

***Glaucium flavum* Crantz toprak üstü kısımlarındaki fenolik ve uçucu bileşiklerin tanımlanması ve antioksidan etkinliğinin belirlenmesi**

Abidin GÜMRÜKÇÜOĞLU¹,

Tıbbi-Aromatik Bitkiler Uygulama ve Araştırma Merkezi, Artvin Çoruh Üniversitesi, 0800, Artvin, Türkiye

✉: gumrukcuogluabidin@artvin.edu.tr  [0000-0001-7285-9664](https://orcid.org/0000-0001-7285-9664)

Geliş (Received): 21.04.2025

Düzeltilme (Revision): 10.05.2025.

Kabul (Accepted): 29.05.2025

ÖZ

Glaucium flavum Crantz toprak üstü kısımlarının fitokimyasal profili ve antioksidan kapasitesi değerlendirilmiştir. HPLC-DAD ve SPME-GC-MS teknikleri kullanılarak benzaldehit (%37.47) ve 1-heksanal-2-etil (%33.87) başlıca uçucu bileşenler olarak tespit edilmiştir. Metanolik ekstraktlarda pirogallol (3089.23 mg/kg) ve kafeik asit (384.06 mg/kg) ana fenolik bileşenler, rutin (16000 mg/kg) ve kateşin (649.58 mg/kg) ise major flavonoidler olarak belirlenmiştir. Askorbik asit içeriği 1078.17 mg/kg olarak ölçülmüştür. Toplam fenolik içerik (13.84±0.46 mg GAE/g kuru örnek) ve toplam flavonoid içerik (7.65±0.22 mg QE/g kuru örnek) ile FRAP (10.98±0.22 µmol Fe²⁺/g) ve CUPRAC (0.11±0.01 mmol TEAC/g) testleri güçlü antioksidan aktiviteyi doğrulamıştır. Bulgular, *G. flavum* Crantz'ın zengin biyoaktif bileşenleri ve güçlü antioksidan özellikleri nedeniyle farmakolojik araştırmalar için umut verici bir kaynak olduğunu göstermektedir.

Keywords: *Glaucium flavum* Crantz, fenolik bileşikler, flavonoidler, antioksidan aktivite, fitokimyasal profil.

IDENTIFICATION OF PHENOLIC AND VOLATILE COMPOUNDS IN AERIAL PARTS OF GLAUCIUM FLAVUM CRANTZ. AND DETERMINATION OF THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY

ABSTRACT

The phytochemical profile and antioxidant capacity of *Glaucium flavum* Crantz aerial parts were evaluated. Using HPLC-DAD and SPME-GC-MS techniques, benzaldehyde (37.47%) and 1-hexanal-2-ethyl (33.87%) were identified as predominant volatile constituents. In methanolic extracts, pyrogallol (3089.23 mg/kg) and caffeic acid (384.06 mg/kg) emerged as principal phenolic compounds, while rutin (16000 mg/kg) and catechin (649.58 mg/kg) were the major flavonoids. Ascorbic acid content was quantified at 1078.17 mg/kg. Total phenolic content (13.84±0.46 mg GAE/g dry sample) and total flavonoid content (7.65±0.22 mg QE/g dry sample), along with FRAP (10.98±0.22 µmol Fe²⁺/g) and CUPRAC (0.11±0.01 mmol TEAC/g) assays, substantiated robust antioxidant activity. The findings demonstrate that *G. flavum* Crantz represents a promising resource for pharmacological investigations owing to its abundant bioactive constituents and potent antioxidant properties.

Keywords: *Glaucium flavum* Crantz , phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity, phytochemical profile

GİRİŞ

Fenolik bileşikler, çeşitli bitki türlerinde sentezlenen ve sekonder metabolitler sınıfına dahil olan önemli fitokimyasal bileşenlerdir. Bu bileşikler, sahip oldukları çeşitli biyolojik aktiviteler ve insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle bilim dünyasında büyük ilgi görmektedir. Doğal polifenoller; antioksidan özellikleri, antimutajenik ve/veya antikanserijenik etkileri, anti-enflamatuar özellikleri ve sinir sistemini koruyucu etkileri gibi nedenlerle önemli bileşikler olarak kabul edilmektedir (1-4). Bilimsel çalışmalar, bu bileşiklerin hem oksidatif bozulmaya karşı koruyucu antioksidanlar olarak görev yapabildiklerini hem de hücrel ölümüne neden olan biyomoleküllere zarar veren pro-oksidanlar olarak işlev görebildiklerini ortaya koymaktadır (5-6).

Tıbbi bitkilerin terapötik kullanımı esas olarak fenolik asitler ve flavonoidler gibi ikincil metabolitlerin varlığıyla ilişkilidir (7-8). Antioksidan etkileri ve insan sağlığına olan diğer sayısız faydaları ve endüstriyel uygulamaları nedeniyle son yıllarda bitki polifenollerine artan bir ilgi gözlenmektedir. Tıbbi bitkiler aynı zamanda dünya çapında beslenme amaçlı olarak da kullanılmakta, birçok ülkede mevcut mevzuata göre gıda maddesi olarak tescil edilmekte ve pazarlanmaktadır (8-10). Önemli terapötik etkileri göz önüne alındığında, fenolik bileşiklerin tanımlanması ve karakterizasyonu analitik bilimler tarafından büyük ilgi görmektedir (11-12). Ayrıca, birçok çalışma bitkilerde polifenollerin varlığını kanıtlamış ve bunların terapötik ve nutrasötik kullanımlarını ve potansiyel antioksidan aktivitelerini anlamaya çalışmıştır (13). Bu bağlamda, bitkilerdeki bu bileşik sınıflarını tanımlamak ve karakterize etmek için

analitik yöntemlerin geliştirilmesi fitoterapi araştırmalarında önemli bir adım haline gelmiştir. Tıbbi bitkilerdeki fenolik bileşiklerin karakterizasyonu için önerilen yöntemler arasında gaz kromatografisi (14), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (7,15) ve kapiler elektroforez (15,16) bulunmaktadır. Bununla birlikte, fenolik asitler ve flavonoidler yüksek erime noktalarına sahiptir ve 200°C'nin üzerinde ısıtıldıklarında bozunurlar; bu nedenle, bu bileşikler için ayırma protokolleri tercihen sıvı kromatografik yaklaşımlara dayanmaktadır. Bu sıvı kromatografik teknikler genellikle UV spektrometrik, UV/Vis florimetrik, kütle spektrometrik veya elektrokimyasal tekniklere dayalı tespit şemalarına bağlanır. Özellikle, HPLC tekniklerine bağlanan elektrokimyasal tespit stratejileri, herhangi bir türevlendirme prosedürü kullanılmaksızın elektroaktif moleküllerin doğrudan tespiti için hassas analitik prosedürler olarak önem kazanmıştır.

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), bitkilerdeki fitokimyasalları tespit etmek ve miktarını belirlemek için uygulanan en yaygın kullanılan ayırma tekniğidir (17-20). On-line diyot dizi tespiti (DAD) (21-22), ultraviyole dedektörler (23) veya elektrokimyasal dedektörler (24) gibi farklı tespit modları kullanılmaktadır. Elektrosprey iyonizasyonu (ESI), atmosferik basınçlı kimyasal iyonizasyon (APCI), negatif veya pozitif iyon modu gibi daha sofistike tekniklerin MS-MS (üçlü kuadrupol kullanarak) veya teorik MSn (iyon tuzağı kullanarak) ile kombinasyonu piklerin tanımlanması için doğrulama sağlar, ancak aynı zamanda yöntemin maliyeti ve zorluğu da artmaktadır (25-30). Aksine, HPLC-DAD kullanımı yöntemi basitleştirir ve maliyetini düşürerek düşük bütçeli laboratuvarlarda rutin bir analiz için uygun hale getirir. Katı faz mikro ekstraksiyonu (SPME), gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) analizinden önce uçucu maddeleri izole etmek ve önceden konsantre etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır [31-34]. SPME'nin diğer numune hazırlama tekniklerine (örn. katı faz ekstraksiyonu veya sıvı-sıvı ekstraksiyonu) göre çözücülerden kaçınması, otomasyon kolaylığı ve küçük numune boyutu gereksinimleri gibi çeşitli avantajları vardır [35]. SPME tekniği, bu özellikleri sayesinde özellikle çok sayıda örnek incelemesi gerektiren çalışmalarda tercih edilmektedir; bitki ıslahçıların genetik özellikleri araştırdığı bitki popülasyonlarının değerlendirilmesi buna örnek gösterilebilir [36,37]. Domates [32], kavun [38,39], elma [40,41] ve üzüm [42-44] dahil olmak üzere birçok bitki türünde, aroma ile ilişkili olanlar da dahil olmak üzere uçucuları kontrol eden genlerin veya kantitatif özellik lokuslarının (QTL'ler) haritalanması rapor edilmiştir. Bitki uçucu fenotipleme, hem az sayıda uçucunun hedefe yönelik analizleri [45,46] hem de çok sayıda hedefli veya hedefsiz uçucunun daha geniş profilinin çıkarılması ("metabolomik") için genellikle GC-MS ile gerçekleştirilir [31,32,38,39,40,47].

Glaucium flavum Crantz (sarı boynuzlu gelincik), ismi Yunanca "glaucos" kelimesinden gelen mavimsi-yeşil yaprakları ve "flavum" kelimesinin işaret ettiği sarı

çiçekleriyle bilinmektedir. Karadeniz'den güney ve batı Avrupa'ya, ayrıca kuzeybatı Avrupa'ya kadar geniş bir yayılıma sahip olan bu bitki; kısa ömürlü, çok yıllık ve lateks içeren özelliklere sahiptir. Son yıllarda çeşitli araştırmacılar [48,49]. Avrupa'nın birçok bölgesinde bu türün popülasyon yoğunluğunda azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Bu nedenle bitki, yayılım gösterdiği farklı bölgelerde çeşitli IUCN (Uluslararası Doğa Koruma Birliği) kategorilerine dahil edilmiştir.

Küçük popülasyonların genetik sürüklenme ve akraba evliliği yoluyla genetik çeşitliliği kaybettiği, yavruların uyumluluğunun azaldığı, çevresel ve demografik değişikliklere duyarlılığın arttığı ve tohum üretimi ile canlılığının düştüğü gösterilmiştir [50-52]. *Glaucium flavum Crantz* esas olarak kumullarda, uçurumlarda ve çakıllı sahillerde bulunur ancak gelgit veya kıyı etkisinden uzakta, iç kesimlerde de yayılış gösterebilir.

Ayrıca, önceki araştırmalar *G. flavum*'un antioksidan [53] anti-inflamatuar [54] ve antikanser [55] özelliklerine dikkat çekmiştir. Fitokimyasal açıdan, *G. flavum*'un fenolik bileşimi üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Örneğin, Bulgaristan kökenli *G. flavum Crantz*'ın örneklerinde ferulik ve p-hidroksisinnamik asitler gibi fenolik bileşikler tespit edilmiştir [56].

Mevcut çalışmada, farmakobotanik açıdan önem taşıyan *Glaucium flavum Crantz*'ın toprak üstü kısmının metanolik ekstraktının fitokimyasal kompozisyonu, katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) tekniği ile uçucu bileşiklerin profili ve antioksidan potansiyeli kapsamlı bir şekilde karakterize edilmiştir. Literatürde benzer içerik analizleri bulunmasına karşın, bu bitkinin ekstraktlarında bulunan fenolik asitler, flavonoidler ve vitamin gibi geniş bir spektrumda fitokimyasalların eş zamanlı analizi için HPLC-DAD metodolojisi ve uçucu bileşiklerin spesifik karakterizasyonu için SPME-GC-MS tekniğinin entegre edildiği bir protokol daha önce rapor edilmemiştir. Yakın zamanda gerçekleştirilen bir çalışmada [57] bitkinin kök ekstraktları üzerine konvansiyonel GC-MS analizi uygulanmış olsa da, tespit edilen bileşik spektrumu oldukça sınırlı kalmıştır. Bu araştırmada kullanılan SPME kiti ile optimize edilmiş GC-MS platformu, konvansiyonel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla önemli ölçüde geliştirilmiş hassasiyet, seçicilik ve reproduçibilite özellikleri sunmaktadır. Ayrıca, bu çalışmanın önemli bir inovasyonu olarak, *Glaucium flavum Crantz*'ın toprak üstü kısımlarının daha sofistike analitik metodoloji kullanılarak incelenmesi, daha kapsamlı bir bileşik profilinin aydınlatılmasını mümkün kılmıştır. Literatürdeki mevcut çalışmalar genellikle alkaloid fraksiyonlarının kalitatif karakterizasyonu ve sınırlı fenolik bileşik tanımlamasıyla kısıtlı kalırken [58-61] bu araştırma, geniş spektrumlu fenolik bileşikler ve volatil organik bileşiklerin sistematik ve bütünsel tanımlanmasını sağlamış, böylece bitkinin fitokimyasal repertuarını önemli ölçüde zenginleştirmiştir. Bu genişletilmiş fitokimyasal profil, *Glaucium flavum Crantz*'ın anti-enflamatuar ve antikanser potansiyelinin moleküler mekanizmalarının aydınlatılmasına katkıda bulunarak, hedeflenmiş farmakolojik uygulamalar için

rasyonel bir temel sağlayacak ve gelecekteki terapötik araştırmalara yeni perspektifler kazandıracaktır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki Materyali ve Metanolik Ekstraksiyonu

Çalışılan bitkinin takson adları, bitkinin toplanma yeri Tablo 1'de gösterildiği gibi belirtilmiştir. Ayrıca, *Glaucium flavum Crantz*'un habitatu Şekil 1'de gösterilmektedir. Bitki toplandıktan sonra, bitki materyali hızlıca orta derecede ortam ışığına sahip iyi havalandırılan bir kurutma odasına aktarıldı ve doğrudan güneş ışığından uzak tutuldu. Ayrıca Türün güncel taksonomik durumu ve isimlendirmesi Dr. Alper DURMAZ tarafından yapılan teşhis ile birlikte Plants of the World Online veritabanı, "Bizim Bitkiler" çevrimiçi florası güncel literatür referansları alınarak doğrulanmıştır [62-63].

Table 1. İncelenen *Glaucium flavum Crantz*'ın toplama Verileri

Takson	Mevki
<i>Glaucium flavum Crantz</i>	41°43'07"N 35°55'03"E Bitki örnekleri, Samsun ili Bafra ilçesinde bulunan Kızılırmak Nehri kenarındaki Fener mevkiisi sahil kenarı kumullarından toplandı



Şekil 1. *Glaucium flavum Crantz* habitatu

Glaucium flavum Crantz'ın yaprakları ve çiçekleri, antioksidan kapasite, bazı fenolik ve flavonoid bileşik içerikleri ve uçucu bileşik içeriği için -20°C'de saklandı. Tüm deneyler ve analizler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

Örneklerin Hazırlanması

Ekstraksiyon yöntemi [64-65] yöntemleri revize edilerek kullanıldı. Burada, 20 gram kuru toz içeren yaprak ve çiçek örnekleri, hedef bileşiklerin ekstraksiyonunu

artırmak için ayrı ayrı 200 ml metanol ile muamele edildi ve karışımlar 30 dakika boyunca ultrasonikasyona tabi tutuldu. Ultrasonikasyon sonrasında, örnekler bir çalkalayıcıya aktarıldı ve optimum ekstraksiyon verimliliği için 24 saat boyunca karanlıkta oda sıcaklığında tutuldu. İnkübasyon sürecinin ardından, ekstraktlardan büyük partikülleri uzaklaştırmak için normal filtre kağıdı kullanıldı, ardından daha küçük partikülleri gidermek için 0.45 µm şırınga filtresi ile ikinci bir filtreleme işlemi gerçekleştirildi. Ultrasonikasyon, uzun süreli inkübasyon ve çift filtreleme aşamalarını içeren bu kapsamlı ekstraksiyon prosedürü, kuru toz örneklerinden ekstraksiyon çözeltisine maksimum bileşik transferini sağlamak için tasarlandı ve elde edilen berrak filtratlar analiz için hazırlandı.

Glaucium flavum Crantz türünün Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

Reaktif ve malzemeler

Polifenol, flavonoid ve antioksidan kapasite analizleri için çeşitli analitik reaktifler şu şekilde temin edildi: Metanol, Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit), 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ) ve Folin-Ciocalteu fenol reaktifi Sigma Chemical Co.'dan (St. Louis, MO, ABD) tedarik edildi. Sodyum karbonat, asetik asit, neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), alüminyum nitrat nonahidrat ve amonyum asetat dahil tamamlayıcı reaktifler Merck Chemical Co.'dan (Darmstadt, Almanya) temin edildi. Deneyisel prosedürler boyunca kullanılan tüm kimyasal bileşikler analitik saflık derecesindedir.

Toplam polifenolik içeriğin belirlenmesi

Toplam fenolik bileşiklerin ölçümü, Folin-Ciocalteu metodolojisi kullanılarak gerçekleştirildi [66]. Altı farklı konsantrasyonda (1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625 ve 0,03125 mg/mL) gallik asit kullanılarak standart bir kalibrasyon eğrisi hazırlandı. Deneyisel protokol, 20 µL standart çözelti veya metanolik bitki ekstraktının (1 mg/mL) 400 µL 0,5 N Folin-Ciocalteu reaktifi ve 680 µL distile su ile birleştirilmesini içeriyordu. İyiye karıştırma ve 3 dakikalık reaksiyon süresinin ardından, karışıma 400 µL %10'luk Na₂CO₃ çözeltisi eklendi. Reaksiyonun 25°C'de 2 saat boyunca gelişmesine izin verildi, ardından 760 nm'de absorbans ölçümleri kaydedildi. Polifenolik içerik daha sonra hesaplandı ve bitki kuru ağırlığı başına gallik asit eşdeğeri (GAE) miligram olarak ifade edildi.

Toplam flavonoid içeriğinin değerlendirilmesi

Toplam flavonoid ölçümü, referans [67]'ten modifiye edilmiş bir protokole göre gerçekleştirildi. Analitik prensip, alüminyum klorürün flavonoid bileşikleri ile koordinasyon kompleksleri oluşturma özelliğinden yararlanmaktadır. Özellikle, alüminyum iyonları flavon ve flavonollerde bulunan C-4 keto grubu ve C-3 veya C-

5 hidroksil grupları ile stabil kompleksler oluştururken, hem A hem de B halkalarındaki orto-dihidroksil konfigürasyonları ile daha az stabil birleşmeler oluşturmaktadır. Standardizasyon amaçları için, 0,03125 ile 1,0 mg/mL arasında değişen quercetin çözeltileri, absorbans ölçümlerini bilinen konsantrasyonlar ile ilişkilendiren bir referans eğrisi oluşturmak için kullanıldı.

***Glaucium flavum* Crantz'ın Demir ve Bakır İndirgeme Metotlarıyla Antioksidan Kapasitesinin Değerlendirilmesi**

FRAP analizi, elektron verici bileşiklerin asidik koşullar altında bulunduğu soluk sarı Fe^{3+} -TPTZ kompleksinin canlı mavi Fe^{2+} -TPTZ kompleksine dönüşümünü izleyerek antioksidan potansiyelini ölçmektedir [68]. Protokol, bir deney tüpünde 3 mL taze hazırlanmış FRAP reaktifinin 100 μ L deneysel ekstre veya kontrol çözücü ile birleştirilmesini içeriyordu. Spektrofotometrik ölçümler, 593 nm'de 25°C ortam sıcaklığında 4 dakikalık bir aralıkta kaydedildi. Elde edilen absorbans değerleri, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ kalibrasyon eğrisine (100-1000 μ mol/L) karşı ölçüldü ve nihai sonuçlar, bitki kuru maddesi başına mikromol demir sülfat heptahidrat eşdeğerleri olarak ifade edildi. CUPRAC metodolojisi, antioksidan bileşiklerin Cu^{2+} iyonları, neokuproin (alkolik çözelti) ve amonyum asetat tamponu (pH 7) içeren bir reaksiyon karışımı ile etkileşimini içerir. 60 dakikalık bir inkübasyon süresinin ardından, optik yoğunluk 450 nm'de belirlendi. Deneysel prosedür, bakır(II) klorür (10 mM), neokuproin (7.5 mM) ve amonyum asetat (1 M) eşit hacimlerinin (her biri 1 mL) örnek ekstraktı (0.2 mL) ve deiyonize su (0.9 mL) ile 4.1 mL'lik bir nihai reaksiyon hacmine ulaşmak için birleştirilmesini içeriyordu. Absorbans okumaları 60 dakikalık reaksiyon süresinin ardından elde edildi ve antioksidan kapasite, Trolox® eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAC) cinsinden hesaplandı [69].

***Glaucium flavum* Crantz Ekstraktının HPLC Analizi ile Fenolik ve Flavonoid Bileşiklerinin Miktar Tayini**

Kimyasal Reaktifler

Asetonitril HPLC gradyanı Sigma-Aldrich Co.'dan (St. Louis, MO, ABD) temin edilirken, metanol HPLC gradyanı Merck KGaA'dan (Darmstadt, Almanya) elde edildi. Analizde kullanılan tüm fenolik referans bileşikler, araştırma dereceli kimyasallar ve analitik standartlar tedarikinde tanınmış bir satıcı olan Sigma-Aldrich'ten temin edildi.

Enstrümantal Parametreler

Protokol A: Askorbik asit, gallik asit, 3,4-hidroksibenzoik asit, kateşin, epikateşin, kafeik asit, vanilik asit, rutin, kumarik, ferulik, rosmarinik asit, mirisetin, kersetin ve apigenin ölçümü için kromatografik metodoloji: Ayırma, bir ACE 5 C18 sabit

fazı (250 × 4.6 mm, 5 μ m partikül boyutu) kullanılarak gerçekleştirildi. İkili hareketli faz (A) asetonitril ve (B) seyreltik asetik asit (%1.5 h/h) içeriyordu. Elüsyon profili %15 A bileşeni ve %85 B bileşeni ile başlayıp, 29. dakikada %40 A bileşeni ve %60 B bileşenine geçiş yaptı. Enstrümantal konfigürasyon, bir 1260 DAD WR spektrofotometrik dedektör (250, 270 ve 320 nm'de izleme yapan), bir 1260 Kuaterner Pompa (0.7 mL/dk hacimsel akışı sürdüren), bir 1260 Vial Örnekleyici (10 μ L enjeksiyon hacmi sağlayan) ve 35°C'de tutulan bir G7116A termostatik kolon bölmesi içeriyordu.

Protokol B: Pirogallol, klorojenik asit, siringik asit, siyanidin klorür, resveratrol, oleuropein, hesperitin, kaempferol, baikalein ve krisin ölçümü için kromatografik metodoloji: Ayırma, bir ACE 5 C18 sabit fazı (250 × 4.6 mm, 5 μ m partikül boyutu) kullanılarak gerçekleştirildi. İkili hareketli faz (A) metanol ve (B) seyreltik asetik asit (%1.5 h/h) içeriyordu. Elüsyon profili %10 A bileşeni ve %90 B bileşeni ile başlayıp, 29. dakikada %40 A bileşeni ve %60 B bileşenine, ardından 40. dakikaya kadar %60 A bileşeni ve %40 B bileşenine geçiş yaptı ve 40. dakikadan 53. dakikaya kadar %90 A bileşeni ve %10 B bileşeni ile sonlandı. Enstrümantal konfigürasyon, bir 1260 DAD WR spektrofotometrik dedektör (280, 290, 320, 370 ve 535 nm'de izleme yapan), bir 1260 Kuaterner Pompa (0.7 mL/dk hacimsel akışı sürdüren), bir 1260 Vial Örnekleyici (10 μ L enjeksiyon hacmi sağlayan) ve 35°C'de tutulan bir G7116A termostatik kolon bölmesi içeriyordu.

Referans Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Fenolik bileşenlerin kantitatif tayini, her referans standardın tam olarak belirlenmiş konsantrasyonlarda altı seri dilüsyonu kullanılarak oluşturulan harici kalibrasyon eğrileri aracılığıyla gerçekleştirildi (25, 50, 75, 100, 200 ve 300 μ g/mL). Hazırlanmalarının ardından, bu kalibrasyon çözeltileri deneysel örneklerle aynı enstrümantal koşullar altında HPLC-DAD analizine tabi tutuldu.

Toprak Üstü Kısımlardaki Uçucu Bileşiklerin SPME-GC-MS ile Belirlenmesi

Uçucu bileşiklerin SPME absorpsiyonu

Fiber, kullanımdan önce üreticinin önerdiği şekilde koşullandırıldı. Bitki, laboratuvar tipi bir öğütücüde iyice parçalandı. Toz haline getirilmiş örnekten, 20 mL'lik bir vialin üçte birini dolduracak kadar miktar PTFE/silikon septalı (Supelco) 20 mL'lik bir şişeye yerleştirildi. Her örnek 45°C'de 15 dakika ısıtıldı. Daha sonra, uygun fiber uçlu bir şırınga şişeye daldırıldı ve 40 dakika boyunca absorbe edildi. Fiber ucuna maruz kalan bileşikler, GC ünitesinin enjeksiyon bloğuna enjekte edildi ve absorpsiyon için 20 dakika tutuldu.

Cihaz koşulları

GC-MS analizi, bir Agilent (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD) gaz kromatografi ve HP-5MS ultra inert kapiler kolon (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm) kullanılarak gerçekleştirilecektir. Yüksek saflıkta helyum (>99.99), 1.0 mL/dk akış hızında hareketli faz olarak kullanılacaktır. Enjektör sıcaklığı 250°C'ye ayarlandı. GC programı, başlangıç sıcaklığını 2 dakika boyunca 50°C'de tuttu. Sıcaklık, 2.5°C/dk hızla 150°C'ye yükseltilecek ve orada 5 dakika sabit tutulacaktır. Son olarak, 6.5°C/dk hızla 250°C'ye yükseltilecek ve orada 1 dakika sabit tutulacaktır. MS çalışma parametreleri, 35-500 m/z taranmış kütle aralığı ile 70 eV'lik bir iyonizasyon enerjisini içermektedir (kaynaklar 70'den revize edilmiştir). Bileşiklerin tanımlanması NIST Standart Referans veritabanı kullanılarak gerçekleştirildi.

İstatistiksel Analiz

Microsoft Excel 365 ile hesaplanan ortalama ± SD değeri olarak sunulmuştur.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Glaucium flavum Crantz'un GC-MS Analizi ve Fitokimyasal Profili

Glaucium flavum Crantz türünün toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstratın analiz sonucunda, 4-36 dakika arasında değişen alıkonma süreleri ve 800-1500 arasında değişen indeks değerleriyle karakterize edilen çeşitli fitokimyasal bileşikler tespit edilmiştir. Tablo 2'de gösterildiği üzere, bu analizler neticesinde bitkide alifatik ve aromatik aldehytlar, terpenoidler, alifatik ve aromatik hidrokarbonlar, alkoller, uçucu fenolik bileşikler ve heterosiklik bileşikler şeklinde oldukça geniş bir kimyasal çeşitlilik saptanmıştır. Yapılan araştırmada, söz konusu bileşiklerin çeşitliliği, dağılımı ve konsantrasyonlarının incelenmesi, *Glaucium flavum* Crantz'ın fitokimyasal profilinin aydınlatılmasına önemli katkılar sağlamaktadır. Bu bulgular, bitkinin kimyasal kompozisyonunun kapsamlı olarak anlaşılmasına ve potansiyel biyoaktif bileşenlerinin karakterizasyonuna temel oluşturmaktadır.

Tablo 2. *Glaucium flavum* Crantz'un fitokimyasal bileşikleri

No	RT (min)	RI	Name of the compound	Content [%]
1	6.3	806	Hekzanal	0.48
3	9.91	912	Siklopropan	0.03
4	11.95	961	Benzaldehit	38.47
5	13.0	986	Sülkaton	4.293
7	14.80	1026	1-Hekzanal-2-etil	34.87
7	15.49	1041	Benzen asetaldehit	4.91
8	17.46	1084	Tetrametilpirazin	0.63
9	18.03	1096	Undekan	1.25
10	18.25	1101	Nonanal	2.98

11	18.66	1110	Feniletıl Alkol	0.28
12	21.83	1179	Azulene	2.75
13	22.88	1202	Dekanal	0.87
14	23.59	1218	β-Siklositral	0.91
15	26.51	1283	Bornil asetat	0.43
16	26.70	1287	Karvakrol	0.52
17	26.86	1290	Dimethoxydurene	2.53
18	27.80	1312	Theaspirane	0.84
19	29.37	1349	Dehidro-ar-iyonen	0.138
20	29.54	1353	İzo-Chavibetol	0.27
21	31.29	1394	Tetradekan	0.49
22	32.21	1418	cis-Karyofilen	0.65
23	35.33	1493	Nonadekan	0.22
24	36.39	1516	Trans-Kalamen	0.49
25	36.64	1521	Dihidroaktinidiolid	0.70

Rt -Retention times on an HP-5MS UI column

RI - Experimentally determined retention indices on an HP-5MS UI column

Fitokimyasal analiz sonuçları, *Glaucium flavum* Crantz'da çeşitli kimyasal sınıflara ait bileşiklerin varlığını ortaya koymuştur. Alifatik ve aromatik aldehytlar grubunda en yüksek oranları Benzaldehit (%38.47) ve 1-Hekzanal-2-etil (%34.87) bileşikler göstermiş olup, bunları Benzen asetaldehit (%4.91), Nonanal (%2.98), Dekanal (%0.87) ve Hekzanal (%0.48) takip etmiştir. Terpenoidler içerisinde monoterpen ve türevleri olarak β-Siklositral (%0.91), Bornil asetat (%0.43) ve Karvakrol (%0.52); seskiterpenler olarak Cis-Karyofilen (%0.65) ve Trans-Kalamen (%0.49); non-karotenoidler olarak ise Theaspirane (%0.84), Dihidroaktinidiolid (%0.7) ve Dehidro-ar-iyonen (%0.14) belirlenmiştir. Hidrokarbon bileşikler arasında alifatik yapıda Undekan (%1.25), Tetradekan (%0.49) ve Nonadekan (%0.22); aromatik hidrokarbon olarak Siklopropan (%0.03) ve Azulen (%2.75) tespit edilmiştir. Diğer sınıflardan ise keton grubu bileşikler olarak Sülkaton (%4.29) ve Fenil etil keton (%0.28), fenolik bileşik olarak İzo-Chavibetol (%0.27), heterosiklik bileşik olarak Tetrametilpirazin (%0.63) ve uçucu organik bileşik olarak Dimetoksiduren (%2.53) saptanmıştır. Bu sonuçlar, *Glaucium flavum* Crantz'ın zengin bir fitokimyasal profile sahip olduğunu göstermektedir. *Glaucium flavum* Crantz fitokimyasal analiz sonuçlarına göre, makro bileşikler olarak 1-Heksanal-2-etil (%34.87) ve benzaldehit (%38.47) öne çıkmaktadır. Bu bileşiklerden benzaldehit, en basit uçucu aromatik aldehyt olup, çeşitli benzenoidlerin biyosentezinde kritik bir öncü rolü oynamaktadır. Benzaldehit, tozlayıcıları çekerek ekolojik işlev gösterirken, aynı zamanda tatlandırıcı ve antifungal ajan olarak da etki etmektedir [benz]. Endüstriyel açıdan benzaldehit, tat, koku ve kozmetik sektörlerinde yaygın kullanıma sahip olup, boyalar ve plastiklerin üretiminde hayati bir öncü görevi görmektedir [71].

Bitkide major bileşiklerden bir diğeri olan sulkaton (%4.29), bazı çalışmalarda tahılların çimlenmesini etkilemeden depolanmış mısırdaki hem böceklerle hem de filamentli mantarlara karşı etkili olduğu gösterilmiştir [72]. Bu bulgu, sulkatonun insektisidal ve antifungal potansiyelini öne çıkarmaktadır.

Ayrıca bitkide düşük oranda (%0.52) bulunan önemli bileşiklerden olan karvakrol için çeşitli biyolojik aktiviteler rapor edilmiştir. Birçok çalışma karvakrolün fungisidal [73, 74], insektisidal [75] ve antimikrobiyal aktiviteler [76] sergilediğini belirtmiştir. İn vitro çalışmalarda karvakrolün antikarsinojenik ve antitümör aktiviteleri [77, 78], güçlü antimutajenik etkiler ve antioksidan özellikler [79, 80] gösterdiği de bildirilmiştir. Bu bileşiklerin varlığı, *Glaucium flavum Crantz*'ın potansiyel biyolojik aktivitelerini ve endüstriyel kullanım alanlarını açıklamada önemli bilgiler sunmaktadır.

Bitkide tespit edilen başka bir bileşik olan tetrametilpirazin (%0.63) ise çeşitli terapötik etkilere sahiptir. Bu bileşik süperoksit radikallerini temizleme, böbrek diyalizine yardımcı olma, nefrit sendromunu azaltma, diyabetik nefropatiye karşı koruma sağlama, pulmoner vazodilatör etkiyi artırma ve iskemik inmeyi tedavi etme potansiyeline sahiptir. Ayrıca anti-hipertansif ve antibakteriyel etkiler de göstermektedir [81-84].

Glaucium flavum Crantz'ın toprak üstü kısımlarının fitokimyasal profili, önemli biyoaktif potansiyele sahip çeşitli kimyasal bileşikler içermektedir. Benzaldehit (%38,47) ve 1-heksanal-2-etil (%34,87) bileşiklerinin ana bileşenler olarak baskın olması, bu bitkinin ekolojik ortamında etkili bir antimikrobiyal ve böcek çekici ajan olarak işlev görebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, belgelenmiş biyolojik aktivitelere sahip bileşiklerin varlığı—sulkatonun antifungal ve insektisidal özellikleri, karvakrolün antimikrobiyal, antitümör ve antioksidan etkileri ile tetrametilpirazinin böbrek fonksiyonu, hipertansiyon ve iskemik inme tedavisindeki terapötik potansiyeli *Glaucium flavum Crantz*'ın farmasötik ve tarımsal uygulamalar için değerli bir biyoaktif bileşik kaynağı olabileceğini göstermektedir. Düşük konsantrasyonda (%0,91) tespit edilmiş olan β -siklositral'in varlığı da, bu bileşiğin önceki çalışmalarda çeşitli biyolojik aktivitelerle ilişkilendirilmesi nedeniyle, bitkinin potansiyel değerini artırmaktadır.

Literatürde *Glaucium flavum Crantz* üzerine yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Yakın dönemde gerçekleştirilen bir çalışmada G. flavum Crantz'ın kök ekstraktının fitokimyasal profili incelenmiş, ancak tanımlanmış bileşik çeşitliliği ve konsantrasyonları sınırlı düzeyde kalmıştır [85]. Bu çalışmada, literatürden farklı olarak bitkinin aerial kısımları kullanılmıştır. Bu metodolojik yaklaşım, daha geniş spektrumda fitokimyasal bileşenlerin tespit edilmesini ve yüksek konsantrasyonlarda metabolit profilinin elde edilmesini mümkün kılmıştır.

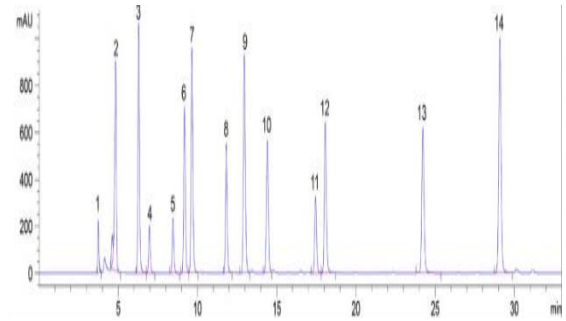
Bu bulgular, özellikle bu tür bitkilerin geleneksel kullanımlarıyla uyumlu olan antimikrobiyal, antioksidan ve farmasötik özelliklere odaklanarak, bu biyoaktif

bileşenlerin izolasyonu, karakterizasyonu ve terapötik uygulamaları konusunda ileride yapılacak araştırmalar için sağlam bir temel oluşturmaktadır.

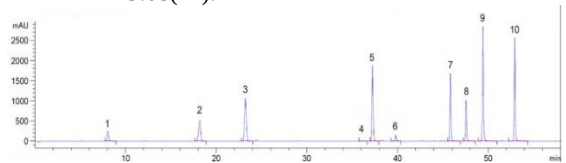
***Glaucium flavum Crantz* Ekstraktının HPLC Analizi ile Fenolik ve Flavonoid Bileşiklerinin Miktar Tayini**

Bu çalışmada, *Glaucium flavum Crantz*'ın fitokimyasal içeriği kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir. Araştırmada, askorbik asit vitamini ile birlikte çeşitli fenolik bileşikler ve flavonoidler incelenmiştir. Standart olarak kullanılan bileşikler arasında gallik asit, 3,4-hidroksi benzoik asit, vanilik asit, siringik asit, kumarik asit, kafeik asit, rosmarinik asit, pirogallol, klorojenik asit, oleuropein ve resveratrol gibi 12 fenolik bileşik bulunmaktadır. Ayrıca kateşin, epikateşin, rutin, mirsetin, kuersetin, apigenin, siyanidin klorür, hesperitin, kaempferol, baicalin ve krisin olmak üzere 11 flavonoid analiz edilmiştir.

Çalışmada iki farklı analitik yöntem kullanılmıştır. A yönteminde askorbik asit, gallik asit, 3-4 hidroksibenzoik asit, kateşin, epikateşin, kafeik asit, vanilik asit, rutin, kumarik asit, ferulik asit, rosmarinik asit, mirisetin, kuersetin ve apigenin analiz edilirken; B yönteminde pirogallol, klorojenik asit, siringik asit, siyanidin klorür, resveratrol, oleuropein, hesperitin, kaempferol, baicalein ve krisin belirlenmiştir. Şekil 2 ve Şekil 3'de gösterildiği üzere, fenolik bileşikler kromatografik olarak net bir şekilde birbirinden ayrılmıştır.



Şekil 2. Fenolik Standartların HPLC Kromatogramları (Yöntem A). Sembolleri ve alıkonma süreleri: askorbik asit (AsA); 3.74(1), gallik asit; 4.84(2), 3-4 hidroksibenzoik asit; 6.29(3), kateşin; 6.96(4), epikateşin; 8.45(5), kafeik asit; 9.17(6), vanilik asit; 9.65(7), rutin; 11.81(8), kumarik asit; 12.95(9), ferulik asit; 14.41(10), rosmarinik asit; 17.44(11), mirisetin; 18.04(12), kuersetin; 24.2(13), apigenin; 29.08(14).



Şekil 3. Fenolik Standartların HPLC Kromatogramları (Yöntem B). Sembolleri ve alıkonma süreleri: pirogallol; 8.045(1), klorojenik asit; 18.184(2), siringik asit; 23.228(3), siyanidin klorür; 36.248(4),

resveratrol; 37.236(5), oleuropein; 39.810(6), hesperitin; 45.84(7), kaempferol; 47.562(8), baicalin; 49.435(9), krisin; 52.939(10)

Glaucium flavum Crantz'ın toprak üstü kısımları üzerinde yürütülen analizler sonucunda, toplam 24 fenolik bileşiğin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi için yöntem A ve yöntem B kullanılarak kapsamlı bir çalışma gerçekleştirilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. *Glaucium Flavum Crantz* Ekstraktı'nın fenolik bileşik içerikleri

No	Bileşikler	<i>Glaucium Flavum Crantz</i> Ekstraktı (mg/L)
Vitamin		
1	Askorbik asit	1078.17
Fenolik		
2	Gallik asit	200.32
3	3,4 hidroksi benzoik asit	36.01
4	Vanilik asit	75.65
5	Siringik asit	T/E
6	Kumarik Asit	T/E
7	Kafeik asit	384.06
8	Ferulik asit	T/E
9	Rozmarinik asit	T/E
10	Progallol	3089.23
11	Klorojenik asit	229.44
12	Resveratrol	T/E
13	Oleuropein	T/E
Flavonoid		
14	Kateşin	649.58
15	Epikateşin	90.39
16	Rutin	16000
17	Mirisetin	T/E
18	Kersetin	114.89
19	Apigenin	T/E
20	Siyanidin klorür	T/E
21	Hesperitin	T/E
22	Kaempferol	T/E
23	Baicalin	43,81
24	Krisin	T/E

Not: T/E - Tespit Edilemedi

Analiz sonuçları incelendiğinde, 24 fenolik bileşikten 12 tanesinin tespit edilebilecek düzeyde olduğu görülmüştür. Vitamin içeriği açısından değerlendirildiğinde, bitkide askorbik asit miktarı 1078,17 mg/kg olarak belirlenmiştir. Fenolik bileşikler arasında, pirogallol 3089,23 mg/kg değeriyle majör bileşik olarak tespit edilmiştir. Diğer önemli fenolik bileşikler arasında gallik asit (200,32 mg/kg), 3,4-hidroksi benzoik asit (36,01 mg/kg), vanilik asit (75,65 mg/kg), kafeik asit (384,06 mg/kg) ve klorojenik asit

(229,44 mg/kg) bulunmaktadır. Flavonoid bileşikler arasında ise rutin (16000 mg/kg) ve kateşin (649,58 mg/kg) majör bileşikler olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca baicalin (43,81 mg/kg), epikateşin (90,39 mg/kg) ve kuersetin (114,89 mg/kg) gibi diğer flavonoidler de tespit edilmiştir.

Araştırmada belirlenen askorbik asit (C vitamini), önemli bir besinsel antioksidan olarak kabul edilmektedir. C vitamini, kardiyovasküler hastalık, inme, kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve kataraktogenez gibi kronik hastalıklarla ilişkilendirilen reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin sebep olduğu lipidler, DNA ve proteinler gibi makromoleküllerdeki oksidatif hasarı önemli ölçüde azaltma özelliğine sahiptir [86]. Literatür C vitamininin yüksek oranda antioksidan, anti-aterojenik, anti-kanserojen ve immünomodülatör gibi çok sayıda sağlık yararı sağladığını göstermektedir. *Glaucium flavum Crantz*'da tespit edilen yüksek askorbik asit miktarı (1078,17 mg/kg), bitkinin sağlık açısından önemli bir potansiyele sahip olduğuna işaret etmektedir. Bitki fenollerı genellikle fenilpropanoid metabolik yolunun ürünleri olup çok çeşitli bileşiklerden oluşmaktadırlar. Bu bileşikler güçlü antioksidan özelliklere sahiptir ve kanser ile kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik rahatsızlıklarda rol oynayan DNA, lipidler ve proteinler gibi biyomoleküllerdeki oksidatif hasarı önleyebilmektedirler [87]. *Glaucium flavum Crantz*'da yapılan analizlerde tespit edilen fenolik bileşikler arasında en yüksek miktarda bulunan pirogallol (3089,23 mg/kg), antifungal ve antipsoriatik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir [88, 89]. Bitkide önemli miktarda bulunan kafeik asit (384,06 mg/kg) ise, çeşitli tarım ürünlerinde önemli bir doğal antioksidan kaynağı olarak tanımlanmaktadır [90,91]. Kafeik asitin kanser tedavisinde önemli bir kullanım potansiyeline sahip olduğu [92, 93] ve güçlü bir doğal antioksidan olarak kabul edildiği bildirilmiştir [94]. Yapılan çalışmalarda, kafeik asitin reaktif oksijen türleri (ROS) seviyelerini artırarak ve mitokondriyal fonksiyonu bozarak kanser hücrelerinde apoptozu indükleyebildiği, ayrıca metastazı baskılayarak tümörlerin agresif davranışını azaltmada fayda sağladığı belirlenmiştir [95].

Bu araştırma sonuçlarında, flavonoidlerin bitkiler tarafından üretilen ve güçlü antioksidan özelliklere sahip polifenolik bileşikler olduğu vurgulanmaktadır. Flavonoidler aynı zamanda anti-enflamatuvar, antiviral ve antikarsinojenik etkileriyle de bilinmektedir. *Glaucium flavum Crantz*'ın ekstraktında yapılan analizlerde incelenen 11 flavonoid arasında rutin, kateşin, baicalin, epikateşin ve kuersetin tespit edilebilir düzeylerde bulunmuştur. Tespit edilen flavonoidler arasında özellikle rutin ve kateşin dikkati çekmektedir. Kateşin, flavanollerin bir alt sınıfına ait olan bir flavonoid türü olup, güçlü antioksidan özelliklere sahiptir. Kimyasal yapısı dört fenolik halka içermekte olup, serbest radikalleri nötralize etme, inflamasyonu azaltma, kardiyovasküler sağlığı destekleme ve potansiyel nöroprotektif etkiler gösterme özellikleriyle bilinmektedir.

Analiz sonuçlarında en yüksek miktarda bulunan bileşik olan rutin (16000 mg/kg), en fazla tespit edilen fenolik bileşik olan pirogallolden (3089,23 mg/kg) yaklaşık beş kat daha fazla, ikinci en yüksek flavonoid olan kateşinden (649,58 mg/kg) ise yaklaşık 25 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Rutin'in süperoksit, peroksil ve hidroksil radikalleri gibi farklı oksitleyici türler üzerindeki indirgeyici özellikleri, önemli bir antioksidan etki sağlamaktadır [96]. Bunun yanı sıra, rutin antitanser, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar etkiler gibi çeşitli farmakolojik özelliklere de sahip olduğu bildirilmiştir [97]. Bu özelliklerinden dolayı, yüksek oranda rutin içeriğine sahip olan *Glaucium flavum Crantz*'ın antitanser, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar etki potansiyeli taşıdığı düşünülmektedir. Bitkinin içerdiği bu biyoaktif bileşiklerin, ileride yapılacak farmakolojik çalışmalar için önemli bir kaynak olabileceği öngörülmektedir.

Bu çalışmada incelenen *Glaucium flavum Crantz* türü üzerine literatürdeki araştırmalar sınırlıdır. Benzer türler üzerinde yapılan çalışmalara bakıldığında, *G. corniculatum* [98] bitkisinin metanol ekstraktında HPLC analizleri ile rutin (45 µg/ml) ve kuersetin (12 µg/ml) majör flavonoidler olarak tespit edilmiş, diğer flavonoidlerin ise ihmal edilebilir düzeyde olduğu belirlenmiştir. *G. alakirensis* [99] türünde ise kateşin (39.08 ppm), klorojenik asit (32.95 ppm) ve gallik asit (5.57 ppm) içerikleri saptanmıştır. *Glaucium flavum Crantz*'ın etanol fraksiyonunda Boulaaba ve arkadaşları [100] tarafından kaempferol, kafeik asit, kateşin hidrat, siringik asit, klorojenik asit, izokuersetin ve trans-hidroksisinnamik asit gibi bileşiklerin varlığı tanımlanmıştır. Bu bileşiklerin konsantrasyonları 17 ile 20 mg/kg arasında değişmektedir. Bu çalışmada uygulanan analitik metodoloji, literatürdeki diğer araştırmalara kıyasla daha kapsamlı bir bileşik profilinin aydınlatılmasını sağlamıştır. Özellikle dikkat çekici bulgular arasında, *Glaucium flavum Crantz*'daki rutin konsantrasyonunun (16000 mg/kg) pirogallolden (3089.23 mg/kg) yaklaşık beş kat, kateşinden ise yaklaşık 25 kat daha fazla olması yer almaktadır. Bu değerler, literatürde bildirilenlere göre önemli ölçüde yüksektir ve mevcut çalışmanın daha kapsamlı olduğunu göstermektedir. Mevcut araştırma, diğer çalışmalara göre daha sofistike analitik tekniklerin entegrasyonu, daha yüksek konsantrasyonlarda biyoaktif bileşiklerin tespiti ve daha geniş spektrumda fitokimyasalların eş zamanlı analizi açısından üstünlük göstermektedir. Sonuç olarak, bu çalışmada *Glaucium flavum Crantz*'ın fitokimyasal profili detaylı bir şekilde ortaya konulmuştur. Bitkinin içerdiği yüksek miktardaki rutin (16000 mg/kg), pirogallol (3089.23 mg/kg) ve askorbik asit (1078.17 mg/kg) gibi biyoaktif bileşiklerin varlığı, potansiyel farmakolojik değerini vurgulamaktadır. Özellikle rutin antioksidan, antitanser, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar etkileri göz önüne alındığında, *G. flavum Crantz*'ın modern tıpta kullanılabilecek fitoterapötik ajanların geliştirilmesinde önemli bir kaynak olabileceği düşünülmektedir. Gelecekte yapılacak in vitro ve in vivo çalışmalarla, bu bitkiden elde edilecek ekstrakt ve izole

edilmiş bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi, tıbbi potansiyelinin tam olarak anlaşılmasına ve yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlayacaktır. Bu araştırma, *G. flavum Crantz*'ın zengin fitokimyasal içeriğini ortaya koyarak, doğal kaynaklı biyoaktif bileşiklerin keşfi ve değerlendirilmesi açısından literatüre önemli bir katkı sunmaktadır.

***Glaucium flavum Crantz*'ın Toplam Fenolik ve Flavonoid İçeriği ile CUPRAC ve FRAP Yöntemleriyle Antioksidan Kapasitesinin Değerlendirilmesi**

Bu çalışmada *Glaucium flavum Crantz*'ın toprak üstü kısmının metanolik ekstraktlarına toplam fenolik, toplam flavonoid, FRAP ve CUPRAC içerikleri spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Tablo 4). Toplam fenolik içeriğin 13.84 ± 0.46 mg GAE/g, toplam flavonoid içeriğinin ise 7.65 ± 0.22 mg GAE/g olduğu belirlenmiştir. Fenolik içeriğin flavonoid içeriğinden yaklaşık iki kat fazla olması (13.84 mg GAE/g'a karşı 7.65 mg GAE/g), bitkide flavonoidlerin yanı sıra diğer fenolik bileşik sınıflarının da önemli miktarda bulunduğunu göstermektedir. Antioksidan kapasite testlerinde FRAP değeri 10.98 ± 0.22 µmol Fe²⁺/g ve CUPRAC değeri 0.11 ± 0.01 mmol TEAC/g kuru ağırlık olarak tespit edilmiştir, bu da bitkinin çeşitli redoks sistemleri üzerinde etkili bileşikler içerdiğini doğrulamaktadır.

Tablo 4. *Glaucium flavum Crantz* Ekstraktlarının Antioksidan Özellikleri, Toplam Fenolik İçeriği, Toplam Flavonoid İçeriği ve Antioksidan Kapasite (FRAP ve CUPRAC) Sonuçları

Takson	Toplam fenolik içerik (mg GAE/g kuru örnek)	Toplam flavonoid içerik (mg QE/g kuru örnek)	Frap (µmol FeSO ₄ .7H ₂ O /g örnek)	Cuprac (mmol TEAC/g örnek)
Örnek	13.84 ± 0.46	7.65 ± 0.22	10.98 ± 0.22	0.11 ± 0.01

Literatürdeki diğer *Glaucium* türleriyle karşılaştırıldığında, *G. flavum Crantz*'ın *G. grandiflorum* var. *grandiflorum*'dan toplam fenolik içerik bakımından yaklaşık dört kat (13.84 mg GAE/g'a karşı 3.54 mg GAE/g), flavonoid içeriği bakımından yaklaşık 2.5 kat (7.65 mg GAE/g'a karşı 3.15 mg CE/g) daha zengin olduğu görülmektedir [101]. Ayrıca, *G. acutidentatum* (toplam fenolik: 0.70 mg GAE/g; toplam flavonoid: 1.84 mg CE/g) ve *G. corniculatum* (toplam fenolik: 0.80 mg GAE/g; toplam flavonoid: 1.63 mg CE/g) türlerinden de belirgin şekilde daha yüksek antioksidan bileşen içeriğine sahiptir [102]. Bu bulgular, *Glaucium flavum Crantz*'ın oksidatif stres kaynaklı hastalıklara karşı koruyucu potansiyele sahip olduğunu ve farmasötik uygulamalarda değerli bir kaynak olabileceğini göstermektedir. İleriki çalışmalarda, bu aktiviteden

sorumlu bileşiklerin izolasyonu ve in vivo etkinliklerinin değerlendirilmesi, bitkinin terapötik değerini daha da belirginleştirecektir.

SONUÇ

Bu çalışmada, *Glaucium flavum Crantz*'ın toprak üstü kısımlarının fitokimyasal kompozisyonu ve antioksidan potansiyeli kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. HPLC-DAD ve SPME-GC-MS analizleri sonucunda, bitkide zengin bir biyoaktif bileşik profili tespit edilmiştir. Uçucu bileşikler arasında benzaldehit (%37.47) ve 1-hekzanal-2-etil (%33.87) ana bileşenler olarak öne çıkarken, sülkaton (%4.29), tetrametilpirazin (%0.63) ve karvakrol (%0.52) gibi biyolojik aktivite potansiyeline sahip diğer bileşikler de saptanmıştır. Fenolik bileşikler açısından değerlendirildiğinde, pirogallol (3089.23 mg/kg), kafeik asit (384.06 mg/kg), klorojenik asit (229.44 mg/kg) ve gallik asit (200.32 mg/kg) önemli miktarlarda tespit edilmiştir. Flavonoidler arasında ise rutin (16000 mg/kg) ve kateşin (649.58 mg/kg) dikkat çekici şekilde yüksek konsantrasyonlarda bulunmuştur. Bitkinin C vitamini içeriğinin de oldukça yüksek (1078.17 mg/kg) olduğu belirlenmiştir. Toplam fenolik içerik (13.84±0.46 mg GAE/g), toplam flavonoid içeriğinden (7.65±0.22 mg QE/g) yaklaşık iki kat daha yüksek bulunurken, FRAP (10.98±0.22 µmol Fe²⁺/g) ve CUPRAC (0.11±0.01 mmol TEAC/g) testleri bitkinin güçlü bir antioksidan potansiyele sahip olduğunu doğrulamıştır. Elde edilen sonuçlar, *Glaucium flavum Crantz*'ın bitkisinin içerdiği yüksek miktardaki rutin, pirogallol ve askorbik asit gibi biyoaktif bileşiklerin varlığı nedeniyle önemli bir antioksidan, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar etki potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, *Glaucium flavum Crantz*'ın modern farmakolojik araştırmalarda değerli bir kaynak olarak kullanılabileceğini ve terapötik ajanların geliştirilmesinde potansiyel bir bitki olduğunu ortaya koymaktadır. Gelecekte yapılacak in vitro ve in vivo çalışmalarla bu bitkiden elde edilecek ekstraktların ve izole edilmiş bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi, tıbbi potansiyelinin tam olarak anlaşılmasına ve yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] N. Kumar, V. Pruthi Potential applications of ferulic acid from natural sources Biotechnology Reports, 4 (2014), pp. 86-93
- [2] K.H. Kwon, A. Barve, S. Yu, M.T. Huang, A.N. Kong Cancer chemoprevention by phytochemicals: potential molecular targets, biomarkers and animal models Acta Pharmacologica Sinica, 28 (2007), pp. 1409-1421
- [3] Moore, M. Yousef, E. Tsiani Anticancer effects of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) extract and rosemary extract polyphenols Nutrients, 8 (2016)
- [4] Trivellini, M. Lucchesini, R. Maggini, H. Mosadegh, T.S.S. Villamarin, P. Vernieri, A.

- Mensuali Sodi, A. Pardossi Lamiaceae phenols as multifaceted compounds: bioactivity, industrial prospects and role of positive-stress Industrial Crops and Products, 83 (2016), pp. 241-254
- [5] Y. Sakihama, M.F. Cohen, S.C. Grace, H. Yama saki Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants Toxicology, 177 (2002), pp. 67-80
 - [6] W. Watjen, G. Michels, B. Steffan, P. Niering, Y. Chovolou, A. Kampkotter, Q.H. Tran Thi, P. Proksch, R. Kahl Low concentrations of flavonoids are protective in rat H4IIE cells whereas high concentrations cause DNA damage and apoptosis The Journal of Nutrition, 135 (2005), pp. 525-531
 - [7] Ajila, C. M.; Brar, S. K.; Verma, M.; Tyagi, R. D.; Godbout, S.; Valéro, J. R. Extraction and Analysis of Polyphenols: Recent Trends. Crit. Rev. Biotechnol. 2011, 31 (3), 227-249.
 - [8] Bravo, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. Nutrit. Rev. 1998, 56, 317-333.
 - [9] Carvalho, L. M.; Martini, M.; Moreira, A. P. L.; de Lima, A. P.; Correia, D.; Falcão, T.; Garcia, S. C.; de Baires, A. V.; do Nascimento, P. C.; Bohrer, D. Presence of Synthetic Pharmaceuticals as Adulterants in Slimming Phytotherapeutic Formulations and Their Analytical Determination. Forensic Sci. Int. 2010, 204, 6-11.
 - [10] Carvalho, L. M. de; Moreira, A. P.; Martini, M.; Falcão, T. The Illegal Use of Synthetic Pharmaceuticals in Herbal Formulations: An Overview on the Adulteration Practice and Analytical Investigations. Forensic Sci. Rev. 2011, 23, 73-90.
 - [11] Krishnaiah, D.; Sarbatly, R.; Nithyanandam, R. A Review of the Antioxidant Potential of Medicinal Plant Species. Food Bioprod. Process. 2011, 89, 217-233.
 - [12] Maciel, M. A. M.; Pinto, A. C.; Veiga Jr., V. F.; Grynberg, N. F.; Echevarria, A. Plantas Medicinais: A Necessidade de Estudos Multidisciplinares. Quím. Nova 2002, 25 (3), 429-438.
 - [13] Balasundra, N.; Sundram, K.; Samman, S. 2006. Phenolic Compounds in Plants and Agro-industrial By-products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses. Food Chem. 2006, 99, 191-203.
 - [14] Stalikas, C. D. Extraction, Separation, and Detection Methods for Phenolic Acids and Flavonoids. J. Sep. Sci. 2007, 30, 3268-3295.
 - [15] Casella, I. G.; Colonna, C.; Contursi, M. Electroanalytical Determination of Some Phenolic Acids by High-performance Liquid Chromatography at Gold Electrodes. Electroanalysis 2007, 19 (14), 1503-1508.
 - [16] Gotti, R. Capillary Electrophoresis of Phytochemical Substances in Herbal Drugs and

- Medicinal Plants. J. Pharm. Biomed. Anal. 2011, 55, 775–801
- [17] Argyropoulos, D., Müller, J., 2014. Effect of convective-, vacuum- and freeze drying on sorption behaviour and bioactive compounds of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 1, 59–69.
- [18] Kumar, V., Chauhan, R.S., Sood, H., Tandon, C., 2015. Cost effective quantification of picrosides in *Picrorhiza kurroa* by employing response surface methodology using HPLC-UV. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology 24, 376–384.
- [19] Kumar, V., Sood, H., Chauhan, R.S., 2016. Optimization of a preparative RP-HPLC method for isolation and purification of picrosides in *Picrorhiza kurroa*. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology 25, 208–214.
- [20] Ray, A., Dutta Gupta, S., Ghosh, S., 2013. Isolation and characterization of potent bioactive fraction with antioxidant and UV absorbing activity from *Aloe barbadensis* Miller gel. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology 22, 483–487.
- [21] Irakli, M.N., Samanidou, V.F., Biliaderis, C.G., Papadoyannis, I.N., 2012. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in rice using solid-phase extraction and RP-HPLC with photodiode array detection. Journal of Separation Science 35, 1603–1611.
- [22] Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M., Corke, H., 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53, 7749–7759.
- [23] Saito, S.T., Welzel, A., Suyenaga, E.S., Bueno, F., 2006. A method for fast determination of epigallocatechin gallate (EGCG) epicatechin (EC), catechin (C) and caffeine (CAF) in green tea using HPLC. Food Science and Technology (Campinas) 26, 394–400.
- [24] Cantalapiedra, A., Gismera, M.J., Sevilla, M.T., Procopio, J.R., 2014. Sensitive and selective determination of phenolic compounds from aromatic plants using an electrochemical detection coupled with HPLC method. Phytochemical Analysis 25, 247–254.
- [25] Barrajón-Catalán, E., Fernández-Arroyo, S., Roldán, C., Guillén, E., Saura, D., Segura-Carretero, A., Micol, V., 2011. A systematic study of the polyphenolic composition of aqueous extracts deriving from several *Cistus* genus species: evolutionary relationship. Phytochemical Analysis 22, 303–312.
- [26] Harris, C.S., Burt, A.J., Saleem, A., Le, P.M., Martineau, L.C., Haddad, P.S., Bennett, S.A., Arnason, J.T., 2007. A single HPLC-PAD-APCI/MS method for the quantitative comparison of phenolic compounds found in leaf stem, root and fruit extracts of *Vaccinium angustifolium*. Phytochemical Analysis 18, 161–169.
- [27] Kalili, K.M., de Villiers, A., 2011. Recent developments in the HPLC separation of phenolic compounds. Journal of Separation Science 34, 854–876.
- [28] Ribas-Agustí, A., Gratacos-Cubarsi, M., Sarraga, C., García-Regueiro, J.A., Castellari, M., 2011. Analysis of eleven phenolic compounds including novel p-coumaroyl derivatives in lettuce (*Lactuca sativa* L.) by ultra-high-performance liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometry detection. Phytochemical Analysis 22, 555–563.
- [29] Rodríguez-Solana, R., Salgado, J.M., Domínguez, J.M., Cortes-Díez, S., 2015. Comparison of Soxhlet, accelerated solvent and supercritical fluid extraction techniques for volatile (GC–MS and GC/FID) and phenolic compounds (HPLC–ESI/MS/MS) from Lamiaceae species. Phytochemical Analysis 26, 61–71.
- [30] Stalikas, C.D., 2007. Extraction separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. Journal of Separation Science 30, 3268–3295.
- [31] Rambla, J.L., Trapero-Mozos, A., Diretto, G., Rubio-Moraga, A., Granell, A., Gómez-Gómez, L., Ahrazem, O. Gene-Metabolite Networks of Volatile Metabolism in Airen and Tempranillo Grape Cultivars Revealed a Distinct Mechanism of Aroma Bouquet Production. Front. Plant Sci. 2016, 7. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [32] Zhang, J.; Zhao, J.; Xu, Y.; Liang, J.; Chang, P.; Yan, F.; Li, M.; Liang, Y.; Zou, Z. Genome-Wide Association Mapping for Tomato Volatiles Positively Contributing to Tomato Flavor. Front. Plant Sci. 2015, 6, 1–13. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [33] Slegers, A.; Angers, P.; Ouellet, É.; Truchon, T.; Pedneault, K. Volatile compounds from grape skin, juice and wine from five interspecific hybrid grape cultivars grown in Québec (Canada) for wine production. Molecules 2015, 20, 10980–11016. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [34] Ma, X.-W.; Su, M.-Q.; Wu, H.-X.; Zhou, Y.-G.; Wang, S.-B. Analysis of the Volatile Profile of Core Chinese Mango Germplasm by Headspace Solid-Phase Microextraction Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Molecules 2018, 23, 1480. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [35] Marsili, R. Flavor, Fragrance, and Odor Analysis, 2nd ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2012. [[Google Scholar](#)]
- [36] Van Nocker, S.; Gardiner, S.E. Breeding better cultivars, faster: applications of new technologies for the rapid deployment of superior horticultural tree crops. Hortic. Res. 2014, 1, 14022. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Green Version](#)]
- [37] Yang, S.; Fresnedo-Ramírez, J.; Wang, M.; Cote, L.; Schweitzer, P.; Barba, P.; Takacs, E.M.; Clark,

- M.; Luby, J.; Manns, D.C.; et al. A next-generation marker genotyping platform (AmpSeq) in heterozygous crops: A case study for marker-assisted selection in grapevine. *Hortic. Res.* **2016**, 3, 16002. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [38] Chaparro-Torres, L.A.; Bueso, M.C.; Fernández-Trujillo, J.P. Aroma volatiles obtained at harvest by HS-SPME/GC-MS and INDEX/MS-E-nose fingerprint discriminate climacteric behaviour in melon fruit. *J. Sci. Food Agric.* **2016**, 96, 2352–2365. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [39] Obando-Ulloa, J.M.; Ruiz, J.; Monforte, A.J.; Fernández-Trujillo, J.P. Aroma profile of a collection of near-isogenic lines of melon (*Cucumis melo* L.). *Food Chem.* **2010**, 118, 815–822. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
- [40] Dunemann, F.; Ulrich, D.; Boudichevskaia, A.; Grafe, C.; Weber, W.E. QTL mapping of aroma compounds analysed by headspace solid-phase microextraction gas chromatography in the apple progeny “Discovery” × “Prima”. *Mol. Breed.* **2009**, 23, 501–521. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
- [41] Vogt, J.; Schiller, D.; Ulrich, D.; Schwab, W.; Dunemann, F. Identification of lipoxygenase (LOX) genes putatively involved in fruit flavour formation in apple (*Malus × domestica*). *Tree Genet. Genomes* **2013**, 9, 1493–1511. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
- [42] Battilana, J.; Costantini, L.; Emanuelli, F.; Sevin, F.; Segala, C.; Moser, S.; Velasco, R.; Versini, G.; Grando, M.S. The 1-deoxy-d-xylulose 5-phosphate synthase gene co-localizes with a major QTL affecting monoterpene content in grapevine. *Theor. Appl. Genet.* **2009**, 118, 653–669. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [43] Doligez, A.; Audiot, E.; Baumes, R.; This, P. QTLs for muscat flavor and monoterpenic odorant content in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Mol. Breed.* **2006**, 18, 109–125. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
- [44] Guillaumie, S.; Ilg, A.; Réty, S.; Brette, M.; Trossat-Magnin, C.; Decroocq, S.; Léon, C.; Keime, C.; Ye, T.; Baltenweck-Guyot, R.; et al. Genetic Analysis of the Biosynthesis of 2-Methoxy-3-Isobutylpyrazine, a Major Grape-Derived Aroma Compound Impacting Wine Quality. *Source Plant Physiol.* **2013**, 162, 604–615. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [45] Bezman, Y.; Mayer, F.; Takeoka, G.R.; Buttery, R.G.; Ben-oliel, G.; Rabinowitch, H.D.; Naim, M. Differential effects of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) matrix on the volatility of important aroma compounds. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 722–726. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [46] Vandendriessche, T.; Nicolai, B.M.; Hertog, M.L.A.T.M. Optimization of HS SPME Fast GC-MS for High-Throughput Analysis of Strawberry Aroma. *Food Anal. Methods* **2013**, 6, 512–520. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
- [47] García-Vico, L.; Belaj, A.; Sánchez-Ortiz, A.; Martínez-Rivas, J.M.; Pérez, A.G.; Sanz, C. Volatile Compound Profiling by HS-SPME/GC-MS-FID of a Core Olive Cultivar Collection as a Tool for Aroma Improvement of Virgin Olive Oil. *Molecules* **2017**, 22, 141. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [48] Rappé G (1984) The distribution of some lesser known thalassochorous plant species along the Belgian coast, compared with their distribution in Western Europe. *Biol. Jaarb.* 52:35–56
- [49] Solås HF, Stabbetor OE, Nordal I (2007) The viability of a plant “on the edge”: *Glaucium flavum* (Papaveraceae) in Norway. *Nord J Bot* 24:433–444
- [50] Ellstrand NC, Elam DR (1993) Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Ann Rev Ecol Syst* 24:217–242
- [51] Oostermeijer JGB (1996) Population size, genetic variation, and related parameters in small, isolated plant populations: a case study. In: Settele J, Margules C, Poschlod P, Henle K (eds) *Species survival in fragmented landscapes*. The GeoJournal Library 35, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp 61–68
- [52] Young A, Boyle T, Brown T (1996) The population genetic consequences of habitat fragmentation in plants. *Trends Ecol Evol* 11(413):418
- [53] Tawaha K, Alali F, Gharabeh M, Mohammad M, El-Elmat T (2007) Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem* 104:1372–1378
- [54] Arafa AM, Mohamed MES, Eldahmy SI (2016) The aerial parts of yellow horn poppy (*Glaucium flavum* cr.) growing in Egypt: isoquinoline alkaloids and biological activities. *J Pharm Sci Res* 8 (5):323–332
- [55] Bournine L, Bensalem S, Wauters J-N, Iguer-Ouada M, MaizaBenabdesselam F, Bedjou F, Castronovo V, Bellahcene A, Tits M, Frédéric M (2013) Identification and quantification of the main active anticancer alkaloids from the root of *Glaucium flavum*. *Int J Mol Sci* 14:23533–23544
- [56] Safa O, Soltanipoor MA, Rastegar S, Kazemi M, Dehkordi KN, Ghannadi A (2013) An ethnobotanical survey on hormozgan province, Iran. *Avicenna J Phytomed* 3:64–81
- [57] Aytar, E. C. (2024). *Glaucium flavum*-Derived Phytochemical Compounds and Their Molecular Interactions with SIRT1. *ChemistrySelect*, 9(45), e202403811. <https://doi.org/10.1002/slct.202403811>
- [58] Meyer, G. M. J., Meyer, M. R., Wissenbach, D. K., & Maurer, H. H. (2013). Studies on the metabolism and toxicological detection of glaucine, an isoquinoline alkaloid from *Glaucium flavum* (Papaveraceae), in rat urine using GC-MS, LC-MSn and LC-high-resolution MSn. *Journal of Mass*

- Spectrometry, 48(1), 24-41.
<https://doi.org/10.1002/jms.3112>
- [59] Bozkurt, B., Ulkar, D., Nurlu, N., Coban, G., Gumus, Z. P., & Unver-Somer, N. (2024). Variability of Isoquinoline Alkaloid Profiles and Anticholinesterase Activities with Binding-Mode Predictions of *Glaucium flavum* Population. *Chemistry & Biodiversity*, 21(4), e202301865. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202301865>
- [60] Bourmine L, Bensalem S, Wauters J-N, Iguer-Ouada M, MaizaBenabdesselam F, Bedjou F, Castronovo V, Bellahcène A, Tits M, Frédérick M (2013) Identification and quantification of the main active anticancer alkaloids from the root of *Glaucium flavum*. *Int J Mol Sci* 14:23533–23544
- [61] Boulaaba, M., Kalai, F. Z., Dakhlaoui, S., Ezzine, Y., Selmi, S., Bourgou, S., Smaoui, A., Isoda, H., & Ksouri, R. (2019). Antioxidant, antiproliferative and anti-inflammatory effects of *Glaucium flavum* fractions enriched in phenolic compounds. *Medicinal Chemistry Research*, 28(12), 1995-2001. <https://doi.org/10.1007/s00044-019-02429-y>
- [62] <https://bizimbitkiler.org.tr/yeni/demos/technical/>
- [63] <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:673167-1>
- [64] Uysal, A., Zengin, G., Durak, Y., & Aktumsek, A. (2016). Investigation of the antioxidant, antimutagenic properties and enzyme inhibition potential of *Centaurea pterocaula* extracts. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 20(232-242). DOI: 10.12991/mpj.20162094922
- [65] Akbulut, İ., Gürbüz, E., Rayman Ergün, A., & Baysal, T. (2021). Drying of apricots treated with Ginkgo biloba plant extract and determination of the quality properties. *Journal of Advanced Research in Natural and Applied Sciences*, 7(1), 145-159. DOI: doi.org/10.28979/jarnas.840237.
- [66] Slinkard, K., Singleton, V. L., 1977: Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
- [67] Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.
- [68] Benzie, I. F., & Szeto, Y. T. (1999). Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(2), 633-636.
- [69] Apak, R., Güçlü, K., Ozyürek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981. [CrossRef]
- [70] Kumar, A., Varshney, V. K., Rawat, M.S.M., Martinez, J. R., & Stashenko, E. E. (2018). HS-SPME/GC/GC-MS Analysis of Volatile Constituents of *Morina longifolia* Wall. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(1), 155-163. DOI: 10.1080/0972060X.2018.1437782
- [71] Chen, L.1,2 and Liao, P. (2025). Current insights into plant volatile organic compound biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 63, 102054. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2025.02.003>
- [72] Achimón, F., Peschiutta, M. L., Brito, V. D., Ulla, S. B., & Pizzolitto, R. P. (2022). Sulcatone as a Plant-Derived Volatile Organic Compound for the Control of the Maize Weevil and Its Associated Phytopathogenic Fungi in Stored Maize. *Plants*, 11(3), 378. <https://doi.org/10.3390/plants11030378>
- [73] Ahmad, A.; Khan, A.; Akhtar, F.; Yousuf, S.; Xess, I.; Khan, L.A.; Manzoor, N. Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis*. 2011, 30, 41–50.
- [74]. Dambolena, J.S.; Zygadlo, J.A.; Rubinstein, H.R. Antifumonisin activity of natural phenolic compounds. A structure-property-activity relationship study. *Int. J. Food Microbiol*. 2011, 145, 140–146.
- [75]. Tang, X.; Chen, S.; Wang, L. Purification and identification of carvacrol from the root of *Stellera chamaejasme* and research on its insecticidal activity. *Nat. Prod. Res*. 2011, 25, 320–325.
- [76] Nostro, A.; Papalia, T. Antimicrobial activity of carvacrol: current progress and future perspectives. *Recent. Pat. Antiinfect. Drug Discov*. 2012, 7, 28–35.
- [77] Koparal, A.T.; Zeytinoglu, M. Effects of Carvacrol on a Human Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Cell Line, A549. *Cytotechnology* 2003, 43, 149–154.
- [78] Karkabounas, S.; Kostoula, O.K.; Daskalou, T.; Veltsistas, P.; Karamouzis, M.; Zelovitis, I.; Metsios, A.; Lekkas, P.; Evangelou, A.M.; Kotsis, N.; et al. Anticarcinogenic and antiplatelet effects of carvacrol. *Exp. Oncol*. 2006, 28, 121–125.
- [79] Mezzoug, N.; Elhadri, A.; Dallouh, A.; Amkiss, S.; Skali, N.S.; Abrini, J.; Zhiri, A.; Baudoux, D.; Diallo, B.; El Jaziri, M.; et al. Investigation of the mutagenic and antimutagenic effects of *Origanum compactum* essential oil and some of its constituents. *Mutat. Res*. 2007, 629, 100–110.
- [80] Sokmen, A.; Sokmen, M.; Daferera, D.; Polissiou, M.; Candan, F.; Unlu, M.; Akpulat, H.A. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteini* Afan. (Asteraceae). *Phytother. Res*. 2004, 18, 451–456.
- [81] Jung, M. Y., Bock, J. Y., Back, S. O., Lee, T. K., & Kim, J. H. (1997). Pyrazine contents and oxidative stabilities of roasted soybean oils. *Food Chemistry*, 60(1), 95–102.
- [82] Oddoy, A., Bee, D., Emery, C., & Barer, G. (1991). Effects of ligustrazine on the pressure/flow

- relationship in isolated perfused rat lungs. *European Respiratory Journal*, 4, 1223–1227.
- [83] Sun, Y. W., Jiang, J., Zhang, Z. J., Yu, P., Linda Wang, C. L., Xu, W., et al. (2008). Antioxidative and thrombolytic TMP nitron for treatment of ischemic stroke. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16, 8868–8874.
- [84] Zheng, F. M., Ren, Y. Z., & Zhao, T. F. (2005). Preliminary clinical observation on effect of sodium ferulate in treating diabetic nephropathy. *Chinese Journal of Integrated Chinese and Western Medicine*, 25(5), 419–421.
- [85] Aytar, E. C. (2024). *Glaucium flavum*-derived phytochemical compounds and their molecular interactions with SIRT1. *ChemistrySelect*, 9(45), e202403811.
- [86] Halliwell B and Gutteridge JMC: *Free radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Oxford 1999.
- [87] Hollman, P. C. H. (2001). Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 842-852. <https://doi.org/10.1002/jsfa.900>
- [88] Pyrogallol, in: S. Budavari (Ed.), *The Merck Index*, 12th ed., Merck & Co. Inc., Whitehall, NJ, 1996, pp.1375–1376.
- [89] M.A. Bianco, A. Handaji, H. Savolainen, Quantitative analysis of ellagic acid in hardwood samples, *Sci. Tot. Environ.* 222 (1998) 123–126
- [90] Grodzicka, M.; Pena-Gonzalez, C.E.; Ortega, P.; Michlewska, S.; Lozano, R.; Bryszewska, M.; Mata, F.J.D.I.; Ionov, M. Heterofunctionalized polyphenolic dendrimers decorated with caffeic acid: Synthesis, characterization and antioxidant activity. *Sustain. Mater. Technol.* 2022, 33, e00497. [CrossRef]
- [91] Kfoury, M.; Geagea, C.; Ruellan, S.; Greige-Gerges, H.; Fourmentin, S. Effect of cyclodextrin and cosolvent on the solubility and antioxidant activity of caffeic acid. *Food Chem.* 2019, 278, 163–169. [CrossRef]
- [92] Raviadarani, R.; Ng, M.H.; Chandran, D.; Ooi, K.K.; Manickam, S. Stable W/O/W multiple nanoemulsion encapsulating natural tocotrienols and caffeic acid with cisplatin synergistically treated cancer cell lines (A549 and HEP G2), and reduced toxicity on normal cell line (HEK 293). *Mater. Sci. Eng. C* 2021, 121, 111808. [CrossRef] [PubMed]
- [93]. Tabakam, G.T.; Kodama, T.; Donfack, A.R.N.; Nguekeu, Y.M.M.; Nomin-Erdene, B.; Htoo, Z.P.; Do, K.M.; Ngouela, S.A.; Tene, M.; Morita, H.; et al. A new caffeic acid ester and a new ceramide from the roots of *Eriosema glomeratum*. *Phytochem. Lett.* 2021, 45, 82–87. [CrossRef]
- [94] Salsabila, R.; Perdani, M.S.; Kitakawa, N.S.; Hermansyah, H. Production of methyl caffeate as an intermediate product to produce caffeic acid phenethyl ester by esterification using cation-exchange resin. *Energy Rep.* 2020, 6, 528–533. [CrossRef]
- [95] Mirzaei, S.; Gholami, M.H.; Zabolian, A.; Saleki, H.; Farahani, M.V.; Hamzehlou, S.; Bakhtiari Far, F.; Sharifzadeh, S.O.; Samarghandian, S.; Khan, H.; et al. Caffeic acid and its derivatives as potential modulators of oncogenic molecular pathways: New hope in the fight against cancer. *Pharmacol. Res.* 2021, 171, 105759. [CrossRef]
- [96] Mauludin, R., Müller, R. H., & Keck, C. M. (2009). Development of an oral rutin nanocrystal formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 370(1–2), 202–209.
- [97] Panasiak, W., Wleklík, M., Oraczewska, A., & Luczak, M. (1989). Influence of flavonoids on combined experimental infections with EMC virus and *Staphylococcus aureus* in mice. *Acta Microbiologica Polonica*, 38(2), 185–188.
- [98] Koçancı, F.G., Hamamcıoğlu, B., & Aslim, B. (2017). Neuroprotective Effects of Rutin and Quercetin Flavonoids in *Glaucium corniculatum* Methanol and Water Extracts. *International Journal of Secondary Metabolite*, 4(3), 85-93. <https://doi.org/10.21448/ijsm.363347>
- [99] Özcanlı, A., Mohammed, F.S., Sevindik, M., Aykurt, C., Selamoğlu, Z., & Akgül, H. (2024). Phenolic composition, total antioxidant, antiradical and antimicrobial potential of endemic *Glaucium Alakirensis*. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 42(1), 42-48. <https://doi.org/10.14744/sigma.2024.00006>
- [100] Boulaaba, M., Zar Kalai, F., Dakhlaoui, S., Ezzine, Y., Selmi, S., Bourgou, S., Smaoui, A., Isoda, H., & Ksouri, R. (2019). Antioxidant, antiproliferative and anti-inflammatory effects of *Glaucium flavum* fractions enriched in phenolic compounds. *Medicinal Chemistry Research*, 28, 1995-2001. <https://doi.org/10.1007/s00044-019-02429-y>
- [101] Özsoy, N., Yilmaz-Ozden, T., Aksoy-Sagırlı, P., Şahin, H., & Sari, A. (2018). Antioxidant, Anti-acetylcholinesterase, Anti-inflammatory and DNA Protection Activities of *Glaucium grandiflorum* var. *grandiflorum*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 17(2), 677-684.
- [102] Kocanci, F. G., Hamamcıoğlu, B., & Aslim, B. (2017). The anti-AChE and anti-proliferative Activities of *Glaucium acutidentatum* and *Glaucium corniculatum* Alkaloid Extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(08), 191-200. DOI: 10.7324/JAPS.2017.70826