

Sisymbrium altissimum yapraklarının fenolik bileşen, antioksidan kapasite ve antidiyabetik özelliklerinin tespiti

Determination of phenolic component, antioxidant capacity, and antidiabetic properties of Sisymbrium altissimum leaves

Mehmet Ali TEMİZ*^{1,a}

¹Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Programı, 70100, Karaman

• Geliş tarihi / Received: 10.05.2021

• Düzeltilecek geliş tarihi / Received in revised form: 18.10.2021

• Kabul tarihi / Accepted: 27.10.2021

Öz

Diabetes Mellitus (Şeker hastalığı), yüksek kan glukozu (hiperglisemi) ile karakterize edilen ve tüm dünyada en çok muzdarip olunan hastalıklar arasındadır. Hiperglisemi oksidatif stresin oluşum mekanizmalarını tetikleyerek pek çok hastalığın patogenezinde rol oynar. Fitoterapi bu hastalıklar ile başa çıkmada alternatif yollardan biridir. Tıbbi, aromatik ve yabani yenilebilir bitkiler içerdikleri fitokimyasallar sayesinde nutrasötik olarak çeşitli hastalıklara karşı koruyucu etki göstermelerinin yanı sıra besleyici ve diyetetik özelliklere sahiptirler. *Sisymbrium* türleri yabani yenilebilir bitkiler arasında olup geleneksel olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, *Sisymbrium altissimum* yapraklarının fenolik bileşiminin yanı sıra antioksidan kapasitesinin ve antidiyabetik özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu maksatla *S. altissimum* yaprak ekstraktında (SAE) yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile fenolik bileşen tespiti yapıldı. Ayrıca, antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla toplam fenolik ve toplam flavonoid madde tayini ile 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) serbest radikal temizleme aktivite analizleri gerçekleştirildi. Yaprakların antidiyabetik etkisi, α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon aktivite tayini ile ölçüldü. Elde edilen sonuçlarda, SAE'nin önemli düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği belirlendi. Yapraklarda en çok bulunan fenolik bileşenin rutin olduğu ayrıca, kuersetin ve protokateşuik asidin ise yapraklardaki diğer baskın fenolik bileşenler olduğu saptandı. Diğer taraftan yaprakların α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon aktivitelerinin akarboz ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu tespit edildi. Sonuç olarak, *S. altissimum*'un önemli fenolik bileşen içeriğiyle antioksidan durumu güçlendirebileceği ve ayrıca kısmi α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri sayesinde nutrasötik olarak yemek sonrası hiperglisemiyi önleyebileceği sonucuna varılabilir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan aktivite, α -amilaz, α -glukozidaz, Fenolik bileşik, *Sisymbrium altissimum*

Abstract

Diabetes Mellitus is characterized by high blood glucose (hyperglycemia) and is among the most suffering diseases all over the world. Hyperglycemia plays a role in the pathogenesis of many diseases by triggering the mechanisms of oxidative stress. Phytotherapy is one of the alternative ways to cope with these diseases. Medicinal, aromatic and wild edible plants have nutraceutically protective effects against various diseases as well as nutritional and dietetic value due to the phytochemicals. Sisymbrium species are among the wild edible plants and traditionally used to treatment of various diseases. In this study, it was aimed to investigate the phenolic components of Sisymbrium altissimum leaves as well as their antioxidant capacity and antidiabetic properties. For this purpose, phenolic component was determined in S. altissimum leaf extract (SAE) by high performance liquid chromatography (HPLC). In addition, total phenolic and total flavonoid content measurement, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2-azino-bis- (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) free radical scavenging activity analyzes were performed to determine the antioxidant capacity. The antidiabetic effect of the leaves was measured by α -amylase and α -glucosidase inhibition activity assay. In the results obtained, it was determined that SAE showed a significant antioxidant activity. It was determined that the most abundant phenolic component in leaves was rutin, also quercetin and protocatechuic acid were the other dominant phenolic components in leaves. On the other hand, it was found that the α -amylase and α -glucosidase inhibition activities of the leaves were lower compared to acarbose. As a result, it can be concluded that S. altissimum can strengthen the antioxidant status with its important phenolic compounds and also prevent nutraceutically postprandial hyperglycemia due to its partial α -amylase and α -glucosidase inhibition activities.

Keywords: Antioxidant activity, α -amylase, α -glucosidase, Phenolic compound, *Sisymbrium altissimum*

*a Mehmet Ali TEMİZ; matemiz@kmu.edu.tr, Tel: (0338) 226 20 00, orcid.org/0000-0002-4680-3023

1. Giriş

1. Introduction

Diabetes Mellitus, pankreas tarafından yeterince insülin üretilmemesi ve/veya üretilen insülinin etkili bir şekilde kullanılmaması sonucu ortaya çıkan yüksek kan glukozu (hiperglisemi) ile karakterize edilen heterojenik bir metabolik bozukluktur (Ferrier, 2017). Dünya genelinde 2016 yılında tahmini olarak 1.6 milyon insan diyabetten dolayı hayatını kaybetmiştir (WHO, 2020). Hiperglisemi; kardiyovasküler hastalıklar, yüksek tansiyon, nöropati, nefropati, retinopati, ayak hasarı ve cilt problemleri gibi başlıca diyabetik komplikasyonların oluşumunu tetiklemektedir (WHO, 2016). Hipergliseminin neden olduğu enzimatik olmayan glikozilasyon ve glukoz oto-oksidasyonu gibi diyabetin sebep olduğu metabolik anormallikleri, sürekli serbest radikal üretimine yol açarak oksidatif strese neden olmaktadır. Artan serbest radikal üretimi, poliol yolu, protein kinaz C gibi bazı ana yolların aktivasyonuna, gelişmiş glikasyon son ürünlerinin oluşumunda artışa ve heksozaminin yolağının aşırı aktivitesine neden olmaktadır. Aynı zamanda bu yollar, tekrar serbest radikallerin üretimine yol açarak komplikasyonların patogeneğinde rol oynamaktadır (Zhang vd., 2020). Bu nedenle yüksek kan şekerini düşürmek, diyabetik komplikasyon riskini azaltmak için oldukça önem arz etmektedir.

Hiperglisemiyi azaltmak amacıyla çeşitli farmasötikler geliştirilmiş olmasına rağmen, hastaların çoğunda gaz, şişkinlik, kramp ve diyare gibi gastrointestinal sistem rahatsızlıkları yan etki olarak görülmektedir. Terapötik bitkisel yaklaşımlar, geleneksel olarak diyabet ve çeşitli rahatsızlıklarda kapsamlı etkiler göstermekte olup şifalı bitkilerin kullanımı diyabet için tamamlayıcı bir tedavi olarak tercih edilmektedir (Ríos vd., 2015). Bu bakımdan diyabet tedavisi ve yönetiminde nutrasötik olarak tıbbi bitkilerin uygun dozlarda ve bilinçli kullanımları yan etki bakımında daha avantajlı olabilmektedir. Tıbbi bitkiler, çeşitli hastalıklara karşı koruyucu etki gösteren fenolik asitler ve flavonoidler gibi bazı biyoaktif fitokimyasal bileşiklere sahiptir. Ayrıca tıbbi ve yabani yenilebilir bitkiler, antioksidan kapasitenin artırılarak hem serbest radikallerin azaltılmasına hem de poliol yolu, protein kinaz C ve heksozaminin yollarının aktivasyonunun engellenmesine yardımcı olabilecek doğal çareler sunabilir (Ayepola vd., 2014; Milella vd., 2014). Ayrıca bu bitkiler, önemli ölçüde kompleks karbohidratlar, mineral tuzlar, vitaminler ve polifenolik bileşikler içerirler. Bu nedenle

besleyici ve diyetetik değere sahip önemli besin kaynaklarıdır (Sekeroğlu vd., 2006; Temiz, 2021a).

Uzun meyveli bülbül otu veya uzun hardal otu olarak bilinen *Sisymbrium altissimum* Linnaeus, Brassicaceae ailesine ait yabani yenilebilir bir bitkidir. Bu bitki Kuzey Amerika, Asya, Avrupa, Kuzey Afrika ve Doğu Avustralya kıtalarında yayılış gösteren kozmopolit bir türdür (Mutlu ve Karakuş, 2015). *S. altissimum* genç yapraklarının bazı pasta çeşitlerine katılarak veya çiğ ya da pişmiş olarak tüketilebildiği rapor edilmektedir (Kargioğlu vd., 2010; Şenkardes & Tuzlacı, 2016). Yoğun baharatlı yapısından dolayı *Sisymbrium* türlerinin kökleri yemeklerde çeşni olarak kullanılmaktadır. Yapraklar vasabi sosu yapılacak kadar baharatlıdır, ancak daha çok salatalara karıştırılarak çiğ olarak tüketilmektedir (Christopher, 2017). Toprak üstü kısımlarının ve yapraklarının da haşlanıp soğan ve sumak ile pişirilerek tüketildiği belirtilmiştir (Yeşil & İnal, 2019). *S. altissimum* çiçek ve yapraklarının geleneksel olarak kanama durdurucu, ateş için tonik ve anti-skorbüt olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Mehrnia vd., 2021). Ek olarak bazı çalışmalarda, *Sisymbrium*'un diğer türleri hakkında da çeşitli farmakolojik etkiler rapor edilmiştir. *S. irio*'un halk hekimliğinde iltihap ve romatizma tedavisinde kullanılmasının yanı sıra öksürüğü kesmek, karaciğer ve dalağı detoksifiye etmek, şişlikleri azaltmak ve yaraları temizlemek amacıyla da kullanıldığı bildirilmiştir (Hawash vd., 2019; Nengroo & Rauf, 2019). Oldukça keskin bir tadı olan *S. officinale* bitkisinin tamamı, genellikle boğaz ağrısının, soğuk algınlığı ve astımın tedavisinde, ayrıca balgam söktürücü olarak kullanılmaktadır. Bu tedavi etkisinden dolayı ayrıca "şarkıcının bitkisi (singer's plant)" olarak tanımlanmaktadır (Rahman vd., 2018). Aynı çalışmada, *S. orientale* tohumlarının balgam söktürücü, ateş için tonik ve bronşit tedavisinde kullanıldığı ifade edilmiştir. Bu tohumların ayrıca dizanteri, bağırsak kurdunu düşürme ve suçüçüğü tedavisinde de kullanıldığı belirtilmiştir. Bütün haldeki bitki ise dekoksasyon yapılarak idrar söktürücü olarak, bağırsak kurdunu düşürme ve ağrısız ülserlerin tedavisinde kullanılmaktadır (Rahman vd., 2018). *S. erysimoides*'e ait tüm bitki kısımlarının bronşiti tedavi etme ve iltihabı önleyici etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Rahman vd., 2018).

Yapılan literatür taramasında, *S. altissimum*'a ait bugüne kadar antioksidan ve antidiyabetik özelliklerini belirlemeye yönelik herhangi bir araştırmaya rastlanılmamış olup, *S. altissimum* ile ilgili çok sınırlı deneysel çalışma bildirilmiştir.

Hem *S. altissimum* hem de *Sisymbrium*'un farklı türlerinin geleneksel olarak tüketiminin yaygın olduğu ve çok çeşitli etnofarmakolojik özellikleri olduğu literatürde belirtilmiştir. Bu etkiler arasında *S. altissimum* bitkisinin antidiyabetik ve antioksidan özelliklerinin olabileceği varsayımıyla bu çalışma planlanmıştır. Bu çalışma da *S. altissimum* yaprak ekstraktının polifenolik profili, antidiyabetik etkisi ve antioksidan kapasitesini ortaya koymak ve bu sayede etnofarmakolojik değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve metod

2. Material and method

2.1. Kimyasallar

2.1. Chemicals

Gallik asit (27645, saflık \geq %99), protokateşuik asit (37580, saflık \geq %97), kateşin (C1251, saflık \geq %98), klorojenik asit (C3878, saflık \geq %95), kaffeik asit (C0625, saflık \geq 98), şiringik asit (S6881, saflık \geq %95), kuersetin (Q4951, saflık \geq %95), *p*-kumarik asit (C9008, saflık \geq %98), ferulik asit (128708, saflık \geq %99), rutin (R5143, saflık \geq %94), *o*-kumarik asit (H22809, saflık \geq %97), alüminyum klorid (294713, saflık \geq %99.99), DPPH (D9132), ABTS (10102946001), α -amilaz (A3176), α -glukozidaz (G5003), dinitrosalisilik asit (D0550) ve 4-nitrofenil α -D-glukopiranosid (487506) Sigma (St. Louis, MO, ABD) firmasından temin edilmiştir. Etanol, metanol, asetik asit ve asetonitril Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Akarboz (Glucobay®, Türkiye) yerel bir eczaneden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan diğer tüm kimyasallar ve reaktifler HPLC ve/veya analitik saflıktadır.

2.2. Bitki materyali ve ekstraksiyon

2.2. Plant material and extraction

Sisymbrium altissimum bitkisi 2020 yılının Mayıs ayında Karaman iline bağlı Pınarbaşı mevkiinden toplanmıştır. Daha sonra bitkiler hemen laboratuvara getirilerek yabancı maddelerden uzaklaştırıldı ve bitki bir uzman tarafından teşhis edilerek bir örneği Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu bitkisel üretim laboratuvarına konuldu. Bitkiler ortalama 18°C ve %41 nem seviyesinde açık havada ve gölgede yaklaşık 4 gün'de kurutuldu. Kurutulmuş yapraklar laboratuvar mikseriyle parçalandı ve manyetik karıştırıcı (WiseStir MSH-20D) ile sürekli karıştırılarak 3 saat boyunca 50°C'de %80 etanol ile iki kez ekstrakte edildi (Temiz, 2021a; Temiz, 2021b). Süre

sonunda ekstrakt cendere bezi ile süzülükten sonra, 22 μ m PTFE ile filtre edildi. *S. altissimum* ekstraktı (SAE) sonraki analizlere kadar amber şişelerde -20°C'de muhafaza edildi.

2.3. Fenolik profil analizi

2.3. Phenolic profile analysis

Örneklerin fenolik profilleri, HPLC sistemi (Agilent Technologies 1260 Infinity, ABD) kullanılarak daha önce açıklandığı gibi (Temiz, 2021b) belirlendi. Fenolik bileşiklerin tespiti, 25°C'de gradient çözücü sistemi aracılığıyla bir Inertsil ODS-3 C18 (250 x 4.6 mm, 5 μ m) kolon kullanılarak yapıldı. Elüsyon, su/asetik asit (98:2 v/v) (A) ve asetonitril/su/asetik asit (50:49.5:0.5 v/v/v) (B) mobil fazlar kullanılarak gerçekleştirildi. Gradient programı 0. dakika %85 A, 30. dakika %80 A, 60. dakika %55 A olacak şekilde ayarlandı. Diyot dizisi detektörü (DAD) 254, 280 ve 320 nm dalga boylarına ayarlanarak kayıt yapıldı. Her bir bileşiğin tanımlanması, alıkonma sürelerine ve harici standartlarla karşılaştırılarak spektral eşleşmeye dayandırıldı.

2.4. Toplam fenolik ve toplam flavonoid madde tayini

2.4. Determination of total phenolic and total flavonoid content

SAE'deki toplam fenolik madde miktarı, standart olarak gallik asit kullanılarak modifiye Folin-Ciocalteu reaktif yöntemi (Singleton vd., 1999) ile belirlendi. Toplam fenolik madde miktarı, mg gallik asit eşdeğeri 100 g⁻¹ kuru madde (mg GAE/100 g km) olarak hesaplandı. Örneklerin toplam flavonoid madde miktarı, standart olarak kuersetin kullanılarak AlCl₃ yöntemi (Zhishen vd., 1999) ile ölçüldü. Sonuçlar mg kuersetin eşdeğeri 100 g⁻¹ kuru madde (mg QE/100 g km) olarak hesaplandı.

2.5. DPPH radikal temizleme aktivitesi

2.5. DPPH radical scavenging activity

DPPH radikal temizleme aktivitesi, Pyo vd. (2004) tarafından belirtilen yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirildi. Kısaca, 100 μ L farklı konsantrasyonlarda seyreltilmiş SAE (1-50 mg/mL) ve 3.90 mL metanolik DPPH' (6x10⁻⁵ M) çözeltisi farklı ependorf tüpler içinde karıştırıldı ve vortekslendi. Tüpler karanlıkta ve oda sıcaklığında 60 dakika boyunca inkübe edildi. Daha sonra 517 nm'de (Shimadzu UV-3600, Kyoto, Japonya) metanole karşı absorbansları ölçüldü. Örneklerin DPPH radikal temizleme aktivitesi, troloks (0.01-0.5 mg/mL) standart

grafğine göre hesaplanıp ifade edildi. Ayrıca radikallerin %50'sini inhibe etmek için gereken ekstraktın (mg/mL) konsantrasyonu olan SC₅₀ değeri de ifade edildi.

2.6. ABTS radikal temizleme aktivitesi

2.6. ABTS radical scavenging activity

ABTS (7 mM), karanlıkta ve oda sıcaklığında ABTS radikal katyonu (ABTS^{•+}) oluşturmak için potasyum persülfat (2.45 mM) içinde 12-16 saat süre boyunca inkübe edildi. Süre sonunda analiz için ABTS^{•+} distile su ile seyreltilerek 734 nm dalga boyunda 0.70±0.02 absorbans elde edilerek kullanıma hazır hale getirildi (Re vd., 1999). Analiz kısaca, 20 µL farklı konsantrasyonlarda seyreltilmiş SAE (1-50 mg/mL) ve 1980 µL ABTS^{•+} çözeltisi farklı tüplere eklendi ve vorteksledi. Daha sonra tüpler 6 dakika boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta bırakıldı. Süre sonunda absorbanlar 734 nm dalga boyunda ölçüldü. Ekstraktın ABTS^{•+} inhibe etme kabiliyeti troloks (0.01-0.5 mg/mL) standardına göre grafik oluşturularak hesaplanıp ifade edildi. Ayrıca radikallerin %50'sini inhibe etmek için gereken ekstraktın (mg/mL) konsantrasyonu olan SC₅₀ değeri de ifade edildi.

2.7. α-amilaz ve α-glukozidaz inhibisyon aktivite tayini

2.7. Determination of α-amylase and α-glucosidase inhibition activity

SAE'nin α-amilaz inhibisyon aktivitesi, Kim vd., (2005) tarafından bildirilen yöntemde küçük modifikasyonlar yapılarak belirlendi. Fosfat tamponu içinde (0.02 M, pH=6.9) toplam 250 µL α-amilaz (0.05 U/mL), farklı konsantrasyonlarda seyreltilmiş (1-50 mg/mL) 200 µL ekstrakt ile farklı tüplerde karıştırıldı ve 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra substrat olarak nişasta çözeltisinden (%1) 250 µL ilave edilerek 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Reaksiyon 500 µL %1 dinitrosalisilik asit ile durdurulduktan sonra, tüpler kaynar su içinde 10 dakika bekletildi. Tüpler soğutulduktan sonra karışım 5 mL distile su ile seyreltildi. Karışımın absorbans 540 nm dalga boyunda ölçüldü. Aynı işlemler standart madde olarak kullanılan akarboz içinde tekrarlandı. Ekstraktın α-amilaz inhibisyon aktivitesi grafiksel olarak hesaplanıp mg/mL cinsinden IC₅₀ olarak ifade edildi.

α-glukozidaz inhibisyon aktivitesinin belirlenmesinde, fosfat tamponu (0.1 M, pH=6.8) içindeki 60 µL 1 U/mL α-glukozidaz, 120 µL farklı konsantrasyonlarda seyreltilmiş SAE (1-50

mg/mL) ile farklı tüplerde karıştırıldı ve 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra 120 µL 4-nitrofenil α-D-glukopiranosid (5 mM) substrat olarak eklendi ve tüpler 15 dakika 37°C'de tutuldu. Reaksiyon, 300 µL Na₂CO₃ (0.1 M) ilave edilerek sonlandırıldı ve absorban, 405 nm dalga boyunda kaydedildi (Kim vd., 2005). Aynı işlemler standart madde olarak kullanılan akarboz içinde tekrarlandı. Ekstraktın α-glukozidaz inhibisyon aktivitesi, grafiksel olarak hesaplanıp mg/mL cinsinden IC₅₀ olarak ifade edildi. Çalışmadaki tüm ölçümler aynı koşullarda ve aynı gün üç paralel ile yapıldı.

3. Bulgular ve tartışma

3. Results and discussion

3.1. S. altissimum ekstraktının fenolik profili

3.1. Phenolic profile of S. altissimum extract

S. altissimum yaprak ekstraktında bulunan fenolik bileşenlerin miktarı Tablo 1'de, HPLC kromatogramı ise Şekil 1b'de sunulmuştur. Rutin, SAE'de en çok bulunan fenolik bileşen olarak tespit edildi. Ayrıca kuersetin ve protokateşuik asit ise diğer baskın fenolik bileşikler olarak belirlendi. Al-Taie vd., (2018) tarafından *Sisymbrium officinale* yapraklarında p-kumarik asit ve protokateşuik asidin, *Sisymbrium irio* yapraklarında sinamik asit, gentisik asit, p-kumarik asit ve protokateşuik asidin, *Sisymbrium septulatum* yapraklarında ise p-kumarik asit, sinamik asit, protokateşuik asidin en fazla bulunan fenolik bileşikler olduğu rapor edilmiştir. S. officinale toprak üstü kısımlarının diklorometan fraksiyonunda ferulik asidin en çok bulunan fenolik bileşen olduğu belirtilmiştir (Amodeo vd., 2019). Aynı çalışmada, etil asetat fraksiyonunda yüksek performans ince tabaka kromatografisi ile klorojenik asit tanımlanmıştır (Amodeo vd., 2019). Başka bir çalışmada, S. irio toprak üstü kısımlarından apigenin, luteolin-7-O-glukozit ve kamferol (Al-Jaber, 2011), tüm bitkiden de apigenin ve naringenin (Al-Qudah & Abu Zarga, 2009) fenolik bileşikleri izole edilmiştir. Bu sonuçlarda, *Sisymbrium* türleriyle daha önce yapılan çalışmaların S. altissimum yaprağında bulunan fenolik bileşiklerle benzer olduğuna ancak saptanan fenolik bileşenlerin oran ve çeşit olarak farklılık gösterebileceği belirlenmiştir. Fenolik bileşikler benzer bitki cinslerinde ve/veya türlerinde bile farklı oran ve çeşitte bulunabilir. Bunun sebebi bitkinin iklimsel faktörler, su, güneş ışığı, rakım, toprak özellikleri gibi büyüme koşullarına ve/veya vejetasyon periyodu gibi pek çok faktöre bağlı olarak farklı oran ve miktarlarda fenolik bileşiklerin biyosentezine bağlıdır (Chepel vd., 2020). Ayrıca bitkiler farklı büyüme

evrelerinde çeşitli fenolik bileşikleri üretebilir ve bunları farklı amaçlar için bitkinin diğer kısımlarında biriktirebilirler (Feduraev vd., 2019). Kullanılan çözücü polaritesinden dolayı da ekstrakte edilen fenolik bileşen çeşitleri ve miktarları bu farklılığa yol açmış olabilir (Temiz & Temur, 2017). Diğer taraftan Şekil 1b’de tespit edilen 37-40. dakikalar arasında (37.707, 38.681 ve 39.300 dk.) gelen tanımlanamayan piklerin muhtemelen başka fenolik bileşikler ve/veya glukosinolatlara ait olabileceği düşünülmektedir.

Glukosinolatlar da tıpkı fenolik bileşikler gibi polar moleküllerdir ve fenoliklerin ekstraksiyonu ile birlikte ekstrakta bulunabilirler. Brassicaceae ailesi glukosinolatlar bakımından zengin bir içeriğe sahiptir (Borgonovo vd., 2019). *S. officinale* yaprak ve çiçeklerinden sinigrin, izopropil izotiyosiyanat ve 2-bütül izotiyosiyanat izole edilmiştir (Borgonovo vd., 2019). Bainard vd., (2009)’de *S. loeselii* kök ve sürgün ekstraktlarında başlıca iki glukosinolat olan izopropil ve sec-bütül glukosinolatları tespit etmişlerdir.

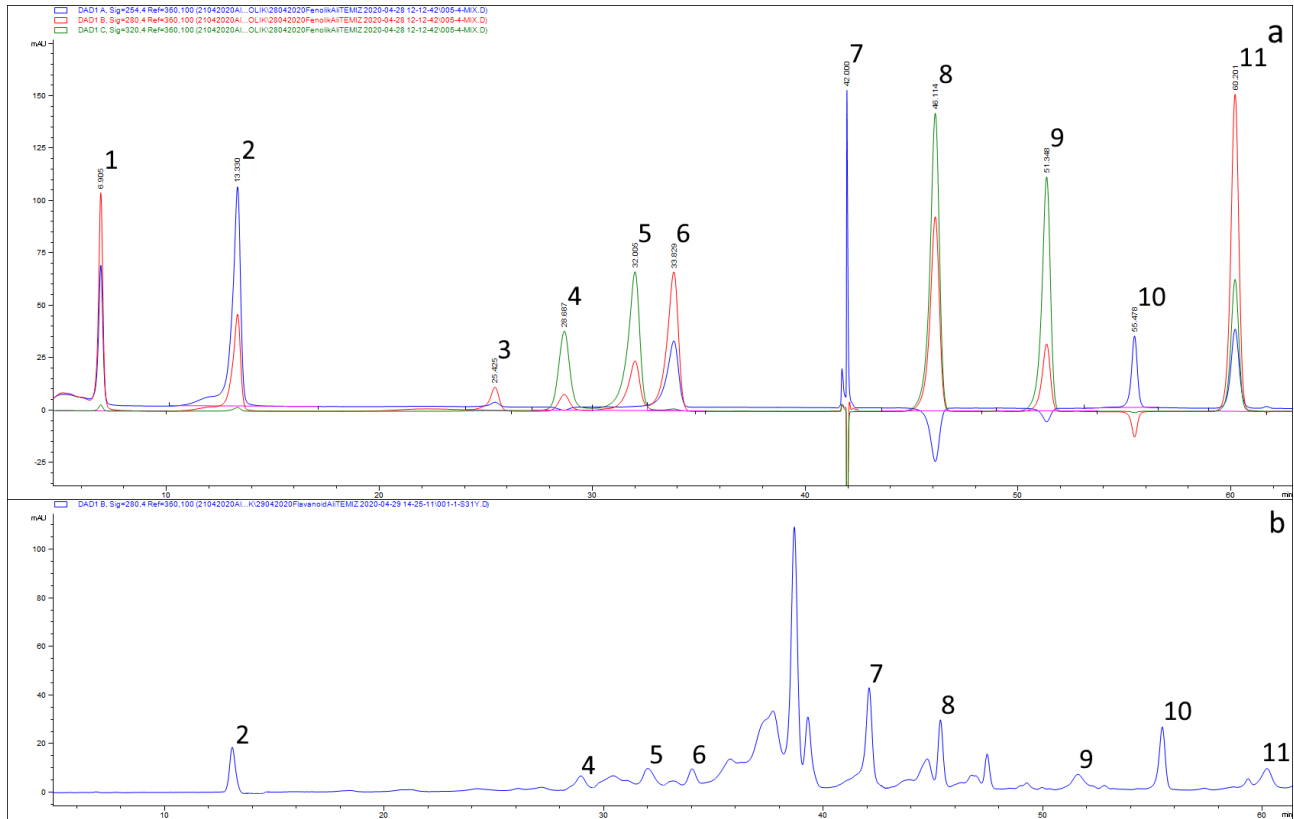
Tablo 1. *Sisymbrium altissimum* yaprak ekstraktının fenolik bileşim miktarı (mg/kg km)

Table 1. The amount of phenolics compounds of *Sisymbrium altissimum* leaf extract

Örnek	GA	PCA	Cath	ChA	CA	SyA	Que	pCou	FA	Ru	oCou
SAE	n.d	245.8±1.2	n.d	104.6±0.7	55.6±0.2	33.04±0.2	348.6±1.8	74.29±0.2	48.3±0.1	366.1±1.4	66.2±0.4

GA: gallik asit, PCA: protokateşuik asit, Cath: kateşin, ChA: klorojenik asit, CA: kafeik asit, SyA: şiringik asit, Que: kuersetin, pCou: p-kumarik asit, FA: ferulik asit, Ru: rutin, oCou: o-kumarik asit, n.d: tespit edilemedi, SAE: *Sisymbrium altissimum* yaprak ekstraktı, veriler ortalama ± standart sapmayı ifade eder, n=3

GA: gallic acid, PCA: protocatechuic acid, Cath: catechin, ChA: chlorogenic acid, CA: caffeic acid, SyA: syringic acid, Que: quercetin, pCou: p-coumaric acid, FA: ferulic acid, Ru: rutin, oCou: o-coumaric acid, n.d: not determined, SAE: *Sisymbrium altissimum* leaf extract, data shows mean ± standard deviation, n=3



Şekil 1. Standartların 254, 280 ve 320 nm dalga boylarının çakıştırılmış HPLC kromatogramları (a) ve *Sisymbrium altissimum* yaprak ekstraktının 280 nm dalga boyunda HPLC kromatogramı (b). 1: gallik asit, 2: protokateşuik asit, 3: kateşin, 4: klorojenik asit, 5: kafeik asit, 6: şiringik asit, 7: kuersetin, 8: p-kumarik asit, 9: ferulik asit, 10: rutin, 11: o-kumarik asit.

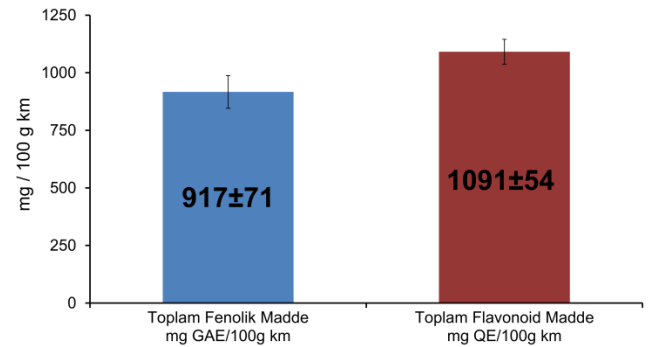
Figure 1. HPLC chromatograms of: the standards mixture overlay of all wavelengths (254, 280, and 320 nm)(a) and *Sisymbrium altissimum* leaf extract at 280 nm wavelength (b). 1: gallic acid, 2: protocatechuic acid, 3: catechin, 4: chlorogenic acid, 5: caffeic acid, 6: syringic acid, 7: quercetin, 8: p-coumaric acid, 9: ferulic acid, 10: rutin, 11: o-coumaric acid.

3.2. *S. altissimum* ekstraktının toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı

3.2. The amount of total phenolics and flavonoid content of *S. altissimum* extract

Fenolik maddeler; antioksidan, antidiyabetik, antimikrobiyal, antihiperlipidemik, antikarsinojenik gibi çok çeşitli farmakolojik etkilere sahiptirler. Bu etkiler genellikle fenolik bileşiklerin fonksiyonel yan gruplarında bulunan –OH grupları sayesinde elektron ve hidrojen transferine dayanmaktadır (Ghasemzadeh & Ghasemzadeh, 2011). SAE'ye ait toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde miktarları Şekil 2'de gösterilmiştir. Mevcut çalışmada, SAE'nin toplam fenolik madde miktarı 917 ± 71 mg GAE/100 g km ve toplam flavonoid madde miktarı ise 1091 ± 54 mg QE/100 g km olarak tespit edilmiştir. Daha önce yapılan bir çalışmada *S. officinale* toprak üstü kısımlarının metanolik maserasyon ekstraktında toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde sonuçları sırasıyla 8.1 ± 0.1 mg klorojenik asit eşdeğeri (KAE)/g km ve 0.50 ± 0.01 mg QE/g km olarak belirlenmiştir (Amodeo vd., 2019). Bir diğer çalışmada *S. officinale* toprak üstü kısımlarının sulu ekstraktının toplam fenolik madde miktarları $28.1 \mu\text{g KAE/mg km}$ ve toplam flavonoid madde miktarı da $0.12 \mu\text{g QE/mg km}$ olarak bulunmuştur (Di Sotto vd., 2016). Ayrıca aynı çalışmada *S. officinale* toprak üstü kısımlarının sulu ekstraktlarından hazırlanan etil asetat ve bütanol fraksiyonlarının toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 724 ve $164 \mu\text{g KAE/mg km}$; toplam flavonoid madde miktarı ise 3.10 ve $3.70 \mu\text{g QE/mg km}$ olarak tespit edilmiştir (Di Sotto vd., 2016). Başka bir *Sisymbrium* türü olan *S. irio* parankima hücre kültürü üzerinde yapılan bir çalışmada Murashige ve Skoog besi yeri ortamında yetiştirilen kallusların metanolik ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı 0.11 mg GAE/g km ve toplam flavonoid madde miktarı 0.13 mg Rutin eşdeğeri/g km olarak rapor edilmiştir (Amin vd., 2009). Mevcut çalışmadaki toplam fenolik madde miktarı literatür ile uyumlu hatta bazı çalışma sonuçlarına göre yüksek olmakla birlikte, toplam flavonoid madde miktarı literatüre göre dikkat çekici şekilde daha yüksek bulunmuştur. Bu durumun sebebinin tür farklılığının yanı sıra yaprakla birlikte kullanılan gövde kısmında daha az flavonoid olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer taraftan Hailu vd. (2021) yakın zamanda yaptıkları bir çalışmada, *S. irio* tohumlarını *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol ile arka arkaya ekstrakte etmişlerdir. *S. irio* ekstraktlarında toplam fenolik madde içeriği 7.8 ile $55.3 \mu\text{g GAE/mg kuru ekstrakt}$ arasında olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca *S.*

irio ekstraktlarında toplam flavonoid madde içeriğinin de 8.958 ile $13.266 \mu\text{g QE/mg kuru ekstrakt}$ arasında olduğu belirtilmiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre toplam fenolik ve flavonoid madde içeriğinin en yüksek metanolik ekstrakta olduğu ifade edilmiştir (Hailu vd., 2021). Her ne kadar bitki türleri farklı olsa da benzer cinsler arasında mevcut çalışmaya göre çok farklı toplam fenolik ve toplam flavonoid madde sonuçları elde edilmiştir. Bunun nedeni, belirtilen çalışmalarda tercih edilen çözücü seçimi, ekstraksiyon işlem ve süreçleri, konsantrasyon işlemleri, fraksiyonlama işlemleri, tercih edilen eşdeğer fenolik bileşik, ve/veya kullanılan bitki kısmının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 2. *Sisymbrium altissimum* yaprak ekstraktının toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde miktarı. GAE: gallik asit eşdeğeri, QE: kuersetin eşdeğeri, veriler ortalama \pm standart sapmayı ifade eder, $n=3$

Figure 2. The amount of total phenolics and flavonoid content of *S. altissimum* leaf extract. GAE: gallic acid equivalent, QE: quercetin equivalent, data shows mean \pm standard deviation, $n=3$

3.3. *S. altissimum* ekstraktının serbest radikal temizleme aktivitesi

3.3. Free radical scavenging activity of *S. altissimum*

DPPH ve ABTS antioksidan tayin yöntemleri, antioksidan kapasite analizlerinde hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidanların hidrojen veya elektron transferi ile serbest radikalleri temizleme kabiliyetini hızlı bir şekilde değerlendirmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu analizler, polifenollerin lipid peroksil radikalleri ile nispi antioksidan ve koruyucu aktivitelerin tespitinde iyi sonuçlar vermektedir (Niki, 2010). SAE'nin DPPH yönteminde IC_{50} değeri 80.21 ± 3.62 mg TE/g ekstrakt olarak; ABTS yönteminde ise IC_{50} değeri 94.52 ± 2.46 mg TE/g ekstrakt olarak bulunmuştur (Tablo 2). Aynı zamanda SAE'nin SC_{50} değeri de DPPH için

22.45±1.46 mg/mL ekstrakt, ABTS için 25.11±1.24 mg/mL ekstrakt olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). Temel olarak, daha düşük IC₅₀ değeri, daha yüksek inhibisyon aktivitesini ifade eder. Hazırlanmış olan ekstrakt birbirinin katı olan farklı konsanstrasyonlarda dilüe edilmiştir. Bu dilüsyonlar 1-50 mg/mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu aralıkların seçilme sebebi; analizlerde hesaplanan sonuçların sıfırdan küçük, 100'den büyük olmamasını sağlamaktır. Bu aralıklardaki dilüsyonlar ile çalışılarak yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu olan IC₅₀ ve SC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, *S. officinale* toprak üstü kısımlarının metanolik ekstraktının DPPH IC₅₀ değeri 143 µg/mL olarak belirlenmiştir (Amodeo vd., 2019). Başka bir çalışmada, *S. irio* toprak üstü kısımlarının etanolik ekstraktının DPPH inhibisyon değeri 10 mg/mL konsantrasyonda

%55.7 olarak tespit edilmiştir (El-Meligy vd., 2017). Bir diğer çalışmada ise Hailu vd. (2021), *S. irio* tohumlarının farklı çözücü ekstraktlarının DPPH aktivitesinin 1 mg/mL konsantrasyonda %22.3 ile %79.9 arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada ABTS aktivitesinin %43 ile %94.3 aralığına sahip olduğu ifade edilmiştir (Hailu vd., 2021). Diğer taraftan *S. irio* tohumunun 200 µg/mL petrol eteri ekstraktının DPPH inhibisyon aktivitesinin (%82) BHT (%87) ile karşılaştırıldığında birbirlerine çok yakın değerlere sahip olduğu belirlenmiştir (Nengroo & Rauf, 2019). Mevcut çalışma literatür ile karşılaştırıldığında antioksidan kapasite tayinlerinde, radikal temizleme aktiviteleri arasında çok farklı sonuçların olduğu görülmüştür. Bu farkların muhtemelen tercih edilen çözücü, bitki kısmı, analiz metodu ve sonuçların ifade edilme birimine göre değiştiği düşünülmektedir.

Tablo 2. *Sisymbrium altissimum* yaprak ekstraktının DPPH ve ABTS IC₅₀ ve SC₅₀ değerleri

Table 2. The value of DPPH and ABTS IC₅₀ and SC₅₀ of *Sisymbrium altissimum* leaf extract

Örnek	DPPH (mg TE/g ekstrakt)	ABTS (mg TE/g ekstrakt)	DPPH (SC ₅₀ mg/mL)	ABTS (SC ₅₀ mg/mL)
SAE	80.21±3.62	94.52±2.46	22.45±1.46	25.11±1.24
Troloks			0.23±0.004	0.21±0.003

TE: troloks eşdeğeri, SAE: *Sisymbrium altissimum* yaprak ekstraktı, veriler ortalama ± standart sapmayı ifade eder, n=3

TE: trolox equivalent, SAE: *Sisymbrium altissimum* leaf extract, data shows mean ± standard deviation, n=3

3.4. *S. altissimum* ekstraktının α-amilaz ve α-glukozidaz inhibisyon aktivitesi

3.4. α-amylase and α-glucosidase inhibition activity of *S. altissimum* extract

Diyabet tedavilerinde yemek sonrası kan glukoz düzeyinin azaltılması, genellikle diğer tedavi yöntemleriyle kombine olarak tercih edilmektedir. Bu amaç doğrultusunda akarboz gibi ticari ilaçlar nişasta ve glikojen gibi kompleks karbohidratların bağırsak yolunda hidrolizinin yavaşlatılması amacıyla enzimlerin inhibisyonunda kullanılmaktadır. Ancak hastalar genellikle bu gibi ilaçların çeşitli yan etkilerinden muzdariptirler. Bu şikâyetlerden dolayı ve ayrıca geleneksel tamamlayıcı bir tedavi olduğu düşüncesiyle tıbbi bitki temelli doğal farmasötiklere yönelmektedirler (Temiz, 2021a). Fenolik bileşikler doğal α-amilaz ve α-glukozidaz inhibitörü özellikleriyle karbohidrat sindirim süresini geciktirip/uzatarak glukoz emilim hızında azalmaya neden olurlar ve sonuç olarak yemek sonrası kan glukoz artışını azaltırlar. Mevcut çalışmada *S. altissimum* yaprak ekstraktının α-amilaz ve α-glukozidaz inhibisyon değerleri akarboz ile kıyaslandığında yaklaşık 7 kat daha az etkin bulunmuştur (Tablo 3). Daha önce *S. irio* yapraklarının hidrofilik ve lipofilik

fraksiyonlarının α-amilaz inhibisyon IC₅₀ değerleri sırasıyla, 180 ve 7.72 µg/mL olarak rapor edilmiştir (Hawash vd., 2019). Aynı çalışmada pozitif kontrol akarboz için 10 µg/mL değeri bulunmuştur. Fraksiyonlar arasındaki farkın ekstraksiyon verimlerinden kaynaklandığı söylenebilir. Literatür bulguları mevcut çalışmadaki SAE ile göreceli olarak karşılaştırıldığında, *S. irio* lipofilik fraksiyonun α-amilaz inhibisyon yeteneğinin daha etkili; hidrofilik fraksiyonun ise SAE'ye göre daha az etkili olduğu söylenebilir. Daha önce yapılan pek çok çalışmada fenolik bileşiklerin α-amilaz ve α-glukozidaz inhibisyon aktiviteleri arasında doğrudan bir ilişki olduğu gösterilmiştir. *In silico* yapılan bir çalışmada, fenolik bileşiklerin bu inhibisyon yeteneklerinin -OH gruplarının (H verici) varlığına dayandırılmış ve enzimin aktif bölgesine olan yüksek bağlanma afinitesi yoluyla olduğu ileri sürülmüştür (Abdelli vd., 2021). Bitkilerdeki fitokimyasallar çeşitli mekanizmalar yoluyla antidiyabetik etki gösterebilirler. Bunlar arasında sindirim enzimlerinin inhibisyonu, inkretin-insülin mimetik etki, β-hücrelerinden insülin salgılanmasının uyarılması, insülin duyarlılığının iyileştirilmesi, glukozun hücrelere alınımının ve biyoyararlanımının artırılması sayılabilir (Yang vd., 2015; Temiz & Temur, 2019;

Zhang vd., 2020; Temiz, 2021a). Diğer taraftan bu etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu mekanizmalar altında yatan nedenler hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda karmaşık yollara sahiptir. Bu nedenle, bu çalışmalar antidiyabetik etki mekanizmalarının ileride yapılacak çalışmalarla aydınlatılmasına öncülük edebilir.

Tablo 3. *Sisymbrium altissimum* yaprak ekstraktının α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon IC_{50} değeri

Table 3. α -amylase and α -glucosidase inhibition IC_{50} values of *Sisymbrium altissimum* leaf extract

Örnekler	α -amilaz (mg/mL)	α -glukozidaz (mg/mL)
SAE	2.84±0.01	4.46±0.10
Akarboz	0.40±0.02	0.61±0.01

SAE: *Sisymbrium altissimum* yaprak ekstraktı, veriler ortalama \pm standart sapmayı ifade eder, $n=3$

SAE: *Sisymbrium altissimum* leaf extract, data shows mean \pm standard deviation, $n=3$

4. Sonuçlar

4. Conclusions

Sisymbrium altissimum sahip olduğu fenolik bileşenler sayesinde iyi bir antioksidan özellik göstererek, kısmi antidiyabetik etkisi ile diyabet tedavisinde tamamlayıcı bir rol oynayabilir. Bu sayede oksidan/antioksidan dengenin korunmasında ve diyabet yönetiminde potansiyel etkinliğinin yanı sıra çeşitli rahatsızlıklar için yararlı çoklu etkiler sunabilir. Ayrıca diyabet tedavisi için geleneksel fitoterapötik yaklaşımların deneysel olarak araştırılması önemli yeni bilgiler sağlayarak ileride yapılacak olan diğer çalışmalara öncü olabilir.

Teşekkür

Acknowledgement

Makalenin inceleme ve değerlendirme aşamasında yapmış oldukları katkılardan dolayı editör ve hakem/hakemlere teşekkür ederiz.

Yazar katkısı

Author contribution

Bu çalışmanın dizaynı, laboratuvar çalışmaları, istatistiksel hesaplamaları ve makale yazımı M.A Temiz tarafından gerçekleştirilmiştir.

Etik beyanı

Declaration of ethical code

Bu makalenin yazarları, bu çalışmada kullanılan materyal ve yöntemlerin etik kurul izni ve / veya yasal-özel izin gerektirmediğini beyan etmektedir.

Çıkar çatışması beyanı

Conflicts of interest

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Kaynaklar

References

- Abdelli, I., Benariba, N., Adjdir, S., Fekhikher, Z., Daoud, I., Terki, M., Benramdane, H. & Ghalem, S. (2021). In silico evaluation of phenolics compounds as inhibitors of α -amylase and α -glucosidase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(3), 816-822. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1718553>
- Al-Jaber, N.A. (2011). Phytochemical and biological studies of *Sisymbrium irio* L. growing in Saudi Arabia. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15, 345-350. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2011.04.010>
- Al-Taie, G.R.I., Al-Mashea, R.A., Saddon, N. & Al-Anbari, A.K. (2018). A comparative study of the phenolic compounds of some Brassicaceae taxa by high-performance liquid chromatography (HPLC) technique. *Tikrit Journal of Pure Science*, 23(2), 45-48. <https://doi.org/10.25130/tjps.23.2018.027>
- Al-Qudah, M.A. & Abu Zarga, M.H. (2009). Chemical constituents of *Sisymbrium irio* L. from Jordan. *Natural Product Research*, 24(5), 448-456. <https://doi.org/10.1080/14786410903388025>
- Amin, G.H., Al-Gendy, A.A., El-Ayouty, Y.M. & Abdel-Motteleb, A. (2009). Effect of *Spirulina platensis* extract on growth, phenolic compounds and antioxidant activities of *Sisymbrium irio* callus and cell suspension cultures. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3), 2097-2110.
- Amodeo, V., Marrelli, M., Pontieri, V., Cassano, R., Trombino, S., Conforti, F. & Statti, G. (2019). *Chenopodium album* L. and *Sisymbrium officinale* (L.) Scop.: Phytochemical content and in vitro antioxidant and anti-inflammatory potential. *Plants*, 8, 505-519. <https://doi.org/10.3390/plants8110505>
- Ayepola, O.R., Brooks, N.L. & Oguntibeju, O.O. (2014). *Antioxidant-antidiabetic agents and*

- human health (Vol. 1). London: Intech Open. <https://doi.org/10.5772/57282>
- Bainard, L.D., Brown, P.D. & Upadhyaya, M.K. (2009). Inhibitory effect of tall hedge mustard (*Sisymbrium loeselii*) allelochemicals on rangeland plants and Arbuscular Mycorrhizal fungi. *Weed Science*, 57(4), 386-393. <https://doi.org/10.1614/WS-08-151.1>
- Borgonovo, G., Zimbaldi, N., Guarise, M., De Nisi, P., De Petrocellis, L., Moriello, A.S. & Bassoli, A. (2019). Isothiocyanates and glucosinolates from *Sisymbrium officinale* (L.) Scop. ("the Singers' Plant"): Isolation and in vitro assays on the somatosensory and pain receptor TRPA1 channel. *Molecules*, 24, 949-960. <https://doi.org/10.3390/molecules24050949>
- El-Meligy, R.M., Awaad, A.S., Soliman, G.A., Kenawy, S.A. & Alqasoumi, S.I. (2017). Prophylactic and curative anti-ulcerogenic activity and the possible mechanisms of action of some desert plants. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25, 387-396. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.10.008>
- Chepel, V., Lisun, V. & Skrypnik, L. (2020). Changes in the content of some groups of phenolic compounds and biological activity of extracts of various parts of heather (*Calluna vulgaris* (L.) Hull) at different growth stages. *Plants*, 9(926), 1-19. <https://doi.org/10.3390/plants9080926>
- Christopher, N. (2017). *Foraging Washington: Finding, Identifying, and Preparing Edible Wild Foods* (Vol. 1). Guilford: Falcon Guides.
- Di Sotto, A., Di Giacomo, S., Toniolo, C., Nicoletti, M. & Mazzanti, G. (2016). *Sisymbrium officinale* (L.) Scop. and its polyphenolic fractions inhibit the mutagenicity of tert-butylhydroperoxide in *Escherichia coli* WP2uvrAR strain. *Phytotherapy Research*, 30, 829-834. <https://doi.org/10.1002/ptr.5588>
- Feduraev, P., Chupakhina, G., Maslennikov, P., Tacenko, N. & Skrypnik, L. (2019). Variation in phenolic compounds content and antioxidant activity of different plant organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at different growth stages. *Antioxidants*, 8(237), 1-15. <https://doi.org/10.3390/antiox8070237>
- Ferrier, D.R. (2017). *Lippincott Illustrated Reviews: Biochemistry* (7th ed.). China: Wolters Kluwer.
- Ghasemzadeh, A. & Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31), 6697-6703. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1404>
- Hailu, T., Gupta, R.K. & Rani, A. (2021). Phytochemicals and antioxidant activity of *Sisymbrium irio* L. seeds. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 20(1), 26-32.
- Hawash, M., Jaradat, N., Elaraj, J., Hamdan, A., Lebdeh, S.A. & Halawa, T. (2019). Evaluation of the hypoglycemic effect of seven wild folkloric edible plants from Palestine. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 17(1), 1-10. <https://doi.org/10.1515/jcim-2019-0032>
- Kargioğlu, M., Cenkci, S., Serteser, A., Konuk, M. & Vural, G. (2010). Traditional uses of wild plants in the middle aegean region of Turkey. *Human Ecology*, 38, 429-450. <https://doi.org/10.1007/s10745-010-9318-2>
- Kim, Y.M., Jeong, Y.K., Wang, V.W., Lee, Y. & Rhee, H.I. (2005). Inhibitory effect of pine extract on α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition*, 21, 756-761. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.10.014>
- Mehrnia, M., Akaberi, M., Amiri, M.S., Nadaf, M. & Emami, S.A. (2021). Ethnopharmacological studies of medicinal plants in central Zagros, Lorestan province, Iran. *Journal of Ethnopharmacology*, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114080>
- Milella, L., Bader, A., De Tommasi, N., Russo, D. & Braca, A. (2014). Antioxidant and free radical-scavenging activity of constituents from two *Scorzonera* species. *Food Chemistry*, 160, 298-304. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.097>
- Mutlu, B. & Karakuş, Ş. (2015). A new species of *Sisymbrium* (Brassicaceae) from Turkey: morphological and molecular evidence. *Turkish Journal of Botany*, 39, 325-333. <https://doi.org/10.3906/bot-1404-28>
- Nengroo, Z.R. & Rauf, A. (2019). Fatty acid composition and antioxidant activities of five medicinal plants from Kashmir. *Industrial Crops & Products*, 140, 111596. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111596>
- Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology & Medicine*, 49, 503-515. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.016>
- Pyo, Y.H., Lee, T.C., Logendra, L. & Rosen, R.T. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. *Food Chemistry*, 85, 19-26. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00294-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00294-2)

- Rahman, M., Khatun, A., Liu, L. & Barkla, B.J. (2018). Brassicaceae Mustards: Traditional and Agronomic Uses in Australia and New Zealand. *Molecules*, 23, 1-18. <https://doi.org/10.3390/molecules23010231>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Ríos, J.L., Francini, F. & Schinella, G.T. (2015). Natural products for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Planta Medica*, 81, 975-994. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1546131>
- Sekeroglu, N., Ozkutlu, F., Deveci, M., Dede, O. & Yilmaz, N. (2006). Evaluation of some wild plants aspect of their nutritional values used as vegetable in Eastern Black Sea region of Turkey. *Asian Journal of Plant Sciences*, 5(2), 185-189.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, *Methods Enzymology*, 299, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Şenkardeş, İ. & Tuzlacı, E. (2016). Wild edible plants of southern part of Nevşehir in Turkey. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 20, 34-43.
- Temiz, M.A. (2021a). Antioxidant and antihyperglycemic activities of *Scorzonera cinerea* radical leaves in streptozocin-induced diabetic rats. *Acta Pharmaceutica*, 71(4), 603-617. <https://doi.org/10.2478/acph-2021-0045>
- Temiz, M.A. (2021b). Investigation of Phenolic composition, antioxidant capacity, and antidiabetic effect of *Ornithogalum lanceolatum* L.: An *in vitro* study. *International Journal of Secondary Metabolite*, 8(2), 91-100. <https://doi.org/10.21448/ijsm.861904>
- Temiz, M.A. & Temur, A. (2017). Effect of Solvent Variation on Polyphenolic Profile and Total Phenolic Content of Olive Leaf Extract. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 27(1): 43-50.
- Temiz, M.A. & Temur, A. (2019). The effect of olive leaf extract on digestive enzyme inhibition and insulin production in streptozotocin-induced diabetic rats. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 66, 163-169. <https://doi.org/10.33988/auvfd.423491>
- WHO (World Health Organization) (2016). *Global report on diabetes*, Geneva: WHO press. Erişim adresi https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204871/9789241565257_eng.pdf;jsessionid=38A1F1A6F019A1BB8C0A219810048AE2?sequence=1
- WHO (World Health Organization) (2020). *World health statistics 2020: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals*, Geneva: WHO press. Erişim adresi <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332070/9789240005105-eng.pdf>
- Yang, K., Hashemi, Z., Han, W., Jin, A., Yang, H., Ozga, J., Li, L. & Chan, C.B. (2015). Hydrolysis enhances bioavailability of proanthocyanidin-derived metabolites and improves β -cell function in glucose intolerant rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 26, 850-859. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.03.002>
- Yeşil, Y. & İnal, İ. (2019). Traditional knowledge of wild edible plants in Hasankeyf (Batman Province, Turkey). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 88(3), 3633-3655. <https://doi.org/10.5586/asbp.3633>
- Zhang, P., Li, T., Wu, X., Nice, E.C., Huang, C. & Zhang, Y. (2020). Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Frontiers Medicine*, 14(5), 583-600. <https://doi.org/10.1007/s11684-019-0729-1>
- Zhishen, J., Mengcheng, T. & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)