

***CORCHORUS OLITORIUS* L. (MOLEHİYA) FENOLİK İÇERİĞİNİN ,
ANTIOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ.**

Yüksek Lisans Tezi

İMANE HASSAN

Eskişehir 2024

***CORCHORUS OLITORIUS L. (MOLEHIYA) FENOLİK İÇERİĞİNİN,
ANTIOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ***

İMANE HASSAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fatih GÖGER

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

ŞUBAT 2024

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

İmane Hassan'nın "Corchorus olitorius L. (Molehiya) Fenolik İçeriğinin, Antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin Belirlenmesi " başlıklı tezi 02/02/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Doç. Dr. Fatih GÖGER	.
Üye	: Prof. Dr. Gökalp İŞCAN	.
Üye	: Dr.Öğr. Üy.Ekrem Murat GÖNÜLALAN	.

Prof. Dr
Enstitü Müdürü

ÖZET

***CORCHORUS OLITORIUS* L. (MOLEHİYA) FENOLİK İÇERİĞİNİN , ANTIOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ.**

İmane Hassan
Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Universities, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, şubat 2024

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Fatih GÖGER

Bu çalışmada, Bursa Görükle Mahallesinde kültürü yapılan *Corchorus olitorius* L. (Malvaceae) ile Lübnan'da marketten alınan Mısır menşeli *Corchorus olitorius* L bitkilerinin etanol ekstreleri, ve %5'lik infüzyonları, fitokimyasal olarak incelenmiştir. Ekstrelerin, toplam fenolik madde miktar tayini, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Antioksidan aktivite, DPPH^{*} ve ABTS^{*+} radikal süpürücü etki üzerinden test edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite testlerinde, çeşitli suşlara ait fungus ve bakteriler kullanılmıştır. Etanol ekstrelerinin fitokimyasal içerikleri Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi/ Kütle Spektrometrisi ile incelenmiştir. Kinik asit, protokateşik asit, protokateşik asit heksozit, Kafeik asit, 3-Kafeoilkinik asit, 5-Kafeoilkinik asit, 1,3-Dikafeoilkinik asit, 3,4-Dikafeoilkinik asit. Luteolin/Kamferol asetil glukozit, Kersetin glukozit, Kersetin asetilglukozit, Kersetin pentozit, Astragalın, Kersetin ekstrelerde standard kullanmadan tentatif olarak tanımlanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Ekstre, Aktivite, HPLC-/MS/MS, *Corchorus olitorius*

ABSTRACT

İmane Hassan
Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, February 2024

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih GÖGER

Keywords: Extract, Activity, LC-MS/MS

In this study, ethanol extracts and 5% infusion of *Corchorus olitorius* L. (Malvaceae) collected from the cultivated field in Bursa Görükle District and corn-origin *Corchorus olitorius* L plants purchased from the market in Jordan were examined phytochemically. Total phenolic substance quantification, antimicrobial and antioxidant activities of the extracts were determined. Antioxidant activity was tested on DPPH[•] and ABTS^{•+} radical scavenging effect. Antimicrobial activity tests were performed using a different strain of fungus and bacteria. Phytochemical content of ethanol extracts were examined by High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry. Quinic acid, protocatechuic acid, protocatechulic acid hexoside, Caffeic acid 3-Caffeoylquinic acid, 5-Caffeoylquinic acid, 1,3-Dicaffeoylquinic acid, 3,4-Dicaffeoylquinic acid. Luteolin/Kamferol acetyl glucoside, Quercetin glucoside, Quercetin acetylglucoside, Quercetin pentoside, Astragallic acid, Quercetin have been identified tentatively (without standard) in extracts.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmamın başlangıcından sonuçlanana kadar geçen sürecin her basamağında bana destek veren fikirleriyle ve deneyimiyle yol gösteren bilgisiyle çalışmamı şekillendiren değerli danışman hocam Doç. Dr. Fatih GÖGER'e, Deneylerim sırasında yardımlarını esirgemeyen, Araş. Gör, Burak TEMİZ'e, Uzm. Ecz, Buğrahan KOCADORU'ya antimikrobiyal aktivite deneylerinde yardımcı olan Prof. Dr. Gökâl İŞCAN'a ve Ecz. Bilge Nur MUTLU'ya. Doktora Tez çalışmalarım sırasında Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanlığı görevini yapan Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU'na,

Çalışma süresince ve hayatımda bana desteklerini her zaman hissettiren HASSAN ailesine ve arkadaşlarıma, çalışma süresince ve iş hayatımda beni destekleyen ve mesleki açıdan gelişimimi sağlayan meslek büyüklerime ve hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

(İmza)

(Adı-Soyadı)

İÇİNDEKİLER

BAŞLIKSAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	5
2.1.Botanik bilgiler	5
2.1.1.Malvaceae familyasının genel özellikleri.....	5
2.1.2.Corchorus L.	5
2.1.3.Corchorus olitorius L.....	6
2.1.4.Corchorus olitorius L. taksonomisi (islam.2013).....	7
2.2.C. olitorius Fitokimyasal içeriklerinin İncelenmesi	8
2.2.1.Kardiyak Glikozitleri.....	8
2.2.2.Polisakkaritler	9
2.2.3.Triterpenoitler	9
2.2.4.İyonon glikozitler.....	10
2.2.5.Fenolikler	10
2.2.6.Steroller ve yağ asitler.....	11
2.3.Farmakolojik aktiviteler.....	11
2.3.1.Antidiyabetik aktivite	12

2.3.2.Antioksidan aktivite	12
2.3.3.Kardiyovasküler aktivite	13
2.3.4.Antimikrobiyal ve antifungal aktivite	13
2.3.5.Antikanser aktivite.....	13
3.YÖNTEM	14
3.1.Bitki Materyali	14
3.2.Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	14
3.2.1.Kimyasal maddeler	14
3.2.2.Cihazlar	15
3.3.Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması	15
3.4.Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	17
3.5.Antioksidan Aktivite Tayinleri	18
3.5.1.DPPH• (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini süpürücü etki tayini	18
3.5.2.ABTS•+radikal katyonu süpürücü etki tayini.....	19
3.6.Antimikrobiyal Aktivite Tayini	20
3.6.1.Antikandidal Aktivite	20
3.6.2.Antibakteriyel aktivite.....	21
4.BULGULAR.....	22
4.1.Ekstrelerin Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Ekstraksiyon Verimleri	22
4.2.Ekstrelerin Antioksidan Aktivitesi	23
4.3.Ekstrelerin fenolik profillerinin LC-MS/MS ile belirlenmesi.....	25
4.4.Antimikrobiyal aktivite	46
4.4.1.Antibakteriyel Aktivite	46
4.4.2.Antikandidal Aktivite	47
5.SONUÇ	49

6.TARTIŞMA.....	50
6.1.Antioksidan Aktivite Tayinleri	50
6.2.Ekstrelerin LC-MS/MS analizleri	52
6.3.Antimikrobiyal Aktivite Tayinleri.....	53
KAYNAKÇA	55
ÖZGEÇMİŞ	

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. <i>C.olitorius</i> ‘dan izole edilmiş bazı kardiyak glikozitlerin iskelet yapıları	8
Tablo 2.2. <i>C.olitorius</i> ’dan izole edilmiş bazı fenolik bileşikler iskelet yapıları	10
Tablo 4.1. Etanol ekstrelerine ait LC-MS/MS analiz sonucu	31
Tablo 4.2. Minimum İnhibitor Konsantrasyon (MİK, mg/mL)	50
Tablo 4.3. Minimum İnhibitor Konsantrasyon (MİK, mg/mL)	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.1. Gallik asit Kalibrasyon denklemi	23
Şekil 4.2. Ekstrelerin toplam fenolik madde içeriği	24
Şekil 4.3. Ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü Etki Sonuçları	25
Şekil 4.4. Troloks kalibrasyon denklemi	26
Şekil 4.5. Ekstrelerin Troloksa Eşdeğer Antioksidan Kapasiteleri (TEAK)	26
Şekil 4.6. Bursa menşeli örneğin LC-MS/MS kromatogramı	28
Şekil 4.7. Mısır menşeli örneğin LC-MS/MS analiz kromatogramı	29
Şekil 4.8. Mısır ve Bursa örneklerinin üst üste çakıştırılmış kromatogramı	30
Şekil 4.9. Kinik asit kütle spektrumu	32
Şekil 4.10. Protokateşik asit kütle spektrumu	33
Şekil 4.11. Protokateşik asit heksozit spektrumu	34
Şekil 4.12. Kafeik asit kütle spektrumu	35
Şekil 4.13. 3-Kafeoilkinik asit kütle spektrumu	36
Şekil 4.14. 5-Kafeoilkinik asit kütle spektrumu	37
Şekil 4.15.1,3-Dikafeoilkinik asit kütle spektrumu	38
Şekil 4.16. 3,4-Dikafeoilkinik asit kütle spektrumu	39
Şekil 4.17. Luteolin asetil glukozit kütle spektrumu	40
Şekil 4.18. Astragalin kütle spektrumu	41
Şekil 4.19. Kersetin kütle spektrumu	42

Şekil 4.20. Kersetin glukozit kütle spektrumu	43
Şekil 4.21. Kersetin asetil glukozit kütle spektrumu	44
Şekil 4.22. Kersetin pentozit kütle spektrumu	45
Şekil 4.23. 4,7-Dihidroksikumarin glukozit kütle spektrumu	46
Şekil 4.24. Rozeosit kütle spektrumu	47
Şekil 4.25. 9,12,13-Trihydroxyoctadeca-10,15-dienoic asit kütle spektrumu	48
Şekil 4.26. Bilinmeyen kütle spektrumu	49

GÖRSELLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Görsel 2.1. <i>Corchorus olitorius</i> bitkisi	6
Görsel 3.1. <i>Corchorus olitorius</i> Mısıır marketten alınan örnek	14
Görsel 3.2. Bursadan toplanan örnek <i>Corchorus olitorius</i>	14
Görsel 3.3. Rotary Evaporator/Rotavapor cihazı (BUCHI,Switzerland)	17
Görsel 3.4. Toplam Fenolik Miktar Tayininden elde edilen görüntü	18
Görsel 3.5. DPPH [*] süpürücü etki tayininde elde edilen görüntü	20
Görsel 3.6. ABTS ⁺⁺ radikal süpürücü etki görüntüsü ve kullanılan ekipmanlar	21

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS ^{•+}	:2,2'-Azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikası)
CLSI	:Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü
Dk	:Dakika
DMSO	:Dimetil Sülfoksit
DPPH [•]	:1,1- Difenil-2-pikrilhidrazil radikali
ESI	:Elektro Sprey İyonlaşma
EtOH	:Etanol
FCR	:Folin- Ciocalteu Reaktifi
FID	:Alev İyonlaşma Dedektörü
GA	:Galik Asit GAE Galik Asit'e Eşdeğer Miktar
GK/KS	:Gaz Kromatografisi /Kütle Spektrometrisi
YPSK	:Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC ₅₀	:%50 İnhibisyon Gösteren Değer
LC-MS/MS	:Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometrisi
LOX	:Lipooksijenaz enzimi
<i>m/z</i>	:kütle/yük
MeOH	:Metanol
MIK	:Minimum İnhibitör Konsantrasyon
NCCLS	:National Comitee for Clinical Laboratory Standards
PDA	:Photo Diod Array
RPMI	:Roswell Park Memorial Institute Besiyeri
RRI	:Relatif Tutunma İndeksi
C:	:Corchorus
TEAC/TEAK	:Troloks'a Eşdeğer Antioksidan Kapasite
TRAP	:Toplam Radikal Yakalama Parametresi
TY	:Tanımlama Yöntemi
UV:	:Ultraviyole

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlk çağlardan günümüze ulaşan arkeolojik bulgulara göre insanlar, beslenme ve sağlık sorunları için öncelikle bitkilerden faydalanmıştır. Bitkilerin ilk çağ insanları tarafından bu amaçlarla kullanılmasının sebebi, kullandıkları bitkilerin taşıdıkları primer ve sekonder metabolitlerinin, hastalıklara karşı koruyucu ve tedavi edici etkileri olmuştur (Atanasov vd.,2021; Suntar, 2020).Günümüzde yaklaşık 20.000 bitki tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır ve reçete edilen ilaçların yaklaşık %25'ini bitkisel ürünler oluşturmaktadır (Anwar, 2011; Alim, 1978).

Bu oran, düşük yan etkileri ve halk arasında güvenli kabul edilmeleri nedeniyle her geçen gün artmaktadır (İslam, 2013).

Bu tez çalışmasında *Corchorus olitorius L.* bitkisinin Mısır'da yetiştirilen ve marketlerde satılan ticari örneği ile Türkiye (Bursa) den tüketim için kültürü yapılan örneği üzerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. Tez çalışması kapsamında bu türün seçilmesinin sebebi, besin olarak Ortadoğuda sıklıkla kullanılan fakat ülkemizde bu amaçla kısıtlı kullanıma sahip bu bitkinin kendi kaynağından alınan bir örnek ile ülkemizde kültürü yapılan örneği karşılaştırmaktır.

Malvaceae familyasına dahil olan *Corchorus* cinsi Dünyada yaklaşık 60 türle temsil edilir. Cinsin bazı türleri kozmetik, parfümeri, gıda ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Halk arasında, kabızlığa karşı taze yaprakları, herbası kullanılarak elde edilen kremler cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır, Yüksek müsilaj içeriğinin bu etkileri sağladığı düşünülmektedir. Bitki ayrıca, diyabet, hipertansiyon, kanser ve kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (İslam, 2013). İçeriğindeki fenolik maddelerden dolayı da antioksidan etkiye sahiptir (Öztürk ve Savaroğlu, 2011).

Bazı türleri'nin taşıdığı yüksek orandaki liflerinden dolayı tekstil sanayisi için ekonomik önemi vardır. Lif bitkinin gövdesinde ve sap kısımlarında

bulunmaktadır ve bir lif 18-20 cm uzunluğuna sahiptir. Lifler, Çuval, halat, kağıt, halı-kilim sanayi, el sanatları, ilaç sanayisinde (özellikle cerrahi pansumanlarda emiciliği yüksek olduğu için) kullanılmaktadır (Al-Snafi, 2016). Lif üretiminde *Corchorus* türleri pamuktan sonra dünyada en çok tercih edilen ikinci bitkidir. Ticari öneme sahip iki *Corchorus* türü vardır. Bu türlerden jüt üretilir. Beyaz jüt, *C. capsularis* L., Tossa jütü ise *C. olitorius* L. den elde edilir.

C. capsularis L. Bangladeş ve Hindistandan bölgesinde yaygın olarak yetiştir bu bölgeler dünya jüt üretiminin yaklaşık %84'ünü karşılar. Lifler el ile çıkartıldığından jüt üretiminde işçilik maliyetleride fiyatı etkilemektedir (MEB 2011). *C. olitorius* L. Afrika Tosa bölgesinde yayılış gösterir. Tosa Jütü'nün kullanımı çok eskiye uznmaktadır, İncilde jüt kullanımından bahsedilmektedir (Alim, 1978; Islam, 2009; Islam ve Rahman, 2008).

Corchorus türleri sıcak iklim özelliklerinde yetiştiğinden ülkemiz şartlarında yetiştirilmesi zordur bu nedenle lifler ithal edilmektedir (Mutlu, 2012).

C. olitorius L. otsu. Tropikal ve subtropikal alanlarda özellikle Afrika'nın birçok yerinde yetişir (Mavengahama ve Lewu, 2012) protein mineral ve vitaminler açısından zengindir beslenmede önemle bir yeri vardır. (Idris ve Ndamitso, 2009). Afrikanın kıtlık yaşanan kuzey kesimlerinde temel gıda maddesi olarak tüketilmektedir (Bharucha ve Pretty, 2010; Lewu ve Mavengahama, 2010).

C. olitorius Türkiyede molehiya veya mühliye olarak bilinir. Bitkinin diğer isimleri şu şekildedir; Uzun meyveli jüt, Tossa jüt, Jüt mallow, Yahudi ebegümeçi, Bush okra, Batı Afrika kuzukulağı, Japonya'da Moroheiya, Kıbrıs'ta Molehiya ve Filipinler'de Saluyot gibi isimleri vardır (Furumoto vd., 2002; Bilgili vd., 2018).

Akdeniz ve Orta Doğu ülkelerinde tohumları yemeklerde baharat, taze yaprakları ise sebze olarak kullanılmaktadır (Mısır, Lübnan, Filistin, Ürdün, Suriye, Tunus ve Kıbrıs). Kuru yaprakları çay olarak kullanılır. Yapraklarından yapılan "Molehiya", Arap ve Kıbrıs Türk mutfağının geleneksel yemekleri arasındadır (Anonim, 2017).

Tez çalışmasının materyalini oluşturan bitki hem lif bitkisi hem de gıda ve tıbbi bitki olarak değerlendirilmektedir.

Organizmadaki antioksidan dengesini korumak, sağlıklı bir yaşam sürdürmek için

çok önemlidir. Normal metabolizma sırasında, Serbest radikaller hem endojen olarak üretilir hemde de güneş ışığı, radyasyon ve çevre kirliliği gibi dış kaynaklardan ortaya çıkar (Sarma vd.,2010). Serbest radikaller, reaktif yapıları nedeniyle hücrelerin her parçasıyla etkileşime girebilir ve zarar verebilir. Buna bağlı olarak DNA hasarına ve mutasyonlara ve lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Oksidatif stres, serbest radikallerin artması ve antioksidan savunma sisteminin değişmesi nedeniyle oluşur (Lobo vd., 2010; Valko vd., 2007). Oksidatif stres, günümüzde kanser, diyabet, damar sertliği ve yaşlanma gibi birçok hastalığa neden olduğu bilinmektedir (Neeraj vd.,2013).

Elektronlar, atomların yörüngelerinde birbirleriyle kararlı bir yapı oluşturmak için çiftler gibi bulunurlar. Kararlı yapı bozuldukça serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller, bir elektron çifti ile diğeri arasında bağlanma ihtiyacı ile oluşur ve elektron çiftini oluşturan elektronlardan biri ortamdaki uzaklaştırıldığında kararsız hale gelir. Bu anlamda, bir serbest radikal bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içerir. Bağlanması gereken elektronlar, canlı bir hücrede metabolik süreçler sırasında ortaya çıkan diğeri moleküller veya yapılarla eşleşme eğilimindedir ve elektronları veya hidrojenleri ilgili yapılardan uzaklaştırarak veya doğrudan bağlayarak hareket eder. Böylece kararsız yapılarına son verirler. Ancak bu durumda elektronlarını veya hidrojen atomlarını kaybeden gruplar serbest radikal haline gelebilir. Bu durum, serbest radikallerin bazen DNA'ya bağlanarak kararsızlığını sonlandırdığı ve canlı dokuda kanser oluşumuna neden olabilen bir zincirleme reaksiyona neden olur. Serbest radikaller, kendilerini oldukça reaktif hale getirerek ve böylece son yörüngelerindeki eşleşmemiş elektron boşluğunu kapatarak radikal olmayan moleküllere saldırır. Bu durumda radikal olmayan farklı moleküllerle reaksiyon başlatırlar ve diğeri moleküllerden elektron aktararak radikalleşmelerini sağlayarak zincirleme reaksiyona neden olurlar (Ayçiçek, 2021; Göger, 2007).

Çalışmalar, oksidatif stresin oluşumunda hastalık önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Yüksek stres koşulları altında, insan vücudunda endojen reaktif oksijen ve nitrojen türleri (ROS/RNS) artar. Endojen antioksidan savunma sistemi, bu radikalleri etkisiz hale getirmek için yetersiz kalır. Üretilen reaktif oksijen ve reaktif nitrojen miktarının yüksek olması sonucunda hücre hasarı ve

çeşitli sağlık sorunlarının oluşabilir. Oksidatif stresten kaynaklanan fizyolojik dengesizlik. Nörodejenerasyon (Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, beyin tümörü), kardiyovasküler hastalıklar (örneğin, sklerotik plak oluşumları), kronik inflamatuvar hastalıklar, diyabet ve bazı kanser türleri ve ayrıca erken yaşlanmaya zemin hazırlar. Endojen antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz etkilerini telafi etmek için, genel antioksidan takviyesi ve ekzojen antioksidanların uygulanması, stres koşulları altında antioksidan yanıtı iyileştirebilir. Antioksidanlar, serbest radikallerin kendileriyle etkileşime girerek zararlı yollarını bloke eder ve terapötik bir etki sağlar (Bessada vd., 2015).

Bu çalışmada, *Corchorus olitorius* L., Malvaceae familyasından *Corchorus* cinsi içinde yer alan, farklı polaritedeki ekstralarına içerik kromatografik ve spektrometrik sistemler ile içerik analizi, antioksidan aktiviteleri aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla bitkinin toprak üstü kısımlarından; metanol çözücüleri ve %5'lik infüzyon olarak hazırlanan ekstralar hazırlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Malvaceae familyasının genel özellikleri

Malvaceae familyası tek ya da çok yıllık otsu bitkiler içeren Dünyada , yaklaşık 200 cins ve 2.300 tür ile temsil en bir familyadır. Güney Amerikda geniş yayılış gösteren bir familyadır . Türkiyede Malvaceae familyasına ait 14 cins vardır (Fersahoğlu ,2016).

Familya bitkileri yıldız tüylü . Büyük çiçekleri, tekli veya simoz durumuda. Yapraklar alternat, palmat damarlı, bölünmüş yada palmat loblu, ve stipullere sahiptir. Genellikle kaliksin üzerinde ikinci bir kaliks vardır . Çanak ve taç yapraklar tabanda veya serbest olarak birleşir. Erkek organları çok çeşitlidir ve sütun tepede filamantlere ayrılmış, her filament bir gözlü anter taşır. Dişi organlardan biri olan ovaryum hipogindir . Şizokarp, üzüksü, kanatlı kuru meyve veya genellikle kapsül şeklinde meyve çok sayıda merikarpa ayrılır. Bu türlerin çiçekleri bol miktarda müsilaj içerdiğinden, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılır (Fersahoğlu, 2016).

Ebegümeçiler Türkiye'de halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Cinse bağlı bir çok tür hem süs bitkisi olarak hem de tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır. Kaynatılmış infüzyonlarda taşıdığı müsilaj nedeniyle solunum ve sindirim yollarının tahriş ve enfeksiyonlarında dahili olarak önleyic; çıban ve yaraların tedavisinde haricen kompres şeklinde kullanılır. Kırsal kesimlerinde abortif olarak taze ebegümeçi dalları kullanılmaktadır. Ayrıca yapraklı dalları ıspanak gibi pişirilip yenir. *M. sylvestris*'in halk arasında ısırğan otu tedavisinde ve astım tedavisinde (Çatalca Kocaeli bölgesi) kullanıldığı görülmüştür.

2.1.2. *Corchorus L.*

Corchorus cinsinin 60 türü, genellikle Afrika ve Avustralya gibi dünyanın tropikal, subtropikal bölgelerinde bulunur (Benor vd, 2009), Amerika ve Güney Asya'da bulunan tür sayısı çok azdır (Howard, 1974). Cins yapılan son düzenlemeler ile Tiliaceae

familyasından ayrılmış ve Malvaceae familyasına geçmiştir. (Alverson, 1999; Bayer vd., 1999).

C. olitorius eski Yunanlılar tarafından "Korkhoros" olarak adlandırıldığından. Linnaeus cins ismini *Corchorus* koymuştur (Benor, 2011).

Cinsin ilk sistematik sınıflandırması Candolle tarafından 1824'te yapılmıştır. Bu tanımlamada cinsinin beş farklı türden oluşan beş üyesi tanımladı (Candolle, 1824). Stipul renkleri, varlığı veya yokluğu, kapsül ve tohum morfolojileri tanımlamada yardımcı olan morfolojik özelliklerdir.

2.1.3. *Corchorus olitorius* L.

C. olitorius, genellikle tek yıllık, yaprakları ovat (boyuna kesilmiş yumurta gibi) veya lanseolat (mızrak ucu gibi), yaprak kenarları serrat (testere dişli), hermafrodittir çiçekler küçük, sarı renkli, sepal ve petal 5 adettir. (Nuwangburuka ve Denton 2012; Smith 2000). Genellikle ağustos-ekim ayları arasında çiçek açar, meyve kapsül şeklindedir çok sayıda tohum içerir. (Matsufuji vd., 2001; Banerjee vd., 2012). Genetik çeşitliliği çok sınırlıdır (Patel, W 1958; Yu ve Li 1991).

Arap ülkelerinde, Güney Asya, Japonya, Hindistan, Çin, Nijerya ve Fildişi Sahili, Kamerun, Sudan, Kenya, Uganda ve Zimbabwe gibi birçok ülkede gıda olarak kullanılan bir sebzedir. Yüksek oranda müsilaj içerdiğinden taze veya kurutulmuş yapraklardan hazırlanan yemekleri koyu kıvamlıdır.

Halk arasında tohumları müshil etkisi nedeniyle, yaprakları mide spazmlarına karşı, kökleri diş ağrısına karşı, yaprak sapları ise kardiyovasküler bozuklukların tedavisinde kullanılır. (Merlier 1972; Deton 1997; Nemb ve ark. 2011).



Görsel 2.1. *Corchorus olitorius* bitkisi

2.1.4. *Corchorus olitorius* L. taksonomisi (islam.2013)

Sıralama	Bilimsel isim
Alt alem	Tracheobionta
Üst şube	Spermatophyta
Şube	Magnoliophyte
Sınıf	Magnoliopsida
Alt sınıf	Dilleniidae
Takım	Malvales
Familya	Tiliaceae
Cins	<i>Corchorus</i> L.
Tür	<i>Corchorus olitorius</i> L.

2.2. *C. oltorius* Fitokimyasal İçeriklerinin İncelenmesi

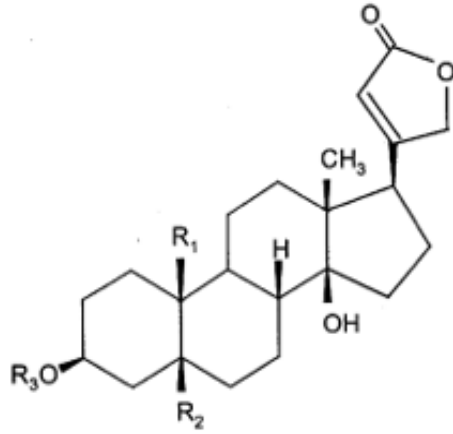
C. oltorius'un literatürde yapılan incelemelerinde fenolik bileşikler, triterpenoitler, saponinler , kardiyak glikozitler , polisakkaritler ve yağ asitleri ve steroller içerdiğini tespit etmektedir (Egua vd., 2002; Mobark vd., 2016).

2.2.1. Kardiyak glikozitleri

Kardiyak glikozitleri, kalp güçlendirici etkiler ile bilinirler ve hipertansiyon konjestif kalp yetmezliğinde kullanılırlar.

Farklı *Corchorus* türlerinden kardiyookaktif glikozit bileşikler izole edilmiştir. *C. capsularis* ve *C. oltorius*'tan korkorozit A ve korkorozit B, ile korkorozit A 'nın monoglukoziti olitorizid izole edilmiştir. (Samilova,1977) *C. oltorius* tohumlarında kardiyookaktif glikozitlerden, korolosit ve deglikokorosit, ile oligoglikozit formunda korkorozit A-E varlığı belirlenmiştir (Maslennikova,1975).

Japonya'da yetişen *C. oltorius* tohumlarının kalp glikozitleri taşıdığı fakat glikozit miktarının tohumun renginde göre istatistiksel olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada koyu gri sari/ sarı yeşil tohumların, koyu gri yeşil tohumlardan daha az kalp glikoziti içerdiği belirlendi. Bu çalışmada tohumlarda digitoksisenin, korolozit, glükoevatromonozit, strofantidin, erisimozit, olitorisid, korkorozit A ve helvetikozit varlığı belirlenmiştir (Goda vd.,1998).



Yapı	R ₁	R ₂	R ₃
Strofantidin	CHO	OH	H
Korkorozit A	CHO	OH	-β-D-boivinoz
Olitorisit	CHO	OH	-B-D-boivinoz-B-D-glikoz
Helvetikosid	CHO	OH	-B-D-digitoksoz
Erysimoside	CHO	OH	-B-D-digitoksoz-B-D- glukoz

Tablo 2.1 *C.olitorius* dan izole edilmiş bazı kardiyak glikozitlerin iskelet yapıları (khan vd.2006)

2.2.2. Polisakkaritler

Corchorus olitorius sulu ekstraları çok yoğun kıvam almaktadır bunun sebebi yapısında bulunan müsilajdır. Yapılan çalışmalarda kurutulmuş yapraklarından hazırlanan sulu ekstralardan elde edilen müsilaj içinde ; uronik asit (65%) ramnoz, glukoz, galaktüronik ve glükuronik asit başlıca karbonhidratlar olarak belirlenmiştir (Ohtani vd.1995). Bitkinin tohumlarında tespit edilen karbonhidratlar ise rafinoz, sükroz, arabinoz, fruktoz, glukoz ve galaktozdur; köklerinde ise rafinoz, arabinoz, fruktoz ve glükoz bulunur (Manzoor-i-Khuda vd., 1970).

2.2.3. Triterpenoitler

Triterpenoit saponinler 30C'lu yapıları ile bitkilerde reçine, lateks ve kabuk gibi kısımlarda sıklıkla bulunurlar. Bazıları acı lezzetli, antelmintik (askarid, şerit için) ve bitkileri böcek saldırısına karşı koruyucu etkilidir.Yapısı itibariyle steroidal saponin tipinde olan de hormonlara benzerler ve 27 C'lu olanları steroid benzeri etkiler

gösterirler. Kolesterolun emilmesini azaltır; düşük yoğunluklu lipit seviyesini (LDL) düşürürler. Kortizolun kortizona çevrilmesini önlerler.

C. olitorius köklerinden izole edilen bir triterpenoit korozin, bu bileşiğin yapısı belirlenmemiştir (Manzoor -i- Khuda vd., 1971). Ursolik asit, korozolik asit ve oksokorozin *C. capsularis* ve *C. olitorius*'un taze, tükenmemiş köklerinden izole edilmiştir (Manzoor -i- Khuda vd., 1979). Mısırlı kökenli *C. olitorius*'un yapraklarından oleanolik asit de izole edildi (Kohda vd., 1994).

2.2.4. İyonon glikozitler

C. olitorius yapraklarında iyonon glikozitlerinden, korkoionozit A, B ve C, roseozit ve betulabusit A izole edilmiştir (Masayuki vd., 1997).

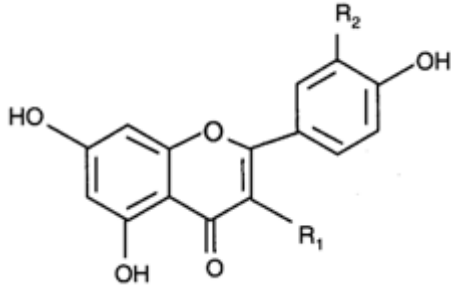
2.2.5. Fenolikler

Fenolik bileşikler, bitkiler tarafından sentezlenen bir grup sekonder metabolittir. Bir benzen halkasına bir hidroksil grubu (-OH) veya gruplar eklenmesi ile oluşur. Fenolik asitler, fenolik bileşiklerin bir türevidir. Bunlar yedi karbon atomu (C6-C1) olan hidroksibenzik asitler ve dokuz karbon atomunu (C6-C3) içeren hidroksisinnamik asitlere ayrılmıştır. Fenolik asitler birbirleri ile sıklıkla esterleşirler en çok görülen esterleşme ise kafeik asit ve kinik asit esterleşmesidir.

Klorojenik asit veya 1,5 veya 3,5-dikaffeoilkinik asit kafeik asit ve kinik asit esterleşmesinin sık rastlanan türevleridir (Harborne,1998). Birçok araştırmaya göre antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidan, antikanser, antiinflamatuvar, diyabetik ve melanojenik özelliklere sahiptir. *C. olitorius* yapraklarından 5-kaffeoilkinik asit (klorojenik asit) ve 3,5-dikaffeoilkinik asit izole edilmiştir (Azuma vd., 1999).

C. olitorius'un (Mısırlı kökenli) yaprakları ayrıca dört flavonoid glikozit içerir: astragalin (kamferol-3-O-D-glikopiranozit), tolifolin (kamferol 3-O- D- galaktopiranozit), izokersitrin (kersetin-3- O-D - glikopiranosit) ve jugulanin (kamferol- 3- O-L- arabinopiranosit), kersetin- 3- galaktosit, kersetin-3-(6 malonil glukozit) ve kersetin-3-(6 malonil galaktozit) (Azuma vd., 1999).

C. olitorius'un tohumlarından 4,7-dihidroksikumarin (Mukherjee vd., 1998). Ayrıca iki kumarin glikoziti, sikorine ve skopolin izole edilmiştir (Masayuki vd.,1997).



R ₁	R ₂	Yapı
OH	OH	Kersetin
OH	H	Kamferol
H	H	Apigenin
H	OH	Luteolin
O-Glükoz	H	Astragalin
O-Glükoz	OH	Kersetin-3-glükozit (İzokersetin)
O-Galaktoz	OH	Kersetin-3-galaktozit (Hiperozit)

Tablo 2.2 *C.olitorius* ait bitkilerden izole edilmiş bazı fenolik bileşikler iskelet yapıları(khan vd., 2006)

2.2.6. Steroller ve yağ asitler

C. olitorius yapraklarının beta-sitosterol ve beta-sitosterol 3-O-D- glukopiranozit varlığı kayıtlıdır (Kohda vd., 1994). Yapraklarında bulunan diğer yağ asitleri korkoriyağ asit A, B, C, D, E undekanoik asit, korkoriyağ asit E' dir (Yoshikawa vd., 1999).

2.3. Farmakolojik Aktiviteler

Corchorus (jüt) yaprağı, lif ve jüt üreten topluluklarda halk hekimliğinde kullanılır. Ayrıca, genç sürgünler ve yapraklar uzun süredir Doğu Asya ve Afrika'da tıbbi halk ilaçları olarak kullanılmaktadır. Bitki kaynaklı sekonder metabolitlerin, antioksidatif, antikarsinojenik, antibiyotik ve farmakolojik etkileri dahil olmak üzere insan sağlığına olumlu etkileri vardır (Lee vd., 2015).

C. olitorius yaprakları, diüretik, analjezik, antipiretik, antimikrobiyal, antitümör (Zakaria vd., 2006) hipoglisemik (Abo vd., 2008), antiobezite (Wang vd., 2003) ve gastroprotektif dahil olmak üzere çeşitli biyolojik özelliklerle ilişkili bol miktarda antioksidan bileşiklere sahiptir (Al batran vd., 2013).

Ayrıca, *C. capsularis* yaprakları ayurveda'da asit, basur, sistit, dizüri, ateş ve belsoğukluğu için kullanılır (İslam vd., 2013).

2.3.1. Antidiyabetik aktivite

C.olitorius tohumları antidiyabetik özelliklere sahip stearik asit etil esteri taşır (Eguva vd., 2015). Yapılan bir çalışmada , ekstraktın oral alımının, serum kolesterolünü düşürdüğü yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyesini arttırdığı belirlenmiştir (Patil vd., 2019). Diğer bir çalışmada, diyetle karıştırılmış molohiya yaprak tozu 14 gün boyunca alloxan-indüktöran diyabetli farelerde kan glukozu, serum kolesterolü, trigliseridleri ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyelerini önemli ölçüde azalttı. Araştırma, flavonoidler, alkaloidler, terpenoitler, steroidler ve karmaşık karbonhidratların antidiyabetik etkileri nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Anyasor vd., 2020).

Streptozotokin-indüktöran diyabetli farelere 14 gün boyunca 4.8 g/kg dozunda kullanılan ekstre, kan glukozu, toplam kolesterol, trigliseridler, LDL seviyelerini azaltmış süperoksit dismutaz ve glutation seviyeleri, ise yükselmiştir (Mahgoub vd.,2007).

2.3.2. Antioksidan aktivite

Oksidatif stresin çok sayıda kronik hastalığın patofizyolojisinde ve yaşlanma fizyolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Tüm aerobik organizmalarda reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi canlının kendi savunma sistemleri tarafından dengelenir. Vücudun antioksidan savunma sistemi, çevreye salınan serbest radikalleri yok eder (Bojović vd., 2011; Sarikurkcu vd., 2021).

Antioksidan savunmaları ve serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik oksidatif strese neden olur. Bu dengesizlik , proteinler ,lipitler ve nükleik asitler gibi çeşitli moleküllere zarar verir (Stefanis vd., 1997). Vücudun antioksidan savunma mekanizmaları oksidatif stresin zararlarını önlemezse, hücrelerde oksidatif hasar meydana gelir ve bu durum hücre fonksiyonlarını aksatır. Oksidatif stres, kanser, sepsis, böbrek yetmezliği, infertilite, yaşlanma, kas, karaciğer, kardiyovasküler ve dejeneratif nörolojik hastalıklar gibi pek çok hastalığın en önemli nedenlerinden biridir.

C.olitorius ekstreleri ile yapılan çalışmalarda ekstrelerin hem DPPH radikal süpürücü etki hem de beta-karoten soldurma etkileri yüksek olarak belirlenmiştir. Bu etkilere sebep olarak yüksek fenolik içeriği öne sürülmektedir (Öztürk vd., 2010; Ben Yakoub vd.,

2020).

C. olitorius metanolik özü, hidroksil radikalı ve Fe²⁺ tarafından tetiklenen lipid peroksidasyonda güçlü antioksidan aktivite gösterdiğide belirlenmiştir (Mohammed,2016).

2.3.3. Kardiyovasküler aktivite

C. olitorius'un tohumlarından izole edilen korkorozit A-E, digitoksin ouabain benzeri Na, K-ATPaz'a karşı güçlü inhibe edici aktivite göstermiştir (Yukihiro vd., 1998).

Tohumlarından izole edilen korkorosit A ve B'nin de Digitalis benzeri etkiye sahip olduğu ayrıca oletoresit ve korkorosit'in kalp yetmezliği olan 2000 hastada çok etkili sonuçlar verdiği bulunmuştur (Leshchinskii vd., 1998).

2.3.4. Antimikrobiyal ve antifungal aktivite

Molohiya yapraklarının çeşitli ekstraktlarının *S. aureus*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *G. candidum* ve *B. cinerea*'ya karşı antimikrobiyal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, petrol eter ekstresi *E. coli*, *S. aureus* ve *Y. enterocolitica*'ya karşı etkili . Etil asetat ekstresi ise *G. candidum* ve *B. cinerea*'ya karşı etkili bulunmuştur (Pal DK vd., 2006).

K. pneumoniae, *E. coli*, *P. mirabilis*, *S. marcescens*, *A. Hydrophila*, *S. aureus* ve *S.fecalis*'e karşı *C. olitorius* etanol ekstratı, antibakteriyel etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada etkilerin doza bağımlı şekilde değiştiği tespit edilmiştir (Hayyawi vd., 2012). Yapılan bir diğer çalışmada *C. olitorius* petrol eteri ekstraktı, tüm bakterilere karşı in vitro antimikrobiyal aktivite göstermiş yaprak ekstresinin *C. albicans* a karşı yüksek oranda etkili olduğu tespit edilmiştir . Inhibe edici aktivite, *C. olitorius* yapraklarındaki kumarinlerin varlığından kaynaklanabilir (İlhan vd., 2007).

2.3.5. Antikanser aktivite

C. olitorius 'nın anti-tümör aktivitesinin incelenmesi için Li ve ark., insan hepatocellular karsinomu (HepG2) hücrelerinin büyümesi üzerinde molohiya etanol ekstresi ile bir araştırma yapılmıştır. Sonuçlar, normal karaciğer hücrelerinin yaşam kalitesini etkilemeden HepG2 hücrelerinin sayısını azalttığını göstermiştir (Li vd., 2012). Ekstraktın sitokrom salınımını artırarak etkili olabileceği düşünülmüştür.

3. YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Deneyisel çalışmamızda iki tane tür *C. olitorius* (Malvaceae) bitkisi kullandık , birincisi ; 23.07.2022 tarihinde, Bursa , Nilüfer, Görükle mahallesinden geçer sokak yol kenarından toplanmıştır, farmasötik botanik anabilim dalı Prof. Dr.Yavuz Bülent KÖSE tarafından teşhis edilmiştir ve “Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi” herbaryumunda ESSE drog No: 61 ile kayıt altına alınarak saklanmıştır. Mısır orijinli olan ise Lübnanda marketten alınan gıda amacıyla kullanılan türdür . Herbaryumda ESSE drog No: 62 ile kayıt altına alınarak saklanmıştır.



Görsel 3.1. *Corchorus olitorius* Mısır orijinli marketten



Görsel 3.2. *Corchorus olitorius* Bursadan toplanan örnek

3.2. Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

3.2.1. Kimyasal maddeler

Potasyum persülfat

Gallik asit

Sodyum karbonat

Folin Ciocalteu's Reagent

ABTS•+

DPPH•

Metanol

Hekzan

3.2.2. Cihazlar

LC-MS/MS (ABSciex, USA)

Çalkalayıcı (GFL 3015 OrbitaÇalkalayıcı)

ELISA H₁ mikropalak okuyucusu (Biotek PowerwavXS,Amerika)

Hassas terazi (Shimadzu, AEX 200G)

Liyofilizatör (Labconco, Cansas City USA)

Rotavapor (Buchi, Switzerland)

Spektrofotometre (Shimadzu Kyoto, Japonya)

Su banyosu (Nüve BM 302, Türkiye)

3.3. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

2 farklı ekstre hazırlanmıştır Bursadan toplanan ve gölgede kurutulan *C.oitorius* türünün toprak üstü kısımları ve ticari olarak satın alınan Mısırdan örneğinin toprak üstü kısımları ekstraksiyon işlemlerinde kullanılmıştır.

Etanol ile ekstraksiyon; 5'er g örnek kaba toz haline getirildikten sonra, erlenmayer içinde 24 saat 50 ml etanol ile çalkalanmıştır (ORBİTAL, çalkalayıcı). 24 saatin sonunda ekstre süzölmüş ve erlendeki bitki üzerine yeniden 50 ml etanol ilave edilmiş ve ekstraksiyon tekrarlanmıştır. Bu işlem 3 kez yapılmıştır. Birleştirilen süzöntüler'in çözücüsü 40°C ısı ile rotary evaporatörde (Görsel 3.3.) uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstre kapaklı tüplerde +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır. Bursa örneğinden %13.3 Mısır örneğinden ise %14 ekstre verimi elde edilmiştir.

%5'lik infüzyon hazırlanması; 5 g örnek üzerine 100 mL kaynar su eklenmiş ve yaklaşık 10 dk demlendikten sonra süzölmüştür. elde edilen infüzyon ağızları sıkı şekilde kapatılıp, etrafları alüminyum folyo ile sarılarak analiz esnasına ve deneylerde kullanılana kadar derin dondurucuda saklanmıştır. Bursa örneğinden %10 Mısır örneğinden ise %9 ekstre verimi elde edilmiştir.

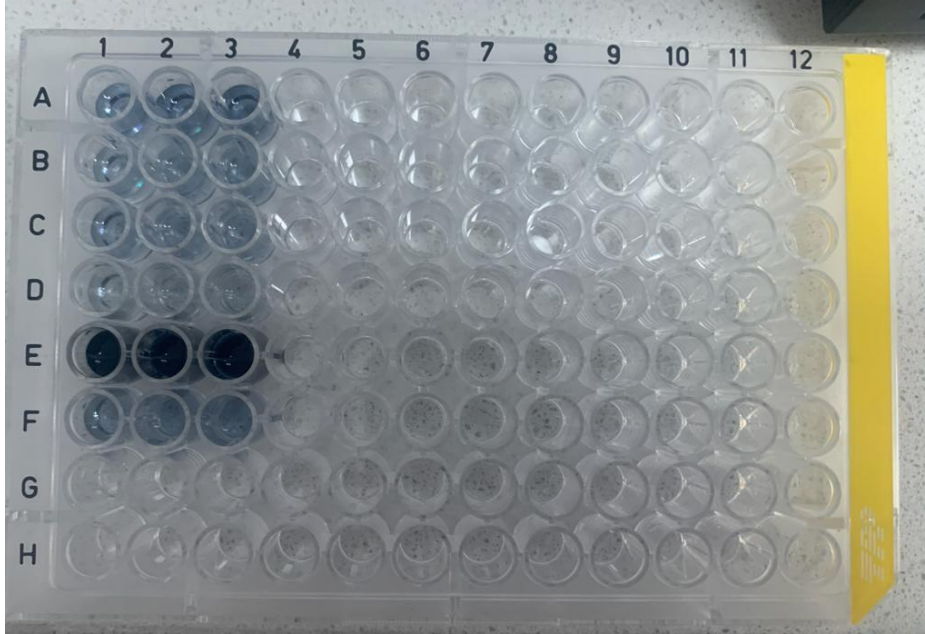


Görsel 3.3. Rotary Evaporator/Rotavapor cihazı (BUCHI, Switzerland)

3.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak toplam fenolik madde miktarı belirlenmiştir. Sonuçlar, deneyde pozitif kontrol olarak kullanılan gallik asitin kalibrasyon eğrileri üzerinden hesaplanmıştır. Bu amaçla, her ekstreden 10 mg alıp 1ml metanolde çözülerek örneklerin 10 mg/mL derişime sahip çözeltileri hazırlanmıştır. Standart olarak gallik asit kullanmıştır .Bunun için 0,1 ile 1mg/ml de farklı konsantrasyon çözeltiler hazırlanmıştır. Deney için, 20 µL numune üzerine 1560 µL distile su ve 100 µL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir.

Reaksiyonu başlatmak için 1-2 dk. beklendikten sonra 300 µL %20 sodyum karbonat (Na₂CO₃) eklenmiştir (Görsel 3.4). Kör kontrolü için ekstre içermeyen reaktif-metanol karışımı kullanılmıştır ve tüm örnekler oda sıcaklığında ve karanlık ortamda iki saat bekletilmiştir. Ardından 760 nm'de örneklerin ultraviyole spektrofotometresi kullanılarak absorbanları ölçüldü. Her örnek için bu işlemler üç kez tekrar edilmiştir.



Görsel 3.4. Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini 'nde kullanılan 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın 2 saat karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletildikten sonra ortaya çıkan görüntüsü

Folin-Ciocalteu yönteminin prensibi, fenolik maddeler ve diğer indirgeyici bileşiklerden molibdenyum'a elektron transferidir. 750-765 nm aralığında mavi

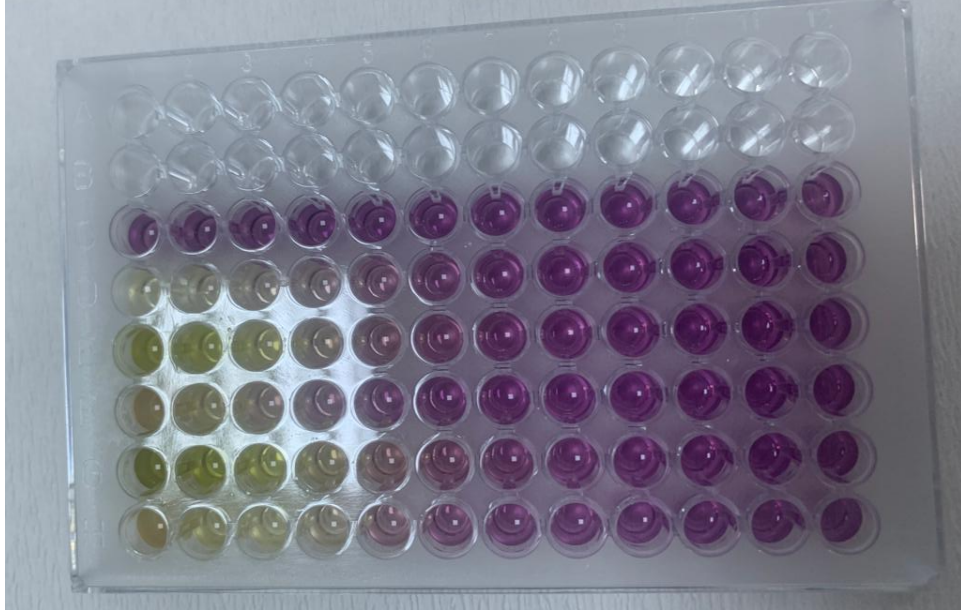
renkli kompleks oluşumu spektrofotometrik olarak belirlenir. Gallik asit genellikle standart bileşik olarak kullanılır ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE mg/g) olarak verilir. Çözeltinin renk yoğunluğu fenollerin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Akkol vd., 2008).

3.5. Antioksidan Aktivite Tayinleri

3.5.1. DPPH• (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini süpürücü etki tayini

Kararlı organik azot radikallerinden biri, olan DPPH radikalinin koyu menekşe rengi vardır ve 515 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon verir. Bu metot, ile ortamda antioksidan bir maddenin varlığında DPPH radikalinin serbest elektronunun molekül içinde hareketinden dolayı mavi mor renk, ortamda antioksidan madde varlığında paylaşılmamış bu elektron antioksidan madde tarafından redoks tepkimesine sokulacağından, metanolik DPPH çözeltisinin koyu menekşe rengi açılır ve sarımsı bir hale döner. Absorbanstaki azalma spektrofotometre yardımıyla ölçülür. Metanolik DPPH çözeltisinde daha fazla renk açılması, reaksiyon karışımının absorbanсында daha fazla düşüş anlamına gelir. Sonuç olarak, DPPH radikali menekşe renginden ne kadar fazla sarı renge dönmüşse veya menekşe rengini ne kadar fazla kaybetmişse ortamda bulunan madde o kadar güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu ve güçlü inhibisyon yaptığı düşünülür (Buyuktuncel, 2013).

Deneyin hazırlık aşamasında, 2,5 mg DPPH 25 ml metanolde çözülmüştür. Antioksidan etkinliği test etmek için 96 kuyucuklu bir mikrotitrasyon plakı kullanılmış ve ilk sütunlara, konsantrasyonlarının bilinen 200 µl metanolde (MeOH) çözülmüş örnekler konulmuştur. Çok kanallı pipet kullanılarak, kalan tüm kuyucuklara 100 µl MeOH eklenmiştir. İlk kuyucuktan 100 µl numune alındıktan sonra, sırasıyla 10 seri seyreltme işlemi uygulandı. Son kuyucuktan alınan 100 µl ise atığa atıldı. Seyretilen örnekler üzerine 100 µl DPPH çözeltisi eklendikten sonra 30 dakika boyunca karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Sonuçlar 517 nm'de elisa spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür.



Görsel 3.5. *DPPH' süpürücü etki tayininde örneklerin 96-kuyucuklu mikrodilasyon plakadaki görüntüsü*

Yüzde (%) inhibisyon değerleri ise aşağıdaki formüle göre hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar ile Sigma plotta IC_{50} (IC_{50} : Radikalın %50'sini inhibe eden konsantrasyon değerleri hesaplanmıştır.

$$\%Inh = [(A0 - A1) / A0] \times 100$$

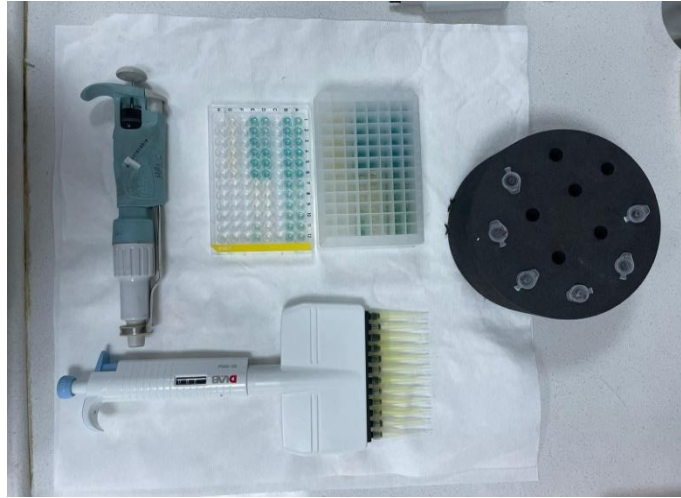
A0: kontrol absorban, A1: numune absorbanıdır.

3.5.2. $ABTS^{*+}$ (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) radikal katyonu süpürücü etki tayini

ABTS yönteminde; Normalde radikal halde bulunmayan ABTS ortama $K_2S_2O_8$ veya Mn_2O_3 gibi farklı oksidanların eklenmesi ile mavi/yeşil ($ABTS^{*+}$) radikal katyonunun oluşması sağlanır. Ortamda Antioksidon varlığında ise bu radikal katyon özelliği bozulur ve mavi yeşil renk kaybolur. Absorbans azalması spektrofotometrik olarak ölçülür. Sonuçlar troloksa eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAC) olarak verilir (Büyüktüncel, 2013).

Bu metotta 2.45 mmolar (mM) potasyum persülfat içeren 7 mM'lık ABTS^{•+} çözeltisi hazırlanır. Çözelti oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 12-16 saat süreyle radikal oluşumu için bekletilir. Hazırlanan stok radikal çözeltinin absorbans değerini 734 nm'de 0,7-0,8 olana kadar ETOH ile seyreltilir. Deney için *C.olitorius* ekstraktları ve infüzyonlarından 1 mg/ml, ve 10 mg/ml konsantrasyonlardaki çözeltileri kullanılmıştır.

1 mg/mL gallik asit ve 0.1 mg/mL gallik asit çözeltileri, pozitif kontrol olarak hazırlanmıştır. 10 ul örnek mikropalak kuyucuklarına konuldu ve 990 ul ABTS^{•+} çözeltisi üzerlerine eklenmiştir. Örnekler 30 dakika bekledikten sonra 734 nm'de absorbansı ölçülmüş. Troloksa Eşdeğer Antioksidan Kapasite standart Troloks kalibrasyon eğrisi üzerinden hesaplanmıştır.



Görsel 3.6. ABTS^{•+} radikal katyonu süpürücü etki tayininde kullanılan 96-kuyucuklu mikrodilasyon plakasının görüntüsü ve kullanılan ekipmanlar

3.6. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

3.6.1. Antikandidal Aktivite

Mikroorganizmalar: Deneyde kullanılacak mayalar -85 °C'de %50'lik steril gliserol solüsyonu içerisinde muhafaza edilmiştir. Testlerde *C. albicans*'ın iki suşu (ATCC-10231, ATCC 90028), *C. utilis* (NRRL Y-900), *C. krusei* NRRL Y-7179, *C. tropicalis*

(ATCC 750), *C. parapsilosis* (NRRL Y- 12696) kullanılmıştır. Proje önerisinde yer alana *C. glabrata* suşunda gelişme problemleri yaşandığından çalışmalara dahil edilememiştir. **Mikrodilüsyon Deneyi:** Konsantrasyonları bilinen çözeltilerindeki ekstrelerin her biri oda sıcaklığında 0,2 µm membran filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Testler “Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü”nün yayımladığı CLSI (NCCLS) M27-A2 protokollü uyarınca yapılmıştır. M27-A2 metodu patojen mayalara karşı test örneklerinin antifungal etkilerini ortaya koymaktadır. Gecelik *Candida* kültürlerinin konsantrasyonu (106 CFU/ml) steril salin solüsyonu (8.5 g/L NaCl; 0.85% saline) içinde McFarland No:0.5 bulanıklık standardına göre bulanıklık ölçme cihazında (Biosan, Latvia) ayarlanmıştır. RPMI ve mikroorganizma eklenen sütun pozitif gelişim kontrolü, son sütun sterilite kontrolü olarak kullanılmıştır. 35°C de 24 saat inkübasyon sonunda üremenin olmadığı ilk kuyucuk minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) olarak belirlenmiş, deney çift tekrarlı yapılmıştır. Ketokonazol (Sigma) standart antifungal ajan olarak kullanılmıştır (NCCLS, 2002).

3.6.2. Antibakteriyel aktivite

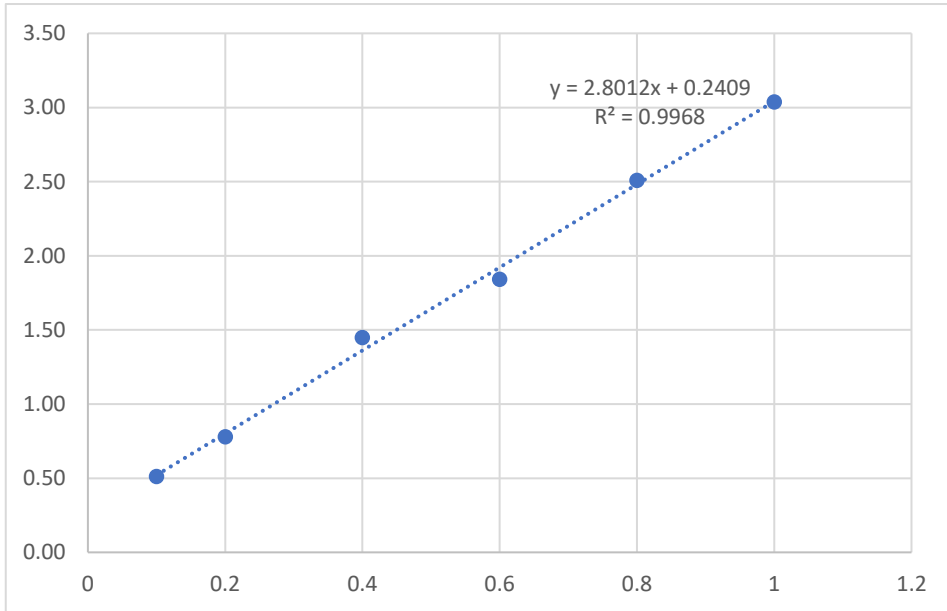
Mikroorganizmalar: *Escherichia coli* NRRL B-3008, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Serratia marcescens* NRRL B-2544, *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311), *Klebsiella pneumoniae* NCTC 9633 test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır.

Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri: Test edilecek örnekler kısmen modifiye edilmiş “Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü”nün yayımladığı CLSI (NCCLS) M7-A7 protokolü uyarınca yapılmıştır. M7-A7 protokolü aerobik olarak gelişen bakterilerin duyarlılıkları standart kloramfenikol eşliğinde test edilmiştir. Antikandidal test protokolünden farklı olarak, besi ortamı MHA ve MHB kullanılmıştır (Wayne, 2006). Deneyler çift tekrarlı yapılmıştır.

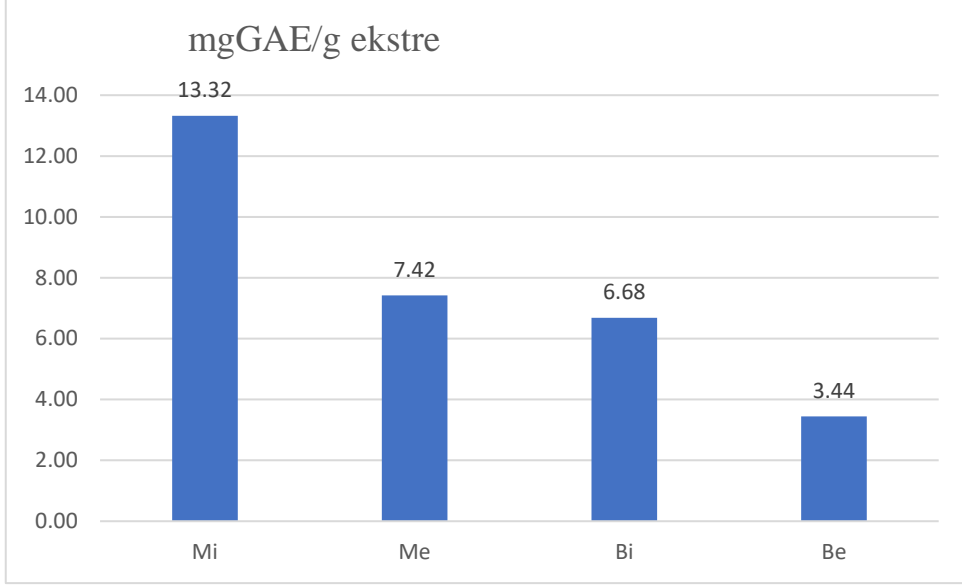
4. BULGULAR

4.1. Ekstrelerin Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Ekstraksiyon Verimleri

Gerçekleştirdiğimiz toplam fenolik madde miktar tayini deneyinin sonuçlarını değerlendirebilmek için elde edilen verilere dayanarak hesaplama ile standart gallik asitin kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Etanol ve infüzyon ekstratların toplam fenolik madde miktarları gallik asit kalibrasyon denklemine göre hesaplanmıştır. Sonuçlar şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



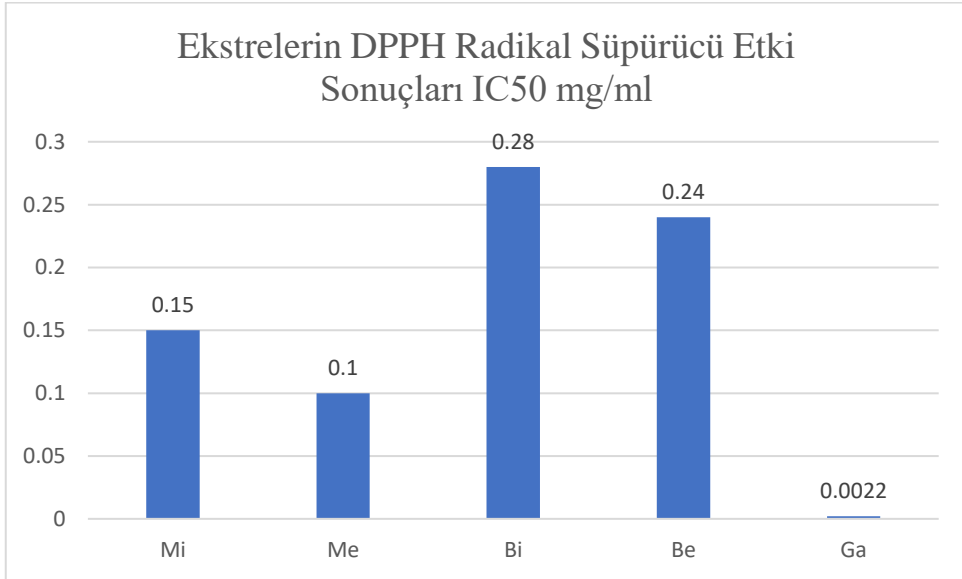
Şekil 4.1. Toplam Fenolik Madde miktarı hesaplamasında kullanılan Gallik asit Kalibrasyon denklemini



Şekil 4.2. Bitkilere ait olan etanol ve infüzyon ekstrelerin toplam fenolik madde içeriği mgGAE/g ekstre. *Mi: Mısır örneği İnfüzyon, Me: Mısır örneği etanol ekstresi, Bi: Bursa örneği İnfüzyon, Be: Bursa örneği etanol ekstresi*

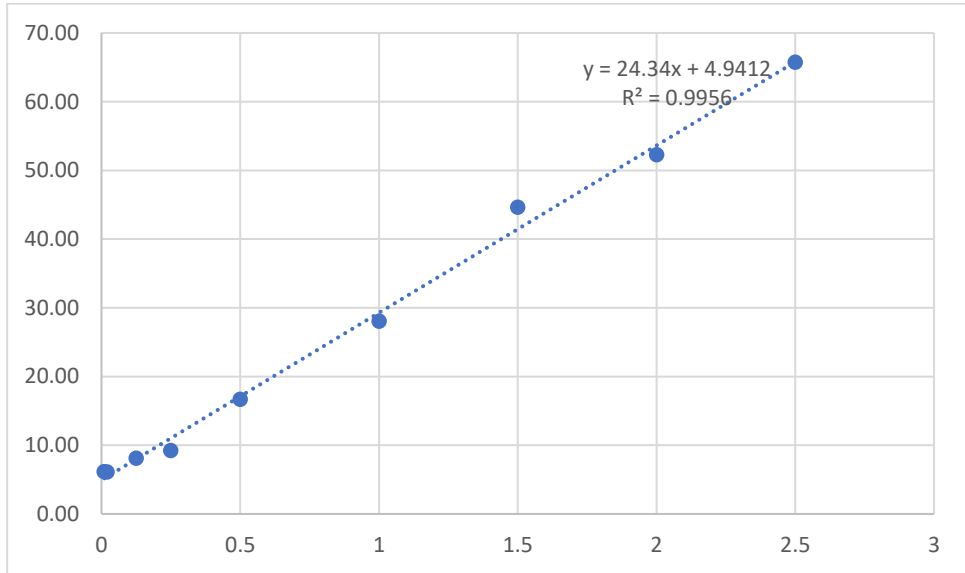
4.2. Ekstrelerin Antioksidan Aktivitesi

Gerçekleştirilen antioksidan aktivite çalışmalarının değerlendirilmesi için sonuçlar DPPH* 'ı %50 oranında inhibe eden konsantrasyon (IC₅₀) olarak hesaplanmıştır. Standart gallik asit için IC₅₀ değeri 0,0022 mg/mL olarak bulunmuştur. Ayrıntılı sonuçlar aşağıdaki grafikte gösterilmiştir.

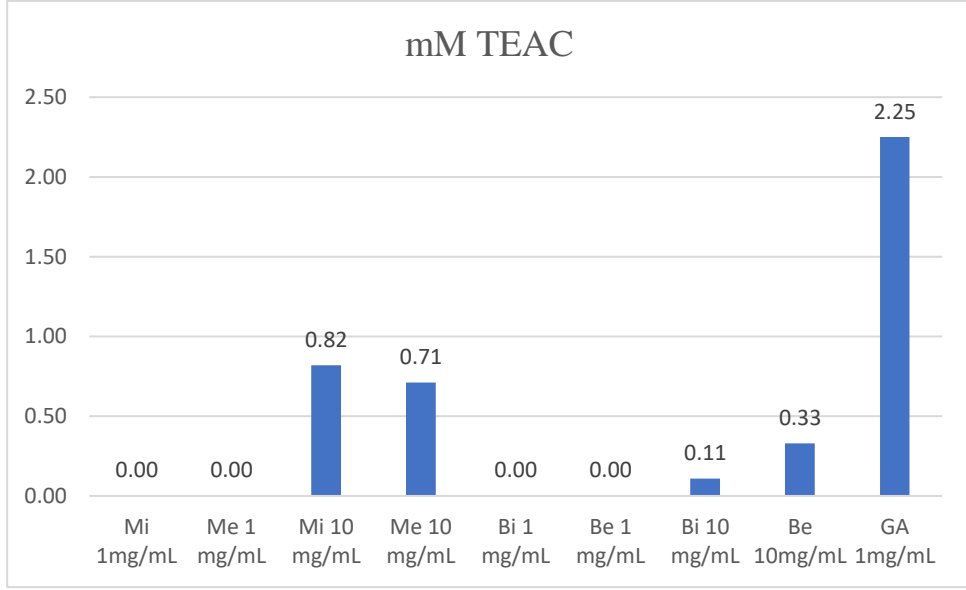


Şekil 4.3. Bitkilerin etanol ve infüzyon ekstrelerinin IC₅₀ mg/ml cinsinden sonuçları. *Mi: Mısır örneği İnfüzyon, Me: Mısır örneği etanol ekstresi, Bi: Bursa örneği İnfüzyon, Be: Bursa örneği etanol ekstresi*

Bitkilere ait metanollü ve infüzyon ekstraların Troloks' a Eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) miktarı ABTS^{•+} radikalini inhibe eden Troloks'un kalibrasyon denklemleri ile hesap edilmiştir. Deneyden önce ABTS^{•+} radikalini potasyum persülfat katısı ile distile suda çözdürülmüştür. Oluşan çözelti 16 saat oda sıcaklığında karanlık ortamda bekletilmiştir ve mavi-yeşil renkli aktif ABTS^{•+} radikalini oluşması sağlanmıştır. Yapılan bu işlemle ABTS^{•+} radikalini aktif hale getirilmiştir. Çalışma yapacağımız 96 kuyucuklu mikroparka kuyucuklarına; 10 µL numune ve 990 µL ABTS^{•+} radikalini ile doldurulmuştur. Plaka karanlık ortamda oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 734 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır. Gösterilen aktivite konsantrasyon değişiklerine bağlı olarak farklılık göstermiştir. Ayrıntılı sonuçlar aşağıdaki grafikte gösterilmiştir.



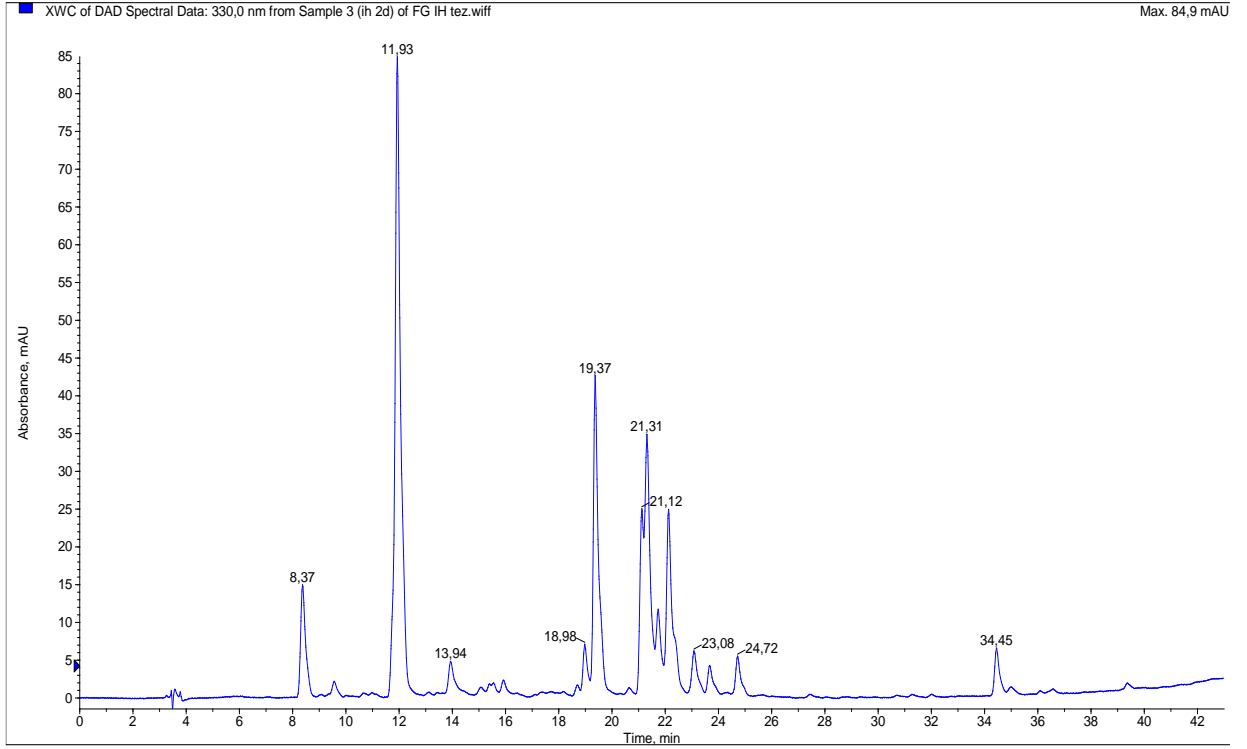
Şekil 4.4. ABTS radikalini süpürücü etki deneyinde kullanılan troloks kalibrasyon denklemleri



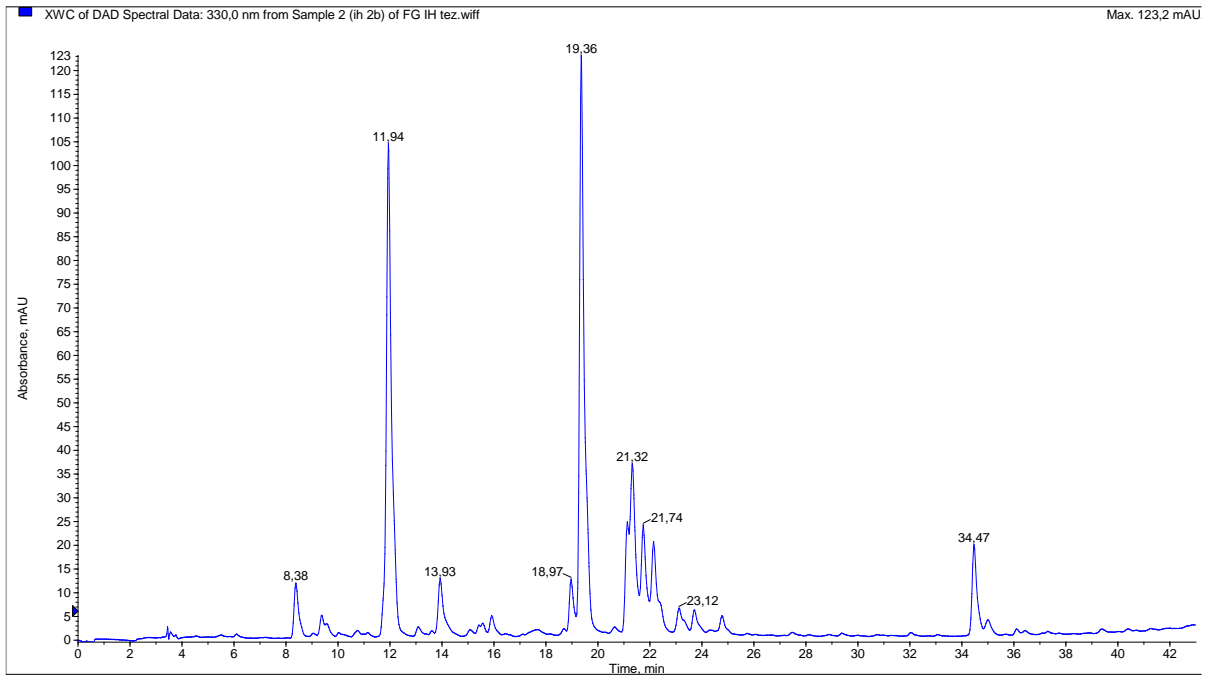
Şekil 4.5. Ekstrelerin mili molar (mM) Troloksa Eşdeğer Antioksidan Kapasiteleri (TEAC), Mi: Mısır örneği İnfüzyon, Me: Mısır örneği etanol ekstresi, Bi: Bursa örneği İnfüzyon, Be: Bursa örneği etanol ekstresi

4.3. Ekstrelerin Fenolik Profillerinin LC-MS/MS ile Belirlenmesi

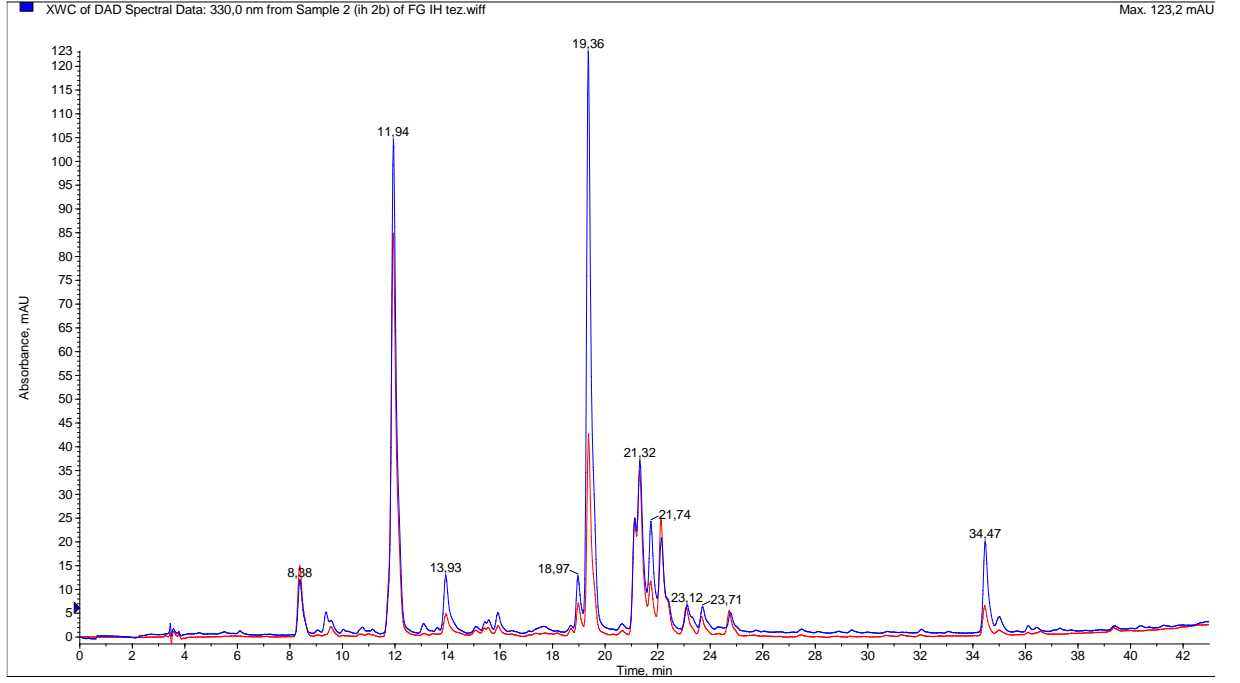
LC-MS / MS analizi, Applied Biosystems 3200 Q-Trap MS/MS dedektörüne bağlı, Shimadzu 20A HPLC sistemi ile yapılmıştır. İyonlaşma modu Elektro Sprey İyonlaşma (ESI) ile negatif modda gerçekleşti. Kromatografik ayırma için 150 × 4.6 mm, 3 µm ODS kolon kullanıldı. Analizler 40 °C ve PDA detektörü ile gerçekleşti. Mobil fazla (A) metanol: su: formik asit (10: 89: 1, v/v/v) ve (B) metanol: su: formik asit (89: 10: 1, v/v/v) olarak seçildi. B'nin konsantrasyonunu 40 dakikada %10' dan %100'e çıkarıldı. Akış 0.5 mL/ dakika olarak ayarlandı. Kütle taraması (EMS) için 100-800 amu kütle aralığı seçildi.



Şekil 4.6. Bursa menşeli bitkinin *Eatnol* ekstresine ait LC-MS/MS analiz kromatogramı



Şekil 4.7. Mısır menşeli bitkinin Etnol ekstresine ait LC-MS/MS analiz kromatogramı



Şekil 4.8. Mısır ve Bursa örneklerinin üst üste çakıştırılmış kromatogramı (mavi: Mısır), Kırmızı (Bursa)

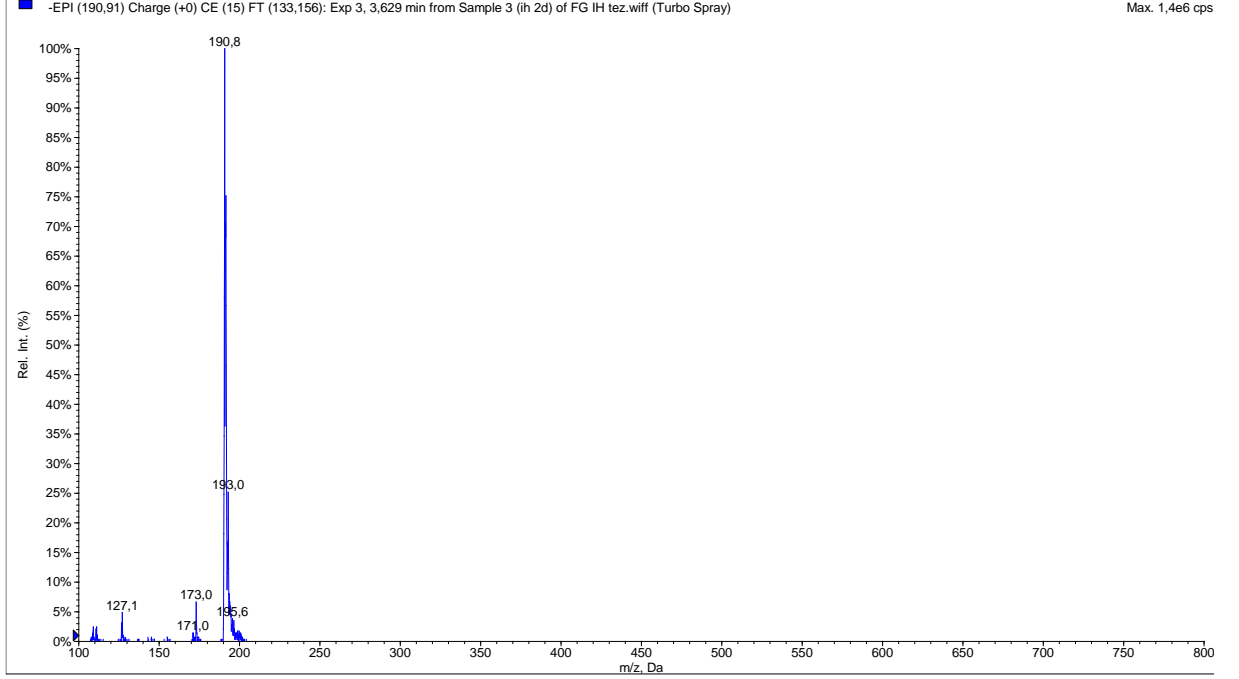
No	Rt	[M-H] ⁻	MS ²	Tanımlama	Bitki Ekstre
1	3.6	191	173, 127	Kinik asit	Me, Be
2	8.6	353	191,179, 173,135	3-Kafeoilkinik asit	Me, Be
3	9.2	153	135, 109	Protokateşik asit	Me, Be
4	9.5	339	177, 149, 133	4,7-Dihidroksikumarin	Me, Be
5	9.8	179	135	Kafeik asit	Me, Be
6	10.5	447	401,239,221, 203, 179	Bilinmeyen	Me, Be
7	11.4	315	153, 109	Protokateşik asit hekzosit	Me
8	12.0	353	191,179	5-Kafeoilkinik asit	Me, Be
9	24.9	489	447, 285, 255, 227	Luteolin/kamferol asetil glukozit	Me, Be
10	14.4	431	385, 223,205, 161,153	Rozeosit	Me, Be
11	19.1	515	353, 191, 179, 135	1,3-Dikafeoilkinik asit	Me, Be
12	21.4	463	299, 271, 255	Kersetin glukozit	Me, Be
13	21.8	515	353, 191, 179, 173	3,4-Dikafeoilkinik asit	Me, Be
14	22.3	505	299, 271, 255	Kersetin asetil glukozit	Me, Be
15	22.5	433	299	Kersetin pentozit	Be
16	23.8	447	284,255,227	Kamferol 3-O glukozit	Be, Me
17	27.6	301	179,151	Kersetin	Me, Be
18	31.9	327	233, 229, 211, 171	9,12,13-Trihidroksioktadeka-10,15-dienoik asit	Me, Be

Tablo 4.1. Etanol ekstrelerine ait LC-MS/MS analiz sonucu

Ekstrelerde toplam 18 madde tespit edilmiştir. Siklokarboksilik asit yapıda kinik asit (1 numaralı madde) ve dihidroksi benzoik asit yapıda protokateşik asit (3 numaralı madde) ve glikozit hali protokateşik asit hekzosit (6 numaralı madde) 5 tane fenilpropanoit yapıda madde belirlenmiştir; Kafeik asit (5 numaralı madde), 3-Kafeoilkinik asit (2 numaralı madde), 5-Kafeoilkinik asit (8 numaralı madde), 1,3-Dikafeoilkinik asit (11 numaralı madde), 3,4-Dikafeoilkinik asit (13 numaralı madde). 6 tanede flavonoid yapıda madde tespit edilmiştir; Luteolin/Kamferol asetil glukozit (9 numaralı madde), Kersetin glukozit (12 numaralı madde), Kersetin asetilglukozit (14 numaralı madde), Kersetin pentozit (15 numaralı madde), Astragallin (16 numaralı madde), Kersetin (17 numaralı madde). Ekstrelerde bir yağ asidi türevidir: 9,12,13-Trihidroksioktadeka-10,15-dienoik asit (18 numaralı madde).

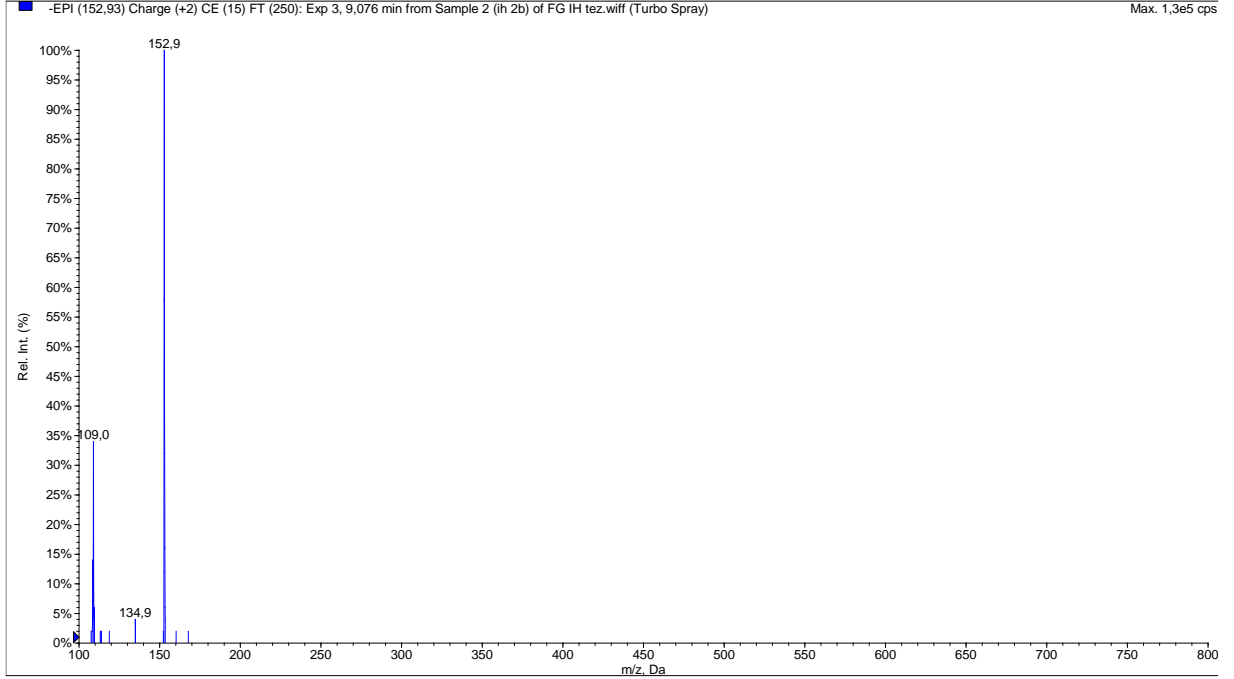
Kolonu 3.6 dakikada terk eden 1 numaralı madde üzerinde yapılan kütle spektrumu incelendiğinde moleküler iyon pikinin m/z 191 [M-H]⁻ olduğu ve sonraki parçalanmalarında bir molekül su çıkışı ile m/z 173 [M-H]⁻ ve yapıda bulunan karboksilik asit kopması ile CO₂ çıkışı (-44amu) ile m/z 127 [M-H]⁻ iyonları gözlemlenmiştir düşük

UV absoransı yapıda konjuge çifte bağlar bulunmadığını göstermektedir yapılan literatür taramalarında ilgili spektrumun kinik asit olduğu belirlenmiştir (Clifford, Knight ve Kuhnert, 2005).



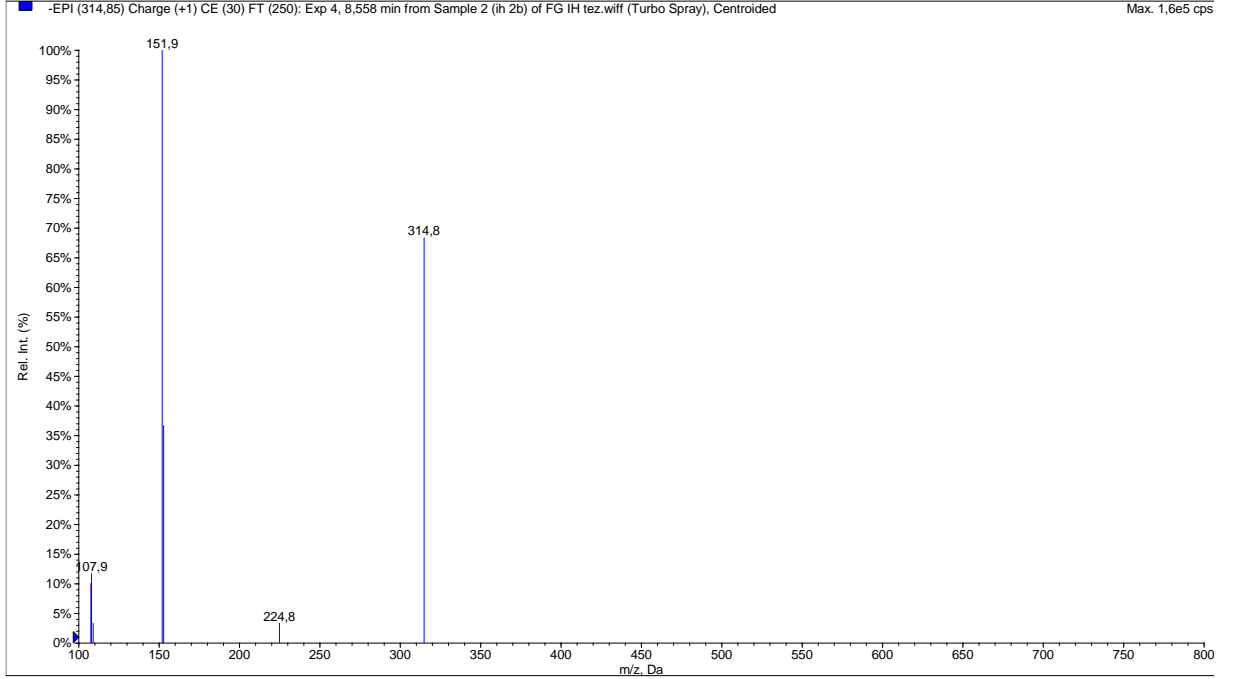
Şekil 4.9. Kinik asit kütle spektrumu

3 numaralı madde kolunu 9.2 dakikada terk etmiş ve m/z 153 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki ile kendini göstermiştir. Kütle spektrumunu diğer parçalanmaları incelendiğinde bir molekül su çıkışıyla (-18 amu) m/z 135 $[M-H]^-$ ve ardından CO_2 çıkışıyla (-44 amu) m/z 109 $[M-H]^-$ fragmentlerini vermiştir. Bu parçalanmalar protokateşik asit için karakteristik parçalanmalar (Köse ve İşcan, 2016; Sarikurkcu ve Locatelli, 2020) olup daha önce *Corchorus olitorius* türünde varlığı bilinmektedir (Komili ve Söyler, 2022) .



Şekil 4.10. Protokateşik asit kütle spektrumu

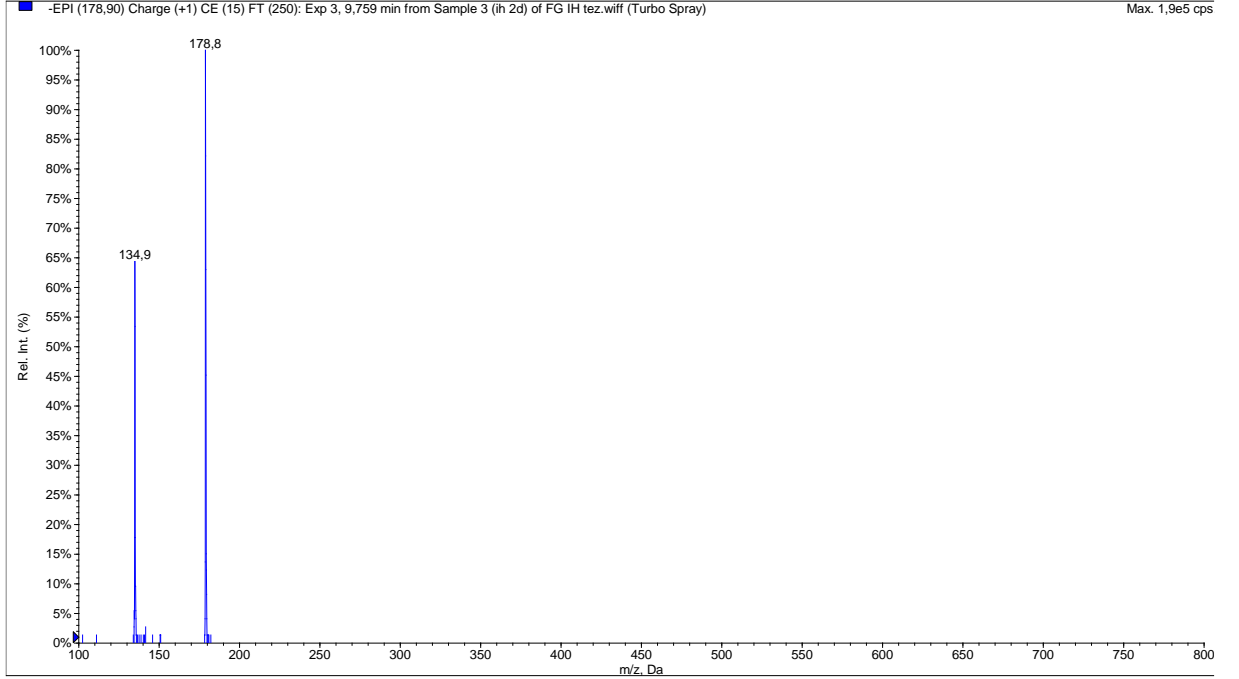
Kolonu 11.4 dakikada terk eden 7 numaralı madde ise Protokateşik asit ile aynı parçalanmaları göstermiş fakat molekül ağırlığı m/z 315 $[M-H]^-$ olarak tespit edilmiştir. Maddenin bir sonraki parçalanmasında m/z 153 fragmentinin görülmesi yapıdan -162 amu'luk bir parçanın koptuğunu göstermektedir. Kopan parçanın glukoz olduğu -90 amu kayıpla spektrumda oluşan m/z 225 $[M-H]^-$ ile doğrulanmaktadır bu parçalanma glukozun glikozitik bağ kopmadan önce, $^{0,3}X_0$ parçalanması olduğu düşünülmektedir, (Ferrerres,Andrade, 2008, Ferreres,Gil-Izquierdo, 2007, Ferreres,Llorach andGil-Izquierdo, 2004) m/z 109 parçalanması ise protokateşik asitede görülen karboksilik asit parçalanmasına ait -44 amu'luk CO_2 çıkışıya ilgilidir. Bu hali ile madde protokateşik asit heksozit olarak adlandırılmıştır kütle spektrumu literatür verileri ile uyumludur (Cádiz-Gurrea,Fernández-Arroyo, 2013).



Şekil 4.11.Protokateşik asit heksozit kütle spektrumu

Fenilpropanoit türevleri

Kolonu 9.8. Dakikada terk eden m/z 179 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikli 5 numaralı madde kütle spektrumu incelendiğinde yapıdan CO_2 çıkışıyla m/z 135 fragmentini verdiği görülmüştür bu madde kafeik asit karakteristik parçalanmalarına uymaktadır (Clifford ve Johnston, 2003a) ve kafeik asit olarak tanımlanmıştır.

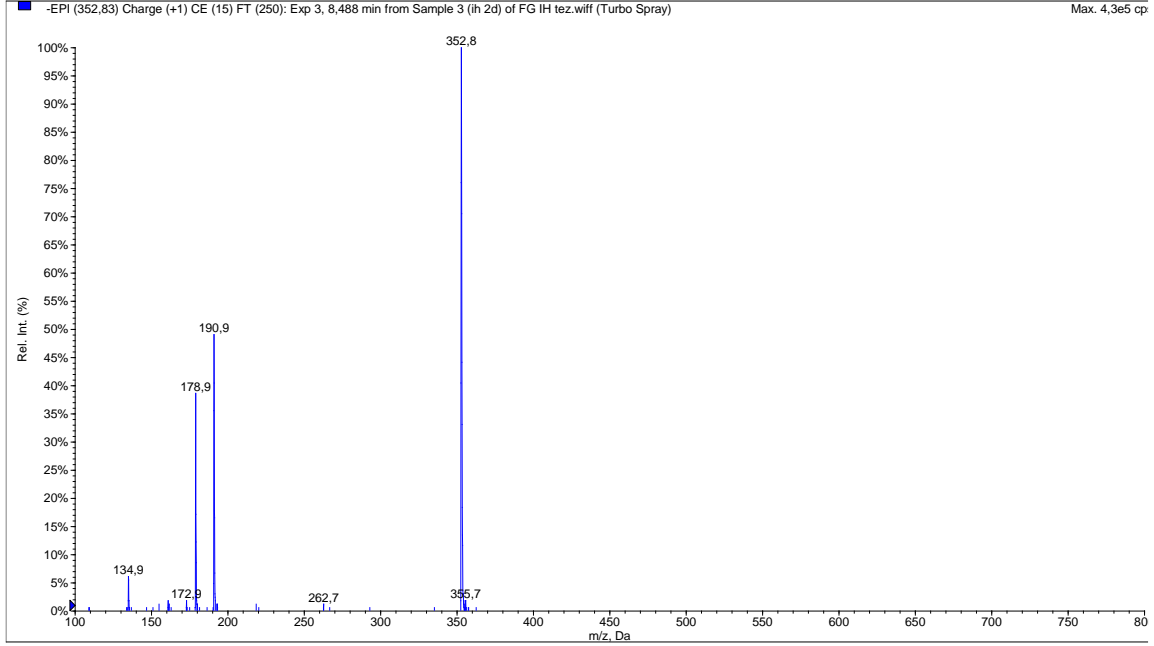


Şekil 4.12. Kafeik asit kütle spektrumu

Ekstrelerde kafeik asit (2 numaralı madde) ve kinik asit (1 numaralı madde) esterleşmeleri olarak bilinen klorojenik asitlere de rastlanmıştır. Clifford ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda kafeik asit ve kinik asit esterleşmelerinin kütle spektrumları ile ilgili ayrıntılı bilgiler verilmektedir. Bu esterleşme kinik asitler üzerinde bulunan 3, 4 veya 5 numaralı karbondaki OH grupları üzerinden gerçekleşmekte, ve molekül ağırlığı m/z 353 $[M-H]^-$ olarak görülmektedir. Klorojenik asit türevleri birbirlerinden spektrumda ki temel pikler üzerinden ana gruplara ayırmaktadır buna göre eğer temel pik m/z 191 olarak görülürse esterleşme 1, 3 veya 5 numaralı OH üzerinden gerçekleşmektedir. Temel pik m/z 173 $[M-H]^-$ olarak görülürse esterleşmenin 4 numaralı madde üzerinden olduğu anlaşılır. 3 ve 5 kafeoilkinik asitler ise birbirlerinden m/z 179 $[M-H]^-$ iyonu bağlı yoğunluğuna göre ayrılmaktadırlar bu iyon 3-kafeoilkinik asitlerde daha çok iken 5-kafeoil kinik asitlerde çok az belirgindir (Clifford, Knight ve Kuhnert, 2005b).

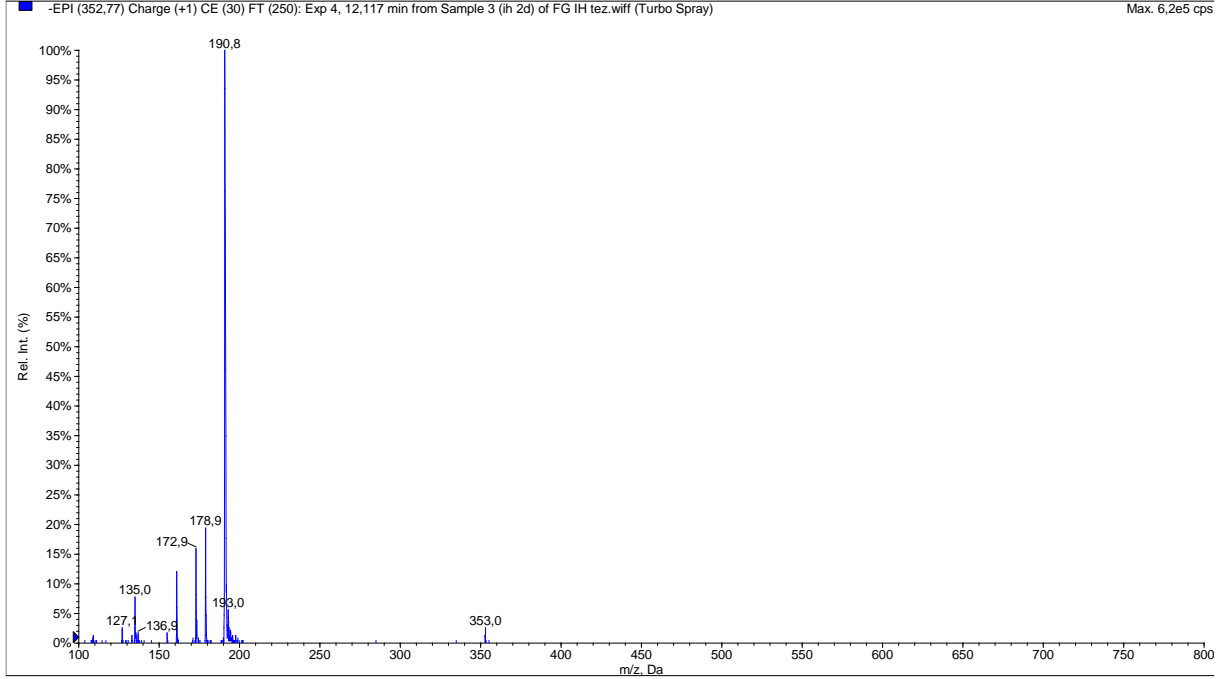
2 numaralı madde üzerinde yapılan incelemelerde maddenin moleküler iyon pikinin m/z 353 ve temel pikinin 191 olduğu tespit edilmiştir. Yapıda m/z 179 iyonuda bağlı yoğunluğu yüksek olarak belirlenmiştir bu hali ile yapının m/z 191 iyonunun gösterdiği

bir kinik asit ve m/z 179 iyonunun gösterdiği bir kafeik asit birleşmesi ile oluşan kafeoilkinik asit yapısında olduğu anlaşılmıştır. Yukarıdaki bilgiler dikkate alındığında 2 numaralı maddenin 3-kafeoilkinik asit olduğu anlaşılmıştır. Bu madde daha önce *Corchorus oleriosus* tanımlanmıştır ve literatür verileri ile uyumludur (Becer ve Soykut, 2020; Clifford ve Johnston, 2003b; Clifford, Knight ve Kuhnert, 2005b).



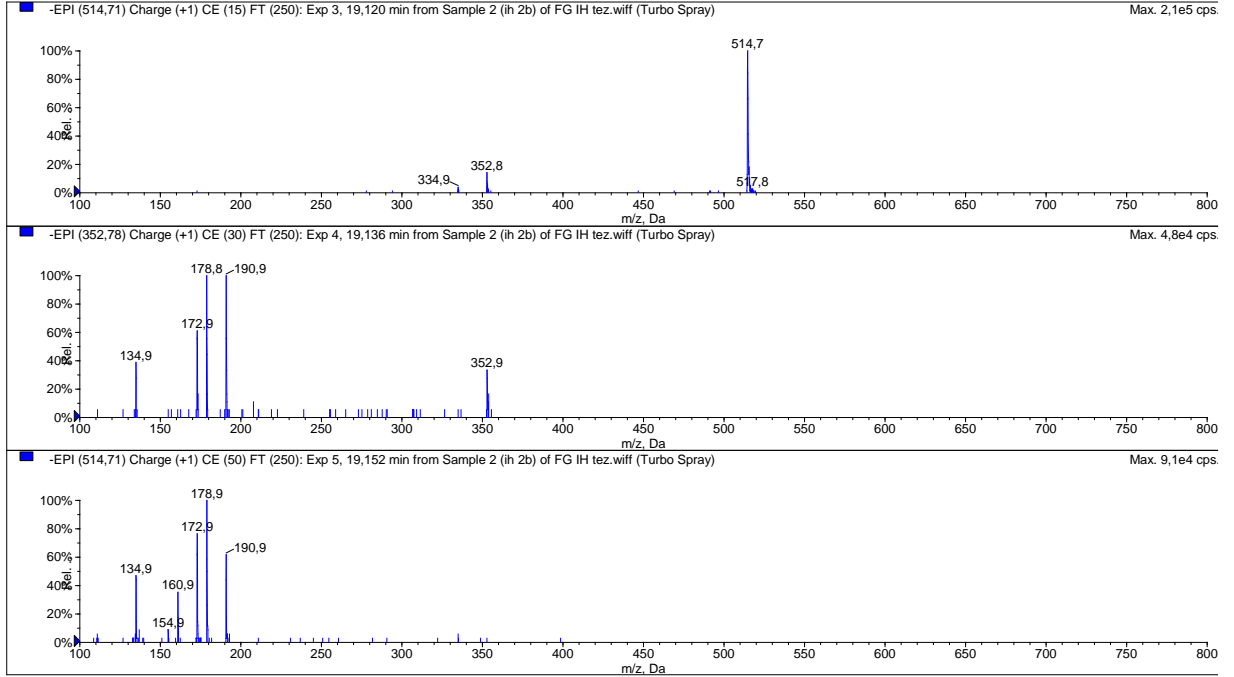
Şekil 4.13.3-Kafeoilkinik asit kütle spektrumu

8 numaralı madde üzerinde yapılan incelemelerde maddenin moleküler iyon pikinin m/z 353 $[M-H]^-$ ve temel pikinin 191 olduğu tespit edilmiştir. Yapıda m/z 179 iyonunda bağlı yoğunluğu düşük belirlenmiştir bu hali ile yapının m/z 191 iyonunun gösterdiği bir kinik asit ve m/z 179 iyonunun gösterdiği bir kafeik asit birleşmesi ile oluşan kafeoilkinik asit yapısında bir madde olduğu anlaşılmıştır. Maddenin Spektrumu 2 numaralı maddenin (3-kafeoilkinik asit) spektrumuna benzer fakat m/z 179 iyonu ile tutunma zamanı ile 2 numaralı maddeden ayrıldığı görülmektedir. Tutunma zamanı literatür bilgileri dikkate alındığında 8 numaralı madde 5-Kafeoilkinik asit olarak tanımlanmıştır (Clifford, Knight ve Kuhnert, 2005a; Sun ve Li, 2013).



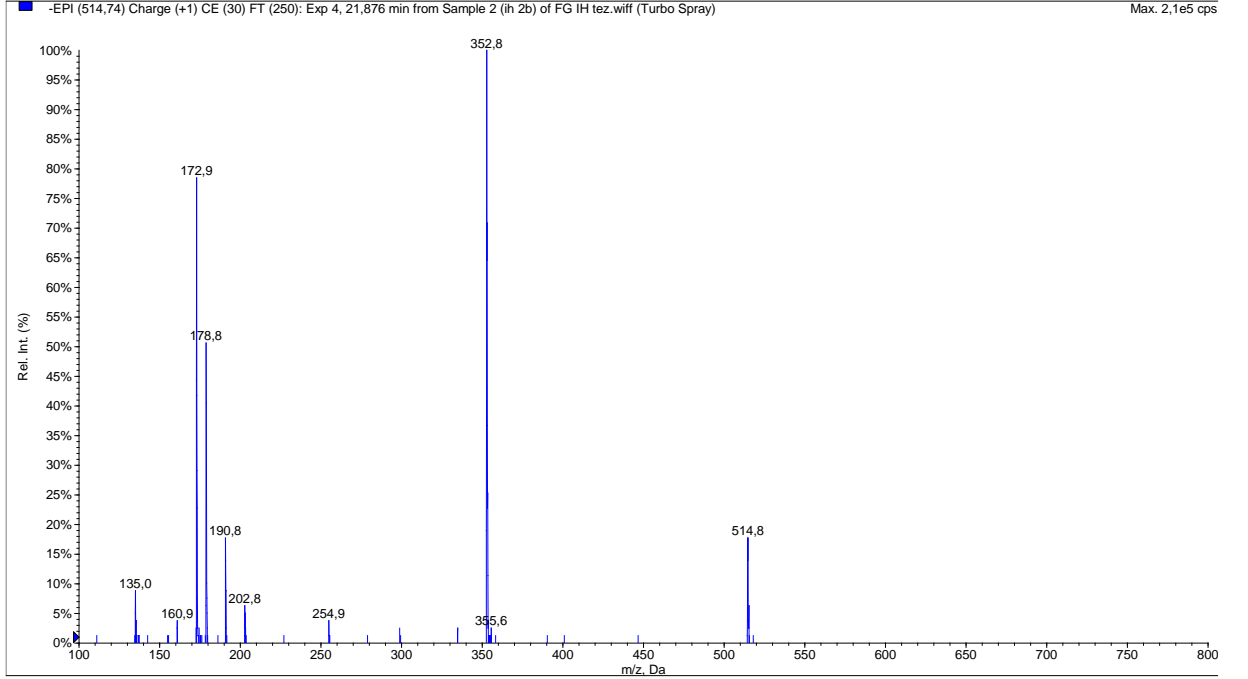
Şekil 4.14. 5-Kafeoilkinik asit kütle spektrumu

m/z 515 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikli 11 numaralı maddenin parçalanmalarında m/z 353 iyonunu görülmektedir. Temel pik olarak m/z 191 ve sonraki parçalanmalarında da m/z 179 ve m/z 173 iyonlarını spektrumda belirgin. m/z 353 ve sonraki parçalanmalar 3-kafeoil kinik asite aittir. 3-kafeoil kinik asit ve moleküler iyon piki arasındaki 162amu luk fark glukoz veya kafeik asit kaynaklı olabilir m/z 179 ve 135 iyonları ve bunların bağıl yoğunluğu farkın kafeik asit kopmasından kaynaklandığını özellikle m/z 135 iyonunun bulunması yapıda Karboksilik asit varlığını gösterdiği için -162 amu'luk farkın bir şekerden değil kafeik asitten geldiği anlaşılmıştır. 11 numaralı maddenin kütle spektrumu ve m/z 179 iyonu bağıl yoğunluğu iki numaralı madde ile benzerlik taşımaktadır. Bu durumda molekülün 2 numaralı maddenin kafeik asit esteri olduğu yani dikafeoilkinik asit olduğu anlaşılmıştır. Net belirlenmesinde diğer iyonlardan faydalanabilir bu konuda yapılan ayrıntılı literatür çalışmaları m/z 179 iyonunun yüksek oranda bulunması yapının 1,3-Dikafeoilkinik asit olduğunu belirtmektedir (Clifford, Knight ve Kuhnert, 2005a). Bu bilgiler yardımıyla molekül 1,3-Dikafeoilkinik asit olarak tanımlanmıştır. 1,3-Dikafeoilkinik asit daha önce *C. olitorius*'da tanımlanmıştır (Becer ve Soykut, 2020).



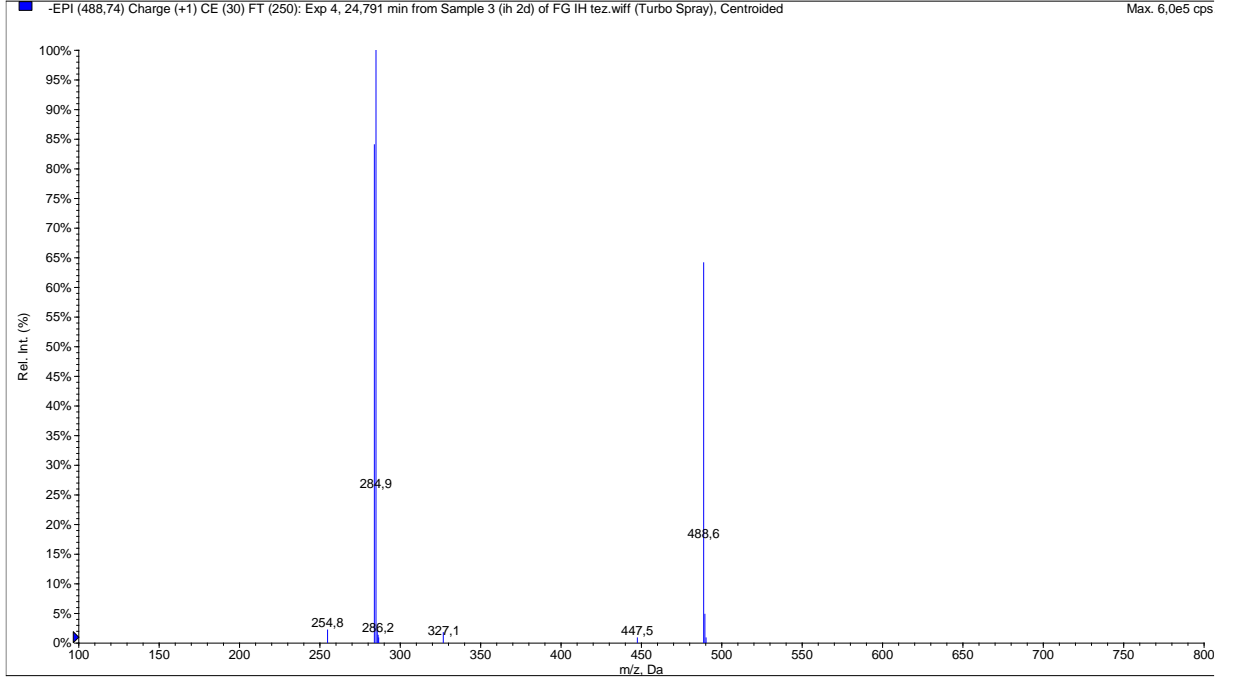
Şekil 4.15.1,3-Dikafeoilkinik asit kütle spektrumu

13 numaralı madde de 11 numaralı maddede olduğu gibi m/z 515 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki ve m/z 353 parçalanması göstermiştir. Temel pik olarak m/z 173 ve sonraki parçalanmalarında da m/z 191 ve 179 iyonlarını spektrumda belirgindir. m/z 353 ve sonraki parçalanmalar temel pik olarak görülen m/z 173 iyonundan dolayı 4-kafeoil kinik asite ait olmalıdır çünkü bu iyonun baskın görülmesi ancak kinik asitin 4 numaralı Hidroksili üzerinden bir kafeik asit bağlanması varsa mümkün olmaktadır (Clifford, Knight ve Kuhnert, 2005b). 4-kafeoil kinik asit ve moleküler iyon piki arasındaki 162amu luk fark glukoz veya kafeik asit kaynaklı olabilir 11 numaralı madde de açıklandığı gibi bu farkın bir heksoz değil bir kafeik asit kopması olduğu görülmektedir. Bu durumda spektrumu incelenen maddenin dikafeoil kinik asit olduğu anlaşılmıştır. Yapıda baskın m/z 179 iyonu diğer kafeik asit esterleşmesinin 3 numaralı C üzerinden olduğunu göstermektedir Bu bilgiler yardımıyla molekül 3,4-Dikafeoilkinik asit olarak tanımlanmıştır (Clifford, Knight ve Kuhnert, 2005).



Şekil 4.16.3,4-Dikafeoil kinik asit kütle spektrumu

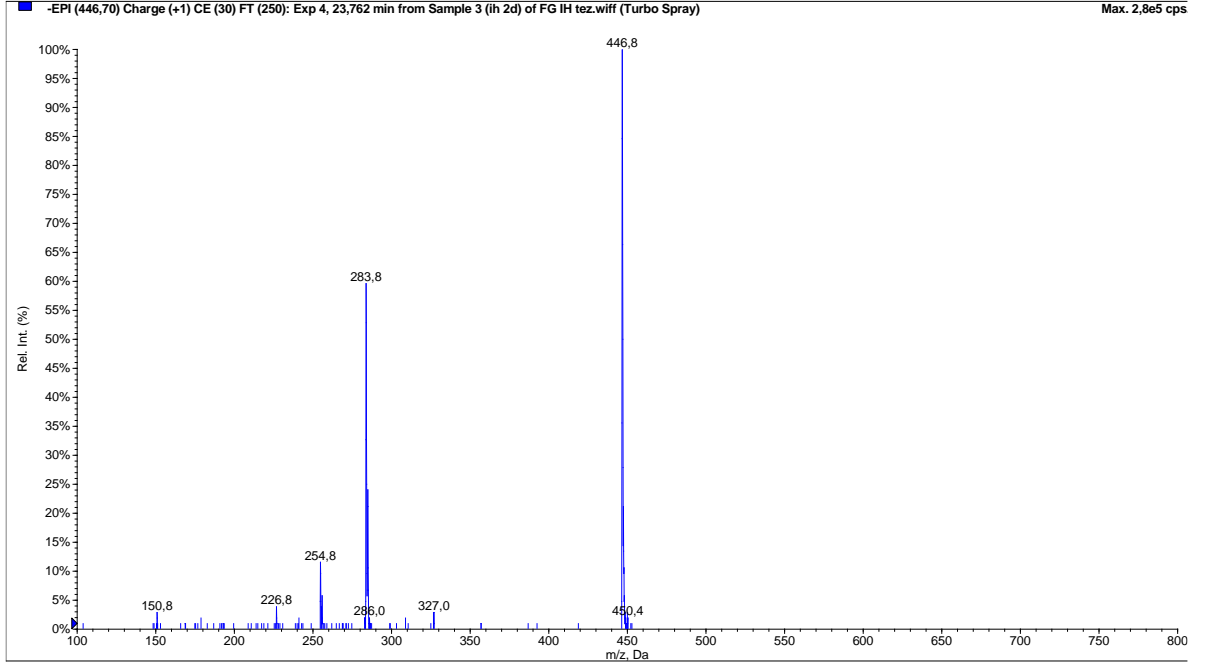
24,9 dakikada kolonu terk eden molekül ağırlığı m/z 489 $[M-H]^-$ ve temel piki m/z 285 olan molekül üzerinde yapılan incelemelerde moleküler iyon piki ve temel pik arasında görülen 204 amuluk fark glukoz ve asetil grubundan kaynaklanıyor olmalıdır (162+42) bu halde kopan parça asetil glukozit olmalıdır Temel pik olarak görülen m/z 285 ise luteolin veya kamferoldan biri olabilir Kütle spektrometrisi ile bu ikisinin ayrımı mümkün olmadığından 9 numaralı madde luteolin/kamferol asetilglukozit olarak tanımlanmıştır. Spektrum verileri daha önce *Corchorus* 'ta tespit edildiğini ve benzer parçalanmalar verdiğini göstermektedir (Becer ve Soykut, 2020).



Şekil 4.17 . Luteolin asetil glukozit kütle spektrumu

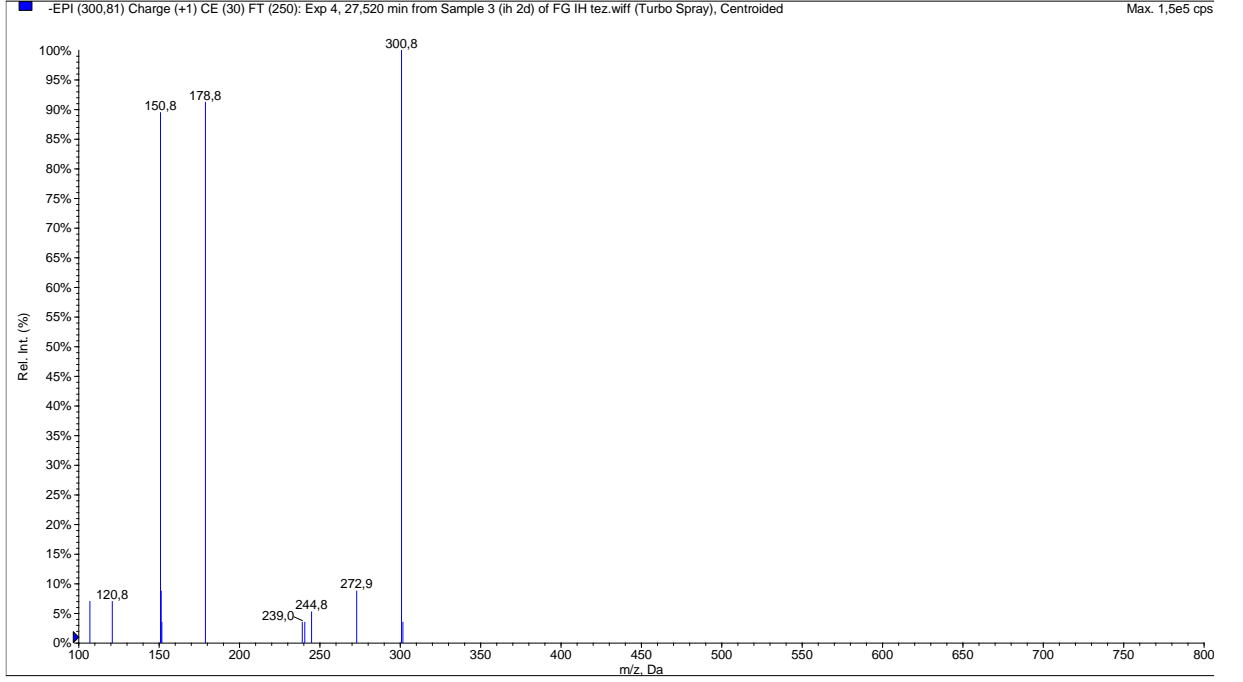
m/z 447 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikli 16 numaralı madde üzerinde yapılan incelemelerde maddenin ilk kaybının 163 amu olduğu ve bu parçalanma ile m/z 284 iyonunu verdiği tespit edilmiştir. Genellikle glukoz kopmaları 162 amuluk kopmalar şeklinde aglikon iyonlarının (Aglikon-H) şeklinde olmaktadır (aglikon ve glikon bağlanmasının, aglikonun 7 nolu C'nuna bağlı OH lar üzerinden gerçekleştiği durumlarda). Bağlanma 3nolu C üzerindeki OH lar üzerinden olursa kopmalar -163 şeklinde olmaktadır ve aglikon radikal iyonu (Aglikon-H) $^-$ oluşmaktadır. Bu durum özellikle aglikonun kersetin ve kamferol olduğu maddelerde daha belirgin görülmektedir (March ve Lewars, 2006). Spektrum incelendiğinde moleküler iyon pikinden -163amu kopma ile oluşan m/z 284 iyonu, aglikon olarak maddenin kamferol taşıdığına işaret etmiştir. Astragalın (Kamferol 3 glukozit) daha önce *Corchorus olitorius* türünde tanımlanmış bir flavonoiddir (Riaz ve Rasul, 2018). spektrumu incelendiğinde CH_2O kopmasıyla m/z 255 iyonunu, CO kopması ile de m/z 227 iyonunu oluşturduğu görülmüştür. m/z 151 iyonu yapının flavonoid türevi olduğunu destekleyen bir parçalanma iyonu olarak yapının flavonoid 3 glukozit türevi olduğunu desteklemiştir. 16 numaralı madde kütle spektrumu ile literatür

literatürde astragalin için belirtilen kütle spektrumu verileri eşleşmektedir (Engels ve Gräter, 2012; Francescato ve Debenedetti, 2013; Tao ve Chen, 2013).



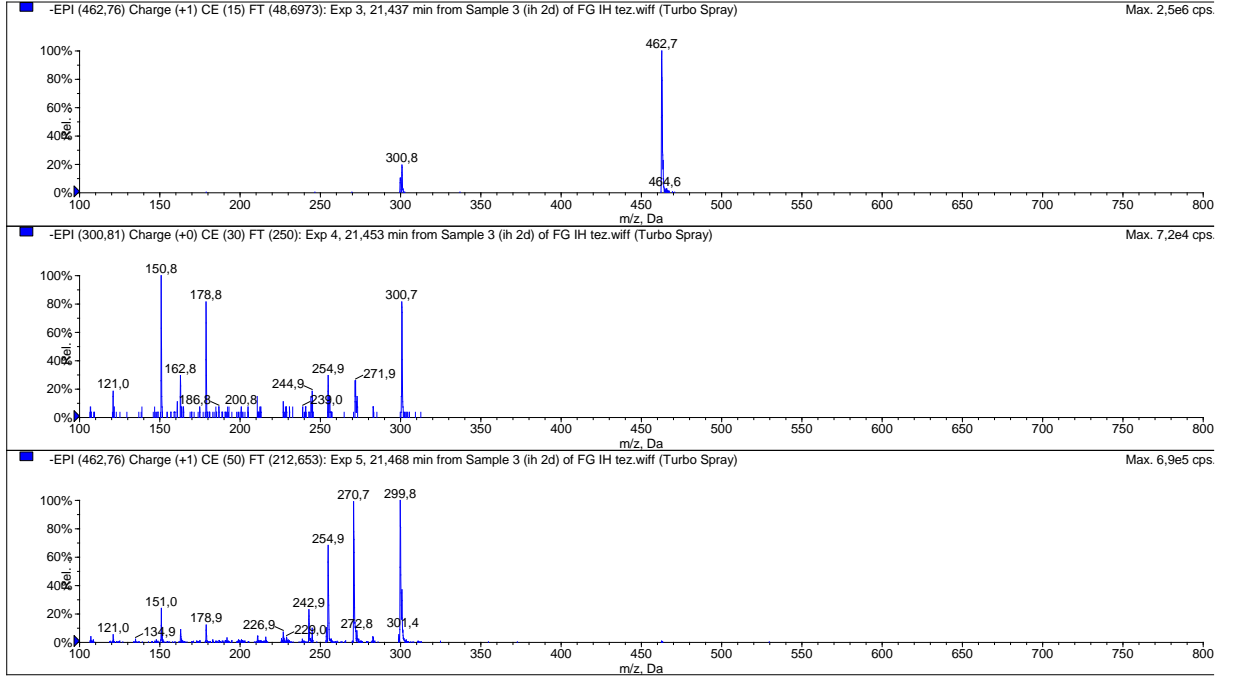
Şekil 4.18. Astragalin kütle spektrumu

27.5 dakika da kolondan çıkan m/z 301 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki ne sahip 17 numaralı maddenin parçalanmaları m/z 273, Kersetinde C halkasının $^{1,4}B^-$ parçalanması ile m/z 179 $^{1,3}A^-$ parçalanmasıyla m/z 151 iyonları görülmüştür. Bu parçalanmalar kersetin için karakteristiktir (Taamalli ve Arraez-Roman, 2012).



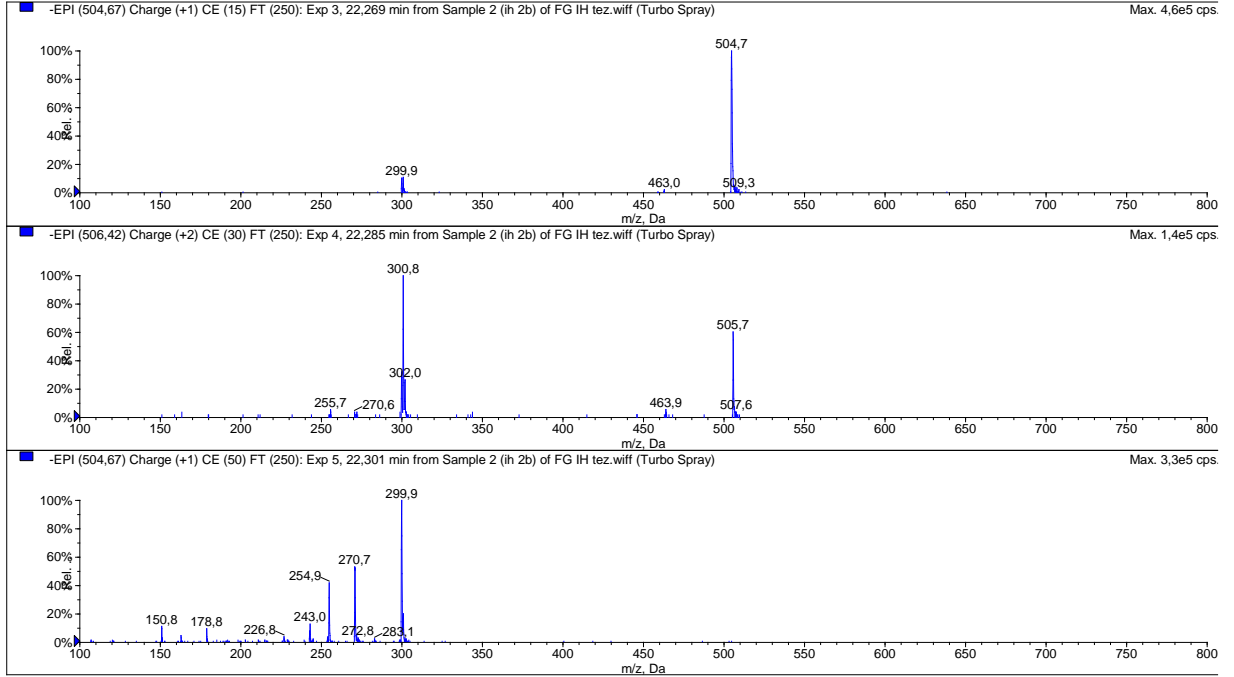
Şekil 4.19. Kersetin kütle spektrumu

21.4 dakikada kolonu terk eden m/z 463 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikli madde temel pik olarak kersetin aglikonu m/z 301 ve kersetin ve moleküler iyon piki arasındaki 162 amu luk fark ($[M-H]-162$) bir heksoz kopması olarak tanımlandığından 12 numaralı madde kersetin glukozit olarak tanımlanmıştır.



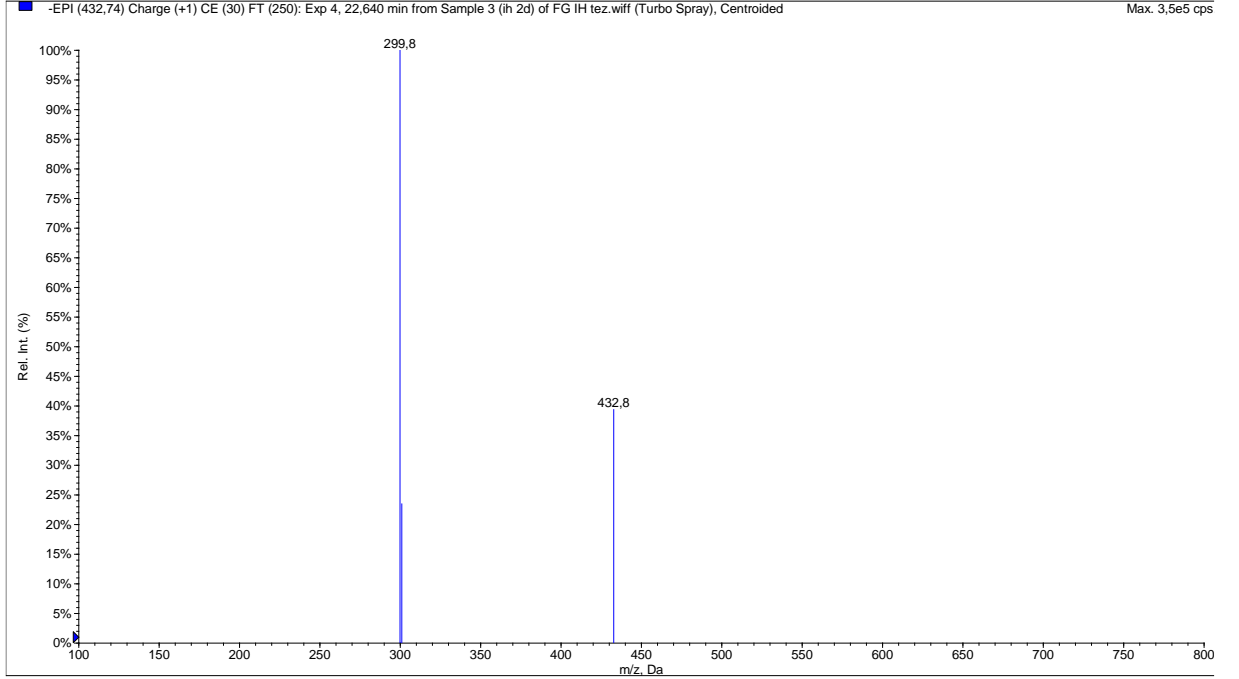
Şekil 4.20. Kersetin glukozit kütle spektrumu

22.3 dakikada kolonu terk eden m/z 505 $[M-H]^-$ molekül ağırlıklı 14 numaralı madde kersetin glukozitden 42amu fazla moleküler iyon piki ve kersetin glukozit ile benzer kütle spektrumları gösterdiği için bu madde kersetin asetilglukozit olarak tanımlanmıştır. Asetil kopması m/z 463 iyonu ile $[(M-H-42)]^-$ spektrumda görülmektedir.



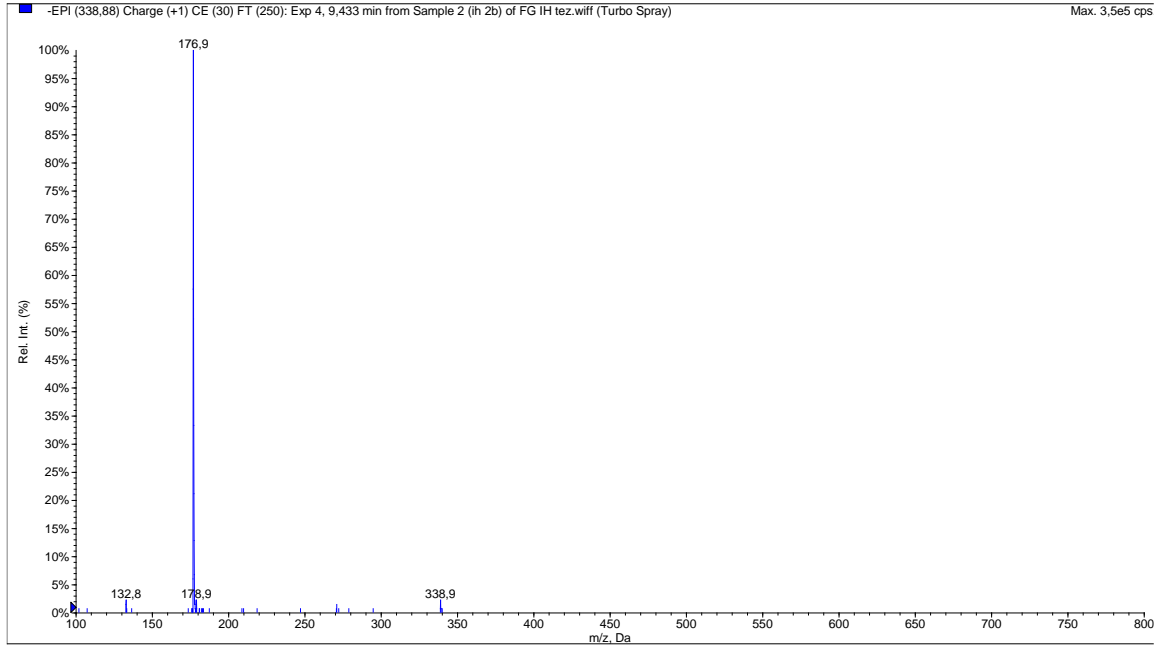
Şekil 4.21. Kersetin asetil glukozit kütle spektrumu

15 numaralı madde m/z 433[M-H]⁻ moleküler iyon piki ile ekstrelerde belirlendi; bu madde kersetinden 132 amu (büyük olasılıkla bir pentoz şekeri) daha yüksek molekül ağırlığına sahip olduğu ve ekstrelerde ağılık olarak kersetin baskın olduğundan 15 numaralı madde kersetin pentozit olarak adlandırılmıştır. Kütle spektrumu ekstre içindeki madde miktarının düşük olması sebebiyle ayrıntılı spektrum verileri elde edilememiştir ağılık olduğu düşünülen kersetin ayrıntılı şekilde parçalanamamıştır. Diğer kersetin türevlerinde olduğu gibi kersetin ağılık piki yanında bunu onaylayacak diğer halka parçalanmalarını bu spektrum üzerinde tespit edemedik. Fakat biyosentetik olarak düşünüldüğünde 15 numaralı maddenin kersetin pentozit olması yüksek ihtimalli görülmektedir.



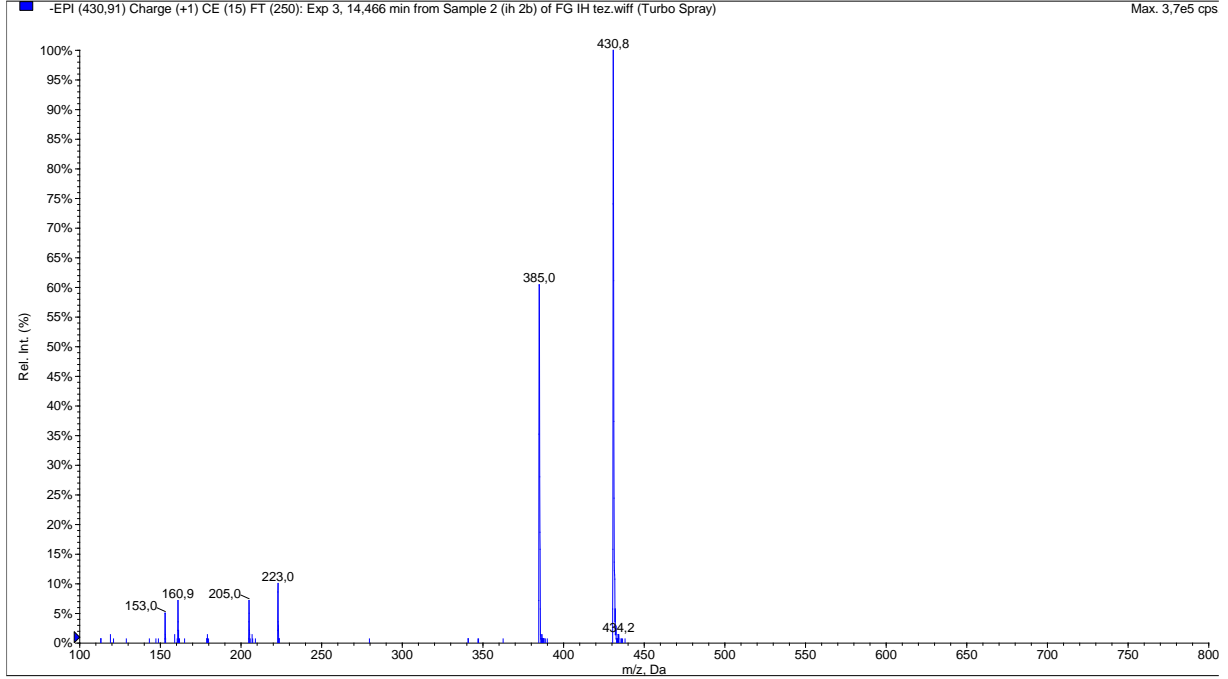
Şekil 4.22. Kersetin pentozit kütle spektrumu

Kolonu 9.5 dakikada terk eden m/z 339 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikli 4 numaralı madde maddenin temel iyon pikini m/z 177 oluşturmaktadır. Moleküler iyon piki ve m/z 177 temel pik arasındaki 162 amu'luk fark bir şeker kopmasını göstermektedir. Temel pik'in daha sonraki parçalanmasında m/z 133 iyonu, Temel pikten bir CO_2 çıkışını göstermektedir. Yapılan literatür taramalarında kütle spektrumu eskulin 7,8-Dihydroxycoumarin benzer bulunmuştur (Sánchez-Rabaneda ve Jáuregui, 2003; Santos ve Villaverde, 2013). Bu aşamada *Corchorus* türlerinde önceden tanımlaması yapılan dihidroksi kumarinlerin varlığı araştırılmış ve 4,7-dihidroksikoumarin glukozit'in *Corchorus olitorius* yapraklarında tanımlandığı belirlenmiştir (Darcansoy İşeri ve Yurtcu, 2013). Bu bilgiler ile madde 4,7-Dihidroksikoumarin olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.23.4,7-Dihidroksikumarin glukozit kütle spektrumu

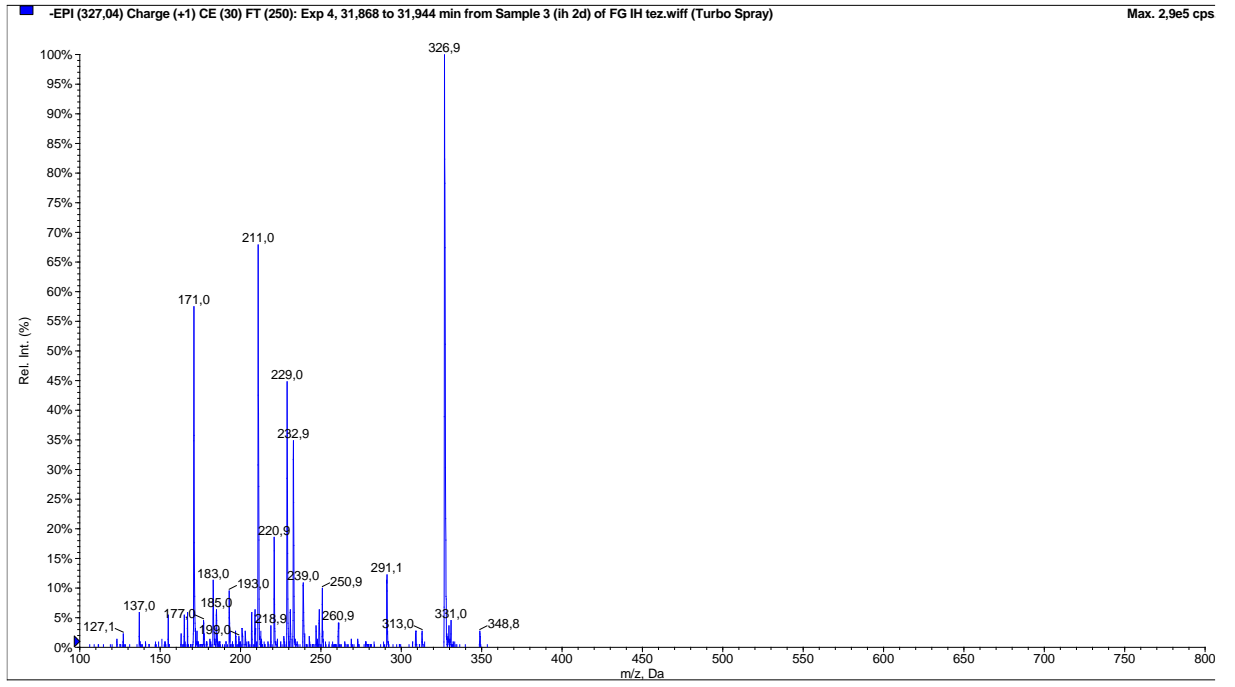
Kolonu 14.5. Dakikada terk eden 10 numaralı maddenin düşük UV absorbans vermesi yapısında konjuge çifte bağların olmadığı göstermektedir. Kütle spektrumunda ise yüksek intensiteli bir iyon olarak kendini göstermektedir. Bu haliyle moleküler iyon piki olarak görülen m/z 431[M-H]⁻ iyonu 46'amu luk Formik asit kaybı ile m/z 385 [M-H-46] iyonunu vermiştir. m/z 385 iyonundan 162 amuluk kayıp ile oluşan m/z 223 iyonunu varlığı yapıda bir şeker veya kafeik asit kopmasını göstermektedir. Madenin sonraki parçalanmalarında kafeik asit kopmasını gösteren m/z 135, m/z 179 iyonların görülmemesi kopan parçanın glukoz olduğunu göstermektedir. Bu bilgiler ile yapının flavonoit yapısında olmayan ve m/z 385 [M-H]⁻ moleküler iyon pikli ve şeker taşıyan bir madde olduğu düşünülmüştür. Yapılan literatür çalışmalarında rozeositin benzer bir madde olduğu ve *Corchorus* türlerinde önceden tanımlandığı belirlenmiştir (Ahmed, 2021). Rozeosit ve formik asit kolayca bağ yapabilmekte ve molekül ağırlığını m/z 431 olarak gösterebilmektedir (Gürbüz ve Martinez, 2019; Xie ve Xiao, 2014). Kütle spektrumu parçalanmaları ile rozeosit'in kütle spektrumu parçalanmaları literatür ile uyuşmaktadır. Bu bilgiler kullanılarak 10 numaralı madde rozeosit olarak tanımlanmıştır (Cádiz-Gurrea, 2013).



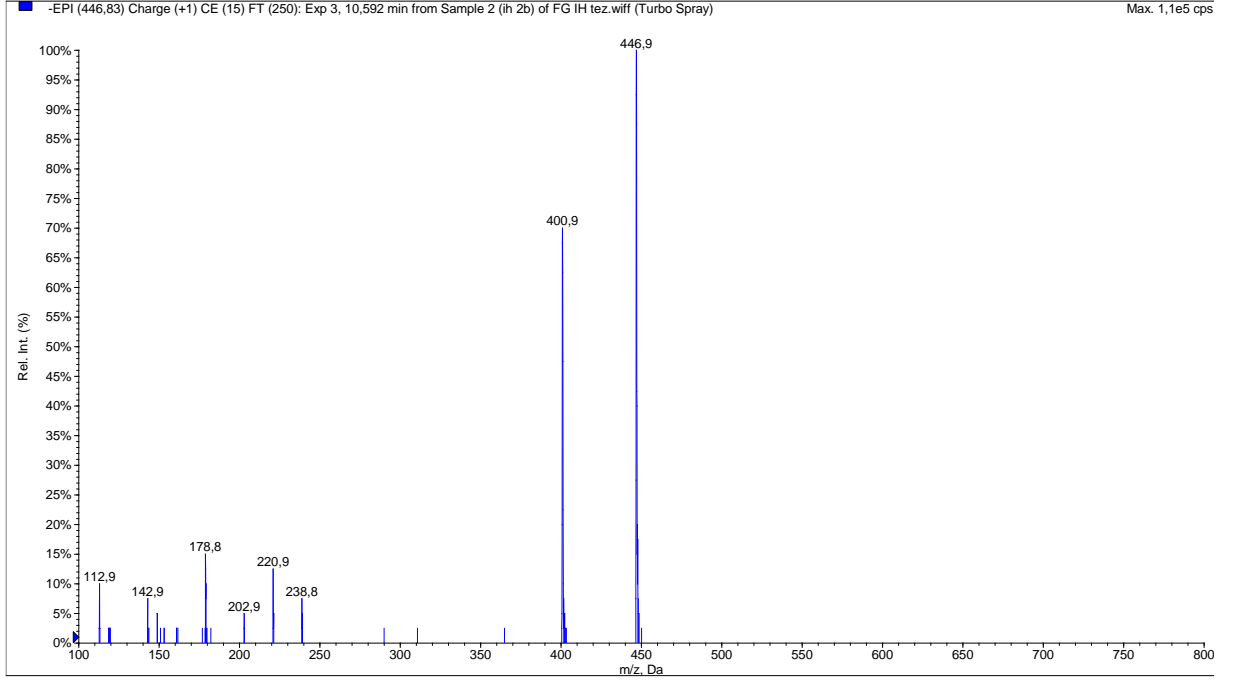
Şekil 4.24.Rozeosit kütle spektrumu

32. dakikada kolonu terk eden m/z 327 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikli madde'nin kolonu en son terk eden maddelerden biri olması nedeniyle polaritesinin düşük olduğu, uv absorbansının olmaması nedeniyle Konjüge çifte bağların yokluğu anlaşılmıştır. m/z 313 iyonu yapıdan bir metil koştüğünü m/z 283 iyonu ise moleküler iyon pikinden bir CO_2 çıkışını göstermektedir. m/z 229 iyonunu oluşturacak kopma 99'amuluk bir kopma olmalıdır. Bu bilgiler ile literatür taraması yapılmış ve oksipilin olarak bilinen oksijenlenmiş yağ asitlerinden ,12,13-Trihydroxyoctadeca-10,15-dienoic acid'in Corchoruslarda varlığı tespit edilmiştir (PubChem, 2023). Chem Draw ile yapılan çizimlerde m/z 229 iyonunu oluşturacak parçalanmanın C-C bağının üzerlerinde taşıdıkları OH grularına bağlı oksijenin elektronegativitesi yüzünden zayıfladığı 12 ve 13 Nolu C atomları arasından olduğu düşünülmüştür. Bu hali ile madde için yapılacak en doğru değerlendirmenin maddenin bir oktadekanoik asit türevidir olan, 12,13-Trihydroxyoctadeca-10,15-dienoik asit olduğudur. Kütle spektrumu verileri ilgili maddenin pubchem kütle spectrum verileri ile de eşleşmektedir. Yapısında bulunan bir karboksilik asit ve 3 OH grubunun Sıvı kromatografisi sistemlerinde tespitini

açıklamaktadır.



Şekil 4.25. 9,12,13-Trihidroksioktadeka-10,15-dienoik asit kütle spektrumu



Şekil 4.26.*Bilinmeyen madde kütle spektrumu*

4.4. Antimikrobiyal Aktivite

4.4.1. Antibakteriyel aktivite

C. olitorius mısır ticari örneği infüzyon (Mİ) ekstresinin MİK değeri tüm bakteri suşlarına karşı >2.5 mg/mL’de etkili bulunmuştur. *C. olitorius* mısır ticari örneği etanol (ME) ekstresinin en etkili suş *Salmonella typhimurium* (MİK = 1 mg /mL) olmuştur.

C. olitorius Bursa kültürü örneği infüzyon (Bİ) ekstresinin tüm bakteri suşlarına karşı MİK > 2.5 mg/mL’de etki gözlenmiştir. *C. olitorius* Bursa kültürü örneğinin etanol (BE) ekstresinin *S aureus* (MİK= 0.5 mg/mL) ve *S. typhimurium* (MİK=1 mg /mL) suşların etkili olduğu görülmüştür.

Standart kloramfenikol ise tüm suşlara karşı MİK =2-16 µg/mL olarak bulunmuştur

Tablo 4.2. Minimum İnhibitor Konsantrasyon (MİK, mg/mL)

Bakteri Suşları	Mİ	ME	Bİ	BE	Kloramfenikol
<i>Escherichia coli</i> NRRL B-3008	>2.5	>4.0	>2.5	>4	4.0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	>2.5	>4	>2.5	0.5	16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>2.5	>4	>2.5	>4	2
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	>2.5	1.0	>2.5	1.0	8
<i>Serratia marcescens</i> NRRL B-2544	>2.5	>4	>2.5	>4	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9633	>2.5	>4	>2.5	>4	16

KLRM: Kloramfenikol (µg/mL);

>: MİK değeri denenen en yüksek dozdan daha büyük, Mi: Mısır örneği İnfüzyon, Me: Mısır örneği etanol ekstresi, Bi: Bursa örneği İnfüzyon, Be: Bursa örneği etanol ekstresi

4.4.2. Antikandidal aktivite

Antikandidal aktivite sonuçları incelendiğinde ekstrelerin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri 0.25 >1.25 mg/mL olarak bulunmuştur.

C. olitorius mısır ticari örneği infüzyon (Mİ) ekstresinin MİK değeri tüm *Candida* suşlarına karşı >1.25 mg/mL’de etkili bulunmuştur. *C. olitorius* Bursa kültürü örneği

infüzyon ekstresinin (Bİ) *Candida* suşlarına karşı MİK değeri ise >0.6 mg/mL'dir. *C. oltorius* mısır ticari örneği etanol (ME) ve *C. oltorius* Bursa kültürü örneğinin etanol (BE) ekstrelerinin *C. albicans* suşuna karşı ise MİK=0.5 mg/mL. Bursa kültürü örneği etanol ekstresi ise *C. utilis* suşuna karşı MİK= 0.25 mg/mL konsantrasyonda en iyi etki göstermiştir.

Tablo 4.3. Minimum İnhibitor Konsantrasyon (MİK, mg/mL)

Candida Suşları	Mİ	ME	Bİ	BE	Ketokonazol
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>1.25	0.5	>0.6	0.5	0.125
<i>C. utilis</i> NRRL Y-900	>1.25	0.5	>0.6	0.25	0.06
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	>1.25	1.0	>0.6	1.0	0.06
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	>1.25	1.0	>0.6	1.0	0.125
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019*	>1.25	1.0	>0.6	1.0	0.03

Keto: Ketokonazol (µg/mL); Mi: Mısır örneği İnfüzyon, Me: Mısır örneği etanol ekstresi, Bi: Bursa örneği İnfüzyon, Be: Bursa örneği etanol ekstresi

5. SONUÇ

Bitkisel sekonder metabolitler canlı organizmalar üzerinde bir çok biyolojik aktiviteye sahiptir. *Corchorus olitorius* 'un analiz sonuçlarından elde ettiğimiz veriler değerlendirildiğinde bitkide sekonder metabolit miktarının yüksek olduğu kromotografik ve toplam fenolik madde miktarları deneylerinden görülmektedir. Bu etki biyolojik aktivite deney sonuçlarında da kendini göstermiştir.

C. olitorius polar ekstreleri içerdikleri yüksek oranda ki fenolik madde sebebiyle biyolojik aktivitelere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Aktivite sonuçları bitkinin halk arasında hastalıkların tedavisinde kullanımını desteklemektedir. Tez çalışmasıyla, *C. olitorius*, etanol ve su ile hazırlanan polar ekstreleri üzerinde gerçekleştirilen antioksidan ve antimikrobiyal aktivite deneyleri sonucunda bitkinin antioksidan aktivitesi tespit edilmiştir. Benzer etkiler antimikrobiyal aktivite deneylerinde de görülmüştür. Bu etkiler bitkinin geleneksel tedavide bulaşıcı hastalıkların tedavisinde kullanılmasını destekler sonuçlar vermiştir.

Deney sonuçlarından alınan etkileri nedeniyle bitkinin oksidatif strese bağlı hastalıkların tedavisinde, antimikrobiyal deney sonuçlarından elde edilen verilerin sonuçları değerlendirildiğinde ise antiproliferatif olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmanın sonuçlarının daha sonra aynı bitki üzerinde yapılacak çalışmalara ve izolasyon aşamalarına referans olabileceğini düşünmekteyiz.

Tez çalışmasında Uçucu yağ analizleride yapılmak istenmiş bu amaçla önce Clevenger aparatı kullanılmış, daha sonra sonuç alınmadığından mikro distilasyon sistemi ile uçucu bileşikler elde edilmeye çalışılmıştır fakat, bu çalışmalar ile elde edilen uçucu bileşenlerin analizinden değerlendirme yapmaya uygun sonuçlar alınmadığından bu kısımlar teze konulmamıştır. Bitki içerdiği yüksek müsilaj oranı nedeniyle her iki sistemde de çok fazla su tutarak şişmiştir. Bu durum düzenli kaynamayı ve sağlıklı bir uçucu bileşen profili almayı engellediği sonuçlar istenilen düzeyde olmamıştır.

6. TARTIŞMA

6.1. Antioksidan Aktivite Tayinleri

Toplam Fenolik madde miktar tayini sonuçları incelendiğinde *C. olitorius* Mısır örneğine ait infüzyonun diğer ekstrelerden daha çok fenolik madde içerdiğini tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı Mısır örneğin infüzyonunda 13,32 mgGAE/gram ekstre olarak hesaplanmıştır. İkinci en yüksek fenolik madde içeriği Mısır örneği etanol ekstresinde görülmüştür. Etanol ekstresinde fenolik madde miktarı 7,42mgGAE/gram ekstre olarak hesaplanmıştır. Bursa örneklerinin Mısır örneklerinden daha az fenolik madde içerdiği hem kromotografik hem de spektrofotometrik deney sonuçlarında görülmektedir. Bursa örneğine ait infüzyonun 6,68 mgGAE/gram ekstre ve Bursa örneğine ait etanol ekstresi'nin 3,44mgGAE/gram ekstre fenolik madde içerdiğini hesaplanmıştır. Sonuçlar, ekstraksiyon yönteminin ve çözücünün toplam fenol içeriğini önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir.

DPPH' radikali süpürücü etki deneylerinde ekstrelerin serbest radikalleri temizleme yeteneği araştırılmıştır. Düşük IC₅₀ değerleri, güçlü antioksidan kapasitenin göstergesidir. DPPH' radikal süpürücü aktivite tayini deneyinin sonuçlarına göre *C. olitorius* Bursa örneği infüzyonu IC₅₀ değeri 0,28mg/mL olarak hesaplanmıştır ve en etkisiz olarak belirlenmiştir. Mısır örneği etanol ekstresi IC₅₀ değeri 0,1mg/mL olarak hesaplanmış ve tüm ekstreler arasında radikal süpürme aktivitesi olarak en etkili olarak bulunmuştur. Hiç bir ekstre gallik asit kadar etkili bulunmamıştır.

Daha önceki araştırmalarda , *C. olitorius* heksan ekstresi ve sulu ekstresi DPPH radikali inhibisyonu yönünden karşılaştırıldığında heksan ekstresinin % 20,4, sulu ekstrenin ise %84 oranında DPPH radikalini inhibe ettiği bildirilmiştir(Oboh vd., 2009). Barku ve arkadaşlarının yaptığı bir deneyde ise metanol ekstresinin 800 ug/ml konsantrasyonda %94.19 inhibisyona sahip olduğu belirtilmiştir (Barku vd., 2013). Deney sonuçlarında IC₅₀ değerleri verilmediğinden kendi sonuçlarımızla karşılaştırmamızda metanol ekstresinden alınan sonuç ile tez kapsamında etanol ekstresinden alınan sonuçlar kendi içinde tutarlı bulunmuştur. Mikrodilüsyon metoduyla yaptığımız deneyde başlangıç konsantrasyonumuzda görülen inhibisyon değeri ile Oboh ve arkadaşlarının

08mg/mL konsantrasyondan elde ettiği sonuçlara benzerdir. Oboh ve arkadaşlarının deney sistemlerinde kullandıkları apolar ekstreden düşük sonuç almaları bizim deney sonuçlarımızda paralellik gösteren fenolik madde içeriği ve DPPH radikal süpürücü etki arasında bir oran olduğunu teyit etmektedir.

C. olitorius polar ekstrelerin yüksek DPPH radikali süpürücü etkiye sahip olduğunu gösteren bir çalışmada yaprak etanol ekstresinin antioksidan aktivitesinin petrol eteri ve sulu ekstraktlardan daha yüksek olduğunu doğruladı (Hussien vd., 2017).

ABTS radikal süpürücü etki sonuçları değerlendirildiğinde; tüm ekstreler 1mg/mL konsantrasyonda ABTS⁺ radikalini süpürücü etki göstermekte yetersiz kalmıştır. 10mg/mL'lik konsantrasyonlarında ise etki görülmüştür. Mısır örneği infüzyonu ve etanol ekstresi en yüksek etki göstermişlerdir; Mısır infüzyon örneği TEAC değeri 0,82mM olarak en yüksek etki göstermiştir. *C. olitorius* Bursa infüzyon ekstresi TEAC değeri 0,11mM olarak en düşük etki göstermiştir. Oboh ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sulu ekstrede 2.3mM, lipofilik apolar ekstrede ise 1.1mM olarak hesaplamışlardır, elde ettikleri sonuçlar bizim sonuçlarımızdan yaklaşık iki kat fazla bulunmuştur. Bu durum coğrafik koşulların bitkisel fitokimyasalları etkilediğinin de bir göstergesi olduğunu değerlendirmekteyiz. Benzer sonuçlar tez çalışmamızda kullanılan mısır ve bursa örnekleri içinde de görülmektedir.

Mısır menşeli *C.olitorius* ile Bursa menşeli *C.olitorius* kıyaslandığında Mısır örneğinin daha çok fenolik madde içerdiğini görülmektedir, buna bağlı olarak daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir. Bu değişiklikler toprak koşulları ,toplama zamanı , hasat ve kurutma yöntemine bağlı olabilir Çevresel ve iklim koşullarının, genetik ve biyolojik çeşitliliğin bununla beraber mevsimsel değişikliklerin bitkilerdeki fenolik madde içeriklerini etkileyen en büyük etkenler olduğu bilinmektedir.

C. olitorius ekstrelerinde Handoussa ve ark. (2013), kinik asit ve kafeoilkinik asit türevlerini, Azuma ve ark. (1999), ise kersetin türevlerinin varlığını daha önceki çalışmalarla göstermiştir. Yaptığımız tez çalışmasında, her iki madde grubu da tüm ekstrelerde baskın olarak bulunmuştur.

Çeşitli polaritelerdeki çözücülerle yapılan *C. olitorius* infüzyonları ve ekstraktları, polifenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri açısından incelenen

bir çalışmada fenolik bileşiklerin miktarı ve antioksidan kapasiteleri doğru orantı göstermiştir (Öztürk vd., 2010).

C. olerius polifenollerinin in vitro antioksidan aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada ilgili maddelerin serbest radikal temizleme kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Mouas vd., 2021) .

Ekstreler içinde baskın olan fenolik maddelerin fizyolojik etkileri arasında hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar riskini azaltma ve Alzheimer ve Parkinson hastalıkları ile bağlantılı nörodejenerasyonu önleme gibi etkiler sayılabilir (Panche vd., 2016). *C. olerius* infüzyonunda sığağa maruz bırakılmış örneklerde bile fenolik içeriğinin yüksek çıkması belkide pişirme ile bu maddelerin tamamen bozulmayacağını ve gıda olarak tüketimi esnasında insan vücudunda yukarıda sayılan etkileri göstereceğini düşünmekteyiz.

6.2. Ekstrelerin LC-MS/MS Analizleri

Bu tez kapsamında yapılan çalışma, Bursa menşeli ve Mısır menşeli *C. olerius* bitkinin etanol eksterlerine aynı bileşenler sahip olduğunu belirlenmiştir. Her iki bitki ekstrelerinde toplam 18 madde tespit edilmiştir. Siklokarboksilik asit yapıda kinik asit ve dihidroksi benzoik asit yapıda protokateşik asit ve glikozit hali protokateşik asit heksozit . 5 tane fenilpropanoit yapıda madde belirlenmiştir; Kafeik asit ,3-Kafeoilkinik asit, 5-Kafeoilkinik asit, 1,3-Dikafeoilkinik asit, 3,4-Dikafeoilkinik asit. 6 tanede flavonoit yapıda madde tespit edilmiştir; Luteolin/Kamferol asetil glukozit, Kersetin glukozit, Kersetin asetilglukozit, Kersetin pentozit, Astragalın, Kersetin.

5-Kafeoilkinik asit (klorojenik asit) ve 1,3-Dikafeoilkinik asit ise Mısır orijinli *C. olerius* daha fazla miktarda rastlanmıştır. Kersetin türevleri olarak her iki bitki ekstrelerinde aynı miktarda kersetin türevleri içeriyor. Bu farklılıklar bitkinin yerlerine ve hasat mevsimine bağlı olabilir.

Bu konuyla ilgili olarak, Azuma ve ark.(1999) 5-kafeoilkinik asit ve 3,5-dikafeoilkinik asitin metanolik *C. olerius* yaprakları özü içindeki altı bilinen fenolik bileşikten en önemlileri olduğunu buldu. Bu bulgu, önceki araştırmalarla uyumludur ve

C. olitorius toprak üstü parçalarının su/etanol ekstresinden kinik asit, klorojenik asit, kafeoilkinik asit, 1,5 dikafeoil kinik asit, 3,5 dikafeoilkinik asit ve dikafeoilkinik asit türevlerini göstermiştir. (Ola vd., 2009); Handoussa vd., 2017). Bu maddeler, ilaç endüstrisinde antioksidan, hepatoprotektif, antiviral ve obezite ve diyabet karşıtı işlevlerde kullanılabilir (Park, 2010).

6.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayinleri

Antibakteriyel aktivite tayininde *C. olitorius* Mısır ticari örneği infüzyon ekstresinin ve Bursa kültürü örneği infüzyon ekstresinin MİK değeri tüm bakteri suşlarına karşı deneğimiz en yüksek dozda etki görülmemiştir (MİK >2.5 mg/mL). *C. olitorius* Mısır ticari örneği ve Bursa kültürü örneğinin etanol ekstrelerinin *Salmonella typhimurium* suşuna karşı aynı etki göstermiştir (MİK = 1 mg /mL). *C. olitorius* Bursa kültürü örneğinin etanol ekstresinin *Staphylococcus aureus* suşuna karşı en yüksek etki göstermiştir (MİK= 0.5 mg/mL).

Antikandidal aktivite sonuçları incelendiğinde ekstrelerin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri 0.25->1.25 mg/mL olarak bulunmuştur. *C. olitorius* Mısır ticari örneği infüzyon ekstresinin ve Bursa kültürü örneği infüzyon ekstresinin MİK değeri tüm *Candida* suşlarına karşı deneğimiz en yüksek dozda etki görülmemiştir. *C. olitorius* Mısır ticari örneği etanol ve Bursa kültürü örneğinin etanol ekstrelerinin *C. albicans* suşuna karşı aynı etki göstermiştir (MİK=0.5 mg/mL). Bursa kültürü örneği etanol ekstresi ise *C. utilis* suşuna karşı MİK= 0.25 mg/mL konsantrasyonda en yüksek etki göstermiştir.

Yapılan çalışmalarda *C. olitorius* bitkisinden elde edilen ekstraktlar, 11 ila 20 mm arasında değişen inhibisyon bölgesi çapları ile tüm veya bazı gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere, mantar suşlarına, mayalara ve küflere karşı antibakteriyel ve antifungal özellikler göstermiştir. Petrol eterinden elde edilen ekstrakt, test edilen tüm bakteri suşlarının büyümesini inhibe etti. *S. aureus* (19 mM), *E. coli* (20 mM) ve *Y. enterocolitica* (19 mM) en etkili ekstraktlardı. Bizim çalışmamızda *C. olitorius* etanol ekstrele *Salmonella typhimurium* ve *Staphylococcus aureus* en iyi etki göstermiştir.

Çalışılan mantarlar *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus*, *F. solani* ve *C. glabrata* tüm ekstraktlara direnç gösterirken, *G. candidum* ve *B. cinerea* tüm ekstraktlara direnç göstermiştir (İlhan vd., 2007).

Araştırmaya konu olan *Corchorus* türündeki petrol eteri ekstraktı, tüm bakterilere karşı in

vitro antimikrobiyal aktivite gösterdi. Veriler, *C. oclitorius* etanol ekstreleri *C. albicans* ve *C.utilis* maya ekstraktlarını en iyi şekilde durdurduğunu göstermektedir. İnhibe edici aktivite, *C. oclitorius* yapraklarındaki bulunan fenolik maddelerden olabilir. Literatürde *C. oclitorius* yapraklarındaki kumarinlerin varlığından kaynaklanabilir (İlhan vd.,2007.)

Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nden toplanan *C. oclitorius* yaprak ekstraktlarının antibakteriyel ve antifungal özellikleri incelenmiştir. Kurutulmuş bitki materyali (*C. oclitorius* yaprakları) yedi farklı yerden toplandı. Üç gün boyunca oda sıcaklığında kalan yaprakları çıkarmak için metanol, etanol, kloroform ve heksan kullanılmıştır. Her örnek, buharlaştırmanın ardından 100 mg mL⁻¹ konsantrasyonunda hazırlandı. Antibakteriyel etkiyi belirlemek için disk difüzyonu kullanıldı. Heksan yaprağı ekstraktları yalnızca *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*'i etki göstermiştir. Metanol, etanol ve kloroform ekstraktları antibakteriyel aktivite göstermemiştir (Özdenefe vd., 2018). Bizim çalışmamızda olduğu gibi etanol ekstreleri az antibakteriyel ve antikandidal aktivite gösterirken , infüzyonlar hiç etki göstermemiştir buna ek olarak *C. oclitorius* Bursa kültürü örneğinin etanol ekstresinin *S. aureus* ve *C. utilis* en yüksek etki görülmüştür.

KAYNAKÇA

- Abo, K.A., Fred-Jaiyesimi, A.A. and Jaiyesimi, A.E. (2008). Ethnobotanical studies of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus in South Western Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*. 115(1), 67-71.
- Ahmed, F. (2021). Nutraceutical Potential of Molokhia L.: A Versatile Green Leafy Vegetable. *Pharmacognosy Research*. 13(1), 1-12.
- Al-Snafi, A.E. (2016). The contents and pharmacological importance of *Corchorus capsularis* A review. *IOSR Journal of Pharmacy*. 6(6), 58-63.
- Al Batran, R., Al-Bayat, F., Abdulla, M.A., Al-Obaidi, M.M., Hajrezaei, M., Hassandarvish, P., Fouad, M., Golbabapour, S. and Talae, S. (2013). Gastroprotective effects of *Corchorus olitorius* leaf extract against ethanol-induced gastric mucosal hemorrhagic lesions in rats. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 28(8), 1321-1329.
- Albayrak S., Sağdıç O., Aksoy A. (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 26(4):401-409
- Alim, A. (1978). A handbook of Bangladesh jute. Effat Begum, 18, Garden Road, Karwan Bazar West, Tejgoan, Dhaka 1215.
- Alverson, W.S., Whitlock, B.A., Nyffeler, R., Bayer, C. and D.A. (1999). Phylogeny of the core Malvales: evidence from sequence data. *American Journal of Botany*. 86, 1474-1486.
- Anonim (2017). Sebze olarak değerlendirilen yeşillikler “Molehiya”.
- Anwar, A. (2011). The Golden, Copper, and Silver Fibers. Golden Fibre Trade Centre Limited.
- Anyasor, G., Adekanye, O., Adeyemi, O. and Osilesi, O. (2020). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Corchorus olitorius* leaves as a food supplement on rats with alloxan-induced diabetes. *Ukrainian Biochemical Journal*.
- Atanasov, A.G., Zotchev, S.B., Dirsch, V.M., International Natural Product Sciences, T. and Supuran, C.T. (2021). Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nature Reviews: Drug Discovery*. 20(3), 200-216.

Ayçiçek, K., Tanacetum armenum (DC) Sch, in Bip. bitkisinin kimyasal kompozistonu ve biyolojik aktiviteleri.: in Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Anadolu Üniversitesi: Eskişehir. 2021.

Azuma, K., Nakayama, M., Koshioka, M., Ippoushi, K., Yamaguchi, Y., Kohata, K., Yamauchi, Y., Ito, H. and Higashio, H. (1999). Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. v. 47(10), 3963-3966.

Banerjee, S., Das, M., Mir, R.R., Kundu, A., Topdar, N., Sarkar, D., Sinha, M.K., Balyan, H.S. and Gupta, P.K. (2012). Assessment of genetic diversity and population structure in a selected germplasm collection of 292 jute genotypes by microsatellite (SSR) markers. *Molecular Plant Breeding*. 3, 11-25.

Bayer, C., Fay, M.F., De Bruijn, A.Y., Savolainen, V., Morton, C.M., Kubitzki, K., Alverson, W.S. and Chase, M.W. (1999). Support for an expanded family concept of Malvaceae within a recircumscribed order Malvales: A combined analysis of plastid atp B and rbc L DNA sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 129(4), 267-303.

Becer, E., Soykut, G., Kabadayi, H., Mammadov, E., Cali, S.I. and Vatansever, S. (2020). Obtaining Stem Cell Spheroids from Foreskin Tissue and the Effect of *Corchorus olitorius* L. on Spheroid Proliferation. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 17(3), 265-270.

Bessada, S.M.P., Barreira, J.C.M. and Oliveira, M.B.P.P. (2015). Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review. *Industrial Crops and Products*. 76, 604-615.

Bharucha, Z. and Pretty, J. (2010). The roles and values of wild foods in agricultural systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences*. 365(1554), 2913-2926.

Bilgili, M.E., Süllü, S. and Sevilmiş, U. (2018). Jüt Tarımı ve Mekanizasyonu. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*. 7(2), 66-75.

Bojović, D., Janković, S., Potpara, Z.v.T. and V. (2011). Summary of the phytochemical research performed to date on Sideritis species. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*. 12(3), 109-122.

Buyuktuncel, S. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan baslıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 2, 93-103.

Cádiz-Gurrea, M.d.l.L., Fernández-Arroyo, S., Joven, J. and Segura-Carretero, A. (2013). Comprehensive characterization by UHPLC-ESI-Q-TOF-MS from an Eryngium

bourgatii extract and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food Research International*. 50(1), 197-204.

Clifford, M.N., Johnston, K.L., Knight, S. and Kuhnert, N. (2003). Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51(10), 2900-2911.

Clifford, M.N., Knight, S. and Kuhnert, N. (2005). Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MS(n). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 53(10), 3821-3832.

De Candolle, A.P., *Prodromus sytematis naturalis regni vegetabilis*. 1824.

Deton, L., A review of *Corchorus olitorius* in Nigeria, in Workshop on African indigenous vegetables, Schippers, R. and Budd, L., Editors. 1997: Limbe, Cameroon. p. 25-30.

Egua, M.O., Etuk, E.U., Belloc, S.O. and Hassan, S.W. (2002). Anti-diabetic activity of ethanolic seed extract of *Corchorus olitorius*. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*. 12, 8-21.

Engels, C., Gräter, D., Esquivel, P., Jiménez, V.M., Gänzle, M.G. and Schieber, A. (2012). Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra-high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Food Research International*, 46(2), 557-562.

Esterbauer, H., Puhl, H., Dieber-Rotheneder, M., Waeg, G. and Rabl, H. (1991). Effect of antioxidants on oxidative modification of LDL. *Annals of Medicine*. 23(5), 573-581.

Ferrerres, F., Andrade, P.B., Valentao, P. and Gil-Izquierdo, A. (2008). Further knowledge on barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves O-glycosyl-C-glycosyl flavones by liquid chromatography-UV diode-array detection-electrospray ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1182(1), 56-64.

Ferrerres, F., Gil-Izquierdo, A., Andrade, P.B., Valentao, P. and Tomas-Barberan, F.A. (2007). Characterization of C-glycosyl flavones O-glycosylated by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1161(1-2), 214-223.

Ferrerres, F., Llorach, R. and Gil-Izquierdo, A. (2004). Characterization of the interglycosidic linkage in di-, tri-, tetra- and pentaglycosylated flavonoids and differentiation of positional isomers by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*. 39(3), 312-321.

Fersahoğlu, H. (2016). Farklı Renklerdeki Gülhatmi Çiçeklerinin Biyoaktif Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- Francescato, L.N., Debenedetti, S.L., Schwanz, T.G., Bassani, V.L. and Henriques, A.T. (2013). Identification of phenolic compounds in *Equisetum giganteum* by LC–ESI-MS/MS and a new approach to total flavonoid quantification. *Talanta*, 105(0), 192-203.
- Furumoto, T., Wang, R., Okazaki, K., Hasan, A.F.M.F., Ali, M.I. and Kondo, A.v.d. (2002). Antitumor Promoters in Leaves of Jute (*Corchorus capsularis* and *Corchorus olitorius*). *Food Science and Technology Research*. 8, 239-243.
- Goda, Y., Sakai, S., Nakamura, T., Akiyama, H. and Toyoda, M. (1998). Identification and analyses of main cardiac glycosides in *Corchorus olitorius* seeds and their acute oral toxicity to mice. *Food Hygiene and Safety Science* (Shokuhin Eiseigaku Zasshi). 39(4), 256-265_251.
- Göger, F., *Salvia Virgata* Jacq. ve *Salvia Halophila* Hedge'nin antioksidan etkilerinin ve bileşenlerinin belirlenmesi. 2007: Anadolu University (Turkey)
- Handoussa, H., Hanafi, R., Eddiasty, I., El-Gendy, M., El Khatib, A., Linscheid, M., Mahran, L. and Ayoub, N. (2013). Anti-inflammatory and cytotoxic activities of dietary phenolics isolated from *Corchorus olitorius* and *Vitis vinifera*. *Journal of Functional Foods*. 5(3), 1204-1216.
- Harborne, J.B. (1998). Phytochemical methods; A guide to modern techniques of plant analysis. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 3(317).
- Hayyaw, S. (2012). The inhibitory effect of alcoholic extracts from the leaves, aerial parts, and roots of *Corchorus olitorius* L.(Molukhiya), on some pathogenic bacterial species. *Al-Anbar Journal of Veterinary Sciences*. 5(2), 47-53.
- <http://www.teknolojiweb.net/bitki-govdesinden-elde-edilen-lifler/#ixzz1xgazjNOO>, 27.11.2011
- Hussien, N.M., Labib, S., El-Massry, R. and Hefnawy, H. (2017). Phytochemical studies and antioxidant activity of leaves extracts of *Corchorus olitorius* L.(molokhia). *Zagazig Journal of Agricultural Research*. 44(6), 2231-2239a
- Idris, S., Yisa, J. and Ndamitso, M.M. (2009). Nutritional Composition of *Corchorus olitorius* Leaves. *Animal Production Research Advances*. 5(2), 83-87.
- Ilhan, S., Savaroğlu, F. and Çolak, F. (2007). Antibacterial and Antifungal Activity of *Corchorus olitorius* L.(Molokhia) Extracts. *International Journal of Natural & Engineering Sciences*. 1(3).
- Islam, I.S., Hossain, J., Homa, Z., Chowdhury, M.M.U. and Freitas, R.M. (2013). A comprehensive review of *Corchorus capsularis*: a source of nutrition, essential phytoconstituents and biological activities. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research*. 2, 1-8.

- Islam, M.M. (2009). Jute Seed Technology, Pub.
- Islam, M.M. and Rahman, M. (2008). In: Hand book on agricultural technologies of jute, kenaf and mesta crops. Bangladesh Jute Res. Inst., Manikmia Avenue.
- Komili, K., Söyler, G., Toros, P., Çalis, I. and Kükner, A. (2022). Effects of *Corchorus olitorius* and Protocatechuic Acid on Cadmium-Induced Rat Testicular Tissue Degeneration. *Cyprus Journal of Medical Sciences*. 7(1), 87-93.
- Köse, Y.B., İşcan, G., Göger, F., Akalın, G., Demirci, B. and Başer, K.H.C., Chemical Composition and Biological Activity of *Centaurea baseri*: New Species from Turkey. 2016: *Chemistry and Biodiversity*. 1369–1379.
- Lee, Y.H., Choo, C., Watawana, M.I., Jayawardena, N. and Waisundara, V.Y. (2015). An appraisal of eighteen commonly consumed edible plants as functional food based on their antioxidant and starch hydrolase inhibitory activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 95(14), 2956-2964.
- Lewu, F.B. and Mavengahama, S. (2010). Wild vegetables in Northern KwaZulu Natal, South Africa: Current status of production and research needs. *Scientific Research and Essays*. 5(20), 3044-3048.
- Li, C.J., Huang, S.Y., Wu, M.Y., Chen, Y.C., Tsang, S.F., Chyuan, J.H. and Hsu, H.Y. (2012). Induction of apoptosis by ethanolic extract of *Corchorus olitorius* leaf in human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells via a mitochondria-dependent pathway. *Molecules*. 17(8), 9348-9360.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*. 4(8), 118-126.
- Mahgoub, S., El-Sharkawi, F. and Badry, O. (2007). Effect of Molokhia soup on blood sugar, hepatic antioxidant status and plasma lipid profile in diabetic rats. *Egypt J Biochem Mol Biol*. 25, 305-325.
- March, R.E., Lewars, E.G., Stadey, C.J., Miao, X.-S., Zhao, X. and Metcalfe, C.D. (2006). A comparison of flavonoid glycosides by electrospray tandem mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*. 248(1-2), 61-85.
- Masayuki, Y., Shimada, H., Saka, M., Yoshizumi, S., Yamaharaa, J. and Matsuda, H. (1997). Absolute stereostructures of corchoionosides a,b and c, histamine release inhibitors from the leaves of vietnamese *Corchorus olitorius* L. Tiliaceae). *Chem Pharm Bull*. 45, 464-469.
- Matsufuji, H., Sakai, S., Chino, M., Goda, Y., Toyoda, M. and Takeda, M. (2001). Relationship between cardiac glycoside contents and color of seeds. *Journal of Health Science*. 47(2), 89-93.

Maslennikova, V. (1975). Jute glycosides. V. Corolosite and deglucoacorolosite. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*. 11, 525-526.

Merlier, H., Synthèse des Etudes Phénologiques des Espèces de Jachère du Centre Sénégal, in Centre National de Recherches Agronomiques de BAMBEY. République du Sénégal. Ministère du Développement Rural. Institut de Recherches Agronomiques Tropicales et des Cultures Vivrières. 1972.

Mobark, R. and Mohammed, O. (2016). Phytochemical investigation of antimicrobial and antioxidant activity leaves extracts of *Corchorus olitorius*. *Open Access Libr J*. 3, 3-7.

Mouas, T., Benalileche, Y. and Benalileche, M. (2021). Biological assessment of *Cinnamomum zeylanicum* percolate.

Mutlu, S. (2012). Jüt lifi ve tekstil-hazır giyim sektöründe kullanım alanları. *Akdeniz Sanat*. 4(8).

Neeraj, P.J., S, S. and J, S. (2013). Role of free radicals and antioxidants in human health and disease. *Int J Curr Res Rev*. 5(19), 14-22.

Nemb, A.R., Emadak, A., Mouzong, G.C. and Nemba, C.E. (2011). Qualitative and quantitative assessment of mineral elements in the leaves of *Corchorus facicularis* and *Corchorus olitorius* harvested in Cameroon. *J Curr Chem Pharm Sci*. 2, 17-23.

Nuwangburuka, C.C. and Denton, O.A., Heritability, character association and genetic advance in six agronomic and yield related characters in leaf *Corchorus olitorius*, in Departement of Agriculture and Industrial Technology, Babcock University, Ilishan-Remo, P M B 21244, Ikeja. 2012: Lagos State, Nigeria.

Oboh, G., Raddatz, H. and Henle, T. (2009). Characterization of the antioxidant properties of hydrophilic and lipophilic extracts of Jute (*Corchorus olitorius*) leaf. *International journal of food sciences and nutrition*. 60(sup2), 124-134.

Ohtani, K., Okai, K., Yamashita, U., Yuasa, I. and Misaki, A. (1995). Characterization of an acidic polysaccharide isolated from the leaves of *Corchorus olitorius* (Moroheiya). *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 59(3), 378-381.

Öztürk, N. and Savaroğlu, F. (2011). Antioxidant activities of *Molokhia* (*Corchorus olitorius* L.) extracts. *Survival and Sustainability: Environmental concerns in the 21st Century*. 535-543.

Park, H.-J. (2010). Chemistry and pharmacological action of caffeoylquinic acid derivatives and pharmaceutical utilization of chwinamul (Korean Mountainous vegetable). *Archives of Pharmacal Research*. 33, 1703-1720.

Panche, A.N., Diwan, A.D. and Chandra, S.R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*. 5, e47.

Patel, G.I. and Datta, R.M. (1958). Pollen grain studies in various types of *Corchorus olitorius* L., *C. capsularis* L. and some other species of *Corchorus*. *Grana Palynol.* 1, 18-24.

Patil, D. and Jain, A.P. (2019). In-vivo antidiabetic activity of methanolic extract of *Corchorus olitorius* for the management of type 2 diabetes. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 8(3), 3213-3218.

PubChem. (2023). National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 72732143, 9,12,13-Trihydroxyoctadeca-10,15-dienoic acid. Retrieved December 15, 2023 from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9_12_13-Trihydroxyoctadeca-10_15-dienoic-acid.

Rahman, S., Alam, M.J. and Hossain, S.T. (2013). Financial and economic profitability of selected agricultural crops in Bangladesh. National Food Policy Capacity Strengthening Programme (NFPCSP), Bangladesh.

Howard, kuzill R.A, *Flora of the Lesser Antilles, Leeward and Windward Islands* Arnold Arboretum. 1974, Jamaica Plain, Massachusetts, USA: Harvard University.

Riaz, A., Rasul, A., Hussain, G., Zahoor, M.K., Jabeen, F., Subhani, Z., Younis, T., Ali, M., Sarfraz, I. and Selamoglu, Z. (2018). Astragalins: A Bioactive Phytochemical with Potential Therapeutic Activities. *Advances in Pharmacological Sciences.* 2018, 9794625.

Benor, S. (2011). Phylogeny of the Genus *Corchorus* (Malvaceae s.l.) and Diversity Analyses in Selected Species: Evidence From Morphology, Flow Cytometry, and Molecular Data. Kassel University: Kassel, Germany.

Sanchez-Rabaneda, F., Jauregui, O., Lamuela-Raventos, R.M., Bastida, J., Viladomat, F. and Codina, C. (2003). Identification of phenolic compounds in artichoke waste by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.* 1008(1), 57-72.

Santos, S.A.O., Villaverde, J.J., Sousa, A.F., Coelho, J.F.J., Neto, C.P. and Silvestre, A.J.D. (2013). Phenolic composition and antioxidant activity of industrial cork by-products. *Industrial Crops and Products.* 47(0), 262-269.

Sarikurkcü, C., Locatelli, M., Mocan, A., Zengin, G. and Kirkan, B. (2019). Phenolic Profile and Bioactivities of *Sideritis perfoliata* L.: The Plant, Its Most Active Extract, and Its Broad Biological Properties. *Frontiers in Pharmacology.* 10, 1642.

Sarikurkcü, C., Ozer, M.S., Istifli, E.S., Sahinler, S.S. and Tepe, B. (2021). Chromatographic profile and antioxidant and enzyme inhibitory activity of *Sideritis leptoclada*: An endemic plant from Turkey. *South African Journal of Botany.* 143, 393-405.

- Sarma, A.D., Mallick, A.R. and Ghosh, A.K. (2010). Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *Int J Pharma Sci Res.* 1(3), 185-192.
- Smith, M.A.K. (2000). Comparative response of *Chromolaena odorata* and *Corchorus olitorius* to intraspecific competition. *Agricultural Science Digest.* 20, 141-145.
- Stefanis, L., Burke, R.E. and Greene, L.A. (1997). Apoptosis in neurodegenerative disorders. *Current Opinion in Neurology.* 10(4), 299-305.
- Sun, Y., Li, H., Hu, J., Li, J., Fan, Y.W., Liu, X.R. and Deng, Z.Y. (2013). Qualitative and quantitative analysis of phenolics in *Tetragium hemsleyanum* and their antioxidant and antiproliferative activities. *J Agric Food Chem.* 61(44), 10507-10515.
- Süntar, I. (2020). Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. *Phytochemistry Reviews.* 19(5), 1199-1209.
- Taamalli, A., Arraez-Roman, D., Ibanez, E., Zarrouk, M., Segura-Carretero, A. and Fernandez-Gutierrez, A. (2012). Optimization of microwave-assisted extraction for the characterization of olive leaf phenolic compounds by using HPLC-ESI-TOF-MS/IT-MS (2). *J Agric Food Chem.* 60(3), 791-798.
- Tao, Y., Chen, Z., Zhang, Y., Wang, Y. and Cheng, Y. (2013). Immobilized magnetic beads based multi-target affinity selection coupled with high performance liquid chromatography–mass spectrometry for screening anti-diabetic compounds from a Chinese medicine “Tang-Zhi-Qing”. *J Pharmaceut Biomed,* 78–79(0), 190-201.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 39(1), 44-84.
- Wang, S.Y., Bunce, J.A. and Maas, J.L. (2003). Elevated carbon dioxide increases contents of antioxidant compounds in field-grown strawberries. *J Agric Food Chem.* 51(15), 4315-4320.
- Yakoub, A.R.B., Abdehedi, O., Jridi, M., Elfalleh, W., Bkhairia, I., Nasri, M. and Ferchichi, A. (2020). Bioactive polysaccharides and their soluble fraction from Tossa jute (*Corchorus olitorius* L.) leaves. *Food Bioscience.* 37, 100741.
- Yoshikawa, M., Murakami, T., Shimada, H., YOSHIZUMI, S., SAKA, M., YAMAHARA, J. and MATSUDA, H. (1998). Medicinal foodstuffs. XIV. On the bioactive constituents of moroheiya.(2): New fatty acids, corchorifatty acids A, B, C, D, E, and F, from the leaves of *Corchorus olitorius* L.(Tiliaceae): Structures and inhibitory effect on NO production in mouse peritoneal macrophages. *Chemical and pharmaceutical bulletin.* 46(6), 1008-1014.
- Yu, Q.Y. and Li, Z.S. (1991). Fuzzy cluster analysis on germplasms of jute *Corchorus capsularis* and *C. olitorius* L. *China's Fiber Crops.* 3, 10-14.

Zakaria, M.N.S. and Zaiton, H. (2006). The in vitro antibacterial activity of *Corchorus olitorius* extracts. International Journal of Pharmacology. 2, 213-215.