

Stachys Macrantha (K.Koch) Stearn'ın Biyolojik Aktivitesinin Belirlenmesi

Kadriye ÖZCAN^{1*}, Tuba ACET²

¹Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Giresun Üniversitesi, Giresun, 28200, Türkiye

²Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gümüşhane Üniversitesi, 29100, Gümüşhane, Türkiye
(ORCID: [0000-0002-4913-6035](https://orcid.org/0000-0002-4913-6035)) (ORCID: [0000-0002-0981-9413](https://orcid.org/0000-0002-0981-9413))



Anahtar Kelimeler:
Antioksidan, Biyolojik aktivite, Fenolik içerik, *Stachys macrantha*.

Öz

Stachys, Lamiaceae familyasının en geniş yayılış gösteren cinslerinden birisidir. Bu cinse ait türler biyolojik aktiviteleri ve etnomedikal kullanımları ile bilinmektedir. Bu çalışmada, *Stachys macrantha*'nın toprak üstü kısımlarının farklı çözücülerle (etanol, metanol ve etil asetat) elde edilen ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid içeriği ile antioksidan (ABTS, DPPH) ve enzim inhibisyon (α -amilaz, α -glukozidaz, bütirilkolinesteraz ve asetilkolinesteraz) aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle araştırılmıştır. Ayrıca, fenolik bileşen analizi HPLC ile analiz edilmiştir. Bulgulara göre, metanol ekstraktının diğer ekstraktlara kıyasla biyolojik aktivitelerinin dikkat çekici olduğu bulunmuştur. Ekstraktın, toplam fenolik (45.57 mg GAE/g ekstrakt) ve flavonoid (54.48 mg QE/g ekstrakt) içeriği, antioksidan özellikleri [ABTS (49.99 mg TE/g ekstrakt), DPPH (23.62 mg TE/g ekstrakt)] ile enzim inhibisyon aktiviteleri [α -amilaz (159.35 mmol ACE/g ekstrakt), α -glukozidaz (8.78 mmol ACE/g ekstrakt), bütirilkolinesteraz (5.85 mmol ACE/g ekstrakt) ve asetilkolinesteraz (1.25mmol ACE/g ekstrakt)] belirlenmiştir. Metanol ekstraktının majör fenolik bileşenlerinin kaemferol (539.65 μ g/g ekstrakt) ve kuersetin (271.65 μ g/g ekstrakt) olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, bitkinin tespit edilen aktiviteleri sayesinde ilaç, gıda ve kozmetik endüstrilerinde kullanılma potansiyeli olduğu söylenebilir. Bununla birlikte, söz konusu verilerin daha ileri çalışmalarla desteklenmesi ve aktif bileşenlerin saflaştırılarak etkilerinin in vivo ortamlarda belirlenmesi gerekmektedir.

Determining of Biological Activity of *Stachys macrantha* (K.Koch) Stearn

Keywords: Antioxidant, Biological activity, Phenolic content, *Stachys macrantha*.

Abstract

Stachys is one of the most widely distributed genera of the Lamiaceae family. Species of this genus are known for their biological activities and ethnomedical uses. In this study, the total phenolic and flavonoid content, antioxidant (ABTS, DPPH) and enzyme inhibition activities (α -amylase, α -glucosidase, butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase) of the extracts of the aerial parts of *Stachys macrantha* obtained with different solvents (ethanol, methanol and ethyl acetate) were investigated by spectrophotometric methods. In addition, phenolic component analysis was analyzed by HPLC. According to the findings, the biological activities of the methanol extract were found to be remarkable compared to other extracts. Total phenolic (45.57 mg GAE/g extract) and flavonoid (54.48 mg QE/g extract) content, antioxidant properties [ABTS (49.99 mg TE/g extract),

*Sorumlu yazar: kadriye.ozcan@giresun.edu.tr

Geliş Tarihi: 29.09.2021, Kabul Tarihi: 25.11.2021

DPPH (23.62 mg TE/g extract)] and enzyme inhibition activities [α -amylase (159.35 mmol ACE/g extract), α -glucosidase (8.78 mmol ACE/g extract), butyrylcholinesterase (5.85 mmol ACE/g extract), and acetylcholinesterase (1.25 mmol ACE/g extract)] of the extract were determined. The major phenolic components of the methanol extract were determined to be kaempferol (539.65 μ g/g extract) and quercetin (271.65 μ g/g extract). According to the results obtained, it can be said that the plant has the potential to be used in the pharmaceutical, food and cosmetics industries thanks to the detected activities. However, these data need to be supported by further studies and the effects of the active ingredients should be purified and their effects should be determined *in vivo*.

1.Giriş

Stachys L. cinsi, yaklaşık olarak 300 türden oluşan, Lamiaceae familyasının en geniş cinslerinden biridir ve Akdeniz'in sıcak ılıman bölgeleri ile Güney Batı Asya'da yayılış göstermektedir. Türkiye'de yetişen 82 türün (107 taxa) 50'ye yakını endemiktir [1]. *Stachys* cinsi ülkemizde çeşitli rahatsızlıkların hafifletilmesi amacıyla geleneksel halk tıbbında yaygın olarak kullanılmaktadır [2]. Bununla birlikte literatürde *Stachys* cinsinin, sindirim bozuklukları (karın ağrıları, karın ağrısı), ateş, soğuk algınlığı, grip, menstrüel bozukluklar, gut, baş dönmesi, kramplar, dalak yaraları, enfeksiyon, skleroz, ülserler ve genital tümörlerin yanı sıra mukusu eritmek, öksürüğü gidermek ve astım, romatizmal, inflamatuvar ve nöropati hastalıklarının semptomlarını hafifletmek için kullanıldığı rapor edilmiştir [3-5]. Ayrıca, *Stachys* türlerinin flavonoidler, iridoidler, yağ asitleri ve fenolik asitler gibi biyolojik aktivitelerinden sorumlu olan sekonder metabolitlere sahip olduğu bildirilmiştir [6,7].

Literatürde *Stachys* türleri üzerine yapılmış pek çok çalışma olmasına rağmen [8-10] coğrafi ve iklim şartları bakımından farklılıklar gösteren, Türkiye'de özel ve zengin bir floraya sahip olan Gümüşhane ili yüksek kesimlerinden toplanan *Stachys* türleri hakkında her hangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bilindiği üzere, bitkiler zorlu koşullar altında hayatta kalabilmek için sekonder metabolitlerin miktarını veya kompozisyonlarını artırmaktadır [11]. Bu da onların farmasötik açıdan daha değerli hale gelmelerine neden olmaktadır. Yani, bitkilerin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılabilmesi, günümüzde modern tıbbın önerdiği sentetik ilaçlara göre doğal ve güvenli bir alternatif yol olarak görülmektedir. Günümüzde yaşam biçimindeki değişimler, hem mikrobiyal salgınların artmasına, hem de strese bağlı olarak oluşan reaktif oksijen

türlerinin neden olduğu metabolizmal rahatsızlıkların (diyabet, alzemier gibi) artmasına neden olmuştur [12]. Dolayısıyla, hem antioksidan hem de enzim inhibisyon özellikler ihtiva eden doğal ajanların araştırılması ve insanlığın kullanımına sunulması giderek daha da önem kazanmıştır. Bu bağlamda dağ çayı olarak da bilinen *Stachys macrantha* bitkisinin önemli bir potansiyele sahip olabileceği düşünülmektedir.

Bütün bu bilgiler ışığında, mevcut çalışma ile 2000 m yükseklikten toplanan ve yerel halk tarafından sıklıkla tüketilen *Stachys macrantha*'nın toprak üstü kısımlarının farklı çözücülerle ekstraksiyonlarının yapılması ve elde edilen ekstraktların antioksidan (ABTS, DPPH) ve enzim inhibisyonu (α -amilaz, α -glukozidaz, bütirikolinesteraz ve asetilkolinesteraz) gibi biyolojik aktivitelerin ortaya çıkarılması; bununla birlikte fenolik içeriğinin HPLC ile aydınlatılarak söz konusu aktivitelerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2.1. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Bitki materyali Gümüşhane ilinin 2000 m yüksekliğindeki tepelerinden çiçeklenme döneminde temin edilmiştir. Gölgede oda sıcaklığında kurutulan bitki toprak üstü kısımları öğütücüden geçirilerek toz formuna getirilmiştir. Ekstraksiyon için etanol, metanol ve etil asetat çözücülerini kullanılmıştır. Bunun için, 10 g bitki tozu tartılarak 200 mL çözücü içerisine eklenmiş ve çalkalamalı su banyosunda (Nüve) 37°C sıcaklıkta 125 rpm'de 24 saat süresince çalkalanmıştır. Bu işlemin ardından bitki kısımları teknik filtre kağıdından geçirilmiş ve çözücü vakumlu rotary evaporatör (Heidolf) (37°C'yi aşmayan sıcaklıkta) vasıtasıyla uzaklaştırılmıştır. Ardından elde edilen ekstraktlar sonraki analizlerde kullanılmak üzere -20°C'ye kaldırılmıştır.

2.2. Toplam Fenolik Madde Tayini

Ekstraktların toplam fenolik içeriği 96 kuyucuklu mikropalakalarda kolorimetrik olarak belirlenmiştir [13]. Ölçümler mikropalaka okuyucu (Biorad) ile 750 nm dalga boyunda yapılmıştır. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g ekstrakt) olarak hesaplanmıştır.

2.3. Toplam Flavanoid Madde Tayini

Ekstraktların, toplam flavonoid madde miktarı, mikropalakalarda spektrofotometrik olarak belirlenmiştir [14]. Ölçümler mikropalaka okuyucu (Biorad) ile 415 nm dalga boyunda yapılmıştır. Sonuçlar kuersetin eşdeğeri olarak (mg QE/g ekstrakt) hesaplanmıştır.

2.4. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizler (Fenolik ve Flavanoid Bileşenlerinin Belirlenmesi)

Toplam fenolik madde içeriği en yüksek ekstrakt olan metanol ekstraktının fenolik ve flavanoid bileşen analizleri [15] gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşenler: kafeik asit, klorojenik asit, *p*-kumarik asit, 2,4-dihidroksibenzoik asit, ellajik asit, ferulik asit, gallik asit, gentistik asit, protokatekuik asit, salisilik asit, sinapinik asit ve vanilik asit gibi standartlar kullanılarak; flavanoid bileşenler ise: kateşin, epikateşin, izoramnetin, kaemferol, mirisetin, naringin, kuersetin, ramnetin ve rutin gibi standartlar kullanılarak tespit edilmiştir. Elde edilen miktarlar $\mu\text{g/g}$ ekstrakt olarak verilmiştir.

2.5. Antioksidan Aktivite Tayinleri

2.5.1. ABTS Metodu

Ekstraktların antioksidan özellikleri mikropalakalar kullanılarak kolorimetrik ölçüm ile tespit edilmiştir [16]. 750 nm dalga boyunda ölçümü yapılmış olan sonuçlar troloks eşdeğeri (mg TE/g ekstrakt) olarak verilmiştir.

2.5.2. DPPH Metodu

Ekstraktların radikal süpürme kapasitesi mikropalakalar kullanılarak kolorimetrik olarak 490 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir

[15]. Elde edilen sonuçlar troloks eşdeğeri (mg TE/g ekstrakt) olarak verilmiştir.

2.6. Enzim İnhibisyon Aktivitelerinin Belirlenmesi (α -amilaz, α -glukozidaz, bütirilkinesteraz ve asetilkolinesteraz)

Ekstraktların α -glukozidaz, α -amilaz, bütirilkinesteraz ve asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktiviteleri [15]'e göre belirlenmiştir. Absorbans değerleri sırasıyla 400 nm ve 630 nm'de okunmuş ve sonuçlar, her iki yöntem için akarboz eşdeğeri (mmol ACE/g ekstrakt) olarak belirtilmiştir.

2.7. İstatistiksel Analizler

Tüm deneyler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar SPSS programında, One-way ANOVA ile hesaplanmıştır. Duncan'ın çoklu sıra testleri ile önemli farklılıklar belirlenmiştir ve farklı harfler değerler arasındaki farkın anlamlı ($p < 0.05$) olduğunu ifade etmek için kullanılmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1 Toplam Biyoaktif Bileşenler

Çalışmada *Stachys macrantha* toprak üstü kısmının farklı çözücüler (etanol, metanol ve etil asetat ile ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktların öncelikle toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriği spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. Yapılan analizde metanol ekstraktının diğer ekstraktlara nazaran toplam fenolik ve flavonoid içeriği yüksek bulunmuştur. *S. cretica* subsp. *vacillans* ve *S. iberica* metanol ekstraktlarının toplam fenolik içeriği sırasıyla 57.65 mg GAE/g ekstrakt ve 44.01 mg GAE/g ekstrakt, flavonoid içerikleri ise 40.24 mg QE/g ekstrakt ve 5.97 mg QE/g ekstrakt olarak bildirilmiştir [16,17]. Diğer taraftan, *Stachys cretica* subsp. *kutahyensis*'in biyolojik aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada [23], metanol ekstraktlarının toplam fenolik içeriği 41.17 mg GAE/g ekstrakt ve flavonoid içeriği ise 40.24 mg QE/g ekstrakt olarak rapor edilmiştir. Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, mevcut çalışmada elde edilen bulguların literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Tablo 1. *Stachys macrantha* ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid miktarı

	Total Fenolik (mg GAE/g ekstrakt)	Total Flavonoid (mg QE/g ekstrakt)
Etanol	44.92±2.5 ^a	27.81±1.4 ^c
Metanol	45.57±1.5 ^a	54.48±0.9 ^a
Etil asetat	37.21±1.6 ^b	44.49±1.2 ^b

± standart sapma, üç analizin ortalamasını göstermektedir. Sütunlardaki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı istatistiksel farklılıklara işaret etmektedir ($p<0.05$).

3.2 Antioksidan Özellikler

Ekstraktların serbest radikal giderimi özellikleri ABTS ve DPPH radikali üzerinden kolorimetrik yöntemlerle belirlenmiş ve sonuçlar troloks eşdeğerliği olarak hesaplanmıştır (Tablo 2). Metanol ekstraktı serbest radikal giderimi bakımından hem ABTS hem de DPPH metodunda en yüksek aktiviteyi sergilemiştir. Sonuçlara göre antioksidan aktivite ile toplam fenolik ve flavonoid içerik uyumlu olarak metanol ekstraktında yüksek tespit edilmiştir.

Antioksidan özelliklerin araştırıldığı benzer çalışmalarda, *Stachys cretica* subsp. *mersinaea*'nın DPPH metoduna göre serbest radikal süpürücü aktivitesi 151.64 mg TE/g ekstrakt iken; ABTS aktivitesi 292.67 mg TE/g ekstrakt olarak bulunmuştur [3]. Diğer taraftan, *S. cretica* subsp. *vacillans*'ın ABTS aktivitesi 213.93 mg TE/g ekstrakt iken, DPPH aktivitesi 191.47 mg TE/g ekstrakt olarak rapor edilmiştir [16]. Bununla birlikte, *S. cretica* subsp. *kutahyensis* ABTS aktivitesi 175.75 mg TE/g ekstrakt iken, DPPH aktivitesi 166.34 mg TE/g ekstrakt olarak rapor edilmiştir [23]. Bu sonuçlarla kıyaslandığında, elde edilen bulguların literatüre göre daha düşük olduğu görülmüştür. Bu farklılıkların ekstraksiyon metodlarından veya deneylerin yapıldığı ortamlardan (ışıkta fazla etkilenen kolorimetrik yöntemlerden) kaynaklanması muhtemeldir.

Tablo 2. *Stachys macrantha* ekstraktlarının antioksidan kapasite özellikleri

	ABTS (mg TE/g ekstrakt)	DPPH (mg TE/g ekstrakt)
Etanol	42.78±0.6 ^b	23.26±0.2 ^b
Metanol	49.99±1.6 ^a	23.62±0.1 ^a
Etil asetat	22.12 ±0.3 ^c	18.45±0.2 ^c

± standart sapma, üç analizin ortalamasını göstermektedir. Sütunlardaki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı istatistiksel farklılıklara işaret etmektedir ($p<0.05$).

3.3 Enzim İnhibisyon Aktivitesi

Ekstraktların diyabetle alakalı enzimler (α -amilaz ve α -glukosidaz enzimleri) üzerine inhibisyon aktivitesi incelenmiş ve sonuçlar akarboz eşdeğerliği olarak hesaplanmıştır (Tablo 3). Ayrıca, Alzheimer hastalığı ile bağlantılı kolinesterazların (asetilkolinesteraz ve bütirilkinesteraz enzimleri) ekstraktlar tarafından inhibisyonu araştırılmış ve sonuçlar galantamin eşdeğerliği olarak hesaplanmıştır (Tablo 3). Metanol ekstraktının araştırılan tüm enzimlere karşı inhibisyon aktivitesi diğer ekstraktlardan yüksek bulunmuştur. Ayrıca sonuçlar literatüre uyumluluk sergilemiştir. Pek çok yakın türlerle ilgili çalışmalarda da metanol ekstraktlarının enzim inhibisyon aktivitesi yüksek bulunmuştur. Enzim inhibisyonunun incelendiği çalışmalarda amilaz inhibisyonu *S. cretica* subsp. *vacillans* (433.99mg ACE/g ekstrakt) [16] *S. cretica* subsp. *kutahyensis* (418.64 mg ACE/g ekstrakt) [23] ve *S. cretica* subsp. *mersinaea* (315.48 mg ACE/g ekstrakt) [3], glikosidaz inhibisyonu; *S. cretica* subsp. *mersinaea* (734.47 mg ACE/g ekstrakt) [3] ve asetilkolinesteraz inhibisyonu; *S. cretica* subsp. *mersinaea* (2.03 mg GAE/g ekstrakt) [3] metanol ekstraktında rapor edilmiştir.

3.4 Fenolik Bileşen Analizi

Metanol ekstraktının tüm denemelerde diğer ekstraktlardan daha iyi sonuç vermesi sebebiyle HPLC ile fenolik bileşen analizi gerçekleştirilmiştir. Ekstrakt, 21 standart fenolik bileşik bakımından taranmış ve 12 fenolik bileşik tespit edilmiştir (Tablo 4-5). Bunlardan en fazla bulunanı kaempferol (539.65 µg/g) ve kuersetindir (271.65 µg/g). Kaempferol, glikozit formunda olan ve bitkilerde en çok karşılaşılan flavonoidlerden bir tanesidir [18]. Bu bileşiğin, tohumlar, yapraklar, meyveler, çiçekler ve hatta sebzeler gibi çeşitli bitki kısımlarında bulunduğu bilinmektedir ve literatürde kardiyoprotektif, nöroprotektif, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antioksidan, antimikrobiyal, antitümör ve antikanser olmak üzere pek çok biyolojik aktiviteden sorumlu olduğu rapor edilmiştir [19,22,24]. Kuersetin, reaktif oksijen türlerini süpüren güçlü bir antioksidan bileşendir ve bu sayede oksidatif hasara bağlı oluşan pek rahatsızlığın tedavisinde kullanılmaktadır [20]. Bitkinin metanol ekstraktında bu iki bileşiğin diğer fenolik bileşiklerden fazlaca bulunması, tespit edilen aktivitelerin bu bileşiklerden kökenlendiğini düşündürmektedir. Bunun yanı sıra ekstraktta bulunan diğer minör bileşenler ve bunların birlikte oluşturduğu etkileşimler de mevcut aktiviteye katkı sağlamaktadır. *Stachys cretica* subsp. *mersinaea* metanol ekstraktının fenolik bileşen analizleri yapılmış ve en yüksek kuersetin (7740 µg/g ekstrakt) ile kaempferol (5280 µg/g ekstrakt) içerdiği tespit edilmiştir [3]. *S. tmolea* metanol ekstraktının majör bileşenlerinin verbaskosid (3169 µg/g dp) ve klorojenik asit (1120 µg/g dp) [4] olduğu tespit edilirken, üç *Stachys* türünün (*S. byzantina*, *S. inflata*, *S. lavandulifolia*) su ekstraktlarının majör bileşeni ise klorojenik asit olarak rapor edilmiştir [21]. Yakın türlerin fenolik bileşen içeriklerindeki bu değişimlerin, bitkilerin yetiştirme koşulları ve ekstraksiyon yöntemlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4. Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada Gümüşhane'den toplanan *Stachys macrantha*'nın farklı çözücülerle (etanol, metanol ve etil asetat) elde edilen ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid miktarları ile antioksidan ve enzim inhibisyon (α -amilaz, α -glukozidaz, bütirilkolinesteraz ve asetilkolinesteraz) aktiviteleri ve fenolik içeriği ilk defa

aydınlatılmıştır. Bulgulara göre, metanol ekstraktının diğer ekstraktlara göre daha yüksek aktivitelere sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bununla birlikte, ekstraktın ana fenolik bileşenlerinin kaempferol ve kuersetin olduğu tespit edilmiştir. *S. macrantha*'nın genel olarak kayda değer bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve enzim inhibisyon aktiviteleri sergilediği söylenebilir. Gözlenen aktivitelerin, bitkideki fenolik bileşenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu sonuçlar *Stachys* cinsinin Türkiye'de dağ çayı olarak geleneksel kullanımları ile uyumlu olmakla birlikte bitkinin ortaya çıkarılan biyolojik aktiviteleri sayesinde ilaç, gıda ve kozmetik endüstrilerinde kullanılma potansiyeli olduğu da söylenebilir. Bununla birlikte, söz konusu verilerin daha ileri çalışmalarla desteklenmesi ve aktif bileşenlerin saflaştırılarak etkilerinin *in vivo* denemelerle belirlenmesi gerekmektedir. Bu tür çalışmalar aynı zamanda ülkemizin zengin florasının tanıtılmasına katkı sağlamaktadır. Bu da biyoçeşitliliğin korunmasında farkındalık oluşturması bakımından önemlidir.

Tablo 3. *Stachys macrantha* ekstraktlarının enzim inhibisyon aktiviteleri

Ekstraktlar	α -amilaz (mmol ACE/g ekstrakt)	α - glukozidaz (mmol ACE/g ekstrakt)	Bütiril Kolinesteraz (mg GALE/g ekstrakt)	Asetil kolinesteraz (mg GALE/g ekstrakt)
Etanol	142.62±2.1 ^c	6.50±0.14 ^c	3.56±0.03 ^b	0.5±0.01 ^b
Metanol	159.35±1.2 ^a	8.78±0.12 ^a	5.85±0.08 ^a	1.25±0.01 ^a
Etil asetat	146.76±1.0 ^b	6.79±0.05 ^b	2.45±0.01 ^c	te

± standart sapma, üç analizin ortalamasını göstermektedir. Sütunlardaki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı istatistiksel farklılıklara işaret etmektedir ($p<0.05$). te: tespit edilemedi.

Tablo 4. *Stachys macrantha* metanol ekstraktının HPLC ile belirlenen flavonoid miktarları

No.	Flavonoidler	Miktar ($\mu\text{g/g}$ ekstrakt)
1	Kateşin	1.93 \pm 0.015
2	Epikateşin	te
3	Izoramnetin	te
4	Kaemferol	539.65 \pm 0.163
5	Mirisetin	te
6	Naringin	25.88 \pm 0.076
7	Kuersetin	271.65 \pm 1.594
8	Ramnetin	te
9	Rutin	17.85 \pm 0.145

\pm standart sapma, üç analizin ortalamasını göstermektedir. te: tespit edilemedi

Tablo 5. *Stachys macrantha* metanol ekstraktının HPLC ile belirlenen fenolik asit miktarları

No.	Fenolik asitler	Miktar ($\mu\text{g/g}$ ekstrakt)
1	Kafeik asit	te
2	Klorojenik asit	te
3	<i>p</i> -Koumarik asit	te
4	2,4-Dihidroksibenzoik asit	6.48 \pm 0.107
5	Ellajik asit	te
6	Ferulik asit	1.78 \pm 0.026
7	Gallik asit	49.0 \pm 0.045
8	Gentistik asit	28.63 \pm 0.097
9	Protokatekuik asit	57.90 \pm 0.152
10	Salisilik asit	6.40 \pm 0.026
11	Sinapinik asit	te
12	Vanilik asit	2.48 \pm 0.010

\pm standart sapma, üç analizin ortalamasını göstermektedir. te: tespit edilemedi

Teşekkür

Bu çalışma Gümüşhane Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Destekleme Birimi'nin "16.F5119.02.01 kodlu GÜBAP Projesi" tarafından desteklenmiştir.

Yazarların Katkısı

Yazarlar çalışmanın yürütülmesinde ve yazım aşamasında ortak katkıda bulunmuştur.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Araştırma ve Yayın Etiği Beyanı

Yapılan çalışmada araştırma ve yayın etiğine uyulmuştur.

Kaynaklar

- [1] E. Akçiçek, “A new subspecies of *Stachys cretica* (section Eriostomum, Lamiaceae) from Turkey,” *Turk J Botany*, vol. 34, pp. 131-136, 2010.
- [2] P.G. Rasgele and G. Dulger, “Chemical Compositions and Antimutagenic Effects of Ethanolic Extracts of *Stachys thirkei* and *Stachys annua* subsp. *Annua* Using the Ames Assay,” *Pharm. Chem. J.*, vol. 54, pp.1255-1262, 2021.
- [3] M.B. Bahadori, B. Kirkan, and C. Sarikurkcü, “Phenolic ingredients and therapeutic potential of *Stachys cretica* subsp. *smyrnaea*. for the management of oxidative stress, Alzheimer’s disease, hyperglycemia and melasma,” *Ind Crops Prod*, vol.127, pp. 82-87, 2019.
- [4] W. Elfalleh, B.Kirkan, and C. Sarikurkcü Antioxidant potential and phenolic composition of extracts from *Stachys tmolea*: An endemic plant from Turkey,” *Ind Crops Prod*, vol.127, pp. 212-216, 2019.
- [5] I. Bouasla *et al.*, “ Evaluation of solvent influence on phytochemical content and antioxidant activities of two Algerian endemic taxa: *Stachys marrubiifolia* Viv. and *Lamium flexuosum* Ten. (Lamiaceae),” *Eur. J. Integr. Med.*, vol. 42, pp. 1-12, 2020.
- [6] I. Çalis, A.A. Başaran, I. Saracoğlu, and O. Stcher, “Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Stachys macrantha*,” *Phytochemistry*, vol. 31, pp.167-169, 1992.
- [7] R. Tundis, L. Peruzzi and F. Menichini, “Phytochemical and biological studies of *Stachys* species in relation to chemotaxonomy: A review,” *Phytochemistry*, vol. 102, pp. 7-39, 2014.
- [8] C. Sarikurkcü, M.S. Kocak, M.C. Uren, M., Calapoglu, and A.S. Tepe, “Potential sources for the management global health problems and oxidative stress: *Stachys byzantine* and *S. iberica* subsp. *iberica* var. *densipilosa*,” *Eur. J. Integr. Med.*, vol. 504, pp 1-7, 2015.
- [9] V.B. Vundac, A.H. Brantner, and M. Plazibat, “Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys* taxa,” *Food Chem.*, vol.104, pp. 1277-1281, 2007.
- [10] S. Hazrati, K. Lotfi, M. Govahi and M.T. Ebadi, “A comparative study: Influence of various drying methods on essential oil components and biological properties of *Stachys lavandulifolia*,” *Food Sci. Nutr.*, vol. 9, pp. 2612–2619, 2021.
- [11] R. Akula and G.A. Ravishankar, “Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants,” *Plant Signal. Behav.*, vol. 6, no. 11, pp. 1720-1731, 2011.
- [12] M.V. Sharifi-Rad *et al.*, “Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases,” *Front. Physiol.*, vol. 11, pp. 694, 2020.
- [13] T. Acet, “Chemical profile, antioxidant, antimicrobial, and enzyme inhibition activities of *Pilosella hoppeana* subsp. *cilicica*,” *Plant Biosyst.*, 2021, DOI: 10.1080/11263504.2021.1894257
- [14] K., Özcan and T. Acet, “In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the five different solvent extracts of *Centaurea pulcherrima* var. *freyinii* from Turkey,” *Fresenius Environ. Bull.*, vol.27, no.6, pp. 4047-4051, 2018.
- [15] T. Acet, K. Özcan, and G. Zengin, “An assessment of phenolic profiles, fatty acid compositions, and biological activities of two *Helichrysum* species: *H. plicatum* and *H. chionophilum*,” *J. Food Biochem.*, vol. 44, pp. e13128, 2020.
- [16] B. Kirkan, “Antioxidant potential, enzyme inhibition activity, and phenolic profile of extracts from *Stachys cretica* subsp. *vacillans*,” *Ind Crops Prod*, vol. 140, pp. 111639, 2019.
- [17] B. Tepe, S. Degerli, S.Arslan, E. Malatyali, and C. Sarikurkcü, “Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antimicrobial activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*,” *Fitoterapia*, vol. 82, no. 2, pp. 237-246, 2011.
- [18] M. Imran *et al.*, “Kaempferol: A Key Emphasis to Its Anticancer Potential,” *Molecules*, vol. 24, no.12, pp. 2277, 2019.
- [19] J.M. Calderon-Montano, E. Burgos-Moron, C. Perez-Guerrero, and M. Lopez-Lazaro, “A review on the dietary flavonoid kaempferol,” *Mini Rev Med Chem*, vol. 11, pp. 298-344, 2011.
- [20] D. Xu, M.J. Hu, Y.Q., Wang, and Y.L. Cui, “Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application,” *Molecules*, vol. 24, no. 6, pp. 1123, 2019.

- [21] M.B., Bahadori, G. Zengin, L. Dinparast, and M. Eskandani, "The health benefits of three Hedgenettle herbal teas (*Stachys byzantina*, *Stachys inflata*, and *Stachys lavandulifolia*) - profiling phenolic and antioxidant activities," *Eur. J. Integr. Med.*, vol. 36, pp. 101134, 2020.
- [22] F. Olazarán-Santibañez *et al.*, "Antioxidant and Antiproliferative Activity of the Ethanolic Extract of *Equisetum myriochaetum* and Molecular Docking of Its Main Metabolites (Apigenin, Kaempferol, and Quercetin) on β -Tubulin," *Molecules*, vol. 26, pp. 443, 2021.
- [23] M.A. Benabderrahim, C. Sarikurkcü, W. Elfalleh, M.S. Ozer, and O. Ceylan, "Phenolic composition and biological activities of Turkish endemic plant: *Stachys cretica* subsp. *kutahyensis*," *S. Afr. J. Bot.*, vol. 138, pp. 124-128, 2021.
- [24] Y. Bian, "Kaempferol reduces obesity, prevents intestinal inflammation, and modulates gut microbiota in high-fat diet mice," *J. Nutr. Biochem.*, vol. 99, pp. 108840, 2022.