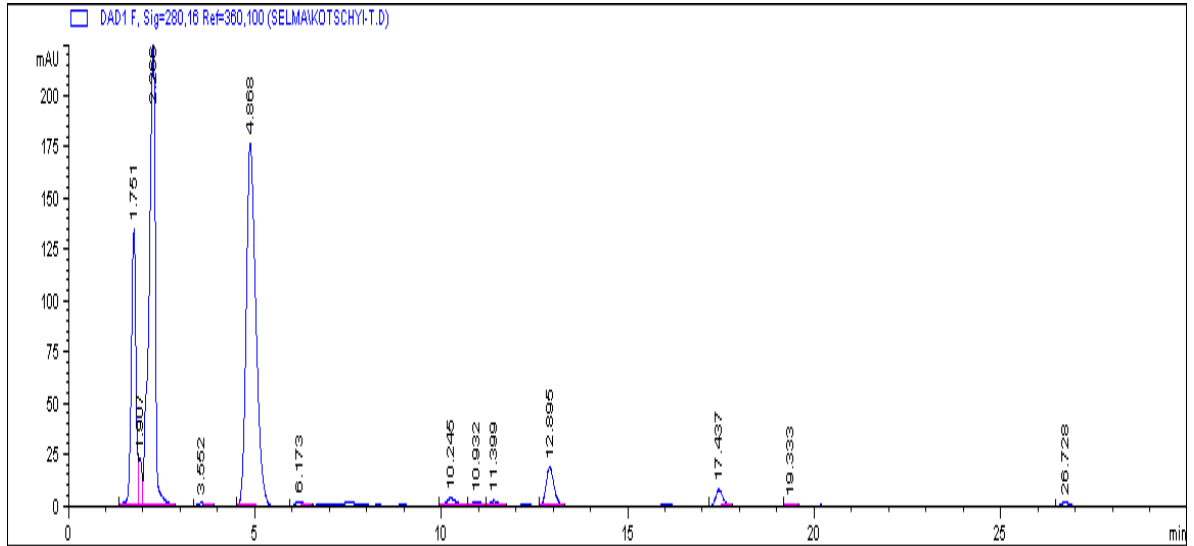
Şekil 4.12. *T. cylindrica* toprak üstü ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram



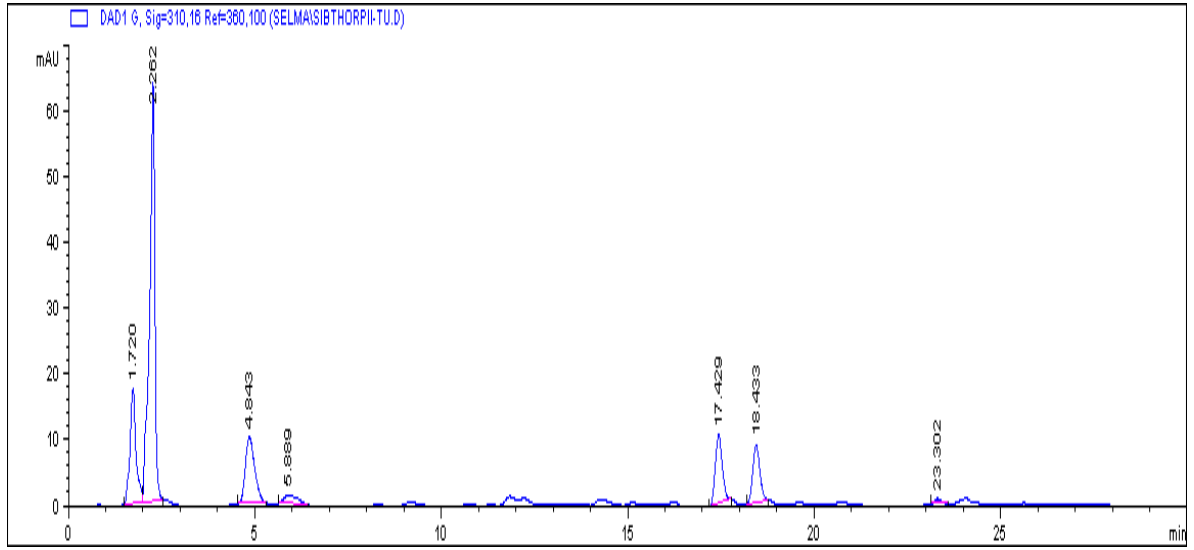
Şekil 4.13. *T. filipes* tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram



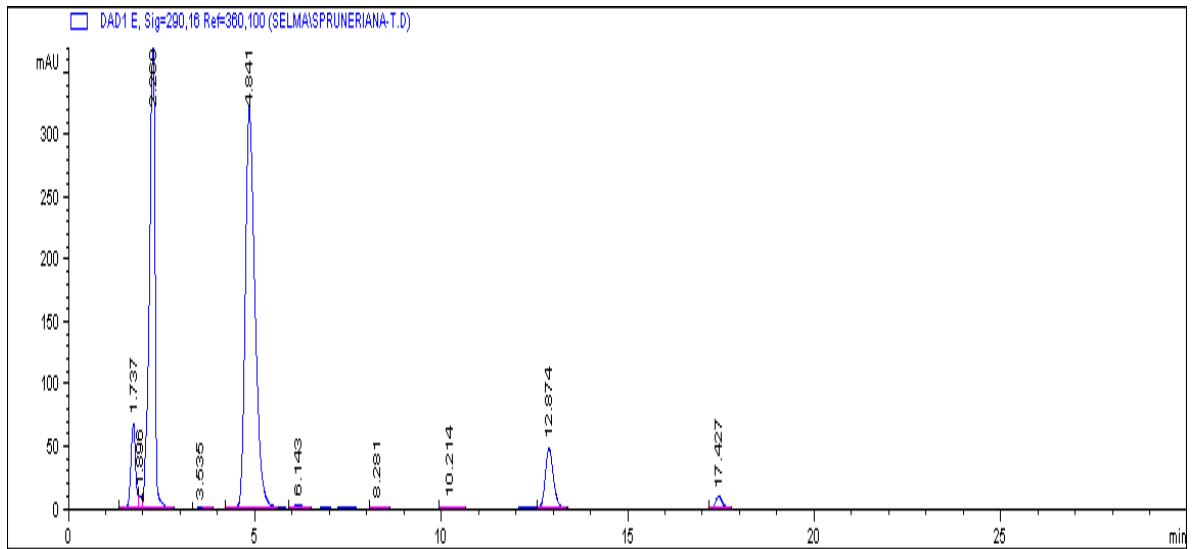
Şekil 4.14. *T. filipes* toprak üstü ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram



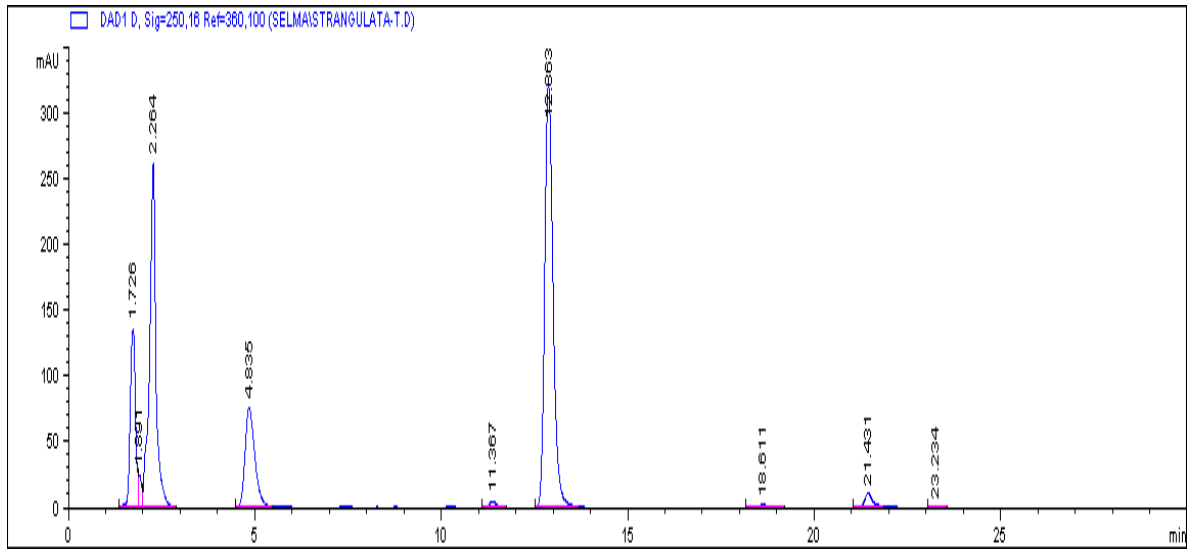
Şekil 4.15. *T. kotschyi* tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram



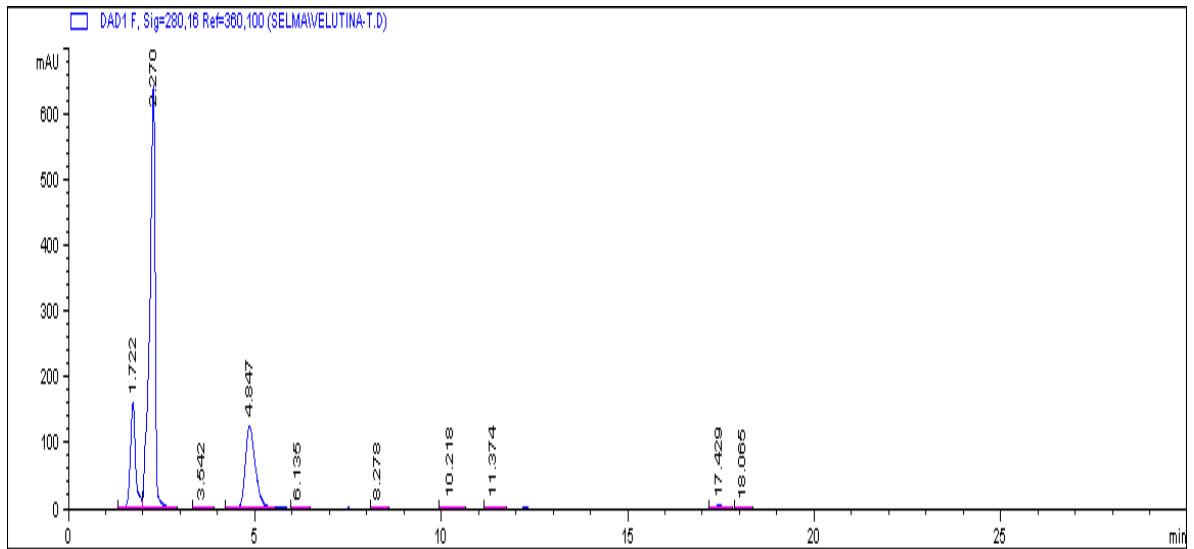
Şekil 4.16. *T. sibthorpii* toprak üstü ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram



Şekil 4.17. *T. spruneriana* tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram



Şekil 4.18. *T. strangulata* tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram

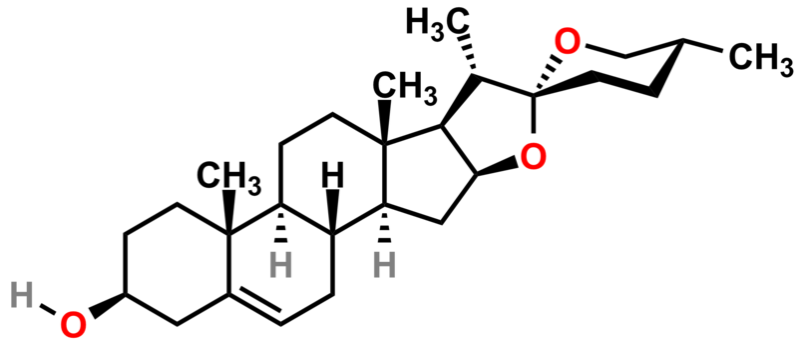


Şekil 4.19. *T. velutina* tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram

Çalıştığımız tohum ve toprak üstü ekstralarının kromatogramlarında da görüldüğü üzere çok az sayıda pik gözlenmiş olup bunların elimizde bulunan mevcut fenolik asit ve flavonoit standartlarının alıkonma süreleri ile uyumlu olmadıkları tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerin çoğunda bulunan az sayıdaki piklerin kantitatif olarak çok düşük miktarlarda bulunduğu gözlenmektedir.

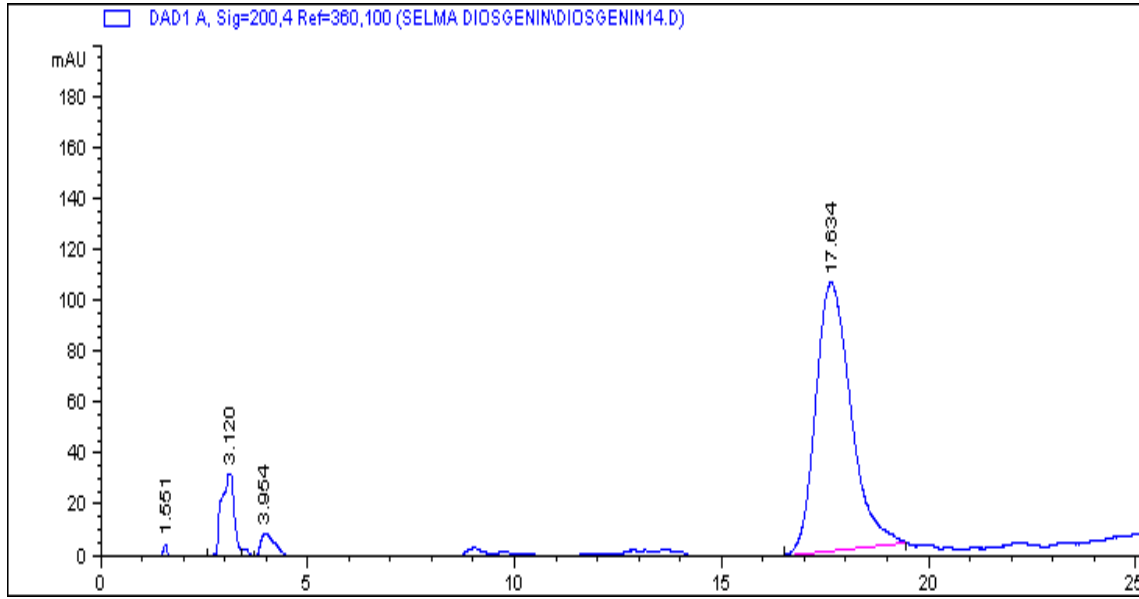
4.1.2.3. Ekstrelerin Diosgenin Açısından HPLC ile Analizleri

Trigonella L. Cylindrica seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstlerinden deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan ekstraların HPLC’de kantitatif analizleri için standart olarak diosgenin kullanılmıştır.

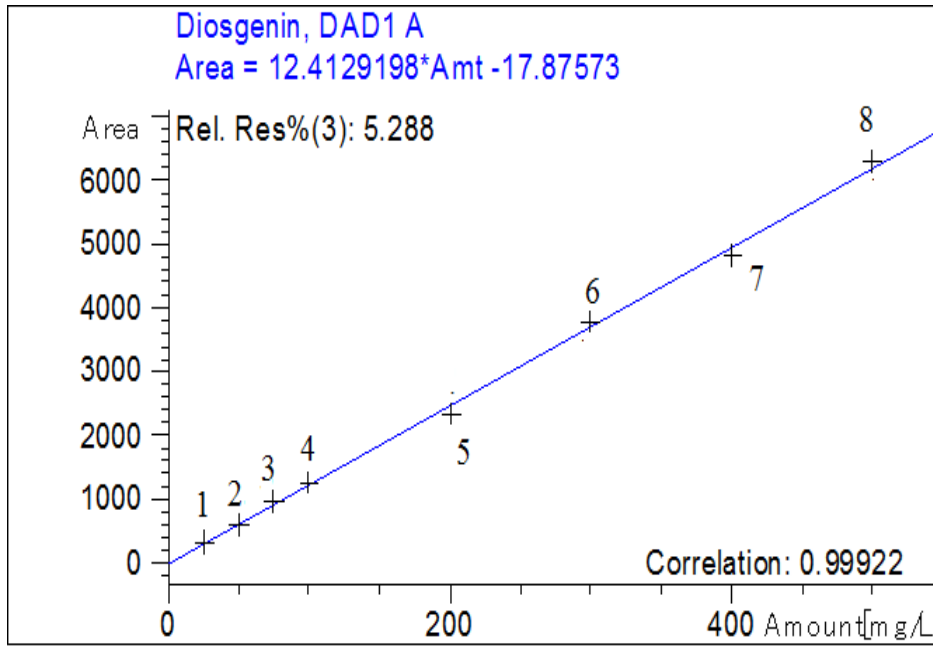


Şekil 4.20. Diosgeninin molekül yapısı

Ekstrelerde bulunan diosgeninin teşhisi ve miktar tayini diosgenin standardının hazırlanan kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak yapılmıştır. Kantitatif tayin için standardın farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerinin analizleri sonucunda kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve regresyon denklemi hesaplanmıştır (Şekil 4.21., Şekil 4.22.).

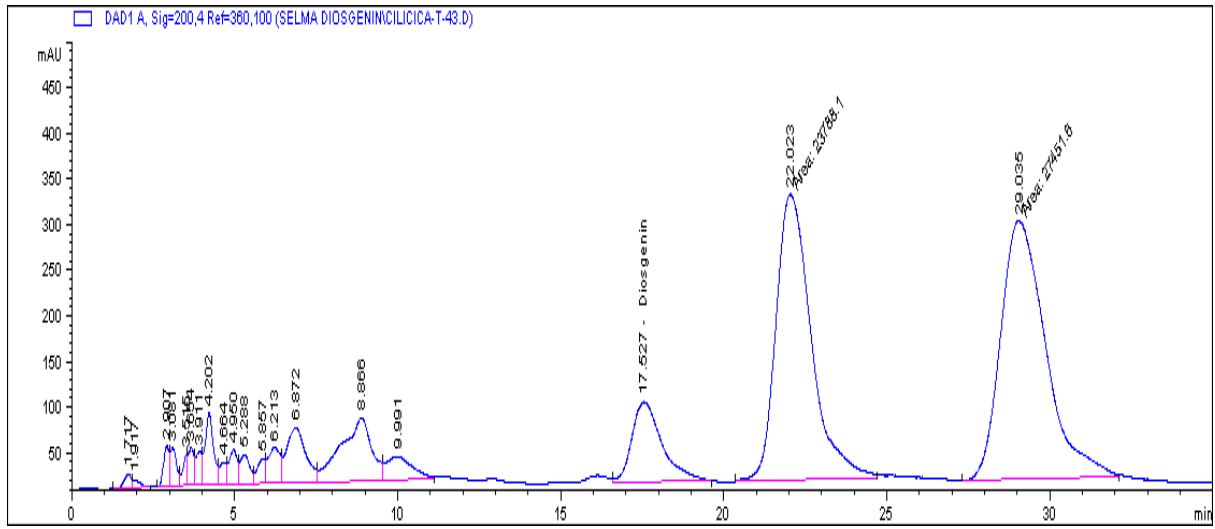


Şekil 4.21. Diosgeninin HPLC analizine ait kromatogram (akış hızı: 1 mL/dk).

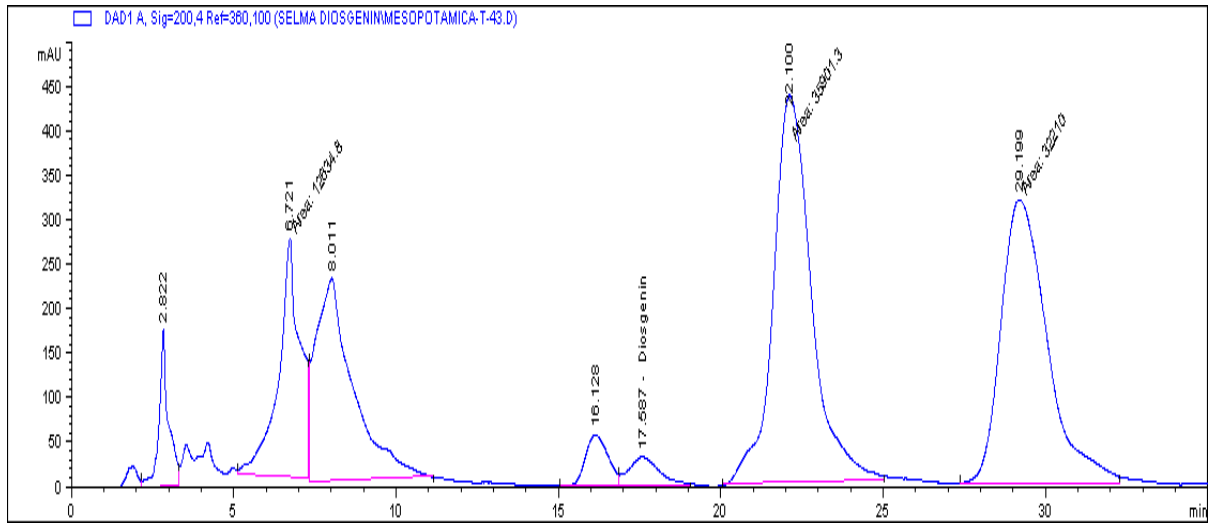


Şekil 4.22. Diosgenin standardının kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemleri.

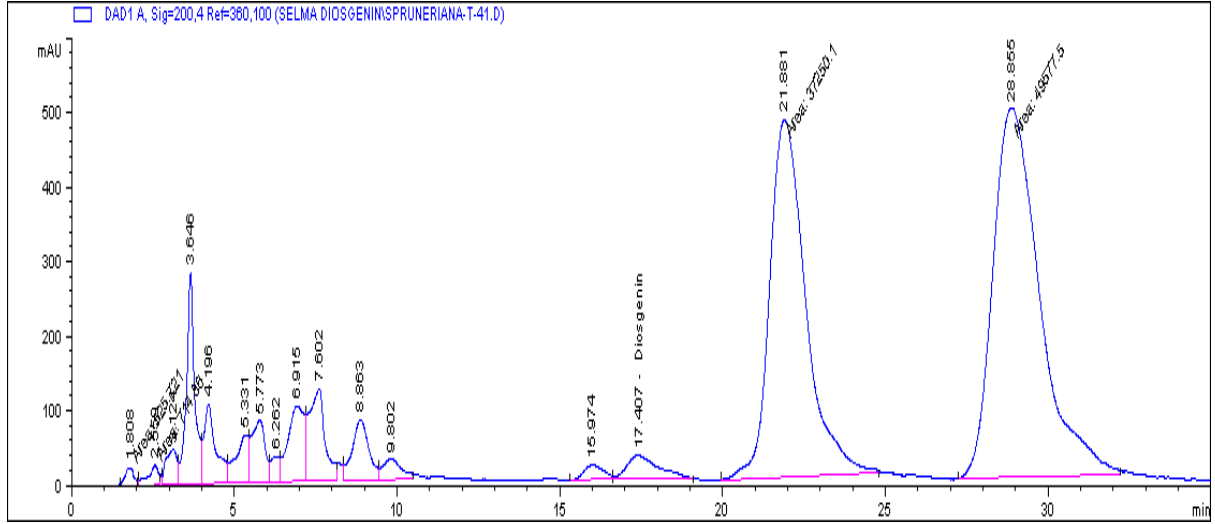
Bitkilerin deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan tohum ve toprak üstü ekstraktlarından bazılarının kromatogramları Şekil 4.23. – Şekil 4.26.'da görülmektedir.



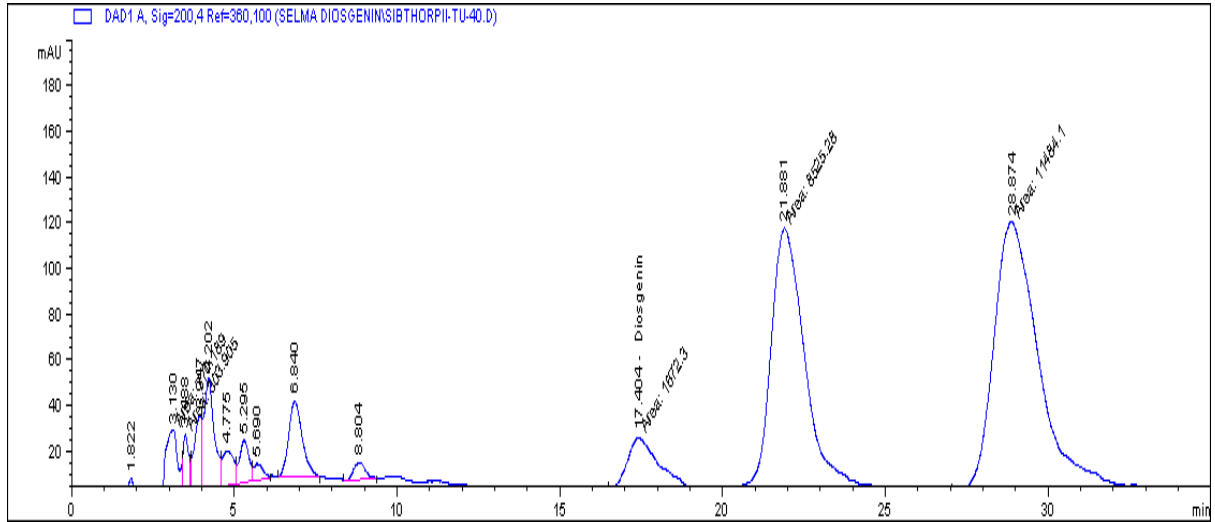
Şekil 4.23. *T. cilicica* tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram.



Şekil 4.24. *T. mesopotamica* tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram.



Şekil 4.25. *T. spruneriana* tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram.



Şekil 4.26. *T. sibthorpii* toprak üstü ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram.

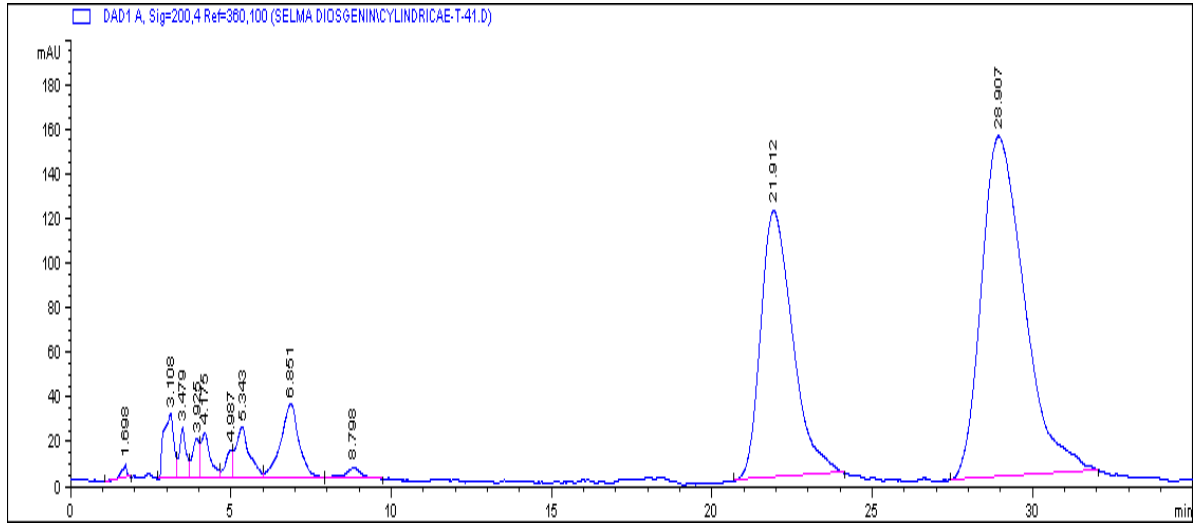
Trigonella L. Cylindrica seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü ekstrlerinde saptanan diosgenin miktarları Çizelge 4.15.'de görülmektedir.

Çizelge 4.15. *Trigonella* L. Seksiyon *Cylindricae* türlerinin tohum ve toprak üstü kısımlarında tesbit edilen diosgenin miktarları (mg/g).

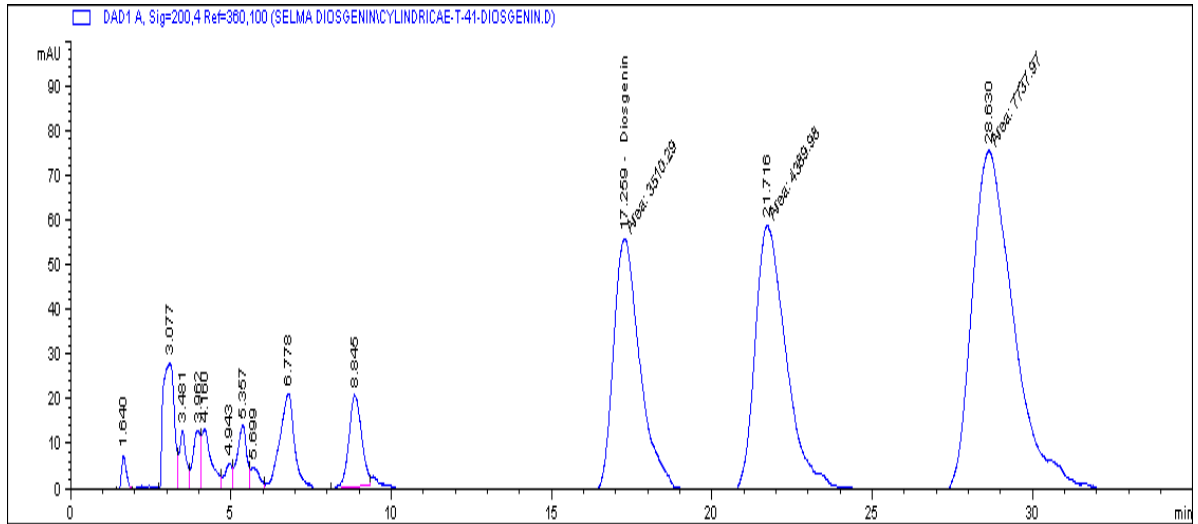
Türler	Diosgenin Miktarı (mg/g)	
	Tohum	Toprak üstü
<i>T. spruneriana</i>	0.18±0.005	0.03±0.005
<i>T. sibthorpii</i>	0.06±0.005	0.1±0.005
<i>T. kotschyi</i> *	0.07±0.005	-
<i>T. mesopotamica</i>	0.18±0.008	-
<i>T. cylindracea</i>	-	0.1±0.005
<i>T. cilicica</i> *	0.52±0.013	0.16±0.005
<i>T. filipes</i>	0.07±0.005	-
<i>T. velutina</i>	0.22±0.005	0.07±0.005
<i>T. strangulata</i>	-	-
<i>T. smyrnea</i> *	0.15±0.005	0.06±0.000

*Endemik türler

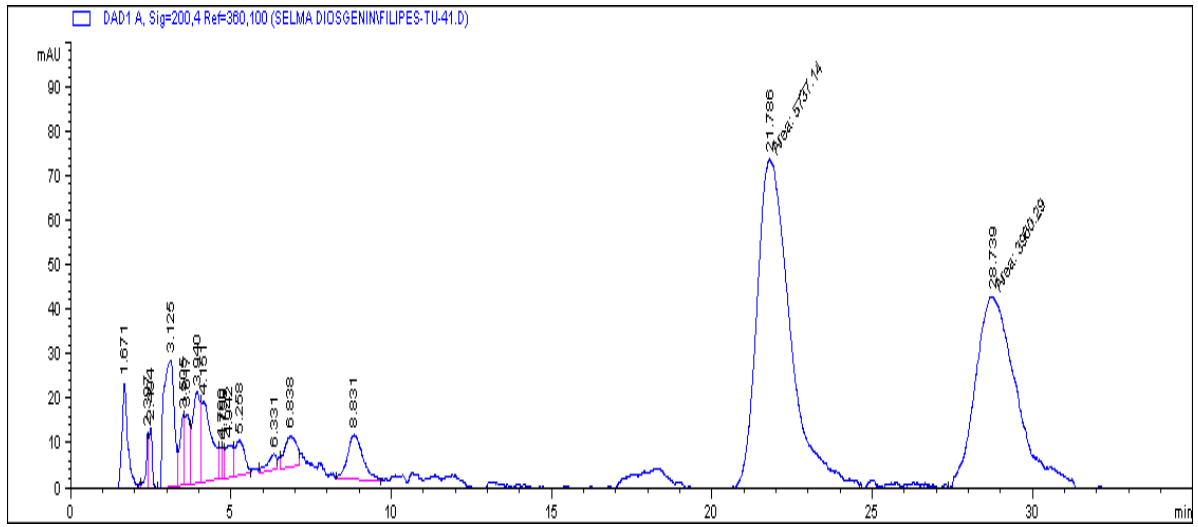
Çizelge incelendiğinde tohum ekstrelerindeki diosgenin miktarlarının 0.06-0.52 mg/g arasında, toprak üstü ekstrelerindeki diosgenin miktarlarının ise 0.03-0.16 mg/g arasında değiştiği görülmektedir. En yüksek diosgenin miktarı tohumda da toprak üstünde de *T. cilicica*'de görülmektedir. *T. cylindracea* ve *T. strangulata* tohum ekstrelerinde ve *T. kotschyi*, *T. mesopotamica*, *T. filipes* ve *T. strangulata* toprak üstü ekstrelerinde diosgenin gözlenmemiştir. Bu ekstrelere diosgenin standardı eklenip ekstrelerde diosgenin olmadığı kanıtlanmıştır. Bunlara ilişkin bazı kromatogramlar Şekil 4.27.-Şekil 4.30'de görülmektedir.



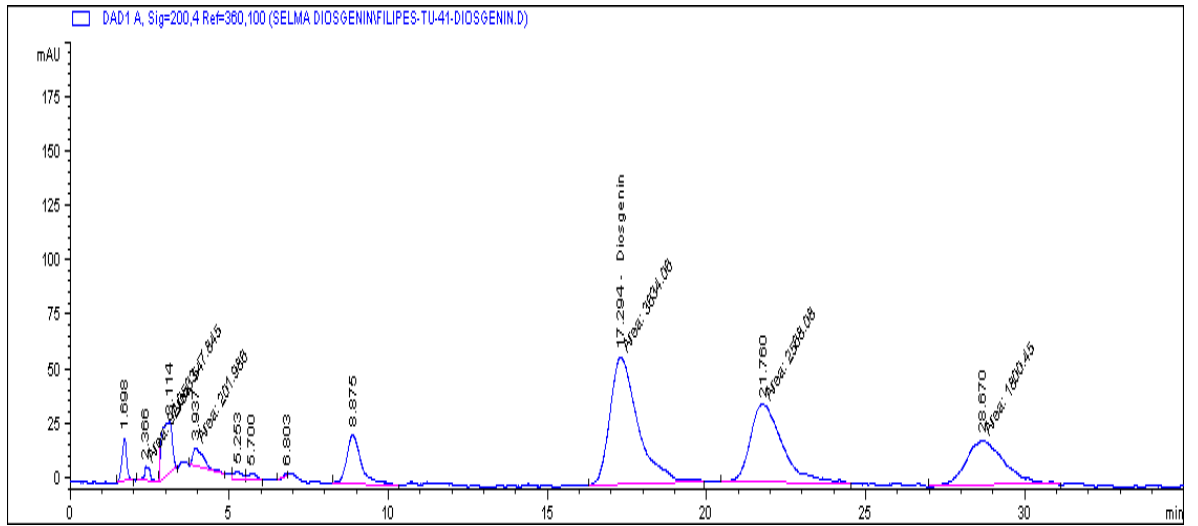
Şekil 4.27. *T. cylindrica* tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram.



Şekil 4.28. Diosgenin standardı eklenmiş *T. cylindrica* tohum ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram.



Şekil 4.29. *T. filipes* toprak üstü ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram.

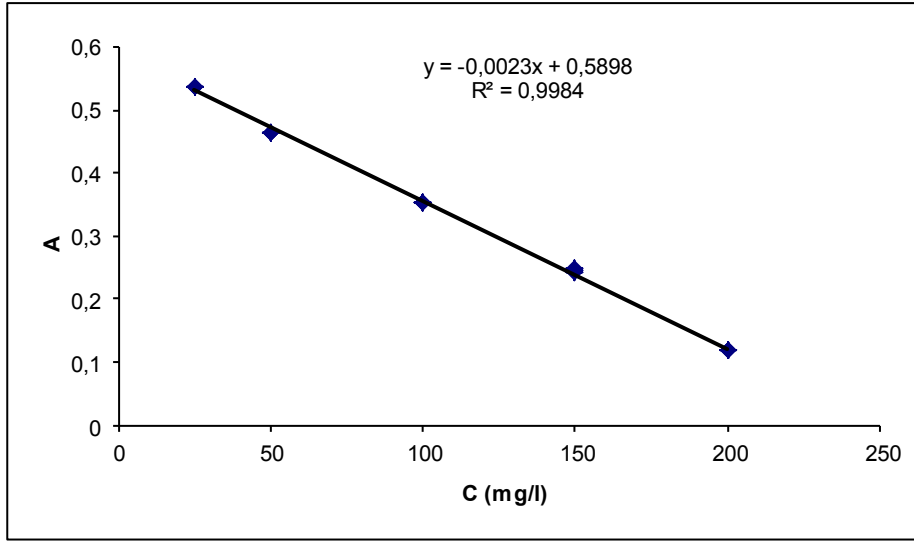


Şekil 4.30. Diosgenin standardı eklenmiş *T. filipes* toprak üstü ekstresinin HPLC analizine ait kromatogram.

4.2. Biyoaktivite Çalışmaları

4.2.1. DPPH[•] (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) Yöntemi ile Antioksidan Etki Tayini

Trigonella L. Cylindrica seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü ekstralarının antioksidan aktiviteleri DPPH[•] testi ile kalitatif ve kantitatif olarak ölçülmüştür. Standart olarak kullanılan BHA'nın kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi Şekil 4.31.'de görülmektedir.



Şekil 4.31. BHA için kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi.

Absorbans değerleri saptanan *Trigonella L. Cylindrica* seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü ekstralarının radikal süpürücü etkileri (% inhibisyon olarak) Çizelge 4.16.'de görülmektedir.

Çizelge 4.16. *Trigonella L. Seksiyon Cylindrica* türlerinin DPPH ' antioksidan testi sonucundaki % inhibisyonları

Türler	% inhibisyon	
	Tohum	Toprak üstü
<i>T. spruneriana</i>	54.28±0.09	21.11±0.03
<i>T. sibthorpii</i>	36.42±0.16	32.69±0.04
<i>T. kotschy*</i>	28.29±0.03	31.38±0.06
<i>T. mesopotamica</i>	27.42±0.08	34.16±0.07
<i>T. cylindracea</i>	32.30±0.17	42.24±0.05
<i>T. cilicica *</i>	45.39±0.02	21.92±0.06
<i>T. filipes</i>	34.52±0.10	60.16±0.06
<i>T. velutina</i>	47.13±0.02	57.43±0.05
<i>T. strangulata</i>	41.81±0.06	27.46±0.04
<i>T. smyrnea*</i>	76.18±0.03	17.37±0.02

*Endemik türler.

5. TARTIŞMA

Trigonella L. cinsi dünyada 135, ülkemizde ise 21'i endemik olmak üzere 54 türle temsil edilen Leguminosae familyasına ait önemli cinslerden biridir (2-4, 27-30).

Bu türler arasında Latince'de fenugreek olarak adlandırılan *Trigonella foenum-graecum* L. türü *Trigonella* cinsi içinde en yaygın kullanılan türdür. Literatürde bahsi geçen çalışmalar genellikle *T. foenum-graecum* L. türü üzerinde yoğunlaşan çalışmalardır. Bunun dışında *T. grandiflora*, *T. corniculata*, *T. cylindracea*, *T. maritima*, *T. stellata*, *T. anguina*, *T. occulta*, *T. polyceratia* ve *T. cretica* fenolik bileşenleri açısından, *T. calliceras*, *T. caerulea*, *T. melilotus caeruleus* ve *T. monspeliaca* saponinleri açısından incelenmiştir. Çalışmaların birkaç tür ile sınırlı kalmış olması bu cinse ait diğer türler üzerinde de kapsamlı fitokimyasal ve biyoaktivite araştırmalarının yapılması gerekliliğini gündeme getirmiştir. Ayrıca yapılan fitokimyasal araştırmalarda genellikle tohumun çalışılmış olduğu, bitkinin toprak üstü kısmının yeterince incelenmediği görülmektedir. Bu nedenle "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" da kayıtlı *Trigonella* cinsine ait kısım incelenerek 10 tür ve 3 endemik tür sayısına sahip olan, cinsin ikinci büyük seksiyonu *Cylindricae* seksiyonu araştırma konusu olarak belirlenmiştir.

Seçilen bu türlerin tohum ve toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstreler kalitatif olarak etken madde grupları açısından incelenmiştir (Çizelge 5.1.). Yapılan incelemeler sonucu *T. filipes*, *T. velutina*, *T. strangulata* ve *T. symrnea* türlerinin tohum ekstrelerinde alkaloid varlığı saptanmıştır. Diğer türlerin tohum ve toprak üstü kısımlarında alkaloid varlığı gözlenmemiştir. Çalışılan bütün türlerin tohum ve toprak üstü kısımlarında saponozit ve kumarin varlığı tespit edilmişken, kardiyooktif heterozitlerin varlığına rastlanmamıştır. Yine yapılan çalışmalar sonucunda türlerin çalışılan ekstrelerinin hiçbirinde siyanogenetik heterozit, antrasenozit ve nişasta varlığı gözlenmemiştir. Antosiyanozit teşhis reaksiyonlarında ise yapılan 5 testte de *T. cilicica*, *T. velutina*, *T. strangulata* ve *T. symrnea* türlerinin tohum ekstrelerinde antosiyanozit varlığı teşhis edilmişken diğer türlerin tohum ve toprak üstü kısımlarında antosiyanozit varlığına rastlanmamıştır. *T. spruneriana*, *T. sibthorpii*, *T. kotschyi*, *T. mesopotamica*, *T. cilicica* ve *T. filipes* türlerinin tohumlarında tanen varlığı tespit edilmiş olup bu türlerden sadece *T. kotschyi*'nin gallik tanen taşıdığı, diğerlerinin ise

kateşik tanen içerdiği saptanmıştır. Bu 6 tür dışındaki diğer türlerin çalışılan ekstrelerinde tanen varlığı gözlenmemiştir. Çalışılan türlerin tohum ve toprak üstü kısımları incelendiğinde tüm türlere ait tohumların sabit yağ içerdiği, toprak üstü kısımlarında ise bulunmadığı gözlenmiştir. Molisch reaksiyonu ile bütün türlerin çalışılan ekstrelerinde oz varlığı tespit edilmiştir. Ancak Fehling ve Seliwanoff reaksiyonları sonucunda *T. sibthorpii*, *T. kotschy* ve *T. velutina* toprak üstü kısımlarında aldoz bulunduğu, diğer türlerin çalışılan kısımlarında ise aldoz/ketoz dışında diğer ozların varlığı saptanmıştır. Çalışılan tüm bitkilerin tohum ve toprak üstü ekstrelerinin flavonozit teşhisinde %10'luk NH₃, kurşun asetat ve %5'lik FeCl₃ uygulandığında bütün ekstrelerde pozitif sonuç gözlenmiştir. Ancak siyanidin reaksiyonunda sadece *T. filipes*, *T. strangulata* ve *T. symrnea* toprak üstü ekstrelerine derişik HCl ve Mg tozu uygulandığında köpükte pembe-mor renk gözlenmiştir. Bu sonuç bize bu ekstrelerde flavononların varlığını göstermektedir. Diğer ekstrelerde ise köpükte herhangi bir renk gözlenmemesi ekstrelerde izoflavonon, izoflavon, kalkon, dihidrokalkon ve auron bileşiklerinden herhangi birinin varlığına işaret etmektedir.

Çizelge 5.1. Çalışılan türlerin tohum ve toprak üstü kısımlarında incelenen ana etken madde grupları tarama sonuçları.

Türler	Kullanılan Kısım	Kullanılan Kısım												
		Alkaloit	Flavonozit	Antosiyanozit	Kumarin	Niçasta	Siyanogenetik Heterozitler	Oz Grupları	Sabit Yağ	Tanen	Saponozit	Antrasen Türevi Heterozitler	Kardiyookatif Heterozitler	
<i>T. spruneriana</i>	Tohum	-	-	-	+	-	-	+	+	Kateşik Tanen	+	-	-	
	Toprak üstü	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	
<i>T. sibthorpii</i>	Tohum	-	-	-	+	-	-	+	+	Kateşik Tanen	+	-	-	
	Toprak üstü	-	-	-	+	-	-	Aldoz	-	-	+	-	-	
<i>T. kotschyi*</i>	Tohum	-	-	-	+	-	-	+	+	Gallik Tanen	+	-	-	
	Toprak üstü	-	-	-	+	-	-	Aldoz	-	-	+	-	-	
<i>T. mesopotamica</i>	Tohum	-	-	-	+	-	-	+	+	Kateşik Tanen	+	-	-	
	Toprak üstü	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	
<i>T. cylindracea</i>	Tohum	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	
	Toprak üstü	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	
<i>T. cilicica*</i>	Tohum	-	-	+	+	-	-	+	+	Kateşik Tanen	+	-	-	
	Toprak üstü	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	
<i>T. filipes</i>	Tohum	+	-	-	+	-	-	+	+	Kateşik Tanen	+	-	-	
	Toprak üstü	-	Flavonon	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	
<i>T. velutina</i>	Tohum	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	
	Toprak üstü	-	-	-	+	-	-	Aldoz	-	-	+	-	-	
<i>T. strangulata</i>	Tohum	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	
	Toprak üstü	-	Flavonon	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	
<i>T. smyrnea*</i>	Tohum	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	
	Toprak üstü	-	Flavonon	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	

Tez çalışmamızda kullandığımız bitkiler total fenol ve total flavonoit açısından tohum ve toprak üstü olarak ayrı ayrı incelenmiştir. Her iki bitki kısmının %80'lik metanollü ekstreleri, total fenol tayini için Folin-Ciocalteu yöntemi, total flavonoit tayini için AlCl₃ yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışmaların sonucunda bitkilerin tohum ekstrelerinde total fenol miktarı 94.83-201.35 mg/g, total flavonoit miktarı ise 84.00-128.04 mg/g arasında değişkenlik göstermiştir. Toprak üstü ekstrelerinde ise total fenol miktarı 79.90-139.88 mg/g; total flavonoit miktarı ise 61.51-110.31 mg/g aralığında gözlenmiştir. Literatürler incelendiğinde *T. foenum-graecum* bitkisi üzerinde yapılan çalışmalar sonucu saptanan total fenol ve total flavonoit miktarları Çizelge 5.2.'de görülmektedir. Bu literatür verileri ile kıyasladığımız zaman bitkilerin tohum kısmının total fenol içeriği Naidu ve ark. 2011 yılında (51) bitki tohumunun %90'lık metanollü ekstresi ile yaptıkları çalışma sonucuyla yakınlık göstermektedir. Toprak üstü kısımlarının total fenol içeriği ise Aqil ve ark. (45) 2006 yılında yaprakların %98'lik metanollü ekstresiyle yaptıkları çalışma sonucuyla uyumluluk göstermektedir. Tohum ve toprak üstü ekstrelerinin total flavonoit miktarlarını kıyaslayacak olursak, elde ettiğimiz değerlerle literatürdeki veriler birbirlerine paralellik göstermektedir.

Elde ettiğimiz total fenol ve total flavonoit miktarları göz önüne alınarak, ekstrelerimizde fenolik bileşenlerin var olduğu düşünülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde *T. cylindricae* türünün flavonoitleri dışında bu anlamda hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tez çalışmasında ilk defa *Cylindricae* seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü ekstrelerinde HPLC ile fenolik asit ve flavonoit analizi yapılmıştır. HPLC analizleri sonucunda kromatogramlarda az sayıda bazı pikler gözlenmiş; bu pikler mevcut fenolik asit ve flavonoit standartlarının pikleri ile uyumluluk göstermemiştir. Sonuçta bu piklerin farklı fenolik bileşiklere ait olduğunu düşündürmektedir.

Çizelge 5.2. *T. foenum-graecum* bitkisi üzerinde yapılmış çalışmalar sonucu saptanan total fenol ve total flavonoit miktarları.

Literatürler	Bitkinin kullanılan kısmı ve ekstrenin hazırlandığı çözücü	Kullanılan Yöntem	Total Fenol		Total Flavonoit	
			Miktar	Miktar	Kullanılan Yöntem	Miktar
42	Tohum sulu ekstresi	Folin-Ciocalteu	64.61 mg/g (Gallik asit)	-	AlCl ₃	19.14 mg/g (Kersetin)
42	Tohumun kaynamış sulu ekstresi	Folin-Ciocalteu	47.55 mg/g (Gallik asit)	-	AlCl ₃	17.49 mg/g (Kersetin)
26	Tohumun %70'lik etanollü ekstresi	Folin-Ciocalteu	97.55 mg/100 g	-	-	-
51	Tohumun %90'lık metanollü ekstresi	Folin-Ciocalteu	85.88 mg/g (Gallik asit)	-	-	-
52	Tohumun %80'lik metanollü ekstresi	Folin-Ciocalteu	0.44702 mg/g (Gallik asit)	-	AlCl ₃	0.95064 mg/g (Kersetin)
46	Yaprakların sulu ekstresi	Folin-Ciocalteu	110 µg/mg (Gallik asit)	-	AlCl ₃	5.08 µg/mg (Kateşin)
53	Yaprakların etanollü ekstresi	Folin-Ciocalteu	44 mg/100 g	-	-	-
53	Yaprakların metanollü ekstresi	Folin-Ciocalteu	48 mg/100 g	-	-	-
45	Yaprakların %98'lik metanollü ekstresi	Folin-Ciocalteu	74.33 mg/g (Gallik asit)	-	-	-
39	Yaprakların %80'lik metanollü ekstresi	-	-	-	-	7.6-16.6 mg/g
53	Yaprakların izopropanollü ekstresi	Folin-Ciocalteu	28 mg/100 g	-	-	-
47	Bitkinin %50'lik sulu alkollü ekstresi	Folin-Ciocalteu	33.34-180.7 µg/mg (Gallik asit)	-	-	-
44	Bitkinin %80'lik etanollü ekstresi	Folin-Ciocalteu	217.5 mg/100 g (Kateşol)	-	-	-
36	Bitkinin %80'lik metanollü ekstresi	Folin-Ciocalteu	7.60 mg/100 g (Gallik asit)	-	-	-
48	Yeşil yapraklı bitkinin metanollü ekstresi	Folin-Ciocalteu	158.33 mg/100 g (Tannik asit)	-	-	-
50	Bitkinin %80'lik metanollü ekstresi	Folin-Ciocalteu	4.298 mg/g /Gallik asit)	-	-	-

Literatürde *Trigonella L.* türlerinin antioksidan etkisine ilişkin sadece *T. foenum-gracum* üzerinde yapılmış araştırmalar bulunmaktadır. İn vitro olarak yapılmış çalışmalarda farklı yöntemler kullanılarak antioksidan aktivite test edilmiştir. Bu etkinin bitkide bulunan fenolik bileşenlerle ilgili olduğu düşünülmektedir. Bu tez çalışmamızda *Cylindricae* seksiyonuna ait 10 türün antioksidan etkinliği DPPH* metodu ile ilk kez in vitro olarak saptanmıştır. Tohum ekstrelerinin yüzde (%) inhibisyonları 27.42-76.18 aralığında gözlenirken, toprak üstü ekstrelerinin % inhibisyonları 17.37-60.16 aralığında gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre bitkilerdeki total flavonoit miktarları ile DPPH* aktivitenin doğru orantılı olduğu; flavonoit miktarı arttıkça bitkinin antioksidan etkinliğinin de arttığı gözlenmiştir.

Daha önce yapılan araştırmalarda bitki tohumlarının progesteron gibi birçok steroidin üretiminde kullanılabilen steroidal saponin olan diosgenin kaynağı olduğu gözlenmiştir (21). Bu nedenle bu tez çalışmamızda *Cylindricae* seksiyonuna ait 10 türün tohum ve toprak üstü kısımlarındaki diosgenin içeriği araştırılmıştır. Analizler diosgenin standardı kullanılarak HPLC'de gerçekleştirilmiştir. Tohum ekstrelerindeki diosgenin miktarları 0,06-0,52 mg/g, toprak üstü ekstrelerindeki diosgenin miktarının ise 0.03-0.16 mg/g arasında değiştiği gözlenmiştir. En yüksek diosgenin miktarına tohumlarda rastlanmıştır. Ortuno ve ark. (65) 1998 yılında *T. foenum-graecum* tohumları ile yaptıkları HPLC analizi sonucunda bitki tohumlarının 5.65 mg/g diosgenin içerdiğini saptamışlardır. Aynı çalışmada yapraktaki diosgenin 9.56 mg/g iken gövdede ki diosgenin miktarının 6.55 mg/g olduğu bulunmuştur. 2000 yılında yapılan başka bir çalışmada ise Oncina ve ark. (68), çemenotu yapraklarından 2.2 mg/g gövdesinden ise 0.74 mg/g diosgenin tespit etmişlerdir. Bu literatür verileri, çemenotu bitkisinin diosgenin içerdiğini göstermektedir. Literatür verileri ile kıyaslandığında çalıştığımız seksiyona ait 10 türün tohum ve toprak üstü ekstrelerindeki diosgenin miktarının daha düşük seviyelerde bulunduğu tespit edilmiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmamızda elde edilen bulgulara göre:

Trigonella L. cinsi *Cylindrica*e Seksiyonuna ait 3'ü endemik olmak üzere 10 türün tohum ve toprak üstü kısımları ilk kez diosgenin içeriği, total fenol ve total flavonoit miktar tayinleri, fenolik bileşenlerin HPLC analizleri, DPPH* antioksidan aktivitesi ve ana etken madde grupları yönünden bu tez çalışmasında incelenmiştir.

- Tohum ve toprak üstü kısımlarının progesteron gibi birçok steroidin üretiminde kullanılabilen steroidal sapogenin olan diosgenin içerdiği saptanmıştır. Ancak diosgenin miktarları kültür bitkisi olan *T. foenum-graecum* kadar yüksek değildir. İncelenen türlerin diosgenin kaynağı olarak ticari değer taşımadığı tespit edilmiştir.

Trigonella L. cinsi *Cylindrica*e Seksiyonuna ait 3'ü endemik olmak üzere 10 türün tohum ve toprak üstü kısımları ilk kez fenolik bileşenler açısından HPLC yöntemi ile bu tez çalışmasında araştırılmış; aynı zamanda ekstrelerin total fenol ve total flavonoit miktarları da belirlenmiştir. Bu çalışmalara ilave olarak ekstrelerin olası antioksidan etkileri de DPPH* yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre;

- Tüm ekstrelerin total fenol ve total flavonoit miktarlarının literatürde *T. foenum-graecum* için kayıtlı değerlerden yüksektir. Bu ekstrelerin HPLC analizleri, mevcut standartlarla karşılaştırılarak yapıldığında bu standartlar dışında farklı fenolik bileşiklerin olabileceği gözlemlenmiştir.
- Tüm ekstrelerin flavonoit yönünden zengin olduğu ve DPPH* testinde flavonoit miktarı arttıkça radikal süpürücü etkinin de arttığı gözlenmiştir. Bu nedenle bitkiler daha ileriki araştırmalarda yapılacak biyoaktivite çalışmaları için değerli bir kaynak oluşturabilir.

Trigonella L. cinsi *Cylindrica*e Seksiyonuna ait 3'ü endemik olmak üzere 10 türün tohum ve toprak üstü kısımları ilk kez ana etken madde grupları açısından bu tez çalışmasında incelenmiştir.

- Tohumların sabit yağ içerdiği kalitatif olarak gözlenmiştir. Bu açıdan kantitatif analizlerle ileriki çalışmalarda sabit yağın bileşenlerinin ve miktarlarının belirlenmesi, tohumların gıda olarak kullanımının yararlı olup olmayacağını gösterecektir.
- Çalışılan türlerin tohum ve toprak üstü ekstrelerinde kumarin ve saponozit varlığı, ayrıca bazı türlerin tohum ekstrelerinde alkaloid varlığı kalitatif olarak gözlenmiştir. Bu türlerde yapılacak daha ileriki araştırmaların biyoaktivite çalışmaları için değerli bir kaynak oluşturacağı düşünülmektedir.

Tez konusu olarak seçilen türler üzerinde yapılan bu araştırma sonuçları bitkilerin antioksidan aktivite açısından değer taşıdığını göstermiştir. Ayrıca çalışılan türlerin steroidal saponozit olan diosgenin taşıdığı ancak miktarlarının düşük olduğu belirlendiğinden bu türlerin endüstriyel kaynak olarak değil türlerden elde edilen ekstrelerin diosgenin nedeni olduğu literatürde kayıtlı antihiperkolesterolemik ve sitotoksik etkiler gibi aktiviteler açısından detaylı olarak incelenip aktivitelerin kimyasal yapı ile ilişkilendirilmesinin uygun olacağı önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. **Heywood VH.** *Flowering Plants of the World*. Oxford: Oxford University, **1979**.
2. **Bown D.** *Encyclopedia of Herbs&Their Uses*. First Ed., London: Darling Kindersley Limited, **2002**: 393.
3. **Evans WC.** *Trease and Evans Pharmacognosy*. 15th. Ed., UK: University of Nottingham, **2002**: 26.
4. **Huber-Morath A.** *Trigonella L.* In: Davis PH. Eds. *Flora of Turkey and The East Aegean Island*, Vol. 3, Edinburgh: Edinburgh University Press, **1969**: 452-482.
5. **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.
6. **Morani AS, Bodhankar SL, Mohan V, Thakurdesai PA.** Ameliorative effects of standardized extract from *Trigonella foenum-graecum* L. seeds on painful peripheral neuropathy in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **2012**; 5(5): 385-390.
7. **Basch E, Ulbricht C, Kuo G, Szapary P, Smith M.** Therapeutic application of fenugreek. *Alternative Medicine Review*, **2003**; 8(1): 20-27.
8. **Srinivasan K.** Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*): A review of health beneficial physiological effects. *Food Reviews International*, **2006**; 22: 203-224.
9. **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.
10. **Toppo FA, Akhand R, Pathak AK.** Pharmacological actions and potential uses of *Trigonella foenum-graecum*: A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **2009**; 2(4): 29-38.
11. **Yadav R, Kaushik R, Gupta D.** The health benefits of *Trigonella foenum-graecum*: A Review. *Int. J. of Engineering Research and Applications (IJERA)*, **2011**; 1(1): 32-35.
12. **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.
13. **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.
14. **Ciftci ON, Przybylski MR, Acharya S.** Characterization of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2011**; 88: 1603-1610
15. **Yuldashev MP.** Flavanoids of the aerial part of *Trigonella grandiflora*. *Chemistry of Natural Compounds*. **2002**; 38(3): 291-292.
16. **Baytop T.** *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, **1999**: 171.

17. **Sulieman AME, Ali AO, Hemavathy J.** Lipid content and fatty acid composition of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds grown in Sudan. *International Journal of Food Science and Technology*, **2008**; 43: 380-382.
18. **Brummer Y, Cui W, Wang Q.** Extraction, purification and physicochemical characterization of fenugreek gum. *Food Hydrocolloids*, **2003**; 17: 229-236.
19. **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.
20. **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.
21. **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.
22. **Prati S, Baravelli V, Fabbri D, Schwarzingger 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.
23. **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.
24. **Zia T, Siddiqui IA, Hasnain N.** Nematicidal activity of *Trigonella foenum graecum* L. *Phytotherapy Research*, **2001**; 15: 538-540.
25. **SatheeshKumar N, Mukherjee PK, Bhadra S, Saha BP.** Acetylcholinesterase enzyme inhibitory potential of standardized extract of *Trigonella foenum-graecum* L. and its constituents. *Phytomedicine*, **2010**; 17: 292-295.
26. **Shakuntala S, Naik JP, Jeyarani T, Naidu MM, Srinivas P.** Characterisation of germinated fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed fractions. *Int. J. Food Sci. Tech.* **2011**; 46: 2337-2343.
27. **Davis PH, Mill RR, Tan K.** *Flora of Turkey and the East Aegean Island*. Vol. 10, Edinburgh: Edinburgh University Press, **1988**: 191-193.
28. **Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC.** *Leguminosae. Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Vol. 11, Edinburgh: Edinburgh University Press, **2000**: 193.
29. **Gokturk RS.** A new subspecies *Trigonella coeruleascens* (Fabaceae), from Turkey. *Ann. Bot. Fenn.* **2009**; 46: 62-64.
30. **Martin E, Akan H, Ekici M, Aytaç Z.** Karyology of ten Turkish *Trigonella* L. (Leguminosae) species from section *Cylindricae* Boiss. *Turk. J. Bot.* **2010**; 34: 485-494.
31. **Kawashyt SA, Abdalla MF, Din EMGE, Saleh NAM.** The chemosystematic of Egyptian *Trigonella* species *Biochemical Systematics and Ecology*. **1998**; 26: 851-856.
32. **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.
33. **Wen-zhe H, Xu L.** Determination of two flavone glycosides in the seeds of *Trigonella foenum-graecum* L. from various production locality. *Journal of Plant Resources and Environment*. **2000**; 9(4): 53-54.

34. **Han Y, Nishibe S, Noguchi Y, Jin Z.** Flavonol glycosides from the stems of *Trigonella foenum-graecum*. *Phytochemistry*. **2001**; 58: 577-580
35. **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.
36. **Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R.** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. **2007**; 105: 940-949
37. **Wang G, Tang W, Yao Q, Zhong H, Liu Y.** New flavonoids with 2BS cell proliferation promoting effect from the seeds of *Trigonella foenum-graecum* L. *J. Nat. Med.*, **2010**; 64: 358-361.
38. **Belguith-Hadriche O, Bouaziz M, Jamoussi K, El Feki 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.
39. **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.
40. **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.
41. **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.
42. **Dixit P, Ghaskadbi S, Mohan H, Devasagayam TPA.** Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds. *Phytother. Res.* **2005**; 19: 977-983.
43. **Marusk A, Prosevcivius J, Bimbiraite-Surviliene K, Kornysova O, Ragazinskiene O, Rotautaite V.** Comparison of phytochemical composition of medicinal plants by means of chromatographic and related techniques. *Procedia Chemistry*, **2010**; 2: 83-91.
44. **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.
45. **Aqil F, Ahmad I, Mehmood Z.** Antioxidant and free radical scavenging properties of twelve traditionally used Indian medicinal plants. *Turk J. Biol.* **2006**; 30: 177-183
46. **Dasgupta N, De B.** Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: a comparative study. *Food Chemistry*. **2007**; 101: 471-474.
47. **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.
48. **Gupta S, Prakash J.** Studies on Indian Green Leafy Vegetables for Their Antioxidant Activity. *Plant Foods Hum Nutr.* **2009**; 64: 39-45.
49. **Cevallos-Casals BAC, Cisneros-Zevallos LC.** Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry*. **2010**; 119: 1485-1490
50. **Marathe S, Rajalakshmi V, Jamdar SN, Sharma A.** Comparative study on antioxidant activity of different varieties of commonly consumed legumes in India. *Food and Chemical Toxicology*, **2011**; 49: 2005-2012.

51. **Naidu MM, Shvamala BN, Naik JP, Sulochanamma G, Srinivas P.** Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *Food Science and Technology*. **2011**; 1-6.
52. **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.
53. **Naidu MM, Khanum H, Sulochanamma G, Sowbhagya HB, Hebbar UH, Prakash M, Srinivas P.** Effect of drying methods on the quality characteristics of fenugreek (*T. foenum-graecum*) Greens. *Drying Technology*, **2012**; 30: 808-816.
54. **Pasich B, Terminska K, Beblot D.** Diosgenin and yamogenin in domestic semen *Foenugraeci*. *Herba Polonica*, **1983**; 29(3-4): 203-210.
55. **Tuğrul L, Özer A.** *Trigonella foenum graecum* L. bitkisinin tohumlarının yurdumuzda ilaç hammaddesi olarak kullanılabilme olanakları. V. Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı. Ankara, **1984**: 135-136.
56. **Varshney IP, Jain DC.** Saponins from *Trigonella foenum-graecum* leaves. *Journal of Natural Products*, **1984**; 47(1): 44-46.
57. **Elujoba AA, Hardman R.** Diosgenin production by acid and enzymatic hydrolysis of fenugreek. *Fitoterapia*, **1987**; 58(5): 299-304.
58. **Jain SC, Agrawal M.** Influence of GA3 and IAA on steroidal saponin in *Trigonella* species. *Indian Journal of Plant Physiology*, **1988**; 31(1): 120-122.
59. **Gupta K, Barat GK, Wagle DS, Chawla HKL.** Nutrient contents and antinutritional factors in conventional and non-conventional leafy vegetables. *Food Chemistry*, **1989**; 31(2): 105-116.
60. **Zafar R, Garg S.** Diosgenin from the root culture of *Trigonella foenum-graecum* L. *Acta Manilana*, **1990**; 38: 15-18.
61. **Mahna SK, Raisinghani G, Jain SC.** Diosgenin production in induced mutants of *Trigonella corniculata*. *Fitoterapia*, **1994**; 65(6): 515-516.
62. **Brenac P, Sauvaire Y.** Accumulation of sterols and steroidal saponin in developing fenugreek pods: Possible biosynthesis in situ. *Phytochemistry*, **1996**; 41(2): 415-422.
63. **Taylor WG, Zaman MS, Mir Z, Mir PS, Acharya SN, Mears GJ, Elder JL.** Analysis of steroidal saponin from Amber Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) by capillary gas chromatography and combined gas chromatography/mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, **1997**; 45: 753-759.
64. **Merkli A, Christen P, Kapetanidis I.** Production of diosgenin by hairy root cultures of *Trigonella foenum Graecum* L. *Plant Cell Reports*. **1997**; 16: 632-636.
65. **Ortuno A, Oncina R, Botia JM, DeRio JA.** Distribution and changes of diosgenin during development of *Trigonella foenum graecum* plants. Modulation by benzylaminopurine. *Food Chemistry*. **1998**; 63(1): 51-54.
66. **Taylor WG, Eider JL, Chang PR, Richards KW.** Microdetermination of Diosgenin from Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) Seeds. *J.Agric. Food Chem*. **2000**; 48: 5206-5210.
67. **Murakami T, Kihisi A, Matsuda H, Yoshikawa M.** Medicinal foodstuffs Fenugreek seeds. (3): Structures of new furostanol-type steroid saponin, trigoneosides Xa, Xb, XIb, XIIa, XIIb, XIIIa, from the seeds of Egyptian *Trigonella foenum-graecum* L. *Chem. Pharm. Bull*. **2000**; 48(7): 994-1000.
68. **Oncina R, Botia JM, DeRio JA, Ortuno A.** Bioproduction of diosgenin in callus cultures of *Trigonella foenum graecum* L. *Food Chemistry*. **2000**; 70: 489-492.

69. **Shang M, Cai S, Kadota S, Tezuka Y.** Structural identification of Trigonoside VIII. *Yaoyue Xuebao*, **2001**; 36(11): 836-839.
70. **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.
71. **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
72. **Saxena VK, Shalem A.** Yamogenin 3-O-P-D-glucopyranosyl (1 →4)-O-D-xylopyranoside from the seeds of *Trigonella foenum graecum*. *J. Chem. Sci.* **2004**; 116(2): 79-82
73. **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
74. **Yang WX, Huang HY, Wang YJ, Jia ZY, Li LL.** Study on chemical constituents in total saponin from *Trigonella foenum-graecum*. *China Journal of Chinese Material Medica*, **2005**; 30(18): 1428-1430.
75. **Hamed AI.** Steroidal saponins from the seeds of *Trigonella hamosa* L. *Natural Product Communications*, **2007**; 2(2): 143-146.
76. **Trivedi PD, Pundarikakshudu K, Rathnam S, Shah KS.** A validated quantitative thin-layer chromatographic method for estimation of diosgenin in various plant samples, extract, and market formulation. *J. AOAC Int.*, **2007**; 90(2): 358-63.
77. **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.
78. **Atal CK, Sood SP.** Phytochemical investigation of *Trigonella corniculata* L. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **1964**; 16(9): 627.
79. **Radwan SS, Kokate CK.** Production of higher levels of trigonelline by cell cultures of *Trigonella foenum-graecum* than by the differentiated plant. *Planta*, **1980**; 147: 340-344.
80. **Mehra P, Yadav R, Kamal R.** Influence of nicotinic acid on production of trigonelline from *Trigonella polycerata* tissue culture. *Indian Journal of Experimental Biology*, **1996**; 34(11): 1147-1149.
81. **Zhao HQ, Qu Y, Wang XY, Zhang HJ, Li FM, Masao H.** Determination of trigonelline in *Trigonella foenum-graecum* by HPLC. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.*, **2002**; 27(3): 194-196.
82. **Hashem F, Ameen A.** Chemical and genetical response of *Trigonella foenum-graecum* L. seeds to certain mutagens. II-Investigation of alkaloids and phenolic compounds and the diuretic effect of water extract. *Bulletin of the National Research Centre*, **2004**; 29(2): 197-208.
83. **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.
84. **Zhuo R, Wang L, Wang L, Xiao H, Cai S.** Determination of trigonelline in *Trigonella foenum-graecum* L. by hydrophilic interaction chromatography. *Chinese Journal of Chromatography*, **2010**; 28(4): 379-382.
85. **SatheeshKumar N, Mukherjee PK, Bhadra S, Saha BP.** Acetylcholinesterase enzyme inhibitory potential of standardized extract of *Trigonella foenum-graecum* L. and its constituents. *Phytomedicine*, **2010**; 17: 292-295.

86. **Shailajan S, Menon S, Singh A, Mhatre M, Sayed N.** A validated RP-HPLC method for quantitation of trigonelline from herbal formulations containing *Trigonella foenum-graecum* (L.). *Pharmaceutical Methods*, **2011**; 2(3): 157-160.
87. **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.
88. **Mazza G, Di Tommaso D, Foti S.** Volatile constituents of sicilian fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds. *Sciences Des Aliments*, **2002**; 22(3): 249-264.
89. **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.
90. **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
91. **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**; 115(4): 1326-1336
92. **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**.
93. **El-Sebaïy LA, El-Mahdy AR.** Lipid changes during germination of fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*). *Food Chemistry*, **1983**; 10(4): 309-319.
94. **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.
95. **Billaud C, Adrian J.** Fenugreek: composition, nutritional value and physiological properties. *Sciences des Aliments*, **2001**; 21(1): 3-26.
96. **Bagcı E, Bruehi L, Özçelik H, Aitzetmuller K, Vural M, Salim A.** A study of fatty acid and tocopherol patterns of some Fabaceae (Leguminosae) plants from Turkey. *Grasas y Aceites*. **2004**; 378-384.
97. **Wagh P, Rai M, Deshmukh SK, Durate MCT.** Bio-activity of oils of *Trigonella foenum-graecum* and *Pongamia pinnata*. *African Journal of Biotechnology*, **2007**; 6(13): 1592-1596.
98. **Chatterjee S, Variyar PS, Sharma A.** Bioactive lipid constituents of fenugreek. *Food Chemistry*, **2010**; 119: 349-353.
99. **Kocak A, Kokten K, Bağcı E, Akcura M, Hayta S, Bakoglu A, Kilic O.** Chemical analyses of the seeds of some forage legumes from Turkey. A chemotaxonomic approach. *Grasas Y Aceites*, **2011**; 62(4): 383-388.
100. **Broca C, Gross R, Petit P, Sauvaire Y, Manteghetti M, Tournier M, Masiello P, Gomis R, Ribes G.** 4-Hydroxyisoleucine: experimental evidence of its insulinotropic and antidiabetic properties. *American Journal of Physiology*, **1999**; 277: E617-E623.
101. **Broca C, Manteghetti M, Gross R, Baissac Y, Jacob M, Petit P, Sauvaire Y, Ribes G.** 4-Hydroxyisoleucine. Effects of synthetic and natural analogues on insulin secretion. *European Journal of Pharmacology*, **2000**; 390: 339-345.
102. **El Nasri NA, El Tinay AH.** Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) protein concentrate. *Food chemistry*. **2007**; 103: 2

103. **Yadav SK, Sehgal S.** Effect of domestic processing on total and extractable calcium and zinc content of Bathua (*Chenopodium album*) and Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) leaves. *Plant Foods for Human Nutrition*, **1999**; 53: 255-263.
104. **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.
105. **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. Antalya, **2004**: 112-115.
106. **Özcan M.** Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey. *Food Chemistry*, **2004**; 84: 437-440.
107. **Kan Y, Kan A, Ceyhan T, Sayar E, Kartal M, Altun L, Aslan S, Cevheroğlu Ş.** Atomic absorption spectrometric analysis of *Trigonella foenum-graecum* L. seeds cultivated in Turkey. *Turkish J. Pharm. Sci.*, **2005**; 2(3): 187-191.
108. **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 and Environment*. **2007**; 5, 248-253.
109. **Chatterjee A, Prakash SC.** *Treatise on Indian Medicinal Plants*. Council of Scientific and Industrial Research. New Delhi, India, **1995**.
110. **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.
111. **Bhatia K, Kaur M, Atif F, Ali M, Rehman H, Rahman S, Raisuddin S.** Aqueous extract of *T. foenum-graecum* L. ameliorates additive urotoxicity of buthionine sulfoximine and cyclophosphamide in mice. *Food and Chemical Toxicology*, **2006** ; 44: 1744-1750.
112. **Kaviarasan S, Naik GH, Gangabagirathi R, Anuradha CV, Priyadarsini KI.** In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds. *Food Chemistry*. **2007**; 103: 31-37.
113. **Dixit PP, Devasagayam PA, Ghaskadbi S.** Formulated antidiabetic preparation Syndrex[®] has a strong antioxidant activity. *European Journal of Pharmacology*. **2008**; 581: 216-225.
114. **Khalaf NA, Shakya AK, El-Agbar Z, Farah H.** Antioxidant activity of some common plants. *Turk J. Biol.* **2008**; 32: 51-55.
115. **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.
116. **Esmaili 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.
117. **Ravikumar P, Anuradha CV.** Effect of fenugreek seeds on blood lipid peroxidation and antioxidants in diabetic rats. *Phytother. Res.* **1999**; 13: 197-201.
118. **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.
119. **Sabu MC, Kuttan R.** Antioxidant activity of Indian herbal drugs in rats with aloxan-induced diabetes. *Pharmaceutical Biology*. **2003**; 41: 500-505.

120. **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.
121. **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.
122. **Sharma RD.** Effect of fenugreek seeds and leaves on blood glucose and serum insulin responses in human subjects. *Nutr. Res.* **1986**; 6: 1353-1364.
123. **Madar Z, Abel R, Samish S, Arad J.** Glucose-lowering effect of fenugreek in non-insulin dependent diabetics. *Eur. J. Clin. Nutr.* **1988**; 42: 51-54.
124. **Sharma RD, Raghuram TC.** Hypoglycaemic effect of fenugreek seeds in non-insulin dependent diabetic subjects. *Nutr Res.* **1990**; 10: 731-739.
125. **Sharma RD, Raghuram TC, Rao NS.** Effect of fenugreek seeds on blood glucose and serum lipids in type 1 diabetes. *Eur. J. Clin. Nutr.* **1990**; 44: 301-306.
126. **Gupta A, Gupta R, Lal B.** Effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seeds on glycaemic control and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus: a double blind placebo controlled study. *J Assoc Physicians India.* **2001**; 49: 1057-1061.
127. **Raghuram TC, Sharma RD, Sivakumar B, Sahay BK.** Effect of fenugreek seeds on intravenous glucose disposition in non-insulin dependent diabetic patients. *Phytother Res.* **1994**; 8: 83-86.
128. **Neeraja A, Rajyalakshmi P.** Hypoglycaemic effect of processed fenugreek seeds in humans. *J. Food Sci. Technol.* **1996**; 33: 427-430.
129. **Amin R, Abdul-Ghani AS, Suleiman MS.** Effect of *Trigonella foenum-graecum* on intestinal absorption. Proc. of the 47th Annual Meeting of the American Diabetes Association (Indianapolis U.S.A.). *Diabetes.* **1987**; 36: 211a.
130. **Ali L, Azad Khan A. K, Hassan Z.** Characterization of the hypoglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum* seed. *Planta Med.* **1995**; 61: 358-360.
131. **Ajabnoor MA, Tilmisany AK.** Effect of *Trigonella foenum-graecum* on blood glucose levels in normal and alloxan-diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology,* **1988**; 22: 45-49.
132. **Ribes G, Sauvaire Y, Baccou JC, Valette G, Chenon D, Trimble ER, Loubatières-Mariani MM.** Effects of fenugreek seeds on endocrine pancreatic secretions in dogs. *Ann Nutr Metab.* **1984**; 28: 37-43.
133. **Valette G, Sauvaire Y, Baccou JC, Ribes G.** Hypocholesterolaemic effect of fenugreek seeds in dogs. *Atherosclerosis.* **1984**; 50: 105-111.
134. **Ribes G, Sauvaire Y, Da Costa C, Baccou JC, Loubatières-Mariani MM.** Antidiabetic effects of subfractions from fenugreek seeds in diabetic dogs. *Proc Soc Exp Biol Med.* **1986**; 182: 159-166.
135. **Ribes G, Da Costa C, Loubatières-Mariani MM, Sauvaire Y, Baccou JC.** Hypocholesterolaemic and hypotriglyceridaemic effects of subfractions from fenugreek seeds in alloxan diabetic dogs. *Phytother. Res.* **1987**; 1: 38-43.
136. **Jain SC, Lohiya NK, Kapoor A.** *Trigonella foenum-graecum* Linn: A hypo-glycaemic agent. *Indian J. Pharm. Sci.* **1987**; 49: 113-114.
137. **Shani J, Goldschmied A, Ahronson Z, Sulman FG.** Hypoglycaemic effect of *Trigonella foenum-graecum* and *Lupinus termis* (Leguminosae) seeds and their major alkaloids in alloxan diabetic and normal rats. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **1974**; 210: 27-36.

138. **Madar Z, Arad J.** Effect of extracted fenugreek on post-prandial glucose levels in human diabetic subjects. *Nutr. Res.* **1989**; 9: 691-692.
139. **Kuppu RK, Srivastava A, Krishnaswami CV, Vijaykumar G, Chellamariappan M, Ashabai, Babu BO.** Hypoglycemic and hypotriglyceridemic effects of methica churna (fenugreek). *Antiseptic.* **1998**; 95: 78-79.
140. **Abdel-barry JA, Abdel-Hassan IA, Al-Hakiem MHH.** Hypoglycemic and anti-hyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan-induced diabetic rats. *J. Etnopharmacol.* **1997**; 58: 149-155.
141. **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.
142. **Hannan JM, Rokeya B, Faruque O, Nahar N, Mosihuzzaman M, Azad Khan AK, Ali L.** Effect of soluble dietary fiber fraction of *Trigonella foenum- graecum* on glyceimic, insulinemic, lipidemic and platelet aggregation status of Type 2 diabetic model rats. *J. Etnopharmacol.* **2003**; 88:73-77.
143. **Sameer M, Asia T, Bamezaia RNK, Seemi F, Basirb N, Zaheer B.** Lower doses of vanadate in combination with *trigonella* restore altered carbohydrate metabolism and antioxidant status in alloxan-diabetic rats. *Clinica Chimica Acta*, **2004**; 342:105-114.
144. **Mowla A, Alauddin M, Rahman MA, Ahmed K.** Antihyperglycemic effect of *Trigonella foenum-graecum* (Fenugreek) seed extract in alloxan-induced diabetic rats and its use in diabetes mellitus: A brief qualitative phytochemical and acute toxicity test on the extract. *Afr. J. Trad. Complementary and Alternative Medicines*, **2009**; 6(3): 255-261.
145. **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**; 19(7): 571-574.
146. **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.
147. **Bera TK, Ali KM, Jana K, Ghosh A, Ghosh D.** Protective effect of aqueous extract of seed of *Psoralea corylifolia* (Somraji) and seed of *Trigonella foenum-graecum* (Methi) in streptozotocin-induced diabetic rat: A comparative evaluation. *Pharmacognosy Res.*, **2013**; 5(4): 277-285.
148. **Madar Z.** Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) as a means of reducing post-prandial glucose level in diabetic rats. *Nutr. Rep. Int.* **1984**; 29: 1267-1272.
149. **Madar Z, Shomer I.** Polysaccharide composition of a gel fraction derived from fenugreek and its effect on starch digestion and bile acid absorption in rats. *J. Agric. Food Chem.* **1990**; 38: 1535-1539.
150. **Evans AJ, Hood RL, Oakenfull DG, Sidhu GS.** Relationship between structure and function of dietary fiber: a comparative study of the effects of three galactomannans on cholesterol metabolism in the rat. *Br. J. Nutr.* **1992**; 68: 217-229.
151. **Sharma RD.** Hypocholesterolemic activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*)—An experimental study in rats. *Nutr. Rep. Int.* **1984**; 30: 221-231.
152. **Sharma R.** An evaluation of hypocholesterolemic factor of fenugreek seeds (*T. foenum-graecum*) in rats. *Nutr. Rep. Int.*, **1986**; 33: 669-677.
153. **Stark A, Madar Z.** The effect of an ethanol extract derived from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) on bile acid absorption and cholesterol levels in rats. *Br. J. Nutr.*, **1993**; 69: 277-287.

154. **Sidhu GS, Oakenfull DG.** A mechanism for the hypocholesterolaemic activity of saponins. *Br. J. Nutr.*, **1986**; 55: 643-649.
155. **Sharma RD, Raghuram TC, Dayasagar RV.** Hypolipidaemic effect of fenugreek seeds. A clinical study. *Phytother. Res.*, **1991** ; 3: 145-147.
156. **Sauvaire Y, Ribes G, Baccou JC, Loubatieeres-Mariani MM.** Implication of steroid saponins and sapogenins in the hypocholesterolemic effect of fenugreek. *Lipids*, **1991**; 26: 191-197.
157. **Petit PR, Sauvaire YD, Hillaire-Buys DM, Leconte OM, Baissac YG, Ponsin GR, Ribes GR.** Steroid saponins from fenugreek seeds-extraction, purification and pharmacological investigation on feeding-behavior and plasma-cholesterol. *Steroids*, **1995**; 60(10): 674-680.
158. **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.
159. **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
160. **Sowmya P, Rajyalakshmi P.** Hypocholesterolemic effect of germinated fenugreek seeds in human subjects. *Plant Foods Hum. Nutr.*, **1999**; 53: 359-365.
161. **Bordia A, Verma SK, Srivastava KC.** Effect of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) on blood lipids, blood sugar and platelet aggregation in patients with coronary artery disease. *Prostaglandins Leukot Essent. Fatty Acids*, **1997**; 56: 379-384.
162. **Al-Habori M, Raman A.** Antidiabetic and hypocholesterolaemic effects of fenugreek. *Phytother. Res.*, **1998**; 12: 233-242.
163. **Muralidhara NK, Viswanatha S, Ramesh BS.** Acute and subchronic toxicity assessment of debitterized fenugreek powder in the mouse and rat. *Food Chem. Toxicol.*, **1999**; 37: 831-838.
164. **Singhal PC, Gupta RK, Joshi LD.** Hypocholesterolaemic effect of *Trigonella foenum-graecum* (Methi). *Curr. Sci.*, **1982**; 51: 136-137.
165. **Petit P, Sauvaire Y, Ponsin G, Manteghetti M, Fave A, Ribes G.** Effect of a fenugreek seed extract on feeding behaviour in the rat : metabolic-endocrine correlates. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **1993**; 45: 369-374.
166. **Venkatesan N, Devaraj SN, Devaraj H.** Increased binding of LDL and VLDL to apo B, E receptors of hepatic plasma membrane of rats treated with Fibernat. *Eur. J. Nutr.*, **2003**; 42: 262-271.
167. **Annida B, Stanely M, Prince P.** Supplementation of fenugreek leaves lower lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Med. Food*, **2004**; 7: 153-156.
168. **Prasanna M.** Hypolipidemic effect of Fenugreek: A clinical study. *Indian Journal of Pharmacology*, **2000**; 32: 34-36.
169. **Madar Z, Stark AH.** New legume sources as therapeutic agents. *British Journal of Nutrition*, **2002**; 88(3): 287-292.
170. **Devi BA, Kamalakkannan N, Stanely P, Prince SM.** Supplementation of fenugreek leaves to diabetic rats. Effects on carbohydrate metabolic enzymes in diabetic liver and kidney. *Phytotherapy Research*. **2003**; 17: 1231-1233.

171. **Narender T, Puri A, Shweta, Khaliq T, Saxena R, Bhatia G, Chandra R.** 4-hydroxyisoleucine an unusual amino acid as antidiabetic and antihyperglycemic agent. *Bioorg Med Chem Lett.* **2006**; 16(2): 293-296.
172. **Bhat GB, Sambaiah K, Chandrasekhara N.** The effect of feeding fenugreek and ginger on bile composition in the albino rat. *Nutr. Rep. Int.*, **1985**; 32: 1145-1152.
173. **Reddy RLR, Srinivasan K.** Fenugreek seeds reduce atherogenic diet induced cholesterol gallstone formation in experimental mice. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **2009**; 87: 933-943.
174. **Reddy RLR, Srinivasan K.** Dietary fenugreek seed regresses pre-established cholesterol gallstone in mice. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **2009**; 87: 684-693.
175. **Muraki E, Hayashi Y, Chiba H, Tsunoda N, Kasono K.** Dose-dependent effects, safety and tolerability of fenugreek in diet-induced metabolic disorders in rats. *Lipids in Health and Disease*, **2011**; 10: 1-6.
176. **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
177. **Devasena T, Menon VP.** Fenugreek affects the activity of p-glucuronidase and mucinase in the colon. *Phytotherapy Research.* **2003**; 17: 1088-1091
178. **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.
179. **Amin A, Alkaabi A, Al-Falasi S, Daound SA.** Chemopreventive Activities of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek) against breast cancer. *Cell Biology International.* **2005**; 29: 687- 694.
180. **Frias J, Villaluenga CM, Gulewicz P, Romero AP, Pilarski R, Gulewicz K, Valverde CV.** Biogenic amines and HL60 cytotoxicity of alfalfa and fenugreek sprouts. *Food chemistry*, **2007**; 105: 959-967.
181. **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.
182. **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.
183. **Shabbeer S, Sobolewski M, Kachhap S, Davidson N, Carducci MA, Khan S.** Fenugreek: a naturally occurring edible spice as an anticancer agent. *Cancer Biol. Ther.*, **2009**; 8(3): 272-278.
184. **Nakhla HB, Mohamed OS, Abu IM, Fatuh AL, Adam SE.** The effect of *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) crude saponins on Hisex-type chicks. *Vet. Hum. Toxicol.* **1991**; 33(6): 561-564.
185. **Udayasekhara RP, Sesikeran B, Srinivasa RP.** Short term nutritional and safety evaluation of fenugreek. *Nutr. Res.* **1996**; 16: 1495-1505.
186. **Patil SP, Niphadkar PV, Bapat MM.** Allergy to fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). *Ann. Allergy, Asthma and Immunol.*, **1997**; 78(3): 297-300.
187. **Al-Meshal IA, Parmar NS, Tariq M, Aqeel AM.** Gastric anti-ulcer activity in rats of *Trigonella foenum-graecum* (Hu-Lu-Pa). *Fitoterapia*, **1985**; 56: 232-235.
188. **Javan M, Ahmadiani A, Semnian S, Kamalinejad M.** Antinociceptive effects of *T. foenum-graecum* leaves extract. *J. Ethnopharmacol.*, **1997**; 58: 125-129.

189. **Abdel-Barry JA, Al-Hakiem MHH.** Acute intraperitoneal and oral toxicity of the leaf glycosidic extract of *Trigonella foenum-graecum* in mice. *J. Ethnopharmacol.*, **2000**; 70: 65-68.
190. **Tahiliana P, Kar A.** The combined effects of *Trigonella* and *Allium* extracts in the regulation of hyperthyroidism in rats. *Phytomedicine.* **2003**; 10: 665-668.
191. **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.
192. **Ahmadiani A, Javan M, Semnanian 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.
193. **Liu Y, Kakani R, Nair GM.** Compounds in functional food fenugreek spice exhibit antiinflammatory and antioxidant activities. *Food Chemistry.* **2012**; 131: 1187-119.
194. **Sathiyamoorthy P, Evgi HL, Schlesinger P, Kedar I, Gopas J, Pollack Y, Goidhirsh 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.
195. **Mansouri S.** Inhibition of *Staphylococcus aureus* mediated by extracts of Iranian plants. *Pharmaceutical Biology.* **1999**; 37: 375-377.
196. **Aqil F, Ahmad I.** Broad-spectrum antibacterial and antifungal properties of certain traditionally used Indian medicinal plants. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, **2003**; 19: 653-657.
197. **Packiyasothy EV, Kyle S.** Antimicrobial properties of some herb essential oils. *Food Australia*, **2002**; 54(9): 384-387.
198. **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.
199. **Palaniswamy M, Pradeep BV, Sathya R, Angayarkanni J.** In vitro anti-plasmodial activity of *Trigonella foenum-graecum* L. *Evid Based Complement Alternat Med.*, **2010**; 7(4): 441-445.
200. **Ambasta SP.** *Useful plants of India.* National Institute of Science Communication, New Delhi, India, **2000**.
201. **P S, Zinjarde SS, Bhargava SY, Kumar AR.** Potent α -amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **2011**; 11(5): 1-10.
202. **Natarajan A, Muralidharan R, Satish R, Dhananjayan R.** Neuropharmacological activity of *Trigonella foenum graecum* Linn. seeds. *Journal of Natural Remedies*, **2007**; 7(1): 160-165.
203. **Belaid- Nouira Y, Bakhta H, Bouaziz M, Flehi-Slim I, Haouas Z, Cheikh HB.** Study of lipid profile and parieto-temporal lipid peroxidation in $AlCl_3$ mediated neurotoxicity. Modulatory effect of fenugreek seeds. *Lipids in Health and Disease*, **2012**; 11(16): 1-8.
204. **Khalki L, Bennis M, Sokar Z, Ba-M'hamed S.** The developmental neurobehavioral effects of fenugreek seeds on prenatally exposed mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **2012**; 139: 672-677.
205. **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.
206. **Hasibur R, Rizwan AA, Sheikh R.** Modulatory effect of *Trigonella foenum-graecum* L. extract on deltamethrin-induced low dose immunosuppression in mice. *Toxicology Letters*, **2006**; 164: 104.

207. **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.
208. **Kassem A, AI-Aghbari A, AI-Habori M, Al-Mamary M.** Evaluation of the potential antifertility effect of fenugreek seeds in male and female rabbits. *Contraception*. **2006**; 73: 301- 306.
209. **Oda K, Matsuda H, Murakami T, Katayama S, Ohgitani T, Yoshikawa M.** Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derivee from medicinal and food plants. *Biol. Chem.* **2000**; 381: 67-74.
210. **Tanker M, Şarer E, Atasi E, Yenen M, Özkal N, Kurucu S.** *Farmakognozi Uygulama Örnekleri*. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, **1986**.
211. **Çubukçu B.** *Analitik Farmakognozi (Bitkisel drogların kalitatif Fitokimyasal Analizleri)*. Üniversite yayın no: 3710, Fakülte yayın no: 62, Cilt I, II, İstanbul: İ.Ü. Basımevi ve Film merkezi, **1992**.
212. **Şener B, Tosun F, Küsmenoğlu Ş, Ergun F, Türköz S, Toker G, Baykal T, Bingöl F.** *Drogların Morfolojik, Anatomik ve Kimyasal Analiz Örnekleri*. Ankara: Gazi Üniversitesi, Seldem Ofset, **1985**.
213. **Kim DO, Jeong SW, Lee CY.** Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*. **2003**; 81: 321-326.
214. **Crozier A, Jensen E, Lean MEJ, Mc Donald MS.** Quantative analysis of flavonoids by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*. **1997**; 761: 315-321.
215. **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 Chemisrty*. **2009**; 113: 155-159.
216. **Wang L, Wang X, Yuan X, Zhao B.** Simultaneous analysis of diosgenin and sarsapogenin in *Asparagus officinalis* byproduct by thin-layer chromatography. *Phytochem. Anal.*, **2011**; 22(1): 14-17.
217. **Kroyer GTH.** Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **2004**; 5: 101-105.
218. **Koleva II, van Beek TA, Linssen JPH, de Groot A, Evstatieva LN.** Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comperative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*, **2002**; 13: 8-17.

8. ÖZGEÇMİŞ

29. 08. 1983 yılında Mersin’de doğdu. İlköğrenimini İleri İlkokulu’nda, ortaöğrenimini Pirireis Ortaokulu’nda, lise öğrenimini 19 Mayıs Süper Lisesi’nde tamamladıktan sonra 2002 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nü kazandı. 2006 yılında mezun olduktan sonra aynı yıl Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2007 yılında Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak göreve atandı. 2009 yılında Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı’nda doktora eğitimine başladı. Halen aynı Anabilim Dalı’nda doktora eğitimine devam etmektedir.