T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Silene subconica Friv. TÜRÜNÜN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE KİMYASAL İÇERİĞİ

AYGUL MAMMADLI

DANIŞMAN
DOÇ. DR. PELİN KÖSEOĞLU YILMAZ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
ANALİTİK KİMYA PROGRAMI

İSTANBUL-2024

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Aygul MAMMADLI

İTHAF

Teyzem Nushaba, Eniştem Nazif ’e ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez süreci boyunca benden her türlü yardımını esirgemeyen sayın ve değerli hocam Doç. Dr. Pelin KÖSEOĞLU YILMAZ'a sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmanın yapılmasında sağladığı imkân ve desteklerinden dolayı İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Sıdıka TOKER'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BEYAN ..... İİ
İTHAF ..... İİİ
TEŞEKKÜR ..... İV
İÇİNDEKİLER V
TABLOLAR LİSTESİ ..... Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ X
ÖZET ..... Xİİ
ABSTRACT ..... Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. CARYOPHYLLACEAE FAMİLYASI VE *Silene subconica* TÜRÜ İLE İLGİLİ BOTANİK BİLGİLER 3
2.1.1. CARYOPHYLLACEAE FAMİLYASI 3
2.1.2. *Silene subconica* TÜRÜ 3
2.3. *Silene* Türlerinin Halk Arasında Kullanımı 5
2.3.1. *Silene* Türlerinin Hastalıklara Karşı Kullanım Alanları 5
2.3.2. *Silene* Türlerinin Temizlik Maddesi Olarak Kullanım Alanları 6
2.3.3. *Silene* Türlerinin Yiyecek Olarak Kullanım Alanları 6
2.4. *Silene* Türlerinin İçerdiği Sekonder Metabolitler ve Biyolojik Aktiviteleri 6
2.5. Antioksidanlar 10
2.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması 11
2.5.2. Birincil ve İkincil Antioksidanların Mekanizmaları 13
2.5.3. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri 16
2.6. Fenolik Bileşikler 16
2.6.1. Fenolik Asitler 17
2.6.2. Flavonoidler 17
2.6.3. Stilbenler 17
2.6.4. Lignanlar 17
2.7. Antihipertansifler 17

2.8. Alzheimer Hastalığı....18
3. GEREÇ VE YÖNTEM....20
3.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer....20
3.2. Bitkisel Materyal ve Ekstrelerin Hazırlanması....20
3.3. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler....20
3.3.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler....20
3.3.2. Çözeltiler....21
3.3.2.1. Toplam Fenolik ve Flavonoit İçeriği Tayininde Kullanılan Çözeltiler....21
3.3.2.2. Antioksidan Aktivite Tayini Yöntemlerinde Kullanılan Çözeltiler....21
3.3.2.3. Ellman Yönteminde Kullanılan Çözeltiler....21
3.3.2.4. Antihipertansif Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler....22
3.3.2.5. Standart Çözeltiler....23
3.5. Cihazlar ve Diğer Gereçler....23
3.6. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit İçerik Tayini....24
3.6.1. Toplam Fenolik İçerik Tayini....24
3.6.2. Toplam Flavonoid İçerik Tayini....24
3.7. Antioksidan Aktivite Tayini Yöntemleri....25
3.7.1. DPPH Serbest Radikali Giderim Yöntemi....25
3.7.2. ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi....26
3.8. Ellman Yöntemi....27
3.8.1. Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu Aktivitesi Tayini....27
3.8.2. Butirilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu Aktivitesi Tayini....27
3.9. Antihipertansif aktivite tayini (Anjiyotensin I-dönüştürücü enzim inhibisyonunun ölçülmesi)....27
3.10. LC-MS/MS Analizleri....28
4. BULGULAR....29
4.1. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid İçeriklerinin Tayini....29
4.2. Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları....29
4.3. Enzim İnhibisyonu Aktiviteleri....30
4.3.1. Asetilkolinesteraz ve Butirilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu Aktivitesi Tayini Sonuçları....30
4.3.2. Antihipertansif Aktivite Tayini Sonuçları....30
4.4. LC-MS/MS Sonuçları....31

5. TARTIŞMA 35
KAYNAKLAR 37
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....43

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 4- 1: Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid İçerik Sonuçları¥ 29
Tablo 4- 2: Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları¥ 29
Tablo 4- 3: Enzim İnhibisyon Aktivitesi Sonuçları ¥ 30
Tablo 4- 4: LC-MS/MS Sonuçları ¥ 32

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2- 1: *Silene subconica* (Plants of the World Online, 2023) 4
Şekil 2- 2: Türkiye'de *S. subconica* türünün yetiştiği bölgeler (TUBIVES, 2024)..... 5
Şekil 2- 3: Bazı birincil antioksidanlar 11
Şekil 2- 4: Enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidanlar..... 13
Şekil 3- 1: DPPH Molekülünün Antioksidan Madde ile Reaksiyonu…….....……26
Şekil 3- 2: ABTS Katyon Radikali Oluşum Reaksiyonu..... 26

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AD: Aktif değil

ACh: Asetilkolin

AcI: Asetilkolin iyodür

AChE: Asetilkolinesteraz

ABTS: 2,2′-Azino-bis(3-etilbenztiazolin-6-sülfonik asit)

CUPRAC: Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi

BuI: Butirilkolin iyodür

BChE: Butirilkolinesteraz

BHA: *2*- *t*-Bütil-4-hidroksianisol

FRAP: Demir (III) iyonu indirgeme gücü

DPPH: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil

DTNB: 5,5-Ditiyobis (2-nitro benzoik asit)

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay

FCR: Folin-Ciocalteu reaktifi

g: Gram

kg: Kilogram

L: Litre

LC-MS/MS: Sıvı kromatografisi - tandem kütle spektrometrisi

µg: Mikrogram

µL: Mikrolitre

mg: Miligram

mL: Mililitre

mmol: Milimol

mM: Milimolar

ppm: Milyonda bir birim

M: Molar

nm: Nanometre

ORAC: Oksijen radikal absorplama kapasitesi

TRAP: Toplam radikal tutma parametresi

UV: Ultraviyole

U: Ünite

α-Toc: α-Tokoferol

ÖZET

Mammadlı, A. (2024). *Silene subsconica* Friv. Türünün Biyolojik Aktiviteleri ve Kimyasal İçeriği. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Bu yüksek lisans tezi kapsamında, Türkiye'de ve dünyada geleneksel tıp ve diğer amaçlarla kullanılan *S. subsconica* Friv. türünün kök, dal, yaprak, çiçek, tohum kısımları ve bunların karışımlarından hazırlanan etanol ekstrelerinin toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri, antioksidan aktiviteleri, antikolinesteraz ve antihipertansif etkileri belirlendi. Aynı zamanda LC-MS/MS ile kimsayal içerik analizleri yapıldı. Ekstrelerin antioksidan aktivite tayinleri DPPH serbest radikali ve ABTS katyon radikali giderme aktivitesi yöntemleri ile incelendi. Ellman yöntemi ile antikolinesteraz etkileri, anjiyotensin-I dönüştürücü enzim inhibisyonu etkinliği ile antihipertansif özellikleri belirlendi.

Yapılan çalışmalar sonucunda yaprak ekstresinin hem fenolik hem de flavonoid içerik bakımından daha zengin olduğu tespit edildi. Tohum ekstresinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi en yüksekken, ABTS katyon radikali giderimi etkisi en yüksek olan örneğin karışık ekstre olduğu belirlendi. Hiçbir ekstre antikolinesteraz aktivite göstermedi. Bununla birlikte kök ekstresi ve karışık ekstrenin standart madde olarak kullanılan lisinoprile yakın anjiyotensin-I dönüştürücü enzim inhibisyonu gösterdiği tespit edildi. LC-MS/MS analizleri sonucunda tüm ekstrelerde kinik asit, protokateşik asit, salisilik asit ve akasetin tayin edildi. Kosmozin ve kersetinin sadece çiçek ekstresinde sırasıyla 0,077 mg/g ve 0,094 mg/g konsantrasyonda bulunduğu belirlendi. Türün kinik asit içeriğinin incelenen diğer analitlere göre daha yüksek olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer, antihipertansif, antikolinesteraz, antioksidan, fenolik, flavonoid, LC-MS/MS

ABSTRACT

Mammadlı, A. (2024). Biological Activities and Chemical Content of *Silene subsconica* Friv. Species. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Analytical Chemistry. Master of Science Thesis. İstanbul.

In the present master of science thesis, total phenolic content, total flavonoid contents, antioxidant, anticholinesterase and antihypertensive effects of ethanol extracts prepared from roots, branches, leaves, flowers, seeds and their mixtures of *S. subsconica* Friv. species used in traditional medicine and other purposes in Turkey and around the world were determined. In additon, chemical content analysis was performed by LC-MS/MS. The antioxidant activities of the extracts were determined by DPPH free radical and ABTS cation radical scavenging activity methods. Anticholinesterase effects were determined by Ellman method and antihypertensive properties were investigated by angiotensin-I converting enzyme inhibition activity.

According to the obtained data, it was determined that the leaf extract was richer in terms of both phenolic and flavonoid content. While the DPPH free radical scavenging activity of the seed extract was the highest, the sample with the highest ABTS cation radical scavenging effect was the mixed one. None of the extracts possessed anticholinesterase activity. However, it was determined that the root extract and mixed extract showed angiotensin-I converting enzyme inhibition close to lisinopril used as standard substance. LC-MS/MS analysis revealed the presence of quinic acid, protocatechuic acid, salicylic acid and acacetin in all extracts. Cosmosin and quercetin were found only in the flower extract at 0.077 mg/g and 0.094 mg/g. Quinic acid content of the species was found to be higher than the other analytes analyzed.

Key Words: Alzheimer, anticholinesteraz, antihypertensive, antioxidant, flavonoid, LC-MS/MS, phenolic

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Doğal ürünler, yüzyıllardır hastalıkların tedavisi için tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Sentetik ilaçların keşfi ile ilaç endüstrisi çok hızlı gelişmiş ve doğal kaynaklardan bir süre uzaklaşılmış olsa da zamanla bazı sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve bu yan etkilere bağlı olarak başka hastalıkların oluşması bilim insanlarını doğal kaynaklı ilaç etken maddeleri ve gıda takviyeleri bulmaya yöneltmiştir. Bu nedenler son zamanlarda doğal ürünlerin kullanımı büyük ilgi görmektedir. Küresel olarak bu tür tamamlayıcı ve alternatif tedaviler sadece az gelişmiş ülkelerin birincil sağlık hizmetlerinde değil, aynı zamanda geleneksel tıbbın birincil ulusal sağlık sistemi olduğu ülkelerde de popülerlik kazanmaktadır. Bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar gibi farklı kaynaklardan elde edilen doğal ürünler, farmasötik ve biyoteknoloji endüstrilerinde hayati öneme sahiptir, çünkü modern ilaçların çoğu ya doğal olarak oluşan moleküllere ya da bunların türevlerine dayanmaktadır. Hücresel ve moleküler yaşam bilimleri, analitik kimya ve farmakoloji/ters farmakolojideki son gelişmelerle birlikte, bu doğal ürünlerin istisnai eğilimleri, terapötik etkileriyle ilgili biyokimyasal ve yapısal çeşitlilikleri açısından araştırılmaktadır.

Bitkiler ekolojik etkileşimlerde önemli roller oynayan, farmakolojik ve tıbbi özellikler gösterebilen bileşikler olan çeşitli sekonder metabolitleri içermektedir. Sekonder metabolitler bitkilerin savunma mekanizmalarının bir parçası olarak işlev görürler ve bitkinin hayatta kalmasına yardımcı olurlar. Ayrıca, bitkilerin fotosentez sırasında UV ışığına maruz kalmalarını önlemeye yardımcı olabilecek pigmentler üretebilirler. Bu nedenle, sekonder metabolitler bitkilerin sağlığını korumada ve adaptasyonlarını desteklemede önemli bir rol oynamaktadır. *Silene* türleri alkaloidler, steroller, flavonoidler, saponinler, lignanlar, flavonoller, flavononlar, flavonoller, izoflavonlar, tanenler, ekdisteroidler, fenolik asitler gibi bir dizi fitokimyasalları içerebilmektedirler. Sekonder metabolitlerin kimyasal içeriği farklı türler arasında ve hatta aynı türün farklı popülasyonları arasında büyük farklılıklar gösterebilmektedir.

Silene türleri terpenler (özellikle terpenlerin alt gruplarından terpenoidler ve triterpen saponinler) için iyi bir sekonder metabolit kaynağıdır. Aynı zamanda önemli miktarda fitoekdisteroidler, alkaloidler ve flavonoidler başta olmak üzere fenolik bileşikler içermektedirler.

Silene türleri çeşitli sekonder metabolitlerin varlığından dolayı bir çok biyolojik aktiviteye sahiptir. Bu bitkilerin antitümör, antibakteriyel, antimikrobiyal, immünomodülatör, antienflamatuar, antiproliferatif, antioksidatif, antiaging, antidiyabetik, antikanser, antitoksik ve antihipoksik, antifungal, antiviral, antioksidan, antihipertansif, antispazmodik, antimutajenik etki gibi çeşitli özellikleri vardır.

Silene cinsine ait bitkiler tarih boyunca geleneksel tıpta ve halk arasında sindirim bozuklukları, yara iyileştirme, solunum sorunları, karaciğer hastalıkları için kullanılmıştır. Ayrıca yatıştırıcı, rahatlatıcı ve diüretik olarak uygulanmıştır. Bu cinsin bazı türleri süs bitkisi olarak, bazıları ise kozmetolojide kullanım alanı bulmuştur. Aynı zamanda sebze olarak tüketilmekte, salatalar ve tatlılarda dekor veya garnitür olarak kullanılabilmektedir. Bununla birlikte, *Silene* bitkilerinin spesifik kullanımı türe ve bulunduğu bölgeye bağlı olarak değişmektedir.

S. subconica Friv. Türkçe'de Karanfilgiller ailesi olarak bilinen Caryophyllaceae familyasından olan *Silene* cinsine ait bir türdür. Bu yüksek lisans tezi kapsamında, Elazığ bölgesinden toplanan *S. subconica* bitkisinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri, antioksidan, antikolinesteraz ve antihipertansif aktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca LC-MS/MS ile kimyasal içeriği incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Caryophyllaceae Familyası ve *Silene subconica* Türü ile İlgili Botanik Bilgiler

2.1.1. Caryophyllaceae Familyası

Caryophyllaceae familyası, tek veya çok yıllık, genellikle otsu özelliği sahip, nadir olarak çalımsı veya küçük ağaç şeklinde bitkilerden meydana gelen geniş bir bitki familyasıdır. Bu familya, çok soğuk iklimlerden kurak iklimlere kadar çeşitli habitatlarda hayatta kalabilen kozmopolit türleri içermektedir (Sarıoğlu, 2006; Watson ve ark., 1992).

Türkiye'de 32 tür ve 465 alt tür ile, önemli çift çenekli familyaların içerisinde bulunan bu familya, dünya genelinde 80 tür ve 2100 alt tür ile tanımlanmıştır (Seçmen ve ark., 2000; Watson ve ark., 1992).

2.1.2. *Silene subconica* Türü

Silene cinsine mensup olan bitkiler, bir, iki ve çok yıllık otsu veya yarı çalımsıdır. Taç tüpü, 10 – 60 damarlıdır, genellikle 5 kısa taç yaprakçığına sahiptir. Taç yaprakları 5 adettir. Erkek organlar olan stamenler 10 adettir. Dişi organ olan stilus ise 3-5 adettir. Kapsül şeklindeki meyve, tabandan valflerle veya stilus sayısı kadar dişlerle açılır. Taç yaprakları, stamenler ve yumurtalık antofor adı verilen bir yapıdan çıkarlar. Tohumlarda çeşitlilik bulunmaktadır (Seçmen ve ark., 2000; Watson ve Dallwitz, 1991).

S. subconica (Şekil 2-1), tek yıllık, otsu bitkidir. Toprak üstü gövdesi 35-52 cm arasında değişirken, çiçekli saplar 22-28 cm uzunluğundadır ve gövde bölümü tüylerle örtülüdür. Gövde yaprakları 2-2,5x15-27 mm, şeritsi, uçları sivri-akuminat, tabanı sivri-yuvarlak arası basit tüylü, kenarları dişsizdir. Yaprakta belirgin bir orta damar bulunmaktadır. Bazal yapraklar uzunlamasına, uçları sivri olan ve 2-3x20-45 mm boyutlarında olan yapraklardır. Bu yapraklar, gövde yaprağı gibi tüylüdür. Kaliks 15-18x7-8 mm, 5 dişli, dişler geriye kıvrılmazdır. Kaliks üzerinde 25 paralel damar vardır. Gövdedeki en alt çiçeğin sapı kısa bir pedisele sahiptir. Meyve bir kapsül şeklinde olup, kalikse çevrilidir ve kaliksten dışarı çıkmaz; yanlara doğru açılır. Taç yaprakları tüysüz, pembe renkte olup, boyutları 2,5-4 x 5-6 mm arasında değişir. Lob boyu 1-1,5 mm, lob genişliği ise 4-4,5 mm'dir. Stamenler tüysüz ve 6 mm uzunluğundadır. Pistil 10-13 mm uzunluğunda, stilus 2, pedisel 10-13 mm boyutlarındadır. Salgı tüyleri bulunur ve antofor 3-3,5 mm

uzunluğunda olup, örtü tüyleriyle kaplıdır. Kapsül yumurta şeklinde, kaliksle çevrili, 5x9 mm, antofore bağlı ve kapsül dişlerinde geriye kıvrılma vardır. Tohumlar kahverengi, böbrek şeklindedir (Asude, 2011).



Şekil 2- 1*: Silene subconica* (Plants of the World Online, 2023)

Taksonomik sınıflandırılması aşağıdakı gibidir (TUBIVES, 2024).

Krallık: Plantae

Alt krallık: Tracheobionta

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Alt sınıf: Caryophyllidae

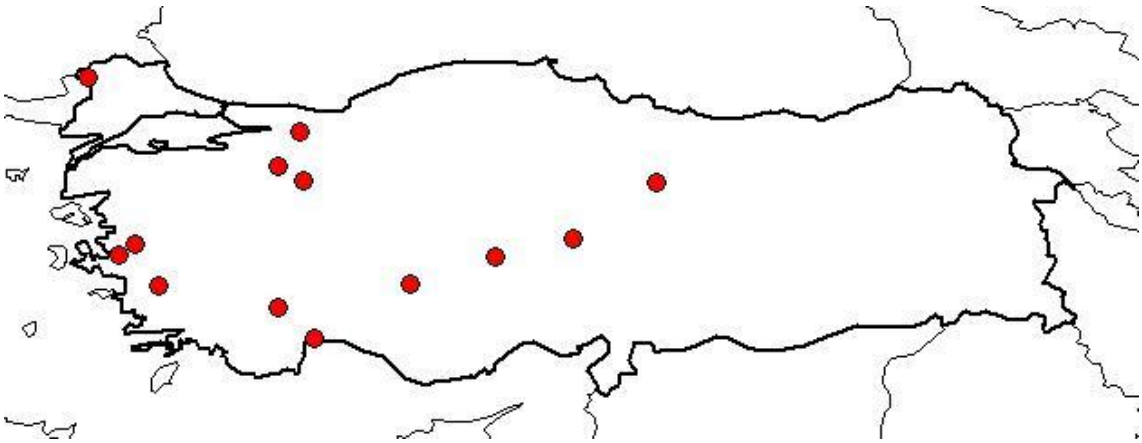
Takımı: Caryophyllales

Aile: Caryophyllaceae

Cins: *Silene*

Tür: *Silene subconica*

S. subconica türünün genel olarak Türkiye'de yetiştiği bölgeler Şekil 2-2'de verildi.



Şekil 2- 2: Türkiye'de *S. subconica* türünün yetiştiği bölgeler (TUBIVES, 2024)

2.3. *Silene* Türlerinin Halk Arasında Kullanımı

Silene türleri bazı hastalıkların tedavisinde, temizlik maddesi ve yiyecek olarak, birçok ülkede bahçe süsü şeklinde, zararlı organizmalara karşı fumigant olarak ve çeşitli kozmetik ürünlerin bileşiminde kullanım alanı bulmuştur. Günümüzde Türkiye'de yaklaşık 138 adet *Silene* türü bilinmektedir ve bu türlerin ister farmakolojik uygulamaları isterse de gıda endüstrisinde kullanımları çok sayıda çalışma ile araştırılmıştır (Mamadalieva, 2012; Taskin ve ark., 2013; Tuttolomondo ve ark., 2014; Zengin ve ark., 2018; Ullah ve ark., 2019).

2.3.1. *Silene* Türlerinin Hastalıklara Karşı Kullanım Alanları

Silene türleri çeşitli hastalıkların tedavisinde geçmişten günümüze kullanılmaktadır. Bu türlerden;

- *S. acaulis* çocuklarda kolik tedavisinde,
- *S. cucubalis*'den elde edilen bitki özü oftalmiyi tedavi etmek için,
- *S. nigrescens*'in çiçekleri işitme kaybı, kulak kanalındaki tıkanıklıklar ve volvulus gibi hastalıkların tedavisinde,
- *S. dioica* tohumları yılan zehrine karşı,
- *S. szechuensis* ateş düşürücü, ağrı kesici ve idrar söktürücü olarak,
- *S. undulata* ateş ve sayıklama gibi hastalıkların tedavisinde,

- *S. bellidioides* ve *S. pilosellifolia* skrofula tedavisi, uyku haline karşı koyma ve ağır hastalıklardan sonra banyoda kullanılarak iyileşmeyi kolaylaştırmada,
- *S. vulgaris*'in çiçekleri karaciğer hastalıkları ve özellikle Doğu Anadolu'da idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde,
- *S. chlorifolia*'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen infüzyon iltihaplanmayı gidermede dünya çapında farklı coğrafi bölgelerde kullanılmaktadır (Mamadalieva, 2012; Tuttolomondo ve ark., 2014; Zengin ve ark., 2018; Ullah ve ark., 2019).

2.3.2. *Silene* Türlerinin Temizlik Maddesi Olarak Kullanım Alanları

S. latifolia'nın kökü, giysilerin ve diğer eşyaların yıkanmasında doğal bir deterjan olarak fayda sağlamaktadır. Kökün sıcak suda demlenmesi işlemiyle temizleyici madde elde edilmektedir. Ayrıca, hem *S. acaulis* hem de *S. conoidea* geleneksel sabuna alternatif olarak işlev görmektedir (Mamadalieva, 2012).

2.3.3. *Silene* Türlerinin Yiyecek Olarak Kullanım Alanları

S. acaulis ve *S. conoidea* hayvan yemi kullanılmaktadır. *S. conoidea*, sürgünlerinin karbonhidrat, protein ve vitaminlerce oldukça zengin olmasından ötürü yeşil bir sebze şeklinde tüketilmektedir. *S. vulgaris'in* yumuşak sürgün ve yaprakları birçok Avrupa ülkesinin geleneksel yemeklerinde, taze toprak üstü kısımları salatalarda kullanım alanı bulmuştur. *Silene* türünün, yumuşak yaprakları hafif bir tada sahiptir ve hem pişirildikten sonra hem de çiğ halde tüketilebilmektedir (Mamadalieva, 2012; Taskin ve ark., 2013 Zengin ve ark., 2018).

2.4. *Silene* Türlerinin İçerdiği Sekonder Metabolitler ve Biyolojik Aktiviteleri

Silene türlerinden elde edilen çeşitli ekstrelerin fitokimyasal analizi ile çok çeşitli sekonder metabolitleri içerdikleri ortaya çıkarılmıştır. Bu sekonder metabolitler steroller, alkaloidler, tannenler, flavonoidler, triterpen glikozitler, saponinler, fitoekdisteroidler, lignanlar, flavonoller, flavononlar (dihidroflavonlar), flavonoller, izoflavonlar ve bunların O- veya C-glikozitleri gibi bileşiklerdir (Munkhzhargal ve ark., 2010; Claude ve ark., 2020; Jakimiuk ve ark., 2022; Buzón-Durán ve ark., 2023). Ayrıca linalool gibi asiklik

terpen alkolleri, benzil alkol ve 2-feniletanol gibi aromatik alkolleri de içermektedirler (Jürgens ve ark., 2002).

Yapılan bir çalışmada *S. vulgaris'*in yapraklarında kumarik asit türevleri ve kateşinin varlığı kanıtlanmıştır. Ayrıca, *S. alba*, *S. conoidea*, *S. dichotoma*, *S. italica*, *S. supina* ve *S. vulgaris* türlerinde kinik asit, malik asit, protokateşik asit, p-kumarik asit ve hesperidin bulunmaktadır (Buzón-Durán ve ark., 2023). *Silene* cinsine ait tek yıllık otsu bir bitki olan *S. seoulensis* türünün toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinde dört adet β-karbolin alkaloidi izole edilmiştir (Seo ve ark., 2020). *S. repens* türünün toprak üstü kısımlarının 2-deoksiektison, 2-deoksi-20-hidroksiektison, polipodin B, 20-hidroksiektison, integristeron A ve polipodin B gibi çeşitli ekdisteroidleri içerdiği belirlenmiştir (Munkhzhargal ve ark., 2010) *S. vulgaris*'te terpenler, flavonoidler ve fenolik asitlerin varlığı belirlenmiştir (Van de Staaij ve ark., 1995). Benzenoitlerin ve izoprenoidlerin bileşimi *Silene* türüne göre önemli ölçüde değişmektedir. Benzaldehit, *S. subconica*, *S. vulgaris*, *S. sericea*, *S. succulenta* ve *S. nutans*'ta yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Metilbenzoat ise *S. saxifraga*'da daha baskındır. Benzil asetat *S. latifolia*, *S. italica*, *S. nutans*, ve *S. dichotoma*'da önemli miktarlarda bulunmaktadır. Benzil alkol *S. viscosa*'nın önemli bir bileşenidir. p-Kresol özellikle *S. dichotoma*'nın çiçek kokusunda bulunmaktadır (Buzón-Durán ve ark., 2023). *Silene* türlerinde monoterpenler baskın izoprenoidlerdir; *S. chlorantha*'da mirsen, *S. nutans* ve *S. sericea* trans-β-osimen, *S. chlorantha* fenkil asetat, *S. chlorantha* ve *S. italica* β-linalol gibi bileşikler içermektedir. İzoprenoidlerin bir başka sınıfı olan seskiterpenler, β-burbonen ve γ-muurolen gibi önemli temsilciler ile özellikle *S. vallesia*'da tespit edilmiştir (Jürgens ve ark., 2002). *S. littorea* bitkisinde antosiyanin içeriği, tozlayıcılar, taç yapraklar ve meyvelerde tipik olarak yapısaldır. Bitkinin kaliks, yaprak ve gövde gibi diğer kısımlarında hem antosiyaninlerin hem de antosiyanin olmayan flavonoidlerin birikimi mevcuttur (Del Valle ve ark., 2018).

Silene türleri içerdikleri çeşitli sekonder metabolitlerin varlığından ötürü antitümör (Mamadalieva ve ark., 2012), antibakteriyel (Chandra ve ark., 2015), antimikrobiyal, immünomodülatör, antienflamatuvar, antiproliferatif, antiaging, antidiyabetik, antikanser, antihipoksik (Ramazonov ve ark.,2020; Jakimiuk ve ark., 2022), antifeedant (Mamadalieva ve ark., 2013), antifungal, antiviral (Bajpai ve ark., 2008; Mamadalieva ve ark., 2014), antioksidan (Karamian ve ark., 2013; Mamadalieva ve ark., 2019),

antihipertansif, antispazmodik, antimutajenik, antifungal, antidiyabetik (Hussein ve ark., 2017) gibi biyolojik aktivitelere sahiptir.

Golea ve ark. (2017) *S. arenarioides* bitkisinin toprak üstü kısımlarından farklı kromatografik yöntemler kullanarak maltol glikozit, krisin, apigenin, kersetin ve stigmasterol glikozit bileşikleri izole etmiştir. Metanol ekstresinin antioksidan özelliği (DPPH) incelenmiş ve IC_{50} değeri 8,064± 0,005 µg/mL olarak saptanmıştır. Bir başka çalışmada *S. salsuginea* türünün antioksidan aktivitesi, enzim inhibisyonu ve antienflamatuvar özellikleri incelenmiştir (Zengin ve ark., 2018). Metanol ekstresi DPPH ve CUPRAC deneylerinde en iyi antioksidan etkiyi ve ayrıca tirozinaza karşı en yüksek inhibisyonu sergilemiştir. Sulu ekstre en etkisiz enzim inhibitörüyken, ABTS, FRAP ve metal şelatlama deneylerinde en yüksek antioksidan etkinliği göstermiştir. Metanol ekstresi, 15,6 µg/mL konsantrasyonda, lipopolisakkarit ile uyarılan hücrelerde NO üretiminde orta düzeyde (%25,1) bir azalmaya neden olmuştur. Kimyasal içerik analizlerinde metanol ekstresinde yüksek miktarda apigenin (534 µg/g ekstre), ferulik asit (452 µg/g ekstre), p-kumarik asit (408 µg/g ekstre) ve kersetin (336 µg/g ekstre) tespit edilirken, sulu ekstrede önemli miktarda rutin (506 µg/g ekstre) bulunmuştur. Taşkın ve Bitlis (2013) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise *S. alba* subsp. *divaricata* türünün yaprakları hem taze sebze olarak yenilebilen hem de çiçeklenme (yenemeyen) dönemlerinde toplanmış ve etanol ekstreleri hazırlanmıştır. Ekstrelerin DPPH serbest radikali süpürme ve ABTS katyon radikali katyonu süpürme yöntemleri ile antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik içerikleri incelenmiştir. Mohti ve ark. (2020) Fas'ta yabani olarak yetişen *S. vulgaris* subsp. *macrocarpa*'nın yaprak ve köklerinden antioksidan bileşiklerin, özellikle de fenoliklerin ekstre edilebilirliği üzerinde çeşitli çözücülerin ve tekniklerin etkisini araştırmıştır. Metanol veya su ile maserasyon ve sıcak ekstraksiyon ve etanol ile Soxhlet ekstraksiyonu kullanılmıştır. Ekstrelerin antioksidan potansiyeli DPPH, indirgeme gücü ve demir iyonları şelatlama aktivitesi deneyleri ile *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Yaprak ekstreleri önemli radikal süpürme ve şelatlama aktiviteleri sergilemiş ve metanol ile maserasyon, antioksidanların etkili bir şekilde geri kazanılması için en uygun ekstraksiyon yöntemi olarak belirlenmiştir. Diğer bir çalışmada İran'dan toplanan üç *Silene* türünden (*S. swertiifolia*, *S. spergulifolia* ve *S. ginodioca*) elde edilen metanol ekstreleri, DPPH serbest radikal süpürme, metal şelatlama aktivitesi ve beta-karoten/linoleik asit olmak üzere üç tamamlayıcı test sistemi ile olası *in vitro* antioksidan aktiviteleri açısından taranmıştır. Toprak üstü kısımlarının metanol ekstrelerinde toplam

fenol ve flavonoid içerikleri Folin Ciocalteu ve $AlCl_3$ analizleri ile ölçülmüştür. Ayrıca, metanol ekstrelerinin antibakteriyel aktiviteleri, sırasıyla 3 gram pozitif ve negatif bakteriye karşı disk difüzyon yöntemiyle incelenmiştir. Sonuçlar, en yüksek miktarda fenol ve flavonoid bileşikleri içeren *S. swertiifolia*'nın en yüksek antioksidan aktiviteyi sergilediğini göstermiştir. *S. swertiifolia* ve *S. spergulifolia* DPPH serbest radikalinin gideriminde askorbik asitten daha yüksek bir etki gösterirken, *S. ginodioca* daha zayıf bir etki göstermiştir. Diğer yandan, sonuçlar çalışılan ekstrelerin metal şelatlama deneyinde sentetik bir antioksidan olarak askorbik asitten daha az aktif olduğunu göstermiştir. Karoten/linoleik asit sisteminde, linoleik asidin oksidasyonu *S. swertiifolia* ekstresi tarafından etkili bir şekilde inhibe (%100) edilmiştir. Buna ek olarak, sonuçlar hazırlanan ekstrelerin önemli fenolik bileşik kaynakları olduğunu ve gram-pozitif bakterilere karşı yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduklarını göstermiştir. Ertürk ve ark. (2006) *S. multifid*a kloroform ekstresinde apolar fraksiyonları ayırmış *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichiacoli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* ve *Proteus vulgaris* olmak üzere altı adet bakteriye ve bir patojenik mantar olan *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivitelerini (0,5 mg/mL konsantrasyonda) test etmiştir. Tüm fraksiyonlar test edilen tüm bakterilere karşı aktivite gösterirken, sadece iki fraksiyon antifungal aktivite göstermiştir. *S. vulgaris* ve *S. cserei* subsp. *aeoniopsis* yağ örnekleri de mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak çeşitli standart bakteri suşlarına ve *Candida* mayasına karşı taranmıştır (Küçükboyacı ve ark., 2010). Bu yağların her ikisi de aynı aktivite profilini sergilemiş, 4 g/mL konsantrasyonda Gram-negatif bakteri *Klebsiella pneumoniae'*ya karşı kayda değer antibakteriyel aktiviteye ve *Candida albicans*'a (16 g/mL) karşı önemli antifungal aktiviteye sahip olmuştur. Orhan ve ark. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada *S. vulgaris*'in lipofilik ekstreleri, Madin-Darby sığır böbreği ve Vero hücre hatları kullanılarak DNA virüsü *Herpes simplex* ve RNA virüsü *Parainfluenza*'ya (PI-3) karşı test edilmiştir. Ekstreler, asiklovir ve oseltamivir ile karşılaştırıldığında her iki virüse karşı önemli antiviral etkiler göstermiştir. Bir diğer çalışmada *S. aprica*'dan elde edilen etanol ekstresinin oral yoldan uygulanmasının akut karaciğer hasarı üzerindeki etkisi, karbon tetraklorür ve asetaminofen ile zehirlenmiş sıçanlarda incelenmiştir (Ko ve ark., 2002). Sonuçlar, *S. aprica*'nın karaciğer zehirlenmesini koruduğu morfolojik ve biyokimyasal gözlemlerle değerlendirilmiştir. Karbon tetraklorür enjeksiyonundan sonra karaciğerde hem lipid peroksidasyonunda hem de trigliserid konsantrasyonlarında bir artış meydana gelmiştir; *S. aprica* uygulaması bu

değişiklikleri önemli ölçüde azaltmıştır. Filonenko ve ark. (2020) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *S. sendtneri* ve *S. roemeri*'nin doğal ve klorofil içermeyen bitki ekstrelerinin insan monosit türevli makrofajlar üzerindeki etkisi incelenmiştir. Sitokinlerin üretimi ELISA ile değerlendirilmiştir. Ekstrelerin etkisi altındaki farklı gen ekspresyonlarını belirlemek için gen ekspresyon mikro dizileri ve RT-qPCR analizi kullanılmıştır. Deneylerin sonuçları, ekstrelerin makrofajlarda M2-ilişkili kemokin CCL-18 üretimini artırdığını göstermiştir. Ayrıca, proenflamatuvar sitokinlerin (TNF-alfa, IL-1 beta ve IL-6) üretimini de indüklemişlerdir. Tanımlanan aktivite hem doğal hem de klorofil içermeyen ekstrelerde tespit edilmiştir. Ayrıca, *S. sendtneri* ve *S. roemeri* ekstreleri insan makrofajlarında CCL2, MMP9, VEGFA ve S100A9 genlerinin ekspreyonunu etkilemiştir. Genel olarak hazırlanan ekstreler *in vitro* makrofaj aktivasyonunu etkileyerek immünomodülatör etkiler göstermiştir. Popov ve ark. (1999) *S. vulgaris* bitkisinden ve kallusundan elde edilen polisakkaritlerin (silenanlar) periferik insan nötrofillerinde ve monositlerinde ve sıçan peritoneal makrofajlarında alım kapasitesi ve miyeloperoksidaz aktivitesi üzerindeki etkilerini *in vitro* olarak incelemişlerdir. Tüm polisakkaritler (elde edilen üç silenan; pektik polisakkaritler P1, P2 ve P3) ve kallustan elde edilen iki polisakkarit (asidik arabinogalaktan C1 ve pektin C2) 15 mg/mL konsantrasyonda alım kapasitesini arttırmıştır.

2.5. Antioksidanlar

Antioksidanlar vücutta serbest radikallerin neden olduğu hasara karşı koruma sağlayan önemli bileşenlerdir. Genellikle lipid hasarını önlemekte görev almaktadırlar. Bununla birlikte serbest radikallerin etkileri sadece lipid hasarıyla sınırlı değildir; proteinler, DNA ve diğer bileşenleri de etkileyebilmektedirler. Bu nedenle, hangi antioksidanın hangi oksidatif zararı hedeflediğinin belirlenmesi önemlidir.

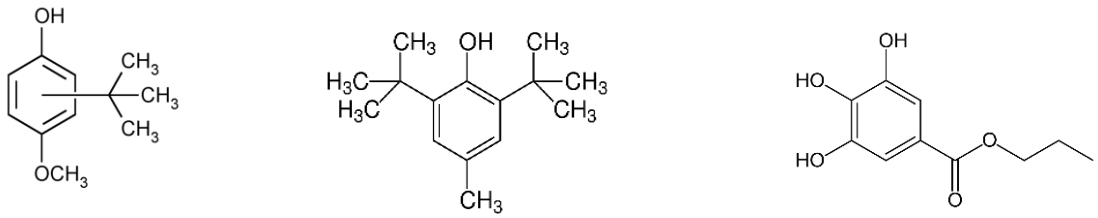
Antioksidanlar, farklı mekanizmalar ile canlı organizmalarda ve yiyeceklerde antioksidan etkilerini gösterebilmektedirler. Bu mekanizmalar reaktif oksijen türleri üretimini engellemeyi, serbest radikalleri temizlemeyi veya doğal antioksidan savunmalarını artırarak işlev görmeyi içermektedir.

Antioksidanlar özellikle gıda sektörü olmak üzere birçok endüstri için önem taşımaktadır. Doğal veya sentetik olabilmektedirler. Doğal antioksidanlar kaynakları, genellikle daha çok tercih edilen bir seçenek olarak kabul edilip, meyveler, sebzeler, baharatları ve çeşitli

bitkileri içermektedirler. Bu kaynaklar fenoller, vitaminler ve karotenoidler bakımından zengindirler. Polifenoller, yapılarında çoklu hidroksil gruplarının bulunmasının etkisiyle, mükemmel doğal antioksidanlar olarak bilinmektedirler. Polifenoller arasında, yapısal çeşitlilikleriyle dikkat çeken flavonoidler, bu grup içinde belki de en iyi tanımlanan özellikleri olan antioksidan aktiviteleri ile öne çıkmaktadırlar. Bununla birlikte, sentetik antioksidanlar da belirli uygulamalarda bulunabilirlikleri ve artırılmış etkililikleri sebebi ile kullanışlı olabilmektedir. Bu bileşikler gıda ürünlerinde yağları ve lipidleri stabilize etmek, farmasötik ve kozmetiklerde koruyucu olarak görev almak gibi işlevleri ile çeşitli endüstrilerde kullanım alanına sahiptir (Halliwell ve ark., 1995; Parcheta ve ark., 2021; Salimi ve ark., 2022).

2.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar işleyiş mekanizmalarına göre birincil ve ikincil antioksidanlar olarak sınıflandırılabilmektedir. Birincil antioksidanlar, oksidasyonun zincir reaksiyonunu engelleyerek çalışmaktadırlar. Serbest radikallere hidrojen verici veya alıcı olarak hareket etmekte ve bu süreçte daha kararlı radikaller üretmektedirler. Birincil antioksidanlar genellikle fenolik bileşiklerdir. Bu grup antioksidan mineraller, antioksidan vitaminler ve flavonoidler, kateşinler, karotenoidler, β-karoten, likopen, diterpenler ve bunların türevleri gibi fitokimyasalları içermektedir. Bu bileşikler, metal iyonlarına bağlanma, reaktif oksijen türlerini temizleme, hidroperoksitleri radikal olmayan türlere dönüştürme, UV radyasyonunu emme veya singlet oksijeni etkisiz hale getirme gibi çeşitli mekanizmaları kullanmaktadırlar. Bazı iyi bilinen birincil antioksidan örnekleri butilhidroksianisol (BHA), butilhidroksitoluen (BHT) ve propil galat (PG) gibi maddelerdir (Şekil 2-2) (Munteanu ve ark., 2021).

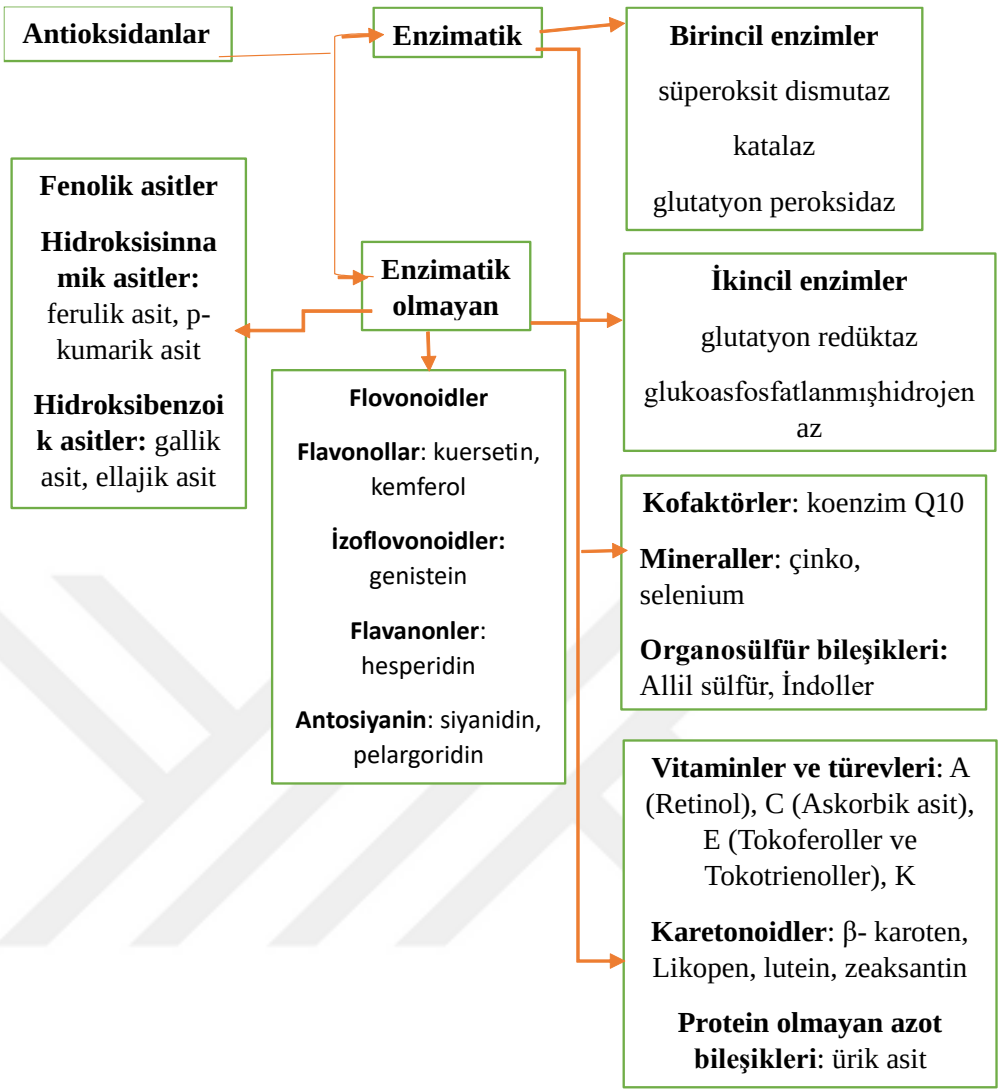


Butilhidroksianisol (BHA) **Butilhidroksitoluen (BHT)** **Propil galat (PG)**

Şekil 2- 3: Bazı birincil antioksidanlar

İkincil antioksidanlar, çeşitli potansiyel mekanizmalar aracılığıyla oksidasyon sürecini etkili bir şekilde yavaşlatmaktadırlar. Ancak serbest radikalleri daha kararlı maddelere dönüştürmemektedirler. İkincil antioksidanlar, prooksidan metalleri etkisiz hale getirmek için şelat oluşturma gibi görevleri gerçekleştirebilmektedirler (Reische ve ark.,2002). Prooksidan metalleri şelatlayabilmekte, birincil antioksidanlar için hidrojen sağlayabilmekte, hidroperoksitleri parçalayabilmekte, singlet oksijeni nötralize edebilmekte, UV radyasyonunu absorbe edebilmektedirler. Bu antioksidanlar birincil antioksidanların etkinliğini arttırmaları sebebi ile genellikle sinerjist olarak adlandırılmaktadırlar. İkincil antioksidanlar örnekler arasında sitrik asit, askorbik asit, askorbil palmitat, lesitin ve tartarik asit bulunmaktadır (Reische ve ark., 2002).

Antioksidanlar, moleküler ağırlıkları, etki mekanizmaları ve su veya lipidlerdeki çözünürlükleri gibi faktörlere bağlı olarak Şekil 2-3'te gösterildiği gibi enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidanlar olarak da kategorize edilebilmektedir (Munteanu ve ark., 2021).



Şekil 2- 4: Enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidanlar

2.5.2. Birincil ve İkincil Antioksidanların Mekanizmaları

Birincil antioksidanlar, zinciri kırıcı antioksidanlar olarak da bilinmekte ve serbest radikaller için reseptör görevi görerek oto-oksidasyonun başlatma aşamasını yavaşlatmakta veya engellemekte ve yayılma aşamasını bozmaktadırlar. Oto-oksidasyonun başlatılması, doymamış bir lipidten bir α-metilenik hidrojen molekülünün ayrılması sonucu bir lipid radikal (R.) oluştuğunda gerçekleşir (Reische ve ark., 2002).

$$RH \rightarrow R^{\cdot} + H^{\cdot}$$

Daha sonra, bu oldukça reaktif lipid radikali, kimyasal bir reaksiyonda oksijen ile etkileşime girebilmekte ve bir yayılma süreci yoluyla bir peroksi radikalinin (ROO) oluşmasına neden olabilmektedir (Reische ve ark., 2002).

$$R^{\cdot} + O_2 \rightarrow ROO^{\cdot} + H^{\cdot}$$

Yayılma aşamasında, peroksi radikalleri lipitlerle etkileşime girerek bir hidroperoksit ve kararlı olmayan bir lipit radikali oluşturmaktadır. Bu yeni oluşan lipit radikali daha sonra oksijenle birleşerek başka bir peroksi radikalini üretmektedir. Bu olayların dizisi, döngüsel, kendiliğinden katalitik bir oksidatif mekanizma oluşturmaktadır.

$$ROO^{\cdot} + \mathrm{RH} \rightarrow \mathrm{ROOH} + R^{\cdot}$$
$$R^{\cdot} + O_2 \rightarrow ROO^{\cdot} + H^{\cdot}$$

Hidroperoksitler kararsızdır ve parçalanarak yayılma reaksiyonlarını daha da şiddetlendiren radikalleri ortaya çıkarabilmektedir.

$$\mathrm{ROOH} \rightarrow RO^{\cdot} + OH^{\cdot}$$
$$RO^{\cdot} + RH \rightarrow ROH + R^{\cdot}$$

Hidroperoksitlerin bozunması, genellikle oksidasyonun daha sonraki aşamalarında ekşime (rancidite) ile ilişkilendirilen hoş olmayan kokular ve tatların sorumlusudur (Reische ve ark.,2002). Birincil antioksidanlar, hidrojen atomlarını bağışlayarak lipid ve peroksi radikallerini etkisiz hale getirmekte ve kararlı, radikal olmayan ürünler oluşturmaktadır. Bu antioksidanlar, lipitlerden daha fazla peroksi radikallerine çekim gösterirmekte ve bu sayede oto-oksidasyon aşamaları sırasında oluşan serbest radikalleri etkili bir şekilde temizlemektedirler. Ayrıca doğrudan lipit radikalleriyle etkileşebilmektedirler (Reische ve ark., 2002).

$$ROO^{\cdot} + AH \rightarrow ROOH + A^{\cdot}$$
$$RO^{\cdot} + AH \rightarrow ROH + A^{\cdot}$$
$$R^{\cdot} + AH \rightarrow RH + A^{\cdot}$$

Hidrojen transferi yoluyla oluşturulan antioksidan radikali, düşük reaktiviteye sahiptir ve oksijen veya lipidlerle yavaş reaksiyon gösterdiği için yayılma hızını yavaşlatmaktadır. Bir fenol halkasında elektron dağılımı yoluyla kararlılık kazanmakta ve kararlı rezonans hibridleri oluşturmaktadırlar. Bu antioksidan radikalleri, peroksi, oksi ve diğer antioksidan radikalleri ile sonlandırma reaksiyonlarına katılabilmekte ve yağlarda dimerizasyon yaygın olarak görülmektedir. Bu durum, antioksidanın radikal olmayan formunda olduğu sürece oto-katalitik serbest radikal zincir mekanizmasını durdurmaktadır.

$ROO^{\cdot} + A^{\cdot} \rightarrow$ ROOA

$RO^{\cdot} + A^{\cdot} \rightarrow$ ROA

$A^{\cdot} + A^{\cdot} \rightarrow$ AA

İkincil antioksidan türlerinden bazıları şelatlayıcılar, oksijen tutucular ve indirgeyici ajanlar ve singlet oksijen söndürücülerdir (Reische ve ark., 2002).

Şelatlayıcılar: Fe, Cu, Mn, Cr, Ni, V, Zn ve Al gibi ağır metaller, serbest radikal reaksiyonlarında katalizör olarak hareket ederek oksidasyonu teşvik etmektedirler. Bu geçiş metalleri ya hidroperoksitlerle ya da doğrudan doymamış lipitlerle etkileşime girerek oksidasyonu kolaylaştırmakta ve otokatalizin başlama adımı için aktivasyon enerjisini azaltmaktadırlar. Bununla birlikte, metallerin lipidlerle doğrudan etkileşimi, termodinamik kısıtlamalar, spin bariyerleri ve yavaş reaksiyon hızı nedeniyle birincil mekanizma değildir.

$$M^{(n-1)+} + RH \rightarrow M^{n+} + H^{+} + R^{\cdot}$$

Metaller hidroperoksitlerle etkileşime girerek oksidasyonu hızlandırmakta ve serbest radikallere ayrışan metal-hidroperoksit komplekslerini oluşturmaktadır Bu durum, hidroperoksitlerin ayrışmasını ve iki olası reaksiyonu içeren serbest radikal oluşumunu arttırmaktadır (Reische ve ark., 2002).

$$M^{(n+1)+} + ROOH \rightarrow M^{n+} + H^{+} + ROO^{\cdot}$$

$$M^{n+} + ROOH \rightarrow M^{(n+1)+} + OH^{-} + RO^{\cdot}$$

Oksijen Tutucular ve İndirgeyici Ajanlar: Askorbik asit, askorbil palmitat, eritorbik asit, sodyum eritorbat ve sülfitler gibi oksijen tutucular ve indirgeyici maddeler, oksijeni uzaklaştırarak veya hidrojen atomları vererek oksidasyonu önlemektedir. Oksijene maruz kalan ürünlerde etkilidirler.

Singlet Oksijen Söndürücüler: Singlet oksijen, doymamış yağların fotooksidasyon sürecindeki rolüyle bilinen ve daha sonra hidroperoksitlerin oluşumuna yol açan oldukça enerjik bir moleküldür. Singlet oksijen söndürücüler, singlet oksijenin aşırı enerjisini azaltmaya ve bu enerjiyi ısı olarak dağıtmaya yardımcı olan maddelerdir. Bu söndürücüler arasında β-karoten, likopen ve lutein gibi karotenoidler özellikle oksijen kısmi basıncı düşük olduğunda etkilidir (Reische ve ark., 2002).

2.5.3. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Gıda, beslenme ve takviyelerin analizi için yaygın kullanılan farklı antioksidan aktivite tayini yöntemleri bulunmaktadır. Bu yöntemler arasında serbest radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi, ferrik indirgeme aktivite gücü (FRAP) yöntemi ve 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonat)asit) (ABTS) yöntemi en çok kullanılanlar sırasındadır. Bunun dışında TRAP, siklik voltametri, süperoksit anyon radikali giderim, β-karoten renk açılım, CUPRAC, ferrisiyanür indirgeme gücü, luminol, diklorofloresin-diasetat, ve ORAC yöntemleri de kullanılmaktadır (Parcheta ve ark., 2021).

2.6. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler bitkilere pigmentasyon, büyüme, üreme ve patojenlere karşı direnç dahil olmak üzere çeşitli işlevler için gerekli olan sekonder metabolitlerdir. Bitkilerde bulunan en yaygın madde gruplarından biridir. Fenolik bileşiklerin yapısında bir ya da daha fazla sayıda hidroksil grubu taşıyan aromatik halka/halkalar bulunmaktadır. Bu bileşikler, fenol halkalarının miktarına ve bu halkaları birbirine bağlayan yapısal bileşenlere göre çeşitli gruplara ayrılmaktadırlar. Bu gruplar arasında fenolik asitler, flavonoidler, lignanlar ve stilbenler yer almaktadır (Oksana ve ark., 2012).

2.6.1. Fenolik Asitler

Fenolik asitler, bir benzen halkasına bağlı veya bu halka ile bağlantılı bir karboksil grubunun varlığı ile karakterize edilmektedir. Bu bileşikler yapılarına göre iki sınıfa ayrılmaktadırlar: benzoik asit türevleri (hidroksibenzoik asitler) ve sinnamik asit türevleri (hidroksisinnamik asitler). p-Hidroksibenzoik asit, gallik asit, salisilik asit, vanilik asit, gentisik asit hidroksibenzoik asitler grubuna dahildir. Kafeik asit, kumarik asit, sinapik asit ve ferulik asit ise hidroksisinnamik asitlere örnek gösterilebilmektedir. (Manach ve ark., 2004).

2.6.2. Flavonoidler

Flavonoidler, meyvelerde, özellikle meyvelerin kabuğunda ve çeşitli sebzelerde yaygın olarak bulunur. İki benzen halkasının bir oksijen içeren piren halkasıyla bağlandığı bir yapıya sahiptirler. Flavonoller, flavonlar, flavanonlar, flavanol, izoflavonoidler ve antosiyaninler olmak üzere altı farklı alt gruba ayrılmaktadır (Barreca ve ark., 2021).

2.6.3. Stilbenler

Bitkiler, patojen saldırılarına ve UV radyasyonuna karşı savunma tepkisi olarak stilbenleri üretmektedirler. En bilinen stilbenlerden biri resveratrol'dür (3,5,4'-trihidroksi-trans-stilben). Bu bileşik özellikle üzüm, keçiboynuzu, kırmızı şarap, yer fıstığı ve yabanmersini gibi yiyeceklerde bulunan polifenolik bileşik olarak bilinmektedir (Teka ve ark., 2022).

2.6.4. Lignanlar

Lignanlar, fenilpropan dimerlerini içermektediler. Bu dimerler, ilgili yan zincirlerinin merkezi atomları arasındaki C-C bağları ile birbirine bağlıdır. Temel lignanlar arasında larisiresinol, sekoizolarisiresinol, pinoresinol, siringaresinol ve medoresinol yer almaktadır (Eklund ve ark., 2005).

2.7. Antihipertansifler

Hipertansiyon, genellikle ilaç tedavisi gerektiren bir hastalıktır ve beyin, kalp, atardamarlar, böbrekler, gözler gibi çok önemli organlarımızı hedef almaktadır.

Hipertansiyonun kontrol altına alınması ve risklerin azaltılması için antihipertansif ilaçlar kullanılmaktadır. Antihipertansif ilaçların, yüksek tansiyon, inme, konjestif kalp hastalığı ve kalp yetmezliği gibi durumları önleyebileceğine dair somut kanıtlar sağlanmıştır. Antihipertansif ilaçlar anestezi ve yoğun bakım alanlarında da sıklıkla kullanılmaktadır. Bu ilaçlar hastalara esansiyel hipertansiyon, preeklampsi veya bazen feokromositoma gibi durumlarda ameliyat öncesinde, kardiyovasküler komplikasyonları azaltmak için ameliyat sonrasında, kontrollü düşük kan basıncını indüklemek için ameliyat sırasında uygulanmaktadır (Charlton, 2015; Türk Kardiyoloji Derneği, 2023).

Dünya genelinde birçok farklı antihipertansif ilaç bulunmaktadır. Tedavi yaklaşımı, hastanın özel durumuna ve ihtiyacına göre belirlenmektedir. Antihipertansif ilaçlar sınıfına anjiyotensin-I dönüşürücü enzim (ACE) inhibitörleri, diüretikler, α ve β adrenerjik reseptör blokerleri, kalsiyum kanal blokerleri dahildir. Bu blokerler kalp atış hızını düşürerek, kan damarlarını genişleterek, vücuttan fazla tuz ve su atılmasını sağlayarak kan basıncını düşürmeğe yardımcı olmaktadır (Türk Kardiyoloji Derneği, 2023).

Ulusal Sağlık ve Bakım Mükemmelliği Enstitüsü'ne göre, yüksek kan basıncı seviyeleri ile ilişkili ölüm riski gün geçtikçe artmaktadır. Hipertansiyonu etkili bir şekilde yönetmek için, hastalarda yüksek tansiyonun potansiyel nedenlerini belirlemek, hipertansiyondan kaynaklanan organ hasarını değerlendirmek ve diğer kardiyovasküler risk faktörleri değerlendirmek gerekmektedir (Charlton., 2015).

2.8. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı, tanı, tedavi veya önleme için onaylanmış herhangi bir yöntemin bulunmadığı en yaygın demans türlerinden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastalığın başlangıcı sinsicedir ve bilişsel fonksiyonun zaman içinde ilerleyen bir şekilde azalması ile karakterizedir. Belirgin semptomlar arasında hafıza bozukluğu, günlük aktivitelerde zorluklar, dilde bozulma, ilgisizlik ve halüsinasyonlar yer almaktadır. Sonuç olarak, bu hastalık dünya çapında önemli bir ekonomik yüke dönüşmüştür.

Alzheimer hastalığı, nedenlerinin, risk faktörlerinin ve tedavi seçeneklerinin anlaşılmasında önemli ilerlemeler esas olarak son otuz yılda meydana gelmiştir. Senil plaklar ve nörofibriler yumaklar (NFT'ler), Alzheimer hastalığı ile yakından ilişkili patolojik özelliklerdir. Bu ayırt edici lezyonlar son zamanlardaki terapötik stratejileri

önemli ölçüde etkilemiştir ve hastalıkla ilgili araştırmalarda ve tedavi geliştirmede kilit hedeflerdir (Panza ve ark., 2014; Sharma ve ark., 2020).

Şu anda, mevcut tek yaklaşım, öncelikle antikolinesterazlar ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistleri kategorisine giren anti-Alzheimer ilaçlarının uygulanması yoluyla semptomlardan kurtulmayı sağlamaktır. Bu ilaçlar, iki enzimin (asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BuChE)) modülasyonuna odaklanan kolinerjik hipotez temelinde çalışmaktadır. Katalitik üçlüsü bir serin proteaz olan AChE, nörotransmitter asetilkolinin (ACh) hidrolizinde rol oynarken, psödokolinesteraz olarak bilinen ve spesifik olmayan bir kolinesteraz olan BuChE, kolin bazlı esterleri hidrolize etmektedir (Panza ve ark., 2014; Sharma ve ark., 2020).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer

Bu yüksek lisans tezi çalışması, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında tamamlanmıştır.

3.2. Bitkisel Materyal ve Ekstrelerin Hazırlanması

S. subconica bitkisi Temmuz 2015'te B7, Elâzığ, Madene civar, yol kenarı, 1200 m, bölgesinden Prof. Dr. Abdulselam Ertaş ve Araş. Gör. Dr. Mehmet Fırat tarafından toplandı, Araş. Gör. Dr. Mehmet Fırat teşhis edildi (M.Fırat 32470).

Kök, dal, yaprak, çiçek ve tohum kısımları gölgede kurutuldu ve öğütüldü. Her bir bitki kısmı (10 g) ve herbirinden 2'şer g alınarak hazırlanan karışım 50 mL etanol ile masere edildi (3 x 24 saat). Çözücü rota evaporatör ile basınç altında uzaklaştırıldı. Ekstreler -30°C'de muhafaza edildi.

3.3. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

3.3.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

Etanol (C_2H_5OH), kersetin (QE), pirokatekol (CA) , 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), alfa-tokoferol (α-Toc), bütilhidroksitoluen (BHT), potasyum iyodür (KI), 5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB), potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), Sigma firması (ABD) tarafından tedarik edildi. Aseton, alüminyum nitrat ($Al(NO_3)_3.9H_2O$), potasyum asetat (CH_3COOK), Merck firması (Almanya) tarafından sağlandı. Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($NaH_2PO_4.2H_2O$), sodyum hidrojen fosfat dihidrat ($Na_2HPO_4.2H_2O$), borik asit (H_3BO_3), sodyum tetraborat dekahidrat ($Na_2B_4O_7.10H_2O$), sodyum klorür (NaCl), galantamin hidrobromür, anjiyotensin I-dönüştürücü enzim (ACE) (0,25 U), hippüril-histidil-lösin, lisinopril, asetilkolinesteraz (AChE) (498,3498 U) ve butirilkolinesteraz (BChE) (11,4 U) Sigma-Aldrich (ABD), asetiltiyokolin iyodür (AcI), FCR Applichem (Almanya), butiriltiyokolin iyodür (BuI) Fluka (İsviçre), sodyum karbonat (Na_2CO_3) ise Riedel-de-Haen firmasından satın alındı. Analitik saflıkta maddeler kullanıldı.

3.3.2. Çözeltiler

3.3.2.1. Toplam Fenolik ve Flavonoit İçeriği Tayininde Kullanılan Çözeltiler

Na_2CO_3 çözeltisinin (%2) hazırlanması için, 0,2 g Na_2CO_3, bir miktar ultra saf su ile çözüldü ve hacmi 10 mL'ye ultra saf su eklenerek tamamlandı.

Folin-Ciocalteu fenol reaktifi piyasadan temin edilerek doğrudan kullanıldı.

$Al(NO_3)_3$ çözeltisini (%10) elde etmek için, 1,76 g $Al(NO_3)_3.9H_2O$ bir miktar ultra saf su ile çözüldü ve hacmi 10 mL'ye ultra saf su eklenerek tamamlandı.

CH_3COOK çözeltisinin (1 M) hazırlanması için, 0,9815 g, CH_3COOK bir miktar ultra saf su ile çözüldü ve hacmi 10 mL'ye ultra saf su eklenerek tamamlandı.

3.3.2.2. Antioksidan Aktivite Tayini Yöntemlerinde Kullanılan Çözeltiler

DPPH çözeltisinin (0,1 mM) hazırlanması için, 4 mg DPPH etanolde 100 mL çözüldü.

ABTS çözeltisini (7 mM) elde etmek için, 19,2 mg ABTS, 5 mL ultra saf su ile çözüldü. Ardından, 3,3 mg $K_2S_2O_8$ilave edilerek karıştırıldı. Karışım karanlıkta ve oda sıcaklığında 12 saat bekletildi.

3.3.2.3. Ellman Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

Sodyum hidrojen fosfat dihidrat çözeltisinin (0,1 M) hazırlamak için, 8,89 g $Na_2HPO_4.2H_2O$ bir miktar ultra saf su içinde çözüldü ve hacmi ultra saf su ile 500 mL'ye tamamlandı.

Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat çözeltisinin (0,1 M) hazırlanması için, 1,56 g $Na_2HPO_4.2H_2O$ bir miktar ultra saf su ile çözüldü ve hacmi 100 mL'ye ultra saf su ile tamamlandı.

pH 8 Tampon çözeltisini (0,1 M) hazırlamak için, 0,1 M $NaH_2PO_4.2H_2O$ (5,3 mL) ve 0,1 M $Na_2HPO_4.2H_2O$ (94,7 mL) çözeltileri karıştırıldıktan sonra son hacim 100 mL'ye ultra saf su eklenerek tamamlandı.

pH 7 Tampon çözeltisi (0,1 M) elde etmek için, ,1 M $NaH_2PO_4.2H_2O$ (6,1 mL) ve 0,1 M $Na_2HPO_4.2H_2O$ (3,9 mL) çözeltileri karıştırıldıktan sonra son hacim 10 mL'ye ultra saf su eklenerek tamamlandı.

DTNB çözeltisinin (5 mM) hazırlanması için, 37,5 mg $NaHCO_3$ ve 80 mg DTNB ayrı ayrı 5 mL pH 7 tampon çözeltisinde çözüldü ve ardından bu iki çözelti karıştırıldı. Hazırlanan çözelti karışımından 2 mL alındı ve aynı tampon çözeltisi ile hacmi 4 mL'ye tamamlandı. Kullanılmadan önce, 4 mL pH 8 tampon çözeltisi ilave edildi.

AcI çözeltisini (7,1 mM) elde etmek için, 32,8 mg AcI 8 mL ultra saf su ile çözüldü. Kullanılmadan önce, 8 mL pH 8 tampon çözeltisi ilave edildi.

BuI çözeltisini (0,79 mM) hazırlamak için, 4 mg BuI 8 mL ultra saf su ile çözüldü. Kullanılmadan önce, 8 mL pH 8 tampon çözeltisi ilave edildi.

AChE çözeltisi için, 1,17 mg AchE (498,3498 U) 5 mL pH 8 tampon çözeltisinde çözüldü ve her biri 1 mL olan 5 kısma ayrıldı. Böylece her kısmın konsantrasyonu 99,66996 U/mL oldu. Hazırlanan her bir 1 mL'lik stok 8 eşit kısma (125 µL) ayrıldı (0,09966996 U/µL). Yüz yirmi beş mikrolitrelik enzim çözeltisine 460 µL pH 8 tampon çözeltisi ilave edilerek 0,021297 U/µL konsantrasyon sağlandı. Bu çözeltiden 585'er µL alındı, 25 µL'lik eppendorf tüplere dolduruldu ve her biri kullanılıncaya kadar -30°C'de bekletildi. Konsantrasyonun $2{,}476\text{x}10^{-4}$ U/µL olması için kullanılmadan önce çözelti hacimleri tampon çözeltisiyle (pH 8) 2125 µL'ye tamamlandı.

BuChE enzimi çözeltisi hazırlamak için 1 mg BuChE enzimi (11,4 U) 5 mL pH 8 tampon çözeltisinde çözüldü ve böylece konsantrasyonu 2,28 U/mL oldu. Bu çözeltiden 300'er µL'lik stoklar oluşturuldu ve çözeltiler kullanıncaya kadar -30°C'de bekletildi (0,00228 U/µL). Konsantrasyonun $3{,}1813\text{x}10^{-4}$ U/µL olması için kullanılmadan çözelti hacimleri tampon çözeltisiyle (pH 8) 1850 µL'ye tamamlandı.

3.3.2.4. Antihipertansif Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler

Borik asit-borat tampon çözeltisinin (0,3 M NaCl, pH 8,3) hazırlanması için 0,1269 g $Na_2B_4O_7.10H_2O$, 0,2380 g H_3BO_3 ve 0,8775 g NaCl tartıldı, bir miktar ultra saf su ile çözüldü ve hacmi 50 mL'ye ultra saf su ile tamamlandı.

ACE çözeltisinin hazırlanmasında 0,25 U enzim içeren flakon 5 mL NaCl-borat tampon çözeltisi ile çözüldü. Çözelti 1,0'er mL'lik kısımlara ayrıldı ve kullanıma kadar -30°C'de bekletildi.

Hippüril-histidil-lösin substrat çözeltisinin (5 mM) hazırlanmasında 0,0215 g madde tartıldı, bir miktar borik asit-borat tampon çözeltisi ile çözüldü ve hacmi borik asit-borat tampon çözeltisi ile 10 mL'ye tamamlandı.

3.3.2.5. Standart Çözeltiler

Kersetin çözeltisini (1000 µg/mL) hazırlamak için, 25 mg kersetin bir miktar etanol ile çözüldü ve hacmi 25 mL'ye etanol ile tamamlandı.

Pirokatekol çözeltisini (100 µg/mL) elde etmek için, 10 mg pirokatekol bir miktar ultra saf su ile çözüldü ve hacmi 100 mL'ye ultra saf su ile tamamlandı.

BHT çözeltisini (1000 µg/mL) hazırlamak için, 10 mg BHA bir miktar etanol ile çözüldü ve hacmi 10 mL'ye etanol ile tamamlandı.

α-Toc çözeltisini (1000 µg/mL) elde etmek için, 10,31 mg α-Toc (%97) bir miktar etanol ile çözüldü ve hacmi 10 mL'ye etanol ile tamamlandı.

Galantamin çözeltisini (4000 µg/mL) elde etmek için, 4 mg galantamin hidrobromür 1 mL etanolde çözüldü.

Lisinopril çözeltisini (500 µg/mL) hazırlamak için 5 mg lisinopril bir miktar etanol ile çözüldü ve hacmi 10 mL'ye etanol ile tamamlandı.

3.5. Cihazlar ve Diğer Gereçler

Cihaz/Gereç	**Marka-Model**
HPLC-UV	Shimadzu LC20A
Rota evaporatör	R-200 Büchi
Vacuum Controller	V-800 Büchi
Heating Bath	B-490 Büchi
Hassas terazi	OHAUS AX 224
Manyetik karıştırıcı	Heidolph MR 3001
pH-metre	Mettler Toledo S210-Kit
Elisa plate reader	BioTek Power Wave
Ultrasonik banyo	WiseClean
Ultra saf su cihazı	Elga Purelab
Otomatik pipetler	Eppendorf (0,5-10 µL, 2-20 µL, 20-200 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL)
Cam balon jojeler	ISO lab (10, 25, 50, 100, 500 mL)

3.6. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit İçerik Tayini

3.6.1. Toplam Fenolik İçerik Tayini

Toplam fenolik içerik tayini Slinkard ve Singleton (1977) tarafından geliştirilen yönteme göre gerçekleştirildi.

a) Standart madde ile çalışma

Pirokatekol çözeltisi, 100 µg/mL konsantrasyonunda hazırlandı. Bu çözeltiden farklı hacimlerde (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 µL) alındı ve ultra saf su eklenerek son hacim 184 µL olarak ayarlandı. Ardından, 4 µL FCR eklendi ve 3 dakika sonra 12 µL %2'lik Na_2CO_3 çözeltisi ilave edildi. Bu işlemlerin ardından elde edilen konsantrasyonlar sırasıyla 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4 µg/mL oldu. Çözeltiler, oda sıcaklığında 2 saat boyunca bekletildikten sonra 760 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Üç tekrarlı çalışıldı. Konsantrasyon değerlerine karşı absorbans değerleri grafiği çizildi. Elde edilen eğri denklemi şu şekildedir: $y = 0,0671x + 0,0354$, $R^2 = 0,9841$.

b) Ekstreler ile çalışma

Örnekler ile yapılan çalışmada, 1000 µg/mL konsantrasyona sahip olan ekstre çözeltisinden 4 µL alındı ve 180 µL ultra saf su eklendi. Daha sonra, 4 µL FCR eklendi ve 3 dakika sonra 12 µL %2'lik Na_2CO_3 çözeltisi ilave edildi. Bu aşamaların ardından çözeltiler, oda sıcaklığında 2 saat boyunca bekletildi ve absorbans değerleri 760 nm dalga boyunda ölçüldü. Üç tekrarlı çalışıldı. Toplam fenolik içerik, standart madde olan pirokatekolün analiz sonuçları ile çizilen grafiğin denklemi kullanılarak hesaplandı.

3.6.2. Toplam Flavonoid İçerik Tayini

a) Standart madde ile çalışma

Alüminyum nitrat yöntemi kullanılarak ve kersetine eşdeğer olarak toplam flavonoid içeriği belirlendi (Moreno ve ark., 2000). Bin mikrogram/mL konsantrasyonundaki kersetin çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden farklı hacimlerde (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 µL) alınarak, son hacim 192 µL olacak şekilde etil alkol (%80) ile tamamlandı. Potasyum asetat (1 M) çözeltisinden 4 µL ve ardından 1 dakika sonra alüminyum nitrat çözeltisinden (%10) 4 µL eklendi. Kırk dakika inkübasyonun ardından 415 nm dalga boyundaki absorbans değerleri ölçüldü. Üç tekrarlı çalışıldı. Konsantrasyon değerlerine karşı

absorbans değerleri grafiği çizildi. Denklem "y = 0,0369x + 0,0479" (R^2= 0,9952) şeklinde elde edildi.

b) Ekstreler ile çalışma

Bin mikrogram/mL konsantrasyonundaki ekstre çözeltisinden 20 µL alınarak son hacim 192 µL olacak şekilde etil alkol (%80) ile tamamlandı. Potasyum asetat (1 M) çözeltisinden 4 µL ve ardından 1 dakika sonra alüminyum nitrat çözeltisinden (%10) 4 µL eklendi. Kırk dakika inkübasyon sonrasında 415 nm dalga boyundaki absorbans değerleri ölçüldü. Üç tekrarlı çalışıldı. Toplam flavonoid içeriği, standart madde olan kersetinin analiz sonuçları ile çizilen grafiğin denklemi kullanılarak hesaplandı.

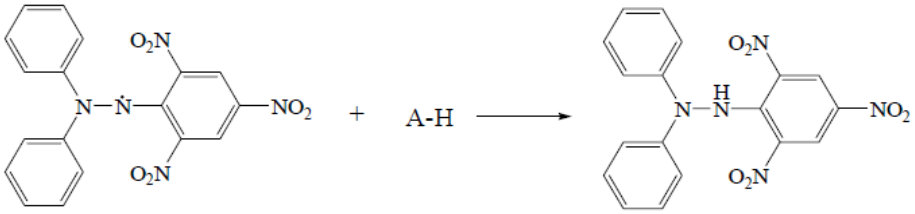
3.7. Antioksidan Aktivite Tayini Yöntemleri

S. subconica bitkisinden elde edilen ekstrelerin antioksidan aktiviteleri DPPH serbest radikali ve ABTS katyon radikali giderim yöntemleri kullanılarak belirlendi.

3.7.1. DPPH Serbest Radikali Giderim Yöntemi

Blois (1958) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak serbest radikal giderim aktiviteleri belirlendi. DPPH molekülünün antioksidan madde ile reaksiyonu Şekil 3-3'te verildi. Stok çözeltilerinden (1000 µg/mL), farklı hacimlerde (2, 5, 10, 20 µL) alınarak hacimleri etil alkol ile 40 µL'ye tamamlandı. Daha sonra bu çözeltilere DPPH çözeltisinden (0,1 mM) 160 µL eklendi. Elde edilen çözeltiler, karanlık bir ortamda 30 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildikten sonra 517 nm dalga boyundaki absorbansları ölçüldü. Yüzde inhibisyon değerleri, absorbans değerleri ve kontrol absorbans değerleri kullanılarak Eşitlik-1 ile hesaplandı Üç tekrarlı çalışıldı. Standart olarak BHA ve α-Toc kullanıldı. Sonuçlar IC_{50} olarak verildi.

$$\%\text{İnhibisyon} = (\text{Absorbans}_{\text{control}} - \text{Absorbans}_{\text{örnek}}) / \text{Absorbans}_{\text{control}} \times 100 \qquad \textbf{Eşitlik-1}$$

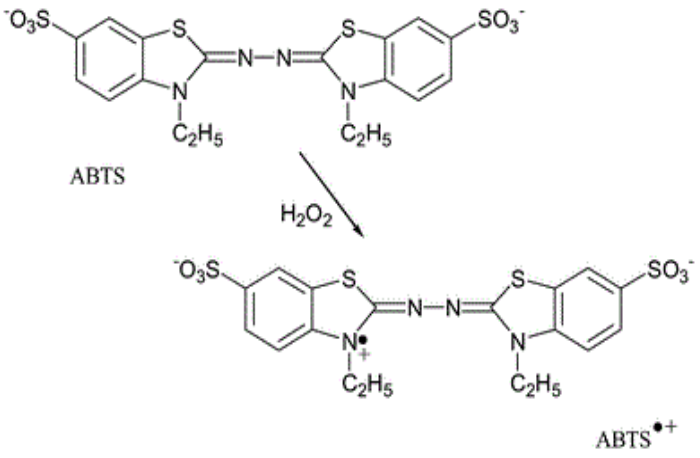


Şekil 3- 1: DPPH Molekülünün Antioksidan Madde ile Reaksiyonu

3.7.2. ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi

ABTS katyon radikali giderimi aktivitesinin belirlenmesinde, Re ve arkadaşları (1999) tarafından geliştirilen yöntem uygulandı. ABTS katyon radikali oluşum reaksiyonu Şekil 3-4'te verildi. Örnek çözeltileri (1000 µg/mL) farklı hacimlerde (2, 5, 10, 20 µL) alındı, hacimleri etil alkol ile 40 µL'ye tamamlandı. Ardından 160 µL 7 mM ABTS katyon radikali çözeltisi eklenerek karıştırıldı. Elde edilen çözeltiler 6 dakika boyunca karanlıkta bekletildi ve sonrasında absorbans değerleri 734 nm dalga boyunda ölçüldü. Yüzde inhibisyon değerleri, örnek absorbans değerleri ile kontrol absorbans değerleri kullanılarak Eşitlik-2 ile hesaplandı. Üç tekrarlı çalışıldı. Standart olarak BHA ve α-Toc kullanıldı. Sonuçlar IC_{50} olarak verildi.

$$\%\text{İnhibisyon} = (\text{Absorbans}_{\text{kontrol}} - \text{Absorbans}_{\text{örnek}}) / \text{Absorbans}_{\text{kontrol}} \times 100 \qquad \textbf{Eşitlik-2}$$



Şekil 3- 2: ABTS Katyon Radikali Oluşum Reaksiyonu

3.8. Ellman Yöntemi

Kolorimetrik bir yöntem Ellman yöntemi kullanılarak asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibisyonu aktivitleri tayin edildi (Ellman ve ark., 1961).

3.8.1. Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu Aktivitesi Tayini

Yüz otuz mikrolite pH 8 tampon çözeltisi, 10 µL 4000 µg/mL'lik örnek çözeltisi ve 20 µL AChE çözeltisi karıştırıldı. Bu karışım, 25°C'de 10 dakika boyunca bekletildikten sonra 20 µL AcI ve 20 µL DTNB reaktifi çözeltileri ilave edildi. Elde edilen çözeltilerin absorbansları 412 nm'de ölçüldü. Üç tekrar ile çalışıldı. İnhibisyon (%) değerleri, örneklerin absorbans değerleri ile kontrolün absorbans değerleri kullanılarak Eşitlik-3 yardımıyla hesaplandı. Standart madde olarak galantamin kullanıldı.

$$\%\text{İnhibisyon} = (\text{Absorbans}_{\text{kontrol}} - \text{Absorbans}_{\text{örnek}}) / \text{Absorbans}_{\text{kontrol}} \times 100 \qquad \textbf{Eşitlik-3}$$

3.8.2. Butirilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu Aktivitesi Tayini

Yüz otuz mikrolite pH 8 tampon çözeltisi, 10 µL 4000 µg/mL'lik örnek çözeltisi ve 20 µL BuChE çözeltisi karıştırıldı. Bu karışım, 25°C'de 10 dakika boyunca bekletildikten sonra 20 µL BuI ve 20 µL DTNB reaktifi çözeltileri ilave edildi. Elde edilen çözeltileriin absorbansları 412 nm'de ölçüldü. Üç tekrar ile çalışıldı. İnhibisyon (%) değerleri, örneklerin absorbans değerleri ile kontrolün absorbans değerleri kullanılarak Eşitlik-4 yardımıyla hesaplandı. Standart madde olarak galantamin kullanıldı.

$$\%\text{İnhibisyon} = (\text{Absorbans}_{\text{kontrol}} - \text{Absorbans}_{\text{örnek}}) / \text{Absorbans}_{\text{kontrol}} \times 100 \qquad \textbf{Eşitlik-4}$$

3.9. Antihipertansif aktivite tayini (Anjiyotensin I-dönüştürücü enzim inhibisyonunun ölçülmesi)

Anjiyotensin I-dönüştürücü enzim (ACE) hipertansiyon ile ilişkilendirilmiş bir enzimdir. Kandaki anjiyotensin I ACE tarafından anjiyotensin II'ye dönüştürülerek aktif hale getirilmektedir. Anjiyotensin II ise küçük atardamarların kasılmasına ve kan basıncının yükselmesine sebep olmaktadır. Ayrıca anjiyotensin II, böbrek-üstü bezlerinden aldosteron ve hipofiz bezinden antidiüretik hormonlarının salınımına neden olmaktadır. Bu iki hormonun salınımı ile sodyum ve su vücutta tutulmakta ve kan basıncı artmaktadır. Ekstrelerin antihipertansif aktivitelerinin belirlenmesi için Kwon ve ark. (2006)

tarafından geliştirilen yöntem modifiye edilerek kullanıladı. Hazırlanan ekstre çözeltilerinden çözeltilerinden 50'şer µL alındı ve 200 µL ACE çözeltisi ilave edilerek 25°C'de 10 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 100 µL 5,0 mM substrat (hippüril-histidil-lösin) eklendi ve çözeltiler 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Boş örnek, kontrol ve boş deneme çözeltileri ile de analiz yapıldı. Reaksiyon 150 µL metanol eklenerek sonlandırıldı ve oluşan hippurik asidin tayini UV dedektörlü HPLC ile 228 nm dalga boyunda gerçekleştirildi. Standart olarak lisinopril kullanıldı. Üç tekrarlı çalışıldı. İnhibisyon yüzdesi aşağıda verilen formül ile hesaplandı.

$$\%\text{İnhibisyon} = [\text{Alan}_{\text{kontrol}} - (\text{Alan}_{\text{örnek}} - \text{Alan}_{\text{boş örnek}})] / (\text{Alan}_{\text{kontrol}} - \text{Alan}_{\text{boş}}) \times 100$$

Alan: Pik alanı **Eşitlik-3**

3.10. LC-MS/MS Analizleri

Hazırlanan *S. subconica* ekstrelerinin LC-MS/MS ile kimyasal içerikleri Yılmaz (2020) tarafından geliştirilen ve valide edilen yöntem ile gerçekleştirildi.

4. BULGULAR

4.1. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid İçeriklerinin Tayini

Tablo 4-1'de, *S. subsconica* bitkisinden elde edilen ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid içerik tayini sonuçları verildi. Elde edilen verilere göre, yaprak ekstresinin hem fenolik hem de flavonoid bileşikler bakımından diğer ekstrelerden daha zengin olduğu belirlendi.

Tablo 4- 1: Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid İçerik Sonuçları[¥]

Ekstre	Toplam fenolik içeriği (*µ*g PEs/mg ekstre)[*]	Toplam flavonoid içeriği (*µ*g QEs/mg ekstre)[§]
Kök	13,11±0,11	3,46±0,01
Dal	17,34±0,14	6,89±0,04
Yaprak	31,74±0,65	21,44±0,56
Çiçek	20,81±0,17	9,69±0,23
Karışık	27,27±0,25	20,21±0,53
Tohum	23,30±0,49	21,17±0,34

[¥]Ortalama±standart sapma (n= 3)
[*]Pirokatekole eşdeğer fenolik içerik
[§]Kersetine eşdeğer flavonoid içerik

4.2. Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları

Tablo 4-2'de, *S. subsconica* bitkisinden elde edilen ekstrelerin antioksidan aktivite tayini sonuçları verildi. Elde edilen verilere göre, tohum ekstresinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi en yüksekken (IC_{50}= 122,0±1,0 µg/mL), onu karışık ekstre takip etmektedir. ABTS katyon radikali giderimi etkisi en yüksek olan örneğin karışık ekstre (IC_{50}= 58,1±0,4 µg/mL) ve tohum ekstresi (IC_{50}= 62,5±0,7 µg/mL) olduğu tespit edildi.

Tablo 4- 2: Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları[¥]

Ekstre	DPPH (IC_{50})	ABTS (IC_{50})
Kök	555,5±2,2	192,1±1,3
Dal	277,7±2,0	98,7±0,9
Yaprak	227,3±2,1	111,1±1,3
Çiçek	192,3±2,0	72,6±0,9
Karışık	178,6±1,3	58,1±0,4
Tohum	122,0±1,0	62,5±0,7
BHT[§]	49,2±1,0	15,0±0,7
α-Toc[§]	15,8±0,2	10,1±0,2

[¥] Ortalama IC_{50} değeri (µg/mL)±standart sapma (n= 3)
[§]Standart madde

4.3. Enzim İnhibisyonu Aktiviteleri

4.3.1. Asetilkolinesteraz ve Butirilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu Aktivitesi Tayini Sonuçları

Yapılan denemeler sonucunda hazırlanan *S. subconica* ekstrelerinden hiçbirinin asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz enzim inhibisyonu etkisinin olmadığı tespit edildi (Tablo 4-3).

4.3.2. Antihipertansif Aktivite Tayini Sonuçları

Yapılan denemeler sonucunda hazırlanan *S. subconica* ekstrelerinden sadece kök ve karışık ekstrelerinin ACE inhibisyonunu sağladığı belirlendi. Bu iki ekstrenin de standart madde olarak kullanılan lisinoprile yakın yüzdelerde enzim inhibisyonu gösterdiği tespit edildi (Tablo 4-3).

Tablo 4- 3: Enzim İnhibisyon Aktivitesi Sonuçları [¥]

Ekstre	AChE	BChE	ACE
Kök	AD*	AD	99,5±1,3
Dal	AD	AD	AD
Yaprak	AD	AD	AD
Çiçek	AD	AD	AD
Karışık	AD	AD	98,0±1,2
Tohum	AD	AD	AD
Galantamin§	87,1±1,1	77,5±1,0	-
Lisinopril§	-	-	99,8±1,1

¥ Ortalama %inhibisyon ±standart sapma (n= 3) (50 µg/mL)
***Aktif değil**
§Standart madde

4.4. LC-MS/MS Sonuçları

Hazırlanan *S. subconica* ekstrelerinin Tablo 4-4'te verilen kimyasal maddeler açısından kantitatif analizleri LC-MS/MS ile gerçekleştirildi. Elde edilen verilere göre tüm ekstrelerde kinik asit, protokateşik asit, salisilik asit ve akasetin tespit edildi. Kosmozin ve kersetin sadece çiçek ekstresinde sırasıyla 0,077 mg/g ve 0,094 mg/g olarak tayin edildi. p-Kumarik asit ve kaempferol kök ve dal ekstreleri dışındaki tüm ekstrelerde en yüksek konsantrasyon p-kumarik asit için çiçek ekstresinde (0,178 mg/g) ve kaempferol için karışık ekstrede (0,037 mg/g) olmak üzere, luteolin ve apigenin ise kök ektresi dışındaki tüm ekstrelerde en yüksek konsantrasyon çiçek ekstresinde olmak üzere (sırasıyla 0,485 mg/g ve 0,045 mg/g) tespit edildi. Türün kinik asit içeriğinin diğer analitlere göre daha yüksek olduğu belirlendi. Diğer analitler tayin limiti (LOQ) değerlerinin üstünde dedekte edilmedi.

Tablo 4- 4: LC-MS/MS Sonuçları [¥]

Analit	Ana İyon (m/z)[*]	MS^2 (Çarpışma Enerjisi)[§]	Ekstre					
			Tohum	Kök	Dal	Yaprak	Çiçek	Karışık
Kinik Asit	190,8	93,0	2,136	0,920	0,552	0,373	1,424	0,540
Fumarik asit	115,2	40,9	-[‡]	-	-	-	-	-
Akonitik Asit	172,8	129,0	-	-	-	-	-	-
Gallik asit	168,8	79,0	-	-	-	-	-	-
Epigallokateşin	304,8	219,0	-	-	-	-	-	-
Protokateşik asit	152,8	108,0	0,468	0,099	0,081	0,118	0,749	0,287
Kateşin	288,8	203,1	-	-	-	-	-	-
Gentisik Asit	152,8	109,0	-	-	-	-	-	-
Klorojenik Asit	353,0	85,0	-	-	-	-	-	-
Protokateşik Aldehit	137,2	92,0	-	-	-	-	-	-
Tanik Asit	182,8	78,0	-	-	-	-	-	-
Epigallokateşingalat	457,0	305,1	-	-	-	-	-	-
Sinarin	515,0	191,0	-	-	-	-	-	-
4-OH Benzoik Asit	137,2	65,0	-	-	-	-	-	-
Epikateşin	289,0	203,0	-	-	-	-	-	-
Vanilik asit	166,8	108,0	-	-	-	-	-	-
Kafeik asit	179,0	134,0	-	-	-	-	-	-
Sirinjik asit	196,8	166,9	-	-	-	-	-	-

Tablo 4-4 devam

Vanilin	153,1	125,0	-	-	-	-	-	-
Sirinjik Aldehit	181,0	151,1	-	-	-	-	-	-
Daidzein	417,1	199,0	-	-	-	-	-	-
Epikateşingalat	441,0	289,0	-	-	-	-	-	-
Piseid	391,0	135/106,9	-	-	-	-	-	-
p-Kumarik asit	163,0	93,0	0,070	-	-	0,071	0,178	0,070
Ferulik asit	192,8	149,0	-	-	-	-	-	-
Sinapik asit	222,8	193,0	-	-	-	-	-	-
Kumarin	146,9	103,1	-	-	0,007	-	-	-
Salisilik asit	137,2	65,0	0,137	0,003	0,013	0,035	0,693	0,121
Sinarozid	447,0	284,0	-	-	-	-	-	-
Mikuelianin	477,0	150,9	-	-	-	-	-	-
Rutin	608,9	301,0	-	-	-	-	-	-
İzokersetin	463,0	271,0	-	-	-	-	-	-
Hesperidin	611,2	449,0	-	-	-	-	-	-
o-Kumarik asit	162,8	93,0	-	-	-	-	-	-
Genistin	431,0	239,0	-	-	-	-	-	-
Rosmarinik asit	359,0	197,0	-	-	-	-	-	-
Elajik asit	301,0	284,0	-	-	-	-	-	-
Kosmozin	431,0	269,0	-	-	-	-	0,077	-

Tablo 4-4 devam

Kersitrin	447,0	301,0	-	-	-	-	-	-
Astragalin	447,0	255,0	-	-	-	-	-	-
Nikotiflorin	592,9	255,0/284,0	-	-	-	-	-	-
Fisetin	285,0	163,0	-	-	-	-	-	-
Daidzein	253,0	223,0	-	-	-	-	-	-
Kersetin	301,0	272,9	-	-	-	-	0,094	-
Naringenin	270,9	119,0	-	-	-	-	-	-
Hesperetin	301,0	136,0/286,0	-	-	-	-	-	-
Luteolin	284,8	151,0/175,0	0,209	-	0,020	0,240	0,253	0,485
Genistein	269,0	135,0	-	-	-	-	-	-
Kaempferol	285,0	239,0	0,005	-	-	0,015	0,011	0,037
Apigenin	268,8	151,0/149,0	0,019	-	0,002	0,014	0,044	0,045
Amentoflavon	537,0	417,0	-	-	-	-	-	-
Krisin	252,8	145,0/119,0	-	-	-	-	-	-
Akasetin	283,0	239,0	0,129	0,113	0,109	0,117	0,125	0,124

[¥] Sonuçlar mg madde/g ekstre olarak verildi.

[*] Ana iyon (m/z): Standart maddenin moleküler iyonu (kütle/yük oranı)

[§] MS^2 (Çarpışma Enerjisi): İlgili moleküler iyonlar için MRM (multiple reaction monitoring) fragmanları ve fragman iyonlar için çarpışma enerjileri

[‡] LOQ değerinin altında

5. TARTIŞMA

Dünya çapında yaklaşık yarım milyon bitki türünün bulunması ve çoğunun biyolojik aktivitelerinin henüz araştırılmamış olması sebebi ile tıbbi bitkiler umut verici bir geleceğe sahiptir. Son zamanlarda, bitki araştırmalarına olan ilgi tüm dünyada artmış ve çeşitli geleneksel sistemlerde kullanılan tıbbi bitkilerin önemli potansiyelini gösteren çok sayıda kanıt toplanmıştır.

Silene cinsinin biyoaktif bileşikler açısından değerli bir kaynak olduğu bilinmektedir. Cinsin fitokimyasal analizleri, fitoekdisteroidler, triterpen saponinler, terpenoidler, benzenoidler, flavonoidler, azotlu içeren, steroller, vitaminler ve diğer pek çok madde gibi farklı yapısal tiplere ait çeşitli bileşikler (>450 adet bileşik izole edilmiştir) bakımından zenginliğini göstermiştir. Bu yüksek lisans tezi kapsamında gerçekleştirilen literatür taraması sonucu *Silene* cinsinin farmasötik açıdan umut verici ve değerli türlerden oluşan geniş bir yelpazeye sahip olduğu anlaşılmaktadır. Bazı *Silene* türleri süs bitkisi olarak ve halk tıbbında iltihap, bronşit, soğuk algınlığı ve enfeksiyonları tedavi etmek için veya idrar söktürücü, ateş düşürücü, ağrı kesici, kusturucu vb. olarak kullanılmaktadır. Geleneksel kullanımların birçoğu bilimsel araştırmalarla doğrulanmıştır.

Bu yüksek lisans tezi kapsamında *S. subconica* türünün kök, dal, yaprak, çiçek, tohum kısımları ve tümünün karışımı ile hazırlanan etanol ekstrelerinin toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri, antioksidan aktiviteleri, antikolinesteraz ve antihipertansif etkileri incelendi. Aynı zamanda LC-MS/MS ile kimsayal içerik analizleri gerçekleştirildi.

Hazırlanan *S. subconica* ekstreleri içinde en yüksek toplam fenolik (31,7±0,6 µg PEs/mg ekstre) ve toplam flavonoid (21,4±0,6 µg QEs/mg ekstre) içeriklerinin yaprak ekstresine ait oldukları belirlendi.

Ekstrelerinin antioksidan özellikleri DPPH serbest radikali ve ABTS katyon radikali giderimi aktiviteleri ile tespit edildi. DPPH serbest radikaline karşı en etkili ekstre tohum ekstresi (IC_{50}= 122,0±1,0 µg/mL) olarak belirlendi. Karışık ekstrenin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi (IC_{50}= 58,1±0,4 µg/mL) diğer ekstrelerden yüksekti.

Hiçbir ekstre antikolinesteraz aktivite göstermediği tespit edildi. Antihipertansif aktivite tayini analizilerinde ise kök ekstresi (%99,5±1,3) ve karışık ekstrenin (%98,0±1,2)

standart madde olarak kullanılan lisinopril (%99,8±1,1) kadar %ACE inhibisyonu sağladığı belirlendi.

LC-MS/MS analizleri sonucunda kinik asit, protokateşik asit, salisilik asit ve akasetin bileşikleri hazırlanan tüm ekstrelerde dedekte edildi. Kosmozin ve kersetinin sadece çiçek ekstresinde, sırasıyla 0,077 mg/g ve 0,094 mg/g konsantrasyonlarda bulunduğu belirlendi. Türün içerdiği kinik asit miktarının incelenen diğer analitlere göre daha yüksek olduğu tespit edildi. En yüksek kinik asit içeriğine 2,136 mg/g konsantrasyon ile tohum ekstresinin sahip olduğu saptandı.

Sonuç olarak bu yüksek lisans tezi çalışması ile *S. subconica* türünün toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri, antioksidan, antikolinesteraz ve antihipertansif aktiviteleri ilk defa incelendi. Elde edilen yüksek antihipertansif değeri göz önüne alındığında kök ekstresinin sekonder metabolit izolasyonu, yapı tayini ve farmakolojik analizler gibi daha ileri çalışmalar ile incelenmesi sonucunda potansiyel ACE inhibitörlerinin elde edilebileceği saptandı.

KAYNAKLAR

Asude, S. (2011). Edirne Çevresinde Yetişen Bazi Silene L. Türleri Üzerinde Morfolojik, Anatomik Ve Karyolojik Araştirmalar. Trakya Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Trakya.

Bajpai, V. K., Shukla, S., & Kang, S. C. (2008). Chemical composition and antifungal activity of essential oil and various extract of Silene armeria L. *Bioresource technology*, *99*(18), 8903-8908.

Barreca, D., Trombetta, D., Smeriglio, A., Mandalari, G., Romeo, O., Felice, M. R., ... & Nabavi, S. M. (2021). Food flavonols: Nutraceuticals with complex health benefits and functionalities. Trends in Food Science & Technology, 117, 194-204.

Blois, M.S. (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, ***181***, 1199-1200.

Buzón-Durán, L., Sánchez-Hernández, E., Martín-Ramos, P., Navas-Gracia, L. M., García-González, M. C., Oliveira, R., & Martín-Gil, J. (2023). Silene uniflora extracts for strawberry postharvest protection. *Plants*, *12*(9), 1846.

Claude, E., Tower, M., Lafont, R., Wilson, I. D., & Plumb, R. S. (2020). High performance thin-layer chromatography of plant ecdysteroids coupled with desorption electrospray ionisation–ion mobility–time of flight high resolution mass spectrometry (HPTLC/DESI/IM/ToFMS). *Chromatographia*, *83*, 1029-1035.

Chandra, S., & Rawat, D. S. (2015). Medicinal plants of the family Caryophyllaceae: a review of ethno-medicinal uses and pharmacological properties. *Integrative Medicine Research*, *4*(3), 123-131.

Del Valle, J. C., Buide, M. L., Whittall, J. B., & Narbona, E. (2018). Phenotypic plasticity in light-induced flavonoids varies among tissues in Silene littorea (Caryophyllaceae). *Environmental and Experimental Botany*, *153*, 100-107.

Eklund, P. C., Långvik, O. K., Wärnå, J. P., Salmi, T. O., Willför, S. M., & Sjöholm, R. E. (2005). Chemical studies on antioxidant mechanisms and free radical scavenging properties of lignans. Organic & biomolecular chemistry, 3(18), 3336-3347.

Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V. ve Featherstone R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacol*ogy, *7*, 88-95.

Erturk, O.; Kati, H.; Yayli, N.; Demirbag, Z. Antimicrobial properties of Silene multifida (Adams) Rohrb. plant extract. Turk. J. Biol. 2006, 30, 17–21.

Filonenko, ES, Zibareva, LN, (2020). Assessment of the Effects of Silene roemeri and Silene sendtneri Ethanol Extracts on Human Monocytes/Macrophages, Russian Journal of Bioorganic Chemistry, Volume: 46, Issue: 3, Page: 334-341

Golea, L., Benkhaled, M., Lavaud, C., Long, C., & Haba, H. (2017). Phytochemical components and biological activities of Silene arenarioides Desf. Natural Product Research, 31(23), 2801-2805.

Halliwell, B., Aeschbach, R., Löliger, J., & Aruoma, O. I. (1995). The characterization of antioxidants. Food and Chemical Toxicology, 33(7), 601-617.

Hussein, I. A., Mohammad, A. E., & El-Hela, A. A. (2017). Chemical and biological characterize of some Silene species growing in Egypt. *World J Pharm Res*, *6*(14), 184-197.

Jakimiuk, K., Wink, M., & Tomczyk, M. (2022). Flavonoids of the Caryophyllaceae. *Phytochemistry Reviews*, *21*(1), 179-218.

Jürgens, A., Witt, T., & Gottsberger, G. (2002). Flower scent composition in night-flowering Silene species (Caryophyllaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, *30*(5), 383-397.

Karamian, R., & Ghasemlou, F. (2013). Screening of total phenol and flavonoid content, antioxidant and antibacterial activities of the methanolic extracts of three Silene species from Iran. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, *5*(3), 305.

Kew Gardens. (2023, Ocak 18). Plants of the World Online: Taxon - urn:lsid:ipni.org:names:158461-1. https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:158461-1

Ko, Y.-J.; Hsieh, W.-T.; Wu, Y.-W.; Lin, A.W.-C. Ameliorative effect of Silene aprica on liver

injuries induced by carbon tetrachloride and acetaminophen. Am. J. Chin. Med. 2002, 30, 235–243.

Kucukboyaci, N.; Ozcelik, B.; Adiguzel, N.; Goren, A. Fatty-acid compositions of Silene vulgaris and S. cserei subsp. aeoniopsis seeds and their antimicrobial activities. Chem. Nat. Compd. 2010, 46, 88–91.

Kwon, Y. I., Vattem, D. A., Shetty, K., 2006. "Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension", Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 15, 107-18.

Mamadalieva, N. Z. (2012). Phytoecdysteroids from Silene plants: distribution, diversity and biological (antitumour, antibacterial and antioxidant) activities. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 11(6), 474-497.

Mamadalieva, N. Z., Lafont, R., & Wink, M. (2014). Diversity of secondary metabolites in the genus Silene L.(Caryophyllaceae)—Structures, distribution, and biological properties. *Diversity*, *6*(3), 415-499.

Mamadalieva, N. Z., Böhmdorfer, S., Zengin, G., Bacher, M., Potthast, A., Akramov, D. K., ... & Rosenau, T. (2019). Phytochemical and biological activities of Silene viridiflora extractives. Development and validation of a HPTLC method for quantification of 20-hydroxyecdysone. *Industrial Crops and Products*, *129*, 542-548.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, *79*(5), 727-747.

Mohti, H., Taviano, M.F., Cacciola, F., Dugo, P., Mondello, L., Zaid, A., Cavò, E. and Miceli, N., 2020. Silene vulgaris subsp. macrocarpa leaves and roots from morocco: Assessment of the efficiency of different extraction techniques and solvents on their antioxidant capacity, brine shrimp toxicity and phenolic characterization. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, 154(5), pp.692-699.

Moreno M.I.N., Isla M.I., Sampietro A.R., Vattuone M.A. (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of Propolis from several regions of Argentina. Journal of Ethnopharmacology, 71, 109–114.

Munkhzhargal, N., Zibareva, L. N., Lafont, R., Pribytkova, L. N., & Pisareva, S. I. (2010). Investigation of ecdysteroid content and composition of Silene repens indigenous

in Mongolia and introduced into western Siberia. *Russian journal of bioorganic chemistry*, *36*, 923-928.

Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(7), 3380.

Oksana, S., Marian, B., Mahendra, R., & Bo, S. H. (2012). Plant phenolic compounds for food, pharmaceutical and cosmetics production. *Journal of Medicinal Plants Research*, *6*(13), 2526-2539.

Orhan, I.; Deliorman-Orhan, D.; Özcelik, B. Antiviral activity and cytotoxicity of the lipophilic

extracts of various edible plants and their fatty acids. Food Chem. 2009, 115, 701–705.

Panza, F., Logroscino, G., Imbimbo, B. P., & Solfrizzi, V. (2014). Is there still any hope for amyloid-based immunotherapy for Alzheimer's disease?. *Current opinion in psychiatry*, *27*(2), 128-137.

Parcheta, M., Świsłocka, R., Orzechowska, S., Akimowicz, M., Choińska, R., & Lewandowski, W. (2021). Recent developments in effective antioxidants: The structure and antioxidant properties. *Materials*, *14*(8), 1984.

Popov, S.V.; Popova, G.Y.; Ovodova, R.G.; Bushneva, O.A.; Ovodov, Y.S. Effects of

polysaccharides from Silene vulgaris on phagocytes. Int. J. Immunopharmacol. 1999, 21, 617–624.

Ramazonov, N., Yusupova, U., Egamova, F., & Syrov, V. (2020). Anti stress activity of phytoecdysteroids isolated from aerial part of Silene claviformis. Chemical Science International Journal, 29(7), 9-17.

Reische DW, Lillard DA, Eitenmiller RR. İçinde. Akoh CC, Min DB. editör. *Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, New York: Marcel Dekker Inc; 2002. pp. 489-516.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. ve Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS cation radical decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine,* ***26***, 1231-1237.

Salimi, F., Almasi, F., Mohammadipanah, F., & Abdalla, M. A. (2022). A comparative review of plant and microbial antioxidant secondary metabolites. *Appl Food Biotechnol*, *9*(2), 173-194.

Sarıoğlu, A. (2006). Samsun ve Çevresinde Yayılış Gösteren Bazı Silene L.Türleri Üzerinde Anatomik, Morfolojik ve Taksonomik Bir Araştırma. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Samsun.

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E. Tohumlu Bitkiler Sistematiği, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No:116, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, 2000)

Seo, C., Shin, H. S., Lee, J. E., Jung, Y. W., Kim, J. K., Kwon, J. G., ... & Hong, S. S. (2020). Isolation and structure elucidation of siliendines A–D, new β-carboline alkaloids from Silene seoulensis. *Phytochemistry Letters*, *36*, 58-62.

Sharma, S., Singh, N., Nepovimova, E., Korabecny, J., Kuca, K., Satnami, M. L., & Ghosh, K. K. (2020). Interaction of synthesized nitrogen enriched graphene quantum dots with novel anti-Alzheimer's drugs: spectroscopic insights. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, *38*(6), 1822-1837.

Slinkard K. ve Singleton V.L. (1977). Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, ***28***, 49-55.

Taskin, T., & Biti, L. (2013). Antioxidant activity of Silene alba subsp. divaricata and Stellaria media subsp. media from Caryophyl-laceae. Spatula DD-Peer Reviewed Journal on Complementary Medicine and Drug Discovery, 3(1), 1-5.

Teka, T., Zhang, L., Ge, X., Li, Y., Han, L., & Yan, X. (2022). Stilbenes: Source plants, chemistry, biosynthesis, pharmacology, application and problems related to their clinical Application-A comprehensive review. Phytochemistry, 197, 113128.

Tuttolomondo, T., Licata, M., Leto, C., Bonsangue, G., Gargano, M. L., Venturella, G., & La Bella, S. (2014). Popular uses of wild plant species for medicinal purposes in the Nebrodi Regional Park (North-Eastern Sicily, Italy). Journal of Ethnopharmacology, 157, 21-37.

Ullah, F., Ayaz, A., Saqib, S., Zaman, W., Butt, M. A., & Ullah, A. (2019). Silene conoidea L.: A Review on its Systematic, Ethnobotany and Phytochemical profile. Plant Science Today, 6(4), 373-382.

Van de Staaij, J. W. M., Ernst, W. H. O., Hakvoort, H. W. J., & Rozema, J. (1995). Ultraviolet-B (280–320 nm) absorbing pigments in the leaves of Silene vulgaris: their role in UV-B tolerance. *Journal of Plant Physiology*, *147*(1), 75-80.

Watson, L., Dallwitz, M.J., Caryophyllaceae. In: The Families of Flowering Plants, http://biodiversity.uno.edu/delta/angio/www/caryophy.htm,1991

Watson, L., Dallwitz, M.J., Caryophyllaceae. In: The Families of Flowering Plants, http://biodiversity.uno.edu/delta/angio/www/caryophy.htm,2000 www.tkd-online.org.UKSPUKSP_Bolum06.pdf. Web adresinden 15.10.2023 tarihinde edinilmiştir.

Yilmaz, M. A. (2020). Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: A detailed, robust and comprehensive LC–MS/MS method validation. Industrial Crops and Products, 149, 112347.

Zengin, G., Rodrigues, M. J., Abdallah, H. H., Custodio, L., Stefanucci, A., Aumeeruddy, M. Z., ... & Mahomoodally, M. F. (2018). Combination of phenolic profiles, pharmacological properties and in silico studies to provide new insights on Silene salsuginea from Turkey. Computational biology and chemistry, 77, 178-186.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI