

Göktepe’de Yetişen *Sideritis leptoclada* Bitkisinin Farklı Ekstrelerinin Antioksidan Aktivitesi

Yusuf Sıcak^{1*}, İrfan Öztürk², Eyüp Başaran^{3,+} ve Hatice Ulusoy⁴

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Köyceğiz Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Muğla, Türkiye

²Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Kavaklıdere Şehit Mustafa Alper Meslek Yüksekokulu, Ormanlık Bölümü, Muğla, Türkiye

³Batman Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Kimya ve Kimyasal Prosesler Teknolojisi Bölümü, Batman, Türkiye

⁴Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Köyceğiz Meslek Yüksekokulu, Ormanlık Bölümü, Muğla, Türkiye

*Sorumlu Yazar: yusufsicak@mu.edu.tr

+Konuşmacı: eybasaran@gmail.com

Sunum/Metin Tipi: Sözlü / Tam Metin

Özet – *Sideritis* türleri halk arasında çay olarak sindirim sistemi bozukluklarının tedavisinde karminatif, digestif ve diüretik özellikleri nedeniyle geleneksel olarak tıbbi bitki olarak kabul edilmektedir. Son zamanlarda, bu bitkinin biyoaktivite potansiyeli hakkında artan bir ivme vardır. Bu çalışmada, *S. leptoclada*’nın toprak üstünün *n*-hekzan (*n*-Hex), etil asetat (EtAOc), diklorometan (DCM), ve metanol (MeOH) ekstralarının antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. *S. leptoclada* örnekleri Göktepe’den 2018’de toplanmıştır. Ekstrelerin antioksidan aktivite potansiyelleri 2,2-azino-di-[3-etilbenzotiazosin-sülfonik asit (ABTS), difenil-1-pikrilhidrazil radikal süpürücü (DPPH•), bakır(II) iyonu indirgeme esaslı antioksidan kapasite (CUPRAC) ve β -karoten/linoleik asit analizleri ile belirlenmiştir. *S. leptoclada*’nın topraküstü kısımlarından elde edilen ekstralardan EtOAc ekstresi en yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu belirlendi. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, *S. leptoclada*’nın antioksidan biyoaktif özelliğine sahip doğal bitki kaynağı olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler – *Sideritis leptoclada*, Antioksidan aktivite

I. GİRİŞ

Sideritis cinsi Lamiaceae familyasına ait olup, dünya çapında 120; Türkiye’de ise 46 türü bulunmaktadır [1]. Dağ çayı olarak bilinen *Sideritis* türleri eski zamanlardan beri şifalı bitkiler olarak bilinmekte ve Türkiye, Yunanistan ve İspanya gibi Akdeniz ülkelerinde geleneksel çay ve bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır [2]-[3].

Sideritis türleri, gastrointestinal rahatsızlıkların, soğuk algınlığının, öksürüğün ve grip semptomlarının tedavisinde etkilidir. Ayrıca, bu türler, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antiülser, analjezik, antioksidan, böcek öldürücü, antiromatik ve sitotoksik etkiler gibi geniş bir biyolojik özellik spektrumunu göstermektedir. *Sideritis* türlerinin fitoterapideki önemi nedeniyle, kimyasal bileşimlerini ve biyolojik etkinliklerini detaylı olarak araştırmak gerekir [2]-[3].

Sideritis leptoclada O. Schwarz et P. H. Davis kızılbaşçayı bitkisinin fitoterapik özelliği üzerine çok az sayıda bilimsel çalışma vardır. Bu bağlamda bu çalışmada, Göktepe’ye endemik olan *S. leptoclada* (kızılbaşçayı) bitkisinin antioksidan aktivite değerini açığa çıkarılması amaçlanmaktadır [4]-[10].

II. MATERYAL VE METOT

A. Bitki Materyali

Araştırma materyali olan *S. leptoclada* Grid Sistemine göre C1-C2 karesi içerisinde yer alan Göktepe bölgesinden 2018 yılında toplandı. Bitki örneği, Muğla Sıtkı Koçman

Üniversitesi, Biyoloji Bölümünün Herbarium örnekleri karşılaştırarak ile teşhis edildi.

B. Ekstraksiyonların Hazırlanması

S. leptoclada bitkisinin toprak üstü kısmı oda sıcaklığında kurutuldu. Kurutulan numunelerden 10 gramlık numuneler alınıp 2x250 mL *n*-Hex, DCM, EtOAc ve MeOH ile dekoksasyon yöntemine tabii tutuldu. Dekoksasyon işlemi sonunda her bir çözücü döner buharlaştırıcıdan uzaklaştırılarak ekstralar elde edildi.

C. Antioksidan Aktivite Testleri

Tüm ekstraların umunelerin etanoldeki 12,5, 25, 50 ve 100 μ g/mL’lık konsantrasyonlardaki stok çözeltileri hazırlandı. Kontrol olarak etanol kullanıldı.

β -karoten-linoleik asit renk açılım aktivitesi yöntemi

Bitkinin ekstralarının toplam antioksidan aktivite tayini β -karoten-linoleik asit renk açılımı Miller, 1971 [11]. metoduna göre belirlendi. Farklı konsantrasyonlardaki 40 μ L stok örnek çözeltilere 160 μ L β -karoten çözeltisi ilavesiyle emülsiyeye olan çözeltiler mikroplatelere aktarıldı ve spektrofotometrede 490 nm dalga boyunda başlangıç absorbansı ölçüldü. İlk ölçümün akabinde mikroplaterler 45°C’de inkübasyona bırakıldı ve kontroldeki β -karotenin rengi kayboluncaya kadar inkübasyona devam edildi.

DPPH serbest radikal giderim aktivite yöntemi

Örneklerin serbest radikal giderim aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak tespit edildi [12]. Farklı

konsantrasyonlardaki 40 µL stok örnek çözeltilere 160 µL DPPH çözeltisi ilave edildi. Numunelerin, 25°C'de 30 dk inkübasyonunun ardından 517 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorban ölçümü yapıldı. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

ABTS katyon radikal giderim aktivitesi yöntemi

Örneklerin katyon radikal giderim aktiviteleri ABTS katyon radikali kullanılarak tespit edildi [13]. Farklı konsantrasyonlardaki 40 µL stok örnek çözeltilere 160 µL ABTS çözeltisi ilavesinin ardından numunelerin 734 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorban ölçümü yapıldı.

CUPRAC aktivite yöntemi (Bakır (II) indirgeme gücü)

Bitki ekstralarının, Cu (II) indirgeme gücü literatürde kayıtlı olan [14] metoda göre tespit edildi. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerin stok çözeltilerinden 40 µL, pH=7.0 amonyum asetat tamponundan 60 µL ve son olarak 100 µL neokuprin-Cu (II) reaktifi ile ilavesinin ardından 1 saat 25°C'de bekletilen çözeltilerin 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorban ölçümü yapıldı.

D. İstatiksel analiz:

Antioksidan aktivitelerinin sonuçları 3 paralel ölçümün ortalaması ± standart hata olarak verilmektedir. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu. Paralel ölçümler arasında anlamlı bir fark görülmedi. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regresyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesiyle yapıldı.

III. BULGULAR

S. leptoclada ekstralarının antioksidan aktivitesi 4 farklı test ile BHT ve α-tokoferol (α-TOC) standartlarına göre kıyaslanarak belirlendi. *S. leptoclada* ekstralarının antioksidan aktivite sonuçları Tablo 1.'de verildi. β-karoten-linoleik asit test sonuçlarına göre bitkinin EtOAc ekstresi IC₅₀= 5,11±0,08 µg/mL değeri ile test edilen örneklere göre daha iyi lipit peroksidasyonuna sahip iken; bitkinin *n*-Hex ekstresi IC₅₀= 11,86±0,54 µg/mL değeriyle en az lipit peroksidasyonuna sahip olduğu bulundu. DPPH serbest radikal giderim aktivite testinde, tüm ekstralar BHT standardından daha aktif olduğu ve en etkin ekstranın ise EtOAc IC₅₀= 14,80±0,57 µg/mL olduğu belirlendi. ABTS katyon radikal giderim aktivite test sonuçlarına göre, test numuneleri içerisinde bitkinin EtOAc ekstresi, α-TOC standardından daha iyi en aktif ABTS⁺ giderim aktivitesini sergiledi. Ekstrelerin tümü, Cu (II) indirgeme gücü aktivitesi test sonuçlarına göre, testin α-TOC standardından daha iyi Cu (II) indirgediği saptandı.

Tablo 1. *S. leptoclada* ekstralarının antioksidan aktivitesi^a.

Örnek	Ekstre	Antioksidan Aktivite			
		β-karoten-linoleik asit (IC ₅₀ µg/mL)	DPPH aktivitesi (IC ₅₀ µg/mL)	ABTS ⁺ giderim aktivitesi (IC ₅₀ µg/mL)	CUPRAC Kapasitesi (A _{0,5} µg/mL)
<i>S. leptoclada</i>	<i>n</i> -Hex	11,86±0,54	28,49±0,16	6,89±0,45	26,66±0,01
	DCM	7,39±0,74	19,87±0,35	4,33±0,64	24,59±0,00
	EtOAc	5,11±0,08	14,80±0,57	3,27±0,41	18,35±0,02
	MeOH	8,25±0,42	21,91±0,48	5,70±0,32	20,37±0,00
	BHT ^b	-	2,34±0,09	54,97±0,99	2,91±0,55

^aα-TOC^b - 4,50±0,09 12,26±0,07 4,87±0,45 40,55±0,04
^aAktivite değerleri 3 paralel ölçümün ortalaması olup, standart sapma hatası olarak verilmektedir (*p*<0.05).
^bAktivite pozitif standartlarıdır.

IV. TARTIŞMA

S. leptoclada'nın aseton özü, β-karoten-linoleik asit (IC₅₀: 17.23±0.11 µg/mL), DPPH[•] (IC₅₀: 28.14±0.05 µg/mL) ve ABTS^{•+} (IC₅₀: 15.18±0.02 µg/mL)'deki en yüksek antioksidan aktivitesini gösterdi. *S. albiflora*'nın aseton ekstraktının (A_{0,50}: 32.71±0.44 µg/mL), kuprik redüksiyon antioksidan kapasitesi (CUPRAC) analizinde en iyi indirgeyici olduğu bulunmuştur. Aseton ekstraktları, antioksidan aktivite açısından en yüksek aktivite sergilemiştir. Bu sonuçlar, *Sideritis* türlerinin gıda, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermektedir [15].

S. leptoclada'nın infüzyon metoduyla hazırlanan su özütünün DPPH radikali giderim aktivitesi 0.16 mg/mL olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucu, *S. leptoclada*'nın doğal antioksidanların potansiyel kaynağı olarak gıda takviyesi ve farmasötik endüstrinde bir destek maddesi olarak kullanılabileceğini göstermektedir. [16].

Sideritis türleri eski zamanlardan beri şifalı bitkiler olarak bilinmekte ve Türkiye, Yunanistan ve İspanya gibi Akdeniz ülkelerinde çay olarak kullanılmaktadır. *S. leptoclada* ve *S. albiflora* uçucu yağının göstermiş olduğu antioksidan aktivite neticesinde *Sideritis* türlerinin çay olarak tüketilmesinin, gözlemlenebilir herhangi bir yan etki olmadan, oksidatif strese karşı korunabileceğini belirtmektedir [17].

Sideritis'in 17 türünün (18 takson) liyofilize özütlerin antioksidan aktiviteleri karşılaştırmak üzere bitkilerin sulu ekstraktların antioksidan aktiviteleri serbest radikal temizleme aktivitesini saptamak için DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal) testi ve lipozom lipit peroksidasyonunu saptamak için TBA analizi kullanılarak iki farklı teknik ile elde edilen tüm ekstralar (*S. erithrantha* subsp. *Erithrantha*, *S. dichotoma*, *S. syriaca* subsp. *Nusariensis*, *S. tmolea* hariç) DPPH testi ile güçlü bir antioksidan aktivite göstermiştir [18].

Antioksidanlar, vücudu reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif stresin neden olduğu zararlardan koruma yeteneğine sahip hayati maddelerdir. Bu çalışmada, Türkiye'ye özgü bir bitki olan *S. leptoclada* bitkisinin topraküstü kısmının farklı çözücülerdeki ekstraları hazırlandı. Elde edilen ekstraların antioksidan aktivitesi test edildi. Çalışmanın sonuçları, *S. leptoclada* bitkisinin EtOAc ekstresinin iyi antioksidan kapasitesine sahip olduğu bulundu. Bu bağlamda *S. leptoclada* bitkisinin gıda ve eczacılık sanayiinde kullanılabileceğini göstermektedir.

V. SONUÇ

Bu çalışmada kullanılan *S. leptoclada* Grid Sistemine göre C1-C2 karesi içerisinde yer alan Muğla'nın Kavaklıdere ilçesine bağlı Göktepe'den 2018 yılında toplandıktan sonra kurutulan ve uygun bir şekilde muhafaza edildikten sonra dekoksilyon metoduyla 4 farklı ekstresi hazırlandı.

Çalışmaya konu olan *S. leptoclada* bitkisinin toprak üstü kısmının ekstre örneklerinin antioksidan aktivitesi test edildi. Genelde bitkinin toprak üstü kısmının EtOAc ekstresi antioksidan aktivite testlerinde en aktif sonuçlar verdiği rastlandı. Literatür taramasında *Sideritis* cinslerinin tıbbi özelliğine rastlanmaktadır. Çalışmamızda, *Sideritis* cinsine ait *S. leptoclada* türü ile ilgili elde edilen bulgular doğrultusunda *S. leptoclada* bitkisinde yeni fitoterapik ürün olarak hazırlanabilecek droglar preparatların (majstral, ofisinal ve müstahzar) olması yönünden umut verici bir bitki türü olmuştur.

- activities of essential oils of two *Sideritis* species from Turkey”, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 18, pp. 903-913, 2019.
- [18] C- G. Ayşegül, H. P. J., D. H. Ç. Maksut, Ş. P. “Antioxidant Activity Studies on Selected *Sideritis*. Species Native to Turkey”, *Pharmaceutical Biology*, vol. 43, pp. 173-177, 2005.

KAYNAKLAR

- [1] M. R. Mill, In *Flora of Turkey and East Aegean Islands: Sideritis L.*; vol. 1, Davis, P.H., Ed.; *Edinburg University Press*: Edinburg, p. 193, 1982.
- [2] N. Aligiannis, E. Kalpoutzakis, I. B. Chinou and S. Mitakou, Composition and antimicrobial activity of the essential oils of five taxa of *Sideritis* from Greece. *J. Agr. Food Chem.*, vol. 49, pp. 811-5, 2001.
- [3] M. Özcan, J.C. Chalchat and A. Akgül, Essential oil composition of Turkish mountain tea (*Sideritis* spp.). *Food Chem.*, vol. 75, pp. 459-63, 2007.
- [4] I. Aslan, T. Kılıç, A.C. Gören and G. Topçu, Toxicity of acetone extract of *Sideritis trojana* and 7-epicandicandiol, 7-epicandicandiol diacetate and 18-acetylsideroxol against stored pests *Acanthoscelides obtectus* (Say), *Sitophilus granarius* (L.) and *Ephestia kuehniella* (Zell.). *Ind. Crop. Prod.*, vol. 23, pp. 171-6, 2006.
- [5] G. Honda, E. Yeşilada, M. Tabata, E. Sezik, T. Fijuta, Y. Takeda, Y. Takaishi and T. Tanaka, Traditional medicine in Turkey. VI. Folk medicine in west Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. *J. Ethnopharmacol.*, vol. 53, pp. 75-87, 1996.
- [6] G. Topçu and A.C. Gören, Biological activity of diterpenoids isolated from Anatolian Lamiaceae plants. *Rec. Nat. Prod.*, vol. 1, pp. 1-17, 2007.
- [7] N. Ezer, R. Vila, S. Canigüeral and T. Adzet, Essential oil composition of four Turkish species of *Sideritis*. *Phytochemistry*, vol. 41, pp. 203-5, 1996.
- [8] E. Küpeli, F. P. Şahin, I. Çalış, E. Yeşilada and N. Ezer, Phenolic compounds of *Sideritis ozturkii* and their *in vivo* anti-inflammatory and antinociceptive activities. *J. Ethnopharmacol.*, vol. 112, pp. 356-60, 2007.
- [9] A. Armata, C. Gabrieli, A. Termentzi, M. Zervou and E. Kokkalou, Constituents of *Sideritis syriaca*. ssp. *syriaca* (Lamiaceae) and their antioxidant activity. *Food Chem.* vol. 111, pp. 179-86, 2008.
- [10] V. M. Tadic, S. Djordjevic, S. Arsic, K. Nikolic, N. Gligorijevic, S. Radulovic and G. Markovic, Cytotoxic activity and antioxidative properties of *Sideritis scardica* extracts. *Planta Med.*, vol. 74, pp. 990, 2008.
- [11] Miller, H.M, A simplified method for the evaluation of antioxidants. *J Am Oil Chem Soc*, vol. 48, pp. 91, 1971.
- [12] Blois, M.S, “Antioxidant determinations by the use of a stable free radical”, *Nature*, vol.181, pp. 1199-1200, 1958.
- [13] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C, “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay”, *Free Rad Bio Med*, vol. 26, pp. 1231-1237, 1989.
- [14] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir SE, “Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method”, *J Agric Food Chem*, vol. 52, pp. 7970-7981, 2004.
- [15] D-D. Ebru, T. Ç. Gülsen, D. Mehmet Emin, Ö. Mehmet, “Phytochemical contents, antioxidant effects, and inhibitory activities of key enzymes associated with Alzheimer's disease, ulcer, and skin disorders of *Sideritis albiflora* and *Sideritis leptoclada*”, *J Food Biochem*, doi: 10.1111/jfbc.13078 2019.
- [16] A-A. K. Hülya, Ö. Ü. Raziye, N. Mahmure, T. Leman, “Antioxidant activities of endemic *sideritis leptoclada* and *mentha dumetorum* aqueous extracts used in turkey folk medicine”, *Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 33, pp. 285-295, 2009.
- [17] B- D. Ebru, T. Ç. Gülsen, U. Özlem, D. Mehmet Emin, “Chemical composition, antioxidant, anticholinesterase and antityrosinase