

***Gynura malaccensis* Belcher BİTKİSİNİN
KİMYASAL PROFİLİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Ahsen YETİK

Eskişehir 2019

***Gynura malaccensis* Belcher BİTKİSİNİN
KİMYASAL PROFİLİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTESİ**

Ahsen YETİK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Farmakognozi Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Gülmira ÖZEK**

**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ağustos 2019**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Ahsen YETİK'in "*Gynura malaccensis* Belcher bitkisinin kimyasal profili ve biyolojik aktivitesi" başlıklı tezi 21.8/2019 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

Unvanı-Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Doç. Dr. Gülmira ÖZEK

Üye : Prof. Dr. Osman ÜSTÜN

Üye : Doç. Dr. Fatih GÖGER

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Halan GUNDOĞDU-KARABURUN
Müdür



FINAL APPROVAL FOR THESIS

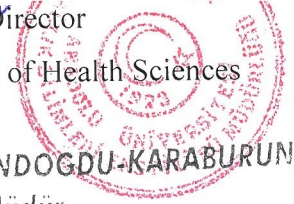
This thesis titled “Chemical profile and biological activity of *Gynura malaccensis* Belcher” has been prepared and submitted by Ahsen YETİK in partial fulfillment of the requirements in “Anadolu University Directive on Graduate Education and Examination” for the Degree of Master of Sciences in Pharmacognosy Department has been examined and approved on 21./8/2019.

Committee Members

Member (Supervisor) :Assoc. Prof. Dr. Gülmira ÖZEK
Member :Prof. Dr. Osman ÜSTÜN
Member :Assoc. Prof. Dr. Fatih GÖGER

Signature

Director
Graduate School of Health Sciences
Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU-KARABURUN
Müdür



ÖZET

Gynura malaccensis Belcher BİTKİSİNİN KİMYASAL PROFİLİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTESİ

Ahsen YETİK

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağustos 2019

Danışman: Doç. Dr. Gülmira ÖZEK

Antalya bölgesinde *Gynura malaccensis* Belcher halk tarafından yetiştirilerek kullanılmaktadır. Ancak, fitokimyasal ve biyolojik aktivite bilgisi literatürde bulunamamıştır. Proje ile, *G. malaccensis* bitkisinin kimyasal kompozisyonu, antioksidan ve antidiyabetik potansiyellerinin aydınlatılması hedeflenmiştir. *G. malaccensis* bitkisi yetiştirilerek yapraklarının metanollü ve hekzanlı ekstralarının kimyasal kompozisyonları kromatografik tekniklerle araştırıldı. Ekstrelerin *in vitro* deneylerle serbest radikal süpürücü etkileri, toplam fenol ve flavonoit miktarları ve antidiyabetik etkileri araştırıldı.

G. malaccensis çiçeklerinde δ -kadinen (%36,4) ve 1-*epi*-kubenol (%22,4); taze yapraklarda δ -kadinen (%17,) ve 1-*epi*-kubenol (%53,3); etüvde (50 °C'de) kurutulan yapraklarda fitol (%21) ve linalool (%17,6); liyofilize yapraklarda ise fitol (%49,4) ve neofitadien izomer I (%27,7) majör uçucu bileşikler olarak saptandı. Metanollü ekstrelerde kinik asit türevleri tespit edilmiştir. Liyofilize yapraklar en yüksek miktarda fenol bileşikleri içermektedir (19,7 GAEmg/g_{ekstre}). Etüvde kurutma işlemi yapraklardaki toplam fenol miktarının azalmasına sebep olmuştur. Hekzanlı ekstrelerde TPC değerleri 3,1-13,2 GAEmg/g_{ekstre} arasında iken, metanollü ekstrelerde 6,9-19,7 GAEmg/g_{ekstre} arasında bulunmuştur. Metanollü ekstrelerde TFC 0-14,3 REMg/g_{ekstre} arasında, liyofilize yaprakların hekzanlı ve metanollü ekstralarının serbest radikal süpürücü etkileri IC₅₀ 0,38 ve 0,53 mg/mL ve Troloksa eşdeğer antioksidan kapasiteleri 0,95 mM ve 1,41 mM olarak hesaplanmıştır. α -Amilaz enzimini inhibe etme etkileri hekzanlı ekstrelerde %22-%53 metanollü ekstrelerde ise %13-%46 arasında değişmektedir. Bu çalışma sonuçları *G. malaccensis* için ilk defa elde edilmiş olup özgün bir niteliğe sahiptir.

Anahtar Sözcükler: *Gynura malaccensis*, Ekstraksiyon, Kompozisyon, Biyolojik aktivite, α -Amilaz.

ABSTRACT

A *Gynura malaccensis* Belcher CHEMICAL PROFILE AND BIOLOGICAL ACTIVITY

Ahsen YETİK

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, August 2019

Supervisor: Assoc. Prof. Gülmira ÖZEK

Gynura malaccensis Belcher is growing by people in Antalya to manage blood sugar and cholesterol degrees. However, there is no scientific knowledge about phytochemical and biological activity profiles on *G. malaccensis*. In this context, our main goal was to investigate chemical composition, antioxidant and anti-diabetic potentials of *G. malaccensis*. In scope of designated aims, the plant of *G. malaccensis* grown up and the hexane and methanol leaf extracts were obtained to investigate their chemical compositions with chromatographic techniques (GC-FID, GC-MS, MSD-SPME, LC-MS/MS). All extracts have been subjected to investigation *in vitro* for antioxidant activity, total phenols and flavonoids contents and inhibition of α -amylase enzyme.

In the flowers of *G. malaccensis*, δ -cadinene (36.4 %) and 1-*epi*-cubenol (22.4 %); in the fresh leaves, δ -cadinene (17,4 %) and 1-*epi*-cubenol (53,3 %); in the oven dried leaves, phytol (21 %) and linalool (17,6 %); in the freeze dried leaves, phytol (49,4 %) and neophytadiene isomer I (27,7 %) have been found as major volatile constituents.

Quinic acid derivatives have been detected in the methanol extract. Freeze dried leaves contained the highest total phenols (19,7 GAEmg/g_{extract}). In the hexane extracts TPC level was found as 3,1-13,2 GAEmg/g_{extract}. In the methanol extracts TPC was found to be 6,9-19,7 GAEmg/g_{extract}. Total flavonoid content in the methanol extract was found as 0-14,3 REMg/g_{extract}.

Freeze dried leaves extracts demonstrated free radical scavenging activity (IC₅₀ 0,38 and 0,53 mg/mL). The Trolox equivalent antioxidant capacity was found as 0,95 mM and 1,41 mM. The inhibitory effects of the hexane extracts on α -amylase enzyme were between 22 % and 53 % while the methanol extracts demonstrated inhibition between 13% and 46%. In scope of the project, the chemical composition and activities results have been obtained for *G. malaccensis* for the first time.

Keywords: *Gynura malaccensis*, Extraction, Composition, Biological activity, α -Amylase.

21.8/2019

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 aşamalardan 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 sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Ahser YETİK

21.8./2019

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

I hereby truthfully declare that this thesis is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “scientific plagiarism detection program” used by Anadolu University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

Ahser YETIK

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, manevi desteğini esirgemeyen, kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Gülmira ÖZEK'e

Deney aşamalarında bana yol gösteren ve yardımcı olan Dr. Tuğba KIYAN'a, ve Uzm. Biol. Süleyman YUR'a

Deney aşamalarında yardımlarından dolayı Doç. Dr. Fatih GÖGER'e,

Gynura malaccensis bitkisinin teminatı konusunda yardımlarından dolayı Dr. Safnaz ELMASULU ve Dr. Ahu ÇINAR'a,

Bitkinin teşhisinde yardımlarından dolayı Dr. İsmail Gökhan DENİZ'e,

Eczacılık Fakültesinde eğitim gören, tüm çalışmalarım sırasında manevi desteğini gördüğüm tüm çalışma arkadaşlarıma, BİBAM çalışanlarına ve Farmakognozi Anabilim Dalı'na,

Başarılı olabilmem için elinden geleni yapan ama her şeyden önce iyi bir insan olmam için güzel bir ahlakın erdemin olmazsa olmaz olduğunu öğreten anneciğim Hüsniye Uyar YETİK ve babacığım Karani YETİK'e,

Hayatımda olduğu için her zaman şükrettiğim canım ağabeyim Mustafa YETİK'e,

Her şeye rağmen bugünlere gelebilmem için çaba sarf ettiğim ve sabrettiğim için kendime,

Tüm içtenliğimle teşekkürler

ve Allah'a sonsuz şükranlarımla...

Dyt. Ahsen YETİK

Ağustos 2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
FINAL APPROVAL FOR THESIS	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ETİK İLKE ve KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES	vii
ÖNSÖZ	viii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	5
2.1. Botanik Bilgiler	5
2.1.1. Papatyagiller (Asteraceae/Compositae) familyası	5
2.1.2. <i>Gynura</i> Cass. cinsinin morfolojik özellikleri	6
2.1.3. <i>Gynura malaccensis</i> bitkisinin morfolojik özellikleri	8
2.2. Kimyasal Bilgiler	10
2.2.1. <i>Gynura</i> Cass. Türü bitkilerin kimyasal profili	10
2.3. <i>Gynura</i> Türü Bitkilerin Biyolojik Etkileri	18
2.3.1. Geleneksel ve ticari kullanım	18
2.3.2. Biyolojik aktivite üzerindeki bilimsel çalışmalar	23
2.4. Antioksidan Aktivite Araştırmalarının Önemi	32
2.5. Antidiyabetik Aktivite Araştırmalarının Önemi ve Diyabet	35
2.5.1. Diyabet	35
2.5.2. Antidiyabetik Aktivite Araştırmalarının Önemi	35

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	37
3.1. Bitkisel Materyal	37
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	38
3.3. Kullanılan Aletler ve Cihazlar	39
3.4. Bitki Yaprak Ekstrelerinin Hazırlanması	40
3.5. <i>G. malaccensis</i> Bitkisinin Çiçeklerine Ait Uçucu Bileşenlerin Ekstraksiyonu: MSD-SPME Tekniği	42
3.6. Gaz Kromatografik Analiz	42
3.6.1. GC-MS analizi	43
3.6.2. GC-FID analizi	43
3.6.3. Uçucu bileşiklerin teşhisi	43
3.7. Sıvı kromatografik Analiz (LC-MS/MS)	43
3.8. Ekstrelerin Biyolojik Etkilerinin İncelenmesi	44
3.8.1. Serbest radikal süpürücü etkisinin belirlenmesi (DPPH testi)	44
3.8.2. Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasitesinin belirlenmesi (TEAK)	45
3.9. Toplam Fenolik Miktar Tayini	47
3.10. Toplam Flavonoit Miktar Tayini	48
3.11. Ekstrelerinin Antidiyabetik Etkisinin Değerlendirilmesi	49
4. DENEYSEL BULGULAR	51
4.1. Ekstrelerin Verim Bilgileri	51
4.2. <i>G. malaccensis</i> Çiçek Uçucu Bileşenlerinin Kompozisyonu	52
4.3. <i>G. malaccensis</i> Yaprak Uçucu Bileşenlerinin Kompozisyonu	55
4.4. Sıvı Kromatografik Analiz Sonuçları	58
4.5. Antioksidan Aktivite Sonuçları	60
4.5.1. Ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkileri (DPPH deneyi)	60
4.5.2. Ekstrelerin Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAK) ...	61
4.6. Ekstrelerin Toplam Fenolik Miktarı	62
4.7. Ekstrelerin Toplam Flavonoit Miktarı	63
4.8. Ekstrelerin Anti-diyabetik Aktiviteleri	65
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	67

5.1. Ekstrelerin Verim Değerlendirmeleri	67
5.2. Bitki Çiçek Uçucu Bileşenlerinin Kompozisyonu	68
5.3. <i>G. malaccensis</i> Yaprak Uçucu Bileşenlerinin Kompozisyonu	70
5.4. LC /MS-MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi	73
5.5. Ekstrelerin Antioksidan Aktiviteleri	74
5.5.1. Ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkilerinin değerlendirilmesi (DPPH deneyi)	74
5.5.2. Ekstrelerin Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasitelerinin değerlendirilmesi (TEAK)	77
5.6. Ekstrelerin Toplam Fenolik Miktarlarının Değerlendirilmesi	78
5.7. Ekstrelerin Toplam Flavonoit Miktarlarının Değerlendirilmesi	80
5.8. Ekstrelerin Antidiyabetik Aktivitelerinin İncelenmesi	82
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	85
KAYNAKÇA	88
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. <i>G. procumbens</i> 'e ait besin ve nem içeriği	11
Tablo 2.2. <i>G. bicolor</i> sulu ekstre (SE) ve etanol ekstesindeki (EE) fenolik asitlerin ve flavonoitlerin içeriği.....	11
Tablo 2.3. <i>Gynura</i> türlerinden izole edilen sekonder metabolitler	12
Tablo 2.4. <i>Gynura</i> türlerinin halk ilacı olarak kullanımı	19
Tablo 2.5. <i>Gynura</i> türlerinin bilimsel çalışmalarda araştırılmış biyolojik aktiviteleri	28
Tablo 3.1. Kimyasal madde bilgileri	38
Tablo 3.2. Alet ve cihaz bilgileri.....	39
Tablo 3.3. <i>G. malaccensis</i> yapraklarından hazırlanan ekstreler.....	41
Tablo 4.1. <i>G. malaccensis</i> yaprak ekstrelerinin verim bilgileri	51
Tablo 4.2. <i>G. malaccensis</i> çiçeklerinin uçucu bileşenleri	53
Tablo 4.3. <i>G. malaccensis</i> bitkisinin taze yapraklarının uçucu bileşenleri	55
Tablo 4.4. <i>G. malaccensis</i> bitkisinin etüvde kurutulmuş yapraklarının uçucu bileşenleri.....	56
Tablo 4.5. <i>G. malaccensis</i> bitkisinin liyofilizatörde kurutulmuş yapraklarının uçucu bileşenler	57
Tablo 4.6. <i>G. malaccensis</i> ekstrelerinin DPPH•radikali üzerindeki inhibisyon değerleri...	60
Tablo 4.7. <i>G. malaccensis</i> ekstrelerinin Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasitesi.....	61
Tablo 4.8. <i>G. malaccensis</i> yapraklarına ait ekstelerin toplam fenol miktarları	63
Tablo 4.9. <i>G. malaccensis</i> yapraklarına ait ekstelerin toplam flavonoit miktarları	64
Tablo 4.10. <i>G. malaccensis</i> yaprak ekstrelerinin α -amilaz enzimi üzerindeki inhibisyon değerleri	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. <i>Gynura</i> türü bitkilerin çiçek açma dönemlerindeki görselleri (A: <i>G. calcephila</i> var. <i>calcephila</i> ; B: <i>G. calcephila</i> var. <i>dissecta</i> ; C: <i>G. cusmbua</i> ; D: <i>G. pseudochina</i>)	6
Şekil 2.2. <i>G. divaricata</i> (a), <i>G. bicolor</i> (b), <i>G. procumbens</i> (c), <i>G. bicolor</i> (d)	7
Şekil 2.3. <i>G. malaccensis</i> bitkisi (a), yaprağı (b), çiçeği (c)	9
Şekil 2.4. <i>G. malaccensis</i> bitkisinin dünyada yayılışı	10
Şekil 2.5. Web of Science kapsamında yer alan <i>Gynura</i> türüne ait çalışmaların yıllara ait dağılımı	10
Şekil 2.6. <i>Gynura</i> türlerinde bulunan bazı kimyasal bileşiklerin yapıları: stigmasterol (1), izoarborinol (2), arborinol (3), zhebeiresinol (4), lumichrom (5), (2S, 3S, 4R, 8E) -2 - [(2R) -2-hidroksipalmitoilamino] -8-oktadesen-1,2,3-triol (6), siringik asidi (7), vanillik asit (8), trans-p-hidroksisinamik asit (9)	17
Şekil 2.7. <i>Gynura</i> türü bitkilerin Tayland'daki yayılımı	18
Şekil 2.8. <i>G. procumbens</i> yaprağına ait ekstrenin butanollü fraksiyonunda bulunan flavonol glikozitlerin yapıları	25
Şekil 2.9. Flavon ve flavanon yapıları	34
Şekil 3.1. <i>G. malaccensis</i> bitkisinden elde edilen çalışma materyali: a) Taze yapraklar, b) Etüvde kurutulan yapraklar, c) Yaprakların liyofilizatörde kurutulması d) Taze çiçek	37
Şekil 3.2. <i>G. malaccensis</i> yapraklarından hazırlanan ekstreler	40
Şekil 3.3. Çözücülerin düşük basınç altında rotavaporda uzaklaştırılması	41
Şekil 3.4. Ekstraksiyon için kullanılan MSD-SPME düzeneği	42
Şekil 3.5. Antioksidan bileşik ve DPPH arasındaki tepkime şeması	44
Şekil 3.6. ABTS ^{•+} reaktifinin elektron transferi	46
Şekil 3.7. Flavonoit bileşikler ve AlCl ₃ arasındaki tepkime	48
Şekil 4.1. <i>G. malaccensis</i> yapraklarından elde edilen ekstreler	51
Şekil 4.2. SPME Termal desorpsiyon	52

Şekil 4.3. <i>G. malaccensis</i> bitkisinin çiçeklerine ait uçucu bileşenlerinin kromatografik profili.....	53
Şekil 4.4. <i>G. malaccensis</i> bitkisinin taze yapraklarının uçucu bileşenlerinin kromatografik profili.....	56
Şekil 4.5. <i>G. malaccensis</i> bitkisinin etüvde kurutulmuş yapraklarının uçucu bileşenlerinin kromatografik profili.....	57
Şekil 4.6. <i>G. malaccensis</i> bitkisinin liyofilizatörde kurutulmuş yapraklarının uçucu bileşenlerinin kromatografik profili.....	58
Şekil 4.7. Taze <i>G. malaccensis</i> yapraklarından elde edilen metanollü ekstrenin genel kromatografik profili.....	58
Şekil 4.8. Liyofilizatörde kurutulmuş <i>G. malaccensis</i> yapraklarına ait metanollü ekstrenin genel kromatografik profili (Rt:6.7 min: 3-kafeoilkinik asit (klorojenik asit), Rt: 11.5 min: 3,5-dikafeoilkinik asit).....	59
Şekil 4.9. <i>G. malaccensis</i> yapraklarına ait metanollü ekstrede tespit edilen 3-5 kafeoilkinik asit spektrumu.....	59
Şekil 4.10. Trolox kalibrasyon eğrisi.....	62
Şekil 4.11. Gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	62
Şekil 4.12. Rutin kalibrasyon eğrisi.....	65
Şekil 5.1. Ekstrelerin verimlerine ait grafik	67
Şekil 5.2. <i>G. malaccensis</i> çiçek uçucu bileşenlerinin madde dağılımı.....	69
Şekil 5.3. Taze yapraklardaki uçucu madde gruplarının dağılımı	70
Şekil 5.4. Etüvde kurutulan yaprak uçucu madde gruplarının dağılımı	71
Şekil 5.5. Liyofilizatörde kurutulan yaprak uçucu madde gruplarının dağılımı	72
Şekil 5.6 Klorojenik asit	73
Şekil 5.7. <i>G. malaccensis</i> ekstrelerinin DPPH reaktifi üzerindeki etkisi	74
Şekil 5.8. LKYME için elde edilen konsantrasyon ve inhibisyon değerleri arasındaki ilişki logaritmik eğrisi	75
Şekil 5.9. LKYHE için elde edilen konsantrasyon ve inhibisyon değerleri arasındaki ilişki logaritmik eğrisi	75
Şekil 5.10. Ekstrelerin DPPH deneyine ait yüzde inhibisyon grafiği.....	76
Şekil 5.11. <i>G. malaccensis</i> ekstrelerinin ABTS•+ reaktifi üzerindeki etkisi.....	77

Şekil 5.12. Ekstrelerin troloksa eşdeğer antioksidan kapasitelerine ait grafik	77
Şekil 5.13. <i>G. malaccensis</i> ekstrelerinin Folin-Ciocalteu reaktifi üzerindeki etkisi.....	79
Şekil 5.14. Ekstrelerdeki toplam fenol miktarları verileri	79
Şekil 5.15. <i>G. malaccensis</i> ekstrelerinin $AlCl_3$ üzerindeki etkisi	80
Şekil 5.16. Ekstrelerdeki toplam flavonoit miktarları verileri	81
Şekil 5.17. <i>G. malaccensis</i> ekstrelerinin α -amilaz enzimi üzerindeki etkisi.....	82
Şekil 5.18. Ekstrelerin α -amilaz enzimi inhibisyon değerleri	83

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Abs	: Absorbans
ABTS	: 2,2'-Azino-Bis
ACF	: Aberrant Crypt Foci
AUBİBAM	: Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi
BATEM	: Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü
DM	: Diabetes Mellitus
DPPH	: 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil
e	: Eser Miktarı
EE	: Etanolü Ekstre
EKYHE	: Etüvde Kurutulmuş Yaprakların Hekzanlı Ekstresi
EKYME	: Etüvde Kurutulmuş Yaprakların Metanolü Ekstresi
FCR	: Folin-Ciocalteu Reaktif
FID	: Flame İonization Detector (Alev İyonlaşma Dedektörü)
GAE	: Gallik Aside Eşdeğer
GC	: Gas Chromatography (Gaz Kromatografisi)
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
IC ₅₀	: Hücrelerin Canlılığının Yarisını İnhibe Eden Konsantrasyon
Inh	: İnhibisyon
LC	: Liquid Chromatography (Sıvı Kromatografisi)
LKYHE	: Liyofilizatörde Kurutulmuş Yaprakların Hekzanlı Ekstresi
LKYME	: Liyofilizatörde Kurutulmuş Yaprakların Metanolü Ekstresi
MS	: Kütle Spektrometresi (Mass Selective)
MSD-SPME	: Micro Steam Distillation-Solid Phase Microextraction (Mikro Buhar Damıtma -Katı Faz Mikro Ekstraksiyon)

NIST	: National Institute Of Standards And Technology
$O_2^{\cdot}$	: Süperoksit Anyon Radikal
$OH^{\cdot}$	: Hidroksil Radikali
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RRI	: Relative Retention İndex
SE	: Sulu Ekstre
SOD	: Süperoksit Dismutaz
S.S.	: Standart Sapma
T2DM	: Tip 2 Diyabetes Mellitus
TEAK	: Troloksa Eşdeğer Antioksidan Kapasite
TFC	: Toplam Flavonoit İçerik
TPC	: Toplam Fenol İçerik
TYHE	: Taze Yaprakların Hekzanlı Ekstresi
TYME	: Taze Yaprakların Metanollü Ekstresi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tıbbi bitki, farmasötik amaçlı değerli maddeleri içeren bir bitki olarak tanımlanabilir (Karim vd. 2011). Bitkiler, özellikle geleneksel ilaçlar için, ilaç üretiminin temeli olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Hairon vd. 2016). Bitkisel ilaç bazlı geleneksel tıbbi tedavi sistemi, ekonomik öneme sahip hızla büyüyen bir sağlık sistemidir. Günümüzde dünyanın birçok ülkesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Afrika'da, nüfusun neredeyse %80'i bitkisel geleneksel tıp sistemini sağlık-bakım ihtiyaçlarının karşılanmasına yardımcı olmak için kullanmaktadır. Asya ve Latin Amerika'da insanlar tarihi koşullar ve kültürel inançlarından dolayı bitkilerle geleneksel tedaviyi kullanmaya devam etmektedir. Çin'de, geleneksel tıp, sunulan tüm sağlık hizmetlerinin %40'ını oluşturuyor. Araştırmalarda, geleneksel bitkilerin ağrı kesici ve anti-enflamatuvar ajan olarak halk arasında kullanıldığı belirtilmiştir (Jothimanivannan vd. 2010). Diğer araştırmalar, bitkilerin fenolikler, flavonoidler ve diğer yüksek miktardaki farmasötik bileşikler gibi doğal antioksidan kaynaklarını da içerdiğini göstermiştir (Barros vd. 2010; Li 2013; Skotti vd. 2014).

Günümüzde, bitkisel ilaçların ve diğer bitkisel sağlık ürünlerinin kullanımı artmaktadır. Gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde, politikacılar, sağlık uzmanları ve kamuoyu, bitkisel ürünlerin güvenliği, etkinliği, kalitesi, bulunabilirliği, korunması ve geliştirilmesi sorunları ile ilgili endişelerini giderek daha fazla dile getiriyor. Ayrıca, bitkisel ürünlerin ve geleneksel tıp / alternatif tıp uygulamalarının güvenliği, etkinliği ve kalitesi ile ilgili kanıtlar için kamu talebi de artmıştır. Bu kaygıları gidermek ve halkın taleplerini karşılamak için farklı bitkisel ilaçları veya doğal bitkisel drogların doğru bir biçimde tanımlanması, toksik özelliklerinin belirlenmesi ve kimyasal ve biyolojik profillerinin belirlenmesi gerekmektedir.

20. yüzyılın sonlarına doğru, epidemiyolojik çalışmalar ve ilgili meta-analizler, bitkisel gıdaları bakımından zengin diyetlerin uzun süreli tüketiminin; kronik hastalıklara, özellikle kansere karşı bir miktar koruma sağladığını şiddetle öne sürmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, daha sağlıklı yaşam ile bitkisel besinlerden zengin diyetlerin uzun süreli tüketimi arasındaki ilişkiyi desteklemiştir (Gould vd. 2006). Çalışmalar, bazı bitkilerin gıda olarak kullanılan bitkilerden daha güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Cai vd. 2004). Bu nedenle, tıbbi bitkilerin antioksidan

aktivitelerinin değerlendirilmesi çok önemlidir, çünkü gl antioksidan aktiviteye sahip bazı bitkiler, hem ham ekstrelerinin hazırlanması, hem de antioksidan bileşenlerin izolasyonu için doğal antioksidanların potansiyel kaynakları olarak seçilebilir (Gan vd. 2010).

Diabetes mellitus, metabolik disfonksiyon, bozulmuş insülin sekresyonu ve periferik dokuların direncinin neden olduğu hiperglisemi ve dislipidemi ile karakterize en sık görülen kronik hastalıklardan biridir ve sıklıkla ciddi komplikasyonlara eşlik eder (Islam vd. 2018; Tandon vd. 2012). Tip 2 diyabetes mellitus (T2DM) bu hastalığın en yaygın şeklidir ve dünya genelinde 300 milyondan fazla kişiye etkilemektedir (Zimmet vd. 2001). T2DM, pankreas fonksiyon bozukluğu nedeniyle anormal insülin sekresyonu ve insülin direnci ile karakterize insüline bağımlı olmayan bir diyabettir (Kahn vd. 2006). Aşırı kilo ve hipoglisemi riski glisemik hedeflerin başarısını engellemektedir. Tip 2 diyabetin farklı etki mekanizmaları üzerinde etkili çeşitli glikoz düşürücü ajanlar mevcuttur (Hassan vd. 2010). şu anda, mevcut tedaviler bir miktar başarı elde etmişlerdir, bunlar arasında inülin ve hipoglisemik ilaçlar yer almaktadır. Bununla birlikte, ilaç direnci ve yan etkileri endişe verici iki unsurdur. Araştırmacılar, belirgin farmakolojik aktiviteleri, düşük toksisiteleri ve yan etkileri nedeniyle diyabetin önlenmesi veya tedavisi için geleneksel Çin şıfalı bitkileri gibi doğal ürünler aramaktadırlar (Sharma vd. 2008; Tandon vd. 2012).

Yaygın olarak kullanılan oral hipoglisemik ajanlar, akarboz ve vogliboz gibi α -glukozidaz inhibitörleri postprandiyal hiperglisemiye doğrudan azaltır ve vasküler komplikasyonları önler (Derosa vd. 2012; He vd. 2014). Modern tıpla tedavi bazen bu tür hastalıkları iyileştiremez ve istenmeyen yan etkilere de neden olabilir. Bu nedenle, bitkilerden elde edilen doğal ürünler hastalıkların giderilmesinde önemli bir role sahiptir ve özellikle Asya'da çeşitli bölgelerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Bodeker, 2000). Bununla birlikte, bu ilaçların uzun süreli kullanımı kusma, kilo alımı ve diyare dahil olmak üzere istenmeyen yan etkilere yol açabilir (Joshi vd. 2014; Katahira vd. 2002). Bu nedenle çalışmalar, yan etkileri olmayan α -glukozidaz ve α -amilaza ait doğal, bitki kaynaklı inhibitörler geliştirmeye odaklanmıştır (Choi vd. 2016a).

Araştırmalar, farklı sebze, meyve ve bitki türlerinin tüketiminin sağlık yararları sağladığını ve çeşitli hastalıkların riskinin azalması ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (Deng

vd. 2013; Kaisoon vd. 2011; Khanam vd. 2012; Shahidi ve Zhong, 2010). Bu sağlık yararları, bitkilerde, özellikle flavonoidler ve diğer fenolikler gibi çeşitli antioksidan bileşiklerinden türetilen antioksidan potansiyeline atfedilir (Deng vd. 2013; Khanam vd. 2012; Pandey ve Rizvi, 2009; Shahidi ve Chandrasekara, 2013). Bu nedenle, sebze, meyve ve şifalı bitkilerden elde edilen antioksidan bileşiklerin araştırılmasına olan ilgi son yıllarda önemli ölçüde artmıştır; bu durum, besin olarak diyetin bir parçası olduğunda ya da gıda ürünleri olarak kullanıldığında sağlık yararlarından kaynaklanmaktadır (Deng vd. 2013; Escobedo-Avellaneda, 2014; John ve Shahidi, 2010; Kaisoon vd. 2011).

Antalya bölgesinde yaşayan halk balkon ve bahçelerinde *Gynura* türüne ait bitkiyi yetiştirerek taze yapraklarını günlük olarak tüketmektedir. Halk arasında bu bitkinin şekere ve mide rahatsızlıklarına iyi geldiği düşünölmektedir. Botanik tespitlere göre bu bitkinin *G. malaccensis* türü olup Antalya'ya yurt dışından getirilmiş olduğu düşünölmektedir. Türkiye Florası'nda bu bitki kayıtlı değildir. Asya ölkelerinde *Gynura* cinsinin başka bir türü olan *G. procumbens* özellikle şeker hastalığı, kanser, mide rahatsızlıkları gibi pek çok rahatsızlık için halk arasında fitoterapötik amaçla kullanılmaktadır. Antalya'da halk tarafından yetiştirilip tüketilen türün *G. procumbens* türüne çok benzeyen *G. malaccensis* türü olduğu tespit edildi. Kaynak taraması sonucunda *G. malaccensis* türü hakkında bilgilerinin kısıtlı olduğu tespit edildi. Bu sebeple bu tür üzerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmaların yapılması önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın amacı, *G. malaccensis* Belcher bitkisinin üzerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmalarının gerçekteştirilmesidir. Bu doğrultuda aşağıdaki araştırmalar hedeflenmiştir:

- Çalışılacak bitkisel materyalin temin edilmesi. Bu amaçla, Antalya'da BATEM'de (Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü) yetiştirilmekte olan bitki örnekleri Eskişehir'e AUBİBAM (Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi) merkezine getirilip saksılarda yetiştirilecektir.
- Araştırma materyali olan bitki yaprakları toplanıp kurutulacaktır. Toplanan yapraklar kurutulup farklı polaritedeki çözöcülerle (hekzan, metanol) ekstre edilecektir.
- Bitki çiçeklenme döneminde iken toplanan çiçeklerin uçucu profili araştırılacaktır.

- Ekstrelerin kimyasal profilleri kromatografik tekniklerle (GC-MS/FID, LC-MS/MS) araştırılacaktır. (GC:Gaz Kromatografisi-MS:Kütle Spektrometresi FID:Alev İyonlaşma Dedektörü LC:Sıvı Kromatografisi)

- Ekstrelerin taşıdığı toplam fenol (TPC) ve toplam flavonoit içerikleri (TFC) saptanacaktır.

- Ekstrelerin biyolojik potansiyellerini değerlendirmek amacıyla serbest radikal süpürücü aktiviteleri ve antidiyabetik etkileri araştırılacaktır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

Çalışmanın konusu *Gynura malaccensis* bitkisi, Asteraceae familyasının bir üyesi olup Güneydoğu Asya bölgesi kökenlidir. Türkiye’de bu bitki yetişmemektedir ancak son zamanlarda Antalya bölgesinde halk tarafından bahçelerde ve saksılarda yetiştirilip tüketilmektedir. Bu bölümde bitkinin ait olduğu familya ve türün morfolojik özellikleri açıklanmıştır.

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Papatyagiller (Asteraceae/Compositae) familyası

Asteraceae (Compositae) familyası yaklaşık olarak 1100 cins ve 25000 tür ile yeryüzünde temsil edilmekte (Heywood, 1978) ve yeryüzünün hemen her yerinde yayılış göstermektedir. Bununla birlikte, çiçekli bitkilerin en zengin familyası olduğu bilinmektedir. Asteraceae familyasının temsilcileri özellikle Amerika’nın güneybatısı ve Meksika, Brezilya’nın güneyi, And Dağları boyunca, Akdeniz Bölgesi, Güneybatı Asya, Orta Asya, Güney Afrika ve Avustralya’ da yoğun olarak bulunmaktadır (Oskay, 2015). Türkiye’de 133 cins ve 1156 türü vardır.

Çoğu otsu, az bir kısmı çalı veya ağaçlardır. Yapraklar alternan veya karşılıklı veya hepsi tabanda bulunur. Compositae familyasının tipik çiçek durumu bir kapitulumdur (Şekil 2.1.) ve kapitulum tabanında braktelerden yapılmış bir involukrum vardır. Çiçekler erdişi veya tek eşeyli, aktinomorf veya zigomorftur. Kaliks bir papus şeklinde, bazen bir halka veya pul biçiminde, bazen eksiktir. Korolla 5 birleşik patelli, tüp veya dil şeklinde. Stamen 5, filamentler serbest, anterler birleşik durumdadır. Ovaryum alt durumda 2 karpelli bir ovüllüdür. Meyva, tepesinde bir papus, bir kaliks artığı veya tepede böyle bir organı olmayan bir akendir.



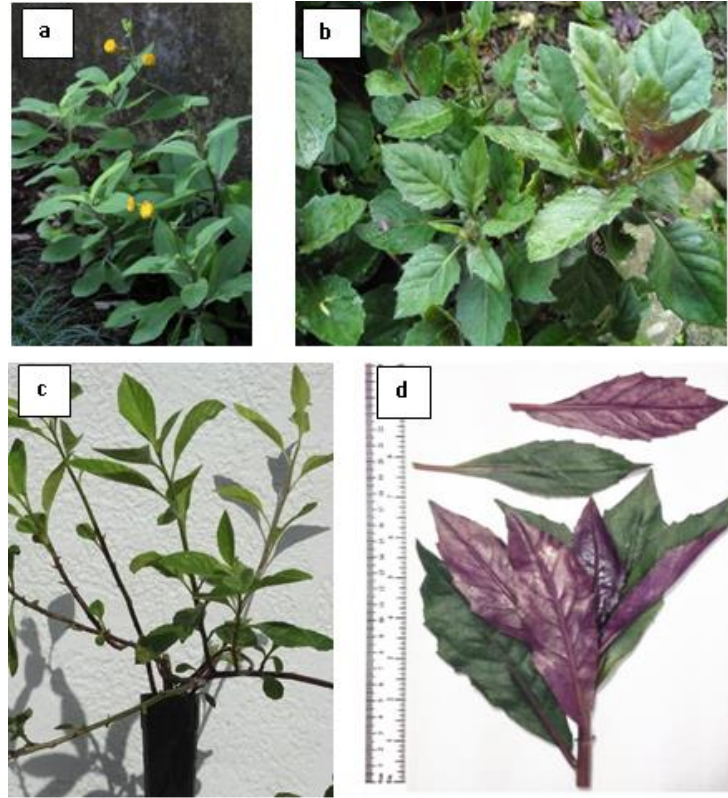
Şekil 2.1. *Gynura* türü bitkilerin çiçek açma dönemlerindeki görselleri (A: *G. calciphila* var. *calciphila*; B: *G. calciphila* var. *dissecta*; C: *G. cusmbua*; D: *G. pseudochina*)

Bu familya temsilcileri, uçucu yağ ve acı madde taşıdıklarından dolayı tıbbi olarak kullanılan, inulin ve sabit yağ taşıdıklarından dolayı gıda maddeleri veren ve lateksinde kauçuk taşıdıklarından dolayı sanayi değeri olan bitkilerdir (Baytop, 1996).

2.1.2. *Gynura* Cass. cinsinin morfolojik özellikleri

Gynura cinsi Asteraceae bitki ailesine aittir (Bhore vd. 2010). Sağlığı koruma etkinliği iyi olan ve özellikle tıpta ve fonksiyonel gıdada yaygın olarak kullanılan bir tür çok yıllık bitki olan *Gynura* Cass cinsi (Xu vd. 2017) Güney Afrika, Güneydoğu Asya ve Yeni Gine boyunca kuzey Avustralya'ya doğru tropikal Afrika'dan Güney Asya'ya dağılım gösterir (Vanijajiva, 2009). Bütün türler aynı kromozom numaralarına sahiptir ($2n = 2x = 20$ E.1.1.). Kromozom tanımları, bu türlerin, metasentrik ve submetasentrik kromozomlardan oluşan aynı simetrik karyotipte olduğunu gösterdi (Eksomtramage vd. 2010).

Genellikle Aralık ayından Mayıs ayına kadar yıl boyunca çiçeklenir. Tayland'da 10 takson var (Vanijajiva, 2009). *Gynura* Cass. homogamik disiform kapitula, genellikle sarı korolla ve çoğunlukla uzun ve gelişmiş stilus kolları ile karakterize çok yıllık otsu bir Asteraceae-Senecioneae cinsidir (Nordenstam, 2007). Tropikal Afrika'dan Güney ve Doğu Asya ve tropikal Avustralya'daki bir tür ile birlikte Avustralya'ya kadar dağıtılmaktadır. En yüksek spesifik çeşitlilik Güneydoğu Asya'da bulunur. *Gynura* türleri, ağaç boşlukları gibi primer bitki örtüsündeki açık yerlerde veya nehir kenarları boyunca ya da yol kenarları gibi bozulmuş veya sekonder bitki örtüsünde yetişir. Deniz seviyesinden 3000 m yüksekliğe kadar bulunabilirler (Vanijajiva ve Kadereit, 2011). Compositae familyasına ait *Gynura* Cass. cinsinin 10 türü vardır ve Çin'de geniş çapta yayılmıştır. Çin'de *G. divaricata* çoğunlukla yabanidir ve *G. bicolor* bazı bölgelerde sebze olarak yetiştirilmektedir (Li vd. 2009). *Gynura* cinsine ait bazı türlerin görüntüleri Şekil 2.2.'de gösterilmiştir (http1, http-2, http-3, Chao vd. 2014).



Şekil 2.2. *G. divaricata* (a), *G. bicolor* (b), *G. procumbens* (c), *G. bicolor* (d)

Ömür: Çok yıllık

Yapı: Otsu

Çiçeklenme: Aralık (ilk çiçeklenme)-Mayıs (son çiçeklenme)

Habitat: Çam veya yaprak döken ormanlar, nemli alanlar

Yükseklik: 3000 m kadar

Endemik: Endemik değil

Element: Tropik ortam

Türkiye dağılımı: Özel yetiştirme

Genel dağılımı: Güneydoğu Asya

2.1.3. *Gynura malaccensis* bitkisinin morfolojik özellikleri

Gynura malaccensis türü üzerinde taksonomik çalışmalar çoğunlukla Davies (1978, 1979, 1980, 1981) tarafından yayınlanmıştır. Belcher tarafından birkaç yeni takson tanımlanmıştır (Belcher, 1988). Cinsin revizyonu 2011 yılına Vanijajiva ve Kadereit tarafından yapılmıştır (Vanijajiva ve Kadereit, 2011).

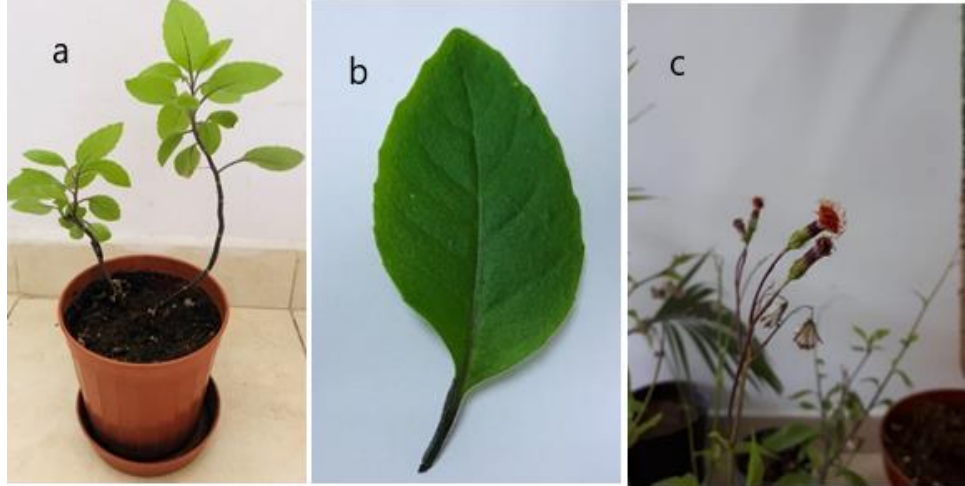
Belcher daha önce yaptığı çalışmalarda (Belcher, 1955) bu bitkiden *E. hieracifolia* olarak bahseder (Tjitrosoedirdjo, 2002). *Gynura malaccensis* Belcher ismi, *Gynura* cinsindeki bu bitkinin kabul edilen ismidir. Tutanaklar, TICA'dan (2012-02-11'de verilen veriler), orijinal yayın ayrıntılarıyla birlikte kabul edilen bir ad (kayıt 9AE14838-F94B-4B95-823C-C93A53FCE700) olduğunu rapor eder: Kew Bull. 44 538 1989. Eş anlamlı: Bu isim için eş anlamlı kullanılan bir sinonim yok ([http-5](http://5)).

Kew Bull'da Vanijajiva'nın revizyonundaki bitkinin (Vanijajiva ve Kadereit, 2011) *Gynura malasica* sensu F.G. Davies,. olarak yer alma sebebi R.O. Belcher'in bu bitkinin *G. malaccensis* olarak tanımlanmadan önceki isimlerinin *Gynura malasica* (Ridl.) Ridl., (sinonim olarak, *Erechtites hieraciifolius* (L.) Raf eski DC.) olmasıdır. ([http-6](http://6)). Robert O. Belcher, F.G. Davies'in 1980 yılında *Gynura* türünü tanımlayan makalesini (Davies, 1980) düzenleyerek revize edip 1989'da tekrar yayınlamış ve bu bitkinin yeni bir tür olduğunu ifade etmiştir (Belcher, 1989): 35: 716. 1981. *Gynura malaccensis* R. O. Belcher. *Kew Bull*'da 44: 538. 1988. Tip: Malezya, Malacca, Griffith 3235 (holotip ve izotip, K!).

Bitkiler 50-100 cm yüksekliğinde, lifli kökleri, dik, altı, seyrek tüylü kaynaklanıyor. Petioller 1–3 cm uzunluğunda, cılız, tüysüz. Bıçaklar mızrak şeklinde, 5-10 x 2–3 cm, tüysüz, baz kuneat, apeks akut, kenar boşluğu iri ve uzak.

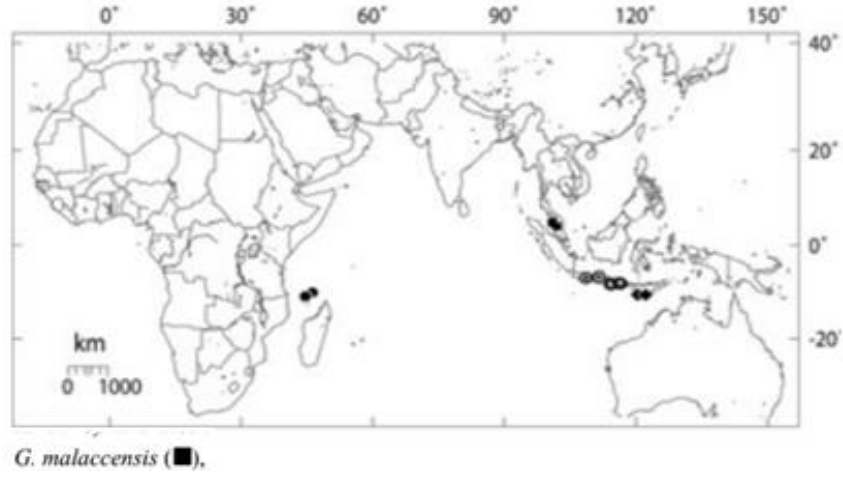
Lakap cymose salkımlarında, capitula 3-8; pedinküller ince, 5-10 cm uzunluğunda, tüylü, 2-4, 3-6 mm uzunluğunda, tüysüz; 11–13 mm uzunluğunda, 3–6 mm çapında; 3–5, 3–6 mm uzunluğunda kaliküler bağlar, tüysüz; filamentler 12–14, 1-2 mm genişliğinde, seyrek tüylü. Floretler 20–30; 9-11 mm uzunluğunda sarı koroller, 3.5-4 mm. Anterler 2 mm uzunluğunda, anter yakaları uzamıştır. Stil kolları 3 mm uzunluğunda. 4 mm uzunluğunda Cypselas, kahverengi, tüysüz; carpophodyum silindirik, sarımsı; pappus 10-12 mm uzunluğunda, kirli beyazdan sarımsıya.

Tanımlama: *G. malaccensis*, ince uzun pedunceleri ve genellikle mızrak şeklinde yaprakları ile kaba ve uzak kenarları belirsiz bırakanları ile tanınır. Yapraklar genellikle gövdenin alt kısmında toplanır (Vanijajiva, 2011). *G. malaccensis*'e ait görseller Şekil 2.3.'te yer almaktadır.



Şekil 2.3. *G. malaccensis* bitkisi (a), yaprağı (b), çiçeği (c)

Ekim ayında çiçeklenme. Açık güneşli bölgelerde yetişir, süs olarak yetiştirilir. 300–400 m. Sadece Malezya ve Endonezya'da bilinir (Vanijajiva ve Kadereit, 2011). Endemik bir bitki olduğu rapor edilmiştir (Tjitrosoedirdjo, 2002). *G. malaccensis* bitkisinin dünya üzerindeki yayılımı Şekil 2.4.'te yer almaktadır (Vanijajiva ve Kadereit, 2011).

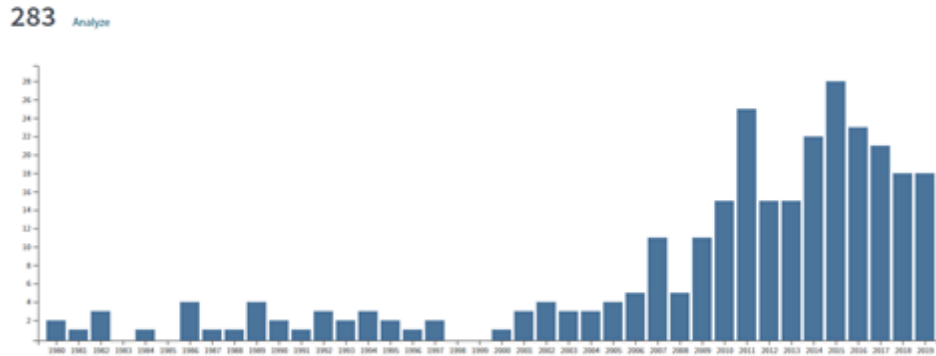


Şekil 2.4. *G. malaccensis* bitkisinin dünyada yayılışı

2.2. Kimyasal Bilgiler

2.2.1. *Gynura* Cass. Türü bitkilerin kimyasal profili

Gynura cinsi üzerinde yapılan çalışmalar son yıllarda artış göstermektedir. *Web of Science*’ta yapılan tarama sonucunda bu tür üzerinde 300'e yakın bilimsel çalışma bulunmaktadır. Şekil 2.5. incelendiğinde son yıllarda yapılmış bilimsel araştırma çalışmalarının sayısında yüksek ivmeli bir artış gözlemlenmektedir (<http://7>).



Şekil 2.5. *Web of Science* kapsamında yer alan *Gynura* türüne ait çalışmaların yıllara ait dağılımı

Gynura cinsinin fitokimyasal profili üzerinde yapılan kimyasal araştırmaların sonucunda bitkilerde flavonoit, fenolik asit, serebrositler, polisakkarit, alkaloidler, terpenoitler ve steroller gruplarının temsilcileri saptanmıştır. Özellikle fenolik yapıtaşı olan bileşikler pek çok türde bulunmuştur. Fenolik asit ve flavonoit grubu bileşikler, *Gynura* cinsinin ana bileşenleridir. Bununla birlikte, bitkinin kimyasal bileşenleri ve farmakolojik

faaliyetleri hakkında az bilgi bulunmaktadır (Liu vd. 2010). Kaynak taraması sonucunda fitokimyasal araştırmaların *G. procumbens* türü üzerinde yoğunlaştığı görülmüştür. *G. procumbens*'e ait besin ve nem içeriği Tablo 2.1.'de yer almaktadır (Puangpronpitag vd. 2010). Bir başka çalışmada *G. procumbens* taze yapraklarının protein içeriği 0.442 mg/g olarak rapor edilmiştir (Hew vd. 2011).

Tablo 2.1. *G. procumbens*'e ait besin ve nem içeriği

Özellik	İçerik
Nem	7,08 g/100 g kuru ağırlık
Karbonhidrat içeriği	0,0537-0,1968 µg glukoz eşdeğeri /100 g kuru ağırlık
Protein	4,51 g/100 g kuru ağırlık
Lipit	0,023 g/100 g kuru ağırlık

G. bicolor sulu ekstre (SE) ve etanollü ekstresindeki (EE) fenolik asitlerin ve flavonoidlerin içeriği Tablo 2.2.'de yer almaktadır (Chao vd. 2015).

Tablo 2.2. *G. bicolor* sulu ekstre (SE) ve etanol ekstresindeki (EE) fenolik asitlerin ve flavonoidlerin içeriği

Bileşik	SE (100 g kuru ağırlık başına mg)	EE (100 g kuru ağırlık başına mg)
Toplam fenolik asitler	1428 ± 137	1569 ± 95
Kafeik asit	83 ± 9	105 ± 8
Klorojenik asit	146 ± 13	138 ± 15
Kumarik asit	72 ± 8	65 ± 4
Ellajik asit	92 ± 6	123 ± 7
Ferulik asit	152 ± 10	174 ± 12
Gallik asit	28 ± 5	44 ± 6
Protokateşik asit	20 ± 2	32 ± 5
Rozmarinik asit	53 ± 5	75 ± 6
Toplam flavonoidler	1934 ± 108	2175 ± 135
Apigenin	160 ± 14	203 ± 8

Tablo 2.2. (Devam) *G. bicolor* sulu ekstre (SE) ve etanol ekstesindeki (EE) fenolik asitlerin ve flavonoidlerin içeriği

Bileşik	SE (100 g kuru ağırlık başına mg)	EE (100 g kuru ağırlık başına mg)
Epikateşin	18 ± 2	24 ± 3
Kemferol	57 ± 7	80 ± 9
Mirsetin	127 ± 9	87 ± 7
Narenferin	93 ± 9	85 ± 5
Kersetin	221 ± 16	269 ± 12
Rutin	131 ± 11	156 ± 13

Literatür taraması sırasında çeşitli *Gynura* türü bitkileri üzerinde yapılmış fitokimyasal çalışmalara rastlanmıştır. Bu çalışmaların sonuçları ile derlenen bilgiler Tablo 2.3'te özetlenmiştir. *Gynura* türü bitkilerin çeşitli fenolik bileşikleri, bazı proteinleri, karbonhidratları, uçucu bileşenleri, alkaloidleri, mineralleri, vitaminleri içerdiği rapor edilmiştir (Yin vd. 2018; Xu ve Zhang, 2017; Roeder vd. 1996; Wan vd. 2013) Ancak *G. malaccensis* bitkisi ile yapılmış herhangi bir fitokimyasal çalışmaya rastlanamamıştır.

Tablo 2.3. *Gynura* türlerinden izole edilen sekonder metabolitler

Tür	Ana Madde	Kaynak
<i>G. segetum</i> (Lour.) Merr.	Steritler (Stigmasterol)	
	Triterpen (İzoarbarinol, Arbarinol)	
	Lignan (Zhebeiresinol)	Zhua vd. 2013
	Lumikrom,	Seow vd. 2014a
	Fenolik asitler: (<i>trans-p</i> -Hidroksisinnamik asit,	Lin vd. 2011
	Siringik asit)	Seow vd. 2013
	Serebrositler, Vanillik asit	
	Pirolizidin alkaloidleri, Seskitrpenler	
	Flavonlar	
	Undekan, Neophytadiene	
	Yağ asitleri: (Hekzadekanoik asit,	
	Oktadekanoik asit, 9,12-Oktadekadienoik,	Seow vd. 2011
	9,12,15-oktadekatrienoik asit)	
	Fitol, Tetradekanol, γ -sitosterol	

Tablo 2.3. (Devam) *Gynura* türlerinden izole edilen sekonder metabolitler

Tür	Ana Madde	Kaynak
<i>G. segetum</i> (Lour.) Merr.	Tanen	Seow vd. 2014a
	Saponin	Seow vd. 2013
	Flavonoitler	
	Pirolizidin Alkaloitleri	Seow vd. 2014b
	Triterpenler, Seskiterpenoitler	Lin vd. 2011
	Steritler	
<i>G. bicolor</i> DC	Mono ve seskiterpenler (α -pinen, γ -pironen, γ -elemen, δ -kadinen, α,β - karyofilen, (<i>E</i>)- β -farnesen)	Ren vd 2014a Ren vd 2014c
	Fenolikler: kersetin, rutin, gallik asit	Wu vd. 2015
	Klorofil	Lu vd. 2012
	β -karoten	Yin vd. 2017
	Antosiyanin	Shimizu vd 2010a
	Demir	Shimizu vd 2010b
		Ren vd. 2014b
	Sifingolipitler (serebrositler)	Chen vd. 2009
	Flavonoit	
	Alkaloit	
	Şeker	Wu vd. 2011
	Protein	
	Fenolik bileşik: (dikaffeoilkinik asit, klorojenik asit, kampferol-3-O-rutinosid-7-O- β -D- glikopiranozit, 3,5-dikaffeoilkinik)	
	C Vitamini	Yin vd. 2018
	Protein	Xu ve Zhang, 2017
	Lif	Roeder vd. 1996
	Mineraller	Wan vd. 2013
	Polisakkaritler	
	Terpenoitler, Yağ Asitleri, Alkaloitler (pirolizidin grubu) Serebrositler	

Tablo 2.3. (Devam) *Gynura* türlerinden izole edilen sekonder metabolitler

Tür	Ana Madde	Kaynak
<i>G. bicolor</i> DC.	Terpenler (Ökalyptol, 1-undesen, perilla aldehit, 2-undekanon, α -kubeben, kopaen, naftalin, 2,3,4,4a, 5,6-hekzahidro-1,4a- dimetil-7- (1-metiletil), β -karyofilen, β -farnesen, α -karyofilen, α -farnesen, serden, γ -elemen, δ -kadinen, fitol, spatulenol, ledol, kubenol, aromadendren oksit, bisiklo (3,1,0) heksan-6-metanol, 2-hidroksi- 1,4,4-trimetil, 2-undekanon, 6,10-dimetil, 1-dekanol) Yağ asiti: 2-heksiln-heksadekanoik asit	Xu ve Zhang, 2017
	Pirolizidin alkaloidleri	Roeder vd. 1996
<i>G. elliptica</i> Yabe & Hayata	İridoit Terpenil kumarin Spirostanol steroid Pirolizidin, Purin, Pirimidin Kromanon	Lin vd. 2000
<i>G. formosana</i> Kiamnra	Fenolik bileşikler Flavonoit glikozitleri	Hou vd. 2004
<i>G. formosana</i>	Kromanon	Jong vd. 1997
<i>G. formosana</i> Kitam	Polifenolikler	
	Flavonoitler	Ma vd. 2018
	Alkaloidler	Ma vd. 2017
	Terpenler Saponinler	
<i>G. japonica</i> (Thunb.)	Serebrositler	Lin vd. 2004
	B kinonoit Terpenoit	
	Kromanon	Lin vd 2003
	Steroidler	

Tablo 2.3. (Devam) *Gynura* türlerinden izole edilen sekonder metabolitler

Tür	Ana Madde	Kaynak
<i>G. medica</i>	Flavonoit	
	fenolik asitler	
	(kemferol, kersetin,	
	glikozitler:	
	kersetin-3-O-rutinozit,	Liu vd. 2010
	kaempferol-3-O-glukozit),	Tan vd. 2013
	Serebrositler	
	Polisakkarit	
	Alkaloitler	
	Terpenoitler	
	Steroller	
	Polisakkaritler	Li vd. 2016
<i>G. pseudochina</i> (L)DC	Fenolik bileşikler:	
	protokateşik asit-o-hekzosit,	
	kafeol kinik asit izomer1,	
	klorojenik asit,	
	ızobavakalkon,	
	feruoil glukozit,	
	apigenin,	Moektiwardoyo vd.
	kafeol glukozit,	2014
	kafeol kinik asit izomeri,	Sukadeetada vd. 2018
	propilmalat,	Mongkhonsin vd.
	dihidrobenezaldehit,	2016
	p-kumaril kinik asit,	
	kafeik asit, rutin,	
	kaempferol rutinozit,	
	disikolil kinik asit izomeri1,	
	disikolil kinik asit izomeri,	
	disikolil kinik asit izomeri3	
	Saponin,	
	Steroid	
	Triterpenoit	Mongkhonsin vd.
	Monoterpen	2016
	Seskiterpen	

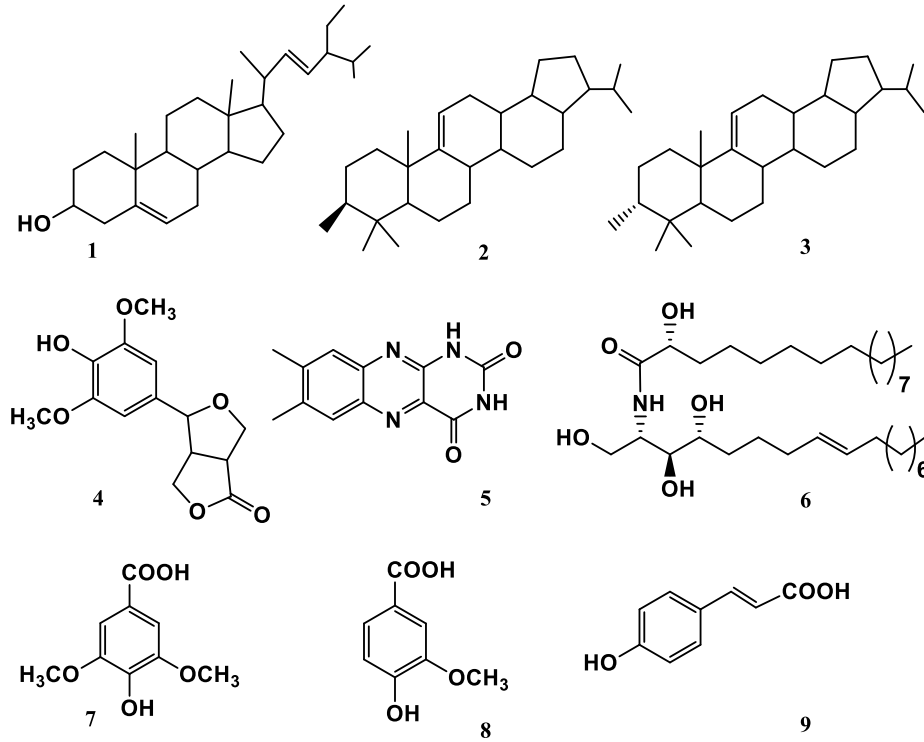
Tablo 2.3. (Devam) *Gynura* türlerinden izole edilen sekonder metabolitler

Tür	Ana Madde	Kaynak
<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr	Saponin	
	Tanen	Rahman vd. 2013
	Terpenoit,	Dwijayanti vd. 2015
	triterpenler	Kaewseejan vd. 2014
	Stigmasterol,	Hassan vd. 2010
	steroller	Bhore vd. 2010
	Fenolik bileşikler:	Sunarwidhi vd. 2014
	(kaempferol-3-o-neohesperidozit,	Akowuah vd. 2002
	kaempferol-3-glukozit, kersetin,	Mahmood vd. 2010
	kersetin-3-ramnozil, galaktozit,	Wang vd. 2013
	kersetin-3-o-ramnosil glukozit,	Algariri vd.2014
	protokatekuik asit, <i>p</i> -hidroksibenzoik asit,	Lokhande vd. 2014
	korojenik asit, gallik asit,	Li vd. 2017
	vanilik asit, kafeik asit, siringik asit, <i>p</i> -	Iskander vd. 2002
	kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit)	Shwter vd., 2014
	Uçucu yağlar	Rosidah vd. 2008
	Sterol glikozitleri	
	Kaffeolkinik asit türevleri	
<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr	Fitosteril glukozitler	Jarikasem vd. 2013
	Glikogliserolipitler	
	Alkaloitler	
	Kumarinler	Tan ve vd. 2016
	Flavonoitler,	Ibrahim vd. 2017
	Saponin,	Pramita vd. 2018
	Triterpenler,	
	Valepotriatlar	
	Arabinoz, galaktoz, glikoz, ksiloz	
	galakturonik asit	Li vd. 2017
	Klorofil,	
	α -, β -Karotenoitler,	Kaewseejan vd. 2012
<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr	Alkaloitler,	Lokhande vd. 2014
	Uçucu yağ	
	Flavonoitler	Choi vd. 2016
	(Kaempferol, Mirisetin, Kersetin)	

Tablo 2.3. (Devam) *Gynura* türlerinden izole edilen sekonder metabolitler

Tür	Ana Madde	Kaynak
<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr	Sterol, sterol glikozitleri	Sadikun vd. 1996
	Nötr şeker, Üronik asit, Protein,	Pramita vd. 2018
	Monosakkarit (Arabinoz, Galaktoz, Glukoz, Ksiloz, Galakturonik asit)	Hew vd. 2013
	Flavonoit, sterol, steroit, bazı proteinler	Jeong ve Kim, 2015

Gynura türlerinde bulunan bazı kimyasal bileşiklerin yapıları Şekil 2.6.'da verilmiştir (Lin vd., 2000; Lin vd. 2004; Zhu vd. 2013).

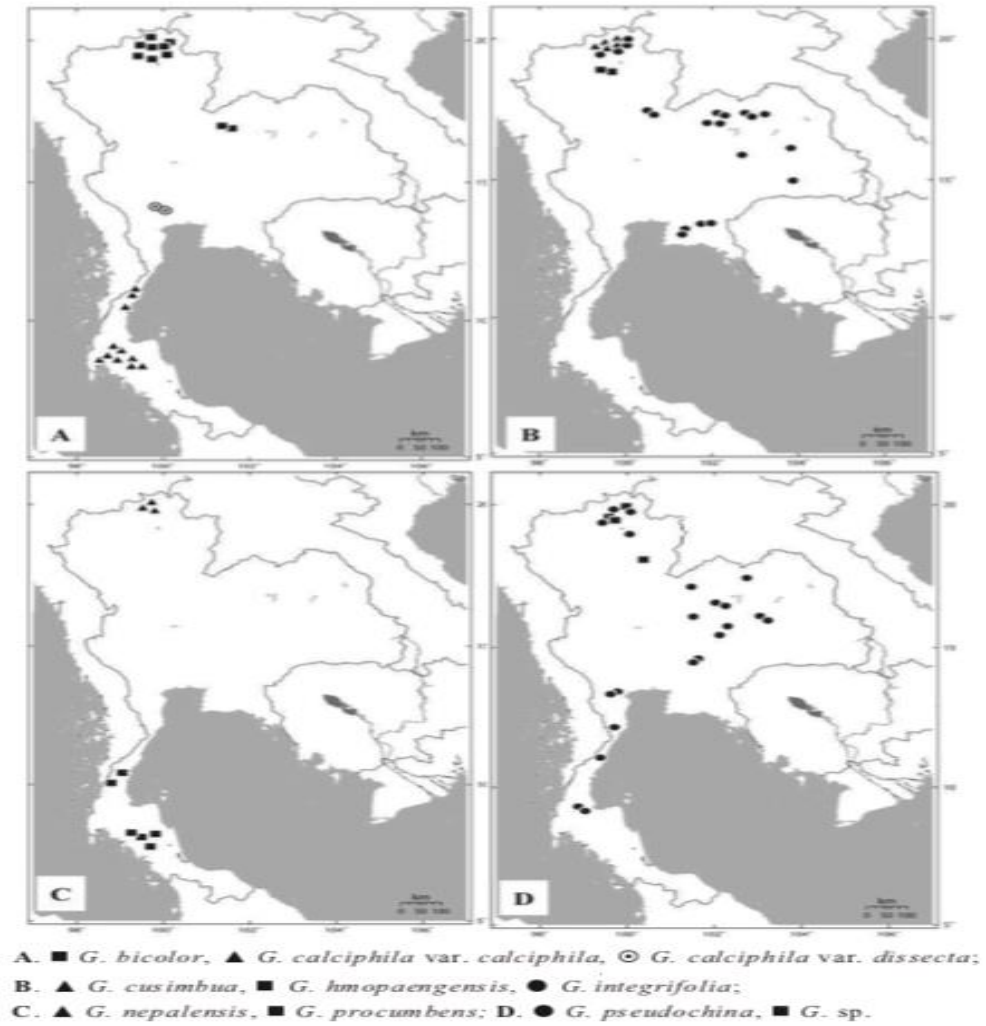


Şekil 2.6. *Gynura* türlerinde bulunan bazı kimyasal bileşiklerin yapıları: stigmasterol (1), izoarborinol (2), arborinol (3), zhebeiresinol (4), lumichrom (5), (2S, 3S, 4R, 8E) -2 - [(2R) -2-hidroksipalmitoilamino] -8-oktadesen-1,2,3-triol (6), siringik asidi (7), vanillik asit (8), trans-p-hidroksisinamik asit (9)

2.3. *Gynura* Türü Bitkilerin Biyolojik Etkileri

2.3.1. Geleneksel ve ticari kullanım

Gynura türü bitkiler, Tayland, Endonezya, Malezya gibi Güneydoğu Asya ülkelerinde yayılış göstermektedir. Çeşitli kaynaklar, bitkinin Tayland'da *G. bicolor*, *G. pseudochina*, *G. elliptica*, *G. japonica* gibi birçok türünün yayılış gösterdiğini rapor etmiştir (Davies, 1979). Bu bölgelerin yöresel bitkisi olan *Gynura* bitkilerine ulaşım kolay ve tüketim fazladır. Çeşitli *Gynura* türlerinin Tayland'daki yayılımı Şekil 2.7.'de gösterilmektedir (Vanijajiva, 2009).



Şekil 2.7. *Gynura* türü bitkilerin Tayland'daki yayılımı

G. formosana Kitam. bitkisi Çin'de diyabet, kanser ve enflamasyonun önlenmesi için Ming hanedanından beri geleneksel ve yaygın olarak kullanılmıştır. Halk ilacı olarak *Gynura* cinsinin pek çok bitkisi bronşit, akciğer tüberkülozu, boğmaca, göz ağrısı, diş ağrısı, romatizmal artralji ve diyabet (Liu vd. 2010) kanser, iltihaplanma, ve viral enfeksiyonlar, böbrek hastalığı, migren, hipertansiyon tedavisinde ikincil metabolitlerin içeriğinden dolayı, (Tan vd. 2016) yaygın olarak besin ve geleneksel ilaç olarak kullanılmıştır (Wang vd. 2013).

G. procumbens yaprakları Malezya'da yıllardır salata olarak tüketilmiştir (İbrahim vd. 2017). Aynı şekilde *G. segetum* da Malaylar tarafından Ulam isimli salatada sebze olarak tüketilmiştir (Shimizu vd. 2010a).

Geleneksel olarak Orta Asya'da halk ilacı olarak tüketilen *Gynura* cinsleri halk arasında farklı isimlerle adlandırılmaktadır. *G. divaricata* DC. doğrudan çevrildiğinde “hepatit otu” veya “gānyán cǎo” geleneksel adıyla tıpta hepatit tedavisi için kullanıldığını açıkça gösterilmektedir (Yena vd. 2018). Aynı zamanda Çin Cumhuriyeti'nde - bai bei \$an qi olarak da geleneksel isimlendirmesi mevcuttur (Roeder vd. 1996; Yin vd. 2018). *G. pseudochina* (L) D.C “dewa yaprakları” (Moektiwardoyo vd. 2014), *G. procumbens* (Lour.) Merr. (Hassan vd. 2010), Malay dilinde “sambung nyawa” (Hassan vd. 2010) ve Çince dilinde “bai bing ca” (Bhore vd. 2010), *G. segetum*- Malay dilinde “daun dewa”, (Seow vd. 2011) olarak kullanılmaktadır.

Gynura türüne ait bitkilerin halk arasında kullanım bilgileri Tablo 2.4,'te yer almaktadır.

Tablo 2.4. *Gynura* türlerinin halk ilacı olarak kullanımı

Kullanım amacı	Bitki	Ülke	Kaynak
Bronşit			
Pulmoner tüberküloz			
Boğmaca öksürüğü	<i>G. divaricata</i> DC.	Çin	Chen vd. 2009
Diş ağrısı, Diyabet			
Romatizmal artralji			
Göz ağrısı			
Hepatit ve karaciğer kanseri gibi karaciğer bozuklukları	<i>G. divaricata</i> DC.	Tayvan	Yena vd. 2018

Tablo 2.4. (Devam) *Gynura* türlerinin halk ilacı olarak kullanımı

Kullanım amacı	Bitki	Ülke	Kaynak
Diyabet	<i>G. divaricata</i> DC.	Çin	Yin vd 2018 Xu vd. 2017
Kan dolaşımını arttırmak	<i>G. elliptica</i> Yabe & Hayata	Tayvan	Lin vd. 2000
Hipertansiyon, Diabetes mellitus, Serebral enfarktüs	<i>G. formosana</i> Kiamnra	Tayvan	Hou vd. 2005
Diyabet, kanser ve enflamasyonun önlenmesi	<i>G. formosana</i> Kiamnra	Çin'de	Ma vd. 2018, Ma vd. 2017
Travma, yaralanmalar	<i>G. japonica</i> (Thunb.)	Çin	Lin vd. 2004
Diyabet, çıban, şişlik, hemostazis	<i>G. divaricata</i> DC. <i>G. bicolor</i> DC.	Çin, Japon	Li vd. 2009, Chen vd 2015
Sağlığı korumak	<i>G. medica</i>	Çin'in güneydoğu bölgesi	Li vd. 2016
Erüptif ateş, Kızarıklık, Böbrek hastalıkları, Migren, Kabızlık, Hipertansiyon, Diyabet, Kanser	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr	Güneydoğu Asya	Rahman vd. 2013
Antienflamatuvar ilaç	<i>G. procumbens</i> Merr.	Çin	Jarikasem vd. 2013
Erüptif Ateş, Döküntü, Böbrek Hastalığı, Migren, Kabızlık, Hipertansiyon, Diabetes mellitus, Kanser	<i>G. procumbens</i> Merr.	Singapur Malezya Endonezya	Jarikasem vd. 2013
Gastrointestinal bozukluklar İltihaplanma, Romatizma, Deride Viral hastalıklar, Böbrek hastalıkları, Kızarıklıklar, Ateş, Migren,	<i>G. procumbens</i> Merr.	Güneydoğu Asya ülkeleri	Mahmood vd. 2010

Tablo 2.4. (Devam) Gynura türlerinin halk ilacı olarak kullanımı

Kullanım amacı	Bitki	Ülke	Kaynak
Enflamasyon, , Erüptif Ateş, Kızarıklık, Böbrek Hastalığı, Migren, Kabızlık, Romatizma, Viral Enfeksiyonlar	<i>G. procumbens</i> Merr.	Güneydoğu Asya ülkeleri	Wang vd. 2013
Kanser, Diyabet Böbrek Hastalığı, Migren, Hipertansiyon,	<i>G. procumbens</i> Merr.	Güneydoğu Asya ülkeleri	Ibrahim vd. 2017
Ateş, kabızlık, böbrek hastalıkları, romatizma, deride viral hastalıklar, döküntüler, migren, kanser	<i>G. procumbens</i> Merr.	Malezya Tayland Endonezya Kore Filipinler	Bhore vd. 2010
Böbrek hastalıkları, Kızarıklık, Ateş, Hipertansiyon	<i>G. procumbens</i> Merr.	Borneo Java Filipinler Malezya	Hoe vd. 2011
Ateş, Böbrek hastalığı, Migren, Kabızlık, Hipertansiyon, Diabetes Mellitus, Kanser	<i>G. procumbens</i> Merr.	Güneydoğu Asya (özellikle Endonezya, Malezya, Tayland)	Algariri vd. 2014 Lokhande vd. 2014
İltihaplanma, herpes simpleks virüsü, döküntü, ateş, romatizma, böbrek hastalığı, migren, kabızlık, diyabet, kanser ve hipertansiyon	<i>G. procumbens</i> Merr.	Tayland Güneydoğu Asya	Kaewseejan vd. 2012 Perry, 1980
Böbrek hastalıkları, erüptif ateş, döküntü, hipertansiyon, diabetes mellitus, hiperlipidemi	<i>G. procumbens</i> Merr.	Endonezya	Abrika vd. 2013
İltihaplanma, kanser, diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi	<i>G. procumbens</i> Merr.	Endonezya Tayland Malezya Vietnam Çin	Li vd. 2017 Tan vd. 2016

Tablo 2.4. (Devam) Gynura türlerinin halk ilacı olarak kullanımı

Kullanım amacı	Bitki	Ülke	Kaynak
Enflamasyon, romatizma, deride viral rahatsızlıklar	<i>G. procumbens</i> Merr.	Tayland	Iskander vd. 2002
Ateş, deri döküntüleri ve saçkıran enfeksiyonu	<i>G. procumbens</i> Merr.	Endonezya	
Yaralar ve yılan ısırıkları (harici)	<i>G. formosana</i>		
Döküntü, erüptif ateş, migren, böbrek bozukluğu, kabızlık, diabetes mellitus hipertansiyon, kanser	<i>G. procumbens</i> Merr.	Güneydoğu Asya'da; özellikle Malezya, Endonezya, Tayland	Shwter vd., 2014, Rosidah vd. 2009 Haion vd. 2016
Diyabet	<i>G. procumbens</i> Merr.	Çin	Choi vd. 2016
Erüptif ateş, kızarıklık, böbrek hastalığı, migren, kabızlık, hipertansiyon, diabetes mellitus, kanser	<i>G. procumbens</i> Merr.	Güneydoğu Asya'da, özellikle Endonezya, Malezya, Tayland	Rosidah vd. 2008
Lösemi, uterik ve meme kanseri gibi bazı kanserler	<i>G. procumbens</i> Merr.	Endonezya Magelang, Jawa Tengah	Agustina vd. 2006
Karaciğeri korumak ve hepatiti hafifletmek ve iltihaplanma, böbrek rahatsızlığı, yüksek kolesterol seviyesi, diyabet, kanser, yüksek tansiyon tedavisi	<i>G. procumbens</i> Merr.	Güneydoğu Asya'da	Jeong ve Kim, 2015 Hew vd. 2013
Anti-enflamatuvar, kanser, iltihaplanma, diyabet, hipertansiyon, cilt rahatsızlıkları	<i>G. segetum</i> Merr.	Endonezya Malezya	Seow vd. 2014a
Kanser, iltihaplanma, diyabet, hipertansiyon ve cilt rahatsızlıkları	<i>G. segetum</i> Merr.	Endonezya Malezya	Seow 2013 Yuan vd. 1990 Yuan 1990
Kanser, diyabet ve hipertansiyon	<i>G. segetum</i> Merr.	Endonezya Malezya	Seow vd. 2011
Antikoagülan, yılan ısırıkları, iltihaplar, cilt rahatsızlıkları	<i>G. segetum</i> Merr.	Endonezya Malezya'da	Seow vd. 2012

Çalışmalarda, *G. procumbens*'in yapraklarında bol miktarda bulunan peroksidaz olan bir protein tanımlanmıştır. Ticari değeri yüksek bir protein olan mirakulin (Hew vd. 2011), *G. procumbens*'in tıbbi özellikteki yerleşik değerinin yanı sıra endüstriyel kullanım için de yararlı bir doğal kaynak olarak kabul edilmesini sağlamaktadır (Hew vd. 2010).

G. procumbens ile ilgili mevcut patentlerin çoğunluğu, rahim kanseri, servikal spondiloz ve kronik cilt ülseri gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisine yönelik geleneksel Çin tıbbının müstahzarları içindir. Ayrıca, kalp ve karaciğer hastalıkları gibi tıbbi rahatsızlıkları olan hastalar için özel diyetlerde bir bileşen olarak kullanılmıştır. Gıda endüstrisinde, çay, kimchi, kahve, çikolata, şeker ve sakız gibi ürünlere katılmıştır. *G. procumbens*'in kişisel bakım ve kozmetik ürünlerindeki uygulamaları da, el yıkama solüsyonu, el dezenfektanı, ağız spreyi, yüz maskeleri ve cilt bakım kremleri dahil olmak üzere rapor edilmiştir. Bu patentler *G. procumbens*'in yüksek ticari değerini ve çeşitli endüstrilerde kullanım çeşitliliğini göstermiştir (Tan vd. 2016).

2.3.2. Biyolojik aktivite üzerindeki bilimsel çalışmalar

Gynura türleri üzerinde yapılan araştırmalar sonucu pek çok türde fenolik bileşenlerin varlığı gözlenmiştir. Yüksek bitkilerde geniş bir sekonder metabolit grubu olan flavonoid bileşiklerin (Gattuso vd. 2007) antioksidan (Gould vd. 2006; Heim vd. 2002), antikanser (Cibin vd. 2010; Fang vd. 2009) ve antibakteriyel aktiviteden (Kouam vd. 2007; Naeem vd. 2010) sorumlu oldukları bilinmektedir. Flavonoidler, fizyolojik (Cai, 2004) ve farmakolojik rolleri (Chen vd. 2009) ve sağlık yararları (Chen, 2010) nedeniyle önemli olarak kabul edilen aromatik ikincil bitki metabolitleridir (Xu vd. 2017).

Biyolojik aktivite araştırmalarında özellikle antioksidan aktivite ile TFC arasında güçlü bir pozitif korelasyon bulunmuştur; bununla birlikte, TPC ile ilişki bulunmadığı gösterilmiştir (Kaewseejan vd. 2014).

Antienflamatuar aktivite ve içerik ilişkisi:

Yapılmış testlerde, steroidlerin *G. procumbens* bitkisinde bir sınıf antienflamatuar bileşik olabileceğini gösterilmiştir (Iskander vd. 2002).

Antimikrobiyal aktivite ve içerik ilişkisi:

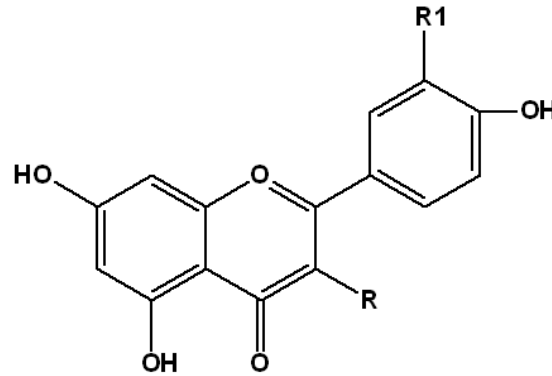
G. segetum bitkisinde fenolik bileşiklerin varlığı, bu bitkinin anti-mikrobiyal olabileceğini göstermektedir (Seow vd. 2012). Antibakteriyel aktivite, bitkideki (*G. procumbens*) toplam fenolikler, toplam flavonoidler ve saponin miktarı ile ilişkilidir. Daha yüksek bir sekonder metabolit içeriğinin de bitkideki antibakteriyel etkinliği arttırdığı rapor edilmiştir (İbrahim vd. 2017).

Antidiyabetik aktivite ve içerik ilişkisi:

Çalışmalar, *G. procumbens* etanolik yaprak ekstresinin, kan glukozunu düşürmede ve Langerhans adacık ve β hücrelerinin (α hücreleri glukagonu, β hücreleri ise insülini salgılar, pankreasta bulunurlar) morfolojisini arttırmada sinerjik bir etkiye sahip olduğunu (Sunarwidhi vd. 2014) ve streptozotosin ile indüklenen sıçanlarda glisemiye önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir (Zhang vd. 2000). Bu hücrelerin bir kısmı, kandaki şeker miktarının denetiminden sorumlu olan insülin ve glukagon adlı hormonları salgılar. Bu hücrelerde insülinin yapılamaması şeker hastalığına neden olur. (Bosco vd. 2010). *G. procumbens*'in flavonoidler, tanenler ve terpenoidler gibi çeşitli bileşikler içerdiği ve diyabetik hastalar için kan şekeri düşürücü potansiyel bir madde olduğu bildirilmektedir (Akowuah vd. 2002; Akowuah vd. 2001). *G. procumbens*'te de bulunan glikozitler, flavonoidler, tanenler ve alkaloidler gibi çeşitli bileşiklerin hipoglisemik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Orhan vd. 2007; Sharma vd. 2008). Literatüre göre *G. divaricata* (L.) DC'deki polisakkarit ve flavonoidler alloksan kaynaklı diyabetik farelerde etkilidir ve anti-anoksi kabiliyetini artırabilir (Jiang vd. 2009). Ayrıca *G. divaricata* bitkisinde α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyonu için aktif bileşiklerin flavonoidler ve alkaloidler olduğu rapor edilmiştir (Wu vd. 2011). Yaygın olarak kullanılan akarboz ve vogliboz gibi oral hipoglisemik ajanlar, β -glukosidaz inhibitörleri, postprandiyal hiperglisemiye doğrudan azaltır ve vasküler komplikasyonları önler (He vd. 2014; Derosa vd. 2012). Bununla birlikte, bu ilaçların uzun süreli kullanımı kusma, kilo alımı ve diyare dahil olmak üzere istenmeyen yan etkilere yol açabilir (Joshi vd. 2014; Katahira ve Ishida 2002). Ayrıca *G. procumbens*'in bitkisinin sulu ekstresinde kampferol-3-O-rutinozid ve astragalin tespit edilmiştir. Flavonoidlerin α -glukozidaz ve α -amilaz aktivitelerini inhibe ettiği saptanarak (Yang vd. 2004) kandaki

glukoz seviyesini düşüren etken madde grubu olduğu bulunmuştur (Chattopadhyay vd. 1999). *G. procumbens*'in n-bütanolü fraksiyonu, en yüksek fenol ve flavonit kompozisyonları ile orantılı olarak en yüksek anti-hiperglisemik aktiviteyi göstermiştir. Bu nedenle, *G. procumbens*'in n-bütanolü fraksiyonu antidiyabetik doğal ürünler veya standart dozaj formları için umut verici bir potansiyel kaynağı olarak görülmüştür (Algariri vd.2014). *G. procumbens* yaprağı n-bütanol fraksiyonunda bulunan flavonol glikozitlerin yapıları Şekil 2.8.'de yer almaktadır (Akowuah vd. 2002).

Bileşik	R	R1
1	Glukoz	H
2	Glukoz (6> 1) ramnoz	H
3	Galaktoz (2> 1) ramnoz	OH
4	Glukoz (6> 1) ramnoz	OH



Şekil 2.8. *G. procumbens* yaprağına ait ekstrenin butanolü fraksiyonunda bulunan flavonol glikozitlerin yapıları

Bununla birlikte bitkilerden elde edilen polisakkaritlerin hem antioksidan hem de hipoglisemik biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Li vd. 2016).

Antioksidan aktivite ve içerik ilişkisi:

Önemli bir fitokimyasal kategori olarak, fenolik bileşikler bitkilerde yaygın olarak bulunan diyet bileşenleridir ve yüksek antioksidan kapasiteye ve serbest radikal temizleme kapasitesine sahip olduğu düşünülmektedir (Kahkonen vd, 2001; Robards vd. 1999). Fenolik bileşikler, oksidatif strese bağlı hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için potansiyel ajanlar olarak giderek daha fazla dikkat çekmektedir. Bazı çalışmalar, fenolik bileşiklerin, bazı şifalı bitkilerde ana antioksidan içerik maddeleri olduğunu göstermiştir (Cai vd. 2004;

Liu vd, 2008). Çalışmalar, şifalı bitkilerin ana antioksidan özellik gösteren maddesi olarak düşünülen fenolik bileşiklerin, antioksidan kapasite ile TPC arasında pozitif bir doğrusal ilişki olduğunu göstermiştir (Gan vd. 2010). Antioksidanların mide mukozasının çeşitli nekrotik ajanlara karşı korunmasında önemli bir rol oynadığı da bildirilmiştir (Trivedi ve Rawal, 2001). Buna dayanarak bitkinin antioksidan kapasitesi sayesinde anti-ülserojenik etkisi açıklanabilmektedir. Gastrointestinal sistem üzerindeki bu etki ve diğer kardiyovasküler çalışmalar organ koruyucu aktiviteye de ışık tutmaktadır. (Mahmood vd. 2010) *G. procumbens*'in ham etanollü ekstresinden elde edilen bütanollü fraksiyonunun, *in vivo* deney sonuçlarına göre sıçanlarda kuvvetli, doza bağlı ve akut bir hipotansif etki gösteren bileşikler içerdiği rapor edilmiştir (Hoe vd. 2011).

Antikanser aktivite ve içerik ilişkisi:

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, bitkilerden elde edilen birçok biyoaktif bileşiğin, çoğunlukla polifenolikler ve flavonoidlerin, tümör hücrelerinin inhibisyon etkisinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Ma vd. 2018). Epidemiyolojik çalışmalarda, flavonoidlerin tüketiminin bazı kanserlerin riskini veya insidansını azaltmaya katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Wang vd. 2009). Fenolik bileşikler, antioksidan etkileri, detoksifiye edici enzimlerin aktivasyonu ve hücreler arası iletişimi artırma gibi farklı mekanizmalar yoluyla kanseri inhibe edebilir (Malin vd. 2003). *G. procumbens*'in fenolik içeriğinin kanserin önlenmesinde rol oynayabileceği gösterilmiştir (Shwter vd. 2014).

G. procumbens yapraklarının protein içeriğinden kaynaklanan güçlü anti-kanser özelliği, protein bazlı bir kemoterapötik madde olarak, meme kanseri tedavisi için potansiyel olarak kullanılabileceğini rapor etmiştir (Hew vd. 2013). Ayrıca fitolün meme kanseri üzerinde iyileştirilmiş sitotoksik aktivite potansiyeline sahip bir ajan olabileceği de rapor edilmiştir (Pejin vd. 2014). Azoksimetan kaynaklı ACF (aberrant crypt foci) modeli kolon kanseri için en yaygın kullanılan hayvan modeli olmuştur (Zhang vd. 2000). *Gynura* fitokimyasal içeriğinin varlığından dolayı ACF insidansını azaltabilir ve kanser gelişimini önleyebilir (Agustina vd. 2006; Shwter vd., 2014). Kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar kısmen reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif strese bağlanabilir (Gan vd. 2010).

Antitrombosit aktivite ve içerik ilişkisi:

G. japonica türünden izole edilmiş karyofillen oksit, 6-asetil-2,2-dimetilkroman-4-on, vanilin, 2,6-dimetoksi-1,4-benzokinon ve benzoik asit, gibi bileşiklerin birçoğu, *in vitro* olarak önemli anti-trombosit topaklaşma aktivitesi gösterdi (Lin vd. 2003).

Organ koruyucu etki ve içerik ilişkisi:

Flavonoit yapıdaki bileşikler, *G. procumbens*'in kalsiyum kanallarını bloke ederek vazodilatör etkilere neden olduğu ayrıca *G. procumbens*'in vazodilatör etkisinin, potasyum kanallarının açılması ve prostasiklin üretiminin uyarılmasından da kaynaklanabileceğini göstermektedir (Ng vd. 2013).

Endofitik mikroplar varlığı ve etkileri:

Endofitik mikroplar (bakteri ve mantarlar), bitki gelişimini arttırmak için çeşitli uygulamalarda kullanılabilir ve tarımsal biyoteknolojide hayati katkı sağlayabilir. Endofitik bakteriler, bitki büyüme düzenleyicileri üreterek konakçı bitkilerin büyümesine ve gelişmesine katkıda bulundukları bilinmektedir. Bakteriyel endofitlerin, konakçı bitkilerin, bitkilerin patojenlerine ve parazitlerine karşı direncini arttırdığı, biyolojik azot fiksasyonunu teşvik etmek ve antibiyotik üretmesi de bilinmektedir. Endofitler ayrıca, farmasötik olarak önemli biyoaktif bileşiklerin ümit verici bir kaynağıdır; ve son otuz yılda geliştirilen en önemli ve etkili antitümör ajanı olan taksol ürettikleri bilinmektedir. Bu potansiyel yararları sebebiyle incelenen bakteri türü *G. procumbens* yapraklarında da *Pseudomonas resinovorans*, *Paenibacillus polymaxa* ve *Acenitobacter calcoaceticus* bakteri türlerinin varlığı gözlenmiştir (Bhore vd. 2010).

Antihiperlipidemik etki ve içerik ilişkisi:

Ferulik asit, rutin ve diğer fenolik asitlerin yüksek yağ içeren diyet kaynaklı karaciğer steatozuna karşı anti-lipojenik etkileri bildirilmiştir (Gao vd. 2013; Chiu vd. 2014; Naowaboot vd. 2016). Ferulik asidin, yağ asidi sentaz gibi lipojenik genlerin ekspresyonunu baskılayarak anti-lipojenik etki gerçekleştirdiğini; ve enerji harcamasından sorumlu genlerin ekspresyonunu teşvik ederek lipid birikimini düşürdüğü rapor edilmiştir. Kronik etanol tüketiminin, bu lipidlerin salgılanmasını ve etkilerini bozduğu, dolayısıyla

lipit metabolizmasını etkilediği ve lipit biyosentezi ve birikimini desteklediği belirtilmiştir (Xu vd. 2003; Ge vd. 2010). *G. bicolor* yapraklarının sulu ekstresinin bu 2 aktif bileşiği içerdiğinden, ekstrenin etanole karşı gözlenen lipit düşürücü etkisi kısmen açıklanabilir. Daha önceki veriler ayrıca ekstre takviyesinin karaciğerde lipit birikimini etkili bir şekilde azalttığını da bildirmiştir (Yin vd. 2017).

Gynura türlerinin yapılan bilimsel çalışmalarda araştırılmış biyolojik aktiviteleri Tablo 2.5.'da özetlenmiştir.

Tablo 2.5. *Gynura* türlerinin bilimsel çalışmalarda araştırılmış biyolojik aktiviteleri

Biyolojik Etki	<i>Gynura</i> türü	Aktif Kısım	Kaynak
Antioksidan	<i>G. bicolor</i> D.C	Toprak üstü kısmı	Ren vd 2014
			Shao vd. 2015
			Lu vd. 2012
	<i>G. bicolor</i> D.C	Etanollü ekstresi	Zhou vd. 2016
	<i>G. divaricata</i> D.C		Yin vd 2018
			Xu vd. 2017
	<i>G. formosana</i> Kitam.	Etilasetatlı ekstresi	Ma vd. 2018
	<i>G. medica</i>		Liu vd. 2010
	<i>G. segetum</i> Merr.	Metanollü ekstre	Seow vd. 2014 a
	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.		Tan vd. 2016,
			Dwijayanti vd. 2015
			Kaewseejan vd. 2014
			Wang vd. 2013
			Ibrahim vd. 2017
Antienflamatuar	<i>G. procumbens</i> Merr.	Etanollü ekstre	Li vd. 2017
			Shwter vd., 2014
			Puangpronpitag vd. 2010
	<i>G. procumbens</i> Merr.	Metanollü ekstre	Rahman vd. 2013
			Rosidah vd. 2008
	<i>G. divaricata</i> D.C		Xu vd. 2017
	<i>G. bicolor</i> D.C	Etanollü ekstre	Zhou vd. 2016
Antienflamatuar	<i>G. formosana</i> Kitam.	Etil asetatlı ekstre	Ma vd. 2018
	<i>G. medica</i>		Liu vd. 2010
	<i>G. segetum</i> Merr.	Metanollü ekstre	Seow vd. 2014 a

Tablo 2.5. (Devam) *Gynura* türlerinin bilimsel çalışmalarda araştırılmış biyolojik aktiviteleri

Biyolojik Etki	<i>Gynura</i> türü	Aktif Kısım	Kaynak
Antienflamatuar	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.		Hassan vd. 2010
			Mahmood vd. 2010
			Wang vd. 2013
			Ibrahim vd. 2017
			Bhore vd. 2010
			Lokhande vd. 2014
Anjiogenik	<i>G. procumbens</i> Merr.	Etanollü ekstre	Iskander vd. 2002
			Shwter vd. 2014
			Rosidah vd. 2008
			Dwijayanti, vd. 2015
	<i>G. procumbens</i> Merr.	Bütanollü fraksiyon	Hoe, vd. 2011
	<i>G. segetum</i> Merr.	Kloroformlu ekstre	Seow, vd. 2011
	<i>G. divaricata</i>	Yaprak üstü kısım	Wu vd. 2011
	<i>G. divaricata</i>	Yaprak üstü kısım	Xu vd. 2017
Antihipertansif	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.	Sulu ekstre	Kim vd. 2006
	<i>G. procumbens</i> Merr.	-	Rahman vd. 2013
			Hassan vd. 2010
			Mahmood vd. 2010
			Ibrahim vd. 2017
			Bhore vd. 2010
			Tan vd. 2016
			Kim vd. 2011
	<i>G. procumbens</i> Merr.	Bütanollü fraksiyon	Abrika vd. 2013
	<i>G. procumbens</i> Merr.	Ham etanollü ekstresinden elde edilen bütanollü fraksiyon	Hoe vd. 2011
Anti Anoksi	<i>G. procumbens</i> Merr.	Etanollü ekstre	Hoe vd. 2007
			Poh vd. 2013
Anti Anoksi	<i>G. divaricata</i> D.C	-	Jiang vd. 2009
Anti-Hipertrofik	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.	-	Wang vd. 2013

Tablo 2.5. (Devam) *Gynura* türlerinin bilimsel çalışmalarda araştırılmış biyolojik aktiviteleri

Biyolojik Etki	<i>Gynura</i> türü	Aktif Kısım	Kaynak
Antihemorajik	<i>G. procumbens</i>	-	Iskander vd. 2002
Antihiperglisemik	<i>G. bicolor</i>	Etil asetat ve n-bütanolü ekstraheleri	Li vd. 2009
	<i>G. bicolor</i>	Sulu ekstre	Chen vd. 2012
	<i>G. divaricata</i> D.C	Yaprak üstü kısım	Wu vd. 2011
	<i>G. divaricata</i> D.C	Kök, gövde, yaprak	Yin vd 2018
	<i>G. divaricata</i> D.C		Xu, vd. 2017
	<i>G. divaricata</i> D.C	Sulu ekstre	Li vd. 2018 Chen vd. 2012
	<i>G. medica</i>	Etanolü ekstre	Liu vd. 2010,m2
	<i>G. medica</i>	Alkollü ve sulu ekstre	Li vd. 2016,m4
	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.		Tan vd. 2016; Wang vd. 2013; Yusoff vd. 2015 Dwijayanti vd. 2015 Mahmood vd. 2010 Ibrahim vd. 2017 Bhore vd. 2010
	<i>G. procumbens</i>	Sulu ekstre	Hassan vd. 2010 Choi vd. 2016
Antihiperglisemik	<i>G. procumbens</i>	n-butanol fraksiyonu	Algariri vd. 2014
	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.	Etanolü ekstre	Zhang vd. 2000; Rahman vd. 2013; Sunarwidhi vd. 2014; Algariri vd. 2013
Anti-Tümör/ Antikanser	<i>G. divaricata</i> D.C	Yaprak üstü kısım	Yena vd. 2018
	<i>G. divaricata</i> D.C		Xu vd. 2017
	<i>G. formasana</i> Kitam.		Ma vd. 2018
	<i>G. medica</i>		Liu vd. 2010
	<i>G. procumbens</i>	Etanolü ekstre	Agustina vd. 2006 Rahman vd. 2013
	<i>G. procumbens</i>		Tan vd. 2016 Yusoff vd. 2015

Tablo 2.5. (Devam) *Gynura* türlerinin bilimsel çalışmalarda araştırılmış biyolojik aktiviteleri

Biyolojik Etki	<i>Gynura</i> türü	Aktif Kısım	Kaynak
Anti-Tümör/ Antikanser	<i>G. procumbens</i>		Dwijayanti vd. 2015 Hassan vd. 2010
	<i>G. procumbens</i>	Etanollü ekstre	Wang vd. 2013
	<i>G. procumbens</i>	Etanollü ekstre	Nisa vd. 2012
	<i>G. procumbens</i>	Etanollü ekstre	Shwter vd. 2014
Anti-Alerji Ajanı	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.		Bhore vd. 2010
Anti-Trombosit Topaklaşma Aktivitesi	<i>G. pseudochina</i> (L) D.C)	-	Moektiwardoyo vd. 2014
	<i>G. elliptica</i> Yabe&Hayata		Lin vd. 2000-2003
Anti-Piretik	<i>G. pseudochina</i>	-	Moektiwardoyo vd. 2014
Diüretik	<i>G. pseudochina</i>	-	Moektiwardoyo vd. 2014
Erüptif Ateş	<i>G. procumbens</i>		Hassan vd. 2010
Organ Koruyucu	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.		Tan vd. 2016 Hassan, vd. 2010 Mahmood vd. 2010
	<i>G. bicolor</i> D.C	Sulu ekstre	Yin vd. 2017
	<i>G. segetum</i> Merr.		Wang vd. 2018
Böbrek hastalıkları	<i>G. procumbens</i> Merr.	Sulu ekstre	Lee vd. 2007
Yara iyi edici	<i>G. procumbens</i> Merr.	Etanollü ekstre	Yusoff vd. 2015 Zahra vd. 2011
Hipokolesterolemik	<i>G. procumbens</i> Merr.		Lokhande vd. 2014
Antihiperlipidemik Etki	<i>G. divaricata</i> D.C		Xu vd. 2017
	<i>G. procumbens</i> Merr.		Rahman vd. 2013 Dwijayanti vd. 2015 Mahmood vd. 2010 Bhore vd. 2010
	<i>G. divaricata</i> D.C	Yaprak üstü kısım	Xu vd. 2017
	<i>G. procumbens</i> Merr.		Rahman vd. 2013
Antiproliferasyon	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.		Tan vd. 2016
Antimikrobiyal / Antibakteriyel			

Tablo 2.5. (Devam) *Gynura* türlerinin bilimsel çalışmalarda araştırılmış biyolojik aktiviteleri

Biyolojik Etki	<i>Gynura</i> türü	Aktif Kısım	Kaynak
Antimikrobiyal / Antibakteriyel	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.		Rahman vd. 2013 İbrahim vd. 2017 Shwter vd. 2014 Nawawi 1999 Tan vd. 2016 Rahman vd. 2013
Anti-Herpes Simpleks Virüsü	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.	Metanollü ve sulu ekstre	Hassan vd. 2010 Jarikasem vd. 2013 Mahmood vd. 2010 Wang vd. 2013 Bhore vd. 2010 Nawawi, 1999
Cinsel ve Üreme Fonksiyon Geliştirme Aktivitesi	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.		Tan vd. 2016
Anti-Ülserojenik	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.	Etanollü yaprak ekstresi	Mahmood vd. 2010 Rahman vd. 2013 Shwter vd. 2014 Yusoff vd. 2015
Antifungal	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.		Rahman vd. 2013
İmmünsüpresan	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.	Etanollü ekstre	Dwijayanti vd. 2015 Dwijayanti ve Rifa'i 2014
	<i>G. bicolor</i>	Sulu ekstre	Hsieh vd. 2013
Fenilalanin Amonyak Liyaz Aktivitesi	<i>G. procumbens</i> (Lour.) Merr.		İbrahim vd. 2017

2.4. Antioksidan Aktivite Araştırmalarının Önemi

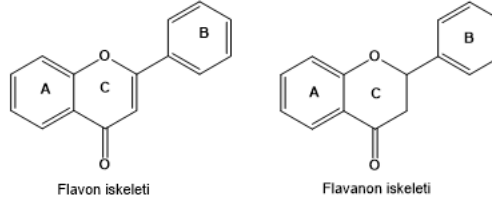
Reaktif oksijen türleri (ROS) yüksek oranda reaktif moleküllerdir; bunlar arasında hidroksil radikal (OH[•]), süperoksit anyon radikal (O₂^{•-}) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) bulunur. ROS, hücre zarlarında veya DNA'da lipitlere saldırabilecek metabolik ürünler üretir. Serbest radikal zincir reaksiyonları, DNA hasarı, karsinogenez ve yaşlanma ile ilgili

hücrel dejenerasyon dahil olmak üzere çeşitli biyolojik hasarlarla ilişkilidir. ROS üreten ve tutucu sistemler arasındaki dengesizlik hücrelere zarar verebilir. Bu nedenle, ROS kanser, arteriyoskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere insan hastalıklarının patogeneğinde önemli bir rol oynar (Kawanishi vd. 2001). ROS'ların çoğu, katalaz, süperoksit dismutaz (SOD) ve peroksidaz / glutatyon sistemi gibi endojen savunma sistemleri tarafından temizlenir, ancak bu sistemler, dış kaynaklı antioksidanların doğal kaynaklardan izole edilmesini arzu eder. Antioksidan aktivite için çeşitli bitki kaynakları değerlendirilmiştir. Bu bitkilerin bileşenlerinin oksidatif stresleri ortadan kaldırması, sağlığa yararlı besinlerin, besin takviyelerinin ve bitkisel ilaçların geliştirilmesinde ilgi konusudur. Son zamanlarda yapılan araştırmalar ayrıca flavonoidler, antrakınonlar (Traganos vd.1983), tanenler, proantosiyanidinler ve diğer fenolikler dahil olmak üzere birçok bitki ürününün yanı sıra meyve, sebze ve çeşitli bitki veya bitki özlerinden elde edilen maddelerin radikal temizleyici aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Xie vd. 1993; Formica vd. 1995).

Antioksidanlar, insan vücudundaki oksidatif hasarı azaltan olası koruma ajanları olarak tanımlanır. Bu nedenle, insan ve hayvan organizmalarının gıda bileşenleri veya spesifik farmasötikler olarak mevcut olan antioksidan özellikleri içeren maddelere artan bir ilgi vardır (Rosidah vd. 2008).

Bitki bazlı diyetlerdeki antioksidanlar, oksidatif strese ve insan sağlığının korunmasına karşı savunmada önemli bir rol oynamaktadır (Bahorun vd. 2004). Bu koruyucu etkiler temel olarak farklı bitki bazlı diyetlerin, özellikle polifenolik bileşiklerin ve flavonoidlerin antioksidan bileşenlerinden kaynaklanmaktadır (Baltes, 2000). Antioksidan bileşenler ve antioksidan aktivite, sebze ve meyve kalitesi için önemli kriterler haline gelmiştir (Shao vd. 2015). Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif stresin, ateroskleroz, iskemik kalp hastalığı, kanser, gastrik ülser, diabetes mellitus, nörodejeneratif hastalıklar ve yaşlanma gibi birçok kronik ve dejeneratif hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynadığına dair çok sayıda kanıt vardır (Azizova 2002; Young ve Woodside, 2001). Öte yandan, meyve ve sebzelerdeki doğal antioksidanların, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi birçok kronik hastalık riski ile ters ilişkili olduğu bildirilmiştir (Duthie vd. 2000; Leifert ve Abeywardena, 2008; Gan vd. 2010).

Bir flavonoit iskeleti, flavon durumunda bir piron halkası (C) veya Şekil 2.9.'da gösterildiği gibi, flavon durumunda bir piron halkası (C) ile bağlanan iki aromatik halkadan (genellikle A ve B olarak adlandırılır) oluşur (Gattuso vd. 2007).



Şekil 2.9. *Flavon ve flavanon yapıları*

Flavonoitler, fizyolojik ve farmakolojik rolleri ve sağlık yararları nedeniyle önemli olarak kabul edilen aromatik ikincil bitki metabolitleridir (Gould vd. 2006). Flavonoitler güçlü bir antioksidan ve radikal temizleme aktivitesi gösterir ve bazı kronik hastalıklar, bazı kardiyovasküler bozuklukların ve bazı kanserli işlemlerin önlenmesinde azalmış risk ile ilişkili görünmektedir. Flavonoitler ayrıca antiviral (Asres vd. 2005), antimikrobiyal (Cushnie vd. 2005) ve anti-enflamatuar aktiviteler (Kim vd. 2004), kılcal kırılabilirlik (Benavente-García vd. 1997) ve insan trombosit agregasyonunu (Tijburg vd. 1997), antiülser ve antialerjenik (Middleton vd. 1992) inhibe etme kabiliyetini de gösterir. Bazı araştırmalarda flavonoitlerin damar hastalıklarına veya bazı kanser türlerine karşı olası bir koruyucu etkisi olduğunu ortaya konulmuştur. Benzer şekilde, lignanların (veya metabolitlerinin) ve izoflavon tüketiminin artması, östrojen ile ilişkili kanser ve damar hastalıkları riskindeki azalmayla da ilişkilendirilmiştir (Gattuso vd. 2007).

Önceki vaka kontrol çalışmaları, toplam flavonoitler, flavonoit alt grupları veya bireysel flavonoitlerin alımının akciğer kanseri (Cui vd. 2008), mide kanseri (Garcia-Closas vd. 1999; Lagiou vd. 2004), kolorektal kanser (Theodoratou vd. 2007), meme kanseri (Fink vd. 2007), yumurtalık kanseri (Rossi vd. 2008), endometriyal kanser (Horn-Ross vd. 2003) ve Hodgkin dışı lenfoma (Frankenfeld vd. 2008) riskinin azalması ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, bazal diyet flavonoit alımı ve ileriki kanser riski arasındaki ilişkiye dair prospektif kohort çalışmalarından elde edilen kanıtlar tartışmalıdır (Wang vd. 2009). *G. medica* bitkisinden izole edilen polisakkaritler DPPH (1,1-difenil-2-

pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2'-azino-bis) radikalleri üzerinde güçlü antioksidan aktiviteler göstermiştir (Li vd. 2016).

2.5. Antidiyabetik Aktivite Araştırmalarının Önemi ve Diyabet

2.5.1. Diyabet

Diabetes mellitus (DM), pankreas veya üretilen insülinin etkisizliği nedeniyle insülin üretiminde kalıtsal ve / veya kazanılmış eksiklikten kaynaklanan kronik bir hastalıktır. Bu tür bir eksiklik, kandaki glikoz konsantrasyonlarının artmasına neden olur ve bu da vücudun birçok sistemine, özellikle de kan damarlarına ve sinirlere zarar verir (Nagappa vd. 2003).

Tip 2 diyabet (T2DM), endüstriyel ve gelişmekte olan ülkelerde ciddi ve giderek artan bir hastalıktır. (Hamza vd. 2019). Tip 2 diyabetin ortak özellikleri, insülin direncinin ve karaciğerde artmış glukoneogenezin neden olduğu kronik hiperglisemidir (Goyal vd. 2014). T2DM tedavisi, insülin duyarlılığını artırmayı ve hiperglisemiye azaltmayı amaçlamaktadır. Bununla birlikte, T2DM için farmakolojik tedaviler, yan etkiler de dahil olmak üzere bir dizi sınırlama sergilemektedir (Choi vd. 2016) ve farmasötik tedavisi tamamen tatmin edici değildir ve genellikle diyabetin ilerlemesini ve komplikasyonlarını önlemez. İlaç geliştirilmesine rağmen, birçok ülkede bitkisel ilaçlar diyabeti tedavi etmek veya gelişimini sınırlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Hamza vd. 2019).

2.5.2. Antidiyabetik Aktivite Araştırmalarının Önemi

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Diabetes mellitus (DM) hızla artmaya devam eden küresel bir sağlık problemi olduğunu belirtmektedir (WHO, 2000). Ancak, şu anda mevcut olan DM tedavisi nispeten pahalıdır ve hastalarda alternatif tedavilere ihtiyaç duyan yan etkilere neden olabilir (Sunarwidhi vd. 2014).

α -Glukozidaz inhibitörleri, diyabet tedavisi için kullanılan nispeten önemli bir ilaç kategorisidir. Ancak bazı α -glukosidaz inhibitör ilaçlarının toksik yan etkilere sahip olduğu bilindiğinden, doğal kaynaklardan elde edilen güvenli α -glukozidaz inhibitörlerinin bulunmasına ilgi artmaktadır.

Flavonoitler sık sık meyvelerde, sebzelerde ve tahıllarda bulunur (Gattuso vd. 2007). Aynı dönemde, çeşitli çalışmalar diğer diyet fenollerinin tüketimlerinin artmasına bağlı olarak yararlı etkiler öne sürdüler. Örneğin, artmış kahve tüketimi, tip II diyabet insidansının azalması ile ilişkilendirilmiştir (Gould vd. 2006).

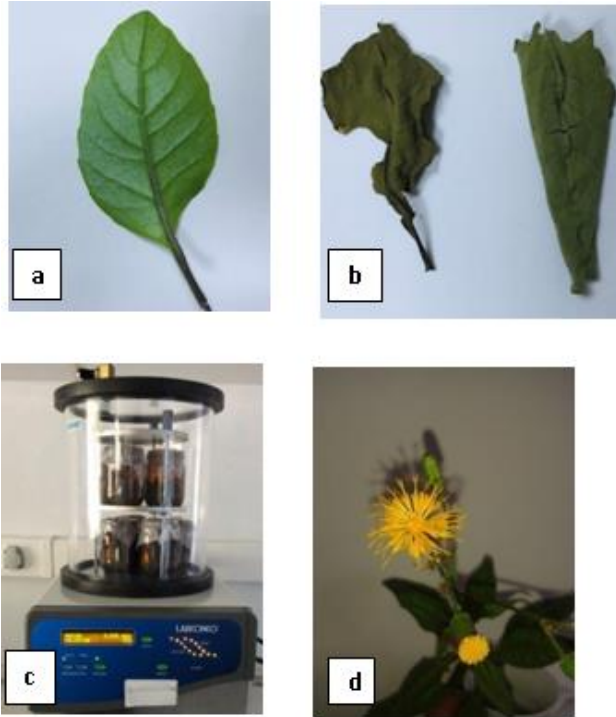
Literatür araştırmasına göre flavonoit içerdiği bilinen *Gynura* sağlığı korumak için demlenip çay olarak tüketilir, düşük toksisite ve dolayısıyla insan tüketimi için güvenli olma avantajına sahiptir. Literatür araştırmaları ışığında *Gynura* türlerinin doğal antioksidan ve antidiyabetik olarak kullanımı güvenli sayılmaktadır. *Gynura* türlerinde bulunan polisakkaritlerin α -glukozidaz aktivitesini inhibe edebildiğini gösterilmiştir (Li vd. 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Bitkisel Materyal

Bitkisel materyal olarak *G. malaccensis* bitkisinin toprak üstü kısmı kullanılmıştır. Türkiye'de Antalya bölgesinde BATEM'de yetiştirilen bitki örnekleri tedarik edilerek vejetatif üreme yöntemiyle AUBİBAM'da çoğaltılarak proje araştırma çalışmalarında kullanılmıştır. Bitkinin botanik teşhisi Dr. İsmail Gökhan Deniz (Akdeniz Üniversitesi Eğitim Fakültesi) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bitkisel materyal olarak *G. malaccensis* bitkisinin aşağıdaki kısımları kullanılmıştır (Şekil 3.1.).

- a. Taze yapraklar
- b. Etüvde 50 °C'de 2 saat kurutulan yapraklar
- c. Liyofilizatörde kurutulan yapraklar
- d. Taze çiçekler



Şekil 3.1. *G. malaccensis* bitkisinden elde edilen çalışma materyali: a) Taze yapraklar, b) Etüvde kurutulan yapraklar, c) Yaprakların liyofilizatörde kurutulması d) Taze çiçek

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddelere ve çözücülere ait bilgiler Tablo 3.1’de yer almaktadır.

Tablo 3.1. Kimyasal madde bilgileri

No	Kimyasal Madde	Kimyasal Formül	Menşei
1.	2,2’-Azino-bis (3 etil benztiazolin-6-sülfonik asit	ABTS	Sigma-Ald., Almanya
2.	Akarboz	C ₂₅ H ₄₃ NO ₁₈	Sigma-Ald., Almanya
3.	α -Amilaz (porcine pankreatic)		
4.	Alüminyum klorür	AlCl ₃	Merck, Almanya
5.	Asetik asit	CH ₃ COOH	Sigma-Ald., Almanya
6.	Asetonitril	ACN	Sigma-Ald., İngiltere
7.	Borontriflorür	BF ₃	Merck, Almanya
8.	Çözünür nişasta		Sigma-Ald., İngiltere
9.	Bütillenmiş hidroksi toluen	BHT	Sigma-Ald., Almanya
10.	Kalsiyum klorür	CaCl ₂	Fluka, Almanya
11.	Difenil pikril hidrazil	DPPH	Sigma-Ald., ABD
12.	Dietil eter	C ₄ H ₁₀ O	J.T. Baker, Hollanda
13.	Etanol	C ₂ H ₅ OH	Sigma-Ald., Almanya
14.	Formik asit	HCOOH	Sigma-Ald., Almanya
15.	Folin-Ciocalteu reaktifi	FCR	Sigma-Ald., İsviçre
16.	Gallik asit	GA	Sigma-Ald., Çin
17.	Hidroklorik asit	HCl	Sigma-Ald., Almanya
18.	<i>n</i> -Hekzan	C ₆ H ₁₄	Merck, Almanya
19.	İzopropil alkol	IPA	Sigma-Ald., Almanya
20.	İyot	I	Sigma-Ald., Almanya
21.	Kersetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	Sigma-Ald., Almanya
22.	Kloroform	CHCl ₃	Sigma-Ald., Fransa
23.	Potasyum hidroksit	KOH	Sigma-Ald., Almanya
24.	Potasyum iyodür	KI	Sigma-Ald., Almanya
25.	Potasyum persülfat	K ₂ S ₂ O ₈	Sigma-Ald., Almanya)
26.	Rozmarinik asit	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	Sigma-Ald., Fransa
27.	Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Sigma-Ald.,Fransa

Tablo 3.1. (Devam) Kimyasal madde bilgileri

No	Kimyasal Madde	Kimyasal Formül	Menşei
28.	Susuz sodyum sülfat	Na ₂ SO ₄	Sigma-Ald., Almanya
29.	Sodyum klorür	NaCl	Riedel de Haen, Almanya
30.	Trolox	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	Sigma-Ald., Almanya
31.	Tip 1 ultra saf su	-	Direct-Q® Water Purification System (Germany).

3.3. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

Proje kapsamında yapılan deneysel çalışmalarda kullanılan cihaz ve aparey bilgileri Tablo 3.2.'te verilmiştir. Sıvı ekstrahelerin kurutulması düşük basınç altında rotavapor kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Taze yaprakların kurutulması için liyofilizatör kullanılmıştır. Yaprakların bir kısmı etüvde kurutulmuştur. Mikrotiter ve dilüsyon çalışmalarında Eppendorf 8-12 uçlu otomatik pipetör kullanılmıştır. Spektrofotometrik ölçümler için mikropalak okuyucu cihazı kullanılmıştır. Çiçek örneklerinden uçucu bileşiklerin ekstraksiyonu için SPME holder apareyi kullanılmıştır. Gaz kromatografisi analizlerinde bileşiklerin teşhisi ve bağıl bolluk miktarları tespiti için hem kütle spektrum hem alev iyonlaşma dedektörleri kullanılmıştır. Ekstrelerin kimyasal kompozisyon analizi için kütle spektrum dedektör donanımlı sıvı kromatografisi sistemi kullanılmıştır. Enzim örneği buzdolabında eksi 80 derecede muhafaza edilmiştir.

Tablo 3.2. Alet ve cihaz bilgileri

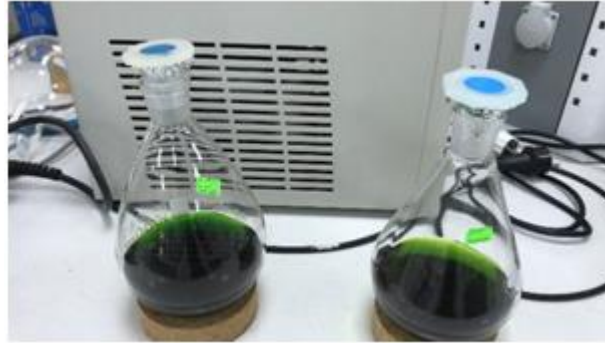
Cihaz	Cihaz bilgileri
Etüv	WTB Binder
GC/FID	Agilent 6890N SEM Ltd, İstanbul, Türkiye
GC/MSD sistemi	Agilent 5975 (USA; SEM Ltd., İstanbul, Türkiye
Hassas Terazi	Metler Toledo, NewClassic MS
LC MS/MS sistemi	20A HPLC system, Shimadzu) ve Applied Biosystems 3200 Q-Trap instrument, negatif iyon modda çalışan donanımlı ESI kaynağı, Absciex 3200 Q trapMS/MS dedektör
Manyetik karıştırıcı	IKO KS260
Mikro-plak okuyucu	Biotek Powerwave XS

Tablo 3.2. (Devam) Alet ve cihaz bilgileri

Cihaz	Cihaz bilgileri
Otomatik pipetör	8-12 kanallı Eppendorf Research plus
pH Metre	WTW series, InoLab, pH720
Rotavapor sistemi	Heidolph Instrument, Laborota 4010-Digital
Santrifüj	Eppendorf, 5804
Spektrofotometre	UV-PharmaSpec1700, Shimadzu
Ultrasonik su banyosu	Elma, S100H
Liyofilizatör	Labconco FreeZone 2.5 Litre Tezgahüstü Dondurularak Kurutma Sistemi
SPME holder	Supelco, USA
SPME fiber	65 µm, “blue-tip”, polydimethylsiloxane–divinylbenzene

3.4. Bitki Yaprak Ekstrelerinin Hazırlanması

G. malaccensis bitkisinin yaprak kısımları ayrı ayrı metanol ve hekzan ile oda sıcaklığında (24 saat) çalkalayıcıda maserasyon işlemine tabi tutulmuştur. *G. malaccensis* yaprakları iki farklı polaritedeki çözücülerle ekstre edilmiştir (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. *G. malaccensis* yapraklarından hazırlanan ekstreler

Süre sonunda ekstreler süzülerek, çözücüler düşük basınç altında rotavaporda uzaklaştırıldı (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Çözücülerin düşük basınç altında rotavaporda uzaklaştırılması

Kuru ekstreler buzdolabında +4 °C’de muhafaza edildi. Bu işlem sonunda deneylerde kullanılmak üzere 6 adet kuru ekstre elde edildi. *G. malaccensis* yapraklarından hazırlanan ekstreler Tablo 3.3.’te listelenmiştir.

Tablo 3.3. *G. malaccensis* yapraklarından hazırlanan ekstreler

No	Ekstre türü	Açıklama
1	TYME	Taze yaprakların metanollü ekstresi
2	TYHE	Taze yaprakların hekzanlı ekstresi
3	EKYME	Etüvde kurutulan yaprakların metanollü ekstresi
4	EKYHE	Etüvde kurutulan yaprakların hekzanlı ekstresi
5	LKYME	Liyofilizatörde kurutulan yaprakların metanollü ekstresi
6	LKYHE	Liyofilizatörde kurutulan yaprakların hekzanlı ekstresi

3.5. *G. malaccensis* Bitkisinin Çiçeklerine Ait Uçucu Bileşenlerin Ekstraksiyonu:

MSD-SPME Tekniği

Çiçek açma döneminde taze çiçekler toplanarak uçucu bileşenler, MSD-SPME tekniği ile ekstre edildi. Bu amaçla 0,5 g taze çiçekler cam balona konuldu, üzerine 3 mL su eklenerek MSD-SPME tekniği uygulandı. Uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu için 65µm “mavi” fiber ucu (adsorban: polidimetilsiloksan-divinilbenzen) kullanıldı. Ekstraksiyon süresi 3 dakika olarak uygulandı. Ekstraksiyon için kullanılan MSD-SPME düzeneği Şekil 3.4.'te gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Ekstraksiyon için kullanılan MSD-SPME düzeneği

3.6. Gaz Kromatografik Analiz

G. malaccensis yapraklarının uçucu bileşenleri hekzanla ekstre edilerek kimyasal kompozisyonları gaz kromatografisi yöntemiyle analiz edildi. Bunun yanı sıra, *G. malaccensis* çiçeklerinin uçucu bileşenleri MSD-SPME ile ekstre edilerek kimyasal kompozisyonları gaz kromatografisi yöntemiyle analiz edildi. Uçucu bileşenlerinin kimyasal kompozisyonları Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi (GC-MS) ve Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektörü (GC/FID) teknikleri kullanılarak aydınlatıldı.

3.6.1. GC-MS analizi

Bu analiz için HP-Innowax FSC kolonu (60 m × 0.25 mm, 0.25 µm film kalınlığı) ve taşıyıcı gaz olarak helyum gazı kullanıldı. Fırın 60 °C’de 10 dakika kalarak 220 °C’ye dakikada 4 °C ile çıkacak şekilde ve 220 °C’de 10 dakika kalıp, 240 °C’ye dakikada 1 °C ile çıkmak üzere programlandı. Split oranı 40:1 olarak uygulandı ve enjektör 250 °C’de tutuldu. Kütle spektrumu 70 eV, kütle aralığı 35-450 m/z olarak seçildi (Seow vd. 2012).

3.6.2. GC-FID analizi

Bu analiz için HP-Innowax FSC kolonu (60 m × 0.25 mm, 0.25 µm film kalınlığı) ve taşıyıcı gaz olarak helyum gazı kullanıldı. Fırın 60 °C’de 10 dakika kalarak 220 °C’ye dakikada 4 °C ile çıkacak şekilde ve 220 °C’de 10 dakika kalıp, 240 °C’ye dakikada 1 °C ile çıkmak üzere programlandı. Split oranı 40:1 olarak uygulandı, alev iyonlaşma detektörü ve enjektör 250 °C’de tutuldu.

3.6.3. Uçucu bileşiklerin teşhisi

Maddelerin tanımlanması; tutunma zamanları, kütle spektrumları standartlara ve literatür bilgilerine göre değerlendirildi. Wiley GC/MS kütüphanesi (Wiley, New York, NY, USA), MassFinder 4.0 yazılımı (Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg), Adams kütüphanesi, NIST (National Institute of Standards and Technology) kütüphanesi ve Başer Uçucu Bileşikler kütüphanesi kaynak olarak kullanıldı. Madde miktarların belirlenmesinde alev iyonlaşma detektöründen elde edilen piklerin yüzde alanları kullanıldı.

3.7. Sıvı kromatografik Analiz (LC-MS/MS)

Ekstrelerin sıvı kromatografi analizi aşağıda belirtilen şartlarda gerçekleştirildi:

Sistem: Shimadzu 20A HPLC - ABSciex 3200 Q trap MS/MS

Metod: Negatif İyonlaşma Metodu

Kolon: GL Science Intersil ODS 4.6 X 250 5µ

Kolon Sıcaklığı: 40 °C

Hareketli Faz: (A) Su: Asetonitril: Formik asit (89:10:1)

(B) Asetonitril: Su: Formik asit (89:10:1)

Akış Hızı: 0.5 mL/dk

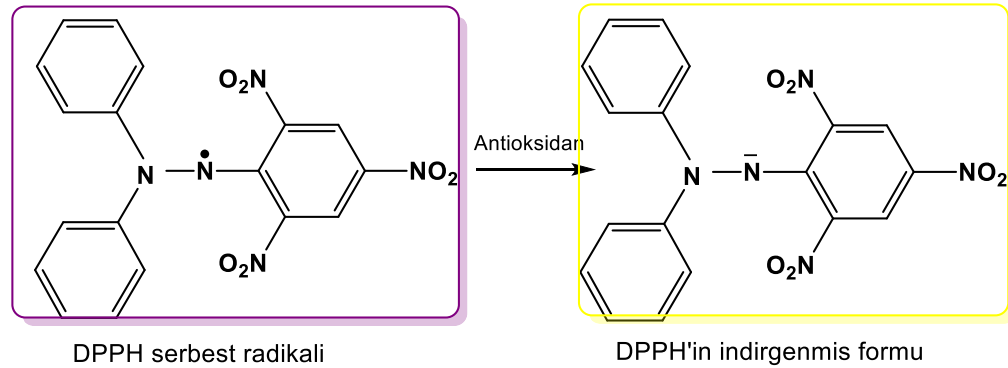
B çözücüsünün konsantrasyonu %10'dan başlanarak 40 dk.'da %100 olacak şekilde gradient olarak ayarlandı.

3.8. Ekstrelerin Biyolojik Etkilerinin İncelenmesi

3.8.1. Serbest radikal süpürücü etkisinin belirlenmesi (DPPH testi)

G. maaccensis'in yapraklarının metanollü ve hekzanlı ekstrelerinin serbest radikal temizleme aktivitesi, Kumaran ve Karunakaran tarafından tarif edilen DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) metodu kullanılarak küçük modifikasyonlarla değerlendirildi. Test numuneleri metanol içinde çözüldü (1-10 mg/mL) ve dilüsyon yöntemiyle seyreltilerek test edildi (Kumaran ve Karunakaran, 2006).

DPPH deneyine ait tepkime şeması Şekil 3.5.'da yer almaktadır.



Şekil 3.5. Antioksidan bileşik ve DPPH arasındaki tepkime şeması

Deneyde, 96 kuyucuklu mikropalak kuyularına numunelerden her biri 200 µL çoklu otomatik mikropipetör ile aktarıldı. Dilüsyon işlemi yapıldıktan sonra tüm kuyucuklara 100 µL DPPH çözeltisi ilave edildi. Kontrol kuyucuğuna numune yerine çözücüsü olan metanol konuldu. Standart inhibitör olarak gallik asit çözeltisi kullanıldı. Plak 30 dak. karanlıkta inkübe edildi. Süre sonunda numunelerin serbest radikal süpürücü etkisi spektrofotometrik olarak 517 nm'de ölçüldü. Absorbans değerleri ölçüldükten sonra numunelerin yüzde

inhibisyon değerleri hesaplandı (Seow vd. 2014 a). Numunelerin DPPH radikal süpürme aktiviteleri aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı:

$$\text{Inh \%} = \left(\frac{\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{numune}}}{\text{Abs}_{\text{kontrol}}} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

$\text{Abs}_{\text{kontrol}}$: kontrolün absorbandsı (test numunesi olmadan boş), $\text{Abs}_{\text{numune}}$: test numunelerin absorbands değeri
Inh: Inhibisyon

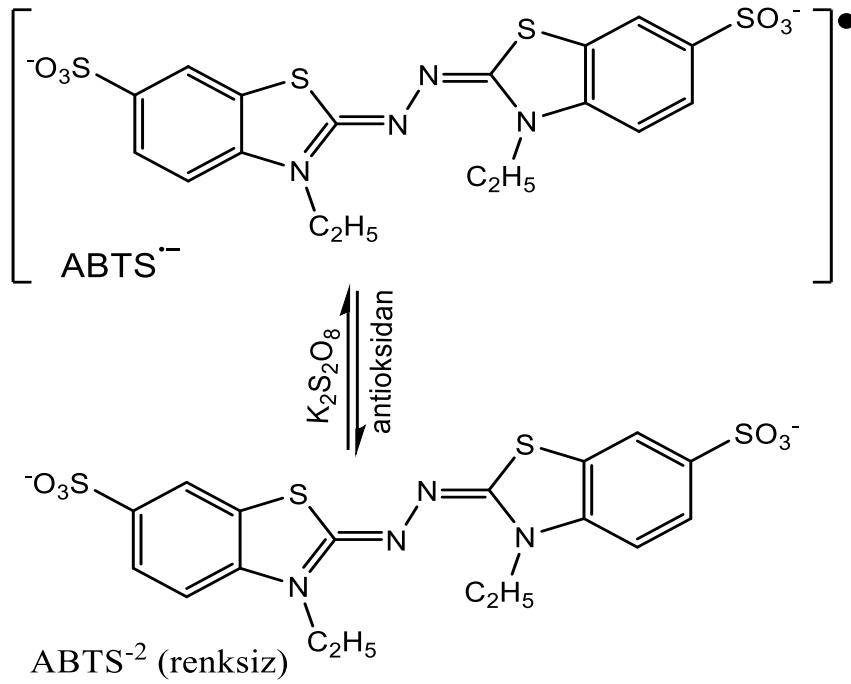
Reaktiflerin hazırlanması:

DPPH czeltisi (% 0.008): 2 mg DPPH tartılarak 25 mL metanolde czld ve amber cam kabın içinde +4 C’de muhafaza edildi.

Gallik asit czeltisi (1 mg/mL): 1 mg gallik asit tartılarak 1 mL metanolde czld. Bu stok czeltiden 0.1 mg/mL czelti hazırlandı.

3.8.2. Troloks’a eşdeğer antioksidan kapasitesinin belirlenmesi (TEAK)

G. malaccensis’in yapraklarının metanollü ve hekzanlı ekstrelerinin ABTS^{•+}radikal katyonu süpürme aktivitesi Bekir ve arkadaşlarının rapor ettiği yöntem kullanılarak ölçüldü (Ma vd. 2017). Deneyde kullanılan tepkime şekil 3.6.’de yer alan elektron transferi tepkimesine dayalıdır (Huang vd. 2005). Deney ncesi ABTS ve potasyum persülfat suda czlerek 16 saat bekletilir. Bu süre sonunda ABTS^{•+} oluşur. Numunede bulunan potansiyel antioksidan etkili bileşikler ABTS^{•+} ile tepkimeye girerek onu molekül formuna dönüştürür ve rengini soldurur. Trolox (vitamin E’nin suda cznen formu) bilinen etkili bir antioksidan bileşiktir. Deneyde trolox’un değişik konsantrasyondaki czeltileri hazırlanarak ABTS^{•+} zerindeki inhibisyon yüzdeleri saptanır. Daha sonra, trolox’un kalibrasyon eğrisi çizilir ve eğri denklemi kullanılarak test numunelerinin (ekstreler) troloxa eşdeğer antioksidan kapasitelerinin (TEAK) değerleri hesaplanır.



Şekil 3.6. ABTS $\bullet^+$ reaktifinin elektron transferi

Deney için standart olarak trolox çözeltileri (mM) 3; 2; 1; 0.5; 0.1 konstantrasyonlarında hazırlandı (absolü etanolde). Deneyde, 96 derin kuyucuklu plak kuyularında 10 uL trolox çözeltisi 990 uL ABTS ile karıştırıldı ve 30 dakika karanlıkta inkübe edildi. Süre sonunda kuyucuktaki karışımdan 300 μ L alınarak 96 kuyucuklu mikropalak kuyularına çoklu otomatik mikropipetör ile aktarıldı. Absorbans değerleri mikropalak okuyucuda spektrofotometrik olarak 734 nm'de ölçüldü. Absorbans değerleri ölçüldükten sonra numunelerin yüzde inhibisyon değerleri hesaplandı. Numunelerin troloksa eşdeğer antioksidan kapasiteleri DPPH deneyinde kullanılan denklem kullanılarak hesaplandı: Trolox için lineer doğru denklemi elde edildi. Bu doğru denklemi kullanılarak numunelerin 30. dakikada ortaya koyduğu inhibisyon etkileri ile trolox'a eşdeğer antioksidan süpürücü etki hesaplandı (Kaewseejan vd. 2014).

Reaktiflerin hazırlanması:

ABTS reaktifi: 36 mg ABTS (7 mM) ve 6.6 mg (2.5 mM) $K_2S_2O_8$ tartılıp 10 mL suda çözülerek 16 saat boyunca karanlık ortamda reaktifin aktif hale gelmesi için bekletildi. Potasyum persulfat etkisi ile ABTS oksitlenip aktif ABTS $\bullet^+$ radikal katyonu oluştu.

Hazırlanan stok çözelti karanlık serin ortamda kapalı halde muhafaza edildi. Daha sonra bu stok çözeltiden 1 mL alınarak spektrofotometrede 734 nm’de absorbansı 0.700-0.800 arasında olana kadar absölü etanol ile seyreltildi.

Gallik asit çözeltisi (0.1 mg/mL): 1 mg madde tartıldı ve 10 ml metanolde çözülerek stok çözeltisi hazırlandı. Daha sonra, bu stok çözelti 0.1 mg/mL olacak şekilde seyreltildi.

3.9. Toplam Fenolik Miktar Tayini

G. malaccensis'in yapraklarının metanollü ve hekzanlı ekstralarının toplam fenolik içeriği gallik asit’e eşdeğer olarak, Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılarak spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir (Ebu Bakar, Mohamed, Rahmat ve Fry, 2009).

Folin-Ciocalteu tahlili, sebzelerde, meyvelerde ve şifalı bitkilerde toplam fenolik içeriği belirlemek için geliştirilen en eski yöntemlerden biridir. Bazik durumdaki fenolik bileşik, içinde 750nm'ye yakın maksimum absorpsiyon ile mavi renkli bir molibden oksit oluşturan molibdatın azaltıldığı FCR'yi azaltabilen fenolat anyonuna ayrışır (Krishnan vd. 2015). Folin-Ciocalteu reaktifi bileşimi Mo ve W metallerinin fosfat tuzları karışımından ibarettir. Deneyde FCR'de bulunan ağır metaller numunedeki fenolik bileşiklerle elektron transferine dayalı tepkimeye girerek redüklenir:



Tepkime sonunda ortaya çıkan mor-mavi rengin absorbans değerinin spektrofotometrik yöntemle ölçülerek tepkimeye giren fenolik bileşiklerin miktarını tespit etmek mümkündür.

Deneyde, 96 derin kuyucuklu plak kuyularında 20 µL numune çözeltisi üzerine 1,56 mL saf su ve 300 uL Folin-Ciocalteu reaktifi eklendi. 1-8 dakika beklendikten sonra 300 uL %20’lik Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilip, 2 saat 25 °C’de inkübe edildi. Elde edilen mavi renkli çözeltinin absorbansı, spektrofotometrik olarak 760 nm’de ölçüldü. Sonuçlar, g kuru ağırlık başına mg gallik asit eşdeğerleri (GAE) olarak ifade edildi (mg GAE/g kuru ağırlık). Absorbans ölçümleri kullanılarak gallik asit çözeltileri (1-0,1 mg/mL) için kalibrasyon eğrisi çizildi. Kalibrasyon eğrisinin denklemi kullanılarak numunelerdeki TPC değerleri hesaplandı. Sonuçlar 3×3 tekrar üzerinden hesaplandı (Singleton vd. 1999; Koşar vd. 2008).

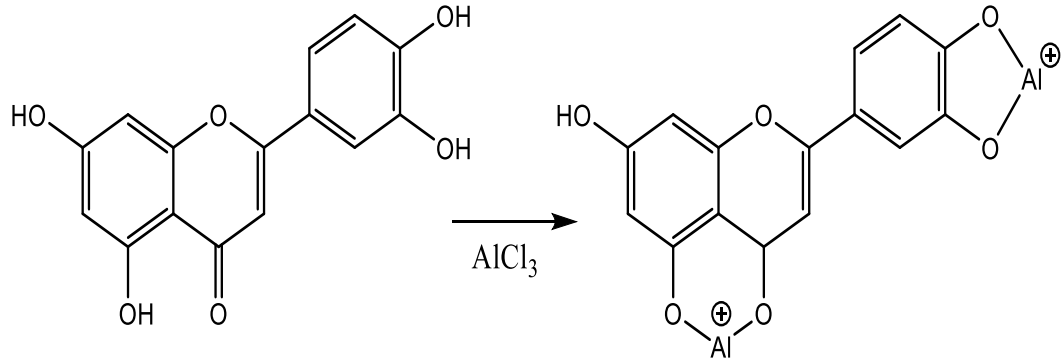
Reaktiflerin hazırlanması:

Gallik asit çözeltileri (1-0,1 mg/mL): Maddenin 1 mg/mL’lik konsantrasyonda çözeltilisi hazırlanıp 0,8, 0,6, 0,4, 0,2, 0,1 mg/mL’lik konsantrasyonlara seyreltilti.

Sodyum karbonat çözeltilisi (%20): 20 gr Na₂CO₃ tartılıp 100 mL suda çözüldü.

3.10. Toplam Flavonoit Miktar Tayini

Toplam flavonoit bileşiklerin miktar tayini AlCl₃ reaktifi kullanılarak modifiye edilmiş kolorimetrik yöntemle (Abu Bakar vd 2009) belirlendi. Numunelerde bulunan flavonoit yapıtaşına sahip bileşikler AlCl₃ ile renkli kompleksler oluşturur. Deneyde yer alan tepkime mekanizması Şekil 3.7’de gösterilmiştir (Miliauskas vd. 2004; Koşar vd. 2008):



Şekil 3.7. Flavonoit bileşikler ve AlCl₃ arasındaki tepkime

Deneyde, 96 derin kuyucuklu plak kuyucuklarına 80 uL numune (ekstre, rutin) üzerine sırasıyla 80 uL AlCl₃ çözeltilisi ve 1,84 mL absöü etanol eklendi. Kör deneyde 80 µl numune üzerine AlCl₃ yerine birkaç damla asetik asit (%15) ve 1,9 mL absöü etanol ilave edildi. Plaklar karanlıkta 25 °C’de 40 dak bekletildi. Süre sonunda kuyucuklardaki karışımdan 300 µL alınarak 96-kuyucuklu mikropolağa aktarıldı ve plak okuyucuda absorbans değeri 415 nm’de okundu.

Standart flavonoit olarak rutin ve kersetin çözeltileri kullanıldı (1-0,1 mg/mL). Standart flavonoit çözeltileri için kalibrasyon eğrisi çizilerek denklem ve r² değeri elde

edildi. Deney 3×3 tekrar yapılarak sonuçlar rutine eşdeğer olarak hesaplandı (Koşar vd. 2011).

Reaktiflerin hazırlanması:

Alüminyum klorür çözeltisi (%2): 2,0 gr susuz $AlCl_3$ tartılarak 100 mL suda çözüldü.

Rutin çözeltileri (1-0,1 mg/mL): 1 mg/mL'lik konsantrasyonda çözeltisi hazırlanıp 0,8, 0,6, 0,4, 0,2, 0,1 mg/mL'lik konsantrasyonlara seyreltildi.

Kersetin çözeltileri (1-0,1 mg/mL): Maddenin 1 mg/mL'lik konsantrasyonda çözeltisi hazırlanıp 0,8, 0,6, 0,4, 0,2, 0,1 mg/mL'lik konsantrasyonlara seyreltildi.

Sodyum karbonat çözeltisi (%20): 20 g Na_2CO_3 tartılıp 100 mL suda çözüldü.

3.1.1. Ekstrelerinin Antidiyabetik Etkisinin Değerlendirilmesi

G. malaccensis ekstrelerinin antidiyabetik etkileri α -amilaz enzimini inhibe etme özelliğine ölçen Caraway-Somogyi iyodür/ potasyum iyodür (I/KI) yöntemi ile araştırıldı (Zengin vd. 2014). α -amilaz enzimi karbonhidratların daha küçük moleküllere kadar (glukoz) parçalanma sürecini katalize eden bir enzimdir. Ancak, çeşitli doğal maddeler bu enzimin aktivitesini inhibe ederek polimer karbonhidratların parçalanmasını engeller. Dolayısıyla kandaki glukoz seviyesinin artması engellenmiş olur. Bu tür maddelerin arasında birçok doğal inhibitör rapor edilmiştir (fenolik bileşikler, akorboz vb.).

Deneyde, 96 kuyucuklu mikrolak kuyucuğuna 25 μ L numune çözeltisi ve 50 μ L α -amilaz (0,8 U/mL 20 mM fosfat buffer, pH=6,9) çözeltisi otomatik pipetörle (8-kanallı, Eppendorf) ilave edildi. Karışım 10 dakika boyunca 37 °C'de inkübe edildi. Süre sonunda kuyucuklara 50 μ L substrat (nişasta çözeltisi, %0,05) eklenerek 37 °C'de 10 dakika ikinci kez inkübe edildi. Süre sonunda reaksiyonun durdurulması 25 μ L HCl (1 M) ilavesiyle sağlandı. Belirteç olarak kuyucuklara 100 μ L I/KI çözeltisi ilave edildi. Absorbans değerleri mikrolak okuyucu ile 630 nm'de okundu. Deneyde pozitif kontrol olarak akorboz çözeltisi (0,1 mg/mL, fosfat tampon çözelti içinde) kullanıldı. Deney 3×3 tekrar uygulandı.

α -Amilaz aktivitesinin yüzde inhibisyonu (Inh%) aşağıda verilen denkleme göre hesaplandı:

$$\%Inh = \left[\frac{(Abs_{kontrol} - Abs_{kontrolblank}) - (Abs_{numune} - Abs_{numuneblank})}{Abs_{kontrol} - Abs_{kontrolblank}} \right] \times 100 \quad (3,3)$$

$Abs_{kontrol}$: kontrol kuyucuktaki absorbans değeri, $Abs_{kontrolblank}$: kontrol blank kuyucuğun absorbans değeri, Abs_{numune} : numunenin bulunduğu kuyucuktaki absorbans değeri, $Abs_{numuneblank}$: numunenin blank kuyucuktaki absorbans değeri.

Reaktiflerin hazırlanması:

Belirteç reaktif: 1,5 gr KI ve 0,5 g I₂ tartıldı ve 50 mL distile suda çözüldü. Reaktif amber renkli cam erlende muhafaza edildi.

Tampon çözelti (pH 6,9): 0,150 gr NaH₂PO₄ ve 0,185 gr Na₂HPO₄ tartıldı ve 100 mL distile suda çözüldü. pH-metre ile ölçümle yapılarak çözeltinin değeri 6,9 olarak ayarlandı. Hazırlanmış bufferın üzerine 35 mg NaCl ilave edildi.

Enzim: 1,23 mg porcine pancreas α -amilaz (Type VI-B, ≥ 10 unite/mg katı) tartıldı ve 20 mL buffer içerisinde çözüldü.

Standart inhibitör: 1 mg akarboz tartılıp 1 mL tampon çözeltisi içinde çözüldü.

Substrat: Çözünür nişasta 0,02 gr olarak tartıldı ve 40 mL distile su içinde çözüldü. Çözelti 10 dak kaynatılmadan ısıtıldı. Hazırlanmış çözelti oda sıcaklığına gelene kadar soğutuldu.

4. DENEYSEL BULGULAR

4.1. Ekstrelerin Verim Bilgileri

G. malaccensis yaprakları taze halde ve iki farklı yöntemle kurutularak (fırın ve liyofilizatör) araştırma materyalleri hazırlandı. *G. malaccensis* yapraklarından elde edilen ekstreler Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. *G. malaccensis* yapraklarından elde edilen ekstreler

Hazırlanmış yapraklardan elde edilen sıvı ekstreler kurutularak verim bilgileri hesaplandı. Tüm ekstrelerin verim bilgileri Tablo 4.1’de verilmiştir:

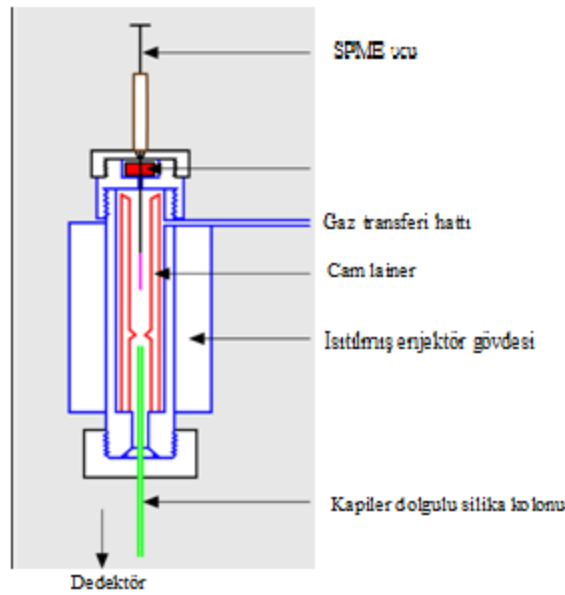
Tablo 4.1. *G. malaccensis* yaprak ekstrelerinin verim bilgileri

Ekstre türü*	Verim, %
TYME	6,8
TYHE	2,8
EKYME	7,1
EKYHE	3,7
LKYME	7,5
LKYHE	4,3

*Ekstrelerin açıklamaları Tablo 3.4.’te verilmiştir.

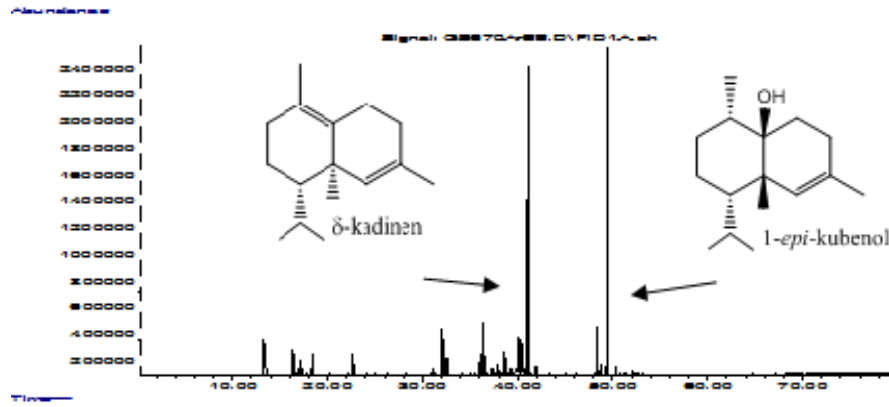
4.2. *G. malaccensis* Çiçek Uçucu Bileşenlerinin Kompozisyonu

G. malaccensis bitkisi çiçek açma döneminde taze çiçekleri toplanarak uçucu bileşenleri MSD-SPME tekniği ile ekstre edildi. Bu amaçla 0,5 g taze çiçekler cam balona konularak üzerine 3 mL su eklenip MSD-SPME tekniği uygulandı. Uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu için 65 µm “mavi” fiber ucu (adsorban: polidimetilsiloksan-divinilbenzen) kullanıldı. Ekstraksiyon süresi 3 dakika olarak uygulandı. Ekstraksiyon için kullanılan MSD-SPME düzeneği Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. SPME Termal desorpsiyon

SPME ucundaki absorbe olan uçucu bileşenler termal desorpsiyon yolu ile gaz kromatografisi sistemine enjekte edildi ve analizi gerçekleştirildi. *G. malaccensis* çiçeklerinin uçucu bileşenlerinin kromatografik profili Şekil 4.3.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. *G. malaccensis* bitkisinin çiçeklerine ait uçucu bileşenlerinin kromatografik profili

Çiçek uçucu bileşenlerinin analizi polar HP-Innowax kolonda gradient sıcaklık programı uygulanarak gerçekleştirildi. Kolonda ayrılan bileşiklerin teşhisi MS detektörden alınan kütle spektrum bilgileri, RRI (relative retention index) ve alıkonma zamanı bilgileri kullanılarak gerçekleştirildi. Bileşiklerin bağıl bollukları, FID detektörden çıkan alan değerleri kullanılarak saptandı. Tablo 4.2.'de maddelerin polar kolondaki çıkış sırası, bağıl yüzdelikleri ve RRI değerleri verilmiştir.

Tablo 4.2. *G. malaccensis* çiçeklerinin uçucu bileşenleri

No	RRI	Bileşik	%
1.	1032	α -Pinen	4,5
2.	1118	β -Pinen	2,8
3.	1132	Sabinen	0,7
4.	1145	1-Undesen	1,3
5.	1159	δ -3-Karene	0,3
6.	1174	Mirsen	2,4
7.	1203	Limonen	0,3
8.	1218	β -Fellandren	e
9.	1266	(E)- β -Osimen	2,2
10.	1290	Terpinolen	0,3
11.	1386	Oktenil asetat	e
12.	1400	Nonanal	e
13.	1460	2,6-Dimetil-1,3(E),5(E),7-oktatetraen	e
14.	1466	α -Kubeben	0,7

Tablo 4.2. (Devam) *G. malaccensis* çiçeklerinin uçucu bileşenleri

No	RRI	Bileşik	%
15.	1493	α -Ylangen	e
16.	1495	Bisikloelemen	2,9
17.	1497	α -Kopaen	1,5
18.	1549	β -Kubeben	e
19.	1589	β -Ylangen	0,2
20.	1600	β -Elemen	0,8
21.	1604	2-Undekanon	0,1
22.	1612	β -Karyofillen	3,4
23.	1628	Aromadendren	1,4
24.	1658	Sabinil asetat	0,2
25.	1668	(Z)- β -Farnesen	0,6
26.	1677	<i>epi</i> -Zonaren	0,3
27.	1687	α -Humulen	1,8
28.	1704	γ -Muurolen	e
29.	1708	Leden	0,7
30.	1726	Germakren D	0,6
31.	1732	Kadina-3,5-dien	0,5
32.	1743	Eremofilen	3,3
33.	1755	Bisiklogermakren	2,6
34.	1773	δ-Kadinen	36,4
35.	1799	Kadina-1,4-dien (=Kubenen)	0,4
36.	1853	<i>cis</i> -Kalamenen	0,2
37.	1868	(E)-Geranil aseton	e
38.	1941	α -Kalacoren	e
39.	2050	(E)-Nerolidol	0,1
40.	2051	Gleenol	2,6
41.	2058	10- <i>epi</i> -Elemol	0,5
42.	2088	1-<i>epi</i>-Kubenol	22,4
43.	2144	Spatulenol	0,1
44.	2145	Muurola-4,10(14)-dien-1-ol	0,1
45.	2161	Hekzahidro-farnesilaseton	0,3
46.	2173	Kopaborneol	0,2
Toplam			99,7

e: eser, $\leq 0,1$; RRI: relatif alıkonma indisi.

4.3. *G. malaccensis* Yaprak Uçucu Bileşenlerinin Kompozisyonu

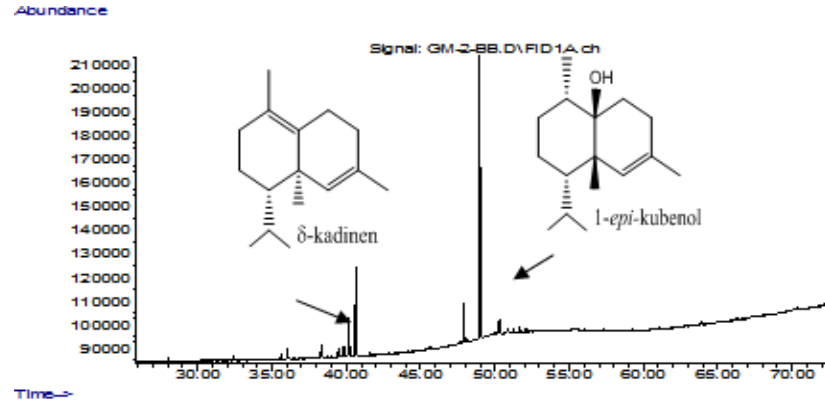
G. malaccensis yapraklarının uçucu bileşenlerinin analizi gaz kromatografisi yöntemiyle gerçekleştirildi. Bu amaçla yapraklardan elde edilen hekzanlı ekstratlar GC-MS/FID sistemine enjekte edildi. *G. malaccensis* yapraklarının uçucu bileşenlerinin analizi polar HP-Innowax kolonda gradient sıcaklık programı uygulanarak gerçekleştirildi. Kolonda ayrılan bileşiklerin teşhisi MS detektörden alınan kütle spektrum bilgileri, RRI (relative retention index) ve alıkonma zamanı bilgileri kullanılarak gerçekleştirildi. Bileşiklerin bağıl bollukları FID detektörden çıkan alan değerleri kullanılarak saptandı. *G. malaccensis* bitkisinin taze yaprakları (Tablo 4.3.), etüvde kurutulmuş yaprakları (Tablo 4.4.), ve liyofilizatörde kurutulmuş yapraklarından (Tablo 4.5.), elde edilen uçucu bileşiklerin polar kolondaki çıkış sırası, bağıl yüzdelikleri ve RRI değerleri aşağıda yer almaktadır.

Tablo 4.3. *G. malaccensis* bitkisinin taze yapraklarının uçucu bileşenleri

No	RRI	Bileşik	%
1.	1386	Oktenil asetat	0,6
2.	1497	α -Kopaen	0,8
3.	1599	(E,Z)-Nonadienal	1,0
4.	1612	β -Karyofilen	2,1
5.	1687	α -Humulen	2,6
6.	1726	Germakren D	1,6
7.	1743	Eremofilen	1,9
8.	1755	Bisklogermakren	7,4
9.	1773	δ-Kadinen	17,4
10.	2051	Gleenol	6,3
11.	2088	1-<i>epi</i>-Kubenol	53,3
12.	2144	Spatulenol	2,3
13.	2145	Muurola-4,10(14)-dien-1-ol	0,7
14.	2157	Khavibetol	0,7
15.	2173	Kopaborneol	0,7
Toplam			99,4

RRI: relatif alıkonma indisi.

G. malaccensis bitkisinin taze yapraklarının uçucu bileşenlerinin ait kromatogram Şekil 4.4.'te yer almaktadır.

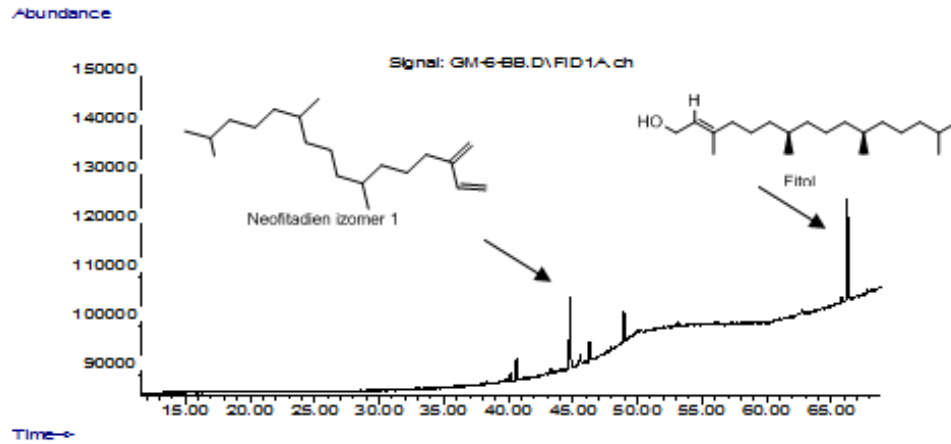


Şekil 4.4. *G. malaccensis* bitkisinin taze yapraklarının uçucu bileşenlerinin kromatografik profili

Tablo 4.4. *G. malaccensis* bitkisinin etüvde kurutulmuş yapraklarının uçucu bileşenleri

No	RRI	Bileşik	%
1.	1213	1,8-Sineol	1,8
2.	1426	Heptil izobütirat	1,7
3.	1450	<i>trans</i> -Linalool oksit (Furanoit)	4,9
4.	1478	<i>cis</i> -Linalool oksit (Furanoit)	4,3
5.	1532	Kafur	5,7
6.	1553	Linalool	17,6
7.	1565	Linalil asetat	11,5
8.	1590	Bornil asetat	1,0
9.	1591	Lavandulil asetat	0,6
10.	1612	β-Karyofillen	0,7
11.	1631	Hekzil tiglät	0,6
12.	1706	α-Terpineol	1,7
13.	1719	Borneol	4,9
14.	1770	<i>trans</i> -Linalool oksit (Pyranoit)	0,7
15.	1755	Bisiklogermakren	1,6
16.	1765	Geranil asetat	1,0
17.	1773	δ-Kadinen	5,7
18.	1896	Neofitadien izomer I	5,7
19.	1949	(Z)-3-Hekzenil nonanoat	2,0

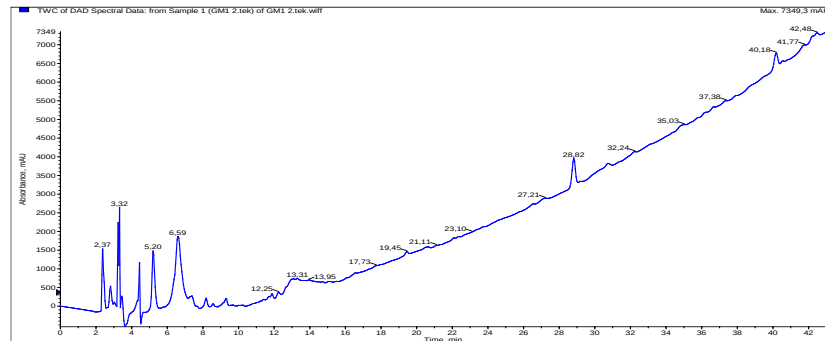
Liyofilize *G. malaccensis* yapraklarının uçucu bileşenlerine ait kromatogram Şekil 4.6.'da yer almaktadır.



Şekil 4.6. *G. malaccensis* bitkisinin liyofilizatörde kurutulmuş yapraklarının uçucu bileşenlerinin kromatografik profili

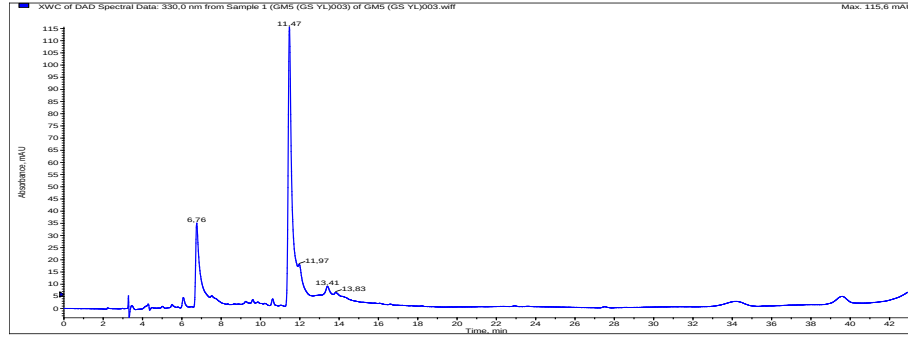
4.4. Sıvı Kromatografik Analiz Sonuçları

G. malaccensis yapraklarından elde edilen metanollü ekstralarının kimyasal kompozisyon bilgileri LC-MS/MS tekniği ile araştırıldı. *G. malaccensis* taze yapraklarından elde edilen metanollü ekstrenin genel kromatografik profili Şekil 4.7.'de gösterilmiştir.



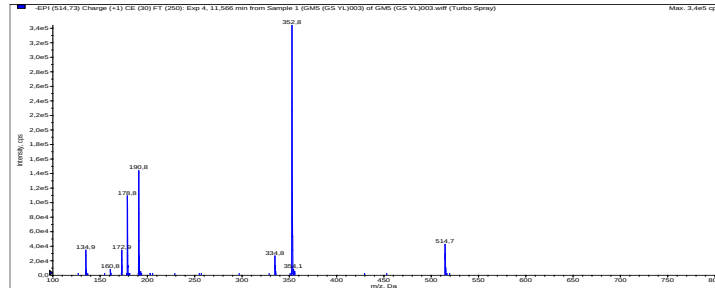
Şekil 4.7. Taze *G. malaccensis* yapraklarından elde edilen metanollü ekstrenin genel kromatografik profili

Etüvde kurutulan *G. malaccensis* yapraklarından elde edilen metanollü ekstrenin LC-MS tekniği ile gerçekleştirilen analizinde iyonlaşan madde bulunmamıştır. Bu sebeple bu ekstrenin kromatografik profil görüntüsü sunulmamıştır. Liyofilize edilerek kurutulduktan sonra ekstre edilen *G. malaccensis* yapraklarından elde edilen metanollü ekstrenin genel kromatografik profili Şekil 4.8.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. Liyofilizatörde kurutulmuş *G. malaccensis* yapraklarına ait metanollü ekstrenin genel kromatografik profili (Rt:6.7 min: 3-kafeoilkinik asit (klorojenik asit), Rt: 11.5 min: 3,5-dikafeoilkinik asit)

G. malaccensis yapraklarından elde edilen metanollü ekstresinde sıvı kromatografisi tekniğiyle birkaç fenolik bileşik kolonda ayrılarak kütle spektrum bilgilerine göre teşhis edilmiştir. Fenolik bileşiklerin arasında 3-kafeoilkinik asit (klorojenik asit) ve 3,5-dikafeoilkinik asit tespit edilmiştir. Teşhis edilen klorojenik asidin kütle spektrumu Şekil 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. *G. malaccensis* yapraklarına ait metanollü ekstrede tespit edilen 3-5 kafeoilkinik asit spektrumu

4.5. Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.5.1. Ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkileri (DPPH deneyi)

Tüm ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkileri model DPPH• radikali kullanılarak spektrofotometrik yöntemle araştırıldı. Deney mikrotiter plak tekniği kullanılarak gerçekleştirildi. Ekstrelerin inhibisyon değerleri Tablo 4.6.'da verilmiştir.

Tablo 4.6. *G. malaccensis* ekstrelerinin DPPH•radikali üzerindeki inhibisyon değerleri

Ekstre türü*	Inh** (Ort±SS, %)
	10,28
TYME	± 1,5
	22,87
TYHE	± 1,4
	12,84
EKYME	± 0,2
	43,48
EKYHE	± 1,4
	61,17
LKYME	± 1,5
	46,64
LKYHE	± 2,9
	88,54
Gallik asit (1 mg/mL)	± 0,2
*Ekstrelerin kısaltma isim açıklamaları Tablo 3.4'te açıklanmıştır; **% inhibisyon değerleri 2.5 mg/mL derişimdeki ekstreler için verilmiştir. Ort: ortalama değer; SS: standart sapma.	

4.5.2. Ekstrelerin Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAK)

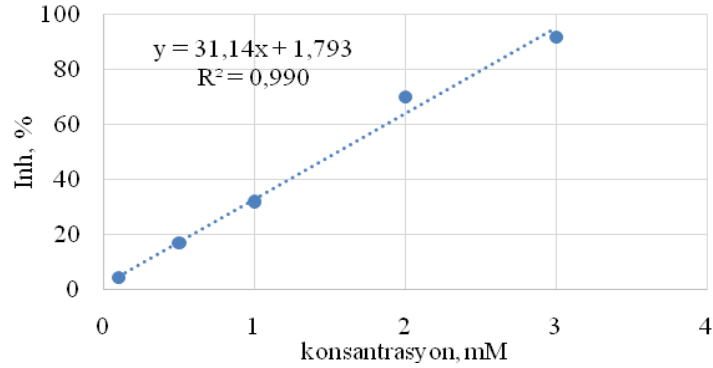
Tüm ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkileri model ABTS^{•+} radikal katyonu kullanılarak spektrofotometrik yöntemle araştırıldı. Deney mikrotiter plak tekniği kullanılarak gerçekleştirildi. Numunelerin antioksidan etkileri Trolox'un (standart inhibitör madde) ABTS^{•+} radikalini süpürme etkisi ile karşılaştırılarak belirlendi. Ekstrelerin inhibisyon değerleri Tablo 4.7.'de verilmiştir

Tablo 4.7. *G. malaccensis* ekstrelerinin Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasitesi

Ekstre türü*	TEAK** (Ort±SS, mM)
	0,41
TYME	±
	0,04
	0,36
TYHE	±
	0,02
	0,76
EKYME	±
	0,06
	0,38
EKYHE	±
	0,04
	1,41
LKYME	±
	0,35
	0,95
LKYHE	±
	0,05

*Ekstrelerin kısaltma isim açıklamaları Tablo 3.4'te açıklanmıştır; **TEAK değerleri 10 mg/mL derişimdeki ekstreler için verilmiştir, Ort: ortalama değer; SS: standart sapma.

Hesaplamalarda kullanılan Trolox maddesinin kalibrasyon eğrisi Şekil 4.10.'da gösterilmiştir.



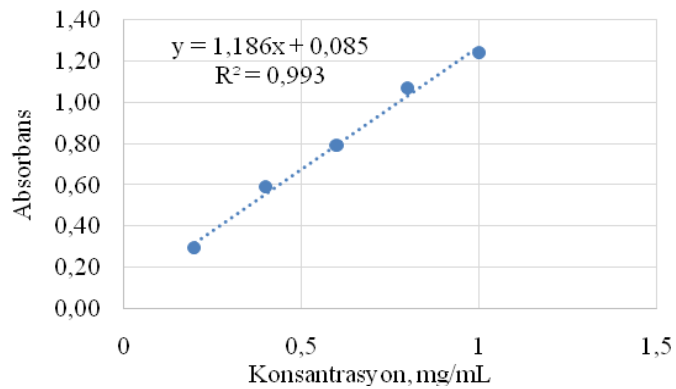
Şekil 4.10. Trolox kalibrasyon eğrisi

Ekstrelerin içerdikleri Trolox'a eş değer antioksidan kapasitesi trolox için elde edilen kalibrasyon eğrisi denklemini kullanılarak hesaplandı:

$$y = 31,14x + 1,793 \quad (r^2 = 0,990) \quad (4.1.)$$

4.6. Ekstrelerin Toplam Fenolik Miktarı

G. malaccensis yapraklarından elde edilen ekstrelerde TPC Folin-Ciocalteu reaktifiyle spektrofotometrik olarak ölçüldü. Şekil 4.11.'de yer alan kalibrasyon eğrisi gallik asit çözeltisi kullanılarak elde edilmiştir.



Şekil 4.11. Gallik asit kalibrasyon eğrisi

Ekstrelerin içerdikleri TPC değerleri gallik asit için elde edilen kalibrasyon eğrisi denklemini kullanılarak hesaplandı:

$$y = 1,186x + 0,085 \text{ (} r^2 = 0,993 \text{)} \quad (4.2.)$$

Gallik asite eşdeğer olarak hesaplanan sonuçlar Tablo 4.8.'da yer almaktadır.

Tablo 4.8. *G. malaccensis* yapraklarına ait ekstelerin toplam fenol miktarları

Ekstre türü*	Toplam Fenol Miktarı, (Ort±SS, GAEmg/g _{ekstre})
	10,6
TYME	± 0,6
	3,1
TYHE	± 0,7
	6,9
EKYME	± 0,8
	6,0
EKYHE	± 1,1
	19,7
LKYME	± 0,9
	13,2
LKYHE	± 1,5
*Ekstrelerin kısaltma isim açıklamaları Tablo 3.4'te açıklanmıştır; Ort: ortalama değer; SS: standart sapma; GAE: mg/g 1 g ekstredeki Gallik asit'e eşdeğer fenol miktarı	

4.7. Ekstrelerin Toplam Flavonoit Miktarı

G. malaccensis bitkisinin yapraklarından elde edilen polar ve apolar ekstrelerdeki TFC AlCl₃ ile oluşturduğu kompleksin renginin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile tespit edildi.

Flavonoit miktarları kersetin'e eşdeğer olarak elde edilen kalibrasyon eğrisi denklemini kullanılarak hesaplandı:

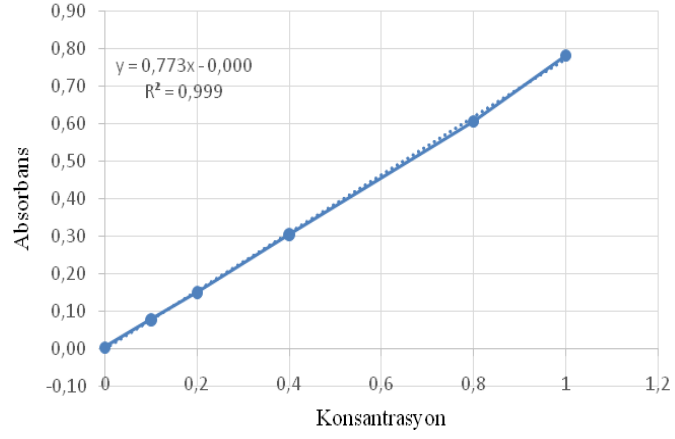
$$y = 0,773x - 0,0007 \quad (r^2 = 0,999) \quad (4.3.)$$

Rutine eşdeğer olarak hesaplanan toplam flavonoit miktarlarına ait veriler Tablo 4.9.'da yer almaktadır.

Tablo 4.9. *G. malaccensis* yapraklarına ait ekstelerin toplam flavonoit miktarları

Ekstre türü	Toplam Flavonoit Miktarı, (Ort±SS, KE mg/g ekstre)
TYME	-
	1,5
TYHE	±
	0,1
	4,2
EKYME	±
	0,01
	3
EKYHE	±
	0,01
	14,3
LKYME	±
	1,9
	5,0
LKYHE	±
	0,7
*Ekstrelerin kısaltma isim açıklamaları Tablo 3.4'te açıklanmıştır; Ort: ortalama değer; SS: standart sapma; KE: mg/g kersetin'e eşdeğer flavonoit miktarı	

Rutin çözeltileri (0-1 mg/mL) için elde edilen kalibrasyon eğrisi Şekil 4.12.'de yer almaktadır.



Şekil 4.12. Rutin kalibrasyon eğrisi

4.8. Ekstrelerin Anti-diyabetik Aktiviteleri

G. malaccensis bitkisinin yapraklarının karbonhidrat metabolizması üzerinde etkili olan α -amilaz enzimini inhibe etme potansiyeli proje kapsamı içerisinde mikrotiter plak tekniği ile değerlendirilmiştir. *G. malaccensis* yaprak ekstelerinin α -amilaz enzimi üzerindeki inhibisyon değerleri Tablo 4.10.'da yer almaktadır.

Tablo 4.10. *G. malaccensis* yaprak ekstralarının α -amilaz enzimi üzerindeki inhibisyon değerleri

*Ekstre türü	**Inh% (Ort±SS)
	12,68
TYME	±
	1,2
	21,98
TYHE	±
	2,4
	46,12
EKYME	±
	4,4
	53,07
EKYHE	±
	4,5
	19,98
LKYME	±
	1,8
	39,60
LKYHE	±
	3,3
	93,56
Akarboz [‡]	±
	1,9

*Ekstrelerin kısaltma isim açıklamaları Tablo 3.4'te açıklanmıştır; **Inh % Yüzde değerleri 5 mg/mL derişimdeki ekstralar için verilmiştir Ort: ortalama değer; SS: standart sapma; [‡]Standart enzim inhibitörü

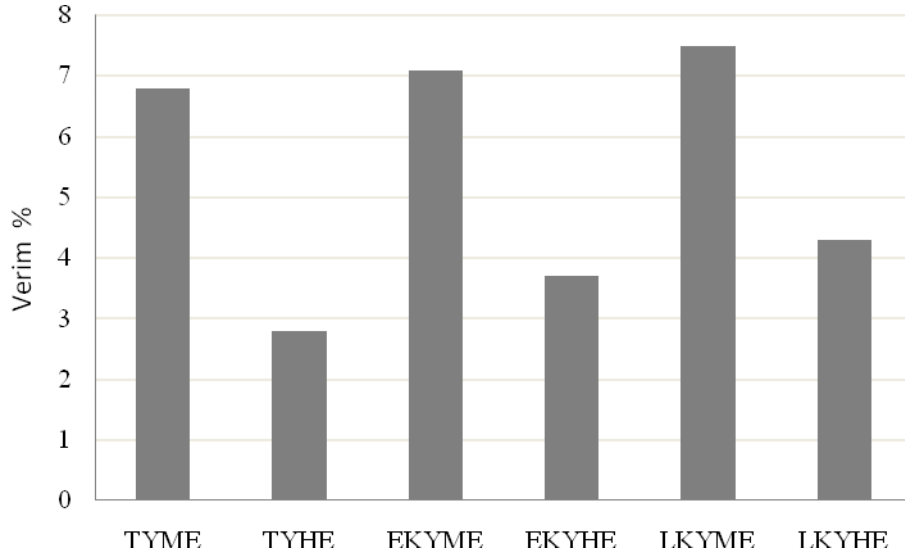
5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Ekstrelerin Verim Değerlendirmeleri

G. malaccensis yapraklarından araştırma kapsamında polar ve apolar çözücüler kullanılarak altı farklı ekstre elde edildi. Verim bilgilerine bakıldığında metanollü liyofilize ekstrenin verimi (%7,5) en yüksek olarak saptanmıştır. Verime ait bilgilere göre metanollü ekstreler daha yüksek verime sahiptir. Apolar çözücü ile elde edilen ekstrenin verimleri tüm kurutma yöntemleri için daha düşük olarak saptanmıştır.

Tüm ekstreler içerisinde TYHE daha açık sarımsı renkte ve daha düşük verimdedir. Diğer ekstreler birbirine benzer şekilde klorofile has koyu yeşil rengindedir.

Ekstrelerin verimlerine ait grafik Şekil 5.1'de yer almaktadır.



Şekil 5.1. Ekstrelerin verimlerine ait grafik

Literatürde bulunan *Gynura* türü bitkilerle yapılan çalışmalarda çözücü olarak su, etanol, hekzan, metanol, etil asetat, kloroform ve diğer alt fraksiyonlar kullanılmıştır. Araştırma kapsamında elde edilen verim bilgileri kaynak bilgileri ile karşılaştırıldığında, çözücü ve tür farkı sebebiyle ortaya çıktığı düşünülen farklılıklar gözlemlenmiştir. *Gynura* yapraklarının verimi kaynaklarda %0,3-%84,5 arasında değişmektedir (Wu vd. 2015;

Puangpronpitag vd. 2010). *Gynura* bitkilerine ait verimlerdeki uç farklılıkların çözücü ve tür farkı sebebiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Bir çalışmada *G. procumbens* yapraklarına ait kloroformlu, etil asetatlı ve *n*-bütanolü fraksiyonlarının verimleri sırasıyla %1,68, %6,40 ve %8,64 ve ham etanolü ekstre verimi %27,83 (Kaewseejan vd. 2014), metanolü ekstre verimi ise %12,2 (kuru ağırlık bazında) olarak (Rosidah vd. 2009) tespit edilmiştir.

G. bicolor yaprakları ile yapılan bir çalışmada alkollü ekstrenin verimi %0,9 sulu ekstrenin %4,2 ve eterli ekstrenin verimi de %0,3 olarak tespit edilmiştir (Wu vd. 2015).

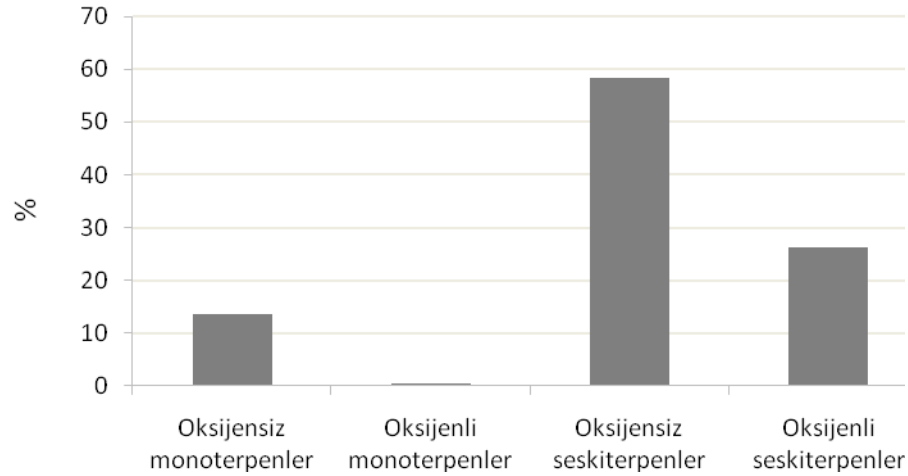
Bir başka çalışmada, 40 °C'de fırında kurutulan *G. procumbens* yapraklarının etanolü ekstresi %1,4 (Wang vd. 2013) ve etanolü ekstrenin bütanolü fraksiyonu %2'lik (Hoe vd. 2011) verimle elde edilmiştir. 45 °C fırında kurutulan *G. segetum* yaprakların petrol eterli (%13,2), kloroformlu (%15,3) ve metanolü (%21,5) ekstraları ise daha yüksek verime sahip olarak rapor edilmiştir (Seow vd. 2011; Seow vd. 2012). *G. segetum* yapraklarından Soxhlet aparatı kullanılarak elde edilen petrol eterli (%6,2), kloroformlu (%7,4) ve metanolü (%10,4) ekstralarının verimleri daha düşük rapor edilmiştir (Seow vd. 2014 a). *G. segetum* yaprakları için de su ile ekstraksiyon, etanol ile ekstraksiyona kıyasla daha yüksek verim vermiştir (Seow vd. 2013). Liyofilize edilerek kurutulan *G. procumbens* yaprakları üzerinde yapılmış bir çalışmada polar çözücü ile en yüksek miktarda bileşen ekstre edilmiştir: Su, butanol ve etil asetat ile elde edilen ekstraların verimleri sırasıyla %33, %23 ve %2 olarak bildirilmiştir (Algariri vd.2014). *G. procumbens* yapraklarının üzerinde yapılan başka bir araştırmada, en yüksek ekstraksiyon verimi, (%84,51) damıtılmış su elde edilmiştir (Puangpronpitag vd. 2010).

G. formosana Kitam. yapraklarının araştırıldığı başka çalışmalarda, petrol eteri, kloroform, etil asetat ve bütanol ile elde edilen ekstraların verimleri sırasıyla %9,9, %2,3, %3,2 ve %5,8 olarak rapor edilmiştir (Ma vd. 2018; Ma vd. 2017).

5.2. Bitki Çiçek Uçucu Bileşenlerinin Kompozisyonu

G. malaccensis bitkisi çiçek açma döneminde toplanan taze çiçeklerinin uçucu bileşenleri MSD-SPME tekniği ile ekstre edilerek gaz kromatografisi tekniği ile analiz edildi. *G. malaccensis* bitkisinin çiçeklerinin kimyasal bileşimi Tablo 4.2.'de listelenmiş,

kromatografik profili ise Şekil 4.3.'te gösterilmiştir. Çiçek uçucu bileşeninin %99,7'sini oluşturan toplam 46 bileşik tespit edilmiştir. Çiçek uçucu bileşiminde başta δ -kadinen (%36,4) ve 1-*epi*-kubenol (%22,4) olmak üzere seskiterpen maddeler ana bileşikler olarak saptanmıştır. Diğer önemli bileşiklerin arasında, monoterpen; α -pinen (%4,5), seskiterpenler; β -karyofillen (%3,4), eremofilen (%3,3) ve bisikloelemen (%2,9) tespit edilmiştir. Genel madde grupları dağılımına bakılınca, çiçek uçucu bileşenleri arasında ağırlıklı olarak sırasıyla oksijensiz seskiterpenler (%58,3), oksijenli seskiterpenler (%26,3), oksijensiz monoterpenler (%13,5) ve oksijenli monoterpenler (%0,2) bulunmuştur. *G. malaccensis* çiçeklerindeki uçucu bileşenlerinin madde dağılımı Şekil 5.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 5.2. *G. malaccensis* çiçek uçucu bileşenlerinin madde dağılımı

Kaynak taraması sırasında *Gynura* türlerinin çiçek uçucu bileşenlerinin kompozisyonuna rastlanmamıştır. Ancak, yaprak uçucu bileşenleri üzerinde birçok çalışma yapılmış olup (Lokhande vd. 2014), sadece birkaç Çin kaynaklı *Gynura* türünün yaprakları üzerinde SPME çalışma sonuçları mevcuttur. Örneğin, *G. bicolor*; β -karyofillen ($175-203,4 \times 10^6$), α -karyofillen ($49-42 \times 10^6$), α -kopaen ($51,6-33,5 \times 10^6$) ve α -pinen ($2-72 \times 10^6$) açısından zengin olup, *G. divaricata*; β -karyofillen ($43,7-48,2 \times 10^6$), α -pinen ($49,7-1,6 \times 10^6$) ve α -kopaen ($23,3-17,6 \times 10^6$) içermektedir. *G. medica* ise γ -kadinen ($80,8 \times 10^6$),

β -karyofillen ($38,7 \times 10^6$), eliksen ($21,1 \times 10^6$) ve velimonen ($20,1 \times 10^6$) açısından zengin bulunduğu daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (Chen vd. 2012; Ren vd 2014).

5.3. *G. malaccensis* Yaprak Uçucu Bileşenlerinin Kompozisyonu

G. malaccensis yaprak uçucu bileşenleri hekzan ile ekstre edilerek kimyasal kompozisyonu gaz kromatografisi yöntemi kullanılarak incelendi. Yaprak uçucu bileşenlerinin kimyasal bileşimi Tablo 4.3., 4.4. ve 4.5.'te listelenmiş ve kromatografik profilleri Şekil 4.4., 4.5. ve 4.6.'da gösterilmiştir.

Taze yapraklar:

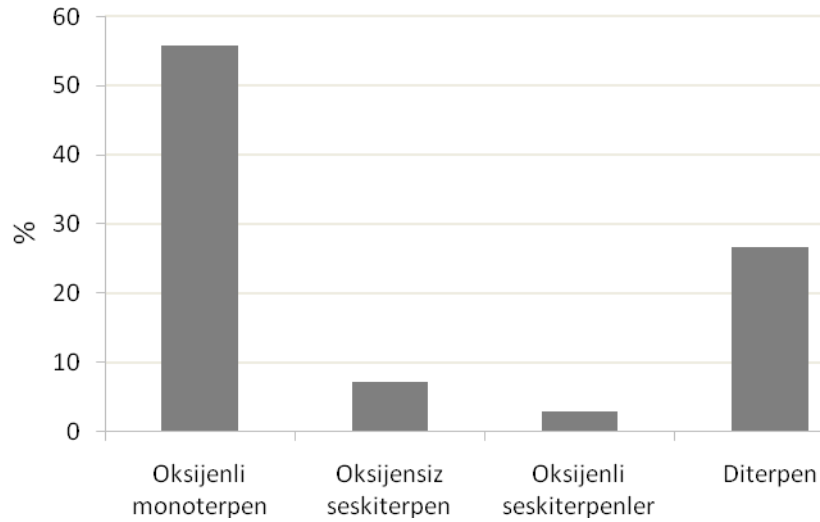
Uçucu bileşenlerin %99,4'ünü oluşturan toplam 15 bileşik saptanmıştır. Çiçek uçucu bileşenine benzer şekilde taze yapraklarda ana bileşikler olarak δ -kadinen (%17,4) ve 1-*epi*-kubenol (%53,3) en yüksek bağıl yüzdeliklere sahiptir. Diğer önemli bileşiklerin arasında oksijenli seskiterpenler; spatulenol (%2,3) ve gleenol (%6,3), oksijensiz seskiterpenler; bisikloelemen (%7,4), α -humulen (%2,6), eremofilen (%1,9), germakren D (%1,6) ve β -karyofillen (%2,1) tespit edilmiştir. Genel madde grupları dağılımına bakılınca, taze yapraktaki uçucu bileşenleri arasında ağırlıklı olarak oksijensiz seskiterpenler (%33,8) ve oksijenli seskiterpenler (%57,7) bulunmuştur (Tablo 4.3.). Taze yapraktaki uçucu madde gruplarının dağılımı Şekil 5.3.'te gösterilmiştir.



Şekil 5.3. Taze yapraklardaki uçucu madde gruplarının dağılımı

Etüvde kurutulmuş yapraklar:

Uçucu bileşenlerin % 98,7'sini oluşturan toplam 22 bileşik saptanmıştır. Elde edilen uçucu bileşikler içerisinde fitol (%21,0), linalool (% 17,6) ve linalil asetat (%11,5) en yüksek bağıl yüzdeliğe sahiptir (Tablo 4.4.). Diğer önemli bileşiklerin arasında oksijenli monoterpenler; kafur (%5,7), borneol (%4,9), *trans*-linalool oksit (furanoit) (%4,9), *cis*-linalool oksit (furanoit) (%4,3), oksijensiz seskiterpenler; δ -kadinen (%5,7) ve bisiklogermakren (%1,6), oksijenli seskiterpenler; 1-*epi*-kubenol (%3,0), diterpenler; neofitadien izomer I (%5,7) tespit edilmiştir. Genel madde grupları dağılımına bakılınca etüvde kurutulan yaprak uçucu bileşenleri arasında ağırlıklı olarak sırasıyla oksijenli monoterpenler (%55,0), diterpenler (%26,7), oksijensiz seskiterpenler (%7,3), oksijenli seskiterpenler (%3,0) ve esterler (%0,6) bulunmuştur. Etüvde kurutulan yaprak uçucu madde gruplarının dağılımı Şekil 5.4.'te gösterilmiştir.



Şekil 5.4. Etüvde kurutulan yaprak uçucu madde gruplarının dağılımı

Liyofilizatörde kurutulmuş yapraklar:

Uçucu bileşenlerin %100'ünü oluşturan toplam 6 bileşik saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, fitol (%49,6) ve neofitadien izomer I (%27,7) ekstredeki en yüksek bağıl yüzdeliğe sahiptir (Tablo 4.5.). Diğer önemli bileşiklerin arasında oksijensiz seskiterpenler; δ -kadinen (%6,1), bisiklogermakren (%2,1), oksijenli seskiterpenler; 1-*epi*-kubenol (%7,6), diterpenler; neofitadien (%6,9) tespit edilmiştir. Genel madde grupları dağılımına

bakılınca liyofilizatörde kurutulan yaprakların uçucu bileşenleri arasında ağırlıklı olarak sırasıyla diterpenler (%84,2), oksijensiz seskiterpenler (%8,2), oksijenli seskiterpenler (%7,6) bulunmuştur. Liyofilize yaprak uçucu madde gruplarının dağılımı Şekil 5.5.'te gösterilmiştir.



Şekil 5.5. Liyofilizatörde kurutulan yaprak uçucu madde gruplarının dağılımı

Daha önceki çalışmalarda *G. cusimbua* bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen uçucu yağın GC ve GC/MS ile analizleri yapılmış ve uçucu bileşenler tanımlanmıştır (Rana vd. 2007). Verilerde yer alan α -humulen (%6,20), α -kopaen (% 5,61), fitol (%3,21), germakren D (%3,0), α -pinen (%1,33), α -kadinen (%1,26), ve β -karyofilen (% 1,08) bileşenleri sonuçlarımızla benzerlik gösteren bileşenlerdir.

Kaynak taramasında, bir çalışmada, *G. divaricata* yaprak ekstraktlarındaki uçucu yağın bileşenleri, GC/MS tekniği ile belirlenmiştir. *G. malaccensis* uçucu bileşenlerine benzer şekilde kubenol (%19,8), δ -kadinen (%11,79), spatulenol (%12,2), sedren (%6,38), β -karyofilen (%5,77), γ -elemen (%4,93), fitol (%4,88), α -karyofillen (%4,77), α -kubeben (%0,22), 1-undesen (%0,21) gibi mono ve seskiterpen grubu uçucu bileşenlere rastlanmıştır (Qin vd. 2006).

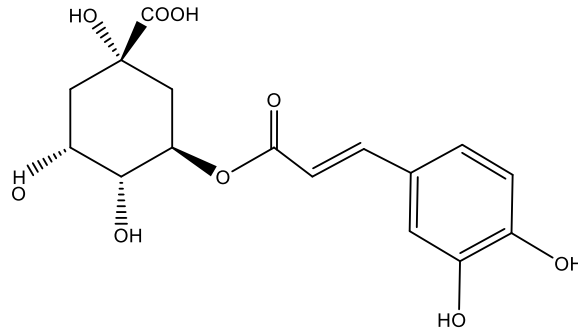
Fırında 45 °C'de kurutularak hazırlanan *G. segetum* yapraklarının GC/MS tekniği ile analiz edildiği bir çalışmada, kloroformlu ekstrakte yüksek oranda fitol (%14,2) ve neofitadien (%13,7), ayrıca da 9,12-oktadekadienoik asit (%6,62), heksadekanoik asit (%)

6,01), 9,12,15-oktadekatrienoik asit (%5,59) ve undekan (%1,69) tespit edilmiştir (Seow vd. 2011).

G. bicolor köklerinin üzerinde yapılmış bir çalışmada da, mono- (β -felandren, α -felandren, β -mirsen) ve seskiterpenler (δ -elemen, β -elemen, γ -elemen, β -karyofilen, α -kopaen, δ -kadinen, germakren D, eliksen) tespit edilmiştir (Ren vd. 2014).

5.4. LC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

G. malaccensis bitkisinin metanollü ekstrelerinin sıvı kromatografisi analizi sonuçlarına göre yapraklarda fenolik bileşikler tespit edildi. Ana bileşik olarak klorojenik asit ve dikafeolkinik asit (kafeol kinik asit) varlığı teşhis edilmiştir. Klorojenik asit önemli biyolojik aktiviteleri olan fenolik bir bileşiktir (Şekil 5.6).



Şekil 5.6. Klorojenik asit

Klorojenik asit üzerinde yapılan araştırmalar, antienflamatuvar ve analjezik aktivite (Dos Santos vd. 2006) ve antioksidan aktivite (Nakatani vd. 2000) ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte çalışmalar klorojenik asitin vücut ağırlığını, lipid metabolizmasını ve obezite ile ilgili hormonların düzeylerini düzenlediğini de rapor etmiştir (Cho vd. 2010).

Literatür ile kıyaslanabilecek *G. malaccensis* yapraklarına ait veri saptanamamıştır. Diğer *Gynura* türü bitkileri ile daha önce yapılan araştırmalara göre *Gynura* cinsi bitkilerin yapraklarında fenolik bileşiklerin varlığı rapor edilmiştir. Fenolik bileşikler ve izoflavonoitlerden; dikafeolkinik asit, gallik asit, kafeik asit, klorojenik asit, ferulik asit,

mirsetin, kersetin, kemferol tespit edilmiştir (Zhu vd. 2013 ; Wu vd. 2015; Yin vd. 20018; Liu vd. 2010; Mongkhonsin vd. 2016; Hassann vd. 2010; Wan vd. 2013).

5.5. Ekstrelerin Antioksidan Aktiviteleri

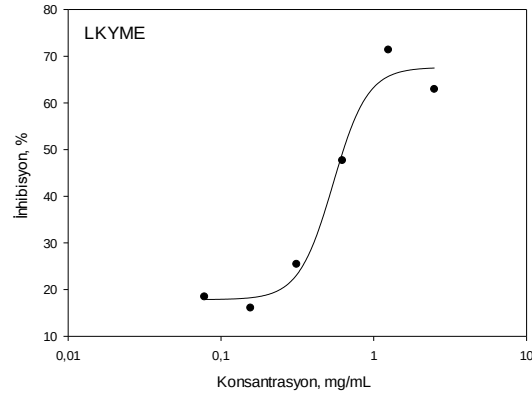
5.5.1. Ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkilerinin değerlendirilmesi (DPPH deneyi)

G. malaccensis yapraklarına ait ekstrelerin antioksidan aktivitesine ait deneyde, elektron transferine dayalı DPPH test sistemi kullanıldı. Sonuçlar spektrofotometrik olarak değerlendirildi. Test edilen ekstreler belli bir konsantrasyonda uygulanarak mikropalak titer tekniğiyle deneye tabi tutuldu. Şekil 5.7.'de *G. malaccensis* ekstrelerinin DPPH reaktifi üzerindeki etkisi ile gözlemlenen renk değişimi gösterilmiştir.



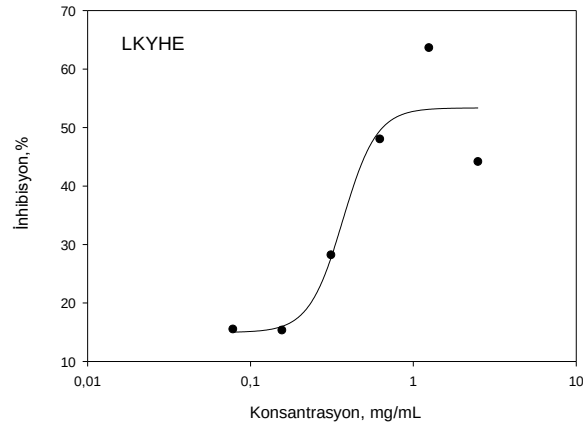
Şekil 5.7. *G. malaccensis* ekstrelerinin DPPH reaktifi üzerindeki etkisi

Test numunelerinin yüzde inhibisyon değerleri standart antioksidan madde olan gallik asitin değerleriyle kıyaslandı. İnhibisyon değerleri %50'den büyük olan numuneler için IC₅₀ (Hücrelerin Canlılığının Yarisını İnhibe Eden Konsantrasyon) değerleri *SigmaPlot 12.0* programı kullanılarak hesaplandı. Test edilen ekstrelerin arasında LKYME ve LKYHE numuneleri diğerlerine göre daha yüksek yüzde inhibisyon etkisi sergiledi (Tablo 4.6.). En yüksek inhibisyon etkisinin (% 61,17) LKYME tarafından gösterildiği saptandı. Hesaplanan IC₅₀ değeri 0,53±0,02 mg/mL olarak belirlendi. LKYME için elde edilen konsantrasyon ve inhibisyon değerleri arasındaki ilişki logaritmik olarak çizilen eğride Şekil 5.8.'de gösterilmiştir.



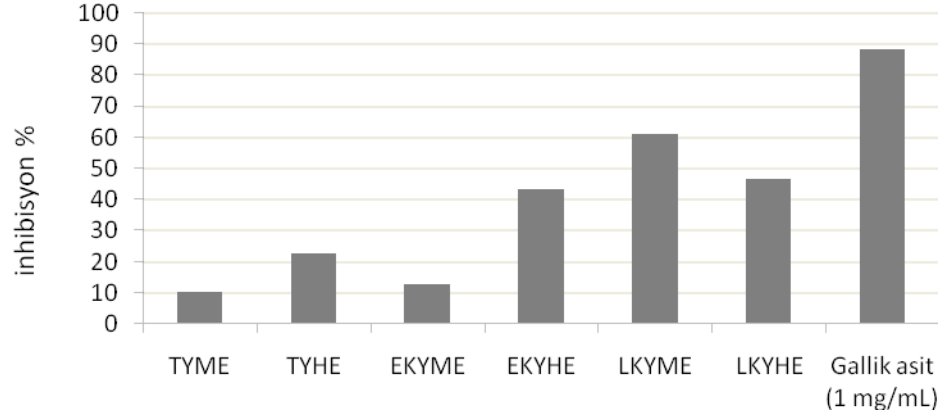
Şekil 5.8. LKYME için elde edilen konsantrasyon ve inhibisyon değerleri arasındaki ilişki logaritmik eğrisi

Kayda değer inhibisyon verileri (%46,64) liyofilize hekzanlı ekstre (LKYHE) için de elde edilmiştir. *SigmaPlot* programı ile hesaplanan IC_{50} değeri $0,38 \pm 0,02$ mg/mL olarak belirlenmiştir. LKYHE için elde edilen konsantrasyon ve inhibisyon değerleri arasındaki ilişki logaritmik olarak çizilen eğride gösterilmiştir (Şekil 5.9.).



Şekil 5.9. LKYHE için elde edilen konsantrasyon ve inhibisyon değerleri arasındaki ilişki logaritmik eğrisi

Taze yapraklardan elde edilen ekstrater ise en düşük inhibisyon değerine sahiptir. Ekstrelerin DPPH üzerindeki inhibisyon yüzdeleri Şekil 5.10.'da yer alan grafikte verilmiştir.



Şekil 5.10. Ekstrelerin DPPH deneyine ait yüzde inhibisyon grafiği

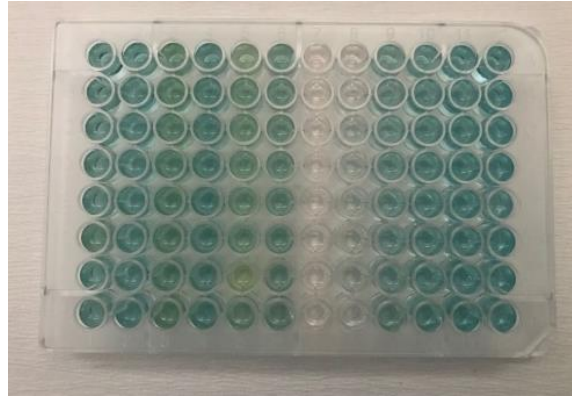
Kaynak taraması sırasında diğer *Gynura* türlerinin çeşitli ekstrelerinin inhibisyon değerleri rapor edilmiştir. *G. procumbens* etil asetatlı ekstresi (0,1 mg/mL) $\approx$ %80, butanollu fraksiyonu ise $\approx$ %40 inhibisyon değerlerini göstermiştir (Rosidah vd. 2008). Bir çalışmada da *G. procumbens* yaprakların etanollü ekstresi ve fraksiyonlarının serbest radikal süpürücü etkisi DPPH yöntemiyle 0,22-3,33 mg/mL (Kaewseejan vd. 2015) ve 1,86-82,71 mg/mL (Murugesu vd. 2017) IC_{50} değerleri arasında rapor edilmiştir. *G. procumbens*'in farklı konsantrasyondaki etanollü ekstrelerinden elde edilen polisakkaritlerin 1000 mg/mL'de serbest radikal süpürücü etkisinin %10 ile %40 arasında olduğu rapor edilmiştir (Li vd. 2017).

G. formasana Kiamnra yapraklarından %70'lik asetonla elde edilen ekstrenin bir fraksiyonu, 25 μ g/mL konsantrasyonda $\approx$ %80 inhibisyon değeri göstermiştir (Hou vd. 2004). Başka bir çalışmada, *G. formasana* yapraklarının etil asetatlı ekstresi için elde edilen IC_{50} değeri 20 μ g/mL'dir (Ma vd. 2017). *G. bicolor* bitkisi floresan ve sodyum lambaları altında yetiştirildiği koşullarda sulu alkollü ekstreleri %80'lik inhibisyon değeri göstermişken, LED lambası altında yetişen bitki ekstresinin inhibisyon değeri ise %60 olarak rapor edilmiştir (Shao vd. 2015).

G. divaricata yapraklarından elde edilen %45 etanollü ekstrelerin DPPH yöntemleriyle farklı sıcaklıklarda ölçülen serbest radikal temizleme kapasitesinin % 46,10 ile % 89,67 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Wan vd. 2011).

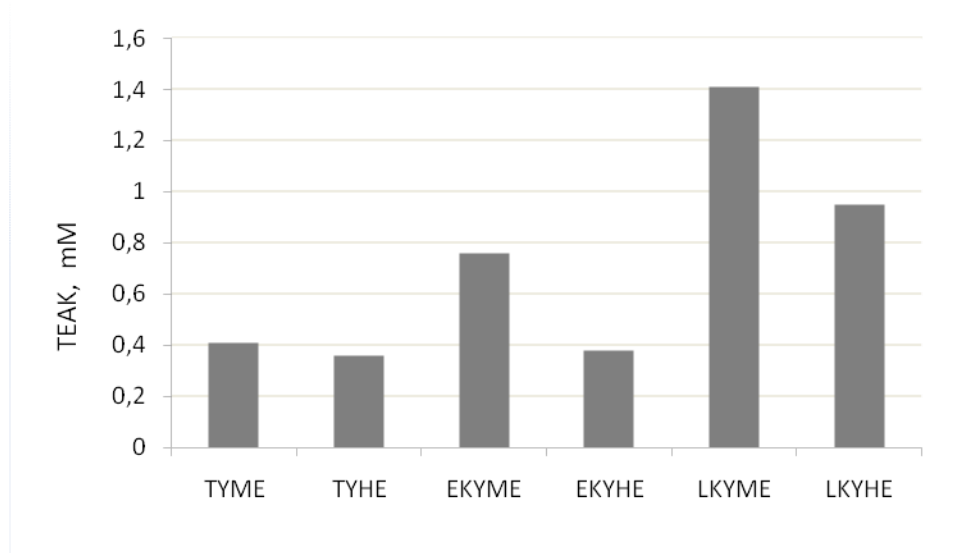
5.5.2. Ekstrelerin Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasitelerinin değerlendirilmesi (TEAK)

Tüm ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkileri model $ABTS^{•+}$ radikal katyonu kullanılarak spektrofotometrik yöntemle hesaplandı. Deney mikrotiter plak tekniği kullanılarak gerçekleştirildi. Numunelerin antioksidan etkileri Trolox'un (standart madde) $ABTS^{•+}$ radikalini süpürme etkisi ile karşılaştırılarak belirlendi. Şekil 5.11.'de *G. malaccensis* ekstrelerinin $ABTS^{•+}$ reaktifi üzerindeki etkisi gösterilmiştir.



Şekil 5.11. *G. malaccensis* ekstrelerinin $ABTS^{•+}$ reaktifi üzerindeki etkisi

Ekstrelerin troloksa eşdeğer antioksidan kapasitelerine ait grafik Şekil 5.12'de yer almaktadır.



Şekil 5.12. Ekstrelerin troloksa eşdeğer antioksidan kapasitelerine ait grafik

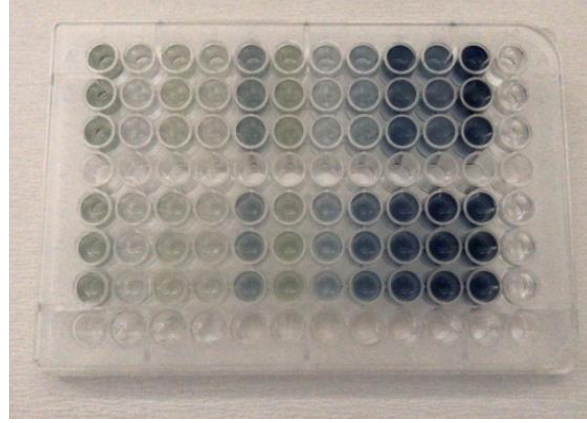
Aynı kurutma işlemine tabi tutulan yaprak ekstreleri arasında metanollü ekstrelerin, hekzanlı ekstrelerden daha yüksek serbest radikal süpürücü etkiye sahip olduğu gözlemlendi (Şekil 5.12.). Liyofilize edilerek kurutulma işlemine tabi tutulan yaprak ekstreleri daha yüksek antioksidan etki gösterirken, en düşük antioksidan aktiviteyi ise 3 kat daha düşük aktivite sergileyen kurutma işlemine tabi tutulmayan yaprak ekstreleri göstermiştir. Tüm yaprak ekstreleri içerisinde en yüksek etkiyi liyofilize edilerek kurutulan polar çözücü olan metanolde çözülen ekstre göstermiştir (TEAK 1,41 mM). Gözlenen yüksek antioksidan etki, metanolün polar yapıda olması ile yapraklardaki polar karakterli fenolik bileşiklerin ekstreye geçebilmesi sayesinde elde edilmiştir.

Kaynak taramasında diğer *Gynura* türü bitkileri ile yapılan araştırmalara (*G. procumbens*) göre trolox'a eş değer antioksidan kapasitesi etil asetatlı fraksiyonlarında yüksek, etanollü ekstrede en düşük değer olmak üzere 1,45-11,75 mg TEAK/g_{ekstre} aralığında saptanmıştır (Kaewseejan vd. 2014). Bir çalışmada da *G. procumbens* yaprakların etanollü ekstresi ve fraksiyonlarının trolox'a eşdeğer antioksidan kapasitesi 0,06-0,94 mg/mL (Kaewseejan vd. 2015) ve IC₅₀ değerleri 4,35-118,06 mg/mL (Murugesu vd. 2017) arasında rapor edilmiştir.

G. divaricata yapraklarından elde edilen %45'lik etanollü ekstrelerin ABTS yöntemleriyle farklı sıcaklıklarda ölçülen serbest radikal temizleme kapasitesinin %28.65 ile % 68.27 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Wan vd. 2011).

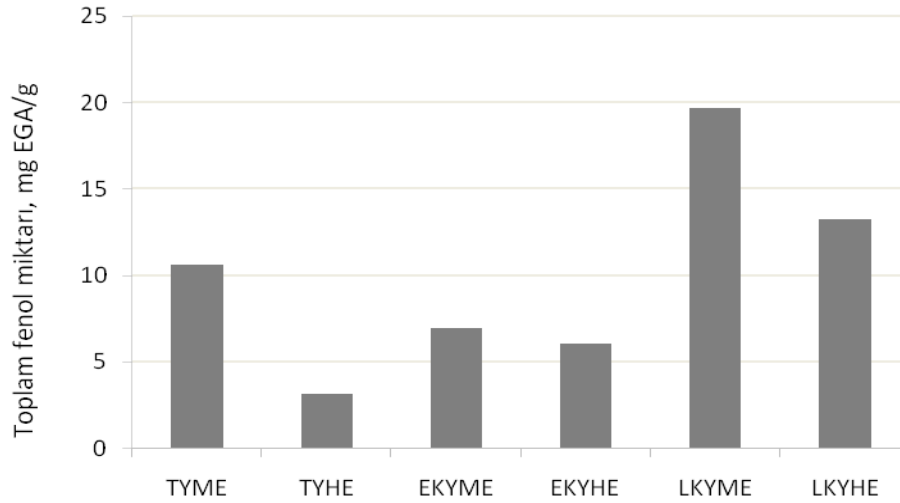
5.6. Ekstrelerin Toplam Fenolik Miktarlarının Değerlendirilmesi

Ekstrelerin TPC değerleri bir toplam fenolik ayırıcı olan FCR kullanılarak spektrofotometrik metot ile ölçüldü. *G. malaccensis* ekstrelerinin FCR üzerindeki etkisi, Şekil 5.13.'te gösterilmiştir.



Şekil 5.13. *G. malaccensis* ekstrelerinin Folin-Ciocalteu reaktifi üzerindeki etkisi

Ekstrelerdeki toplam fenol miktarlarını gösteren grafik Şekil 5.14.'te yer almaktadır.



Şekil 5.14. Ekstrelerdeki toplam fenol miktarları verileri

Hekzanlı ekstrelerin içerdikleri fenolik bileşiklerin aynı kurutma işlemine tabi tutulan metanollü yaprak ekstreleri ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu saptandı (Şekil 5.14.). *G. malaccensis* ekstrelerinin farklı polaritedeki çözücüler ile elde edilen ekstrelerinde en yüksek toplam fenolik bileşik miktarının LKYME’de olduğu tespit edildi (0,106 mg GAE/g). Metanollü ekstreler içerisindeki en düşük TPC, ısıtma işlemine tabi tutularak kurutulan EKYME’de tespit edildi. Bu doğrultuda, ısıtma işleminin toplam fenolik bileşiklerin miktarında azalmaya sebep olduğu gözlemlendi (Şekil 5.14). Kaynak taramasında yapılan araştırmada da TPC ve TFC, tüm yaprak ekstreleri arasında,

dondurularak kurutulmuş ve mikrodalgada kurutulmuş *G. pseudochina* numunelerinde fırında kurutulan numunelerden daha yüksek TPC ve TFC rapor edilmiştir (Sukadeetada vd. 2018).

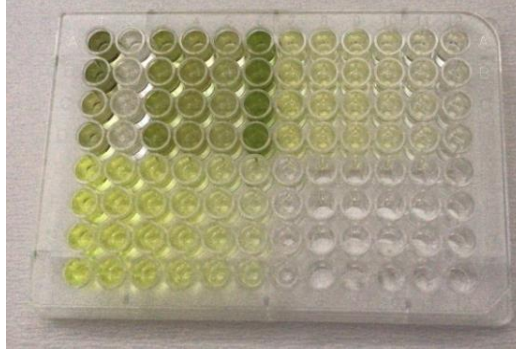
Diğer *Gynura* türü bitkileri ile yapılan araştırmalara göre (*G. procumbens*) göre TPC miktarı etil asetat fraksiyonlarında yüksek, etanollü ekstrede en düşük değer olmak üzere 16,08-78,36 mg GAE/g_{ekstre} aralığında saptanmıştır (Kaewseejan vd. 2014). *G. procumbens* yaprakları ile yapılan bir başka çalışmada ise etanollü ekstrenin toplam fenolik içeriği, 64,7 mg GAE/g olarak rapor edilmiştir (Shwter vd. 2014). *G. procumbens* yaprakların etanollü ekstresi (16,08±0,38 mgGAE/g) ve fraksiyonlarının toplam fenolik içerikleri sırasıyla 0,8-24,4 mgGAE/g (Kaewseejan vd. 2015) ve 20,48-104,93 mgGAE/g (Murugesu vd. 2017) arasında rapor edilmiştir. Benzer bir çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki etanollü *G. procumbens* yaprak ekstrelerinin TPC değerleri (35,11-76,14 mg/mL GAE) olarak rapor edilmiştir (Algariri vd. 2013).

G. divaricata yapraklarından elde edilen %45 etanollü ekstrelerin FCR yöntemiyle farklı sıcaklıklarda ölçülen TPC miktarının 13,95-36,68 mg GA/g_{kuru materyal} arasında değiştiği rapor edilmiştir (Wan vd. 2011).

Gynura bitkisinin farklı kısımlarının kullanıldığı bir başka çalışmada, FCR yöntemiyle belirlenen TPC, 0,483-4,957 GAEmg /g taze ağırlık arasında değişmiştir. *G. procumbens* yaprak kallusu, kök kallusu ve kök kallus ekstresi, sırasıyla 0,483, 0,559 ve 0,891 GAEmg/g_{taze ağırlık} ile en düşük fenolik içeriği göstermiştir. Ortalamada *G. procumbens* ve *G. bicolor* kökleri 4,957 ve 4,389 GAEmg/g taze ağırlık ile en yüksek TPC göstermektedir (Krishnan vd. 2015).

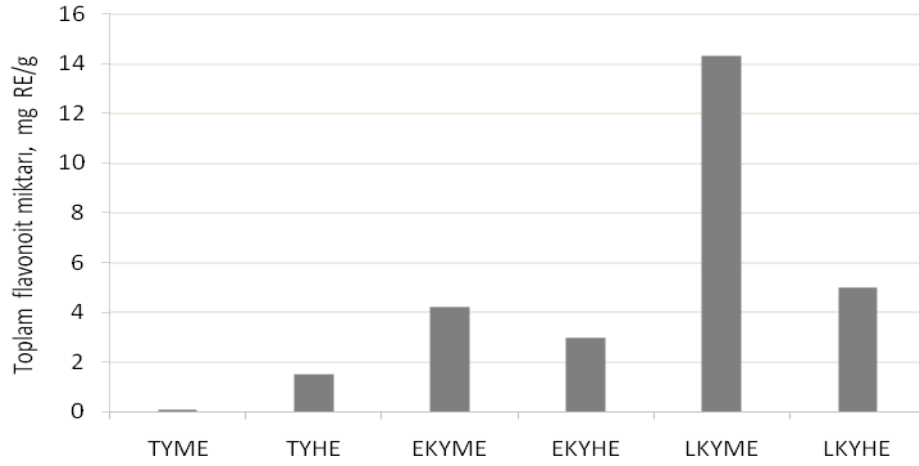
5.7. Ekstrelerin Toplam Flavonoit Miktarlarının Değerlendirilmesi

G. malaccensis yapraklarına ait polar ve apolar ekstrelerde bulunan TFC, toplam flavonoit yapıdaki bileşiklerin miktarı ekstrelerin AlCl₃ ile oluşturduğu renkli bileşenlerin UV alanındaki (415 nm) absorbanları spektrofotometrik olarak ölçülerek kersetine eşdeğer olarak tespit edildi. *G. malaccensis* ekstrelerinin AlCl₃ ile reaksiyonu sonucu oluşan renk değişimleri, Şekil 5.15.'te gösterilmiştir.



Şekil 5.15. *G. malaccensis* ekstrelerinin $AlCl_3$ üzerindeki etkisi

Ekstrelerdeki toplam flavonoit miktarlarını gösteren grafik Şekil 5.16'da yer almaktadır.



Şekil 5.16. Ekstrelerdeki toplam flavonoit miktarları verileri

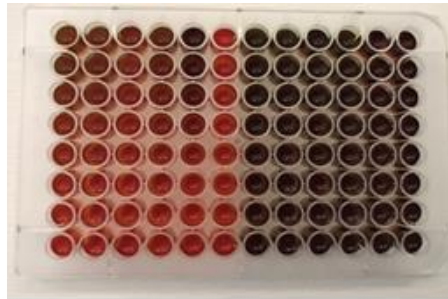
Tüm ekstrelerin içerdikleri flavonoit bileşiklerin iki farklı polaritedeki sonuçlarına bakıldığında taze yaprak ekstrelerinde kurutulmuş yaprak ekstrelerinden çok daha düşük flavonoit miktarı belirlendi (Şekil 5.16.). *G. malaccensis* ekstrelerinden en yüksek flavonoit içeriğe sahip ekstrenin EKYME (0,143mgKE/g); belirgin bir farkla en düşük flavonoit içeriğe sahip ekstrenin ise TYHE (≈ 0 mgKE/g) olduğu belirlendi. TPC miktarlarına benzer şekilde metanollü ekstreler içerisindeki en yüksek TFC, liyofilizatörde kurutulan *G. malaccensis* yapraklarına ait ekstrelerden elde edildi. Taze yaprak ekstreleri ile karşılaştırıldığında etüvde kurutulan yapraktaki kıyasen yüksek flavonoit miktarına bakılarak, ısıtma işleminin toplam flavonoit miktarında olumsuz rol oynadığı ifade

edilememektedir. Diğer deneylerde elde edilen polarite farkına ve kurutma yöntemine bağlı tutarlı sonuçlar net bir şekilde bu deneyde elde edilememiştir.

Kaynak taramasında *Gynura* türü bitkileri ile yapılan araştırmalar incelendiğinde, TFC çalışmalarının *G. procumbens* üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Bir *G. procumbens* yaprak ekstre çalışmasında TFC miktarı etil asetatlı fraksiyonlarında yüksek, etanollü ekstrede en düşük değer olmak üzere 10,33-94,08 mg KE/g_{ekstre} aralığında saptanmıştır (Kaewseejan vd. 2014). *G. procumbens* yaprakları ile yapılan başka çalışmalarda ise etanollü ekstrenin toplam fenolik içeriği, kersetine eşdeğer olarak 40,7 mg KE/g olarak rapor edilmiştir (Shwter vd. 2014). *G. procumbens* yaprakların etanollü ekstresi (10,33±0,88 mgCE/g) ve fraksiyonlarının TFC 0,1-17,3 mgCE (kateşin)/g (Kaewseejan vd. 2015) ve 14,37-82,71 mg KE/g arasında tespit edilmiştir (Murugesu vd. 2017). Benzer şekilde, farklı konsantrasyonlardaki etanollü *G. procumbens* yaprak ekstralarının TFC değerleri 2,53-26,26 mg/mL kesretin eşdeğeri olarak rapor edilmiştir (Algariri vd. 2013).

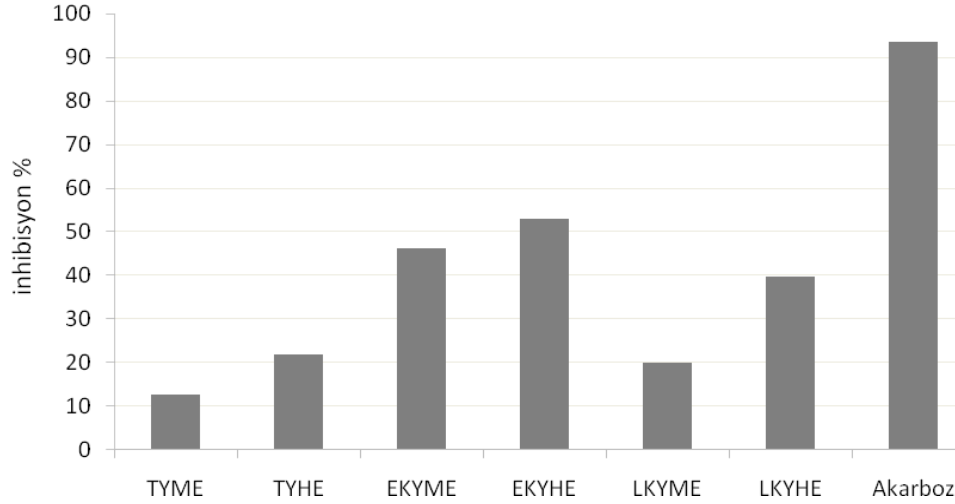
5.8. Ekstrelerin Antidiyabetik Aktivitelerinin İncelenmesi

G. malaccensis bitkisinin yapraklarına ait metanollü ve hekzanlı ekstraların α -amilaz enzimini inhibe etme potansiyeli proje kapsamı içerisinde değerlendirilmiştir. Tüm ekstralarının anti α -amilaz etkileri spektrofotometrik olarak tayin edildi. Test numunelerine ait inhibitör etkileri domuz pankreasından elde edilen α -amilaz enzimi üzerinde mikrotiter plak tekniği ile akarboz çözeltisi standart alınarak test edildi. *G. malaccensis* ekstralarının α -amilaz enzimi üzerindeki etkisi Şekil 5.17.'da gösterilmiştir.



Şekil 5.17. *G. malaccensis* ekstralarının α -amilaz enzimi üzerindeki etkisi

Tüm ekstrelerin α -amilaz enzimi üzerindeki yüzde inhibisyon değerleri Şekil 5.18.'de yer almaktadır.



Şekil 5.18. Ekstrelerin α -amilaz enzimi inhibisyon değerleri

G. malaccensis'in yapraklarından elde edilen ekstrelerin α -amilazı inhibe etme aktivitesi proje kapsamında gerçekleştirilen deney sonucunda tespit edilmiştir. Liyofilize ekstrelere göre etüvde kurutulan yaprak ekstrelerinin daha yüksek inhibisyon ve taze yaprak ekstrelerinin daha düşük inhibisyon sonuçları gözlemlenmiştir. *G. malaccensis* yapraklarının metanollü ekstrelerinin ise aynı kurutma işlemine tabi olmuş hekzanlı ekstrelere göre α -amilaz enzimi üzerinde daha düşük inhibisyon gösterdiği saptanmıştır (Şekil 5.18.). Tüm ekstreler içerisinde EKYHE (% 53,07) en yüksek ve TYME en düşük (%12,68) antidiyabetik etkiyi göstermiştir. Literatürde hekzanlı ekstrelerin içeriklerinde tespit edilen fitol maddesinin antidiyabetik etkisini gösteren çalışmalar mevcuttur (Islam vd. 2018; Elmazar vd. 2013).

Literatürde diğer *Gynura* türü bitkileri ile yapılan antidiyabetik etkilerini açığa çıkaran, karbonhidratların sindiriminde görevli enzimlerin inhibisyon deneylerine ait araştırmalarda *G. divaricata* yapraklarının sulu, etil asetatlı ve *n*-bütanollü ekstrelerinin *in vitro* α -amilaz (IC₅₀ 1.36 mg/mL) ve α -glukozidaz (IC₅₀ 2,17 mg/mL) yoluyla orta derecede potansiyel bir hipoglisemik etki gösterdi (Wu vd. 2011).

G. medica'dan izole edilen kempferol-3-O-rutinosit (0,38 mg / mL), rutin (0,10 mg / mL), ve 3,5-dikaffeoilkinik asit methil ester (0,53 mg/mL) bileşikleri α -glukozidaz enzimi üzerinde, IC₅₀ değerleriyle umut verici aktivite göstermiştir. α -Amilaz ve α -glukosidaz enzimlerini inhibe edebildiği rapor edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, Güneydoğu Asya ülkelerinde besin ve halk ilacı olarak tüketilen başta *G. procumbens* olmak üzere *Gynura* cinsi bitkilerden ilham alınarak yapılmıştır. Kaynak taraması sonucunda *Gynura* cinsi üzerinde Türkiye’de yapılmış araştırmaya rastlanamadı. Bununla birlikte, *G. malaccensis* üzerinde yapılmış biyolojik aktivite ve kimyasal profili aydınlatan bir bilimsel veriye de rastlanamamıştır. Son zamanlarda Türkiye’nin Antalya bölgesinde *G. malaccensis* bitkisi yetiştirilip kullanılmaya başlanmıştır. Fakat bitkinin kullanım amacına yönelik kaynak bilgisi, kapsamlı kimyasal ve biyolojik aktivite profilini ortaya koyan, özellikle *G. malaccensis* bitkisinin karbonhidrat sindiriminde önemli olan α -amilaz enzim üzerindeki etkisinin araştırılmasıyla ilgili çalışmaların henüz yapılmamış olması önemli bir eksikliktir. Bu çalışma kapsamında, diğer *Gynura* cinsi bitkileri ile yapıp yayımlanmış araştırma sonuçları baz alınarak *G. malaccensis* bitkisinin kimyasal kompozisyonu ve çeşitli biyolojik aktiviteleri (antioksidan ve antidiyabetik) açısından ele alınarak bitkinin fitokimyasal ve biyolojik profilleri aydınlatılması hedeflenmiştir.

Belirlenmiş hedefler doğrultusunda *G. malaccensis* bitkisi yetiştirilerek yaprak kısımlarından farklı polaritedeki çözücüler ile ekstreleri elde edildi ve verimleri saptandı.

Tüm ekstrelerinin kimyasal kompozisyonları kromatografik tekniklerle araştırıldı (GC-FID, GC/MS, LC-MS/MS).

Tüm ekstrelerin antioksidan aktiviteleri *in vitro* deneylerle değerlendirildi.

Ekstrelerinin içerdiği toplam fenol ve flavonoit miktarları tespit edildi.

Ekstrelerin α -amilazı inhibe etme etkileri araştırıldı.

G. malaccensis çiçeklerinin aromatik profili MSD-SPME tekniği ile araştırıldı.

G. malaccensis yapraklarının aromatik profilleri hekzan ile elde edilen ekstrelerin GC-MS/FID analiz sonuçlarına göre değerlendirildi.

Yaprak ekstrelerinin arasında liyofilizasyon tekniği ile kurutulmuş yaprakların metanollü ekstresinde en yüksek verim saptanmıştır (% 7,5).

G. malaccensis çiçeklerin kokusunu belirleyen aromatik majör bileşiklerin arasında oksijensiz seskiterpenlerden, δ -kadinen (%36,4) ve oksijenli seskiterpenlerden, 1-*epi*-kubenol (%22,4) yüksek oranda saptanmıştır. Yapılan çalışmanın sonuçları *Gynura* türünün çiçeklerinin uçucu bileşenleri üzerinde yapılan ilk araştırma niteliğindedir.

Taze ve iki yöntemle (etüvde ve liyofilizatörde) kurutulmuş yaprakların uçucu bileşenlerini araştırmak amacıyla hekzan ile elde edilen yaprak ekstralarının GC-FID ve GC/MS analizleri gerçekleştirildi. Taze yapraklarda ana bileşikler olarak δ -kadinen (% 17,4) ve 1-*epi*-kubenol (% 53,3) tespit edilmiştir. Etüvde (50 °C’de) kurutulan yapraklarda diterpenik bileşik olan fitol (%21) ve oksijenli monoterpen grubundan linalool (%17,6) bulunmuşken, liyofilizatörde kurutulan yapraklarda ise fitol (% 49,4) ve neofitadien izomer I (% 27,7) saptandı. Bu bulgular yapraklara uygulanan kurutma şartlarının (sıcaklık, süre) yaprakların içeriğindeki uçucu profillerinin etkilendiğini göstermiştir. Kaynaklarda rastlanan diğer *Gynura* türlerine ait uçucu bileşenlerle kıyaslandığında çoğunlukla seskiterpen ve diterpen gruplarının temsilcileri rapor edilmiştir (Seow vd. 2011; Ren vd. 2014; Qin vd. 2006).

Metanollü yaprak ekstralarının sıvı kromatografisi analizi sonuçlarında kinik asit türevleri tespit edilmiştir. Diğer *Gynura* türlerine ait yayımlanan analiz sonuçlarına bakıldığında benzer madde grubu temsilcileri rapor edilmiştir (Yin vd. 2018; Mongkhonsin vd. 2016; Sukadeetad vd. 2018).

Ekstrelerin ihtiva ettiği TPC miktarlarını kurutma yönteminin etkilediği gözlemlenmiştir. Liyofilizasyon tekniği ile kurutulan yapraklar en yüksek miktarda fenol bileşikleri içermektedir (19,7 GAE mg/g_{ekstre}). Etüvde kurutma işlemi yapraklardaki TPC miktarının 3 kat azalmasına sebep olmuştur. Ekstraksiyon için kullanılan çözücü polaritesi de fenol miktarlarını belirgin derecede etkilemiştir. Hekzanla elde edilen tüm ekstralarda TPC değerleri 3,1-13,2 GAE mg/g_{ekstre} arasında iken metanolle elde edilen ekstralarda 6,9-19,7 GAE mg/g_{ekstre} arasında bulunmuştur.

Ekstrelerin taşıdığı flavonoit miktarlarının, genel olarak düşük miktarlarda olduğu tespit edilmiştir. Hekzanın çok az miktarda flavon ekstre ettiği görülmüştür. Metanollü ekstralarda TFC değerleri 0-14,3 RE mg/g_{ekstre} arasında bulunmuştur. Oysaki hekzanlı ekstralarda bu değerler 1,5-5,0 RE mg/g_{ekstre} aralıklarında saptanmıştır.

Ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkileri DPPH radikali üzerinde denendiğinde LKYHE için IC₅₀ 0,38 mg/mL ve LKYME için IC₅₀ 0,53 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Diğer ekstralar ise düşük yüzde inhibisyon değerinde aktivite sergiledi. Benzer şekilde liyofilize ekstralarda yüksek TEAK değerleri saptanmıştır (0,95 mM ve 1,41 mM,

sırasıyla). Ekstrelerin serbest radikal süpürücü aktiviteleri genel olarak orta düzeyde bulunmuştur.

Proje kapsamında ekstrelerin *in vitro* şartlarda α -amilaz üzerindeki etkileri spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Genel değerlendirmede, hekzanla elde edilen ekstrelerin daha yüksek inhibisyon değerlerine sahip olduğu görülmektedir (%22-%53). Metanollü ekstrelerin inhibisyon değerleri %13-%46 arasında değişmektedir. Kaynaklardaki verilere göre *G. divaricata* ekstrelerinin orta derecede hipoglisemik potansiyele sahip olduğu görülmektedir (IC₅₀ 1,36 mg/mL). *G. procumbens* yapraklarının sulu etanollü (%25) ekstresi *in vivo* şartlarda gerçekleştirilen deneylerde belirgin derecede hipoglisemik aktivite sağlamıştır (Algariri vd. 2013).

Bu çalışma sonuçları *G. malaccensis* bitkisi için ilk defa elde edilmiş olup özgün bir niteliğe sahiptir. Proje kapsamında yapılan araştırmalar sonucunda *G. malaccensis* bitkisinin çiçek ve yaprak uçucu bileşenleri, fenolik yapıdaki sekonder metabolitleri, toplam fenol ve flavonoit miktarları, antioksidan aktivite ve α -amilaz inhibisyon değerleri araştırıldı.

Türkiye’de halk tarafından yetiştirilip kullanılan *G. malaccensis* bitkisinin değerli sekonder metabolitlere sahip olduğu, orta derecede antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve orta derecede α -amilaz enzimini inhibe ettiği saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar bilim dünyasına katkı sağlamış olup bundan sonra yapılacak yeni araştırmalara ışık tutmaktadır. Bununla birlikte bitki üzerinde daha fazla fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırılmalarına gerek duyulmaktadır.

KAYNAKÇA

- Abrika, O.S.S., Yam, M.F., Asmawi, M.Z. Sadikun, A., Dieng, H., Hussain, E.A. (2013). Effects of extracts and fractions of *Gynura procumbens* on rat atrial contraction. *J. Acupunct. Meridian Stud.*, 6(4), 199-207.
- Agustina, D., Wasito, Haryana, S.M., Supartinah, A. (2006). Anticarcinogenesis effect of *Gynura procumbens* (Lour) Merr on tongue carcinogenesis in 4NQO-induced rat. *Dent. J. (Maj. Ked. Gigi)*, 39(3), 126–132.
- Akowuah GA, Amirin S, Mariam A, Aminah I. (2001). Blood sugar lowering activity of *Gynura procumbens* leaf extracts. *J. Trop. Med. Plant.* 2:5-10.
- Akowuah, G.A., Sadikun, A. and Mariam, A. (2002). Flavonoid identification and hypoglycaemic studies of the butanol fraction from *Gynura procumbens*. *Pharm. Bio.*, 40(6). 405-410.
- Algariri, K., Atangwho I.J., Meng, K.Y. Asmawi, M.Z., Sadikun, A., Murugaiyah, V. (2014). Antihyperglycaemic and toxicological evaluations of extract and fractions of *Gynura procumbens* leaves. *Trop. Life Sci. Res.* 25(1), 75–93.
- Algariri, K.; Meng, K.Y.; Atangwho, I.J.; Asmawi, M.Z.; Sadikun, A.; Murugaiyah, V.; Ismail, N. (2013). Hypoglycemic and anti- hyperglycemic study of *Gynura procumbens* leaves extracts. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 3(5), 358-366.
- Asres, K.; Seyoum, A.; Veeresham, C.; Bucar, F.; Gibbons, S. (2005). Naturally derived anti-HIV agents. *Phytother. Res.* 19, 557–581. 11.
- Azizova, O.A. (2002). Role of free radical processes in the development of atherosclerosis. *Biol. Memb.*, 19: 451-471.
- Bahorun, T., Amitabye Luximon-Ramma, A., Crozier, A. and Okezie I Aruoma, O. (2004). Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 84:1553–1561
- Baltes, W. (2000). Antioxidants, the miracle weapons of nutrition. Plant phenols in foodstuffs and their health aspects. *Gordian (Hamburg)*, 100(4), 49-51

- Barros, L., Oliveira, S., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R., (2010). *In vitro* antioxidant properties and characterization in nutrients and phytochemicals of six medicinal plants from the Portuguese folk medicine. *Ind. Crops Prod.*, 32, 572–579.
- Baytop, A. (1996). *Farmastik Botanik Ders Kitabı* İstanbul: İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi
- Belcher R.O. (1989). *Gynura* (Compositae) in Australia and Malesia, emended. *Kew. Bull.* 44(3), 533–542.
- Belcher, R.O. 1955. The Typification of *Crassocephalum moench* and *Gynura* Cass. *Kew. Bull.* 3: 455-465.
- Benavente-García, O.; Castillo, J.; Marín, F. R.; Ortuño, A.; Del Río, J. (1997). A. Uses and properties of *Citrus* flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4505–4515. 14.
- Bhore, S.J., Nithya, R., Loh, C.Y. (2010). Screening of endophytic bacteria isolated from leaves of Sambung Nyawa [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] for cytokinin-like compounds. *Bioinformation*, 5(5), 191-197.
- Bodeker, G. (2000). Traditional health system: Valuing biodiversity for human health and well being. In D. A. Posey (Ed.), *Cultural and spiritual values in biodiversity* 261–284. Nairobi: Practical Action.
- Bosco, D. Armanet, M., Morel, P., Niclauss, N., Sgroi, A., Muller, Y.D., Giovannoni, L., Parnaud, G and Berney T. (2010). Unique arrangement of and cells in human islets of langerhans. *J. Diabetes*, 59, 1201-1210.
- Bremer, K., (1994). *Asteraceae: Cladistic & Classification*, Timber Press, Oregon.
- Cai, Y.Z., Luo Q., Sun, M., Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.*, 74: 2157-2184.
- Chao, C-Y., Liu, W-H., Wuc, J-J. and M-C. (2015). Phytochemical profile,antioxidative and anti-inflammatory potentials of *Gynura bicolor* DC. *J. Sci. Food Agric.*, 95, 1088–109.
- Chattopadhyay, R.R. (1999). Possible mechanism of antihyperglycaemic effect of *Azadiracta indica* leaf extract. *J. Ethnopharmacol.*, 67, 373-376.
- Chen, L.; Li, H.Q.; Song, H.T.; Zhang, G.G. (2009). A new cerebroside from *Gynura divaricata*. *Nat. Prod. Res.* 23(14), 1330-6.

- Chen, L., Song, Z. Y., Wang, J. J., Song, H. T., Wang, J. H., Zhang, G. G. and Qin, L. P. (2010). Studies on the chemical constituents from aerial parts of *Gynura divaricata*. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*, 41(3), 373-375.
- Chen, J., Adams, A., Mangelinckx, S., Ren, B.R., Li, W.L., Wang, Z.T., De Kimpe, N. (2012). Investigation of the volatile constituents of different *Gynura* species from two Chinese origins by SPME/GC-MS. *Nat. Prod. Commun.*, 7(5):655-7.
- Chen, J., Mangelinckx, S., Lü, H., Wang, Z.T., Li, W-L. and Kimpe, N.D. (2015). Profiling and elucidation of the phenolic compounds in the aerial parts of *Gynura bicolor* and *G. divaricata* collected from different chinese origins. *Chem. Biodivers.* 12, 96-115.
- Chiu, W.C., Yang, H.H., Chiang, S.C., Chou, Y.X., Yang, H.T. (2014). Auricularia polytricha aqueous extract supplementation decreases hepatic lipid accumulation and improves antioxidative status in animal model of nonalcoholic fatty liver. *Biomedicine (Taipei)* 4:29–38.
- Cho, A.S., Jeon, S.M., Kim, M.J., Yeo, J., Seo, K.I., Choi, M.S., Lee, M.K. (2010). Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food Chem. Toxicol.*, (3):937-43.
- Choi, S.I., Park, M.H., Han, J.S. (2016a). *Gynura procumbens* extract alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice. *Prev. Nutr. Food Sci.* 21(3). 181-186.
- Choi, S.I., Lee, H.A., Han, J.S., (2016b). *Gynura procumbens* extract improves insulin sensitivity and suppresses hepatic gluconeogenesis in C57BL/KsJ-db/db mice. *Nutr. Res. Pract.*, 10(5), 507-515.
- Cibin, T. R., Devi, D. G . and Abraham, A. (2010). Chemoprevention of skin cancer by the flavonoid fraction of *Saraca asoka*. *Phytother Res.*, 24(5): 666-672.
- Cui, Y., Morgenstern, H., Greenland, S., . Tashkin, D.P., Mao, J.T., Cai, L, Cozen, W., Mack, T.M., Lu, Q.Y., Zhang, Z.F. (2008). Dietary flavonoid intake and lung cancer a population-based case-control study. *Cancer* 112(10), 2241–8.
- Cushnie, T.P.T.; Lamb, A.J. (2005), Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agent.* 26(12), 343–356.
- Davies, F.G. (1978). The genus *Gynura* (Compositae) in Africa. *Kew Bull.* 33(2), 335–342.
- Davies, F. G. (1979). The genus *Gynura* (Compositae) in Eastern Asia and the Himalayas. *Kew Bull.* 33(4): 629-640

- Davies, F.G. (1980). The genus *Gynura* (Compositae) in Malesia and Australia. *Kew. Bull.* 35(4), 711–734.
- Deng, G. F., Lin, X., Xu, X. R., Gao, L. L., Xie, J. F., & Li, H. B. (2013). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 vegetables. *J. Funct. Foods*, 5, 260–266.
- Derosa, G, Maffioli, P. (2012). α -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. *Arch. Med. Sci.*, 8: 899-906.
- Duthie, G.G., Duthie, S.J., Kyle, J.A.M. (2000). Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutr. Res. Rev.*, 13: 79-106.
- dos Santos M.D., Martins P.R., dos Santos P.A., Bortocan R., Iama- moto Y., Lopes N.P., (2005). Oxidative metabolism of 5-o-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid), a bioactive natural product, by metalloporphyrin and rat liver mitochondria. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 26, 62-70
- dos Santos, M.D., Almeida, M.C., Lopes, N.P., de Souza, G.E.P (2006). Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. *Biol. Pharm. Bull.* 29(11), 2236-2240.
- Pr51 Dwijayanti, D.R., Rifa'i, M. (2014). Immunomodulator testing on ethanol extract of *Gynura procumbens* leaves to mus musculus adaptive immune system: *in vitro*. *Study. J. Exp. Life Sci.* 4(1), 10-14.
- Dwijayanti, D.R., Rifa'i, M.(2015). *Gynura procumbens* Ethanolic extract promotes lymphocyte activation and regulatory t cell generation *in vitro*. *J. Trop. Life Sci.* 5(1), 14-19,
- Eksomtrame, L., Jornead, S., Kaewnam, W., Mama, W. (2010). Karyotypic studies in four species of *Gynura* in Tribe Senecioneae (Asteraceae). *Thai For. Bull. (BOT.)* 38: 90–94.
- Elmazar M.M., El-Abhar H.S., Schaalan M.F., Farag N.A.. (2013). Phytol/Phytanic acid and insulin resistance: potential role of phytanic acid proven by docking simulation and modulation of biochemical alterations. *PLos One.*, 8(1):e45638.
- Escobedo-Avellaneda, Z., Gutiérrez-Urbe, J., Valdez-Fragoso, A., Torres, J. A., & Welti-Chanes, J. (2014). Phytochemicals and antioxidant activity of juice, flavedo, albedo and comminuted orange. *J. Funct. Foods*, 6, 470–481.

- Fang, S. C., Hsu, C. L., Lin, H. T. and Yen, G. C. (2009). Anticancer effects of flavonoid derivatives isolated from *Millettia reticulata* Benth in SK-Hep-1 human hepatocellular carcinoma cells. *J. Agric. Food Chem.*, 58(2), 814-820
- Fink, B.N., Steck, S.E., Wolff, M.S., Britton, J.A., Kabat, G.C., Schroeder, J.C., Teitelbaum, S.L., Neugut, A.I, Gammon, M.D. (2007). Dietary flavonoid intake and breast cancer risk among women on Long Island. *Am. J. Epidemiol.*, 165: 514–23.
- Formica, J.V. and Regelson, W., (1995). Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem. Toxicol.*, 33:1061–1080.
- Frankenfeld, C.L., Cerhan, J.R, Cozen, W., Davis S., Schenk, M., Morton, L.M., Hartge, P., Ward, M.H. (2008). Dietary flavonoid intake and non-Hodgkin lymphoma risk. *Am. J. Clin. Nutr.*, 87(5), 1439–45.
- Gan, R.Y., Xu, X.R., Song, F.L., Kuang, L., Li, H.B. (2010). Antioxidant activity and total phenolic content of medicinal plants associated with prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases. *J. Med. Plants Res.* 4(22), 2438-2444, 18
- Gao M, Ma Y, Liu D. (2013). Rutin suppresses palmitic acids-triggered inflammation in macrophages and blocks high fat diet-induced obesity and fatty liver in mice. *Pharm. Res.*, 30:2940–50.
- Garcia-Closas, R., Gonzalez, C.A., Agudo, A., Riboli, E. (1999). Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. *Cancer Cause Control*, 10(1), 71–5.
- Gattuso, G., Barreca, D., Gargiulli, C., Leuzzi, U. and Caristi, C. (2007). Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules*, 12(8), 1641-1673.
- Ge, F., Zhou, S., Hu C., Lobdell, H. 4th, Berk PD. (2010). Insulin- and leptin-regulated fatty acid uptake plays a key causal role in hepatic steatosis in mice with intact leptin signaling but not in ob/ob or db/db mice. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 299:855–66.
- Gould, K.S., Lister, C., Andersen, Ø. M., Markham, K.R. (2006). Flavonoid functions in plants. *Flavonoids: Chem. Biochem. Appl.*, 397-441

- Goyal, A., Singh, S., Tandon, N, Gupta, N., Gupta, Y.K. (2014). Effect of atorvastatin on pancreatic Beta-cell function and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus patients: a randomized pilot study. *Can. J. Diabetes* 38(6), 466-72.
- Hairon, H., Sabtu, R., Abd. Talib, N., Mohd Azrie Awang, M.A., Aziz, R., Suan, C.L., Taher, Z.M. (16-17 August 2016). Extraction of *Gynura procumbens* leaves (sambung nyawa) with different parameters using maceration process. 6th International Conference on Biotechnology for the Wellness Industry (ICBWI 2016), “Wellness for Health and Productivity, Recent Trends and Opportunities”, Conference Proceeding, Ed. Zainol N.A., 131-133.
- Hamza, N., Berke, B., Umar, A., Cheze, C., Gin, H., Moore, N. (2019) A review of Algerian medicinal plants used in the treatment of diabetes. *J. Ethnopharmacol.* 28(238),111841.
- Hassan, Z, Yam, M.F, Ahmad, M., Yusof, A.P.M. (2010). Antidiabetic properties and mechanism of action of *Gynura procumbens* water extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecules*; 15, 9003-9023.
- He, K., Shi, J.C., Mao, X.M. (2014). Safety and efficacy of acarbose in the treatment of diabetes in Chinese patients. *Ther. Clin. Risk Manag.* 10: 505-511.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R. and Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem*, 13(10): 572-584.
- Hew, C-S, Gam, L-H (2010). The identification of high abundant proteins in the leaves of *Gynura procumbens*. *Biotechnol Biotechnol. Equip.*, 24: 2132–2136.
- Hew, C.S., Gam, L.H. (2011). Proteome analysis of abundant proteins extracted from the leaf of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 165: 1577–1586.
- Hew, C.S., Khoo B.Y., Gam, L.H., (2013). The anti-cancer property of proteins extracted from *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. *PLOS One* 8(7): e68524.
- Heywood, V.H., (1978). Flowering Plants Of The World, Oxford University Press, London.
- Hoe, S.Z., Kamaruddin M.Y. and Lam, S.K. (2007). Inhibition of angiotensin-converting enzyme activity by a partially purified fraction of *Gynura procumbens* in spontaneously hypertensive rats. *Med. Princ. Pract.*, 16, 203-208.

- Hoe, S.Z., Lee, C.N., Mok, S.L., Kamaruddin M.Y. and Lam, S.K. (2011). *Gynura procumbens* Merr. decreases blood pressure in rats by vasodilatation via inhibition of calcium channels. *Clinics (Sao Paulo)*, 66(1), 143-150.
- Hollman, P.C.H.; Arts, I.C.W. (2000). Flavonols, flavones and flavanols – nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food Agr.* 80, 1081–1093.
- Horn-Ross, P.L., John, E.M., Canchola, A.J., Stewart, S.L., Lee, M.M. (2003). Phytoestrogen intake and endometrial cancer risk. *J. Natl. Cancer Inst.*, 95(15), 1158–64.
- Hou, W.C., Lin, R.D., Lee, T.H., Huang, Y.H., Hsu, F.L. Mei-Hsien Lee, M.H. (2004). The phenolic constituents and free radical scavenging activities of *Gynura formosana* Kiamnra. *J. Sci. Food Agric.*, 85:615–621.
- Hsieh, S-L., Wu, C-C. Chun-Liu, H., Lian, J-L. (2013). Effects of the water extract of *Gynura bicolor* (Roxb. & Willd.) DC on physiological and immune responses to *Vibrio alginolyticus* infection in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Fish Shellfish. Immun.*, 35(1), 18-25.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric Food Chem.*, 53(6), 1841-1856.
- Ibrahim, M.H., Kong, Y.C. and Zain, N.A.M. (2017). Effect of cadmium and copper exposure on growth, secondary metabolites and antioxidant activity in the medicinal plant Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr). *Molecules* 22, 1623.
- Iskander, M.N.; Song, Y.; Coupar, I.M.; Jiratchariyakul, W. (2002). Anti- inflammatory screening of the medicinal plant *Gynura procumbens*. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 57(3-4), 233-244.
- Islam, M.T., Ali, E.S., Uddin, S.J., Shaw, S., Islam, M.A., Ahmed, M.I., Chandra Shill, M., Karmakar, U.K., Yarla, N.S., Khan, I.N., Billah, M.M., Pieczynska, M.D., Zengin, G., Malainer, C., Nicoletti, F., Gulei, D., Berindan-Neagoe, I., Apostolov, A., Banach, M., Yeung, A.W.K., El-Demerdash, A., Xiao, J., Dey, P., Yele, S., Jóźwik, A., Strzałkowska, N., Marchewka, J., Rengasamy, K.R.R., Horbańczuk, J., Kamal, M.A., Mubarak, M.S., Mishra, S.K., Shilpi, J.A., Atanasov, A.G. (2018). Phytol: A review of biomedical activities. *Food Chem. Toxicol.* 121:82-94.

- Jarikasem, S., Charuwichitratana, S., Siritantikorn, S. Chantratita, W., Iskander, M., Frahm, A.W., Jiratchariyakul, W. (2013). Antiherpetic effects of *Gynura procumbens*. *Evid. Based. Complement Alternat. Med.*, 10pages
- Jeong, J.S. and Kim, I.H. (2015). Effect of fermented medicinal plants (*Gynura Procumbens*, *Rehmannia Glutinosa*, *Scutellaria Baicalensis*) as alternative performance enhancers in broilers. *J. Poult. Sci.*, 52, 119-126.
- Jin, J.S.; Kang, F.X.; Ni, Z.D.; Fang, J. (2009). Effects of aquatic extract of *Gynura medica* on anti-hyperglycemia and improving insulin secretion. *Anhui Med. Pharm. J.*, 13, 256–258.
- John, J. A., & Shahidi, F. (2010). Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). *J. Funct. Foods*, 2, 196–209.
- Jong, T.T. and Hwang, J-Y.C. (1997). An optically active chromanone from *Gynura formosana*. *Phytochemistry*. 44(3), 553-554
- Joshi, S.R., Ramachandran A., Chadha, M., Chatterjee, S., Rathod, R, Kalra, S. (2014). Acarbose plus metformin fixed-dose combination in the management of type 2 diabetes. *Expert. Opin. Pharmacother.*, 15: 1611-1620.
- Jothimanivannan, C., Kumar R.S. and Subramanian, N. (2010). Anti-inflammatory and analgesic activities of ethanol extract of aerial parts of *Justicia gendarussa*. *Burm. Int. J. Pharmacol.*, 6, 278-283.
- Kaewseejan, N., Puangpronpitag, D., Nakornriab, M. (2012). Evaluation of phytochemical composition and antibacterial property of *Gynura procumbens* extract, *Asian J. Plant Sci.*, 11(2). 77–82.
- Kaewseejan, N., Siriamornpun, S., (2015a). Bioactive components and properties of ethanolic extract and its fractions from *Gynura procumbens* leaves. *Ind. Crops. Prod.* 74, 271–278.
- Kaewseejan, N., Sutthikhum, V., Siriamornpun, S. (2015b). Potential of *Gynura procumbens* leaves as source of flavonoid-enriched fractions with enhanced antioxidant capacity. *J. Funct. Foods*, 12, 120-128.
- Kahkonen, M.P., Hopia, AI, Heinonen, M. (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agri. Food Chem.*, 49: 4076-4082.

- Kahn, S. E., Hull, R. L. and Utzschneider, K. M. (2006). Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 444(7121), 840–846,
- Kaisoon, A., Siriamornpun, S., Weerapreeyakul, N., Meesoc, N. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. *J. Funct. Foods* 3 (2), 88-99.
- Khanam, U.K.S., Oba, S., Yanase, E., Murakami, Y. (2012). Phenolic acids, flavonoids and total antioxidant capacity of selected leafy vegetables. *J. Funct. Foods* 4(4), 979-987.
- Karim, A., M.N. Sohail, S. Munir and S. Sattar, (2011). Pharmacology and phytochemistry of Pakistani herbs and herbal drugs used for treatment of diabetes. *Int. J. Pharmacol.*, 7, 419-439.
- Katahira, H, ve Ishida, H. (2002). Indication and side effect of alpha glucosidase inhibitor. *Nihon Rinsho* 60: 399-408.
- Kawanishi, S., Hiraku, Y. and Oikawa, S., (2001). Mechanism of guanine- specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mutat. Res.*, 488:65–76.
- Kim, H.P., Son, K.H., Chang, H.W., Kang, S.S. (2004) Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J. Pharmacol. Sci.* 96, 229–245.
- Kim, M.-J. Lee, H. J. Wiryowidagdo, S. and Kim, H. K. (2006). Antihypertensive effects of *Gynura procumbens* extract in spontaneously hypertensive rats. *J. Med. Food*, 9(4), 587–590.
- Kim J, Lee C, Kim E.K, Lee S, Park N, Kim H.S., Kim H.K., Char, K., Yang Y., Kim J.W. (2011). Inhibition effect of *Gynura procumbens* extract on UV-B-induced matrix-metalloproteinase expression in human dermal fibroblasts. *J. Ethnopharmacol.*; 137: 427-433.
- Koşar, M., Göger, F., & Can Başer, K. H. (2008). *In vitro* antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia virgata* Jacq. from Turkey. *J. Agric. Food Chem.*, 56(7), 2369-2374.
- Kouam, J., Etoa, F. X., Mabeku, L. B. and Fomum, Z. T. (2007). Sigmoidine L, a new antibacterial flavonoid from *Erythrina sigmoidea* (Fabaceae). *Nat. Prod. Commun.*, 2(11), 1105-1108. 27.

- Krishnan, V., Ahmad, S., Mahmood, M. (2015). Antioxidant potential in different parts and callus of *Gynura procumbens* and different parts of *Gynura bicolor*. *BioMed Res. Int.*, 1-7.
- Kumaran, A, and Joel Karunakaran, R. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem.* 97:109–14.
- Lagiou, P., Samoli, E., Lagiou, (2004). A Flavonoids, vitamin C and ade- noca carcinoma of the stomach. *Cancer Causes Control* 15:67–72.
- Lee H.J, Lee BC, Chung J.H, Wiryowidagdo S, Chun W, Kim, S.S., Kim, H., Choe, M., (2007). Inhibitory effects of an aqueous extract of *Gynura procumbens* on human mesangial cell proliferation. *Korean J. Physiol. Pha.*, 11: 145–148.
- Leifert, W.R., Abeywardena, M.Y. (2008). Cardioprotective actions of grape polyphenols. *Nutr. Res.*, 28: 729-737.
- Li, F., Gao, J Xue, F. Yu, X. and Tao Shao, T. (2016). Extraction optimization, purification and physicochemical properties of polysaccharides from *Gynura medica*. *Molecules* 21, 397.
- Li, J.E., Wang, W.J., Zheng, G.D., Li, L.Y. (2017). Physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from *Gynura procumbens* leaves by fractional precipitation. *Int. J. Biol. Macromol.*, 95:719-724.
- Li J., Feng J., Wei H., Liu Q., Yang T., Hou S., Zhao Y., Zhang B., Yang C. (2018). The aqueous extract of *Gynura divaricata* (L.) DC. improves glucose and lipid metabolism and ameliorates type 2 diabetes mellitus. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 23;2018:8686297.
- Li, S., Li, S.K., Gan, R.Y., Song, F.L., Kuang, L., Li, H.B., (2013). Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. *Ind. Crops Prod.*, 51, 289–298.
- Li, W.L., B.R. Ren, Zhuo, M., Hu, Y., Lu C.G., Wu JL, Chen, J., Sun, S. (2009). The anti-hyperglycemic effect of plants in genus *Gynura* Cass. *Am. J. Chin. Med.*, 37(5), 961-966.
- Lin G, Wang J.Y, Li N, Li M, Gao H, Ji Y, Zhang F, Wang H, Zhou Y, Ye Y, Xu HX., Zheng J. (2011). Hepatic sinusoidal obstruction syndrome associated with consumption of *Gynura segetum*. *J. Hepatol.*, 54(4):666–73.

- Lin, W.Y., Teng, C.M., Tsai, I.L., Chen I.S., (2000), Anti-platelet aggregation constituents from *Gynura elliptica*, *Phytochemistry*, 52 . 833
- Lin, W.Y., Yen, M.H., Teng, C.M., Tsai, I.L., Chen I.S., Chin. J., (2004), Cerebrosides from the rhizomes of *Gynura japonica* *J. Chin. Chem. Soc.-Taip*, 51(6). 1429.
- Lin, W.Y., Kuo, Y.H., Ya-Ling Chang, Y.L., Teng, C.M., Wang, E.C., Ishikawa, T., Chen I.S. (2003). Anti-platelet aggregation and chemical constituents from the rhizome of *Gynura japonica*. *Planta Med.*, 69(8): 757-764.
- Liu, H.Y., Qiu, N.X., Ding, H.H., Yao, R.Q. (2008). Polyphenols content and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. *Food Res. Intern.*, 41: 363-370.
- Liu, W., Yu, Y.Y. Yang, R.Z.; Wan, C.P.; Xu, B.B.; Cao, S.W. (2010). Optimization of total flavonoid compound extraction from *Gynura medica* leaf using response surface methodology and chemical composition analysis. *Int. J. Mol. Sci.*, 11, 4750–4763.
- Lokhande, A., Ingale, S. L., Lee, S. H., Sen, S., Khong, C., Chae B. J., Kwon I. K. (2014) Effects of dietary supplementation with *Gynura procumbens* (Merr.) on egg yolk cholesterol, excreta microflora and laying hen performance. *Br. Poult. Sci.*, 55:4, 524-531.
- Lu, C.H., Yang, H-C., Chang, W-L., Chang, Y-P., Wu, C-C., Hsieh, S-L. (2012). Development of beverage product from *Gynura bicolor* and evaluation of its antioxidant activity. *Genomic Med. Biomark. Health Sci.*, 4(4), 131-135.
- Ma, J., Guo, C., Pan, Y., . Lin, D., Qiu, L., Wen, L. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory activities of ethyl acetate extract of *Gynura formosana* (Kitamura) leaves. *Exp. Ther. Med.*, 14(3), 2303–2309.
- Ma, J.F., Wei, P.F., Guo, C., Shi, Y.P., Lv, Y., Qiu, L.X., Wen, L.P. (2018). The ethyl acetate extract of *Gynura formosana* Kitam. leaves inhibited cervical cancer cell proliferation via induction of autophagy. *Bio. Med. Res. Int.*, 1-10
- Mahmood, A. A., Mariod, A. A., Al-Bayaty, F., Abdel- Wahab S. I., (2010). Anti-ulcerogenic activity of *Gynura procumbens* leaf extract against experimentally-induced gastric lesions in rats, *J. Med. Plant Res.*, 4(8), 685–691

- Malin, A.S., Qi, D., Shu, X.O., Gao, Y.T., Friedmann, J.M., Jin, F., Zheng, W., (2003). Intake of fruits, vegetables and selected micronutrients in relation to the risk of breast cancer. *Int. J. Cancer*, 105, 413–418.
- Middleton, E.; Kandaswami, C. (1992). Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. *Biochem. Pharmacol.*, 43, 1167–1179.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.*, 85(2), 231-237.
- Moektiwardoyo, W.M., Tjitraesmi, A. Susilawati, Y., Iskandar, Y., Halimah, E., Zahryanti, D. (2014). The potential of dewa leaves (*Gynura Pseudochina* (L) D.C) and temu ireng rhizomes (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) as medicinal herbs for dengue fever treatment. *Procedia Chemistry*. 13, 134-141.
- Mongkhonsin, B., Nakbanpote W., Hokura A., Nuengchamnong N., Maneechai S. (2016). Phenolic compounds responding to zinc and/or cadmium treatments in *Gynura pseudochina* (L.) DC. extracts and biomass. *Plant. Physiol. Biochem.*, 109:549-560
- Murugesu, K., Murugaiyah, V., Saghir, S.A.M., Asmawi, M.Z., Sadikun, A. (2017). Caffeoylquinic acids rich versus poor fractions of *Gynura procumbens*: their comparative antihyperlipidemic and antioxidant potential. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 18(14), 1132-1140
- Nagappa, A.N., Thakurdesai, P.A., Venkat, Rao, N., Singh, J. (2003). Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. *J. Ethnopharmacol.*, 88(1):45-50.
- Naeem, I., Saddiqe, Z., Patel, A. and Hellio, C. (2010). Analysis of flavonoid and antimicrobial activity of extracts of *Hypericum perforatum*. *Asian J. Chem.*, 22(5): 3596-3600.
- Nakatani, N., Kayano, S.-I., Kikuzaki, H., Sumino, K., Katagiri, K. and Mitani, T. (2000). Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in prune (*Prunus domestica* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 48(11), 5513.
- Naowaboot, J, Piyabhan, P., Munkong,, N., Parklak, W., Pannangpetch, P. (2016). Ferulic acid improves lipid and glucose homeostasis in high-fat diet-induced obese mice. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 43:242–50.

- Nawawi, A., Nakamura, N., Hattori, M., Kurokawa M., Shiraki, K. (1999). Inhibitory effects of Indonesian medicinal plants on the infection of herpes simplex virus type 1. *Phytother. Res.*, 13: 37-41.
- Ng H.K., Poh T.F., Lam S.K., Hoe S.Z. (2013). Potassium channel openers and prostacyclin play a crucial role in mediating the vasorelaxant activity of *Gynura procumbens*. *BMC Complement Altern. Med.*, 23;13:188.
- Nisa, F., Hermawan, A., Murwanti, R., Meiyanto E. (2012). Antiproliferative effect of *Gynura procumbens* (lour.) Merr. Leaves etanolic extract on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced male rat liver *Adv. Pharm. Bul.*, 2(1), 99-106.
- Nordenstam B. 2007. Tribe Senecioneae. In: Kadereit JW, Jeffrey C eds. The families and genera of vascular plants (Series Editor: K. Kubitzki), Vol. VIII Asterales. Heidelberg: *Springer*. 208–241.
- Nordenstam, B., Pelter, P.B., Kadereit, J.W., Watson, L.E. (2009). Senecioneae, Chapter 34. In: Funk VA, Susanna A, Stuessy T eds. Systematics, evolution, and biogeography of Compositae. Vienna: International Association for Plant Taxonomy (IAPT). 503–525.
- Orhan I, Kupeli E, Sener B, Yesilada E. (2007). Appraisal of anti-inflammatory potential of the clubmoss, *Lycopodium clavatum* L. *J Ethnopharmacol.*, 109(1), 146-50.
- Oskay, G. (2015). *Bazı Asteraceae familyası bitkilerinin yağ asitleri profilinin ve biyoaktivitelerinin araştırılması* Yüksek Lisans Tezi İstanbul: Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 2, 270–278.
- Pejin, B., Kojic, V., Bogdanovic, G. (2014) An insight into the cytotoxic activity of phytol at *in vitro* conditions, *Nat. Prod. Res.*, 28:22, 2053-2056.
- Perry, L.M., V ve Metzger J.(1980). Medicinal Plants of East and Southeast Asia: Attributed Properties and Uses. 1st Edn., The MIT Press, Cambridge, UK., 13: 334-360.
- Poh, T.F., Ng, H.K., Hoe, S.Z., Lam, S.K. (2013). *Gynura procumbens* Causes vasodilation by inhibiting angiotensin II and enhancing bradykinin actions. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 61(5), 378–384.

- Puangpronpitag, D., Chaichanadee S., Naowaratwattana, W., Sittiwet, C., Thammasarn, K., Luerang, A., Kaewseejan, N. (2010). Evaluation of nutritional value and antioxidative properties of the medicinal plant *Gynura procumbens* extract. *Asian J. Plant Sci.*, 9(3), 146-151.
- Pramita, A.D., Kristanti, A.N., Sugiharto, Utami, E.S.W., Manuhara, Y.S.W. (2018). Production of biomass and flavonoid of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr shoots culture in temporary immersion system. *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, 16(2), 639–643.
- Puangpronpitag, D., Chaichanadee, S., Naowaratwattana, W., Sittiwet, C., Thammasarn, K., Luerang A. and Kaewseejan N. (2010). Evaluation of nutritional value and antioxidative properties of the medicinal plant *Gynura procumbens* extract. *Asian J. Plant Sci.* 9 (3), 146-151.
- Qin, X. S., Kang, X. F. Lin, C. H. (2006). Composition analysis of volatile oil from *Gynura divaricata*. *Vegetables*, 38 -39.
- Rahman, A.F.M.M.; Asad, M.S.A. (2013). Chemical and biological investigations of the leaves of *Gynura procumbens*. *Int. J. Biosci.*, 3(4), 36-43.
- Ren, J., Xin, X.L., Guo, S., Chen, L. (2014a). Changes in volatile constituents and phenols from *Gynura bicolor* DC grown in elevated CO₂ and LED lighting. *Scientia Horticulturae* 175:243–250.
- Ren J., Guo, S., Chunlan Xu Chengjia Yang (2014b) Effects of different carbon dioxide and LED lighting levels on the anti-oxidative capabilities of *Gynura bicolor* DC. *Adv. Space Res.*, 53(2):353–361
- Ren, J., Guo, S., Cheng, Q-Y, Shen, Y-Z Feng, H-Q (2014c). Synergistic effects of CO₂ and led lighting on accumulation of terpenes in roots of *Gynura bicolor*. *Chin. Herb. Med.*, 6(3): 228-236.
- Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their roles in oxidative process in fruits. *Food Chem.*, 66: 401-436.
- Roeder, E.,A., Eckertand H., Wiedenfeld. (1996). Pyrrolizidine alkaloids from *Gynura divaricata*. *Planta Med.* 62(4), 386.
- Rosidah, Yam, M., Sadikun, A., Asmawi M.Z. (2008). Antioxidant potential of *Gynura procumbens*. *Pharm. Biol.*, 46(9), 616-625.

- Rosidah, Yam M.F., Sadikun, A., Ahmad, M., Akowuah, G.A., Asmawi, M.Z., (2009). Toxicology evaluation of standardized methanol extract of *Gynura procumbens*. *J. Ethnopharmacol.*, 123(2), 244-49.
- Rossi, M., Negri, E., Lagiou, P., Talamini, R., Dal Maso, L., Montella, M., Franceschi, S., La Vecchia, C. (2008). Flavonoids and ovarian cancer risk: a case-control study in Italy. *Int. J. Cancer*, 123(4), 895–8.
- Sadikun, A., Aminah, I., Ismail, N., Ibrahim P. (1996). Sterols and sterol glycosides from the leaves of *Gynura procumbens*. *Nat. Prod. Sci.*. 2(1): 19-23
- Seow L.J., Beh H.K., Majid A.M., Murugaiyah V., Ismail N., Asmawi M.Z. (2011). Anti-angiogenic activity of *Gynura segetum* leaf extracts and its fractions. *J. Ethnopharmacol.*, 24;134(2):221-7.
- Seow, L.J., Beh, H.K., Ibrahim, P., Sadikun, A., Asmawi, M.Z. (2012). Antimicrobial activity of *Gynura segetum*'s leaf extracts and its active fractions. *Int. J. Genuine Tradit. Med.* 2(2): 1-20.5
- Seow, L.J., Beh H.K., Sadikun, A. and Asmawi, M.Z. (2013). Preliminary phytochemical and physicochemical characterization of *Gynura segetum* (Lour) Merr (Compositae) leaf. *Trop. J. Pharm. Res.*, 12 (5), 777-782.
- Seow L.J., Beh H.K., Umar M.I, Sadikun A, Asmawi M.Z. (2014a). Anti-inflammatory and antioxidant activities of the methanol extract of *Gynura segetum* leaf. *Int. Immunopharmacol.*, 23(1), 186-91.
- Seow, L.J., Beh, H.K., Sadikun, A., Asmawi, M.Z. (2014b), Evaluation of anti-inflammatory effect of traditional medicinal plants, *Gynura segetum*. *Pharmacogn. Res.*, 4(1/e4), 1-4.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, 112, 930–940.
- Shahidi, F., and Chandrasekara, A. (2013). Millet grain phenolics and their role in disease risk reduction and health promotion: A review. *J. Funct. Foods*, 5, 570–581.
- Shao, L., Fu, Y., Liu, H. (2015). Changes of the antioxidant capacity in *Gynura bicolor* DC under different light sources. *Scientia Horticulturae*, 184(5). 40-45.

- Sharma, B., Balomajumder, C., Roy, P. (2008). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Food Chem. Toxicol.*, 46(7), 2376-83
- Shimizu, Y., Imada, T., Zhang, H., Tanaka, R., Ohno, T and Shimomura, K. (2010a). Identification of novel poly-acylated Anthocyanins from *Gynura bicolor* leaves and their antioxidative activity. *Food Sci. Technol. Res.*, 16 (5), 479–486.
- Shimizu, Y., Kazuhiro Maeda^{2,*}, Mika Kato and Shimomura, K. (2010b). Isolation of anthocyanin-related MYB gene, GbMYB2 , from *Gynura bicolor* leaves. *Plant Biotechnol.* 27, 481–487.
- Shwter, A.N., Abdullah, N.A., Alshawsh, M.A. Alsalahi, A.; Hajrezaei, M.; Almaqrami, A.A., Salem, S.D., Abdulla, M.A. (2014). Chemoprevention of colonic aberrant crypt foci by *Gynura procumbens* in rats. *J. Ethnopharmacol.*, 151(3), 1194-1201.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Ravent s, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology*. 299, 152-178 Academic press.
- Skotti, E., Anastasaki, E., Kanellou, G., Polissiou, M., Tarantilis, P.A., (2014). Total phenolic content: antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants. *Ind. Crops Prod.*, 53, 46–54.
- Sukadeetad, K., Nakbanpote, W., Heinrich, M. Nuengchamnong, N. (2018). Effect of drying methods and solvent extraction on the phenolic compounds of *Gynura pseudochina* (L.) DC. leaf extracts and their anti-psoriatic property. *Ind. Crop. Prod.* 120 (15), 34-46.
- Sunarwidhi, A.L., Sudarsono, S., Nugroho, A.E. (2014). Hypoglycemic effect of combination of *Azadirachta indica* A. Juss. and *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. ethanolic extracts standardized by rutin and quercetin in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Adv. Pharm. Bull.*, 4(2), 613-618
- PTan, H.L.; Chan, K.G.; Pusparajah, P.; Lee, L.H.; Goh, B.H. (2016). *Gynura procumbens*: an overview of the biological activities. *Front. Pharmacol.*, 7(52), 1-14.
- Tan, M., Wang, Q., Luo, C., Chen, S., Li, Q. and Li, P. (2013). Yeast α -glucosidase inhibitory phenolic compounds isolated from *Gynura medica* leaf. *Int. J. Mol. Sci.*, 14, 2551-2558;

- Tandon, N., Ali, M.K. and Narayan, K.M.V. (2012). Pharmacologic prevention of microvascular and macrovascular complications in diabetes mellitus implications of the results of recent clinical trials in type 2 diabetes. *Am. J. Cardiovasc. Drugs*, 12 (1): 7-22
- Tijburg, L.B.M., Mattern, T., Folts, J.D., Weisgerber, U.M., Katan, M.B. (1997). Tea flavonoids and cardiovascular diseases: a review. *Crit. Rev. Food Sci.* 37, 771–785. 15.
- Theodoratou, E., Kyle, J., Cetnarskyj, R., Farrington, S.M., Tenesa, A., Barnetson, R., Porteous, M., Dunlop, M., Campbell, H. (2007). Dietary flavonoids and the risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 16(4), 684–93.
- Tjitrosoedirdjo, S.S. (2002). Notes on the *Asteraceae* of sumatera. *Biotropia*, 19, 65–84.
- Traganos, F, (1983). Dihydroxyanthraquinone and related bis(substituted) aminoanthraquinones: a novel class of antitumor agents. *Pharmac. Ther.* 22:199–214.
- Trivedi, N.P., Rawal, U.M. (2001). Hepatoprotective and antioxidant property of *Andrographis paniculata* Nees in BHC induced liver damage in mice. *Indian J. Exp. Biol.*, 39: 41-46.
- Vanijajiva, O. And Kadereit, J.W. (2011). A revision of *Gynura* (Asteraceae: Senecioneae). *J. Syst. Evol.* 49 (4): 285–314
- Vanijajiva, O. (2009). The genus *Gynura* (Asteraceae: Senecioneae) in Thailand. *Thai J. Bot.*, 1(1): 25–36. 2552.
- Rana, V.S. (2007). Chemical constituents of *Gynura cusimbua* aerial parts. *J. Essent. Oil Res.*, 19, 21–22.
- Wan, C. Yu, Y., Zhou, S., Tian, S., and Cao, S. (2013). Isolation and identification of phenolic compounds from *Gynura divaricata* leaves. *Pharmacogn. Mag.* 7(26): 101–108.
- Wan, C. Yu, Y., Zhou, S., Liu, W., Tian, S., and Cao, S. (2011). Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of *Gynura divaricata* leaf extracts at different temperatures. *Pharmacogn. Mag.* 7(25): 40–45
- Wang, H., Zhou, J.W., Fu, D.H., Zhou, Y., Cheng, W.Z., Liu, Z.L. (2013). *Gynura procumbens* ethanolic extract suppresses osteosarcoma cell proliferation and metastasis *in vitro*. *Oncol. Lett.* 6:113–7.

- Wang, Y., Qiao, D., Ya Li, Y. and Xu, F. (2018) Risk factors for hepatic veno-occlusive disease caused by *Gynura segetum*: a retrospective study *BMC Gastroenterology* 18:156.
- Wang, L.; Lee, I.M.; Zhang, S.M.; Blumberg, J.B.; Buring, J.E.; Sesso, H.D. (2009). Dietary intake of selected flavonols, flavones, and flavonoid-rich foods and risk of cancer in middle-aged and older women. *Am. J. Clin. Nutr.*, 89(3), 905–912.
- World Health Organization (2000). Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. Geneva WHO Technical Report Series 49-50
- Wu, C.C., Chang, W.L., Lu, C.H., Chang, Y.P., Wang, J.J., Hsieh, S.L. (2015). Effects of extracts from *Gynura bicolor* (Roxb. & Willd.) DC. on iron bioavailability in rats. *J. Food Drug Anal.* 23(3), 425-432.
- Wu, T, Zhou X, Deng Y, Jing Q, Li M, Yuan L. (2011). *In vitro* studies of *Gynura divaricata* (L.) DC extracts as inhibitors of key enzymes relevant for type 2 diabetes and hypertension. *J Ethnopharmacol.* 22;136(2):305-8.
- Xie, B., Shi, H., Chen, Q. and Ho, C.T., (1993). Antioxidant properties of fractions and polyphenol constituents from green, oolong and black teas. *Life Sci.* 17:77–84.
- Xi-min, Q., Man-hua, J., Jian-zhuo, H, Wen-gao Q., Qing, Q., Min, T., Kai, W.(2009). Hypoglycemic and anti-anoxia effect of polysaccharide and flavonoids in *Gynura divaricata* (L.) DC. *Chin. J. Hosp. Pharm.*, 13.
- Xu, A., Wang, Y., Keshaw, H., Xu, L.Y, Lam, K.S., Cooper, G.J. (2003). The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J. Clin. Invest.* 112:91–100.
- Xu, B.Q. ve Zhang, Y.Q. (2017). Bioactive components of *Gynura divaricata* and its potential use in health, food and medicine: a mini-review. *Afr. J. Tradit. Complement Altern. Med.* 1;14(3):113-127.
- Yang, G., Shu, X.O., Jin, F., Elasy, T., Li, H.L., Li, Q., Huang, F., Zhang, X.L., Gao, Y.T., Zheng, W. (2004). Soyfood consumption and risk of glycosuria: a cross-sectional study within the Shanghai Women's Health Study. *Eur. J. Clin. Nutr.* 58: 615-620.
- Yen, C.H., Lai C.C., Shia T.H., Chen M., Yu H.C., Liu Y.P., Chang F.R. (2018). *Gynura divaricata* attenuates tumor growth and tumor relapse after cisplatin therapy in HCC

- xenograft model through suppression of cancer stem cell growth and Wnt/ β -catenin signalling. *J. Ethnopharmacol.* 1(213), 366-375.
- Yin, M-C., Wang, Z-H. Liu, W-H, and Mong, M-C (2017). Aqueous extract of *Gynura bicolor* attenuated hepatic steatosis, glycation, oxidative, and inflammatory injury induced by chronic ethanol consumption in mice. *J. Food Sci.*, 82(11),
- Yin X.L., Xu B.Q., Zhang Y.Q. (2018). *Gynura divaricata* rich in 3, 5-/4, 5-dicaffeoylquinic acid and chlorogenic acid reduces islet cell apoptosis and improves pancreatic function in type 2 diabetic mice. *Nutr. Metab. (Lond)*. 10;15:73.
- Young, I.S., Woodside, J.V. (2001). Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.*, 54: 176-186.
- Yuan SQ, Gu GM, Wei TT. (1990). Studies on the alkaloids of *Gynura segetum* (Lour.) Merr.. *Acta. Pharmaceutica. Sinica.*, 25: 191-197.
- Yusoff, W.S.Y.W., Johari, A.S., Kamarudin, E., Mastuki, M.F., Abu, M.N., Safarudin, Z. (2016). Effects of ethanol extracts of *Gynura procumbens* on in-vivo phagocytosis of wistar albino rats. *Jurnal Teknologi*, 78(6–7), 95–99.
- Zahra, A. A., Kadir, F. A., Mahmood, A. A., Al hadi, A. A., Suzy, S. M., Sabri, S. Z., Latif I. I., Ketuly K. A. (2011). acute toxicity study and wound healing potential of *Gynura procumbens* leaf extract in rats. *J. Med. Plants Res.*, 5(12), 2551-58.
- Zengin G., Sarikurkcu C., Aktumsek A., Ceylan R., Ceylan O., (2014^a), A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, Skin diseases and type II diabetes., *Ind. Crops. Prod.* 53, 244-251.
- Zhang, L., Yu, J., Park, B.H., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., 2000. Role of BAX in the apoptotic response to anticancer agents. *Sci. Signaling.*, 290, 989.
- Zhang, X.F.; Tan, B.K.H. (2000). Effects of an ethanolic extract of *Gynura procumbens* on serum glucose, cholesterol and triglyceride levels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Singap. Med. J.*, 41(1), 9-13.
- Zhou, X., Zhou, M., Liu, Y., Ye, Q., Gu, J. & Luo, G. (2016). Isolation and identification of antioxidant compounds from *Gynura bicolor* stems and leaves. *Int. J. Food Prop.* 19, 233–241.

- Zhua, B.R., Pu, S.B., Kelvin, D.G. Wang, K.D.G., Xu, D.R., Zhou, H.H.Z. (2013). Chemical constituents of the aerial part of *Gynura segetum*. *Biochem. Syst. Ecol.* 46, 4-6
- Zimmet, P., Alberti, K. G. and Shaw, J. (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*, 414, 782–787.
- http-1 http://www3.ha.org.hk/toxicplant/en/gynura_divaricata.html (Erişim tarihi: 13.04.2019)
- http-2 <http://tropical.theferns.info/image.php?id=Gynura+bicolor> (Erişim tarihi: 25.04.2019)
- http-3<https://urbanperennials.com/product/longevity-spinach-plant-gynura-procubens/> (Erişim tarihi: 16.03.2019)
- http-4 <https://www.sourcefields.org/home/2018/4/2/longevity-spinach> (Erişim tarihi: 7.05.2019)
- http-5 <http://www.theplantlist.net/tpl1.1/record/gcc-121182> (Erişim tarihi: 12.04.2019)
- http-6 <http://www.theplantlist.net/tpl1.1/record/gcc-6593> (Erişim tarihi: 19.04.2019)
- http-7 <http://kdm.anadolu.edu.tr/veri-tabanlari.html> (Erişim tarihi: 26.05.2019)

EKLER

E.1.1. $2n = 2x = 20$

E.3.1.
$$\text{Inh \%} = \left(\frac{Abs_{kontrol} - Abs_{numune}}{Abs_{kontrol}} \right) \times 100$$

$Abs_{kontrol}$: kontrolün absorbansı (test numunesi olmadan boş), Abs_{numune} : test numunelerin absorbans değeri



E.3.3.
$$\%Inh = \left[\frac{(Abs_{kontrol} - Abs_{kontrolblank}) - (Abs_{numune} - Abs_{numuneblank})}{Abs_{kontrol} - Abs_{kontrolblank}} \right] \times 100$$

$Abs_{kontrol}$: kontrol kuyucuktaki absorbans değeri, $Abs_{kontrolblank}$: kontrol blank kuyucuğun absorbans değeri, Abs_{numune} : numunenin bulunduğu kuyucuktaki absorbans değeri, $Abs_{numuneblank}$: numunenin blank kuyucuktaki absorbans değeri.

E. 4.1. $y = 31,14x + 1,793 \text{ (} r^2 = 0,990 \text{)}$

E. 4.2. $y = 1,186x + 0,085 \text{ (} r^2 = 0,993 \text{)}$

E. 4.3. $y = 0,773x - 0,0007 \text{ (} r^2 = 0,999 \text{)}$