

**T.C.**  
**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

*Crocus cancellatus* Herbert subsp. *mazziaricus* (Herbert)  
Mathew ve *Crocus pallasii* Goldb. subsp. *pallasii* Goldb.  
**TAKSONLARI EKSTRAKLARININ AKTİF**  
**BİLEŞENLERİ VE BAZI BİYOLOJİK**  
**AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**NAHİDE DENİZ**

**DENİZLİ, HAZİRAN 2016**

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ



*Crocus cancellatus* Herbert subsp. *mazziaricus*  
(Herbert) Mathew ve *Crocus pallasii* Goldb. subsp.  
*pallasii* Goldb. TAKSONLARI EKSTRAKLARININ  
AKTİF BİLEŞENLERİ VE BAZI BİYOLOJİK  
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NAHİDE DENİZ

DENİZLİ, HAZİRAN 2016

## KABUL VE ONAY SAYFASI

NAHİDE DENİZ tarafından hazırlanan “*Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus* ve *Crocus pallasii* subsp. *pallasii* Taksonları Ekstraktlarının Aktif Bileşenleri ve Bazı Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 28.06.2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman  
Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV

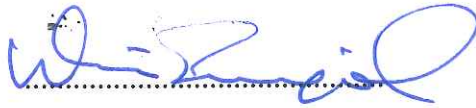
Üye  
Doç. Dr. Gürkan SEMİZ

Üye  
Yrd. Doç. Dr. Hakan TERZİ



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
19/08/2016.. tarih ve 31/25..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. Mehmet Ali SARIGÖL



Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Koordinasyonu tarafından 2015FBE003 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.**

**NAHİDE DENİZ**



## ÖZET

***Crocus cancellatus* Herbert subsp. *mazziaricus* (Herbert) Mathew  
ve *Crocus pallasii* Goldb. subsp. *pallasii* Goldb. TAKSONLARI  
EKSTRAKLARININ AKTİF BİLEŞENLERİ VE BAZI  
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
NAHİDE DENİZ  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. RAMAZAN MAMMADOV)

DENİZLİ, HAZİRAN 2016

Bu çalışmada, kimyasal içerikleri açısından çok önemli geofitlerin yer aldığı Iridaceae familyasında bulunan ve Denizli ilinde yayılış gösteren *Crocus L.* cinsine ait iki bitki taksonu (*Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus* ve *Crocus pallasii* subsp. *pallasii*) üzerinde çalışılmıştır. Bu doğrultuda, *Crocus pallasii* subsp. *pallasii* ve *Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonları üzerinde kimyasal içeriklerinin belirlenmesi amacıyla içerik karakterizasyonu ve biyolojik aktivitelerinin (antioksidan aktivite, sekonder metabolit miktar tayini, sitotoksik çalışmalar, histo-biyokimyasal aktivite (kan biyokimyası-ALT, AST, GGT, ÜRE), HPLC ile fenolik bileşenlerin belirlenmesi) çalışmaları yapılmıştır. En yüksek toplam antioksidan aktivitesi *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak altı ekstraktında (% 90.25), en yüksek serbest radikal giderim aktivitesi asetonla hazırlanmış olan *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak altı ekstraktında (% 90.3) ,toplam fenolik bileşik miktarı *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak altı ekstraktında (% 3.25 mg GAE/g) ve en fazla flavonoid miktarı *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak üstü kısmında görülürken (60.71) ve YPSK yöntemiyle etanol ekstraktının 9 fenolik bileşenin içerikleri tespit edilmiştir.

**ANAHTAR KELİMELER:** *C. pallasii* subsp. *pallasii*, *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*, biyolojik aktivite, HPLC

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF SOME BIOLOGICAL ACTIVITY AND ACTIVE COMPOUNDS OF *Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus* AND *Crocus pallasii* subsp. *pallasii* TAXAS EXTRACTS

MSC THESIS

NAHIDE DENİZ

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE  
BIOLOGY

(SUPERVISOR:PROF.DR.RAMAZAN MAMMADOV)

DENİZLİ, JULY

In this study, in the Iridaceae involving very important geophyt in terms of chemical composition and of *Crocus* L. genus widespread in Denizli two plant taxa (*Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus* and *Crocus pallasii* subsp. *pallasii*) was studied. In this context, *C. pallasii* subsp. *pallasii* and *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taxa characterization to determine the chemical content on and biological activity of (determining antioxidant activity, secondary metabolites assay, cytotoxic studies, histo-biochemical activity (blood chemistry - ALT, AST, GGT, urea), determining the active component by HPLC studies were performed. High antioxidant activity (90.25) is determined taxa of *C. pallasii* subsp. *pallasii*, DPPH scavenging activity (% 90.3) is determined taxa of *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*. High total phenolic (% 3.25 mg GAE/g) is determined taxa of *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* and high total flavonoid content (60.71) is determined taxa of *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* and phenolic acid contents (2392.0 mg/g). 9 different phenolic compounds in ethanol extracts was found taxa of *C. pallasii* subsp. *pallasii*.

**KEYWORDS:** *C. pallasii* subsp. *pallasii*, *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*, Biological activity, HPLC

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ .....	x
TABLO LİSTESİ .....	xii
SEMBOL LİSTESİ .....	xiii
ÖNSÖZ.....	xiv
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1 Çalışma Materyalinin Botanik Özellikleri.....	3
1.1.1 Iridaceae Familyası .....	3
1.1.2 <i>Crocus</i> L. Cinsi.....	3
1.1.3 <i>Crocus cancellatus</i> subsp. <i>mazziaricus</i> .....	4
1.1.4 <i>Crocus pallasii</i> subsp. <i>pallasii</i> .....	6
1.2 Serbest Radikaller .....	7
1.3 Antioksidanlar .....	7
1.4 Sekonder Metabolitler.....	9
1.5 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi(HPLC) ile Fenolik Bileşiklerin Analizi .....	11
1.6 Sitotoksik Aktivite .....	11
1.7 Kan ile İlgili Biyokimyasal Çalışmalar .....	12
1.7.1 Serumda Bulunan Enzimler .....	12
1.7.1.1 Aspartat Transaminaz (AST).....	13
1.7.1.2 Alanin Aminotransferaz ( ALT ).....	13
1.7.1.3 Gamma Glutamil Aminopeptid Transferaz ( GGT ).....	13
1.7.2 Üre.....	14
1.8 Çalışmanın Amacı.....	14
<b>2. MATERYAL .....</b>	<b>15</b>
2.1 Bitki Örneklerinin Toplanması.....	15
<b>3. YÖNTEMLER .....</b>	<b>16</b>
3.1 Bitkilerin Kurutulması ve Ekstraksiyon İşlemleri .....	16
3.2 Antioksidan Aktivite Analiz Yöntemleri.....	17
3.2.1 Serbest Radikal Giderim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	17
3.2.2 $\beta$ -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi .....	18
3.2.3 İndirgeme Gücü Kapasitesinin Belirlenmesi (FRAP).....	19
3.2.4 ABTS Radikal Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi.....	20
3.3 Sekonder Metabolit Miktar Tayini Çalışmaları .....	20
3.3.1 Fenolik Bileşen Miktarının Belirlenmesi.....	20
3.3.2 Flavonoid Miktar Tayini .....	21
3.4 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Bileşiklerin Analizi.....	22
3.5 Sitotoksik Çalışmalar (Brine Shrimp Yöntemi) .....	23
3.6 Histo-Biyokimyasal Çalışmalar .....	24
3.6.1 İstatistiksel Hesaplamalar .....	25
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>26</b>
4.1 Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları.....	26



4.1.1	Serbest Radikal Giderim Aktivite Sonuçları .....	26
4.1.2	$\beta$ -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi Sonuçları .....	30
4.1.3	İndirgeme Gücü Kapasitesinin Belirlenmesi (FRAP).....	31
4.1.4	ABTS Radikal Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi.....	34
4.2	Sekonder Metabolit Miktar Tayini Sonuçları.....	37
4.2.1	Fenolik Bileşen Miktarı Sonuçları .....	37
4.2.2	Flavonoid Miktarı Sonuçları.....	38
4.3	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC/YPSK) ile Fenolik Bileşiklerin Analiz Sonuçları.....	39
4.4	Sitotoksik aktivite sonuçları .....	41
4.5	Histo-Biyokimyasal Çalışma Sonuçları.....	43
<b>5.</b>	<b>SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>48</b>
<b>6.</b>	<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>54</b>
<b>7.</b>	<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>63</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1 : <i>C. cancellatus</i> subsp. <i>mazziaricus</i> bitkisi ve tunik yapısı .....	9
Şekil 1.2 : <i>C. pallasii</i> subsp. <i>pallasii</i> bitkisi ve tunik yapısı .....	15
Şekil 1.3 : Flavonoidlerin genel yapısı .....	16
Şekil 1.4 : <i>Artemia salina</i> 'nın görünüşü ve sınıflandırılması .....	18
Şekil 3.1 : Bitkilerin kurutulması ve ekstraksiyona hazırlanması .....	16
Şekil 3.2 : Bitkilerin ekstraksiyon aşamaları.....	19
Şekil 3.3 : DPPH hazırlanışı ve serbest radikal giderim aktivitesi konsantrasyonları .....	22
Şekil 3.4 : $\beta$ -karoten çözeltisinin hazırlanışı .....	23
Şekil 3.5 : Gallik asit kalibrasyon grafiği ve bitkilerin ekstrakt çözeltisi .....	21
Şekil 3.6 : Kuersetin kalibrasyon grafiği.....	22
Şekil 3.7 : Sitotoksosite deneyinin yapılışı .....	25
Şekil 3.8 : Deney grupları ve solüsyonun içirilmesi .....	25
Şekil 4.1 : <i>Crocus</i> L. taksonlarından hazırlanan aseton ekstraktlarının (0.2 - 1 mg/mL) inhibisyon grafiği .....	26
Şekil 4.2 : <i>Crocus</i> L. taksonlarından hazırlanan etanol ekstraktlarının (0.2-1 mg/ml) inhibisyon grafiği .....	26
Şekil 4.3 : <i>Crocus</i> L. taksonlarından hazırlanan metanol ekstraktlarının (0.2 –1mg/ml) inhibisyon grafiği.....	27
Şekil 4.4 : <i>Crocus</i> L. taksonlarından hazırlanan dH <sub>2</sub> O ekstraktlarının (0.2 -1 mg/ml) inhibisyon grafiği .....	28
Şekil 4.5 : <i>Crocus</i> L. taksonları ekstraktlarının ortalama inhibisyon grafiği ...	29
Şekil 4.6 : <i>Crocus</i> L. taksonları ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitesi (%) .....	30
Şekil 4.7 : <i>Crocus</i> L. taksonları asetonlu ekstraktlarının indirgeme gücü kapasitesi absorbans grafiği .....	30
Şekil 4.8 : <i>Crocus</i> L. taksonları etanollü ekstraktlarının indirgeme gücü kapasitesi absorbans grafiği .....	30
Şekil 4.9 : <i>Crocus</i> L. taksonları metanollü ekstraktlarının indirgeme gücü kapasitesi absorbans grafiği .....	30
Şekil 4.10 : <i>Crocus</i> L. taksonları dH <sub>2</sub> O'lu ekstraktlarının indirgeme gücü kapasitesi absorbans grafiği .....	30
Şekil 4.11 : <i>Crocus</i> L. taksonları asetonlu ekstraktlarının ABTS radikal giderim aktivitesi absorbans grafiği .....	30
Şekil 4.12 : <i>Crocus</i> L. taksonları etanollü ekstraktlarının ABTS radikal giderim aktivitesi absorbans grafiği .....	30
Şekil 4.13 : <i>Crocus</i> L. taksonları metanollü ekstraktlarının ABTS radikal giderim aktivitesi absorbans grafiği .....	30
Şekil 4.14 : <i>Crocus</i> L. taksonları dH <sub>2</sub> O'lu ekstraktlarının ABTS radikal giderim aktivitesi absorbans grafiği .....	30
Şekil 4.15 : <i>Crocus</i> L. taksonları ekstraktlarının fenolik bileşen miktarları (mg/ml GAE) .....	30
Şekil 4.16 : <i>Crocus</i> L. taksonları ekstraktlarının flavonoid miktarları (mg/gQE).....	30
Şekil 4.17 : Fenolik bileşik tayininde kullanılan standartların kromatogramı ...	39

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

- Şekil 4.18 : HPLC’de *C. pallasii* subsp. *pallasii* ve *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* ekstraktlarının kromatogramları.....31
- Şekil 4.19 : Ekstrakt uygulanan gruplarda 24 saatteki ölüm yüzdeleri .....31
- Şekil 4.20 : Grupların LC50 değerleri .....31

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 1.1:</b> Denizli’de yayılış gösteren <i>Crocus</i> taksonları.....	4
<b>Tablo 1.2:</b> <i>C. cancellatus</i> subsp. <i>mazziaricus</i> taksonunun sınıflandırılması .....	5
<b>Tablo 1.2:</b> <i>C. pallasii</i> subsp. <i>pallasii</i> taksonunun sınıflandırılması .....	6
<b>Tablo 2.1:</b> Bitkilerin toplandığı lokaliteler .....	15
<b>Tablo 4.1:</b> <i>Crocus</i> L. taksonları ekstraktlarının fenolik bileşen miktarları (mg/mlGAE) .....	31
<b>Tablo 4.2:</b> <i>Crocus</i> L. taksonları ekstraktlarının flavonoid miktarları (mg/gQE).....	38
<b>Tablo 4.3:</b> <i>C. cancellatus</i> subsp. <i>mazziaricus</i> ekstraktlarının fenolik bileşiklerinin alıkonma zamanları ve miktarları .....	40
<b>Tablo 4.4:</b> <i>C. pallasii</i> subsp. <i>pallasii</i> ekstraktlarının fenolik bileşiklerinin alıkonma zamanları ve miktarları .....	40
<b>Tablo 4.5:</b> Kontrol grubundan alınan kan örneklerinin ALT, AST, GGT, ÜRE değerleri .....	43
<b>Tablo 4.6:</b> Başlangıç grubundan alınan kan örneklerinin ALT, AST, GGT, ÜRE değerleri .....	15
<b>Tablo 4.7:</b> <i>C. cancellatus</i> subsp. <i>mazziaricus</i> taksonu ekstraktlarının uygulandığı deney grubundan alınan kan örneklerinin 2. ve 4. hafta sonundaki ALT, AST, GGT, ÜRE değerleri .....	44
<b>Tablo 4.8:</b> <i>C. pallasii</i> subsp. <i>pallasii</i> taksonu ekstraktlarının uygulandığı deney grubundan alınan kan örneklerinin 2. ve 4. hafta sonundaki ALT, AST, GGT, ÜRE değerleri.. .....	38

## SEMBOL LİSTESİ

<b>UV</b>	Ultra viole
<b>°C</b>	Santigrat derece
<b>Gr</b>	Gram
<b>ml</b>	Mililitre
<b>mg</b>	Miligram
<b>µg</b>	mikrogram
<b>ppm</b>	Milyonda bir (mikro)
<b>dk</b>	Dakika
<b>nm</b>	Nanometre
<b>Ab</b>	Absorbans
<b>DPPH</b>	1,1-difenil-2-pikril-hidrazil
<b>ABTS</b>	2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
<b>pH</b>	Hidrojen gücü
<b>µl</b>	Mikrolitre
<b>M</b>	Molar
<b>BHT</b>	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
<b>SOD</b>	Süperoksit dismutaz
<b>BHA</b>	Bütillenmiş hidroksianisol
<b>TBHQ</b>	Tert-bütil hidrokinon
<b>GPx</b>	Glutatyon peroksidaz
<b>CTL</b>	Sitotoksik T-lenfosit
<b>FCR</b>	Folin-Ciocalteu reaktifi
<b>HAT</b>	Hidrojen atomu transferi
<b>ET</b>	Tek elektron transferi
<b>TEAC</b>	Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
<b>YPSK</b>	Yüksek performanslı sıvı kromatografi
<b>FRAP</b>	Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	Distile Su
<b>β</b>	Beta

## ÖNSÖZ

“*Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus* ve *Crocus pallasii* subsp. *pallasii* taksonlarının ekstraktlarının aktif bileşenleri ve bazı biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi” adlı yüksek lisans tez çalışmamda hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV’a, çalışmalarım süresince verdikleri destekten dolayı Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü hocalarıma, arkadaşlarım Hesna YAKA GÜL, Özge KILINÇARSLAN, Çiğdem AYDIN, Semih AKGÜN ve Raziye İLERİ’ ye teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmayı maddi yönden destekleyen Pamukkale Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne teşekkürlerimi sunarım. Bu tezin hazırlanmasında bana maddi ve manevi en büyük desteği sağlayan aileme ve en önemlisi hayatı boyunca her zaman eğitimimi her anlamda destekleyen rahmetli babama sonsuz şükranlarımı sunarım.

# 1. GİRİŞ

Türkiye, değişen yükseklik farklılıkları (0-5000 m), Anadolu diyagonalini sonucu oluşan farklılıklar, gen merkezi veya genetik farklılaşma alanları ve çok sayıda tür ve tür altı taksonları bulundurması sebebiyle tüm dünya ülkeleri ve bilim adamları için önemli bir floristik merkezdir. Türkiye, Holarktik flora aleminin sınırları içerisinde ve İran-Turan, Avrupa-Sibirya ve Akdeniz fitocoğrafik bölgelerinin kesişme noktasında bulunmaktadır ve sahip olduğu farklı floristik özellikler sayesinde, bitki çeşitliliği bakımından zengin bir flora sahiptir (Güner 1994). Florası 12.006 takson içermekte olup bu sayı gün geçtikte daha da artmaktadır(Erik ve Tarıkahya 2004). Türkiye tür endemizmi açısından da çok önemli bir yere sahiptir. Endemik bitkiler sınırlı yayılış alanına sahip bitkilerdir. Bu sayının içinde endemik tür sayısı 3649'dur. Avrupa ülkelerinin toplamında ise yaklaşık 2500 endemik tür varlığı düşünülürse, Türkiye doğal bitkiler açısından dünyanın en zengin ülkelerinden biridir (İpek ve diğ. 2010; Güner ve diğ. 2012).

Türkiye, doğal bitki yayılışlarından dolayı alternatif tıp ve biyolojik çalışmalar için de önemli bir ülke konumundadır. Türkiye'nin bitki türü açısından bilinen zenginliği, yabancıların dikkatini 18. asrın ortalarına doğru çekmiş, bu zengin flora içerisinde gösterişli çiçekleri ile göze çarpan 'Geofit'lere özel bir önem verilmiştir. Geofitler toprak altında soğan, tuber ve rizom gibi gıda maddesi depo eden özelleşmiş toprak altı gövdelerine sahip genelde otsu bitkilerdir. Bunların bazıları ilkbaharda, bazıları sonbaharda açan gösterişli çiçekleri, zarif duruşları ve hoş kokularıyla dikkatleri hemen üzerine çekerler.

Geofitlerin taksonomisine bakılırsa bitkiler aleminin, tohumlu bitkiler (Spermatophyta) bölümünde, kapalı tohumlu bitkiler (Magnoliophyta) alt bölümünde yer aldıkları görülmektedir. Bu grup tek çenekli bitkiler (Liliopsida) ve çift çenekli bitkiler (Magnoliapsida) olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Geofitlerin çoğunluğu "tek çenekli bitkiler" sınıfında olmasına rağmen, her iki sınıfta da yer alabilmektedirler (Koyuncu 1994).

Güner, Türkiye’de 26 cins ve 540 geofit türünün doğal olarak yetiştiğini (Güner ve diğ. 2000) belirtilirken Koyuncu, (2007) bu sayıyı 72 cins ve 818 tür olarak vermektedir. TÜBİVES kayıtlarına göre ise, Türkiye’de günümüze kadar 11 familyada 73 cinsle ait 816 geofit taksonu tespit edilmiştir (Web 1). Bunlar genel olarak Güneybatı Ege, Karadeniz Bölgesi, Akdeniz Bölgesi ve Toroslar’da yayılış göstermektedir. Geofit bitkiler genel olarak Liliaceae, Amaryllidaceae, Ranunculaceae, Iridaceae, Primulaceae, Araceae, Geraniaceae ve Orchidaceae familyalarında yer alır ve çoğunluğu ekonomik veya tıbbi öneme sahip türler içerir.

Doğadaki bitki türleri üzerindeki tehditler arasında, bu türlerin çeşitli şekillerde değerlendirilmeleri ve ticaretlerinin yapılması önemli bir yer tutmaktadır. Tıbbi bitkiler ve geofit bitkiler bu durumdan en fazla olumsuz etkilenen bitki grupları arasında gösterilebilir. Önceleri botanik bahçelerini zenginleştirmek için toplanan örnekler, daha sonra yerini daha geniş çapta sökümlere ve bu işin ticaretine bırakmıştır (Ekim ve diğ. 1991). Türkiye’de geofit bitkilerin 1970’li yıllardan itibaren ihracat sayısında hızlı bir şekilde artış görülmüştür (Özhatay 2003). Geofitlerin birçok türleri antropojen faktörlerin etkisi ile nesli tükenmek üzeredir. Çoğunlukla tıbbi ve ekonomik değeri olan bu bitkilerin korunması için en ideal yöntem onların kültürleştirilmesidir. Geofit bitkilerin kültürleştirilmesi ile insanlar ilk zamanlardan bu yana uğraşmışlardır. Bunun nedeni de, bu bitkilerin ilaç yapımında ve süs bitkisi olarak kullanılmasıdır. 20. yüzyılın başlarından itibaren bilimsel anlam kazanmış olan bu tür çalışmalar dünyanın çeşitli yerlerinde denenmeye başlanmıştır. Bitkilerdeki hastalıkları tedavi edici özellik taşıyan etken maddeler bitkilerin, çiçek, yaprak, tohum, meyve, kök, gövde, kabuk gibi bölümlerinde bulunabilir. Bazı bitkilerin belirli kısımları kullanılırken bazılarının tümünden yararlanılır (Mammadov 2014; Mathew 2000).

Türkiye florasında yaklaşık olarak 650 kadar bitki halk hekimliğinde tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Baytop 1984). *Anemone* L., *Crocus* L., *Colchicum* L., *Cyclamen* L., *Eranthis* Salisb., *Fritillaria* L., *Galanthus* L., *Iris* L., *Leucojum* L., *Muscari* Medikus, *Ornithogalum* L., *Orchis* L., *Scilla* L. cinslerine ait bazı türlerin toprak altı organlarından elde edilen etken maddeler ilaç yapımında kullanılmaktadırlar. Örneğin; *Galanthus* L. (Kardelen) bitkisinden elde edilen “galanthamin” alkaloidi çocuk felci hastalığı döneminde uygulanan fizik tedavide



*Colchicum autumnale* L.'den elde edilen "colchicin" alkaloidi gut hastalığında ve *Urginea maritima* (L.) Baker soğanlarından elde edilen "scillaren" glikozitleri kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılabilir. Geofitlerin soğan, yumru ve rizomlarının içerdikleri etken maddeler, bunların tıbbi açıdan kullanılmasında büyük bir önem taşır (Demirhan 2001).

## 1.1 Çalışma Materyalinin Botanik Özellikleri

### 1.1.1 Iridaceae Familyası

Iridaceae familyası 80 kadar cinsiyle geniş ve oldukça çeşitlilik içeren bir familyadır. Ülkemizde ise bu familya 6 cins ile (*Iris*, *Gynandrisis*, *Romulea*, *Gladiolus*, *Hermodactylus* ve *Crocus*) temsil edilmektedir .

Bitkiler, rizomlu, kormlu veya soğanlıdır. Otsu, çok yıllık, yaprak ve çiçekleri mevsimlik türlere sahiptir. Yapraklar tabanda, çok sayıda, basit ve paralel damarlıdır. Familya tipik olarak bilateral eşit yapraklar, epigin çiçek durumu ve üç stamenli çiçekler ile karakterize edilmektedir (Rudall 1994). *Crocus*, Ixioidae altfamilyasının ülkemizde yayılış gösteren üç cinsinden biridir (Arber, 1925). Iridaceae familyası üyeleri güzel çiçek yapılarından dolayı park ve bahçelerde süs bitkisi olarak yetiştirilir (Baytop 1984).

### 1.1.2 *Crocus* L. Cinsi

*Crocus* L., Iridaceae familyasına ait Türkiye'de yayılış gösteren ve geofit cinsleri arasında takson sayısı bakımından en zengin olan cinstir (Arber 1925). Son yıllarda yapılan, morfolojik verilere dayanan veya moleküler tabanlı sistematik araştırmalar sonucunda çok sayıda yeni takson tespit edilmiş ve genetik çeşitliliğin ne kadar fazla olduğu belirlenmiştir.

*Crocus* cinsinin Türkiye'de yayılış gösteren 62 tane tür ve taksonunun bulunduğu belirtilirken; gen merkezinin Batı Anadolu olduğu bilinmektedir(Davis

1988; Güner ve diğ. 2000; Web 1). Türkiye’de *Crocus* taksonları üzerinde birbirinden bağımsız, morfolojik ve anatomik çalışmalar yapılmasına rağmen cinsin bütününe yönelik son zamanlarda yapılmış bir çalışma yoktur. Ülkemizde *Crocus* cinsinin 32 kadar taksonu bulunurken Denizli ve çevresinde toplam 6 taksonu yayılış göstermektedir. (Davis 1984; Seçmen ve diğ. 1998; Mathew 1982; Davis 1988; Güner ve diğ. 2000). Çok yıllık, yumrulu, sarı, mor, beyaz vb. renklerde çiçekleri olan otsu bitkilerdir. Çiçekleri, türüne bağlı olarak, ilkbahar ya da sonbaharda açar. Çiçekler geceleri ya da kötü havalarda kapanır.

Halk arasında “Çiğdem” olarak adlandırılan *Crocus* türleri M.Ö. 1600 yıllarından beri boya, ilaç ve parfüm yapımında kullanılmaktadır (Baytop 1984). Bunlardan en iyi bilineni türü *Crocus sativus* olup “safran” olarak tanınır. *Crocus sativus*’tan elde edilen safran, yiyeceklerde tatlandırıcı olarak uzun yıllardan beri kullanılmakta ve geleneksel tıbbın önemli bir komponenti olarak bilinmektedir. Bunun dışında biyolojik yönden oldukça önemli çok sayıda bileşiklerde içerdiği bilinmektedir.

**Tablo 1.1:** Denizli’de yayılış gösteren *Crocus* taksonları

<i>Crocus baytopiorum</i> Mathew
<i>Crocus biflorus</i> subsp. <i>crewei</i> (Hooker Fil.) Mathew
<i>Crocus flavus</i> Weston subsp. <i>dissectus</i> T.Baytop et Mathew
<i>Crocus fleischeri</i> Gay
<i>Crocus olivieri</i> Gay subsp. <i>olivieri</i> Gay
<i>Crocus cancellatus</i> Herbert subsp. <i>mazziaricus</i> (Herbert) Mathew
<i>Crocus pallasii</i> Goldb. subsp. <i>pallasii</i> Goldb.

### 1.1.3 *Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus*

*C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*’un çiçeklenmesi Eylül ve Kasım ayları arasındadır. Beyaz mavi arası renklerde çiçekleri vardır. Yapraklar çiçeklenmeden sonra çıkar. Yapraklar tabanda, çok sayıda, basit ve paralel damarlıdır. Korm yaklaşık, 0.5-1.5 cm çapında, basık küremsi şekildedir. Korm örtüsü zarımsı ya da derimsi, tabandaki halkalar dişli ve halkalar tabanda bölünmüştür. Kahverengi ya da kırmızımsı renktedir. Kormun tabanında küçük basal korm örtüsü bulunur. Kormun

merkezi, çoğunlukla etrafında fibriller bulunan bir merkezi disk içerir. Korm örtüsünün geri kalan kısmı halkalar şeklindedir. *Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus* dünyada çok yaygın bir bitkidir. *C. cancellatus* toplam 5 alt türü kapsar. Bunlar; subsp. *cancellatus*, subsp. *mazziaricus*, subsp. *lycius*, subsp. *damascenus* ve subsp. *pamphylicus*. Kestane tadında olan ve bol miktarda nişasta ve şeker içeren türlerin kormları da insanlar tarafından çiğ yada pişmiş olarak yenilmektedir (Baytop 1984). Kayalık yamaçlar, makilikler, koruluk açıklıkları ve fundalıklar gibi habitatlarda 50-2000 m yükseklikte rastlanmaktadır. *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun sınıflandırılması tablo 1.2’te verilmiştir.



**Şekil 1.1:** *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* bitkisi ve tunik yapısı

**Tablo 1.2:** *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun sınıflandırılması

ALEM	Plantae
ŞUBE	Magnoliophyta
SINIF	Liliopsida
TAKIM	Liliales
FAMİLYA	Iridaceae
CİNS	<i>Crocus</i>
TÜR	<i>Crocus cancellatus</i>
ALTTÜR	<i>Crocus cancellatus</i> subsp. <i>mazziaricus</i>

#### 1.1.4 *Crocus pallasii* subsp. *pallasii*

*Crocus pallasii* subsp. *pallasii* sonbaharda Ekim-Aralık ayları arasında çiçeklenir. Açıkta taşlı yerlerde dağınık kuru ve çalılıklarda 70 ile 2000 metre yükseklikte yetişir. Çiçekler lila tonlarında ve genellikle biraz daha koyu renkli damarlıdır. Soğan kabuğu (ya da korm tuniği) ince ağ gibi liflidir. Bu taksonda sarı anterler ve üç parçalı bir stilus bulunur. Ayrıca bu grupta stilus kısadır ve filamentlerin üzerinden bölünür. Çiçek ve soğan kabuğu özellikleri diğer türlerden ayırıcı unsurdur. *Crocus pallasii* türünün üç tane alttürü bulunmaktadır. Bunlar; subsp *pallasii*; subsp *turcicus*; subsp *dispathaceus*. *C. pallasii* subsp. *pallasii*'nin periantının boğaz kısmı beyazımsı ya da lila renktedir. *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun sınıflandırılması tablo 1.3'te verilmiştir.



Şekil 1.2: *C. pallasii* subsp. *pallasii* bitkisi ve tunik yapısı

Tablo 1.3: *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun sınıflandırılması

ALEM	Plantae
ŞUBE	Magnoliophyta
SINIF	Liliopsida
TAKIM	Liliales
FAMİLYA	Iridaceae
CİNS	<i>Crocus</i>
TÜR	<i>Crocus pallasii</i>
ALTTÜR	<i>Crocus pallasii</i> subsp. <i>pallasii</i>

## 1.2 Serbest Radikaller

Serbest radikaller son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron çifti içeren ve bundan dolayı kararlı bir yapıya sahip olmayan atom ya da moleküllerdir. Serbest radikal, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşan, atomik ya da moleküler yapılarda çiftleşmemiş bir veya birden fazla tek elektron içeren, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküllere verilen isimdir. Başka moleküllerle kolayca elektron alışverişine girebilen bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri (ROS) de denilmektedir(Çavdar ve diğ. 1997). Bu moleküller kararlı değildir ve diğer bazı maddelerle kolayca reaksiyona girerek, toksik etkisi yüksek yeni bileşikler meydana getirebilirler.

Serbest radikal oluşturan kaynaklar; radyasyon, virüsler, UV ışınları, hava kirliliği yaratan fosil kökenli yakıtların yanma ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyonlar, stres, bazı tahrip edici kimyasallar ve diğer bazı etkenlerdir. Serbest radikaller; kalp ve beyin damarlarının tıkanmasına bağlı hastalıklar, kanser, eklem hastalıkları ve damar sertlikleri gibi pek çok hastalığa sebep olmaktadır.

Serbest radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşurlar;

- ✓ Kovalent bağların homolitik kırılması ile,
- ✓ Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile,
- ✓ Normal bir moleküle elektron transferi ile oluşur.

## 1.3 Antioksidanlar

Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek vücudun etkilenmemesini veya kendini yenilemesini sağlayan maddelerdir. Antioksidanların, hücrelerin normal solunumu sırasında yan ürün olarak oluşan ROT (Bkz: sayfa 7) karşı vücut savunma sisteminde önemli bir rolü olduğuna inanılmaktadır.

Canlı organizmalarda oluşan serbest radikaller, genellikle lipit oksidasyonuna ve devamında hücre ölümlerine neden olmaktadır. Antioksidanlar bu oksidasyonun çeşitli aşamalarında değişik mekanizmalar yoluyla koruyucu özelliklere sahiptir. Hem doğal kaynaklardan hem de sentetik kaynaklardan elde edilebilirler. Bu

maddeler, oluşan serbest radikalleri ya doğrudan temizleyerek ya da bu türlere elektron veya hidrojen aktarımı yaparak etkisiz hale getirirler. Antioksidanlar hepimizin bildiği C vitamini, E vitamini ve A vitamininin öncü maddesi olan  $\beta$ -karoten, bitki ve sebzelerin genelde renkli maddelerini oluşturan flavonoidler ve bunlardan elektron alan selenyum, çinko gibi maddelerdir (Mammadov 2014).

Antioksidanların etki mekanizmaları şunlardır:

1. Reaktif oksijen türlerinin enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla veya doğrudan temizlenmesi.
2. Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi.
3. Metal iyonlarının bağlanması ve böylece radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi.
4. Serbest radikallerin bağlandığı organik moleküllerin hasar sonrası tamiri ve temizlemesi (Mammadov 2014).

Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında glutatyon, sistein, ürik asit, seruloplazmin, albumin, haptoglobin, laktoferin, E vitamini, C vitamini ve karotenoidler bulunmaktadır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ise enzimatik antioksidanlardır. C vitamini, E vitamini,  $\beta$ -karoten ve riboflavin, gıdalarda bulunduğu bilinen doğal antioksidanlardır. Sodyum benzoat ve propil gallat gıdalarda koruyucu antioksidanlar olarak kullanılmaktadır. E vitamini doğal bir antioksidandır. Peroksidleri ve serbest oksijen radikallerini nötralize etmektedir (Mammadov 2014).

Karotenoidler antioksidan ajanlar olarak bilinmektedirler ve polifenol özellik göstermemektedirler. Bitkiler doğal antioksidanlar açısından oldukça zengin kaynaklardır. Özellikle fenolik bileşikler, bu yeteneklerinden dolayı ön plana çıkmaktadır (Sanjust ve diğ. 2008)

#### 1.4 Sekonder Metabolitler

Günümüzde bitkiler, çeşitli hastalıklarla savaşta önemli bir kaynak olarak bilinmekte ve bu bitkilerden bir çoğu, yeni terapötik ajanların keşfi için çeşitli araştırmalarda kullanılmaktadır (Konig 1992). Bitkiler içerdikleri maddelerle, kendilerine beslenme ve savunma mekanizması oluşturmasının yanı sıra insan ve hayvan sağlığı açısından da büyük öneme sahiptir. Bitkilerin geleneksel veya tıbbi amaçla halk arasında kullanımı olarak adlandırılan 'etnobotanik' hakkındaki yazılı bildirimler M.Ö. 3000'li yıllara kadar eski Mısır, Hitit, Grek ve Roma dönemlerinde papirus ve diğer kaynaklardan tespit edilmiştir (Noyanalpan 1986).

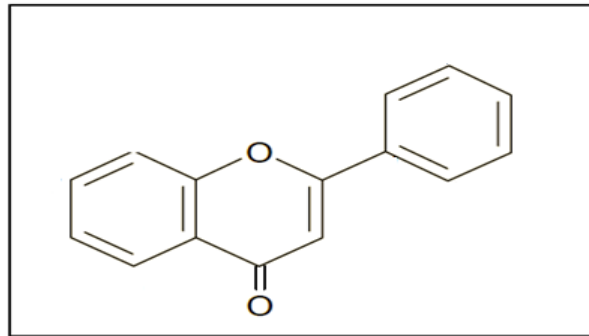
Bitkilerde de tüm canlılarda olduğu gibi polisakkaritler, proteinler, yağlar ve nükleik asitler temel yapı taşlarıdır ve bunlar primer metabolitler olarak isimlendirilirler. Primer metabolitler tüm bitkiler için ortaktır (Wink 2003). Bitkiler, çoğu fenoller ve türevleri olan aromatik madde sentezleme yeteneğine sahiptir. Bu aromatik maddelerin çoğu sekonder metabolitler olup yaklaşık 12.000'i izole edilmiştir (Cowan 1999). Çok fazla yapıya sahip olan sekonder metabolitler yüksek bitkilerin tümünde mevcuttur (Wink 2003). Bu metabolitler bitkilerin varlığı açısından çok önemli değildir ancak türlerin yaşamlarını sürdürmelerinde önemli roller üstlenmektedirler. Bitkilerde bulunan bu metabolitler savunma mekanizması olarak görev yapar. Sekonder metabolitler, bitkide aktif halde olabildiği gibi yaralanma, enfeksiyon ya da herbivorlara karşı 'prodrug' halinde aktifleşebilirler. Bitkiler aktif hareket edemediği için diğer canlıların istilasına maruz kalmaktadır. Bu nedenle bitkiler özellikle yaprak, çiçek ve meyvelerinde olmak üzere birçok bölgesinde çoğunlukla fenolik bileşiklerin, tanenlerin, esansiyel yağların ve saponinlerin dahil olduğu çeşitli sekonder metabolitler bulundurur (Mammadov 2014).

Yakın zamana kadar ilaç sanayisinin hızlı ilerleyişiyle göz ardı edilen bitkilerle tedavi, sentetik ilaçların neden olduğu olumsuz etkiler nedeniyle günümüzde yeniden önem kazanmıştır. Bitkiler üzerinde yapılan çalışmalar, birçok hastalığa karşı kullanılan yeni ilaçların keşfine öncülük etmiştir. Bitkilerin bünyesinde var olan sekonder metabolitlerin keşfi, bu alanda yapılan çalışmaları arttırmıştır. Yapılan araştırmalarda sekonder metabolitlerin antioksidan,

antimikrobiyal, antiviral, anti-bakteriyal, antikanser, yaşlanmayı geciktirici gibi farklı biyolojik aktiviteler gösterdiği ortaya koyulmuştur (Orhan ve diğ. 2006).

Fenolik bileşenler yapısında, aromatik halkanın karbon atomları ile birleşmiş olan bir veya birkaç adet hidroksil grubu bulunduran, doğal bileşenlerdir. Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar (Mammadov 2014). Günümüzde binlerce fenolik bileşiğin yapısı tanımlanmış ve sürekli olarak yenileri de eklenmektedir (Cemeroğlu 2004; Kafkas ve diğ. 2006). Fenolik bileşikler bitkilerin meyve, yaprak, ve gövde gibi birçok kısmında bulunabilirler (Bilaloğlu ve diğ. 2004; Coşkun 2006; Aydın 2007). Flavonoidler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan polifenolik antioksidanlardır. Fenolik bileşiklerin bir kısmı meyve ve sebzelerin lezzetinin ve özellikle acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunun oluşumunda etkilidirler. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin farklı tonlardaki renklerinin oluşmasında etkilidirler. (Cemeroğlu 2004; Güngör 2007; Zor 2007). Meyveler, özellikle içerdikleri fenolik bileşiklerin antioksidatif ve antimikrobiyal etkileri ve sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedir (Pehlivan ve diğ. 2004; Balasundram ve diğ. 2006; Saldamlı 2007).

Flavonoidlerin yapısındaki OH grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla glikozitlenir (Bilaloğlu ve diğ. 1999). Flavan türevleri olan flavonoidlerin genel yapısı Şekil 1. 3' te verilmiştir (Shahidi 2005).



**Şekil 1.3:** Flavonoidlerin genel yapısı



## 1.5 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi(HPLC) ile Fenolik Bileşiklerin Analizi

Kromatografi bir karışımdaki bileşenlerin biri hareketli diğeri sabit iki faz arasındaki dağılım dengelerine dayanan analiz yöntemidir. Bileşenler hareketli faz tarafından sabit faz üzerinde sürüklenir. Hareketli faz ile etkileşimi fazla olan bileşenin sürüklenme hızı da fazladır (Isık 2010).

Analiz örneğini içeren sıvı çözelti sisteme enjeksiyon yoluyla uygulanır ve kolona hareketli fazın akışında çözünerek sürüklenir. Kolondan geçen madde ya da maddelerin çıkışı özel kimyasal ve/veya fiziksel etkileşimler neticesinde belli bir gecikme ile gerçekleşir. Bu gecikmeye alıkoyma denir. Maddelerin kimyasal ve fiziksel davranış farkları alıkoyma farkını oluşturur ve ayırımı sağlar (Meyer 1998; Isık 2010).

YPSK (HPLC) bütün analitik ayırma yöntemleri arasında en yaygın kullanılanıdır. Bunun nedenleri ise:

- ✓ Duyarlılığı olması
- ✓ Doğruluğu yüksek miktar tayinlerine kolayca uyarlanabilmesi
- ✓ Uçucu olmayan ve sıcakta kolayca bozunan maddelerin ayrılmasında uygun olması
- ✓ Sanayinin, birçok bilim dalının ve halkın birinci derecede ilgilendiği maddelere geniş bir şekilde uygulanabilirliğidir

## 1.6 Sitotoksik Aktivite

Sitotoksik maddeler, hücreye toksik şekilde etki edip hücreyi öldüren ya da fonksiyonunu durduran maddelerdir. *Artemia salina*, tuzlu sularda, tuz göllerinde, yaşayan bir tür eklem bacaklıdır. Tuz karidesleri olarak da bilinirler. Okyanuslarda yaşamaz. *Artemia* yumurtaları uzun süre dayanır. Brine shrimp (*Artemia salina*) letalite testi bitki ekstraktlarının biyoaktivitesinin (sitotoksikite) belirlenmesinde basit, güvenilir ve uygun bir metottur (Meyer ve diğ., 1998). Yapılan birçok çalışmada bitki ekstraktlarının potansiyel sitotoksik aktivitesinin bu yolla belirlendiği tespit edilmiştir (Sökmen 2001; Oturgan 2007; Pourfraidon ve Sharma 2009).

	<b>Alem</b>	<b>Animalia</b>
	<b>Şube</b>	<b>Arthropoda</b>
	<b>Alt Şube</b>	<b>Crustacea</b>
	<b>Sınıf</b>	<b>Branchiopoda</b>
	<b>Takım</b>	<b>Anostraca</b>
	<b>Familya</b>	<b>Artemiidae</b>
	<b>Cins</b>	<b>Artemia</b>
	<b>Tür</b>	<b>Artemia salina</b>

**Şekil 1.4:** *Artemia salina*'nın görünüşü ve sınıflandırılması

## 1.7 Kan ile İlgili Biyokimyasal Çalışmalar

Kan değerlerindeki değişim birçok hastalığın teşhisinde önemli sonuçlar vermektedir. Organizmada, önce biyokimyasal değişimler, sonra organlarda fonksiyon bozuklukları ve ardından biçimsel bozukluklar ortaya çıkabilmektedir (Keskin 2012).

### 1.7.1 Serumda Bulunan Enzimler

Hastalık durumlarında, hastalığın teşhisi için enzim değerlerinin belirlenmesi çok önemlidir. Serum ve plazmadaki pek çok enzim değişimleri dolayısıyla aktiviteleri, bir dokunun hücreleri tahrip olduğunda, enzimlerin hücre dışına sızmaları artacağından yükselir (Keskin 2012).

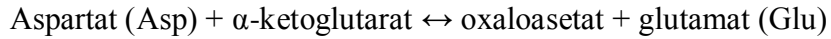
Serum enzimlerini kökenleri ve işlevlerine göre üç gruba toplamak mümkündür.

- ✓ Plazmaya özgü enzimler
- ✓ Salgılanmış enzimler
- ✓ Hücresel enzimler

Hücre ve salgı enzimlerinin serumdaki aktivitelerinin yükselmesi, çoğunlukla bozulan hücre membranı geçirgenliğinin değişimi sonucunda, hücre içerisinden kana geçmesi ile olmaktadır. Bu durum doku ve organlarda bir takım patolojik değişikliklerin meydana geldiğinin bir göstergesidir (Keskin 2012).

#### **1.7.1.1 Aspartat Transaminaz (AST)**

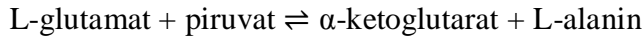
Aspartat amino transferaz, serum glutamik oksaloasetik transferaz (SGOT) olarak da isimlendirilir. AST, aspartat ve glutamat arasındaki bir  $\alpha$ -amino grubunun geri döndürülebilir transferini katalize eder. AST, karaciğer, kalp, iskelet kası, böbrek, beyin ve kırmızı kan hücrelerinde bulunur (Keskin 2012).



#### **1.7.1.2 Alanin Aminotransferaz ( ALT )**

Alanin transaminaz veya serum glutamik-piruvik transaminaz olarak da isimlendirilir. ALT hücre sitoplazmasında bulunur.

ALT, L-glutamat ve  $\alpha$ -ketoglutarat arasındaki amino grubunun geri döndürülebilir transferini katalize eder (Keskin 2012).



#### **1.7.1.3 Gamma Glutamil Aminopeptit Transferaz ( GGT )**

Gama glutamil peptid, amino-asit-gama-glutamik transferaz, gama- transferaz (GT) diğer isimleridir. GGT düzeyinin belirlenmesi, kolestatik hepatik hastalıklar için hassas ve spesifik bir testtir. GGT, gama glutamil grubunun peptidler arasında veya L-amino asitlere veya bu alıcıya geri dönüşümlü olarak transferini katalize eden bir enzimdir. Sitolde bulunmasına ilaveten hücre membranında da önemli oranda yer alır (Horiuchi ve diğ., 1978).

### 1.7.2 Üre

Üre karbon, azot, oksijen ve hidrojenlerden oluşan küçük organik bir molekül olup kan ve diğer vücut sıvılarının ortak bir unsurudur. Üre diyetle alınan proteinin yakılması sonucu ortaya çıkan makro moleküldür. Vücut tarafından kullanılıp yıkıldıktan sonra metabolizmanın nitrojen içeren üre bileşkeridir ve karaciğerde amonyaktan sentez edilirler. Vücut tarafından kullanılmazlar ve böbrek tarafından atılırlar. Eğer böbrek tam olarak fonksiyonlarını yerine getiremiyorsa bu bileşikler kandan filtre edilemez. Ürenin yükselmesi, proteinin, nitrojen artıklarının vücuttan atılmadığına işarettir (Keskin 2012).

### 1.8 Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada, kimyasal içerikleri açısından çok önemli geofitlerin yer aldığı *Iridaceae* familyasında olan ve Denizli İli'nde yayılış gösteren *Crocus* L. cinsine ait *C. pallasii* subsp. *pallasii* ve *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonlarının üzerinde çalışılmıştır. Bu doğrultuda, *Crocus pallasii* subsp. *pallasii* ve *Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonları üzerinde kimyasal içeriklerinin belirlenmesi amacıyla karakterizasyon ve biyolojik aktivitelerinin(antioksidan aktivite belirleme, fenolik bileşikler ve flavonoidlerin miktar tayini, HPLC ile aktif bileşenlerin belirlenmesi, sitotoksik ve histo-biyokimyasal çalışmalar,) çalışmaları yapılmıştır.

## 2. MATERYAL

### 2.1 Bitki Örneklerinin Toplanması

Arazi çalışmaları kapsamında tez çalışmalarında yer alan *C. pallasii* subsp. *pallasii* ve *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonlarının alternatif lokaliteleri ilgili kaynaklar (Davis 1984) taranarak tespit edilmiştir ve bu türlerin çiçeklenme dönemleri, yayılış gösterdikleri lokaliteler, habitatları ve yükseklikleri doğrultusunda bir arazi çalışma planı hazırlanmıştır. Bu arazi planı sayesinde örnekler doğru zaman ve lokalitelerden toplanmıştır. Arazi çalışmaları sırasında farklı lokalitelerden toplamak suretiyle her bitki türünden yer altı ve yerüstü kısımlar birlikte alınarak 0.3-0.5 kg. yaş kitle toplanmıştır. Toplanan türler endemik değildir ancak bu işlemler yapıldığı zaman ekolojik dengenin bozulmamasına ve bu türlerle aynı ortamı paylaşan endemik türlerin tahrip edilmemesine özen gösterilmiştir.

**Tablo 2.1:** Bitkilerin toplandığı lokaliteler

Taksonlar	Toplanma İstasyonları
<i>C. pallasii</i> subsp. <i>pallasii</i>	✓ Kazıkbeli-Serinhisar / DENİZLİ (800-1200m. - taşlık alan) ❖ 2014-2015-Ekim/Kasım arası
<i>C. cancellatus</i> subsp. <i>mazziaricus</i>	✓ Kazıkbeli-Serinhisar / DENİZLİ (800-1200m. - taşlık alan) ❖ 2014-2015-Ekim/Kasım arası ✓ Alikurt köyü- Bozkurt / DENİZLİ (800 m - açık alan) ❖ 2014- Ekim/Kasım arası

Türlerin teşhisi Pamukkale Üniversitesi Biyoloji Bölümü Sistematik Botanik Laboratuvarı'nda Prof. Dr. Olcay DÜŞEN tarafından gerçekleştirilmiştir.

### 3. YÖNTEMLER

#### 3.1 Bitkilerin Kurutulması ve Ekstraksiyon İşlemleri

Bitkiler araziden toplandıktan sonra (3-5 adet) morfolojik özelliklerini çok fazla kaybetmeden herbaryum kurallarına göre preslenmiştir. Preslenen örnekler toplayıcı tarafından numara verilmek suretiyle kayda geçirilip ve laboratuvar çalışmaları için hazır hale getirilmiştir. Bitki laboratuvar ortamında serilerek, kurutulup toz haline getirilmiştir.



Şekil 3.1: Bitkilerin kurutulması ve ekstraksiyona hazırlanması

Ekstraksiyonlar değişik çözücülerin (etanol, metanol, distile su ve aseton) kullanımı ile hazırlanmıştır. Karışım çalkalamalı su banyosunda 50 °C'de 6 saat bekletilerek süzülüp, daha sonra kalıntının üzerine tekrar çözücü eklenerek bir kez daha su banyosunda aynı işlem yapılmıştır. Bu işlem üç kez tekrarlanmıştır. Daha sonra, alınmış çözeltideki çözücü rotary evaporatörde uçurulup, çözelti ekstraler haline getirilince, ekstrenin yapısındaki su liyofilizatörde dondurularak çekilmiştir. Elde edilen sert bitki ekstraksiyonu yapılacak analizlere göre gerekli konsantrelerde uygun çözücülerde çözünerek kullanılmıştır. Ekstreler biyolojik aktivite ve aktif bileşenlerin belirlenmesi çalışmalarında kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Feresin ve diğ. 2000).



**Şekil 3.2:** Bitkilerin ekstraksiyon aşamaları

## **3.2 Antioksidan Aktivite Analiz Yöntemleri**

### **3.2.1 Serbest Radikal Giderim Aktivitesinin Belirlenmesi**

Bu yöntem ilk kez Blois (1958) tarafından DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikallerinin (Şekil 2.8) antioksidan moleküllerin tayininde kullanılabileceğinin önerilmesi ile ortaya çıkmıştır. Antioksidan aktivite ölçümlerinin yoğunlaştığı yıllarda Brand-Williams ve arkadaşları (Brand-Williams ve diğ. 1995) yöntemi geliştirmiş ve bu yöntem pek çok araştırmacı tarafından referans olarak kullanılmıştır.

Ekstraktların serbest radikal giderim aktiviteleri DPPH radikali kullanılarak belirlenmiştir (Wu ve diğ. 2006). DPPH'nin %0.004'lük (w/v) metanolik çözeltisinin 4 ml'si, ekstraktların 1 ml (0.2-1.0 mg)'si ile karıştırılmıştır. 30 dakika karanlık ortamda oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldıktan sonra, örneklerin absorbansı 517

nm'de ölçülmüştür. Özütlelerin absorbanans değerleri kullanılarak % inhibisyon değerleri aşağıda verildiği şekliyle hesaplanmıştır (Duh ve diğ. 1997):

$$\text{İnhibisyon (\%)} = 100 - [(A_1 / A_0) \times 100]$$

(A<sub>0</sub>: Kontrolün absorbanansı; A<sub>1</sub>: Örneğin absorbanansı)

Elde edilen % inhibisyon değerleri, mg/mL olarak belirlenen özütle derişimlerine karşı grafiğe geğirilmifitir. Pozitif kontrol olarak bütül hidroksi toluen (BHT) kullanılmıştır. Tüm deneyler üç tekrar halinde yapılmıştır.



şekil 3.3: DPPH hazırlanışı ve serbest radikal giderim aktivitesi konsantrasyonları

### 3.2.2 $\beta$ -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi

Ekstraktların antioksidan aktivitesi  $\beta$ -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenmiştir (Amin ve Tan 2002).  $\beta$ -karoten çözeltisi için, 0.2 mg  $\beta$ -karotenin 1 ml kloroformda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Bu çözeltinin 1 mililitresine 0.02 ml linoleik asit ve 0.2 ml (%100) Tween 20 ilave edilmiştir. Elde edilen karışımdaki kloroform rotary evaporatörde 40 C' de 10 dk uçurulduktan sonra 100 ml dH<sub>2</sub>O ilave edilerek seyreltilmiştir. Hazırlanan bu emülsiyondan 4.8 ml alınarak içerisinde 0.1 mg örneğ içeren 0.1 ml ekstrakt çözeltileri bulunan test tüplerine aktarılmıştır. Kontrol için test tüpüne  $\beta$ -karoten olmaksızın ekstrakt yerine sadece 0.1 ml çözücü (aseton, etanol, metanol ve distile su) konulmuştur. Emülsiyon test tüplerine aktarıldıktan hemen sonra spektrofotometre (Shimadzu UV-1601, Japon) kullanılarak baslangığ absorbanansları 470 nm' de ölçülmüştür. Tüpler 50 °C'de su banyosunda inkübe edilmiştir. Örneğlerin absorbanans ölçümlerine yarım saat



aralıklarla 2 saat boyunca devam edilmiştir. Toplam antioksidan aktivite aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$AA: [ 1 - (A_0 - A_t / A_0^{\circ} - A_t^{\circ}) \times 100$$

$A_0$ : örneğin ilk absorbansı,  $A_t$ : kontrolün ilk absorbansı

$A_0^{\circ}$ : örneğin 120 dk sonraki absorbansı,  $A_t^{\circ}$ : kontrolün 120 dk sonraki absorbansı

Standart olarak BHT kullanılmıştır.



Şekil 3.4: β-karoten çözeltisinin hazırlanışı

### 3.2.3 İndirgeme Gücü Kapasitesinin Belirlenmesi (FRAP)

İndirgeme gücü kapasitesi, Oyaizu (1986) tarafından belirlenen yöntemle tespit edilmiştir. Özütlerin 1 ml'si (0.2- 0.8- 1.0 mg/ml) test tüplerine konularak her bir tüpe 2.5 ml 0.2 M fosfat tamponu (pH: 6.6) ve 2.5 ml % 1'lik potasyum ferrosiyaniür ilave edilmiştir. Karışım 50 °C'de 30 dk inkübe edilmiştir. Daha sonra tepkime karışımına 2.5 ml %10'luk triklorasetik asit ilave edilmiş ve 3000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiştir. Bunun sonucunda çözülden 2.5 ml alınmış ve üzerine 2.5 ml dH<sub>2</sub>O ve % 0.1'lik 0.5 ml FeCl<sub>3</sub> ilavesinden sonra 700 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Kontrol olarak örnek yerine çözücüler kullanılmıştır. Bu test sisteminde BHT pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

### **3.2.4 ABTS Radikal Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi**

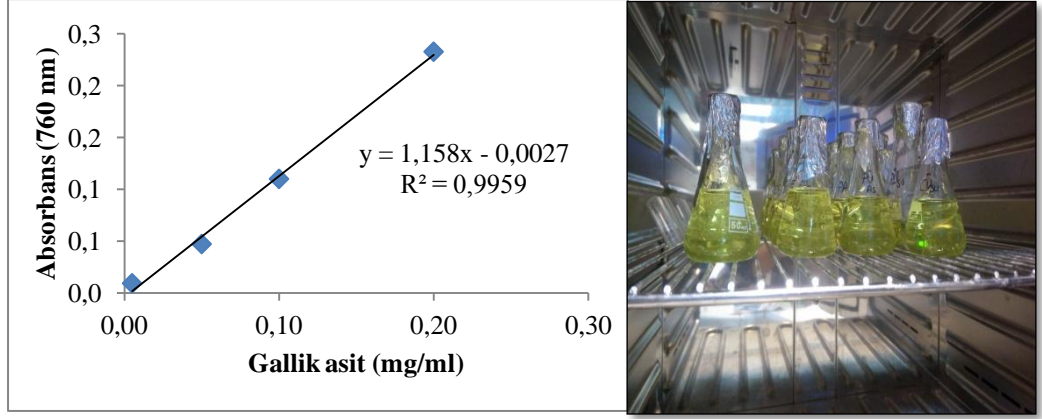
Distile suda hazırlanmış 7.4 mM ABTS (2,2'-Azino-bis,3-etilbenzenothiazoline-6-sülfonik asid) çözeltisi ve potasyum persülfat çözeltisinden 1 ml alınarak karıştırılmış ve 12-16 saat karanlıkta bekletilmiştir. Bu karışımdan 1 ml alınarak üzerine 60 ml metanol ilave edilmiştir. Bu çözeltinin 734 nm'de spektrofotometrede absorbansı metanole karşı okunmuş ve absorbans 700 nm oluncaya kadar aynı işlem tekrar edilmiştir. Her deney için bu karışım taze olarak hazırlanmıştır. Ekstraktlardan stok hazırlanıp ve stoktan 3 konsantrasyon elde edilmiştir (02-04-08 mg/ml). Hazırlanan metanollü ABTS çözeltisinden 2 ml alınıp oluşturulan konsantrasyonlar üzerine eklenmiştir. Bitki ekstresi konulup 30 dk karanlıkta bekletilmiştir. Spektrofotometrede 734 nm'de absorbans değeri okunmuştur. Standart olarak Troloks kullanılmıştır. Troloks yardımı ile çizilen standart eğriden ABTS radikal giderme aktivitesi hesaplanmıştır (Re ve diğ. 1999).

## **3.3 Sekonder Metabolit Miktar Tayini Çalışmaları**

### **3.3.1 Fenolik Bileşen Miktarının Belirlenmesi**

Bu yöntem 1999'da Singleton ve diğ. tarafından önerilmiş ve daha sonra farklı uygulayıcılar tarafından geliştirilmiştir.

Ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarları Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) kullanılarak gallik asite eşdeğer olarak belirlenmiştir (Chandler ve Dodds 1983; Singleton ve diğ. 1999). İçerisinde 1.0 ml ekstrakt çözeltisi (1 mg/ml) bulunan test tüplerine 45 ml dH<sub>2</sub>O, 1 ml FCR ve 3 dakika sonra da % 2.0'lik sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) çözeltisinden 3 ml ilave edilmiştir. Karışım 2 saat süresince oda sıcaklığında inkübasyona bırakılıp periyodik aralıklarla çalkalanmıştır.



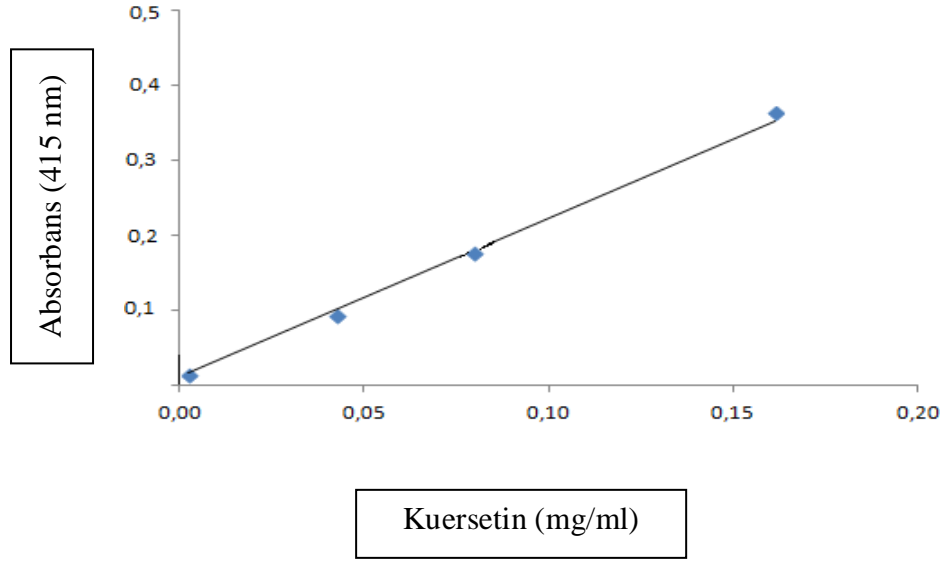
**Şekil 3.5:** Gallik asit kalibrasyon grafiği ve bitkilerin ekstrakt çözeltisi

Örneklerin absorbans değerleri 760 nm’de tespit edilmiştir. Ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarları standart gallik asit grafiğinden (Şekil 3.9) elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir: ( $y = 1,158x - 0,0027$   $R^2 = 0,9959$ )

### 3.3.2 Flavonoid Miktar Tayini

Özütlerin toplam flavonoid bileşik miktarları Arvouet-Grand ve ark. (1994) tarafından belirlenen yöntem kullanılarak quercetin’e eşdeğer olarak belirlenmiştir. İçerisinde 1.0 ml metanollü ekstrakt çözeltisi (1.0 mg/ml) bulunan test tüplerine % 2.0’lik 1.0 ml metanolde hazırlanan  $AlCl_3$  çözeltisi ilave edilip oda sıcaklığında 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. Kör olarak sadece metanol kullanılmıştır. Absorbans ölçümleri 415 nm’de gerçekleştirilmiştir. Ekstraktların toplam flavonoid miktarları standart kuersetin grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir:

$$\text{Absorbans} = 0.0322 \text{ quercetin } (\mu\text{g}) - 0.005 \text{ (} R^2: 0,997 \text{)}$$



Şekil 3.6: Kuersetin kalibrasyon grafiği

### 3.4 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Bileşiklerin Analizi

Analizler; Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü Laboratuvarları'nda yapılmıştır.

*C. pallasii* subsp. *pallasii* ve *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*'un etanolik toprak altı ekstraktlarının HPLC'de fenolik bileşik tayini verilen yöntemle göre belirlenmiştir. Numuneden 0.2 g tartılıp mobil fazda çözülmüş ve 0.45 µm filtreden geçirilip HPLC sistemine enjekte edilmiştir (Gomes ve diğ. 1999)

Fenolik bileşik tayini için gallik asit, 3,4-dihidroksi, 4-dihidroksi, klorojenik asit, kafeik asit, vanilik asit, p-coumarik asit, ferulik asit, sinnamik asit standartları kullanılmıştır.

Kullanılan Sistem: Shimadzu Prominence Marka HPLC

CBM: 20ACBM

Dedektör: DAD (SPD-M20A)

Kolon Fırını: CTO-10ASVp

Pompa: LC20 AT

Autosampler: SIL 20ACHT

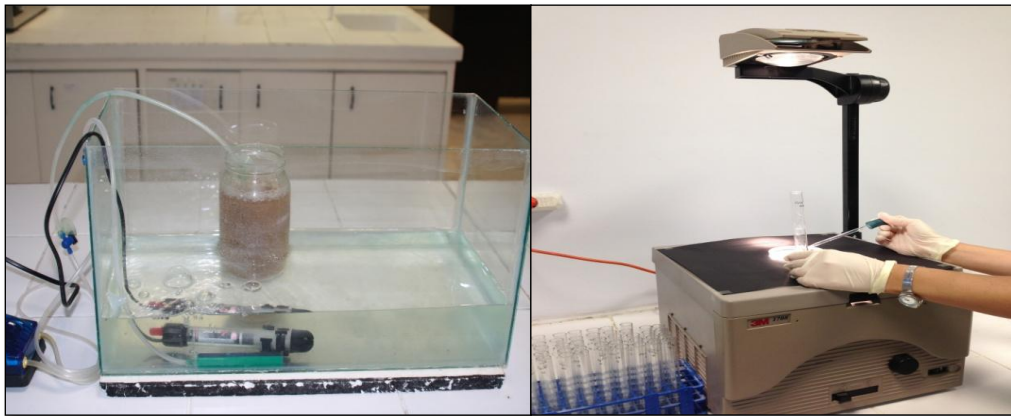
Bilgisayar Programı: LC Solution

Mobil Faz: A: %3 Formik asit B: Metanol

### 3.5 Sitotoksik Çalışmalar (Brine Shrimp Yöntemi)

Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) Letalite testi, bitki ekstraktlarının biyoaktivitesinin belirlenmesinde basit, güvenilir ve uygun bir metottur (Meyer ve ark. 1998).

*Artemia salina* yumurtaları (10 mg) 500 ml deniz suyunda, pH 7–8 ve 28 °C olacak şekilde ışık altında inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonra olgunlaşan *Artemia* larvaları (nauplii) pastör pipet yardımıyla toplanmıştır. On adet nauplii pastör pipet yardımıyla seçilmiş ve 4.5 ml deniz suyu içeren deney tüplerine alınmıştır. Her bir tüpe 0.5 ml bitki ekstratı da eklendikten sonra nauplii'ler ışık altında ve oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. Süre sonunda yaşayan nauplii'ler tepегöz altında sayılıp, kaydedilmiştir (Krishnaraju ve ark. 2005). Deney, beş farklı konsantrasyonda (10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml, ve 1000 µg/ml) ve üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Bitki ekstraktı olmayan (kontrol grubu) düzenekteki yaşayan nauplii'ler ile deney grubu karşılaştırılmıştır. Bütün uygulamalar için % ölüm oranları hesaplanmıştır.



Şekil 3.7: Sitotoksosite deneyinin yapılışı

### 3.6 Histo-Biyokimyasal Çalışmalar

*Crocus* taksonlarının bazı histolojik aktivitelerini belirleyebilmek için *Crocus* taksonlarının etanollü ekstralarının %0.5'lik ve %1'lik konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmış ve her grupta 7 sıçan olacak şekilde 9 grup sıçana belirtilen kaynaktaki yöntem esas alınarak uygulanmıştır (Keskin ve diğ. 2012). Bir grup kontrol, diğer 8 grup deney grubu olarak ayrılmış ve toplamda deneyde 63 sıçan kullanılmıştır. Kontrol grubu hariç diğer hayvanlar ayrı ayrı kafeslere koyulmuştur. Solüsyonlar hayvanların su şişelerine doldurulup içmeleri sağlanmıştır. Hayvanlar üzerinde bu çalışmaları yapabilmek için gerekli etik kurul izinleri alınmıştır.

1. Kontrol grubu
2. *Crocus pallasii* subsp. *pallasii* (yer altı- % 0.5)
3. *Crocus pallasii* subsp. *pallasii* (yer altı- % 1)
4. *Crocus pallasii* subsp. *pallasii* (yer üstü- % 0.5)
5. *Crocus pallasii* subsp. *pallasii* (yer üstü- % 1)
6. *Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus* (yer altı- % 0.5)
7. *Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus* (yer altı- % 1)
8. *Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus* (yer üstü- %0.5)
9. *Crocus cancellatus* subsp. *mazziaricus* (yer üstü- % 1)



Şekil 3.8: Deney grupları ve solüsyonun içirilmesi

Histo-biyokimyasal aktiviteler için kan alma işlemleri solüsyonlar iirilmeye başlanmadan önce, iirilmeye başlandıktan 15. gün ve 30. gün sonunda olmak üzere üç kez tekrarlandı.

### **3.7 İstatistiksel Hesaplamalar**

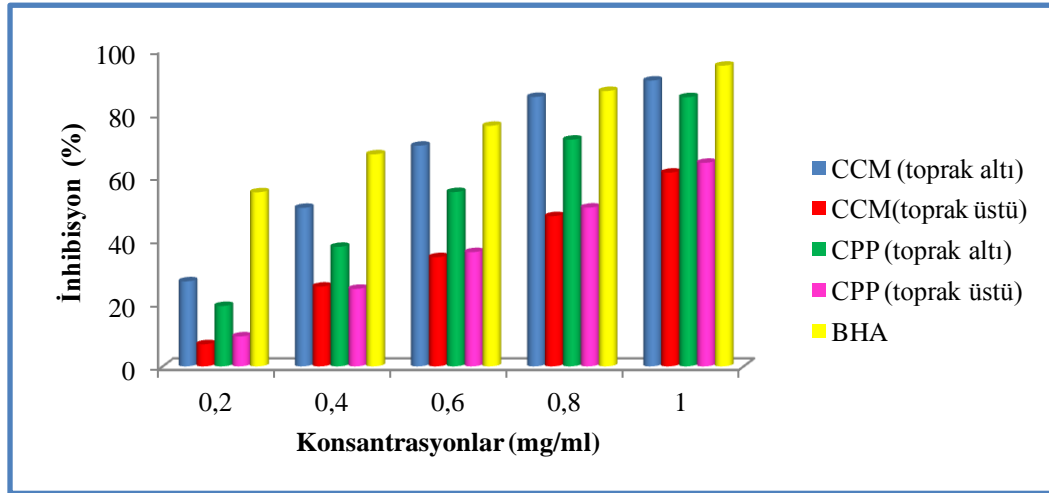
Elde edilen verilerin analizi için gerçekleştirilen istatistiksel testler Minitab istatistiksel paket programı kullanılarak yapılmıştır. Antioksidan deney sonuçlarında; verilerin karşılaştırılmasında çok yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Ve gruplar arasında hangi grubun diğerlerinden farklı olduğunun belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır. Histokimyasal deney bulgularının karşılaştırılmasında ise iki grup arası karşılaştırmalarda T- testi, ikiden fazla gruplar için Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır ve gruplar arasında hangi grubun diğerlerinden farklı olduğunun belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır. Aynı grup üzerinde iki farklı okumanın gerçekleştirildiği verilerin karşılaştırılmasında bağımlı t-testi kullanılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

#### 4.1.1 Serbest Radikal Giderim Aktivite Sonuçları

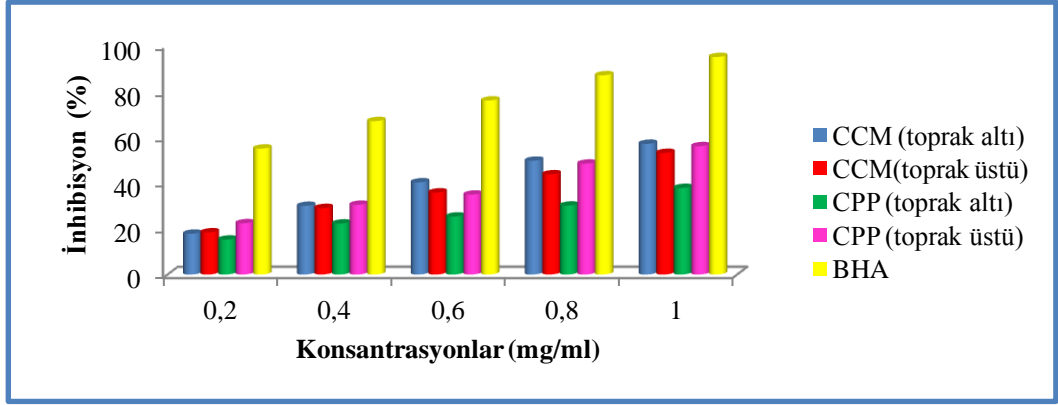
*C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* ve *C. pallasii* subsp. *pallasii* bitkisinin farklı çözücü ve konsantrasyonlardaki DPPH serbest radikal giderim kapasiteleri Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.1: *Crocus* L. taksonlarından hazırlanan aseton ekstraktlarının (0.2 - 1 mg/ml) inhibisyon grafiği (CCM: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*; CPP:*C. pallasii* subsp. *pallasii*)

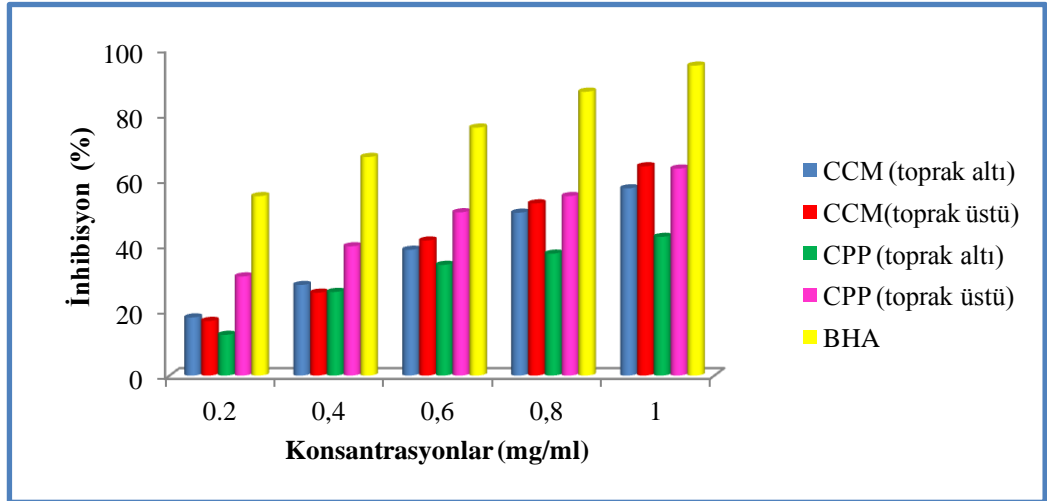
Şekil 4.1’e göre; aseton ile hazırlanmış ekstraktlarda inhibisyon değeri; en yüksek *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak altı kısmında görülürken; en düşük ise *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak üstü kısmında görülmüştür.





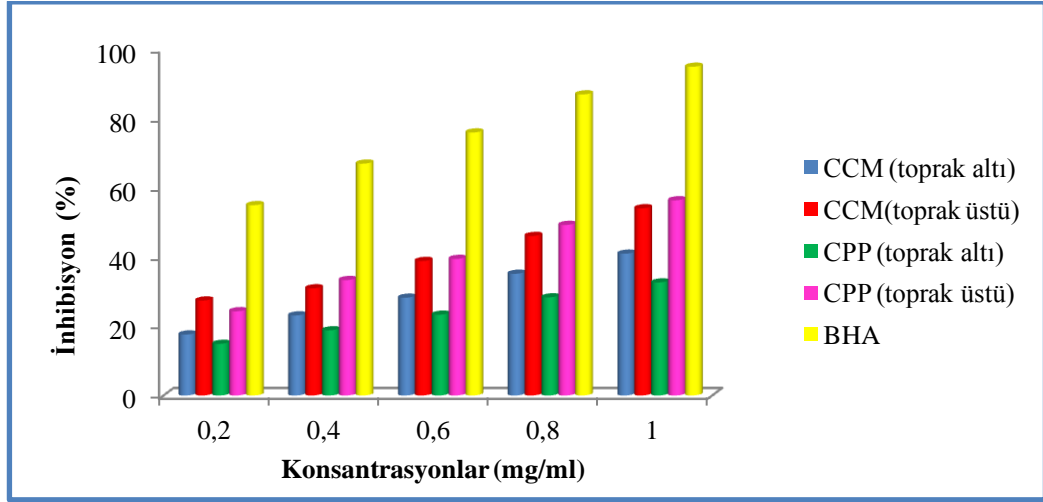
**Şekil 4.2:** *Crocus L.* taksonlarından hazırlanan etanol ekstraktlarının (0.2-1 mg/ml) inhibisyon grafiği (CCM: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*; CPP: *C. pallasii* subsp. *pallasii*)

Şekil 4.2'ye göre; etanol ile hazırlanmış ekstraktlarda inhibisyon değeri; en yüksek *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak altı kısmında görülürken; en düşük ise *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak altı kısmında görülmüştür.



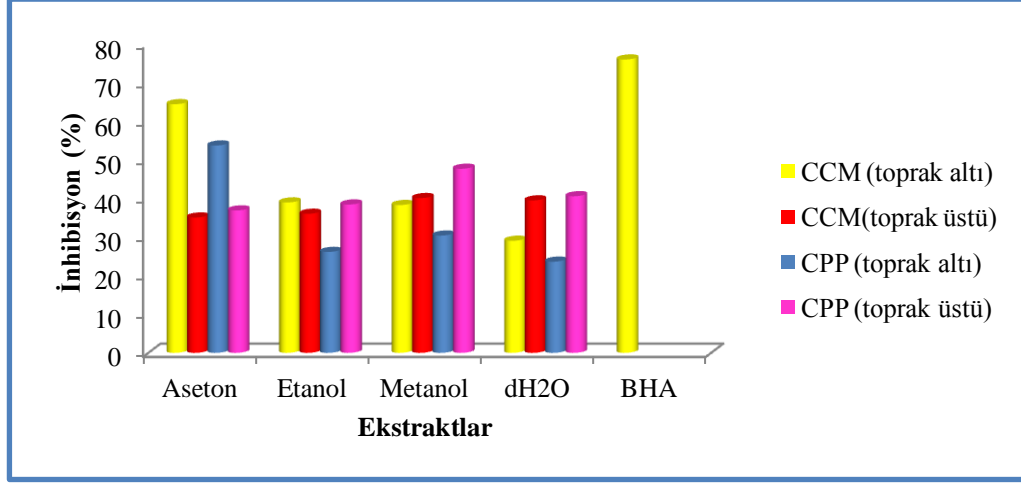
**Şekil 4.3:** *Crocus L.* taksonlarından hazırlanan metanol ekstraktlarının (0.2 –1 mg/ml) inhibisyon grafiği (CCM: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*; CPP: *C. pallasii* subsp. *pallasii*)

Şekil 4.3'e göre; metanol ile hazırlanmış ekstraktlarda inhibisyon değeri; en yüksek *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak üstü kısmında görülürken; en düşük ise *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak altı kısmında görülmüştür.



Şekil 4.4: *Crocus* L. taksonlarından hazırlanan dH<sub>2</sub>O ekstraktlarının (0.2 -1 mg/ml) inhibisyon grafiği (CCM: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*; CPP: *C. pallasii* subsp. *pallasii*)

Şekil 4.4'e göre; dH<sub>2</sub>O ile hazırlanmış ekstraktlarda inhibisyon değeri; en yüksek *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak üstü kısmında görülürken; en düşük ise *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak altı kısmında görülmüştür.

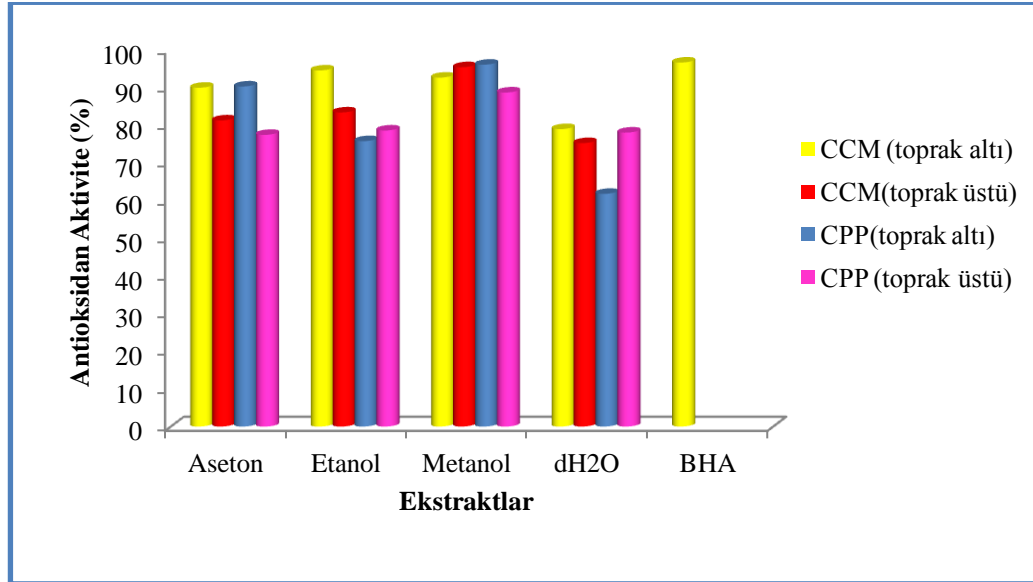


**Şekil 4.5:** *Crocus* L. taksonları ekstraktlarının ortalama inhibisyon grafiği (CCM: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*; CPP: *C. pallasii* subsp. *pallasii*)

Şekil 4.5'e göre; farklı çözücüler ile (aseton, etanol, metanol, dH<sub>2</sub>O) hazırlanmış ekstraktlarda ortalama inhibisyon değeri; en yüksek *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun asetonlu toprak altı kısmında görülürken; en düşük ise *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak altı kısmında görülmüştür.

#### 4.1.2 $\beta$ -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi Sonuçları

Ekstraktların toplam antioksidan aktiviteleri,  $\beta$ -karotenin karakteristik sarı renginin açılmasına bağlı olarak sonuçların; kullanılan standart sentetik antioksidanlar ile karşılaştırılması ile hesaplanmıştır.

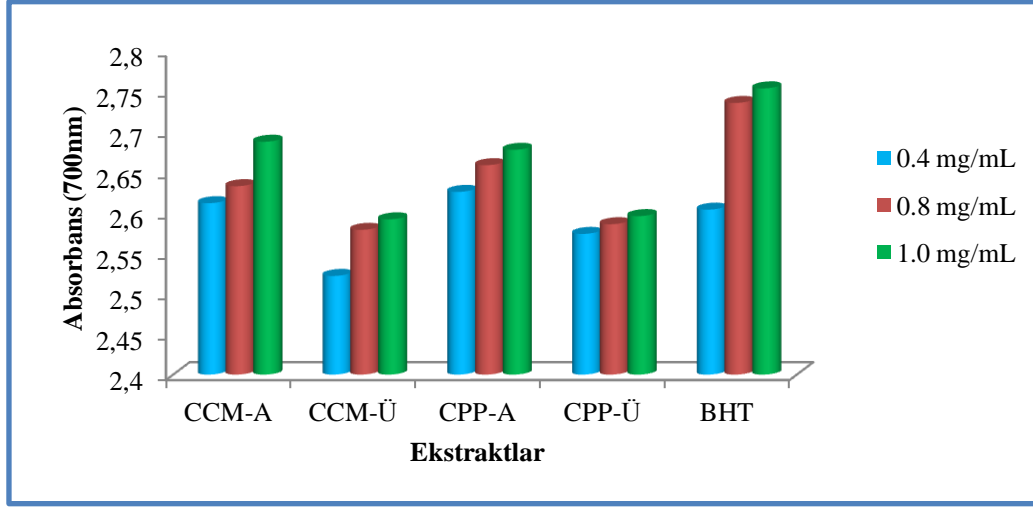


**Şekil 4.6:** *Crocus L.* taksonları ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitesi (%)

(CCM: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*; CPP: *C. pallasii* subsp. *pallasii*)

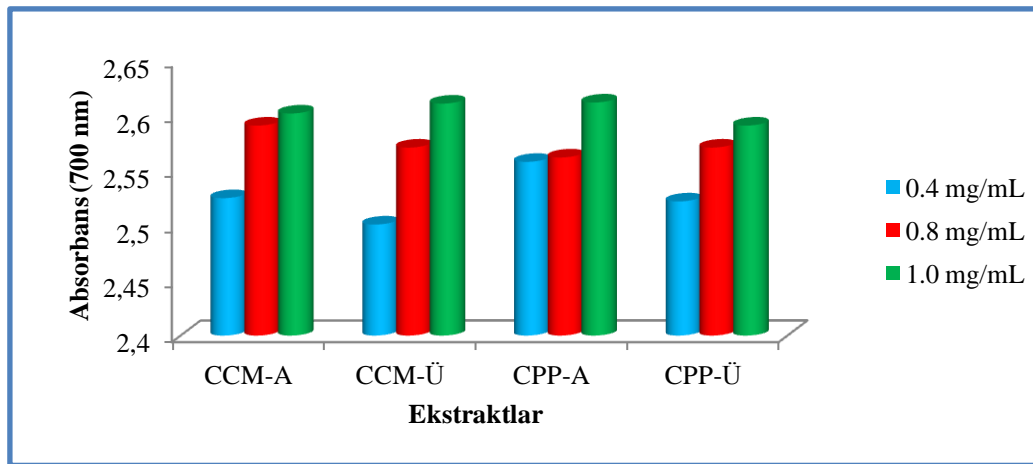
Şekil 4.6'ya göre; farklı çözücüler ile (aseton, etanol, metanol, dH<sub>2</sub>O) hazırlanmış ekstraktlarda toplam antioksidan aktivitesi (%) değeri; en yüksek *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak altı kısmında görülürken; en düşük ise yine *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak altı kısmında görülmüştür.

#### 4.1.3 İndirgeme Gücü Kapasitesinin Belirlenmesi (FRAP)



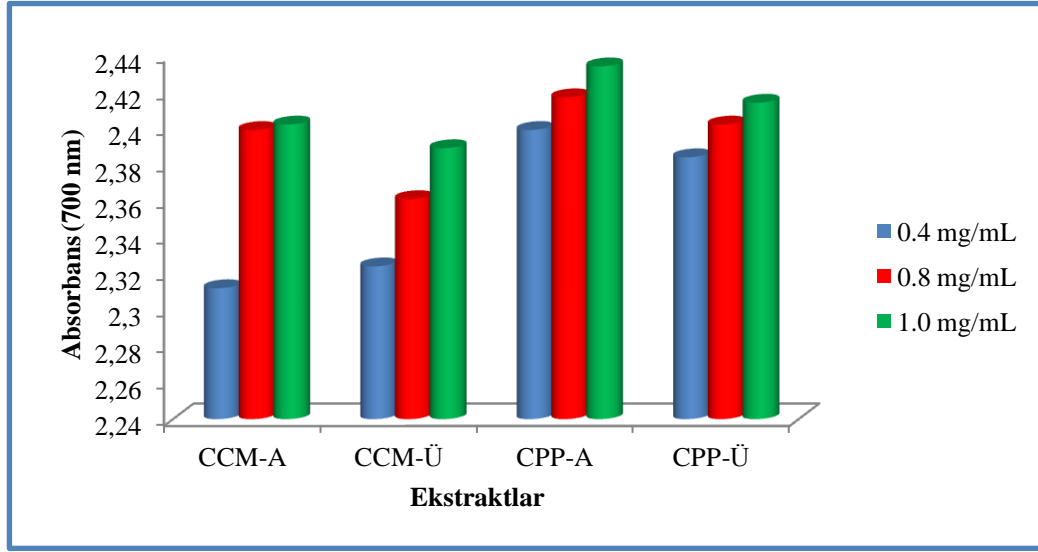
**Şekil 4.7:** *Crocus L.* taksonları asetonlu ekstraktlarının indirgeme gücü kapasitesi absorbans grafiği (CCM-A: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak altı; CCM-Ü: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak üstü; CPP-A: *C. pallasii* subsp. *pallasii*-toprak altı; CPP-Ü: *C. pallasii* subsp. *pallasii*-toprak üstü)

Şekil 4.7'ye göre; aseton ile hazırlanmış ekstraktlarda indirgeme gücü kapasitesi değeri; en yüksek *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak altı kısmında görülürken; en düşük ise *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun üstü kısmında görülmüştür.



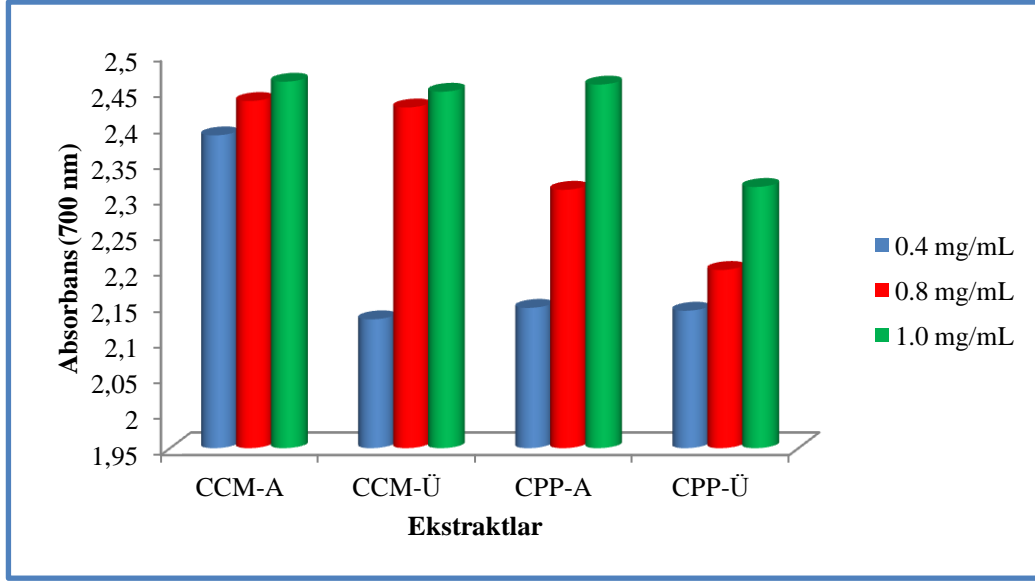
**Şekil 4.8 :** *Crocus L.* taksonları etanollü ekstraktlarının indirgeme gücü kapasitesi absorbans grafiği (CCM-A: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak altı; CCM-Ü: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak üstü; CPP-A: *C. pallasii* subsp. *pallasii*-toprak altı; CPP-Ü: *C. pallasii* subsp. *pallasii*-toprak üstü)

Şekil 4.8'e göre; etanol ile hazırlanmış ekstraktlarda indirgeme gücü kapasitesi değeri; en yüksek *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak altı kısmında görülürken; en düşük ise *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun üstü kısmında görülmüştür.



**Şekil 4.9:** *Crocus* L. taksonları metanollü ekstraktlarının indirgeme gücü kapasitesi absorbans grafiği (CCM-A: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak altı; CCM-Ü: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak üstü; CPP-A: *C. pallasii* subsp. *pallasii*-toprak altı; CPP-Ü: *C. pallasii* subsp.).

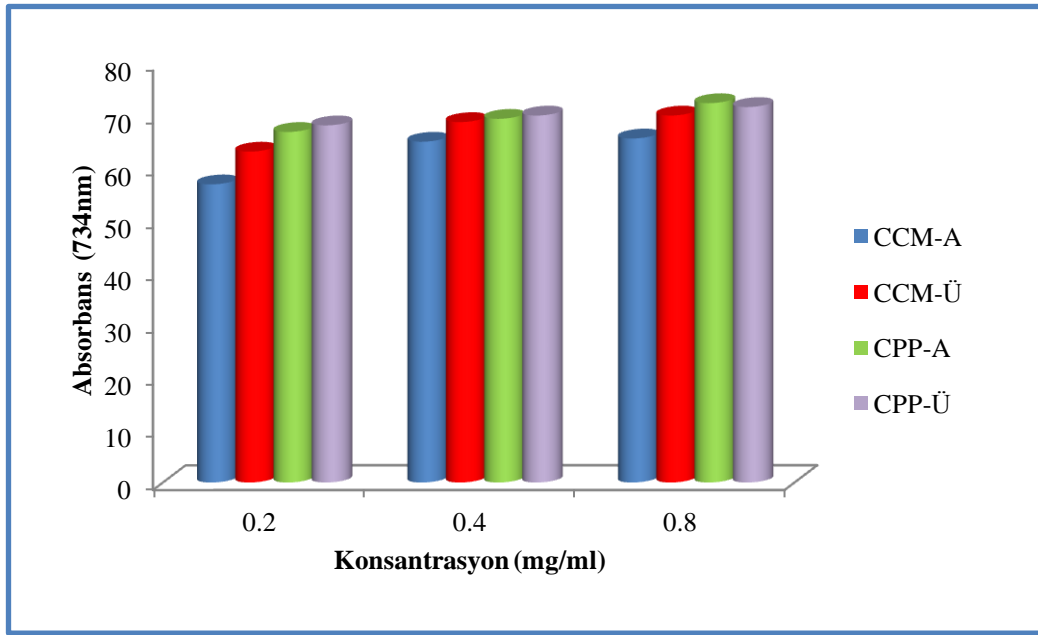
Şekil 4.9'a göre; metanol ile hazırlanmış ekstraktlarda indirgeme gücü kapasitesi değeri; en yüksek *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak altı kısmında görülürken; en düşük ise *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun üstü kısmında görülmüştür.



**Şekil 4.10:** *Crocus L.* taksonları dH<sub>2</sub>O'lu ekstraktlarının indirgeme gücü kapasitesi absorbanans grafiği (CCM-A: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak altı; CCM-Ü: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak üstü; CPP-A: *C. pallasii* subsp. *pallasii*-toprak altı; CPP-Ü: *C. pallasii* subsp.).

Şekil 4.10'a göre; dH<sub>2</sub>O ile hazırlanmış ekstraktlarda indirgeme gücü kapasitesi değeri; en yüksek *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak altı kısmında görülürken; en düşük ise *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun üstü kısmında görülmüştür.

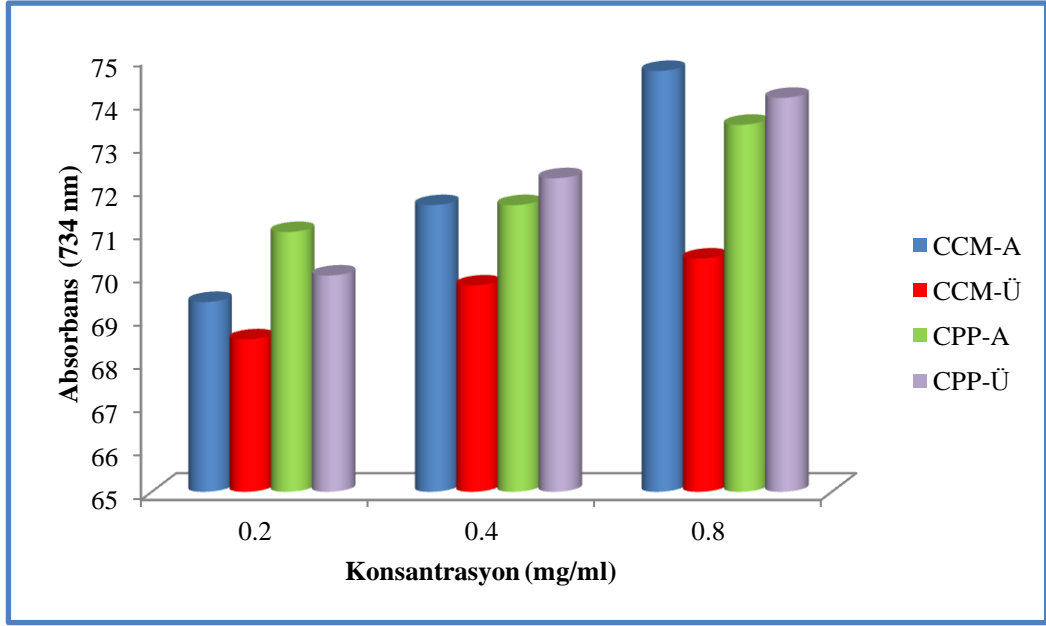
#### 4.1.4 ABTS Radikal Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi



**Şekil 4.11:** *Crocus* L. taksonları asetonlu ekstraktlarının ABTS radikal giderim aktivitesi absorbans grafiği (CCM-A: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus-toprak altı*; CCM-Ü: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus-toprak üstü*; CPP-A: *C. pallasii* subsp. *pallasii-toprak altı*; CPP-Ü: *C. pallasii* subsp. *pallasii-toprak üstü*)

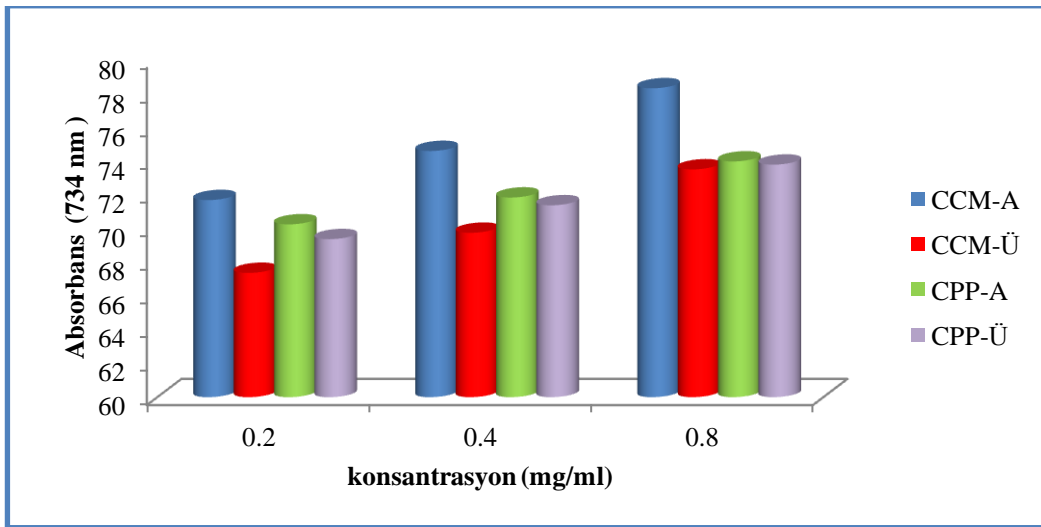
Şekil 4.11'e göre; aseton ile hazırlanmış ekstraktlarda ABTS radikal giderim aktivitesi absorbansı; en yüksek *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak altı kısmında görülürken; en düşük ise *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak altı kısmında görülmüştür.





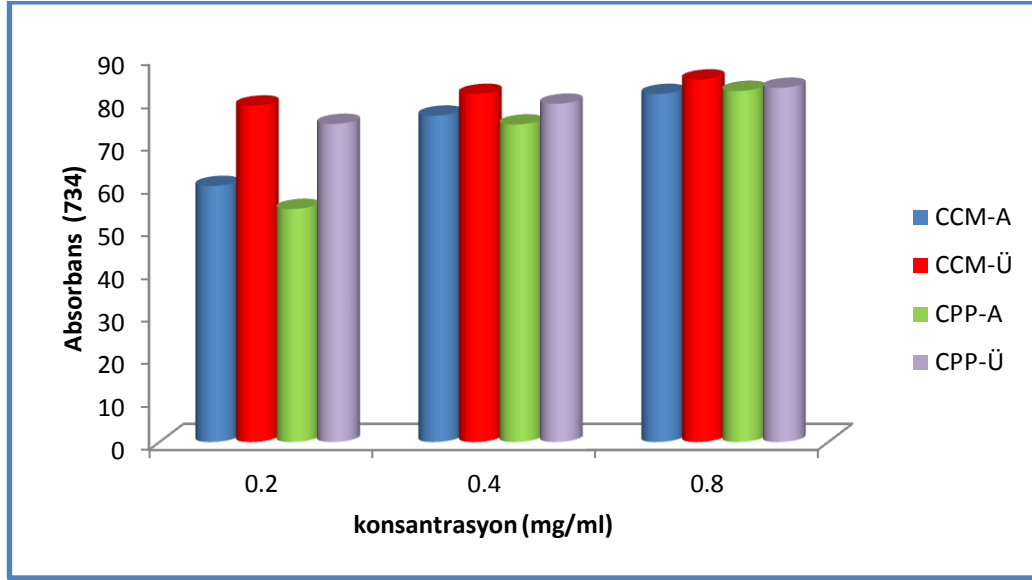
**Şekil 4.12:** *Crocus* L. taksonları etanollü ekstraktlarının ABTS radikal giderim aktivitesi absorbans grafiği (CCM-A: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak altı; CCM-Ü: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak üstü; CPP-A: *C. pallasii* subsp. *pallasii*-toprak altı; CPP-Ü: *C. pallasii* subsp. *pallasii*-toprak üstü)

Şekil 4.12'ye göre; etanol ile hazırlanmış ekstraktlarda ABTS radikal giderim aktivitesi absorbansı; en yüksek *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak altı kısmında görülürken; en düşük ise *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak üstü kısmında görülmüştür.



**Şekil 4.13:** *Crocus* L. taksonları metanollü ekstraktlarının ABTS radikal giderim aktivitesi absorbans grafiği (CCM-A: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak altı; CCM-Ü: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak üstü; CPP-A: *C. pallasii* subsp. *pallasii*-toprak altı; CPP-Ü: *C. pallasii* subsp. *pallasii*-toprak üstü)

Şekil 4.13'e göre; metanol ile hazırlanmış ekstraktlarda ABTS radikal giderim aktivitesi absorbansı; en yüksek *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak altı kısmında görülürken; en düşük ise *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak üstü kısmında görülmüştür.



**Şekil 4.14:** *Crocus* L. taksonları dH<sub>2</sub>O'lu ekstraktlarının ABTS radikal giderim aktivitesi absorbans grafiği (CCM-A: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak altı; CCM-Ü: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*-toprak üstü; CPP-A: *C. pallasii* subsp. *pallasii*-toprak altı; CPP-Ü: *C. pallasii* subsp. *pallasii*-toprak üstü)

Şekil 4.14'e göre; dH<sub>2</sub>O ile hazırlanmış ekstraktlarda ABTS radikal giderim aktivitesi absorbansı; en yüksek *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak üstü kısmında görülürken; en düşük ise *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak altı kısmında görülmüştür.

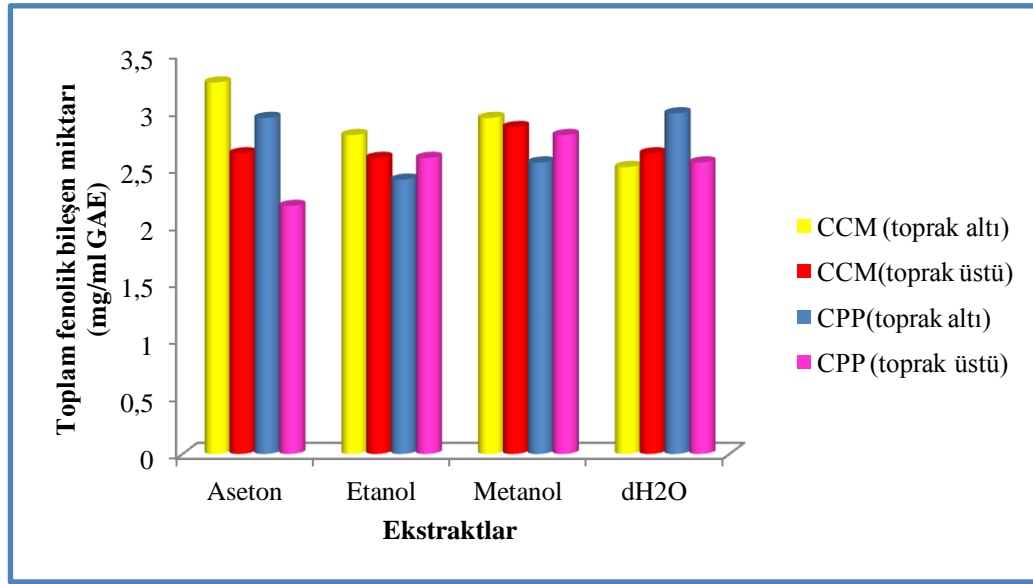
## 4.2 Sekonder Metabolit Miktar Tayini Sonuçları

### 4.2.1 Fenolik Bileşen Miktarı Sonuçları

Özütlerin toplam fenolik bileşik miktarları Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) kullanılarak gallik asite eşdeğer (mg/ml GAE) olarak belirlenmiştir.

**Tablo 4.1:** *Crocus* L. taksonları ekstraktlarının fenolik bileşen miktarları (CCM: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*; CPP: *C. pallasii* subsp. *pallasii*)

Estraktlar	Aseton	Etanol	Metanol	dH <sub>2</sub> O
CCM (toprak altı)	3.25	2.79	2.94	2.51
CCM (toprak üstü)	2.63	2.59	2.86	2.63
CPP (toprak altı)	2.94	2.4	2.55	2.98
CPP (toprak üstü)	2.17	2.59	2.79	2.55



**Şekil 4.15:** *Crocus* L. taksonları ekstraktlarının fenolik bileşen miktarları (mg/ml GAE) (CCM: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*; CPP: *C. pallasii* subsp. *pallasii*)

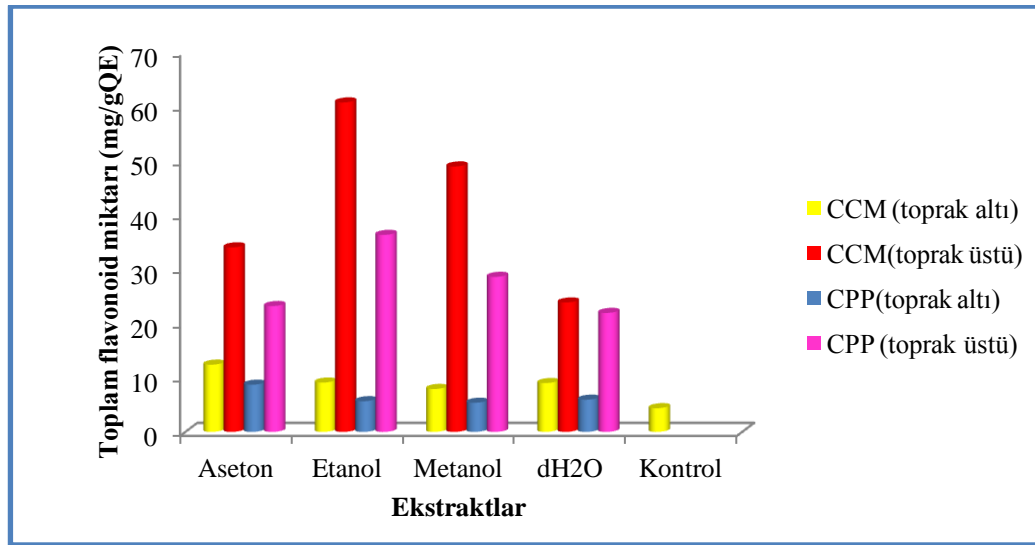
*Crocus* L. taksonları ekstraktlarının fenolik bileşen miktarları karşılaştırıldığında en yüksek miktar *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun asetonlu toprak altı ekstraktında görülürken; en düşük değer ise *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun asetonlu toprak üstü ekstraktında görülmüştür.

#### 4.2.2 Flavonoid Miktarı Sonuçları

Ekstraktların toplam flavonoid miktarları Arvouet-Grand ve diğ. (1994) tarafından belirlenen yöntem kullanılarak kuersetine eşdeğer olarak hesaplanmıştır.

**Tablo 4.2:** *Crocus L.* taksonları ekstraktlarının flavonoid miktarları (mg/gQE) (CCM: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*; CPP: *C. pallasii* subsp. *pallasii*)

Ekstraktlar	Aseton	Etanol	Metanol	dH <sub>2</sub> O
CCM (toprak altı)	12.39	9.09	7.91	9
CCM (toprak üstü)	34	60.71	48.91	23.85
CPP (toprak altı)	8.69	5.65	5.37	5.93
CPP (toprak üstü)	23.19	36.3	28.57	21.92



**Şekil 4.16:** *Crocus L.* taksonları ekstraktlarının flavonoid miktarları (mg/gQE) (CCM: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*; CPP: *C. pallasii* subsp. *pallasii*)

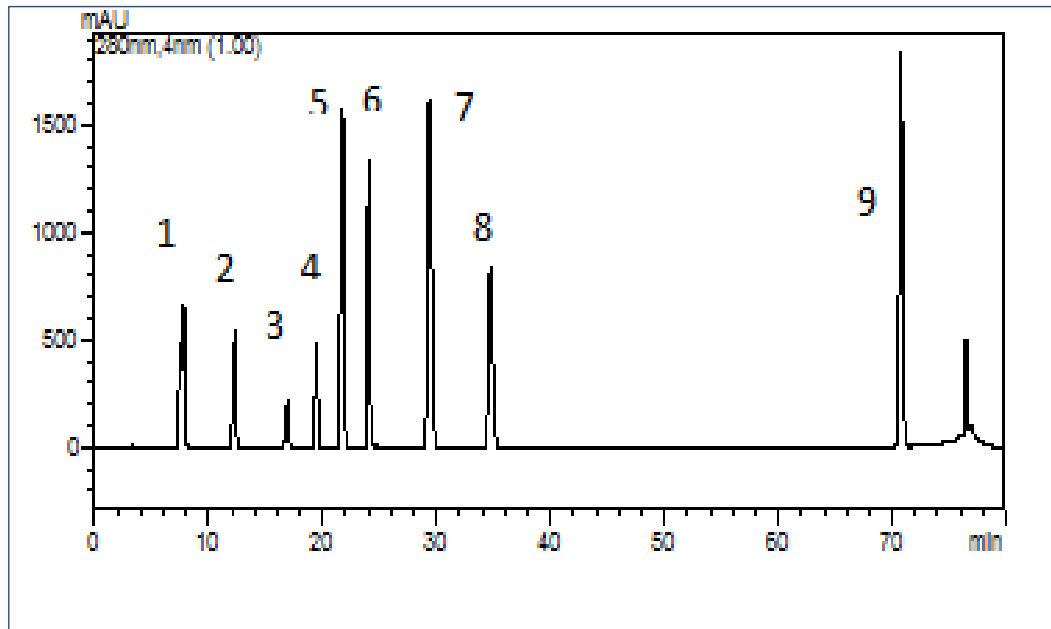
*Crocus L.* taksonları ekstraktlarının flavonoid miktarları karşılaştırıldığında; en yüksek miktar *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun etanollü toprak üstü ekstraktında görülürken; en düşük değer ise *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun etanollü toprak altı ekstraktında görülmüştür.

### 4.3 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC/YPSK) ile Fenolik Bileşiklerin Analiz Sonuçları

*C. pallasii* subsp. *pallasii* ve *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus*' un etanolik toprak altı ekstraktlarının fenolik asit içerik tanımlaması HPLC'de Gomes (1999) in metodu esas alınarak yapılmıştır.

Fenolik bileşik tayini için aşağıdaki standartlar kullanılmıştır.

1. Gallik asit
2. 3,4-dihidroksi benzoik asit
3. 4-Dihidroksi benzoik asit
4. Klorojenik asit
5. Kafeik asit
6. Vanilik asit
7. P-koumarik sit
8. Ferulik asit
9. Sınnamik asit



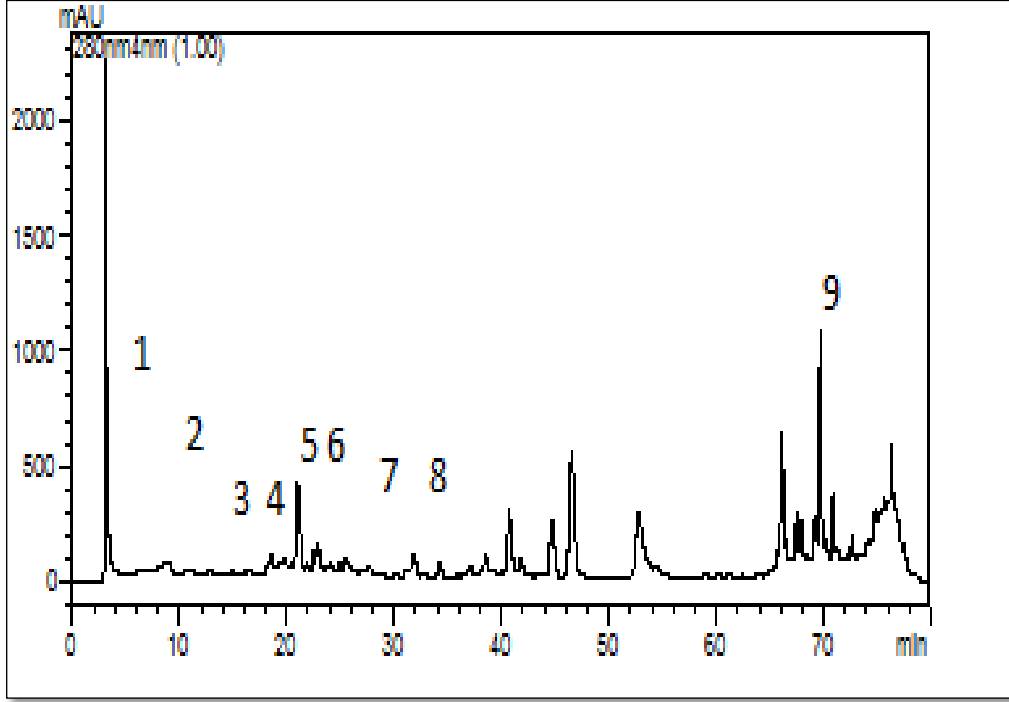
Şekil 4.17: Fenolik bileşik tayininde kullanılan standartların kromatogramı

**Tablo 4.3:** *C.cancellatus* subsp. *mazziaricus* ekstraktlarının fenolik bileşiklerinin alıkonma zamanları ve miktarları

<b>Fenolik standart bileşikler</b>	<b>Alıkonma zamanı (dk)</b>	<b>Miktar (µg/g)</b>
Gallik asit	7.8	174.6
3,4-dihidroksi benzoik asit	12.2	53.6
4-hidroksi benzoik asit	16.9	140.3
Klorojenik asit	19.4	103.7
Vanilik asit	21.7	186.4
Kafeik asit	24	39.6
P-Koumarik asit	29.3	47.4
Ferulik asit	34.7	2376.2
Sinnamik asit	70.7	283.5

**Tablo 4.4:** *C. pallasii* subsp. *pallasii* ekstraktlarının fenolik bileşiklerinin alıkonma zamanları ve miktarları

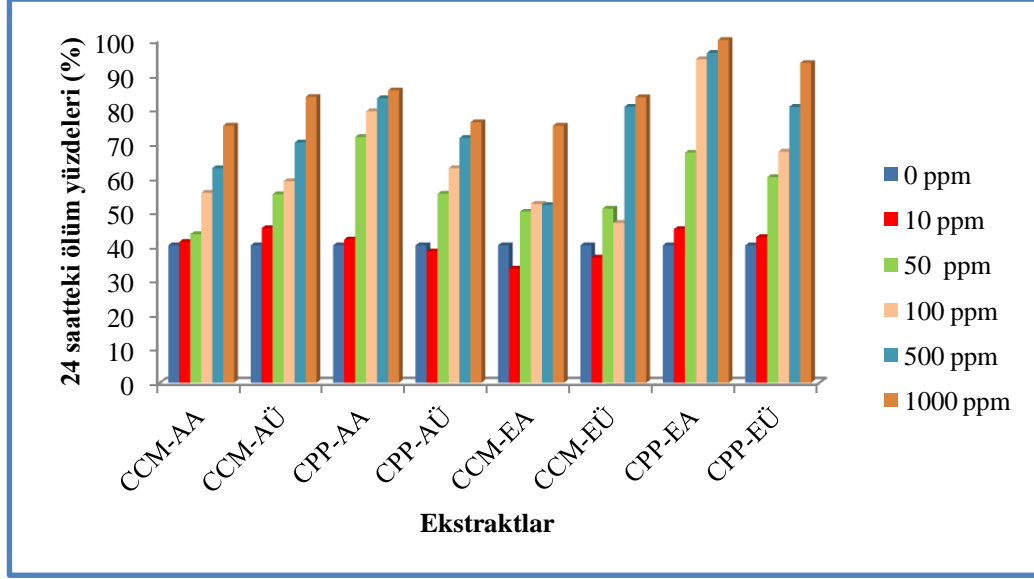
<b>Fenolik standart bileşikler</b>	<b>Alıkonma zamanı (dk)</b>	<b>Miktar (µg/g)</b>
Gallik asit	7.8	27.9
3,4-dihidroksi benzoik asit	12.2	32.9
4-hidroksi benzoik asit	16.9	66
Klorojenik asit	19.4	188.7
Vanilik asit	21.7	819.5
Kafeik asit	24	42.2
P-Koumarik asit	29.3	34.3
Ferulik asit	34.7	2392
Sinnamik asit	70.7	435.9



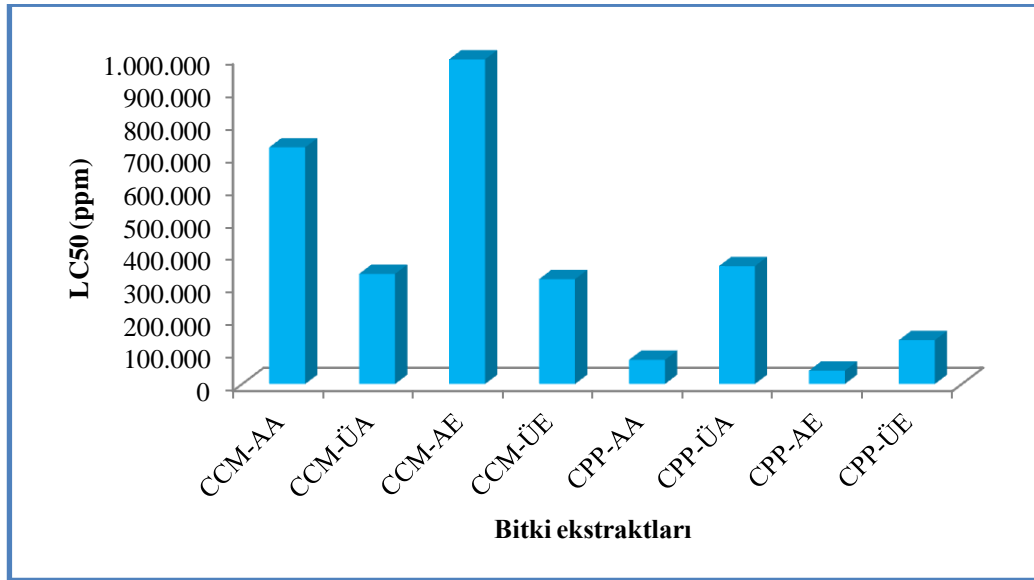
Şekil 4.18: HPLC’de *C. pallasii* subsp. *pallasii* ve *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* ekstraktlarının kromatogramları

#### 4.4 Sitotoksik Aktivite Sonuçları

Bitkilerin sitotoksik aktivitesi Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) Letalite testi ile belirlenmiştir. Bitki ekstraktı olmayan (kontrol grubu) düzenekteki yaşayan nauplii’ler ile deney grubu karşılaştırılmıştır. Bütün uygulamalar için % ölüm oranları ve LC50 değeri hesaplanmıştır.



Şekil 4.19: Ekstrakt uygulanan gruplarda 24 saatteki ölüm yüzdeleri



Şekil 4.20: Grupların LC<sub>50</sub> değerleri

Yukarıdaki verilere göre en yüksek sitotoksik aktivite *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun asetonlu toprak altı ekstraktında görülürken; en düşük sitotoksik aktivite ise *C.cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun etanollü toprak altı ekstraktında görülmüştür.



#### 4.5 Histo-Biyokimyasal Çalışma Sonuçları

*Crocus* taksonlarının bazı histolojik aktivitelerini belirlemek için *Crocus* taksonlarının etanollü ekstrelerinin %0.5'lik ve %1'lik konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin sıçanlara iştirilmesi sonucu aşağıdaki değerler elde edilmiştir.

**Tablo 4.3:** Kontrol grubundan alınan kan örneklerinin ALT, AST, GGT, ÜRE değerleri

	ALT	AST	GGT	ÜRE
<b>Kontrol 1</b>	60	107	38	55.8
<b>Kontrol 2</b>	104	131	41	55.1
<b>Kontrol 3</b>	79	130	42	50.1
<b>Kontrol 4</b>	79	123	39	51.8
<b>Kontrol 5</b>	83	127	46	57.5
<b>Kontrol 6</b>	67	113	34	54.2
<b>Kontrol 7</b>	95	130	41	54.7

**Tablo 4.6 :** Başlangıç grubundan alınan kan örneklerinin ALT, AST, GGT, ÜRE değerleri

	ALT	AST	GGT	ÜRE
<b>Başlangıç 1</b>	67	112	68	50.2
<b>Başlangıç 2</b>	79	123	71	54.3
<b>Başlangıç 3</b>	83	129	79	57.3
<b>Başlangıç 4</b>	98	130	82	55.9
<b>Başlangıç 5</b>	84	127	65	52.6
<b>Başlangıç 6</b>	64	110	68	56.7
<b>Başlangıç 7</b>	87	126	73	55
<b>Başlangıç 8</b>	92	127	62	53.9
<b>Başlangıç 9</b>	86	124	64	55.4

**Tablo 4.7:** *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonu ekstraktlarının uygulandığı deney grubundan alınan kan örneklerinin 2. ve 4. hafta sonundaki ALT, AST, GGT, ÜRE değerleri (CCM-A: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* (toprak altı); CCM-Ü: *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* (toprak üstü))

BİTKİ KODU	2.HAFTA				4. HAFTA			
	ALT	AST	GGT	ÜRE	ALT	AST	GGT	ÜRE
CCM-A-0,5-1/1	113	229	102	43.9	143	274	94	50.9
CCM-A-0,5-1/2	68	310	117	51.7	119	221	63	47.1
CCM-A-0,5-1/3	149	303	157	39	102	178	103	46.4
CCM-A-0,5-1/4	65	218	96	41	70	124	96	43.5
CCM-A-0,5-1/5	55	137	75	45.9	69	117	91	42.1
CCM-A-0,5-1/6	82	226	94	42.7	92	167	87	43.9
CCM-A-0,5-1/7	98	253	119	45.9	102	178	82	47.4
CCM-A-1-1/1	55	81	62	54.2	60	81	62	50.7
CCM-A-1-1/2	68	171	73	51.8	59	112	74	45.4
CCM-A-1-1/3	60	104	78	43.3	47	114	83	49.2
CCM-A-1-1/4	52	115	63	43.7	61	152	92	45.3
CCM-A-1-1/5	64	162	67	49	83	133	61	46.3
CCM-A-1-1/6	57	103	61	46.2	68	126	62	50.6
CCM-A-1-1/7	63	112	67	50.6	62	122	58	47.7
CCM-Ü-0,5-1/1	46	119	57	53.6	45	138	59	47
CCM-Ü-0,5-1/2	185	285	192	48.8	117	286	91	49.1
CCM-Ü-0,5-1/3	50	116	67	43.2	69	174	60	42.8
CCM-Ü-0,5-1/4	54	118	71	45.7	51	90	63	48.2
CCM-Ü-0,5-1/5	82	166	93	49.4	57	128	94	36,8
CCM-Ü-0,5-1/6	78	144	87	43.9	69	172	91	45.4
CCM-Ü-0,5-1/7	92	169	106	50.2	67	156	80	44.2
CCM-Ü-1-1/1	70	143	89	47.7	114	253	76	52.3
CCM-Ü-1-1/2	60	162	67	39.3	99	158	83	43
CCM-Ü-1-1/3	62	166	89	46.7	94	146	57	41.5
CCM-Ü-1-1/4	63	167	78	48.9	96	221	66	46.8
CCM-Ü-1-1/5	69	156	84	53.4	107	184	71	45.3
CCM-Ü-1-1/6	66	163	76	50.8	108	196	73	47.7
CCM-Ü-1-1/7	64	155	74	43.6	96	191	80	43.9

*C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda ALT için 2. ve 4. hafta arasında istatistiksel olarak fark yoktur  $P>0,05$  ( P-Value = 0,266). *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda ALT için uygulanan dozlar arasında istatistiksel olarak fark yoktur  $P>0,05$ (P-Value = 0,087). *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda ALT için bitkinin alt ve üst kısımları arasında istatistiksel açıdan fark yoktur  $P>0,05$ ( P-Value = 0,836 ). *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda AST için 2. hafta ve 4. hafta okumaları arasında istatistiksel olarak fark yoktur  $P>0,05$  (P-Value = 0,705). *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda AST için dozlar arasında istatistiksel açıdan fark bulunmaktadır  $p<0,05$ (T-Value = 2,62 P-Value = 0,012 DF = 45). *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda AST için bitkinin alt ve üst kısımları arasında istatistiksel açıdan fark yoktur  $P>0,05$ (P-Value = 0,816 ). *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda GGT için 2. hafta ve 4. hafta okumaları arasında istatistiksel olarak fark bulunmaktadır  $p<0,05$ (T-Value = 2,26 P-Value = 0,032 DF = 27). *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda GGT için dozlar arasında istatistiksel açıdan fark bulunmaktadır  $p<0,05$ (T-Value = 3,46 P-Value = 0,002 DF = 33). *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda GGT için bitkinin alt ve üst kısımları arasında istatistiksel açıdan fark yoktur  $P>0,05$ (P-Value = 0,718 ). *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda üre için 2. hafta ve 4. hafta okumaları arasında istatistiksel olarak fark yoktur  $P>0,05$ (P-Value= 0,414 ). *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda üre için dozlar arasında istatistiksel olarak fark yoktur  $P>0,05$ ( P-Value = 0,114). *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda üre için bitkinin alt ve üst kısımları arasında istatistiksel açıdan fark yoktur  $P>0,05$ (P-Value = 0,830)

**Tablo 4.8:** *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonu ekstraktlarının uygulandığı deney grubundan alınan kan örneklerinin 2. ve 4. hafta sonundaki ALT, AST, GGT, ÜRE değerleri (CPP-A: *C. pallasii* subsp. *pallasii* (toprak altı); CPP-Ü: *C. pallasii* subsp. *pallasii* (toprak üstü))

BİTKİ KODU	2. HAFTA				4. HAFTA			
	ALT	AST	GGT	ÜRE	ALT	AST	GGT	ÜRE
CPP-A-0.5-1/1	76	131	84	43.3	55	97	51	45.7
CPP-A-0.5-1/2	56	86	72	40.5	57	96	43	46.7
CPP-A-0.5-1/3	45	85	81	42.8	46	95	49	44.1
CPP-A-0.5-1/4	58	89	89	42.2	45	93	66	44.6
CPP-A-0.5-1/5	62	97	93	43.7	47	95	52	45.2
CPP-A-0.5-1/6	65	113	76	46.4	54	96	60	45.2
CPP-A-0.5-1/7	62	104	60	42.5	57	98	71	46.3
CPP-A-1-1/1	44	78	84	45.1	113	193	73	50
CPP-A-1-1/2	64	355	73	39.1	64	111	49	41.9
CPP-A-1-1/3	63	275	91	55.6	122	262	54	53.8
CPP-A-1-1/4	48	97	86	43.3	108	186	47	50.3
CPP-A-1-1/5	64	352	74	52.8	96	177	71	46.7
CPP-A-1-1/6	57	242	89	44.7	73	149	69	44.4
CPP-A-1-1/7	59	253	62	45.6	121	244	56	52.9
CPP-Ü-0.5-1/1	57	91	84	45	59	95	74	42.2
CPP-Ü-0.5-1/2	61	94	71	52.4	65	80	58	42.2
CPP-Ü-0.5-1/3	122	288	69	38.4	120	124	84	38.5
CPP-Ü-0.5-1/4	76	137	73	42.4	76	86	63	39.1
CPP-Ü-0.5-1/5	88	186	81	48.1	82	96	71	40.2
CPP-Ü-0.5-1/6	92	206	75	48.9	85	110	69	42.9
CPP-Ü-0.5-1/7	64	102	82	41.7	83	107	73	41.7
CPP-Ü-1-1/1	58	96	84	49.5	127	177	85	53.7
CPP-Ü-1-1/2	108	165	102	47.3	57	90	74	36.1
CPP-Ü-1-1/3	43	87	85	43.8	56	112	76	43.5
CPP-Ü-1-1/4	66	113	83	47.1	64	112	68	40.6
CPP-Ü-1-1/5	72	122	98	48.9	96	146	94	48.7
CPP-Ü-1-1/6	78	125	90	49.4	73	128	76	42.2
CPP-Ü-1-1/7	63	104	71	42.1	87	133	54	46.3

*C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının iştirildiği gruplarda ALT için 2. ve 4. hafta okumaları arasında istatistiksel olarak fark yoktur  $P > 0,05$  ( $P$ -Value = 0,062 ). *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının iştirildiği gruplarda ALT için uygulanan dozlar arasında istatistiksel olarak fark yoktur  $P > 0,05$  (  $P$ -Value = 0,181 ). *C. pallasii* subsp. *pallasii*

taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda ALT için bitkinin alt ve üst kısımları arasında istatistiksel açıdan fark yoktur  $P>0,05$  ( P-Value = 0,081).

*C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda AST için 2. hafta ve 4. hafta okumaları arasında istatistiksel olarak fark yoktur  $P>0,05$ ( P-Value = 0,185). *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda AST için uygulanan dozlar arasında istatistiksel açıdan fark bulunmaktadır  $p<0,05$ (T-Value = 3,17 P-Value = 0,003 DF = 42). *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda AST için bitkinin alt ve üst kısımları arasında istatistiksel açıdan fark yoktur  $P>0,05$ ( P-Value = 0,105).

*C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda GGT için 2. hafta ve 4. hafta okumaları arasında istatistiksel olarak fark bulunmaktadır.( T-Value = 5,04 P-Value = 0,000 DF = 51). *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda GGT için uygulanan dozlar arasında istatistiksel olarak fark yoktur  $P>0,05$ .( P-Value = 0,164 ). *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda GGT için bitkinin alt ve üst kısımları arasında istatistiksel açıdan fark bulunmaktadır  $p<0,05$ (T-Value = 2,45 P-Value = 0,018 DF = 49)

*C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda üre için 2. hafta ve 4. hafta okumaları arasında istatistiksel olarak fark yoktur  $P>0,05$ ( P-Value = 0,603). *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda üre için uygulanan dozlar arasında istatistiksel açıdan fark bulunmaktadır  $p<0,05$ (T-Value = 2,71 P = 0,009 DF = 47). *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun yer altı ve yer üstü ekstraktlarının içirildiği gruplarda üre için bitkinin alt ve üst kısımları arasında istatistiksel açıdan fark yoktur  $P>0,05$ ( P-Value = 0,189)

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

*C. sativus*'tan elde edilen safran, yiyeceklerde tatlandırıcı olarak uzun yıllardan beri kullanılmakta ve geleneksel tıbbın önemli bir bileşeni olarak bilinmektedir. Özellikle stigmalarından elde edilen ham safranın antitümoral ve antikanser özellikleri *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda kanıtlanmıştır (Escribano ve diğ., 1999; Abdullaev 2003). Safrandan elde edilen pigmentlerin tekstilde boya maddesi kullanılabileceği belirtilmiştir (Liakopoulou-Kyriakides ve diğ. 1998). Ekstraktların serbest radikal giderim aktivitesi DPPH yöntemiyle belirlenmiştir. Bu yöntemle yapılan bir çalışmaya göre; en yüksek inhibisyon *C. flavus* metanollü ekstraktında (%93.10) görülmüştür (Acar 2006). Bu çalışmada ise; en yüksek serbest radikal giderim aktivitesi asetonla hazırlanmış olan *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak altı ekstraktında görülmüştür (% 90.3). Çözücülere göre karşılaştırılma yapılırsa; en yüksek serbest radikal giderim aktivitesi *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun asetonla hazırlanmış toprak altı ekstraktında görülmüştür (% 64.41) Üzerinde çalışılan bitkilerin aktivitesi, BHT'nin aktivitesi ile karşılaştırıldığında; BHT'ye oranla daha zayıf olmasına rağmen güçlü bir serbest radikal giderim aktivitesi göstermektedir. Buna neden olarak ise çözücülerin polaritelerinin farklı olması gösterilebilir. Çünkü polar karakterli bileşikler polar çözücülerde iyi çözünürken apolar karakterli bileşiklerde de apolar bileşiklerde daha iyi çözünmektedir. Buna ilaveten bitkilerin içeriğindeki etken maddeler, ekolojik özellikler aktiviteye etki etmektedir. Aynı zamanda bu sistemde aynı bitkinin farklı konsantrasyonları hazırlanarak sonuçlara bakıldığında; konsantrasyon arttıkça serbest radikal giderim aktivitesi de artmıştır.

$\beta$ -karoten renk açılım yöntemi iki şekilde uygulanabilir: Agar difüzyon ve spektroskopik yöntemidir. Her iki yöntem de linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonunun ölçülmesine dayanmaktadır. Bu çalışmada bitki ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri,  $\beta$ -karoten-linoleik asit oksidasyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntem, linoleik asitin inkübasyonu sırasında oluşan peroksit ürünlerinin  $\beta$ -karotenin karakteristik sarı rengine tepkime vererek gidermesi, bu renk gideriminin spektroskopik olarak takip edilmesi ve herhangi bir antioksidan bulunmadığında  $\beta$ -karotenin renginin hızla açılması esasına

dayanır. Sisteme antioksidan içerikli ekstraktların ilave edilmesi, linoleik asitten oluşan peroksit ürünlerinin bu antioksidanlarla nötrale edilmesini sağlar ve bunun sonucu olarak da  $\beta$ -karotenin karakteristik sarı rengi korunmuş olur (Wettasinghe ve Shaididi,1999).

Linoleik asit + (O<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O) → Konjuge dienler ve diğer bozunma ürünleri

↓

$\beta$ -Karoten → Renk açılım

Linoleik asit + H<sub>2</sub>O(O<sub>2</sub>) +  $\beta$ -karoten + Antioksidan → Rengin korunumu

Bu yöntemle göre; *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunda en yüksek antioksidan aktivite asetonla hazırlanmış toprak altı ekstraktında (% 90.25). *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunda ise; en yüksek antioksidan aktivite etanolle hazırlanmış toprak altı ekstraktında (% 94.5) belirlenmiştir. Bitkilerin habitatları ortak olduğu için antioksidan aktiviteleri yakın değerlerdir ve antioksidan özellikleri de yüksektir.

Yapılan indirgeme gücü kapasitesi deneylerinin şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10' daki verileri incelendiğinde konsantrasyonun artmasıyla absorbansların da arttığı görülmektedir. Bitki ekstraktlarımız arasında en yüksek ve pozitif kontrol olarak kullandığımız BHT' ye en yakın indirgeme gücü kapasitesi *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonun aseton ile hazırlanmış toprak altı ekstraktında hesaplanmıştır.

Tayin edilen bitki ekstraktlarının ABTS radikali giderme aktiviteleri 200  $\mu$ g/ml, 400  $\mu$ g/ml ve 800  $\mu$ g/ml konsantrasyonlarda ölçülmüştür. Konsantrasyon arttıkça absorbansın düştüğü dolayısıyla serbest radikal giderim aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir (Şekil Şekil 14.11, 14.12, 14.13, 14.14). ABTS radikali giderme aktivitesi tayininde; en yüksek radikal giderim aktivitesi *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonun dH<sub>2</sub>O ile hazırlanmış ekstraktında görülmüştür.

Folin-Ciocalteu reaktifi, fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımı bir reaktif olup fenolik ve polifenolik antioksidanların kolorimetrik tayininde kullanılır. Yöntem test edilen materyalin reaktifin oksidasyonunu inhibe etmesi için gerekli miktarını

ölçer. Ancak bu reaktifin sadece total fenolik bileşik miktarını ölçmediği ve örnek içinde mevcut tüm indirgen maddelerle de reaksiyon vereceği bilinmektedir. Bu nedenle reaktifin sadece örnekteki fenolik bileşik düzeyini değil örneğin total indirgeme kapasitesini de ölçtüğü tartışma konusudur. Buna rağmen Folin-Ciocalteu reaktifi ile total fenolik bileşik miktarı tayini hemen hemen tüm antioksidan çalışmalarında örnekteki fenolik içeriğinin tayininde kullanılan standart bir yöntemdir (Mammadov 2014).

Bu yöntemle göre; asetonla hazırlanmış ekstraktlarda en yüksek fenolik bileşik miktarı *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak altı ekstraktında (% 3.25 mg/ml GAE) en düşük fenolik bileşik miktarı ise *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak üstü ekstraktında (% 2.17 mg/ml GAE) görülmüştür.

Sonuçlar değerlendirildiğinde fenolik madde miktarı fazla olan özütün antioksidan aktivitesinin de fazla olacağı sonucuna ulaşılmıştır. Ancak toplam antioksidan aktivite her zaman fenolik madde miktarına bağlı değildir sadece antioksidan aktivite belirlemede önemli bir parametredir.

Hazırlanan ekstraktlarda; en fazla flavonoid miktarı *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonunun toprak üstü kısmında görülürken (60.71 mg/g QE) en az miktar ise *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonunun toprak altı ekstraktında görülmüştür (5.65 mg/g QE).

Loskutov'un yaptığı çalışmada safranın yapısında bulunan Krosin ve türevleri, Pikrokrosin ve Safranal etkin özelliklerini verir. Bitki ekstraktlarındaki safran bileşenlerinin tayini için, HPLC analizi kullanılmıştır (Loskutov ve diğ. 2000). Bir başka çalışmada süperkritik karbondioksit ekstraksiyon metodu ile safranın bileşenleri analiz edilmiş, biyolojik olarak aktif temel metabolitlerinin krosinler olduğu belirtilmiştir (Lozano vd 2000).

Yapılan bir çalışmada *Crocus speciosus* ve *C. antalyensis*'in çiçek ekstraktlarından yeni bir kaempferol varlığını rapor etmişlerdir (Norbaek ve Kondo 1999). Diğer bir çalışmada ise; araştırmacılar *Crocus*'a ait 70 tür ve alt tür ile yetistirilen bitki türlerinden elde edilen çiçek pigmentleri HPLC ile analiz ederek tespit edilen 9 farklı antosiyanin içerisinde malonlanmış antosiyaninin sadece *Crocus*



cinsine özgü olduğunu ve cinsi tanımlayıcı bir karakter olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (Norbaek ve diğ. 2002).

Etonelle yapılmış *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* ve *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonu ekstraktlarının fenolik bileşen içerik miktarı analiz sonuçlarına göre; *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* ve *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonları ekstraktlarında ferulik asit en yüksek seviyededir. *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* taksonu ekstraktında (2376.2 mg/g) ve *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonu ekstraktında ise (2392.0 mg/g) seviyesindedir.

*C. sativus*'un toprak altı ekstraktlarından izole edilen yeni bir glycoconjugatın insan kanser hücre kültürü üzerine sitotoksik aktivite göstermiştir (Escribano vd 1999). Araştırmacılar krosinin insan tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir (Escribano ve diğ. 1999). Yapılan bir çalışmada *Crocus sativus*'un antimikrobiyal etkisi test edilmiştir. Bitkinin toprak üstü ve toprak altı parçaları ayrı ayrı etil asetat, etanol ve petrol eteri ile ekstre edilmiştir. En güçlü etkiyi etil asetat ekstresi 12.5 mg/ml ile *Staphylococcus aureus* ve *Micrococcus luteus*'a karşı göstermiştir (Vahidi ve diğ. 2002). *Crocus sativus*'un stigmalarından elde edilen ve insanlar arasında en iyi bilinen özütü safranın en önemli özelliği antijenotoksik ve sitotoksik etkisidir (Abdullaev 2003).

*C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* bitkisinin ekstraktlarında (aseton, etanol) en yüksek LC50 değeri etanollü toprak üstü kısmında (320.535 mg/mL) iken en düşük LC50 değeri etanollü toprak altı kısmında (992.797 mg/mL) görülmüştür. Sonuç olarak *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* bitkisinin etanollü toprak üstü kısmı daha yüksek sitotoksik aktivite göstermiştir.

*C. pallasii* subsp. *pallasii* bitkisinin ekstraktlarında (aseton, etanol) en yüksek LC50 değeri etanollü toprak altı kısmında (40.735 mg/mL) iken en düşük LC50 değeri asetonlu toprak üstü kısmında (360.587 mg/mL) görülmüştür.. Sonuç olarak *C. pallasii* subsp. *pallasii* bitkisinin etanollü toprak altı kısmı daha yüksek sitotoksik aktivite göstermiştir. Yapılan çalışma; literatürdeki diğer çalışmalar ile uyum gösterip sitotoksik aktivite yüksektir.

*C. cancellatus* türünün balıklar üzerinde yapılmış bir çalışmada; *C. cancellatus* bitki ekstraktı 2 farklı dozda levrek balıklarına uygulanmış ve elde edilen bulgular spesifik olmayan bağışıklık sisteminde bazı parametreleri uyardığı, büyüme ve gelişme yönünden teşvik edici olduğu saptanmıştır. Balıklar üzerinde *C. cancellatus* bitki ekstraktının immunostimulant etkisinin ilk defa incelendiği bu çalışma sonuçları incelendiğinde spesifik olmayan immun sistem üzerine uyarıcı bir etki oluşturduğu tespit edilmiştir (Öntaş 2010).

Yapılmış olan tez çalışmada ise; *C. cancellatus* türüne ait *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* ve *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonlarına ait ekstraktlar uygulanmıştır. *C. cancellatus* subsp. *mazziaricus* ve *C. pallasii* subsp. *pallasii* taksonu ekstraktlarının içerildiği gruplarda yapılan istatistiki analizlere göre aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur.

Ekstraktların uygulanma süresi arttıkça istatistiksel olarak fark oluşmaktadır. (DF:3 F:22,43 P:0,00). ALT ölçümünde; bitkiler arası  $P > 0,05$  (P:0,183) ve bitki kısımları arası istatistiksel olarak fark yoktur  $P > 0,05$  (P:0,204). Bitkilere uygulanan dozlar arası istatistiksel olarak fark yoktur ( P:0,619) ancak okumalar arası istatistiksel olarak fark bulunmuştur (DF:1 f:4,3 P:0,04). AST ölçümünde; bitkiler arası istatistiksel olarak fark bulunurken  $P < 0,05$  (DF:1 F:5,03 P:0,027); bitki kısımları arası istatistiksel olarak fark yoktur  $P > 0,05$  (P:0,267). Bitkilere uygulanan dozlar arası  $P > 0,05$  (P:0,489) ve okumalar arası istatistiksel olarak fark yoktur  $P > 0,05$  (P:0,204). GGT ölçümünde; bitkiler arası istatistiksel olarak fark bulunurken  $p < 0,05$  (DF:1 F:7,47 P:0,007) , bitki kısımları arası istatistiksel olarak fark yoktur  $P > 0,05$  (P:0,355). Bitkilere uygulanan dozlar arasında  $P < 0,05$  (DF:1 F:4,79 P:0,031) ve okumalar arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur  $p < 0,05$  (DF:1 F:15,11 P:0,000). Üre ölçümü için bitkiler arası  $P > 0,05$  (P:0,068) ve bitki kısımları arası istatistiksel olarak fark yoktur (P:0,241). Bitkilere uygulanan dozlar arasında istatistiksel olarak fark bulunurken  $p < 0,05$  (DF:1 F:9,54 P:0,003) okumalar arası istatistiksel olarak fark yoktur  $P > 0,05$  (P:0,329)

Yukarıda anlatılanlardan yola çıkarak *Crocus pallasii* subsp *pallasii* taksonu ekstraktlarının daha yüksek total antioksidan aktiviteye ve radikal süpürücülük güce sahip olduğu görülmektedir. Bundan dolayı *Crocus pallasii* subsp *pallasii* taksonunun sitotoksik ve histo-biyokimyasal aktivitelerinin (etanol) yüksek olduğu

görülmüştür. Ama histo-biyokimyasal çalışmalar zamanı sıçanlar üzerinde yaratılmış olan stresin sonucunda ortaya çıkmış olan serbest radikaller antioksidan bileşenler tarafından yok edildiği düşünülebilir. Sitotoksik özellik söz konusu bitkilerin toprak altı ve toprak üstü kısımlarında mevcut olan sekonder metabolit (alkoloid, glikozid vb.) tipli bileşenlerin etki yapmış olduğu düşünülebilir.

Yapılan çalışmalardan yola çıkarak ileride söz konusu taksonların anti-bakteriyel anti-insektisidal ve anti-tümör etkilerine de bakılabilir. Bu konularda başka türler üzerinde yapılmış sonuçlar vardır ve bu sonuçlar çalışmalarımızla birlikte gelecekte yapacağımız çalışmalara ışık tutacaktır.

## 6. KAYNAKLAR

Abdullaev, F., “*Crocus sativus* Aganist Cancer”. *Arch. Med. Res.*, 34: 354, (2003).

Acar, G., “Crocus Cinsine Ait (*Crocus biflorus* Miller, *Crocus baytopiorum* Mathew, *Crocus flavus* Weston subp. *dissectus* T. Baytop & Mathew) Saf Ekstraktların Antimikrobiyal ve Antioksidant Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, (2006).

Amin L., Tan, S.H. “Antioxidant activity of selected seaweeds” *Malaysian Journal of Nutrition* 8: 167-177 (2002).

Arber, A., “*Monocotyledons a morphological study*”, Cambridge Univ. Press., London, (1925).

Arvouet-Grand A., Vennat B., Pourrat A., Legret P., “Standardization d’une extrait de propolis et identification des principaux constituents”, *Journal de Pharmacie de Belgique*, 49, p. 462-468, (1994).

Aydın, Ç., Ermiş, A. Mammadov, R. “Phenolic Contents and Antioxidant Properties of *Sternbergia lutea* (L.) Ker-Gawl. Ex Sprengel Ethanol Extract”, *International Journal of Secondary Metabolite (IJSM)*. 2 (1): 50-25, (2015).

Aydın, S.A., Stün, F., “Tanenlerin kimyasal Yapıları, Farmakolojik Etkileri, Analiz Yöntemleri”, *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 33, 1, 21-31, (2007).

Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., “Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses”, *Food Chemistry*, 99, 191-203, (2006).

Baytop, T., “Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi”, *Geçmişte ve Bugün*, (1984).

Baytop, T., “*Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*”, İstanbul Üniv. Yay. No.3255. İstanbul (1984).

Bilaloğlu, G.V., Harmandar, M., “Flavonoidler”, *Aktif Yayınevi*, 334-354, İstanbul, (1999).

Blois, M.S., “Antioxidant Determination By The Use Of A Stable Free Radical”, *Nature*, 181, 1199-1200, (1958).

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. “Use Of A Free Radical Method To Evaluate Antioxidant Activity”, *Food Science And Technology*, 28, 25-31, (1995).

Cavdar, S., Sehirli, U. and B. Pekin, “Coeliacomesenteric trunk”. *Clin. Anat.* 10, 231-234, (1997).

Cemeroğlu, B., “Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi”, 1. Cilt, *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, 35, 77-88, Ankara, (2004).

Chandler, S. F., and Dodds, J. H. “The effect of phosphate. nitrogen and sucrose on the production of phenolics and solasidine in callus cultures of *Solanum lacinitum*”, *Plant Cell Reports*, 2, 105, (1983).

Coşkun, F., “Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular”, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 27-33, (2006).

Cowan., M. M., “Plant Products as Antimicrobial Agents”, *Clin. Microbiol. Rev.*, 564-582. (1999).

Davis, P.H., “Flora Of Turkey And The East Aegean Islands”, *Edinburg Univ. Press*, Edinburg, 8, (1984).

Davis, P. H., Mill, R.R., Tan K., “Flora of Turkey and the East Aegean”, *Edinburgh Univ. Press.*, (1988).

Demirhan, E., “*Şifalı Bitkiler*”, Alfa Basım Yayın Dağıtım Ltd. Sti., İstanbul, syf:540, (2001).

Duh, P. D., Yen, W. J., Du, P. C., & Yen, G. C., “Antioxidant Activity Of Mung Bean Hulls”, *Journal Of The American Oil Chemists’ Society*, 74,1059-1063 (1997).

Ekim, T., Koyuncu, M., Güner, A., Erik, S., Yıldız, B., Vural, M. “*Türkiye’nin Ekonomik Değer Taşıyan Geofitleri Üzerinde Taksonomik Ve Ekolojik Araştırmalar*”, T. C. Tarım Orman Ve Köyişleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü, İşletme Ve Pazarlama Daire Başkanlığı, O. E. M. Eğitim Dairesi Başkanlığı Yayın Ve Tanıtma Şube Müdürlüğü Matbaası, Ankara, (1991).

Ellefson, W., Lilla Z. and Crowley, R., “Quantification and Evaluation of Antioxidants in Food and Botanical Products”, *International Conference on Nutraceuticals and Functional Foods*, November 5-8, Reno, Nevada, (2006).

Erik, S., Tarıkahya, B., “*Türkiye Florası Üzerine*”, *Kebikeç*, 17:139-163 (2004).

Escribano J., Rios I., Fernandez, J.A., “Isolation and cytotoxic properties of a novel glycoconjugate from corms of saffron plant (*Crocus sativus* L.)”, *Biochemica et Biophysica Acta*, 1426: 217-222, (1999).

Feresin, GE., Tapia AA, Bustos DA. “Antibacterial activity of some medicinal plants from San Juan, Argentina”, *Fitoterapia.* ;71(4):429–432 (2000).

Gomes, T., Caponio, F., Alloggio, V., “Phenolic compounds of virginoliveoil:influence of pastepreparation techniques”, *Food Chemistry*, (64), 203-209, (1999).

Gomes, T., Caponio, F., Alloggio, V., “Phenoliccompounds of virginoliveoil:influence of pastepreparation techniques”, *Food Chemistry*, 64, 203-209, (1999).

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T., “Türkiye Bitkileri listesi (Damarlı Bitkiler)”, *Nezhat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*, İstanbul, (2012).

Güngör, N., “Dut Pekmezinin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri İle Antioksidan Aktivitesi Üzerine Depolamanın Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, (2007).

Güner A., Özhatay N., Ekim T., Başer K. H. C. “Flora of Turkey (Supplement II)”,11, Edinburgh University Press, Edinburgh, 656, (2000).

Güner, A. “Bitkiler Dünyası”, *Bilim Ve Teknik*, Tübitak Yayını, 27, 321ş Pro-Mat Basın Yayın A. Ş., 431p. (1994).

Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Baser, K.H.C. “Flora of Turkey”, Volume 11, Edinburgh University Press. Edinburgh, (2000).

Horiuchi S, Inoue M, Morino Y., “Gama glutamyl transpeptidase. Sidedness of its active site on renal brush border membrane”, *Eur. J. Biochem*, (1978).

Huang, D., OU, B., Prior, R. L., “The chemistry behind antioxidant capacity assays”, *J. Agric. Food Chem*: 53, 1841-1856, (2005).

Isık, S., “Biyoteknolojik Yönden Önemli Tıbbi Bitkiler Ve Bitkisel Ürünlerde Kalitenin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara (2010).

İpek A., Gürbüz B., “Türkiye Florasında Bulunan Salvia Türleri ve Tehlike Durumları”, *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 19(1-2): 30-35, (2010).

Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Paydaş Kargı, S., Cabaroğlu, T., “Bazı zümsü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri”, *II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu*, Tokat, 309-312, (2006).

Keskin, N., Mammadov, R., İli, P., “*Crataegus aronia* var. *dentata* Browicz ekstraktının dalak üzerindeki etkilerinin araştırılması: histokimyasal çalışma” *Pam Tıp Derg.*;5(2), 68-74, (2012).

Konig, G.M., “Meeresorganismen als Quelle pharmazeutisch bedeutsamer Naturstoffe”, *Deutsche Apotheker Zeitung*, 132(14): 673-683, (1992).

Konukoğlu, D., *Biyokimya*, Nobel tıp kitabevi, İstanbul, 123, (2000).

Koyuncu, M., “Geofitler”. *Bilim ve Teknik* Tübitak Yayınları, 27, 321, Pro-Mat Basın Yayını, A.S. Ankara ,(1994).

Krishnaraju, A.V., Rao, T. V. N., Sundararaju, D., Vanisreeb, M., Tsayb, H. S., Subbaraju, G. V. “Assessment of Bioactivity of Indian Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay”, *International Journal of Applied Science and Engineering*, 3 (2): 125-134, (2005).

Liakopoulou-Kyriakides, M., Tsatsaroni, E., Laderis, P. and Georgiadou, K., “Dyeing of Cotton and Wooll Fibres With Pigment From *Crocus sativus* -Effect of Enzymatic Treatment”, *Dyes Pigments*, 36 (3): 215-221, (1998).

Liakopoulou-Kyriakides, M., Tsatsaroni, E., Laderis, P. and Georgiadou, K., “Dyeing of Cotton and Wooll Fibres With Pigment From *Crocus sativus* –Effect of Enzymatic Treatment”, *Dyes Pigments*, 36 (3): 215-221, (1998).

Loskutov, A. V., Beninger, C. W., Hosfield, G. L. and Sink, K. C.,” Development of an Improved Procedure for Extraction and Quantitation of Safranal in Stigmas of *Crocus sativus* L. Using High Performance Liquid Chromatography”, *Food Chem.*, 69: 87-95, (2000).

MacDonald-Wicks, LK., Wood LG ve Garg, ML., “Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro”, a review, *J. Sci. Food Agric.*, 86, 2046–2056, (2006).

Magalhães, LM., Segundo, MA., Reis, S., Lima, JLFC., “Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties”, *Anal. Chim. Acta*, 613, 1–19, (2008).

Mammadov, R., Ili, P. ve Dusen, O., “Phenolic contents and antioxidant properties of *Muscari parviflorum* Desf” *Journal of Chemical Society of Pakistan*, 34, 651-655, (2012).

Mammadov, R., *Tohumlu Bitkilerde Sekonder Metabolitler*, Nobel Press, 428, (2014).



Mathew B., "The Crocus A Revision of the Genus Crocus (Iridaceae)" *B.T. Batsford Ltd* London, (1982).

Mathew BF., "Crocus L. In: Güner A, Özhatay N, Ekim T, Baer KHC (Eds.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands" (supplement II). 11, Edinburgh Univ Press Edinburgh, 271-274, (2000).

Meyer, A.S., Heinonen, M., Frankel, E. N., "Antioxidant interactions of Catechin, Cyanidain, Caffeic acid, Quarsetin and ellagic acid on human LDL oxidation", *Food Chemistry*:61, 71-75, (1998).

Meyer, B.N., Ferrign, R.N., Putnam, J.E., Jacobson, L.B., Nicholas, D.E., McLaughlin, J.L., "Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents", *Planta Medica*, 45, 31- 34, (1982).

Miller, N.J., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A., "A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates", *Clinical Science.*, 84, 407–412, (1993).

Norbaek, R., Brandt, K., Nielsen, J. K., Orgaard, M. and Jacobsen, N., "Flower Pigment Composition of *Crocus* Species and Cultivars Used For a Chemotxonomic Investigation", *Biochem. Syst. Ecol.*, 30: 763-791, (2002).

Noyanalpan, N., "6. Bitkisel ilaç Hammaddeleri Toplantısı", (16-19 Mayıs 1986).

Orhan, I., Kupeli, E., Aslan, M., Kartal, M., Yesilada, E. "Bioassayguided evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of pistachio, *Pistacia vera* L", *Journal of Ethnopharmacology* 105, (1-2): 235-240, (2006).

Oturgan M.H., "Cruciferae Familyasına Ait Bazı Türlerde Biyolojik Aktivite Çalışmaları", Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Farmakognozi ABD, İstanbul, (2007).

Oyaizu M., "Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine", *Jpn. J. Nutr.* 44: 307-315, (1986).

Öntaş, C., “*Crocus cancellatus* (Herbert) Mathew Bitkisinin Levrek Balığının (*Dicentrarchus labrax*, L. 1758) Spesifik Olmayan İmmün Sistem Üzerine Etkisinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Muğla, (2010).

Özel A, Erden K., “İhraç Edilen Bazı Geofitlerin Pazarlanabilir Soğan Üretim Kapasiteleri Ve Bazı Bitkisel Özelliklerinin Belirlenmesi”, *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14(2): 90-99, (2010).

Özhatay N., Byfield, A. ve Atay, S. “Türkiye’nin Önemli Bitki Alanları”, *WWF Türkiye Doğal Hayatı Koruma Vakfı Yayınları*, 88, İstanbul, (2003).

Pehlivan M., Güteryüz M., “Ahududu ve Böğürtlenlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi”, *Bahçe*, 33 (1-2): 51 – 57, (2004).

Pourfraidon, Z., Sharma, C., “Biological activity of prominent anti-cancer plants using Brine Shrimp Lethality Test”, *Journal of Microbial World*, 2, 3, 201-204, (2009).

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., “Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay”, *Free Radic Biol Med*, 26,1231-1237, (1999).

Rudall, P., “Anatomy and systematics of Iridaceae”, *Botanical Journal of The Linnean Society*, 114: 1 – 21,( 1994).

Saldamlı, İ., “*Gıda Kimyası*”, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 463-492, Ankara, (2007).

Sanjust, E., Mocci, G., Zucca, P., Rescigno, A. “Mediterranean Shrubs As Potential Antioxidant Sources”, *Natural Product Research*, 22 (8). 689–708, (2008).

Sarer, E. and Pancoli S. S., “Composition of the Essential Oil From *Calamintha nepeta* (L.) Savi ssp. *Glandulosa* (req.) P.W. Ball.”, *Flav. Fragr. J.*, 13: 31-32, (1998).

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Leblebici, E., Görk, G., Bekat, L., “*Tohumlu Bitkiler Sistematigi*”, Ege Üniversitesi. FEN Fak. Kitaplar Ser. no:116, 446 sayfa. (1997)

Shahidi, F., Nacz, M., “Food Phenolics”, *Technomic Publishing Company Book*, Lanchester, USA, 199-225, (1995).

Singleton, V.L., Orthofer, R., ve Lamuela-Raventos, R.M., “Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent”, *Methods in Enzymology*, 299, 152–178, (1999).

Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z., Nagy, G., “Antioxidant measurements”, *Physiol. Meas.*, 28, 41–R55, (2007).

Sökmen, A., “Antiviral and Cytotoxic Activities of Extracts from the Cell Cultures and Respective Parts of Some Turkish Medicinal Plants”, *Turk J Biol.*, 25, 343-350, (2001).

Vahidi, H., Kamalinejad, M. and sedaghati, N., “Antimicrobial Properties of *Crocus sativus* L. Iranian”, *J. Pharm. Res.*, 1: 33-35, (2002).

Web 1: <http://www.tubives.com>

Web 2: [http://www.hlasek.com/artemia\\_salina\\_bh0184.html](http://www.hlasek.com/artemia_salina_bh0184.html)

Wink, M., “Evolution of Secondary Metabolites From an Ecological and Molecular Phylogenetic Perspective”, *Phytochem.*, 64: 3-19, (2003).

Wu C., Chen F., Wang X., Kim H., He G., Halezitlin V., Huang G., “Antioxidant constituents in fewerfew (*Tanacetum parthenium*) extract and their chromatographic quantification”, *Food Chemistry*, 96: 220–227, (2006)

Zor, M., “Depolamanın Ayva Reçelinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri İle Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, (2007).

# **EKLER**

## 7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : NAHİDE DENİZ

Doğum Yeri ve Tarihi : ANAMUR/ 01.03.1990

Lisans Üniversite : PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ

Elektronik posta : ndeniz\_09@hotmail.com

İletişim Adresi : Pamukkale Üni. Fen-Edebiyat Fak.  
B Blok. Kınıklı/DENİZLİ

### **BİLDİRİ LİSTESİ** :

1. *Çiğdem Aydın, Raziye İleri, Nahide Deniz, Gülten Taşdelen, Ramazan Mammadov* 'Crocus pallasii subsp. pallasii Tuber ve Yaprak Ekstraktlarının Antioksidan ve Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesinin Belirlenmesi' 22.Ulusal Biyoloji Kongresi (Eskişehir) 23-27 Haziran.
2. *Nahide Deniz, Çiğdem Aydın, Özge Kılınçarlan, Ramazan Mammadov* Determination of biological activity of some extracts *Crocus cancellatus* spp.*mazziracus* 1st Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2015).
3. *Nahide Deniz, Erdoğan Kocamaz, Hesna Yaka Gül, Özge Kılınçarlan, Ramazan Mammadov* *Crocus cancellatus* spp.*mazziracus* ekstraktlarının sitotoksik aktivitelerinin belirlenmesi.1st Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2015).
4. *Kılınçarlan Ö., Özay C., Deniz N., Mammadov R.* Distribution Of Ni Hyperaccumulators Belonging To The Brassicaceae In Turkey. *Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2015) 01-05 June 2015, Baku, AZERBAIJAN.*

5. *Nahide Deniz, Barbaros Şahin, Arzu Kaska, Ayşen Çetin Kardeşler, Suleyman Demir, Ramazan Mammadov*, “Histological Activity Of Extracts Isolated From *Crocus pallasii* spp.*pallasii* and *Crocus cancellatus* spp.*mazziaricus* Species On Rat”, *Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2016)*23-27 Mayıs 2016, Antalya, TÜRKİYE.
6. *Nahide Deniz, Ramazan Mammadov*,“ Phytochemical Analysis of Taxa *Crocus pallasii* subsp. *pallasii*”, *Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2016)*23-27 Mayıs 2016, Antalya, TÜRKİYE.
7. *Akgul Rakhimzhanova Ozge Kilincarslan, Nahide Deniz, Ramazan Mammadov* “Determination of Some Biological Activities of Different Solvent Extracts from *Stellaria media*”, *Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2016)*23-27 Mayıs 2016, Antalya, TÜRKİYE.
8. *ian Biodiversity (SEAB-2016)*23-27 Mayıs 2016, Antalya, TÜRKİYE.
9. *Nahide Deniz, Ramazan Mammadov*,“ Phytochemical Analysis of Taxa *Crocus pallasii* subsp. *pallasii*”, *Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2016)*23-27 Mayıs 2016, Antalya, TÜRKİYE.
10. *Akgul Rakhimzhanova Ozge Kilincarslan, Nahide Deniz, Ramazan Mammadov* “Determination of Some Biological Activities of Different Solvent Extracts from *Stellaria media*”, *Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2016)*23-27 Mayıs 2016, Antalya, TÜRKİYE.