


Original Article / Araştırma Makalesi

**TELEPHIUM İMPERATI'NİN LC-MS/MS İLE POLİFENOLLERİN TARANMASI VE  
ANTIOKSIDAN ÖZELLİKLERİ**

**Polyphenol Screening by LC-MS/MS and Antioxidant Properties of *Telephium imperati***

Abdussamat GÜZEL<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>İnönü Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Malatya

Geliş Tarihi / Received: 10.01.2024

Kabul Tarihi / Accepted: 08.02.2024

**ÖZ**

Caryophyllaceae familyasına ait olan *Telephium imperati* (L.) geleneksel Anadolu halk hekimliğinde kullanılan bitkiler arasında yer alır. Bu çalışmada *T. imperati*'nin fenolik bileşiklerin profili ve antioksidan aktiviteleri ilk defa araştırıldı. Fenolik bileşimlerini belirlemek için sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) sistemi uygulandı. Potansiyel antioksidan aktivitelerini değerlendirmek için spektrofotometre kullanıldı. ABTS (2,2'-azino-di-(3-etilbenzotiazolin)-6-sülfonik asit), CUPRAC (Kuprik (Cu<sup>2+</sup>) iyonlarını indirgeme gücü), DPPH(1,1-difenil-2-pikril-hidrazil) ve FRAP (Ferrik iyonları (Fe<sup>3+</sup>) indirgeme gücü) testleri uygulanarak *T. imperati*'nin metanol ekstraktının antioksidan kapasitesi belirlendi. Standart olarak kullanılan BHA, BHT ve Trolox göre *T. imperati* orta düzeyde antioksidan aktivite göstermiştir. LC-MS/MS ile 25 fenolik bileşik analizinde asetohidroksamik asit, kateşin hidrat, siringik asit, kafeik asit, kuersetin, luteolin, kaempferol belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Antioksidan, LC-MS/MS, Polifenol, *Telephium imperati*

**ABSTRACT**

*Telephium imperati* (L.), belonging to the Caryophyllaceae family, is among the plants used in traditional Anatolian folk medicine. In this study, the profile of phenolic compounds and antioxidant activities of *T. imperati* were investigated for the first time. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) system was applied to determine phenolic compositions. Spectrophotometry was used to evaluate potential antioxidant activities. The antioxidant capacity of the methanol extract of *T. imperati* was determined by applying ABTS (2,2'-azino-di-(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid), CUPRAC (reducing power of Cupric (Cu<sup>2+</sup>) ions), DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl), and FRAP (Ferric ions (Fe<sup>3+</sup>) reducing power) tests. Compared to BHA, BHT and Trolox used as standards, *T. imperati* showed moderate antioxidant activity. In the analysis of 25 phenolic compounds by LC-MS/MS, acetohydroxamic acid, catechin hydrate, syringic acid, caffeic acid, quercetin, luteolin, and kaempferol were determined.

**Keywords:** Antioxidant, LC-MS/MS, Polyphenol, *Telephium imperati*

## GİRİŞ

Hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için doğal kaynaklara gösterilen ilgi her geçen gün artmaktadır. Bu doğal kaynakların en önemlilerinden bir tanesi bitkilerdir (Uğur vd., 2021). Hem geçmişte hem de günümüzde birçok yörede bazı bitkiler geleneksel olarak bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bitkiler tarafından üretilen primer metabolitler büyüme ve gelişme amaçlı kullanılırken sekonder metabolitler ise daha çok savunma mekanizmalarında işlev görmektedir. Sekonder metabolitlerin bir sınıfını oluşturan fenolik bileşikler bitkilerde savunma amaçlı kullanılırken aynı zamanda birçok biyolojik ve farmakolojik aktiviteye sahiptir (Uğur ve Güzel, 2023). Antioksidan özellikleri ile bilinen fenolik bileşikler serbest radikalleri nötralize ederek hastalıkların önlenmesinde kilit bir role sahiptir. Organizmada meydana gelen ve radyasyon, virüs, UV ışınları ve sigara dumanı gibi faktörlerden kaynaklı serbest radikaller lipid, protein, nükleik asit ve çeşitli patolojik olaylarda oksidatif hasara sebep olmaktadır. Bunun sonucunda hücrede gen mutasyonu, yaşlanma, hücre hasarı ve doku hasarı gibi istenmeyen durumlar ortaya çıkmaktadır (Shui ve Leong, 2006). Antioksidanlar elektron sağlayıcı olarak serbest radikalleri süpürücü etki gösterir ve bu radikallerin zararlı etkilerine karşı vücudu çok düşük konsantrasyonlarda bile korumaktadır (Büyüktuncel, 2013; Uğur, Şalva, Karaat ve Erdoğan, 2023).

Fenolik bileşikler yaygın olarak bitkilerde bulunmaktadır. Bu nedenle bitkilerin fenolik içeriğini incelemeye odaklanan çok sayıda çalışma mevcuttur. Bunun birlikte fenolik bileşen kompozisyonu araştırılmamış bitkiler de bulunmaktadır. Bu bitkilerden bir tanesi *Telephium imperati* subsp. *orientale* (Boiss.) Nyman'dır. *T. imperati* karanfilgiller (Caryophyllaceae) ailesinden bir tür olup ülkemizde Marmara, Karadeniz, İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde doğal yayılış gösteren otsu bir bitkidir. Caryophyllaceae / Karanfilgiller familyasından *Telephium* türleri dünya genelinde bilinen beş türden ikisi Türkiye florasında bulunmaktadır. Bunlar *Telephium imperati* ve *Telephium oligospermum*'dir. Malatya florasında ise sadece *Telephium imperati* türü görülmüştür. Caryophyllaceae / Karanfilgiller familyası içerisinde bitkiyi diğer türlerden ayıran özellikleri; Stamenler serbest perianta bağlı değildir ve yapraklar gövde üzerinde sarmal çıkmaktadır. Bu çarpıcı özelliği bitkinin kolayca teşhis edilmesini sağlamaktadır. Bitkinin diğer bazı botanik özellikleri ise; çok yıllık, tüysüz, sarımsı renkli, odunsu gövdeli 10-30 cm, yatık, yapraklar genellikle tek sıra halinde, dar, sümüksü stipüllerle birlikte eliptik-sobovat, biraz sivri, altta göze çarpan bir orta damar vardır. Çanak yaprakları 3-5 mm, dikdörtgensel-lineer, omurgalı ve yapraklar kaliks kadar

uzundur. Kuru taşlı yamaçlar, kayalık dağ eteğindeki taş yığınları, çam ormanları, meşe çalılıklarında 400-2200 m rakımlarında yayılış göstermektedir (Davis, 1967).

Bu bitkinin geleneksel olarak hemoroit (Özgökçe ve Özçelik, 2004), diüretik, prostatik hipertrofi, siğil (Tetik, Civelek ve Cakilcioglu, 2013), ateş, halsizlik (Flouchi vd., 2023), yara iyileştirme, yanık ve çeşitli deri hastalıklarının (Nejjari vd., 2019; Rajasekaran, Sivakumar ve Darlinquine, 2012) tedavisinde tedavi amaçlı olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca Çelikhan bölgesinde halk arasında piroz yarası diye tabir edilen bir tür çıban enfeksiyonunda da bu bitki kullanılmıştır. Bunda dolayı bu bitkiye “Piroz otu” denilmektedir. Yapılan literatür taramasında *T. imperati* bitkisinde daha çok taksonomik ve etnobotanik çalışmaların yoğunlukta olduğu gözlenmiş fakat fenolik içerik ve antioksidan aktivite ile ilgili çalışmaların olmadığı belirlenmiştir.

Mevcut çalışmada Adıyaman ili Çelikhan ilçesinde temin edilen *T. imperati* bitkisinin tür teşhisi yapıldıktan sonra LCMSMS cihazı ile fenolik içeriğinin tespiti ve DPPH, ABTS, CUPRAC ve FRAP testleri uygulanarak antioksidan kapasitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Kimyasallar

#### LC-MS/MS analizinde standart olarak kullanılan bileşikler:

Asetohidroksamik asit (%98), kateşin hidrat ( $\geq$  %99), vanilik asit ( $\geq$ %97), timokinon ( $\geq$ %97), resveratrol (%99), gallik asit (%98), kafeik asit (%98), p-hidroksibenzoik asit (%99), salisilik asit (%99), oleuropein ( $\geq$  %80), floridzin dihidrat ( $\geq$  %99), 2-hidroksi- Sigma-Aldrich'ten (Darmstadt, Almanya) 1,4-naftokinon (%97), mirisetin ( $\geq$ %96), kersetin (%98), kaempferol ( $\geq$ %97) ve alizarin (%97); Merck'ten (Darmstadt, Almanya) protokatekuik asit (%97), bütein ( $\geq$ %98), naringenin ( $\geq$ %95), silimarin ( $\geq$ %95) ve luteolin ( $\geq$ %98), siringik asit (%97) ve Fluka'dan (Buchs, İsviçre) ellagik asit (%95); Supelco'dan (ABD) kurkumin ( $\geq$ %99,5).

#### Antioksidan aktiviteler için kullanılan kimyasallar:

Bütillenmiş hidroksianizol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH), trolox ve trikloroasetik asit (TCA), Sigma-Aldrich'ten (Almanya) temin edildi.  $\text{CuCl}_2$ , neocuprin, amonyum asetat ( $\text{NH}_4\text{Ac}$ ), potasyum ferrisiyanür [ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ], potasyum persülfat ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) ve 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit (ABTS) Merck'ten (Darmstadt, Almanya) satın alınmıştır.

## Bitki materyali

*T. imperati*, Adıyaman Çelikhhan ilçesinin Akdağ eteklerinde toplandı (Haziran 2022; B7 38°01'46.5"K 38°14'08.7"D). Turgay Kolaç (İnönü Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu) tarafından TK 1365 kayıt numarası ile İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumun'da kayıt altına alınmıştır. Bitkinin toprak üstü kısmı distile su ile yıkandıktan sonra gölgede oda sıcaklığında kurutuldu.

## Ekstraksiyon aşaması

Akdağ eteklerinden toplanan bitki güneş ve nem görmeyen ortamda kurutuldu. Değirmen ile toz haline getirilmiş olan *T. imperati* 'nin toprak üstü kısmından 5 gr alınarak oda sıcaklığında maserasyon tekniği kullanılarak 50 mL metanol ile ekstre edildi. Elde edilen ekstre süzgeç kağıdından süzülür ve 40°C'de döner evaporatör ile buharlaştırıldı ve sonrasında ekstrakt -20°C'de muhafaza edildi. 1 mg/mL'lik preparatlar antioksidan aktivite ve LC-MS/MS analizleri için kullanıldı.

## ABTS katyon radikal giderme aktivitesi

ABTS katyon radikal giderme aktivitesinin spektrofotometrik analizi Re ve ark.'nın yöntemine göre belirlendi (Re vd., 1999). Bu yöntemde, önceden oluşturulmuş bir ABTS radikal çözeltisine bir antioksidan eklenir ve sabit bir süre sonunda kalan ABTS katyon radikalinin miktarı 734 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür.

## Cu<sup>+2</sup> indirgeme kapasitesi

*T. imperati*'nin elektron transfer kabiliyetini ölçmek için Apak ve arkadaşlarının metodu kullanıldı (Apak, Güçlü, Özyürek ve Celik, 2008). Bu metod, 450 nm'de Cu<sup>+2</sup>-neokuproin reaktifinin Cu<sup>+</sup>-neokuproin şelatına indirgenmesine dayanır.

## DPPH serbest radikal giderme aktivitesi

Bu yöntem, hidrojen atomu veya elektron verme yetenekleri olan bileşiklerin mor renkli DPPH radikalini rengini açmaya dayanır. *T. imperati*'nin 517 nm'de serbest radikal giderme aktivitesi Blois yöntemine göre ölçüldü (Blois, 1958).

## Ferrik siyanür (Fe<sup>3+</sup>) giderme aktivitesi

*T. imperati* 'nin indirgeme kapasitesini ölçmek için Oyaizu'nun ferrik indirgeme antioksidan aktivite yönteminin modifiye şekli kullanıldı (Gülçin, 2006; Oyaizu, 1986). FRAP yöntemi, antioksidanlara göre stokiyometrik fazlalıkta (Fe<sup>3+</sup>) ferrisiyanürün azaltılmasının 700 nm'de okunmasına dayanmaktadır (Benzie ve Strain, 1996).

## LC-MS/MS ile fenolik analizi

Fitokimyasalların kalitatif ve kantitatif tayin için tandem bir MS cihazına (Kyoto, Japonya) bağlanan bir Nexera model Shimadzu HPLC ile gerçekleştirildi. Bu cihazda, Sıvı kromatograf ünitesi, LC-30AD ikili pompalar, DGU-20A3R gaz giderici, SIL-30AC otomatik örnekleyici ve CTO-10AS kolon fırını ekipmanları bulunmaktadır. Ayırma, bir Inertsil ODS4 C18 3 µm ters fazlı analitik kolon (150 mm x 4,6 mm) kullanılarak gerçekleştirildi. Gradyan elüsyonu, 40°C'de 0,5 mL/dakika akış hızıyla gerçekleştirildi ve enjeksiyon hacmi 4,0 µL olarak belirlendi. Mobil faz, solvent A (su, 5.0 mM amonyum format ve %0.1 formik asit) ve solvent B'den (metanol, 5.0 mM amonyum format ve %0.1 formik asit) oluşturuldu. Elüsyon programı; 0-20 dakikada %40-90 B, 20-23 dakikada %90-99 B, 23-24 dakikada %99-40 B ve 24-29 dakikada %4 B. kütle spektrometresi (MS) tespiti, hem pozitif hem de negatif iyonizasyon modlarında çalışan bir ESI kaynağı ile donatılmış bir Shimadzu LCMS 8040 model üçlü-dört kutuplu kütle spektrometresi kullanılarak gerçekleştirildi. Sıvı kromatografi-elektrosprey iyonizasyon/kütle spektrometresi/kütle spektrometresi (LC-ESIMS/MS) verileri Shimadzu LabSolutions yazılımı (Kyoto, Japonya) tarafından toplandı ve işlendi. Analitlerin miktarını belirlemek için çoklu reaksiyon izleme (MRM) modu kullanıldı. Fenolik bileşiklerin analizi, bileşik başına iki veya üç geçişin ardından gerçekleştirildi; birincisi niceliksel amaçlar için ve ikinci ve üçüncüsü doğrulama amaçlıydı.

LOD =  $X + 3SD$  ve LOQ =  $X + 10SD$  denklemlerine göre fitokimyasalların tespit limitleri (LOD) ve miktar belirleme limitleri (LOQ) belirlendi. Denklemden; X, boşluğun ortalama konsantrasyonu ve SD, boşluğun standart sapmasıdır (Güzel, 2024; Uğur ve Güzel, 2023).

## BULGULAR

LC-MS/MS ile analitlerin lineer aralık LOD, LOQ, R<sup>2</sup> ve tekrarlanabilirliği belirlendi (Tablo 1). *T. imperati*'nin metanol ekstresi kullanılarak polifenol kompozisyonu LC-MS/MS ile ortaya çıkarıldı. *T. imperati*'de kateşin hidrat 2010.4±3.62 mg/kg, kuersetin 130.5±3.65 mg/kg, asetohidroksamik asit 125.3±2.45 mg/kg, siringik asit 69.3±5.34 mg/kg, kafeik asit 15.9±2.25 mg/kg, luteolin 55.1±6.24 mg/kg ve kaempferol 52.2±4.58 mg/kg LC-MS/MS ile ölçüldü (Tablo 2). Resveratrol, floridzin dihidrat, oleuropein, protokatekuik asit, salisilik asit, ellagik asit, mirisetin, 2-hidroksi-1,4-naftokinon, hidroksibenzoik asit, silimarin, bütein, naringenin, alizarin, kurkumin ve timokinon LOQ altında bulundu ve fumarik asit, gallik asit ve vanilik asit ise saptanmadı.

*T. imperati*'nin metanol ekstresinin antioksidan kapasitelerini belirlemek için ABTS katyon radikali giderme,  $\text{Cu}^{+2}$  indirgeme, DPPH serbest radikal giderme ve  $\text{Fe}^{+3}$  indirgeme testleri yapıldı. BHA, BHT ve Trolox standartları kullanılarak antioksidan aktiviteleri değerlendirildi. CUPRAC ve FRAP sonuçları absorbans olarak verilirken, DPPH ve ABTS sonuçları radikal giderme aktivitesi yüzde olarak ifade edildi. Antioksidan aktiviteyi belirlemek için sabit bir çerçeve olan mavi/yeşil ABTS kromoforu, ABTS ile potasyum persülfatın reaksiyonundan oluşur (Güzel, 2023; Re vd., 1999). ABTS kromoforu giderme aktivitesi aşağıdaki sıralamaya göredir: BHA ( $93.65\% \pm 4.71$ ) > Trolox ( $90.03\% \pm 2.07$ ) > BHT ( $58.21\% \pm 2.66$ ) > Metanol ekstresi ( $23.81\% \pm 1.68$ ) (Şekil 1). DPPH serbest radikali ortamdaki lipofilik ve hidrofilik antioksidanlarla kolay etkileşime geçebilir (Oh ve Shahidi, 2017). Bundan dolayı antioksidanlara karşı çok hassastır. *T. imperati* metanol ekstresi BHT'ye yakın bir aktivite sergiledi. Bu aktivite sıralaması aşağıdaki gibidir: Trolox ( $57.82\% \pm 2.07$ ) > BHA ( $47.03\% \pm 4.71$ ) > BHT ( $21.73\% \pm 3.26$ ) > Metanol ekstresi ( $15.84\% \pm 2.03$ ) (Şekil 2).  $\text{Cu(II)}$ -neokuproin reaktifi plazma/serum antioksidanları, flavonoidler, fenolik bileşikler ve vitaminler gibi antioksidanların varlığında  $\text{Cu}^+$  şelatına dönüşerek koyuluğu artar (Apak, Güçlü, Özyürek ve Karademir, 2004).  $\text{Cu}^{+2}$  şelatlama kapasitesi için absorbans; 0.2 mg/mL konsantrasyonda BHT için 2.29, BHA için 1.99, Trolox için 1.81 ve metanol ekstresi için 0.70 olarak ölçüldü (Şekil 3). Antioksidanların varlığında  $\text{Fe}^{3+}$ /ferrisiyanür kompleksi  $\text{Fe}^{+2}$  formuna indirgenir. Bu reaksiyon sonucunda oluşan Prusya mavisi meydana gelir (Meir, Kanner, Akiri ve Philosoph-Hadas, 1995). FRAP indirgeme aktivitesi için absorbans; 0.2 mg/mL konsantrasyonda Trolox için 1.26, BHT için 1.23, BHA için 0.67 ve metanol ekstraktı için 0,320 olarak bulundu (Şekil 4).

**Tablo 1.** LC-MS/MS ile Fenolik Bileşikler için Analitik Parametreler

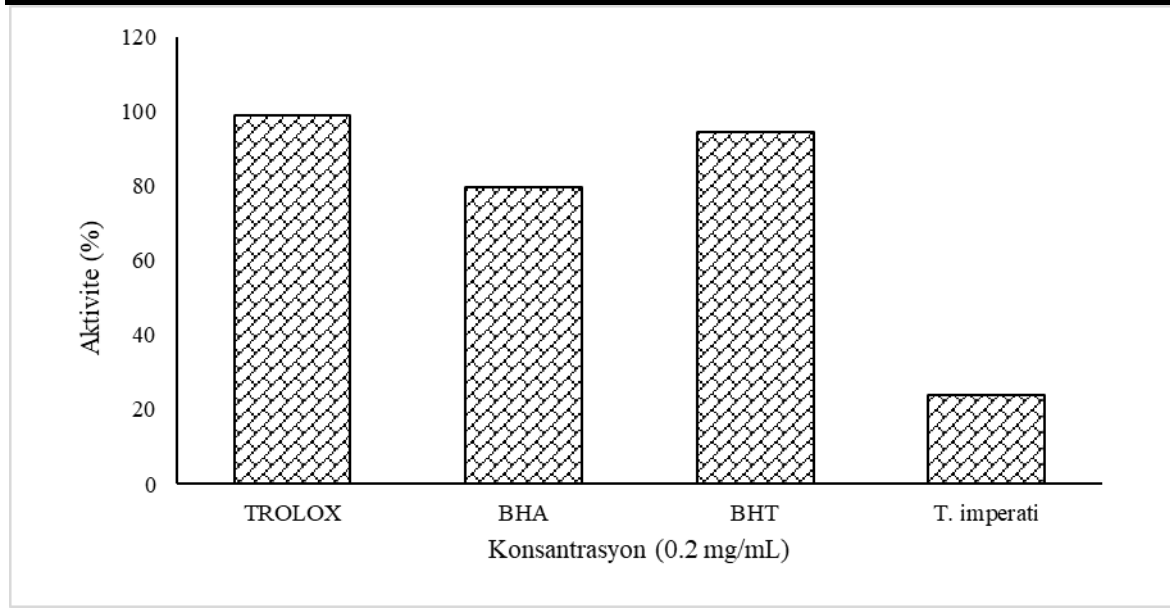
Bileşikler	Alıkonma zamanı (dak)	Prokesör iyon (m/z)	Ürün iyon (m/z)	LOD ( $\mu\text{g/L}$ )	LOQ ( $\mu\text{g/L}$ )	Doğrusal regresyon	Doğrusal aralık ( $\mu\text{g/L}$ )	$R^2$	Tekrarlanabilirlik (n = 6)	
									Değer	RSD %
Asetohidroksamik asit	0.406	76.15	58	6.90	23.01	$y = 216.91x + 6165.8$	20-750	0.9989	489.34	1.79
Kateşin hidrat	2.532	291	139.1	2.05	6.84	$y = 1717.9x - 563.99$	10-750	0.9988	485.19	1.19
Vanilik asit	2.762	168.95	65	84.78	282.61	$y = 48.343x + 662.5$	250-1000	0.9993	496.07	5.94
Siringik asit	3.001	199.1	140.1	2.88	9.61	$y = 112.03x + 1316.1$	10-500	0.9994	483.07	2.91
Resveratrol	3.606	229	135	41.83	139.43	$y = 733.34x - 69955$	250-1000	0.999	486.42	2.19
Fumarik asit	0.809	115.2	71.1	7.91	26.38	$y = 100.91x - 1701.62$	40-750	0.9989	499.19	4.02
Gallik asit	1.278	169.1	124.9	3.92	13.06	$y = 305.07x - 1859.3$	10-100	0.9981	471.32	6.98

Kafeik asit	2.836	179	135	2.87	9.58	$y = 1227.2x - 5396.5$	10-100	0.9948	474.22	3.69
Floridzin dihidrat	3.594	435.1	273.1	81.80	272.67	$y = 120.23x - 9479.5$	250-1000	0.9989	500.19	4.32
Oleropin	3.567	539.1	377	7.17	23.90	$y = 324.26x - 5388.8$	40-750	0.9997	496.52	5.26
Protokatekuik asit	3.556	181	108	2.76	9.20	$y = 1382.2x - 4393.1$	10-500	0.9967	479.92	4.31
Salisilik asit	3.558	137.2	93	22.88	76.25	$y = 3838.2x - 149277$	75-1000	0.9977	520.39	6.81
Ellagik asit	3.681	301.1	228.9	23.74	79.14	$y = 18.841x + 911.46$	100-1000	0.9967	502.25	3.45
Mirisetin	3.644	317	179.1	4.34	14.45	$y = 588.4x - 4990.6$	20-500	0.9987	492.54	3.39
2-hidroksi-1.4 naftakinon	3.664	173.1	145	2.07	6.91	$y = 461.45x - 4553.8$	10-500	0.9989	540.11	10.83
Hidroksibenzoik asit	3.555	137.2	93.1	8.92	29.74	$y = 3831.2x - 94423$	40-500	0.9996	477.66	4.75
Silymarin	3.996	481.1	453.1	8.00	26.70	$y = 199.91x + 950.97$	40-750	0.9997	478.05	3.41
Kuersetin	3.891	301.1	150.9	7.79	25.98	$y = 150.09x - 422.87$	20-500	0.9997	487.60	2.99
Naringenin	3.952	271	150.9	68.40	228.10	$y = 700.8x - 26469$	250-1000	0.9997	481.52	2.73
Bütein	3.935	271	134.9	38.50	128.20	$y = 62.943x - 2793$	100-1000	0.996	492.32	3.25
Luteolin	4.069	285	150.9	6.40	21.40	$y = 1389x - 40923$	40-1000	0.9988	491.54	2.73
Kaempferol	4.298	285	117	3.90	13.00	$y = 62.513x - 821.08$	20-1000	0.9982	491.68	3.31
Alizarin	4.594	239	211	15.30	51.10	$y = 26.512x - 1721$	60-2000	0.9991	512.49	8.30
Kurkumin	4.672	367.1	216.9	12.80	42.70	$y = 1908.9x - 8252.1$	40-1000	0.9994	509.57	4.95
Timokinon	3.337	165	137	7.64	25.47	$y = 349.23x - 2887.4$	20-500	0.9971	482.18	2.71

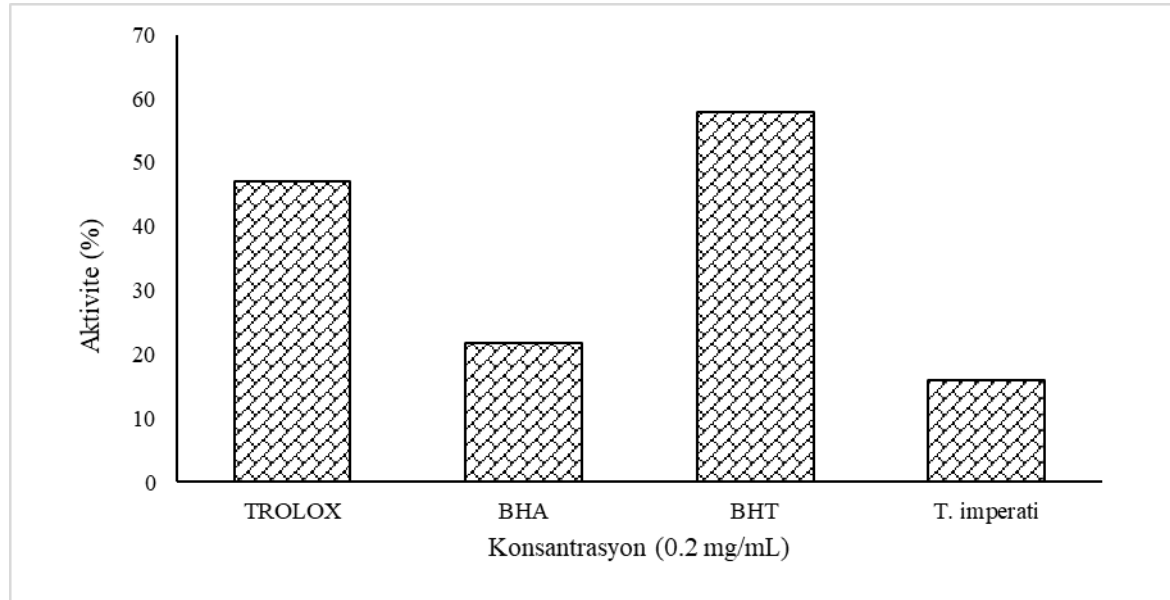
R<sup>2</sup>: determinasyon katsayısı**Tablo 2.** *T. imperati*'de Bulunan Fenolik Bileşiklerin LC-MS/MS Sonuçları

Bileşikler	Değer±Ss mg/kg	Bileşikler	Değer±Ss mg/kg
Asetohidroksamik asit	125.3±2.45	Mirisetin	< LOQ
Kateşin hidrat	2010.4±3.62	2-hidroksi-1.4 naftakinon	< LOQ
Vanilik asit	-	Hidroksibenzoik asit	< LOQ
Siringik asit	69.3±5.34	Silymarin	< LOQ
Resveratrol	< LOQ	Kuersetin	130.5±3.65
Fumarik asit	-	Naringenin	< LOQ
Gallik asit	-	Bütein	< LOQ
Kafeik asit	15.9±2.25	Luteolin	55.1±6.24
Floridzin dihidrat	< LOQ	Kaempferol	52.2±4.58
Oleropin	< LOQ	Alizarin	< LOQ
Protokatekuik asit	< LOQ	Kurkumin	< LOQ
Salisilik asit	< LOQ	Timokinon	< LOQ
Ellagik asit	< LOQ		

LOD: Belirleme sınırı LOQ: Tayin sınırı

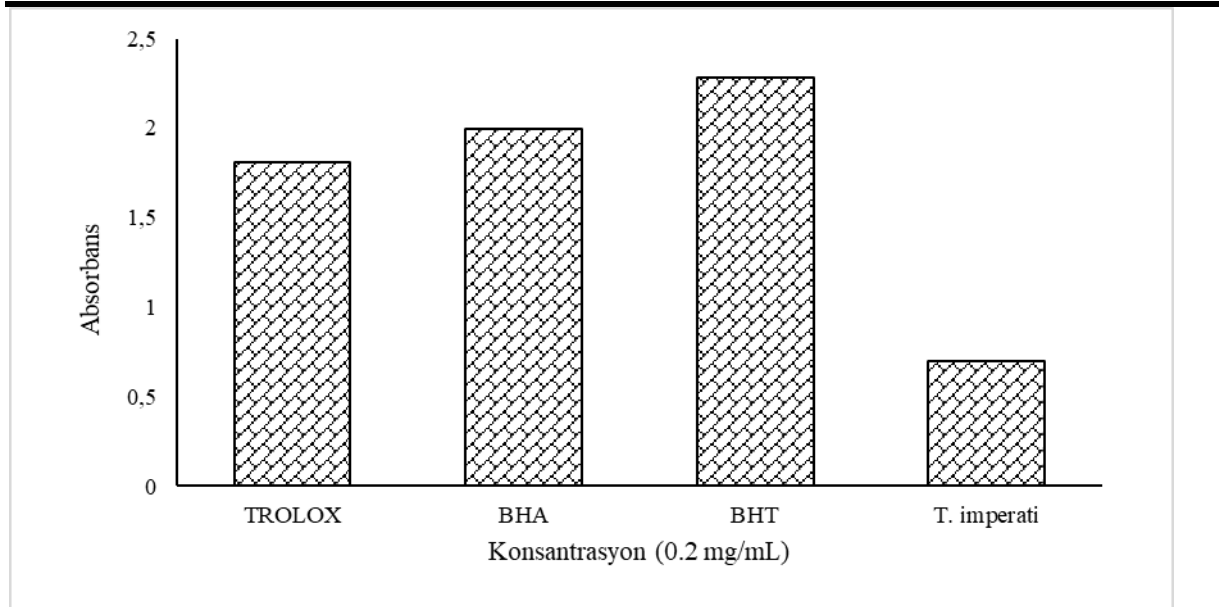


Şekil 1. *T. imperati* ve Standart Antioksidanların ABTS Katyon Radikal Giderme Aktivitesi

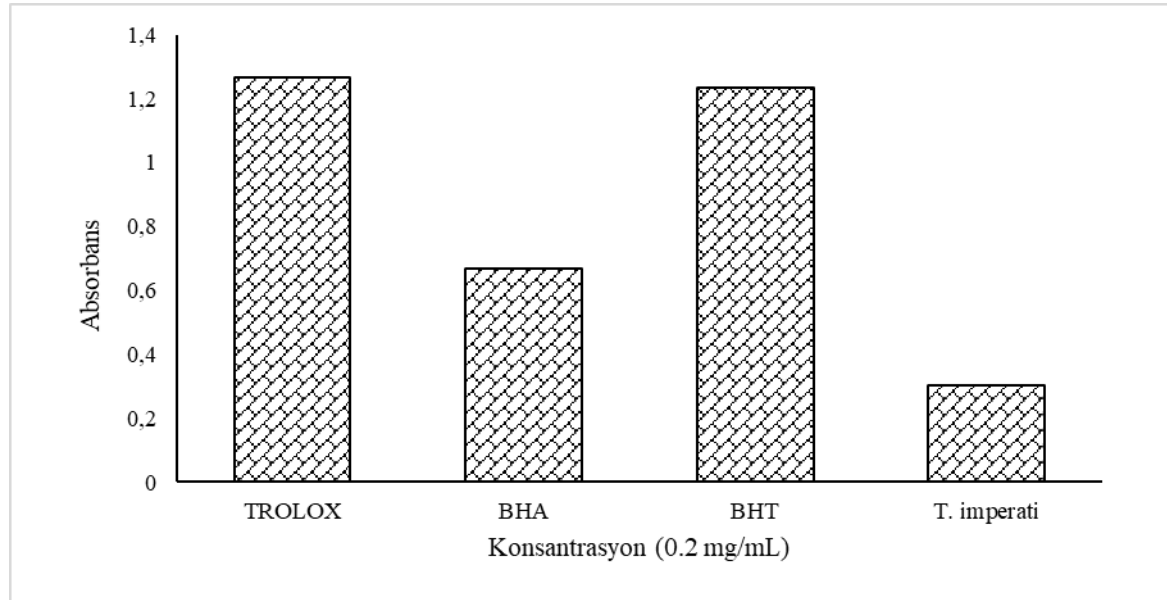


Şekil 2. *T. imperati* ve Standart Antioksidanların DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi





Şekil 3. *T. imperati* ve Standart Antioksidanların Cu<sup>++</sup> İyon İndirgeme Kapasitesi



Şekil 4. *T. imperati* ve Standart Antioksidanların Fe<sup>3+</sup> İndirgeme Gücü Aktivitesi

## TARTIŞMA

Fitokimyasalların, hidrojen veya elektron donörleri olarak indirgeyici özelliklere ve aynı zamanda metal şelatlama kapasitesine sahip olmalarından dolayı serbest radikalleri giderebilirler. Bundan dolayı doğal kaynaklardan elde edilen antioksidan bileşikler, reaktif oksijen türleri ile ilişkili hastalıklara karşı etkili olan sentetik antioksidanlara alternatif olabilir. Bu bağlamda, *T. imperati* ile ilgili ilk defa polifenollerin LC-MS/MS çalışması yapıldı. Yapılan analiz sonucunda majör pik olarak kateşin hidrat bulundu. Bitkilerin sekonder metaboliti olarak türetilen önemli bir doğal flavonoid olan kateşin hidrat, oksidatif hasardan kaynaklanan hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde büyük bir role sahip olmasının yanı

sıra, antioksidatif ve antienflamatuvar özellikler gibi potansiyel terapötik aktivitelere sahiptir. Aynı zamanda kardiyoprotektif, nöroprotektif ve anti-kanser etkileri de dahil olmak üzere bazı potansiyel biyolojik etkiler de sergiler (Dube, Nicolazzo ve Larson, 2010). Tüm bunların yanı sıra arter duvarlarındaki lipitlerin indirgenmesini arttırdığı, indüklenen DNA hasarına karşı koruma sağladığı, hücre duvarına yapıştığı, mikrobiyal büyümeyi bozduğu ve alkil peroksil radikalini temizlemede oldukça etkili olduğu rapor edilmiştir (Munin ve Edwards-Lévy, 2011). *T. imperati*'nin fitokimyasal analizinde ikinci majör pik olarak kuersetin tespit edildi. Flavonoidlerin bir üyesi olan kuersetin, bitki ve meyvelerde bulunan baskın antioksidandır. Kuersetin, yüksek biyolojik aktivitesi ile anti-inflamatuvar, anti-karsinojenik ve antiviral etkilere sahiptir. İnce kağıt kromatografisiyle yapılan bir çalışmada, *T. imperati*'de kuersetin kalitatif olarak tayin edilmiştir (Nejjari vd., 2019). Bu çalışmada ise kuersetin kantitatif ve kalitatif olarak hesaplanmıştır. LC-MS/MS analizinde üçüncü majör pik olarak da asetohidroksamik asit bulundu. Üreyi, amonyak (NH<sub>3</sub>) ve karbondioksite (CO<sub>2</sub>) hidrolize eden üreaz enzimi, *Helicobacter pylori*'nin midede hayatta kalmasını sağlar. Amonyanın artması ortamın pH'ını yükseltir ve çeşitli mide hastalıklarına neden olan *Helicobacter pylori*'nin yaşam alanını oluşturur (Kantar, Baltas, Karaoglu ve Sasmaz, 2018). Üreaz enziminin bir inhibitörü olan asetohidroksamik asit, hem antioksidan hem de antienflamatuvar özelliklere sahiptir (Michaelidou, Hadjipavlou-Litina, Matsini ve Tsitsogianni, 2007). Bu özellikler bakımından *T. imperati* doğal ilaç kullanımını açısından araştırılmaya aday olabilir.

Sentetik antioksidanların zararlarının ortaya çıkması ile doğal antioksidan kaynaklarına olan ilginin artmasına neden olmuştur. Bu amaçla doğada bulunan maddelerin büyük çoğunluğunun antioksidan özelliğe sahip olduğu fark edilmiştir. Ayrıca antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için çeşitli in vitro yöntemler kullanılmıştır (Gülçin ve Beydemir, 2013). *T. imperati*'nin antioksidan aktivitesi ilk defa çalışıldı. Değerlendirmek için ABTS, DPPH, CUPRAC, FRAP testleri uygulandı. LC-MS/MS verileri ile antioksidan aktivite sonuçlarının uyumlu olduğu görüldü.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma *T. imperati* metanol ekstresinin ABTS, CUPRAC, DPPH ve FRAP ile antioksidan kapasiteleri değerlendirildi. Sonuçlar, *T. imperati* ekstresinin antioksidan potansiyeli olduğunu gösterdi. Ayrıca, *T. imperati* metanol ekstraktında kateşin hidrat, kuersetin, asetohidroksamik asit, siringik asit, kafeik asit, luteolin ve kaempferol LC-MS/MS ile kalitatif ve kantitatif olarak ölçüldü. Belirlenen fitokimyasalların, *T. imperati*'nin

antioksidan aktivite sergilemesinden sorumlu olabilir. Bu çalışma, bu bitki ile ilgili yapılacak araştırmalara ışık tutacaktır.

**Araştırmacıların Katkı Oranı:** Yazarlar çalışmaya eşit oranda katkı sağlamıştır.

**Çıkar Çatışması Beyanı:** Yazarların çikara dayalı herhangi bir ilişkisi bulunmamaktadır.

#### KAYNAKLAR

- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Celik, S. E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*, 160(4), 413–419.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve 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 and food chemistry*, 52(26), 7970–7981.
- Benzie, I. F. F. ve Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70–76.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199–1200. doi:10.1038/1811199a0
- Büyüktuncel, E. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17(2), 93–103.
- Davis, P. (1967). *Flora Of Turkey And The East Aegean Islands*, Vol. 2, Edinburgh Univ. Pres, Edinburgh.
- Dube, A., Nicolazzo, J. A. ve Larson, I. (2010). Chitosan nanoparticles enhance the intestinal absorption of the green tea catechins (+)-catechin and (–)-epigallocatechin gallate. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(2), 219–225.
- Flouchi, R., El Far, M., El Atrache, N. E., El Kassmi, S., Ezzarouali, Y., Benkhaira, N., ... Fikri-Benbrahim, K. (2023). Ethnobotanical survey on plants used during the COVID-19 pandemic in Taza (Morocco) and population satisfaction according to the " Rules of Association" approach. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 11(3), 455–472.
- Gülçin, İ. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217(2–3), 213–220.
- Gülçin, İ. ve Beydemir, Ş. (2013). Phenolic compounds as antioxidants: carbonic anhydrase isoenzymes inhibitors. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 13(3), 408–430.
- Güzel, A. (2023). Relationship Between Phenolic Content Determined by LC-MS/MS and Antioxidant Capacity and Enzyme Inhibition of *Cyclotrichium Niveum* L. *Chemistry & Biodiversity*, e202300027.
- Güzel, A. (2024). Assessment of antioxidant, acetylcholinesterase, paraoxonase inhibition activities and phenolic content of *Alchemilla lithophila*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37(1), 025-023.
- Kantar, C., Baltas, N., Karaoglu, S. A. ve Sasmaz, S. (2018). Some azo dyes containing eugenol and guaiacol, synthesis, antioxidant capacity, urease inhibitory properties and anti-helicobacter pylori activity. *Revue Roumaine De Chimie*, 63(3), 189–197.
- Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. ve Philosoph-Hadas, S. (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, 43(7), 1813–1819.

- Michaelidou, A., Hadjipavlou-Litina, D., Matsini, I. ve Tsitsogianni, E. (2007). Heterocyclic aryl (phenyl) acetic acid and aryl acetohydroxamic acids as antiinflammatory-antioxidant agents and inhibitors of lipoxygenase and serine proteases. *Medicinal Chemistry*, 3(5), 439–445.
- Munin, A. ve Edwards-Lévy, F. (2011). Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review. *Pharmaceutics*, 3(4), 793–829.
- Nejjari, R., Benabbes, M., Amrani, M., Meddah, B., Bouatia, M. ve Taoufik, J. (2019). Phytochemical screening and wound healing activity of *Telephium imperati* (L.) in rats. *South African Journal of Botany*, 123, 147–151.
- Oh, W. Y. ve Shahidi, F. (2017). Lipophilization of Resveratrol and Effects on Antioxidant Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(39), 8617–8625. doi:10.1021/acs.jafc.7b03129
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307–315. doi:10.5264/eiyogakuzashi.44.307
- Özgökçe, F. ve Özçelik, H. (2004). Ethnobotanical aspects of some taxa in East Anatolia, Turkey. *Economic Botany*, 58(4), 697–704.
- Rajasekaran, A., Sivakumar, V. ve Darlinquine, S. (2012). Evaluation of wound healing activity of *Ammannia baccifera* and *Blepharis maderaspatensis* leaf extracts on rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22, 418–427.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. doi:10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- Shui, G. ve Leong, L. P. (2006). Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food chemistry*, 97(2), 277–284.
- Tetik, F., Civelek, S. ve Cakilcioglu, U. (2013). Traditional uses of some medicinal plants in Malatya (Turkey). *Journal of ethnopharmacology*, 146(1), 331–346.
- Uğur, Y. ve Güzel, A. (2023). Determination of phytochemical content by LC-MS/MS, investigation of antioxidant capacity, and enzyme inhibition effects of nettle (*Urtica dioica*). *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 27(5), 1793–1800.
- Ugur, Y., Karaaslan-Ayhan, N., Icen, M. S., Bicim, T., Erdogan, S. ve Yaman, M. (2021). Determination of fatty acids in *Allium tuncelianum* (Tunceli garlic) by gas chromatography with flame ionization detection (GC–FID). *Instrumentation Science & Technology*, 50(3), 233–239.
- Uğur, Y., Şalva, E., Karaat, F. ve Erdoğan, S. (2023). Antiproliferative properties and evaluation of antioxidant of different cornelian cherry genotypes and analysis of phenolic and sugar compounds by HPLC. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 51(1), 57–70. <https://doi.org/10.15671/hjbc.1065317>