TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DE YETİŞEN BAZI *ASPARAGUS* L. TAKSONLARI ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Melek KARACAOĞLU

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. H. Gülçin SALTAN İŞCAN

ANKARA
2022

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DE YETİŞEN BAZI *ASPARAGUS* L. TAKSONLARI ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Melek KARACAOĞLU

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. H. Gülçin SALTAN İŞCAN

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 18L0237004 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ANKARA
2022

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum "Türkiye'de Yetişen Bazı *Asparagus* L. Taksonları Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar" başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Öğrencinin Adı Soyadı: Melek Karacaoğlu
Tarih: 17.06.2022
İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalı'nda
Melek KARACAOĞLU tarafından hazırlanan
"Türkiye'de Yetişen Bazı *Asparagus* L. Taksonları Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17.06.2022

Prof. Dr. H. Gülçin SALTAN İŞCAN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Betül SEVER YILMAZ
Ankara Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK
İzmir Bakırçay Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN
Gazi Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Sinem ASLAN ERDEM
Ankara Üniversitesi
Raportör

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik beyan ii
Kabul ve onay iii
İçindekiler iv
Önsöz vii
Simgeler ve kısaltmalar x
Şekiller xii
Çizelgeler xv

1. GİRİŞ 1
1.1. Genel bilgiler 7
1.1.1. Oksidatif Süreçler 7
1.1.1.1. Serbest Radikaller 7
1.1.1.2. Reaktif Oksijen Türleri 8
1.1.1.3. Oksidan-antioksidan Sistem 9
1.1.1.4. Oksidatif Stres 10
1.1.2. Karaciğer 11
1.1.2.1. Karaciğerin morfolojik yapısı 12
1.1.2.2.Karaciğerin sitolojik yapısı 12
1.1.2.3. Karaciğerin fonksiyonları 13
1.1.2.3.1. Karbonhidrat metabolizması 13
1.1.2.3.2. Protein metabolizması 13
1.1.2.3.3. Yağ metabolizması 14
1.1.2.3.4. Diğer Fonksiyonlar 14
1.1.2.4. Karaciğer Hasarı 14
1.1.2.4.1. Karaciğer Hücrelerinin Oksidatif Stresle İlişkisi 15
1.1.2.4.2. Karbontetraklorürle Oluşturulan Karaciğer Hasarı 15
1.1.3. *Caenorhabditis elegans* hakkında genel bilgiler 16
1.1.4. Botanik Özellikler 20
1.1.4.1. *Asparagus* L. Cinsinin Sistematikteki Yeri 20
1.1.4.2. Asparagaceae Familyasının Özellikleri 21
1.1.4.3. *Asparagus* L. Cinsinin Özellikleri 21
1.1.4.4. *Asparagus* L. Cinsine ait Türlerin Özellikleri 22
1.1.4.4.1. *Asparagus officinalis* L. 22
1.1.4.4.2. *Asparagus acutifolius* L. 22
1.1.4.4.3. *Asparagus verticillatus* L. 23
1.1.4.4.4. *Asparagus aphyllus* L. subsp *orientalis* (Baker) P.H.Davis 23
1.1.4.5. *Asparagus* L. Cinsine ait Türlerin Dünyada ve Ülkemizde Yayılışı ve Kullanılışı 23
1.1.5. *Asparagus* L. Taksonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar 28
1.1.5.1. Fitokimyasal Araştırmalar 28

1.1.5.1.1. Fenolik bileşikler 29
1.1.5.1.2. Saponinler 39
1.1.5.1.3. Fruktooligosakkaritler 51
1.1.5.1.4. Diğer Bileşikler 52
1.1.5.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları 55
1.1.5.2.1. Antioksidan Aktivite 55
1.1.5.2.2. Antitümör Aktivite 64
1.1.5.2.3. Hipoglisemik Aktivite 69
1.1.5.2.4. Antimikrobiyal Aktivite 70
1.1.5.2.5. Hipolipidemik Etki 73
1.1.5.2.6. İmmunomodülatör Aktivite 76
1.1.5.2.7. Antihipertansif Aktivite 76
1.1.5.2.8. Antienflamatuvar Aktivite 77
1.1.5.2.9. Sinir Sistemi Üzerine Etkiler 78
1.1.5.2.10. Hepatoprotektif Aktivite 79
1.1.5.2.11. Diğer Biyolojik Aktiviteler 83
1.1.6. *C. elegans* Modelinde Doğal Ürünler Üzerinde Yapılan Çalışmalar 84

2. GEREÇ VE YÖNTEM 94
2.1. Gereç 94
2.1.1. Bitkisel Materyal 94
2.2. Yöntem 100
2.2.1. Fitokimyasal Analizler 100
2.2.1.1. Ekstraksiyon Çalışmaları 100
2.2.1.2. Miktar Yayini Yöntemleri 101
2.2.1.2.1. Total Fenol Miktar Tayini 101
2.2.1.2.1. Total Flavonoit Miktar Tayini 101
2.2.1.3. Kromatografik çalışmalar 102
2.2.1.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi 102
2.2.1.3.2. Kolon Kromatografisi 103
2.2.1.3.2.1. Açık Kolonun Hazırlanması 103
2.2.1.3.2.2. Ekstrenin Kolona Uygulanması 103
2.2.1.3.2.3. Ekstrenin Fraksiyonlarına Ayrılması 103
2.2.1.3.2.4. Sefadeks Kolonun Hazırlanması 105
2.2.1.3.2.5. Fraksiyonların Sefadeks Kolona Uygulanması 105
2.2.1.3.3. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi 106
2.2.1.3.4. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi 106
2.2.2. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini 108
2.2.2.1. Kütle Spektrometrisi (MS) 108
2.2.2.2. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi 108
2.2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları 109
2.2.3.1. Antioksidan Aktivite 109
2.2.3.1.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi 109
2.2.3.1.2. TEAC/ABTS Yöntemi 110
2.2.3.1.3. Total Antioksidan Kapasite 111
2.2.3.2. *Caenorhabditis elegans* Yaşam süresi Analizi 111
2.2.3.2.1. Nematod Büyüme Ortamı Hazırlanması 112

2.2.3.2.2. Çözeltilerin Hazırlanması 113
2.2.3.2.4. Bakteri Üretimi 114
2.2.3.2.5. Katı Besi yeri Hazırlanması 114
2.2.3.2.6. Sıvı Besi Yeri Hazırlanması 115
2.2.3.2.7. Bitki Ekstrelerinin Besi Yerine İlave Edilmesi 115
2.2.3.2.8. Yumurta Senkronizasyonu 116
2.2.3.2.9. Yaşam Süresi Takibi 117
2.2.4. Hepatoprotektif Aktivite 117

3. BULGULAR 121
3.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular 121
3.1.1. Ekstraksiyon Çalışmalarına Ait Bulgular 121
3.1.1.1. Total Ekstrelerin Hazırlanması 121
3.1.2. Miktar Tayini Yöntemleri 124
3.1.2.1. Total Fenol Miktar Tayini 124
3.1.2.2. Total Flavonoit Miktar Tayini 126
3.1.3. Kromatografik Bulgular 128
3.1.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi 128
3.1.3.2. Kolon Kromatografisi Bulguları 141
3.1.3.2.1. Açık Kolon Kromatografisi Bulguları 141
3.1.3.2.2. Sefadeks Kolon Kromatografisi Bulguları 142
3.1.3.3. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi Bulguları 143
3.1.3.4. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Bulguları 143
3.1.3.4.1. Rutin Miktar Tayini Bulguları 144
3.1.3.4.2. Kafeik Asit Miktar Tayini Bulguları 145
3.2. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinine İlişkin Bulgular 155
3.2.1. S12 Bileşiğinin Yapı Tayinine İlişkin Bulgular 155
3.2.2. IS22 Bileşiğinin Yapı Tayinine İlişkin Bulgular 161
3.2.3. IS30 Bileşiğinin Yapı Tayinine İlişkin Bulgular 170
3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular 175
3.3.1. Antioksidan Aktiviteye Ait Bulgular 175
3.3.1.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi Bulguları 175
3.3.1.2. TEAC/ABTS Yöntemi Bulguları 177
3.3.1.3. Total Antioksidan Kapasite Testi Bulguları 179
3.3.2. *C. elegans* Yaşam Süresi Analizi Bulguları 180
3.3.3. Hepatoprotektif Aktiviteye Ait Bulgular 183

4. TARTIŞMA 186
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 196
ÖZET 198
SUMMARY 199
KAYNAKLAR 200
EKLER 221
Ek-1 Etik Kurul Onay Belgesi 221
ÖZGEÇMİŞ Error! Bookmark not defined.

ÖNSÖZ

Asparagus cinsinin birçok taksonu antik çağlardan bu yana hem gıda olarak hem de geleneksel halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Güncel bilimsel veriler ışığında, söz konusu taksonlardan önemli biyolojik aktivitelere sahip bileşikler izole edildiği bilinmektedir. Bununla beraber hala üzerinde çalışılmamış birçok takson bulunmaktadır. Bu durum çalışmalarımızı Türkiye'de doğal olarak yetişen bazı *Asparagus* taksonları üzerinde yoğunlaştırmaya teşvik etmiştir. Öncelikle, *Asparagus* taksonları üzerinde daha önce yürütülen bilimsel çalışmalar özetlenmiş, sonrasında ülkemizde doğal olarak yetişen bazı *Asparagus* taksonları üzerinde farmakognozik çalışmalar gerçekleştirilerek, elde edilen veriler ile literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Doktora programına kabul edildiğim günden bu yana, değerli deneyim ve bilgilerinden faydalandığım, birlikte çalışmaktan gurur duyduğum, hayatımın her alanında beni sonsuz destekleyen ve hep cesaretlendiren, girişimcilik serüvenimin başlamasına ilham olan, çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. H. Gülçin SALTAN İŞCAN' a,

Çalışmalarım sırasında beni yönlendiren ve yardımlarını esirgemeyen, tez izleme komitesi üyesi, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK'e,

Çalışmalarım sırasında beni yönlendiren, bilgi birikimi ve tecrübelerini esirgemeyen, yapı tayini çalışmalarımı gerçekleştiren, tez izleme komitesi üyesi, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Özlem BAHADIR ACIKARA'ya,

Doktora eğitimime ve akademik çalışmalarıma büyük katkılar sağlayan Anabilim Dalımızın saygıdeğer hocalarına ve araştırma görevlilerine,

Çalışmalarım esnasında Merkez Laboratuvarı'nı kullanmama olanak sağlayan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Asuman BOZKIR'a,

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nın her türlü olanağından faydalanmamı sağlayan, kütle spektroskopisi ve NMR analizlerime destek veren Sayın Prof. Dr. Hakan GÖKER'e,

Arazi çalışmalarımda ve bitki türlerimin teşhisinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Hayri DUMAN'a,

Türkiye'de yetişen *Asparagus* türleri üzerinde daha önce çok kapsamlı bilimsel çalışmalar yürüten Prof. Dr. Ayşegül KÖROĞLU'na,

Bana Farmasötik Mikrobiyoloji'nin temel usul ve esaslarını, en ince ayrıntısına kadar büyük bir hoşgörü ile öğreten Doç. Dr. Müjde ERYILMAZ ve Arş. Gör. Sibel GÜRPINAR'a

Tez yazım sürecimde motivasyonumun hep yüksek kalmasını sağlayan ve YPSK analizlerime destek olan sevgili hocam Doç. Dr. Sinem ASLAN ERDEM'e

Aktivite çalışmalarımın yürütülmesinde yardım ve desteklerini esirgemeyen İstanbul Medipol Üniversitesi MEDİTAM ekibine ve Arş. Gör. Duygu GÜRSOY'a,

Caenorhabditis elegans çalışmalarımın ilk gününden bu yana yardımlarını esirgemeyen, sorularımı her zaman büyük bir sabır ve özveri ile cevaplayan sevgili Arş. Gör. Emine ŞEN'e,

Çalışmalarım sırasında beni her koşulda ve gece gündüz demeden hoşgörü ve sabırla destekleyen, deneyim, bilgi ve vizyonunu paylaşmak noktasında bir an olsun çekinmeyen, çok sevgili arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Burçin ERGENE'ye,

Akademik çalışmalarımızı birlikte yürüttüğümüz, hem yakın çalışma arkadaşım hem de biricik kız kardeşim Arş. Gör. H. Kamuran İLERİ ÖZLER'e,

Çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen, hayatımı kolaylaştıran canım ablam Semra KILIÇ'a,

Deneylerimde yardımlarını esirgemeyen, beraber çalışmaktan çok keyif aldığım sevgili Ecz. Damla HADDUR'a,

Güleryüzleri ve pozitif enerjileri ile her başım sıkıştığında yanımda olan çok sevgili arkadaşlarım Dr. Mesud HÜRKUL'a, Arş. Gör. Pınar KUL'a ve Arş. Gör. N. Merve GÜVEN'e,

Attığım her adımda yanımda olan, çok sevdiğim yol arkadaşlarım, Dr. Sezen YILMAZ SARIALTIN'a ve Dr. Başak Özlem PERK'e

Üzüntülerimi ve sevinçleri paylaştığım, başta Ecz. M. Şah GÜLTEKİN ve Ecz. Ahmed ÖZLER olmak üzere tüm arkadaşlarıma,

Beni yetiştiren, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan sevgili ailem, canım abim Dr. C. Utku KARACAOĞLU'na, sevgili annem Cemile ÇETİN'e ve rahmetli babam M. Bayram KARACAOĞLU'na,

Varlığıyla hayatımı güzelleştiren, akademik yaşantımı hoşgörü ile destekleyen çok değerli KARAASLAN ailesine,

Son olarak sonsuz sabrı ve desteğiyle her zaman arkamda duran, sevgisiyle bana güç veren, müstakbel eşim Ecz. M. Umur KARAASLAN'a

en içten teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

^{13}C-NMR	Karbon nükleer manyetik rezonans
^{1}H- NMR	Proton nükleer manyetik rezonans
ABTS	2,2-azinobis (3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit)
ACE	Anjiotensin dönüştürücü enzim
ALT	Alanin aminotransferaz
APG IV	Angiosperm Phylogeny Group
AST	Aspartat aminotransferaz
BHT	Bütil hidroksi toluen
CAT	Katalaz
CMC	Karboksi metil selüloz
COSY	Correlation spectroscopy
CUPRAC	Cupric reducing antioxidant capacity
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
FAO	Food and Agriculture Organization
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
FUDR	5-Fluoro-2′-deoksiuridin
GGT	Gama Glutamil Transferaz
GPX	Glutatyon peroksidaz
GR	Glutatyon redüktaz
HDL	High density lipoprotein
HMBC	Heteronuclear multiple-bond correlation
HMQC	Heteronuclear single quantum coherence
HR MS	Yüksek çözünürlüklü kütle spektroskopici
IC_{50}	Yarı-maksimum inhibisyon konsantrasyonu

IR	Infrared Spektroskopisi
IUCN	Dünya Doğayı ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği
LB Agar	Luria-Bertani Agar
LB Broth	Luria-Bertani (LB) Broth
LC-MS	Sıvı kromatografisi/külte spektroskopisi
LD_{50}	Yarı letal doz
LDL	Low density lipoprotein
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantification
MS	Mass Spectroscopy(Kütle Spektroskopisi)
MTT	3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NGM	Nematod Growth Medium
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
NOESY	Nuclear overhauser effect spectroscopy
NOESY	Nuclear overhauser effect spectroscopy
Preparatif İTK	Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi
Q-TOF	Dört kutuplu uçuş zamanlı
RBC	Kırmızı kan hücreleri
RNA	Ribonükleik asit
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
TOCSY	Total correlation spectroscopy
TÜBİVES	Türkiye Bitkileri Veri Servisi
UPLC	Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi
UPLC-MS	Ultra performance liquid chromatography
UV	Ultraviyole
VLDL	Very low density lipoprotein
WBC	Beyaz kan hücreleri
YPSK	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. *Asparagus* türlerinden izole edilen bazı fenolik bileşikler 37
Şekil 1.2. *Asparagus* türlerinden izole edilen bazı saponinler 46
Şekil 1.3. *Asparagus* türlerinden izole edilen diğer bazı bileşikler 55
Şekil 2.2. *Asparagus officinalis* herbaryum örneği 96
Şekil 2.3. *Asparagus acutifolius* herbaryum örneği 97
Şekil 2.4. *Asparagus verticillatus* herbaryum örneği 98
Şekil 2.5. *Asparagus aphyllus* subps *orientalis* herbaryum örneği 99
Şekil 2.6. Silika jel dolgu materyalli kolona ait bir resim 104
Şekil 3.1. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonuna ait ekstraksiyon şeması 123
Şekil 3.2. Gallik asit kalibrasyon eğrisi (Total Fenol Miktar Tayini) 124
Şekil 3.3. Bitki ekstrelerinin total fenolik madde miktarlarının şematize hali 125
Şekil 3.4. Kersetin kalibrasyon eğrisi (Total Flavonoit Miktar Tayini) 126
Şekil 3.5. Bitki ekstrelerinin total flavonoit madde miktarlarının şematize hali 127
Şekil 3.6. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun topraküstü kısımlarından hazırlanan sırasıyla petrol eteri, diklorometan, etil asetat, *n*-butanol, total ekstrenin Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) çözücü sistemi kullanılarak gerçekleştirilen İTK kromatogramları 128
Şekil 3.7. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 1. ve 17. fraksiyonların Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları 129
Şekil 3.8. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 17. ve 32. fraksiyonların Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları 131
Şekil 3.9. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 30. ve 46. fraksiyonların Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları 132
Şekil 3.10. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 30. ve 47. fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (35:25:4) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları 133
Şekil 3.11. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 48. ve 54. fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (35:25:4) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları 134
Şekil 3.12. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ve birleştirilen bazı fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları 135

Şekil 3.13. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ve birleştirilen 24-26. fraksiyonların Sefadeks kolona uygulanması ile toplanan 1. ve 11. alt fraksiyonlarının Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları 136
Şekil 3.14. A. *aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ve birleştirilen 24-26. fraksiyonların Sefadeks kolona uygulanması ile toplanan 9. ve 19. alt fraksiyonlarının Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları 137
Şekil 3.15. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ve birleştirilen 16-18. fraksiyonların Sefadeks kolona uygulanması ile toplanan 1. ve 11. alt fraksiyonlarının Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları 138
Şekil 3.16. A. *aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ve birleştirilen 16-18. fraksiyonların Sefadeks kolona uygulanması ile toplanan 13. ve 24. alt fraksiyonlarının Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları 139
Şekil 3.17. A. *aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinden kromatografik yöntemlerle saflaştırılan bileşikler ve izolasyon şeması 142
Şekil 3.18. Rutin için hazırlanan kalibrasyon denklemi 144
Şekil 3.19. Kafeik asit için hazırlanan kalibrasyon denklemi 145
Şekil 3.20. Rutinin 254 nm'deki kromatogramı ve UV spektrumu 146
Şekil 3.21. Kafeik asitin 330 nm'deki kromatogramı ve UV spektrumu 147
Şekil 3.22. *A. officinalis'in* topraküstü ekstresinin yöntem 1 ile elde edilen YPSK kromatogramı 147
Şekil 3.23. *A. acutifolius*'un topraküstü ekstresinin yöntem 1 ile elde edilen YPSK kromatogramı 148
Şekil 3.24. *A. verticillatus*'un topraküstü ekstresinin yöntem 1 ile elde edilen YPSK kromatogramı 148
Şekil 3.25. *A. apyllus* subsp. *orientalis*'in topraküstü ekstresinin yöntem 1 ile elde edilen YPSK kromatogramı 149
Şekil 3.26. *A. officinalis'in* topraküstü ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı 149
Şekil 3.27. *A. acutifolius*'un topraküstü ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı. 150
Şekil 3.28. *A. verticillatus*'un topraküstü ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı 150
Şekil 3.29. *A. apyllus* subsp. *orientalis*'in topraküstü ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı 151
Şekil 3.30. *A. officinalis*'in kök ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı 151
Şekil 3.31. *A. acutifolius*'un kök ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı 152

Şekil 3.32. *A. verticillatus*'un kök ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı 152
Şekil 3.33. *A.apyllus* subsp. *orientalis*'in kök ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı 153
Şekil 3.34. S12 bileşiğine ait YPSK kromatogramı ve UV spektrumu 153
Şekil 3.35. IS22 bileşiğine ait YPSK kromatogramı ve UV spektrumu 154
Şekil 3.36. IS30 bileşiğine ait YPSK kromatogramı ve UV spektrumu 154
Şekil 3.37. S12 bileşiğine ait izolasyon şeması 155
Şekil 3.38. S12 bileşiğinin ES MS spektrumu 156
Şekil 3.39. S12 bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu 157
Şekil 3.40. S12 bileşiğinin 13C-NMR spektrumu 158
Şekil 3.41. S12 bileşiğinin yapı tayini bulguları 159
Şekil 3.42. IS22 bileşiğine ait izolasyon şeması 161
Şekil 3.43. IS22 bileşiğinin ES MS spektrumu 162
Şekil 3.44. IS22 ^{1}H-NMR spektrumu 163
Şekil 3.45. IS22 bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu 164
Şekil 3.46. IS22 bileşiğinin HMBC spektrumu 165
Şekil 3.47. IS22 bileşiğinin HSQC spektrumu 166
Şekil 3.48. IS22 bileşiğinin COSY spektrumu 167
Şekil 3.49. IS22 bileşiğinin yapı tayini bulguları 168
Şekil 3.50. IS30 bileşiğine ait izolasyon şeması 170
Şekil 3.51. IS30 bileğinin ES MS spektrumu 171
Şekil 3.52. IS30 ^{1}H-NMR spektrumu 172
Şekil 3.53. IS30 ^{13}C-NMR spektrumu 173
Şekil 3.54. IS30 bileşiğinin yapı tayini bulguları 174
Şekil 3.55. Bitki ekstreleri ve BHT'nin DPPH serbest radikali süpürücü etkileri (IC_{50}) 177
Şekil 3.56. Bitki ekstreleri ve troloksun ABTS serbest radikali süpürücü etkileri (IC_{50}) 178
Şekil 3.57. Askorbik asitin total antioksidan kapasite kalibrasyon eğrisi 179
Şekil 3.58. Bitki ekstrelerinin askorbik asit eşdeğeri cinsinden total antioksidan kapasiteleri 180
Şekil 3.59. *Asparagus* taksonlarından elde edilen ekstrelerin *C. elegans*'ın hayatta kalma yüzdesi üzerine etkisi 181
Şekil 3.60. *Asparagus* taksonlarından elde edilen ekstrelerin *C. elegans*'ın maksimum yaşam süresi üzerine etkisi 181

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Türkiye'de yetişen Asparagus türleri ve türlerin halk arasında kullanılışları. 26
Çizelge 2.1. Bitkisel materyale ilişkin bazı veriler 95
Çizelge 3.1. *Asparagus* taksonlarından hazırlanan ekstrelerin miktarları (g) 122
Çizelge 3.2. Bitki ekstrelerinin total fenolik madde miktarı 125
Çizelge 3.3. Bitki ekstrelerinin total flavonoit madde miktarı 127
Çizelge 3.4. Ekstrelerde tespit edilen rutin ve kafeik asit miktarları 146
Çizelge 3.5. S12 bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları 159
Çizelge 3.6. IS22 bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları 168
Çizelge 3.7. IS30 bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları 174
Çizelge 3.8. Bitki ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü aktiviteleri 176
Çizelge 3.9. Bitki ekstrelerinin ABTS radikalini süpürücü aktiviteleri 178
Çizelge 3.10. Bitki ekstrelerinin total antioksidan kapasiteleri 179
Çizelge 3.11. Deney gruplarının kontrol grubuna kıyasla kikare ve p değerleri 182
Çizelge 3.12. ALT değişkeni için tanımlayıcı istatistik sonuçları 183
Çizelge 3.13. ALT değişkeni için Tukey's HSD sonuçları 184
Çizelge 3.14. AST değişkeni için tanımlayıcı istatistik sonuçları 184
Çizelge 3.15. AST değişkeni için Tukey's HSD sonuçları 185

1. GİRİŞ

Tarihsel açıdan ele alındığında; insanoğlu doğayı iki temel ihtiyacı için araştırmıştır. Bunlardan ilki hayatta kalmak için besin kaynağı bulmak, ikincisi ise ağrı ve hastalıklarını gidermek için bitkilerin şifalı gücünden yararlanmaktır (Srivastava, 2018). İnsanların tıbbi bitkileri kullanmaya başlaması hayvanlarda olduğu gibi içgüdüsel olup dünyanın hemen her yerinde çok eski çağlardan beri kullanımlarıyla, tıbbi bitkiler hem geleneksel hem de konvansiyonel tıp preparatlarının önemli bileşenleri haline gelmiştir. Bitkisel ilaçlar veya türevleri profilaktik, terapötik ve/veya palyatif özelliklere sahip olabilir. Başta Güney Amerika, Afrika ve Asya olmak üzere dünya genelinde 300.000'den fazla tohumlu bitkinin yaklaşık %60 kadarı terapötik amaçlı kullanılmaktadır. Son yüzyılda taksol, vinblastin, morfin, kodein, kokain vb. doğal bileşiklerin keşfi; bitkilerin özellikle hematoloji, onkoloji ve immünoloji alanında ilaç olarak kullanımını etkilemiştir (Srivastava, 2018; Majumdar ve ark., 2021; Mousavi ve ark., 2021; Seo, 2021).

Dünya Sağlık Örgütü(DSÖ)'nün 2019-2023 yılları arasında geçerli olan çalışma planına göre, her yaştan birey için sağlıklı yaşamı desteklemek ve iyi olma halini teşvik etmek stratejik bir önceliktir. Bu bağlamda, Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp sistemlerinin, temel sağlık hizmetlerine ve DSÖ'nün sürdürülebilir hedeflerine önemli katkılar sunabileceği bildirilmiştir. DSÖ'nün 2019 yılı raporuna göre giderek daha fazla ülke ulusal sağlık sistemlerinde Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp sistemlerinin rolünü kabul etmektedir. Bu kapsamda 179 üye devletten 124'ünün ele alınan bitkisel ilaçlarla ilgili düzenlemeleri uygulamaya koyduğu bildirilmiştir. Güvenli, kaliteli ve etkili geleneksel ve tamamlayıcı tıp hizmetlerine adil erişimin sağlanması, toplumların ihtiyaçlarına yönelik, sürdürülebilir ve temel sağlık hizmetlerini destekleyici niteliktedir (WHO, 2019).

Tıbbi bitkiler, yüzyıllar boyunca çeşitli rahatsızlıkları/hastalıkları tedavi etmek için küresel olarak kullanılmıştır. DSÖ'ye göre, neredeyse her 5 kişi'den 4'ü birinci basamak sağlık ihtiyaçlarını geleneksel tedavi yöntemlerini kullanarak karşılamaktadır. Dünyadaki yaklaşık 422.000 çiçekli bitkinin 50.000'den fazlası tedavi amacıyla kullanılmaktadır. (Yesil ve Inal, 2020).

Ülkemizdeki durum değerlendirildiğinde; Türkiye, Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Akdeniz bölgesi gibi üç iklim kuşağının kesiştiği yerde uzanmakta olup ılıman kuşaktaki bitki çeşitliliği açısından, Asya, Avrupa ve Ortadoğu'da çevresindeki komşu ülkelerden farklı özellikleriyle dikkat çekmektedir. Bu durum da halkın kök, yaprak, çiçek, meyve, ot, tohum gibi farklı bitki parçalarını mutfaklarında, doğal boyama, dekorasyon, tekstil boyama ve tıbbi amaçlarla vb. kullanması şeklinde birçok farklı etnofarmakognozik alışkanlığı geliştirmesine yol açmıştır. Diğer bir açıdan, günümüz Türkiye'sinin dokuz farklı uygarlığa ev sahipliği yapmış olması da yerel floranın geleneksel ilaçlar ve mutfakta kullanımı hakkında büyük bir bilgi birikimi oluşmasını desteklemektedir (Yıldırım, 2021).

Türkiye, 11.000'den fazla takson ile oldukça zengin bir floraya sahip olup bu bitkilerin yaklaşık %34'ü endemiktir. Endemik bitkilerin sayısı bakımından birçok Avrupa ülkesinin önünde yer alan ülkemizin florasının sahip olduğu 11.000'den fazla bitki taksonu ile Avrupa florasından daha zengin olduğu anlaşılmaktadır. Türkiye'deki toplam bitki taksonundan 500'ünün tıbbi ve aromatik özelliklere sahip olduğu, 200'ünün ise ihracat potansiyeline sahip olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde özellikle kırsal kesimde yaşayan insanların büyük çoğunluğu bu zengin bitki çeşitliliğinden yararlanmaktadır (Yesil ve Inal, 2020). Tıp, kimya, eczacılık bilimleri ve teknolojilerinin gelişmesi, bitkilerin birçok yeni tıbbi özelliğinin anlaşılmasına ve geliştirilmesine sürekli olarak katkıda bulunulmaktadır (Bozyel ve ark., 2021; Erarslan ve ark., 2021; Yıldırım, 2021).

Araştırmacılar, son dönemlerde çalışmalarını tıbbi bitkilerin birçok hastalıkla mücadeledeki rollerini incelemek üzerine yoğunlaştırmıştır. Tıbbi bitkiler alkaloitler, terpeneoitler, tanenler, saponinler, flavonoitler ve kardiyak glikozitler gibi birçok

fitokimyasal bileşen içerir. Bu biyoaktif bileşenler işlevlerini, tek başlarına veya diğer bileşenlerle birlikte hareket ederek göstermektedir (Fu, 2021).

Bu tez kapsamında yürütülen çalışmalar, biyoaktif bileşenlerce zengin olan ve halk arasında gıda olarak kullanımının yanı sıra bazı rahatsızlıkların giderilmesinde de geleneksel kullanımı bulunan bazı *Asparagus* taksonları üzerine kurgulanmıştır.

Dünya genelinde iyi bilinen cins olan *Asparagus* taksonları Asparagaceae ailesinin bir üyesi olup çok yıllık, ot, çalı ve sarmaşık formunda bitkilerden oluşur. Kuşkonmaz; salata, sebze yemekleri ve çorbalarda kullanılan yenilebilen sürgünleri sebebiyle dünyanın birçok yerinde popüler bir sebzedir. Tıbbi bitki olarak da kullanılmakta olan kuşkonmazın, ilk olarak Mısırlılar, Yunanlılar ve Romalılar tarafından kültüre alınmış olduğu; Roma İmparatorluğu ile birlikte tüm Avrupa'ya yayıldığı belirtilmektedir. Günümüzde *Asparagus* türleri hem gıda (*A. acutifolius* L., *A. albus* L., *A. maritimus* (L.) Mill, *A. officinalis* L.) hem de tıbbi (*A. adscendens* Roxb., *A. racemosus* Willd., *A. verticillatus* L.) amaçlarla tüketilmekte ayrıca bazı türlerden süs bitkisi (*A. asparagoides* (L.) Druce, *A. densiflorus* (Kunth) Jessop, *A. plumosus* Baker, *A. virgatus* Baker) olarak da yararlanılmaktadır (Kubota ve ark., 2012).

Asparagus türleri; dünyada yaklaşık 300 tür ile temsil edilmektedir (Norup ve ark., 2015). Dünyada *Asparagus* cinsi, Amerika hariç, ılıman ve tropikal bölgelerde yayılış göstermektedir (Adouni ve ark., 2022; Sheng ve ark., 2021; Zhu ve ark., 2021). Güney Afrika Kuşkonmaz bitkisinin çoğu türlerine ev sahipliği yapmakla birlikte, Afrika ve Avrasya'nın kurak ve yarı-kurak bölgelerinde yaygın olarak bulunur. Farklı türlere ev sahipliği yapan diğer bir bölge Batı Çin ve Moğolistan başta olmak üzere Merkez Asya'dır (Drost, 2020). Ülkemizde, *Asparagus* cinsinin 10 taksonu mevcut olup bunlardan 3 tanesi endemiktir. *Asparagus* türlerinin bir kısmı tehdit altında veya savunmasız olarak listelenmekle birlikte; Anadolu'nun birçok yerinde doğal yayılış göstermektedir (TÜBİVES, 2022).

Çok yıllık bir bitki olan kuşkonmazın gıda olarak tüketilen kısmı sürgünleri olup Avrupa'da "kralların yemeği" veya "kraliçelerin sebzesi" olarak adlandırılmaktadır (Açıkgöz Altunel, 2021). Oldukça değerli bir gurme ürünü olan kuşkonmaz sürgünleri, yeşil, beyaz, mor-yeşil, mor-mavi, pembe gibi farklı renklerde, taze veya işlenmiş olarak pazarlanmaktadır (Wang ve ark., 2020; Wien ve Stützel, 2020). Dünya genelinde kültüre alınan ve ticareti yapılan tek *Asparagus* türü *A. officinalis* olup bu türün Mısırlılar, Eski Yunan ve Romalılar tarafından 2000 yılı aşkın bir süredir kültürünün yapıldığı bilinmektedir. Bitkinin yeşil renginin fotosentez yapabilme yetisinden ileri geldiği, beyaz renk eldesi için büyüme sırasında ışıksız bir ortamın tercih edildiği, mor rengin ise antosiyanin içeriğinin yüksek oluşundan kaynaklandığı belirtilmiştir (Chitrakar ve ark., 2019; Pegiou ve ark., 2019; Thapa ve ark., 2020b).

Asparagus sürgünlerinin yaklaşık %30-50'lik kısmı boyut dışı oluşu veya sert olması nedeniyle işleme sürecinde atık ürün olarak belirlenir. Ayrıca kültüre alınmış bir kuşkonmaz bitkisinin sadece %23,5'luk kısmı yenilebilir iken; geriye kalan %76,5'lik kısmı sert gövde, kök ve yapraklardan oluşur ve yan ürün olarak değerlendirilir. Yapılan son bilimsel çalışmalarla; *Asparagus*'un yan ürünlerinin, yenilebilir kısımlarla benzer şekilde kuvvetli fitokimyasal içeriğe ve yararlı birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Chitrakar ve ark., 2021). Kültüre alınmış birçok *A. officinalis* numunesinin üzerinde çok fazla sayıda fitokimyasal ve bilimsel çalışma yürütülmüştür. Bunlardan biri de İspanya Endülüs'de yer alan Huétor-Tájar (HT) bölgesinde yetiştirilen "triguero" kuşkonmaz varyetesi olup yabani bir tür olan *A. maritimus* ile *A. officinalis*'in kültüre alınmış diploit varyetesinin bir melezi olduğu düşünülmektedir. Ancak, araştırmacılar henüz bu bilgiyi doğrulayacak bir kanıta ulaşamamıştır (Vazquez-Castilla ve ark., 2013).

FAO'nun verilerine göre; 2020 yılında, Dünya genelinde 8,45 milyon ton kuşkonmaz üretilmiştir. Dünya genelinde önemli üretim alanları; başta Çin ve Japonya olmak üzere Asya'da 1,4 milyon hektar, başta Almanya ve İspanya olmak üzere Avrupa'da 62.240 hektar, çoğunluğu Peru olmak üzere Güney Amerika'da 39.500 hektar, başta Meksika ve Amerika Birleşik Devletleri olmak üzere Kuzey

Amerika'da 41.684 hektardır. Küçük üretim bölgeleri ise Avusturalya ve Yeni Zelanda'dır (FAO, 2021). Tarım ve Orman Bakanlığı verilerine göre; ülkemizde de kuşkonmaz üretimi son yıllarda yaygınlaşmış olup 2020 yılı verilerine göre, ekili arazi yaklaşık 500 dekar olup yıllık üretim 1000 ton civarındadır (Çevik, 2020). Bununla birlikte dünyada kuşkonmaz türlerinin en çok talep gördüğü ülkeler; Almanya, Fransa ve Amerika Birleşik Devletleri'dir (Aryaningsih, 2021). Bu talep Almanya özelinde öyle üst seviyededir ki dünya genelini etkileyen Covid-19 salgını ve ülkeler arası seyahatin durdurulması sebebiyle, 2020 ilkbaharında Almanya'da ekili kuşkonmazların hasatı yapılamaz hale gelmiştir. Ülke yönetimi çözümü Polonya ve Romanya'dan ciddi sağlık güvenceleri altında 40.000 işçi getirerek kuşkonmaz hasatı yaptırmakta bulmuştur (Yapici, 2020).

Bitkinin cins ismi olan *Asparagus*, Latince'de genç sürgün, filiz anlamına gelmekte olup İngilizce adının kökeni de bu dilden gelmektedir (Majumdar ve ark., 2021; Morales ve ark., 2011; Thapa ve ark., 2020b). Tarihsel açıdan bakıldığında; bitkinin hem Avrupa hem de Asya geleneksel tıp sistemlerinde kullanıldığı görülmektedir. Antik Yunanlılar ve Romalılar; *Asparagus* türlerini diüretik özelliklerinden dolayı kullanmışlardır. Bu cinse ait bazı bitkiler; Ayurvedik tıp sisteminin de önemli tıbbi bitkileri arasında yer almaktadır. *Asparagus* Geleneksel Çin Tıbbında; tonik, ateş düşürücü, antitüssif, diüretik ajan ve saç uzamasını stimule etmek amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca Çinli eczacılar kuşkonmaz türlerini öksürük tedavisinde, enflamasyon, mantar enfeksiyonları ve kansere karşı da kullanmaktadırlar (Sun ve ark., 2010; Thakur ve ark., 2015; Wang ve ark., 2003). *Asparagus* cinsi bitkilerin çeşitli kısımları, Hindistan, Pakistan ve Çin halk tıbbında, çeşitli etkileri sebebiyle geleneksel olarak kullanılmaktadır. Söz konusu etkiler diüretik, demülsan, antidiyareik, antidizanterik, tonik, kalp sedatifi, galaktagog, afrodizyak, antitüssif, antispazmodik, ateş düşürücü olarak sıralanabilir (Altundag Ergul ve ark., 2020; Batsatsashvili ve ark., 2020; Güvenç, 1998). Hindistan'da bazı türlerin doğurganlığı arttırmak, menstrüel krampları azaltmak ve emziren annelerde süt üretimini arttırmak amacıyla kullanımı bulunmaktadır (Negi ve ark., 2010). Nadkarni'nin Indian Materia Medica kitabında da *Asparagus* cinsinin sahip olduğu antidiyareik, antiülser, tonik, besleyici, yatıştırıcı, süt arttırıcı ve antispazmodik

özelliklerinden dolayı tüketildiği dile getirilmiştir (Hewawasam ve ark., 2008). Doğu medeniyetleri, kuşkonmaz ekstrelerini yüzlerce yıldır stimulan, laksatif, antitüssif ve diüretik olarak kullanmaktadır (Adouni ve ark., 2022).

Asparagus türleri üzerinde yapılan son çalışmalarla; bu türlerin antikanser (meme kanseri, akciğer kanseri, karaciğer kanseri ve lösemi dâhil), afrodizyak, bağışıklık uyarıcı, antibakteriyel, antidiyabetik, antidepresan, antienflamatuvar, antioksidan, antihepatotoksik, antitüberküloz ve antidiyareik etkileri gösterdiği kanıtlanmıştır (Altundag Ergul ve ark., 2020; Kapoor ve ark., 2020; Ku ve ark., 2018). Yine yapılan farmakolojik çalışmalarla *Asparagus* ekstrelerinin; antifungal, diüretik, sitotoksik, antiviral ve mollusidal özellikler gibi bazı biyolojik aktiviteleri kanıtlanmıştır. *Asparagus* kökleri ve genç sürgünleri; üriner sistem enflamasyonlu hastalıkların tedavisinde, böbrek taşı oluşumunu engellemede ve diüretik etkisi sebebiyle tıbbi bir ürün olarak Alman Komisyon E tarafından resmi olarak onaylanmıştır (Majumdar ve ark., 2021; Thakur ve ark., 2015; Wang ve ark., 2003).

Asparagus cinsinin en çok bilinen üyesi olan *Asparagus officinalis*, ekonomik açıdan da en değerli türdür (Namaki ve ark., 2022). Başta Akdeniz Bölgesi olmak üzere Avrupa'nın Güneyi, Asya ve Afrika'da doğal olarak yetişmektedir. Halk arasında antimikrobiyal, antioksidan, antispazmodik, antitümör, antidiyabetik, antidiyareik, antienflamatuvar, antiromatizmal, immunostimulan, demulsan, diüretik, dizanteriye karşı, gastrik ülsere karşı, anksiyete karşı, kan temizleyici, öksürük giderici, kısırlığa karşı, böbrek taşına karşı, etkileri nedeniyle geleneksel olarak kullanıldığı bilinmektedir (Açıkgöz Altunel, 2021; Al-Snafi, 2015; Köroğlu, 2017). Dünya genelinde yapılan bilimsel çalışmalarla; *A. officinalis'*in antimutajenik, antioksidan, antiepileptik, antitümör, hipolipidemik, hipoglisemik, hepatoprotektif, immunoprotektif, antimikrobiyal ve antifungal etkilere sahip olduğu kanıtlanmıştır (Wang ve ark., 2020; Zhu ve ark., 2010).

Yine Hindistan'ın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yetişen, terapötik önemi Hint ve İngiliz Farmakopeleri'nde yer bulmuş olan Ayurveda, Unani ve Siddha gibi çeşitli geleneksel tıp sistemlerinde geleneksel olarak kullanılan *Asparagus*

racemosus da familyada öne çıkan türlerdendir. Geleneksel olarak "shatavari" adıyla bilinen türün; Ayurvedik tıpta yaşlanmayı önlediği, bağışıklığı arttırdığı, yaşam süresini uzattığı, mental fonksiyonları güçlendirdiği, kadın üreme sistemi rahatsızlıklarının tedavisine yardımcı olduğu, enflamasyon ve dizanteriye karşı etkili olduğu, tümöre, kan ve göz hastalıklarına iyi geldiği bildirilmiştir. Bitki, Himalayalar'da tüberküloz, kızamık, ishal, epilepsi ve karaciğer sorunları için ve galagtagog, diüretik, antispazmodik etkileri sebebiyle kullanılmaktadır. Bitkinin adaptojenik, immünostimülan, antienflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan, antiülser, galaktagog, fitoöstrojenik, nöroprotektif, afrodizyak, antidispepsi, antitüssif ve antikanser etkilere sahip olduğu bilimsel çalışmalarla gösterilmiştir (Batsatsashvili, 2020; Chikhale, 2021; Dorkar, 2021).

Bazı *Asparagus* türleri (*A. aphyllus* subs. *orientalis, A. acutifolius, A. verticillatus*) gıda ve tıbbi amaçla kullanımlarının yanı sıra süs bitkisi olarak bahçelerde ve peyzaj tasarımında sıklıkla tercih edilmektedir (Danihelka ve ark., 2017; Sarıbaş ve ark., 2007; Wirth ve Gyergyák, 2015).

1.1. Genel bilgiler

1.1.1. Oksidatif Süreçler

1.1.1.1. Serbest Radikaller

Biyolojik sistemlerde fizyolojik ve patolojik koşullarda oluşan serbest radikaller, dış yörüngelerinde bulunan eşlenmemiş elektronları sebebiyle genellikle kararsız ve çok reaktiflerdir. Serbest radikaller; kanser, kardiyovasküler hastalıklar, bilişsel rahatsızlıklar, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, alkolle indüklenmiş karaciğer rahatsızlığı, ülseratif kolit, yaşlanma ve ateroskleroz dâhil olmak üzere birçok hastalığın oluşumundan sorumludurlar (Alam ve ark., 2013).

1.1.1.2. Reaktif Oksijen Türleri

Serbest radikallerin büyük bölümünü, reaktif oksijen türleri (ROS) olarak da bilinen kısmen redüklenmiş oksijen ve türevleri oluşturur. Serbest radikaller, biyolojik sistemlerde işlevsel hasara yol açacak kadar yüksek derecede reaktif pro-oksidan ve toksiktirler. Reaktif oksijen türleri arasında en yaygın olanları; süperoksit anyon ($O_2^{\bullet -}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) ve peroksil radikali ($ROO^{\bullet}$)'dir. Hücrelerde oksidatif strese neden olan diğer reaktif moleküller karbon, nitrojen ve kükürt radikalleridir (Sies ve ark., 2022; Singh ve Singh, 2008). Başka bir diğer serbest radikal grubu ise reaktif nitrojen türleri (RNS) olup en bilinenleri nitrik oksit (NO) olmak üzere nitrojen dioksit (NO_2) ve nitrat (NO_3) türevleridir (Sanchez-Valle ve ark., 2012).

Reaktif oksijen türlerinin, genellikle hücresel metabolizmanın zararlı yan ürünleri olduğu ve çeşitli patolojik durumlarla bağlantılı toksik etkilere neden olduğu bilinmektedir. Hücre hasarını sınırlamak ve hücrenin ömrünü uzatmak için reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyesi vücutta homeostazisin sağlanmasında oldukça kritik bir rol oynamaktadır (Lee ve ark., 2015; Pagan ve ark., 2022; Z. Xu ve ark., 2016).

Fizyolojik olarak vücuttaki ROS aşırılığı, mitokondri, organeller ve DNA zararına yol açarak, hücre yaşlanması ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır. Bununla birlikte ROS'un moleküler hasarda rol oynamanın yanı sıra ikincil haberci benzeri işlevleri yerine getirdiği de yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Örneğin, orta düzeyde ROS seviyeleri metabolik, mekanik ve oksidatif stres faktörlerine karşı toleransı artırabilir. Yine iskemik reperfüzyon sırasında kısa süreli artan oksidatif stres periyotları, çeşitli yollarla sonraki hücresel hasarı sınırlayabilir. Reaktif oksijen türlerinin vücuttaki seviyesi için iyi bir dengenin şart olduğu bildirilmektedir (Pagan ve ark., 2022; Sies ve ark., 2022).

1.1.1.3. Oksidan-antioksidan Sistem

Artan seviyelerdeki ROS, süperoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$) detoksifiye enzimi olan süperoksit dismutaz (Solhi ve ark.2020), glutatyonun yenilenmesinde rol oynayan glutatyon redüktaz (GR)'ın yanı sıra peroksitlerin detoksifikasyonunda rol oynayan katalaz (Herndon ve ark. 2017) ve glutatyon peroksidaz (GPX) gibi endojen antioksidatif savunma sistemleri ile ortadan kaldırılabilir. Bu antioksidan sistemlerle birlikte; reaktif oksijen türlerinin reaksiyonlarının yayılımı sonlandırılıp serbest radikaller yok edilerek, oksidatif ve antioksidatif süreçler arasında denge kurulması sağlanır (Arfin ve ark., 2021; Forman ve Zhang, 2021; Peng ve ark., 2012; Vaiserman ve ark., 2016).

Harman'ın serbest radikal teorisine göre; denge bozulduğunda söz konusu fazlalık protein, lipit ve DNA yapısında oksidatif hasara ve mitokondriyal disfonksiyon sebebiyle hücresel ölümlere neden olabilir (Asthana ve ark., 2015; Feng ve ark., 2015; Griendling ve ark., 2021). Bunun sonucunda da enflamasyon, nörodejenerasyon, kanser, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve yaşlanma gibi çok büyük sosyo-ekonomik yük getiren metabolik hastalıklar görülmektedir (Asthana ve ark., 2015; Lopez-Alarcon ve Denicola, 2013; Xu ve ark., 2016).

Yapılan araştırmalar; $-OPO_3H^-$, $-COO^-$, -OH, $-O^-$, $-N(CH_3)_2$, $-NH_2$, $-NH_3CH_3$, vb. substitüentlere sahip bir molekül yapısının, elektron donörü olarak rol alabileceğini, bu özelliğin de o molekülü antioksidan özelliklere sahip kıldığını göstermektedir. Bu bilgiler ışığında; son on yılda yapılan çalışmalarda değerlendirilmeye tabi tutulan başta fenolikler olmak üzere biyoaktif bileşiklerin, belirtilen fonksiyonel gruplara sahip olduğu ve doğada sayısız bitki, meyve ve benzerlerinin bileşiminde yer aldığı saptanmıştır (Collins ve ark., 2006; Getoff, 2007).

1.1.1.4. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, hücresel boyutta pro-oksidan/antioksidan redoks dengesinin pro-oksidan durum lehine değişmesidir. Söz konusu durum, hücresel hasara potansiyel oluşturarak, öncülük eder. Normal şartlarda, redoks düzenlemesi olarak da bilinen ROS üretimi ve eliminasyonu arasındaki denge, karmaşık mekanizmalarla sürdürülür. Bu mekanizmaların herhangi birindeki işlev bozukluğu, redoks homeostazını bozar ve oksidatif stresi arttırır (Pagan ve ark., 2022; Sanchez-Valle ve ark., 2012).

Oksidatif hasar teorisine göre; endojen antioksidan savunma sistemlerinin aktivasyonu ya da ekzojen antioksidan takviyesi ile yaşlanmayı ertelemek ve yaşam süresini uzatmak mümkün olabilir (Vaiserman ve ark., 2016).

Önceki bazı çalışmalar, kalori kısıtlaması ve besin takviyesi gibi beslenme değişikliklerinin yaşam süresini uzatma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların düzeltilmesinde etkin olduğu yönünde olup bu teoriyi destekler niteliktedir (Peng ve ark., 2012). Ancak sentetik veya doğal antioksidanlarla besin takviyelerinin tamamının çeşitli deneysel modellerin yaşam döngülerine olan etkisi araştırıldığında; bazı tartışmalı durumlarla da karşılaşılabilmektedir. Antioksidan takviyesi çoğu durumda oksidatif stresin azaltılıp, antioksidan enzim aktivitesi, üreme aktivitesi ve stres direnci gibi bazı parametrelerin arttırılmasıyla yaşam süresinin uzamasına neden olurken, bazı durumlarda yaşam süresi ve doğurganlık oranı değişmemiş, hatta azalmış olarak bulunmuştur (Vaiserman ve ark., 2016).

Oksidatif stres; okside-glutatyonun total glutatyona oranındaki artışla, bcl-2 artışına bağlı gelişen lipofüksin birikimi, membran lipit-peroksidasyonundaki artışlar, glutamin sentaz miktarındaki azalma, redoks-aktif demir redüklenmesi ve membran lipitlerindeki değişikliklerle kendini göstermektedir. Oksidatif stresle sonuçlanan patolojik durum ise; kendisini yaşlanma ile göstermektedir (Joseph ve ark., 2005).

Organizmalarda yaş ilerledikçe; oksidatif stres düzeylerinin de artmış olduğu görülmektedir (Asthana ve ark., 2015; Wen ve ark., 2014).Bireysel genetik faktörlere ek olarak; beslenme, sigara, alkol, çevre gibi dış etkiler de yaşlanmanın oluşumunu büyük ölçüde etkilemektedir (Collins ve ark., 2006; Getoff, 2007).

Kronik oksidatif stres koşullarında, endojen antioksidan sistemlerin yeteri kadar etkili olmadığı düşünüldüğünde; alternatif olarak ROS ile savaşabilme potansiyelleri oldukça yüksek olan doğal ürünler, vitaminler, polifenoller ve polisakkaritler ön plana çıkmaktadır (Xu ve ark., 2016).

Harman'ın önerisine göre; bu gibi durumlarda vücudun E ve C vitaminleri, beta-karoten, lipoik asit, koenzim Q10, glutatyon, polifenoller, fitoöstrojenler, çinko, manganez ve selenyum gibi ekzojen antioksidanlar ile takviye edilmesi homeostazı korumada rol oynayabilmektedir (Vaiserman ve ark., 2016).

Bitkisel kökenli ve farmakolojik aktif bileşenlerle yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde; absorbsiyon, metabolizma, organ-doku etkileşmeleri gibi çeşitli karmaşık süreçleri içeren canlı organizma çalışmalarının daha sınırlı olduğu görülmektedir (Kampkotter ve ark., 2008).

1.1.2. Karaciğer

Karaciğer; vücudun çeşitli fizyolojik süreçlerinin korunmasında rol oynayan oldukça kritik öneme sahip bir organ olup yetişkin bir bireyin vücut ağırlığının yaklaşık %2'sini (ortalama 1500 gram) oluşturur. Büyük bir kısmı sağ hipokondriak bölgede yer alan kama şeklinde bir organdır. Karaciğerin en küçük işlevsel birimi, lobül adı verilen birkaç milimetre uzunluğunda ve 0,8-2 milimetre çapındaki yapılardır. İnsan karaciğerinde 50.000 ila 100.000 adet lobül bulunur (Ilyas ve ark., 2016; Kalra ve ark., 2021; Mitra ve Metcalf, 2012a).

1.1.2.1. Karaciğerin morfolojik yapısı

Karaciğerin morfolojik ve fonksiyonel anatomisi birbirinden farklılık göstermektedir. Anatomisi morfolojik olarak incelendiğinde; karaciğer sağ ve sol olmak üzere 2 ayrı lobdan oluşur. Fonksiyonel olarak birbirinden bağımsız sekiz bölüme ayrılmış olup her birinin bağımsız vasküler girişi, çıkışı ve safra drenajı bulunmaktadır. Sağ lobda yer alan kaudat lob dışındaki segmentler fonksiyonel olarak saat yönünde segment 2'den segment 8'e kadar isimlendirilmektedir (Basak ve Akan, 2016; Mitra ve Metcalf, 2012a)

Karaciğer, ikili kan beslemesine sahip tek organ olup bu beslemenin büyük bir çoğunluğu portal venden, geri kalan kısmı hepatik arterden gelmektedir. Portal ven, karışık kan (%40 oksijenli) ve sindirim sisteminden emilen besin maddelerini hepatik sinüzoidlere taşır. Hepatik arter ise; esas olarak intrahepatik safra kanalları gibi parankimal olmayan yapılara dağıtılan oksijenli kanı karaciğere taşır. Karaciğerin venöz drenajı ise; hepatik venler tarafından gerçekleştirilir (Basak ve Akan, 2016; Ilyas ve ark., 2016; Kalra ve ark., 2021; Mitra ve Metcalf, 2012a).

1.1.2.2.Karaciğerin sitolojik yapısı

Karaciğer, birbirinden farklı embriyolojik kökene sahip birkaç farklı hücre tipini birden bünyesinde barındırır. Benzersiz işlevlere sahip bu hücre tipleri hepatositler, safra kanal epitel hücreleri, yıldızsı (ito) hücreleri, kupfer hücreleri, sinüzoidal endotel hücreler olarak sıralanabilir. Söz konusu hücre tipleri birbirleriyle iş birliği içinde, karaciğer fonksiyonlarını yerine getirir. Karaciğer hücre popülasyonunun büyük bir kısmını oluşturan hepatositler, glikojen sentezinden deaminasyona kadar birçok metabolik süreçten sorumludur. Safra kanal epitel hücreleri bilirubin metabolizmasından sorumlu iken; yıldızsı hücreler yağ damlacıkları içinde A vitamini depolanmasından sorumludur. Kupfer hücre tipleri ise; mikroplara karşı savunmada bağışıklık sistemine destek olur (Lui, 2012; Trefts ve ark., 2017).

1.1.2.3. Karaciğerin fonksiyonları

Karaciğerin metabolik fonksiyonları, karbonhidrat metabolizması, protein metabolizması ve yağ metabolizması olmak üzere 3 ana kategoride özetlenebilir.

1.1.2.3.1. Karbonhidrat metabolizması

Karaciğerde karbonhidrat metabolizması; özelikle karbonhidratça zengin bir beslenmeden sonra kanda artan glikozun karbonhidratın depo formu olan glikojene dönüştürülmesi işlemi olan glikojenozis, depo glukojenin glikoza indirgenmesi işlemi olan glikojenoliz ve uzun süreli açlık sırasında glukojen depolarını doldurmak amacıyla aminoasitler ile heksoz olmayan karbonhidratlardan glukoz sentezlenmesi işlemi olan glikoneojenezis şeklinde gerçekleşmektedir (Campbell, 2006; Mitra ve Metcalf, 2012b).

1.1.2.3.2. Protein metabolizması

Protein metabolizması ise; aminoasitlere amino grubu eklenmesi işlemi olan transaminasyon ile amino grubu çıkarılması işlemi olan deaminasyon şeklinde gerçekleşir. Ayrıca deaminasyon reaksiyonu sırasında ortaya çıkan ve insan dokuları için toksik olan amonyağın üreye dönüştürülmesi işlemi olan üre sentezi de bu kapsamda gerçekleşen metabolik olaylardandır. Esansiyel olmayan aminoasitler, albümin vb. plazma proteinleri ile kanın pıhtılaşması ve immunoglubulinler için gerekli birkaç pıhtılaşma faktörü de yine karaciğerde sentezlenmektedir (Campbell, 2006; Mitra ve Metcalf, 2012b).

1.1.2.3.3. Yağ metabolizması

Lipit metabolizması sırasında; asetil koenzim-A aracılı yağ asitlerinin sentezi işlemi olan lipogenez, yağ asitlerinin oksidasyonu, LDL, VLDL ve HDL gibi lipoproteinlerin sentezi, vücuttaki fosfolipit ile kolesterol sentezi gibi işlemler gerçekleşir (Campbell, 2006; Mitra ve Metcalf, 2012b).

1.1.2.3.4. Diğer Fonksiyonlar

Karaciğer metabolik olayların yanı sıra; yağın ve yağda çözünen vitaminlerin sindirimi ve emilimi için kritik öneme sahip bilurubin, su, safra asitleri ve elektrolitlerden oluşan safranın salgılanması ve vitamin depolanması gibi birçok hayati fonksiyondan da sorumludur. Ayrıca birçok ekzojen ve endojen bileşiğin detoksifikasyonu ve atılımında merkezi bir role sahiptir. Dolayısıyla, yapısında meydana gelebilecek herhangi bir hasar veya işlevinin bozulması, o kişinin sağlığı için tehlikeli boyutlara ulaşan etkiler yaratır (Ilyas ve ark., 2016; Kalra ve ark., 2021; Mitra ve Metcalf, 2012b).

1.1.2.4. Karaciğer Hasarı

Karaciğer fonksiyon anormallikleri ve hemen akabinde gelişen akut karaciğer hasarı genellikle kan örneği testlerinde yükselmiş karaciğer enzimleri ile karakterizedir. Karaciğerde yer alan alanin transaminaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve daha az oranda gamaglutamiltransferaz (GGT) gibi enzimlerin normalden farklı konsantrasyonda olması, genellikle karaciğer bozukluklarının göstergesi olarak değerlendirilir. ALT, büyük ölçüde hepatositlerin sitoplazmasında eksprese edilen hepatik dokuya özgü bir enzimdir. Bu nedenle, yüksek ALT seviyesi hepatoselüler hasarı gösterir. AST, hem karaciğerde hem de pankreas, böbrek, kalp ve iskelet kasları dâhil olmak üzere diğer dokularda üretilir. Dolayısıyla bu enzim karaciğer hasarı tanısında daha az spesifiktir. ALT

sitoplazmada bulunurken, AST sitoplazmada ve mitokondride bulunur. Hepatoselüler membran hasarından sonra geçirgenlik artacak ve kanda ALT ve AST salınacaktır. GGT daha az spesifik bir karaciğer fonksiyon indeksi olup kolanjiosit hasarının bir biyobelirtecidir. Bu enzim karaciğer, pankreas, bağırsak, proksimal renal tübül ve dalak dâhil olmak üzere birçok dokunun hücre zarında bulunur. Serum GGT'nin en önemli kaynağı karaciğerdir (Hosseini ve ark., 2022; Lui, 2012).

Karaciğer koruyucu bitkisel ilaçlar; fenoller, kumarinler, lignanlar, uçucu yağlar, monoterpenler, karetenoitler, glikozitler, flavonoitler, organik asitler, lipitler, alkaloitler ve ksantinler gibi çeşitli kimyasal bileşenleri içermektedir (Ulbricht, 2016).

1.1.2.4.1. Karaciğer Hücrelerinin Oksidatif Stresle İlişkisi

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu sadece dış faktörlere bağlı değildir. Karaciğer hücrelerinin toplam oksijen metabolizmasının yüzde beşi, kısmen indirgenmiş oksijen türlerinin üretilmesiyle sonuçlanır. Oksijenin bir elektron indirgenmesi, süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit ve aşırı reaktif hidroksil radikalinin oluşumuyla sonuçlanır (Singh ve Singh, 2008).

1.1.2.4.2. Karbontetraklorürle Oluşturulan Karaciğer Hasarı

Soğutucu, kuru temizleme ajanı, sıvı ve katı yağlar için çözücü olarak kullanılan karbontetraklorür (CCl_4)'ün buharının solunmasının santral sinir sistemi depresyonu ile karaciğer ve böbrekler dejenerasyona yol açtığı uzun zamandan bu yana bilinmektedir. Ancak, etki mekanizması açısından aydınlatılmamış kısımlar söz konusudur. Önceleri karbontetraklorürün hepatotoksik etkisinin karbon-halojen bağının homolitik kesilmesiyle meydana gelen serbest radikalden kaynakladığı ileri sürülmüştür. Daha sonra yapılan bir elektron spin rezonans çalışması ile,

karbontetraklorür metabolizması sırasında serbest radikal oluşumu kanıtlanmıştır (Di Meo ve Venditti, 2020).

1.1.3. *Caenorhabditis elegans* hakkında genel bilgiler

Yaşlanma, yaşın ilerlemesi ile birlikte hücreler ve dokulardaki çeşitli zararlı değişikliklerin bir sonucu olup hastalık ve ölüm risklerinde artışa neden olan bir süreçtir (Pandey ve ark., 2018). Yaşlanma, modern toplumda yaşam kalitesini etkileyen; diyabet, hipertansiyon, hafıza kaybı, kardiyovasküler rahatsızlıklar, immun sistem hastalıkları ve kanser gibi bir dizi hastalığın eşlik ettiği ciddi bir sorundur. Bu nedenle, dünya genelinde yaşlanma karşıtı ilaçların geliştirilmesi adına yapılan çalışmalara verilen önem giderek artmaktadır.

Yaşlanma; çoklu organ sistemlerinde ilerleyici, dejeneratif değişiklikleri içeren karmaşık bir süreçtir. Genel yaklaşım, yaşlanmanın çok bilinen ancak yeterince anlaşılamamış biyolojik bilimlerden biri olduğu yönündedir. Yaşlanma mekanizmasını açıklayan pek çok teori mevcuttur. Bunlardan en çok kabul göreni serbest radikal/oksidatif stres teorisidir (Pandey ve Rizvi, 2009; Si ve Liu, 2014).

Yaşlanmanın en yaygın ölçümü yaşam süresidir. Yaşlanmaya neden olan çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler; *Homo sapiens, Caenorhabditis elegans, Drosophila melanogaster, Saccharomyces cerevisiae* ve *Mus musculus* gibi tüm canlı organizmalar için evrenseldir. Bu organizmalardan, *C. elegans*'ın memeli modelleriyle, özellikle insanlarla, gösterdiği yüksek homolojik benzerlik sebebiyle, deneysel süreçlerde model olarak kullanılması; n-vivo incelemelere en uygun sistemi de sunduğu için oldukça önemlidir (Asthana ve ark., 2015; Collins ve ark., 2006; Ruan ve ark., 2016; Wen ve ark., 2014).

Serbest yaşayan bir toprak solucanı olan ve biyolojisinin birçok yönü üzerinde yaygın olarak çalışılan bir model olan *C. elegans*; sentetik bileşiklerin yanı sıra doğal

kaynaklı çeşitli bileşenlerin yararlı, advers ve toksik etkilerinin araştırılması için de mükemmel bir modeldir (Ruan ve ark., 2016).

Son yıllarda yürütülen yaşlanma karşıtı çalışmalarda, *Caenorhabditis elegans*; hayvan fizyolojisinin yaşlanma, yaşam süresi ve stres yanıtı gibi birçok yönünü düzenleyen yeni genetik faktörlerin belirlenmesinde önemli bir rol oynaması sebebiyle sıklıkla kullanılmaktadır (Jin ve ark., 2019; X. Wang ve ark., 2019).

Caenorhabditis elegans, dünya genelinde, serbest yaşayan, parazitik olmayan bir toprak solucanı (nematod) olup yaklaşık 50 yıldan bu yana da laboratuvar ölçeğinde üzerinde sıklıkla çalışılan bir hayvan modelidir (Meneely ve ark., 2019). Çok hızlı bir yaşam döngüsüne sahip olan *C. elegans*, kısa bir hayatta kalma süresine (2-3 hafta) sahip olup laboratuvar koşullarında ucuz ve kolayca kültüre alınabildiği için sıklıkla tercih edilmektedir. Bu canlı, çeşitli transgenik suşlarının varlığı sebebiyle de deneysel açıdan sayısız avantaja sahiptir. Özellikle insan genomunun neredeyse üçte ikisi bu küçük model organizmada korunduğundan; deneysel sonuçlarla elde edilen verilerini, insan fizyolojisi sistemine uygulamak mümkündür (Feng ve ark., 2015; Wen ve ark., 2014).

Bununla birlikte, *C. elegans, in vivo* antioksidan aktivite çalışmalarına da olanak sağladığından; oksidatif hasar ve bununla bağlantılı hastalıklar için bitkisel çözümlerin üretilmesinde de kullanılabilmektedir. Yapılan birçok araştırma; farklı tıbbi bitkilerden elde edilen aktif bileşenlerinin; yaşlanmayı önleme, yaşam süresini uzatma ve stres modülasyonu potansiyellerini ortaya koymaktadır (Asthana ve ark., 2015). Ayrıca bu testlerle, *C. elegans* kullanılarak sadece yaşam süresi değil; birçok türde yaşam süresi ile yakından ilintili olan stres direnci de değerlendirilebilmektedir. Genellikle; ısı stresi ve UV ışınlarına maruziyet gibi abitik stres altında sağ kalımı arttırmanın, yaşam süresinin uzayabileceğinin bir işareti olduğu bilinmektedir (Feng ve ark., 2015).

C. elegans; hermafrodit ve erkek olmak üzere 2 farklı cinsiyete sahip olabilir. Kendi kendini dölleyen hermafrodit, 300 kadar yumurta üretebilirken; erkek birey

tarafından döllendiklerinde bu sayı 1000 kadardır. Embriyo; L1, L2, L3 ve L4 adı verilen 4 larva dönemini takiben yetişkin hale gelir. L1 evresi 16 saat, diğer aşamalar 12 saat uzunluğundadır. Her evre, yeni bir kütikülün (dış kollajenöz tabaka) yapıldığı, lethargus adı verilen ve uyku benzeri bir hareketsizlik dönemiyle biter. L2 safhasındaki nematod; popülasyon yoğunluğu, sıcaklık artışı ve yiyecek sıkıntısı gibi anormal durumlarda "dauer" adı verilen bir yaşam formuna girer. Dauer formunda hayvan diğer larva formlarına göre daha farklı bir morfolojiye sahiptirler. Dauer formunda kütikül adı verilen yapı; nematodu tamamen kuşatır, deliklerini tıkar. Çevre koşulları, stres ve kimyasallara karşı korur. Nematod, aylarca bu formda kalabilir. Vahşi ortamda en sık görülen formdur. Sağlıklı hayvanlara ihtiyaç duyulduğunda; eski plakadan bir parça agarın bakteri bulunan yeni bir petri kabına aktarılması yeterlidir. Nematodların doğrudan L4 formuna geçerek, sorunsuzca gelişimlerini sürdürdükleri görülür. Sahip oldukları bazı özellikler, *C. elegans* stoklarının bakımını ve deneysel kullanımını büyük ölçüde kolaylaştırmaktadır. Bu özellikler;

- *C. elegans* patojen değildir.
- *C. elegans* kendi kendini dölleyen bir hermafrodit olduğundan tek bir hayvan uygun koşullarda kolayca üreyebilir.
- Hayvan popülasyonları; gerektiğinde canlandırılıp kullanılmak üzere uygun sıcaklıkta yıllarca dondurulabilir.
- Küçük boyutlara sahip olduklarından yetiştirilmeleri için büyük bir alana gereksinim duyulmaz.
- Hayvanlar; 12 °C ila 25 °C arasında değişen sıcaklıklarda yetiştirilebilir.
- Farklı hayat formlarının yer aldığı besiyerleri; çamaşır suyu ile muamele edilerek, çamaşır suyuna dirençli yumurtalar rahatlıkla izole edilebilir. Bireylerin senkronizasyonu kolaydır.
- Biyokimyasal araştırmaları kolaylaştırmak için hayvanlar, sıvı ortamda yığın halinde yetiştirilebilir.
- Deney sırasında stereomikroskop dışında pahalı ekipmanlara ihtiyaç duyulmadığı için maliyet düşüktür (Stiernagle, 2006a).

C. elegans yaşam süresi ölçümleri tipik olarak; ilk larva evresi (L1) veya dördüncü larva evresi (L4) ile başlamaktadır. Yaşam süresi analizlerinde en büyük avantaj; ölçümün yaşam destekleyici fonksiyonlarının işleyişinin genel bir değerlendirilmesi olan canlı-ölü sayısı değerlendirilmesi kadar basit oluşudur. En büyük kısıtlama ise; genel değerlendirmenin larva dönemi, yetişkin dönem ve fonksiyonel gerileme dönemlerinin hepsini birden içermesidir. Bu nedenle yaşam süresini uzattığı bilinen bir ilaç; sadece larva döneminde gelişme ve yetişkin dönemde olgunlaşmayı uzatabileceği gibi yalnızca fonksiyonlarda azalmayı da kısaltabilir veya her iki süreç aynı anda işleyebilir. Üreme, vücut hareketi, farinks atım hızı gibi belirli fizyolojik fonksiyonlardaki azalmanın ölçülmesi de mümkündür. Bu yaklaşım ile canlılık kantitatif olarak ölçülebildiğinden oldukça avantajlıdır. *C. elegans*, genellikle gıda kaynağı olarak kullandığı canlı *Escherichia coli* varlığında kültüre alınır. Bu durumun; ilacın *E. Coli*'yi doğrudan etkilediği ve solucanları dolaylı olarak etkilemesi olasılığını arttırdığı düşünülmektedir. Çünkü beslenmenin; yaşam süresi ve yaşlanmayı etkilediği bilinmektedir. *E. Coli*'nin besin değerini düşüren bir ilaç solucanda kalori kısıtlamasına yol açarak yaşlanmayı dolaylı olarak etkileyebileceği düşünülmektedir. Nematod; tipik olarak besin besiyeri veya sıvı kültür içeren petri kaplarında kültüre alınmakta ve bileşikler genellikle ortama ilave edilmektedir. Hidrofobik bileşikler DMSO veya etanol gibi çözücüler kullanılarak uygulanabilmektedir (Collins ve ark., 2006).

Genetik araştırmalara göre, yaşlanmadan sorumlu bazı genlerin varlığı evrimsel olarak korunmakta; *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* (bir tür meyve sineği) gibi insanda da ortak olarak bulunmaktadır. Bu genlerden biri olan daf-2, hayvanlarda yaşlanmayı etkilediği kanıtlanan insülin-IG1 yolağıyla yakından ilişkilidir. *C. elegans*'ta insülin benzeri büyüme faktörü olan IG-1'i kodlayan gen olan daf-2'nin aktivitesini azaltan mutasyonun, canlının yaşam süresini iki katına çıkardığı saptanmıştır. Yine uzun ömürlü olma, ısı şokunda hayatta kalma, lipit metabolizmasını düzenleme, oksidatif strese verilecek yanıtlar ile ilgili genleri aktive etmekten sorumlu olduğu bilinen daf-16 (FOXO homologu)'nın da insülin-IG1sinyalizasyonunu inhibe ederek yaşam süresi değişikliğinde rol aldığını belirlenmiştir. Bu sebeple yaşlanmayla ilgili bazı bilimsel çalışmalarda; *C. elegans*

için yabanıl tip (mutasyon bulundurmayan/N2)'nin yanı sıra daf-16 geni mutant türlerde kullanılmaktadır (Kenyon ve ark., 1993; Kenyon, 2010; Zheng ve ark., 2017).

Yeni ilaçlar ve antiaging ajanlarının geliştirilmesindeki son zamanlardaki popüler eğilim, klinik uygulamalarda görülen nispeten düşük toksisiteleri sebebiyle, antiaging ajanların doğal ürünler arasından seçilmesi yönündedir (Martinez ve ark., 2017).

1.1.4. Botanik Özellikler

1.1.4.1. *Asparagus* L. Cinsinin Sistematikteki Yeri

Çok yakın bir zamana kadar *Asparagus* cinsi, sistematik sınıflandırmada tek eşeyli çiçekleri ve ikievcikli bir bitki olması sebebiyle *Liliaceae* familyasında yer almakta idi. Bununla birlikte cinsin yapraklarının yapısı itibariyle *Liliaceae* familyasında yer alması tartışma konusu olmuştur. *Asparagus* cinsinin ait olduğu familya, APG IV sistemine göre güncellenmiş olup aşağıdaki gibidir (Group, 2016; Sheng ve ark., 2021; Simpson, 2019):

Alem	: Plantae
Bölüm	: Magnoliophyta (Angiospermae)
Sınıf	: Liliopsida (Monocotyledoneae)
Takım	: Asparagales
Familya	: Asparagaceae s.I.
Altfamilya	: Asparagoideae
Cins	: *Asparagus* L.

1.1.4.2. Asparagaceae Familyasının Özellikleri

Çok yıllık, dik veya tırmanıcı, yarı çalı veya çalı. Dallanma rizomlu, dalların büyüdüğü yerden simpoidal. Kökler şişkin ve iğ şeklinde. Dikenler var veya yok. Diken mevcut ise, genellikle indirgenmiş yaprak ve bazen de dallardan oluşmuş. Yapraklar yaygın olarak küçük ve pul benzeri. Asimilasyon görevi kladot adı verilen yeşil ince dallar tarafından gerçekleştirilir. Bazı cinslerde dallar düzleşerek yaprak benzeri kladotlar olan fillokladları oluşturur. Kladotlar tek veya demet halinde, subulat, köşeli veya düz. Çiçeklenme durumu aksiller veya terminal; tek, demet halinde, birleşik salkım veya salkım. Çiçekler tek veya çift eşeyli, aktinomorf, küçük, dik veya sarkık. Periant iki sıra halinde, 6 tepalli, hepsi birbirine benzer, serbest veya tabanda birleşik, beyaz, krem rengi, sarı veya yeşil. Stamenler 6, iki seri halinde, periant segmentlerine kaynaşmış. Hem tek eşeyli hem de çift eşeyli çiçeklerde mevcut, dişi tek eşeyi çiçeklerde işlevsiz. Filamentler birbirinden bağımsız. Anterler içe dönük, dorsifiks. Polen taneleri sulkat. Ovaryum 3 karpelli, 2-3 gözlü, her gözde 1-12 tohum taslaklı. Plasentasyon aksiller. Stilus kısa, stigma kapitat veya loblu. Meyve küre şeklinde, etli perikarpe sahip, sulu, 1–2(–3) tohumlu. Tohumlar siyah, küre şeklinde veya bir tarafı küt, diğer tarafı dışbükey (Byng, 2014; Kapoor ve ark., 2020; Stevens, 2016).

1.1.4.3. *Asparagus* L. Cinsinin Özellikleri

Çok yıllık bitkilerden oluşan *Asparagus* cinsi, dikenli çalı veya çalı şeklinde ve otsudur. Genellikle tırmanıcı, etli rizomlu, kök var, yumru yok. Gövde dallanmış. Yapraklar indirgenmiş, ince veya dikenli, kladot adı verilen modifiye olmuş yapraksı gövdelerdir. Kladotlar, gövde ekseninde veya dallarda, tek veya demetler halinde, yassı veya yaprağa benzer şekilde, subulat, ipliksi, düz ve üç köşeli. Çiçekler tek eşeyli. Çiçeklenme durumu demet halinde, çiçekler tek. Pediseller çiçeğe veya ortaya yakın yerde eklemli. Brakteler pedisellerin tabanında, küçük ve zarımsı. Bitki tek veya çift eşeyli. Periant derin bir biçimde 6 parçaya bölünmüş. Dişi çiçekler genellikle erkek çiçeklerden küçük. Stamenler periantın tabanına bağlı veya hipogin.

Meyve bir küre şeklinde, üzümsü, kırmızı veya siyah, 1-6 tohumlu (Davis, 2019; Güvenç, 1996; Stevens, 2016).

1.1.4.4. *Asparagus* L. Cinsine ait Türlerin Özellikleri

1.1.4.4.1. *Asparagus officinalis* L.

Dik, tüysüz, zarif bitki, 75-100(-200) cm uzunluğunda. Dallar ince, zayıf, dik y**a**pılı. Mahmuzlar 1-3 mm uzunlukta. Kladotlar her kümede 3-6 adet, dik yapılı, sıklıkla eşit değil, subulat, 1-5 oluklu. Kladotlar 6-15(-20) uzunluğunda, 0.2 mm çapında, yeşil veya nadiren grimsi, küçük sivri sert uçlu. Çiçekler genelde kladot kümelerinden ayrı taşınır. Pediseller 10-15 mm uzunluğunda, ortasına yakın veya üstünde eklemli. Periantlar 5-6 mm, sarımsı-yeşil. Anterler yaklaşık 1,5 mm. Meyveler üzümsü, rengi kırmızı, 6-8 mm. Çoğunlukla 2-4 tohumlu (Davis, 2019; Güvenç, 1996; Kenza ve ark., 2022).

1.1.4.4.2. *Asparagus acutifolius* L.

Odunsu, çalımsı, uzun, tırmanıcı veya sürünücü. Gövde kıvrımlı, damarlı-kabartılı, çizgili. Çizgiler gençken papilli, zamanla morumsu-kahverengi. Mahmuzlar 2-4 mm. Kladotlar her kümede 5-10(-12) adet, dikenli, eşit uzunlukta, subulat, düz ve yuvarlak, yeşil. Kladotlar, 3-8(-10) boyunda, 0,2-0,4 mm çapında, tüysüz, uçları dikenli. Çiçekler çoğunlukla her demet başına tek adet. Pediseller bir grup brakteol ile çevrili. Periantlar 3-4(-5) mm, sarı ya da yeşilimsi; anterler 1 mm. Üzümsü meyve, siyah, 4,5-7(-10) mm. Tohumlar 1-2 adet (Davis, 2019; Güvenç, 1996; Kenza ve ark., 2022).

1.1.4.4.3. *Asparagus verticillatus* L.

Kuvvetli tırmanıcı veya sürünücü, otsu. Gövde 2-3 metre uzunluğunda, kıvrımlı, çok dallanmış, sulkat, pürüzsüz veya sırtlar nadiren boynuzlu papilloz. Mahmuz 3-5 mm. Kladotlar her kümede (1-)5-20, doğrusal-üçgen şeklinde, açılı-scabrid. Kladotlar 10-40(-50) boyunda, 0,5-0,7 mm çapında, dik veya içe doğru kıvrık, yeşil, tepesi akut. Çiçekler her kladot kümesi başına 1-4 adet. Meyveli pediküller genellikle sadece (2-)4-6 mm, ortaya yakın eklemlidir. Pediseller genellikle (2-)4-6 mm, ortaya yakın eklemli. Periantlar 3-5 mm, hemen hemen küre şeklinde. Meyve üzümsü, siyah renkli, 5,5-8 mm. Tohumlar 1-3 tohumlu (Davis, 2019; Güvenç, 1996).

1.1.4.4.4. *Asparagus aphyllus* L. subsp *orientalis* (Baker) P.H.Davis

Alçak ya da sürünücü çalı, *A. acutifolius* taksonundan daha dikenli ve odunsu. Dallanmanın sırtı çizgili ve skabrid-papilloz. Kladot, tüm kümede 1-5(-7), sert dikenli, boyları eşit değil. Kladotlar, 3-7 boyunda, 0.5(-0.7) mm çapında. Çiçekler genellikle her demet başına bir tane. Pediseller bir grup brakteol ile çevrili. Periantlar 3-4,5 mm, krem renkli, iç segmentleri kıvrık. Meyve siyah renkli ve üzümsü, 8 mm uzunluğunda. Tohumlar 1-3 adet (Davis, 2019; Güvenç, 1996).

1.1.4.5. *Asparagus* L. Cinsine ait Türlerin Dünyada ve Ülkemizde Yayılışı ve Kullanılışı

Asparagus türleri; Asparagaceae familyası altında yer almaktadır. *Asparagus* cinsi, dünyada yaklaşık 300 tür ile temsil edilmektedir. Kesin sayı, birçok türün durumu yeterince bilinmediğinde belli değildir (Norup ve ark., 2015). Dünyada *Asparagus* cinsi, Amerika hariç, ılıman ve tropikal bölgelerde yayılış göstermektedir (Adouni ve ark., 2022; Sheng ve ark., 2021; Zhu ve ark., 2021). Güney Afrika Kuşkonmaz bitkisinin çoğu türlerine ev sahipliği yapmakla birlikte, Afrika ve

Avrasya'nın kurak ve yarı-kurak bölgelerinde yaygın olarak bulunur. Farklı türlere ev sahipliği yapan diğer bir bölge Batı Çin ve Moğolistan başta olmak üzere Merkez Asya'dır (Drost, 2020).

Dünya genelinde başta Çin olmak üzere, çok fazla bölgede kültüre alınan tür *A. officinalis* olsa da, yabani kuşkonmaz olarak bilinen ve halk tarafından yöresel yemeklerde sıklıkla tüketilen *A. acutifolius* türü de sebze olarak tüketilmektedir. *A. acutifolius* türünün orjini Güney Avrupa olup Akdeniz ülkelerinde kültüre alınmamış alanlarda kendiliğinden yetişmekte, hasat edilerek yerel pazarlarda satışa sunulmaktadır (Conversa ve Elia, 2009; Ferrara ve ark., 2011; Thapa ve ark., 2020a). *A. verticillatus* türü, esas olarak Balkan Yarımadasına özgü olup Doğu Avrupa, Batı ve Orta Asya'da da kendiliğinden yetişen bir Akdeniz türüdür (Danihelka ve ark., 2017; Wirth ve Gyergyák, 2015).

Ülkemizde, *Asparagus* cinsinin 10 taksonu mevcut olup bunlardan 3 tanesi endemiktir. *Asparagus* türlerinin bir kısmı tehdit altında veya savunmasız olarak listelenmekle birlikte; Anadolu'nun birçok yerinde doğal yayılış göstermektedir (TÜBİVES, 2022). Bu bağlamda tez önerisi kapsamına yer alan 2 endemik tür olan *A. lycaonicus* ve *A. lycicus* ard arda yapılan arazi çalışmalarına rağmen toplanamadığından bu çalışmaya dâhil edilememiştir. Daha sonra *A. lycaonicus* türü üzerinde koruma biyolojisi açısından yapılan güncel bir araştırmada; bu türün yaşam alanı olan Konya İli, Cihanbeyli İlçesi, Bolluk Gölü Alkim Alkali Kimya Fabrikası etrafındaki bölgede farklı lokalitelerde toplam 858 birey ile temsil edildiği görülmüştür. *A. lycaonicus'*un İran'daki popülasyonuna yönelik güncel bir bilgiye rastlanmadığı da dile getirilmiştir. Birey sayısının azlığı ve bazı potansiyel lokalitelerde yer almıyor oluşu sebebiyle, Bern Sözleşmesi Ek-1 listesinde yer alan fakat CITES Sözleşmesi Ek listelerinde yer almayan bu türün, IUCN'ye göre tehlike kategorisinin EN B1-a, C2-a(i) durumunda değerlendirilmesi tavsiye edilmiştir (Ürker ve Keçeli, 2020). Bir diğer endemik tür olan ve "Likya kuşkonmazı" olarak da adlandırılan *A. lycicus*'un da yaşam alanı olan Fethiye ve Antalya Körfezleri arasında yer alan Teke Yarımadası'na özel korunması gereken ve sayıları hızla azalan endemik türlerden olduğu bildirilmiştir (Baştemur, 2010). Yine bahsi geçen

her iki türün de Türkiye'nin nadir endemik türlerinin yer aldığı "Red Data Book" da yer aldığı belirlenmiştir (Ekim ve ark., 2000). Türkiye'de yetişen bir diğer endemik tür olan *A.coodei* P.H.Davis taksonunun da IUCN'ye göre tehlike kategorisinin EN B1-ab(i,iii) durumunda olduğu bildirilmiştir (Demirelma ve ark.,2018).

Doğal kaynaklardan elde edilen yeni ilaçların geliştirilmesi süreci genellikle, söz konusu bitkinin geleneksel ve yerel kullanım bilgilerine veya toksikolojik etkilerine dayanır. Klinik çalışmalarla ilaç geliştirilmesine ilişkin bazı son örnekler; bu bilgi birikiminden faydalanmanın önemini vurgulamaktadır (Bremner ve ark., 2009). Bu bağlamda, Türkiye'de yetişen *Asparagus* türleri ve bu türlerin halk arasında kullanılışlarına Çizelge1.1'de yer verilmiştir.

Çizelge 1.1. Türkiye'de yetişen Asparagus türleri ve türlerin halk arasında kullanılışları.

BİTKİ ADI	**YETİŞME YERİ** (Davis, 2019)	**HALK ARASINDAKİ KULLANIMI**
A. acutifolius	Edirne, Çanakkale, İstanbul, Denizli, Antalya, İçel, Hatay	Akdeniz bölgesinde sık yetişen türün sürgünleri, halk arasında yaygın şekilde gıda olarak tüketilmektedir. Mersin'de kökleri dizanteri ve şiddetli ishalde; Muğla ve çevresinde diüretik olarak kullanılır. Bitki Aksaray'da hayvan yemi olarak kullanılır. Çanakkale ve çevresinde tohum ve kökler infüzyon ve dekoksiyon halinde embolizm, ateroskleroz, romatizmada kullanılır. Kahramanmaraş ve çevresinde sürgünler üriner sistem hastalıkları ve böbrek taşına karşı; Osmaniye/Bahçe'de ise kaynatılarak kalp rahatsızlıklarına karşı kullanılır. Kökleri Manisa ve çevresinde bel ağrısına karşı kullanılmaktadır. Özbekistan'da köklerinden hazırlanan ekstre, üriner sistem ve mesane iltihaplarında kullanılmaktadır. Bitki ayrıca boğaz ve göğüs ağrısına karşı ve mide problemlerinde kullanılmaktadır. Genç sürgünler; haşlama ya da kızartma halinde yenilmekte; menemen, makarna ve sebze yemeklerine katılmaktadır. Sıklıkla da çorba olarak tüketilmektedir (Batsatsashvili ve ark., 2020; Bulut ve Tuzlaci, 2013; Demirci ve Özhatay, 2012; L. Ferrara ve ark., 2011; Karaca ve ark., 2015; Khojimatov ve ark., 2020; Mantovani ve ark., 2019; Mart, 2006; Popović ve ark., 2012; Tardío ve ark., 2006; Uysal ve ark., 2012; Yıldırımlı Ş., 2005).

Çizelge 1.1. Devam. Türkiye'de yetişen *Asparagus* türleri ve türlerin halk arasında kullanılışları.

A. aphyllus subsp. ***orientalis***	Çanakkale, Balıkesir, İstanbul, Kocaeli, Bilecik, Zonguldak, İzmir, Denizli	Genç sürgünler üriner sistem hastalıkları, mide rahatsızlıkları ve cilt hastalıklarında kullanılır (Agayeva ve ark., 2013; Bulut ve Tuzlaci, 2013).
A.verticillatus	Kırklareli, Çanakkale, Zonguldak, Kastamonu, Amasya, Sivas, Tokat, Konya, Siirt, Hakkari	Topraküstü kısımlar; kanamanın yanı sıra karaciğer, böbrek, safra ve idrar yolu hastalıklarında kullanılır (Fayvush ve ark., 2017).
A. officinalis	Edirne, İstanbul, Ankara, Sinop, Samsun, Kars, Kütahya, Eskişehir, Ankara, Niğde, Kayseri, Sivas, Diyarbakır, Ağrı, Adana	Kökler üriner sistem hastalıklarında; mide rahatsızlıklarında; sürgünler diüretik antitüssif ve antiromatizmal olarak; kan temizleyici olarak kullanılır (Popović ve ark., 2012). Tohumlar kahve ikamelerinde kullanılmakta, idrar söktürücü müstahzarlar, laksatif olarak nevritte, romatizmada, diş ağrısında ve saç uzamasını hızlandırmak amacıyla kullanılmaktadır (Aberoumand, 2014).
A. lycicus **(endemik)**	Antalya	-
A. coodei**: (endemik)**	Mersin, Konya	-
A. lycaonicus **(endemik)**	Konya	-

Çizelge 1.1. Devam. Türkiye'de yetişen *Asparagus* türleri ve türlerin halk arasında kullanılışları.

***A.persicus*:**	Gümüşhane, Erzurum, Ankara, Konya, Niğde, Kayseri, Elazığ, Erzincan, Erzurum, Muş, Van, Kars, Hakkâri	Özbekistan'da bitki halk hekimliğinde kullanılan tek tür olup köklerinden hazırlanan ekstre halk arasında tansiyon yüksekliği tedavisinde kullanılmaktadır. Bitkinin kökleri Bitlis'de ezilerek merhem halinde romatizmaya karşı kullanılır (Demir, 2020; Eisenman ve ark., 2012; Khojimatov ve ark., 2020).
***A.palaestinus*:**	Kars, Mersin, Adana, Mersin, Hatay, Mardin	Bitkinin çeşitli kısımları; hazımsızlık ve kulak ağrılarına karşı kullanılır. Sebze, salata ve meze olarak kullanımı da mevcuttur (Sarangzai ve ark., 2013).
***A.tenuifolius*:**	Tekirdağ, Bursa, Bilecik, Eskişehir	Bitki; diüretik, antitüssif ve antiromatizmal olarak kullanılmaktadır (Popović ve ark., 2012).

1.1.5. *Asparagus* L. Taksonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar

1.1.5.1. Fitokimyasal Araştırmalar

Asparagus cinsi bitkilerin başlıca biyoaktif bileşenleri fenolik bileşikler ve steroidal saponinlerdir. Ayrıca *Asparagus* cinsi bitkilerin; fruktooligosakkaritler, uçucu bileşikler, aminoasitler ve peptit türevleri, reçine ve tanen taşıdığı saptanmıştır (Negi ve ark., 2010).

1.1.5.1.1. Fenolik bileşikler

Asparagus officinalis bitkisi içerdiği rutin açısından YPSK ile araştırılmıştır. Çalışma sonucunda; kuşkonmaz sürgünlerinin uç kısmında daha çok rutin olduğu, ayrıca genç dokuların, yaşlı dokulara kıyasla daha yüksek oranda rutin taşıdığı belirlenmiştir (Wang ve ark., 2003).

Yapılan bir diğer çalışmada; *A. officinalis* bitkisinin topraküstü kısımlarının (3 kg) metanollü ekstresinden sıvı-sıvı ekstraksiyonuyla hazırlanan etil asetatlı (11,3 g) alt ekstre kolon kromatografisine tabi tutulmuştur. Elde edilen fraksiyonlar preparatif İTK ile saflaştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; ilk kez literatüre kaydedilen asparagusik asit anti-S-oksit metil esteri, asparagusik asit syn-S-oksit metil esteri, 2-hidroksiasparenin {3¢,4¢-trans-2-hidroksi-1-metoksi-4-[5-(4-metoksifenoksi)-3-penten-1-inil]-benzen}dışında; asparenin, asparenol, (±)-1-monopalmitin, ferulik asit, 1,3-*O*-di-pkumaroilgliserol, 1-*O*-feruloil-3-*O*-p-kumaroilgliserol, blumenol C, (±)-epipinoresinol, linoleik asit, 1,3-*O*-diferuloilgliserol ve 1,2-*O*-diferuloilgliserolün yapısı 1D/ 2D-NMR analizleri (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, DEPT, COSY, HMQC, HMBC ve NOESY) ile aydınlatılmıştır (Jang ve ark., 2004).

Yabani bir tür olan *A. acutifolius* sürgünlerinin fenolik madde içeriği, kültüre alınmış *A. officinalis* sürgünleri ile kıyaslamalı olacak şekilde YPSK ile araştırılmıştır. Hazırlanan metanollü ekstrelerdeki fenolik madde içeriği mg/100 gr cinsinden *A. acutifolius* numunesinde 41,97±1.95 iken, *A. officinalis'*de 27,62±1,11 olarak bulunmuştur. Yapılan analiz sonuçlarına göre başta benzoik asit (1,23mg/100g), 3,4-dimetoksifenol (1,5mg/100g) ve kateşol (1,25mg/100g) olmak üzere sinnamik asit, siringaresinol, ferulik asit, kumarik asit, şiringik asit, p-hidroksibenzoik asit ve protokateşuik asit varlığı saptanmıştır (Ferrara ve ark., 2011).

Yapılan bir diğer çalışmada, *A. acutifolius*'dan hazırlanan sulu metanollü ekstrenin, YPSK-DAD-ESI/MS ile fenolik içeriği araştırılmıştır. Analiz sonuçları incelendiğinde, majör bileşik kersetin-3-*O*-rutinozit (263 mg/kg) olmak üzere

sinapik asit pentozit (53 mg/kg), kemferol-3-*O*-rutinozit (22 mg/kg) ve izoramnetin-3-*O*-rutinozit (16 mg/kg) varlığına rastlanmıştır (Barros, 2011).

Beyaz renkli kuşkonmaz sürgünlerinin metanollü ekstresinin etil asetatlı alt ekstresi, katı faz fraksiyonlamayı takiben RP-YPSK analizlerine tabi tutulmuştur. LC-MS/MS, LC-TOF-MS, 1D/2D-NMR kullanılarak elde edilen sonuçlar, beyaz *A. officinalis* sürgünlerinin yenilebilir kısımlarının literatüre ilk kez sunulan steroidal saponin yapısında (25R)-furost-5-en-3β,22,26-triol-3-*O*-[α-Lramnopironozil-(1→4)-β-D-glukopiranozit]-26-*O*-β-D-gluko piranozit,(25R)-furostan-3β,22,26-triol-3-*O*-[α-L-ramnopironozil-(1→4)-β-D-glukopirano zit]-26-*O*-β-D-glukopiranozit ve (25S)-furostan-3β,22,26-triol-3-*O*-[α-L-ramnopironozil-(1→4)-β-D-glukopiranozit]-26-*O*-β-D-glukopiranozit ve 3-*O*-[{α-L-ramnopironozil-(1→2)}{α-L-ramnopironozil-(1→4)}-β-D-glukopiranozil]-(25S)-spirost-5-en-3β-ol olduğu yönündedir (Dawid ve Hofmann, 2012).

Yapılan bir çalışmada, *A. acutifolius* sürgünlerinden Soxhlet cihazı ile hazırlanan metanollü ekstresinin fenolik bileşiklerinin kalitatif ve kantitatif analizleri YPSK ile yapılmıştır. Bileşiminde başlıca izokersitrin (%25) rutin (%28) ve gallik asit (%26) olmak üzere benzoik asit, protokateşik asit, şiringik asit, p-kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, klorojenik asit ve kateşin varlığına rastlanmıştır (Di Maro ve ark., 2013).

Bir diğer tür *A. sprengeri*'nin topraküstü kısmından metanol kullanılarak hazırlanan ekstre kloroform, etil asetat ve *n*-butanol ile alt ekstrelerine ayrılmıştır. Etil asetatlı ekstre preparatif PPC ve Sefadeks kolon ile apigenin ve apigenin-7-*O*-glikozit saflaştırılmıştır. Elde edilen n-bütanollü alt ekstre ise, poliamid kolona uygulanmış, elde edilen fraksiyonların Sefadeks kolona uygulanması ile dihidrokersetin ve naringenin saflaştırılmıştır. Tüm bileşiklerin yapı tayininde İTK, UV ve EI/MS'den yararlanılmıştır (Hassan, 2014).

Yapılan bir diğer çalışmada ekstraksiyon tekniği ve çözücü seçimi gibi parametrelerin *A. officinalis*'den elde edilen fenolik bileşiklerin bileşimine olan etkisi

karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. Bu amaçla örnekler, süperkritik sıvı ekstraksiyonu (yardımcı çözücü olarak su, etanol, metanol ve su:etanol (1:1; 3:7; 7:3) karışımı), basınçlı sıvı ekstraksiyonu (çözücü olarak su, etanol ve su:etanol (1:1) karışımı) ve Soxhlet cihazı (çözücü olarak metanol) kullanılarak ekstre edilmiş ve fenolik bileşiklerin kalitatif ve kantitatif analizleri yapılmıştır. Süperkritik sıvı ekstraksiyonunda çözücü seçimini takiben ayrıca basınç (10, 15, 20, 25 ve 30 MPa), sıcaklık (50, 65 ve 80°C), süre (20, 30, 40, 50 ve 60 dakika) gibi parametreler de değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde; fenolik madde içeriğinin ekstraksiyon tekniği ve çözücü seçiminden etkilendiği saptanmıştır. Toplam fenolik madde miktarı açısından sonuçların basınçlı sıvı ekstraksiyonunda süper kritik sıvı ekstraksiyonu ve Soxhlet cihazına kıyasla daha az olduğu saptanmıştır. Çözücü tercihinin, gerek süper kritik sıvı ekstraksiyonunda gerekse basınçlı sıvı ekstraksiyonunda, su:etanol karışımından yana kullanılmasının fenolik bileşiklerin miktarı için kritik olduğu belirlenmiştir. Süperkritik sıvı ekstraksiyonunda, çözücü seçiminden sonra maksimum ekstraksiyon veriminin 15MPa ve 65°C'de elde edildiği ve sıcaklık etkisinin, basıncın etkisinden daha az olduğu saptanmıştır. Farklı sıcaklık ve basınçta elde edilen ekstreler arasında önemli farklılıklar bulunmamakla birlikte; ekstraksiyon sürelerinin uzamasının, fenolik maddelerin ekstraksiyon miktarını destekler nitelikte olduğu bulunmuştur. Miktarları ekstraksiyon parametrelerine göre değişmekle birlikte, majör bileşiğin rutin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca flavonol aglikonlarından kemferol, kersetin, izoramnetin; flavonol glikozitlerinden izokersitrin, kemferol-3-*O*-rutinozit, rutin-4'-glukozit, izo-3-*O*-rutinozit-7-*O*-glukozit, rutin glikozil ramnozit; organik asitlerden kinik asit; fenilpropanoitlerden kafeik asit-3-glikozit, klorojenik asit, 3-*O*-ferulokinik asit varlığına rastlanmıştır (Solana ve ark., 2015).

A. acutifolius'un topraküstü kısımlarının metanollü ekstresinin bileşimi fitokimyasal açıdan değerlendirilmiştir. Ekstrenin, flavonoitler, fenoller, tanen, terpenotiler, saponinler ve steroitler taşıdığı belirlenmiş; total fenol ve total flavonoit miktarları araştırılmıştır. Sonuçlar incelediğinde, total fenol miktarının 6,10 mg gallik asit eşdeğeri/gr kuru drog; total flavonoit miktarının ise 114,3 mg rutin eşdeğeri/gr kuru drog cinsinden olduğu saptanmıştır (Kitaz Adawia, 2016).

A. officinalis sürgünlerinden %80 metanol ile hazırlanan ekstrenin bileşimi kromatografi cihazıyla (RP-LC-ESI-QTOF/MS^2) ile araştırılmıştır. Aralarında glukuronik asit, kinik asit, malik asit, azeleik asit gibi organik asitlerin, asparagin, izolökin, tirozin, fenilalanin, triptofan vb. aminoasitlerin, peptit ve türevlerinin yer aldığı birçok bileşiğe rastlanmıştır. Ayrıca polifenolik asitlerden, kafeik, ferulik ve kumarik asit (heksoz, kinik ve gliserol ile türevleri) yapısında hidroksisinnamik asitlere rastlanmıştır. Kersetin, kemferol ve izoramnetin türevi flavonoller, lignanlar ve norlignanların da yer aldığı toplam 94 bileşik saptanmış olup bunlardan 74 tanesi bitkide ilk defa rapor edilmiştir (Jiménez-Sánchez ve ark., 2016).

Yapılan bir diğer çalışmada, *A. officinalis* köklerinin etanollü ekstresi, etil asetat ile partisyona tabi tutulmuştur. Daha sonra Silika jel kolona kloroform:metanol çözücü sistemi ile uygulanmıştır. Elde edilen 8 alt fraksiyon Silika jel kolon ve Sefadeks kolona uygulanmış, iki yeni fenolik bileşik asparoffin C ve asparoffin D ve daha önce izole edilmiş asparenyol, gobikuzin B, 1-metoksi-2-hidroksi-4-[5-(4-hidroksifenoksi)-3-penten-1-il]fenol, asparinin A izole edilmiştir. Söz konusu bileşiklerin yapısı MS ile tek ve çift dimensiyonlu NMR spektroskpileri ile aydınlatılmıştır. Bileşiklerin antitümör etkileri de çeşitli yöntemlerle araştırılmış, Asparanin A'nın aktif olduğu saptanmıştır (Li ve ark., 2017).

Organik ve konvansiyonel seralarda ve açık havada kültüre alınan *A. officinalis* örneklerinin fitokimyasal içeriği kıyaslanmak amacıyla araştırılmıştır. Sonuçlar; konvansiyonel yöntemle yetiştirilen bitkinin kladotlarının polifenol içeriğinin organik yöntem ürününe kıyasla daha fazla olduğu yönündedir. Flavonoit ve karetonoit miktarları ise; açık alanda yetişen numunelerde en yüksek oranda bulunmuştur (Ku ve ark., 2017).

Farklı yerlerde kültüre alınmış *A. officinalis* sürgünlerinden 6 farklı yeşil renkli numune ve iki farklı mor renkli numunenin uç, orta ve taban kısımlarının organik asit, antosiyanin, flavonol, flavon ve hidroksisinamik asit içeriği YPSK kullanılarak karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde; antosiyanin içeriğinin beklenildiği gibi, mor renkli numunelerde daha yüksek olduğu buna karşın

flavonol, flavon, hidroksisinnamik asit ve toplam fenol miktarlarının sürgünlerin rengi ile arasında bir orantı bulunmadığı saptanmıştır. Yüksek flavonol içeriğinin tüm örnekler için karakteristik olup 154,5 ila 252,5 mg/kg FW arasında değiştiği; organik asitler ve fenolik madde miktarlarının sürgünlerin taban kısmından uç kısmına doğru arttığı belirlenmiştir. Antosiyaninlerin ise, aksine taban kısıma ait örneklerde kayda değer ölçüde yüksek miktarda bulunduğu saptanmıştır. Söz konusu numuneler için saptanan beş adet hidroksisinnamik asit türevi için majör bileşiğin 3-kafeoilkinik asit; on adet flavonol türevi için kersetin-3-rutinozit ve üç adet antosiyanin türevi için ise siyanidin-3-rutinozit olduğu bulunmuştur (Slatnar ve ark., 2018).

Yapılan bir diğer çalışmada; farklı yerlerde kültüre alınan dört *A. officinalis* numunesinin taze ve pişirilmiş örneklerinin rutin, kersetin ve ferulik asit miktarları araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; numunelerin polifenol içeriğinin değişkenlik göstermekle birlikte, işlem gördükten sonra kersetin içeriğinin yaklaşık %98 oranında arttığı yine rutin miktarlarında da yaklaşık %32 oranında artış olduğu belirlenmiştir. Ferulik asit içeriğinin ise, tam tersi bir şekilde pişirme ile yaklaşık %98 oranında azaldığı saptanmıştır (Ku ve ark., 2018).

Yapılan bir çalışmada; *A. officinalis* bitkisinin farklı doku kısımlarında rutin dağılımı araştırılmıştır. Sonuçlar, bitkinin özellikle kladot ve depolama köklerinin diğer kısımlara oranla büyük miktarda rutin taşıdığı yönündedir (Motoki ve ark., 2019).

A. racemosus yapraklarından hekzan, kloroform, etil asetat, metanol ve su kullanılarak ekstreler hazırlanmıştır. Söz konusu ekstrelerin, total flavonoit ve total triterpenoit miktarları araştırılmıştır. Her iki grup açısından da, etil asetatlı ve sulu ekstrelerin daha yüksek oranda içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir. Total flavonoit miktarı sırasıyla 23,45 ± 1,33 mg/g ve 25,81 ± 0,82 mg/g oranında total triterpenoit miktarı ise 109,8 ± 5,6 mg/g ve 95,6 ± 7,5 mg/g bulunmuştur. Ayrıca yapılan kalitatif analizle ekstrelerin genel olarak flavonoit, tanen, fenolikler, saponinler, amino asitler ve protein taşıdığı belirlenmiştir (Vadivelan ve ark., 2019).

A. acutifolius sürgünlerinden infüzyon şeklinde hazırlanan ekstrenin fenolik bileşikleri ters faz YPSK ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde; majör bileşik olarak kersetin-3-*O*-rutinozit ve izoramnetin-3-*O*-rutinozit olmak üzere, kemferol-3-*O*-rutinozit, sinapik asit, kafeik asit, p-kumarik asit varlığı saptanmıştır (Bilusic ve ark., 2019).

Farklı yerlerde kültüre alınmış üçü mor renkli biri yeşil renkli *A. officinalis* kültürlerinin antosiyanin içeriği araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde miktarları değişmekle birlikte 16 farklı yapıda antosiyanin tespit edilmiş; majör bileşiklerin peonidin, siyanidin ve onların glikozit türevleri olduğu saptanmıştır. Öte yandan mor renkli kuşkonmaz örneklerinin antosiyanin içeriğinin (22,04-11,6 mg/g FW), kırmızı lahana(1,5 mg/g FW), patlıcan (1,2 mg/g FW) gibi mor renkli sebzelere kıyasla çok daha yüksek olduğu da belirlenmiştir (Dong ve ark., 2019).

Yapılan bir diğer çalışmada, beş farklı yerde kültüre alınmış beyaz, mor ve yeşil renkli *A. officinalis* sürgünlerinin %60 etanol kullanılarak hazırlanan ekstrelerinin polifenolik içeriği karşılaştırılmıştır. Kültür ve sürgün renginin polifenolik içeriğe etkisinin belirlenebilmesi amacıyla örnekler YPSK ile değerlendirilmiş; hidroksisinnamik asit (ferulik, sinapik ve kumarik asitler), gallik ve p-hidroksibenzoik asitlerce zengin olduğu, vanilik asitin ise yalnızca beyaz renkli sürgünlerde yer aldığı saptanmıştır. Numunelerin taşıdığı flavonol miktarları da araştırılmış, başta en yüksek oranda rutin olmak üzere izokersitrin, hiperozit, kersetin ve astragalin varlığına rastlanmıştır. Analizler değerlendirildiğinde; en yüksek biyoaktif bileşen içeriğinin yeşil renkli numunelerde olduğu, beyaz renkli sürgünlerin bileşiminin oldukça kısıtlı kaldığı, kültür çeşidi ve sürgün renginin polifenolik içerik üzerinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Kobus-Cisowska ve ark., 2019).

A. officinalis bitkisinin köklerinden %90'lık etanol kullanılarak elde edilen ekstre YPSK ile analiz edilmiş, içeriğinde 4-hidroksisinnamik asit, trans-ferulik asit ve kersetin polifenollerinin varlığı saptanmıştır (Yu ve ark., 2020).

Yapılan bir çalışmada; endemik *A.lycicus* bitkisinin asparagin içeriği geliştirilen YPSK yöntemi ile tayin edilmiş; doğrusallık, doğruluk, kesinlik, tespit limiti (Bhalodiya ve ark.), miktar tayini limiti (LOQ) ve seçicilik gibi analitik validasyon parametreleri ile de sonuçlar doğrulanmaya çalışılmıştır. Bitkinin asparagin miktarının 6,14 mg/bitki, total fenol madde miktarının 13,22 mg GAE/bitki, toplam flavonoit madde miktarının 3,24 mg CE/bitki olduğu saptanmıştır. Ayrıca fenolik ve flavonoit madde içeriğinin kg bitki başına; 28,8 mg rosmarinik asit, 109,2 mg ferulik asit, 531,2 mg klorojenik asit, 2,8 mg o-kumarik asit, 17,6 mg p-kumarik asit ve 6 mg oranında sinapik asitten oluştuğu saptanmıştır. Bitkinin total antosiyanin miktarı 5,15 mg/kg bitki bulunmuş; yağ asidi bileşiminin %55,36 oranında oleik asit, %32,01 oranında linoleik asit ve %7,61 oranında palmitik asitten oluştuğu saptanmıştır (Çınar ve ark., 2021).

Yapılan bir çalışmada; *A. officinalis* bitkisi sürgünlerinin hasat sırasında atılan sert gövdelerinde hazırlanan sulu ekstre LC-MS/MS ile analiz edilmiştir. Ekstrede; flavonol türevi kersetin, kemferol ve şiringetin, izoflavon türevi genistein, prunetin ve flavon yapısında apigenin varlığına rastlanmıştır. Ayrıca, glikozide flavonoitlerden mirisetin-*O*-ramnozit, trişin-*O*-glikozit, izoramnetin-*O*-glukuronit, larisitrin-*O*-glikozit ve rutin de saptanmıştır (Romani ve ark., 2021).

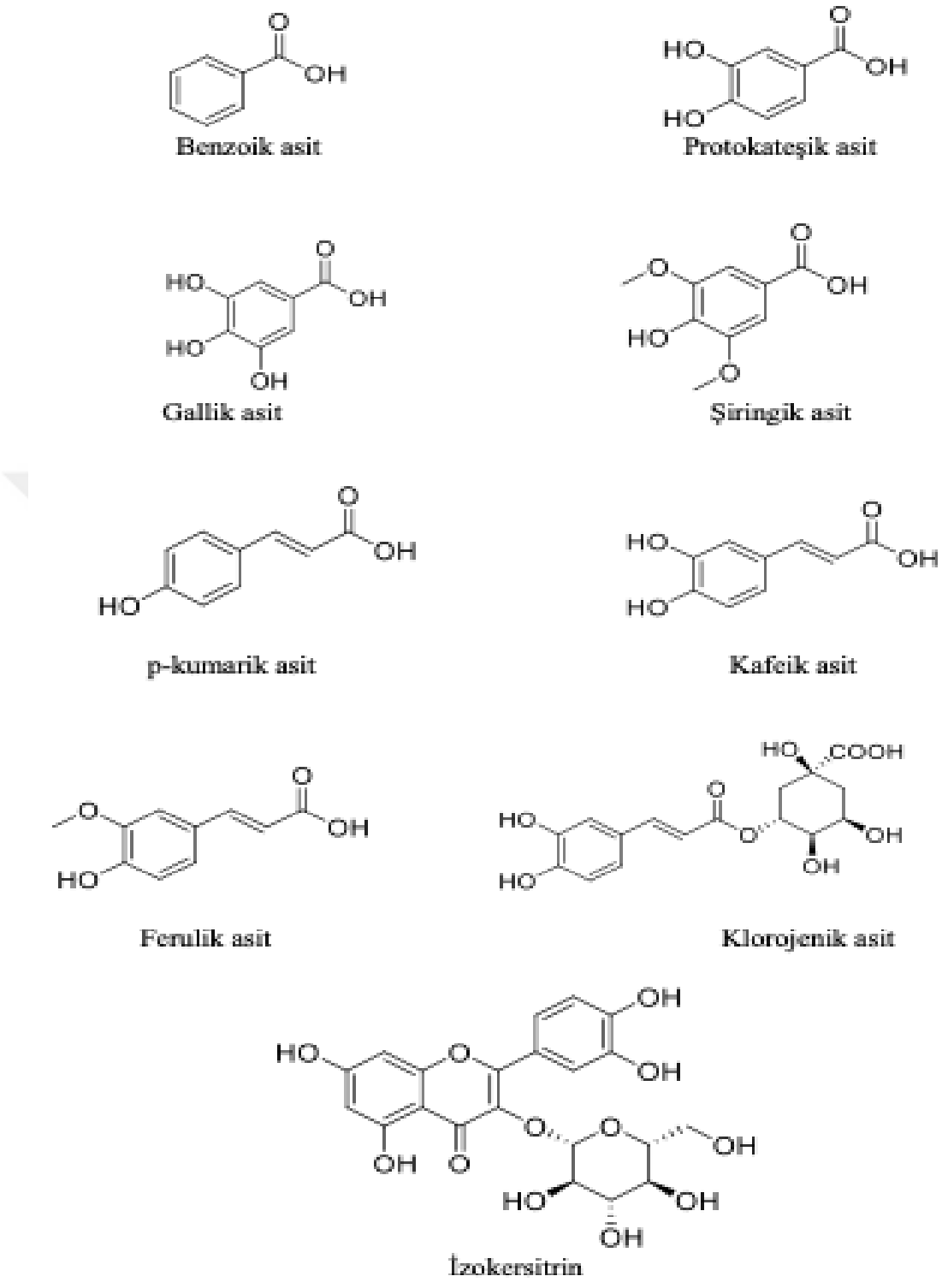
Yapılan başka bir çalışmada; *A. officinalis* bitkisinin sürgün ucu ve sürgünlerinin %95 etanolle hazırlanan ekstrelerinin, fitokimyasal içeriği ve kurutma sıcaklığı ve kurutma süresinin (50°C veya 80°C'de, 24 saat veya 32 saat) söz konusu içerik miktarına etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, örneklerin gallik asit ve rutin taşıdığı belirlenmiş; kurutma parametreleri 50°C ve 24 saate ayarlandığında rutin miktarının diğerlerine kıyasla kayda değer bir biçimde yükseldiği saptanmıştır (Sriyab ve ark., 2021).

Yapılan bir çalışmada, taze *Asparagus* sürgünlerinden %70 etanol ile hazırlanan ekstresinde gallik asit, kumarik asit, klorojenik asit, hidroksibenzoik asit, rutin, sinnamik asit, ferulik asit ve kersetin varlığının hidrotermal işlemle muamele sonucunda değişip değişmediği araştırılmıştır. Doğal bileşiklerin düşük

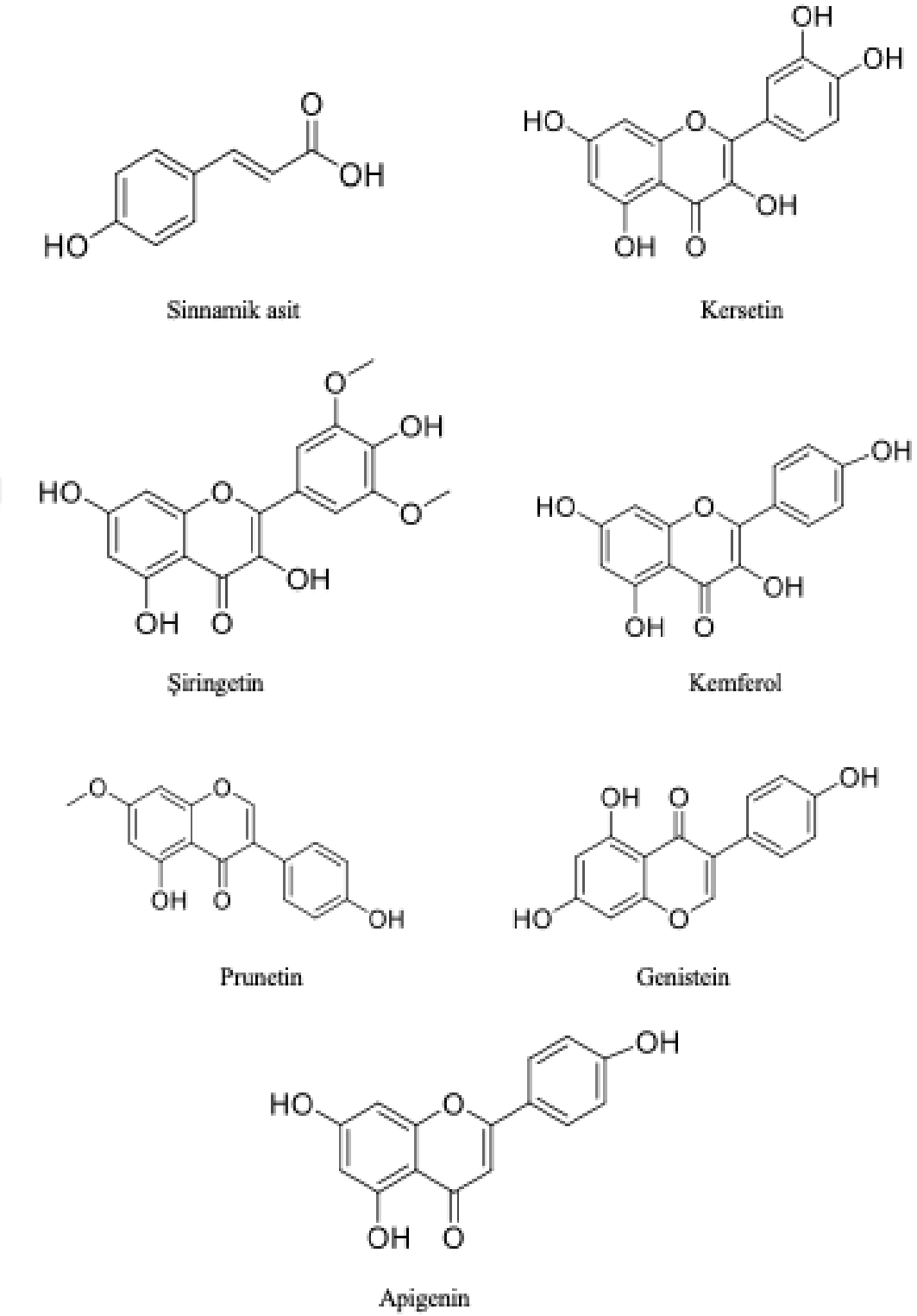
adsorpsiyonunu ve zayıf hidrofilik polaritesini arttırmaya yönelik birkaç prosesten biri olan hidrotermal işlem (140 °C'de 90 dakika) neticesinde de gallik asit, kumarik asit ve hidroksibenzoik asit miktarları kayda değer bir biçimde (öncesinde 0 iken, sırasıyla 118,16, 713,45, 282,05 μg/mL) artmıştır. Buna karşılık klorojenik asit, rutin, sinnamik asit, ferulik asit ve kersetinin miktarı saptanamayacak kadar azalmıştır. Bu durumun hidrotermal işlemin yol açtığı dekarboksilasyon sebebiyle kimyasal yapısında farklılıklara yol açtığında ileri geldiği düşünülmektedir (Yu ve Fan, 2021).

A. acutifolius sürgünlerinin çiğ, pişirilmiş ve pişirme suyundaki polifenolik içeriği YPSK kullanılarak kıyaslanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, numunenin rutin bakımında zengin olduğu, pişirilme işlemi sonrasında rutinin pişirme suyuna geçtiği, pişmiş materyalde miktarının oldukça azaldığı saptanmıştır (Monari ve ark., 2021).

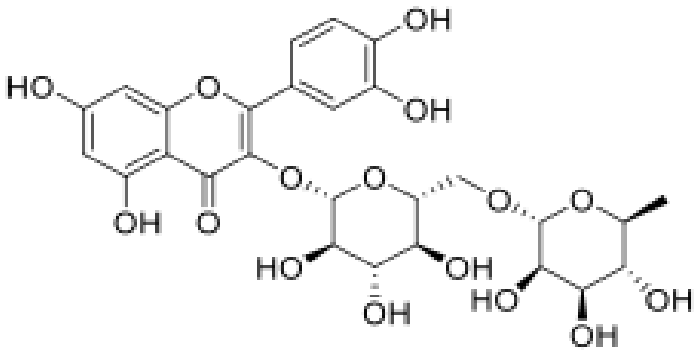
A. acutifolius bitkisinin yaprak, kök, perikarp ve rizomlarının etanollü ekstresinin kimyasal bileşimi LC-MS ile aydınlatılmıştır. Ekstrelerin bileşiminde oranları değişmekle birlikte; p-hidroksibenzoik asit türevleri (vanilik asit, p-hidroksibenzaldehit, p-hidroksibenzoik asit, vanilin, şiringik asit, protokateşik asit ve gallik asit), hidroksisinnamik asit türevleri (ferulik asit, kafeik asit, kumarik asit ve sinapik asit) ve flavonoit (naringenin, kersetin, kemferol, rutin ve narsisin) yapısı bileşiklere rastlanmıştır. Ayrıca üçü (ACSAP-1, ACSAP-1, ACSAP-3) ilk kez rapor edilmekle birlikte altı tane de (HTSAP-1, HTSAP-3 ve HTSAP-6) saponin yapısı saptanmıştır. Kök ekstresinin taşıdığı kafeik asit ve rutin ile doğru orantılı bir şekilde yüksek oranda toplam fenol ve flavonoit miktarına sahip olduğu bildirilmiştir. Yaprak, perikarp ve rizomda hiç flavonoit yapısına rastlanmamakla birlikte; major bileşiklerin kafeik asit ve ferulik asit olduğu belirlenmiştir. Steroidal saponinlere, en çok miktar rizomlarda bulunmakla birlikte, bitkinin bütün kısımlarında rastlanmıştır (Hamdi ve ark., 2021).



Şekil 1.1. *Asparagus* türlerinden izole edilen bazı fenolik bileşikler.



Şekil 1.1. Devam. Asparagus türlerinden izole edilen bazı fenolik bileşikler.



Rutin

Şekil 1.1. Devam. Asparagus türlerinden izole edilen bazı fenolik bileşikler.

1.1.5.1.2. Saponinler

A. officinalis bitkisinin meyvelerinin metanol ekstresi ile petrol eteri ve n-bütanol alt ekstreleri, yapısı çift dimensiyonlu NMR teknikleri ile aydınlatılmış, spirostanol glikoziti yapısında bileşiğe rastlanmıştır (Pant ve ark., 1988).

Yapılan bir diğer çalışmada, *A. officinalis* bitkisinin tohumlarından metanolle elde edilen ekstrenin bütanollü fraksiyonu diaion HP-20 kolonda su ve metanolle elüe edilmiştir. Daha sonra metanollü elüent, ard arda iki defa Silika jel kolona uygulanmıştır. Elde edilen fraksiyonun Sefadeks kolona uygulanıp, alınan saponin fraksiyonu preparatif ters faz kolonda saflaştırılmıştır. İzole edilen steroidal saponozitlerin çift dimensiyonlu NMR spektroskopilerini (COSY, HMQC, NOESY ve HMBC) içeren ^{1}H ve ^{13}C-NMR ile yapı tayini sonrasında protodiosin ve metil protodiosin olduğu belirlenmiştir (Shao, 1997).

A. acutifolius bitkisinin kurutulmuş köklerinden normal ve ters faz Silika jel ile yapılan kromatografik ayırımlar neticesinde üç yeni steroidal glikozit yapısı bileşik elde edilmiş, Tek ve çift boyutlu NMR (COSY, TOCSY, HSQC ve HMBC) ile FAB-MS kullanılarak yapılarının (25S)-3β,5β,22α-22-metoksifurostan-3,26-diol 3-O-β-D-ksilopiranozil-(1→2)-[β-Dksilopiranozil-(1→4)]-β-D-glukopiranozil26-O-β-D-glukopiran ozit, (25S)-5β-spirostan-3β-ol3-O-β-D-ksilopiranozil-(1→2)-[β-D-

ksilopiranozil -(1→4)]-β-D-glukopiranozit ve (25S)-5β-spirostan-3β-17α-diol 3-O-β-D- ksilopiranozil -(1→2)-[β-D- ksilopiranozil-(1→4)]-β-D-glukopiranozit olduğu saptanmıştır (Lacaille-Dubois ve ark., 2006).

Yapılan bir çalışmada; *A. acutifolius* bitkisinin kurutulmuş köklerinden hazırlanan sulu metanollü ekstre çözücüsünden uzaklaştırılıp suda süspanse edilerek önce hekzan ile muamele edilmiş, sonrasında ise n-bütanol ile sıvı-sıvı partisyona tabi tutulmuştur. Elde edilen n-bütanollü alt ekstre, metanolde çözülüp dietileter ile çöktürülerek ham saponin karışımı elde edilmiştir. Karışım vakum sıvı kromatografisine uygulanmış, elde edilen dört fraksiyon ayrı ayrı MPLC'ye uygulanmıştır. Saflaştırılan steroidal saponin türevi altı yeni bileşiğin yapısı tek ve çift dimensiyonlu NMR, FAB-MS ve HR-ESI-MS aydınlatılmıştır. Kimyasal yapıları Şekil 1.2'de yer alan 1 nolu bileşik (25*S*)-3β,5β,22α-22-metoksifurostan- 3,26-diol 3-O-β-D-ksilopiranozil-(1→2)-[β-D-ksilopirano-zil-(1→4)]- β-D-glukopiranozil 26-O-β-D-glukopiranozit, 2 nolu bileşik (25*S*)-3β,5β,22α-furostan-3,22,26-triol 3- O-β-D- ksilopiranozil-(1→2)-[β-D-ksilopiranozil-(1→4)]-β-D-glukopiranozil 26-O-β-D-glukopiranozit, 3 nolu bileşik (25*S*)-3β,5β,22α-22-metoksifurostan-3,26-diol 3-O-β-D- ksilopiranozil-(1→2)-β-D-glukopiranozil 26-O-β-D- glukopiranozit, 4 nolu bileşik (25*S*)-5β-spirostan-3β,17α-diol 3-O-β-D-ksilopiranozil-(1→2)-[β-D-ksilopiranozil(1→4)]- β-D-glukopiranozit, 5 nolu bileşik (25*S*)-5β-spirostan-3b-ol 3-O-b-D-ksilopiranozil-(1→2)-[β-D- ksilopiranozil-(1→4)]- β-D- glukopiranozit, 6 nolu bileşik (25*S*)-5β-spirostan-3β,17α-diol 3-O-β-D-glukopiranozil l-(1→2)-[β-D-ksilopiranozil-(1→4)]-β-D- glukopiranozit ve 7 nolu bileşik (25*S*)-5β-spirostan-3β-ol 3-O-b-D-glukopiranozil-(1→2)-[β-D-ksilopiranozil-(1→ 4)]- β-D- glukopiranozit olduğu saptanmıştır (Sautour ve ark., 2007).

A. sprengeri yapraklarının metanol ile elde edilen ekstresinden sıvı-sıvı partisyonu kloroform, etil asetat ve n-bütanol ile yapılmıştır. Elde edilen *n*-butanollü alt ekstre, gradient kloroform:metanol çözücü sistemi ile Silika jel kolona uygulanmıştır. Elde edilen 9 fraksiyon, Silika jel kolon ve/veya Sefadeks kolona uygulanarak spirostanol saponin yapısında iki yeni bileşik izole edilmiştir. Yapıları

HRESI-MS/MS^n, ^{1}H, DEPT ^{13}C NMR, ^{1}H-^{1}H COSY, HSQC ve HMBC teknikleri ile aydınlatılan bileşiklere ek olarak varlığı daha önce rapor edilmiş 3 yeni metabolite daha rastlanılmıştır. Ayrıca izole edilen bileşiklerden 3 tanesinin *Biomphalaria alexandrina*'a karşı mollusidal etki gösterdiği saptanmıştır (Mohamed, 2007).

A. racemosus köklerinin %90'lık asetonitril-su çözücü karışımı ile elde edilen ekstresi semi-preparatif ters faz YPSK (ELSD-LT) ile saflaştırılmaya çalışılmış, yapılan spektroskopik (tek ve çift dimensiyonlu NMR) ve spektrometrik (LC-MS) analizleri ile yapısı aydınlatılan on farklı sayıda saponin yapısında bileşik varlığına rastlanmıştır. Daha önce izole edilmiş shatavarin-I (asparozit B), shatavarin-IV(asparinin B), shatavarin-V, immunozit ve asparanin A dışında Shatavarin VI–X olarak adlandırılan steroidal saponin cinsi 5 yeni bileşik daha saflaştırılmıştır (Hayes ve ark., 2008).

Altı farklı yerde kültüre alınmış *A. officinalis* sürgünlerinden hazırlanan metanollü ekstreler, katı faz ekstraksiyon kolonunda metanolle elüe edilmiştir. Elde edilen saponin fraksiyonu sonrasında, HPTLC'de metanol:kloroform:su (4:6:1) çözücü sisteminde sürüklenmiştir. Elde edilen saponin lekelerinin spirostanol ve furostanol yapılarını ayırt etmek amacıyla revelatör olarak anisaldehit ve Ehrlich's reaktifleri uygulanmış, bantlar kazınarak alınmış ve metanolde çözünmüştür. Örnekler, elektrosprey iyonizasyon-kütle spektroskopisine (ESI-MS) verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde; başta majör bileşikler olan protodiosin ve metilprotodiosin olmak üzere altı farklı saponin (AS2, AS3, AS4, AS5) varlığı tespit edilmiş, kültüre alınan örneklerde miktarlarının 0,1 mg ila 30 mg/100g oranında değiştiği saptanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada ise; aynı numunelerin saponin içeriği ile sahip oldukları acı tat arasındaki korelasyon kantitatif tanımlayıcı analizlerle araştırılmıştır. Sonuçlar, numunelerdeki total saponin içeriği arttıkça acı tadın da arttığı yönündedir (Brueckner ve ark., 2010).

Çin'de yapılan bir çalışmada, *A. officinalis* bitkisinin kökleri %80 etanolle ekstre edilmiş, *n*-butanolle sıvı-sıvı ekstraksiyonuna tabi tutulduktan sonra makro gözenekli reçineye uygulanmıştır. Elde edilen saponin karışımı, metanol-su gradient

elüsyonuyla MCI reçineye ve sonrasında kloroform-metanol-su elüsyonuyla Silika jel kolona uygulanmıştır. Fraksiyonlar, YPSK ve Silika jel kolon ile saflaştırılarak iki ayrı madde izole edilmiş, yapıları HR-ESI/TOF-MS, IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR spektrumları değerlendirilerek aydınlatılmıştır. Bileşiklerden biri steroidal saponin yapısında yamogenin-II diğerinin ise; (25S)-spirostan-5-en-3β-ol-3-O-α-L-ramnopiranozil-(1,2)-[α-L-ramnopiranozil-(1,4)]-β-D-glukopiranozit olduğu saptanmıştır (Sun ve ark., 2010).

A. officinalis'in konserve ve taze paketleme işlemleri sırasında yan ürün olarak ortaya çıkan, olgun dokunun yer aldığı kısımların diosgenin ve sarsapogenin eş zamanlı kalitatif ve kantitatif analizleri için İTK yöntemi geliştirilmesi hedeflenmiştir. Çin'in 3 farklı bölgesinde kültüre alınmış olan örnekler %70'lik etanol ile ekstre edilmiş; ekstre asit hidrolizini takiben kloroform ile sıvı-sıvı ekstraksiyonuna tabi tutulmuş ve steroidal saponince zengin bir faz elde edilmiştir. Numuneler benzen:aseton (9:1) çözücü sisteminde develope edilmiş belirteç olarak vanilin-sülfürik asit çözeltisi tercih edilmiştir. Madde miktarları İTK dansitometre kullanılarak tayin edilmiş, elde edilen sonuçlar YPSK ve LC-MS kullanılarak doğrulanmıştır. Geliştirilen yönteme ilişkin analitik validasyon parametreleri de değerlendirilmiş; diosgenin içeriğinin %0,27-0,46, sarsasapogenin miktarlarının ise %0,11-0,32 oranında değiştiği saptanmıştır. Bu çalışmada bitkinin gıda olarak tüketilemediği için işlenme sırasında yan ürün olarak atılan binlerce ton olgun dokulardan nutrasötik geliştirilmesi gerekliliği de vurgulanmıştır (Wang ve ark., 2011).

İspanya'da yetişen *triguero* popülasyonuna ait farklı Huétor-Tájar genotiplerinin ve ticari hibritlerin saponin içeriği LC-MS ile karşılaştırılmıştır. 58 farklı genotip ve 31 ticari hibrit numunesinde toplam 12 adet (HTSAP1-12) furostan tip sapogenin türevi bileşik saptanmış bunlardan dördünün varlığı ilk kez rapor edilmiştir. Numunelerden hazırlanan etanollü ekstrelerin, genel saponin profilinin protodiosin ve ilk kez literatüre geçen dört bileşiğin kombinasyonu üzerinde şekillendiği belirtilmiştir. Bununla birlikte, protodiosinin ticari hibritlerde genellikle majör bileşik olduğu ve *triguero* genotiplerinde saptanan toplam saponin içeriğinin

ticari hibrit numuneleri ile kıyaslanınca 10 ila 100 kat kadar fazla olduğu da belirtilmiştir (Vazquez-Castilla ve ark., 2013).

Yapılan bir çalışmada; *A. officinalis* sürgünlerinin taşıdıkları steroidal sapononinlerle ilişkilendirilen acı tadın taze ve pişirilmiş kuşkonmazlardaki miktarı araştırılmıştır. Taze ve 95 °C'de suda 14 dakika pişirilmiş kuşkonmaz sürgünlerinin içeriğinde yer alan başta protodiosin, neoprotodiosin ve metilprotodiosin olmak üzere mono ve bidesmodisik yapıda saponinler LC-MS/MS ile analiz edilmiş, yapıları UPLC/TOF-MS, NMR ile aydınlatılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; farklı yerlerde kültüre alınan örneklerin, taşıdıkları saponin çeşit ve miktarlarının birbirlerine kıyasla değiştiği ve pişirme ile birlikte bazı saponin çeşitlerinin miktarının arttığı, bazılarının ise azaldığı ve bir miktar saponin de pişirme suyuna geçtiği saptanmıştır (Dawid ve Hofmann, 2014).

Bir başka çalışmada ise; beş farklı *Asparagus* türünün yabani formlarının saponin içeriği araştırılmıştır. *A. officinalis, A. pseudoscaber* Grecescu, *A. brachiphyllus* Turcz., *A. prostrates* Dumort. ve *A. maritimus* (L.) Mill.'den %80 etanol kullanılarak elde edilen ekstrelerin bileşimi LC-MS kullanılarak analiz edilmiştir. Toplam saponin miktarı, *A. brachiphyllus* için 242,2 mg/100g taze ağırlık, *A. maritimus* için 16,8–142,7 mg/100g taze ağırlık, *A. officinalis* için 2,2 mg/100g taze ağırlık, *A. prostrates* için 51,4 mg/100g taze ağırlık ve *A. pseudoscaber* için 88,3 mg/100g taze ağırlık olarak bulunmuştur (Vazquez-Castilla ve ark., 2013).

Sonuçlar değerlendirildiğinde; yabanıl olan *Asparagus* türlerinin saponin içeriğinin ticari melezlerine kıyasla yaklaşık 10 kat daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır (Jaramillo-Carmona ve ark., 2017).

A. racemosus'un köklerinin metanollü ekstresi sırasıyla hekzan, diklorometan, bütanol ve su kullanılarak sıvı-sıvı ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Elde edilen diklorometanlı alt ekstre önce hekzan:etil asetat (3:1) sonrasında kloroform:metanol (95:5) çözücü sistemi kullanılarak Silika jel kolona uygulanmıştır. Toplam 16 fraksiyon elde edilmiş, bu fraksiyonlardan biri tekrar Silika jel kolon

kromatografisine uygulanmış, sonrasında preparatif YPSK ile yeni bir bileşik olan asemosin saflaştırılmıştır. Fraksiyonlardan birinden asparagosin A kristallendirme ile saf elde edilirken, diğeri de tekrar Silika jel kolon kromatografisine uygulanarak stigmasterol bileşiği elde edilmiştir (Quang ve ark., 2018).

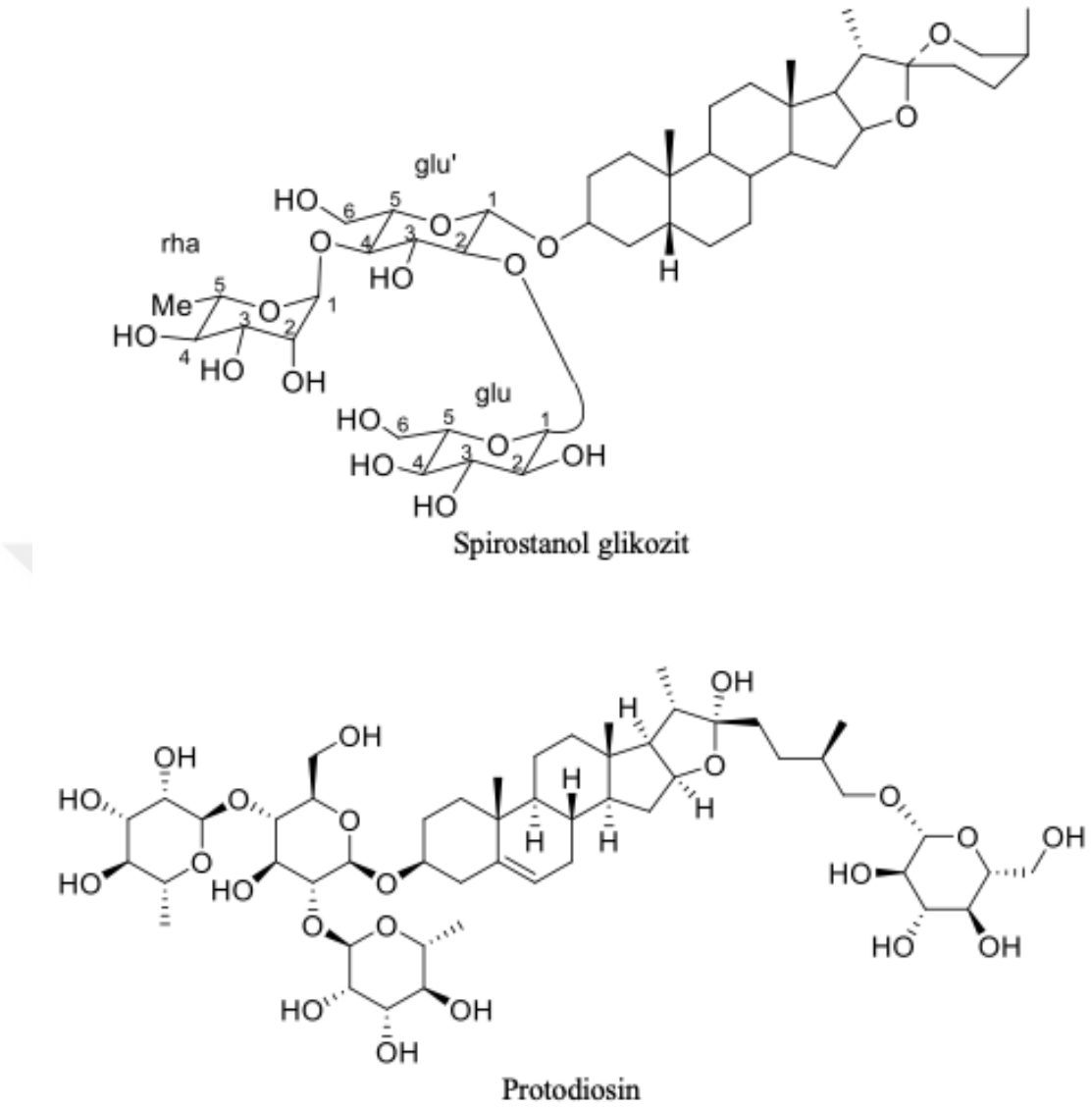
A. africanus köklerinden hareketli maserasyonla elde edilen sulu ekstrenin fitokimyasal içeriği LC/MS Q-TOF cihazıyla %0,1 formik asit içeren su:metanol (%100) çözücü sistemi kullanılara gradient elüsyon ile aydınlatılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; steroidal yapıda asparasaponin II, sarsasapogenin, stigmasterol ve spirostan varlığı saptanmıştır. Nonsteroidal bileşiklerden ise; asetilkaranin;1,3,6,8-naftilhalentetrol, prosopinin; sugeonil asetat; glutinozon; pandarozit C ve sinkassiol C3 varlığına rastlanmıştır (El-Ishaq ve ark., 2019).

A. officinalis bitkisinin farklı doku kısımlarında protodiosin içeriği hazırlanan %70'lik etanollü ekstre üzerinden araştırılmış, tomurcuk kısımları, filizlerin toprağa yakın kısmı ve rizomlarda yüksek oranda yer aldığı tespit edilmiştir (Motoki ve ark., 2019).

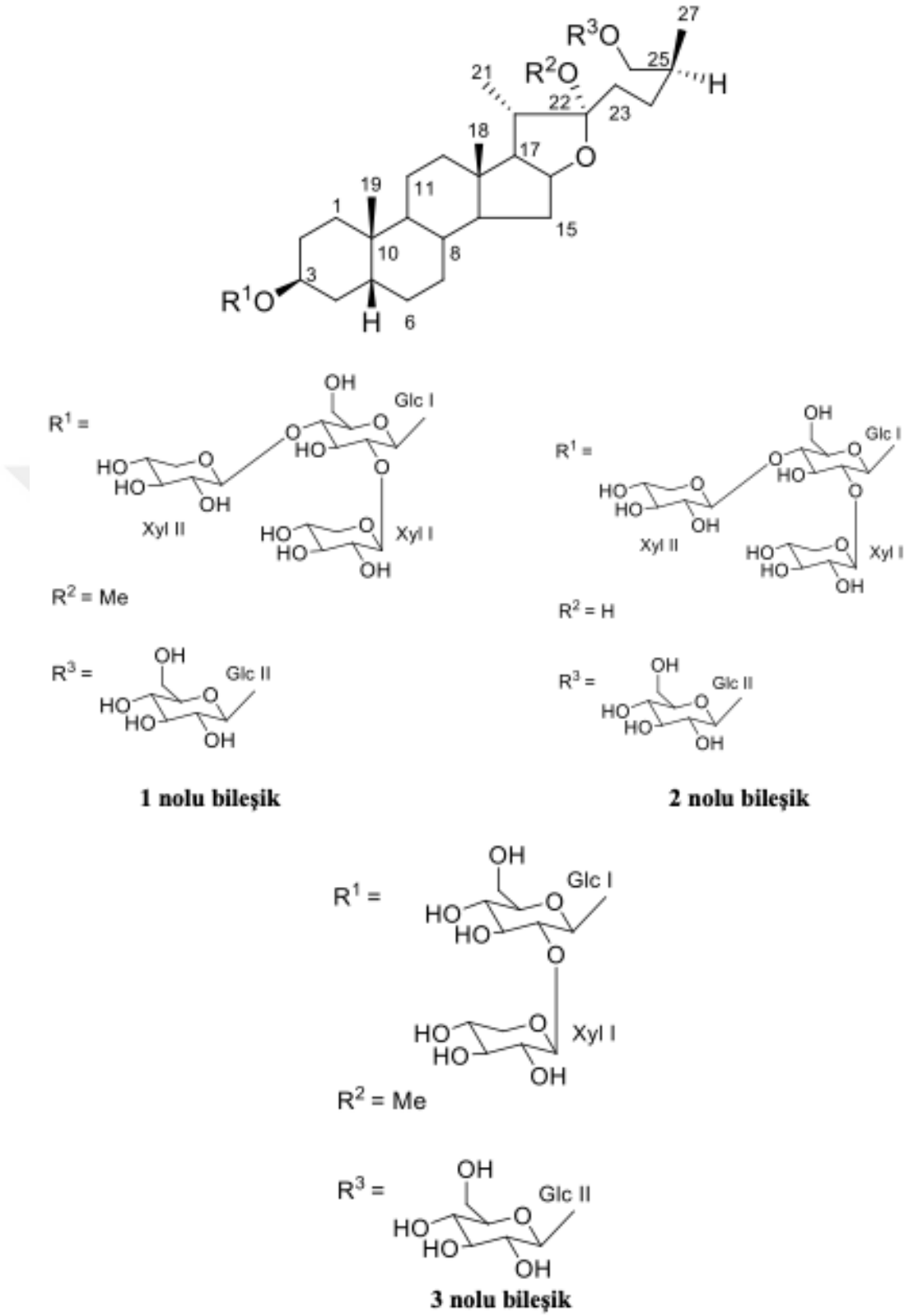
Başka bir çalışmada, *A. cochinchinensis*'in köklerinin metanollü ekstresi ilk olarak petrol eteri, daha sonra kloroform en son *n*-butanol ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapılmıştır. Elde edilen n-bütanollü ekstre Diaion HP20 reçine kolona su ve metanol ile elüe edilmiştir. Metanollü elüent, Silika jel kolona uygulanmış elde edilen fraksiyonların Silika jel kolon, semi preparatif YPSK ve ters faz YBSK'ya uygulanmasıyla 9 adet steroit yapısında bileşik izole edilmiştir. Elde edilen yeni bileşiklerden dört tanesi C21, bir tanesi pregnan glikoziti, diğer dört tanesi bilinen C27 yapısında spirostanol steroit yapısında olduğu spektroskopik analizlerle belirlenmiştir (Zhu ve ark., 2021).

Yapılan bir diğer çalışmada, *A. cochinchinensis*'in kurutulmuş köklerinden (5 kg) sulu etanol (%90) ile 80°C'de elde edilen ekstre çözücü uzaklaştırıldıktan sonra makro gözenekli reçine kolona değişen yüzdelerde (sırasıyla %25, %70 ve %90) sulu etanol geçirilerek uygulanmıştır. Elde edilen %70'lik etanollü kısım alçak basınç

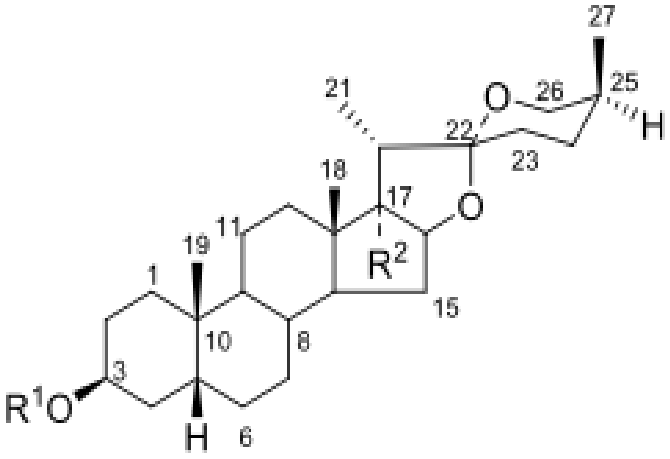
altında yoğunlaştırılmış, elde edilen steroidal saponince zengin fraksiyon (153 g) Silika jel kolona uygulanmıştır. Gerçekleştirilen gradient elüsyonda çözücü sistemi kloroform:metanol:su (80:20:2 → 65:35:10) tercih edilmiştir. Elde edilen beş fraksiyondan biri, kloroform:metanol:su (9:1:0,1) çözücü sistemi ile tekrar Silika jel kolon kromatografisine uygulanmıştır. Elde edilen fraksiyonlardan birinden protodiosin saflaştırılmış birinden ise semi preparatif YPSK ile furostanol yapısında yeni bir bileşik olan 26-O-β-d-glukopiranozil-22α-hidroksil-(25R)-Δ5(6)-furost-3β,26-diol-3-O-α-l-ramnopiranozil-(1→2)-[β-dglukopiranozil-(1→4)-α-l-ramnopira nozil-(1→4)]-β-d-glukopiranozit izole edilmiştir. Elde edilen fraksiyonlardan bir diğeri ise önce Silika jel kolona uygulanmış, sonrasında semi preparatif YPSK ile(25R)-26-O-β-d-glukopiranozil-3β,20α,26-trihidroksifurostan-5,22-dien-3-O-α-l ramnopiranozil-(1→2)-[α-Lramnopiranozil-(1→4)]-O-β-d-glukopiranozit ve diosko rezit-H izole edilmiştir (Zhang ve ark., 2021).

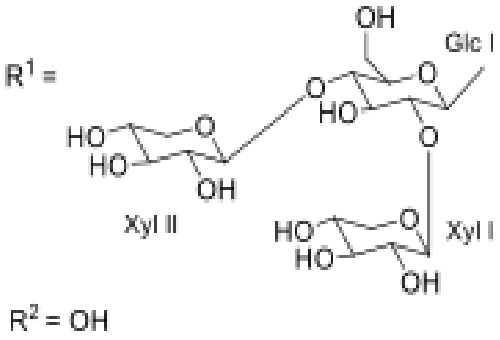


Şekil 1.2. *Asparagus* türlerinden izole edilen bazı saponinler.

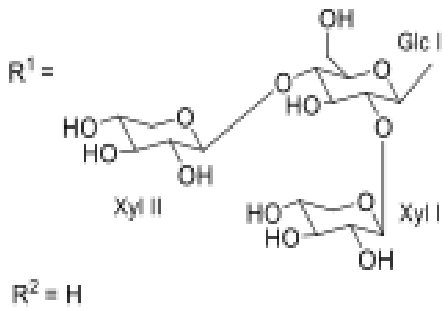


Şekil 1.2. Devam. *Asparagus* türlerinden izole edilen bazı saponinler.

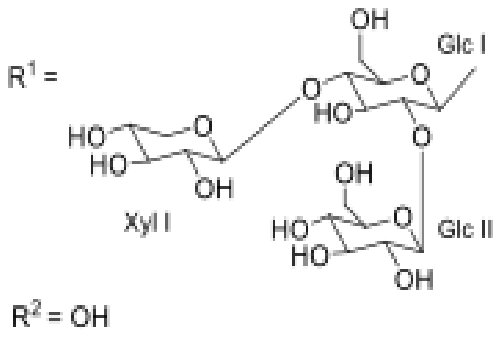




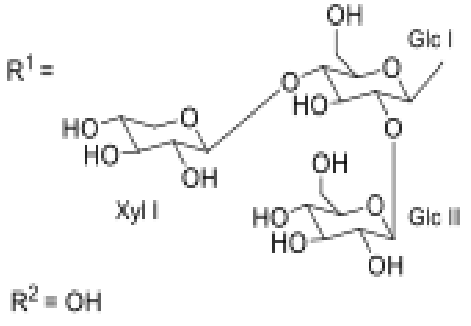
4 nolu bileşik



5 nolu bileşik

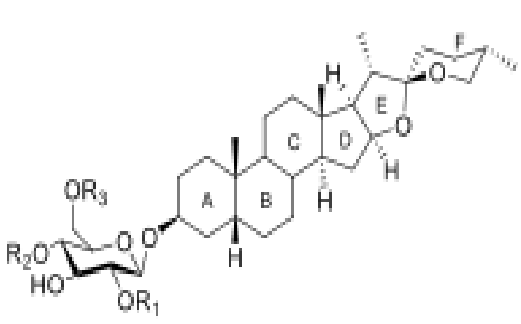


6 nolu bileşik

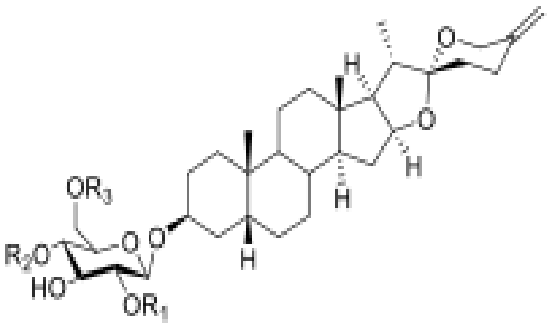


7 nolu bileşik

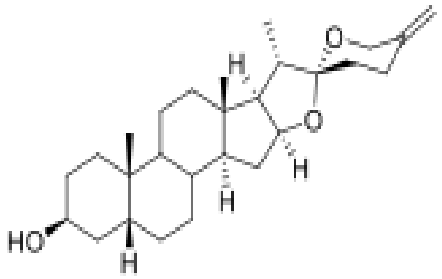
Şekil 1.2. Devam. *Asparagus* türlerinden izole edilen bazı saponinler.



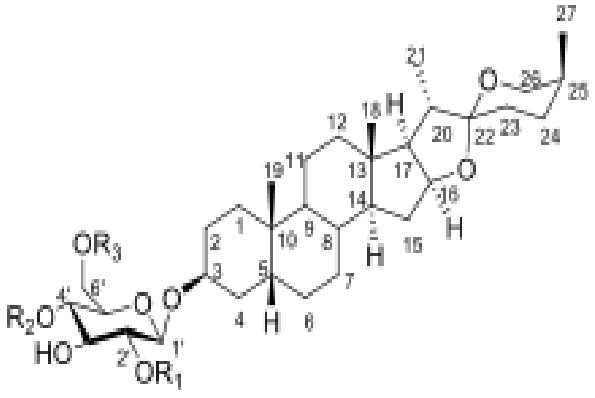
I



II



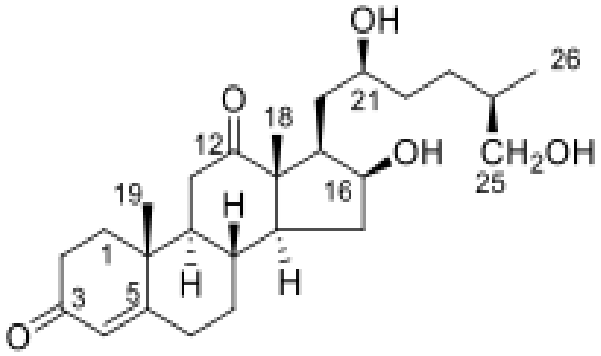
III



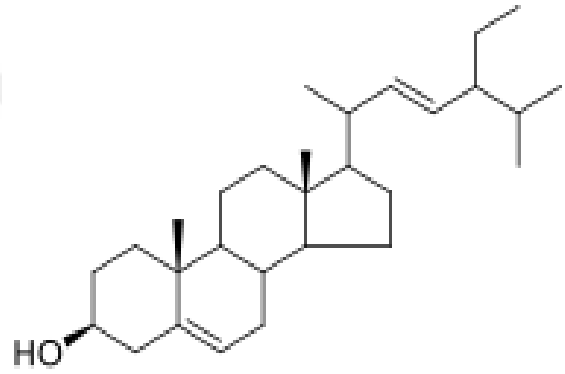
IV

Bileşik		R_1	R_2	R_3	
1	I	β-D-Glc	α-L-Rha	H	shatavarin VI
2	II	β-D-Glc	α-L-Rha	H	shatavarin VII
3	III	β-D-Glc	α-L-Ara	β-D-Glc	shatavarin VII
4	III	β-D-Glc	β-D-Glc	H	shatavarin IX
5	III	α-L-Rha	β-D-Glc (6-OAc)	H	shatavarin X
6	III	α-L-Rha	β-D-Glc	H	shatavarin V
7	III	β-D-Glc	α-L-Rha	H	shatavarin IV
8	III	β-D-Glc	H	H	asparinin A
9	III	α-L-Rha	α-L-Rha	H	immunozit
10	IV	β-D-Glc	α-L-Rha	H	shatavarin I

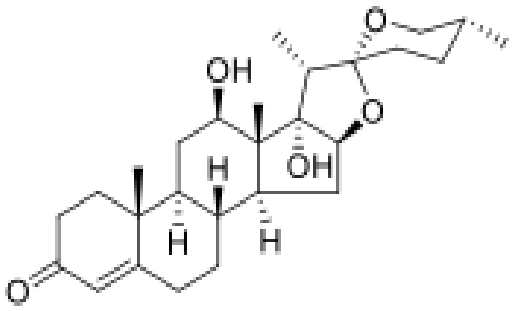
Şekil 1.2. Devam. *Asparagus* türlerinden izole edilen bazı saponinler.



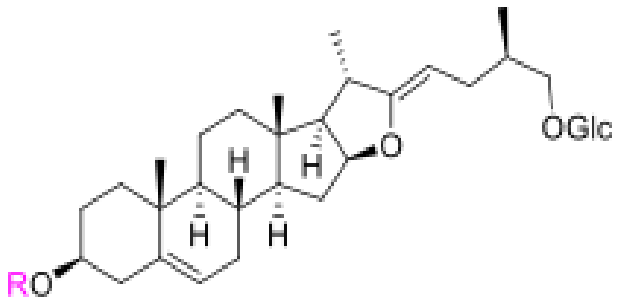
Asemosin

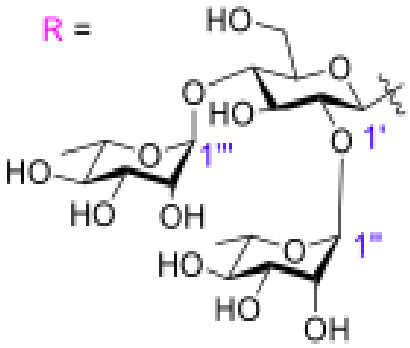


Stigmasterol



Asparagosin-A





dioskorezit-H

Şekil 1.2. Devam. *Asparagus* türlerinden izole edilen bazı saponinler.

1.1.5.1.3. Fruktooligosakkaritler

A. officinalis köklerinin etanollü ekstresinden uygun şekilde elde edilen numuneler jel permeasyon, anyon değiştirici reçine ve ince tabaka kromatografisine tabi tutularak fruktopolisakkarit yapısında aspagosin isimli bileşik izole edilmiştir, yapısı NMR analizleri ile aydınlatılmıştır (Shiomi, 1993).

A. racemosus köklerinden Soxhlet cihazı kullanılarak elde edilen sulu etanollü ekstreden izole edilen polisakkaritçe zengin bir fraksiyon; enzimatik, boyut dışlama kromatografisi, gaz kromatografisi (GC-FID), yüksek performanslı iyon değiştirme kromatografisi (HPAEC) ve ince tabaka kromatografisi analizlerine tabii tutulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde; %26,7 oranında 2→1 bağlı frukto-oligosakkarit varlığı saptanmış, 7-8 aralığında polimerizasyon derecesine sahip oldukları belirlenmiştir (Thakur ve ark., 2012).

Yapılan bir çalışmada, kültüre alınmış *A. officinalis* köklerinin farklı (iç, orta, dış) dokularındaki fruktanlar araştırılmıştır. Fruktanların kalitatif ve kantitatif analizleri yüksek performanslı anyon değiştirme kromatografisi (HPAEC-PAD) ile yapılmış, monosakkarit ve disakkaritlerin dışında, inülin ve neoseri tip fruktanların varlığına rastlanmıştır. Yine yapılan MALDI-MSI ile iç kök dokularına doğru fruktooligosakkaritlerin polimerizasyon derecesinin ve fruktopolisakkaritlerin miktarının arttığı saptanmıştır (Witzel ve Matros, 2020).

A. cochinchinensis kökleri etanol ile muamele edildikten sonra artık distile su ile ekstre edilmiş, ekstre santrifüj edildikten sonra supernatan kısmı yoğunlaştırılmıştır. Daha sonra %85 etanol ile çöktürülen fraksiyon liyofilize edilerek iyon değiştirici reçine ve jel filtrasyon kolon kromatografisine uygulanmıştır. Elde edilen polisakkarit fraksiyonunun yapısı ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, ^{1}H-^{1}H COSY ve NOESY inülin tip bir fruktan olup (1→2) bağlı α-D-Glc*p* ile biten, 2,1-β-D-Fru*f* kalıntısından oluşan doğrusal bir omurga taşıdığı bildirilmiştir (Sun ve ark., 2020).

1.1.5.1.4. Diğer Bileşikler

Mor renkli *A. officinalis* sürgünlerinin kabukları formik asitli su ile bir gece boyunca masere edilmiş, süzülen ekstre Diaion HP-20 reçine kolonundan geçirilmiştir. Yoğunlaştırılan ekstre, Sefadeks kolondan geçirilerek saflaştırılmış, daha sonra kağıt ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi analizlerine tabi tutularak 2 ayrı bileşik izole edilmiştir. Yapıları Q-FT-ICR MS ve ^{1}H NMR, ^{13}C NMR ve çift dimensiyonlu NMR (HMBC, TOCSY, DOFCOSY, NOESY ve ROESY vb.) spektroskopileri ile aydınlatılmıştır. Söz konusu bileşiklerin antosiyanidin yapısında siyanidin 3-[3”-(O-β-D-glukopiranozil)-6”-(O-α-L-ram nopirozil)-O-β-D-glukopiranozit] ve siyanidin-3-rutinozit olduğu tespit edilmiştir (Sakaguchi ve ark., 2008).

İspanya’da geleneksel olarak yaygın tüketimi bulunan farklı alanlardan toplanan genç ve olgun *A. acutifolius* sürgünlerinin karetenoit içeriği YPSK ile araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, hasat yeri ve zamanı ile karetonoit miktarı arasında bir bağlantı bulunmazken, luteolin (4,10-8,5), β-karoten (1,59-4,21), neoksantin (0,36-9,79) ve violaksatin (2,61-5,74) varlığına rastlanmıştır (Garcia-Herrera ve ark., 2013).

A. officinalis köklerinin proteince zengin ve besin değeri yüksek olduğu, ayrıca potasyum, sodyum, kalsiyum, çinko, demir minerallerini taşıdığı belirlenmiştir. Yine %50 etanollü ekstresinin sekonder metabolik içeriği HPTLC analizleri ile araştırılmış, fenolik bileşikler taşıdığı saptanmıştır (Aberoumand, 2014).

Yapılan bir diğer çalışmada; *A. officinalis* köklerinden hazırlanan %95 etanollü ekstre çözücüsünden uzaklaştırılıp distile su ile süspanse edildikten sonra etil asetat ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapılmıştır. Elde edilen etil asetatlı ekstre, kloroform:metanol çözücü sistemi ile Silika jel kolona uygulanmıştır. Kolon fraksiyonları tekrar Silika jel kolona uygulanmış daha sonra YPSK ile maddeler saflaştırılmıştır. Yapılan detaylı yapı aydınlatma çalışmaları neticesinde, daha önce

izole edilmiş niazol ve metoksiniazol bileşikleri ile asetilenik yapıda iki yeni bileşik olan asparaoffin A ve B bileşikleri elde edilmiştir. İzole edilen tüm bileşiklerin (Şekil 1.3) sitotoksisiteleri insan kanser hücre serisine karşı değerlendirilmiş, ancak herhangi bir aktivite göstermedikleri saptanmıştır (Li ve ark., 2016).

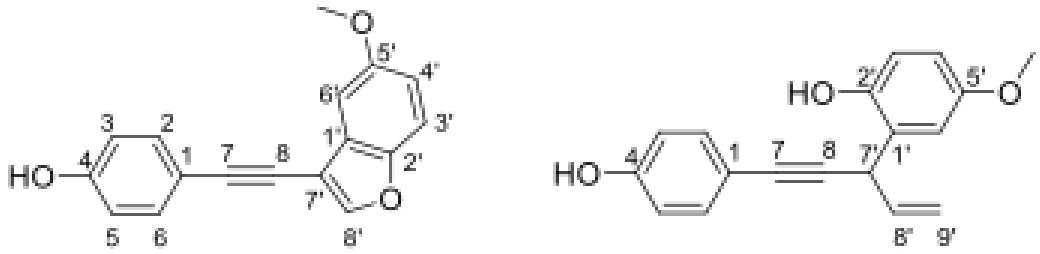
Yeni Zellanda ve Çin'de kültüre alınan *A. officinalis* köklerinin ekstraksiyonunda kullanılan yöntemin çözücü seçimi, zaman, sıcaklık, katı:sıvı oranı gibi parametreler açısından optimizasyonu araştırılmıştır. Sonuçlar; total flavonoit miktarı (TFC), total fenol miktarı (TPC), total saponin miktarı (TSC) sonuçlarına göre ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Bağımsız parametre değişkenleri kombinasyonuna göre; 51 °C sıcaklıkta, 73 dakika boyunca, %75'lik etanol ile 1:50 (katı:sıvı) oranı ile en yüksek düzeyde TFC (9,2–17,1 mg RE/g kök), TPC (14,7–35,2 mg GAE/g kök) ve TSC (9,2–17,1 mg RE/g kök) sonuçları elde edilmiştir. Metanol için ekstraksiyon koşullları 51 °C sıcaklıkta, 73 dakika boyunca, %75'lik metanol ile 1:50 (katı:sıvı) oranı ile en yüksek düzeyde TFC (12–13,4 mg RE/g kök), TPC (25,1–26,2 mg GAE/g kök) ve TSC (5,9–6,4 mg SE/g kök) sonuçları elde edilmiştir. Ayrıca numunelerin inozin içeriği de YPSK kullanılarak saptanmış; etanollü ekstrede 1,3 ila 6 mg/g, metanollü ekstrede ise 0,9 ila 4,1 mg/g oranında bulunduğu saptanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde etanollü ekstrelerin, metanol ile hazırlananlara kıyasla 1-1,5 kat daha fazla biyoaktif bileşik içerdiği ve daha yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır (Zhang ve ark., 2018).

Yapılan bir diğer çalışmada; *A. officinalis*'in atıklarının içeriği araştırılmıştır. Numuneden enzimatik ekstraksiyonla elde edilen protein pelleti alkalaz enzimi ile hidroliz edilmiş, daha sonra katı faz ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Elde edilen fraksiyonlar ters faz YPSK ve nano boyutta LC-M/MS ile analiz edilmiştır. Elde edilen 10 fraksiyonun potansiyel antioksidan etkisi araştırılmış, beş tanesinin biyoaktif açıdan da aktif olduğu saptanmıştır (Montone ve ark., 2019).

Yapılan bir çalışmada; *A. acutifolius* sürgünlerinin haşlanması yoluyla işlenmesinin besin değerinde değişikliğe yol açıp-açmadığı araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; protein, lipit, karbonhidrat ve lif değerlerinde değişiklik yaratmadığı,

bileşiminde yer alan, sodyum, potasyum, magnezyum ve çinkonun işlenmesi sebebiyle yaklaşık %50 oranında azalırken, kalsiyum, bakır, demir ve mangan içeriğinin ise stabil kaldığı saptanmıştır. Sürgünlerin folik asit, organik asitler ve C vitamini bakımından da zengin olduğu ve işlenme ile oranların değişmediği belirlenmiştir (Garcia-Herrera ve ark., 2020).

Yapılan bir çalışmada, *A. officinalis'*in kültüre alınmış mor ve yeşil renkli üç farklı numunesinin uçucu organik bileşik ve metabolitleri GC-IMS (Gaz kromatografisi-iyon mobilite spektroskopisi) ve LC-MS/MS ile analiz edilmiştir. GC-IMS sistemine headspace ile yapılan analiz sonuçlarına göre 23'ü aldehit, 11'i alkol yapısında olmak üzere 50 farklı uçucu organik bileşik tespit edilmiştir. Numunelerin uçucu organik bileşik miktarları örnekten örneğe değiştiği saptanmış, aldehit yapısındaki dekanal, 1-heptanol, etanol ve etil asetat bileşiklerinin sahip oldukları antioksidan, antibakteriyal, antimikrobiyal etkiler ile türün biyoaktivitesine katkı sağladıkları öne sürülmüştür. Diğer uçucu organik bileşiklerin *Asparagus* sürgünlerinin karakteristik tat ve kokusunda söz sahibi oldukları belirtilmiştir. LC-MS/MS analiz sonuçlarına göre; başlıca N-asetil-D-şipingozin, kersetin, rutin, 2-(beta-D-glukozil)-gliserol, (-)-jasmonik asit, 10(E), 2,3-dimetilmaleat, üredioglisin varlığına rastlanmıştır (Yang ve ark., 2022).





R=H Niyazol
R=OMe 3″-metoksiniyazol

Şekil 1.3. *Asparagus* türlerinden izole edilen diğer bazı bileşikler.

1.1.5.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

1.1.5.2.1. Antioksidan Aktivite

Farklı yerlerde kültüre alınmış (İspanya triguero varyetesi, Amerikan hibridi vb.) farklı renkte *A. officinalis* sürgün ve konserve sanayi yan ürünlerinin antiradikal aktiviteleri (DPPH), oksidasyon inhibisyonları ve Demir (III)) indirgeyici güç kapasiteleri değerlendirilmiştir. Numunelerin farklı konsantrasyonlarının, 6 farklı standarda karşı elde edilen sonuçlarına göre, total fenol içeriği ile korelasyon gösterecek şekilde, antioksidan aktivite sergiledikleri saptanmıştır. EC50 değerleri kuru ekstre/mL çözelti cinsinden standartlar için <0,5 iken, DPPH radikali süpürücü etkide, ekstreler için 10,47 ila 158,41 arasında; oksidasyon inhibisyonu için 3,07 ile 17,05 arasında; indirgeyici güç tayini için mg kersetin eşdeğeri/mL cinsinden 0,05 ile 0,33 arasında değiştiği bildirilmiştir. Numunenin orjininin, aynı orjine sahip numunelerde genetiğin antioksidan etki için önemli parametreler olduğu, yan

ürünlerin de antioksidan etkili nutrasötik olarak değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir (Rodríguez ve ark., 2005).

Başka bir çalışmada, kuşkonmaz (*A. officinalis*) sürgünlerinin *in vitro* antioksidan etkisi brokoli (*Brassica olearacea*) ile kıyaslanmış, DPPH, ABTS radikallerini süpürücü etki ve β-karoten ağartıcı etki ile kıyaslanmıştır. Sebzelerden metanol, aseton ve kullanılarak hazırlanan ekstrelerin ve sularının, total flavonoit içeriği ile korelasyon gösterecek şekilde antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde; total fenol içeriklerinin benzer olduğu, kuşkonmazın brokoliden daha yüksek total flavonoit miktarına sahip olduğu ve ekstreler ile suyunun daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği görülmektedir. Yine sulu ekstrelerin metanollü ve asetonlu ekstrelere kıyasla daha düşük aktivite gösterdiği, bunun ekstreye geçen flavonoit içeriği ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Sun ve ark., 2007).

Kuşkonmaz (*A. officinalis*, triguero varyetesi) sürgünlerinin işlenmesi sırasında atık olarak oraya çıkan yan ürünlerden süre, sıcaklık, çözücü ve kurutma gibi farklı ekstraksiyon parametreleriyle elde edilen lifçe zengin ekstrelerin antioksidan kapasiteleri DPPH radikal süpürücü aktivite ile kıyaslanmıştır. Sonuçlar troloks eşdeğeri olarak belirlendiğinde; en yüksek antioksidan aktivitenin 90 dakika, 60 °C'de, etanol ile dondurarak kurutmayla elde edilen ve 1 saat, oda sıcaklığında, su ile fırında kurutma ile elde edilen ekstrelerde olduğu saptanmıştır (Fuentes-Alventosa ve ark., 2009).

Yapılan bir çalışmada, *in vivo* ortamda yetiştirilen *A. officinalis* bitkisinin antioksidan aktivitesi süperoksit dismutaz, eritrosit hemoliz ve DPPH radikal süpürme yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar hem *in vitro* yetişen numuneden, hem de farklılaşmamış kallus hücrelerinden elde edilen etanollü ekstrelerle kıyaslanmıştır. Her üç yöntem içinde, en yüksek antioksidan kapasite *in vivo* yetiştirilen numunenin sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tüm numunelerin antibakteriyel aktiviteleri araştırılmış, herhangi bir etki göstermedikleri saptanmıştır (Khorasani ve ark., 2010).

Yeşil renkli *A. officinalis* sürgünlerinin sulu ekstresinin antioksidan etkisi *in vitro* ve *in vivo* olarak araştırılmıştır. Sulu ekstrenin 0,05, 0,2 ve 1 mg/mL konsantrasyonlarda hücre içi önemi fizyolojik görevlere sahip indirgeyici ajan glutatyonun seviyelerin etkisi B16 hücre serisi üzerinde araştırılmıştır. Ekstrenin 1 mg/mL konsantrasyonda hücre içi glutatyon seviyelerini %118'e kadar artttırdığı saptanmıştır. Ayrıca, 0,1 ve 0,5 mg/mL konsantrasyonlarında, önemli derecede DPPH radikalini süpürdüğü, şelatlama ve oksidatif hasara karşı lipozomal koruma sergilediği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2011).

A. officinalis'den elde edilen üç farklı polisakkaritin antioksidan aktiviteleri DPPH, hidroksil ve süperoksit radikallerini süpürücü aktivite yöntemleri ile *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, polisakkaritlerden birinin, 9 mg/mL konsantrasyonda en yüksek aktiviteyi sergilediği ve DPPH radikalini süpürme yüzdesinin pozitif kontrole de yaklaşarak, %99,6 değerini aldığı belirtilmiştir. Polisakkaritlerin diğer radikalleri süpürme yüzdelerinin, artan konsantrasyon değerlerine rağmen, %20-40 arasında kaldığı görülmektedir (Zhao ve ark., 2012).

Kültüre alınmış *A. officinalis* sürgünlerinin hasat zamanının antioksidan aktivite düzeyine etkisi, FRAP ve Cu (II) iyonu indirgeyici (CUPRAC) antioksidan kapasite yöntemleri ile araştırılmıştır. Kore'de ticari amaçla yetiştirilen tür filizlendikten 2, 4 ve 6 hafta sonra hasat edilmiş, kontrol grubu olarak hasat edilmemiş örnekler kullanılmıştır. Hasat süresinin uzamasıyla sürgün ve toplam verimlerin arttığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, tüm sonuçlar incelendiğinde, biyoaktif bileşenlerin miktarı ile orantılı şekilde, en yüksek değerin 6. hafta hasat edilen numuneye ait olduğu saptanmıştır (Lee ve ark., 2014).

Kuşkonmaz sürgünlerinin; üç farklı sürede kaynatılma, kızartılma, ızgara yapılma, mikrodalgada, fırında ve buharda pişirilmelerinin antioksidan kapasitesine etkileri, çiğ sürgünlere kıyaslanarak araştırılmıştır. FRAP ve ORAC antioksidan aktivite deneyleri ile elde edilen sonuçların kullanılan teknik ve süre farketmeksizin pişirmenin antioksidan etkiyi arttırdığı veya aynı bıraktığı yönünde olduğu

bildirilmiştir. Fenolik bileşik kayıplarını da minimalize etmek adına mikrodalgada veya buharda pişirmenin önerildiği de belirtilmiştir (Drinkwater ve ark., 2015).

Beş farklı yerde kültüre alınmış, yeşil renkli *A. officinalis* sürgünlerinin fitokimyasal içerikleri aydınlatılmış ve antioksidan aktiviteleri DPPH ve OH radikali süpürücü aktivite yöntemleri ile değerlendirilmiştir. En yüksek total fenol içeriğine sahip, en çok rutin taşıyan genotipin en yüksek antioksidan aktiviteyi sergilemiş olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2017).

Çin ve Yeni Zelanda'da kültüre alınmış beyaz, sarı, mor ve yeşil renkli *A. officinalis* köklerinden sıcaklık, süre, çözücü seçimi, katı:sıvı oranı gibi farklı ekstraksiyon parametreleri ile elde edilen ekstrelerin antioksidan aktiviteleri DPPH ve ABTS radikal süpürücü aktivite, FRAP metodu, (O^{2-}) süperoksit anyonu radikal süpürücü aktivite ve β-karoten ağartma *in vitro* testleriyle araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, en yüksek antioksidan aktiviteyi, Çin'de kültüre alınmış sarı renkli örneğin gösterdiği belirlenmiştir. İkinci sırada Yeni Zelanda'da kültüre alınmış mor renkli örnek gelmekte olup en düşük aktiviteyi Çin'de kültüre alınmış yeşil renkli numunenin gösterdiği saptanmıştır. Antioksidan aktivite için en iyi ekstraksiyon parametreleri; %70 etanol, 50 °C, 78,5 dakika, 1:40 katı sıvı oranı ile %80 metanol, 50 °C, 76,5 dakika, 1:40 katı sıvı oranı olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte etanollü ekstrelerin, metanollü olanlara kıyasla 1-1,5 kat daha yüksek aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (Zhang ve ark., 2018).

Yapılan bir diğer çalışmada yine Çin ve Yeni Zelanda'da da kültüre alınmış farklı renklerdeki *A. officinalis* köklerinden değişen polaritede 9 farklı çözücü (etil asetat, su, metanol, etanol, izopropil alkol, aseton, n-bütanol, kloroform ve petrol eteri) kullanılarak hazırlanan ekstrelerin antioksidan etkileri; Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (FRAP), ABTS radikal süpürücü aktivite, β-karoten ağartma testi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde en yüksek değerin Çin'de kültüre alınmış sarı renkli kuşkonmaza ait olduğu, sonrasında mor renkli varyetelere ait olduğu, ekstraksiyon için en uygun çözücülerin de etanol ve metanol olduğu belirlenmiştir. 50°C sıcaklıkta, 78,5 dakika, %70 etanol kullanılarak 1:40

(katı:sıvı) oranı ile en yüksek düzeyde DPPH (%38,9–78,1), ABTS (%36,6–61,2), FRAP (0,54–1,69 μmol/g), β-karoten ağartma yöntemi (% 51,2–76,0) ve O^{2-} radikali süpürücü etki (%42,5–70,2) sonuçları elde edilmiştir. Ekstraksiyon 50 °C sıcaklıkta, 76,5 dakika boyunca, %80 metanol kullanılarak 1:50 (katı:sıvı) oranı ile yapıldığında en yüksek düzeyde DPPH (%55,8–69,9), ABTS (%43–52), FRAP (0,54–0,59 μmol/g), β-karoten ağartma yöntemi (%49,2–71,2) ve O^{2-} radikali süpürücü etki (% 34,4–41,6) sonuçları elde edilmiştir (Zhang ve ark., 2018).

Diğer bir çalışmada ise; yine Çin ve Yeni Zelanda'da da kültüre alınmış farklı renklerdeki *A. officinalis* köklerinden ekstraksiyon sıcaklığı, süresi, çözücü seçimi ve konsantrasyonu, katı:sıvı oranı, karıştırma hızı, ultrasonik frekans ve güç gibi farklı ekstraksiyon parametreleri ile elde edilen ekstrelerin antioksidan aktiviteleri; DPPH radikal süpürücü aktivite, Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (FRAP) ve (O^{2-}) süperoksit anyonu radikal süpürücü aktivite ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, etanollü ekstrenin (80 dakika, %50 etanol, 360W ve 1:40) metanole (114,9 dakika, %73,7 metanol, 410W ve 1:24) kıyasla daha biyoaktif olduğu, ultrasonik destekli ekstraksiyonun mikrodalga destekli ekstraksiyona kıyasla toplam antioksidan verimini %1 ila %5 oranında arttırdığı belirlenmiştir. Ayrıca en yüksek biyoaktif içeriğin Çin'de kültüre alınmış sarı renkli kuşkonmaza ait olduğu da bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2019).

İtalya'da kültüre alınmış *A. officinalis* yan ürünlerinden enzim hidrolizi sonrası preparatif ters faz kromatografisi ile elde edilmiş fraksiyonların antioksidan içeriği, DPPH radikal süpürücü aktivite ve ABTS radikal süpürücü aktivite ile tayin edilmiştir. Fraksiyonlardan ikisi ABTS süpürücü aktivite sonucu (%34 ve %40) aktif bulunmuş, üçü ise DPPH radikali süpürücü aktivite sonucuna göre (%39, %40 ve %47) aktif bulunmuştur. Aktif bulunan fraksiyonların bileşimi LC-MS/MS ile aydınlatılmış, saflaştırılan beş peptit dizisinin de aynı şekilde antioksidan içeriği araştırılmıştır. Peptit dizisinden üç tanesinin DPPH radikali süpürücü etkisine ait EC_{50} değerleri μmol/L cinsinden 10,71±4,86, 4,14±1,81 ve 6,76±4,54 bulunmuştur (Montone ve ark., 2019).

Beyaz, yeşil ve mor renkli, beş farklı genotipte (Grolim, Schwetzinger Meisterschuss, Gijnlim, Eposs, Huchel's Alpha) *A. officinalis* sürgünlerinin antioksidan aktiviteleri ABTS ve DPPH radikallerini süpürücü aktivite ile tayin edilmiştir. Tüm sonuçlar incelendiğinde, toplam fenol ve flavonoit içeriğinin bu değerler ile orantılı olarak antioksidan aktivitenin genotipe göre değiştiği görülmektedir. Her iki yöntemde de en yüksek radikal süpürücü aktiviteyi, yeşil renkli kuşkonmaz numunelerin göstermiş, sonrasında mor renkli örnekler yer almış, en düşük yüzdelere ise beyaz renkli numunelerin sahip olduğu belirlenmiştir (Kobus-Cisowska ve ark., 2019).

A. officinalis sürgünlerinin dip kısımlarının, mikrodalgada pişirme koşullarının antioksidan kapasiteye etkisi araştırılmıştır. Mikrodalgada süre (2, 4, 6 ve 8 dakika) ve güç çıkışı (150, 300, 450 ve 600 W) faktörleri her defasında bir parametre değiştirilerek değerlendirilmiş, en uygun koşulların 4 dakika boyunca 300 W'da pişirme ile gerçekleştiği saptanmıştır. Ayrıca pişirme süresi arttıkça hem toplam fenol içeriğinin azaldığı hem de DPPH radikali inhibe etme potansiyelinin düştüğü bildirilmiştir (Nguyen ve ark., 2019).

Taze *A. officinalis* köklerinden %70'lik etanol ile masere edilerek hazırlanan ekstrelerin antioksidan aktiviteleri indirgeme gücü tayini ve DPPH radikali süpürücü aktivite yöntemleri kullanılarak BHT standardına kıyasla test edilmiştir. Ekstrenin DPPH radikali süpürme aktivitesi için IC_{50} değeri 1117,65±14,26 µg/ml iken, BHT'ye ait değerden (64,35±4,09 µg/ml) önemli ölçüde yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ekstre, BHT'ye kıyasla kayda değer derecede daha düşük indirgeme yeteneği sergilemiştir (Fathalipour ve ark., 2020).

Türkiye/Hatay'dan toplanan *A. acutifolius* sürgünleri ile Kuzey Irak/Zahko'dan toplanan *A. officinalis* sürgünlerinin ekstrelerinin antioksidan aktivitesi toplam antioksidan ve oksidan durumları (TAS ve TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) ile ilk kez değerlendirilmiştir. Türlerin antioksidan aktivite sergilediği, oksidatif stres indeksi değerlerinin benzer olduğu, TAS ve TOS için *A. officinalis*'in, *A. acutifolius*' dan daha aktif olduğu bulunmuştur. Sonuçlar, farklı türler üzerinde yapılmış önceki

çalışma sonuçları ile de kıyaslanmış, bitkilerin besin maddesi olarak tüketilmesinin önerilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Mohammed ve ark., 2021).

İtalya'da toplanan *A. acutifolius* sürgünlerinin aseton:etanol (1:1) karışımı ile elde edilen ekstresinin antioksidan aktivitesi DPPH, hidroksil ve NO radikallerini süpürücü aktiviteleri kullanılarak değerlendirilmiştir. DPPH radikali için μg/mL cinsinden IC_{50} değerleri askorbik asit 50 iken, ekstre için 550; hidroksil radikali için mannitol 182 iken ekstre 125 olduğu bildirilmiştir. NO radikali için IC_{50} değerleri mg/mL cinsinden askorbik asit 0,16 iken, ekstre için 1 olarak bulunmuştur (Kasture ve ark., 2009).

Güney İtalya'nın Caserta bölgesinden toplanan *A. acutifolius* sürgünlerinin, antioksidan kapasiteleri DPPH radikal süpürücü aktivite, H_2O_2 süpürücü aktivite ve NO süpürücü aktivite yöntemleri ile değerlendirilmiş, sonuçlar *A. officinalis* örnekleri ile kıyaslanmıştır. Pozitif kontrol olarak askorbik asit ve α-tokoferol standartları kullanılmış, IC_{50} değerlerinin sırasıyla 4,3 ile 5,28 ve 11,1 ile 15,1 mg/mL olduğu saptanmıştır. Her iki türün de antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiş, DPPH için IC_{50} değerleri *A. acutifolius* için 72,4 μg/mL, *A. officinalis* için 89 μg/mL bulunmuştur. H_2O_2 radikal süpürücü aktivite deneyinde, her iki kuşkonmaz türü de benzer zayıf etkiler göstermiş (>2 mg/mL), NO oluşumunu engellemede ise, *A. acutifolius* sürgünlerinin 56,7 μg/mL IC_{50} değeri ile daha aktif olduğu belirlenmiştir (Ferrara ve ark., 2011).

İber Yarımadası'nda geleneksel olarak tüketilen yabani yeşilliklerin antioksidan aktivitelerinin kıyaslandığı bir çalışmada, *A. acutifolius'* un sürgünleri de yer almıştır. Sonuçlar incelendiğinde μg/ml cinsinden EC_{50} değerlerinin DPPH radikal süpürücü etki için 423±24, indirgeyici güç tayini için 191±12 ve β-karoten ağartma testi için ise 166±7 olduğu saptanmıştır (Martins ve ark., 2011). Aynı yöntemlerle yürütülen başka bir çalışmada İspanya'da geleneksel olarak tüketilen yabani yeşillliklerin antioksidan içerikleri kıyaslanmış, yine Akdeniz diyetinin önemli bir parçası olan *A. acutifolius'* un sürgünlerine ait EC_{50} değerlerinin mg/ml

cinsinden sırasıyla, 4.87 ± 0.38, 1.62 ± 0.00 ve 0.47 ± 0.04 olduğu saptanmıştır (Morales ve ark., 2011).

Soxhlet cihazında kloroform kullanılarak hazırlanan *A. acutifolius* ekstresi ve metanollü alt ekstresinin, DPPH radikal süpürücü antioksidan aktivite, ABTS radikal süpürücü antioksidan aktivite, oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC), NO süpürücü antioksidan aktivite ve Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (FRAP) gibi birkaç farklı yöntemle antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Her iki ekstre için farklı (5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL) konsantrasyon derecelerinde yürütülen deneyler sonucunda, her iki ekstre de DPPH radikalini azaltabilmiş olsa da, ABTS radikalinde doza bağlı bir şekilde etki gösterdikleri saptanmıştır. Ayrıca ABTS radikal katyonuna karşı belirgin bir antiradikal aktivite sergileyen metanollü ekstrenin, ID_{50} değeri 38,12 µg/mL olup kloroformlu ekstreden daha aktif olduğu bulunmuştur. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) deneyinde, ekstrelerin artan dozunun 2,2-azobis(2-aminopropan)diklorit (AAPH)'in parçalanmasıyla oluşan peroksi radikali oluşumuna bağlı olarak zamanla fluoresein'nin bozulmasını engellediği belirtilmiştir. Yine NO antiradikal etkinin doza bağlı olduğu, bununla birlikte metanollü ekstrenin en yüksek konsantrasyondaki NO süpürme kabiliyetinin kloroformdan yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın en çarpıcı sonucunun ise, metanollü ekstreye ait olduğu ve Demir (III) iyonlarının %50'sini indirgeyen dozunun 13,6 µg/mL bulunduğu bildirilmiştir (Di Maro ve ark., 2013).

Suriye'de doğal olarak yetişen *A. acutifolius*'un topraküstü kısımlarının metanollü ekstresinin antioksidan aktivitesi DPPH radikal süpürücü aktivite ile araştırılmıştır. Pozitif kontrol olarak seçilen BHT standardına ait IC_{50} değeri mg/mL cinsinden 0,017 iken, *A. acutifolius* için bu değerin 0,15 olduğu sonucuna varılmıştır (Kitaz Adawia, 2016).

Başka bir çalışmada, *A. acutifolius*'un Türkiye/Denizli'den toplanan yaprak ve meyvelerinin sulu ve etanollü ekstrelerinin antioksidan etkileri, antiradikal (DPPH, ABTS) süpürücü aktivite tayinleri, β-karoten-linoleik asit test sistemi ve fosfomolibden yöntemi ile belirlenmiştir. En yüksek antioksidan aktiviteyi

yapraklardan elde edilen etanollü ekstre göstermiştir. (IC_{50} değerleri; DPPH, 0,383 mg/mL ve ABTS, 0,145 mg/mL). Ayrıca tüm ekstrelerin β-karoten/linoleik asit test sistemi ile güçlü antioksidan kapasiteler sergilediği, fosfomolibden yönteminde ekstrelerin antioksidan kapasitesinin ise 8,89-45,29 μg/mg aralığında değiştiği bildirilmiştir (Kaska ve ark., 2018).

Çin ve Yeni Zelanda'da kültüre alınmış farklı renkli *A. officinalis* köklerinden elde edilen ekstrenin, HepG2 and L929 hücre serilerinde H_2O_2 (500mM) ile indüklenmiş oksidatif strese karşı etkinlikleri MTS hücre proliferasyon ve LDH ölçümleri ile değerlendirilmiştir. Ekstreler, 0,03125 ve 1 mg/ml arasında değişen 6 farklı konsantrasyonda uygulanmış, Çin'de kültüre alınan yeşil renkli türün, düşük dozlarda (0,25, 0,125, 0,0625 ve 0,03125 mg/mL) aktif olmadığı saptanmıştır. Yeni Zelanda'da kültüre alınan yeşil türün, test edilen hücre serilerinin canlılığını korumada kayda değer etkiler gösterdiği, LDH membran sızıntısını Çin'de kültüre alınan beyaz türe göre daha yüksek oranda inhibe ettiği bildirilmiştir. H_2O_2 ile muamele edilmiş L929 hücrelerindeki canlı hücre sayısı, Yeni Zelanda'da kültüre alınan yeşil renkli türün 0,25 mg/mL konsantrasyonunda, Çin'de kültüre alınmış beyaz renkli türün 1 mg/mL'lik bir konsantrasyonda yarattığına benzer bir etki meydana getirmiştir (Zhang ve ark., 2019).

Yapılan bir çalışmada; farklı pişirme şekilllerinin (katynatma, buharda haşlama ve mikrodalgada pişirme) *A. acutifolius* sürgünlerinin antioksidan içeriğine etkisi ABTS radikalini süpürücü aktivite yöntemi ile değerlendirilmiştir. Pişirme işlemlerinin fenolik bileşik kompozisyonunu etkilemediği, hatta bazı bileşiklerin miktarında artışa yol açtığı bildirilmiştir. Kaynatarak pişirme toplam fenolik madde miktarını azaltmakta, aynı zamanda antioksidan aktivitenin de düşmesine yol açmaktadır. Sürgünlerin buharda haşlanarak veya mikrodalgada pişirilerek tüketilmesi önerilmiştir (Sergio ve ark., 2020).

İtalya'da geçmişten bu yana zengin besin kaynağı kabul edilerek gıda olarak tüketilen bazı bitkilerin çiğ, pişirilmiş ve pişirme suyundaki antioksidan aktivite değerleri ABTS radikal süpürücü aktivite ile araştırılmıştır. Çalışma kapsamına

alınan *A. acutifolius* sürgünlerinin pişirme suyu ve çiğ materyaldeki mg askorbik asit eşdeğeri cinsinden eşit (1,68±0,03) olduğu, pişmiş materyalin ise diğerlerine kıyasla çok düşük (0,23±0,01) olduğu saptanmıştır (Monari ve ark., 2021).

A. acutifolius bitkisinin ticari değeri olmayan yaprak, kök, perikarp ve rizom gibi farklı kısımlarının etanollü ekstresinin antioksidan etkileri, antiradikal (DPPH, ABTS) süpürücü aktivite ve FRAP metodu ile değerlendirilmiştir. DPPH ve FRAP ölçümlerinde, yaprak ve gövde ekstreleri en yüksek, perikarp ekstresinin ise en düşük aktiviteyi sergilediği saptanmıştır. Şaşırtıcı bir biçimde, ABTS ölçümlerinde ise perikarp en aktif ekstre olduğu bildirilmiştir (Hamdi ve ark., 2021).

1.1.5.2.2. Antitümör Aktivite

A. officinalis sürgünlerinin yenilmediği için atılan kısımlarından elde edilen saponinlerin tümör büyümesi ve metastazı inhibe edici etkileri değerlendirilmiştir. Hazırlanan steroidal saponince zengin fraksiyon, 200, 400, 600, 800 veya 1200 μg/ml dozlarda insan meme kanseri hücre serisi MDA-MB-231 ve Bcap-37, kolon kanseri hücre serisi SW620 ve HCT116 ile pankreas kanseri hücre serisi PANC-1 ve PANC-28 üzerinde test edilmiştir. Sonuçlar, fraksiyonun söz konusu kanser hücre serilerinde canlılığı konsantrasyona bağlı bir şekilde, 809,42 ile 1829,96 μg/mL arasında değişen IC_{50} değerleri ile baskıladığı yönündedir. Fraksiyonun, 400μg/ml inhibitör konsantrasyonu ile hücre göçü ve istilasını engelleme potansiyelinin sitotoksik etkisinden daha fonksiyonel olduğu saptanmıştır. Mekanistik bir çalışma sonuçları, kanser hücrelerinde hareketliliği kontrol etmede önemli bir rol oynayann Rho GTPaz ailesinden RhoA'nın aktivitesini azaltıp, Cdc42 ve Rac1'in aktivitelerini belirgin şekilde arttırdığını ortaya koymaktadır (Wang ve ark., 2013).

İtalya'dan toplanan *A. acutifolius* bitkisinden Soxhlet cihazında kloroform kullanılarak hazırlanan ekstre ve ondan hareketle elde edilen metanollü alt ekstrenin, insan karaciğer (HepG2), akciğer (A549), rahim ağzı kanseri (HeLa) ve nöroblastom (SK-N-BE(2)) hücre serilerine yönelik antiproliferatif etkileri değerlendirilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde, HeLa hücrelerinin, bitki ekstrelerine karşı diğer hücre serilerine göre daha yüksek duyarlılık gösterdiği görülmüştür. İnhibitör potansiyelinin inkübasyon süresi ile doğru orantılı olarak arttığı, kloroformlu ekstrenin ID_{50} değeri 15.4 µg/mL iken, metanollü ekstrenin 38.3 µg/mL değrine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca klororoformlu ekstre, HepG2 hücrelerinin büyümelerini de inhibe etmiş, ID_{50} değerlerinin 24 ve 48. saatlerde 70,8 µg/mL ve 55,2 µg/mL olduğu saptanmıştır (Di Maro ve ark., 2013).

Kuşkonmaz ekstresinin yanı sıra polisakkaritlerinin karaciğer tömörünün büyümesini inhibe ettiği, düşük toksik etkilere sahip olduğu, karaciğer ve böbrek fonksiyonel hasarını azalttığı, ortotopik hepatoselüler karsinoma modelinde *in vivo* olarak kanıtlanmıştır (Weng ve ark., 2015).

A. aphyllus bitkisinin etanollü ekstresinin 0 ile 1000 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarında insan monosit hücre serisi (THP-1) ve karaciğer hücre serisi (HepG2) hücrelerindeki olası sitotoksik ve sitostatik etkileri MTT testi ve LDH ölçümü ile belirlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, bitkinin üç kültürün hepsinde test edilen tüm konsantrasyonlarda, herhangi bir sitotoksik veya sitostatik belirti göstermediği saptanmıştır (Kmail ve ark., 2015).

A. officinalis köklerinden kromtografik yöntemlerle saflaştırılan bileşiklerin insana ait lösemi (K562), karaciğer (HepG2), akciğer (A549), servikal (HeLa), meme (MCF-7) ve kolon (HCT-116) hücre serilerinde *in vitro* olarak; H22 ile S180 hücresi taşıyan farelerde *in vivo* olarak test edilmiştir. Beş farklı konsantrasyondaki Asparinin A isimli bileşiğinin hücre canlılığı MTT ile test edilmiş; farklı hücre serilerinde $IC_{50}<10$ µg/ml olacak şekilde potansiyel antitümör etki gösterdiği saptanmıştır. *In vivo* testler için tümör inokulasyonundan bir gün sonra, asparinin-A, 25, 50 ve 100 mg/kg dozlarda,10 gün boyunca her gün, intraperitonel enjeksiyon yoluyla uygulanmıştır. Her bir grup 12 hayvan olacak şekilde, 5 grup halinde yürütülen deneylerde; pozitif kontrol grubu sisplatine ait % inhibisyon değeri 81,5 iken asparanin A uygulanan gruplarda en yüksek dozda bu değerin %51,1 seviyesine

ulaştığı saptanmıştır. Elde edilen *in vivo* ve *in vitro* bulgular, asparanin A'nın tümör tedavisinde umut vadeden bir potansiyeli olduğu düşünülmektedir (Li ve ark., 2017).

A. officinalis'den saflaştırılan polisakkaritlerin endometriyal kanser hücre ve tömör büyümesi üzerindeki etkisi 4 farklı endometriyal kanser hücre serisi üzerinde incelenmiştir. Kullanılan hücre serileri, ECC-1, HEC-1A, Ishikawa ve KLE olup farklı konsantrasyondaki kuşkonmaz polisakkaritlerine karşı hücre büyümesi MTT ile ölçülmüştür. Bitkinin, dört endometriyal hücre hattının tamamı için doza bağlı bir şekilde büyümeyi engellediği (IC_{50} 0,75-1 mg/ml) saptanmıştır. Aynı çalışma kapsamında, endometriyal kanser transgenik fare modeli üzerinde ekstrelerin etkisi *in vivo* olarak immünohistokimyasal çalışmalarla değerlendirilmiştir. Fareler, diyete bağlı obeziteyi taklit etmek amacıyla az yağlı ve çok yüksek yağlı olacak şekilde beslenmiş; *Asparagus* polisakkaritleri farelere tümör başlangıcında, 4 hafta boyunca günde 200 mg/kg veya 800 mg/kg olacak şekilde verilmiştir. Sonuçlar endometriyal kanser fare modelinde antitümörojenik aktivite sergilediği yönündedir (Sullivan ve ark., 2017).

İspanya'da yetişen Huétor-Tájar genotiplerinden kromatografik yöntemlerle saflaştırılan altı farklı saponin yapısı bileşiğin (HTSAP 1, 3, 6, 8 ve 10 ile protodiosin) kolon kanseri hücre serileri (HCT-116, HT-29 ve Caco-2) üzerindeki antiproliferatif etkinlikleri MTT kullanılarak test edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, protodiosin ve HTSAP-10'un üç farklı hücre serisinde de hem diğer bileşikler HTSAP-1, HTSAP-6 ve HTSAP-8'e hem de pozitif kontrol 5-fluorourasil (5-FU)'e kıyasla oldukça yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Jaramillo-Carmona ve ark., 2018).

A. acutifolius yaprak ve meyvelerinden hazırlanan sulu ve etanollü ekstrelerin sitotoksik etkisi, *Artemia salina* larvalarına olan öldürücü etkisi "tuzlu su karidesi öldürücülük testi" ile araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, bitkide güçlü sitotoksik aktiviteye sahip bileşenlerin varlığına işaret edilmiştir. Bu test için LC_{50} değerlerinin 1000 μg/mL altındaki değerlerin biyoaktif olduğu bildirilmiştir. Yaprak ekstresi için

LC_{50} değerlerinin 160,523 ile 236,454 μg/mL arasında değiştiği, meyve ekstreleri için ortalama 310 μg/mL civarında olduğu bildirilmiştir (Kaska ve ark., 2018).

A. acutifolius sürgünlerinden hazırlanan infüzyonunun insan mesane (T24) ve akciğer kanseri (A549) hücre serilerine karşı antiproliferatif ve proapoptotik özellikleri araştırılmıştır. Ekstrelerin 0,5 ila 4 mg/ml konsantrasyon aralığında antiproliferatif aktivitesi 4, 24, 48 veya 72 saatlik inkübasyon periyodundan sonra MTT testi ile, apoptotik aktiviteleri ise flow sitometri ölçülmüştür. Sonuçlar incelendiğinde, ekstrenin T24 hücre serisine karşı doz ve zamana bağlı antiproliferatif etki gösterdiği, A549 hücre serisine karşı da antiproliferatif etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca ekstrenin 2 mg/ml dozda erken apoptoz oranında kayda değer biçimde bir artış sağladığı belirlenmiştir (Bilušić ve ark., 2019).

A. officinalis'in etanollü ekstresinden kromatografik tekniklerle elde edilen steroidal saponin yapısındaki bileşik asparanin A'nın antikanser etkisi ve olası etki mekanizması endometrial kanser hücre serisi Ishikawa üzerinde incelenmiştir. Maddenin Ishikawa hücre proliferasyonunu inhibe ettiği, hücre morfolojisinde değişikliğe neden olduğu, G_0/G_1 fazında hücre döngüsünü durdurduğu saptanmıştır. Ayrıca, tümör büyümesini azalttığı ve apoptozis oluşumunu arttırdığı saptanmıştır. Apoptozisi; sitokrom c'nin yukarı regülasyonu, kaspazların aktivasyonu, PI_3K/AKT/mTOR yolağının inhibisyonuna yol açtığından mitokondriyal yol aracılığıyla indükleyebileceği belirlenmiştir (Zhang ve ark., 2020).

Yapılan bir diğer çalışmada, *A. officinalis*'in yan ürün olarak atılan sert gövdelerinden hazırlanan sulu ekstresinin, NIH/3T3 fibroblastları ve meme kanseri hücre serileri (MDA-MB231 ve MCF7) üzerindeki hücresel aktivite, hücresel morfoloji ve çoğalma ile apoptozis üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Ekstre 50, 100 ve 500'er μg/ml dozda uygulanmış, NIH/3T3 fibroblastlarında morfoloji ve dağılımda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca MDA-MB231 hücre serilerinde de tedaviden 48 saat sonraya kadar sonuçların aynı olduğu saptanmıştır. Meme kanser hücrelerinde apoptozisi indüklemeden G1/S hücre döngüsünü durdurarak konsantrasyona bağlı kayda değer sitotoksik aktivite gösterdiği

bulunmuştur. Ekstrenin ayrıca hücre göçünü önemli ölçüde inhibe ettiği ve tümör hücrelerine spesifik pro-oksidan aktiviteyi arttırdığı saptanmıştır (Arianna Romani ve ark., 2021).

A. officinalis sürgünlerinden hazırlanan sulu ekstrenin ovaryum kanseri üzerindeki antitümörijenik ve antimetastatik etkileri hem OVCAR5, SKOV3, OVCAR3, OV433, IGROV-1 ve Hey hücre serilerinde hem de yüksek dereceli ovaryum kanserli transgenik fare modeli üzerinde çok çeşitli ölçümlerle araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, ekstre uygulanmasıyla OVCAR5 ve SKOV3 hücre serilerinde hücre canlılığının azaldığı, hücre döngüsünde G1 fazının durmasına neden olduğu ve apoptozun indüklediği belirlenmiştir. Apoptoz indüksiyonu ve hücre proliferasyonunun pan-kaspaz inhibitörü Z-VAD-FMK aracılı gerçekleştiği de tespit edilmiştir. Ekstrenin her iki hücre serisinde de ROS seviyelerinde artış ve PERK, Bip, Calnexin PDI ile ATF4 artışlarına karşılık mitokondriyal membran potansiyelinde azalmaya yol açtığı saptanmıştır. *In vivo* çalışmalar için yüksek ve düşük yağlı diyet ile beslenen fareler her grupta 15 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrılmış, ekstreler farelere 200 veya 800 mg/kg dozda 4 hafta boyunca oral gavajla uygulanmıştır. İmmunohistokimyasal sonuçlar ekstrenin farelerde Ki-67 ekspresyonunu azaltarak diyet ve doza bağlı kayda değer bir fark olmaksızın tümör büyümesini inhibe ettiği yönündedir (Xu ve ark., 2021).

Türkiye ve Kuzey Irak'tan toplanan *A. acutifolius* ve *A. officinalis* sürgünlerinin metanollü ve diklorometanlı ekstrelerinin; akciğer kanseri hücre serisi A549 üzerinde antiproliferatif etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde *A. acutifolius*' un her iki ekstresinin, *A. officinalis*'in hem metanollü hem de dikolorometanlı ekstrelerinden daha yüksek antiproliferatif aktivite sergilemiştir. Her iki bitki türünden elde edilen ektrelerin de, A549 hücrelerinin canlılığını doza bağlı bir şekilde azalttığı da bildirilmiştir (Mohammed ve ark., 2021).

A. acutifolius bitkisinin yaprak, kök, perikarp ve rizomlarının etanollü ekstrelerinin, sitotoksik aktiviteleri, insan kolon kanseri (HCT-116) ve karaciğer kanseri hücre serilerinde (HepG2) MTT testi ile araştırılmıştır. Bitki kısımlarının, 0

ile 600 µg/mL arasında değişen dört farklı konsantrasyonda 48 saat inkübasyonu sonucunda, HCT-116 hücre serisinde yaprak ekstresinin (IC_{50}=116,54 µg/mL) rizomdan (IC_{50}=245,14 µg/mL) daha sitotoksik etkili olduğu belirlenmiştir. Kök ve perikarp ekstrelerinin test edilen koşullarda sitotoksik aktivite göstermediği bildirilmiştir. HepG2 hücre serisi için yaprak ekstresinin orta düzeyde etkili olduğu, rizomların ise (IC_{50}=245,14 µg/mL) oldukça güçlü bir sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır (Amel Hamdi ve ark., 2021).

A. officinalis'in %50 saponin taşıyan ekstresinin pankreas kanserine karşı etkinliği MDAPanc-28 hücre serisinde araştırılmıştır. Klojenik sağ kalım ölçümü yöntemi, proliferasyon ve kaptaz-3 aktivitesi ölçüm kitleri kullanılarak belirlenen sonuçlara göre; ekstre ile tedavi edilen MDAPanc-28 hücrelerinde koloni sayısı ve proliferasyonun şaşırtıcı bir biçimde arttığı, apoptoz belirteci kaptaz-3 aktivitesinin de azaldığı saptanmıştır. Ekstrenin pro-proliferatif etkisinin, antiproliferatif moleküller olan P21 ve P53 aşağı regülasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Potansiyel anti-apoptotik etkisinin ise, pro-apoptotik molekül FAS ölüm reseptörünün ve kaptaz-3 aktivitesinin aşağı regülasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Xiao ve ark., 2022).

1.1.5.2.3. Hipoglisemik Aktivite

A. officinalis tohumlarının metanollü ekstrelerinin 90 mg/kg streptozotosin ile indüklenmiş obez olmayan Tip-2 diyabet wistar ratlardaki antidiyabetik etkinliği araştırılmıştır. Ekstreler 28 gün boyunca oral yoldan günlük 250 mg/kg veya 500 mg/kg dozlarda uygulanarak etkinlikleri glibenklamide (5 mg/kg) kıyasla test edilerek, tedavi sonrası açlık kan şekeri, serum insülin ve toplam antioksidan durumları ölçülmüştür. Ekstrelerle tedavinin doza ve zamana bağlı şekilde yükselmiş kan şekerini baskıladığı saptanmıştır. Her iki dozda da insülin/glikoz oranını önemli ölçüde baskıladığı, pankreas beta hücre fonksiyonunu niteliksel ve niceliksel iyileşmelerle modüle ettiği, *in vivo* olarak toplam antioksidan seviyesini iyileştirdiği belirlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, *A. officinalis* ekstresinin 500 mg/kg dozda

standart anti-diyabetik ajan glibenklamide benzer etkinlik gösterdiği ortaya konmuştur (Hafizur ve ark., 2012).

Yapılan bir diğer çalışmada, *A. officinalis* odunsu gövdesinden elde edilen arıtılmış suyunun 0,6, 1,2 ve 2 g/kg dozlarda tek bir streptozosin intraperitonel enjeksiyonu ile indüklenen diyabet üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Toplam 21 gün süren tedavi sonunda, uygulamanın diyabetik sıçanlarda açlık serum glukozu, glikozillenmiş serum proteini, toplam kolesterol seviyesi ve malondialdehit düzeylerini önemli ölçüde azalttığı ancak serum insülin düzeyi, hepatik glikojen içeriği, serum ve karaciğerde süperoksit dismutaz aktiviteleri ile hepatik glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitelerini arttırdığı belirlenmiştir. Sonuçlar bitkinin hipoglisemik, insülin uyarı, hipotrigliseridemik ve aktioksidan etkileri olduğu düşünülmektedir (Jing-Jing ve ark., 2012).

A. officinalis yan ürünlerinden elde edilen saponinlerin yüksek yağlı diyet ve streptozosin ile indüklenmiş Tip-2 diyabetik sıçanlardaki antidiyabetik etkinliği araştırılmıştır. Saponinler 45 gün boyunca 20, 40 ve 60 mg/kg dozlarda uygulanmıştır. Tedavi sonrasında diyabetik sıçanlarda açlık serum glukozu ve serbest yağ asidi düzeylerinde kayda değer bir azalma ve hepatik glikojen ile yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol seviyelerinde ise önemli bir artış kaydedilmiştir. Saponinlerin 60 mg/kg dozda hem glukoz yüklemesinden sonra ölçülen kan glukoz düzeyini hem de oral glukoz tolerans testinde eğrinin altındaki alanı önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır (Zhu ve ark., 2020).

1.1.5.2.4. Antimikrobiyal Aktivite

A. officinalis'den elde edilen fraksiyon ve saponin türevi bileşiğin *Candida, Cryptococcus, Trichophyton, Microsporum* ve *Epidermophyton* cinsi mantarlar üzerindeki antifungal etkinliği araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, MİK değerlerinin mantarların cinsine göre değişmekle birlikte, saponin fraksiyonu için 5 ile 20 μg/ml arasında, bileşik için ise 0,5 ile 8 μg/ml arasında değiştiği görülmüştür.

Test sonuçları genellikle bileşiğin daha düşük MİK değerine sahip olduğu, bununla birlikte *C. albicans* için saponin fraksiyonunun daha aktif olduğu yönündedir (Shimoyamada ve ark., 1990).

A. acutifolius'un köklerinden saflaştırılan steroidal saponin ve spirostanol glikozit yapısındaki dört bileşiğin insana patojenik *C. albicans, C. glabrata* ve *C. tropicalis*'e karşı antifungal aktiviteleri dilüsyon testi ile değerlendirilmiştir. Bileşikler inoküle edildikten sonra 30 °C'de 48 saat inkübe edilmiş, referans bileşik olarak ketokanazol tercih edilmiştir. Sonuçlar ele alındığında, ketokanazole ait minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri 0,78 ile 1,56 μg/ml arasında değişirken bileşikler için 12,5 ile 100 arasında olduğu tespit edilmiştir (Sautour ve ark., 2007).

Triguero kuşkonmaz sürgünlerinin atılan taban kısımlarından oluşan yan ürünlerinden elde edilen flavonoitçe zengin ekstrenin, fitopatojen *Fusarium* türlerine karşı antifungal etkinliği *in vitro* olarak araştırılmıştır. *Fusarium* türlerinin çilek, karanfil, kuşkonmaz gibi bitkilere patojen, yer altı organ enfeksiyonundan sorumlu olduğu bilinmektedir. Sonuçlar incelendiğinde, ekstrenin kuşkonmaz çimlenmesi ve gelişimine zarar vermeksizin, çalışmanın yürütüldüğü üç farklı *Fusarium* türünün misel büyümesi ve spor oluşumunu inhibe ettiği, aynı zamanda yayılmasını azaltığı görülmüştür (Andrzejak ve Janowska, 2021; Rosado-Álvarez ve ark., 2014).

A. aphyllus bitkisinin yapraklarından farklı çözücülerle (metanol, etanol, su, etil asetat, kloroform) hazırlanan ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitesi, *Staphylococcus aureus, Proteus vulgaris, Kiebsiella pneumonia, Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli suşlarına karşı* agar difüzyon testi ile araştırılmıştır. Metanollü ekstrelerin 100 μg/mL konsantrasyonda test edilen organizmaların büyümesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Maksimum inhibisyon alanı, 2,27 cm ile Kiebsiella pneumonia'da görülmüştür. *Staphylococcus aureus*'a karşı 2,24 cm ve *Pseudomonas aeruginosa*' ya karşı 2,14 cm olduğu saptanmış, metanol, etanol ve sulu ekstrelerin, tüm test mikroorganizmalarına karşı 6,25 μg/ml'den daha düşük

minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) gösterdiği bildirilmiştir. En düşük antimikrobiyal aktiviteyi etil asetatlı ekstre sergilemiştir (Sharma ve Goel, 2018).

Türkiye/Hatay'dan toplanan *A. acutifolius* sürgünleri ile Kuzey Irak/Zahko'dan toplanan *A. officinalis* sürgünlerinin metanollü ve diklorometanlı ekstrelerinin; *Enterococcus faecalis, Acinetobacter baumannii, Staphylococcus aureus, S. aureus, Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* bakteri suşları ile *Candida albicans, C. krusei* ve *C. glabrata* maya suşlarına karşı antimikrobiyal etkinlikleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, ekstraksiyon çözücüsünün aktiviteye hemen hiç etkisinin olmadığı, türlerin çalışılan suşlara karşı 50-400 μg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda etkili olduğu bulunmuştur. Pozitif kontrol grubu olarak kullanılan amikasin, siprofloksazin, flukanazol, amfoterisin-B standartları için bu değerlerin 1,56 ile 3,12 μg/mL arasında kaldığı da belirtilmiştir. Türlerin antifungal aktivitesinin antibakteriyal aktiviteye göre çok daha yüksek olduğu da bildirilmiştir (Mohammed ve ark., 2021).

A. acutifolius bitkisinin yaprak ve rizomlarının etanollü ekstrelerinin, antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri Gram-pozitif (*Listeria monocytogenes* ve metisiline dirençli *S. aureus, Staphylococcus aureus, S. epidermidis, Enterococcus faecalis, E. faecium, Listeria monocytogenes* ve metisiline dirençli *S. aureus*), Gram-negatif (*Salmonella typhimurium, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae,* dirençli *K. pneumoniae, Citrobacter koseri,* dirençli *Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter cloacae,* β-Laktamaz Üreten *Escherichia coli*) ve mayalara (*Geotricum capitatum, Candida albicans, C. parapsilosis, C. galabrata* ve *C. tropicalis*) karşı değerlendirilmiştir. Sonuçlar rizom ekstresinin daha düşük olmakla birlikte yaprak ekstresinin inhibisyon alanının test edilen tüm bakteriler için 14 ila 22 mm arasında ve mayalar için ise 13 ila 27 mm arasında değişerek güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği yönündedir. Ayrıca, rizom ekstresinin hiç etki göstermediği *Listeria monocytogenes, Esclerichia faecalis* ve *Esclerichia coli* suşlarına karşı yaprak ekstresinin, pozitif kontrol gentamisin ve streptomisinden daha yüksek, güçlü bir aktivite sergilediği de bildirilmiştir (Amel Hamdi ve ark., 2021).

Türkiye/Aydın'da yetişen *A. acutifolius* bitkisinin sürgün ve köklerinden hazırlanan etanollü ekstrenin antimikrobial içeriği, 45 bakteri ve 3 mantara karşı, 50, 100 ve 200 μL disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, test edilen çeşitli suşlardan 15 tanesine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Ekstreler kıyaslandığında, taze sürgün uçlarından elde edilen ekstrenin 8-14 mm arasında değişen inhibisyon alanı ile kök ekstresine kıyasla daha aktif olduğu, 8 adet bakteri suşuna karşı oldukça yüksek aktivite sergilediği görülmüştür (Yakan ve ark., 2021).

1.1.5.2.5. Hipolipidemik Etki

Safra asidi devir daiminin azalması, yağ emilimini azaltarak ve safra asidi sentezi için kolesterol kullanarak, kolesterolü düşürmektedir. Safra asidi bağlama potansiyelinin kalp rahatsızlıkları riskini azaltmanın yanında kanseri önlemek ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Çeşitli taze sebzelerin, insan safrasında salgılanan safra asitlerinin bir karışımı kullanılarak, duedonal fizyolojik pH 6,3 değerinde, safra asidi bağlama kapasiteleri *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Referans bileşik olan kolestiramine kıyasla çiğ kuşkonmaz (*A. officinalis*) sürgünlerinin bağlama değerinin yaklaşık %4 olduğu saptanmıştır. Söz konusu değerin patlıcan, şalgam, yeşil fasulye, havuç ve karnabahardan önemli ölçüde daha yüksek olduğu saptanmıştır (Kahlon ve Chapman ve ark., 2007).

Yapılan bir diğer çalışmada, aynı sebzelerin buharda pişirilmiş halinin, safra asidini bağlama kapasiteleri, insan vücudunda salgılanan safra asitlerinin bir karışımı kullanılarak olarak değerlendirilmiştir. Kuşkonmaz sürgünlerinin referans bileşik kolestiramine kıyasla, kuru madde bazında *in vitro* safra asidi bağlama miktarının %10 olduğu bulunmuştur. Mide ve bağırsak sindirimini simüle eden fizyolojik koşullar altında yürütülen deneyde pişirmenin kuşkonmazın kolesterol düşürme etkisini arttırdığı belirtilmiştir. Sonucun, pişirilmiş havuç, yeşil fasulye, karnabahar ve şalgamdan kayda değer şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir (Kahlon ve Chiu ve ark., 2007).

A. officinalis sürgünlerinin endüstriyel işleme sırasında yan ürün olarak atılan kısımlarından hazırlanan etanollü ve sulu ekstrelerin iki hafta boyunca yüksek yağlı diyetle beslenen fareler üzerindeki hipolipidemik etkinliği araştırılmıştır. Referans bileşik olarak simvastatin seçilmiş, pozitif kontrol grubuna 20 mg/kg dozda uygulanmıştır. Ekstreler ise 8 hafta boyunca günde bir kez, 200 mg/kg dozda gastrik entübasyonla uygulanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde ise, vücut ağırlığı artışı, serum toplam kolesterol ve serum düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol düzeylerini önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Sulu ekstre ile tedavi edilen grupta, serum yüksek yoğunluklu lipoprotein seviyelerinin de arttığı kaydedilmiştir. Ekstrelerle tedavi edilen her iki grupta da, süperoksit dismutaz aktivitesi ve toplam antioksidasyon kapasitesi önemli ölçüde artmış, ekstre ile tedavi edilen farelerin karaciğer hücrelerinde malondialdehit seviyesi ve lipit damlacıklarının dağılımının azaldığı belirlenmiştir (Zhu ve ark., 2010).

Yapılan çalışmada, *A. officinalis* sürgünlerinin işlenme sırasında atılan yan ürünlerinden elde edilen etanollü sulu ekstrenin n bütanollü fraksiyonunun, 10 hafta boyunca yüksek yağlı diyetle beslenerek indüklenen hiperlipidemik fareler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Fareler, bir grupta 12 hayvan olacak şekilde 5 gruba ayrılmış, referans madde olarak simvastatin seçilmiş, *n*-butanol fraksiyonu ise gruplara 40, 80 veya 160 mg/kg dozlarda 8 hafta süreyle uygulanmıştır. Sürekli yüksek yağlı diyetle beslenmek farelerde oksidatif stres ve karaciğer hasarına neden olmuş, ekstre ile tedavi farelerde vücut ağırlığında, serum toplam ve LDL kolesteroleri kayda değer düzeyde azalttığı saptanmıştır. Ayrıca yüksek yoğunluklu lipoprotein seviyesini kayda değer şekilde arttırdığı, serum ALT, AST ve alkalin fosfataz düzeylerini düşürdüğü de kaydedilmiştir. Süperoksit dismutaz aktivitesi ve toplam antioksidasyon kapasitesi önemli ölçüde artmış; ekstre ile tedavi edilen farelerin karaciğer hücrelerinde malondialdehit seviyesi ve lipit damlacıklarının dağılımının azaldığı belirlenmiştir. Tüm sonuçlar birlikte ele alındığında, bitkinin güçlü hipolipidemik etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (Zhu ve ark., 2011).

A. officinalis Triguero varyetesinden hazırlanan ekstre ve çeşitli etken madde gruplarınca zengin fraksiyonlarının yağdan zengin beslenen sıçanların oksidatif

durumu ve lipid profili üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Liyofilize ekstre (500 mg/kg vücut ağırlığı/gün) ve kısmen saflaştırılmış flavonoitler (50 mg/kg vücut ağırlığı/gün), saponinler (5 mg/kg vücut ağırlığı/gün) ve diyet liflerince (500 mg/kg vücut ağırlığı/gün) zengin fraksiyonlar ile 5 haftalık tedaviden sonra plazma lipit değerleri, hepatik enzim aktiviteleri ve karaciğer malondialdehit (Majumdar ve ark.) konsantrasyonları ölçülmüştür. Saponince zengin fraksiyon hariç, liyofilize ekstre, lif fraksiyonu ve flavonoit fraksiyonu hiperkolesterolemik sıçanlara yüksek kolesterol diyetine kıyasla önemli bir hipolipidemik etki yaratmıştır. Ayrıca, liyofilize ekstre ve flavonoitce zengin fraksiyonun gruplarının, süperoksit dismutaz, katalaz ve redüktaz/peroksidazın yer aldığı hepatik antioksidan sistemlerde kayda değer düzeyde arttırdığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, MDA konsantrasyonlarında yüksek kolesterollü diyet grubuna kıyasla kayda değer bir azalma görüldüğü de tespit edilmiştir (Vázquez-Castilla ve ark., 2013).

Yapılan bir çalışmada, *A. officinalis* sürgünlerinden ard arda farklı enzimlerle muamele sonucu elde edilen çözünür diyet lifinin hipolipidemik etkileri araştırılmıştır. Sprey kurutma teknolojisi ile elde edilen iki farklı polisakkarit fraksiyonundan oluştuğu ve yapısının sırasıyla 19,93:1,02:1,94:32,17:1,00:1,91 moleküler oranında mannoz, ramnoz, galakturonik asit, glukoz, galaktoz ve arabinoz içerdiği saptanmıştır. Her grup, 10 adet spesifik patojensiz Kunming ırkı fareden oluşmaktadır. Çalışma; yüksek yağlı diyetle beslenenler, yüksek yağca zengin beslenen ve 400 mg/kg gün çözünebilir diyet lifi verilenler ve yüksek yağca zenginbeslenen ve 800 mg/kg gün çözünebilir diyet lifi verilenler olacak şekilde 4 grup halinde yürütülmüştür. Diyet lifi oral yoldan verilmiş ve 7 haftanın sonunda hayvanlar sakrifiye edilmiş, dışkı, karaciğer ve kan örnekleri toplanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, tedavinin serum düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, toplam kolesterol, trigliserit düzeylerini azalttığı belirlenmiştir. Tedavinin ayrıca barsak mikrobiyotasının kompozisyonunu önemli ölçüde etkilediği, özellikle *Firmicutes/Bacteroidotetes* oranını arttırdığı ve *Desulfobacterota, Proteobacteria, Actinobacteriota*'nın göreceli bolluğunu ve *Muribaculaceae, Bacteroides* ve *Alloprevotella*'yı artırdığı saptanmıştır (Zhang ve ark., 2021).

1.1.5.2.6. İmmunomodülatör Aktivite

Irak'da yapılan bir çalışmada, *A. officinalis* köklerinden elde edilen tozun 5, 10, 15 g/kg dozda ve su ile hazırlanan ekstresinin 5, 10, 15 mL/L dozda, etlik piliçlerin fizyolojik ve bağışıklık performansının iyileştirilmesine katkısı araştırılmıştır. Bazal diyetle beslenen civcivlerin yemine takviye edilen bitki ekstresinin uygulanan bütün dozlarda kontrole kıyasla RBC, WBC, hemoglabin ve PVC sayılarını arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca kökten elde edilen tozun 5 ve 10 g/kg dozda uygulanması; serum toplam proteini, albümin ve globulin seviyelerini kontrole kıyasla önemli ölçüde iyileştirmiş, serum glukoz, kolesterol ve trigliserit düzeylerinde ise kayda değer bir düşüş gözlenmiştir. Ayrıca fagositik aktivite, fagositik indeks, immun yanıt ve çeşitli hastalıkları karşı antikor titresinde iyileşmeler gözlenmiştir. Tüm sonuçlar incelendiğinde, kök tozunun 15 g/kg, sulu ekstrenin 15 mL/L seviyesinde takviyesinin piliçlerin fizyolojik ve bağışıklık performansının iyileştirilmesi bakımından en iyi sonuçların elde edildiği saptanmıştır (Al-Subaihawi Rasool ve Abbas, 2021).

1.1.5.2.7. Antihipertansif Aktivite

Yürütülen klinik çalışmada, kukonmaz (*A. officinalis*) köklerinden (200 mg) maydanoz (*Petroselinum crispum*) yaprağı ile kombine halinde geliştirilen tablet formundaki ticari preparatın günde 3 defa 4 tablet halinde 6 hafta boyunca kullanılmıştır. Vücut kitle indeksi 27'den büyük olan, yüksek kan basıncı olan ama antihipertansif ilaç kullanmayan ve antihipertansif kullanan ama kan basıncı normal olan 25 ile 79 yaş arası hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Acil hipertansiyon tedavisi görmesi gerekenler dışlandıktan sonra geriye kalan 163 katılımcıdan günde 12 tablet Asparagus P® almaları istenmiştir. Tedaviye katılan kişilerin 63 tanesinde oluşan bir alt grupta sistolik ve diastolik kan basınçları çeşitli parametrelere (evde cihazla, hastanede vb.) göre değerlendirilmiştir. Altı haftalık tedavi sonunda, 163 hastada toplam 269 advers olay meydana geldiği görülmüştür. Kontrol grubu olmaksızın yürütülen çalışmada, tüm sonuçlar incelendiğinde, bazı ölçümlerde

sistolik basınçlarda 2 ile 5,5 mmHg arasında düşüşler meydana gelmekle birlikte, antihipertansif etki bakımından klinik olarak yararlı herhangi bir bulgu göstermediği bildirilmiştir (Chrubasik ve Black, 2009; Chrubasik ve ark., 2006).

Biyoaktif bileşenlerce zengin *A. officinalis* işlenmesi sırasında oluşan yan ürünlerin enzim ile muamele edilmesi sonucunda elde edilen hidrolizat kromatografik yöntemlerle fraksiyonlardırılmıştır. Fraksiyonların olası antihipertansif etkileri *in vitro* ACE inhibitör aktivite ile araştırılmış, üç tanesinin %72, %77 ve %86 oranında yüksek inhibitör aktivite gösterdiği saptanmıştır. Fraksiyonlardan biyoaktif açıdan aktif, IC_{50} değerleri 1,76 ve 4,02 μmol/L olan iki yeni antihipertansif peptit saflaştırılmıştır (Montone ve ark., 2019).

1.1.5.2.8. Antienflamatuvar Aktivite

A. officinalis topraküstü ekstresinden izole edilen bileşiklerin, COX-1 ve COX-2 inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır. İzole edilen 9 bileşikten 5 tanesi inaktif bulunmuş, ferulik asit, 1,3-*O*-di-pkumaroilgliserol, 1-*O*-feruloil-3-*O*-p-kumaroil gliserolün COX-1'e karşı düşük inhibitör aktivite sergilediği belirlenmiştir. Buna karşın linoleik asitin COX-2'ye karşı kayda değer düzeyde ve COX-1'e karşı orta düzeyde aktif olduğu bildirilmiştir (Jang ve ark., 2004).

İtalya'da toplanan *A. acutifolius* sürgünlerinin aseton:etanol (1:1) karışımı ile elde edilen ekstresinin antienflamatuvar ve adaptojenik aktivitesi değerlendirilmiştir. Antienflamatuvar aktivite testi, erkek albino sıçanlarda, pençe ödem testi ile pozitif kontrol diklofenak sodyuma (10 mg/kg) karşı yürütülmüştür. Bitki ekstresi 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarda uygulanmış, üç saat süre sonunda ödemi sırasıyla %25 ve %38 oranında azalttıkları saptanmıştır. Çalışma kapsamında adaptojenik aktivite tayini için, ekstrenin süt ile indüklenmiş lökositozisteki etkinliği 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarda araştırılmış; diazepam (2533 ± 48.23 kubik mm) lökosit sayısını kayda değer bir biçimde düşürürken, *A. acutifolius* ekstresinin sırasıyla 4922,5 ±

102,73 ve 4332,5 ± 102,73 kübik mm oranında düşürdüğü belirlenmiştir (Kasture ve ark., 2009).

A. aphyllus bitkisinin sulu etanollü ekstresinin insan monosit hücre serisi (THP-1) makrofajlarında tek başına ve karaciğer hücre serisi (HepG2) ile birlikte LPS ile indüklenmiş pro ve anti enflamatuvar sitokinlerine (IL-6, TNF-α, IL-10) karşı etkinlikleri araştırılmıştır. Antioksidan aktivite ile paralel yürütülen çalışmada, ekstrenin toksik olmayan dozlarda TNF-α, IL-6 ve IL-10 düzeylerini modüle ettiği MTT testi ve LDH ölçümü ile belirlenmiştir. Sergilediği antioksidan aktivitenin de sonuçları destekler nitelikte olduğu saptanmıştır (Kmail ve ark., 2017).

1.1.5.2.9. Sinir Sistemi Üzerine Etkiler

Çin'de yapılan bir çalışmada, *A. officinalis* köklerinden hazırlanan sulu ekstrenin fare modelinde anksiyolitik benzeri etki potansiyeli yükseltilmiş artı labirent testi ve vogel çatışma testi kullanılarak araştırılmıştır. Referans bileşik olarak diazepam seçilmiş, ekstre ise 0,6 g/kg, 1,5 g/kg ve 3 g/kg dozlarda uygulanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, ekstre uygulamasının yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda geçirilen sürenin kontrol grubuna kıyasla uzadığı saptanmıştır. Vogel çatışma testinde ise, 1,5 g/kg ve 3 g/kg (250 ve 500 mg sarsasapogenin/kg vücut ağırlığı) dozlarda cezalandırılmış su içme sayısı sırasıyla %177'ye ve %174'e yükselmiştir. Aynı zamanda, serum kortizol seviyelerinde önemli ölçüde bir azalma görülmüştür (Cheng ve ark., 2013).

A. officinalis sulu ekstresinin, insana zararlı organofosforlu bir insektisit olan tarım ilacı Diazinon'a karşı olası antidot etkinliği ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Yetişkin, erkek, *Sprague Dawley* cinsi sıçanlar, 30 gün boyunca kimyasalın ¼ ve ½ oranında LD_{50} dozuna oral yoldan maruz bırakılmış, ekstre ise deney grubuna 300 mg/kg dozda yine oral yoldan verilmiştir. Çeşitli testler için kan ve doku örnekleri toplanmış, nörotoksisite riski taşıyan bileşik ile muamelenin; beyin, beyincik ve omurilik dokularında, doza bağlı şekilde antioksidan sistem enzim

düzeylerinde değişiklik yarattığı ve tümörjenik faktörlerin miktarını arttırdığı belirlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, glutatyon miktarı ve süperoksit dismutaz aktivitesinin artmasıyla toplam antioksidan kapasitenin düzeldiği ve ekstrenin potansiyel bir nörotoksik ajan olduğu görülmüştür (Elsaid ve ark., 2015).

1.1.5.2.10. Hepatoprotektif Aktivite

Asparagus türleri üzerinde dünyada yapılan hepatoprotektif etki çalışmaları incelendiğinde; genellikle Türkiye'de yetişmeyen türler üzerinde çalışıldığı görülmektedir:

Mısır'da yapılan bir çalışma; *A. racemosus*'un sıçan karaciğerinde parasetamol ile oluşturulan hasarı iyileştirdiği gözlemlenmiştir (El-Senosiy ve ark., 2015). Hindistan'da aynı türün köklerinin sulu ve etanollü ekstrelerinin kullanılmasıyla yapılan çalışmalarda; parasetamol ile indüklenmiş karaciğer hasarına karşı ekstrelerin etkinliği araştırılmıştır. Karaciğer ağırlık değişimi; SGPT, SGOT, ALP ve serum total biluribini gibi biyokimyasal parametreler; SOD, CAT gibi enzim düzeylerinin ölçümüne bağlı antioksidan çalışmalar ve histopatolojik çalışmalar neticesinde varılan sonuçlar bitkinin oldukça önemli hepatoprotektif etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu veri, bitkinin karaciğer hastalıklarının tedavisinde halk arasındaki geleneksel kullanımını doğrular niteliktedir (Rahiman ve ark., 2011; Rupesh-Kumar ve ark., 2011).

Bangladeş'de yapılan bir çalışmada; *A. racemosus*'un etanollü kök ekstresinin tek başına ve bir lipit düşürücü ajan olan fenofibrat ile beraber kullanımının diyabeti alloksanla indüklenmiş sıçanlardaki hepatoprotektif etkileri araştırılmıştır. Kombine halde kullanımın, kardiyovasküler hastalıklar ve hepatik disfonksiyonla ilişkili diyabette tekli terapiden daha etkin olduğu saptanmıştır (Al Mamun ve ark., 2017a).

Bangladeş'de yapılan başka bir çalışmada ise; aynı ekstrenin tek başına ve konvensiyonel antidiyabetik ajanlar olan gliklazid ve pioglitaz ile birlikte

kullanımının diyabeti alloksanla indüklenmiş sıçanlardaki hepatoprotektif etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonuçları *A.* racemosus'un etanollü ektresinin; gliklazid ve pioglitazın etkisini arttırarak karaciğer disfonksiyonunda iyileşme gösterdiğini ortaya koymuştur (Al Mamun ve ark., 2017b).

A. racemosus'un da yer aldığı 10 bitkiden oluşan kombine preparatın; sıçanlarda karbontetraklorür ile indüklenmiş oksidatif hasarda, standart drog silimarin'e kıyasla, antioksidan ve serbest radikal süpürücü aktiviteleriyle bağlantılı olarak umut vadeden hepatoprotektif özellik gösterdiği saptanmıştır (Padmanabhan ve Jangle, 2014).

Hindistan'da yapılan bir çalışmada, Geleneksel Hint Tıp Sistemi'nde de önemli bir tıbbi kullanımı bulunan *A. racemosus'*un biyoaktif özelliklerinin süt ile birlikte kullanım sonucu artıp artmadığı araştırılmıştır. Çalışmada, hayvan modeli olarak kullanılan fareler oral yoldan 4 hafta boyunca süt-bitki ekstresi ve sadece bitki ekstresi ile beslenmiş; sütün *A. racemosus*'un serbest radikaller aracılığıyla oluşan hastalıklardaki etkinliğini güçlendirebileceği ileri sürülmüştür (Veena ve ark., 2014).

A. racemosus'un köklerinden hareketle elde edilen ekstrenin 200 ve 400 mg/kg konsantrasyonlarında, sıçanlarda tert-Bütilhidroperoksit (t-BHP) ile indüklenmiş karaciğer hasarı üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Çalışma sonuçları; serum ALT ve AST değerlerinde belirgin bir azalma ve karaciğer antioksidan etkinliğine ilişkin SOD, CAT, GPx, GR ve GSH enzim düzeylerinde ise artış olduğu yönündedir. Ayrıca 400 mg/kg doz ile tedavi edilen sıçanlarda; karaciğer dokusunun tBHP'ye bağlı hasara karşı daha iyi korunduğu belirlenmiştir (Jayashree ve ark., 2015).

Başka bir çalışmada, silimarinin hepatoprotektif etkisini sinerjizma ile arttırabilecek standardize ekstrelerden oluşan bir kombine preparat geliştirilmesi hedeflenmiş; *A. racemosus*'un da yer aldığı dört farklı bitki ekstresi kullanılmıştır. Çalışmada; silimarin tek başına 3 farklı konsantrasyonda (12,5, 25 ve 50 mg/kg) ve diğer bitkilerle kombine (25 mg/kg, her bitkiden 50 mg/kg olacak şekilde) halde *Winstar albino* sıçanlarda parasetamol ve karbontetraklorürle indüklenen karaciğer

hasarına karşı etkinlikleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar; kombine preparatın, deneysel hepatoksisitede silimarinin antioksidatif, antienflamatuvar ve membran stabilizasyon etki mekanizmalarını güçlendirerek daha iyi hücresel koruyucu etkinlik sağladığı yönündedir (Singh ve ark., 2012).

Çin'de yapılan bir çalışmada; *A. officinalis*'den elde edilen aktif bileşenlerin antihepatik fibrozis etkisi t-HSC/Cl-6 hücre serisine karşı araştırılmış; bitkinin bazı fraksiyonlarının kuvvetli inhibitör aktivite gösterdiği saptanmıştır. Sonuçlar; bitkinin karaciğeri alkol, kronik viral hepatit, otoimmun hastalıklar, parazitler, metabolik hastalıklar, toksinler veya ilaçlar gibi çeşitli zararlı durumlardan korumak için geliştirilecek tedavide kullanılabilecek potansiyelde olabileceği yaklaşımıyla örtüşmektedir (Zhong ve ark., 2015).

Kore'de yapılan bir çalışmada; *A. officinalis* yaprak ve sürgünlerinin karaciğer hücre tokisisitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar, *A. officinalis* ekstresinin; HepG2 hücrelerinde hidrojen peroksit, etanol ve karbontetraklorür ile indüklenmiş toksisiteyi önemli ölçüde hafiflettiği ve güçlü antioksidan aktivite sergilediği yönündedir. Ekstrelerin ayrıca etanol metabolizmasında kilit rol oynayan karaciğer enzimlerinden alkol dehidrogenaz ve aldehit dehidrogenazın etkinliğini teşvik ettiği de saptanmıştır (Kim ve ark., 2009).

A. officinalis'in triguero varyetesinin farklı konsantrasyonlarının (500, 250 ve 125 mg/kg) kolesterolden zengin diyetle beslenen sıçanlarda süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim düzeylerine etkisi araştırılmıştır. Farelerde beslenmeye bağlı oluşan hiperkolesterolemik şartlarda bitkinin oksidatif hasarı önleyip antioksidan şartları iyileştirerek hepatoprotektif etki yarattığı saptanmıştır (Garcia ve ark., 2012).

Çin'de yapılan bir çalışmada; *A. officinalis*'in endüstriyel olarak işlenmesi esnasında oluşan yan ürünlerinden hazırlanan etanollü ve sulu ekstrelerin yüksek yağlı bir diyetle beslenen fareler üzerindeki hepatoprotektif etkileri araştırılmıştır. Farelerde beslenmeye bağlı oluşan karaciğer hasarında ekstrelerin serum alanin ve

aspartat transaminaz aktivitesini belirgin şekilde azalttığı; SOD aktivitesini ve total antioksidan kapasiteyi ise arttırdığı saptanmıştır. Çalışma sonucunda; bitkinin güçlü hepatoprotektif özelliği nedeniyle hipolipidemik ajanlarla kombine olarak ya da tek başına ilaç veya gıda takviyesi olarak kullanıldığında yarar sağlayabileceği öne sürülmüştür (Zhu ve ark., 2010).

Sri-Lanka'da yapılan bir çalışmada; *Asparagus falcatus* sulu kök ekstresinin erkek farelerde asetaminofen ile indüklenmiş karaciğer hasarındaki etkinliği, N-asetilsistein ile antioksidatif etkisi karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Tüm enzim aktiviteleri ve karaciğer GSH değerleri göz önüne alındığında; *Asparagus* ile tedavi edilen farelerde iyileşme sağladığı belirlenmiş ve bitki kök ekstresinin karaciğer hasarının ilerlemesini inhibe ettiği saptanmıştır (Hewawasam ve ark., 2008).

Hindistan'da yapılan bir çalışmada; *Asparagus retrofractus*'dan elde edilen etanollü kök ekstresinin albino sıçanlarda tiyoasetamitle indüklenen karaciğer hasarına karşı hepatoprotektif etkinliği araştırılmıştır. Biyokimyasal ve histopatolojik parametreler değerlendirildiğinde; ekstrenin 300 mg/kg ve 600 mg/kg dozlarda silimarine kıyasla karaciğer üzerinde belirgin bir iyileştirici etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Santosh ve ark., 2013).

Yapılan bir çalışmada; Çin Tıbbı'nda geleneksel olarak kullanılan bazı bitkilerden yerel olarak hazırlanmış bir preparat olan Yintian Granül'ün farelerde karbontetraklorür ve %50'lik etanolle indüklenmiş akut karaciğer hasarındaki etkinliği araştırılmıştır. İçerisinde *Asparagus cochinchinenis'* in yer aldığı kombine preparatın; her iki modelde de patolojik olarak yükselmiş olan ALT ve AST düzeylerinde belirgin düşüş sağladığı, SOD aktivitesini arttıdığı ve karaciğer dokusundaki bozulmayı engellediği ortaya konmuştur (Li ve ark., 2014).

Bisfenol-A ile indüklenmiş toksisitede erkek sıçanların karaciğer ve böbrek dokularındaki olası oksidatif stres ve histopatolojik değişikliklere, *A. officinalis* infüzyon halinde hazırlanan ekstresinin etkileri araştırılmıştır. Her bir grupta 8 hayvan olmak üzere toplam 5 grup halinde yürütülen çalışmada, Bisfenol-A 10

mg/kg dozda (5 ml/kg zeytinyağı içinde), ekstre ise 400 mg/kg dozda 8 hafta boyunca her gün oral yoldan uygulanmıştır. Sakrifikasyon günü, sıçanlardan kan, karaciğer ve böbrek örnekleri toplanmıştır. Biyokimyasal sonuçlar, Bisfenol-A uygulanan grupta karaciğer ve böbrek biyo-belirteçlerinde ciddi değişiklikler olduğu yönündedir. Ayrıca, malondialdehitin artarken, tiyol proteini ve toplam antioksidan kapasitenin de azaldığı gözlemlenmiştir. Söz konusu grup histopatolojik açıdan ele alındığında, karaciğer ana ve portal damarlarında genişleme ve deformasyon ile enflamasyonlu alanların oluştuğu saptanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, ekstre uygulamasının toplam antioksidan kapasiteyi arttırarak karaciğer ve böbrek dokularının yapısı ve işlevini iyileştirebileceği belirlenmiştir (Poormoosavi ve ark., 2018).

A. officinalis'den elde edilen polisakkaritlerin, laktik asit bakteri suşu ile fermente edilmesiyle elde edilen polisakkaritlerin, farelerde siklofosfoamit ile indüklenmiş karaciğer hasarı üzerindeki iyileştirici etkisi fermente edilmemiş kuşkonmaz polisakkaritleri ile kıyaslanmıştır. Sonuçlar incelenmiş, maddenin hepatik biyokimyasal belirteçlerin (ALT, AST, AKP ve LDH), proenflamatuvar sitokinlerin (TNF-α ve IL-1β) inhibisyonu da dâhil olmak üzere, antioksidan sistemlerin (T-AOC, SOD, CAT ve MDA) iyileştirilmesi, safra asitlerinin regülasyonu gibi test edilen birçok parametrede fermente edilmemiş çeşidine kıyasla hepatoprotektif üstünlüğü kanıtlanmıştır (Zhang ve ark., 2020).

1.1.5.2.11. Diğer Biyolojik Aktiviteler

Yapılan bir çalışmada, *A. officinalis*'in, *Sambucus nigra* bitkisinin antosiyanince zenginleştirilmiş ekstresi ile kilo verme üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Toplam 80 katılımcıya yaklaşık 19 mg saponin içeren günlük 40 gram *A. officinalis* ekstresi düşük kalorili diyetle birlikte verilmiştir. Diyet öncesi ve sonrasında yapılan objektif ve subjektif testler kıyaslanarak, ekstrelerin bireylerin ortalama ağırlık, kan basıncı, fiziksel ve duygusal iyilik hali ve yaşam kalitesini önemli ölçüde iyileştirdiği kanıtlanmıştır (Chrubasik ve ark., 2008).

Çin'de yapılan bir diğer çalışmada, kuşkonmazdan elde edilen liyofilize tozun uyku kalitesini iyileştirme potansiyeli test edilmiştir. Çalışmaya 60 gönüllü katılmış, 60 gün boyunca günde toplam 24 gram kuşkonmaz tozu tüketmeleri sağlanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde bitkinin uyku rahatsızlıklarında uyku süresini kayda değer bir biçimde uzattığı, uykuya dalma süresini yarı yarıya kısalttığı, uykuya daldıktan sonra tekrar uyanma sürelerini önemli ölçüde kısalttığı saptanmıştır. Kuşkonmaz tüketmenin uyku kalitesini arttırmaya yönelik katkısı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bitkinin kortizol ve norepinefrin seviyelerini azalttığı, seratonin ve dopamin düzeylerini arttırdığı saptanmıştır (Huang ve ark., 2017).

A. officinalis köklerinden %70'lik etanol kullanılarak hazırlanan ekstrenin, antinosiseptif etkisi kuyruk kaldırma testi ile değerlendirilmiştir. Ekstrenin 300 mg/kg ve 500 mg/kg dozlardaki etkisi, pozitif kontrol grubu morfin sülfata 10 mg/kg kıyaslanarak değerlendirilmiştir. Ekstre, intraperitonal olarak 500 mg/kg dozunda formalin testinin erken aşamasında önemli bir antinosiseptif etki göstermiştir. Ayrıca, kuyruk kaldırma testi sonuçlarına göre, kontrole kıyasla doza bağlı bir şekilde antinosiseptif aktivite sergilemiştir. Bununla birlikte, antinosiseptif aktivitelerin, bir referans ajan olan morfin ile karşılaştırılabilir düzeyde olmadığı da bildirilmiştir (Fathalipour ve ark., 2020).

1.1.6. *C. elegans* Modelinde Doğal Ürünler Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Çin'de yapılan bir çalışmada; *Epimedium acuminatum* Franch.'den iyon değiştirici kromatografi ve jel filtrasyon kromatografisi ile elde edilen nötral ve asidik polisakkaritlerin *C. elegans* üzerindeki antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Yapıları HPSEC, FT-IR, GC-MS ile aydınlatılan polisakkaritlerin; *in vitro* yöntemlerle (DPPH, hidroksi radikali süpürücü etki, süperoksit radikali süpürücü etki) antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Polisakkaritlerin antioksidan aktivitelerinin *in vivo* tayini için ise; *C. elegans* hayvan modelinden yararlanılmıştır. Polisakkaritlerin *C. elegans*'ın ölüm ve büyüme oranlarına etkisi ölçülmüş; SOD, CAT, GSH-PX gibi farklı antioksidan enzim düzeyleri ile protein karboksil ve lipit

peroksidasyonunu inhibe edici etkisi de ölçülerek değerlendirilmiştir. Polisakkaritlerden üronik asit içeriği ve molekül ağırlığı yüksek olanın daha etkin olduğu saptanmıştır (Xu ve ark., 2016).

Çin'de yapılan bir başka çalışmada; Geleneksel Çin Tıbbında geniş kullanım alanı bulunan *Glycyrrhizae glabra* L. kök ekstresinin, *C. elegans* üzerindeki farmakolojik etkileri araştırılmıştır. Çalışma kapsamında; L1-evresindeki *C. elegans* nematodları genç yetişkin olana değin; 20 °C sıcaklıkta, besin varlığında, 0,12 g/mL, 0,18 g/mL ve 0,24 g/mL konsantrasyonda kök ekstresine maruz bırakılmışlardır. Ekstrenin nematodlar üzerindeki yararlı etkileri; ölüm, büyüme, yaşam süresi, üreme, hareket, metabolizma, bağırsak otofloresansı ve reaktif oksijen türleri (ROS)'ne ilişkin bazı testler yapılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar gözlemlenen konsantrasyonlarda; ekstrenin ısı ve oksidatif strese bağlı hasarda koruyucu etkilere sahip olduğu yönündedir. Ekstre maruziyeti; *C. elegans* yaşam süresini uzatmış, hareketlerini arttırmış, paraquat ile indüklenmiş bağırsak ROS üretimini baskılamıştır. Öte yandan ölüm oranı, vücut uzunluğu, morfolojisi ya da metabolizmasında kayda değer bir değişiklik yaratmamıştır (Ruan ve ark., 2016).

Yine Çin'de yapılan bir çalışmada; *Panax notoginseng* (Burk) F.H. Chen, köklerinden elde edilen 3 farklı polisakkaritin antioksidan aktiviteleri *in vitro* yöntemlerle araştırılmış; daha sonra *C. elegans* yaşam süresi ve termal dirençleri üzerindeki etkinlikleri incelenmiştir. Doğal polisakkaritlerin 0,1 mg/ml konsantrasyonda ilave edildikleri besi yerlerinde çevresel stres faktörleri varlığında dahi *C. elegans*'ların yaşam süresini uzattığı saptanmıştır. Bitki köklerinden elde edilen polisakkaritler (MRP, BRP ve FRP) oldukça güçlü *in vivo* antioksidan aktivite göstermekle kalmayıp; kontrol grubuna kıyasla SOD ve CAT seviyesinde artış, MDA seviyesinde ise azalış göstermiştir (Feng ve ark., 2015).

P. notoginseng köklerinin 4 farklı boyutta toz edilmesiyle elde edilen etanollü ekstrelerin 0,8 ve 1,6 mg/ml dozlarda *C. elegans* modeli üzerindeki yaşlanma karşıtı etkileri de yapılan bir çalışmada değerlendirilmiştir. Sonuçlar; 100-200 mesh boyutundaki ince toz edilmiş drogtan elde edilen ekstrenin, belirlenen dozlarda

nematodların yaşam süresini sırasıyla %13,69 ve %22,07 oranında arttırarak, en büyük etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Söz konusu ekstre, kontrol grubuna kıyasla antioksidan enzimlerin (SOD, CAT) düzeyini arttırırken, hidrojen peroksitle indüklenmiş ortamda reaktif oksijen türlerinin birikimini azaltmış, lipofüksin düzeylerinde ise düşüş meydana gelmiştir (Jin ve ark., 2019).

Hindistan'da Ayurvedik tıpta geleneksel olarak kullanılan *Ocimum basilicum* L. ve *Premna integrifolia* L. ile, ayrıca bu bitkilerin her ikisinin de yer aldığı karışımın *C. elegans* üzerindeki etkinlikleri araştırılmıştır. L1 evresindeki senkronize solucanların, besi yerlerine 50 μg/ml ve 100 μg/ml konsantrasyonda sulu ekstreler eklenmiş; toksisite testi, yaşam süresi analizi, farinks atım analizi ve stres direnci ölçümleri yapılmıştır. Sonuçlar, karışım halindeki ekstrelerin en yüksek aktiviteyi göstererek, hem oksidatif hem de termal stres koşullarını hafifleterek nematodların yaşam sürelerini uzattığını göstermiştir (Asthana ve ark., 2015).

Geleneksel Çin Tıbbında önemli bir yeri olan *Bletilla striata* (Thunb.) Rchb.f. bitkisinin sulu ekstresinden izole edilen polisakkaritin, *C. elegans* üzerindeki anti-aging aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada ise; L4 evresindeki larvaların besi yerine polisakkaritten 50 μg/ml ilave edildikten sonra; nematodların yaşam süresi, üreme, hareket, stres direnci analizleriyle birlikte RNA izolasyonları yapılmıştır. Sonuçlar; polisakkaritle yapılan tedaviden sonra, nematodların hareket yetenekleri ile stres dirençlerinde önemli bir artış olduğu yönündedir. Polisakkaritin *C. elegans*'ın üreme yeteneği üzerine herhangi bir etkisi yok iken; insülin/IGF sinyal yoluna bağlı olarak yaşam sürelerinin uzadığı saptanmıştır (Ding ve ark., 2015).

Diğer bir çalışmada ise; resveratrol glikoziti olan polidatin'in, farklı koşullar altında *C. elegans*'ın yaşam süresini üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Bu konuda yapılan çalışmalar; üzüm ve kuruyemiş gibi doğal kaynaklardan izole edilen polifenolik bir bileşik olan resveratrolün *C. elegans*'ın yaşam süresini uzattığı yönünde sonuçlanmıştır. Bu çalışmada; polidatin'in de solucanların yaşam süresini, normal ve akut stres koşulları altında sırasıyla %30,7 ve %62,1 oranlarında arttırdığı, bu etkiyi Insülin/IGF-1 sinyal yolağında yer alan, yaşlanmayla ilgili daf-16 geni ve

stres direnç proteini SOD-3'ü düzenleyerek göstermiş olabileceği tespit edilmiştir (Wen ve ark., 2014).

Curcuma longa L. bitkisi ile yapılan bir çalışmada ise; ana bileşeni olan kurkuminin *C. elegans*'ın yaşam süresi üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Sonuçlar; organizmanın kurkumine pozitif yanıt verdiği ve yaşlanmaya neden olan reaktif oksijen türleri ve lipofüksin oranlarını azalttığı yönündedir. Bu çalışmada; kurkuminin *C. elegans*'ın yaşam süresini, sahip olduğu antioksidan aktivitesine bağlı olarak arttığı, ayrıca üreme üzerinde etki göstermemekle birlikte; vücut büyüklüğü ve farinks atım hızı üzerinde olumlu etkileri olduğu saptanmıştır (Liao ve ark., 2011).

Ayurveda preparatları ile yapılan bir çalışmada ise; yaşamı uzattığına inanılan *Withania somnifera* (L.) Dunal bitkisinin köklerinden elde edilen etanollü ekstre ve ekstreden saflaştırılmış bileşikleri içeren fraksiyonun (PI-RE) *C. elegans*'ın yaşam döngüsü üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Ekstreler; 100 µg/ml konsantrasyonda, *C. elegans*'ın beslenmesinde standart prosedür olan *E. coli*'nin OP50 suşunun da yer aldığı, NGM agar besi yerine ilave edilmiştir. Bulgular; kullanılan ekstrelerin normal tip solucanların yaşam süresi üzerinde etkisinin olmadığını ancak, aynı ekstrelerle tedavi edilen insan nikotinik asetilkolin reseptörü, nAchR, α7 eşdeğeri, akr-16 yönünden mutant *C. elegans*'ların yaşam sürelerinin %20 oranında uzattığını göstermiştir (Kumar ve ark., 2013).

Amerika'da yapılan bir başka çalışmada ise; *Vaccinium angustifolium* Aiton. ekstresinin *C. elegans* üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. *V. angustifolium*'dan elde edilen polifenolik fraksiyon ve proantosiyanidin fraksiyonu nematodların besi yerlerine eklenmiştir. Söz konusu fraksiyonların her ikisinin de termotoleransı arttırmanın yanı sıra ortalama yaşam sürelerini de anlamlı derecelerde arttırdığı tespit edilmiştir. Ekstrelerin yaşlanmaya bağlı farinks atım hızındaki azalmaları ve yaşlı bireylerde deride kahverengi lekelerin oluşumundan sorumlu olan lipofüksin pigmentinin birikimini engellediği de saptanmıştır (Wilson ve ark., 2006).

Başka bir çalışmada, Amerika ve Avrupa'da yaşa bağlı zihinsel işlev bozukluğunun tedavisinde oldukça popüler olan ve %24 oranında ginko-flavon glikozitleri ile %6 oranında terpenoit içeren *Ginko biloba* L. standardize yaprak ekstresinin; *C. elegans*'ın yaşam süresi üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Amerika'da yapılan çalışmalarda; 100 µg/ml uygulanan ekstrenin ortalama yaşam ve azami yaşam sürelerini %8 oranında uzattığı, oksidatif ve termal stres direncini de artttırdığı saptanmıştır (Collins ve ark., 2006).

Oksidatif stres ve yaşlanmaya karşı koruyucu etkinlik gösterdiği bilinen yeşil çayda bulunan fenolik yapıdaki epigallokateşin gallatın (EGCG) *C. elegans*'ın yaşam süresi ve yaşa bağlı farinks atım hızı ile kemotaksik ve amiloid β'ya bağlı patolojik bazı davranışlarındaki düşüşler üzerindeki etkinliği, klasik bir doğal antioksidan olan α-lipoik asite (LA) karşı incelenmiştir. Sonuçlar her iki antioksidanın da *C. elegans*'da hidrojen peroksit düzeylerini azalttığı yönündedir. EGCG, LA'nın aksine yaşa bağlı farinks atım hızındaki azalma ve amiloid β'ya bağlı patolojik bulguları geriletmiş, ancak organizmanın ortalama ve azami yaşam sürelerini LA gibi uzatmamıştır. Antioksidanların her ikisinin de kemotaksonomik davranışları modüle ettiği belirlenmiştir (Brown ve ark., 2006).

Kore'de yapılan bir çalışmada ise; çeşitli ağaçlar üzerinde yaşayan yarı-parazitik bir bitki olan *Viscum album* coloratum (Kom.) Nakai'nin *C. elegans* modeli yaşam süresi üzerindeki etkinliği 50 mg/ml dozda test edilmiştir. İmmünomodülasyon, apoptozis ve anti-tümör aktivitesi bulunan *V. album* coloratum'un yapraklarından elde edilen sulu ekstrenin *C. elegans*'ın yaşam süresini %9,61 oranında arttırdığı saptanmıştır (Lee ve ark., 2014).

Kakao tozunun flavonoit bakımından zenginleştirilmiş fraksiyonu da yine *C. elegans* modeli kullanılarak, hidrojen peroksit ile indüklenmiş oksidatif hasar yönünden araştırılmıştır. *C. elegans*'ın 8 µg/ml kateşin ve 12 µg/ml epikateşin içeren 4 mg/ml kakao tozu kullanılan besi yerinde oksidatif strese belirgin bir direnç gösterdiği ortaya çıkmıştır. Sonuçların aynı konsantrasyon değerlerinde söz konusu flavonoitlerin tek başına verilmesine kıyasla daha yüksek çıkması, minör

flavonoitlerin ve kakaonun taşıdığı diğer bileşenlerin sinerjik etkisinden kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Araştırma kapsamında; flavonoit bakımından zenginleştirilmiş kakao tozunun *C. elegans*'ın yaşam süresini %17 oranında arttırdığı da belirlenmiştir (Martorell ve ark., 2011).

Polifenol açısından zengin *Punica granatum* L. usaresi, ekstresi ve majör bileşiklerden elajik asit ile urolithin-A'nın yabanıl tip (N2) ve daf-16 mutant tip *C. elegans*'ın yaşam süresi üzerindeki etkinliği farklı dozlarda araştırılmıştır. Araştırma neticesinde; usarenin yaşam süresini yabanıl tipte (N2) %56 oranında, daf-16 mutant tipte ise %18 oranında arttırdığı; nar ekstresinin ise, yabanıl tipte (N2) %28 oranında, daf-16 mutant tipte ise %10 oranında arttırdığı saptanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; doza bağlı olarak gerçekleşen bu artışın usaredeki total fenolik içeriğinin ekstreye kıyasla 4,7 kat yüksek olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Elajik asit ve urolithin-A kullanılan deney gruplarındaki yaşam süresi artışının nispeten çok düşük düzeylerde olması polifenolerin dışında usarede bulunan farklı bileşenlerin de etkisi olabileceği ileri sürülmüştür (Zheng ve ark., 2017)

Bir diğer çalışmada; elmadan elde edilen asetonlu (%80) ekstrenin 2,5 mg/ml, 5 mg/ml ve 10 mg/ml konsantrasyonlarda *C. elegans* modelinin yaşam süresi üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; kontrol grubuna kıyasla ekstrelerin doza bağlı olarak *C. elegans*'ın yaşam sürelerini sırasıyla %18,7, %24,1 ve %39,6 oranında arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca bu ekstrelerin, nematodları ısı, ultraviole ve çeşitli oksidatif etkilere maruz kalmaya karşı daha dirençli hale getirdiği de saptanmıştır (Vayndorf ve ark., 2013).

Eleutherococcus senticosus (Rupr. Et Maxim) Maxim. ve *Rhodiola rosea* L. gibi adaptojenik bitkilerinin köklerinden elde edilen sulu ekstrelerin farklı dozlarda (100, 250, 500, 1000 µg/ml) *C. elegans*'ın yaşam süresi üzerindeki etkinlikleri araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, *E. senticosus*'un 250 µg/ml konsantrasyonda; *R. rosea*'nın ise, 10 ila 25 µg/ml dozlarda nematodun yaşam süresini kontrol grubuna kıyasla %10-20 arasında arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca ekstrelerin yüksek dozlarda nematodların yaşam süresini kontrol grubuna kıyasla

%15-25 arasında değişen oranda azalttığını da gözlemlenmiştir (Wiegant ve ark., 2009).

Çin'de tonik olarak kullanılan *Damnacanthus officinarum* C. C. Huang bitkisinin yaprak ve köklerinden elde edilen farklı polaritede ekstrelerin 800 µg/ml ve 1200 µg/ml dozda *C. elegans*'ın yaşam süresi üzerindeki etkinliği araştırılmış, sonuçlar incelendiğinde köklerden elde edilen *n*-butanol, etanol ve sulu ekstreleri ile yapraklardan elde edilen *n*-butanollu ekstrelerin nematodların yaşam süresini %10 ila %30 oranında arttırdığı kaydedilmiştir (Yang ve ark., 2012).

Silybum marianum (L.) Gaertn. meyvelerinden ekstre edilen flavonolignan karışımı olan silimarini oluşturan bileşenlerin *C. elegans*'ın yaşam süresi üzerindeki etkinliği araştırılmış ve sonuçlar incelendiğinde 10 µM dozda besi yerine ilave edilen bileşenlerden 2,3-dehidrosilibin A/B'nin nematodun oksidatif strese direncini arttırdığı ve yaşam süresinin uzamasına olumlu katkı sağladığı saptanmıştır (Filippopoulou ve ark., 2017).

Geleneksel Çin tıbbında kronik enflamasyon ve immun sistem kuvvetlendirici olarak ve yaşlanma ile ilişkili hastalıkların tedavisinde kullanılan iki farklı bitkisel karışımda yer alan bitkilerin *C. elegans*'ın yaşam süresi üzerindeki etkinlikleri araştırılmıştır. Toplamda yirmi kadar bitkinin değerlendirildiği araştırmada; her iki formülde de yer alan *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl kabuklarından elde edilen ekstrenin 10 µg/ml dozda besi yerine ilave edilmesiyle nematodların yaşam süresini %10,8 oranında arttırdığı saptanmıştır (Yu ve ark., 2010).

Chlorella vulgaris Beijerinck'den dondurma-çözünme, mikrodalga destekli, ultrasonik dalga, sıcak su ve selülaz bazlı çeşitli ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen 6 farklı polisakkaritin *in vivo* antioksidan etkileri de *C. elegans* kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde; ultrasonik dalga destekli ekstraksiyon tekniği ile elde edilen polisakkaritlerin hidrojen peroksit ile indüklenmiş oksidatif stres ortamında nematodların yaşam süresini arttırdığı ve aralarında SOD ve CAT'ın

da yer aldığı stres direnç enzimlerini düzeyini arttırdığı saptanmıştır (Yu ve ark., 2019).

Gracilaria lemaneiformis (Bory de Saint-Vincent) Greville polisakkaritlerinin 3 farklı dozda (250, 500, 1000 µg/ml) *C. elegans* modelinde yaşam süresi, üreme yetisi, farinks atım hızı ve stres yanıtları değerlendirilerek yaşlanma karşıtı etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; söz konusu polisakkaritlerin 500 µg/ml dozda etkinlik gösterdiği ve besi yerine ilave edilmelerinin kontrol grubuna kıyasla nematodların yaşam süresini %16,47 oranında arttırdığı belirlenmiştir. *C. elegans*'ın üreme yetisinin, polisakkaritlerin en yüksek doz grubu olan 1000 µg/ml grubunda kayda değer bir biçimde arttığı saptanmıştır. Öte yandan polisakkaritlerin tüm doz gruplarında termotolerans ve oksidatif strese karşı dirençte düşük etkinlik gösterdiği kaydedilmiştir (Wang ve ark., 2019).

Antioksidan aktivitesi yüksek olan *Eugenia uniflora* L. meyvelerinden hazırlanan etanollü ekstrenin, *C. elegans*'ın yaşam süresi, üreme yetisi, oksidatif stres yanıtı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar; başta siyanidin-3-*O*-glikoziti olmak üzere antosiyanidinler açısından zengin ekstrenin, hidrojen peroksit, juglon ya da ısı ile indüklenmiş çok farklı stres tiplerinde nematodların hayatta kalma süresi ve üreme yetilerini arttırdığı yönündedir. Bununla birlikte; daf-16 mutant bireylerde etkisiz olduğu kaydedildiğinden ekstrenin daf-16/FOXO aracılığıyla etkilerini göstermiş olabileceği ileri sürülmüştür (Tambara ve ark., 2018).

Ardıç meyvelerinden elde edilen uçucu yağların 10, 50 ve 100 ppm dozlarında *C. elegans*'ın yaşam süresi üzerindeki etkinlikleri araştırıldığı bir başka çalışmada ise; uçucu yağın en düşük dozda etkili olduğunu, kontrol grubuna kıyasla nematodun yaşam süresini %18,54 oranında arttırdığı tespit edilmiştir. Aynı doz seviyesinde, termal stres altında tedavinin sağ kalımı kontrol grubuna göre %30,4 arttırdığı; oksidatif stres koşullarında ise SOD-3 ve GST-4 enzimlerinin ekspresyonunu sırasıyla %39,49 ve %25,13 oranında arttırarak nematodlara direnç geliştirdiği gösterilmiştir (Pandey ve ark., 2018).

Bir başka çalışmada ise; *Betula utilis* D. Don bitkisinin kabuklarından elde edilen etanollü ekstrenin 10, 50 and 100 µg/ml dozlarda *C. elegans*'ın yaşam süresi üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; ekstrelerin nematodun yaşam süresini kontrol grubuna kıyasla sırasıyla, %21,79, %35,99 ve %25,72 oranında arttırdığı belirlenmiştir. Ekstrenin en yüksek etkiyi gösterdiği, 50 µg/ml dozda yapılan tedavinin yaşlanmanın göstergesi sayılabilecek bir biyobelirteci olan lipofuksinin birikimini de kayda değer bir biçimde azalttığı saptanmıştır (Pandey ve ark., 2020).

Tayland'da yapılan bir çalışmada ise; ülkede yaygın kullanımı bulunan ve antioksidan bakımından zengin *Glochidion zeylanicum* (Gaertn.) A. Juss.'un hekzanlı (25, 50 ve 100 µg/ml) ve metanollü (1, 2,5 ve 5 µg/ml) ekstrelerinin *C. elegans* modelinde yabanıl ve mutant tiplerde antiaging etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar, yaşam süresini, hekzanlı ekstrenin 100 µg/ml dozda %10,01; metanollü ekstrenin ise 1 µg/ml dozda %7,98; 5 µg/ml dozda %8,75 oranında arttırdığını ortaya koymaktadır. Ayrıca, hekzanlı ekstre ile tedavinin bu modelde yaşlanma biyobelirteci oldukları bilinen farinks atım hızında artma; lipofuksin birikiminde azalmaya yol açtığı da ortaya çıkarılmıştır. Diğer mutant türler üzerinde yapılan çalışmalar neticesinde; ekstrenin yaşam süresi üzerindeki etkinliğinin daf-16 yolağı aracılığıyla olabileceği ileri sürülmüştür (Duangjan ve ark., 2019).

Rosmarinus officinalis L.'in ana bileşenlerinde olan fenolik diterpen yapısında karnosolün (60, 120, 180, 240 ve 300 µM) *C. elegans* modelinde antiaging etkileri araştırılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 180 µM dozda karnozol tedavisi hem normal hem de stres koşulları (paraquat, ısı) altında reaktif oksijen türlerinin birikimini kayda değer ölçüde azaltmış, kritik roldeki antioksidan enzimlerinin aktivitesini ise arttırmıştır. En güçlü etkinliği gösterdiği 180 µM dozda, tedavi ile normal koşulllarda yaşam süresi %19 artış gösterirken; stres koşullarında bu oran %21'e çıkmıştır (Lin ve ark., 2019).

Brezilya'da halk arasında kronik enflamasyonlu hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanılan *Pterodon emarginatus* Vogel bitkisinin meyvelerinden elde edilen

yağın *C. elegans*'ın yaşam süresi, üreme yetisi, lipit birikimi ve oksidatif stres yanıtı açısından etkisi 0,2 mg/ml, 0,5 mg/ml ve 1,0 mg/ml dozlarda değerlendirilmiştir. Flavonoitler, fenolikler ve seskiterpenler açısından zengin olan bu yağın etkileri incelendiğinde; nematodun yaşam süresini uzattığı, stres koşullarında antioksidan enzim seviyelerinin arttığı, reaktif oksijen türlerinin üretiminin ise azalttığı tespit edilmiştir (Dal Forno ve ark., 2019).

Bu çalışmanın amacı; Türkiye'de halk arasında farklı amaçlarla kullanımı bulunan ve üzerinde yeterli çalışma bulunmayan *A. officinalis, A. aphyllus* subsp. *orientalis, A. verticillatus* ve *A. acutifolius* taksonlarından hazırlanan total sulu-etanollü ekstrelerin hepatoprotektif etkilerinin incelenmesidir. Ayrıca, çalışma konusu olan *Asparagus* taksonlarından hazırlanan topraküstü ekstrelerin *C. elegans*'ın yaşam süresi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi de hedeflenmiştir. Elde edilen sonuçların, ekstrelerin *in vitro* antioksidan aktiviteleri (ABTS ve DPPH radikal süpürücü aktiviteler ile total antioksidan kapasite tayini) ile paralellik gösterip göstermediğinin saptanması da amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında aktivite ve/veya aktivitelerin en yüksek olduğu takson seçilerek en aktif ekstre değişik polaritedeki çözücüler kullanılarak sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile farklı polaritede alt ekstrelerine ayrılmıştır. Elde edilen alt ekstrelerden, fenolik maddelerce zengin olduğu belirlenen etil asetatlı kısım, çeşitli kromatografik (İTK, KK, YPSK) teknikler kullanılarak fraksiyonlarına ayrılmıştır. Söz konusu fraksiyonlardan, ileri yöntemler ile bileşikler saflaştırılmış ve spektral yöntemlerle (UV, IR, NMR, MS) yapıları aydınlatılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasının amacı; Türkiye'de yetişen, halk arasında çeşitli amaçlarla kullanılan, fakat üzerinde yeterli çalışma bulunmayan *A. officinalis, A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus* subsp. *orientalis taksonlarından* hazırlanan etanollü-sulu ekstrelerin antioksidan ve hepatoprotektif aktiviteleri ile *Caenorhabditis elegans* nematodunun yaşam süresi üzerine etkilerinin araştırılmasıdır. Araştırma kapsamında YPSK analizleri, total fenol ve flavonoit miktar tayinleri ile fitokimyasal içeriğinin aydınlatılması da amaçlanmıştır. Ayrıca, diğer taksonlara göre daha aktif olduğu belirlenen takson üzerinde izolasyon ve yapı tayini çalışmaları da yürütülmüştür.

2.1. Gereç

2.1.1. Bitkisel Materyal

Çalışma kapsamında kullanılan bitkilerin toplanabilmesi için *Flora of Turkey'de* yer alan kayıtlar, literatür verileri ve herbaryum numuneleri incelenmiştir. Bitkilerin topraküstü ve toprak altı kısımları belirlenen lokalitelerden, çiçeklenme zamanında toplanmıştır. Uygun koşullar altında kurutularak, herbaryum numuneleri hazırlanmıştır. Herbaryum numuneleri Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Hayri DUMAN tarafından teşhis edilmiş ve Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu (AEF)'nda kayıt altına alınmıştır. Bitkisel materyale ilişkin bazı veriler Çizelge 2.1'de yer aldığı gibidir.

Çizelge 2.1. Bitkisel materyale ilişkin bazı veriler

Takson Adı	Toplanma Yeri	Toplanma Tarihi	Herbaryum No
Asparagus acutifolius	Andırın Kahramanmaraş	23.08.2017	AEF27219
Asparagus aphyllus subsp. ***orientalis***	Amasra Bartın	15.07.2017	AEF27220
Asparagus verticillatus	Safranbolu Karabük	25.06.2017	AEF27218
Asparagus officinalis	Güdül Ankara	26.06.2017	AEF27221

Tez çalışması kapsamında yer alan taksonların doğadaki görünüşleri Şekil 2.1.'de, herbaryum numuneleri ise, Şekil 2.2.-2.5.'de yer aldığı gibidir.



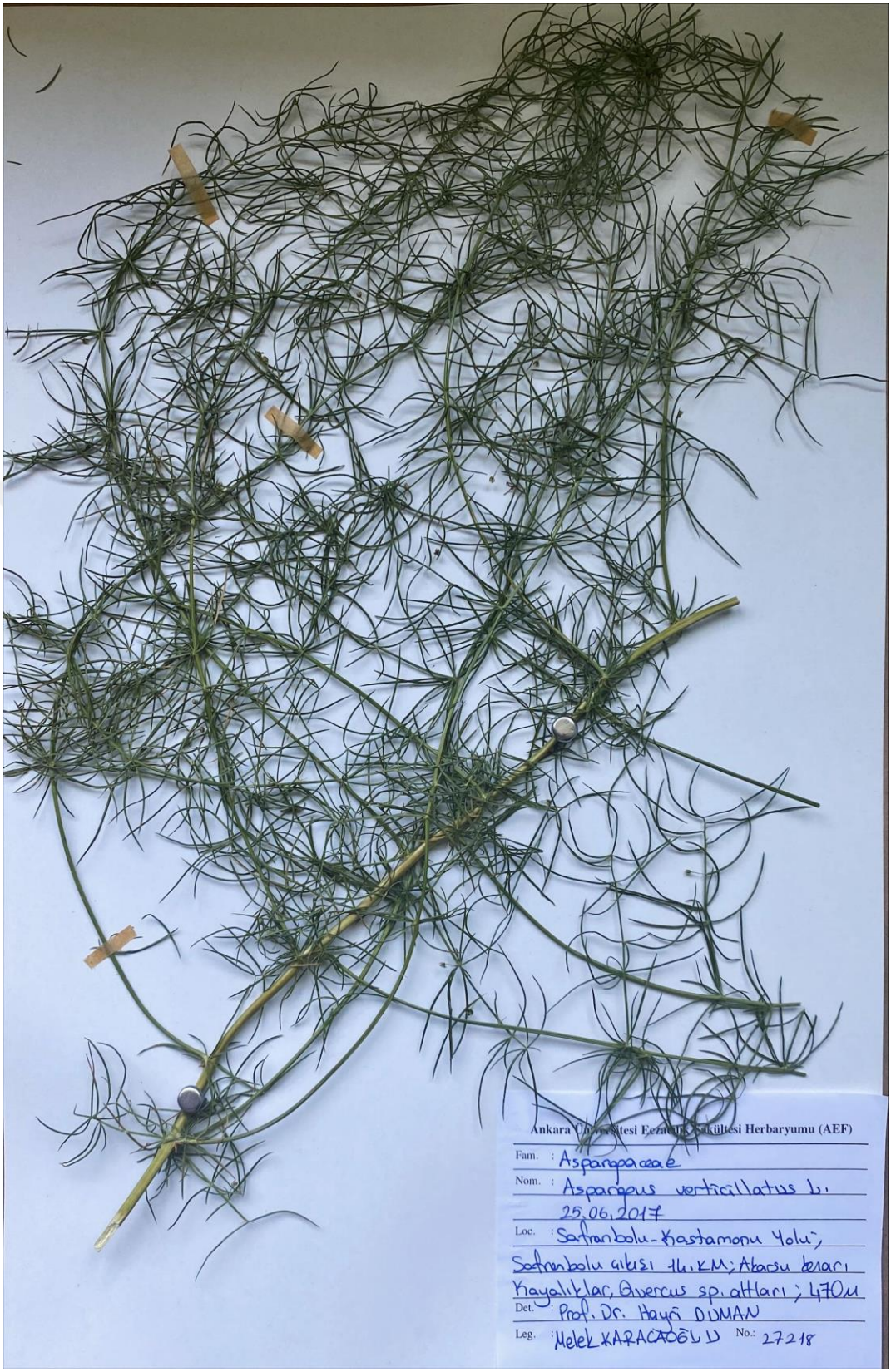
Şekil 2.1. *Asparagus* taksonlarının doğada görünüşleri (a: *Asparagus officinalis, b: Asparagus verticillatus, c: Asparagus aphyllus* subsp. *orientalis*).



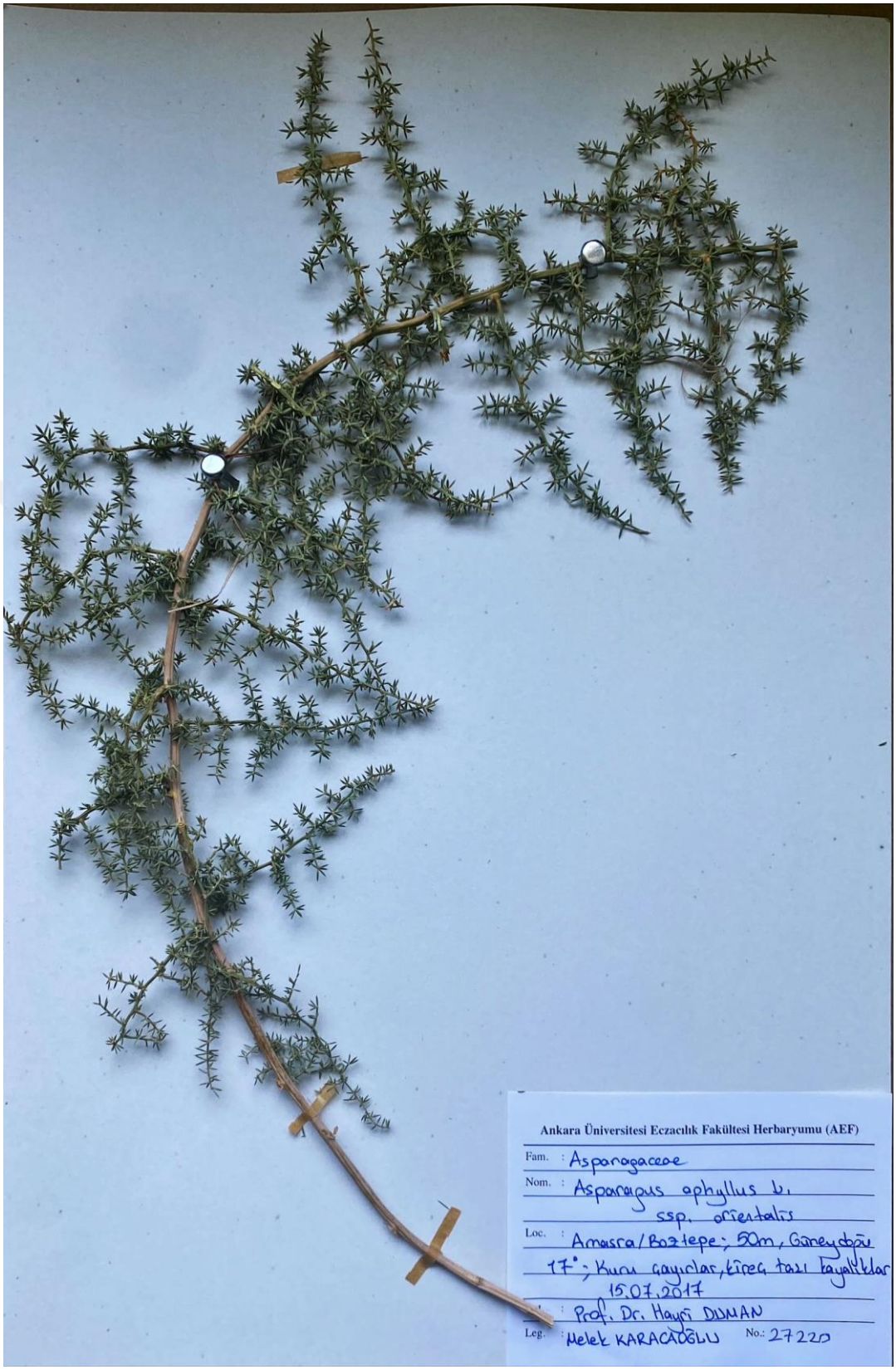
Şekil 2.1. *Asparagus officinalis* herbaryum örneği.



Şekil 2.2. *Asparagus acutifolius* herbaryum örneği.



Şekil 2.3. *Asparagus verticillatus* herbaryum örneği.



Şekil 2.4. *Asparagus aphyllus* subps *orientalis* herbaryum örneği.

2.2. Yöntem

2.2.1. Fitokimyasal Analizler

2.2.1.1. Ekstraksiyon Çalışmaları

Toplanan taksonların topraküstü ve toprak altı kısımları, kurutulduktan sonra, bir değirmen yardımıyla toz haline getirilmiştir. Yapılan literatür taraması neticesinde ekstraksiyon yöntemine karar verilmiştir. Bitkilerin topraküstü kısımlarından 100'er gram tartılarak, %70'lik etanolle ekstraksiyona başlanmıştır. Toz edilmiş bitki kısımları her defasında 1 litre %70 etanol kullanılarak, oda sıcaklığında, (1 saati ultrasonik banyoda olmak üzere) 24 saat maserasyona bırakılmıştır. Elde edilen sulu etanollü ekstreler pileli süzgeç kâğıdından geçirildikten sonra alçak basınçta yoğunlaştırılarak kurutulmuştur. Süzüntüler ince tabaka kromatografisi ile kontrol edilmiş ve belirgin bir leke gözlemlenmeyinceye kadar 10 gün boyunca ekstraksiyona devam edilmiştir. Elde edilen %70'lik etanollü ekstre tamamen kurutulduktan sonra, numunelerin biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Aktivite tayini sonuçlarına göre üzerinde çalışılmaya karar verilen türün topraküstü kısmı ile büyük ölçekli ekstre hazırlanmıştır. Sonrasında sıvı-sıvı ekstraksiyonu prensibine göre yapılan işlemde; kurutulan %70'lik etanollü ekstre distile suda çözülmüş ve 2 litrelik ayırma hunisine alınarak üzerine sırasıyla; petrol eteri, diklorometan, etilasetat ve suya doyurulmuş *n*-butanol eklenerek ekstre edilmiştir. Değişen polaritede çözücülerle yapılan sıvı-sıvı ekstraksiyonu sonucunda, farklı polaritede beş alt ekstre elde edilmiştir. Bu işlemler sonucunda elde edilen petrol eteri, diklorometan, etilasetat ve *n*-butanollü ekstreler rotavaporda konsantre hale getirildikten sonra liyofilize edilerek tartılmıştır.

2.2.1.2. Miktar Yayini Yöntemleri

2.2.1.2.1. Total Fenol Miktar Tayini

Araştırma konusu olan taksonlara ait topraküstü ve kök ekstrelerindeki toplam fenolik madde içeriği Folin Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir (Ainsworth ve Gillespie, 2007). Bitki ekstrelerinin sulu çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltilerden 100 µl alınarak 400 µl %10 (h/h) Folin Ciocalteu reaktifi ile muamele edilmiştir. Karışıma 800 µl %5'lik sodyum karbonat çözeltisi ilave edilmiş ve vortekslenmiştir. Sonrasında tüpler oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 765 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Her deney en az 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Her bir ekstrenin total fenolik madde içeriği gallik asit kullanılarak hazırlanan standart kalibrasyon eğrisine göre hesaplanmıştır. Örneklerdeki total fenolik madde miktarı gram kuru ekstre başına mg gallik asit eşdeğeri (*mg GAE*/*g* ekstre) olarak ifade edilmiştir.

2.2.1.2.1. Total Flavonoit Miktar Tayini

Aluminyum klorür yöntemi ile bitki ekstrelerindeki toplam flavonoit madde miktarı belirlenmiştir (Zhishen ve ark., 1999). Farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstrelerinin üzerine sırasıyla distile su ve %5 $NaNO_2$ ilave edilmiş ve vortekslenmiştir. Ardından sırasıyla %10'luk $AlCl_3$ çözeltisi ve 1M NaOH çözeltisi eklenmiş ve vortekslenmiştir. Karışım 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Toplam hacim distile su ile 1,2 ml'ye tamamlanmış ve 21 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası 510 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Her deney en az 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Her bir ekstrenin total flavonoit madde içeriği kersetin kullanılarak hazırlanan standart kalibrasyon eğrisine göre hesaplanmıştır. Örneklerdeki total flavonoit madde miktarı gram kuru ekstre başına mg kersetin eşdeğeri (*mg QE*/*g* ekstre) olarak ifade edilmiştir.

2.2.1.3. Kromatografik çalışmalar

2.2.1.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi

Kolon kromatografisi çalışmalarında en uygun çözücü sistemi ile çalışabilmek ve toplanan fraksiyonların İTK analizleri ile takibini yapmak ve ayrımını gözlemlemek amacıyla; Çizelge 2.2'de belirtilen çözücü sistemleri ile Silika jel 60 F254 (Merck, 1.05554 20x20) kaplı hazır plaklar kullanılarak incelenmiştir. İnce tabaka kromatografisi analizleri sonucunda, plaklarda oluşan lekelerin belirginleşmesi adına revelatör olarak Vanilin-H_2SO_4 reaktifi kullanılmıştır. Söz konusu reaktifin hazırlanabilmesi için; öncelikle 0,5 gram vanilin 50 ml etanolde çözünmüş (çözelti-I), ayrı bir kapta 5 ml derişik H_2SO_4'e 50 ml etanol ilave edilmiştir (çözelti-II). Alt ekstrelerin uygulandığı plaklar cam tanklarda (CAMAG) yürütüldükten sonra sırasıyla I ve II nolu çözeltiler püskürtülmüştür. Sonrasında 110ºC'lik etüvde 10 dakika bekletilmiş, lekeler belirgin hale gelince gün ışığında incelenmiştir.

Çizelge 2.2. İTK analizlerinde kullanilan çözücü sistemleri.

Çözücü Sisteminin Bileşimi	Çözücü Oranları
Kloroform:Metanol:Su	(65:25:4) (65:35:10/alt faz) (60:40:4) (60:30:5) (35:25:10/alt faz)
Kloroform:Metanol:Su:Asetik asit	(62:34:4:0,5)
Etil asetat:Glasiyal asetik asit:Formik asit:Su	(100:11:11:26)
Etil asetat:Metanol:Su	(80:13,5:10) (75:15:10) (45:15:10) (45:25:4) (35:15:10) (35:15:4) (35:25:4)
Etil Asetat:Metanol	(35:25)
Etil asetat:Metanol:Su:Glasiyal asetik asit	(80:13,5:10:0,5)

2.2.1.3.2. Kolon Kromatografisi

2.2.1.3.2.1. Açık Kolonun Hazırlanması

Kolon kromatografisi çalışmaları için, Silika jel 60 (70-230 mesh, 0.063-0.200 mm, Merck 1.07734.1000) adsorban olarak kullanılmıştır. Çözücü sistemi olarak da Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) bileşimi tercih edilmiştir. Silika jel 351 gram tartılmış, 3,5 cm çapa sahip, boyu 80 cm olan cam kolona çözücü sistemi Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) ile karıştırılarak hiç hava kabarcığı olmamasına dikkat edilerek doldurulmuştur. Bir müddet bahsi geçen çözücü sistemi geçirilerek ve bir gece boyunca bırakılarak dolgu maddesinin kolona yerleşmesi sağlanmıştır.

2.2.1.3.2.2. Ekstrenin Kolona Uygulanması

Etil asetatlı alt ekstrenin miktarı 8 gram olarak belirlenmiş, bir kapsülde yeter miktar metanol ilave edilerek tamamen çözünmüştür. Metanollü ekstre üzerine eşit miktarda (8 gram) Silika jel, oldukça yavaş bir biçimde, sürekli karıştırarak ilave edilmiştir. Çözücünün uzaklaştırılabilmesi amacıyla kapsül ara sıra karıştırılarak belli bir süre çeker ocak altında bekletilmiştir. Tamamen kuruduktan sonra havan eli yardımıyla homojen bir hal alıncaya değin iyice ezilmiştir. Silika jele emdirilmiş etil asetatlı ekstre fraksiyonlarına ayrılmak üzere kolona tatbik edilmiştir.

2.2.1.3.2.3. Ekstrenin Fraksiyonlarına Ayrılması

Ekstre, İTK analizlerinde ayırım daha iyi göründüğü Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) çözücü sistemi kullanılarak izokratik akış ile elüe edilmiştir. Fraksiyonlar sabit bir akış hızında, hacmi 100 ml olacak şekilde erlenlere toplanmış, daha sonra çeker ocak altında beher içerisinde çözücüsünden kurtarılmıştır. Toplanan fraksiyonların profilleri İTK analizleri ile incelenmiştir. Art arda yapılan İTK analizlerinde, lekelerin yoğunluğu azalıp madde miktarı azalıncaya değin toplam 47

fraksiyon toplanmıştır. Daha sonra daha polar bileşikleri elde edebilmek amacıyla kolondan %100 metanol geçirilerek 7 fraksiyon daha toplanmıştır.

İTK analizlerinde ilk fraksiyonlarda kolonla aynı bileşime sahip çözücü sistemi kullanılsa da; daha sonra ayırımın çok daha net göründüğü Etil asetat:Metanol:Su (35:25:4) çözücü sistemi tercih edilmiştir. Benzer kromatografik profile sahip fraksiyonlar birleştirilmiştir. Fraksiyonlar çeker ocak altında bekletilerek çözücüsünden tamamen uzaklaştırılmıştır. Bu işlem esnasında çöken bileşiklerin olduğu fraksiyonlar kaydedilmiştir. Söz konusu fraksiyonların miktarları belirlenerek, majör bileşiklerin izolasyonu için çalışmalara devam edilmiştir. Öncelikle kristallendirme, preparatif İTK, ters faz İTK, preparatif YPSK gibi farklı yöntemler denenmiş, ancak bileşikler saf olarak alınamamıştır. Daha sonra söz konusu fraksiyonlar, maddelerin izole edilebilmesi amacıyla maddeleri molekül büyüklüğü cinsinden ayıran kolon dolgusu Sefadeks LH-20'nin kullanıldığı kolon kromatografisine uygulanmıştır.



Şekil 2.5. Silika jel dolgu materyalli kolona ait bir resim.

2.2.1.3.2.4. Sefadeks Kolonun Hazırlanması

Molekül büyüklükleri birbirinden farklı olan bileşiklerin ayırımında yararlanılan Sefadeks LH-20 dolgu materyalinden 27 gram tartılmıştır. Daha sonra bir behere alınarak üzerini örtecek kadar metanol ilave edilmiştir. Bu şekilde birkaç saat bekletilerek Sefadeksin şişmesi sağlanmıştır. Metanolde şişmiş akışkan haldeki bu dolgu materyali; hiç hava kabarcığı olmayacak şekilde, 45 cm uzunluğunda ve 2,5 cm çapında cam bir kolona yüklenmiştir. Kolondanbelli bir süre metanol geçirilmiş daha sonra kapalı vaziyette 1 gece bekletilerek Sefadeksin oturması sağlanmıştır.

2.2.1.3.2.5. Fraksiyonların Sefadeks Kolona Uygulanması

Etil asetatlı alt ekstrenin ilk kolona uygulanmasını takiben elde edilen fraksiyonlar İTK ve YPSK analizleri ile ayrıntılı bir biçimde incelenmiştir. Benzer kimyasal profile sahip 24-26. fraksiyonlar birleştirilerek Sefadeks kolona uygulanmıştır. Toplamda 248 mg miktarındaki numune, çözündüğü kadar metanol ilave edilerek Sefadeks kolonun üzerine pastör pipeti yardımıyla ince bir bant halinde uygulanmıştır. Çözücü sistemi olarak %100 metanol tercih edilmiş olup çözücü musluktan belli bir hızla akıtılarak deney tüplerine 10 ml'lik hacimde toplam 50 fraksiyon toplanmıştır. İTK analizleri ile artık hiç madde gelmediği saptanınca kolon tüm gün boyunca %100 metanol ile yıkanarak temizlenmiştir.

Daha sonra, benzer şekilde birleştirilen 16-18. fraksiyonlarından kristallendirmek suretiyle elde edilen toplam 189 mg miktarındaki çökelek de çözündüğü kadar metanol ilave edilerek, Sefadeks kolonun üzerine pastör pipeti yardımıyla ince bir bant halinde uygulanmıştır. Çözücü sistemi olarak %100 metanol tercih edilmiş olup çözücü musluktan belli bir hızla akıtılarak deney tüplerine 5 ml'lik hacimde toplam 100 fraksiyon toplanmıştır. Sefadeks kolonlardan elde edilen alt fraksiyonların kromatografik profili Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sistemi kullanılarak İTK ile değerlendirilmiştir.

2.2.1.3.3. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Sefadeks kolona uygulanarak elde edilen alt fraksiyonlar, ince tabaka kromatografisi ile değerlendirilmiştir. Varlığı saptanan maddelerin izolasyonu için Silika jel 60 F254 (Merck, 1. 05554 20x20) hazır kaplı alüminyum plaklar tercih edilmiştir. Uygun şekil verilmiş kılcal bir boru yardımıyla bant halinde uygulanan numuneler, Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sistemi ile sürüklenmiş, sonrasında plaklar tanktan çıkarılarak kurutulmuştur. Plakların üzerindeki lekeler, 254 nm ve 366 nm'de UV altında kontrol edilip; kuvvetli renk oluşumu gözlenen ve saf olduğundan şüphelenilen bileşiğin yeri işaretlenmiştir. Daha sonra kesilerek bir erlene alınan bantlar, ultrasonik banyoda metanol içerisinde bir süre bekletilmiştir. Silika jeli geçirmeyecek nitelikte por büyüklüğüne sahip (S&S Filter paper circles, 125 mm, 5893 blue ribbon) pileli süzgeç kağıdından süzülerek Silika jelden arındırılmıştır. Çözücüsü çeker ocak altında uzaklaştırılan bileşiklerin saflık kontrolleri İTK ve YPSK analizleri ile yapılmış, saf oldukları belirlenince izole edilen maddenin miktarını arttırmak adına, numuneler bitene değin işlem tekrarlanmıştır.

2.2.1.3.4. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

Öncelikle ekstrelerle birlikte, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı imkanları dahilinde temin edilebilen standart maddelerin kalitatif analizi yapılarak, hazırlanan ekstrelerde bulunan bileşikler tespit edilmiştir. Ekstreler içinde gallik asit, sinapik asit, *p*-kumarik asit, protokateşik asit, kateşin, vanilik asit, 4-hidroksi benzoik asit, 2,4-dihidroksi benzoik asit, kersetin, ferulik asit, apigenin, apigenin-7-*O*-glukozit, epikateşin, kemferol, kafeik asit, kersitrin, hiperozit, luteolin, kinik asit, sirinjik asit, 5,7-dihidroksi izoflavon, luteolin-7-*O*-glukozit, klorojenik asit, kikorik asit, mirsetin, hesperidin ve rutin bileşikleri aranmıştır.

Bu standartlardan kafeik asit ve rutin ekstre içinde tespit edilmiş olup bu bileşiklerin miktarlarının tayini için de farklı bir YPSK yöntemi geliştirilmiştir.

YPSK analizi, Agilent LC 1260 model cihaz (Agilent Technologies, California, USA) ile yapılmış ve veriler YPSK cihazının yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Analiz şartları aşağıda belirtildiği şekildedir:

Kolon Özelikleri : ACE 5 C18 (250 mm×4,6 mm; 5 μm)
Kolon Sıcaklığı : 20°C
Dedektör Tipi : Diode Array Dedector
Dalga Boyları : 254 nm, 330 nm
Akış Hızı : 1 ml/dak.

Çizelge 2.3. YPSK analizinde kullanılan gradient çözücü sistemleri.

Rutin miktar tayini için çözücü sistemi (Yöntem 1)		
Zaman (dak)	**Asetonitril (%)**	**% 0,02 *o*-fosforik asitli su (%)**
0	10	90
10	20	80
20	20	80
30	30	70
36	70	30
36,01	100	0
40	100	0
Kafeik asit miktar tayini için çözücü sistemi (Yöntem 2)		
Zaman (dak)	**Asetonitril (%)**	**% 0,02 *o*-fosforik asitli su (%)**
0	10	90
20	20	80
30	20	80
35	30	70
40	70	30
40,01	100	0
45	100	0

2.2.2. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini

Polarite ve molekül ağırlıklarına göre ayrım sağlayan çeşitli kromatografik tekniklerle saflaştırılan bileşiklerin yapı tayini içini AÜEF Merkez Laboratuvarı II'de bulunan cihazlar kullanılmıştır. Kütle spektroskopisi, tek ve iki boyutlu nükleer manyetik rezonans spektroskopisi yöntemlerinden yararlanılmıştır.

2.2.2.1. Kütle Spektrometrisi (MS)

Saflaştırılan bileşiklerin molekül ağırlıklarının saptanabilmesi amacıyla, analizler markası Waters 2695 Allia Micromass ZQ olan LC/MS cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Belli bir miktardaki örnekler yüksek saflıkta metanol içinde çözülerek, aşağıda belirtilen koşullar altında sisteme enjekte edilmiştir.

YPSK Sistemi : Waters Alliance
Kolon : C 18
Hareketli Faz A : Metanol:Su (50:50)
Hareketli Faz B : Asetonitril
Akış Hızı : 0,5 ml/dak
Sıcaklık : 25ºC
Enjeksiyon Hacmi : 10 µl

2.2.2.2. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi

Saflaştırılan bileşiklerin belli bir miktarı 1 ml dötorometanol (MeOD) içinde çözünerek numuneler hazırlanmış, Varian Mercury 400, 400 MHz High Performance Digi NMR spektrometre cihazı kullanılarak ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR ve gereken bileşiklerde HMBC, HSQC ve COSY spektrumları alınmıştır.

2.2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.2.3.1. Antioksidan Aktivite

Bu tez çalışması kapsamında, *Asparagus* taksonlarının antioksidan aktivitesi; DPPH radikal süpürücü aktivite ve TEAC/ABTS yöntemleri kullanılarak *in vitro* olarak test edilmiştir. Sonuçların *C. elegans* yaşam süresi ile paralellik gösterip göstermediğinin saptanması, diğer çalışmalar açısından da önem arz etmektedir.

2.2.3.1.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi

2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikalini süpürücü aktivite tayini elektron transferine dayanan bir antioksidan kapasite tayin yöntemidir. Yöntemin esası oda sıcaklığında mor renkli ve stabil olan DPPH serbest radikalinin antioksidan bir molekül varlığında mor rengini kaybetmesi ve sarı renkli indirgenmiş forma dönüşmesi esasına dayanmaktadır (Blois, 1958). Çalışmamızda öncelikle metanolde 100 μM DPPH çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltinin karanlıkta muhafaza edilmesine dikkat edilmiş ve falkon tüpler alüminyum folyo ile sarılmıştır. Bitki kısımlarından yöntemine uygun olarak hazırlanan her bir ekstre için DPPH radikal süpürücü aktivite yöntemi 3 seri halinde uygulanmıştır. DPPH çözeltisi farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstreleriyle muamele edilmiştir. Ekstrelerin son konsantrasyonları: 0, 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000 μg/ml olmuştur. Hazırlanan çözeltiler 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından 517 nm'de spektrofotometrik absorbans ölçümü yapılmıştır. Referans madde (pozitif kontrol) olarak butilhidroksi toluen (BHT) kullanılmıştır. Bitki ekstrelerinin DPPH serbest radikalini süpürücü etkisi, radikal redüksiyonunun yüzdesi olarak hesaplanmıştır. Reaksiyon sonucunda, DPPH radikali antioksidandan bir proton alarak renksiz α-α-difenil-beta-pikrilhidrazin molekülüne dönüşürken; pembe-mor rengin açılmasına yani renk şiddetindeki azalmaya bağlı olarak DPPH radikalinin %

inhibisyon derecesi belirlenmiştir. Taksonlara ait ekstrelerin DPPH serbest radikalini süpürücü aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

% inhibisyon = [(Absorbans $_{Kontrol}$- Absorbans $_{Numune}$)/Absorbans$_{Kontrol}$]x100

Graphpad Prism 9.0 programında farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstrelerinin % inhibisyon değerleri kullanılarak, her bir ekstre için kalibrasyon grafiği çizilmiş ve yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonları (IC_{50}) hesaplanmıştır.

2.2.3.1.2. TEAC/ABTS Yöntemi

2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) kararlı bir yapı olmasına rağmen, hidrojen atomları veya elektronları bağışlayabilen moleküllerle enerjisel olarak reaksiyona girmektedir. ABTS serbest radikali hem elektron transferleri yoluyla doğrudan indirgeme, hem de hidrojen atomu transferi yoluyla radikal söndürme aracılığıyla nötralize edilebilir. Bitki ekstrelerinin ABTS serbest radikalini süpürücü etkileri radikalin mavi rengini giderme yetenekleri ile ölçülmektedir (Re ve ark., 1999). Çalışmamızda öncelikle 7 mM ABTS suda çözünmüş ve 2,45 mM potasyum persülfat ile reaksiyona girmesi sağlanmıştır. Oluşan radikal çözeltisi yaklaşık 12-16 saat boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ardından çözelti etanol ile dilüe edilerek ABTS çalışma çözeltisi hazırlanmıştır. Çalışma çözeltisi, çok hızlı degrede olduğundan, her çalışma için taze olarak hazırlanmıştır. Çözeltinin karanlıkta muhafaza edilmesine dikkat edilmiş ve falkon tüpler alüminyum folyo ile sarılmıştır. ABTS çözeltisi farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstreleriyle muamele edilmiştir. Ekstrelerin son konsantrasyonları: 0, 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000 µg/ml olmuştur. Hazırlanan çözeltiler 6 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş ve ardından 734 nm'de spektrofotometrik absorbans ölçümü yapılmıştır. Bitki ekstrelerinin ABTS serbest radikalini süpürücü etkisi, radikal redüksiyonunun yüzdesi olarak hesaplanmıştır. Her deney en az 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Referans madde (pozitif kontrol)

olarak trolox kullanılmıştır. Bitki ekstrelerinin ABTS serbest radikalini süpürücü aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

% inhibisyon = [(Absorbans $_{Kontrol}$- Absorbans $_{Numune}$)/Absorbans$_{Kontrol}$]x100

Graphpad Prism 9.0 programında farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstrelerinin % inhibisyon değerleri kullanılarak her bir ekstre için kalibrasyon grafiği çizilmiş ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır.

2.2.3.1.3. Total Antioksidan Kapasite

Numunelerin total antioksidan kapasiteleri fosfomolibden metodu ile belirlenmektedir. Yöntem antioksidan bileşiklerin Mo (VI)'yı Mo (V)'e indirgemesi ve sonuç olarak asidik ortamda yeşil fosfomolibdat kompleksine dönüşmesi esasına dayanmaktadır. (Prieto ve ark., 1999). Reaktif çözelti 28 mM sodyum fosfat, 4 mM amonyum molibdat, 0,6 M sülfürik asitin bir araya getirilmesiyle oluşturulmuştur. Bu reaktif çözelti, farklı konsantrasyondaki bitki ekstreleri ile muamele edilmiştir. Sonrasında karışımlar 95˚C'de 90 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra oda sıcaklığına getirilmiş ve absorbansları 765 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Referans madde olarak askorbik asit kullanılmıştır. Aynı deney prosedürü askorbik asit için de uygulanmış ve standart askorbik asit kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bitki ekstrelerinin total ansitoksidan kapasitesi kuru ekstre gram ağırlığı başına askorbik asit eşdeğeri (AAE) (mg) olarak ifade edilmiştir. Her deney en az 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

2.2.3.2. *Caenorhabditis elegans* Yaşam süresi Analizi

Çalışmamızın bir amacı da; Türkiye'de yetişen bazı *Asparagus* taksonlarının, oksidatif stres ve enflamasyonun doğal bir sonucu olarak ortaya çıkan yaşlanma

karşıtı etkinliklerinin; deneysel süreçlerde model olarak kullanımı yaygın olan *Caenorhabditis elegans* ile belirlenmesidir.

2.2.3.2.1. Nematod Büyüme Ortamı Hazırlanması

Büyük miktardaki *C. elegans* popülasyonları, petri ya da kuyucuklu plakalarda sıvı veya katı ortamlarda kültüre alınarak elde edilebilmektedir. Genellikle NGM adı verilen katı bir besi yeri olan Nematod Büyüme Ortamında canlı veya ölü (UV, ısı, soğuk tatbiki ile) olarak petrilere eklenen *E. coli* bakterileriyle beslenmektedirler. Bu alanda yürütülen araştırmalarda en çok urasil sentezinde kusurlu olan ve solucanları gizleyecek kadar kalın bir tabaka halinde aşırı büyüyemeyen canlı OP50 *E. coli* suşu tercih edilmektedir. NGM, hazırlanması için öncelikle 3 gram NaCl, 17 gram agar ve 2,5 gram pepton tartılmış; içerisine manyetik balık atılarak ve 975 ml ultra saf su ile tamamlanıp şişenin kapağı gevşek bir biçimde otoklava konulmuştur. Daha sonra, bir magnetik karıştırıcıda 55°C oluncaya kadar soğutulup, takiben 1 ml 1M $CaCl_2$, 1 ml kolesterol çözeltisi (5mg/ml etanol), 1 ml 1M $MgSO_4$ ve 25 ml 1 M KPO_4 tampon çözeltisi eklenmiştir. Bu aşamada; kolesterol çözeltisi dışındaki eklenen tüm çözeltiler otoklav ile sterilize edilmiştir. Hazırlanmış besi yeri aseptik koşullarda, petri kaplarına hacimlerinin 2/3'ünü dolduracak şekilde bölüştürülmüştür. Yaşam süresi analizinde 60 mm çaplı petri kabı tercih edilmiş, bu amaçla 10 ml besi yeri miktarı yeterli olmuştur (Amrit ve ark., 2014). Bu aşamada, besi yerinin steril bir pipet yardımıyla tüm petrilere eşit miktarda bölüştürülmesi sayesinde, yaşam süresi analizinde bireylerin sayılması sırasında petriler arası geçişte stereomikroskobun yeniden odaklanmasına gerek kalmamaktadır. Besi yeri donduktan sonra, kontaminasyon tespiti için 37ºC'de bir gece bekletilmiştir. Gliserol stok çözeltisinden hazırlanan *E. coli* OP50 suşundan elde edilen tek koloni sıvı besi yerine ekilmiş ve 37ºC'de bir gece inkübe edilmiştir. Sonrasında aseptik koşullarda, steril bir mikropipet yardımıyla büyüklüklerine uygun miktarlarda petri kaplarının tam ortasına denk gelecek şekilde ilave edilmiştir.

Bakterilerin petrinin orta kısmına ilave edilmesiyle, hem bireylerin sayımı kolaylaştırılmaktadır, hem de solucanların petrinin kenarlarına ya da kapağına doğru

sürünerek kurumasının ve ölmesinin önüne geçilmektedir. NGM, 1 gece boyunca bakteri solüsyonunu emmesi için oda sıcaklığında bekletilmiştir. Hazırlanan besi yerleri 4°C'de muhafaza edildiğinde 1 aya kadar kullanılabilmektedir (Porta-de-la-Riva ve ark., 2012).

2.2.3.2.2. Çözeltilerin Hazırlanması

Kalsiyum klorür (1M) çözeltisi hazırlanabilmesi için; otoklav sıcaklığına dayanıklı bir şişeye 5,88 gram $CaCl_2$ tartılmış ve 40 ml distile suda çözünmüştür.

Magnezyum sülfat (1M) çözeltisi hazırlanabilmesi için; otoklav sıcaklığına dayanıklı bir şişeye 9,86 gr $MgSO_4$ tartılmış ve 40 ml distile suda çözünmüştür.

Potasyum fosfat (1M) tampon çözeltisi hazırlanabilmesi için; otoklav sıcaklığına dayanıklı bir şişeye 5,415 gram KH_2PO_4 ve 1,78 gram K_2HPO_4 tartılmış ve 50 ml distile suda çözünmüştür. Daha sonra pH-metre yardımıyla ortam pH'sının 6 olup olmadığı kontrol edilmiştir.

Yıkama çözeltisi için; 40 ml steril distile su, 40 ml %5'lik hipoklorit çözeltisi (çamaşır suyu), 20 ml 5N KOH kullanılmadan hemen önce karıştırılır. Çamaşır suyu, ışığa hassasiyetinden dolayı açıldıktan bir süre sonra etki gücünü kaybettiğinden dolayı; küçük hacimde amber renkli şişelere bölünerek stoklanmış ve şişenin açılmasını takiben 1 aya kadar kullanılmıştır (MIT, 2015 ; Porta-de-la-Riva ve ark., 2012).

M9 tampon çözeltisi hazırlanabilmesi için, otoklav sıcaklığına dayanıklı bir şişede, 5 gram NaCl, 6 gram Na_2HPO_4 ve 3 gram KH_2PO_4, 800 ml ultra saf su içerisinde çözünmüştür. Son hacim 1litreye tamamlanıp, usulüne uygun şekilde otoklav ile sterilize edilmiştir. Çözeltiye, şişesine rahatlıkla dokunulabilecek sıcaklığa geldiğinde, 1 ml 1M $MgSO_4$ aseptik koşullarda ilave edilmiştir (Amrit ve ark., 2014).

5-fluoro-2′-deoksiuridin (FUDR) çözeltisinden beklenen etkinin sağlanabilmesi için 40mM FUDR çözeltisi hazırlanmıştır. Söz konusu derişimde çözelti hazırlanabilmesi için 98,4 mg FUDR tartılmış, steril distile su ile balonjojede 10 ml'ye tamamlanmıştır. Çözelti steril filtre ile sterilize edilerek bölünüp, -20 C'de kullanılıncaya değin saklanmıştır (Lionaki ve Tavernarakis, 2013).

2.2.3.2.4. Bakteri Üretimi

Gliserol stok çözeltisinden, yayma ekim yapılarak büyütülmüş bir katı besi yerinden, tek koloni *E. coli* OP50 eldesi için öncelikle yuvarlak uçlu öze ısıtılarak steril hale getirilmiştir. Soğultulduktan sonra; petri farazi olarak üç bölgeye ayrılmıştır. Yayma ekim kültürden soğutulmuş öze ile alınan kültür, bir bölgeye ekilmiştir. Diğer bölgelere geçmeden; her defasında öze tekrar ısıtılıp soğutulmuştur. Daha önce ekilmiş bölgeden başlanarak işlem tamamlanmıştır. Son bölgede zikzak şeklinde bir çizgi ile tek koloni eldesi hedeflenmiştir. Petriler düz vaziyette 37°C etüvde 1 gece inkübe edilmiştir. Elde edilen tek koloni *E. coli* OP50 suşu; sıvı bir besi yeri olan L-Broth'a aseptik koşullarda yuvarlak uçlu bir öze yardımıyla ekilmiş; 1 gece 37°C etüvde bekletilerek büyütülmüştür. Daha sonra NGM'de kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir (Lionaki ve Tavernarakis, 2013; Stiernagle, 2006b).

2.2.3.2.5. Katı Besi yeri Hazırlanması

Luria Bertani (LB) agar hazırlamak için; 5 gram Bacto-tryptone, 2,5 gram Bacto-yeast, 2,5 gram NaCl, 7,5 gram agar uygun büyüklükte bir şişeye tartılmış; distile su ile 500 mililitreye tamamlanmıştır. Ortamın pH değeri 7,5 oluncaya değin 1M NaOH ile bazik hale getirilmesini takiben, katı besi yeri otoklavlanmıştır. Daha sonra *E. coli* OP50 suşu elde etmek için kullanılacak katı besi yeri, aseptik şartlarda petrilere dökülmüştür. Sterilizasyon kontrolü için bir gece 37 °C etüvde bekletilmiştir. Kontaminasyon olmayan besi yeri parafilmle kaplanarak birkaç aya

kadar +4°C'de derecede ters vaziyette saklanarak kullanılmıştır (Lionaki ve Tavernarakis, 2013; Stiernagle, 2006b).

2.2.3.2.6. Sıvı Besi Yeri Hazırlanması

L-Broth besi yeri hazırlamak için; 5 gram Bacto-tryptone, 2,5 gram Bacto-yeast, 2,5 gram NaCl, ultra saf su ile 500 mililitreye tamamlanmıştır. Ortamın pH değeri 7,5 oluncaya değin 1M NaOH ile bazik hale getirilmesini takiben, sıvı besi yeri 10 ml'lik falkon tüplere bölünmüş ve otoklav ile sterilize edilmiştir. Sterilizasyon kontrolü için 1 gece 37°C etüvde bekletilmiş; kontaminasyon olup olmadığı kontrol edilmiştir (Lionaki ve Tavernarakis, 2013; Stiernagle, 2006b).

2.2.3.2.7. Bitki Ekstrelerinin Besi Yerine İlave Edilmesi

Tez çalışması kapamına alınan tüm taksonların topraküstü kısımlarından hazırlanan liyofilize ekstrelerden %70 etanol kullanılarak 5 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltiden hareketle 500 µg/ml ve 1000 µg/ml konsantrasyonda yaşam süresi analizi yapılmıştır. Öncelikle 1 litre hacimde NGM hazırlanmış, otoklav ile sterilize edildikten sonra sıcaklığı 55°C oluncaya değin soğutulmuştur. Sonrasında üzerine 40 mM konsantrasyonda FUDR çözeltisinden 1 ml ilave edilmiştir (Ergen ve ark., 2018; Lionaki ve Tavernarakis, 2013) Sonrasında 60 mm petrilere her birine 10 ml denk gelecek şekilde bölüştürülmüştür. Petriler, yerinden oynatılmaksızın banko üzerinde 1 gece boyunca kurumaya bırakılmıştır. Ertesi gün farklı konsantrasyonlarda bitki ekstresi içeren *E. coli* OP50 suşunun yer aldığı sıvı besi yeri NGM üzerine ilave edilerek, NGM'nin sıvı besi yerini emebilmesi için de yine petriler 1 gece boyunca bekletilmiştir (Ergen ve ark., 2018).

2.2.3.2.8. Yumurta Senkronizasyonu

Yaşam süresi analizi için; senkronizasyon işlemi, yumurtaların da bulunduğu farklı yaşam evrelerindeki *C. elegans* popülasyonuna uygulanmıştır. Bu amaçla petriler, M9 tampon ile yıkanmıştır. Çamaşır suyu içeren bir yıkama çözeltisi ile muamele edilmiştir. Yıkama çözeltisi; 40 ml distile su, 40 ml çamaşır suyu, 20 ml 5N KOH çözeltisinden oluşur. Yumurtalar yıkama çözeltisinin bileşiminde yer alan kimyasal ajanlara karşı dayanıklıdır. Ardışık olarak yapılan birkaç yıkama işleminden sonra toplanan senkronize yumurtalar, eş zamanlı büyüyebilmesi için yeni bir NGM içeren petriye aktarılmıştır.

Yumurta senkronizasyonu yapılacak erişkin hamile nematodlar ve yumurtaların yer aldığı 90 mm'lik 1 adet petri kabı, M9 tampon ile 45 derecelik açıyla eğik tutulacak ve sıvı alttan alınacak şekilde yıkanmıştır. M9 tamponunun kullanılan hacminin miktarı sabit olmamakla birlikte 4-5 ml yeterli olmuştur. Erişkin bireyler kolay bir şekilde toplanırken; yumurtalar NGM yüzeyine nispeten daha fazla tutunduğundan; petri sabit tutulmaya çalışılarak, tampon bir plastik damlalık yardımıyla tazyikli bir şekilde uygulanmıştır. Yıkanan petri kabı stereomikroskopta kontrol edilerek, kontamine petri kabında yumurta kalıp kalmadığına bakılmıştır. M9 tamponu ve toplanan erişkin birey/yumurtalar 10 ml'lik bir falkon tüpe aktarılmıştır. Pellet halinde dibe çökmesi için; 1 dakika 1500 rpm'de santrifüj edilmiştir (MIT, 2015). Bakterilerin de santrifüj tüpünün dibinde toplanmasını önlemek adına daha yüksek santrifüjleme hızından kaçınılmıştır. Santrifüj hızının düşük olmasından dolayı bazen solucanlar/yumurtalar tam olarak pelletlenememesi sebebiyle, her santrifüjden sonra tüpler 5 dakika buzda bekletilmiştir (Sangaletti ve Bianchi, 2013). Gevşek yapılı, bulutumsu bir beyazlık halinde olan pelletin bozulmamasına dikkat edilerek süpernatant damlalıkla alınarak atılmıştır. Nematod pelletine 5 ml yıkama çözeltisi ilave edilmiştir. Erişkin hamile bireylerin vücutlarının parçalanması yoluyla elde edilecek yumurtalar da toplanmaya çalışılmıştır. Bu sebeple yıkama çözelti ilave edilmiş santrifüj tüpü 3 dakika boyunca vortekslenmiştir. Süre sonunda tüpün içindeki sıvı 2 tüpe ayrıştırılmıştır ve ikisine de ayrı ayrı 5 ml M9 tampon çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra 1 dakika boyunca 1500 rpm hızda

santrifüjlenmiştir. Tüpün üzerinde kalan M9 atık şişesine aktarılmıştır. Son yıkama adımı 2 kez daha tekrar edilmiştir. Sonrasında yumurtalar, pastör pipeti yardımıyla yeni bir NGM'ye aktarılmıştır (MIT, 2015).

2.2.3.2.9. Yaşam Süresi Takibi

Deney grupları, taksonlara ait topraküstü ekstrelerin 500 µg/ml ve 1000 µg/ml konsantrasyonda uygulandığı petrilerden oluşmaktadır. Ayrıca kontrol grubu, %70 etanol ilave edilmiş negatif kontrol grubu ve kafeik asitin 200 µg/ml ve 300 µg/ml dozda eklendiği pozitif kontrol grupları da ilave edilmiştir. Tüm gruplarda 3 paralel çalışılmış, bir grupta ortalama 200 birey olacak şekilde bölüştürülmüştür. Tüm petriler her gün aynı saatte, yüksek çözünürlüklü bir tarayıcı yardımıyla aynı anda taranarak skorlama için kayıt altına alınmıştır. Skorlamalar, bir bilgisayar yardımıyla 3 tekrar halinde yapılmıştır.

2.2.4. Hepatoprotektif Aktivite

Üzerinde çalışma bulunmayan *A. acutifolius, A. aphyllus* subsp. *orientalis, A. officinalis, A. verticillatus* taksonlarından hazırlanan etanollü-sulu ekstrelerin hepatoprotektif aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında; ülkemizde halk arasında karaciğer hastalıklarının tedavisinde geleneksel kullanımı olan söz konusu taksonlar ile hazırlanan ekstrelerin, *Wistar albino* sıçanlarda karbontetraklorür ile oluşturulmuş akut karaciğer toksisitesi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda, deney hayvanlarının AST ve ALT enzim düzeyleri ölçülmüş, elde edilecek biyokimyasal bulgular ve histopatolojik veriler ışığında çalışmaya konu olan taksonların karaciğer koruyucu aktivitesinin olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Türkiye'de yetişen bazı *Asparagus* L. taksonlarının topraküstü ve kök ekstrelerinin hepatoprotektif etkinliğinin araştırılması çalışmalarının

tamamlanabilmesi amacıyla, İstanbul Medipol Üniversitesi Tıbbi Araştırma Merkezi'nde yürütülen araştırma kapsamında; Wistar albino ırkı erkek ve dişi sıçanlar tercih edilmiştir. Bu kapsamda; (n=6 olacak şekilde) 18 grup 108 hayvan üzerinde çalışılmıştır. Deney grupları aşağıdaki şekliyle tamamlanmıştır:

- 1.Grup:Yalnızca karboksimetilselüloz enjeksiyonu yapılmıştır.
- 2.Grup:Yalnızca 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu yapılmıştır.
- 3.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus officinalis*'in topraküstü kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 100 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 4.Grup:0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus acutifolius*'un topraküstü kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 100 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 5.Grup:0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus verticillatus*'un topraküstü kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 100 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 6.Grup:0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus aphyllus* subsp. *orientalis*'in topraküstü kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 100 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 7.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus officinalis*'in topraküstü kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 200 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 8.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus acutifolius*'un topraküstü kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 200 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 9.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus verticillatus*'un topraküstü kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 200 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 10.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus aphyllus* subsp. *orientalis*'in topraküstü kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 200 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.

- 11.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus officinalis*'in toprak altı kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 200 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 12.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus acutifolius*'un toprak altı kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 200 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 13.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus verticillatus*'un toprak altı kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 200 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 14.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus aphyllus* subsp. *orientalis*'in toprak altı kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 200 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 15.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus officinalis*'in toprak altı kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 100 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 16.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus acutifolius*'un toprak altı kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 100 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 17.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus verticillatus*'un toprak altı kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 100 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.
- 18.Grup: 0,8 ml/kg dozda CCl_4 enjeksiyonu ile *Asparagus aphyllus* subsp. *orientalis*'in toprak altı kısımlarından elde edilen sulu-etanollü ekstreden 100 mg/kg dozda enjeksiyon yapılmıştır.

Her gün enjeksiyonlardan önce hayvanların ağırlıkları kaydedilmiştir. Hayvanların ağırlıklarına göre; enjekte edilecek miktarlar belirlenmiştir. CCl_4, enjeksiyonluk zeytinyağı ile 1:1 oranında karıştırılarak süspanse edilmiştir. Ekstreler ise; karboksimetilselüloz çözeltisi içinde süspanse edilmiştir. Bütün uygulamalar her gün aynı saatte ve intraperitonal olarak uygulanmıştır. İlaç uygulaması karnın sol tarafına, CCl_4 uygulaması ise karnın sağ tarafına ayrı bir enjektör içerisinde yapılmıştır. Uygulama yapılmadan önce tüm ilaçlar steril Whatman 0.45 µm CA

w/GMF filtre ile süzülmüştür. Toplam 7 gün süren enjeksiyon prosedürüne göre; deney gruplarında ilk 5 gün CCl_4 ve ekstre enjeksiyonu birlikte yapılmış, 6. ve 7. günlerde sadece ekstre uygulanmıştır. Hayvanlar 8. gün son kez tartılmış ve sakrifiye edilmiştir. Sakrifikasyon günü kanları alınarak; ayrılan serum kısmından ALT, AST değerlerine bakılmıştır. Ayrıca karaciğer dokusu da alınarak; doku parankimindeki hasar gözlemek amacıyla skorlanmak üzere histolojik preparasyon başlatılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

3.1.1. Ekstraksiyon Çalışmalarına Ait Bulgular

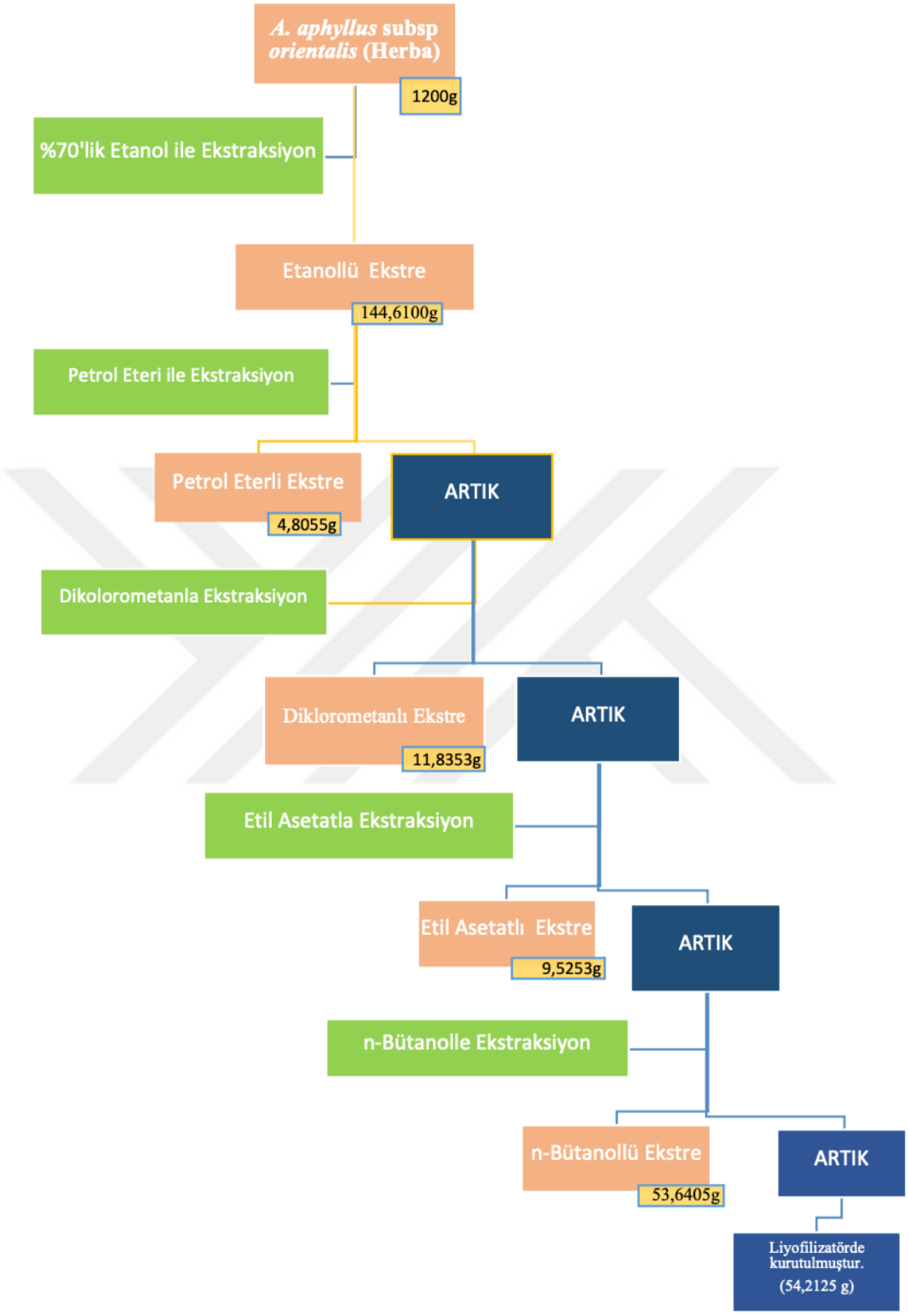
3.1.1.1. Total Ekstrelerin Hazırlanması

Çalışmaların yürütülebilmesi amacıyla dört farklı *Asparagus* taksonunu *(A. acutifolius, A. aphyllus* subsp. *orientalis, A. verticillatus, A. officinalis*) topraküstü ve kök kısımlarından 100 g tartılmış, etanol:su (70:30) kullanılarak oda sıcaklığında 24 saat masere edilmiş; sonrasında 1 saat boyunca ultrasonik banyoda tutulmuştur. Hazırlanan etanollü-sulu ekstre süzülüp rotavaporda 45ºC'yi geçmeyen sıcaklıkta yoğunlaştırılmış ve kalan sulu kısım liyofilizasyon ile tamamen kurutulmuştur. Hazırlanan total ekstrelerin miktarları Çizelge 3.1.'de yer aldığı gibidir.

Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar sonuçları neticesinde, diğer taksonlara kıyasla daha yüksek aktiviteye sahip *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonu üzerinde çalışılmasına karar verilmiştir. İzolasyon çalışmalarında kullanılmak üzere, söz konusu taksonun topraküstü kısımlarından büyük ölçekli total ekstre hazırlanmıştır. Bu amaçla toz edilmiş 1200 gram topraküstü bitkisel materyalden, 144,61 gram total ekstre elde edilmiştir. Total ekstre, fitokimyasal içeriğinin aydınlatılabilmesi amacıyla, artan polaritede farklı çözücülerle sıvı-sıvı ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Şekil. 3.1.'de yer alan yol izlenerek, belirtilen miktarlarda 5 farklı polaritede alt ekstre elde edilmiştir.

Çizelge 3.1. *Asparagus* taksonlarından hazırlanan ekstrelerin miktarları (g).

Takson Adı	Kullanılan kısım	Miktar (g)
A. acutifolius	Topraküstü	6,8819 g
	Kök	11,9600 g
A. aphyllus subsp. ***orientalis***	Topraküstü	12,4848 g
	Kök	14,0300 g
A. verticillatus	Topraküstü	12,3639 g
	Kök	19,0500 g
A. officinalis	Topraküstü	7,4822 g
	Kök	16,5700 g

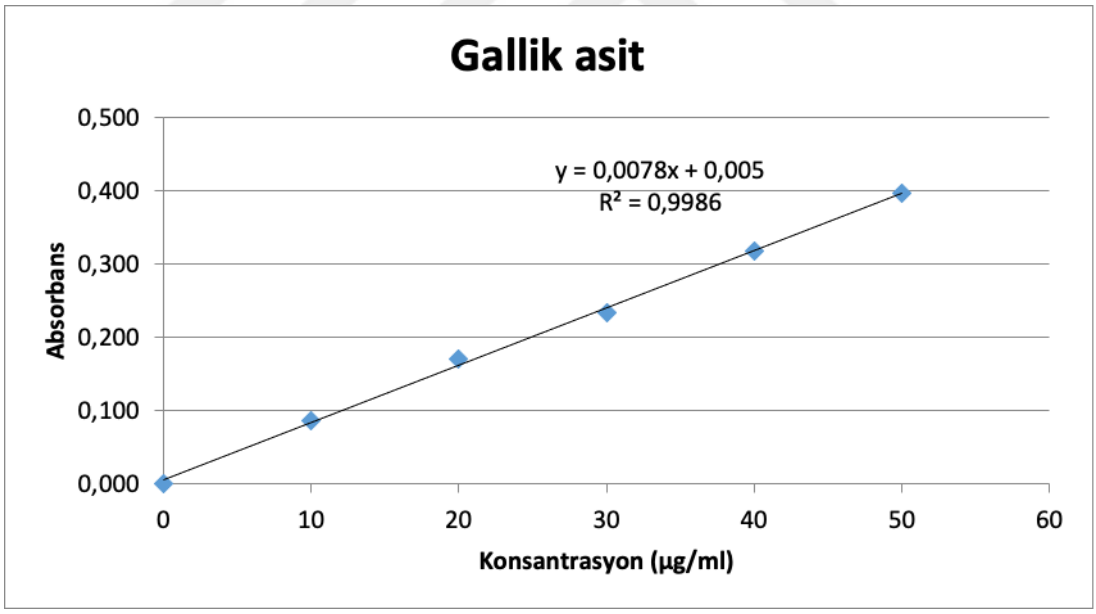


Şekil 3.1. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonuna ait ekstraksiyon şeması.

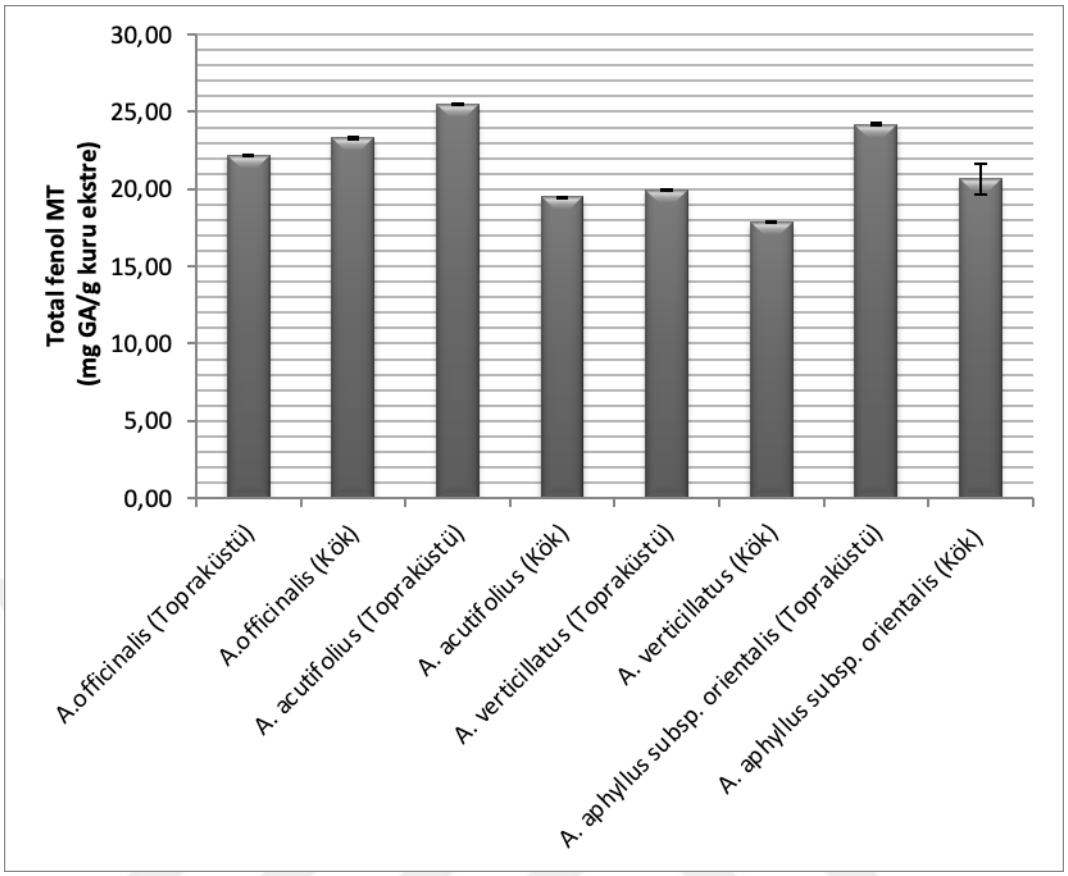
3.1.2. Miktar Tayini Yöntemleri

3.1.2.1. Total Fenol Miktar Tayini

Bitki ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarı Folin Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir. Gallik asitin konsantrasyona karşı absorbans verileri kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 3.2.). Bitki ekstrelerinin total fenolik madde içeriği GAE olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 3.2.'de açıklanmış ve Şekil.3.3.'te şematize edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı en yüksek olan ekstreler sırasıyla *A. acutifolius* (topraküstü) ve *A. aphyllus subsp. orientalis* (topraküstü) (sırasıyla 25,52 ve 24,20 mg GAE/g kuru ekstre) bulunmuştur. *A. acutifolius* (topraküstü)'un tüm ekstrelerden anlamlı düzeyde yüksek miktarda total fenolik madde içerdiği görülmüştür ($p<0.05$).



Şekil 3.2. Gallik asit kalibrasyon eğrisi (Total Fenol Miktar Tayini).



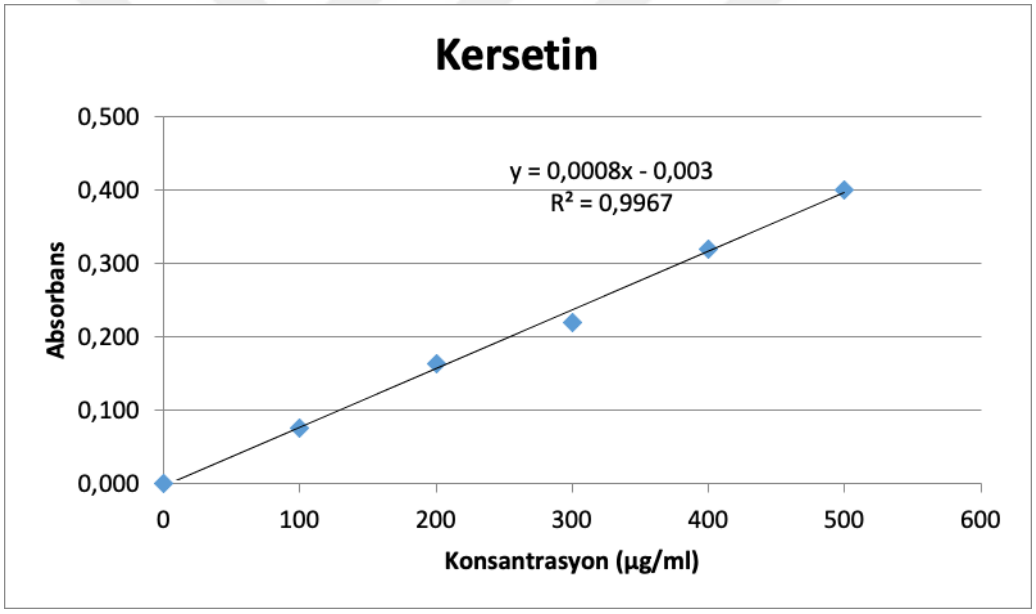
Şekil 3.3. Bitki ekstrelerinin total fenolik madde miktarlarının şematize hali.

Çizelge 3.2. Bitki ekstrelerinin total fenolik madde miktarı.

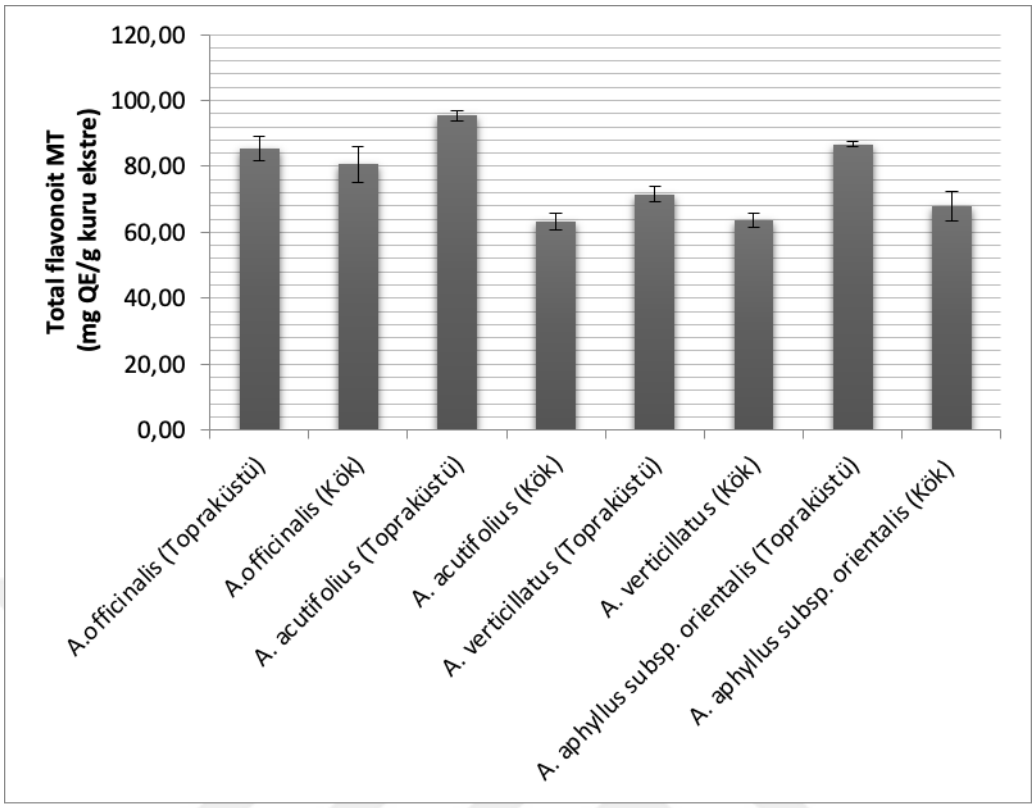
Bitki Ekstresi		mg gallik asit eşdeğeri / g kuru ekstre
No	**İsim**	**Ortalama±SS**
1	*A. officinalis* (Topraküstü)	22,1987±0,0165
2	*A. officinalis* (Kök)	23,3077±0,0939
3	*A. acutifolius* (Topraküstü)	25,5160±0,0140
4	*A. acutifolius* (Kök)	19,4904±0,0310
5	*A. verticillatus* (Topraküstü)	19,9551±0,0323
6	*A. verticillatus* (Kök)	17,8622±0,0454
7	*A. aphyllus* subsp. *orientalis* (Topraküstü)	24,1955±0,0586
8	*A. aphyllus* subsp. *orientalis* (Kök)	20,6506±0,9947

3.1.2.2. Total Flavonoit Miktar Tayini

Bitki ekstrelerinin total flavonoit madde miktarı alüminyum klorür yöntemi ile belirlenmiştir. Kersetin (QE) için konsantrasyona karşı absorbans verileri kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 3.4). Bitki ekstrelerinin total flavonoit madde içeriği QE olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 3.3.'te açıklanmış ve Şekil 3.5.'te şematize edilmiştir. Total flavonoit miktarı en yüksek olan ekstreler sırasıyla *A. acutifolius* (topraküstü) ve *A. aphyllus* subsp. *orientalis* (topraküstü)'tir (sırasıyla 95,42 ve 86,75 mg QE / g kuru ekstre). *A. aphyllus* subsp. *orientalis* (topraküstü)'in total flavonoit madde içeriği, diğer ekstrelerden anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 3.4. Kersetin kalibrasyon eğrisi (Total Flavonoit Miktar Tayini).



Şekil 3.5. Bitki ekstrelerinin total flavonoit madde miktarlarının şematize hali.

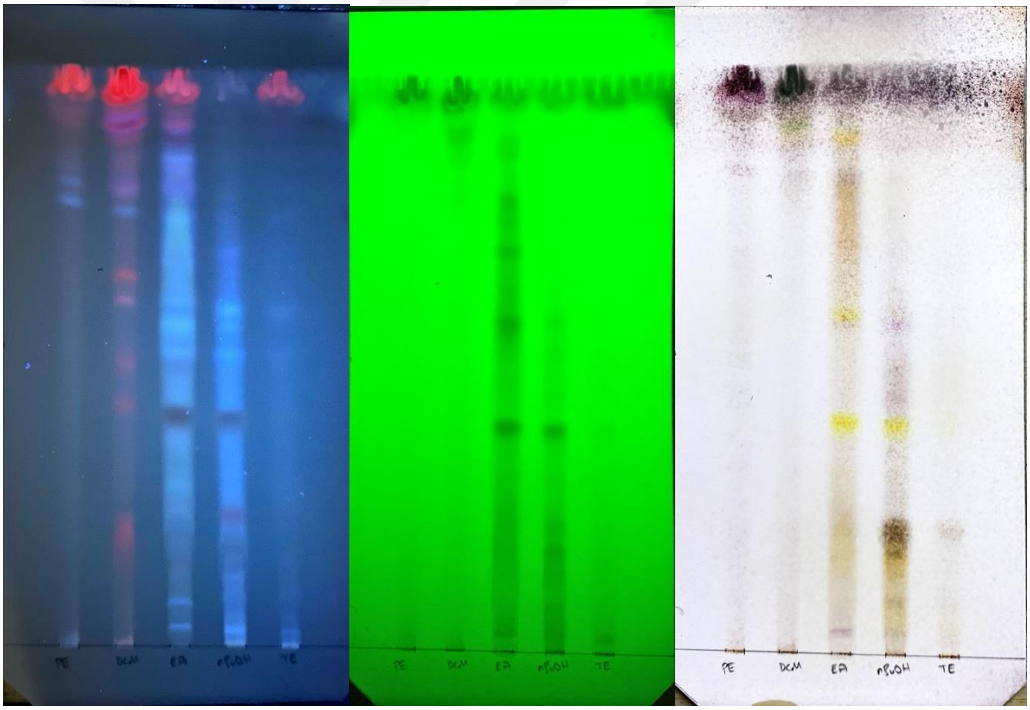
Çizelge 3.3. Bitki ekstrelerinin total flavonoit madde miktarı.

Bitki Ekstresi		mg kersetin eşdeğeri / g kuru ekstre
No	**İsim**	**Ortalama±SS**
1	*A. officinalis* (Topraküstü)	85,5938±3,7002
2	*A. officinalis* (Kök)	80,6563±5,4719
3	*A. acutifolius* (Topraküstü)	95,4167±1,6504
4	*A. acutifolius* (Kök)	63,2188±2,4966
5	*A. verticillatus* (Topraküstü)	71,6250±2,3419
6	*A. verticillatus* (Kök)	63,6250±2,1902
7	*A. aphyllus* subsp. *orientalis* (Topraküstü)	86,7500±0,6960
8	*A. aphyllus* subsp. *orientalis* (Kök)	67,8750±4,3463

3.1.3. Kromatografik Bulgular

3.1.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi

Literatür verileri, *Asparagus* cinsi bitkilerin fenolik bileşikler ve saponinler açısından zengin olduğunu göstermektedir. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun ince tabaka kromatografisi ile incelenmesinde, biyolojik açıdan etkili olduğu bilinen bu bileşikler üzerinde durulmuş, fitokimyasal içeriğinin belirlenebilmesi için farklı çözücü sistemleri denenmiştir. Gereç ve yöntem kısmında yer verilen bu çözücü sistemlerinde yürütülen plaklar, Vanilin-H_2SO_4 belirteci ile muamele edilmiştir. Yapılan analizlerin bazı örneklerine Şekil 3.6.'da yer verilmiştir.



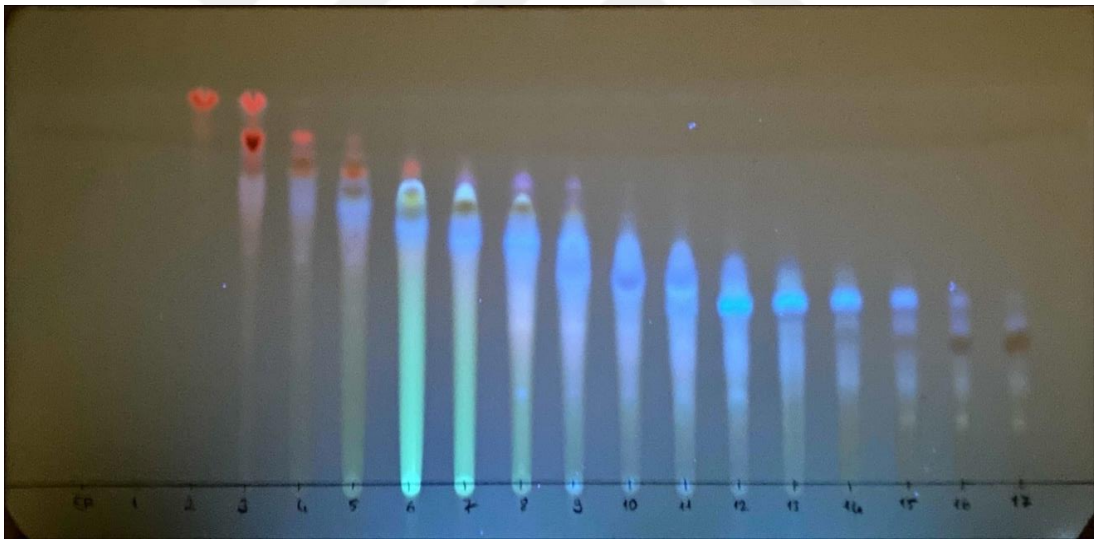
Şekil 3.6. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun topraküstü kısımlarından hazırlanan sırasıyla petrol eteri, diklorometan, etil asetat, *n*-butanol, total ekstrenin Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) çözücü sistemi kullanılarak gerçekleştirilen İTK kromatogramları.

Gerçekleştirilen İTK analizleri ile ayrıca söz konusu taksonun topraküstü kısımlarından hazırlanan total ekstreden hareketle elde edilen alt ekstrelerin, en iyi

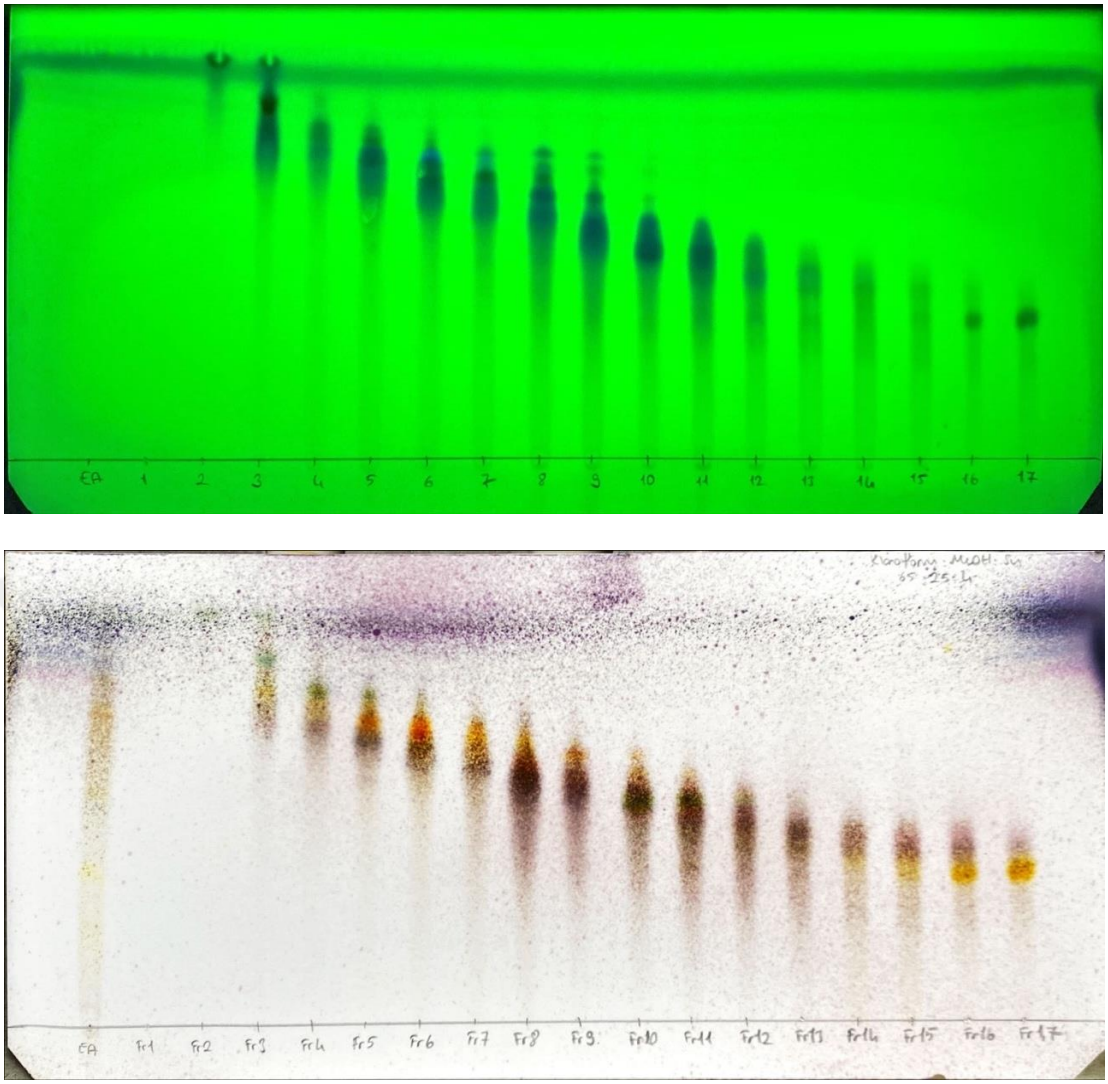
ayırımının görüldüğü çözücü sistemi veya sistemlerinin belirlenebilmesi de amaçlanmıştır.

Şekil 3.6.'da yer alan kromatogramlar değerlendirilmiş, etil asetatlı alt ekstrenin fenolik maddelerce zengin olduğuna karar verilmiştir. Bu bağlamda, etil asetatlı alt ekstrenin ayırımının en iyi olduğu Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) çözücü sistemi kullanılarak fraksiyonlandırılmasına karar verilmiştir. Etil asetatlı alt ekstredeki tüm maddelerin kolon kromatografisi ile ayrı ayrı alınabilmesi için bahsi geçen çözücü sisteminin izokratik elüsyon ile uygulanmasına karar verilmiştir.

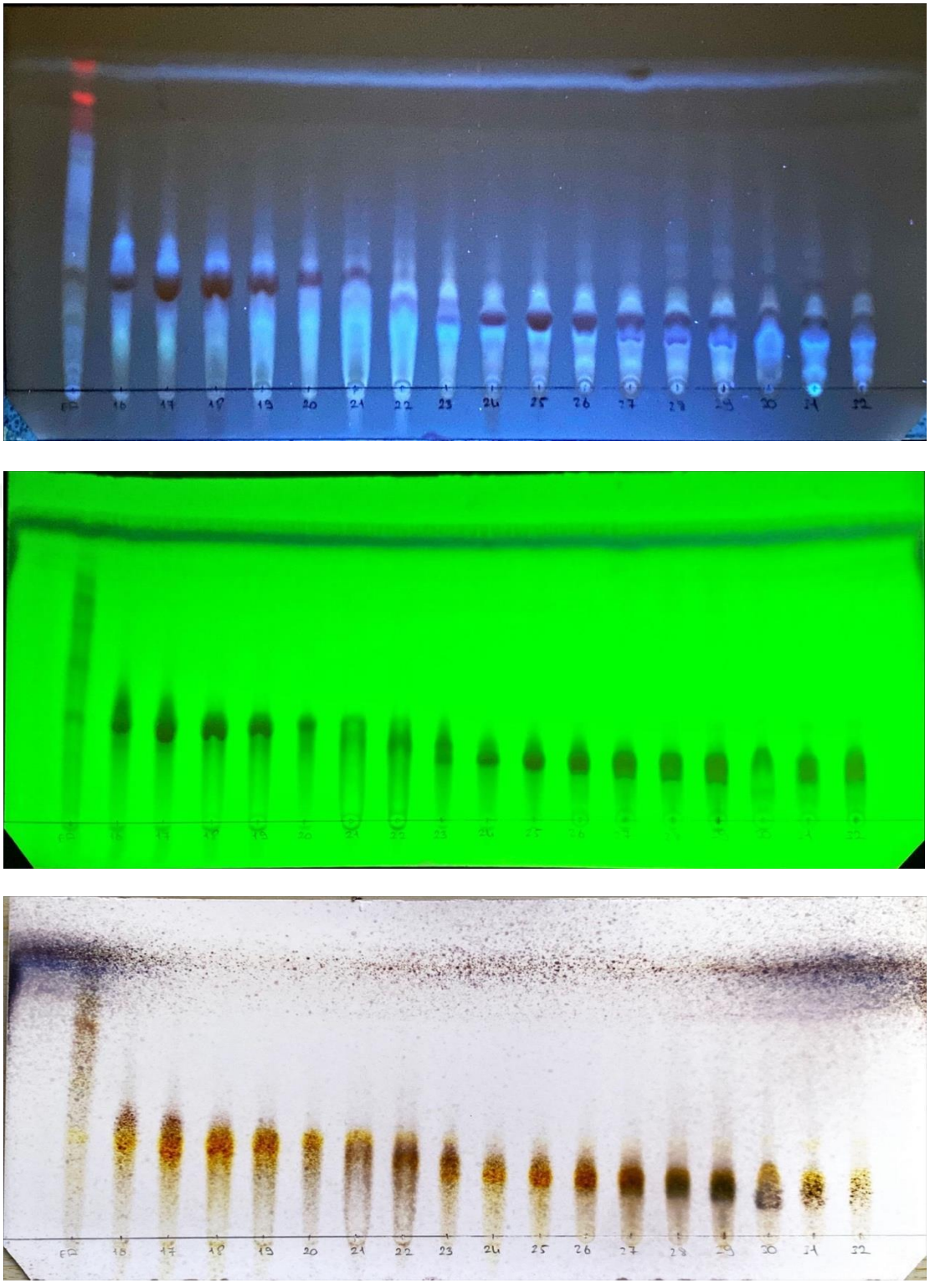
Silika jel kolonda, Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) çözücü sistemi kullanılarak toplanan fraksiyonların İTK profillerine Şekil 3.7.-3.11.'de yer verilmiştir.



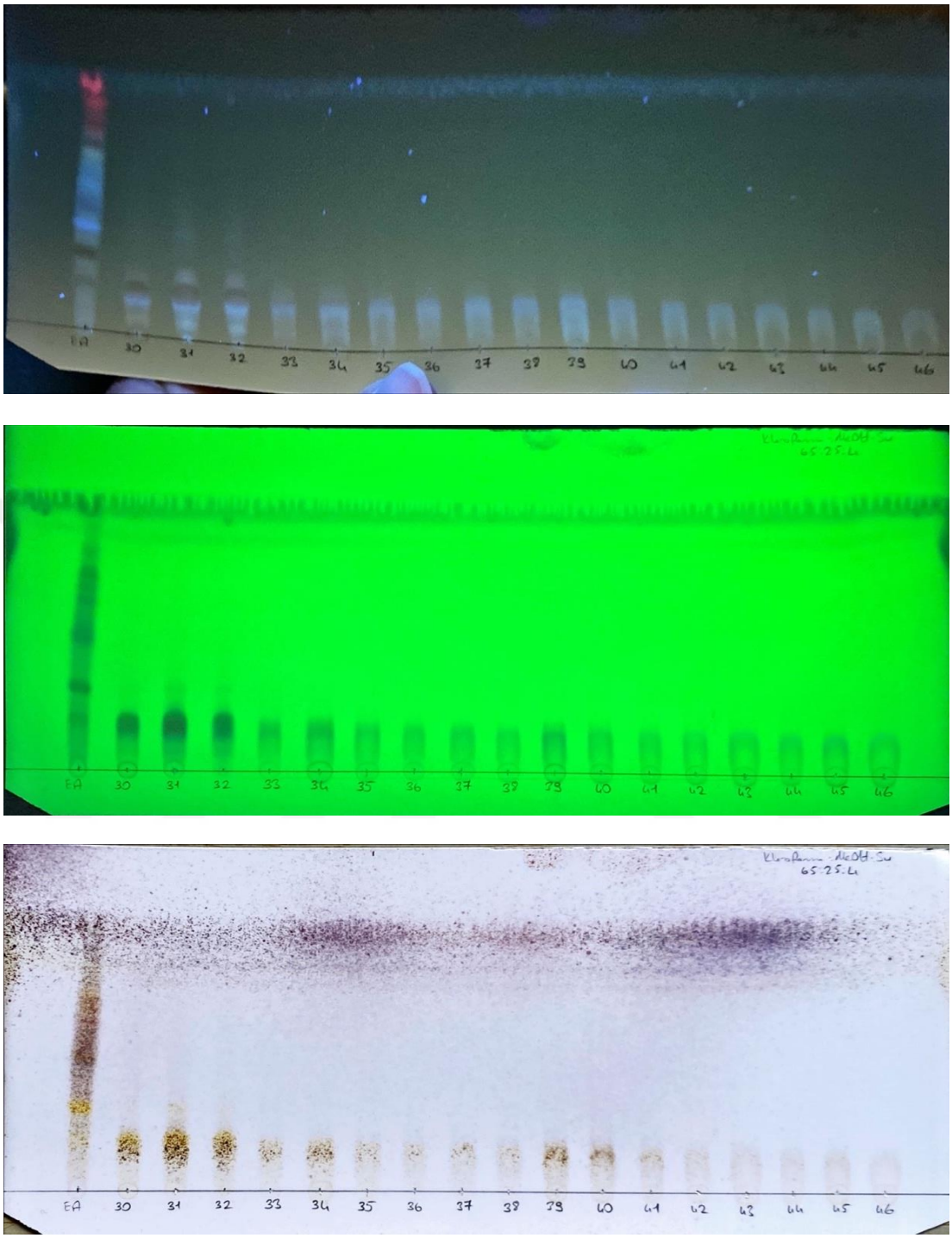
Şekil 3.7. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 1. ve 17. fraksiyonların Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.



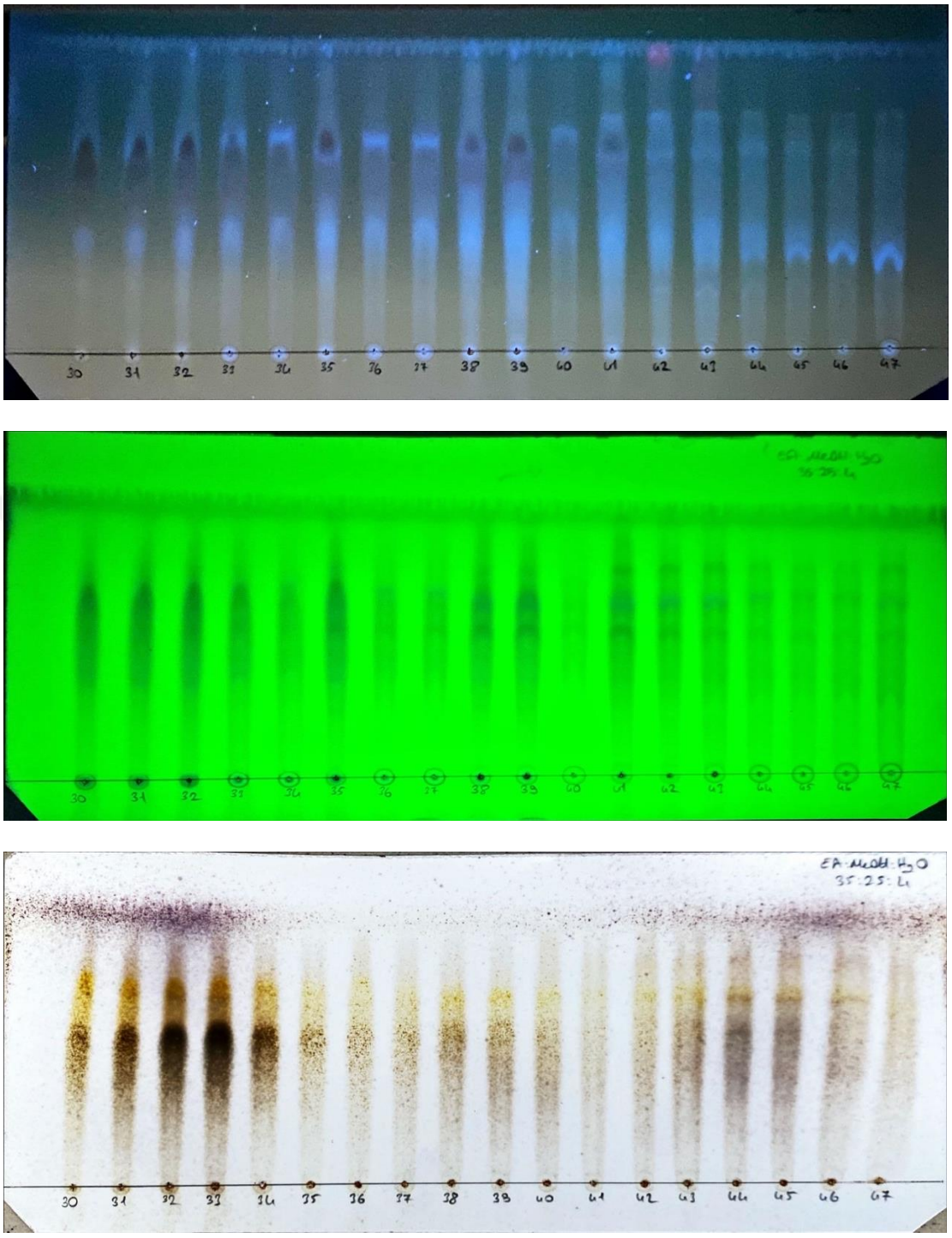
Şekil 3.7. Devam. A. *aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 1. ve 17. fraksiyonların Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.



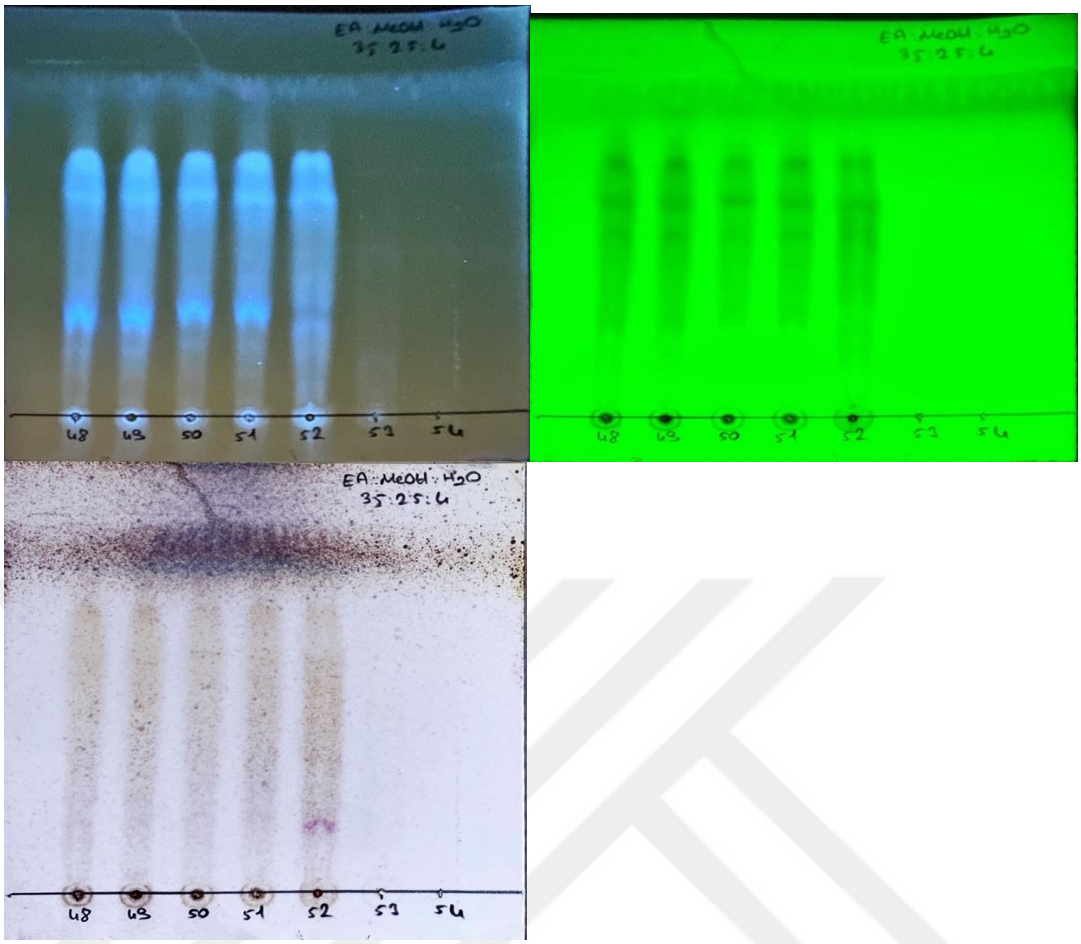
Şekil 3.8. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 17. ve 32. fraksiyonların Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.



Şekil 3.9. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 30. ve 46. fraksiyonların Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.

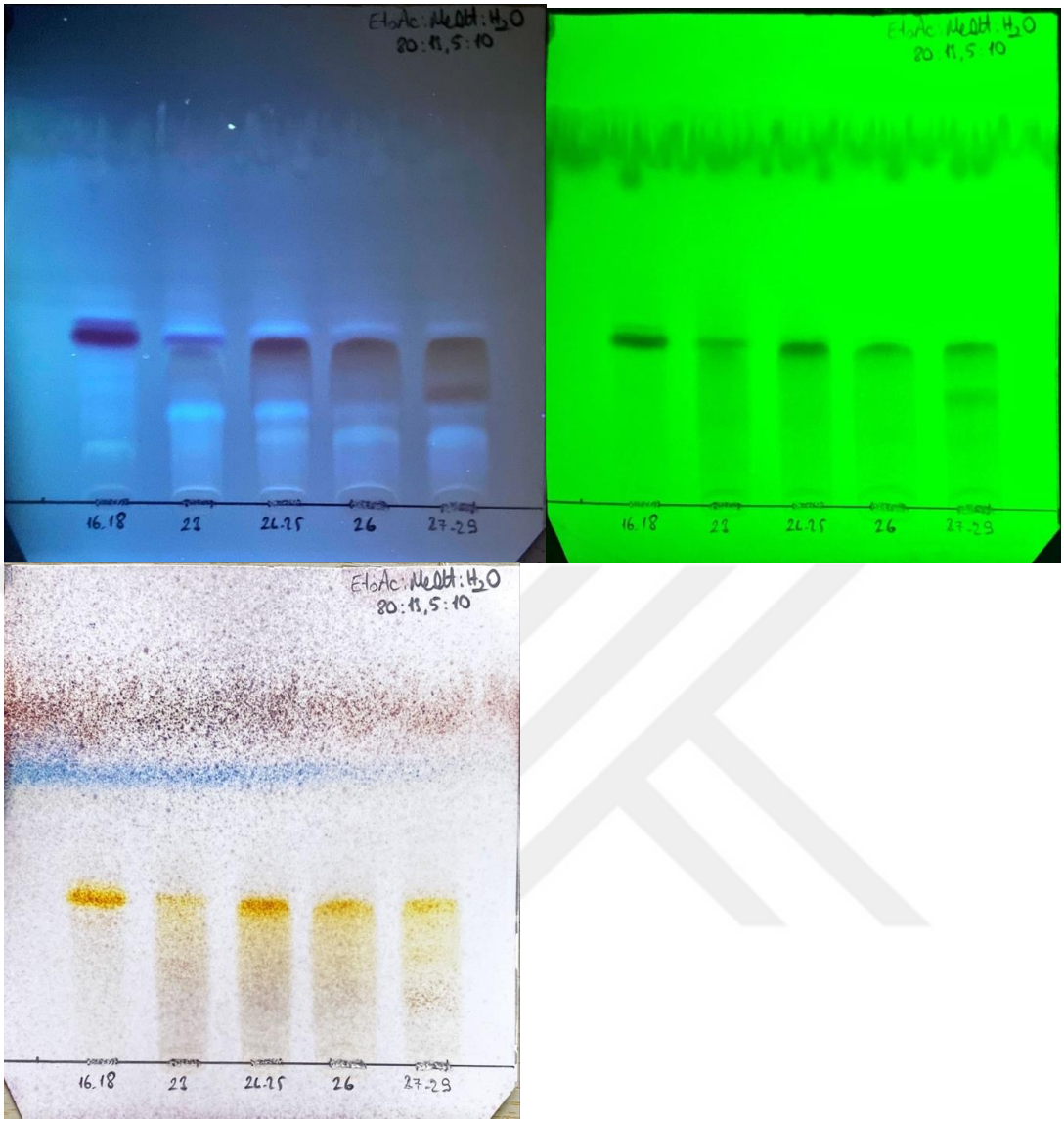


Şekil 3.10. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 30. ve 47. fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (35:25:4) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.



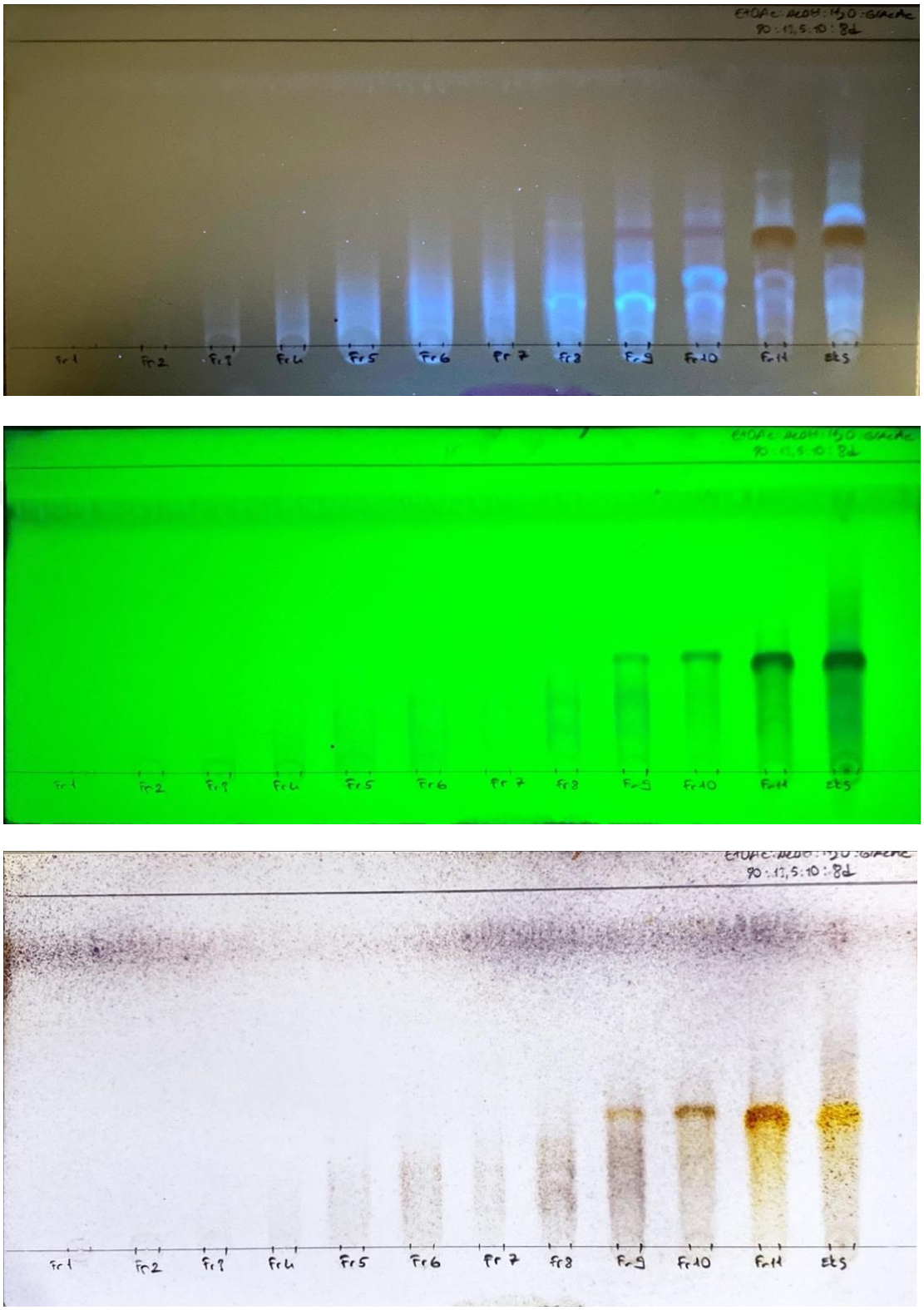
Şekil 3.11. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen 48. ve 54. fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (35:25:4) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.

Yapılan İTK analizleri neticesinde, benzer fitokimyasal profile sahip fraksiyonların birleştirilmesine karar verilmiştir. Fenolik bileşenler açısından ele alındığında, major bileşikleri taşıdığı saptanan ve bahsedilen şekilde birleştirilen bazı fraksiyonlar Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmiştir. İzolasyon çalışmalarının İTK profilleri Şekil 3.12.'de yer almaktadır.

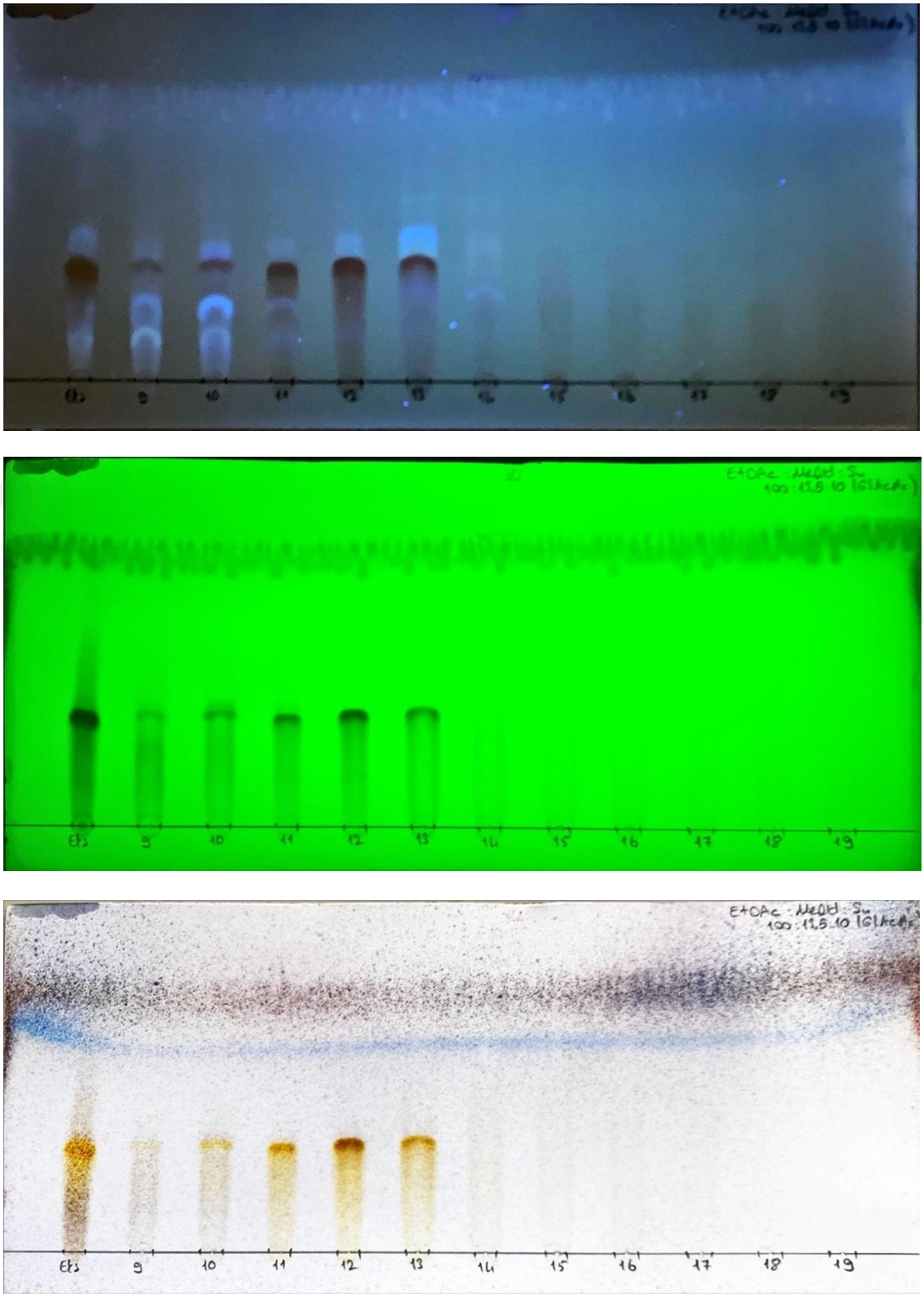


Şekil 3.12. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ve birleştirilen bazı fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.

Silika jel kolondan elde edilen ve yürütülen İTK analizleri neticesinde, birleştirilen 24-26 fraksiyonlar Sefadeks kolon kromatografisi ile alt fraksiyonlarına ayrılmıştır. Sefadeks kolondan toplanan alt fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramlarına Şekil 3.13.-3.14.'de yer verilmiştir.

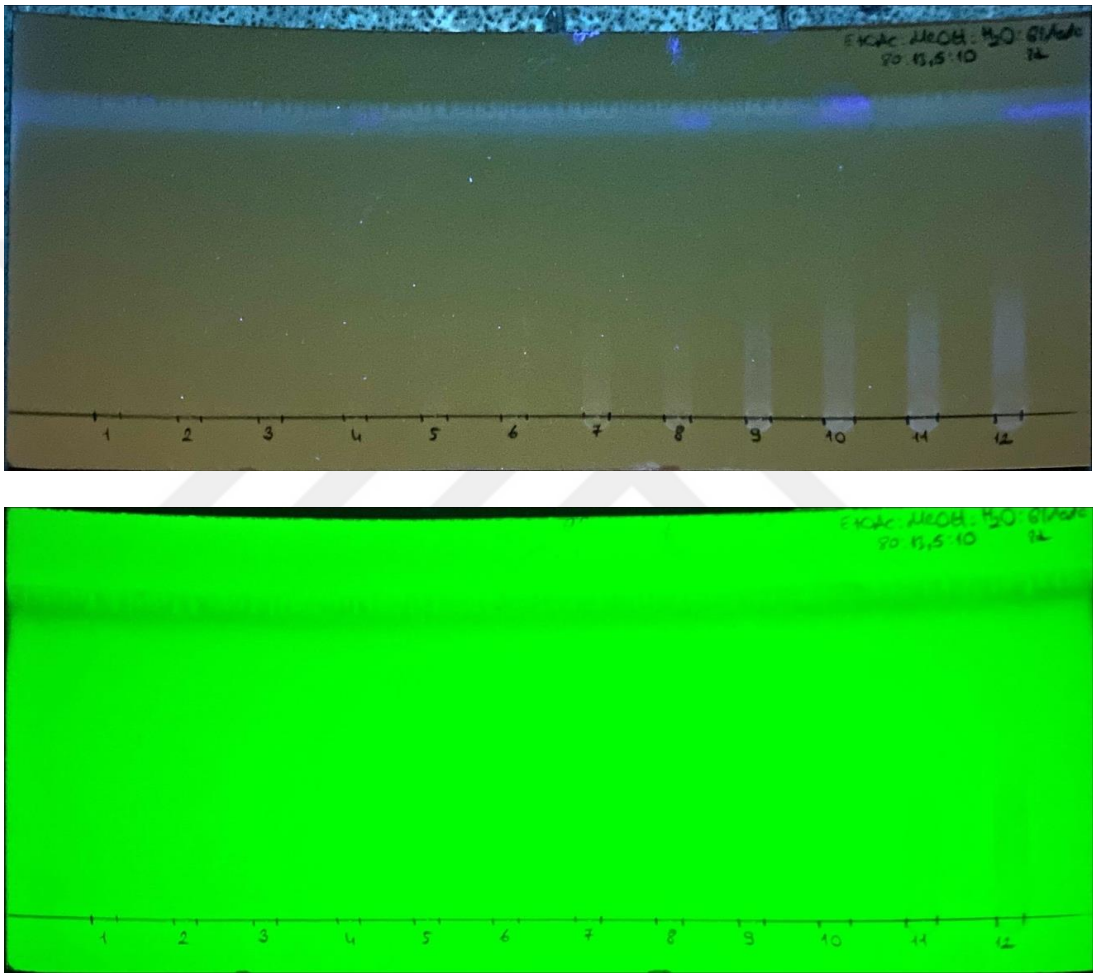


Şekil 3.13. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ve birleştirilen 24-26. fraksiyonların Sefadeks kolona uygulanması ile toplanan 1. ve 11. alt fraksiyonlarının Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.

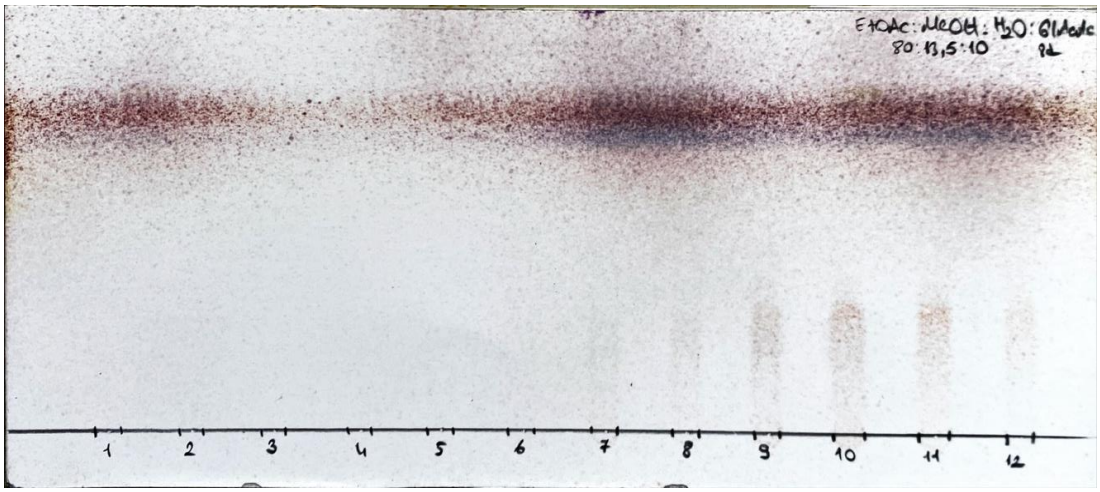


Şekil 3.14. A. *aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ve birleştirilen 24-26. fraksiyonların Sefadeks kolona uygulanması ile toplanan 9. ve 19. alt fraksiyonlarının Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.

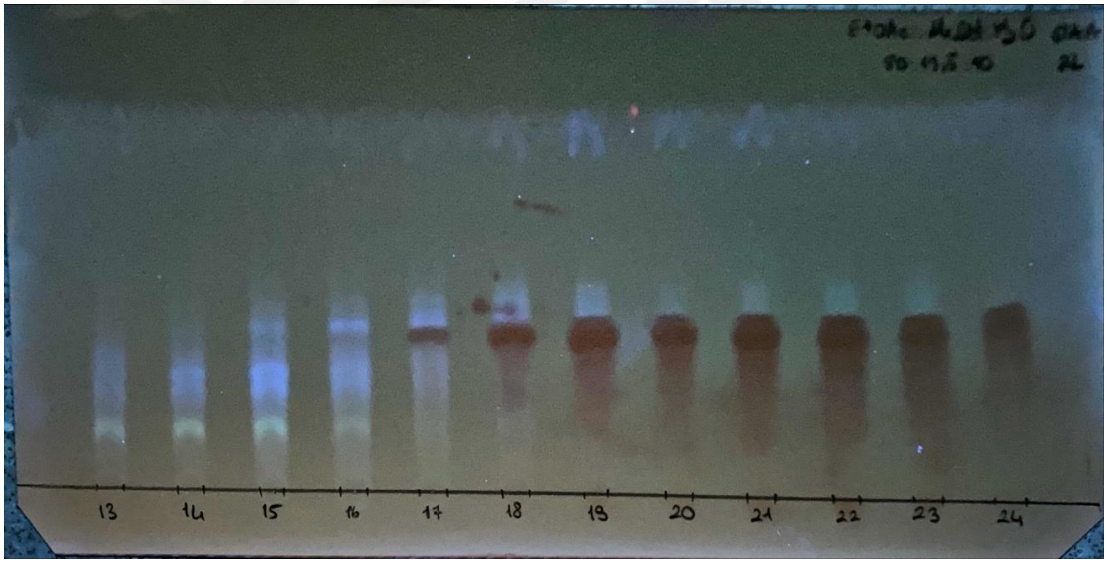
Silika jel kolondan elde edilen ve yürütülen İTK analizleri neticesinde, birleştirilen 16-18. fraksiyonlar Sefadeks kolon kromatografisi ile alt fraksiyonlarına ayrılmıştır. Sefadeks kolondan toplanan alt fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramlarına Şekil 3.15.-3.16.'da yer verilmiştir.



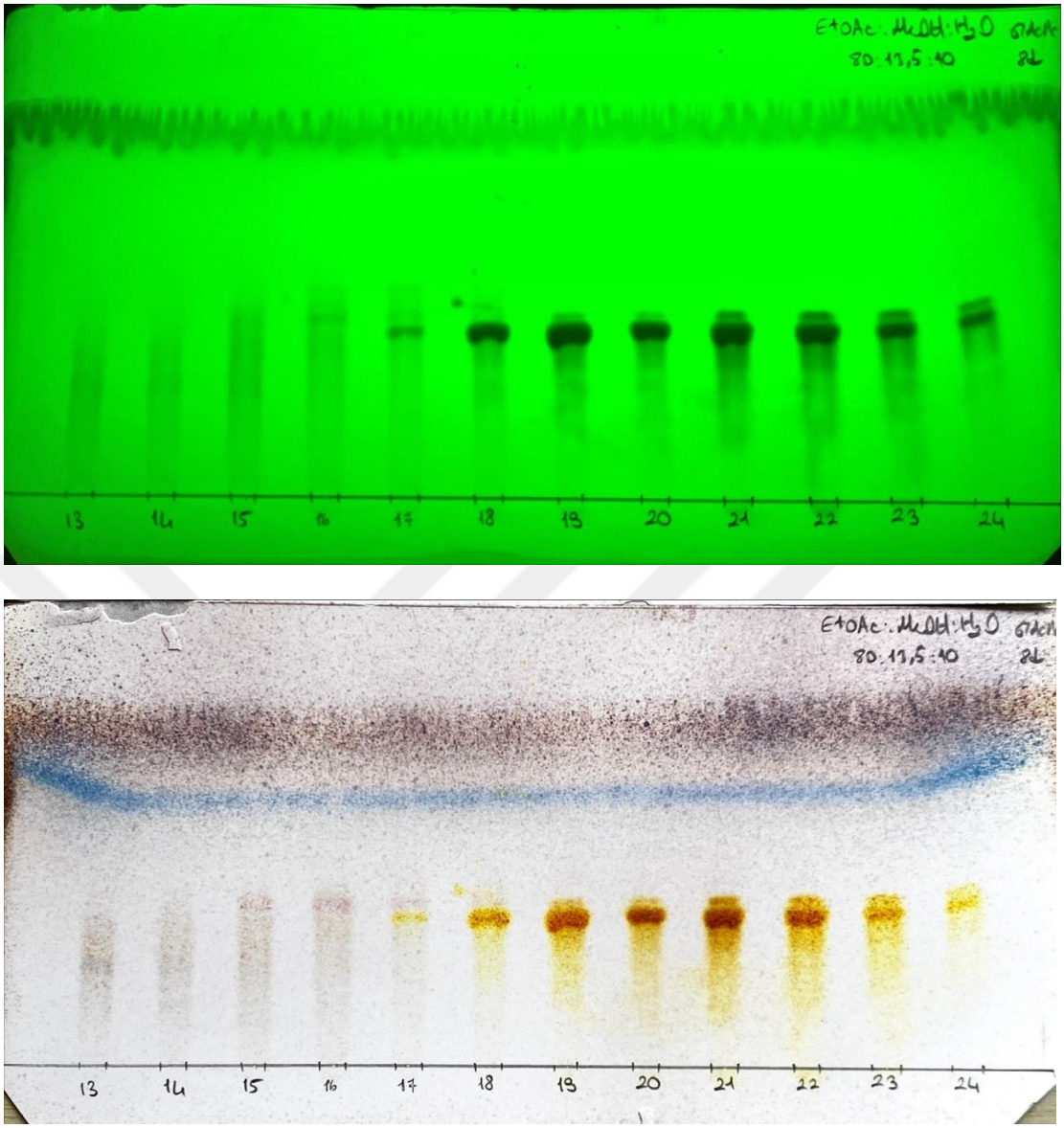
Şekil 3.15. *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ve birleştirilen 16-18. fraksiyonların Sefadeks kolona uygulanması ile toplanan 1. ve 11. alt fraksiyonlarının Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.



Şekil 3.15. Devam. A. *aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ve birleştirilen 16-18. fraksiyonların Sefadeks kolona uygulanması ile toplanan 1. ve 11. alt fraksiyonlarının Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.



Şekil 3.16. A. *aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ve birleştirilen 16-18. fraksiyonların Sefadeks kolona uygulanması ile toplanan 13. ve 24. alt fraksiyonlarının Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.



Şekil 3.16. Devam. A. *aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ve birleştirilen 16-18. Fraksiyonların Sefadeks kolona uygulanması ile toplanan 13. ve 24. alt fraksiyonlarının Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları.

Sefadeks kolona uygulanması ile toplanan 1. ve 11. alt fraksiyonlarının Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenmesiyle elde edilen İTK kromatogramları (Sırasıyla 366 nm, 254 nm dalga boyu ve Vanilin-H_2SO_4 reaktifi ile muamele edilmiş gün ışığındaki İTK kromatogramları) Ayrıca Silika jel kolondan elde edilen 5. fraksiyon ile yürütülen İTK analizleri neticesinde birleştirilen 21-23. fraksiyonlar da Sefadeks kolon kromatografisiyle ayrı ayrı alt fraksiyonlarına

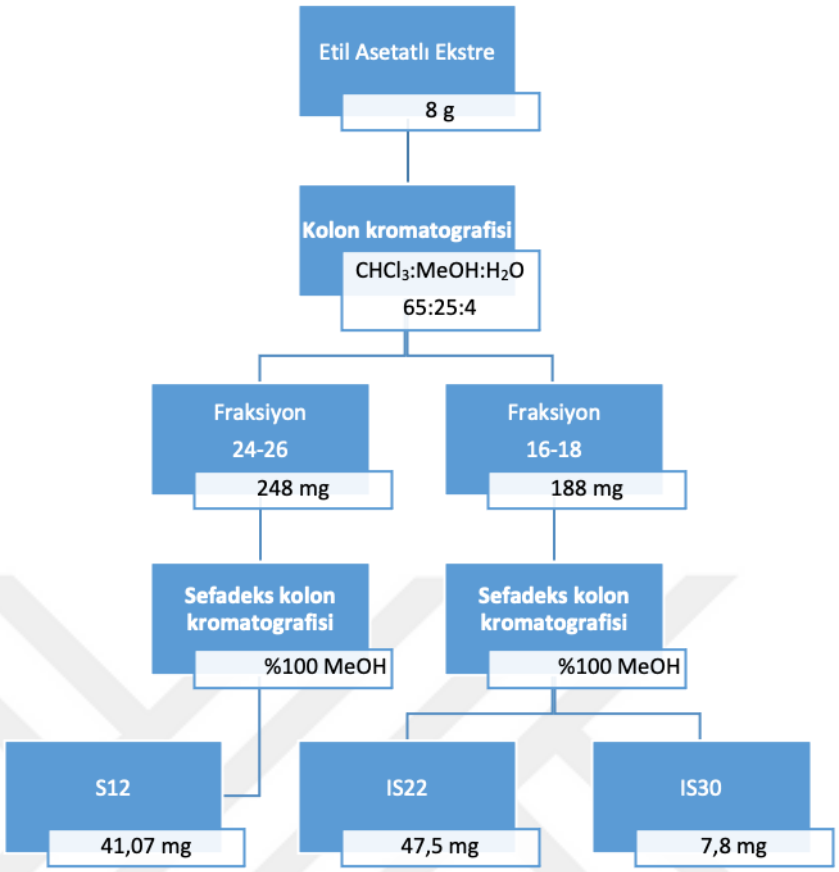
ayrılmıştır. Elde edilen alt fraksiyonlar, preparatif İTK ile saflaştırılmaya çalışılmışsa da başarılı sonuçlar elde edilememiştir.

3.1.3.2. Kolon Kromatografisi Bulguları

3.1.3.2.1. Açık Kolon Kromatografisi Bulguları

A. aphyllus subsp. *orientalis*'in etil asetatlı alt ekstresi (8 g), Kloroform:Metanol:Su (65:25:4) ve %100 metanol çözücü sistemleri ile elüe edilerek Silika jel kolona uygulanmış, toplam 54 fraksiyon elde edilmiştir. Tüm fraksiyonlar, hem İTK hem de YPSK ile paralel şekilde analiz edilmiş, aynı veya çok benzer fitokimyasal profile sahip olan fraksiyonlar birleştirilmiş, toplam 28 fraksiyon elde edilmiş ve tartılarak miktarları kaydedilmiştir.

Birleştirilen fraksiyonlardan, çöken bileşiklerin olduğu 16-18. ve 24-26. fraksiyonlardan saflaştırılan bileşiklere ait izolasyon şeması Şekil 3.17'de yer almaktadır.



Şekil 3.17. A. *aphyllus* subsp. *orientalis* taksonunun etil asetatlı alt ekstresinden kromatografik yöntemlerle saflaştırılan bileşikler ve izolasyon şeması.

3.1.3.2.2. Sefadeks Kolon Kromatografisi Bulguları

Silika jel kolonun, çökmeler görülen ve kromatografik analizler sonucu birleştirilen, 24-26. fraksiyonları toplam 248 mg halinde Sefadeks LH 20 (Sigma LH20100) kolona uygulanmıştır. Sefadeks kolondan elüe edilerek, 10'ar ml hacimde alt fraksiyonlar toplanmıştır. İlk Sefadeks kolondan toplanan 12. alt fraksiyonun, İTK ve YPSK analizleri sonucunda saf olduğu anlaşılmış, çözücüsü uzaklaştırılınca miktarının 41,07 mg olduğu tespit edilmiştir.

Daha sonra, Silika jel kolonun kromatografik analizler sonucu birleştirilen 16-18. fraksiyonları, toplam 188 mg halinde Sefadeks kolona uygulanmıştır. Sefadeks kolondan elüe edilerek, 5'er ml hacimde alt fraksiyonlar toplanmıştır. İkinci Sefadeks kolondan toplanan ve yapılan İTK ve YPSK analizleri neticesinde saf

olduğu tespit edilen maddenin yer aldığı 29-31. alt fraksiyonları birleştirilmiştir. Çözücüsü uzaklaştırılınca miktarının 7,8 mg olduğu tespit edilmiştir. Aynı kolondan elde edilen 21-23. alt fraksiyonların İTK ve YPSK analizleri yapılmış, yüksek oranda majör bileşik içermekle birlikte kirlilikler taşıdığı tespit edilmiştir. Çözücüsü uzaklaştırılan alt fraksiyon karışımının miktarının 51,15 mg olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen madelerin YPSK kromatogramları ile UV spektrumları Şekil 3.34-3.36'da gösterilmiştir.

3.1.3.3. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi Bulguları

İkinci Sefadeks kolondan toplanan 21-23. alt fraksiyon karışımlarında majör bileşiğin izolasyonu için; preparatif ince tabaka kromatografisi tercih edilmiştir. Preparatif ince tabaka kromatografisi için, 20x20 cm boyutunda Silika jel 60 F254 (Merck, 1.05554) hazır kaplı alüminyum plaklar kullanılmıştır. Numune kılcal boru yardımıyla plak üzerine bant şeklinde uygunlanmış, Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sisteminde sürüklenen plaklar tanktan çıkarılıp kurutulmuştur. Plakların üzerindeki lekeler, 254 nm ve 366 nm'de UV altında kontrol edilmiştir. Kuvvetli renk oluşumu gözlenen ve saf olduğundan şüphelenilen bileşiğin yeri işaretlenmiş ve söz konusu bant alüminyum plak kesilerek alınmıştır. Kesilen bantlar metanolde bir süre bekletildikten sonra, pileli süzgeç kağıdından (S&S, 125 mm, 5893 blue ribbon) süzülerek Silika jelinden arındırılmıştır. Metanollü kısmı çeker ocak altında uzaklaştırılan bileşiğin İTK ve YPSK analizleri yapılmıştır.

3.1.3.4. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Bulguları

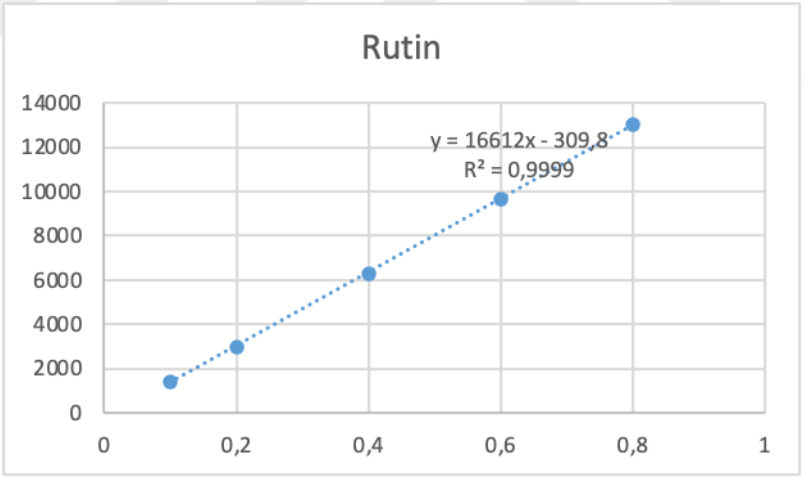
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı imkanları dahilinde temin edilebilen standart maddelerden yapılan kalitatif analiz sonucu rutin ve kafeik asit varlığı saptanmış, kantitatif analizleri de standartlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.1.3.4.1. Rutin Miktar Tayini Bulguları

Topraküstü kısımlardan hazırlanan ekstrelerde tespit edilen rutinin analizi 254 nm dalga boyunda yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (0,1 mg/mL; 0,2 mg/mL; 0,4 mg/mL; 0,6 mg/mL; 0,8 mg/mL) hazırlanan standart çözeltilerinin üçer kere enjeksiyonu yapılmış ve elde edilen veriler doğrultusunda kalibrasyon denklemi elde edilmiştir.

Rutin standardı için kalibrasyon denklemi Şekil 3.18'de yer aldığı gibi;
y = 16612x - 309,8 (R^2=0,9999) olarak saptanmıştır.

Rutin için tespit limiti (Bhalodiya ve ark.) 0,0003 mg/mL; tayin limiti (LOQ) ise 0,001mg/mL olarak hesaplanmıştır. Standart madde bu konsantrasyonlarda hazırlanıp altışar kere cihaza verilerek analizi yapılmıştır.



Şekil 3.18. Rutin için hazırlanan kalibrasyon denklemi.

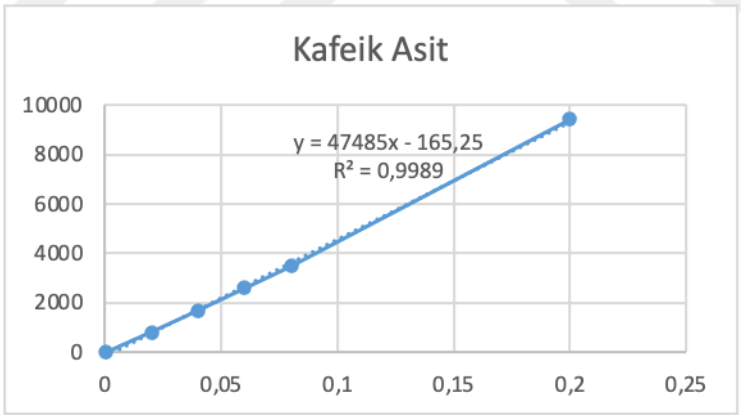
Ekstrelerden 10 mg/mL konsantrasyonda numuneler hazırlanarak üçer kere enjeksiyon yapılmış, ekstrelerin kromatogramında rutin bileşiğine ait olduğu tespit edilen piklerin alanları kalibrasyon denkleminde yerine konarak ekstelerdeki rutin miktarı % miktar ± standart sapma şeklinde hesaplanmıştır.

3.1.3.4.2. Kafeik Asit Miktar Tayini Bulguları

Topraküstü kısımlardan ve köklerden hazırlanan ekstrelerde tespit edilen kafeik asidin analizi 330 nm dalga boyunda yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (0,0002 mg/mL; 0,02 mg/mL; 0,04 mg/mL; 0,06 mg/mL; 0,08 mg/mL; 0,2 mg/mL) hazırlanan standart çözeltilerinin üçer kere enjeksiyonu yapılmış ve elde edilen veriler doğrultusunda kalibrasyon denklemi elde edilmiştir.

Kafeik asit standardı için kalibrasyon denklemi Şekil 3.19'da yer aldığı gibi; $y = 47485x-165,25$ ($R^2=0,9989$) olarak saptanmıştır.

Kafeik asit için LOD değeri $0,6x10^{-4}$ mg/mL; LOQ değeri ise sırasıyla ve $0,02x10^{-2}$ mg/mL olarak hesaplanmıştır. Standart madde bu konsantrasyonlarda hazırlanıp altışar kere cihaza verilerek analizi yapılmıştır.



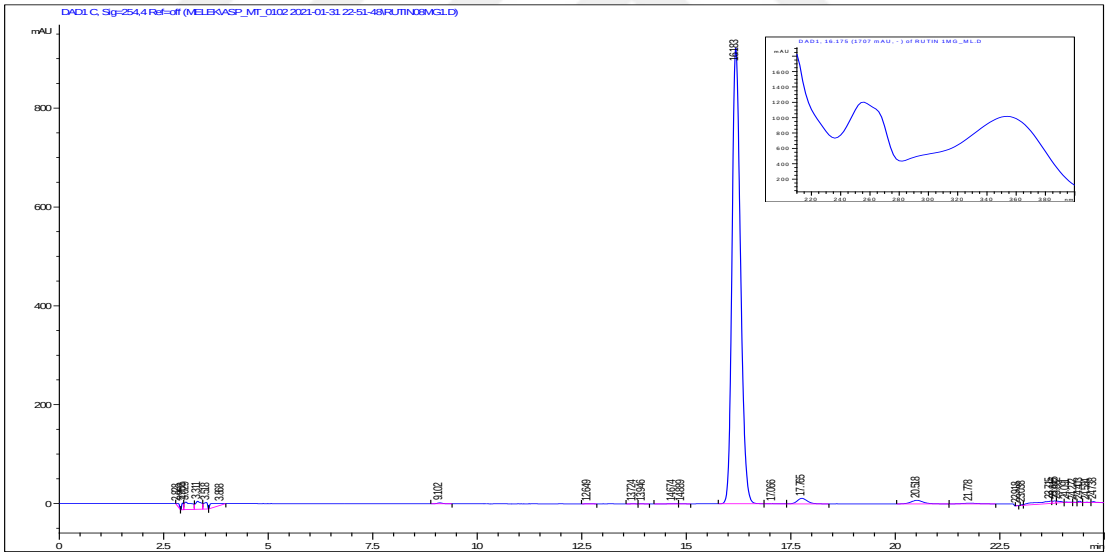
Şekil 3.19. Kafeik asit için hazırlanan kalibrasyon denklemi.

Ekstrelerden 10 mg/mL konsantrasyonda numuneler hazırlanarak üçer kere enjeksiyon yapılmış, ekstrelerin kromatogramında kafeik asit bileşiğine ait olduğu tespit edilen piklerin alanları kalibrasyon denkleminde yerine konarak ekstelerdeki rutin miktarı % miktar ± standart sapma şeklinde Çizelge 3.4.'te yer aldığı gibi hesaplanmıştır.

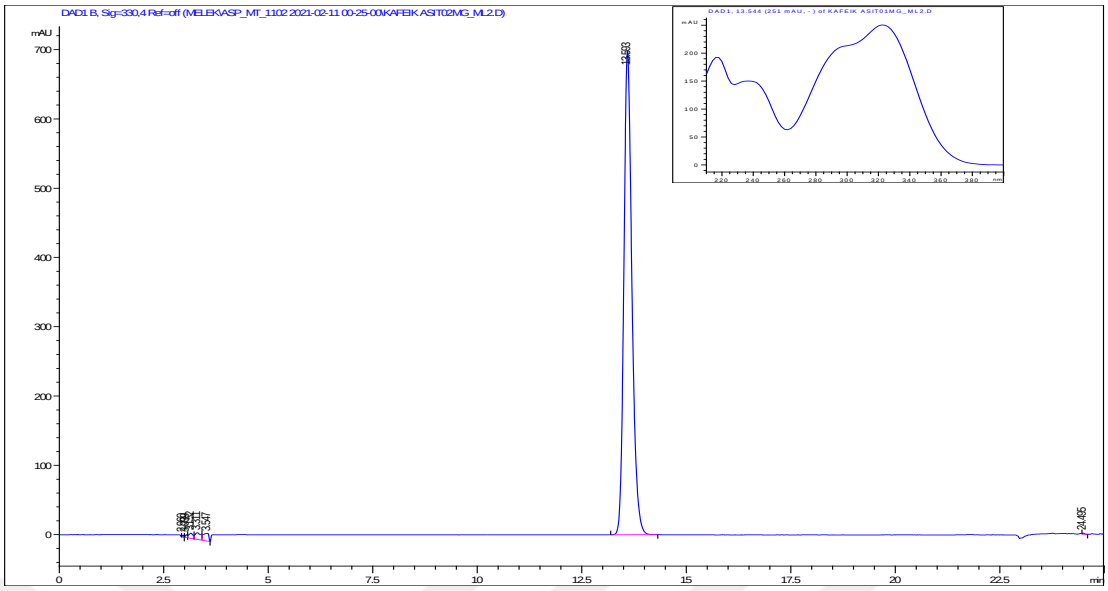
Çizelge 3.4. Ekstrelerde tespit edilen rutin ve kafeik asit miktarları.

Ekstre	Rutin (% Miktar±SS)	Kafeik Asit (% Miktar±SS)
A. officinalis (Topraküstü)	4,272985±0,002241	0,0453±0,0001
A. acutifolius (Topraküstü)	3,966187±0,005075	0,4581±0,0072
A. verticillatus (Topraküstü)	2,864067±0,001952	0,3944±0,0007
A. apyllus subsp. *orientalis* (Topraküstü)	1,115931±0,000184	0,3727±0,0002
A. officinalis (Kök)	-	0,6483±0,0011
A. acutifolius (Kök)	-	0,3889±0,0006
A. verticillatus (Kök)	-	0,0498±0,0008
A. apyllus subsp. *orientalis* (Kök)	-	0,1086±0,0016

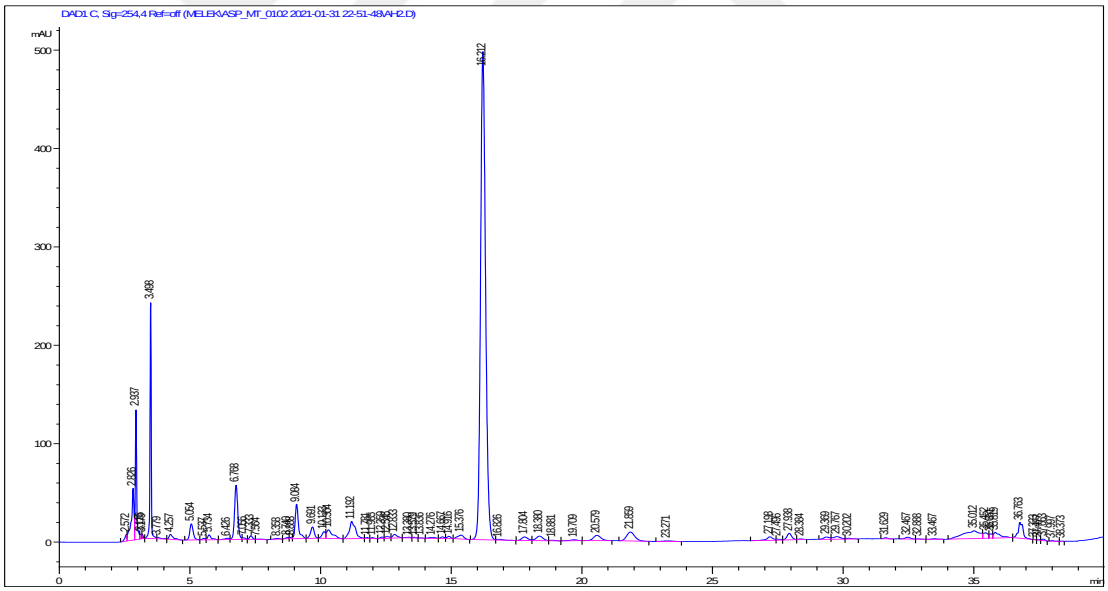
Rutin, kafeik asit ve ekstrelerin kromatogramlarına Şekil 3.20-3.33'te yer verilmiştir.



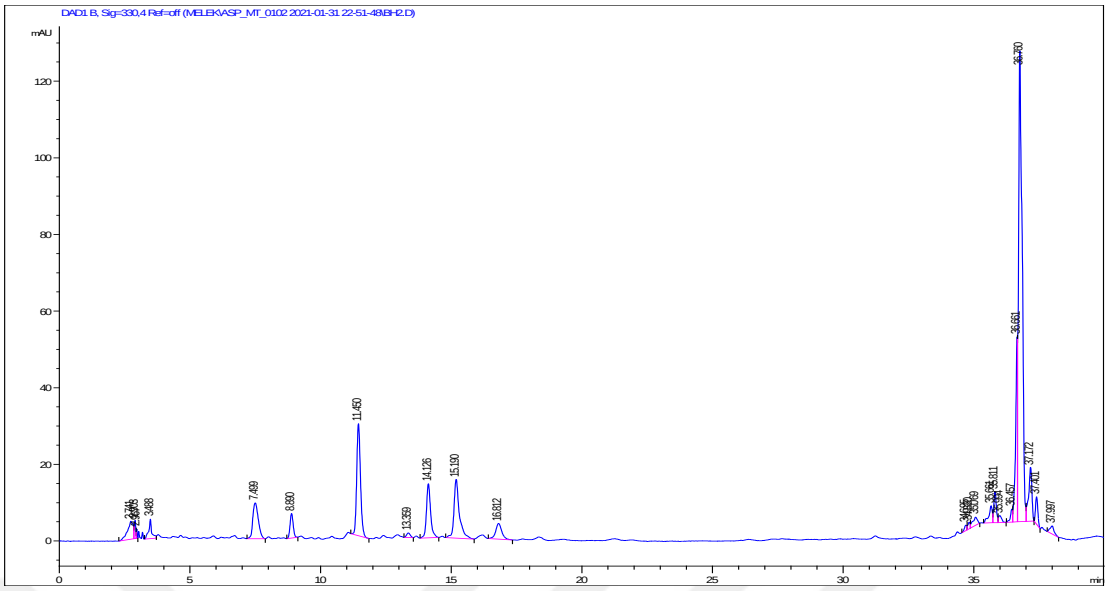
Şekil 3.20. Rutinin 254 nm'deki kromatogramı ve UV spektrumu.



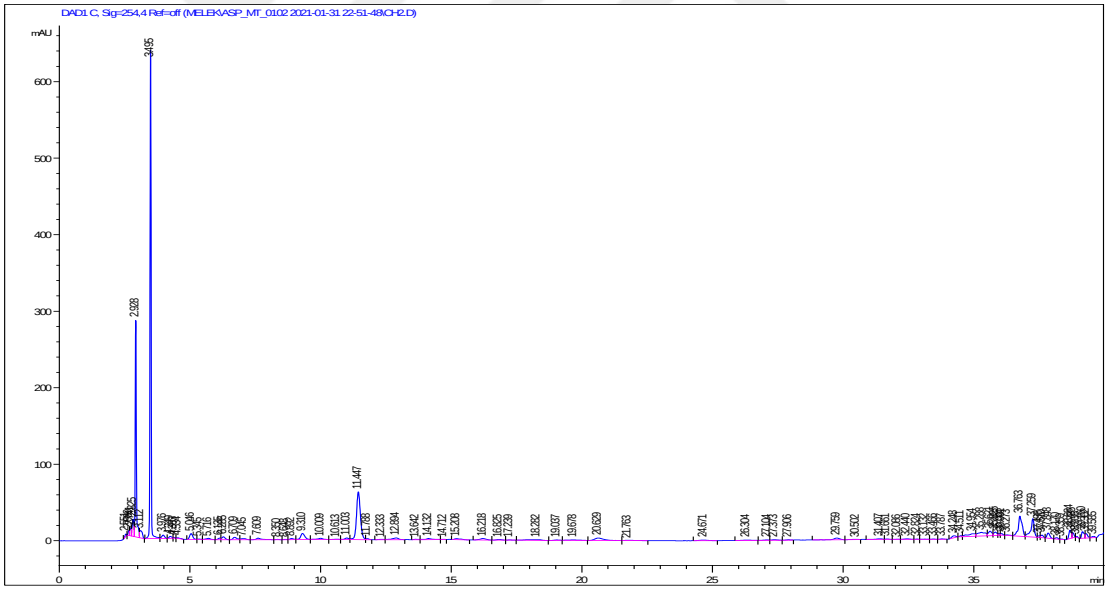
Şekil 3.21. Kafeik asitin 330 nm'deki kromatogramı ve UV spektrumu.



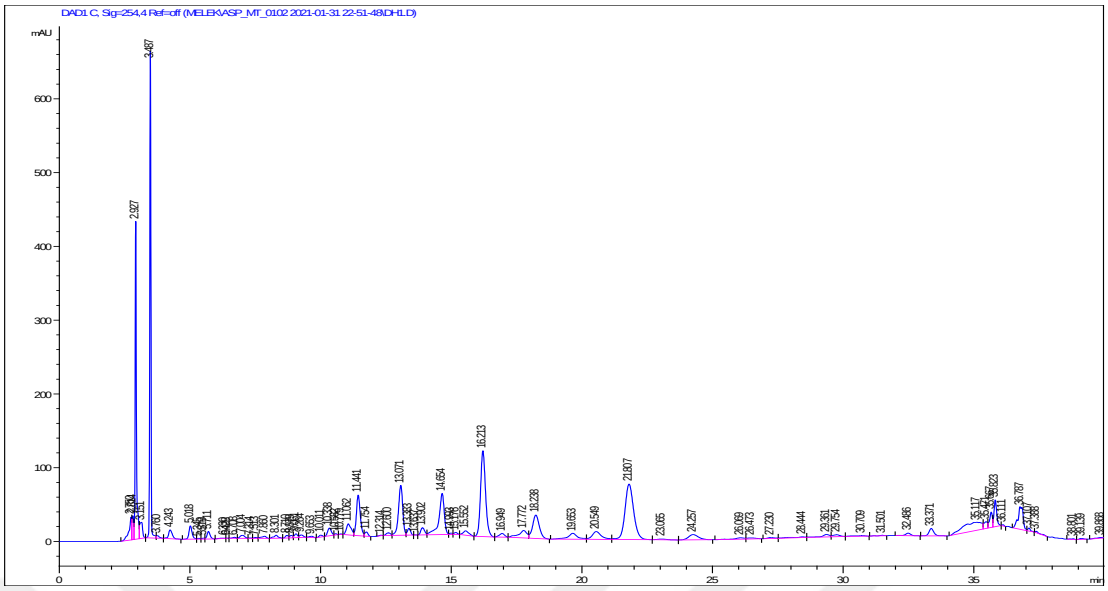
Şekil 3.22. *A. officinalis'in* topraküstü ekstresinin yöntem 1 ile elde edilen YPSK kromatogramı.



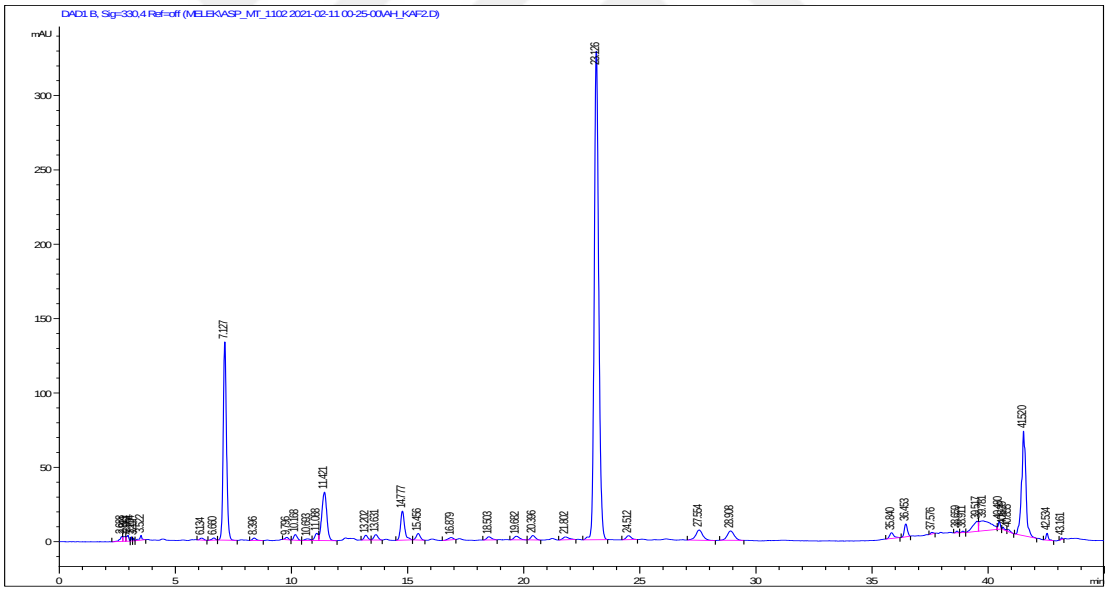
Şekil 3.23. *A. acutifolius*'un topraküstü ekstresinin yöntem 1 ile elde edilen YPSK kromatogramı.



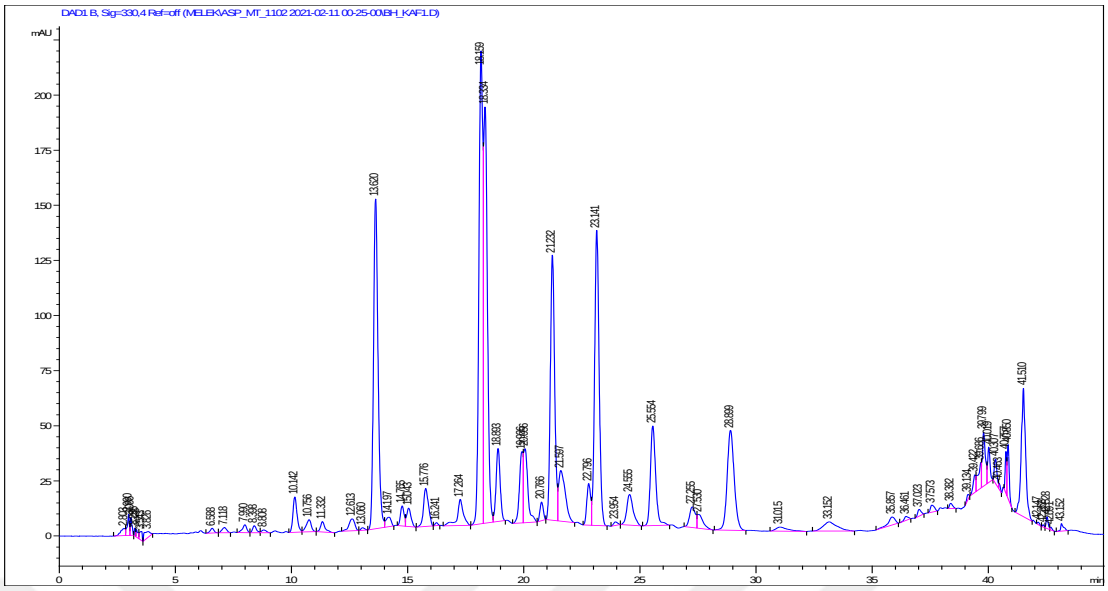
Şekil 3.24. *A. verticillatus*'un topraküstü ekstresinin yöntem 1 ile elde edilen YPSK kromatogramı.



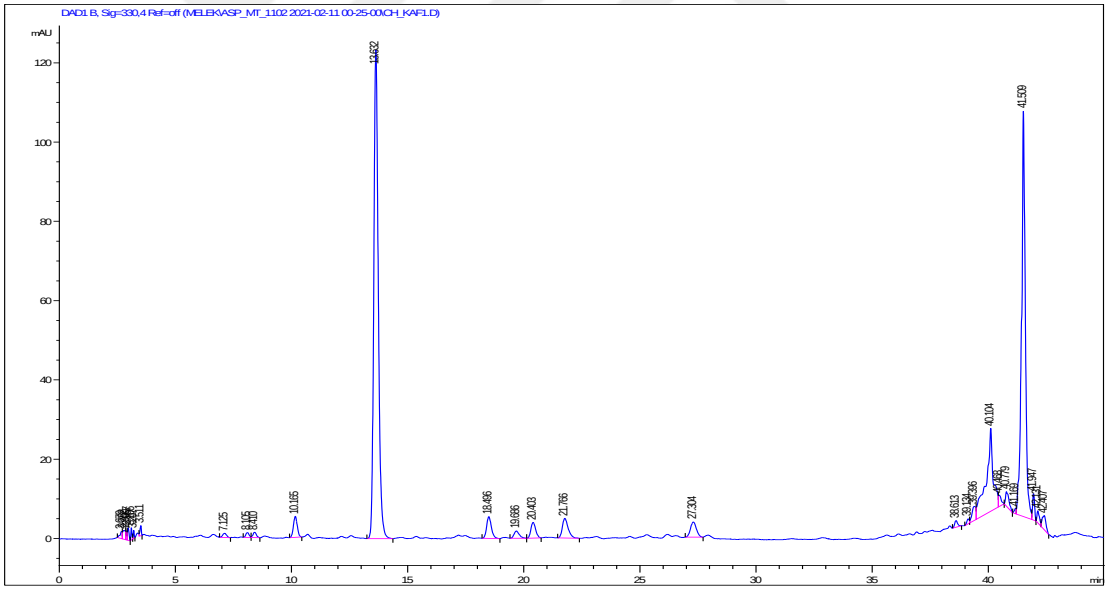
Şekil 3.25. *A. apyllus* subsp. *orientalis*'in topraküstü ekstresinin yöntem 1 ile elde edilen YPSK kromatogramı.



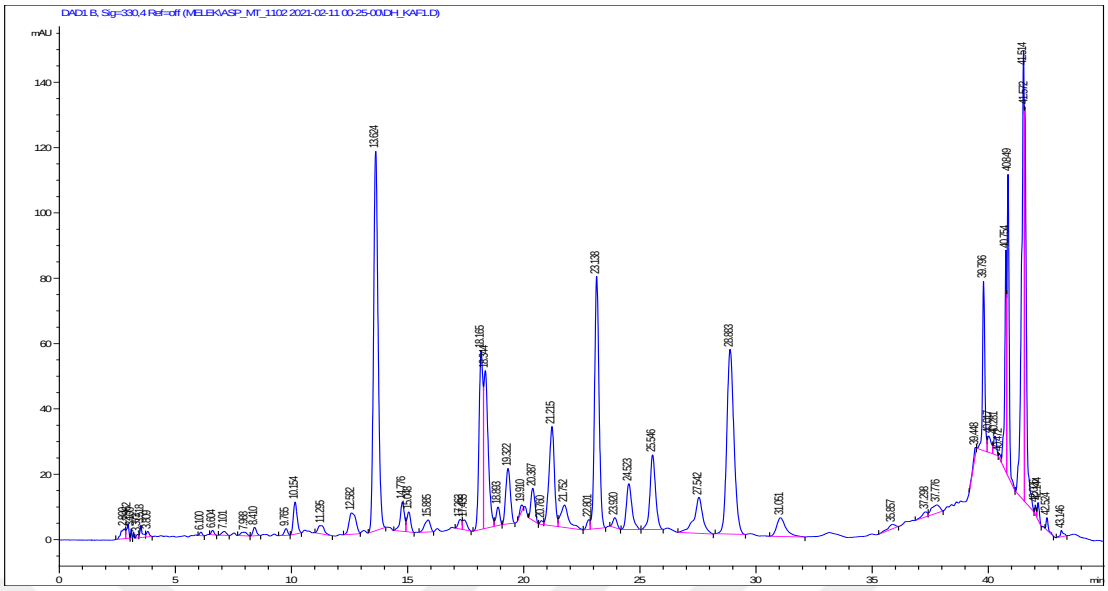
Şekil 3.26. *A. officinalis'in* topraküstü ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı.



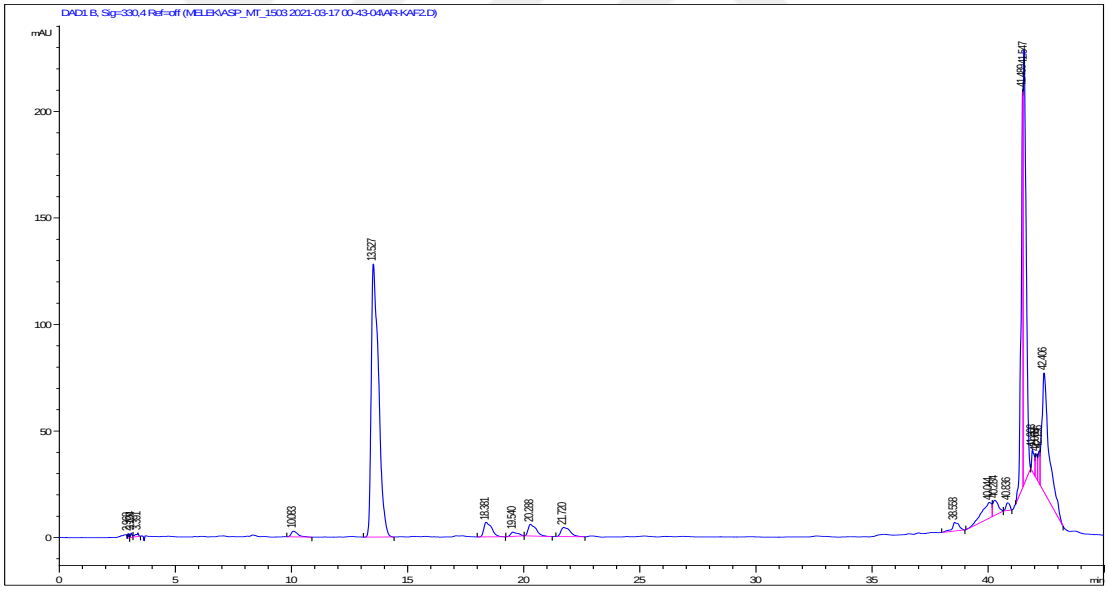
Şekil 3.27. *A. acutifolius*'un topraküstü ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı.



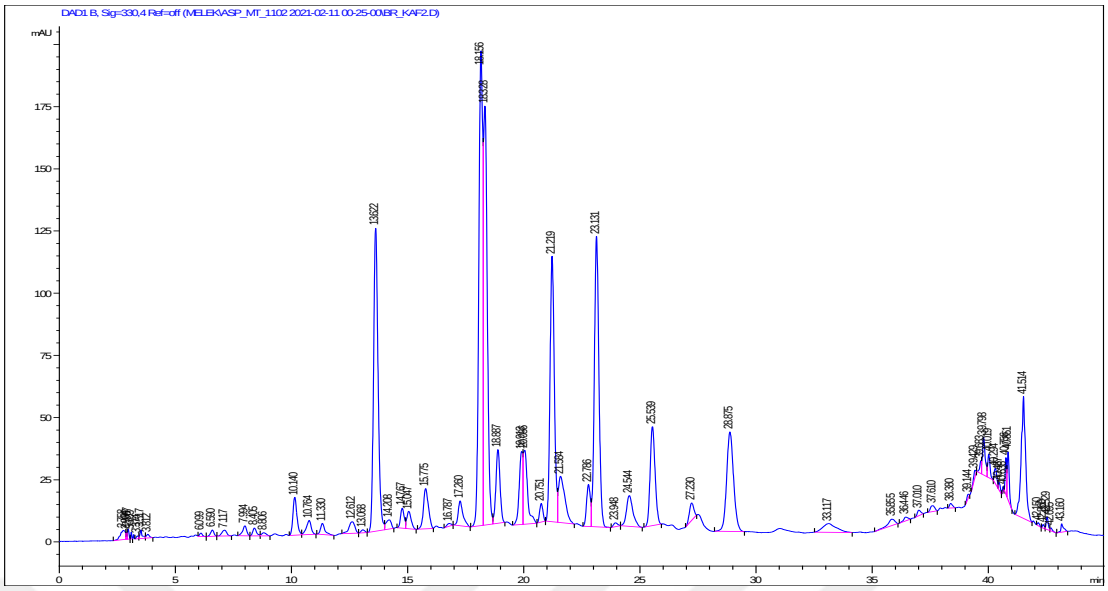
Şekil 3.28. *A. verticillatus*'un topraküstü ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı.



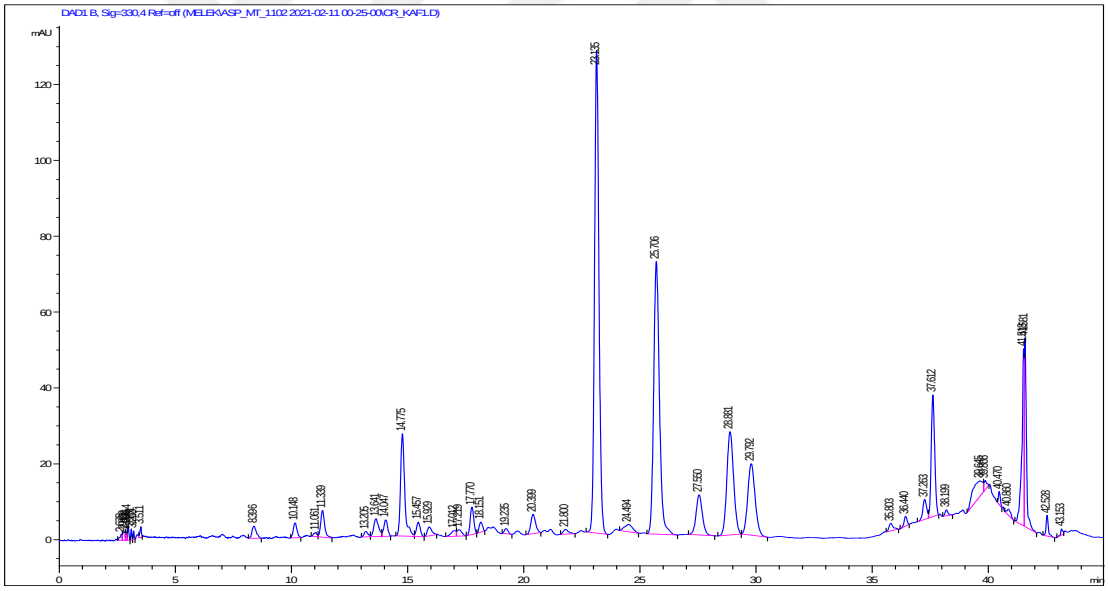
Şekil 3.29. *A. apyllus* subsp. *orientalis*'in topraküstü ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı.



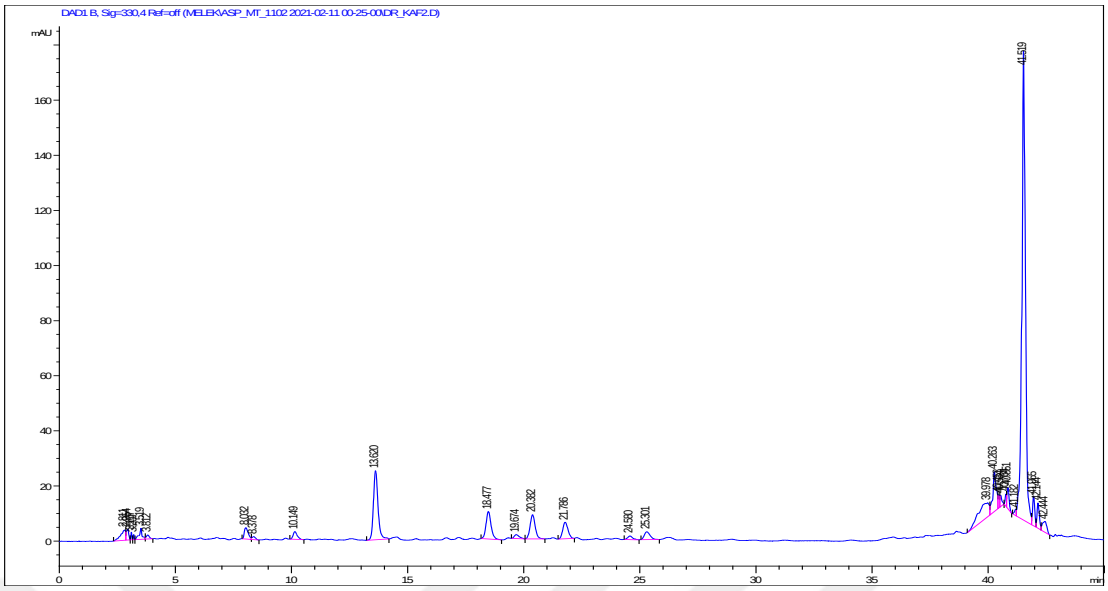
Şekil 3.30. *A. officinalis*'in kök ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı.



Şekil 3.31. *A. acutifolius*'un kök ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı.

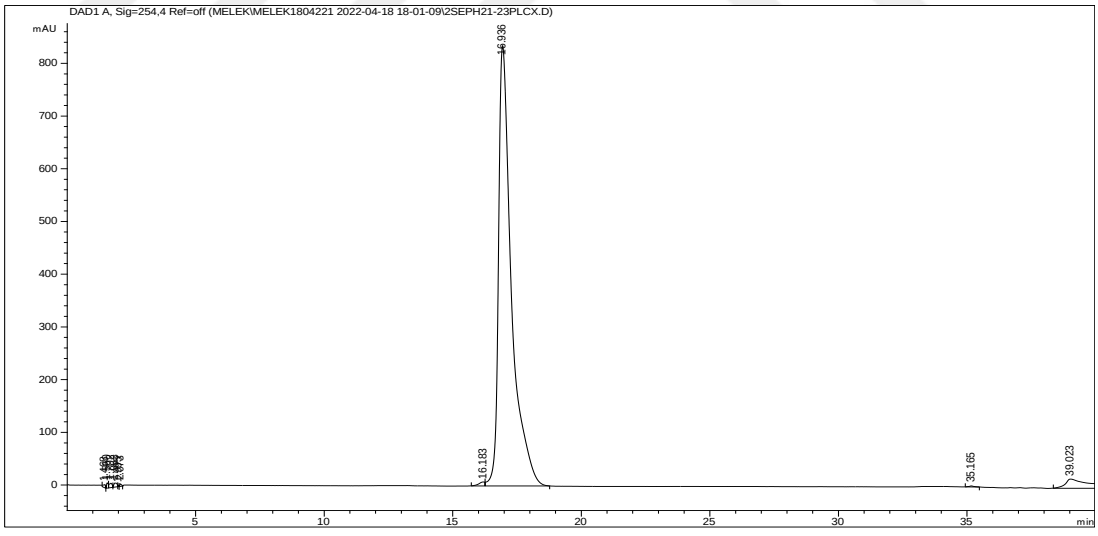


Şekil 3.32. *A. verticillatus*'un kök ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı.

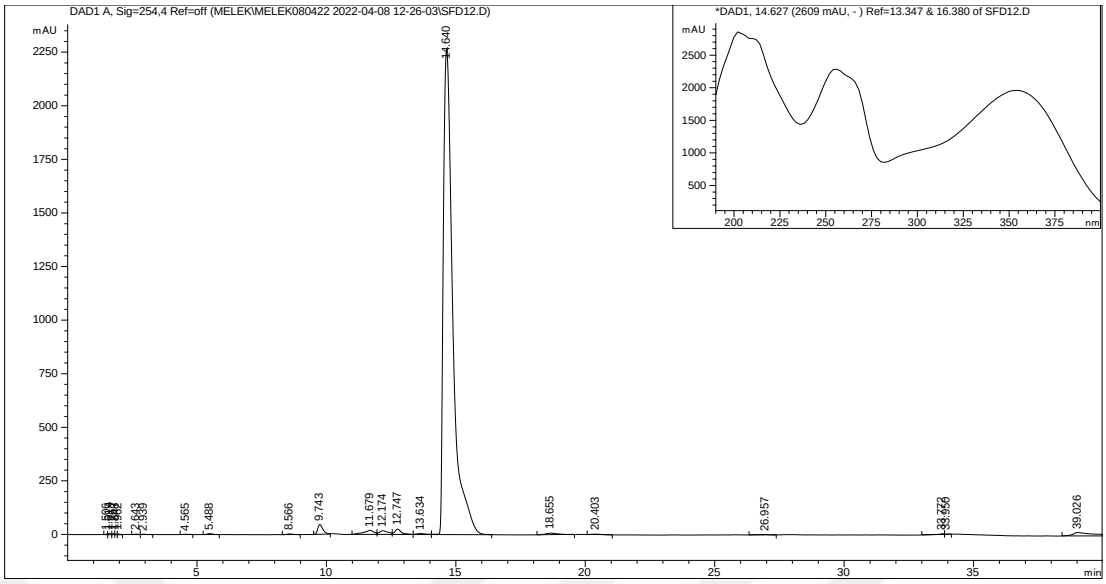


Şekil 3.33. *A.apyllus* subsp. *orientalis*'in kök ekstresinin yöntem 2 ile elde edilen YPSK kromatogramı.

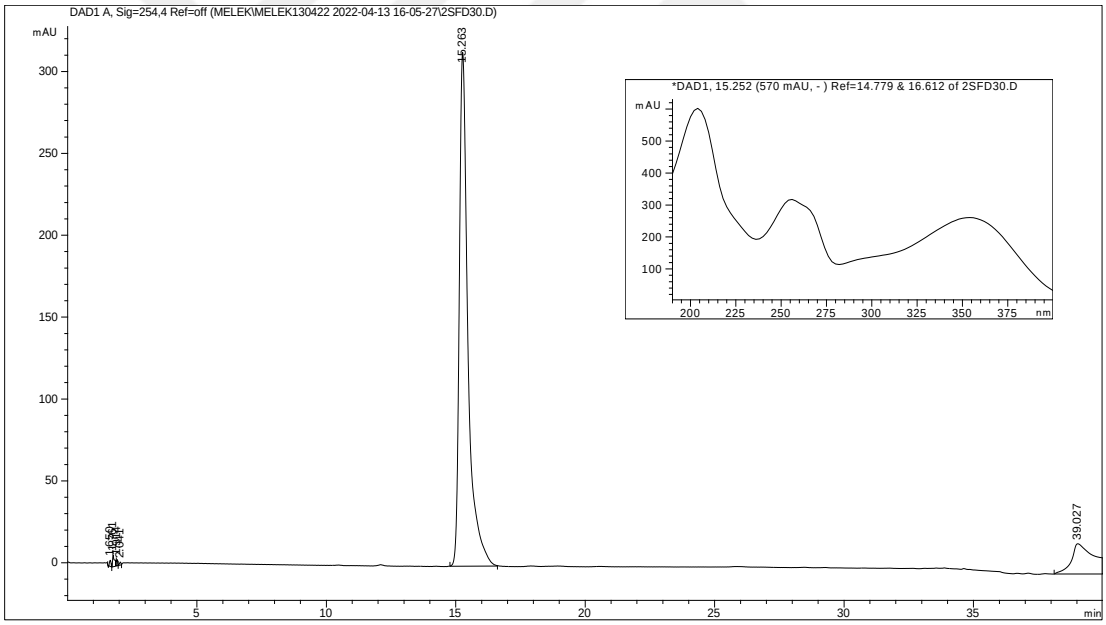
İzole edilen maddelerin YPSK kromatogramları ile UV spektrumları Şekil 3.34-3.36'da gösterilmiştir.



Şekil 3.34. S12 bileşiğine ait YPSK kromatogramı ve UV spektrumu.



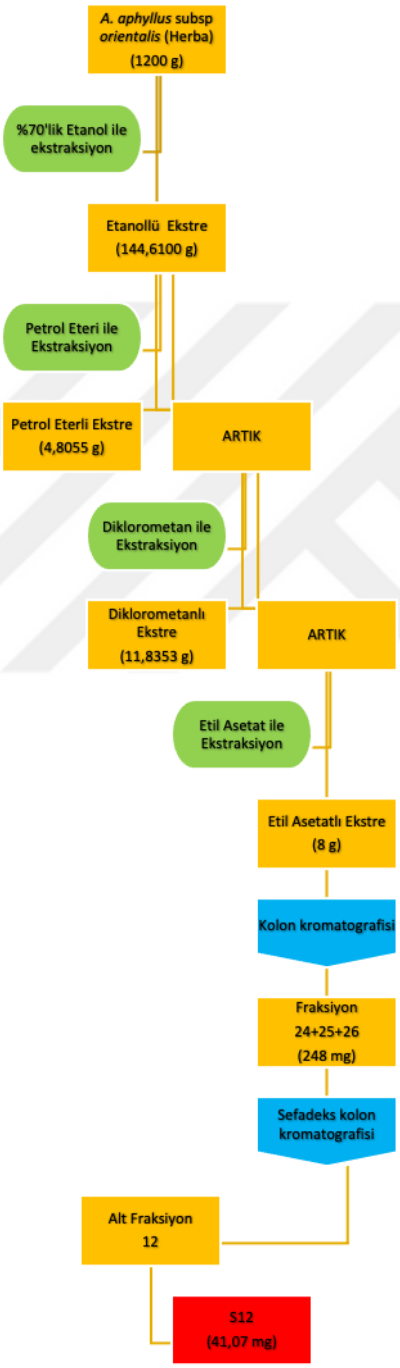
Şekil 3.35. IS22 bileşiğine ait YPSK kromatogramı ve UV spektrumu.



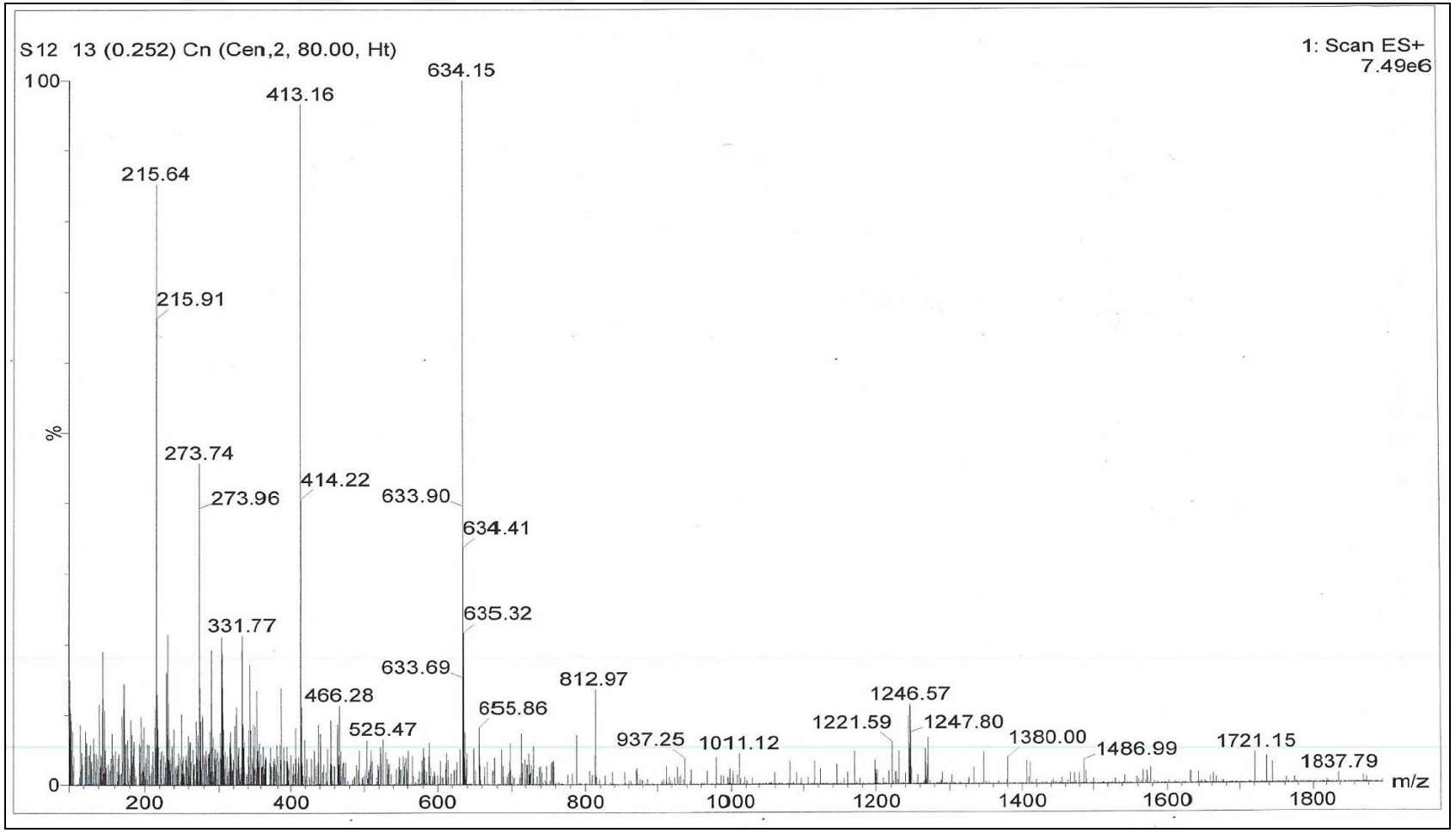
Şekil 3.36. IS30 bileşiğine ait YPSK kromatogramı ve UV spektrumu.

3.2. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinine İlişkin Bulgular

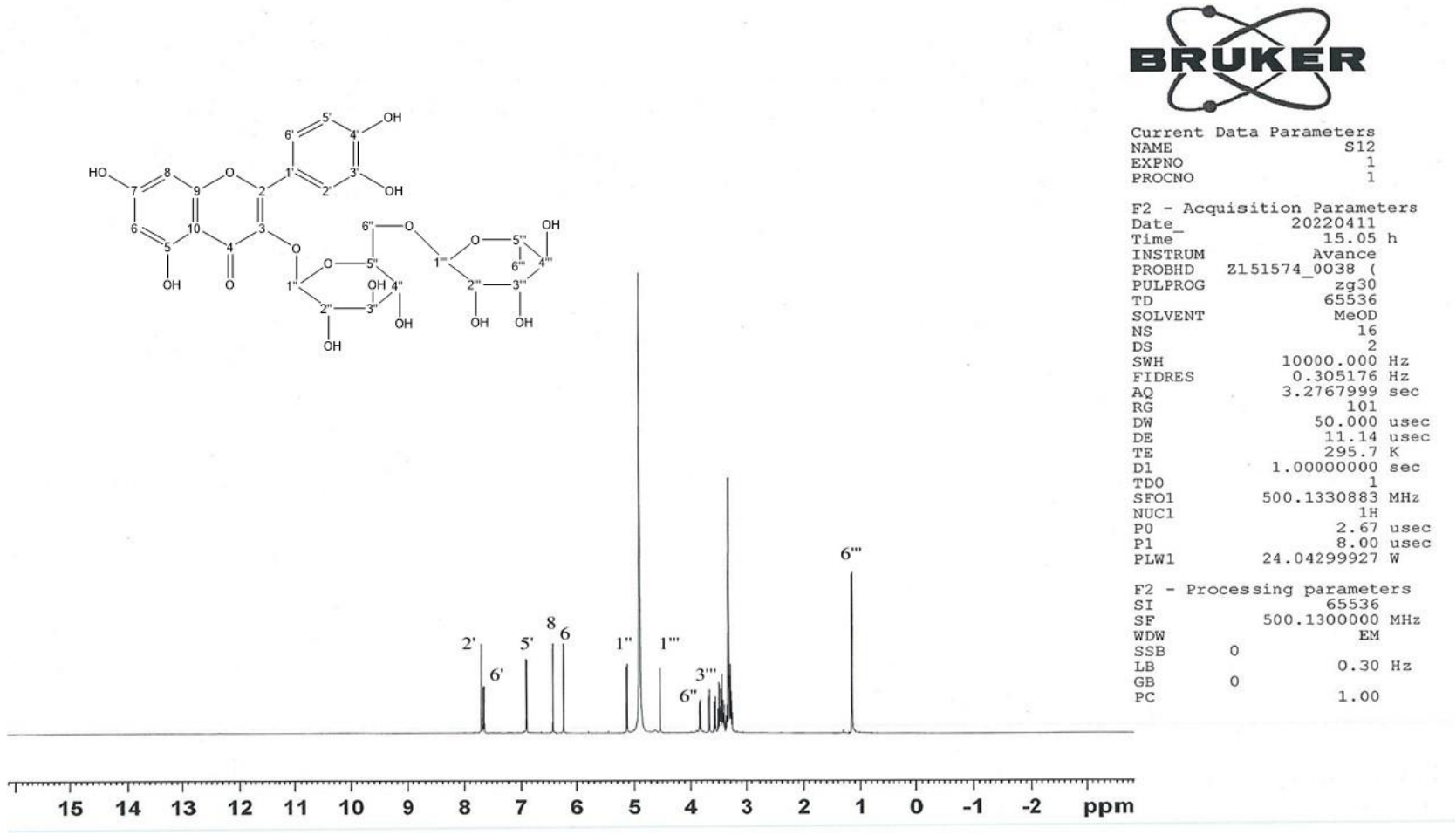
3.2.1. S12 Bileşiğinin Yapı Tayinine İlişkin Bulgular



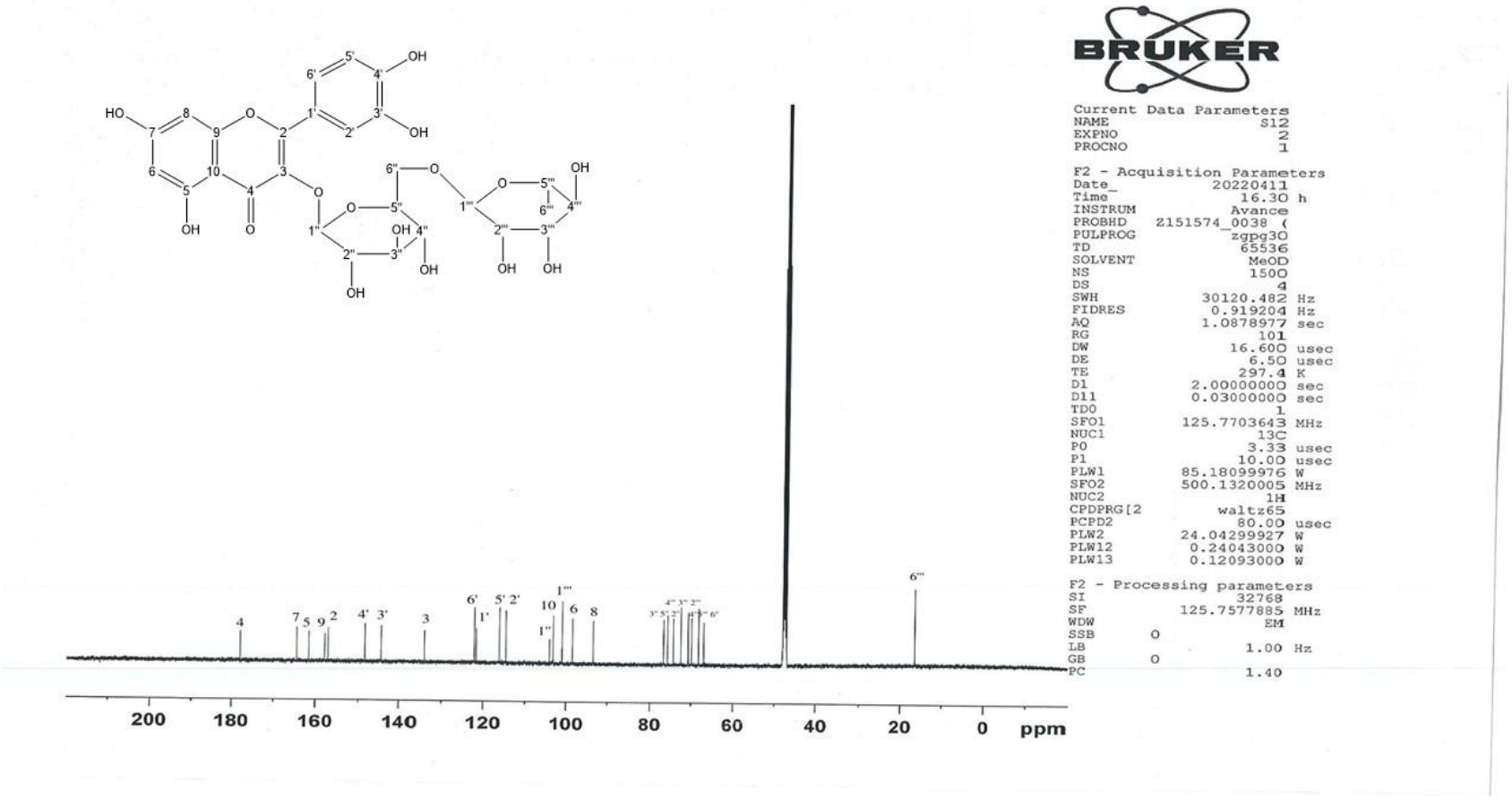
Şekil 3.37. S12 bileşiğine ait izolasyon şeması.



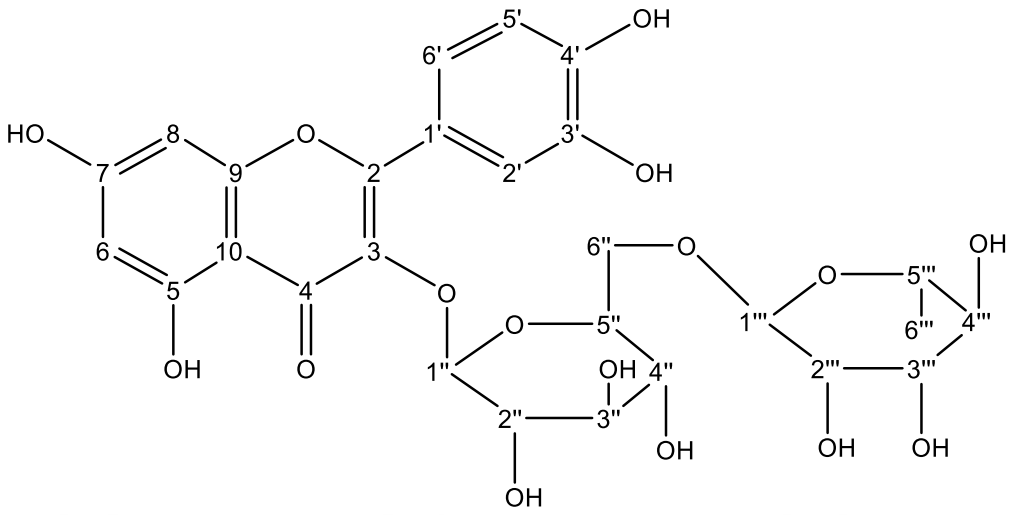
Şekil 3.38. S12 bileşiğinin ES MS spektrumu.



Şekil 3.39. S12 bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu.



Şekil 3.40. S12 bileşiğinin 13C-NMR spektrumu.



Molekül Adı	Rutin
Molekül Ağırlığı	610,52
Molekül Formülü	$C_{27}H_{30}O_{16}$
Özelliği	Sarı renkte amorf toz

Şekil 3.41. S12 bileşiğinin yapı tayini bulguları.

Çizelge 3.5. S12 bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları.

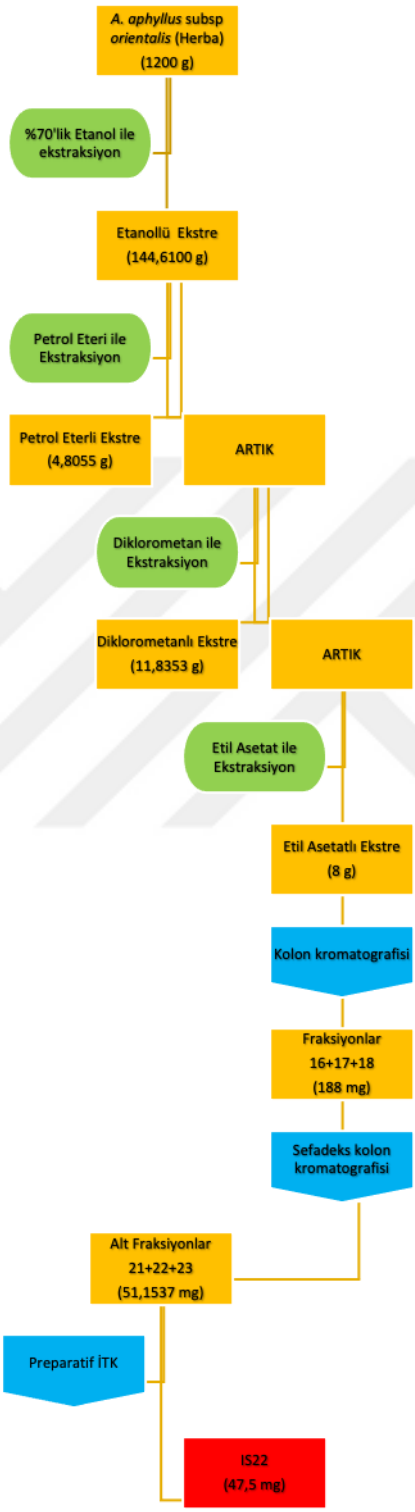
δ_H (ppm), *J* (Hz)	**Proton**	**C**	**δc (ppm)**
-	-	C-4	178.01
-	-	C-7	164.64
-	-	C-5	161.58
-	-	C-9	157.94
-	-	C-2	157.11
-	-	C-4’	148.41
-	-	C-3’	144.44
-	-	C-3	134.24
7.65 (1H, dd, *J*=2.2, 8.45 Hz)	H-6’	C-6’	122.16
-	-	C-1’	121.72
6.89 (1H, d, *J*=8.45 Hz)	H-5’	C-5’	116.29
7.69 (1H, d, *J*=2.15 Hz)	H-2’	C-2’	114.65
5.12 (1H, d, *J*=7.65 Hz)	H-1’’	C-1’’	104.22

Çizelge 3.5. Devam. S12 bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları.

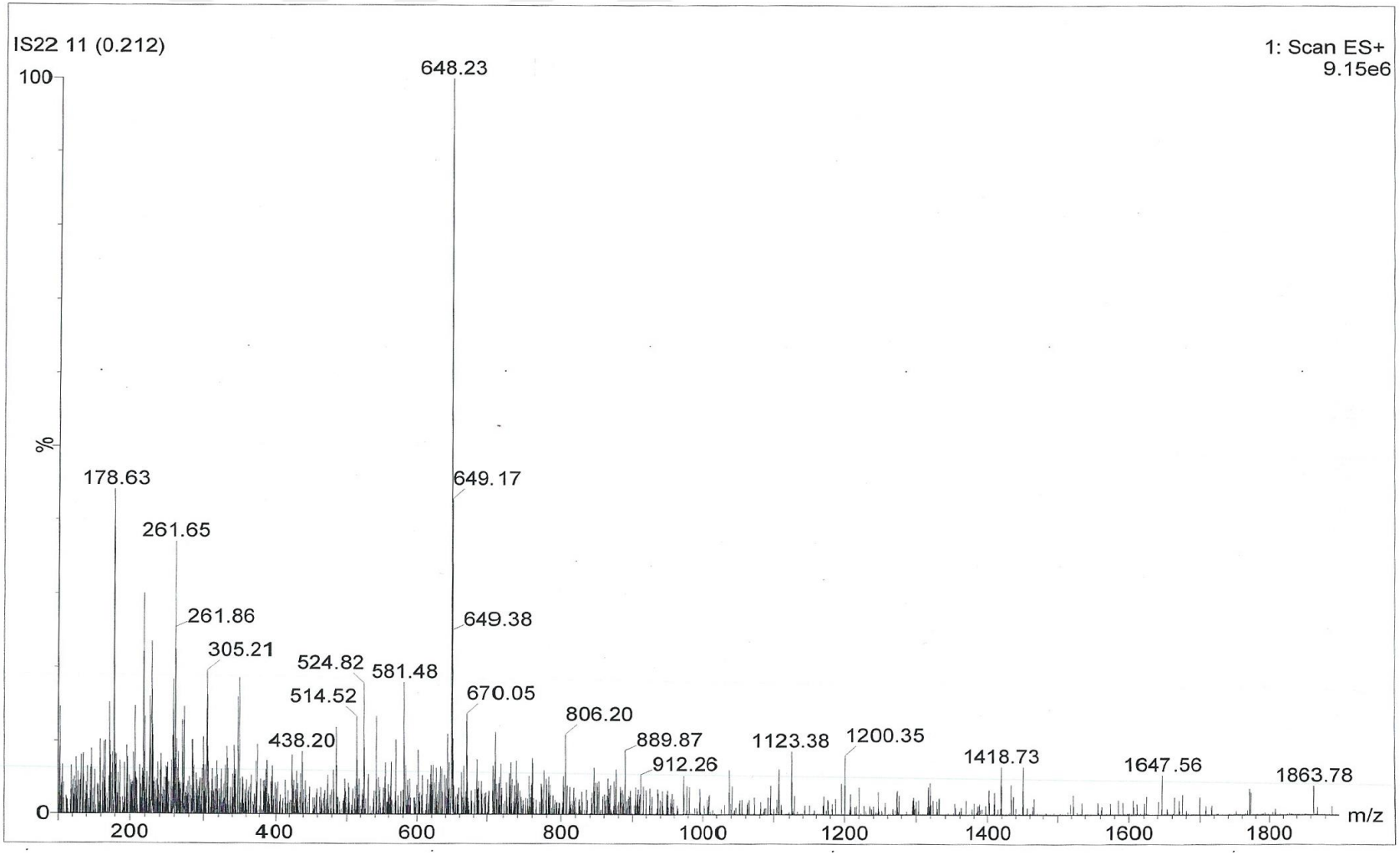
δ_H (ppm), *J* (Hz)	**Proton**	**C**	**δc (ppm)**
-	-	C-10	103.34
4.54 (1H, d, *J*=1.45 Hz)	H-1’’’	C-1’’’	101.02
6.22 (1H, d, *J*=2.1 Hz)	H-6	C-6	98.55
6.42 (1H, d, *J*=2.1 Hz)	H-8	C-8	93.47
3.2-3.5 (1H, m)	H-3’’	C-3’’	76.78
3.2-3.5 (1H, m)	H-5’’	C-5’’	75.81
3.2-3.5 (1H, m)	H-2’’	C-2’’	74.33
3.2-3.5 (1H, m)	H-4’’’	C-4’’’	72.53
3.56 (1H, dd, *J*=3.4, 9.5 Hz)	H-3’’’	C-3’’’	70.83
3.66 (1H, dd, *J*=1.6, 3.4 Hz)	H-2’’’	C-2’’’	70.70
3.2-3.5 (1H, m)	H-4’’	C-4’’	69.99
3.2-3.5 (1H, m)	H-5’’’	C-5’’’	68.31
3.83 (1H, dd, *J*=1.2, 10.95 Hz) 3.47 (1H,m)	H-6’’	C-6’’	67.15
1.14 (3H, d, *J*=6.2 Hz)	H-6’’’	C-6’’’	16.49

S12 nolu bileşiğe ait izolasyon şeması Şekil 3.37’de verilmiştir. Şekil 3.38-3.40’da yer alan MS ve NMR sonuçları Şekil 3.41 ve Çizelge 3.5’te özetlenmiştir. Tüm sonuçlar incelendiğinde ve literatür verileri ile kıyaslandığında S12 nolu bileşiğin rutin olduğuna karar verilmiştir (Zor ve ark., 2017).

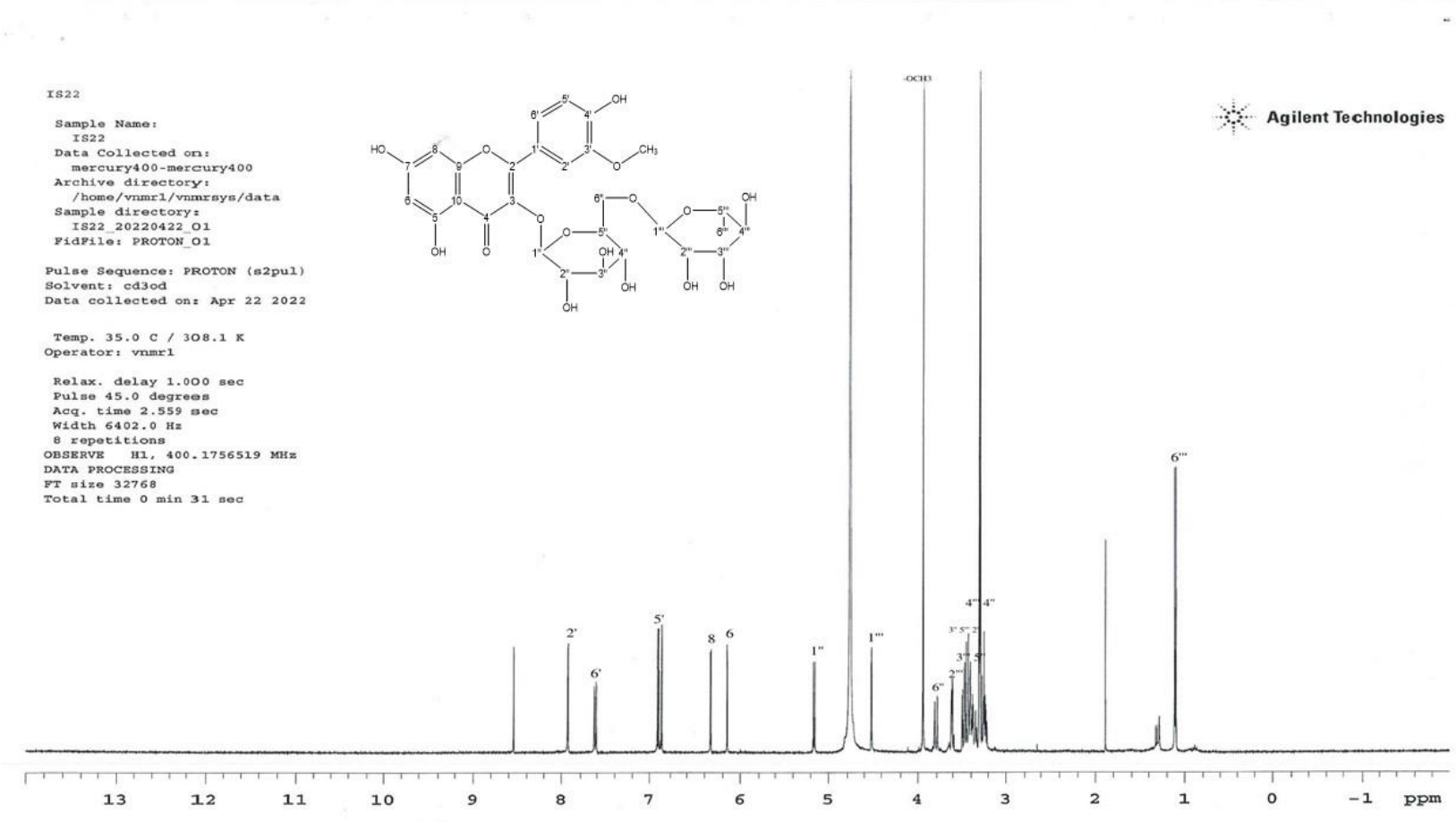
3.2.2. IS22 Bileşiğinin Yapı Tayinine İlişkin Bulgular



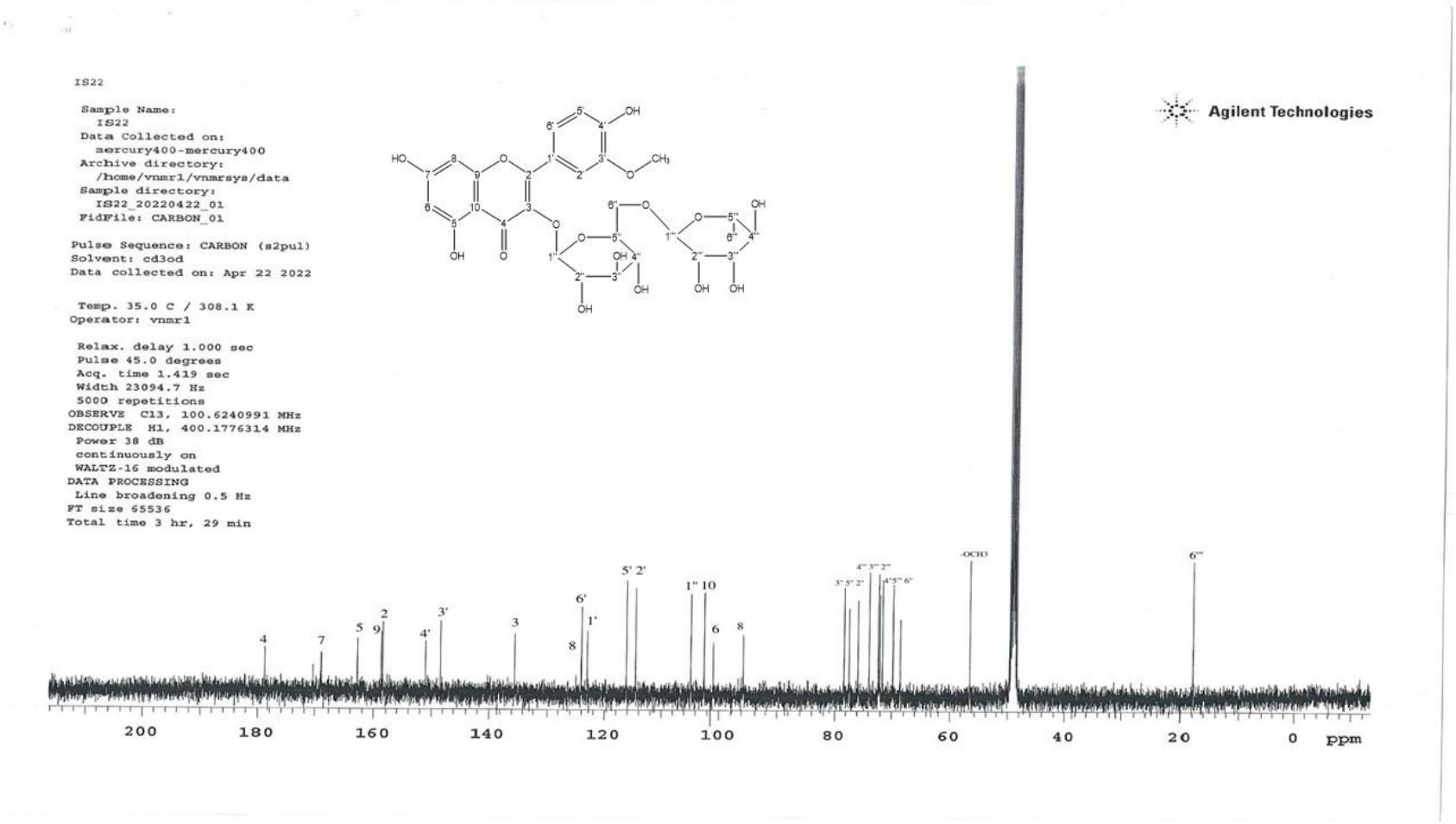
Şekil 3.42. IS22 bileşiğine ait izolasyon şeması.



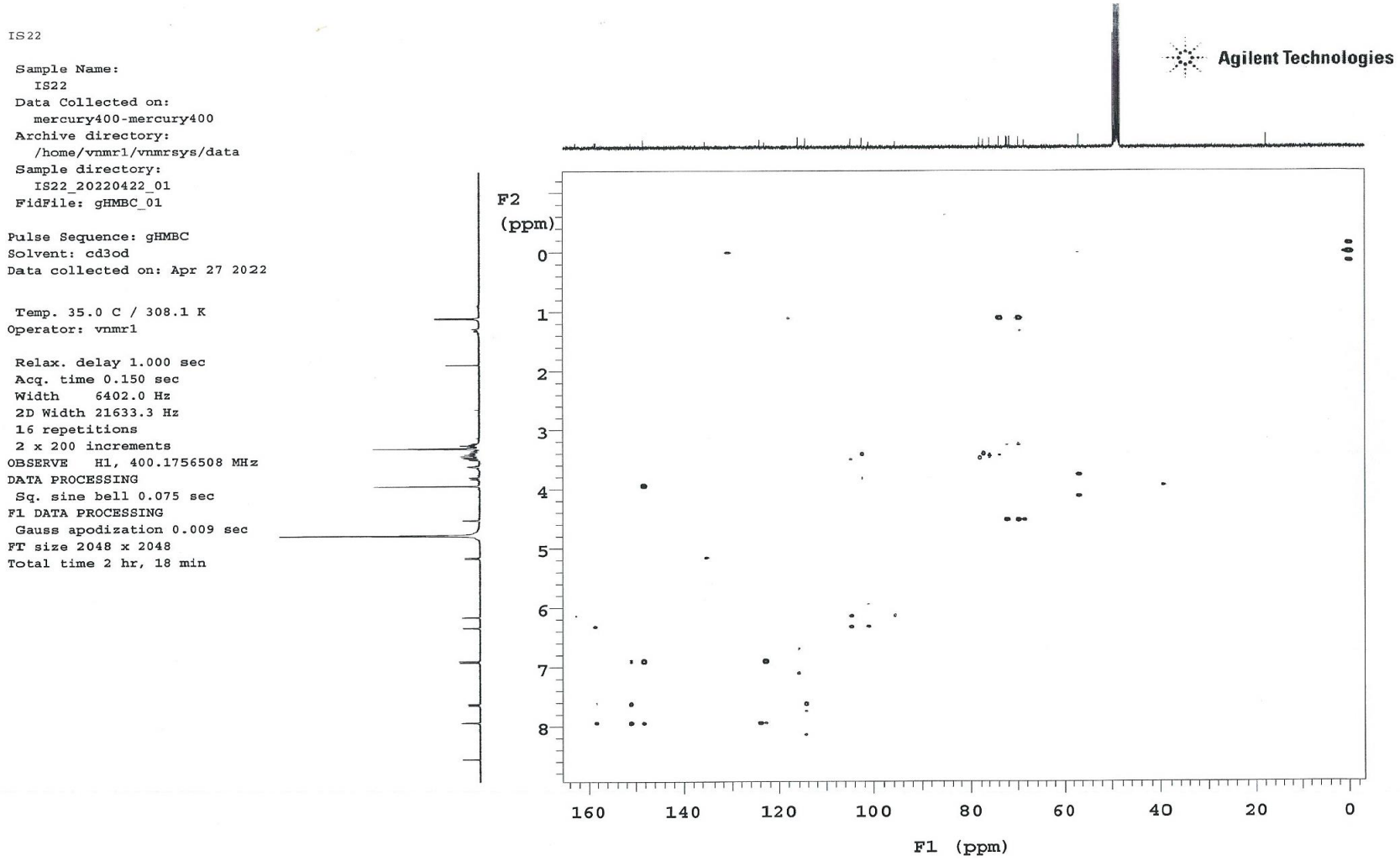
Şekil 3.43. IS22 bileşiğinin ES MS spektrumu.



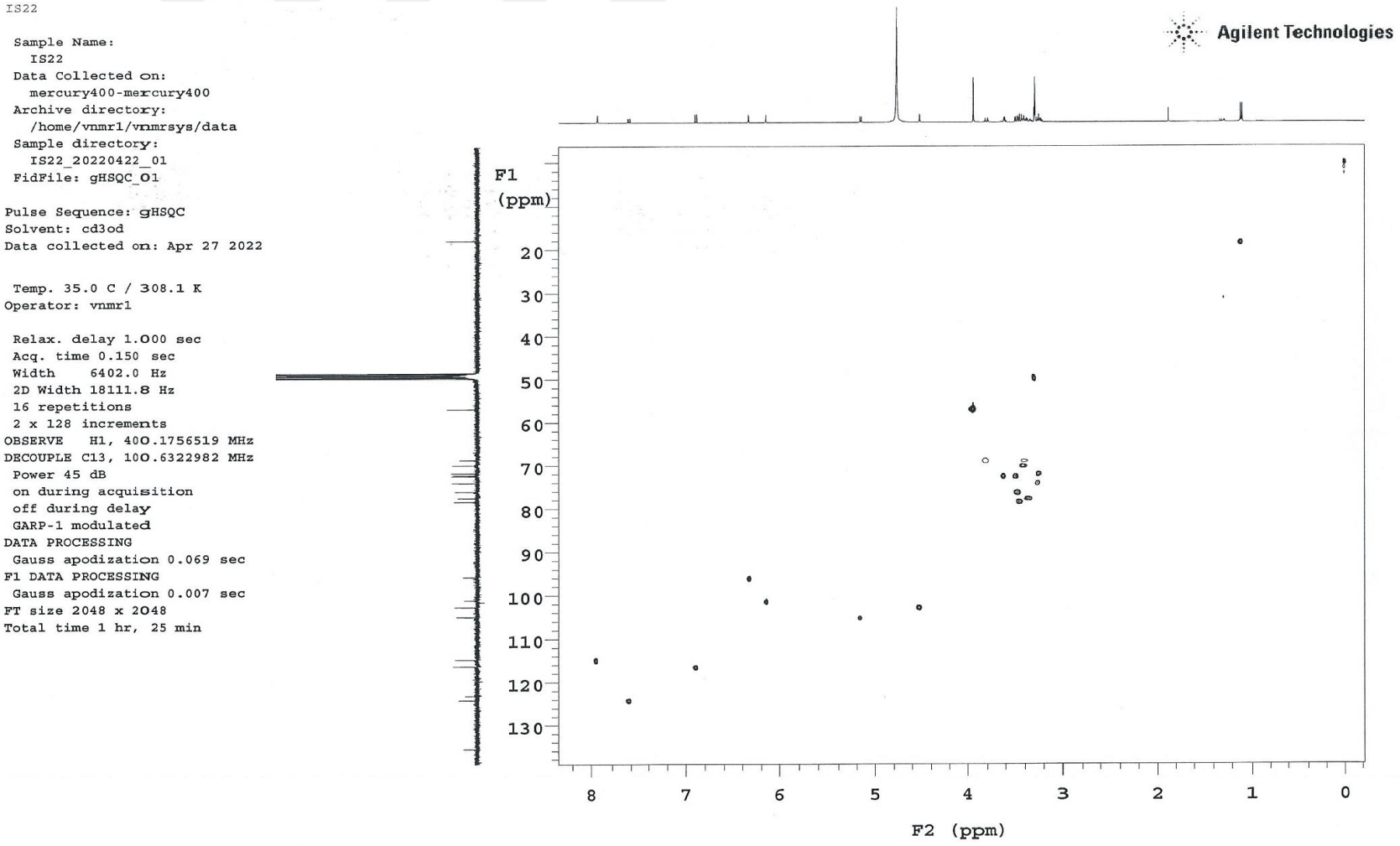
Şekil 3.44. IS22 ^{1}H-NMR spektrumu.



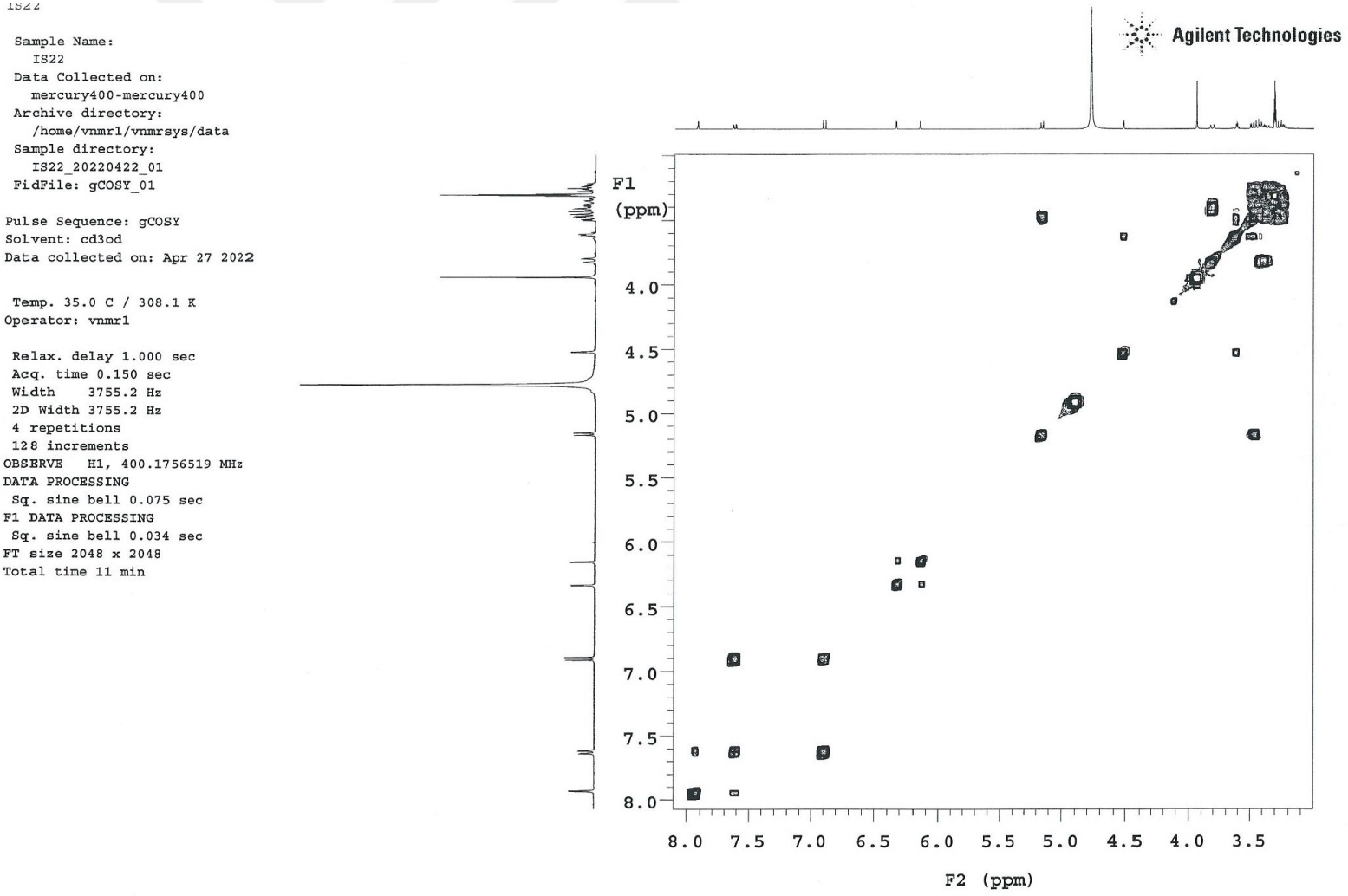
Şekil 3.45. IS22 bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu.



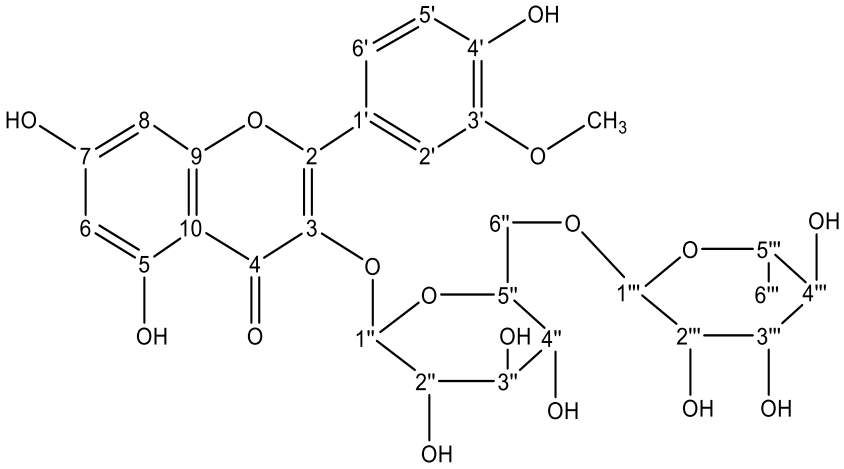
Şekil 3.46. IS22 bileşiğinin HMBC spektrumu.



Şekil 3.47. IS22 bileşiğinin HSQC spektrumu.



Şekil 3.48. IS22 bileşiğinin COSY spektrumu.



Molekül Adı	İzoramnetin-3-*O*-rutinozit
Molekül Ağırlığı	624,55
Molekül Formülü	$C_{28}H_{32}O_{16}$
Özelliği	Sarı renkte amorf toz

Şekil 3.49. IS22 bileşiğinin yapı tayini bulguları.

Çizelge 3.6. IS22 bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları.

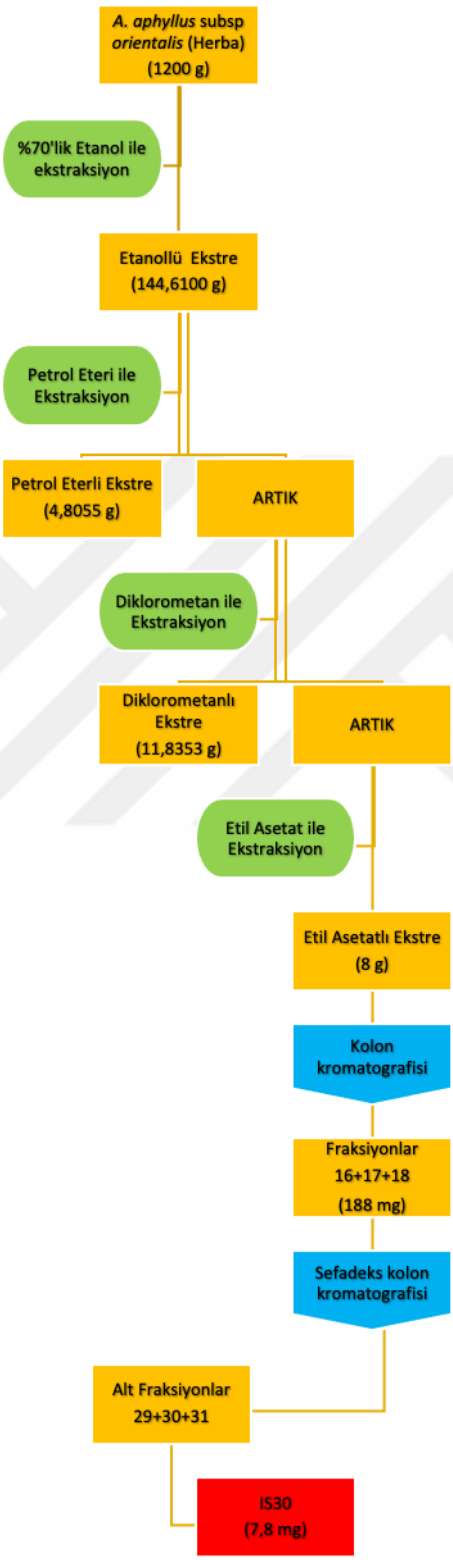
δ_H (ppm), *J* (Hz)	**Proton**	**C**	**δc (ppm)**
-	-	C-4	179.02
-	-	C-7	169.18
-	-	C-5	162.88
-	-	C-9	158.80
-	-	C-2	158.58
-	-	C-4’	151.11
-	-	C-3’	148.46
-	-	C-3	135.47
7.62 (1H, dd, *J*=2.0, 8.4 Hz)	H-6’	C-6’	124.08
-	-	C-1’	123.07
6.90 (1H, d, *J*=8.4 Hz)	H-5’	C-5’	116.23
7.97 (1H, d, *J*=2.0 Hz)	H-2’	C-2’	114.66
5.16 (1H, d, *J*=7.2 Hz)	H-1’’	C-1’’	104.90

Çizelge 3.6. Devam. IS22 bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları.

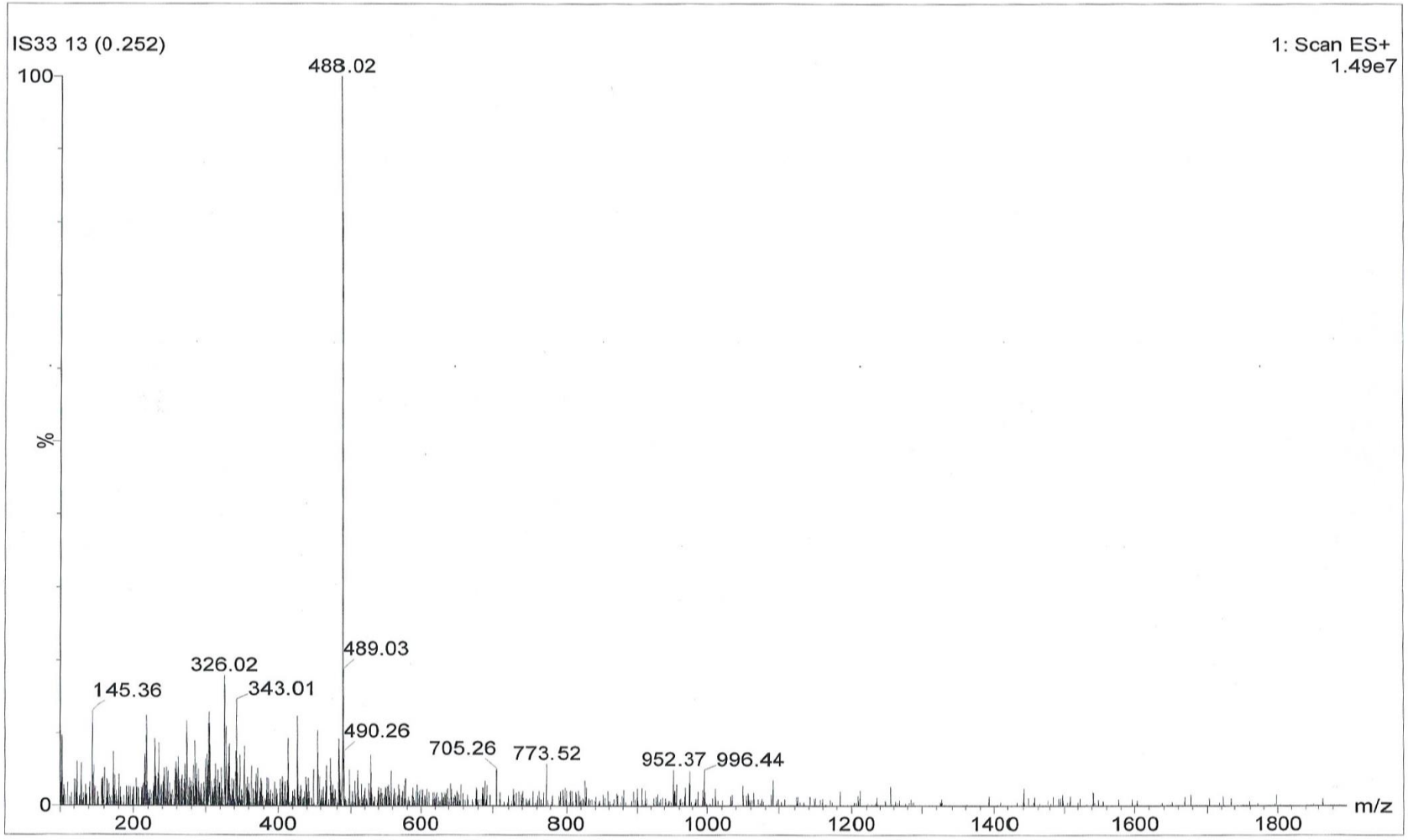
δ_H (ppm), *J* (Hz)	**Proton**	**C**	**δc (ppm)**
-	-	C-10	104.85
4.52 (1H, d, *J*=1.6 Hz)	H-1’’’	C-1’’’	102.59
6.15 (1H, d, *J*=2.0 Hz)	H-6	C-6	101.05
6.31 (1H, d, *J*=2.0 Hz)	H-8	C-8	95.68
3.46 (1H, m)	H-3’’	C-3’’	78.33
3.36 (1H, m)	H-5’’	C-5’’	77.44
3.46 (1H, m)	H-2’’	C-2’’	75.97
3.26 (1H, m)	H-4’’’	C-4’’’	73.95
3.48 (1H, m)	H-3’’’	C-3’’’	72.36
3.61 (1H, m)	H-2’’’	C-2’’’	72.15
3.25 (1H, m)	H-4’’	C-4’’	71.69
3.41 (1H, m)	H-5’’’	C-5’’’	69.84
3.81(1H, m); 3.41(1H, m)	H-6’’	C-6’’	68.65
3.93 (3H, s)	OCH_3	OCH_3	56.85
1.10 (3H, d, *J*=5.6 Hz)	H-6’’’	C-6’’’	17.92

IS22 nolu bileşiğe ait izolasyon şeması Şekil 3.42’de verilmiştir. Şekil 3.43-3.48’de yer alan MS ve NMR sonuçları Şekil 3.49 ve Çizelge 3.6’da özetlenmiştir. HMBC spektrumunda δ 3.93 ppm’deki protona ait sinyalin, δ 148.46 ppm’deki karbon atamo sinyali ile etkileşmesi C-3’ konumundan bağlandığını işaret etmektedir. δ 5.16 (1H, d, *J*=7.2 Hz) ile δ 135.47 ppm karbon sinyali arasındaki etkileşim C-3’den glukozun bağlandığını işaret etmektedir. δ 4.52 (1H, d, *J*=1.6 Hz) c-1’’’ ramnozun glukoz C-6’’ karbonuna ait sinyal ile HMBC korelasyonu bulunmaktadır. Tüm sonuçlar incelendiğinde ve literatür verileri ile kıyaslandığında IS22 nolu bileşiğin izoramnetin-3-*O*-rutinozit olduğuna karar verilmiştir (Boubaker ve ark., 2011).

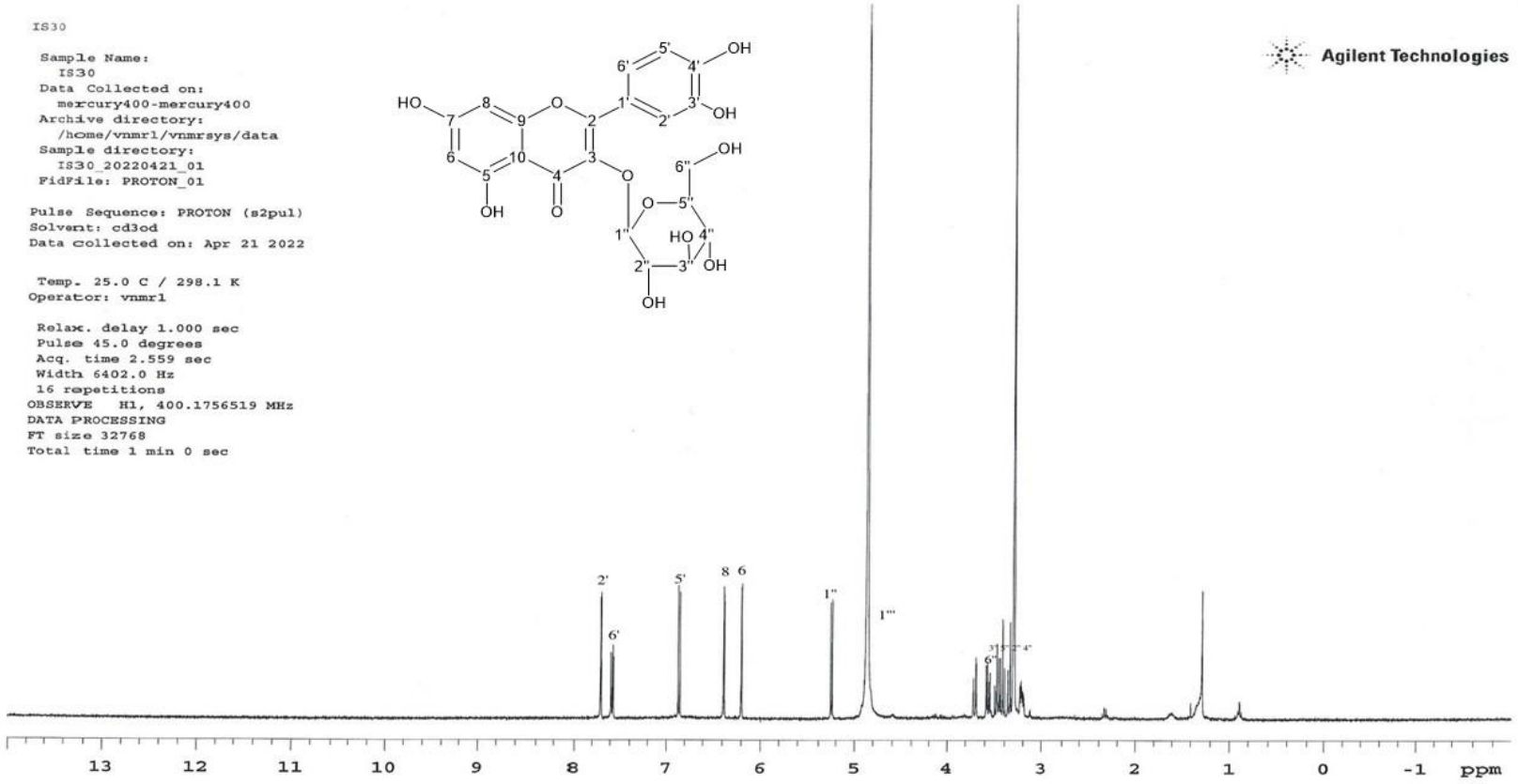
3.2.3. IS30 Bileşiğinin Yapı Tayinine İlişkin Bulgular



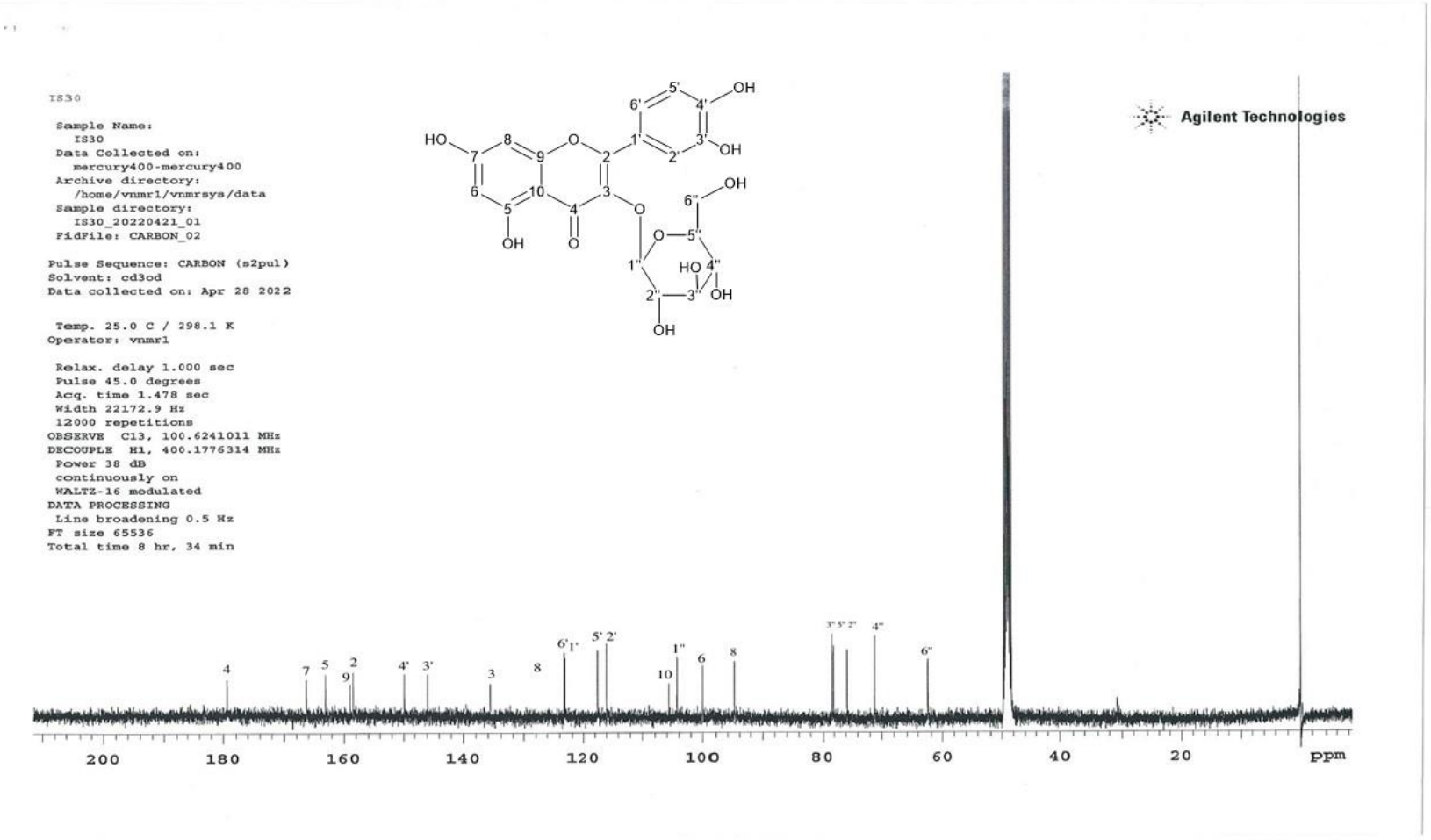
Şekil 3.50. IS30 bileşiğine ait izolasyon şeması.



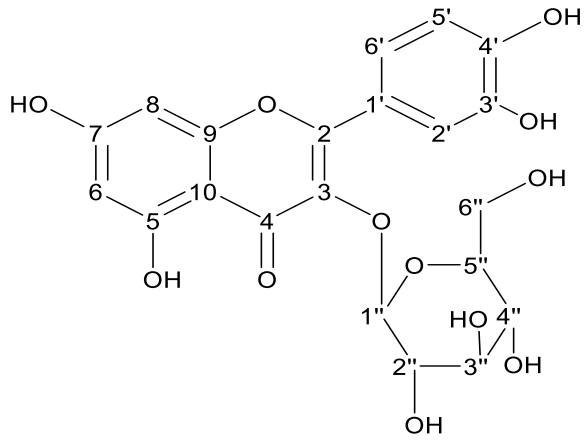
Şekil 3.51. IS30 bileğinin ES MS spektrumu.



Şekil 3.52. IS30 ^{1}H-NMR spektrumu.



Şekil 3.53. IS30 ^{13}C-NMR spektrumu.



Molekül Adı	Kersetin-3-*O*-glikozit
Molekül Ağırlığı	464,38
Molekül Formülü	$C_{21}H_{20}O_{12}$
Özelliği	Sarı renkte amorf toz

Şekil 3.54. IS30 bileşiğinin yapı tayini bulguları.

Çizelge 3.7. IS30 bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları.

δ_H (ppm), *J* (Hz)	**Proton**	**C**	**δc (ppm)**
-	-	C-4	179.51
-	-	C-7	166.39
-	-	C-5	163.09
-	-	C-9	159.02
-	-	C-2	158.55
-	-	C-4’	149.91
-	-	C-3’	145.96
-	-	C-3	135.64
7.59 (1H, dd, *J*=2.4, 8.8 Hz)	H-6’	C-6’	123.21
-	-	C-1’	123.12
6.86 (1H, d, *J*=8.8 Hz)	H-5’	C-5’	117.57
7.71 (1H, d, *J*=2.4 Hz)	H-2’	C-2’	116.03

Çizelge 3.7. Devam. IS30 bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları.

δ_H (ppm), *J* (Hz)	**Proton**	**C**	**δc (ppm)**
-	-	C-10	105.64
5.25 (1H, d, *J*=7.6 Hz)	H-1''	C-1''	104.37
6.21 (1H, d, *J*=2.4 Hz)	H-6	C-6	100.02
6.39 (1H, d, *J*=2 Hz)	H-8	C-8	94.80
3.2-3.5 (1H, m)	H-3''	C-3''	78.44
3.2-3.5 (1H, m)	H-5''	C-5''	78.16
3.2-3.5 (1H, m)	H-2''	C-2''	75.76
3.2-3.5 (1H, m)	H-4''	C-4''	71.25
3.57 (1H, dd, *J*=5.6, 12 Hz); 3.71 (1H, dd, *J*=2.4, 12 Hz)	H-6''	C-6''	62.59

IS30 nolu bileşiğe ait izolasyon şeması Şekil 3.50'de verilmiştir. Şekil 3.51-3.53'de yer alan MS ve NMR sonuçları Şekil 3.54. ve Çizelge 3.7'de özetlenmiştir. Tüm sonuçlar incelendiğinde ve literatür verileri ile kıyaslandığında IS30 nolu bileşiğin Kersetin-3-*O*-glikozit olduğuna karar verilmiştir (Atay ve ark., 2015).

3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

3.3.1. Antioksidan Aktiviteye Ait Bulgular

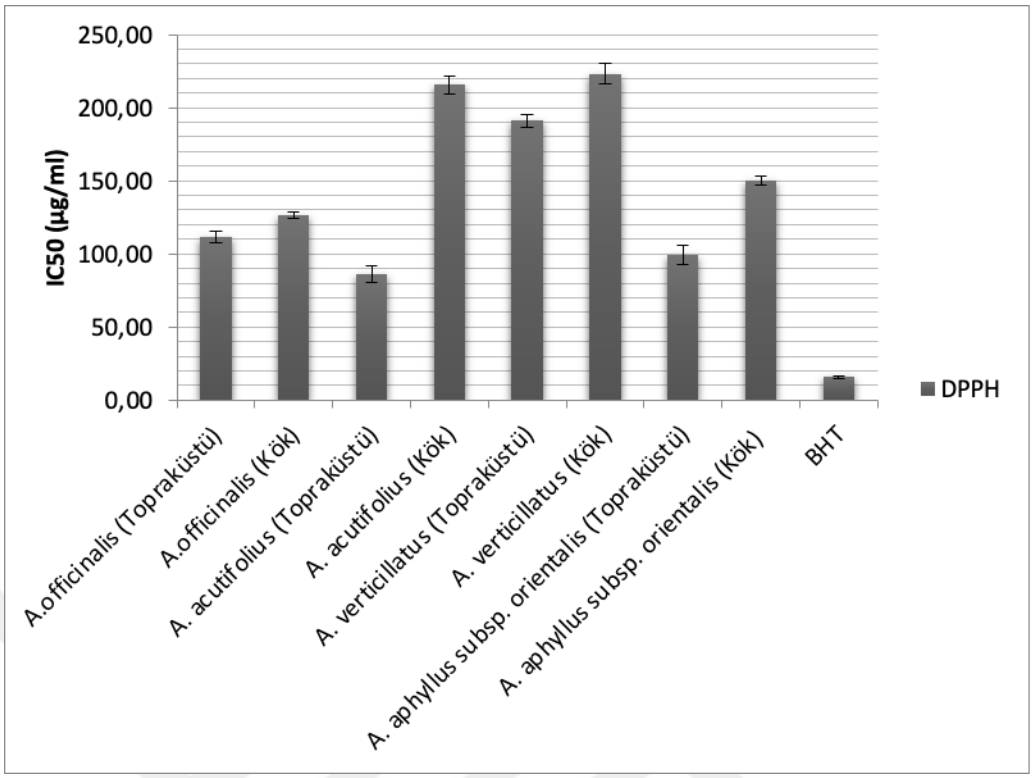
3.3.1.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi Bulguları

Bitki ekstrelerinin antioksidan kapasitesinin tayini amacıyla DPPH serbest radikalini süpürücü aktiviteleri ölçülmüş ve sonuçlar Çizelge 3.8'de ve Şekil 3.55.'te gösterilmiştir. En yüksek aktivite sırasıyla *A. acutifolius* ve *A. aphyllus* subsp. *orientalis* topraküstü kısımlarına ait ekstrelerde bulunmuştur (IC_{50}=86,14 ve 99,34

µg/ml). *A. acutifolius* (topraküstü)'nın radikal süpürücü etkisi *A. aphyllus* subsp. *orientalis* (topraküstü) hariç diğer ekstrelerden anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). *A. acutifolius* ve *A. aphyllus* subsp. *orientalis* topraküstü kısımlarına ait ekstrelerin aktiviteleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Ekstrelerin tamamının DPPH süpürücü kapasitesi negatif kontrole göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). BHT ise ekstrelerden anlamlı düzeyde yüksek aktivite göstermiştir ($p<0.05$).

Çizelge 3.8. Bitki ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü aktiviteleri.

Bitki Ekstresi		**IC_{50} (µg/ml)**
No	**İsim**	**Ortalama±SS**
1	*A. officinalis (*Topraküstü)	111,5667±4,0796
2	*A. officinalis* (Kök)	126,5333±2,3180
3	*A. acutifolius* (Topraküstü)	86,1400±5,6768
4	*A. acutifolius* (Kök)	215,7667±5,9936
5	*A. verticillatus* (Topraküstü)	191,0000±4,1073
6	*A. verticillatus* (Kök)	223,2333±6,9529
7	*A. aphyllus* subsp. *orientalis (*Topraküstü)	99,3367±6,7798
8	*A. aphyllus* subsp. *orientalis* (Kök)	150,1667±0,7552
Negatif kontrol (solvan)		-
BHT (Pozitif kontrol)		15,7667±0,7522



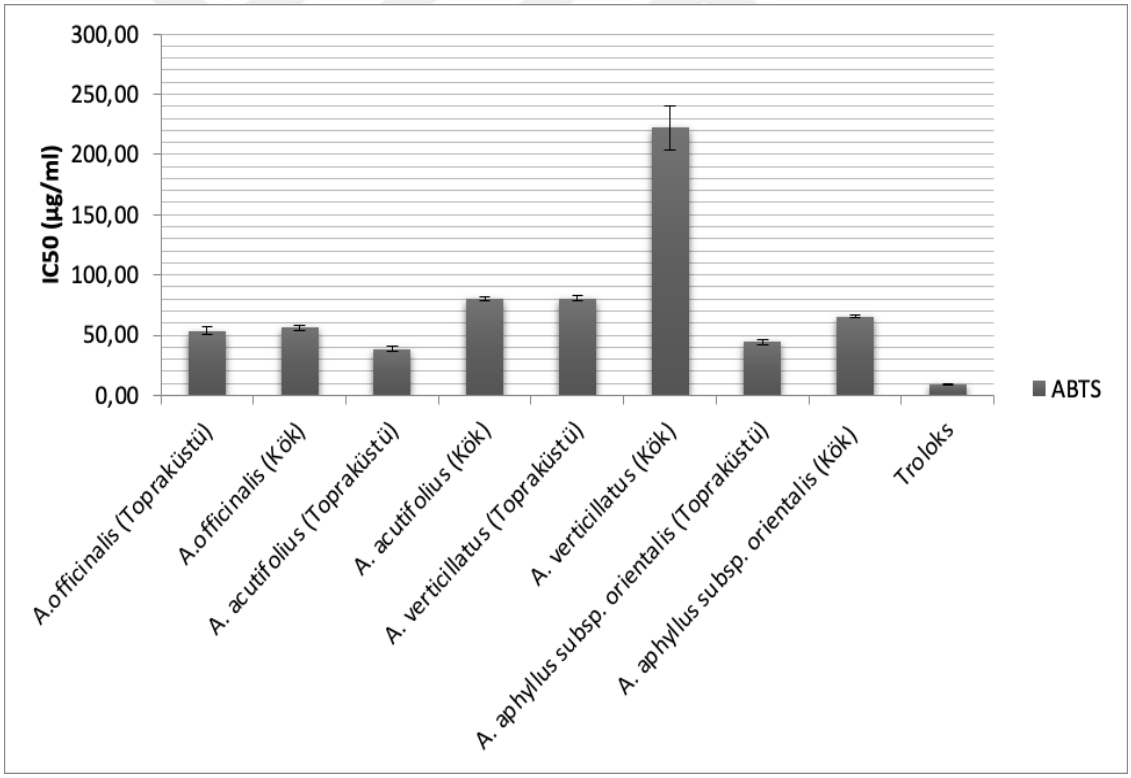
Şekil 3.55. Bitki ekstreleri ve BHT'nin DPPH serbest radikali süpürücü etkileri (IC_{50}).

3.3.1.2. TEAC/ABTS Yöntemi Bulguları

Bitki ekstrelerinin antioksidan kapasitesinin tayini amacıyla ABTS serbest radikalini süpürücü aktiviteleri ölçülmüştür. Sonuçlar Çizelge 3.9. ve Şekil 3.56'da açıklanmıştır. En yüksek aktivite sırasıyla *A. acutifolius* ve *A. aphyllus* subsp. *orientalis* topraküstü kısımlarına ait ekstrelerde bulunmuştur (IC_{50}=38,49 ve 44,23 µg/ml). *A. acutifolius* (topraküstü)'un radikal süpürücü etkisi *A. aphyllus* subsp. *orientalis* (topraküstü) hariç diğer ekstrelerden anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). *A. acutifolius* ve *A. aphyllus* subsp. *orientalis* topraküstü kısımlarına ait ekstrelerin aktiviteleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Ekstrelerin tamamı negatif kontrolden anlamlı düzeyde yüksek, troloks ise ekstrelerden anlamlı düzeyde yüksek aktivite göstermiştir ($p<0.05$).

Çizelge 3.9. Bitki ekstrelerinin ABTS radikalini süpürücü aktiviteleri.

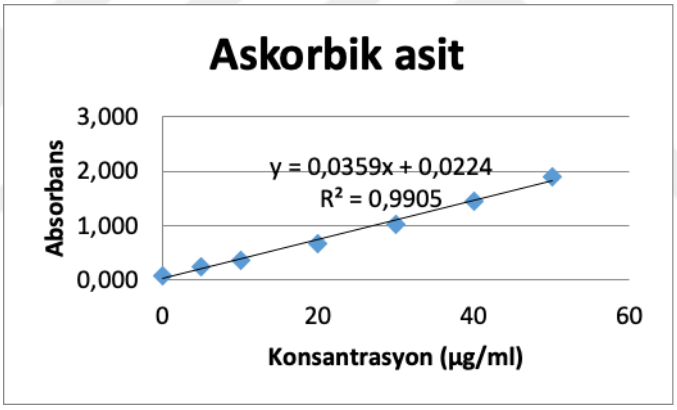
Bitki Ekstresi		**IC_{50} (µg/ml)**
No	**İsim**	**Ortalama±SS**
1	*A. officinalis* (Topraküstü)	53,4133±3,1011
2	*A. officinalis* (Kök)	56,1467±2,1898
3	*A. acutifolius* (Topraküstü)	38,4933±2,1856
4	*A. acutifolius* (Kök)	80,4833±1,5285
5	*A. verticillatus* (Topraküstü)	80,6167±2,4650
6	*A. verticillatus* (Kök)	222,3500±18,4555
7	*A. aphyllus subsp. orientalis* (Topraküstü)	44,2333±1,8869
8	*A. aphyllus subsp. orientalis* (Kök)	65,5300±1,2115
Negatif kontrol (solvan)		-
Trolox (Pozitif kontrol)		9,0643±0,6715



Şekil 3.56. Bitki ekstreleri ve troloksun ABTS serbest radikali süpürücü etkileri (IC_{50}).

3.3.1.3. Total Antioksidan Kapasite Testi Bulguları

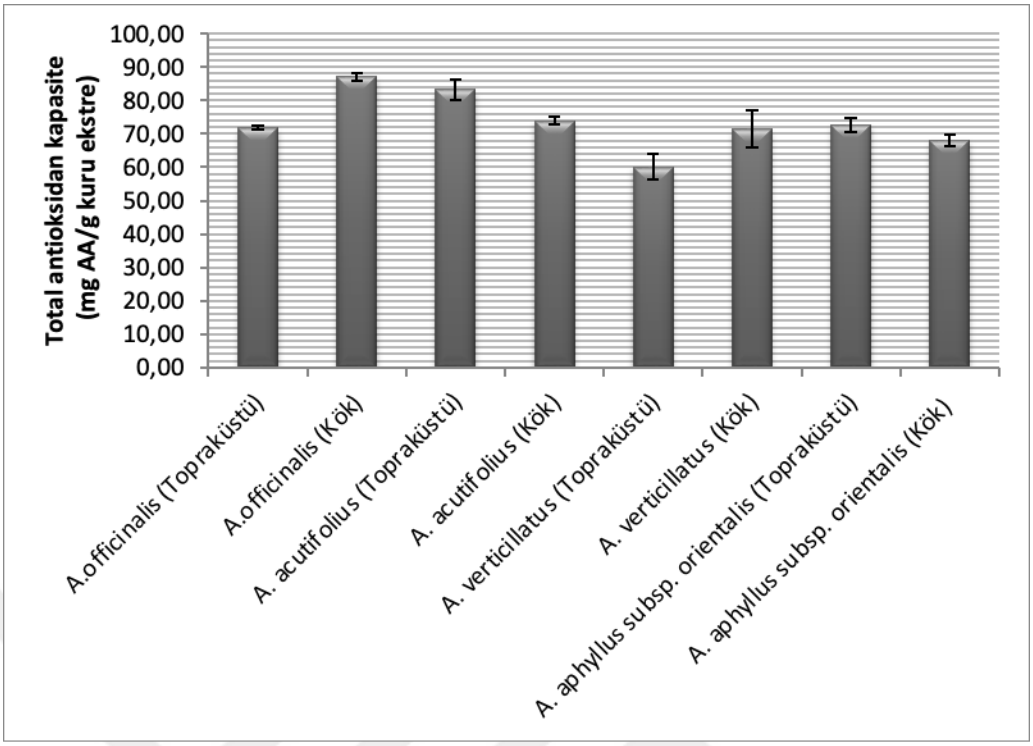
Bitki ekstreleri ve farklı konsantrasyonlardaki askorbik asitin (5-50 µg/ml) toplam antioksidan kapasitesi ölçülmüştür. Askorbik asitin (AA) konsantrasyona karşı absorbans verileri kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 3.57.). Bitki ekstrelerinin total antioksidan kapasiteleri AAE cinsinden hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 3.10.'da açıklanmış, Şekil 3.58'de şematize edilmiştir. En yüksek etki sırasıyla *A. officinalis* (kök) ve *A. acutifolius* (topraküstü)'da bulunmuştur (87,02 ve 83,19 mg AAE/g kuru ekstre). *A. officinalis* (kök) ve *A. acutifolius* (topraküstü) arasındaki farklılık ise anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). *A. officinalis* (kök) ve *A. acutifolius* (topraküstü) birbirleri dışında diğer ekstrelerden anlamlı düzeyde yüksek total antioksidan kapasite göstermiştir ($p<0.05$).



Şekil 3.57. Askorbik asitin total antioksidan kapasite kalibrasyon eğrisi.

Çizelge 3.10. Bitki ekstrelerinin total antioksidan kapasiteleri.

Bitki Ekstresi		**mg askorbik asit eşdeğeri / g kuru ekstre**
No	**İsim**	**Ortalama±SS**
1	*A. officinalis* (Topraküstü)	71,7270±0,5231
2	*A. officinalis* (Kök)	87,0195±1,1158
3	*A. acutifolius* (Topraküstü)	83,1894±2,9124
4	*A. acutifolius* (Kök)	73,9067±1,0542
5	*A. verticillatus* (Topraküstü)	60,0070±3,8525
6	*A. verticillatus* (Kök)	71,3928±5,6278
7	*A. aphyllus* subsp. *orientalis* (Topraküstü)	72,7855±2,1068
8	*A. aphyllus* subsp. *orientalis* (Kök)	68,1058±1,7853

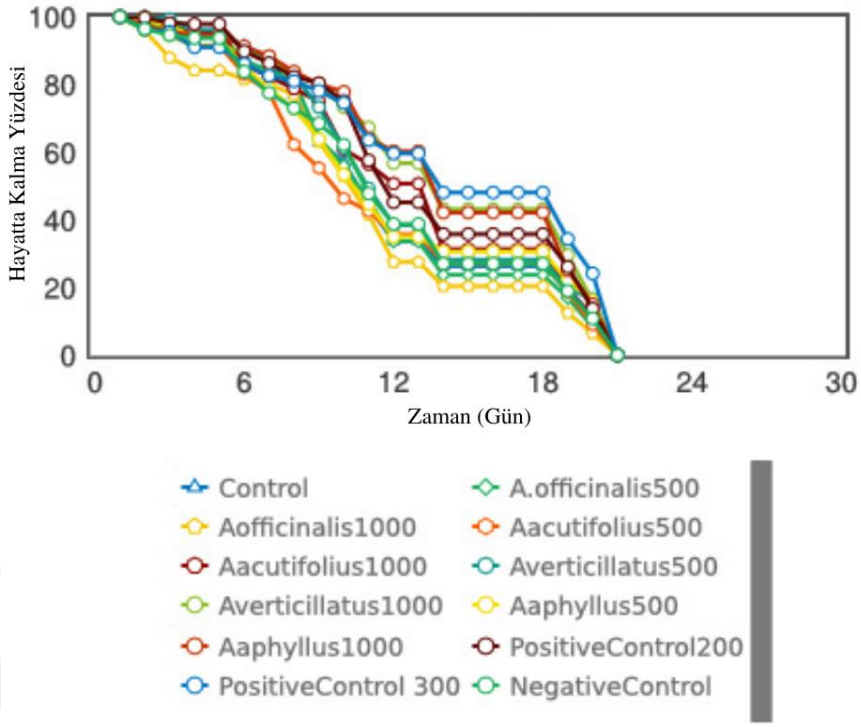


Şekil 3.58. Bitki ekstrelerinin askorbik asit eşdeğeri cinsinden total antioksidan kapasiteleri.

3.3.2. *C. elegans* Yaşam Süresi Analizi Bulguları

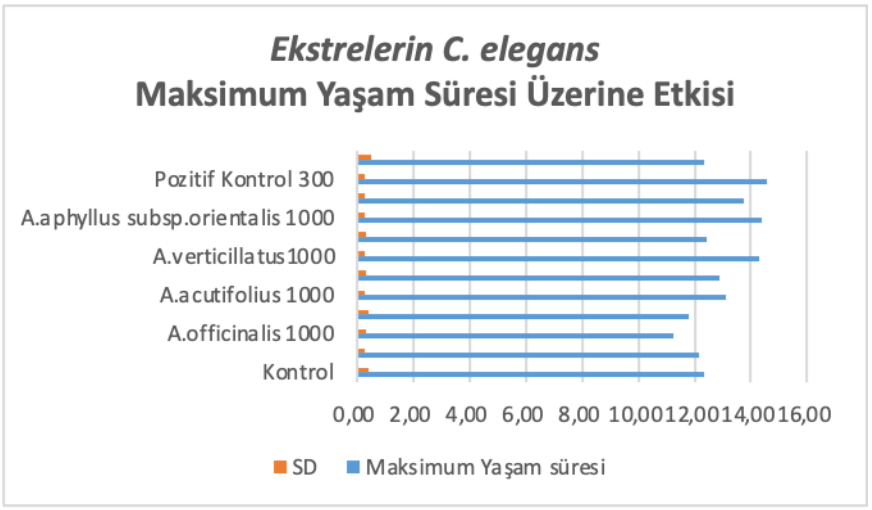
C. elegans'ın yaşam süresi analizi deneyleri, OASIS-2 web sitesinde yer alan program üzerinden Kaplan-Meier yaşam analizi ve gruplar arası anlamlılık için log-rank testi kullanılarak istatistiki olarak değerlendirilmiştir. Güven aralığı $p \leq 0,05$ olan sonuçlar istatistiki olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Asparagus taksonlarından elde edilen ekstreler, 500 µg/ml ve 1000 µg/ml konsantrasyonda deney ortamına ilave edilmiş, her bir ekstre/doz için 3 paralel olacak çalışılmıştır. Deney gruplarına ilişkin canlılık yüzdeleri Şekil 3.59.'da yer almaktadır.



Şekil 3.59. *Asparagus* taksonlarından elde edilen ekstrelerin *C. elegans*'ın hayatta kalma yüzdesi üzerine etkisi.

Ekstrelerin, nematodun maksimum yaşam süresi üzerine etkileri, Şekil 3.60.'da görüldüğü gibidir. Gruplar arası anlamlılık için log-rank testi sonuçları ile karşılaştırılmış sonuçlar Çizelge 3.11.' de yer aldığı gibidir.



Şekil 3.60. *Asparagus* taksonlarından elde edilen ekstrelerin *C. elegans*'ın maksimum yaşam süresi üzerine etkisi.

Çizelge 3.11. Deney gruplarının kontrol grubuna kıyasla kikare ve p değerleri.

Deney grupları	X^2	P değerleri
A. officinalis (500 µg/ml)	0,240000	0,6231
A. officinalis (1000µg/ml)	3,070000	0,0797
A. acutifolius (500 µg/ml)	1,050000	0,3051
A. acutifolius (1000µg/ml)	2,290000	0,1298
A. verticillatus (500 µg/ml)	2,130000	0,1444
A. verticillatus (1000µg/ml)	16,410000	0,0001
A. aphyllus (500 µg/ml)	0,390000	0,5341
A. aphyllus subsp. *orientalis* (1000µg/ml)	14,320000	0,0002
Pozitif Kontrol (200µg/ml)	6,990000	0,0082
Pozitif Kontrol (300µg/ml)	26,440000	0,0001
Negatif Kontrol	0,020000	0,9006

Sonuçlar incelendiğinde, ekstrelerin hazırlanmasında ve besi yerine ilave edilmesinde kullanılan negatif kontrol grubu %70'lik alkolün yaşam süresi üzerine bir etkisinin olmadığı görülmüştür ($p<0.05$).

Yine pozitif kontrol grubu olarak tercih edilen 200µg/ml ve 300 µg/ml konsantrasyonda uygulanan kafeik asitin beklendiği üzere maksimum yaşam süresini uzattığı bulunmuştur ($p<0.05$). *Asparagus* taksonlarının topraküstü kısımlarından elde edilen ekstrelerin maksimum yaşam süresi üzerine etkileri de değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, 1000 µg/ml dozda *A. aphyllus* subsp. *orientalis* ve *A. verticillatus*'un etkili olduğu sonucuna varılmıştır ($p<0.05$).

1000 µg/ml dozda *A. aphyllus* subsp. *orientalis* ve *A. verticillatus*'un arasında anlamlı bir farklılık olmadığı da tespit edilmiştir ($p>0,05$)

3.3.3. Hepatoprotektif Aktiviteye Ait Bulgular

İstatistik analizler SPSS 21.0 istatistik paket programında gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama, standart sapma ve standart hata ortalaması şeklinde ifade edilmiş. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile analiz edilmiştir. ALT değişkeni için tüm gruplarda verilerin normal dağılım gösterdiği, AST değişkeni için *A. acutifolius* (Kök-200 mg/kg) grubu hariç tüm gruplarda verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. 18 grup içerisinde yalnızca bir grubun normal dağılım göstermemesi ihmal edilebilir bir durum olarak değerlendirilmiş ve istatistik analiz için parametrik bir test olan bağımsız gruplarda tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi kullanılmıştır. ANOVA sonrası anlamlı farklılık saptanan grupların ikili karşılaştırılması (post hoc) için Tukey's HSD testinden yararlanılmıştır. P<0.05 olasılık değeri anlamlı kabul edilmiştir (Hayran ve Özbek, 2021).

Çizelge 3.12. ALT değişkeni için tanımlayıcı istatistik sonuçları.

Gruplar	Mean	SD	SEM	95% Confidence Interval		Min.	Max.
				Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol (CMC)	54,14	9,65	4,32	42,15	66,13	40,8	65
CCl4	[a] 78,98	16,68	8,34	52,44	105,5	59,9	95
A. verticillatus (Herba-200 mg/kg)	71,65	13,88	5,67	57,08	86,22	52,1	95
A.officinalis (Herba-200 mg/kg)	[bc] 46,03	6,96	2,84	38,73	53,34	39,7	55
A. acutifolius (Herba-200 mg/kg)	[b] 53,78	10,59	4,32	42,67	64,9	40,7	68
A. aphyllus subsp. orientalis (Herba-200 mg/kg)	[bc] 45,08	12,22	4,99	32,26	57,9	27	61
A.officinalis (Kök-100 mg/kg)	[abcd] 31,90	3,05	1,25	28,7	35,1	28	36
A. acutifolius (Kök-100 mg/kg)	[abcd] 31,35	5,56	2,27	25,52	37,19	21,2	37
A. verticillatus (Kök-100 mg/kg)	[abcd] 32,17	4,35	1,78	27,6	36,74	27,9	40
A. aphyllus subsp. orientalis (Kök-100 mg/kg)	[abcd] 28,47	3,47	1,42	24,83	32,11	23,9	34
A.officinalis (Herba-100 mg/kg)	[bc] 37,25	11,91	4,86	24,75	49,75	26,8	53
A. acutifolius (Herba-100 mg/kg)	[bc] 37,73	9,01	3,68	28,28	47,19	29,9	53
A. verticillatus (Herba-100 mg/kg)	[bc] 39,78	16,77	6,85	22,18	57,38	23,7	63
A. aphyllus subsp. orientalis (Herba-100 mg/kg)	[bc] 37,10	9,1	3,71	27,56	46,65	25,9	51
A.officinalis (Kök-200 mg/kg)	[abcd] 26,58	4,02	2,01	20,18	32,97	22,4	32
A. acutifolius (Kök-200 mg/kg)	[abcd] 32,53	5,39	2,2	26,88	38,19	28,1	43
A. verticillatus (Kök-200 mg/kg)	[bc] 41,95	8,19	3,34	33,36	50,54	30	53
A. aphyllus subsp. orientalis (Kök-200 mg/kg)	[abcd] 31,05	5,31	2,17	25,48	36,62	24,7	40

ALT değişkeni için ANOVA sonucu (df: 17;85;102; F: 11.747; p<0.001).
a: p<0.05 [Kontrol (CMC) grubu ile karşılaştırma],
b: p<0.05 (CCl_4 grubu ile karşılaştırma),
c: p<0.05 (*A. verticillatus* (Herba-200 mg/kg) grubu ile karşılaştırma).
d: p<0.05 (*A. acutifolius* (Herba-200 mg/kg) grubu ile karşılaştırma).

Çizelge 3.13. ALT değişkeni için Tukey's HSD sonuçları.

Gruplar	Subset for alpha = 0.05			
	1	2	3	4
A.officinalis (Kök-200 mg/kg)	26,58			
A. aphyllus subsp. orientalis (Kök-100 mg/kg)	28,47			
A. aphyllus subsp. orientalis (Kök-200 mg/kg)	31,05			
A. acutifolius (Kök-100 mg/kg)	31,35			
A.officinalis (Kök-100 mg/kg)	31,9			
A. verticillatus (Kök-100 mg/kg)	32,17			
A. acutifolius (Kök-200 mg/kg)	32,53			
A. aphyllus subsp. orientalis (Kök-100 mg/kg)	37,1	37,1		
A.officinalis (Herba-100 mg/kg)	37,25	37,25		
A. acutifolius (Herba-100 mg/kg)	37,73	37,73		
A. verticillatus (Herba-100 mg/kg)	39,78	39,78		
A. verticillatus (Kök-200 mg/kg)	41,95	41,95		
A. aphyllus subsp. orientalis (Herba-200 mg/kg)	45,08	45,08		
A.officinalis (Herba-200 mg/kg)	46,03	46,03		
A. acutifolius (Herba-200 mg/kg)		53,78	53,78	
Kontrol (CMC)		54,14	54,14	
A. verticillatus (Herba-200 mg/kg)			71,65	71,65
CCl4				78,98
Sig.	0,079	0,221	0,16	0,998

Çizelge 3.14. AST değişkeni için tanımlayıcı istatistik sonuçları.

Gruplar	Mean	SD	SEM	95% Confidence Int.		Min.	Max.
				Low. Bound	Upp. Bound		
Kontrol (CMC)	143,26	23,5	10,5	114,04	172,48	107	166
CCl4	[a] 179,35	26,5	13,3	137,19	221,51	148	202
A. verticillatus (Herba-200 mg/kg)	[b] 135,42	4,02	1,64	131,2	139,64	130	139
A.officinalis (Herba-200 mg/kg)	[b] 120,93	17,7	7,22	102,38	139,48	91,6	144
A. acutifolius (Herba-200 mg/kg)	[b] 111,75	13,1	5,36	97,97	125,53	98,6	134
A. aphyllus subsp. orientalis (Herba-200 mg/kg)	[b] 109,00	22,6	9,21	85,32	132,68	80,5	147
A.officinalis (Kök-100 mg/kg)	[bc] 94,05	11,7	4,76	81,81	106,29	80,8	109
A. acutifolius (Kök-100 mg/kg)	[bc] 85,77	14,3	5,85	70,72	100,81	64,2	103
A. verticillatus (Kök-100 mg/kg)	[bcd] 82,37	13,8	5,63	67,89	96,85	68,7	101
A. aphyllus subsp. orientalis (Kök-100 mg/kg)	[bcde] 72,37	5,81	2,37	66,27	78,46	65,4	80,2
A.officinalis (Herba-100 mg/kg)	[bcf ghi] 132,83	37,2	15,2	93,77	171,9	94,2	181
A. acutifolius (Herba-100 mg/kg)	[bc] 86,55	13	5,29	72,96	100,14	64,6	98,6
A. verticillatus (Herba-100 mg/kg)	[bc] 94,13	27,3	11,2	65,44	122,83	66,5	132
A. aphyllus subsp. orientalis (Herba-100 mg/kg)	[bc] 95,42	17,6	7,18	76,95	113,88	72	114
A.officinalis (Kök-200 mg/kg)	[b] 106,53	11,4	5,69	88,43	124,62	91,3	116
A. acutifolius (Kök-200 mg/kg)	[b] 101,17	14,1	5,77	86,34	116	73	110
A. verticillatus (Kök-200 mg/kg)	[bc] 88,20	13,2	5,39	74,35	102,05	72,2	107
A. aphyllus subsp. orientalis (Kök-200 mg/kg)	[bcd] 79,70	15,7	6,39	63,28	96,13	64,5	110

AST değişkeni için ANOVA sonucu (df: 17;85;102; F: 10.938; p<0.001).
a: p<0.05 [Kontrol (CMC) grubu ile karşılaştırma],
b: p<0.05 (CCl_4 grubu ile karşılaştırma),
c: p<0.05 (*A. verticillatus* (Herba-200 mg/kg) grubu ile karşılaştırma).
d: p<0.05 (*A.officinalis* (Herba-200 mg/kg) grubu ile karşılaştırma).
e: p<0.05 (*A. acutifolius* (Herba-200 mg/kg) grubu ile karşılaştırma).
f: p<0.05 (*A. officinalis* (Kök-100 mg/kg) grubu ile karşılaştırma).
g: p<0.05 (*A. acutifolius* (Kök-100 mg/kg) grubu ile karşılaştırma).
h: p<0.05 (*A. verticillatus* (Kök-100 mg/kg) grubu ile karşılaştırma).
i: p<0.05 (*A. aphyllus* subsp. *orientalis* (Kök-100 mg/kg) grubu ile karşılaştırma).

Çizelge 3.15. AST değişkeni için Tukey's HSD sonuçları.

Gruplar	Subset for alpha = 0.05					
	1	2	3	4	5	6
A. aphyllus subsp. orientalis (Kök-100 mg/kg)	72,37					
A. aphyllus subsp. orientalis (Kök-200 mg/kg)	79,7					
A. verticillatus (Kök-100 mg/kg)	82,37	82,37				
A. acutifolius (Kök-100 mg/kg)	85,77	85,77				
A. acutifolius (Herba-100 mg/kg)	86,55	86,55				
A. verticillatus (Kök-200 mg/kg)	88,2	88,2				
A.officinalis (Kök-100 mg/kg)	94,05	94,05	94,1			
A. verticillatus (Herba-100 mg/kg)	94,13	94,13	94,1			
A. aphyllus subsp. orientalis (Herba-100 mg/kg)	95,42	95,42	95,4			
A. acutifolius (Kök-200 mg/kg)	101,17	101,2	101	101,17		
A.officinalis (Kök-200 mg/kg)	106,53	106,5	107	106,53	106,53	
A. aphyllus subsp. orientalis (Herba-200 mg/kg)	109	109	109	109	109	
A. acutifolius (Herba-200 mg/kg)	111,75	111,8	112	111,75	111,75	
A.officinalis (Herba-200 mg/kg)		120,9	121	120,93	120,93	
A.officinalis (Herba-100 mg/kg)			133	132,83	132,83	
A. verticillatus (Herba-200 mg/kg)				135,42	135,42	
Kontrol (CMC)					143,26	143,3
CCl4						179,4
Sig.	0,051	0,063	0,06	0,17	0,098	0,114

4. TARTIŞMA

İnsanların tıbbi bitkileri kullanmaya başlaması hayvanlarda olduğu gibi içgüdüsel olup dünyanın hemen her yerinde çok eski çağlardan beri kullanımlarıyla, tıbbi bitkiler hem geleneksel hem de konvansiyonel tıp preparatlarının önemli bileşenleri haline gelmiştir. Bitkisel ilaçlar veya türevleri profilaktik, terapötik ve/veya palyatif özelliklere sahip olabilir. Başta Güney Amerika, Afrika ve Asya olmak üzere dünya genelinde 300.000'den fazla tohumlu bitkinin yaklaşık %60 kadarı terapötik amaçlı kullanılmaktadır. Son yüzyılda taksol, vinblastin, morfin, kodein, kokain vb. doğal bileşiklerin keşfi; bitkilerin özellikle hematoloji, onkoloji ve immünoloji alanında ilaç olarak kullanımını etkilemiştir (Srivastava, 2018; Majumdar ve ark., 2021; Mousavi ve ark., 2021; Seo, 2021).

Tıbbi bitkiler, yüzyıllar boyunca çeşitli rahatsızlıkları/hastalıkları tedavi etmek için küresel olarak kullanılmıştır. DSÖ'ye göre, neredeyse her 5 kişi'den 4'ü birinci basamak sağlık ihtiyaçlarını geleneksel tedavi yöntemlerini kullanarak karşılamaktadır. Dünyadaki yaklaşık 422.000 çiçekli bitkinin 50.000'den fazlası tedavi amacıyla kullanılmaktadır. (Yesil ve Inal, 2020).

Ülkemizdeki durum değerlendirildiğinde; Türkiye, Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Akdeniz bölgesi gibi üç iklim kuşağının kesiştiği yerde uzanmakta olup ılıman kuşaktaki bitki çeşitliliği açısından, Asya, Avrupa ve Ortadoğu'da çevresindeki komşu ülkelerden farklı özellikleriyle dikkat çekmektedir. Bu durum da halkın kök, yaprak, çiçek, meyve, ot, tohum gibi farklı bitki parçalarını mutfaklarında, doğal boyama, dekorasyon, tekstil boyama ve tıbbi amaçlarla vb. kullanması şeklinde birçok farklı etnofarmakognozik alışkanlığı geliştirmesine yol açmıştır. Diğer bir açıdan, günümüz Türkiye'sinin dokuz farklı uygarlığa ev sahipliği yapmış olması da yerel floranın geleneksel ilaçlar ve mutfakta kullanımı hakkında büyük bir bilgi birikimi oluşmasını desteklemektedir (Yıldırım, 2021).

Dünya genelinde iyi bilinen cins olan *Asparagus* taksonları Asparagaceae ailesinin bir üyesi olup çok yıllık, ot, çalı ve sarmaşık formunda bitkilerden oluşur. Kuşkonmaz; salata, sebze yemekleri ve çorbalarda kullanılan yenilebilen sürgünleri sebebiyle dünyanın birçok yerinde popüler bir sebzedir. Tıbbi bitki olarak da kullanılmakta olan kuşkonmazın, ilk olarak Mısırlılar, Yunanlılar ve Romalılar tarafından kültüre alınmış olduğu; Roma İmparatorluğu ile birlikte tüm Avrupa'ya yayıldığı belirtilmektedir.

Günümüzde *Asparagus* türleri hem gıda (*A. acutifolius* L., *A. albus* L., *A. maritimus* (L.) Mill, *A. officinalis* L.) hem de tıbbi (*A. adscendens* Roxb., *A. racemosus* Willd., *A. verticillatus* L.) amaçlarla tüketilmekte ayrıca bazı türlerden süs bitkisi (*A. asparagoides* (L.) Druce, *A. densiflorus* (Kunth) Jessop, *A. plumosus* Baker, *A. virgatus* Baker) olarak da yararlanılmaktadır (Kubota ve ark., 2012).

Asparagus türleri; dünyada yaklaşık 300 tür ile temsil edilmektedir (Norup ve ark., 2015). Dünyada *Asparagus* cinsi, Amerika hariç, ılıman ve tropikal bölgelerde yayılış göstermektedir (Adouni ve ark., 2022; Sheng ve ark., 2021; Zhu ve ark., 2021). Güney Afrika Kuşkonmaz bitkisinin çoğu türlerine ev sahipliği yapmakla birlikte, Afrika ve Avrasya'nın kurak ve yarı-kurak bölgelerinde yaygın olarak bulunur. Farklı türlere ev sahipliği yapan diğer bir bölge Batı Çin ve Moğolistan başta olmak üzere Merkez Asya'dır (Drost, 2020).

Ülkemizde, *Asparagus* cinsinin 10 taksonu mevcut olup bunlardan 3 tanesi endemiktir. *Asparagus* türlerinin bir kısmı tehdit altında veya savunmasız olarak listelenmekle birlikte; Anadolu'nun birçok yerinde doğal yayılış göstermektedir (TÜBİVES, 2022).

Asparagus türleri, Türkiye'de ve dünyanın birçok yerinde kendiliğinden yetişen ve antik çağlardan bu yana gıda olarak tüketilen, halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerdir. Güncel bilimsel çalışmalar, bu türlerin halk arasında kullanılışlarını doğrular niteliktedir. *Asparagus* taksonlarının çalışma konusu olarak seçilmesinin öncelikli nedeni, halk arasında kullanımı bulunan bazı

taksonların üzerinde yapılan bilimsel çalışmaların kısıtlı oluşudur. Tarihsel açıdan bakıldığında; bitkinin hem Avrupa hem de Asya geleneksel tıp sistemlerinde kullanıldığı görülmektedir. Antik Yunanlılar ve Romalılar; *Asparagus* türlerini diüretik özelliklerinden dolayı kullanmışlardır. Bu cinse ait bazı bitkiler; Ayurvedik tıp sisteminin de önemli tıbbi bitkileri arasında yer almaktadır. *Asparagus* Geleneksel Çin Tıbbında; tonik, ateş düşürücü, antitüssif, diüretik ajan ve saç uzamasını stimule etmek amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca Çinli eczacılar kuşkonmaz türlerini öksürük tedavisinde, enflamasyon, mantar enfeksiyonları ve kansere karşı da kullanmaktadırlar (Sun ve ark., 2010; Thakur ve ark., 2015; Wang ve ark., 2003). *Asparagus* cinsi bitkilerin çeşitli kısımları, Hindistan, Pakistan ve Çin halk tıbbında, çeşitli etkileri sebebiyle geleneksel olarak kullanılmaktadır. Söz konusu etkiler diüretik, demülsan, antidiyareik, antidizanterik, tonik, kalp sedatifi, galaktagog, afrodizyak, antitüssif, antispazmodik, ateş düşürücü olarak sıralanabilir (Altundag Ergul ve ark., 2020; Batsatsashvili ve ark., 2020; Güvenç, 1998). Hindistan'da bazı türlerin doğurganlığı arttırmak, menstrüel krampları azaltmak ve emziren annelerde süt üretimini arttırmak amacıyla kullanımı bulunmaktadır (Negi ve ark., 2010). Nadkarni'nin Indian Materia Medica kitabında da *Asparagus* cinsinin sahip olduğu antidiyareik, antiülser, tonik, besleyici, yatıştırıcı, süt arttırıcı ve antispazmodik özelliklerinden dolayı tüketildiği dile getirilmiştir (Hewawasam ve ark., 2008). Doğu medeniyetleri, bazı kuşkonmaz ekstrelerini yüzlerce yıldır stimulan, antidiyareik, antitüssif ve diüretik olarak kullanmaktadır (Adouni ve ark., 2022).

Asparagus türleri üzerinde yapılan son çalışmalarla; bu türlerin antikanser (meme kanseri, akciğer kanseri, karaciğer kanseri ve lösemi dâhil), afrodizyak, bağışıklık uyarıcı, antibakteriyel, antidiyabetik, antidepresan, antienflamatuvar, antioksidan, antihepatotoksik, antitüberküloz ve antidiyareik etkileri gösterdiği kanıtlanmıştır (Altundag Ergul ve ark., 2020; Kapoor ve ark., 2020; Ku ve ark., 2018). Yine yapılan farmakolojik çalışmalarla *Asparagus* ekstrelerinin; antifungal, diüretik, sitotoksik, antiviral ve mollusidal özellikler gibi bazı biyolojik aktiviteleri kanıtlanmıştır. *Asparagus* kökleri ve genç sürgünleri; üriner sistem enflamasyonlu hastalıkların tedavisinde, böbrek taşı oluşumunu engellemede ve diüretik etkisi

sebebiyle tıbbi bir ürün olarak Alman Komisyon E tarafından resmi olarak onaylanmıştır (Majumdar ve ark., 2021; Thakur ve ark., 2015; Wang ve ark., 2003).

Yenilebilir bitkiler üzerinde yürütülen farmakognozik araştırmaların popülerliği gün geçtikçe artmaktadır. *Asparagus* cinsi birçok bitki bu kategoride yer almakta olup, dünya genelinde gıda olarak yaygın biçimde tüketilmektedir. Bu tez çalışması kurgulanırken, Türkiye'de yetişen hem gıda hem de tedavi edici amaçla kullanılan *Asparagus* taksonları üzerindeki mevcut literatür verileri incelenmiştir. Türkiye'de yetişen *Asparagus* taksonları üzerinde yapılan çalışmaların sadece anatomik yönden ele alındığı (Güvenç, 1996), ek olarak bazı taksonlara dair sınırlı sayıda etnobotanik çalışmanın yapıldığı görülmüştür. Ayrıca, söz konusu veriler incelendiğinde, bitkilerin halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanıldığı ve fakat bu kullanımları üzerinde yeterli fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmalarının olmadığı görülmüştür. Elde edilen bulgular ışığında, Türkiye'de yetişen, halk arasında hemoroit, infertilite ile mide, üriner sistem, karaciğer, böbrek, kalp hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı bildirilen *A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonları üzerinde çalışılmaya karar verilmiştir. Bununla birlikte üzerinde (büyük çoğunluğu gıda mühendisliği alanında olan) görece daha fazla bilimsel çalışma bulunan *A. officinalis* taksonu da deneysel çalışmalarımızda yol gösterici olabilmesi amacıyla bitkisel materyal kapsamına alınmıştır. Sonuç olarak bu tez çalışması ile söz konusu taksonların halk arasındaki kullanımını bilimsel temellere oturtmak ve bu alandaki bilimsel verilerin eksikliğinin ortadan kaldırılması amaçlanmıştır.

Seçilen taksonların, halk arasında kullanımlarına paralel olarak, karbontetraklorür ile indüklenmiş akut karaciğer hasarındaki etkinliklerinin deney hayvanları üzerinde ve oksidatif stres ile enflamasyonun doğal bir sonucu olarak ortaya çıkan yaşlanmaya karşı etkinliklerinin de *C. elegans* modelinde çalışılmasına karar verilmiştir. Ayrıca her iki aktivite ile de doğrudan ilintili antioksidan aktiviteleri de in vitro testlerle değerlendirilmiş, aktivitenin en yüksek olduğu belirlenen taksonun fitokimyasal içeriği de çeşitli kromatografik ve spektral teknikler kullanılarak aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Deneysel çalışmaların sağlıklı bir biçimde yürütülebilmesi için, tüm taksonlar çiçeklenme dönemlerinde, gereç ve yöntem kısmında belirtilen lokalitelerden toplanmıştır. Daha sonra *A. officinalis* taksonu üzerinde ekstraksiyon parametrelerine dair yürütülen çalışmalar (Solana ve ark., 2015; Zhang ve ark., 2018) göz önüne alınarak ekstraksiyon tekniği ve çözücü çeşidi belirlenmiştir. Çalışma kapsamında yer alan taksonların topraküstü ve köklerinden, oda sıcaklığında %70'lik etanol kullanılarak hareketli maserasyon ile ekstre hazırlanmasına karar verilmiştir.

A. officinalis, A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus subsp. *orientalis* bitkilerinin topraküstü kısımları ve köklerinden hazırlanan sulu etanollü ekstrelerin ters faz-YPSK ile yapılan kalitatif analizlerinde, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı imkanları dahilinde temin edilebilen standart maddeler aranmıştır. Bitkinin rutin ve kafeik asit bileşiklerini içerdiği saptanmış ve bu bileşiklerin yüzde miktarları, eksternal standart yöntemi ile belirlenmiştir. Söz konusu taksonların toprakaltı kısımlarında rutin varlığına rastlanmamıştır. Topraküstü kısımlarda en yüksek rutin içeriği *A. officinalis* de olup en düşük oranda rutin bileşiğine *A. aphyllus* subsp. *orientalis'* de rastlanmıştır. En yüksek kafeik asit miktarı, *A. officinalis* köklerinde olup en düşük miktar yine aynı taksonun topraküstü kısımlarındadır. Tüm sonuçlar; rutin bileşiğinin kafeik asite kıyasla söz konusu taksonlarda daha yüksek miktarda bulunduğunu ortaya koymaktadır. Bunun yanında, ekstrelerin total fenol ve total flavonoit içerikleri de araştırılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı en yüksek olan ekstreler sırasıyla *A. acutifolius* (topraküstü) ve *A. aphyllus subsp. orientalis* (topraküstü) (sırasıyla 25,52 ve 24,20 mg GAE/g kuru ekstre) bulunmuştur. Total flavonoit miktarı en yüksek olan ekstreler sırasıyla *A. acutifolius* (topraküstü) ve *A. aphyllus* subsp. *orientalis* (topraküstü)'tir (sırasıyla 95,42 ve 86,75 mg QE / g kuru ekstre).

Asparagus taksonları üzerinde Dünya'da yapılan hepatoprotektif etki çalışmaları incelendiğinde; genellikle Türkiye'de yetişmeyen türler üzerinde çalışıldığı görülmektedir. Bu bağlamda; söz konusu *Asparagus* taksonlarının karbontetraklorür ile indüklenmiş hepatotoksisiteye karşı etkinliklerinin saptanabilmesi adına biyokimyasal parametreler olan serum AST ve ALT seviyeleri

ölçülmüştür. Elde edilen bulgulara göre; CCl_4 enjeksiyonu ile karaciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlar arasında, ekstre uygulanan gruplarda ölçülen ALT ve AST değerlerinde belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Çalışılan ekstrelerin tümünde AST seviyeleri, CCl_4 grubundan anlamlı olarak farklı çıkmıştır. Aynı durum ALT seviyelerinin değerlendirilmesinde de gözlenmiştir (*A. aphyllus* subsp. *orientalis* topraküstü kısmından hazırlanan ekstrenin 200 μg/kg dozu hariç). En düşük ALT değeri, 200 μg/kg dozda verilen *A. officinalis* kök ekstresi verilen grupta bulunmuştur. En düşük AST değeri ise; 100 μg/kg dozda verilen *Asparagus aphyllus* subsp. *orientalis* kök ekstresi verilen grupta bulunmuştur.

Histopatolojik değerlendirme amacıyla kullanılan değişkenler isimsel (nominal) ölçüldüğü için burada kullanılması planlanan istatistiksel analiz yöntemleri tekrarlı ölçümler için McNemar ve Cohran Q testleri, bağımsız gruplar için Ki-kare (Pearson ki-kare, Yates testi, Fisher's exact test, Monte Carlo testi gibi) testleri olarak belirlenmiştir. Nominal ölçümler için çok sayıda denek gerekmekte olup bu çalışmada her bir grupta 6 adet sıçan bulunmaktadır. Çalışma sırasında bazı gruplarda ölen hayvanlar da olduğu için bu sayı daha da düşmektedir. Bu nedenle, yukarıda belirtilen istatistik testlerinin Tip-I hata sebebiyle doğru bir sonuca ulaşmaktan uzak olacağı hükmüne varılmıştır. Örneğin dört gözlü bir ki-kare tablosu oluşturmak amacıyla kullanılabilecek minimum denek sayısı her bir göz için 5 adettir. Yani her bir grup için en az 4x5=20 adet sıçanla çalışmak gerekir. Etik kurulu, her bir grup için azami 7 adet deney hayvanına izin vermektedir. Bu yüzden histopatolojik inceleme verileri için istatistiksel analiz yöntemleri kullanılamamıştır. Bunun yerine, çalışma gruplarındaki sıçanlardan çalışma sırasında ölenlerin sayısı ve histopatolojik değerlendirmelerin grup içi ortalamasından yararlanılmıştır. Buna göre; *A. officinalis* (kök-200 μg/kg) grubunda 2 sıçan ve *A. aphyllus* subsp. *orientalis* (kök-200 μg/kg) grubunda bir sıçan çalışma sırasında ölmüştür. Değerlendirilen iki grubun gerek biyokimyasal gerekse histopatolojik yönden değerlendirilmesinde, ölen hayvanların da hesaba katılması uygun görülmüştür. Buna göre eğer bu hayvanlardan kan ve doku örnekleri alınabilse idi (ölen hayvanları kafesteki diğer hayvanlar yedikleri için örnek almak mümkün olamamıştır) gerek biyokimyasal değerleri gerekse histopatolojik skorlar oldukça yüksek çıkacaktı. Dolayısıyla bu iki çalışma

grubunu etkisiz olarak değerlendirmek mümkündür. Diğer çalışma gruplarının ise biyokimya sonuçları üzerinden değerlendirilmesi uygun bulunmuştur.

Bu bağlamda; çalışmamız *Asparagus* taksonlarının hepatoprotektif etkinliğini göstermiş olmakla birlikte bu konudaki çalışmaların ilerletilmesi gerekmektedir. Gerek fraksiyonların, gerekse ilerleyen çalışmalarda bu taksonlardan izole edilecek bileşiklerin aktiviteleri de tayin edilerek söz konusu taksonların hepatoprotektif aktivitesinin detaylı olarak incelenmesi planlanmaktadır.

Bitkisel kökenli, farmakolojik yönden aktif bileşenlerle çalışılması sürecinde; absorbsiyon, metabolizma, organ doku etkileşmeleri gibi çeşitli karmaşık süreçleri içeren canlı organizma çalışmaları sentetik bileşiklere nazaran daha sınırlıdır (Kampkötterve ark., 2008). Serbest yaşayan bir toprak solucanı olan ve biyolojisinin birçok yönü üzerinde yaygın olarak çalışılan model olan C. elegans; bu sınırlamaları ortadan kaldırdığından sentetiklerin yanı sıra doğal kaynaklı çeşitli bileşenlerinin yararlı, advers ve toksik etkilerinin araştırılması için de mükemmel bir modeldir (Ruanve ark., 2016). Bununla birlikte, yaşlanmanın en yaygın ölçümü; yaşam süresidir. Yaşlanmaya neden olan çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler; *Saccharomyces cerevisiae, Caenorhabditis elegans, Drosophila melanogaster, Mus musculus* ve *Homo sapiens* gibi tüm canlı organizmalar için evrenseldir. Bu organizmalardan, C. elegans'ın memeli modelleriyle, özellikle insanlarla, gösterdiği yüksek homolojik benzerlik sebebiyle, deneysel süreçlerde model olarak kullanılması; in-vivo incelemelere en uygun sistemi de sunduğu için oldukça önemlidir (Asthana ve ark., 2015; Collins ve ark., 2006; Ruan ve ark., 2016; Wen ve ark., 2014). Ayrıca C. elegans in-vivo antioksidan aktivite çalışmalarına da olanak sağladığından; oksidatif hasar ve bununla bağlantılı hastalıklar için bitkisel çözümlerin üretilmesinde de kullanımı mevcuttur. Yapılan araştırmalar; farklı tıbbi bitkilerden elde edilen aktif bileşenlerinin; yaşlanmayı önleme, yaşam süresini uzatma ve stres modülasyonu potansiyellerini ortaya koymaktadır (Asthana ve ark., 2015).

Çalışmamızda, seçilen taksonların topraküstü ekstrelerinin 500 µg/ml ve 1000 µg/ml dozlarda *C. elegans*'ın yaşam süresi üzerine etkinlikleri değerlendirilmiş, yapılan istatistiki değerlendirmelere göre kontrol grubuna kıyasla *A. aphyllus* subsp. *orientalis ve A verticillatus'*un anlamlı derecede etkili olduğu bulunmuştur. Söz konusu iki grubun etkinliği istatistiki olarak karşılaştırılmış, herhangi bir fark bulunamamıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan taksonların bileşiminde de yer alan ve yaşam süresi üzerinde etkisi kanıtlanmış kafeik asit 200 µg/ml ve 300 µg/ml dozlarda beklendiği üzere etkili bulunmuştur. Bahsedilen taksonların hazırlanmasında kullanılan %70'lik etanol de negatif kontrol grubu olarak deneye katılmış, kontrol grubu ile arasında anlamlı bir fark bulunmadığı saptanmıştır.

C. elegans modelinin, Farmakognozi açısından güncel bir araştırma konusu olduğu aşikardır. Bununla birlikte bu deney modelinde seçilen *Asparagus* taksonlarını çalışırken çok büyük aksaklıklar yaşanmıştır. Tüm sayımlar çok yüksek çözünürlüklü tarayıcılarla çekilen fotoğraflar üzerinden 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Ancak, özellikle her gün yapılan sayımlarda bireylerin petri sayım alanında ölü ya da diri yer almıyor oluşları, akıllara bitki ekstresinden kaçırıcı bir etki ile uzaklaşmış olabileceklerini, yani ekstrelerin nematosit etkili olabileceğini düşündürmektedir. Güncel bir yayında, toprak solucanı açısından zengin olan topraklarda, nematodlar açısından negatif bir yanıt oluşturabileceğinden, *Asparagus* kültürünün öneriliyor oluşu değerlendirmemizi destekler niteliktedir. (Thapa ve ark., 2020b).

Tez çalışması kapsamında *C. elegans* modelindeki deneyler bir çok kere tekrar edilmiş, sonunda yüksek birey sayılı (n=200 birey) petrilerle çalışılmıştır. Kaçan bireyler sansürlenmiş olarak sayılmamış, agarın kaygan yüzeyinin dışına çıktıklarında kuruyup ölecekleri için kaçan bireyler de ölü sayılmıştır. Olası kaçırıcı etkiye rağmen, etkili olan taksonlar (*A. aphyllus* subsp. *orientalis ve A verticillatus*) söz konusudur. Bu durum yalnızca rutin ve kafeik asit miktarları ile değil, *A. aphyllus* subsp. *orientalis*'in total fenol ve flavonoit madde miktarlarının yüksek oluşu ile açıklanabilir.

Çalışmamız kapsamında, *A. officinalis, A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonlarının hem toprak üstü hem de kök kısımlarından hazırlanan ekstrelerin DPPH ve ABTS radikallerini süpürücü aktivite yöntemleri ve total antioksidan kapasite deneyleri ile antioksidan aktiviteleri de *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Böylelikle, hem tez kapsamında yürütülen ve oksidatif hasarla doğrudan ilintili biyolojik aktivite çalışmaları sonucu elde edilen bulguları destekler nitelikte olup-olmadığı araştırılmış hem de olası etkiye dair mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Total antioksidan kapasite deneyinde en yüksek etki sırasıyla *A. officinalis* (kök) ve *A. acutifolius* (topraküstü)'da (87,02 ve 83,19 mg AAE/g kuru ekstre) bulunmuştur. DPPH ve ABTS radikallerini süpürücü aktiviteye yönelik sonuçlar incelendiğinde, en yüksek etki sırasıyla *A. acutifolius* ve *A. aphyllus* subsp. *orientalis* topraküstü kısımlarına ait ekstrelerde (DPPH için IC_{50}=86,14 ve 99,34 µg/ml; ABTS için IC_{50}=38,49 ve 44,23 µg/ml) bulunmuştur. Sonuçlar, hem hepatoprotektif aktiviteyi hem de *C. elegans*'ın yaşam süresi üzerine etkiyi destekler niteliktedir.

Sonuçlar ayrıca literatür verileri ile kıyaslandığında Amasra'dan topladığımız *A. acutifolius* örneklerinin; Denizli'den (IC_{50} değerleri; DPPH, 0,383 mg/mL ve ABTS, 0,145 mg/mL) ve İtalya'dan toplanan (DPPH radikali için IC_{50} değeri 550 µg/mL olan) türlerden daha etkili olduğu görülmektedir (Kasture ve ark., 2009; Kaska ve ark., 2018). Başka bir çalışmada, Güney İtalya'dan toplanan örneklerde, DPPH radikali için IC_{50} değerlerinin *A. acutifolius* için 72,4 µg/mL, *A. officinalis* için 89 µg/mL olduğu saptanmıştır (Ferrara ve ark., 2011). Bahsi geçen sonuçlar, elde ettiğimiz verilerin literatürle benzer olduğunu ortaya koymaktadır. Diğer taksonlar üzerinde yapılmış çalışma olmadığından değerlendirme yapılamamıştır.

Antioksidan aktiviteden sorumlu olduğu düşünülen fenolik ve flavonoit bileşiklerin toplam miktarı ile antioksidan aktivite sonuçlarının paralellik gösterdiği saptanmıştır. *Asparagus* türleri gıda olarak da tüketildikleri için giriş kısmında da detaylı olarak yer verildiği gibi, üzerinde yürütülen antioksidan aktivite çalışmalarının sayısı oldukça fazladır. Bununla birlikte çalışmamızda yürütülen *in*

vivo deney sonuçları ile uyumlu sonuçlar elde edilmesi, söz konusu taksonun etkisini radikal süpürücü yolak ile göstermiş olabileceğini akıllara getirmektedir.

Bu çalışma kapsamında yürütülen tüm biyolojik aktivite çalışmaları bir bütün olarak ele alınmış, fitokimyasal çalışmalar diğer taksonlara göre daha aktif olduğu belirlenen ve elde edilen bulgulardan sorumlu olduğu tahmin edilen, başlıca sekonder metabolitlerden biri olan, fenolik bileşikler yönünden zengin olan takson üzerinde yoğunlaştırılmıştır. Bu bağlamda *A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonu üzerinde izolasyon ve yapı tayini çalışmaları da yürütülmüştür. Bu kapsamda 1200 gram bitkiden 8 gram etil asetatlı alt ekstre elde edilmiştir. Fenolik bileşiklerce zengin olduğu bilinen bu alt ekstre öncelikle Silika jel kolon daha sonrada Sefadeks kolon kullanılarak fraksiyon ve alt fraksiyonlarına ayrılmıştır. Yürütülen izolasyon çalışması neticesinde majör bileşikler olan rutin ile kersetin-3-*O*-glikozit ve izoramnetin-3-*O*-rutinozit saflaştırılmıştır. Söz konusu bileşiklerin saflıkları; YPSK analizleri ile kontrol edilmiş, yapı tayini için MS ve NMR spektroskopilerinden yararlanılmıştır. Elde edilen bulgular mevcut literatür verileri ile de kıyaslanarak yapı tayini çalışmaları sonuçlandırılmıştır.

Tez çalışması kapsamında izole edilen bileşiklerden rutinin A. officinalis (Wang ve ark., 2003; Solana ve ark., 2015) ve *A. acutifolius* (Di Maro ve ark., 2013) taksonlarında; izoramnetin-3-*O*-rutinozitin varlığına ise *A. acutifolius*'da (Barros, 2011; Solana ve ark., 2015) rastlandığına dair literatür verileri mevcuttur. Bu durum, aynı cinse ait bitkilerin benzer fitokimyasal içeriğe sahip olduğu teorisini destekler niteliktedir.

Elde edilen sonuçlar; bu çalışma ile ilk kez rapor edilmektedir. Çalışmalar sırasında karşılaşılan en büyük engel, *C. elegans* üzerinde yürütülen çalışmalarda yaşanılan aksaklıklar olmuştur. Buna rağmen, bu modelde de diğer aktivite çalışmalarını destekler nitelikte, istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmuştur.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Asparagus türleri, Türkiye'de ve dünyanın birçok yerinde kendiliğinden yetişen ve antik çağlardan bu yana gıda olarak tüketilen, halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerdir. Güncel bilimsel çalışmalar, bitkinin halk arasında kullanılışlarını doğrular niteliktedir.

Henüz üzerinde çalışılma yürütülmemiş çok fazla sayıda *Asparagus* türü bulunmaktadır. Türkiye'de yetişen *A. officinalis, A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonlarının çalışma konusu olarak tercih edilme sebebi, bu türlerin halk arasında başta üriner sistem ve mide rahatsızlıkları olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde geleneksel olarak kullanılmalarının yanı sıra bu bitkiler üzerinde yapılan çalışmaların kısıtlı oluşudur. Deneysel çalışmalarımız kapsamında; öncelikle bitkisel materyalimizi teşkil eden *Asparagus* taksonlarının topraküstü ve altı kısımlarından hazırlanan %70 etanollü ekstrelerin YPSK ile yapılan analizleri ile bu taksonların rutin ve kafeik asit bileşiklerini içerdiği saptanmış, ekstrelerin içerdiği bu bileşiklerin yüzde miktarları belirlenmiştir.

Ekstreler üzerinde yürütülen biyoaktivite çalışmalarının sonuçları değerlendirildiğinde; çalışılan taksonlar arasında en verimli olabileceği öngörülen, *A. aphyllus* subp. *orientalis* taksonu üzerinde çalışmaların ilerletilmesine karar verilmiştir. *A. aphyllus* subp. *orientalis* bitkisinin topraküstü kısımlarından hazırlanan etanollü ekstre sıvı-sıvı ekstraksiyonuna tabi tutulmuş, elde edilen alt ekstreler ince tabaka kromatografisine uygulanmıştır. Sonuçlar; bitkinin fenolik bileşik içeriği bakımından zengin olduğu yönündedir. Ayrıca ekstrelerin total fenol ve total flavonoit miktarları ile bu grup bileşiklerin bitkinin çeşitli kısımlarındaki dağılımları da YPSK ve İTK analizi ile elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir. Bu verilere dayanarak, izolasyon için etil asetatlı alt ekstreden seçilmiş, bu ekstreden izolasyon çalışmasına gidilmiş ve çeşitli kromatografik tekniklerle saf halde elde edilen 3 bileşiğin (rutin, kersetin-3-*O*-glikozit ve izoramnetin-3-*O*-rutinozit) yapıları spektroskopik yöntemlerle tayin edilmiştir.

A. officinalis, A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus subsp. *orientalis* taksonlarının; total antioksidan kapasite, DPPH radikal süpürücü aktivite ve ABTS testi ile antioksidan aktiviteleri incelenmiş; referans bileşik olarak BHT tercih edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, *A. acutifolius ve A. aphyllus* subsp. *orientalis* topraküstü ekstrelerin oldukça yüksek antioksidan aktivite sergilediği belirlenmiştir

Hepatoprotektif aktivite çalışmaları kapsamında; *A. officinalis, A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonlarının bitkilerinin çeşitli kısımlarının sulu etanollü ekstreleri *in vivo* olarak test edilmiştir. Sonuçlar, kontrol grubu ile ayrı ayrı kıyaslanmıştır. *A. aphyllus* subp. *orientalis*'in topraküstü ve kök kısımlarının, güçlü hepatoprotektif aktivite sergilediği; özellikle kök ekstresinin etkisinin dikkati çekecek ölçüde kuvvetli olduğu belirlenmiştir.

Türkiye'de yetişen *Asparagus* taksonları üzerinde yurtiçi ve yurtdışında yapılan çalışmaların kısıtlı olduğu, gerçekleştirilen kapsamlı literatür taramasıyla belirlenmiştir. Bitkinin halk arasında geniş bir kullanım alanına sahip oluşu; yeni çalışmalara öncülük edebilmesi açısından oldukça önemlidir.

A. aphyllus subp. *orientalis*'in üzerinde yürütülen fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmalarıyla elde edilen veriler, geleneksel kullanımını doğrular niteliktedir. Ayrıca araştırmacıların *Asparagus* türleri üzerinde yürüttüğü çalışmaların artarak devam etmesini de destekler niteliktedir.

Söz konusu taksonlar üzerinde yürütülen farmakognozik çalışmalar devam etmekte olup uzun vadede hem bilim dünyasına yeni veriler kazandırmak hem de halk sağlığın koruyucu/tedavi edici ürünler piyasaya çıkararak ülkemiz için katma değeri yüksek ürünlerin ekonomiye kazandırılması hedeflenmektedir.

ÖZET

Türkiye'de Yetişen Bazı *Asparagus* L. Taksonları Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar

Asparagaceae familyasına ait *Asparagus* cinsi; Türkiye'de 3'ü endemik, 10 tür ile temsil edilmekte olup Avrupa, Kuzey Afrika ve Asya'da yaygın olarak yetişmektedir. Çok yıllık bitkilerden oluşan *Asparagus* cinsinin en bilinen üyesi, gıda olarak da yaygın olarak tüketilen ve yüzlerce yıldan bu yana kültüre alınan *Asparagus officinalis* türüdür. *Asparagus* taksonlarının; halk arasında hemoroit ve infertilite sorunları ile mide, üriner sistem, karaciğer, böbrek, kalp hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir.

Literatür verileri incelendiğinde; Türkiye'de yetişen taksonlara ilişkin fitokimyasal ve biyolojik etki çalışmalarının yeterli düzeyde olmadığı görülmektedir. Bu tez çalışması kapsamında; seçilen *A. officinalis, A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonlarının fitokimyasal içeriği kalitatif ve kantitatif analizlerle incelenmiş, ayrıca fenolik ve flavonoit madde miktarları tayin edilmiştir. Çalışma konumuzu oluşturan taksonlardan hazırlanan ekstrelerin karbontetraklorür ile indüklenen hepatotoksisite deneysel hayvan modeli üzerinde ve *Caenorhabditis elegans* yaşam süresi üzerindeki etkinliği de bu çalışmada değerlendirilmiştir. Ayrıca tüm ekstrelerin antioksidan kapasitesi in vitro testlerle belirlenmiştir. Elde edilen tüm sonuçlar değerlendirilmiş, aktivitesi diğer taksonlara kıyasla daha yüksek çıkan *A.aphyllus* subsp. *orientalis* üzerinde izolasyon çalışmaları yürütülmüştür.

Çalışma konumuz olan *A. officinalis, A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus* subsp. *orientalis* taksonlarının kimyasal içeriği yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YPSK) ile aydınlatılmış, bitkilerin değişen oranlarda rutin ve kafeik asit taşıdıkları tespit edilmiştir. Ekstrelerin total fenol ve total flavonoit sonuçlarının YPSK analiz sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür. Ekstrelerin antioksidan potansiyeli, DPPH ve ABTS serbest radikal süpürücü etkileri ile total antioksidan kapasiteleri ölçülerek değerlendirilmiştir. *A. acutifolius* ve *A. aphyllus* subsp. *orientalis*'in topraküstü kısımlarının daha yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

A. officinalis, A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus subsp. *orientalis* taksonlarının karbontetraklorür ile indüklenmiş hepatotoksisiteye karşı etkinliklerinin saptanabilmesi adına biyokimyasal parametreler olan serum AST ve ALT seviyeleri ölçülmüştür. En düşük ALT değeri, *A. officinalis* kök ekstresi verilen grupta, en düşük AST değeri ise; *A. aphyllus* subsp. *orientalis* kök ekstresi verilen grupta bulunmuştur. Sonuçlar topraküstü ekstreler bakımından değerlendirildiğinde, kontrol grubuna kıyasla etkili olduğu saptanmıştır. Yapılan histopatolojik değerlendirmeler de sonuçları destekler niteliktedir.*C. elegans* modelinde yürütülen yaşam süresi analiz deneyinde *A. aphyllus* subsp. *orientalis*'in topraküstü kısımlarının, pozitif kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede etkili olduğu bulunmuştur.

A. aphyllus subsp. *orientalis*'in topraküstü kısımlarından hazırlanan sulu etanollü ekstrenin etil asetatlı alt ekstresinden saflaştırılan bileşiklerin yapı tayini çeşitli spektroskopik yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, izole edilen bileşiklerin, rutin, kersetin-3-*O*-glikozit ve izoramnetin-3-*O*-rutinozit olduğu saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Antioksidan aktivite, *Asparagus, C. elegans*, fenolik bileşikler, hepatoprotektif aktivite.

SUMMARY

Pharmacognostic Studies on Some *Asparagus* L. Taxa Growing in Turkey

Asparagus genus belongs to the *Asparagaceae* family represented by 10 species, 3 of which are endemic in Turkey, and it is widely grown in Europe, North Africa, and Asia. The most well-known member of the genus Asparagus, which consists of perennial plants, is the *Asparagus officinalis* species, which is widely consumed as food and has been cultivated for hundreds of years. *Asparagus* taxa have been reported to be used in the treatment of hemorrhoids and infertility problems and stomach, urinary system, liver, kidney, and heart diseases among people.

Reviews of the literature indicate that phytochemical and biological studies on taxa grown in Turkey are not sufficient. Within the scope of this thesis; the phytochemical content of the selected *A. officinalis, A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus* subsp. *orientalis* taxa were examined by qualitative and quantitative analyzes, and the amounts of phenolic and flavonoid substances were determined. The efficiencies of extracts prepared from the taxa constituting our study subject on the experimental animal model of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity and the lifespan of *Caenorhabditis elegans* were evaluated. In addition, the antioxidant capacity of all extracts was determined by *in vitro* tests. All the results obtained were evaluated and isolation studies were carried out on *A. aphyllus* subsp. *orientalis*, whose activity was higher than other taxa.

The chemical content of the studied *A. officinalis, A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus* subsp. *orientalis* taxa was clarified by high-performance liquid chromatography (HPLC), and it was determined that the plants carried rutin and caffeic acids in varying proportions. The results of total phenolic and total flavonoid contents of the extracts were found compatible with the results of HPLC analysis.The antioxidant potential of the extracts was evaluated by measuring the DPPH and ABTS free radical scavenging effects and their total antioxidant capacity. It was determined that the aerial parts of *A. acutifolius* and *A. aphyllus* subsp. *orientalis* exhibited higher activity.

In order to determine the efficacy of *A. officinalis, A. acutifolius, A. verticillatus, A. aphyllus* subsp. *orientalis* taxa against carbontetrachloride-induced hepatotoxicity, serum AST and ALT levels, which are biochemical parameters, were measured. The lowest ALT value was observed in *A. officinalis* root extract group and the lowest AST was in *A. aphyllus* subsp. *orientalis* root extract group. When the results were evaluated in terms of aerial parts, it was found to be effective compared to the control group. Histopathological evaluations also support the results.In the lifespan analysis experiment conducted in the *C. elegans* model, *A. aphyllus* subsp. *orientalis* were found to be significantly effective compared to the positive control group.

The determination of the structure of the compounds purified from the ethyl acetate sub-extract of the aqueous ethanolic extract prepared from the aerial parts of *A. aphyllus* subsp. *orientalis* was carried out by various spectroscopic methods. Upon evaluation of all the results, the isolated compounds were found to be rutin, quercetin-3-*O*-glycoside, and isoramnetin-3-*O*-rutinoside.

Keywords: Antioxidant activity, *Asparagus*, *C. elegans*, hepatoprotective activity, phenolic compounds.

KAYNAKLAR

ABEROUMAND A (2014). Evaluation of Biochemical Contents, Trace Elements, Nutritive Value and HPTLC Profiling in Two Edible Food Plants Based Diets. *Nutrition and Food Sciences Research,* **1(1):** 57-61.

AÇIKGÖZ ALTUNEL TB (2021). Morphological and Habitat Characteristics of Asparagus (Asparagus officinalis L.) and Socio-Economic Structure of Producers. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology,* **9(6):** 1092-1099.

ADOUNI K, BENDIF H, ZOUAOUI O, KRAUJALIS P, FLAMINI G, VENSKUTONIS PR, ACHOUR L (2022). Antioxidant activity of extracts obtained by high-pressure extraction procedures from Asparagus stipularis Forssk. *South African Journal of Botany,* **146(2022):** 789-793.

AGAYEVA EZ, IBADULLAYEVA SJ, ASGEROV AA, ISAYEVA GA (2013). Analysis of plants in veterinary research of Azerbaycan on ethnobotanical materials. *American Journal of Research Communication,* **1(4):** 51-59.

AINSWORTH EA, GILLESPIE KM (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature protocols,* **2(4):** 875-877.

AL MAMUN A, HOSSAIN M, ISLAM A, ZAMAN S, UDDIN MS (2017a). Asparagus racemosus Linn. Potentiates the Hypolipidemic and Hepatoprotective Activity of Fenofibrate in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Plant, 5(5-1),* **8(2):** 1-12.

AL MAMUN A, HOSSAIN M, UDDIN MS, ISLAM MT, HOSSAIN S, HOSSAIN MS, HOSSAIN MF, SUJAN AR, RASHID M, RAHMAN MM (2017b). Comparison of the Hypoglycemic, Hypolipidemic and Hepatoprotective Effects of Asparagus racemosus Linn. in Combination with Gliclazide and Pioglitazone on Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Pharmacology & Pharmacy,* **8(2):** 52-74.

AL-SNAFI AE (2015). The pharmacological importance of Asparagus officinalis. *Journal of Pharmaceutical Biology,* **5(2):** 93-98.

AL-SUBAIHAWI RASOOL AA, ABBAS RJ (2021). Evaluation of the Efficacy of Asparagus (Asparagus officinalis L.) Root Powder and Aqueous Extract on the Physiological and Immunological Performance of Broilers. *Indian Journal of Ecology,* **48(5):** 1551-1556.

ALAM MN, BRISTI NJ, RAFIQUZZAMAN M (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm J,* **21(2):** 143-152.

ALTUNDAG ERGUL M, GENÇALP D, ÖZBILENLER C, TOPRAK K, KERKÜKLÜ N (2020). In vitro antioxidant, anti-inflammatory and anti-cancer activities of methanolic extract of Asparagus horridus grows in North Cyprus Kuzey Kıbrıs da yetişen Asparagus horridus metanolik ekstraktının in-vitro antioksidan, anti-enflamatuar ve anti-kanser aktivitesi. *Turkish Journal of Biochemistry,* **45(4):** 365-372.

AMRIT FR, RATNAPPAN R, KEITH SA, GHAZI A (2014). The C. elegans lifespan assay toolkit. *Methods*, **68(3):** 465-475.

ANDRZEJAK R, JANOWSKA B (2021). The occurrence of Fusarium species in white spears of Asparagus officinalis. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, **49(4):** 1-16.

ARFIN S, JHA NK, JHA SK, KESARI KK, RUOKOLAINEN J, ROYCHOUDHURY S, RATHI B, KUMAR D (2021). Oxidative Stress in Cancer Cell Metabolism. *Antioxidants (Basel)*, **10(5):** 1-28.

ARYANINGSIH NN, IRIANTOB, I., K. (2021). The Assesment of Capital Flow and Technology Transfer in Asparagus Production. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, **11(1):** 291-297.

ASTHANA J, PANT A, YADAV D, LAL RK, GUPTA MM, PANDEY R (2015). Ocimum basilicum (L.) and Premna integrifolia (L.) modulate stress response and lifespan in Caenorhabditis elegans. *Industrial Crops and Products*, **76(2015):** 1086-1093.

ATAY I, KIRMIZIBEKMEZ H, GÖREN AC, YEŞILADA E (2015). Secondary metabolites from Sambucus ebulus. *Turkish Journal of Chemistry*, **39(1):** 34-41.

BARROS L, DUEÑAS, M., FERREIRA, I. C. F. R., BAPTISTA, P., & SANTOS-BUELGA, C. (2011). Phenolic compounds profile in wild edible greens from Portugal obtained by HPLC-DAD-ESI/MS. *Food Chemistry*, **127(1):** 169-173.

BASAK M, AKAN D (2016). Karaciğerin ve Safra Yollarının Radyolojik Anatomisi. *Türk Radyoloji Seminerleri*, **3(3):** 336-348.

BAŞTEMUR C. (2010). *Likya Yolu ve Çevresinin Bölgesel/Yerel Kalkınmada Yeri.* Paper presented at the VI. Ulusal Coğrafya Sempozyumu Ankara Üniversitesi, Türkiye Coğrafyası Araştırma ve Uygulama Merkezi (TÜCAUM).

BATSATSASHVILI K, KIKVIDZE Z, BUSSMANN RW. (2020). Ethnobotany of the Mountain Regions of Central Asia and Altai. (Ed.): Springer.

BHALODIYA MD, CHAVDA JR, PATEL NK, PATEL AI, MANEK RA (2021). Evaluation of Solvent Extraction Process for Asparagus racemosus Root Extract through the Determination of its Phenolic Content and Antioxidant Activity Assay. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, **14(10):** 5108-5114.

BILUŠIĆ T, ŠOLA I, RUSAK G, POLJUHA D, ČIKEŠ ČULIĆ V (2019). Antiproliferative and pro- apoptotic activities of wild asparagus (Asparagus acutifolius L.), black bryony (Tamus communis L.) and butcher's broom (Ruscus aculeatus L.) aqueous extracts against T24 and A549 cancer cell lines. *Journal of Food Biochemistry*, **43(4):** e12781.

BLOIS MS (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*, **181(4617):** 1199-1200.

BOUBAKER J, BHOURI W, BEN SGHAIER M, GHEDIRA K, DIJOUX FRANCA M, CHEKIR- GHEDIRA L (2011). Ethyl acetate extract and its major constituent, isorhamnetin

3- O- rutinoside, from Nitraria retusa leaves, promote apoptosis of human myelogenous erythroleukaemia cells. *Cell Proliferation,* **44(5):** 453-461.

BOZYEL ME, MERDAMERT-BOZYEL E, BENEK A, TURU D, YAKAN MA, CANLI K (2021). Ethnobotanical Uses of Liliaceae s.s. and Colchicaceae Taxa in Turkey. *International Journal of Innovative Approaches in Science Research,* **5(3):** 163-174.

BREMNER P, RIVERA D, CALZADO MA, OBON C, INOCENCIO C, BECKWITH C, FIEBICH BL, MUNOZ E, HEINRICH M (2009). Assessing medicinal plants from South-Eastern Spain for potential anti-inflammatory effects targeting nuclear factor-Kappa B and other pro-inflammatory mediators. *J Ethnopharmacol,* **124(2):** 295-305.

BROWN MK, EVANS JL, LUO Y (2006). Beneficial effects of natural antioxidants EGCG and alpha-lipoic acid on life span and age-dependent behavioral declines in Caenorhabditis elegans. *Pharmacol Biochem Behav,* **85(3):** 620-628.

BRUECKNER B, SCHWARZBACH A, SCHRODTER R (2010). Correlation between sugar and saponin contents and sensory attributes of white asparagus. *Journal Fur Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit-Journal of Consumer Protection and Food Safety,* **5(3-4):** 305-311.

BULUT G, TUZLACI E (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Turgutlu (Manisa-Turkey). *J Ethnopharmacol,* **149(3):** 633-647.

BYNG JW. (2014). The flowering plants handbook: a practical guide to families and genera of the world. (Ed.): Plant Gateway Ltd.

CAMPBELL I (2006). Liver: metabolic functions. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine,* **7(2):** 51-U78.

CHEN XH, MA LH, DONG YW, SONG H, PU Y, ZHOU QY (2017). Evaluation of the differences in phenolic compounds and antioxidant activities of five green asparagus (Asparagus officinalis L.) cultivars. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods,* **9(4):** 479-487.

CHENG L, PAN GF, SUN XB, HUANG YX, PENG YS, ZHOU LY (2013). Evaluation of anxiolytic-like effect of aqueous extract of asparagus stem in mice. *Evid Based Complement Alternat Med,* **2013:** 1-10.

CHITRAKAR B, ZHANG M, ADHIKARI B (2019). Asparagus (Asparagus officinalis): Processing effect on nutritional and phytochemical composition of spear and hard-stem byproducts. *Trends in Food Science & Technology,* **93(2019):** 1-11.

CHITRAKAR B, ZHANG M, ZHANG XH (2021). The determination of drying end-point for asparagus by-products with the use of LF-NMR spectra. *Drying Technology,* **39(9):** 1158-1164.

CHRUBASIK C, MAIER T, DAWID C, TORDA T, SCHIEBER A, HOFMANN T, CHRUBASIK S (2008). An observational study and quantification of the actives in a supplement with Sambucus nigra and Asparagus officinalis used for weight reduction. *Phytotherapy Research,* **22(7):** 913-918.

CHRUBASIK S, BLACK A (2009). Asparagus PR cannot compete with first- line diuretics in lowering the blood pressure in treatment- requiring antihypertensives. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, **23(9):** 1345-1346.

CHRUBASIK S, DROSTE C, DRAGANO N, GLIMM E, BLACK A (2006). Effectiveness and tolerability of the herbal mixture Asparagus P on blood pressure in treatment-requiring antihypertensives. *Phytomedicine*, **13(9-10):** 740-742.

COLLINS JJ, EVASON K, KORNFELD K (2006). Pharmacology of delayed aging and extended lifespan of Caenorhabditis elegans. *Exp Gerontol*, **41(10):** 1032-1039.

CONVERSA G, ELIA A (2009). Effect of seed age, stratification, and soaking on germination of wild asparagus (Asparagus acutifolius L.). *Scientia Horticulturae*, **119(3):** 241-245.

ÇEVIK M. (2020). Anavatanı Anadolu olan sağlık deposu: kuşkonmaz. *Türk Tarım ve Orman Dergisi, Mayıs-Haziran*.

ÇINAR O, DUMAN O, TUNÇ S (2021). Optimization and Validation of a New HPLC Method for the Determination of Asparagine Active Ingredient in Asparagus lycicus and Phytochemical Characterization of Endemic Asparagus lycicus Specie. *Food Analytical Methods*, **14(10):** 2003-2016.

DAL FORNO AH, CÂMARA D, PARISE B, RODRIGUES CF, SOARES JJ, WAGNER R, RIBEIRO SR, FOLMER V, PUNTEL R, HAAS SE, FARIAS FM, DENARDIN ELG, DENARDIN CC, AVILA DS (2019). Antioxidant and lipid lowering effects of dried fruits oil extract of Pterodon emarginatusin Caenorhabditis elegans. *Arabian Journal of Chemistry*, **12(8):** 4131-4141.

DANIHELKA J, CHYTRÝ K, PROKEŠOVÁ H, SEDLÁČEK V (2017). Chřest přeslenitý (Asparagus verticillatus) lokálně zdomácnělý na jižní Moravě. *Zprávy České botanické společnosti* **52(2017):** 155-162.

DAVIS P. (2019). Flora of Turkey, Volume 8. (Ed.): Edinburgh University Press.

DAWID C, HOFMANN T (2012). Structural and Sensory Characterization of Bitter Tasting Steroidal Saponins from Asparagus Spears (Asparagus officinalis L.). *J Agric Food Chem*, **60(48):** 11889-11900.

DAWID C, HOFMANN T (2014). Quantitation and bitter taste contribution of saponins in fresh and cooked white asparagus (Asparagus officinalis L.). *Food Chem*, **145(2014):** 427-436.

DEMIR İ (2020). Hizan İlçesinde Kullanılan Tıbbi Bitkilerin Etnobotanik İncelemesi (Bitlis-Türkiye). *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi* **30(4):** 732-741.

DEMIRCI S, ÖZHATAY N (2012). An ethnobotanical study in Kahramanmaraş (Turkey); wild plants used for medicinal purpose in Andirin, Kahramanmaraş. *Turk J Pharm Sci*, **9(1):** 75-92.

DEMİRELMA H, BAĞCI Y, DURAL H, ERTUĞRUL, K. (2018). Sütsüz Dağı (Antalya) ve Çevresinin Endemik Bitkileri ve Tehlike Kategorileri. *Erzincan University Journal of Science and Technology*, **11(3):** 518-523.

DI MARO A, PACIFICO S, FIORENTINO A, GALASSO S, GALLICCHIO M, GUIDA V, SEVERINO V, MONACO P, PARENTE A (2013). Raviscanina wild asparagus (Asparagus acutifolius L.): A nutritionally valuable crop with antioxidant and antiproliferative properties. *Food Research International,* **53(1):** 180-188.

DI MEO S, VENDITTI P (2020). Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxid Med Cell Longev,* **2020:** 1-32.

DING X, ZHUANG Z, ZHANG Y, ZHANG W, LV T, LI M, XUE T, LIU H. (2015). Anti-aging effect of polysaccharide from Bletilla striata on nematode Caenorhabditis elegans **11(43)**: 449-454.

DONG T, HAN R, YU J, ZHU M, ZHANG Y, GONG Y, LI Z (2019). Anthocyanins accumulation and molecular analysis of correlated genes by metabolome and transcriptome in green and purple asparaguses (Asparagus officinalis, L.). *Food Chem,* **271(2019):** 18-28.

DRINKWATER JM, TSAO R, LIU RH, DEFELICE C, WOLYN DJ (2015). Effects of cooking on rutin and glutathione concentrations and antioxidant activity of green asparagus (Asparagus officinalis) spears. *Journal of Functional Foods,* **12(2015):** 342-353.

DROST DT. (2020). Asparagus. In: *The physiology of vegetable crops* Ed.: Stützel, H., Wien, H. C.: CABI. 2, 457-480.

DUANGJAN C, RANGSINTH P, GU X, ZHANG S, WINK M, TENCOMNAO T (2019). Data on the effects of Glochidion zeylanicum leaf extracts in Caenorhabditis elegans. *Data Brief,* **26(2019):** 1-10.

EISENMAN SW, ZAUROV DE, STRUWE L. (2012). Medicinal plants of central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan. (Ed.): Springer Science & Business Media.

EKIM T, KOYUNCU M, VURAL M, DUMAN H, AYTAC Z, ADIGUZEL N (2000). Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (Red Data Book of Turkish Plants), Pteridophyta and Spermatophyta. Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yayınları, Ankara. *World Journal of Agricultural Sciences,* **1(2):** 120-128.

EL-ISHAQ A, ALSHAWSH MA, MUN KS, CHIK Z (2019). Phytochemical screening and anti-implantation activity of Asparagus africanus root extract in female Sprague-Dawley rats. *Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy,* **29(5):** 621-630.

EL-SENOSIY YA, AHMAD SA, FARID AS (2015). Hepatoprotective effect of asparagus racemosus in paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *Benha Veterinary Medical Journal,* **28(1):** 133-137.

ELSAID FG, SHATI AA, SARHAN MA (2015). Role of Matricaria recutita L. and Asparagus officinalis L. against the neurotoxicity of diazinon in rats. *The Journal of Basic & Applied Zoology,* **72(2015):** 26-35.

ERARSLAN ZB, COLAK R, KULTUR S (2021). The preliminary ethnobotanical survey of medicinal plants in Develi (Kayseri/Turkey). *İstanbul Journal of Pharmacy,* **51(2):** 263-270.

ERGEN N, HOSBAS S, DELIORMAN ORHAN D, ASLAN M, SEZIK E, ATALAY A (2018). Evaluation of the lifespan extension effects of several Turkish medicinal plants in Caenorhabditis elegans. *Turk J Biol,* **42(2):** 163-173.

FAO. (2021). Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT Database.

FATHALIPOUR M, DELNAVAZI M-R, SAFA O, ZARIFINIA N, RAFIEE B (2020). Antioxidant and antinociceptive effects of hydroalcoholic root extract of Asparagus officinalis L. *Physiology and Pharmacology,* **24(4):** 322-330.

FAYVUSH G, ALEKSANYAN A, MEHDIYEVA N, ALIZADE V, BATSATSASHVILI K, KIKVIDZE Z, KHUTSISHVILI M, MAISAIA I, SIKHARULIDZE S, TCHELIDZE D. (2017). Asparagus officinalis L., Asparagus verticillatus L. (Ed.): Springer International Publishing Cham.

FENG S, CHENG H, XU Z, SHEN S, YUAN M, LIU J, DING C (2015). Thermal stress resistance and aging effects of Panax notoginseng polysaccharides on Caenorhabditis elegans. *International Journal of Biological Macromolecules,* **81(2015):** 188-194.

FERRARA L, DOSI R, DI MARO A, GUIDA V, CEFARELLI G, PACIFICO S, MASTELLONE C, FIORENTINO A, ROSATI A, PARENTE A (2011). Nutritional values, metabolic profile and radical scavenging capacities of wild asparagus (A-acutifolius L.). *Journal of Food Composition and Analysis,* **24(3):** 326-333.

FILIPPOPOULOU K, PAPAEVGENIOU N, LEFAKI M, PARASKEVOPOULOU A, BIEDERMANN D, KREN V, CHONDROGIANNI N (2017). 2,3-Dehydrosilybin A/B as a pro-longevity and anti-aggregation compound. *Free Radic Biol Med,* **103(2016):** 256-267.

FORMAN HJ, ZHANG H (2021). Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat Rev Drug Discov,* **20(9):** 689-709.

FU M (2021). Drug discovery from traditional Chinese herbal medicine using high content imaging technology. *Journal of Traditional Chinese Medical Sciences,* **8(3):** 198-204.

FUENTES-ALVENTOSA JM, JARAMILLO-CARMONA S, RODRIGUEZ-GUTIERREZ G, RODRIGUEZ-ARCOS R, FERNANDEZ-BOLANOS J, GUILLEN-BEJARANO R, ESPEJO-CALVO JA, JIMENEZ-ARAUJO A (2009). Effect of the extraction method on phytochemical composition and antioxidant activity of high dietary fibre powders obtained from asparagus by-products. *Food Chemistry,* **116(2):** 484-490.

GARCIA MD, DE LA PUERTA R, SAENZ MT, MARQUEZ-MARTIN A, FERNANDEZ-ARCHE MA (2012). Hypocholesterolemic and hepatoprotective effects of "triguero" asparagus from andalusia in rats fed a high cholesterol diet. *Evid Based Complement Alternat Med,* **2012:** 1-32.

GARCIA-HERRERA P, MORALES P, CAMARA M, FERNANDEZ-RUIZ V, TARDIO J, SANCHEZ-MATA MC (2020). Nutritional and Phytochemical Composition of Mediterranean Wild Vegetables after Culinary Treatment. *Foods,* **9(12):** 1-17.

GARCIA-HERRERA P, SANCHEZ-MATA MC, CAMARA M, TARDIO J, OLMEDILLA-ALONSO B (2013). Carotenoid content of wild edible young shoots traditionally consumed in

Spain (Asparagus acutifolius L., Humulus lupulus L., Bryonia dioica Jacq. and Tamus communis L.). *J Sci Food Agric,* **93(7):** 1692-1698.

GETOFF N (2007). Anti-aging and aging factors in life. The role of free radicals. *Radiation Physics and Chemistry,* **76(10):** 1577-1586.

GRIENDLING KK, CAMARGO LL, RIOS FJ, ALVES-LOPES R, MONTEZANO AC, TOUYZ RM (2021). Oxidative Stress and Hypertension. *Circ Res,* **128(7):** 993-1020.

GROUP TAP (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society,* **181 (1):** 1-20.

GÜVENÇ A. (1996). *Türkiye'de Yetişen Asparagus (Kuşkonmaz) Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Yönünden Araştırmalar.* Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Botanik Anabilim Dalı.

GÜVENÇ A (1998). Türkiye'de yetişen asparagus türlerinin gövde anatomisi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi,* **27(1):** 73-91.

HAFIZUR RM, KABIR N, CHISHTI S (2012). Asparagus officinalis extract controls blood glucose by improving insulin secretion and beta-cell function in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Br J Nutr,* **108(9):** 1586-1595.

HAMDI A, JARAMILLO-CARMONA S, RODRIGUEZ-ARCOS R, JIMENEZ-ARAUJO A, LACHAAL M, KARRAY-BOURAOUI N, GUILLEN-BEJARANO R (2021). Phytochemical Characterization and Bioactivity of Asparagus acutifolius: A Focus on Antioxidant, Cytotoxic, Lipase Inhibitory and Antimicrobial Activities. *Molecules,* **26(11)** 1-19.

HAMDI A, JARAMILLO-CARMONA S, RODRÍGUEZ-ARCOS R, JIMÉNEZ-ARAUJO A, LACHAAL M, KARRAY-BOURAOUI N, GUILLÉN-BEJARANO R (2021). Phytochemical Characterization and Bioactivity of Asparagus acutifolius: A Focus on Antioxidant, Cytotoxic, Lipase Inhibitory and Antimicrobial Activities. *Molecules,* **26(11):** 3328.

HASSAN RA, TAWFEEK, W. A., HABEEB, A. A., MOHAMED, M. S., & ABDELSHAFEEK, K. A. (2014). Investigation of some chemical constituents and antioxidant activity of Asparagus sperngeri. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,* **6(11):** 46-51.

HAYES PY, JAHIDIN AH, LEHMANN R, PENMAN K, KITCHING W, DE VOSS JJ (2008). Steroidal saponins from the roots of Asparagus racemosus. *Phytochemistry,* **69(3):** 796-804.

HERNDON LA, WOLKOW CA, DRISCOLL M, HALL DH. (2017). Effects of Ageing on the Basic Biology and Anatomy of C. elegans. (Ed.).

HEWAWASAM RP, JAYATILAKA KA, PATHIRANA C (2008). Effect of Asparagus falcatus on acetaminophen toxicity in mice: a comparison of antioxidative effect with N-acetyl cysteine. *J Diet Suppl,* **5(1):** 1-19.

HOSSEINI P, AFZALI S, KARIMI M, ZANDI M, ZEBARDAST A, LATIFI T, TABIBZADEH A, RAMEZANI A, ZAKERI A, ZAKERI A, ABEDI B, SOLTANI S, FARAHANI A (2022). The coronavirus disease 2019 and effect on liver function: a hidden and vital interaction beyond the respiratory system. *Reviews in Medical Microbiology,* **33(1):** E161-E179.

HUANG Y, ZHOU Q, AN J, CAI W, LYU W (2017). Effect of Instant Asparagus Powder on Sleeping Disorder. *Agricultural Science & Technology,* **18(6):** 975-978.

ILYAS U, KATARE DP, AERI V, NASEEF PP (2016). A Review on Hepatoprotective and Immunomodulatory Herbal Plants. *Pharmacogn Rev,* **10(19):** 66-70.

JANG DS, CUENDET M, FONG HH, PEZZUTO JM, KINGHORN AD (2004). Constituents of Asparagus officinalis evaluated for inhibitory activity against cyclooxygenase-2. *J Agric Food Chem,* **52(8):** 2218-2222.

JARAMILLO-CARMONA S, GUILLEN-BEJARANO R, JIMENEZ-ARAUJO A, RODRIGUEZ-ARCOS R, LOPEZ S (2018). In Vitro Toxicity of Asparagus Saponins in Distinct Multidrug-Resistant Colon Cancer Cells. *Chem Biodivers,* **15(11):** 1-9.

JARAMILLO-CARMONA S, RODRIGUEZ-ARCOS R, JIMENEZ-ARAUJO A, LOPEZ S, GIL J, MORENO R, GUILLEN-BEJARANO R (2017). Saponin Profile of Wild Asparagus Species. *J Food Sci,* **82(3):** 638-646.

JAYASHREE GV, KUMAR KH, KRUPASHREE K, RACHITHA P, KHANUM F (2015). LC-ESI-MS/MS analysis of Asparagus racemosus Willd. roots and its protective effects against t-BHP induced oxidative stress in rats. *Industrial Crops and Products,* **78(2015):** 102-109.

JIMÉNEZ-SÁNCHEZ C, LOZANO-SÁNCHEZ J, RODRÍGUEZ-PÉREZ C, SEGURA-CARRETERO A, FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ A (2016). Comprehensive, untargeted, and qualitative RP-HPLC-ESI-QTOF/MS2 metabolite profiling of green asparagus (Asparagus officinalis). *Journal of Food Composition and Analysis,* **46(2016):** 78-87.

JIN SY, LI DQ, LU S, HAN LT, LIU DH, HUANG Z, HUANG BS, CAO Y (2019). Ethanol extracts of Panax notoginseng increase lifespan and protect against oxidative stress in Caenorhabditis elegans via the insulin/IGF-1 signaling pathway. *Journal of Functional Foods,* **58(2019):** 218-226.

JING-JING Z, HONG-JUN Z, DI Z, JIE-QIONG W, WEI-JING Q (2012). Hypoglycemic Activity of Clarified Asparaagus Juice in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Natural Product Research & Development,* **24(4):** 460-472.

JOSEPH JA, SHUKITT-HALE B, CASADESUS G (2005). Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds. Proceedings of the 1st International Conference on Polyphenols and Health held in Vichy, France, November 18-21, 20. *American Journal of Clinical Nutrition,* **81(1S):** 313S-NaN.

KAHLON TS, CHAPMAN MH, SMITH GE (2007). In vitro binding of bile acids by okra, beets, asparagus, eggplant, turnips, green beans, carrots, and cauliflower. *Food Chemistry,* **103(2):** 676-680.

KAHLON TS, CHIU MCM, CHAPMAN MH (2007). Steam cooking significantly improves in vitro bile acid binding of beets, eggplant, asparagus, carrots, green beans, and cauliflower. *Nutrition research,* **27(12):** 750-755.

KALRA A, YETISKUL E, WEHRLE CJ, TUMA F. (2021). Physiology, Liver. (Ed.): StatPearls Publishing.

KAMPKOTTER A, TIMPEL C, ZURAWSKI RF, RUHL S, CHOVOLOU Y, PROKSCH P, WATJEN W (2008). Increase of stress resistance and lifespan of Caenorhabditis elegans by quercetin. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol,* **149(2):** 314-323.

KAPOOR M, MAWAL P, SHARMA V, GUPTA RC (2020). Analysis of genetic diversity and population structure in Asparagus species using SSR markers. *J Genet Eng Biotechnol,* **18(1):** 50.

KARACA O, YILDIRIM O, ÇAKICI C (2015). An Evaluation on Their Relation to Health and Wild Plant Meals, Wild Edible Plants in Gastronomy Tourism. *Journal of Tourism and Gastronomy Studies,* **3(3):** 27-42.

KASKA A, DENIZ N, MAMMADOV R (2018). Biological activities of wild asparagus (Asparagus acutifolius L.). *International Journal of Secondary Metabolite,* **5(3):** 243-251.

KASTURE S, KASTURE A, BALLERO M, MAXIA A (2009). Antioxidant, anti-inflammatory, and adaptogenic activity of Asparagus acutifolius extract. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine,* **9(1):** 83-89.

KENYON C, CHANG J, GENSCH E, RUDNER A, TABTIANG R (1993). A C. elegans mutant that lives twice as long as wild type. *Nature,* **366(6454):** 461-464.

KENYON CJ (2010). The genetics of ageing. *Nature,* **464(7288):** 504-512.

KENZA B, NABILA A, RACHID A (2022). Morpho-anatomical diversity of five species of genus Asparagus (Asparagaceae) from Algeria. *Acta botanica Croatica,* **81(2):** 1-18.

KHOJIMATOV OK, KHAMRAEVA DT, KHUJANOV AN, BUSSMANN RW (2020). An overview of Ethnomedicinal plants of Uzbekistan. *Ethnobotany Research & Applications,* **20(08):** 1-19.

KHORASANI A, SANI W, PHILIP K, TAHA RM, RAFAT A (2010). Antioxidant and antibacterial activities of ethanolic extracts of Asparagus officinalis cv. Mary Washington: Comparison of in vivo and in vitro grown plant bioactivities. *African Journal of Biotechnology,* **9(49):** 8460-8466.

KIM BY, CUI ZG, LEE SR, KIM SJ, KANG HK, LEE YK, PARK DB (2009). Effects of Asparagus officinalis extracts on liver cell toxicity and ethanol metabolism. *J Food Sci,* **74(7):** H204-208.

KITAZ ADAWIA A-KR, SABBAGH GHALIA (2016). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Selected Wild Plants in Liliaceae Family Growing Syria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research,* **8(12):** 2025-2032.

KMAIL A, LYOUSSI B, IMTARA H, ZAID H, SAAD B (2017). In vitro evaluation of anti-inflammatory and antioxidant effects of Asparagus aphyllus L., Crataegus azarolus L., and Ephedra alata Decne. in monocultures and co-cultures of HepG2 and THP-1-derived macrophages. *Pharmacognosy Communications,* **7(1):** 24-33.

KMAIL A, LYOUSSI B, ZAID H, SAAD B (2015). In vitro assessments of cytotoxic and cytostatic effects of Asparagus aphyllus, Crataegus aronia, and Ephedra alata in monocultures and co-cultures of Hepg2 and THP-1-derived macrophages. *Pharmacogn. Commun,* **5(3):** 165-172.

KOBUS-CISOWSKA J, SZYMANOWSKA D, SZCZEPANIAK OM, GRAMZA-MICHALOWSKA A, KMIECIK D, KULCZYNSKI B, SZULC P, GORNAS P (2019). Composition of polyphenols of asparagus spears (Asparagus officinalis) and their antioxidant potential. *Ciência Rural*, **49(4)**.

KOBUS-CISOWSKA J, SZYMANOWSKA, D., SZCZEPANIAK, O. M., GRAMZA-MICHAŁOWSKA, A., KMIECIK, D., KULCZYŃSKI, B., SZULC P., GÓRNAŚ, P. (2019). Composition of polyphenols of asparagus spears (Asparagus officinalis) and their antioxidant potential. Ciência Rural, 49. *Ciência Rural,* **49(4):** 1-8.

KÖROĞLU A. (2017). Asparagus officinalis (Kuşkonmaz). In: *FFD Monografları-Bitkiler ve Etkileri* Ed.: Demirezer, L., Ersöz, T., Saraçoğlu, İ., Şener, B., Köroğlu, A., Yalçın, F., Ankara: Nobel Yayınları.

KU YG, BAE JH, NAMIEŚNIK J, BARASCH D, NEMIROVSKI A, KATRICH E, GORINSTEIN S (2017). Detection of Bioactive Compounds in Organically and Conventionally Grown Asparagus Spears. *Food Analytical Methods,* **11(1):** 309-318.

KU YG, KANG DH, LEE CK, LEE SY, RYU CS, KIM DE, POLOVKA M, NAMIESNIK J, GORINSTEIN S (2018). Influence of different cultivation systems on bioactivity of asparagus. *Food Chem,* **244(2018):** 349-358.

KUBOTA S, KONNO I, KANNO A (2012). Molecular phylogeny of the genus Asparagus (Asparagaceae) explains interspecific crossability between the garden asparagus (A. officinalis) and other Asparagus species. *Theor Appl Genet,* **124(2):** 345-354.

KUMAR R, GUPTA K, SAHARIA K, PRADHAN D, SUBRAMANIAM JR (2013). Withania somnifera root extract extends lifespan of Caenorhabditis elegans. *Ann Neurosci,* **20(1):** 13-16.

LACAILLE-DUBOIS MA, M. S, T. M (2006). New steroidal saponins from Asparagus acutifolius. *Planta Medica,* **72(11):** 125.

LEE JW, LEE JH, YU IH, GORINSTEIN S, BAE JH, KU YG (2014). Bioactive compounds, antioxidant and binding activities and spear yield of Asparagus officinalis L. *Plant foods for human nutrition,* **69(2):** 175-181.

LEE MJ, JEONG NH, JANG BS (2015). Antioxidative activity and antiaging effect of carrot glycoprotein. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry,* **25(2015):** 216-221.

LEE SH, AN HS, JUNG YW, LEE EJ, LEE HY, CHOI ES, AN SW, SON H, LEE SJ, KIM JB, MIN KJ (2014). Korean mistletoe (Viscum album coloratum) extract extends the lifespan of nematodes and fruit flies. *Biogerontology,* **15(2):** 153-164.

LI XM, CAI JL, WANG L, WANG WX, AI HL, MAO ZC (2017). Two new phenolic compounds and antitumor activities of asparinin A from Asparagus officinalis. *J Asian Nat Prod Res,* **19(2):** 164-171.

LI XM, CAI JL, WANG WX, AI HL, MAO ZC (2016). Two new acetylenic compounds from Asparagus officinalis. *J Asian Nat Prod Res*, **18(4):** 344-348.

LI YJ, YANG S, ZHOU YJ, SHANG FH, XU XY (2014). Hepatoprotective Effects of Yintian Granule on Experimental Liver Injury in Mice. *Chinese Herbal Medicines*, **6(3):** 247-252.

LIAO VH, YU CW, CHU YJ, LI WH, HSIEH YC, WANG TT (2011). Curcumin-mediated lifespan extension in Caenorhabditis elegans. *Mech Ageing Dev*, **132(10):** 480-487.

LIN C, ZHANG X, SU Z, XIAO J, LV M, CAO Y, CHEN Y (2019). Carnosol Improved Lifespan and Healthspan by Promoting Antioxidant Capacity in Caenorhabditis elegans. *Oxid Med Cell Longev*, **2019:** 1-13.

LIONAKI E, TAVERNARAKIS N (2013). Assessing aging and senescent decline in Caenorhabditis elegans: cohort survival analysis. *Methods Mol Biol*, **965:** 473-484.

LISTESI TB. (2022). Erişim: [https://www.bizimbitkiler.org.tr/v2/hiyerarsi.php?c=Asparagus]. Erişim Tarihi: [16/05/2022]

LOPEZ-ALARCON C, DENICOLA A (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays. *Anal Chim Acta*, **763:** 1-10.

LUI F (2012). Laboratory tests in hepatic failure. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, **13(2):** 46-47.

MAJUMDAR S, GUPTA S, PRAJAPATI SK, KRISHNAMURTHY S (2021). Neuro-nutraceutical potential of Asparagus racemosus: A review. *Neurochem Int*, **145(2021):** 1-13.

MANTOVANI D, ROSATI A, PERRONE D (2019). Photosynthetic Characterization and Response to Drought and Temperature in Wild Asparagus (Asparagus acutifolius L.). *HortScience*, **54(6):** 1039-1043.

MART S. (2006). *Bahçe ve Hasanbeyli (Osmaniye) halkının kullandığı doğal bitkilerin etnobotanik yönden araştırılması.* Fen Bilimleri Enstitüsü.

MARTINEZ BA, CALDWELL KA, CALDWELL GA (2017). C. elegans as a model system to accelerate discovery for Parkinson disease. *Curr Opin Genet Dev*, **44:** 102-109.

MARTINS D, BARROS L, CARVALHO AM, FERREIRA ICFR (2011). Nutritional and in vitro antioxidant properties of edible wild greens in Iberian Peninsula traditional diet. *Food Chemistry*, **125(2):** 488-494.

MARTORELL P, FORMENT JV, DE LLANOS R, MONTON F, LLOPIS S, GONZALEZ N, GENOVES S, CIENFUEGOS E, MONZO H, RAMON D (2011). Use of Saccharomyces cerevisiae and Caenorhabditis elegans as model organisms to study the effect of cocoa polyphenols in the resistance to oxidative stress. *J Agric Food Chem*, **59(5):** 2077-2085.

MENEELY PM, DAHLBERG CL, ROSE JK (2019). Working with worms: Caenorhabditis elegans as a model organism. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, **19(1):** e35.

MIT OCN. (2015). C. elegans synchronization via bleaching. Erişim: [https://ocw.mit.edu/courses/biology/7-15-experimental-molecular-genetics-spring-2015/labs/MIT7_15S15_Synchronization.pdf]. Erişim Tarihi: [16/06/2022]

MITRA V, METCALF J (2012a). Functional anatomy and blood supply of the liver. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine,* **13(2):** 52-53.

MITRA V, METCALF J (2012b). Metabolic functions of the liver. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine,* **13(2):** 54-55.

MOHAMED MA (2007). Spirostanol saponins from Asparagus sprengeri and their molluscicidal activity. Natural Product Communications, 2(7), 1934578X0700200705. *Natural Product Communications,* **2(7):** 731-736.

MOHAMMED FS, PEHLIVAN M, SEVINDIK E, AKGUL H, SEVINDIK M, BOZGEYIK I, YUMRUTAS O (2021). Pharmacological properties of edible Asparagus acutifolius and Asparagus officinalis collected from North Iraq and Turkey (Hatay). *Acta Alimentaria,* **50(1):** 136-143.

MONARI S, FERRI M, MONTECCHI B, SALINITRO M, TASSONI A (2021). Phytochemical characterization of raw and cooked traditionally consumed alimurgic plants. *PLoS One,* **16(8):** e0256703.

MONTONE CM, ZENEZINI CHIOZZI R, MARCHETTI N, CERRATO A, ANTONELLI M, CAPRIOTTI AL, CAVALIERE C, PIOVESANA S, LAGANA A (2019). Peptidomic Approach for the Identification of Peptides with Potential Antioxidant and Anti-Hyperthensive Effects Derived From Asparagus By-Products. *Molecules,* **24(19):** 1-13.

MORALES P, CARVALHO AM, SÁNCHEZ-MATA MC, CÁMARA M, MOLINA M, FERREIRA ICFR (2011). Tocopherol composition and antioxidant activity of Spanish wild vegetables. *Genetic Resources and Crop Evolution,* **59(5):** 851-863.

MOTOKI S, TANG TL, TAGUCHI T, KATO A, IKEURA H, MAEDA T (2019). Distribution of Rutin and Protodioscin in Different Tissue Parts of Asparagus (Asparagus officinalis L.). *HortScience,* **54(11):** 1921-1924.

MOUSAVI SM, HASHEMI SA, BEHBUDI G, MAZRAEDOOST S, OMIDIFAR N, GHOLAMI A, CHIANG WH, BABAPOOR A, PYNADATHU RUMJIT N (2021). A Review on Health Benefits of Malva sylvestris L. Nutritional Compounds for Metabolites, Antioxidants, and Anti-Inflammatory, Anticancer, and Antimicrobial Applications. *Evid Based Complement Alternat Med,* **2021:** 5548404.

NAMAKI A, GHAHREMANI Z, AELAEI M, BARZEGAR T, RANJBAR ME (2022). The First Report of Drought Tolerance Assessment of Iranian Asparagus. *Gesunde Pflanzen,* **74(1):** 141-149.

NEGI JS, SINGH P, JOSHI GP, RAWAT MS, BISHT VK (2010). Chemical constituents of Asparagus. *Pharmacogn Rev,* **4(8):** 215-220.

NGUYEN TVL, TRAN TYN, LAM DT, BACH LG, NGUYEN DC (2019). Effects of microwave blanching conditions on the quality of green asparagus (Asparagus officinalis L.) butt segment. *Food Science & Nutrition,* **7(11):** 3513-3519.

NORUP MF, PETERSEN G, BURROWS S, BOUCHENAK-KHELLADI Y, LEEBENS-MACK J, PIRES JC, LINDER HP, SEBERG O (2015). Evolution of Asparagus L. (Asparagaceae): Out-of-South-Africa and multiple origins of sexual dimorphism. *Mol Phylogenet Evol,* **92:** 25-44.

PADMANABHAN P, JANGLE S (2014). Hepatoprotective activity of herbal preparation (HP-4) against alcohol Induced hepatotoxicity in mice. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology,* **2(1):** 50-58.

PAGAN LU, GOMES MJ, GATTO M, MOTA GAF, OKOSHI K, OKOSHI MP (2022). The Role of Oxidative Stress in the Aging Heart. *Antioxidants (Basel),* **11(2):** 1-18.

PANDEY KB, RIZVI SI (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2(5):** 270-278.

PANDEY S, PHULARA SC, MISHRA SK, BAJPAI R, KUMAR A, NIRANJAN A, LEHRI A, UPRETI DK, CHAUHAN PS (2020). Betula utilis extract prolongs life expectancy, protects against amyloid-beta toxicity and reduces Alpha Synuclien in Caenorhabditis elegans via DAF-16 and SKN-1. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol,* **228(2020):** 1-12.

PANDEY S, TIWARI S, KUMAR A, NIRANJAN A, CHAND J, LEHRI A, CHAUHAN PS (2018). Antioxidant and anti-aging potential of Juniper berry (Juniperus communis L.) essential oil in Caenorhabditis elegans model system. *Industrial Crops and Products,* **120:** 113-122.

PANT G, PANWAR, M. S., NEGI, D. S., RAWAT, M. S. M., & MORRIS, G. A. (1988). Spirostanol glycoside from fruits of Asparagus officinalis. *Phytochemistry,,* **27(10):** 3324-3325.

PANT G, PANWAR, M. S., NEGI, D. S., RAWAT, M. S. M., MORRIS, G. A., & THOMPSON, R. I. G. (1988). Structure elucidation of a spirostanol glycoside from Asparagus officinalis fruits by concerted use of two- dimensional NMR techniques. *Magnetic resonance in chemistry,* **26(10):** 911-918.

PEGIOU E, MUMM R, ACHARYA P, DE VOS RCH, HALL RD (2019). Green and White Asparagus (Asparagus officinalis): A Source of Developmental, Chemical and Urinary Intrigue. *Metabolites,* **10(1)**.

PENG C, ZUO Y, KWAN KM, LIANG Y, MA KY, CHAN HY, HUANG Y, YU H, CHEN ZY (2012). Blueberry extract prolongs lifespan of Drosophila melanogaster. *Exp Gerontol,* **47(2):** 170-178.

POORMOOSAVI SM, NAJAFZADEHVARZI H, BEHMANESH MA, AMIRGHOLAMI R (2018). Protective effects of Asparagus officinalis extract against Bisphenol A-induced toxicity in Wistar rats. *Toxicology reports,* **5:** 427-433.

POPOVIĆ Z, SMILJANIĆ M, MATIĆ R, KOSTIĆ M, NIKIĆ P, BOJOVIĆ S (2012). Phytotherapeutical plants from the Deliblato Sands (Serbia): Traditional pharmacopoeia and implications for conservation.

PORTA-DE-LA-RIVA M, FONTRODONA L, VILLANUEVA A, CERON J (2012). Basic Caenorhabditis elegans methods: synchronization and observation. *J Vis Exp***(64):** e4019.

PRIETO P, PINEDA M, AGUILAR M (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry,* **269(2):** 337-341.

QUANG DN, NANTHALATH P, KHAMKO VA, SOULINHONG X, VIDAVONE V (2018). Acemosin- a cytotoxic 20-norsteroid from Asparagus racemosus. *Fitoterapia*, **131:** 221-224.

RAHIMAN F, KUMAR M, MANI T, NIYAS K, KUMAR B, PHANEENDRA P, SURENDRA B (2011). Hepatoprotective activity of Asparagus racemosus root on liver damage caused by paracetamol in rats. *Indian Journal of Novel Drug Delivery,* **3(2):** 112-117.

RE R, PELLEGRINI N, PROTEGGENTE A, PANNALA A, YANG M, RICE-EVANS C (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med,* **26(9-10):** 1231-1237.

RODRÍGUEZ R, JARAMILLO S, RODRÍGUEZ G, ESPEJO JA, GUILLÉN R, FERNÁNDEZ-BOLAÑOS J, HEREDIA A, JIMÉNEZ A (2005). Antioxidant activity of ethanolic extracts from several asparagus cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* **53(13):** 5212-5217.

ROMANI A, CASCIANO F, STEVANIN C, MAIETTI A, TEDESCHI P, SECCHIERO P, MARCHETTI N, VOLTAN R (2021). Anticancer Activity of Aqueous Extracts from Asparagus officinalis L. Byproduct on Breast Cancer Cells. *Molecules,* **26(21):** 6369.

ROSADO-ÁLVAREZ C, MOLINERO-RUIZ L, RODRÍGUEZ-ARCOS R, BASALLOTE-UREBA MJ (2014). Antifungal activity of asparagus extracts against phytopathogenic Fusarium oxysporum. *Scientia Horticulturae,* **171:** 51-57.

RUAN Q, QIAO Y, ZHAO Y, XU Y, WANG M, DUAN J, WANG D (2016). Beneficial effects of Glycyrrhizae radix extract in preventing oxidative damage and extending the lifespan of Caenorhabditis elegans. *J Ethnopharmacol,* **177:** 101-110.

RUPESH-KUMAR M, FASALU-RAHIMAN O, TAMIZH-MANI T, MOHAMED-IYAS K, SATYA-KUMAR B, PHANEENDRA P, SURENDRA B (2011). Evaluation of hepatoprotective activity of Asparagus racemosus root against paracetamol induced acute liver injury rats. *Pharmacologyonline,* **1:** 1059-1066.

SAKAGUCHI Y, OZAKI Y, MIYAJIMA I, YAMAGUCHI M, FUKUI Y, IWASA K, MOTOKI S, SUZUKI T, OKUBO H (2008). Major anthocyanins from purple asparagus (Asparagus officinalis). *Phytochemistry,* **69(8):** 1763-1766.

SANCHEZ-VALLE V, CHAVEZ-TAPIA NC, URIBE M, MENDEZ-SANCHEZ N (2012). Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: a review. *Curr Med Chem,* **19(28):** 4850-4860.

SANGALETTI R, BIANCHI L (2013). A method for culturing embryonic C. elegans cells. *J Vis Exp***(79):** e50649.

SANTOSH RK, GOURISHANKAR KK, VIJENDRA BF (2013). Hepatoprotective Activity of Asparagus retrofractus (Family- Asparagaceae) Roots against Thioacetamide Induced Liver Damage in Rats. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research,* **3(1):** 57-62.

SARANGZAI AM, AHMED A, LAGHARI SK (2013). Traditional uses of some useful medicinal plants of Ziarat District Balochistan, Pakistan. *FUUAST Journal of Biology,* **3(1):** 101-107.

SARIBAŞ M, KAYA Z, BAŞARAN S, YAMAN B, SABAZ M (2007). The use of some natural plant species from the Western Black Sea region of Turkey for landscape design. *Fresenius Environmental Bulletin,* **16(2):** 193-205.

SAUTOUR M, MIYAMOTO T, LACAILLE-DUBOIS MA (2007). Steroidal saponins from Asparagus acutifolius. *Phytochemistry,* **68(20):** 2554-2562.

SEO K-S, KYEONG WON YUN (2021). Evaluation of antibacterial activity of the extracts from Liriope platyphylla and Asparagus cochinchinensis (Liliaceae) used as oriental medicine resource in Korea. *Research on Crops,* **22(3):**624-629.

SERGIO L, BOARI F, PIERALICE M, LINSALATA V, CANTORE V, DI VENERE D (2020). Bioactive phenolics and antioxidant capacity of some wild edible greens as affected by different cooking treatments. *Foods,* **9(9):** 1320.

SHAO YU, POOBRASERT, O., KENNELLY, E. J., CHIN, C. K., HO, C. T., HUANG, M. T., GARISON S. A., CORDELL, G. A. (1997). Steroidal Saponins from Asparagus oficinalis and Their Cytotoxic Activity. *Planta Medica,* **63(03):** 258-262.

SHARMA P, GOEL D (2018). Antimicrobial and Minimum Inhibitory Concentration activity of leaf extract of Asparagus aphyllus. *International Journal of Life Sciences Research,* **6(2):** 144-148.

SHENG W, ZHANG T, KUANG Q, WANG Z, LUO S (2021). Research on the Progress of Systematic Taxonomy in the Genus Asparagus of China. *Molecular Plant Breeding*, **12(26):** 1-9.

SHIMOYAMADA M, SUZUKI M, SONTA H, MARUYAMA M, OKUBO K (1990). Antifungal Activity of the Saponin Fraction Obtained from Asparagus-Officinalis L and Its Active Principle. *Agricultural and Biological Chemistry,* **54(10):** 2553-2557.

SHIOMI N (1993). Structure of Fructopolysaccharide (Asparagosin) from Roots of Asparagus (Asparagus-Officinalis L). *New Phytologist,* **123(2):** 263-270.

SI H, LIU D (2014). Dietary antiaging phytochemicals and mechanisms associated with prolonged survival. *J Nutr Biochem,* **25(6):** 581-591.

SIES H, BELOUSOV VV, CHANDEL NS, DAVIES MJ, JONES DP, MANN GE, MURPHY MP, YAMAMOTO M, WINTERBOURN C (2022). Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. *Nat Rev Mol Cell Biol,* 1-17.

SIMPSON MG. (2019). Plant Systematics. (Ed.). Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

SINGH G, GOYAL R, SHARMA PL (2012). Pharmacological potential of silymarin in combination with hepatoprotective plants against experimental hepatotoxicity in rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research,* **5(1):** 128-133.

SINGH S, SINGH RP (2008). In VitroMethods of Assay of Antioxidants: An Overview. *Food Reviews International,* **24(4):** 392-415.

SLATNAR A, MIKULIC-PETKOVSEK M, STAMPAR F, VEBERIC R, HORVAT J, JAKSE M, SIRCELJ H (2018). Game of Tones: sugars, organic acids, and phenolics in green and purple asparagus (Asparagus officinalis L.) cultivars. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry,* **42(1):** 55-66.

SOLANA M, BOSCHIERO I, DALL'ACQUA S, BERTUCCO A (2015). A comparison between supercritical fluid and pressurized liquid extraction methods for obtaining phenolic compounds from Asparagus officinalis L. *Journal of Supercritical Fluids,* **100:** 201-208.

SOLHI P, AZADMARD-DAMIRCHI S, HESARI J, HAMISHEHKAR H (2020). Effect of fortification with asparagus powder on the qualitative properties of processed cheese. *International Journal of Dairy Technology,* **73(1):** 226-233.

SRIVASTAVA A. (2018). Significance of medicinal plants in human life. In: *Synthesis of Medicinal Agents from Plants* Ed. 1-24.

SRIYAB S, LAOSIRISATHIAN N, PUNYOYAI C, ANUCHAPREEDA S, TIMA S, CHIAMPANICHAYAKUL S, CHAIYANA W (2021). Nutricosmetic effects of Asparagus officinalis: a potent matrix metalloproteinase-1 inhibitor. *Sci Rep,* **11(1):** 8772.

STEVENS PF. (2016). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14. *Angiosperm Phylogeny Website. Version 14.* Erişim Tarihi:16/05/2022.

STIERNAGLE T (2006a). Maintenance of C. elegans. *WormBook***:** 1-11.

STIERNAGLE T. (2006b, Feb 11). Maintenance of C. elegans. *WormBook.* 2007/12/01. Erişim: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18050451]. Erişim Tarihi: 16/05/2022.

SULLIVAN SA, TRAN AQM, XU G, YIN Y, ZHOU C, BAE-JUMP VL (2017). Asparagus polysaccharide inhibits cell proliferation, adhesion and invasion in endometrial cancer cells. *Gynecologic Oncology,* **145:** 133-133.

SUN Q, ZHU L, LI Y, CUI Y, JIANG S, TAO N, CHEN H, ZHAO Z, XU J, DONG C (2020). A novel inulin-type fructan from Asparagus cochinchinensis and its beneficial impact on human intestinal microbiota. *Carbohydr Polym,* **247:** 116761.

SUN T, POWERS JR, TANG J (2007). Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. *Food Chemistry,* **105(1):** 101-106.

SUN Z, HUANG X, KONG L (2010). A new steroidal saponin from the dried stems of Asparagus officinalis L. *Fitoterapia,* **81(3):** 210-213.

TAMBARA AL, DE LOS SANTOS MORAES L, DAL FORNO AH, BOLDORI JR, GONCALVES SOARES AT, DE FREITAS RODRIGUES C, MARIUTTI LRB, MERCADANTE AZ, DE AVILA DS, DENARDIN CC (2018). Purple pitanga fruit (Eugenia uniflora L.) protects against oxidative stress and increase the lifespan in Caenorhabditis elegans via the DAF-16/FOXO pathway. *Food Chem Toxicol,* **120(March):** 639-650.

TARDÍO J, PARDO-DE-SANTAYANA M, MORALES R (2006). Ethnobotanical review of wild edible plants in Spain. *Botanical Journal of the Linnean Society,* **152(1):** 27-71.

THAKUR M, CONNELLAN P, DESEO MA, MORRIS C, PRAZNIK W, LOEPPERT R, DIXIT VK (2012). Characterization and in vitro immunomodulatory screening of fructo-oligosaccharides of Asparagus racemosus Willd. *Int J Biol Macromol,* **50(1):** 77-81.

THAKUR S, THAKUR S, TIWARI KL, JADHAV SK (2015). Approaches for Conservation of an Ethnomedicinal Plant: Asparagus racemosus Willd. *OnLine Journal of Biological Sciences,* **15(3):** 126-133.

THAPA S, RAWAL S, BIST S (2020a). Highlighting the nutritional and medicinal value of Asparagus along with its cultivation practices. *Matrix Science Pharma,* **4(1)**.

THAPA S, RAWAL S, BIST S (2020b). Highlighting the nutritional and medicinal value of Asparagus along with its cultivation practices. *Matrix Science Pharma,* **4(1):** 18.

TREFTS E, GANNON M, WASSERMAN DH (2017). The liver. *Curr Biol,* **27(21):** R1147-R1151.

TÜBİVES. (2022). Erişim: [https://www.tubives.com]. Erişim Tarihi: 16/05/2022.

ULBRICHT CE. (2016). Natural Standard Herb & Supplement Guide-E-Book: An Evidence-Based Reference. (Ed.): Elsevier Health Sciences.

UYSAL I, GUCEL S, TUTENOCAKLI T, OZTURK M (2012). Studies on the Medicinal Plants of Ayvacik-Canakkale in Turkey. *Pakistan Journal of Botany,* **44(1):** 239-244.

ÜRKER O, KEÇELI T (2020). Tehdit Altında Bir Bitki Olan Tuzkırgını (Asparagus lycaonicus P.H. Davis) Türünün Koruma Biyolojisi Özellikleri Üzerine Güncel Bir Değerlendirme. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi,* **9 (4):** 1496-1513.

VADIVELAN R, GOPALA KRISHNAN R, KANNAN R (2019). Antidiabetic potential of Asparagus racemosus Willd leaf extracts through inhibition of alpha-amylase and alpha-glucosidase. *J Tradit Complement Med,* **9(1):** 1-4.

VAISERMAN AM, LUSHCHAK OV, KOLIADA AK (2016). Anti-aging pharmacology: Promises and pitfalls. *Ageing Res Rev,* **31:** 9-35.

VAYNDORF EM, LEE SS, LIU RH (2013). Whole apple extracts increase lifespan, healthspan and resistance to stress in Caenorhabditis elegans. *J Funct Foods,* **5(3):** 1236-1243.

VAZQUEZ-CASTILLA S, DE LA PUERTA R, GARCIA GIMENEZ MD, FERNANDEZ-ARCHE MA, GUILLEN-BEJARANO R (2013). Bioactive constituents from "triguero" asparagus

improve the plasma lipid profile and liver antioxidant status in hypercholesterolemic rats. *Int J Mol Sci,* **14(11):** 21227-21239.

VAZQUEZ-CASTILLA S, JARAMILLO-CARMONA S, FUENTES-ALVENTOSA JM, JIMENEZ-ARAUJO A, RODRIGUEZ-ARCOS R, CERMENO-SACRISTAN P, ESPEJO-CALVO JA, GUILLEN-BEJARANO R (2013). Saponin profile of green asparagus genotypes. *J Agric Food Chem,* **61(46):** 11098-11108.

VEENA N, ARORA S, KAPILA S, SINGH RRB, KATARA A, PANDEY MM, RASTOGI S, RAWAT AKS (2014). Immunomodulatory and antioxidative potential of milk fortified with Asparagus racemosus (Shatavari). *J Mech Phys Solids,* **2:** 13-19.

WANG BS, CHANG LW, WU HC, HUANG SL, CHU HL, HUANG MH (2011). Antioxidant and antityrosinase activity of aqueous extracts of green asparagus. *Food Chemistry,* **127(1):** 141-146.

WANG J, LIU Y, ZHAO J, ZHANG W, PANG X (2013). Saponins extracted from by- product of Asparagus officinalis L. suppress tumour cell migration and invasion through targeting Rho GTPase signalling pathway. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* **93(6):** 1492-1498.

WANG L, WANG X, YUAN X, ZHAO B (2011). Simultaneous analysis of diosgenin and sarsasapogenin in Asparagus officinalis byproduct by thin-layer chromatography. *Phytochem Anal,* **22(1):** 14-17.

WANG M, TADMOR Y, WU QL, CHIN CK, GARRISON SA, SIMON JE (2003). Quantification of protodioscin and rutin in asparagus shoots by LC/MS and HPLC methods. *J Agric Food Chem,* **51(21):** 6132-6136.

WANG N, ZHANG X, WANG S, GUO Q, LI Z, LIU H, WANG C (2020). Structural characterisation and immunomodulatory activity of polysaccharides from white asparagus skin. *Carbohydr Polym,* **227:** 115314.

WANG X, ZHANG Z, ZHOU H, SUN X, CHEN X, XU N (2019). The anti-aging effects of Gracilaria lemaneiformis polysaccharide in Caenorhabditis elegans. *Int J Biol Macromol,* **140:** 600-604.

WEN H, GAO X, QIN J (2014). Probing the anti-aging role of polydatin in Caenorhabditis elegans on a chip. *Integrative Biology,* **6(1):** 35-43.

WENG L-L, XIANG J-F, LIN J-B, YI S-H, YANG L-T, LI Y-S, ZENG H-T, LIN S-M, XIN D-W, ZHAO H-L (2015). Asparagus polysaccharide and gum with hepatic artery embolization induces tumor growth and inhibits angiogenesis in an orthotopic hepatocellular carcinoma model. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention,* **15(24):** 10949-10955.

WIEGANT FA, SURINOVA S, YTSMA E, LANGELAAR-MAKKINJE M, WIKMAN G, POST JA (2009). Plant adaptogens increase lifespan and stress resistance in C. elegans. *Biogerontology,* **10(1):** 27-42.

WIEN HC, STÜTZEL H. (2020). The physiology of vegetable crops. (Ed.): CABI.

WILSON MA, SHUKITT-HALE B, KALT W, INGRAM DK, JOSEPH JA, WOLKOW CA (2006). Blueberry polyphenols increase lifespan and thermotolerance in Caenorhabditis elegans. *Aging Cell,* **5(1):** 59-68.

WIRTH T, GYERGYÁK K (2015). Az Asparagus verticillatus L. Magyarországon. *Kitaibelia,* **20(1):** 38-43.

WITZEL K, MATROS A (2020). Fructans Are Differentially Distributed in Root Tissues of Asparagus. *Cells,* **9(9):** 1943.

XIAO H, DENG Z, HOUGH JT, CHEN X, ZHU Z, LEE J, DOMINGUEZ A, SHI T, SCHMIDT J, BAI Q, WAKEFIELD MR, FANG Y (2022). The Effect of Asparagus Extract on Pancreatic Cancer: An Intriguing Surprise. *Anticancer Res,* **42(5):** 2425-2432.

XU G, KONG W, FANG Z, FAN Y, YIN Y, SULLIVAN SA, TRAN AQ, CLARK LH, SUN W, HAO T, ZHAO L, ZHOU C, BAE-JUMP VL (2021). Asparagus officinalis Exhibits Anti-Tumorigenic and Anti-Metastatic Effects in Ovarian Cancer. *Front Oncol,* **11:** 688461.

XU Z, FENG S, SHEN S, WANG H, YUAN M, LIU J, HUANG Y, DING C (2016). The antioxidant activities effect of neutral and acidic polysaccharides from Epimedium acuminatum Franch. on Caenorhabditis elegans. *Carbohydr Polym,* **144:** 122-130.

YAKAN MA, BOZYEL ME, BENEK A, TURU D, CANLI K (2021). Investigation of In Vitro Antimicrobial Activity of Ethanol Extracts obtained from Asparagus acutifolius. *International Journal of Academic and Applied Research (IJAAR),* **5(1):** 126-129.

YANG C, YE Z, MAO L, ZHANG L, ZHANG J, DING W, HAN J, MAO K (2022). Analysis of volatile organic compounds and metabolites of three cultivars of asparagus (Asparagus officinalis L.) using E-nose, GC-IMS, and LC-MS/MS. *Bioengineered,* **13(4):** 8866-8880.

YANG X, ZHANG P, WU J, XIONG S, JIN N, HUANG Z (2012). The neuroprotective and lifespan-extension activities of Damnacanthus officinarum extracts in Caenorhabditis elegans. *J Ethnopharmacol,* **141(1):** 41-47.

YAPICI S (2020). Labor and the Love of Asparagus: A German Panic. *Gastronomica,* **20(3):** 97-97.

YASHIN AY, YASHUNSKII DB, VEDENIN AN, NIFANT'EV NE, NEMZER BV, YASHIN YI (2018). Chromatographic Determination of Lignans (Antioxidants) in Food Products. *Journal of Analytical Chemistry,* **73(5):** 399-406.

YESIL Y, INAL I (2020). Ethnomedicinal Plants of Hasankeyf (Batman-Turkey). *Front Pharmacol,* **11:** 624710.

YILDIRIM MU, ERCÜMENT OSMAN SARIHAN, AND KHALID MAHMOOD KHAWAR. (2021). Ethnobotanical-Uses-of-Roots-of-Various-Plant-Species-in-Turkey. (Ed.).

YILDIRIMLI Ş. D-KA. (2005). *Uses of some Turkish Asparagus and Tamus species as food.* Paper presented at the Proceedings of the Fourth International Congress of Ethnobotany (ICEB, 2005).

YU M, CHEN M, GUI J, HUANG S, LIU Y, SHENTU H, HE J, FANG Z, WANG W, ZHANG Y (2019). Preparation of Chlorella vulgaris polysaccharides and their antioxidant activity in vitro and in vivo. *Int J Biol Macromol,* **137:** 139-150.

YU Q, DUAN JJ, YU N, FAN LP (2020). Enhancing the antityrosinase activity of saponins and polyphenols from Asparagus by hot air coupled with microwave treatments. *Lwt-Food Science and Technology,* **124(2020):** 2-9.

YU Q, FAN LP (2021). Antityrosinase and antioxidant activity of asparagus and its inhibition on B16F10 melanoma cells before and after hydrothermal treatment. *Food Bioscience,* **41(2021):** 1-9.

YU YB, DOSANJH L, LAO L, TAN M, SHIM BS, LUO Y (2010). Cinnamomum cassia bark in two herbal formulas increases life span in Caenorhabditis elegans via insulin signaling and stress response pathways. *PLoS One,* **5(2):** e9339.

ZHANG F, ZHANG YY, SUN YS, MA RH, THAKUR K, ZHANG JG, WEI ZJ (2020). Asparanin A from Asparagus officinalis L. Induces G0/G1 Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Endometrial Carcinoma Ishikawa Cells via Mitochondrial and PI3K/AKT Signaling Pathways. *J Agric Food Chem,* **68(1):** 213-224.

ZHANG H, BIRCH J, XIE C, YANG H, EL-DIN BEKHIT A (2019). Optimization of ultrasound assisted extraction method for phytochemical compounds and in-vitro antioxidant activity of New Zealand and China Asparagus cultivars (officinalis L.) roots extracts. *Food Chem,* **294:** 276-284.

ZHANG HX, BIRCH J, PEI JJ, AHMED IAM, YANG HY, DIAS G, ABD EL-ATY AM, BEKHIT AE (2019). Identification of Six Phytochemical Compounds from Asparagus officinalis L. Root Cultivars from New Zealand and China Using UAE-SPE-UPLC-MS/MS: Effects of Extracts on H2O2-Induced Oxidative Stress. *Nutrients,* **11(1):** 107.

ZHANG HX, BIRCH J, XIE CN, YANG HY, DIAS G, KONG LM, BEKHIT AED (2018). Optimization of extraction parameters of antioxidant activity of extracts from New Zealand and Chinese Asparagus officinalis L root cultivars. *Industrial Crops and Products,* **119:** 191-200.

ZHANG HX, BIRCH J, YANG HY, XIE CN, KONG LM, DIAS G, BEKHIT AE (2018). Effect of solvents on polyphenol recovery and antioxidant activity of isolates of Asparagus Officinalis roots from Chinese and New Zealand cultivars. *International Journal of Food Science and Technology,* **53(10):** 2369-2377.

ZHANG MS, YAO MK, JIA AR, SHI YP, BAI XF, LIU X, CUI TT, LIU X, LIU CH (2021). Hypolipidemic effect of soluble dietary fibers prepared from Asparagus officinalis and their effects on the modulation of intestinal microbiota. *Food Science and Biotechnology,* **30(13):** 1721-1731.

ZHANG RS, LIU YY, ZHU PF, JIN Q, DAI Z, LUO XD (2021). Furostanol Saponins from Asparagus cochinchinensis and Their Cytotoxicity. *Nat Prod Bioprospect,* **11(6):** 651-658.

ZHANG Z, FAN S, HUANG D, XIONG T, NIE S, XIE M (2020). Polysaccharides from fermented Asparagus officinalis with Lactobacillus plantarum NCU116 alleviated liver injury via modulation of glutathione homeostasis, bile acid metabolism, and SCFA production. *Food & Function,* **11(9):** 7681-7695.

ZHAO Q, XIE B, YAN J, ZHAO F, XIAO J, YAO L, ZHAO B, HUANG Y (2012). In vitro antioxidant and antitumor activities of polysaccharides extracted from Asparagus officinalis. *Carbohydr Polym,* **87(1):** 392-396.

ZHENG J, HEBER D, WANG M, GAO C, HEYMSFIELD SB, MARTIN RJ, GREENWAY FL, FINLEY JW, BURTON JH, JOHNSON WD, ENRIGHT FM, KEENAN MJ, LI Z (2017). Pomegranate juice and extract extended lifespan and reduced intestinal fat deposition in Caenorhabditis elegans. *Int J Vitam Nutr Res,* **87(3-4):** 149-158.

ZHISHEN J, MENGCHENG T, JIANMING W (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry,* **64(4):** 555-559.

ZHONG C, JIANG C, XIA X, MU T, WEI L, LOU Y, ZHANG X, ZHAO Y, BI X (2015). Antihepatic Fibrosis Effect of Active Components Isolated from Green Asparagus (Asparagus officinalis L.) Involves the Inactivation of Hepatic Stellate Cells. *J Agric Food Chem,* **63(26):** 6027-6034.

ZHU GL, HAO Q, XING L, YANG XQ, XIE SD, ZHAO P, LI HZ (2021). C21, C22 pregnane glycosides and cytotoxic C27 spriostanol steroids from Asparagus cochinchinesis. *Steroids,* **172(2021):** 1-6.

ZHU X, LI C, ZHU Y. (2020). *Saponins extracted from Asparagus officinalis L. by products exerts hypoglycemic effect in streptozotocin induced type 2 diabetic rats.* Paper presented at the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.

ZHU X, ZHANG W, PANG X, WANG J, ZHAO J, QU W (2011). Hypolipidemic effect of n-butanol Extract from Asparagus officinalis L. in mice fed a high-fat diet. *Phytother Res,* **25(8):** 1119-1124.

ZHU X, ZHANG W, ZHAO J, WANG J, QU W (2010). Hypolipidaemic and hepatoprotective effects of ethanolic and aqueous extracts from Asparagus officinalis L. by-products in mice fed a high-fat diet. *J Sci Food Agric,* **90(7):** 1129-1135.

ZOR M, AYDIN S, GÜNER ND, BAŞARAN N, BAŞARAN AA (2017). Antigenotoxic properties of Paliurus spina-christi Mill fruits and their active compounds. *BMC complementary and alternative medicine,* **17(1):** 1-10.

EKLER

Ek-1 Etik Kurul Onay Belgesi

MEDİPOL UNV İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ

E-İmzalıdır

T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 38828770-604.01.01-E.9715 17/04/2017
Konu : Etik Kurulu Kararı

Sayın Prof. Dr. Gülçin SALTAN İŞCAN

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna yapmış olduğunuz "Türkiye'de Yetişen Bazı Asparagus L. Türlerinin Hepatoprotektif Akvitelerinin Değerlendirilmesi" isimli başvurunuz incelenmiş olup, etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(İMÜ-HADYEK) Başkanı

EK:
-Karar Formu (1 sayfa)

Bu belge 5070 sayılı e-Imza Kanununa gore Prof. Dr. Hanefi OZBEK tarafından 17.04.2017 tarihinde e-imzalanmıştır.
Evrağınızı https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza linkinden FAE17E6BX8 kodu ile dogrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi
Kavacık Mah. Ekinciler Cad.No:19 Kavacık Kavşağı 34810
Beykoz/İSTANBUL

Tel: 444 85 44
İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr