



Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/yyufbed>



Araştırma Makalesi

Kedikulağı (*Ophrys sphegodes* subsp. *mammosa*, Orchidaceae) Yumrularındaki Fenollerin Tespiti

Mehmet AYBEKE

Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Balkan Yerleşkesi, 22100, Merkez, Edirne, Türkiye

ORCID No: 0000-0001-9512-5313

Sorumlu yazar e-posta: mehmetaybeke@trakya.edu.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 05.01.2023
Kabul: 27.04.2023
Online Aralık 2023

DOI:10.53433/yyufbed.1230023

Anahtar Kelimeler

Fenol,
Ophrys
Orkide,
Yumru

Öz: Fenolik bileşiklerin birçok antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar, antioksidan, antitümör, kardiyoprotektif, nöroprotektif ve antidiyabetik aktiviteleri vardır. Orkidelerde fenoliklerle ilgili bilgiler çok azdır ve orkide yumruları önemli droglardan biridir. Bu nedenle çalışmada; hazır materyal olarak elimizde bulunan Orchidaceae familyasından *Ophrys sphegodes* Mill. subsp. *mammosa* (Desf.) Soó ex E. Nelson (Kedikulağı) taksonuna ait yumrulara fenolik bileşiklerin tespiti amaçlanmıştır. Bunun için çiçeklenme aşamasında bitkilerden yumrular alınmış, bu yumrular LC-MS/MS ile fenolik bileşik analizi yapılmıştır. Yumru örneklerinde 27 değişik fenol taranmış ve 12 fenole rastlanmıştır. Yapılan analiz sonucunda *O. sphegodes* subsp. *mammosa* yumrularında Gallik Asit, Protokatekuik Asit, 2,5-Dihidroksibenzoik Asit, Klorojenik Asit, *P*-kumarik asit, Rutin, Trans Ferrulik Asit, Propil Gallate, Kersetin, Lutolein, Kamferol, Izorammetin tespit edilmiştir. En fazla fenol 901.6510 ng/gr ile Kamferol olurken, en az fenol ise 1,0168 ng/gr ile Propil Gallat'dır. Nicelik olarak ikinci sırada en fazla olan fenol 392.7265 ng/gr ile *P*-kumarik asit, üçüncü sırada 375.0809 ng/gr ile Trans Ferrulik Asit, dördüncü sırada 69.4946 ng/gr ile Rutin'dir. Diğer kalan fenollerin miktarları 20 ng/gr'ın altındadır. Sonuçlar, yakın ve uzak taksonlarla yapılan güncel çalışmalarla karşılaştırılmış ve incelenen taksonun olası güçlü antioksidan ve antibakteriyel etkileri ile ilaç endüstrisi ve sürdürülebilir orkide tarımsal üretim için iyi bir potansiyele sahip olduğu vurgulanmıştır.

Detection of Phenols in Tubers of *Ophrys sphegodes* subsp. *mammosa* (Orchidaceae)

Article Info

Received: 05.01.2023
Accepted: 27.04.2023
Online December 2023

DOI:10.53433/yyufbed.1230023

Keywords

Ophrys,
Orchid,
Phenol,
Tuber

Abstract: Phenolic compounds have many antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, antitumor, cardioprotective, neuroprotective and antidiabetic activities. There is very little information about phenolics in orchids and orchid tubers are one of the important drugs. Therefore, in the study; It was aimed to detect phenolic compounds in tubers of *Ophrys sphegodes* Mill. subsp. *mammosa* (Desf.) Soó ex E. Nelson (Kitten ear) from the Orchidaceae family, which we have as ready-made material. For this, tubers were taken from the plants at the flowering stage, and phenolic compounds were analyzed by LC-MS/MS from these tubers. 27 different phenols were screened in tuber samples and 12 phenols were found. As a result of the analysis, *O. sphegodes* subsp. *mammosa* Gallic Acid, Protocatechuic Acid, 2,5-Dihydroxybenzoic Acid, Chlorogenic Acid, *P*-coumaric acid, Rutin, Trans Ferulic Acid, Propyl Gallate, Quercetin, Luteolin, Kaempferol, Isorammetin were detected in tubers. The highest phenol is Kampferol with 901.6510 ng/gr, while the least phenol is Propyl Gallate with 1.0168 ng/gr. *P*-coumaric acid with 392.7265 ng/gr is the second highest in

quantity, Trans Ferrulic Acid is at the third place with 375.0809 ng/gr, and Rutin is at the fourth place with 69.4946 ng/gr. The amounts of other remaining phenols are below 20 ng/gr. The results were compared with the most recent similar studies with close and distant taxa, and it was emphasized that the examined taxon has a good potential for the pharmaceutical industry and sustainable orchid agricultural production with its possible strong antioxidant and antibacterial effects.

1. Giriş

Orchidaceae familyası, karasal veya ağaçlar üzerinde epifitler olmak üzere ototrof, saprofitik veya parazitik çok değişik yelpazede bitki formlarını içermektedir (Leake, 2005). Bitkilerin en büyük ailesi olarak kabul edilen Orchidaceae, 25.000–35.000 türlerden oluşur (Attri ve ark., 2020). Türkiye’de orkidelerin büyük bir bölümünü, Orchidoideae subfamilyası Orchideae tribusuna ait karasal orkideler oluşturmaktadır. Türkiye’de Orchidaceae familyası 24 cins ve toplamda 229 taksonla temsil edilmekte olup, bu sayı her geçen gün yeni orkidelerin keşfi ile gittikçe artmaktadır (Güner ve ark., 2012). Güncel verilere göre Türkiye Orchidaceae üyeleri içerisinde takson sayısı bakımından en geniş cinslerden birisi olan *Ophrys* L. (Arısalebi) ülkemizde Sezik’e (2012) göre 77 tür ile, Güner ve ark. (2012)’na göre 109 takson ile temsil edilmektedir. Bu dikkate değer güzellikte bitkiler, çiçek varyasyonları ve değişik tozlaşma yöntemleri ile birçok araştırmacının ilgi odağı olmuştur (Cozzolino & Widmer, 2005).

Fenoller, çeşitli faydalı biyoaktivitelere sahip en az 10.000 farklı bileşiğe sahip en bol molekül gruplarından biridir (Rasouli ve ark., 2017). Bitkilerde polifenoller, diğer biyotik ve abiyotik faktörlerin yanı sıra UV radyasyonu, patojenler ve oksidatif strese karşı koruma sağlar (Di Ferdinando ve ark., 2014). İnsan vücudunda polifenoller antioksidan görevi görür ve antidiyabetik, antikanser, antiinflamatuvar, nöroprotektif, hepatoprotektif, antifungal, antibakteriyel ve antiaging gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahiptir (Ganesan & Xu, 2017; Gutiérrez-Sánchez ve ark., 2020).

Günümüzde tıbbi bitkiler, birçok insan ve hayvan hastalığının tedavisinde büyük ölçüde kullanılmaktadır (Sharifi-Rad ve ark., 2015). Orkidelerle ilgili çok çeşitli biyoaktif fitokimyasal ve tıbbi özellik tanımlanmıştır. Bu nedenle, özellikle Hindistan’da orkideler, Ayurveda, Siddha ve Unani gibi geleneksel ilaçlarda çeşitli terapötik kullanımlar için reçete edilmektedir. Örneğin; *Acampe praemorsa* (Roxb.) Hook.f, epifitik bir orkide olup, romatizma tedavisinde kullanılır. *Habenaria* Willd.’nın birçok taksonunda yumrular, bilinç kaybını tedavi etmek için ve vermisit ve kan temizleyici olarak kullanılmaktadır. *Bauhinia variegata* L., yoğun fenolik bileşikler nedeniyle çok çeşitli şikayetleri tedavi etmek için geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. *Satyrium nepalense* D. Don, 2000-2400m rakımlı Uttarkand’ın (Hindistan) yerel sakinleri tarafından enerji verici bir tonik olarak ve farklı ateş türlerini tedavi etmek için önemli bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Bu bitkinin yumrularının, köklerinin ve gövdelerinin kaynatılması, eski zamanlardan beri temel olarak ishal, dizanteri, ateş, sıtma gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde ve besin takviyesi olarak kullanılmaktadır (Babbar & Singh, 2016; Mishra ve ark., 2018).

Çin’deki *Dendrobium* türlerinin taze veya kuru sapları, binlerce yıldır kronik atrofik gastrit, cilt yaşlanması, ateş, kanser ve kardiyovasküler hastalık gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde hem geleneksel Çin ilaçları hem de halk ilaçları olarak kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 1994).

Orkidelerin bitkisel tıpta kullanımı çok uzun bir geçmişe sahiptir (Bulpitt ve ark., 2007). Orkideler çağlardan beri ağrılar, iltihaplar ve bulaşıcı hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır (Hossain, 2011). Orkidelerin tıbbi ilaçlar olarak kullanımı hakkında şimdiye kadar çok sayıda makale yayınlanmıştır. Örnek olarak, *Bletilla striata* (Thunb.) Rehb.f. tüberküloz, ülser, kanama ve yaraları tedavi etmek için kullanılır. Çin, Moğolistan ve Japonya’daki diğer kullanımlar, anksiyete, solunum bozuklukları, cilt bozuklukları, meme kanseri ve kan temizleyici tedavisi ile ilgilidir. Yumrular ayrıca mide-bağırsak bozuklukları, ateş, şarbon, sıtma ve saçkıran tedavisinde de kullanılmıştır. Güney Afrika’da, bulaşıcı hastalıkların (Louw ve ark., 2002) ve kısırlığın (Steenkamp, 2003) tedavisi için bazı orkideler kullanılmaktadır. Hindistan’da, çoğunlukla yara iyileştirici ajanlar olarak kullanılırlar (Kumar ve ark., 2007). Himalaya’da orkide yumruları böbrek ve idrar rahatsızlıklarını tedavi etmek için kullanılır (Ballabh ve ark., 2008; Sut ve ark., 2017).

Dalar ve ark. (2015), ilaç endüstrisi tarafından kullanılan *Dactylorhiza chuhensis* Renz & Taub. yumrusun da en düşük toplam fenolik içeriğine ve düşük antioksidan özelliğine atıfta bulunmuştur. Bu

çalışmada bitkinin yumrusunda Gallik asid, klorogenik asit ve Rutin bileşenleri tespit edilmiştir. Farklı bir çalışmada (Gutiérrez-Sánchez ve ark., 2020) ise *Rhynchosstele rossii* (Lindl.) Soto Arenas & Salazar türü bir orkidenin köklerinde kumarin (skopoletin), sinnamik asid (koumarik asit, ferulik asit ve trans-sinamik asit), benzoik asid (vanillik asit, vanillin ve 4-hidroksibenzoik asit) tespit edilmiştir. Yine Himalayalarda yetişen bir yüksek rakımlı *Satyrium nepalense* türünün yumrularında gallik asit ve quersetin fenolleri bulunmuş ve ayrıca çalışmada bu fenollere bağlı olarak antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri test edilmiştir (Mishra ve ark., 2018). Başka bir çalışmada, *Dendrobium aphyllum* gövdelerinden 5 yeni fenol türeği (fenantren, afillon A (1) ve dört yeni bibenzil türeği, afillon B (2) ve afillon C–D) tespit edilmiştir (Dan ve ark., 2015). Anadolu'dan toplanan *Dactylorhiza romana* (Sebast.) Soó subsp. *georgica* (Klinge) Soó ex Renz & Taubenheim yumrularında kimyasal içerik ve biyolojik aktivitesi araştırılmış ve en fazla benzoik asit olmak üzere 9 farklı fenol tespit edilmiştir (Kotiloğlu ve ark., 2020).

Orkide yumrularından salep adı verilen içecek, Türkiye, Orta Doğu ülkeleri ve Güneydoğu Avrupa'da sevilerek tüketilen bir içecektir. Salebin en önemli bileşeni glukomannan olup, bileşiminin %16-55'ini oluşturmaktadır (Sezik, 1984). Yukarıda geniş yelpazede verilen fitokimyasal ve fitoterapi ağırlıklı çalışmalara rağmen yumrularında en önemli sekonder metabolitlerden biri olan fenollerin karasal orkide yumrularında yeterince çalışılmadığı literatür taraması sırasında dikkat çekmiştir. Çünkü orkide yumrusu, ekonomik ve tıbbi ilaç olarak oldukça önemlidir (T. C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü, 2014) ve Türkiye'de son yıllarda bu yönü itibarıyla tarla tarımında *Orchis italica* Poiret ve *Serapias vomeracea* Briq *Barlia robertiana* (Loisel.) Greuter gibi taksonların yetiştirilmeye başlanmıştır (Oğuz ve ark., 2005). Dolayısıyla çalışmanın amacı orkide yumrularındaki fenollerin nitelik ve nicelik olarak tespit edilmesidir. Bunun için çalışmada yaygın bir takson olan ve yeterince fenolik bileşikler araştırılmayan *Ophrys sphegodes* Mill. subsp. *mammosa* (Kedikulağı) seçilmiş ve yumrularında fenolik bileşiklerin incelenmesi amaçlanmıştır.

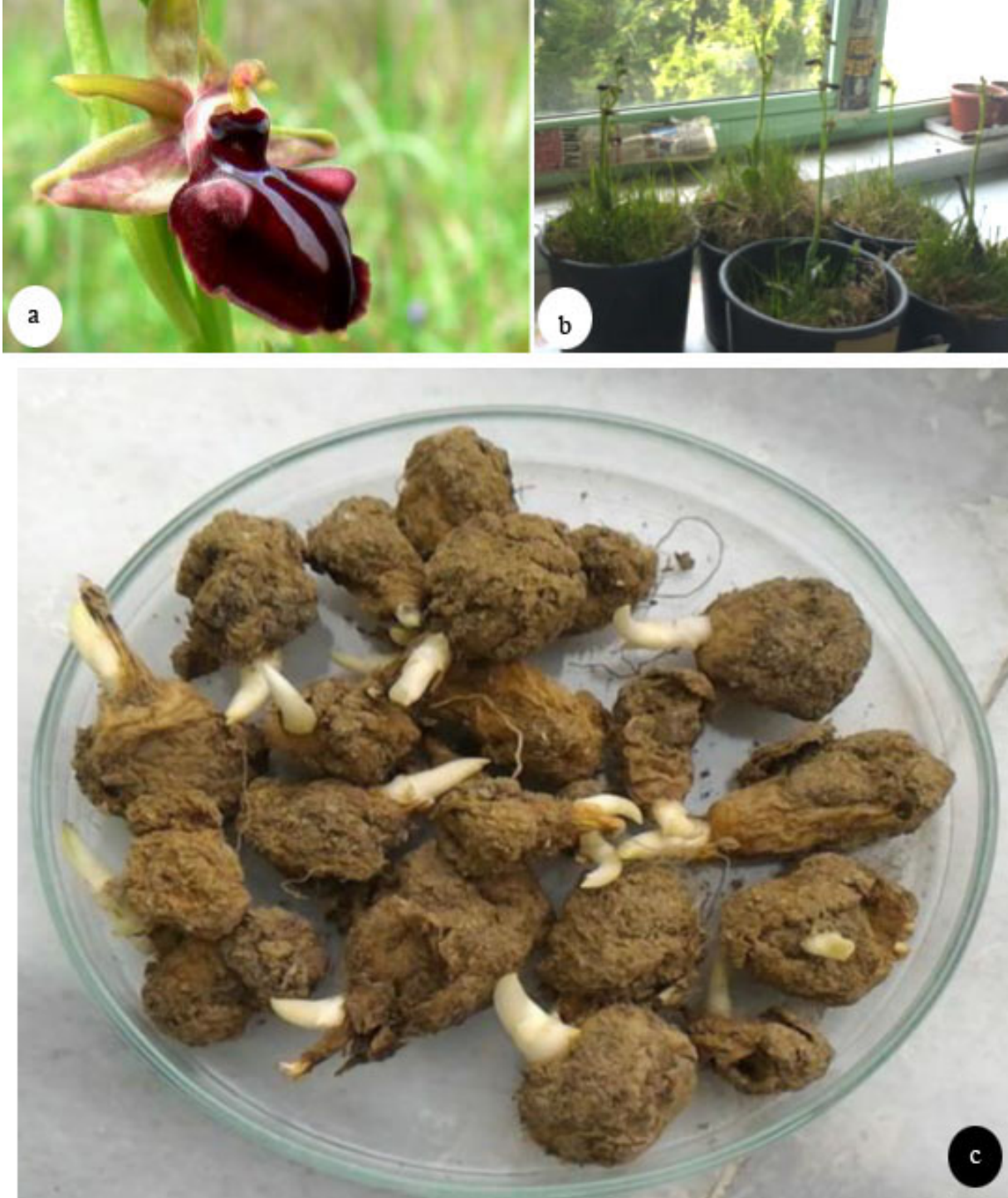
2. Materyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılan bitki örnekleri, Edirne ilinde yapılan arazi çalışmalarında toplanmış olup, Renz ve Taubenheim (1984), Deniz (2022) ve Euro Med PlantBase veritabanlarına (2011) yöntemine göre *Ophrys sphegodes* Mill. subsp. *mammosa* Soó ex E. Nelson (Kedikulağı) (Syn. *O.mammosa*, Orchidaceae) olarak teşhis edilmiştir (Şekil 1). Toplanan örneklerin bir kısmı, EDTU 8206 numara ile herbaryuma (Trakya Üniversitesi Herbaryumu) dâhil edilmiştir.

Çalışmada ekstraksiyon işlemleri için Bayram ve ark. (2020) yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır. Ekstraksiyon solventi için %80 su, %19 metanol ve %1 formik asit karışımından oluşan solvent hazırlanmıştır. 100µl numune 900µl ekstraksiyon solüsyonu olacak şekilde örnekler tartılmıştır. Daha sonra kesit alınan orkide yumruları bu solvente konularak iri kalan yumrular parçalanmıştır. 30 saniye vorteks sonrası solüsyon sonikatör kullanılarak homojenize edilmiştir. Ultrasonik banyoda (Wiseclean) 10 dakika 40-45 °C'de bekletilen örnekler, daha sonra 5 dakikada 9000 rpm de santrifüje edilmiştir. Berrak süpernatant sıvı kromatografi-tandem man spektrometrisi (LC-MS/MS) ile kantitatif analiz için kullanılmıştır.

2.1. Kimyasallar, standartlar ve reaktifler

Formik asit (%98-100), metanol (Hypergrade LC MS), izopropil alkol (2-propanol) ve DMSO, Merck, Darmstadt, Almanya. Amonyum format (HPLC derecesi) Sigma–Aldrich, Almanya. Referans standartları olarak; gallik asit, kateşin, 2-5 dihidroksibenzoik asit, trans-kafeik asit, siringik asit, trans-sinamik asit, trans-p-kumarik asit, trans-ferulik asit, resveratrol Fluka'dan ve protokateşik asit ise HWI Analytik GmbH, Almanya'dan sağlanmıştır. MTT (3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2.5-difeniltetrazo-lium-bromür) Biomatik Cambridge, Ontario'dan sağlanmıştır. Fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) ve moleküler biyoloji dereceli su, Gibco, Invitrogen, Carlsbad, CA, ABD orijinlidir. Enstrümantal analiz için kullanılan ultra damıtılmış suyun direnci 18.2 ΩX'dur.



Şekil 1. a. Çiçek genel görünüşü, b. Araziden toplanan ve saksıda korunan örnekler, c. Çalışmada kullanılan yumrular (Foto: M. Aybeke).

2.2. HPLC-MS koşulları

Fenol analizleri, Jet Stream Elektrosprey iyonizasyon kaynağı (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, ABD) ile donatılmış Agilent 6460 Triple Quadrupole MS/MS System ile kombinasyon halinde bir Agilent 1200 infinity LC üzerinde gerçekleştirilmiştir. Analitik kolon Agilent Poroshell 120 EC-C18 (4.6 9 50 mm, 2.7 µm partikül boyutu) olup, sıcaklığı 25°C'ye ayarlanmıştır. Mobil faz A, UPW, %0.2 amonyum format (h/h), %0.2 formik asitten (h/v) oluşturulmuştur. Mobil faz B, metanol, %0.2 amonyum format (h/h) ve %0.2 formik asitten (h/v) oluşturulmuştur. Akış hızı, ortam sıcaklığında 0.3 ml/dak olarak düzenlenmiştir. Enjeksiyon hacmi 1 µl ve LC gradyan olacak şekilde şöyle ayarlanmıştır:

0–1 dakika, %70 A, %30 B; 3–7 dk. %30 A, %70 B; 9-10 dk. %50A, %50 B; 11-12 dakika; %70 A, %30 B. Çalışma süresi 12 dakikaya ayarlanmıştır. Optimize edilmiş MS analiz parametreleri şu şekilde ayarlanmıştır: gaz sıcaklığı 325 °C'ye, nebulizatör gaz basıncı 45 psi'ye ayarlanmıştır. Meme voltajı 500 V'a, kılcal damar 3000 V'a, kılıf gazı sıcaklığı 12 L/dk'da kılıf gazı akışı olacak şekilde 400 °C'ye ayarlanmıştır. Pozitif ve negatif iyon modunda çoklu reaksiyon izleme (MRM) gerçekleştirilmiştir. Veri toplama Mass Hunter (versiyon B.06.01) yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. 1.12 mTorr'da çarpışma gazı olarak nitrojen (N₂) kullanılmıştır. Kalibrasyon standart karışımları, 1-200 ng/ml kalibrasyon konsantrasyonlarında %50 UPW, %25 metanol ve %25 izopropanol içinde hazırlanmıştır. Analizi yapılan fenolik bileşikler gallik asit, protokatekuik asit, 2,5-dihidroksibenzoik asit, kafeik asit, şınga asidi (siringik), klorojenik asit, kateşin, epikateşin, 2-hidroksitranssinnamik asit, *p*-kumarik asit, verbascosid, rutin, sinapik asit, naringin, trans ferrulik asit, etil galat, florizin, oleuropein, mirisetin, resveratrol, propil galat, kuersetin, absisik asit, lütolein, kamferol, izoramnetin, apigenin ve ellagik asittir. Çalışma 3 tekerrürlü olacak şekilde yapılmış ve sonuçların ortalamaları tablo halinde sunulmuştur.

3. Bulgular ve Tartışma

Çalışmada elde edilen analiz sonuçlarına göre Kedikulağı yumrularında bulunan fenoller, Gallik Asit, Protokatekuik Asit, 2,5-Dihidroksibenzoik Asit, Klorojenik Asit, *P*-kumarik asit, Rutin, Trans Ferrulik Asit, Propil Gallat, Kuersetin, Lutolein, Kamferol, Izoramnetin olarak tespit edilmiştir. Analizlerde 27 farklı fenol taraması yapılmış olup bunlardan yumrularda 12 adedi bulunmuş, kalan 15 tanesine ait hiçbir varlık tespit edilememiştir (Çizelge 1, Şekil 2).

En fazla fenol 901.6510 ng/gr ile Kamferol olurken, en az fenol ise 1.0168 ng/gr ile Propil Gallat'dır (Şekil 2A,C). Nicelik olarak ikinci sırada en fazla olan fenol 392.7265 ng/gr ile *P*-kumarik asit, üçüncü sırada 375.0809 ng/gr ile Trans Ferrulik Asit, dördüncü sırada 69.4946 ng/gr ile Rutin'dir (Şekil 2A,B). Diğer kalan fenollerin miktarları 20 ng/gr'ın altındadır (Çizelge 1, Şekil 2C). Analizlerde hiç bulunmayan fenoller ise Kafeik Asit, Siringik Asit, Kateşin, Epikateşin, 2-Hidroksitranssinnamik Asit, Verbascosid, Sinapik Asit, Naringin, Etil Gallat, Florizin, Oleuropein, Myrisetin, Resveratrol, Apigenin ve Ellagik Asit'tir.

Çizelge 1. *O. sphegodes* subsp. *mammosa* yumrularındaki fenolik bileşiklerin listesi

Bileşik	Konsantrasyon (ng/gr)
Gallik Asit	32,8383
Protokatekuik Asit	10,1617
2,5-Dihidroksibenzoik Asit	9,6073
Klorojenik Asit	11,6620
<i>P</i> -kumarik asit	392,7265
Rutin	69,4946
Trans Ferrulik Asit	375,0809
Propil Gallat	1,0168
Quersetin	11,6379
Lutolein	15,3624
Kamferol	901,6510
Izoramnetin	5,5336

Bu çalışmada bulunan fenolik bileşiklerin fitoterapötik etkileri aşağıda verilmiştir:

Kamferol, aralarında antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antioksidan, antitümör, kardiyoprotektif, nöroprotektif ve antidiyabetik aktiviteler bulunan çeşitli farmakolojik özellikler göstermekte ve kanser

kemoterapisinde uygulanmaktadır. Spesifik olarak, kamferol açısından zengin yiyecekler, cilt, karaciğer ve kolon dahil olmak üzere bazı kanser türlerini geliştirme riskinde azalma ile bağlantılıdır (Imran ve ark., 2019). Kamferolün normal hücre canlılığını koruma kapasitesinin yanı sıra anjiyogenezin inhibisyonu da rapor edilmiştir (Kim ve ark., 2017). Kanser önleme, çoğunlukla apoptozu artırarak kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyerek elde edilir (Yi ve ark., 2016). Anti-kanser rolü özofagus kanseri, meme kanseri, rahim ağzı kanseri, hepatoselüler karsinom (HCC), yumurtalık kanseri, mide kanseri (GC), küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC), lösemi, kolanjiokarsinom (CCA), pankreas kanseri, mesane kanseri ve osteosarkomun yanı sıra iyi huylu durumlar, örneğin rahim fibroidlerinde bile etkili olduğu belirtilmiştir (Ren ve ark., 2019).

Luteolin açısından zengin bitkiler, geleneksel Çin tıbbında hipertansiyon, inflamatuvar bozukluklar ve kanser gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Anti-inflamatuvar, anti-alerji ve antikanser gibi birçok biyolojik etkiye sahip olan luteolin, biyokimyasal olarak hem antioksidan hem de pro-oksidan olarak işlevinin olduğu bilinmektedir. Örneğin, anti-enflamatuvar aktivite, antikanser özelliği ile bağlantılıdır (Ali ve ark., 2019).

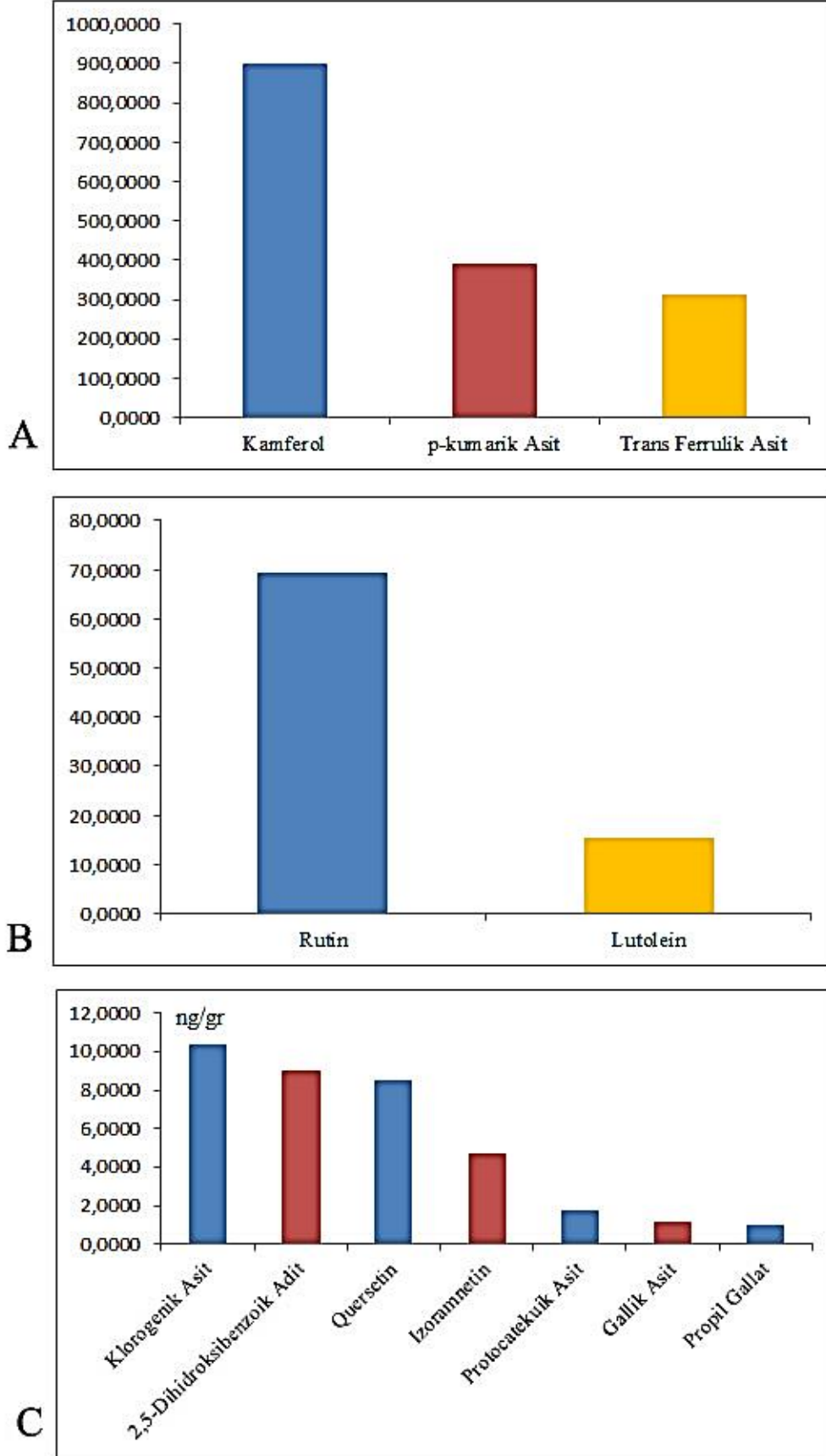
Trans-ferulik asit= FA'in, özellikle antioksidan ve sitoprotektif özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Kanski ve ark., 2002; Barone ve ark., 2009). Kimyasal yapısı nedeniyle FA'nın hem reaktif oksijen türlerini hem de reaktif nitrojen türlerini süpürdüğü gösterilmiştir (Kanski ve ark., 2002; Barone ve ark., 2009). Ek olarak, FA'nın, hem oksijenaz/biliverdin redüktaz yolu gibi hücre stres yanıtının anahtar güçlendiricilerini yukarı regüle ederek hem oksidatif hem de nitrozatif stresi önlediği gösterilmiştir (Kanski ve ark., 2002; Barone ve ark., 2009).

Baskın bir polifenol olan gallik asidin, hayvan modellerinde ve in vitro kanserli hücre dizilerinde karsinogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir. Gallik asidin kanser hücresi büyümesi üzerindeki inhibitör etkisine, hücre döngüsü, metastaz, anjiyogenez ve apoptoz için kodlayan genlerin modülasyonu aracılık eder. Gallik asit ayrıca çeşitli tümör hücrelerine karşı seçici olarak sitotoksik olması bu açıdan önemlidir. Birkaç farmakolojik ve biyokimyasal yolu etkilediği bilinen gallik asit, güçlü antioksidan, anti-inflamatuvar, antimutajenik ve antikanser özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Gallik asidin pro-oksidan özelliği, kanser hücre dizilerinde apoptoz indükleyicisi olarak kabul edilmiştir. Çalışmalar ayrıca kimyasal kaynaklı karsinogenezi de gallik asidin koruyucu etkisini doğrulamıştır (Verma ve ark., 2013). Protokatekuik Asit'in güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır (Li ve ark., 2011). 2,5-Dihidroksibenzoik Asit'in güçlü antiviral etkisi çalışmalarla tasdik edilmiştir (Lisov ve ark., 2015). Klorogenik asit, antioksidan aktivite, antibakteriyel, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, anti-inflamatuvar, antipiretik, nöro-koruyucu, anti-obezite, antiviral, anti-mikrobiyal, anti-hipertansiyon gibi birçok önemli terapötik rolleri olduğu, ayrıca radikal temizleyici ve merkezi sinir sistemi uyarıcısı olarak görevli olduğu bildirilmiştir (Naveed ve ark., 2018).

Rutin'in Antimikrobial, Anti-artritik, Anti-alerjik, Antioksidan, antikanser, Antiinflamatuvar, Anti-diabetik, yara iyileştirici etkileri gösterilmiştir (Negahdari ve ark., 2021).

Propil Gallat antioksidan özelliği nedeniyle gıda sektöründe katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Garrido ve ark., 2012).

Qersetin'in antioksidan ve antikanser etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Baghel ve ark., 2012). İzoramnetin, kardiyovasküler ve serebrovasküler koruma, anti-tümör, anti-inflamatuvar, anti-oksidasyon, organ koruma, obezitenin önlenmesi gibi faydaları vardır. Gong ve ark., (2020) tarafından yapılan çalışmalarda izoramnetinin kardiyovasküler hastalıklar ve çeşitli tümörler üzerinde çok çeşitli farmakolojik etkileri olduğunu ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkları önleme potansiyeline sahip olduğu, ayrıca hiperürisemiye ve pulmoner fibrozise karşı farmakodinamik etkilerinin olduğu gösterilmiştir.



Şekil 2. Tespit edilen fenollerin miktarlarına bağlı olarak 3 grafikte kategorize edilmesi; A. 100-1000 ng/gr miktarında çıkan fenoller, B. 10-70 ng/gr miktarında çıkan fenoller, C. 2-12 ng/gr miktarında çıkan fenoller.

p-kumarik asit, antibakteriyel, antikanser, antienflamatuar, antidiyabetik, antibiyofilm, antioksidan gibi aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Celińska-Janowicz ve ark., 2018).

Benzer taksonlarla yapılan fenolik çalışmalardan Hürkan ve ark. (2019), *Anacamptis morio* (L.) R.M.Bateman, Pridgeon & M.W.Chase, *Anacamptis pyramidalis* (L.) Rich., *Neotinea tridentata* (Scop.) R.M.Bateman, Pridgeon & M.W.Chase, *Ophrys mammosa* Desf., *Ophrys lutea* Cav. ve *Ophrys speculum* Link salep orkidelerinin sekonder metabolitlerini, toplam fenolik ve flavonoid bileşiklerini, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini ölçmüşlerdir. Fitokimyasal taramada kumarinler, flavanoidler, flavanonlar, kardiyak glikozitler, proteinler ve kinonlar bulunduğu ortaya çıkarılmıştır. Çalışmada *O. speculum* türünün %35.12 ile en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve onu %33.17 ile *O. mammosa* türünün takip ettiği belirlenmiştir. Bütün türlerin yüksek antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüş ve bu biyoaktivitelerin, toplam fenolik ve flavanoit bileşikleri ile pozitif olarak ilişkili olduğu vurgulanmış fakat hangi fenollerin olduğu ayrıntılı olarak bildirilmemiştir. Bizim çalışmamızda da *O. sphegodes* subsp. *mammosa* taksonunda kantitatif analizlerle hangi fenollerin olduğu ayrıntılı olarak verilmiş ve bu taksonun fenolik bileşikler yönünden oldukça zengin olduğu görülmüştür (Çizelge 1; Şekil 2A-C).

Kotiloğlu ve ark. (2020) *Dactylorhiza romana* (Sebast.) Soó subsp. *georgica* (Klinge) Soó ex Renz & Taubenheim'in fitokimyasal özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmada bulunan fenoller şunlardır: Protokatekuik Asit, p-hidroksi benzoik asit, Klorojenik asit, siringik asit, Vanilin, p-kumarik asit, Benzoik asit, Sinamik asit, Luteolin. Taranan fenolik standartlar arasında özellikle en fazla bulunan fenolik bileşenin antimikrobiyal etkinliğiyle iyi bilinen benzoik asit (1455.3 µg/g ekstre) olduğu görülmüştür. Kısacası *D. romana* subsp. *georgica* yumru biyoaktif bileşiklerin kaynağı olarak gıda ve ilaç endüstrilerinde kullanım için büyük bir potansiyele sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da bulunan bazı fenoller burada da bulunmuş olup, farklılıkların taksondan ve yetiştirme koşullarından olabileceği düşünülmektedir (Sağlam, 2021).

Kızıtaş ve ark. (2019) *Dactylorhiza umbrosa* (Kar. & Kir.) Nevski örneklerinde gallik asit ve kersetin belirlemişler ve özellikle gallik asitin çok fazla çıktığı belirtilmiştir.

Literatürlere göre *Phalaenopsis* Blume hibrid orkidelerinde yapılan yaprak ve kök etanol ekstraktlarında gallik asidin çok fazla olduğu bilhassa sarı çiçekli hibritlerde miktarların 446. 22 ± 60.03 mg g⁻¹'a kadar yükseldiği belirtilmiştir (Minh ve ark., 2016)

Chimsook (2016), *Dendrobium signatum* Rchb.f ile yaptığı çalışmada, etanol ekstraktının toplam fenol içeriğini 5.52 + 0.28 g (100 gr⁻¹) olarak belirlemiş ve artan fenolik değerlerinin bitkinin biyoaktivitesi ile doğru orantılı sonuç verdiğini belirtmiştir.

Aliyazıcıoğlu ve ark. (2018) *Dactylorhiza osmanica* (Klinge) P.F.Hunt & Summerh.'nın toprak üstü kısımlarında Gallik asit, protokatekuik aldehit, protokatekuik asit, p-hidroksi benzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit, vanilin, şiringaldehit, p-kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit ve benzoik asit tespit etmişler ve antioksidan ve antimikrobiyal denemeler yapmışlardır. Ayrıca bakterilere karşı orta derecede antibakteriyel aktivite gösterdiğini ve buna göre *D. osmanica* yeni farmasotiklerin geliştirilmesinde potansiyel bir kaynak olarak düşünülebileceği bildirilmiştir. Yine endemik bir orkide olan *Dactylorhiza chuhensis* Renz&Taub. türünün anti-oksidan etkinliği Dalar ve ark. (2015)'nin yaptığı çalışmada rapor edilmiştir.

Dolayısıyla yukarıda belirtilen bu yakın taksonlardaki aynı veya benzer fenolik bileşiklerle yapılan biyoaktivite deneyleri ve bu fenolik bileşiklerin fitoterapik etkileri ışığında, *Ophrys sphegodes* subsp. *mammosa*'nın güçlü antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin olması yüksek ihtimalle beklenmektedir. Zira; Gutiérrez-Sánchez ve ark. (2020) *Rhynchosstele rossii*'den yaptığı benzer çalışmalarda aynı fenolleri bulmuş ve bitkinin antioksidan potansiyelinin bu bileşikler nedeniyle güçlü olduğunu belirtmiştir. Yine Mishra ve ark. (2018), *Satyrrium nepalense*'de yumrulardan elde ettiği metanol ekstraktının, antioksidan ve antibakteriyel aktiviteler için ilginç bir potansiyel gösterdiğine dikkat çekmiş ve tıbbi bitkiler ve gıda takviyeleri alanlarında gelecekteki uygulamalar için *Satyrrium nepalense*'nin dikkat çekici bir tür olduğunu belirtmiştir. Ayrıca çalışmada gallik asit ve Qersetin yoğun içeriği nedeniyle bitkinin ilaç endüstrisi açısından gelecek vadettiği belirtilmiştir.

Sonuçta; orkideler üzerinde yapılacak birçok fitokimyasal çalışma, karasal orkidelerin faydalarının daha fazla keşfini sağlayacaktır. Nitekim son zamanlarda yapılan bir çalışmada (Dan ve ark., 2015) bilim dünyası için yeni fenoller bulunmuş, bu fenollerin antioksidan aktivitelerine yer verilmiş ve orkideler üzerine yapılacak bu çalışmaların önemine atıfta bulunulmuştur. Daha sonraki çalışmalarda *O.sphegodes* subsp *mammosa* yumru ekstraktları ile MTT, antikanser, invazyon (yara

kapama testleri), hücre göçü testi ve antimikrobiyal etki testleri gibi çok yönlü biyoaktivite denemeleri planlanmakta ve çalışmaların ileride diğer karasal orkideler üzerinde de yaygınlaştırılması hedeflenmektedir. Böylece tarımsal üretime yeni orkidelerin eklenmesine, tarımsal ekonomide daha fazla kazançların elde edilmesine ve ilaç endüstrisi için yeni alternatif uygulamalara zemin hazırlanacağı düşünülmektedir.

4. Sonuç

Bu çalışmada Salepgiller (Orchidaceae) ailesinden *Ophrys sphegodes* Mill. subsp. *mammosa* (Desf.) Soó ex E. Nelson taksonu yumrularında LC-MS/MS ile fenolik bileşik analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda yumrularında gallik asit, protokatekuik asit, 2,5-dihidroksibenzoik asit, klorogenik asit, *p*-kumarik asit, rutin, trans ferrulik asit, propil galat, Qersetin, lüteolein, kamferol ve ızoramnetin tespit edilmiştir. *Ophrys sphegodes* taksonu açısından fenolik bileşikler ayrıntılı olarak ilk defa tespit edilmiş olup, ayrıca *O.sphegodes*'in fenoller açısından zengin bir potansiyele sahip olduğu görülmüştür. Bu nedenle gelecekteki çalışmalarda *O.sphegodes* subsp. *mammosa* yumrularının ekstratları ile MTT, antikanser, invazyon (yara kapama testleri), hücre göçü testi ve antimikrobiyal etki testleri gibi çok yönlü biyoaktivite denemeleri yapılacak ve bitkinin olası tıbbi özellikleri açığa çıkarılacaktır.

Kaynakça

- Ali, F., Rahul, S., Jyoti, F., Naz, M., Ashafaq, M., Shahid, M. & Siddique, Y.H. (2019). Therapeutic potential of luteolin in transgenic *Drosophila* model of Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 692, 90-99. doi:10.1016/j.neulet.2018.10.053
- Aliyazıcıoğlu, R., Korkmaz, N., Akkaya, Ş., Şener, S. Ö., Özgen, U., & Karaoğlu Ş. A. (2018). *Dactylorhiza osmanica*'nın topraküstü kısımlarında antioksidan, antimikrobiyal ve tirozinaz inhibitör aktivitelerinin araştırılması. *Fırat Tıp Dergisi*, 23, 2, 50-57.
- Attri, L. K., Bhanwra, R. K., & Nayyar, H. (2020). Pollination induced embryology studies in *Aerides multiflora* (ROXB.). *International Journal of Botanical Studies*, 5, 4, 211–215. doi:10.1016/j.scienta.2008.01.009
- Babbar, S. B., & Singh, D. K. (2016). Protocols for In Vitro Mass Multiplication and Analysis of Medicinally Important Phenolics of a Salep orchid, *Satyrium nepalense* D. Don ("Salam Mishri"). In S. M. Jain (Ed), *Protocols for In Vitro Cultures and Secondary Metabolite Analysis of Aromatic and Medicinal Plants*. (pp 1-11). Berlin, Germany: Springer verlag. doi:10.1007/978-1-4939-3332-7_1
- Baghel, S. S., Shrivastava, N., Baghel, R. S., Agrawal, P., & Rajput, S. (2012). A review of Quercetin: Antioxidant and anticancer properties. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1, 1, 146-160. doi:10.1007/s00606-012-2541-9
- Ballabh, B., Chaurasia, O. P., Ahmed, Z., & Singh, S. B. (2008). Traditional medicinal plants of cold desert Ladakh-Used against kidney and urinary disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 331 - 339. doi:10.1016/j.jep.2008.04.022
- Barone, E., Calabrese, V., & Mancuso, C. (2009). Ferulic acid and its therapeutic potential as a hormetin for age-related diseases. *Biogerontology*, 10, 97-108. doi:10.1007/s10522-008-9160-8
- Bayram, N. E., Canlı, D., Gerçek, Y. C., Bayram, S., Çelik, S., Güzel, F., Morgil, H., & Öz, G. C. (2020). Monofloral bal örneklerinin makrobesin ve mikrobesin seviyeleri ve fenolik bileşik özellikleri. *Gıda ve Beslenme Araştırmaları Dergisi*, 1, 311-322. doi:10.1007/s00606-012-2541-9
- Bulpitt, C. J., Li, Y., Bulpitt, P. F., & Wang, J. (2007). The use of orchids in Chinese medicine. *Journal of Royal Society of Medicine*, 100, 558 - 563. doi:10.1258/jrsm.100.12.558
- Celińska-Janowicz, K., Zaręba, I., Lazarek, U., Teul, J., Tomczyk, M., Pałka, J., & Milyk, W. (2018). Constituents of propolis: chrysin, caffeic acid, *p*-coumaric acid, and ferulic acid induce PRODH/POX-dependent apoptosis in human tongue squamous cell carcinoma cell (CAL-27). *Frontiers in Pharmacology*, 9, 336. doi:10.3389/fphar.2018.00336
- Chimsook, T. (2016). Phytochemical screening, total phenolic content, antioxidant activities and cytotoxicity of *Dendrobium signatum* Leaves. *MATEC Web of Conferences*, 62, 03005, Geneve. doi:10.1051/mateconf/20166203005

- Cozzolino, S., & Widmer, A. (2005). Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception? *Trends in Ecology & Evolution*, 20, 487-494. doi:10.1016/j.tree.2005.06.004
- Dalar, A., Guo, Y., Esim, N., Bengu, A. S., & Konczak, I. (2015). Health attributes of an endemic orchid from Eastern Anatolia, *Dactylorhiza chuhensis* Renz&Taub. – In vitro investigations. *Journal of Herbal Medicine*, 5, 77-85. doi:10.1016/j.hermed.2015.02.001
- Dan, Y., Liang-Yan, L., Zhong-Quan, C., Feng-Qing, X., Wei-Wei, F., Cheng-Ting, Z., Fa-Wu, D., Jun, Z., Zhong-Tao, D., & Jiang-Miao, H. (2015). Five new phenolic compounds from *Dendrobium aphyllum*. *Fitoterapia*, 100, 11-18. doi:10.1016/j.fitote.2014.11.004
- Deniz, İ. G. (2022). *Ophrys* L., Orchidaceae. In A. Güner, A. Kandemir, Y. Menemen, H. Yıldırım, S. Aslan, A. Ö. Çimen, I. Güner, G. Bona Eksi & F. Şen Gökmen (Eds). *Resimli Türkiye Florası*, Cilt 3a (ss 361-365) İstanbul, Türkiye: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Basımı, 1.baskı.
- EuroMed PlantBase. (2011). *Ophrys sphegodes* subsp. *mammosa*. <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameCache=Ophrys%20mammosa&PTRefFk=8000000> Erişim tarihi: 16.10.2022.
- Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Agati, G., & Tattini, M. (2014). Multiple functions of polyphenols in plants inhabiting unfavorable Mediterranean areas. *Environmental and Experimental Botany*, 103, 107-116. doi:10.1016/j.envexpbot.2013.09.012
- Ganesan, K., & Xu, B. (2017). A critical review on polyphenols and health benefits of black soybeans. *Nutrients*, 9(5), 455. doi:10.3390/nu9050455
- Garrido, J., Garrido, E. M., & Borges, F. (2012). Studies on the food additive propyl gallate: Synthesis, structural characterization, and evaluation of the antioxidant activity. *Journal of Chemical Education*, 89, 130-133. doi:10.1021/ed900025s
- Gong, G., Ying-Yun, G., Zhong-Lin, Z., Rahman, K., Su-Juan, W., Zhou, S., Luana, X., & Zhang, H. (2020). Isorhamnetin: A review of pharmacological effects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 128, 110301. doi:10.1016/j.biopha.2020.110301
- Gutiérrez-Sánchez, A., Monribot-Villanueva, J. L., Cocotle-Ronzón, Y., Martínez-Cruz, N. S., & Guerrero-Analco, J. A. (2020). Phenolic profile and antioxidant activity from wild and in vitro cultivated *Rhynchosstele rossii* (Orchidaceae). *Acta Botanica Mexicana*, 127, e1665. doi:10.21829/abm127.2020.1665
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., & Babaç, M. T. (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. İstanbul, Türkiye: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları Flora Dizisi 1.
- Hossain, M. M. (2011). Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances – an overview. *Fitoterapia*, 82, 102-140. doi:10.1016/j.fitote.2010.09.007
- Hürkan, K., Ballı, Y. M., Hürkan, K. Y., & Demir, N. (2019). Bazı önemli salep orkidesi türlerinin toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 191-202. doi:10.18036/estubtdc.598852
- Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Gondal, T. A., Saeed, F., ... & Estevinho, L. M. (2019). Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential. *Molecules*, 24, 2277. doi:10.3390/molecules24122277
- Kanski, J., Aksenova, M., Stoyanova, A., & Butterfield, D. A. (2002). Ferulic acid antioxidant protection against hydroxyl and peroxy radical oxidation in synaptosomal and neuronal cell culture systems in vitro: structure-activity studies. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 273-281. doi:10.1016/s0955-2863(01)00215-7
- Kızıldaş, H., Ekin, S., Yıldız, D., & Pınar, S. M. (2019). Evaluation of antioxidant properties, trace element and mineral composition of *Dactylorhiza umbrosa* (Kar. & Kir.) Nevski (Orchidaceae). *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(4), 2148-2156. doi:10.21597/jist.532647
- Kim, B., Jung, J. W., Jung, J., Han, Y., Suh, D. H., Kim, H. S., Dhanasekaran, D. N., & Song, Y. S. (2017). PGC1alpha induced by reactive oxygen species contributes to chemoresistance of ovarian cancer cells. *Oncotarget*, 8, 60299–60311. doi:10.18632/oncotarget.19140
- Kotiloğlu, D., Acet, T., & Özcan, K. (2020). Phytochemical profile and biological activity of a therapeutic orchid from Anatolia: *Dactylorhiza romana* subsp. *georgica*. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 3310-3318. doi:10.1007/s11694-020-00566-2

- Kumar, B., Vijayakumar, M., Govindarajan, R., & Pushpangadan, P. (2007). Ethnopharmacological approaches to wound healing—Exploring medicinal plants of India. *Journal of Ethnopharmacology*, 114, 103-113. doi:10.1016/j.jep.2007.08.010
- Leake, J. R. (2005). Plants parasitic on fungi: Unearthing the fungi in myco-heterotrophs and debunking the ‘saprophytic’ plant myth. *Mycologist*, 19, 113-122. doi:10.1017/S0269-915X(05)00304-6
- Li, X., Wang, X., Chen, D., & Chen, S. (2011). Antioxidant activity and mechanism of protocatechuic acid in vitro. *Functional Foods in Health and Disease*, 1(7), 232-244. doi:10.31989/ffhd.v1i7.127
- Lisov, A., Vrublevskaya, V., Lisova, Z., Leontievsky, A., & Morenkov, O. (2015). A 2,5-Dihydroxybenzoic acid–gelatin conjugate: The synthesis, antiviral activity and mechanism of antiviral action against two alphaherpesviruses. *Viruses*, 7, 5343–5360 doi:10.3390%2Fv7102878
- Louw, C. A. M., Regnier, T. J. C., & Korsten, L. (2002). Medicinal bulbous plants of South Africa and their traditional relevance in the control of infectious diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 82, 147-154. doi:10.1016/s0378-8741(02)00184-8
- Minh, T. N., Khang, D. T., Tuyen, P. T., Minh, L. M., Anh, L. H., ... & Xuan, T.D. (2016). Phenolic compounds and antioxidant activity of *Phalaenopsis* Orchid Hybrids. *Antioxidants*, 5(3), 31. doi:10.3390/antiox5030031
- Mishra, A. P., Saklani, S., Salehi, B., Parcha, V., Sharifi-Rad, M., ... & Srivastava, M. (2018). *Satyrium nepalense*, a high altitude medicinal orchid of Indian Himalayan region: chemical profile and biological activities of tuber extracts. *Cellular and Molecular Biology (Noisy le Grand)*, 64(8), 35-43. doi:10.14715/cmb/2018.64.8.6
- Naveed, M., Hejazic, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., ... & XiaoHui, Z. (2018). Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 67-74. doi:10.1016/j.biopha.2017.10.064
- Negahdari, R., Bohloul, S., Sharifi, S., Dizaj, S. M., Saadat, Y. R., ... & Raeesi, S. (2021). Therapeutic benefits of rutin and its nanoformulations. *Phytotherapy Research*, 35, 1719-1738. doi:10.1002/ptr.6904
- Oğuz, B., Sarı, A. O., & Bilgiç, A. (2005). *Ege Bölgesinde Yayılış Gösteren Bazı Salep Orkidelerinin Üretim Olanaklarının Araştırılması*. TAGEM Araştırma Projesi. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Menemen, İZMİR.
- Rasouli, H., Farzaei, M. H., & Khodarahmi, R. (2017). Polyphenols and their benefits: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(2), 1700-1741. doi:10.1080/10942912.2017.1354017
- Ren, J., Lu, Y., Qian, Y., Chen, B., Wu, T., & Ji, G. (2019). Recent progress regarding kaempferol for the treatment of various diseases (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 18, 2759-2776. doi:10.3892/etm.2019.7886
- Renz, J., & Taubenheim, G. (1984). *Ophrys* L. (Orchidaceae). In P. H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* vol. 8, (pp. 483-484). Edinburgh, UK: Edinburgh University Press.
- Sağlam, A. (2021). *Phytolacca americana* L. bitkisinin farklı habitatlardaki bazı ekolojik ve kimyasal parametrelerinin karşılaştırılması. (Yükseklisans tezi), Ordu üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
- T. C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü. (2014). Salep Eylem Planı 2014-2018. <https://silo.tips/download/tc-orman-ve-su-ler-bakanlii-orman-genel-mdrl-salep> Erişim tarihi: 28.11.2023.
- Sezik, E. (1984). *Orkidelerimiz, Türkiye'nin Orkideleri*. İstanbul, Türkiye: Sandoz Kültür Yayınları, No: 6.
- Sezik, E. (2012). *Salep mi? Orkideler mi?*. 2. Orkide ve Salep Çalıştayı, İzmir.
- Sharifi-Rad, J., Hoseini-Alfatemi, S. M., Sharifi-Rad, M., & Setzer, W. N. (2015). Chemical composition, antifungal and antibacterial activities of essential oil from *Lallemantia royleana* (Benth. In Wall.) Benth. *Journal of Food Safety*, 35(1), 19-25. doi:10.1111/jfs.12139
- Steenkamp, V. (2003). Traditional herbal remedies used by South African women for gynaecological complaints. *J. Ethnopharmacol*, 86, 97-108. doi:10.1016/S0378-8741(03)00053-9
- Sut, S., Maggi, F., & Dall'Acqua, S. (2017). Bioactive secondary metabolites from Orchids (Orchidaceae). *Chemistry & Biodiversity*, 14, e1700172. doi:10.1002/cbdv.201700172

- Verma, S., Singh, A., & Mishra, A. (2013). Gallic acid: Molecular rival of cancer. *Environmental toxicology and pharmacology*, 35, 473-485. doi:10.1016/j.etap.2013.02.011
- Yi, X., Zuo J., Tan, C., Xian, S., Luo, C., Chen, S., Yu, L., & Luo, Y. (2016). Kaempferol, a flavonoid compound from gynura medica induced apoptosis and growth inhibition in mcf-7 breast cancer cell. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 13, 210-215. doi:10.21010/ajtcam.v13i4.27
- Yong, L., Ranxin, S., Wang, X., & Han-Ming, S. (2008). Luteolin, a flavonoid with potential for cancer prevention and therapy. *Current Cancer Drug Targets*, 8(7), 634-646. doi:10.2174/156800908786241050
- Zhang, G. N., Bi, Z. M., Wang, Z. T., Xu, L. S., & Xu, G. J. (1994). Advances in studies on chemical constituents from plants of *Dendrobium* Sw. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 0(6), 41-44.