

Abelmoschus esculentus (Bamya) Çiçeğinin Fitokimyasal Profili, Antioksidan, Antikolinerjik ve Antibakteriyel Özellikleri

Arzu KAVAZ YÜKSEL¹, Emrah DİKİCİ², Mehmet YÜKSEL^{3*}, Mesut İŞİK⁴

¹Atatürk Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü, Erzurum, Türkiye, ²Aksaray Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Aksaray, Türkiye, ³Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye, ⁴Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bilecik, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-8292-9259>, ²<https://orcid.org/0000-0002-3086-8156>, ³<https://orcid.org/0000-0001-6566-1385>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-4677-8104>

✉: mehmet.yuksel@atauni.edu.tr

ÖZET

Bu araştırmanın amacı, *Abelmoschus esculentus*'a ait çiçek kısmının etanolik ekstraktının antioksidan ve antikolinerjik özelliklerini, fenolik bileşik profilini ve antibakteriyel aktivitesini araştırmaktır. Fenolik bileşiklerin analizi LC-MS/MS ile gerçekleştirilmiştir. Antioksidan kapasitesi (radikal giderme, metal indirgeme gücü ve toplam antioksidan aktivite) DPPH, ABTS, Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme (CUPRAC), Fe³⁺-Fe²⁺ indirgeme ve ferrik tiyosiyanat yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Antibakteriyel aktivite, disk difüzyon ve MIC (Minimum inhibitör konsantrasyonu) yöntemleri ile belirlenmiştir. Antikolinerjik özellik ise, asetilkolinesterazın (AChE) inhibisyonu ile tespit edilmiştir. Bitki özütünde miktar bakımından en fazla bulunan başlıca fenolik bileşiğin asetohidroksamik asit olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, sırasıyla kuarsetin, myrisetin, fumarik asit, vanillik asit, ellagik asit, 4-hidroksibenzoik asit, salisilik asit, kafeik asit, kemferol, bütein, protokateşik asit, kateşin hidrat, oleuropein ve diğer bileşenler tespit edilmiştir. Bitkinin etanolik özütü, %29.41 DPPH radikal giderme aktivitesi gösterirken, %20.59 ABTS radikal giderme aktivitesine ve ayrıca orta düzeyde metal indirgeme potansiyeline sahiptir. Ayrıca ekstrakt, 0.18 mg mL⁻¹ IC₅₀ değeri ile AChE üzerinde bir inhibisyon etkisi göstermiştir. Bitkinin etanol özütü, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella Typhimurium* üzerinde farklı düzeylerde antibakteriyel etki göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, *A. esculentus* çiçek özütünün, sahip olduğu antioksidan, antikolinerjik ve antibakteriyel özellikleri ile bazı hastalıkların tedavisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Biyokimya

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 30.07.2021

Kabul Tarihi : 26.11.2021

Anahtar Kelimeler

Abelmoschus esculentus

Antioksidan

Fitokimyasal analiz

Asetilkolinesteraz

Antibakteriyel

Phytochemical Profile, Antioxidant, Anticholinergic and Antibacterial Properties of Flowers of *Abelmoschus esculentus* (Okra)

ABSTRACT

The aim of this research was to investigate the antioxidant, and anticholinergic properties, phenolics profile and antibacterial activities of *Abelmoschus esculentus* ethanol extract. The analysis of phenolic compounds was performed with LC-MS/MS. The antioxidant capacity (radical scavenging, metal-reducing power and total antioxidant activity) was assessed by DPPH, ABTS, Cu²⁺-Cu⁺ reducing (CUPRAC), Fe³⁺-Fe²⁺ reducing and ferric thiocyanate methods. The antibacterial activity was determined by disc diffusion and MIC (Minimum inhibitory concentration) methods and the anticholinergic property was predicted by inhibition of acetylcholinesterase (AChE). Acetohydroxamic acid was determined as the main phenolic compound with the highest amount in the flower extract. Also, quercetin, myricetin, fumaric acid, vanillic acid, ellagic acid, 4-hydroxybenzoic acid, salicylic acid, caffeic acid,

Biochemistry

Research Article

Article History

Received : 30.07.2021

Accepted : 26.11.2021

Keywords

Abelmoschus esculentus

Antioxidant

Phytochemical analysis

Acetylcholinesterase

Antibacterial

kaempferol, butein, protocatechic acid, catechin hydrate, oleuropein and other components were detected, respectively. The ethanolic extract of the plant has 29.41% DPPH radical scavenging activity, 20.59% ABTS radical scavenging activity, and also moderate metal reduction potential. Also, the extract showed an inhibition effect on the AChE with IC₅₀ values (0.18 mg mL⁻¹). The ethanol extract of the plant showed antibacterial effect on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella Typhimurium* at different levels. These results suggested that extract of the flowers of *A. esculentus* extract might play a role in the treatment of some diseases with its antioxidant, anticholinergic, and antibacterial activity.

Atf Şekli: Kavaz Yüksel A, Dikici E, Yüksel M, Işık M 2022. *Abelmoschus esculentus* (Bamya) çiçeğinin fitokimyasal profili, antioksidan, antikolinerjik ve antibakteriyel özellikleri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1205-1215. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.976717>

To Cite : Kavaz Yüksel A, Dikici E, Yüksel M, Işık M 2022. Phytochemical profile, antioxidant, anticholinergic and antibacterial properties of flowers of *Abelmoschus esculentus* (Okra). KSU J. Agric Nat 25 (6): 1205-1215. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.976717>

GİRİŞ

Abelmoschus esculentus L. (Moench), *Malvaceae* familyasına ait, yenilebilir olgunlaşmamış meyveleri için yaygın olarak kullanılan bir sebze türüdür. Kadın parmağı, bamya, bhindi veya gumbo gibi diğer bazı yerel adlarda daha yaygın olarak bilinen tek yıllık bir bitkidir (Carney ve Richard, 2009; Dhaliwal, 2010; Kumar ve ark. 2013; Xia ve ark. 2015). Genel olarak, Afrika'ya özgü olan bu bitki dünyanın farklı ülkelerinde, özellikle tropikal, subtropikal ve ılıman bölgelerde (Güney Avrupa, Orta Doğu, Asya ve Amerika) yetiştirilmektedir (Xia ve ark. 2015, Durazzo ve ark. 2019). Bamya meyvesi önemli bir tıbbi değere sahiptir olup çeşitli hastalıkları ve rahatsızlıkları kontrol etmek için kullanılmaktadır (Sabitha ve ark. 2011). Bununla birlikte bitkinin sadece meyvesi değil aynı zamanda yaprakları, çiçekleri, sapları ve özellikle zengin bir yağ ve protein kaynağı olan tohumları dahil olmak üzere diğer kısımları da çeşitli amaçlarla kullanılabilir (Camciuc ve ark. 1998; Adetuyi ve Osagie, 2011, Gemede ve ark. 2015). Antik çağlardan beri *A. esculentus* bitkisinin infüzyonları ve kaynatılması ile elde edilen sıvılar halk hekimliğinde diüretik ve ishal, akut iltihap, mide ve bağırsak tahrişi, nezle enfeksiyonları, bel soğukluğu, diş rahatsızlıkları, bronşit ve pnömoni gibi rahatsızlıkları tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır (Habtemariam, 2019).

A. esculentus meyveleri ve tohum fraksiyonları büyük ölçüde fenolik madde ve pektin içeriğine sahiptir (Petropoulos ve ark. 2018). Bamya, zamksı bir yapıdadır ve kalorisi düşüktür. Bununla birlikte nütrositik içerik açısından zengindir ve iyi bir yenilebilir diyet lifi kaynağıdır. Çalışmalar, *A. esculentus*'un C vitamini, karoten, tiamin, folik asit, riboflavin, oksalik asit, niasin ve amino asitler gibi önemli biyoaktif bileşikleri içerdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, iyi bir protein ve mineral (K, Ca, P ve Mg) kaynağıdır (Adelakun ve ark.2009;

Habtemariam, 2019). Ayrıca, toplam yağ asitlerinin%70'inden fazlasını oluşturan özellikle linoleik ve palmitik asitler gibi yağ asitlerinin önemli bir kaynağı olma özelliğini göstermektedir (Berry, 1980). *A. esculentus* bitkisi doğrudan tüketiminin yanı sıra biyopolimer, polisakarit ve flavonoid gibi biyoaktif molekülleri yüksek miktarda içermesi nedeniyle, ilaç ve gıda endüstrisinde emülgatör olarak ve eczacılıkta ise kan hacmini artırıcı ilaç formülasyonlarının yapımında kullanılmaktadır (Liu ve ark. 2019).

A. esculentus'un sağlığı geliştirici etkisi sahip olduğu çeşitli biyolojik aktivitelerden kaynaklanmaktadır. Bitkinin farklı bölümlerindeki biyoaktif bileşen profili birbirinden farklılık göstermektedir. *A. esculentus*'un kabuğu, polifenolik bileşikler, karoten, folik asit, tiamin, riboflavin, niasin, C vitamini, oksalik asit ve amino asitler bakımından zengindir (Petropoulos ve ark. 2018); tohumu, polifenolik bileşikler özellikle de oligomerik kateşinler ve flavonol türevleri, protein (yani yüksek lizin seviyeleri) ve yağ fraksiyonu (özellikle palmitik, oleik ve linoleik asit) içerir (Arapitsas, 2008; Wei, ve ark. 2016); kök, karbonhidratlar ve flavonol glikozitleri (Sunilson ve ark. 2008) ve yapraklar ise, mineraller, tanenler ve flavonol glikozitlerinin önemli bir kaynağıdır (İdris, ve ark. 2009; Caluete ve ark. 2014).

Son beş yılda yapılan farmakolojik çalışmalar, *A. esculentus* özütlerinin kardiyo, renal, gastro ve nöro-koruyucu etkiler (Habtemariam, 2019) gibi önemli biyolojik aktivitelerin yanı sıra antioksidan, antihipertansif, antihiperlipidemik ve antihiperglisemik (Durazzo ve ark. 2019), yorgunluk giderici, antibakteriyel (Petropoulos ve ark. 2018), antiinflamatuvar ve analjezik özellikler (Alves ve ark. 2018) gibi çeşitli biyoaktivitelere sahip olduğunu ortaya koymuştur (Sabitha ve ark. 2011; Lu ve ark. 2016; Graham ve ark. 2017; Zhang ve ark. 2018).

A. esculentus bitkisinin çeşitli kısımlarının

antioksidan aktivitesini inceleyen Khomsug ve ark. (2010) ve Liao ve ark. (2012), etanolik tohum ekstraktlarının önemli antioksidan potansiyeli gösterdiğini ve bununda bitkinin fenolik madde içeriği ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Singh (2012) *A. esculentus*'ün antimikrobiyal özelliklerini incelemiş ve *A. esculentus* meyvesi ve tohumlarının *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas fluorescens*'e karşı önemli bir inhibisyon gösterdiğini saptamıştır.

Bu çalışmanın amacı, *A. esculentus*'ün daha önce araştırılmamış çiçek kısımlarının fenolik bileşik profili ve bazı biyoaktif özelliklerinin değerlendirilmesini sağlamaktır. Bu çalışmada, *A. esculentus* çiçeklerinin fenolik bileşik profilleri, antioksidan, antikolinergik ve antibakteriyel özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca bu çalışma ile *A. esculentus* hakkında birçok yenilikçi bilginin de bir araya getirilmesi mümkün olmuştur.

MATERYAL ve METOD

Materyal

A. esculentus'ün çiçekleri (Temmuz-Ağustos 2020) Gaziantep, Türkiye'den toplanmıştır. Bitkiler, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi tarafından uygun ve botanik olarak tanımlanmıştır [Sayık ve ark. 2017; Adamczak ve ark. 2019]. Aynı bölgeden elde edilen bitki materyalinin çiçek kısımları (2.30 kg) deiyonize su ile yıkanarak oda sıcaklığında gölgede 5-7 gün süreyle kurutulduktan sonra bir öğütücü (Lavion Herb Spice Öğütücü Değirmen Makinası) yardımıyla öğütülerek numune kaplarına konulmuş ve analiz edilene kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir (Sayık ve ark. 2017). Antioksidan analizlerinde literatürde sıklıkla kullanılan (Köksal ve Gülçin, 2008; Tohma ve ark. 2017) Troloks, BHT ve BHA gibi bileşikler referans olarak kullanılmış ve kullanılan diğer tüm kimyasallar ticari olarak satın alınmıştır. (Chamberlain ve Raven 1972; Sayık ve ark. 2017; Adamczak ve ark. 2019). Tüm analizler üç tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Bitki Ekstraktının Hazırlanması

Ekstraksiyon, daha önce Atmani ve ark. (2009) tarafından açıklanan yöntemle göre minör modifikasyonlarla gerçekleştirildi. Kurutulan numune ile çözücü (etanol) 1:10 oranında karıştırıldı ve 24 saat süreyle çalkalayıcıda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Ekstrakt filtre kâğıdından (Whatman No.1) süzülde ve sonrasında evaporatör ile çözücü uzaklaştırıldı. Hazırlanan numuneler, analizlerde kullanılmak üzere kapalı kaplarda 4°C'de saklanmıştır. LC-MS/MS analiz sonuçları toplam kuru madde oranı dikkate alınarak belirlenmiştir.

LC-MS/MS Analizi

A. esculentus'ün fenolik içeriği, bir tandem MS cihazına bağlı bir Nexera model Shimadzu UHPLC kullanılarak LC-MS/MS ile belirlendi. Yirmi farklı fenolik madde için geliştirilen yöntemin validasyon çalışmaları Harran Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Analizler için LC-30AD ikili pompalar, DGU-20A3R gaz giderici, CTO-10ASVP kolon fırını ve SIL-30AC otomatik numune alıcı kullanılmıştır. Kromatografik ayırma, C18 Inertsil ODS-4 (3.0 mm x 100 mm, 2 µM) analitik kolonu ile gerçekleştirilmiştir. Kolon sıcaklığı 40°C'de sabitlenmiş ve elüsyon gradyanı, mobil faz A'dan (su ve %0.1 formik asit) ve mobil faz B'den (metanol ve %0.1 formik asit) oluşturulmuştur. Enjeksiyon hacmi 4 µL'ye ayarlanmış ve solvent akış hızı 0.5 mL dk⁻¹'de sabitlenmiştir. MS tespiti, Shimadzu LC-MS 8040 model üçlü, dört kutuplu ve ESI kaynak işlemi ile donatılmış bir kütle spektrometresi kullanılarak hem pozitif hem de negatif iyonizasyon modlarında yapılmıştır. LC-MS/MS veri hesaplamaları Lab Solutions yazılımı (Shimadzu, Kyoto, Japonya) ile yapılmış ve analizi ölçmek için çoklu reaksiyon izleme (MRM) modu kullanılmıştır (Köksal ve ark. 2017). Deneyde her bir bileşik analizi için üç uygulama yapılmış, ortalaması alınmış ve sonuçlar nicel olarak sunulmuştur.

Antioksidan Aktivite

Toplam İndirgenme Kapasitesi

A. esculentus ekstraktlarının metal indirgeme kabiliyeti, Elmastaş ve ark. (2006a) tarafından bildirilen yöntemin modifikasyonu ile yapıldı. Farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstraktları (10, 20, 40 µg mL⁻¹), 2.5 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.6) ve 2.5 mL %1 potasyum ferrisiyanür [K₃Fe(CN)₆] ile karıştırıldı. Karışımlar, 50°C'de 20 dakika süreyle inkübe edildi. Daha sonra her karışıma trikloroasetik asit (2.5 mL, %10) ve FeCl₃ (0.25 mL, %0.1) ilave edildi ve 3.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Karışımın absorbans değerleri 700 nm'de ölçüldü. İndirgeme gücü değerleri absorbans olarak ifade edildi ve elde edilen sonuçlar standart antioksidanlarla karşılaştırıldı (Elmastaş ve ark. 2006b).

Cu (II) İyonu İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC)

Cu (II) -Nc'nin Cu (I) -Nc kompleksinin indirgenmesine dayanan CUPRAC yöntemi uygulandı (Apak ve ark. 2006, Gülçin, 2008). Test tüpüne 1 mL CuCl₂ (0.01 M) solüsyonu, 1 mL neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) ve 1 mL amonyum asetat (NH₄Ac) tampon çözelti eklendi ve vorteks kullanılarak karıştırıldı. Daha sonra farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlar (10, 20, 40 µg mL⁻¹) ilave edildi ve toplam hacim ultra saf su kullanılarak 4 mL'ye ayarlandı. Oda sıcaklığında 30 dakika

inkübasyondan sonra absorbands 450 nm'de kaydedildi. Karışımdaki reaksiyonla artan absorbands, Cu iyonu indirgeme kapasitesinin arttığını gösterir. Sonuçlar absorbands olarak verildi ve standart antioksidanlarla karşılaştırıldı.

DPPH Radikal Giderme Aktivitesi

A. esculentus ekstraktlarının ve standart antioksidanların DPPH serbest radikal giderme aktivitesinin belirlenmesi için Blois yöntemi (1958) kullanıldı. Bu analiz için metanol içinde 0.1 mM DPPH çözeltisi hazırlandı. Stok çözeltilerden elde edilen numuneler (10, 20, 40 µg mL⁻¹) bu çözeltinin 1 mL'si ile karıştırıldı ve etanol ile 3 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltiler iyice vortekslendi ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildi. Örneklerin absorbandsı, 517 nm'de bir spektrofotometre kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar, radikal giderme aktivitenin yüzdesi olarak rapor edildi.

ABTS Radikal Giderme Aktivitesi

Bu yöntem, renkli ABTS⁺ katyon radikalının bir ekstrakt ile işlenmesi sonucu renk değişimi ilkesine dayanmaktadır (Re ve ark. 1999). ABTS (2 mmol L⁻¹) çözeltisi, 2.45 mmol L⁻¹ potasyum persülfat (K₂S₂O₈) çözeltisi ile karıştırıldı. Elde edilen solüsyon karanlıkta oda sıcaklığında 14 saat inkübe edildi. İlk olarak ABTS⁺ radikal çözeltisi, 734 nm'de 0.750±0.025 absorbands elde edilene kadar sodyum fosfat tamponu (0.1 mol L⁻¹, pH 7.4) ile seyreltildi. Daha sonra 10, 20, 40 µg mL⁻¹ ekstrakte edilmiş stok çözeltiler alınarak hacmi 3 mL olana kadar fosfat tamponu ile tamamlanmıştır. Hazırlanan 1 mL ABTS⁺ solüsyonu, ekstrakt örnekleri ile karıştırıldı ve vortekslendi. Absorbans, 734 nm'de bir spektrofotometre kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar, radikal giderme aktivitesinin yüzdesi olarak rapor edildi.

$$\text{Radikal giderme aktivitesi (\%)} = \frac{\text{Kontrol absorbands değeri} - \text{Örnek absorbands değeri}}{\text{Kontrol absorbands değeri}} \times 100$$

Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesi

A. esculentus ekstresinin AChE enzimi üzerindeki inhibitör etkisi Ellman spektrofotometrik yöntemi ile belirlendi (Ellman ve ark. 2002). 50 µl 5,5'-ditiyo-bis (2-nitro-benzoik) asit (DTNB), 100 µl Tris-HCl tampon (1 M, pH 8.0) ve 50 µL AChE (5.32x10⁻³ U) içeren reaksiyon solüsyonu 30°C'de inkübe edildi ve 15 dakika karıştırıldı. Sonuç olarak, substrat olarak kullanılan 50 µL asetiltiokolin iyodür (AChI) ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Substratın enzimatik hidrolizi, 412 nm'de spektrofotometri ile tespit edildi (Necip ve Isik 2019). Farklı konsantrasyon aralıklarında (0.8-0.25 mg mL⁻¹) *A. esculentus*'un etanolik özütünün AChE üzerindeki etkisi tarandı. IC₅₀ değerleri, ekstrakt için aktivite (%)-[Ligand]

grafiklerinden hesaplandı (Demir ve ark. 2017; Necip ve Isik 2019; Türkeş ve ark. 2021).

Abelmoschus esculentus Ekstraktının Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi

Kültürlerin Hazırlanması

A. esculentus ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi için *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028) kültürleri kullanılmış ve bu kültürler analizlere kadar -80°C'de saklanmıştır. Bu kültürler, 35-37°C'de 24 saat süreyle Trypticase Soy Maya Extract (TSYE) içinde aktive edilmiş ve kültürlerin yoğunlukları 0.5 McFarland standardı ile 1x10⁸ CFU mL⁻¹e getirilmiştir (Zapata ve Ramirez-Arcos, 2015).

Disk Difüzyon Yöntemi

Steril ve 9 cm çapında petri kutuları, 20 mL Mueller-Hinton Agar kullanılarak hazırlandı. Her bakteri süspansiyonunun standart miktarları (10⁸ CFU mL⁻¹) hazırlanan petrilere aktarıldı (Gülçin ve ark. 2004). Daha sonra hazırlanan petri plakları üzerine 20 µL EMS özü emdirilmiş steril kâğıt diskler (6 mm) yerleştirildi. Hazırlanan plaklar 4°C'de 1 saat tutuldu ve daha sonra 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Kontrol diski dahil bakterisidal alanların çapları (mm) değerlendirildi. Bu analiz için pozitif kontrol olarak siprofloksasin (5 µg disk⁻¹) kullanılmıştır (Umar ve ark. 2019).

Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MIC) Yöntemi

Bu analiz için, 312 mg mL⁻¹ (ağırlık/hacim) konsantrasyonunda %35 Dimetil sülfoksit (DMSO) içinde *A. esculentus* özütleri hazırlandı. Elde edilen karışım 0.45 um Millipore filtreler (Fransa) ile sterilize edildi. Steril örnekler, antibakteriyel aktivite testleri yapılabildiye kadar 4°C'de 1.5 mL Eppendorf tüplerde muhafaza edildi. Her bakteri inokulumunun 10 uL'si mikrokuyucuklara ilave edildi ve elde edilen bitki özütü, nutrient broth (NB) kullanılarak 312, 156, 78, 39, 19.5, 9.75 mg mL⁻¹e seyreltildi. Sterilize DMSO solüsyonu bir kuyucukta negatif kontrol olarak kullanıldı. Hazırlanan mikrokuyucuklar 35-37°C'de 24 saat inkübe edildi. Mikrokuyucuklarda bulanıklık ve büyüme pozitif sonuç olarak yorumlandı. İnkübasyon periyodunun sonunda kuyucuklar, çoğalmanın varlığı veya yokluğu açısından değerlendirildi. Her test en az üç kez tekrarlandı (Umar ve ark. 2019).

İstatistik Analizler

Elde edilen veriler GraphPad Prism sürüm 6 (GraphPad Software, La Jolla, California, ABD) kullanılarak değerlendirildi. Sonuçlar ortalama±standart sapma (%95 güven aralığı) olarak

gösterildi. Veri setleri arasındaki farklar, p değeri ≤ 0.05 yani istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Tüm analizler 2 paralel ve 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

LC-MS/MS ile Fitokimyasal Fenolik Bileşik Analizi

Cihaz kütüphanesinde bulunan standart bileşiklerin doğrusal regresyon değerleri ve doğrusallık aralıkları verilmiştir (Çizelge 1). Doğrulama parametreleri, doğrusallık, tekrarlanabilirlik, tespit limitleri (LOD) ve nicelme (LOQ) olarak belirlendi. Bildirilen yöntem için her bir bileşik için doğrusallık, standart çözelti analiz edilerek belirlendi. Her bir bileşiğin doğrusallık aralıkları Çizelge 1'de verilmiştir. Standart eğrilerin korelasyon katsayıları (R^2) 0.99'dan yüksek bulunmuştur. Kullanılan analitik yöntemde LOD; $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ - $142.3 \mu\text{g L}^{-1}$ ve LOQ; $0.3 \mu\text{g L}^{-1}$ - $274.6 \mu\text{g L}^{-1}$ değerlerinin belirtilen aralıklarda değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Genel olarak fenolik bileşiklerin geri kazanım değerleri %96.6 ila %101.1 arasında değişim göstermiştir. Literatürde fenolik bileşiklerin tayini için yapılan metod validasyon çalışmaları incelendiğinde bu çalışmada elde edilen verilerle paralellik gösterdiği tespit edilmiştir (Zhu ve ark. 2012). Ayrıca elde edilen R^2 değerleri literatürde mevcut olan verilerin sınırları içinde olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, çalışmada elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. *A. esculentus*'un fenolik bileşen (flavonoidler ve fenolik asitler) profili standartlara uygun olarak tespit edilmiştir. Çizelge 1'e göre, *A. esculentus*'da en fazla bulunan bileşen asetohidroksamik asit ($2335.00 \mu\text{g L}^{-1}$) olarak belirlenmiş ve bunu sırasıyla kuarsetin, myricetin, fumarik asit, vanillik asit, ellagik asit, 4-hidroksibenzoik Asit, salisilik asit, kafeik asit, kaempferol, bütein, protokateşik asit, kateşin hidrat, oleuropein ve diğer bileşenler takip etmiştir. Elde edilen değerler $2335.00 \mu\text{g L}^{-1}$ 'den $2.32 \mu\text{g L}^{-1}$ 'ye doğru düşüş göstermiştir. Bu çalışmada tespit edilen bileşikler, esas olarak fenolikler, flavonoidler, glikozitler, fenolik asitler ve türevlerden oluşmaktadır. *A. esculentus* bitkisinin fenolik bileşik içeriği ve gösterdiği biyoaktif özellikler, çeşitlerinden, yetiştirme koşullarından, meyve boyutlarından, çiçek özelliklerinden ve hasat zamanından etkilenmektedir (Olivera ve ark. 2012; Petropoulos ve ark. 2018).

Abelmoschus esculentus'un Antioksidan Özellikleri

Bir fenolik bileşiğin antioksidan özellikleri, serbest radikal giderme yeteneğinden, metal iyonlarını şelatlamasından veya hidrojen atomu elektronu vermelerinden kaynaklanmaktadır (Sayık ve ark. 2017; Amarowicz ve ark. 2004). Fenolik bileşiklerin yapısı, metal şelatlama aktiviteleri ve radikal giderme aktiviteleri bakımından temel bazı özelliklere sahiptir. *A. esculentus*, yüksek DNA bağlama kapasitesi ve zengin kimyasal bileşimi

nedeniyle, kanser ve bakteriyel hastalıklar için mükemmel bir engelleyici ön ilaç olarak kabul edilebilmektedir (Sayık ve ark. 2017, Amarowicz ve ark. 2004).

Ekstraktların serbest radikal temizleme etkinliği önemli bir değerlendirilmez ve bu özellikler, DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) serbest radikal temizleme değeri ve ABTS (% 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikal giderme aktivite yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Serbest radikaller, oksitlenebilir substrat görevi görür ve farklı yöntemler kullanılarak indirgenebilir (Prior ve Cao, 1999). ABTS radikal katyonu, ABTS'nin potasyum persülfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) ile oksidasyonu ile elde edilmiştir (Gülçin ve ark. 2005). *A. esculentus* özütü, 0.2 mg mL^{-1} konsantrasyonunda %29.41±0.19 DPPH radikal giderme aktivitesi ve %20.59±1.36 ABTS radikal giderme aktivitesi göstermiştir (Çizelge 2). DPPH radikal giderme aktivitesi en yüksek Troloks (%81.19±5.63) standardında bulunurken, bunu sırasıyla BHA (%71.82±4.86), BHT (%46.3±2.64) ve *A. esculentus* (%29.41± 0.19) izlemiştir. *A. esculentus* bitkisinin standart antioksidanlardan daha düşük antioksidan aktiviteleri, yapısındaki düşük miktardaki antioksidan bileşiklerin varlığından kaynaklanabilir. *A. esculentus* bitkisine ait DPPH ve ABTS giderme sonuçları, bu bitkiye ait ekstraktın serbest radikalleri temizleme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, bazı serbest radikallerden kaynaklanan zincir reaksiyonlarının başlamasını ve yayılmasını önleme yeteneğine de sahip olabileceğini ortaya koymuştur.

CUPRAC analizi, çok çeşitli polifenoller için basit, hızlı, etkili, kararlı ve seçici bir antioksidan ölçüm yöntemidir (Apak ve ark. 2006). Antioksidan aktivitenin önemli bir özelliği, Fenton tipi reaksiyonları ve hidroperoksit ayrışmasını katalize edebilen geçiş metallere şelatlanması/deaktivasyonudur (Dorman ve ark. 2003). Çizelge 2'de görüldüğü gibi CUPRAC testinde ve Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme aktivitesinde en yüksek değer sırasıyla BTH, BHA, Trolox ve *A. esculentus* olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, *A. esculentus* özütünün standart antioksidanlardan (BHA, BHT ve Troloks) daha düşük bakır ve demir indirgeme aktivitesine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlardan yola çıkarak, *A. esculentus*'da bulunan bazı fenolik bileşiklerin önemli ölçüde radikal giderme ve metal şelatlama kapasitesine sahip olduğu söylenebilir. *A. esculentus*'un içeriğindeki fenolik bileşiklerin serbest radikalleri yok etme etkisinden dolayı oksidatif stresin azaltılmasında rol oynayabileceği düşünülmektedir. Aliyu ve ark. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada *A. esculentus* yapraklarının %80'lik metanolik özütünün yüksek radikal temizleme aktivitesi ve DPPH indirgeme potansiyeli gösterdiğini ortaya koymuştur.

Çizelge 1. Banya (*Abelmoschus esculentus*) çiçeğinin fitokimyasal içeriğinin LC-MS/MS yöntemi ile kantitatif olarak belirlenmesi

Table 1. Quantitative determination of phytochemical content of okra (*Abelmoschus esculentus*) flower by LC-MS/MS method

Standart bileşikler	^a MRM	^b RSD %	^c LOD/LOQ (µg L ⁻¹)	Geri kazanım (%)	^d RT	^e R ²	Denklem	Konsantrasyon (µg L ⁻¹)
Quercetin	301.1>151	1.36	13.7/25.7	100.130	3.891	0.999	y=(13.7831) x+(146.951)	2137.15
Acetohydroxamic Acid	76.10>43.10	0.82	2.8/8.6	100.075	0.406	0.999	y=(150.982) x+(23.1833)	2335.00
Catechinhydrate	291.10>139.00	2.36	7.3/18.4	0.99404	2.532	0.999	y=(79.2933) x+(-2406.22)	23.67
Vanillic Acid	168.80>93.00	0.62	82.6/142.2	100.093	2.762	0.998	y=(48.0522) x+(-876.904)	712.50
Resveratrol	229.10>135.00	1.31	7.2/18.3	0.9985	3.606	0.998	y=(46.4361) x+(-1314.61)	4.84
Fumaric Acid	115.20>71.00	0.47	18.4/32.7	0.99748	0.809	0.999	y=(20.2986) x+(-762.592)	819.02
Gallic acid	169.20>125.00	1.36	0.90/1.6	100.004	1.278	0.999	y=(65.3835) x+(-2699.84)	18.59
Caffeic Acid	179.20>135.00	1.37	6.3/10.7	100.917	2.836	0.996	y=(124.785) x+(-487.132)	164.19
Phloridzin dihydrate	435.00>273.10	5.64	61.0/207.0	10.001	3.594	0.999	y=(33.4069) x+(-1396.90)	2.32
Oleuropein	539.10>377.20	6.94	0.5/1.4	0.997	3.567	0.999	y=(25.9240) x+(-558.916)	21.26
Ellagic Acid	300.90>145.10	8.56	0.10/0.3	100.232	3.681	1.000	y=(5.25903) x+(-1167.31)	450.91
Myricetin	317.10>150.90	0.79	36.4/59.6	0.99982	3.644	0.999	y=(37.0934) x+(2684.23)	1817.59
Protocatechuic acid	181.20>108.00	1.29	21.3/46.5	101.070	3.556	0.994	y=(526.954) x+(23026.1)	54.61
Bütein	271.10>135.00	1.45	17.5/36.7	0.9989	3.935	0.999	y=(49.3543) x+(367.917)	59.55
Naringenin	271.10>150.90	2.05	4.2/6.8	0.9998	3.952	0.996	y=(317.241) x+(33733.3)	N.D.
Luteolin	285.20>132.90	0.57	0.5/2.5	0.99883	4.069	0.998	y=(34.6668) x+(3721.79)	7.18
Kaempferol	285.10>116.90	1.44	142.3/274.6	100.772	4.298	0.999	y=(2.63905) x+(-206.494)	136.71
Alizarin	239.20>210.90	3.51	45.2/76.5	0.9667	4.594	0.998	y=(3.97487) x+(1614.23)	N.D.
4-Hydroxybenzoic Acid	137.20>93.00	1.54	28.6/52.2	0.99662	3.664	0.999	Y=(735.804) X+(-498.102)	331.38
Salicylic acid	137.20>93.00	1.24	4.2/7.6	100.989	3.558	0.999	y=(746.369) x+(6072.41)	246.25

^aMRM: Çoklu reaksiyon izleme, ^bRSD: Göreceli standart sapma, ^cLOD/LOQ (µg L⁻¹): Tespit limiti/ kantitasyon limiti, ^dRT: Tutma süresi, ^eR²: Belirleme katsayısı, N.D: Tespit edilmedi

Çizelge 2. Bamyacı çiçeği (*Abelmoschus esculentus*) ekstraktının antioksidan aktivitesi ve AChE üzerine inhibisyon etkisi

Table 2. The antioxidant activity and inhibition effect on AChE of extract from flowers of *Abelmoschus esculentus*

Antioxidants	DPPH ^a (0.2 mg mL ⁻¹)	ABTS ^a (0.2 mg mL ⁻¹)	FRAP ^b (0.2 mg mL ⁻¹)	CUPRAC ^b (0.2 mg mL ⁻¹)	AChE	
					IC ₅₀ (mg mL ⁻¹)	R ²
<i>A. esculentus</i>	29.41± 0.19	20.59±1.36	0.13±0.01	0.37± 0.01	0.18±0.01	0.965± 0.02
BHA	71.82± 4.86	83.67±5.41	0.45±0.02	0.58 ± 0.02		
BHT	46.33± 2.64	48.35±3.20	0.62± 0.02	0.64 ± 0.02		
Troloks	81.19± 5.63	80.06± 6.32	0.25± 0.01	0.52± 0.02		

Standart antioksidanlar (BHA, bütillenmiş hidroksianisol; BHT, bütillenmiş hidroksitoluen, troloks)

^aDeęerler yüzde radikal giderme aktivitesi olarak ifade edildi

^bDeęerler absorbands olarak ifade edildi. Yüksek absorbands, yüksek metal indirgeme kapasitesini gösterir

Antikolinerjik Etki

Nörotransmitter asetilkolinin hidrolizindeki artış, Alzheimer hastalığının (AD) gelişmesine yol açmaktadır. Bu amaçla, AChE inhibitörleri bu hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. AD'nin semptomatik tedavisinde kullanılan AChE inhibitörlerinin antioksidan üretimini arttırdığı ve hücreleri oksidatif hasardan koruduğu da bilinmektedir (Işık, 2019). Çizelge 2'de gösterilen sonuçlar, *A. esculentus*'un etanolik özütünün AChE üzerinde bir inhibisyon etkisine sahip olduğunu ortaya koymuştur (IC₅₀: 0.18±0.01 mg mL⁻¹). Fenolik bileşiklerin nöroprotektif etkileri, AD tedavisindeki önemli rollerinden kaynaklanmaktadır. AChE inhibitörlerinin kullanımı ile hastalığın (beyindeki asetilkolin oranının yükselmesinden kaynaklanan) tedavisi için birçok önemli yaklaşım

bulunmaktadır. Birçok çalışma flavonoid ve fenolik bileşiklerin anti-asetilkolinesteraz aktivitesine sahip olduğunu bildirmiştir (Necip ve Isık, 2019). Günümüzde yaygın olarak kullanılan donepezilin, ellajik asitten yaklaşık 10000 kat daha güçlü bir AChE inhibitör etkisi olduğu bilinmektedir (Fan ve ark. 2008; Jha ve ark. 2018). Bununla birlikte, sentetik referans inhibitörlerinin yan etkileri nedeniyle, doğal kaynaklı alternatif bileşiklerin belirlenmesi özellikle önemlidir (Bettaieb ve ark. 2011).

A. esculentus'un Antibakteriyel Özellikleri

A. esculentus ekstresinin antibakteriyel aktiviteleri *S. aureus*, *E. coli* ve *S. Typhimurium*'a karşı belirlendi (Çizelge 3 ve Çizelge 4).

Çizelge 3. Bamyacı çiçeği (*Abelmoschus esculentus*) ekstraktının antibakteriyel etkisi (Zon çapı, mm)

Table 3. Antibacterial effect of (*Abelmoschus esculentus*) Okra flowers extracts (Zone diameter, mm)

Örnek (6.24 mg disk ⁻¹)	Konsantrasyon	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Esherichia coli</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>
<i>Abelmoschus esculentus</i>	312 mg/mL	12.0±0.20	8.0±0.10	7.0±0.22
Kontrol (Siprofloksasin)	5 µg	21.0±0.12	20.0±0.12	17.0±0.20

Çizelge 4. Bamyacı Çiçeęi (*Abelmoschus esculentus*) ekstraktının MIC (Minimum inhibitör konsantrasyonu) sonuçları

Table 4. Results of minimum inhibitory concentration (MIC) of (*Abelmoschus esculentus*) Okra flowers extracts

<i>Abelmoschus esculentus</i>	Konsantrasyon (mg mL ⁻¹)	İnokulum miktarı (µL)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Esherichia coli</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>
	312	10	-	-	-
	156	10	-	+	+
	78	10	+	+	+
	39	10	+	+	+
	20	10	+	+	+
	10	10	+	+	+
Besiyeri+ İnokulum	0	10	+	+	+
Besiyeri+Solvent(DMSO)	0	10	+	+	+
Besiyeri	0	0	-	-	-

(+): Çoęalma var, (-): Çoęalma yok

Çizelge 3'te görüldüğü gibi, 312 µg mL⁻¹ *A. esculentus* özütü, *S. aureus* üzerinde yüksek inhibisyon zon çapı oluşturdu (12.0±0.20 mm) ve bunu ise sırasıyla *E.*

coli (8.0±0.10 mm) ve *S. Typhimurium* (7.0±0.22 mm) izledi. *A. esculentus* ekstraktının bakteri kültürleri üzerindeki inhibisyon etkisi, siprofloksasin

antibiyotiğine göre düşük bulunmuştur. Elde edilen MIC (Minimum inhibitör konsantrasyonu) sonuçları, 10 µL bitki özünün, 312 µg mL⁻¹, 156 µg mL⁻¹, 78 µg mL⁻¹, 39 µg mL⁻¹, 20 µg mL⁻¹, ve 10 µg mL⁻¹ gibi 6 farklı konsantrasyonda uygulandığında doğru sonuçlar verdiğini göstermiştir (Çizelge 4). Belirlenen sonuçlar incelendiğinde 312 µg mL⁻¹ konsantrasyonunun tüm bakteriler üzerinde en etkili olduğu tespit edilmiştir. 156 µg mL⁻¹ bitki konsantrasyonunun ise, *S. aureus* dışındaki diğer bakteriler üzerinde herhangi bir etki gösteremediği belirlenmiştir. Bununla birlikte, çalışılan diğer dört konsantrasyonun herhangi bir bakteri üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır. Elde edilen verilerden, *A. esculentus*'un çalışılan bakterilere karşı antibakteriel etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan çalışmalar, bitkilerin terapötik etkilerinin, sahip oldukları tek bir bileşenden değil, birden fazla bileşimin sinerjik etkisinden kaynaklandığını ortaya koymuştur. Bitkiler, antioksidan aktivitelerinin yanı sıra, ihtiva ettikleri pek çok fenolik bileşik önemli düzeyde antibakteriyel aktivite sergileyebilmektedir. Altemimi ve ark. (2017) yaptığı bir çalışmada, *A. esculentus*'un %80'lik metanolik yaprak özlerinin çok iyi antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik özelliklere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Carvalho ve ark. (2011) ise *A. esculentus* özütlerinin antibakteriyel özelliklerini araştırdığı bir çalışmada, bu bitkiden elde edilen ekstraktların, *Mycobacterium* suşları X. Py2 ve *S. aureus*'un gelişimini inhibe etmede etkili olduğu, ancak *R. erythropolis* ve *E. coli*'ye karşı etkisiz olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmada *A. esculentus* çiçek özütlerinin *E. coli* üzerine antibakteriyel etki gösterdiği tespit edildi.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmadan elde edilen sonuçlar, *A. esculentus* çiçek ekstraktlarının antioksidan (metal indirgeme, serbest radikal süpürücü ve anti-lipid peroksidasyonu), antikolinerjik ve antibakteriyel aktivitelere sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca tespit edilen bulgular, bu türün önemli özelliklerinden dolayı çeşitli amaçlarla değerlendirilebileceği sonucunun ortaya çıkmasını sağlamıştır. Son olarak, bu türün kemo-çeşitliliği, sahip olduğu antibakteriyel ve antioksidan bileşik profili nedeniyle önemli sağlık sorunlarının tedavisi için umut verici bir kaynak olabileceğini göstermiştir. Sonuç olarak, *A. esculentus* önemli bir doğal antioksidan kaynağı ve gıdalar için kısmen iyi bir antibakteriyel madde ve ayrıca farmasötik ve gıda maddelerinin raf ömrünü uzatan bir ajan olarak değerlendirilebilir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Adamczak A, Dreger M, Seidler-Łożykowska K, Wielgus K 2019. Fireweed (*Epilobium angustifolium* L.): botany, phytochemistry and traditional uses. A review. *Herba Polonica* 65: 51-63.
- Adelakun, OE, Oyelade OJ, Ade-Omowaye BIO, Adeyemi IA, Van de Venter M, Koekemoer TC 2009. Influence of pre-treatment on yield chemical and antioxidant properties of a Nigerian okra seed (*Abelmoschus esculentus* moench) flour. *Food and Chemical Toxicology* 47(3): 657-661.
- Adetuyi F, Osagie A 2011. Nutrient, antinutrient, mineral and zinc bioavailability of okra *Abelmoschus esculentus* (L) Moench variety. *American Journal of Food and Nutrition* 1(2): 49-54.
- Aliyu AB, Musa AM, Ibrahim MA, Ibrahim H, Oyewale AO 2009. Preliminary phytochemical screening and antioxidant activity of leave extract of *Albizia Chevalieri* harms (*Leguminosae mimosoideae*). *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences* 2(1): 149-153.
- Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson DG, Lightfoot DA 2017. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Platns* 6(42): 1-23.
- Alves SM, Freitas RS, doVal DR, Vieira LV, de Assis EL, Gomes FIF, Gadelha CAdA, Gadelha TS, de Lacerda JTJG, Clemente-Napimoga JT, ve ark. 2018. The efficacy of a lectin from *Abelmoschus Esculentus* depends on central opioid receptor activation to reduce temporomandibular joint hypernociception in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 101:478-484.
- Amarowicz R, Pegg RB, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, Weil JA 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry* 84(4): 551-562.
- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Esin Karademir S, Erçağ E 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International journal of food sciences and nutrition*, 57(5-6): 292-304.
- Arapitsas P 2008. Identification and quantification of polyphenolic compounds from okra seeds and skins. *Food Chemistry* 110(4): 1041-1045.
- Atmani D, Chaher N, Berboucha M, Ayouni K, Lounis H, Boudaoud H, Debbache N, Atmani D 2009. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food*

- Chemistry 112(2): 303-309.
- Berry SK 1980. The fatty acid composition and cyclopropene fatty acid content of the maturing okra (*Hibiscus esculentus* L.) fruits. *Pertanika* 3(2): 82-86.
- Bettaieb I, Hamrouni-Sellami I, Bourgou S, Limam F, Marzouk B 2011. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. *Acta Physiologiae Plantarum* 33(4), 1103-1111.
- Blois MS 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-2000.
- Caluete MEE, de Souza LMP, dos Santos Ferreira E, de Franca AP, de Akneuda Gadelha CA, de Souza Aquino J, Santi-Gadelha T 2014. Nutritional, antinutritional, phytochemical status of okra leaves (*Abelmoschus esculentus*) subjected to different processes. *African Journal of Biotechnology* 14, 683-687.
- Camciuc M, Deplagne M, Vilarem G, Gaset A 1998. Okra-*Abelmoschus esculentus* L.(Moench.) a crop with economic potential for set aside acreage in France. *Industrial Crops and products* 7(2-3): 257-264.
- Carney J, Richard NR 2009. *The Shadow of Slavery: African's Botanical Legacy in the Atlantic World*. University of California Press: Berkeley, CA, USA,
- Carvalho CCCR, Cruz PA, Froncecca MMR, Xavier-Filho L 2011. Antibacterial Properties of the Extract of *Abelmoschus esculentus*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 16: 971-977.
- Chamberlain DF, Raven PH 1972. *Epilobium* L. In: PH (ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 4 Pp. 183-195, Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Demir Y, Işık M, Gülçin İ, Beydemir Ş 2017. Phenolic compounds inhibit the aldose reductase enzyme from the sheep kidney. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 31(9): e21936.
- Dhaliwal MS 2010. Okra (*Abelmoschus esculentus*) L (Moench). In *Handbook of Vegetable Crops*, 3rd ed.; Kalyani Publishers: New Delhi, India.
- Dorman HD, Koşar M, Kahlos K, Holm Y, Hiltunen R 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(16): 4563-4569.
- Durazzo A, Lucarini M, Novellino E, Souto EB, Daliu P, Santini A 2019. *Abelmoschus esculentus* (L.): Bioactive components' beneficial properties-focused on antidiabetic role-for sustainable health applications. *Molecules* 24(1): 38.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres Jr V, Featherstone RM 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7(2): 88-95.
- Elmastaş M, Gülçin İ, Beydemir Ş, İrfan Küfrevioğlu Ö, Aboul-Enein HY 2006a. A study on the in vitro antioxidant activity of juniper (*Juniperus communis* L.) fruit extracts. *Analytical letters* 39(1): 47-65.
- Elmastaş M, Türkekul İ, Öztürk L, Gülçin İ, Işıldak Ö, Aboul-Enein HY 2006b. The antioxidant activity of two wild edible mushrooms (*Morchella vulgaris* and *Morchella esculanta*). *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening* 9(6): 443-448.
- Fan P, Hay AE, Marston A, Hostettmann K 2008. Acetylcholinesterase-inhibitory activity of linarin from *Buddleja davidii*, structure-activity relationships of related flavonoids, and chemical investigation of *Buddleja nitida*. *Pharmaceutical Biology* 46: 596-601.
- Gemedede HF, Ratta N, Haki GD, Woldegiorgis AZ, Beyene F 2015. Nutritional quality and health benefits of okra (*Abelmoschus esculentus*): A review. *Journal of Food Processing & Technology* 6(458): 2.
- Graham JO, Agbenorhevi JK, Kpodo FM 2017. Total Phenol Content and Antioxidant Activity of Okra Seeds from Different Genotypes. *American Journal of Food and Nutrition* 5: 90-94.
- Gülçin İ 2008. Measurement of antioxidant ability of melatonin and serotonin by the DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 23(6): 871-876.
- Gülçin İ, Berashvili D, Gepdiremen A 2005. Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankinensis* decne. *Journal of Ethnopharmacology* 101: 287-293.
- Gülçin İ, Küfrevioğlu Öİ, Oktay M, Büyükkuroğlu ME 2004. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology* 90: 205-215.
- Gülçin İ, Topal F, Öztürk Sarıkaya SB, Bursal E, Gören AC, Bilsel M 2011. Polyphenol contents and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica* L.). *Records of Natural Products* 5(3): 158-175.
- Habtemariam S 2019. The chemical and pharmacological basis of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) as potential therapy for type 2 diabetes. In *Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands 307-332.
- Idris S, Yisa J, Itodo A 2009. Proximate and mineral composition of the leaves of *Abelmoschus esculentus*. *International Journal of Tropical Agriculture and Food Systems* 3: 50037.
- Işık M 2019. The Binding Mechanisms and Inhibitory Effect of Intravenous Anesthetics on AChE *In Vitro* and *In Vivo*: Kinetic Analysis and Molecular Docking. *Neurochemical Research* 44: 2147-2155.

- Jha AB, Panchal SS, Shah A 2018. Ellagic acid: Insights into its neuroprotective and cognitive enhancement effects in sporadic Alzheimer's disease. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 175: 33-46.
- Khomsug P, Thongjaroenbuangam W, Pakdeenarong N, Suttajit M, Chantiratikul P 2010. Antioxidative activities and phenolic content of extracts from okra (*Abelmoschus esculentus* L.). *Research Journal of Biological Sciences* 5(4): 310-313.
- Köksal E, Gülçin İ 2008. Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 32(1): 65-78.
- Köksal E, Tohma H, Kılıç Ö, Alan Y, Aras A, Gülçin İ, Bursal E 2017. Assessment of antimicrobial and antioxidant activities of *Nepeta trachonitica*: Analysis of its phenolic compounds using HPLC-MS/MS. *Scientia pharmaceutica* 85(2): 24.
- Kumar DS, Tony DE, Kumar AP, Kumar KA, Rao DBS, Nadendla R 2013. A review on: *Abelmoschus Esculentus* (okra). *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences* 3: 129-132.
- Liao H, Dong W, Shi X, Liu H, Yuan K 2012. Analysis and comparison of the active components and antioxidant activities of extracts from *Abelmoschus esculentus* L. *Pharmacognosy Magazine* 8(30): 156-161.
- Liu Y, Qi J, Luo J, Qin W, Luo Q, Zhang Q, Wu D, Lin D, Li S, Dong H 2019. Okra in food field: Nutritional value, health benefits and effects of processing methods on quality. *Food Reviews International* 37(1): 67-90.
- Lu Y, Demleitner MF, Song L, Rychlik M, Huang D 2016. Oligomeric proanthocyanidins are the active compounds in *Abelmoschus esculentus* Moench for its α -amylase and α -glucosidase inhibition activity. *Journal of Functional Foods* 20: 463-471.
- Necip A, Işık M 2019. Bioactivities of *Hypericum perforatum* L. and *Equisetum arvense* L. fractions obtained with different solvents. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology* 2: 221-230.
- Olivera DF, Mugridge A, Chaves AR, Mascheroni RH, Vina SZ 2012. Quality attributes of okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) pods as affected by cultivar and fruit size. *Journal of Food Research* 1(4): 224-235.
- Petropoulos S, Fernandes Â, Barros L, Ferreira ICFR 2018. Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of Mediterranean okra genotypes in relation to harvest stage. *Food Chemistry* 242: 466-474.
- Prior RL, Cao G 1999. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine* 27(11-12): 1173-1181.
- 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 Radical Biology and Medicine* 26(9-10): 1231-1237.
- Sabitha V, Ramachandran S, Naveen KR, Panneerselvam K 2011. Antidiabetic and antihyperlipidemic potential of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* 3(3): 397-402.
- Sanjeet K, Dagnoko S, Haougui A, Ratnadass A, Pasternak D, Kouame C 2010. Okra (*Abelmoschus* spp.) in West and Central Africa: potential and progress on its improvement. *African Journal of Agricultural Research* 5(25): 3590-3598.
- Sayık A, Yusufoglu AS, Acık L, Türker G, Aydın B, Arslan L 2017. DNA-Binding, Biological Activities, and Chemical Composition of Wild Growing *Epilobium angustifolium* L. Extracts from Canakkale, Turkey. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry* 4: 811-840.
- Singh K 2012. Phytochemical determination and antibacterial activity of *Trichosanthes dioica* Roxb (patal), *Cucurbita maxima* (pumpkin) and *Abelmoschus esculentus* Moench (okra) plant seeds, National Institute of Technology, India.
- Sunilson JAJ, Jayaraj P, Mohan MS, Kumari AAG, Varatharajan R 2008. Antioxidant and hepatoprotective effect of the roots of *Hibiscus esculentus* Linn. *International Journal of Green Pharmacy* 2(4): 200-203.
- Tohma H, Gulcin İ, Bursal E, Gören AC, Alwasel SH, Köksal E 2017. Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. *Journal of Food Measurement and Characterization* 11(2): 556-566.
- Türkeş C, Akocak S, Işık M, Lolak N, Taslimi P, Durgun M, Beydemir Ş 2021. Novel inhibitors with sulfamethazine backbone: synthesis and biological study of multi-target cholinesterases and α -glucosidase inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 1-13.
- Umar H, Kavaz D, Rizaner N 2019. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using albizia lebeck stem bark, and evaluation of its antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities on human breast cancer cell lines. *International Journal of Nanomedicine* 14: 87-100.
- Wei C, Yang X, Wang D, Fang F, Lai J, Wang F, Wu T 2016. Fatty acid composition and evaluation on antioxidation activities of okra seed oil under ultrasonic wave extraction. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association* 31: 89-93.
- Xia F, Zhong Y, Li M, Chang Q, Liao Y, Liu X, Pan R 2015. Antioxidant and anti-fatigue constituents of okra. *Nutrients* 7(10): 8846-8858.
- Zapata A, Ramirez-Arcos S 2015. A comparative study of McFarland turbidity standards and the

- Densimat photometer to determine bacterial cell density. *Current microbiology* 70(6): 907-909.
- Zhang T, Xiang J, Zheng G, Yan R, Min X 2018. Preliminary characterization and anti-hyperglycemic activity of a pectic polysaccharide from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *Journal of Functional Foods*, 41: 19–24.
- Zhu ZW, Li J, Gao XM, Amponsem E, Kang LY, Hu LM, Chang, YX 2012. Simultaneous determination of stilbenes, phenolic acids, flavonoids and anthraquinones in *Radix polygoni multiflori* by LC–MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 62: 162-166.