



Journal of Integrative and Anatolian Medicine Bütünlüeyici ve Anadolu Tıbbı Dergisi

Cilt/ Volume: 1 Sayı / Issue: 1 Yıl/Year: 2019

Yayıncı / Publisher

Sağlık Bilimleri Üniversitesi / University of Health Sciences



EDİTÖR KURULU

Baş Editör: Prof. Dr. Ahmet Yaser MÜSLÜMANOĞLU

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü GETAT Ana Bilim Dalı Başkanı, ahmetyaser.muslumanoglu@sbu.edu.tr

Yardımcı Editör: Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ,

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, mahfuz.elmastas@sbu.edu.tr

Prof. Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT

Bezm-i Âlem Vakıf Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı,

kocyigit@bezmialem.edu.tr

Prof. Dr. Ahmet Ceyhun Gören, Bezm-i Âlem Vakıf Üniversitesi, acgoren@bezmialem.edu.tr

Prof. Dr. Alis ÖZÇAKIR- Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği- alis@uludag.edu.tr

Prof. Dr. Ayten ALTINTAŞ- Medipol Üniveritesi Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı Başkanı-aytenaltintas@medipol.edu.tr

Prof. Dr. Baha ÇELİK- Fiziksel Tıp Ve Rehabilitasyon Uzmanı & Akupunkturist-info@bahacelik.com.tr

Prof. Dr. Cemal ÇEVİK- Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anadalı

Prof. Dr. Emma BORELLİ- Siena Üniversitesi, İtalya. Ozon Tedavi Araştırma Kliniği-emma.borrelli@unisi.it

Prof. Dr. Erdal POLAT- İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı-erdalpistanbul.edu.tr

Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA- Yeditepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi ve Fitoterapi Anabilim Dalı Başkanı- yesilada@yeditepe.edu.tr

Prof. Dr. Esra Küpeli AKKOL- Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi esrak@gazi.edu.tr

Prof. Dr. Fatih DEMİRCİ, Anadolu Üniversitesi, fdemirci@anadolu.edu.tr

Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU, Bezm-i Âlem Vakıf Üniversitesi, gtopcu@bezmialem.edu.tr

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK- İstanbul Medipol Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı -hozbek@medipol.edu.tr

Prof. Dr. Hayriye Gülçin SALTAN İŞCAN-Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı, gulcin.saltan@pharmacy.ankara.edu.tr

Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ Iğdır Üniversitesi Fen Fakültesi, ibdemirtas@gmail.com

Prof. Dr. İffet İrem TATLI ÇANKAYA- Hacettepe Üniversitesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Başkanı itatli@hacettepe.edu.tr

Prof. Dr. Kosta Y. MUMCUOĞLU- Hebrew Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Moleküler Genetik- kostasm@ekmd.huji.ac.il

Prof. Dr. Li WANYAO- Çin Apiterapi Komisyonu Başkanı

Prof. Dr. Mehmet Tuğrul CABIOĞLU- Lokman Hekim Üniversitesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı- tugrul.cabioglu@lokmanhekim.edu.tr



Prof. Dr. Murat KARTAL Bezm-i Âlem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı- mkartal@bezmialem.edu.tr

Prof. Dr. Mutlu DEMİRAY- KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi- mdemiray@medicana.com.tr

Prof. Dr. Seyed Abdulmajid AYATOLLAHİ, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, majid_ayatollahi@yahoo.com

Prof. Dr. Zeynep VİDİNLİ SÜMER- Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı- zsumer@cumhuriyet.edu.tr

Doç. Dr. Ertuğrul KAYA, Düzce Üniversitesi ertugrulkaya@duzce.edu.tr

Doç. Dr. Kylie O'BRIEN- Avusturalya Ulusal İntegratif Tıp Enstitüsü

Doç. Dr. Murat Salim TOKAÇ Tıp, Müzikoloji, Müzik Teorileri, Klasik Türk Müziği (Sanat Müziği), Müzik

Doç. Dr. Neslihan ÜSTÜNDAĞ OKUR, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi neslihanustundag.okur@sbu.edu.tr

Doç. Dr. Salih MOLLAHALİLOĞLU- Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi-smho@ybu.edu.tr

Doç. Dr. Turgay ALTINBİLEK- Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Uzmanı Nöralterapi, Osteopati, Akupunktur ve Applied Kinezyoloji Eğitmeni- t.altinbilek@iku.edu.tr

Doç. Dr. Zafer Ömer ÖZDEMİR, ozdemirz@gmail.com, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi ozdemirz@gmail.com

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet BEYATLI, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, ahmet.beyatli@sbu.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi- İlker SOLMAZ- Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulama Merkezi

Dr. Öğr. Üyesi Mahmut TOKAÇ- Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi mtokac@medipol.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Evren OKUR, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi mehmetevren.okur@sbu.edu.tr

Dr. Ali Özden ÖZTÜRK- Tıbbi Hipnoz Derneği Başkanı

Dr. Ali Timuçin ATAYOĞLU- Medipol Üniversitesi Aile Hekimliği- atayoglu@gmail.com

Dr. Altunay AĞAOĞLU -Klasik Homeopati Derneği-altunaysoylemez@gmail.com

Dr. Balakyz YESKALIYEVA, Al-Farabi Kazakh National University, balakyz.yeskalieva@kaznu.kz

Dr. Hasan KARAAĞAÇ- Bilimsel Proloterapi Derneği hasan_karaagac@hotmail.com

Dr. Kanat TAYFUN Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hastane Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Sorumlu Hekimi

Dr. Oğuzhan GÜNDÜZ- İstanbul Üsküdar Devlet Hastanesi Üroloji Bölümü



Bütünleyici ve Anadolu Tıbbı Dergisi

Journal of Integrative and Anatolian Medicine

Yayıncı / Publisher

Sağlık Bilimleri Üniversitesi / University of Health Sciences

İÇİNDEKİLER & CONTENTS

| | |
|---|------------|
| Editör Kurulu & Editorial Board | 2-3 |
| Rektörün Önsözü & Foreword from the Rector | 5-6 |
| Editörden & Editorial | 7-8 |

Araştırma Makaleleri & Research Articles

| | |
|---|--------------|
| Hypericum perforatum'un Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi | 9-18 |
| Determination of Antioxidant activity of Hypericum perforatum | |
| Coriandrum Sativum ve Foeniculum Vulgare Sulu Ekstrelerinin İn Vitro | 19-23 |
| Antimikrobiyal Aktivite Değerlendirilmesi | |
| Evaluation of In-Vitro Antimicrobial Activity of Coriandrum Sativum and Foeniculum Vulgare Aqueous Extracts | |
| Tokat Bölgesinde Yetişen Bazı Yabani Mantar Türlerinin Antioksidan | 24-32 |
| Aktivitelerinin Belirlenmesi | |
| Determination of Antioxidant Activities of Some Wild Mushroom Species in Tokat Region | |
| Mühendishâne-i Berrî-i Hümayun'da Okutulan Bir Ders Kitabı | 33-41 |

Derleme Makale & Review Article

| | |
|---|--------------|
| Deniz Yumuşakçalarından Elde Edilen Doğal Bileşiklere Dair Güncel Gelişmeler | 42-54 |
| Recent Developments in Natural Compounds Obtained from Marine Molluscs | |



Rektör'ün Önsözü

Değerli Okurlarımız,

15 Nisan 2015 tarihinde kurulan Türkiye'nin ilk ve tek sağlık temalı devlet üniversitesi olan Sağlık Bilimleri Üniversitesinin üçüncü süreli akademik dergisi **“Bütünleyici ve Anadolu Tıbbi Dergisi & Journal of Integrative and Anatolian Medicine”** 2019 da yayımlanacak ilk sayısını sizlerle paylaşmaktan mutluluk duymaktayız.

Şimdilik yılda üç sayı Türkçe ve İngilizce olarak yayımlamayı planladığımız dergimiz, içinde bulunduğumuz çağın sunduğu imkanlar vesilesi ile elektronik olarak, ülkemizin en önemli bilimsel kurumlarından biri TÜBİTAK tarafından sağlanan DergiPark sistemi üzerinden yayımlanarak, siz kıymetli okurları ile buluşacaktır.

Ülkemizde son üç dekatta giderek artan GETAT uygulamaları, hasta ilgisi ve artan sertifikalı sağlıkçı sayısı standardizasyonu, kalibrasyonu ve ölçülebilir olmanın önemini arttırmaktadır. Derginin bu hedefe yönelik bilimsel çalışmalara öncülük etmesi ana hedeflerimizden biridir. Bir diğer hedefimiz de Anadolu Tıbbın markalaşmasına vereceği katkıdır.

Derginin hazırlanmasında emeği geçen tüm öğretim elemanlarına teşekkür ediyorum ve dergimiz mesleğinize, sağlık camiamıza, üniversitemize ve memleketimize hayırlı ve uğurlu olmasını dilerim.

Prof. Dr. Cevdet ERDÖL

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Rektörü



Foreword from the Rector

Dear readers,

We are pleased to share the first issue of the third periodical academic journal to be published in 2019, “*Bütünleyici ve Anadolu Tıbbı Dergisi & Journal of Integrative and Anatolian Medicine*” of the University of Health Sciences established on April 15th, 2015 as Turkey’s first and only health-themed state university.

For the time being, we plan to publish our journal as three issues per year in Turkish and in English languages, and as part of the opportunities offered to us by the present era, we will be publishing and presenting it to our dear readers electronically through the DergiPark system provided by TÜBİTAK, which is one of the most important scientific establishments in the country.

The increasing number of GETAT (Traditional and Complementary Medicine) applications, patient interest, and number of certified health professionals in the last three decades in our country led to an increase in the importance of standardization, calibration and measurability. Pioneering scientific studies aimed to achieve this goal through our journal is one of our main objectives. Another goal of ours is to contribute to the branding of Anatolian Medicine.

I would like to thank all the lecturers who contributed to the preparation of the journal and wish for it to be auspicious and beneficial for our profession, our health community, our university, and our country.

Prof. Dr. Cevdet ERDÖL

Rector of the University of Health Sciences



Editörden

Değerli bilim insanları,

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp (GETAT) Ana Bilim Dalı ve GETAT Uygulama ve Araştırma Merkezi olarak sizlerle önemli bir bilgiyi paylaşmanın heyecanı içerisindeyiz.

Sağlıklı olma isteği insanlık tarihi kadar eski olup bedence, ruhça ve sosyal yönden iyilik halini içerir. Doğudan doğan geleneksel tıpla başlayan süreç batı kaynaklı milenyum tıbbi veya modern tıp diye isimlendirdiğimiz yöntemler bütünüyle hastalarımıza hizmet etmektedir.

Günümüz insanı bilgiye ulaşmanın kolaylaştığı dünyamızda sağlığına bir an evvel kavuşmak ümidiyle milenyum tıbbından, geleneksel ve tamamlayıcı tıba ve hatta tıp dışı alternatif yöntemlere başvurarak savrulan bir yaprak gibi hareket etmektedir.

Kişiyeye özgü tedavilerin yaygınlaşması ve hastaya kullanılacak her türlü uygulama ve üründe etik ve medikolegal problemler düşünüldüğünde standardizasyonun, ölçülebilir olmanın ve kalibre edilebilmenin önemi artmaktadır.

Böyle bir ortamda Sağlık Bilimleri Üniversitesi olarak bünyesindeki 22 GETAT Uygulama Polikliniği, 10 adet Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezinde (SUAM) verilen eğitim sertifikasyon hizmeti ve toplam 58 adet afileye hastahanesindeki bilgi birikimi ile **“Bütünleyici ve Anadolu Tıbbi Dergisi & Journal of Integrative and Anatolian Medicine”** dergimizin ilk sayısını çıkartmaktan mutluluk duymaktayız.

Dergimizin bütüncül bir yaklaşımla oluşturduğu güncel bilgilerin hastalarımıza, camiamıza ve bilime katkısının büyük olacağı aşikardır.

Ayrıca dergimiz büyük vak’a serileri, kanıta dayalı çalışmalar içeren yayınları ve ürün geliştirmenin önünü açacak yeni faaliyetleri ile en büyük hedeflerimizden biri olan Anadolu Tıbbının markalaşmasında önemli bir rol oynayacaktır.

İlk sayımızın hayata geçmesinde bizlere önderlik eden, heyecanlandıran başta rektörümüz Prof. Dr. Cevder ERDÖL olmak üzere emeği geçen, destek veren ve vakit ayırıp yurt içinden ve dışından bilimsel makalelerini gönderen tüm meslektaşlarımıza teşekkür ve minnetlerimizi sunarız.

Prof. Dr. Ahmet Yaser MÜSLÜMANOĞLU



Editorial

Distinguished Scientists,

As the University of Health Sciences, the Traditional and Complementary Medicine (GETAT) department, and the GETAT Application and Research Center, we are excited to share some important information with you.

The desire to be healthy is as old as the history of humanity and includes physical, spiritual, and social well-being. The process that began with traditional medicine born from the east is combined with millennium medicine originating from the west, or the methods we call modern medicine, to serve our patients.

In today's world where access to information is easier, humans turn to millennium medicine, traditional and complementary medicine, and even non-medical alternative methods with hopes of regaining their health as soon as possible, just like a vagrant leaf blown by the wind.

When considering the spread of personalized treatments and the ethical and medicolegal problems related to all types of applications and products to be used for patients; standardization, being measurable, and the ability to be calibrated gains considerable importance.

In such an environment, as the Health Sciences University, together with our 22 GETAT practice outpatient clinics, training certification services provided by 10 Health Application and Research Centers (SUAM), and the accumulated knowledge of a total of 58 affiliated hospitals, we are pleased to announce the first issue of our journal; "***Bütünleyici ve Anadolu Tıbbi Dergisi & Journal of Integrative and Anatolian Medicine***".

It is evident that the updated information produced by our journal with a holistic approach will contribute to our patients, our community, and to science.

In addition, our journal will play an important role in the branding of Anatolian Medicine which is one of our greatest goals, through its large case series, publications with evidence-based studies, and new activities that will pave the way for product development.

We would like to express our gratitude to our rector Prof. Dr. Cevdet ERDÖL and all our colleagues, both domestic and abroad, for leading and encouraging us to publish our first issue by contributing, providing support, and taking the time to submit their scientific articles.

Prof. Dr. Ahmet Yaser MÜSLÜMANOĞLU



Araştırma Makalesi / Research Article Bütünleyici ve Anadolu Tıbbı Dergisi, 1(1): 9-18, 2019

Journal of Integrative and Anatolian Medicine, 1(1): 9-18, 2019

Determination of Antioxidant activity of *Hypericum perforatum*

Abdussamat GÜZEL^{1*} , Mehmet AKYÜZ²  and Murat Aydın ŞANDA³ 

¹Vocational School of Health Service,

Inonu University, 44280, Malatya, Turkey

²Department of Chemistry, Science and Arts Faculty,

Kilis 7 Aralık University, 79000, Kilis, Turkey

³Department of Molecular Biology and Genetics, Science and Arts Faculty,

Muş Alparslan University, 49250, Muş, Turkey

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Abdussamat GÜZEL, e-mail: a.sametguzel@gmail.com

Abstract

Hypericum perforatum has been used by physicians since ancient times to treat certain diseases. Nowadays, phytotherapy has an important place for people to turn to natural treatments. It is significant to examine the bioactivity of *H. perforatum* which is of pharmacological importance and used as a traditional medicine. *H. perforatum* plant was harvested in mountainous area in Celikhan region of Adiyaman. This plant was subjected to extraction process and the antioxidant capacity of the obtained extract was examined. *H. Perforatum* was found to have remarkable activity when evaluated for DPPH free radical scavenging activity and FRAP reducing power activity.

Keywords: *Hypericum perforatum*, Antioxidant Capacity, Free radical

Hypericum perforatum antik çağlardan beri bazı hastalıkları tedavi etmek için hekimler tarafından kullanılmıştır. Günümüzde insanların doğal tedavilere yönelmesi açısından fitoterapi önemli bir yere sahiptir. Farmakolojik önem taşıyan ve geleneksel ilaç olarak kullanılan *H. perforatum* bitkisinin biyoaktivitelerinin incelenmesi önem arz etmektedir. *H. perforatum* bitkisi Adiyaman Çelikhan bölgesinde dağlık alanda hasat edilmiştir. Bu bitki ekstraksiyon işlemine tabi tutulup, elde edilen ekkraktın antioksidan kapasiteleri incelenmiştir. *H. perforatum* bitkisi DPPH serbest radikal giderme aktivitesi ve FRAP indirgeme gücü aktivitesi açısından değerlendirildiğinde önemli bir aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Hypericum perforatum*, Antioksidan kapasite, Serbest radikal



Introduction

The *Hypericum* genus belongs to the *Clusiaceae* family and *Hypericaceae* subfamily and covers more than 400 species, and 106 species have been identified under 20 sections in Turkey (Başköse & Savran, 2018; Curtis & Lersten, 1990). The use of *Hypericum perforatum* as a medicine dates back to ancient Greek history. At that time, doctors used *H. perforatum* as diuretic, wound healing and also for the treatment of menstrual disorders and intestinal worms (Klemow et al., 2011; Redvers et al., 2001). *H. perforatum*, which is more in demand today, is considered important for its antidepressant and wound healing properties (Chrea et al., 2014; Miller, 1998). *H. perforatum* is also used in the remedy of cancer, (Schempp et al., 2002) diabetes, chronic rheumatism, gastrointestinal diseases, diuretic sedative, jaundice, bronchitis, diarrhoea, dysentery, (Duke, 1990) as well as sore throat infections, (Tümen & Sekendiz, 1989) colds, worm lowering, antiseptic (Duke, 1990) and burn wounds (Baytop, 1999). In addition *H. Perforatum* is used as an anti-inflammatory agent (Di Carlo et al., 2001) and a universal antidote (Holtom & Hylton, 1979). *H. Perforatum* has many secondary metabolites, including naphthodianthrones (hypericin, pseudo-hypericin, etc.), phloroglucinols derivatives (hyperforin, adhyperforin, etc.), flavonoids (hyperositis, routine, quercetin, etc.), biflavones (biapigenin, amentoflavone), phenolic acids (ferulic acid, caffeic acid etc.), organic acids, essential oils, amino acids, xanthenes, tannins, procyanidins and other water-soluble components (Cracchiolo, 1998; Greeson et al., 2001; Nahrstedt & Butterweck, 1997). The main responsible components of the pharmacological effect of *H. perforatum* extracts are the active constituent of naphthodianthrone pigments is hypericin and pseudohypericin, phloroglucinol derivative hyperforin, flavonoids and essential oils (V Butterweck et al., 1997; Hışıl et al., 2005; Medina et al., 2006; Patocka, 2003). It shows that hypericin is the main component in antidepressant effect of *H. perforatum* used in mental disorders (Briskin, 2000; Veronika Butterweck et al., 1998). In a screening study of *Calendula officinalis*, *Hypericum perforatum*, *Plantago lanceolata* and *Glycyrrhiza glabra*, *H. perforatum* L. was determined to be the most potent antioxidant effect of plants in scavenging free radicals (Herold et al., 2003).

Free radicals are substances of atomic or molecular structure containing one or more unpaired electrons. Radicals are chemically very active due to their unpaired electrons and attack other biological molecules in the environment, destroying their biological structures. The presence of free radicals in living systems is normal and forms the basis for many other metabolic functions, such as electron transfer, biosignal production and destruction of bacteria in macrophages (Akkuş, 1995; B. Halliwell & Cross, 1994; B. Halliwell & Gutteridge, 1984). However, the presence of high levels of these radicals and reagents in living organisms causes harmful processes such as tissue damage, cell death, premature aging, cancer, cardiovascular diseases and neurological disorders as a result of oxidation of biomolecules. These radical and reactive products can oxidize nucleic acids, proteins and lipids, disrupt their chemical structure and produce negative results in their metabolism (Sen et al., 2000).

There are many defense mechanisms to eliminate the formation of reactive oxygen species (ROS) and their damage. These mechanisms are known as antioxidants. Antioxidants eliminate these radical and reactive products and inhibit their negative effects (Barry Halliwell, 1994, 1996).



Antioxidants can be synthesized in the body or taken from the diet. The antioxidant defense system in living organisms is divided into two main groups. These; are produced in the metabolism (endogenous) and external diet (exogenous) antioxidant systems. The endogenous antioxidant system is formed of enzymes such as antioxidant enzymes, proteases and phospholipase to remove damaged molecules, systems for synthesizing new compounds, glutathione, uric acid and various metal binders. Exogenous antioxidants are available in both synthetic and natural forms. Butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA), tertiarybutylhydroquinone (TBHQ), propyl gallate (PG) and Trolox are members of the synthetic antioxidants. Phenols, flavones, tocopherols, carotenes and catechins belong to the group of natural antioxidants (Akkuş, 1995; Bursal et al., 2013).

MATERIALS AND METHODS

General experimental procedures

BHT, BHA, Trolox, trichloroacetic acid (TCA), ABTS, CuCl_2 , neocuprin, ammonium acetate (NH_4Ac), DPPH^\cdot , Potassium ferricyanide ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), potassium persulfate ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) were used for antioxidant assays and all solvents and chemical compounds supplied from chemical company E. Merck.

Plant Material

H. perforatum plant was collected in the mountainous area from Çelikhan district of Adıyaman ($38^\circ 09' 12.7''\text{N}$ $38^\circ 12' 55.0''\text{E}$), the southeast Anatolia region of Turkey during the flowering period in June and identified by Prof. Dr. Murad Aydın Şanda. We brought to the laboratory for the bioactivity of the *H. perforatum* plant which was dried in a way that would not see the sun.

Extraction

For ethanol extraction, 5 g of the sample was pulverized in a mill and mixed with 50 mL of ethanol. The material was vortexed and immersed in ultrasonic bath for 30 minutes and extracted for 5 days. The resulting extract was filtered on filter paper. The extract was placed in falcon tubes and was used for antioxidant activity analysis.

Evaluation of Antioxidant Activities

Ferric Ions (Fe^{3+}) Reducing Antioxidant Power Assay (FRAP)

The reducing powers of *H. perforatum* extract was carried out by modified Oyaizu method (Elmastaş et al., 2006; Oyaizu, 1986). To the *H. perforatum* extract solutions (10, 20, 40 $\mu\text{g/mL}$) in



1 mL of methanol was mixed with 2.5 mL of phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6) and 2.5 mL of 1% potassium ferricyanide [$K_3Fe(CN)_6$]. The mixtures were incubated at 50 °C for 20 min. Trichloroacetic acid (2.5 mL, 10%) was added to each mixture and they were centrifuged (at 3,000 rpm for 10 min). The upper layers of solutions (2.5 mL) were mixed with distilled water (2.5 mL) and $FeCl_3$ (0.5 mL, 0.1%), and absorbances were measured at 700 nm. Increased absorbance of the reaction mixture indicates an increase of reduction capability.

DPPH[•] Free Radical Scavenging Activity

DPPH[•] free radical scavenging activity of *H. perforatum* extract and standards were determined by the method of Blois (Blois, 1958). 0.1 mM solution of DPPH[•] in ethanol was prepared and 1 mL of this solution was added to 3 mL of the samples solution in ethanol at different concentrations (10, 20, 40 µg/mL). These solutions were vortexed thoroughly and kept in the darkness for 30 min. The absorbance was measured at 517 nm by a spectrophotometer and the lower absorbance of the reaction mixture revealed the higher free radical scavenging activity. The capability to scavenge DPPH[•] radical was calculated using the following equation:

$$\text{DPPH}^{\bullet} \text{ scavenging effect (\%)} = (\text{Absorbance of control} - \text{Absorbance of sample}) / \text{Absorbance of control} \times 100$$

ABTS^{•+} Radical Cation Scavenging Assay

ABTS^{•+} scavenging activity was performed according to Re method (Re et al., 1999). The process of ABTS^{•+} (2.0 mM) in water with potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) (2.45 mM) at room temperature in dark for 4 h gave the ABTS cation radical. Dilution of ABTS^{•+} was applied with phosphate buffer (0.1 mol/L, pH 7.4) to measure the absorbance at 734 nm. The reactions of ABTS^{•+} solution (1.0 mL) with samples solution in ethanol (3.0 mL) at different concentrations (10, 20, 40 µg/mL) were performed. The inhibition was calculated at 734 nm for each concentration. The scavenging ability of ABTS^{•+} was calculated as the following equation:

$$\text{ABTS}^{\bullet+} \text{ scavenging activity (\%)} = [(A_c - A_s) / A_c] \times 100 \text{ where } A_c \text{ is the initial concentration of ABTS}^{\bullet+} \text{ and } A_s \text{ is the absorbance of the remaining concentration of ABTS}^{\bullet+} \text{ in the samples.}$$

Cu⁺⁺ Ion Reducing Capacity (CUPRAC)

The Cuprak method is an antioxidant activity test based on the reduction of Cu(II)-Nc to Cu(I)-Nc chelate (Apak et al., 2004). To the test tube was added 1 mL of a solution of $CuCl_2$ (0.01 M) to 1 mL of neocuprin (2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline) (7.5×10^{-3} M alcohol) and 1 mL of ammonium acetate (NH_4Ac) buffer solution and mixed well. Then different concentrations (10, 20, 40 µg/mL) of extracts was added and the total volume was adjusted to 4 mL with water. After incubation for 30 minutes at room temperature, the absorbance was recorded at 450 nm.



Using the Trolox calibration curve, the results were calculated as mmol Trolox equivalent/g *H. perforatum* ($R^2 = 0,9992$).

Statistical analysis

The results of the study were performed by taking the average \pm SD of at least three independent measurements.

RESULTS AND DISCUSSION

Antioxidant activities

Antioxidant properties of secondary metabolites in plants are important for pharmacokinetic. In this work, the antioxidant activity of ethanol extract of *H. perforatum* was compared to standard antioxidants (BHT, BHA and Trolox). The antioxidant activity of the *H. perforatum* was high in the determination of reducing power activity (Figure 1).

DPPH

DPPH• free radical scavenging activity after the antioxidant compound reacts with DPPH, it is made by measuring the changing color of the DPPH radical at 517 nm. Antioxidants stabilize by donating hydrogen to the DPPH radical (Soare et al., 1997). *H. perforatum* showed a higher free radical scavenging activity than the standard antioxidant BHA. Based on these data, the *H. perforatum* plant can be a free radical inhibitor.

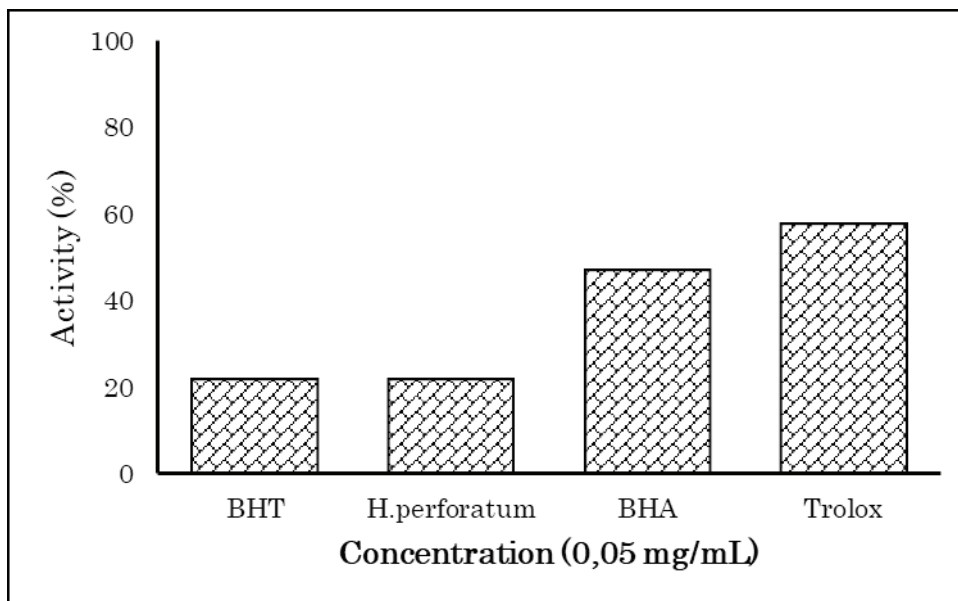


Figure 1. DPPH free radical scavenging activity of *H. perforatum* and standard antioxidants.

FRAP

The reducing capacity in a compound is an important measure of antioxidant activity (Meir et al., 1995). Figure 2 shows the reducing power of *H. perforatum* compared to BHA, BHT and Trolox at the same concentrations. *H. perforatum* showed a higher reducing capacity than the standard antioxidant BHA. The reducing of *H. perforatum* and the power of standard antioxidants was carried out in the following order: Trolox>BHT> *H. perforatum* > BHA

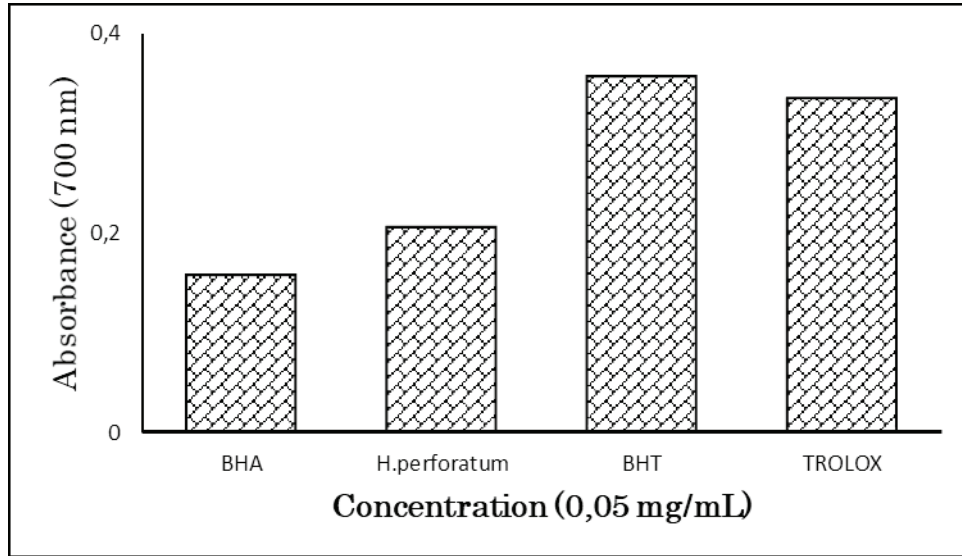


Figure 2. FRAP reducing power activity of *H. perforatum* and standard antioxidants.

ABTS

The antioxidant ability of the *H. perforatum* plant to scavenge the ABTS radical cation was determined according to the radical scavenging ability of BHA, BHT and Trolox. *H. perforatum* showed relatively low activity compared to standard antioxidants.

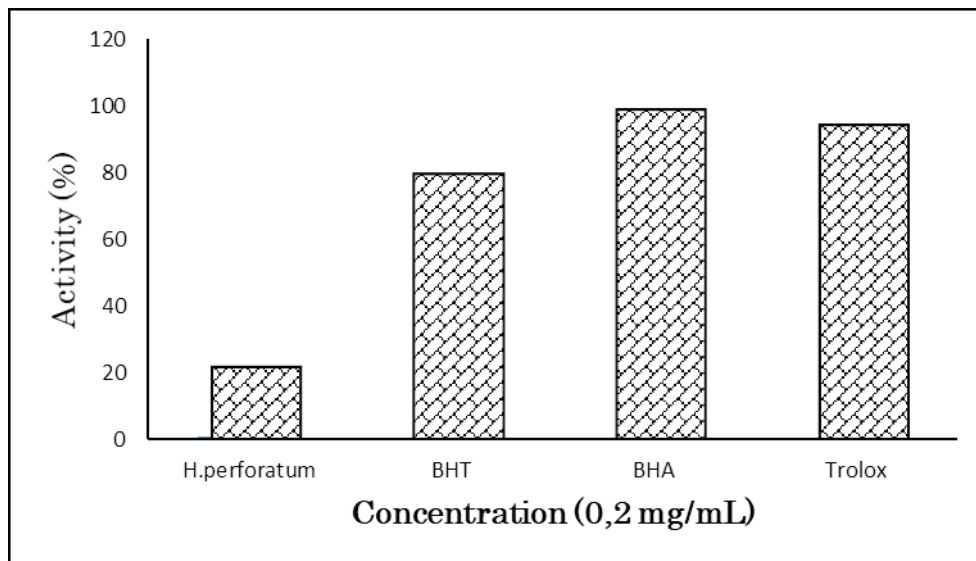


Figure 3. ABTS cation radical scavenging activity of *H. perforatum* and standard antioxidants.

CUPRAC

Antioxidants are converted to quinone structures by CUPRAC redox reaction and Cu (I)-Nc chelate produced by this redox reaction gives maximum absorbance at 450 nm (Apak et al., 2004). *H. perforatum* showed relatively low Cu⁺⁺ ion reducing capacity compared to standard antioxidants.

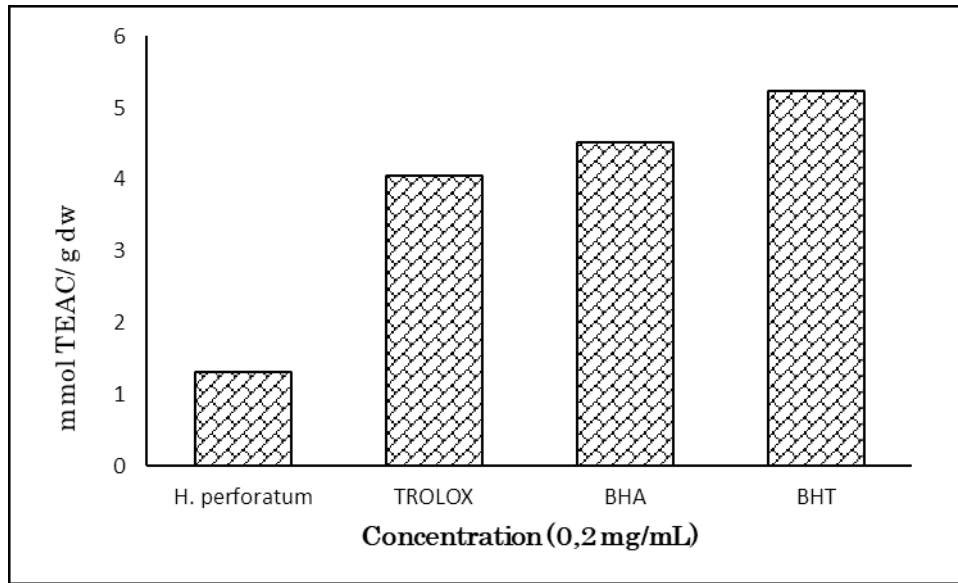


Figure 4. Cu⁺⁺ Ion Reducing Capacity of *H. perforatum* and standard antioxidants.

CONCLUSION

In this study, when *H. perforatum* was found to have significant activity when evaluated for DPPH and FRAP. As can be seen from the previous studies, the presence of functional compound confirms the antioxidant activity of *H. perforatum* plant (Cracchiolo, 1998; Nahrstedt & Butterweck, 1997).

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Süleyma Güzel for supplying plant material. This study practised in Molecular Biology and Genetic Laboratory in Şanlıurfa Harran University.



REFERENCES

- Akkuş, İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları, Konya, 1*.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52*(26), 7970–7981.
- Başköse, İ., & Savran, A. (2018). A new species from southern anatolia (Dedegöl mountain series—Çürük mountain) in Turkey: *Hypericum bilgehan-bilgili* (hypericaceae). *Phytotaxa, 374*(2), 110–118.
- Baytop, T. (1999). *Türkiye’de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün*.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature, 181*, 1199–1200.
- Briskin, D. P. (2000). Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. *Plant Physiology, 124*(2), 507–514.
- Bursal, E., Köksal, E., Gülçin, İ., Bilsel, G., & Gören, A. C. (2013). Antioxidant activity and polyphenol content of cherry stem (*Cerasus avium* L.) determined by LC–MS/MS. *Food Research International, 51*(1), 66–74.
- Butterweck, V., Wall, A., Liefländer-Wulf, U., Winterhoff, H., & Nahrstedt, A. (1997). Effects of the total extract and fractions of *Hypericum perforatum* in animal assays for antidepressant activity. *Pharmacopsychiatry, 30*(S 2), 117–124.
- Butterweck, Veronika, Petereit, F., Winterhoff, H., & Nahrstedt, A. (1998). Solubilized Hypericin and Pseudohypericin from *Hypericum perforatum* Exert Antidepressant Activity in the Forced Swimming Test3. *Planta Medica, 64*(04), 291–294.
- Chrea, B., O’Connell, J. A., Silkstone-Carter, O., O’Brien, J., & Walsh, J. J. (2014). Nature’s antidepressant for mild to moderate depression: isolation and spectral characterization of hyperforin from a standardized extract of St. John’s wort (*Hypericum perforatum*). *Journal of Chemical Education, 91*(3), 440–442.
- Cracchiolo, C. (1998). Pharmacology of St. John’s Wort: *Botanical and Chemical Aspects. Sci Rev Alt Med, 2*, 29–35.
- Curtis, J. D., & Lersten, N. R. (1990). Internal secretory structures in *Hypericum* (Clusiaceae): *H. perforatum* L. and *H. balearicum* L. *New Phytologist, 114*(4), 571–580.
- Di Carlo, G., Borrelli, F., Ernst, E., & Izzo, A. A. (2001). St John’s wort: Prozac from the plant kingdom. *Trends in Pharmacological Sciences, 22*(6), 292–297.
- Duke, J. A. (1990). CRC Handbook of Medicinal Herbs. In *International Clinical Psychopharmacology*.
- Elmastaş, M., Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Küfrevioğlu, Ö. I., & Aboul-Enein, H. Y. (2006). A study on the in vitro antioxidant activity of juniper (*Juniperus communis* L.) fruit extracts. *Analytical Letters, 39*, 47–65.
- Greeson, J. M., Sanford, B., & Monti, D. A. (2001). St. John’s wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology, 153*(4), 402–414.
- Halliwell, B., & Cross, C. E. (1994). Oxygen-derived species: Their relation to human disease and environmental stress. *Environmental Health Perspectives, 102*(10), 5–12.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal, 219*, 1–14.
- Halliwell, Barry. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews, 52*(8), 253–265.
- Halliwell, Barry. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition, 16*(1), 33–50.
- Herold, A., Cremer, L., Calugăru, A., Tamaş, V., Ionescu, F., Manea, S., & Szegli, G. (2003). Antioxidant properties



- of some hydroalcoholic plant extracts with antiinflammatory activity. *Roumanian Archives of Microbiology and Immunology*, 62(3–4), 217–227.
- Hışıl, Y., Şahin, F., & Omay, S. B. (2005). Kantaronun (*Hypericum perforatum* L.) bileşimi ve tıbbi önemi. *International Journal of Hematology and Oncology*, 15, 212–218.
- Holtom, J. A., & Hylton, W. H. (1979). *The Complete Guide to Herbs: How to Grow and Use Nature's Miracle Plants*.
- Klemow, K. M., Bartlow, A., Crawford, J., Kocher, N., Shah, J., & Ritsick, M. (2011). 11 Medical Attributes of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Lester Packer, Ph. D.*, 211–238.
- Medina, M. A., Martínez-Poveda, B., Amores-Sánchez, M. I., & Quesada, A. R. (2006). Hyperforin: more than an antidepressant bioactive compound? *Life Sciences*, 79(2), 105–111.
- Meir, S., Kanner, J., Akiri, B., & Philosoph-Hadas, S. (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1813–1819.
- Miller, A. L. (1998). St. John's wort (*Hypericum perforatum*): clinical effects on depression and other conditions. *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic*, 3(1), 18–26.
- Nahrstedt, A., & Butterweck, V. (1997). Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*, 30(S 2), 129–134.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307–315.
- Patocka, J. (2003). The chemistry, pharmacology, and toxicology of the biologically active constituents of the herb *Hypericum perforatum* L. *Journal of Applied Biomedicine*, 1(2), 61–70.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231–1237.
- Redvers, A., Laugharne, R., Kanagaratnam, G., & Srinivasan, G. (2001). How many patients self-medicate with St John's wort? *Psychiatric Bulletin*, 25(7), 254–256.
- Schempp, C. M., Kirkin, V., Simon-Haarhaus, B., Kersten, A., Kiss, J., Termeer, C. C., ... Sleeman, J. P. (2002). Inhibition of tumour cell growth by hyperforin, a novel anticancer drug from St. John's wort that acts by induction of apoptosis. *Oncogene*, 21(8), 1242.
- Sen, C., Packer, L., & Hänninen, O. (2000). *Handbook of oxidants and antioxidants in exercise*.
- Soare, J. R., Dinis, T. C. P., Cunha, A. P., & Almeida, L. (1997). Antioxidant activities of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research*, 26(5), 469–478.
- Tümen, G., & Sekendiz, O. (1989). Plants used in traditional medicine in Balıkesir and central villages. *Uludağ University Research Funding, Project*, (86/12), 19–22.



Araştırma Makalesi / Research Article Bütünleyici ve Anadolu Tıbbı Dergisi, 1(1): 19-23, 2019

Journal of Integrative and Anatolian Medicine, 1(1): 19-23, 2019

Evaluation of In-Vitro Antimicrobial Activity of *Coriandrum Sativum* and *Foeniculum Vulgare* Aqueous Extracts

Ahmet BEYATLI* 

University of Health Sciences, Health Services Vocational School, Department of Aromatic and Medicinal Plants,
Istanbul, Turkey

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Ahmet BEYATLI, e-mail: ahmet.beyatli@sbu.edu.tr

ABSTRACT

The present study has been designated to evaluate the antimicrobial activity of *Coriandrum sativum* and *Foeniculum vulgare* aqueous extracts. The antimicrobial activity of the extracts against five bacterial strains and two fungal strains were tested by using agar well diffusion method and minimal inhibitory concentration MIC values. Results showed that aqueous extracts of *C. sativum* and *F. vulgare* had antibacterial and antifungal effects against all the tested microorganisms, whereas Nystatin failed to show any effect against *C.cladosporides*. The range of MIC values was 0.7 to 6.2 mg/mL in the *F. vulgare* and *C. sativum* treatments. Therefore, results suggest that these extracts contain antimicrobial compounds that can be used in the future as antimicrobial agents in the new drugs for human microbial diseases.

Keywords: Antimicrobial activity, *Coriandrum sativum*, *Foeniculum vulgare*

Coriandrum Sativum ve *Foeniculum Vulgare* Sulu Ekstrelerinin İn Vitro Antimikrobiyal Aktivite Değerlendirilmesi

ÖZET

Bu çalışma *Coriandrum sativum* ve *Foeniculum vulgare* sulu ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek üzere tasarlanmıştır. Ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesi beş bakteri suşu ve iki mantar suşuna karşı agar kuyu difüzyon metodu ve MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerleri kullanılarak test edilmiştir. Sonuçlar, sulu *C. sativum* ve *F. vulgare* ekstrelerinin test edilen tüm mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğunu, Nystatin'in ise *C.cladosporides*'e karşı herhangi bir etki göstermediğini göstermiştir. *F. vulgare* ve *C. sativum* aktiviterlerinde MİK değerleri aralığı, 0.7 ile 6.2 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Bu nedenle sonuçlar, bu bitki ekstrelerinin antimikrobiyal bileşikler içerdiğini önermektedir ve böylelikle gelecekte insan mikrobiyal hastalıkları için yeni antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, *Coriandrum sativum*, *Foeniculum vulgare*



1. INTRODUCTION

In recent years, many drug resistance pathogenic microorganisms have been appeared due to the indiscriminate use of antimicrobial drugs that are common in the treatment of infectious diseases (Service, 1995). Both of *Coriandrum sativum* (in Arabic Kuzbarah) and *Foeniculum vulgare* (in Arabic Shbint or Shamar) belonging to the Apiaceae family. Traditionally used as carminative, stomachic, antispasmodic, diuretic, aphrodisiac and stimulant in Iraqi traditional medicine (Al-Rawi & Chaakravarty, 1964).

Recently, a number of researchers throughout the world has investigated the antimicrobial properties of these two plants. Essential oils extracted from the leaves and seeds of the of *C. sativum* demonstrated antimicrobial activity against the food-borne pathogenic bacteria (Rezaei, Karimi, Shariatifar, Mohammadpourfard, & Malekabad, 2016). AgNPs that are green synthesized by using *C. sativum* showed a big potential in biomedical applications like anti-acne, anti-dandruff and anti-breast cancer. (Sathishkumar et al., 2016). Aelenei and colleagues study showed synergistic interactions between linoleol, coriander essential oil, and antibiotics against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other Gram-positive bacteria, but also Gram-negative bacteria (Aelenei et al., 2019). Compounds like linoleic acid, oleic acid, 1,3-benzenediol, undecanal, and 2,4-undecadienal which isolated from *F. vulgare* var. dulce showed antimycobacterial activity against all tested strains (Esquivel-Ferriño et al., 2012). Different seed extracts of *F. vulgare* exhibit moderate to good inhibition against various bacterial strains (Salami, Rahimmalek, & Ehtemam, 2016). The essential oils derived from *F. vulgare* showed a promising anti-Candida effect (Khoram et al., 2019). The present study was designed to investigate antimicrobial activity of aqueous extract of the two plants seeds against five bacterial strains and two fungal strains.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Plant Materials and Preparation of Aqueous Extract

Fresh *C. sativum* and *F. vulgare* seeds were purchased from the local markets of Tuzhurmato city in 2017. Voucher Specimens (No. 201782 and 201783, respectively) were deposited in the Herbarium of Faculty of Science, Tikrit University, Tikrit, Iraq. Aqueous extract of plants were prepared by Abdel-Barry and colleagues method (Abdel-Barry, Abdel-Hassan, Jawad, & Al-Hakiem, 2000). Dried seeds were grinded by electric grinder to a fine powder. Fifty grams of plant materials were suspended in 250 mL of distilled water and then stirred magnetically for 24 hours at 50 °C. Then suspensions were filtered (Whatman No.1) and evaporated to dryness under reduced pressure at 40 °C, to get dry residue 6.40 g (12.8%) and 7.05 g (14.1%), respectively.

2.2. Antimicrobial Activity

Microbial strains, namely *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* (Gram-positive bacteria), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* (Gram-negative bacteria), *Candida albicans* and *Cladosporium cladosporides* (Fungi) were used in this study. The bacterial strains were grown in Mueller-Hinton Agar (MHA) at 37 °C (10^6 cells/mL). The fungal strains were cultured in Sabouroud Dextrose Agar (SDA) medium at 25 ± 2 °C (10^6 conidia /mL). The agar well diffusion method was performed for antimicrobial activity (Parthiban, Manivannan, Ramanibai, & Mathivanan, 2019), then 100 µl of different concentrations of (50, 75 and 100 µg/mL) plant extracts and standard antimicrobial



agents: Gentamycin (10 µg/mL) and Nystatin (0.25 µg/mL) were prepared using dimethyl sulphoxide (DMSO) as solvent. The inhibition zone was measured using zone scale after 24 h incubation at 25 °C for fungal strains and 37 °C for fungal strains. Tests were performed in triplicate and obtained values (average values) of the inhibition zones were expressed (Das, Livingstone, Veluswamy, & Das, 2018).

2.3. MIC assay

The minimal inhibitory concentration (MIC) can be expressed as the lowest concentration of a compound that inhibits the growth of microorganism (lower MIC value, higher antimicrobial efficacy). MIC values were determined by dissolving the samples in distilled water to give a final concentration of 625mg/mL. Then diluted serially to give concentrations of 1.22 to 625 mg/mL. From each concentration 100 µL was added to well (96-well microplate) already containing 100 µL of Mueller Hinton Broth (MHB) and 100 µL of inoculum, microbial suspensions adjusted to 0.5 McFarland turbidity standards (for bacteria 10⁸ CFU/mL and for fungal strains 10⁶ CFU/mL). Culture media (without microorganisms) was used as negative control. The plates were incubated at 37 °C for 24 hours for bacteria and for 72 hours for fungi. Microbial growth was assessed by measuring absorbance at 600 nm.

2.4. Statistical Analysis

The values are given as mean±SD. The data were analyzed by ANOVA followed by post hoc test using computerized software SPSS (Version 7.5). *P*-value less than 0.05 were defined as statistically significant.

3. RESULTS

The results showed that aqueous extract of *C. sativum* and *F. vulgare* have a dose dependent antibacterial and antifungal effects against all the tested microorganisms. The extracts have significantly higher effect in comparison with Gentamycin, whereas Nystatin failed to show any effect against *C. cladosporides* (Table 1).

The range of MIC values was 0.7 to 6.2 mg/mL in the *C. sativum* and *F. vulgare* treatments. In the tested fungal strains, have the lowest recorded MIC (1.5 µg/mL) in the *F. vulgare*. For the bacterial strains the lowest recorded MIC (0.7 µg/mL) was for *E. coli* (Table 2).

Table 1. Antimicrobial activity of *Coriandrum sativum* and *Foeniculum vulgare*

| Microbial strains | <i>C. sativum</i> (µg) | | | <i>F. vulgare</i> (µg) | | | Positive control |
|-----------------------------------|------------------------|----------------|---------------|------------------------|----------------|----------------|------------------|
| | 50 | 75 | 100 | 50 | 75 | 100 | |
| <i>Candida albicans</i> | 15.1 ± 0.16 c | 16.2 ± 0.37 b | 17.0 ± 0.81 a | 11.4 ± 0.21 c | 11.2 ± 0.21 b | 11.8 ± 0.38 a | 12.2 ± 0.92 h |
| <i>Cladosporium cladosporides</i> | 10.2 ± 0.29 bc | 10.3 ± 0.16 ab | 10.5 ± 0.64 a | 11.1 ± 0.16 bc | 11.5 ± 0.37 ab | 11.4 ± 0.17 a | 0.0 ± 0.0 k |
| <i>Escherichia coli</i> | 10.4 ± 0.16 bc | 10.6 ± 0.14 b | 11.2 ± 0.24 a | 9.2 ± 0.21 de | 9.8 ± 0.12 d | 10.3 ± 0.84 c | 9.3 ± 0.18 e |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 10.2 ± 0.19 de | 10.5 ± 0.24 d | 11.2 ± 0.11 c | 11.3 ± 0.84 bc | 11.7 ± 0.37 b | 12.2 ± 0.56 a | 9.2 ± 0.49 fg |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 11.4 ± 0.17 bc | 11.5 ± 0.63 ab | 12.3 ± 0.29 a | 10.4 ± 0.33 ef | 10.5 ± 0.16 de | 11.0 ± 0.62 cd | 9.5 ± 0.43 de |
| <i>Staphylococcus aureas</i> | 11.2 ± 0.70 d | 12.3 ± 0.17 bc | 13.1 ± 0.21 a | 10.5 ± 0.32 e | 12.4 ± 0.16 c | 12.7 ± 0.14 b | 10.1 ± 0.28 f |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | 8.1 ± 0.23 f | 8.7 ± 0.11 d | 9.2 ± 0.22 b | 8.5 ± 0.74 e | 9.2 ± 0.16 c | 9.9 ± 0.14 a | 8.3 ± 0.47 f |

Horizontally: the different letters means there are statistically significant difference.

Table 2. Minimal inhibitory concentration (MICs) of *Coriandrum sativum* and *Foeniculum vulgare*

| Microbial strains | MIC (µg/mL) | |
|-----------------------------------|-------------------|-------------------|
| | <i>C. sativum</i> | <i>F. vulgare</i> |
| <i>Candida albicans</i> | 2.5 | 1.5 |
| <i>Cladosporium cladosporides</i> | 4.6 | 6.2 |
| <i>Escherichia coli</i> | 3.5 | 0.7 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 2.5 | 1.5 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1.5 | 1.5 |
| <i>Staphylococcus aureas</i> | 2.7 | 1.5 |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | 1.5 | 2.5 |

4. DISCUSSION

The antimicrobial activity of *F. vulgare* and *C. sativum* aqueous extracts were tested in the present study and its potency was evaluated by the presence or absence of inhibition zones, zone diameters and MIC values. The extract may be work by one or both of the following mechanisms: disrupt cytoplasmic membrane of the microorganisms by its effect on lipids and proteins (Rose, 2014) or penetration the active sites of specific enzymes inside the microorganisms which is imported for their multiplication (Al-Jasim & Barakat, 1973). The basis of varying degree of sensitivity of tested microorganisms of both bacteria and fungi to plant extract may be explained by the intrinsic tolerance of microorganisms and the phytochemicals types existed in the plant extracts. Essential oils, tannins, coumarins and glycosides were the major phytochemicals that detected in both plants (Rather, Dar, Sofi, Bhat, & Qurishi, 2016; Wei et al., 2019), these phytochemicals are known to have antimicrobial activity (Li, Aioub, Lv, Hu, & Wu, 2019; Matasyoh, Maiyo, Ngure, & Chepkorir, 2009). Therefore, these results suggest that these extracts possess compounds with antimicrobial properties that can be used as antimicrobial agents in new drugs for therapy of human microbial diseases. Further detailed scientific evaluation of these plants should be carried out on the base of active compounds, as well as the mechanism of antimicrobial activity.



REFERENCES

- Abdel-Barry, J., Abdel-Hassan, I., Jawad, A., & Al-Hakiem, M. (2000). Hypoglycaemic effect of aqueous extract of the leaves of *Trigonella foenum-graecum* in healthy volunteers. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 6(1), 83-88.
- Aelenei, P., Rimbu, C., Guguianu, E., Dimitriu, G., Aprotosoiaie, A., Brebu, M., . . . Miron, A. (2019). Coriander essential oil and linalool–interactions with antibiotics against Gram⁺ positive and Gram⁻ negative bacteria. *Letters in applied microbiology*, 68(2), 156-164.
- Al-Rawi, A., & Chaakravarty, H. (1964). Medicinal plants of Iraq, Ministry of Agriculture Technology. *Bulletin*(146), 22.
- Al-Jasim, H., & Barakat, M. (1973). Effect of some vegetable extracts on the activity of polygalacturonase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 24(2), 119-121.
- Das, M. P., Livingstone, J. R., Veluswamy, P., & Das, J. (2018). Exploration of *Wedelia chinensis* leaf-assisted silver nanoparticles for antioxidant, antibacterial and in vitro cytotoxic applications. *journal of food and drug analysis*, 26(2), 917-925.
- Esquivel-Ferriño, P. C., Favela-Hernández, J. M. J., Garza-González, E., Waksman, N., Ríos, M. Y., & Camacho-Corona, M. d. R. (2012). Antimycobacterial activity of constituents from *Foeniculum vulgare* var. dulce grown in Mexico. *Molecules*, 17(7), 8471-8482.
- Khoram, Z., Naine, A., Rafieinezha, R., Hakimaneh, S. M., Hakimaneh, S. M. R., Shayehg, S. S., & Salari, A. M. (2019). The Antifungal Effects of Two Herbal Essences in Comparison with Nystatin on the Candida Strains Isolated from the Edentulous Patients. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 20(6).
- Li, Y., Aioub, A. A., Lv, B., Hu, Z., & Wu, W. (2019). Antifungal activity of pregnane glycosides isolated from *Periploca sepium* root barks against various phytopathogenic fungi. *Industrial crops and products*, 132, 150-155.
- Matasyoh, J., Maiyo, Z., Ngure, R., & Chepkorir, R. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*. *Food Chemistry*, 113(2), 526-529.
- Parthiban, E., Manivannan, N., Ramanibai, R., & Mathivanan, N. (2019). Green synthesis of silver-nanoparticles from *Annona reticulata* leaves aqueous extract and its mosquito larvicidal and anti-microbial activity on human pathogens. *Biotechnology Reports*, 21, e00297.
- Rather, M. A., Dar, B. A., Sofi, S. N., Bhat, B. A., & Qurishi, M. A. (2016). *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arabian Journal of Chemistry*, 9, S1574-S1583.
- Rezaei, M., Karimi, F., Shariatifar, N., Mohammadpourfard, I., & Malekabad, E. S. (2016). Antimicrobial Activity of the Essential Oil from the Leaves and Seeds of *Coriandrum sativum* toward Food-borne Pathogens. *West Indian Medical Journal*, 65(1).
- Rose, A. H. (2014). *Chemical microbiology: an introduction to microbial physiology*: Elsevier.
- Salami, M., Rahimmalek, M., & Ehtemam, M. H. (2016). Inhibitory effect of different fennel (*Foeniculum vulgare*) samples and their phenolic compounds on formation of advanced glycation products and comparison of anti-microbial and antioxidant activities. *Food chemistry*, 213, 196-205.
- Sathishkumar, P., Preethi, J., Vijayan, R., Yusoff, A. R. M., Ameen, F., Suresh, S., . . . Palvannan, T. (2016). Anti-acne, anti-dandruff and anti-breast cancer efficacy of green synthesised silver nanoparticles using *Coriandrum sativum* leaf extract. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 163, 69-76.
- Service, R. F. (1995). Antibiotics that resist resistance. *Science (New York, NY)*, 270(5237), 724.
- Wei, J.-N., Liu, Z.-H., Zhao, Y.-P., Zhao, L.-L., Xue, T.-K., & Lan, Q.-K. (2019). Phytochemical and Bioactive Profile of *Coriandrum sativum* L. *Food Chemistry*.



Araştırma Makalesi / Research Article Bütünleyici ve Anadolu Tıbbi Dergisi, 1(1): 24-32, 2019

Journal of Integrative and Anatolian Medicine, 1(1): 24-32, 2019

Determination of Antioxidant Activities of Some Wild Mushroom Species in Tokat Region

Duygu MISIRLI^{1*}, Mahfuz ELMASTAŞ¹, İbrahim TÜRKEKUL²

¹ Hamidiye Faculty of Pharmacy, University of Health Sciences, Istanbul, Turkey

²Department of Biology, Faculty of Arts and Science, University of Gaziosmanpaşa, Tokat, Turkey

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Duygu MISIRLI, e-mail: duygumisirli@gmail.com

ABSTRACT

Wild edible mushrooms can be eaten for health and play an important role in maintaining a healthy life by creating synergy due to the various bioactive components it contains. However, many species that may contain bioactive compounds have not been investigated.

The purpose of this study was to investigate the antioxidant capacity of wild mushroom species which are grown in Tokat region with names *Leatiporus sulpherus*, *Ramaria sp.*, *Cantharellus aerruginascens*, *Verpa conica*, *Verpa bohamica*, *Tricholoma terreum*, *Agaricus sp.*, *Helvella elastica* in vitro. In addition, total phenolic compound and vitamin E levels were analyzed in mushroom samples. In order to determine the antioxidant capacity of mushroom samples, free radical scavenging activity (DPPH), reducing power activity and ABTS^{•+} [2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] cation radical scavenging activity analyzes were performed.

The results were compared with concentrations of Butylated hydroxy toluene (BHT), Butylated hydroxy anisole (BHA) and α -tocopherol. Consequently, the mushroom species with the highest radical removal activity are *Ramaria sp.*, *V. bohamica* and *H. elastica*, respectively. The highest value of vitamin E, was found in *Agaricus sp.* (1444.1 mg/kg), *C. aerruginascens* (1370.8 mg/kg) and *Ramaria sp.* (1204.2 mg/kg) respectively. The highest amount of total phenolic contains was found to be in the *Ramaria sp.* (6.57 g/kg). These results may encourage further studies to assess nutritional and medicinal properties of selected mushroom species.

Keywords: Antioxidant activity, wild mushrooms, vitamin E

Tokat Bölgesinde Yetişen Bazı Yabani Mantar Türlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

ÖZET

Yabani yenilebilir mantarlar sağlık için yenilebilir ve içerdiği çeşitli biyoaktif bileşenler nedeniyle sinerji yaratarak sağlıklı bir yaşam sürdürmede önemli bir rol oynayabilir. Bununla birlikte, biyoaktif bileşikler içerebilen birçok tür araştırılmıştır.

Bu çalışmanın amacı Tokat bölgesinde yetişen *Leatiporus sulpherus*, *Ramaria sp.*, *Cantharellus aerruginascens*, *Verpa conica*, *Verpa bohamica*, *Tricholoma terreum*, *Agaricus sp.*, *Helvella elastica* isimli doğal mantar türlerinin antioksidan kapasitesini araştırmaktır. Ayrıca, mantar örneklerinde total fenolik bileşik ve E vitamini seviyeleri analiz edilmiştir. Mantar örneklerinin antioksidan kapasitesini belirlemek için serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH), indirme gücü tayini, ABTS^{•+} [2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)] katyon radikali giderme aktivite testleri yapılmıştır.



Sonuçlar standart olarak kullanılan Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) ve α -tokoferol konsantrasyonları ile karşılaştırıldı. Radikal giderme aktivitesi en yüksek olan mantar türlerinin sırasıyla *Ramaria sp.*, *V. bohamica* ve *H. elastica* olduğu, E vitamini yüksek olan mantar türlerinin ise *Agaricus sp.* (1444.1 mg/kg), *C. aerruginascens* (1370.8 mg/kg) ve *Ramaria sp.* (1204.2 mg/kg) olduğu belirlendi. Total fenolik bileşik miktarının en yüksek olduğu türün *Ramaria sp.* (6.57 g/kg) olduğu tespit edildi. Sonuç olarak bu çalışma, seçilen mantar türlerinin beslenme ve tıbbi özelliklerini değerlendirmek için daha fazla çalışmaya teşvik edebilir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, yabancı mantarlar, E vitamini

1. INTRODUCTION

A balance between free radical production and antioxidant defense (both enzymatic and non-enzymatic) is essential for normal organism functions. Products that have antioxidant activity in nature can help the endogenous defense system of the human body. In this regard, antioxidants in the diet are protective compounds that reduce oxidative stress (Elmastaş et al., 2006; I. Gülçin, Sat, Beydemir, & Küfrevioğlu, 2004; Oktay, Gülçin, & Küfrevioğlu, 2003) Family: Lauraceae.

In addition to their nutritional value, many edible mushroom species have long been used for medical purposes in many countries of the world. In addition, many non-edible and poisonous mushroom species have been found to have important medicinal properties (Sharma et al., 2018). It is observed that the use of mushrooms against various diseases has become widespread as a result of the development of mushroom production possibilities in culture conditions. Mushrooms have antioxidant, antiinflammation, antidiabetic, antiviral and antimicrobial effects as well as immunological and anticancer properties (Elsayed, El Enshasy, Wadaan, & Aziz, 2014; Friedman, 2016; Gallego et al., 2019; Singh, Walia, & Kennedy, 2019; Su et al., 2019; Wu et al., 2007) sustained antiviral responses vary in different cohorts, and high costs limit the broad use of direct-acting antivirals (DAAs).

The purpose of this study was to search the antioxidant activities of *L. sulphurus*, *Ramaria sp.*, *C. aerruginascens*, *V. conica*, *V. bohamica*, *T. terreum*, *Agaricus sp.*, *H. elastica*, which are wild mushrooms grown in Tokat region, and to determine the amount of vitamin E.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Collection of Mushroom Species

The mushroom species used in this study were obtained from Tokat-Merkez, divided into small pieces and dried in the shade. The dried samples were stored in the dark until antioxidant studies were performed.

2.2. Extraction

The dried 8 different mushroom samples were milled in the blender and pulverized. Approximately 5 g of each mushroom species were sampled and extracted with methanol-dichloromethane solvent system at a rate of 1:1. Solvents of the crude extracts were removed and quantified (Table 1). Stock solutions were prepared with a concentration of 1mg/mL from each extract.



Table 1. Amount of mg of crude extracts obtained from mushroom samples

| Mushroom species | Quantifications (mg) |
|------------------------------------|----------------------|
| <i>Leatiporus sulpherus</i> | 622.8 |
| <i>Ramaria sp.</i> | 843.3 |
| <i>Cantharellus aerruginascens</i> | 973.3 |
| <i>Verpa conica</i> | 1099.9 |
| <i>Verpa bohamica</i> | 576.8 |
| <i>Tricholoma terreum</i> | 557.1 |
| <i>Agaricus sp.</i> | 883.4 |
| <i>Helvella elastica</i> | 647.5 |

2.3. Antioxidant Activity

2.3.1. Scavenging DPPH· Radicals

The free radical scavenging activity of the mushroom extracts was measured using 1 mM 1,1-diphenyl-picryl-hydrazyl/(DPPH·). Samples were prepared from stock solution in concentrations of 10, 20 and 30 µg/µL. Then 1 mL of stock DPPH solution was added to each sample tube. After that the absorbance was measured at 517 nm in spectrophotometer. Mushrooms extracts were compared with BHT, BHA and α-tocopherol. % Free radical scavenging activity of the samples was calculated by the following formula.

$$\% \text{ Result} = [(Abs_{\text{control}} - Abs_{\text{sample}}) / Abs_{\text{control}}] \times 100$$

2.3.2. Scavenging ABTS·⁺ Radicals

ABTS·⁺ removal activity was determined according to the study in literature (Re et al., 1999). First, a 2 mM ABTS·⁺ solution was prepared. To this solution, twice the volume of 2.45 M potassium persulfate solution was added to give ABTS·⁺ solution and incubated in the dark for 6 hours. The test tubes were taken from stock solutions at concentrations of 40, 80 and 120 µg/mL respectively, 1 mL of ABTS·⁺ solution was added and the total volume was completed to 4 mL with phosphate buffer. After that the absorbance was measured at 734 nm in spectrophotometer.

2.3.3. Reducing Power

The reducing power of mushroom extracts was determined by the method of Oyaizu (Oyaizu, 1986). 40, 80 and 120 µg/mL of the stock solutions were taken into test tubes, respectively. 0.2 M phosphate buffer (pH:6.6) and 2.5 mL of 1% potassium ferricyanide [K₃Fe(CN)₆] were added to each test tube to a total volume of 2.5 mL and mixed. The mixture was incubated



at 50 °C for 20 minutes. 2.5 mL of 10% trichloroacetic acid (TCA) was added to the reaction mixture and centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. 2.5 mL of the supernatant was taken and 0.5 mL of 0.1% FeCl₃ solution was added. After that the absorbance/was measured at 700 nm in spectrophotometer.

2.3.4. Determination of Total Phenolic Compounds

Total phenolic compounds were determined by Slinkard and Singleton methods (Slinkard & Singleton, 1977). 1 mL (1 mg/mL) was taken from each sample and placed in 50 mL flasks. 40 mL of distilled water and 1 mL of Folin Ciocalteu reagent were added. After 3 minutes, 3 mL of 2 % Na₂CO₃ solution was added and incubated for 2 hours. After that the absorbance was measured at 760 nm in spectrophotometer. Gallic acid was used as the standard for the calibration curve.

2.3.5. Determination of Vitamin E

Mushroom samples in methanol were extracted with petroleum ether. The supernatant (petroleum ether phase) was used. The solvent was removed in the evaporator. Stock solutions were prepared from the solvent-extracted extracts to 1 mg/mL. Standard solutions of α -tocopherol (vitamin E) in different concentrations were prepared from this stock solution. Measurements were performed at 295 nm wavelength on HPLC device.

3. RESULTS and DISCUSSION

Mushroom extracts at different concentrations (10-30 ug/uL) were compared with BHT, BHA and α -tocopherol at the same concentrations. As can be seen in Figure 1, *Ramaria sp.* has been found to have the best radical scavenging effect among other mushroom species.

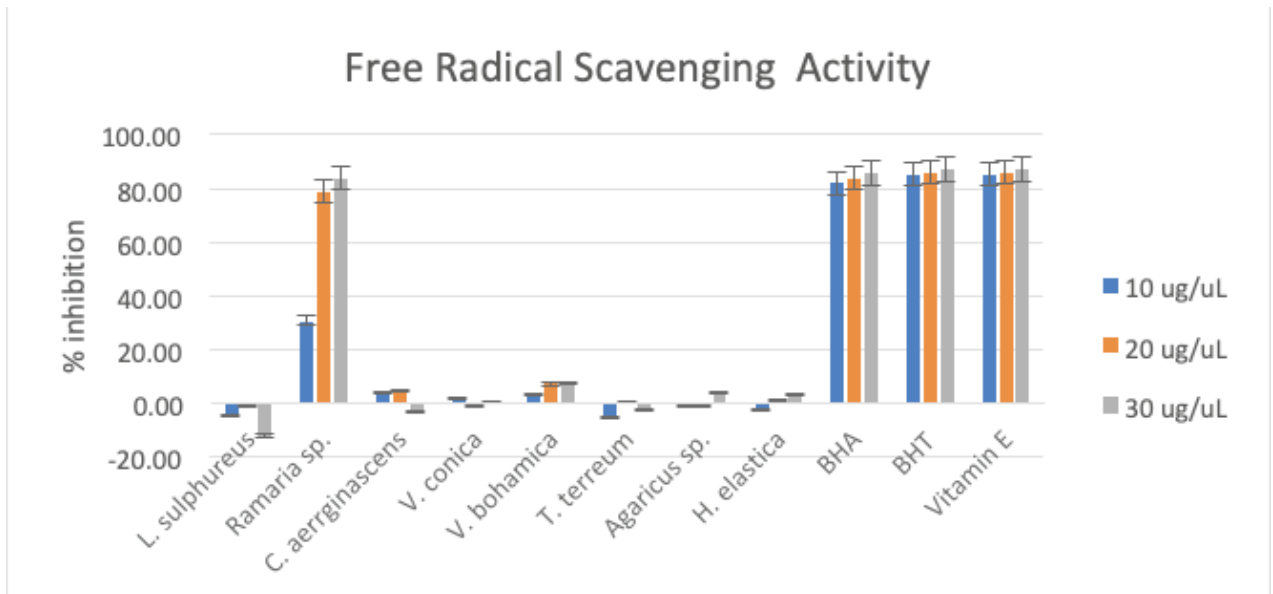


Figure 1. Comparison of DPPH activities of mushroom samples against standard BHA, BHT and α -tocopherol.

Like DPPH• free radical scavenging activity, ABTS•⁺ scavenging activity is often used in the radical scavenging activities of aqueous mixtures, beverages, extracts or pure substances (Ilhami Gülçin, 2010; Miller & Rice-Evans, 1997). Figure 2 shows that *Ramaria sp.* has the highest radical scavenging activity according to the ABTS test.

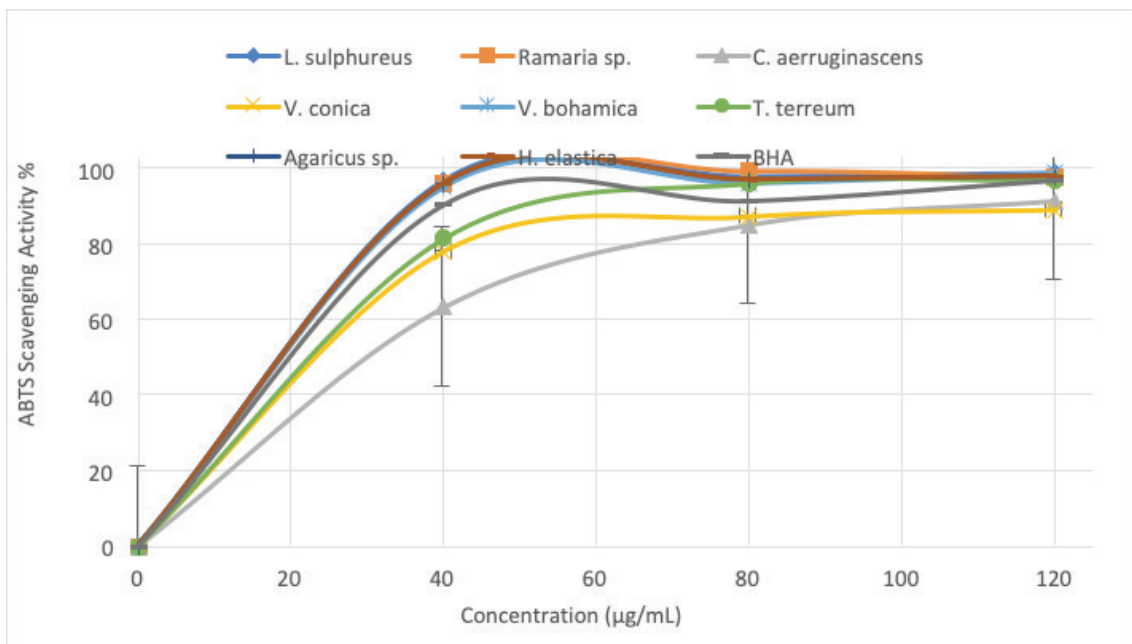


Figure 2. Comparison of ABTS•⁺ radical scavenging activities of mushroom samples against standard BHA.

According to the principle of this bioanalytical method used in antioxidant studies, the yellow color of the test solution turns into green in different shades due to the reducing activities of the antioxidant substances in the medium (Ilhami Gülçin, 2006). It was found that the reducing capacity of some of the mushrooms extracts used in the study correlated with increasing extract concentration. The reduction potential of each mushroom extract was determined by measuring the absorbance at 700 nm of solutions of different concentrations (40–120 µg/mL) (Figure 3). As can be seen from the Figure 3, α-tocopherol used as a standard showed higher reduction capacity than extracts. *Ramaria sp.* mushroom extract has the highest reduction capacity among other mushroom samples.

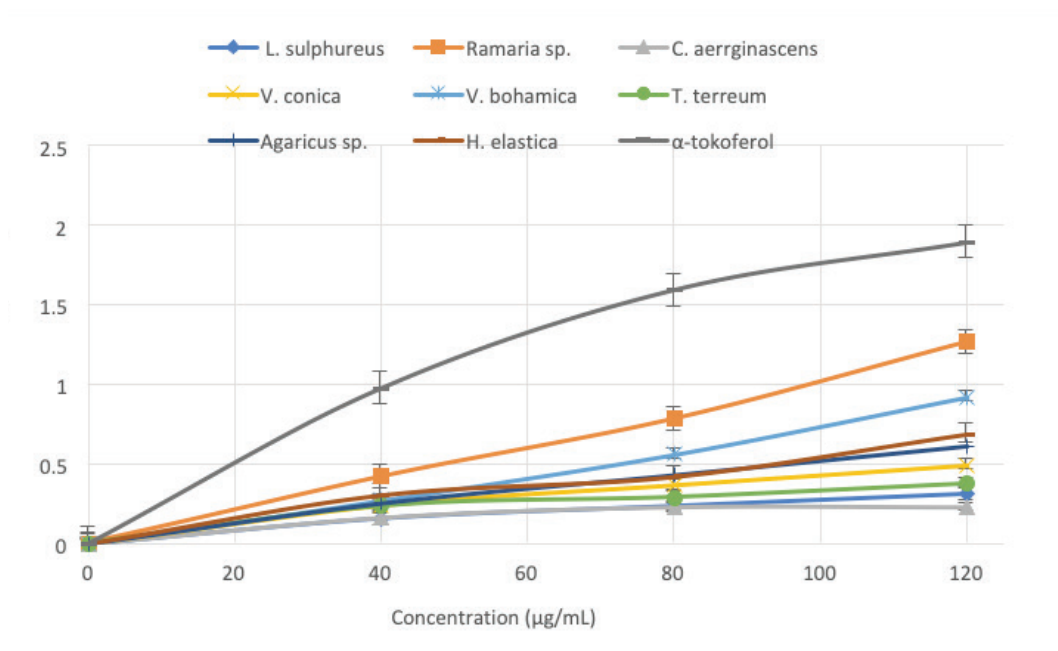


Figure 3. Comparison of total reducing power activities of mushroom samples against standard α-tocopherol.

Gallic acid was used as the standard phenolic compound for the quantification of total phenolic compounds in mushroom extracts. For this purpose, firstly a standard graph was prepared with gallic acid. From the formula obtained from the standard graph, total phenolic compound amounts in each extract were calculated as gallic acid equivalent (GAE) ($r^2: 1$). The standard gallic acid graph is given in Figure 4.

$$\text{Absorbans}_{(\lambda 730 \text{ nm})} = 0.0014 \times [\text{Gallic acid}]$$

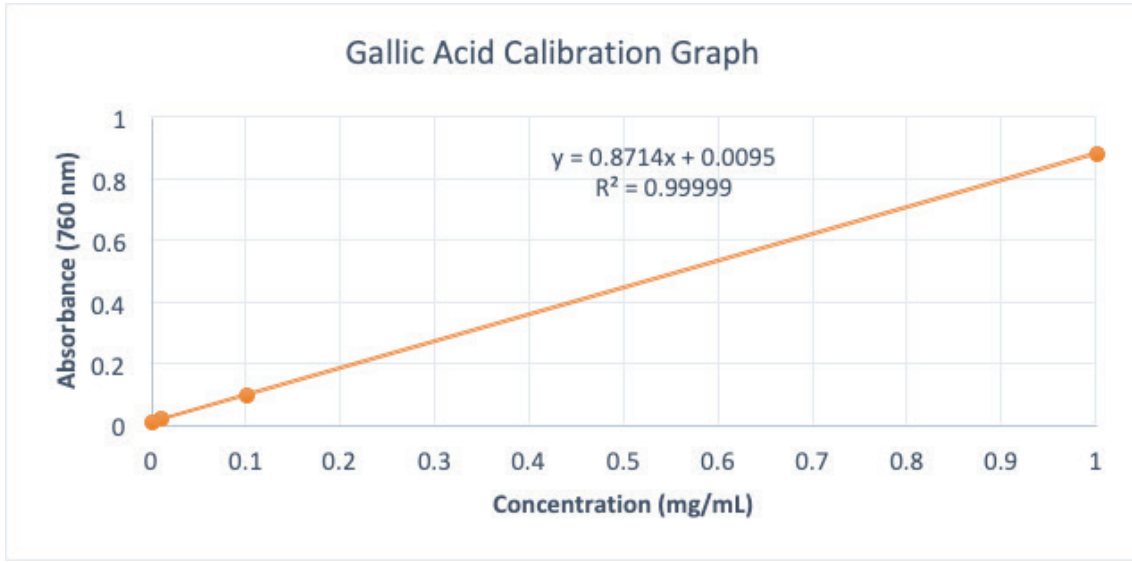


Figure 4. Standard graph using gallic acid for determination of total phenolic compound

The total amount of phenolic compounds in 1 kg of mushroom extracts is given in Table 2. When the total phenolic contents of the extracts were evaluated, *Ramaria sp.* was found to have the highest value.

Table 1. Amount of phenolic compounds in g/kg of mushroom samples

| Mushroom species | Phenolic Component (g/kg) |
|------------------------------------|---------------------------|
| <i>Leatiporus sulphurus</i> | 0.24 |
| <i>Ramaria sp.</i> | 6.57 |
| <i>Cantharellus aerruginascens</i> | 0.81 |
| <i>Verpa conica</i> | 0.79 |
| <i>Verpa bohamica</i> | 1.79 |
| <i>Tricholoma terreum</i> | 0.59 |
| <i>Agaricus sp.</i> | 1.00 |
| <i>Helvella elastica</i> | 1.90 |

Table 2. Vitamin E content of mushroom samples in mg/kg

| Mushroom species | Vitamin E (mg/kg) |
|------------------------------------|-------------------|
| <i>Leatiporus sulphurus</i> | 851.2 |
| <i>Ramaria sp.</i> | 1204.2 |
| <i>Cantharellus aerruginascens</i> | 1370.8 |
| <i>Verpa conica</i> | 7.26 |
| <i>Verpa bohamica</i> | 576.8 |
| <i>Tricholoma terreum</i> | 1127.9 |
| <i>Agaricus sp.</i> | 1444.1 |
| <i>Helvella elastica</i> | 16.7 |



The artificial antioxidant α -tocopherol was used as a standard for the determination of vitamin E in mushroom samples. The amount of vitamin E contained in the samples is shown in Table 3.

The highest value of vitamin E, was found in *Agaricus sp.* (1444.1 mg/kg), *C. aerruginascens* (1370.8 mg/kg) and *Ramaria sp.* (1204.2 mg/kg) respectively (Table 3).

CONCLUSIONS

In this study, methanol-dichloromethane extract of 8 different mushroom species were studied. In our study, antioxidant capacity measurements and vitamin E determination were performed. When the experimental results are evaluated, especially *Ramaria sp.* was found to have high activity in all tests. According to the results of our experiments, it is predicted that the *Ramaria sp.* species has a strong antioxidant effect and therefore may have a good therapeutic effect. But further studies should be done on the isolation and characterization of new compounds from mushrooms, which are responsible for antioxidant and activity.



REFERENCES

- Elmastaş, M., Gülçin, I., Işildak, Ö., Küfrevioğlu, Ö. I., Ibaoglu, K., & Aboul-Enein, H. Y. (2006). Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. *Journal of the Iranian Chemical Society*. <https://doi.org/10.1007/BF03247217>
- Elsayed, E. A., El Enshasy, H., Wadaan, M. A. M., & Aziz, R. (2014). Mushrooms: A potential natural source of anti-inflammatory compounds for medical applications. *Mediators of Inflammation*. <https://doi.org/10.1155/2014/805841>
- Friedman, M. (2016). Mushroom Polysaccharides: Chemistry and Antiobesity, Antidiabetes, Anticancer, and Antibiotic Properties in Cells, Rodents, and Humans. *Foods*. <https://doi.org/10.3390/foods5040080>
- Gallego, P., Rojas, Á., Falcón, G., Carbonero, P., García-Lozano, M. R., Gil, A., ... Del Campo, J. A. (2019). Water-soluble extracts from edible mushrooms (: *Agaricus bisporus*) as inhibitors of hepatitis C viral replication. *Food and Function*, 10(6), 3758–3767. <https://doi.org/10.1039/c9fo00733d>
- Gülçin, I., Sat, I. G., Beydemir, S., & Küfrevioğlu, Ö. I. (2004). Evaluation of the in vitro antioxidant properties of broccoli extracts (*Brassica oleracea* L.). *Italian Journal of Food Science*.
- Gülçin, İlhami. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.09.011>
- Gülçin, İlhami. (2010). Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.07.002>
- Miller, N. J., & Rice-Evans, C. A. (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS+ radical cation assay. *Free Radical Research*. <https://doi.org/10.3109/10715769709097799>
- Oktay, M., Gülçin, I., & Küfrevioğlu, Ö. I. (2003). Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *LWT - Food Science and Technology*. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(02\)00226-8](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(02)00226-8)
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*. <https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Sharma, D., Singh, V. P., & Singh, N. K. (2018). A review on phytochemistry and pharmacology of medicinal as well as poisonous mushrooms. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 18(13), 1095-1109.
- Singh, R. S., Walia, A. K., & Kennedy, J. F. (2019). Mushroom lectins in biomedical research and development. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.180>
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49–55.
- Su, X., Liu, K., Xie, Y., Zhang, M., Wang, Y., Zhao, M., ... Wang, J. (2019). Protective effect of a polyphenols-rich extract from *Inonotus Sanghuang* on bleomycin-induced acute lung injury in mice. *Life Sciences*, 230, 208–217. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.05.074>
- Wu, D., Pae, M., Ren, Z., Guo, Z., Smith, D., & Meydani, S. N. (2007). Dietary Supplementation with White Button Mushroom Enhances Natural Killer Cell Activity in C57BL/6 Mice. *The Journal of Nutrition*, 137(6), 1472–1477. <https://doi.org/10.1093/jn/137.6.147>



Araştırma Makalesi / Research Article Bütünleyici ve Anadolu Tıbbı Dergisi, 1(1): 33-41, 2019

Journal of Integrative and Anatolian Medicine, 1(1): 33-41, 2019

Mühendishâne-i Berrî-i Hümayun'da Okutulan Bir Ders Kitabı

Raşit GÜNDOĞDU 

University of Health Sciences, Istanbul, Turkey

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Raşit GÜNDOĞDU, e-mail rasiitgun@hotmail.com

Osmanlı'da sistematik kimya tedrisatının 1827'de başladığı söylenebilir. Tedrisat, birkaç teşekkül ve müessese istisna tutulacak olursa, tıp öğretimiyle uyumlu olarak olgunlaşmış ve gelişmiştir. Bu bağlamda, Osmanlılar'da kimyayı ilk dönemlerinde tıp ile birlikte tetkik etmek lâzımdır. Osmanlı hekimleri kimyaya ehemmiyet vermişler, hatta belli gayelerle doğrudan birçok hekim kimyayla meşgul olmuştur. 1918'e kadar yardımcı bir ders olan kimya hususunda Türkiye'de modern kimya tedrisatı ise Darülfünun bünyesinde 1918'de kurulan ve ilk amacı "Endüstri Kimyageri" yetiştirmek olan Kimya Enstitüsü'nde başlamıştır (Elmaci, 2014).

Gerek Mühendishâne'de ve gerekse Tıphane-i Amire'de okutulmak üzere tercüme telif olarak pek çok kimya kitabı basılmıştır.

Makalemize konu olan kitap ise Plause ve Fremi taraflarından yazılmış, Mühendishâne-i Berrî-i Hümayûn Hikmet ve Kimya Muallimi Binbaşı İhsan Bey tarafından Türkçe'ye Muhtasar Kimya adıyla tercüme edilmiştir. 1300 (1382-83) tarihinde Tophâne-i Âmi-re Matbaasında basılan eser bir müddet Mühendishâne-i Berrî-i Hümayûn'da ders kitabı olarak okutulmuştur.

Makalemiz ise adı geçen bu kitabın giriş kısmının Osmanlıca orijinalinden latin harflerine aktarılmış şeklidir.

Dibâce

Hamd ü sipâs-ı bî-bedel ol hallâk-ı lem-yezel hazretlerine lâyık ve ahrâdır ki serâ'ir-i kudretinin mahfaza-i hayret-efzâsından biri olan arzın her katre-i âbı bir cism-i kimyevînin ve her zerre-i hâki bir gubâr-ı ma'denînin havâss-ı gûnâ-gûnunu câmi'dir.



Salevât ve tahiyyât ol fahr-i kâinât ve âl ve ashâb ve sâdât hazretlerine ref^ʿ ve ihdâ olunur ki nûr-ı İslâmiyyet ve maʿrifetin şark ü garb anâsırıyla imtizâc ve terkîbine ve zamân-ı câhiliyyetin akvâm-ı mahlûta arasında bıraktığı edyân-ı müteʿaddideden dîn-i mübîn-i İslâm'ın tefrîk ve tahlîline bârika-nümâ-yı ihtimâm oldular.

Baʿdemâ duâ-yı vâcibü'l-edâ-yı pâdişâhî yanî evrâd-ı Abdülhamîd-i Sânî ref^ʿ-i kabûlgâh-ı cenâb-ı ilâhî kılınır ki asr-ı hümâyûnları terakkiyât-ı maârif cihetiyle gıpta-bahşâ-yı eslâf oldu.

Ve himâye-i şâhânelerinde olarak birçok mektebler açılıp ulûm ve fûnûn mülkûn her tarafını tenvîre başladı. Ezcümle Mühendishâne-i Berrî-i Hümâyûn şâkirdânının programları ıslâh ve tanzîm olundu. Ve mekteb-i mezbûr nâzır-ı âlîşânı saâdetlü Mazhar Paşa'nın dahi himmet-i âlem-pesendânesiyle fûnûn-ı mütedâvile-i askeriyenin her kısmı mekteb-i mezbûr derslerine zamm ve ilâve edildi. El-hâsıl askerliğin mevkûfun-aleyhi olan husûsâtın peyâ-pey istikmâline başlandı. İşte şu zamân-ı saʿd-iktirânda mekteb-i mezbûr meclis-i maârifini teşkil eden heyet-i kirâm tarafından dahi şâkirdânı evrâk-ı perîşân üzerine ders kayd ve tahrîri külfetinden kurtarmak ve bu münâsebetle gayb ve zâyiʿ edegeldikleri evkâtı lüzumlu derslerinin müzâkere ve tekrârına hasr eylemek niyyât-ı âliyesi ibrâz buyrulduğundan Plause ve Fremi [و می حرف زولپ] nâmân hekimlerin eser-i ber-güzîdeleri olup eyâdî-i iʿtdibârda tutulan Muhtasar Kimyâ nâm kitâbını dahi bu abd-i kem-bidâʿa yani mekteb-i mezbûr Hikmet ve Kimyâ Muallimi Binbaşı İhsan bendeleri tercüme ile mekteb-i mezkûrun sâli-fü'l-arz meclis-i maârifinin tedkîk ve takdîriyle Tophâne-i Âmire Müşîriyet-i Celîlesi'ne şeref-bahş ve ikbâl olan devletlü Ali Sâib Paşa hazretlerinin huzûr-ı maârif-nüşûr-ı dâver-i efhamîlerine arz ve takdîm eyledim.

Kimyâ Hakkında Mülâhazât-ı Umûmiye

İlm-i kimyâ ecsâm-ı unsuriyye veyâ mürekkebenin yekdiğerleriyle ittihâd ve imtizâclarından husûle gelen ecsâm-ı mürekkebe-i cedîdenin hâiz ve muttasıf oldukları havâss ve keyfiyâtdan bahs edren bir ilimdir.

Cism-i Tabîʿî: Havâss-ı hamse-i zâhirenin biri veyâ birkaçı iânesiyle hiss olunup gayr-ı kâbili't-tenâfûz olan mâddî şeye tesmiye olunur. Her ne zaman muhtelifü'l-cens cisimler yekdiğerine te'sîr ederek alâmât-ı muhtelif ve tebeddülât-ı mütenevviʿa husûle getirirler ki baʿzıları dâʿimî ve baʿzıları muvakkatdır.



Muvakkat olan tebeddülât, ecsâmın yekdiğerlerine te'sîrlerinde mâhiyet ve havâssı aslâ tebeddül etmeyen ecsâmında vukû'a gelir. Meselâ mikdâr-ı kâfî suyu tuz ile derece-i işbâ'a îsâl edip ba'dehû hâvî olduğu su kâmilen izâle olununcaya değin harâretle tebhîr olundukda aslâ tebeddül etmemiş olacağından tuzun tebeddülü muvakkat olmuş olur.

Tebeddülât-ı Dâ'imî: Ecsâmın yekdiğerlerine te'sîrlerinde mâhiyetleri tebeddül ederek havâss-ı cedîde ile muttasıf bir cism-i âhar husûle getirirler ki işbu tebeddül-i dâ'imî olmuş olur. Ecsâmında hikmet-i tabî'yece olan tebeddülât mâhiyet-i zâtiye ve sûret-i teşekkülleri tebeddül etmeksizin kendilerine ârız olan tebeddülâtın ârızî ve sathî olmaklığıdır.

Meselâ bir kehribâr çubuğu çuha parçasıyla delk olunarak ecsâm-ı hafîfeye takrîb olundukda onları cezb etdiğinden burada vukû' bulan keyfiyyet-i delk kehribâra yeni bir hâssa i'tâ etmiş ise de mürûr-ı zamân ile mezkûr hâssa külliye zâ'il olarak kehribârın mâhiyet ve hakîkati tebeddül ve tegayyür olunmadığından yalnız hikmet-i tabî'yece bir tebeddülât vukû'a gelmişdir. Tebeddülât-ı kimyeviye ise bi'l-aks ecsâmın sûret-i teşekkülleri tegayyürât-ı külliye ile fark ve temyîz olunur derecede sikletleriyle sâir husûsât-ı zâtiyeleri külliye tegayyür etmesidir.

Meselâ bir demir levha rutûbetli havaya terk olunduğu vakitte demire bir donukluk gelip üzerini kırmızı bir zar kaplar ve bu halde sikleti dahi fark olunur derecede tezâyüd edip havânın hâvî olduğu müvellidü'l-humûza (oksijen) ve su buhârıyla ittihâd ve imtizâc ve mezkûr demir havâss-ı cedîde ile kesb-i ittisâf ederek hâssa-i zâtiyesini zâyi' birle humz-ı hadîd-i mâ' [Oksid dö fer idrate (OXYDE DE FER HYDRATÈ)] hâline münkalib olduğundan bu sûretde vukû'a gelen tebeddülât dâ'imî olup demirin muttasıf olduğu havâss-ı cedîde dahi alâ'im-i kimyeviyyeden ibâret olmuş olur. Ecsâmın yekdiğerlerine te'sîri hengâmında alâ'im-i hükmiye ve kimyeviye birlikde olarak müşâhede olunur. Ezcümle bir mikdâr fosfor (PHOSHPORE) müvellidü'l-humûza derûnunda ihrâk olundukda beyâz renkle ve hâmız-ı hâssasına mâlik ve hâmız-ı fosfor denilen bir cism-i mürekkeb tekevün edip mezbûr hâmız-ı fosforun zuhûru ânında müşâhede olunan harâret ve zıyâ alâ'im-i hükmiyeden olup ve mezkûr hâmız dahi alâ'im-i kimyeviyyeden ibâret olmuş olur. Bu sûretde kimyâger bulunan zevât hâmız-ı fosfor cismiyle meşğûl olarak havâssını imtizân ve ecsâm-ı sâ'ire ile ihdâs eylediği mürekkebâtı ve cism-i mezkûr anâsırlarının nisbetlerini tahkîk ve ta'yîn ile işğâl ve hikmet-i tabî'ye erbâbı ise bi'l-aks nazar ve dikkatlerini fosforun ihtirâkı esnâsında alâ'im-i kimyeviyyeden sarf-ı nazarla alâ'im-i hükmiyeden olan zıyâlarıyla harâret



üzerine hasr ederler. Şu mebhasden anlaşıldığına göre hikmet-i tabî'ye ile kimyâ beyinde münâsebât-ı kesîre mevcûd olup lâkin bu iki ilmin her birine âid olan tebeddülât ve alâmâtı yekdiğerinden tefrîk etmek âsândır.

Ecsâmın Havâss-ı Muhtelifesi

Kimyâda maksad aslî olan ecsâmın tamâmıyla hâl ve şânını teşhîs ve ta'yîn edebil-
mek için hâssalarının ma'lûm olmasına mütevakıf olduğundan havâss-ı ecsâm ber-vech-i
âti üç sınıfa taksîm olunur.

Birincisi; Havâss-ı hükmiyye-i tabî'ye, ikincisi; havâss-ı kimyeviye, Üçüncüsü;
[Organo Leptik (ORGANO LEPTIQUE)] zî-rûha dâir olan havâss olduğundan her birerleri
ber- vech-i zîr ta'dâd ve ta'rîf olunurlar.

Birincisi, ecsâmın yekdiğerlerine te'sîrlerinde tabî'atlerine hâlel gelmemek şartıyla
vukû'a gelen âsâra havâss-ı hükmiye tesmiye olunur. Onlar dahi kesâfet ve harâret-i izâfiye
ve şekl-i kristâliyet ve suda münhall olması ve müzâb ve sertliği ve parlaklığı ve kuvve-i
incirâriyye ve tetarrukiyye ve irtibâtiyye ve hâkezâ...

İkincisi, ecsâmın yekdiğerlerine te'sîrlerinde tabî'atlerine hâlel gelmek şartıyla
vukû'a gelen âsâra havâss-ı kimyeviyye tesmiye olunur. Meselâ müvellidü'l-humûzanın
klor ve kükürt ve azot ve fosfor ve hâkezâ... ecsâm-ı sâ'ireye icrâ eylediği tesîrâta ta'bîr
olunur.

Üçüncüsü, zîrûha olan te'sîrlerine dâir havâss olup bu da kuvve-i şâmme ve kuv-
ve-i zâ'ika ve kuvve-i lâmise ve kuvve-i bâsıra ile hiss olunur. Meselâ: Ecsâmın yekdiğerine
nazaran sertliği kuvve-i lâmise ile anlaşıldığı gibi kerîh ve latîf râyihalı olan ecsâm dahi
kuvve-i şâmme ile anlaşılabilir. Zikr olunan havâssdan üçüncü hâssayı meşhûr kimyâger
Mösyö [Şevrol (CHEVREUEL)] sâ'ir kimyâgerlerin nazar-ı dikkatlerini celb etmek için
ecsâmın hükmi ve kimyevî hâssalarından fark ve temyîz etmiştir.

Ecsâm-ı Basîta ve Mürekkebe

Ecsâm iki kısım olup birine ecsâm-ı basîta ve diğeri ecsâm-ı mürekkebe tesmiye
olunur. Ecsâm-ı basîta şimdiye kadar ilmin irâ'e ettiği vesâ'it yani ameliyât-ı kimyeviye
ve ecârib-i kesîre ile tahlîl olunarak kendilerinin havâss ve keyfiyetlerine müşâbih olarak
bir cism- i âhar istihsâli mümkün olmayan cisimlerdir. Mesela ecsâm-ı basîtadan olan kü-



kürt her ne kadar vesâit-i müte‘addide ile muâmele olursa yine kendisinin havâssına gayr-ı müşâbih olarak ondan âhar bir cisim husûel getirilemez. Bir cismin basît olup olmadığı husûsu yalnız sebkât eden tarîfe ittibâ‘an hükm olunamaz. Çünkü cism-i mebhûsün mürûr-ı zamân ile malûm olmayan bir vâsita ile tahlîl olunarak mürekkebe bir cisim olması ihtimali vardır. Ecsâm-ı mürekkebe ecsâm- ı basîta veya mürekkebenin yekdiğerleriyle ittihâd ve imtizâclarından hâsıl olan cisimler olup amelîyât-ı kimyeviye ve tecrübeler vâsıtasıyla havâss ve keyfiyyât cihetiyle kendilerine gayr- ı müşâbih olarak bir cism-i âharın istihsâli kâbil olan cisimlerdir.

Meselâ ecsâm-ı mürekkebeden humz-ı zibak [Oksid Dö Merkur (OXYDE DE MERCURE)] tesmiye olunan cisim kendisinin havâss ve keyfiyyâtına mugâyir olarak müvellidü’l-humûza ile cıvadan ibâret olan iki cism-i unsura tahlîl ve tefrîk olunabilir. Ecsâm- ı mürekkebe iki cism-i unsura tahlîl olduğu misillü ba‘zı cism-i mürekkebler vardır ki biri basît ve diğeri mürekkebe olarak iki cisme tahlîl olunurlar. Ve bir cism-i mürekkebin anâsırı ol cismin tahlîli [analiz (ANALYSE)] icrâ olunarak ta‘yîn olduğu misillü ecsâm-ı basîtanın yekdiğeriyle terkîbi [sentez (SYNTÈSE)] dahi bi’l-kimyâ imtizâc etdirilerek husûle getirilir.

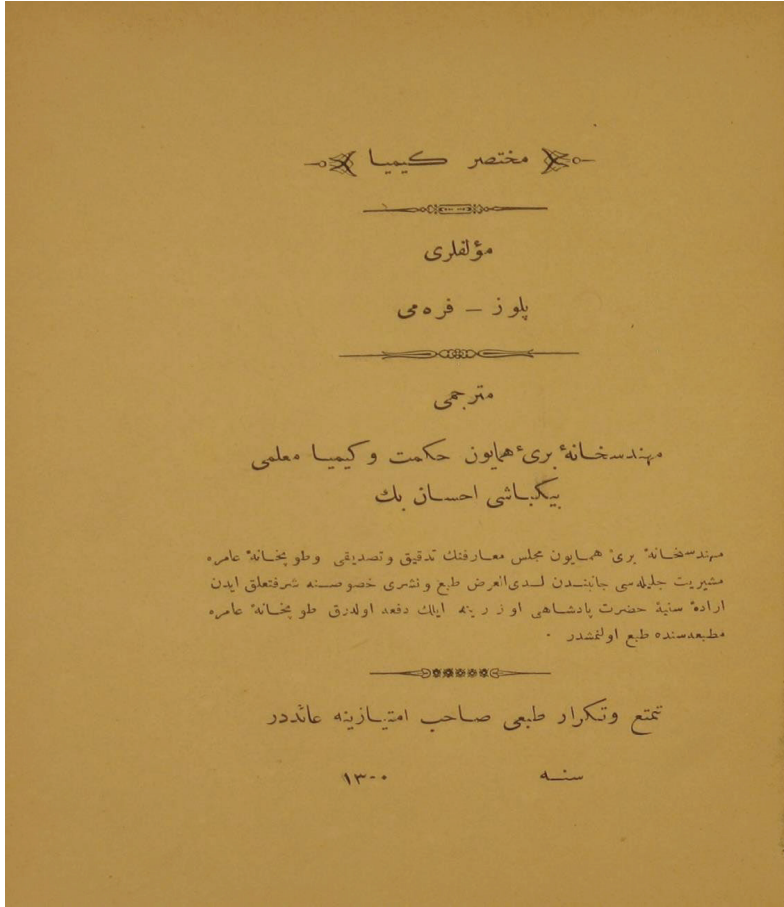
Ecsâmın Kâbil-i İnkısâm Olması

Kâffe-i ecsâmın ancak hurdebîn i‘ânesiyle rü‘yet olunabilir râddede rakîk ve dakîk olarak taksîmi kâbil olduğu tecârib-i adîde ile tebeyyün etmiştir.

Şu kadar var ki ecsâmın bundan ziyâde bi’l-fil taksîmi kabûl edip etmeyecekleri meselesi bir hayli vakitden beri deverân etmektedir. İmdî ecsâm âlât ve edevâtdan herhangi biri vâsıtasıyla kâbil-i taksîm olmayan bir takım zerrâtdan müşekkel bulunduğu husûsunda bi’l- cümle kimyâgerler nazariyâtının ifâdâtı müttehid olduğundan mesele-i mebhûseye dahi netice verilmiş nazariyâla bakılabilir. İşte ecsâmın bu vechile derece-i gâyete değin taksîm olunarak en nihâyetde bulunan cüz-i lâ-yetecezzâsına [Atom (ATOMES)] veyâhud cevher-i ferd [Molekül (MOLÈCULE)] ismi verilmiş olduğundan bir cism-i sabîtin molekülü ayn-ı cüzlerden müşekkel olup halbuki bir cism-i mürekkebe ne kadar anâsır-ı muhtelifeyi câmi‘ bulunur. Mesela humz-ı zibak [Oksid Dö Merkur (OXYDE DE MERCURE)]ın molekülü bir cevher-i ferd müvellidü’l-humûza [oksijen (OXYGÈNE)] ile cevher-i ferd-i zibak [Merkur (MERCURE)]ı hâvî olup ve fakat humz-ı ahîrin molakülü birbirlerine müşâbihdirler.



Muhtasar Kimyâ (Kapak)



Muhtasar Kimyâ (Jenerik Sahifesi)



Halkalı Zirâat Mektebi'nin Kimyâhânesi



Halkalı Zirâat Mektebinin Kimyâ Dershânesi



KAYNAKLAR

Elmaci, İ. (2014). Kimya Tedrisatı ve Kimya Sanayii Gelişim Sürecinde Kimyager, Kimya An-nalı, Kimya ve Sanayi Mecmuaları. *Dört Öge*, 6, 145–164.



Derleme Makale / Review Article Bütünleyici ve Anadolu Tıbbı Dergisi, 1(1): 42-54, 2019

Journal of Integrative and Anatolian Medicine, 1(1): 42-54, 2019

Deniz Yumuşakçalarından Elde Edilen Doğal Bileşiklere Dair Güncel Gelişmeler

Tuğba Buse AVCI^{1,2*} , Zafer Ömer ÖZDEMİR^{1,3} 

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

²Acıbadem Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi

³Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Eczacılık Fakültesi

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Tuğba Buse AVCI, e-mail: tugbabaseavci34@gmail.com

ÖZET

Mollusca (Yumuşakça) Arthropoda'dan sonra en zengin tür sayısına sahip filumdur. Tür sayısındaki çeşitlilik, çok çeşitli morfolojileri ve ekolojik nişleri, kazanılmış immünolojik hafızaları bulunmadığı için çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmeleri ve aydınlatılmamış çok sayıda aktif bileşiği bu grubu doğal ürün kimyası araştırmaları ve yeni ilaç keşfi için iyi bir aday haline getirmektedir. Deniz canlıları, özellikle yumuşakçalar, henüz keşfedilmemiş pek çok sekonder metabolit barındırdıkları için, büyük bir potansiyel barındırmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, yumuşakça kimyası bilgimizdeki ana boşlukları tamamlamak için yumuşakça sekonder metabolitleri hakkındaki güncel literatürü incelemektir. Bu sayede, doğal ürün kimyası alanında gelecekte yapılacak araştırmalara katkı sağlanarak, hedeflerin iyileştirilmesine yardımcı olma imkânı doğacaktır.

Anahtar kelimeler: Yumuşakça, Sekonder metabolit, Antimikrobiyal peptitler, Doğal Ürün Kimyası

Recent Developments in Natural Compounds Obtained from Marine Molluscs

ABSTRACT

Mollusca is the phylum which has the richest number of species after Arthropoda. Diversity in species number, diverse morphology and ecological niches, lack of acquired immunological memories and the development of various defense mechanisms and a large number of unexplored active compounds make this group a good candidate for natural product chemistry research and new drug discovery. Marine organisms, especially mollusca, have great potential as they contain many secondary metabolites that have not yet been discovered.

The aim of this study is to examine the current literature on mollusca secondary metabolites to complement the main gaps in our knowledge of mollusca chemistry. In this way, by contributing to future research in the field of natural product chemistry, it will be possible to help improve the targets.

Key words: Mollusca, Secondary metabolites, Antimicrobial peptides, Natural product chemistry



GİRİŞ

Mollusca filumu, sekiz ayrı sınıfa sahip muazzam bir tür çeşitliliğini temsil etmektedir. Çoğunluğu sucul olup, deniz ve okyanuslarda yaşarlar. Bazıları ise karasaldir.

Yumuşakçaların çeşitli taksonlardaki aktif maddeleri tipik olarak bilinmese de, çok çeşitli geleneksel doğal ilaçlarda belirgin olarak bulunmaktadır (A. Kumar & Jaitak, 2019). Genel sekonder metabolitler, sadece küçük bir oranda (<% 1) yumuşakça türlerinde araştırılmıştır. Bugün ise yumuşakçalardan keşfedilen moleküllerin biyoaktivitesine ilgi gittikçe artmaktadır (Ganesan et al., 2019).

Tarih boyunca yumuşakçalar, çok çeşitli alanlarda (yiyecek, kabuk, boya, tıbbi ürün vs.) kaynak olarak kullanılmışlardır. Birçok kültürde kabuklu Gastropodlar ve çift kabuklular, leziz veya sağlıklı bir yiyecek olarak kabul edilirler ayrıca çeşitli geleneksel doğal çözümlere sahiptirler. Birkaç tür, çevre temizliğinde temizleyici ve kirlilik indikatörü olarak görev yapmaktadır (Kimbrough, Johnson, Lauenstein, Christensen, & Apeti, 2008; Pati, Sahu, & Panigrahy, 2015).

Tüm omurgasızlar gibi, yumuşakçaların da kazanılmış bir immünolojik hafızası yoktur. Bu durum, yumuşakçaların kendilerini mikrobik istila saldırılarına karşı korumak için alternatif savunma stratejileri geliştirdiğini göstermektedir. Doğal seleksiyon baskısı altında, yumuşakçalarda bir dizi farklı antibakteriyel, antifungal, antiparaziter ve antiviral sekonder metabolit gelişmiştir (Sousa & Hinzmann, 2019).

Yumuşakçaların ayrıca iletişim sistemlerinin ve savunma salgılarının bir parçası olarak sekonder metabolitleri kullandıkları gösterilmiştir. Farklı çevresel ve biyolojik baskılar altında gelişen yumuşakça gruplarında farklı kimyasal yapıların oluşacağı tahmin edilebilir. Bu durum, gelecekteki ilaç keşfi için çok fazla alan yaratmaktadır (Sousa & Hinzmann, 2019).

Bu makale gelecekteki araştırmalara ışık tutabilmek adına yumuşakçalar ile yapılan çalışmaların ve mevcut potansiyelin bir değerlendirmesini sunulmaktadır.

1. Molluscan Biyolojik Çeşitliliği

Yumuşakçalar, canlı hayvanların yaklaşık % 7'sini oluşturan, dünyadaki en büyük ikinci hayvan filumudur. Şu anda, yaklaşık 52.000 adlandırılmış deniz yumuşakça türü ve tahminen 100.000–200.000 tür çeşitliliği bulunmaktadır.

Filogenetik olarak yumuşakçaların sınıfları: Gastropoda, Bivalvia, Scaphopoda, Cephalopoda, Polyplacophora, Monoplacophora, Caudofoveata ve Solenogastres'dir. Yumuşakça çeşitliliğinin yaklaşık % 90'ı, tahmini 75.000-150.000 tür bulunan Gastropoda'da bulunur. Bivalvialar, deniz ve tatlı su habitatlarında bulunan yaklaşık 10.000-20.000 tür içeren bir sonraki en çeşitli sınıftır (Benkendorff, 2010).



1. 1. Küçük sınıflar

Monoplacophorans ve Aplacophorans, bugüne kadar herhangi bir kimyasal çalışmaya tabi tutulmamıştır.

Bu gruplar üzerindeki biyolojik bilginin yetersizliği ve hepsinin nispeten küçük beden büyüklüğüne sahip derin deniz organizmaları olduğu düşünülürse bu şaşırtıcı değildir. Az sayıdaki yaşam temsilcisiyle Monoplacophora, mevcut örnekler ilk keşfedildiğinde, kuramsal atalara en yakın oldukları öne sürüldüğü için çok fazla heyecan uyandırmıştır. Bununla birlikte, daha yeni yapılan araştırmalar, evrensel olarak kabul edilmese de ataların daha çok Aplacophoran benzeri olduğunu göstermektedir (Benkendorff, 2010).

Aplacophora, kabuğu olmayan solucan biçimli yumuşakçalardır ancak kalkerli spiküllerle gömülü bir kütikül ile kaplanmıştır. Diğer iki yumuşakça sınıfı olan Polyplacophora ve Scaphopoda da doğal ürünler literatüründe ihmal edilmiştir. Scaphopoda araştırma için zordur, çünkü tamamen tortuya gömülü olarak yaşamaktadır.

1. 2. Cephalopoda

Tür zenginliği açısından küçük sınıflardan biri olmasına rağmen, Cephalopoda birçok ilginç kimyasal çalışmaya tabi tutulmuştur.

Mürekkep salgılamak bir Cephalopod kimyasal savunma mekanizması olmasına rağmen, çok gelişmiş davranışları, kamufajları ve hızlı hareket etme yeteneklerinin, yırtıcılara karşı kimyasal savunma ihtiyacını azalttığı varsayılmıştır. Ayrıca, mikrobiyal yönden zengin deniz ortamındaki patojenlere karşı savunmasız kalırlar.

Bugüne kadar Cephalopod zehirinden izole edilen sekonder metabolitler arasında tetrodotoksin, peptidler ve biyojenik aminler bulunmaktadır (Lopes, Rosa, & Costa, 2018).

Zehirlere ek olarak, Cephalopoda'dan başka çeşitli doğal ürünler de izole edilmiştir. Bunlar arasında mürekkep balığı *Sepia officinalis* mürekkebinin sitotoksik tirozinazının yanı sıra yumurtalık jöle peptidleri ve ahtapot *Octopus vulgaris* beyninden izole edilen yeni kardiyoaktif peptit bulunur (Kanda & Minakata, 2006; P. Kumar, Kannan, ArunPrasanna, Vaseeharan, & Vijayakumar, 2018; Russo et al., 2003). Ayrıca *Octopus vulgaris*'in sindirim sistemi üzerindeki araştırmalarda oldukça ilgi çekicidir (Bastos, Fracalossi, Chimal, Sánchez, & Rosas, 2020).

1.3. Bivalvia

İkinci en büyük yumuşakça sınıfı Bivalvia, kimyasal çalışmalarda nispeten iyi temsil edilir. Antimikrobiyal savunma faktörlerinin çift kabuklular gibi kabuklu yumuşakçalarda tespiti, biyosentezi ve bu biyoaktif bileşiklerin regüle edilmiş ekspresyonunu son araştırmalara konu olmuştur. *Mytilus galloprovincialis* ile yapılan bir çalışmada, bu canlıdaki antimikrobiyal peptit (AMP) çeşitliliği ortaya konulmuştur (Lv, Zhao, Yang, Wu, & Cong, 2019) the tissue distribution and antimicrobial activities of mytimacin-4 were further investigated. A qRT-PCR analysis revealed that mytimacin-4 transcripts were constitutively expressed in all of the tested tissues of *M. galloprovincialis*, with the highest expression level in the posterior adductor muscle. After



challenge by *Vibrio anguillarum*, the expression level of mytimacin-4 gene was significantly increased at 24 h ($P < 0.05$). İlginç bir şekilde, bu peptidlerin bazıları yapısal olarak ifade edilirken, bazıları sadece bakteri ile enfeksiyondan sonra uyarılmaktadır. Benzer şekilde, *Argopecten irradians*'larından gelen bir antimikrobiyal protein, bakteri tehdidinden sonra ivme kazanmaktadır (Wang, Wang, Liu, Jiang, & Wang, 2019).

1.4. Gastropoda

Yüksek tür çeşitliliğine sahip Gastropodlar bu sayede doğal ürün çalışmalarında en çok çalışılan yumuşakça sınıfıdır. Nispeten fazla sayıda bileşik izole edilmiş olsa da çalışmalara dahil edilen türlerin sayısı olası havuzun sadece küçük bir kısmını temsil etmektedir.

Sürünerek hareket eden Gastropoda üyeleri su ortamındaki ağır metal kirliliği ve radyoaktivite çalışmaları için çalışılmaktadırlar (El-Sorogy, Alharbi, Almadani, & Al-Hashim, 2019)

2. Mollusca Kimyasal Çeşitliliği ve Sekonder Metabolitlere Dair Çalışmalar

Okyanuslarda, karasal mikroorganizma sayısından çok daha fazla, 200 milyon mikroorganizma türü olduğu ve sekonder metabolitlerin deniz mikroorganizmaları kaynaklı olanlarının da karasal olanlardan çok daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir.

Deniz yumuşakçaları, yeni doğal ürünlerin izole edilmesini ve tanımlanmasını amaçlayan birçok kimyasal çalışmanın odağı haline gelmiştir. Doğal ürünlerin sentetik ürünlere karşı avantajları; düşük geliştirme maliyetleri, yaygın erişilebilirlik ve azaltılmış yan etkiler olarak sayılabilir.

Son 30 yılda, molluscan sekonder metabolitleri üzerine 1000'in üzerinde araştırma makalesi yayınlanmıştır. Alam ve Thomson (1998), deniz yumuşakçalarından izole edilen 585 metabolitin ayrıntılarını içeren değerli bir referans kitabı derlemiştir. Bundan daha önce, Baker ve Murphy (1976, 1981), 'Deniz Organizmalarından Bileşikler' adlı kitapta 148 yumuşakça metaboliti hakkında bilgi toplamıştır. Faulkner, doğal deniz ürünleri yıllık incelemesine yumuşakçaları da ekleyerek 199 türden toplam 729 bileşik rapor etmiştir. Bu incelemelere son yıllarda Blunt ve arkadaşları 75 türden 190 ayrı bileşik daha bildirmiştir. Cimino ve Gavagnin (2006), Antarktika, Güney Afrika ve Güney Amerika'daki deniz Gastropodlarından sekonder metabolitler hakkındaki bölümler de dahil olmak üzere deniz yumuşakçalarının kimyası ve biyoteknolojisinin modern bir incelemesini sunmuştur (Avila, 2006; Benkendorff, 2010; Öztürk, Doğan, Bitlis-Bakir, & Salman, 2014).

Deniz organizmaları, karasal organizmalar arasında bulunmayan, tuz ve soğuğa karşı dayanıklılık, yüksek basınç ve geçirgenliğe karşı direnç, fotosentez, azot fiksasyonu, biyoluminesans ve biyomanyetizma gibi özelliklere ulaşmışlardır. Deniz biyoteknolojisi, bu eşsiz özellikleri incelemek için yeni araçlar ve zorlu koşullar altında yeni deniz biyolojik kaynaklarının keşfedilmesi için güçlü teknolojik destekleri sağlamıştır. Enzimler, ekopolimerler, sekonder metabolitler ve fermentasyon mühendisliği tarafından elde edilebilecek diğer değerli metabolitler gibi çok miktarda ürün nedeniyle deniz mikroorganizmalarının araştırılması ve kullanılması çok önemlidir.

Yumuşakçalardan izole edilen deniz doğal ürünleri (Marine Natural Products, MNP) pek çok tıbbi etki için çalışılmıştır. Bu çalışmaların en önemli basamaklarından birini kanser üzerine



yürütülen çalışmalar oluşturmaktadır. Kanser giderek artan sayıda insanı etkileyen ölümcül bir hastalıktır. Mevcut tedavilerin kanser için radikal tedavi sağlayamamaları ve sahip oldukları yan etkiler antikanser ajan arayışını güncel tutmaktadır. Birçok deniz sekonder metaboliti, antikanser ajanlar olarak kullanım için biyoaktivite göstermiştir (Wali et al., 2019).

Tyrindoleninone, bazı kanser hücrelerinde apoptozu indükleyerek antikanser etki gösteren bromlu bir indoldür. Gastropodlardan *Dicathis* türünden elde edilmektedir. *Dicathis* orbita, antikanser özelliklerine sahip biyoaktif bileşikler ürettiği bilinen büyük bir Avustralya deniz Gastropodudur (Esmaelian, Benkendorff, Johnston, & Abbott, 2013).

Dicathis orbita'dan elde edilen tyrindoleninone ve 6-bromoisotinin antikanser özellikleri, fizyolojik olarak normal primer insan granuloza hücreleri (Human Granulosa Cell, HGC) ve üreme kanseri hücre hatlarına karşı test edilmiştir (Kaviarasan, Siva, & Yogamoorthi, 2012) C.B., McIver, C.M., Abbott, C.A., Le Leu, R.K. and Benkendorff, K., Enhanced acute apoptotic response to azoxymethane-induced DNA damage in rodent colonic epithelium by Tyrian purple precursors: A potential colorectal cancer chemopreventative. *Cancer Biol Ther* 2010; 9(5).

Tümör büyümesinin hücrelerin, hücre proliferasyonu ve apoptozis arasındaki normal dengeyi kaybetmesi durumunda meydana geldiği genel olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, kanser kemoterapisi antiproliferatif stratejilere odaklanmıştır. Spisulosine ES-285, İspanya Pharmamar grubu tarafından *Spisula polynyma* istiridyyesinden izole edilen antiproliferatif bir bileşiktir. 2008 yılında yapılan bir çalışmada prostat tümör hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Sánchez et al., 2008).

Hindistan okyanusundaki deniztavşanı *Dolabella auricularia*'dan 1987'de Pettit ve arkadaşları tarafından izole edilen Dolastatin 10, kanser için umut vadeden özellikler göstermektedir. Dolastatin 10 güçlü antiproliferatif aktiviteye sahiptir ve Dolastatin 15 ile kanser hücrelerini hedefleyerek mitotik hücre bölünmesini inhibe edebilmekte, göğüs ve karaciğer kanseri, katı tümörler ve bazı lösemiler için prelinik deneylerde kullanılmaktadır. Ancak güçlü yan etkiler nedeniyle henüz antikanser ajanlar olarak onaylanmamışlardır (Yokosaka et al., 2018).

Kahalalide F, Hawaii yumuşakçası *Elysia rufescens*den izole edilen antikanser bir ajandır. Yapısında oldukça aktif yaklaşık 7 peptid yer almaktadır. Klinik öncesi çalışmalar küçük hücreli akciğer kanseri, prostat, meme, yumurtalık ve kolon karsinomlarına karşı Kahalalide F'nin güçlü aktivitesini göstermiştir (M. Letizia Ciavatta et al., 2016).

Kanser hücrelerinde lizozomal indüksiyonla onkoz ve hücre membranı permeabilizasyonuna neden olmaktadır. Lizozomal zarların işlevini değiştirmesi onu bilinen tüm antitümör ajanlardan ayıran bir mekanizmadır. Ayrıca DNA replikasyonu ve hücre proliferasyonunu kapsayan bazı özel genlerdeki ekspresyonu inhibe etmektedir. Böylece tümör büyümesini engellemektedir.

Keenamide A, *Pleurobranchus forskalii* deniz yumuşakçasından elde edilen yeni sitotoksik heksapeptid bir ajandır. P-388, A-549, MEL-20 ve HT-29 tümör hücrelerine karşı önemli bir aktivite sergilemektedir. Yine aynı canlıdan ergosinin izole edilmiştir. Ergosinin, deniz yaşamında bulunan ilk ergot peptid alkaloididir (Wakimoto, Tan, & Abe, 2013).

Lamellarins gibi alkaloidler heksasiklik pirol alkaloid ailesinin üyeleri olup deniz yumuşakçalarından elde edilmektedirler. Potansiyel sitotoksik ajan olarak antitümoral aktivite için umut vaat edici bileşiklerdir. Araştırmalar topoizomeras 1 inhibisyonu, direkt mitokondriyi et-



kilemek gibi multipl bir mekanizma ile apoptotik hücre ölümünü indüklediklerini göstermiştir. Yine Asya deniz yumuşakçası Turbo stenogyrusdan izole edilen Turbostatins 1-4 in antikanser potansiyele sahip olduğu bulunmuştur (Maria Letizia Ciavatta et al., 2017)

Fucoidan, farklı kahverengi alg türlerinde ve bazı hayvanlarda bulunan, antikanser özellikleri dikkat çeken doğal bir bileşiktir. Polimer ilk olarak 1913'te Kylin tarafından izole edilmiştir. Birçok rapor, fucoidanın hücre döngüsünün G1 fazını durdurarak kanser hücrelerini öldürme yeteneğini doğrulamıştır (Etman, Elnaggar, & Abdallah, 2019). Bazı türlerde, sülfatlanmış fucans omurgası farklı şekerler, fukoz veya üronik asitten oluşan dallanma içerir. Dallanma ve heterojen biyokimyasal özellikler nedeniyle molekülü bir bütün olarak incelemek ve tek bir molekül olarak çalışmak çok zordur. Çalışmaların çoğu, tüm molekülün biyolojik aktivitesini anlamayı engelleyerek kendilerini yüksek oranda saflaştırılmış fraksiyonlarla sınırlandırır. Bununla birlikte, tam olarak etki mekanizması bilinmemektedir. Multipotent karakteri gelecekteki antikanser tedavisinde umut vericidir. Fucoidan'ın deniz yosunu türlerinden yapı-aktivite ilişkisine dair daha spesifik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Polisakkarit ayrıca antimikrobiyal, antiviral, antienflamatuar ve antiplaklama aktivitesi gibi çeşitli aktiviteler göstermiştir. Bu faaliyetlerin kapsamının esas olarak moleküler yapı, şeker tipi, sülfatlama derecesi ve konumu, molekül ağırlığı ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Etman et al., 2019).

Deniz organizmalarında antimikrobiyal aktiviteyi belirlemeye yönelik çalışmalar 1950'lerde başlamıştır. Tüm deniz organizmaları antimikrobiyal etkili sekonder metabolitler üretme potansiyeline sahip olmalarına rağmen, özellikle Gastropodlar, umut verici antimikrobiyal sekonder metabolitlere sahip yumurta kapsüllerinden dolayı oldukça değerlidir. Prosobranchlar yumurta kapsülü üreten gastropodlar arasında en göze çarpan gruptur. Gastropod yumurta kapsülü, kapsül içindeki embriyoları koruma fonksiyonu nedeniyle antimikrobiyal aktivite gösteren çok sayıda aktif sekonder metabolit içermektedir. Kabiramid C, Aplysianin E, Aplysianin A, Thisaplysianin E ve Tyrian moru, çeşitli gastropodların yumurta kapsülünde belgelenmiştir (Kaviarasan et al., 2012)C.B., McIver, C.M., Abbott, C.A., Le Leu, R.K. and Benkendorff, K., Enhanced acute apoptotic response to azoxymethane-induced DNA damage in rodent colonic epithelium by Tyrian purple precursors: A potential colorectal cancer chemopreventative. Cancer Biol Ther 2010; 9(5).

İki Gastropod Conus betulinus ve Conus inscriptus'un etanol, metanol ve aseton özü, patojen bakterilere karşı antibakteriyel aktivite açısından test edilmiştir. İki gastropod arasında Conus betulinus, Conus inscriptus'unkinden daha fazla antibakteriyel aktivite göstermiştir. Bu araştırma, gastropod Conus betulinus dokusunun, yüksek kaliteli antibakteriyel bileşikler nedeniyle tıbbi değere sahip olduğunu göstermektedir (Periyasamy, Arularasan, & Gayathri, 2012).

Muricidae, Tyrian moru ve biyoaktif öncü bileşiklerin üretimi için bilinen deniz yumuşakçalarıdır. Fenikeliler ünlü "Tyrian mor" isimli boyayı üretmek için 500 yıldan fazla bir süredir Gastropod yumuşakçaları kullanmaktadır. Bu boya karışık brom ikame edilmiş indigo ve indirubin izomerlerinden oluşmaktadır (Kaviarasan et al., 2012)C.B., McIver, C.M., Abbott, C.A., Le Leu, R.K. and Benkendorff, K., Enhanced acute apoptotic response to azoxymethane-induced DNA damage in rodent colonic epithelium by Tyrian purple precursors: A potential colorectal cancer chemopreventative. Cancer Biol Ther 2010; 9(5).



Muricidae kolin esterleri, belirgin nöromusküler blokaj aktivitesi göstermektedir ve bu yırtıcı yumuşakçalar tarafından avın felç edilmesinde rol oynamaktadır. Muricidae ekstreleri gibi ticari kullanım ve klinik denemeler için, yeni deniz doğal ürünlerinin kalite kontrolü, onaylanmış ölçüm kapasitesine sahip ve yeniden üretilebilir analitik yöntemleri gerektirmektedir (Valles-Regino, Mouatt, Rudd, Yee, & Benkendorff, 2016).

Murexine veya urocanylcholine, Murex trunculus ve diğer prosobranchiate yumuşakçalarının hipobranşiyal bezlerinde büyük miktarlarda bulunan, doğal olarak oluşan bir kolin esteridir. Omurgalılarda ve omurgasızlarda, belirgin nöromusküler blokaj ve nikotinik etkilere sahip olduğu, ancak neredeyse muskarinik etkilerden yoksun olduğu bulunmuştur. Murexine'nin bloke edici etkisi, deneysel ve klinik kanıtlara dayanarak, "depolarizing" tipinde kabul edilmiştir. Bununla birlikte, bu bileşik güçlü bir kas gevşetici olduğundan, yumurta biriktirme sırasında üreme kanalını gevşetmeye yardımcı olabilmektedir (Rudd et al., 2015).

Deniz organizmaları, bazı kas-iskelet sistemi rahatsızlıkları da dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisine yardımcı olabilecek çok çeşitli biyoaktif madde rezervini temsil etmektedir (Prokopov et al., 2019)

Osteoporoz, geniş hastalık yükü ve mevcut tedavi seçeneklerinin verimsizliği nedeniyle yeni ve etkili bir deniz bazlı tedaviye ihtiyaç duymaktadır. Osteojenik biyoaktifler, birçok deniz organizmasından izole edilmiştir. Genellikle kahverengi alglerden elde edilen sülfatlanmış polisakkarit fucoidan bunlardan biridir. Bu tür ekstrelerin ve bileşiklerin, osteoblast aktivite ve mineralizasyonun uyarılmasının yanı sıra osteoklast rezorpsiyonunun bastırılması dahil çeşitli osteojenik etkileri olduğu bilinmektedir (Carson & Clarke, 2018).

İnflamasyon vasküler sistemin kompleks bir yanıtıdır ve birçok hastalıkla ilişkilidir (dermatit, artrit, kalp ve koroner rahatsızlıklar vs). Enflamuar süreçlere çoğunlukla ağrı eşlik etmektedir. Bu nedenle piyasadaki ilaçlar bazı yan etkilere sahip steroid ve nonsteroid ağrı kesici ve antiinflamatuvar ilaçlardır. Daha az yan etkiye sahip ilaç arayışı için son 30 yılda iyi bir ilerleme kaydedilmiştir.

Conus magus isimli gastropodun koni kabuklarından elde edilen sekonder metabolit yan etki oluşturmadan morfinden 1000 kez fazla analjezik potansiyele sahiptir (Pati et al., 2015).

Deniz tavşanları, kabuksuz yumuşakçalar olarak kabul edilmektedir. Fiziksel koruma olarak bir kabuğun yokluğu çeşitli davranışsal, anatomik ve fizyolojik adaptasyonlarla telafi edilmektedir. Bütün yumuşakçalar arasında Aplysia cinsinin deniztavşanları, doğal ürün kimyagerleri tarafından en çok araştırılan gruptur. Dünya Deniz Türleri Kayıtları (World Register of Marine Species, WoRMS) veritabanına göre, bu cins 36 geçerli tür içermektedir ve 2011 yılına kadar 58 yeni doğal ürün üretmiştir. Aplysia dactylomela bunların neredeyse yarısının kaynağı olmuştur. En çok temsil edilen grup terpenlerdir (Pereira, Andrade, & Valentão, 2016).

Aplysina cinsinin süngerleri, Karayip resiflerindeki en yaygın bentik hayvanlar arasındadır. Çok çeşitli morfoloji ve renk çeşitliliği gösterirler. Bu süngerlerin dokuları mineralleşmiş iskeletten yoksundur, ancak yoğun bir spongin iskelet ve yırtıcı balıklara karşı kimyasal savunma işlevi gören ayrıntılı bir dizi tirozin türevi brominatdalkaloid metabolitleri içerir. Tüm omurgasızlar arasında süngerler, doğal deniz ürünleri kimyacıları tarafından izole edilmiş ve tarif edilmiş olan en fazla sayıda sekonder metabolit vermiştir. Bu bileşiklerin birçoğu, antitü-



mör, antifungal, antiviral ve antibakteriyel etkiler dahil olmak üzere güçlü farmakolojik özelliklere sahiptir (Puyana, Pawlik, Blum, & Fenical, 2015).

Karayip süngeri *Tedania ignis*, batma özellikleri nedeniyle, deniz doğal ürünleri kimyasının başlangıcından beri incelenmiştir. Ateş süngeri olarak da bilinen bu canlı, temas sonucu oluşturduğu dermatitten dolayı bu ismi almıştır. 1984 yılında sitotoksik etkiye sahip makrolid tedonolid varlığı gösterilirken, 2009 yılında yapılan çalışmada güçlü antienflamatuar etkiye sahip tedanol varlığı bildirilmiştir. Antienflamatuar aktivite, güçlü bir COX-2 ekspresyonunun inhibisyonu, myeloperoksidaz (MPO) seviyeleri olarak ölçülen hücreyel infiltrasyon inhibisyonu ve indüklenen nitrik oksid sentetaz (iNOS) ekspresyonunun inhibisyonu ile gerçekleşmiştir. Bu özellikler, doğal diterpenlerde sıkça karşılaşılmayan sudaki çözünürlük ile birlikte, düşük gastrointestinal toksisiteye sahip yeni antienflamatuar moleküllerin geliştirilmesi için tedanolü umut verici bir ajan haline getirmektedir (Costantino et al., 2009).

Deniz kaynaklarından elde edilen birçok bileşiğin klinik öncesi aşamalarda güçlü anjiyostatik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. *Telescopium telescopium*'un metanolik ekstraktı ile yapılan çalışmalarda oküler neovasküler hastalıklar için potansiyel bir aday olduğunu ve daha fazla çalışılması gerektiği ortaya konulmuştur (Gupta et al., 2014).

Sünger mikrobiyomunun, sünger dokusunda bulunan sekonder metabolitlerin üretimi veya değiştirilmesinden sorumlu olup olmadığı, doğal ürün kimyacıları ve sünger biyologları için büyük ilgi konusu olmuştur. Metabolit sentezi ve değişimi, süngerin metabolit üretiminden neredeyse veya tamamen sorumlu olduğunu gösteren X-ışını mikroanaliz kanıtları ile Akdeniz türleri *A. aerophoba* için özel bir çalışma konusu olmuştur (Puyana et al., 2015).

Midye, kalamar gibi yumuşakçalar kirliliğe maruz kaldıklarında bazı gıda alerjenleri oluşabilmektedir. Kabuklu deniz ürünlerinde görülen 'tropomyosin' majör alerjenlere örneklerden biridir. Ayrıca yumuşakçalarda myosin ağır zinciri, hemosyanin ve amilaz gibi alerjenlerde tespit edilmiştir (Kocatepe et al., 2012).

Yakın zamanlarda, deneyler biyosentetik süreçleri tanımlamayı amaçlayan genetik çalışmalar veya histokimya ile tamamlanmıştır. Yumuşakçalardan izole edilen sekonder metabolitler çok çeşitli yapısal sınıflara ayrılır ve bazı bileşikler belirli taksonlarda daha baskın hale gelir.

3. Mollusca Sekonder Metabolitlerinin Terapötik Önemi

1960'lı yılların başlarında, yeni hastalıkları veya dirençli mikroorganizma türlerini kontrol edebilen ilaçlara duyulan artan ihtiyaç, yeni biyoaktif doğal ürün kaynakları aramaya teşvik etmiştir. Okyanuslar bu dönemde oldukça ilgi çekici hale gelmiştir. Öncü araştırmalar, II. Dünya Savaşı sırasında, Amerikan askerlerinin Pasifik'teki çok sayıda besin zehirlenmesi nedeniyle, kısmen deniz toksinleri ile ilgili olmuştur.

Bugüne kadar, deniz organizmalarından elde edilen 25.000'den fazla yeni bileşik bildirilmiştir. Yeni aktif deniz doğal ürünlerinin yaklaşık %56'sının antikanser aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu rakamı %13 ile antibakteriyel aktivite izlemektedir. Antikanser özellik sunan 18 deniz yumuşakça türevi bileşik, ilaç geliştirmenin I, II veya III. Faz aşamalarında (Pereira,



Andrade, & Valentão, 2016).

Yumuşakçalar pek çok bulaşıcı ya da bulaşıcı olmayan ölümcül hastalıklara karşı yeni ilaç geliştirmek için eşsiz sekonder metabolitler üretirler. Şu an aktif bileşikler deniz organizmalarından izole edilmekte, tanımlanmakta ve antikanser, antienflamatuar ve antimikrobiyal etkileri test edilmektedir. Dolastatin 10-15, Kahalalide F, Keenamide A, Spisulosine-Es-285 antikanser, Ziconide antienflamatuar özellikleri ile önemli bileşiklerdir (Pati et al., 2015).

Koni salyangozlarının zehrinden elde edilen Ziconotide, kronik ağrı tedavisinde klinik kullanım için onaylanan ilk deniz kaynaklı ilaçtır. İntratekal olarak uygulanan Ziconotide'nin klinik denemeleri hem kronik hem de kansere bağlı ağrılarda iyi etkinlik göstermiştir. Klinik olarak, Ziconotide, nispeten yüksek maliyeti ve intratekal pompanın gerekliliği nedeniyle sık sık "son çare" olarak kullanılır. Bununla birlikte, yeni kılavuzlar Ziconotide'nin nöropatik ve nosiseptif ağrı dahil olmak üzere çeşitli ağrı koşullarında birinci basamak ajan olarak kullanılmasını desteklemektedir (Safavi-Hemami, Brogan, & Olivera, 2019).

Hint okyanusunda yer alan deniztavşanı olarak bilenen *Dolabella auriculata*'dan elde edilen Dolastatin 10 ve sentetik analoglar şu anda antikanser ajanlar olarak Faz II klinik deneylerinde yer almaktadır. 2011 yılında, bir dolastatin 10 konjugat antikoru olan brentuximab vedotin (Adcetris®), Hodgkin lenfomasının tedavisi için FDA tarafından onaylanmıştır (Pereira et al., 2016).

Yumuşakçalar uzun zamandır dünyadaki birçok kültür için tıbbi olarak yararlı ürünler sunmaktadır. Eski Girit'te *Bivalvia* midyeleri terapi amaçlı kullanılmış ve yakın zamanda antimikrobiyal ve antiviral peptidlerin kaynağı olarak çeşitli patentlere konu olmuştur. Yumuşakçalar ayrıca Güney Afrika, Hindistan ve Çin'den gelen birçok geleneksel ilaca da sahiptir.

Nispeten daha az kimyasal araştırmalar olmasına karşın Cephalopoda çok çeşitli geleneksel ilaçlarda kullanılmaktadır.

Güney Afrika ilaçlarının araştırılmasında 4 Cephalopode türü listelenmiştir. *Spirula spirula* türü, iç kabukları Durbandaki geleneksel tıp pazarında satılan en pahalı deniz omurgasızlarıdır.

Güney Afrika geleneksel ilaçlarının araştırılmasında bildirilen en değerli deniz omurgasızlar taksonları arasında birkaç tür kiton da bulunmaktadır. Bu kitonların ayrıca kadınlarda vajinal spazma neden olduğu ve çocuklarda idrar kaçırmayı engellediği raporlanmıştır.

Perna canaliculus türlerinden elde edilen doğal ilaçlar genellikle eklem ve bağ dokusu problemlerinin ilerlemesini durdurmada ve artrit semptomlarını hafifletmede etkili olan antienflamatuar ajanlar olarak teşvik edilir. *P. canaliculus* ekstrelerinden birkaç yeni antienflamatuar Omega 3 çoklu doymamış yağ asidi tanımlanmıştır (Benkendorff, 2010).

Şimdiye kadar, hiçbir Yeni Perna türü veya Yeni Zelanda dışındaki diğer ilgili çift kabuklu maddeler antienflamatuar aktivite açısından test edilmemiştir. Bununla birlikte, *Mytilus galloprovincialis*'den elde edilen bir lipid ekstraktının, *Rapa venosa* sonuçlarına benzer şekilde, kemirgen modelinde uyarılmış cilt yanıkları için iyileşme süresini azalttığı bulunmuştur.

Abalone (*Haliotidae*), sağlık için değerli ve doğal tedavilerde belirgin özelliklere sahip başka bir gastropod ailesidir. Geleneksel Çin tıbbında, Abalone kabuğu ve tozu, karaciğer toniği,



görüşü geliştirmek için katarakt tedavisinde, hipertansiyon, baş dönmesi ve ekstremitte konvülsiyonunu tedavi etmek için olarak kullanılır. Yeni Zelanda'dan kurutulmuş abalone tozu nutrasötik olarak satılmaktadır. Abalone tozu genel olarak sağlık ve cinsel yaşamı arttırmak, ayrıca bağışıklık sistemini ve kan dolaşımını desteklemek, anemiye önlemek ve mineraller, vitaminler ve omega 3 doymamış yağ asitleri sağlamak için önerilmektedir. Abalone kabuğunun tozu, acısız ve skarsız yanıkları tedavi etmek için patentli bir formüle dahil edilmiştir (Benkendorff, 2010).

Bazal grup Architaenoglossadaki bazı karasal ve tatlı su caenogastropodları geleneksel Hint tıbbında yer almaktadır.

İnci istiridye *Pteria margaritifera*'dan türetilmiş Çin ilaçları baş ağrısı, baş dönmesi, kulak çınlaması ve katarakt tedavisinde kullanılmaktadır. İstiridye ve istiridye özütlerinin, abalone benzer antibakteriyel ve antiviral özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Benkendorff, 2010).

Ampullariodoidae (*Pila spp.*) familyasından karasal elma salyangozlarının yumurtaları raşitizm tedavisinde kullanılırken, tatlı su salyangozlarından (*Bellamya spp.*) elde edilen ekstraktlar konjunktivit tedavisinin yanı sıra astım, artrit ve romatizma gibi enflamatuar problemler için kullanılmaktadır.

Ostrea edulis'ten elde edilen istiridye kabuğu lizati, osteoporoz hastaları için biyoyararlanabilen bir kalsiyum karbonat formu sağlar ve kemik eksikliğinin homeopatik tedavisinde kullanılmaktadır. Oyster kabuğunun, kemirgen modeli kullanarak in vivo olarak mide ülserlerini önlediği gösterilmiştir (Nie et al., 1994).

SONUÇLAR

Yeni biyoaktif bileşiklerin izolasyonu ve tanımlanmasına yönelik doğal ürünler araştırması, bugüne kadar yumuşakça türlerinin sadece küçük bir kısmı üzerinde yapılmıştır.

Abalone gibi bilinen kültürlü yumuşakçaların biyoaktif faktörlerini tanımlamayı amaçlayan daha ileri çalışmalar, çeşitli tıbbi uygulamalar için geniş kullanımları dikkate alındığında değerli olacaktır.

Arama alanını karasal Gastropodları ve bazı küçük yumuşakça sınıflarını kapsayacak şekilde genişletmek, metabolik yolların farklı evrimi ve sekonder metabolitler için göz önüne alındığında da faydalı olabilir.

Özellikle, polyplacophoranslar mevcudiyetleri, bazı türlerin oldukça büyük boyları ve geleneksel Güney Afrika ilaçlarında görünür kullanımları göz önüne alındığında daha fazla araştırmaya değerlidir.

Genel olarak, yumuşakçaların biyoaktivitesi ve kabuklu yumuşakçaların savunma sistemleri ile ilgili belirli hipotezlere dayanarak daha ileri araştırmaların başarısını en üst seviyeye çıkarmak için daha hedefli araştırmalara ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

- Avila, C. (2006). Molluscan natural products as biological models: chemical ecology, histology, and laboratory culture. *Progress in Molecular and Subcellular Biology*. https://doi.org/10.1007/978-3-540-30880-5_1
- Bastos, P., Fracalossi, D. M., Chimal, M. E., Sánchez, A., & Rosas, C. (2020). Digestive enzymes and timing of digestion in *Octopus vulgaris* type II. *Aquaculture Reports*, *16*, 100262. <https://doi.org/10.1016/j.aq-rep.2019.100262>
- Benkendorff, K. (2010). Molluscan biological and chemical diversity: Secondary metabolites and medicinal resources produced by marine molluscs. *Biological Reviews*, *85*(4), 757–775. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2010.00124.x>
- Carson, M. A., & Clarke, S. A. (2018). Bioactive compounds from marine organisms: Potential for bone growth and healing. *Marine Drugs*, *16*(9). <https://doi.org/10.3390/md16090340>
- Ciavatta, M. Letizia, Devi, P., Carbone, M., Mathieu, V., Kiss, R., Casapullo, A., & Gavagnin, M. (2016). Kahalalide F analogues from the mucous secretion of Indian sacoglossan mollusc *Elysia ornata*. *Tetrahedron*, *72*(5), 625–631. <https://doi.org/10.1016/J.TET.2015.12.003>
- Ciavatta, Maria Letizia, Lefranc, F., Carbone, M., Mollo, E., Gavagnin, M., Betancourt, T., ... Kiss, R. (2017). Marine Mollusk-Derived Agents with Antiproliferative Activity as Promising Anticancer Agents to Overcome Chemotherapy Resistance. *Medicinal Research Reviews*, *37*(4), 702–801. <https://doi.org/10.1002/med.21423>
- Costantino, V., Fattorusso, E., Mangoni, A., Perinu, C., Cirino, G., De Gruttola, L., & Roviezzo, F. (2009). Tedanol: A potent anti-inflammatory ent-pimarane diterpene from the Caribbean Sponge *Tedania ignis*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *17*(21), 7542–7547. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2009.09.010>
- El-Sorogy, A. S., Alharbi, T., Almadani, S., & Al-Hashim, M. (2019). Molluscan assemblage as pollution indicators in Al-Khobar coastal plain, Arabian Gulf, Saudi Arabia. *Journal of African Earth Sciences*, *158*. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2019.103564>
- Esmacelian, B., Benkendorff, K., Johnston, M. R., & Abbott, C. A. (2013). Purified brominated indole derivatives from *dicathais orbita* induce apoptosis and cell cycle arrest in colorectal cancer cell lines. *Marine Drugs*, *11*(10), 3802–3822. <https://doi.org/10.3390/md11103802>
- Etman, S. M., Elnaggar, Y. S. R., & Abdallah, O. Y. (2019). “Fucoidan, a natural biopolymer in cancer combating: From edible algae to nanocarrier tailoring.” *International Journal of Biological Macromolecules*, (xxxx). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.191>
- Ganesan, A. R., Saravana, M., Mohanram, G., Balasubramanian, B., Ho, I., Seedeve, P., ... Ignacimuthu, S. (2019). Journal of King Saud University – Science Marine invertebrates ' proteins : A recent update on functional property. *Journal of King Saud University - Science*, (xxxx). <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.12.003>
- Gupta, P., Arumugam, M., Azad, R. V., Saxena, R., Ghose, S., Biswas, N. R., & Velpandian, T. (2014). Screening of antiangiogenic potential of twenty two marine invertebrate extracts of phylum Mollusca from South East Coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *4*, S129–S138. <https://doi.org/10.12980/APJT-B.4.2014C701>
- Kanda, A., & Minakata, H. (2006). Isolation and characterization of a novel small cardioactive peptide-related peptide from the brain of *Octopus vulgaris*. *Peptides*, *27*(7), 1755–1761. <https://doi.org/10.1016/j.peptide>



des.2005.12.006

- Kaviarasan, T., Siva, S. R., & Yogamoorthi, A. (2012). RETRACTED: Antimicrobial secondary metabolites from marine gastropod egg capsules and egg masses. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(11), 916–922. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60253-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60253-6)
- Kimbrough, K. L., Johnson, W. E., Lauenstein, G. G., Christensen, J. D., & Apeti, D. A. (2008). *An Assessment of Two Decades of Contaminant Monitoring in the Nation's Coastal Zone*. Silver Spring, MD. NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS 74 (Vol. 105).
- Kocatepe, D., Turan, H., Üniversitesi, S., İşletmeciliği ve Otelcilik Yüksekokulu, T., İçecek İşletmeciliği Bölümü, Y., Ürünleri Fakültesi, S., ... su ürünleri, K. (2012). Su Ürünleri Alerjisi Sea Food Allergy. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(2), 46–51.
- Kumar, A., & Jaitak, V. (2019, August 15). Natural products as multidrug resistance modulators in cancer. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.05.027>
- Kumar, P., Kannan, M., ArunPrasanna, V., Vaseeharan, B., & Vijayakumar, S. (2018). Proteomics analysis of crude squid ink isolated from *Sepia esculenta* for their antimicrobial, antibiofilm and cytotoxic properties. *Microbial Pathogenesis*, 116, 345–350. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.039>
- Lopes, V. M., Rosa, R., & Costa, P. R. (2018). Presence and persistence of the amnesic shellfish poisoning toxin, domoic acid, in octopus and cuttlefish brains. *Marine Environmental Research*, 133(December 2017), 45–48. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.12.001>
- Lv, J., Zhao, J., Yang, D., Wu, H., & Cong, M. (2019). Tissue distribution and functional characterization of mytimacin-4 in *Mytilus galloprovincialis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 166. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.107215>
- Nie, S. Q., Li, T. L., Jiang, W. J., Xue, B. Y., Liang, A. H., Li, G. Q., & Yang, Q. (1994). [A comparative study on anti-ulcer action of unprepared and calcined oyster shell]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi = Zhongguo Zhongyao Zazhi = China Journal of Chinese Materia Medica*, 19(7), 405–7, 446.
- Öztürk, B., Doğan, A., Bitlis-Bakir, B., & Salman, A. (2014). Marine molluscs of the Turkish coasts: An updated checklist. *Turkish Journal of Zoology*, 38(6), 832–879. <https://doi.org/10.3906/zoo-1405-78>
- Pati, P., Sahu, B. K., & Panigrahy, R. C. (2015). Marine molluscs as a potential drug cabinet: An overview. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 44(7), 961–970.
- Pereira, R. B., Andrade, P. B., & Valentão, P. (2016). Chemical diversity and biological properties of secondary metabolites from sea hares of *Aplysia* genus. *Marine Drugs*, 14(2). <https://doi.org/10.3390/md14020039>
- Periyasamy, N., Arularasan, S., & Gayathri, S. (2012). Antibacterial activity of the tissue extracts of *Conus betulinus* and *Conus inscriptus* Linnaeus, 1758 (Mollusca: Gastropoda) from Nagapattinam, Southeast coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2, S914–S919. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(12\)60291-6](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60291-6)
- Prokopov, I. A., Kovaleva, E. L., Minaeva, E. D., Pryakhina, E. A., Savin, E. V., Gamayunova, A. V., ... Shikov, A. N. (2019, August 10). Animal-derived medicinal products in Russia: Current nomenclature and specific aspects of quality control. *Journal of Ethnopharmacology*. Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111933>
- Puyana, M., Pawlik, J., Blum, J., & Fenical, W. (2015). Metabolite variability in caribbean sponges of the genus *Aplysina*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 25(6), 592–599. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.08.002>
- Rudd, D., Ronci, M., Johnston, M. R., Guinan, T., Voelcker, N. H., & Benkendorff, K. (2015). Mass spectrometry imaging reveals new biological roles for choline esters and Tyrian purple precursors in muricid molluscs. *Scientific Reports*, 5(March), 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep13408>



- Russo, G. L., De Nisco, E., Fiore, G., Di Donato, P., D'Ischia, M., & Palumbo, A. (2003). Toxicity of melanin-free ink of *Sepia officinalis* to transformed cell lines: Identification of the active factor as tyrosinase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 308(2), 293–299. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)01379-2](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)01379-2)
- Safavi-Hemami, H., Brogan, S. E., & Olivera, B. M. (2019). Pain therapeutics from cone snail venoms: From Ziconotide to novel non-opioid pathways. *Journal of Proteomics*, 190(January 2018), 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.05.009>
- Sánchez, A. M., Malagarie-Cazenave, S., Olea, N., Vara, D., Cuevas, C., & Díaz-Laviada, I. (2008). Spisulosine (ES-285) induces prostate tumor PC-3 and LNCaP cell death by de novo synthesis of ceramide and PKC ζ activation. *European Journal of Pharmacology*, 584(2–3), 237–245. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2008.02.011>
- Sousa, H., & Hinzmann, M. (2019). Review: Antibacterial components of the Bivalve's immune system and the potential of freshwater bivalves as a source of new antibacterial compounds. *Fish & Shellfish Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.062>
- Valles-Regino, R., Mouatt, P., Rudd, D., Yee, L. H., & Benkendorff, K. (2016). Extraction and quantification of bioactive Tyrian purple precursors: A comparative and validation study from the hypobranchial gland of a muricid *Dicathais orbita*. *Molecules*, 21(12). <https://doi.org/10.3390/molecules21121672>
- Wakimoto, T., Tan, K. C., & Abe, I. (2013). Ergot alkaloid from the sea slug *Pleurobranchus forskalii*. *Toxicon*, 72, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.05.021>
- Wali, A. F., Majid, S., Rasool, S., Shehada, S. B., Abdulkareem, S. K., Firdous, A., ... Rehman, M. U. (2019, September 1). Natural products against cancer: Review on phytochemicals from marine sources in preventing cancer. *Saudi Pharmaceutical Journal*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2019.04.013>
- Wang, M., Wang, B., Liu, M., Jiang, K., & Wang, L. (2019). Comparative study of β -thymosin in two scallop species *Argopecten irradians* and *Chlamys farreri*. *Fish and Shellfish Immunology*, 86, 516–524. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.11.050>
- Yokosaka, S., Izawa, A., Sakai, C., Sakurada, E., Morita, Y., & Nishio, Y. (2018). Synthesis and evaluation of novel dolastatin 10 derivatives for versatile conjugations. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 26(8), 1643–1652. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.02.011>