

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

***Drimia maritima* (L.) STEARN (ASPARAGACEAE)
EKSTRAKTLARININ BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MELİKA VAEZİ

DENİZLİ, TEMMUZ - 2023

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



Drimia maritima (L.) STEARN (ASPARAGACEAE)
EKSTRAKTLARININ BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MELİKA VAEZİ

DENİZLİ, TEMMUZ - 2023

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.

MELİKA VAEZİ

ÖZET

***Drimia maritima* (L.) STEARN (ASPARAGACEAE) EKSTRAKTLARININ
BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MELİKA VAEZİ
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. OLCAY DÜŞEN)

DENİZLİ, TEMMUZ - 2023

Aerobik organizmalar ROS'un zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanları içeren antioksidan sistemleri kullanmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar, antioksidan bileşenlerin anti-enflamatuvar, anti-kanser, anti-bakteriyal, antiviral özelliklerinin olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu tez çalışmasında, Asparagaceae familyasına ait olan *Drimia maritima* L. türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarından elde edilen, aseton ve su ekstraktlarının biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri β -Karoten/Linoleik asit, Fosfomolibdenyum, DPPH serbest radikal giderim, ABTS serbest radikal giderim, FRAP ve CUPRAC yöntemleriyle tayin edilirken, ilgili ekstraktların toplam fenolik, toplam flavanoid ve toplam tanen miktarları da belirlenmiştir. Ayrıca HPLC metodu ile ekstraktların fenolik içerikleri tespit edilmiştir.

Bunlara ek olarak elde edilen ekstraktların *Artemia salina* L. (Brine shrimp) üzerinde toksik etkileri ve *Musca domestica* L. (ev sineği) larvaları üzerindeki larvasidal etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda *D. maritima* türüne ait toprak üstü ekstraktlarında toprak altı ekstraktlarına oranla daha yüksek antioksidan aktivite tespit edilmiştir. Toprak üstü kısımlarına bakıldığında aseton ekstraktının su ekstraktına göre, antioksidan aktivite ve fenolik bileşen miktarı analizlerinde daha fazla sonuç verdiği görülmüştür. HPLC yöntemiyle klorojenik asit başta olmak üzere pek çok fenolik bileşiği bünyesinde barındırdığı saptanmıştır. Brine shrimp toksisite testinde ise artan konsantrasyona bağlı olarak toprak altı ve toprak üstü su ekstraktlarının ölüm yüzdelerinin arttığı tespit edilmiştir. Buna karşın *M. domestica* larvalarının ölüm yüzdesinin çok düşük olması nedeniyle *D. maritima* ekstraktlarının larvasidal etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Tüm bu çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda *D. maritima* türünün potansiyel bir antioksidan kaynağı olduğu ve farmakoloji, tıp ve gıda endüstrisine katkılar sağlayabileceği ortaya çıkarılmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Antioksidan aktivite, *Artemia salina*, Asparagaceae, *Drimia maritima*, HPLC, *Musca domestica*, Sekonder metabolit

ABSTRACT

INVESTIGATION ON SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *Drimia maritima* (L.) STEARN (ASPARAGACEAE) EXTRACTS

MSC THESIS

MELİKA VAEZİ

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BIOLOGY

(SUPERVISOR: PROF. DR. OLCAY DÜŞEN)

DENİZLİ, JULY 2023

Aerobic organisms use antioxidant systems containing enzymatic and nonenzymatic antioxidants to eliminate the harmful effects of ROS. Epidemiological studies have revealed that antioxidant components have anticancer, anti-inflammatory, antibacterial and antiviral properties. This thesis study was executed in order to identify the biological activities of acetone and water extracts were achieved from above-ground and under ground parts of the *Drimia maritima* L. species belonging to the Asparagaceae family. The antioxidant activities of the obtained extracts were detected by DPPH free radical, Phosphomolybdenum, ABTS free radical, β -Carotene/Linoleic acid, FRAP and CUPRAC methods, while the total phenolic, total flavanoid and total tannin amounts of the related extracts were also determined.

In addition, while the phenolic contents of the extracts were identified by the HPLC method, the toxic effects of *Artemia salina* (Brine shrimp) were also researched, the larvicidal effects on *Musca domestica* (Housefly) larvae were investigated. As a result of this study, the highest antioxidant activity was detected in above-ground extracts of type *D. maritima* compared to under ground extracts. When looking at the above-ground parts, it was found that acetone extract gave more results in the analysis of antioxidant activity and the amount of phenolic components than water extract. It has been found that it contains many phenolic compounds, especially chlorogenic acid, by the HPLC method. In the Brine shrimp toxicity test, it was found that the percentage of lethality of under ground parts and above-ground water extracts increased due to the risen concentrations. However, due to the very low mortality rate of *M. domestica* larvae, it was specified that there was not an effective larvidal effect of *D. maritima* extracts on the *M. domestica* larvae. According to our observations it has been revealed that the *D. maritima* species is a potential resource of antioxidants and can make contributions to the pharmacology, medicine and food industry.

KEYWORDS: Antioxidant activity, *Artemia salina*, Asparagaceae, *Drimia maritima*, HPLC, *Musca domestica*, Secondary metabolites

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ.....	vii
KISALTMA LİSTESİ	viii
ÖNSÖZ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1 <i>Drimia maritima</i> Türünün Genel Özellikleri.....	2
1.2 Serbest Radikaller ve Etkileri	3
1.3 Sekonder Metabolitler.....	4
1.4 Antioksidanlar.....	6
1.5 HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi).....	7
1.6 Brine Shrimp (<i>Artemia salina</i>) Öldürücülük (Lethality) Testi	8
1.7 Vektörler ve Vektör Canlı Mücadelesi	9
1.7.1 <i>Musca domestica</i> (Ev sineği) ve Mücadele Yöntemleri	9
2. MATERYAL ve YÖNTEM.....	11
2.1 MATERYAL.....	11
2.1.1 Bitkilerin Temini ve Teşhis edilmesi	11
2.2 YÖNTEM.....	12
2.2.1 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması.....	12
2.2.2 Antioksidan Kapasite Belirleme Yöntemleri	15
2.2.2.1 β -Karoten/ Linoleik Asit Yöntemi	15
2.2.2.2 Fosfomolibdenyum Yöntemi.....	15
2.2.2.3 Ekstraktların DPPH Serbest Radikal Giderme Kapasitelerinin Belirlenmesi	16
2.2.2.4 ABTS Serbest Radikal Giderim Kapasitesinin Tespiti	17
2.2.2.5 FRAP (Demir İyonunu İndirgeyici Antioksidan Gücü) Yöntemi	17
2.2.2.6 CUPRAC (Bakır İndirgeme Gücü Kapasitesi) Yöntemi.....	18
2.2.3 Toplam Sekonder Metabolit Miktar Tayini	19
2.2.3.1 Ekstraktların Toplam Fenolik Miktarının Tayin Edilmesi	19
2.2.3.2 Ekstraktların Toplam Flavonoid Miktarının Tayin Edilmesi	20
2.2.3.3 Ekstratların Toplam Tanen Miktarının Tayini	21
2.2.4 Fenolik Bileşenlerin HPLC ile Tayin Edilmesi	22
2.2.5 Ekstratların Brine Shrimp (<i>A. salina</i>) Öldürücülük Testi	23
2.2.6 Ev Sinekleri (<i>M. domestica</i>)'nin Üretilmesi	24
2.2.6.1 Ekstraktların Ev Sineği (<i>M. domestica</i>) Larvaları üzerindeki Larvasidal Etkisinin Araştırılması	24
3. BULGULAR	25
3.1 β -Karoten/Linoleik Asit Yöntemi	25
3.2 Fosfomolibdenyum Yöntemi	25
3.3 DPPH Serbest Radikal Giderim Kapasitesinin Belirlenmesi.....	26
3.4 ABTS Serbest Radikal Giderim Aktivitesinin Belirlenmesi	27

3.5 FRAP (Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü) Tayini	28
3.6 CUPRAC (Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü) Tayini.....	29
3.7 Toplam Fenolik Madde Miktarının Tespiti.....	29
3.8 Toplam Flavonoid Madde Miktarının Tepiti	30
3.9 Toplam Tanen Madde Miktarının Belirlenmesi.....	30
3.10 HPLC Yöntemi ile Fenolik Bileşen İçeriklerinin Belirlenmesi	31
3.11 Brine Shrimp (<i>A. salina</i>) Öldürücülük (Lethality) Testi.....	32
3.12 Ekstraktların Ev Sineği (<i>M. domestica</i>) Üzerindeki Larvasidal Etkis	34
4. TARTIŞMA	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	44
6. KAYNAKLAR.....	46
7. ÖZGEÇMİŞ.....	56

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: <i>Artemia salina</i> (Munteanu ve Dumitraşcu 2011).....	9
Şekil 2.1: <i>D. maritima</i> çiçek örneği.....	11
Şekil 2.2: <i>D. maritima</i> soğan örneği.....	12
Şekil 2.3: Ekstraktların çalkalamalı su banyosundaki görünümü.....	13
Şekil 2.4: Ekstraktların süzülmesi	13
Şekil 2.5: <i>D. maritima</i> 'nın toprak üstü aseton ekstraktı.....	14
Şekil 2.6: <i>D. maritima</i> 'nın toprak altı su ekstraktı.....	14
Şekil 2.7: Askorbik asit kalibrasyon grafiği.....	16
Şekil 2.8: <i>D. maritima</i> ekstraktlarının troloksa ait kalibrasyon grafiği	18
Şekil 2.9: <i>D. maritima</i> ekstraktlarının troloks kalibrasyon grafiği	19
Şekil 2.10: <i>D. maritima</i> ekstraktlarının gallik asit kalibrasyon grafiği	20
Şekil 2.11: <i>D. maritima</i> ekstraktlarının kuersetin kalibrasyon grafiği.....	21
Şekil 2.12: <i>D. maritima</i> ekstraktlarının kateşin kalibrasyon grafiği.....	22
Şekil 3.1: <i>D. maritima</i> 'nın toprak üstü kısmı yüzde ölüm oranı grafiği.....	35
Şekil 3.2: <i>D. maritima</i> 'nın toprak altı kısmı yüzde ölüm oranı grafiği.....	35

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1: <i>D. maritima</i> ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit yöntemi ile toplam antioksidan madde miktarları (% inhibisyon değerleri).....	25
Tablo 3.2 <i>D. maritima</i> ekstraktlarının fosfomolibdenyum yöntemi ile antioksidan aktiviteleri (mg AAE/g).....	26
Tablo 3.3: DPPH yöntemi ile <i>Drimia maritima</i> ekstraktlarının serbest radikal giderim aktivite değerleri (mg/ml, IC ₅₀)	27
Tablo 3.4: <i>D. maritima</i> ekstraktlarının ABTS radikal giderim aktiviteleri (mg/mL, IC ₅₀).....	28
Tablo 3.5: <i>D. maritima</i> ekstraktlarının FRAP deney sonuçları (mg TE/g)	28
Tablo 3.6: <i>D. maritima</i> ekstraktlarının CUPRAC deneyi sonuçları (mg TE/g)....	29
Tablo 3.7: <i>D. maritima</i> ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/.....)	29
Tablo 3.8: <i>D. maritima</i> ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları (mgQE/g).....	30
Tablo 3.9: <i>D. maritima</i> ekstraktlarının toplam tanen miktarları (mg CE/g).....	31
Tablo 3.10: Belirlenen bileşenlerin dalga boyları, alıkonma zamanları ve konsantrasyonları.....	32
Tablo 3.11: <i>D. maritima</i> ekstraktlarındaki fenolik bileşen miktarları (μ g/g).....	32
Tablo 3.12: <i>D. maritima</i> 'nın toprak üstü ve toprak altı kısımlarının ekstraktlarının Brine shrimp (<i>A. salina</i>) üzerindeki toksisite değerleri.....	33
Tablo 3.13 <i>D. maritima</i> 'nın toprak altı ve toprak üstü kısımlarının ev sineği (<i>M. domestica</i>) larvası üzerindeki larvasidal etki değerleri (% \pm standart hata) ve istatistiksel değerleri.....	34

SEMBOL LİSTESİ

AlCl₃ : Alüminyum klorür

dH₂O : Distile Su

ET : Tek elektron transferi

gr : Gram

GAE : Gallik asit eşdeğeri

M : Molar

mM : Milimolar

µl : Mikrolitre

nm : Nanometre

mg QE/g: Kuersetin eşdeğeri

K₃Fe (CN)₆ : Potasyum ferrosiyanür

°C : Santigrat derece

% : Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

- Ab** : Absorbans
ABTS : 2, 2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
BHA : Bütillenmiş hidroksianisol
BHT : Bütil hidroksi toluen
CUPRAC : Cupric Reducing Antioxidant Capacity
DPPH : 1, 1-difenil-2-pikril-hidrazil
Dk : Dakika
FRAP : Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü
FCR : Folin-ciocalteu reaktifi
HAT : Hidrojen atomu transferi
HPLC : High Performance Liquid Chromatography
Ppm : Milyonda bir birim
pH : Hidrojen potansiyeli
ROS : Reactive oxygen species (serbest radikal)
Rpm : Revolutions per minute
TCA : Tirokloroasetik asit
UV : Ultraviyole

ÖNSÖZ

Bu çalışma süresince her zaman desteğini ve yardımını esirgemeyen, danışmanım Prof. Dr. Olcay DÜŞEN'e; bu tez çalışmasının bir fikir olarak ortaya konulması aşamasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, araştırmamın her bir evresinde önerileriyle beni destekleyen, hocam Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV'a; tezimin yazım aşamasında yardımlarını ve sabrını esirgemeyen hocam Prof. Dr. Serdar DÜŞEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez çalışmam sürecinde yardımlarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Murat TURAN ve Dr. Özge KILINÇARSLAN AKSOY'a, Şerife DEMİRBAŞ'a ve Nahide DENİZ'e teşekkürlerimi borç bilirim. Ayrıca Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi'nde çalışmalarım süresince verdikleri destekten dolayı Birsen ATLI, Burak IŞIK başta olmak üzere Mehmet Özgür ATAY ve Ekrem FIRIL'a da çok teşekkür ederim.

Son olarak, bu çalışmanın gerçekleşmesinde, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen babam Dariush VAEZI'a ve annem Tayebeh HAJIALIAKBARIMOGHADDAM'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Anadolu, Akdeniz, İnan-Turan ve Avrupa-Sibirya fitocoğrafik bölgelerinin kesişme noktasındaki konumu, farklı iklim ve edafik koşullara sahip Avrupa ve Asya kıtalarıyla bağlantısı nedeniyle dünyanın önemli bitki merkezlerinden biridir (Eker ve Çelik 2020). Türkiye florası, hem biyoçeşitliliği hem de endemik bitki türlerinin çeşitliliği açısından öne çıkan bir floradır. Bir ülkenin florası, doğal kaynaklarıyla birleşerek ülkenin zenginliğini oluşturmaktadır (Bulut ve Yılmaz 2010).

Dünyada yaklaşık olarak 800,000 tür bitki bulunmakta ve bu bitki türlerinin ortalama 9,000'i Türkiye'de yer almaktadır (Özgökçe ve Özçelik 2004). Besin için üretilen bitki türlerinin sayısı 3,000 civarındadır, ancak tüketilen yabancı bitkileri de düşünürsek bu sayı 12,000'e kadar yükselebilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün yayınladığı raporlara göre yaklaşık 1,900 bitki türünün ilaç olarak kullanılabilirdiği belirtilse de, bu amaçla 20,000 bitki türünün kullanıldığı bilinmektedir. Bu büyük tıbbi bitki çeşitliliği içinden ise yaklaşık 600 tıbbi bitki türünün Türkiye'de yetiştiği saptanmıştır (Özgökçe ve Özçelik 2004). Geleneksel şifalı bitkiler, dünyanın çeşitli yerlerinde binlerce yıldır sayısız hastalığı tedavi etmek için kullanılmaktadır (Adebayo ve Krettli 2011). Birçok gelişmekte olan ülkenin ise kültür ve geleneklerinde şifalı bitkiler hala önemli bir rol oynamaktadırlar (Delgado ve diğ. 2011). Şifalı bitkiler aynı zamanda, yeni antikanser ilaçların keşfedilmesine de öncülük etmişlerdir (Balunas ve Kinghorn 2005). Kansere tedavisindeki ilaç direnci, toksisite ve şu anda mevcut olan sitotoksik ilaçların düşük özgüllüğü gibi zorluklar, bilim adamlarını yeni ve doğal antikanser bileşiklerinin araştırılması için şifalı bitkilere yönlendirmiştir (De Mesquita ve diğ. 2009; Balunas ve Kinghorn 2005).

Türkiye sahip olduğu şifalı bitkilerle birlikte dünyadaki en önemli biyolojik çeşitlilik merkezlerinden biridir. Türkiye'nin bitki çeşitliliği, yaklaşık 12,000 doğal vasküler bitki taksonu ve %30'dan fazla endemik türü ile, Grid Sistemi kullanılarak iyi bir şekilde belgelenmiştir. Ancak Türkiye, insanlık tarihi boyunca birçok medeniyete ev sahipliği yaptığı için ağır antropojenik etkilere maruz kalmıştır. Bu nedenle, Türkiye'nin farklı bitki çeşitliliğini korumak için grid karelerin öneminin

nicel bir değerlendirmesine ihtiyaçı vardır (Türe ve Böcük 2010). Türkiye’de çok sayıda endemik bitki türü mevcut olmasına karşın, 600 endemik türün “çok tehlikede (CR)” ve yaklaşık 700 türün “tehlikede (EN)” kategorilerinde sınıflandırıldığı bilinmektedir. Bu nedenle, özellikle yabancı bitki türlerinin korunması için çok uluslu genetik kaynak programlarına ihtiyaç duyulmaktadır (Tekeli ve Gökce 2015).

Diğer ekonomik değeri olan bitki grupları gibi geofit bitkiler de gıda üretimi, ilaç ve peyzaj sektörlerinde kullanıldıkları ve doku kültürü teknikleri ile hızlı bir şekilde çoğaltılmaya çalışıldıkları için büyük ekonomik değere sahiptirler (Zaidi ve diğ. 2000). Türkiye’de bol miktarda geofit bulunmasına rağmen, Türkiye’nin tüm geofitlerini kapsayan herhangi bir yayın henüz yapılmamıştır (Eker 2015).

Tıp, gıda ve ilaç sektörlerinde insan vücudunun ortaya çıkardığı serbest radikallerin sağlık üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak amacıyla antioksidan bileşikler kullanılmaktadır. Son yıllarda bitkiler üzerindeki potansiyel antioksidan aktivite araştırmaları oldukça hız kazanmıştır (Bursal ve diğ. 2013).

1.1 *Drimia maritima* Türünün Genel Özellikleri

Kum örümcekotu (eski adı ile Ada soğanı) olarak bilinen *D. maritima* L. (sin: *Urginea maritima*) çok yıllık, büyük soğanlı, beyaz çiçekli ve otsu bir bitkidir. Dünya genelinde Kuzey Afrika ve Hindistan’da, Türkiye’de ise Akdeniz ikliminin hakim olduğu Batı ve Güney Anadolu bölgesinde, deniz seviyesinden 300 metreye kadar olan alanlarda yayılış göstermektedir (Hoffman 1990; Baytop ve diğ. 1989). Bu tür, Türkiye Florası’nda Liliaceae familyası ve *Urginea* cinsi altında yer almasına rağmen (Davis and Stuart 1984), 2012 yılında yayınlanan “Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)” adlı eserde Asparagaceae familyası ve *Drimia* cinsi içine dahil edilmiştir (Güner ve diğ. 2012).

D. maritima, antik çağlardan beri insanoğlunun tıbbi kullanımı ile tanınan bir bitkidir. Eski Mısırlılar tarafından bitkinin soğanları ve özleri hidropsisi (ödem) tedavisinde, idrar söktürücü, kalp toniği, balgam söktürücü, emetik (kusturucu) ve sıçan zehiri olarak kullanılmıştır (Bowman ve Rand 1980). Günümüzde kardiyotonik (kalp kası güçlendirici) ve diüretik olarak kullanılabildiği gibi (Mohamed ve diğ.

2014), saflaştırılmış glikozitlerinden bazı kardiyak hastalıkların tedavisinde de yararlanılmaktadır (Abir 2021). *D. maritima* türünden klinik deneylerle bir antikanser bileşiği olan Scillaren A elde edilmiştir (Leonti ve diğ. 2017).

D. maritima'nın soğanı, içerdiği saponinler ve diğer suda çözünür maddeler nedeniyle ihtiyotoksik (balık zehri) özelliktedir. İspanya gibi bazı ülkelerde yöresel balıkçılıkta kullanılır. Bitkinin kısımları ezilip suya atılarak balık avlanır. Ayrıca doğrudan veya parçalar halinde kesilerek, pire ve bit kontrolü için repellent etki göstermesi amacıyla kullanılmaktadır. Bitki aynı zamanda domuzlarda uyuz tedavisi için de kullanılmaktadır (Rivera ve diğ. 2022).

D. maritima'nın beyaz veya kırmızı renkli soğana sahip iki çeşidi bulunmaktadır. Beyaz renkli soğana sahip çeşidi geleneksel tıpta su kaybı, solunum rahatsızlıkları, kemik ve eklem komplikasyonları, sarılık, kanser ve epilepsi tedavisinde kullanılmaktadır (Bozorgi ve diğ. 2016).

D. maritima'nın içerdiği kimyasal bileşikler çok farklılık göstermektedir. Pascual-Villalobos ve diğerleri tarafından 1999 yılında yapılan bir çalışmada soğanlarının bufadienolid içerdiği saptanmıştır (Pascual-Villalobos ve diğ. 1999).

1.2 Serbest Radikaller ve Etkileri

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Çoğu olayda serbest radikal üretimi, pato-mekanizmanın bir parçasıdır ve pek çok ksenobiyotiğin toksisitesi ile ilgilidir (Abdollahi ve diğ. 2003). Eşlenmemiş elektronların varlığı genellikle bir serbest radikal üzerinde önemli derecede reaktivite sağlar. Reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit anyon (O_2^-), hidroksil (OH^\bullet), hidroperoksil (OOH^\bullet), peroksil (ROO^\bullet) ve alkoksil (RO^\bullet) serbest radikallerinden ya da hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3) gibi radikal olmayan moleküllerden türemektedirler (Senguttuvan ve diğ. 2014). ROS/RNS'nin biyolojik sistemlerde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Valko ve diğ. 2004). Serbest radikaller, enfeksiyöz ajanlara karşı savunma ve bir dizi hücrel sinyalleme sisteminde rol almak üzere vücudumuzdaki doğal fonksiyonları stabilize etmek için üretilir ancak belli bir miktarı aşmaları sonucunda hücrelerimizde ve dokularımızda oksidatif hasara

neden olmaktadır. Oksidatif hasar, protein, lipid, DNA’larda hasara neden olarak; insanlarda kanser, diabet, yaşlanma gibi kronik hastalıklara sebep olabilmektedir (Halliwell 1996; Aiyegoro ve Okoh 2010). Kadmiyum ve kurşun gibi bazı çevre kirleticilere uzun süre maruz kalmak da, oksidatif strese yol açmaktadır (Abdollahi ve diğ. 2004).

Serbest radikaller, oksijenin organik bileşiklerle enzimatik olmayan reaksiyonlarından ve iyonlaştırıcı radyasyonların etkisiyle üretilmektedir. Enzimatik olmayan süreç, mitokondride oksidatif fosforilasyon sırasında da meydana gelebilmektedir (Valko ve diğ. 2007; Dröge 2002). Endojen antioksidan savunmalarımız, oksidatif hasarı tamamen önlemek için yetersizdir. Bu nedenle, diyet antioksidanlarının kaynakları bizim için özellikle önemli olabilmektedir. Antioksidanların optimal alımını belirlemek, günümüzde beslenme ve serbest radikaller alanındaki en büyük zorluklardan birisidir (Halliwell 1994).

1.3 Sekonder Metabolitler

Bitkiler, hastalıkta ve hatta serbest radikallerle ilişkili bozukluklarda terapötik potansiyele sahip biyolojik olarak aktif birçok sekonder metabolitin zengin bir kaynağıdır (Aydın ve diğ. 2016). Sekonder metabolitler, organizmaların yaşam süreçlerinin bir parçası olarak üretilen ve çeşitli işlevlere sahip organik bileşiklerdir. Birincil metabolitler türün hayatta kalmasında önemli role sahiptirler. Bunlar fotosentez ve solunumda aktif işlev görmelerine rağmen sekonder metabolitlerin yokluğu ani ölümle sonuçlanmaz. Daha çok organizmanın hayatta kalmasının uzun süreli bozulmasında ve bitki savunmasında önemli bir rol oynamaktadırlar. Sekonder metabolitler, bitkilerin değişen çevre koşullarına uyumunda önemli rol oynarlar ve oluşan stres etkilerinin üstesinden gelmektedirler (Edreva ve diğ. 2008). Bu bileşikler, bitkiler, mantarlar, bakteriler, algler ve hayvanlar tarafından sentezlenen son derece çeşitli doğal ürünler grubudur (Costa ve diğ. 2012). Sentezlenen sekonder metabolitler arasında, bitki polifenolleri, en güçlü ve terapötik açıdan yararlı biyoaktif maddelere sahip aromatik hidroksillenmiş bileşiklerdir (Aydın ve diğ. 2016).

Sekonder metabolitlerin 100,000’den fazla türevinin varlığı bilinmektedir. Bu organik bileşiklerin başlıca sınıflarını alifatik, aromatik, hidroaromatik ve heterosiklik

gibi benzersiz karbon iskeletleri, fonksiyonel grupların çeşitliliği meydana getirir. Yapılan çalışmalarda kompleks bileşiklerin organdan organa, bazen de bitkinin türleri arasında farklılık gösterdiği ve bunların bazen bitki sınıflandırmasında taksonomik karakter olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir (Wink 2010).

Karmaşık doğal ürünlerin temel özelliklerinden biri, sekonder metabolitlerin çeşitliliğidir (Koch ve diğ. 2005). Bitki sekonder metabolitleri terpenoidler, fenolikler ve alkaloidler olmak üzere üç ana grup altında toplanmaktadır. Bu üç grup arasında fenolik bileşikler diyet uygulamaları için en uygun olan ve üzerinde en kapsamlı araştırmaların yapıldığı gruptur (Do ve diğ. 2014). Terpenler, mevalonat yolundan ya da deoksiksilüloz fosfat yolundan ortaya çıkabilen terpen oluşturma birimleri dimetilalil pirofosfat ve izopentenil pirofosfattan türetilirler (Dickschat 2011). Diğer sekonder metabolitler gibi alkaloidler de bitkilerde herbivorlar ve patojenlere karşı savunmada görev alan bileşiklerdir. Potansiyel biyolojik aktivitelerine bağlı olarak bilinen yaklaşık 12,000 alkaloid, farmasötik, uyarıcı, narkotik ve zehir olarak kullanılmaktadır (Crozier ve diğ. 2006).

Bitkiler, büyümelerini dinamik olarak düzenleyerek genellikle otçul veya patojen saldırısı gibi durumlarda büyüme ve gelişme için kaynaklarını azaltırlar. (Kliebenstein 2016). Mevcut veriler bitkinin kendi büyümesini, rapamisin hedefi regülasyonu, oksin regülasyonu, oksinden bağımsız transkripsiyon regülasyonu ve oksin aracılı ROS birikimi dahil olmak üzere birçok farklı mekanizma ile etkileyebileceğini ortaya koymuştur (Katz ve diğ. 2015; Malinovsky ve diğ. 2017; Salehin ve diğ. 2019). Bitkiler, içerdikleri sekonder metabolitler sayesinde böcek öldürücü aktiviteye (insektisit) sahip olduklarını da kanıtlamışlardır. Buna yönelik olarak son zamanlarda böcek öldürücü ilaç sanayisinde böcek öldürücü bitki özleri çok sık kullanılmaya başlanmıştır (Saadane ve diğ. 2020).

Yapılan ön çalışmalar, tıbbi bitkilerin yüksek miktarda fenolik bileşik içerdiklerini ve güçlü antioksidan özelliklere sahip olduklarını göstermektedir.

Antioksidan aktiviteye sahip tipik fenoliklerin esas olarak fenolik asitler ve flavonoidler olduğu bilinmektedir. Fenolik asitlerin, meyve, sebze ve diğer bitkilerde doğal antioksidanlar olduğu bilinmektedir. Örneğin kafeik asit, ferulik asit ve vanillik asit bitkiler aleminde geniş çapta dağılmıştır. Kafeik asidin flavonoid, kuersetin ile

karşılaştırılabilir yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Zheng ve Wang 2001). Vitaminler (özellikle C ve E vitaminleri), karotenoidler ve fenolik bileşikler üç ana antioksidan grubudur (Freile-Pelegrín ve Robledo 2013). Bunlar arasında fenolik bileşikler veya fenoller, çeşitli fizyolojik etkilere sahip geniş bir yapısal özellikler yelpazesi içerir (Balasundram ve diğ. 2006). Genel olarak, birden fazla hidroksil grubu içeren flavonoidler, fenolik asitlere göre peroksil radikallerine karşı daha yüksek antioksidan aktivite içerirler. Bununla birlikte, flavonoid glikozitler (rutin, naringin ve hesperidin dahil) genellikle düşük ORAC (Oksijen Radikal Emme Kapasitesi) değerlerine sahiptir (Robards ve diğ. 1999).

1.4 Antioksidanlar

ROS'un zararlı etkilerini azaltarak ortadan kaldırmak için aerobik organizmalar, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanları içeren antioksidan sistemleri kullanmaktadır (Halliwell ve Gutteridge 1998). Canlılar vücut hücrelerini ve organ sistemlerini reaktif oksijen türlerine karşı korumak ile beraber serbest radikalleri nötralize etmek için etkileşimli ve sinerjistik olarak işlev gören oldukça sofistike ve karmaşık bir antioksidan koruma sistemi geliştirmiştir. Bu nedenle antioksidanlar, serbest radikalleri hücrelere saldırmadan önce stabilize etme veya devre dışı bırakma yeteneğine sahiptir (Boligon ve diğ. 2014). Antioksidanların kronik hastalıkların riskini azalttığına dair sayısız çalışma bulunmaktadır (Halliwell ve Gutteridge 1984). Epidemiyolojik çalışmalar antioksidan bileşenlerin anti-enflamatuar, anti-kanser, anti-bakteriyel, antiviral özelliklerinin olduğunu ortaya çıkarmıştır (Owen ve diğ. 2000). Fitokimyasalların, özellikle fenolik bileşiklerin, yüksek antioksidan aktiviteleri gıda ve ilaç endüstrilerinde kullanılmasına yol açmaktadır. Bitkisel içerikli ürünler, antioksidan özelliklerin yanında, antimikrobiyal, antiviral ve antiinflamatuar aktiviteleriyle ve tirozinaz gibi farmasötik enzimleri inhibe etmeleriyle değer kazanmaktadır (Rice-evans ve diğ. 1997; Shi ve diğ. 2005).

Antioksidan aktivite, hidrojen atomu transferi (HAT), tek elektron transferi (ET), indirgeme gücü ve metal şelasyon dahil olmak üzere farklı mekanizmalara sahip çeşitli analizlerle kontrol edilebilir. Ölçüm deneylerinin temel mekanizmalarını, avantajlarını ve sınırlamalarını anlamak, istenen uygulamalarda antioksidan

potansiyelinin geçerli bir şekilde değerlendirilmesi için uygun yöntemlerin seçilmesi açısından önem taşımaktadır (Shahidi ve Zhong, 2015).

1.5 HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)

Bitkilerin sahip olduğu biyoaktif sekonder metabolitlerin farmakoloji sektöründe kullanılabilmesi için fenolik bileşenlerin yapısal kimliklerinin ve miktarlarının belirlenmesi gerekmektedir. Ancak fenolik bileşiklerin yapılarının karmaşık olmasından dolayı in vitro teknikler yeterli olmayıp, bunun için yıllar geçtikçe yeni kromatografik teknikler ortaya çıkmıştır. Sabit ve hareketli fazlar arasında bir karışımın özelliklerine göre bileşenlerine ayrılması işlemine kromatografi denir. Karışım sabit fazda farklı zamanlarda tutulması sonucu bileşenler sistemi farklı zamanlarda terk ederler, bu sayede karışımda bulunan bileşenleri ayırmak, tanımlamak hatta saflaştırmak mümkün hale gelmektedir (Yener 2017). Kromatografi teknikleri arasında en sık kullanılan tekniklerden biri de yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)'dir (Tomruk 2005). Sıvı kromatografisi, katı durgun sabit faz (geniş bir yüzey alanında bulunan küçük gözenekli partiküller içeren kolon) ve sıvı olan hareketli (mobil) bir faza sahip, kütle spektrometresi, yüksek moleküler özgüllük ve algılama duyarlılığı ile numune içindeki maddelerin yapısal kimliğini ortaya çıkarmaya yarayan bir kromatografi tekniğidir. İlk aşamada mobil fazda bulunan sıvı pompa aracılığı ile kolondan geçirilmekte, kolondan geçen sıvı dedektöre ulaşmakta ve son olarak atık olarak cihazdan çıkarılmaktadır. Kolondan çıkan maddeler dedektörden geçtiği zaman burada bir sinyal üretilmekte ve sinyal bilgisayara yönlendirilmektedir. Normal ve ters faz olmak üzere iki tip sıvı kromatografisi vardır. Bitkilerin yapısında bulunan fenolik bileşiklerin tespitinde çoğu zaman sabit faz olarak n-oktadesil (C18 kolon), hareketli faz olarak da metanol veya asetonitril solventleri kullanılmaktadır. HPLC tekniğinin işlemlerinin uzun sürmesi, daha çok solvent harcaması, ayırım gücündeki zorluklar gibi dezavantajları göz önünde bulundurulduğunda son dönemlerde araştırmacılar bu kromatografi tekniğini değiştirerek daha kısa analiz süresi ve daha yüksek ayırım gücüne sahip UHPLC veya UPLC (Ultra performanslı sıvı kromatografisi) denilen kromatografiler geliştirmişlerdir (Zotou 2012). MS (Kütle spektrometresi) UV-Visible ve MS/MS (kütle spektrometresi/kütle spektrometresi) bitkilerin fenolik bileşiklerinin analizinde

en çok kullanılan HPLC dedektörlerindedir. UV-Visible dedektörlerin en önemli özellikleri sıvı içindeki bileşenlere zarar vermemesi ve belirli dalga boylarındaki ışığın absorblanmasıyla sinyali oluşturmalarıdır (Yener 2017).

1.6 Brine Shrimp (*Artemia salina*) Öldürücülük (Lethality) Testi

Tüm kimyasalların yan etkileri, aslında toksik etkilerdir. Kimyasal maddeler belirli bir dozdan sonra insanlar ve hayvanlar üzerinde akut veya kronik toksik etkiler ortaya çıkabilir. Akut etkinin saptanmasında kullanılan deneyler, biyolojik sistemlerde kimyasal ürünlerin tüketimini belirlemeye ve özellikleri doz-yanıt ilişkisi verilerini elde etmeye yöneliktir (Sharififar ve diğ. 2009). Brine Shrimp (*A. salina* L.) Öldürücülük Testi, çeşitli bitki türlerinin biyolojik aktivitelerini izlemek için uygun bir sistemdir. *A. salina* (Brine shrimp) öldürücülük testi, çeşitli bitki türlerinin biyolojik aktivitelerini izlemek için uygun bir sistemdir. *A. salina*, kültürü kolay ve kısa zamanında üretilme özelliğine sahip olmasından dolayı popüler bir test organizması haline gelmiştir. Dünya çapında tuzlu su içeren sulak alanlarda yaygın olarak bulunur ve ticari olarak da yumurtaları temin edilebilir (Persoone ve diğ. 1989). Brine shrimp, tropik ve ılıman bölgelerde 500'den fazla yaprak veya doğal tuz gölünde yaşayan primitif kabuklular arasında yer alan bir türdür (Choudhary ve Thomsen 2001). Bu yöntem, toksik etki mekanizması hakkında yeterli bilgi sağlamasa da, çeşitli bitki ekstraktlarının toksik potansiyellerinin değerlendirilebilmesinde faydalı bir yöntemdir (Hamidi ve diğ. 2014). Kısaca bu yöntem, memeli hayvan modellerinde daha ileri deneyler için bir ön toksisite tarama testidir (Wu 2014), (Şekil 1.1).



Şekil 1.1: *Artemia salina* (Munteanu ve Dumitraşcu 2011).

1.7 Vektörler ve Vektör Canlı Mücadelesi

Tıpkı insan ve hayvanlarda olduğu gibi bitkiler de kendilerini çeşitli zararlıların etkisinden korumak için savunma sistemi olarak sekonder metabolitleri kullanmaktadırlar (Shanker ve Solanki 2000). Kemirgenler, ev sinekleri, sivrisinekler, hamamböcekleri, tatarcıklar ve pireler gibi vektör canlılar, dünyada önemli bir rol oynamaktadır. Bu canlılar, yılda 500 milyondan fazla insana bulaşan sıtma, dang, zika virüsü ve sarıhumma gibi ciddi enfeksiyonların taşıyıcılarıdır (WHO 2016; WHO 2014). Bu ve benzeri vektörlere karşı sekonder metabolitlerin, insektisit ve larvasidal etkilerinin araştırılması günümüzde önem kazanmıştır.

1.7.1 *Musca domestica* (Ev sineği) ve Mücadele Yöntemleri

M. domestica L. (ev sineği), holometabol (tam başkalaşım) yaşayan canlılardır (Myers ve diğ. 2020). Bu süreçte bir yumurtadan üç larva, bir pupa ve sonunda bir ergin sinek oluşur. Bir yetişkin sinek, organik maddelerle zenginleştirilmiş bir ortamda, her seferinde ortalama 100-120 adet arasında, krem-beyaz renkli ve yaklaşık

1 mm kalınlıkta yumurta bırakabilmektedirler (Koç ve Çetin 2017). Yumurtalar 24 saat içinde açılır, larvalar ilk evrelerinde nem ve besinin yoğun olduğu bölgeye doğru hareket etmektedirler. Evreler ilerledikçe larvalar, nemi az ve çok ışık almayan alanlara yakın yerleşerek pupa evresine geçerler. Larvaların en uygun sıcaklık aralığı ise 35-38°C arasındadır (Çakır 2018). Pupa evresi, larvanın boyunun kısalıp kalınlaşarak renginin de koyulaştığı bir evredir ve renk koyulaştıktan sonra 1-2 gün içinde ergin olarak sinekler çıkmaktadırlar (Koç ve Çetin 2017). Ergin evredeki ev sineklerinin ömrü, ortalama 2-3 hafta sürer. Ancak sineklerin buldukları ortamın sıcaklığına bağlı olarak bu süre bazen uzayabilmektedir. Dişi ev sinekleri, erkeklere göre daha büyüktür. Yumurtadan çıkan genç bireyler, 2-3 gün boyunca geliştikten sonra bir kez çiftleşirler ve sonrasında vücutlarındaki depolanan spermleri kullanarak belirli aralıklarla yumurta bırakırlar. Ev sinekleri ışığa yönelim özelliklerinden dolayı gündüzleri aktif olmaktadır (Çakır 2018).

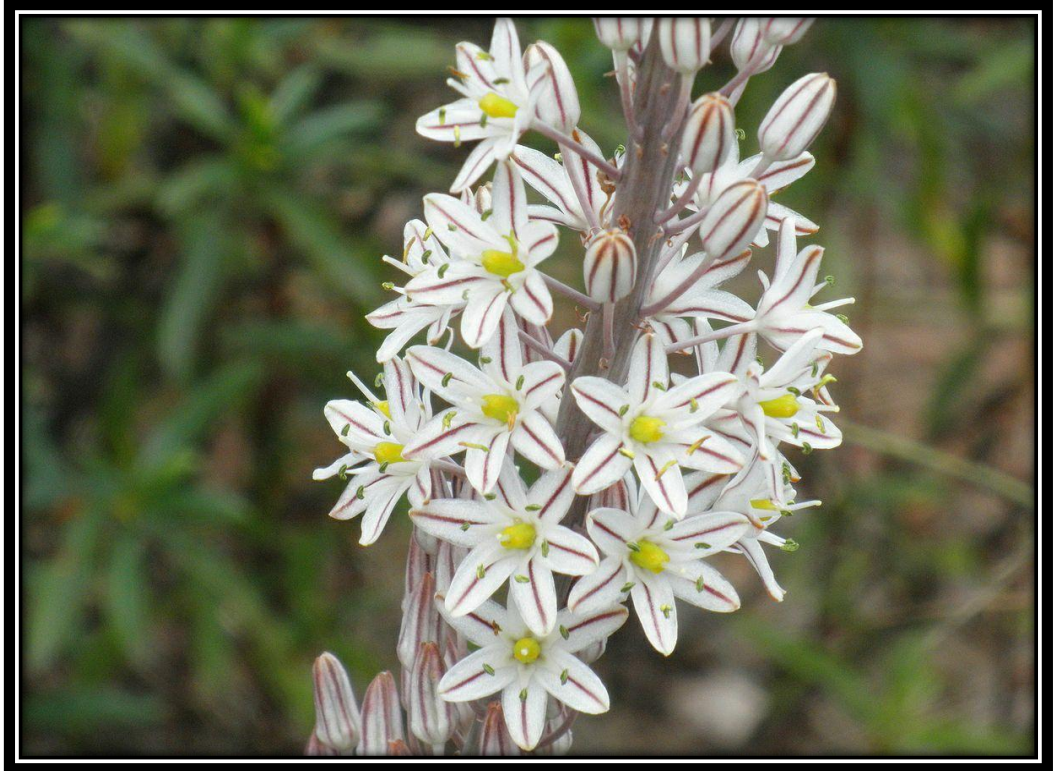
M. domestica türü, dünya çapında çok yaygın olup ev sineklerinin % 90'ını oluşturmaktadır (WHO 2016). Buna ek olarak insanların ve hayvanların yaşadıkları alanlardaki organik besinlerle beslenerek rahatsızlık ve besinlere zarar vermektedirler. Bu sinekler ağız parçaları ve organları üzerinde taşıdıkları patojenler nedeniyle memelilerde hepatit, tifo ve kolera gibi birçok enfeksiyona sebep olabilmektedirler (Çakır 2018; Koç ve Çetin 2017). Ahırlar, barınaklar ve hayvanların çevresinde bulunarak hayvanlardan elde edilen ürünlerin veriminin düşmesinden sorumludurlar (Çetin 2016). Ayrıca, ev sinekleri hızlı bir şekilde çevreye adapte olur ve çok sayıda yumurta bırakabilir. Tüm bunlar ev sineğiyle mücadeleyi zorlaştırır ve entegre mücadele yöntemlerinin sağlanmasını gerektirir. Kimyasal yöntemlerin yanı sıra, biyolojik, fiziksel ve kültürel mücadele yöntemleri de mevcuttur (Koç ve Çetin 2017).

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1 MATERYAL

2.1.1 Bitkilerin Temini ve Teşhis edilmesi

Bu çalışmanın materyali oluşturan *D. maritima* örnekleri 2020 yılının Şubat ve 2021 yılının Haziran aylarında Antalya ilinin Döşemealtı ilçesindeki uygun habitatlardan ekolojik dengenin korunmasına ve endemik türlere zarar vermemeye dikkat edilerek toplanmıştır (Şekil 2.1, Şekil 2.2). Araziden toplanan bitki örnekleri zaman kaybetmeden laboratuvara getirilmiştir. Örneklerin tür teşhisleri Pamukkale Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde görev yapan Botanik Anabilim dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Olcay DÜŞEN tarafından yapılmıştır.



Şekil 2.1: *D. maritima* çiçek örneği



Şekil 2.2: *D. maritima* soğan örneği

2.2 YÖNTEM

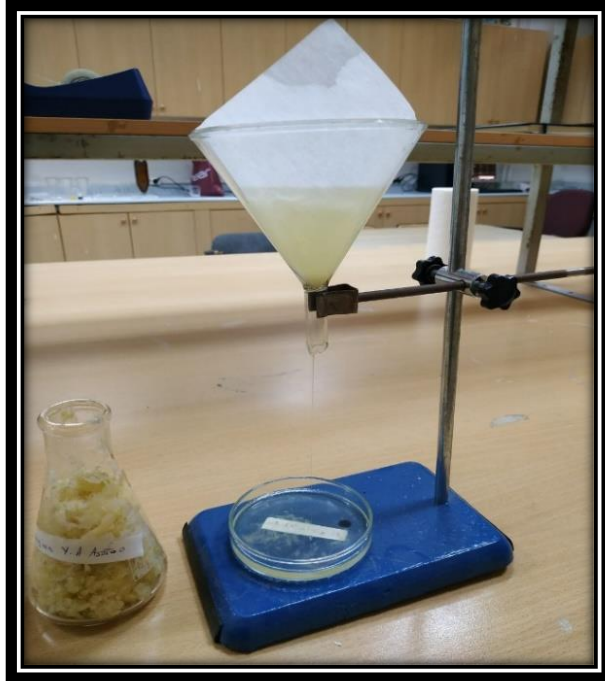
2.2.1 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Arazi çalışmalarıyla toplanan örnekler laboratuvarında morfolojik özelliklerini yitirmemesine özen göstermek için hızlıca toprak altı ve toprak üstü kısımlarına ayrılmıştır. Örneklerin toprak üstü ve toprak altı kısımları küçük parçalara ayrılarak kurumaları için oda sıcaklığında serilmiştir. Örnekler tamamen kurduktan sonra toz haline getirilerek, 10 mg bitki örneğine 250 mL çözücü (aseton ve distile su) olacak şekilde bir karışım hazırlanmıştır. Bu karışım 55°C'ye ayarlanmış çalkalamalı su banyosunda (Memmert, SV 1422) 6 saat bekletilerek süzölmüştür. Bu işlem üç kez tekrarlanmıştır (Şekil 2.3, Şekil 2.4). Elde edilen ekstraktların çözücü kısmı düşük basınç ve 42-47°C'de rotary evaporatörde (IKA RV 10), yapısındaki su ise liyofilizatör (Labconco FreeZone) kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Elde edilen bitki

ekstraksiyonu deneylerde kullanılmak üzere -20°C 'de saklanmıştır (Şekil 2.5, Şekil 2.6) (Mammadov ve diğ. 2011).



Şekil 2.3: Ekstraktların çalkalamalı su banyosundaki görünümü



Şekil 2.4: Ekstraktların süzülmesi



Şekil 2.5: *D. maritima*'nın toprak üstü aseton ekstraktı



Şekil 2.6: *D. maritima*'nın toprak altı su ekstraktı

2.2.2 Antioksidan Kapasite Belirleme Yöntemleri

2.2.2.1 β -Karoten/ Linoleik Asit Yöntemi

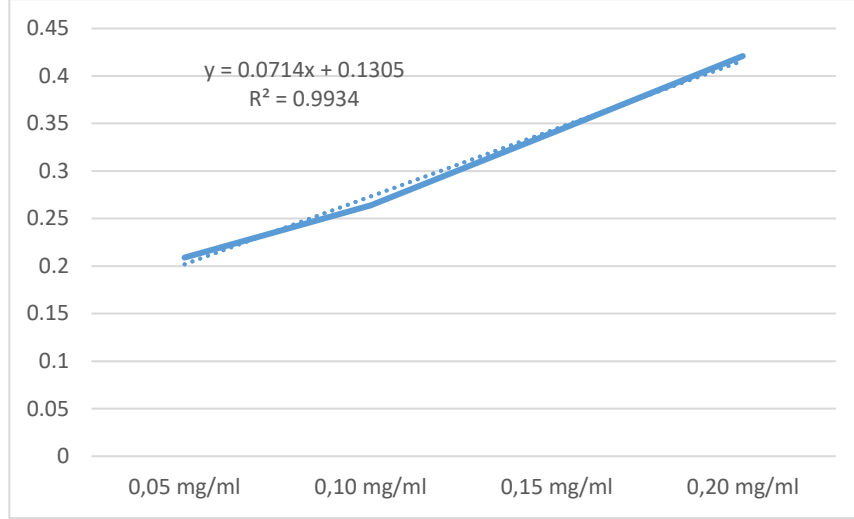
Bu yöntem kapsamında kullanılan stok β -karoten çözeltisi için 2 mg β -karoten 1 ml kloroformda çözdürülmüştür. Bu çözeltiliye 20 μ L linoleik asit ve 200 μ L Tween 20 ilave edilmiştir. Rotary evaporatör vasıtasıyla kloroform 10 dk süre ile buharlaştırılmıştır. Daha sonra da çözelti distile su (100 mL) ile karıştırılmıştır. Bu çözeltinin 48 mL'si test tüplerindeki 1 mg/mL derişimdeki ekstraktların 2mL'sine ilave edilmiştir. Çözelti test tüplerine ilave edildiğinde zaman geçirmeden spektrofotometrede (Shimadzu UV-1601, Japon) 470 nm'de başlangıç absorbansları ölçülmüştür. Tüpler 50°C'de 2 saat inkübasyona bırakılarak inkübasyona devam edilmiştir. Bu test yönteminde bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Amin ve diğ. 2004). Toplam antioksidan aktivite aşağıda verilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$AA: [1 - (A_0 - A_t / A_0^o - A_t^o)] \times 100$$

A₀ örneğin ilk absorbansı, A_t kontrolün ilk absorbansı, A₀^o örneğin 2 saat sonraki absorbansı, A_t^o de kontrolün 120 dakika sonraki absorbans değeridir (Amin ve diğ. 2004).

2.2.2.2 Fosfomolibdenyum Yöntemi

İçerisinde 1mL (0,2 mg/mL)'lik ekstrakt bulunan test tüpleri 0,5 mL olacak şekilde iki gruba bölünmüştür. Her tüpün üzerine 5 mL fosfomolibdenyum çözeltisi (10 mL distile su, 36 mg sodyum fosfat ve 49 mg amonyum molibden) ilave edilmiştir. Test tüpleri 95°C'de 90 dk inkübe edildikten sonra oda sıcaklığına gelince köre karşı (distile su) 695 nm'de absorbans değerlerinin ölçümü yapılmıştır. Özütlerin toplam antioksidan kapasiteleri standart askorbik asit (mg AA/g) grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak (Şekil 2.7) belirlenmiştir:



Şekil 2.7: Askorbik asit kalibrasyon grafiği

2.2.2.3 Ekstraktların DPPH Serbest Radikal Giderme Kapasitelerinin Belirlenmesi

D. maritima ekstraktlarının serbest radikal giderim aktiviteleri DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikali kullanılarak tespit edilmiştir (Wu ve diğ. 2006). DPPH'in %0,004'lük (w/v) metanolik çözeltisinin 4 mL'si, ekstraktların 1 mL (1, 2, 4, 8 mg/mL)'si ile karıştırılarak karanlık bir ortamda oda sıcaklığında 30 dk süresince inkübasyona tabii tutulmuştur. Bu sürenin bitiminde örneklerin absorbansı spektrofotometrede 517 nm'de ölçülmüştür. Absorbans değerleri kullanılarak yüzde inhibisyon değerleri aşağıda verilen eşitlikten yararlanılarak hesaplanmıştır:

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

Burada; A_0 kontrolün absorbansı ve A_1 örneğin absorbansıdır.

Hesaplanan yüzde inhibisyon değerleri, mg/mL olarak belirlenen ekstrakt derişimlerine karşı çizilen grafiğe aktararak, elde edilen denklem yardımıyla ekstraktların %50 inhibisyona neden olan konsantrasyon (IC_{50}) hesaplanmıştır. Bu test yönteminde BHA standart olarak kullanılmıştır. Bu yöntemde tüm deneyler üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.4 ABTS Serbest Radikal Giderim Kapasitesinin Tespiti

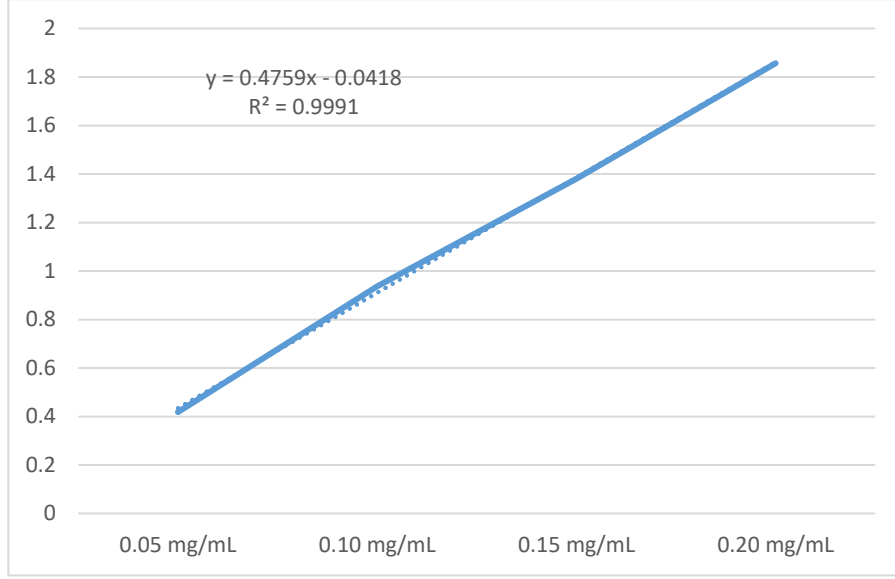
Distile suda hazırlanmış olan 10 mL 40 mg ABTS (2,2'-Azino-bis, 3- etilbenzenothiazoline-6- sülfonik asid çözeltisi) ve 7 mg potasyum persülfat çözeltisi karıştırılarak 12-16 saat boyunca karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Bu çözelti kullanılmadan önce spektrometrede 734 nm'de ölçülmüş ve 700 nm'ye kadar metanol ile seyreltilmiştir. Her deney için bu karışım yeniden hazırlanmıştır. Ekstraktlardan bir stok hazırlanıp, stoktan da 5 farklı konsantrasyon (1, 2, 4, 8, 10 mg/mL) elde edilmiştir. Hazırlanan metanollü ABTS çözeltisinden 2 mL alınarak, ekstraktlardan oluşturulan farklı konsantrasyonlar üzerine eklenmiş ve 30 dk karanlıkta bekletilmiştir. Son olarak spektrofotometrede 734 nm'de absorbans değeri okunmuştur, deneyde standart olarak BHA kullanılmıştır. Aşağıda verilen formül ile yüzde inhibisyon değeri hesaplanarak, çizilen standart eğriden IC₅₀ değeri hesaplanmıştır (Re ve diğ. 1999).

$$\text{ABTS radikal giderme aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ kontrol absorbansını, A₁ örnek absorbans değerini ifade etmektedir.

2.2.2.5 FRAP (Demir İyonunu İndirgeyici Antioksidan Gücü) Yöntemi

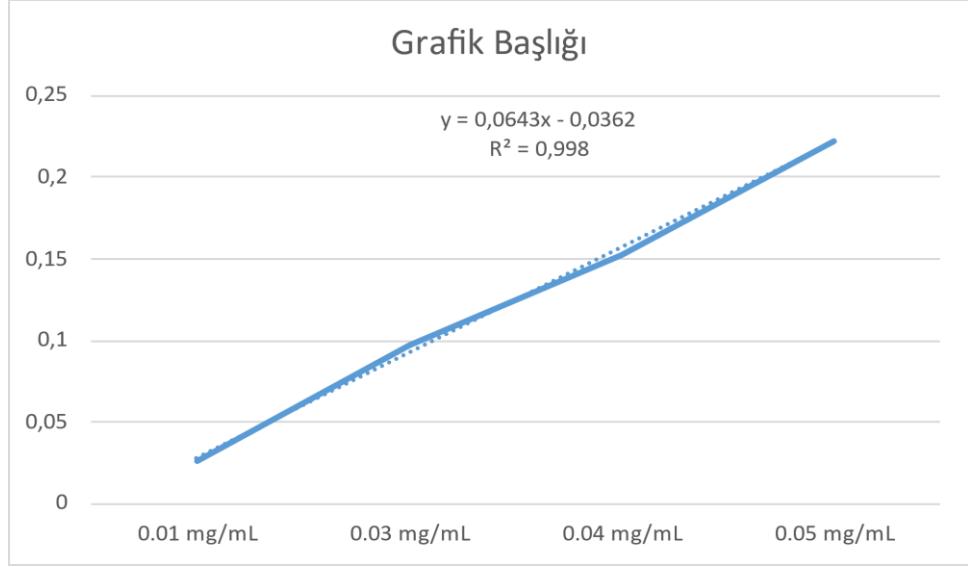
FRAP deneyi, Benzie ve Strain (1996)'in yapmış oldukları çalışma metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Kendi çözücülerinde çözdürülen 1 mg/mL'lik ekstraktların üzerine 2 mL'lik FRAP reaktif çözeltisi (10:1:1 oranında asetat tamponu (0,3 M Ph: 3,6), 40 mM HCl içinde 10 mM TPTZ ve 20 mM FeCl₃) eklenerek, 30 dk süre ile karışım karanlık bir ortamda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda karışım spektrofotometre yardımıyla 595 nm'de absorbansları ölçülmüş ve kör olarak distile su kullanılmıştır. Absorbans değerleri ile oluşturulan troloks eşdeğerlik (mg TE/g) grafiğindeki denklem vasıtası ile antioksidan güç hesaplanmıştır. Troloksa ait kalibrasyon grafiği Şekil 2.8'de verilmiştir.



Şekil 2.8: *D. maritima* ekstraktlarının troloksa ait kalibrasyon grafiği

2.2.2.6 CUPRAC (Bakır İndirgeme Gücü Kapasitesi) Yöntemi

Bu yöntemde *D. maritima* ekstraktlarının 0,2-1,0 mg/mL arasındaki farklı konsantrasyonları kullanılmıştır. Bu yöntemde her bir deney tüpüne 1 mL $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (10⁻² M), 1 mL amonyum asetat (1 M Ph: 7), 1 mL neokuproin (7.5×10⁻³ M) çözeltileri ile 0,6 mL saf su eklenmiştir. Daha sonra her bir tüpe ekstraktlardan 0,5 mL ilave edilmiş ve iyice karıştırılması sağlanmıştır. İnkübe edilen tüpler karanlık bir ortamda oda sıcaklığında ağızları kapalı bir biçimde 30 dk bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda absorbanslar 450 nm'de okunmuştur (Apak ve diğ. 2006). Elde edilen sonuçlar troloksa eşdeğer (mg TE/g) olarak hesaplanmıştır. Troloksa ait kalibrasyon grafiği Şekil 2.9'da verilmiştir.

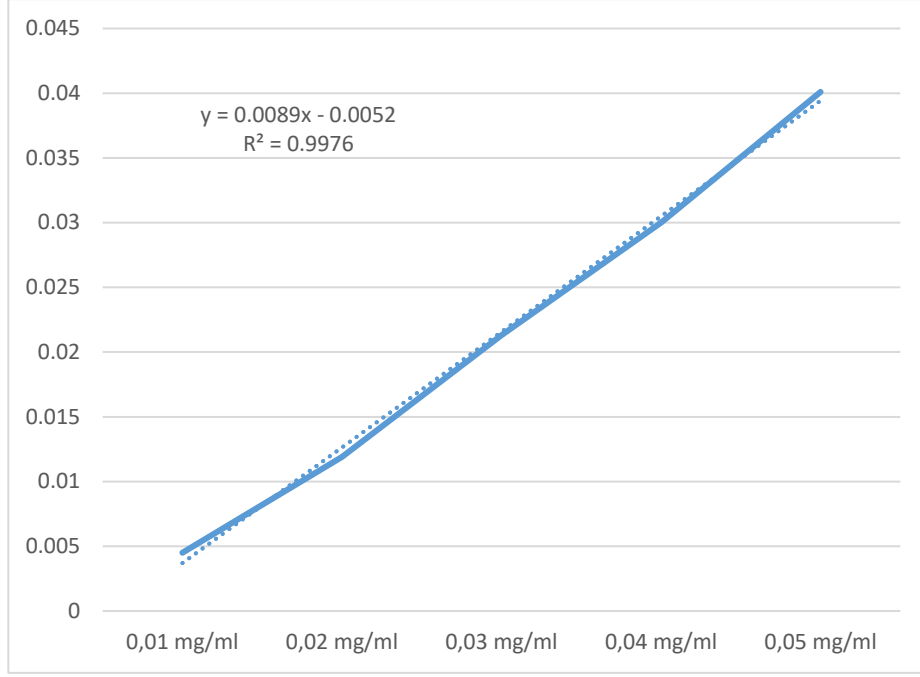


Şekil 2.9: *D. maritima* ekstraktlarının troloksa kalibrasyon grafiği

2.2.3 Toplam Sekonder Metabolit Miktar Tayini

2.2.3.1 Ekstraktların Toplam Fenolik Miktarının Tayin Edilmesi

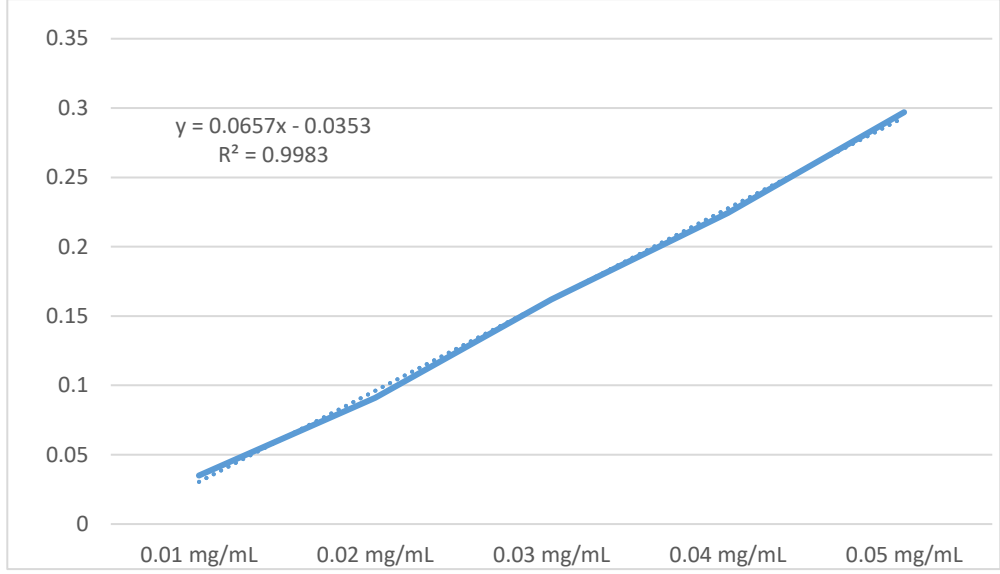
FCR (Folin-Ciocalteu Reaktifi) kullanılarak ekstraktların toplam fenolik madde miktarları gallik asite (mg GAE/g) eşdeğer olarak belirlenmiştir (Slinkard ve Singleton, 1977). Bu yöntemle 1 mg ekstrakt 1 mL metanolde çözülmüştür. FCR (46 ml dH₂O ve 1 mL) ekstrakt ile karıştırıldıktan 3 dk sonra üzerine %2'lik Na₂CO₃'dan 3 mL eklenmiştir. Karışım 2 saat süresince oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmış ve periyodik aralıklarla çalkalanmıştır. Süre sonunda çözeltilerin absorbansları UV spektrofotometresi'nde 760 nm'de okunarak gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, gallik asite eşdeğer olacak biçimde hesaplanmıştır. Gallik asit kalibrasyon grafiği Şekil 2.10' de sunulmuştur.



Şekil 2.10: *D. maritima* ekstraktlarının gallik asit kalibrasyon grafiği

2.2.3.2 Ekstraktların Toplam Flavonoid Miktarının Tayin Edilmesi

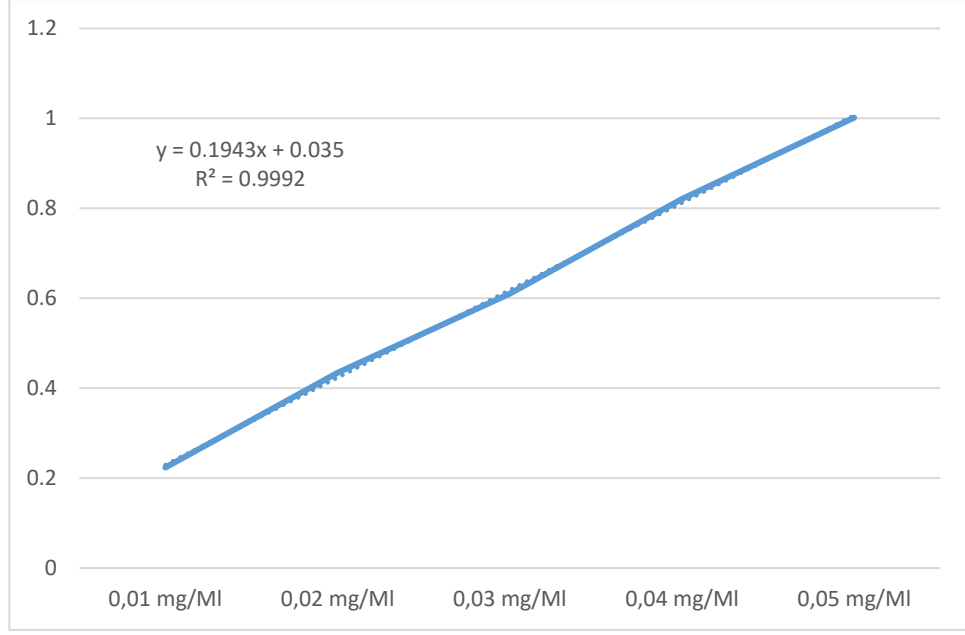
D. maritima ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları, kuersetine eşdeğer (mg QE/g) olarak alüminyum klorid spektrofotometrik metodundan yararlanılarak tespit edilmiştir (Arvouet-Grand ve diğ. 1994). Bu metoda göre %2' lik $AlCl_3$ (1 ml) ile 2 mg/mL konsantrasyondaki ekstrakt (1 mL) karıştırıldıktan sonra, 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda da 415 nm'de karışımın köre karşı absorbansı belirlenmiştir. *D. maritima* ekstraktlarının kuersetin kalibrasyon grafiği Şekil 2.11' de sunulmuştur.



Şekil 2.11: *D. maritima* ekstraktlarının kuersetin kalibrasyon grafiği

2.2.3.3 Ekstraktların Toplam Tanen Miktarının Tayini

Ekstraktların toplam tanen miktarının tayini için vanilin yöntemi kullanılmıştır (Bekir ve diğ. 2013). Tanenler doğal olarak bir çok gıdada bulunan polifenollerdir. İçerisinde 1,0 mL ekstrakt bulunan test tüpleri üzerine % 1'lik 0,5 mL vanilin solüsyonu ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 15 dk inkübe edilmiş ve 500 nm de ölçümü yapılmıştır. Ekstarktın tanen içeriği, kateşin eşdeğeri (mg CE/g) olarak belirtilmiştir. *D. maritima* ekstraktlarının kateşin kalibrasyon grafiği Şekil 2.12 verilmiştir.



Şekil 2.12: *D. maritima* ekstraktlarının kateşin kalibrasyon grafiği

2.2.4 Fenolik Bileşenlerin HPLC ile Tayin Edilmesi

HPLC kullanılarak ekstraktların fenolik madde analizleri yapılmıştır (Gomes ve diğ. 2006). HPLC analizi fenolik bileşikler için öncelikle 15 farklı fenolik bileşik standardının ayrı ayrı kalibrasyon grafiği çizilmiş ve analiz metodu geliştirilmiştir. Örneklere ait kromatogramlar üzerindeki piklerin hangi fenolik bileşiğe ait oldukları 15 standart fenolik maddenin geliş zamanları ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Deneyde kullanılan standart fenolik maddeler: Gallik asit, 3,4-dihidroksi benzoik asit, 4-hidroksi benzoik asit, 2,5-dihidroksi benzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit, epikateşin, P-kumarik asit, ferulik asit, rutin, ellajik asit, naringin, kuersetin ve sinamik asitdir.

Ekstraktların içerdiği fenolik bileşenlerin HPLC metodu ile analizleri Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden hizmet alımı ile yapılmıştır.

HPLC ile ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir.

CBM: 20ACBM

Dedektör: DAD (SPD-M20A) (280 nm dalga boyunda çalışılmıştır)

Kolon Fırını: CTO-10ASVp

Pompa: LC20-AT

Autosampler: SIL- 20ACHT

Bilgisayar Programı: LC Solution

Mobil Faz (Hareketli faz): A: %3 Formik asit B: Metanol

Gomes ve diğ. (2006)'nun metodu modifiye edilerek HPLC analizinde kullanılmıştır. Bu amaçla 0,2 g numune tartılmış, mobil fazda çözülmüş ve 0,45 µm filtreden geçirilip HPLC sistemine enjekte edilerek yüklenmiştir.

2.2.5 Ekstraktların Brine Shrimp (*A. salina*) Öldürücülük Testi

Deneyde kullanılan *A. salina* (Brine shrimp) yumurtaları Sanders™ Great Salt Lake, Brine Shrimp Company L.C., ABD), 40 g/L ticari deniz tuzundan (Aqua Marine, Tayland) hazırlanan ve 6 mg/L kuru maya ile takviye edilmiş yapay deniz suyunda kuluçkaya bırakılmıştır. Üzerinde birkaç delik bulunan plastik haznenin eşit olmayan iki bölmesi nauplii (larva) üretimi için kullanılmıştır. Yumurtalar, karartılan büyük bölmeye serpilirken, küçük bölme ise aydınlatılmıştır. Oda sıcaklığındaki (25 - 29°C) 48 saatlik bir inkübasyondan sonra nauplii (larvalar) ışıklı taraftan pipetle toplanmış, kabukları diğer tarafta bırakılmıştır (Pisutthanan ve diğ. 2013).

Ekstraktların öldürücülük yüzdesi, test ve kontrol tüplerinin hayatta kalan larvaların ortalaması ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. LC₅₀ değerleri, konsantrasyona karşı öldürücülük yüzdesine göre elde edilmiştir. Öldürücülük yüzdesi, ekstraktlarla muamele edilmiş tüplerin ve kontrol tüplerinde yaşayan *Artemia*'lardan hesaplanmıştır (Krishnaraju ve diğ. 2005).

2.2.6 Ev Sinekleri (*M. domestica*)'nin Üretilmesi

Sinek deneyleri Erzurum Teknik Üniversitesi, YÜTAM (Yüksek Teknoloji Araştırma Merkezi) bünyesinde bulunan Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Dünya Sağlık Örgütünden (WHO) temin edilmiş ve Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Vektör Ekoloji ve Kontrolü Laboratuvarında bulunan ev sineği (*M. domestica*) larvalarına ait küçük bir popülasyon, Erzurum Teknik Üniversitesi, YÜTAM bünyesindeki iklimlendirme odasına getirilmiş, yeni ortamlarına uyum sağlamaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, iklimlendirme odası devamlı olarak 24 ± 2 °C'de 58 ± 5 nem ve 16:8 ışık/karanlık fotoperiyot döngüsünde çalıştırılmıştır.

2.2.6.1 Ekstraktların Ev Sineği (*M. domestica*) Larvaları üzerindeki Larvasidal Etkisinin Araştırılması

D. maritima ekstraktlarının ev sineği (*M. domestica*) larvaların üzerindeki larvasidal etkisinin araştırılması deneyi Çetin ve diğ. (2006) sinek besleme metodu modifiye edilerek uygulanmıştır. Bu deneyde ekstraktlar ev sineklerinin larvaları için hazırlanan besi ortamına belli konsantrasyonlarda eklenerek ergin çıkışının olup olmayacağı gözlenmiştir. Deneyde ikinci ve üçüncü evre ev sineği larvalarına karşı su ekstraktları kullanılmıştır. Bu amaçla 370 mL'lik cam kavanozların içine 15 g kaba kepek eklenmiştir. Ekstraktlar, 0,25, 0,5 ve 1 mg/mL olacak şekilde süt ile karıştırılmış ve hazırlanan çözelti kaba kepeklerle harmanlanmıştır. Negatif kontrolde sadece süt, pozitif kontrolde de diflubenzuron içerikli Difluban %48 SC (CAS No: 35367-38-5) isimli ticari larvasit kullanılmıştır. Bütün kavanozların içerisine deney sırasında olası bir mantar oluşumunu önlemek için negatif ve pozitif kontrol grupları da dahil olmak üzere 1 mL antifungal ilaç (BASF firmasının ürettiği Bellis adında ve suda çözülebilen granül şeklindeki ticari bir antifungal ilaç) eklenmiştir. Daha sonra her bir kavanoza 20 adet larva eklenmiş ve kavanozların üzeri ambalaj lastiği ile sıkıştırılmış tül ile kapatılmıştır. Deney 24 ± 2 °C'de 58 ± 5 nem ve 16:8 ışık/karanlık fotoperiyot döngüsünde gerçekleştirilmiştir. Üç haftalık bir zaman diliminde kavanozlardan ergin birey çıkışları gözlenmiştir. Daha sonrası her kavanozdan çıkan ergin bireyler sayılarak kaydedilmiştir.

3. BULGULAR

3.1 β -Karoten/Linoleik Asit Yöntemi

Tez kapsamında çalışılan *D. maritima* bitkisinin farklı çözücüler ile hazırlanan toprak altı ve toprak üstü ekstraktlarının β -karoten/linoleik asit oksidasyon değerleri Tablo 3.1’de % inhibisyon değeri olarak verilmiştir.

Tablo 3.1: *D. maritima* ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit yöntemi ile toplam antioksidan madde miktarları (% inhibisyon değerleri)

Ekstrakt	β -Karoten/Linoleik asit (%)
Toprak altı Su	16,42 \pm 1,46
Toprak altı Aseton	58,94 \pm 0,74
Toprak üstü Su	86,82 \pm 0,61
Toprak üstü Aseton	76,90 \pm 2,99
BHA	81,98 \pm 1,06

D. maritima ekstraktları arasında β -karoten/linoleik asit metodu ile antioksidan aktivitesi ölçülen ve %86,82 \pm 0,61 inhibisyon değeriyle en yüksek aktiviteyi toprak üstü su ekstraktı göstermiştir. Bu ekstrakt deneyin pozitif kontrolü olan BHA’nın (%81,98 \pm 1,06) inhibisyon değerinden daha yüksek bir aktivite göstermiştir. En düşük antioksidan aktiviteye sahip ekstraktın ise %16,42 \pm 1,46 inhibisyon değeriyle toprak altı su ekstraktı olduğu tespit edilmiştir.

3.2 Fosfomolibdenyum Yöntemi

Fosfomolibdenyum yöntemi ile ölçülen *D. maritima* ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitesi Tablo 3.2’de sunulmuştur. Fosfomolibdenyum ekstrakt yoğunlukları 5 mg/mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Elde edilen verilere göre iki farklı

çözücü ile hazırlanan *D. maritima* toprak altı ve toprak üstü ekstraktları arasından en yüksek fosfomolibdenyum total antioksidan aktivitesi gösteren ekstraktın $441,71 \pm 219,06$ mg AAE/g değeri ile toprak üstü su ekstraktı olduğu tespit edilirken, en düşük aktiviteye sahip ekstraktın $31,97 \pm 1,53$ mg AAE/g değeri ile toprak altı su ekstraktı olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.2 *D. maritima* ekstraktlarının fosfomolibdenyum yöntemi ile antioksidan aktiviteleri (mg AAE/g)

Ekstrakt	Fosfomolibdenyum (mg AAE/g)
Toprak altı Su	$31,97 \pm 1,53$
Toprak altı Aseton	$32,12 \pm 0,52$
Toprak üstü Su	$441,71 \pm 219,06$
Toprak üstü Aseton	$161,95 \pm 7,92$

3.3 DPPH Serbest Radikal Giderim Kapasitesinin Belirlenmesi

İki farklı çözücüde hazırlanan *D. maritima* ekstraktlarının 1, 2, 4, 8 mg/mL'lik dört farklı konsantrasyonda gösterdikleri DPPH serbest radikal giderim aktivitelerinin IC₅₀ değerleri Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.3: DPPH yöntemi ile *Drimia maritima* ekstraktlarının serbest radikal giderim aktivite değerleri (mg/mL, IC₅₀)

Ekstrakt	DPPH (mg/mL, IC₅₀)
Toprak altı Su	14,96 ± 1,07
Toprak altı Aseton	17,48 ± 0,16
Toprak üstü Su	0,40 ± 0,00
Toprak üstü Aseton	0,37 ± 0,00
BHA	0,02 ± 0,00

Elde edilen verilere göre *D. maritima* ekstraktlarının 8 mg/mL konsantrasyondaki en iyi DPPH serbest radikal giderim kapasite değeri, pozitif kontrol olarak kullanılan BHA'nın (0,02 ± 0,00 mg/mL, IC₅₀) değerinden uzak kaldığı tespit edilmiştir. Toprak üstü aseton ekstraktının 0,37 ± 0,00 mg/mL IC₅₀ değeri ile en yüksek serbest radikal giderim aktivitesine sahip ekstrakt olduğu ve toprak altı aseton ekstraktının ise 17,48 ± 0,16 mg/mL IC₅₀ değeri ile en düşük aktiviteye sahip ekstrakt olduğu tespit edilmiştir.

3.4 ABTS Serbest Radikal Giderim Aktivitesinin Belirlenmesi

İki farklı çözücü ile hazırlanan beş farklı konsantrasyondaki (1, 2, 4, 8, 10 mg/mL), ekstraktların ABTS serbest radikal giderim aktiviteleri mg/mL, IC₅₀ değeri olarak Tablo 3.4'de verilmiştir. Sonuçlara göre *D. maritima* bitkisinin en güçlü ABTS radikal giderim aktivitesi gösteren ekstraktının 0,36 ± 0,00 mg/mL, IC₅₀ değeri ile toprak üstü su ekstraktının olduğu ve en düşük aktivite gösteren ekstraktın ise 9,84 ± 0,14 mg/mL IC₅₀ değeri ile toprak altı su ekstraktı olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.4: *D. maritima* ekstraktlarının ABTS radikal giderim aktiviteleri (mg/mL, IC₅₀)

Ekstrakt	ABTS (mg/mL, IC₅₀)
Toprak altı Su	9,84 ± 0,14
Toprak altı Aseton	7,52 ± 0,20
Toprak üstü Su	0,36 ± 0,00
Toprak üstü Aseton	0,81 ± 0,00
BHA	0,02 ± 0,00

3.5 FRAP (Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü) Tayini

D. maritima ekstraktlarının 1 mg/mL’de toprak üstü ve toprak altı kısımlarının demir iyonunu indirgeme gücü bakımından 20,28 ± 3,08 mg TE/g değeri ile toprak üstü aseton ekstraktı en yüksek indirgeme gücü aktivitesi gösterirken, en düşük aktiviteyi 0,04 ± 0,00 mg TE/g değeri ile toprak altı su ekstraktı göstermiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.5’de verilmiştir.

Tablo 3.5: *D. maritima* ekstraktlarının FRAP deney sonuçları (mg TE/g)

Ekstrakt	FRAP (mg TE/g)
Toprak altı Su	0,04 ± 0,00
Toprak altı Aseton	0,17 ± 0,01
Toprak üstü Su	10,76 ± 0,33
Toprak üstü Aseton	20,28±3,08

3.6 CUPRAC (Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü) Tayini

D. maritima türüne ait ekstraktların CUPRAC tayini sonuçları Tablo 3.6’da verilmiştir. Ekstraktların toprak altı kısmında en yüksek aktivite aseton ekstraktında ($2,03 \pm 0,22$ mg TE/g) ve en düşük su ekstraktında ($0,32 \pm 0,03$ mg TE/g) belirlenirken; toprak üstünde ise en yüksek aktivite aseton ekstraktında ($81,08 \pm 6,45$ mgTE/g), en düşük aktivite su ekstraktında ($61,58 \pm 1,11$ mg TE/g) belirlenmiştir.

Tablo 3.6: *D. maritima* ekstraktlarının CUPRAC deneyi sonuçları (mg TE/g)

Ekstrakt	CUPRAC (mg TE/g)
Toprak altı Su	$0,32 \pm 0,03$
Toprak altı Aseton	$2,03 \pm 0,22$
Toprak üstü Su	$61,58 \pm 1,11$
Toprak üstü Aseton	$81,08 \pm 6,45$

3.7 Toplam Fenolik Madde Miktarının Tespiti

D. maritima ekstraktlarındaki toplam fenolik madde miktarı FCR (Folin-Ciocalteu Reaktif) yöntemiyle tespit edilmiştir. Deneyde standard olarak gallik asit kullanılmış Tablo 3.7’ de sunulmuştur.

Tablo 3.7: *D. maritima* ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları (mg GAE /g)

Ekstrakt	Fenolik (mg GAE/g)
Toprak altı Su	$1,39 \pm 0,03$
Toprak altı Aseton	$1,21 \pm 0,04$
Toprak üstü Su	$1,36 \pm 0,03$
Toprak üstü Aseton	$3,00 \pm 0,16$

D. maritima 'nın toprak altı ve toprak üstü kısımlarının farklı çözücüler ile hazırlanan ekstraktları arasından en yüksek fenolik madde miktarı toprak üstü aseton ekstraktında ($3,00 \pm 0,16$ mg GAE/g), en düşük fenolik madde miktarı ise toprak altı aseton ekstraktında ($1,21 \pm 0,04$ mg GAE/g) belirlenmiştir.

3.8 Toplam Flavonoid Madde Miktarının Tepiti

Bu çalışmada Alüminyum klorid metodu ile gerçekleştirilen toplam flavonoid madde miktarı testi kuersetin standardına eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Bu veriler Tablo 3.8'de sunulmuştur. *D. maritima* bitkisine ait kısımların farklı çözücülerle yapılan toprak altı ekstraktlarında flavanoid madde miktarı en yüksek toprak altı su ekstraktında ($1,23 \pm 0,07$ mg QE/g), en düşük aseton ekstraktında ($0,62 \pm 0,00$ mg QE/g) bulunmuştur. Toprak üstü kısmında da en yüksek flavanoid madde miktarı aseton ekstraktında ($6,45 \pm 0,11$ mg QE/g), en düşük flavanoid madde miktarı toprak üstü su ekstraktında ($1,80 \pm 0,06$ mg QE/g) tespit edilmiştir.

Tablo 3.8: *D. maritima* ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları (mg QE/g)

Ekstrakt	Toplam Flavonoid (mg QE/g)
Toprak altı Su	$1,23 \pm 0,07$
Toprak altı Aseton	$0,62 \pm 0,00$
Toprak üstü Su	$1,80 \pm 0,06$
Toprak üstü Aseton	$6,45 \pm 0,11$

3.9 Toplam Tanen Madde Miktarının Belirlenmesi

İki farklı çözücü kullanılarak hazırlanan toprak altı ve toprak üstü ekstraktlarının toplam tanen miktarları Tablo 3.9'da verilmiştir. *D. maritima* türüne ait ekstraktlar arasında en yüksek tanen miktarına sahip ekstraktın $4,19 \pm 0,07$ mg

CE/g değeri ile toprak üstü su ekstraktı ve en düşük tanen miktarına sahip ekstraktın da 0.02 ± 0.09 mg CE/g değeri ile toprak üstü aseton ekstraktı olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.9: *D. maritima* ekstraktlarının toplam tanen miktarları (mg CE/g)

Ekstrakt	Toplam Tanen (mg CE/g)
Toprak altı Su	$0,26 \pm 0,03$
Toprak altı Aseton	$0,55 \pm 0,06$
Toprak üstü Su	$4,19 \pm 0,07$
Toprak üstü Aseton	$0,02 \pm 0,09$

3.10 HPLC Yöntemi ile Fenolik Bileşen İçeriklerinin Belirlenmesi

D. maritima örneklerinin metanolik ekstraktlarındaki fenolik bileşikleri tespit etmek amacıyla HPLC’de ayırma ve tanımlamalar için 9 ayrı saf fenolik standart kullanılmıştır. Bu amaçla önce her bir standart ışığı absorbe ettikleri maksimum dalga boyları ve alıkonma zamanları hesaplanmıştır. Sonrasında tüm karışım halinde HPLC’ye verilip, standart kromatogram elde edilmiştir. HPLC yöntemiyle elde edilen veriler Tablo 3.10 ve Tablo 3.11’de verilmiştir. En yüksek fenolik bileşen klorojenik asit $450,6 \mu\text{g/g}$ değeri ile tespit edilmiştir.

Tablo 3.10: Belirlenen bileşenlerin dalga boyları, alıkonma zamanları ve konsantrasyonları

Özellikler	Belirlenen Bileşenler								
	Gallik asit	3,4 dihidroksi benzoik asit	4-hidroksi benzoik asit	Klorojenik asit	Vanilik asit	Kafeik asit	p-Kumarik asit	Ferulik asit	Sinamik asit
LOD (ppm)	0,19	0,027	0,036	0,017	0,019	0,019	0,022	0,021	0,016
Dalga Boyu	280	280	280	320	320	280	320	320	280
RT (dk)	7.8	12.2	16.9	19.4	21.7	24	29.3	34.7	70.7

LOD: Limit of Detection (Tespit Edilebilirlik Sınırı), **RT:** Retention Time (Alıkonma Zamanı)

Tablo 3.11: *D. maritima* ekstraktlarındaki fenolik bileşen miktarları ($\mu\text{g/g}$)

Ekstraktlar	Gallik asit	3,4dihidroksi benzoik asit	4-hidroksi benzoik asit	Klorojenik asit	Vanilik asit	Kafeik asit	p-Kumarik asit	Ferulik asit	Sinamik asit
<i>D. maritima</i>	121,8	32,1	335,4	450,6	180,3	131,3	129,8	405,1	167,6

3.11 Brine Shrimp (*A. salina*) Öldürücülük Testi

D. maritima'nın toprak altı ve toprak üstü su ekstraktlarının Brine Shrimp (*Artemia salina*) larvaları (nauplii) üzerindeki potansiyel öldürücülük etkileri test edilmiştir. Ekstraktların farklı konsantrasyonlarda (0,5, 2,5, 5, 25 ve 50 mg/mL) sebep oldukları ölüm yüzdeleri ile LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri Tablo 3.13'de verilmiştir.

Tablo 3.12 *D. maritima*'nın toprak üstü ve toprak altı kısımlarının ekstraktlarının Brine shrimp (*A. salina*) üzerindeki toksisite değerleri

Konsantrasyonlar	Toprak altı Kısım	Konsantrasyonlar	Toprak üstü Kısım
0,5 mg/mL	0	0,375 mg/mL	0
2,5 mg/mL	0	1,875 mg/mL	35,35 ± 0,82
5 mg/mL	28,54 ± 2,03	3,75 mg/mL	21,55 ± 17,18
25 mg/mL	71,46 ± 2,03	18,75 mg/mL	91,67 ± 0,00
50 mg/mL	94,44 ± 4,54	37,5 mg/mL	100
Kontrol(dH ₂ O)	0	Kontrol(dH ₂ O)	0
LC ₅₀ (mg/mL)	12,10 ± 0,75	LC ₅₀ (mg/mL)	4,81 ± 0,71
LC ₉₀ (mg/mL)	42,52 ± 5,47	LC ₉₀ (mg/mL)	17,63 ± 2,44

Ekstraktların artan konsantrasyona bağlı olarak % ölümlerinin arttığı tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak *D. maritima*'nın toprak altı ve toprak üstü su ekstraktlarının LC₅₀ değerlerinin sırasıyla 12,10 ± 0,75 ve 4,81 ± 0,71 mg/mL olduğu ve toprak üstü su ekstraktının toprak altı kısmına göre daha fazla toksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

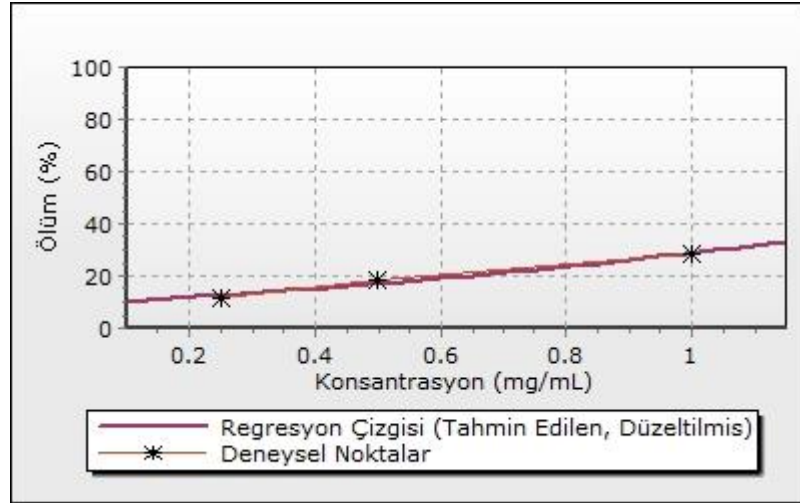
3.12 Ekstraktların Ev Sineği (*M. domestica*) Üzerindeki Larvasidal Etkisi

Yapılan deneyin ortalama \pm standart hata değerleri Microsoft Excel programı kullanılarak yapılmıştır. Deney sonrasında LC_{50} (min), LC_{50} , LC_{50} (max), değerleri StatPlus (2015) programındaki Probit analizi ile tespit edilmiştir. *D. maritima*'nın toprak altı ve toprak üstü kısımlarının ev sineği (*M. domestica*) larvası üzerindeki larvasidal etki değerleri ve istatistiksel değerleri Tablo 3.13'de sunulmuştur.

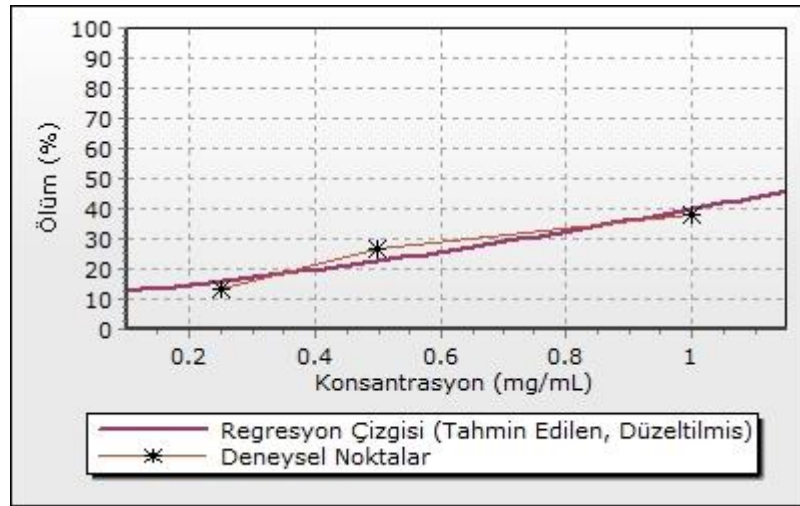
Tablo 3.13: *D. maritima*'nın toprak altı ve toprak üstü kısımlarının ev sineği (*M. domestica*) larvası üzerindeki larvasidal etki değerleri (% \pm standart hata) ve istatistiksel değerleri

Bitki	Toprak Üstü Kısım			Toprak Altı Kısım		
	0,25 mg/mL	0,5 mg/mL	1 mg/mL	0,25 mg/mL	0,5 mg/mL	1 mg/mL
<i>D. maritima</i>	11,67 \pm 1,67	18,33 \pm 1,67	28,33 \pm 1,67	13,33 \pm 1,67	26,67 \pm 1,67	38,33 \pm 1,67
Negatif Kontrol (Distile su)	6,67 \pm 2,28			6,67 \pm 2,28		
Pozitif Kontrol (Difluban %48 SC)	100,00 \pm 0,00			100,00 \pm 0,00		
LC_{50} (min) (mg/mL)	2,09			1,22		
LC_{50} (mg/mL \pm std. hata)	3,63 \pm 1,68			1,60 \pm 0,30		
LC_{50} (max) (mg/mL)	12,05			2,54		

D.maritima türünün 1 mg/mL konsantrasyonda toprak üstü ve toprak altı kısımlarının *M. domestica* larvası üzerinde larvasidal etki değeri bakımından toprak altı bölümü (% 38,33 \pm 1,67 mg/mL, LC_{50}) değeri, toprak üstü bölümü (% 28,33 \pm 1,67 mg/mL, LC_{50}) değerinden daha etkili olduğu bulunmuştur (şekil 3.1, şekil 3.2).



Şekil 3.1: *D. maritima*'nın toprak üstü kısmı yüzde ölüm oranı grafiği



Şekil 3.2: *D. maritima*'nın toprak altı kısmı yüzde ölüm oranı grafiği

4. TARTIŞMA

Bu tez çalışması kapsamında, Antalya ili Döşemealtı ilçesinden toplanan *D. maritima* türüne ait örneklerin toprak üstü ve toprak altı kısımlarından aseton ve su çözücülerini ile elde edilen ekstraktların biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri β -Karoten/Linoleik asit, Fosfomolibdenyum, DPPH serbest radikal giderim, ABTS serbest radikal giderim, FRAP ve CUPRAC yöntemleriyle tayin edilirken, ilgili ekstraktların toplam fenolik, toplam flavanoid ve toplam tanen miktarları da belirlenmiştir. Ayrıca HPLC metodu ile ekstraktların fenolik içerikleri tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak elde edilen ekstraktların *A. salina* (Brine shrimp) üzerinde toksik etkileri ve *M. domestica* (ev sineği) larvaları üzerindeki larvasidal etkileri araştırılmıştır.

β -karoten/Linoleik asit yöntemi linoleik asitin inkübasyonu sırasında oluşan bazı peroksit ürünlerinin antioksidanlar tarafından nötralize edilmesini sağlar. Bunun sonucunda antioksidan bileşiklerin varlığında β -karotene ait karakteristik sarı renk korunmuş olur (Wettasinghe ve Shahidi 1999). β -karoten-linoleik asit yöntemiyle *D. maritima* toprak altı ekstraktları kısmında en yüksek antioksidan aktivite aseton ekstraktında ($58,94 \pm 0,74$), en düşük antioksidan aktivite ise su ekstraktında ($16,42 \pm 1,46$) görülmüştür. Toprak üstü ekstraktlarında ise en yüksek antioksidan aktivite aseton ekstraktında ($86,82 \pm 0,61$) tespit edilirken, en düşük antioksidan aktivite aseton ekstraktında ($76,90 \pm 2,99$) tespit edilmiştir. Ekstraktlar arasından en yüksek inhibisyon aktivitesi gösteren toprak üstü su ekstraktının pozitif kontrol olarak kullanılan BHA'nın ($81,98 \pm 1,06$) inhibisyon değerinden daha yüksek bir aktivite sergilediği saptanmıştır.

Total antioksidan tayinlerinden bir diğeri ise fosfomolibdenyum yöntemidir. Bu yöntem, ekstrakt varlığında Mo (VI)'nın Mo (V)'e indirgenmesi sonucunda asidik pH'da oluşan yeşil renkli fosfat-Mo (V) kompleksinin spektrofotometrik olarak takip edilmesine dayanır (Prieto ve diğ. 1999). Bu çalışma kapsamında çalışılmış olan Fosfomolibdenyum yönteminde *D. maritima* toprak altı ekstraktlarında en yüksek antioksidan aktivite toprak altı aseton ekstraktında ($32,12 \pm 0,52$ mg AAE/g), en düşük antioksidan aktivite su ile hazırlanan ekstraktında ($31,97 \pm 1,53$ mg AAE/g) bulunmuştur. Toprak üstü ekstraktlarında ise en yüksek antioksidan aktivite su ekstraktında ($441,71 \pm 219,06$ mg AAE/g) ve en düşük antioksidan aktivite aseton

ekstraktında ($161,95 \pm 7,92$ mg AAE/g) belirlenmiştir. Fosfomolibdenyum deneyi, tüm ekstraktların toplam antioksidan kapasiteye sahip olduğunu göstermiştir.

DPPH radikal temizleme aktivitesi, antioksidan aktiviteyi incelemenin kolay, hızlı ve hassas bir yoludur (Rezzagui ve diğ. 2020). Bu test yöntemi, kararlı bir serbest radikal olan DPPH'nin elektron veya hidrojen atomları veren antioksidan kimyasalların varlığında, bu kimyasallar tarafından süpürülerek temizlenmesiyle ortamdaki karakteristik mor rengin açılmasının spektrofotometrik olarak belirlenmesi şeklindedir (Wu ve diğ. 2006). Farklı çözücü ve yoğunluklarda hazırlanan ekstraktların DPPH serbest radikal giderim kapasitesi en düşük *D. maritima*'nın toprak altı aseton ekstraktında ($17,48 \pm 0,16$ mg/mL, IC_{50}) ve en yüksek toprak üstü aseton ekstraktında ($0,37 \pm 0,00$ mg/mL, IC_{50}) belirlenmiştir.

Bir diğer radikal giderim testi ise ABTS serbest radikal giderim aktivite test yöntemidir. Geliştirilen bu metodta ABTS [2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)]'nin persülfat ile oksidasyonu sonucu ABTS radikali oluşturulmakta ve bu radikal ile süpürücülük aktivitesi ölçülmektedir. Ortamda antioksidan bileşikler var ise ABTS'nin rengi giderilmektedir (Erdoğan-Orhan ve Kartal 2011). *D. maritima*'nın ABTS radikal giderme aktivitesi toprak altı ekstraktlarında en yüksek aseton ekstraktında ($7,52 \pm 0,20$ mg/mL, IC_{50}), en düşük su ekstraktında ($9,84 \pm 0,14$ mg/mL, IC_{50}) bulunmuştur. Toprak üstü ekstraktlarında ise en yüksek ABTS radikal giderim aktivitesi distile su ekstraktında ($0,36 \pm 0,00$ mg/mL, IC_{50}), en düşük ABTS radikal giderim aktivitesi de aseton ekstraktında ($0,81 \pm 0,00$ mg/mL, IC_{50}) belirlenmiştir. Her iki radikal giderim aktivite testinde en iyi sonuç veren toprak üstü aseton ve su ekstraktları standart olarak kullanılan BHA'nın değerlerine ($0,02 \pm 0,00$ ve $0,02 \pm 0,00$) oldukça yakın sonuçlar vermişlerdir.

Antioksidan bileşiklerin varlığını ve aktivitesini ortaya koyan alternatif yöntemlerden birisi de indirgeyici güç tahlilleridir (CUPRAC ve FRAP). CUPRAC yöntemi temel olarak Cu (II)'nin antioksidan tarafından Cu (I)'e indirgenmesiyle renk değişimine bağlı olarak spektrofotometredeki değişime göre antioksidan kapasitenin belirlenmesidir (Apak ve diğ. 2004). FRAP metodu ise, asidik ortamdaki antioksidan fenolik bileşiklerin $[K_3Fe(CN)_6]$ içindeki Fe (III)'ün Fe (II)'ye indirgenmesine dayanmaktadır. İndirgeme reaksiyonunun sonucunda oluşan Prusya mavisi renkli kompleks maksimum absorbanans değerini 700 nm'de göstermektedir. Her iki yöntem

için de absorpsan değerinin artması ile indirgeme gücünün yüksekliğini arttığını ifade etmektedir (Mathew ve Abraham 2006). Tez kapsamında yapılmış olan *D. maritima* türüne ait ekstraktların bakır indirgeme (CUPRAC) gücü toprak altı kısmında en yüksek aseton ekstraktında ($2,03 \pm 0,22$ mg TE/g) ve en düşük su ekstraktında ($0,32 \pm 0,03$ mg TE/g) belirlenirken; toprak üstünde ise en yüksek aseton ekstraktında ($81,08 \pm 6,45$ mg TE/g), en düşük su ekstraktında ($61,58 \pm 1,11$ mg TE/g) belirlenmiştir. FRAP sonuçlarında ise toprak altı kısmında demir iyonu indirgeme gücü en yüksek aseton ekstraktında ($0,17 \pm 0,01$ mg TE/g) ve en düşük su ekstraktında ($0,04 \pm 0,00$ mg TE/g) belirlenirken, toprak üstü ekstraktlarında en yüksek aseton ekstraktında ($20,28 \pm 3,08$ mg TE/g), en düşük su ekstraktında ($10,76 \pm 0,33$ mg TE/g) gözlenmiştir.

Bu tez kapsamında *D. maritima* bitkisinin içerdiği fenolik, flavonoid ve tanen bileşiklerinin miktar tayini gerçekleştirilmiştir. Ekstraktların sekonder metabolit miktarları sırasıyla Folin-Ciocalteu Reaktif (FCR), alüminyum klorid ve vanilin metodu kullanılarak belirlenmiştir. *D. maritima* kısımlarının farklı çözücüler ile yapılan toprak altı ekstraktlarında en yüksek fenolik madde miktarı su ekstraktında ($1,39 \pm 0,03$ mg GAE/mL), en düşük aseton ekstraktında ($1,21 \pm 0,04$ mg GAE/mL) belirlenmiştir. Toprak üstü kısmında ise en yüksek aseton ekstraktında ($3,00 \pm 0,16$ mg GAE/mL), en düşük su ekstraktında ($1,36 \pm 0,03$ mg GAE/mL) tespit edilmiştir. Çalışmada tespit edilen verilere göre toprak altı ekstraktlarında su ekstraktında flavonoid madde miktarı en yüksek ($1,23 \pm 0,07$ mg QE/g), flavonoid madde miktarı en düşük aseton ekstraktında ($0,62 \pm 0,00$ mg QE/g) bulunmuştur. Toprak üstü kısmında ise en yüksek flavonoid miktarı aseton ekstraktında ($6,45 \pm 0,11$ mg QE/g), en düşük distile su ekstraktında ($1,80 \pm 0,06$ mg QE/g) belirlenmiştir. Tanen içeriğine bakıldığında toprak altı kısmında en yüksek içerik aseton ekstraktında ($0,55 \pm 0,06$ mg CE/g) ve en düşük distile su ekstraktında ($0,26 \pm 0,03$ mg CE/g) belirlenirken, toprak üstü kısımlarında en yüksek tanen içeriği su ekstraktında ($4,19 \pm 0,078$ mg CE/g), en düşük aseton ekstraktında ($0,02 \pm 0,09$ mg CE/g) tespit edilmiştir.

Literatürdeki *D. maritima* üzerinde yapılan bir çalışmada araştırmacılar, bitkinin toprak altı ve toprak üstü etil asetat, metanol ve su çözücülerile hazırlanan ekstraktlarının antioksidan potansiyellerini ölçmek için ABTS, fosfomolibdenyum, DPPH, FRAP ve CUPRAC yöntemlerini kullanmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre en yüksek radikal giderim aktivitesine sahip ekstraktın sırasıyla $36,99 \pm 0,38$ ve

85,96 ± 1,13 mg TE/g değerleriyle toprak üstü sulu çözeltiyle olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda toprak üstü su ekstraktının indirgeyici antioksidan güç tahlillerinde de en yüksek sonucu verdiğini (sırasıyla 87,37 ± 0,16 ve 55,43 ± 0,39 mg TE/g) belirlemişlerdir. Buna karşın fosfomolibdenyum yöntemi ile belirlenen total antioksidan aktivite testinde en yüksek aktiviteyi toprak altı etil asetat ekstraktının (1,45 ± 0,09 mmol TE/g) sergilediğini bildirmişlerdir (Zhang ve diğ. 2022).

D. maritima üzerinde yapılan bir diğer çalışmada ise bitkinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarından elde edilmiş yağların DPPH ve ABTS yöntemleriyle antioksidan aktiviteleri test edilmiştir. Araştırmacıların elde ettikleri sonuçlara göre toprak üstü kısmından elde edilen yağın 40,02 ± 0,42 ve 50,41 ± 0,56 IC₅₀ değerleriyle oldukça yüksek antioksidan aktivite sergilediğini tespit etmişlerdir (Tahri ve diğ. 2020).

Rezzagui ve diğerleri (2020) *D. maritima* türünün çiçek kısımları kullanılarak dört farklı çözücü (kloroform, etanol, su ve etil asetat) ile hazırlanan ekstraktların antioksidan aktivitelerini (β -karoten/linoleik asit, ABTS ve DPPH) ve sekonder metabolit miktar tayinlerini (total fenolik, flavonoid ve tanen) araştırmayı hedeflemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre etil asetat ekstraktının oldukça yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve kontrol olarak kullanılan BHT'ye çok yakın sonuçlar verdiğini tespit etmişlerdir. Sekonder metabolit miktar tayinlerinde ise yine antioksidan aktiviteyle doğru orantılı olarak etil asetat ekstraktı en yüksek sonuçları göstermiştir.

Yapılan bir başka çalışmada *D. numidica* (Jord. & Fourr.) J.C. Manning & Goldblatt türünün metanolik toprak altı ve toprak üstü ekstraktlarının DPPH ve ABTS yöntemleri ile antioksidan aktivitesi belirlenirken, total fenolik bileşik miktar tayini ile de sekonder metabolit içeriği tespit edilmiştir. Araştırmacılar en yüksek fenolik bileşiği 17,40 ± 0,01 mg GAE/g değeri ile yaprak kısımlarında tespit etmişlerdir. En yüksek antioksidan aktiviteyi ise 90,2 ± 3,5 ve 32,1 ± 1,7 μ g/mL, IC₅₀ değerleri ile çiçek özütlerinin sergilediğini bildirmişlerdir (Kakouri ve diğ. 2019).

Asong ve diğerlerinin (2019) gerçekleştirdikleri bir çalışmada ise *D. sanguinea* (Schinz) Jessop türünün %50 metanolik toprak altı ekstraktlarının antioksidan (β -karoten/linoleik asit ve DPPH) aktiviteleri belirlenmiştir. Çalışmanın sonucu olarak DPPH radikal giderim aktivite değerinin (92,6 ± 4,34 μ g/mL, EC₅₀) ve

β -karoten/linoleik asit total antioksidan aktivite deęerinin de (%64,8 \pm 1,05), pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asitin (3,9 \pm 0,18 μ g/mL, EC₅₀) ve BHT'nin (%89,8 \pm 0,29) deęerinden dūşük olduęu tespit edilmiřtir.

Alluri ve diğerleri (2016) tarafından yapılan bir araştırmada, *Drimia nagarjuna*e (Hemadri & Sawhni) An. Kumar tūrünün beř farklı çözücü (hekzan, kloroform, etil asetat, metanol ve su) ile hazırlanan toprak altı ve toprak üstü ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri (DPPH ve ABTS) ve sekonder metabolit miktarlarının (total fenolik ve flavonoid) belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmacıların elde ettikleri verilere göre toprak altı kloroform ekstraktı sırasıyla 8,79 \pm 0,89 μ g/ mL ve 9,22 \pm 0,72 μ g/mL IC₅₀ değerleriyle en yüksek radikal giderim aktivitesine sahip ekstrakt olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bununla birlikte en yüksek fenolik ve flavonoid içeriğine sahip ekstraktı da toprak altı kloroform ekstraktı olarak tespit etmişlerdir (sırasıyla 9,87 \pm 0,34 mg GAE/g ve 3,33 \pm 0,42 mg QE/g)

Birbirinden baęımsız iki çalıřma geręekleřtiren arařtırmacılar sekiz farklı *Drimia* tūrū (*D. coromandeliana* (Roxb.) Lekhak & P.B. Yadav, *D. indica* (Roxb.) Jessop (Diploid), *D. indica* (Triploid), *D. nagarjuna*e, *D. polyantha* (Blatt. & McCann) Stearn, *D. raogibikei* (Hemadri) Pull, *D. razii* Ansari ve *D. wightii* Lakshmin) üzerinde antioksidan ve sekonder metabolit miktar tayini analizleri geręekleřtirmiřlerdir. İlk çalıřmada sadece toprak altı metanol ekstraktı ve DPPH, FRAP ve fenolik bileřik tayini yöntemleri kullanılmıřtır. Arařtırmacılar sonuçlarda *D. coromandeliana* tūrünün (sırasıyla %41,20 \pm 10,2 ve 0,26 \pm 0,9 mg AAE/ g) en yüksek antioksidan aktivite sergileyen ve en çok fenolik bileřik içerięine sahip tūr (2,25 \pm 0,16 mg GAE/g) olduęunu tespit etmiřlerdir (Rajput ve dię. 2018). İkinci çalıřmada ise bu sekiz tūrūn üç farklı çözücü ile (diklorometan, metanol ve su) hem toprak altı hem de toprak üstü ekstraktları çıkarılmıř, FRAP metodu yerine ABTS ve fosfomolibdenyum metodları kullanılmıř, ayrıca fenolik bileřik tayinine ek olarak flavonoid ve tanen bileřik tayinleri de geręekleřtirilmiřtir. Elde ettikleri verilere göre en yüksek DPPH radikal giderim aktivitesine sahip olan ekstrakt yine *D. coromandeliana* tūrünün toprak altı diklorometan ekstraktı, en yüksek ABTS radikal giderim aktivitesine sahip olan ekstrakt *D. polyantha* tūrünün toprak altı diklorometan ekstraktı ve fosfomolibdenyum yöntemi ile antioksidan aktivitesi en yüksek olan ekstrakt *D. indica* (Triploid) tūrünün toprak üstü metanol ekstraktı olarak tespit edilmiřtir. Sekonder metabolit miktar tayini sonuçlarında ise sırasıyla *D. indica*

(Triploid), *D. raogibikei* ve *D. razii* türlerinin metanolik toprak altı ekstraktlarının en çok fenolik, flavonoid ve tanen bileşikleri içeren ekstraktlar olduğu bildirilmiştir (Yadav ve diğ. 2021).

Mammadov ve diğ. (2010) *D. maritima* türünün dört farklı çözücü (etanol, metanol, benzin ve aseton) ile hazırlanan toprak altı ve toprak üstü ekstraktlarının antioksidan aktivite (β -karoten/ linoleik asit ve DPPH) ve fenolik bileşik içeriklerini belirlemeye çalışmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre β -karoten/ linoleik asit metoduna göre en yüksek total antioksidan aktiviteyi toprak altı etanol ekstraktı (%72,67) gösterirken, en yüksek DPPH radikal giderim aktivitesini toprak altı metanol ekstraktı (%66,89) göstermiştir. Fenolik içerik bakımından ise en zengin olan ekstrakt $56,76 \pm 0,19$ $\mu\text{g PEs/ mg}$ değeri ile toprak altı aseton ekstraktı olarak belirlenmiştir.

Aseton ve su çözücülerıyla hazırlanan *D. maritima*'nın toprak altı ve toprak üstü ekstraktlarının fenolik bileşen analizleri HPLC yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilere göre *D. maritima* bitki türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarında gallik asit, klorojenik asit, 4-hidroksi benzoik asit, 3, 4 dihidroksi benzoik asit, kafeik asit, vanilik asit, p-kumarik asit ve sinamik asit bileşenleri olduğu tespit edilmiştir. Tespit edilen bileşikler arasından *D. maritima*'da en fazla klorojenik asit ve en az ise 3,4 dihidroksi benzoik asit bileşiği olduğu belirlenmiştir.

Prabakaran ve diğ. (2016) *D. indica* türünün ham ekstraktları ile çalışmış olup, GC-MS analizi sonucunda 9,12,15-oktadekatrienoik asit, stigmasterol, skualen, hipokolesterolemik, n-hekzadekanoik asit, diüretik fitol, pyrogallol, 9,12-oktadekadienoik asit ve oktadekanoik asit olmak üzere 36 bileşiğin mevcut olduğunu tespit etmişlerdir. Bunların yanı sıra, alkaloid, flavonoid, glikozit, saponin, protein ve karbonhidratın varlığını da ortaya koymuşlardır.

El-Seedi ve diğ. (2013) yapmış olduğu başka bir çalışmada ise *D. maritima* türünün fitokimyasal analizi gerçekleştirilmiş ve araştırmacılar yoğun olarak elde ettikleri kardiyak glikozitin sitotoksik aktiviteye sebep olabileceğini vurgulamıştır.

D. maritima türü üzerinde yapılmış başka bir çalışmada toprak altı ekstraktlarının toplam yoğun tanen içeriği $6,76 \pm 0,10$ mg CE/g, toplam alkaloid içeriği ise $12,09 \pm 0,16$ mg AE/g FW belirlenmiştir (Maazoun ve diğ. 2017).

Rhimi ve diğ. (2019) *D. maritima* ekstraktlarında en bol bulunan 29 adet fenolik ve bufadienolid bileşiği tespit etmişlerdir. Araştırmacılar tarafından *D. maritima*'nın metanolik, asetonik ve bütanol ekstraktlarında kumarik asit, klorojenik asit, kaempferid, viscidulin I 2-O-Glucoside ve isorhamnetin-rhamnoside varlığı ortaya konmuştur.

D. wightii ve *D. indica* türlerinin etanolik soğan ekstraktlarının fitokimyasal yapısının araştırıldığı bir çalışmada ise kimyasal analizler yapılmış ve sonuçlarda her iki türün de yapısında tanenler, fenoller, karbonhidratlar ve kardiyak glikozitlerin varlığı saptanmıştır. *D. wightii* ve *D. indica* türlerinde en fazla tanen bileşiği ve en az fenol bileşikler tespit edilmiştir (Sharma ve Devi 2017).

Yapılan farklı araştırmalar *D. indica* türünün, alkaloidler, steroller, flavonoidler, antrakınonlar ve kumarinler dahil olmak üzere çeşitli biyoaktif bileşenler içerdiğini göstermektedir (Jha ve Sen 1981; Sultana ve diğ. 2010; Patil ve Deshmukh 2016). Türün farklı kısımlarının araştırıldığı çalışmalar da ise tanenler, kinonlar, reçineler, saponinler, fenolikler, protein ve sükröz, maltoz, fruktoz ve galaktoz gibi pek çok bileşiğin varlığı ortaya çıkarılmıştır (Abbas 2012; Bashir ve diğ. 2013; Panduranga ve diğ. 2011).

Alluri ve diğ. (2016) 5 farklı çözücü ile hazırlanan *D. nagarjunae* türünün toprak altı ve toprak üstü ekstraktlarının fitokimyasal analizini gerçekleştirmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda türün tanen, flobatannin, saponin, flavonoid, steroid, terpenoid, kardiyak glikozit, alkaloid ve fenolik bileşikler içerdiğini tespit etmişlerdir.

Yapılan araştırmalar biyoaktif özellikler taşıyan sekonder metabolitlerin hipolipidemik, hipoglisemik, antiinflamatuar ve antioksidan etkiler sergilediğini ortaya çıkarmıştır. Buna göre sekonder metabolit miktarlarının bitkinin antioksidan aktivitesi hakkında da bilgi verdiği söylenebilmektedir (Ülger ve Ayhan 2020).

İnsanın yaşam alanlarında ve çevresinde çokça bulunan ev sineği (*Musca domestica*) hem insan hem de hayvanlarda çok sayıda patojenik hastalığa (kolera, tifo, basiller dizanteri, tüberküloz, şarbon ve infantil ishal bb.) neden olmaktadır.

Bu nedenle vektör canlıların kontrol edilmesi son derece önem taşımaktadır (Farooq ve Freed 2016). Böceklerle mücadelede yapay kimyasalların kullanılması, bu kimyasalların doğada biyolojik parçalanma sürelerinin uzunluğu ve çevreye verdiği zarar nedeniyle araştırmacıları alternatif, doğal insektisitlerin geliştirilmesine yönlendirmiştir (Isman 2006). Tez kapsamında *D. maritima* türünün *M. domestica* larvalarına karşı larvasidal etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda ekstraktın larvasidal değerlerinin pozitif kontrol değerlerine göre çok düşük olması nedeniyle *D. maritima* türünün *M. domestica* larvasına karşı larvasidal etkisinin yeterli olmadığı kanaati oluşmuştur. Ancak, toprak altı ve toprak üstü ekstraktlarının kendi içinde değerlendirilmesinde bitkinin toprak altından elde edilen ekstraktlarının (% 38,33 ± 1,67, LC₅₀) toprak üstünden elde edilen ekstraktlardan (% 28,33 ± 1,67, LC₅₀) daha etkili olduğu söylenebilmektedir.

Literatür taraması sonucunda *Drimia* türleri üzerinde gerçekleştirilen herhangi bir tuzlu su karidesi (*A. salina*) öldürücülük testi (Brine shrimp lethality test) saptanmamıştır. *Drimia* türlerinin geleneksel halk tıbbında kullanılmalarından dolayı içermiş olduğu toksik bileşiklerin yan etkilerinin test edilebilmesi için tez kapsamında tuzlu su karidesi (*A. salina*) öldürücülük testi gerçekleştirilmiştir. Toprak altı için beş farklı (0,5, 2,5, 5,0, 25 ve 50 mg/mL) ve toprak üstü için beş farklı konsantrasyon (0,375, 1,875, 3,75, 18,75 ve 37,5 mg/mL) olmak üzere su ekstraktlarının test edildiği çalışma sonucunda, toprak üstü ekstraktlarının doza bağlı olarak doğru orantılı bir şekilde öldürücülük etkilerinin arttığı tespit edilmiştir. 50 mg/mL konsantrasyonda toprak üstü su ekstraktının 4,81 ± 0,71mg/mL, LC₅₀ değeri ile toprak altı su ekstraktından (12,10 ± 0,75 LC₅₀) daha fazla öldürücülük aktivitesi sergilediği belirlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, aseton ve su çözücüleriyle hazırlanan *D. maritima*'nın toprak altı ve toprak üstü ekstraktlarının, antioksidan aktivite, sekonder metabolit miktar, biyoaktif içerik, toksisite ve larvasidal etki analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda *D. maritima*'ya ait toprak üstü ekstraktların toprak altı ekstraktlarına nazaran daha yüksek bir antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Toprak üstü kısımlarına bakıldığında aseton ekstraktının su ekstraktına göre, antioksidan aktivite ve fenolik bileşen miktarı analizlerinde daha fazla sonuç verdiği görülmüştür. Bunun nedeni ise aseton çözücüsünün polar olmasına bağlanmıştır. Polar çözücülerin apolar çözücülerden daha etkili olduğu farklı çalışmalarla da kanıtlanmıştır (Özcan ve diğ. 2007).

Bulgularımız, *D. maritima* çiçeklerinin, özellikle tanenler olmak üzere yüksek düzeyde fenolik bileşik içerdiğini ortaya çıkarmıştır. Böylece bu bitki türünün serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırabileceği söylenebilmektedir. Bunu kanıtlamak amacıyla HPLC yöntemiyle içerdiği sekonder metabolitler araştırılmış ve klorojenik asit başta olmak üzere pek çok fenolik bileşiği bünyesinde barındırdığı saptanmıştır. Elde edilen fenolik bileşikler ve miktarları ile antioksidan aktivite düzeylerinin doğru orantılı olduğunu söylemek mümkündür. Brine shrimp (*A. salina*) öldürücülük testinde ise artan ekstrakt konsantrasyonuna dayalı olarak toprak altı ve toprak üstü sulu ekstraktlarının öldürücülük yüzdelerinin arttığı tespit edilmiştir. Buna karşın *M. domestica* larvalarına karşı artan dozda *D. maritima* ekstraktlarının neden olduğu ölüm yüzdesi artmasına rağmen, pozitif kontrol değerlerine göre düşük olmasından dolayı larvasidal etkisinin yeterli olmadığı düşünülmektedir.

Tüm bu çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda *D. maritima* türünün potansiyel bir antioksidan kaynağı olduğu ve farmakoloji, tıp ve gıda endüstrisine katkılar sağlayabileceği ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca daha önce de çalışmamızda belirtildiği gibi literatürde *D. maritima* ile yapılan çalışmalarda *A. salina* ile öldürücülük testi ve *M. domestica* larvaları kullanılarak larvasidal etki araştırmalarının yapılmadığı gözlenmiştir. Bu nedenle çalışmada sözkonusu testlerin de yapılmış olması tezin ilgili testler noktasında özgünlüğünü ortaya koymaktadır. Ancak bu tip çalışmalarda net bir karara varabilmek için farklı yörelerdeki *D.*

maritima popülasyonlarından toplanacak örnekler üzerinde daha fazla toksisite ve larvasidal etki araştırmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

D. maritima'nın sekonder metabolitlerinin kullanımını desteklemek için fonksiyonel bileşenlerin kaynağı olarak bitki organlarının ve ekstraksiyon için kullanılan çözücünün doğru seçiminin kritik noktalar olduğu da unutulmamalıdır.

6. KAYNAKLAR

Abbas, S., Bashir, S., Khan, A., Mehmood, M. H. and Gilani, A. H., “Gastrointestinal stimulant effect of *Urginea indica* Kunth and involvement of muscarinic receptors”, *Phytother. Res.*, 26(5), 704-708, (2012).

Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emami, B., Fooladian, F. and Zafari, K., “Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva”, *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.*, 135(3), 331-336, (2003).

Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S. and Rezaie, A., “Pesticides and oxidative stress: a review”, *Med. Sci. Monit.*, 10(6), 141-147, (2004).

Abir, H., “Purification of plant derived molecules that modulate sphingolipid enzymes in cancer and inflammation”, Ph.D Thesis, University of Strathclyde (SIPBS), Glasgow, (2021).

Adebayo, J. O. and Krettli, A. U., “Potential antimalarials from Nigerian plants: a review”, *J. Ethnopharmacol.*, 133, 289-302, (2011).

Aiyegoro, O. A. and Okoh, A. I., “Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of the aqueous extract of *Helichrysum longifolium* DC”, *BMC Comp. Alt. Med.*, 10(1), 1-8, (2010).

Alluri, N., Ravi, B. V., Puttarudrappa, L. and Majumdar, M., “In vitro antioxidant, anti-inflammatory, thrombolytic potential of *Drimys nagarjunae*, a tribal medicinal plant from South India”, *Int. J. Adv. Life Sci.*, 9, 362-368, (2016).

Amin, I., Zamaliah, M. M. and Chin, W. F., “Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables”, *Food Chem.*, 87(4), 581-586, (2004).

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S. E., “Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method”, *J. Agric. Food Chem.*, 52(26), 7970-7981, (2004).

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S. and Erçağ, E., “The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas”, *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 57(5-6), 292-304, (2006).

Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A. and Legret, P., “Standardization of propolis extract and identification of principal constituents”, *J. Pharm. Belg.*, 49(6), 462-468, (1994).

Asong, J. A., Amoo, S. O., McGaw, L. J., Nkadimeng, S. M., Aremu, A. O. and Otang-Mbeng, W., “Antimicrobial activity, antioxidant potential, cytotoxicity and phytochemical profiling of four plants locally used against skin diseases”, *Plants*, 8(9), 350, (2019).

Aydın, Ç., Özcan, G. T., Turan, M. and Mammadov, R., “Phenolic contents and antioxidant properties of *Echinops ritro* L. and *E. tournefortii* Jaup. & Spach extract”, *Int. J. Second. Metab.*, 3(2), 74-81, (2016).

Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S., “Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses”, *Food Chem.*, 99,191–203, (2006).

Balunas, M. J. and Kinghorn, A. D., “Drug discovery from medicinal plants”, *Life Sci.*, 78(5), 431-441, (2005).

Baytop, T., Baytop, A., Mat, A. and Sun, S., *Türkiye’de Zehirli Bitkiler, Bitki Zehirlenmeleri ve Tedavi Yöntemleri*, Istanbul Üni Yay, 999ss, (1989).

Bekir, J., Mars, M., Souchard, J. P. and Bouajila, J., “Assessment of antioxidant, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of pomegranate (*Punica granatum*) leaves”, *Food chem. Toxicol.*, 55, 470-475, (2013).

Benzie, I. F. and Strain, J. J., “The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) As a Measure of Antioxidant Power: the FRAP Assay”, *Anal. Biochem.*, 239(1), 70-76, (1996).

Bashir, S., Abbas, S., Khan, A. and Gilani, A. H., “Studies on bronchodilator and cardiac stimulant activities of *Urginea indica*”, *Bangladesh J. Pharmacol.*, 8(3), 249-254, (2013).

Boligon, A. A., Machado, M. M. and Athayde, M. L., “Technical evaluation of antioxidant activity”, *Med. Chem.*, 4(7), 517-522, (2014).

Bowman, W. C. and Rand, M. J., *Textbook of Pharmacology*, 2nd Edition, Oxford: Blackwell Scientific Publications, (1980).

Bozorgi, M., Amin, G., Kasebzade, S. and Shekarchi, M., “Development and validation of a HPLC-UV method for determination of Proscillaridin A in *Drimia maritima*”, *Res. J. Pharmacogn.*, 1-7, (2016).

Bulut, Z. and Yılmaz, H., “The current situation of threatened endemic flora in Turkey: Kemaliye (Erzincan) case”, *Pak. J. Bot.*, 42(2), 711-719, (2010).

- Bursal, E., Güzel, E. and Boğa, R., “Çiriş otunun (*Asphodelus aestivus*) antioksidan aktivitesinin belirlenmesi”, *Muş Alparslan Üniv. F. Bilim. Derg.*, 1(1), 17-25, (2013).
- Choudhary, M. I. and Thomsen, W.J., *Bioassay techniques for drug development*, Harwood Academic Publishers, CRC Press, 8-10, (2001).
- Costa, T., Vieira, R. F., Bizzo, H. R., Silveira, D. and Gimenes, M. A., “Secondary metabolites”, *Chromatogr Appl*, 131-164 (2012).
- Crozier, A., Clifford, M. N. and Ashihara, H., *Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet*, Wiley-Blackwell Publishing, 1-383, (2006).
- Çakır, D., “Antalya İlinde Ev Sineği (*Musca domestica* L.) Popülasyonlarının Thiamethoxam’a Karşı Direnç Durumunun Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Antalya, (2018).
- Çetin, H., “Ekoloji ve Mücadele Yöntemleri Kent Zararlıları, Biyoloji (Vektörler ve Diğerleri)”, Yüksek Lisans tezi, *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Antalya, (2016).
- Çetin, H., Erler, F. and Yanikoglu, A., “Larvicidal activity of novaluron, a chitin synthesis inhibitor, against the housefly, *M. domestica*”, *J. Insect Sci.*, 6(1), 1-4, (2006).
- Davis, P. H., *Flora of Turkey and the east Aegean Islands*, Edinburgh University Press, Vol. 8, 1-632, (1984).
- De Mesquita, M. L., De Paula, J. E., Pessoa, C., De Moraes, M. O., Costa-Lotufo, L. V., Grougnet, R. and Espindola, L. S., “Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines”, *J. Ethnopharmacol.*, 123(3), 439-445, (2009).
- Delgado, S., Núñez, F., Sánchez, B., Bermúdez, E. and Rodríguez, J. M., “Toxigenic microorganisms in medicinal plants used for ritual protection of infants”, *Food Res. Int.*, 44(1), 304-309, (2011).
- Dickschat, J. S., “Isoprenoids in three-dimensional space: the stereochemistry of terpene biosynthesis”, *Nat. Prod. Rep.*, 28(12), 1917-1936, (2011).
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S. and Ju, Y. H., “Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*”, *J. Food Drug. Anal.*, 22(3), 296-302, (2014).

Dröge, W., “Free radicals in the physiological control of cell function”, *Physiol. Rev.*, 82, 47-95, (2002).

Edreva, A., Velikova, V., Tsonev, T., Dagnon, S., Gürel, A., Aktaş, L. and Gesheva, E., “Stress-Protective role of secondary metabolites, diversity of functions and mechanisms”, *Gen. Appl. Plant Physiol.*, 34(1-2), 67-78, (2008).

Eker, İ., and Çelik, A., “Flora of Çaltepe and Çetepe (Bolu)”, *Commun. Fac. Sci. Univ. Ank. Series C*, 29(1), 1-49, (2020).

Eker, İ. and Demir, S. C., *Petaloid Monocotyledonous Flora of Bolu Province, Including Annotations on Critical Petaloid Geophytes of Turkey*, Pegem Akademi Yayıncılık, 1-80, (2015).

El-Seedi, H. R., Burman, R., Mansour, A., Turki, Z., Boulos, L., Gullbo, J. and Göransson, U., “The traditional medical uses and cytotoxic activities of sixty-one Egyptian plants: discovery of an active cardiac glycoside from *Urginea maritima*”, *J. Ethnopharmacol.*, 145(3), 746-757, (2013).

Erdoğan-Orhan, I. and Kartal, M., “Insights into research on phytochemistry and biological activities of *Prunus armeniaca* L. (apricot)”, *Food Res. Int.*, 44(5), 1238-1243, (2011).

Farooq, M. and Freed, S., “Infectivity of housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) to different entomopathogenic fungi”. *Braz. J. Microbiol.*, 47, 807-816, (2016).

Freile-Pelegrín, Y. and Robledo, D., “Bioactive phenolic compounds from algae”, *Bioact. Compd. from Marine Foods: Plant Animal Sources*, 113-129, (2013).

Gomes, A. B., Bastos, C. G., Afonso, C. L., Medrado, B. F. and Andrade, Z. A., “How variable are hydroxyproline determinations made in different samples of the same liver?”, *Clin. Biochem.*, 39, 1160-1163, (2006).

Güner, A., (eds: Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. and Babaç, M. T.), *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, 1-1290, (2012).

Halliwel, B., “Antioxidants in human health and disease”, *Annu. Rev. Nutr.*, 16(1), 33-50, (1996).

Halliwel, B., “Free radicals and antioxidants: a personal view”, *Nutr. Rev.*, 52(8), 253-265, (1994).

Halliwel, B. and Gutteridge, J. M. C., *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd Edition, Oxford University Press, (1998).

Halliwell, B. and Gutteridge, J., "Oxygen toxicity oxygen radicals, transition metals and disease", *Biochem. J.*, 219(1), 1, (1984).

Hamidi, M. R., Jovanova, B. and Panovska, T. K., "Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model", *Maced. Pharm. Bull.*, 60(1), 9-18, (2014).

Hoffman, B. F., "Digitalis and allied cardiac glycosides", *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*, 8, 814-839, (1990).

Isman, M. B., "Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world", *Annu. Rev. Entomol.*, 51, 45-66, (2006).

Jha, S. and Sen, S., "Bufadienolides in different chromosomal races of Indian squill", *Phytochem.*, 20(3), 524-526, (1981).

Kakouri, E., Kanakis, C., Trigas, P. and Tarantilis, P. A., "Characterization of the chemical composition of *Drimia numidica* plant parts using high-resolution mass spectrometry: study of their total phenolic content and antioxidant activity", *Anal. Bioanal. Chem.*, 411, 3135-3150, (2019).

Katz, E., Nisani, S., Yadav, B. S., Woldemariam, M. G., Shai, B., Obolski, U. and Chamovitz, D. A., "The glucosinolate breakdown product indole-3-carbinol acts as an auxin antagonist in roots of *Arabidopsis thaliana*", *Plant J.*, 82(4), 547-555, (2015).

Kliebenstein, D. J., "False idolatry of the mythical growth versus immunity tradeoff in molecular systems plant pathology", *Physiol. Mol. Plant. Pathol.*, 95, 55-59, (2016).

Koç, S. and Çetin, H., (ed: Özbel Y), *Ev Sineği (Musca domestica L.) Biyolojisi ve Mücadele Yöntemleri, Vektör Artropodlar ve Mücadelesi*, Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir, 259-272, (2017).

Koch, M. A., Schuffenhauer, A., Scheck, M., Wetzel, S., Casaulta, M., Odermatt, A. and Waldmann, H., "Charting biologically relevant chemical space: a structural classification of natural products (SCONP)", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 102(48), 17272-17277, (2005).

Krishnaraju, A. V., Rao, T. V., Sundararaju, D., Vanisree, M., Tsay, H. S. and Subbaraju, G. V., "Assessment of bioactivity of Indian medicinal plants using brine shrimp (*Artemia salina*) lethality assay", *Int. J. Appl. Sci. Eng.*, 3(2), 125-134, (2005).

Leonti, M., Stafford, G. I., Dal Cero, M., Cabras, S., Castellanos, M. E., Casu, L. and Weckerle, C. S., “Reverse ethnopharmacology and drug discovery”, *J. Ethnopharmacol.*, 198, 417-431, (2017).

Maazoun, A. M., Hlel, T. B., Hamdi, S. H., Belhadj, F., Jemâa, J. M. B. and Marzouki, M. N., “Screening for insecticidal potential and acetylcholinesterase activity inhibition of *Urginea maritima* bulbs extract for the control of *Sitophilus oryzae* (L.)”, *J. Asia Pac. Entomol.*, 20(3), 752-760, (2017).

Malinovsky, F. G., Thomsen, M. F., Nintemann, S. J., Jagd, L. M., Bourguine, B., Burow, M. and Kliebenstein, D.J., “An evolutionarily young defense metabolite influences the root growth of plants via the ancient TOR signaling pathway”, *Elife*, 6, e29353, (2017).

Mammadov, R., Ili, P., Ertem, V. H. and Afacan, M. A., “Antioxidant activity and total phenolic content of *Gagea fibrosa* and *Romulea ramiflora*”, *Iran. J. Chem. Chem. Eng.*, 30(3), 57-62, (2011).

Mammadov, R., Makascı, A. A., Uysal, D. D. and Gork, C., “Determination of antioxidant activities of different *Urginea maritima* (L.) Baker plant extracts”, *Iran. J. Chem. Chem. Eng.*, 29(3), 47-53, (2010).

Mathew, S. and Abraham, T. E., “In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies”, *Food Chem. Toxicol.*, 44(2), 198-206, (2006).

Mohamed, G. A., Ibrahim, S. R., Shaala, L. A., Alshali, K. Z. and Youssef, D. T. “Urgineaglyceride A: a new monoacylglycerol from the Egyptian *Drimia maritima* bulbs”, *Nat. Prod. Res.*, 28(19), 1583-1590, (2014).

Munteanu, C. and Dumitraşcu, M., “*Artemia salina*”, *Balneo Res. J.*, 2(4), 119-122, (2011).

Myers, P., Espinosa, R., Parr, C. S., Jones, T., Hammond, G. S. and Dewey, T. A., The Animal Diversity Web [online], Accessed at <https://animaldiversity.org> on 2020-05-11, (2020).

Owen, R. W., Giacosa, A., Hull, W. E., Haubner, R., Spiegelhalder, B. and Bartsch, H., “The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil”, *Eur. J. Cancer*, 36(10), 1235-1247, (2000).

Özcan, M. M., Baydar, H., Sağdıç, O. and Özkan, G., “Türkiye’de Ticari Açıldan Önemli Lamiaceae Familyasına Ait Baharat veya Çeşni Olarak Kullanılan Bitkilerin Fenolik Bileşenleri ile Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi”, TÜBİTAK Projesi, No: TOGTAG-3319, (2007).

- Özgökçe, F. and Özçelik, H., “Ethnobotanical aspects of some taxa in East Anatolia, Turkey”, *Econ. Bot.*, 58(4), 697-704, (2004).
- Panduranga, M. G., Mamtharani, D. R., Tejas, T. S. and Niranjana, M. S., “Phytochemical analysis, in vitro anti-bacterial and antioxidant activities of wild onion sps”, *Int. J. Pharma. Bio. Sci.*, 2(3), 230-237, (2011).
- Pascual-Villalobos, M. J. and Fernández, M., “Insecticidal activity of ethanolic extracts of *Urginea maritima* (L.) Baker bulbs”, *Ind. Crops Prod.*, 10(2), 115-120, (1999).
- Patil, U. S. and Deshmukh, O. S., “Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used as traditional medicine”, *Int. J. Pharma. Bio. Sci.*, 7, 77–81, (2016).
- Persoons, G., Van De Vell, A., Van Steergem, M. and Nayer, B., “Predictive value for laboratory test with aquatic invertebrates: Influence of experimental condition”, *Aquat. Toxicol.*, 14, 149-166, (1989).
- Pisutthanan, S., Plianbangchang, P., Pisutthanan, N., Ruanruay, S. and Muanrit, O., “Brine shrimp lethality activity of Thai medicinal plants in the family Meliaceae”, *Naresuan Univ. J. Sci. Technol.*, 12(2), 13-18, (2013).
- Prabakaran, R., Joseph, B. and Pradeep, P. N., “Phyto medicinal compounds form *Urginea indica* Kunth: A synthetic drugs potential alternative”, *Br. J. Pharm. Res.*, 11(5), 1-9, (2016).
- Prieto, P., Pineda, M. and Aguilar, M., “Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphor molybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E”, *Anal. Biochem.*, 269(2), 337-341, (1999).
- Rajput, B., Golave, A., Yadav, S. and Jadhav, J. P., “Total phenolic concentrations and antioxidant activities in *Drimys* sp”, *J. Herbs Spices Med. Plants*, 24(1), 28-36, (2018).
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C., “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay”, *Free Radic. Biol. Med.*, 26(9-10), 1231-1237, (1999).
- Rezzagui, A., Senator, A., Benbrinis, S. and Bouriche, H., “Free Radical Scavenging Activity, Reducing Power and Anti-Hemolytic Capacity of Algerian *Drimys maritima* Baker Flower Extracts”, *J. Drug Deliv. Ther.*, 10(4), 70-78, (2020).

- Rhimi, W., Camarda, A., Saidi, M., Boulila, A., Otranto, D. and Cafarchia, C., “Chemical characterization and acaricidal activity of *Drimia maritima* (L) bulbs and *Dittrichia viscosa* leaves against *Dermanyssus gallinae*”, *Vet. Parasitol.*, 268, 61-66, (2019).
- Rice-evans, C., Miller, N. and Paganga, G., “Antioxidant properties of phenolic compounds”, *Trends Plant Sci.*, 2(4), 152–159, (1997).
- Rivera, D., Verde, A., Fajardo Rodríguez, J., Ríos, S., Alcaraz, F., Cárceles, C. and Obón, C., “Ethnoveterinary and ethnopharmacology in the main transhumance areas of Castilla-La Mancha (Spain)”, *Front. Vet. Sci.*, 501, (2022).
- Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P. and Glover, W. “Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits”, *Food Chem.*, 66(4), 401-436, (1999).
- Saadane, F. Z., Habbachi, W., Habbachi, S., Boublata, N. E. I., Slimani, A. and Tahraoui, A., “Toxic effects of *Drimia maritima* (Asparagaceae) ethanolic extracts on the mortality, development, sexual behaviour and oviposition behaviour of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae)”, *J. Anim. Behav. Biometeorol.*, 9(1), 0-0, (2020).
- Saifullah, M., McCullum, R., McCluskey, A. and Vuong, Q., “Comparison of conventional extraction technique with ultrasound assisted extraction on recovery of phenolic compounds from lemon scented tea tree (*Leptospermum petersonii*) leaves”, *Heliyon*, 6(4), e03666, (2020).
- Salehin, M., Li, B., Tang, M., Katz, E., Song, L., Ecker, J. R. and Estelle, M., “Auxin-sensitive Aux/IAA proteins mediate drought tolerance in *Arabidopsis* by regulating glucosinolate levels”, *Nat. Commun.*, 10(1), 4021, (2019).
- Senguttuvan, J., Paulsamy, S. and Karthika, K., “Phytochemical analysis and evaluation of leaf and root parts of the medicinal herb, *Hypochoeris radicata* L. for *in vitro* antioxidant activities”, *Asian Paci. J. Trop. Biomed.*, 4, S359-S367, (2014).
- Shahidi, F. and Zhong, Y., “Measurement of antioxidant activity”, *J. Funct. Foods.*, 18, 757-781, (2015).
- Shanker, C. and Solanki, K. R., “Botanical insecticides: A historical perspective”, *India Asian Agri-History*, 4(3), 221-232, (2000).
- Sharififar, F., Moshafi, M. H., Dehghan-Nudehe, G., Ameri, A., Alishahi, F. and Pourhemati, A., “Bioassay screening of the essential oil and various extracts from 4 spices medicinal plants”, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22(3), 317-322, (2009).

Sharma, H. J. and Devi, N. S., “Phytochemical Analysis of *Drimia Species*”, *Int. J. Appl. Sci. Res. Rev.*, 4, 12, (2017).

Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J., Mittal, G., Kakuda, Y. and Jiang, Y., “Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods-engineering and technology”, *Food Rev. Int.*, 21(1), 139-166, (2005).

Slinkard, K. and Singleton, V. L., “Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods”, *Am. J. Enol. Vitic.*, 28(1), 49-55, (1977).

Statplus, AnalystSoft Inc. Released. Statplus Professional for Windows, Version 5.9.8.5, Walnut, CA: AnalystSoft Inc, (2015).

Sultana, N., Akter, K., Nahar, N., Khan, M. S. H., Mosihuzzaman, M., Sohrab, M. H. and Krohn, K., “Novel flavonoid glycosides from the bulbs of *Urginea indica* Kunth”, *Nat. Prod. Res.*, 24(11), 1018-1026, (2010).

Tahri, Y., Koubaa, I., Frikha, D., Maalej, S. and Allouche, N., “Chemical Investigation and Biological Valorization of Two Essential Oils Newly Extracted from Different Parts of *Drimia maritima*”, *J. Essent. Oil Bear. Plants*, 23(5), 1022-1034, (2020).

Tekeli, F. O. and Gökce, A. F., “Endemic plants and wild *Allium* species in Turkey”, *VII International Symposium on Edible Alliaceae*, 327-332, (2015).

Tomruk, E., “Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi için Hidrofilik Destek Materyal Sentez ve Kromatografik Karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Ankara, (2005).

Türe, C. and Böcük, H., “Distribution patterns of threatened endemic plants in Turkey: A quantitative approach for conservation”, *J. Nat. Conserv.*, 18(4), 296-303, (2010).

Ülger, T. G. and Ayhan, N. Y., “Bitki sekonder metabolitlerinin sağlık üzerine fonksiyonel etkileri”, *Acıbadem Üniv. Sağlık Bilim. Derg.*, 3, 384-390, (2020).

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J. and Telser, J., “Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence”, *Mol. Cell. Biochem.*, 266, 37-56, (2004).

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. “Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease”, *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 39(1), 44-84, (2007).

- Wettasinghe, M. and Shahidi, F., “Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinalis* L.) seeds”, *Food Chem.*, 67(4), 399-414, (1999).
- WHO, “A Global Brief on Vector-Borne Diseases. Geneva: World Health Organization”, WHO/DCO/WHD/2014.1, (2014).
- WHO, “Vector Surveillance and Control at Ports, Airports, and Ground Crossings”, International Health Regulations, ISBN: 9789241549592, (2016).
- Wink, M., *Annual Plant Reviews, Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites*, Wiley-Blackwell, vol: 39, 2nd Edition, (2010).
- Wu, C., “An important player in brine shrimp lethality bioassay: The solvent”, *J Adv Pharm. Technol. Res.*, 5(1), 57, (2014).
- Wu, C., Chen, F., Wang, X., Kim, H. J., He, G., Haley-Zitlin, V. and Huang, G., “Antioxidant constituents in feverfew (*Tanacetum parthenium*) extract and their chromatographic quantification”, *Food Chem.*, 96(2), 220-227, (2006).
- Yadav, P. B., Lekhak, U. M., Ghane, S. G., and Lekhak, M. M., “Phytochemicals, metabolites using LC-MS from *Drimia* species”, *S. Afr. J. Bot.*, 140, 259-268, (2021).
- Yener, İ., “Bazı *Euphorbia* türlerinin Ağır Metal ve Türe Özgü Sekonder Metabolit İçeriklerinin LC-MS/MS, LC-MS-IT-TOF ve ICP-MS ile Metot Validasyonu; Antioksidan ve Antikanser Özelliklerinin Belirlenmesi”, Doktora Tezi, *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Diyarbakır, (2017).
- Zaidi, N., Khan, N. H., Zafar, F. and Zafar, S. I., “Bulbous and cormous monocotyledonous ornamental plants in Vitro”, *Qtly. Sci. Vis.*, 6(1), 58-73, (2000).
- Zhang, L., Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Yıldıztuğay, E., Jugreet, S., Simal-Gandara, J. and Lucini, L., “Untargeted Phenolic Profiling and Functional Insights of the Aerial Parts and Bulbs of *Drimia maritima* (L.) Stearn”, *Plants*, 11(5), 1-16, (2022).
- Zheng, W. and Wang, S. Y., “Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs”. *J. Agric. Food chem.*, 49(11), 5165-5170, (2001).
- Zotou, A., “An overview of recent advances in HPLC instrumentation”, *Cent. Eur. J. Chem.*, 10(3), 554-569, (2012).