



# Elazığ'da Yetişen *Polygonum cognatum* Meissn (Madımak) Bitki Ekstraktlarının *In vitro* Biyolojik Aktiviteleri ve Bazı Fitokimyasal Bileşenlerinin Belirlenmesi

Sibel Pekdemir<sup>1\*</sup>, Mehmet Çiftçi<sup>2</sup>, Mustafa Karatepe<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Bingöl, Türkiye (ORCID: 0000-0002-8643-7590)

<sup>2</sup> Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Bingöl, Türkiye (ORCID: 0000-0002-1748-3729)

<sup>3</sup> Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Elazığ, Türkiye (ORCID: 0000-0001-6358-5913)

(İlk Geliş Tarihi 18 Ocak 2020 ve Kabul Tarihi 29 Şubat 2020)

(DOI: 10.31590/ejosat.690867)

**ATIF/REFERENCE:** Pekdemir, S., Çiftçi, M. & Karatepe, M. (2020). Elazığ'da Yetişen *Polygonum cognatum* Meissn (Madımak) Bitki Ekstraktlarının *In vitro* Biyolojik Aktiviteleri ve Bazı Fitokimyasal Bileşenlerinin Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (18), 368-378.

## Öz

Halk arasında bitkilerin çeşitli kısımları kullanım amacına yönelik basit işlemlerden geçirilerek gerek gıda, gerekse tedavi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bitkiler, insan beslenmesinde çok önemli bir yer tutar ve insan sağlığı açısından bazı önemli bileşenler içermektedir. Dünyadaki bitkisel çeşitliliğin fazlalığı, çoğu bitkinin biyolojik etkileri ve etki mekanizmaları hakkındaki bilimsel verilerin hala yetersiz olması bu konuya olan ilgiyi her geçen gün artırmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Elazığ yöresinden toplanan ve özellikle gıda olarak mevsiminde bolca tüketilen *Polygonum cognatum* Meissn (Madımak, Kuşekmeği) bitkisinin etanol, metanol, aseton ve hekzan ekstraktlarının antiradikal aktiviteleri, fitokimyasal bileşenleri, antimikrobiyal ve *in vitro* antikanserijen aktivitelerinin araştırılmasıdır. Çalışma sonuçlarımıza göre, *P. cognatum* Meissn özütlerinin ABTS radikal giderme aktivitelerinin DPPH a kıyasla daha iyi sonuç verdiği görüldü. Ayrıca ABTS radikal giderme aktivitelerinin standart bir antioksidan olan askorbik asite (Vitamin C) yakın değerlerde olduğu bulundu. *Polygonum cognatum* Meissn' in yüksek miktarda fitosteroller, K ve D vitaminleri,  $\alpha$ -tokoferol, flavonoidler, proantosiyanidin, fenolikler ve doymamış yağ asitleri içerdiği tespit edilmiştir. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkileri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* mikroorganizmaları kullanılarak Disk Difüzyon ve Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) yöntemleri ile belirlendi. Bütün ekstraktların tüm mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği görüldü. Aynı zamanda *Polygonum cognatum* Meissn ekstraktlarının, MCF-7, PC3 ve MKN-45 kanser hücre hatları üzerinde kontrole göre özellikle yüksek konsantrasyonlarda oldukça iyi sitotoksik etkiler sergilediği görüldü. Kanser hücreleri içerisinde en yüksek etkiyi ise MKN-45 (insan mide kanseri) hücre hattında göstermiştir. Elde edilen sonuçlar antioksidan ve antiproliferatif etki gösteren ve biyoaktif bileşikleri içeren *Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin insanlar tarafından tüketilmeye devam edilebileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Polygonum cognatum*, ABTS\*, fitokimyasal, antimikrobiyal, antikanser

\* Sorumlu Yazar: Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Bingöl, Türkiye, ORCID: 0000-0002-8643-7590, [sibelselcuk85@gmail.com](mailto:sibelselcuk85@gmail.com)

# Determination of In Vitro Biological Activities and Some Phytochemical Components of *Polygonum cognatum* Meissn (Madımak) Plant Grown in Elazığ

## Abstract

Among the people, various parts of the plants are passed through simple processes for their intended use and are widely used for both food and therapeutic purposes. Plants have a very important place in human nutrition and contain some important components in terms of human health. Excess of the global herbal diversity, the lack of the scientific data on the biologic effects and mechanism of action of most plants are increasing the interest in this issue day by day. The aim of this study, is to investigate the antiradical activities, phytochemical components, antimicrobial and in vitro anticancer activities of the ethanol, methanol, acetone and hexane extracts of the *Polygonum cognatum* Meissn (Madımak, Kuşekmeği) collected from Elazığ and consumed abundantly as a food in season. According to our study results, ABTS radical scavenging activities of *Polygonum cognatum* Meissn extracts were found to give better results compared to DPPH. Also, ABTS radical scavenging activities were found to be close to ascorbic acid, a standard antioxidant. It was established that *Polygonum cognatum* Meissn contains high amounts of phytosterols, vitamin K and D,  $\alpha$ -tocopherol, flavonoids, proanthocyanidin, phenolics and unsaturated fatty acids. Antimicrobial effects of *Polygonum cognatum* Meissn extracts were determined by Disc Diffusion and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) methods using *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* microorganisms. It was observed that all plant extracts showed antimicrobial activity against all microorganisms. However, *Polygonum cognatum* Meissn extracts were exhibited good cytotoxic effects on MCF-7, PC3 and MKN-45 cancer cell lines than control, especially at higher concentration. Among the cancer cells, MKN-45 (human stomach cancer) showed the highest effect in the cell lines. Consequently, obtained results indicate that *Polygonum cognatum* Meissn may continue to be consumed by humans owing to it has potentially antioxidant, antiproliferative properties and including bioactive compounds.

**Keywords:** *Polygonum cognatum*, ABTS\*, phytochemical, antimicrobial, anticancer

## 1. Giriş

Son yıllarda yapılan birçok çalışma bazı doğal gıdaların tüketiminin insan sağlığı üzerinde olumlu etkilerini ortaya koymuştur. Doğal gıdalar enerji, esansiyel amino asitler, lif, vitaminler ve minerallerin yanı sıra tokoferoller, karotenoidler, flavonoidler, yağ asitleri, steroller, fenolikler vb. gibi bazı aktif antioksidan bileşikler içermektedir (Keser et al., 2018). Besinsel bileşenler; hücre sel bağışıklık sistemini güçlendirip ve antioksidanlar nedeniyle hücreleri serbest radikal hasarına karşı koruduğu için, hastalıkları önleyici etkileri yapılan araştırmalarla desteklenmektedir (Keser et al., 2018). Doğal bitkilerin ve bunlarla ilişkili uçucu yağların ilaç endüstrisi, gıda, parfüm ve kozmetik gibi birçok endüstride kullanılan hammaddeler olması nedeniyle, özellikle 1940'tan günümüze kadar antimikrobiyal etkileri açısından birçok araştırma alanında çalışılmış ve önemli sonuçlar elde edilmiştir (FAYDAOĞLU & SÜRÜCÜOĞLU, 2013).

Yabani bitkiler insanlar tarafından yıllardır hem yiyecek olarak hem de birçok hastalığın tedavisinde 'doğal ilaç' olarak kullanılmaya devam etmektedir. Bu tür bitkilerin yapısında bulunan bazı maddeler sağlık açısından olumlu etkilerinin olduğu bilindiğinden özellikle antikanser üzerine yapılan çalışmalar hızla artmaya devam etmektedir (Cragg & Newman, 2005; Yalçın, Yılmaz, AltunDAğ, & KOçtürK, 2017). İyi bir antioksidan olarak da bilinen bu bitkiler antikanserojenik, antimutajenik ve antiaging (yaşlanmayı geciktirici) gibi biyolojik fonksiyonların çoğunun temelini oluşturmaktadır (Endo, Usuki, & Kaneda, 1985; Ho, Ferraro, Chen, Rosen, & Huang, 1994; Nishina, Kubota, Kameoka, & Osawa, 1991).

Kanser hastalığı günümüzün en ciddi sağlık problemi olarak görülmektedir. Kanser hastalığını engelleme çalışmaları ve ileri düzeyde tedavi yöntemleri uygulanmasına rağmen, hastalık hala insanların yaşam kalitesini düşürmeye devam etmektedir. Hastalık sırasında kullanılan yöntemlerin hem çok maliyetli hem de ağır yan etkilerinin olduğu bilinmektedir. Ayrıca tedaviye yanıt verme olasılığı da çok yüksek olmadığı için insanlar artık doğal bitkisel ürünlere daha fazla rağbet göstermeye başlamışlardır (Jain, Katewa, Galav, & Nag, 2007; Shu, 1998).

Bitki ekstraktları birçok ülkede tıbbi amaçlı olarak hastalıkların tedavisinde kullanılmakla beraber antikanserojenik etkilerinin olduğu bilinmektedir. Ayrıca ekstraktlardan elde ilaçların, antikanserojenik ilaçların yaklaşık olarak % 63 ' ünü oluşturduğu ve bu ilaçların yan etkilerinin olmayıp tedaviye yanıt verme olasılığının yüksek olduğu yapılan çalışmalar sonucunda ortaya çıkmıştır (BİLGİN & KOCABAĞLI, 2010; Hartwell, 1982; Hsieh, Wu, Park, & Wu, 2006).

Çalışmada kullanılan *Polygonum cognatum* Meissn (Madımak) Türkiye' de düzenli olarak tüketilen *Polygonaceae* (Kuzukulağigiller) ailesine ait çok yıllık bir bitkidir (Önen, Altuntaş, ÖzGöz, Bayram, & Özcan, 2014). Yöresel olarak farklı şekilde isimlendirilen bu bitkinin en yaygın adı Madımak olmakla beraber, Elazığ da Kuşekmeği olarak bilinir. Bu yabani bitki yol kenarlarında, yamaçlarda ve sanayi endüstriyel bölgelerinde yetişir. Orta Anadolu da gıda olarak yaygın şekilde tüketilen bu bitkinin

yapraklı taze hali ilkbaharda toplanır. *Polygonum cognatum* Meissn ile daha önce yapılan çalışmalarda fenolik bileşikler, vitamin C ve karotenoidleri içerdiği rapor edilmiştir (Onen, Yılar, & Kaya, 2009; Yıldırım, Mavi, & Kara, 2003). Ayrıca antioksidan, antimikrobiyal, idrar söktürücü ve şeker hastalığı tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Baytop, 1999; Fiedorov, 1985; Tatli, 1988).

Bu çalışmada, Elazığ'ın Gümüşkavak köyünden toplanan ve yörede Kuşekmeği olarak bilinen *Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin öncelikle etanol, metanol, aseton ve hekzan ekstraktları hazırlandı. Bitkinin serbest radikal giderme aktiviteleri (DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•</sup>) ve fitokimyasal içerikleri (total fenolik, flavonoid, proantosiyanidin, yağ asitleri, yağda çözünen vitaminler ve steroller) belirlendi. 4 farklı çözücünden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri hem Disk Difüzyon hem de Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) yöntemleri ile bulunarak karşılaştırıldı. Çalışmada son olarak *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktları insan meme kanseri (MCF-7), insan prostat kanseri (PC3) ve insan mide kanseri (MKN-45) üzerindeki antikanser etkisi araştırılmış ve karşılaştırma yapılmıştır

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Bitki ekstraktlarının Hazırlanması

İlk olarak toplanan bitki, güneş görmeyen yerde kurutuldu. Kurutulan bitkiler blender yardımıyla toz haline getirildi. Sonra, toz haline getirilen bitkiden 20 g alındı ve sırasıyla 200 mL etanol, metanol, aseton ve hekzan içerisine konularak 25-30 °C' de 24 saat boyunca çalkalayıcı inkübatör de karıştırıldı. Ekstraksiyon sonrası, 1 nolu Whatman süzgeç kağıdı ile süzme yapıldı. 40 °C' de vakumlu evaporatörde çözücüler tamamen uzaklaşana kadar işleme devam edildi. 4 farklı çözücünden elde edilen bitki ekstraktları -20 °C' de deneysel çalışmalara kadar saklandı.

### 2.2. Antioksidan Çalışmaları

Etanol, metanol, aseton ve hekzan ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri prensipleri radikal süpürmeye dayalı DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2'-azino bis(3-etil benzotiazolin-6-sülfonik asit) metotları kullanılarak yapıldı.

#### 2.2.1. DPPH radikal süpürme aktivitesi

Öncelikle 25 mg/L DPPH çözeltisi hazırlandı. Her bir deney tüpüne 4 mL hazırlanan DPPH çözeltisi konuldu. DPPH çözeltisi bulunan deney tüplerine sırasıyla 2000 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL ve 125 µg/mL bitki ekstraktı içeren çözeltiler ilave edildi. 30 dk oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyondan sonra etanoldan oluşan köre karşı 517 nm' de absorbanları ölçüldü. Kontrol olarak, 4 mL DPPH çözeltisi kullanıldı (Shimada, Fujikawa, Yahara, & Nakamura, 1992). Azalan absorban, geriye kalan DPPH çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini vermektedir (Keser, Celik, & Turkoglu, 2013). Ortamdan yok edilen DPPH miktarı aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır:

$$\text{DPPH}^{\bullet} \text{ Yok Etme Yüzdesi } \% = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

A<sub>0</sub> kontrolün absorbanı, A<sub>1</sub> örneklerin absorbanı olarak alınmıştır.

#### 2.2.2. ABTS radikal süpürme aktivitesi

2.45 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> ve 7 mM ABTS çözeltileri 1:1 oranında karıştırıldı ve oda sıcaklığında 16 saat boyunca karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan çözeltinin 734 nm' de absorbanı alındı ve absorban değeri 1.850±0.05 değerine ulaşana kadar etil alkol ile seyreltme yapıldı. Radikal çözeltisinden deney tüplerine 4' er mL ilave edildi. Tüplere sırasıyla 2000 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL ve 125 µg/mL bitki ekstraktı içeren çözeltiler eklendi ve oda sıcaklığında 2 saat karanlık bir ortamda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası 734 nm' de absorban değerleri kaydedildi (Wu, Chang, Chen, Fan, & Ho, 2009). Bu sayede azalan absorban değerlerinden yok edilen ABTS radikalleri hesaplandı (Keser et al., 2013). ABTS radikallerini bitki ekstraktlarının ne kadarını yok ettiği şu formülle hesaplandı:

$$\% \text{ ABTS Yok Etme Aktivitesi } = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

A<sub>0</sub> kontrolün absorbanı, A<sub>1</sub> örneklerin absorbanı olarak alınmıştır.

#### 2.2.3. Toplam fenolik bileşik analizi

Hazırlanan bitki ekstraktlarındaki toplam fenolik bileşik miktarları tayini için Singleton ve arkadaşlarının metodu kullanıldı (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós, 1999). Analizlerde standart olarak gallik asit kullanıldı. Deney tüplerine farklı çözücülerde hazırlanan bitki ekstraktlarından 1' er mL alındı ve üzerlerine 0.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edildi. Yaklaşık 3 dk bekletildikten sonra %2' lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinden 3 mL eklendi. Hazırlanan örnekler 2 saat boyunca sürekli karıştırıldı ve UV spektrofotometresinde 760 nm dalga boyundaki absorban değerleri ölçüldü.

#### 2.2.4. Toplam flavonoid bileşik analizi

Çalışmada total flavonoid içerikleri Kim vd. (2003) metoduna göre catechin eşdeğeri olarak belirlendi (Kim, Chun, Kim, Moon, & Lee, 2003). Başlangıç olarak 0.5 mL bitki ekstraktı saf suyla 4 mL'ye tamamlandı. Ardından 0.3 mL %5'lik NaNO<sub>2</sub> ve 0.3 mL %10'luk AlCl<sub>3</sub> çözeltileri ilave edilerek 5 dk boyunca oda koşullarında beklemeye bırakıldı. 1 M NaOH' den 2 mL eklendikten sonra vortekste iyice karıştırıldı. Elde edilen pembe renkli örneklerin 510 nm dalga boyundaki absorban değerleri ölçüldü. Total flavonoid miktarı, catechin standart grafiğinden elde edilen denklemden µg catechin/g ekstrakt değerleri olarak hesaplandı.

### 2.2.5. Toplam proantosiyanidin bileşik analizi

Farklı çözücülerde hazırlanan bitki ekstraktlarının proantosiyanidin içeriği Amaeze metoduna göre çalışıldı (Amaeze et al., 2011). 0.5 mL bitki ekstraktı alındı ve üzerine 1.5 mL metanol içerisinde hazırlanan %4' lük vanilin çözeltisi ve 0.75 mL derişik HCl çözeltisi ilave edildi. Numuneler oda sıcaklığında 15 dakika bekletildikten sonra UV spektrofotometresinde 500 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri total flavonoid için kullanılan catechin standart grafiğinden elde edilen denklemde yerine konularak toplam proantosiyanidin miktarı µg catechin/g ekstrakt olarak hesaplandı.

## 2.3. Fitokimyasal Analizler

### 2.3.1. Yağ asitleri analizi

Yağ asitleri %2' lik sülfürik asit yardımıyla metil esterlere dönüştürüldü (Christie, 1989). Yağ asidi metil esterleri n-hekzan ile ekstrakte edildi. Ardından, gaz kromatografisi ve Glass GC 10 bilgisayar yazılımına bağlı alev iyonizasyon dedektörü (Schimadzu GC 17) ile ayrıldı. Kromatografi 0.8 mL/min akış hızında azot taşıyıcı gazı kullanılarak kapiler bir kolonla (0.25 mm çapında ve 25 m uzunluğunda) (Permapound 25, Macherey-Nagel, Germany) yapıldı. Dedektör, kolon ve enjeksiyon vanasının sıcaklıkları sırasıyla; 240, 130-220 ve 280 °C' dir. Metil esterlerin her birinin tanımlanması aynı şartlar altında analizleri yapılan standart karışımlarla karşılaştırma yapılarak gerçekleştirildi.

### 2.3.2. Vitamin analizi

Yağda çözünen vitaminler ve fitosteroller bazı küçük değişikliklerle Sanchez-Machado (Sanchez-Machado, Lopez-Hernandez, & Paseiro-Losada, 2002) yöntemine göre yağ fraksiyonundan ekstrakte edilerek yapıldı. Bitkinin ekstrakte edilen yağları 3:2 oranında asetonitril/metanol karışımında çözüldü ve HPLC cihazına (Schimadzu, Kyota Japan) 50 µL' si enjekte edildi. Supelcosil™ LC18 250 x 4.6 mm, 5 µm, Sigma, USA) kolonu kullanıldı. Mobil faz olarak asetonitril/metanol (3:2) karışımı kullanıldı ve elüsyon 1 mL/min akış hızıyla yapıldı. Kolon sıcaklığı 40 °C' de tutuldu. Vitamin ve fitosterollerin her birinin belirlenmesi, aynı koşullar altında analizi yapılan standart karışımlarla karşılaştırma yapılarak gerçekleştirildi. Analizlerin sonuçları numuneler için µg/g olarak ifade edildi.

## 2.4. Antimikrobiyal etki

Bu çalışmada, 4 farklı çözücüde hazırlanan bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkileri, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* COWAN 1, *Klebsiella pneumoniae* FMC 5 bakteri suşları ve *Candida albicans* FMC 1 mayası kullanılarak disk difüzyon yöntemi ve minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) yöntemleri ile belirlenmeye çalışılmıştır.

### 2.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Hazırlanan bakteri ve mayanın buyyondaki kültürü sırasıyla; Müeller Hinton Agar ve Sabouraud Dextrose Agar içine % 1 oranında aşılandı (10<sup>6</sup> bakteri/mL, 10<sup>4</sup> maya/mL) ve iyice çalkalandı. 25 mL petri kutularına konularak besiyerinin homojen bir şekilde dağılması sağlandı. Ekim yapılan petri kutuları 15 dakika oda sıcaklığında beklemeye bırakıldı. Katılaşan agar ortamına aseptik olarak her biri 100 µL'lik olacak şekilde, farklı ekstraktları ile emdirilmiş antimikrobiyal diskler (6 mm, Oxoid) hafifçe yerleştirildi. Hazırlanan petri kapları 4°C' de 2 saat bekletildi ve bakteri aşılana plaklar 37±0.1°C' de 24 saat, maya aşılana plak ise 25±0.1°C' de 72 saat inkübasyona bırakıldı. Çalışmada kontrol olarak ise diskler kullanıldı. İnkübasyon süresi sonrasında meydana gelen inhibisyon zonlarının uzunluğu mm ölçü biriminde kaydedildi (Collins & Lyne, 1987; İnci, Dalkılıç, Dalkılıç, & Kırbağ, 2019).

### 2.4.2. Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) Belirleme Yöntemi

Antimikrobiyal aktivite testi için hazırlanan bitki ekstraktlarından 10 mg tartılmış ve 1000 µL DMSO' da çözülmüştür. Platelardaki her bir kuyucuğa 100 µL Müeller Hinton Agar Broth (MHB) sıvı besiyeri konuldu ve her sıranın ilk kuyucuğuna hazırlanan örneklerden 100 µL eklendi ve pipetaj yapıldı. İlk kuyucuktan 10 µL çekilerek 2.kuyucuğa aktarılıp bu işlem sırasıyla 7. kuyucuğa kadar devam edilerek seyreltme yapıldı. Son kuyucukta pipetaj sonrası 100 µL numune alınarak atıldı. Son olarak tüm kuyucuklara çalışılan 100 µL mikroorganizma örneği (ölçümleme yapıldıktan sonra) eklendi. Örnekler 24 saat boyunca oda koşullarında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası elde edilen değerler yardımıyla bitki ekstraktlarının minimum madde konsantrasyonu hesaplandı (İnci & Kırbağ, 2018).

## 2.5. Hücre Kültürü

Bu çalışmada insan mide kanseri (MKN-45), insan prostat kanseri (PC3) ve insan meme kanseri (MCF-7) olmak üzere üç farklı hücre hattı kullanıldı. MKN-45, PC3, MCF-7 hücre hatları Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonundan temin edildi (ATCC). MKN-45, PC3, MCF-7 hücrelerinde besiyer olarak 2mM L-Glutamine ve NaHCO<sub>3</sub> ayrıca % 10 Fetal Bovine serum eklenmiş DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) kullanıldı. DMEM ve FBS ticari olarak Gibco (Invitrogen)' den satın alındı. Tüm hücreler 25 cm<sup>2</sup> lik flasklarda (Corning-Sigma-Aldrich, USA), 37 °C' de nemlendirilmiş bir karbondioksit inkübatörde (% 5 CO<sub>2</sub> +% 95 O<sub>2</sub>) kültüre edildi. *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktları hücrelere uygulanmadan önce, hücrelerin canlılık oranları % 0.4 Tripan Mavisi ile belirlendi. Canlılık oranları% 90'ın altında olması durumunda deneylere başlanmadı (Keser et al., 2018; KÜÇÜKBAY, Mumcu, Tekin, & SANDAL, 2016; SARAÇ et al.).

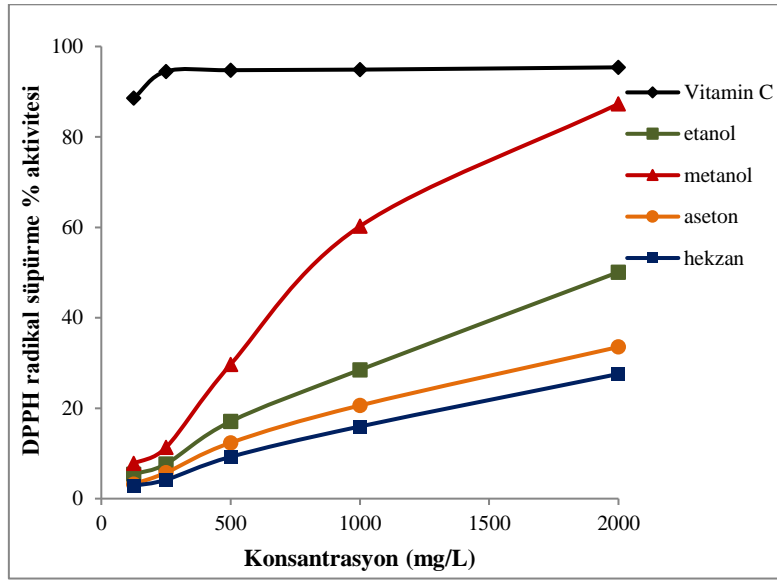
*Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin metanol, etanol, aseton ve hekzan özütlerinin, farklı kanser hücre tiplerine (MKN-45, PC3, MCF-7) karşı çoğalma aktiviteleri, "Cayman WST-1 cell proliferation assay" kiti kullanılarak değerlendirildi. Bu test, canlı hücrelerde mitokondriyal dehidrojenaz enzimleri tarafından Wst-1 tetrazolyum tuzunun enzimsel olarak kesilerek formozan oluşturup renk değiştirmesi esasına dayanmaktadır (TOKUR & AKSOY, 2017). Öncelikle hücreler, 96 oyuklu kültür plakalarına 5x10<sup>3</sup>/oyuk

(%10 FBS içeren 200 µL besiyer içinde) hücre yoğunluğu olacak şekilde yerleştirildi ve % 5 CO<sub>2</sub> içeren nemli bir atmosfer altında 24-48 saat süreyle 37 ° C'de inkübe edildi. Sonraki gün oyuklardaki besiyerler alınıp, yerine 100 µL taze besiyer eklendi. Daha sonra hücreler üzerine 24 saat boyunca inkübe olacak şekilde çeşitli konsantrasyonlarda (1, 10, 100 ve 1000 µg/mL) bitki ekstraktları muamele edildi. Her bir oyuğa 10 µL WST-1 karışımından ilave edilerek orbital karıştırıcı üzerinde 1 dk yavaşça karıştırıldı. Hücreler 37°C' de CO<sub>2</sub> inkübatöründe 2- 4 saat renk oluşuncaya kadar inkübasyona bırakıldı. Oluşan rengin absorbansı 450 nm'de Elisa plaka okuyucu ile ölçüldü. Hücre canlılığı, 24-48 saatlik inkübasyondan sonra hücrelerin mitokondriyal aktivitesinin, oldukça hassas WST-1 deneyi ile tayin edilmesi suretiyle belirlendi (Boivin, Blanchette, Barrette, Moghrabi, & Beliveau, 2007). Negatif kontrol olarak DMEM (% 0,5 DMSO içerir) kullanıldı (Erugur et al., 2020). WST-1 hücre proliferasyon deneyleri sonucunda IC<sub>50</sub> değerleri GraphPad Prism 6 programı kullanılarak hesaplandı (SARAÇ et al.).

### 3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

#### 3.1. Antioksidan Aktivite Sonuçları

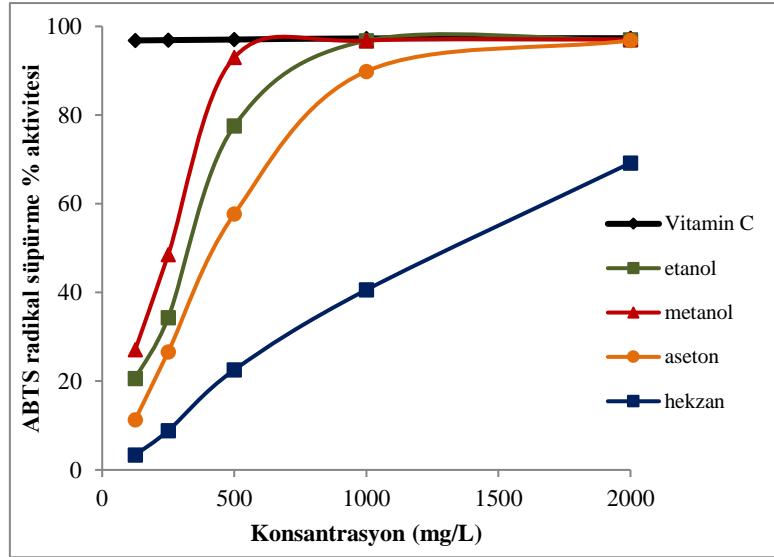
*Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin 4 farklı çözücüde hazırlanan ekstraktlarının DPPH radikal süpürme aktiviteleri Şekil 1.' de gösterildi. Bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin artan ekstrakt konsantrasyonu ile artış gösterdiği görüldü. Metanol çözücüsünde hazırlanan bitki ekstraktının diğer çözücülerden daha yüksek DPPH radikal süpürme etkisinin olduğu ve doğal antioksidan olan C vitaminine daha yakın olduğu görüldü.



Şekil 1. *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktlarının DPPH radikal süpürme aktivitesi

Bitki ekstraktlarının ABTS radikal süpürme etkileri Şekil 2.' de gösterildi. Etanol, metanol ve aseton çözücülerinde hazırlanan bitki ekstraktlarının doğal antioksidan olan C vitamini kadar radikal süpürme etkilerinin olduğu görülmesine rağmen hekzan içerisinde hazırlanan ekstraktın diğer çözücülere göre radikal süpürme etkisinin daha az olduğu görüldü.

Bitki ekstraktlarının ABTS radikalini giderme etkisi DPPH radikaline kıyasla daha iyidir. DPPH ve ABTS radikallerini giderme etkisi tüm bitki ekstraktları için konsantrasyona bağlıdır. Ayrıca her iki radikal giderme deneylerinde de metanol ekstraktının daha iyi giderme etkisinin olduğu görülmektedir. Bu durum, metanol ekstraktına bitkinin yapısında yer alan serbest radikalleri yok edebilecek bileşenlerin daha yüksek oranda geçmesiyle açıklanabilir.

Şekil 2. *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktlarının ABTS radikal süpürme aktivitesiTablo 1. *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktlarının total fenolik, total flavanoid ve total proantosiyanidin bileşik miktarları

<i>Polygonum cognatum</i> <i>Meissn</i>	Total Fenolik Bileşik Miktarı <sup>a</sup>	Total Flavonoid Bileşik Miktarı <sup>b</sup>	Total Proantosiyanidin Bileşik Miktarı <sup>c</sup>
Metanol ekstraktı	24,58 + 1,63	483,40+ 1,63	179,26+ 0,61
Etanol ekstraktı	19,26+ 1,36	970,07 +0,94	391,59 + 0,71
Aseton ekstraktı	10,76+0,56	404,4+ 0,82	614,96+ 1,48
Hekzan ekstraktı	4,35+0,93	232,07+ 1,25	249,78+ 1,18

<sup>a</sup>mg gallik asit/g ekstrakt, <sup>b</sup>µg Kateşin/g ekstrakt, <sup>c</sup>µg Kateşin/g ekstrakt

### 3.2. Fitokimyasal Analiz Sonuçları

*Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin yağ asitleri ve fitokimyasal içerikleri Tablo 2.' de gösterildi. Yağ asitleri içerisinde α-linoleik asit (%42.73) miktarının en yüksek çıktığı görülmektedir. Baskın yağ asitleri değerleri palmitik asit (%12.10), linoleik asit (15.35) ve oleik asit (%3.99) olarak bulunmuştur. Bitkide, β-Sitosterol değerinin (148,32 µg/g) en yüksek çıktığı görüldü. Ayrıca vitamin D (15,34), retinol asetat (12,98), vitamin K (10,11), stigmasterol (9,37), α-Tokoferol (7,26) değerleri bulundu.

Tablo 2. *Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin fitokimyasal içerikleri

Vitamin ve steroller (µg/g)	
Vitamin K	10,11± 0,72
Vitamin D	15,34 ± 1,51
δ-Tokoferol	0,45 ± 0,51
α-Tokoferol	7,26 ± 1,04
Ergosterol	1,51 ± 0,90
Stigmasterol	9,37 ± 2,18
β-Sitosterol	148,32 ± 3,10
Retinol	0,15 ± 0,01
Retinol Asetat	12,98 ± 2,83

Yağ Asitleri (%)	
15:1	2,14 ± 0,13
16:0	12,10 ± 0,45
16:1	1,71 ± 0,10
18:0	0,96 ± 0,14
18:1	3,99 ± 0,27
18:2	15,35 ± 0,65
18:3	42,73 ± 2,10
20:3	7,06 ± 0,17
22:1	3,29 ± 0,25
22:6	4,55 ± 0,20
24:0	1,33 ± 0,06
Diğerleri	4,79 ± 0,07
Σ Doymuş Yağ Asitleri	17,98
Σ Doymamış Yağ Asitleri	80,82

### 3.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

*Polygonum cognatum* Meissn bitkisi için kullanılan *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* COWAN 1, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumonia* FMC 5 suşları ve *Candida albicans* FMC 1 maya türüne karşı yapılan MİK ve DİSK difüzyon test değerleri Tablo 3. Ve Tablo 4.' de verildi. MİK değerleri Morales ve arkadaşlarının belirlemiş oldukları parametrelere dayandırılarak değerlendirildi (Morales, Paredes, Sierra, & Loyola, 2008). Bu parametrelere göre elde edilen MİK bulguları;

- 0,1 mg/mL'den daha düşükse antimikrobiyal aktivite yüksek,
- 0,1 mg/mL–0,5 mg/mL arasındaysa, antimikrobiyal aktivite orta,
- 0,5 mg/mL–1 mg/mL arasında ise, antimikrobiyal aktivite zayıf,
- 1 mg/mL'den fazla ise, etkisiz olarak kabul edilmiştir.

#### 3.3.1. DİSK Difüzyon Yöntemi

Antimikrobiyal aktivite tayini için yapılan DİSK difüzyon metodunda; bakteriler için Streptomisin sülfat (10 µg/disk) ve maya için Nystatin (30 µg/disk) antibiyotik diskler standart olarak kullanıldı. DİSK difüzyon yönteminde *Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin, etanol, metanol, aseton ve hekzan ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 3.' de gösterildi. Elde edilen verilere göre *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktlarının, antimikrobiyal aktivite tayini için kullanılan tüm mikroorganizmaların gelişimini engellediği görüldü. *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktlarından, en yüksek inhibisyon zonlarını aseton ekstraktının *E. coli* ve *B. subtilis* e karşı (10 mm), hekzan ekstraktının ise sadece *B. subtilis* e karşı (10mm) göstermiş olduğu tespit edildi.

Tablo 3. *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktının DİSK (mg/mL) değerleri

Test Mikroorganizmaları	Metanol ekstraktı	Etanol ekstraktı	Aseton ekstraktı	Hekzan ekstraktı	Streptomisin Sülfat	Nystatin
<i>E. coli</i>	7	8	10	8	24	-
<i>B. subtilis</i>	7	8	10	10	26	-
<i>K. pneumoniae</i>	7	8	8	8	28	-
<i>S. aureus</i>	7	8	8	8	28	-
<i>C. albicans</i>	8	8	8	8	-	20

#### 3.3.2. MİK Yöntemi

*Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin metanol ve etanol ekstraktlarının *E.coli*, *B.subtilis*, *K.pneumoniae*, *S.aureus* ve *C.albicans* mikroorganizmalarına karşı MİK değerleri 0,625 mg/mL olarak ölçüldü. Aseton ekstraktının, *E.coli*, *B.subtilis* a karşı MİK değerleri 0.312 mg/mL; *K.pneumoniae*, *S.aureus* ve *C.albicans* a karşı MİK değerleri 0,625 mg/mL olarak ölçüldü. Hekzan

ekstraktının ise *B. subtilis* a karşı MİK değeri 0,312 mg/mL, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *S.aureus* ve *C.albicans* mikroorganizmalarına karşı MİK değerleri ise 0,625 olarak belirlendi. Bu ölçümler ışığında *Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin metanol ve etanol ekstraktlarının çalışmada kullanılan tüm mikroorganizmalara karşı zayıf antimikrobiyal etki gösterdiği; aseton ekstraktının *E. coli* ve *B. subtilis* a karşı orta, diğer mikroorganizmalara karşı zayıf antimikrobiyal etki; hekzan ekstraktının ise sadece *B. subtilis* a karşı orta, diğer mikroorganizmalara karşı zayıf antimikrobiyal etki gösterdiği görülmüştür.

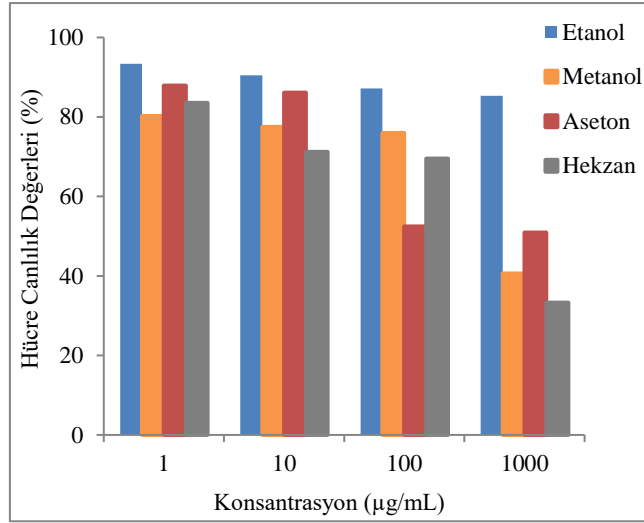
Tablo 4. *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktlarının MİK (mg/mL) değerleri

Test Mikroorganizmaları	Metanol ekstraktı	Etanol ekstraktı	Aseton ekstraktı	Hekzan ekstraktı
<i>E. coli</i>	0.625	0.625	0.312	0.625
<i>B. subtilis</i>	0.625	0.625	0.312	0.312
<i>K. pneumoniae</i>	0.625	0.625	0.625	0.625
<i>S. aureus</i>	0.625	0.625	0.625	0.625
<i>C. albicans</i>	0.625	0.625	0.625	0.625

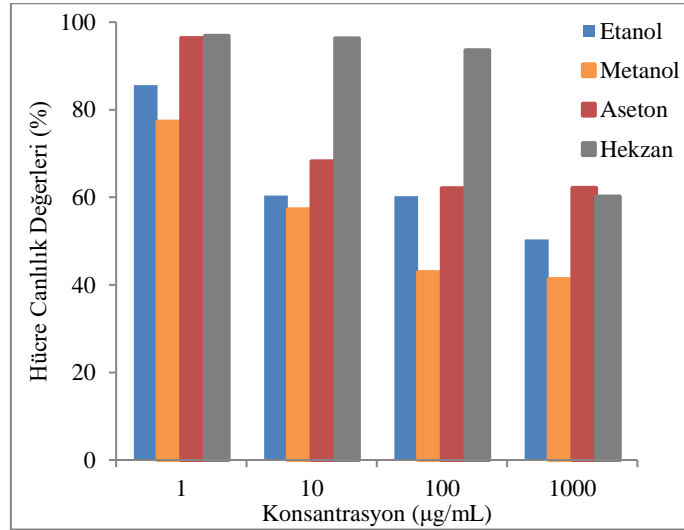
### 3.4. Hücre Kültürü Sonuçları

*Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin etanol, metanol, aseton ve hekzan özütlerinin in vitro antikanserijen etkinlikleri MCF-7, PC3, MKN-45 hücre hatlarında WST-1 testi yapılarak belirlendi. Bitki özütü 1-10-100-1000 µg/mL olacak şekilde 4 farklı doz halinde 24 saat süresince hücre kültürlerine uygulandı. Elde edilen veriler SPSS programında ANOVA ve TUKEY testiyle istatistiksel olarak değerlendirildi. Şekil 3.' de *Polygonum cognatum* Meissn (Madımak) bitkisinin MCF-7 kanser hücre hattı üzerindeki etkileri kontrole göre gösterilmektedir. Buna göre *Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin tüm ekstraktları, istatistiksel olarak kontrole göre anlamlı hücre canlılık azalması göstermesine rağmen ( $p < 0,05$ ); etanol ekstraktının tüm dozlarının hücre canlılığında önemli bir azalmaya sebep olmadığı görüldü. Metanol ve hekzan ekstraktlarının 1000 µg/mL, aseton ekstraktının ise 100 µg/mL ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarının hücre canlılığını azalttığı, diğer konsantrasyonlarda dikkate değer bir hücre canlılık azalması görülmediği belirlendi. Ekstraktların IC<sub>50</sub> değerleri Tablo 5.' de belirtildi. IC<sub>50</sub> değerleri ve kontrole göre hücre canlılık verileri göz önüne alındığında en yüksek sitotoksik etkiyi aseton ekstraktının verdiği söylenebilir. PC3 kanser hattı üzerine *Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin etkisi Şekil 4.' de verildi. Etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının 1 µg/mL konsantrasyonları dışındaki diğer konsantrasyonlarda hücre canlılığı doza bağlı olarak azalırken; hekzan ekstraktının ise sadece 1000 µg/mL konsantrasyonunun hücre canlılık miktarını etkilediği görüldü. İstatistiksel olarak da aseton ekstraktının 1 µg/mL ( $p > 0,05$ ), hekzan ekstraktının 1 ve 10 µg/mL ( $p > 0,05$ ) konsantrasyonları dışındaki dozları kontrole göre anlamlı derecede hücre canlılık değerlerinde azalma sağlamıştır. IC<sub>50</sub> değerlerine ve hücre canlılık değerlerine bakılarak en etkili olan ekstraktın metanol olduğu belirlendi. Etanol, aseton ve hekzan ekstraktlarının her ne kadar doza bağlı hücre canlılığında azalma görülse de hücre canlılığını önemli derecede azaltmadığı ve IC<sub>50</sub> değerlerinin yüksek konsantrasyonda çıkmasından dolayı sitotoksik etkisinin olmadığı ifade edilebilir. Metanol ekstraktının IC<sub>50</sub> değerine göre (20,26 µg/mL) kayda değer sitotoksik etkisi olduğu söylenilebilir. *Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin MKN-45 hücre hattı üzerindeki etkisi Şekil 5.' de verildi. 1-10-100-1000 µg/mL dozlar halinde uygulanan ekstraktlar, istatistiksel olarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman ekstraktların bu hücre hattı üzerinde doza bağlı olarak anlamlı şekilde hücre canlılığını azalttığı ( $p < 0,05$ ) görüldü. Her bir ekstraktın IC<sub>50</sub> değerleri dikkate alındığında *Polygonum cognatum* bitkisinin her bir ekstraktının yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği ve MKN-45 hücre hattı üzerindeki en etkili ekstraktın hekzan daha sonra sırasıyla aseton, etanol ve metanol olduğu görülmektedir.

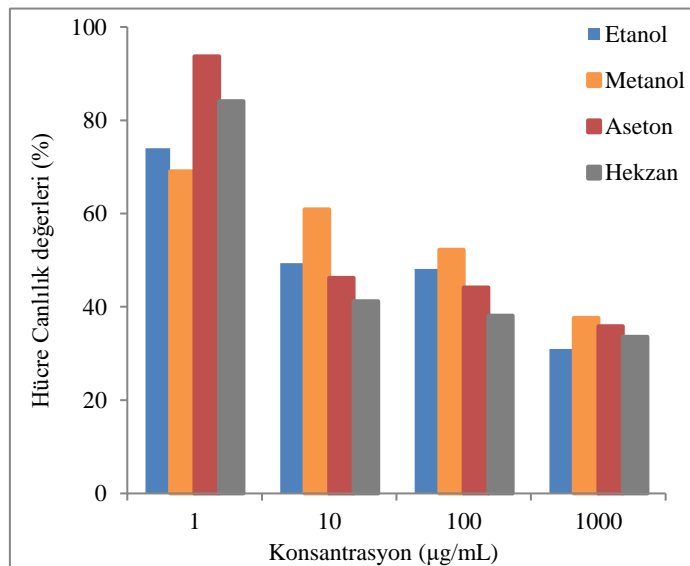




Şekil 3. *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktlarının MCF-7 hücre hatlarında 24 saat boyunca dozlara bağlı olarak hücre canlılık değerleri



Şekil 4. *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktlarının PC3 hücre hatlarında 24 saat boyunca dozlara bağlı olarak hücre canlılık değerleri



Şekil 5. *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktlarının MKN-45 hücre hatlarında

Tablo 5. *Polygonum cognatum* Meissn(Madımak) ekstraktlarının MCF-7, PC3 ve MKN-45 kanser hücre hatlarındaki IC<sub>50</sub> değerleri

Örnekler (µg/mL)	MKN-45	PC3	MCF7
Etanol ekstraktı	11,03	610,36	>1000
Metanol ekstraktı	33,03	20,26	466,82
Aseton ekstraktı	5,90	>1000	238,13
Hekzan ekstraktı	1,84	>1000	453,86

#### 4. Sonuç

*Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin etanol, metanol, aseton ve hekzan ekstraktlarının DPPH ve ABTS' ye dayalı antioksidan aktiviteleri araştırıldı. Metanol ekstraktının hem DPPH hem de ABTS radikal giderme aktivitelerinde daha etkili olduğu görüldü. Ayrıca bitki ekstraktlarının ABTS radikal giderme etkileri doğal antioksidan olan C vitamini kadar etkili olmuştur. Çalışmada ayrıca, *Polygonum cognatum* bitkisinin vitamin, sterol ve yağ asitleri düzeyleri değerlendirildi. Elde edilen sonuçlarda, bu bitkinin iyi bir yağ asidi, vitamin ve sterol kaynağı olduğu görülmektedir. Ek olarak bu bulgular beslenme bilimleri için önemlidir, çünkü özellikle yağ asitleri, vitamin ve steroller sağlık üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. 4 farklı çözücüde hazırlanan bitki ekstraktlarının *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Candida albicans* mikroorganizmalarının antimikrobiyal aktiviteleri hem Disk difüzyon hem de MİK yöntemi uygulanarak değerlendirildi. Sonuçlara göre *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin orta düzeyde olduğu söylenilebilir. Bitki ekstraktlarının sitotoksik aktiviteleri ise MCF-7, PC3 ve MKN-45 hücre hatları kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Bütün hücre hatlarında tüm ekstraktların yüksek dozları kontrole göre sitotoksik etki göstermiştir. Ancak kullanılan 3 kanser hücre hattı içerisinde bitkinin en etkili olduğu kanser hücre hattı IC<sub>50</sub> değerlerine ve istatistiksel verilere bakılarak MKN-45 olarak belirlendi. Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen veriler *Polygonum cognatum* Meissn bitkisinin yukarıda belirtilen tüm radikallere, mikroorganizmalara ve kanser hücre soylarına karşı oldukça iyi antiradikal, antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitelere sahip olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, bu bitkinin yüksek antiradikal, antimikrobiyal ve sitotoksik özelliklerinden dolayı, farmakolojik amaçlar için kullanılabilceği söylenilebilir.

#### Teşekkür

Yazarlar; Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ'a, Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ'a, Doç. Dr. Serhat KESER' e, Doç Dr. Sevgi Durna DAŞTAN'a, Dr. Mustafa Ersin PEKDEMİR' e ve Şule İNCİ' ye katkılarından dolayı teşekkür eder.

Yazarlar ayrıca, bu çalışmanın gerçekleşmesine finansal destek sağlayan FEF.2018.00.002 nolu Bingöl Üniversitesi BAP projesine teşekkür eder.

#### Kaynakça

- Amaze, O., Ayoola, G., Sofidiya, M., Adepoju-Bello, A., Adegoke, A., & Coker, H. (2011). Evaluation of antioxidant activity of *Tetracarpidium conophorum* (Müll. Arg) Hutch & Dalziel leaves. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2011.
- Baytop, T. (1999). *Türkiye'de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün*: Nobel Tıp Kitabevleri.
- BİLGİN, A., & KOCABAĞLI, N. (2010). Etlik piliç beslemede esansiyel yağların kullanımı. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 36(1), 75-82.
- Boivin, D., Blanchette, M., Barrette, S., Moghrabi, A., & Beliveau, R. (2007). Inhibition of cancer cell proliferation and suppression of TNF-induced activation of NFκB by edible berry juice. *Anticancer research*, 27(2), 937-948.
- Christie, W. W. (1989). *Gas chromatography and lipids*: Oily.
- Collins, C., & Lyne, P. (1987). *Microbiological Methods* Butter Morths & Co (Publishers) Ltd. London. 450pp.
- Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2005). Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of ethnopharmacology*, 100(1-2), 72-79.
- Endo, Y., Usuki, R., & Kaneda, T. (1985). Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. II. The mechanism of antioxidative action of chlorophyll. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62(9), 1387-1390.
- Eruygur, N., Ucar, E., Ataş, M., Ergul, M., Ergul, M., & Sozmen, F. (2020). Determination of biological activity of *Tragopogon porrifolius* and *Polygonum cognatum* consumed intensively by people in Sivas. *Toxicology Reports*, 7, 59-66.
- FAYDAOĞLU, E., & SÜRÜCÜOĞLU, M. (2013). TIBBİ VE AROMATİK BİTKİLERİN ANTİMİKROBİYAL, ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİ VE KULLANIM OLANAKLARI. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2), 233-265.
- Fedorov, A. (1985). Rastitelnie Resursi SSCB. *Nauka, Leningrad*, 260, 61-97.
- Hartwell, J. L. (1982). *Plants used against cancer: a survey*: Quarterman Publications.

- Ho, C.-T., Ferraro, T., Chen, Q., Rosen, R. T., & Huang, M.-T. (1994). Phytochemicals in teas and rosemary and their cancer-preventive properties: ACS Publications.
- Hsieh, T.-c., Wu, P., Park, S., & Wu, J. M. (2006). Induction of cell cycle changes and modulation of apoptogenic/anti-apoptotic and extracellular signaling regulatory protein expression by water extracts of Im-Yunity™(PSP). *BMC complementary and alternative medicine*, 6(1), 30.
- İnci, Ş., Dalkılıç, L. K., Dalkılıç, S., & Kırbağ, S. (2019). Helvella leucomelaena (Pers.) Nannf.'in antimikrobiyal ve antioksidan Etkisi. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 20(2), 249-253.
- İnci, Ş., & Kırbağ, S. (2018). Terfezia claveryi Chatin'in besinsel içeriği, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 19(2), 138-143.
- Jain, A., Katewa, S., Galav, P., & Nag, A. (2007). Unrecorded ethnomedicinal uses of biodiversity from Tadgarh-Raoli Wildlife sanctuary, Rajasthan, India. *雲南植物研究*, 29(3), 337-344.
- Keser, S., Celik, S., & Turkoglu, S. (2013). Total phenolic contents and free-radical scavenging activities of grape (Vitis vinifera L.) and grape products. *International journal of food sciences and nutrition*, 64(2), 210-216.
- Keser, S., Kaygili, O., Keser, F., Tekin, S., Yilmaz, Ö., Demir, E., . . . Sandal, S. (2018). Phytochemical Composition, Antiradical, Antiproliferative and Antimicrobial Activities of Capsicum frutescens L. *Analytical Chemistry Letters*, 8(5), 642-652.
- Kim, D.-O., Chun, O. K., Kim, Y. J., Moon, H.-Y., & Lee, C. Y. (2003). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(22), 6509-6515.
- KÜÇÜKBAY, H., Mumcu, A., Tekin, S., & SANDAL, S. (2016). Synthesis and evaluation of novel \$ N, N'\$-disubstituted benzimidazolium bromides salts as antitumor agents. *Turkish Journal of Chemistry*, 40(3), 393-401.
- Morales, G., Paredes, A., Sierra, P., & Loyola, L. A. (2008). Antimicrobial activity of three Baccharis species used in the traditional medicine of Northern Chile. *Molecules*, 13(4), 790-794.
- Nishina, A., Kubota, K., Kameoka, H., & Osawa, T. (1991). Antioxidizing component, musizin, inrumex japonicus houtt. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 68(10), 735-739.
- Onen, H., Yılar, M., & Kaya, C. (2009). *Phenolic composition of madimak (Polygonum cognatum Meissn.) plants*. Paper presented at the 3rd Plant protection Congress. Abstract Book.
- Önen, H., Altuntaş, E., ÖzGöz, E., Bayram, M., & Özcan, S. (2014). Moisture effect on physical properties of knotweed (Polygonum cognatum Meissn.) seeds.
- Sanchez-Machado, D., Lopez-Hernandez, J., & Paseiro-Losada, P. (2002). High-performance liquid chromatographic determination of  $\alpha$ -tocopherol in macroalgae. *Journal of Chromatography A*, 976(1-2), 277-284.
- SARAÇ, H., DAŞTAN, T., DEMİRBAŞ, A., DAŞTAN, S. D., KARAKÖY, T., & DURUKAN, H. Madımak (Polygonum cognatum Meissn.) Bitki Özütlelerinin Besin Elementleri ve In Vitro Antikanserojen Aktiviteleri Yönünden Değerlendirilmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 340-347.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of agricultural and food chemistry*, 40(6), 945-948.
- Shu, Y.-Z. (1998). Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. *Journal of natural products*, 61(8), 1053-1071.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178): Elsevier.
- Tatli, A. (1988). Important Range Plants of Erzurum Province. *Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome*, 43.
- TOKUR, O., & AKSOY, A. (2017). In vitro sitotoksisite testleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(1), 112-118.
- Wu, L.-c., Chang, L.-H., Chen, S.-H., Fan, N.-c., & Ho, J.-a. A. (2009). Antioxidant activity and melanogenesis inhibitory effect of the acetic extract of Osmanthus fragrans: A potential natural and functional food flavor additive. *LWT-Food Science and Technology*, 42(9), 1513-1519.
- Yalçın, A. S., Yılmaz, A. M., AltunDAğ, E. M., & KOçtürK, S. (2017). Kurkumin, kuersetin ve çay kateşinlerinin anti-kanser etkileri.
- Yıldırım, A., Mavi, A., & Kara, A. A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activities of Polygonum cognatum Meissn extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(1), 64-69.