
Araştırma Makalesi / Research Article

***Arum elongatum* Steven Ekstraktlarının Fenolik Madde Miktarı ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi**

Yusuf ALAN*

Muş Alparslan Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Temel Eğitim Bölümü, 49250, Muş-Türkiye

Öz

Bu çalışmada; Muş ili Yaygın Beldesi Şerafettin yaylasında toplanan *Arum elongatum* Steven (Kari) bitkisinden elde edilen etanol ve saf su ekstraktlarının fenolik madde miktarı ile antimikrobiyal, antioksidan ve DNA koruyucu etkisi araştırılmıştır. Etanol ve saf su ekstraktlarının düşük antimikrobiyal ve DPPH aktivite gösterdiği, fakat ABTS, Total antioksidan, Toplam indirgenme ve CUPRAC düzeyleri bakımından ise önemli ölçüde antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *A. elongatum*'un saf su ekstraktında kurkumin ve salisilik asitin tespit edilmediği, fakat askorbik asit, apigenin ve vanilin miktarının ise değiştiği gözlenmiştir. DNA üzerindeki koruyucu etkisi bakımından, bitkinin etanol ekstraktının hiçbir aktivite göstermediği, fakat, saf su ekstraktının ise H₂O₂+DMSO' un yıkıcı etkisini ortadan kaldırarak DNA'yı tamamen kararlı hale getirdiği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Arum elongatum* Steven, antimikrobiyal, antioksidan, H₂O₂, DMSO, HPLC.

Evaluation of Phenolic Substance Content and Biological Activities of *Arum elongatum* Steven Extracts

Abstract

In this study, *Arum elongatum* Steven (Kari) plant was collected from the Şerafettin plateau located in Yaygın town of Muş province. Afterwards, the content of phenolic substances and antimicrobial, antioxidant and DNA protective effects of ethanol and pure water extracts of this plant were investigated. The test results indicated that ethanol and pure water extracts showed low antimicrobial and DPPH activity, while they were found to possess a significant antioxidant capacity with regard to ABTS, Total antioxidant, Total reduction and CUPRAC levels. Moreover, curcumin and salicylic acid were not identified in the pure water extract of *A. elongatum*, but the amount of ascorbic acid, apigenin and vanillin were observed to vary. Concerning the protective effect on DNA, ethanol extract of the plant displayed no activity; however, its pure water extract was found to completely stabilize the DNA by removing the damaging effect of H₂O₂ + DMSO.

Keywords: *Arum elongatum* Steven, antimicrobial, antioxidant, H₂O₂, DMSO, HPLC.

1. Giriş

Bitkiler; yüzyıllardır, insanoğlu tarafından besinsel, tıbbi, tedavi edici ve değişik amaçlarla (yakacak, giyecek, boya maddesi vb.) kullanıldığı bilinmektedir. Bitkilerin sahip olduğu etken maddeler bilimsel olarak tespit edilmesiyle, insanoğlu değişik tür bitkileri (toprak altı ve toprak üstü kısımları) tedavi amaçlı olarak kullandıkları görülmektedir. [1].

Araceae familyası 105 cins ve 3300 tür içermekte olup cinslerin yaklaşık %90'ı ve türlerin ise %95'i tropikal alanlarda yayılım göstermektedir. Türlerin habitatları çok çeşitlilik gösteren tıbbi bitkiler olup [2], bitki kısımları (yaprak ve meyveleri) basur hastalığına, idrar kesesi hastalıklarına, yılan ve akrep sokmalarına karşı Anadolu'nun farklı yörelerinde kullanılmaktadır [3]. Avrupa'dan Orta Asya'ya kadar 28 türü olan *Arum* cinsinin ülkemizde doğal olarak yetişen 20 türü bulunmaktadır [4].

*Sorumlu yazar: y.alan@alparslan.edu.tr

Geliş Tarihi: 01.06.2018, Kabul Tarihi: 13.09.2018

Son yıllarda sentetik antioksidanların yan etkilerinin görülmesiyle, alternatif ve koruyucu tıpta bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlara olan ilgi artmıştır. Doğal antioksidanların en önemli gruplarını fenolik maddeler (flavonoidler, sinnamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitler) oluşturmaktadır [5]. Bitkilerde bulunan fenolik antimikrobiyal bileşenler, günümüzdeki antimikrobiyal ajanlardan bakteri gelişimindeki farklı mekanizmaları engelleyerek dirençli suşlara bağlı hastalıkların tedavisinde etkili olabilmektedirler [6]. Bitki kaynaklı bileşiklerin doğal antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin keşfedilmesi ile sentetik olarak üretilen antioksidan ve antimikrobiyallere alternatif olma olasılığı ortaya çıkmıştır. Bu gelişmeler araştırmacılar için de bitkilerin bu özelliklerinin ortaya çıkarılması ile ilgili çalışma yapmalarının yolunu açmıştır. Bu çalışmada; Muş ilinde doğal olarak yetişen *A. elongatum* bitkisinden elde edilen su ve etanol ekstraktlarının fenolik madde miktarı ile antimikrobiyal, antioksidan ve DNA koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

2.1.1. Bitki örneklerinin eldesi, teşhisi ve ekstraksiyonu

Çalışmada kullanılan *A. elongatum* bitkisi; 2017 yılında Haziran ayında Muş ili, Yaygın ilçesi, Şerafettin Yaylası çevresinde (yaklaşık 1900 m yükseklikte) toplanmıştır. Elde edilen bitkiler etiketlenmiş olup, teşhisleri Flora of Turkey'e göre yapılmıştır. Muhafaza altına alınan örnekler herbaryum tekniklerine göre etiketlenerek Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Laboratuvarlarında oda sıcaklığında gölgede kurutulmaya bırakılmıştır. Bitkinin uygun kısımları (50 g) alınarak temizlenmiş ve öğütülerek toz haline getirilerek Isolab marka Soxhlet ekstraksiyon cihazında ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar, çalışmalarda kullanılmak üzere koyu renkli cam şişelerde -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.2. Antimikrobiyal aktivite tayini

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde oyuk agar yöntemi uygulanmıştır [7]. Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Laboratuvarı'ndan temin edilen 7 bakteri (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Eshericha coli* ATCC 11229, *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 9027 ve *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883) ve 3 maya türü (*Yarrowia lipolytica*, *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Saccharomyces cereviciae*) çalışmada kullanılmıştır. Ekstraktların antimikrobiyal etkisinin karşılaştırılmasında 5 farklı antibiyotik disk (Eritromisin (E-15), Ampisillin/sulbaktam (SAM-20), Rifampisin (RD-5), Amikasin (AK-30) ve Fluconazol (FCA-25) kullanılmıştır.

2.3. Antioksidan özelliğinin belirlenmesi

2.3.1. Ferrik tiyosiyanat metoduna göre total antioksidan aktivite tayini

Total antioksidan aktivite tayini tiyosiyanat metoduna göre belirlendi [8]. Değişik konsantrasyonlarda ekstraktlar tüplere konularak tampon çözeltiyle 2.5 ml'ye tamamlandı. Daha sonra tüplere 2.5 ml linoleik asit ilave edildi. Kontrol tüpüne 2.5 ml tampon çözelti ve 2.5 ml linoleik asit konuldu. 37 °C'de inkübasyon gerçekleştirildi. Her on saatte bir bu tüplerden 100'er µl alındı, 4.7 ml etanol bulunan deney tüplerine konuldu ve üzerine 100 µl Fe²⁺ ile 100 µl SCN⁻ çözeltisi ilave edildi. Kör olarak 4.8 ml etanol bulunan deney tüpüne 100 µl Fe²⁺ ve 100 µl SCN⁻ çözeltilerinin ilavesiyle hazırlandı. Numunelerin 500 nm'deki absorbansları köre karşı okundu.

2.3.2. Total indirgeme kuvveti tayini

Total indirgeme kuvveti tayini Oyaizu yöntemine göre yapıldı [9]. Farklı konsantrasyonlarda ekstraktlar deney tüplerine aktarıldı ve hacim 1 ml destile suyla tamamlandı. Daha sonra her bir tüpe 2.5 ml fosfat tamponu ve 2.5 ml % 1'lik potasyumferrisiyanür [K₃Fe(CN)₆] ilave edildi. Ardından 50 °C'de 20 dk inkübasyona bırakıldı. Bu işlemlerden sonra reaksiyon karışımına 2.5 ml %10'luk triklorasetik asit

(TCA) ilave edildi. Çözeltinin üst fazından 2.5 ml alındı ve bunun üzerine de 2.5 ml destile su ve 0.5 ml FeCl₃ ilave edildikten sonra absorban 700 nm’de köre karşı okundu.

2.3.3. 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikalleri giderme aktivitesi tayini

DPPH radikallerini gidermek için Blois metodu kullanıldı [10]. Deney tüplerine sırasıyla 25, 50 ve 100 µg/µl konsantrasyonlarında ekstrakt konuldu ve toplam hacimleri 3 ml olacak şekilde destile etanol ile tamamlandı. Daha sonra her bir numune tüpüne stok DPPH• çözeltisinden 1 ml ilave edildi. 30 dakika oda sıcaklığı ve karanlıkta inkübe edildikten sonra etanolden oluşan köre karşı 517 nm’de absorbanları kaydedildi.

2.3.4. ABTS radikali giderme aktivitesi tayini

ABTS radikallerini gidermek için Wu ve arkadaşlarının metodu kullanıldı [11]. 2.45 mM K₂S₂O₈ ve 7 mM ABTS çözeltileri 1:1 oranında karıştırılarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 16 saat inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan bu ABTS radikal çözeltisinin 734 nm’de absorbanı alınarak 1.660±0.02 absorbanına ulaşılan kadar etil alkolle seyreltildi. Bu absorban kontrol absorbanı olarak kullanıldı. Daha sonra bu radikal çözeltisinden deney tüplerine 4 ml bırakıldı. Bu tüplerin üzerine 100 µl bitki ekstraktlarından eklenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat inkübasyona bırakıldı. Bu surenin sonunda örneklerin absorbanı 734 nm’de PBS (Fosfat Tamponu, pH=7.4)’den oluşan köre karşı kaydedildi.

2.3.5. Kuprak metoduna göre indirgeme kuvveti tayini

Numunelerimizin kuprik iyonu (Cu²⁺) indirgeme kapasiteleri Apak ve arkadaşlarının kullandığı Kuprak metodunun hafif bir modifikasyonuna göre yapıldı [12]. Bunun için deney tüplerine 0.01 M’lık 0.25 ml CuCl₂ çözeltisi ilave edildi. Bunun üzerine 0.25 ml neokuprin çözeltisi ve 1 M’lık amonyum asetat tamponu aktarıldı. Çözelti karıştırıldıktan sonra farklı konsantrasyonlarda (25, 50 ve 75 µg/ml) ekstrakt ve standartlar ilave edildi. Yarım saatlik bir inkübasyondan sonra 450 nm’de absorbanları kaydedildi.

2.4. HPLC ile fenolik madde analizi

Askorbik asit, gallik asit, mirisetin, absisik asit, kuersetin, apigenin, kaempferol, kurkumin, katekol, vanilin, kafeik asit, sinamik asit, rosmarinik asit ve salisilik asit standartlarının son konsantrasyonları 10 mg/ml olacak şekilde tartılıp 50 ml’lik balon jöjeler içine konuldu. Standartlar %1’lik asetik asite 9/1 oranında asetonitril ilave edilerek hazırlandı. Hazırlanan çözelti 1/1 oranında metanol katılarak hazırlanan çözelti ile stok çözeltiler hazırlandı. Stok çözeltilerden 100 mM, 75 mM, 50 mM, 25 mM ve 10 mM oranda 5 farklı noktalı olacak şekilde hazırlandı [13]. *A. elongatum*’dan elde edilen su ve etanol ekstraktları 20 mg/ml olacak şekilde seyreltildi ve 0.45 µm’lik membran filtreden geçirilerek filtre edildi. HPLC analizinde uygulanan koşullar Tablo 1’de gösterildi.

Bileşiklerin miktarlarının tespit edilmesinde bileşiklere ait HPLC kromatogramlarından elde edilmiş entegre alanlar ve standart maddelerin ara stok çözeltileri ile hazırlanmış kalibrasyon eğrilerinden yararlanılmıştır.

Tablo 1. HPLC çalışma koşulları ve gradient elüsyon programı

HPLC çalışma koşulları programı		Gradient elüsyon		
Model	Agilent Technologies 1260 Infinity II	Süre (dak)	A (%)	B (%)
Kolon	ACE 5 C18 (250x4.6 mm id)	0	90	10
Kolon Fırını	G7130A	25	60	40
Dedektör	1260 DAD WR	39	40	60
Pompa	1260 Quat Pump VL	50	10	90
Mobil Faz	A: %1 Asetik Asit B: Asetonitril	55	90	10
Dedeksiyon	272, 280 ve 310 nm			
Otosampler	1260 Vialsampler			
Akış Hızı	1 ml/dk			
Kolon Sıcaklığı	28 °C			
Enjeksiyon	20 µl			

2.5. Bitki ekstraktlarının DNA üzerindeki etkileri

Bitki ekstraktlarının DNA üzerindeki etkisi pBR322 plazmid DNA kullanılarak agaroz jel elektroforez yöntemi ile belirlenmiştir [14]. Bitki ekstraktları DMSO ile 200 mg/ml konsantrasyonunda stok çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltilerden 25, 50 ve 100 mg/ml konsantrasyonlarda ara çözeltiler hazırlandı. 16 tane PCR tüpüne sırasıyla miktarları; 1. pBR322 DNA (200 ng) 10 µl, 2. Hidrojen peroksit (H₂O₂) 5 µl, 3. DMSO 10 µl ve 4. Bitkinin saf su ve etanol ekstraktları ile toplamda 25 µl'ye tamamlanacak şekilde hazırlandı.

1. DNA
2. DNA+ H₂O₂
3. DNA+ H₂O₂+DMSO
4. DNA+ DMSO
5. DNA+ H₂O₂+Etanol ekstraktı (100 mg/ml)
6. DNA+ H₂O₂+ Etanol ekstraktı (50 mg/ml)
7. DNA+ H₂O₂+ Etanol ekstraktı (25 mg/ml)
8. DNA+ Etanol ekstraktı (100 mg/ml)
9. DNA+ Etanol ekstraktı (50 mg/ml)
10. DNA+ Etanol ekstraktı (25 mg/ml)
11. DNA+ H₂O₂+Saf Su ekstraktı (100 mg/ml)
12. DNA+ H₂O₂+ Saf Su ekstraktı (50 mg/ml)
13. DNA+ H₂O₂+ Saf Su ekstraktı (25 mg/ml)
14. DNA+ Saf Su ekstraktı (100 mg/ml)
15. DNA+ Saf Su ekstraktı (50 mg/ml)
16. DNA+ Saf Su ekstraktı (25 mg/ml)

Örnekler 37 °C'de 24 saat karanlık ortamda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra ekstrakt DNA karışımının 10 µl'si yükleme tamponu ile karıştırılıp %1'lik agaroz jele yüklenerek TBE tamponu içerisinde 40 V'ta, serbest akımda, 2 saat süre ile elektroforez yapıldı. Elektroforezden sonra jeller etidyum bromid ile boyanarak görüntüleme sisteminde fotoğraflar alındı [15].

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları

A. elongatum'un ekstraktlarının ve antibiyotik disklerin mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri mm olarak belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. *A. elongatum* ekstraktlarının ve antibiyotik disklerin test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi

Mikroorganizmalar		Etanol		Saf Su		Antibiyotikler				
		40 µl	80 µl	40 µl	80 µl	E-15	SAM-20	AK-30	RD-5	FCA-25
Gram Pozitif	<i>B. subtilis</i>	11±0.0	12±0.0	-	11±0.0	20±0.0	14±1.1	11±1.0	21±0.0	-
	<i>S. aureus</i>	12±0.0	13±2.1	-	11±0.0	21±1.0	10±0.0	9±0.0	18±1.1	-
	<i>B. megaterium</i>	11±0.0	12±0.7	-	-	25±0.0	-	10±1.0	16±0.0	-
Gram Negatif	<i>E. aerogenes</i>	-	12±0.0	-	-	27±1.0	10±1.0	9±0.0	16±1.0	-
	<i>E. coli</i>	-	11±0.0	-	-	19±1.5	13±0.0	13±0.0	18±0.0	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	11±0.0	-	-	19±0.0	-	14±1.1	8±0.0	-
	<i>K. pneumonia</i>	-	12±0.7	-	-	19±1.7	16±0.6	10±0.0	19±1.7	-
Fungus	<i>Y. lipolytica</i>	-	-	-	-	-*	-	-	-	21±0.0
	<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	23±1.5
	<i>S. cerevisiae</i>	11±0.0	12±0.0	-	-	-	-	-	-	-

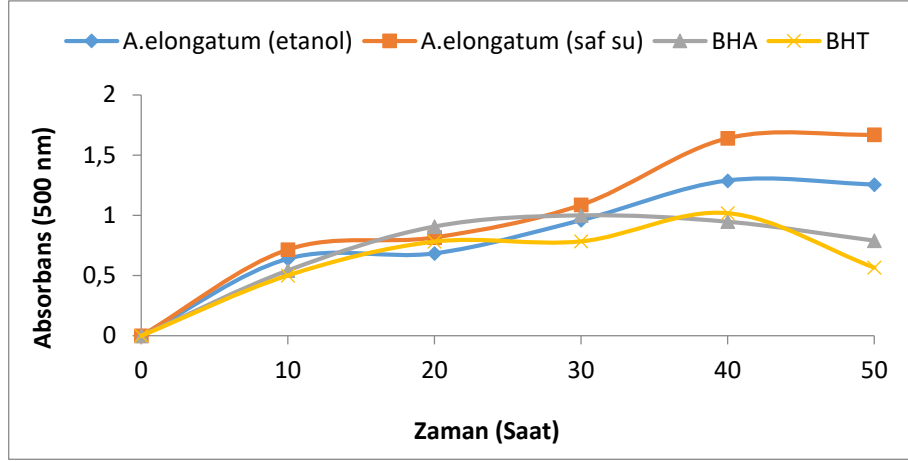
*İnhibisyon zonu yok, Eritromisin (E-15), Ampisillin/sulbaktam (SAM-20), Amikasin (AK30), Rifampisin (RD-5), Fluconazol (FCA-25)

A. elongatum etanol ekstraktının en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *S. aureus*'a karşı gösterirken (13 mm çap), *Y. lipolytica* ve *C. albicans*'a karşı hiçbir antifungal aktivite göstermediği belirlenmiştir. Saf su ekstraktının sadece *B. subtilis* ve *S. aureus*'a karşı çok az antibakteriyel aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir (Tablo 2). Her iki ekstraktın da çalışmamızdaki mikroorganizmalara karşı iyi bir antimikrobiyal aktivite göstermedikleri tespit edilmiştir. Değişik çalışmalarda, *Arum* cinsine ait bitkilerden elde edilen ekstraktlardan çok az oranda antimikrobiyal aktivite gözlemlendiği tespit edilmiştir [16-19]. Elde ettiğimiz sonuçların yapılan çalışmalara uygunluk gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmamız kontrol amaçlı kullandığımız antibiyotiklerle karşılaştırıldığında kayda değer bir sonuç elde edilmemiştir (Tablo 2).

3.2. Antioksidan özellikler

3.2.1. Total antioksidan sonuçları

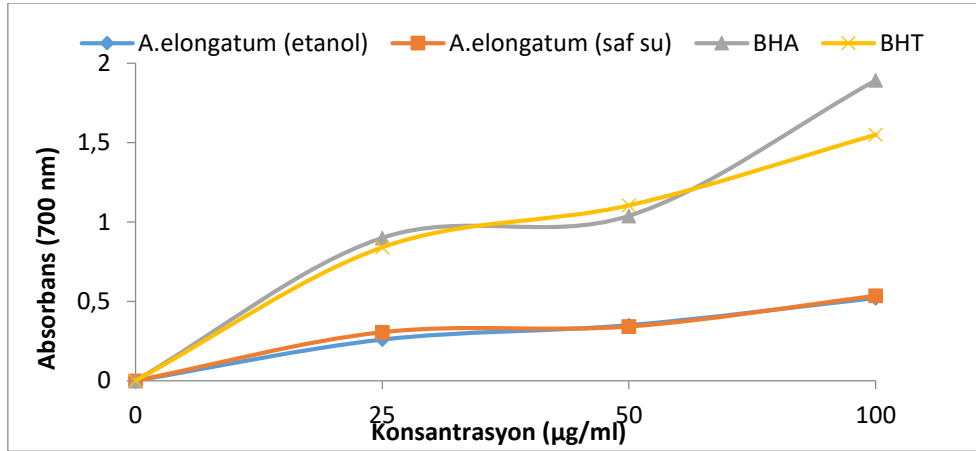
Şekil 1'de görüldüğü gibi 100 µl konsantrasyonda numune ve standartlarımızın lipit peroksidasyon yüzdelere bakıldığında BHA (% 64.02), BHT (% 61.37), *A. elongatum* (etanol: % 51.12) ve *A. elongatum* (saf su: % 37.72) değişkenlik göstermektedir. Şekil 1'de görüldüğü gibi etanol ekstraktının standartlara yakın aktivasyon gösterdiği belirlenmiştir. Değişik çalışmalarda *Arum* cinsine ait bitki ekstraktının lipit peroksidasyonunu % 88.37 oranında engellediği ve bu oranın standart olarak kullanılan BHA'dan daha yüksek bir aktivite olduğu belirtilmiştir [20]. Şekil 1'de *A. elongatum* bitkisi her ne kadar önemli antioksidan aktiviteye sahip olsa da standartlara göre çok düşük aktivite göstermiştir. Bu yönüyle literatür ile değişkenlik göstermektedir. Bunun temel nedeninin farklı türlerin analizlerinden kaynaklandığı ifade edilebilir.



Şekil 1. Total antioksidan değerlerinin BHA ve BHT standartları ile karşılaştırılması

3.2.2. Toplam indirgenme deney sonuçları

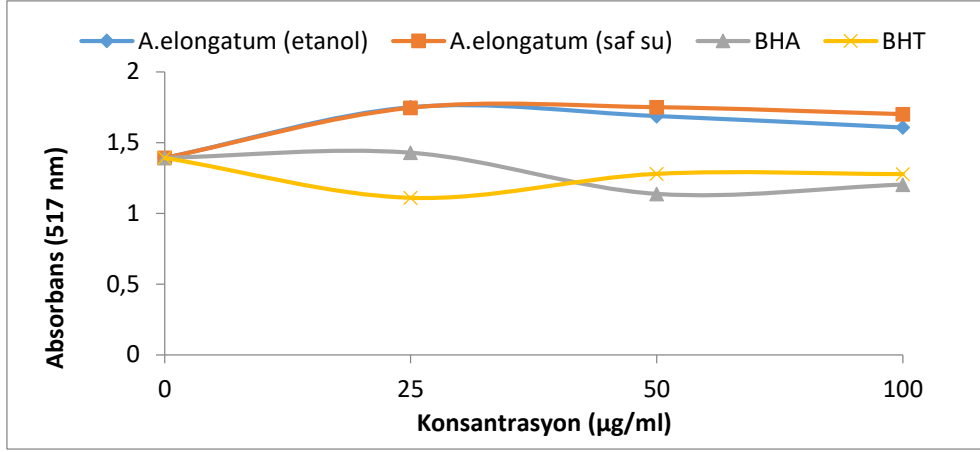
Şekil 2’de toplam indirgenmenin konsantrasyona bağlı olarak genellikle arttığı tespit edilmiştir. 100µl konsantrasyondaki ekstraktlarımızın ve standartlarımızın indirgenmelerine bakıldığında BHA > BHT > A. elongatum (saf su) ≥ A. elongatum (etanol) olarak değiştiği saptanmıştır (Şekil 2). Arum cinsine ait bitkinin indirgenme gücü aktivitesi BHA ve BHT standartlarıyla kıyaslandığında, indirgenme gücü standartlardan daha düşük bulunmuştur [20]. Şekil 2’de elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında yapılan çalışma ile benzerlik göstermektedir.



Şekil 2. Numune ve standartların toplam indirgenme sonuçları

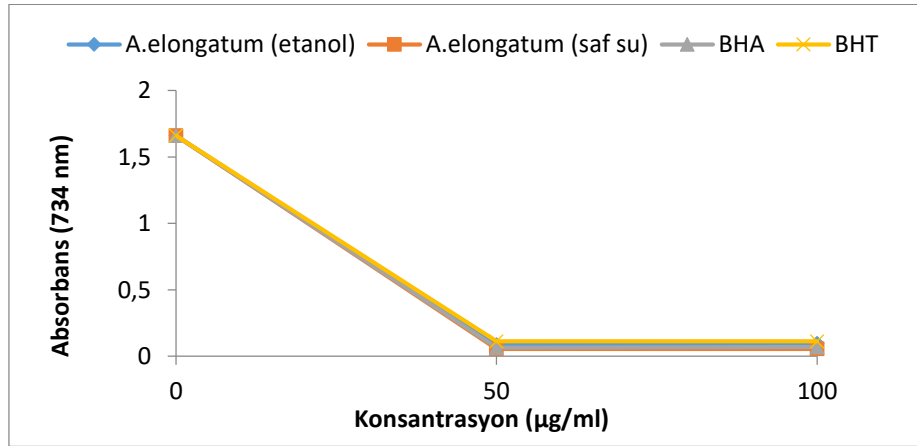
3.2.3. DPPH radikali süpürme aktivitesi

Şekil 3’de A. elongatum bitkisinin DPPH aktivite bakımından önemli bir etki göstermediği belirlenmiştir. Benzer çalışmalarda [21], Arum cinsine ait dört farklı türlerin DPPH radikali süpürme aktivitesinin değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. A. elongatum DPPH radikali süpürme aktivitesinin, diğer türlere göre çok düşük olduğu rapor edilmiştir [21]. Şekil 3’de elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında, tespit edilen veriler literatür ile benzerlik göstermektedir.

Şekil 3. *A. elongatum* bitkisinin DPPH radikali giderme aktivite sonuçları

3.2.4. ABTS radikali giderme deney sonuçları

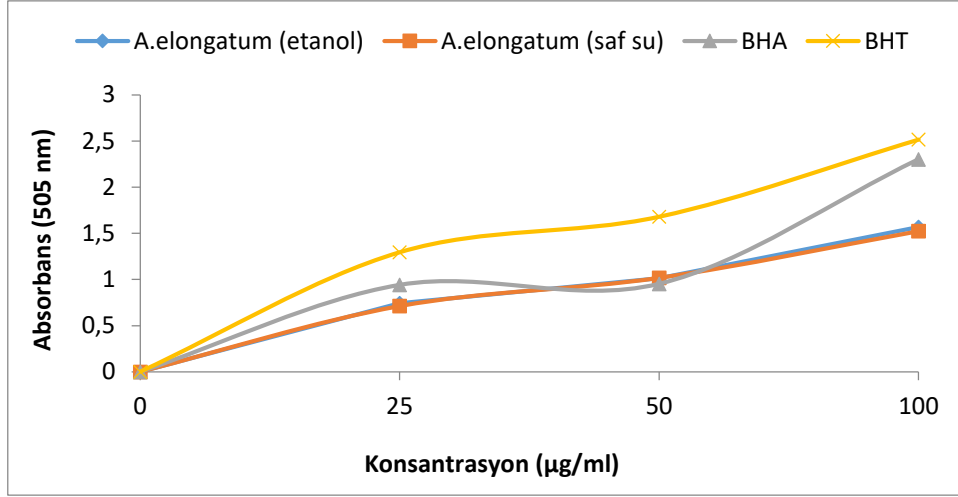
Şekil 4'de 100 µl konsantrasyondaki ekstrakt ve standartların ABTS radikali giderme aktiviteleri bakımından *A. elongatum* (saf su) (%96,63) > BHA (%95,84) > *A. elongatum* (etanol) (%94,15) > BHT (%93,25) olarak değişkenlik göstermektedir. Çalışma sonuçlarımıza göre *A. elongatum* radikal süpürme aktivitesinin standartlara yakın ya da daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4. Numune ve standartlara ait ABTS radikali giderme aktivitesi

3.2.5. Cu²⁺ iyonlarını indirgeme tayini sonuçları

CUPRAC metoduna göre 100 µl konsantrasyonda ekstrakt ve standartların Cu²⁺ iyonlarını indirgeme güçleri bakımından BHT > BHA > *A. elongatum* (etanol) > *A. elongatum* (saf su) olarak değişmektedir (Şekil 5).



Şekil 5. *A. elongatum* bitkisine ait farklı konsantrasyonlardaki Cu²⁺ iyonlarını indirgeme gücü

3.3. Fenolik birleşiklerin HPLC ile analiz miktarları

A. elongatum'un etanol ve saf su ekstraktlarının HPLC ile fenolik madde miktarları Tablo 3'te verilmiştir.

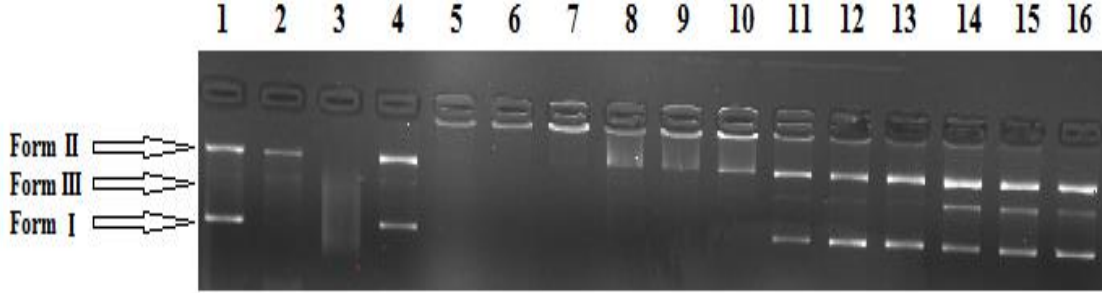
Tablo 3. *A. elongatum* ekstraktlarındaki fenolik bileşiklerin miktarları (µg/ml)

Fenolikler	Etanol	Saf su
Askorbik asit	45.60	314.73
Gallik asit	2.78	5.79
Mirisetin	7.20	10.06
Absisik Asit	3.24	2.04
Kuersetin	6.37	8.57
Apigenin	23.76	1.88
Kaempferol	5.94	2.57
Kurkumin	6.06	0.00
Katekol	48.08	46.96
Vanilin	25.25	9.12
Kafeik asit	14.03	13.60
Sinamik asit	3.19	2.15
Rosmarinik asit	1.35	1.26
Salisilik asit	1.04	0.00

Etanol ekstraktı en fazla oranda katekol (48.08 µg/ml) var iken, en az miktarda ise salisilik asit (1.04 µg/ml) varlığı tespit edilmiştir. Saf su ekstraktımızda ise en az oranda rosmarinik asit (1.26 µg/ml) mevcut iken, en fazla oranda ise askorbik asit (314.73 µg/ml) içerdiği belirlenmiştir. Etanol ekstraktında bütün fenolikler tespit edilirken, saf su ekstraktında ise kurkumin ve salisilik asit varlığı gözlemlenmemiştir. Değişik çalışmalarda, bitki ekstraktlarında fenolik maddeleri kalitatif ve kantitatif olarak tespit etmişlerdir [19]. Yapılan çalışmalarda her bir ekstraktta analiz edilemeyen bazı fenolik maddelerin de bulunması muhtemeldir.

3.4. DNA koruyucu aktivite

A. elongatum'den elde edilen etanol ve saf su ekstraktlarının DNA koruyucu aktivitesi, pBR322 plazmit DNA'sı kullanılarak test edilmiştir (Şekil 6). Bu yöntemle göre, DNA üzerinde hasara yol açan etkenler olan H₂O₂ ve DMSO varlığında farklı konsantrasyonlarda ekstraktların, DNA hasarına engel olma yeteneği değerlendirilmiştir.



Şekil 6. Etanol ve saf su ekstraktlarının DNA koruyucu aktivite görüntüsü, **1.** DNA, **2.** DNA+ H₂O₂, **3.** DNA+ H₂O₂+DMSO, **4.** DNA+ DMSO, **5.** DNA+ H₂O₂+Etanol ekstraktı (100 mg/ml), **6.** DNA+ H₂O₂+ Etanol ekstraktı (50 mg/ml), **7.** DNA+ H₂O₂+ Etanol ekstraktı (25 mg/ml), **8.** DNA+ Etanol ekstraktı (100 mg/ml), **9.** DNA+ Etanol ekstraktı (50 mg/ml), **10.** DNA+ Etanol ekstraktı (25 mg/ml), **11.** DNA+ H₂O₂+Saf Su ekstraktı (100 mg/ml), **12.** DNA+ H₂O₂+ Saf Su ekstraktı (50 mg/ml), **13.** DNA+ H₂O₂+ Saf Su ekstraktı (25 mg/ml), **14.** DNA+ Saf Su ekstraktı (100 mg/ml), **15.** DNA+ Saf Su ekstraktı (50 mg/ml), **16.** DNA+ Saf Su ekstraktı (25 mg/ml)

Elde edilen görüntüye göre H₂O₂'nin Form I'yi parçaladığı ve DMSO ile birlikte DNA'yı tamamen yok ettiği gözlemlenmiştir (Şekil 6). DMSO tek başına DNA'ya hiçbir etki göstermemiştir. Etanol ekstraktımız H₂O₂+DMSO'un DNA üzerindeki etkisinde herhangi bir değişiklik göstermemiştir. Aynı zamanda sadece etanol ekstraktımızın DNA üzerinde hasara yol açarak Form I yapısını bozduğu gözlemlenmiştir. Saf su ekstraktımızın H₂O₂+DMSO'un DNA üzerindeki etkisini ortadan kaldırarak DNA'yı kararlı hale getirdiği belirlenmiştir. Saf su ekstraktımız tek başına uygulandığında DNA'nın daha kararlı halde kalmasını sağladığı tespit edilmiştir (Şekil 6).

Arum cinsine ait *A. maculatum*'den elde edilen ekstraktın DNA koruyucu aktivite potansiyeli açısından çok düşük etki gösterdiğini tespit etmiştir [20]. Çalışmamızda etanol ekstraktımız kısmen literatüre benzerlik gösterirken, saf su ekstraktımızın DNA üzerinde iyi bir koruyucu aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 6).

4. Sonuç ve Öneriler

Sonuç olarak *A. elongatum* türünden elde edilen etanol ve saf su ekstraktlarının dikkate değer bir antimikrobiyal aktivite göstermediği, fakat ABTS radikali giderme aktivitelerinin ise standartlara yakın yada yüksek olduğu saptanmıştır. *A. elongatum*'un etanol ekstraktının daha fazla fenolik madde içerdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca *A. elongatum*'un saf su ekstraktı, H₂O₂+DMSO'nun yıkıcı etkisini ortadan kaldırarak DNA'yı tamamen kararlı hale getirdiği söylenebilir. Genel olarak bakıldığında literatürde *A. elongatum* türüne ait bu gibi çalışmalar kısıtlı olduğundan elde ettiğimiz verilerin literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

- [1] İlçim A., Dığrak M., Bağcı E. 1998. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması, Turkish Journal of Biology, 22 (1998): 119-125.
- [2] Tıraş Z. 2011. Türkiye Eminium (Blume) Schott (Araceae) Cinsinin Morfolojik, Anatomik, Palinolojik, Nümerik, Sitotaksonomik ve Moleküler Revizyonu. Selçuk Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 140s, Konya.

- [3] Alpınar K. 1985. Batı Türkiye’de *Arum L.* ve Bu Türlerin Nişasta ve Protein Miktarları, Doğa Bilim Dergisi, 9 (3): 473-483.
- [4] Mill R.R., Alpınar K. 1988. *Arum L. In: ibid*, Edited by Davis PH, Vol.10 Edinburgh: Edinburg University Press, 218-221.
- [5] Rice-Evans C., Miller A., Paganga G. 1997. Antioxidant Properties of Phenolic Compounds, Trends in Plant Science, 2 (4): 152-159.
- [6] Topal Y. 2013. *Alchemilla L.* (Rosaceae) Cinsine Ait Bazı Türlerin Fenolik Bileşiklerinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması. Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 70s, Bingöl.
- [7] Sağdıç O., Karahan A.G., Özcan M., Özkan, G. 2003. Effect of Some Species Extracts on Bacterial Inhibition, Food Science and Technology International, 9 (5): 353-356.
- [8] Mitsuda H., Yasumoto K., Wami K. 1966. Antioxidativ Action of İndole Compounds During The Autoxidation of Linoleic Acid, Eiyoto Shokuryo, 19 (3): 210-214.
- [9] Oyaizu M. 1986. Studies on Product of Browning Reaction Prepared from Glucose Amine, Japan Journal of Nutrition, 44 (6): 307-315.
- [10] Blois M.S. 1958. Antioxidant Determinations by The Use of A Stable Free Radical, Nature, 181: 1199-1200.
- [11] Wu L., Chang L., Chen S., Fan N., Ho J.A. 2009. Antioxidant Activity and Melanogenesis İnhibitory Effect of The Acetonic Extract of *Osmanthus fragrans*: A Potential Natural and Functional Food Flavor Additive, LWT-Food Science and Technology, 42 (9): 1513-1519.
- [12] Gülçin İ. 2006. Antioxidant Activity of Caffeic Acid (3,4-Dihydroxycinnamic Acid), Toxicology, 217 (2-3): 213-220.
- [13] Tapan S. 2016. Quantitative HPLC Analysis of Phenolic Acids, Flavonoids and Ascorbic Acid in Four Different Solvent Extracts of Two Wild Edible Leaves, *Sonchus arvensis* and *Oenanthe linearis* of North-Eastern Region in India, Journal of Applied Pharmaceutical Science, 6 (2): 157-166.
- [14] Siddall T. L., Ouse D.G., Benko Z. L., Garvin G.M., Jackson J.L., McQuiston J.M., Ricks M.J., Thibault T.D., Turner J.A., VanHeertum J.C., Weimer M.R. 2002. Synthesis and Herbicidal Activity of Phenyl-substituted Benzoylpyrazoles, Pest Management Science, 58 (12): 1175-1186.
- [15] Londershausen M. 1996. Approaches to new parasiticides, Pesticide Science, 48 (4): 269-292.
- [16] Safari E., Amiri M., Bahador A., Amiri M., Esmaili D. 2015 The study of antibacterial effects of alcoholic extracts of *Arum maculatum*, *Allium hirtifolium* and *Teucrium polium* against nosocomial resistance bacteria, International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 31 (2): 231-234.
- [17] Turker A.U., Yıldırım A.B. 2013. Evaluation of Antibacterial and Antitumor Activities of Some Turkish Endemic Plants, Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 12 (6): 1003-1010.
- [18] Azab A. 2017. *Arum*: A Plant Genus With Great Medicinal Potential, European Chemical Bulletin, 6 (2): 59-68.
- [19] Uğuzlar H. 2009. Antalya’da Yetişen *Areceae arum dioscorides* Tohumlarının Antioksidan Aktivitesi ve Toplam Fenolik Madde Tayini. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 80s, Konya.
- [20] Berk Ş. 2012. *Myrtus communis*, *Pistacia vera*, *Arum maculatum*, *Ceterach officinarum* ve *Inula oculus-christi* Türlerinin Antioksidan, Antimikrobiyal ve DNA Koruyucu Aktivitelerinin Araştırılması. Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 108s, Sivas.
- [21] Jaradat N.A., Abualhasan M. 2016. Comparison of Phytoconstituents, Total Phenol Contents and Free Radical Scavenging Capacities Between Four *Arum* Species from Jerusalem and Bethlehem, Pharmaceutical Sciences, 22 (2): 120-125.