T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ORGANİK KİMYA PROGRAMI

ONOSMA BRIQUETII BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ ÜZERİNE FARKLI ÖZÜTLEME TEKNİKLERİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Yağız Burak GÖKÇE

Danışman
Prof. Dr. Mehmet Sabih ÖZER

MANİSA–2024

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalında akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, tezin yazımında akademik ve etik kurallara aykırı herhangi bir yapay zekâ ve program kullanmadığımı beyan ederim.

Yağız Burak GÖKÇE

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Yağız Burak GÖKÇE
Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Sabih ÖZER

Farklı *Onosma* türlerinin, Irak, Türkiye, İran, Çin ve Hindistan gibi ülkelerde çeşitli sağlık sorunlarının tedavisinde kullanılan tıbbi bitkiler olarak kullanımı, yüzyıllara dayanan köklü bir gelenektir. Bu çalışma, endemik *Onosma briquetii* (Boraginaceae) bitkisinden maserasyon (MAC-ME), Soxhlet özütlemesi (SOE-ME) ve ultrasonik-destekli özütlemesi (UAE-ME) gibi farklı özütleme teknikleri kullanılarak elde edilen metanol özütlerinin antioksidan ve enzim inhibisyon aktivitelerini ortaya çıkarmayı ve özütlerin fitokimyasal içeriklerini Elektron Spin İyonizasyon Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (LC-ESI-MS/MS) kullanarak tespit etmeyi amaçlamıştır.

Her üç yöntem kullanarak elde edilen metanol özütlerinin toplam fenolik içerikleri yaklaşık 20 mg GAEs/g özüt olarak bulunmuştur. MAC-ME, SOE-ME ve UAE-ME özütlerinin toplam flavonoit içerikleri sırasıyla; 35.27, 38.75 ve 39.82 mg REs/g özüt olarak hesaplanmıştır.

LC-MS/MS analizlerinde, özütlerdeki ana bileşenler olarak 4-hidroksibenzoik asit (634-707 µg/g özüt), rosmarinik asit (491-509 µg/g özüt) ve ferulik asit (371-396 µg/g özüt) farklı konsantrasyonlarda tespit edilmiştir.

MAC-ME özütü, CUPRAC (EC_{50}: 1.92 mg/mL), FRAP (EC_{50}: 1.33 mg/mL), DPPH radikal temizleme (EC_{50}: 3.35 mg/mL) ve demir iyonu şelatlama (EC_{50}: 1.40

mg/mL) testlerinde daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.

UAE-ME özütü, asetilkolin esteraz ve alfa-amilaz enzimlerini daha etkili bir şekilde inhibe ederken, MAC-ME özütü tirosinaz enziminde anlamlı bir inhibisyon göstermiştir.

Bu bulgular, *O. briquetii* özütlerinin farmasötik, gıda ve kozmetik endüstrileri için değerli ve önemli bir kaynak olabileceğini öne sürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Onosma briquetii, Antioksidan aktivite, Enzim inhibisyon aktivite, Fitokimya, Özütleme teknikleri

2024, 43 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Yağız Burak GÖKÇE

Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Education
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Sabih ÖZER

The utilization of various *Onosma* species as medicinal plants for addressing a range of health issues in countries such as Iraq, Turkey, Iran, China, and India represents a long-standing tradition that has persisted for centuries. This study aimed to reveal the antioxidant and enzyme inhibition activities of methanol extracts obtained from the endemic *Onosma briquetii* (Boraginaceae) plant using different extraction techniques, including maceration (MAC-ME), Soxhlet extraction (SOE-ME), and ultrasound-assisted extraction (UAE-ME), as well as to identify the phytochemical contents of the extracts using Electron Spin Ionization Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-ESI-MS/MS).

The total phenolic content in methanol extracts obtained through all three methods was found to be approximately 20 mg GAEs/g extract. The total flavonoid contents for the MAC-ME, SOE-ME, and UAE-ME extracts were calculated as 35.27, 38.75, and 39.82 mg REs/g extract, respectively.

LC-MS/MS analysis identified 4-hydroxybenzoic acid (634-707 µg/g extract), rosmarinic acid (491-509 µg/g extract), and ferulic acid (371-396 µg/g extract) as the predominant components in the extracts, with concentrations varying depending on the extraction technique employed.

The MAC-ME extract demonstrated superior antioxidant activity in CUPRAC

(EC_{50}: 1.92 mg/mL), FRAP (EC_{50}: 1.33 mg/mL), DPPH radical scavenging (EC_{50}: 3.35 mg/mL), and ferrous ion chelating (EC_{50}: 1.40 mg/mL) assays.

While the UAE-ME extract exhibited more effective inhibition of acetylcholinesterase and alpha-amylase enzymes, the MAC-ME extract showed significant inhibition of the tyrosinase enzyme.

These findings suggest that extracts from *O. briquetii* may serve as a valuable and significant resource for the pharmaceutical, food, and cosmetic industries

Keywords: Onosma briquetii, Antioxidant activity, Enzyme inhibition activity, Phytochemistry, Extraction techniques

2024, 43 pages

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışma, endemik *Onosma briquetii* (Boraginaceae) bitkisinden maserasyon (MAC-ME), Soxhlet özütlemesi (SOE-ME) ve ultrasonik-destekli özütlemesi (UAE-ME) gibi farklı özütleme teknikleri kullanılarak elde edilen metanol özütlerinin antioksidan ve enzim inhibisyon aktivitelerini ortaya çıkarmayı ve özütlerin fitokimyasal içeriklerini Elektron Spin İyonizasyon Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (LC-ESI-MS/MS) kullanarak tespit etmeyi amaçlamıştır.

Tez çalışmalarımda bana yol gösteren, bilgi birikimi ile çalışmalara farklı açılardan bakmamı sağlayan, hoşgörü ve anlayışı ile beraber çalışmaktan ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mehmet Sabih ÖZER'e, her türlü imkân, destek ve emeklerini esirgemeyen, beni yönlendiren Prof. Dr. Cengiz SARIKÜRKCÜ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, organik kimyada bana destek veren Sayın Prof. Dr. Mustafa ESKİCİ'ye; tez çalışmasında kullanılan bitki materyalininin teşhisini yapan Mersin Üniversitesi öğretim Üyesi Prof. Dr. Rıza BİNZET'e de ayrıca teşekkür ediyorum.

Bu tez çalışması esnasında her türlü desteklerini benden esirgemeyen sevgili aileme de ayrıca teşekkür ederim.

Yağız Burak GÖKÇE

Manisa, 2024

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
ABTS	2,2-azinobis (3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit)
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
AD	Alzheimer hastalığı
BChE	Bütirilkolinesteraz
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
ChE	Kolinesteraz
CUPRAC	Bakır (II) iyonları indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi
DPPH	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
EC_{50}	Absorbansı 0.500 yapan örnek derişimi
EDTAEs	Etilendiamin tetraasetik asit disodyum tuzu eşdeğer
FRAP	Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan güç
GAEs	Gallik asit eşdeğer
GALAEs	Galantamin eşdeğeri
LC-ESI-MS	Elektron Spin İyonizasyon Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi
IC_{50}	%50 inhibisyon gösteren örnek derişimi
KAE	Kojik asit eşdeğeri
MeOH	Metil alkol
ROS	Reaktif oksijen türleri
REs	Rutin eşdeğer
TEs	Troloks eşdeğer

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1. *Onosma briquetii* bitkisinin doğadaki genel görünümü 15
Şekil 4.1. Bitki metanol özütlemesi verimleri 21
Şekil 4.2. Gallik asit derişim-absorbans grafiği 22
Şekil 4.3. Özütlerin toplam fenolik içerikleri 22
Şekil 4.4. Rutin derişim-absorbans grafiği 23
Şekil 4.5. Özütlerin toplam flavonoit içerikleri 23
Şekil 4.6. Özütlerde bulunan ana fitokimyasalların açık yapıları 25
Şekil 4.7. Özütlerin DPPH radikal süpürüm aktiviteleri 27
Şekil 4.8. Özütlerin ABTS katyon radikal süpürüm aktiviteleri 28
Şekil 4.9. Özütlerin CUPRAC indirgeme gücü kapasiteleri 28
Şekil 4.10. Özütlerin FRAP indirgeme gücü kapasiteleri 29
Şekil 4.11. Özütlerin toplam antioksidan aktiviteleri 29
Şekil 4.12. Özütlerin demir (II) iyonları şelatlama kapasiteleri 30
Şekil 4.13. Özütlerin bağıl antioksidan kapasite indeksleri 31
Şekil 4.14. Özütlerin asetilkolin esteraz inhibisyon aktiviteleri 32
Şekil 4.15. Özütlerin α-amilaz inhibisyon aktiviteleri 33
Şekil 4.16. Özütlerin trozinaz inhibisyon aktiviteleri 34

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 4.1. Özütlerde tespit edilen fitokimyasalların derişimleri	24
Tablo 4.2. Özütlerin ve standartların antioksidan kapasiteleri	26
Tablo 4.3. Standartların ve özütlerin enzim inhibisyon aktiviteleri	32

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET I
ABSTRACT III
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ VI
ŞEKİLLER DİZİNİ VII
TABLOLAR DİZİNİ VIII
İÇİNDEKİLER IX
1.GİRİŞ 1

İKİNCİ BÖLÜM
GENEL BİLGİLER

2.1. Boraginaceae Familyası 2
2.2. *Onosma* Cinsi 2
2.3. *Onosma* Türlerinin Literatürdeki Yeri 2
2.3.1. *Onosma* Geleneksel Kullanımı 2
2.3.2. *Onosma* Türlerinin Kimyasal Profili 4
2.4. *Onosma* Türlerinin Farmakolojik Aktivitesi 4
2.4.1. Antibakteriyel Aktivite 4
2.4.2. Antifungal Aktivite 5
2.4.3. Antioksidan Aktivite 6
2.4.4. Enzim İnhibitör Aktivitesi 9
2.4.5. Sitotoksisite Aktivitesi 11
2.5. Özütleme ve Özütleme Teknikleri 13

ÜÇÜNÇÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Bitkinin Toplanması ve Teşhis Edilmesi 15
3.2. Özütlerin Hazırlanması 16
3.3. Özütlerin Fenolik Bileşik İçeriklerinin Tespit Edilmesi 16
3.3.1. Toplam Fenolik Bileşik Analizi 16
3.3.2. Toplam Flavonoit Bileşik Analizi 16
3.3.3. LC-ESI–MS/MS Analizi 17
3.4. Antioksidan Aktivite Analizleri 17
3.4.1. DPPH Radikal Süpürüm Testi 18
3.4.2. ABTS Katyon Radikal Süpürüm Testi 18
3.4.3. CUPRAC İndirgeme Gücü Testi 18
3.4.4. FRAP İndirgeme Gücü Testi 18
3.4.5. Toplam Antioksidan Aktivite Testi 19
3.4.6. Demir (II) İyonları Şelatlama Testi 19
3.5. Enzim İnhibisyon Aktivite Analizleri 19
3.5.1. Kolinesteraz İnhibisyon Aktivite Testi 19
3.5.2. Tirozinaz İnhibisyon Aktivite Testi 20
3.5.3. α-Amilaz İnhibisyon Aktivite Testi 20

3.6. İstatistiksel Analizler **20**

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Özütleme Verimleri **21**
4.2. Özütlerin Toplam Fenolik ve Flavonoit İçerik Analizleri **21**
4.3. Özütlerin LC-MS/MS ile Fitokimyasal Analizleri **24**
4.4. Özütlerin Antioksidan Aktivite Analizleri **26**
4.5. Özütlerin Enzim İnhibisyon Aktivite Analizleri **31**

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇLAR VE ÖNERİLER **35**

KAYNAKLAR **36**

1. GİRİŞ

Bitkiler, farmasötik bileşenlerin üretiminde önemli doğal kaynaklar olarak kabul edilmektedir. Günümüzde, kimyasal bileşenlerin üretimi yerine, bu bileşenler açısından zengin bitkilerin üretimine yönelme başlamıştır [1]. *Onosma* üyelerinin kökleri, şikonin türevli kimyasalların yanı sıra ilginç farmakolojik aktiviteleri açısından da zengin bir kaynak olarak bilinmektedir. Bu kırmızı renkli boya, antik çağlardan beri ipek ve gıda sanayilerinde olduğu gibi çeşitli alanlarda sıkça kullanılmaktadır [2]. Bu pigment, anti-inflamatuar, antimikrobiyal gibi bazı farmakolojik özellikleri nedeniyle kozmetik ve tıbbi uygulamalarda da popüler fitokimyasallardan biridir [3, 4]. Bu nedenle, bu türlerin hem sahada hem de doku kültürü teknikleri aracılığıyla üretimi büyük önem taşımaktadır [5].

Bitkilerin biyolojik aktiviteleri üzerine yapılan çalışmalar sonucunda birçok ilginç aktivite ortaya çıkartılmıştır. Bu aktiviteler arasında belki de en iyi bilinen ve en sık inceleneni antioksidan aktivitedir [6-8]. Bu alanda çalışan birçok araştırmacı, terpenoidlerin, flavonoidlerin ve fenolik asitlerin antioksidan aktiviteden sorumlu bileşikler olduğunu kabul etmektedir [6]. Bil yıldan beridir gıdaların raf ömrünü uzatmak için kullanılan butillenmişhidroksianisol (BHA) ve butillenmişhidroksitoluen (BHT) maddelerinin insan sağlığı üzerindeki zararlı etkileri konusunda tüketiciler şüphe duymaya başlamıştır. Bazı yetkililer bu sentetik antioksidan maddelerin DNA molekülüne zarar verebileceğini düşünmektedir [9]. Bu nedenle, antioksidan fitokimyasallardan zengin bitki türleri veya baharatların gıdalarda katkı maddesi olarak kullanımı konusunda ilgi artmıştır. Bitkisel materyale bağlı olarak değişiklik gösterse de uygun özütleme yönteminin uygulanması, elde edilen özüt içerisindeki antioksidan madde konsantrasyonunu artırabilir.

Bu çalışmada, Türkiye'de doğal olarak yetişen ve literatürde üzerinde herhangi bir çalışmaya rastlanmayan endemik *Onosma briquetii* (Boraginaceae) bitkisinin Maserasyon, Soxhlet ve Ultrason-destekli özütleme gibi farklı özütleme teknikleri kullanılarak elde edilen metanol özütlerinin antioksidan ve enzim inhibisyon aktivitelerinin açığa çıkarılması ve özütlerin fitokimyasal içeriklerinin Elektron Spin İyonizasyon Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (LC-ESI-MS/MS) ile tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Boraginaceae Familyası

Boraginaceae, dünya çapında, özellikle Avrupa ve Akdeniz bölgesinde olduğu kadar Asya'da da geniş bir dağılıma sahip botanik bir familyadır ve yaklaşık 130 bitki cinsi ve 2300 türü kapsamaktadır. Aileye ait bazı bitki türleri, çoğunlukla köklerinde yüksek oranda naftokinon bulunması ve flavonoidler ile fenolik asit türevleri gibi sekonder metabolitler içermesi nedeniyle farmakolojik özellikleri nedeniyle geniş bir şekilde kullanılmıştır [10-12].

2.2. *Onosma* Cinsi

Onosma, Boraginaceae familyasındaki çiçekli bitkilerin bir cinsidir [13]. 95 *Onosma türü* için temel coğrafya, özellikle Anadolu'dur ve bunlardan 48'i endemiktir [14]. Naftokinonlar, alkaloidler, terpenoidler, polifenoller, fitosteroller ve yağ asitleri bu ailenin ana sekonder metabolitleridir ve antibakteriyel ile antioksidan özellikler sergilerler [15]. Naftokinonlar, şikonin ve alkanin gibi fenolik bileşenler, fenolik asitler ve flavonoidler, bu ailenin yara iyileştirme yeteneklerinden sorumlu olan anti-inflamatuar, antioksidan, antibakteriyel ve antiviral özelliklere sahiptir [16]. 240 türü bulunan ve Akdeniz bölgesinde, Orta ve Doğu Asya'da geniş bir dağılıma sahip olan *Onosma* L. cinsi, kalp çarpıntıları, romatizma, böbrek tahrişi, mesane ağrısı ve yanık yaralarının iyileştirilmesi için antioksidan olarak kullanılmıştır. Ayrıca, mide ülserleri ve hemoroidler için anti-inflamatuar tedavi olarak da kullanılmıştır [15, 17, 18].

Onosma briquetii, Ülkemize endemik olan çok yıllık otsu türlerden biridir. 1300-2000 m rakımlarda genellikle orta Anadolu'da seyrek *Quercus*, *Pinus* ve *Abies* ormanları ile bozkır alanlarda sıklıkla yetişmektedir. Çiçeklenme zamanları genellikle haziran ve temmuz aylarıdır.

2.3. *Onosma* Türlerinin Literatürdeki Yeri

2.3.1. *Onosma* Geleneksel Kullanımı

Onosma türlerinin, Irak, Türkiye, İran, Çin ve Hindistan gibi çeşitli ülkelerdeki yerel etnik gruplar tarafından farklı sağlık sorunları için tıbbi bitkiler olarak kullanımı yüzlerce yıl öncesine dayanmaktadır. Bu cins türlerinin neredeyse tüm bitki kısımlarının, yapraklar, kökler, yer altı kısımları, çiçekler ve bütün bitki dahil olmak

üzere geniş bir tedavi potansiyeline sahip olduğu bildirilmektedir [19, 20].

Onosma alborosea gibi türler, geleneksel olarak Irak'taki halklar tarafından, su ekstraksiyon yöntemleriyle hazırlanan hava kısmı özleriyle sedatif, kalp hastalıkları ve böbrek rahatsızlıkları için kullanılmaktadır [19]. Ayrıca, *Onosma orientalis*'in toprak üstü kısımları, Irak'taki Kürt halkı tarafından sedatif tedavi amacıyla sıcak su ile özütlenmiştir [19]. *Onosma armeniacum*, Türk folklorik tıbbında yaralar, peptik ülserler, yanıklar, nefes darlığı, boğuk ses, hemoroid ve karın ağrıları için köklerinin tereyağı ile pişirilmesi ve süzülmesi yöntemleriyle kullanılmıştır [21].

Onosma argentatum ve *O. chlorotricum*'un özütleri (uçucu yağ ve su özütleri), Türkiye ve İran'da (Lorestan ili) geleneksel olarak yaralar ve deri yaralanmaları için kullanılmıştır [22]. Ayrıca, *O. hispidum* Wall. kök özütleri, İran halkı tarafından baş ağrısı, yaralar, böcek sokmaları, ısırıklar ve iltihaplı hastalıklar için geleneksel olarak kullanılmakta; çiçekleri ise kardiyovasküler sorunlar için tüketilmektedir [23]. Aynı tür, ayrıca bir boya ve alkanet yerine geçici olarak kullanılmıştır [24].

Onosma bracteatum Wall. özütleri, geleneksel bitkisel tıp kapsamında vücut bağışıklık sistemini artıran ve idrar çıkışını düzenleyen bir tonik ajan olarak bildirilmiştir [25]. Ayrıca, *O. bracteatum* türü, Hindistan, Nepal, Keşmir ve kuzeybatı Himalaya ülkelerinde astım, solunum problemleri, tonik, alteratif, yumuşatıcı, idrar söktürücü, spazmolitik, romatoid artrit, idrar söktürücü ve lepra tedavisi için kullanılmıştır [26]. *O. sericeum* kök özütleri, Adıyaman'da cilt yaraları ve yanık izleri tedavisi için krem preparatlarında geleneksel olarak kullanılmaktadır [27]. *Onosma microcarpum,* Erzurum'un Ilıca ilçesinde yöresel halk tarafından yaralar ve yanık izlerinin tedavisi amacıyla kullanılmaktadır [22, 28]. *Onosma echioides* DC.'nin yaprak su özütleri, kabızlık ve metabolik bozukluklar çeken çocuklar için hazırlanırken, çiçekleri ortopedik ve kardiyak sorunlar için bir şurup ve uyarıcı olarak bildirilmektedir [29]. *O. paniculata*'nın kurutulmuş kökleri, Çin bitkisel tıbbında tümörler de dahil olmak üzere çeşitli insan hastalıklarının tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır [30]. *O. aucheriana*, kaşıntı, vitiligo, bronşit, karın ağrısı, strangüri, ateş, yaralar, yanıklar ve idrar taşları için geleneksel tıbbi kullanımı olan bir diğer türdür. Çiçekleri uyarıcılar ve kardiyo-tonikler olarak vurgulanırken, yaprak özütleri müshil, boşaltıcı ve yara iyileştirici olarak tüketilmektedir [31].

230'dan fazla *Onosma* türünden yalnızca 12 türü şimdiye kadar geleneksel

tıpta bitkisel ilaç olarak bildirilmiştir. Bu durum, *Onosma* türlerinin geniş coğrafi dağılımı ve geçmişteki bilimsel ilgisizlik nedeniyle olabilir, ancak araştırmacılar bu cinsin son yıllarda bazı ilginç fitokimyasal ve farmakolojik potansiyellerini keşfettikten sonra diğer *Onosma* türlerini geniş çapta araştırmaya ve incelemeye başladıkları için bu sayının önümüzdeki yıllarda artması beklenmektedir [22].

2.3.2. *Onosma* Türlerinin Kimyasal Profili

Onosma türlerinin fitokimyasal içeriklerine ilişkin mevcut sistematik inceleme, naftokinon, flavonoidler, hidrokarbon, fenolik, ester, alkaloidler, terpenoidler, karboksilik asit, yağ asitleri, aromatikler ve lignan bileşenleri gibi ana organik sınıfları içermektedir [15, 32-36]. Ayrıca, 24,25-Dihidroksikolekalsiferol, 5-hidroksimetil-furoik asit ve uplandisin gibi çeşitli kimyasallar da *Onosma* bitkilerinin fitokimyasallarındaki çeşitliliği artırmaktadır [22]. *Onosma* türlerinin içerdiği bileşenleri arasında rosmarinik asit, apigenin, ferulik asit, protokateşüik asit, klorojenik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, vanilik asit, luteolin, hiperosit, hesperidin, apigenin-7-glukozid, luteolin-7-glukozid, izovaleryşikonin, asetilşikonin, pinoresinol, deoksişikonin, 4-hidroksibenzoik asit, β,β-dimetilakril, izovaleryşikonin, 2,5-dihidroksibenzoik asit ve 3-hidroksibenzoik asit de bulunmaktadır [1, 37-45].

2.4. *Onosma* Türlerinin Farmakolojik Aktivitesi

2.4.1. Antibakteriyel Aktivite

Onosma sieheana köklerinden izole edilen esansiyel yağlar, gram negatif bakterilere (*Escherichia coli* (MIC: 125 μg/mL) ve *Pseudomonas aeruginosa* (MIC: 125 μg/mL)) ve gram pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus* (MIC: 125 μg/mL) ve *Bacillus subtilis* (MIC: 250 μg/mL)) karşı dikkate değer antibakteriyel aktivite göstermiştir [46].

Onosma argentatum köklerinin n-heksan-diklormetan karışımı özütleri, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı sırasıyla 28, 13 ve 32 μg/mL MIC değerleri ile antibakteriyel aktivite göstermiştir [47]. *Onosma khyberianum* bütün bitki kısımlarının kloroform fraksiyonu, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* ve *Vibrio cholera*'ya karşı sırasıyla 28, 26 ve 26 mm inhibitör bölgeleri ile önemli antibakteriyel aktivite göstermiştir. *O. khyberianum*'un etanol fraksiyonu, *Shigella dysenteriae* (21 mm) ve *Vibrio cholera* (20 mm) karşı önemli anti-radikal aktivite gösterirken, *O. khyberianum*'un n-heksan fraksiyonu *Vibrio cholera*,

S. aureus ve *Shigella dysenteriae*'ye karşı sırasıyla 12, 9 ve 8 mm inhibitör bölgeleri ile aktivite göstermiş, ancak *Salmonella* ve *E. coli*'ye karşı tamamen inaktif bulunmuştur [48].

Onosma hispidum köklerinin ham etanol özütleri, birkaç gram pozitif ve gram negatif bakteriye karşı (*Corynebacterium diphtheria, C. diphtheriticum, Micrococcus lysodiecticus, S. aureus, S. epidermidis, S. saprophyticus, Enterococcus faecalis, E. faecalis* 2400, *E. faecium, Streptococcus pneumonia* ve *S. pyogenes*) 18–20 mm arasında değişen inhibitör bölgeleri ile önemli antibakteriyel aktivite göstermiştir [49]. *Onosma visanii* köklerinden izole edilen naftokinonlar (deoksişikonin, izobütirilşikonin, α-metilbütirilşikonin, asetilşikonin, β-hidroksizovaleryşikonin, 5,8-O-dimetil izobütirilşikonin ve 5,8-O-dimetil deoksişikonin) gram negatif bakterilere (*Citrobacter koseri, Hafnia alvei, maltophilia, Yersinia intermedia, Ps. proteolytica* ve *Stenotrophomonas*) ve gram pozitif bakterilere (*Bacillus megaterium, Enterococcus faecalis, S. epidermidis, Microbacterium arborescens* ve *Micrococcus luteus*) karşı sırasıyla 4.27–68.27 μg/mL ve 4.77–76.20 μg/mL arasında değişen MIC_{50} ve MIC_{90} değerleri ile önemli antibakteriyel aktivite göstermiştir [50].

Onosma sericea ve *O. stenoloba*'nın toprak üstü kısımlarının metanol özütleri ile elde edilen antibakteriyel aktivite (MIC değerleri) 2.5−10 mg/mL arasında değişmektedir. Her iki *Onosma* özütü de yalnızca *A. chroococcum* ve *E. coli* gibi birkaç suş üzerinde orta derecede antibakteriyel aktivite göstermiştir; MIC değerleri sırasıyla 2.5 ve 5 mg/L'dir. *O. sericea* özütü, gram pozitif suş *M. lysodeiktikus* üzerinde 10 mg/mL MIC değeri ile düşük aktivite gösterirken, *O. stenoloba* özütü *E. faecalis* ve *A. tumefaciens* üzerinde sırasıyla 5 ve 10 mg/mL MIC değerleri ile dikkate değer antibakteriyel etki göstermiştir [51].

2.4.2. Antifungal Aktivite

Onosma sericea ve *O. stenoloba*'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen metanolik özütlerin, *Phialophora fastigiata* ve *Fusarium oxysporum* mantar suşlarına karşı antifungal aktivitesi sırasıyla 2.5 ve 5 μg/mL MIC değerleri olarak rapor edilmiştir.

Onosma sericea'nın metanol özütleri, *Penicillium canescens* FSB 24 ve *P. cyclopium* FSB 23 üzerine orta derecede aktivite göstermiştir (MIC aralığı 2.5−5 μg/mL), *O. stenoloba* ise yalnızca *P. cyclopium*'a karşı antifungal aktivite göstermiştir

(MIC 10 µg/mL). Aynı çalışma, *O. sericea*'nın *Trichoderma longibrachiatum* FSB 13 ve *T. harzianum* FSB 12'ye karşı antifungal potansiyellerini (MIC 10 µg/mL) de göstermiştir. Ayrıca, *Onosma* özütlerinin artmış konsantrasyonu (10 µg/mL), *Aspergillus niger* FSB 31, *Aspergillus glaucus* FSB 32, *Doratomyces stemonitis* FSB 41, *Phialophora fastigiata* FSB 81, *Alternaria alternata* FSB 51 ve *Fusarium oxysporum* FSB 91'ye karşı etkisiz bulunmuştur [51]. *Onosma griffithii*'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol özütlerinin, *Aspergillus flavus* (%55) ve *Fusarium solani* (%40) üzerine antifungal aktivite göstermiştir. Buna ilaveten, klorofor özütleri, *A. flavus* (%59) ve *Fusarium solani* (%60) üzerinde daha iyi antifungal aktivite sergilemiştir [52].

Onosma kheberianum'un üç mantar suşu, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternate* ve *A. flavus*'a karşı antifungal aktivitesi sırasıyla etanol fraksiyonları için 18, 13 ve 7 mm, kloroform fraksiyonları için ise 17, 11 ve 9 mm olarak rapor edilmiştir [48]. Yapılan önceki bir çalışma, *O. argentatum* köklerinin n-heksan-diklormetan özütlerinin *Trichophyton tonsurans, Trichophyton interdigitale, Microphyton gypseum* ve *Candida albicans*'a karşı antifungal aktivite göstermediğini ortaya koymuştur [47]. *Onosma sieheana* Hayek köklerinden elde edilen esansiyel yağlar, *Candida glabrata* ve *C. albicans* maya suşlarına karşı önemli antifungal aktivite göstermiş ve bu aktivite, esansiyel bileşenleri olan monoterpenler (simen ve timol gibi) ile ilişkilendirilmiştir [22]. *Onosma chlorotricum* köklerinden elde edilen esansiyel yağlar, *C. albicans* ve *C. glabrata*'ya karşı sırasıyla 21 ve 19.3 mm inhibitör bölgeleri ile *O. microcarpum* köklerinden elde edilen esansiyel yağlardan daha yüksek antifungal aktivite sergilemiştir [36].

2.4.3. Antioksidan Aktivite

Onosma türleri kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve araştırmacılar, çeşitli ekstraksiyon ve çözücü yöntemleri kullanarak bu türlerin umut verici antioksidan kaynakları olduklarını ortaya koymuşlardır [41, 53, 54].

Onosma ambigens'in toprak üstü kısımlarından elde edilen özütler, fosfomolibdenum, CUPRAC, FRAP, DPPH ve ABTS testlerinde sırasıyla; 1.65, 0.95, 0.52, 1.86 ve 1.45 mg/mL değerleri ile dikkate değer antioksidan etkinlik göstermiştir [1]. *Onosma gigantea*'nın antioksidan aktivitesi, fosfomolibdenum (134.31 µmol trolox (TEs)/g kuru madde (adm)), şelatlama etkisi (32.97 µmol (EDTAEs)/g adm),

DPPH (32.14 µmol TEs/g adm) ve ABTS (58.68 µmol TEs/g adm), ve indirgeme gücü (CUPRAC (50.23 µmol TEs/g adm) ve FRAP (40.96 µmol TEs/g adm)) testlerinde önemli bulunmuştur [40].

Onosma pulchra'nın toprak üstü kısımlarının su özütü, DPPH, ABTS, CUPRAC ve demir iyonu şelatlama testlerinde sırasıyla 3.90, 2.55, 2.20 ve 1.23 mg/mL değerleri ile anlamlı antioksidan etkiler göstermiştir. Bu arada, fosfomolibdenum ve FRAP testlerinde metanol özütünün üstünlüğü (sırasıyla 1.98 ve 1.02 mg/mL) gösterilmiştir [41]. *Onosma bracteatum*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol özütü, süperoksit radikali temizleme (EC_{50}: 115.14 µg/mL) ve lipid peroksidasyonu (EC_{50}: 199.33 µg/mL) testlerinde önemli radikal temizleme aktivitesi göstermiştir [55].

Onosma mutabilis'in metanol özütü, su ve etil asetat fraksiyonlarından elde edilenlerden daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir; metanol özütünün antioksidan değerleri sırasıyla; fosfomolibdenum, DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC indirgeme testlerinde 1.45, 3.54, 2.33, 1.12 ve 1.62 mg/mL olmuştur [56]. *Onosma frutescens*'in toprak üstü kısımlarının metanol özütü, DPPH (1.14 mg/mL), ABTS (1.04 mg/mL), CUPRAC (0.53 mg/mL), FRAP (0.35 mg/mL) ve fosfomolibdenum (1.18 mg/mL) testlerinde *O. sericea* ve *O. aucheriana*'nın sırasıyla 1.75, 1.50, 0.87, 0.55, 1.97 mg/mL ve 2.18, 1.87, 0.99, 0.63, 1.92 mg/mL değerlerine göre anlamlı derecede daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Demir (II) iyonu şelatlama testlerinde, *O. aucheriana* (IC_{50}: 2.57 mg/mL) *O. frutescens* (4.68 mg/mL) ve *O. sericea* (6.18 mg/mL) üzerine üstünlük göstermiştir [44].

Onosma aucheriana köklerinin su özütü, radikal temizleme aktivitelerinde (ABTS, DPPH) IC_{50} değerleri sırasıyla; 9.89 ve 17.73 µg/mL olarak önemli antioksidan aktivite göstermiştir. Ayrıca, aynı tür lipid peroksidasyonu inhibisyonu ve hidroksil radikali temizleme aktivitelerinde sırasıyla; IC_{50} değerleri 23.41 ve 31.09 µg/mL olarak belirlenmiştir [31]. *Onosma trapezuntea*'nın metanol özütleri, DPPH'de IC_{50}: 3.05 mg/mL ve ABTS'de IC_{50}: 7.19 mg/mL ile daha güçlü antioksidan aktivite göstermiştir, bu değerler *Onosma rigidum*'un IC_{50}: 2.63 mg/mL ve 5.23 mg/mL değerlerinden daha yüksektir [38].

Onosma argentatum kök eözütleri (% 0.1 derişimde) n-heksan-diklormetan karışımı (1:1) tarafından önemli %98 antioksidan aktivite (IC_{50}: 0.0076% w/v)

göstermiştir [47]. *Onosma lycaonica* toprak üstü kısımlarının metanol özütü, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil temizleme aktivitesinde (2.69 mg/mL), bakır (II) indirgeme gücünde (1.10 mg/mL), demir (III) indirgeme gücünde (0.69 mg/mL) ve demir (II) iyonu şelatlama aktivitesinde (2.32 mg/mL), *O. papillosa*'dan daha güçlü antioksidan aktivite sergilemiştir. Ancak, *O. papillosa* fosfomolibdenum (1.90 mg/mL) testlerinde *O. lycaonica* (2.05 mg/mL) ile karşılaştırıldığında daha düşük IC_{50} veya EC_{50} değerleri göstermiştir; bu durum, *O. lycaonica*'nın daha yüksek fenolik içeriklere sahip olmasından (43.5 mg gallik asit eşdeğer/g özüt) ve *O. papillosa*'nın flavonoidler bakımından daha yüksek olmasından (32.9 mg (kuarsetin eşdeğer/g özüt) kaynaklandığı rapor edilmiştir [39].

Onosma hookeri'nin toprak üstü kısımlarının etanol özütleri, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (77.77 μg/mL) temizleme aktivitesini bütillenmişhidroksitoluen (72.70 μg/mL) ile aynı seviyede göstermiş, ancak 2,2′-azino-bis-3-etilbenztiazolin-6-sülfonik asit (553.56 μg/mL) temizleme aktivitesi ve toplam antioksidan kapasitesi BHT'den (51.44 μg/mL) biraz daha zayıf bulunmuştur. *O. hookeri*'nin etil asetat fraksiyonu, ABTS temizleyici aktivitesinde IC_{50} değeri 84.83 μg/mL ile daha iyi performans göstermiştir [57].

Onosma sericea'nın toprak üstü kısımlarının metanol özütleri, DPPH temizleme (130.23 mg TE/g özüt), ABTS temizleme (235.53 mg TE/g özüt), FRAP (215.65 mg TE/g özüt), CUPRAC (359.63 mg TE/g özüt), toplam antioksidan kapasitesi (2.46 mmol TE/g özüt), metal şelatlama aktivitesinde (24.65 mg EDTA/g özüt) anlamlı antioksidan aktivite göstermiştir; *O. stenoloba* ise aynı testlerde sırasıyla 53.96, 95.60, 76.48, 142.88 mg TE/g özüt, 1.16 mmol TE/g özüt ve 5.51 mg EDTAE/g özüt değerleri ile daha güçlü aktivite sergilemiştir [22].

Onosma isauricum'un toprak üstü kısımlarının özütü, DPPH (34.75 mg/mL) ve CUPRAC (0.643 mg/mL), demir indirgeme güçleri (0.211 mg/mL), ABTS (188.68 mg TE/g özüt), süperoksit radikali temizleme yeteneği (97.50 mg TE/g özüt) ve toplam antioksidan yeteneğinde (86.02 mg AAE/g özüt) metanol özütü ile üstün performans göstermiştir; bu değerler sırasıyla su ve etil özütleri için; 31.44 mg/mL, 0.471 mg/mL, 0.237 mg/mL, 130.91 mg TE/g, 159.92 mg TE/g, 55.36 mg AAE/g ve 4.69 mg/mL, 0.078 mg/mL, 0.021 mg/mL, 131.94 mg TE/g, 103.23 mg TE/g, 31.17 mg AAE/g özüt için belirlenmiştir [53]. *Onosma mollis*'in antioksidan araştırma sonuçları, fosfomolibdenum, DPPH ve ABTS testlerinde sırasıyla 2.01, 3.33 ve 2.30 mg/mL

radikal temizleme aktiviteleri göstermiştir; indirgeme gücü, CUPRAC ve FRAP testlerinde ise sırasıyla 1.48 ve 0.79 mg/mL değerleri bulunmuştur [58].

2.4.4. Enzim İnhibitör Aktivitesi

Antidiabetik Aktivite: *Onosma* türlerinin in vitro antidiabetik aktivitesi, α-amilaz ve glikozidaz enzimleri üzerindeki inhibitör potansiyellerine dayandırılmıştır.

O. gigantea'nın toprak üstü kısımlarının etil asetat özütünün α-amilaz ve glikozidaz inhibitör aktivitesi sırasıyla; 15.98 ve 1.07 μmol/g değerleri ile metanol ve su özütlerinin sırasıyla 410.50 ve 6.75 μmol/g ve 1320.53 ve 5.16 μmol/g değerlerinden daha yüksek sonuçlar vermiştir [40]. *Onosma aucheriana* ve *O. sericea*'nın metanol özütlerinden elde edilen α-amilaz inhibitör aktivitesi sırasıyla; 2.50 ve 2.51 mg/mL olarak bildirilmiş, bu değer *O. frutescens* için 3.15 mg/mL'den daha yüksektir [44].

Onosma ambigens'in toprak üstü kısımlarının etil asetat özütü, α-amilaz inhibitör aktivitesinde (IC_{50}: 2.64 mg/mL) metanol ve su özütlerinin sırasıyla 2.98 ve 16.34 mg/mL değerlerinden daha güçlü bulunmuştur [1]. *Onosma lycaonica* ve *O. papillosa*'nın toprak üstü kısımlarının metanol özütler, α-amilaz inhibitör konsantrasyonu (IC_{50}: 2.57 ve 2.40 mg/mL) ve glikozidaz inhibisyonunda (IC_{50}: 2.60 ve 2.61 mg/mL) anlamlı sonuçlar göstermiştir [39]. *Onosma pulchra*'nın toprak üstü kısımlarının etil asetat ekstraktı, α-amilaz inhibitör aktivitesinde (2.40 mg/mL) metanol ve su özütlerinin sırasıyla 5.47 ve 19.23 mg/mL değerlerinden daha yüksek bulunmuştur [41].

Onosma rigidum'un toprak üstü kısımlarının özütü, α-glikozidaz ve α-amilaz enzim inhibitör aktivitelerinde *O. trapezuntea* özütlerinden daha yüksek sonuçlar vermiştir [38]. *Onosma stenoloba*'nın metanol toprak üstü özütleri, α-amilaz ve α-glikozidaz inhibitör aktivitelerinde sırasıyla 0.89 ve 43.47 mmol/g değerleri ile *O. sericea*'nın 1.26 ve 33.38 mmol/g değerlerinden daha yüksek sonuçlar göstermiştir [51]. *Onosma dichroanthum*'un toprak üstü kısımlarının hidroalkolik özütü, bir sıçan deneyinde beyin ve karaciğer dokularındaki MDA ve Glutatyon seviyelerinin aşağı regülasyonu ile antidiabetik ve antinöropatik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir [59]. *Onosma hispidum*'un duvar köklerinin petrol eter, kloroform ve metanol özütleri, sırasıyla %70, %58 ve %50 olarak rapor edilen önemli antikanser etkiler göstermiştir. Petrol eter özütlerinin üstünlüğü, daha yüksek polifenolik içeriklere sahip olmasına

bağlanmıştır [60].

Alzheimer Hastalığı: *Onosma* türlerinin Alzheimer hastalığına karşı koruyucu etkisi, asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzimleri üzerindeki inhibitör aktivitelerine dayanarak rapor edilmiştir.

Onosma gigantea'nın toprak üstü kısımlarının etil asetat ekstraktı, AChE ve BChE inhibitör aktivitelerinde sırasıyla 2.76 ve 6.87 µmol/g değerleri ile metanol özütlerinin sırasıyla 31.57 ve 1.82 µmol/g değerlerinden daha yüksek sonuçlar göstermiştir [40]. *Onosma hispida*'nın bütün bitki parçalarından metanol ekstraksiyonları ile izole edilen hispidon ve (2S)-5,2-dihidroksi-7,5-dimetoksiflavanon, AChE (sırasıyla; 11.6 ve 15.7 mg/mL) ve BChE (sırasıyla; 28.0 ve 7.9 mg/mL) enzimlerine karşı anlamlı inhibitör aktivite göstermiştir [24].

Onosma lycaonica ve *O. papillosa*'nın toprak üstü kısımlarının özütleri, AChE inhibisyon aktivitesinde (IC_{50}: 1.32 mg/mL) ve BChE inhibitör aktivitesinde (2.31ve 2.07 mg GALAEs/g özüt) önemli sonuçlar göstermiştir [39]. *Onosma rigidum*'un toprak üstü kısımlarının metanol özütü, AChE ve BChE inhibitör aktivitelerinde *O. trapezuntea* özütününden daha yüksek sonuçlar vermiştir [38]. *Onosma sericea*'nın toprak üstü kısımlarının özütleri, AChE (3.74 mg/g) ve BChE (0.51 mg/g) üzerinde *O. stenoloba*'nın sırasıyla; 4.34 ve 3.44 mg/g değerlerinden daha yüksek inhibitör aktivite göstermiştir [51].

Anti-Tirozinaz Aktivitesi: Tirozinaz enzimleri, melanin biyosentezinde rol oynamasıyla tanınır ve aşırı sekresyon, melanin pigmentlerinin birikimiyle birlikte hiperpigmentasyon bozukluklarına ve foto-karsinojeneze yol açabilir [61].

Onosma gigantea'nın toprak üstü kısımlarının etil asetat fraksiyonu, tirozinaz inhibitör aktivitesinde (0.15 µmol/g) metanol ve su özütlerinin sırasıyla 0.49 ve 10.48 µmol/g değerlerinden daha yüksek bulunmuştur [40]. *Onosma aucheriana*'nın metanol özütlerinin tirozinaz inhibitör aktivitesi, *O. sericea* ve *O. frutescens*'in sırasıyla; 2.23 ve 2.40 mg/mL değerlerinden daha yüksek olan 2.19 mg/mL olarak bildirilmiştir [44]. *O. ambigens*'in toprak üstü kısımlarının metanol fraksiyonu, tirozinaz inhibitör aktivitesinde (2.81 mg/mL) su ve etil asetat özütlerinin sırasıyla; 3.79 ve 4.45 mg/mL değerlerinden daha yüksek bulunmuştur [1]. *O. lycaonica* ve *O. papillosa*'nın toprak üstü kısımlarının metanol özütleri, sırasıyla; 2.20 ve 2.05 mg/mL IC_{50} değerleri ile tirozinaz inhibitörleri olarak rapor edilmiştir [39]. *O. pulchra*'nın toprak üstü

kısımlarının metanol özütleri, tirozinaz inhibitör aktivitesinde (2.47 mg/mL) etil asetat ve su özütlerinin sırasıyla; 3.77 ve 4.35 mg/mL değerlerinden daha yüksek bulunmuştur [41].

Onosma rigidum ve *O. trapezuntea*'nın toprak üstü kısımlarının özütleri, karşılaştırılabilir tirozinaz inhibitör potansiyelleri göstermiştir [38]. Daha önce yapılmış bir çalışma, *O. sericea* ve *O. stenoloba*'nın toprak üstü kısımlarının metanol özütler için sırasıyla 136.35 ve 135.68 mg/g olarak ölçülen orta dereceli bir tirozinaz inhibitör aktivitesini de rapor etmiştir [51]. *O. isauricum*'un etil asetat özütleri, tirozinaz inhibitör aktivitesinde (19.96 mg/g kojik asit eşdeğerleri) metanol ve su özütlerin sırasıyla; 15.33 ve 14.83 mg/g değerlerinden daha yüksek bulunmuştur [53].

Anti-Lipooksijenaz Aktivitesi: Lipooksijenaz enzimleri, poli doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu katalize ederek hidroperoksitler üretir. Bu tür reaksiyonlar bazı durumlarda faydalı olabilir, ancak lipooksijenazlar istenmeyen etkileşimlere de neden olabilir. Aromatik bileşenler, lipooksijenaz reaksiyonlarının önemli ürünleri olup, özellikle uzun süreli depolama sırasında gıda özelliklerini etkileyebilir. Lipooksijenazın doymamış yağ asitleri üzerindeki etkisi, kötü tat/koku oluşumuna yol açarak gıda bozulmasına neden olabilir. Ayrıca, lipooksijenaz, birçok biyoregulasyon bileşiğinin (hidroksieikosatetraenoik asitler (HETEs), lökotrienler, lipoksinler ve hepoxilinler) biyosentezinde önemli bir rol oynayarak, kanser, inme, kalp ve beyin hastalıkları gibi büyük hastalıklarla ilişkilendirilen inflamatuar reaksiyonların teşvik edilmesinde önemli bir enzim olarak kabul edilmektedir [62]. Bu enzimi hedefleyen doğal ürünlerin araştırılması, bu tür hastalıkları önlemek için sürekli bir bilimsel görev haline gelmiştir. *O. hispida*'nın etanol özütlernın n-hekzan çözünür fraksiyonundan izole edilen onosmin A (2-[(4-metilbenzil)amino]benzoik asit) ve B (metil 2-[(4-metilbenzil)amino]benzoat) bileşenleri, önemli lipooksijenaz inhibitör aktivitesi göstermiştir (IC_{50}: 24.0 ve 36.2 μM) [63].

2.4.5. Sitotoksisite Aktivitesi

Son 20-30 yıldır *Onosma* türlerinin sitotoksik ajanlar olarak geleneksel kullanımını doğrulayan birçok çalışma yapılmıştır ve bu türlerin ekstraktları ile izole edilmiş bileşenlerinin memeli kanser hücrelerinin bölünmesini inhibe ettiği bildirilmiştir [31, 64, 65]. *Onosma mutabilis*'in topraüstü kısımlarının metanol özütü, prostat (DU-145), meme (MCF-7) ve servikal kanser (Hep2c) hücrelerine karşı

sırasıyla 35.67, 28.79 ve 41.83 µg/mL IC_{50} değerleri ile önemli antikanser aktivite göstermiştir [64]. *Onosma aucheriana*'nın ham özütleri, insan rabdomyosarkom, insan serviks karsinomu Hep2c ve fare fibroblast (L2OB) hücre hatlarına karşı 25.54 ile 50.57 µg/mL değişen aralıkta IC_{50} değerleri anlamlı sitotoksisite aktivitesi göstermiştir [31].

Onosma paniculata'nın köklerinden izole edilen asetilşikonin, dimetilakrilşikonin, α-metilbütiilşikonin ve izovaleryleşikonin bileşenleri, insan CCRF-CEM lösemi, MDA-MB-231 meme kanseri, insan U251 glioblastoma, HCT 116 kolon kanseri ve insan melanoma (SBcl2, WM35, WM9, WM164) hücre hatlarına karşı 600 nM ile 70 µM arasında değişen aralıkta IC_{50} değerleri ile etkileyici antikanser aktivite göstermiştir [65]. *Onosma visanii*'nin köklerinden izole edilen naftoşinonlar α-metilbütiilşikonin ve asetilşikonin bileşenleri, MDAMB-231 hücrelerine karşı sırasıyla 86.0 µg/mL ve 80.2 µg/mL IC_{50} değerleri ile, Deoksişikonin, β-Hidroksiizovaleryleşikonin, İzobütürylşikonin, 5,8-O-Dimetil deoksişikonin ve 5,8-O-Dimetil izobütürylşikonin'in sırasıyla; 118.9, 204.6, 424.7, 391.6 ve 411.5 µg/mL değerlerinden daha güçlü sitotoksik aktivite göstermiştir. Ayrıca, 5,8-O-Dimetil deoksişikonin ve 5,8-O-Dimetil izobütürylşikonin dışındaki tüm bileşenler, 48 saatlik inkübasyondan sonra MDA-MB-231 hücrelerinin canlılığını azaltmıştır. Ayrıca, α-metilbütiilşikonin, HCT116 hücrelerine karşı daha yüksek antikanser aktivitesi (IC_{50}: 15.2 µg/mL) göstermiştir; bu değer Deoksişikonin, Asetilşikonin ve β-Hidroksiizovaleryleşikonin'in sırasıyla 97.8 µg/mL, 24.6 µg/mL ve 30.9 µg/mL değerlerinden daha yüksektir [50].

Onosma bracteatum'un farklı kanser hücre hatlarına karşı etkisi incelenmiş ve çeşitli konsantrasyonların (0.055, 0.11, 0.22, 0.44, 0.88, 1.7 ve 3.52 µg/mL) *O. bracteatum*'un hücre canlılığını zaman ve doz bağımlı bir şekilde azalttığı gösterilmiştir [66]. *Onosma dichroanthum* Boiss. köklerinin hidroklorik özütleri, mide kanseri hücrelerine karşı önemli antikanser etkiler göstermiştir [67]. Ayrıca, *O. paniculata*, birçok kanser hattına karşı dikkate değer sitotoksisite aktivitesi göstermiş ve bu etkisini apoptozu hızlandırma yeteneği ile ilişkilendirmiştir [65]. *Onosma sericeum*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen 50 µg/mL etanol özütü, meme kanseri hücrelerine (MCF-7) karşı önemli sitotoksisite aktivitesi göstermiş ve hücre canlılığını %28.76 oranında önemli ölçüde azaltmıştır [27]. *Onosma hispidum* köklerinin petrol eter ve su ekstraktları, HepG2 karaciğer kanseri hücre hatlarına karşı

önemli antikanser etkiler göstermiştir [60].

2.5. Özütleme ve Özütleme Teknikleri

Özütleme, standart prosedürler aracılığıyla seçici çözücüler kullanılarak bitkinin tıbbi olarak aktif kısımlarının ayrılmasıdır [68]. Tüm özütlemenin amacı, çözülebilir bitki metabolitlerini geride çözünmeyen hücresel marc (kalıntı) bırakarak ayırmaktır. Bu yöntemler kullanılarak elde edilen ham özütler; alkaloitler, glikozitler, fenolikler, terpenoidler ve flavonoidler gibi birçok bitki metabolitinin karmaşık bir karışımını içerir. Başlangıçta elde edilen özütlerin bazıları, tentürler ve sıvı özütler şeklinde tıbbi ajanlar olarak kullanıma hazır olabilirler, ancak bazılarının daha fazla işlemden geçmesi gerekmektedir [68].

Uygulanan özütleme tekniği, elde edilen özütlerin kalitesini, en başta bunların kompozisyonunu ve istenen bileşenlerin konsantrasyonunu tamamen etkilemektedir. Özütleme tekniğinin seçimi ve işlem sırasındaki parametreler, değerli biyoaktif bileşenlerin başarılı izolasyonunda çok önemli bir role sahiptir [69]. Uygun bir teknik seçme sürecinde, çevresel kaygı, hedef bileşiklerin geri kazanımının maksimize edilmesi ve faydalı moleküllerin minimum bozunması gibi hususlar yerine getirilmesi gereken kriterlerden bazılarıdır [70].

Ultrason destekli özütleme tekniği, geleneksel olanlara göre daha kısa sürede daha yüksek tekrarlanabilirlik sunan modern özütleme tekniklerinden biridir. Bu teknik, yüksek sıcaklıklar gerektirmez ve genellikle daha düşük miktarda çözücüye ihtiyaç duymaktadır [71]. Kavitasyon fenomeni, ultrasonun bir ortamda yayılmasının neden olduğu ultrason özütleme sürecine hakimdir. Hücre duvarının yakınında bir kavitasyon kabarcığı çöktüğünde, çözücüyü hücre duvarına yönlendiren bir ultrasonik mikro jet oluşur. Bu ultrason etkisi nedeniyle, çözücü bitki hücresine nüfuz ederek bileşenleri çözer ve matrisin dışına taşır [72]. Son 10 yılda bunun gibi çoğu modern teknikler, polifenolik bileşiklerin izolasyonu için başarıyla uygulanmış ve bitkilerden ikincil metabolitlerin elde edilmesi için geleneksel katı-sıvı özütleme yöntemine potansiyel alternatifler olarak kabul edilmiştir [73].

Çok sayıda modern teknik geliştirilmiş olmasına rağmen, geleneksel maserasyon işlemi hala en çok kullanılan tekniklerden birini temsil etmektedir. Maserasyon prosedürü basittir; pahalı ve karmaşık ekipmanlar gerektirmez, ancak genellikle 1-3 gün boyunca gerçekleştirildiği için oldukça zaman alıcı bir tekniktir [68,

73].

Soxhlet özütlemesi, hedeflenen bileşiklerin seçici özütlemesi için kaynama sıcaklığında ve düşük basınçlarda (ortam basıncı) çözücüler kullanan bir tür atmosferik sıvı özütlemesidir. Soxhlet özütlemesi, bitkilerden biyoaktif bileşenlerin en yüksek geri kazanımını sağlayan geleneksel bir tekniktir. Bu nedenle, diğer yöntemlerin performansını değerlendirmek için yaygın olarak kullanılır [74, 75].

Farklı özütleme teknikleri kullanılarak farklı matrislerden (tıbbi/aromatik bitkiler, bitki atıkları, tarım endüstrisinden gelen yan ürünler, vb.) polifenollerin özütlemesiyle ilgili çok sayıda makale bulunmaktadır [73, 76-78].

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Bitkinin Toplanması ve Teşhis Edilmesi

Endemik *Onosma briquetii* Czecz. türünün toprak üstü kısımları 8 Haziran 2021 tarihinde çiçeklenme döneminde Niğde'nin güney kısımları, açık alanlardan 1265 m rakımdan toplandı (37° 56’ 10.55”N 34° 41’ 23.94”E). Bitkinin botanik tanımlası Mersin Üniversitesi Fen Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Rıza BİNZET tarafından yapıldı ve aynı fakültenin herbaryumunda saklandı (Herbaryum no: Binzet 202108). Bitkinin doğadaki görünümü Şekil 3.1’de görülmektedir. Bitkiye ait fotoğraflar Prof. Dr. Rıza BİNZET’ten temin edilmiştir.



Şekil 3.1. *Onosma briquetii* bitkisinin doğadaki genel görünümü

3.2. Özütlerin Hazırlanması

Bitkinin toprak üstü kısımları, doğrudan güneş ışığının olmadığı ve iyi hava akışının sağlandığı bir yerde birkaç hafta kurutuldu. Daha sonra bir laboratuvar tipi bir blendır kullanılarak küçük parçalara kesildi ve ardından özütleme aşamasına kadar saklandı.

Özütleme işleminde çözücü olarak metil alkol (metanol) kullanıldı. Özütleme işlemi, geleneksel yöntemlerden Soxhlet ve maserasyon teknikleri yanında aynı zamanda modern tekniklerden Ultrasonik destekli özütleme tekniği kullanılarak gerçekleştirildi.

Her üç teknikte de 5 gram bitki materyali kullanıldı. Soxhlet özütlemesi, soxhlet aparatıyla gerçekleştirildi. Maserasyon işlemi, bitki örneğinin oda sıcaklığında 24 saat süresince 100 mL metanol içinde 150 rpm hızda karıştırılmasıyla yapıldı. Ultrason destekli özütleme ise, yine 5 gram bitki örneğinin 100 mL metanol ile 30 °C'de ultrasonik banyoda muamele edilmesiyle elde edildi. Her üç özütleme tekniğinden elde edilen metanol özütleri düşük basınçlı vakum altında konsantre edildi. Hazırlanan özütler, analizler yapılıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edildi [41].

3.3. Özütlerin Fenolik Bileşik İçeriklerinin Tespit Edilmesi

3.3.1. Toplam Fenolik Bileşik Analizi

Toplam fenolik bileşik analizi için, örnek çözeltisi (0.25 mL), seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifi (1.0 mL, 1:9) ile karıştırılarak kuvvetlice çalkalandı. 3 dk sonra Na_2CO_3 çözeltisi (0.75 mL,% 1.0) ilave edildi ve örneğin absorbansı, oda sıcaklığında 2 saat inkübasyondan sonra 760 nm'de okutuldu. Toplam fenolik bileşik içeriği gallik asit eşdeğerleri olarak hesaplandı [44].

3.3.2. Toplam Flavonoit Bileşik Analizi

Toplam flavonoit içeriğinin analizi için, örnek çözeltisi (1.0 mL) MeOH içinde aynı hacimde $AlCl_3$ (%2.0) ile karıştırıldı. Benzer şekilde, $AlCl_3$ içermeyen MeOH'a (1.0 mL) örnek çözeltisi (1.0 mL) ilave edilerek kör hazırlandı. Örnek ve körün absorbansı, oda sıcaklığında 10 dk inkübasyondan sonra 415 nm'de okutuldu. Körün absorbansı örneğinkinden çıkartıldı ve toplam flavonoit içerik kuarsetin eşdeğeri cinsinden ifade edilecektir [44].

3.3.3. LC-ESI–MS/MS Analizi

Kromatografik analizler için 6420 Triple Quad Kütle Spektrometresi (MS) entegre edilmiş bir Agilent Technologies 1260 Infinity sıvı kromatografi sistemi kullanıldı [79]. Kromatografik ayırma, Poroshell 120 EC-C18 kolon (100 mm x 4.6 mm I.D., 2.7 µm) kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm izomerlerin tam olarak çözünmesi ve tüm hedef bileşikler için en yüksek hassasiyetin elde edilmesi için daha önce belirlenmiş % 0.1 formik asit/MeOH içeren mobil faz kullanıldı [79]. Mobil faz, çözücü A'dan (%0.1, v/v formik asit çözeltisi) ve çözücü B'den (metanol) meydana gelecek şekilde oluşturuldu. Gradyan profili şu şekilde ayarlandı: 0. dk %2.0 B çözücüsü, 3. dk %2.0 B çözücüsü, 6. dk %25.0 B çözücüsü, 10. dk %50.0 B çözücüsü, 14. dk %95.0 B çözücüsü, 17. dk %95.0 B ve 17.5 dk %2.0 B çözücüsü. Kolon sıcaklığı 25 ° C'de tutuldu. Akış hızı 0.4 ml/dk ve enjeksiyon hacmi 2.0 µL idi. Tandem MS, bir ESI kaynağı aracılığıyla LC sistemine entegre edildi. MS'in elektrosprey kaynağı negatif ve pozitif çoklu reaksiyon izleme (MRM) modunda çalıştırıldı. Entegrasyon koşulları şu şekilde oluşturuldu: kapillar voltaj -3.5 kV, gaz sıcaklığı 300 °C ve gaz akışı 11.0 L/dk. Nebulizatör basıncı 40 psi olarak ayarlandı. Negatif ve pozitif iyon modunda çalışılan tüm bileşikler tek bir enjeksiyon ile analizlenmiştir. MRM negatif ve pozitif iyonizasyon modu ile hedef analitlerin analizi, gerçek bir standart çözeltinin iyon çiftleri ile birlikte alıkonma sürelerinin karşılaştırılmasıyla tanımlandı.

3.4. Antioksidan Aktivite Analizleri

Özütlerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesine yönelik gerçekleştirilen çalışmalarda, toplam antioksidan aktiviteleri fosfomolibdenyum testi kullanılarak analiz edildi [80]. Demir (II) iyonları şelatlama analizi için Tepe ve ark. [81] tarafından belirlenen yöntem uygulanmıştır. Özütlerin indirgeme potansiyelleri, sırasıyla Apak ve ark. [82] ile Kocak ve ark. [83] tarafından önerilen CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) ve FRAP (ferric reducing antioxidant power) testleri ile değerlendirilmiştir. Serbest radikal giderim aktiviteleri ise DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ve ABTS [2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazloine-6-sulphonic acid) radical cation] yöntemleri kullanılarak test edildi [80].

Antioksidan aktivite testlerinden elde edilen sonuçlar, IC_{50} veya EC_{50} değerleri olarak ifade edildi. IC_{50} değeri, radikal süpürme ve demir (II) iyonları şelatlama

testlerinde %50 etkinlik sağlayan özüt derişimini temsil etmektedir. EC_{50} değeri ise, indirgeme gücü (CUPRAC ve FRAP) ve fosfomolibdenyum testlerinde 0.500 absorbans elde eden özüt derişimini ifade etmektedir. Ayrıca, sonuçlar pozitif kontroller olan troloks (TEs) ve etilendiamintetra asetik asit (EDTAEs) eşdeğerleri ile karşılaştırılarak sunuldu.

3.4.1. DPPH Radikal Süpürüm Testi

DPPH radikal giderim aktivitesini tespit edebilmek için, 4.0 mL %0.004 MeOH-DPPH çözeltisine 1.0 mL örnek çözeltisi ilave edildi. Örneğin absorbansı, karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dk inkübasyondan sonra 517 nm'de okutuldu.

3.4.2. ABTS Katyon Radikal Süpürüm Testi

ABTS katyon radikali giderme aktivitesi için öncelikle ABTS radikal katyonu elde edildi. Söz konusu radikal, 7.0 mM ABTS çözeltisinin 2.45 mM potasyum persülfat ile reaksiyona sokulması ve karışımın oda sıcaklığında ve karanlıkta 12-16 saat bekletilmesiyle elde edildi. Teste başlamadan önce, ABTS çözeltisi MeOH ile seyreltilerek 734 nm'de 0.700 ± 0.02'lik bir absorbans sağlandı. ABTS çözeltisine (2.0 mL) örnek çözeltisi (1.0 mL) ilave edilerek karıştırıldı. Örneğin absorbansı, oda sıcaklığında 7 dakikalık inkübasyondan sonra 734 nm'de okutularak tespit edildi.

3.4.3. CUPRAC İndirgeme Gücü Testi

Örneklerin CUPRAC testlerini gerçekleştirebilmek için $CuCl_2$ (1.0 mL, 10.0 mM), neocuproin (1.0 mL, 7.5 mM) ve NH4Ac tamponuna (1.0 mL, 1.0 M, pH 7.0) 0.5 mL örnek çözeltisi eklendi. Benzer şekilde, önceden hazırlanmış reaksiyon karışımına (3.0 mL) $CuCl_2$ içermeyen örnek çözeltisi (0.5 mL) ilave edilerek kör hazırlandı. Daha sonra, örnek ve körün absorbansları, oda sıcaklığında 30 dk inkübasyondan sonra 450 nm'de okutuldu.

3.4.4. FRAP İndirgeme Gücü Testi

FRAP testi için, asetat tamponu (0.3 M, pH 3.6), 2,4,6-tris (2-piridil), 40.0 mM HCI içinde s-triazin (TPTZ) (10.0 mM) ve 10:1:1 (v/v/v) oranında $FeCl_3$ (20.0 mM) içeren önceden hazırlanmış FRAP reaktifine (2.0 mL) örnek çözeltisi (0.1 mL) ilave edildi. Daha sonra, örneğin absorbansı, oda sıcaklığında 30 dk inkübasyondan sonra 593 nm'de okutuldu.

3.4.5. Toplam Antioksidan Aktivite Testi

Örneklerin toplam antioksidan aktivitesi fosfomolibdenyum yöntemi ile test edildi. Örnek çözeltisi (0.2 mL), 2.0 mL reaktif çözeltisi (0.6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat) ile karıştırıldı. Örnek absorbansı, 95 °C'de 90 dk inkübasyondan sonra 695 nm'de okutuldu.

3.4.6. Demir (II) İyonları Şelatlama Testi

Özütlerin metal şelatlama aktivitelerinin tespiti için, $FeCl_2$ çözeltisine (0.05 mL, 2.0 mM) örnek çözeltisi (2.0 mL) ilave edildi. Reaksiyon, 5.0 mM ferrozin (0.2 mL) ilave edilerek başlatıldı. Benzer şekilde, $FeCl_2$ çözeltisine (0.05 mL, 2.0 mM) ve ferrozin içermeyen distile suya (0.2 mL) örnek çözeltisi (2.0 mL) ilave edilerek kör hazırlandı ve daha sonra, örnek ve körün absorbansları, oda sıcaklığında 10 dk inkübasyondan sonra 562 nm'de okutuldu.

3.5. Enzim İnhibisyon Aktivite Analizleri

Enzim inhibisyon testleri kapsamında, asetilkolinesteraz (AChE), α-amilaz, tirozinaz enzimleri üzerine özütlerin inhibisyon aktivite testleri de literatürde verilen yöntemler izlenerek gerçekleştirildi [84].

Enzim inhibisyon aktivite testlerinden elde edilen sonuçlar, IC_{50} cinsinden ifade edildi. IC_{50} ifadesi, enzim inhibisyon testlerinde %50 etkinlik sağlayan örnek derişimini temsil etmektedir. Ayrıca sonuçlar pozitif kontroller olan galantamin (GALAEs), kojik asit (KAEs) veya akarboz ACAEs) eşdeğeri cinsinden de ifade edildi.

3.5.1. Kolinesteraz İnhibisyon Aktivite Testi

Kolinesteraz inhibitör aktivite, Ellman metodu kullanılarak tespit edildi. Örnek çözeltisi (50.0 µL), 96 kuyucuklu bir mikroplak içinde, tris-HCl tamponu (pH 8.0) içinde DTNB (125.0 µL) ve AChE çözeltileri (25.0 µL) ile karıştırılacak ve 25 °C'de 15 dk inkübe edildi. Reaksiyon daha sonra asetiltiyokolin iyodür (ATCI) (25.0 µL) ilavesiyle başlatıldı. Benzer şekilde, enzim çözeltileri (AChE) olmadan tüm reaksiyon reaktiflerine numune çözeltisi ilave edilerek kör hazırlandı. Numune ve körün absorbansları, 25 °C'de 10 dk inkübasyondan sonra 405 nm'de okutuldu. Körün absorbansı örneğinkinden çıkartıldı.

3.5.2. Tirozinaz İnhibisyon Aktivite Testi

Tirozinaz inhibitör aktivite, substrat olarak L-DOPA ile modifiye edilmiş bir dopakrom yöntemi kullanılarak ölçüldü. Örnek çözeltisi (25.0 µL), 96 kuyucuklu bir mikroplak içinde tirozinaz çözeltisi (40.0 µL) ve fosfat tamponu (100.0 µL, pH 6.8) ile karıştırılacak ve 25 °C'de 15 dk inkübe edildi. Reaksiyon daha sonra L-DOPA (40.0 µL) ilave edilerek başlatıldı. Benzer şekilde, tüm reaksiyon reaktiflerine enzim (tirozinaz) çözeltisi içermeyen örnek çözeltisi ilave edilerek kör hazırlandı. Örnek ve körün absorbansları, 25 °C'de 10 dk inkübasyondan sonra 492 nm'de okutuldu.

3.5.3. α-Amilaz İnhibisyon Aktivite Testi

α-Amilaz inhibitör aktivite, Caraway-Somogyi iyot/potasyum iyodür (I/KI) yöntemi kullanılarak çalışıldı. Örnek çözeltisi (25.0 µL), 96 kuyucuklu mikroplakta fosfat tamponu (6.0 mM sodyum klorür ile pH 6.9) içerisinde α-amilaz çözeltisi (50.0 µL) ile karıştırıldı ve 10 dk boyunca 37 °C'de inkübe edildi. Ön inkübasyondan sonra reaksiyon, nişasta çözeltisi (50.0 µL, % 0.05) ilave edilerek başlatıldı. Benzer şekilde, tüm reaksiyon reaktiflerine enzim (α-amilaz) çözeltisi içermeyen örnek çözeltisi ilave edilerek kör hazırlandı. Reaksiyon karışımı 10 dk 37 °C'de inkübe edildi. Reaksiyon daha sonra HCl (25.0 µL, 1.0 M) ilavesiyle durduruldu. Daha sonra, iyot-potasyum iyodür çözeltisi (100.0 µL) ilave edildir. Örnek ve körün absorbansları, 630 nm'de okutularak körün absorbansı örneğinkinden çıkartıldı.

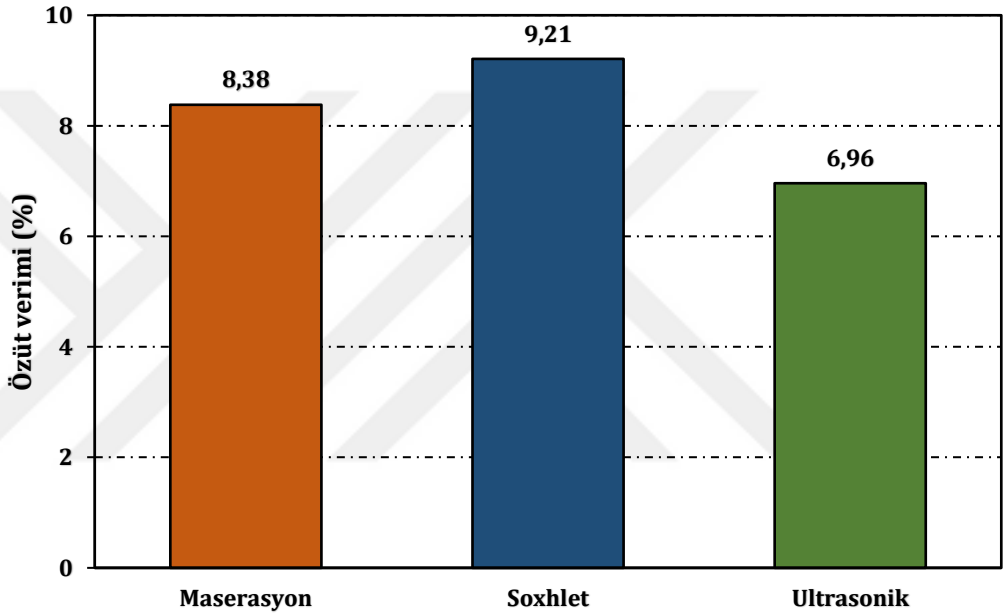
3.6. İstatistiksel Analizler

Sonuçların bilimsel tutarlılığını artırmak için tüm testler üç kez tekrarlanacaktır. Sonuçlar ortalama değer ve standart sapma (ortalama ± SD) olarak hesaplandı. Veriler arasındaki istatistiksel benzerlikleri/farklılıkları saptamak için ANOVA (tek yönlü varyans analizi), Tukey's honestly significant difference post hoc test ($\alpha = 0.05$) (SPSS v. 22.0) analizleri uygulandı. Antioksidan aktivite testlerinin her birinden elde edilen veriler bilimsel açıdan farklı değerler ihtiva ettiğinden, bunları doğrudan birbirleri ile kıyaslamak mümkün değildir. Bu nedenle, sonuçları karşılaştırılabilir bir forma dönüştürmek için bağıl antioksidan kapasite indeks (RACI) analizi gerçekleştirildi. Fitokimyasalların antioksidan aktiviteye katkısı dikkate alındığından, özütlerin fenolik ve flavonoit içerikleri de hesaplamaya dâhil edildi [85, 86].

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Özütleme Verimleri

Farklı özütleme teknikleri (Maserasyon, Soxhet ve Ultrasonik-destekli) kullaılarak çözü olarak metanol tercihedilere *Onosma briquetii* bitkisinin toprak üstü kısımlarından üç metanol özütü hazırlanmıştır. Özüt verimleri Şekil 4.1'de verildi. Maserasyon, Soxhet ve Ultrasonik-destekli özütleme ile elde edilen metanol özüt verimleri sırasıyla; %8.38, %9.21 ve %6.96 olarak tespit edilmiştir.



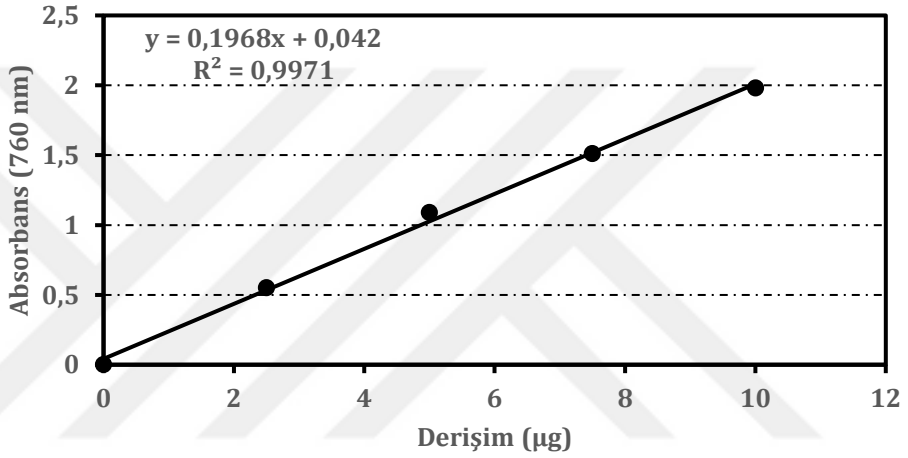
Şekil 4.1. Bitki metanol özütlemesi verimleri

4.2. Özütlerin Toplam Fenolik ve Flavonoit İçerik Analizleri

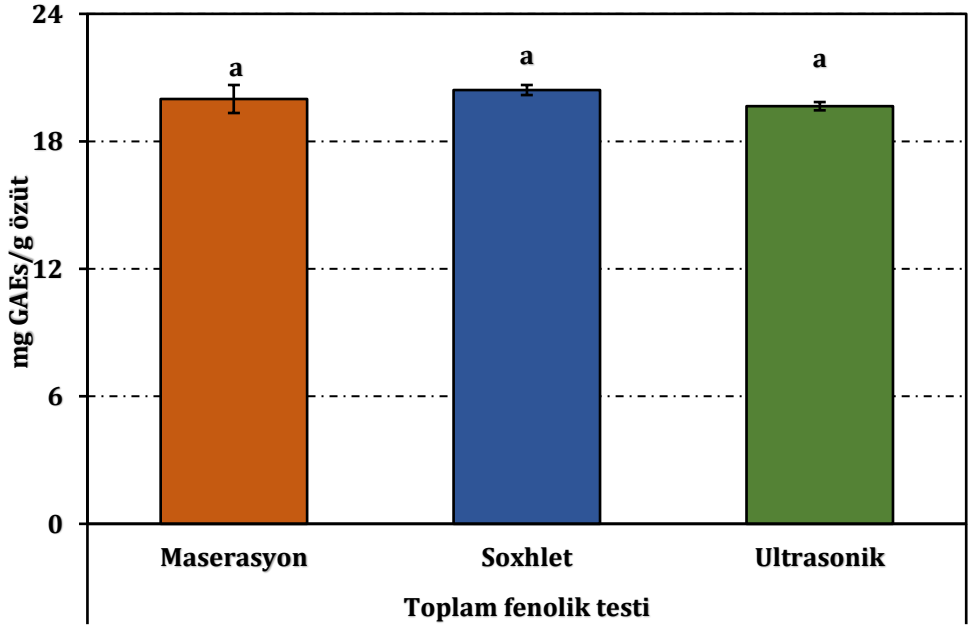
Farklı özütleme teknikleriyle elde edilen metanol özütlerinin toplam fenolik bileşik miktarları FCR reaktifiyle belirlendmiştir. Sonuçlar Şekil 4.2'de verilen gallik asit derişim-absorbans grafinden elde edilen deklem yardımıyla gallik asit eşdeğer (mg GAEs/g özüt) olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.3'te verilmiştir. Her üç teknikle elde edilen metanol özütlerinin toplam fenolik bileşik miktarının yaklaşık olarak 20 mg GAEs/g özüt olduğu ve sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Literatürde, *O. briquetii* bitkisinin toplam fenolik bileşik miktarı ile ilgili

herhangi bir veri bulunmamaktadır. Ancak literatürde, diğer *Onosma* türlerinin metanol özütlerinin toplam fenolik bileşik miktarları üzerine yapılan bazı çalışmalarda fenolik bileşik miktarının bu çalışmada elde edilen sonuçlardan (yaklaşık 20 mg GAEs/g özüt) daha yüksek [1, 38, 41, 43-45, 87-90]; bazılarında ise daha düşük [38, 42, 91]olduğu rapor edilmiştir. Bunun yanı sıra, toplam fenolik içerik miktarları 20 mg GAEs/g özüt miktarından daha yüksek olan özütler, fenolik bileşikler açısından zengin olarak sınıflandırılmaktadır [92, 93]. Bu başlamda bu çalışmada elde edilen sonuçların sınırda olduğu söylenebilir.

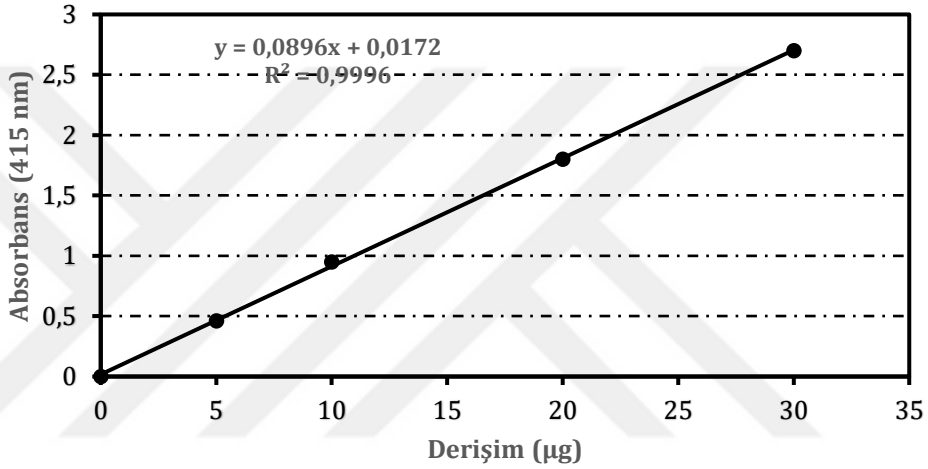


Şekil 4.2. Gallik asit derişim-absorbans grafiği

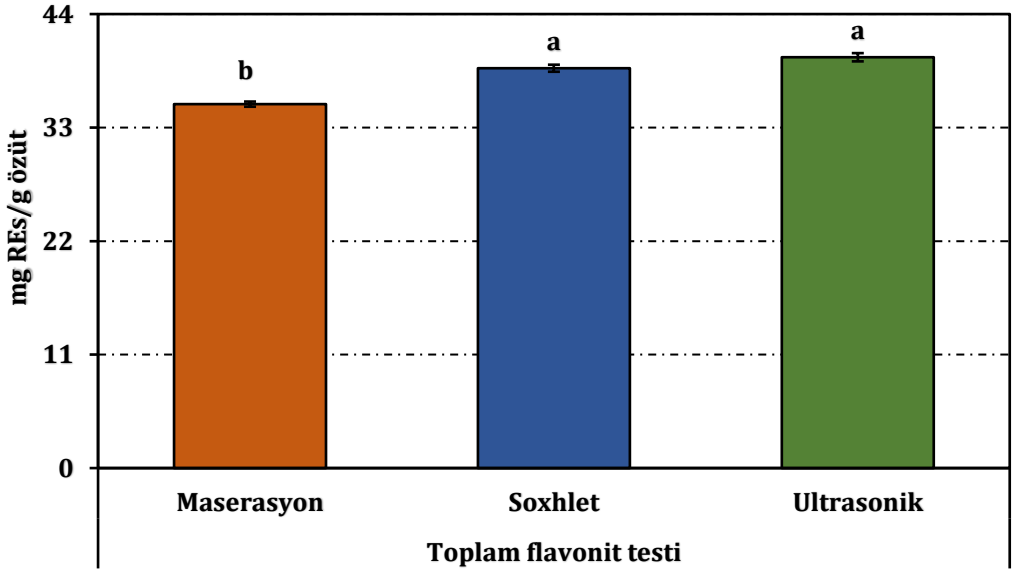


Şekil 4.3. Özütlerin toplam fenolik içerikleri

Metanol özütlerinin toplam flavonoit bileşik analizleri alüminyum klorür metoduyla gerçekleştirilerek Şekil 4.4'teki rutin derişim-absorbans grafiğinden elde edilen denklem yardımıyla sonuçlar rutin eşdeğer (mg REs/g özüt) olarak hesaplanmış ve sonuçlar Şekil 4.5'te verilmiştir. Maserasyon, Soxhet ve Ultrasonik-destekli özütleme ile elde edilen metanol özütlerinin toplam flavonoit bileşik miktarları sırasıyla; 35.27, 38.75 ve 39.82 mg REs/g özüt olarak bulunmuştur. Buradaki değerler, literatürdeki diğer bazı *Onosma* türlerininkinden daha yüksek [41, 42, 89]; bazılarınınkinden ise daha düşük [1, 38, 45, 88, 91] olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. Rutin derişim-absorbans grafiği



Şekil 4.5. Özütlerin toplam flavonoit içerikleri

4.3. Özütlerin LC-MS/MS ile Fitokimyasal Analizleri

Metanol özütlerindeki polifenoliklerin kantitatif analizleri LC-MS/MS ile gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda, farklı özütleme teknikleriyle elde edilen metanol özütlerinde 30 farklı fitokimyasalın varlığı araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1'de de açıkça görüleceği üzere, araştırılan bu 30 fitokimyasaldan 22 tanesinin varlığı tespit edilirken 8 tanesine özütlerde rastlanmamıştır.

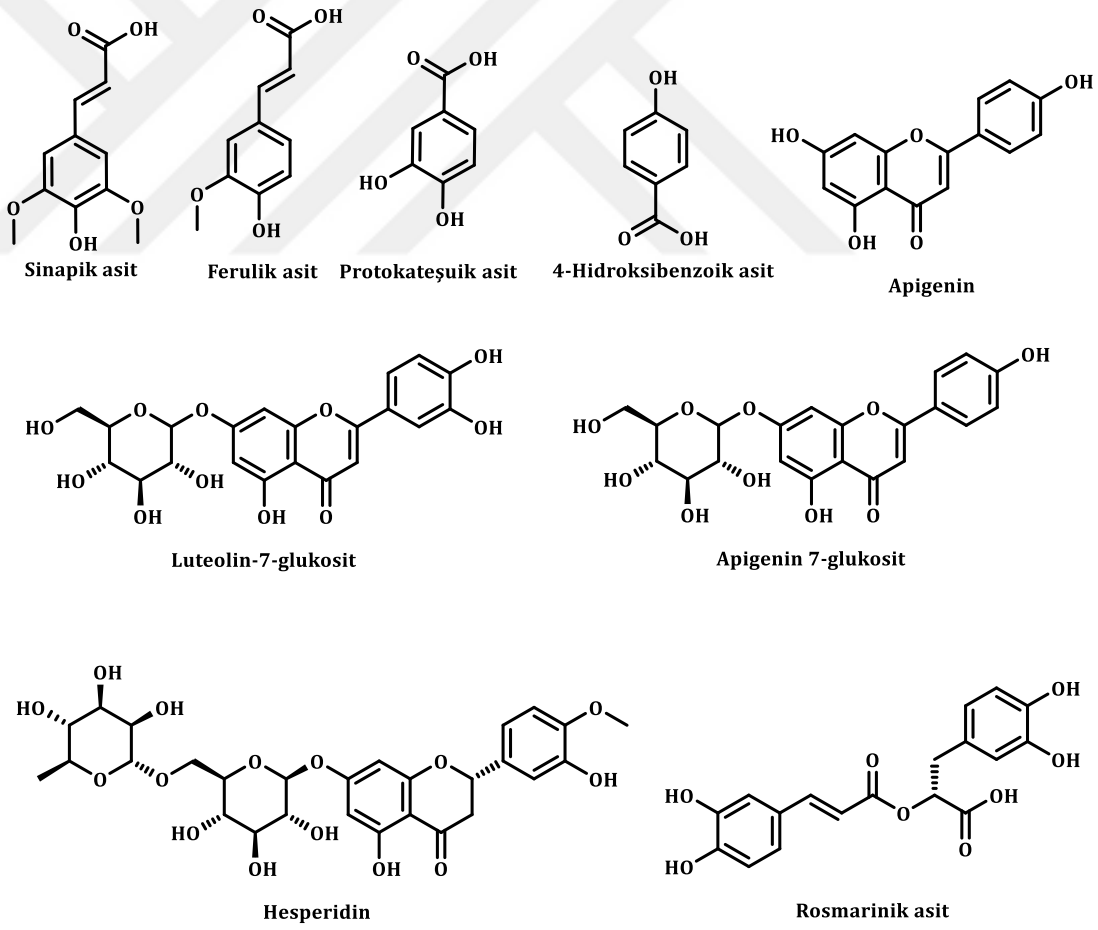
Tablo 4.1. Özütlerde tespit edilen fitokimyasalların derişimleri

No	Bileşikler	Derişim (µg/g özüt)		
		Maserasyon	Soxhlet	Ultrasonik
1	4-Hidroksibenzoik asit	634 ± 11^{a}	652 ± 8^{a}	707 ± 4^{b}
2	Rosmarinik asit	491 ± 2^{a}	509 ± 17^{a}	498 ± 5^{a}
3	Ferulik asit	374 ± 2^{a}	371 ± 16^{a}	396 ± 3^{a}
4	Protokateşuik asit	148 ± 1^{a}	154 ± 2^{b}	153 ± 1^{b}
5	Luteolin 7-glukosit	124 ± 5^{b}	$114\pm9a^{b}$	91 ± 5^{a}
6	Apigenin 7-glukosit	224 ± 2^{c}	130 ± 1^{a}	170 ± 3^{b}
7	Sinapik asit	109 ± 2^{a}	121 ± 3^{b}	124 ± 1^{b}
8	Hesperidin	105 ± 1^{b}	107 ± 1^{b}	97.1 ± 2.1^{a}
9	Apigenin	117 ± 1^{c}	97.2 ± 2.7^{a}	107 ± 2^{b}
10	p-Kumarik asit	92.7 ± 2.4^{a}	94.7 ± 1.0^{a}	95.2 ± 3.5^{a}
11	Kafeik asit	80.7 ± 0.9^{b}	70.6 ± 1.0^{a}	74.2 ± 0.8^{a}
12	Vanilin	47.7 ± 0.3^{a}	47.6 ± 0.8^{a}	50.9 ± 0.8^{b}
13	Pinoresinol	32.5 ± 0.4^{a}	37.6 ± 3.5^{a}	40.6 ± 6.7^{a}
14	Klorojenik asit	27.9 ± 0.2^{b}	27.6 ± 0.1^{b}	22.1 ± 0.6^{a}
15	Gallik asit	24.3 ± 0.9^{b}	19.4 ± 0.7^{a}	16.6 ± 0.4^{a}
16	Siringik asit	16.0 ± 1.0^{a}	20.4 ± 0.1^{b}	18.1 ± 0.3^{ab}
17	Kuersetin	10.2 ± 0.2^{a}	12.3 ± 0.2^{b}	12.1 ± 0.1^{b}
18	Luteolin	9.44 ± 0.85^{a}	9.01 ± 0.30^{a}	8.52 ± 0.73^{a}
19	Hiperosit	10.2 ± 0.1^{b}	9.58 ± 0.35^{ab}	9.14 ± 0.09^{a}
20	2,5-Dihidroksibenzoik asit	7.83 ± 0.21^{a}	7.82 ± 0.82^{a}	8.33 ± 0.13^{a}
21	Kamferol	8.57 ± 0.55^{a}	6.15 ± 0.38^{a}	12.0 ± 1.1^{b}
22	3,4-Dihidroksifenilasetik asit	0.76 ± 0.03^{a}	2.66 ± 0.08^{b}	3.15 ± 0.01^{c}
23	Pirokatekol	nd	nd	nd
24	(+)-Kateşin	nd	nd	nd
25	3-Hidroksibenzoik asit	nd	nd	nd
26	(−)-Epikateşin	nd	nd	nd
27	Verbaskosit	nd	nd	nd
28	Taksifolin	nd	nd	nd
29	2-Hidrosinnamik asit	nd	nd	nd

30	Eriyodiktiyol	nd	nd	nd

Aynı satırda aynı üst simgelerle işaretlenen değerler arasında istatistiksel fark yoktur. nd: tespit edilemedi.

Özütleme tekniğine göre değişkenlik arz etmekle birlikte özütlerin genel manada değişik miktarlarda olmak üzere açık yapıları Şekil 4.6'da görüldüğü üzere 4-hidroksibenzoik asit (634-707 µg/g özüt), rosmarinik asit (491-509 µg/g özüt), ferulik asit (371-396 µg/g özüt), protokateşuik asit (148-154 µg/g özüt), luteolin 7-glukosit (91-124 µg/g özüt), apigenin 7-glukosit (130-224 µg/g özüt), sinapik asit (109-124 µg/g özüt), hesperidin (97-107 µg/g özüt) ve apigenin (97-117 µg/g özüt) bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.6. Özütlerde bulunan ana fitokimyasalların açık yapıları

Yapılan litertür araştırmalarında, *O. briquetii*'nin fitokimyasal içeriği üzereine herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Ancak özellikle mevcut çalışmada yüksek miktarlarda bulunduğu tespit edilen 4-hidroksibenzoik asit ve rosmarinik asit fitokimyasallarının literatürde birçok *Onosma* türünde önemli miktarlarda bulunduğu rapor edilmiştir [1, 37, 39-44, 91, 94]. Ayrıca yine literatürde, *Onosma sieheana*, *O. stenoloba* [42], *O. pulchra* [41], *O. aucheriana*, *O. frutescens*, *O. sericea* [44], *O. tauricum* var. *tauricum* [37], *O. gigantea* [40], *O. heterophyllum* [95], *O. microcarpum*, *O. nana* [87], *O. cappadocica*, *O. rutilum* [88], *O. inexspectata*, *Onosma armenum* [45], *Onosma gracilis*, *O. oreodoxa* [89], *O. trapezuntea*, *O. rigidum* [38] gibi bazı *Onosma* türlerinin de hesperidin, rosmarinik asit,p-kumarik asit, klorojenik asit ve pinoresinol bakımından da zengin oldukları bildirilmiştir. Dolayısıyla, bu çalışmada elde edilen fitokimyasal içerik verileriyle literatürdeki verilerin birbirlerine benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle bu çalışmadan elde edilen verilerin literatürdeki verilerle uyumlu olduğu sonucuna varılmıştır.

4.4. Özütlerin Antioksidan Aktivite Analizleri

Metanol özütlerinin antioksidan kapasiteleri, literatürde sıklıkla kullanılan fosfomolibdenyum, DPPH ve ABTS katyon radikal süpürüm, CUPRAC ve FRAP indirgeme gücü ile demir (II) iyonları şelatlama gibi farklı test sistemleri kullanılarak belirlenmiştir. Özütlerin radikal süpürüm ve demir (II) iyonları şelatlama testlerine ait IC_{50} ile fosfomolibdenyum ve indirgeme gücü testleri için EC_{50} derişimlerini gösteren sonuçlar Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Özütlerin ve standartların antioksidan kapasiteleri

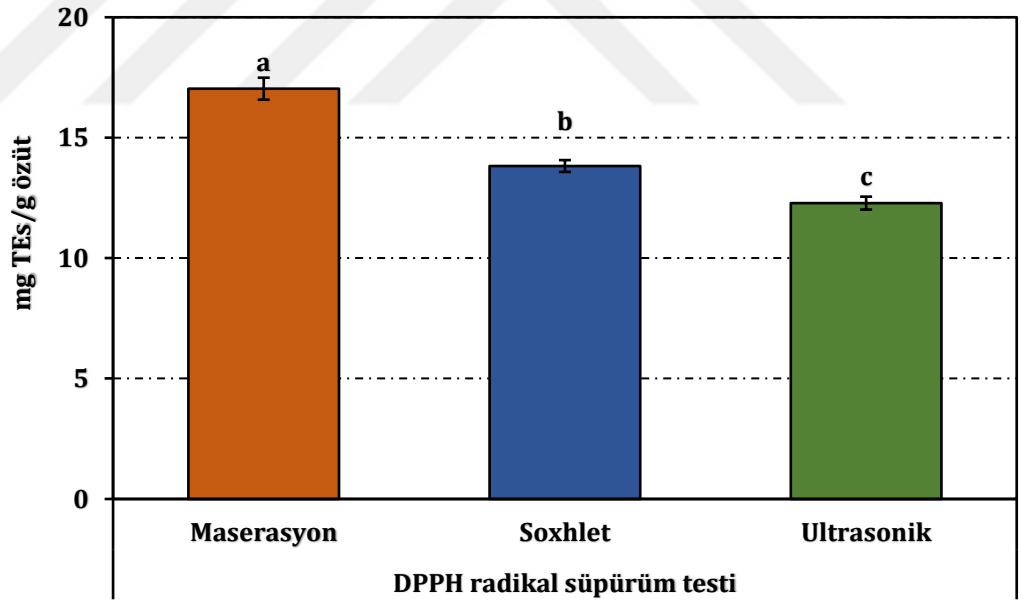
Testler	Maserasyon	Sohxlet	Ultrasonik	Trolox	EDTA
Fosfomolibdenyum (EC_{50}: mg/mL)	1.72 ± 0.09^{b}	2.87 ± 0.18^{c}	1.91 ± 0.06^{b}	0.50 ± 0.03^{a}	-
CUPRAC indirgeme (EC_{50}: mg/mL)	1.92 ± 0.01^{c}	1.83 ± 0.04^{b}	1.94 ± 0.01^{c}	0.12 ± 0.003^{a}	-
FRAP indirgeme (EC_{50}: mg/mL)	1.33 ± 0.01^{b}	1.40 ± 0.01^{c}	1.41 ± 0.01^{c}	0.04 ± 0.002^{a}	-
DPPH radikal süpürüm (IC_{50}: mg/mL)	3.35 ± 0.09^{b}	4.12 ± 0.07^{c}	4.64 ± 0.10^{d}	0.06 ± 0.002^{a}	-
ABTS radikal süpürüm (IC_{50}: mg/mL)	2.11 ± 0.05^{b}	2.32 ± 0.03^{c}	2.58 ± 0.06^{d}	0.11 ± 0.01^{a}	-
Metal şelatlama (IC_{50}: mg/mL)	1.40 ± 0.01^{b}	1.51 ± 0.05^{b}	1.42 ± 0.05^{b}	-	0.03 ± 0.001^{a}

Aynı satırda, aynı üst simgelerle işaretlenen değerler arasında istatistiksel bir fark

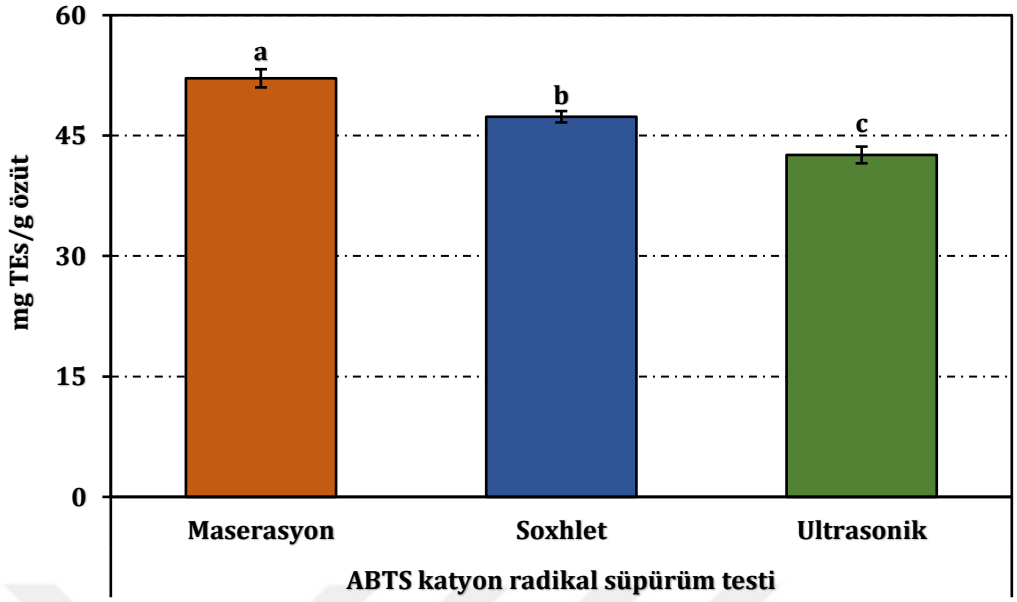
yoktur.

Farklı özütleme teknikleriyle elde edilen metanol özütlerinin antioksidan aktiviteleri ayrıca her bir testte kullanılan pozitif kontrolün eşdeğeri cinsinden de hesaplanmıştır.

DPPH radikal ve ABTS katyon radikal süpürüm testlerinde özütler benzer aktivite profili sergilemişlerdir (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8). Maserasyon ile elde edilen metanol özütünün hem DPPH radikal (17.04 mg TEs/g özüt) hem de ABTS katyon radikal (52.14 mg TEs/g özüt) süpürüm testlerinde diğer özütleme tekniklerine oranla daha yüksek aktivite sergilemiştir ve sonuçlar arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bu değerler, literatürde rapor edilen diğer *Onosma* türlerinin hem DPPH radikal (>17 mg TES/g özüt) hem de ABTS katyon radikal (>52 mg TES/g özüt) süpürüm aktivite verilerinden daha düşüktür.

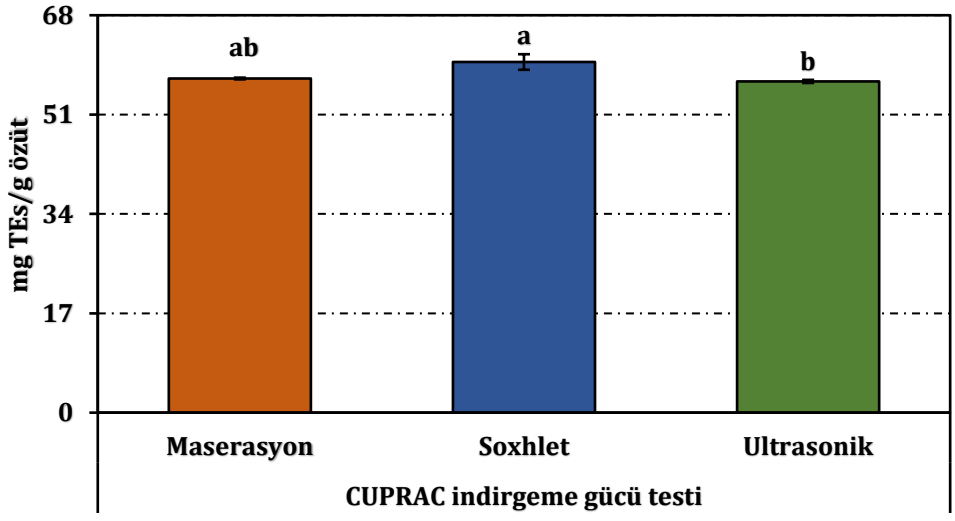


Şekil 4.7. Özütlerin DPPH radikal süpürüm aktiviteleri

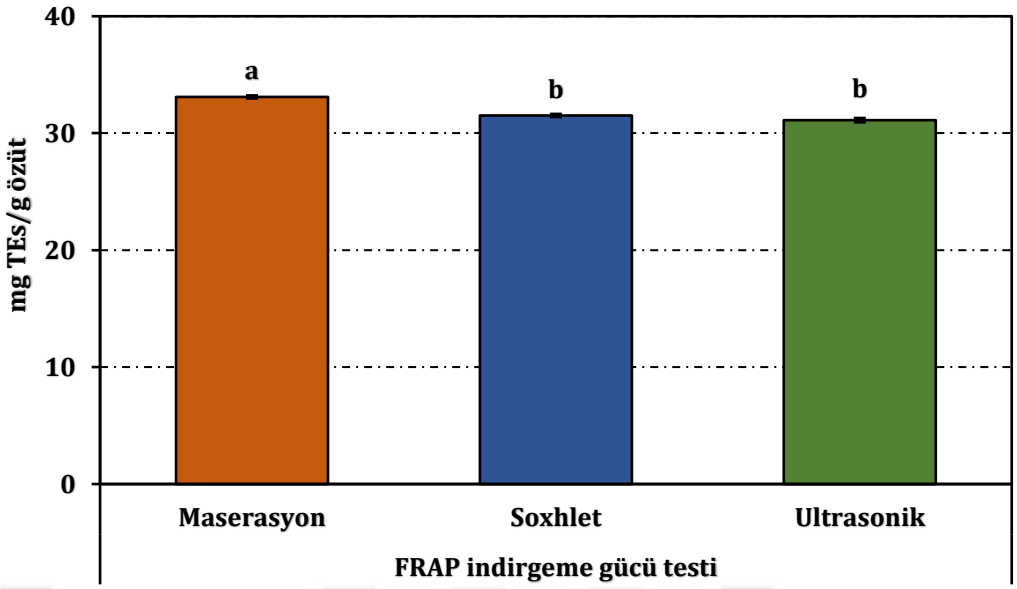


Şekil 4.8. Özütlerin ABTS katyon radikal süpürüm aktiviteleri

Özütlerin CUPRAC ve FRAP indirgeme güçleri karşılaştırıldığında radikal süpürüm testlerinde olduğu gibi maserasyonla elde edilen özütün her iki test sisteminde de daha yüksek indirgeme potansiyelinin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.9 ve 4.10). Ancak tüm özütlerin indirgeme gücü potansiyellerinin literatürde rapor edilen diğer Onosma türlerinin indirgeme gücü potansiyellerinden daha düşük olduğu görülmüştür [1, 41, 90, 96].

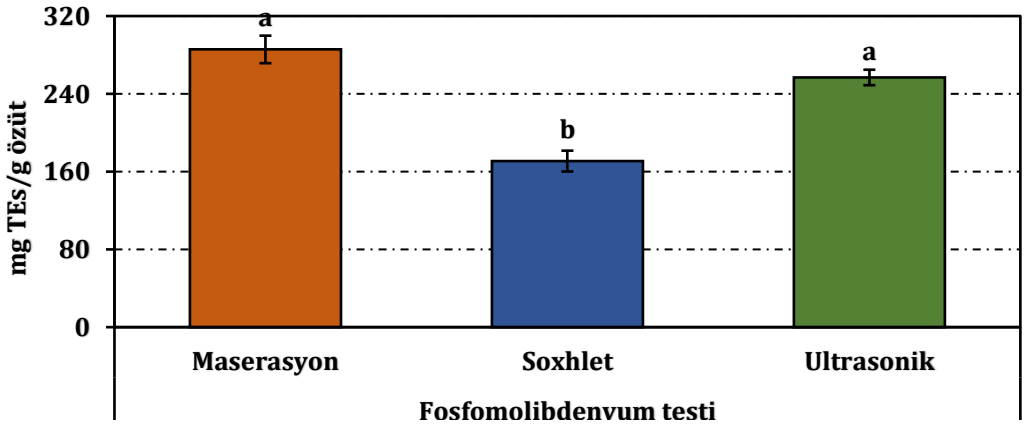


Şekil 4.9. Özütlerin CUPRAC indirgeme gücü kapasiteleri

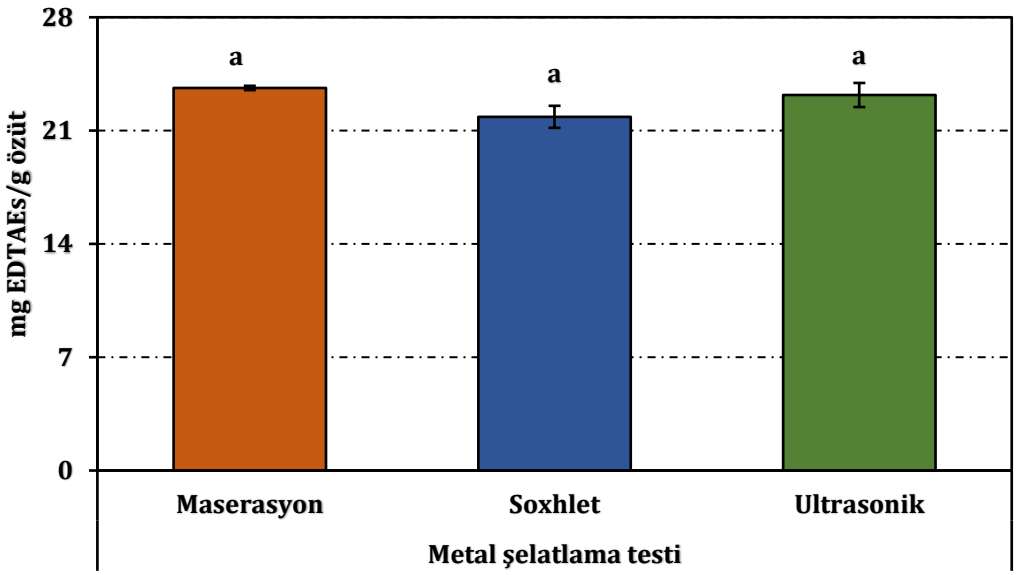


Şekil 4.10. Özütlerin FRAP indirgeme gücü kapasiteleri

Fosfomolibdenyum testi ile yapılan toplam antioksidan aktivite analizlerinde maserasyon ve ultrasonik destekli (sırasıyla; 285 ve 256 mg TEs/g özüt) özütleme ile elde edilen özütlerin Soxhlet (170 mg TEs/g özüt) ile yapılan özütlemeyle elde edilen özütten daha yüksek antioksidan aktivite sergilemiştir (Şekil 4.11). Bunun yanısıra özütlerin demir (II) iyonları şelatlama testinde benzer aktivite sergiledikleri saptanmıştır (Şekil 4.12). Bu verilerin, literatürdeki diğer *Onosma* türlerinin fosfomolibdenyum ile yapılan toplam antioksidan aktivitelerinden daha düşük, demir (II) iyonları şelatlama kapasitelerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir [38, 88, 90].

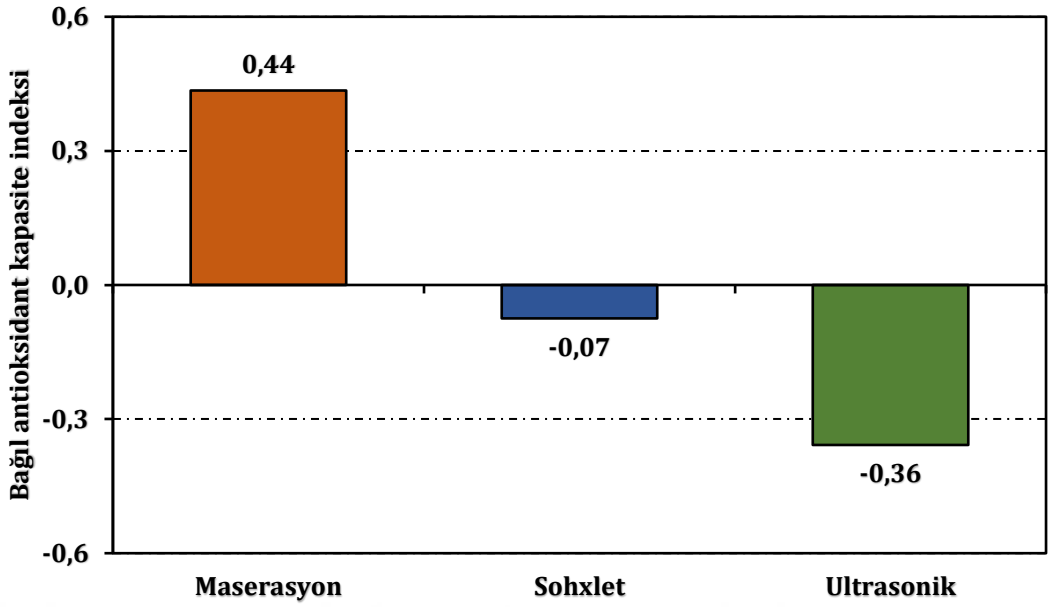


Şekil 4.11. Özütlerin toplam antioksidan aktiviteleri



Şekil 4.12. Özütlerin demir (II) iyonları şelatlama kapasiteleri

Antioksidan testlerinde elde edilen sonuçların her biri farklı bir aktivite mekanizması sergilediğinden, sonuçları sayısal olarak karşılaştırmak mantıklı değildir. Bu sebeple, her özüt için antioksidan test sistemlerinden elde edilen sonuçların karşılaştırılabilirliğini sağlamak amacıyla Bağıl Antioksidan Kapasite İndeksi (RACI) değerleri belirlenmiştir. RACI değerlerinin hesaplanmasında öncelikle her test için numunelerin ortalama ve standart sapma değerleri hesaplanmıştır. Özütlerin ham verileri, ortalama değerlerden çıkarılmış ve her özüt için standart sapmaya bölünerek RACI değeri elde edilmiştir. Bu işlem her test için ayrı ayrı uygulanmıştır. Toplam RACI değerleri, ilgili özütün (fenolik ve flavonoit dahil) tüm antioksidan testlerinden elde edilen ortalama değerler göz önünde bulundurularak hesaplanmış ve sonuçlar Şekil 4.13'te sunulmuştur. Şekilden de görülebileceği üzere, RACI değerleri bakımından Maserasyon tekniğiyle elde edilen metanol özütünün diğer tekniklerle elde edilen özütlere kıyasla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 4.13. Özütlerin bağıl antioksidan kapasite indeksleri

Tüm antioksidan testler birlikte değerlendirildiğinde, Maserasyon ile elde edilen metanol özütünün diğer tekniklerle elde edilen özütlere oranla çok az da olsa daha etkili olduğu görülmektedir ve bu durumu bağıl antioksidan kapasite indeksi hesaplamaları da desteklemektedir. Farklı tekniklerle elde edilen metanol özütlerinin bu kayda değer antioksidan aktivitelerinin özütlerin içerdiği zengin fitokimyasallardan kaynaklandığı söylenebilir. Çünkü, *Onosma briquetii* bitkisinin metanol özütlerindeki ana bileşenlerden olan 4-hidroksibenzoik asitin (p-hidroksibenzoik asit) antimikrobiyal, antialgal, antimutajenik, antiöstrojenik, hipoglisemik, antiinflamatuar, antitrombosit agregasyonu, nematisidal, antiviral, antioksidan vb. gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir [97]. Diğer bir ana bileşen olan rosmarinik asit, birçok mutfak baharatında bulunan bir polifenol bileşiğidir [98]. Antioksidan, anti-inflamatuar, antimutajenik, nöroprotektif, antitrombotik, kardioprotektif, hepatoprotektif, antimikrobiyal ve antikanser aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir [98]. Bir başka ana bileşen olan ferulik asit, doğrudan veya dolaylı olarak antioksidan, antiinflamatuar, antiviral, antialerjik, antimikrobiyal, antitrombotik, antikarsinojenik ve hepatoprotektif etkiler de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktivitelere hizmet eden önemli bir kimyasal yapı olarak kabul edilmiştir [99-101].

4.5. Özütlerin Enzim İnhibisyon Aktivite Analizleri

Farklı özütleme teknikleriyle elde edilen metanol özütlerinin asetilkolin esteraz

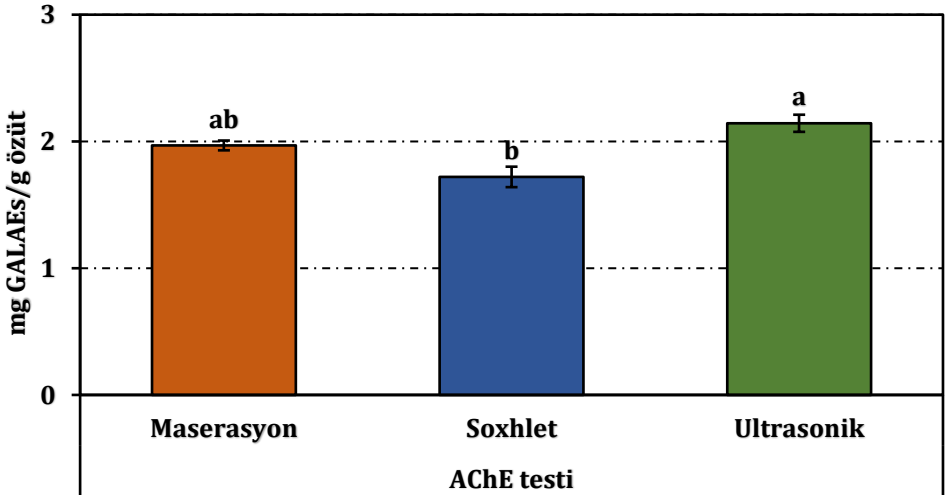
(AChE), α-amilaz ve tirozinaz enzimleri üzerine inhibisyon aktiviteleri de araştırılmış ve sonuçlar, hem %50 inhibisyon sağlayan derişime karşılık gelen IC_{50} (mg/mL) cinsinden hem de ilgili testte kullanılan pozitif kontrolün eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. IC_{50} hesaplamaları Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Standartların ve özütlerin enzim inhibisyon aktiviteleri

Örnekler	AChE inhibisyon (IC_{50}: mg/mL)	Tirosinaz inhibisyon (IC_{50}: mg/mL)	α-Amilaz inhibisyon (IC_{50}: mg/mL)
Maserasyon	1.39 ± 0.03^{b}	1.42 ± 0.01^{b}	1.63 ± 0.01^{c}
Soxhlet	1.59 ± 0.07^{c}	1.71 ± 0.01^{c}	1.62 ± 0.02^{c}
Ultrasonik	1.28 ± 0.04^{b}	1.75 ± 0.04^{c}	1.53 ± 0.02^{b}
Galantamin	0.0028 ± 0.0001^{a}	-	-
Kojik asit	-	0.084 ± 0.004^{a}	-
Akarboz	-	-	0.77 ± 0.02^{a}

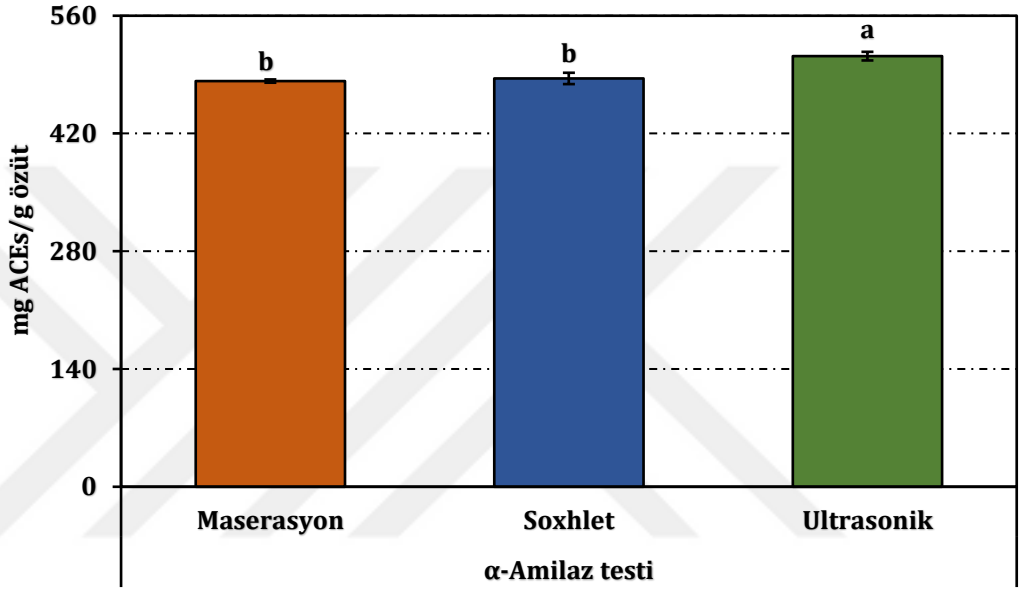
Aynı sütunda aynı üst simgelerle işaretlenen değerler arasında istatistiksel bir fark yoktur.

Ultrasonik-destekli (2.14 mg GALAEs/g özüt) ve Maserasyon (1.97 mg GALAEs/g özüt) ile yapılan özütleme ile elde edilen metanol özütleri, asetilkolin esteraz enzimi üzerine inhibisyon aktivitelerinin Soxhlet (1.72 mg GALAEs/g özüt) özütlemesiyle elde edilen metanol özütününkinden daha yüksek aktivite sergilemiştir (Şekil 4.14).



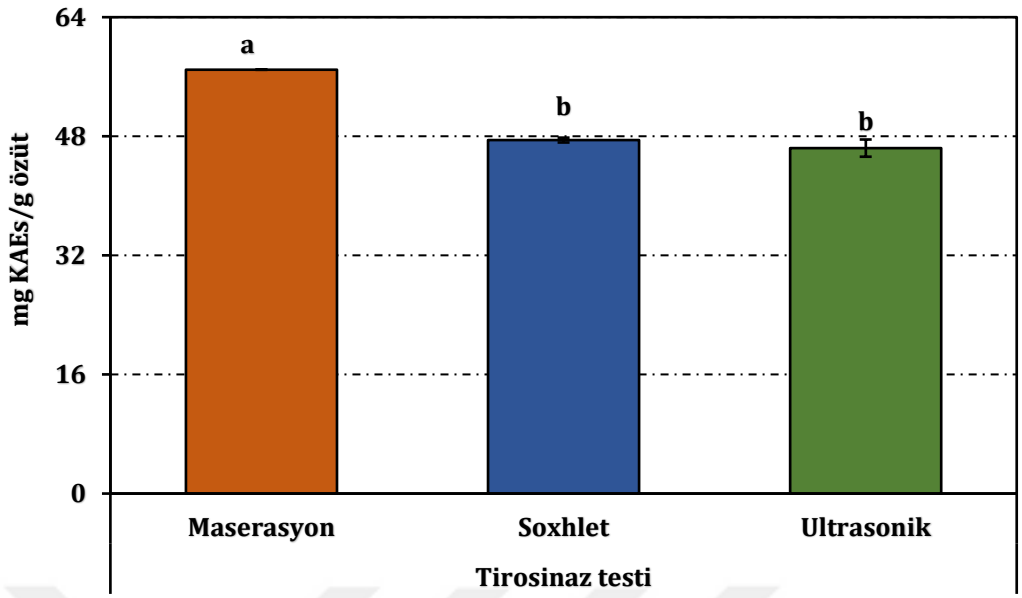
Şekil 4.14. Özütlerin asetilkolin esteraz inhibisyon aktiviteleri

Metanol özütlerin sindirim enzimlerinden biri olan α-amilaz üzerine inhibisyon aktivite sonucu Şekil 4.15'te verilmiştir. Ultrasonik-destekli (özütleme ile elde edilen metanol özütünün 512 mg ACEs/g özüt) α-amilaz enzimi üzerine en yüksek inhibisyon aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Buna ilaveten diğer özütler aynı enzim üzerine istatistiksel olarak anlamlı fark olmaksızın benzer inhibisyon aktivite göstermişlerdir ($p>0.05$).



Şekil 4.15. Özütlerin α-amilaz inhibisyon aktiviteleri

Maserasyon, Soxhlet ve Ultrasonik-destekli özütleme teknikleriyle elde edilen metanol özütlerinin tirozinaz enzimi üzerine inhibisyon aktiviteleri sırasıyla; 56.94, 47.49 ve 46.41 mg KAEs/g özüt olarak belirlenmiştir (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Özütlerin trozinaz inhibisyon aktiviteleri

Literatürde, Yaban mersini ve kişnişte yüksek miktarlarda bulunan 4-hidroksibenzoik asit, yüksek anti-asetilkolin esteraz enzim inhibisyonuna sahip olduğu rapor edilmiştir [44, 102]. Ana bileşenlerden biri olarak 4-hidroksibenzoik asitin bulunduğu *Elaeagnus angustifolia* yapraklarının α-amilaz ve α-glukozidaz inhibisyon aktivitesinin doza bağlı olarak değiştiği ve aktiviteden de özütteki ana bileşenrden kaynaklandığı belirtilmiştir [103]. Benzer şekilde rosmarinik asidin de enzim inhibisyon aktiviteden sorumlu olabileceğine dair bazı kanıtlar mevcuttur [104-106]. Bununla birlikte, daha zengin rosmarinik asit ve hiperosit içeriğine sahip bazı bitki türlerinin önemli ölçüde tirozinaz inhibisyon aktivite sergilediğini belirten çalışmalarda bulunmaktadır [41, 42, 44, 107-111].

Neticede, söz konusu fitokimyasalların bu çalışmada değerlendirilen enzimler üzerindeki inhibisyon aktivitesi bakımından katkısı da göz önünde bulundurularak bu çalışmadan elde edilen verilerin literatür verilerini destekler nitelikte olduğu söylenebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, *Onosma briquetii* bitkisinin toprak üstü kısımlarından Maserasyon, Soxhlet ve Utrasonik-destekli yöntemleriyle elde edilen metanol özütlerinin farklı test sistemleri kullanılarak antioksidan aktiviteleri; asetilkolin esteraz, α-amilaz ve tirosinaz enzimleri üzerine inhibisyon kapasiteleri araştırılmıştır. Bununla birlikte her üç özütün, spektroskopik olarak toplam fenolik ve flavonovit bileşik miktarları yanında özütlerde LC-MS ile toplamda 30 fenolik türü bileşiğin araştırıldığı kromatografik analizleri de yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda:

- Her üç metanol özütünün de değişik miktarlarda olmak üzere 4-hidroksibenzoik asit, rosmarinik asit, ferulik asit, protokateşuik asit, luteolin 7-glukosit, apigenin 7-glukosit, sinapik asit, hesperidin ve apigenin bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir.
- Özellikle Maserasyon tekniği ile elde edilen metanol özütünün antioksidan kapasitesinin diğer tekniklerle elde dilen özütlere oranla daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüş ve bu durumu da RACI hesaplamalarının da desteklediği saptanmıştır.
- Asetilkolin esteraz ve α-amilaz enzimleri üzerine Ultrasonik-destekli özütleme ile elde edilen metanol özütünün ve buna ilaveten, trosinaz en enzimi üzerine ise Maserasyon ile elde edilen özütün en yüksek inhibisyon potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir.

Bu nedenle, Türkiye florasına özgü olan *O. briquetii* türünün, ilaç, gıda ve kozmetik endüstrileri için alternatif ve önemli bir kaynak olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, bu çalışmada elde edilen veriler, bu bitki ile ilgili literatüre giren ilk veriler olma niteliğindedir.

Metanol özütleri, *in vitro* yapılan testler sonucunda kayda değer bir hem antioksidan hem de enzim inhibisyon aktivite sergilemiş olsalar bile, bu özütlerin *in vivo* şartlarda da benzer etkiler sergileyip sergilemeyeceği açık değildir. Bu nedenle, daha sonraki aşamalarda özütlerin öncelikle toksik etkilerinin belirlenmesi daha sonra ise *in vivo* testlerle bu çalışmada elde edilen aktivite sonuçlarıyla uyumlarının tespit edilmesi ve detaylı kromatografik işlemlerle de özütlerde aktiviteden sorumlu bileşenlerin izalosyonu ve karakterizasyonunun yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Sarikurkcu, C., Sahinler, S. S., Ceylan, O. Tepe, B. *Onosma ambigens*: Phytochemical composition, antioxidant and enzyme inhibitory activity. Industrial Crops and Products. 2020, 154, 112651.

[2] Pal, M. Chaudhury, A. High frequency direct plant regeneration, micropropagation and Shikonin induction in Arnebia hispidissima. Journal of Crop Science and Biotechnology. 2010, 13, 13-19.

[3] He, J. Complex of shikonin and β-cyclodextrins by using supercritical carbon dioxide. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry. 2009, 63, 249-255.

[4] Noula, E., Samanidou, V. F., Assimopoulou, A. N., Papageorgiou, V. P. Papadoyannis, I. N. Solid-phase extraction for purification of alkannin/shikonin samples and isolation of monomeric and dimeric fractions. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2010, 397, 2221-2232.

[5] Bageri, S., Sanjarian, F., Haghbeen, K. Ebrahimi, M. Establishment of cell suspension culture from *Onosma dasytrichum* seed callus culture. International Research Journal of Applied and Basic Sciences. 2011, 2, 392-397.

[6] Lindberg Madsen, H. Bertelsen, G. Spices as antioxidants. Trends in Food Science & Technology. 1995, 6, 271-277.

[7] Schwarz, K., Bertelsen, G., Nissen, L. R., Gardner, P. T., Heinonen, M. I., Hopia, A., Huynh-Ba, T., Lambelet, P., McPhail, D., Skibsted, L. H. Tijburg, L. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. European Food Research and Technology. 2001, 212, 319-328.

[8] Tanabe, H., Yoshida, M. Tomita, N. Comparison of the antioxidant activities of 22 commonly used culinary herbs and spices on the lipid oxidation of pork meat. Animal Science Journal. 2002, 73, 389-393.

[9] Sasaki, Y. F., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K., Taniguchi, K. Tsuda, S. The comet assay with 8 mouse organs: Results with 39 currently used food additives. Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2002, 519, 103-119.

[10] Stearn, W. T. The gender of the generic name *Onosma* (Boraginaceae). Taxon. 1993, 42, 679-681.

[11] Ganos, C., Zengin, G., Chinou, I., Aligiannis, N. Graikou, K. Phytochemical Profiling and Biological Assessment of the Aerial Parts from Three Mediterranean *Alkanna* Species (*A. orientalis, A. tinctoria, A. kotschyana*) in the Boraginaceae Family. Plants. 2024, 13, 278.

[12] Tufa, T., Damianakos, H., Zengin, G., Graikou, K. Chinou, I. Antioxidant and enzyme inhibitory activities of disodium rabdosiin isolated from *Alkanna sfikasiana* Tan, Vold and Strid. South African Journal of Botany. 2019, 120, 157-162.

[13] Yildirim, Ş. The chorology of the Turkish species to Boraginaceae family. Ot Sistematik Botanik Dergisi. 2000, 7, 257-272.

[14] Chacón, J., Luebert, F., Hilger, H. H., Ovchinnikova, S., Selvi, F., Cecchi, L., Guilliams, C. M., Hasenstab-Lehman, K., Sutory, K., Simpson, M. G. Weigend, M. The borage family (Boraginaceae s.str.): A revised infrafamilial

classification based on new phylogenetic evidence, with emphasis on the placement of some enigmatic genera. Taxon. 2016, 65, 523-546.
[15] Kumar, N., Kumar, R. Kishore, K. *Onosma* L.: A review of phytochemistry and ethnopharmacology. Pharmacogn Rev. 2013, 7, 140-151.
[16] Safavi, F., Farimani, M. M., Golalipour, M., Leung, P. C., Lau, K. M., Kwok, H. F., Wong, C. W., Bayat, H. Lau, C. B. S. Investigations on the wound healing properties of *Onosma dichroantha* Boiss root extracts. South African Journal of Botany. 2019, 125, 344-352.
[17] Joharchi, M. R. Amiri, M. S. Taxonomic evaluation of misidentification of crude herbal drugs marketed in Iran. Avicenna J Phytomed. 2012, 2, 105-112.
[18] Küpeli Akkol, E., Subaş, T., Özgen, U., Süntar, I., Ilhan, M. Keleş, H. Effects of Naphthoquinones from the Roots of *Onosma armeniacum* Klokov on Wound Healing. Chemistry & Biodiversity. 2024, 21, e202301946.
[19] Abdullah, F. O., Hussain, F. H. S., Sardar, A. S., Vita-Finzi, P. Vidari, G. Phytochemistry and Ethnopharmacology of Medicinal Plants Used on Safeen Mountain in the Kurdistan Region of Iraq. Natural Product Communications. 2016, 11, 1934578X1601101236.
[20] Mehrabian, R., Sheidai, M. Mozaffarian, V. Micromorphology of leaf trichomes in *Onosma* (Boraginaceae) and their systematic relevance in Iran. Phytologia Balcanica. 2014, 20, 33-48.
[21] Cadirci, E., Suleyman, H., Aksoy, H., Halici, Z., Ozgen, U., Koc, A. Ozturk, N. Effects of *Onosma armeniacum* root extract on ethanol-induced oxidative stress in stomach tissue of rats. Chemico-Biological Interactions. 2007, 170, 40-48.
[22] Jabbar, A. A., Abdullah, F. O., Hassan, A. O., Galali, Y., Hassan, R. R., Rashid, E. Q., Salih, M. I. Aziz, K. F. Ethnobotanical, Phytochemistry, and Pharmacological Activity of *Onosma* (Boraginaceae): An Updated Review. Molecules. 2022, 27.
[23] Ghahremaninejad, F., Joharchi, M. Vitek, E. New plant records for Khorassan province, Iran. Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien. Serie B für Botanik und Zoologie. 2005, 106, 255-293.
[24] Ahmad, I., Anis, I., Malik, A., Nawaz, S. A. Choudhary, M. I. Cholinesterase Inhibitory Constituents from *Onosma hispida*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2003, 51, 412-414.
[25] Sun, B., Jiang, H., Wang, Z.-N., Luo, H.-Z. Jia, A.-Q. Phytochemical constituents of *Onosma bracteatum* Wall. Phytochemistry Letters. 2021, 45, 1-5.
[26] Badruddeen, S. F., HEfazat H. Siddiqui, Syed E. Haque, Mohammad Khalid, Juber Akhtar. Psychoimmunomodulatory Effects of *Onosma bracteatum* Wall. (Gaozaban) on Stress Model in Sprague Dawley Rats. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2012, 6, 1356-1360.
[27] Doğan Çalhan, S. Gündoğan, M. Evaluation of Changes Biological Activity of *Onosma sericeum* Willd (Boraginaceae) Based on Collection Time and Extraction Solvent, and Determination of Its Mineral and Trace Element Composition. Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry. 2019, 6, 355-364.
[28] Özgen, U., Coskun, M. Seçen, H. Naphthoquinones from the roots of Onosma argentatum Hub.-Mor. (Boraginaceae). Turkish Journal of Chemistry. 2004, 28, 451-454.
[29] Kandemir, A. Hedge, I. C. An anomalous new *Ferulago* (Apiaceae) from

eastern Turkey. Willdenowia. 2007, 37, 273-276, 274.
[30] Rinner, B., Kretschmer, N., Knausz, H., Mayer, A., Boechzelt, H., Hao, X.-J., Heubl, G., Efferth, T., Schaider, H. Bauer, R. A petrol ether extract of the roots of *Onosma paniculatum* induces cell death in a caspase dependent manner. Journal of Ethnopharmacology. 2010, 129, 182-188.
[31] Mašković, P. Z., Diamanto, L. D., Vujic, J. M., Cvetanović, A. D., Radojković, M. M., Gadžurić, S. B. Zengin, G. *Onosma aucheriana:* A source of biologically active molecules for novel food ingredients and pharmaceuticals. Journal of functional foods. 2015, 19, 479-486.
[32] Mehrabian, A.-R., Sheidai, M., Noormohammadi, Z., Mozafarian, V. Asrei, Y. Palynological diversity in the genus *Onosma* L.(Boraginaceae) of Iran. Annals of Biological Research. 2012, 3, 3885-3893.
[33] Ozcan, T. Characterization of *Onosma bracteosum* Hausskn. & Bornm. and *Onosma thracicum* Velen. Based on Fatty Acid Compositions and alpha-Tocopherol Contents of the Seed Oils. IUFS Journal of Biology. 2009, 68, 75-83.
[34] El-Shazly, A., Abdel-Ghani, A. Wink, M. Pyrrolizidine alkaloids from *Onosma arenaria* (Boraginaceae). Biochemical Systematics and Ecology. 2003, 31, 477-485.
[35] Larin, A. P. Aleutskiĭ, N. N. On the efficacy of *Onosma* in experimental hypertension. Farmakologiia i toksikologiia. 1967, 30, 694-696.
[36] Pavol, M., Mártonfiová, L. Kolarčik, V. Karyotypes and genome size of *Onosma* species from northern limits of the genus in Carpathians. Caryologia. 2008, 61, 363-374.
[37] Kirkan, B., Sarikurkcu, C., Ozer, M. S., Cengiz, M., Atilgan, N., Ceylan, O. Tepe, B. Phenolic profile, antioxidant and enzyme inhibitory potential of *Onosma tauricum* var. *tauricum*. Industrial Crops and Products. 2018, 125, 549-555.
[38] Kirkan, B., Sarikurkcu, C. Zengin, G. Bioactive constituents, antioxidant effects and enzyme inhibitory properties of two *Onosma* species (*Onosma trapezuntea* and *O. rigidum*). South African Journal of Botany. 2022, 145, 142-148.
[39] Saravanakumar, K., Sarikurkcu, C., Sarikurkcu, R. T. Wang, M. H. A comparative study on the phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibition activities of two endemic *Onosma* species. Industrial Crops and Products. 2019, 142, 111878.
[40] Sarikurkcu, C., Kirkan, B., Ozer, M. S., Ceylan, O., Atilgan, N., Cengiz, M. Tepe, B. Chemical characterization and biological activity of *Onosma gigantea* extracts. Industrial Crops and Products. 2018, 115, 323-329.
[41] Sarikurkcu, C., Sahinler, S. S., Ceylan, O. Tepe, B. *Onosma pulchra*: Phytochemical composition, antioxidant, skin-whitening and anti-diabetic activity. Industrial Crops and Products. 2020, 154, 112632.
[42] Sarikurkcu, C., Sahinler, S. S., Husunet, M. T., Istifli, E. S. Tepe, B. Two endemic *Onosma* species (*O. sieheana* and *O. stenoloba*): A comparative study including docking data on biological activity and phenolic composition. Industrial Crops and Products. 2020, 154, 112656.
[43] Sarikurkcu, C., Sahinler, S. S., Ozer, M. S. Tepe, A. S. Nutraceutical extracts from some endemic Onosma (O. circinnata, O. bornmuelleri, and O. angustissima) species: LC-ESI-MS/MS-based polyphenol profile, antioxidant and enzyme inhibition activities. Journal of Food Processing and Preservation.

2021, 45, e15709.
[44] Sarikurkcu, C., Sahinler, S. S. Tepe, B. *Onosma aucheriana*, *O. frutescens*, and *O. sericea*: Phytochemical profiling and biological activity. Industrial Crops and Products. 2020, 154, 112633.
[45] Sarikurkcu, C. Tlili, N. *Onosma inexspectata* and *Onosma armenum* as novel sources of phytochemicals with determination by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS/MS) with evaluation of the antioxidant and enzyme inhibitory capacities. Analytical Letters. 2022, 55, 1068-1079.
[46] Binzet, R., Binzet, G., Gumus, I., Turunc, E., Solmaz, U., Keskin, E., Dogen, A. Arslan, H. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil and Various Extracts of *Onosma sieheana* Hayek Roots. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2019, 22, 94-104.
[47] Özgen, U., Houghton, P. J., Ogundipe, Y. Coşkun, M. Antioxidant and antimicrobial activities of *Onosma argentatum* and *Rubia peregrina*. Fitoterapia. 2003, 74, 682-685.
[48] Ahmad, S., Khan, M., Ayaz, S. Ahamd, I. Antibacterial and Antifungal Studies of the Crude Extract and Solvent Fractions of *Onosma khyberianum*. Pharmacologia. 2013, 4, 525-528.
[49] Naz, S., Ahmad, S., Ajaz Rasool, S., Asad Sayeed, S. Siddiqi, R. Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Onosma hispidum*. Microbiological Research. 2006, 161, 43-48.
[50] Hu, Y., Jiang, Z., Leung, K. S.-Y. Zhao, Z. Simultaneous determination of naphthoquinone derivatives in Boraginaceous herbs by high-performance liquid chromatography. Analytica Chimica Acta. 2006, 577, 26-31.
[51] Katanić Stanković, J. S., Ceylan, R., Zengin, G., Matić, S., Jurić, T., Diuzheva, A., Jeko, J., Cziáky, Z. Aktumsek, A. Multiple biological activities of two *Onosma* species (*O. sericea* and *O. stenoloba*) and HPLC-MS/MS characterization of their phytochemical composition. Industrial Crops and Products. 2020, 144, 112053.
[52] Bashir, A., Ali, N., Bashir, S., Choudhary, M. I., Azam, S. Khan, I. Parasiticidal, antifungal and antibacterial activities of *Onosma griffithii* Vatke. African Journal of Biotechnology. 2009, 8, 5084-5087.
[53] Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Picot-Allain, C. M. N., Cakmak, Y. S., Uysal, S. Aktumsek, A. In vitro tyrosinase inhibitory and antioxidant potential of *Consolida orientalis*, *Onosma isauricum* and *Spartium junceum* from Turkey. South African Journal of Botany. 2019, 120, 119-123.
[54] Menghani, E., Sudhanshu, Rao, N. Mittal, S. Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of *Onosma bracteatum*. International Journal of Pharmaceutical Research and Development. 2011, 4, 16-20.
[55] Kumar, A., Kaur, V., Pandit, K., Tuli, H. S., Sak, K., Jain, S. K. Kaur, S. Antioxidant Phytoconstituents From *Onosma bracteata* Wall. (Boraginaceae) Ameliorate the CCl4 Induced Hepatic Damage: In Vivo Study in Male Wistar Rats. Frontiers in Pharmacology. 2020, 11.
[56] Jabbar, A. A. *Onosma mutabilis:* Phytochemical composition, antioxidant, cytotoxicity, and acute oral toxicity. Food Science & Nutrition. 2021, 9, 5755-5764.
[57] Wu, Q., Er-bu, A., Liang, X., Luan, S., He, C., Yin, L., Yin, Z., Zou, Y., Li, L. Song, X. Determination of the main naphthoquinones in *Onosma hookeri* Clarke. var. *longiforum* Duthie and its optimization of the ultrasound-assisted

extraction using response surface methodology. Journal of Food Science. 2021, 86, 357-365.
[58] Sihoglu Tepe, A. Determination of the Chemical Composition, Antioxidant, and Enzyme Inhibitory Activity of *Onosma mollis* DC. Journal of Chemistry. 2021, 2021, 5405365.
[59] Nadri, M., Dehpour, A. A., Yaghubi, S., Fathi, H. Ataee, R. Effects of the Anti-diabetic and Anti-neuropathy Effects of *Onosma dichroanthum* in an Experimental Model of Diabetes by Streptozocin in Mice. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2017, 19, 161-169.
[60] Asghar, M., Islam, M., Saeed, H., Imtiaz, F., Saleem, B., Saleem, Z., Qamar, S. Iqtedar, M. Investigations on *Onosma hispidum* Wall Root Extracts For In-Vitro Antidiabetic, Proliferative And Cytotoxic Effects. JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences. 2018, 28, 1339-1339.
[61] Chen, W.-C., Tseng, T.-S., Hsiao, N.-W., Lin, Y.-L., Wen, Z.-H., Tsai, C.-C., Lee, Y.-C., Lin, H.-H. Tsai, K.-C. Discovery of Highly Potent Tyrosinase Inhibitor, T1, with Significant Anti-Melanogenesis Ability by zebrafish in vivo Assay and Computational Molecular Modeling. Scientific Reports. 2015, 5, 7995.
[62] Lončarić, M., Strelec, I., Moslavac, T., Šubarić, D., Pavić, V. Molnar, M. Lipoxygenase Inhibition by Plant Extracts. Biomolecules. 2021, 11, 152.
[63] Ahmad, I., Nawaz, S. A., Afza, N., Malik, A., Fatima, I., Khan, S. B., Ahmad, M. Choudhary, M. I. Isolation of onosmins A and B, lipoxygenase inhibitors from Onosma hispida. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2005, 53, 907-910.
[64] Erenler, R., Yildiz, I., Aydin, A. Genc, N. Antiproliferative and cytotoxic effects of bioactive compounds isolated from *Onosma bourgaei*. Medical Oncology. 2022, 39, 116.
[65] Vukic, M. D., Vukovic, N. L., Djelic, G. T., Popovic, S. L., Zaric, M. M., Baskic, D. D., Krstic, G. B., Tesevic, V. V. Kacaniova, M. M. Antibacterial and cytotoxic activities of naphthoquinone pigments from *Onosma visianii* Clem. Excli j. 2017, 16, 73-88.
[66] Albaqami, J., E, L., Tiriveedhi, V., Boadi, W. Driggins, S. The Effect of *Onosma bracteatum* in cancer cells. Bioequivalence & Bioavailability. 2018, 5, 321-325.
[67] Hashemi, M. M., Marjani, M., Poursharifi, N. Marjani, A. Effects of *Onosma dichroanthum* Boiss. root extract on AGS human gastric cancer cell-line. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology. 2022, 33, 487-492.
[68] Azwanida, N. N. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. Med Aromat Plants. 2015, 4, 2167-0412.
[69] Tomšik, A., Pavlić, B., Vladić, J., Cindrić, M., Jovanov, P., Sakač, M., Mandić, A. Vidović, S. Subcritical water extraction of wild garlic (*Allium ursinum* L.) and process optimization by response surface methodology. The Journal of Supercritical Fluids. 2017, 128, 79-88.
[70] Cai, Z., Qu, Z., Lan, Y., Zhao, S., Ma, X., Wan, Q., Jing, P. Li, P. Conventional, ultrasound-assisted, and accelerated-solvent extractions of anthocyanins from purple sweet potatoes. Food chemistry. 2016, 197, 266-272.
[71] Fu, C., Tian, H., Li, Q., Cai, T. Du, W. Ultrasound-assisted extraction of xyloglucan from apple pomace. Ultrasonics Sonochemistry. 2006, 13, 511-516.

[72] Švarc-Gajić, J. 2012. *Sampling and sample preparation in analytical chemistry,* Nova Science Publishers.
[73] Zengin, G., Cvetanović, A., Gašić, U., Stupar, A., Bulut, G., Senkardes, I., Dogan, A., Seebaluck-Sandoram, R., Rengasamy, K. R. R., Sinan, K. I. Mahomoodally, M. F. Chemical composition and bio-functional perspectives of *Erica arborea* L. extracts obtained by different extraction techniques: Innovative insights. Industrial Crops and Products. 2019, 142, 111843.
[74] Saini, R. K. Keum, Y.-S. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. Food chemistry. 2018, 240, 90-103.
[75] Macías-Sánchez, M. D., Fernandez-Sevilla, J. M., Fernández, F. G. A., García, M. C. C. Grima, E. M. Supercritical fluid extraction of carotenoids from Scenedesmus almeriensis. Food chemistry. 2010, 123, 928-935.
[76] Mašković, P., Veličković, V., Mitić, M., Đurović, S., Zeković, Z., Radojković, M., Cvetanović, A., Švarc-Gajić, J. Vujić, J. Summer savory extracts prepared by novel extraction methods resulted in enhanced biological activity. Industrial Crops and Products. 2017, 109, 875-881.
[77] Radojković, M., Moreira, M. M., Soares, C., Fátima Barroso, M., Cvetanović, A., Švarc-Gajić, J., Morais, S. Delerue-Matos, C. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from Morus nigra leaves: optimization and characterization of the antioxidant activity and phenolic composition. Journal of Chemical Technology & Biotechnology. 2018, 93, 1684-1693.
[78] Veličković, V., Đurović, S., Radojković, M., Cvetanović, A., Švarc-Gajić, J., Vujić, J., Trifunović, S. Mašković, P. Z. Application of conventional and non-conventional extraction approaches for extraction of *Erica carnea* L.: Chemical profile and biological activity of obtained extracts. The Journal of Supercritical Fluids. 2017, 128, 331-337.
[79] Cittan, M. Çelik, A. Development and validation of an analytical methodology based on Liquid Chromatography–Electrospray Tandem Mass Spectrometry for the simultaneous determination of phenolic compounds in olive leaf extract. Journal of Chromatographic Science. 2018, 56, 336-343.
[80] Zengin, G., Sarikurkcu, C., Gunes, E., Uysal, A., Ceylan, R., Uysal, S., Gungor, H. Aktumsek, A. Two *Ganoderma* species: Profiling of phenolic compounds by HPLC-DAD, antioxidant, antimicrobial and inhibitory activities on key enzymes linked to diabetes mellitus, Alzheimer's disease and skin disorders. Food & Function. 2015, 6, 2794-2802.
[81] Tepe, B., Sarikurkcu, C., Berk, S., Alim, A. Akpulat, H. A. Chemical composition, radical scavenging and antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus boveii* and *Thymus hyemalis*. Records of Natural Products. 2011, 5, 208-220.
[82] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S. Erçağ, E. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 2006, 57, 292-304.
[83] Kocak, M. S., Sarikurkcu, C., Cengiz, M., Kocak, S., Uren, M. C. Tepe, B. *Salvia cadmica*: Phenolic composition and biological activity. Industrial Crops and Products. 2016, 85, 204-212.
[84] Zengin, G., Sarikurkcu, C., Uyar, P., Aktumsek, A., Uysal, S., Kocak, M. S. Ceylan, R. *Crepis foetida* L. subsp *rhoeadifolia* (Bleb.) Celak. as a source of multifunctional agents: Cytotoxic and phytochemical evaluation. Journal of functional foods. 2015, 17, 698-708.
[85] Sun, T. Tanumihardjo, S. An integrated approach to evaluate food antioxidant

capacity. Journal of Food Science. 2007, 72, R159-R165.
[86] Petrovic, M., Suznjevic, D., Pastor, F., Veljovic, M., Pezo, L., Antic, M. Gorjanovic, S. Antioxidant Capacity Determination of Complex Samples and Individual Phenolics - Multilateral Approach. Comb Chem High Throughput Screen. 2016, 19, 58-65.
[87] Kirkan, B., Sarikurkcu, C., Binzet, R. Tepe, B. Two Onosma Species (*Onosma microcarpum* and *O. nana*) as an Alternative Source of Multifunctional Agents: Biological and Phytochemical Evaluation. Biointerface Research in Applied Chemistry. 2023, 13.
[88] Kirkan, B., Sarikurkcu, C. Tepe, A. S. Phytochemical analysis and biological evaluation of two endemic *Onosma* species (*Onosma cappadocica* and *O. rutilum*). Biointerface Research in Applied Chemistry. 2023, 13.
[89] Baltaci, N., Aydogdu, N., Sarikurkcu, C. Tepe, B. *Onosma gracilis* (Trautv.) and *O. oreodoxa* (Boiss. & Heldr.): Phytochemistry, in silico docking, antioxidant and enzyme inhibitory activities. South African Journal of Botany. 2021, 143, 410-417.
[90] Ozer, M. S., Karan, R. C., Ceylan, O., Sarikurkcu, C., Tepe, A. S., Aboul-Soud, M. A. M. Ghneim, H. K. *Onosma demirizii*: Chemical composition, antioxidant and enzyme inhibitory activity. Chemistryselect. 2024, 9, e202304223.
[91] Tlili, N., Sarikurkcu, R. T., Ceylan, O. Sarikurkcu, C. *Onosma polyantha* vs. *Onosma mollis*: Analysis of Phenolic Compounds Using Liquid Chromatography–Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (LC-ESI-MS/MS) and Assessment of the Antioxidant Activity. Analytical Letters. 2021, 54, 1389-1400.
[92] Ksouri, R., Ksouri, W. M., Jallali, I., Debez, A., Magné, C., Hiroko, I. Abdelly, C. Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications. Critical Reviews in Biotechnology. 2012, 32, 289-326.
[93] Rodrigues, M. J., Soszynski, A., Martins, A., Rauter, A. P., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Varela, J., Barreira, L. Custódio, L. Unravelling the antioxidant potential and the phenolic composition of different anatomical organs of the marine halophyte *Limonium algarvense*. Industrial Crops and Products. 2015, 77, 315-322.
[94] Tlili, N., Sarikurkcu, R. T., Ozer, M. S. Sarikurkcu, C. Liquid Chromatography–Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (LC-ESI-MS/MS) Identification of Phytochemicals and the Effects of Solvents on Phenolic Constituents, Antioxidant Capacity, Skin-Whitening and anti-Diabetic Activity of *Onosma mitis*. Analytical Letters. 2022, 55, 32-46.
[95] Ozer, M. S., Kirkan, B., Sarikurkcu, C., Cengiz, M., Ceylan, O., Atilgan, N. Tepe, B. Onosma heterophyllum: Phenolic composition, enzyme inhibitory and antioxidant activities. Industrial Crops and Products. 2018, 111, 179-184.
[96] Tlili, N., Sarikurkcu, R. T., Ozer, M. S. Sarikurkcu, C. Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (LC-ESI-MS/MS) Identification of Phytochemicals and the Effects of Solvents on Phenolic Constituents, Antioxidant Capacity, Skin-Whitening and anti-Diabetic Activity of *Onosma mitis*. Analytical Letters. 2022, 55, 32-46.
[97] Afnan, Saleem, A., Akhtar, M. F., Sharif, A., Akhtar, B., Siddique, R., Ashraf, G. M., Alghamdi, B. S. Alharthy, S. A. Anticancer, Cardio-Protective and Anti-Inflammatory Potential of Natural-Sources-Derived Phenolic Acids.

Molecules. 2022, 27, 7286.
[98] Vo, Q. V., Hoa, N. T., Flavel, M., Thong, N. M., Boulebd, H., Nam, P. C., Quang, D. T. Mechler, A. A Comprehensive Study of the Radical Scavenging Activity of Rosmarinic Acid. The Journal of Organic Chemistry. 2023, 88, 17237-17248.
[99] Kumar, N. Pruthi, V. Potential applications of ferulic acid from natural sources. Biotechnology Reports. 2014, 4, 86-93.
[100] Mancuso, C. Santangelo, R. Ferulic acid: Pharmacological and toxicological aspects. Food and Chemical Toxicology. 2014, 65, 185-195.
[101] Kim, J. K. Park, S. U. A recent overview on the biological and pharmacological activities of ferulic acid. Excli Journal. 2019, 18, 132-138.
[102] Budryn, G., Majak, I., Grzelczyk, J., Szwajgier, D., Rodríguez-Martínez, A. Pérez-Sánchez, H. Hydroxybenzoic Acids as Acetylcholinesterase Inhibitors: Calorimetric and Docking Simulation Studies. Nutrients. 2022, 14, 2476.
[103] Saltan, F. Z., Okutucu, B., Canbay, H. S. Ozel, D. In vitro α-glucosidase and α-amylase enzyme inhibitory effects in *Elaeagnus angustifolia* leaves extracts. Eurasian Journal of Analytical Chemistry. 2017, 12, 117-126.
[104] Asghari, B., Mafakheri, S., Zarrabi, M. M., Erdem, S. A., Orhan, I. E. Bahadori, M. B. Therapeutic target enzymes inhibitory potential, antioxidant activity, and rosmarinic acid content of *Echium amoenum*. South African Journal of Botany. 2019, 120, 191-197.
[105] Zhu, F., Wang, J., Takano, H., Xu, Z., Nishiwaki, H., Yonekura, L., Yang, R. Tamura, H. Rosmarinic acid and its ester derivatives for enhancing antibacterial, α-glucosidase inhibitory, and lipid accumulation suppression activities. Journal of Food Biochemistry. 2019, 43, e12719.
[106] McCue, P. P. Shetty, K. Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase in vitro. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition. 2004, 13, 101-106.
[107] Sarikurkcu, C. *Anthemis chia*: Biological capacity and phytochemistry. Industrial Crops and Products. 2020, 153, 112578.
[108] Sarikurkcu, C., Hanine, H., Sarikurkcu, R. B., Sarikurkcu, R. T. Amarowicz, R. *Micromeria myrtifolia*: The influence of the extracting solvents on phenolic composition and biological activity. Industrial Crops and Products. 2020, 145, 111923.
[109] Sarikurkcu, C., Ozer, M. S. Tlili, N. Comparison of the influence of the solvent on the extraction of the bioactive compounds from *Marrubium lutescens* using liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS). Analytical Letters. 2020, 53, 2222-2234.
[110] Sarikurkcu, C., Sahinler, S. S. Tepe, B. *Astragalus gymnolobus*, *A. leporinus* var. *hirsutus*, and *A. onobrychis*: Phytochemical analysis and biological activity. Industrial Crops and Products. 2020, 150, 112366.
[111] Sarikurkcu, C. Zengin, G. Polyphenol profile and biological activity comparisons of different parts of *Astragalus macrocephalus* subsp. *finitimus* from Turkey. Biology. 2020, 9, 1-15.