

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

Klasea CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN FENOLİK
BİLEŞENLERİNİN HPLC-DAD İLE AYDINLATILMASI
VE KEMOMETRİK ANALİZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DİLAN BAYRAM

OCAK 2019
MUĞLA

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

***Klasea* CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN FENOLİK**
BİLEŞENLERİNİN HPLC-DAD İLE AYDINLATILMASI
VE KEMOMETRİK ANALİZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DİLAN BAYRAM

OCAK 2019

MUĞLA

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

DİLAN BAYRAM tarafından hazırlanan *Klasea* CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN FENOLİK BİLEŞENLERİNİN HPLC-DAD İLE AYDINLATILMASI VE KEMOMETRİK ANALİZİ başlıklı tezinin, 17/01/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

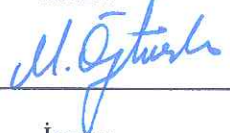
Prof. Dr. Osman DUMAN (Jüri Başkanı)
Akdeniz Üniversitesi, Antalya,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK (Danışman)
Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Prof. Dr. Mehmet Emin DURU (Üye)
Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Mehmet Emin DURU
Kimya Ana Bilim Dalı Başkanı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK
Danışman, Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Savunma Tarihi: 17/01/2019

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

DİLAN BAYRAM

17/01/2019

İMZA



ÖZET

***Klasea* Cass. CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN FENOLİK BİLEŞENLERİNİN HPLC-DAD İLE AYDINLATILMASI VE KEMOMETRİK ANALİZİ**

Dilan BAYRAM

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK

Ocak 2019, 60 sayfa

Bu tez çalışmasının amacı; Türkiye’de doğal olarak yetişen *Klasea* cinsine ait 15 türün fenolik bileşenlerinin HPLC ile araştırılması ve fenolik bileşenler ile antioksidan aktivitenin kemometrisini yaparak türler ve aktiviteleri arasında korelasyonlar kurmaktır.

Klasea cinsi, Asteraceae familyasının üyesi olup ekdisteroidler içermesi bakımından önemli cinslerden biridir. Özellikle Orta Asya, İran, Türkiye ve Akdeniz bölgesinde dağılım gösteren *Klasea* cinsinin ülkemizde 5 tanesi endemik olmak üzere toplam 16 türü yetişmektedir.

Ülkemizin farklı bölgelerinden toplanan *Klasea* cinsine ait 15 tür sırasıyla hekzan ve metanol kullanılarak ekstre edildiler. 15 farklı *Klasea* türünün metanol ekstratlarının içerdiği fenolik bileşikler HPLC-DAD cihazı ile standartlara karşı analiz edildi. Ekstrelerin antioksidan aktivitesi ise DPPH serbest radikal giderimi, ABTS katyon radikali giderimi ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak belirlendi. Türler arasındaki ilişkileri tespit etmek amacıyla, türlerde teşhisi yapılan fenolik bileşiklerin ve antioksidan aktivitenin kemometrisi Minitab programı kullanılarak yapıldı.

Çalışılan türler içerisinde *Klasea kotschy* CUPRAC ve ABTS testlerinde en yüksek antioksidan aktiviteyi gösterirken, *Klasea kurdica* DPPH testinde en yüksek aktiviteyi gösterdi. HPLC-DAD cihazında taraması yapılan 27 fenolik maddeden; klorojenik asit ve rutin tüm *Klasea* türlerinde ortak fenolik bileşik olarak gözlemlendi.

Klasea türlerine ait örneklerin klorojenik asit, rutin, DPPH, ABTS ve CUPRAC ile yapılan temel bileşen analizi (PCA) sonuçlarına göre klorojenik asitin *Klasia kotschyi* (KKM), *Klasea quinquefolia* (KQM), *Klasea coriaceae* (KCoM), *Klasea bornmuelleri* (KBM), *Klasea serratuloides* (KSM) ve *Klasea kurdica* (KkuM) örneklerinde diğer örneklerden daha baskın olduğu ve aynı zamanda bu örneklerin CUPRAC ve ABTS antioksidan aktivitelerinin de yüksek olduğu görüldü. Diğer yönden DPPH aktivitesi *Klasea lasiocephala* (KLM) ve *Klasea kurdica* (KkuM) örneklerinde diğer örneklere göre daha yüksek olduğu belirlendi. *Klasea* türlerinin klorojenik asit, rutin, ABTS, DPPH ve CUPRAC aktiviteleri yönünden dağılımını karşılaştırmak ve PCA sonuçları ile kıyaslayabilmek için ayrıca hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) de yapıldı. HCA sonuçlarının PCA sonuçlarını desteklediği görüldü.

Anahtar Kelimeler: *Klasea* Cass. Türleri, HPLC-DAD, Antioksidan Aktivite, Kemometri, Fenolik Bileşik.

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF PHENOLIC COMPONENTS OF SOME SPECIES THAT BELONG TO THE GENUS *KLASEA* CASS. VIA HPLC-DAD AND ITS CHEMOMETRIC ANALYSIS

Dilan BAYRAM

Master of Science (M.Sc.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK

January 2019, 60 pages

The aims of this thesis are to investigate the phenolic components of the 15 *Klasea* species growing naturally in Turkey using HPLC-DAD and to establish correlations between the species and the antioxidant activity by the chemometric approach.

Klasea genus is one of the important genus of Asteraceae family due to containing ecdysteroids. *Klasea* genus distributes especially in Central Asia, Iran, Turkey and the Mediterranean regions. In Turkey, *Klasea* are represented by 16 species which five of them are endemic.

The *Klasea* species collected from various regions of Turkey were extracted with hexane and methanol, successively. The phenolic compounds of methanol extracts of 15 *Klasea* species were analyzed using HPLC-DAD against standard compounds. The antioxidant activity of the extracts was performed using three complimentary assays; namely, DPPH free radical scavenging, ABTS cation radical scavenging and CUPRAC assays. The chemometric analyses were done using Minitab programme for the antioxidant activity results and the phenolic compounds amounts to reveal the relationships between the species.

Among the 15 species studied, *Klasea kotschyi* showed the highest antioxidant activity in CUPRAC and ABTS assays, while *Klasea kurdica* in DPPH assay. Among the phenolic compounds screened in the methanol extracts using HPLC-DAD revealed that chlorogenic acid and rutin were the common phenolic compounds in all *Klasea* species.

According to the results of Principal Component Analyses (PCA) which was performed using chlorogenic acid, rutin, DPPH, ABTS and CUPRAC, chlorogenic acid was abundant in *Klasia kotschyi* (KKM), *Klasea quinquefolia* (KQM), *Klasea coriacea* (KCoM), *Klasea bornmuelleri* (KBM), *Klasea serratuloides* (KSM) and *Klasea kurdica* (KkuM) species compared to other samples. Moreover, the antioxidant activity of these species by the CUPRAC and ABTS assays was relatively high. On the other hand, the free radical scavenging activity by DPPH assay was relatively higher in *Klasea lasiocephala* (KLM) ve *Klasea kurdica* (KkuM). To compare the distribution of *Klasea* species in terms of chlorogenic acid, rutin, ABTS, DPPH and CUPRAC results the Hierarchical Cluster Analysis (HCA) was also performed. As a result, HCA results supported that of PCA.

Keywords: *Klasea* Cass. Species, HPLC-DAD, Antioxidant Activity, Chemometry, Phenolic Compounds.

Kıymetli aileme ithafen

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans Tez danışmanlığımı üstlenerek bana yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen, bilgilerini paylaşan ve gelişmeye katkıda bulunan danışmam hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK'e

Yüksek lisans eğitimin süresince engin fikirleriyle yetiştirme ve gelişmeye katkıda bulunan Sayın hocam Prof. Dr. Mehmet Emin DURU'ya

Tez çalışmamdaki bitki türlerinin toplayan ve tanımlayan Sayın Prof. Dr. Ahmet Duran'a ve Dr. Bekir Doğan'a

Deneysel çalışmalarımın her aşamasında yanımda olan desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Öğr. Gör. Dr. Özge TOKUL ÖLMEZ'e ve Yüksek Kimyager Bihter ŞAHİN'e

Yüksek lisans sürecimdeki desteklerinden dolayı Kimyager Şilan AYDEMİR'e, Yüksek Kimyager Meltem TAŞ'a, Yüksek Kimyager Çiğdem KUŞ'a, Yüksek Kimyager Kübra ELİK'e ve Dr. Ebru EROL'a

Ayrıca hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme, Ali Ersin Yeşil'e ve emeği geçen herkese çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ix
İÇİNDEKİLER.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Amaç ve Kapsam	1
1.2. Kaynak Özetleri.....	2
1.2.1. Botanik bilgiler	2
1.2.1.1. Asteracea familyası.....	2
1.2.1.2. Klasea Cass. cinsi.....	2
1.2.1.3. Klasea bornmuelleri (Azn.) Greuter & Wagenitz	4
1.2.1.4. Klasea cerinthifolia (Sm.) Greuter & Wagenitz	4
1.2.1.5. Klasea coriacea Fisch. & C.A.Mey.	4
1.2.1.6. Klasea erucifolia (L.) Greuter & Wagenitz.....	4
1.2.1.7. Klasea grandifolia (P.H.Davis) Greuter & Wagenitz	5
1.2.1.8. Klasea hakkarica (P.H.Davis) Greuter & Wagenitz	5
1.2.1.9. Klasea haussknechti (Boiss.) Holub	5
1.2.1.10. Klasea kotschy (Boiss.) Greuter & Wagenitz	5
1.2.1.11. Klasea kurdica (Post) Greuter & Wagenitz	5
1.2.1.12. Klasea lasiocephala (Bornm.) Greuter & Wagenitz	6
1.2.1.13. Klasea oligocephala (DC.) Greuter & Wagenitz.....	6
1.2.1.14. Klasea quinquefolia (Willd.) Greuter & Wagenitz	6
1.2.1.15. Klasea radiata (Waldst. & Kit.) Á.Löve & D.Löve.....	6
1.2.1.16. Klasea serratuloides (DC.) Greuter & Wagenitz	6
1.2.2. Klasea türlerinin halk arasında kullanılışı	7
1.2.3. Klasea türleri ile yapılan kimyasal araştırmalar ve aktivite çalışmaları	7
1.2.4. Antioksidanlar	9
1.2.4.1. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri.....	9
1.2.4.2. Antioksidanların sınıflandırılması.....	10
1.2.5. Fenolik bileşikler ve organik asitler	13
1.2.5.1. Dağılımları.....	14
1.2.5.2. Oluşumları.....	15
1.2.5.3. Sınıflandırılmaları.....	16

1.2.5.4. Flavonoidler ve flavonoid glikozitler.....	16
1.2.6. Kemometrik analiz.....	17
2. MALZEME VE YÖNTEM.....	20
2.1. <i>Klasea</i> Cass. Türlerinin Toplanması	20
2.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler	21
2.2.1. Kimyasal maddeler ve çözücüler.....	21
2.2.2. Çözeltilerin hazırlanması	21
2.3. Aletler ve Diğer Gereçler.....	22
2.4. Ekstrelerin Hazırlanması	22
2.5. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	23
2.5.1. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi	23
2.5.2. ABTS katyon radikal giderim aktivitesi yöntemi.....	23
2.5.3. CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi...24	
2.6. Ekstrelerin HPLC-DAD Analizleri	24
2.6.1. HPLC-DAD analiz şartları.....	24
2.6.2. HPLC-DAD analizi	25
2.7. İstatistiksel Hesaplamalar	25
2.8. Kemometrik Analiz	25
2.9. IC ₅₀ ve A _{0,5} Değerlerinin Hesaplanması	25
3. BULGULAR VE İRDELEME.....	26
3.1. Ekstrelerin Ekstre Miktarı Ve Verimleri	26
3.2. Ekstrelerin HPLC-DAD Analizi Sonuçları.....	27
3.2.1. <i>Klasea bornmuelleri</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu	29
3.2.2. <i>Klasea cerinthifolia</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu	29
3.2.3. <i>Klasea coriacea</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu.....	30
3.2.4. <i>Klasea erucifolia</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu	31
3.2.5. <i>Klasea grandifolia</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu.....	31
3.2.6. <i>Klasea hakkarica</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu.....	32
3.2.7. <i>Klasea haussknechti</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu	32
3.2.8. <i>Klasea kotschy</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu	33
3.2.9. <i>Klasea kurdica</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu	34
3.2.10. <i>Klasea lasiocephala</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu	34
3.2.11. <i>Klasea nova</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu.....	35
3.2.12. <i>Klasea oligocephala</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu	36
3.2.13. <i>Klasea quinquefolia</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu.....	36

3.2.14. <i>Klasea radiata</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu.....	37
3.2.15. <i>Klasea serratuloides</i> türünün HPLC-DAD analizi sonucu.....	37
3.3. Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları	38
3.3.1. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yöntemi sonuçları	38
3.3.2. ABTS katyonu radikal giderim aktivitesi sonuçları	38
3.3.3. CUPRAC (Bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi yöntemi) sonuçları	40
3.4. Kemometrik Analiz Sonuçları	41
3.4.1. Metanol ekstrelerinin temel bileşen analizi (PCA).....	41
3.4.2. Metanol ekstrelerinin hiyerarşik kümeleme analizi (HCA)	45
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR.....	49
EKLER.....	58
Ek A. <i>Klasea</i> türlerinin PCA skor grafiği	58
Ek B. <i>Klasea</i> türlerinin PCA loading grafiği.....	59
ÖZGEÇMİŞ	60

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. <i>Klasea</i> türlerinin toplanma yerleri ve zamanları	20
Çizelge 2.2. HPLC-DAD cihazı analiz şartları	24
Çizelge 3.1. <i>Klasea</i> Cass. ekstrelerinin verimleri ve miktarları	26
Çizelge 3.2. Metanol ekstrelerinin HPLC-DAD krom yer alan maddelerin miktarla	27
Çizelge 3.3 <i>Klasea</i> türlerinin metanol ekstrelerinin DPPH• giderim aktivitesi	39
Çizelge 3.4. <i>Klasea</i> türlerinin metanol ekstrelerinin ABTS ^{•+} giderim aktivitesi	40
Çizelge 3.5. <i>Klasea</i> türlerinin metanol ekstrelerinin CUPRAC kapasitesi	41
Çizelge 3.6. <i>Klasea</i> cinsine ait 15 türün ekstrelerinin kemometrik analiz verileri	41
Çizelge 3.7. <i>Klasea</i> Cass. cinsine ait 15 türün metanol ekstrelerinin temel bileşen loading, eigenvalue, varyans ve kümülatif varyans değerleri	42
Çizelge 3.8. <i>Klasea</i> cinsine ait 15 türün ekstrelerinin temel bileşen skor değerleri	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Klasea</i> türlerinin Türkiye'deki dağılımları	3
Şekil 1.2. <i>Klasea</i> türlerinin Türkiye'deki dağılımları	3
Şekil 1.3. Birincil antioksidanlar	12
Şekil 1.4. İkincil antioksidanlar	13
Şekil 1.5. Flavonoidlerin yapıları	17
Şekil 1.6. Kemometrinin ilişkili olduğu disiplinler	18
Şekil 3.1. Metanol ekstralarının parmak izi kromatogramları.....	28
Şekil 3.2. <i>Klasea bornmuelleri</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom.....	29
Şekil 3.3. <i>Klasea cerinthifolia</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom.....	30
Şekil 3.4. <i>Klasea coriacea</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom	30
Şekil 3.5. <i>Klasea erucifolia</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom.....	31
Şekil 3.6. <i>Klasea grandifolia</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom	31
Şekil 3.7. <i>Klasea hakkarica</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom	32
Şekil 3.8. <i>Klasea haussknechti</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom.....	33
Şekil 3.9. <i>Klasea kotschy</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom	33
Şekil 3.10. <i>Klasea kurdica</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom	34
Şekil 3.11. <i>Klasea lasiocephala</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom	35
Şekil 3.12. <i>Klasea nova</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom	35
Şekil 3.13. <i>Klasea oligocephala</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom.....	36
Şekil 3.14. <i>Klasea quinquefolia</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom	36
Şekil 3.15. <i>Klasea radiata</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom	37
Şekil 3.16. <i>Klasea serratuloides</i> türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD krom	38
Şekil 3.17. <i>Klasea</i> türlerinin PCA biplot grafiği	44
Şekil 3.18. <i>Klasea</i> türlerine ait örneklerin hiyerarşik kümeleme analizi (HCA)	45

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	:	2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonicasitdiammonium salt)
AChE	:	Asetilkolinesteraz
BchE	:	Bütirilkolinesteraz
BHA	:	Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	:	Bütillenmiş hidroksi toluen
CUPRAC	:	Bakır (II) indirgeme gücü aktivitesi
DPPH	:	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	:	5,5'-Dithiobis(2-nitro-benzoik asit)
EDTA	:	Etilendiamintetraasetik asit
FRAP	:	Demir (III) iyonu indirgeme gücü
FCR	:	Folin Ciocalteu Fenol Reaktifi
GC	:	Gaz kromatografi
GC-MS	:	Gaz kromatografi - Kütle spektrometresi
HCA	:	Hiyerarşik Kümelenme Analizi
HPLC	:	Yüksek performanslı sıvı kromatografi
HPLC-DAD	:	Yüksek performanslı sıvı kromatografi – diyot dizili dedektör
İTK	:	İnce tabaka kromatografisi
K.	:	<i>Klasea</i>
L-DOPA	:	3,4-Dihidroksi-D-fenilalanin
NMR	:	Nükleer manyetik rezonans
PAL	:	Fenilalanin amonyak-liyaz
PCA	:	Temel bileşen analizi
PG	:	Propil gallat

RNA	:	Ribo nükleik asit
TBHQ	:	Tersiyer bütılhidrokinon
UV	:	Ultraviyole

1. GİRİŞ

1.1. Amaç ve Kapsam

Tıbbi bitkiler, tüm dünyada hastalıkların tedavisinde çok eski yıllardan buyana önemli rol oynamaktadır (Fallah-Hoseini vd., 2006). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, dünya nüfusunun yaklaşık %80'i tıbbi bitkilerle tedavi yöntemlerinden faydalanmaktadır (Farnsworth vd., 1985).

Bitkilerin sekonder metabolitleri fitokimyasallar olarak adlandırılmıştır. Fitokimyasallar, bitkilerde doğal olarak bulunan ve hastalığı inhibe etme kabiliyetine sahip, biyo-aktif bileşiklerdir (Abdulrahman, 1992; Farombi vd., 1998). Fitokimyasallar, biyoaktiviteleri nedeniyle hastalığı önlemede etkilidirler. Tanenler, alkaloidler, fenolik bileşikler ve flavonoidlerdir önemli fitokimyasallardır (Kolak vd., 2009; Jabeen vd., 2014).

Tıbbi bitkiler doğal antioksidanlar için bir kaynaktır ve dünya çapında bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadırlar. Son zamanlarda, antioksidanların, özellikle de doğal antioksidanların, hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde yararlı etkileri nedeniyle, bitki kaynaklarından doğal antioksidanlar bulmak için önemli bir ilgi vardır. Tıbbi bitkiler üzerindeki çalışmalar, çoğunun önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (Rafieian-Kopaie ve Baradaran, 2013). Tıbbi bitkilerin antimikrobiyal (Sharafati vd., 2011), anti-kanser (Shirzad vd., 2012), anti-diyabetik (Kazemi vd., 2010), anti-ateroskleroz (Khosravi-Boroujeni vd., 2012) ve immünomodülatör (Shirzad vd., 2009) etkileri bilinmektedir (Rafieian-Kopaei, 2012).

Türkiye ılıman bölgedeki en çok biyolojik çeşitlilik gösteren ülkelerden biridir (Arancılı, 2002). Ülkemiz, %33'ü endemik olmak üzere toplamda 9000 bitki türüne sahiptir (Kahraman vd., 2012) ve Akdeniz, İran-Turan ve Avrupa-Sibirya olmak üzere üç önemli fitocoğrafik bölgenin birleştiği yeredir. Endemik türler, büyük ölçüde Akdeniz ve İran-Turan bölgelerinde bulunmaktadır. Özellikle daha kurak bölgelerde, Anadolu florası aktif bir biyo-çeşitliliğe sahiptir (Davis, 1971; Başer, 2002).

Bu çalışmanın amacı; Türkiye’de doğal olarak yetişen *Klasea* Cass. cinsine ait 15 türün fenolik bileşenlerinin HPLC ile araştırılması ve *Klasea* türüne özgü bileşiklerin belirlenebilmesidir. Ayrıca, fenolik bileşenlerin ve antioksidan aktivitenin kemometrisini yaparak türler ve aktiviteleri arasında korelasyonlar kurmak bu tezin diğer bir amacıdır.

1.2. Kaynak Özetleri

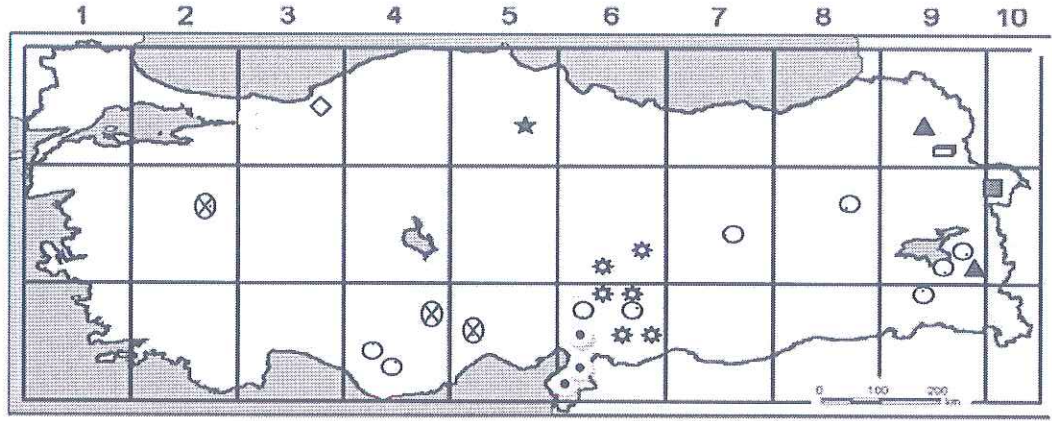
1.2.1. Botanik bilgiler

1.2.1.1. *Asteracea* familyası

Yaklaşık 1620 cins ve 23600'den fazla türe sahip olan Asteraceae familyası, çiçekli bitkilerin en büyük ailesidir (Stevens, 2001). Bu aile, Güneybatı ABD, Meksika, Güney Brezilya, Güney Afrika, Orta ve Güneybatı Asya ile Avustralya arasında değişen çeşitli bölgelerde yaygın bir şekilde dağılmıştır. Güney Amerika, ailenin coğrafi kökenidir ve filogenetik bölge olarak kabul edilmektedir (Bremer ve Anderberg 1994). Türkiye florasında 1209 Asteraceae türü bulunur. Bunların 447'si endemiktir ve endemiklik oranı %37'dir. Toplam 134 cins ile bu aile, Türkiye florasının en büyük ikinci familyasıdır (Davis vd, 1988; Özhatay ve Kültür, 2006; Martin vd, 2015).

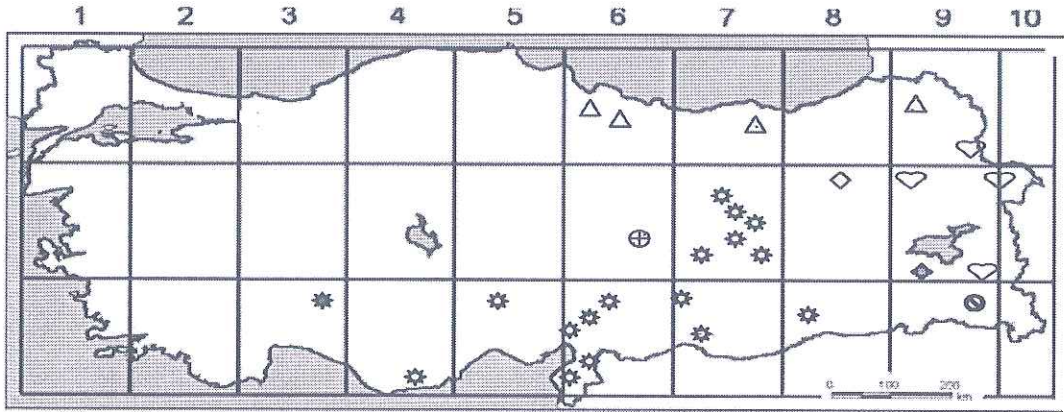
1.2.1.2. *Klasea* Cass. cinsi

Klasea Cass. cinsi, Asteraceae'nin en önemli cinslerinden biridir ve toplamda yaklaşık 50-70 tür içerir (Martins ve Hellwig, 2005). *Klasea*'nın yerli dağılımı özellikle Orta Asya, İran, Türkiye ve Akdeniz bölgelerini kapsamaktadır. *Klasea*, Türkiye'nin Akdeniz ve İran-Turan fitocoğrafik bölgelerinde 16 tür ile temsil edilmektedir. Bu türlerden beşi endemiktir ve endemiklik oranı %31,3'tür (Davis ve Kupicha, 1975; Davis vd., 1988). Ülkemizde bulunan *Klasea* Cass. cinsinin taksonlarının yayılış alanları aşağıdaki haritalarda belirtilmektedir (Şahin, 2001).



- *S. erucifolia* ◇ *S. tinctoria* ▲ *S. haussknechtii*
 ★ *S. aznavouriana* ⊗ *S. lasiocephala* ▢ *S. coriacea*
 * *S. oligocephala* ⊕ *S. kurdica* ○ *S. serratuloides*

Şekil 1.1. *Klasea* türlerinin Türkiye'deki dağılımları



- * *S. cerinthifolia* ♡ *S. radiata* subsp. *biebersteiniana* ⊕ *S. bornmuelleri*
 ♦ *Serratula kotschy* △ *Serratula quinquefolia* ♡ *S. radiata*
 * *S. radiata* subsp. *radiata* ◇ *S. grandifolia* ⊙ *Serratula hakkarica*

Şekil 1.2. *Klasea* türlerinin Türkiye'deki dağılımları

Klasea Cass. Cinsi türlerin içerdiği sekonder metabolit bileşikler (özellikle ekdisterooid, gliserolipit ve flavonoidler) üzerine çok sayıda kimyasal, antioksidan ve antimikrobiyal çalışmalar yapılmıştır (Delbecque vd., 1995; Dai ve Hou, 2001; Bathori vd., 2003; Delbecque vd., 2003). Hem flavonoidler hem de ekdisteroitler biyo-aktiviteye sahiptirler ve *Klasea* türlerinin aktif maddeleri olarak tanımlanabilirler (Bathori vd., 2003). Ekstidereooid içeriğinden dolayı *Klasea* türleri, besin takviyesi ve bitkisel ilaç kaynağı olarak kullanılabilirler (Bathori vd., 2004). Hem ekdiston hem de arbutin, *Klasea* türleri için birer kemotaksonomik faktördür (Nowak vd., 2009).

1.2.1.3. *Klasea bornmuelleri* (Azn.) Greuter & Wagenitz¹

Türkiye’de Doğu Anadolu bölgesinde endemik olan bu tür çok yıllık ve otsudur. Bu tür İran-Turan bölgesine kadar yayılış göstermektedir.

1.2.1.4. *Klasea cerinthifolia* (Sm.) Greuter & Wagenitz¹

Klasea cerinthifolia 160-1900 m yükseklikte yetişen çok yıllık otsu bir türdür. Kıbrıs, Filistin, Batı Suriye, Irak, Kuzeybatı ve Batı İran bölgelerinde yayılış gösteren bu tür Türkiye’de Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde bulunur.

1.2.1.5. *Klasea coriacea* Fisch. & C.A.Mey.¹

Klasea coriacea 1100-1830 m yükseklikte yetişen çok yıllık otsu bir türdür. Kuzeybatı İran, Transkafkasya bölgelerinde yayılış gösteren bu tür, Türkiye’de Doğu Anadolu bölgesinde bulunur.

1.2.1.6. *Klasea erucifolia* (L.) Greuter & Wagenitz¹

Klasea erucifolia çok yıllık otsu bir türdür. Kuru-kumlu topraklarda yaklaşık 1070 m yükseklikte yetişir. Endemik olmayan bu tür dünyada Batı Rusya, Kırım, Kafkasya,

¹ <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=klasea>; <http://www.tubives.com/>

Transhazar bölgelerinde yayılış gösterirken, Türkiye’de Doğu Anadolu bölgesinde yayılış gösterir.

1.2.1.7. *Klasea grandifolia* (P.H.Davis) Greuter & Wagenitz¹

Klasea grandifolia 1200 m yükseklikte yetişen çok yıllık otsu bir bitkidir. Endemik olmayan bu tür dünyada Kuzey Irak, Kuzeybatı İran bölgelerinde bulunurken, Türkiye’de Güney Anadolu bölgesinde yayılış gösterir.

1.2.1.8. *Klasea hakkarica* (P.H.Davis) Greuter & Wagenitz¹

Klasea hakkarica 2300 m yükseklikte yetişen çok yıllık otsu bir bitkidir. Endemik olan bu tür Türkiye’de Hakkari ilinde yayılış gösterir.

1.2.1.9. *Klasea haussknechti* (Boiss.) Holub¹

Klasea haussknechti 1780-2800 m yükseklikte yetişen çok yıllık otsu bir bitkidir. Endemik olmayan bu tür dünyada Kuzey İran, Kafkasya bölgelerinde bulunurken, Türkiye’de Doğu Anadolu bölgesinde yayılış gösterir.

1.2.1.10. *Klasea kotschy* (Boiss.) Greuter & Wagenitz¹

Klasea kotschy 1830-2285 m yükseklikte yetişen çok yıllık otsu bir bitkidir. Endemik olmayan bu tür dünyada Kuzey Irak bölgesinde bulunurken, Türkiye’de Güneydoğu Anadolu bölgesinde yayılış gösterir.

1.2.1.11. *Klasea kurdica* (Post) Greuter & Wagenitz¹

Klasea kurdica 800-1700 m yükseklikte yetişen çok yıllık otsu bir bitkidir. Endemik olmayan bu tür dünyada Kuzeybatı Suriye bölgesinde bulunurken, Türkiye’de Güney

¹ <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=klasea>; <http://www.tubives.com/>

Anadolu bölgesinde (Amanoslar) yayılış gösterir.

1.2.1.12. *Klasea lasiocephala* (Bornm.) Greuter & Wagenitz¹

Klasea lasiocephala 1700-2000 m yükseklikte yetişen çok yıllık otsu bir bitkidir. Endemik olan bu tür Türkiye’de Orta ve Güney Anadolu bölgelerinde yayılış gösterir.

1.2.1.13. *Klasea oligocephala* (DC.) Greuter & Wagenitz¹

Klasea oligocephala 760-2400 m yükseklikte yetişen çok yıllık otsu bir bitkidir. Endemik olan bu tür Türkiye’de Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde yayılış gösterir.

1.2.1.14. *Klasea quinquefolia* (Willd.) Greuter & Wagenitz¹

Klasea quinquefolia 0-1100 m yükseklikte yetişen çok yıllık otsu bir bitkidir. Endemik olmayan bu tür dünyada Kafkasya, Kuzey İran bölgelerinde yetişirken, Türkiye’de Kuzey Anadolu bölgesinde yayılış gösterir.

1.2.1.15. *Klasea radiata* (Waldst. & Kit.) A.Löve & D.Löve¹

Klasea radiata 900-1000 m yükseklikte yetişen çok yıllık otsu bir bitkidir. Endemik olmayan bu tür dünyada Orta Avrupa, Kafkasya bölgelerinde yetişirken, Türkiye’de Kuzey Doğu Anadolu bölgesinde yayılış gösterir.

1.2.1.16. *Klasea serratuloides* (DC.) Greuter & Wagenitz¹

Klasea serratuloides 600-2000 m yükseklikte yetişen çok yıllık otsu bir bitkidir. Endemik olmayan bu tür dünyada Kuzeybatı İran, Transkafkasya bölgelerinde

¹ <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=klasea>; <http://www.tubives.com/>

yetişirken, Türkiye’de Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yayılış gösterir.

1.2.2. *Klasea* türlerinin halk arasında kullanılışı

Klasea chinensis’in ve *Klasea strangulate*’in kökleri, eski çağlardan beri su çiçeği, toksikozis ve yüksek kolesterol tedavisinde in’de halk arasında kullanılmaktadır (Dai vd., 2002; Zhao vd., 2006).

1.2.3. *Klasea* türleri ile yapılan kimyasal araştırmalar ve aktivite alışmaları

Bathori vd. (2004), *K. coronata*, *K. wolffli* ve *K. tinctoria* sulu metanolik bitki özütlerinin antioksidan etkisini araştırmışlar ve ekstrelerin konsantrasyona bağlı olarak lipid peroksidasyonunu inhibe ettikleri tespit etmişlerdir. Ekstrelerin içeriğinde bulunan flavonoidleri ve ekdisteroitleri, antioksidan bileşenler olarak değerlendirmişlerdir. Ayrıca lipid perosidasyonunda, *K. coronata* bitki özütünün flavonoid içeren fraksiyonunun ekdisteroit içeren fraksiyona göre daha antioksidan etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Guinot vd. (2009), 19. yüzyıla kadar sarı bir boya olarak kullanılan çok yıllık bir cins olan *K. tinctoria* bitkisinin flavonoidlerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada, özellikle olgunlaşmış türlerinde flavonoidlerin gövdelerden ziyade yapraklarda yoğun olduğunu rapor edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada luteolin-4’-O-glukosid ve 3-metilkuersetin flavonoidleri ilk kez *K. tinctoria* yapraklarından izole edilerek NMR spektroskopisi ile tanımlanmıştır (Guinot vd., 2009).

K. strangulata’nın rizomlarından  gliseroglikolipit, 1,2-di-O-(9Z,12Z,15Z-oktadekatrienoil)-3-O-(6-amin-6-deoksi- α -D-glukozil)gliserol, 1,2-di-O-(9Z,12Z,15Z-oktadekatrienoil)-3-O-(6-p-hidroksi-fenilpropinamid-6-deoksi- α -D-glukozil)-gliserol ve 1,2-di-O-(9Z,12Z,15Z-oktadekatrienoil)-3-O-[- α -D-glukoz(1-6)- β -D-alloz]-gliserol ile birlikte bir seskiterpen lakton ve üç fitoekdison izole edilmiştir. Yapısı aydınlatılan bu bileşiklerin önemli antimikrobiyal ve antitümör aktivitelerinin olduğunu tespit edilmiştir (Dai vd., 2001).

K. centauroide’in toprak üstü ve köklerin uçucu yağ bileşenlerini GC-MS kullanarak incelenmiştir. Bu uçucu yağ örneklerinde 50’den fazla bileşik belirlenerek bunların 47

tanisi tanımlanmıştır. Toprak üstü ve köklerden elde edilen uçucu yağların ana bileşeninin spathulenol (sırasıyla %13,7 ve %13,9), karyofilen oksid (23,3%) ve humulin-6,7-epoksid (9,9%) olduğu tespit edilmiştir (Tsybiktarova vd., 2016).

Tsybiktarova vd. (2017), *K. centauroides*'in hava organlarında üç, yeraltı organlarında ise dört serbest amino asit tespit etmişlerdir. Aynı grup, esansiyel amino asitler olan arginin, valin, lizin, metiyonin ve fenilalanin de dahil olmak üzere sırasıyla toprak üstü kısımlarında dokuz, köklerde ise sekiz bağlanmış amino asit tespit etmişlerdir. *K. centauroides*'lerin toprak üstü kısımlarında serbest amino asit olarak metionin (% 90,74) tespit edilirken, tirozin (% 41,16), lizin (% 23,93) ve alanin (toplam amino asitlerin % 12,45'i) serbest olmayan asitler olarak bulunmuştur. Köklerde ise serbest amino asit olarak prolin (% 46,97) ve serin (% 22,25) tespit edilirken, fenilalanin (% 52,56) ve valinin (% 16,99) serbest olmayan amino asitler olarak rapor edilmiştir.

Odinokov vd (2002), *K. coronata*'dan 3-epi-20-hidroksiekdison, 20-hidroksiektison, ekdison, ajugasteron C ve polipodin B, 20-hidroksi ekdison 22-asetat ve taksisteron fitoekdisteroitleri izole etmişlerdir.

Myagchilov vd. (2017), *K. coronata*'nın yapraklarından 3-metilkuersetin-3'-O- β -D-glukoronipiranosid [5-(5,7-dihidroksi-3-metoksi-4-okso-4H-kromen-2-yl)-2 hidroksi fenilhekso-piranosideronik asit] ve kuersetin-3'-O- β -D-glukoronipiranosid[2-hidroksi-5-(3,5,7-trihidroksi-4-okso-4H-kromen-2-yl) fenilheksopiranosideronik asit] flavonoidlerini izole etmişlerdir. İzole edilen bileşiklerin yapıları, UV spektroskopisi, NMR spektroskopisi, elektrosprey iyonizasyonu ve kütle spektrometresi kullanılarak aydınlatmıştır.

Simon vd. (2007), *K. wolffii* köklerinin metanol ekstraktlarının araştırılmasıyla ekdison bileşikler olan 2 β ,3 β ,20R,22R,25-pentahidroksi-5-kolest-6,8 (14)-dien, 24-metilen-sidasteron, stachysterone B ve 14,15- α -epoksit izole edilmiştir.

Nowak vd. (2009), *K. quinquefolia*'nın topraküstü kısımlarının metanolik ekstresi üzerine yaptıkları kimyasal çalışmada, α , β -arbutin anomerini izole etmişlerdir.

Tel vd. (2013), dört *Klasea* türünün yağ asidi profillerini GC ve GC-MS tekniklerini kullanarak araştırmışlardır. Aynı grup, palmitik, oleik, linoleik ve linolenik asitlerin ana yağ asitleri olduğunu, *K. lasiocephala*'nın metanol ekstresinin β -karoten-linoleik asit, DPPH serbest radikali giderim ve CUPRAC analizlerinde en yüksek aktiviteyi gösterdiğini ve *K. radiata*'nın hekzan özütünün de en iyi metal şelat aktivitesini

sergilediğini tespit etmişlerdir. Ayrıca, Tel vd, (2013), ekstrelerin *in vitro* antikolinesteraz aktivitesini, Alzheimer hastalığının patogeneğinde kilit enzimler olan asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BChE)'ye karşı test etmişlerdir. Buna göre, *K. radiata* ve *K. lasiocephala*'nın heksan ekstreleri haricindeki ekstreler AChE ve BChE'ye karşı orta düzeyde inhibisyon gösterirlerken, *K. erucifoli*'nin heksan ekstresi ve *K. radiata*'nın metanol ekstresi tirozinaz inhibisyon aktivitesi sergilemektedirler.

1.2.4. Antioksidanlar

Antioksidanlar için çeşitli tanımlar yapılmıştır, ancak ortak tanımlama yapılacak olursa antioksidanlar; küçük derişimlerde herhangi bir maddenin serbest radikalleri nötralize edebilmesiyle oksitlenebilir substratın oksidasyonunu engelleyen moleküller olarak ifade edilebilir (Antolovich vd 2002).

Oksidasyon reaksiyonunun hücrelere zararlı etkisi ve oksidatif stresin neden olabileceği hastalıklar göz önüne alındığında, antioksidanlar hem insan sağlığı hem de tüm canlı organizmalarda önemli bir rol oynamaktadır (Aydın, 2015). Antioksidanların, kanser, arterioskleroz ve kalp hastalığı dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara karşı insan sağlığını koruduğu bilinmektedir (Bandyopadhyay, 2006).

Antioksidanlar, gıdaların doğal bileşenleri olarak meydana gelebilir, ürünlere eklenebilir veya işleme sırasında oluşturulabilirler. Antioksidanların rolü, sadece gıdaların kalitesini iyileştirmek değil, aynı zamanda gıda kalitesini korumak ve raf ömrünü uzatmaktır. Gıda işlemede kullanılan antioksidanlar, ucuz, toksik olmayan, düşük derişimlerde etkili, kararlı ve işlemeyi sürdürme yeteneğine sahip olmalıdır. Renk, lezzet ve koku en az düzeyde olmalıdır. Kullanılacak antioksidanın seçimi, ürün uyumluluğuna ve düzenleyici ilkelere bağlıdır (Giese, 1996; Coppen, 1983; Reische, 2002).

1.2.4.1. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri

DPPH radikali giderim aktivitesi tayin yöntemi

DPPH serbest radikal süpürücü aktivite yaygın kullanıma sahip bir antioksidan analizidir. Basit ve doğru bir yöntemdir. Bu analizin temeli, DPPH serbest radikalının,

serbest radikalın hidrojen atomunu yakalaması kabiliyetine dayanır. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) çözelti içinde mor bir renge sahip serbest radikaldır. Antioksidan moleküller ve fenolik bileşikler tarafından indirgenerek, çözeltide sarı renge sahip difenilpikril hidrazine dönüşür. Bu özellik reaksiyonun görsel olarak izlenmesini sağlar ve serbest radikal süpürme aktivitesi 517 nm'de absorpsiyon değişikliklerini ölçerek hesaplanır (Blois, 1958).

ABTS katyon radikali giderim aktivitesi

2,2'-Azinobis (3-etilbenzotizolin-6-sülfonik asit) radikal katyonu (ABTS^{•+}) antioksidan kapasiteleri araştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Antioksidan ve ABTS radikal katyonu arasındaki reaksiyon 734 nm'de izlenir (Henriquez, 2002). ABTS yöntemi, flavonoidler, hidroksisinnamatlar ve karotenoidler dahil olmak üzere hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidanlara uygulanabilir. ABTS radikal katyonu, ABTS'nin potasyum persülfat ile oksidasyonu ile oluşur ve ABTS^{•+}, antioksidanlar tarafından azaltılır (Re, 1998; Henriquez, 2002; Barut, 2011).

CUPRAC aktivite yöntemi (Bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi)

Apak ve arkadaşlarının geliştirdiği bu yöntem, demir (III) iyonu indirgeme gücü (FRAP) testinin bir çeşididir. Bu yöntemde Fe²⁺ yerine Cu²⁺ kullanılmıştır. Bir numunedeki tüm indirgeyici ajanların etkisi ile Cu²⁺'nın Cu⁺ ya indirgenmesi ve Cu⁺'nın neokuprin ile kompleksasyonu temeline dayanır (Apak vd., 2004).

Bakır, demirden nispeten daha düşük bir redoks potansiyeline sahiptir, bu yüzden reaksiyonları daha seçicidir ve CUPRAC'da FRAP ile ortak girişimler gözlenmez. Buna ek olarak, bakır, demire göre daha hızlı bir reaksiyon kinetiğine sahiptir (Prior vd., 2005; Celep, 2013).

1.2.4.2. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar, birincil antioksidanlar ve ikincil antioksidanlar olarak etki mekanizmaları ile geniş bir şekilde sınıflandırılabilir. Bazı antioksidanlar birden fazla aktivite mekanizmasına sahiptir ve sıklıkla çok fonksiyonlu antioksidanlar olarak adlandırılır. Kimyasal etki şekilleri büyük ölçüde değişir, çünkü bu maddeler serbest radikal reaksiyonunun tüm aşamalarında işlev görebilir (Reische vd., 2002).

Birincil antioksidanlar

Birincil, tip 1 veya zincir kırıcı antioksidanlar, başlangıç adımını geciktiren, engelleyen veya oto-oksidasyonun yayılma aşamasını kesen serbest radikal alıcılardır. Oto-oksidasyonun başlatılması, bir α -metilenik hidrojen molekülünün, bir lipid (alkil) radikali ($R^\bullet$) oluşturmak için doymamış bir lipidden soyutlandığında ortaya çıkar (Reische vd., 2002).



Bu yüksek derecede reaktif lipid radikali, daha sonra çoğalma reaksiyonunda bir peroksi radikali ($ROO^\bullet$) oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girer (Reische vd., 2002).



Çoğalma sırasında, peroksi radikalleri bir hidroperoksit ve yeni bir kararsız lipid radikali oluşturmak için lipid ile reaksiyona girer (Reische vd., 2002)..



Bu lipid radikali daha sonra başka bir peroksi radikali üretmek için oksijenle reaksiyona girerek, döngüsel, kendiliğinden katalizlenen bir oksidatif mekanizmaya neden olur (Reische vd., 2002).



Hidroperoksitler kararsızdır ve çoğalma reaksiyonlarını daha da hızlandıran radikaller üretmek için bozulabilirler. Bu reaksiyonlar dallanma basamakları olarak adlandırılırlar (Reische vd., 2002).



Birincil antioksidanlar lipid ve peroksi radikalleri ile reaksiyona girer ve bunları daha kararlı, radikal olmayan ürünlere dönüştürürler. Birincil antioksidanlar, hidrojen atomlarını lipid radikallerine bağlarlar, böylece lipid türevleri ve antioksidan radikalleri üretirler. Hidrojen vericileri olarak primer antioksidanlar, peroksi radikalleri için lipidlerden daha fazla afiniteye sahiptir (Porter, 1980). Bu nedenle, çoğalma sırasında oluşan peroksi ve oksijen serbest radikalleri ve dallanma otooksidasyon basamakları birincil antioksidanlar tarafından giderilir. Antioksidanlar

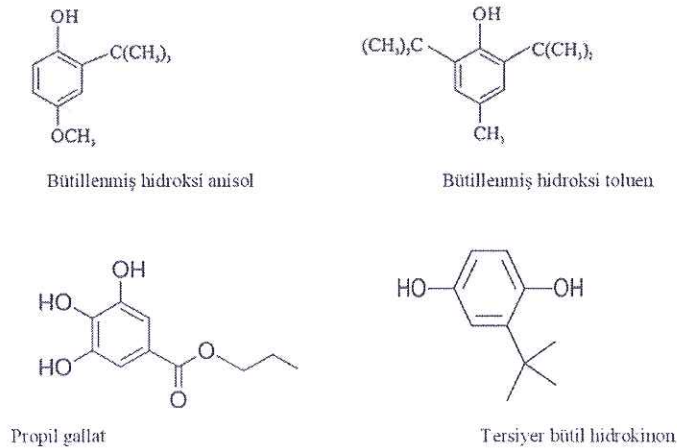
da doğrudan lipid radikalleri ile etkileşime girebilir (Reische vd., 2002).



Hidrojenin verilmesi ile üretilen antioksidan radikal, lipidlerle çok düşük bir reaktiviteye sahiptir. Bu düşük reaktivite, yayılma hızını azaltır, çünkü antioksidan radikalın oksijen veya lipidler ile reaksiyonu çok yavaştır. Antioksidan radikal, stabil rezonans hibridleri oluşturmak için, bir fenol halkasının etrafında eşlenmemiş elektronun delokalizasyonu ile stabilize edilir. Antioksidan radikaller peroksi, okside ve diğer antioksidan radikallerle sonlandırma reaksiyonlarına katılabilir (Reische vd., 2002).



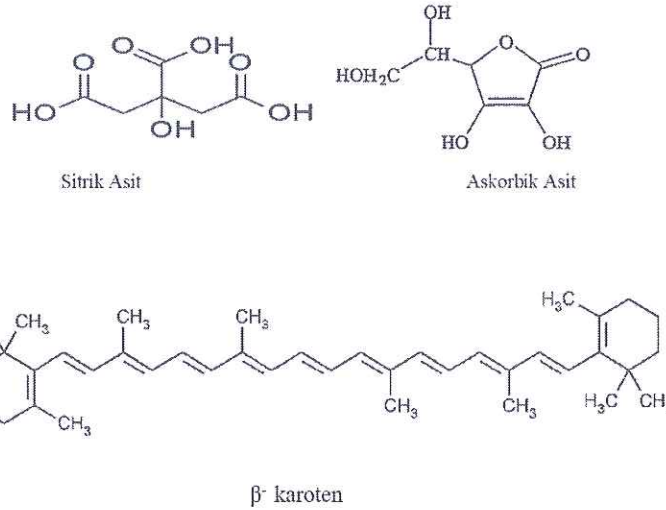
Gıdalarda en çok kullanılan birincil antioksidanlar sentetik bileşiklerdir. Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), propil gallat (PG) ve tersiyer butilhidrokinon (TBHQ) önemli primer fenolik antioksidanlara örnek olarak verilebilir (Şekil 1.3). Tokoferoller en yaygın kullanılan doğal birincil antioksidanlardır. Karotenoidlerin, mekanizmaları fenoliklerden farklı olsa da, birincil antioksidan aktiviteye sahip başka bir doğal bileşikler grubudur (Reische vd., 2002).



Şekil 1.3. Birincil antioksidanlar

İkincil antioksidanlar

İkincil, koruyucu veya tip 2, antioksidanlar çeşitli olası mekanizmalarla hareket eder. Bu antioksidanlar birkaç farklı etkiyle oksidasyon hızını yavaşlatırlar, ancak serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dönüştürmezler. İkincil antioksidanlar, proksidant metalleri şelatlayabilir ve bunları deaktive edebilir, hidrojeni primer antioksidanlara yenileyebilir, hidroperoksitleri radikal olmayan türlere dağıtabilir, singlet oksijeni deaktive edebilir, ultraviyole radyasyonu absorbe edebilir veya oksijen süpürücü olarak işlev görebilir. Bu antioksidanlar sıklıkla sinerjistler olarak anılırlar, çünkü tip 1 antioksidanların antioksidan aktivitesini desteklerler. Sitrik asit, askorbik asit, askorbil palmitat, lesitin ve tartarik asit, sinerjistlerin iyi örnekleridir (Reische vd., 2002).



Şekil 1.4. İkincil-antioksidanlar

1.2.5. Fenolik bileşikler ve organik asitler

Fenolik bileşikler normal gelişim sırasında bitkiler tarafından sentezlenen ikincil metabolitler olarak kabul edilirler (Harborne, 1982; Pridham, 1960) . Bu bileşikler bitkilerin her yerinde bulunan (Harborne, 1982; Harborne, 1984) fenilalanin ve tirozinden türetilen çok çeşitli fitokimyasallar grubudur (Shahidi, 2000; Shahidi, Nacz, 2004). Bitki fenolikleri basit fenoller, fenolik asitler (hem benzoik hem de sinamik asit türevleri), kumarinler, flavonoidler, stilbenler, hidrolize edilebilir ve yoğunlaştırılmış tanenler, lignanlar ve ligninleri içerir (Nacz ve Shahidi, 2004).

Fenolikler, bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren aromatik halkaya sahiptirler. 8.000'den fazla fenolik yapı olduğu bilinmektedir. Bitki fenolikleri, bitkilerin renklerine katkıda bulunmanın yanı sıra, patojenler, parazitler ve yırtıcılar tarafından ultraviyole radyasyonuna veya saldırganlığına karşı savunmaya katılmaktadır. (Dai ve Mumper, 2010). Fenolik bileşikler, anti-alerjik, anti-artrojenik, anti-inflamatuvar, anti-mikrobiyal, antioksidan, anti-trombotik, kardiyoprotektif ve vazodilatatör etkiler gibi çok çeşitli fizyolojik özellikler sergiler (Benavente-Garcia vd., 1997; Manach vd., 2005; Middleton vd., 2000; Puupponen-Pimiä vd., 2001; Samman vd., 1998; Balasundram vd., 2006).

Organik asitler, bir karboksil grubu (-COOH) ile karakterize edilen asidik özelliklere sahip organik bileşiklerdir (Quitmann vd., 2013). Zayıf asitler olarak bilinirler, çünkü bunlar kısmen sulu çözeltide ayrışır. Organik asitlerin yapısındaki karboksi grupları, hidroksi grupları ve karbon-karbon çift bağları sayısı farklılık gösterir (Theron ve Lues, 2010; Costa and Conte-Junior, 2017; Anyasi, 2017).

Organik asitler doğal olarak birkaç gıdada bulunduğu gibi hidroliz, biyokimyasal metabolizma ve mikrobiyal aktivite sonucu oluşan fermente ürünlerde de bulunur (Swetwathana ve Visessanguan, 2015). Ayrıca, organik asitler antimikrobiyal etkinlik nedeniyle (Mani-López vd., 2012; Mohan ve Pohlman, 2016; Zaki vd., 2015) gıda endüstrisi için gıda bozulmalarını önlemek ve gıda bileşenlerinin raf ömrünü uzatmak için gıda katkı maddeleri ve koruyucular olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Cheng, 2010; Jurado-Sánchez vd., 2011; Costa and Conte-Junior, 2017).

1.2.5.1. Dağılımları

Fenolik bileşikler ve basit fenoller genellikle bitki dokularında bulunur. Çözünebilir fenolikler hücre kofullarında yoğunlaşırken, çözünmeyen fenolikler hücre duvarlarında bulunur (Towers ve Harborne, 1964). Fenoller, protein ile kompleks oluşturabilir. Doku seviyesinde, bitkilerin dış tabakaları iç kısımlarında bulunanlardan daha yüksek seviyelerde fenolikler içerir (Naczki ve Shahidi, 2004). Fenolik asitler evrensel dağılıma sahiptirler. Lignine bağlıdır ya da yaprağın alkol ile çözünmeyen fraksiyonunda bulunurlar. Serbest fenoller bitkilerde nadir bulunurlar. Hidrokinon en yaygın bulunan fenol iken katekol, orkinol, floroglukinol ve pirogallol nispeten daha

az bulunur. Bitki melaninleri, basit fenoller ürettiği bilinen doğal fenolik polimerlerdir. Yaygın olarak dağılım gösteren fenil-propanoidler; lignanlar, kumarin ve eugenollerdir. Lignanlar çoğunlukla öz odunlarda bulunur. Kumarin birçok çeşit çim ve yem bitkisinde görülür. Eugenol ise karanfil yağının ayırt edici bileşenidir (Husain ve Gupta 2015).

Bitkisel dokularda organik asitler doğal olarak bulundukları gibi fermantasyon sonucunda meydana gelebilirler. Birinci ve ikinci derece organik asitlerde sitrik asit, malik asit, tartarik asit, fumarik asit ve isositrik asit geniş dağılıma sahiptir. Fermantasyon sonucu meydana gelen ve geniş dağılıma sahip organik asitlere ise formik asit, laktik asit ve süksinik asit örnek olarak verilebilir (Özkaya, 1988).

1.2.5.2. Oluşumları

Bitki fenolikleri, iki temel yolla biyosentezlenir: Şikimik asit yolu ve malonik asit yolu. Şikimik asit yolu çoğu bitki fenollerinin biyosentezine katılır. Malonik asit yolu ise bitkilere oranla mantar ve bakterilerde daha çok olur (Özeker, 1999).

Şikimik asit yolu basit karbonhidratlardan başlar ve aromatik amino asitlere ilerler. Bu yolun ara maddelerinden biri, adını tüm reaksiyon dizisine veren şikimik asittir. Çoğu bitki türünde, bu sentezdeki temel adım, bir amonyak molekülünün eliminasyonu ile fenilalaninin sinnamik aside dönüştürülmesidir. Bu reaksiyon, fenilalanin amonyakliyz (PAL) enzimi ile katalize edilir. Birkaç bitkide, özellikle çimenlerde, fenolik oluşumlardaki ana reaksiyon, tirozin 4 hidroksisinnamik aside benzer bir dönüşümdür (Hrazdina, 1992; Özeker, 1999).

Bitkilerde ikincil metabolizmanın önemli bir düzenleyici enzimi olan PAL aktivitesi, hormonlar, besin seviyeleri, ışık (fitokrom üzerindeki etkisi ile), mantar enfeksiyonu ve yaralama gibi çeşitli dış ve iç faktörlerin kontrolü altındadır. Fungal saldırı, PAL kodlayan mesajcı RNA'nın transkripsiyonunu tetikler, böylece bitkide PAL sentezini artırır ve fenolik bileşiklerin sentezini uyarır (Kuhn vd., 1984; Özeker, 1999).

Organik asitlerin oluşumunda ilk adım lipoliz, proteoliz ve glikolizdir. Daha sonra oluşan sekonder ve tersiyer reaksiyonlar ile (oksidasyon, transaminasyon\dekarboksilasyon vb.) primer ürünlerden serbest organik asitler meydana gelir (Tschager, 1982; Özbek, 1985).

1.2.5.3. Sınıflandırılmaları

Fenolik bileşikler basit fenolik bileşikler ve kompleks fenolik bileşikler olmak üzere iki gruba ayrılırlar (Özeker, 1999). Basit fenolikler; fenolik asitler ve kumarinler olarak sınıflandırılır. Fenolik asitler de hidroksi benzoik asitler ve hidroksisinamik asitler olmak üzere kendi içinde iki alt sınıfa ayrılır (Vermerris ve Nicholson, 2006; de Lourdes Reis Giada, 2013; Okumuş vd., 2015). Kompleks fenolik bileşikler ise lignanlar, flavanoidler ve tanninler olmak üzere üç gruba ayrılırlar (Özeker, 1999).

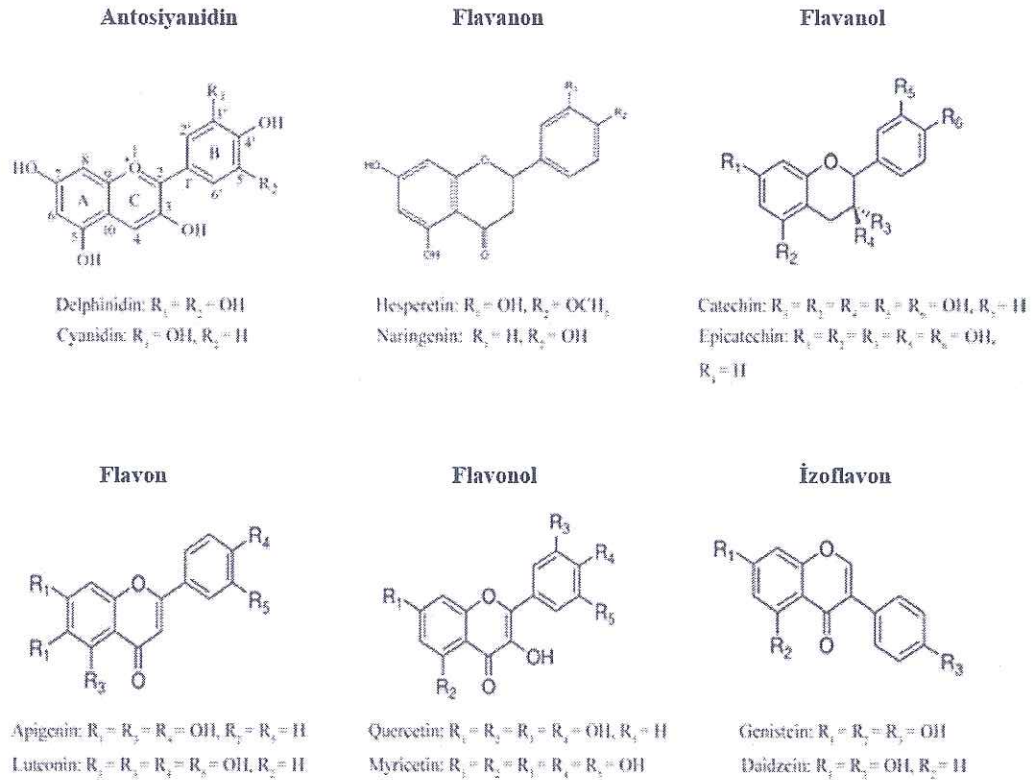
Organik asitler karbon zinciri türüne göre; alifatik, alisiklik, aromatik ve heterosiklik, doymamışlık derecesine göre; doymuş ve doymamış, fonksiyonel gruplarının sayısına göre ise monokarboksilik, dikarboksilik ve trikarboksillik asitler olarak sınıflandırılırlar (Quitmann vd., 2013; Costa ve Conte-Junior, 2017).

1.2.5.4. Flavonoidler ve flavonoid glikozitler

Flavonoidler bitki krallığı boyunca bitkilerde mevcut olan 2-fenil-benzil- γ -piron türevleri sekonder metabolitlerdir. Bu grubun 9000'in üzerinde bileşiği bilinmektedir (Buer vd., 2010; Mierziak vd., 2014). Flavonoidler; 2-fenil kromon çekirdeğinden (flavonlar ve flavonoller) veya 2-fenil kromanon çekirdeğinden (flavanonlar ve flavanonoller) türetilmiş, oksijenli bir heterosiklik yapıyla bağlanmış iki benzen döngüsü ile karakterize edilen sarı pigmentli yapılardır (Ribéreau-Gayon, 2006). Flavonoidler, monosakkaritler ve disakkaritler ile konjuge edilmiş ve oligosakkaritler, lipidler, aminler, karboksilik asitler ve organik asitler ile kompleksler oluşturan sülfatlanmış ve metillenmiş türevler olarak da ortaya çıkarlar (Duthie vd., 2003; Giada, 2013).

Hidroksilatasyon derecesine ve heterosiklik piron halkasında C2-C3 çift bağın varlığına göre flavonoidler 13 sınıfa ayrılırlar (Sánchez-Moreno, 2002). En önemli flavonoidler; flavonoller, flavanoller, flavonlar, izoflavonlar, antosiyanidinler veya antosiyaninler ve flavanonlardır (Scalbert ve Williamson, 2000; de Lourdes Reis Giada, 2013). En yaygın flavonoidlerin bazıları şunlardır: quercetin (soğan, brokoli ve elmada bol miktarda bulunan bir flavonol), kateşin (çay ve çeşitli meyvelerde bulunan bir flavanol), naringenin (greyfurtun ana flavanonu), siyanidin-glikozit (berry meyvelerinde bol miktarda bulunan bir antosiyanin) ve daidzein, genistein ve

glisitindir (soya fasulyesinde bulunan ana izoflavonlar) (D'Archivio vd., 2007). Bazı Flavonoidlerin yapıları Şekil 1.5' de verilmiştir (Dai ve Mumper, 2010).



Şekil 1.5. Flavonoidlerin yapıları

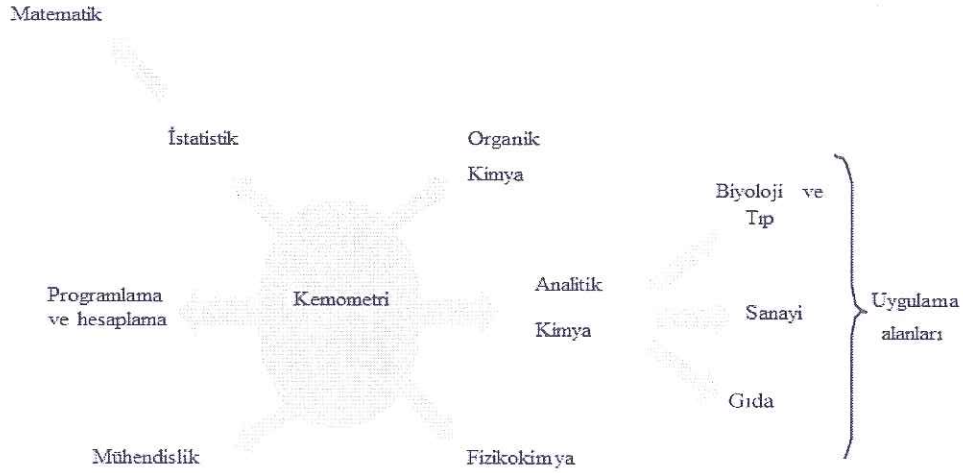
Flavonoid glikozitler, bitkiden potansiyel aktif maddeler ve olası kalite kontrol belirteçleri olarak keşfedilmiş ve izole edilmiştir (Fu vd., 2008; Fu vd., 2010; Mbamalu vd., 2016). Flavonoid glikozitler, birçok bitkinin ortak bir bileşenidir ve farmakolojik aktiviteye sahip önemli bir bitki bileşimi sınıfıdır (Bruneton, 2012). Bitki hücrelerindeki çoğu flavonoidler glikozitler olarak bulunur. Flavonoid iskeletindeki şeker ikamesi, O-glikozidler durumunda hidroksil grupları yoluyla veya C-glikozitlerde A halkasındaki doğrudan karbon atomlarına doğru gerçekleşebilir (Stobiecki, 2000).

1.2.6. Kemometrik analiz

Kemometri, "optimum prosedürleri ve deneyleri tasarlamak veya seçmek ve kimyasal verileri analiz ederek maksimum kimyasal bilgi sağlamak için istatistiksel ve

matematiksel yöntemleri kullanan bir kimya disiplini" olarak tanımlanmıştır. Kemometri kavramı ilk olarak Svante Wold tarafından 1972'de kullanılmış ve 1974 yılında Bruce Kowalski tarafından resmileştirilmiştir (Varmuza, 2012).

Kemometri organik kimya, kromatografi ve spektroskopi, fiziksel kimya, bilimsel arkeoloji, biyoloji gibi bir çok alanda kullanılmaktadır. Kemometrinin farklı disiplinler ile ilişkileri Şekil 1.6'da sunulmaktadır (Brereton, 2003; Dinç, 2007).



Şekil 1.6. Kemometrinin ilişkili olduğu disiplinler

Kemometri kimya alanında kompleks numunelerin analizinde

- ❖ Hızlı
- ❖ Güvenilir
- ❖ Keskin
- ❖ Doğru
- ❖ Esnek
- ❖ Çok yönlü çözümler sunması

gibi yönlerinden dolayı tercih edilir (Dinç, 2007).

Temel bileşen analizi (PCA), kemometrik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan çok değişkenli bir modelleme ve analiz tekniğidir. PCA, verideki modelleri tanımlamanın ve verilerin benzerliklerini ve farklılıklarını vurgulayacak şekilde ifade etmenin bir yoludur (Shin vd., 2010). Verileri görselleştirmek için PCA kullanılır. En önemli PCA

uygulaması, değişken sayısının (skorlar) azaltılması ve çok boyutlu bir veri tablosunun düşük boyutlu bir alanda gösterilmesidir. Böylece, yeni değişkenler (yükler) orijinal olanların doğrusal kombinasyonları ve spektrumları olarak yorumlanabilir (Roggo vd., 2007).

Hiyerarşik küme analizi (HCA), verilerin doğal kümelenmelerini ve desenlerini iki boyutlu bir alanda vurgulayacak şekilde gösteren analiz tekniğidir. Doğası gereği nitel olan sonuçlar genellikle bir dendrogram olarak sunulmakta, örneklerin veya değişkenlerin küme ve korelasyonlarının görselleştirilmesine izin vermektedir. HCA'da, örnekler veya değişkenler arasındaki Öklid uzaklıkları, elemanları 0 ila 1 arasında değişen benzerlik indeksleri olan bir benzerlik matrisine göre hesaplanır ve dönüştürölür; daha küçük bir mesafe daha büyük bir indeks ve dolayısıyla daha büyük benzerlik anlamına gelir (Granato vd., 2010).

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. *Klasea* Cass. Türlerinin Toplanması

Klasea Cass. (Asteraceae) cinsine ait 15 tür Prof. Dr. Ahmet Duran ve Dr. Bekir Doğan tarafından toplanmış ve tanımlanmıştır. Türlerin isimleri, toplama yerleri ve tarihleri Çizelge 2.1’de listelenmiştir.

Çizelge 2.1. *Klasea* türlerinin toplanma yerleri ve zamanları

<i>Klasea</i> Cass. Türleri	Toplanma Yerleri ve Tarihleri
1. <i>Klasea bornmuelleri</i> (Azn.) Greuter & Wagenitz	Malatya, Darende Akçatoprak yakınlarında, 1010 m, 17 Temmuz 2009
2. <i>Klasea cerinthifolia</i> (Sm.) Greuter & Wagenitz	Kahramanmaraş, Ahir dağı 990 m rakımda, 16 Temmuz 2009
3. <i>Klasea coriaceae</i> (Fisch. & C. A. Mey. ex DC.) Holub	Kars, Tuzluca'dan Kağızman'a, 1055 m rakımda, 20 Temmuz 2009
4. <i>Klasea grandifolia</i> (P. H. Davis) Greuter & Wagenitz	Antalya, Akseki, Süleymanlı köyü, 1425 m rakımda, 31 Temmuz 2009
5. <i>Klasea haussknechtii</i> (Boiss.) Holub	Muş, Malazgirt, Karıncalı köyü, 1840 m rakımda, 18 Temmuz 2009
6. <i>Klasea kotschyi</i> (Boiss.) Greuter & Wagenitz	Bitlis, Tatvan, Sapur köyü, 1965 m rakımda, 06 Ağustos 2009
7. <i>Klasea kurdica</i> (Post) Greuter & Wagenitz	Osmaniye, Yarpuz, 1465 m rakımda, 15 Temmuz 2009
8. <i>Klasea oligocephala</i> (DC.) Greuter & Wagenitz	Kahramanmaraş, Ahir dağı, 990 m rakımda, 16 Haziran 2009
9. <i>Klasea quinquefolia</i> (M. Bieb. ex Willd.) Greuter & Wagenitz.	Artvin, Ardanuç, Boyalı köyü, 1210 m, 11 Ağustos 2009
10. <i>Klasea serratuloides</i> (DC.) Greuter & Wagenitz	Van, Gürpınar, 2125 m rakımda, 15 Temmuz 2009

Çizelge 2.1. (Devam)

11. <i>Klasea erucifolia</i> (Linnaeus) Boriss.	Erzurum, Köprüköy, Eğirmez Köyü, 1635 m rakımda, 09 Ağustos 2009
12. <i>Klasea hakkiarica</i> P. H. Davis	Hakkari, Cilo Dağı, Kırıkdağ, 2210 m rakımda dez deresi yakınlarında, 07 Ağustos 2009
13. <i>Klasea lasiocephala</i> Bornm.	Antalya, Gazipaşa, Çayırık Dağı, 1730 m rakımda, 30 Haziran 2009
14. <i>Klasea radiata</i> (Waldst. et Kit.) Bieb. subsp. <i>biebersteiniana</i> Iljin ex Grossh.	Kars, Kağızman, Akçay'dan Cumaçay'a, 1830 m rakımda, 20 Haziran 2009
15. <i>Klasea nova</i>	Kars, Kağızman, Akçay'dan Cumaçay'a, 1830 m rakımda, 20 Haziran 2009

2.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

2.2.1. Kimyasal maddeler ve çözücüler

Etanol, *n*-hekzan, metanol, amonyum asetat, bakır (II) klorür, E. Merck'den (Darmstadt, Almanya) temin edildi. Neokuproin, α - tokoferol, bütillenmiş hidroksil anisol (BHA), 1,1-difenil-2 pikrilhidrazil (DPPH), ABTS (2,2'-azino-bis(3- etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) di amonyum tuzu) ve K₂S₂O₈ Sigma Chemical Co. (Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Almanya)'dan temin edildi. Diğer tüm kimyasallar ve çözücüler analitik saflıktadır.

2.2.2. Çözeltilerin hazırlanması

DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yönteminde kullanılan çözelti

- ❖ 0,4 mM DPPH radikali için; 16 mg DPPH radikali tartılarak 100 mL'lik balon jode metanol ile çözüldü ve hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yönteminde kullanılan çözelti

- ❖ 7 mM ABTS^{•+} çözeltisinin hazırlamak için; 19,2 mg ABTS tartılarak 5 mL saf

suda çözüldü. Bu çözeltinin üzerine toz halinde 3,3 mg (2,45 mM) $K_2S_2O_8$ ilave edildi ve karıştırıldı. Oda sıcaklığında karanlıkta 12-16 saat bekletildi.

CUPRAC aktivite yönteminde (Bakır (II) indirgeme gücü) kullanılan çözeltiler

- ❖ 10 mM'lık Cu(II) çözeltisini hazırlamak için; 170,5 mg $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ tartıldı 100 ml'lik balon jojede saf su ile çözüldü ve 100 mL'ye tamamlandı.
- ❖ 1 M pH=7 NH_4Ac tamponunu hazırlamak için; 7,708 g NH_4Ac tartıldı. 100 ml'lik balon jojede saf suda çözüldü ve hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
- ❖ 7,5 mM neokuprin çözeltisinin hazırlanması: 39 mg neokuprin tartılarak 25 mL'lik balon jojede bir miktar etanolde çözüldü ve hacmi 25 ml'ye tamamlandı.

HPLC-DAD analizinde kullanılan çözeltiler

- ❖ %0,1' lik asetik asit çözeltisi: 1 mL glasiyel asetik asit 1000 mL ultra saf su içerisinde çözüldü. 20 dakika ultrasonik banyoda bekletildi.

2.3. Aletler ve Diğer Gereçler

- ❖ Döner buharlaştırıcı (Rota evaporatör)
- ❖ Etüv (Thermo, Amerika Birleşik Devletleri)
- ❖ Hassas terazi (AND HM200)
- ❖ Manifold
- ❖ HPLC-DAD (Shimadzu-20AT)
- ❖ UV-visible spektrofotometre (DR-2800)
- ❖ 96-kuyucuklu mikropate okuyucu (SpectraMax ³⁸⁴PC₃₄₀, Molecular Devices, USA)
- ❖ Otomatik pipetler (2-20 μ L, 10-100 μ L, 20-200 μ L, 100-1000 μ L ve 1-5mL)
- ❖ Manyetik karıştırıcı (Clifton, Almanya)
- ❖ Cam malzemeler (Balon jojeler, beherler)

2.4. Ekstrelerin Hazırlanması

Her bir *Klasea* Cass. türü (100 g), oda sıcaklığında (25 ° C'de) dört kez (24 saat x 4)

2,5 L hekzan ile ekstre edildi, süzöldü ve özöcüsü kuruyana kadar vakumla buharlaştırdı. Daha sonra hekzan ile eksre edilen bitki materyalleri benzer şekilde metanol ile ekstre edildi, süzöldü ve kuruluğa kadar döner buharlaştırdıca metanol uaklaştırdı.

2.5. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

2.5.1. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi

Klasea cinsine ait 15 türün metanol ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi Blois (1958) tarafından belirtilen yönteme göre ölçölmüştür. Her *Klasea* cinsinden 1000 ppm (1:1) stok özeltisi hazırlandı ve 1:2, 1:4, 1:8 oranında seyreltildi. Hazırlanan örneklerden 40 µL alınarak 96 well pleytlere koyuldu ve üzerine 120 µL etanol ve 40 µL, 0,4 mM DPPH özeltisi eklendi. Kontrol olarak 40 µL metanol kullanıldı. Oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta bekletildi. Daha sonra 517 nm’de absorbansları ölçöldü.

DPPH serbest radikal giderim aktivitesi aşğıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{İnhibisyon (\%)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

Bu eşitlikte; A_{kontrol} kontrolün absorbansı ve $A_{\text{örnek}}$ ise örneğin absorbansıdır (Duh vd., 1997).

2.5.2. ABTS katyon radikal giderim aktivitesi yöntemi

Klasea ekstrelerinin katyon giderim aktiviteleri, ABTS⁺ radikali kullanılarak belirlendi (Re vd., 1999). Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *Klasea* örneklerinden 40 µL alınarak pleytlere koyuldu. Örneklerin üzerine 160 µL, 7 mM ABTS⁺ özeltisi eklendi ve 10 dakika bekletildi. Daha sonra 734 nm’de absorbansları ölçöldü. Kontrole karşı absorbansı değeriendirildi ve aşğıdaki eşitlik ile ABTS katyonu radikal giderim aktivitesi hesaplandı;

$$\text{İnhibisyon (\%)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

Bu eşitlikte; A_{kontrol} kontrolün, $A_{\text{örnek}}$ örneğin absorbansıdır (Duh vd., 1997).

2.5.3. CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi

Klasea türlerinin metanol ekstralarının bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi Apak ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem kullanılarak belirlendi (Apak vd., 2004). *Klasea* ekstralarının farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerinden mikropyletlere 40 µL konuldu ve üzerlerine sırasıyla; 60 µL, 1 M (pH=7,0) amonyum asetat tamponu, 50 µL, 7,5 mM neokuprin çözeltisi, 50 µL, 10 mM CuCl₂. 2H₂O çözeltisi eklendi ve 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra 450 nm’de absorbans okuması yapıldı.

2.6. Ekstrelerin HPLC-DAD Analizleri

2.6.1. HPLC-DAD analiz şartları

HPLC-DAD analiz şartları Çizelge 2.2’de gösterildiği gibidir.

Çizelge 2.2. HPLC-DAD cihazı analiz şartları

Kolon	:	C18 kolon (4 µm, 150 mm x 4,0 mm i.d)
Mobil Faz	:	% 0,1’ lik CH ₃ COOH içeren H ₂ O (A) ve Metanol (B)
Kolon Fırın Sıcaklığı	:	35 °C
Enjeksiyon Hacmi	:	20 µL
Akış Hızı	:	1,0 ml/dk
Dedektör	:	SPD-M20A DAD Dedektör
Dedektör Dalga Boyu	:	254 nm
Analiz Süresi	:	85 dk
Gradient Programı	:	Zaman (dak) % Solvent A % Solvent B
		0,01 98,00 2,000
		3,00 98,00 2,000
		6,00 95,00 5,000
		8,00 94,00 6,000
		12,0 90,00 10,00
		13,0 90,00 10,00
		18,0 75,00 25,00
		25,0 70,00 30,00
		30,0 60,00 40,00
		36,0 58,00 42,00
		41,0 46,00 54,00
		46,0 45,00 55,00
		56,0 44,00 56,00
		60,0 35,00 65,00
		63,0 25,00 75,00
		65,0 15,00 85,00
		80,0 0,000 100,00

2.6.2. HPLC-DAD analizi

15 *Klasea* türünün metanol ekstrelerinden 8 mg tartılıp 1 ml metanolde çözüldü. 0,45 µm'lik filtreden geçirildikten sonra HPLC-DAD cihazında enjeksiyon yapıldı.

2.7. İstatistiksel Hesaplamalar

Aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalaması $\pm$ standart hatası olarak verildi. Sonuçlar %95 güven sınırları içinde *t* testine göre belirlendi. Paralel ölçümler arasında anlamlı bir fark görülmedi. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regrasyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesi ile yapıldı.

2.8. Kemometrik Analiz

Tüm kemometrik hesaplamalar Minitab 16.2.1 istatistiksel software (Minitab Inc. 2010) kullanılarak yapıldı. Çalışmada 15 farklı *Klasea* cinsinin metanol ekstreleri incelendi. 15 örneğin kemometrik analizleri, HPLC-DAD kromatogramlarında yer alan maddeler ve aktiviteler ile korelasyon analizi, temel bileşen analizi (PCA) ve hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) teknikleri kullanılarak yapıldı.

2.9. IC₅₀ ve A_{0,5} Değerlerinin Hesaplanması

CUPRAC deneyi dışında tüm aktivite sonuçları %50 inhibisyon konsantrasyonu (IC₅₀) olarak verildi. IC₅₀ değeri, %50 inhibisyon için gerekli konsantrasyonu ifade eder. CUPRAC sonuçları ise A_{0,5} değeri olarak ifade edildi. IC₅₀ değeri 0,500 absorbansa karşılık gelen konsantrasyonu ifade eder. IC₅₀ değeri örnek konsantrasyonunun %inhibisyona karşı çizilen grafikten, A_{0,5} değeri ise örnek konsantrasyonunun absorbansına karşı çizilen grafiğinden hesaplandı. IC₅₀ ve A_{0,5} değeri ne kadar küçük ise antioksidan aktivitesi o kadar yüksektir.

3. BULGULAR VE İRDELEME

3.1. Ekstrelerin Ekstre Miktarı Ve Verimleri

Klasea cinsine ait 15 türün metanol ekstrelerinin verimleri Çizelge 3.1.'de verilmektedir.

Çizelge 3.1. *Klasea* Cass. ekstrelerinin verimleri ve miktarları

<i>Klasea</i> Cass. Türleri	Ekstrelerin Kodları	Metanol Ekstresi Miktarı (g)	%Verim
<i>Klasea bornmuelleri</i>	KBM	2,98	2,98
<i>Klasea cerinthifolia</i>	KCM	3,01	3,01
<i>Klasea coriaceae</i>	KcoM	3,15	3,15
<i>Klasea erucifolia</i>	KEM	3,51	3,51
<i>Klasea grandifolia</i>	KGM	2,90	2,90
<i>Klasea hakkiarica</i>	SHM	2,86	2,86
<i>Klasea haussknechtii</i>	KHM	3,33	3,33
<i>Klasea kotschy</i>	KKM	3,45	3,45
<i>Klasea kurdica</i>	KkuM	2,96	2,96
<i>Klasea lasiocephala</i>	KLM	2,85	2,85
<i>Klasea nova</i>	KNM	2,66	2,66
<i>Klasea oligocephala</i>	KOM	3,23	3,23
<i>Klasea quinquefolia</i>	KQM	3,00	3,00
<i>Klasea radiata</i>	KRM	3,12	3,12
<i>Klasea serratuloides</i>	KSM	3,16	3,16

3.2. Ekstrelerin HPLC-DAD Analizi Sonuçları

15 *Klasea* türünün metanol ekstralarının 27 standart madde kullanılarak HPLC-DAD cihazında analizi gerçekleştirildi. Analiz sonucunda kromatogramlarda yer alan maddelerin miktarları Çizelge 3.2’de, *Klasea* türlerine ait parmak izi kromatogramları ise Şekil 3.1.’de verilmektedir. 27 standart maddeden klorojenik asit ve rutin analizi yapılan tüm *Klasea* türlerinde ortak fenolik bileşik olarak bulundu.

Çizelge 3.2. Metanol ekstralarının HPLC-DAD kromatogramlarında yer alan maddelerin miktarları (µg/g)

Örnekler	Gallik asit	<i>trans</i> -Akonitik asit	Pirokatekol	Protokateşik asit	2-Fenil etanol	4-Hidroksi benzoik asit	Katekin hidrat	Vanilik asit	Kafeik asit	Klorojenik asit	Ferulik asit	Kumarin	Rutin hidrat
KBM	-	-	-	-	7,7	-	-	-	-	18,43	1,4	-	0,96
KCM	4,6	-	1636	-	-	-	29,7	-	-	12,44	-	-	3,52
KCoM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26,76	-	1,7	7,32
KEM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>tr</i>	-	-	<i>tr</i>
KGM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,86	-	-	<i>tr</i>
SHM	-	-	-	-	12,7	-	-	-	0,28	7,03	-	-	4,61
KHM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,50	-	-	5,75
KKM	-	-	2,94	-	-	-	-	-	-	10,50	-	-	7,15
KkuM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,37	-	-	3,31
KLM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,99	-	-	14,96
KNM	-	-	-	0,35	-	-	-	0,59	0,18	0,78	-	-	2,94
KOM	-	-	-	-	-	0,2	0,39	-	-	1,32	-	-	1,94
KQM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14,98	-	-	4,94
KRM	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	2,70	-	-	<i>tr</i>
KSM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,25	-	0,5	-

- : tespit edilemedi.

tr: iz miktarda.

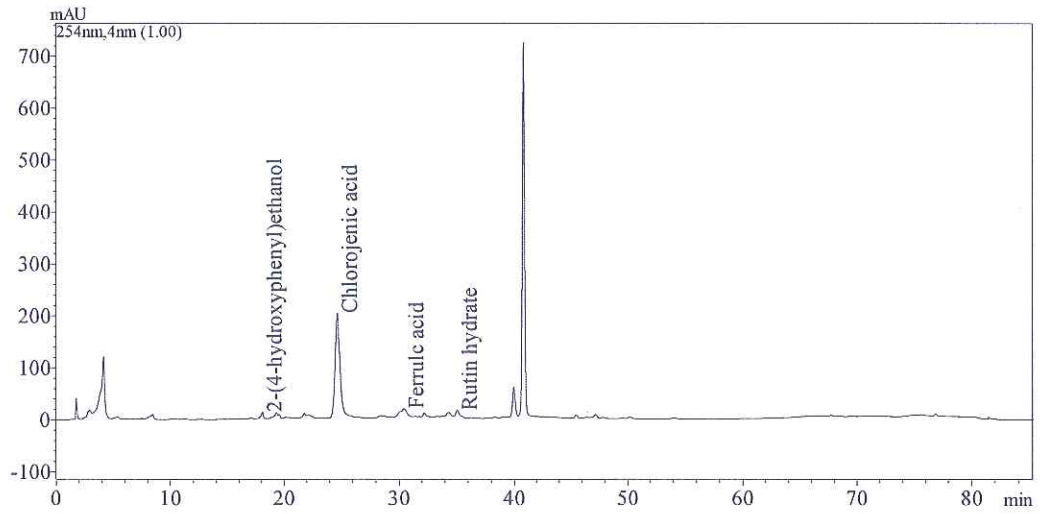


Şekil 3.1. Metanol ekstrelerinin parmak izi kromatogramları

(Yukarıdan aşağıya doğru: 1. *K. serratuloides*, 2. *K. bornmuelleri*, 3. *K. cerinthifolia*, 4. *K. coriacea*, 5. *K. erucifolia*, 6. *K. grandifolia*, 7. *K. hakkiarica*, 8. *K. haussknechtii*, 9. *K. kotschy*, 10. *K. kurdica*, 11. *K. lasiocephala*, 12. *K. nova*, 13. *K. oligocephala*, 14. *K. quinquefolia* ve 15. *K. radiata* ait kromatogram)

3.2.1. *Klasea bornmuelleri* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

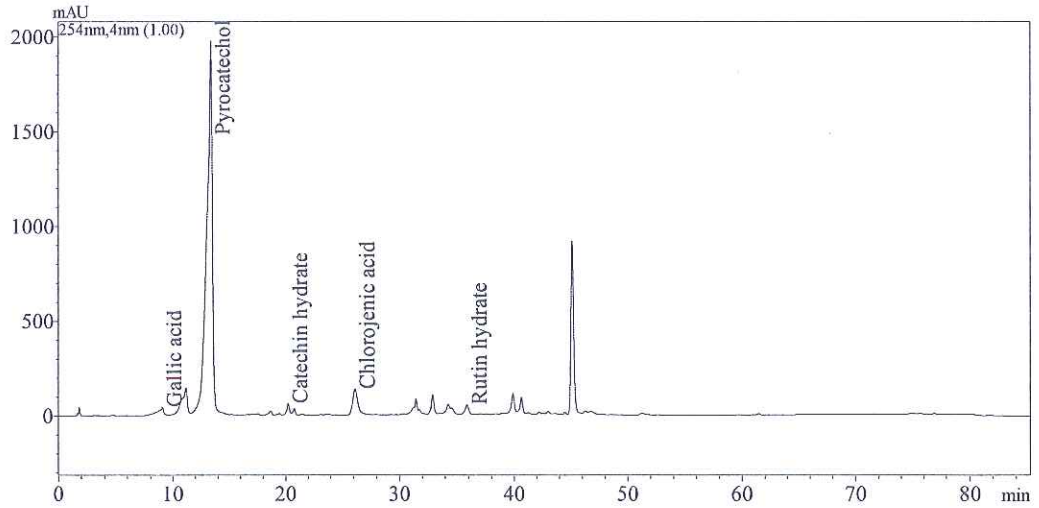
Klasea bornmuelleri'ye ait HPLC-DAD kromatogramı Şekil 3.2'de verilmektedir. HPLC-DAD cihazında taraması yapılan 27 fenolik maddeden; 2-(4-dihidroksifenil) etanol (7,69 µg/g), klorojenik asit (18,43 µg/g), ferulik asit (1,43 µg/g) ve rutin (0,96 µg/g) *Klasea bornmuelleri* türünde bulundu. HPLC-DAD analizi yapılan diğer *Klasea* türleri ile karşılaştırıldığı zaman, ferulik asidin sadece *Klasea bornmuelleri*'de bulunduğu görüldü. Rutin ise diğer türlere göre *Klasea bornmuelleri*'de daha az miktarda bulundu.



Şekil 3.2. *Klasea bornmuelleri* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.2. *Klasea cerinthifolia* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

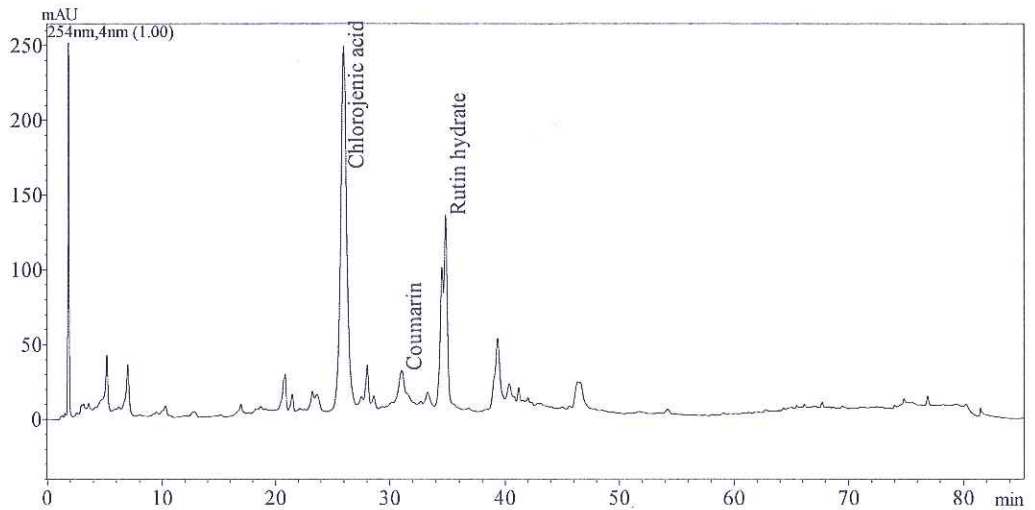
Klasea cerinthifolia türünün HPLC-DAD cihazı ile analizi sonucunda 5 madde tanımlandı (Şekil 3.3). Bu maddelerden klorojenik asit (12,44 µg/g) ve rutin (3,52 µg/g) diğer *Klasea* türlerinde de tanımlanırken pirokatekol (1636,93 µg/g) *Klasea kotschy* ile, katekin (29,70 µg/g) ise *Klasea oligocephala* ile ortak madde olarak tanımlandı. Gallik asit (4,60 µg/g) analizi yapılan *Klasea* türleri içerisinde sadece *Klasea cerinthifolia* türünde bulundu.



Şekil 3.3. *Klasea cerinthifolia* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.3. *Klasea coriacea* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

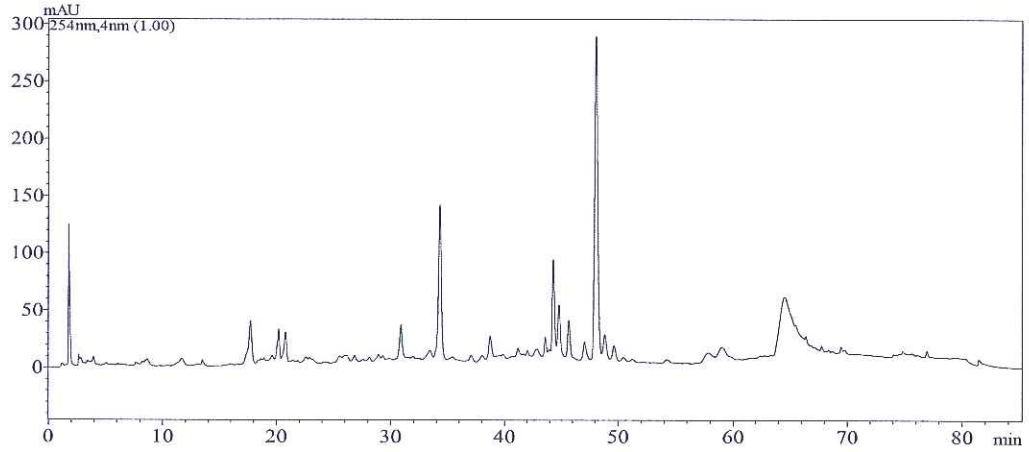
HPLC-DAD analizi sonucunda, *Klasea coriacea*'ya ait kromatogramlar Şekil 3.4'te verilmektedir. Analiz sonucuna göre klorojenik asit miktarı 26,76 $\mu\text{g/g}$ olarak bulundu. Diğer *Klasea* türleri ile karşılaştırıldığı zaman, en yüksek klorojenik asit miktarını *Klasea coriacea* türünün içerdiği görüldü. Analiz sonucunda belirlenen diğer iki maddeden rutin miktarı 7,32 $\mu\text{g/g}$ olarak bulunurken, kumarin miktarı ise 1,74 $\mu\text{g/g}$ olarak bulundu.



Şekil 3.4. *Klasea coriacea* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.4. *Klasea erucifolia* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

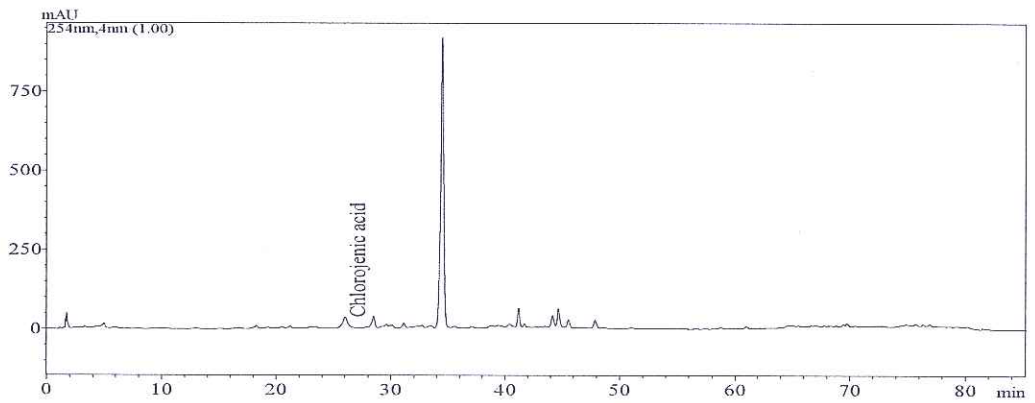
Şekil 3.5'te *Klasea erucifolia*'ya ait HPLC-DAD kromatogramı yer almaktadır. Analiz sonucunda *Klasea erucifolia*'da iz miktarda klojenik asit ve rutin belirlendi.



Şekil 3.5. *Klasea erucifolia* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.5. *Klasea grandifolia* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

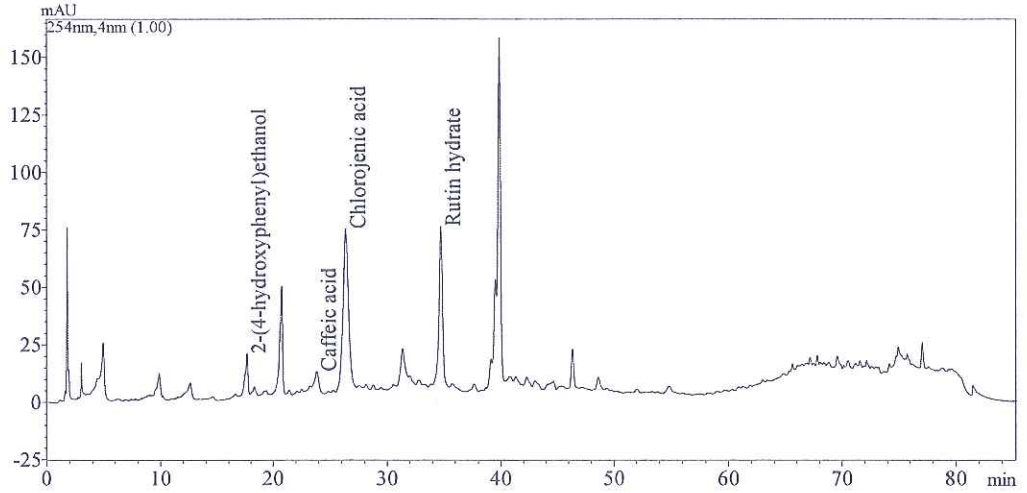
Klasea grandifolia'ya ait HPLC-DAD kromatogramı Şekil 3.6'da verildiği gibidir. *Klasea grandifolia*'da klorojenik asit miktarı 2,86 µg/g olarak bulundu. Rutin ise iz miktarda tespit edildi.



Şekil 3.6. *Klasea grandifolia* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.6. *Klasea hakkarica* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

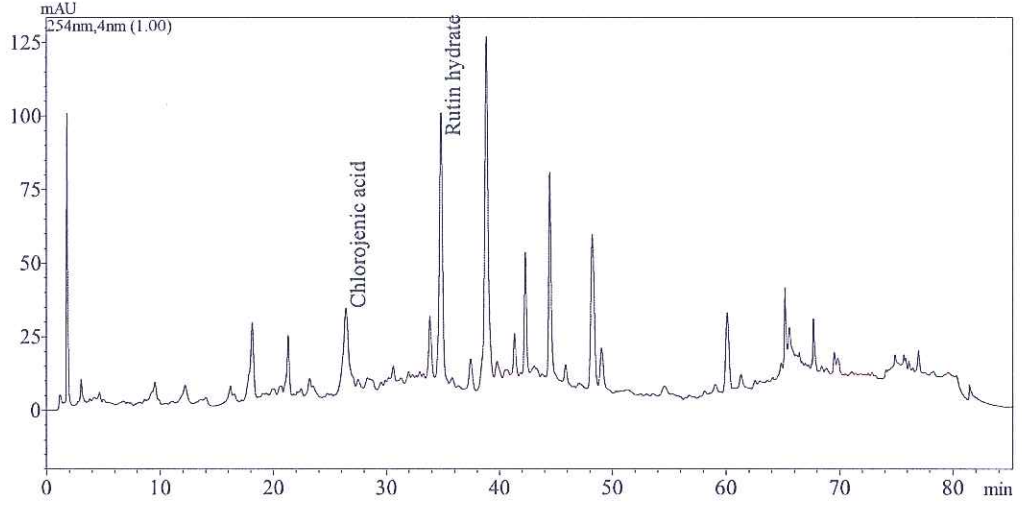
Şekil 3.7’de *Klasea hakkarica*’ya ait HPLC-DAD kromatogramı verilmektedir. Klorojenik asit (7,03 µg/g) ve rutin (4,61 µg/g) diğer 14 tür ile ortak olarak bu türde de tespit edildi. 2-(4-Dihidroksifenil) etanol *Klasea hakkarica*’da (12,68 µg/g) *Klasea bornmuelleri*’ye göre daha fazla miktarda bulundu. Ayrıca *Klasea hakkarica*’nın 0,28 µg/g miktarında kafeik asit bulundurduğu da tespit edildi.



Şekil 3.7. *Klasea hakkarica* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.7. *Klasea haussknehti* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

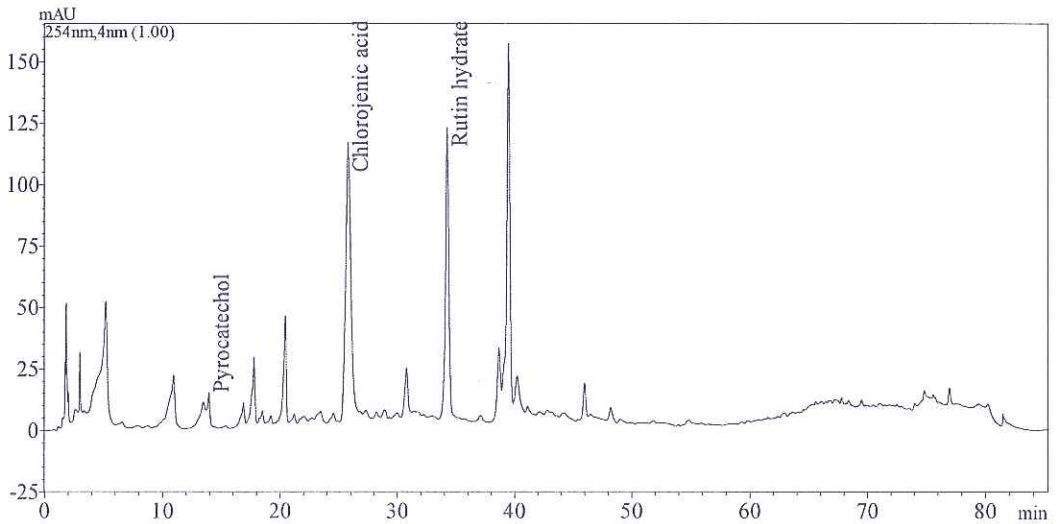
HPLC-DAD cihazında taranan 27 fenolik maddeden; Klorojenik asit miktarı 2,50 µg/g, rutin miktarı ise 5,75 µg/g olarak *Klasea haussknehti*’de bulundu. Türe ait kromatogram Şekil 3.8’de yer almaktadır.



Şekil 3.8. *Klasea haussknechti* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.8. *Klasea kotschyi* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

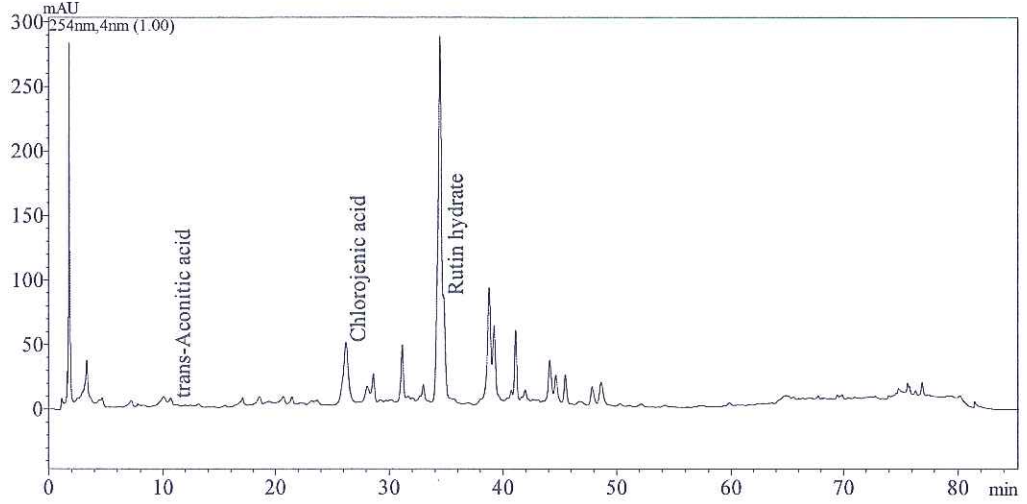
HPLC-DAD cihazında taranan 27 fenolik maddeden 3 tanesi *Klasea kotschyi* türünde bulundu. Bu maddelerden pirokatekol 2,94 µg/g, klorojenik asit 10,50 µg/g, rutin ise 7,15 µg/g olarak bulundu. Diğer 24 fenolik madde tespit edilemedi. Ayrıca 39,21. dakikada yüksek pik alanına sahip bir bileşik olduğu belirlendi (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. *Klasea kotschyi* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.9. *Klasea kurdica* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

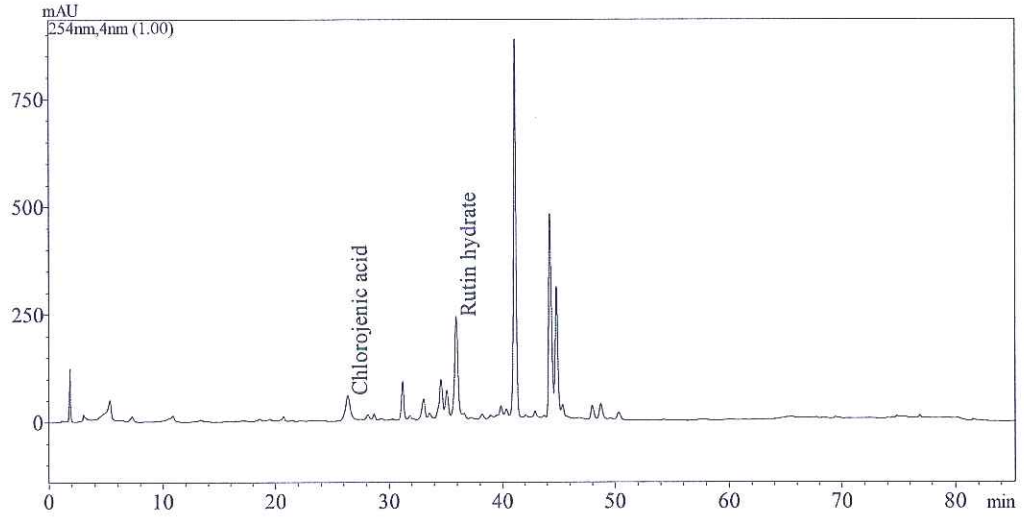
Şekil 3.10'da *Klasea kurdica* türüne ait HPLC-DAD kromatogramı yer almaktadır. Kromatogramda yer alan maddelerden klorojenik asit miktarı 4,37 µg/g, rutin miktarı ise 3,31 µg/g olarak bulundu. İz miktarda belirlenen trans akonitik asit ise *Klasea raidata* ile ortak madde olarak belirlendi.



Şekil 3.10. *Klasea kurdica* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.10. *Klasea lasiocephala* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

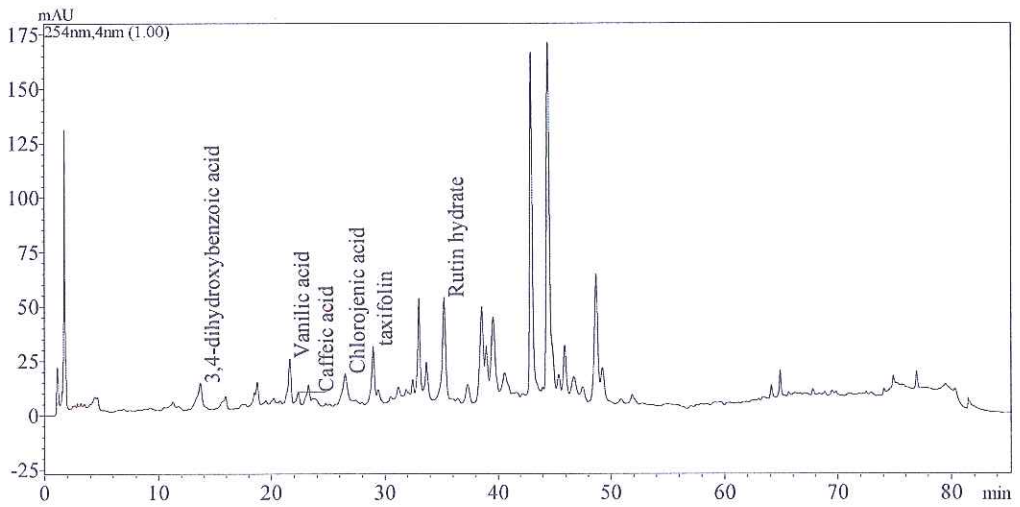
Klasea lasiocephala'da HPLC-DAD analizi sonucu diğer *Klasea* türleri ile ortak olarak 2 madde bulundu. Klorojenik asidin miktarı 4,99 µg/g olarak bulundu. Rutin (14,96 µg/g) diğer *Klasea* türleri içerisinde en çok *Klasea lasiocephala*'da bulundu (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. *Klasea lasiocephala* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.11. *Klasea nova* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

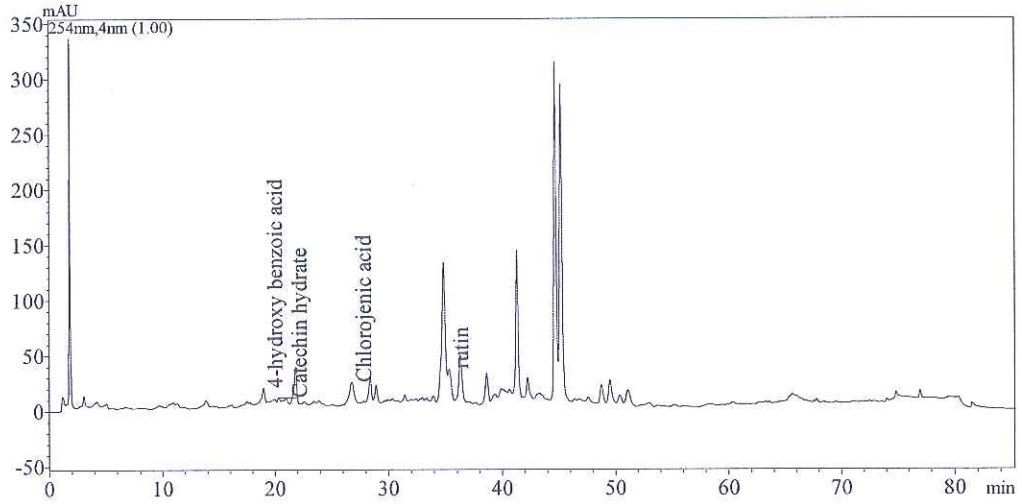
Klasea nova'ya ait HPLC-DAD kromatogramı Şekil 3.12'de verilmektedir. HPLC-DAD cihazında taraması yapılan 27 fenolik maddeden 6 madde tanımlandı. 15 *Klasea* türü içerisinde en çok madde bu türde tanımlandı. Tanımlanan 6 maddeden klorojenik asit (0,78 $\mu\text{g/g}$) ve rutin (2,94 $\mu\text{g/g}$) diğer türlerle ortak madde olarak bulunurken vanilik asit (0,59 $\mu\text{g/g}$) ve 3,4 dihidroksi benzoik asit (0,35 $\mu\text{g/g}$) sadece bu türde bulundu. Kafeik asit miktarı 0,18 $\mu\text{g/g}$ olarak bulundu. Taksifolin ise iz miktarda tespit edildi.



Şekil 3.12. *Klasea nova* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.12. *Klasea oligocephala* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

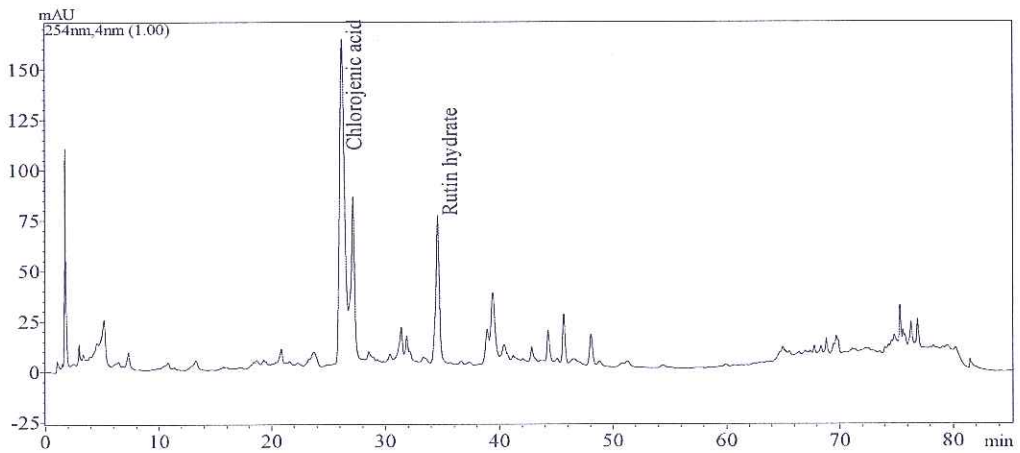
Şekil 3.13'de *Klasea oligocephala*'ya ait HPLC-DAD sonucu verilmektedir. Klorojenik asit miktarı 1,32 µg/g, rutin miktarı 1,94 µg/g, katekin miktarı ise 0,39 µg/g olarak bulundu. *Klasea oligocephala*'da diğer *Klasea* türlerinden farklı olarak 4-hidroksibenzoik asit (0,21 µg/g) saptandı.



Şekil 3.13. *Klasea oligocephala* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.13. *Klasea quinquefolia* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

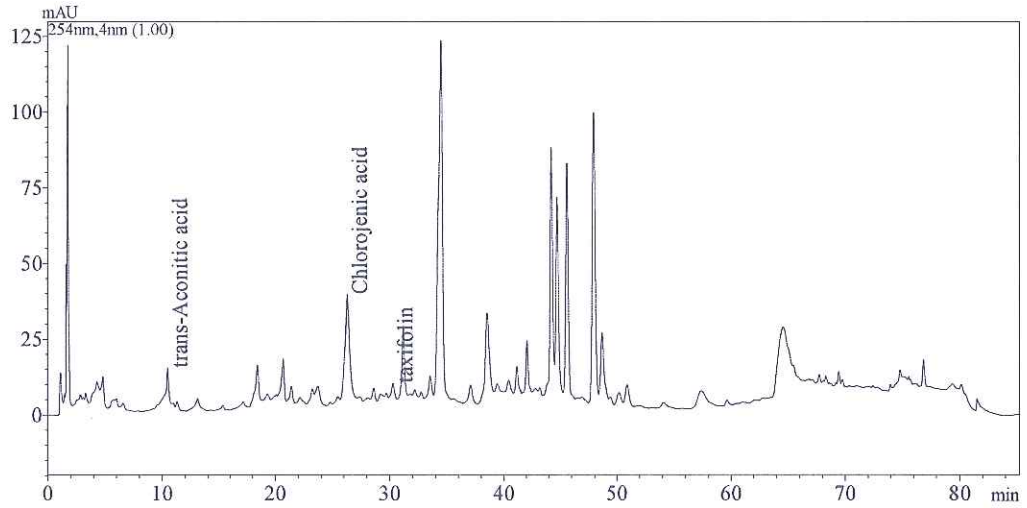
HPLC-DAD cihazında taraması yapılan fenolik maddelerden klorojenik asit miktarı 14,98 µg/g olarak rutin miktarı ise 4,94 µg/g olarak *Klasea quinquefolia*'da bulundu. Şekil 3.14'te *Klasea quinquefolia*'ya ait HPLC-DAD kromatogramı yer almaktadır.



Şekil 3.14. *Klasea quinquefolia* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.14. *Klasea radiata* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

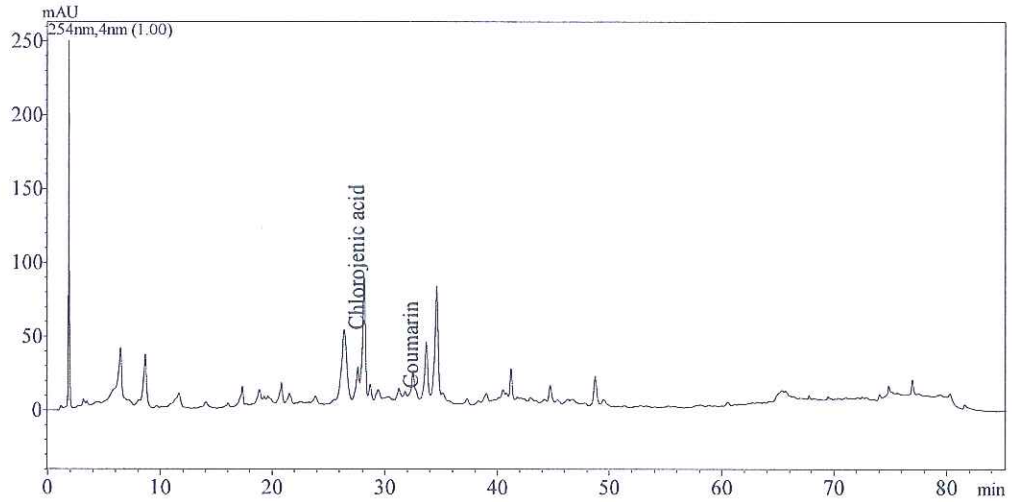
HPLC-DAD analizi yapılan *Klasea radiata*'da bulunan trans akonitik asitin (0,77 µg/g) *Klasea kurdica* ile ortak fenolik bileşik olarak bulunduğu görüldü. Aynı zamanda iz miktarda taksifolin ve rutin belirlenen bu türde klorojenik asit miktarı ise 2,70 µg/g olarak bulundu. Şekil 3.15'te *Klasea radiata*'ya ait HPLC-DAD kromatogramı yer almaktadır.



Şekil 3.15. *Klasea radiata* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.2.15. *Klasea serratuloides* türünün HPLC-DAD analizi sonucu

Şekil 3.16'da *Klasea serratuloides*'e ait HPLC-DAD kromatogramı yer almaktadır. *Klasea serratuloides*'de 0,53 µg/g kumarin ve 4,25 µg/g klorojenik asit bulundu. Rutin ise iz miktarda tespit edildi.



Şekil 3.16. *Klasea serratuloides* türünün metanol ekstresinin HPLC-DAD kromatogramı

3.3. Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

3.3.1. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yöntemi sonuçları

Klasea Cass. cinsine ait 15 türün metanol ekstrelerinin serbest radikal temizleme aktivitesi DPPH yöntemi ile belirlendi. Sonuçlar Çizelge 3.3'te verilmektedir.

DPPH serbest radikal giderim aktivitesi sonuçlarına göre en yüksek aktiviteyi en düşük IC_{50} değeri ($16,12 \pm 1,27 \mu\text{g/mL}$) ile *Klasea kurdica* (KkuM) gösterdi. *Klasea kurdica*'dan sonra en yüksek aktiviteye (IC_{50} : $35,69 \pm 1,88 \mu\text{g/mL}$) sahip türün *Klasea cerinthifolia* (KCM) olduğu belirlendi. *Klasea cerinthifolia*'nın aktivitesinin yüksek olma nedeninin içerisinde çok yüksek miktarda pirokatekol bulundurduğundan kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 3.3'e bakıldığı zaman *Klasea grandifolia* (KGM)'nin en düşük aktiviteyi (IC_{50} : $179,8 \pm 6,91 \mu\text{g/mL}$) gösterdiği görüldü.

3.3.2. ABTS katyonu radikal giderim aktivitesi sonuçları

Klasea Cass. cinsine ait 15 türün metanol ekstrelerinin katyon radikal giderim aktivitesi ABTS⁺ yöntemi ile belirlendi. Sonuçlara Çizelge 3.4'de yer verilmektedir.

ABTS katyonu radikal giderim aktivitesi sonuçlarına göre en yüksek aktiviteye IC_{50}

değeri $5,840 \pm 0,94 \mu\text{g/mL}$ olan *Klasea kotschy* (KKM)'nin sahip olduğu görüldü. *Klasea kotschy*'den sonra sırasıyla yüksek aktiviteye sahip iki türün ise; *Klasea kurdica* (KkuM, IC_{50} : $8,210 \pm 0,85 \mu\text{g/mL}$) ve *Klasea bornmuelleri* (KBM, IC_{50} : $10,11 \pm 0,50 \mu\text{g/mL}$) olduğu belirlendi.

Çizelge 3.4'e bakıldığı zaman *Klasea hakkiarica* (SHM)'nin en düşük aktiviteyi (IC_{50} : $81,72 \pm 4,47 \mu\text{g/mL}$) gösterdiği görüldü.

Çizelge 3.3 *Klasea* türlerinin metanol ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi

<i>Klasea</i> Türü	Ekstrelerin Kodları	$\text{IC}_{50} \mu\text{g/mL}$
<i>Klasea bornmuelleri</i>	KBM	$118,1 \pm 1,03$
<i>Klasea cerinthifolia</i>	KCM	$35,69 \pm 1,88$
<i>Klasea coriaceae</i>	KcoM	$56,02 \pm 1,69$
<i>Klasea erucifolia</i>	KEM	$144,2 \pm 1,45$
<i>Klasea grandifolia</i>	KGM	$179,8 \pm 6,91$
<i>Klasea hakkiarica</i>	SHM	$115,5 \pm 6,05$
<i>Klasea haussknechtii</i>	KHM	$109,9 \pm 2,43$
<i>Klasea kotschy</i>	KKM	$126,7 \pm 1,40$
<i>Klasea kurdica</i>	KkuM	$16,12 \pm 1,27$
<i>Klasea lasiocephala</i>	KLM	$42,49 \pm 2,08$
<i>Klasea nova</i>	KNM	$53,46 \pm 1,76$
<i>Klasea oligocephala</i>	KOM	$54,70 \pm 1,58$
<i>Klasea quinquefolia</i>	KQM	$54,40 \pm 2,08$
<i>Klasea radiata</i>	KRM	$119,8 \pm 5,10$
<i>Klasea serratuloides</i>	KSM	$64,96 \pm 2,32$

Çizelge 3.4. *Klasea* türlerinin metanol ekstrelerinin ABTS katyonu radikal giderim aktivitesi

<i>Klasea</i> Türü	Ekstrelerin Kodları	IC ₅₀ µg/mL
<i>Klasea bornmuelleri</i>	KBM	10,11 ± 0,50
<i>Klasea cerinthifolia</i>	KCM	49,50 ± 1,31
<i>Klasea coriaceae</i>	KcoM	24,15 ± 1,84
<i>Klasea erucifolia</i>	KEM	62,20 ± 1,91
<i>Klasea grandifolia</i>	KGM	36,63 ± 9,69
<i>Klasea hakkiarica</i>	SHM	81,72 ± 4,47
<i>Klasea haussknechtii</i>	KHM	33,72 ± 5,02
<i>Klasea kotschy</i>	KKM	5,840 ± 0,94
<i>Klasea kurdica</i>	KkuM	8,210 ± 0,85
<i>Klasea lasiocephala</i>	KLM	27,87 ± 2,00
<i>Klasea nova</i>	KNM	39,55 ± 3,04
<i>Klasea oligocephala</i>	KOM	43,04 ± 6,12
<i>Klasea quinquefolia</i>	KQM	22,07 ± 6,67
<i>Klasea radiata</i>	KRM	51,03 ± 6,00
<i>Klasea serratuloides</i>	KSM	14,53 ± 4,62

3.3.3. CUPRAC (Bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi yöntemi) sonuçları

Klasea Cass. cinsine ait 15 türün metanol ekstrelerinin Cu²⁺ indirgeme antioksidan kapasitesi CUPRAC yöntemi ile belirlendi. Sonuçlar Çizelge 3.5'te verilmektedir.

CUPRAC indirgeme gücü antioksidan aktivitesi sonuçlarına göre en yüksek aktiviteye A_{0,5} değeri 22,71 ± 0,33 µg/mL olan *Klasea kotschy* (KKM)'nin sahip olduğu belirlendi. *Klasea kotschy*'den sonra yüksek aktiviteye sahip türün ise *Klasea bornmuelleri* (KBM, A_{0,5}: 26,40±0,57) olduğu tespit edildi.

Çizelge 3.5'e bakıldığı zaman en düşük aktiviteyi sırasıyla *Klasea erucifolia* (A_{0,5}: 125,2 ± 1,57 µg/mL) ve *Klasea haussknechtii* (KHM)'nin (A_{0,5}: 106,1 ± 4,47 µg/mL) gösterdiği görüldü.

Çizelge 3.5. *Klasea* türlerinin metanol ekstrelerinin bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi

<i>Klasea</i> Türü	Ekstrelerin Kodları	A _{0,5} µg/mL
<i>Klasea bornmuelleri</i>	KBM	26,40 ± 0,57
<i>Klasea cerinthifolia</i>	KCM	78,16 ± 1,07
<i>Klasea coriaceae</i>	KcoM	47,97 ± 3,81
<i>Klasea erucifolia</i>	KEM	125,2 ± 1,57
<i>Klasea grandifolia</i>	KGM	81,39 ± 3,90
<i>Klasea hakkiarica</i>	SHM	63,54 ± 1,33
<i>Klasea haussknechtii</i>	KHM	106,1 ± 4,47
<i>Klasea kotschyi</i>	KKM	22,71 ± 0,33
<i>Klasea kurdica</i>	KkuM	43,25 ± 1,70
<i>Klasea lasiocephala</i>	KLM	35,03 ± 2,71
<i>Klasea nova</i>	KNM	67,47 ± 2,37
<i>Klasea oligocephala</i>	KOM	63,93 ± 2,45
<i>Klasea quinquefolia</i>	KQM	35,73 ± 1,07
<i>Klasea radiata</i>	KRM	84,50 ± 3,85
<i>Klasea serratuloides</i>	KSM	31,32 ± 3,22

3.4. Kemometrik Analiz Sonuçları

3.4.1. Metanol ekstrelerinin temel bileşen analizi (PCA)

Klasea örneklerine ait 15 metanol ektresinin 5 değişken ile yapılan kemometrik analizleri Çizelge 3.6’da yer alan veriler kullanılarak yapıldı.

Çizelge 3.6. *Klasea* Cass. cinsine ait 15 türün metanol ekstrelerinin kemometrik analiz verileri

Örnek Adı	Kodu	DPPH (µg/ml)	ABTS (µg/ml)	CUPRAC (µg/ml)	Klorojenik asit (µg/g)	Rutin hidrat (µg/g)
<i>K. kurdica</i>	KkuM	16,12	8,21	43,25	34,94	26,45
<i>K. bornmuelleri</i>	KBM	118,10	10,11	26,40	147,47	7,66

Çizelge 3.6. (Devam)

<i>K. raidata</i>	KRM	119,80	51,03	84,50	21,63	72,09
<i>K. erucifolia</i>	KEM	144,20	62,20	125,20	0,01	0,01
<i>K. grandfolia</i>	KGM	179,80	36,63	81,39	22,87	2,43
<i>K. laciocephala</i>	KLM	42,49	27,87	35,03	39,90	119,70
<i>K. coriceal</i>	KcoM	56,02	24,15	47,97	214,11	58,59
<i>K. haussknehti</i>	KHM	109,90	33,72	106,10	19,98	46,01
<i>K. kotschy</i>	KKM	126,70	5,84	22,71	84,02	57,20
<i>K. cerinthifolia</i>	KCM	35,69	49,50	78,16	99,54	28,14
<i>K. quinquefolia</i>	KQM	54,40	22,07	35,73	119,86	39,54
<i>K. hakkarica</i>	SHM	115,50	81,72	63,54	56,23	36,89
<i>K. nova</i>	KNM	53,46	39,55	67,47	6,24	23,52
<i>K. oligocephala</i>	KOM	54,70	43,04	63,93	10,59	15,54
<i>K. serratuloides</i>	KSM	64,96	14,53	31,32	33,99	36,04

Çizelge 3.7. *Klasea* Cass. cinsine ait 15 türün metanol ekstratlarının temel bileşen loading, eigenvalue, varyans ve kümülatif varyans değerleri

Değişkenler	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
DPPH	0,39	0,46	-0,59	0,53	-0,09
ABTS ⁺	0,50	-0,32	-0,28	-0,50	-0,56
CUPRAC	0,58	-0,13	-0,03	-0,20	0,78
Klorojenik asit	-0,41	0,39	-0,53	-0,59	0,20
Rutin	-0,31	-0,72	-0,54	0,28	0,16
Eigenvalue	2,3858	1,0070	0,7036	0,6437	0,2599
Varyans	47,7	20,1	14,1	12,9	5,2
Kümülatif Varyans	47,7	67,9	87,9	94,8	100

Çizelge 3.7’de 15 farklı *Klasea* türüne ait örneklerin klorojenik asit, rutin, DPPH, ABTS⁺ ve CUPRAC ile yapılan temel bileşen analizi (PCA) sonuçları görülmektedir.

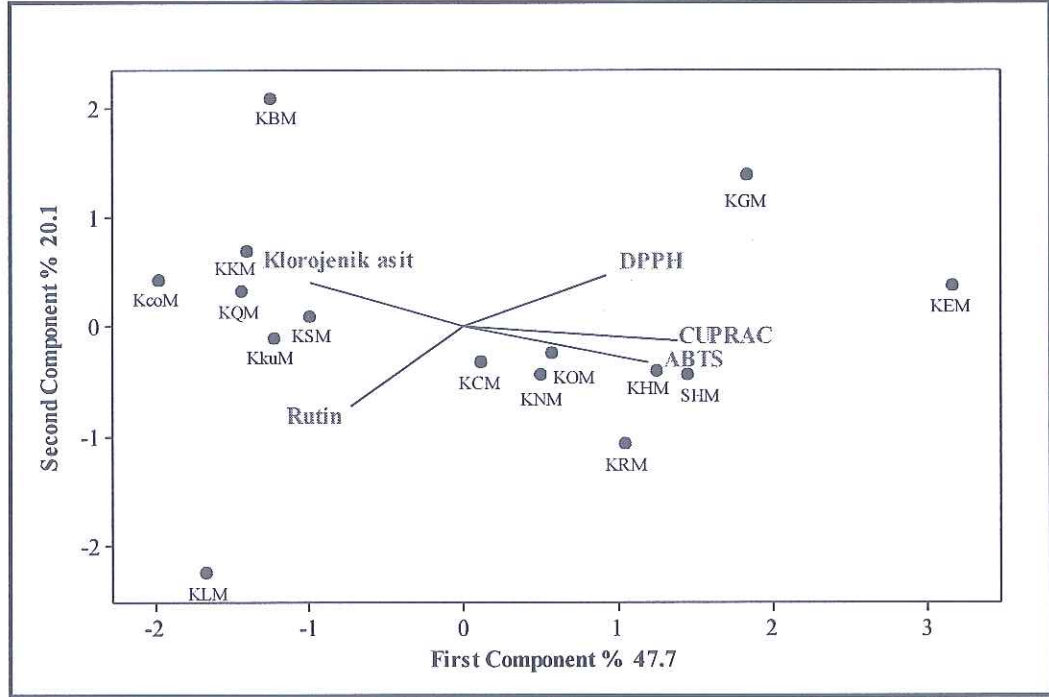
5 değişkenin temel bileşen analiz sonucunda, bu veri setinde eigenvalue değeri 1'den büyük olan 2 temel bileşen belirlenmiştir. *Klasea* örneklerinin PCA sonucuna göre ilk 2 temel bileşen toplam varyansın %67,9'unu açıklamaktadır. 1. Temel bileşen (PC1) varyansın %47,7'sini, 2. Temel bileşen (PC2) %20,1'ini açıklamaktadır. Çizelge 3.7'de koyu renkle gösterilen değerler temel bileşenleri açıklamada diğerlerinden daha etkindir. 1. Temel bileşen data setinde en yüksek varyansı göstermektedir. 1. Temel bileşen için ABTS⁺ ve CUPRAC baskın değişkenler gibi görünse de bu bileşenlerin IC₅₀ değerleri ile analiz gerçekleştirildiği için negatif açıdan baskın değişkenlerdir. 2. Temel bileşen de aynı durum söz konusudur. Burada DPPH negatif yönde baskın değişkendir.

Çizelge 3.8. *Klasea* Cass. cinsine ait 15 türün metanol ekstratlarının temel bileşen skor değerleri

ÖRNEKLER	PC1	PC2
KkuM	-1,22459	-0,12066
KBM	-1,24319	2,08086
KRM	1,05456	-1,07100
KEM	3,15541	0,36502
KGM	1,83317	1,37561
KLM	-1,66360	-2,26017
KcoM	-1,96981	0,41034
KHM	1,25147	-0,40542
KKM	-1,40272	0,68550
KCM	0,11297	-0,32328
KQM	-1,43684	0,31823
SHM	1,44913	-0,44144
KNM	0,50155	-0,44388
KOM	0,57504	-0,25520
KSM	-0,99257	0,08548

Çizelge 3.7'de ilk iki temel bileşen için *Klasea* cinsine ait örneklerin skor değerleri verilmektedir. 1. Temel bileşenin loading değerlerinden ABTS⁺ ve CUPRAC gibi

antioksidan aktivite sonuçlarının negatif yönden baskın değişkenler olduğu ve skor değerlerinden de KGM, KEM ve SHM örneklerinin en düşük aktiviteye sahip örnekler olduğu belirlendi. 2. Temel bileşenin loading değerlerinden DPPH aktivitesinin negatif yönden baskın değişken olduğu ve Çizelge 3.7’de verilen skor değerlerden ise KBM ve KGM örneklerinin en düşük DPPH aktivitesi gösterdiği tespit edildi.



Şekil 3.17. *Klasea* türlerinin PCA biplot grafiği

15 Farklı *Klasea* türü için yapılan PCA analizi sonucu elde edilen biplot grafiği Şekil 3.17’de görülmektedir. *Klasea* cinsine ait örneklerin metanol ekstrelerinde DPPH, ABTS^{•+} ve CUPRAC aktiviteleri (IC₅₀) ve HPLC analizleri sonucunda tespit edilen klorojenik asit ve rutin bileşikleri (µg/g) ile temel bileşen analizi yapıldı. Şekil 3.17’de görüldüğü gibi klorojenik asit’in KKM, KQM, KCoM, KBM, KSM ve KkuM örneklerinde diğer örneklerden daha yüksek miktarlarda olduğu ve aynı zamanda bu örneklerin CUPRAC ve ABTS^{•+} antioksidan aktivitelerinin de yüksek olduğu belirlendi. Diğer yönden DPPH aktivitesinin KLM ve KkuM örneklerinden en yüksek olduğu görüldü. KLM örneği içinde rutin bileşiğinin miktarının da diğer örneklerden daha yüksek olduğu tespit edildi. Şekil 3.17’deki skor grafiğinin sağ kısmında yer alan KGM ve KEM örneklerinin DPPH, ABTS^{•+} ve CUPRAC değerlerinin yüksek olduğu görülmektedir. Ancak aktivite sonuçlarının IC₅₀ değeri olarak hesaplanmasından dolayı bu örneklerin antioksidan aktivitesi en düşük örnekler olduğu belirlendi.

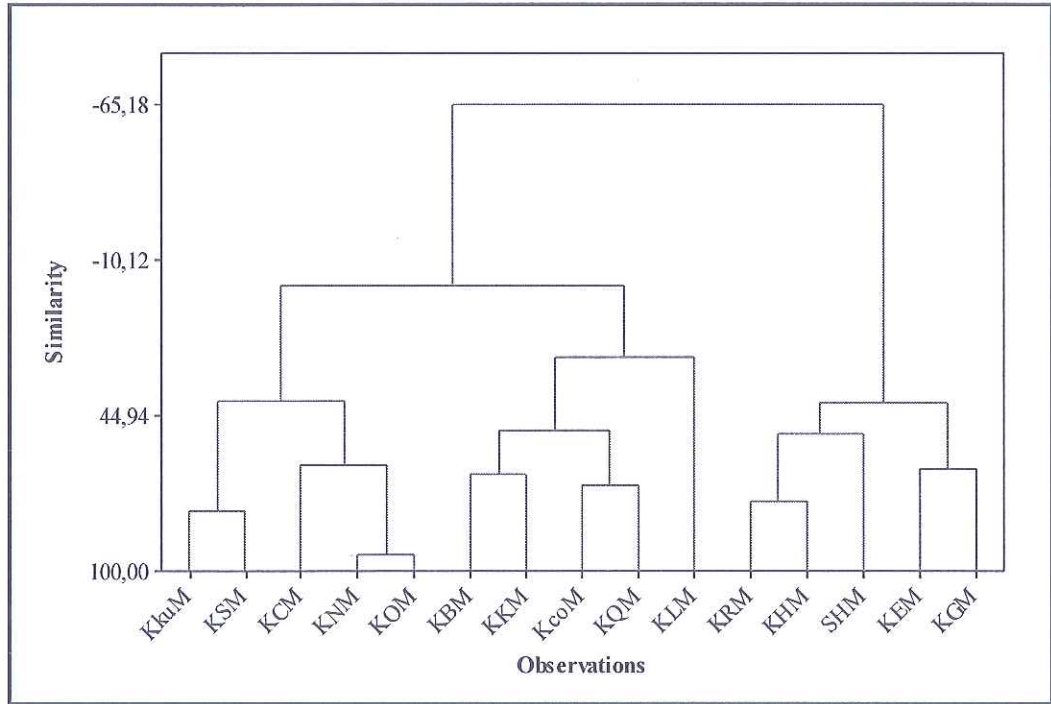
3.4.2. Metanol ekstrelerinin hiyerarşik kümeleme analizi (HCA)

Şekil 3.18’de 15 farklı *Klasea* türüne ait örneklerin benzerliklerini belirlemek amacıyla yapılan kümeleme analizi (HCA) sonuçları görülmektedir. *Klasea* türlerinin klorojenik asit, rutin, ABTS⁺, DPPH ve CUPRAC aktiviteleri yönünden dağılımını karşılaştırmak ve PCA sonuçları ile kıyaslayabilmek için hiyerarşik kümeleme analizi yapıldı. Kümeleme analizi (HCA), Çizelge 3.6’da verilen analiz veri setindeki değerlere uygulandı. Ölçümler squared Euclidean distance’a dayanmaktadır. Sınıflandırma metodu olarak ise Ward metodu kullanılmıştır. HCA analizi sonucunda üç küme oluşmuştur.

Küme 1: KkuM, KSM, KCM, KNM, KOM

Küme 2: KBM, KKM, KcoM, KQM, KLM

Küme 3: KRM, KHM, SHM, KEM, KGM



Şekil 3.18. Klasea türlerine ait örneklerin hiyerarşik kümeleme analizi (HCA)

Küme 3’te yer alan örneklerden KGM ve KEM örneklerinin PCA analizi sonucunda da gruplandığı ve diğer örneklerden ayrıldığı görüldü. Küme 3’te yer alan tüm örneklerin antioksidan aktivitesi yönünden zayıf örnekler olduğu tespit edildi. HCA analizi sonuçları bu açıdan PCA sonuçlarını destekledi. Benzer şekilde küme 2’de yer

alan örneklerin ise antioksidan aktivite, klorojenik asit ve rutin miktarları açısından diğer örneklerden ayrılarak gruplandığı PCA analizi ile de tespit edildi. Bu veriler her iki analiz sonucunun birbirlerini destekler nitelikte olduğunu gösterdi.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 15 farklı *Klasea* türü ile çalışıldı. Her bir *Klasea* türü önce hekzanla daha sonra metanolle ekstre edildi. Her bir metanol ekstresi HPLC-DAD ile 27 adet standart fenolik maddeye karşı ilk defa analiz edildi. Metanol ekstrelerinin antioksidan aktivitesi DPPH serbest radikal giderimi, ABTS katyon radikali giderimi ve CUPRAC (bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemleri kullanılarak belirlendi. Elde edilen fenolik madde bileşenleri ve antioksidan aktivite sonuçları kullanılarak kemometrik olarak değerlendirildi.

DPPH serbest radikal giderim aktivitesi deneyinde 15 *Klasea* türü içerisinde en yüksek aktiviteyi *Klasea kurdica* (KkuM; IC₅₀: 16,12 ± 1,27 µg/mL) gösterirdi. Bununla birlikte, ABTS katyonu radikal giderim aktivitesi ve CUPRAC deneylerinde *Klasea kotschyi* (KKM; IC₅₀: 5,84 ± 0,94, A_{0,5}: 22,71 ± 0,33 µg/mL) en iyi antioksidan aktiviteyi gösterdi.

HPLC-DAD cihazında taraması yapılan 27 fenolik maddeden; klorojenik asit ve rutin tüm *Klasea* türlerinde ortak fenolik bileşik olarak bulundu. *Klasea* türleri içerisinde ferrulik asit sadece *K. bornmuelleri* türünde (1,43 µg/g), gallik asit *K. cerinthifolia* türünde (4,60 µg/g), *trans*-akonitik asit *K. raidata* türünde (0,8 µg/g), 4-hidroksibenzoik asit *K. oligocephala* türünde (0,2 µg/g) ve protokateşik asit ile vanilik asit *K. nova* türünde (0,35 ile 0,59 µg/g) tespit edildi. *K. cerinthifolia* türünde pirokatekol (1636,93 µg/g) ve katekin (29,70 µg/g) tespit edilirken, *K. kotschyi* (2,94 µg/g) türünde pirokatekol ve *K. oligocephala* türünde katekin (0,39 µg/g) ortak madde olarak izlendi. 2-(4-dihidroksifenil)etanol maddesi sadece *K. bornmuelleri* türünde (7,69 µg/g) ve *K. hakkarica* türünde (12,68 µg/g) bulunmaktadır. Buna ilaveten, taksifolin *K. nova* ve *K. raidata* türlerinde izlenirken, kafeik asitin ise *K. nova* ve *K. hakkarica* türlerinde tespit edildi. Kumarin ise *K. serratuloides* (0,53 µg/g) ve *Klasea coriacea* (1,74 µg/g) türünde ortak madde olarak bulundu.

Tüm *Klasea* türlerinde ortak bileşen olarak bulunan klorojenik asit en yüksek *Klasea coriacea* (26,76 µg/g) türünde belirlendi. Yine tüm *Klasea* türlerinde bulunan rutin en yüksek *Klasea lasiocephala* türünde (14,96 µg/g) tespit edildi.

Klasea cinsine ait örneklerin metanol ekstrelerinde DPPH (IC₅₀), ABTS^{•+} (IC₅₀) ve CUPRAC aktiviteleri (A_{0,50}) ve HPLC analizleri sonucunda tespit edilen klorojenik asit ve rutin bileşikleri (µg/g) ile temel bileşen analizi yapıldı. Klorojenik asit'in *K. kotschyi*, *K. quinquefolia*, *K. coriacea*, *K. bornmuelleri*, *K. serratuloides* ve *K. kurdica* örneklerinde diğer örneklerden daha yüksek miktarlarda olduğu ve aynı zamanda bu örneklerin CUPRAC ve ABTS^{•+} antioksidan aktivitelerinin de yüksek olduğu belirlendi. Diğer yönden DPPH aktivitesinin *K. lasiocephala* ve *K. kurdica* örneklerinde en yüksek olduğu görüldü. *K. lasiocephala* örneği içinde rutin bileşiğinin miktarının diğer örneklerden daha yüksek olduğu, *K. grandifolia* ve *K. erucifolia* örneklerinin DPPH, ABTS^{•+} ve CUPRAC değerlerinin daha yüksek olduğu görüldü. Hiyerarşik Kümeleme Analizi sonucunda üç küme oluştu. Küme 3'te yer alan örneklerden *K. grandifolia* ve *K. erucifolia* örneklerinin PCA analizi sonucunda da gruplandığı ve diğer örneklerden ayrıldığı görüldü.

Çalışılan türlerinin HPLC-DAD kullanılarak standart varlığında içerdikleri bileşenler ilk kez bu tez çalışmasında tespit edildi. Rutin ve klorojenik asit açısından zengin olan *Klasea* türlerinin antioksidan aktivitesinin bu maddelerden kaynaklandığını söyleyebilmek için antioksidan aktiviteden sorumlu bileşenlerinin belirlenebilmesi amacıyla aktivite kontrollü bir izolasyon çalışmasının yapılması gerekmektedir. Ülkemizde doğal olarak yetişen bu türlerin diğer biyoaktivitelerinde çalışılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdulrahman, F. (1992) *Studies in natural products. the moraceae in african traditional medicine and management of psychiatry in borno state*, M. Sc. Thesis, University of Maiduguri, Nigeria, 193 s.
- Antolovich, M., P.D. Prenzler., E. Patsalides., S. Mcdonal. ve Robards, K. (2002) Methods for testing antioxidant activity, *The Analyst*, 127:183-198.
- Anyasi T.A., Jideani A. I. O., Edokpayi J. N. ve Anokwuru C. P. (2017) *Application Of Organic Acids In Food Preservation*, In: Organic Acids, Nova Science Publishers, Inc., Editor: Cesar Vargas, 14-59 s.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S.E. (2004) Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J Agr Food Chem*, 52: 7970–7981.
- Arancli, S. (2002) Biodiversity and natural resource management in Turkey. *Environmental Connectivity: Protected Areas The Mediterranean Context*, 26–28.
- Aydın, İ. (2015) *Antioxidant capacity and flavonoid diversity of prosopis farcta*, Yüksek Lisans Tezi, Istanbul Technical University, İstanbul, 68s.
- Balasundram N., Sundram K. ve Samman S. (2006) Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chemistry*, 99:191–203.
- Bandyopadhyay, M., Chakraborty, R. ve Raychaudhuri, U. (2006) A process for preparing a natural antioxidant enriched dairy product (Sandesh), *Food Science and Technology*, 40: 842-851.
- Barut, B. (2011) *Antioxidant capacities of selected fruits and herbal teas consumed in regular diet and their antimicrobial activities against staphylococcus aureus*, M.Sc. Thesis, Middle East Technical University, Ankara, 84s.
- Başer, K. H. C. (2002) Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey, *Pure Appl. Chem.*, 74(4): 527–545.
- Bathori, M., Hunyadi, A. ve Dinya, Z. (2003) Monitoring the antioxidant activity of extracts originated from various Serratula species and isolation of flavonoids from Serratula coronata, *Depart. of Organic Chem*, 15:90.
- Bathori, M., Zupko, I., Hunyadi, A., Gacsne-Baitz, E., Dinya, Z. ve Forgo, P. (2004) Monitoring the antioxidant activity of extracts originated from various Serratula species and isolation of flavonoids from Serratula coronata, *Fitoterapia*, 75 (2): 162-167.

- Benavente-Garcia O., Castillo J., Marin F.R., Ortuno A. ve Del Rio J.A. (1997) Uses and properties of citrus flavonoids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45:4505–4515.
- Blois, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181: 1199-1200.
- Bremer, K. ve Anderberg, A.A. (1994) *Asteraceae: cladistics and classification*, 1st ed. Portland (OR): Timbers Press, 752 s.
- Brereton, R.G., (2003) *Chemometrics Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*, UK, University of Bristol, John Wiley & Sons Ltd ., 489 s.
- Bruneton, J. (2012) *Principles of herbal pharmacology*, In: Principles and Practice of Phytotherapy: Modern Herbal Medicine, K. Bone, S. Mills, Churchill Livingstone, Elsevier, Pp 17–82.
- Buer, C.S., Imin, N., Djordjevic, M.A. (2010) Flavonoids: New roles for old molecules, *J. Integr. Plant Biol.*, 52: 98–111.
- Celep, M.E. (2013) *Evaluation of antioxidant potentials of some fruits and other plant organs widely consumed in Turkey*, M.Sc. Thesis, Yeditepe University, İstanbul, 207s.
- Cheng, H. (2010) Volatile flavor compounds in yogurt: a review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(10): 938–950.
- Coppen, P.P. (1983) *The use of antioxidants*, In: *Rancidity in Foods*, Alenn J.C. ve Hamilton R.J. (editörler) Applied Science Publishers, New York, 67 s.
- Costa M. P. And Conte-Junior C. A. (2017) *Chromatographic Analysis Of Organic Acids In Food From Animal Origin*, In: Organic Acids, Nova Science Publishers, Inc. Editor: Cesar Vargas, 60-85, 47-72.
- Dai, J. and Mumper, R.J. (2010) Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties, *Molecules*, 15: 7313-7352.
- Dai, J.Q. ve Hou, Z.F. (2001) Sesquiterpenes and flavonoids from *Serratula strangulata*, *J. of the Chinese Chem. Soc.*, 48: 249.
- Dai, J.Q., Shi, Y.P., Yang L. ve Li Y. (2002) Two new components from *Serratula strangulata* Iljin, *Chinese Chem. Lett*, 13: 143–146.
- Dai, J.Q., Zhu, Q.X., Zhao, C.Y., Yang, L. ve Li, Y. (2001) Glyceroglycolipids from *Serratula strangulata*, *Phytochemistry*, 58 (8): 1305-1309.
- D'Archivio, M.; Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R. (2007) Polyphenols, dietary sources and bioavailability, *Ann. Ist. Super. Sanita*, 43: 348-361.

- Davis, P.H. (1971) Distribution patterns in anatolia with particular reference to endemism, 15-27, Davis, P.H., (Editör), *Plant Life of South West Asia*, U.K: Bot. Society of Edinburgh.
- Davis, P.H. ve Kupicha, F.K. (1975) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, vol. 5, Edinburgh University Press, Edinburgh, 890 s.
- Davis, P.H., Tan, K. ve Mill, R.R. (1988) *Flora of Turkey and the east aegean islands*, Vol. 10. Edinburgh: Edinburgh University Press, 590 s.
- Delbecque, J.P., Beydon, P., Chapuis, L. ve Corio, M.F. (1995) In vitro incorporation of radiolabelled cholesterol and mevalonic acid into ecdystereoid by hairy root cultures of a plant *Serratula tinctoria*, *Eur. J. Entomol*, 92: 301.
- Delbecque, J.P., Beydon, P., Chapuis, L. ve Corio, M.F. (2003) Sterol and ecdysteroid profiles of *Serratula tinctoria*, *J. Inra Bordeaux*, 86:95.
- Dinç, E. (2007) Kemometri Çok Değişkenli Kalibrasyon Yöntemleri, *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 27 (1): 61-92.
- Duh, P. D. Yen, W. J. Du, P. C. Yen, G. C. (1997) Antioxidant activity of mung bean hulls, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74: 1059-1063.
- Duthie, G., Gardner, P. T. and Kyle, J. A. (2003) Plant polyphenols: are they the new magic bullet?, *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(3): 599-603.
- Fallah-Hoseini, H., Fakhrzadeh, H., Larijani, B. ve Shikhsamani, A. (2006) Review of anti-diabetic medicinal plant used in traditional medicine, *J. Med. Plant*, 5:1-8.
- Farnsworth, N. R., Akerew, O. ve Bingel, A. S. (1985) Medicinal plants in therapy, *Bull. World Health Organ*, 63: 965 – 981.
- Farombi E., Nwankwo J., ve Emerole G. (1998) Effect of methanolic extract of browned yam flour diet on 7, 12 Dimethylbenzanthracene (DMBA) and 3-methylcholanthrene (3-MC)-induced toxicity in the rat, *Proceedings of the Federation of African Society on Biochemistry and Molecular Biology*, 1: 5-10.
- Fu, X., Li, X. C., Wang, Y. H., Avula, B., Smillie, T. J., Mabusela, W., Syce, J., Johnson, Q., Folk, W. and Khan I. A. (2010) Flavonol glycosides from the south African medicinal plant *Sutherlandia frutescens*, *Planta Med*, 76: 178-181.
- Fu, X., Li, X.C., Smillie, T.J., Carvalho, P., Mabusela, W., Syce, J., Johnson, Q., Folk, W., Avery, M. A. and Khan I. A. (2008) Cycloartane glycosides from *Sutherlandia frutescens*, *J Nat Prod*, 71: 1749-1753.

- Giada M.L.R. (2013) Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power, Editör: J.A. Morales-Gonzalez, Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants, Intech Open Books, 05(22), pp: 87-112.
- Giese, J. (1996) Antioxidants: Tools for preventing lipid oxidation, *Food Technol*, 50:72.
- Granato, D., Castro, I. A., Katayama, F.U. (2010). Assessing the association between phenolic compounds and the antioxidant activity of Brazilian red wines using chemometrics, *LWT-Food Science and Technology*, in press., 43(10): 1542-1549.
- Guinot, P., Gargadennec, A., La Fisca, P., Fruchier, A., Andary, C. ve Mondolot, L. (2009) *Serratula tinctoria*, a source of natural dye: Flavonoid pattern and histolocalization, *Industrial Crops And Products*, 29: 320–325.
- Harborne J.B. (1982) *Introduction to Ecological Biochemistry*, second edition, Academic Press Inc (editör), New York, 384 s.
- Harborne, J.B. ve Turner B.L. (1984) *Plant Chemosystematics*, Academic Press, London, UK, 562 s.
- Henriquez, C. Aliaga, C. Lissi, E. (2002) Formation and decay of the ABTS derived radical cation: a comparison of different preparation procedures, *International Journal of Chemical Kinetics*, 34: 659-665.
- Hrazdina, G. (1992) *Biosynthesis of flavonoids*, Plant Polyphenols, Edited by R. W. Hemingway and P. E. Laks, Plenum Press, New-York, USA, pp. 61-72.
- Husain N. and Gupta S. (2015) A Critical Study On Chemistry And Distribution Of Phenolic Compounds In Plants, And Their Role In Human Health, *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*, 1(3): 57-60.
- Jabeen, S., Hanif, M.A., Khan, M. M. ve Qadri, R.W.K. (2014) Natural products sources and their active compounds on disease prevention: A Review, *IJCBS*, 6:76-83.
- Jurado-Sánchez, B., Ballesteros, E. and Gallego, M. (2011) Gas chromatographic determination of 29 organic acids in foodstuffs after continuous solid-phase extraction, *Talanta*, 84(3): 924–930.
- Kahraman, A., Önder, M. ve Ceyhan, E. (2012) The importance of bioconservation and biodiversity in Turkey, *Int J Biosci Biochem Bioinforma*, 2: 95-99.
- Kazemi, S., Asgary, S., Moshtaghian, J., Rafieian, M., Adelnia, A. ve Shamsi, F. (2010) Liver-protective effects of hydroalcoholic extract of *allium hirtifolium* boiss. In rats with alloxan-induced diabetes mellitus, *ARYA Atheroscler*, 6: 11–5.

- Khosravi-Boroujeni, H., Mohammadifard, N., Sarrafzadegan, N., Sajjadi, F., Maghroun, M., Khosravi, A., Alikhasi, H., Rafieian, M. ve Azadbakht, L. (2012) Potato consumption and cardiovascular disease risk factors among Iranian population, *Int J Food Sci Nutr*, 63:913–20.
- Kolak, U., Topçu, G., Birteksöz, S., Ötük, G. ve Ulubelen, A. (2009) Terpenoids and steroids from the roots of *Salvia blepharochlaena*, *Turk. J. Chem*, 29(2): 177–186.
- Kuhn, D.N., Chappel, J., Boudet, A. and Hahlbrock, K. (1984) Induction of phenylalanine ammonia-lyase and 4-coumarate: CoA ligase mRNAs in cultured plant cells by UV-light or fungal elicitor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 1102–1106.
- Manach, C., Mazur, A. ve Scalbert, A. (2005) Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases, *Current Opinions in Lipidology*, 16:77–84.
- Mani-López, E., García, H. S. and López-Malo, A. (2012) Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products, *Food Research International*, 45(2): 713–721.
- Martin, E., Doğan, B., Duran, A., Çoşkun, F. ve Altınordu F. (2015) Contribution to the cytotaxonomic knowledge of 10 species of *Klasea* Cass. (Asteraceae) from Turkey, *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, 68: 330–338.
- Martins, L. ve Hellwig, F.H. (2005) Phylogenetic relationships of the enigmatic species *Serratula chinensis* and *Serratula forrestii* (Asteraceae-Cardueae), *Pl. Syst. Evol*, 255: 215–224.
- Mbamalu, O. N., Antunes, E., Silosini, N., Samsodien, H. and Syce, J. (2016) HPLC Determination of Selected Flavonoid Glycosides and their Corresponding Aglycones in *Sutherlandia frutescens* Materials, *Med Aromat Plants*, 5(3): 246.
- Middleton, E., Kandaswami, C. ve Theoharides, T.C. (2000) The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer, *Pharmacological Reviews*, 52: 673–751.
- Mierziak, J., Kostyn, K. and Kulma, A. (2014) Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment, *Molecules*, 19: 16240–16265.
- Mohan, A. and Pohlman, F. W. (2016) Role of organic acids and peroxyacetic acid as antimicrobial intervention for controlling *Escherichia coli* O157: H7 on beef trimmings, *LWT-Food Science and Technology*, 65: 868–873.
- Myagchilov, A.V., Sokolova, L.I., Gorovoi, P. G. ve Dmitrenok, P. S. (2017) New flavonoids from *Serratula coronata* L., *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 51: 2.

- Naczki, M. and Shahidi, F. (2004) Extraction and analysis of phenolics in food, *Journal of Chromatography A*, 1054: 95-111.
- Nowak, G., Nawrot, J. ve Latowski, K. (2009) Arbutin in *Serratula quinquefolia* M.B. (Asteraceae), *Acta Soc. Bot. Pol*, 78 (2): 137-140.
- Odinokov, V.N., Galyautdinov, I.V., Nedopekin, D.V., Khalilov, L.M., Shashkov, A.S., Kachala, V.V., Dinan, L. ve Lafont, R. (2002) Phytoecdysteroids from the juice of *Serratula coronata* L. (Asteraceae), *Insect Biochemistry And Molecular Biology*, 32: 161-165.
- Okumuş G., Yıldız E., Akpınar-Bayizit A., (2015) Doğal Antioksidan Bileşikler: Nar Yan Ürünlerinin Antioksidan Olarak Değerlendirilmesi, *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 29(2): 203-214.
- Özeker, E. (1999) Phenolic compounds and their importance, *Anadolu, J. of AARI* 9 (2), 114 – 124.
- Özhatay, N. ve Kültür, Ş. (2006) Check-list of additional taxa to the supplement Flora of Turkey III, *Türk J Bot*, 30(4): 281-316.
- Özkaya, H. (1988) Analitik Gıda Kontrolü, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No:1086, s.43-46, Ankara.
- Öztekin, L. (1985) Organik Asitlerin Önemi ve Peynir Kalitesi Üzerine Etkileri, *Gıda /The Journal Of Food*, 10: 4.
- Porter, W. L. (1980) Recent trends in food applications of antioxidants, Autoxidation in Food and Biological Systems, Simic M.G. ve Karel M. (editörler), Plenum Press, New York, 143 s.
- Pridham J.B. (1960) *Phenolics in Plants in Health and Disease*, Pergamon Press, New York, NY, 131 s.
- Prior, R.L. Wu, X. Schaich, K. (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *J Agr Food Chem*, 53: 4290-4302.
- Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A. ve Oksman-Caldentey K.-M. (2001) Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries, *Journal of Applied Microbiology*, 90:494-507.
- Quitmann, H., Fan, R. and Czermak, P. (2013) Acidic Organic Compounds in Beverage, Food, and Feed Production, In H. Zorn and P. Czermak (Eds.), *Biotechnology of Food and Feed Additives*, Springer Berlin Heidelberg, pp. 91-141.
- Rafieian-Kopaei, M., (2012) Medicinal plants and the human needs, *J HerbMed Pharmacol*, 1(1): 1-2.

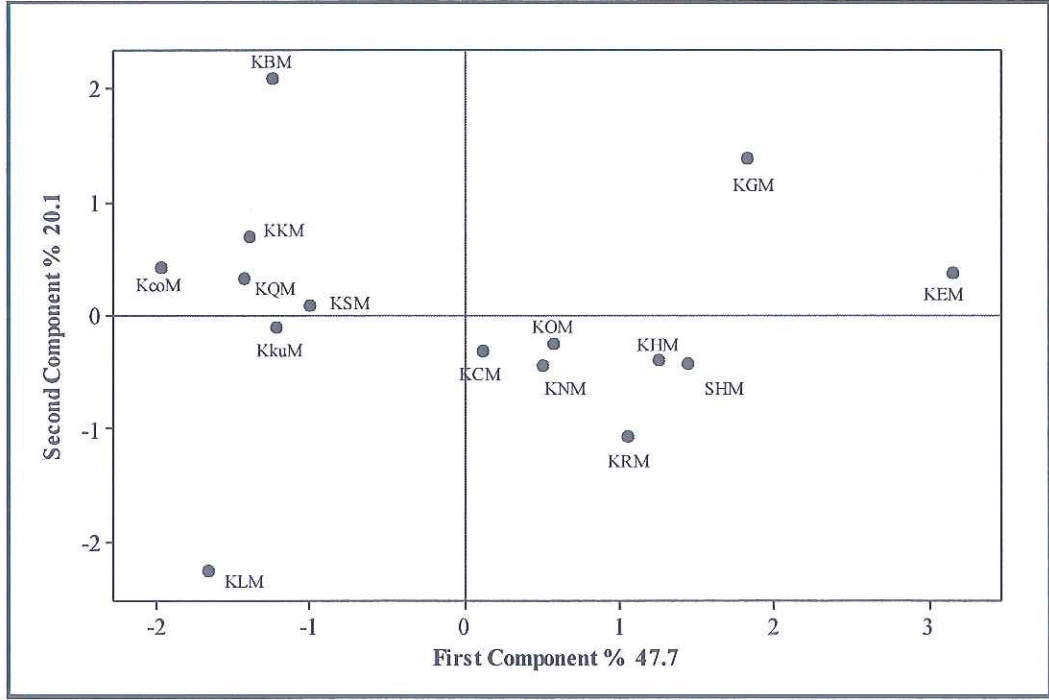
- Rafieian-Kopaie, M. ve Baradaran, A., (2013) Plants antioxidants: From laboratory to clinic, *J Nephropathology*, 2(2): 152–3.
- Re, R. Pellegrini, N. Proteggente, A. Pannala, A. Yang, M. Rice-Evans, C. (1998) Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 1231-1237.
- Reische, D.W., Lillard, D.A. ve Eitenmiller, R.R. (2002) Antioxidation, Akoh, C.C. ve Min D.B. (editörler), *Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, Marcel Dekker, New York, 335-542 s.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories Y., Maujean, A. and Dubourdieea, U. (2006) *Handbook of Enology, Volume 2: The Chemistry of Wine and Stabilization and Treatments*, John Wiley and Sons Ltd. 441 p.
- Roggo, Y., Chalus, P., Maurer, L., Lema-Martinez, C., Edmond, A., Jent, N. (2007) A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 44: 683–700.
- Samman, S., Lyons Wall, P.M. ve Cook, N.C. (1998) Flavonoids and coronary heart disease: Dietary perspectives, 469-482, Rice-Evans C.A. ve Packer L. (editörler), *Flavonoids in health and disease*, New York: Marcel Dekker, 504 s.
- Sánchez-Moreno, C. (2002) Compuestos polifenólicos: estructura y clasificación: presencia en alimentos y consumo: biodisponibilidad y metabolismo. *Alimentaria*, 329: 19-28.
- Scalbert, A. and Williamson, G. (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols, *Journal of nutrition*, 130: 2073-2085.
- Shahidi, F. (2000) Antioxidants in food and food antioxidants, *Nahrung* 44(3): 158-63.
- Shahidi, F. ve Naczk, M. (2004) *Phenolics in Food and Nutraceuticals*, CRC Press, Boca Raton London New York Washington, D.C., 575 s.
- Sharafati, R., Sherafati, F. ve Rafieian-kopaei, M. (2011) Biological characterization of Iranian walnut (*Juglans regia*) leaves, *Turk J Biol*, 35: 635–9.
- Shin, E. C., Craft B. D., Pegg, R. B., Phillips, R. D., Eitenmiller, R. R. (2010) Chemometric approach to fatty acid profiles in Runner-type peanut cultivars by principal component analysis (PCA), *Food Chemistry* 119: 1262–1270.
- Shirzad, H., Shahrani, M. ve Rafieian-Kopaei, M. (2009) Comparison of morphine and tramadol effects on phagocytic activity of mice peritoneal phagocytes in vivo, *Int Immunopharmacol*, 9: 968–70

- Shirzad, H., Taji, F., Pourgheysari, B., Raisi, S. ve Rafieian-Kopaei, M. (2012) Comparison of antitumour activities of heated and raw garlic extracts on fibrosarcoma in mice, *J Babol Univ Med Sci*, 14: 77–83.
- Simon A., Toth G., Liktör-Busa E., Kele Z., Takacs M., Gergelyd A. ve Bathori M. (2007) Three new steroids from the roots of *Serratula wolffii*, *Steroids*, 72: 751–755.
- Stevens, P.F. (2001) Angiosperm phylogeny website version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]; [cited 2018 Mar 18]. (<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>).
- Stobiecki, M. (2000) Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides, *Phytochemistry*, 54: 237-256.
- Swetwiiwathana, A. and Visessanguan, W. (2015) Potential of bacteriocinproducing lactic acid bacteria for safety improvements of traditional Thai fermented meat and human health, *Meat Science*, 109: 101–105.
- Şahin, N. (2001) *Türkiye’de yetişen Serratula l. (asteraceae) cinsine ait taksonların 16S rDNA ve trnL-trnF cpDNA dizileriyle moleküler sistematik analizi*, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir, 92 s.
- Tel, G., Öztürk, M., Duru, M.E., Doğan, B. ve Harmandar, M. (2013) Fatty acid composition, antioxidant, anticholinesterase and tyrosinase inhibitory activities of four *Serratula* species from Anatolia, *Records of Natural Products*, 7 (2): 86-9.
- Theron, M. M. and Lues, J. F. R. (2010) *Organic acids and food preservation*, eds Taylor and Francis Group Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 319.
- Towers G.H.N., Harborne J.B. (1964) *Biochemistry of Phenolic Compounds*. Academic press, London, UK. 176: 249-294.
- Tschager, E. (1982) Significant organic acids and their effect on cheese quality, *Deutsche Molkerei-Zeitung* 103(42): 1410-12, 1414-16.
- Tsybiktarova, L. P., Nikolaeva, I. G. ve Nikolaeva, G.G. (2017) Amino acids from *Serratula centauroides*, *Chemistry Of Natural Compounds*, 53 (1).
- Tsybiktarova, L. P., Taraskin, V. V., Nikolaeva, I. G., Radnaeva, L. D., Gereltu, B. ve Nikolaeva, G. G. (2016) Constituent composition of essential oil from *Serratula centauroides*, *Chemistry Of Natural Compounds*, 52: (6).
- Varmuza, K. (2012) Chemometrics in Practical Applications, *Published by InTech*, 326 s.

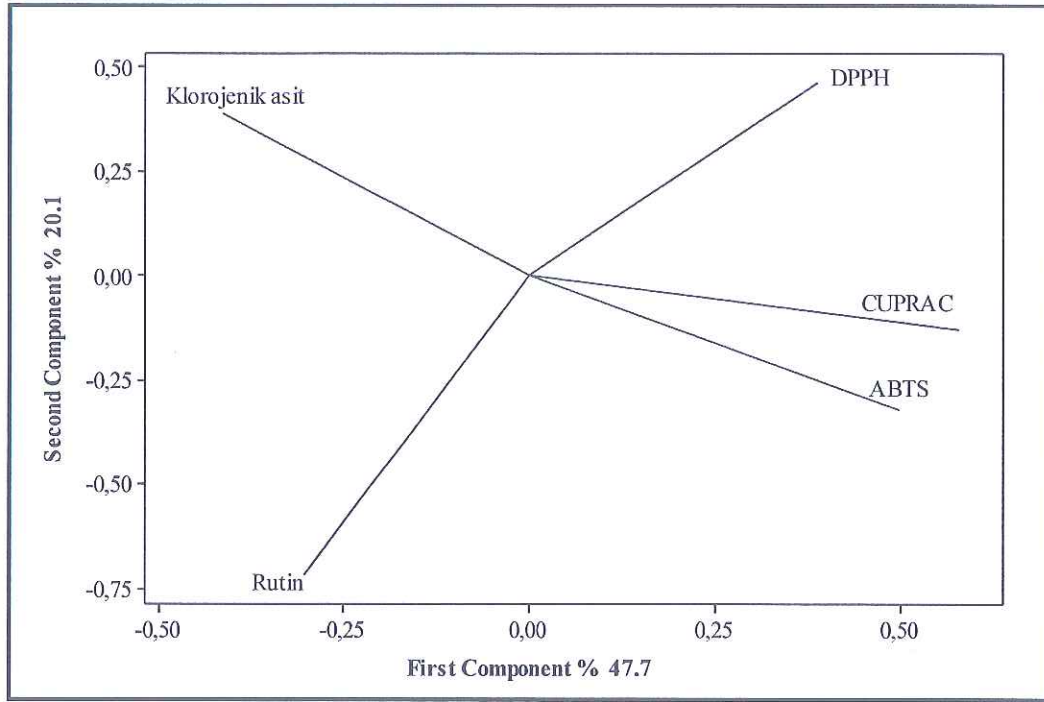
- Vermerris, W. and Nicholson, R. (2006) *Families of Phenolic Compounds and Means of Classification*, Editörler: W. Vermerris and R. Nicholson. Phenolic Compound Biochemistry. Springer, Netherlands, pp: 1-34.
- Zaki, H. M., Mohamed, H. M. and El-Sherif, A. M. (2015) Improving the antimicrobial efficacy of organic acids against *Salmonella enterica* attached to chicken skin using SDS with acceptable sensory quality, *LWT Food Science and Technology*, 64(2): 558–564.
- Zhao, Z., Yuen, J., Wu, J., Yu T. ve Huang W. (2006) A systematic Study on Confused Species of Chinese Materia Medica in the Hong Kong market, *Ann. Acad. Med. Singapore*, 35: 764-769.

EKLER

Ek A. *Klasea* türlerinin PCA skor grafiği



Ek B. *Klasea* türlerinin PCA loading grafiği



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : Dilan BAYRAM

Uyruk : T.C.

Doğum Yeri ve Tarihi: Van - 12/12/1993

Telefon : 0 505 696 8508

E-posta : ddilanbayram@gmail.com.tr

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum	Mezuniyet Yılı
Lise	Saime Salih Konca Lisesi	2011
Üniversite	Akdeniz Üniversitesi	2016

Yabancı Dil

İNGİLİZCE	Az	Orta	İleri
Okuma		✓	
Anlama		✓	
Yazma		✓	
Konuşma		✓	

Bilgisayar

Microsoft Office	Az	Orta	İleri
Word		✓	
Excel		✓	
Power Point		✓	