

T.C.
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

TÜRKİYE'DE YETİŞEN GÖL SOĞANI (*LEUCOJUM AESTIVUM*)
BİTKİSİNİN KİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hussein Dheyaa Hussein AL-FARIS

Ocak 2020
UŞAK

T.C.
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

TÜRKİYE'DE YETİŞEN GÖL SOĞANI (*LEUCOJUM AESTIVUM*)
BİTKİSİNİN KİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hussein Dheyaa Hussein AL-FARIS

UŞAK 2020

Hussein Dheyaa Hussein AL-FARIS tarafından hazırlanan " Türkiye’de Yetişen Göl Soğanı (*leucojum aestivum*) Bitkisinin Kimyasal ve Biyolojik Aktivitesinin Belirlenmesi " adlı bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi İbrahim BULDUK

Tez Danışmanı, Kimya Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik, Afyon Kocatepe Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi İbrahim BULDUK, Uşak Üniversitesi

Kimya Anabilim Dalı, Uşak Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ

Moleküler Biyoloji ve Genetik, Uşak Üniversitesi

Tarih: 17 / 01 / 2020

Bu tez ile U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans / Doktora derecesini onamıştır.

Doç. Dr. Murat Kemal KARACAN

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Hussein Dheyaa Hussein AL-FARIS



TÜRKİYE’DE YETİŞEN GÖL SOĞANI (*LEUCOJUM AESTIVUM*) BİTKİSİNİN KİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hussein Dheyaa Hussein AL-FARIS

UŞAK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2020

ÖZET

Bu çalışmada, *L. aestivum*'un polifenolik içeriği, spektrofotometrik ve kromatografik yöntemlerle belirlenmiştir. *L. aestivum*'un yaprak ekstraktlarında toplam fenolik içerik, $12,937 \pm 0,057$ mg GAE/g KB ve soğan ekstraktlarında $3,947 \pm 0,023$ mg GAE/g KB olarak belirlenmiştir. Toplam flavonoid içerik ise, yaprak ekstraktlarında $10,620 \pm 1,670$ mg CAE/g KB ve soğan ekstraktlarında $0,820 \pm 0,624$ mg CAE/g KB olarak belirlendi. Antioksidan potansiyelinin değerlendirilmesi için DPPH, ABTS⁺ ve RPC analizleri yapıldı. *L. aestivum*'un yaprak ekstraktlarının, soğan ekstraktlarından daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Bu sonuç, *L. aestivum*'un yapraklarının önemli bir antioksidan kaynağı olduğunu göstermiştir. Fenolik bileşikler HPLC ile tanımlandı. Antimikrobiyal analizler beş farklı patojenik bakteri suşuna karşı *L. aestivum*'un metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Ekstraktların bu suşlara karşı aktivitesi olmadığı gözlemlendi. Ekstraktların sekiz mantar suşuna karşı antifungal aktivitesi de incelenmiştir. Metanolik yaprak ekstraktlarının, *Alternaria citri*'ye karşı en etkili olduğu ve *Penicillium glabrum* ve *Cladosporium cladosporioides*'e karşı etkili bir antifungal olduğu belirlenmiştir. *L. aestivum*'un yaprak transplantasyonu ve yüzey kısımları ile soğan kesimine anatomik çalışmalar yapıldı. İzobilateral yaprağın her iki yüzeyinde de tetracytic tip stoma olduğu belirlendi. Stomaların yaprakların eksenine paralel olarak dizildiği gözlemlendi ve 20x büyütme objektifinde yaprak başına 4 ila 5 arasında değiştiği belirlendi. Mezofilin büyük lizijenöz boşluklardan özellikle hücreler arası boşluklara sahip izometrik parenkima hücreleri ve kristalimsi inklüzyonları içerdiği gözlemlendi. Midvein gelişmediği gözlemlendi. Soğan içindeki parankima hücrelerinde fazla miktarlarda nişasta tanelerinin varlığı belirlendi. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak mikromorfolojik yaprak irtifaları gözlemlendi. SEM gözlemleri yaprak yüzeyinin tüysüz olduğunu, epidermal hücrelerin sınırlara sahip olduğunu ve periklinal duvarlar üzerindeki çizgili zarların olduğunu ortaya koydu.

Bilim Kodu:

Anahtar Kelimeler: *Leucojum aestivum*, Fenolik, Flavonoid, Antioksidan, Galantamin

Sayfa Adedi: 98

Tez Yöneticisi: Dr. Öğr. Üyesi İbrahim BULDUK

**DETERMINATION OF CHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF
LEUCOJUM AESTIVUM (GÖL SOĞANI) PLANTS GROWING IN TURKEY**

(M.Sc. Thesis)

Hussein Dheyaa Hussein AL-FARIS

UNIVERSITY OF UŞAK

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2020

ABSTRACT

In this study, Polyphenolic content of *l. aestivum* was determined by spectrophotometric and chromatographic methods. Total phenolic content in leaf extracts of *l. aestivum* was $12,937 \pm 0,057$ mg GAE / g DW and $3,947 \pm 0,023$ mg GAE / g DW in bulbs extracts. Total flavonoid content was $10,620 \pm 1,670$ mg CAE / g DW in leaf extracts and $0.820 \pm 0,624$ mg CAE / g DW in bulbs extracts. DPPH, ABTS⁺ and RPC analyzes were performed to evaluate antioxidant potential. Leaf extracts of *l. aestivum* were found to have more antioxidant activity than bulbs extracts. This result showed that the leaves of *l. aestivum* are an important source of antioxidants. Phenolic compounds were identified by HPLC. The antimicrobial activity of methanol extracts of *l. aestivum* against five different pathogenic bacterial strains was investigated. It was observed that the extracts had no activity against these strains. The antifungal activity of the extracts against eight fungal strains was also investigated. Methanolic leaf extracts were found to be most effective antifungal against *Alternaria citri*, *Penicillium glabrum* and *Cladosporium cladosporioides*. Anatomical studies were performed on leaf transplantation and surface and onion cross section of *l. aestivum*. Tetracytic type stoma was found on both surfaces of isobilateral leaf. Stomata were observed to be aligned parallel to the axis of the leaves and were determined to range from 4 to 5 per leaf in a 20x magnification lens. It was observed that the mesophyll contained isometric parenchymal cells and crystalline inclusions with large lysigenous spaces, especially intercellular spaces. Midvein did not develop. The presence of large amounts of starch grains in the parenchyma cells in the onion was determined. Micromorphological leaf elevations were observed using scanning electron microscopy (SEM). SEM observations revealed that the leaf surface was glabrous, the epidermal cells had borders, and that there were striated membranes on the periclinal walls.

Science Code:

Keywords: *Leucojum aestivum*, Phenolic, Flavonoid, Antioxidant, Galantamine

Number of Page: 98

Supervisor: Asst. Assoc. Dr. İbrahim BULDUK

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren Hocam Dr. Öğr. Üyesi İbrahim BULDUK'a ve laboratuvarında görevli tüm çalışma arkadaşlarıma, manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Hussein Dheyaa Hussein AL-FARIS



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BELGİLER.....	4
2.1. Bitkinin Tanımlanması ve Dağılışı	4
2.1.1. Amaryllidaceae Familyasının Genel Özellikleri	4
2.1.2. <i>leucojum</i> Cinsinin Genel Özellikleri	5
2.1.3. <i>leucojum aestivum</i> L. Türünün Özellikleri	5
2.2. Fenolik Asitler	6
2.2.1. Fenolik Asitlerin Tanımı	6
2.2.2. Bitkilerde Bazı Önemli Fenolik Asitler	9
• Gallik asit	9
• Ferulik asit	10

• Rosmarinik asit	10
• <i>P</i> -kumarik asit	11
• Kafeik asit	11
• Protokateşik asit	11
• Sinapik asit	12
• Şiringiç asit	13
• Vanilik asit	13
2.3. Flavonoidler	14
2.3.1. Flavonoidlerin Tanımı	14
2.3.2. Bitkilerde Bazı Önemli Flavonoidler	15
• Kuarsetin	15
• Naringenin	16
2.4. Antosiyaninler	16
2.5. Antioksidan	17
2.5.1. Antioksidan Tanımı	17
2.5.2. Antioksidanların Sınıflandırılması	19
2.5.2.1. Doğal Antioksidanlar	21
2.5.2.1.1. İnsan Vücudunda Sentezlenmeyen Önemli Doğal Antioksidanlar...21	
• Vitamin E (Tokoferoller)	21
• Vitamin C (Askorbik Asit)	22
• Vitamin A (β -karoten)	22

2.5.2.1.2. İnsan Vücutunda Sentezlenen Önemli Doğal Antioksidanlar	23
1. Enzimatik Antioksidanlar	23
• Süperoksit Dismutaz (SOD)	23
• Katalaz (CAT)	23
• Glutasyon Peroksidaz (GPx)	24
• Glutasyon reduktaz (GR)	25
• Glutasyon-S-Transferaz (GST)	25
2. Nonenzimatik Antioksidanlar:	25
• Bilirubin	25
• Albumin	26
2.5.2.2. Yapay Antioksidanlar	26
• Butillenmiş Hidroksitoluen (BHT)	26
• Butillenmiş Hidroksianizol (BHA)	26
2.6. Amaryllideacea Alkaloidi	27
2.6.1. Alkaloidlerin Tanımı	27
2.6.2. Amaryllideacea Alkaloidi	28
2.6.3. <i>leucojum aestivum</i> Alkaloidleri	29
2.6.4. Galantamin	30
2.6.5. Alzheimer hastalığı (AH)	30
2.6.6. Galantamin, Alzheimer hastalık İçin	31
3. MATERYAL VE METOT	33

3.1. Materyaller	33
3.1.1. Bitki Materyali	33
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
3.1.3. Hazırlanan Çözeltiler	33
3.1.4. Ultrasonik Destekli Bitki Ekstraksiyonu	35
3.1.5 İstatistiksel Analiz	35
3.2. Metotlar	36
3.2.1. Galanthamin İçeriğinin HPLC ile Belirlenmesi	36
3.2.2. Toplam Fenolik İçerik Tayini	36
3.2.3. Toplam Flavonoid İçeriği Tayini	37
3.2.4. Antioksidan Aktivite Analizi	38
3.2.4.1. 2,2-Dipenil-1-Picril-Hidrazil Testi (DPPH)	38
3.2.4.2. ABTS ⁺ Radikal Katyon Testi	39
3.2.5. İndirgeme Kapasitesinin Belirlenmesi	40
3.2.6. Toplam Antosiyanin Tayini	40
3.2.7. Fenolik Asit Miktarlarının HPLC ile Belirlenmesi	41
3.2.8. Antimikrobiyal Aktivite ve Antifungal Etkiler (<i>in vitro</i>)	42
3.2.8.1. Bitki Ekstraksiyonun Hazırlanışı	42
3.2.8.2. Antimikrobiyal Analiz	42
3.2.8.3. Antifungal Analiz	42
3.2.9. Anatomik Analiz	43

3.2.10. Mikromorfolojik / SEM Analiz	43
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	45
4.1. Galantamin İçeriğinin Belirlenmesi	45
4.2. Toplam Fenolik İçerik Tayini	48
4.3. Toplam Flavonoid İçeriği Tayini	50
4.4. Antioksidan Aktivite Analizi	51
4.4.1. 2,2-Dipenil-1-Picril-Hidrazil Testi (DPPH)	51
4.4.2. ABTS* Radikal Katyon Testi	54
4.5. İndirgeme Kapasitesinin Belirlenmesi	56
4.6. Toplam Antosiyanin Tayini	58
4.7. Fenolik Asit Miktarının HPLC ile Belirlenmesi	59
4.8. Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivite	65
4.8.1. Antimikrobiyal Analiz	65
4.8.2. Antifungal Analiz	65
4.9. Anatomik İncelemede	67
4.10. Morfolojik İncelemede	72
5. SONUÇ	76
KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	98

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>leucojum aestivum</i> L. (Göl soğanı)	6
Şekil 2.2. Ana polifenolik bileşik sınıfları	9
Şekil 2.3. Galantamin molekül yapısı	30
Şekil 3.1. <i>leucojum aestivum</i> toplam fenolik numuneleri	37
Şekil 3.2. <i>leucojum aestivum</i> toplam flavonoid numuneleri	38
Şekil 3.3. <i>leucojum aestivum</i> DPPH numuneleri	39
Şekil 3.4. <i>leucojum aestivum</i> ABTS ⁺ numuneleri	40
Şekil 4.1. Galantamin standart eğrisi	45
Şekil 4.2. Galantamin Standardının Kromatogramı (200 ppm)	46
Şekil 4.3. Soğan ekstraksiyon kromatogramı	46
Şekil 4.4. Yaprak ekstraksiyon kromatogramı	47
Şekil 4.5. Gallik asit standart eğrisi	48
Şekil 4.6. : Kateşin Standart Eğrisi	51
Şekil 4.7a. Askorbik asit analizinin standart eğrisi	52
Şekil 4.7b. Askorbik asit inhibisyonunun standart eğrisi	53
Şekil 4.8a. gallik asit analizinin standart eğrisi	54
Şekil 4.8b. gallik asit inhibisyonunun standart eğrisi	55
Şekil 4.9. Askorbik asidin standart eğrisi	56
Şekil 4.10. Yaprak ve soğanların RPC karşılaştırması	57
Şekil 4.11. 13 Fenolik Asit Standartlarının Tipik Kromatogramı	60
Şekil 4.12. Yaprakların HCL ekstraktlarının HPLC kromatogramı	60
Şekil 4.13. Soğanların HCL ekstraktlarının HPLC kromatogramı	61

Şekil 4.14. Yaprakların metanolik ekstraktlarının HPLC kromatogramı	61
Şekil 4.15. Soğanların metanolik ekstraktlarının HPLC kromatogramı	62
Şekil 4.16. <i>Leucojum aestivum</i> 'un yaprak enine kesiti ve yüzey kesitleri (a-f) ve soğanın enine kesiti (g, h) ışık mikroskobu mikrografları	68-71
Şekil 4.17. <i>L. aestivum</i> yaprağının stereomikroskopu (a-b) ve SEM mikrografları..	72-75



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	20
Tablo 3.1. Galanthamine analizi için HPLC'nin analitik koşulları	36
Tablo 3.2. Fenolik Asitlerin analizi için HPLC'nin analitik koşulları	41
Table 4.1. <i>leucojum aestivum</i> yapraklarındaki ve soğanlardaki galantamin içeriği.....	47
Table 4.2. <i>leucojum aestivum</i> bitkisinin yaprak ve soğanlarındaki toplam fenolik i....	49
Table 4.3. Yaprak ve soğanlarındaki <i>leucojum asetivum</i> daki toplam flavonoid içeriği.51	
Table 4.4. Yapraklarda ve soğanlarda <i>leucojum aestivum</i> 'un serbest radikal temizleme aktivitesi (DPPH)	53
Table 4.5. <i>leucojum aestivum</i> 'un yaprak ve soğanlarında ABTS aktivitesi	55
Table 4.6. <i>leucojum aestivum</i> 'un yaprak ve soğanlarında indirgeme Kapasitesi	56
Table 4.7. <i>leucojum aestivum</i> 'un yaprak ve soğanlarında daki toplam Antosiyanin içeriği	58
Table 4.8. <i>leucojum aestivum</i> daki fenolik asit içeriği, iki tür ekstrakt için (HCL pH1.0 ve metanol) soğan ve yapraklarda	63
Table 4.9. <i>leucojum aestivum</i> yaprak ve soğan ekstraktlarının antimikrobiyal analizi..	65
Table 4.10. <i>leucojum aestivum</i> ekstraktlarının antifungal aktivite analizleri	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur

Simgeler

Açıklama

C	Karbon
α	Alfa
β	Beta
m	Metre
cm	Santimetre
mm	Milimetre
°C	Selsius
g	Gram
mg	Miligram
L	Litre
ml	Mililitre
M	Molar konsantrasyon
N	Normal konsantrasyon
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre

mM	Milimolar
pH	Asitlik İndeksi
nm	Nanometre

Kısaltmalar

Açıklama

FDA	The Food and Drug Administration
EMA	The European Medicines Agency
FA	Ferrulik Asit
UV	Ültraviyole
KA	Kafeik Asit
HSA	Hidroksisinamik Asit
PKA	Protokateşik Asit
SA	Şiringiç Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
RNS	Reaktif Azot Türleri
FR	Serbest Radikaller
BHA	Bütillendirilmiş hidroksianisol
BHT	Bütillendirilmiş hidroksitoluen

THBP	Trihidroksibutirofenon
TBHQ	Tert Butilhidrokenon
AOK	Antioksidan Kapasite
HAT	Hidrojen Atomu Transfer
ET	Elektron Transfer
ORAC	Oksijen radikalini absorblama kapasitesi
TRAP	Toplam radikal tutma parametresi
FCR	Folin-Ciocalteu Reaktif
TEAC	Trolox ekivalenti antioksidan kapasite
FRAP	Demir (III)iyonu indirgeme gücü
CUPRAC	Kuprik İndergeyici Antioksidan Kapasitesi
DPPH	2,2-Dipenil-1-Picril-hidrazil
SOD	Süperoksit Dismutaz
CAT	Katalaz
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GST	Glutasyon-S-Transferaz
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfatın
H₂O₂	Hidrojen Perokside
KDa	Kilodalton
GSH	Glutasyon, Azaltılmış Form

GSSG	Glutasyon, Oksitlenmiş Form
AH	Alzheimer Hastalığı
AChE	Asetilkolinesteraz
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
SD	Standart Sapma
P	p-değeri
TPC	Toplam Fenolik Madde
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
TFA	Trifloroasetik Asit
RPC	İndirgeme Kapasite
DMSO	Dimetil Sülfoksi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu

1. GİRİŞ

Ülkemi zengin bir bitki çeşitliliğine sahiptir. 3000 tanesi endemik olmak üzere 10,000 bitki yetişmektedir. Bu bitkilerden yaklaşık 500 tanesini geofit türler (soğanlı, rizumlu veya yumrulu bitkiler) oluşturur. Yaklaşık yüz yıldır içerisinde soğanlı-çiçekli bitkilerin bulunduğu geofitler yurt dışına ihraç edilmektedir, ve bunlar ihracatta önemli bir yer tutmaktadır. Özellikle 1960 lı yıllarda başlayan ticaret büyük boyutlara ulaşmış ve pek çok tür tahrip edilmiştir [1].

Pek çok hastalığın tedavisi başta olmak üzere, sağlığın korunması için ilaç olarak alternatif ve modern tıpta tıbbi bitkiler kullanılmaktadır. Ek olarak gıda katkı maddesi, bitkisel çay ve çeşni olarak da tüketilmektedir. Bu bitkiler kozmetik sanayiinde vücut bakım ürünü olarak kullanılmasına ilaveten tarımda böcek ilacı yapımında kullanılmaktadır. Bitkilerin kök, gövde, yumru, yaprak, kabukve çiçeklerinden droglar hazırlanır. Pek çok kullanım alanına sahip tıbbi bitkiler aslında biyolojik ve endüstriyel kaynaklardır. Son yıllarda bu bitkilere talep giderek artmaktadır. Ayrıca sentetik olarak üretilen ilaçlara nazaran daha az yan etkisi olduğu ve çok yönlü etkileri bulunduğundan değeri giderek artmaktadır. Bütün Dünyada 80,000 civarında bitki türü modern ve geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Kozmetik ve botanik te kullanılanlar bu rakama dahil edilmemiştir. Kozmetik ve botanik endüstrisinin de kullandığı bitki türleri bu sayıya dahil değildir. Tıbbi bitkilerin doğadan hoyratça kullanılmasını engellemek için 2007 yılında “Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Doğadan Sürdürülebilir Toplanması Uluslararası Standardı (ISSC-MAP)” oluşturulmuştur [2].

Bitkiler insanlık tarihi boyunca hastalıklarını tedavi etmek için bitkileri kullanmıştır. İnsanlar sağlıklı yaşayabilmek için bitkilerin tedavi edici özelliğini kullanmışlardır. Anadolu’da halk hekimliği uygulaması yani geleneksel tıptan faydalanma ytağındır. Modern tıbbın kullandığı ilaçların pek çoğu da aslında bitkilerden elde edilmektedir. Ülkemizin üç fito coğrafik bölüştüğü yerde bulunması Avrupa ve Asya florası arasında

köprü olması ülkemizin bitkisel zenginliğini oluşturmaktadır. Ülkemiz pek çok cins ve seksiyonun orijin ve farklılaşım merkezi durumundadır. Buna karşın, bitki zenginliğinden yeterince faydalanamamaktayız [3].

Ülkemiz bulunduğu coğrafi konum ve iklim özellikleri nedeniyle çok çeşitli bitki türlerine sahiptir. Güner ve ark. (2012)'nin "İlk Milli Flora Listemiz" olarak değerlendirdikleri "Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)" isimli çalışmalarında Türkiye Florası'nda ismi geçen fakat yayılışı itibarı ile Anadolu'da bulunmayan, Doğu Ege Adalarında yayılış gösteren türlerin listeden çıkartılması ve son yıllarda artan revizyon çalışmaları sonucunda bazı taksonların sinonim yapılması ile Ülkemizde bulunan toplam tür ve tür altı takson sayısı, yabancı kaynaklı ve kültür bitkileri dahil 11,707, endemik takson sayısı 3649 ve endemizm oranını % 31,82 olarak belirlemişlerdir. Endemik türler bakımından en zengin bölgelerimiz Akdeniz, Doğu Anadolu ve iç Anadolu bölgeleridir [4].

Türkiye Florasına göre, Ülkemiz 174 familyaya ait 1251 cins ve 12,000'den fazla tür ve tür altı taksonu ile oldukça zengin bir floraya sahiptir. Bu taksonlardan 234'ü yabancı kaynaklı ve kültür bitkisidir. Kalan kısmı ise ülkemizde doğal olarak yetişen bitkilerdir. Tüm Avrupa kıtasının 12,000 civarında bitki taksonuna sahip olduğu düşünülürse ülkemizin bitki örtüsü bakımından nedenli zengin olduğu görülmektedir. Yeryüzünde sadece belirli bölgelerinde yayılış gösteren endemik türler bakımından da ülkemiz oldukça zengindir. Tüm Avrupa ülkelerindeki toplam endemik takson sayısı yaklaşık 2750 iken ülkemizdeki endemik tür sayısı 2891'dir. Bu sayıya endemik olan 497 alt türü ve 390 varyeteyi dâhil ettiğimizde toplam endemik takson sayısı 3750'den fazladır [5].

Amaryllidaceae familyası otsu çok yıllık bitkilerden oluşan bir familyadır [6]. Amaryllidaceae ailesi bitkileri, içerdikleri aktif maddeler ve özellikle alkaloidler açısından ilaç ve tıp dünyasında oldukça önemli bir yere sahiptir [7]. Göl soğanı olarak bilinen *Leucojum aestivum* L. (Amaryllidaceae), şu anda Bulgaristan'da ticari bir galantamine kaynağı olarak kullanılan tehdit altındaki bir bitki türüdür [8]. *Leucojum* türlerinden izole edilen pek çok biyoaktif özellik gösteren bileşikler bulunmuş ve bu bileşiklerin antikolinesteraz, antibakteriyel, antifungal, antiplatelet, antimalarial,

insektisit ve sitotoksik etkilerinin olduğu belirlenmiştir. *Leucojum aestivum* L. türü çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılsa da öncelikli olarak Alzheimer hastalığının tedavisinde büyük önem taşır [9].

Bu çalışmanın amacı, toplam fenolik, flavonoid ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinin yanı sıra bu bitkide bulunan fenolik asitlerin tayininin yapılmasıdır. Ek olarak, bitki materyalinin antimikrobiyal etkinliğini belirlenmiştir. Ayrıca, bitkinin soğan ve yaprak kısımlarındaki galantamine seviyesini belirleyerek, bu bitkinin kullanımını yeniden düşünmek, Alzheimer de dahil olmak üzere hastalıkların tedavisi için ilaç üretimine katkıda bulunmak için tıbbi öneme sahip olduğunu vurgulamaktır.

2. GENEL BELGİLER

2.1. Bitkinin Tanımlanması ve Dağılışı:

2.1.1. Amaryllidaceae Familyasının Genel Özellikleri:

Amaryllidaceae otsu çok yıllık bitkilerden oluşan bir familyadır. Aspargalles takımı ve amaryllis cinsine ait tek çenekli bitkilerdir. Bunun için Amaryllis familyası bu familyanın ortak adıdır [6].

Tropik ve subtropik bölgelerde yayılım gösterir. Toprakaltı kısımları soğan, kormus veya rizom şeklindedir. Yaprakları yassı, linear, bazen etli, sert ve liflidir. Çiçekler hermafrodit; aktinomorf olup tek başına veya umbellaya benzer durumlarda ve tabanı spatalıdır. Tepaller iki halka üzerinde, serbest veya birleşiktir, bazen parakorolla taşır. Stamen 6 tanedir, ovaryum alt durumlu, sinkarp, 3 karpelli, 3 gözlü ve çok ovüllüdür. Genel çiçek formülü $P_{3+3} A_{3+3} G_{(3)}$ Liliaceae' ve benzeyen bu familya, ovaryumun alt durumlu olması, Eerigonun bazen parakorolla taşıması, ve yapraklarının hiç bir zaman ladot şekline dönüşmemiş olması gibi özellikleriyle ondan ayrılır.

Pek çoğu güzel çiçekli olduğu için süs bitkileri yönünden önemli bir familyadır. Familyada 85 cins ve 1300 tür bulunur. Türkiye'de 8 cins ve 28 türü yetişir. *Panocratium maritimum* (kum zambağı), Akdenizi çevreleyen ülkelerde, ayrıca Türkiye'nin Kuzey Güney ve Batı sahillerinde kumlar içinde yetişen çok yıllık, büyük soğanlı bir bitkidir. Bitki haziran-ekim aylarında çiçek açar; çiçekleri beyaz renkli, 10-15 cm boyunda huni şeklinde ve kokuludur, 3-10 tanesi bir arada, bir sapın tepesindedir. Çiçeklerde parakorolla bulunur ve stamenler parakorollaya bağlıdır. Ovaryum 3 gözlü, meyva tipi kapsüldür. Tohumlar çok sayıda ve siyah renklidir. Bitki Eczacılıkta kullanılmaz; çünkü adasoğanındaki gibi bir etkisi yoktur, bu nedenle karıştırılmamalıdır. Bulbus Scillae' den farklı olarak soğanlarında iri taneli nişasta bulunur. Soğanları çok fazla olmamakla

birlikte, süs amacıyla ihraç edilir; ayrıca yetiştirme ortamı nedeniyle turizmin etkisi altında bulunduğundan bitki yıldan yıla azalmaktadır [10].

2.1.2. *Leucojum* Cinsinin Genel Özellikleri:

Soğanlı, yapraksız gövdeli, çok yıllık bitkilerdir. Bütün yapraklar bazal ve lineerdir. Çiçek durumu umbellat tiptir. Çiçekleri beyaz renkli, kampanulat tipte ve nodludur. Hipantial tüp ve korona bulunmaz. Periant segmentleri serbesttir, hepsi birbirine benzer ya da benzemeyebilir. Filamentler anterlerden daha kısadır. Anterler apikulat değildir. Kapsül subglobozdur. Tohumlar çok sayıdadır, strofiol bazen bulunur. Amaryllidaceae familyasına ait *Leucojum* cinsinin türlerinin taksonomisi üzerinde uzun yıllar çalışılmıştır [11]. *Leucojum* cinsi dört gruba veya alt türlere ait 11 türden oluşur. *L. aestivum*, *Aerosperma* alt türünün tek türüdür [12]. Son yıllarda, *Leucojum* cinsi sadece iki türle temsil edilir, bunlar *L. aestivum* ve *L. vernum*'dur. Türkiye'de ve Trakya'da yaygın olan türler *L. aestivum* subsp. *Pulchellum* dur[13].

2.1.3. *Leucojum aestivum* L. Türünün Özellikleri:

Göl soğanı (*Leucojum aestivum* L.) (Şekil 2.1), Avrupa-Akdeniz bölgesindeki Amaryllidaceae familyasına aittir, farmasötik olarak önemli alkaloidler içerir[14]. Ülkemizde akçabardak, kabalak, sarıklı kökü olarak adlandırdığı göl soğanı (*Leucojum aestivum* L.) olarak adlandırılır. Türkiye'de 30-60 cm boyunda, Kuzey Anadolu'nun yüksek ve nemli meralarında yaşayan çok yıllık ve soğanlı bir bitkidir. Türkiye için önemli bir ihracat malzemesidir[15]. Moleküler çalışmalar *Leucojum* cinsinin, Akdeniz bölgesindeki veya Orta Avrupa'daki iki cinsin ortak atalarının kökeni olan *Galanthus* L. ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir ve Kuzey Afrika ve İber Yarımadası'nın bu bölümün en muhtemel bölgeleri olduğunu ileri sürdü [12].

Türkiye'de *Leucojum aestivum* L., Göl soğanı Kabalak, Sarıklı köklü olarak adlandırılır. Yapraklar, geniş, doğrusal, 22-62 cm x 7-14 mm, iki kanatlıdır. Kanatlar, dar, cam gibi, birbirinden uzak, kenarları dış şeklinde küçük çıkıntılıdır. Çiçek sapı üzerinde eşit aralıklarda, 2-5 adet şemsiye şeklinde çan görünümlü çiçekler bulunmaktadır. Çiçeklenme zamanı Mart- Haziran aylarıdır. Tohumlar siyah ve 5-7

mm'dir. 1-1100 m'de nemli çayırılık ve bataklık yerlerde yetişirler. İstanbul, Kocaeli, Bursa, Bolu, Samsun, Konya, Beyşehir ve Erzurum'da doğal olarak bulunur. Peyzaj düzenlemelerinde, kaya bahçelerinde, doğal ve yapay göller, havuzlar ve nemli alanlarda, ağaç ve çalılar ile birlikte ve bordürlerde kullanılırlar [16].



Şekil 2.1. *Leucojum aestivum* L. (Göl soğanı) [17]

2.2. Fenolik Asitler:

2.2.1. Fenolik Asitlerin Tanımı :

Genel olarak, bitki fenoliklerinin tanımı söz konusu olduğunda, "fenol" terimi, bir veya daha fazla hidroksil ikame edicisine sahip olan bir fenil halkasını tanımlayan kimyasal bir terimdir. "Polifenol" terimi, fonksiyonel türevleri de dahil olmak üzere bir veya daha fazla hidroksil ikame ediciyi içeren en az iki fenil halkası içeren doğal ürünleri tanımlamak için kullanılabilir, ancak bu tür bir tanım, fenolikler bağlamında böyle bir tanım değildir. Çünkü esas olarak terpenoid olan gossipol, fenolik karotenoid 3-hidroksiizorenieraten (I) veya fenolik kadın cinsiyet hormonu öestronu (II) gibi bileşikler içerecektir [18].

Fenolik maddeler bitkisel kaynaklı besinlerin lezzetine buruk bir tat verir ve rengine etki eder. Meyve ve sebzelerde genel olarak çok az miktarda bulunan önemli bir madde grubudur. En basit fenolik madde bir adet hidroksil grubu içeren benzendir. Bu grup fenol olarak adlandırılır diğer fenolik maddelerin de fenol den türediği bilinir [19].

Fenolik bileşikler, bitkilerde ana sekonder metabolit sınıfıdır ve fenolik asitlere ve polifenollere bölünürler (Şekil 2.2). Bu bileşikler, bir veya daha fazla fenolik gruba bağlı mono ve polisakaritler ile birlikte bulunur veya ester veya metil esterler gibi türevler halinde oluşabilir. Birkaç fenolik bileşik sınıfı arasında fenolik asitler, flavonoidler ve taninler ana diyet fenolik bileşikleri olarak kabul edilir. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi, serbest radikalleri temizleme, hidrojen atomları, elektronlar veya şelat metal katyonları bağışlama kapasitesine dayanır [20].

Basit fenoller, birkaç meyveden izole edilmiş p-kresol (örneğin ahududu, böğürtlen), 3-etilfenol ve 3,4-dimetilfenol gibi monofenolleri içerir, örneğin bazı kakao çekirdeğinin ve muhtemelen hidrokinon gibi difenollerin dumanlı tadını sorumlu olduğu bulunmuştur. Tipik bir hidrokinon türevi sesamol susam yağında bulunmuştur. Susam yağında bulunan sesaminol gibi birkaç sesamol türevinin, güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu değerlendirildi. Çay kateşinlerinde esterlenmiş formda bir trifenol olan gallik asit bulunur. Galik asit, kinik asit esterleri veya hidrolize edilebilir tanenler olarak çözünür formda bitkilerde oluşabilir [21].

Polifenoller doğada en yaygın metabolit sınıfı arasındadır ve dağılımları neredeyse her yerdedir. 100,000 ila 200,000 sekonder metabolitin var olduğu ve fotosentez ile sabitlenmiş karbonun %20'sinin fenilpropanoid yolağına kanalize edildiği, bu nedenle flavonoidler ve stilbenler gibi doğal olarak meydana gelen fenoliklerin çoğunluğunun üretildiği tahmin edilmektedir. p-kumarik asit, polifenoller değildir, ancak bunlar, "fonksiyonel polifenoller" olarak bilinirler ve polifenollerle aynı özelliklerde karakterizedirler [22].

En önemli radikal temizleyicileri fenolik antioksidanlardır. Peroksi radikallerini hidroperoksitlere dönüştürürler ve kendilerini fenoksi radikallerine dönüştürürler.

Fenoksi radikali, radikal olmayan ürünlerle sonuçlanan başka bir peroksi radikaliyle reaksiyona girebilir. Bununla birlikte, oluşan fenoksi radikalleri ayrıca polimer zincirinden bir hidrojen soyutlayabilir ve bu şekilde yeni bir oksidasyon döngüsü başlatır. Fenolik antioksidanların çoğu, 2 ve 6 pozisyonlarında iki üçüncül butil grubu içerir; Bu gruplar oluşturulmuş fenoksi radikalini (sterik engel) koruyabilir ve yeni bir oksidasyon döngüsünün başlatılmasını önleyebilir [23]. Renkten (sarı gibi, portakal, kırmızı ve mavi pigmentler), tat ve lezzet (örneğin vanilin ve öjenol) yiyeceklerin başlıca polifenol karakteristiklerinden biri radikal temizleyici kapasitesi ve antioksidan özelliklerle proteinlerin etkileşime girme kabiliyetine karışır. Yüksek antioksidan kapasitesi, polifenoller, bitkilerin patojen ve avcılara karşı kimyasal olarak korunmasında ve bitki-bitki etkileşimlerinde rol oynayan önemli bir faktördür [24]. Meyve, bitki, sebze, tahıl ve fenolik yönünden zengin diğer bitki materyallerinin özleri gıda endüstrisinde giderek daha fazla ilgi çekmektedir, çünkü lipitlerin oksidatif bozulmasını yavaşlatır ve böylece yiyeceklerdeki besin değerini ve iyileşme kabiliyetini artırır [25].

Polifenoller			
Fenolik asitler	Flavonoidler	Taninler	Stilbenler
Hidroksi Benzoik Asitler	Flavonollar	Tanin türevleri	
Hidroksisinnamik Asitler	Flavonlar	Hidrolize olabilir taninler	
	Flavanonlar		
	Antosiyanidinler		
	İzoflavonlar		

Şekil 2.2. Ana polifenolik bileşik sınıfları [24]

2.2.2. Bitkilerde Bazı Önemli Fenolik Asitler:

- **Gallik asit:**

Gallik asit (3,4,5 trihidroksibenzoin asit), hafif renksiz veya hafif sarı bir kristalimsi katıdır [26]. Bitki materyali içerisinde serbest asitler, esterler, kateşin türevleri ve hidrolize edilebilir tanenler formunda gallik asit mevcuttur. Bu her yerde bulunan kimyasal, bitki kökenli biyolojik olarak en aktif fenolik bileşiklerden biridir [27].

Aynı zamanda, metillenmiş gallik asitler, örneğin, kateşin türevlerinin şiringiç asidi veya galloil konjüгатları yani glikoz, kinik asit veya gliserolün [28] flavan-3-ols veya polgalloil esterleri olarak ortaya çıkar. Bu bileşiklere ilgi, radikal temizleyicileri olarak

farmakolojik aktivitesinden kaynaklanmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar, kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve yaşlanma dahil, oksidatif stresin olduğu birçok hastalıkta potansiyel koruyucu ve terapötik etkilere sahip olduğu kanıtlanmıştır [29].

Tıbbi yönlere ek olarak, diğer alanlarda da gallik asit uygulanır. İlk uygulaması deri ve deri endüstrisinde şelat ajanı olarak uygulandı. Gallik asit, bir antimikrobiyal ajan olan trimetopim'in sentezi için ve ayrıca yiyecek ve içeceklerde, özellikle serbest radikallere kaçırma gücünden dolayı koruyucu olarak kullanılır [26].

- **Ferulik asit:**

Ferulik asit, 4-hidroksi-3-metoksisinamik asittir [29]. Ferulik asit, bitkilerde en bol bulunan fenolik asitlerden biridir ve mısır kepeği, buğday kepeği, patlıcan, enginar ve pancar gibi gıdalarda yüksek konsantrasyonlarda bulunabilir. Çimenlerde bulunan arabinoksilazlar ve bambudaki ksiloglukanlar gibi hücre duvarındaki proteinler ve polisakkaritler ile serbest, dimerize edilmiş veya esterlenmiş olarak bulunabilir [30]. FA'in bildirilen en iyi biyolojik aktiviteleri, hiç şüphesiz, temel olarak fenolik çekirdeği ve konjuge 3C-yan zincirinden dolayı olan antioksidan özellikleri ile ilgili olanlardır. Son çalışmalar, FA'nin antioksidan özellikleriyle, özellikle oksidatif hasarla ilişkili kronik hastalıklara karşı, çeşitli sağlık yararları sağladığına dair kanıtları desteklemektedir [31]. FA, antioksidan, antialerjik, hepatoprotektif, antikarsinojenik, antienflamatuar, antimikrobiyal, antiviral, vazodilatuar etki, antitrombotik ve çok çeşitli biyomedikal etkiler sergiler ve spermelerin canlılığını arttırmaya yardımcı olur. Aynı zamanda, çapraz bağlama maddesi olarak gıda korumasında da uygulamaları vardır [32].

- **Rosmarinik asit:**

Rosmarinik asit bir kafeik asit esteridir. Lamiaceae familyasına ait bitkilerde yaygın olarak bulunan doğal bir fenolik bileşiktir [33].

Rosmarinik asit, antioksidan, antienflamatuar ve antimikrobiyal aktivitelere sahiptir. Rosmarinik asidin antioksidan aktivitesi, E vitaminden daha güçlüdür. Rosmarinik asit,

serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarını önlemeye yardımcı olarak kanser ve ateroskleroz riskini azaltır. Rosmarinik asit, antienflamatuar özelliklere sahiptir. Rosmarinik asitce zengin olan Perilla, anti alerjik aktivitesinde kullanılır. Rosmarinik asit ayrıca gıda korumasında da kullanılır [34].

- **P-kumarik asit:**

p-kumarik asit (4-hidroksisinnamik asit) [35]. Bitkilerde bulunan *p*-kumarik asit, birçok tıbbi özelliği olan lignin ve tanen bileşenleri içerir [36].

p-kumarik asit, birçok meyve, sebze ve graminallı bitkilerde esterleşmiş veya serbest asit formlarında bulunur. *p*-kumarik, kısmen kemoprotektan ve antioksidan özellikleri nedeniyle büyük ilgi çekmektedir [37]. Biyolojik olarak öncül olarak fenilalanin ve tirozin içeren shikimate yolla sentezlenir. *P*-kumarik asit, antioksidan, antienflamatuar, antidiyabetik mellitus, anter-ülser, trombosit, antikanser aktiviteleri ve antimikrobiyal özellikler gibi çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahiptir. Ayrıca ateroskleroz, oksidatif kalp hasarı, oküler dokulara UV kaynaklı hasar, nöral yaralanma ve gut önlenir [38].

- **Kafeik asit:**

Kafeik asit (KA, 3,4-dihidroksisinnamik asit) [39]. Kafeik asit (KA), shikimate yolağının sekonder bir metaboliti olarak birçok bitki türü tarafından üretilen doğal olarak oluşun bir hidroksisinnamik asittir (HSA) [40]. KA, doğal ve sentetik türevleri, düşük konsantrasyonlarda bile güçlü antioksidan aktivite gösterir. Ayrıca, pek çok biyolojik araştırmada, kafeik asidin ve analoglarının, antienflamatuar, antibakteriyel, antiviral ve antitümör aktiviteleri de gösterdiği kanıtlanmıştır. Son araştırmalar, caffeate esterlerinin, özellikle de metil caffeat'ın sükröz ve maltaz inhibisyonu gösterdiğini göstermiştir [41].

- **Protokateşik asit:**

Protokateşik asit (PKA, 3,4-dihidroksibenzoik asit), *Olea europaea* (zeytin), *Hibiscus sabdariffa* (roselle), *Eucommia ulmoides* (du-zhong), *Citrus microcarpa* Bunge

(calamondin) ve *Vitis vinifera* (beyaz şarap üzümleri) gibi birçok gıda bitkilerinde bulunan bir fenolik bileşiktir [42].

Protokateşik asit (PKA), halk tıbbında kullanılan çoğu yenilebilir bitkide yaygın olarak dağılır ve bulunur. Aynı zamanda insan diyetinde, kepek ve tahıl kahverengi pirinçte (*Oryza sativa* L.) ve soğanda (*Allium cepa* L.), özellikle ölçeklerde bulunan çok yaygın bir bileşiktir. Protokateşik asit erik (*Prunus domestica* L.); beктаşı üzümü (*Ribes uvacrispa* L.); üzümler (*Vitis vinifera*); ve normal bademler gibi fındıklar (*Prunus amygdalus*). PKA, antioksidan aktivite, antibakteriyel aktivite, antikanser aktivite, antidiyabetik aktivite, antiageing aktivitesi, antifibrotik aktivite, antiviral aktivite, antienflamatuar aktivite, analjezik aktivite, antiaterosklerotik aktivite, kardiyak aktivite, hepatoprotektif aktivite, nörolojik ve nefro koruyucu aktivite gibi potansiyel etkisi için bildirilmiştir [43].

- **Sinapik asit:**

Sinapik asit 3,5-dimetoksi-4-hidroksisinamik asittir. Serbest halde bulunabilir, ancak diğer hidroksisinamik asitler gibi, ester formunda da bulunur [44].

Bir fenolik bileşik ve üyesi terapötik olarak faydalı olduğu ve genel olarak toksik olmadığı varsayılan fenilpropanoid ailesinin bir üyesidir. Sinapik asit, bitki krallığında (meyveler, sebzeler, tahıl taneleri, yağlı tohum bitkileri ve bazı baharatlar ve şifalı bitkiler) ve insan beslenmesinde yaygındır [45].

Sinapik asit, enfeksiyonlar, oksidatif stres, iltihaplanma, kanser, diyabet, nörodejenerasyon ve anksiyete gibi çeşitli patolojik durumlara karşı test edilmiş ve raporlanmıştır. Sinapin, 4-vinilsyngol ve syngaldehit gibi bazı sinapik asit türevleri de sırasıyla asetilkolinesteraz inhibisyonu, antimutagenite ve antioksidan aktivite için çalışılmıştır [46].

- **Şiringiç asit:**

Şiringiç asit (ŞA) (4-hidroksi-3,5-dimetoksibenzoik asit), başlıca benzoik asitlerden ve yenilebilir bitki ve meyvelerden türetilen fenolik bileşiklerden biridir [47].

ŞA, güçlü antioksidan, antiproliferatif, antiendotoksik, antimikrobiyal, antienflamatuar ve antikanser etkileri gibi çoklu farmakolojik özellikler gösterir [48]. Güncel raporlar, çeşitli hayvan modellerinde potansiyel antianjiyojenik, glikotasyon önleyici, antihiperlipidemik, nöroprotektif ve hafıza artırıcı özelliklerini iddia etmektedir [49].

- **Vanilik asit:**

Vanilik asit (4-hidroksi-3-metoksibenzoik asit) [50], vanilin okside şeklidir ve vanilya fasulyesinde ve geleneksel Çin tıbbında kullanılan bir bitki olan *Angelica sinensis*'te yüksek konsantrasyonlarda bulunur [51].

Çeşitli çalışmalar, immün veya enflamatuar yanıtların yönetiminde vanilik asidinin etkinliğine dair kanıt sağlamıştır. Örneğin, vanilik asidi, insan lenfosit proliferasyonunun ve insan periferik kan mononükleer hücrelerinde interferon-gama salgılanmasının aktivitesini arttırdı. Başka bir çalışma, vanilik asidinin, konkanavalin A ile indüklenen karaciğer hasarında immün aracılı karaciğer inflamasyonu üzerine baskılayıcı etkisi ile hepatoprotektif bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir [52]. Bu bileşikler genellikle güvenli olarak kabul edilir, dondurma, içecek, hamur işleri ve şekerleme gibi gıda ürünlerinde lezzet verici maddeler olarak yaygın şekilde kullanılırlar ve çok çeşitli bakteri, maya ve küflere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir [53].

2.3. Flavonoidler:

2.3.1. Flavonoidlerin Tanımı :

Flavonoidler, bugüne kadar tanımlanmış 10,000'in üzerinde bileşiği olan çeşitli bitki metabolitleri grubudur. Ancak, bunlardan sadece çok az bir kısmı ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bitkilerde zararlı UV radyasyonuna veya bitki pigmentasyonuna karşı koruma sağlama gibi birkaç önemli işlevi vardır. Ayrıca, antioksidan, antiviral ve antibakteriyel özelliklere sahiptirler. Gen ekspresyonunu düzenler ve enzimatik hareketi modüle ederler [54]. Bu bileşikler, shikimate-türetilmiş fenilpropanoid (--> C₆-C₃) yolu ve asetat-mevalonatepolketit (--> C₆) yolağının bir kombinasyonu ile bitkilerde metabolik melezler olarak biyosentezlenen sekonder metabolitlerdir. Bu nedenle bunlar, fenilpropanoidin (C₆-C₃ birimi) karbon iskeletine sahiptirler ve fenilpropanoidler olarak adlandırılan önemli bir doğal ürün sınıfı oluştururlar. Daha kesin olarak, flavonoidlerin moleküler çerçevesi, bir C₆-C₃-C₆ birimi yani, ana C₆-C₃ biriminin kromon (benzo-piron) çekirdeği olarak mevcut olduğu flavonoid (fenil-benzoprone) iskeletinden oluşur [55]. Geleneksel olarak dünyadaki tüm kültürlerde otlar ve baharatlar, açılığa lezzet verici maddeler ve tıbbi olarak çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılırlar. Baharat, bir bitkinin kurutulmuş bir kabuğu, kökü veya bitkisel maddesi olabilir; bitki, meyve, çilek veya herhangi bir otsu bitki gibi yeşil yapraklı bir bitkinin parçası olarak adlandırılır. Otlar ve baharatlar, polifenoller, fenolik asitler, tanenler, flavonoller, izoflavonlar ve curcuminoidler gibi antioksidanlar olarak bilinen fitokimyasalları içerir. Otlar ve baharatlardaki bu antioksidanların yüksek oranı sonucunda çeşitli sağlık faydaları sağlamaktadır [56].

Bu flavonoidler, önemli fizyolojik fonksiyonlara aracılık eder ve geniş terapötik uygulamalar nedeniyle gıda ve eczacılık şirketlerinde ticari olarak çok önemlidir.

Flavonoidler tarafından oksidatif hasarı azalttığı veya önlediği çeşitli mekanizmalar kullanılır:

1. ROS'un doğrudan süpürülmesi.
2. Oksidazları engelleyerek süperoksit anyon üretiminin engellenmesi.

3. Antioksidan enzimlerin aktivasyonu.
4. Serbest metallerin şelasyonu; oksijen metabolizmasında yer alır.
5. Nitrik oksitten kaynaklanan oksidatif stresin hafifletilmesi [57].

Kaempferol, mirisetin ve kuersetin gibi flavonoidler güçlü ksantin oksidaz inhibitörleridir ve gut, hiperürisemi ve reperfüzyon hasarının tedavisinde yararlanılmaktadır. Flavonoidlerin aldoreduktaz inhibe etme özelliğinin diyabet kaynaklı retinopati ve katarakta faydalı olduğu bulundu. Kateşinler, H⁺ / K ATPaz'ı inhibe ederek bir antikanser maddesi olarak görev yapar. Deneysel hayvanlarında Liquritigenin uygulaması serum kolesterolünde önemli bir düşüş gösterdi. Doksorubisinin kardiyotoksitesisi, luteolin gibi flavonoidlerle azaltılabilir. Silimarin etkili bir hepatoprotektif ajan olarak kanıtlanmıştır. Butein (2', 4', 3, 4-Tetrahidroksikolkon) ve diğer kolkonlar gibi tirozinaz inhibitörleri, hiperpigmentasyonun önlenmesinde kullanılan kozmetik ve tıbbi ürünlerde giderek daha önemli hale gelmiştir. Genellikle HPLC, HPTLC ve UV spektrofotometrik yöntemler, flavonoidlerin ve ilgili bileşiklerin ham ilaçlarda kalitatif ve kantitatif olarak tahmin edilmesi için etkili bir şekilde kullanılabilir [58].

2.3.2. Bitkilerde Bazı Önemli Flavonoidler:

- **Kuersetin:**

Kuersetin, 302.24 moleküler ağırlığa ve 316 °C erime noktasına sahip (2-3,4-dihidroksifenil -trihidroksi-4Hchromen-4-1)'tir. Kuersetin ortak isimleri, kersetin, sofretin, meletin, kuersetin, kuersetin (American Oak) kabuğundaki glikozit kuersitrin olarak ortaya çıkar. İyi kaynakları arasında elma, soğan, çay, fındık ve kırmızı şaraplar bulunur. Yapraklı sebzelerde, meyvelerde, karnabaharda, lahanada ve ginkgo ve St. John's Wort gibi bitkilerde bulunur [59].

Kuersetin, serbest radikalleri temizleme ve geçiş metali iyonlarını bağlama kabiliyetinden dolayı güçlü bir antioksidan olarak kabul edilir. Kuersetin ayrıca serbest radikalleri temizleyerek iltihabı azaltabilir. Serbest radikaller, kronik enflamatuvar

hastalıklardan muzdarip olan hastalarda sıklıkla bulunan proinflatuar sitokinleri üreten transkripsiyon faktörlerini aktive edebilir. Kuersetin gibi antioksidanların, hücrelerin reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif strese karşı korunmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve reaktif azot türlerinin (RNS), özellikle bazı antioksidanların bazı kanser türlerinin başlamasını önleyebileceğini veya geciktirebileceğini gösteren kanıtlar arttıkça, insan kanseri gelişiminde kilit bir rol oynadığı öne sürülmektedir [60].

- **Naringenin:**

Naringenin, ağırlıklı olarak Citrus türleri ve domatesler gibi bazı yenilebilir meyvelerde bulunan ve smyrna tipi Ficus carica'ya ait incirlerde bulunan, doğal olarak meydana gelen en önemli flavonoidlerden biridir. Kimyasal olarak, 2,3-dihidro-5,7-dihidroksi-2- (4-hidroksifenil) -4H-1-benzopiran-4-on olarak adlandırılmıştır [61].

Naringin ve naringenin, antibakteriyel, antiinflatuar, östrojen karşıtı, adipoliz aktivitesi, antidiyabetik, anti-Alzheimer hastalığı, apoptoz, antiviral, antialerjenik, antiobezite ve çeşitli kanserlere karşı; akciğer kanseri, meme kanseri, rahim ağzı kanseri gibi önemli bir farmakolojik aktiviteye sahiptir [62].

2.4. Antosiyaninler:

Antosiyaninler genellikle doğadaki en büyük ve en önemli suda çözünür pigment grubu olarak kabul edilir. Birçok meyve ve sebzenin mavi, mor, kırmızı ve turuncu renklerinden sorumludurlar [63]. Bunlar, toplu olarak 8000'den fazla flavonoid ile flavonoidler olarak bilinen ve 2000 yılında bildirilen 500 antosiyanin yapısına sahip toplu olarak bilinen fenolik bileşik sınıfına aittir [64]. Bunlar polihidroksi ve 2-fenilbenzopirilyum veya flavilyum tuzlarının polimetoksi türevlerinin glikozitleridir [65]. Ana antosiyanin kaynakları yaban mersini, kiraz, ahududu, çilek, siyah kuş üzümü, mor üzüm ve kırmızı şaraptır [63]. Bu etkiler, antioksidan, antialerjik, antiinflatuar, antiviral, antiproliferatif, antimutajenik, antimikrobiyal, antikanserojen ve kardiyovasküler hasar ve alerjiden korunmayı içerir [64].

2.5. Antioksidan:

2.5.1. Antioksidan Tanımı :

Oksijen aerobik canlıların yaşamı için önemlidir. Bununla birlikte, daha yüksek miktarda tedarik edilirse zehirli olabilir. Temel durumunda dioksijen orta derecede cansız, fraksiyonel azalması ise örneğin tekli oksijen, süper oksit radikal anyonu ve hidrojen peroksit gibi dinamik oksijen türlerine yükselmeyi sağlar. Bu, oksidanın fizyolojik kapasite üzerinde oldukça önemli olan zararlı etkisi oksidatif kaygı nedeniyledir. Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROS) ve antioksidanların korumaları arasındaki dengesizliğin bir etkisidir. Bu oksidatif kaygı, hücre kapasitelerinin ilerlemesini yavaşlatır ve ayrıca AIDS, olgunlaşma, eklem iltihabı, astım, bağışıklık sistemi hastalıkları, karsinogenez, kardiyovasküler kırılma, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, Alzheimer hastalıkları, Parkinson dementia gibi farklı nevrotik durumlara neden olur [66]. Antioksidanlar (AA) bozulma sürecini yavaşlatır, böylece çevrenin enerjik hareketi daha yüksek sürdürülebilirliğe yol açabilir. Serbest Radikaller ile etkileşime girerler [67] (Serbest radikaller, dengesini sağlamak için elektronları çıkararak, diğerlerinden kararsız olduklarından ve diğer moleküllere zarar vermelerinden dolayı, bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektron içeren kimyasal türlerdir. Canlı hücreler, fizyolojik ve biyokimyasal işlemlerin bir sonucu olarak serbest radikalleri ve diğer reaktif oksijen türlerini (ROS) yan ürünleri üretirler [68]), oksijenle reaksiyonlarını mümkün kılarlar. Antioksidanlar iki sınıfa ayrılabilir; sentez antioksidanları ve doğal antioksidanlar. İki kategori arasındaki fark, çoğu sentez antioksidanının kanser veya başka hastalıklar geliştiren maddeler üretmesidir. Antioksidanların sınıflandırılması, fonksiyonlarına veya doğalarına bağlı olarak yapılabilir.

İşlevlerine bağlı olarak:

1. Birincil antioksidanlar (uygun antioksidanlar): askorbik asit ve türevleri, tokoferoller, gallik asit esterleri, eritropik asit ve sodyum tuzu, Butilhidroksianizol (BHA), butilhidroksitolüen (BHT) ve diğer maddeler trihidroksibutirofenon (THBP), tert butil hidrokinon (TBHQ).

2. İkincil antioksidanlar (antioksidan etkiye sahip, ancak başka işlevleri de olan maddeler). Sülfür dioksit ve sülfidlerin yanı sıra lesitin ikincil antioksidanlardır [67].

Geleneksel tıpta kullanılan şifalı bitkiler, iyi bilinen doğal antioksidan kaynaklarıdır. Ham özütler ve/veya kimyasal bileşenler şeklinde bulunan şifalı bitkilerden elde edilen doğal antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek oksidasyon işlemini engellemek için çok etkilidir. Ayrıca bitki ürünlerinden alınan ilaçların sentetik benzerlerinden daha güvenli olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, çoğu tıbbi bitkinin toksisite profili kapsamlı bir şekilde değerlendirilmemiştir [69]. Antioksidanlar birçok şekilde sınıflandırılabilir. Aktivitelerine bağlı olarak enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak sınıflandırılabilirler. Antioksidanları sınıflandırmanın başka bir yolu da sudaki veya lipidlerdeki çözünürlüğüne dayanır. Antioksidanlar ayrıca boyutlarına göre de küçük moleküllü antioksidanlara ve büyük moleküllü antioksidanlar sınıflandırılabilir [70]. Fotosentez, hücresel oksidasyonun önemli bir kaynağıdır ve birçok çalışmada, antioksidanların, yüksek oranda fotosentez oranlarının korunmasındaki önemi gösterilmiştir. Çalışmalar fotosentezin reaktif oksijen türlerinin (ROS) kaynağı olduğunu ve fotosentetik elektron taşıma zincirinin aerobik bir ortamda ROS üretimini minimize etmek için düzenleyici bir sistem olarak çalıştığını göstermiştir. Ek olarak, ROS'un etkili bir şekilde işlenmesi ve hücre içi ROS havuzlarının düşük seviyelerde tutulması için güçlü ve verimli bir antioksidan ağa ihtiyaç vardır [71]. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve bütillenmiş hidroksitolüen (BHT) gibi sentetik antioksidanlar, gıda bozulmalarını önleme ve yiyeceklerin raf ömrünü uzatma yetenekleri nedeniyle gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılır. Yaygın olarak kullanılan β -karoten, C vitamini ve E vitamini gibi sentetik antioksidanlar piyasada yaygın olarak satılmaktadır ve bunları tüketen erişkinlerde ölüm riskini arttırdığı gösterilmiştir. Kesin etki mekanizması hala bilinmemektedir, ancak doğal antioksidanlarla karşılaştırıldığında sahip oldukları sıkı toksisite nedeniyle olabileceği öne sürülmüştür. Bu nedenle, alternatif doğal antioksidan kaynakları aramak giderek önem kazanmaktadır. Diyet yoluyla elde edilebilen doğal antioksidanların örnekleri klorofiller, flavonoidler, C vitamini, selenyum ve likopendir. Şarap, meyve ve sebzelerde bulunan doğal antioksidanlar sağlığa yararları ve ticari değerleri nedeniyle geniş bir şekilde incelenmiştir. Meyvelerin yanı sıra, kabuk, yapraklar, meyve kabukları

ve kökler gibi bitkilerin diğer kısımları da antioksidan özellikleri nedeniyle yoğun bir şekilde kullanılmaktadır [72]. Antioksidan Metodları Birinci Uluslararası Kongresi, Haziran 2004'te Orlando, FL'da, yiyeceklerde, botaniklerde, nutrasötiklerde ve diğer diyet takviyelerinde antioksidan kapasitenin (AOK) değerlendirilmesine ve analitik konuların ele alınmasına, AOK'nin rutin değerlendirmesinde standardize edilebilecek analitik yöntemlere yönelik olarak ve bir veya daha fazla teklif önerisi için toplandı. Antioksidanlar üzerine yapılan araştırmalar son 10 yılda önemli ölçüde artmıştır [73].

Antioksidan kapasitenin belirlenmesi için bu güne kadar pek çok yöntem geliştirilmiştir. Toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesini sağlayan yöntemler, hidrojen atomu transfer reaksiyonlarına dayanan yöntemler ve elektron transferine dayanan yöntemler olmak üzere iki gruba ayrılır. Hidrojen transferi temelli yöntemlerin çoğu azobileşiklerin bozulması ile oluşan peroksil radikalleri için antioksidan ve substratın rekabetine dayalı reaksiyonları kullanmaktadır. Bu yöntemler oksijen radikalini absorblama kapasitesi (ORAC), toplam radikal tutma parametresi (TRAP) ve krosin beyazlatma yöntemlerini içermektedir. ET temelli yöntemler antioksidanın oksidantı indirgeme yeteneğini renk değişimi ile ölçer. Renk değişiminin derecesi örneklerin antioksidan konsantrasyonu ile alakalıdır. Elektron transferine dayalı yöntemler toplam Folin-Ciocalteu reaktifi ile toplam fenolik içerik yöntemi (FCR), Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC), demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP), oksidan olarak bakır kullanan toplam antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC) ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemlerini içermektedir [74].

2.5.2. Antioksidanların Sınıflandırılması :

Antioksidanlar, endojen ve eksojen olmak üzere iki grup altında toplanabilir (Tablo 2.1). Endojen ve eksojen antioksidanlar, oksidan/antioksidan dengesini sağlamak için serbest radikallerden vücudu korur ve serbest radikalleri etkisizleştirmek için kullanılırlar [75].

Tablo 2.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Endojen Antioksidanlar		
Enzimatik antioksidanlar	Nonenzimatik antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q 10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	α – lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin
Eksojen antioksidanlar		
Vitamin eksojen antioksidanlar	İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar	
α – Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)	
β – Karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)	
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz	
Folik asit (Vitamin B9)	Trolox – C (Vitamin E analoğu)	
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)	
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albumin)	
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)	
	Nötrofil adezyon inhibitörleri	
	Sitokinler (TNF ve IL – 1)	
	Barbitüratlar	
Demir şelatörleri		

2.5.2.1. Doğal Antioksidanlar:

Organizma tarafından sentezlenen (endojen) ya da dışarıdan besinlerle alınan (eksojen) yapılar doğal antioksidanlar olarak tanımlanır. Organizmanın doğal antioksidan üretimi yaş ilerledikçe azalır. Oluşan açığın kapatılabilmesi için bitkisel antioksidanlar iyi bir alternatif olarak düşünülmektedir. En önemli bitkisel antioksidan kaynağı meyve sebzelerdir. Bitkisel antioksidanlar hem anormal hücre çoğalmalarını engellerler hem de oksidasyondan zarar gören hücreleri koruma görevi üstlenirler [76].

2.5.2.1.1. İnsan Vücudunda Sentezlenemeyen Doğal Antioksidanlar:

- **Vitamin E (Tokoferoller):**

E Vitamini 1922'de Evans ve Bishop tarafından sıçanlarda üreme için gerekli bir diyet faktörü olarak keşfedildi. Daha sonra yapılan çalışmalar, sıçanlara ve tavuklara verilen deneysel diyetlerde saf yağ varlığının, bu hayvanlarda çeşitli patolojilerin etken maddesi olduğunu ve bu anormalliklerin daha sonra tokoferol içerdiği kanıtlanan buğday tohumu yağı konsantreleri tarafından "iyileştirilebileceğini" Wolf tarafından incelenen eserler göstermiştir [77].

E vitamini sadece bitkiler tarafından üretilir. Benzer yapılara sahip olan 8 farklı vitamin formunu kapsar. Bunlar trimetil (α), dimetil (β veya γ) ve monometil (δ) tokoferol ve her birine karşılık gelen tokotrienollerdir. Tokoferoller fotosentez yapan organizmalarda yoğun olarak sentezlenirler [78].

E Vitamini, serbest radikal ve tekli durum oksijen tutucu olarak görev yapan ve cildin ultraviyole radyasyon gibi serbest radikal üreten faktörlerden korunmasında önemli bir rol oynayan çok aktif bir antioksidandır. E Vitamini, α -tokoferol ile aynı kalitatif biyolojik aktiviteyi sergileyen tüm tokoferol ve tokotrienol türevlerinin genel tanımıdır [79].

- **Vitamin C (Askorbik Asit):**

C vitamin, heksuronik asit, cevitaminik asit veya ksilokorbik asit olarak tanımlanır. C vitamini terimi, genellikle askorbik asit olmasına rağmen, bütün bu bileşikleri tanımlamak için kullanılır [80]. Normal büyüme ve gelişme için gereklidir ve kollajenin translyon sonrası hidroksilasyonu, karnitinin biyosentezi, nörotransmitter dopaminin norepinefrine dönüşümü, peptid amidasyonu ve tirozin metabolizmasında birçok enzim için temel bir enzim kofaktördür. Aynı zamanda enfeksiyon ve demir emilimine karşı korunmaya yardımcı olan bir antioksidandır. Bazı hayvan türleri, l-askorbat sentezi kapasitesini yitirmiştir, bu nedenle metabolizma ve oksidatif koruma için yeterli C vitamini seviyelerini sağlamak için diyetle bağımlıdırlar. Bitkilerde bulunan yüksek askorbat içeriği, onları insanlar için C vitamini alımının birincil kaynağı yapar [81].

- **Vitamin A (β -karoten):**

Doğada 600 civarında karotenoid bileşiği mevcut olup, bunlardan sadece 40 adeti insan gıdaları arasında yer alır. Bunların da 20 kadarı insan doku ve kanında ölçülebilir. Ölçülebilenlerin % 90 a yakın bir kısmı α ve β -karoten, likopen, lutein ve kriptoksantinden oluşmaktadır. Karotenoidler insan ve hayvanlar tarafından sentezlenemez iken, bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenirler[82].

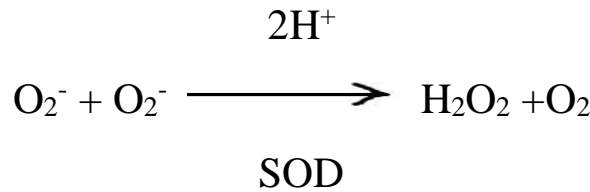
A vitamini, başlangıç materyali olmadan vücut tarafından sentezlenemediği için insanlar ve tüm memeli hayvanlar için dışarıdan alınması gereken bir vitamindir. A vitaminin eksikliği vücut gelişimini, yenilenmesini ve enfeksiyonlara karşı direncini olumsuz yönde etkiler [83]. A vitamini aktivitesi taşıyan moleküller iki grupta toplanır: Birincisi, hayvansal dokularda A vitamini aktivitesi taşıyanlar: Retinol, hidretinol, retinal ve retinoik asit. Diğeri ise birçok bitki ve meyvede bulunan karoten olup, vücutta retinole dönüşerek A vitamini aktivitesi gösterir. A vitamini aktivitesi taşıyan moleküller suda çözünmezler. Eter, benzene ve kloroform gibi solventlerde çözünürler. Isıya ve alkalilere dayanıklıdırlar. Aside, UV ışınlarla ve oksidasyona duyarlıdırlar. β -karoten bir antioksidan olup oksijenin düşük kısmi basınçlarında serbest peroksit radikallerinin dokularda yakalanmasında bir rol oynayarak, daha yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkili olan vitamin E'nin antioksidan etkisini tamamlar [84].

2.5.2.1.2. İnsan Vücudunda Sentezlenen Önemli Doğal Antioksidanlar:

1. Enzimatik Antioksidanlar:

- **Süperoksit Dismutaz (SOD):**

Canlı organizmalar üstünde potansiyel toksik etkisi bulunan, oksijen türevi serbest radikaller ve bu radikallerin en önemlilerinden olan süperoksit radikal anyonunun (O_2^-) eksojen ve endojen olarak birçok biyolojik reaksiyon esasında üretildiği saptanmıştır. Fizyolojik şartlarda eritrosilerde bol bulunan bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) az miktarda süperoksit radikali, hemoglobinin normal otooksidasyonu esasında da üretilir [85]. İnsanda SOD'nin, birisi sitozolde bulunan, dimerik, bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren izomer (Cu-Zn SOD), diğeri mitokondride bulunan tetramerik mangan (Mn) içeren izomer (Mn-SOD) olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Prokaryotlarda bulunan ve demir (Fe) içeren bir izomeri daha mevcuttur (Fe-SOD) [86]. Bu enzim, süperoksit anyonunun (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene dönüşümünü katalize ederek bu radikallerin etkisini azaltmaktadır. Bu olayda SOD enziminin aktif bölgesini oluşturan Zn önemli bir mineraldir [87].



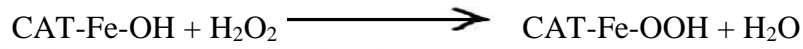
- **Katalaz (CAT):**

Katalaz (CAT) antioksidan etkiye sahip, H_2O_2 'i su ve oksijene parçalayan yüksek molekül ağırlıklı tetramerik demir porfirin içeren bir enzimdir [88-90].

Doğada özellikle bitkilerde bolca bulunan katalaz enzimi H_2O_2 'yi indirgeyen veya parçalayan, periksizomların ise yapısal bir bileşeni olan oksidaz enzimlerinden biridir. Bitkisel kaynaklarda bulunan katalaz enzimi dört dört alt birimlerden oluşur ve alt

birimlerin molekül ağırlıkları sırası ile 54 ve 59 kDa arasındadır. Örneğin kabakta 55 kDa, mercimekte 54 kDa, ve pamukta 55 kDa'dır. CAT'ın temel fonksiyonu, moleküler oksijen varlığında metabolizmanın bazı kademelerinde oluşan hidrojen peroksiti gidererek, özellikle membranlarda oluşturabilecekleri geri dönüşümsüz hasarları engellemektedir.

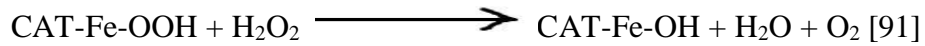
İlk adımda katalazın demiri H₂O₂ ile etkileşerek oksijence zengin demir peroksit oluşturur.



Bileşik-I olarak adlandırılan demir peroksit ara ürünü, katalaz heminin spektrofotometrik özelliklerini değiştirdiği için *in vitro* ve *in vivo* koşullarda tayin edilebilir. Katalazın kinetik özelliklerinden dolayı *in vivo* koşullarda bileşik-I olarak H₂O₂ konsantrasyonlarının indikatörü olarak kullanılır. Hidrojen peroksidin düşük konsantrasyonlarında bileşik-I hidrojen donörü tarafından (örneğin etanol) peroksidatik olarak indirgenebilir.



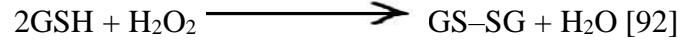
H₂O₂ 'nin yüksek konsantrasyonlarında bileşik-I ikinci H₂O₂ ile reaksiyona girerek su ve moleküler oksijen oluşturur.



- **Glutasyon Peroksidaz (GPx):**

Glutasyon peroksidaz (GPx) temel biyolojik görevi organizmayı oksidatif hasardan korumak olan peroksidaz aktivitesine sahip bir enzim ailesinin genel adıdır. Glutasyon peroksidazın biyokimyasal işlevi, lipid hidroperoksitleri alkollere indirgemek ve serbest

hidrojen peroksiti suya indirgemektir. Glutasyon peroksidaz katalizörlerinin ana reaksiyonu aşağıda verilmiştir.



- **Glutasyon redüktaz (GR):**

Okside glutasyon, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) bağımlı bir enzim olan glutasyon redüktaz tarafından redükte glutasyon'a indirgenirken NADPH₂ ise NADP⁺ e dönüşmekte ve ilgili tepkimelerde kullanılmaktadır [93]. Glutasyonun % 95' ten fazlası indirgenmiş formda bulunur. Bu formda tutunabilmesi pentoz fosfat metabolik yoluna bağlıdır. Bu yolda üretilen NADPH, glutasyon disülfid redüktaz (GR)'in katalize ettiği reaksiyonlarda koenzim olarak görev almaktadır [94].

- **Glutasyon-S-Transferaz (GST):**

Glutasyon S-transferazlar, endojen ve eksojen kaynaklı, elektrofilik ve hidrofobik bileşiklerin glutasyon ile konjugasyonunu sağlayarak, genellikle daha kolay atılabilen ve daha az toksik metabolitlere dönüşümünü katalizleyen Faz-II detoksifikasyon enzim ailesidir [95].

2. Nonenzimatik Antioksidanlar:

- **Bilirubin:**

Bilirubin büyük oranda ömrünü dolduran eritrositlerin parçalanması neticesinde oluşmaktadır. Dolaşım esnasında karaciğer tarafından alınır, biyotransformasyona uğratarak safra veya idrarla atılır. Peroksil radikallerini toplayarak antioksidan etki gösterir[96].

- **Albumin:**

Albumin plazmada en çok sirküle olan proteindir ve güçlü bir antioksidan etkiye sahiptir. Bu etki serbest oksijen radikallerini tutucu özelliklerinden kaynaklanır. Genel olarak, albumin oksidatif stresin ana plazma proteinini hedef oluşturmaktadır [97].

2.5.2.2. Yapay Antioksidanlar:

- **Butillenmiş Hidroksitolüen (BHT):**

Butillenmiş hidroksitolüen (BHT), sıklıkla bir antioksidan olarak kullanılan küçük, hidrofobik bir moleküldür. Genellikle Gıda ve İlaç İdaresi tarafından güvenli olarak kabul edilir ve tazeliği korumak ve bozulmayı önlemek için gıdalara sıkça eklenir [98]. Butillenmiş hidroksitolüen (BHT, 2,6-di-tert-bütil-4-metilfenol). BHT, tereyağı, et, tahıl gevrekleri, sakız, unlu mamüller, atıştırmalık gıdalar, kurutulmuş patates ve içecekler dahil olmak üzere birçok türde bulunur. Besin rengini ve lezzetini korumak için kullanılır. BHT tercihen katı yağlarda veya sıvı yağlarda oksitlenir [99]. Öncelikle oto oksidasyonu baskılayan bir sonlandırıcı ajan olarak işlev gören sentetik bir E vitamini analogu gibi davranır [100]. BHT, ticari olarak para-kresolün izobütillen ile alkilasyonu yoluyla üretilir. Farmasötiklerin, yağda çözünen vitaminlerin, kozmetiklerin, petrol bazlı yağlayıcı ve transformatör yağlarının ve benzin ve dizel yakıtların dengesini artırabilir. Kauçuğun, elastorların ve plastiklerin kullanım ömrü BHT ilavesiyle arttırılmıştır. Aynı zamanda, hayvan yemi için tahıl çekirdeği yağlarında ve öğünlerde ekşiğin gelişmesini engellemek ve yağda çözünen vitaminleri, özellikle de A ve E vitaminlerini korumak için kullanılır [101].

- **Butillenmiş Hidroksianizol (BHA):**

Yaygın bir koruyucu olarak yetkilendirilmiş sentetik bir fenolik bileşik olan butillenmiş hidroksianizol (BHA), yaygın olarak gıda ürünleri, farmasötikler ve kozmetikler için bir antioksidan olarak kullanılır [102]. Butillenmiş hidroksi anisol (BHA), esnek gruplar ve hidrojen bağ donör ve alıcı bölgeler içeren küçük bir molekülü temsil eder, ancak katı dozaj formlarında bir antioksidan olarak kullanımı, farmasötik

endüstrisi boyunca her yerde bulunmasına rağmen yapısal olarak karakterize edilmemiştir. Ticari BHA, sırasıyla % 90-95 3-tert-bütül-4-hidroksi anizol ve % 5-10'unun 2-tert-bütül izomerinin bir karışımıdır, sırasıyla 3-BHA ve 2-BHA olarak adlandırılır. Ayrıca, BHA'nın davranışı karmaşıktır ve bozulmayı başarıyla geciktirme kabiliyeti konsantrasyona, ekşiyanların ve işleme yöntemlerinin seçimine ve depolama koşullarına bağlı olarak değişir. Aslında, bazı durumlarda, BHA, aynı BHA yüklemesinde bile, diğerlerinde korunurken, bazı formülasyonlarda / koşullarda ilacın oksidasyonuna neden gibi görünmektedir. BHA'nın birincil etki şekli iyi bilinmektedir; serbest bir radikale bir hidrojen atomu bağışlayarak serbest bir radikal haline gelir. BHA radikal rezonans ile stabilize edilir ve radikal reaksiyonun yayılma aşamasına müdahale eder, böylece bozulmayı geciktirir [103].

BHA'nın ticari üretimi için çeşitli yöntemler kullanılır. Hidrokinonun metilasyonu, tert-bütül alkol ve fosforik asit ile muamele üzerine 3-BHA ve 2-BHA karışımı veren bir ara madde verir. İki BHA izomerinin bir karışımını üretmek için hidrokinonun butilasyonu ve ardından dimetil sülfat ve sodyum hidroksit ile müteakiben metilasyon da kullanılabilir. Ek olarak, BHA, 150 °C'de 4-metoksifenolün silika veya alümina üzerinde tert-butilasyonu ile sentezlenebilir. BHA, 1947'den beri yağ içeren yiyeceklerde ve yemeklik yağlarda ve yağlarda antioksidan olarak kullanılmaktadır. Gıdaların sertleşmesini ve sakıncalı kokular geliştirmesini önler. Tereyağı, domuz yağı, et, tahıl gevrekleri, unlu mamuller, tatlılar ve biralarda gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir. Bitkisel yağlarda, patates cipslerinde, atıştırmalık yiyeceklerde, kuruyemişlerde, kurutulmuş patateslerde ve aroma maddelerinde kullanılır. BHA'nın kozmetik formülasyonlarında koruyucu ve antioksidan olarak kullanıldığı bildirilmiştir [101].

2.6. Amaryllidaceae Alkaloitleri:

2.6.1. Alkaloitlerin Tanımı:

Alkaloitler, bazik azot atomları içeren doğal olarak oluşan kimyasal bileşiklerdir. Alkalın kelimesinden türetilmiştir ve azot içeren herhangi bir baz tanımlamak için

kullanılmıştır. Alkaloitler bakteri, mantar, bitki ve hayvanlar dahil olmak üzere çok çeşitli organizmalar tarafından üretilir ve doğal ürünler grubunun bir parçasıdır (ikincil metabolitler olarak da adlandırılır) [104]. Westphalia'dan bir eczacı yardımcısı olan Friedrich Sertürner, ilk olarak uygulamalı anlamda en önemli alkaloitlerden biri olan izole edilmiş morfindir. Bu olay 1805'teydi ve kimya ve farmakolojide ileriye doğru önemli bir adım olduğunu kanıtladı [105]. Birçok alkaloit, ham özlerden asit-baz özütlemesi ile saflaştırılabilir. Birçok alkaloid diğer organizmalar için toksiktir. Genellikle farmakolojik etkilere sahiptirler ve ilaç olarak, eğlence amaçlı ilaç olarak veya entheojenik ritüellerde kullanılırlar. Örnekler lokal anestezi ve uyarıcı kokain, uyarıcı kafein, nikotin, analjezik morfin veya antimalarial ilaç kinindir. Bazı alkaloitler acı bir tada sahiptir [104]. Biyolog için alkaloid saf ve mükemmel bir doğal üründür. Biyolojik bakış açısına göre, alkaloit azot içeren ve bazı farmakolojik aktiviteler ve birçok durumda tıbbi veya ekolojik kullanım olabilen herhangi bir biyolojik olarak aktif ve heterosiklik kimyasal bileşiktir. Biyolog için en önemli nokta, alkaloitlerin, farklı hücresel organizma seviyelerinde aktif olan ve bitkilerin, hayvanların ve mikroorganizmaların biyolojik işlemlerinde yer alan özel bir kimyasal grup olmasıdır [105].

2.6.2. Amaryllidaceae Alkaloiti:

Amaryllidaceae familyasının bitkileri binlerce yıldır bitkisel ilaçlar olarak kullanılmaktadır. Ekstraktlarından elde edilen alkaloitler, yaklaşık 200 yıldır aktif kimyasal araştırmaların amacı olmuştur. Geçtiğimiz otuz yıl boyunca, birçok kişi izole etti, farklı biyolojik aktiviteler için tarandı ve birçok araştırma grubu tarafından sentezlendi. Çok sayıda yapısal olarak çeşitli Amaryllidaceae alkaloitleri temel olarak temsili alkaloitlerin olduğu dokuz iskelet tipine ayrılır: norbelladin, likorin, homolokin, krinin, hemantamin, narklasin, tazettin, montanin ve galantamin [106].

Birkaç çiçekli bitki ailesi, soğanlar, bitki soğanları ve yumruları gibi yeraltı depolama organlarına sahip türler içerir; bu bitkiler Geophytes olarak bilinir. Türkiye'deki soğanlı bitkilerin çoğu, süs özelliklerinin çiçeklerine bağlı olarak bilinir, ancak bir kısmı da önemli biyolojik etkinliklere sahiptir. Amaryllidaceae, *Pancreatum*,

Narcissus, *Galanthus* ve *Leucojum* gibi soğanlı bitkiler bakımından geniş bir aileden biridir [107].

2.6.3. *Leucojum Aestivum* Alkaloitleri:

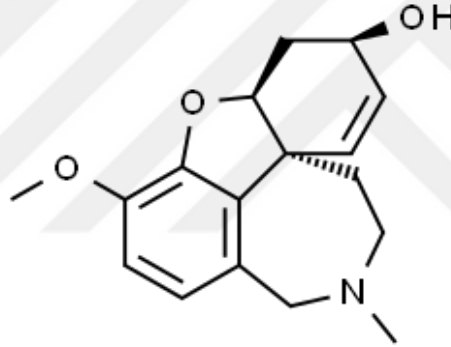
Leucojum aestivum alkaloit profiline galantamin, likorin veya hemantamin hakimdir. Galantamin üretim maliyeti, bitkisel hammaddenin kalitesi ile belirlenir. İlaç endüstrisinin ilk ürünlerinden biri “Nivalin” (Sopharma) adı altında işlem görmüştür. Galantamin, poliomyelit, myastenia, gravis ve diğer nöromusküler bozuklukların tedavisi gibi çeşitli endikasyonlarda onlarca yıldır kullanılmaktadır. Galantamin, bir hidrobromür tuzu olarak pazarlanan, uzun süre etkili, seçici, geri dönüşümlü ve rekabetçi bir asetilkolinesteraz inhibitörüdür [108].

Leucojum aestivum, Bulgaristan'da yıllar boyunca değişken dağılım gösteren, nispeten yaygın bir türdür. Kayıtlı tüm doğal popülasyonlar arasında, hemotip yapısına sahip galantaminin sadece % 20 kadarı ekonomik açıdan önemlidir ve biyolojik çeşitlilik yasasına göre bunların korunmaları için düzenlenmiş bir rejim getirilmiştir. Alanların durumunun karakterizasyonu ve galantamin sentezini (toprak, iklim, fitopatolojik durum) etkileyen faktörlerin belirlenmesi çok önemlidir [109]. Endüstride ekstraksiyon için kullanılan yaprak biyokütlesini sağlamak üzere Bulgaristan'da bir *leucojum aestivum* ekimi oluşturulmuştur. Yapraklardaki galantamin içeriğinin, popülasyonların coğrafi konumuna bağlı olarak iz miktarlarından % 0.5'e (genellikle% 0.1-0.3) kadar değiştiği bulunmuştur. Fitokimyasal çalışmalar, *leucojum aestivum*'un alkaloid karışımlarında yaklaşık 36 alkaloit oluşumunu ortaya çıkarmıştır ve dağılımlarında coğrafi farklılıklar da vardır. Bir örnek olarak, iki galantamin tipi alkaloit olan lökotamin ve metillekutamin, Japonya'da yetişen bitkilerden izole edilmiştir, ancak Bulgaristan'da toplanan bitkilerde saptanmamıştır. Galantaminden ayrı olarak, galantamine göre daha yüksek AChE inhibe edici aktiviteye sahip diğer üç alkaloit, yani sanguinin, N-alillnorgalantamin ve N- (14-metilailil) norgalantamin, göl soğanından izole edilmiştir. Bir popülasyon için yaprakların alkaloid karışımındaki galantamin yüzdesi 12 olduğu bildirilmiştir. Galantamin'in 18 Bulgar popülasyonundan soğanlarda

keşfedilmemiş alkaloid karışımlarındaki tüm bileşiklerin % 4 ila % 99 arasında değiştiği bulunmuştur [110].

2.6.4. Galantamin:

Galantamin ((4aS,6R,8aS)-5, 6, 9, 10, 11, 12-hegzahidro-3-metoksi-11-metil4aH(1) benzofuro[3a,3,2-ef][2]benzazepin-6-ol) (Şekil 2.22), tersinir bir asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Ayrıca nikotinik reseptörleri allosterik olarak düzenleyen nikotinik reseptör modülatörüdür. Bu çift yönlü etkisi galantamini, mevcut ilaçlardan yarar görmeyen Alzheimer hastalarında, kullanımını cazip hale getirmektedir. Galantamin beyin fonksiyonlarını değiştiren hafif-orta şiddette Alzheimer hastalığı belirtilerinin tedavisinde kullanılan bir kolinesteraz inhibitörüdür [111].



Şekil 2.3. Galantamin molekül yapısı

2.6.5. Alzheimer hastalığı (AH) :

Demans, bellek bozukluğu yanında lisan, motor beceri, agnozi ve yürütücü işlev bozukluğundan en az birini içeren çoğul zihinsel bozukluğun yarattığı; gündelik yaşantıda bozulmaya veya alışılmış aktivitelerde gerilemeye yol açan klinik tablodur[112]. Tüm demans vakalarının %50-70' ini oluşturan Alzheimer hastalığı (AH) hafif-orta-ağır bellek bozukluğu ile birlikte konuşma, karar verme işlevlerinde, dikkatte, oryantasyonda ve kişilikte bozukluklar, edinilmiş entelektüel becerilerde kayıplar ile kendini gösteren ilerleyici, fatal venörodejeneratif bir hastalık olarak tanımlanır [113].

Alzheimer hastalığı tüm demans hastalıkları içinde en yaygın görülenidir. Bu sebeple 2050 yılına kadar dünya çapında 115 milyon insanın, sadece hastada değil aynı zamanda hastanın çevresindeki bireyler üzerinde de büyük bir etkiye sahip olan, alzheimer hastalığından muzdarip olacağı tahmin edilmektedir. Lobo ve arkadaşlarının 2000 yılında Avrupa’da, 10 sene boyunca toplamda 2346 demans hastasını inceleyerek yaptığı çalışmada alzheimer hastalığı sıklığını %4,4 olarak bulmuşlardır. Amerika’da yürütülen bir başka çalışmada ise 71 yaş üzerinde alzheimer prevalansının %9,7 olduğu gösterilmiştir. Hastalığın insidansı ile ilgili yapılan çalışmalara bakılacak olursa 65 yaş üzeri bireyler üzerinde yapılan 2 çalışmada; her yıl 1000 kişiden 15’inin bu hastalığa yakalandığı söylenebilir ve bu oran kadınlar ve erkekler için sırasıyla 13,0 ve 16,9 olarak bulunmuştur [114]. Alzheimer hastalığına (AH), uygun yaklaşım, hastalığın etkin tedavisi ve hatta önlenmesi için hastalık patofiziolojisinin bilinmesi esastır. Bu zamana kadar elde edilen bilgilerde, insan çalışmaları yanı sıra deneysel çalışmaların da önemli katkıları olmuştur. Alzheimer hastalarının otopsi materyallerinden elde edilen veriler hastalığın patolojisinde amiloid plak ve nörofibriller yumakların varlığını ve bu patolojik agregatların belirli dağılım paterni ve yoğunlukta bulduklarını göstermiştir [115].

Kolinesteraz inhibitörleri (Rivastigmin, Donepezil, Galantamin) ve Memantin’in etkinlikleri konusu halen tartışmalı olmakla beraber günümüzde demans tedavisinin temel bileşenlerini oluşturmaktadırlar [116].

2.6.6. Galantamin, Alzheimer hastalık için:

Kolinerjik hipoteze göre, asetilkolin hidrolizini katalize eden bir enzim olan asetilkolinesterazın (AChE) inhibisyonu, beyindeki asetilkolin seviyelerini artırır, böylece AH hastalarında kolinerjik fonksiyonları iyileştirir. Ayrıca, genel fikir birliği, AChE inhibitörlerinin (AChEi) AH semptomlarını hafifletebildiği sonucuna varmasına rağmen, hastalık ilerlemesini geciktirmez veya geri çevirmez. AH tedavisi için şu anda mevcut olan ilaçların çoğu AChEi’dir: bunların tümü sınırlı etkinliği ve bir çeşit yan etkisi olan takrin, donepezil, rivastigmin ve galantamindir [117].

Galantamin aşağıdaki etkinliklere sahiptir:

1. Tersinir enzim asetilkolinesterazı bloke ederek endojen asetilkolinin ve dolaylı kolinomimetik etkilerin birikmesine neden olur.
2. Allosterik olarak $\alpha 7$ nikotinik asetilkolin reseptörlerini güçlendirir.

Nikotinik reseptörlerin aktivasyonu aşağıdakilerle ilişkilidir:

1. Bcl-2 proteininin korunması ve β -amiloid apoptozis tarafından indüklenmesinin önlenmesi.
2. Dopamin nörotransmisyonunun artması.
3. Öğrenme, hafıza ve dikkat süreçlerinin geliştirilmesi.
4. Davranışın kolaylaştırılması, nöromüsküler sinaps seviyesindeki sinir uyarılarının uyarılması [118].

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyaller:

3.1.1. Bitki Materyali:

Araştırmada kullanılan bitki materyalleri Eylül 2018'de Türkiye, Sakarya Bölgesi'nde toplanmıştır. Bitki Ahmet KAHRAMAN tarafından toplanıp tanımlanmıştır. Bitki örnekleri Uşak Üniversitesi'ndeki Herbaryum Malzeme Deposunda saklandı. Bu bitkinin yaprakları ve soğanları iki gün boyunca 60 °C'de bir inkübatörde kurutuldu. Bu numunelerin soğanları ve yaprakları daha sonra analiz için 80 mesh tane büyüklüğüne öğütüldü.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler:

Bu deneylerde kullanılan kimyasallar ve çözücüler analitik saflığa sahiptir. Çözeltiler, bu deneylerde kullanılmadan önce 0.45 um'lik bir filtre (ISOLAB GmbH, Wertheim, Almanya) kullanılarak süzöldü. Galantamin, gallik asit, protokateşik asit, vanilik asit, kafeik asit, şiringiç asit, rosmarinik asit, kateşin, ferrulik asit, sinapinik asit, kuersetin, gentisik asit, para-kumarik ve naringenin, Sigma Chemical Co.'dan satın alındı.

3.1.3. Hazırlanan Çözeltiler:

1 – **7,5 % Sodyum karbonat (Na₂CO₃):** 7,5 g sodyum karbonat tartılıp, bir miktar deiyonize su çözüldü, 100 ml lik balon jøjeye aktarıldı, hacim 100 ml deiyonize su ile tamamlandı.

2 – **5 % Sodyum nitrit (NaNO₂):** 5 g sodyum nitrit tartılıp, bir miktar deiyonize su çözüldü, 100 ml lik balon jøjeye aktarıldı, hacim 100 ml deiyonize su ile tamamlandı.

3 – **10 % Alüminyum klorid (AlCl₃):** 10 g alüminyum klorid tartılıp, bir miktar deiyonize su ile çözüldü, 100 ml lik balon jøjeye aktarıldı, hacim 100 ml deiyonize su ile tamamlandı.

4 – **4 % sodyum hidroksid (NaOH):** 4 g NaOH tartılıp, bir miktar deiyonize su ile çözüldü, 100 ml lik balon jøjeye aktarıldı, hacim 100 ml su ile tamamlandı.

5 - **Askorbik asit çözeltisi:** 1 g Askorbik asit ile 30 ml metanol karıştırılarak elde edildi.

6 - **DPPH stok çözeltisi:** 24 mg DPPH tartılıp, bir miktar metanolde çözüldü, 100 ml lik balon jøjeye aktarıldı, hacim 100 ml metanol ile tamamlandı.

Çalışma solüsyonu: 20 ml stok solüsyonu ile 90 ml metanol karıştırılarak elde edildi.

7 – **ABTS⁺ çalışma solüsyonu:** 0,384 g ABTS⁺ ile 100 ml deiyonize su karıştırılarak elde edildi.

8 - **Potasyum persülfat (K₂S₂O₈) çalışma solüsyonu:** 0,66 g Potasyum persülfat ile 100 ml deiyonize su karıştırılarak elde edildi.

9 – **0,2 M fosfat tamponu (pH = 6.6):** 27,218 g Potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) ile 1L deiyonize su tamamlandı / 28,392 g Disodyum fosfat (Na₂HPO₄) ile 1L deiyonize su tamamlandı, 1 : 1 miktar karıştırılarak elde edildi.

10 – **1 % potasyum ferrisiyanür (K₃[Fe(CN)₆):** 1 g Kaliumcyanoferrat(III) ile 100 ml deiyonize su karıştırılarak elde edildi.

11 – **10 % Triklorasetik asit (TCA):** 10 g Triklorasetik asit ile 100 ml deiyonize su karıştırılarak elde edildi.

12 – **0,1 % Demir klorür (FeCl₃):** 0,1 g Demir klorür ile 100 ml deiyonize su karıştırılarak elde edildi.

13 – **0,2 N Potasyum klorür (KCl):** 3,7275 g Potasyum klorür ile 100 ml deiyonize su karıştırılarak elde edildi.

14 – **0,2 N Hidrojen klorür (HCl):** 17 ml Hidrojen klorür ile 1000 ml deiyonize su tamamlandı.

15 – **0,1 N sodyum hidroksit NaOH:** 4 g sodyum hidroksit ile 100 ml deiyonize su karıştırılarak elde edildi.

16 – **pH_{1.0} tamponu:** 250 ml 0,2 N KCl ve 650 ml 0,2 N HCl miktar (17 ml/L) karıştırılarak elde edildi, 0,1 M NaOH ile pH_{1.0}'e ayarlandı.

17 – **pH_{4.5} tamponu:** 1,64 g Sodyum asetat trihidrat (C₂H₉NaO₅) ile 100 ml deiyonize su karıştırılarak elde edildi, 0,2 N HCl ile pH_{4.5}'a ayarlandı.

3.1.4. Ultrasonik Destekli Bitki Ekstraksiyonu:

Ultrasonik destekli ekstraksiyon ultrasonik banyo (WiseClean WUC-D06H) ile 50 kHz frekansta yapıldı. Kurutulmuş numunelerin her birinden 1 gram tartıldı ve ultrasonik banyo kullanılarak 30 dakika boyunca ayrı ayrı 30 ml solüsyon (% 70 metanol) ile ekstrakte edildi. Ekstraksiyondan sonra, her bir karışım filtre kağıdı (WHATMAN INC, Florham Park, NJ ABD) ile filtrelendi ve ekstrakt analize kadar buzdolabında saklandı. Bitki ekstraktları kullanılarak toplam fenolik, toplam flavonoid, fenolik asit içeriği, galantamin analizi ve antioksidan kapasitesi belirlenmiştir.

3.1.5 İstatistiksel Analiz:

Her bir ekstraktın analizleri üç tekrar halinde gerçekleştirildi ve veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Varyans analizi (ANOVA) ve genel doğrusal modelleme yapıldı ve verilerin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı belirlendi. Modelin anlamlı olduğu tespit edildiğinde, Tukey ikili karşılaştırma testi ile % 95 güven düzeyinde ($P \leq 5$) ikili karşılaştırmalar yapılmış ve örnekler arasındaki fark incelenmiştir.

3.2. Metotlar:

3.2.1. Galanthamin İçeriğinin HPLC ile Belirlenmesi:

Ekstraktların galanthamin içeriği, USP 40-NF 35 monografında belirtilen analiz metodu ile belirlendi. Tüm analizler, bir UV detektör ile donatılmış bir Agilent 1260 HPLC cihazı ile gerçekleştirildi. Mobil faz olarak bir A çözücü (4,0 g/L Potasyum dihidrojen fosfat solüsyonu) ve B çözücüsü (Asetonitril) karışımı kullanıldı. Ayırma için Zorbax Agilent C 18 (5 µm, 150 mm x 4.6 mm) kolon kullanıldı. Mobil faz 1,0 mL/dak akış hızında izokratik elüsyon (10 / 90, h / h) şeklinde yapıldı. Kolon termostat sıcaklığı, 30 °C'de tutuldu ve dalga boyu, galanthamin için 288 nm'ye ayarlandı. Çözücü 0,22 µm'lik bir filtreden filtre edildi ve gazı giderildi. Numune enjeksiyon hacmi 20 µL idi [119]. Bu deneyde kullanılan standart, Galanthaminedi ve Galanthamin içeriği, 1 g kuru ağırlık (GAL mg / g KB) başına mg Galanthamine eşdeğeri olarak ifade edildi.

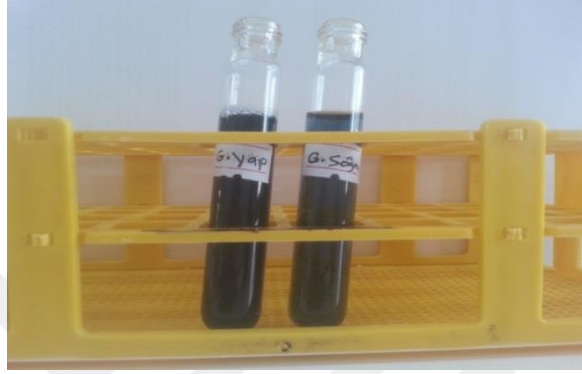
Tablo 3.1. Galanthamine analizi için HPLC'nin analitik koşulları

Parametreler	Koşullar
Kolon	Zorbax extend-C18 (C18, 4.6 mm X 150 mm, 5 µm)
Akış hızı	1,0 mL/dk
Enjeksiyon hacmi	20 µL
Dedeksiyon	288 nm
Çalışma süresi	10 dk

3.2.2. Toplam Fenolik İçerik Tayini:

Numunelerin toplam fenolik içerik Elzaawely ve Tawata tarafından geliştirilen Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlendi [120]. 500 µl ekstrakt, 250 µl Folin-Ciocalteu reaktif ve 7250 µl deiyonize su 10 mL tüplere aktararak, karıştırıldı ve 5 dakika boyunca karanlık bir ortamda bekletildi. Daha sonra, karışıma 2000 µl sodyum karbonat (% 7,5 Na₂CO₃) ilave edildi ve toplam karışımın hacmi 10 mL idi ve daha sonra bu

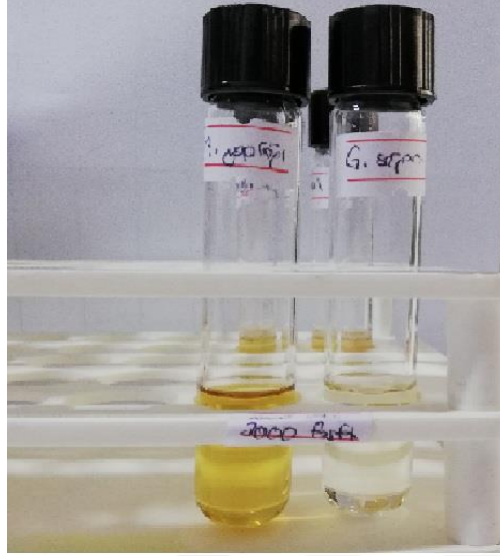
karışım karanlık ortamda 30 dakika bekletildi ve daha sonra 765 nm dalga boyunda UV spektrofotometre (SHIMADZU UV-1800 spektrofotometre) ile ölçüldü. UV-Visible spektrofotometre cihazında ölçümleri yapılan solüsyonlar şekil 3.1’de gösterilmiştir. Bu deneyde standart olarak Gallik asit kullanılmış ve bulgular, 1 g kuru ağırlık (GAE mg / 1 g KB) başına mg gallik asit eşdeğeri olarak ifade edildi.



Şekil 3.1. *Leucojum aestivum* toplam fenolik numuneleri

3.2.3. Toplam Flavonoid İçerik Tayini:

Numunelerin toplam flavonoid içeriği alüminyum klorür kolorimetrik yöntemle belirlendi [121]. 50 µl ekstrakt, 950 µl metanol ve 6400 µl deiyonize su 10 ml tüplere aktarıldı, daha sonra 300 µl sodyum nitrit (% 5 NaNO₂) çözeltisi ilave edildi. Ardından karışıma 300 µl alüminyum klorür (% 10 AlCl₃) çözeltisi ilave edildi ve 5 dakika bekletildi, daha sonra karışıma 2000 µl sodyum hidroksit (% 4 NaOH) çözeltisi ilave edildi. Karışım 15 dakika karanlık ortamda bekletildikten sonra absorbansı 510 nm'de UV spektrofotometre (SHIMADZU UV-1800 spektrofotometre) ile ölçüldü. UV-Visible spektrofotometre cihazında ölçümleri yapılan solüsyonlar şekil 3.2’de gösterilmiştir. Bu deneyde standart olarak kateşin kullanıldı ve toplam flavonoid içeriği, 1 g kuru ağırlık başına mg kateşin eşdeğeri olarak (CAE mg / 1 g KB) ifade edildi.



Şekil 3.2. *Leucojum aestivum* toplam flavonoid numuneleri

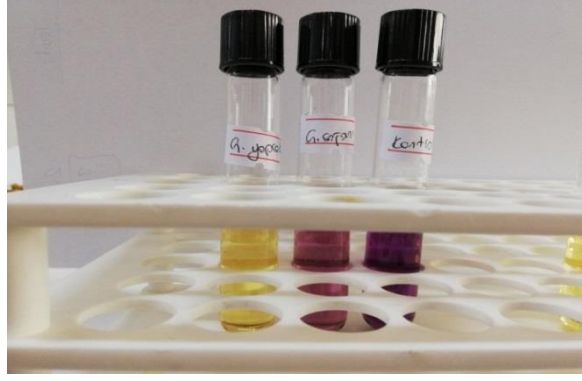
3.2.4. Antioksidan Aktivite Analizi:

3.2.4.1. 2,2-Dipenil-1-Picril-Hidrazil Testi (DPPH):

Ekstraktların antioksidan aktivitesi, daha önceki yöntemlerde [122] tarif edildiği gibi 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) testi ile belirlendi. Her ekstraktın 300 µl'si 5,7 mL DPPH çözeltisi ile karıştırıldı ve karanlıkta 1 saat oda sıcaklığında bırakıldıktan sonra absorbansı 515 nm'de UV spektrofotometre ile (SHIMADZU UV-1800 spektrofotometre) ölçülmüştür. Bu deneyde standart olarak Askorbik asit kullanıldı. UV-Visible spektrofotometre cihazında ölçümleri yapılan solüsyonlar şekil 3.3'te gösterilmiştir. Her örnek için DPPH radikalini süpürücü etkisi, aşağıdaki formül ile belirlendi:

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}}] \times 100 \quad (3.1.)$$

(A_{blank} : Kontrol çözeltisinin absorbansı, A_{sample} : Karışımın absorbansı.)



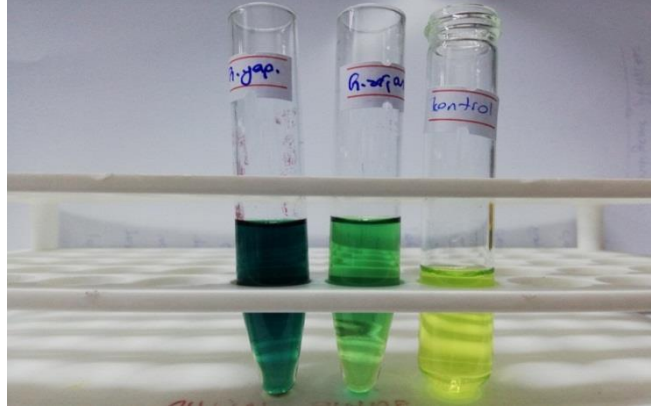
Şekil 3.3. *Leucojum aestivum* DPPH numuneleri

3.2.4.2. ABTS⁺ Radikal Katyon Testi:

Numunenin antioksidan aktiviteleri, ABTS⁺ Radikal Katyon Testinin İnhibisyonu [123] ile belirlendi. Bu yöntem, 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit ve potasyum persülfatın (K₂S₂O₈) oksidasyonu ile üretilen ABTS⁺ radikal katyonunun inhibisyonuna dayanmaktadır. Stok çözelti olarak 2,6 mM potasyum persülfat ve 7,4 mM ABTS⁺ kullanıldı. Çalışma çözeltisi iki stok çözeltinin eşit miktarlarda (1:1) karıştırılmasıyla hazırlandı ve karanlıkta oda sıcaklığında 12 saat süreyle bırakıldı. Daha sonra 1 mL ABTS⁺ çözeltisinin 60 mL metanol ile karıştırılmasıyla UV spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda $1,1 \pm 0,02$ birim emilim elde etmek için seyreltildi. 150 µl ekstrakt ile 2850 µl ABTS⁺ çözeltisi karıştırılarak 2 saat karanlıkta reaksiyona girmesine izin verildi. Ardından 734 nm dalga boyunda absorbansı ölçüldü. Bu deneyde kullanılan standart çözelti Gallik asit olup, her bir numunenin antioksidan aktivitesi ABTS⁺ radikal Katyonunun % inhibisyonu olarak ifade edilmiştir. UV-Visible spektrofotometre cihazında ölçümleri yapılan solüsyonlar şekil 3.4'te gösterilmiştir. ABTS⁺ radikalini inhibe etme yüzdesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = [A_0 - (A_t - B)] / A_0 \times 100 \quad (3.2.)$$

(A₀, kontrol çözeltisinin zaman içindeki absorbansı, A_t, antioksidanın zaman içerisindeki absorbansı = 6 dk; ve B, numunenin absorbansı.)



Şekil 3.4. *Leucojum aestivum* ABTS⁺ numuneleri

3.2.5. İndirgeme Kapasitesinin Belirlenmesi:

Bitki özlerinin indirgeme kapasitesi Oyaizu (1986) tarafından belirlenmiştir. İndirgeyici madde, demir iyonlarını (Fe^{3+}) demir iyonlarına (Fe^{2+}) indirgemekte ve $FeCl_3$ ilavesiyle oluşan Prusya mavisi renginin emilimini ölçmektedir. Bitki özlerinin çeşitli konsantrasyonları, 2500 μ l fosfat tamponu (0,2 M, pH 6,6) ve 2500 μ l % 1 potasyum ferrisiyanür ($K_3Fe(CN)_6$) ile karıştırıldı ve daha sonra 20 dakika 50°C'de inkübe edildi. Karışımın soğutulmasının ardından 2500 μ l % 10 trikloro asetik asit (TCA) ilave edildi ve 2500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst çözelti tabakası (2500 μ l), damıtılmış su (2500 μ l) ve taze hazırlanmış % 0,1'lik bir ferrik klorür çözeltisi (500 μ l) ile karıştırıldı ve 700 nm'de ölçüldü. Askorbik asit, standart çözelti olarak kullanıldı. Reaksiyon karışımının artan absorbansı, indirgeme gücünde bir artışa işaret eder [124].

3.2.6. Toplam Antosiyanin Tayini:

Ekstraktların toplam antosiyanin içeriği, spektrofotometrik olarak farklı pH kullanılarak belirlendi. Hazırlanan ekstraktların ölçümleri için, pH_{1.0} (hidroklorik asit-potasyum klorür) ve pH_{4.5} (asetik asit-sodyum asetat) tampon çözeltileri hazırlandı. Her ekstraktan 500 μ l ve 9500 μ l pH_{1.0} tampon solüsyonu ile karıştırılmış ve her bir ekstraktın 500 μ l 9500 μ l pH_{4.5} tampon solüsyonu ile karıştırılmış ve 2 saat beklettikten sonra ayrı ayrı her biri için 510 ve 700 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Toplam

antosiyenin içeriği, siyanidin-3-glikozid eşdeğeri kullanılarak aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$A = [(A_{510}-A_{700}) \text{pH}_{1.0} - (A_{510}-A_{700}) \text{pH}_{4.5}] \quad (3.3.)$$

Sonuçlar, numunenin anj siyanidin-3-glikozit / g ($\mu\text{g cg-3-glkt} / \text{g}$) kuru ağırlığı olarak ifade edildi [125].

3.2.7. Fenolik Asit Miktarlarının HPLC ile Belirlenmesi:

Bu deneyde fenolik asit miktarının belirlenmesi için C_{18} (4,6 mm x 150 mm, 5 μm) sütunla donatılmış Agilent 1260 serisi HPLC cihazı kullanılmıştır. Mobil faz A, % 0,02 trifloroasetik asit (TFA) içeren suyu ve mobil faz B, % 0,02 trifloroasetik asit (TFA) içeren metanoldü. Mobil fazın akış hızı, 0.5 mL / dak'da tutuldu. Gradyan koşulları aşağıdaki gibidir: 0-5 dk, % 25 B; 5-10 dak, % 25-30 B; 10-16 dak, % 30-45 B; 16-18 dk, % 45 B; 18-25 dk, % 45-80 B; 25-30 dak, % 80 B; 30-40 dak, % 80-25 B. Kolonun sıcaklığı 25 $^{\circ}\text{C}$ 'de tutuldu. Enjeksiyon hacmi 10 μL idi. DAD'nin tespit dalga boyları seçilen dört pozisyonda ayarlandı: 254, 275, 305 ve 320 nm [126].

Tablo 3.2. Fenolik Asitlerin analizi için HPLC'nin analitik koşulları

Parametreler	Koşullar
Kolon	C_{18} (4.6 mm \times 150 mm, 5 μm)
Akış hızı	0,5 mL/dk
Enjeksiyon hacmi	10 μL
UV algılama	254, 275, 305 ve 320 nm
Çalışma süresi	40 dk

3.2.8. Antimikrobiyal Aktivite ve Antifungal Etkiler (*in vitro*):

3.2.8.1. Bitki Ekstraksiyonun Hazırlanışı:

Kurutulmuş ve öğütülmüş bitki numunelerinden 25 gram tartılarak koyu renkli şişelere aktarıldı ve sırasıyla üzerine 40 mL etanol ve 10 mL deiyonize su konulup karıştırıldı ve oda sıcaklığında karanlıkta saklandı. 48 saat sonra, (WHATMAN INC., Florham Park, NJ ABD) filtre kağıdı ile karışım süzüldü ve kalıntı, eşit hacimde çözücü ile tekrar ekstre edildi. 48 saat sonra, işlem tekrarlandı. Kombine süpernatantlar, destilasyon düzeneğiyle kurutulmuş her birinden ayrı ayrı hassas terazide 0,250 g tartılarak 300 µl DMSO'da çözdürülmüştür. Elde edilen numuneler antifungal ve antibakteriyal aktivite analizlerinde kullanılmıştır.

3.2.8.2. Antimikrobiyal Analiz:

Antibakteriyal analizde, bakteri suşları Uşak Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Kültür Koleksiyonundan temin edildi, Gram positive: *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) / Gram negative: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Escherichia coli* (ATCC25922) ve *Klebsiella pneumoniae* (NRLLB4420) olmak üzere beş adet bakteri kullanılmıştır. Mueller Hinton Agar (25 ml) besiyeri içeren petrilere bakterilerin ekimi yapılmıştır (0.5 McFarland) ve ortalarına 6 mm'lik kuyucuklar açılarak ve her bir kuyucuğa bir numunedan 20 µl inoküle edilmiştir. Ardından 37 °C'de 18-24 saat etüvde inkübe edildikten sonra sonuçlar (mm) değerlendirilmiştir [127].

3.2.8.3. Antifungal Analiz:

Antifungal analizde kullanılan funguslar; Uşak Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Kültür Koleksiyonundan temin edildi. Yapılan çalışmada; *Mucor plumbeus* (MH870585.1), *Trichoderma longibrachiatum* (MK910052.1), *Fusarium solani* (KT876631.1), *Penicillium glabrum* (MK910045.1), *Alternaria citri*, *Cladosporium cladosporioides*, *Trichoderma atroviride* (MH398583.1), *Penicillium janthinellum* (EF634422.1) olmak üzere sekiz adet fungus kullanılmıştır. Sabouraud dekstroz agar (25 ml) besiyeri içeren petrilere ortalarına 6 mm'lik kuyucuklar açıldı ve

her bir kuyucuğa bir numuneden 20 µl inoküle edilerek küflerin ekimi yapıldı. Ardından bir hafta oda sıcaklığında karanlıkta inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra sonuçlar (mm) değerlendirildi [128].

3.2.9. Anatomik Analiz:

Anatomik çalışmalarda *Leucojum aestivum*'un yaprakları ve soğanları (bulbları) bitkinin çiçeklenme döneminde taze olarak incelenmiştir (örnekler ethanol içerisinde tutulmamıştır). *Leucojum aestivum*'un yaprağından enine ve yüzeysel kesitler alınırken soğanlarından enine kesitler alınmıştır. Enine kesit alma işlemi sırasında keskin bir jilet kullanılmış ve el ile dikkatli bir şekilde ve olabildiğince ince kesitler alınmıştır. Yaprığın adaksiyal (üst) ve abaksyal (alt) yüzeylerinden kesin alınırken en dıştaki zarsı tabaka yine bir jilet yardımıyla kesilip soyularak alınmıştır. Anatomik çalışmalar esnasında mikrotom ile kesit alma, ikili boyama gibi ileri düzey işlemler yapılmamıştır. Alınan kesitler lamaların üzerine konulduktan sonra pastör pipet ile alınan distile sudan 3-5 damla herbir lamın üzerine damlatılmış ve ardından yaklaşık 45 derecelik bir açıyla ve yavaş bir şekilde lamel kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlar görüntüleme sistemli trinoküler ışık mikroskopunda (Leica DM1000 Light Microscope) ve farklı objektif büyütmelerinde (4x-40x) incelenmiş ve fotoğrafları alınmıştır. Anatomik çalışmalarda yaprağın alt ve üst yüzeyini örten koruyucu doku, mezofil tabakası, kristallerin varlığı ve çeşidi, iletim doku, stomaların çeşidi ve sayısı, soğanlarda nişastaların varlığı, yoğunluğu ve çeşidi gibi karakterler araştırılmıştır [129, 130].

3.2.10. Mikromorfolojik / SEM Analiz:

Leucojum aestivum'un yapraklarının adaksiyal ve abeksiyal yüzeylerinin mikromorfolojilerinin saptanabilmesi için öncelikle Uşak Üniversitesi Bitki Sistematiği ve Filogenetiği Araştırma Laboratuvarında bulunan dijital kameralı (Leica EC3, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) trinoküler bir stereomikroskopta (Leica S6D, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) farklı büyütmelerde (8x-40x) incelenmiştir. Stereo mikroskop fotoğrafları LAS EZ programı kullanılarak alınmıştır. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile gerçekleştirilen çalışmalarda öncelikle yaprağın her iki yüzeyine ilişkin ayrıntılı inceleme yapılabilmesini sağlayacak nitelikte 5'er adet örnek seçilmiş ve

bunlar bir bistüri yardımıyla yaklaşık 2-3 cm boyutunda kesilmiştir. Daha sonra, bunlar her iki yüzeyide yapışkanlı olan karbon bant aracılığı ile stapların üzerine yerleştirilmiş ve 10 nm kalınlığında altın-paladyum ile kaplandıktan sonra Afyon Kocatepe Üniversitesi Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (TUAM) bünyesinde bulunan Taramalı Elektron Mikroskobu (LEO-1430 VP SEM, Carl Zeiss SMT, Oberkochen, Germany) ile farklı büyütmelelerde (300x-500x), 20 Kv voltaj altında ve 30 mm çalışma mesafesinde ayrıntılı olarak incelenmiş ve görüntüleri elde edilmiştir. SEM çalışmaları esnasında yüzey ornamentasyon tipi, epidermal hücrelerin antiklinal ve periklinal duvarlarının özellikleri ve stomaların pozisyonları gibi mikromorfolojik karakterler araştırılmıştır [131]

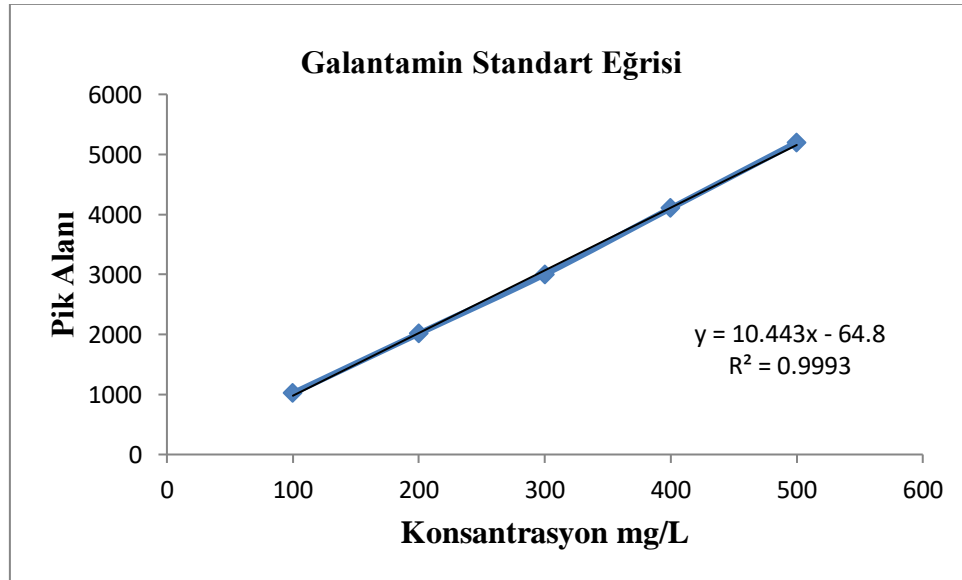


4. BULGULAR VE TARTIŞMA

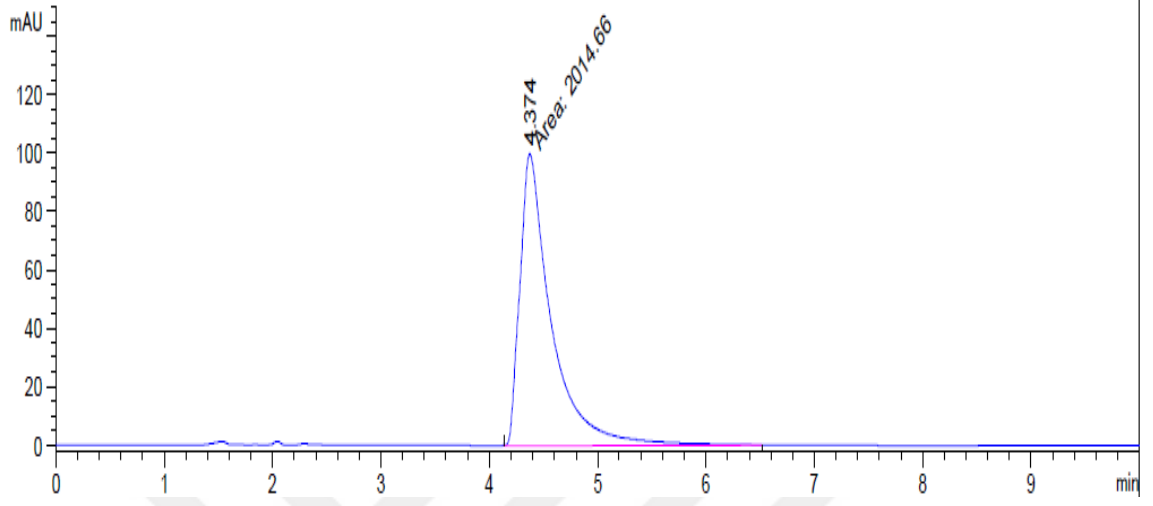
4.1. Galantamin İçeriğinin Belirlenmesi:

Örneklerdeki galantamin miktarının belirlenmesi, ters faz HPLC yöntemi ile yapıldı. Önce 1000 ppm galantamin standart stok solusyonunu hazırlandı. Su ile seyreltme yapılarak kalibrasyon tablosunun oluşturulması için beş farklı konsantrasyonda (100, 200, 300, 400 ve 500 mg / L) galantamin standart solusyonu hazırlanarak cihaza enjeksiyonu yapıldı. Elde edilen pik alanına karşı bir konsantrasyon grafiği çizildi. Galantaminin standart eğrisi, şekil 4.1'de verilmiştir.

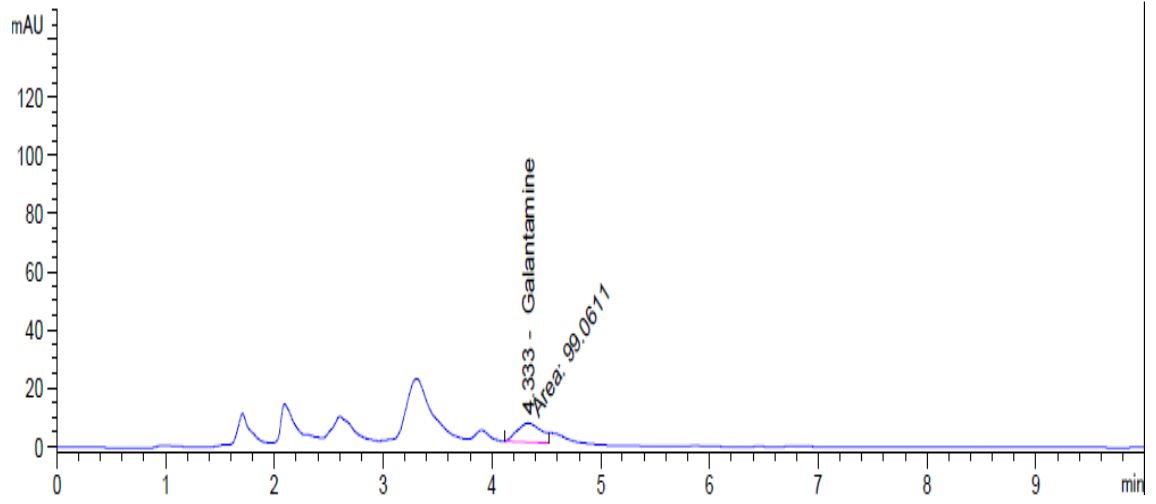
Galantamin standardı ve *leucojum aestivum* özütlerinin HPLC kromatogramları, şekil 4.2, 4.3 ve 4.4'te verilmiştir. *Leucojum aestivum*'un yaprak ve soğanlarında tespit edilen galantamin içeriği Tablo 4.1'de sunulmaktadır.



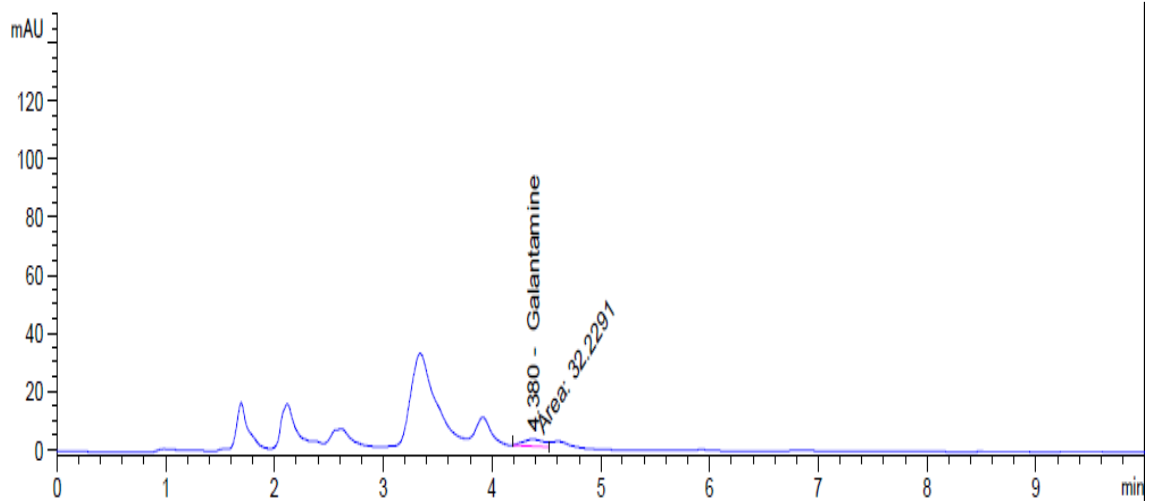
Şekil 4.1. Galantamin standart eğrisi



Şekil 4.2. Galantamin standardının kromatogramı (200 ppm)



Şekil 4.3. Soğan ekstraksiyon kromatogramı



Şekil 4.4. Yaprak ekstraksiyon kromatogramı

Tablo 4.1. *Leucojum aestivum* yapraklarındaki ve soğanlardaki galantamin içeriği, mg Galantamine / g KB olarak ifade edilir.

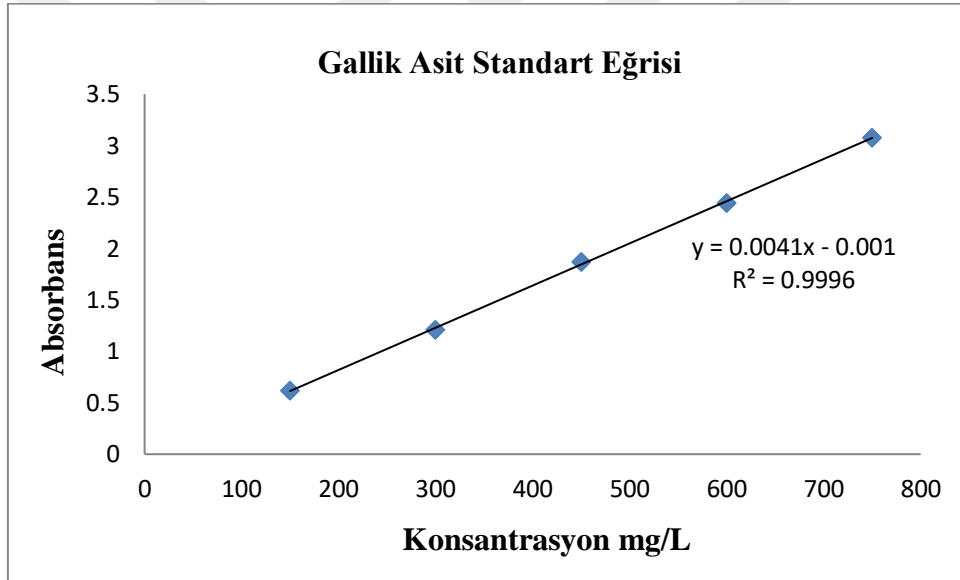
Galantaminin HPLC Sonuçları	
<i>leucojum aestivum</i> Numune	mg Galantamin / g KB
Yaprak	1,47
Soğan	3,75

Bu çalışmada, sonuçlar üzerinde *leucojum aestivum* yapraklarında galantamin olduğu (1,47 mg GAL / g KB) ve soğanlarda (3,75 mg GAL / mg KB) oranında bulunduğu belirlenmiştir. Türkiye'de yetişen *leucojum aestivum* ana galantamin kaynağı olarak kullanılabilir.

Anadolu daki göl soğanı popülasyonlarının galantamin bakımından en zengin olduğu, galantamin tipi sentezin hakim olduğu bulundu. Buna karşılık, Romanya'da toplanan bitkilerde, % 0,26 oranında lcorine ve % 0,19 oranında galantamin (KB'ye atıfta bulunularak) içerecek şekilde likorin tipi bileşikler baskındır [110].

4.2. Toplam Fenolik İçerik Tayini:

Bitkinin metanol ekstraktlarındaki toplam çözünebilen fenolik maddeler Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile tayin edildi. FC reaktifi fosfotungustik ($H_3PW_{12}O_{40}$) ve fosfomolibdik ($H_3PMO_{12}O_{40}$) asitlerin karışımı olup fenol oksidasyonu sırasında bu oksitler mavi renkli bileşiklere indirgenir. Bu renk değişimi polifenolik bileşik miktarı ile orantılı olup 760 nm'de spektrofotometrede takip edilir. Beş farklı konsantrasyondaki Gallik asit standart çözeltisinin absorbans değerleri 765 nm dalga boyunda ultraviyole spektrofotometre (SHIMADZU UV-1800) ile ölçülmüştür. Şekil 4.5, Gallik asidin standart eğrisini göstermektedir. *leucojum aestivum* yaprakları ve soğanlarındaki toplam fenolik içerik Tablo 4.2'de sunulmaktadır.



Şekil 4.5. Gallik asit standart eğrisi

Tablo 4.2. *Leucojum aestivum* bitkisinin yaprak ve soğanlarındaki toplam fenolik içerik, her numunenin mg gallik asit / g KB olarak ifade edilir. Her değer ortalama \pm standart sapma (n = 3) olarak ifade edilir.

<i>leucojum aestivum</i> Numune	Toplam Fenolik İçerik mg GAE / g KB
Yaprak	12,937 \pm 0,057
Soğan	3,947 \pm 0,023

Bu çalışmanın uygulanabilirliği açısından toplam fenolik değerini ölçmeden önce *leucojum aestivum* ekstraktları hazırlanmıştır. Toplam fenolik ile *leucojum aestivum* fenolik içeriği arasındaki bağlantıyı belirtmek için de özel bir reaktif olan ‘Folin-Ciocalteu’ kullanılmıştır. Toplam fenolik madde tayini analizinde, örneklerin toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak verilerek öncelikle gallik asit kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin çizilmesinde 150-750 mg/L konsantrasyon aralığında gallik asit çözeltisi kullanılmıştır.

Yaprak ve soğan ekstreklerinde toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesinde yapılacak hesaplamalar için gerekli olan gallik asit standart eğrisinden faydalanılmıştır. Bu grafik Şekil 34’de verilmiştir.

Leucojum aestivum soğanlarıyla karşılaştırıldığında, *leucojum aestivum* yapraklarında nispeten yüksek bir toplam fenolik içerik belirlenmiştir. *Leucojum aestivum* yapraklarının toplam fenolik içeriği 12,937 \pm 0,057 mg GAE / g KB iken soğanlarının fenolik içeriği 3,947 \pm 0,023 mg GAE / g KB olarak belirlenmiştir. GAE değerleri 12 ve 20 mg GAE / g KB veya daha yüksek [132, 133] aralığında olduğunda, göreceli olarak yüksek kabul edilir, bu nedenle yaprakların TPC’si aralık içinde idi, ancak soğanlar için değildi. Macar *leucojum vernum* yapraklarında, daha yüksek bir toplam fenolik içeriği not edildi (22,71 mg GAE / g KB) ve *leucojum aestivum* yaprakları (15,93 \pm 2,47 mg GAE / g KB), ancak *leucojum aestivum* soğanları (idi. 4,9 \pm 1,52 mg GAE / g KB) ve *leucojum vernum* (4,63 \pm 2,25 mg GAE / g KB) idi [134].

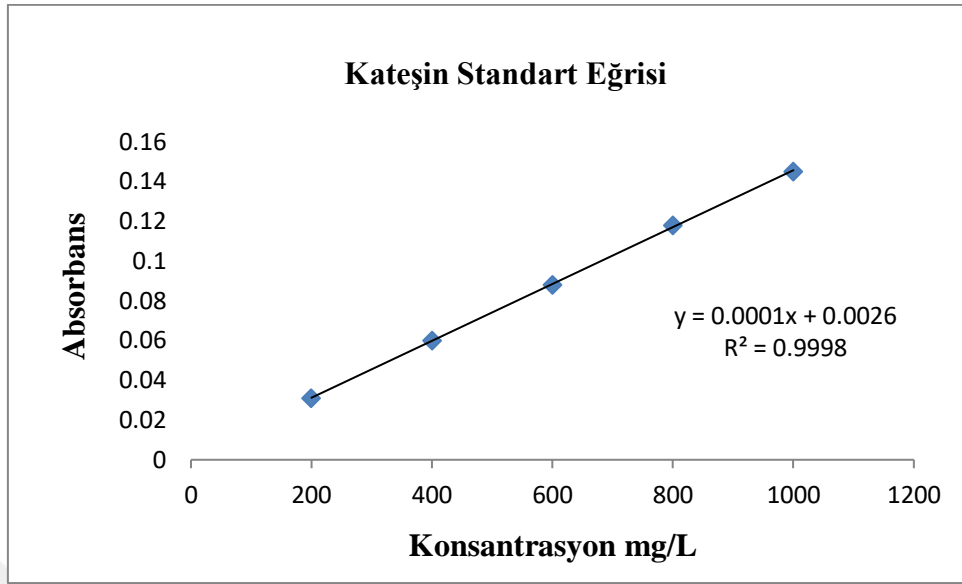
Romen *leucojum vernum*'un havadan kalan kısımlarında toplam fenolik içerik (16,49 mg GAE / g KB) idi [135].

4.3. Toplam Flavonoid İçeriği Tayini:

Flavonoidler genel olarak fenolik bileşiklerin en önemli üyesidir. Yapılan çalışmalar sırasında ekstraktların toplam flavonoid içerikleri kateşin eş değeri olarak hesaplandı.

Gıda veya tıbbi bitki örneklerinde toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesinde kullanılan alüminyum kompleks oluşumuna dayanan spektrofotometrik deneyler, farklı flavonoid familya sınıflarından birkaç bileşik için incelenmiştir. Alkali ortamda NaNO_2 varlığında prosedür rutin, luteolin ve kateşinler için spesifik gibi görünmekle birlikte, fenolik asitler 510 nm'de önemli bir emilim sergilerler.

Metot, sübstitüe edilmemiş veya sterik olarak bloke edilmemiş üç veya dört pozisyonu olan bir katekol grubu taşıyan herhangi bir aromatik halkanın nitrasyonuna dayanmaktadır. Al (III) ilavesinden sonra, sarı bir kompleks çözeltisi oluştu, ardından NaOH ilavesinden hemen sonra pembeye dönüştü. Beş konsantrasyondaki kateşin standart çözeltileri için absorbanlar 510 nm'de ultraviyole spektrofotometre (SHIMADZU UV-1800) ile ölçülmüştür. Şekil 4.6, Kateşin'in standart eğrisini göstermektedir. *leucojum aestivum* yaprakları ve soğanlarındaki toplam flavonoid içeriği Tablo 4.3'te sunulmaktadır.



Şekil 4.6. : Kateşin Standart Eğrisi

Tablo 4.3. Yaprak ve soğanlarındaki *leucojum aestivum* daki toplam flavonoid içeriği, her numunenin mg Catechin / g KB olarak ifade edilir. Her değer ortalama \pm standart sapma (n = 3) olarak ifade edilir.

<i>leucojum aestivum</i> Numune	Toplam flavonoid içeriği mg CAE / g KB
Yaprak	10,620 \pm 1,670
Soğan	0,820 \pm 0.624

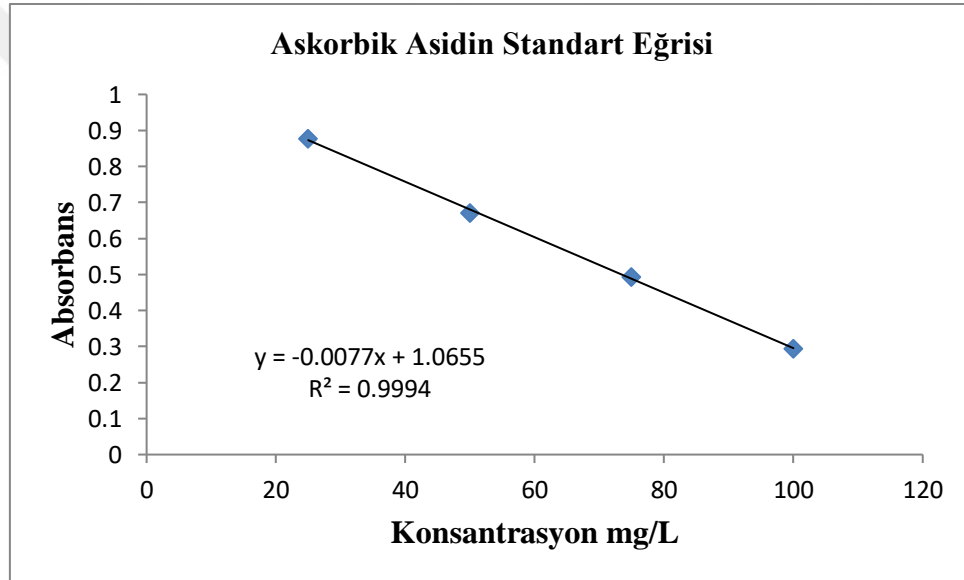
Leucojum aestivum yapraklarındaki toplam flavonoid içeriği, 10,620 \pm 1,670 mg CAE / g idi. KB ve soğanlarda 0,820 \pm 0,624 mg CAE / g idi. KB.

4.4. Antioksidan Aktivite Analizi:

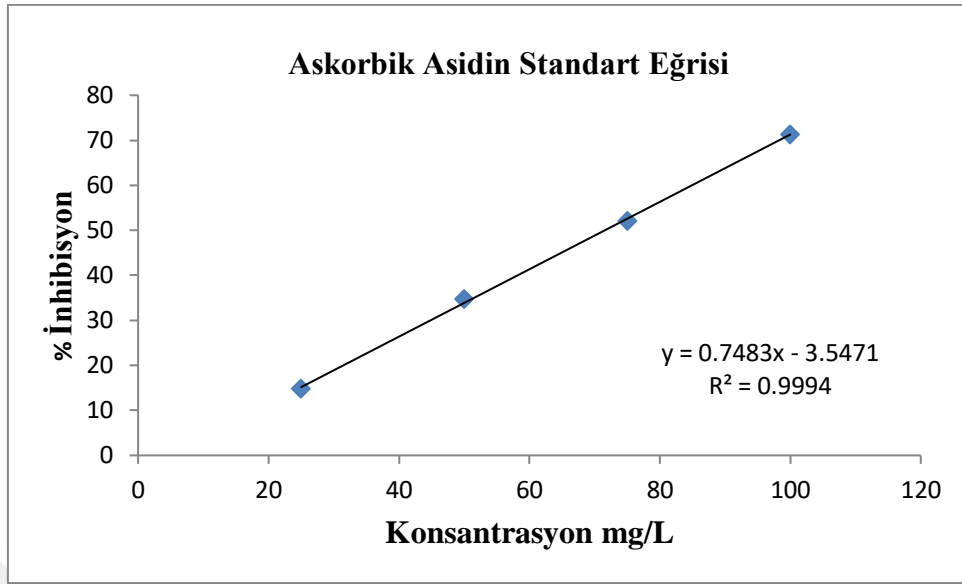
4.4.1. 2,2-Dipenil-1-Picril-Hidrazil Testi (DPPH):

DPPH, stabil serbest radikal moleküllerden oluşan koyu renkli kristal bir tozdur. *Leucojum aestivum* yapraklarının ve soğanlarının metanol ekstraktlarının serbest radikallere karşı antioksidan kapasitesini araştırmak için radikal temizleme yöntemi

kullanılmıştır. DPPH radikali, reaksiyon oluşumu nedeniyle serbest radikal temizleme aktivitesinin analizinde yaygın olarak kullanılır. Bu yöntemde, antioksidan ve DPPH serbest radikali arasında proton transfer reaksiyonu, 515 nm'de absorbansta bir azalmaya yol açmaktadır. Bu işlem, absorban sabit olana kadar görülebilir alanı spektrofotometre ile izlemeye dayanır. Standart Askorbik asit (antioksidan özelliklere sahip doğal olarak oluşan organik bileşik) çözeltisinin farklı konsantrasyonları ile geliştirilen analiz eğrisi, Şekil 4.7a'de ve Şekil 4.7b'de inhibisyon eğrisi göstermektedir. *leucojum aestivum* yaprakları ve soğanlarındaki toplam flavonoid içeriği Tablo 4.4'te verilmiştir. DPPH aktivitesini mg AA / g cinsinden göstermektedir KB.



Şekil 4.7a. Askorbik asit analizinin standart eğrisi.



Şekil 4.7b. Askorbik asit inhibisyonunun standart eğrisi.

Tablo 4.4. Yapraklarda ve soğanlarda *leucojum aestivum*'un serbest radikal temizleme aktivitesi (DPPH). Her numunenin sonucu mg askorbik asit / g KB olarak ifade edilir. Her değer ortalama \pm standart sapma (n = 3) olarak ifade edilir.

<i>leucojum aestivum</i> Numune	% İnhibisyon	mg AA / g KB
Yaprak	89,70	3,736 \pm 0,047
Soğan	11,11	0,590 \pm 0,123

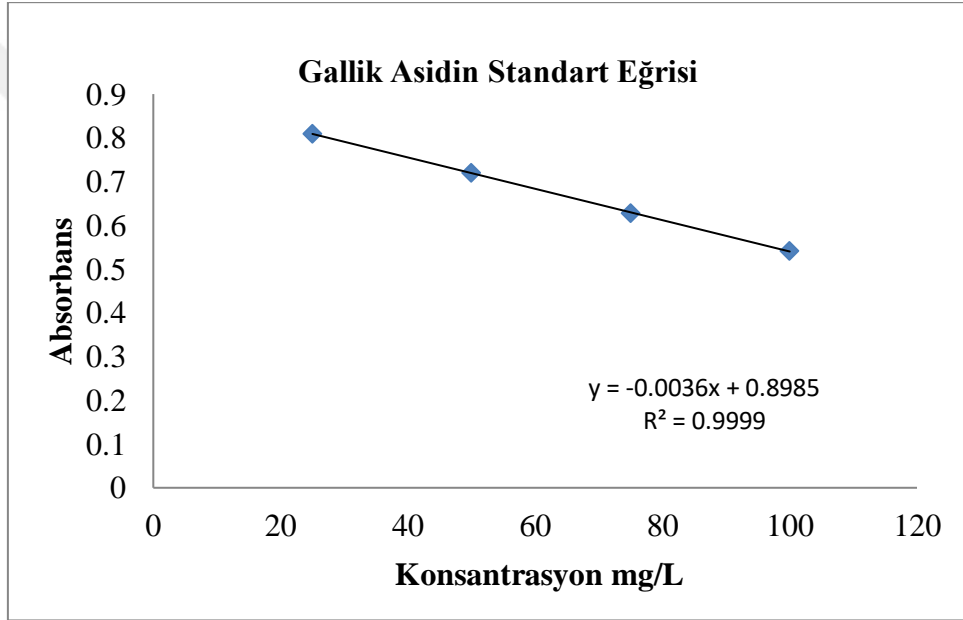
Yaprak ekstrakt örneklerinin DPPH temizleme aktivitesi 3,736 \pm 0,047 mg AA / g KB iken, soğan ekstrakt örneklerinin DPPH temizleme aktivitesi 0,590 \pm 0,123 mg AA / g KB olarak belirlenmiştir.

DPPH testi, radikal bileşiğin stabil olduğu ve üretilmesi gerekmediğinden, antioksidanların radikal temizleme aktivitesini değerlendirmek için geçerli, doğru, kolay ve ekonomik bir yöntem olarak kabul edilir. [136, 137, 138]. Fenol bileşiklerinin antioksidan yeteneğini değerlendirmek için DPPH yöntemi kullanılmıştır [136]. Bu çalışmada, *leucojum aestivum*'un yaprak ekstraktları, soğan ekstraktına göre

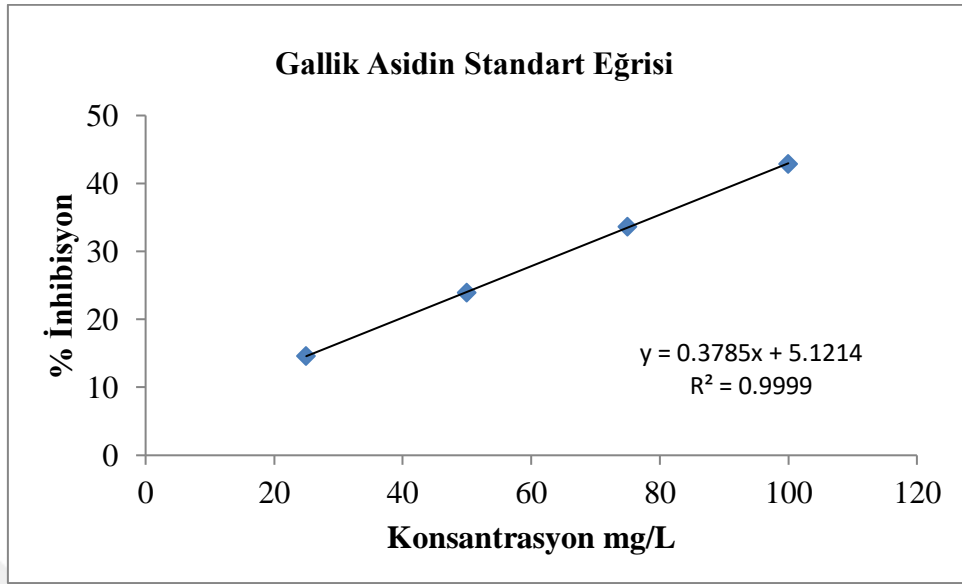
oksidasyona karşı en yüksek temizleme kapasitesine sahiptir, daha sonra soğanlardan daha önemli olan antioksidan kaynağıdır. Bizim bulgularımızda bu yöndedir.

4.4.2. ABTS⁺ Radikal Katyon Testi:

Standart Gallik asit çözeltilerinin farklı konsantrasyonları ile geliştirilen analiz eğrisi, Şekil 4.8a'de ve Şekil 4.8b'deki inhibisyon eğrisi de sunulmuştur. Tablo 4.5'te *leucojum aestivum*'un yaprakları ve soğanlarında ABTS⁺ aktiviteleri, antioksidan aktiviteleri mg GAE / g KB olarak ifade edildi.



Şekil 4.8a. Gallik asit analizinin standart eğrisi.



Şekil 4.8b. Gallik asit inhibisyonunun standart eğrisi.

Tablo 4.5. *Leucojum aestivum*'un yaprak ve soğanlarında ABTS aktivitesi her numune için mg gallik asit / g KB olarak ifade edilir. Her değer ortalama \pm standart sapma (n = 3) olarak ifade edilir.

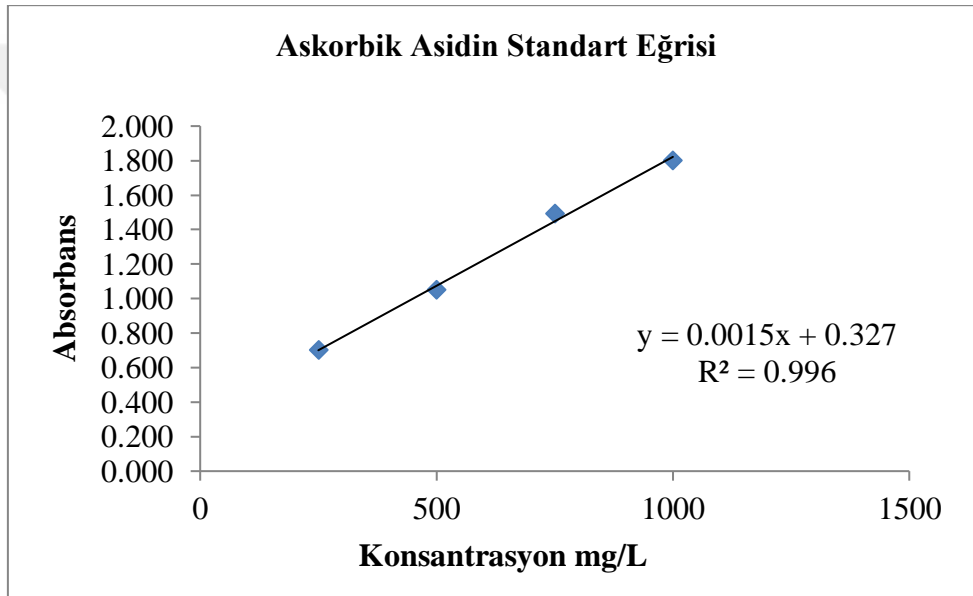
<i>leucojum aestivum</i> Numune	% İnhibisyon	mg GAE / g KB
Yaprak	70,90	5,190 \pm 0,130
Soğan	30,64	2,013 \pm 0,235

Yaprak ekstraktlarında ABTS⁺ aktivitesi 5,190 \pm 0,130 mg GAE / g olarak belirlenmiştir. Soğan ekstraktlarında ABTS aktivitesi 2,013 \pm 0,235 mg GAE / g KB olarak belirlenmiştir. ABTS⁺ radikalını temizleme aktivitesi için, inhibisyon değerleri (radikal seviyelerinin azalması) $\geq 60\%$ olduğunda, antioksidan kapasitenin yüksek olduğu kabul edilir. Yöntemin kendisi, belirli bir numunenin diğer çeşitli yöntemlere kıyasla radikal süpürme kapasitesinin iyi bir göstergesidir: DPPH, FRAP, ORAC, vb. [132, 139-141]. DPPH sonuçlarında olduğu gibi, *leucojum aestivum*'un yaprak

ekstraktları soğanlardan daha fazla antioksidan aktiviteye sahiptir ve bu da onu önemli bir antioksidan bileşik kaynağı yapar.

4.5. İndirgeme Kapasitesinin Belirlenmesi:

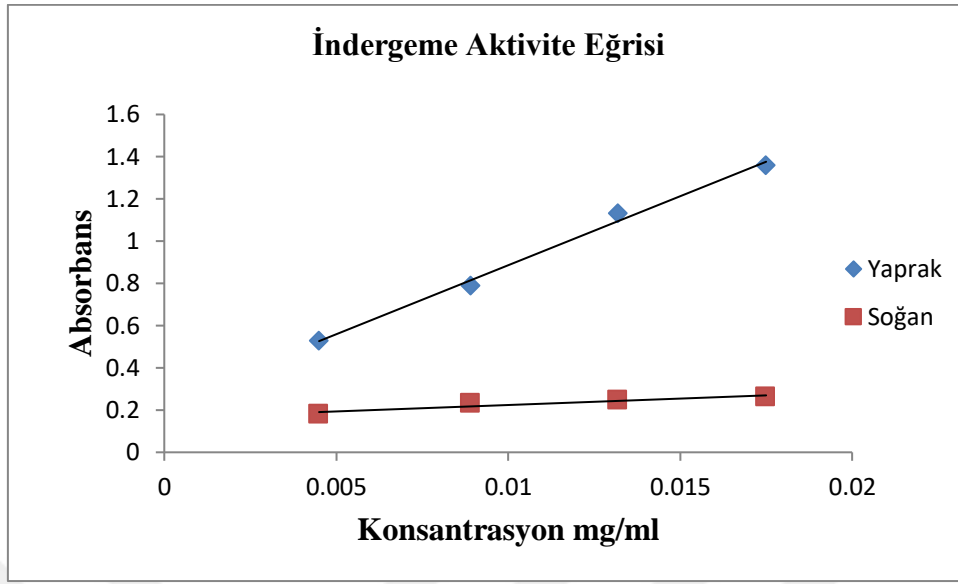
Askorbik asit, standart çözelti olarak kullanıldı. Reaksiyon karışımının artan absorbansı, azaltma gücündeki bir artışı gösterir. Şekil 4.9, askorbik asidin Standart eğrisini, tablo 4.6, yaprak ve soğanlardaki *leucojum aestivum*'un RPC'sini göstermektedir. Şekil 4.10, RPC'nin bunlar arasındaki karşılaştırmasını gösterir.



Şekil 4.9. Askorbik asidin standart eğrisi

Tablo 4.6. *Leucojum aestivum*'un yaprak ve soğanlarında indirgeme Kapasitesi, mg / ml olarak ifade edilir. Her değer ortalama \pm standart sapma (n = 3) olarak ifade edilir.

<i>leucojum aestivum</i> Numune	0,0045 mg/ml	0,0089 mg/ml	0,0132 mg/ml	0,0175 mg/ml
Yaprak absorbansı	0,530 \pm 0,050	0,790 \pm 0,035	1,133 \pm 0,043	1,359 \pm 0,010
Soğan absorbansı	0,179 \pm 0,015	0,233 \pm 0,067	0,247 \pm 0,005	0,262 \pm 0,037



Şekil 4.10. Yaprak ve soğanların RPC karşılaştırması

Sonuçlar en yüksek absorbansın 0,0175 mg / ml yapraklarda ($1,359 \pm 0,010$) olduğunu göstermiştir. Diğer taraftan, en düşük absorbans soğanlarda ($0,179 \pm 0,015$) 0,0045 mg / ml idi. Bitki ekstraktlarının azaltıcı özellikleri, potansiyel antioksidan aktivitelerinin önemli bir göstergesi olarak görülmektedir [142]. Potasyum ferrisiyanür indirgeme yöntemi, bitki polifenollerinin RP değerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu tahlilde, test numunelerindeki antioksidanların varlığı, bir elektron bağışlayarak Fe^{3+} ferrisiyanit kompleksinin bir elektron vererek Fe^{2+} forma indirgenmesine neden olmaktadır. Daha sonra Perl'in Prusya mavisi renk oluşumu ölçerek izlenmiştir [143].

Leucojum aestivum yapraklarının absorbansı 0,0045 mg / ml'de $0,530 \pm 0,050$, 0,0089 mg / ml'de $0,790 \pm 0,035$, 0,0132 mg / ml'de $1,133 \pm 0,043$ ve 0,0175 mg / ml'de $1,359 \pm 0,010$ olmuştur. Yani konsantrasyon arttığında absorbans artar.

Leucojum aestivum soğanların absorbansı 0,0045 mg / ml'de $0,179 \pm 0,015$, 0,0089 mg / ml'de $0,233 \pm 0,067$, 0,0132 mg / ml'de $0,247 \pm 0,005$ ve 0,0175 mg / ml'de $0,262 \pm 0,037$ 010'dur. mi. Bu çalışmada görebileceğimiz gibi, *leucojum aestivum* yaprakları, soğurganlığın artmasından dolayı soğanlara kıyasla en yüksek azaltma gücü

kapasitesine sahiptir ve *leucojum aestivum*, soğanlardan ziyade RPC bileşiklerinin kaynağı olarak daha önemlidir.

4.6. Toplam Antosiyanin Tayini

Leucojum aestivum yapraklarının ve soğan ekstraktlarının toplam antosiyanin muhtevası, iki farklı pH'ta (pH_{1.0} ve pH_{4.5}) spektrofotometre kullanılarak belirlendi ve ölçümler, her biri için ayrı ayrı 510 ve 700 nm dalga boylarında yapıldı.

Toplam antosiyanin içeriği, siyanidin-3-glikozid eşdeğeri kullanılarak aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$A = [(A_{510}-A_{700})_{pH_{1.0}} - (A_{510}-A_{700})_{pH_{4.5}}] \quad (4.1.)$$

Tablo 4.7, *leucojum aestivum* kısımlarındaki Toplam Antosiyanin içeriğini göstermektedir.

Tablo 4.7. *Leucojum aestivum*'un yaprak ve soğanlarında daki toplam Antosiyanin içeriği, µg cg-3-glkt / g KB olarak verilmiştir. Her değer ortalama ± standart sapma (n = 3) olarak ifade edilir.

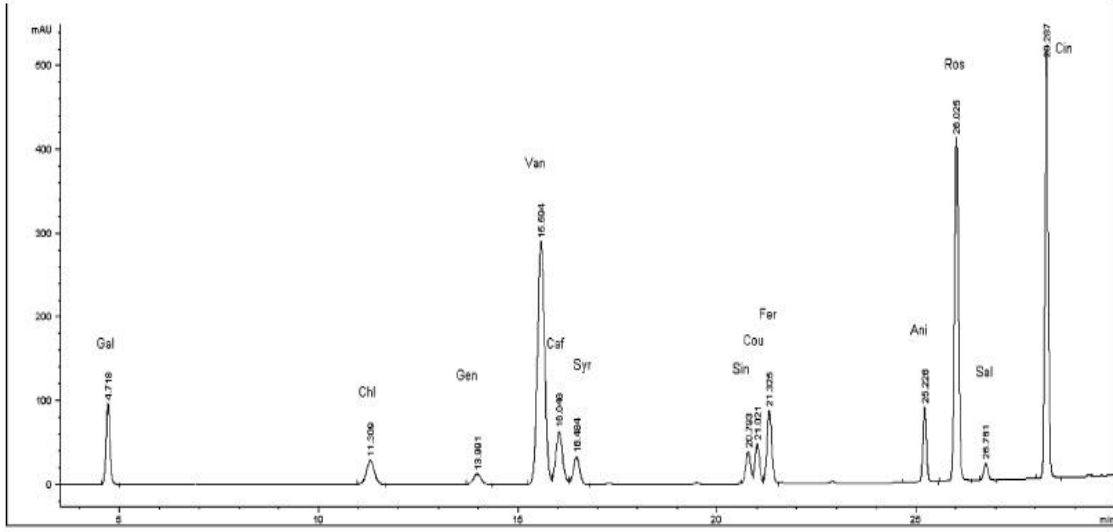
<i>leucojum aestivum</i> Numune	µg cg-3-glkt / g KB
Yaprak	0,008±0,001
Soğan	0,018±0,003

Antosiyaninler genellikle doğadaki en büyük ve en önemli suda çözünür pigment grubu olarak kabul edilir [144]. 5 ile 6 arasındaki pH değerlerinde sadece iki renksiz tür bulunabilir (sırasıyla karbinol psödobaz ve kalkon). 7'den yüksek pH değerlerinde, antosiyaninler ikame gruplarına bağlı olarak düşer [145] Canlı organizmalar insan hayatını sağlıklı bir dengede tutmaya çalışan bir redoks sistemine sahiptir. Hücrelerin ve organizmaların yaşam durumları için serbest radikaller gereklidir [146]. Besin, besin değerine ek olarak insan sağlığı üzerinde de olumlu etkilere sahip olabilir. Bazı yiyecek

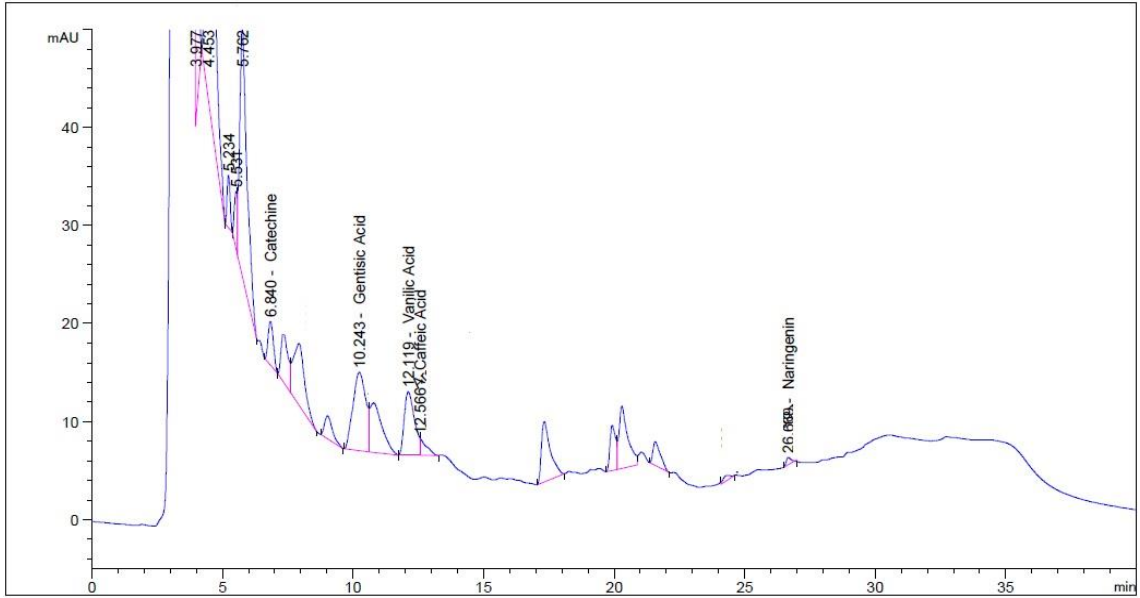
ve içeceklerde bulunan antosiyaninlerin kanser gibi çeşitli hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir; antioksidan aktivite mekanizmaları, detoksifikasyon aktivitesi, çoğalma önleyici, apoptoz indüksiyonu ve anti-anjiyojenik aktivite içeren kardiyovasküler hastalıklar; anti-enflamatuar aktivite; tip II diyabet ve obezitenin kontrol edilmesi için klinik bir terapötik hedef olan sindirim enzimlerinin (a-glukozidaz, a-amilaz, proteaz ve lipaz) inhibisyonu; bağışıklık sisteminin iyileştirilmesi; Yaşlanma sürecinin gerisinde olduğu gibi gece görüşünün iyileştirilmesi, örneğin Alzheimer hastalığı gibi dejeneratif bozuklukların riskini azaltır [147, 148]. Bu çalışmada *leucojum aestivum*'un en yüksek antosiyanin içeriği, soğanlarında ($0,018 \pm 0,003$) $\mu\text{g cg-3-glkt} / \text{g KB}$ olarak belirlenmiştir. Yapraklarında ise $0,008 \pm 0,001$ $\mu\text{g cg-3-glkt} / \text{g KB}$ olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, ana antosiyaninler kaynağı soğanlarda yapraklardan daha fazladır.

4.7. Fenolik Asit Miktarının HPLC ile Belirlenmesi:

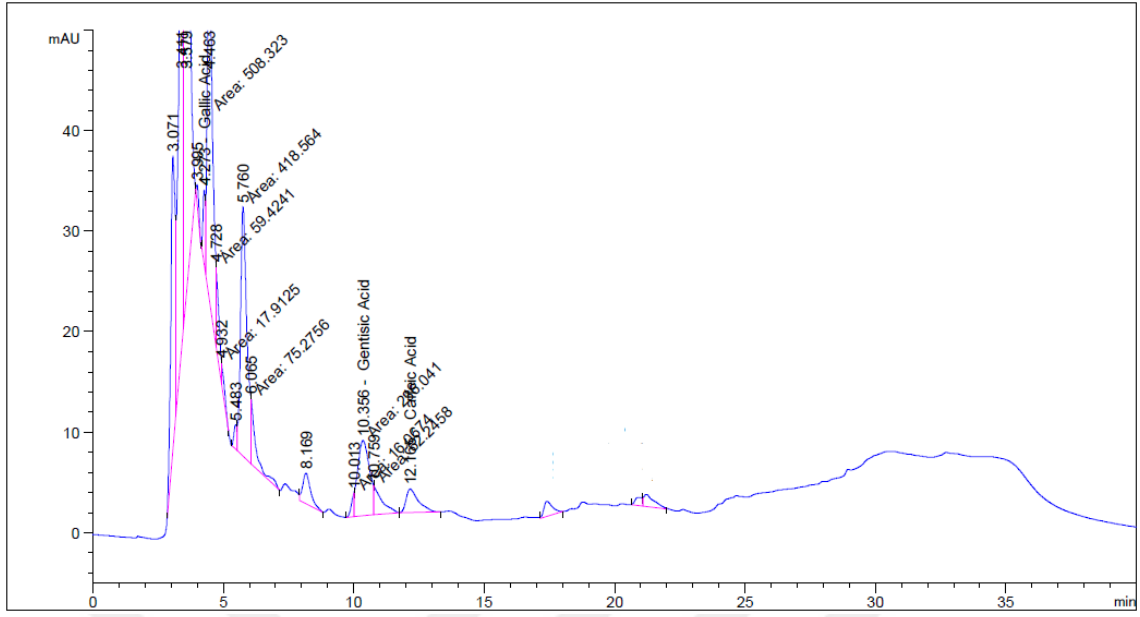
Örneklerdeki fenolik asitlerin miktarlarının belirlenmesi, iki tip ekstrakt, metanolik ekstrakt ve HCL pH_{1.0} ekstraktı için ters faz HPLC metodu ile yapıldı. Standart malzeme olarak gallik asit, Gentsik asit, Vanillik asit, Kafeik asit, Syringik asit, Sinapinik asit, p-kumarik asit, Ferrulik asit, Rosmarinik asit, Protocatechik asit, Catechin, Naringenin ve Quercetin kullanılmıştır. Şekil 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15'te sırasıyla fenolik asit standardı kromatogramları, yaprakların ve soğanların HCL ekstraktı ile yaprak ve soğanların metanolik ekstraktları gösterilmektedir. *Leucojum aestivum* kısımlarındaki fenolik asit içeriği Tablo 4.8'de verilmiştir.



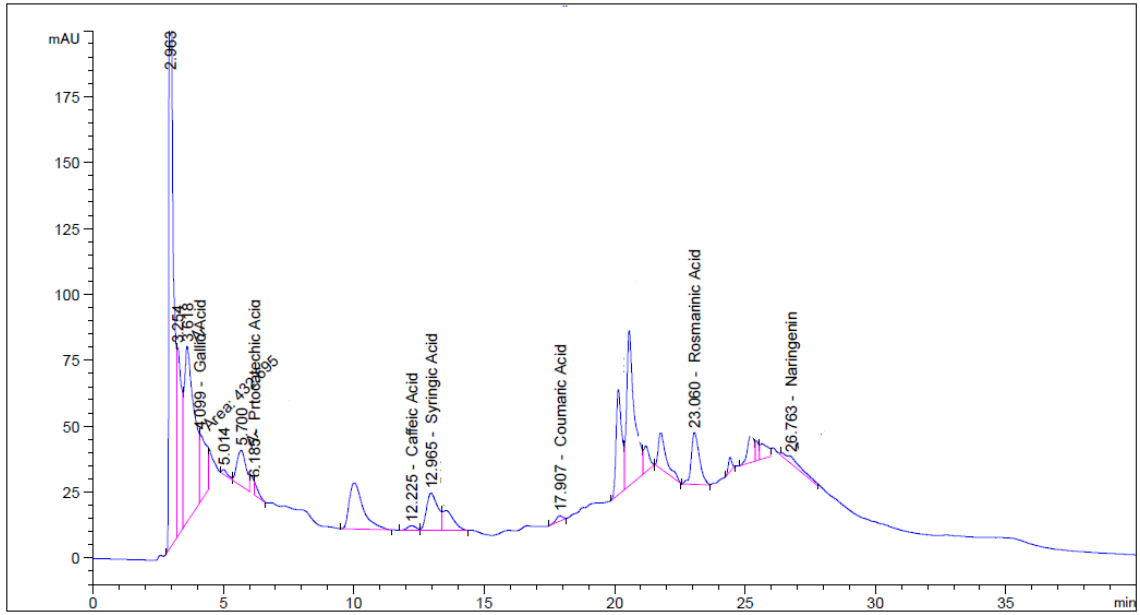
Şekil 4.11. 13 Fenolik Asit Standartlarının Tipik Kromatogramı



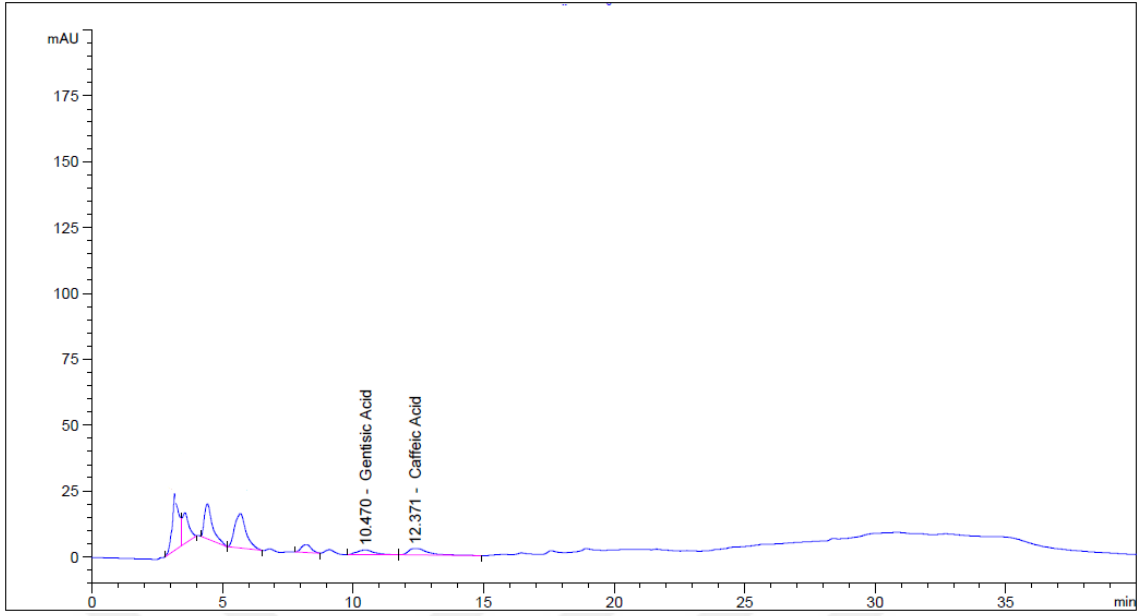
Şekil 4.12. Yaprakların HCL ekstraktlarının HPLC kromatogramı



Şekil 4.13. Soğanların HCL ekstraktlarının HPLC kromatogramı



Şekil 4.14. Yaprakların metanolik ekstraktlarının HPLC kromatogramı



Şekil 4.15. Soğanların metanolik ekstraktlarının HPLC kromatogramı

Tablo 4.8. *Leucojum aestivum* daki fenolik asit içeriği, iki tür ekstrakt için (HCL pH_{1.0} ve metanol) soğan ve yapraklarda, mg / 100 g KB olarak ifade edilmiştir

<i>leucojum aestivum</i> Numuneler	Fenolik Asitler (mg/100g KB)									Flavonoidler (mg/100g KB)			Polifenol (mg/100 g KB)
	Gallik asit	Gentisik asit	Vanilik asit	Protokateşik asit	Şıngic asit	Ferrulik asit	Kafeik asit	p-kumarik asit	Sinapirik asit	Kateşin	Naringenin	Kuersetin	Rosmarinik asit
	HCl (pH_{1.0}) ekstraktı												
Yaprak	-	359,25	8,52	-	-	-	-	-	-	56,61	8,55	-	-
Soğan	4,32	311,01	-	-	-	-	5,25	-	-	-	-	-	-
	Metanol ekstraktı												
Yaprak	38,91	-	-	2,01	42,33	-	2,88	84,48	-	-	125,73	-	109,89
Soğan	-	110,43	-	-	-	-	8,88	-	-	-	-	-	-

Fenolik asitler (mg / 100 g KB) olarak ifade edildi. *Leucojum aestivum* yapraklarının pH1.0 ekstraktlarında en yüksek oranda fenolik asitlerden 359,25 mg/100 g KB numune oranında gentisik asit belirlendi, fenolik asitlerden en düşük oranda soğanların pH1.0 ekstraktlarında 4,32 mg/100 g KB numune oranında gallik asit içeriği tespit edildi. Metanolik ekstraktlarda yapraklarda 125,73 mg/100 g KB numune oranında naringenin belirlendi, 2,01 mg/100 g KB numune oranında protokateşik asit belirlendi. Yapraklarda pH1.0 ekstraktında gallik asit ve kafeik asit belirlenmedi. Soğanların pH1.0 ekstraktında gallik asit 4,32 ve kafeik asit 5,25 mg/100 g KB numune oranında belirlendi. Soğan ekstraktlarında (pH1.0 ekstrakt) vanilik asit, kateşin ve naringenin tespit edilmedi. Yaprak ekstraktlarında (pH1.0 ekstrakt) vanilik asit, kateşin ve naringenin belirlendi (8,52, 56,61 ve 8,55). Yaprakların metanolik ekstraktlarında, gentisik belirlenmezken, soğanda 110,43 mg/100 g KB numune oranında belirlendi. Soğanların metanolik ekstraktlarında gallik asit, protokateşik asit, şıngic asit, p-kumarik asit, naringenin ve rosmarinik asit belirlenmemiştir. Yaprakların metanolik ekstraktlarında gallik asit, protokateşik asit, şıngic asit, p-kumarik asit, naringenin ve rosmarinik asit (sırasıyla 38,91 – 2,01 – 42,33 – 84,48 – 125,73 – 109,89) belirlenmiştir. Bu iki ekstraktta ferrulik asit, sinapnik asit ve kuersetin belirlenmemiştir. Yaprakların HCL ekstraktında vanilik asit ve kateşin (sırasıyla 8,52 – 56,61) belirlenmiştir, yaprakların metanolik ekstraktlarında vanilik asit ve kateşin tespit edilmemiştir. Ancak yaprakların metanolik ekstraktları gallik asit, protokateşik asit, şıngic asit, p-kumarik asit ve rosmarinik asit (sırasıyla 38,91 - 2,01 – 42,33 – 84,48 – 109,89) belirlenmiştir. yaprakların HCL ekstraktlarında, gallik asit, protokateşik asit, şıngic asit, p-kumarik asit ve rosmarinik asit tespit edilmemiştir. HCL ekstraktında, soğanlarda gallik asit (4,32) belirlenmiştir, ancak soğanların metanolik ekstraktlarda belirlenmemiştir. Bu iki ekstrakt arasında karşılaştırma yaparsak, protocatechik asit, şıngic asit, p-kumarik asit ve rosmarinik asit sadece yaprakların metanolik ekstraktlarında bulunmakta, vanilik asit ve kateşin yaprakların HCL ekstraktlarında bulunmaktadır.

4.8. Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivite:

4.8.1. Antimikrobiyal Analiz:

Leucojum aestivum kısımlarının (yapraklar ve soğanlar) antimikrobiyal aktivitesi, beş patojenik bakteri suşuna (Gram pozitif: *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus* / Gram negatif: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*) karşı incelenmiştir. Antibakteriyel aktivitelerin sonuçları Tablo 4.9'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlar, bu ekstraktların bu suşlara karşı hiçbir etkinliği olmadığını ortaya koymuştur.

Tablo 4.9. *Leucojum aestivum* yaprak ve soğan ekstraktlarının antimikrobiyal analizi

<i>leucojum</i> <i>aestivum</i> Numune	Gram pozitif bakteri		Gram negatif bakteri		
	<i>Bacillus</i> <i>subtilis</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	<i>Escherichia</i> <i>coli</i>	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i>
Yaprak	-	-	-	-	-
Soğan	-	-	-	-	-

Bir önceki çalışmaya göre, DMSO'nun (dimetil sülfoksit) biyolojik çevre üzerinde kayda değer bir etkisi yoktur [127]. Seçilen bakteri suşları üzerinde *leucojum aestivum* ekstraksiyonun (yapraklar ve soğanlar) etkinliği olmadığını gösteren sonuçlar.

4.8.2. Antifungal Analiz:

Antibakteriyel aktivitelere ek olarak, ekstraktlar sekiz mantar suşuna (*Mucor plumbeus*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Fusarium solani*, *Penicillium glabrum*, *Alternaria citri*, *Cladosporium cladosporioides*, *Trichoderma atroviride*, *Penicillium janthinellum*) karşı antifungal aktivitelere maruz bırakıldı, ve inhibisyonun zon çapları (mm) Tablo 4.10'da özetlenmiştir. DMSO (dimetil sülfoksit) bu testte kontrol olarak kullanılmıştır.

Tablo 4.10. *Leucojum aestivum* ekstraktlarının antifungal aktivite analizleri

mantar suşuna	<i>leucojum aestivum</i> Numune		DMSO (kontrol)
	Yaprak	Soğan	
<i>Mucor plumbeus</i>	-	-	-
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	-	-	-
<i>Fusarium solani</i>	11	8	10
<i>Penicillium glabrum</i>	21	23	20
<i>Alternaria citri</i>	17	16	12
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	28	23	27
<i>Trichoderma atroviride</i>	-	-	-
<i>Penicillium janthinellum</i>	18	16	18

Antifungal aktivite sekiz fungusa karşı denenmiştir. *Leucojum aestivum*'un yaprağı en fazla etkiyi *Alternaria citri*'aya karşı göstermiştir. Ayrıca *Fusarium solani*, *Penicillium glabrum* ve *Cladosporium cladosporioides*'a karşıda az da olsa bir etkisi olmuştur. *Leucojum aestivum*'un soğanı ise *Penicillium glabrum* ve *Alternaria citri*'ye karşı bir etki göstermiştir. Bunlar dışında funguslarda bir etki söz konusu değildir.

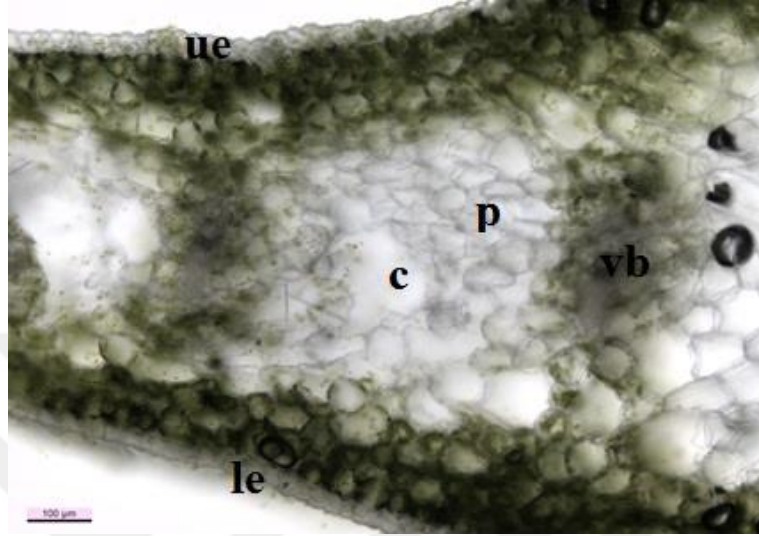
Leucojum aestivum ekstraktlarının (yapraklar ve soğanlar) seçilen bakteri suşları üzerinde etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, diğer bir çalışmada Lukon Glads'tan (Sadská, Çek Cumhuriyeti) elde edilen *leucojum aestivum*'un soğan ekstresinin, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'ta etki göstermediği bulunmuştur [149]. Görüldüğü gibi, bu çalışmada *Mucor plumbeus*, *Trichoderma longibrachiatum* ve *Trichoderma atroviride*'de yaprak ve soğan ekstraktları antifungal aktivite göstermemiştir. En düşük antifungal aktivite sırasıyla yapraklar ve soğanda (11, 8 mm) *Fusarium solani* 'da meydana gelmiştir. En yüksek antifungal aktivite sırasıyla yaprak ve soğanda (28, 23 mm) *Cladosporium cladosporioides*'te gözlenmiştir. Diğer sonuçlar

birbirine yakındı (*Penicillium glabrum*: yaprak (21 mm) ve soğan (23 mm). *Alternaria citri*: yaprak (17 mm) ve soğan (16 mm). *Penicillium janthinellum*: yaprak (18 mm) ve soğan (16 mm). Önceki araştırmaya göre, Lukon Glads'tan (Sadská, Çek Cumhuriyeti) elde edilen *leucojum aestivum*'un soğan ekstraktının, dört mantar suşu (*C. albicans* (oral kavite), *C. albicans* (alt solunum yolu), *C. dubliniensis* (balgam), *C. glabrata* (balgam) ve *lodderomyces elongiosporus* (endotrakeal aspirat)) üzerinde etki gösterdiği bulunmuştur [149]. Diğer bir çalışmada, Türkiye'de yetişen *leucojum aestivum* soğanlarının, etanolik ekstresinin özellikle *C. dubliniensis*, *C. glabrata* ve *lodderomyces elongiosporus* üzerinde etkili olduğu ve patojenik mantar *Cladosporium cucumerinum* üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Candida tropicalis*, *Microsporum canis*, *Rhizopus microsporus*, *Trichophyton mentagrophytes* ve *Trichophyton rubrum*'da da etkinlik göstermemiştir [150].

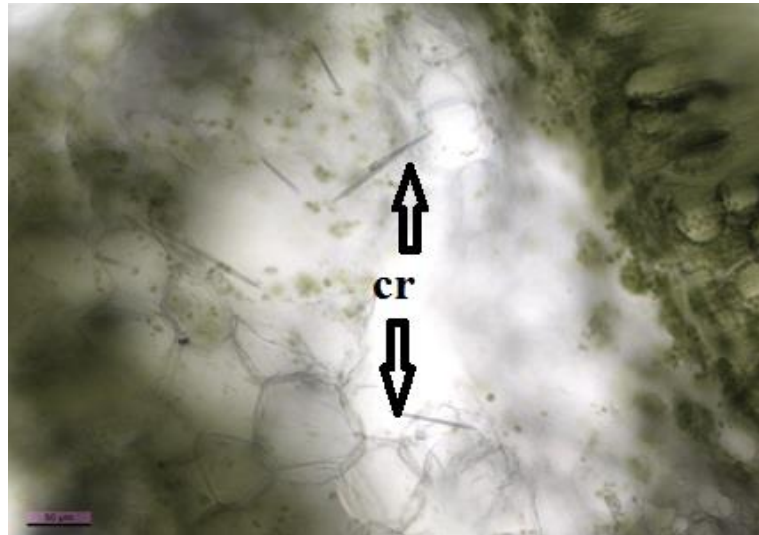
4.9. Anatmik İncelemede:

Yaprak kesitleri, epidermisin, hem adaksiyal hem de abeksiyal yüzeylerde tek katmanlı izodiyametrik ve uzun hücrelerden oluştuğunu gösterdi. Üst ve alt epidermal hücrelerin büyüklükleri neredeyse eşitti ve kalınlığı yaklaşık 1,3-2,2 µm olan ince kütiküllerle kaplı idi. Yaprak amfizmatik ve izolateral idi ve orta kısmı yüksek değildi. Mesophyll dokusu, çok sayıda kloroplast ve izodiyametrik (poligonal) veya büyük hücreler arası boşlukları olan düzensiz parankimi hücrelerinden oluşuyordu. Mesophyll ayrıca büyük lizigenöz boşluklardan oluşmuştur ve ana vasküler demetlere benzer görünüm ve boyutta olan kollateral vasküler demetlerde düzenlenmiş vasküler doku içermektedir. Bu boşluklar vasküler demetler ile ayırt edildi. Mesophyll'de iğneli kalsiyum oksalatın iğneli kristalleri açıkça gözlenmiştir. Vasküler demetler birkaç kat parankimatlı paket kılıf hücreleri ile çevrilidir. Paket kılıf uzantıları, her iki tarafta da kaburga şeklinde yansıtılmıştır. Yaprak yüzeyi bölümü, stoma yapısının her iki yaprak surundaki temel yapısının tetracytik olduğunu ve yaprağın eksenine paralel sıralar halinde yerleştirildiğini gösterdi. Stoma sayısı, 20x'de yaprak başına 4 ve 5'tir. Soğanın enine kesitinde, epidermis dış bölgesi, kütikül ile kaplı bir adet dikdörtgen hücre tabakasını içermektedir. Epidermisin altında, parankim hücrelerinde büyük ve

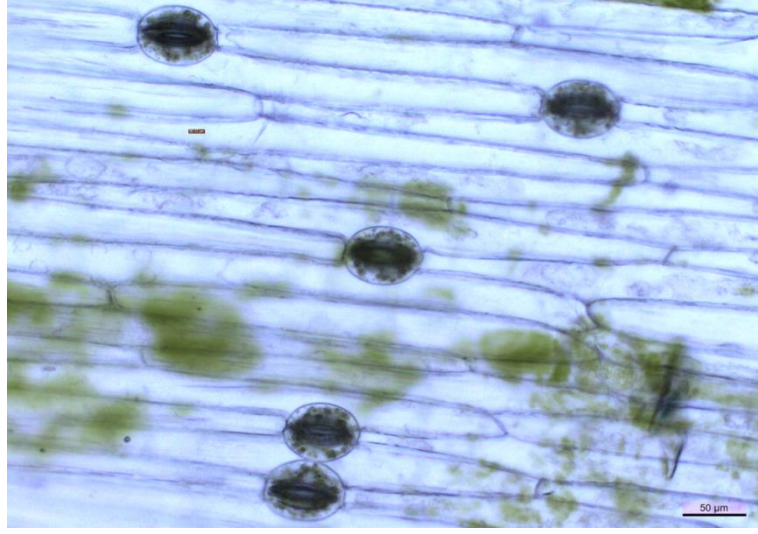
dikdörtgen ya da hemen hemen kare şeklinde büyük miktarda nişasta bileşği taneleri gözlendi (Şekil 4.16 a-h).



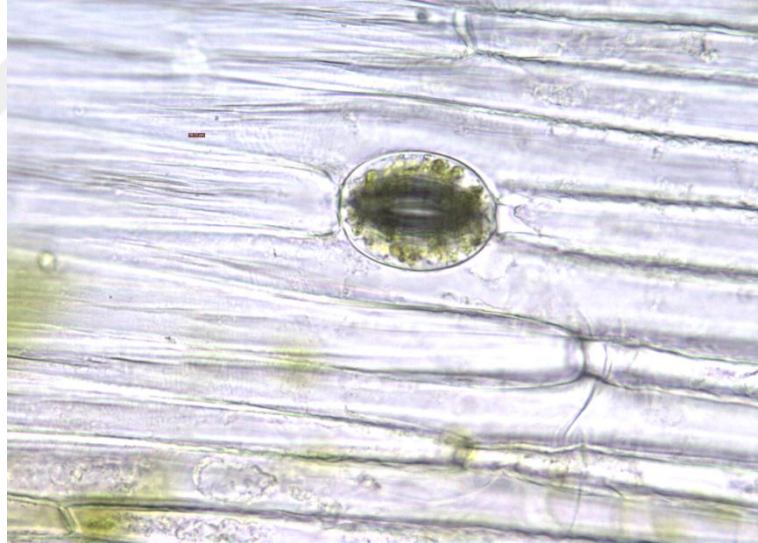
a. *L. aestivum*'un yaprağı enine kesit 100x



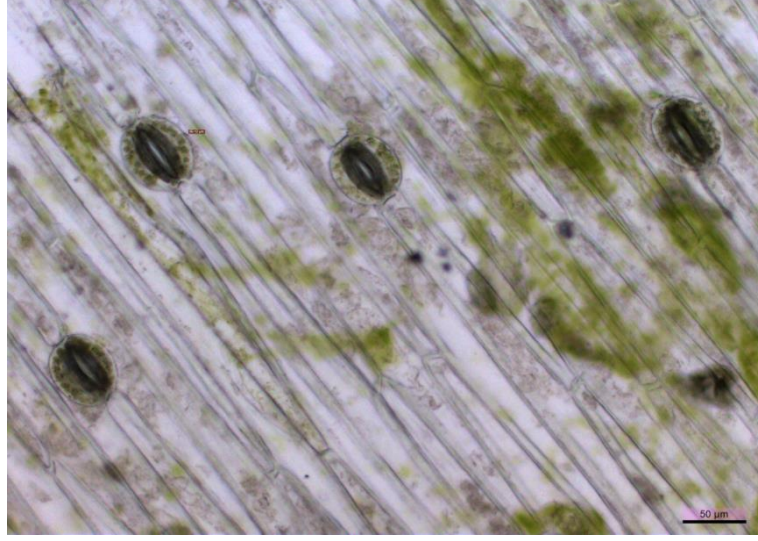
b. *L. aestivum*'un yaprağı enine kesit 200x



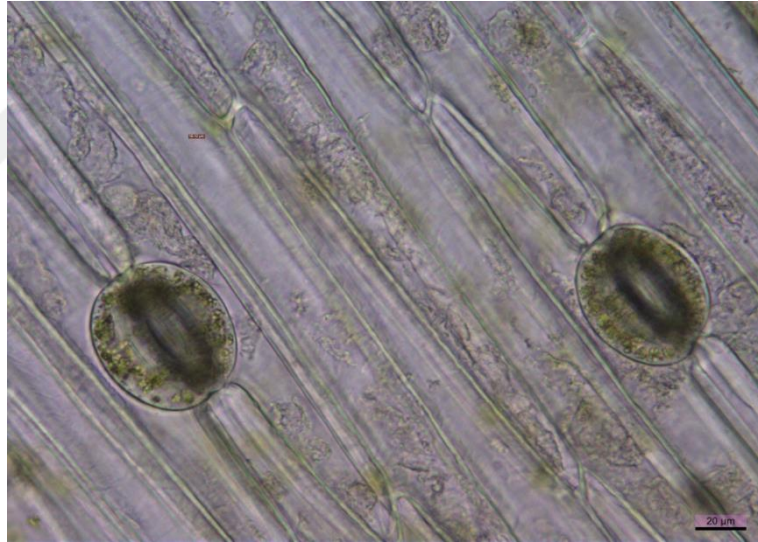
c. *L. aestivum* üst yaprak yüzeyi 200x



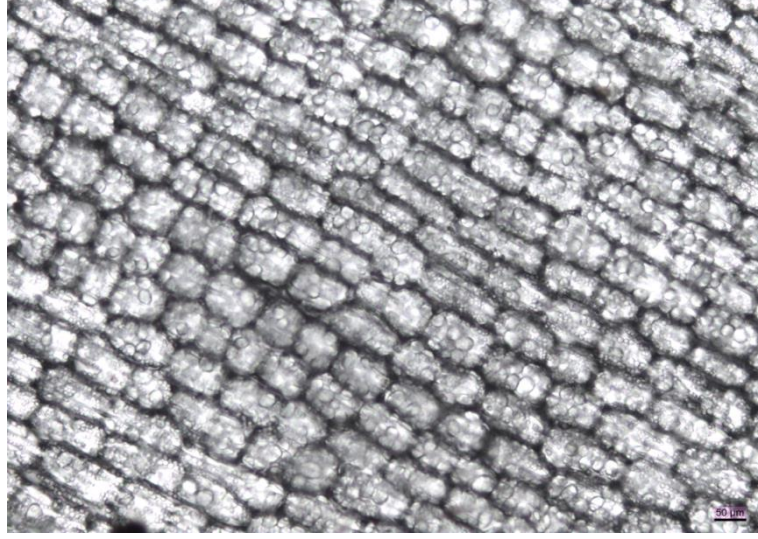
d. *L. aestivum* üst yaprak yüzeyi 400x



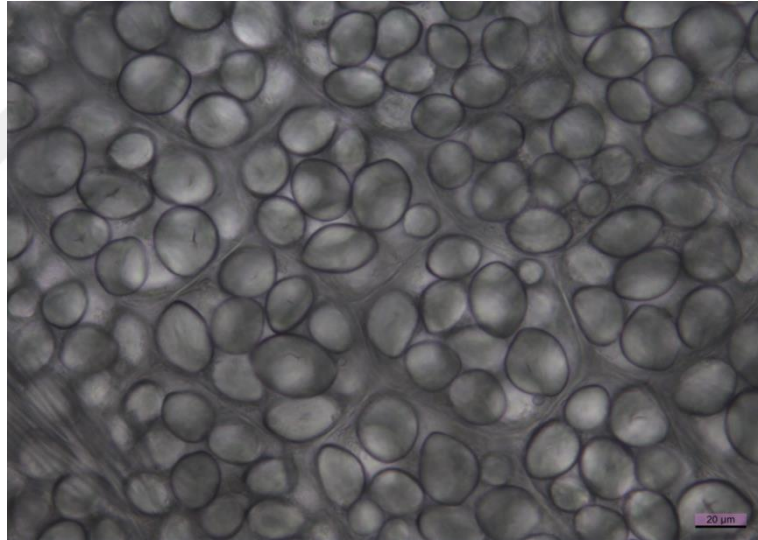
e. *L. aestivum* alt yaprak yüzeyi 200x



f. *L. aestivum* alt yaprak yüzeyi 400x



g. *L. aestivum* soğan zarı 100x



h. *L. aestivum* soğan zarı 400x

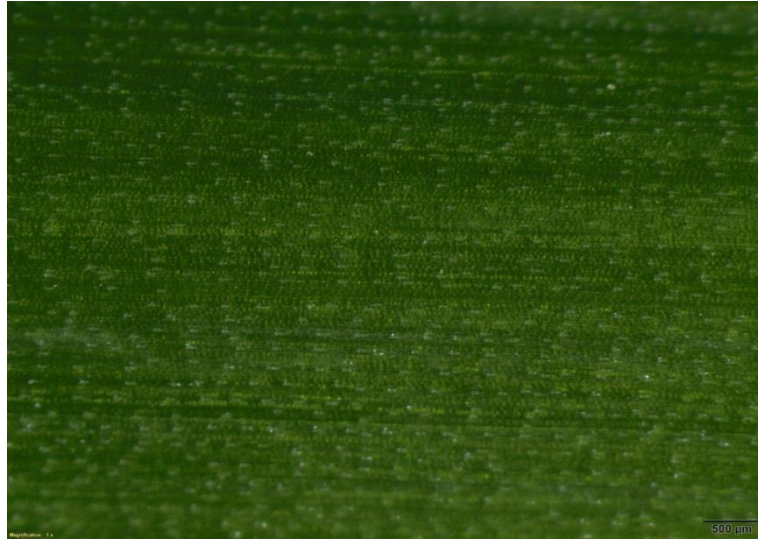
Şekil 4.16. *Leucojum aestivum*'un yaprak enine kesiti ve yüzey kesitleri (a-f) ve soğanın enine kesiti (g, h) ışık mikroskobu mikrografları; a. Yaprığın genel şekli (c: lisigen boşluğu, le: alt epidermis, p: parankima hücreleri, ue: üst epidermis, vb: vasküler demet). b. Mesophyll dokusu (cr: raphid kristalleri (oklar), cl: kloroplastlar). c-d: Yaprığın stoma ile adaksiyel yüzeyi. e-f: Yaprığın stoma ile abaxial yüzeyi. g-h: Çok sayıda bileşik nişasta taneleri olan parankimi hücreleri.

4.10. Morfolojik İncelemede:

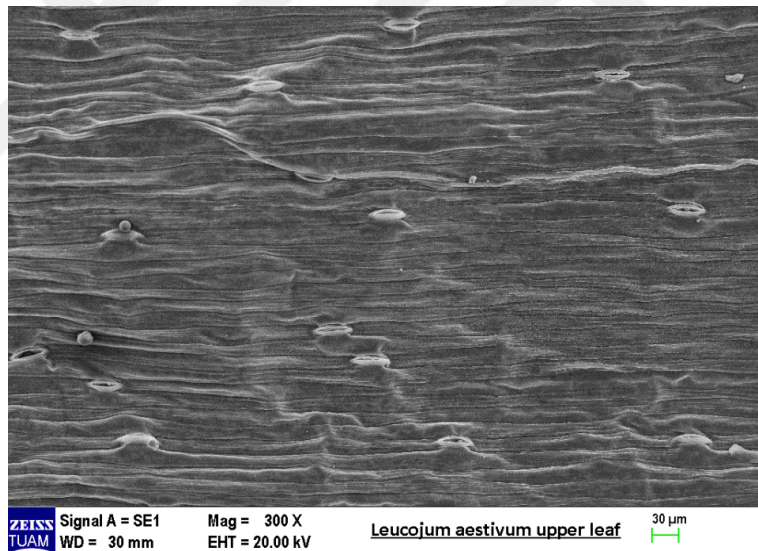
Yaprak yüzeyinde trichomes gözlenmedi. Yaprak epidermal hücrelerinde belirgin sınırlamalar vardı ve periklinal duvarlardaki zarları çizgili idi. Epidermal hücreler hafifçe antiklinal duvarlara sahiptir ancak bazı epidermal hücrelerin antiklinal duvarları neredeyse düzdür. Abaxial ve adaxial yüzeylerde stomalar mevcuttu. Esas olarak açılmış ve yaprağın her iki yüzeyinin üzerinde de hafifçe yükselmişlerdir (Şekil 4.17 a-f).



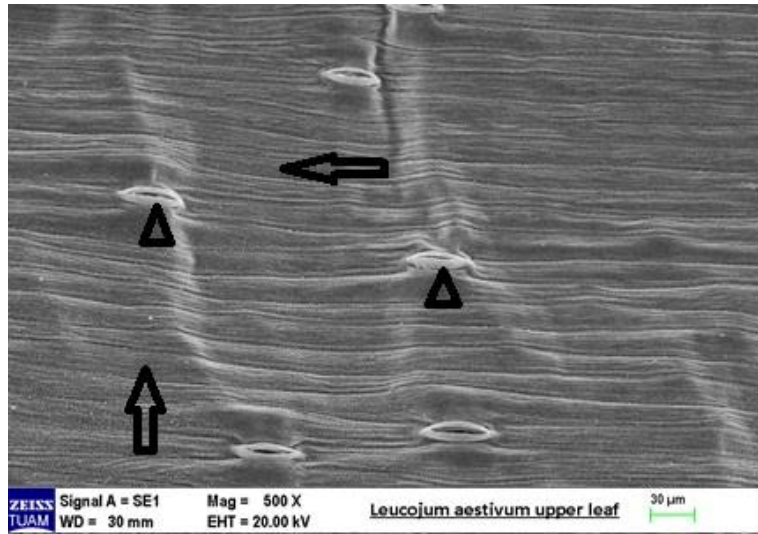
a. *L. aestivum* yaprak



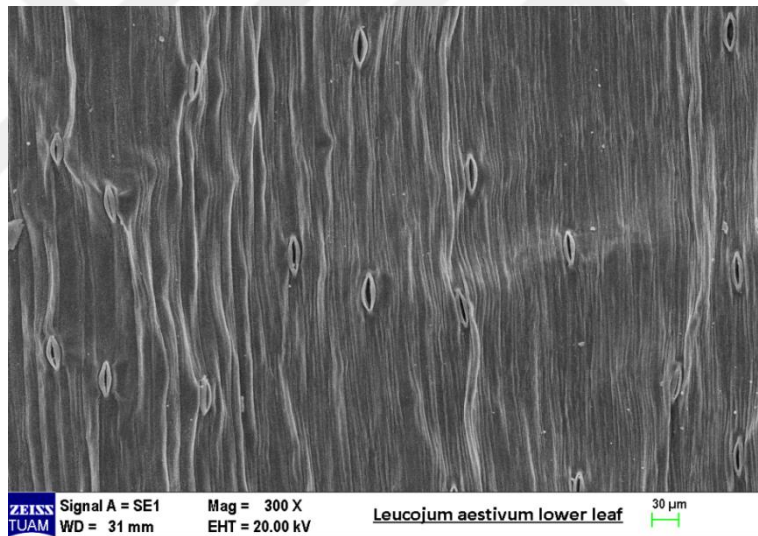
b. *L. aestivum* yaprak



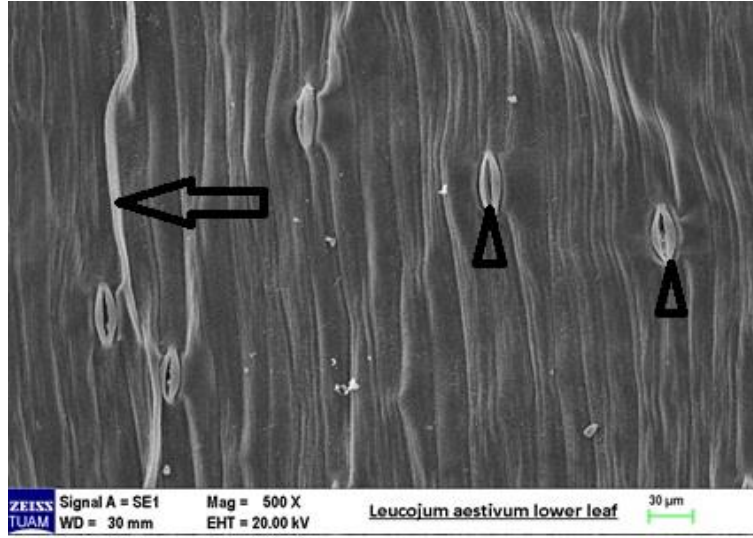
c. *L. aestivum* yaprak 300x



d. *L. aestivum* yaprak 500x



e. *L. aestivum* yaprak 300x



f. *L. aestivum* yaprak 500x

Şekil 4.17. *L. aestivum* yaprağının stereomikroskopi (a-b) ve SEM mikrografları; a, c-d. Adaksiyel epidermis. b, e-f. Abaxial epidermis. Çizgiler oklarla, stomalar ok başlarıyla gösterilmiştir.)

5. SONUÇ

Önceki fitokimyasal çalışmalar *leucojum aestivum*'un alkaloid yapı çeşitliliğini bildirmiş ve az sayıda biyoaktivite çalışması yapılmıştır. Bu çalışmanın ilk aşamasında, galantamin içeriği analizleri yapılmıştır. Son yıllarda, sıklıkla kullanılan bir teknik olan HPLC yöntemi ile galantaminin kantitatif analizi yapılmıştır. Sonuç olarak elde edilen tüm veriler ışığında, bu galantamin analizi için hızlı, duyarlı, kesin, kolay, doğru ve herhangi bir ön ayırma işlemine gerek duyulmayan bir analiz yönteminin başarılı bir şekilde uygulanabildiği istatistiksel olarak gösterilmiştir. Çalışma sonuçları, Türkiye'de yetişen *leucojum aestivum* bitkisinin soğanlarının ana galantamin kaynağı olduğunu göstermiştir. Yapraklarda az miktarda galantamin içermektedir.

Bitkiler, çoğu biyolojik olarak aktif olduğu bilinen önemli sayıda fitokimyasal bileşen içerir ve çeşitli farmakolojik aktiviteler için kullanılmıştır.

İkincil bitki metabolitlerinin bazıları, güvenlik kaygıları nedeniyle sentetik olanlara karşı doğal antioksidan kaynakları olarak tercih edilmektedir. Biyoaktif sekonder metabolitlerin riski azalttığı ve çeşitli biyolojik mekanizmalar yoluyla serbest radikalleri temizleyerek kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar, vs. gibi hastalıkların ilerlemesini yavaşlattığı bildirilmiştir [151].

Toplam Fenolik Madde Analizinde: Toplam fenolik içerik *L. aestivum*'un soğanlarında en düşük oranda $3,947 \pm 0,023$ mg GAE / g KB ve *L. aestivum*'un yapraklarında en yüksek oranda $12,937 \pm 0,057$ mg GAE / g KB belirlendi.

Toplam Flavonoid Madde Analizinde: Toplam flavonoid içerik, yaprak ekstraktlarında $10,620 \pm 1,670$ mg CAE / g KB ve soğan ekstraktlarında ise $0,820 \pm 0,624$ mg CAE / g KB olarak belirlenmiştir.

Antioksidan Kapasite Analizlerinde: Bu çalışmada *L. aestivum*'un yaprakları DPPH radikalini en yüksek temizleme kapasitesine, soğanları DPPH radikalini en düşük temizleme kapasitesine sahipti. Bulgularımız *L. aestivum*'un yapraklarının önemli antioksidan kaynağı olduğunu göstermiştir. *L. aestivum* yaprakları DPPH radikalini en yüksek oranda % 89,70 inhibe etti, ancak soğanları en düşük oranda % 11,11 inhibe etti. Yaprak ve soğan ekstraktlarının DPPH giderme aktivitesi sırasıyla $3,736 \pm 0,047$ ve $0,590 \pm 0,123$ mg AA/g KB olarak belirlenmiştir.

L. aestivum yaprakları ABTS⁺ radikalini en yüksek oranda % 70,90 soğanları ise en düşük oranda % 30,64 inhibe etti. *L. aestivum*'un yaprak ve soğan ekstraktı örneklerinin ABTS⁺ radikalini giderme $5,190 \pm 0,130$ mg GAE / g KB ve $2,013 \pm 0,235$ mg GAE / g KB olarak belirlenmiştir. ABTS⁺ radikal süpürme aktivitesi için, inhibisyon değerleri (radikal seviyelerin azaltılması) \geq % 60 olduğunda, antioksidan kapasitenin yüksek olduğu düşünülmektedir.

DPPH sonuçlarında olduğu gibi, *L. aestivum*'un yaprak ekstraktları, soğan ekstraktlarından daha fazla antioksidan aktiviteye sahipti, bu da onları önemli antioksidan bileşik kaynakları haline getirdi.

İndirheme Kapasitesinin Belirlenmesi Çalışmalarında: *L. aestivum*'un yaprak ekstraktlarının konsantrasyonları arttıkça, absorbans değeri arttı. Absorbans değerindeki artış yaprak ekstraktlarında en yüksek oranda gözlenirken, soğan ekstraktları yaprak ekstraktlarından biraz daha düşüktü. Soğan ekstraktlarında absorbans değeri zaten düşüktü. Sonuçlara göre, *L. aestivum*'un yaprak ekstraktları, artan absorbansa bağlı olarak soğan ekstraktlarına kıyasla en yüksek indirgeme kapasitesine sahipti.

Polifenolik Bileşikler: Ekstrelerdeki polifenolik bileşikleri belirlemek için metanolik ekstre kullanılmıştır. Yaprak ekstraktlarında naringenin belirlenmişken, soğanlarda genticic asit belirlendi.

Antibakteriyel Özellikler: *L. aestivum* yapraklarının ve soğanlarının antimikrobiyal aktiviteleri, beş patojenik bakteri suşuna (gram pozitif: *Bacillus subtilis* ve

Staphylococcus aureus; gram negatif: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*) karşı incelenmiştir. Sonuçlar *L. aestivum* yaprak ve soğan ekstraktlarının seçilen bakteri suşları üzerinde hiçbir aktivitesinin olmadığını göstermiştir.

Bugün, gelecek için sentetik antioksidanların yerini alacak doğal antioksidan arayışı hızla devam ediyor. Bu tip çalışmalarla yüksek antioksidan aktiviteye sahip bitki özlerinin belirlendiği, gıda sistemlerindeki antioksidan etkilerinin araştırıldığı ve sınav uygulamaya yönelik çalışmaların sürekliliği göz önünde bulundurulur.

Antifungal Özellikler: Antibakteriyel aktivitelere ek olarak, ekstraktlar sekiz mantar suşuna (1. *Mucor plumbeus*, 2. *Trichoderma longibrachiatum*, 3. *Fusarium solani*, 4. *Penicillium glabrum*, 5. *Alternaria citri*, 6. *Cladosporium cladosporioides*, 7. *Trichoderma atrovirid*, 8. *Penicillium janthinellum*) karşı antifungal aktivitelere maruz bırakıldı.

L. aestivum yaprağı ekstraktının antifungal etkinliği, sekiz mantara karşı test edildi ve *Alternaria citri*'ye karşı en fazla etkiyi gösterdi. Ayrıca, *Fusarium solani*, *Penicillium glabrum* ve *Cladosporium cladosporioides*'e karşı çok az etkisi oldu.

L. aestivum soğan ekstraktları, *Penicillium glabrum* ve *Alternaria citri*'ye karşı bir etki göstermiştir. Diğer mantarlar üzerinde etkisi yoktur.

Bu çalışma da, *leucojum aestivum*'un anatomisi ve mikromorfolojisi hakkında önemli bulgular elde edilmiştir. Metcalfe ve Chalk [152], Amaryllidaceae familyasının genel anatomik özelliklerini bildirmiştir. Yaprak bileşenleri hakkındaki bulgularımız genellikle önceki çalışmalarla tutarlıdır [153]. Bu çalışmada, ilk kez yaprağın mezofilinde kalsiyum oksalatın raphid kristallerinin varlığını bildiriyoruz. Çoğu türde, stomalar her iki yaprak yüzeyinde bulunur, bazılarında ise abaxial veya adaxial yüzeyle sınırlıdır [154]. Gözlemlerimiz *L. aestivum* yapraklarının her iki yüzeyinde stomaların bulunduğunu göstermiştir. Monokotiledonlarda, yaprağın eksenine paraleldirler [155]. Stomatal eksenlerin yaprağın uzun eksenine paralel yönlendiğini gözlemledik. Önceki

çalışmanın sonucu gibi [153], mezofilin vasküler demetler tarafından ayrılmış büyük boşluklarla kesildiğini belirledik.



KAYNAKLAR:

1. Çiçek, E., Çetin, B., Özbyram, A.K. And Türkyılmaz, H., 2013, "Kurutma, Çimlendirme Sıcaklığı ve Saklamanın Göl Soğanı (*leucojum aestivum* L.) Tohumlarının Çimlenmesine Etkisi", *Journal of Forestry Faculty*, 14(2): 245-252.
2. Engin, T. And Oğuz, M., 2012, "Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sektör Raporu", T.C. *Batı Akdeniz Kalkınma Ajansı (BAKA)*.
3. Çakal, M.A., 2013, "Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sektörü", *T.C. Kuzeydoğu Anadolu Kalkınma Ajansı*.
4. Acibuca, V. And Bostan budak, D., 2018, "Dünya’da ve Türkiye’de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yeri ve Önemi", *Çukurova J. Agric. Food Sci.*, 33(1): 37-44.
5. Faydaoğlu, E. And Sürücüoğlu, M.S., 2011, "Geçmisten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi", *Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1): 52 - 67.
6. Chase, M.W., 2009, "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III", *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161: 105 –121.
7. Baytop, T., 1984, "Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi", İstanbul Üniversitesi, Yayın No:3637, *Eczacılık Fakültesi* No:40, İstanbul.
8. Georgieva, L., Berkov, S., Kondakova, V., Bastida.J., Viladomat, F., Atanassov, A. And Codina, C., 2007, "Alkaloid Variability in *Leucojum aestivum* from Wild Populations", *Z. Naturforsch*, 62c, 627 - 635.
9. Craig, W., Lindsley, C.W., 2012, "Alzheimer’s Disease: Development of Disease-Modifying Treatments Is the Challenge for Our Generation", *Chem. Neurosci.* , 3: 804 – 805.

10. Tanker, N., Koyuncu, M. And Coşkun, M., 2007, "Farmasötik Botanik 3rd ed", *Eczacılık Fakültesi Yayınları No:93*, Ankara, 153 – 155.
11. C. D. Darlington, E. K. J. Ammal, 1945, "Chromosome Atlas of Cultivated Plants", *London, G. Allen & Unwin ltd*, 305-307.
12. Parolo, G., Abeli, T., Rossi, G., Dowgiallo, G. And Matthies, D., 2011, "Biological flora of Central Europe: *leucojum aestivum* L.", *Elsevier GmbH*,13: 319–330.
13. Ekici, N. And Dane, F., 2012, "Microsporogenesis, Pollen Mitosis and In Vitro Pollen Tube Growth in *Leucojum aestivum* (Amaryllidaceae)", *In Tech*, ISBN: 978-953-51-0355-4.
14. Ivanov, I., Georgiev, V., Berkov, S. And Pavlov, A., 2012, "Alkaloid patterns in *leucojum aestivum* shoot culture cultivated at temporary immersion conditions", *Journal of Plant Physiology*,169, 206– 211.
15. Çırak, C., Ayan, A.K., Kurtar, E.S., Kevseroğlu, K. And Çamaş, N., 2004, "The effects of different N doses and harvesting times on bulb yield and some plant characters of summer snowflake (*leucojum aestivum* L.)", *Asian Journal of plant Sciences*, 3 (2): 193 - 195.
16. Seyidoğlu, N., 2009, "*Leucojum aestivum* L'nin Parçacık Tekniği İle Üretimi", *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 11(16): 7-11.
17. İnternet : Wikipedia the free encyclopedia, 2019, " *Leucojum aestivum*"
https://en.wikipedia.org/wiki/Leucojum_aestivum.
18. Lattanzio, V., 2013, "Phenolic Compounds: Introduction", *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, DOI 10.1007/978-3-642-22144-6_57.
19. Yıldız, H. And Baysal, T., "Bİtkisel Fenoliklerin Kullanım Olanakları ve İnsan SAĞLIĞI Üzerine Etkileri", *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 29 - 35.

20. Minatel, I.O., Borges, C.V., Ferreira, M.I., Gomez Gomez, H.A., Oliver, CH. And Pereira Lima, G.P., 2017, "Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability", *Intech*, <http://dx.doi.org/10.5772/66368>.
21. Ho, CH., 1992, "Phenolic Compounds in Food An Overview", Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health 1st ed, *American Chemical Society*, Washington DC, 2 - 7.
22. Pereira, D.M., Valentão, P., Pereira, J.A. And Andrade, P.B., 2009, "Phenolics: From Chemistry to Biology", *Molecules*, 14: 2202-2211.
23. Kutz, M., 2012, "Handbook of Environmental Degradation of Materials", *Elsevier Inc.*, UK.
24. Ozcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L. And Delikanli, B., 2014, "Phenolics in Human Health", *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(5).
25. Dhiraj Kamath, S., Arunkumar, D., Avinash, N.G. And Samshuddin, S., 2015, "Determination of total phenolic content and total antioxidant activity in locally consumed food stuffs in Moodbidri, Karnataka, India", *Pelagia Research Library*, 6(6):99-102.
26. Fernandes, F.H.A. And Salgado, H.R.N., 2016, "Gallic Acid: Review of the Methods of Determination and Quantification", *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46:3, 257-265.
27. Karamac, M., Kosińska, A. And Pegg, R.B., 2016, "Content of Gallic Acid in Selected Plant Extracts", *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 15/56(1): 55–58.
28. Nayeem, N., SMB, A., Salem, H. And AHEI-Alfgy, S., 2016, "Gallic Acid: A Promising Lead Molecule for Drug Development", *Journal of Applied Pharmacy*, 8: 213.

29. Boz, H., 2015, "Ferulic Acid in Cereals – a Review", *Czech J. Food Sci.*, 33 (1): 1–7.
30. De Paiva, L.B., Goldbeck, R., Dos Santos, W.D. And Squina, F.M., 2013, "Ferulic acid and derivatives: molecules with potential application in the pharmaceutical field", *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(3): 395 - 411.
31. Batista, R., 2014, "Uses and potential applications of ferulic acid", Ferulic acid: antioxidant properties, uses and potential health benefits 1sted, *Nova Science Publishers, Inc.*, New York, USA, pp 39–70.
32. Kumar, N. And Pruthi, V., 2014, "Potential applications of ferulic acid from natural sources", *Elsevier*, 4: 86–93.
33. Hossan, M.S., Rahman, SH., Anwarul Bashar, A.B.M., Jahan, R., Al-Nahain, A. And Rahmatullah, M., 2014, "Rosmarinic Acid: A review of Its Anticancer Action", *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3 (9): 57-70.
34. Park, S.U., Uddin, M.R., Xu, H., Kim, Y.K. And Lee, S.Y., 2008, "Biotechnological applications for rosmarinic acid production in plant", *African Journal of Biotechnology*, 7 (25): 4959-4965.
35. Pei, K., Ou, J., Huang, J. And Ou, SH., 2016, "p-Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities", *J. Sci. Food Agric.*, 96: 2952–2962.
36. Krishna A., N.V., MD, N., Saradhi M., P., Mahendran, B. And Bharathi, s., 2014, "Cumulative activity of the p-coumaric acid and syringaldehyde for antimicrobial activity of different microbial strains", *European Journal of Experimental Biology*, 4(6):40-43.
37. Lou, Z., Wang, H., Rao, SH., Sun, J., Ma, CH. And Li, J., 2012, "p-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms", *Elsevier*, 25: 550 - 554.

38. Ilavenil, S., Kim, D.H., Sriganpalram, S., Arasu, M.V., Lee, K.D., Lee, J.C.H., Lee, J.S., Renganathan, S. And Choi, K.C.H., 2016, "Potential Application of p-Coumaric Acid on Differentiation of C2C12 Skeletal Muscle and 3T3-L1 Preadipocytes—An in Vitro and in Silico Approach", *molecules*, 21, 997: 1 - 14.
39. Ahmed Khan, F., Maalik, A. And Murtaza, G.H., 2016, "Inhibitory mechanism against oxidative stress of caffeic acid", *journal of food and drug analysis*, 24: 695 - 702.
40. Silva, T., Oliveira, C. And Borges, F., 2014, "Caffeic acid derivatives, analogs and applications: a patent review (2009 -- 2013)", *Expert Opin. Ther. Patents*, 24(11): 1 - 14.
41. Sidoryk, K., Jaromin, A., Filipczak, N., Cmoch, P. And Cybulski, M., 2018, "Synthesis and Antioxidant Activity of Caffeic Acid Derivatives", *Molecules*, 23, 2199: 1 - 12.
42. Semaming, Y., Pannengetch, P., Chattipakorn, S.C. And Chattipakorn, N., 2015, "Pharmacological Properties of Protocatechuic Acid and Its Potential Roles as Complementary Medicine", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, ID 593902: 1 - 11.
43. Kakkar, S. And Bais, S., 2014, "A Review on Protocatechuic Acid and Its Pharmacological Potential", *ISRN Pharmacology*, ID 952943: 1 - 9.
44. Niciforovic, N. And Abramovic, H., 2014, "Sinapic Acid and Its Derivatives: Natural Sources and Bioactivity", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13: 34 – 51.
45. Hameed, H., Aydın, S. And Başaran, N., 2016, "Sinapic Acid: Is It Safe for Humans?", *FABAD J. Pharm. Sci.*, 41: 39-49.

46. Chen, CH., 2016, "Sinapic Acid and Its Derivatives as Medicine in Oxidative Stress-Induced Diseases and Aging", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, ID 3571614: 1 - 10.
47. Rekha, K.R., Selvakumar, G.P. And Sivakamasundari, R.I., 2014, "Effects of syringic acid on chronic MPTP/probenecid induced motor dysfunction, dopaminergic markers expression and neuroinflammation in C57BL/6 mice", *Biomedicine & Aging Pathology*, 4: 95 –104.
48. Cikman, O., Soylemez, O., Ozkan, O.F., Kiraz, H.A., Sayar, I., Ademoglu, S., Taysi, S. And Karaayvaz, M., 2015, "Antioxidant Activity of Syringic Acid Prevents Oxidative Stress in L-arginine–Induced Acute Pancreatitis: An Experimental Study on Rats", *Int Surg*, 100: 891–896.
49. Thipparaboina, R., Mittapalli, S., Thatikonda, S., Nangia, A., Naidu, V.G.M. And Shastri, N.R., 2016, "Syringic Acid: Structural Elucidation and Co-Crystallization", *American Chemical Society*, 10: 1021.
50. Delaquis, P., Stanich, K. And Toivonen, P., 2005, "Effect of pH on the Inhibition of *Listeria* spp. by Vanillin and Vanillic Acid", *Journal of Food Protection*, 68 (7): 1472–1476.
51. Gitzinger, M., Kemmer, CH., Fluri, D.A., El-Baba, M.D., Weber, W. And Fussenegger, M., 2011, "The food additive vanillic acid controls transgene expression in mammalian cells and mice", *Nucleic Acids Research*, 40 (5): e37.
52. Kim, S.J., Kim, M.CH., Um, J.Y. And Hong, S.H., 2010, "The Beneficial Effect of Vanillic Acid on Ulcerative Colitis", *Molecules*, 15: 7208-7217.
53. Yemiş, G.P., Pagotto, F., Bach, S. And Delaquis, P., 2011, "Effect of Vanillin, Ethyl Vanillin, and Vanillic Acid on the Growth and Heat Resistance of *Cronobacter* Species", *Journal of Food Protection*, 74 (12): 2062–2069.

54. Kozłowska, A. And Węgierek, D.S., 2014, "Flavonoids - Food Sources and Health Benefits", *Rocz Panstw Zakl Hig*, 65(2): 79 - 85.
55. Rudrapal, M. And Chetia, D., 2017, "Plant Flavonoids as Potential Source of Future Antimalarial leads", *Sys Rev Pharm.*, 8(1): 13 - 18.
56. Shirazi, O.U., Khattak, M.M.A.K., Shukri, N.A.M. And Nasyriq. A., M.N., 2014, "Determination of total phenolic, flavonoid content and free radical scavenging activities of common herbs and spices", *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(3): 104 - 108.
57. Shehzad, A., Anwar, M.N., Zahid, H., Ravinayagam, V., Al- Rumaih, H.S., Al-Khulaifi, F., Al-Boiajan, H. And Al-Suhaimi, E.A., 2016, "Multifactorial role of flavonoids in prevention and treatment of various cancers", *An Real Acad Farm.*, 82(3): 297 - 302.
58. Shoaib,T., Shafique, M., Dhanya, N. And Divakar, M.C., 2011, "Importance of flavonoids in Therapeutics", *Hygeia.J.D.Med.*, 3(1): 1 - 18.
59. Sharma, A. And Gupta, H., 2010, "Quercetin- A flavanoid", *Chronicles of Young Scientists*, 1(1): 1 - 6.
60. Baghel, S.S., Shrivastava, N., Baghel, R.S., Agrawal, P. And Rajput, S., 2012, "A review of Quercetin: antioxidant and Anticancer Properties", *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1(1): 146 - 160.
61. Salehi, B., Fokou, P.V.T., Sharifi-Rad, M., Zucca, P., Pezzani, R., Martins, N. And Sharifi-Rad, J., 2019, "The Therapeutic Potential of Naringenin: A Review of Clinical Trials", *Pharmaceuticals*, 12(11): 1 - 18.
62. Vishnu Varthan, V.J., Srividya, A.R. And Sathish Kumar, M.N., 2013, "Role of Naringin and Naringenin in Various Diseased Conditions - A Review", *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars*, 2(1-4): 198 - 212.

63. Miguel, M.G., 2011, "Anthocyanins: Antioxidant and/or anti inflammatory activities", *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(6): 7 – 15.
64. Ghosh, D., 2005, "Anthocyanins and Anthocyanin-rich Extracts in Biology and Medicine: Biochemical, Cellular, and Medicinal Properties", *Current Topics in Nutraceutical Research*, 3(2): 113 - 124.
65. Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F. And Brouillard, R., 2003, "Analysis and biological activities of anthocyanins", *Phytochemistry*, 64: 923 – 933.
66. Monica, SH., 2016, "Antioxidant and Its Applications", *Journal of Pharmacology and Toxicological Studies*, 4(4): 28 - 37.
67. Butnariu, M. And Grozea, I., 2012, "Antioxidant (Antiradical) Compounds", *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*, 4(6): xvii - xix.
68. Garg, D., Shaikh, A., Muley, A. And Marar, TH., 2012, "*In-vitro* antioxidant activity and phytochemical analysis in extracts of Hibiscus rosa- sinensis stem and leaves", *Free Radicals and Antioxidants*, 2(3): 41 - 46.
69. Rezaeian, SH., Pourianfar, H.R. And Janpoor, J., 2015, "Antioxidant properties of several medicinal plants growing wild in northeastern Iran", *Asian Journal of Plant Science and Research*, 5(2): 63 - 68.
70. Nimse, S.B. And Pal, D., 2015, "Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms", *The Royal Society of Chemistry*, 5: 27986 – 28006.
71. Shebis, Y., Iluz, D., Kinel-Tahan, Y., Dubinsky, Z. And Yehoshua, Y., 2013, "Natural Antioxidants: Function and Sources", *Food and Nutrition Sciences*, 4: 643 - 649.
72. Hue, S-M., Boyce, A.N. And Somasundram, CH., 2012, "Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents in the leaves of different varieties of sweet potato (*Ipomoea batatas*)", *Australian Journal of Crop Science*, 6(3): 375 - 380.

73. Prior, R.L., Wu, X. And Schaich, K., 2005, "Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements", *J. Agric. Food Chem.*, 53: 4290 - 4302.
74. Al bayrak, S., Sağdıç, O. And Aksoy, A., 2010, "Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler", *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(4): 401 - 409.
75. Karabulut, H. And Gülay, M.Ş., 2016, "Antioksidanlar", *MAE Vet Fak Derg.*, 1(1): 65-76.
76. Kasnak, C. And Palamutoğlu, R., 2015, "Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması ve İnsan Sağlığına Etkileri", *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(5): 226 - 234.
77. Traber, M.G. And Atkinson, J., 2007, "Vitamin E, Antioxidant and Nothing More", *Free Radic Biol Med.*, 43(1): 4 – 15.
78. Altner, A., Atalay, H. And Bilal, T., 2017, "BİR ANTIOKSİDAN OLARAK E VİTAMİNİ: vitamin e as an antioxidant", *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6(3): 149 - 157.
79. Di Mambro, V.M., Azzolini, A.E.C.S., Valim, Y.M.L. And Fonseca, M.J.V., 2003, "Comparison of antioxidant activities of tocopherols alone and in pharmaceutical formulations", *International Journal of Pharmaceutics*, 262: 93 – 99.
80. Barrita, J.S. And Sánchez, M.D.S., 2013, "Antioxidant Role of Ascorbic Acid and His Protective Effects on Chronic Diseases", *InTech*, 18: 449 - 484.
81. Pehlivan, F.E., 2017, "Vitamin C: An Antioxidant Agent", *InTech*, 2: 23 - 35.
82. Yılmaz, İ., 2010, "Karotenoidler", *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17(3): 223 - 231.

83. Ötleş, S. And Atlı, Y., 1997, "Karotenoidlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi", *Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 3(1): 249 - 255.
84. Ayaşan, T. And Karakozak, E., 2010, "Hayvan Beslemede β -Karoten Kullanılması ve Etkileri", *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, 16(4): 697 - 705.
85. Öztürk, Ç., Gözükara, M. And Uyasal, A., 1997, "Kronik Lösemilerde Eritrosit İçi Süperoksit Dizmutaz Aktiviteleri", *Journal of Turgut Özal Medical Center*, 4(1): 33 - 36.
86. Marklund, S.L., 1984, "Properties of extracellular superoxide dismutase from human lung", *Biochem. J.*, 220: 269-272.
87. Koca, N. And Karadeniz, F., "Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri", *Gıda Mühendisliği Dergisi, Ankara Üniversitesi*, 32 - 37.
88. Nancy, J., Brown-Peterson., Salin, M. L., 1995, "Purification and Characterization of a Mesohalic Catalase from the Halophilic Bacterium *Halobacterium halobium*", *Journal of Bacteriology*, 177(2): 378–384.
89. Chaudière, J. and Ferrari-Iliou, R., 1999, "Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms", *Food Chem. Toxicol.*, 37(9-10): 949-962.
90. Gonçalves, V. M., Cezar de Cerqueira Leite, L. and Cabrera-Crespo, I. R. J., 1999, "Purification of catalase from human placenta" *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 29: 73–77.
91. Seriner, R. And Bilgin, R., 2012, "Katalaz Enziminin Hıyardan (*Cucumis Sativus*) Saflaştırılması", *Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 28(4): 85 - 94.
92. Hemmadi, V., 2016, "Estimation of Glutathione Peroxidase", *ResearchGate*, 1 - 7.

93. Camera, E., Picardo, M., 2002, "Analytical methods to investigate glutathione and related compounds in biological and pathological processes", *Journal of Chr. B.*, 781: 181-206.
94. Mates, J.M., perez-gomez, C., de Castro, I.N., 1999, "Antioxidant enzymes and human disease", *Clin Biochem.*, 32: 595-603.
95. Tozkoparan, B., Aytaç, S.P., 2007, "Kanser Kemoterapisinde Terapötik Hedef Olarak Glutatyon S-Transferazlar", *Hacettepe Üniv Eczacılık Fak Dergisi*, 27, 139-164.
96. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., 2005, "Vitaminler", Aslan D. Eds. Klinik Kimyada Temel İlkeler, *Palme Yayınları*, Ankara.
97. Roche, M., Rondeau, P., Singh, N.R., Tarnus, E. And Bourdon, E., 2008, "The antioxidant properties of serum albumin", *FEBS Letters*, 582: 1783–1787.
98. Cupp, J., Wanda, P., Keith, A. And Snipes, W., 1975, "Inactivation of the Lipid-Containing Bacteriophage PM2 by Butylated Hydroxytoluene", *American Society for Microbiology*, 8(6): 698 - 706.
99. Yuan, M., 2010, "Analysis of Butylated Hydroxytoluene in Food with Headspace Trap-GC/MS", *PerkinElmer*, 1 - 4.
100. Baluja, SH., Bhesaniya, K., Bhalodia, R. And Chanda, S., 2014, "Solubility of butylated hydroxytoluene (BHT) in aqueous and alcohol solutions from 293.15 to 313.15 K", *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, 28: 48 - 58.
101. WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1986, "IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF THE CARCINOGENIC RISK OF CHEMICALS TO HUMANS", *INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER*, UK, 40: 5 - 419.

102. Labrador, V., Freire, P.F., Martín, J.M.P. And Hazen, M.J., 2007, "Cytotoxicity of butylated hydroxyanisole in Vero cells", *Cell Biol Toxicol.*, 23: 189 – 199.
103. McMahon, J., Zaworotko, M.J. And Remenar, J.F., 2004, "Polymorphism in butylated hydroxy anisole (BHA)", *Chem Commun.*, 278 – 279.
104. Kakhia, T.I., "ALKALOIDS & ALKALOIDS PLANTS", *Adana University – Industry Joint Research Center*, Adana, 1 - 479.
105. Aniszewski, T., 2007, "ALKALOIDS – Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role^{1st} ed", *Elsevier*, UK, 1 - 335.
106. Bastida, J., Berkov, S., Torras, L., Pigni, N.B., Andrade, J.P.D., Martínez, V., Codina, C. And Viladomat, F., 2011, "Chemical and biological aspects of Amaryllidaceae alkaloids", *Pharmaceutical Sciences*, 65 - 100.
107. Sener, B., Koyuncu, M., Bingöl, F. And Muhtar, F., 1998, "Production of Bioactive Alkaloids from Turkish Geophytes", *Pure Appl. Chem.*, 70(11): 1 - 6.
108. Klosi, R., Mersinllari, M. And Gavani, E., 2016, "Galantamine content in *Leucojum aestivum* populations grown in northwest Albania", *Albanian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(1): 1 - 3.
109. Stoyanova, M., Georgieva, L., Petrov, N., Badjakov, I. And Bogatzevska, N., 2012, "Bacterial Bulb Decay of Summer Snowflake (*leucojum aestivum* L.)", *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.*, 26(6): 3338 - 3344.
110. Berkov, S., Georgieva, L., Kondakova, V., Atanassov, A., Viladomat, F., Bastida, J. And Codina, C., 2009, "Plant sources of galanthamine: phytochemical and biotechnological aspects", *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.*, 23(2): 1170 - 1176.

111. Bulduk, İ. And Gökce, S., 2018, "İlaç Formülasyonlarında Galantamin Tayini İçin Yeni Bir Spektrofotometrik Yöntemin Geliştirilmesi ve Validasyonu", *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 7(2): 67 - 74.
112. Yener, G.G. And Emek, D.D., 2012, "Birinci Basamakta Demans ve Alzheimer Hastalığına Yaklaşım", *Türkiye Klinikleri J Fam Med-Special Topics*, 3(6): 35 - 43.
113. Canbolat, E. And Yardımcı, H., 2016, "Alzheimer Hastalığı ve Koruyucu Besin Öğeleri", *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2): 139 - 145.
114. İplikçi, G. And Ayhan, N.Y., 2017, "Beslenme Alzheimerdan Koruyucu Bir Faktör Müdür?", *Ankara Sağlık Bilimleri Dergisi*, (1-2-3), 1 - 11.
115. Saka, E., 2010, "Alzheimer Hastalığı Patofizyolojisi: Deneysel ve Genetik Bulgular", *Turkish Journal of Geriatrics*, 3: 21 - 26.
116. Ergün, U., 2010, "Demansa Kognitif Semptomların Güncel Tedavisi", *Turkish Journal of Geriatrics*, 3: 53 - 60.
117. Murray, A.P., Faraoni, M.B., Castro, M.J., Alza, N.P. And Cavallaro, V., 2013, "Natural AChE Inhibitors from Plants and their Contribution to Alzheimer's Disease Therapy", *Current Neuropharmacology*, 11(4): 388 - 413.
118. Tsvetkova, D., Obreshkova, D., Ivanova, S. And Hadjieva, B., 2016, "BENEFITS OF Acetylcholinesterase Inhibitor Galantamine in Treatment of Alzheimer's Disease and Instrumental Methods for Its Analysis in Medicinal Plants", *Journal of Medical Pharmaceutical And Allied Sciences*, 099-116.
119. The galantamine extended-release capsules revision bulletin supersedes the currently official monograph. The Revision Bulletin will be incorporated in USP 40–NF 35; 2016.

120. Elzaawely, A.A. And Tawata, S., 2012, "Antioxidant activity of phenolic rich fraction obtained from convolvulus aruensis L. leaves grown in Egypt", *Asi Jour Cro Scie*, 4(1) : 32-40.
121. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, M.H. And Cern, J.C., 2002, "Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods", *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3): 178-182.
122. Villano, D., Fernandez-Pachon, M.S., Moya, M.L., Troncoso, A.M. And Garcia-Parrilla M.C., 2007, "Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical", *Talanta*, 230–235.
123. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. And Byrne D.H., 2006, "Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts", *Journal of Food Composition and Analysis*, 669–675.
124. Jayanthi, P. And Lalitha, P., 2011, "REDUCING POWER OF THE SOLVENT EXTRACTS OF EICHHORNIA CRASSIPES (MART.) SOLMS", *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, , Vol 3, Suppl 3.
125. Giusti, M. M., Rodriguez-Saona, L. E. And Wrolstad, R. E., 1999, "Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11): 4631–4637.
126. Wen, D., Li, CH., Di, H., Liao, Y. And Liu, H., 2005, "A Universal HPLC Method for the Determination of Phenolic Acids in Compound Herbal Medicines", *J. Agric. Food Chem.*, 53: 6624-6629.
127. Ghaedi, M., Nejad, M.Y. And Delshad, L., 2015, "Synergistic Effects of *Taxus baccata* Extract Mixtures with Silver Nanoparticles against Bacteria and Fungal", *Int. J. Bio-Inorg. Hybr. Nanomater.*, 4(1): 25 - 30.

128. Berber, İ., Avşar, C., Çine, N., Bozkurt, N. And Elmas, E., 2013, "Sinop'da Yetişen Bazı Bitkilerin Metanolik Ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal Aktivitelerinin Belirlenmesi", *Karaelmas Science and Engineering Journal*, 3(1): 10 - 16.
129. Johansen, D.A., 1940, "Plant microtechnique", *McGraw-Hill*, New York.
130. Algan, G., 1981, "Bitkisel Dokular İçin Mikroteknik", *Fırat Üni Fen Ed Fak Yay Bot No:1*. İstanbul.
131. Stearn, W.T., 2004, "Botanical Latin 4th ed", *Timber Press*, Portland Oregon.
132. Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. And van Beek, T.A., 2004, "Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts", *Food Chem.*, 85:231–237.
133. Daniels, C.W., Rautenbach, F., Mabusela, W.T., Valentine, A.J. And Marnewick, J.L., 2011, "Comparative antioxidant-capacity and content of leaves, bulbs, roots, flowers and fruit of *Gethyllis multifolia* L. Bolus and *G. villosa* Thunb. Species", *S Afr J Bot.*, 77:711–717.
134. Resetár, A., Freytag, C., Kalydi, F., Gonda, S., M-Hamvas, M., Ajtay, K., Papp, L. And Máthé, C., 2017, "Production and antioxidant capacity of tissue cultures from four Amaryllidaceae species", *Acta Soc Bot Pol.*, 86(1): 3525, 1 – 12.
135. Benedec, D., Oniga, I., Hanganu, D., Gheldiu, A.M., Puşcaş, C., Silaghi-Dumitrescu, R., Duma, M., Tiperciuc, B., Vârban, R. And Vlase, L., 2018, "Sources for developing new medicinal products: biochemical investigations on alcoholic extracts obtained from aerial parts of some Romanian Amaryllidaceae species", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18: 226.

136. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. And Saura-Calixto, F., 1998, ‘A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols’, *J Sci Food Agri.*, 79: 270 – 276.
137. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. And Saura-Calixto, F., 1999, ‘Free radical scavenging capacity and inhibition of wines, grape juices and related polyphenolic constituents’ *Food Res Int.*, 32: 407 – 412.
138. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. And Saura-Calixto, F., 1999, ‘Free radical scavenging capacity of selected red, rose and white wines’ *J Sci Food Agri.*, 79: 1301 – 1304.
139. Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T. And Jukic, M., 2006, ‘Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols’, *Food Chem.*, 94: 550 – 557.
140. Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Bouttasouna, D., Stocker, P. And Vidal, N., 2006, ‘Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds’, *Food Chem.*, 97: 654 – 660.
141. Rasineni, GH., Siddavattam, D. And Reddy, ARÇ, 2008, ‘Free radical quenching activity and polyphenols in three species of Coleus’, *J Med Plant Res.*, 2: 285 – 291.
142. Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. And Hadas, S.P., 1995, ‘Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves’, *J. Agric. Food Chem.*, 43: 1813 – 1819.
143. Oyaizu, M., 1986, ‘Studies on products of browning reaction—Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine’, *Jpn. J. Nutr.*, 44: 307 – 315.

144. Harborne J.B., 1998, 'Phenolic compounds in phytochemical methods – a guide to modern techniques of plant analysis 3th ed'', *Chapman & Hall, New York*, 66-74.
145. Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M.L., Páez- Hernández, M.E., Rodríguez J.A. And Galán-Vidal, C., 2009, 'Chemical studies of anthocyanins: a review'', *Food Chem.*, 113: 859 - 871.
146. Dröge, W., 2002, 'Free radicals in the physiological control of cell function'', *Physiol. Rev.*, 82: 47 - 95.
147. Ames, B.N., Shigenaga, M.K. And Hagen, T.M., 1993, 'Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging'', *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90: 7915 - 7922.
148. Jing, P., 2006, 'Purple corn anthocyanins: chemical structure, chemopreventive activity and structure/function relationships'' PhD thesis, *The Ohio State University U.S.A.*, p: 5 - 90.
149. Ločárek, M., Nováková, J., Klouček, P., Hošťálková, A., Kokoška, L., Gábrlová, L., Šafratová, M., Opletal, L. and Cahlíková, L., 2015, "Antifungal and Antibacterial Activity of Extracts and Alkaloids of Selected Amaryllidaceae Specie", *Natural Product Communications*, 10(9): 1537 - 1540.
150. Nair, J.J. And van Staden, J., 2017, "Antifungal Activity Based Studies of Amaryllidaceae Plant Extracts", *Natural Product Communications*, 12(12): 1953 - 1956.
151. Al-Owaisi, M., Al-Hadiwi, N. And Khan, SA., 2014, 'GC/MS analysis, determination of total phenolics, flavonoid content and free radical scavenging activities of various crude extracts of *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiorileaves'', *Asian Pac J Trop Med.*, 4(12): 964-970.
152. Metcalfe, C.R. And Chalk, L., 1950, 'Anatomy of the Dicotyledons'', *Clarendon Press: Oxford*, 1, 504-516.

153. Ščepánková, I. And Hudák, J., 2004, ‘Leaf and tepal anatomy, plastid ultrastructure and chlorophyll content in *Galantus nivalis* L. and *Leucojum aestivum* L.’, *Plant Syst Evol* 243: 211–219.
154. Rudall, P.J., 2007, "Anatomy of flowering plants an introduction to structure and development 2nd ed", 62-63.
155. Dahlgren, R.M.T., Clifford, H.T. And Yeo, P.F., 1985, "The families of the monocotyledons: structure, evolution, and taxonomy", *Springer Berlin Heidelberg*.



ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, adı : AL-FARIS, Hussein
Uyruğu : Irak
Doğum tarihi ve yeri : 01.01.1985 Musul
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (538) 845 81 25
e-mail : Husseinhdha@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Musul Üniversitesi/ biyoloji Bölümü	2007

Yabancı Dil

İngilizce, Türkçe