

Some Chemical and Biological Properties of *Verbascum tripolitanum* Growing in Hatay

Hatice DANAHALİLOĞLU^{1,*}, Yener TEKELİ², Yelda GÜZEL³

¹Chemistry Technology, Altınözü Agricultural Sciences Vocational School of Higher Education, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey

²Faculty of Pharmacy, Adıyaman University, Adıyaman, Turkey

³Department of Biology, Faculty of Science and Letters, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey

ORCID ID: Hatice DANAHALİLOĞLU: <https://orcid.org/0000-0002-5060-1205>; Yener TEKELİ: <https://orcid.org/0000-0003-1524-457X>; Yelda GÜZEL: <https://orcid.org/0000-0002-7975-3130>

Received: 30.07.2019

Accepted: 08.10.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: In this study, antioxidant and antimicrobial properties and fatty acid compositions of *Verbascum tripolitanum* were determined. Total phenolic contents were determined by Folin-Ciocalteu method. Antioxidant activity was tested with DPPH free radical scavenging assay, ferric ion reducing power (FRAP), cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC), and β -carotene-linoleic acid emulsion method. The antimicrobial effects of the *V. tripolitanum* were tested by the microdilution broth method against two gram-positive bacterias (*Staphylococcus aureus*, Methicillin-resistant *S. aureus*), two gram-negative bacterias (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*), and one kind of yeast (*Candida albicans*). The fatty acid compositions were determined by GC-FID.

Keywords: *Verbascum tripolitanum*, antioxidant, antimicrobial, fatty acid.

Hatay'da Yetişen *Verbascum tripolitanum*'un Bazı Kimyasal ve Biyolojik Özellikleri

Öz: Bu çalışmada, Hatay bölgesinde yetişen *Verbascum tripolitanum*'un antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri, yağ asitleri içeriği belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile tayin edilmiştir. Antioksidan aktivite DPPH serbest radikal süpürme yöntemi, Fe³⁺ indirgeme metodu (FRAP), bakır iyonu indirgeme metodu (CUPRAC), ve β -karoten-linoleik asit emülsiyon yöntemleri ile test edilmiştir. *V. tripolitanum*'un antimikrobiyal etkisi 2 gram pozitif bakteri (*Staphylococcus aureus*, metisiline dirençli *S. aureus*), 2 gram negatif bakteri (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) ve 1 maya türüne (*Candida albicans*) karşı mikrodilüsyon broth metodu ile analiz edilmiştir. Yağ asitleri analizi için GC-FID kullanılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Verbascum tripolitanum*, antioksidan, antimikrobiyal, yağ asitleri.

1. Giriş

Serbest radikaller lipidler, karbohidratlar, protein ve nükleik asitlerle etkileşerek hücre ve doku hasarının meydana gelmesine yol açarlar. Yapılan çalışmalarda serbest radikallerin birçok kanser türü başta olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar, kronik ve dejeneratif hastalıkların gelişmesine neden olduğu bildirilmiştir (Sarıkürkcü, Zengin, Aktümsek, Ceylan, & Şanda, 2015).

Fenolik bileşikler antioksidan aktivite dahil olmak üzere çeşitli biyolojik etkiye sahip olan ve bitkilerde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Meyvelerin, sebzelerin, tahılların ve diğer bitki materyallerinin ekstraktları fenolik bileşiklerce zengin olup lipidlerin oksidatif bozulmasını geciktirerek gıdanın kalitesini ve besin değerini artırurlar (Kahkönen et al. 1999). Bitkilerin antioksidan özellikleri sağlığın korunmasında, kanser, kalp ve damar hastalıklarının önlenmesindeki önemli rolü bilim insanları, gıda üreticileri ve tüketicilerin bu bitkilere olan ilgisini artırmaktadır. Sentetik antioksidan ve koruyucuların yerine kullanılacak, özellikle bitkisel materyallerden doğal antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin elde edilmesi üzerinde yoğun bir ilgi oluşmuştur (Faydaoğlu & Sürücüoğlu, 2013).

Verbascum cinsine ait türler de, geleneksel tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerdendir. Anadolu'da çok yaygın olarak yetişen *Verbascum* türleri halk arasında balgam söktürücü ve göğüs yumuşatıcı

olarak kullanılmaktadır. *Verbascum* türlerinin saponin, iridoid ve feniletanoid glikozitleri, monoterpen glikozitler, neolignan glikozitler, flavonoidler, steroidler ve spermin alkaloidler içerdiği belirlenmiştir (Tatlı & Akdemir, 2004). *Verbascum* türlerinin ekstraktları, dekoksion ve infüzyonları tüm dünyada ilk çağlardan beri geleneksel tıpta tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır (Küpeli, Tatlı, Akdemir, & Yeşilada, 2007). Türk geleneksel tedavi yöntemlerinde de *Verbascum* çiçek ve yaprakları ekspektoran, mukolitik, sedatif, diüretik olarak ve bronşit, kuru öksürük, tüberküloz ve astım gibi solunum yolu hastalıklarında tedavi edici olarak kullanılmaktadır (Kozan, Çankaya, Kahraman, Akkol, & Akdemir, 2011).

Bu çalışmada Hatay/Antakya Döver Köyü makilikten toplanan *V. tripolitanum*'un antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra yağ asidi kompozisyonu belirlenmiştir. Antioksidan aktivite testlerinde BHA (Bütillenmiş hidroksianisol) BHT (Bütillenmiş hidroksitoluen) gibi sentetik antioksidan bileşikler karşılaştırma amacıyla kullanılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. *V. tripolitanum*

Çalışmada kullanılan *V. tripolitanum* bitkisi (Şekil 1) Mustafa Kemal Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Yelda GÜZEL tarafından Hatay/Antakya Döver Köyü makiliğinden toplanarak tanımlanmıştır.

*Corresponding author: hakaradeniz@gmail.com

2.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

2.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Toplam fenolik madde miktarı Folin metoduna göre belirlenmiştir (Blainski, Lopes, & Mello, 2013). *V. tripolitanum* ekstre çözeltisi (0.4 mg/ml, 0.25 ml), Folin reaktifi (%10'luk 1.25 ml) ve Na₂CO₃ çözeltisi (%10'luk 3.75 ml) karıştırıldıktan sonra karanlıkta 2 saat inkübe edilen çözeltilerin spektrofotometrede 765 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Aynı işlemler gallik asit (0.4-0.125 mg/ml) için de yapılmıştır. Sonuç 1 gram ekstredeki mg GAE (gallik asit eşdeğeri) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 1. *V. tripolitanum*. Fotoğraf, Doç. Dr. Yelda GÜZEL tarafından çekilmiştir.

2.2.2. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Etkisi

Radikal süpürme aktivitesi Brand, Williams, Cuvelier, & Berset, 1995 metoduna göre belirlenmiştir. *V. tripolitanum* ekstre çözeltilerinin (0.4-0.025 mg/ml, 1.25 ml) üzerine DPPH çözeltisi (6x10⁻⁵ M, 3.75 ml) ilave edildikten sonra karanlıkta 30 dakika bekletilerek spektrofotometrede 517 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Aynı işlemler karşılaştırma amacıyla kullanılan BHA ve BHT çözeltileri (0.4-0.025 mg/ml, 1.25 ml) için de yapılmıştır. % inhibisyon değerleri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$I (\%) = (A_0 - A_{\text{numune}} / A_0) \times 100$$

2.2.3. Bakır İyonu İndirgeme Metodu (CUPRAC)

CuCl₂ (1ml, 1x10⁻² M), neokuproin (1 ml 7.5x10⁻³ M) ve amonyum asetat tamponu (1 ml) karıştırılarak toplam hacim 4.1 ml olacak şekilde x ml ekstre çözeltisi ve (1,1-x) ml su ilave edilmiştir. Aynı işlemler 1.0x10⁻³ M Troloks çözeltisi (50-250 µL) içeren tüplere de uygulanarak toplam hacim 4.1 ml olacak şekilde su ve reaktifler ilave edilmiştir. Yarım saat bekletildikten sonra reaktifleri içeren köre karşı 450 nm'de absorbanslar ölçülmüştür. Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi örnek absorbansının Troloksun molar absorplama katsayısına ($\epsilon=1.67 \times 10^4$ L mol⁻¹cm⁻¹)

bölünmesi suretiyle hesaplanmıştır (Güçlü, Altun, Özyürek, Karademir, & Apak, 2006).

2.2.4. Fe İndirgeme Gücü (FRAP)

Bu yöntemde, antioksidanlar tarafından indirgenen Fe(CN)₆⁻³ Fe(CN)₆⁻⁴e dönüşür ve Fe³⁺ ile Fe[Fe(CN)₆]⁻ kompleksini oluşturur (Hou et al., 2012). *V. tripolitanum* ekstresinin çözeltisi (0.4-0.025 mg/ml, 2.5 ml), fosfat tamponu (0.2 M, 2.5 ml) ve potasyum ferrisyonür çözeltisi (%1'lik 1 ml) karıştırılarak 20 dakika 50°'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra trikloroasetik asit çözeltisi (%10'luk, 2.5 ml) eklenerek santrifüj edilmiş (3000 rpm, 10 dakika), üst fazdan 2.5 ml alınarak 2.5 ml deiyonize su ve %1'lik FeCl₃ çözeltisi eklendikten sonra oluşan yeşil renkli çözeltilerin 700 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Standart olarak kullanılan askorbik asit ve karşılaştırma için BHA ve BHT kullanılmıştır (Oyaizu, 1986).

2.2.5. β- Karoten- Lineolik Asit Emülsiyon Yöntemi

β-karoten-linoleik asit emülsiyon çözeltisi hazırlamak için β- karoten (0.2 mg), kloroformda (1 ml) çözülerek linoleik asit çözeltisi (%60. 0.02 ml) ve Tween 40 (200 mg) ilave edilmiştir. Vakumda kloroform uzaklaştırıldıktan sonra deiyonize suda (100 ml oksijenle doyurulmuş) çözülmüştür. *V. tripolitanum* ekstre çözeltisine (2 mg/ml, 0.2 ml) 4.8 ml β-karoten-linoleik asit emülsiyon çözeltisi eklendikten sonra 470 nm'de absorbansı okunarak (A₀) 50°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Bundan sonra 15 dakika aralıklarla 2 saat süresince absorbanslar okunmuştur (A_t). Bu absorbanslardan faydalanılarak absorbans değişim oranı (AO) ve % oksidasyonu engelleme katsayıları hesaplanmıştır. Kontrol çözeltisi olarak metanol, karşılaştırma çözeltisi olarak BHA ve BHT kullanılmıştır (Kaur & Kapoor, 2002).

$$\text{Absorbans değişim oranı (AO)} = \frac{\ln (A_0 / A_t)}{t}$$

A₀ = t₀ anındaki absorbans

A_t = tanındaki absorbans (t= 120 dk)

$$\% \text{ Oksidasyonu engelleme} = \frac{[AO_{(\text{kontrol})} - AO_{(\text{numune})}]}{AO_{(\text{kontrol})}} \times 100$$

2.3. Antimikrobiyal Aktivite Belirlenmesi

Kullanılan mikroorganizmalar Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarından temin edilmiştir.

V. tripolitanum'un antimikrobiyal etkisi mikrodilüsyon broth yöntemi ile minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri bulunarak test edilmiştir. Kullanılan mikroorganizmalar *S. aureus*, metisiline dirençli *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *C. albicans*'tır.

2.4. Yağ Asitleri Bileşiminin Analizi

2.4.1. Bitkilerden Yağ Ekstraksiyonu

20 gram bitki toz haline getirilerek sokslet kartuşuna alınmıştır. Hekzan ile 12 saat süresince sokslet ekstraksiyonu yapılmıştır. Evaporatörde vakumda hekzan uzaklaştırıldıktan sonra balonda kalan kısım *V.*

tripolitanum'un yağ asitlerini belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

2.4.2. Yağ Asitlerinin Esterleştirilmesi

0.2 g yağ üzerine metanollü NaOH çözeltisi (4 ml %2' lik) ilave edildikten sonra su banyosunda 10 dakika sabunlaşma oluncaya kadar kaynatılmıştır. Sabunlaşma sonunda BF₃-metanol kompleksi (5 ml %14'lük) eklenerek 5 dakika daha kaynatıldıktan sonra 2 ml n- heptan ilave edilmiştir. Tüm bunlar bir dakika daha kaynatıldıktan sonra, üzerine 4 ml doygun NaCl çözeltisi eklenmiştir. Ayırma hunisinde fazlar ayrıldıktan sonra üstteki açık sarı renkli faz yağ asitleri analizi için kullanılmıştır.

2.4.3. Yağ Asitleri Analizi

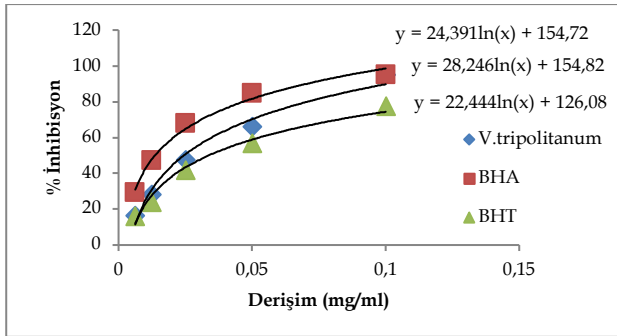
Analizler, Thermo marka, Focus GC model, FID (Flame Ion Dedector) dedektörlü GC (Gaz Kromatografi) ile gerçekleştirilmiştir. Analizlerde 30 m'lik DB-WAX kolon kullanılmıştır. Dedektör sıcaklığı 280 °C ve injektör bloğu sıcaklığı 250 °C olarak ayarlanmıştır. Kolona sıcaklık programı uygulanmıştır. 90 °C'de 2 dakika bekledikten sonra 10 °C/dk artışla 200 °C'ye, bu sıcaklıktan 3 °C/dk artışla 230 °C'ye çıkılarak 12 dakika beklenmiştir. Split oranı 1/50 ve injeksiyon hacmi 1 µL olarak ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz hidrojen olup basınç 65 kPa olarak ayarlanmıştır.

3. Sonuçlar ve Tartışma

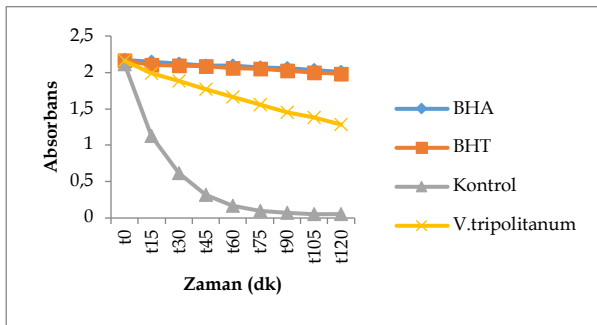
3.1. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

Tablo 1. Antioksidan analiz sonuçları

	Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu mg GAE/ g ekstre	Radikal Süpürme Etkisi IC ₅₀ (µg/mL)	CUPRAC µmol Troloks/g ekstre	FRAP Değeri	%İnhibisyon
BHA	-	13.6±0.8	8.72±0.76	0.59±0.02	97.67±0.48
BHT	-	33.8±5.0	8.34±0.39	0.53±0.02	97.05±0.81
<i>V. tripolitanum</i>	316.3±19.3	33.8±1.6	3.86±0.33	0.44±0.04	86.64±0.77



Şekil 2. *V. tripolitanum* DPPH metodu % inhibisyon-derişim grafiği



Şekil 3. *V. tripolitanum*'a ait zamana karşı absorbans değışimi

Çoğu bitkide antioksidan aktivite ile fenolik bileşikler doğrusal ilişkilidir ve lipid peroksidasyonunu engellemede bu bileşiklerin önemli rolü vardır (Gülçin, 2005; Yamaguchi, Takamura, Matoba & Terao, 1998). Tablo 1'de görüldüğü gibi *V. tripolitanum*'un fenolik madde miktarı 316.3 mg GAE/g ekstre olarak belirlenmiştir. *V. oreophilum* bitkisinin su ve etanol ekstraktlarının toplam fenolik içeriklerini sırasıyla 48.6 ve 97.1 µg GAE/mg ekstrakt olarak bildirilmiştir (Gülçin, Köksal, Elmastaş & Aboul-Enein, 2007). *V. cheiranthifolium* türünün kök ve yapraklarının su ekstraktlarının toplam fenolik içeriklerinin sırasıyla 20.2 ve 33.1 mg GAE/g bitki olduğu bildirilmiştir (Dalar & Konczak, 2012).

V. tripolitanum'a ait DPPH metodu % inhibisyon-derişim grafiği Şekil 2'de verilmiştir. Grafikten IC₅₀ değerleri hesaplanarak Tablo 1'de verilmiştir. IC₅₀ değerinin küçük olması antioksidan etkinin güçlü olduğunu göstermektedir. Tablo 1'de görüldüğü gibi *V. tripolitanum*'un IC₅₀ değeri BHA' dan büyük fakat BHT'ye eşit olduğu tespit edilmiştir. Buna göre *V. tripolitanum*'un oldukça güçlü radikal süpürme etkiye sahip olduğu söylenebilir. *V. thapsus* türünün yaprak ve gövdesinin IC₅₀ değerlerini sırasıyla 100 ve 33.16 µg/mL (Kumar & Singh, 2011), *V. pinetorum* türünün IC₅₀ değerinin 13.04 mg/ml olduğu bildirilmiştir (Özcan, Esen, & Çalışkan 2011). *V. tripolitanum*'un FRAP ve CUPRAC değerlerinin BHA ve BHT'den düşük olduğu Tablo 1'den görülmektedir. Sonuçlar BHA>BHT> *V. tripolitanum* şeklindedir.

Linoleik asit oksidasyonunu engelleme metoduna ait absorbans-zaman grafiği Şekil 3'te görülmektedir. % inhibisyon değerleri BHA>BHT>*V. tripolitanum* şeklinde olmasına rağmen *V. tripolitanum*'un güçlü oksidasyon engelleme kapasitesine sahip olduğu Tablo 1'de görülmektedir.

3.2. Antimikrobiyal Aktivite Analiz Sonuçları

Çizilen derişim-absorbans grafiklerinde, absorbansın keskin bir düşüşle sabitlendiği ilk nokta *V. tripolitanum*'un kullanılan bakterilere ait MİK değerleri olarak kabul edilmiştir. MİK değerinin küçük olması antimikrobiyal etkinin yüksek olmasının göstergesidir (Kang, Hong, Youm, Choi, & Heo, 2008).

Tablo 2'deki MİK değerlerine bakıldığında *V. tripolitanum*'un kullanılan bakterilerin tümüne karşı etkiye sahip olduğu görülmektedir. *E. coli*, *S. aureus* ve MRSA'ya karşı 512 µg/mL derişimde aktivite göstermiştir. *C. albicans* ve *P. aeruginosa*'ya *V. tripolitanum*'un daha güçlü aktiviteye sahip olduğu ve MİK değerinin her iki bakteri türü için 256 µg/mL olduğu tespit edilmiştir. *Verbascum* türlerinin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Benli, Güney, Bingöl, Geven & Yiğit, 2007; Kahraman, Ekizoğlu, Kart, Akdemir & Tatlı 2011; Mothana et al., 2008).

3.3. Yağ Asitleri Analiz Sonuçları

Gaz kromatografisi ile yapılan yağ asitleri analiz sonuçları Tablo 3 'te verilmiştir. *V. tripolitanum* içeriğinde doymuş yağ asitlerinden miristik asit (14:0) %1.26, palmitik asit (16:0) %26.12, stearik asit (18:0) %6.07 olarak tespit edilmiştir. Doymamış yağ asitlerinden ise cis-10-

pentadekanoik asit (C15:1) %4.33, oleik asit (18:1n9c) %12.97, linoleik asit (18:2n6c) %18.04, linolenik asit (C18:3) %24.83, eikosatrienoik asit (C20:3) %3.93 düzeylerinde belirlenmiştir.

Tablo 2. *V. tripolitanum* MİK değerleri

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	MRSA	<i>C. albicans</i>
MİKdeğeri (µg/mL)	512	512	256	512	256

Tablo 3. *V. tripolitanum* yağ asidi kompozisyonu.

Yağ Asitleri	%	Yağ Asitleri	%	Yağ Asitleri	%
12:0	0.14	15:1	4.33	18:2n6t	18.04
14:0	1.26	16:1	0.27	18:3n6	24.83
15:0	0.22	17:1	0.236	20:2n6	5.723
16:0	26.12	18:1n9c	12.97	20:3n3	3.93
17:0	0.64	20:1n9	0.363	22:6n3	0.28
18:0	6.07	24:1	0.028		
Σ SFA = 34.44		Σ MUFA = 18.20		Σ PUFA = 47.08	
Σ USFA = 65.52					

ΣSFA: Doymuş yağ asidi, ΣMUFA: Tekli doymamış yağ asidi, ΣPUFA: Çoklu doymamış yağ asidi, ΣUSFA: Toplam doymamış yağ asidi

Teşekkür: Bu çalışmaya destek olan Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederiz (Proje no: 243).

Kaynaklar

- Benli, M., Güney, K., Bingöl, Ü., Geven, F., & Yiğit, N. (2007). Antimicrobial activity of some endemic plant species from Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 6(15), 1774-1778.
- Blainski, A., Lopes, G.C., & Mello, J.C.P. (2013). Application and analysis of the Folin Ciocalteu Method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18, 6852-6865.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C.L.W.T. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Dalar, A., & Konczak, I. (2012). Botanicals from Eastern Anatolia Region of Turkey: Antioxidant capacity and phenolic constituents of endemic herbal medicines. *Journal of Herbal Medicine*, 2, 126-135.
- Faydaoğlu, E., & Sürücüoğlu, M.S. (2013). Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2), 233-265.
- Güçlü, K., Altun, M., Özyürek, M., Karademir, S.E., & Apak, R. (2006). Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and folin methods. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 76-85.
- Gülçin, İ. (2005). The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*piper nigrum*) seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56(7) 491-499
- Gülçin, İ., Köksal, E., Elmastaş, M., & Aboul-Enein, H.Y. (2007). Determination of *in vitro* antioxidant and radical scavenging activity of *Verbascum oreophilum* C. Koch Var. *Joannis* (Fam. Scrophulariaceae). *Research Journal of Biological Sciences*, 2(3), 372-382.
- Hou, W.C., Lin, R.D., Cheng, K.T., Hung, Y.T., Cho, C.H., Chen, C.H., Hwang, S.Y., & Lee, M.H. (2003). Free radical scavenging activity of Taiwanese native plants. *Phytomedicine*, 10, 170-175.
- Kahkönen, M., Hopia A., Vuorela H.J., Rauha J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- Kahraman, Ç., Ekizoğlu, M., Kart, D., Akdemir, Z.Ş., & Tatlı, İ. (2011). Antimicrobial activity of some *Verbascum* species growing in Turkey. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36, 11-15.
- Kang, C.H., Hong, C.R., Youm, H.S., Choi, S.I., & Heo, T.R. (2008). Growth inhibitory activities of siegesbeckia glabrescens against foodborne pathogens. *Journal of Biotechnology*, 136(1), 717-742.
- Kaur, C., & Kapoor, H.C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 153-161.
- Kozan, E., Çankaya, İ.T., Kahraman, Ç., Akkol, E.K., & Akdemir, Z. (2011). The *in vivo* anthelmintic efficacy of some *Verbascum* species growing in Turkey. *Experimental Parasitology*, 129, 211-214.

- Kumar, G.P., & Singh, S.B. (2011). Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extracts from Trans Himalayan medicinal plants. *European Journal of Applied Sciences*, 3(2), 53-57.
- Küpel, E., Tatlı, İ., Akdemir, Z., & Yeşilada, E. (2007). Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory and antinociceptive glycoterpenoids from the flowers of *Verbascum lasianthum* Boiss. ex Benth. *Journal of Ethnopharmacology*, 110, 444-450.
- Mothana, R.A., Abdo, S.A., Hasson, S., Althawab, F., Alaghbari, S.A., & Lindequist, U. (2010). Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities and phytochemical screening of some Yemeni medicinal plants. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 7(3), 323-330.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307.
- Özcan, B., Esen, M., & Çalışkan, M. (2011). Antimicrobial and antioxidant activities of the various extracts of *Verbascum pincetorum* Boiss. O. Kuntze (Scrophulariaceae). *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 15(8), 900-905.
- Sarıkürkcü, C., Zengin, G., Aktümsek, A., Ceylan, O., & Şanda, M.A. (2015). *Onopordum Anaticum* tohumlarının antioksidan aktiviteleri. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 41, 89-96.
- Tatlı, İ., & Akdemir, Z. (2004). Chemical constituents of *Verbascum* L. Species. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29, 93-107.
- Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., & Terao, J. (1998). HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 62(6), 1201-1204.