

Endemik *Lomelosia pseudograminifolia* (Hub.-Mor.) Greuter & Burdet'nin Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivite Yönünden İncelenmesi

Ceren Ilgın Koç¹, Sevil Albayrak^{*1}, Ahmet Aksoy²

^{*1}Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji, KAYSERİ

²Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji, KAYSERİ

(Alınış / Received: 05.11.2024, Kabul / Accepted: 06.12.2024, Online Yayınlanma / Published Online: 30.12.2024)

Anahtar Kelimeler

Lomelosia pseudograminifolia,
Antibakteriyel Aktivite,
Antioksidan Aktivite,
Fenolik,
Flavonoid

Öz: Bu çalışmada, *Lomelosia pseudograminifolia* (Hub.-Mor.) Greuter & Burdet (Caprifoliaceae)'dan elde edilen metanollü ekstrenin antioksidan ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ekstredeki toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları sırasıyla Folin-Ciocalteu ve alüminyum klorür kolorimetrik yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir. Metanollü ekstrenin antioksidan aktivitesi fosfomolibdenyum, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal süpürücü (DPPH), ferrik-demir indirgeyici güç (FRAP) ve bakır iyon indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) yöntemi olmak üzere dört farklı yöntem kullanılarak test edilmiştir. Metanollü ekstrenin on üç bakteriye karşı antibakteriyel aktivitesi agar difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlar metanollü ekstrenin yüksek fenolik ve flavonoid madde miktarı ile orta derecede antioksidan aktivite gösterirken, test edilen bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olmadığını göstermiştir. Çalışma sonuçları, *L. pseudograminifolia* ekstresinin gıda, tıp ve eczacılık endüstrilerinde alternatif doğal antioksidan olarak kullanılabilirliğini ortaya koymaktadır.

Investigation of Antioxidant and Antibacterial Activity of Endemic *Lomelosia pseudograminifolia* (Hub.-Mor.) Greuter & Burdet

Keywords

Lomelosia pseudograminifolia,
Antibacterial Activity,
Antioxidant Activity,
Flavonoid,
Phenolic

Abstract: In the study, determination of the antioxidant and antibacterial activities of methanol extract from *Lomelosia pseudograminifolia* (Hub.-Mor.) Greuter & Burdet (Caprifoliaceae) was aimed. The total phenolic and total flavonoid contents in the extract were determined by Folin-Ciocalteu and aluminum chloride colorimetric assays, respectively. The antioxidant activity of the methanol extract was tested using four different methods including phosphomolybdenum, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging (DPPH), ferric-ion reducing power (FRAP) and cupric ions reducing antioxidant capacity (CUPRAC) methods. The antibacterial activity of methanol extract was investigated against thirteen bacteria used agar well-diffusion assay. Results showed that the methanol extract had moderate antioxidant activity with high phenolic and flavonoid content while had no antibacterial activity against all tested bacteria. Our study reveals that *L. pseudograminifolia* extract may be used as alternative natural antioxidant agent in the food, medicine and pharmacy industries.

1. Giriş

Oksidatif stres, antioksidanların etkisiyle karşı konulamayan reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi ve aynı zamanda hücre redoks dengesinin bozulması olarak tanımlanmaktadır [1]. Hidroksil radikal ($\cdot\text{OH}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit ($\text{O}_2 \cdot^-$), nitrik oksid ($\text{NO}\cdot$) ve peroksinitrit ($\text{ONOO}\cdot$) gibi reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) hücrede oksidatif stresin başlıca kaynaklarıdır. Protein, lipid ve DNA'ya zarar verirler. Oksidatif DNA hasarı kanser, yaşlanma, Alzaymır ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklar ve arteroskleröz

gibi kardiyovasküler hastalıkların nedeni olarak gösterilmektedir. Ayrıca, kalp krizi ve inme ile sonuçlanan hücre ölümü ve doku hasarının başlıca sebebidir. Bu nedenle, ROT ve RNT'nin neden olduğu oksidatif stresin önlenmesi hastalıkların tedavisi için önemli etkilere sahiptir [2].

Biyolojik antioksidan, oksitlenebilir bir substrata kıyasla daha düşük konsantrasyonda, substratın oksidasyonunu geciktirebilen veya önleyebilen herhangi bir bileşik olarak tanımlanmaktadır [1]. Antioksidanlar hücrelerdeki oksidatif stresi azaltır ve bu nedenle kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve enflamatuar hastalıklar dahil olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde faydalıdır. Bazı araştırmacılar, dünyadaki bitki türlerinin üçte ikisinin tıbbi değeri olduğunu öne sürmektedir. Özellikle de birçok tıbbi bitki büyük antioksidan potansiyele sahiptir. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksilanisol (BHA) gibi sentetik antioksidanlar günümüzde gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır ve birçok bitki türü bu sentetiklerle benzer antioksidan potansiyele sahiptir. Literatür, bu doğal antioksidanların gıda işleme endüstrisinde ve koruyucu tıpta kullanımı için sentetik antioksidanlara potansiyel olarak yan etkisiz bir alternatif oluşturduğunu ortaya koymaktadır [3].

Gıda kaynaklı hastalıkların çoğu mikrobiyal patojenlerle kontamine olmuş gıdaların tüketilmesinden kaynaklanmaktadır. Gıda zehirlenmesi ve tüketici sağlığı gibi konularla sıkı sıkıya ilişkili olması nedeniyle, gıda ile ilgili bu tür patojenlerin etkisini ortadan kaldırmaya ve işlenmiş gıdaların raf ömrünü uzatmaya yönelik birçok çalışma bulunmaktadır. Ayrıca nitrat, benzoat, sülfat, sorbat, formaldehit gibi sentetik gıda koruyucuları da yaşamı tehdit eden yan etkileriyle bilinmektedir. Bu sağlık riskleri doğal gıda koruyucularının kullanılmasını zorunlu kılmaktadır. Çeşitli bitki ve bitkisel ekstraktların antioksidan, antimikrobiyal, anti-diyabetik, anti-kanserojen, aroma verici ve repellent gibi davranabileceği ve tüm bunların gıda üretiminde çoklu uygulanabilirliğe yol açan özellikler olduğu gösterilmiştir [4].

Lomelosia (Caprifoliaceae) 7'si endemik olmak üzere 22 takson (21 tür) içermektedir. Moleküler filogenetik analizler ve morfolojik çalışmalar sonucu *Scabiosa* L. (Dipsacaceae) cinsine ait bazı türler *Lomelosia* Raf. cinsine ve Caprifoliaceae ailesine aktarılmıştır [5]. *Scabiosa* cins ismi ülkemizde genellikle "uyuzotu" olarak bilinmesine rağmen, son yıllarda "yazı süpürgesi, zivan, kavurotu, puk, gıcıkotu" olarak da anılmaktadır [6,7]. *Scabiosa* cinsi halk arasında çeşitli kullanımları ile dikkat çekmektedir. Bitkinin kökü solunum yolları ile ilgili şiddetli hastalıkların başlangıç devresinde ekspektoran özelliğinden dolayı kullanılır. Gripte, bronşitte sekresyon artırıcı özelliği vardır [8]. *Scabiosa* cinsinin anti-inflamasyon, antioksidan ve immün ve kardiyovasküler sistem güçlendirici özelliklerinin olduğu bildirilmiştir [9].

Daha önceki çalışmalarda çeşitli *Scabiosa* taksonlarının antioksidan aktiviteye sahip olduğu kaydedilmiştir. *S. tschilliensis* ve *S. comosa* [10], *S. arenaria* [11], *S. stellata* [12], *S. tschilliensis* [13], *S. argentea* [14] ve *S. sicula* [15]'nin antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. *S. columbaria* [16], *S. hymettia* [17], *S. arenaria* [18], *S. stellata* [19], *S. olivieri* [20]'den elde edilen ekstraktların antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir. Ancak yapılan literatür taramasında, *Lomelosia pseudograminifolia* (Hub.-Mor.) Greuter & Burdet (Caprifoliaceae) türünün antioksidan ve antibakteriyel aktivitesi ile ilgili çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle, bu çalışma ile *L. pseudograminifolia*'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstrenin toplam fenolik ve flavonoid madde miktarının, antioksidan ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Araştırma Materyalinin Temini

Türkiye'de doğal olarak yayılış gösteren endemik *L. pseudograminifolia* (Hub.-Mor.) Greuter & Burdet (Caprifoliaceae) taksonu 2019 yılı Temmuz ayında Eskişehir ilinin Alpu-Mihalıççık yolundan toplanmıştır (902 m). Toplanan bitkinin tayini Akdeniz Üniversitesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ahmet AKSOY tarafından gerçekleştirilmiştir. Toplanan bitki örnekleri Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda (AKDU) muhafaza edilmektedir (Toplama no: Aksoy 3065).

2.2. Araştırma Materyalinin Ekstraksiyonu

Çiçeklenme evresinde toplanan *L. pseudograminifolia* örneklerinin toprak üstü kısımları oda sıcaklığında gölgede kurutulduktan sonra öğütülüp toz haline getirilmiştir. Toz halindeki bitki maserasyon yöntemi ile metanol kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Daha sonra, solvent-ekstre karışımından Rotary Evaporatör ile 40 °C'de solvent tamamen uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan ekstre, hassas terazide tartılarak ekstre verimi hesaplanmıştır. Elde edilen ekstre daha sonraki çalışmalar için renkli ve kapaklı cam şişelerde kullanılmaya kadar buzdolabında saklanmıştır [21].

2.3. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu kolorimetrik yöntemi ile belirlenmiştir [22]. Hazırlanan ekstre çözeltilerinden 40 µL deney tüplerine aktarılmıştır. Ekstrelerin üzerine sırasıyla 2,4 mL distile su, 200 µL Folin-Ciocalteu ayırıcı, 600 µL sodyum karbonat (%20 Na₂CO₃) ve 760 µL distile su eklenerek vorteks ile karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra 765 nm dalga boyundaki absorbans değerleri köre karşı okunmuştur. İşlem üç tekrar şeklinde uygulanmıştır. Sonuçlar gallik asitle elde edilen kalibrasyon eğrisinden hesaplanarak, gallik asit eşdeğeri olarak (mg GAE/g ekstre) belirtilmiştir.

2.4. Toplam Flavonoid Madde Miktarının Belirlenmesi

Toplam flavonoid madde miktarı Alüminyum Klorid Kolorimetrik yöntemi ile belirlenmiştir [23]. Ekstre (0.5 mL) sırasıyla 0.1 mL %10 alüminyum klorür ve 0.1 mL 1M potasyum asetat ile karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra 415 nm dalga boyundaki absorbans değerleri okunmuştur. İşlem üç tekrar şeklinde uygulanmıştır. Sonuçlar kersetin ile elde edilen kalibrasyon eğrisinden hesaplanarak, kersetin eşdeğeri olarak (mg QE/g ekstre) belirtilmiştir.

2.5. Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Toplam antioksidan aktivite fosfomolibdenyum yöntemi ile değerlendirilmiştir [24]. Bu yöntem ortamda bulunan Mo (VI)'ün ortama konan indirgeyici ajan tarafından Mo (V)'e indirgenmesi sonucu oluşan yeşil rengin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır. Hazırlanan ekstre çözeltilerinden 0,4 mL deney tüplerine aktarılmıştır. Ekstrelerin üzerine 4 mL belirteç çözeltisi eklenerek vorteks ile karıştırılmıştır. Karışım 95 °C'de 90 dakika inkübasyona bırakılmıştır (Belirteç Çözeltisi: 0.6 M sülfirik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat). Oluşan yeşil renkli karışımın absorbans değeri 695 nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur. İşlem üç tekrar şeklinde uygulanmıştır. Sonuçlar askorbik asitle elde edilen kalibrasyon eğrisinden hesaplanarak, askorbik asit eşdeğeri (mg AAE/g ekstre) olarak belirlenmiştir.

2.6. Antiradikal Aktivitenin Belirlenmesi

Antiradikal aktivite DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemine göre belirlenmiştir [25]. Yöntem radikalın karakteristik mor renginde meydana gelen renk değişikliğinin spektrofotometre ile ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Hazırlanan ekstre çözeltilerinden (0,1-2 mg/mL) alınarak deney tüplerine aktarılmıştır. Üzerlerine 0,1mM DPPH radikalının metanol ile hazırlanan çözeltisi eklendikten sonra vorteks ile karıştırılıp oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Karışımların absorbans değerleri 517 nm dalga boyunda okunmuştur. Ölçümler üç kez tekrarlanmıştır ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Serbest radikal temizleyici etki DPPH absorpsiyonunun % inhibisyonu olarak belirtilmiştir. Bu değer aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\%Inhibition = \frac{(Abs_{control} - Abs_{sample})}{Abs_{control}} \times 100 \quad (1)$$

% 50 inhibisyona neden olan konsantrasyon (IC₅₀) belirlenmiştir. Aynı işlemler pozitif kontrol olarak kullanılan sentetik antioksidan olan bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) için tekrarlanmıştır.

2.7. Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP)

Yöntem [Fe(III)(TPTZ)₂]³⁺'in antioksidan tarafından [Fe(II)(TPTZ)₂]²⁺'ye indirgenmesine dayanmaktadır. FRAP ayırıcı 10 mM TPTZ çözeltisinin 2,5 mL FeCl₃.6H₂O ve 25 mL asetat tamponu'nun karıştırılması ile hazırlanmıştır. FRAP ayırıcı ekstre veya standart olarak kullanılan L-askorbik asit ile karıştırılarak absorbansı 593 nm'de ölçülmüştür. Ekstrenin FRAP değerleri (mM/L Fe²⁺) olarak ifade edilmiştir [26].

2.8. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi (CUPRAC)

CUPRAC yöntemi, Cu²⁺ redüksiyon kapasitesine dayalı bir toplam antioksidan kapasite ölçüm yöntemidir [27]. 10 mM CuCl₂, 7,5 mM neocuproine ve NH₄Ac tampon çözeltilerinin her birini içeren karışım üzerine farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstre çözeltisi eklenerek karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra absorbansı 450 nm de okunmuştur. Ekstrelerin ve standartların Cu²⁺-Cu⁺ indirgeyici güç eğrileri, konsantrasyon ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri arasında çizilmiştir.

2.9. Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılacak test bakterileri olarak: *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, *Listeria monocytogenes* 1/2B, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Proteus mirabilis* ATCC 25933, *Bacillus cereus* ATCC 11778, Metisilin duyarlı *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (MSSA), *Streptococcus pneumoniae* ATCC 10015, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Mycobacterium smegmatis* RUT kullanılmıştır. Antibakteriyel aktivite denemeleri agar difüzyon yöntemi ile yapılmıştır [28]. Bakteri kültürleri steril nutrient broth ile 10^6 - 10^7 cfu/mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Her bir bakteri içeren kültürden 250 µL alınarak 25 mL steril Muller-Hinton içeren besiyerine aktarılmıştır ve petri kaplarına (9 cm) dökülmüştür. Agar donduktan sonra 4 °C'de 1 saat bekletilmiştir. Agarda eşit uzaklıkta 6 mm'lik kuyucuklar mantar delici ile açılmıştır. Hazırlanan ekstre çözeltisinden (60 mg/mL stok) kuyucuklara 40 µL pipetlenmiştir. Ekstre iyice emildikten sonra petri 37 °C'de 18-24 saat ters pozisyonda inkübe edilmiştir. İnkübasyon periyodu sonunda inhibisyon zonu oluşumu (mm) açısından petri kontrol edilip, oluşan inhibisyon zonlarının çapı mm cinsinden ölçülmüştür. Tetrasiklin (10 mg/mL) antibiyotiği pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

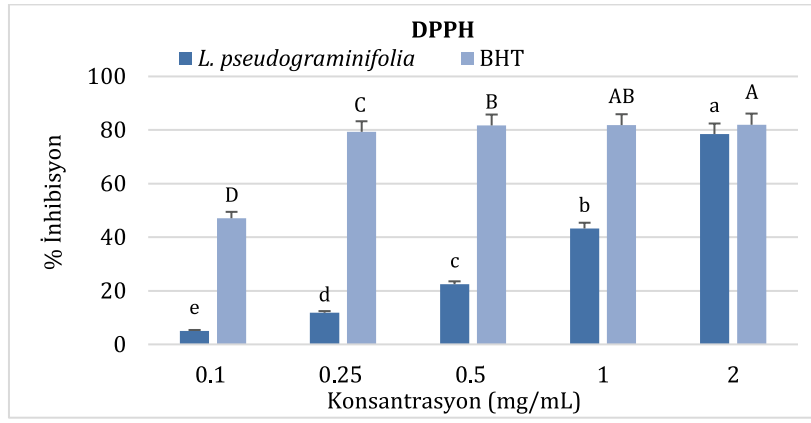
3. Bulgular

Yapılan arazi çalışmaları ile Türkiye'de yayılış gösteren endemik *L. pseudograminifolia* bitkisinin toprak üstü kısımları toplanmıştır. Kurutulup öğütülen toprak üstü kısımları maserasyon yöntemi ile metanol kullanarak ekstre edilmiştir. Rotary evaporatörde kurutulan ekstreler hassas terazi de tartularak verimleri % cinsinden (g ekstre/100 g bitki) hesaplanmış ve sonuç Tablo 1'de verilmiştir. Ekstrenin verimi 14.72 (w/w) olarak bulunmuştur. Çalışılan metanollü ekstrenin Folin-Ciocalteu yöntemi ile ölçülen toplam fenolik madde miktarı mg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirtilmiş ve elde edilen sonuç Tablo 1'de verilmiştir. Ekstrenin fenolik madde miktarı 50.61 ± 1.0 mg GAE/g ekstre olarak bulunmuştur. Metanollü ekstrenin Alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi ile ölçülen toplam flavonoid madde miktarı mg kersetin eşdeğeri (QE) olarak belirtilmiş ve elde edilen sonuç Tablo 1'de verilmiştir. Ekstrenin flavonoid madde miktarı 7.64 ± 0.0 mg QE/g ekstre olarak bulunmuştur. Metanollü ekstrenin fosfomolibdenyum yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan aktivitesi mg askorbik eşdeğeri (AAE) olarak belirtilmiş ve elde edilen sonuç Tablo 1'de verilmiştir. Ekstrenin toplam antioksidan aktivitesi 132.53 ± 0.1 mg AAE/g ekstre olarak bulunmuştur.

Tablo 1. *L. pseudograminifolia* metanollü ekstre verimi, toplam fenolik, flavonoid madde miktarı ve antioksidan aktivite sonuçları

% Ekstre Verimi (w/w)	14.72
Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g ekstre)	50.61 ± 1.0
Toplam flavonoid madde miktarı (mg QE/g ekstre)	7.64 ± 0.0
Toplam antioksidan aktivite (mg AAE/g ekstre)	132.53 ± 0.1
DPPH IC ₅₀ (µg/mL)	41.59
FRAP mM Fe(II)/L	2.87

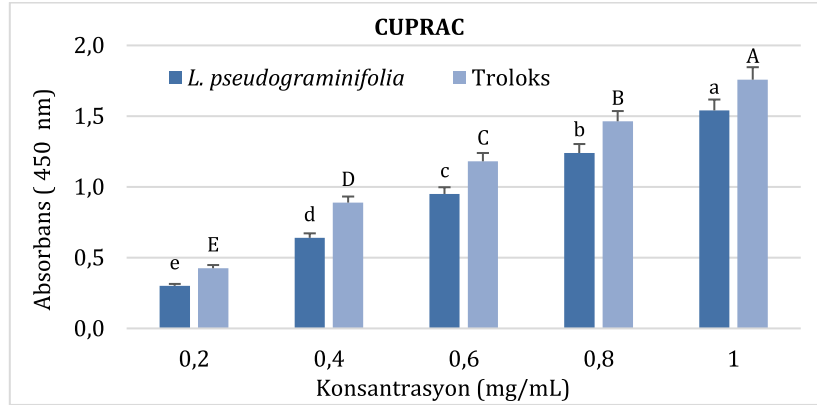
Metanollü ekstrenin antiradikal aktivitesi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi ile ölçülmüş ve sonuçlar % inhibisyon olarak verilmiştir. Elde edilen değerler standart antioksidan BHT'nin değeri ile karşılaştırmalı olarak Şekil 1'de gösterilmiştir. Ekstrenin 0.1, 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/mL konsantrasyonlarında belirlenen %inhibisyon değerleri sırası ile %5.08, %11.78, %22.46, %43.21 ve %78.48 olarak belirlenmiştir. BHT için aynı konsantrasyonlarda % inhibisyon değerleri sırasıyla %47.08, %79.28, %81.71, %81.83 ve %81.96 olarak belirlenmiştir. BHT ile karşılaştırıldığında metanollü ekstrenin antiradikal aktivitesinin çok daha düşük olduğu görülmektedir ($p < 0.0$). Metanollü ekstrenin konsantrasyonlara karşı yüzde inhibisyon değerinin yer aldığı grafik çizilerek %50 inhibisyona neden olan konsantrasyon (IC₅₀) belirlenmiş (Tablo 1). Ekstrenin IC₅₀ değeri 41.59 µg/mL olarak bulunmuştur. BHT için IC₅₀ değeri 6.81 µg/mL olarak bulunmuştur. Metanollü ekstrenin DPPH radikal süpürücü aktivitesi BHT'ninkinden çok daha düşüktür.



Şekil 1. *L. pseudograminifolia* metanollü ekstresinin ve BHT'nin % inhibisyon değerleri

FRAP yöntemi antioksidanların varlığında ferik (Fe^{+3}) demirin ferrous (Fe^{+2}) demirine indirgemesi için kullanılmaktadır. Ekstrenin demir indirgeyici antioksidan potansiyeli 2.87 mM/L olarak hesaplanmıştır (Tablo 1). L- askorbik asitin FRAP değeri 4.04 mM/L olarak bulunmuştur. Ekstrenin demir iyonu indirgeyici gücü standart L- askorbik asitin değerinden düşüktür.

Ekstrenin CUPRAC yöntemi ile bakır(II)-neokuproin kompleksini bakır(I)-neokuproin kompleksine indirgeme aktivitesi ölçülmüştür. Sonuçlar standart olarak Troloks'un değeri ile karşılaştırmalı olarak Şekil 2'de gösterilmiştir. Konsantrasyona bağlı olarak absorbans değerleri ve aktivite artmaktadır ($p < 0.0$). 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1 mg/mL konsantrasyonlarında metanollü ekstrenin absorbans değerleri sırasıyla 0.30, 0.64, 0.95, 1.24 ve 1.54 olarak belirlenmiştir. Aynı konsantrasyonlarda Troloks için elde edilen absorbans değerleri ise sırasıyla 0.43, 0.89, 1.18, 1.46 ve 1.76 olarak belirlenmiştir. Çalışılan konsantrasyonlarda metanollü ekstrenin absorbans değerleri Troloks'un değerlerinden düşüktür. Dolayısıyla troloksa kıyasla metanollü ekstrenin daha düşük bakır indirgeyici güce sahip olduğu söylenebilir.



Şekil 2. *L. pseudograminifolia* metanollü ekstresinin bakır iyonu indirgeme gücü

L. pseudograminifolia'dan elde edilen metanollü ekstrenin antibakteriyel aktivitesi agar difüzyon yöntemi ile 13 adet bakteriye karşı denenmiştir. Metanollü ekstrenin çalışılan konsantrasyonda (60 mg/mL) test edilen bakterilerin hiçbirine karşı antibakteriyel aktivite göstermediği belirlenmiştir.

4. Tartışma ve Sonuç

Fenolik bileşikler bitkilerde yaygın olarak bulunurlar. Antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkilerinden ve dolayısıyla potansiyel sağlık etkilerinden dolayı fazlaca ilgi görmektedir [29]. Flavonoidler ise doğal bileşiklerin en yaygın, farklı gruplarından ve en önemli doğal fenollerdendir [30]. Bu nedenle, *L. pseudograminifolia*'dan elde edilen metanollü ekstrenin toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları belirlenmiştir.

S. arenaria köklerinden elde edilen hidrometanol ekstre ve bunların etilasetat, bütanol ve sulu fraksiyonlarının toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları belirlenmiştir. Çözücü polaritesine göre fenolik madde miktarının değiştiği, hidrometanol ekstre ve bunların etilasetat, bütanol ve sulu fraksiyonlarının toplam fenolik madde miktarlarının sırasıyla 33,31, 76,63, 82,36 ve 51 mg GAE/g ekstre olduğu, toplam flavonoid madde miktarlarının ise sırasıyla 3,69, 5,05, 5,86 ve 3,95 olduğu bildirilmiştir [11]. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar ile karşılaştırıldığında *L. pseudograminifolia* metanollü ekstresinin toplam fenolik ve flavonoid madde miktarının *S. arenaria* hidrometanol ekstre ekstresi için belirlenen miktardan daha yüksek olduğu görülmektedir. *S. argentea*'nın etil asetat ekstresinin toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları 11,10 mg GAE/g ve 23,36 mg Rutin eşiti /g olarak belirlenmiştir [14]. *S. argentea*'nın etil asetat ekstresinin toplam fenolik madde miktarı bizim elde ettiğimiz değerden daha düşüktür. *S. stellata*'dan elde edilen etilasetat, *n*-bütanol ve petrol eteri ekstralarının toplam fenolik madde miktarları sırasıyla $117,66 \pm 0,52$, $77,12 \pm 0,29$ ve $30,33 \pm 0,15$ µg GAE/mg olarak bulunurken ekstraların toplam flavonoid madde miktarları ise sırasıyla $72,90 \pm 0,76$, $57,83 \pm 0,25$ ve $13,83 \pm 0,45$ µg QE/mg olarak belirlenmiştir [31]. Üç farklı büyüme evresinde toplanan *S. tschilliensis*'nin toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları sırasıyla 0,00-140,03 mg GAE/g ve 9,10- 460,01 mg RE/g olarak tespit edilmiştir [13]. *S. sicula* metanollü ekstresinin toplam fenolik madde miktarı 2,67 mg of GAE/g ekstre olarak bulunmuştur [15]. Farklı çalışmalarda belirlenen toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları arasındaki farklılıklar bitki türlerinin, ekstraksiyon için kullanılan bitki kısımları, çözücü ve ekstraksiyon yönteminin farklılığından kaynaklanmaktadır.

L. pseudograminifolia metanollü ekstresinin antioksidan aktivitesi çeşitli yöntemler ile belirlenmiştir. Benzer şekilde farklı *Scabiosa* türlerine ait ekstraların antioksidan aktivitelerinin belirlendiği çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde, *S. stellata*'dan elde edilen etilasetat, *n*-bütanol ve petrol eteri ekstralarının toplam antioksidan aktiviteleri fosfomolibdenyum yöntemi ile çalışılmış ve sırasıyla 0,0660, 0,03 ve 0,0885 µg AAE/mg ekstre olarak belirlenmiştir [31]. *S. argentea*'nın etil asetat ekstresinin antioksidan aktivitesi fosfomolibdenyum yönteminde 4,16 mg AAE/g olarak tespit edilmiştir [14].

S. tschilliensis %70'lik etanol ekstresinin DPPH yönteminde IC₅₀ değerleri 272,8 µg/mL, *S. comosa* ekstresinin ise 333,1 µg/mL olduğu, *S. tschilliensis*'nin *S. comosa*'dan daha yüksek radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu, her iki ekstrenin de doza bağlı olarak 16,88-270 µg/mL aralığında TPTZFe (III) kompleksini TPTZ-Fe (II)'ye indirgediği bildirilmiştir [10]. *S. stellata*'nın *n*-bütanol fraksiyonunun en yüksek DPPH süpürücü aktivite gösterdiği (IC₅₀ = 64,46 µg/mL) kaydedilmiştir [12]. *S. argentea*'nın etil asetat ekstresinin 0,25, 0,5 ve 1 mg/mL konsantrasyonlarında DPPH yöntemi ile belirlenen % inhibisyon değerleri sırası ile %3,98, %10,78 ve %26,26 olarak bulunmuştur [14]. Bu çalışmalar ile karşılaştırıldığında *L. pseudograminifolia* metanollü ekstresinin daha yüksek DPPH süpürücü aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Çiçeklenme evresi öncesi *S. tschilliensis*'den elde edilen etil asetat fraksiyonunun en yüksek DPPH radikal temizleme aktivitesi (IC₅₀ = $8,47 \pm 0,23$ µg/mL) gösterdiği bildirilmiştir [13].

L. pseudograminifolia metanollü ekstresinin demir iyonu indirgeyici aktivitesi FRAP yöntemine göre belirlenmiştir. Ekstrenin demir indirgeyici güce sahip olduğu tespit edilmiştir. *S. columbaria* subsp. *columbaria* var. *columbaria*'nın çiçek ve yapraklarından elde edilen metanollü ekstraların DPPH yöntemi ile elde edilen IC₅₀ değerleri sırasıyla 0,01114 ve 0,0138 µg/mL, FRAP yöntemi ile elde edilen antioksidan kapasiteleri sırasıyla 267,381 ve 242,857 µM Trolox eşiti olarak belirlenmiştir [32]. *L. pseudograminifolia* metanollü ekstresinin test edilen konsantrasyonlarda bakır indirgeyici güce sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer olarak, *S. argentea*'nın etil asetat ekstresinin bakır indirgeme gücünün konsantrasyona bağlı olarak arttığı bildirilmiştir [14].

Çeşitli çalışmalarda *Scabiosa* cinsine ait farklı türlerden elde edilen ekstraların antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. *S. hymettia*'dan elde edilen kloroform ve metanol ekstralarının *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *K. pneumoniae* ve *E. coli*'ye karşı orta derecede antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir [17]. Diğer bir çalışmada, *S. stellata*'dan elde edilen etanol ekstre ve izole edilen bileşiklerin *Enterococcus faecalis* ve *Staphylococcus epidermidis*'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir [19]. Bizim sonuçlara benzer olarak, *S. columbaria* subsp. *paphlagonica* yapraklarından elde edilen metanollü ekstrenin *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Shigella* sp., *E. coli*, *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *P. aeruginosa*'ya karşı hiçbir aktivite göstermediği bildirilmiştir [33].

Sonuç olarak, *L. pseudograminifolia*'dan elde edilen metanollü ekstre yüksek fenolik ve flavonoid madde miktarı ile antioksidan aktivite gösterirken, antibakteriyel aktivite göstermemiştir. Yapılan literatür taramasına göre, *L. pseudograminifolia*'dan elde edilen metanollü ekstrenin toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı, antioksidan ve antibakteriyel aktivitesi ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları *L. pseudograminifolia* metanollü ekstresinin tıp ve gıda alanında sentetik antioksidanlara alternatif doğal antioksidanların kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Teşekkür

Bu projenin gerçekleşmesinde verdiği maddi destek ve yardımlarından dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederiz. Makale TÜBİTAK 2209-A (No:1919B012318582) ve KBAG-117Z826 no'lu proje sonuçlarından üretilmiştir.

Kaynakça

- [1] Pisoschi, A. M., and Pop, A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74. 10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
- [2] Perron, N. R., and Brumaghim, J. L. 2009. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 53, 75–100. 10.1007/s12013-009-9043-x.
- [3] Krishnaiah, D., Sarbatly, R., Nithyanandam, R. 2011. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, 89, 217–233. 10.1016/j.fbp.2010.04.008.
- [4] Pisoschi, A. M., Pop, A., Georgescu, C., Turcuş, V., Olah, N. K., and Mathe, E. 2018. An overview of natural antimicrobials role in food. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 922–935. 10.1016/j.ejmech.2017.11.095.
- [5] Aykut, A., Baran, U., Çelik, J., Ahmet, A. 2022. Anatomical Comparison of *Lomelosia argentea* and *Lomelosia polykratis* (Caprifoliaceae) Species Distributed in Türkiye. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 11, 31–39. 10.17100/nevbiltek.1141259.
- [6] Baytop, T. 1994. *Dictionary of Turkish Plant Names (Atatürk Kültür Dil ve Tarih Yüksek Kurumu, Ankara: Türk Dil Kurumu Yayınları, Türk Tarih Kurumu Basımevi.)*.
- [7] Göktürk, R. S. 2012. *Scabiosa* L. In *Türkiye Plants List (Vascular Plants)*, M. T. Güner, A., Aslan, S., Vural, M., Babaç, ed. (Nezahat Gökyiğit Botanical Garden and Flora Research Association Publications), pp. 319–322.
- [8] Panayır, T., and Baykal, T. 1996. Pharmacognostical Research on the *Scabiosa rotata* Bieb. XI th Symposium on Plant Originated Crude Drugs, 178–184.
- [9] Wang, J., Liu, K., Xu, D., Wang, Q., Bi, K., Song, Y., Li, J., Zhang, L. 2013. Rapid micropropagation system in vitro and antioxidant activity of *Scabiosa tschiliensis* Grunning. *Plant Growth Regulation*, 69, 305–310. 10.1007/s10725-012-9765-4.
- [10] Ma, J. N., Bolraa, S., Ji, M., He, Q. Q., Ma, C. M. 2016. Quantification and antioxidant and anti-HCV activities of the constituents from the inflorescences of *Scabiosa comosa* and *S. tschiliensis*. *Natural Product Research*, 30, 590–594. 10.1080/14786419.2015.1027701.
- [11] Hlila, M., Mosbah, H., Mssada, K., Jannet, H., Aouni, M., Selmi, B. 2015. Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of roots extracts from the Tunisian *Scabiosa arenaria* Forssk. *Industrial Crops and Products*, 67, 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.009>.
- [12] Rahmouni, N., Pinto, D., Beghidja, N., Benayache, S., and Silva, A. M. S. 2018. *Scabiosa stellata* L. Phenolic Content Clarifies Its Antioxidant Activity. *Molecules*, 23, 1–11. 10.3390/molecules23061285.
- [13] Wang, J., Liu, K., Li, X., Bi, K., Zhang, Y., Huang, J., Zhang, R. 2017. Variation of active constituents and antioxidant activity in *Scabiosa tschiliensis* Grunning from different stages. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 2288–2295. 10.1007/s13197-017-2666-9.
- [14] Türkaslan Çoşgun, M. 2016. Investigation of antioxidant properties of ethyl acetate extract from *Scabiosa argentea*. Master Thesis, The Graduate School of Natural And Applied Science, Selçuk University, Konya, p-26.
- [15] Kılınç, H., Masullo, M., D'Urso, G., Karayildirim, T., Alankus, O., Piacente, S. 2020. Phytochemical investigation of *Scabiosa sicula* guided by a preliminary HPLC-ESIMSⁿ profiling. *Phytochemistry*, 174, 112350. 10.1016/j.phytochem.2020.112350.
- [16] Horn, M. M., Drewes, S. E., Brown, N. J., Munro, O. Q., Meyer, J. J. M., Matheka, A. D. M. 2001. Transformation of naturally-occurring 1,9-trans-9,5-cis sweroside to all trans sweroside during acetylation of sweroside

aglycone. *Phytochemistry*, 57, 51–56.

- [17] Christopoulou, C., Graikou, K., Chinou, I. 2008. Chemosystematic value of chemical constituents from *Scabiosa hymettia* (Dipsacaceae). *Chemistry and Biodiversity*, 5, 318–323. 10.1002/cbdv.200890029.
- [18] Hlila, M., Mosbah, H., Majouli, K., Nejma, A., Jannet, H., Mastouri, M., Aouni, M., Selmi, B. 2016. Antimicrobial Activity of *Scabiosa arenaria* Forssk. Extracts and Pure Compounds Using Bioguided Fractionation. *Chemistry and Biodiversity*, 13, 1262–1272. 10.1002/cbdv.201600028.
- [19] Lehbili, M., Magid, A., Hubert, J., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Renault, J. H., Nuzillard, J. M., Morjani, H., Abedini, A., Gangloff, S., Kabouche, Z. 2018. Two new bis-iridoids isolated from *Scabiosa stellata* and their antibacterial, antioxidant, anti-tyrosinase and cytotoxic activities. *Fitoterapia*, 125, 41–48. 10.1016/j.fitote.2017.12.018.
- [20] Alipoor Birgani, A., Sartipnia, N., Hamdi, S., Naghizadeh, M., Arasteh, J. 2019. Antimicrobial Activity of *Scabiosa olivieri* Extract and Its Effect on TNF- α and IL-1 Expression in Human Peripheral Blood Cells (PBMCs). *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 9, 1749–1757.
- [21] Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., Hamzaoglu, E. 2010. Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food Chemistry*, 119, 114–122.
- [22] Singleton, V., and Rossi, J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- [23] Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., Shahabimajid, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5, 1142–1145. 10.1055/s-2007-987042.
- [24] Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337–341. 10.1006/abio.1999.4019.
- [25] Lee, S. K., Mbwambo, Z. H., Chung, H., Luyengi, L., Gamez, E. J., Mehta, R. G., Kinghorn, A. D., Pezzuto, J.M. 1998. Evaluation of the antioxidant potential of natural products. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 1, 35–46.
- [26] Tuberoso, C. I. G., Antonella, R., Ersilia, B., Melis, M. P., Atzeri, A., Pirisi, F. M., Dessi, M. A. 2010. Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis* L. berries extracts. *Food Chemistry*, 123, 1242–1251. 10.1016/j.foodchem.2010.05.094.
- [27] Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, E., Ercag, E. 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, 292–304. 10.1080/09637480600798132.
- [28] Albayrak, S., and Aksoy, A. 2013. Essential Oil Composition and in vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Thymus cappadocicus* Boiss. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37, 605–614. 10.1111/j.1745-4549.2012.00694.x.
- [29] Imeh, U., and Khokhar, S. 2002. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: Antioxidant activity and cultivar variations. *Agricultural Food Chemistry*, 50, 6301–6306.
- [30] Prasad, K., Yang, B., Dong, X., GuoXiang, J., Zhang, H., Xie, H., YueMing, J. 2009. Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* species. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10, 627–632.
- [31] Mouffouk, C., Hambaba, L., Haba, H., Mouffouk, S., Bensouici, C., Mouffouk, S., Hachemi, M., Khadraoui, H. 2018. Acute toxicity and in vivo anti-inflammatory effects and in vitro antioxidant and anti-arthritic potential of *Scabiosa stellata*. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 18, 335–348. 10.1007/s13596-018-0320-3.
- [32] Akar, Z. 2021. Chemical compositions by using LC-MS/MS and GC-MS and antioxidant activities of methanolic extracts from leaf and flower parts of *Scabiosa columbaria* subsp. *columbaria* var. *columbaria* L. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28, 6639–6644. 10.1016/j.sjbs.2021.07.039.
- [33] Benli, M., Bingol, U., Geven, F., Guney, K., Yigit, N. 2008. An Investigation on the antimicrobial activity of some endemic plant species from Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 7, 001–005. 10.5897/AJB2008.000-5001.