

Urtica dioica L. Özütlelerinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi

Sevilay Çolak^{1*}, Nazan Çömlekciolu¹, Ashabil Aygan¹

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

*Corresponding author : sevilay190323@gmail.com
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0003-3366-1326>

Received : 04/05/2020
Accepted : 06/12/2020

Özet: *Urtica dioica* L. (ısırgan otu) bitkisi endüstride, kozmetikte ve tıp alanında yaygın kullanıma sahip olup uzun zamandır halk tarafından fitoterapötik uygulamalarda kullanılmaktadır. Ekonomik potansiyeli olmasına rağmen hala kültürü yapılmayıp yabani olarak tüketilmektedir. Bu çalışmada, farklı yöntemlerle elde edilen ısırgan özütlelerinin, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra özütlelerin yağ içeriği gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile analiz edilmiştir. GC-MS analizi sonucunda 12 farklı yağ asidi belirlenmiştir. Isırgan otu özütlelerinin başlıca yağ asidi bileşenlerini linoleik asit (%61.40), oleik asit (%14.66) ve palmitik asit (%10.42) oluşturmaktadır. Ultrasonik banyonun (USB), fermentasyon ve su ile kaynatma yöntemlerine nazaran özütlelerin biyoaktif içeriklerini ortaya çıkarmada daha etkili olduğu görülmüştür. USB ile elde edilen bitki özütlelerinin toplam fenolik madde değeri 13.26 mg g⁻¹, toplam flavonoid miktarı 3.07 mg g⁻¹, FRAP değeri 21.53 µg g⁻¹ ve DPPH değeri 6.20 mg g⁻¹ bulunmuştur. Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre, etanol özütü, suyla yapılan özütlere göre bakteriler üzerine daha iyi bir inhibisyon etki gösterirken özütlelerin hiçbiri *Candida albicans*'a karşı etkinlik göstermemiştir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite, biyoaktif bileşikler, yağ asidi, *Urtica dioica*

Investigation of antioxidant and antimicrobial activities of Urtica dioica L. plant extracts

Abstract: *Urtica dioica* L. (nettle) has been widely used in industry, cosmetics and medicine and has long been used by the public in phytotherapeutic applications. Despite its economic potential, it is still not cultivated but consumed as wild. In this study, total phenolic and flavonoid content, antioxidant and antimicrobial activities of nettle extracts obtained by different methods were investigated. In this study, antioxidant and antimicrobial activities of nettle extracts obtained by different methods and the oil content of the extracts was analyzed by GC-MS. As a result of GC-MS analysis, 12 different fatty acids were determined. The main fatty acid components of nettle extracts were linoleic acid (61.40%), oleic acid (14.66%) and palmitic acid (10.42%). Ultrasonic bath was found to be more effective in extracting bioactive contents of extracts than fermentation and water boiling methods. Total phenolic content of plant extracts obtained by USB method was 26.78 mg g⁻¹, total flavonoid amount was 3.07 mg g⁻¹, FRAP value was 21.53 µg g⁻¹ and DPPH value was 6.20 mg g⁻¹. According to antimicrobial activity results, ethanol extracts showed a better inhibition effect on bacteria than water extracts, but none of the extracts were found to be effective against *Candida albicans*.

Keywords: Antimicrobial activity, antioxidant activity, bioactive compounds, fatty acid, *Urtica dioica*

© EJBACS. All rights reserved.

1. Giriş

Türkiye'de doğal olarak yetişen 12.000'den fazla bitki taksonu olup bunların yaklaşık üçte biri endemik taksonlardan oluşmaktadır (Güner ve ark. 2012). Bitkileri doğrudan kullanmak yerine özütlelerini kullanmak daha güvenli, kolay ve etkilidir. Böylece bitkilerden, istenmeyen bileşenler uzaklaştırılarak, istenen bileşen saf ve daha çok miktarlarda elde edilebilir (Karakaş 2003; Mohammed ve ark. 2018; Pehlivan ve Sevindik 2018).

Biyoaktif bileşikler insan fizyolojisinde, esas olarak hastalıkların önlenmesinde etkin bir rol oynamaktadır. Bitkilerin tıbbi faydaları, antioksidan özelliklere sahip fenolik bileşiklerin yanı sıra uçucu yağlar, terpenoidler veya anti-enflamatuar özelliklere sahip saponinler gibi sekonder bileşiklere sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Sevindik ve ark. 2017; Hossen ve ark. 2019; Mohammed ve ark. 2019).

Urticaceae familyası, 12 cins ve Tropikal Asya, Afrika ve Güney Amerika merkezli çeşitli ve kozmopolit bir bitki alanı oluşturan 200 türü içermektedir (Huang ve ark. 2019). Urticaceae familyasındaki bitkilerin büyük bir kısmı, çok yıllık olup diğerleri ise tek yıllık gelişim göstermektedir. Genelde otsu habitusa sahip olmakla birlikte çalı formunda olanları da mevcuttur (Ayan ve ark. 2006). Isırgan otu (*U. dioica*), Urticaceae familyasına ait çok yıllık otsu bir bitkidir (Martínez-Aledo ve ark. 2020). Isırgan otu (*Urtica spp.*) her iki yarım kürenin tropik ve subtropik bölgelerinde yetişmektedir (Manganelli ve ark. 2005). Dünya çapında ılıman ve tropikal arazilerde yetişirken, ülkemizde açık orman alanlarda, nehir ve yol kenarlarında, terk edilmiş kullanılmayan alanlarda kendiliğinden yetişen bir bitkidir (Davis 1988; Krystofova ve ark. 2010). Anadolu'daki yöresel adları "dızlağan, çızlağan, cızgan, dalagan, cınçar, ağdalak, ısırgı ve ısırganotu"dur (Baytop 1999). Bünyesindeki çok yönlü kimyasal zenginliklerinden dolayı tüm bitki kısımları geçmişten günümüze halk hekimliği, gıda, boya, lif sanayi, gübre ve kozmetik amaçlarla kullanılmaktadır (Manganelli ve ark. 2005). Bu özellikleri ile ısırganotu hem bir tıbbi bitki hem de bir lif bitkisi olarak büyük bir potansiyele sahiptir (Ayan ve ark. 2006). Isırganlar, fitosteroller, saponinler, flavonoidler, tanenler, steroller, yağ asitleri (palmitik ve stearik), karotenoidler, klorofiller, proteinler, amino asitler ve vitaminler dahil üzere tıbbi öneme sahip farklı organik bileşik sınıfları içerir (Rita-Carvalho ve ark. 2017). Isırgan otunun yapısında bulunan kimyasal maddeler, ısırgan otunun antiseptik, bakterisid, kan dolaşımı ajanı, diüretik, hemostatik ve kas hareketi düzenleyici olarak kullanılmasını sağlamaktadır (Karakaş 2003). Çeşitli fitokimyasallar ve içerdikleri oranlar nedeniyle, ısırgan hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilere karşı belirgin bir aktivite gösterir (Kregiel ve ark. 2018). *U. dioica*, uzun süre tıbbi bir bitki olarak yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Geleneksel olarak kardiyovasküler bozuklukların, özellikle hipertansiyonun kontrolünde kullanılmış, yaprak özütünün vivo glikoz homeostazını iyileştirdiği bildirilmiştir (Dhouibi ve ark. 2019). Ancak sadece son zamanlarda anti-oksidan, antimikrobiyal, anti-ülser, analjezik ve anti-kanser özellikleri için incelenmiştir (Durak ve ark. 2004; Gul ve ark. 2012; Jinous ve ark. 2012; Nahata ve ark. 2012; Upton ve ark. 2013; Fattahi ve ark. 2013; Mohammadi ve ark. 2016). *U. dioica* kökü prostat hiperplazisinin bazı etkilerini önleyebilmektedir. (Dhouibi ve ark. 2019). Bitkinin özellikle köklerinde bulunan histamin diüretik olup prostat büyümesini önleyici özelliğindedir (Kondrad ve ark. 2000; Du ve ark. 2002). Isırgan yaprağı özleri, romatoid artrit için anti-enflamatuar ilaçlar olarak kullanılır. *U. dioica* özütü, meme kanseri hücrelerinin paklitaksele duyarlılığını önemli ölçüde arttırmıştır (Dhouibi ve ark. 2019). Birçok çalışma, *U. dioica*'nın anti-kanser özelliklerini göstermiştir. *U. dioica* özütlerinin anti-kanser kabiliyeti hakkındaki ana çalışmalar, meme kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanserlerin önlenmesi ve tedavisi için *U. dioica*'nın nutrasötik bir gıda olarak kullanılması için umut verici bir şans sağlamıştır. Bu nedenle, *U. dioica*, mevcut anti-kanser tedavilerinin yan etkilerini göstermeden

kanseri önlemek veya azaltmak için kanser tedavisinde biyoaktif bir besin olarak kullanabilmek mümkündür (Esposito ve ark. 2019).

Bu çalışmanın amacı, *U. dioica*'dan elde edilen özütlerin biyoaktif bileşen ve antioksidan aktivitesinin yanı sıra antimikrobiyal aktivitesini araştırmaktır. Ayrıca özütler GC-MS yardımıyla analiz edilerek, bitkinin yağ asidi profili incelenmiştir. Bu çalışma, *U. dioica* üzerinde, geleneksel yöntemlerle kapsamlı olarak yapılan ilk çalışmadır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Bitki Materyali

Bu çalışmada kullanılan *U. dioica* bitkisine ait örnek, 2019 yılının Nisan ayında Hatay İskenderun'da yetiştiği doğal alanlardan toplanmıştır. Toplanan toprak üstü kısımları, bekletilmeden laboratuvara getirilmiş ve taze olarak deneysel araştırmalarda kullanılmıştır.

2.2. Örnek Hazırlığı

U. dioica bitkisinin toprak üstü kısımları ince bir şekilde doğranarak özütlemeye için hazır hale getirilmiştir.

2.3. Özütleme Yöntemi (USB Yöntemi)

Bu çalışmada 3 farklı özütleme yöntemi uygulanmıştır. Isırganın halk tarafından kullanımı göz önüne alınarak ilk iki yöntem geleneksel olarak dizayn edilmiştir. Bu yöntemlerde su kullanılarak fermentasyon ve kaynatma ile özütleme yapılmıştır. Fermentasyon yönteminde, taze bitki duran bottle içerisine konulup, üzerine 100 °C de su eklendikten sonra ağzı sıkı bir şekilde kapatılarak 24 saat boyunca sıcak bir ortamda muhafaza edilmiştir. 24 saat sonra süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. İkinci özütleme yöntemi olan kaynatmada, 30 dakika boyunca bitki su ile kaynatılarak hazırlanmıştır. Miliauskas ve ark. (2004)'ın yöntemi modifiye edilerek yapılan üçüncü özütleme yönteminde çözücü olarak etanol kullanılmıştır. Taze bitki örneğinden 50 g tartılmış bir beherin üzerine 500 mL %80'lik etanol çözücüsünden eklendikten sonra, ultrasonik su banyosunda 1 saat sonike edilmiştir. Tüm yöntemlerde özütlemeyi takiben örnekler, 3500 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Özütlerdeki çözücünün fazlası vakumlu rotary evaporatör aracılığıyla uzaklaştırılmış ve elde edilen kuru özüt analize kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.4. Bitki Özütlerinin Yağ İçeriği ve Yağ Asidi Kompozisyonunun Belirlenmesi

Soksalet yöntemiyle elde edilen sabit yağ içerisindeki yağ asitlerinin analizi GC-MS ile Rivera-Rangel ve ark. (2018)'a göre yapılmıştır. GC-MS analizleri Shimadzu GC 2025 sistemi ile gerçekleştirilmiştir. TRCN-100 (60 m x 0.25 mm x 0.20 µm film thickness) SE-54 fused silika kapiler kolon kullanılmıştır. Elektron enerjisi 70 eV'tur. Enjeksiyon miktarı 1 µL' dir. Numunelerin analizi 80 °C'de 2 dakika bekletildikten sonra dakikada 5°C artırılıp 140 °C sıcaklığa ulaştıktan sonra, bu sıcaklıkta 2 dakika tutulmuştur. Bu işlemi takiben, dakikada 3°C'lık bir artışla 240 °C'da 5 dakika daha bekletilmiştir. Toplam analiz süresi 61 dakika olarak ayarlanmıştır. Enjeksiyonlar split modda (1:50) 240 °C ısıda gerçekleştirilmiştir ve dedektör

sıcaklığı 250 °C'dir. Helyum taşıyıcı gaz olarak kullanılıp ve akış hızı 30 mL/dk'ya ayarlanmıştır. Kullanılan gaz akışları H₂=40 mL/dk ve kuru hava=400 mL/dk olarak belirlenmiştir.

2.5. Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

2.5.1. Toplam fenolik içeriğin belirlenmesi

Örneklerin toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu Rekaktif (FCR) yöntemi kullanılarak Blainski ve ark. (2013)'ın prosedürü modifiye edilerek yapılmıştır. Standart olarak gallik asit (Sigma) kullanılmıştır. Hazırlanan solüsyonlar spektrofotometrede (Perkin-Elmer Lambda EZ 150, USA) 750 nm'de okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri gallik asit çözeltileri ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi yardımıyla mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru örnek ağırlığı cinsinden verilmiştir.

2.5.2. Toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi

Bitki özütlendeki toplam flavonoid içeriği Chang ve ark. (2002)'a göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Standart solüsyon farklı konsantrasyonlarda (25-200 µg/mL) yukarıdaki prosedüre göre hazırlanan quercetin (Sigma) ile hesaplanmıştır. Absorbans 415 nm'de spektrofotometrede okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri µg quercetin eşdeğeri/g kuru örnek ağırlığına dönüştürülmüştür.

2.5.3. DPPH metodu

Antioksidan kapasite (serbest radikallerin indirgenme kapasitesi) Brand-Williams ve ark. (1995) tarafından tanımlanan DPPH metodu modifiye edilerek belirlenmiştir. Her bitki özütünden seyreltilerek beş farklı konsantrasyonda solüsyon hazırlanmıştır. Sonuçlar, DPPH serbest radikallerinin %50'sini indirgemek için gereken konsantrasyon değeri olan IC₅₀ olarak gösterilmiştir. Tüm deneyler üç tekerrürlü olarak yapılmış ve askorbik asit pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

2.5.4. FRAP metodu

FRAP yöntemi Benzie ve Strain (1996)'a göre yapılmıştır. Bitki özütlendeki 50 µL, 2mL'lik ependorf tüplerine aktarılmış ve üzerine 600 µL FRAP ajanı eklenmiştir. Absorbans 593 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar askorbik asit (100-1000 µmol/L) kalibrasyon grafiği kullanılarak µmol askorbik asit eşdeğeri/g kuru bitki ağırlığı olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar µmol/g kuru bitki ağırlığı olarak verilmiştir.

2.6. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Elde edilen özütlendeki antimikrobiyal aktivite varlığı oyuk agar metodu kullanılarak belirlenmiştir. Test mikroorganizmaları olarak *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *MRSA* (Metsilin Dirençli *Staphylococcus aureus*), *Sarcina lutea* ATCC 9341NA, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* olmak üzere klinik izolatlar ve standart suşlar kullanılmıştır. Test mikroorganizmaları 24 saat önceden LB (Luria-Bertani) ve Sabouraud dextrose broth besiyerlerine ekilerek 0.5 McFarland standart turbiditesine karşılık gelen (1x10⁸ bakteri ve 0.5-3x10⁴ maya/mL) steril serum fizyolojik ile sulandırılmış kültürlerden 0.1 mL alınarak otoklavdan

sonra 50-55 °C'ye kadar soğutulan Müeller Hinton Agar ve Sabouraud Dextrose Agara aşılama yapıldıktan sonra petrilere dökülmüştür. Oda sıcaklığında katılaştıran petrilere 4 mm çapında aseptik kurallara uygun bir şekilde çukurcuklar açılmıştır. Bitki özütlendeki DMSO içerisinde çözülmüştür (16 mg/mL). Daha sonra hazırlanan özütlendeki bu çukurcuklara mikropipet yardımı ile 100 µL eklenmiştir. Bu şekilde hazırlanan petrilere 45 dakika kadar buzdolabında bekletildikten sonra, bakteri kültürleri 37 °C'de 24 saat, mantar aşılama petrilere ise 25 °C'de 2 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonları mm olarak ölçülmüştür. Ayrıca DMSO (50 µL) çözücü kontrolü olarak kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite gösteren bitki özütlendeki daha sonra farklı konsantrasyonlarda bitki özütü içeren Mueller Hinton Broth ve Sabouraud Dextrose Broth içerisinde MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyon) değerleri belirlenmiştir (Collins ve ark.1989). MİK değerleri, gözlemlenebilir büyümeyi/bulanıklığı önleyen tüplerdeki en düşük özüt konsantrasyonu olarak kaydedilmiştir.

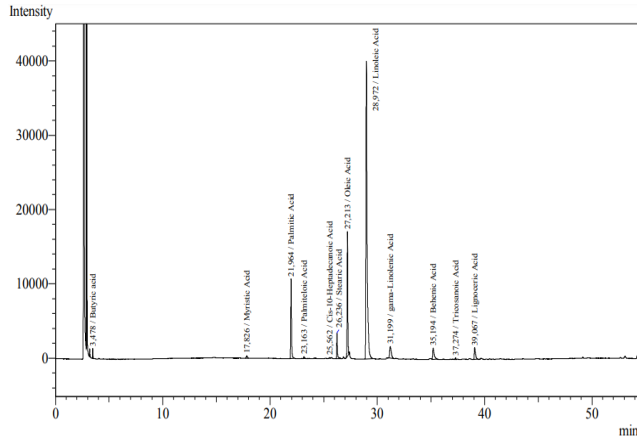
3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Yağ Asidi Kompozisyonuna Ait Sonuçlar

U. dioica bitkisine ait yağın sabit yağ asidi kompozisyonları GC-MS analizleri sonucunda ortaya çıkartılmıştır. GC-MS analizi sonucunda elde edilen yağ asidi kompozisyonuna ait veriler Tablo 1.'de ve GC-MS kromatogramları Şekil 1.'de verilmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre; soksaleit özütlemesi sonucunda bitki özütlendeki ham yağ miktarı %5.25 olarak elde edilmiştir. GC-MS analizi sonucunda 12 farklı yağ asidi belirlenmiş olup, %79.61'lik bir oranda doymamış yağ asitlerinden, %20.39'luk bir kısmının ise doymuş yağ asitlerinden oluştuğu belirlenmiştir. Tabloda 1.'de görüldüğü gibi *U. dioica* özütlendeki sabit yağın başlıca bileşenlerini linoleik (%61.40), oleik (%14.66) ve palmitik (%10.42) asitlerin oluşturduğu görülmektedir. Sonuçlar ayrıca *U. dioica* yağının doymamış yağ asitleri (%79.6) bakımından zengin olduğunu gösterirken, bu oranın çoğunluğunu çoklu doymamış yağ asitleri (%64.62) oluşturmaktadır. Bitkisel yağların yağ asidi bileşimi, yağın kullanımı hakkında daha fazla bilgi verir. Genellikle, yağ asidi bileşimi, bir yağın besleyiciliği veya teknik uygulamalarda kullanımları için belirleyicidir (Çömlekçioğlu ve ark. 2020). Isırgan otunun içerdiği bileşenlerden, bir omega-3 yağ asidi olan linolenik ve linoleik asitler gibi gerekli yağ asitleri potansiyel antikanserijen maddelerdir (Kelley ve ark. 2007; PCF 2007; Rochfort ve ark. 2008; Kan ve ark. 2009; Korkmaz 2010). Omega 3 (alfa-linoleik asit), omega 6 (linoleik asit) ve omega 9 (oleik asit)'dan oluşan omega yağ asitlerinin beyin gelişimi, bağışıklık sisteminin güçlenmesi, koroner kalp hastalıklarının önlenmesi gibi fonksiyonları bulunmaktadır (Eseceli ve ark. 2006). Yetersizliklerinde insanlarda ciltte kuruma gibi bazı deri hastalıkları, astım, artritis, büyümede gerileme, şeker ve kanserin bazı türlerinin yanında öğrenme eksikliği de görülmektedir (Lewis ve ark. 2000).

Tablo 1. *U. dioica* bitki özütlerinin yağ asidi kompozisyonları (%)

Karbon Sayısı	Yağ asidi	İçerik (%)	
1	C4:0	Butirik asit	0.58
2	C14:0	Miristik Asit	0.41
3	C16:0	Palmitik Asit	10.42
4	C18:0	Stearik Asit	3.56
5	C21:0	Behenik Asit	2.82
6	C23:0	Tricosanoic Asit	0.15
7	C24:0	Lignoserik Asit	2.45
Doymuş Yağ Asitleri Toplamı		20.39	
8	C16:1	Palmitoleik Asit	0.21
9	C17:1	cis-10-Heptadekanoik asit	0.12
10	C18:1	Oleik Asit	14.66
Tekli Doymamış Yağ Asitleri Toplamı		14.99	
11	C18:2	Linoleik Asit	61.40
12	C18:3	Gama-Linolenik Asit	3.22
Çoklu Doymamış Yağ Asitleri Toplamı		64.62	

**Şekil 1.** *U. dioica* özütlerinden elde edilen GC-MS kromatogramı

3.2. Toplam Fenol, Flavonoid İçerikleri ve Antioksidan Aktivitesine Ait Sonuçlar

Yüksek içerikli ve yüksek biyolojik aktiviteye sahip flavonoidlerin ve fenoliklerin özütlemesi ve ayrılması, ilaç, gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisi için çok önemlidir (Zhu ve ark. 2010). Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler, antioksidan özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmüştür ve biyolojik sistemlerle potansiyel olarak etkileşime girebilir ve antikanser, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal aktivitede önemli bir rol oynayabilirler (Wang ve ark. 2003; Abu-Reidah ve ark. 2013; Mohammed ve ark. 2020).

Analiz sonuçlarına göre etanol özütün fenol değeri 26.78 ± 0.14 mg GAE g^{-1} , su ile kaynatılmış özütün fenol değeri 16.47 ± 3.72 mg GAE g^{-1} , su ile fermentasyon özütünün fenol değeri ise 11.21 ± 0.93 mg GAE g^{-1} olarak bulunmuştur. Bitkinin flavonoid değeri etanol, su ile kaynatılmış ve su ile fermentasyon özütlerinde sırasıyla 3.07 ± 0.05 , 2.15 ± 0.18 , 1.84 ± 0.04 μg QE g^{-1} ; FRAP sonuçları ise yine sırasıyla 21.53 ± 1.13 , 10.29 ± 0.44 ve 8.55 ± 2.69 μg AAE g^{-1} olarak belirlenmiştir. Bitkinin DPPH sonuçlarına baktığımızda ise etanol özütünün 6.20 ± 0.41 mg g^{-1} su ile kaynatılmış özütünün 13.77 ± 0.89 mg g^{-1} ve son olarak su ile fermentasyon özütünün 10.02 ± 0.92 mg g^{-1} değerleriyle sonuçlanmıştır (Tablo 2). Yapılan analizlerin tümünde etanol çözücüsüyle elde edilen özütlerin çözücüsü su olan özütler nazaran daha yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür. Pourmorad ve ark. (2006), İran'ın kuzeyinden topladıkları bazı tıbbi bitkilerin antioksidan aktivitesi, fenol ve flavonoid içeriğini araştırmışlardır. *U. dioica*'ya ilişkin flavonoid miktarını 43.3 ± 0.37 mg/g, fenolik içeriğini 24.1 ± 1 mg/g, DPPH yöntemini kullanarak ölçülen antioksidan aktivitesi IC₅₀ değerini ise 1.45 mgml⁻¹ olarak bulmuşlardır. Koczka ve ark. (2015) ise, yaptıkları çalışma ile bitkinin toplam fenol içeriği ile antioksidan kapasitesini karşılaştırmışlardır. Bitkinin yaprak organından sulu ve etanolik özütler hazırlamışlar ve fenolik miktarlarını, sulu özütlerde 0.929 ile 2.385 mg GAE/L ve etanolik özütlerde 0.965 ile 1.992 mg GAE/L, antioksidan kapasite FRAP değerlerini, sulu özütlerde 3.980 ila 9.104 mM AA/L, etanolik özütlerde 1.987 ila 5.265 mM AA/L arasında değişmekte olduğunu bulmuşlardır. Yapmış oldukları bu çalışma ile toplam fenol içeriği ve antioksidan kapasitenin sulu özütlerde etanolik özütlerden önemli ölçüde daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Fakat bu çalışmada, etanolik özütün daha iyi sonuç verdiği görülmektedir. Yapılan bir diğer analizde; Kukrić ve ark. (2012), Banja Luka bölgesinden topladıkları *U. dioica*'nın toplam fenollerin, flavonoidlerin, flavonollerin yanı sıra enzimatik olmayan antioksidan aktivite ve antimikrobiyal aktivitenin içeriğini araştırmışlardır. *U. dioica*'nın yapraklarından elde ettikleri, çözücüsü etanol olan özütte ısırgan otu özütindeki toplam fenolik içerik 208.37 mg GAE/gdw, toplam flavonoidlerin içeriği 20.29 mg QE/gdw ve toplam flavonollerin içeriği 22.83 mg QE/gdw olarak bulmuşlardır. Bu değerler bu çalışmada elde edilen değerlerin üstündedir. Aynı zamanda, FRAP yöntemi ile saptanan antioksidan aktivite 7.50 mM Fe (II)/gdw iken, IC₅₀ değerleri ile DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak ölçülen antioksidan aktivite sırasıyla 31.38 ve 23.55 μg mL⁻¹ olarak bulmuşlardır. Bu çalışmaya kıyasla, ısırgan otunun antioksidan kapasitesini daha zayıf bulmuşlardır.

Tablo 2. *U. dioica* bitki özütlerinin fenol-flavonoid- FRAP ve DPPH içerikleri ile antioksidan aktivitesi

	Fenol (mg GAE g ⁻¹)	Flavonoid (µg QE g ⁻¹)	FRAP (µg AAE g ⁻¹)	IC ₅₀ Değeri (DPPH%) (mg ml ⁻¹)
USB	26.78 ± 0.14	3.07 ± 0.05	21.53 ± 1.13	6.20 ± 0.41
SK	16.47 ± 3.72	2.15 ± 0.18	10.29 ± 0.44	13.77 ± 0.89
SF	11.21 ± 0.93	1.84 ± 0.04	8.55 ± 2.69	10.02 ± 0.92

USB: Ultrasonik Su Banyosu Etanol özütü, SK: Su ile Kaynatılmış, SF: Su ile Fermentasyon

Antioksidan özellikler, serbest radikal temizleyicileri, indirgeyici ajanlar ve metal şelasyonu olarak işlev görebilen hidroksil gruplarından dolayı flavonoidlere atfedilir (Agati ve ark. 2012). Serbest radikal süpürücü aktivitenin, örneğin fenolik bileşiminden büyük ölçüde etkilendiği bildirilmiştir (Cheung ve ark. 2003). Bu çalışmadan elde edilen veriler değerlendirildiğinde, *U. dioica* özütlerinin antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirildiğinde kullanılan çözücünün ve metodun önemli farklılık oluşturduğu gözlemlenmiştir (Tablo 3.). Etanolik özütün, su özütlerine nazaran test mikroorganizmaları arasında daha yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir. Gram pozitif bakteriler arasında *E. faecium*'a karşı herhangi bir inhibisyon etki gözlenmezken, en yüksek antimikrobiyal etki Gram negatif organizma olan *E. coli*'ye karşı elde edilmiştir. Klinik izolat mayalardan *C. parapsilosis*'e karşı her üç

bitkinin sahip olduğu fenolik ve flavonoid içeriğinin, özütlerin antioksidan aktivitesinden sorumlu olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak *U. dioica*'nın su ve etanolik özütlerinin güçlü bir doğal antioksidan kaynağı olduğu söylenebilir.

3.3. Antimikrobiyal Aktiviteye ait Sonuçlar

özütün inhibisyon etkisi gözlenirken *C. albicans*'a karşı bir etki görülmemiştir.

Bu sonuçlara benzer olarak Kukrić ve ark. (2012) yapmış oldukları çalışmada, *U. dioica* yapraklarının etanol özütünün, *E. coli*'ye karşı zayıf bir antibakteriyel aktivite göstermiş olduğunu, özütün minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) 9.05 mg/mL olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada ise Hatay bölgesinden toplanan bitki örneklerinden etanolik özütlerin MİK değerlerinin daha düşük konsantrasyonda olduğu gözlenmiştir (Tablo 4).

Tablo 3. *U. dioica* bitki özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi

Organizma/ Organism	İnhibisyon Zonu (Etanol) (mm)	İnhibisyon Zonu (Su ile kaynatılmış) (mm)	İnhibisyon Zonu (Su ile fermentasyon) (mm)	CXM	Nystatine (NSY)
MRSA*	8	8	7	22	TE
<i>E. faecium</i> *	-	-	-	-	TE
<i>S. lutea</i> ATCC 9341NA	9	8	7	45	TE
<i>E. coli</i> ATCC 309628	15	15	15	18	TE
<i>E. faecalis</i> *	11	9	-	21	TE
<i>S. aureus</i> *	10	9	7	15	TE
<i>C. parapsilosis</i> *	12	13	10	TE	18
<i>C. albicans</i> *	-	-	-	TE	18

Cxm: Cefuroxime sodium (30µg)-Oxoid; Nys: Nystatine 100U; TE: Test edilmedi; *: Klinik izolat

Tablo 4. Tüp dilüsyon metodu ile *U. dioica* özütlerinin MİK değerleri (mg/mL)

Organizma/Organism	MİK (Etanol) (mg/mL)	MİK (Su ile kaynatılmış) (mg/mL)	MİK (Su ile fermentasyon) (mg/mL)
MRSA*	4	2	4
<i>E. faecium</i> *	2	-	2
<i>S. lutea</i> ATCC 9341NA	2	2	4
<i>E. coli</i> ATCC 309628	2	1	1
<i>E. faecalis</i> *	2	2	4
<i>S. aureus</i> *	4	4	4
<i>C. parapsilosis</i> *	4	2	8
<i>C. albicans</i> *	4	8	8

* : Klinik izolat

KAYNAKLAR

- Abu-Reidah IM, Arraez-Roman D, Segura-Carretero A, Fernandez-Gutierrez A. 2013. Extensive characterisation of bioactive phenolic constituents from globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. *Food Chem.* 141: 2269–2277
- Agati G, Azzarello E, Pollastri S, Tattini M. 2012. Flavonoids as antioxidants. In plants: location and functional significance. *Plant Sci.* 196: 67–76
- Ayan AK, Çalışkan Ö, Çırak C. 2006. Isırganotu (*Urtica* Spp.)'Nun Ekonomik Önemi Ve Tarımı. *Omü Zir. Fak. Dergisi.* 2006. 21(3): 357-363
- Baytop T. 1999. Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. Nobel Tıp Yayınevi. 2. Baskı. İstanbul
- Benzie IF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem.* 239(1): 70-76
- Blainski A, Lopes GC, De Mello JCP. 2013. Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules.* 18(6): 6852-6865
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset CLWT. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol.* 28(1): 25-30
- Chang, CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal.* 10(3): 178-182
- Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem.* 81: 249–255
- Collins CH, Lyne PM, Grange JM. 1989. Collins and Lyne's Microbiological Methods, Sixth Edition, Butterworths Co. Ltd. London.
- Comlekcioglu N, Kocabaş YZ, Aygan A. 2020. Kahramanmaraş'tan Toplanan *Prunus divaricata* subsp. *Divaricata* Ledeb. Meyvelerinin Biyokimyasal Özellikleri ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. *ANADOLU.* 30(1): 46-56, doi: 10.18615/anadolu.
- Davis PH. 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh, Edinburgh University Press.
- Dhouibi R, Affes H, Salem MB, Hammami S, Sahnoun Z, Zeghal KM, Ksouda K. 2019. Screening of pharmacological uses of *Urtica dioica* and others benefits. *Progress in biophysics and molecular biology.* 150: 67-77
- Du M, Ahn DU. 2002. Simultaneous Analysis of Tocopherols, Cholesterol and Phytosterols. Using Gas Chromatography, *J. Food Sci.* 67(5): 1696-1700
- Durak I, Biri H, Devrim E, Sozen S, Avci A. 2004. Aqueous extract of *Urtica dioica* makes significant inhibition on adenosine deaminase activity in prostate tissue from patients with prostate cancer. *Cancer Biol Ter.* 3: 855–857
- Đurović, S, Šorgić S, Popov S, Radojković M, Zeković Z. 2018. Isolation and GC Analysis of Fatty Acids: Study Case of Stinging Nettle Leaves. *Carboxylic Acid: Key Role in Life Science.* Badaea, GI, Radu, GL, Eds, 69-83
- Eseceli H, Değirmencioğlu A, Kahraman R. 2006. Omega Yağ Asitlerinin İnsan Sağlığı Yönünden Önemi. Türkiye 9. Gıda Kongresi. 24-26 Mayıs, Bolu. 403-406.
- Esposito S, Bianco A, Russo R, Di Maro A, Isernia C. 2019. Pedone P.V. Therapeutic Perspectives of Molecules from *Urtica dioica* Extracts for Cancer Treatment. *Molecules.* 24(15), 2753
- Fattahi S, Ardekani AM, Zabihi E, Abedian Z, Mostafazadeh A, Pourbagher R, Akhavan-Niaki H. 2013. Antioxidant and apoptotic effects of an aqueous extract of *Urtica dioica* on the MCF-7 human breast cancer cell line. *Asian Pac J Cancer Prev.* 14: 5317–5323
- Gul S, Demirci B, Baser KH, Akpulat HA, Aksu, P. 2012. Chemical composition and in vitro cytotoxic, genotoxic effects of essential oil from *Urtica dioica* L. *Bull Environ Contam Toxicol.* 88: 666–671
- Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT. 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul.
- Grauso L, Emrick S, Bonanomi G, Lanzotti V. 2019. Metabolomics of the alimurgic plants *Taraxacum officinale*, *Papaver rhoeas* and *Urtica dioica* by combined NMR and GC-MS analysis Phytochemical Analysis. 30: 535–546
- Hossen I, Hua W, Ting L, Mehmood A, Jingyi S, Duoxia X, Yanping C, Hongqing W, Zhipeng G, Kaiqi Z, Fang Y, Junsong X. 2019. Phytochemicals and inflammatory bowel disease: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* doi: 10.1080/10408398.2019.1570913.
- Huang X, Deng T, Moore MJ, Wang H, Li Z, Lin N, Yusupov Z, Tojibaev KS, Wang Y, Sun H. 2019. Tropical Asian Origin, boreotropical migration and long-distance dispersal in Nettles (*Urticeae*, *Urticaceae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 137: 190-199.
- Jinous A. 2012. Phytochemistry and pharmacologic properties of *Urtica dioica*. *J. Med. Plants Res.* 6: 5714–5719. doi:10.5897/JMPR12.540.
- Kan Y, Orhan İ, Koca U, Özcelik B, Aslan S, Kartal M, Küsmenoglu İ. 2009. Fatty Acid Profile And Antimicrobial Effect Of The Seed Oils Of *Urtica Dioica* And *U. Pilulifera*. *Turk J. Phrm. Sci.* 6(1): 21-30
- Karakaş S. 2003. Isırgan Otu Toprak Altı Ve Toprak Üstü Kısımlarından Isırgan Otu Ekstraktının Eldesi ve Özelliklerinin İncelenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi. (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Kelley NS, Hubbard NE, Erickson KL. 2007. Conjugated Linoleic Acid Isomers and Cancer. *The J Nutr.* 137: 2599-2607
- Koczka N, Petersz D, Stefanovits-Banyai E. 2012. Total Phenol Content And Antioxidant Capacity (Frap) of *Urtica dioica* L. Leaf Extracts, ISHS Acta Horticulturae 1099: II International Symposium On Horticulture İn Europe. doi:10.17660/ActaHortic.2015.1099.21
- Konrad L, Müller HH, Lenz C, Laubinger H, Aumuller G, Lichius JJ. 2000. Antiproliferative Effect on Human Prostate Cancer Cells by a Stinging Nettle Root (*Urtica dioica*) Extract, *Planta Medica.* 66(1): 44-47.
- Korkmaz F. 2010. Isırgan Otu (*Urtica Dioica*) Ekstresinin Kolon Kanseri Hücre Serileri Üzerindeki Apoptotik, Antiproliferatif Ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Ankara
- Kregiel D, Pawlikowska E, Antolak H. 2018. *Urtica spp.*: Ordinary Plants with Extraordinary Properties. *Molecules.* 23: 1664.
- Krystofova O, Adam V, Babula P, Zehnalek J, Beklova LH, Kizek R. 2010. Effects of various doses of selenite on stinging nettle (*Urtica dioica* L.). *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 7(10): 3804-3815
- Kukric ZZ, Topalic-Trivunovic LN, Kukavica BM, Matos SB, Pavicic SS, Boroja MM, Savic AV. 2012. Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). *Acta periodica technologica,* (43): 257-272

- Lewis NM, Seburg S, Flanagan NL. 2000. Enriched eggs as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids for humans. *Poult. Sci.* 79: 971-974.
- Manganelli REU, Zaccaro L, Tomei PE. 2005. Antiviral activity in vitro of *Urtica dioica* L., *Parietaria diffusa* M. et K. and *Sambucus nigra* L. *J. Ethnopharmacology*, 98: 323-327.
- Martinez-Aledo N, Navas-Carrillo D, Orenes-Pinero E. 2020. Medicinal plants: active compounds, properties and Antiproliferative effects in colorectal cancer. *Phytochemistry Reviews*. pp 1-15.
- Miliauskas G, Venskutonis PR, Van Beek TA. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 85(2): 231-237.
- Mohammed FS, Akgul H, Sevindik M, Khaled BMT. 2018. Phenolic content and biological activities of *Rhus coriaria* var. *zebaria*. *Fresenius Environmental Bulletin.* 27(8): 5694-5702.
- Mohammed FS, Sevindik M, Bal C, Akgül H, Selamoğlu Z. 2019. Biological Activities of *Adiantum capillus-veneris* Collected from Duhok Province (Iraq). *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series C Biology.* 28(2): 128-142.
- Mohammed FS, Şabik AE, Sevindik E, Pehlivan M, Sevindik M. 2020. Determination of Antioxidant and Oxidant Potentials of *Thymbra spicata* Collected from Duhok-Iraq. *TURJAF.* 8(5): 1171-1173.
- Mohammadi A, Mansoori B, Aghapour M, Baradaran PC, Shajari N, Davudian S, Salehi S, Baradaran B. 2016. The herbal medicine *Urtica dioica* inhibits proliferation of colorectal cancer cell line by inducing apoptosis and arrest at the G2/M phase. *J Gastrointest Canc.* 47(2): 187-195.
- Nahata A, Dixit VK. 2012. Ameliorative effects of stinging nettle (*Urtica dioica*) on testosterone-induced prostatic hyperplasia in rats. *Andrologia.* 44(Suppl 1): 396-409, doi:10.1111/j.1439-0272.2011.01197.x
- Pehlivan M, Sevindik M. 2018. Antioxidant and antimicrobial activities of *Salvia multicaulis*. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology.* 6(5): 628-631.
- Prostate Cancer Fund. 2007. *Treatment Of Prostate Cancer With Natural Therapeutics.* Edition 5, Jan. Washington.
- Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *Afr. J. Biotechnol* vol. 5(11), pp. 1142-1145.
- Rita-Carvalho A, Costa G, Figueirinha A, Liberal J, Prior JA, Lopes MC, Cruz MT, Batista MT. 2017. *Urtica spp.*: phenolic composition, safety, antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food Research International.* 99: 485-494
- Rivera-Rangel RD, Gonzalez-Munoz MP, Avila-Rodriguez M, Razo-Lazcano TA, Solans C. 2018. Green synthesis of silver nanoparticles in oil-in-water microemulsion and nano-emulsion using geranium leaf aqueous extract as a reducing agent. *Colloids Surf A* 536: 60-67
- Rochfort S, Parker AJ, Dunshea FR. 2008. Plant bioactives for ruminant health and productivity. *Phytochemistry.* 69: 299-322
- Upton R. 2013. Stinging nettles leaf (*Urtica dioica* L.): Extraordinary vegetable medicine. *J Herb Med.* 3: 9-38, doi:10.1016/j.hermed.2012.11.001.
- Wang M, Simon JE, Aviles IF, He K, Zheng QY, Tadmor Y. 2003. Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus* L.). *J Agric Food Chem.* 51: 601-608