

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**BAZI SCROPHULARIACEAE BİTKİLERİNDEKİ SEKONDER
METABOLİTLERİN AKTİVİTE KONTROLLÜ İZOLASYONU,
YAPILARININ AYDINLATILMASI VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Yakup ULUTAŞ

Danışman: Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

KİMYA
ANABİLİM DALI

ERZİNCAN

2022

Her Hakkı Saklıdır.

ÖZET

Doktora Tezi

Bazı Scrophulariaceae Bitkilerindeki Sekonder Metabolitlerin Aktivite Kontrollü İzolasyonu, Yapılarının Aydınlatılması ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi

Yakup ULUTAŞ

Erzincan Binalı Yıldırım Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin AKŞİT

Bu tez çalışmasında biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yöntemi ile *S. erzincanica* bitkisinin toprak üstü kısmından bilinen 2 adet iridoid E1 (katalpol) ve E5 (6-O-(3''-O-trans *p*-kumaroil)- α -L-ramno pironazil katalpol), 1 adet saponin glikozit E4 (ilvensisaponin A), 1 adet feniletanoid glikozit E3 (verbaskozit), 1 adet flavonoid E2 (apigenin 7-O-glikozit) olmak üzere toplam 5 bileşik izole edilmiştir. *S. subaequiloba* bitkisinin toprak üstü kısmından bilinen 3 adet iridoid S2 (katalpol sinnamik ester), S3 (8-asetilharpagid-6-O- β -glikozit), S4 (harpagid), 1 adet flavonoid S5 (sinarozit) ve kök kısmından bilinen 2 adet iridoid S6 (ajugol), S7 (aukubin), 1 adet fenolik asit S8 (*p*-kumarik asit metil ester), bir adet saponin glikozit S1 (ilvensisaponin A) olmak üzere 8 adet bileşik izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapıları 1D ve 2D NMR Spektroskopi yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Elde edilen bu bileşiklerin A549, Calu1, H1650, A172, C6, SH-SY5Y, MDA-MB-453, SW620 ve FL hücre hatları üzerine antikanser etkileri incelenmiştir. Bu bileşiklerden S1 A549 10,11 μ M, Calu1 10,95 μ M, H1650 15,22 μ M, A172 11,24 μ M, C6 41,00 μ M, SH-SY5Y 39,01 μ M, MDA-MB-453 15,36 μ M, SW620 105,55 μ M'lık IC₅₀ değerleriyle göstermiştir. Diğer bileşikler 22,24-187,17 μ M arasında değişen IC₅₀ değerleriyle 5FU'dan düşük veya yüksek aktivite göstermişlerdir.

2022, 126 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Antiproliferatif aktivite, *S. erzincanica* R. R. Mill, *S. subaequiloba* Lall.

ABSTRACT

PhD Thesis

Bio-Guided Isolation And Characterization Of Secondary Metabolites In Scrophulariaea And Investigation Of Their Some Biological Activities

Yakup ULUTAŞ

Erzincan Binali Yıldırım University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

Second Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin AKŞİT

In this thesis study, 2 known iridoids E1 (catalpol) and E5 (6-O-(3''-O-trans *p*-coumaryl)- α -L-ramno pyronazil catalpol from the above-ground part of the *S. erzincanica* plant were used by bioactivity guided isolation method, 1 saponin glycoside E4 (ilwensisaponin A), 1 phenylethanoid glycoside E3 (verbascoside), 1 flavonoid E2 (apigenin 7-O-glycoside), a total of 5 compounds were isolated. 3 iridoids S2 (catalpol cinnamic ester), S3 (8-acetylharpagid-6-O- β -glycoside), S4 (harpagid), 1 flavonoid S5 (cinnaroside) known from the aerial part of the *S. subaequiloba* plant and 2 known from the root part 8 compounds were isolated, namely iridoid S6 (ajugol), S7 (aukubin), 1 phenolic acid S8 (*p*-coumaric acid methyl ester), one saponin glycoside S1 (ilwensisaponin A). The structures of these compounds were elucidated by 1D and 2D NMR Spectroscopy methods. The anticancer effects of these compounds on A549, Calu1, H1650, A172, C6, SH-SY5Y, MDA-MB-453, SW620 and FL cell lines were investigated. Among these compounds, S1 A549 10,11 μ M, Calu1 10,95 μ M, H1650 15,22 μ M, A172 11,24 μ M, C6 41,00 μ M, SH-SY5Y 39,01 μ M, MDA-MB-453 15,36 μ M, SW620 105,55 μ M showed IC₅₀ values. Other compounds showed lower or higher activity than 5FU, with IC₅₀ values ranging from 22,24-187,17 μ M.

2022, 126 Pages

Anahtar Kelimeler: Antiproliferative activity, *S. erzincanica*, *S. subaequiloba*.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL' a ve değerli ikinci danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin AKŞİT' e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Bitkilerin teşhisinde ve toplanmasında yardımcı olan sayın Prof. Dr. Ali Kandemir ve kıymetli ekibine,

Ekstrelerin antiproliferatif aktivite testlerinin yapılmasında Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Araştırma Merkezi Müdürü Sayın Doç. Dr. Ahmet ALTAY' a, izole edilen bileşiklerin antiproliferatif aktivite testlerini yapan sayın Doç. Dr. Ali AYDIN' a ve laboratuvar arkadaşım Öğr. Gör. Samet ŞİMŞEK' e,

NMR analizlerinin yapıldığı Gaziosmanpaşa Üniversitesi ile Çankırı Karatekin Üniversitesi NMR laboratuvarı çalışanlarına,

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi'ne,

Haklarını hiçbir zaman ödeyemeceğim anneme ve babama, sevgili eşime, oğlum Bilal'e abim ve kardeşime ve katkısı olan herkese ayrıca şükranlarımı sunarım.

Yakup ULUTAŞ

Mart, 2022

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
SİMGELER	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Botanik Bilgiler	5
2.1.1. Scrophulariaceae Familyası	5
2.1.2. <i>Scrophularia</i> L. Cinsi	6
2.1.3. <i>Scrophularia erzincanica</i> R. R. Mill / <i>Sürek sıracaotu</i> :.....	7
2.1.4. <i>Scrophularia subaequiloba</i> Lall. / <i>Munzur sıracası</i> :.....	7
2.1.5. <i>Scrophularia libanotica</i> subsp. <i>armena</i> R .R. Mill / <i>kayaçekemi</i> :	8
2.2. <i>Scrophularia</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Araştırmalar	9
2.2.1. Alkaloidler	9
2.2.2. Feniletanoit glikozitler.....	10
2.2.3. Fenolik bileşikler	12
2.2.4. Flavonoidler	14
2.2.5. Glikozit esterler	16
2.2.6. İridoid glikozitler	18
2.2.7. Saponin glikozitler.....	28
2.2.8. Diğerleri.....	31
2.3. <i>Scrophularia</i> türleri üzerinde yapılan farmakolojik çalışmalar	33
2.3.1. Antiinflatuar	34
2.3.2. Antibakteriyel	34
2.3.3. Antimikrobiyal.....	35
2.3.4. Hepatoprotektif	35
2.3.5. Kardiyovasküler.....	35

2.3.6. Diüretik	36
2.3.7. Fungisidal ve mollusisidal	36
2.3.8. Antitümör, sitotoksik ve sitostatik	36
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	40
3.1. Bitki Materyali	40
3.2. Ekstraksiyon (Özütleme)	41
3.2.1. <i>S. erzincanica</i> R. R. Mill üzerinde yapılan ekstraksiyon çalışmaları	41
3.2.1. <i>S. subaequiloba</i> Lall üzerinde yapılan ekstraksiyon çalışmaları	41
3.2.3. <i>S. libanotica</i> var <i>armena</i> üzerinde yapılan ekstraksiyon çalışmaları	42
3.3. Biyolojik Aktivite	42
3.3.1. Antiproliferatif aktivite	42
3.3.2. Antioksidan aktivite	45
3.3.2.1. Toplam fenolik madde miktarı	45
3.3.2.2. Toplam flavonoid madde miktarı	45
3.3.2.3. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi	45
3.4. Yapı Aydınlatma	47
3.5. Ayırma ve Saflaştırma	47
3.5.1. Kullanılan alet ve cihazlar	47
3.5.2. Kromatografik yöntemler	48
3.5.2.1. İnce tabaka kromatografisi (İTK)	48
3.5.2.2. Kolon kromatografisi	48
3.5.2.3. Normal faz silika jel kolon kromatografisi	48
3.5.2.4. Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi	49
3.5.2.5. Flash kromatografi	49
3.5.2.6. Preperatif HPLC	49
3.5.3. Kromatografik çalışmalarda kullanılan belirteç	49
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	50
4.1. Antioksidan Aktivite	50
4.1.1. DDPH radikali giderme aktivitesi bulguları	50
4.1.2. İndirgeme gücü (FRAP) aktivitesi bulguları	51

4.1.3. Toplam fenolik madde içerik bulguları	52
4.1.4. Toplam flavonoid madde içerik bulguları	53
4.2. Bitki Ekstrelerinin Antikanser Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	54
4.3. <i>S. subaequiloba</i> üzerinde yapılan izolasyon çalışması.....	55
4.4. <i>S. erzincanica</i> üzerinde yapılan izolasyon çalışması.....	58
4.5. İzole edilen bileşiklerin karakterizasyonu	60
4.5.1. İlvensisaponin A (S1)	60
4.5.2. Katalpol-6- <i>O</i> -sinamik ester (S2)	61
4.5.3. 8-asetilharpagid-6- <i>O</i> - β -glikozit (S3)	62
4.5.4. Harpagid (S4).....	63
4.5.5. Sinarozit (S5).....	64
4.5.6. Ajugol (S6)	66
4.5.7. Aukubin (S7)	67
4.5.8. <i>p</i> -kumarik asit metil ester (S8)	68
4.5.9. Katalpol (E1)	69
4.5.10. Apigenin 7- <i>O</i> -glikozit (E2)	70
4.5.11. Verbaskozit (Acteoside) (E3)	71
4.5.12. 6- <i>O</i> -(3''- <i>O</i> -trans- <i>p</i> -kumaroil)- α - <i>L</i> -ramno piranozil katalpol (E5)	72
4.6. İzole edilen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri	74
5. SONUÇ.....	79
KAYNAKLAR	83
EKLER.....	93
Ek-1 MTT test sonuçları.....	94
Ek-1 Devam MTT test sonuçları	95
Ek-1 Devam MTT test sonuçları	96
Ek-1 Devam MTT test sonuçları	97
Ek-1 Devam MTT test sonuçları	98
Ek-1 Devam MTT test sonuçları	99
Ek-1 Devam MTT test sonuçları	100
Ek-1 Devam MTT test sonuçları	101
Ek-1 Devam MTT test sonuçları	102
Ek-2 S1 ve E4 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (DMSO-d ₆).....	103

Ek-3 S1 ve E4 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	104
Ek-4 S2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	105
Ek-5 S2 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	106
Ek-6 S3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	107
Ek-7 S3 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	108
Ek-8 S4 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	109
Ek-9 S4 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	110
Ek-10 S5 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	111
Ek-11 S5 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	112
Ek-12 S6 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	113
Ek-13 S6 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	114
Ek-14 S7 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	115
Ek-15 S7 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	116
Ek-16 S8 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	117
Ek-17 S8 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	118
Ek-18 E1 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	119
Ek-19 E1 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	120
Ek-20 E2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	121
Ek-21 E2 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	122
Ek-22 E3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	123
Ek-23 E3 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	124
Ek-24 E5 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	125
Ek-25 E5 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6).....	126

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. Kanser tedavisinde kullanılan doğal kaynaklı bazı bileşiklerin yapısı	3
Şekil 2.1. Scrophulariaceae familyasının yayılış haritası.....	6
Şekil 2.2. <i>Scrophularia erzincanica</i> 'nın habitatında genel görünümü (A. Kandemir).....	7
Şekil 2.3. <i>Scrophularia subaequiloba</i> 'nın habitatında genel görünümü.....	8
Şekil 2.4. <i>Scrophularia libonatica</i> 'nın habitatında genel görünümü	9
Şekil 2.5. Scrophularianine A, B ve C nin yapısı.....	9
Şekil 2.6. Ningpoensine A, B ve C' nin yapısı	10
Şekil 2.7. Tablo 2.1.'de verilen feniletanoit glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	10
Şekil 2.8. Tablo 2.2.'de verilen feniletanoit glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	11
Şekil 2.9. Tablo 2.3.'de verilen feniletanoit glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	12
Şekil 2.10. Tablo 2.4.'de verilen feniletanoit glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	13
Şekil 2.11. Tablo 2.5.'de verilen flavonoid yapılı bileşiklerin ana iskeleti	14
Şekil 2.12. Tablo 2.6.'da verilen flavonoid yapılı bileşiklerin ana iskeleti	15
Şekil 2.13. Tablo 2.7.'de verilen flavonoid yapılı bileşiklerin ana iskeleti	15
Şekil 2.14. Tablo 2.8.'de verilen flavonoid yapılı bileşiklerin ana iskeleti	16
Şekil 2.15. Tablo 2.9.'da verilen glikozit ester yapılı bileşiklerin ana iskeleti	16
Şekil 2.16. Tablo 2.10'da verilen flavonoid yapılı bileşiklerin ana iskeleti	17
Şekil 2.17. Tablo 2.11.'de verilen flavonoid yapılı bileşiklerin ana iskeleti	17
Şekil 2.18. Tablo 2.12.'de verilen iridoid glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	18
Şekil 2.19. Tablo 2.13.'de verilen iridoid glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	18
Şekil 2.20. Tablo 2.14.'de verilen iridoid glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	19
Şekil 2.21. Tablo 2.15.'de verilen iridoid glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	19
Şekil 2.22. Tablo 2.16.'da verilen iridoid glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	22
Şekil 2.23. Tablo 2.17.'de verilen iridoid glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	24
Şekil 2.24. Tablo 2.18.'de verilen iridoid glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	24
Şekil 2.25. Tablo 2.19.'da verilen iridoid glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	25
Şekil 2.26. Tablo 2.20'de verilen iridoid glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	26
Şekil 2.27. Tablo 2.21'de verilen iridoid glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	26
Şekil 2.28. Bazı iridoid yapılı bileşikler	27
Şekil 2.29. Tablo 2.22.'de verilen saponin glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	28

Şekil 2.30. Tablo 2.23.'de verilen saponin glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	28
Şekil 2.31. Tablo 2.24'de verilen saponin glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti	29
Şekil 2.32. Bazı saponin glikozit yapısındaki bileşikler	30
Şekil 2.33. Tablo 2.25'de verilen diğer yapılara sahip bileşiklerin ana iskeleti	31
Şekil 2.34. İridolakton bileşiğinin yapısı	31
Şekil 2.35. Tablo 2.26'da verilen diğer yapılara sahip bileşiklerin ana iskeleti	31
Şekil 2.36. <i>S. buergeriana</i> ' dan izole edilen iridoidler	32
Şekil 2.37. <i>S. ningpoensis</i> 'den izole edilen kumarin yapısındaki bileşikler	33
Şekil 2.38. <i>S. ningpoensis</i> 'den izole edilen bileşikler	33
Şekil 3.1. <i>S. erzincanica</i> bitkisinde ekstraksiyon çalışması	41
Şekil 3.2. <i>S. subaequiloba</i> bitkisinde ekstraksiyon çalışması	42
Şekil 3.3. Tetrazolyumun indirgenmesiyle oluşan renkli formazan türevi	43
Şekil 3.4. DPPH radikalının antioksidanlar ile olan kimyasal reaksiyonu	46
Şekil 4.1. Gallik asit standart eğrisi	52
Şekil 4.2. Kuersetin standart eğrisi	53
Şekil 4.3. Ekstrelerin A549 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon etkileri.....	54
Şekil 4.4. Ekstrelerin MDA-MB-453 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon etkileri	55
Şekil 4.5. <i>S. subaequiloba</i> 'nın flash kromatogramı	56
Şekil 4.6. <i>S. subaequiloba</i> üzerinde yapılan fraksiyonlama ve izolasyon işlemi.....	57
Şekil 4.8. <i>S. erzincanica</i> 'nın flash kromatogramı	59
Şekil 4.9. <i>S. erzincanica</i> üzerinde yapılan fraksiyonlama ve izolasyon işlemi.....	59
Şekil 4.10. İlvensisaponin A	60
Şekil 4.11. Katolpol-6-O-sinamik ester	61
Şekil 4.12. 8-asetilharpagid-6-O- β -glikozit	62
Şekil 4.13. Harpagid.....	63
Şekil 4.14. Sinarozit	65
Şekil 4.15. Ajugol	66
Şekil 4.16. Aukubin	67
Şekil 4.17. <i>p</i> -kumarik asit metil ester.....	68
Şekil 4.18. Katalpol.....	69
Şekil 4.19. Apigenin 7-O-glikozit.....	70
Şekil 4.20. Verbaskozit	71

Şekil 4.21. 6- <i>O</i> -(3''- <i>O</i> -trans- <i>p</i> -kumaroil)- α - <i>L</i> -ramno piranozil katalpol	73
Şekil 5.1. İzole edilen bileşikler	80
Şekil 5.2. <i>Scrophularia</i> türleri üzerinde yapılan çalışmalar (Pasdaran vd., 2017)	81



TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitler.....	10
Tablo 2.2. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitler.....	12
Tablo 2.3. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitler.....	12
Tablo 2.4. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitler.....	13
Tablo 2.5. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitler.....	14
Tablo 2.6. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen flavonoidler.....	15
Tablo 2.7. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen flavonoidler.....	15
Tablo 2.8. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen flavonoidler.....	16
Tablo 2.9. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen glikozit esterler.....	16
Tablo 2.10. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen glikozit esterler.....	17
Tablo 2.11. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen glikozit esterler.....	17
Tablo 2.12. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen iridoid glikozitler	18
Tablo 2.13. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen iridoid glikozitler	18
Tablo 2.14. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen iridoid glikozitler	19
Tablo 2.15. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen iridoid glikozitler	19
Tablo 2.16. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen iridoid glikozitler	22
Tablo 2.17. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen iridoid glikozitler	24
Tablo 2.18. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen iridoid glikozitler	24
Tablo 2.19. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen iridoid glikozitler	25
Tablo 2.20. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen iridoid glikozitler	26
Tablo 2.21. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen iridoid glikozitler	26
Tablo 2.22. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen saponin glikozitler.....	28
Tablo 2.23. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen saponin glikozitler.....	29
Tablo 2.24. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen saponin glikozitler.....	29
Tablo 2.25. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen saponin glikozitler.....	31
Tablo 2.26. <i>Scrophularia</i> türlerinden izole edilen saponin glikozitler.....	32
Tablo 2.27. <i>Scrophularia</i> türlerinin farmakolojik özellikleri.....	38
Tablo 4. 1. Çalışma bitkilerine ait kısaltmalar ve ekstre verimleri	50
Tablo 4. 2. DPPH radikal giderme değerleri	51
Tablo 4. 3. İndirgeme gücü değerleri	51
Tablo 4. 4. Bitki ekstrelerinin Gallik asit eşdeğerlerinde toplam fenol içeriği	52

Tablo 4. 5. Bitki ekstralarının Kuarsetin eşdeğerlerinde toplam flavonoid içeriği	53
Tablo 4. 6. Bileşiklerin MTT testi ile belirlenen yaşam parametreleri (GI ₅₀ , TGI, LC ₅₀ ve IC ₅₀) değerleri.....	76
Tablo 4. 7. Bileşiklerin MTT testi ile belirlenen yaşam parametreleri (GI ₅₀ , TGI, LC ₅₀ ve IC ₅₀) değerleri.....	76
Tablo 4. 8. Bileşiklerin MTT testiyle belirlenen yaşam parametreleri (GI ₅₀ , TGI, LC ₅₀ ve IC ₅₀) değerleri.....	76
Tablo 4. 9. IC ₅₀ konsantrasyonlarında bileşiklerin % sitotoksik değerleri.....	78



SİMGELER

Simgeler

%	Yüzde
α	Alfa
β	Beta
<i>Brs</i>	Geniş singlet
<i>d</i>	Dublet
<i>dd</i>	Dubletin dubleti
<i>DMEM</i>	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
<i>g</i>	Gram
<i>IC₅₀</i>	%50 inhibisyon konsantrasyonu
<i>ID₅₀</i>	Enfeksiyon dozu
<i>İTK</i>	İnce Tabaka Kromatografisi
<i>j</i>	Etkileşme sabiti
<i>Kg</i>	Kilogram
<i>GI₅₀</i>	Büyüme inhibisyonunu %50 durduran konsantrasyon
<i>LC₅₀</i>	Hücrelerin %50' sini öldüren konsantrasyon
<i>m</i>	Multiplet
<i>mL</i>	Mililitre
μL	Mikrolitre
<i>p-HPLC</i>	Preparatif Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
<i>ppm</i>	Milyonda bir
<i>s</i>	Singlet
<i>TGI</i>	Total büyüme inhibisyonu
<i>1D-NMR</i>	Tek Boyutlu Nükleer Manyetik Rezonans
<i>2D-NMR</i>	İki Boyutlu Nükleer Manyetik Rezonans

1. GİRİŞ

Bitki sekonder metabolitleri bitkilerin savunma, üreme ve yayılma gibi bazı yaşamsal fonksiyonlarını sürdürebilmeleri için ürettikleri fitokimyasallardır. Bu fitokimyasallar bitkileri kendi çevrelerinde onları daha rekabetçi kılarak yaşamlarını sürdürmelerinde önemli roller üstlenirler. Bazı bitki sekonder metabolitleri fiziksel yaralanmalarda antimikrobiyal olarak davranırken, tozlaşmaya ya da tohum dağıtımına yardımcı canlı türlerini çekme ve bazı zararlı predator ve herbivorları ise kovma gibi temel savunma işlevlerine sahiptir. Bitkiler âleminde bugüne kadar 50.000'den fazla sekonder metabolit keşfedilmiştir ve bu sayı yeni raporlarla daha da genişlemektedir. Yeni ilaç etken maddeleri veya hastalıkların tedavisi için yeni yaklaşımlar keşfetme umuduyla bitkilerden yeni sekonder metabolitler arayışı, akademik camia ve ilaç üreticileri için devam edegelen ve sürekli gelişen bir süreçtir (Sorokina ve Steinbeck, 2020).

Bitki sekonder metabolitleri üzerine yapılan çalışmalar son 50 yılda baş döndürücü bir hızla artmaktadır. Bu moleküller, farmasötik bileşenlerin önemli bir kaynağıdır. 20. yüzyılın ortalarında, kromatografi tekniklerinin ortaya çıkışı ve günümüze kadar sürekli gelişmesi, bitki sekonder metabolitlerinin giderek daha fazlasının ayrılması ve saflaştırılmasına önayak olmuştur. Spektroskopi cihazlarının benzer bir hızla gelişmesi saflaştırılan bileşiklerin tam yapılarının ortaya konulmasına olanak vermektedir. Yüksek saflıkta doğal kaynaklardan izole edilen ve kimyasal yapıları tam olarak ortaya konulan bitki sekonder metabolitlerinin ilaç etken maddesi aday olmalarının önü hızla açılmıştır (Newman ve Cragg, 2020). Bitkilerin etnofarmakolojik kullanımlarına uygun biyolojik aktivitelerin değerlendirilmesi ve biyolojik aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışmaları ile günümüze kadar birçok bitki sekonder metabolitinin aktif maddesi olduğu ilaçlar, insan sağlığına katkı yapmak üzere eczanelerde yerini almıştır. Bundan dolayı yeni kaynaklardan yeni fitokimyasalların ayrılması ve tanımlanması insan ırkı dünyada var oldukça belki de hiç önemini kaybetmeyecek bir araştırma alanı olarak kalacaktır (Newman ve Cragg, 2016).

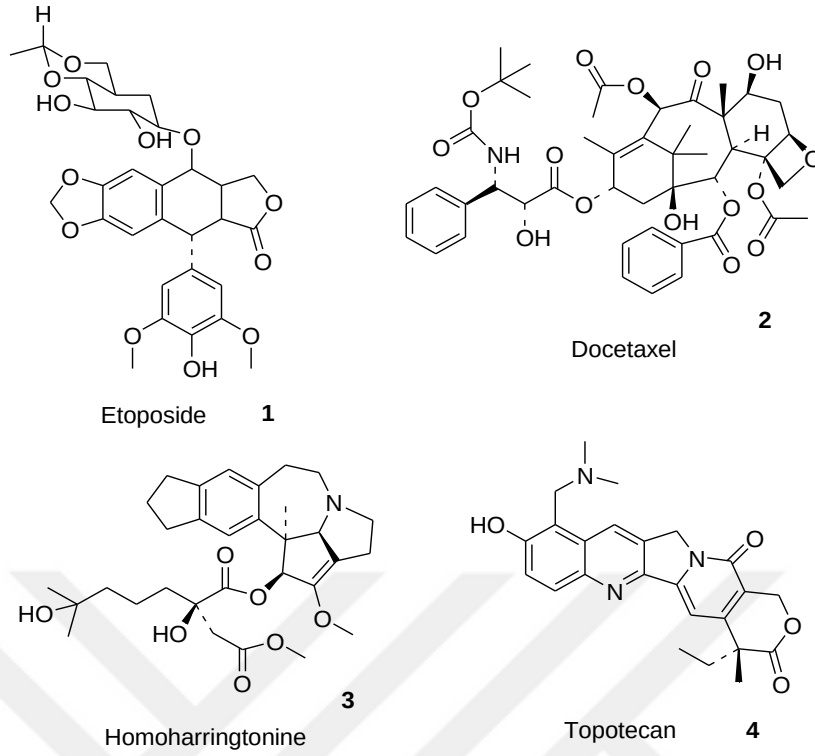
Tıbbi ve aromatik bitkiler çok geniş kullanım alanı bulunmaktadır. Bunlardan bazıları ilaç, gıda, kozmetik ve baharat alanı gibi insanlığın var oluşundan itibaren farklı amaçlarla kullanılan şifalı bitkilerdir. Bu bitkilerin büyük bir çoğunluğu doğal ortamdan toplanırken bir kısmı da kültür ortamında yetiştirilerek kullanılmaktadır. Fakat tedavi

amaçlı kullanılan bu bitkilerin büyük çoğunluğu doğadan karşılanmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkileri bu kadar önemli kılan ve çok fazla araştırılmasının nedeni onların tedavi amaçlı kullanılmasıdır (Katz ve Baltz, 2016).

Gelişmiş ülkelerden en gelişmemişine kadar birçok farklı dünya ülkesinde bitkilerle tedavi; alternatif tıp, geleneksel tedavi, tamamlayıcı tedavi, doğal tedavi gibi farklı adlar altında kullanılmaktadır. Bitkilerin tedavi amaçla kullanıldıklarının ilk delillerine M.Ö. 5000'lerde Mezopotamya uygarlığında rastlanmıştır. Mezopotamyalıların yaklaşık 250 bitkisel drogu tedavi etmek amacıyla kullanmışlardır.

Uluslararası Dünya Kanseri Araştırmaları Fonu tarafından 2012 yılında yapılan bir araştırmaya göre dünya üzerinde 14,1 milyon kanser vakası bulunmakta ve bu rakamın 2035 yılına kadar 24 milyona ulaşması öngörülmektedir (Abdel-Zaher ve Eldeib, 2016). Bu sonuç kanser hastalığının günümüzün en önemli sağlık problemi olduğunu ortaya koymaktadır. Kanseri hastalığının tedavisinde doğal ürünler önemli bir yere sahiptir. Bu amaçla 25.000'den fazla bitki türü çalışılmış ve 1000'den fazla bitkinin antikanser aktivite gösteren sekonder metabolitlere sahip olduğu belirlenmiştir (Mukherjee vd., 2001). Günümüzde kanser tedavisinde kullanılmakta olan ilaçların %60'ından fazlası doğal ürün niteliğinde (bitki, mikroorganizma, deniz canlısı gibi farklı kaynaklardan) olan yapılardır (Newman vd., 2003). Kanserle karşı yeni ilaç geliştirme çalışmalarında, doğal kaynaklardan izole edilen bileşiklerin saf olarak elde edilmesi ve yapılarının aydınlatılması önemli bir basamak teşkil etmektedir. Antikanser aktiviteye sahip doğal kaynaklı bazı bileşiklerin yapıları Şekil 1.1.'de verilmiştir.

Kanser ilaçları dünya ilaç pazarının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Dünyada yıllık 72,8 milyar dolarlık kanser ilacı satışı yapılmaktadır. Bu ilaçların önemli bir bölümü gelişmiş ülkeler tarafından üretilmekte olup, 2013 verilerine göre ABD, AB ve Japonya toplam kanser ilaç payının %75'ini elinde tutmaktadır. Ülkemizin ilaç Ar-Ge süreçlerinde yeterince yer alamadığı ve dolayısıyla ilaç pazarlarında yeterince etkin olamadığı bir gerçektir. Ayrıca ülkemizde kapsamlı farmakoeconomik çalışmaların yeterli düzeyde yapılamıyor olması, kanser ilaçlarının geliştirilmesinde önemli bir eksiklik olarak ifade edilmektedir. Kanser ilaçlarında dışa bağımlılık ülkemize önemli oranda maliyetler yüklemektedir. Bu veriler ışığında kanser araştırmalarının ülkemizde önemli bir ihtiyaç olduğu görülmektedir TÜBA (2014).



Şekil 1.1. Kanser tedavisinde kullanılan doğal kaynaklı bazı bileşiklerin yapısı

Bitkilerde bulunması muhtemel olan antiproliferatif aktiviteye sahip yapılar bilim insanlarını bu kaynakları araştırmaya sevk etmiştir. Nitekim hali hazırda kullanılan birçok kanser ilacı (taksol türevleri ve Vinca alkaloidleri gibi) doğal kaynaklardan elde edilmektedir. Gelecek yıllarda kanser tedavisinde daha çok bitkisel kaynaklı ilaçların kullanılacağı öngörülmektedir (Katz ve Baltz, 2016).

Bitkilerden biyoaktif bileşiklerin elde edilmesine yönelik çalışmaların gün geçtikçe arttığı ama özellikle ülkemizde yetersiz kaldığı günümüzde yeni bileşiklerin literatüre kazandırılması son derece önemlidir.

Sonuç olarak, bitkisel kaynaklı yapıların kullanımına yönelik araştırmaların arttığı bir dönemde tıbbi değeri olan bitkilerin sekonder metabolitlerinin belirlenmesi ve bunlar içerisinde antiproliferatif aktiviteye sahip olanların tespit edilerek yapı tayinlerinin yapılması önem arz etmektedir.

Bu bağlamda; bu çalışmada kimyasal içeriği henüz ortaya konulmamış üç *Scrophularia* türü üzerinde aktif fitokimyasallara ulaşmak amacıyla kromatografik ayırma tabi tutulmuş ve izole edilen bileşiklerin anti kanser aktivite potansiyelleri değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Ülkemizde Scrophulariaceae familyasına ait 77 kadar *Scrophularia* L. cinsi yetişmektedir. Dünyada bu cinse ait yaklaşık 270 tür bulunmakta iken ülkemizde 37 si endemik olmak üzere 77 taksonla (61 tür, 1 alttür ve 15 varyete) temsil edilmektedir (Uzunhisarcikli vd., 2019).

Scrophularia türleri, ülkemizde halk arasında antibiyotik, antienflamatuvar ve dermatolojik olarak çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Örneğin; *S. libanotica* var. *urartuensis*'in yapraklarından hazırlanan ham ekstre iltihaplı yaralarda (Özgökçe ve Özçelik, 2004), *S. libanotica* subsp. *libanotica* var. *cappadocica* (kayaçekemi) nin toprak üstü kısmı çiban ve iltihaplarda (Özkan ve Koyuncu, 2005), *S. nodosa* (tavuk otu) nın taze toprak üstü kısmı ezilerek siğillere karşı (Uzun vd., 2004), *S. libanotica* (denekutnu) ve *S. umbrosa* (Su kestereotu) türlerinin kaynatılarak hazırlanan çayı derideki veziküllerin iyileştirilmesinde kullanıldığı bildirilmiştir (Sezik vd., 2001).

Scrophulariaceae ailesinden olan *Scrophularia* L. Cinsi Asya, Avrupa ve Amerika olmak üzere geniş bir alanda yayılış göstermektedir. Bu cinse ait birçok tür, eski çağlardan beri bazı tıbbi tedaviler strophulus, uyuz, tümörler, egzama, sedef hastalığı için halk ilaçları olarak kullanılmaktadır (Henderson, 1994). *S. grosheimi* ve *S. nodosa*, geleneksel tıpta idrar söktürücü bitkiler olarak kullanılmıştır (Akhmedov vd., 1969). *S. oldhamii* ateş düşürücü olarak ve iltihap tedavisinde kullanılmıştır (E. B. Lee vd., 1984). *S. buergeriana*, geleneksel tıpta kandaki ısıyı azaltmak ve böbrekleri beslemek için bir ajan olarak kullanılmıştır (Jeong vd., 2022). Saikosaponinler ve triterpenoidler gibi bileşiklere sahip *S. scorodonia* geleneksel Çin tıbbında antiviral olarak tedavide kullanılmaktadır (Chikhale vd., 2021). *S. ningpoensis* Hemsl. (Xuanshen olarak bilinir) Çin'de geleneksel tedavide yüzyıllardır enflamasyon, hipertansiyon, kanser ve diyabet gibi çok sayıda hastalığı tedavi etmek için kullanılmıştır (Ren vd., 2021). *S. Radix*, *S. ningpoensis* ve *S. buergeriana*' nın kurutulmuş kökleri Asya' da romatizma, artrit ve faringeal hastalıklarını tedavi etmek için kullanılan bitkisel ilaçlardır (Nam vd., 2020).

Literatüre göre birçok *Scrophularia* türü araştırılmış ve farklı sınıflara ait iridoidler, fenilpropanoidler, fenolik asitler, flavonoidler ve saponinler gibi sekonder metabolitler içerdiği tespit edilmiştir. Bu ikincil metabolitlerin sorumlu oldukları biyolojik aktivitelerden bazıları antienflamatuvar, antibakteriyel, hepatoprotektif,

immünomodülatör, kardiyovasküler, idrar söktürücü, protozoosidal, mantar öldürücü, yumuşakça öldürücü, sitotoksik, sitostatik, antitümör gibi aktivitelerdir (Nishibe, 1994; Lacaille-Dubois ve Wagner, 1996; Khodair vd., 1997; Benito vd., 1998; Ghisalberti, 1998)

Bugüne kadar *Scrophularia* türleri üzerinde yapılan birçok çalışmada farmakologların ilgilendiği iridoid glikozitlerin bu bitkilerin terapötik etkisinden sorumlu bileşiklerin varlığına bağlı olduğu öne sürülmüştür (Ghisalberti, 1998).

Ülkemiz *Scrophularia* türü bakımından oldukça zengin bir floraya sahip olmasına rağmen bu tür üzerinde yapılan fitokimyasal çalışma sayısı oldukça azdır. Erzincan da doğal olarak yetişen *S. erzincanica*, *S. subaequiloba* ve *S. libanotica* var *armena* türleri üzerinde yaptığımız ön çalışmalarda *S. subaequiloba*'nın hem toprak üstü hem de kök metanol ekstraktlarında *S. erzincanica*'nın toprak üstü metanol ekstresinde yüksek anti-proliferatif aktivite tespit edilmiştir.

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Scrophulariaceae Familyası

Alem: Bitkiler alemi

Bölüm: Spermatophyta

Altbölüm: Angiospermae

Sınıf: Dicotyledonae

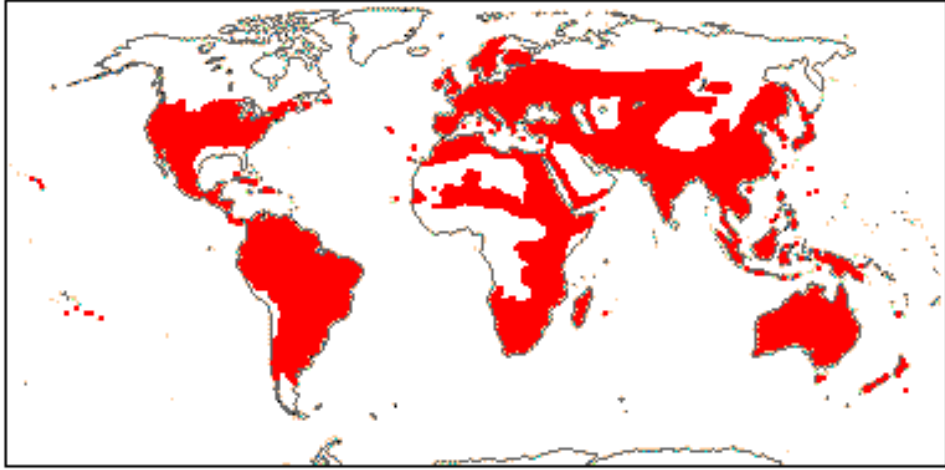
Altsınıf: Sympetalae

Takım: Scrophulariales

Familya: Scrophulariaceae

Cins: *Scrophularia*

Scrophulariaceae (Sıracotugiller) familyası dünya genelinde yaklaşık 220 cins ve 5.800 türü bulunan kozmopolit ve içerdiği tür sayısına göre yedinci büyük familya olma özelliğine sahiptir (Bigazzi vd., 1993). İlk olarak Jussieu tarafından tanımlanmıştır (Heywood vd., 2007). Türkiye de bu familya 30 cins ve 466 türle temsil edilmektedir. Günümüzde familyanın 59 cinsine ait 1.880 türü olduğu kabul edilmektedir (APG, 2022). Bu familyaya ait türlerin endemizm oranı %52,2'dir (Davis, 1988).



Şekil 2.1. Scrophulariaceae familyasının yayılış haritası

Dünya genelinde Scrophulariaceae familyasının yayılış haritası Şekil 2.1.'de verilmiştir. Sıracı otugiller (Scrophulariaceae) familyasına ait bitkiler genellikle yıllık ve çok yıllık otsu veya yarı çalılıklardan nadiren ağaç formunda olan çiçekli bitkilerdir. Yapraklar almaşık veya karşılıklı dairesel dizili, basit, tam veya parçalı ve stipulasızdır. Çiçekler yaprak koltuklarında tek veya salkım durumunda ana eksen üzerine dizilmiş ve uzamış şekilde bulunmaktadır.

2.1.2. *Scrophularia* L. Cinsi

Scrophularia L. cinsi tek yıllık veya çok yıllık, otsu veya yarı çalılıklardan oluşmaktadır. Dünya üzerinde yaklaşık 300 taksondan oluşan oldukça büyük bir cinstir. Türkiye'de ise 77 *Scrophularia* türü yetişmektedir (Uzunhisarcikli vd., 2019). Cins, kuzey yarımkürenin ılıman kuşağında Asya ve Avrupa'da yoğun olarak bulunurken, Kuzey Amerika'da ise sadece birkaç türü bulunmaktadır (Mabberley, 1997). *Scrophularia* cinsi ilk kez Linnaeus tarafından tanımlanmıştır (Hynniewta vd., 2011). Çoğunlukla yol kenarlarında, akarsu ve ormanlık alanlarda, nemli kayalık yamaçlarda yetişmektedirler (Kandemir vd., 2014). Sıracı hastalığı olarak bilinen ciltte şişkinliğe sebep olan ve patlayan bu şişliklerden irin akan bir tür deri veremi hastalığına karşı tedavi amaçlı kullanılmış ve cins ismini de buradan almıştır (Baytop, 1999).

2.1.3. *Scrophularia erzincanica* R. R. Mill / *Sürek sıracaotu*:

Tek yıllık 20-30 cm boylarında yoğun kokulu bitkiler. Gövde tek veya çok sayıda, salgı tüylü. Taban yaprakları yumurtamsı veya daire biçimli, 32 x 28 mm, kenarlarda kaba dişli; gövde yapraklar 2-teleksi, saplı. Çiçeklenme bölgesinde yapraksız. Talkımlar 2-7 çiçekli, belirgin saplı; saplar salgı tüylü. Alttaki çiçek brakteleri serin 3 parçalı, üsttekiler tam. Braktecikler şeritsi-mızraksı, Çanak lobları geniş ters yumurtamsı, tüysüz, kenarlarda zarsı. Taç yapraklar yeşilimsi- pembemsi, yaklaşık 5 mm boyunda. Erkek organlar dışarı uzanmış. Staminodlar taç loplarına benzer. Meyve küremsi. Şekil 2.2.'de *S. erzincanica* bitkisi görülmektedir.

Çiçeklenme zamanı: Mayıs. Serpantinli topraklarda yetişir. Endemik bir türdür (Lall ve Mill, 1978).



Şekil 2.2. *Scrophularia erzincanica*'nın habitatında genel görünümü (A. Kandemir)

2.1.4. *Scrophularia subaequiloba* Lall. / *Munzur sıracası*:

Çok yıllık, 35 cm ye kadar boylanabilen bitkiler. Gövde dik veya yükselici, çok sayıda, tüysüz, tabana yakın morumsu. Yapraklar 3 cm ye kadar uzar, kısa saplı, 1-2 derin teleksi parçalı, uçtaki parça yanlardakilerden daha uzun, tüysüz. Çiçeklenme bölgesi yapraksız, brakteli. Talkımlar 2-3 çiçekli; talkım sapı 6-16 mm uzunluğunda, salgı tüylü. Çiçek sapları salgı tüylü. Çanak yaprak lopları 2-3 x 2.5-3 mm, tüysüz,

kenarlarda kıkırdaksı veya değil tüysüz. Taç tüpleri kestane rengi; loplar yeşil ve eşite yakın boyda, 4,5-5 mm. Erkek organlar taçlardan dışarı uzanır, siyah salgı tüylü. Staminod böbreksi, sırtta kanallı, 1,6 x 2-2,5 mm. Meyve 4 x 4 mm, küremsi. Şekil 2.3.'de *S. subaequiloba* bitkisi görülmektedir.

Çiçeklenme zamanı: Temmuz-Ağustos.

Serpantinli topraklarda yetişir. Bazen kireçtaşından oluşmuş hareketli kayalıklarda da bulunur. Endemik bir türdür (Lall ve Mill, 1978).



Şekil 2.3. *Scrophularia subaequiloba*'nın habitatında genel görünümü

2.1.5. *Scrophularia libanotica* subsp. *armena* R .R. Mill / kayaçekemi:

15-30 cm boylarında çok yıllık bitkiler. Gövde genellikle salgı tüylü, bazen tüysüz. Yapraklar tüysüz veya salgı tüylü, kenarlarda kaba dişli; alt yapraklar saplı, üstekiler sapsız. Çiçeklenme bölgesinde yapraksız. Talkımlar 2-7 çiçekli; talkım sapı belirgin, salgı tüylü veya tüysüz. Brakteler şeritsi veya mızraksı, genellikle salgı tüylü. Çanak lobları yumurtamsı veya dairemsi, 2-3 x 1,5-2 mm, kenarlarda zarsı. Taç yapraklar yeşilimsi veya kahverengi pembemsi 4-5,5 mm. Erkek organlar dışarıya uzanmış. Staminod dikdörtgensel veya yumurtamsı. Meyve küremsi. Şekil 2.4.'de *S. libanotica* bitkisi görülmektedir.

Çiçeklenme zamanı: Mayıs-Haziran. Kayalık alanlarda yetişir. Endemik bir türdür (Lall ve Mill, 1978).



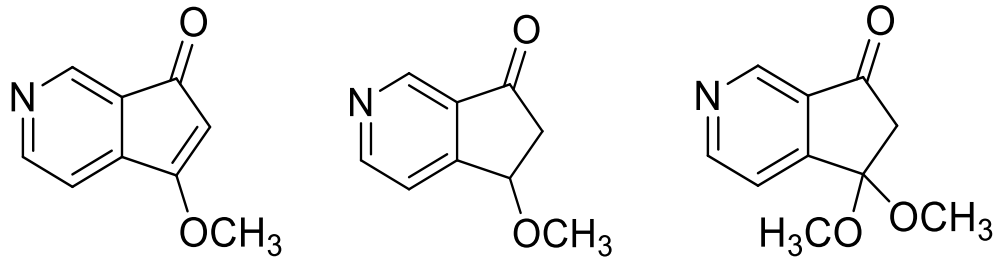
Şekil 2.4. *Scrophularia libonatica*'nın habitatında genel görünümü

2.2. *Scrophularia* Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Araştırmalar

Scrophularia türlerinden elde edilen sekonder metabolitler alkaloidler, feniletanoit glikozitler, fenolik bileşikler, flavonoidler, glikozit esterler, iridoid glikozitler, saponin glikozitler ve diğer yapılar başlıkları altında verilmiştir (Saracoglu vd., 1997; Pasdaran ve Hamed, 2017).

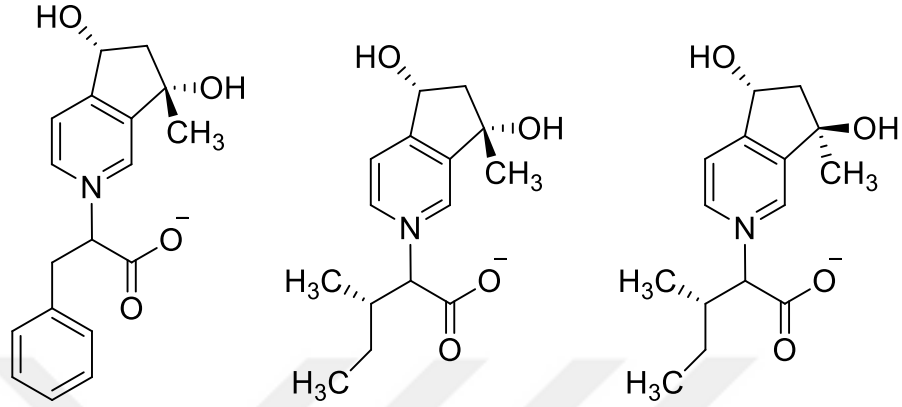
2.2.1. Alkaloidler

Siklopentapiridin iskelet yapısına sahip monoterpen piridin alkaloidleri *S. ningpoensis*'den saflaştırılarak Scrophularianine A, Scrophularianine B ve Scrophularianine C olarak adlandırılmışlardır (Zhu vd., 2013). Şekil 2.5.'de yapılar sırasıyla gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Scrophularianine A, B ve C nin yapısı

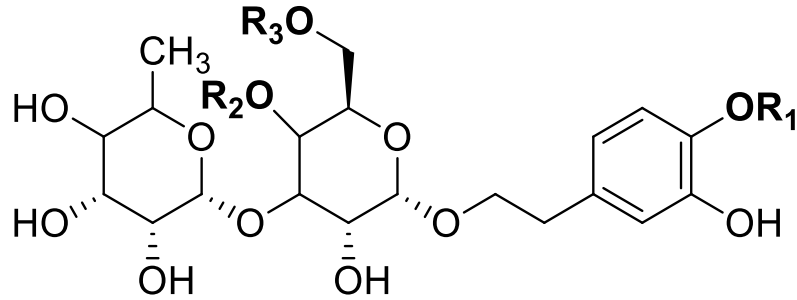
Scrophularia türlerinden izole edilen diğer alkaloid yapısındaki bileşikler ise *S. ningpoensis*'den Ningpoensine A, B ve C, *S. takesimensis*' den 5-Hidroksipiriloidin-2-one aşağıda Şekil 2.6.' da verilmiştir (Kim vd., 2012; Zhang vd., 2015).



Şekil 2.6. Ningpoensine A, B ve C' nin yapısı

2.2.2. Feniletanoit glikozitler

Scrophularia türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitler yapısındaki bileşiklerin ana iskeletleri Şekil 2.7. ve Şekil 2.8.' de bileşiklerin adları ise Tablo 2.1. ve Tablo 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2.7. Tablo 2.1.'de verilen feniletanoit glikozit yapıları bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.1. *Scrophularia* türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitler

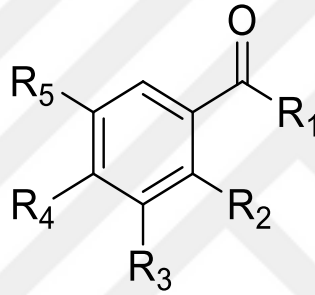
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bitki	Kaynak
				<i>S. scopolii</i>	(Saracoglu vd., 1997)
Angorozit A	H	kafeoil	α -arabinoz	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
				<i>S. scorodonia</i>	(Fernandez vd., 1995)
Angorozit B	H	arabinoz	t-feruloil	<i>S. scopolii</i>	(Saracoglu vd., 1997)

Tablo 2.2. *Scrophularia* türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitler

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bitki	Kaynak
Osmanthuside B	OH	H	H	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2015)
Martynoside	OCH ₃	OH	OCH ₃	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2015)
Lipidosides A-I	OH	H	H	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2015)

2.2.3. Fenolik bileşikler

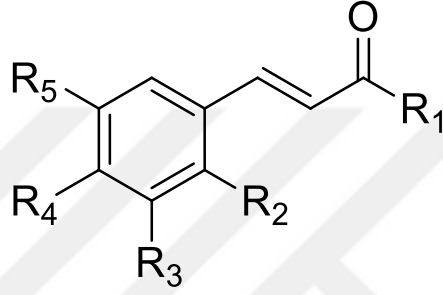
Scrophularia türlerinden izole edilen fenolik bileşik yapısındaki maddelerin ana iskeletleri Şekil 2.9. ve Şekil 2.10.' da adları Tablo 2.3. ve Tablo 2.4.' de verilmiştir.

**Şekil 2.9.** Tablo 2.3.'de verilen feniletanoit glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti**Tablo 2.3.** *Scrophularia* türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitler

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Bitki	Kaynak
Asetovanilon	CH ₃	OCH ₃	H	OH	H	<i>S. buergeriana</i>	(Lee vd., 2002)
Gentisik asit	OH	OH	H	H	OH	<i>S. frutescens</i>	(Fernandez vd., 1998a)
İzovanilik asit	OH	H	OH	OCH ₃	H	<i>S. frutescens</i>	(Fernandez vd., 1998a)
Protokateşik asit	OH	H	OH	OH	H	<i>S. frutescens</i>	(Fernandez vd., 1998a)
<i>p</i> -Hidroksi benzoikasit	OH	H	H	OH	H	<i>S. sambucifolia</i>	(Fernandez vd., 1998a)
Siringik asit	OH	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	<i>S. sambucifolia</i>	(Fernandez vd., 1998a)
Vanilin	H	H	H	OH	OCH ₃	<i>S. ningpoensis</i>	(Zhu vd., 2013)
3-Hidroksi asetofenon	CH ₃	H	OH	OH	OH	<i>S. ningpoensis</i>	(Zhu vd., 2013)
3-Metoksi-4-hidroksi asetofenon	CH ₃	H	OCH ₃	OH	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Zhu vd., 2013)

Tablo 2.3. Scrophularia türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitlerin Devamı

3-Hidroksi-4-metoksi-benzoikasit	H	H	OH	OCH ₃	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Nguyen 2005)	vd.,
4-Hidroksi asetofenon	OCH ₃	H	H	OH	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Zhu vd., 2013)	
4-Hidroksi benzaldehit	H	H	H	OH	H	<i>S. buergeriana</i>	(Lee vd., 2002)	
3,5-Dimetoksi-4-hidroksiasetofenon	CH ₃	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	<i>S. buergeriana</i>	(Lee vd., 2002)	

**Şekil 2.10.** Tablo 2.4.'de verilen feniletanoit glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti**Tablo 2.4.** Scrophularia türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitler

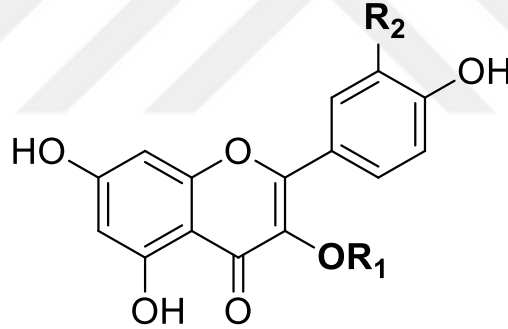
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Bitki	Kaynak
Ferulik asit	OH	H	OCH ₃	OH	H	<i>S. buergeriana</i>	(Lee vd., 2002)
Kafeik asit	OH	H	OH	OH	H	<i>S. frutescens</i>	(Fernandez vd., 1998b)
Kumarik asit	OH	H	H	OH	H	<i>S. frutescens</i>	(Fernandez vd., 1998b)
Sinnamaldehyt	H	H	H	H	H	<i>S. ningpoensis</i> <i>S. buergeriana</i>	(Lee vd., 2002)
Sinnamik asit	OH	H	H	H	H	<i>S. buergeriana</i>	(Lee vd., 2002)
p-Hidroksisinnamik asit	OH	H	H	OH	H	<i>S. frutescens</i>	(Fernandez vd., 1998b)
p-Metoksisinnamik asit	OH	H	H	OCH ₃	H	<i>S. buergeriana</i>	(Lee vd., 2002)
3-Metoksisinnamik asit	OH	H	OCH ₃	H	H	<i>S. buergeriana</i>	(Lee vd., 2002)
4-Metoksisinnamik asit	OH	H	H	OCH ₃	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Zhu 2013)
o-Metoksisinnamik asit	OH	OCH ₃	H	H	H	<i>S. buergeriana</i>	(Lee vd., 2002)

Tablo 2.4. Scrophularia türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitlerin Devamı

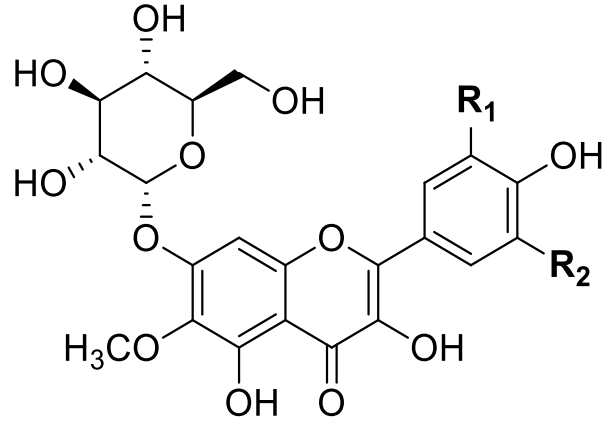
p-Metoksisinnamik asit metil ester	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	<i>S. buergeriana</i>	(Kim ve Kim, 2000)	
trans-4 Hidroksisinnamik asit metil ester	OCH ₃	H	H	OH	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Lee 2002)	vd.,
trans-kafeik asit metil ester	OCH ₃	H	OH	OH	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Lee 2002)	vd.,
3,5-Dimetoksi-4- hidroksisinnamik asit	OH	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	<i>S. buergeriana</i>	(Lee 2002)	vd.,
3,4-Dimetoksi- sinnamik asit	OH	H	OCH ₃	OCH ₃	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Miyazawa vd., 1998)	

2.2.4. Flavonoidler

Scrophularia türlerinden izole edilen flavonoid yapısındaki bileşiklerin ana iskeletleri Şekil 2.11-2.14.' de ve adları da Tablo 2.5- 2.8.' de verilmiştir.

**Şekil 2.11.** Tablo 2.5.'de verilen flavonoid yapıları bileşiklerin ana iskeleti**Tablo 2.5.** Scrophularia türlerinden izole edilen feniletanoit glikozitler

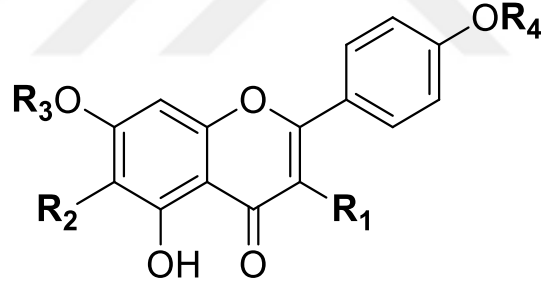
Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Quercetin	H	H	<i>S. striata</i>	(Monsef-Esfahani vd., 2010)
Quercetin -3-O-rutinozit	Glukoz- (1→6)- Ramnoz	OH	<i>S. ilwensis</i>	(Çalis vd., 1993)
Kaempferol-3-O- rutinozit	Glukoz- (1→6)- Ramnoz	H	<i>S. ilwensis</i>	(Çalis vd., 1993)
Isorhamnetin-3-O- rutinoside	Glukoz- (1→6)- Ramnoz	OCH ₃	<i>S. takesimensis</i>	(Kim vd., 2012)



Şekil 2.12. Tablo 2.6.'da verilen flavonoid yapıları bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.6. *Scrophularia* türlerinden izole edilen flavonoidler

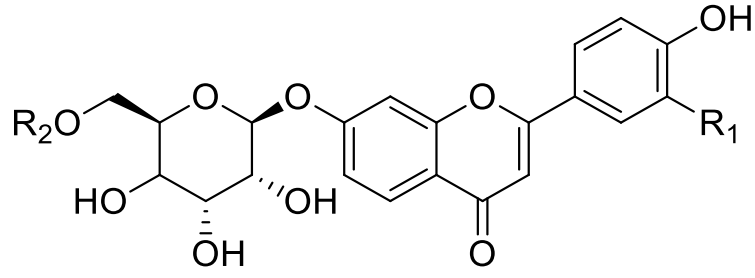
Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Nepitrin	OH	H	<i>S. takesimensis</i>	(Kim vd., 2012)
Homoplantagin	H	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Chen vd., 2007)
Haemoplantagin	H	OH	<i>S. ningpoensis</i>	(Chen vd., 2007)



Şekil 2.13. Tablo 2.7.'de verilen flavonoid yapıları bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.7. *Scrophularia* türlerinden izole edilen flavonoidler

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Bitki	Kaynak
Acacetin	H	H	H	CH ₃	<i>S. trifoliata</i>	(Ramunno vd., 2006)
Scrophulein	H	OCH ₃	CH ₃	H	<i>S. grossheimii</i>	(Akhmedov ve Litvinenko, 1969)



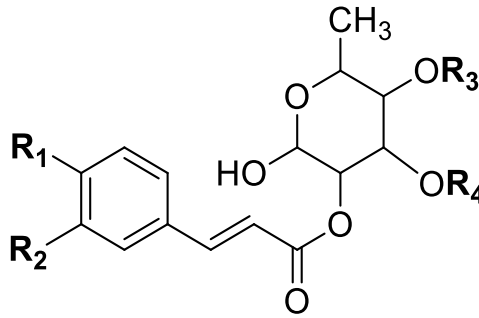
Şekil 2.14. Tablo 2.8.'de verilen flavonoid yapıları bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.8. *Scrophularia* türlerinden izole edilen flavonoidler

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Apigenin 7-O-β-glikozit	H	H	<i>S. kotschyana</i>	(Renda vd., 2018)
apigenin 7-O-rutinoside	H	α-Rha	<i>S. kotschyana</i>	(Renda vd., 2018)
luteolin 7-O-β-glikozit	OH	H	<i>S. kotschyana</i>	(Renda vd., 2018)
luteolin 7-O-rutinoside	OH	α-Rha	<i>S. kotschyana</i>	(Renda vd., 2018)

2.2.5. Glikozit esterler

Scrophularia türlerinden izole edilen bazı glikozit ester yapılarının ana iskeletleri Şekil 2.15- 2.17.'de adları Tablo 2.9-2.11.' de verilmiştir.



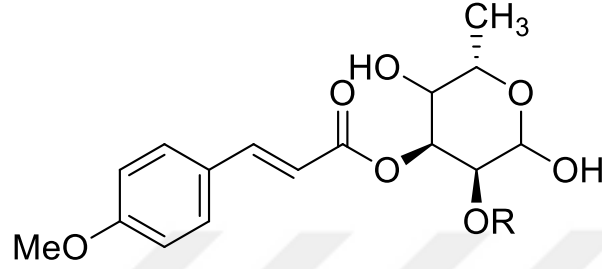
Şekil 2.15. Tablo 2.9.'da verilen glikozit ester yapıları bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.9. *Scrophularia* türlerinden izole edilen glikozit esterler

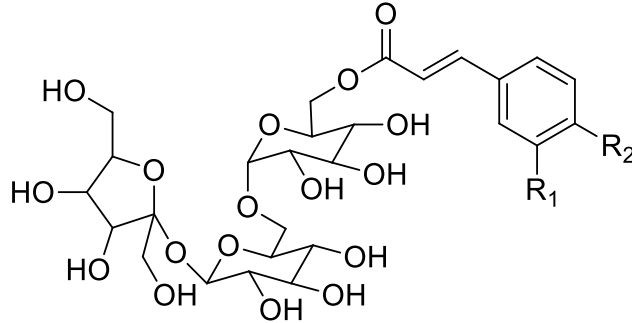
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Bitki	Kaynak
Ningposide C	OH	H	H	Asetil	<i>S. ningpoensis</i> <i>S. buregeriana</i>	(Chen 2007) vd.,

Tablo 2.9. *Scrophularia* türlerinden izole edilen glikozit esterler Devamı

Ningposide A	OH	OCH ₃	H	Asetil	<i>S. ningpoensis</i> <i>S. buregeriana</i>	(Chen 2007)	vd.,
Ningposide B	OH	OCH ₃	Asetil	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Chen 2007)	vd.,
Ningposide D	OCH ₃	H	H	Asetil	<i>S. ningpoensis</i>	(Nguyen 2005)	vd.,

**Şekil 2.16.** Tablo 2.10’da verilen flavonoid yapıları bileşiklerin ana iskeleti**Tablo 2.10.** *Scrophularia* türlerinden izole edilen glikozit esterler

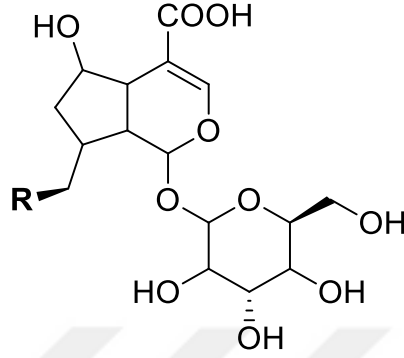
Bileşik	R	Bitki	Kaynak
Buergeriside C1	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Li vd., 2009; Zhang vd., 2021)
Buergeriside B1	Asetil	<i>S. ningpoensis</i>	(Chen vd., 2007; Chen vd., 2014)

**Şekil 2.17.** Tablo 2.11.’de verilen flavonoid yapıları bileşiklerin ana iskeleti**Tablo 2.11.** *Scrophularia* türlerinden izole edilen glikozit esterler

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
6-O-Feruloyl β -fructofuranosyl-(2→1)-O- α -glucopyranosyl-(6→1)-O- α -glucopyranoside	OMe	OH	<i>S. ningpoensis</i>	(Zhang vd., 2015)
6-O-cinnamoyl β -fructofuranosyl-(2→1)-O- α -glucopyranosyl-(6→1)-O- α -glucopyranoside	H	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Zhang vd., 2015)

2.2.6. İridoid glikozitler

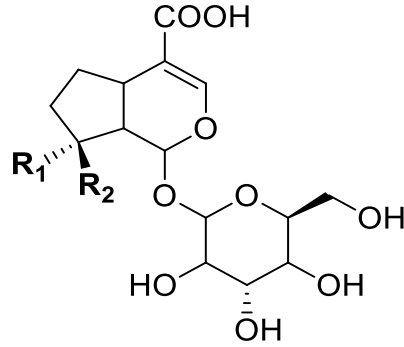
Scrophularia türlerinden izole edilen bazı iridoid glikozit yapısındaki bileşiklerin ana iskeletleri Şekil 2.18-2.27.'de adları Tablo 2.12-2.21.'de verilmiştir.



Şekil 2.18. Tablo 2.12.'de verilen iridoid glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.12. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler

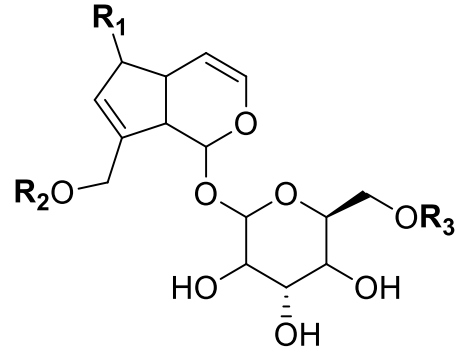
Bileşik	R	Bitki	Kaynak
10-Deoksigeniposidik asit	H	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)
Geniposidik asit	OH	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)



Şekil 2.19. Tablo 2.13.'de verilen iridoid glikozit yapılı bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.13. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler

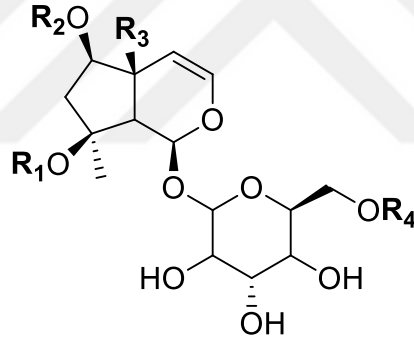
Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
7-Deoksigardozi	CH ₃	CH ₃	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)
8-Epideoksiloganik asit	H	CH ₃	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)



Şekil 2.20. Tablo 2.14.'de verilen iridoid glikozit yapıları bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.14. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bitki	Kaynak
Aucubin	OH	H	H	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2015)
Martynoside	OCH ₃	OH	OCH ₃	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2015)
Lipidosides A-I	OH	H	H	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2015)



Şekil 2.21. Tablo 2.15.'de verilen iridoid glikozit yapıları bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.15. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler

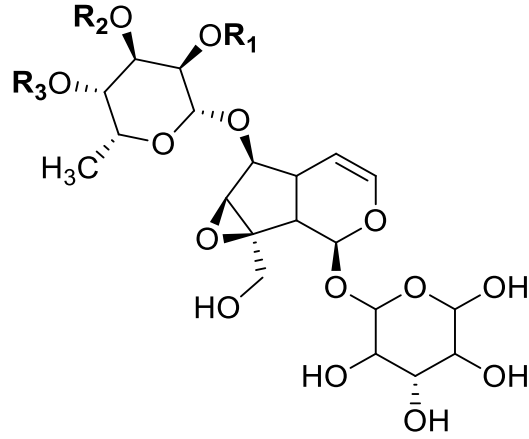
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Bitki	Kaynak
Ajugol	H	H	H	H	<i>S. lateriflora</i>	(Galindez vd., 2001)
					<i>S. ilwensis</i>	(Çalış vd., 1993)
					<i>S. lepidota</i>	(Tasdemir vd., 2005)
					<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)
					<i>S. ningpoensis</i>	(Li vd., 2000)
Ajugoside	Asetil	H	H	H	<i>S. lepidota</i>	(Tasdemir vd., 2005)

Tablo 2.15. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler Devamı

Laterioside	Sinnamoil	H	H	H	<i>S. lateriflora</i>	(Galindez vd., 2001)
Lateroside	<i>trans</i> -sinnamoil	H	H	H	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)
Harpagid	H	H	OH	H	<i>S. ilwensis</i>	(Çalis vd., 1993)
					<i>S. nodosa</i>	(Galindez vd., 2001)
					<i>S. variegata</i>	(Rachid Chebaki vd., 2011)
					<i>S. scorodonia</i>	(Benito vd., 2000)
Harpagosid	Sinnamoil	H	OH	H	<i>S. buergeriana</i>	(Kitagawa vd., 1967)
					<i>S. vernalis</i>	(Galindez vd., 2001)
					<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)
					<i>S. chrysantha</i>	(Babayan ve Mnatsakanyan, 1989)
					<i>S. ningpoensis</i>	(Li vd., 2000)
					<i>S. koraiensis</i>	(Galindez vd., 2001)
					<i>S. scorodonia</i>	(Benito vd., 2000)
					<i>S. koelzii</i>	(Garg vd., 1994)
8-O-Asetilharpagide	Asetil	H	OH	H	<i>S. saharae</i>	(R. Chebaki vd., 2011)
					<i>S. scorodonia</i>	(Benito vd., 2000)
					<i>S. leucoclada</i>	(Galindez vd., 2001)
					<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)
8-O-Sinnamoil-harpagide	Sinnamoil	H	OH	H	<i>S. scorodonia</i>	(Benito vd., 2000)
8-O-(Metil-p-kumaroil)-harpagide	metil-p-kumaroil	H	OH	H	<i>S. buergeriana</i>	(Kitagawa vd., 1967)
					<i>S. chrysantha</i>	(Babayan ve Mnatsakanyan, 1989)

Tablo 2.15. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler Devamı

8-O-(2-Hidroksi-sinamoil)-harpagide	2-hidroksisinnamoil	H	OH	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Li 2000)	vd.,
8-O-Feruloil-harpagide	feruloil	H	OH	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Li 2000)	vd.,
6"-O-Kafeoilharpagide	H	H	OH	kafeoil	<i>S. ningpoensis</i>	(Li 2000)	vd.,
6"-O-Feruloilharpagide	H	H	OH	trans-feruloil	<i>S. ningpoensis</i>	(Li 2000)	vd.,
					<i>S. dentata</i>	(Zhang 2014)	vd.,
6'-O-(<i>p</i> -Kumaroil) harpagide	H	H	OH	trans- <i>p</i> -kumaroil	<i>S. ningpoensis</i>	(Li 2000)	vd.,
					<i>S. dentata</i>	(Zhang 2014)	vd.,
6"-O- β -glukopiranozil harpagoside	sinnamoil	H	OH	glukopiranozil	<i>S. ningpoensis</i>	(Li 2000)	vd.,
					<i>S. dentata</i>	(Zhang 2014)	vd.,
6'-O-E- <i>p</i> -metoksi sinnamoilharpagide	H	H	OH	E- <i>p</i> -metoksi sinnamoil	<i>S. ningpoensis</i>	(Li 2000)	vd.,
6'-O-Z- <i>p</i> -Metoksi sinnamoil harpagide	H	H	OH	Z- <i>p</i> -metoksi sinnamoil	<i>S. buergeriana</i>	(Kitagawa vd., 1967)	
8-O-E- <i>p</i> -Metoksi sinnamoil harpagide	E- <i>p</i> -metoksi sinnamoil	H	OH	H	<i>S. buergeriana</i>	(Kitagawa vd., 1967)	
8-O-Z- <i>p</i> -Metoksi sinnamoil harpagide	Z- <i>p</i> -metoksi sinnamoil	H	OH	H	<i>S. buergeriana</i>	(Kitagawa vd., 1967)	
6"-O- α -D-Galaktopiranozil harpagoside	sinnamoil	H	OH	galaktoz piranoz	<i>S. ningpoensis</i>	(Li 2000)	vd.,
Scrodentoside D	H	H	OH	foliyament oil	<i>S. dentata</i>	(Zhang 2014)	vd.,
Scrodentoside E	H	H	OH	cis-feruloil	<i>S. dentata</i>	(Zhang 2014)	vd.,



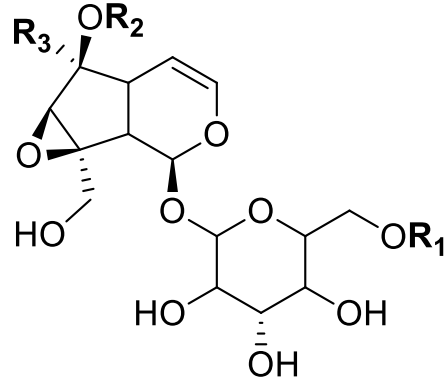
Şekil 2.22. Tablo 2.16.'da verilen iridoid glikozit yapıları bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.16. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bitki	Kaynak
Buddlejoside A ₅	asetil	<i>p</i> -metoksi sinnamoil	H	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
Buddlejoside A ₄	H	asetil	<i>p</i> -metoksi sinnamoil	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
Buddlejoside A ₃	asetil	H	<i>p</i> -metoksi sinnamoil	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
Lagotisioside D	H	H	trans-3,4- dimetoksisinnamoil	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)
Koelzioside	sinnamoil	sinnamoil	asetil	<i>S. koelzii</i>	(Bhandari vd., 1992)
Pulverulentoside II	asetil	izoferuloil	H	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
Scropolioside A	asetil	<i>p</i> -metoksi- trans-sinnamoil	asetil	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
Scrophuloside A ₂	asetil	H	<i>p</i> -kumaroil	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
Scrophuloside A ₃	H	asetil	<i>p</i> -kumaroil	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
Scrophuloside A ₄	asetil	<i>p</i> -metoksi sinnamoil	<i>p</i> -metoksi sinnamoil	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
Scrophuloside A ₅	asetil	<i>cis-p</i> -metoksi sinnamoil	H	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
Scrophuloside A ₆	asetil	<i>cis-p</i> -metoksi sinnamoil	asetil	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
Scrophuloside A ₇	asetil	asetil	<i>cis-p</i> -metoksi sinnamoil	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
Scrophuloside A ₈	asetil	asetil	izoferuloil	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)
Scropolioside B	asetil	trans-sinnamoil	trans-sinnamoil	<i>S. scopolii</i>	(Calis vd., 1988)

Tablo 2.16. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler Devamı

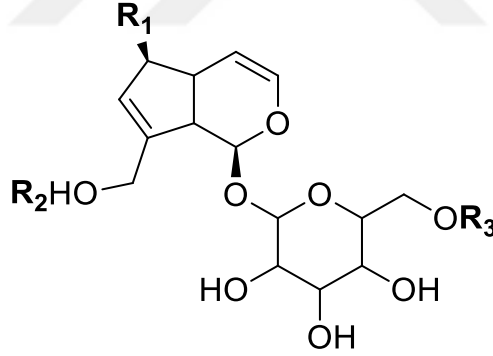
Scrodentoside A	asetil	asetil	<i>trans</i> -3,4-dimetoksisinnoil	<i>S. dentata</i>	(Zhang 2014)	vd.,
Scrodentoside B	asetil	asetil	<i>cis</i> -3,4-dimetoksisinnoil	<i>S. dentata</i>	(Zhang 2014)	vd.,
Scrospioside B	asetil	sinnoil	H	<i>S. spicata</i>	(Galindez 2001)	vd.,
Scorodioside	<i>trans</i> -sinnoil	asetil	H	<i>S. scorodonia</i>	(Benito 2000)	vd.,
Scrofeanoside II	H	H	<i>p</i> -metoksi- <i>m</i> -hidroksisinnoil	<i>S. koraiensis</i>	(Galindez 2001)	vd.,
Scrovalentinoside	asetil	asetil	<i>p</i> -metoksi sinnoil	<i>S. auriculata</i>	(Benito 2000)	vd.,
Scropolioside D	asetil	<i>trans</i> sinnoil	asetil	<i>S. spicata</i>	(Galindez 2001)	vd.,
				<i>S. ilwensis</i>	(Çalış 1993)	vd.,
				<i>S. koraiensis</i>	(Galindez 2001)	vd.,
				<i>S. saharae</i>	(R. Chebaki vd., 2011)	vd.,
Scrophuloside B ₄	asetil	sinnoil	<i>p</i> -metoksi sinnoil	<i>S. ningpoensis</i>	(Li vd., 2000)	
Scrophuloside B ₅	asetil	<i>p</i> -metoksi sinnoil	sinnoil	<i>S. saharae</i>	(R. Chebaki vd., 2011)	
Verbaskozit A	H	H	<i>p</i> -metoksi sinnoil	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)	
6- α -L-Ramnopiranozil-katalpol	H	H	H	<i>S. nodosa</i>	(Miyase ve Mimatsu, 1999)	
6-O- α -L-(4"-O- <i>trans</i> -sinnoil)-ramnopiranozil-katalpol	H	H	<i>trans</i> sinnoil	<i>S. dentata</i>	(Zhang 2014)	vd.,
6-O-(3"-O- <i>p</i> -metoksi-sinnoil)- α -L-ramnopiranozil-katalpol	H	<i>p</i> -metoksi sinnoil	asetil	<i>S. koelzii</i>	(Kim vd., 2003)	
6-O- α -L-(2"-O-asetil-3",4"-O-di <i>p</i> metoksisinnoil- α -Lramnopiranozil) katalpol	asetil	<i>p</i> -metoksi sinnoil	<i>p</i> -metoksi sinnoil	<i>S. auriculata</i>	(Giner 1998)	vd.,
6-O-(2",3"-O-di- <i>p</i> -metoksi sinnoil-4"-O-asetil- α -Lramnopiranozil) katalpol	asetil	<i>p</i> -metoksi sinnoil	<i>p</i> -metoksi sinnoil	<i>S. auriculata</i>	(Giner 1998)	vd.,
6-O- α -L-(3"-O- <i>trans</i> - <i>p</i> -kumaroil)-ramnopiranozil-katalpol	H	<i>trans</i> - <i>p</i> -kumaroil	H	<i>S. scorodonia</i>	(Benito 2000)	vd.,



Şekil 2.23. Tablo 2.17.'de verilen iridoid glikozit yapıları bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.17. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bitki	Kaynak
Katalpol	H	H	H	<i>S. lateriflora</i> <i>S. lepidota</i>	(Galindez vd., 2001) (Tasdemir vd., 2005)
Globularin	H	sinnamoil	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Chen vd., 2007)
Karsozit	β -D-ksiloz	CH ₃	H	<i>S. ilwensis</i>	(Çalis vd., 1993)
Pikrozoit I	sinnamoil	H	H	<i>S. lateriflora</i>	(Berdini vd., 1991)
6-O-Metilkatalpol	H	CH ₃	H	<i>S. vernalis</i>	(Galindez vd., 2001)



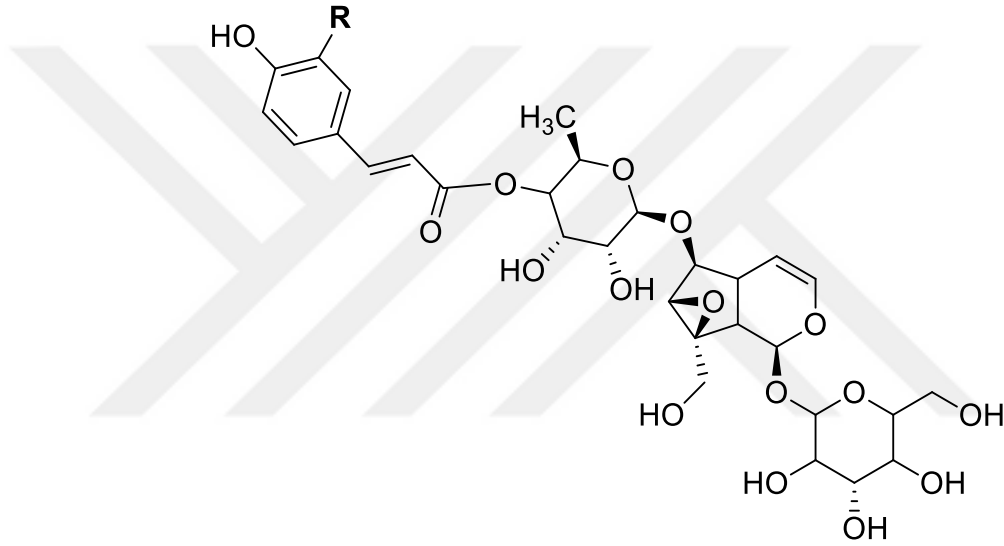
Şekil 2.24. Tablo 2.18.'de verilen iridoid glikozit yapıları bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.18. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler

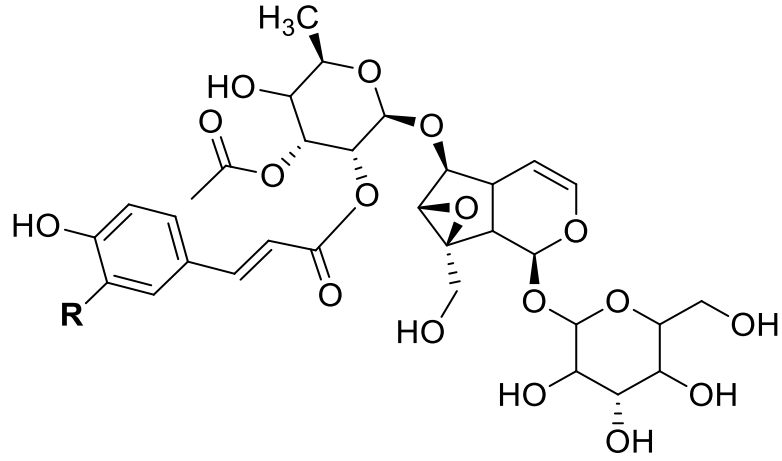
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bitki	Kaynak
Bartsiozit	H	H	H	<i>S. scorodonia</i>	(Benito vd., 2000)
Eurostoizit	OH	<i>p</i> -kumaroil	H	<i>S. ningpoensis</i> <i>S. lateriflora</i> <i>S. vernalis</i>	(Li vd., 2009) (Li vd., 2009) (Li vd., 2009)
Okubozit	OH	H	H	<i>S. scorodonia</i> <i>S. alata</i>	(Fernandez vd., 1995) (Li vd., 2009)

Tablo 2.18. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler Devamı

Skrofeanozit I	4"-O-(<i>p</i> -metoksi- <i>m</i> -hidroksisinnamoil)- β -D-ramnoz,	H	H	<i>S. koraiensis</i>	(Li vd., 2009)	
				<i>S. vernalis</i>	(Li vd., 2009)	
				<i>S. laterifolia</i>	(Li vd., 2009)	
6-O- α -L-Ramnopiranozil okubin (sinuatol)	O- α -L-ramnoz,	H	H	<i>S. lepidota</i>	(Tasdemir 2005)	vd.,
6-O- β -D-Xylopyranosylaucubin	β -D-ksiloz	H	H	<i>S. lepidota</i>	(Tasdemir 2005)	vd.,
10-O- β -Glukozilaucubin	OH	β -D-glukoz	H	<i>S. canina</i>	(Berdini vd., 1991)	
				<i>S. vernalis</i>	(Tasdemir 2005)	vd.,

**Şekil 2.25.** Tablo 2.19.'da verilen iridoid glikozit yapıları bileşiklerin ana iskeleti**Tablo 2.19.** *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler

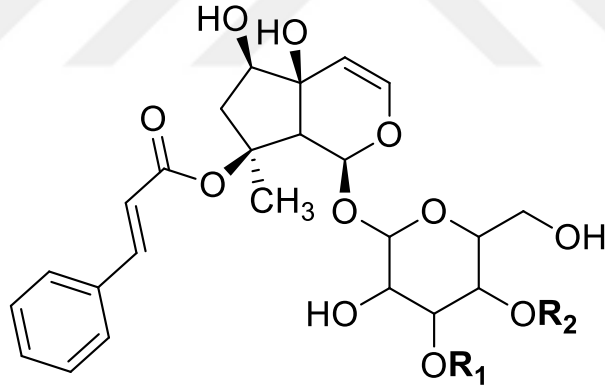
Bileşik	R	Bitki	Kaynak
Scrodentoside F	H	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)
Scrodentoside G	OCH ₃	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)



Şekil 2.26. Tablo 2.20’de verilen iridoid glikozit yapıli bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.20. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler

Bileşik	R	Bitki	Kaynak
Saccatoside	H	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)
Scrodentoside H	OCH ₃	<i>S. dentata</i>	(Zhang vd., 2014)

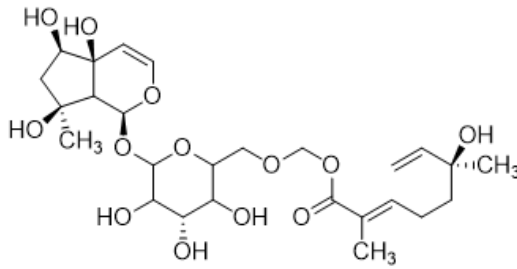


Şekil 2.27. Tablo 2.21’de verilen iridoid glikozit yapıli bileşiklerin ana iskeleti

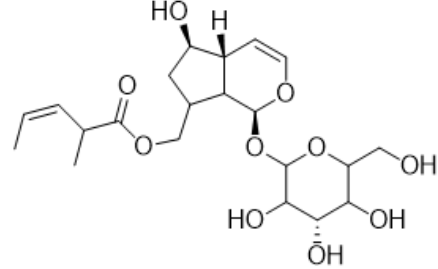
Tablo 2.21. *Scrophularia* türlerinden izole edilen iridoid glikozitler

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Ningpozit I	H	Glukoz	<i>S. ningpoensis</i>	(Hua vd., 2014)
Ningpozit II	Glukoz	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Hua vd., 2014)

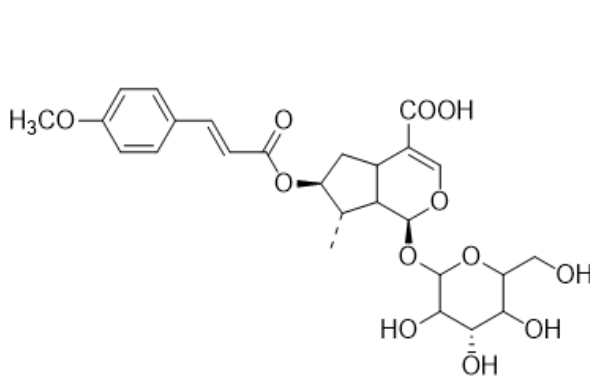
Tablo 2.12.-2.21.'de verilen bileşiklerden farklı olarak izole edilmiş olan iridoid yapısındaki bileşikler aşağıda Şekil 2.28.' de verilmiştir (Chen vd., 2007; Zhang vd., 2014; Zhu vd., 2014).



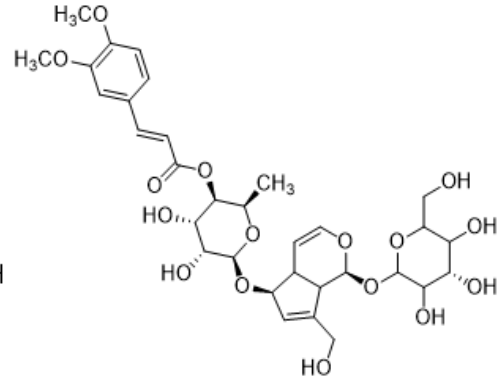
Scrodentoside C



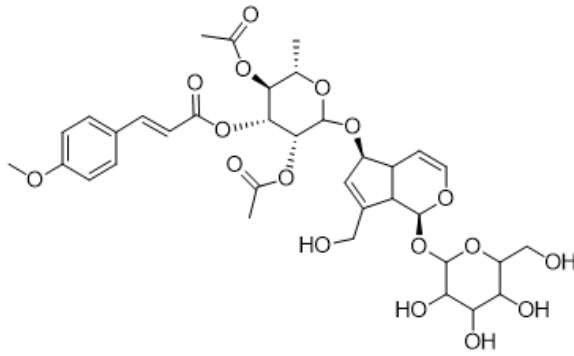
Skropulninozit A



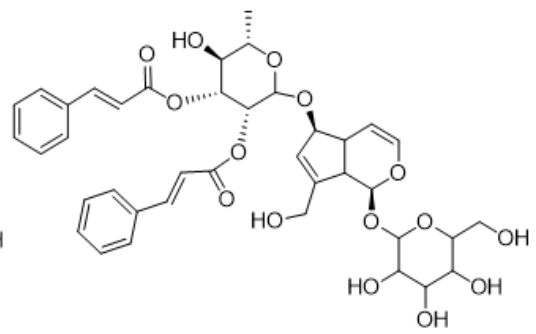
Skropulozit A1



Skrolepidozit



Umbroside A

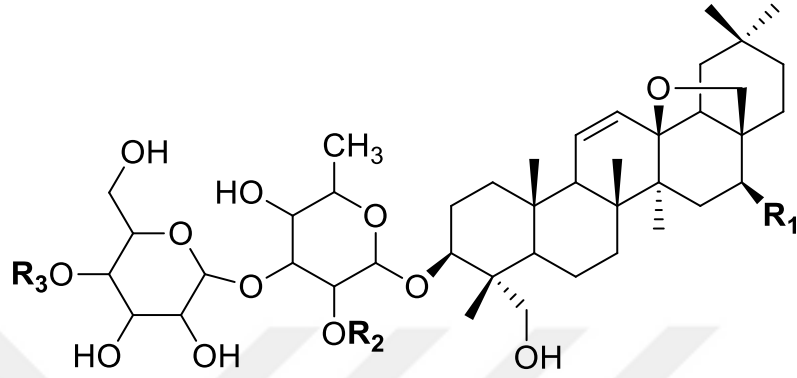


Umbroside B

Şekil 2.28. Bazı iridoid yapıları

2.2.7. Saponin glikozitler

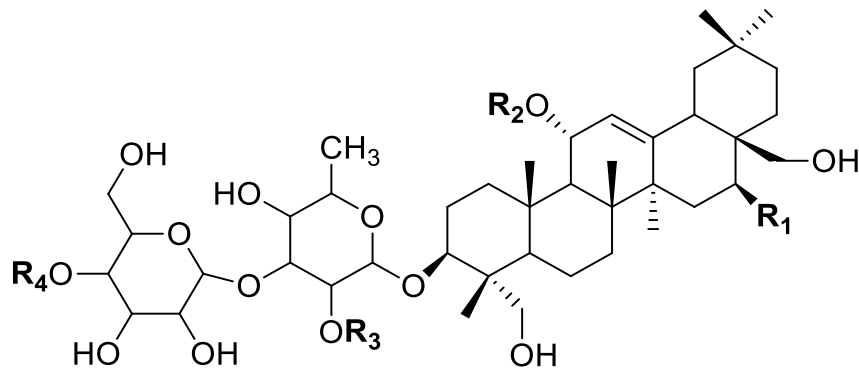
Scrophularia türlerinden izole edilen bazı saponin glikozit yapısındaki bileşiklerin ana iskeletleri Şekil 2.29.-2.31.' de adları Tablo 2.22.-2.24.' de verilmiştir.



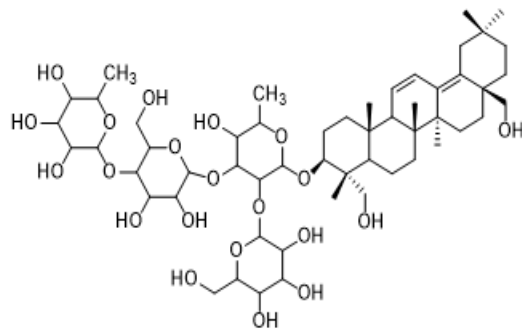
Şekil 2.29. Tablo 2.22.'de verilen saponin glikozit yapıları bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.22. *Scrophularia* türlerinden izole edilen saponin glikozitler

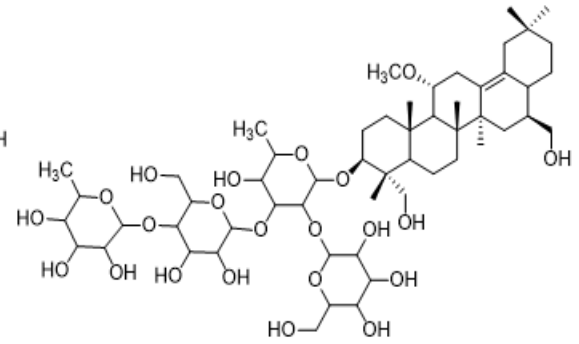
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bitki	Kaynak
Buddlejasaponin I	OH	β -D-Glukoz	α -L-Ramnoz	<i>S. kakudensis</i>	(Yamamoto vd., 1993)
Buddlejasaponin II	OH	β -D-Glukoz	β -D-Ksiloz	<i>S. scorodonia</i>	(Diaz vd., 1998)
Buddlejasaponin III	OH	H	β -D-Ksiloz	<i>S. kakudensis</i>	(Yamamoto vd., 1993)
Saikosapoinin A	OH	H	H	<i>S. kakudensis</i>	(Yamamoto vd., 1993)
İlvensisaponin A	H	β -D-Glukoz	α -L-Ramnoz	<i>S. ilwensis</i>	(Giner vd., 1998)
Scrophulasaponin II	H	β -D-Glukoz	β -D-Ksiloz	<i>S. kakudensis</i>	(Yamamoto vd., 1993)



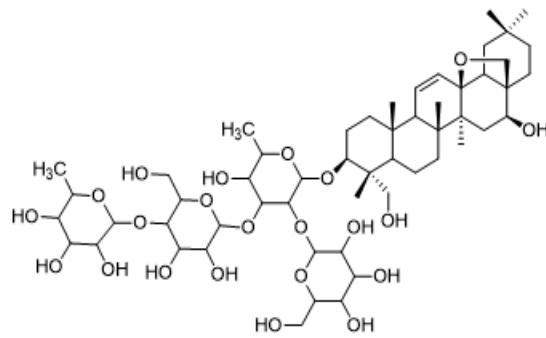
Şekil 2.30. Tablo 2.23.'de verilen saponin glikozit yapıları bileşiklerin ana iskeleti



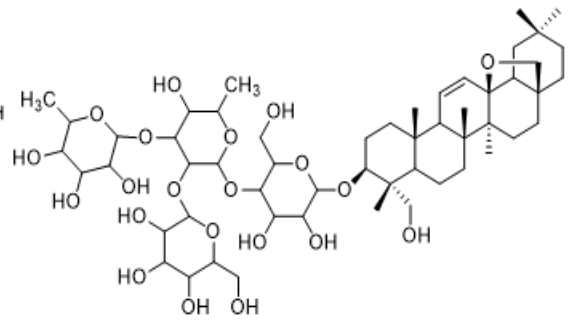
İlvensisaponin B



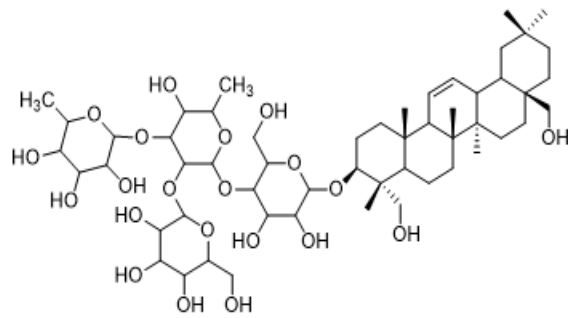
Verbaskosaponin A



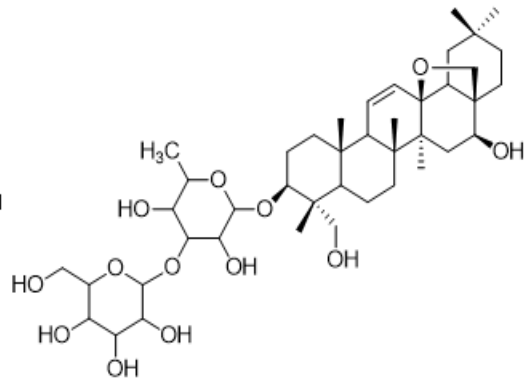
Verbaskosaponin



Skrokoelzicide A



Skrokoelzicide B

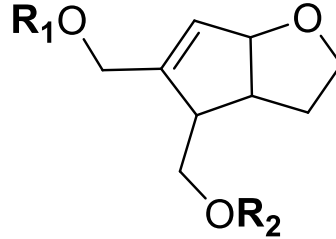


Saksisaponin A

Şekil 2.32. Bazı saponin glikozit yapısındaki bileşikler

2.2.8. Diğerleri

S. ningpoensis'in köklerinden saflaştırılan bileşiklerin ana iskeleti Şekil 2.33.' de adları Tablo 2.25.' de verilmiştir (Qian vd., 1992).

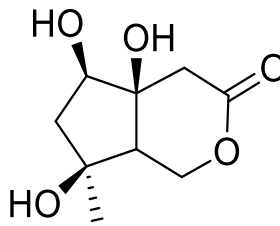


Şekil 2.33. Tablo 2.25'de verilen diğer yapılara sahip bileşiklerin ana iskeleti

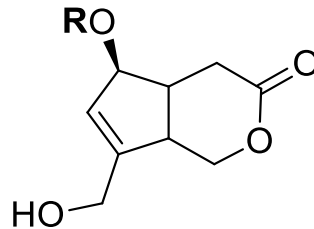
Tablo 2.25. *Scrophularia* türlerinden izole edilen saponin glikozitler

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Ningpogenin	H	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Qian vd., 1992)
Ningpogozit A	Glukoz	H	<i>S. ningpoensis</i>	(Qian vd., 1992)
Ningpogozit B	H	Glukoz	<i>S. ningpoensis</i>	(Qian vd., 1992)

S. buergeriana'dan saflaştırılan iridolakton bileşiğinin yapısı aşağıda Şekil 2.34.' de ve buergerinin B, C' nin yapısı Şekil 2.35.' de adları Tablo 2.26.' da verilmiştir (Lin vd., 2006).



Şekil 2.34. İridolakton bileşiğinin yapısı

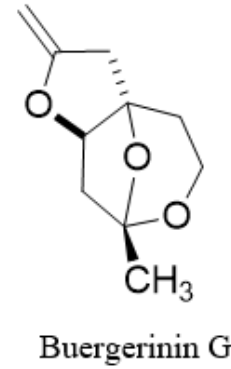
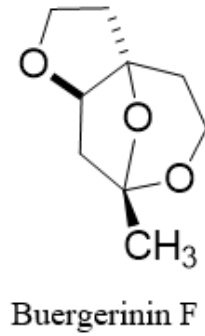
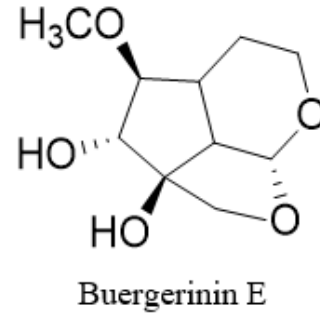
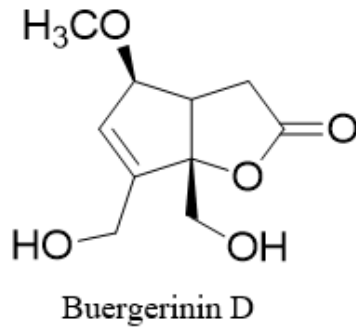


Şekil 2.35. Tablo 2.26'da verilen diğer yapılara sahip bileşiklerin ana iskeleti

Tablo 2.26. *Scrophularia* türlerinden izole edilen diğer yapılar

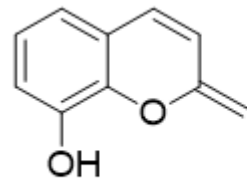
Bileşik	R	Bitki	Kaynak
Buergerinin C	H	<i>S. buergeriana</i>	(Lin vd., 2006)
Buergerinin B	OCH ₃	<i>S. buergeriana</i>	(Lin vd., 2006)

Daha önce *S. buergeriana*' bitkisi üzerinde yapılan çalışmalar sonucu iridoid yapısındaki bileşikler izole edilerek buergerinin F ve buergerinin G olarak adlandırılmıştır (Lin vd., 2000). Aynı kişiler tarafından yapılan bir başka çalışmada ise izole edilen bileşikler buergerinin D ve buergerinin E olarak adlandırılmıştır (Bkz. Şekil 2.36.) (Lin vd., 2006).

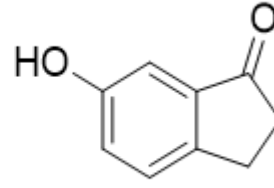


Şekil 2.36. *S. buergeriana*' dan izole edilen iridoidler

S. ningpoensis'den izole edilen kumarin yapısındaki bileşikler aşağıda Şekil 2.37.' de verilmiştir (Zhu vd., 2013).



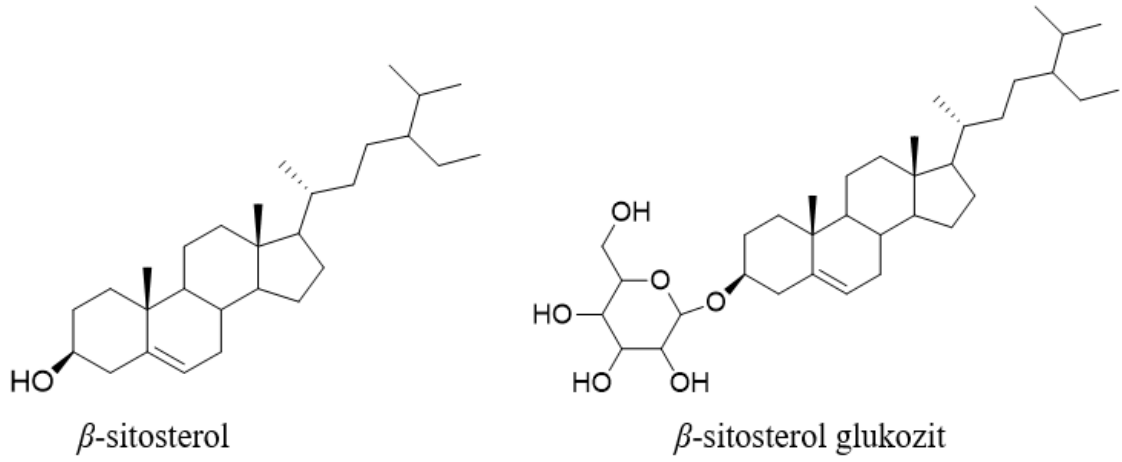
8-Hidroksikumarin



6-Hidroksiindan-1-on

Şekil 2.27. *S. ningpoensis*'den izole edilen kumarin yapısındaki bileşikler

S. ningpoensis'in köklerinden saflaştırılan β -sitosterol ve β -sitosterol glikozit Şekil 2.38.' de verilmiştir (Weinges ve Eltz, 1978).



Şekil 2.38. *S. ningpoensis*'den izole edilen bileşikler

2.3. *Scrophularia* türleri üzerinde yapılan farmakolojik çalışmalar

Literatüre göre, birçok *Scrophularia* türü araştırılmış ve fenilpropanoidler, fenolik asitler, flavonoidler, iridoidler ve saponinler gibi sekonder metabolitleri içerdiği bulunmuştur. Bu bileşiklerin bazılarının antiinflamatuvar, antibakteriyel, hepatoprotektif, kardiyovasküler, diüretik, fungisidal, mollusisidal, sitotoksik, sitostatik, antitümör aktiviteleri olduğu bildirilmiştir (Nishibe, 1994; Emam vd., 1997; Benito vd., 1998; Ghisalberti, 1998).

Yapılan bir başka çalışmada ise farmakologların araştırdığı bu bitkilerin terapötik etkisinin iridoidlerin varlığına bağlı olduğu bildirilmiştir (Ghisalberti, 1998). Ayrıca iridoidlerin koleretik, vazokonstriktör, antiviral ve antimikrobiyal aktiviteler gibi bir

dizi biyolojik özelliklere sahip olduğunu ve bu bileşiklerin diğer aktif maddelerle sinerjik olarak hareket edebildiğini gösteren birçok çalışma yayınlanmıştır (Galindez vd., 2002).

2.3.1. Antiinflamatuvar

Scrophularia cinsine ait türlerin çoğu halk arasında antiinflamatuvar ilaçlar olarak kullanılmıştır. Bu ilaçların biyolojik aktivitesi yapısında bulunan iridoidler ve fenilpropanoidlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (D. Garcia vd., 1996; A. Fernandez vd., 1998).

S. ningpoensis'in kökleri, geleneksel Çin tıbbında iltihapların tedavisinde kullanılmıştır (Kajimoto vd., 1989). Ayrıca bu bitki hayvanlarda kuru öksürük ve akciğer tüberkülozuna neden olan hastalıklarda ateş düşürücü olarak kullanılmıştır (Qian vd., 1992).

S. ningpoensis'in köklerinden elde edilen hidrofilik özütün, karagenan kaynaklı sıçan pençe ödemi üzerine yoğun antiinflamatuvar aktivite göstermiştir. Bu özütten izole edilmiş harpagit, harpagoside, aucuboside, 6-*O*-methylnatalpol, ningpogenin, ningpogoside A, ningpogoside B, verbaskozit, angoroside A ve angoroside C yapılarının antiinflamatuvar ajanlar olarak potansiyellerini ortaya koymak için farmakolojik araştırmalar yapılması gerekmektedir. (Kajimoto vd., 1989; Qian vd., 1992; Zhang vd., 2021).

S. auriculata, geleneksel tıpta iltihaplı cilt hastalıklarına karşı kullanılan tıbbi bir bitkidir. Sulu alkol özütünün, hem akut hem de kronik inflamasyon hastalıkları üzerinde belirgin bir etki gösterdiği gözlenmiştir (Cuellar vd., 1998).

Biyolojik olarak aktif bir bileşik olan Buddlejasonin I *S. scorodonia* 'dan izole edilerek, forbol miristat asetat (PMA) tarafından indüklenen fare kulak ödemi üzerinde güçlü in vivo antiinflamatuvar etki göstermiştir (Benito vd., 1998).

2.3.2. Antibakteriyel

Orta Çağ'dan günümüze kadar *S. nodosa*, *S. auriculata* ve *S. canina*, uyuz ve tümörler için tedavi amaçla kullanılmıştır (Miara vd., 2019). Ayrıca, bu türlerin antiseptik özelliklerinin fenolik asitlerin varlığından kaynaklandığı öne sürülmüştür. *S. frutescens*

ve *S. sambucifolia*'nın toprak üstü kısımları güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir (M. A. Fernandez vd., 1996).

S. oldhamii'nin kök kısmının etanol özütünden izole edilen metoksisinamik asit ve etanol özütü, tifo aşılı tavşanlar üzerinde test edildiğinde güçlü ateş düşürücü aktivite sergilediği gözlenmiştir (Won, 1963).

2.3.3. Antimikrobiyal

Beş *scrophularia* L. türü üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivitesinin de bitki ekstraktlarının mikroorganizmaların büyümesini engellediği bulunmuştur.

S. kotschyana, *S. catariifolia* ve *S. scopolii* var. *scopolii*, *C. albicans*' a karşı orta düzeyde aktivite (MIC değerleri; 0,3125 mg/mL) gösterdiği; *S. cinarescens*, *C. albicans* ve *E. faecalis*'e karşı orta düzeyde aktivite (MIC değerleri; 0,3125 mg/mL) gösterdiği; *S. chrysantha*, *E. coli*, *C. albicans* ve *P. aeruginosa*' ya karşı orta düzeyde aktivite (MIC değerleri; 0,3125 mg/mL) gösterdiği bulunmuştur (Renda vd. 2018).

2.3.4. Hepatoprotektif

S. koelzii'nin toprak üstü kısımlarının alkol özütü, tioasetamidin neden olduğu karaciğer hasarına karşı önemli ölçüde koruma sağlamıştır (Garg vd., 1994). Hepatoprotektif aktivite yönünden kloroform özütünden izole edilen dört iridoid glikozit skropoliosid A, koelzioside, harpagoside ve 6-*O*- α -L-(3''-*O*-*p*-methoxycinnamoyl)-rhamnopyranosyl-katalpol araştırılmıştır. Bunlar arasında, skropoliozid A en yüksek hepatoprotektif aktiviteyi göstermiştir. Bununla birlikte, en büyük korumanın yalnızca alkol özütü ile elde edildiğidir. Bu nedenle, *S. koelzii*'nin hepatoprotektif aktivitesinin tek bir bileşenden değil de sinerjik olarak diğer bileşenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Galindez vd., 2002).

2.3.5. Kardiyovasküler

S. nodosa'nın sedasyon uygulanmış kedi, köpek ve tavşanlarda arter basıncının infüzyonunu önemli ölçüde azalttığı, solunumu uyardığı, bradikardiye neden olduğu ve PQ segmentini uzattığı (kulakçık ve karıncık kasılması arasındaki aralık) bildirilmiştir. *S. nodosa*, izole edilmiş bir kurbağa kalbinin genliğini arttırmış ve kasılma sıklığını

yavaşlamıştır. *S. nodosa*'nın bu aktivitesinin bitki ekstraktında bulunan saponinlere bağlı olabileceği bildirilmiştir (Ahmad vd., 2012). Bununla birlikte, kardiyovasküler aktivitenin bu bileşiklere bağımlılığı hala belirsizdir. *S. grossheimi*'nin ekstraktının hipotansif aktivite ve artan kılcal tonisite göstermiştir. Farklı flavonoid aglikonlar, başlıca 5,7,3''-trihidroksi-4'' flavon ve türevleri bu türden izole edilmiştir (Akhmedov vd., 1969). Bazı araştırmacılar (Kajimoto vd., 1989; Ody, 1993) hipotansif aktiviteyi *S. ningpoensis*'in sulu ekstraktından ileri geldiğini bildirmişlerdir.

2.3.6. Diüretik

S. nodosa ve *S. grossheimi*, geleneksel tıpta diüretik ajanlar olarak kullanılmıştır (Akhmedov vd., 1969; Schaunbenger ve Paris, 1977). *S. frutescens* ve *S. sambucifolia* subsp. *sambucifolia* da belirgin diüretik aktivite göstermiştir. *S. frutescens* ile idrar hacmindeki artış *S. sambucifolia*' dan daha fazla olduğu bulunmuştur. Test edilen ekstrede bulunan flavonoidler ve saponinlerin aktiviteden sorumlu olduğu öne sürülmüştür (Fernández Arche vd., 1993).

2.3.7. Fungisidal ve mollusisidal

S. scorodonia'nın çiçeklerinden elde edilen metanol özütü, *Trichomonas vaginalis*'e (LC100 = 100mg/ml) ve *Leishmania infantum*'a (LC100 = 250mg/ml) karşı protozoocidal aktivite göstermiştir (Martín vd., 1998). Bu ekstreden bir saikosaponin, buddlejasaponin I izole edilmiştir. Bu saikosaponin'in in vitro olarak biyolojik aktivitesi hem *Trichomonas vaginalis*' e karşı protozoocidal bir ajan olarak hem de *Biomphalaria alexandrina* salyangozlarına karşı mollusisidal bir ajan olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak buddlejasaponin I 24 saat içinde 10 mg/ml'de salyangozların %100'ünü öldürerek çok yüksek aktivite göstermiştir (Emam vd., 1997).

2.3.8. Antitümör, sitotoksik ve sitostatik

S. scopoli' den izole edilen birkaç fenilpropanoid glikozitin antitümör aktivite gösterdiği bulunmuştur. Angorosid A sitotoksik ve sitostatik aktivite göstermiş, fakat aynı türden izole edilen metillenmiş türevler olan angoroside B ve C 1-200 mg/ml

konsantrasyon aralığında kanser hücre hatlarına karşı herhangi bir sitotoksik aktivite göstermemiştir.

Angoroside A (1-50 mg/ml), HeLa hücrelerine (insan epitelyal karsinomu) karşı sitostatik aktivite sergilemiş ve ayrıca HeLa hücrelerine karşı daha yüksek konsantrasyon aralığında (>50 mg/ml) hafif sitotoksik aktivite göstermiştir. Ayrıca Angorosid A 1-40 mg/ml konsantrasyon aralığında S-180 hücrelerine (sarkom) karşı sitostatik aktivite sergilemiştir. Bu bileşik 12,7 mg/ml'lik bir konsantrasyonda, P-388/D1 hücrelerine (fare lenfoid neoplazması) karşı sitostatik aktivite göstermiştir.

Buna karşılık, angorosid A 119 mg/ml'de kullanıldığında sitotoksik aktivite (bifazik etki) göstermiştir. Fenilpropanoid glikozitler, sıçan hepatositlerinin birincil kültürlerine karşı herhangi bir sitotoksik etki göstermemiştir. dRLh-84 hücrelerine (sıçan hepatomu) karşı, angorosid A önemli sitotoksik aktivite sergilemiştir.

Sonuç olarak, fenilpropanoid glikozitlerin sitotoksik ve sitostatik aktivitelerinin yapılarında esas olarak orto-dihidroksi aromatik sistemlere bağlı olduğu bulunmuştur (Saracoglu vd., 1997).

S. frutescens'den izole edilen *p*-kumarik, ferulik, gentisik, protokateşik, syringic ve izovanillik fenolik asitler iki hücre hattı Hep-2 ve McCoy üzerinde test edilmiştir. (Garcia vd., 1998). Test edilen tüm bileşikler, Hep-2 ve McCoy hücrelerine karşı yüksek aktivite göstermiştir. Sinamik grup içeren fenolik asitleri ABD Ulusal Kanser Enstitüsü protokolleri tarafından önerilenlerin altında bir ID₅₀ değeri gösterdiği (doğal ürünler için, ilk aşama için 6mg/ml ve ikinci aşama için 4mg/ml) bulunmuştur. Bununla birlikte syringic asit (ID₅₀ = 3,87 ± 0,34) ve izovanillik asit (ID₅₀ = 5,25 ± 0,70) için ID₅₀'nin Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından önerilenlerden daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Geleneksel olarak kullanılan *Scrophularia* cinsinin farklı türlerinin popüler kullanımları ile uyumlu olduğu ve tahlil edilen bazı fenolik asitlerin habis cilt enflamatuvar hastalıklarının tedavisi için umut verici olabileceği bulunmuştur. Aynı ekip daha önceki çalışmalarında *S. frutescens*'ten izole edilen fenolik asitlerin antiseptik ve antiinflamatuvar etkilerini göstermişlerdir (Fernandez vd., 1998a, 1998b; D. Garcia vd., 1996).

Öte yandan, *S. ningpoensis*'in metanol özütü, antimutajenik aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu ekstraktan izole edilen trans sinamik asit, *p*-metoksisinamik asit, 3,4

dimetoksisinamik asit ve 4-hidroksi-3 metoksisinamik asit aynı aktiviteyi göstermiştir. Bu bileşiklerin metil esterleri, tahlil edilen tüm mutajenlere, özellikle de metoksisinamik asidin metil esterine karşı daha büyük baskılayıcı etki göstermiştir (Miyazawa vd., 1998).

Çin tıbbına göre, *S. ningpoensis*'in (balgam söktürücü olarak kabul edilir) ve bronkopulmoner kanserine karşı kullanılmasının sebebi bu olabileceği bildirilmiştir (Pinkas vd., 1994). Ayrıca *S. ningpoensis*'in postoperatif osteojenik sarkom kemoterapisinde kullanılan yüksek doz metotreksat artı vinkristinin olumsuz etkilerini hafiflettiği de gösterilmiştir (Liu ve Wu, 1993). *S. nodosa* kanser için bir halk ilacı olarak kullanılmıştır (Pauli vd., 1995).

Scrophularia türlerinin bazı farmakolojik özellikleri Tablo 2.27.' de verilmiştir (Galindez vd., 2002).

Tablo 2.27. *Scrophularia* türlerinin farmakolojik özellikleri

Türler	Biyolojik aktivite	Sorumlu bileşik veya özü	Referanslar
<i>S. amplexicaulis</i>	Antibakteriyel antimalaryal	Uçucu Yağ Metanol ekstraktı ve fraksiyonlar	(Pasdaran vd., 2012, 2016)
	Antioksidan, toksisite	Metanol ekstrakt ve fraksiyonlar	
<i>S. dentata</i>	Anti-inflamatuvar,	İridoidler ve Skrodentoidler A–E, skropoliosidler	(Zhang vd., 2014, 2015b)
<i>S. auriculata</i>	Antibakteriyel	Fenolik asitler	(Cuéllar vd., 1998; Giner vd., 2000)
	Antienflamatuvar	İridoidler ve saponinler	
<i>S. buergeriana</i>	Nöroprotektif ve Anti-amnestik	Köklerden, harpagoside ve 8-O-Ep-methoxycinnamoylharpagide, Phenylpropanoids	(Kim vd., 2000, 2003b, 2008, 2011)
<i>S. canina</i>	Böcek öldürücü aktivite	Bitki, fenolik asitler	(Germinara vd., 2011)
<i>S. cryptophila</i>	Antiprotozoal ve antimikobakteriyel aktiviteler	Kriptofilik asit A, C ve III, buddlejasaponin asetilharpagit	(Taşdemir vd., 2008)
	Antienflamatuvar	Scropolioside harpagoside B D 2 ve	

Tablo 2.27. *Scrophularia* türlerinin farmakolojik özellikleri Devamı

	antidiyabetik	Scropolioside harpagoside B	D 2 ve	
<i>S. frutescens</i>	Antibakteriyel	Hava kısmı sulu ekstrakt, fenolik asitler	(Fernandez vd., 1996; Garcia vd., 1998)	
	Antienflamatuvar	Fenolik asitler, İridoidler		
<i>S. grosheimi</i>	Hepatoprotektif	1,6-di- O -kafeoil-β-D-glukopiranoz ve flavonoidler	(Galindez vd., 2001)	
<i>S. koelzii</i>	Hepatoprotektif ve bağışıklık uyarıcı	Scropolioside A, koelzioside, harpagoside, 6- O -(3"- O -p-Methoxy-cinnamoyl)-α-L-rhmanopyranosyl catalpol	(Garg ve ark. 1994)	
<i>S. lepidota</i>	Anti-protozoal ve Antiplazmodiyal	Ningpogenin, sinuatol	(Taşdemir vd., 2005)	
<i>S. ningpoensis</i>	Kalp koruyucu	4-metilkatekol, 6"- O -caffeoilyharpagide, 6"- O -(p-coumaroyl) harpagit,	(Chen vd., 2008; Zhu vd., 2013)	
	Antienflamatuvar	Ningpogenin, ningpogoside A ve ningpogoside B ve hidrofilik özü	(Qian vd., 1991)	
<i>S. nodosa</i>	Yara iyileştirme aktivitesi	Scopolioside scrophuloside A4 ve scrovalentinoside	(Stevenson vd., 2002)	
<i>S. oxysepala</i>	böcek öldürücü aktivite	Uçucu yağ, Metanol fraksiyonları	(Pasdaran vd., 2013; 2017)	
	apoptoz	Diklorometan ve metanol özlery	(Valiyari vd., 2012; Orangi vd., 2013)	
	Sitotoksik	Metanol fraksiyonları, skropoliosid D, harpagoside B	(Pasdaran vd., 2017)	
<i>S. striata</i>	Yara iyileşmesi ve Antiinflatuar	Etanol özü, etil asetat özü	(Hajiaghaee vd., 2007; Azadmehr vd., 2009)	
	Antibakteriyel	Etanol özü	Benito vd., 1998; Bahrami ve Ali 2010)	
<i>S. scorodonia</i>	Antienflamatuvar	Angoroside A, C ve D, acteoside, isoacteoside, Buddlejasonin I ve		
	Antiviral	Scorodioside, Buddlejasonin IV	(Bermejo vd., 2002)	
<i>S. takesimensis</i>	Güçlü aldoz redüktaz (AR) inhibitör aktivitesi	Acacetin	(Kim vd., 2012)	

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Tez çalışmasında kullanılan bitkisel materyaller Erzincan il sınırları içerisindeki farklı lokasyon ve koordinatlardan toplanmıştır. Çalışmada kullanılacak olan *S. erzincanica* türü Erzincan ili sakaltutan mevkiinden, *S. subaequiloba* ise ergan dağından çiçeklenme döneminde toplanmıştır. Bitkilerin doğal yaşam alanlarına ve popülasyonlarına zarar verilmeyecek şekilde sınırlı miktarda toplanmıştır.

Scrophularia erzincanica R. R. Mill örneği Mayıs 2020 tarihinde, Sivas-Erzincan karayolu ağılözü mevki, sakaltutan ikinci köprü girişinde 1522 m toplanmıştır. Bitki örneği Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Biyoloji bölümü herbaryumunda saklanmaktadır.

S. libanotica var *armena* örneği Mayıs 2020 tarihinde, Sivas-Erzincan karayolu dere kenarından toplanmıştır.

Scrophularia subaequiloba Lall örneği Temmuz 2020 tarihinde, Ergan dağı 3100 metre yükseklikte toplanmıştır. Bitki örneği Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Biyoloji bölümü herbaryumunda saklanmaktadır.

Analiz için toplanan örneklerden bir herbaryum koleksiyonu hazırlanmış ve ilgili koleksiyon Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ali Kandemir tarafından teşhis edilmiştir.

Diğer yandan bitkilerin ekstraksiyon işlemleri için bitki örnekleri kök ve toprak üstü kısımlarına ayrılarak, her bir kısım oda sıcaklığını geçmeyecek, havalandırma problemi olmayan ve güneş ışığından uzak, rutubetsiz ve nem içermeyen serin bir yerde kurumaya bırakılmıştır. Her iki günde bir kurutma kâğıtları değiştirilip bitki örnekleri ters yüz çevrilip tamamen kuruması sağlanmıştır. Kuruyan bitki örnekleri blender ile parçalanarak toz haline getirilmiş ve kese kâğıtları içinde kullanılma zamanına kadar saklanmıştır.

3.2. Ekstraksiyon (Özütleme)

3.2.1. *S. erzincanica* R. R. Mill üzerinde yapılan ekstraksiyon çalışmaları

Güneş ışığından uzak rutubetsiz ve nem içermeyen serin bir yerde kurutularak toz haline getirilen kök 560 g ve toprak üstü 840 g herba, katı-sıvı ekstraksiyonu yapıldı. Toprak üstü ve kök herbaları ayrı ayrı apolardan polara doğru 3×2500 mL ve 3×12 s olmak üzere dört farklı çözücü hegzan, kloroform, metanol ve su ile maserasyon yapılmıştır (Bkz. Şekil 3.1.). Elde edilen ekstreler evaporatörde 40 °C geçmeyecek sıcaklıkta, 100 rpm’de yoğunlaştırılmıştır.



Şekil 3.1. *S. erzincanica* bitkisinde ekstraksiyon çalışması

3.2.1. *S. subaequiloba* Lall üzerinde yapılan ekstraksiyon çalışmaları

Güneş ışığından uzak rutubetsiz ve nem içermeyen serin bir yerde kurutularak toz haline getirilen kök 245 g ve toprak üstü 1050 g herba, katı-sıvı ekstraksiyonu yapıldı. Toprak üstü ve kök herbaları ayrı ayrı apolardan polara doğru 3×2500 mL ve 3×12 s olmak üzere dört farklı çözücü hegzan, kloroform, metanol ve su ile maserasyon yapılmıştır (Bkz. Şekil 3.2.). Elde edilen ekstreler evaporatörde 40 °C’ yi geçmeyecek sıcaklıkta, 100 rpm’de yoğunlaştırılmıştır.



Şekil 3.2. *S. subaequiloba* bitkisinde ekstraksiyon çalışması

3.2.3. *S. libanotica* var *armena* üzerinde yapılan ekstraksiyon çalışmaları

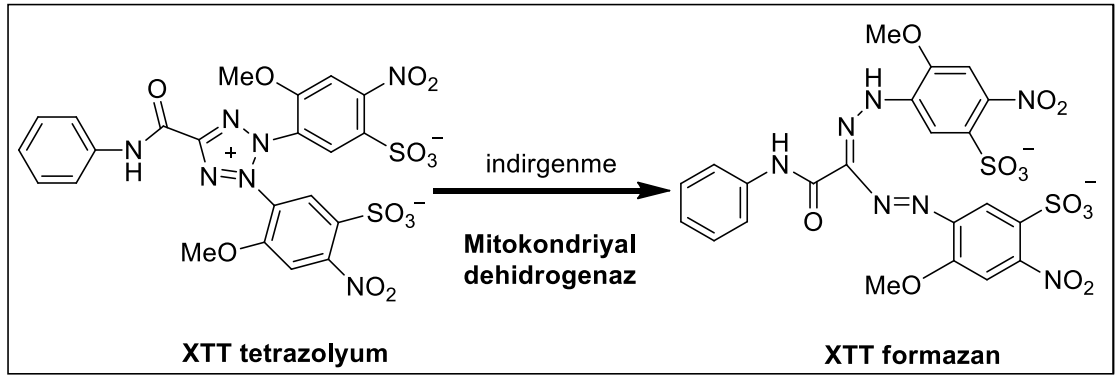
Güneş ışığından uzak rutubetsiz ve nem içermeyen serin bir yerde kurutularak toz haline getirilen kök 560 g ve toprak üstü 1160 g herba, katı-sıvı ekstraksiyonu yapıldı. Toprak üstü ve kök herbaları ayrı ayrı apolardan polara doğru 3×2500 mL ve 3×12 s olmak üzere dört farklı çözücü hegzan, kloroform, metanol ve su ile maserasyon yapılmıştır. Elde edilen ekstreler evaporatörde 40 °C' yi geçmeyecek sıcaklıkta, 100 rpm'de yoğunlaştırılmıştır.

3.3. Biyolojik Aktivite

3.3.1. Antiproliferatif aktivite

Bitkilerin metanol ve su ekstrelerinin ön deneme için yapılan antiproliferatif aktivite çalışmaları Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Uygulama ve Araştırma Merkezi Hücre Kültür laboratuvarında yapılmıştır. Çalışılan bitkilerden izole edilen bileşiklerin antiproliferatif aktivite testleri ise Yozgat Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

Ekstrelerin antiproliferatif aktivite testleri, üreticinin talimatları (BI, İsrail) izlenerek [(2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfohenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide)] (XTT) testi ile gerçekleştirilmiştir. Bu test, tetrazolyum tuzu XTT'nin metabolik olarak aktif hücreler tarafından enzimatik aktivitenin kolorimetrik ölçümüne dayanan, turuncu renkli formazan bileşiklerine indirgenmesi ile belirlenmektedir (Bkz. Şekil 3.3.) (Scudiero vd., 1988).



Şekil 3.3. Tetrazolyumun indirgenmesiyle oluşan renkli formazan türevi

Buna göre 5×10^3 hücre 100 μ l kültür medyum içerisinde hazırlandı ve (her hücre dizisi için) 96 kuyucuklu plakalara ekildi ve bir gece boyunca CO_2 inkübatöründe inkübe edildi. Ertesi gün, ekstrelerden 500 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonları hücre hatları üzerine uygulandı. 24 saat inkübasyondan sonra, XTT solüsyonundan (5 ml XTT için 100 μ l aktivatör) her bir kuyucuğa 50 μ l eklendi ve 5 saat %5'lik CO_2 ayarlı inkübatörde inkübe edildi. İnkübasyondan sonra (ELİSA) mikropate okuyucu spektrofotometre (BioTek, ABD) kullanılarak 490 nm'de absorbans ölçüldü. İşlem görmemiş hücreler negatif kontrol olarak kullanıldı ve sadece besiyeri içeren hücreler pozitif kontrol olarak değerlendirildi. Hücre inhibisyonu, % inhibisyon = $[100 - (A_{\text{test maddesi}}/A_{\text{kontrol}}) \times 100]$ formülü ile hesaplanmıştır.

Tez kapsamında elde edilen bileşiklerin anti kanser aktivitelerinin belirlenmesinde A549 (ATCC, CCL-185), Calu1 (ATCC, HTB-54) ve H1650 (ATCC, CRL-5883) akciğer kanseri hücre hattı, A172 (ATCC, CRL-1620), C6 (ATCC, CCL-107) ve SH-SY5Y (ATCC, CRL-2266) beyin kanseri hücre hattı, MDA-MB-453 (ATCC, HTB-22) meme kanseri, SW620 (ATCC, CCL-227) kolon kanseri ve FL (ATCC, CCL-62) normal hücre hatları kullanılmıştır. Tüm hücre hazırlama işlemleri laminar kabinde steril ortamda gerçekleştirilmiştir. H1650 ve MDA-MB-453 hücre hattı %10 FBS (Fetal Bovine Serum) ve %2 PenStrep (Penisilin-Streptomisin) solüsyonu içeren katkılı RPMI1640 (Sigma, Germany) besi yerinde 37 $^{\circ}\text{C}$, %5 CO_2 şartlarında yeterli çoğunluğa (konfluent) ulaşması sağlandıktan sonra kullanılmıştır. Diğer hücre hatları için DMEM besiyeri kullanılmıştır. Ölçüm plakalarına kuyu başı 10.000 hücre olacak şekilde ekim yapılmıştır. Yaklaşık 16 saatlik ön inkübasyondan sonra, test bileşikleri eklenerek 24 saatlik inkübasyon sonrasında ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Hücre proliferasyon ölçümü ve NCI-60 yaşam parametrelerinin belirlenmesi

Bu tez kapsamında elde edilen bileşik örneklerinin hücre proliferasyonuna olan etkileri ve NCI-60 yaşam parametre değerlerini ölçmek amacıyla MTT [3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromid] testi kullanılmıştır. Test maddeleri ile kanser hücre hatları 24 saat inkübe edildikten sonra bu test protokolü uygulanmıştır. Sonuçlar % hücre inhibisyonu olarak rapor edilerek, çözücü (DMSO) ile muamele edilmiş hücrelerin optik dansitesi %100 olarak kabul edilmiştir. Buna göre % inhibisyon $[1 - (A_{\text{test maddesi}} / A_{\text{çözücü kontrol}})] \times 100$ formülüne göre hesaplanmıştır. Test maddelerinin IC_{50} konsantrasyonlarının (ortamdaki hücrelerin %50'sinin proliferasyonunu inhibe eden konsantrasyon) belirlenmesi için her bir test maddesinin belirli bir aralıkta artan konsantrasyonlarının (1,96; 3,91; 7,81; 15,63; 31,25; 62,5 ve 125,0 µg/mL) hücreler üzerinde MTT yöntemiyle test edilmesi sonrasında elde edilen absorbans değerlerinden hazırlanan logaritmik eğri üzerinden Excel® programı yardımıyla logaritmik fonksiyon kullanılarak analiz edilmiştir. NCI-60 yaşam parametrelerinin (GI_{50} , TGI ve LC_{50}) ölçümü için aşağıdaki formüller kullanılmıştır; Hücre proliferasyonu: $[(Ti - Tz) / (C - Tz)] \times 100$ eğer $Ti \geq Tz$ (sitositativ etki) ya da $[(Ti - Tz) / Tz] \times 100$ eğer $Ti < Tz$ (sitosidal ya da sitotoksik etki) (Tz ; sıfır noktası, C ; kontrol büyüme, Ti ; test maddesinin neden olduğu inhibisyon). GI_{50} : Büyümeyi %50 oranında azaltan konsantrasyon değeri ($[(Ti - Tz) / (C - Tz)] \times 100 = 50$), TGI: Büyüme %100 oranında azaltan konsantrasyon değeri ($Ti = Tz$), LC_{50} : Ortamdaki hücreleri %50 oranında öldüren konsantrasyon değeri ($[(Ti - Tz) / Tz] \times 100 = -50$).

Sitotoksite testi

Test edilecek bileşik örneklerinin hücre sitotoksik mi yoksa sitostatik mi oldukları LDH yöntemi ile belirlenmiştir. Test edilen maddeye bağlı olarak inkübasyon süresinde ölen hücre miktarındaki artış, kültür süpernatantında LDH artışıyla sonuçlanacaktır. Laktat dehidrogenaz (LDH) sitoplazmik bir enzim olup, çoğu hücrede bulunur ve stabildir. Bu amaçla LDH hücre sitotoksite kiti üreticinin prosedürüne göre kullanılmıştır. Kısaca LDH enzim aktivitesi sonucu oluşan formazan miktarındaki değişim ölçülerek aşağıdaki formüle göre değerlendirme yapılmıştır;

% Sitotoksite = $[(\text{Madde Absorbans} - \text{Düşük Kontrol}) / (\text{Yüksek Kontrol} - \text{Düşük Kontrol})] \times 100$.

3.3.2. Antioksidan aktivite

3.3.2.1. Toplam fenolik madde miktarı

Bitki ekstraktlarının toplam fenolik içeriği Singleton ve Rossi' nin yöntemi kullanılarak belirlendi (Singleton ve Rossi, 1965). 20 µL ekstrakt, 1N 100 µL %20 Folin-Ciocalteu fenol reaktifi ve 80 µL %10 sodyum karbonat çözeltisi 96 kuyucuklu plakada karıştırıldı ve kuvvetlice çalkalandı. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyondan sonra, Elisa cihazı kullanılarak 750 nm'de içerisinde herhangi bir madde olmayan 20 µL etanol içeren köre karşı absorbans değerleri kaydedildi. Sonuçlar, gallik asit standart eğrisi kullanılarak değerlendirildi ve gallik asit eşdeğerleri (GAE) olarak ekstraktın gramı başına miligram toplam fenolik (TP) olarak kaydedildi. Analizler üç tekrarlı olarak yapıldı ve sonuçlar standart sapmayla ortalama olarak ifade edilmiştir.

3.3.2.2. Toplam flavonoid madde miktarı

Toplam flavonoid içeriği, Zhishen ve arkadaşlarının yöntemi kullanılarak belirlendi (Zhishen vd., 1999). 96 kuyucuklu plak içerisine 80 µL distile su konuldu. Üzerine 20 µL ekstrakt / kateşin solüsyonu ve 6 µL %5 sodyum nitrit eklendi. 5 dakika sonra 6 µL %10 alüminyum klorür solüsyonu eklendi. 6. dakikada 40 µL 1 M sodyum hidroksit eklendi ve toplam hacim distile su ile 200 µL'ye tamamlandı. Çözelti iyice karıştırıldı ve hazırlanmış köre karşı absorbans, Elisa okuyucu kullanılarak 510 nm'de ölçüldü. Sonuçlar, kateşin standart eğrisi kullanılarak hesaplandı ve kateşin eşdeğerleri (CE) olarak ekstraktın gramında miligram toplam flavonoidler olarak kaydedildi. Analizler üç tekrarlı olarak yürütülmüş ve standart sapmalarla ortalama değerler olarak ifade edilmiştir.

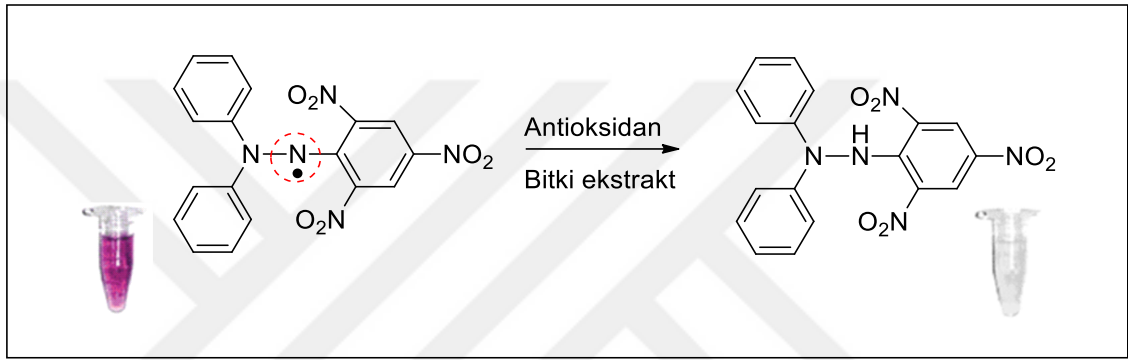
3.3.2.3. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi

Stabil DPPH• giderme aktivitesi (Blois, 1958) tarafından rapor edilen yöntem temel alınarak bazı modifikasyonlar yapılarak belirlendi. Etanolde çözülerek hazırlanan 140 µL 0.05 mg/mL DPPH çözeltisi ve 10 µL bitki ekstraktı 96 kuyucuklu plaka içinde karıştırıldı ve reaksiyon karışımı kuvvetlice çalkalandı. 20 dk sonra DPPH radikalinin süpürülmesi sonucu oluşan renk değişimi Elisa cihazı kullanılarak 517 nm'de ölçülerek

absorbans düşüŖü belirlendi. Referans olarak troloks kullanıldı. Radikal giderme aktivitesi aŖağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıŖtır.

$$\text{RSA (Radikal giderme aktivitesi) \%} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀, kontrol reaksiyonunun (test numunesi dıŖındaki tüm reaktifleri içerir) absorbansı ve A₁, özütlerin/standartların absorbansıdır. Sonuçlara göre, ekstraktların son konsantrasyonlarına (mg/mL) karŖı %RSA çizildi ve IC₅₀ (%50 etkin konsantrasyon) değeri hesaplandı. Analizler üç tekrar halinde gerekleŖtirilmiŖtir. Ŗekil 3.4.'de DPPH radikalinin söndürölme reaksiyonu gösterilmiŖtir.



Ŗekil 3.4. DPPH radikalinin antioksidanlar ile olan kimyasal reaksiyonu

- **İndirgeme gücü tayini**

İndirgeme gücü tayini (Oyaizu, 1986) temel alınarak bazı modifikasyonlar ile yapıldı. Ekstrelerden 1 mg/mL stok çözelti hazırlanarak 100 µL alındı ve üzerine fosfat tamponu (0,2 M pH 6,6) eklenerek hacmi 1,25 mL'ye tamamlandı. Bu karıŖıma 1,25 mL potasyum ferri siyanür [K₃Fe(CN)₆] (%1) ilave edildi ve karıŖım 50 °C'de 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, reaksiyon ortamına sırasıyla %10'luk TCA çözeltisinden 1,25 mL ve %0,1'lik FeCl₃ çözeltisinden 0,25 mL eklendi ve son karıŖımın absorbansı 700 nm'de kaydedildi. Okunan absorbans değerleri Troloks (10–100 µmol/L) kalibrasyon grafiği kullanarak ekstre için µmol Trolox eŖdeęeri/g ekstre, eŖdeęeri olarak hesaplanmıŖtır.

3.4. Yapı Aydınlatma

Aktif alt fraksiyonlardan saf olarak elde edilen moleküllerin yapıları NMR (^1H , ^{13}C -NMR ve 2D-NMR HETCOR, COSY, HMBC, NOESY) spektroskopik tekniklerle aydınlatılmıştır.

3.5. Ayırma ve Saflaştırma

3.5.1. Kullanılan alet ve cihazlar

Buzdolabı	Arçelik, 8190NF
Hassas Terazı	Shimadzu ATX224
Liyofilizatör	Christ Alpha 1-2 LD Plus
Manyetik Karıştırıcı	Ika RH Basic
pH Metre	Metler Toledo Seven Compact S210111
Ultrasonik Banyo	Bandelin Sonorex RK 255 H
HPLC	Shimadzu Recycle HPLC LC-20AR SPD-M20A Dedektör
Flash Kromatografi Sistemi	Buchi Reveleris X2 Evaporatif ışık saçılması dedektörü (ELSD)
Etüv	Wiseven
NMR	Bruker 400 MHz (^1H -NMR), 100 MHz (^{13}C -NMR)
Otomatik Pipet	Axygen
Evaporatör	Heidolph Hei-VAP Core Heidolph Laborota 4000, Hei-VAC Vario
ELISA Spektrometresi	Thermo Scientific Multiscan Go
Vorteks	Isolab Vortex Mixer VM-20
Blender	Waring Commercial Blender
UV Lamba	Lamag UV Lamb 4

3.5.2. Kromatografik yöntemler

3.5.2.1. İnce tabaka kromatografisi (İTK)

Silika jel 60 F₂₅₄ (0,2 mm) (Merck) hazır alüminyum plaklar kullanıldı. Ekstrelerden hazırlanan numune örnekleri cam pastör pipet ve einmal-kapillar pipet yardımıyla, plağın alt kenarından 0,5 cm yukarıda olacak şekilde ve 0,5 cm aralıklarla tatbik edildi. Kromatografi tankında plaklar oda sıcaklığında 5-7 cm boyunca yürütüldü. Lekeler UV254/ UV366 nm dalga boyunda UV lambası altında ve asit belirteci kullanılarak belirlenmiştir.

Saflaştırma işlemine geçilmeden önce fraksiyonlar için hareketli faz belirlemek amacı ile İTK yapılmıştır.

3.5.2.2. Kolon kromatografisi

Bu çalışmada, silika jel (Merck, Kiesegel 60, 70-230 Mesh), sefadeks LH-20 ve C18 gibi farklı kolon dolgu maddeleri kullanıldı. Kolon işlemlerinde ayrımı yapılacak ekstre miktarına bağlı olarak, kolon dolgu maddesi miktarı ve farklı ebatlarda cam kolonlar kullanıldı. Bitki ekstralarının kaba ayrımında (ön fraksiyonlama işleminde) C18 kolon kullanıldı. Ayırma ve saflaştırma işlemlerinde geleneksel açık hava basıncına dayalı kolon kromatografinin yanı sıra prep-HPLC ve flash kromatografi gibi cihazlardan da faydalandı. Ön fraksiyonlama işleminde 40 mL, saflaştırma aşamasında ise 5-10 mL fraksiyonlar toplandı. İnce tabaka kromatografisi (İTK) ile aynı R_f değerine sahip fraksiyonlar birleştirildi.

3.5.2.3. Normal faz silika jel kolon kromatografisi

Ayrımı yapılacak ekstre miktarına ve kullanılacak cam kolon büyüklüğüne bağlı olarak istenilen miktarda tartılan silika jel, yeterli miktarda çözücü sistemi ile süspande edildi. Ucu sinterli cam kolona doldurulduktan sonra kolonunun şartlanması için bir süre çözücü sistemi geçirildi. Daha sonra adsorban üzerinde 1-2 mm çözücü kalacak şekilde ayarlanarak numune tatbikine hazır duruma getirildi.

3.5.2.4. Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi

50-100 g sefadeks LH-20, yeterli miktarda metanol eklenerek şişmesi için bir gece bekletildi. Sefadeks alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan cam kolona doldurularak iyice şartlanana kadar kolondan mobil faz geçirildi. Çözücü adsorbanın üzerinde 1-2 mm kalıncaya kadar akıtıldı ve numune tatbiki için hazır hale getirildi. Sefadeks kolon kromatografide genel olarak mobil faz %40 metanol-kloroform kullanıldı.

3.5.2.5. Flash kromatografi

ELSD (Evaporatif Işık Saçılma Dedektörü) sayesinde diğer dedektörler tarafından görünmeyen bileşenlerin ve safsızlıkların görülmesini sağlayan uçucu olmayan tüm bileşikler tespit ederek azami saflıkta hedef bileşiklerin toplanmasını sağlayan gelişmiş ve güçlü bir sistemdir. Ayrımı yapılacak numunenin çözücü sisteminde çözünmemesi durumuna karşı kurutatabik yapılarak veya hareketli fazda çözündürülerek kolona enjekte edilebilmektedir. Bu cihazda kolon olarak ters faz ve normal faz kolonlar kullanılarak saflaştırma işlemleri gerçekleştirildi.

3.5.2.6. Preperatif HPLC

Bu çalışmada Shimadzu marka recycle prep-HPLC cihazı kullanıldı. Pompa olarak LC-20AR, dedektör SPD-M20A ve fraksiyon kollektör FRC 10A kullanıldı.

3.5.3. Kromatografik çalışmalarda kullanılan belirteç

%10'luk H₂SO₄ belirteci: 100 ml'lik balon joje içerisine bir miktar ultra saf etanol konuldu ve üzerine %98'lik saflıkta sülfürik asitten 10 mL eklenerek son hacim saf etanol ile 100 ml' ye tamamlandı. İTK tabakasına püskürtülen çözelti 100 °C deki ısıtıcıda ısıtılarak spotların ortaya çıkması sağlandı.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Tezde kullanılan bitki materyallerinin adlarının kısaltmaları ve ekstre verimleri aşağıda Tablo 4.1.' de verilmiştir.

Tablo 4. 1. Çalışma bitkilerine ait kısaltmalar ve ekstre verimleri

Ekstre kodu	Ekstre (10 g bitki/100 mL çözücü)	
	Miktar (g)	Verim (%)
EKM (<i>erzincanica</i> kök metanol)	0,724 g	%7,2
EKS (<i>erzincanica</i> kök su)	0,516 g	%5,1
ETM (<i>erzincanica</i> toprak üstü metanol)	1,873 g	%18,7
ETS (<i>erzincanica</i> toprak üstü su)	1,590 g	%15,9
LKM (<i>libanotica</i> kök metanol)	0,941 g	%9,4
LKS (<i>libanotica</i> kök su)	0,420 g	%4,2
LTM (<i>libanotica</i> toprak üstü metanol)	1,03 g	%10
LTS (<i>libanotica</i> toprak üstü su)	1,67 g	%16,7
SKM (<i>subaequiloba</i> kök metanol)	0,642 g	%6,4
SKS (<i>subaequiloba</i> kök su)	0,389 g	%3,8
STM (<i>subaequiloba</i> toprak üstü metanol)	1,723 g	%17,2
STS (<i>subaequiloba</i> toprak üstü su)	1,190g	%11,9

4.1. Antioksidan Aktivite

4.1.1. DPPH[•] radikali giderme aktivitesi bulguları

DPPH[•] radikal giderme aktivitesi için bitki ekstratlarından stok çözeltiler (1 mg/mL) hazırlandı. Stoklardan 20, 40, 80, 120, 160, 240, 320 ve 400 µg/mL

konsantrasyonlarında numune hazırlandı. Her bir kuyucuğa 10 µL bitki ekstraktı üzerine de 140 µL DPPH[•] çözeltisi eklenerek karıştırıldı. Daha sonra oluşan DPPH[•]lı çözeltiler oda sıcaklığında karanlık ortamda 20 dakika inkübasyona bırakıldı. 517 nm'de absorbans ölçümü yapıldı. Absorbans miktarındaki azalma serbest radikalın reaksiyona girerek radikalın giderildiğini ifade etmektedir.

Ekstrelerin DPPH serbest radikali giderme aktivitesi sonuçları aşağıda tablo 4.2. de gösterilmiştir. Tablo 4.2.'ye göre düşük IC₅₀ değerlerine göre bitki ekstrelerinin standart Troloks' dan daha düşük orta derece aktivite gösterdikleri bulunmuştur.

Tablo 4. 2. DPPH radikal giderme değerleri

Bitki ekstresi/ Standart	IC ₅₀ (µg/mL)
EKM	76,21±3,67
ETM	80,44±4,54
LKM	52,18±2,91
LTM	136,83±5,23
SKM	68,09±2,41
STM	103,67±6,93
Troloks	6,21±1,75

4.1.2. İndirgeme gücü (FRAP) aktivitesi bulguları

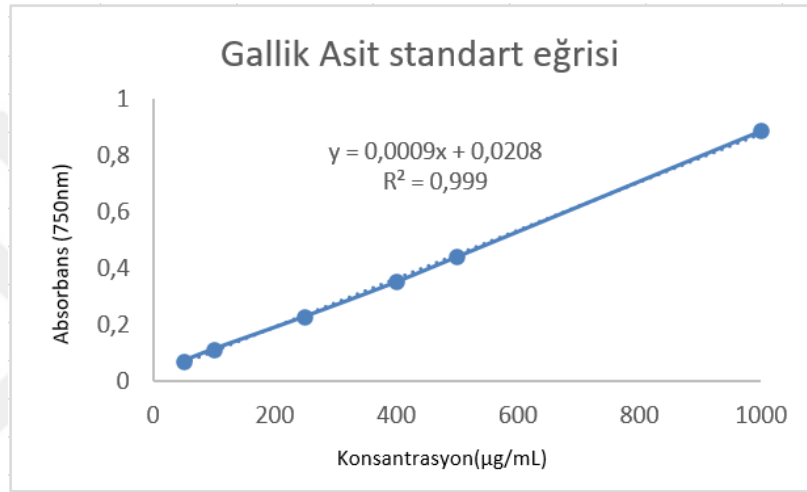
Tablo 4.3. de ekstrelerin indirgeme gücü standart BHA ve BHT ile karşılaştırıldığında tamamına yakını standartların indirgeme gücünün altında değerler gösterdi. *S. libanotica*'nın kök metanol eksraktı orta derece indirgeme gücü gösterirken diğer ekstreler düşük hafif indirgeme gücü gösterdiği söylenebilir.

Tablo 4. 3. İndirgeme gücü değerleri

Bitki ekstresi (1mg/mL)	µg TE / g Ekstrakt
EKM	121,24±4,33
ETM	121,73±2,58
LKM	76,28±1,95
LTM	211,49±2,88
SKM	200,67±3,16
STM	106,45±0,28
Trolox	6,60±0,16

4.1.3. Toplam fenolik madde içerik bulguları

Bitkilerin metanol ekstraktlarının toplam fenolik içeriği, Singleton ve Rossi'nin (1965) yöntemine göre, bazı modifikasyonlar yapılarak belirlendi. Bu yöntem basit, hassas ve doğru olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu deneyde standart olarak gallik asit kullanılmıştır. Ekstraktın fenolik içeriği (1 mg/mL), gallik asit standart eğrisi (Bkz. Şekil 4.1.) kullanılarak gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden belirlendi. Sonuçlar, Tablo 4.4.'de g kuru kütle özü başına mg gallik asit eşdeğerleri olarak verildi.



Şekil 4.1. Gallik asit standart eğrisi

Tablo 4. 4. Bitki ekstrelerinin Gallik asit eşdeğerlerinde toplam fenol içeriği

Bitki ekstresi (1mg/mL)	mg GAE / g Ekstrakt
EKM	116,52±1,48
ETM	117,63±0,74
LKM	76,89±0,61
LTM	129,48±0,35
SKM	123,93±1,48
STM	74,30±0,20

Literatüre göre *Scrophularia striata*'nın fenolik içeriği üzerine yapılan bir çalışmada, etanol özütün (79,7 mg GAE/g), etil asetat özütünün (65,5 mg GAE/g), metanol özütün (49,1 mg GAE/g) ve sulu özütün (36,6 mg GAC/g) olduğu bulunmuştur (Mahboubi vd. 2013).

4.1.4. Toplam flavonoid madde içerik bulguları

Bitki ekstralarının toplam flavonoid içeriği, daha önce Zhishen ve arkadaşları tarafından tarif edilen alüminyum klorür kolorimetrik metoduna göre yapıldı (Zhishen vd., 1999). Bu deneyde, standart olarak kuarsetin kullanıldı. Kuarsetin standart eğrisine göre (Bkz. Şekil 4.2.), bitki ekstralarının toplam flavonoid içeriği Tablo 4.5.'de gösterilen özütün mg kuru kütlesi başına µg kuarsetin eşdeğerleri olarak belirlendi.



Şekil 4.2. Kuarsetin standart eğrisi

Literatüre göre *Scrophularia striata*'nın etil asetat özütünün (27,5 mg QE/g) etanol özütünün (9,8 mg (QE/g), metanol özütünün (8,2 mg QE/g) ve su özütünün (5,1 mg QE/g) olarak toplam flavonoid miktarları bulunmuştur.

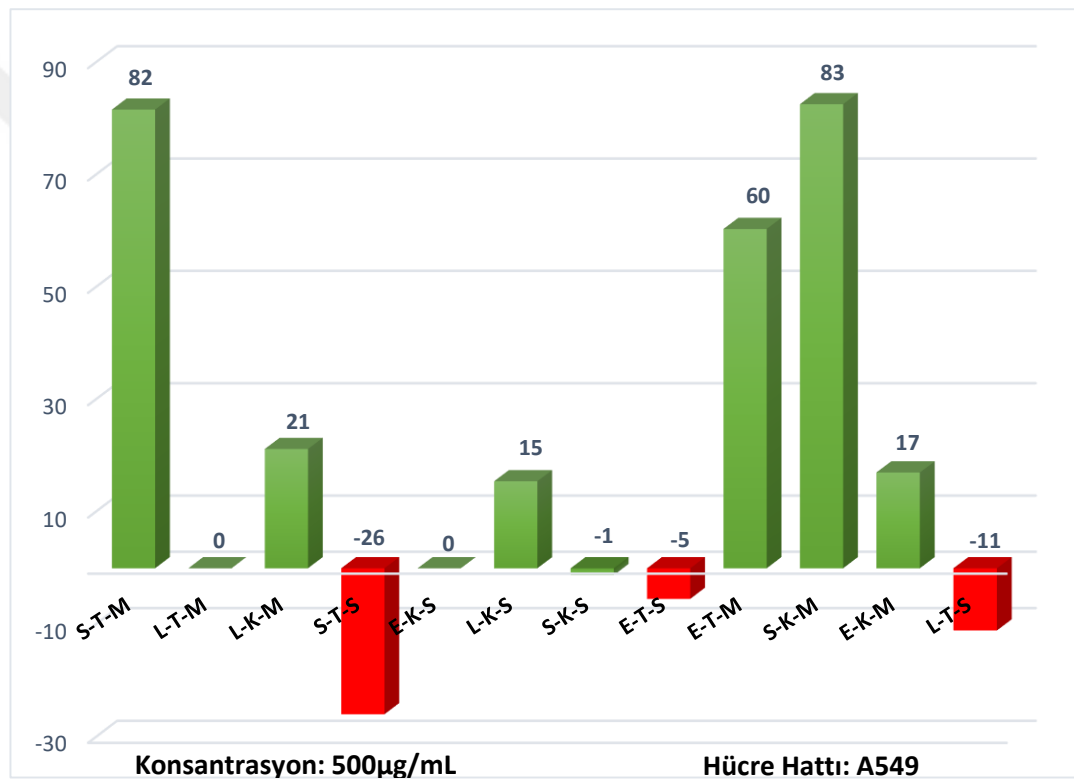
Tablo 4. 5. Bitki ekstralarının Kuarsetin eşdeğerlerinde toplam flavonoid içeriği

Bitki ekstresi (1mg/mL)	mg QEPh / g Ekstrakt
EKM	13,80±0,42
ETM	13,33±0,16
LKM	8,57±0,27
LTM	18,57±0,32
SKM	202,86±0,42
STM	70,48±0,42

4.2. Bitki Ekstrelerinin Antikanser Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

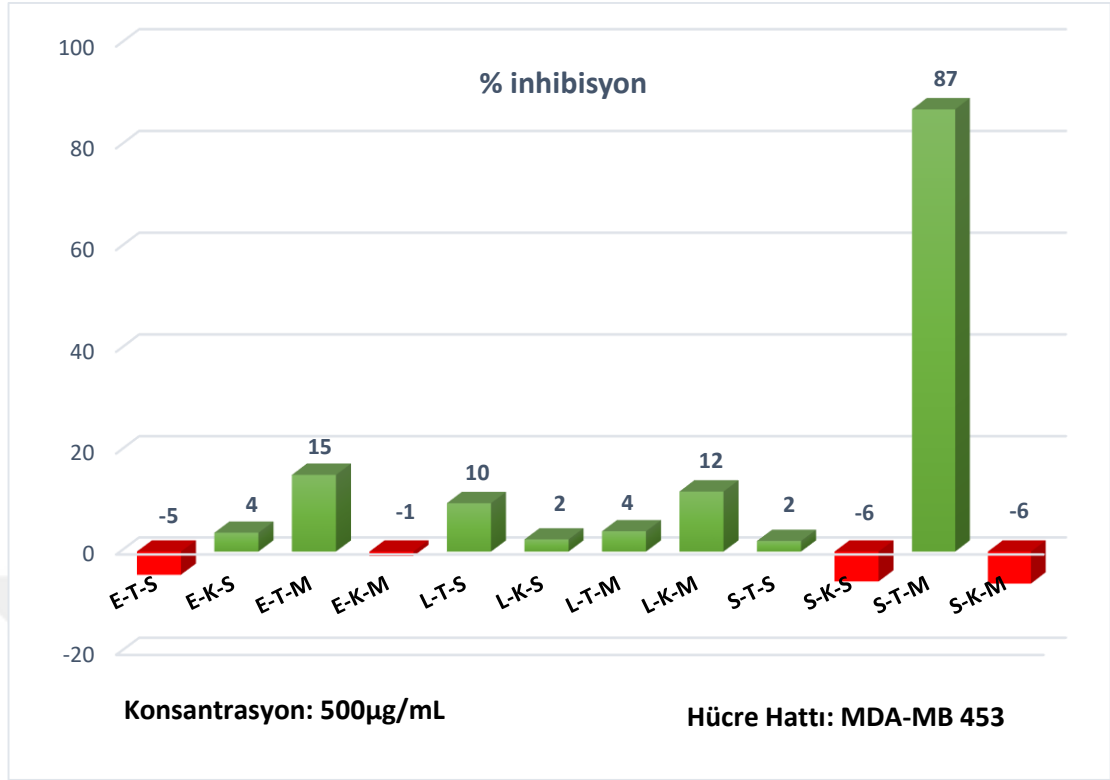
Tezde çalışması planlanan *S. erzincanica*, *S. subaequiloba* ve *S. libonatica* bitkilerinin antikanser aktivite çalışmalarında metanol ve su ekstraktları çalışılmıştır. Antiproliferatif etkinin daha iyi belirlenebilmesi için bitki kök ve toprak üstü kısımlarına ayrılmıştır. Hazırlanan ekstraktların antiproliferatif etkileri A549 (insan akciğer kanseri) ve MDA-MB-453 (insan meme kanseri) hücre hatlarına karşı belirlenmiştir. Bitki ekstraktlarının antiproliferatif aktivite sonuçları Şekil 4.3. ve 4.4.'de verildi.

(10.000Cell/well 500 µg/ml de)



Şekil 4.3. Ekstrelerin A549 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon etkileri

A549 hücre hattı ile yapılan aktivite çalışmalarında sırasıyla en yüksek aktiviteyi *S. subaequiloba*'nın toprak üstü (%82 inh.) ve kök (%83 inh.) metanol ekstraktları, *S. erzincanica*'nın toprak üstü (%60 inh.) ve kök (%17 inh.) metanol ekstraktları göstermiştir. Kırmızı ile gösterilen sütunların proliferatif yönde etkileri olmuştur.



Şekil 4.4. Ekstrelerin MDA-MB-453 hücre hattı üzerindeki % inhibisyon etkileri

MDA-MB-453 hücre hattı üzerine yapılan aktivite çalışmalarında en yüksek aktiviteyi *S. subaequiloba*'nın toprak üstü metanol ekstresi (%87 inh.) göstermiştir. Diğerleri sırasıyla *S. erzincanica* toprak üstü metanol ekstresi (%15 inh.), *S. libanotica* kök metanol ekstresi (%12 inh.), *S. libanotica* toprak üstü metanol ekstresi (%10 inh.) düşük aktivite gösterdiler.

Her iki hücre hattı üzerinde yapılan antikanser aktivite çalışmaları sonuçlarına göre izolasyon çalışmaları yapılmıştır. İki hücre hattı üzerinde de en yüksek aktiviteyi gösteren *S. subaequiloba*'nın toprak üstü ve kök metanol ekstreleri üzerinden izolasyon işlemleri yapıldı.

4.3. *S. subaequiloba* üzerinde yapılan izolasyon çalışması

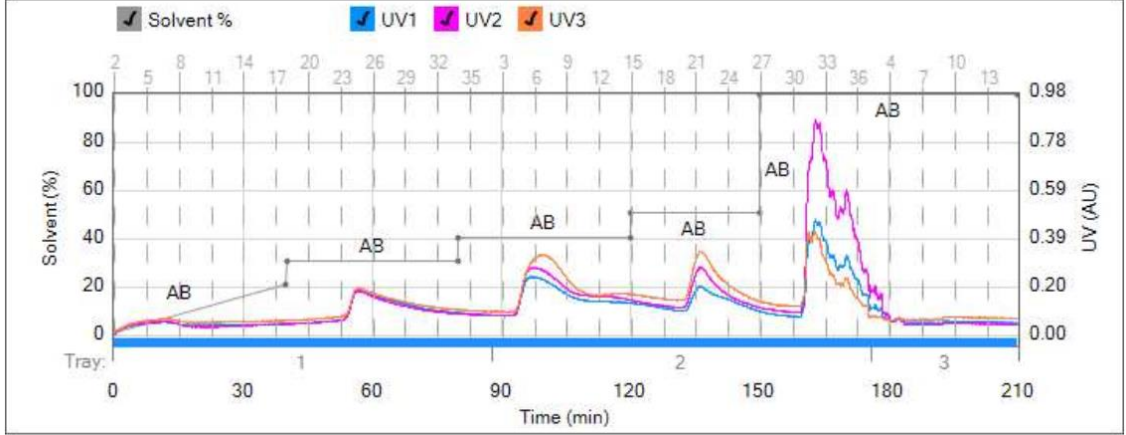
8 g toprak üstü metanol ekstresi alınarak flash kromatografi (20 mL/dk.) yapıldı (Bkz. Şekil 4.5.) ve benzer ekstreler birleştirildi. Sabit faz olarak C18 330g'lık kolon kullanıldı. Hareketli faz olarak %100 sudan başlanarak %100 metanole doğru basamaklı gradyent oluşturularak 50 mL lik fraksiyonlar şeklinde toplandı. Benzer olanlar birleştirilerek toplam 12 farklı alt fraksiyon elde edildi.

Column: FP ECOFLEX C18 3000g
Flow Rate: 20 mL/min
Equilibration: 0.0 min
Run Length: 210.4 min
Mode: Flash Liquid

Solvent A: Water
Solvent B: Methanol
Solvent C: Empty
Solvent D: Empty
Slope Detection: Off

UV Threshold: N/A
UV Sensitivity: High
UV1 Wavelength: 254 nm
UV2 Wavelength: 280 nm
UV3 Wavelength: 330 nm

ELSD Threshold: N/A
ELSD Sensitivity: High
Collection: Collect All
Per-Vial Volume: 50 mL
Non-Peak Volume: 50 mL



Şekil 4.5. *S. subaequiloba*'nın flash kromatogramı

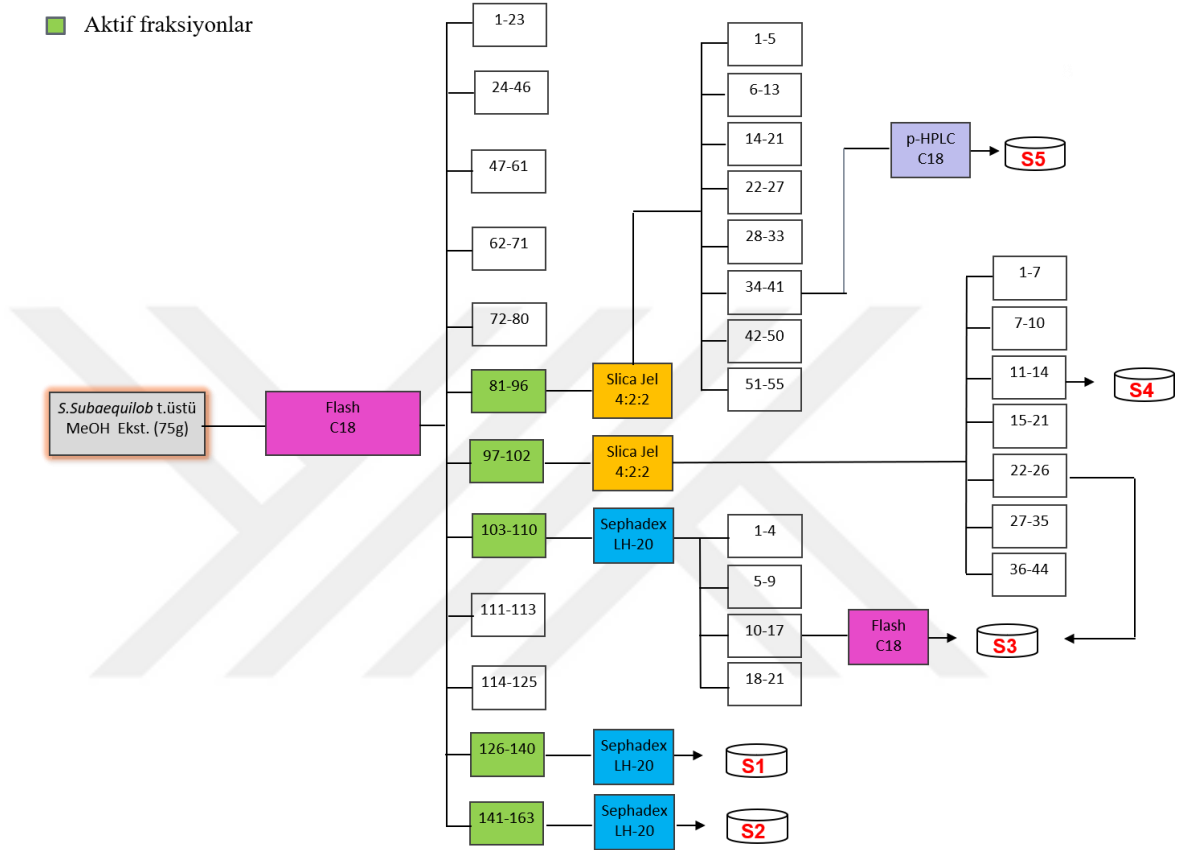
Elde edilen 12 alt fraksiyonun aktivite çalışmaları sonucu 3 alt ekstresinde kayda değer aktiviteye ulaşılmıştır. Bunlar, 97-102, 103-110, 126-140 ve 141-163 fraksiyonlarıdır. 130-132. tüplerde oluşan sarı renkli kristaller metanolle yıkanarak temizlendikten sonra beyaz kristaller olarak (**S1**) saponin glikozit elde edildi.

12 nolu fraksiyon (141-163) sefadeks LH-20 (M:K-6:4) ile yükleme yapıldı. Aynı zamanda fraksiyonların toplanması da bu çözücü ile yapıldı. Buradan elde edilen alt fraksiyon 7-12 aralığı aynı kolon üzerinden kirliliğin giderilmesi için tekrar sefadeks kolon yapıldı. Sonuçta (**S2**) katalpol sinnamic acid bileşiği saf olarak elde edildi.

8 nolu fraksiyon (103-110) sefadeks LH-20 (M:K-6:4) ile yükleme yapılarak 21 alt fraksiyon toplandı. 10-17 arası hareketli faz su-MeOH (%100 su ile gradyent oluşturarak %100 MeOH) sistemi kullanılarak flash kromatografi (C18) yapılarak 8-asetil harpagid-6-*O*- β -glikozit (**S3**) izole edildi.

9 nolu fraksiyon (97-102) slika jel (E:M:K-4:2:2) kolona kuru tatbik yapılarak yüklendi. Hareketli faz olarak aynı çözücü sistemi kullanıldı. Toplamda 44 alt fraksiyon elde edildi. 11-14 nolu alt fraksiyonlarda harpagid (**S4**) izole edildi. Ayrıca 22-26 alt fraksiyonlarından daha önce izole edilen (**S3**) buradan tekrar izole edildi.

8 nolu (81-96) fraksiyonu slika jel (E:M:K-4:2:2) kolona kuru tatbik yapılarak yüklendi. Hareketli faz olarak aynı çözücü sistemi kullanıldı. Toplam 55 alt fraksiyon elde edildi. İTK sonucuna göre birleştirilen 34-41 alt fraksiyonları p-HPLC (C18) yapılarak sinarozit (**S5**) izole edildi (Bkz. Şekil 4.6.).



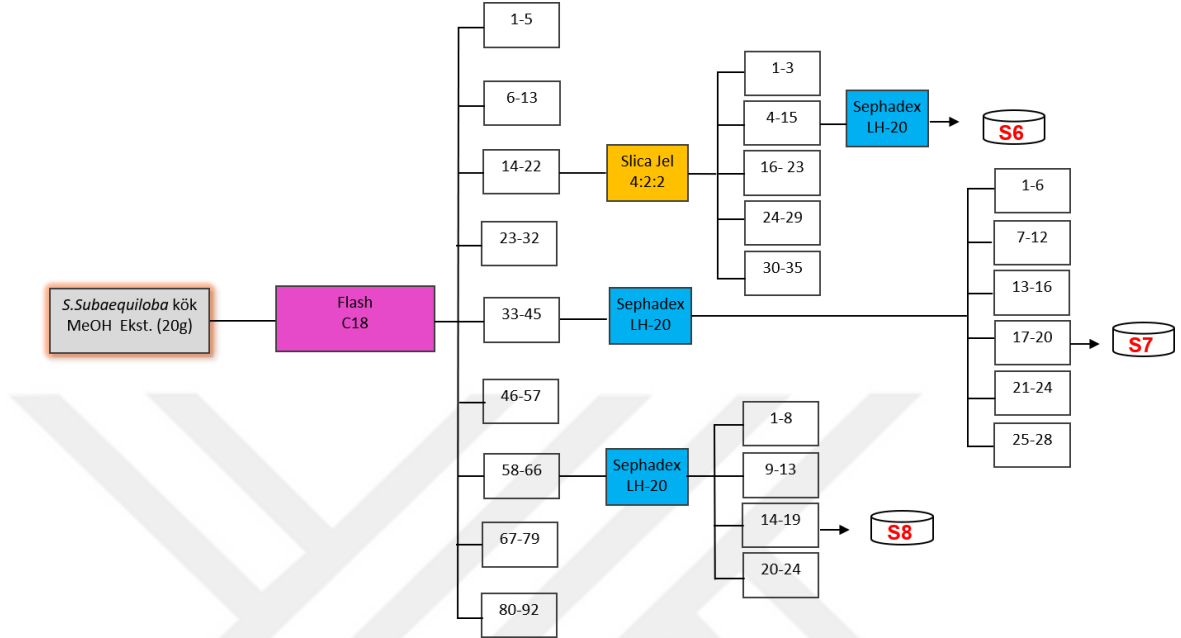
Şekil 4.6. *S. subaequiloba* üzerinde yapılan fraksiyonlama ve izolasyon işlemi

5 g kök metanol ekstresi alınarak flash kromatografi yapıldı ve benzer ekstraler birleştirildi. Sabit faz olarak C18 330 g'lık kolon kullanıldı. Hareketli faz olarak %100 sudan başlanarak %100 metanole doğru basamaklı gradient oluşturuldu. İTK sonucuna göre alınan 92 fraksiyon birleştirilerek 9 farklı alt fraksiyon elde edildi.

14-22 aralığı slika (E:M:K-4:2:2) kolon yapılarak 35 alt fraksiyon toplandı. Alt fraksiyon 4-15 aralığı sefadeks (MeOH) kolon yapılarak **S6** (ajugol) izole edildi.

33-45 aralığı sefadeks (M:K-6:4) kolon yapılarak 28 alt fraksiyon elde edildi. Alt fraksiyon 17-20. tüplerde kristal halde **S7** (aukubin) izole edildi.

58-66 aralığı sefadeks (M:K-6:4) kolon yapılarak 24 alt fraksiyon elde edildi. Alt fraksiyon 14-19. tüplerde kirli beyaz katı kristal halde **S8** (Parakumarik asit metil ester) izole edildi (Bkz. Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. *S. subaequiloba* üzerinde yapılan fraksiyonlama ve izolasyon işlemi

4.4. *S. erzincanica* üzerinde yapılan izolasyon çalışması

6 g toprak üstü metanol ekstresi alınarak flash kromatografi yapıldı ve benzer ekstratlar birleştirildi (Bkz. Şekil 4.8.). Sabit faz olarak C18 330 g'lık kolon kullanıldı. Hareketli faz olarak %100 sudan başlanarak %100 metanole doğru basamaklı gradient oluşturuldu. 12 farklı alt fraksiyon elde edildi.

8 nolu alt fraksiyon (68-75) aralığı sefadeks kolon (M:K-6:4) yapıldı. Buradan elde edilen 23 fraksiyondan 9-11 arasındaki tüplerde amorf kristal olarak (**E1**) katalpol bileşiği saf olarak elde edildi.

Flash kromatografiden alınan 5. fraksiyon (35-51) slica jel (E:M:K-4:2:2) kolon yapıldı. Buradan alınan 29-34 fraksiyon aralığı p-HPLC (C18) yapıldı ve saf olarak elde edilen molekülün (**E2**) apigenin 7-O- glikozit olduğu anlaşılmıştır.

Flash kromatografiden alınan 6. fraksiyon (52-60) slica jel (E:M:K-4:2:2) kolon yapıldı. Buradan alınan 16-22 fraksiyon aralığından saf olarak verbaskozit (**E3**) izole edildi.

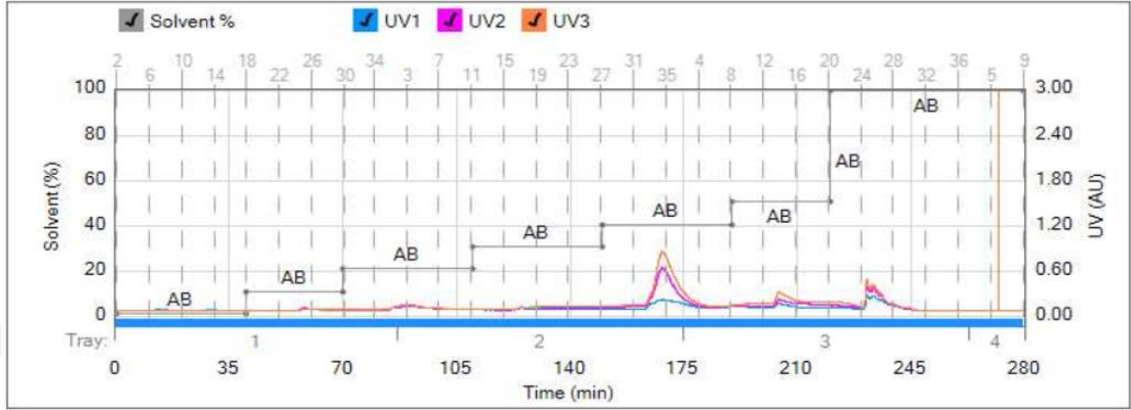
9. fraksiyon (76-83) arası sefadeks LH-20 (M:K-6:4) yapılarak iridoid glikozit türevi 6-O-(3''-O-trans-p-kumaroil)- α -L-ramno piranozil katalpol (**E5**) izole edildi.

Column: FP ECOFLEX C18 330g
Flow Rate: 20 mL/min
Equilibration: 0.0 min
Run Length: 280.6 min
Mode: Flash Liquid

Solvent A: Water
Solvent B: Methanol
Solvent C: Empty
Solvent D: Empty
Slope Detection: Off

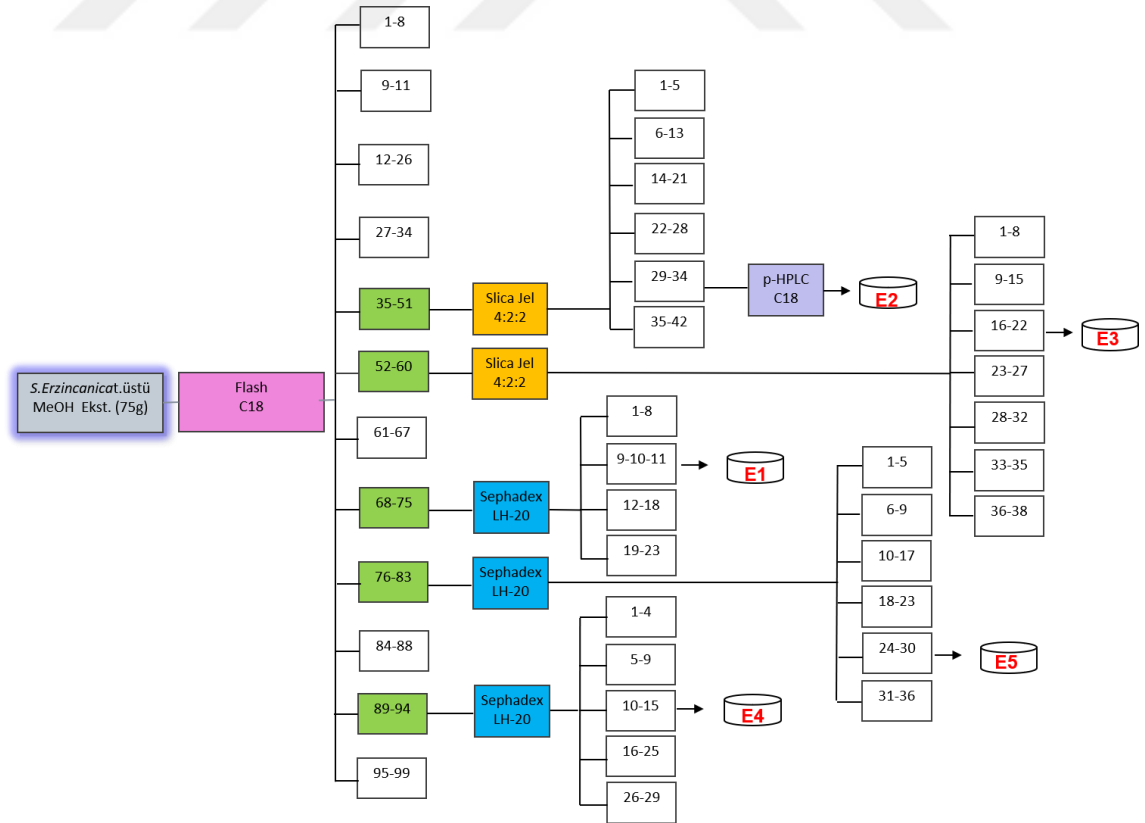
UV Threshold: N/A
UV Sensitivity: High
UV1 Wavelength: 254 nm
UV2 Wavelength: 280 nm
UV3 Wavelength: 330 nm

ELSD Threshold: N/A
ELSD Sensitivity: High
Collection: Collect All
Per-Vial Volume: 50 mL
Non-Peak Volume: 50 mL



Şekil 4.8. *S. erzincanica*'nın flash kromatogramı

11. fraksiyon (89-94) sefadeks LH-20 yapılarak 29 fraksiyon elde edildi. 10-15 tüplerde kristal olarak (**E4**) (**S1** ile aynı bileşik) saponin glikozit izole edildi (Bkz. Şekil 4.9.).

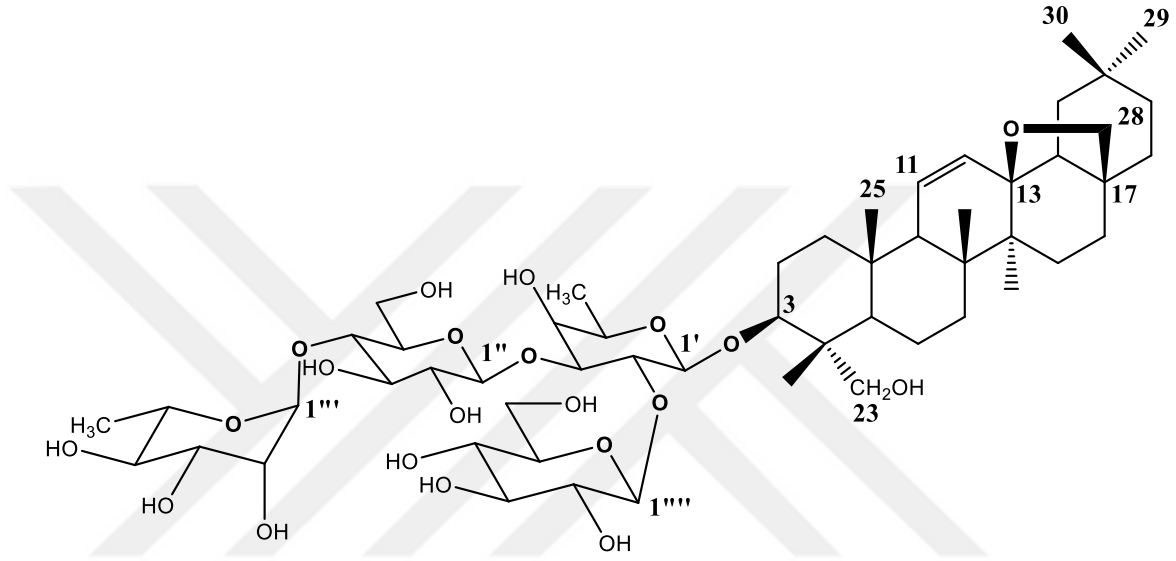


Şekil 4.9. *S. erzincanica* üzerinde yapılan fraksiyonlama ve izolasyon işlemi

4.5. İzole edilen bileşiklerin karakterizasyonu

4.5.1. İlvensisaponin A (S1)

S1 bileşiği renksiz ve amorf bir yapıda (350 mg) izole edildi (Bkz. Şekil 4.10.) ve İTK analizinde %10'luk H₂SO₄ belirteci ile 100 °C de ısıtıldığında kahverengi bir renk verdiği görüldü.



Şekil 4.10. İlvensisaponin A

¹³C NMR spektrumuna göre aglikon kısmında 30 karbon rezonansı olduğu bunlardan 6 tanesinin CH₃, 11' nin CH₂, 6' sının CH, 7 tane de C olduğu belirlendi.

¹H NMR spektrumuna göre 6 tane tersiyer CH₃ 3H (1,10; 1,00; 0,99; 0,94; 0,88; 0,83) değerlerinden anlaşıldı. 5,46 ve 5,12 ppm (d, *J* = 10,4 Hz) olefinik protonlardır. ¹³C NMR spektrumunda da, diğer metin rezonanslarının farklı olarak C(11) ve C(12) sinyallerinin 131,9 ve 131,4 ppm de dublet şeklinde gözlenmesi çifte bağ varlığını desteklemiştir. Bu bilgiler, aglikonun oleanan-Δ¹¹ tip bir triterpen iskeletine sahip olduğunu gösterdi.

NMR datalarına ve literatürde verilen spektral verilere göre molekülün ilvensisaponin A olduğuna karar verildi (Kahraman, 2009).

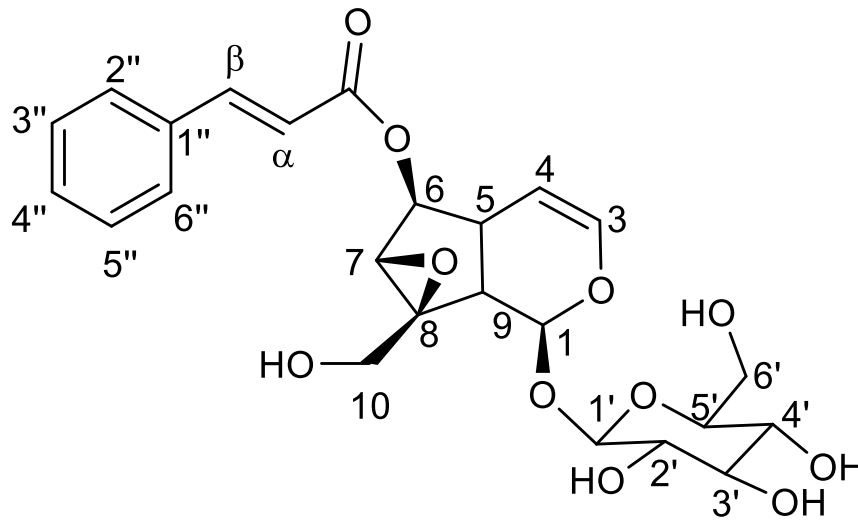
İlvensisaponin A daha önce *Scrophularia* türlerinden biri olan *Scrophularia ilwensis* 'den izole edildiği bildirilmiştir (Çalış vd., 1993).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 5,94 (1H, d, $J=10,4$ Hz, H-11), 5,77 (1H, d, $J=1,5$ Hz, H-1'''), 5,53 (1H, m, H-12), 5,20 (1H, d, $J=7,6$ Hz, H-1''), 5,53 (1H, d, $J=7,9$ Hz, H-1'''), 4,91 (1H, d, $J=7,7$ Hz, H-1'), 4,58 (1H, m, H-2'''), 4,34 (1H, m, H-23b), 4,25 (1H, m, H-2'), 4,11 (1H, *, H-3), 4,05 (1H, *, H-2'''), 3,90 (1H, *, H-2''), 3,72 (1H, *, H-28b), 3,70 (1H, *, H-23a), 3,33 (1H, d $J=6,2$ Hz, H-28a), 1,68 (1H, d, $J=6,1$ Hz, H-6'''), 1,38 (3H, bs, H-6'), 1,31 (3H, s, H-26), 1,04 (3H, s, H-24), 0,98 (3H, s, H-27), 0,96 (3H, s, H-25), 0,87 (3H, s, H-29), 0,82 (3H, s, H-30).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO) δ 131,9 (C11), 131,4 (C12), 103,8 (C1''), 103,5 (C1'), 102,3 (C1'''), 101,0 (C1'''), 84,4 (C13), 83,4 (C3'), 81,0 (C3), 77,3 (C4''), 77,0 (C5'''), 76,8 (C3'''), 76,5 (C5''), 76,0 (C3''), 75,5 (C2''), 75,4 (C2'''), 74,9 (C4''), 74,5 (C4'''), 72,3 (C2''), 71,3 (C4'), 71,02 (C3'''), 69,7 (C5'), 69,2 (C5'''), 62,8 (C23), 62,2 (C6''), 60,7 (C6'''), 53,2 (C9), 51,1 (C18), 46,5 (C5), 43,8 (C4), 41,5 (C14), 38,2 (C8), 37,1 (C17), 35,8, (C19), 34,8, (C1), 33,8, (C10), 31,8, (C21), 31,0, (C29), 30,7, (C22), (C20), 25,7, (C7), 25,5 (C16), 25,3 (C15), 23,9 (C2), 19,7 (C30), 19,5 (C26), 18,5 (C27), 18,4 (C25), 18,2, (C6'''), 17,1 (C6), 17,0 (C6'), 12,3 (C24).

4.5.2. Katalpol-6-O-sinamik ester (S2)

S2 bileşiği amorf toz halde (15 mg) izole edildi (Bkz. Şekil 4.11.). İTK analizinde %10'luk H_2SO_4 belirteci ile 100°C de ısıtıldığında kahverengi bir renk verdiği görüldü.



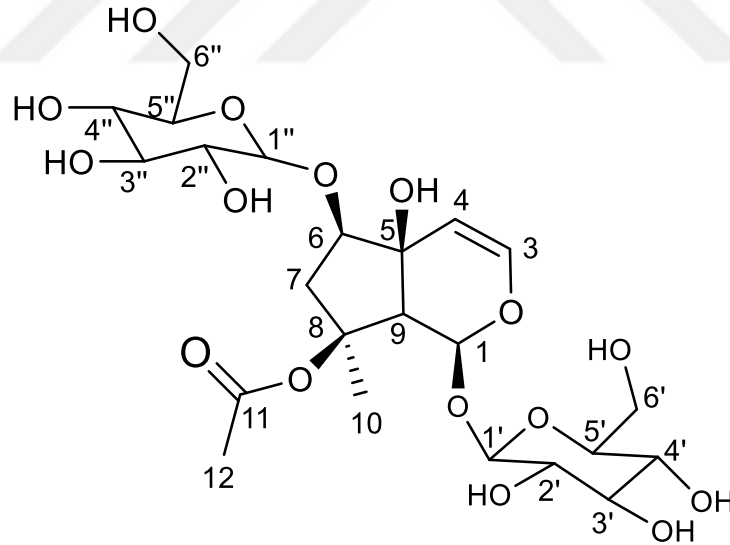
Şekil 4.11. Katalpol-6-O-sinamik ester

^1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 7,74 (d, J = 16,0 Hz, 1H, $\text{H}\beta$), 7,64 (dd, J = 6,6, 3,0 Hz, 2H), 7,52 – 7,02 (m, 3H, $\text{H}4''$, $\text{H}3''$ ve $\text{H}5''$), 6,59 (d, J = 16,0 Hz, 1H, $\text{H}\alpha$), 6,38 (dd, J = 6,0, 2,0 Hz, 1H, $\text{H}3$), 5,10 (d, J = 10,0 Hz, 1H, $\text{H}1$), 5,05 (m, 1H, $\text{H}4$), 4,77 (d, J = 7,9 Hz, 1H, $\text{H}1'$), 4,28 (d, J = 12,7 Hz, 1H, $\text{H}10$), 4,16 – 3,82 (m, 2H, $\text{H}6$ ve $\text{H}7$), 3,68 (dd, J = 11,9, 6,3 Hz, 1H, $\text{H}6'$), 3,37 (q, J = 3,7, 2,9 Hz, 1H, $\text{H}3'$), 3,33 (m, 1H, $\text{H}5'$), 3,21 (dd, J = 9,2, 7,8 Hz, 1H, $\text{H}2'$), 2,69 (dd, J = 9,8, 7,6 Hz, 1H, $\text{H}9$), 2,32 (m, 1H, $\text{H}5$).

^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ 167,0 (C=O), 145,3(C β), 140,4 (C3), 134,4 (C1''), 130,2 (C4''), 128,6 (C3'' ve C5''), 128,0 (C2'' ve C6''), 117,3 (C α), 102,3 (C4), 98,9 (C1'), 94,2 (C1), 78,1 (C6), 77,1 (C5'), 76,5 (C3'), 73,4 (C2'), 70,1 (C4'), 63,1 (C10), 62,2 (C8), 61,6 (C7), 61,4 (C6'), 42,2 (C9), 37,6 (C5).

4.5.3. 8-asetilharpagid-6- O - β -glikozit (S3)

S3 bileşiği amorf toz halde (50 mg) izole edildi (Bkz. Şekil 4.12.). İTK analizinde %10'luk H_2SO_4 belirteci ile 100 °C de ısıtıldığında kahverengi bir renk verdiği görüldü.



Şekil 4.12. 8-asetilharpagid-6- O - β -glikozit

^1H NMR spektrumundan δ_{H} 2,04 ppm de bir asetil grubunun varlığı belirlenmiştir. Ayrıca δ_{H} 4,63 ve 4,52 sinyalleri diğer oz sinyalleri ile beraber değerlendirildiğinde yapıda iki tane şeker grubunun bağlı olduğunu anlaşılmıştır. Bununla beraber ^{13}C NMR spektrumundan 98,4 (C1'), 96,8 (C1'') sinyalleride anomerik karbon atomlarını göstererek iki şeker bağlı olduğunun ispatıdır. DEPT-135 tarafından 2 metil, 15 metin, 3

metilen ve 3 kuaterner karbon atomuna ayrılan toplam 23 karbon sinyalini görüntüleyen ^{13}C NMR spektrumu ile doğrulandı. S3 bileşiğinin anomerik protonlarının ($J=7,6$ Hz ve $J=7,9$ Hz) kenetleme sabitleri, bunların β -konfigürasyonlarında bulunduğunu göstermektedir. ^1H NMR ve ^{13}C NMR sinyallerinin tam ataması, HMQC ve HMBC teknikleri kullanılarak elde edildi ve ayrıca NOESY tarafından desteklendi.

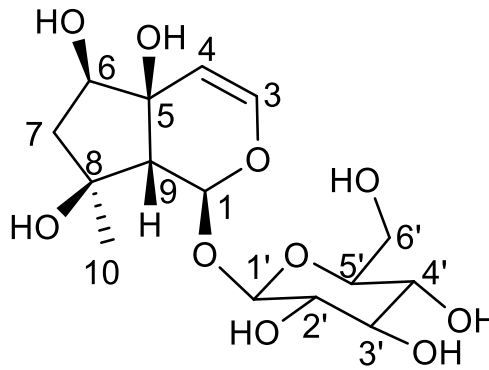
C-8'e bağlı asetil grubu, aglikonun C-1 ve C-6 konumlarında iki glikoz birimi olduğunun doğrulanmasına yol açtı. Literatür verileri karşılaştırılarak bileşik S3'ün 8-asetilharpagit 6-*O*- β -glukozit olduğu sonucuna varıldı (Manguro vd., 2007).

^1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 6,41 (d, $J = 6,2$ Hz, 1H, H3), 6,11 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H, H1), 5,16 (d, $J = 6,2$ Hz, 1H, H4), 4,63 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H1'), 4,52 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, H1''), 3,96-3,88 (m, 3H, H3', H5', H6'), 3,85-3,70 (m, 1H, H6), 3,51-3,39 (m, 2H, H2', H4'), 3,36-3,30 (m, 3H, H2'', H4'', H5''), 3,29-3,13 (m, 3H, H3'', H6''), 2,95-2,87 (m, 1H, H9), 2,20 (d, $J = 15,1$ Hz, 1H, H7b), 2,04 (s, 3H, H12), 2,01-1,91 (m, 1H, H7a), 1,47 (s, 3H, H10).

^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ 172,1 (C11), 142,5 (C3), 105,5 (C4), 98,4 (C1'), 96,8 (C1''), 93,2 (C1), 87,3 (C8), 76,8 (C5'), 76,6 (C5''), 76,2 (C6), 74,8 (C3'), 73,4 (C3''), 73,1 (2'), 72,3 (C2''), 72,0 (C5), 71,6 (C4'), 70,2 (C4''), 61,3 (C6''), 61,3 (C6'), 54,0 (C9), 44,8 (C7), 21,1 (C10), 20,9 (C12).

4.5.4. Harpagid (S4)

S4 bileşiği amorf toz halde (30 mg) izole edildi (Bkz. Şekil 4.13.). İTK analizinde %10'luk H_2SO_4 belirteci ile 100°C de ısıtıldığında kahverengi bir renk verdiği görüldü.



Şekil 4.13. Harpagid

^1H ve ^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında δ_{H} 4,39 ile 97,9 ppm de anomerik proton ve karbon sinyali diğer oz sinyalleri ile beraber değerlendirildiğinde yapının bir glikozid olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca anomerik protonun kenetlenme sabitinden yola çıkarak bağın β olduğu anlaşılmıştır. δ_{H} 4,89 ve 6,26 sinyalleri yapıya ait bir çift bağ varlığını göstermektedir. H3 protonunun dublet olarak gözlenmesi C5 in süstitüe olduğunun kanıtıdır. 3,54 ppm de gelen H6 nın kimyasal kayma değerinin bu kadar düşük olması OH bağlı olduğunu göstermektedir.

DEPT 135 ve ^{13}C NMR verilerine göre aglikon kısmında bir metil CH_3 (δ_{C} 25,3) ve bir metilen CH_2 (δ_{C} 47,5), ayrıca dört tane metin CH (δ_{C} , 140,4, 109,2, 76,6, 58,8), iki tane kuaterner (δ_{C} 78,1- 70,6) karbon rezonansı görülmüştür.

Tüm bu değerler literatür ile karşılaştırıldığında S4 bileşiğinin yapısının harpagid olduğu anlaşılmıştır. Daha önce *Scrophularia ningpoensis* türünden izole edildiği bildirilmiştir (Ren vd., 2021).

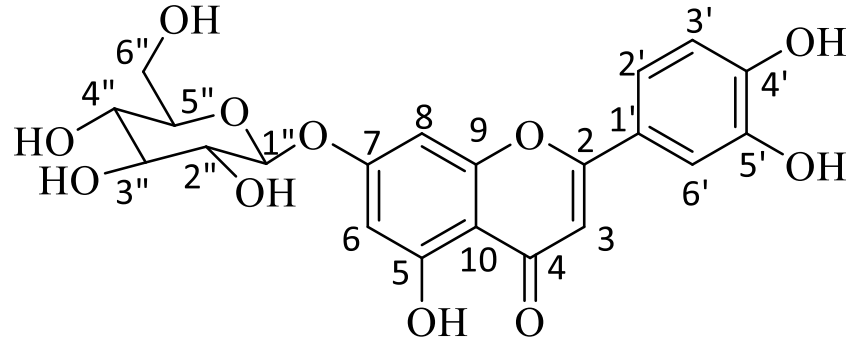
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 6,26 (d, J = 6,3 Hz, 1H, H3), 5,55 (d, J = 1,4 Hz, 1H, H1), 4,89 (dd, J = 6,3 Hz, 1H, H4), 4,39 (d, J = 7,9 Hz, 1H, H1'), 3,72 – 3,40 (m, J = 11,8, 1,9 Hz, 1H, H6', H3'), 3,54 (t, J = 5,0 Hz, 1H, H6), 3,23 – 3,02 (m, 2H, H4', H5'), 2,98 (t, J = 8,4 Hz, 1H, H2'), 2,36 (s, 1H, H9), 1,74 (d, J = 5,1 Hz, 1H, H7a), 1,66 (d, J = 4,9 Hz, 1H, H7b), 1,08 (s, 3H, H10).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO) δ 140,4, (C3), 109,2, (C4), 97,9, (C1'), 92,1, (C1), 77,7, (C8), 76,7, (C5'), 76,6 (C6), 75,8 (C2'), 73,05, (C5), 70,6, (C4'), 70,2 (C6'), 58,8, (C9), 47,5, (C7), 25,3 (C10).

4.5.5. Sinarozit (S5)

S5 bileşiği sarı renkli amorf yapıda (45 mg) izole edildi (Bkz. Şekil 4.14.). İTK analizinde %10'luk H_2SO_4 belirteci ile 100 °C de ısıtıldığında sarı renk verdiği görüldü.

^1H NMR spektrumunda δ_{H} 7,47-6,45 arasında δ_{H} 6,45, H6 ve δ_{H} 6,80, H8 meta etkileşim, 7,44, H2', 6,9, H3' ve 7,47, H6' ABX sistemi B halkasının 3,4-disüstitüe olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.14. Sinarozit

Ayrıca A halkasındaki AX sistemi 6,80 $J = 2,1$ Hz ve 6,45 $J = 2,1$ Hz H6 ve H8 konumlarının serbest olduğunu göstermektedir.

Toplam 21 karbon rezonansından şekere ait olanlar çıkarıldığında geriye kalan 15 karbon rezonansı yapının flavon aglikonu olduğunu göstermektedir.

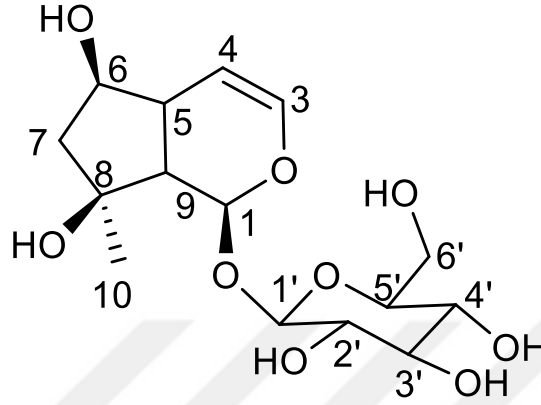
^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarına bakıldığında δ_{H} 5,09 ve δ_{C} 100,4 anomerik proton ve karbon sinyalleri yapıya bağlı bir şeker varlığını göstermektedir. Anomerik protonun kenetlenme sabitinin 5,09 ($J = 7,4$ Hz) değerinden şekerin aglikona C7 pozisyonundan bağlı bir O-glilozit olduğu anlaşılmıştır. Tüm bu veriler ışığında literatür değerleriyle yapılan değerlendirmede yapının sinarozit olduğuna karar verilmiştir. *Scrophularia kotschyana* dan daha önce izole edilmiştir (Yaylı, 2016).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,47 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, H6'), 7,44 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H, 2'), 6,9 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H, H3'), 6,80 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, H8), 6,76 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H, H3), 6,45 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, H6), 5,09 (dd, $J = 7,4, 1,8$ Hz, 1H, H1''), 3,75-3,42 (m, 2H, H6''), 3,44 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H, H5''), 3,28 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H, H3''), 3,20 (d, $J = 1,9$ Hz, H, H2''), 3,18 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H, H4'').

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 182,4 (C4), 164,9, (C2), 163,4, (C7), 161,6, (C5), 157,4, (C9), 150,4, (C4'), 146,2, (C3'), 121,9, (C1'), 119,6, (C6'), 116,5, (C5'), 114,0, (C2'), 105,8, (C10), 103,6 (C3), 100,4, (C1''), 100,0, (C6), 95,2, (C8), 77,6, (C5''), 76,9, (C3''), 73,6, (C2''), 70,0, (C4''), 61,1, (C6'').

4.5.6. Ajugol (S6)

S6 bileşiği amorf toz (45 mg) izole edilmiştir (Bkz. Şekil 4.15.). İTK analizinde, %10'luk H₂SO₄ belirteci ile 100 °C de ısıtıldığında pembe-kırmızı renk oluşmuştur.



Şekil 4.15. Ajugol

¹H NMR spektrumuna göre δ_H 4,66 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H) da gözlenen anomerik proton sinyali ve diğer (3,40-3,16 ppm) sinyaller bileşiğe ait bir glukoz olduğunu göstermektedir. ¹³C NMR da δ_C 98,1'de görülen anomerik karbon sinyali bunu doğrulamaktadır. DEPT-135 ve ¹³C NMR verilerine göre aglikon kısmında bir metil (δ_C 23,8) ve bir metilen (δ_C 50,4), ayrıca altı tane metin (δ_C 139,1; 104,5; 92,4; 76,4; 48,6; 39,9), bir tane kuaterner (δ_C 78,1) karbon rezonansı görülmüştür. Tüm bulgular ışığında bileşiğin C-4 süstitüe olmayan 9 karbonlu bir iridoid olduğunu göstermiştir.

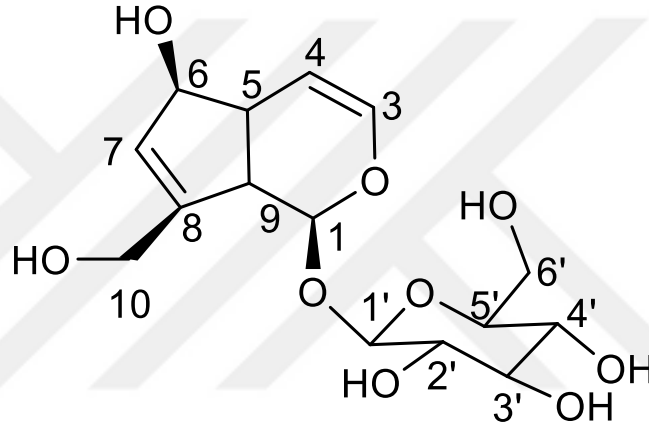
Elde edilen spektroskopik veriler literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında bileşiğin ajugol olduğu anlaşılmıştır (Pardo vd., 1998; Tatlı 2004).

¹H NMR (400 MHz, Metanol-*d*₄) δ 6,18 (dd, $J = 6,3, 2,1$ Hz, 1H, H3), 5,48 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, H1), 4,81 (s, 1H, H4), 4,66 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H1'), 3,75 – 3,57 (m, 2H, H6'), 3,40 – 3,16 (m, 4H, H2', H3', H4', H5'), 2,75 (dd, $J = 9,5, 2,8$ Hz, 1H, H5), 2,57 (dd, $J = 9,4, 2,4$ Hz, 1H, H9), 2,06 (dd, $J = 13,4, 5,6$ Hz, 1H, H7a), 1,81 (dd, $J = 13,4, 4,7$ Hz, 1H, H7b), 1,34 (s, 3H, H10).

^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ 139,1 (C3), 104,5 (C4), 98,1 (C1'), 92,4 (C1), 78,1 (C8), 76,8 (C5'), 76,7(3'), 76,4 (C6), 73,4 (2'), 70,3 (C4'), 61,5 (C6'), 50,4 (C9), 48,6 (C7), 39,9 (C5), 23,8 (C10).

4.5.7. Aukubin (S7)

S7 bileşiği amorf toz (20 mg) izole edilmiştir (Bkz. Şekil 4.16.). İTK analizinde, %10'luk H_2SO_4 belirteci ile 100 °C de ısıtıldığında pembe-kırmızı renk oluşmuştur.



Şekil 4.16. Aukubin

^1H NMR spektrumunda δ_{H} 4,50 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H1') sinyali diğer oz sinyalleri ile değerlendirildiğinde yapıya bağlı bir şeker olduğu anlaşılmaktadır. Anomerik protonun kenetlenme sabitine bakıldığında $J = 7,9$ Hz bağ konfigürasyonunun β olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca 6,31, 5,65, 4,87 ppm değerlerine bakıldığında yapıda üç olefinik proton olduğu anlaşılmaktadır.

^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında 98,47(C1') anomerik karbon atomu da yapıya bağlı bir şekerin ispatıdır.

Tüm bu veriler ışığında literatür değerlerine bakıldığında S7 bileşiğinin Aukubin olduğu anlaşılmıştır (Stevenson vd., 2002). Daha önce *Scrophularia cinerascens* türünden izole edildiği bildirilmiştir (Çiçen, 2019).

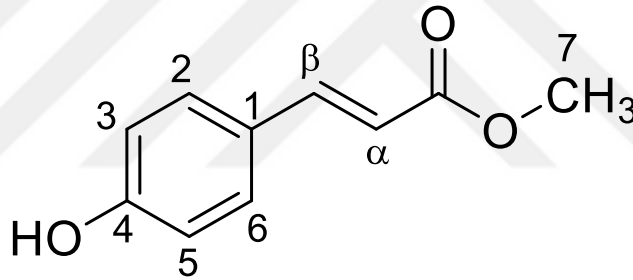
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 6,31 (dd, $J = 6,0, 1,9$ Hz, 1H, H3), 5,65 (brs, 1H, H7), 5,05 – 4,87 (m, 5H, H4), 4,82 (dd, $J = 20,4, 6,2$ Hz, 2H, H1), 4,50 (d, $J = 7,9$ Hz,

¹H, H1'), 4,28 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H, H6), 4,19 – 4,10 (m, 1H, H10a), 4,07 – 3,91 (m, 1H, H10b), 3,67 (dd, $J = 11,9, 5,4$ Hz, 1H, H6'a), 3,41 (dd, $J = 11,6, 5,6$ Hz, 1H, H6'b), 2,88-3,21 (m, 4H, H2', H3', H4', H5'), 2,72 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H, H9), 2,54-2,45 (m, 1H, H5, DMSO ile çakışık).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 146,54(C8), 140,44(C3), 129,60(C7), 105,41(C4), 98,47(C1'), 95,76(C1), 80,90(C6), 77,63(C5'), 77,12(C3'), 73,85(C2'), 70,52(C4'), 61,46(C6'), 59,95(C10), 46,85(C9), 45,03(C5).

4.5.8. *p*-kumarik asit metil ester (S8)

S8 bileşiği kirli beyaz amorf (35 mg) olarak izole edildi (Bkz. Şekil 4.17.). İTK analizinde, %10'luk H₂SO₄ belirteci ile 100 °C de ısıtıldığında siyah bir renk oluşmaktadır.



Şekil 4.17. *p*-kumarik asit metil ester

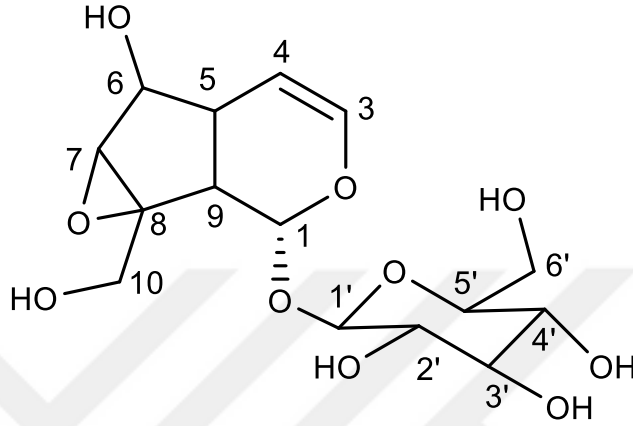
Literatür özetlerine göre daha önce *Scrophularia buergeriana* bitkisinden türevlerinin izole edildiği görülmüştür (Kim ve Kim, 2000).

¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,02 (s, 1H, 4-OH), 7,61 – 7,53 (m, 3H, H β , H2, H6), 6,83 – 6,69 (m, 2H, H3, H5), 6,40 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H, H α), 3,70 (s, 3H, H7).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO) δ 160,3, (C4), 145,2 (C β), 130,8, (C2, C6), 125,39, (C1) 116,2, (C3, C5) 114,4, (C α), 51,64, (C7).

4.5.9. Katalpol (E1)

E1 bileşiği renksiz amorf ve toz halde (1,5 g) izole edilmiştir (Bkz. Şekil 4.18.). İTK analizinde, %10'luk H_2SO_4 belirteci ile $100\text{ }^{\circ}C$ de ısıtıldığında kahverengimsi bir renk oluşmaktadır



Şekil 4.18. Katalpol

^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarına bakıldığında (EK 18 ve 19) δ_H 4,58 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H) ve δ_C 98,3 anomerik proton ve karbon sinyali diğer sinyaller ile birlikte değerlendirildiğinde bileşiğe ait bir glukoz varlığını göstermektedir. ^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında (EK 19) 1 kuaterner (C), 2 tane metilen (CH_2) ve 12 tane metin (CH) olmak üzere toplam 15 rezonans görülmüştür. Şeker kısmına ait 6 sinyal çıkıldığında geriye kalan sinyallerin 9 karbonlu bir aglikon olan siklopentan-piran iskeletine sahip iridoid glikozit olduğu anlaşılmaktadır.

^1H NMR spektrumuna bakıldığında δ_H 6,37, 5,01, 4,90, 3,87, 3,77, 2,31, 2,15' deki sinyaller bileşiğin siklopentan-piran halkasına ait 7 metin fonksiyonu varlığını kanıtlamaktadır. Ayrıca δ_H 6,37 ve 5,26 sinyalleri piran halkasında C3-C4 arasında bir çift bağ olduğunu göstermektedir. H-9 protonunun δ_H 2,31 de dd şeklinde gözlenmesi C-5' in süstitüe olmadığına kanıttır.

Bütün bu veriler ışığında ve literatür özetlerine bakılarak bileşiğin katalpol olduğu anlaşılmıştır (Akdemir ve Çalış, 1991). Katalpol' ün daha önce *Scrophularia nodosa*,

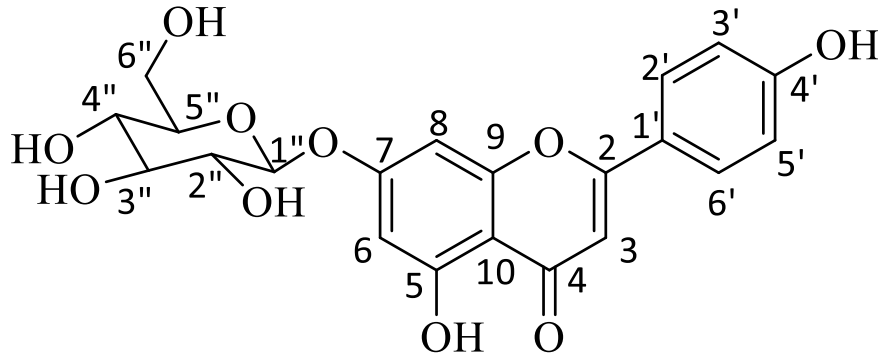
Scrophularia koelzii, *Scrophularia auriculata* türlerinden izole edildiği bildirilmiştir (Rios vd., 1991; Bhandari vd., 1997; Stevenson vd., 2002).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 6,37 (dd, $J = 6,0, 1,8$ Hz, 1H, H3), 5,26 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H, C5'-OH), 5,12 (d, $J = 4,9$ Hz, 1H, C2'-OH), 5,01 (t, $J = 5,3$ Hz, 1H, H4), 4,90 (d, $J = 9,7$ Hz, 1H, H1), 4,58 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H1'), 4,18 (dd, $J = 7,8, 5,0$ Hz, 1H, C10-OH), 3,87 (dd, $J = 13,2, 4,1$ Hz, 1H, H10a), 3,77 (dd, $J = 8,3, 3,9$ Hz, 1H), 3,58-3,72 (m, 2H, H10b, H6'a), 3,23 – 3,08 (m, 2H, H'3 ve H'5), 3,01 (t, $J = 9,1$ Hz, 2H, H2' ve H4'), 2,31 (dd, $J = 9,7, 7,6$ Hz, 1H, H9), 2,15 – 2,09 (m, 1H, H5).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO) δ 140,7 (C3), 103,8 (C4), 98,3 (C1'), 93,7 (C1), 77,9(C6), 77,6 (C5'), 76,9 (C3'), 73,9 (C2'), 70,7 (C4'), 65,3 (C8), 61,8 (C7), 61,2 (C6'), 59,5 (C10), 42,6 (C9), 37,9 (C5).

4.5.10. Apigenin 7-O-glikozit (E2)

E2 bileşiği sarı renkli amorf yapıda (55 mg) izole edildi (Bkz. 4.19.). İTK analizinde %10'luk H_2SO_4 belirteci ile 100 °C de ısıtıldığında sarı renk verdiği görüldü.



Şekil 4.19. Apigenin 7-O-glikozit

^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarına bakıldığında δ_{H} 5,06 ve δ_{C} 100,4'deki anomerik proton ve karbon sinyalleri diğer şeker sinyalleri ile değerlendirildiğinde bileşiğin bi glikozit olduğu anlaşılmaktadır. Toplam 21 karbon rezonansından şekerle ait olanlar çıkarıldığında geriye kalan 15 karbon rezonansı yapının flavon aglikonu olduğunu göstermiştir. DEPT-135 ve ^{13}C NMR spektrumlarında bileşiğe ait 8 kuaterner (C) ve 7 tane metin (CH) taşıdığı görülmektedir. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında

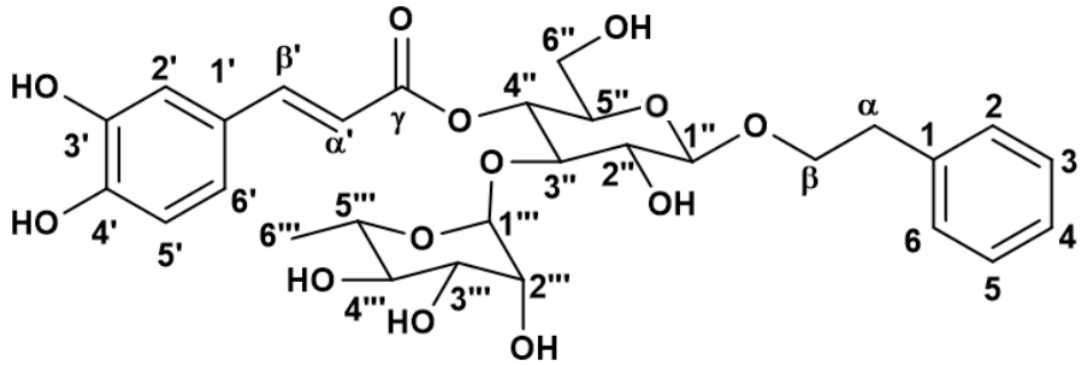
aglikonun apigenin olduğu anlaşılmaktadır (Tatlı, 2004). Daha önce bu familyanın farklı türlerinden *Scrophularia kotschyana* izole edildiği bildirilmiştir (Yaylı, 2016).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13,0 (s, 1H, 5-OH), 7,99 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, H-2', H-6'), 6,86 (s, 1H, H-3), 6,93 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, H-3', H-5'), 6,86 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H, H-8), 6,46 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H, H-6), 5,06 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H, H-H1''), 3,60 (1H, m, H-6 α '), 3,40 (1H, m, H-6 β '), 3,33 (1H, m, H-5''), 3,29 (1H, m, H-3''), 3,17 (1H, d, $J = 9,2$ Hz, 1H, H-4''), 3,15 (1H, m, H-2'').

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 182,5 (C-4), 164,8 (C-2), 163,4 (C-7), 161,6 (C-5), 157,4 (C-9), 129,1 (C-2', C-6'), 121,4 (C-1'), 116,5 (C-3', C-5'), 105,8 (C-10), 103,6 (C-3), 100,4 (C-1''), 99,9 (C-6), 95,3 (C-8), 77,6 (C5''), 76,9 (C-4''), 73,5 (C-3''), 69,9 (C-2''), 61,0 (C-6''),

4.5.11. Verbaskozit (Acteoside) (E3)

Bileşik kirli beyaz renkli amorf toz halinde (80 mg) elde edildi (Bkz. Şekil 4.20.). %10'luk H_2SO_4 belirteci ile 100 °C de ısıtıldığında kahverengi-turuncu bir renk verdiği görüldü.



Şekil 4.20. Verbaskozit

^1H NMR Spektrumuna bakıldığında δ_{H} 7,08-6,59 bölgesinde 2ABX sistemine ait 6 tane aromatik proton sinyali bileşikte iki trisüstitüe benzene halkasının varlığına işaret etmektedir. Ayrıca spektrumda iki tane anomeric proton sinyali yapıda iki tane şeker

olduğunu göstermektedir. δ_H 1,11 de gözlenen (d, $J=6,21$, 3H, H''6) sekonder metil rezonansı ikinci şekerin bir α -ramnoz olduğunu göstermektedir. ^{13}C NMR spektrumunda gözlenen 102,83 (C1'') ve 101,63 (C1''') anomerik karbon sinyalleri de yapıda iki tane şeker varlığının delilidir.

Tüm bu verilere ve literatürde verilmiş olan değerlere bakıldığında yapının verbaskozit (akteosit) olduğu anlaşılmıştır.

Verbaskozit *Scrophularia* türlerinde bol bulunan ve daha önce birçok kez bildirilmiş bir yapı olduğu anlaşılmıştır. Bazı literatür kaynaklarında *Scrophularia striata*, *Scrophularia scopolii* daha önce izole edilmiştir (Dıaz vd., 2004; Monsef vd., 2010; Khanpour vd., 2015).

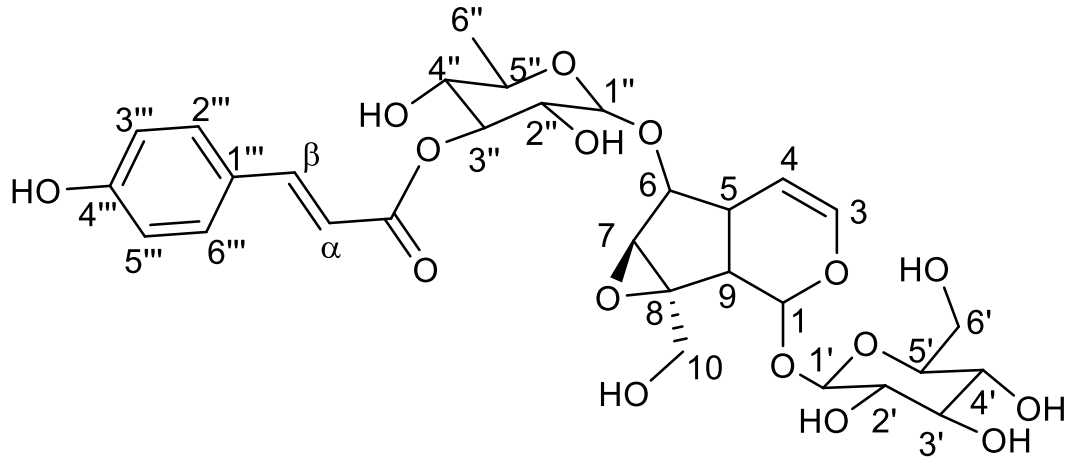
^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ_H 7,62 (d, $J=15,87$, 1H, H β'), 7,08 (d, $J=2,12$, 1H, H2'), 6,98 (dd, $J=8,21$, 2,12, 1H, H6'), 6,80 (d, $J=8,09$, 1H, H5'), 6,72 (d, $J=2,09$, 1H, H2), 6,70 (d, $J=7,91$, 1H, H5), 6,59 (dd, $J=8,00$, 2,14, 1H, H6), 6,30 (d, $J=15,88$, 1H, H α'), 5,21 (d, $J=1,83$, 1H, H1'''), 4,94 (m, 1H, H4''), 4,40 (d, $J=7,86$, 1H, H1''), 4,07 (dt, $J=9,71$, 7,32, 1H, H $\alpha\alpha$), 3,94 (m, 1H, H2'''), 3,84 (t, $J=9,20$, 1H, H3''), 3,74 (m, 1H, H $\alpha\beta$), 3,65 (m, 1H, H6''a), 3,61 (m, 1H, H3'''), 3,58 (m, 1H, H5'''), 3,56 (m, 1H, H5''), 3,54 (m, 1H, H6''b), 3,41 (t, $J=8,48$, 1H, H2''), 3,32 (m, 1H, H4'''), 2,81 (dt, $J=7,35$, 2,45, 2H, H β), 1,11 (d, $J=6,21$, 3H, H6''').

^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ_C 166,93 (C=O), 148,38 (C4'), 146,63 (C β'), 145,43 (C3'), 144,74 (C3), 143,28 (C4), 130,15 (C1), 126,32 (C1'), 121,83 (C6'), 119,91 (C6), 115,76 (C2), 115,17 (C5'), 114,96 (C5), 113,91 (C2'), 113,37 (C α'), 102,83 (C1''), 101,63 (C1'''), 80,27 (C3''), 74,83 (C2''), 74,65 (C5''), 72,44 (C4'''), 70,97 (C2'''), 70,86 (C α), 70,71 (C3'''), 69,25 (C4''), 69,03 (C5'''), 61,01 (C6''), 35,17 (C β), 17,06 (C6''').

4.5.12. 6-O-(3''-O-trans-p-kumaroil)- α -L-ramno piranozil katalpol (E5)

E5 molekülü amorf toz halinde (105 mg) elde edildi. %10'luk H_2SO_4 belirteci ile 100 °C de ısıtıldığında kahverengi- siyah bir renk verdiği görüldü (Bkz. Şekil 4.21.).

^1H ve ^{13}C NMR verileri E1'in bulguları ile karşılaştırıldığında silklopentan-piran ve aglikon kısmının aynı olduğu anlaşılmaktadır. Farklı olarak bir tane daha şeker grubu ve aromatik bir asitin bağlı olduğu görülmektedir.



Şekil 4.21. 6-O-(3''-O-trans-p-kumaroil)-α-L-ramno piranozil katalpol

^1H NMR spektrumunda gözlenen δ_{H} 4,83 ve 4,60 anomerik proton sinyalleri ve 1,20 de gözlenen metil sinyali ikinci şekerin α-ramnoz olduğu göstermektedir. E5 bileşiğindeki şekerin α-ramnoz' un H3'' protona ait sinyalin δ_{H} 4,83 gibi düşük alanda gelmesi esterleşmenin C3'' üzerinden gerçekleştiğini göstermiştir.

Literatüre göre daha önce *Scrophulariaceae* familyasının farklı bir türü olan *Verbascum* türünden izole edildiği bildirilmiştir (Tatlı vd., 2003). NMR sonucuna göre ve literatürde yer alan spektral veriler ile karşılaştırıldıktan sonra molekülün 6-O-(3''-O-trans-p-kumaroil)-α-L-ramno piranozil katalpol olduğuna karar verildi.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,04 (s, 1H, C4'''-OH), 7,59 (d, J = 15,8 Hz, 1H, H β), 7,57 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H2''' ve H6'''), 6,81 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H''' ve H5'''), 6,42 (d, J = 15,8 Hz, 1H, H α), 6,47-6,42 (m, 1H, H2), 5,08 (d, J = 7,1 Hz, 1H, H3), 4,88 (dd, J = 9,9, 3,3 Hz, 1H, H3''), 4,83 (d, J = 7,8 Hz, 1H, H1'') 4,60 (d, J = 7,8 Hz, 1H, H1'), 3,94 (d, J = 8,3 Hz, 1H, H6), 3,90- 3,83 (m, 1H, H2''), 3,76-3,61 (m, 2H, H6'), 3,61-3,44 (m, 1H, H7), 3,28-3,10 (m, 1H, H2', H3', H5'), 3,10- 2,95 (m, 1H, H4'), 2,46-2,35 (m, 1H, H9), 2,34-2,24 (m, 1H, H5), 1,20 (d, J = 6,2 Hz, 3H, H6'').

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO) δ 166,8 (C=O), 160,2 (C4'''), 145,0 (C β), 141,4 (C3), 130,7 (C2''' ve C6'''), 125,6 (C1'''), 116,3 (C''' ve C5'''), 115,2 (C α), 102,8 (C4), 99,3 (C1''), 98,3 (C1'), 93,5 (C1), 82,1 (C6), 77,9 (C5'), 76,8 (C3'), 74,4 (C3''), 73,9 (C2'), 70,7 (C4'), 69,6 (C4''), 69,3 (C5''), 68,6 (C2''), 65,8 (C8), 61,8 (C6'), 59,2 (C10), 57,9 (C7), 42,4 (C9), 36,0 (C5), 18,3 (C6'').

4.6. İzole edilen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri

İzole edilen bileşiklerin NCI60 tarama metodolojisine göre değerlendirilmesi

Günümüze kadar kanser tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilen ve çok farklı kimyasal yapılarda olabilen kemoterapötik ajanların önemli bir kısmı halen arzu edilen düzeyde tedavi edici bir özellik gösterememektedir. Bunun yanında çeşitli nedenlerle kemoterapötik ajanlara karşı gelişen direnç mekanizmaları ve bunların istenmeyen yan etkileri nedeniyle, zaten yeterli olmayan tedavi edici güçleri günden güne daha da azalmaktadır. Bu nedenle kanser tedavisinde kullanılabilecek yeni antikanser ilaçların geliştirilmesine yönelik araştırmalar günümüzde de halen yoğun biçimde devam etmektedir. Bu noktada, farklı kaynaklardan izole edilebilen doğal kaynaklı metabolitlerin olası antikanser ya da adjuvan etkilerini değerlendirmek kanser tedavisinde kullanılabilecek umut vaat eden molekül sayısını arttırması bakımından çok önemlidir. Bu bağlamda, tez çalışmasında izole edilen toplam 12 farklı bileşiğin hücre proliferasyonuna olan etkileri (NCI-60 tarama metodolojisi) ve IC₅₀ değerlerini ölçmek amacıyla MTT testi yapılmıştır. Buna göre, bileşiklerin tamamına yakını A549, Calu1 ve H1650 akciğer kanseri hücre hatlarında (GI₅₀ değerleri 1,07-2,11 µM; TGI değerleri 1,96-97,81 µM ve IC₅₀ değerleri 10,95-177,73 µM aralığında) ve A172 beyin kanseri hücre hattında (GI₅₀ değeri 1,18-2,25 µM; TGI değeri 32,17-88,03 µM ve IC₅₀ değeri 11,24-91,43 µM aralığında) kontrol ilaç olan 5FU' ya yakın orta derece antikanser etkinlik göstermiştir (Bkz. Tablo 4.6 ve 4.7). Bununla beraber, bileşiklerden S1 sırasıyla A549 (IC₅₀ değeri 10,11 µM), Calu1 hücre hattında (IC₅₀ değeri 10,95 µM), H1650 (IC₅₀ değeri 15,22 µM), A172 (IC₅₀ değeri 11,24 µM), C6 (IC₅₀ değeri 41,00 µM) ve MDA-MB-453 (IC₅₀ değeri 15,36 µM) kontrol ilaçtan çok daha fazla antikanser etki göstermiştir (Bkz. Tablo 4.6 ve 4.7). Bileşiklerin C6 (GI₅₀ değeri 1,11-2,45 µM ve IC₅₀ değeri 41,00-11,93 µM aralığında) ve SH-SY5Y (GI₅₀ değeri 1,08-2,81 µM ve IC₅₀ değeri 39,01-187,17 µM aralığında) üzerindeki etkileri incelendiği zaman sahip oldukları antiproliferatif etkinin kontrol ilaç olan 5FU'ya yakın ya da ondan az olduğunu göstermiştir. Bileşiklerden E1 (IC₅₀=122,45 µM) ve E2'nin (IC₅₀=177,73 µM) A549 hücresi, S5'in SH-SY5Y (IC₅₀=187,17 µM) ve A549 (IC₅₀=151,14 µM) hücreleri üzerindeki antikanser etkisi incelendiğinde, sadece hafif etkiye sahip oldukları söylenebilir (Bkz. Tablo 4.6 ve 4.7). NCI60 tarama metodolojisinde belirtildiği gibi Letal Konsantrasyon (LC₅₀) değerlerinin yüksek çıkması test maddelerinin sitotoksik

etkilerinin daha az olduğunu göstermektedir ve istenilen bir durumdur. Büyüme İnhibisyonu (GI_{50}) ve Total Büyüme İnhibisyonu (TGI) değerlerinin düşük çıkması test maddelerinin sitositatik etkilerinin daha fazla olduğunu göstermektedir ve yine istenilen bir durumdur. NCI60 yaşam parametreleri incelendiğinde bileşiklerin tamamının MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına karşı düşük GI_{50} (1,12-1,88 μM aralığında) değerine ve yüksek LC_{50} ($>1000 \mu M$) oranına sahip olması, onların ileri farmakolojik testler için uygun birer aday olduklarını göstermektedir (Bkz. Tablo 4.8). Bununla beraber, bileşiklerden S3'ün A172, C6 ve SH-SY5Y hücre hatlarına karşı yüksek LC_{50} ($<50 \mu M$) oranına sahip olması ve S5'in de A172 ve C6 hücre hatlarına karşı yüksek LC_{50} ($<100 \mu M$) değerlerini göstermesi ne yazık ki bu iki bileşiğin ileri testler için uygun olmadığını göstermektedir (Bkz. Tablo 4.6 ve 4.7). Bileşiklerin SH-SY5Y beyin kanseri hücre hattına karşı sergilediği LC_{50} ($<400 \mu M$ aşağısı) değerlerinin oldukça düşük olması, onların en azından bazı beyin kanserlerinin tedavisinde ileri farmakolojik testler için uygun olmadığını anlatmaktadır (Bkz. Tablo 4.7). Bununla beraber diğer beyin kanseri hücre hattı olan SH-SY5Y hücreleri S1 ve E2'ye karşı yüksek LC_{50} ($\sim 1000 \mu M$ ve yukarısı) değeri gösterdiği için ileri farmakolojik testlerde düşünülebilir (Bkz. Tablo 4.7). MDA-MB-453 meme kanseri bu bileşiklere en duyarlı olan kanser türüdür. MDA-MB-453 hücreleri bileşiklerden S1, S2, S3, S6, S7 ve E1, E2, E3'e karşı yüksek LC_{50} ($1000 \mu M$ ve yukarısı) değeri gösterdikleri için en azından bazı meme kanseri türlerinin tedavisi için aday moleküller olarak düşünülebilir (Bkz. Tablo 4.8). Bileşiklerin tamamının SW620 kolon kanseri hücre hatları üzerinde yüksek LC_{50} ($\sim 1000 \mu M$ ve yukarısı) değerleriyle beraber orta derecede antiproliferatif etki göstermişlerdir ve kontrol antikanser ilaç olan 5FU'dan daha yüksek IC_{50} değerleri gösterdiklerinden bu kanserin tedavisinde kullanılabilirlikleri tartışılabilir. Yine de bu bileşiklerden S4, S5, S6 ve S8'in (TGI değerleri $\sim 35 \mu M$) özellikle MDA-MB-453 hücreleri üzerinde konsantrasyon bağımlı bir şekilde önemli antiproliferatif etkileri olabilir.

Tablo 4. 6. Bileşiklerin MTT testi ile belirlenen yaşam parametreleri (GI₅₀, TGI, LC₅₀ ve IC₅₀) değerleri

(μM)	A549				Calu1				H1650			
	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	IC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	IC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	IC ₅₀
S1	1,12	2,22	>1000	10,11	1,13	1,96	>1000	10,95	1,07	2,29	>1000	15,22
S2	1,85	38,89	311,22	52,78	1,72	25,21	148,48	55,14	1,42	39,45	312,23	49,23
S3	1,43	39,40	256,74	51,32	1,83	56,92	249,24	56,64	1,52	36,57	317,21	46,35
S4	1,62	31,35	360,41	51,35	1,54	43,83	270,81	53,70	1,95	42,91	231,06	53,15
S5	1,53	62,19	407,24	151,14	1,65	82,86	320,47	112,83	1,84	61,69	316,81	91,73
S6	1,39	41,32	352,33	91,33	1,70	42,82	372,68	52,77	1,53	38,80	352,37	53,72
S7	1,71	41,58	377,27	91,54	1,63	45,05	340,11	54,96	1,32	3,457	270,11	43,13
S8	1,89	93,51	234,61	93,43	1,85	97,81	412,03	67,73	1,78	58,82	245,74	88,65
E1	1,72	82,53	276,89	122,45	1,51	48,37	212,61	58,16	1,29	45,86	229,15	45,78
E2	1,66	81,13	459,42	177,73	2,01	258,4	423,01	77,22	2,05	23,24	374,89	92,58
E3	1,76	43,35	240,31	94,32	2,11	42,01	240,77	54,50	1,29	42,24	254,42	52,42
E5	1,82	41,24	225,14	95,76	1,52	44,31	213,36	47,34	1,35	42,56	210,34	45,13
5FU	1,42	45,25	219,15	47,33	1,22	41,37	170,12	43,65	1,08	36,74	192,84	35,17

Tablo 4. 7. Bileşiklerin MTT testi ile belirlenen yaşam parametreleri (GI₅₀, TGI, LC₅₀ ve IC₅₀) değerleri

(μM)	A172				C6				SH-SY5Y			
	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	IC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	IC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	IC ₅₀
S1	1,18	32,17	>1000	11,24	1,11	35,07	>1000	41,00	1,08	34,23	>1000	39,01
S2	1,21	44,58	>1000	32,82	2,45	41,01	402,76	81,01	1,73	51,37	24,97	71,44
S3	1,73	33,61	25,28	71,38	1,24	51,02	41,76	64,02	1,61	59,20	21,46	81,26
S4	1,65	43,73	261,24	73,86	1,77	64,05	43,71	81,06	1,76	55,27	54,62	76,38
S5	1,61	84,10	64,12	91,43	1,82	111,02	22,04	92,02	1,82	75,12	117,10	187,17
S6	2,01	45,22	241,44	64,43	1,86	75,03	62,22	83,03	1,36	66,39	61,58	88,43
S7	2,11	46,74	235,02	60,37	1,21	61,30	367,95	75,36	1,74	57,13	84,25	74,17
S8	2,25	88,03	512,55	53,36	1,28	92,80	71,37	101,93	1,56	144,72	108,83	96,82
E1	1,74	36,45	390,15	71,18	1,59	54,62	159,36	74,85	1,45	78,67	325,37	76,81
E2	1,97	57,36	82,21	84,12	1,44	103,55	122,25	81,70	1,36	69,98	>1000	82,21
E3	1,42	62,13	181,05	62,14	1,73	52,23	53,71	72,70	2,81	72,16	91,27	72,13
E5	1,56	45,36	187,80	63,02	1,23	72,43	63,93	54,70	1,61	87,32	141,02	61,15
5FU	1,22	44,28	210,07	46,94	1,18	41,73	177,61	44,61	1,09	38,20	183,47	38,21

Bununla beraber bileşiklerin normal hücre hattı olan FL üzerindeki etkisine baktığımız zaman hem GI₅₀ (~4 μg/mL), TGI (>1000 μg/mL) ve LC₅₀ (>1000 μg/mL) değerlerinin hem de IC₅₀ değerlerinin (~110 μM) istenilen ölçülerde olduğu çok rahat söylenebilir (Bkz. Tablo 4.8.). Öyle ki, bu değerler kontrol ilaç olan 5FU'da çok daha iyidir. Bu

bulgu, test edilen bileşiklerin kanser-spesifik olabileceğini göstermektedir. Bu durumda, bileşiklerin kanser araştırmalarında kullanılabilecek bileşikler olduğundan ileri çalışmalara yönlendirilmesi tavsiye edilebilir.

Tablo 4. 8. Bileşiklerin MTT testiyle belirlenen yaşam parametreleri (GI₅₀, TGI, LC₅₀ ve IC₅₀) değerleri

(μM)	MDA-MB-453				SW620				FL			
	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	IC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	IC ₅₀	GI ₅₀	TGI	LC ₅₀	IC ₅₀
S1	1,35	>1000	>1000	15,36	6,57	120,47	>1000	105,55	2,60	>1000	>1000	90,58
S2	1,60	>1000	>1000	37,59	17,60	328,84	>1000	151,22	3,21	>1000	>1000	122,38
S3	1,23	>1000	>1000	22,24	40,82	287,66	>1000	146,10	4,33	>1000	>1000	123,28
S4	1,12	46,93	241,20	63,24	27,74	385,40	>1000	171,94	3,32	>1000	>1000	135,09
S5	1,36	16,40	120,85	88,39	12,01	22,80	>1000	108,03	1,91	>1000	>1000	90,51
S6	1,32	32,28	>1000	43,12	18,31	54,62	>1000	147,64	3,22	>1000	>1000	118,81
S7	1,88	>1000	>1000	32,28	4,01	103,55	>1000	123,71	2,06	978,37	>1000	98,71
S8	1,36	59,93	247,06	88,17	63,65	52,23	>1000	162,10	11,11	>1000	>1000	124,16
E1	1,28	>1000	>1000	44,27	4,69	72,43	>1000	105,40	2,41	768,16	>1000	90,26
E2	1,18	>1000	149,61	82,56	9,30	12,80	>1000	130,20	2,62	>1000	>1000	105,75
E3	1,34	>1000	>1000	44,68	5,30	>1000	>1000	140,02	2,02	>1000	>1000	102,43
E5	1,12	>1000	>1000	54,23	6,74	>1000	>1000	120,33	3,06	>1000	>1000	121,32
5FU	1,43	53,69	329,08	57,24	1,14	40,86	246,54	41,99	1,57	48,37	307,63	51,67

Bileşiklerin sitotoksik aktivitesi

Çalışma sonucu elde edilen bileşiklerin sitotoksik aktivitelerini dolaylı olarak belirlemek için hücre membranı bütünlük analizi yapılmıştır. Sitoplazmik laktat dehidrogenazın (LDH) hasarlı plazma membranından ortama salınması hücre sitotoksitesini için bir belirteç olarak düşünülebilir. Böylece, hücre sitotoksitesini dolaylı olarak ortama salınan sızmış laktat dehidrogenazın sitotoksikite kiti kullanılarak ölçülmesiyle tahmin edilebilir. Bu çalışmada, bileşiklerin IC₅₀ konsantrasyonları kullanılarak neden oldukları sitotoksikite ölçülmüştür. Buna göre, test edilen bileşikler özellikle MDA-MB-453 meme kanseri ve A549, Calu1, H1650 akciğer kanseri hücre hatlarına karşı yaklaşık %10-91 aralığında değişen farklı sitotoksikite değerleri gösterdiğini ortaya koymuştur (Bkz. Tablo 4.9). Test edilen bileşiklerin kolon (SW620) ve beyin kanseri (A172 ve SH-SY5Y) üzerindeki sitotoksik etkileri incelendiği zaman, etkinin meme ve akciğer kanserlerinden daha fazla olduğu görülmektedir (yaklaşık %8-211 aralığında) (Bkz. Tablo 4.9). Bu ekstrelerin LDH ölçümü sonuçlarına kontrol hücresinde bakıldığında yaklaşık %10-100 civarında bir sitotoksikitenin olduğu

görülmektedir (Bkz. Tablo 4.9). Antiproliferatif etkiyi gösteren MTT ve sitotoksik özelliği ortaya çıkaran LDH yöntemlerini birlikte değerlendirdiğimizde S1 bileşiğinin pozitif kontrol olan 5FU'ya kıyasla kanser ve normal hücrelere karşı en optimal antiproliferatif ve sitotoksik etkiyi gösterdiğini söyleyebiliriz (Bkz. Tablo 4.6-4.7 ve Tablo 4.8). Bunun anlamı, IC₅₀ konsantrasyonunda bu bileşiğin özellikle meme (MDA-MB-453) ve akciğer kanseri (A549) hücre hatlarına karşı yeterince toksik olduğunu fakat FL hücrelerine karşı emniyetli olduğundan ileri preklinik çalışmalar için bir fırsat sunmasıdır.

Tablo 4. 9. IC₅₀ konsantrasyonlarında bileşiklerin % sitotoksik değerleri

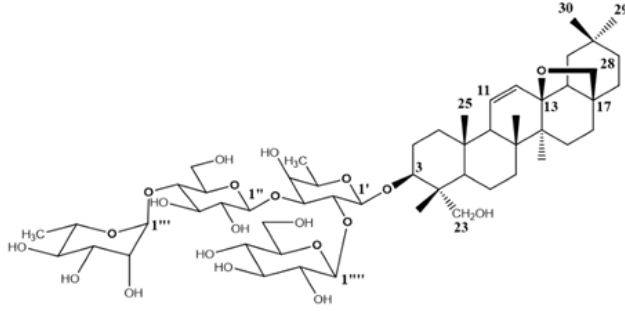
	A549	Calu1	H1650	A172	C6	SH-SY5Y	MDA-MB-453	SW620	FL
S1	16,1	18,1	20,2	21,3	23,1	26,5	10,4	18,4	10,9
S2	26,3	26,4	36,1	65,9	42,0	42,7	40,1	69,7	61,0
S3	45,9	72,1	71,5	47,2	75,7	75,1	11,2	47,1	56,9
S4	52,7	51,3	52,6	52,5	51,3	21,6	10,8	87,7	88,1
S5	43,0	55,9	65,3	97,1	48,4	117,8	88,3	76,6	67,4
S6	56,8	41,7	53,0	63,8	54,5	53,7	68,6	78,8	76,3
S7	72,2	72,0	57,7	72,6	87,4	64,4	49,1	69,6	110,3
S8	91,5	41,4	47,1	54,4	79,8	74,5	69,4	55,8	69,9
E1	65,4	81,1	45,8	64,5	55,9	211,0	91,4	101,3	78,7
E2	31,6	49,1	54,5	99,0	66,6	76,3	79,9	98,0	100,4
E3	46,0	72,9	65,3	117,1	58,4	67,8	58,3	66,6	77,4
E5	51,8	61,7	47,0	53,8	44,5	73,7	68,6	78,8	66,3
5FU	14,9	13,8	14,6	13,7	13,8	14,9	13,1	15,6	14,2

5. SONUÇ

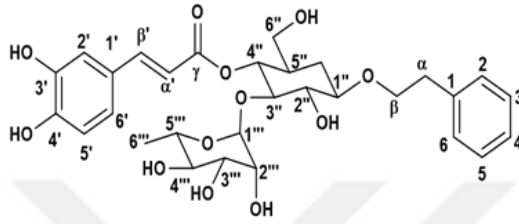
Kuşkusuz, bitkiler alemi, henüz keşfedilmemiş tıbbi değeri olan maddeler içeren birçok bitki türünü hala barındırmaktadır; çok sayıda bitki, olası farmakolojik değerleri için sürekli olarak taranmaktadır. Bu bitkilerden bazıları *Scrophularia* cinsine aittir. Bu cins, olası farmakolojik değerlere sahip daha zengin bir bileşik kaynağı olduğunu kanıtlayabilir, ancak daha fazla farmakolojik araştırma yapılması gereklidir. Bununla birlikte, *Scrophularia*' da bulunan biyoaktif bileşikler, in vivo uygulamadan sonra çok sayıda yeni bileşiğin keşfine yol açabilecek potansiyeli olmasına rağmen, *Scrophularia* türüne ait bildirilen ve biyolojik çalışmaların çoğu in vitro olarak gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle daha fazla biyolojik ve kimyasal analiz yapılması gerekmektedir.

Dünyada sadece Erzincan da yetişen lokal endemik *S. erzincanica*, *S. subaequiloba* ve *S. libanotica* var *armena* türleri üzerinde yapılan bu çalışmada; biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon çalışması gerçekleştirildi. İzolasyon çalışmasına rehberlik etmek üzere her bitkinin toprak üstü ve kök kısımlarının hegzan, kloroform, metanol ve su özütleri elde edilerek, metanol ve su özütlerinin A549, MDA-MB-453 ve FL hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktiviteleri XTT yöntemi ile belirlendi. *S. subaequiloba* bitkisinin toprak üstü ve kök kısımlarından elde edilen metanol özütleri A549 hücre hattına karşı yüksek aktivite gösterdi (STM %82 ve SKM %83 inh.). *S. erzincanica* bitkisinin toprak üstü metanol özütünün MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı üzerinde yüksek aktivite gösterdi (ETM %87 inh.).

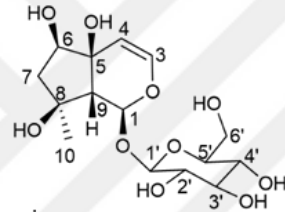
S. subaequiloba bitkisinin kimyasal içeriğinin belirlenmesi ve biyoaktif etkiden sorumlu olan yapıların bireysel antiproliferatif etkilerinin ortaya konulması amacıyla yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda toprak üstü kısımlarının metanol özütünden farklı kromatografik yöntemler kullanılarak 1 saponin glikozit (S1, ilvensisaponin A), 3 iridoid glikozit (S2, katalpol sinnamik ester), (S3, 8-asetilharpagid-6-O- β -glikozit) ve (S4, harpagid), 1 tane flavonoid (S5, sinarozit) madde izole edildi. Aynı bitkinin kök metanol özütünden 2 tane iridoid glikozit (S6, ajugol) ve (S7, aukubin), 1 tane fenolik asit (S8, *p*-kumarik asit metil ester) izole edildi.



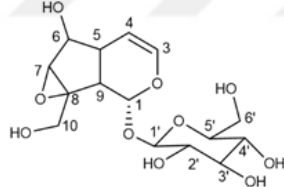
Saponin glikozit (S1)



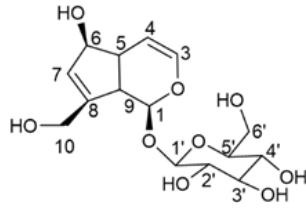
Feniletanoid glikozit (E3)



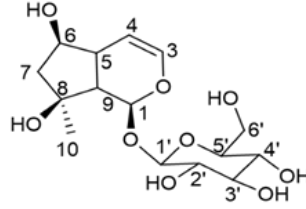
İridoid glikozit (S4)



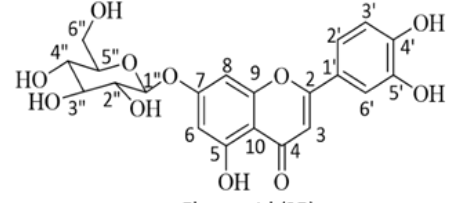
İridoid glikozit (E1)



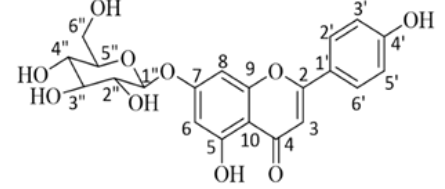
İridoid glikozit (S7)



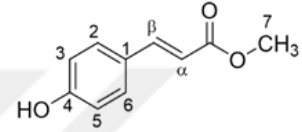
İridoid glikozit (S6)



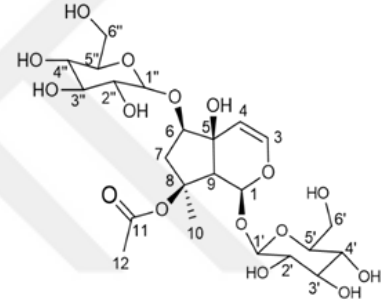
Flavonoid (S5)



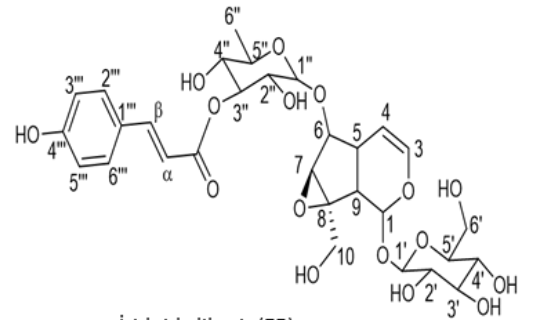
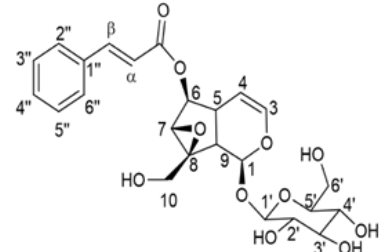
Flavonoid (E2)



Fenolik Asit (S8)



İridoid glikozit (S2)



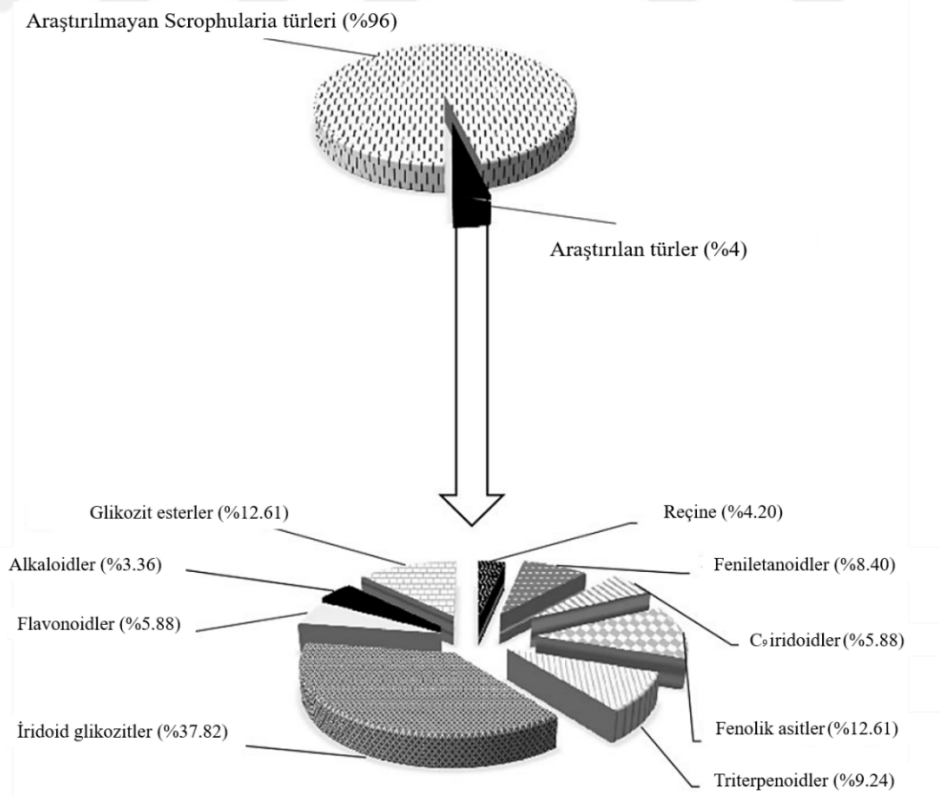
İridoid glikozit (E5)

Şekil 5.1. İzole edilen bileşikler

S. erzincanica 'nın toprak üstü metanol özütü üzerinde yapılan izolasyon çalışmalarında 2 tane iridoid glikozit (E1, katalpol) ve (E5, 6-O-(3''-O-trans *p*-kumaroil)- α -L-ramno pironazil katalpol), 1 tane saponin glikozit (E4, ilvensisaponin A), 1 tane feniletanoid glikozit (E3, verbaskozit), 1 tane flavonoid (E2, apigenin 7-O-glikozit) izole edildi (Bkz. Şekil 5.1).

Elde edilen bu bileşiklerin MDA-MB-453 meme kanseri, SW620 kolon kanseri, A549, Calu1, H1650 akciğer kanseri ve A172, C6, SH-SY5Y beyin kanser hücre hatlarına üzerine antiproliferatif etkileri incelendi. Bu bileşiklerden S1 bütün hücre hatlarına karşı en yüksek aktiviteyi A549 10,11 μ M, Calu1 10,95 μ M, H1650 15,22 μ M, A172 11,24 μ M, C6 41,00 μ M, SH-SY5Y 39,01 μ M, MDA-MB-453 15,36 μ M, SW620 105,55 μ M göstermiştir. Diğer bileşikler A549 hücrelerine karşı 51,32-177,73 μ M, Calu1 52,77-112,83 μ M, H1650 45,78-92,58 μ M arasında değişen IC₅₀ değerleriyle orta derece aktiviteye sahiptirler.

Dünya genelinde *Scrophularia* türlerinin sadece %4' nün araştırıldığı geriye kalan %96' lık kısmın halen araştırılmadığı (Bkz. Şekil 5.2.) göz önünde bulundurulursa çalışmanın amacı daha iyi anlaşılacaktır.



Şekil 5.2. Scrophularia türleri üzerinde yapılan çalışmalar (Pasdaran vd., 2017)

Scrophularia cinsinden bitkiler, özellikle *Scrophularia ningpoensis* türü, başta geleneksel Çin tıbbında olmak üzere antioksidan, antiviral, diüretik, antidiyabetik, hepatoprotektif, ağrı kesici, bağışıklık düzenleyici, sindirim sistemi koruyucu ve antikanser özelliklerinden dolayı kullanım alanına sahiptir. *Scrophularia* cinsinin bu tür farklı biyoaktivitelere sahip olmasından dolayı Erzincan da yetişen türler *S. erzincanica* ve *S. subaequiloba* bitkilerinin ön demeleri sonucunda A549 ve MDA-MB-453 hücreleri üzerinde yüksek antiproliferatif etkilerinin olduğu belirlenerek bu tez için materyal olarak seçildiler. Bu iki bitki de endemiktir ve daha önce bunlarla ilgili hiçbir fitokimyasal çalışma bulunmamaktadır. İlk defa tarafımızca çalışılmıştır ve bu yüzden bu çalışma büyük öneme sahiptir.



KAYNAKLAR

- Abdel-Zaher, A. M., ve Eldeib, A. M. (2016). Breast cancer classification using deep belief networks. *Expert Systems with Applications*, 46, 139-144.
- Ahmad, M., Muhammad, N., Jahan, N., Alam, S. M., & Ahmad, M. (2012). "Biological screening of *Scrophularia nodosa* extract and its fractions". *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25(2).
- Akhmedov, S., ve Litvinenko, V. (1969). "Scrophulein-A new flavonoid from *Scrophularia grossheimii*". *Chemistry of Natural Compounds*, 5(1), 47-48.
- Akhmedov, S., Tkachenko, D., ve Kharchenko, N. (1969). "Pharmacology of flavonoid aglycones of *Scrophularia grossheimii*". *Farmakologiya i toksikologiya*, 32(6), 693-694.
- Akdemir, Z., Caliş, I., & Junior, P. (1991). Iridoids and phenylpropanoid glycosides from *Pedicularis nordmanniana*. *Planta medica*, 57(06), 584-585.
- A.P.G. (2021). Angiosperm Phylogeny Website, <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> (erişim tarihi. 15.01.2021).
- Babayan, E., & Mnatsakanyan, V. (1989). "Iridoid glycosides of *Scrophularia variegata* and *S. chrisantha*". *Chemistry of Natural Compounds* 25(5), 621-621.
- Baytop, T. (1999). "Therapy with medicinal plants in Turkey". 2, 348-349.
- Benito, P. B., Lanza, A. M. D., Sen, A. M. S., Galindez, J. D. S., Matellano, L. F., Gómez, A. S., vd.,. (2000). "Effects of some iridoids from plant origin on arachidonic acid metabolism in cellular systems". *Planta medica*, 66(04), 324-328.
- Benito, P. B., Martínez, M. A., Sen, A. S., Gómez, A. S., Matellano, L. F., Contreras, S. S., vd.,. (1998). "In vivo and in vitro antiinflammatory activity of saikosaponins". *Life Sciences*, 63(13), 1147-1156.
- Berdini, R., Bianco, A., Guiso, M., Marini, E., Nicoletti, M., Passacantilli, P., vd.,. (1991). "Isolation and partial synthesis of 7, 8-dehydro-6 β , 10-dihydroxy-11-noriridomyrmecin, a methylcyclopentanoid monoterpene from *Scrophularia canina*". *Journal of natural products*, 54(5), 1400-1403.
- Bermejo, P., Abad, M. J., Díaz, A. M., Fernández, L., De Santos, J., Sanchez, S., vd.,. (2002). "Antiviral activity of seven iridoids, three saikosaponins and one phenylpropanoid glycoside extracted from *Bupleurum rigidum* and *Scrophularia scorodonia*". *Planta medica*, 68(02), 106-110.
- Bhandari, S. P. S., Babu, U. V., & Garg, H. S. (1997). "A triterpene glycoside from *Scrophularia koelzii*". *Phytochemistry*, 45(8), 1717-1719.

- Bhandari, S. P. S., Mishra, A., Roy, R., & Garg, H. S. (1992). "Koelzioside, an Iridoid Diglycoside from *Scrophularia-Koelzii*". **Phytochemistry**, 31(2), 689-691.
- Bhandari, S. P. S., Roy, R., Agrawal, P. K., & Garg, H. S. (1996). "Scrokoelzioside A, a triterpene glycoside from *Scrophularia koelzii*". **Phytochemistry**, 41(3), 879-882.
- Bigazzi, G., Yegingil, Z., Ercan, T., Oddone, M., & Özdoğan, M. (1993). "Fission track dating obsidians in Central and Northern Anatolia". **Bulletin of Volcanology**, 55(8), 588-595.
- Blois, M. S. (1958). "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical". **Nature**, 181(4617), 1199-1200.
- Brownstein, K. J., Gargouri, M., Folk, W. R., & Gang, D. R. (2017). "Iridoid and phenylethanoid/phenylpropanoid metabolite profiles of *Scrophularia* and *Verbascum* species used medicinally in North America". **Metabolomics**, 13(11).
- Calis, I., Gross, G.-A., & Sticher, O. (1988). "Two phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia scopoli*". **Phytochemistry** 27(5), 1465-1468.
- Chebaki, R., Haba, H., Long, C., Marcourt, L., & Benkhaled, M. (2011). "Acylated iridoid glycosides from *Scrophularia saharae* Batt. & Trab.". **Biochemical Systematics and Ecology**, 39(4-6), 902-905.
- Chebaki, R., Haba, H., Long, C., Marcourt, L., Benkhaled, M., & Ecology. (2011). "Acylated iridoid glycosides from *Scrophularia saharae* Batt. & Trab". **Biochemical Systematics**, 39(4), 902.
- Chen, B., Wang, N., Huang, J., & Yao, X. (2007). "Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia ningpoensis* Hemsl". **亚洲传统医药**, 2(3), 118-123.
- Chen, C., Li, P., Wang, R. H., Schaal, B. A., & Fu, C. X. (2014). "The Population Genetics of Cultivation: Domestication of a Traditional Chinese Medicine, *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. (*Scrophulariaceae*)". **Plos One**, 9(8).
- Chen, X., Liu, Y. H., & Chen, P. (2007). "Iridoid glycosyl esters from *Scrophularia ningpoensis*". **Natural product research**, 21(13), 1187-1190.
- Chikhale, R., Sinha, S. K., Wanjari, M., Gurav, N. S., Ayyanar, M., Prasad, S., vd.,. (2021). "Computational assessment of Saikosaponins as adjuvant treatment for covid-19: molecular docking, dynamics, and network pharmacology analysis". **Molecular Diversity**, 1-16.
- Cuellar, M., Giner, R., Recio, M., Just, M., Máñez, S., Cerda, S., vd.,. (1998). "Screening of antiinflammatory medicinal plants used in traditional medicine against skin diseases". **Phytotherapy Research: An International Journal**

- Çalis, I., Zor, M., Basaran, A. A., Wright, A. D., & Sticher, O. (1993). "Karsoside and scropolioside D, two new iridoid glycosides from *Scrophularia ilwensis*". ***Journal of natural products***, 56(4), 606-609.
- Çalış, İ., Zor, M., Başaran, A. A., Wright, A. D., & Sticher, O. (1993). "Ilwensisaponins A, B, C, and D: triterpene saponins from *Scrophularia ilwensis*". ***Helvetica chimica acta***, 76(3), 1352-1360.
- Çiçen, M., (2019)" *Scrophularia cinerascens* BOİSS. üzerinde farmakognozik çalışmlar" ***https://tez.yok.gov.tr/ tez no: 593623***
- Davis, J. A. (1988) "Conflict and control: Law and order in nineteenth-century Italy": Macmillan International Higher Education.
- De Sandos, J., Fernandez, L., Diaz, A., Rubio, B., & Olivier, E. (1998). "Katalpol glycosides from *Scrophularia scorodonia*". ***Pharmazie***, 53(6), 427-428.
- Delazar, A., Asnaashari, S., Nikkhah, E., & Asgharian, P. (2019). "Phytochemical analysis and antiproliferative activity of the aerial parts of *Scrophularia subaphylla*". ***Research in pharmaceutical sciences***, 14(3), 263.
- Diaz, A., Fernandez, L., Ollivier, E., Martin, T., Villaescusa, L., & Balansard, G. (1998). "Reverse-phase high pressure liquid chromatographic analysis of harpagoside, scorodioside and verbaskozit from *Scrophularia scorodonia*: Quantitative determination of harpagoside". ***Planta medica***, 64(1), 94-95.
- Diaz, A. M., Abad, M. J., Fernández, L., Silván, A. M., De Santos, J., & Bermejo, P. (2004). "Phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia scorodonia*: in vitro anti-inflammatory activity". ***Life Sciences***, 74(20), 2515-2526.
- Emam, A., Diaz-Lanza, A., Matellano-Fernandez, L., Faure, R., Moussa, A., & Balansard, G. (1997). "Biological activities of buddlejasaponin isolated from *Buddleja madagascariensis* and *Scrophularia scorodonia*". ***Die Pharmazie***, 52(1), 76-77.
- Fernandez, A., Saenz, T., & Garcia, D. (1998). "Anti-inflammatory activity in rats and mice of phenolic acids isolated from *Scrophularia frutescens*". ***Journal of Pharmacy Pharmacology*** 50(10), 1183-1186.
- Fernandez, L., Diaz, A. M., Ollivier, E., Faure, R., & Balansard, G. J. P. (1995). "An iridoid diglycoside isolated from *Scrophularia scorodonia*". 40(5), 1569-1571.
- Fernandez, M., Saenz, M., & Garcia, M. (1998a). "Anti-inflammatory activity in rats and mice of phenolic acids isolated from *Scrophularia frutescens*". ***Journal of Pharmacy Pharmacology***, 50(10), 1183-1186.

- Fernandez, M., Saenz, M., & Garcia, M. (1998b). "Anti-inflammatory activity in rats and mice of phenolic acids isolated from *Scrophularia frutescens*". ***Journal of Pharmacy Pharmacology*** 50(10), 1183-1186.
- Fernandez, M. A., Garcia, M. D., & Saenz, M. T. (1996). "Antibacterial activity of the phenolic acids fractions of *Scrophularia frutescens* and *Scrophularia sambucifolia*". ***Journal of Ethnopharmacology***, 53(1), 11-14.
- Fernandezmatellano, L., Ollivier, E., Diazlanza, A. M., Faure, R., & Balansard, G. (1995). "Iridoids from *Scrophularia-Scorodonia*". ***Planta medica***, 61(1), 93-93.
- Galindez, J. D., Lanza, A. M. D., & Matellano, L. F. (2002). "Biologically active substances from the genus *Scrophularia*". ***Pharmaceutical biology***, 40(1), 45-59.
- Galindez, J. D., Matellano, L. F., & Lanza, A. M. D. (2001). "Iridoids from *Scrophularia* genus". ***Zeitschrift Fur Naturforschung Section C-a Journal of Biosciences***, 56(7-8), 513-520.
- Garcia, D., Fernandez, A., Saenz, T., & Ahumada, C. (1996). "Antiinflammatory effects of different extracts and harpagoside isolated from *Scrophularia frutescens* L". ***Farmaco***, 51(6), 443-446.
- Garcia, M. D., Ahumada, M. C., & Saenz, M. T. (1998). "Cytostatic activity of some phenolic acids of *Scrophularia frutescens* L. var *frutescens*". ***Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences***, 53(11-12), 1093-1095.
- Garg, H. S., Bhandari, S. P. S., Tripathi, S. C., Patnaik, G. K., Puri, A., Saxena, R., vd.,. (1994). "Antihepatotoxic and Immunostimulant Properties of Iridoid Glycosides of *Scrophularia-Koelzii*". ***Phytotherapy Research***, 8(4), 224-228.
- Ghisalberti, E. (1998). "Biological and pharmacological activity of naturally occurring iridoids and secoiridoids". ***Phytomedicine***, 5(2), 147-163.
- Giner, R. M., Villalba, M. L., Recio, M. d. C., Máñez, S., Gray, A. I., & Ríos, J. L. (1998). "A New Iridoid from *Scrophularia auriculata* ssp. p *seudoauriculata*". ***Journal of natural products***, 61(9), 1162-1163.
- Han, M.-F., Zhang, X., Zhang, L.-Q., & Li, Y.-M. (2018). "Iridoid and phenylethanol glycosides from *Scrophularia umbrosa* with inhibitory activity on nitric oxide production". ***Phytochemistry Letters***, 28, 37-41.
- Henderson, H. M. (1994). "The physicians of myddfai: the Welsh herbal tradition". ***Botanical Journal of Scotland***, 46(4), 623-627.
- Heywood, V. H., Brummitt, R., Culham, A., & Seberg, O. (2007) "Flowering plant families of the world", (Vol. 88): Firefly Books Ontario.
- Hynniewta, M., Malik, S. K., & Rao, S. R. (2011). "Karyological studies in ten species of *Citrus* (Linnaeus, 1753)(Rutaceae) of North-East India". ***Comparative cytogenetics***, 5(4), 277.

- Hua, J., Qi, J., & Yu, B. Y. (2014). "Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. and their alpha-Glucosidase inhibitory activities". *Fitoterapia*, 93, 67-73.
- Jeong, Y., Bae, H. J., Park, K., Bae, H. J., Yang, X., Cho, Y.-j., vd.,. (2022). "4-Methoxycinnamic acid attenuates schizophrenia-like behaviors induced by MK-801 in mice". *Journal of Ethnopharmacology*, 285, 114864.
- Kajimoto, T., Hidaka, M., Shoyama, K., & Nohara, T. (1989). "Iridoids from *Scrophularia-Ningpoensis*". *Phytochemistry*, 28(10), 2701-2704.
- Kandemir, A., Güner, A., Menemen, Y., Yıldırım, H., Aslan, S., Ekşi, G., vd.,. (2014) "Resimli Türkiye Florası": Alinihat Gökyiğit Vakfı.
- Katz, L., & Baltz, R. H. (2016). Natural product discovery: past, present, and future. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 43(2-3), 155-176.
- Khanpour-Ardestani, N., Sharifi, M., & Behmanesh, M. (2015). Establishment of callus and cell suspension culture of *Scrophularia striata* Boiss.: an in vitro approach for acteoside production. *Cytotechnology*, 67(3), 475-485.
- Kim, Kang, S. Y., Lee, K. Y., Kim, S. H., Markelonis, G. J., Oh, T. H., vd.,. (2003). "Anti-amnestic activity of E-p-methoxycinnamic acid from *Scrophularia buergeriana*". *Cognitive Brain Research*, 17(2), 454-461.
- Kim, H. M., Ahn, M.-J., & Lee, S. (2012). "Isolation and identification of phytochemical constituents from *Scrophularia takesimensis*". *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(22), 3923-3930.
- Kim, S. R., & Kim, Y. C. (2000). "Neuroprotective phenylpropanoid esters of rhamnose isolated from roots of *Scrophularia buergeriana*". *Phytochemistry* 54(5), 503-509.
- Kitagawa, I., Nishimura, T., Takei, M., & Yosioka, I. (1967). "On the Iridoid Constituent isolated from the Roots of *Scrophularia buergeriana* MIQ". *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 15(8), 1254-1256.
- Lall, S., ve Mill, R. (1978). "*Scrophularia* L". *Flora of Turkey*, 6, 603-647.
- Lee, E. B., Shin, K. H., & Woo, W. S. (1984). "Pharmacological study on piperine". *Archives of Pharmacal Research*, 7(2), 127-132.
- Lee, E. J., Kim, S. R., Kim, J., & Kim, Y. C. (2002). "Hepatoprotective phenylpropanoids from *Scrophularia buergeriana* roots against CCl₄-induced toxicity: action mechanism and structure-activity relationship". *Planta medica*, 68(05), 407-411.

- Li, J., Huang, X. Y., Du, X. J., Sun, W. J., & Zhang, Y. M. (2009). "Study of chemical composition and antimicrobial activity of leaves and roots of *Scrophularia ningpoensis*". *Natural product research*, 23(8), 775-780.
- Li, Y.-M., Jiang, S.-H., Gao, W.-Y., & Zhu, D.-Y. (2000). "Phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia ningpoensis*". *Phytochemistry*, 54(8), 923-925.
- Lin, S. J., Jiang, S. H., Li, Y. M., Zeng, J. F., & Zhu, D. Y. (2000). "Two novel iridoids from *Scrophularia buergeriana*". *Tetrahedron Letters*, 41(7), 1069-1071.
- Lin, S. J., Tan, C. H., Jiang, S. H., Li, Y. M., & Zhu, D. Y. (2006). "C-9-iridoids from *Scrophularia buergeriana*". *Helvetica chimica acta*, 89(11), 2789-2793.
- Liu, J., & Wu, D. (1993). "32 cases of postoperative osteogenic sarcoma treated by chemotherapy combined with Chinese medicinal herbs". *Chinese Journal of Integrated Traditional Western Medicine* 13(3), 150-152, 132.
- Mahboubi, M., Kazempour, N., & Nazar, A. R. B. (2013). Total phenolic, total flavonoids, antioxidant and antimicrobial activities of *Scrophularia striata* Boiss extracts. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 8(1), 15
- Manguro, L. O. A., Ogur, J. A., Okora, D. M., Wagai, S. O., & Lemmen, P. E. T. E. R. (2007). Further flavonol and iridoid glycosides from *Ajuga remota* aerial parts. *Journal of Asian natural products research*, 9(7), 617-629.
- Miara, M. D., Bendif, H., Rebbas, K., Rabah, B., Hammou, M. A., & Maggi, F. (2019). "Medicinal plants and their traditional uses in the highland region of Bordj Bou Arreridj (Northeast Algeria)". *Journal of Herbal Medicine*, 16, 100262.
- Miyase, T., & Mimatsu, A. (1999). "Acylated Iridoid and Phenylethanoid Glycosides from the Aerial Parts of *Scrophularia n. odosa*". *Journal of natural products*, 62(8), 1079-1084.
- Miyazawa, M., Okuno, Y., Nakamura, S.-i., & Kameoka, H. (1998). "Suppression of SOS-inducing activity of chemical mutagens by cinnamic acid derivatives from *Scrophulia ningpoensis* in the *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 umu test". *Journal of agricultural food chemistry* 46(3), 904-910.
- Monsef-Esfahani, H. R., Hajiaghaee, R., Shahverdi, A. R., Khorramizadeh, M. R., & Amini, M. (2010). "Flavonoids, cinnamic acid and phenyl propanoid from aerial parts of *Scrophularia striata*". *Pharmaceutical biology*, 48(3), 333-336.
- Mukherjee, D., Nissen, S. E., & Topol, E. J. (2001). Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors. *Jama*, 286(8), 954-959.
- Nam, H. H., Lee, A. Y., Seo, Y. S., Park, I., Yang, S., Chun, J. M., vd.,. (2020). "Three *Scrophularia* Species (*Scrophularia buergeriana*, *S. koraiensis*, and *S. takesimensis*) Inhibit RANKL-Induced Osteoclast Differentiation in Bone Marrow-Derived Macrophages". *Plants-Basel*, 9(12).

- Newman, L. A., Pernick, N. L., Adsay, V., Carolin, K. A., Philip, P. I., Sipierski, S., ... & Visscher, D. W. (2003). "Histopathologic evidence of tumor regression in the axillary lymph nodes of patients treated with preoperative chemotherapy correlates with breast cancer outcome" *Annals of surgical oncology*, 10(7), 734-739.
- Newman, D. J., and Cragg, G. M. (2016). " Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014" *Journal of natural products*, 79(3), 629-661.
- Newman, D. J., and Cragg, G. M. (2020) " Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019" *Journal of natural products*, 83(3), 770-803.
- Nguyen, A.-T., Fontaine, J., Malonne, H., Claeys, M., Luhmer, M., & Duez, P. (2005). "A sugar ester and an iridoid glycoside from *Scrophularia ningpoensis*". *Phytochemistry*, 66(10), 1186-1191.
- Nishibe, S. (1994). "Bioactive phenolic compounds in traditional medicines". *Pure applied chemistry* 66(10-11), 2263-2266.
- Orangi, M., Pasdaran, A., Shanehbandi, D., Kazemi, T., Yousefi, B., Hosseini, B. A., vd.,. (2016). "Cytotoxic and Apoptotic Activities of Metanolic Subfractions of *Scrophularia oxysepala* against Human Breast Cancer Cell Line". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016.
- Oyaizu, M. (1986). "Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine". *The Japanese journal of nutrition dietetics* 44(6), 307-315.
- Özgökçe, F., & Özçelik, H. (2004). "Ethnobotanical aspects of some taxa in East Anatolia, Turkey". *Economic Botany*, 58(4), 697-704.
- Özkan, G. A. M., & Koyuncu, M. A. (2005). "Tradional medicinal plants used in Pınarbaşı area (Kayseri-Turkey)". *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 63-82.
- Pardo, F., Perich, F., Torres, R., & Monache, F. D. (1998). Phytotoxic iridoid glucosides from the roots of *Verbascum thapsus*. *Journal of Chemical Ecology*, 24(4), 645-653.
- Pasdaran, A., & Hamed, A. (2017). "The genus *Scrophularia*: a source of iridoids and terpenoids with a diverse biological activity". *Pharmaceutical biology*, 55(1), 2211-2233.
- Pauli, G., Ofterdinger-Daegel, S., & Teborg, D. (1995). "Digitalis, *Scrophularia* & Co. Ein pharmazeutischer Streifzug durch die Familie der Braunwurzgewächse". *Deutsche Apotheker Zeitung*, 135(2), 21-33.
- Qian, J. F., Hunkler, D., & Rimpler, H. (1992). "Iridoid-Related Aglycone and Its Glycosides from *Scrophularia-Ningpoensis*". *Phytochemistry*, 31(3), 905-911.

- Ramunno, A., Serrilli, A. m., Piccioni, F., Serafini, M., & Ballero, M. (2006). "Taxonomical markers in two endemic plants of Sardinia: *Verbascum conocarpum* and *Scrophularia trifoliata*". *Natural product research*, 20(05), 511-516.
- Ren, D., Shen, Z. Y., Qin, L. P., & Zhu, B. (2021). "Pharmacology, phytochemistry, and traditional uses of *Scrophularia ningpoensis* Hemsl". *Journal of Ethnopharmacology*, 269.
- Renda, G., Korkmaz, B., Kılıç, M., Duman, M. K., & Kırmızıbekmez, H. (2018). "Evaluation of in vivo analgesic activity of *Scrophularia kotschyana* and isolation of bioactive compounds through activity-guided fractionation". *Natural product research*, 32(16), 1902-1910.
- Rios, J. L., Recio, M. C., Giner, R. M., Sanz, M. J., Terencio, M. C., & Manez, S. (1991). Two new catalpol derivatives from *Scrophularia auriculata*. *Planta Medica*, 57(S 2), A88-A89.
- Galindez , J., Matellano, L. F., & Lanza, A. M. D. (2001). "Iridoids from *Scrophularia* genus". *Zeitschrift für Naturforschung C* 56(7-8), 513-520.
- Saracoglu, I., Calis, I., Inoue, M., & Ogihara, Y. (1997). "Selective cytotoxic and cytostatic activity of some phenylpropanoid glycosides". *Fitoterapia*, 68(5), 434-438.
- Scudiero, D. A., Shoemaker, R. H., Paull, K. D., Monks, A., Tierney, S., Nofziger, T. H., vd.,. (1988). "Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines". *Cancer research*, 48(17), 4827-4833.
- Sezik, E., Yeşilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., & Tanaka, T. (2001). "Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in central Anatolia". *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3), 95-115.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents". *American journal of Enology Viticulture* 16(3), 144-158.
- Sorokina, M., ve Steinbeck, C. (2020). Review on natural products databases: Where to find data in 2020. *Journal of Cheminformatics*, 12(1), 1-51.
- Stevenson, P. C., Simmonds, M. S., Sampson, J., Houghton, P. J., & Grice, P. (2002). Wound healing activity of acylated iridoid glycosides from *Scrophularia nodosa*. *Phytotherapy research*, 16(1), 33-35.
- Tatlı, İ. İ., Akdemir, Z. Ş., Bedir, E., & Khan, I. A. (2003). " 6-O-\alpha-L-Rhamnopyranosylcatalpol Derivative Iridoids from *Verbascum cilicicum*". *Turkish Journal of Chemistry*, 27(6), 765-772.

- Tatlı, İ. İ., (2004)." Bazı verbaskum türleri üzerine farmakognozik araştırmalar". <https://tez.yok.gov.tr>. Tez no: 158223
- Tasdemir, D., Güner, N. D., Perozzo, R., Brun, R., Dönmez, A. A., Calıs, I., vd.,. (2005). "Anti-protozoal and plasmodial FabI enzyme inhibiting metabolites of *Scrophularia lepidota* roots". *Phytochemistry*, 66(3), 355-362.
- TÜBA, (2014) "Ulusal Kanser Politikaları Çalıştay Raporu" <https://tuba.gov.tr/files/yayinlar/raporlar/T%C3%9CBAUlusal%20Kanser%20Politikalar%C4%B1%20%C3%87al%C4%B1%C5%9Fty%C4%B1%20Raporu.pdf>. Son erişim tarihi: 01.11.2022
- Uzun, E., Sariyar, G., Adersen, A., Karakoc, B., Ötük, G., Oktayoglu, E., vd.,. (2004). "Traditional medicine in Sakarya province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species". *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 287-296.
- Uzunhisarcikli, M. E., Güner, E. D., Özbek, F., & Ekici, M. (2019). "*Scrophularia vernalis*: a new species record for Turkey, and its comparison with *S. chrysantha* (Scrophulariaceae)". *Phytotaxa*, 397(1), 91-98.
- Weinges, K., & Eltz, H. (1978). "Natural products from medicinal plants, 23 [*Scrophularia nodosa*]". *Justus Liebigs Annalen der Chemie*.
- Won, S. (1963). "Pharmacologically active component in *Scrophularia* root p-methoxycinnamic acid, identification of p-Methoxycinnamic acid and its antipyretic action". *Yakhah Hoeiji*, 7, 55-57.
- Xin-yu, J., Hui, L., & Bin, L. (2014). "Chemical constituents from *Scrophularia ningpoensis*". *Natural Product Research Development* 26(11), 1775.
- Yamamoto, A., Miyase, T., Ueno, A., & Maeda, T. (1993). "Scrophulasaponins Ii-Iv, New Saikosaponin Homologs from *Scrophularia-Kakudensis* Franch". *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 41(10), 1780-1783.
- Yaylı, B., (2016) "*Scrophularia kotschyana* benth. üzerinde farmakognozik çalışmalar" [Tez.yok.gov.tr](https://tez.yok.gov.tr) Tez no: 431660
- Zhang, J., Ip, F. C. F., Tong, E. P. S., Chan, K. W., Li, L. C., Ng, Y. P., vd.,. (2015). "Ningpoensines A-C: unusual zwitterionic alkaloids from *Scrophularia ningpoensis*". *Tetrahedron Letters*, 56(40), 5453-5456.
- Zhang, L., Zhang, D., Jia, Q., Wang, R., Dorje, G., Zhao, Z., vd.,. (2015). "19 (4→ 3)-abeo-abietane diterpenoids from *Scrophularia dentata* Royle ex Benth". *Fitoterapia*, 106, 72-77.
- Zhang, L., Zhu, T., Qian, F., Xu, J., Dorje, G., Zhao, Z., vd.,. (2014). "Iridoid glycosides isolated from *Scrophularia dentata* Royle ex Benth. and their anti-inflammatory activity". *Fitoterapia*, 98, 84-90.

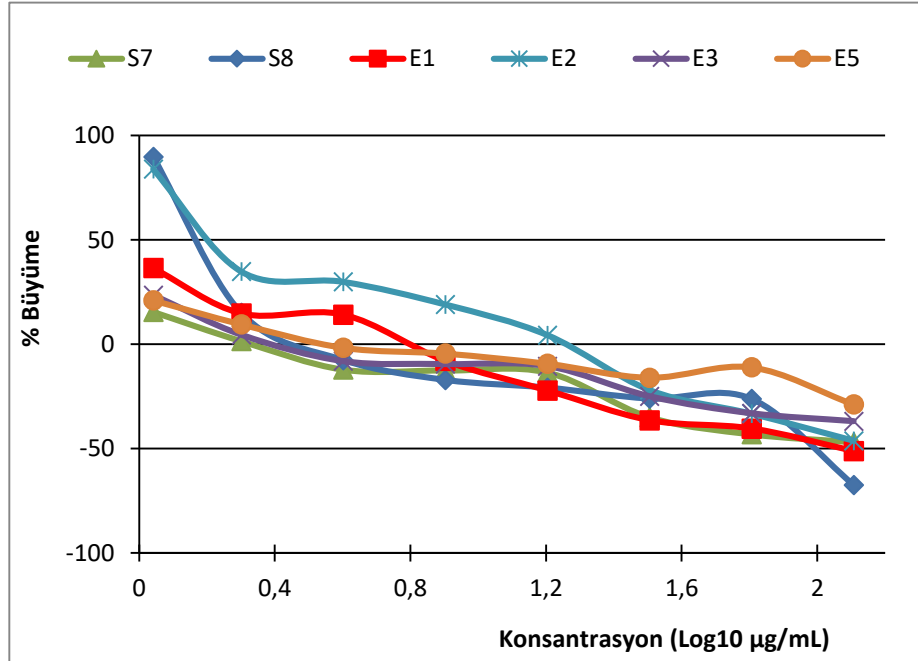
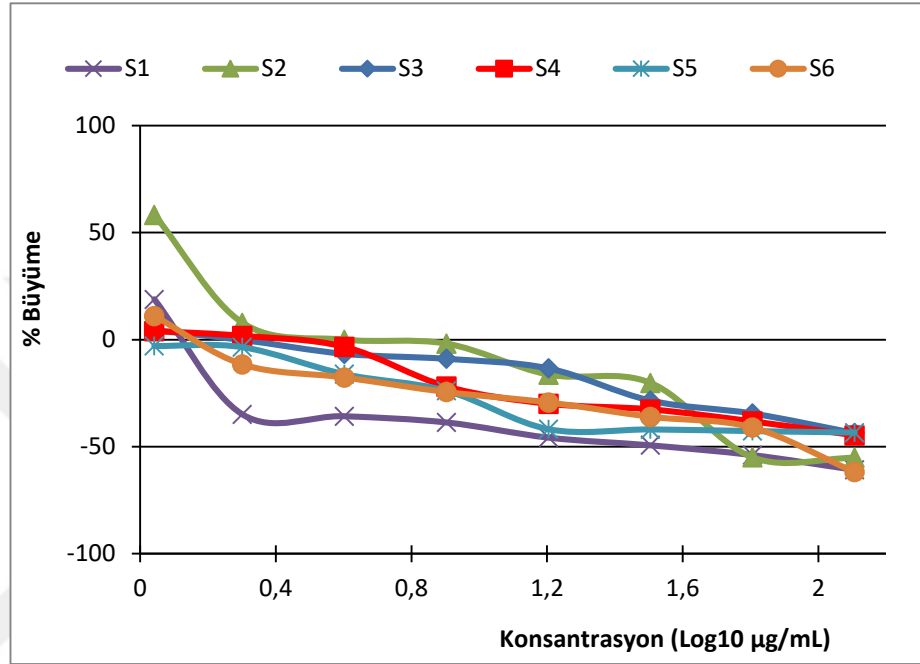
- Zhang, Q., Liu, A., & Wang, Y. S. (2021). "Scrophularia ningpoensis Hemsl: a review of its phytochemistry, pharmacology, quality control and pharmacokinetics". **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 73(5), 573-600.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals". **Food chemistry**, 64(4), 555-559.
- Zhu, L.-J., Hou, Y.-L., Shen, X.-Y., Pan, X.-D., Zhang, X., & Yao, X.-S. (2013). "Monoterpene pyridine alkaloids and phenolics from Scrophularia ningpoensis and their cardioprotective effect". **Fitoterapia**, 88, 44-49.
- Zhu, L. J., Qiao, C., Shen, X. Y., Zhang, X., & Yao, X. S. (2014). "Iridoid glycosides from the roots of Scrophularia ningpoensis Hemsl.". **Chinese Chemical Letters**, 25(10), 1354-1356.



EKLER

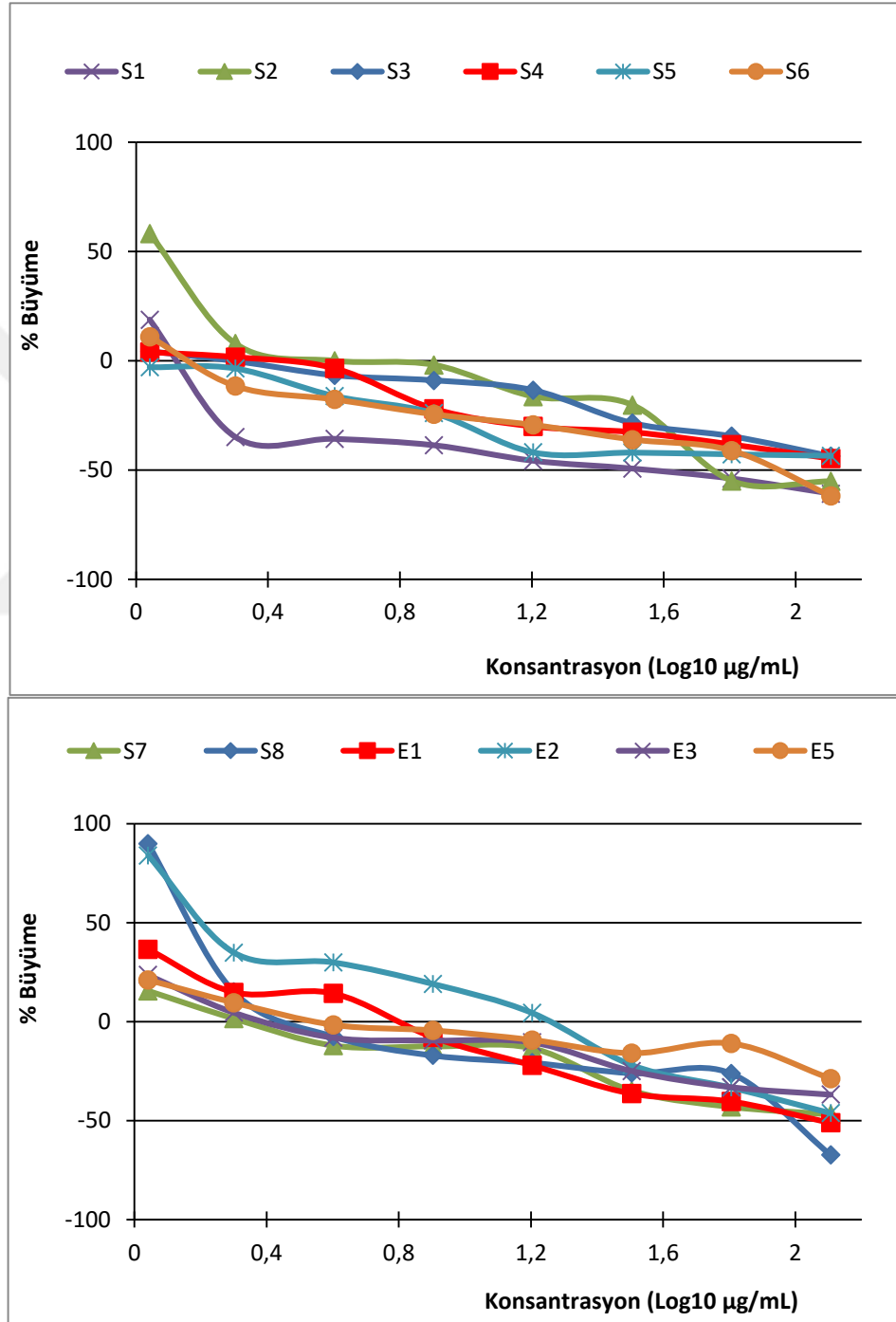
Ek-1 MTT test sonuçları

Bileşiklerin A549 hücre hattı üzerindeki anti proliferatif etkilerinin MTT testiyle belirlenmesi. Grafik üzerindeki negatif değerler hücre ölümlerini, pozitif değerler büyüme inhibisyonunu göstermektedir.



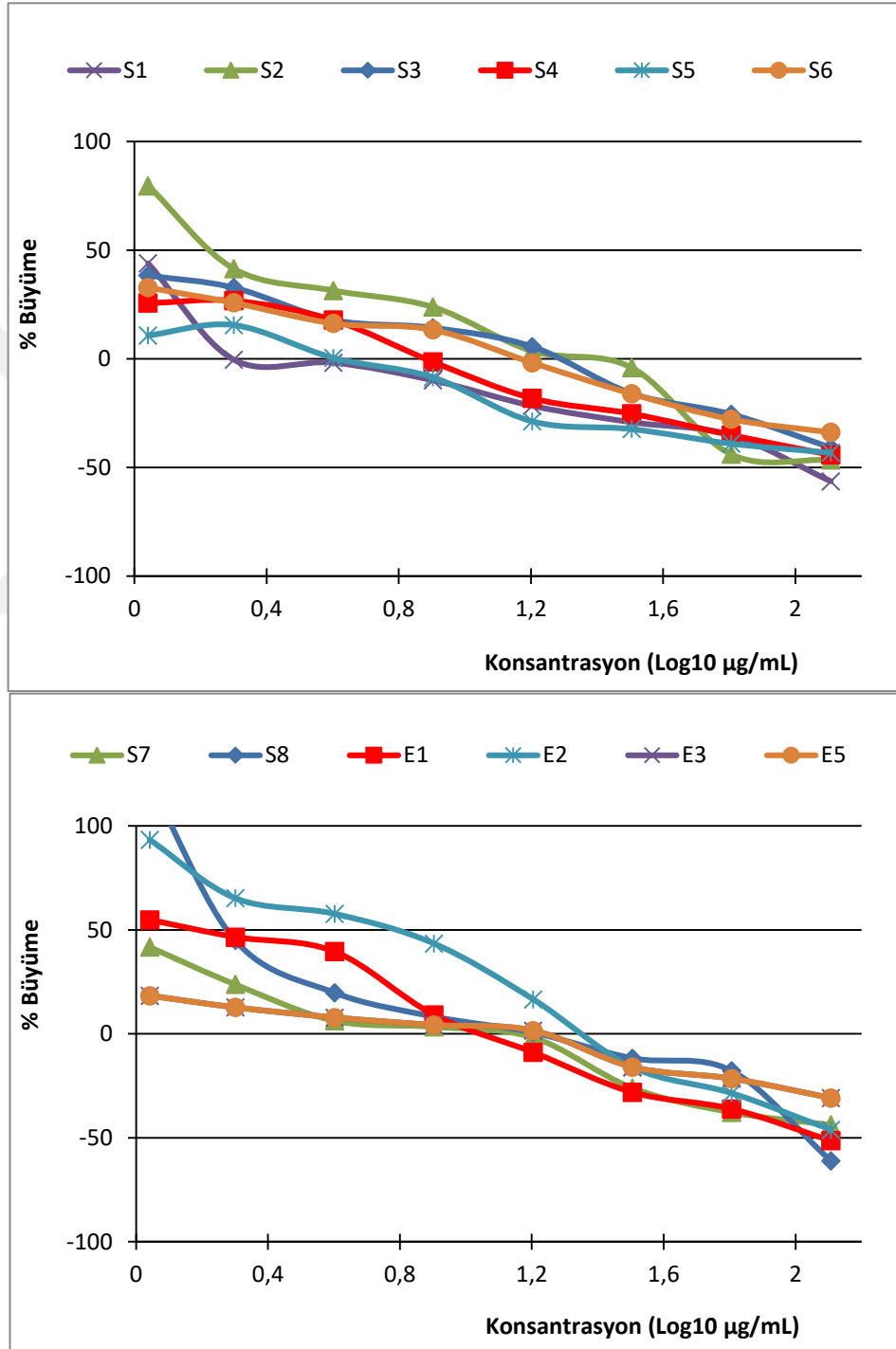
Ek-1 Devam MTT test sonuçları

Bileşiklerin Calu1 hücre hattı üzerindeki anti proliferatif etkilerinin MTT testiyle belirlenmesi. Grafik üzerindeki negatif değerler hücre ölümlerini, pozitif değerler büyüme inhibisyonunu göstermektedir.



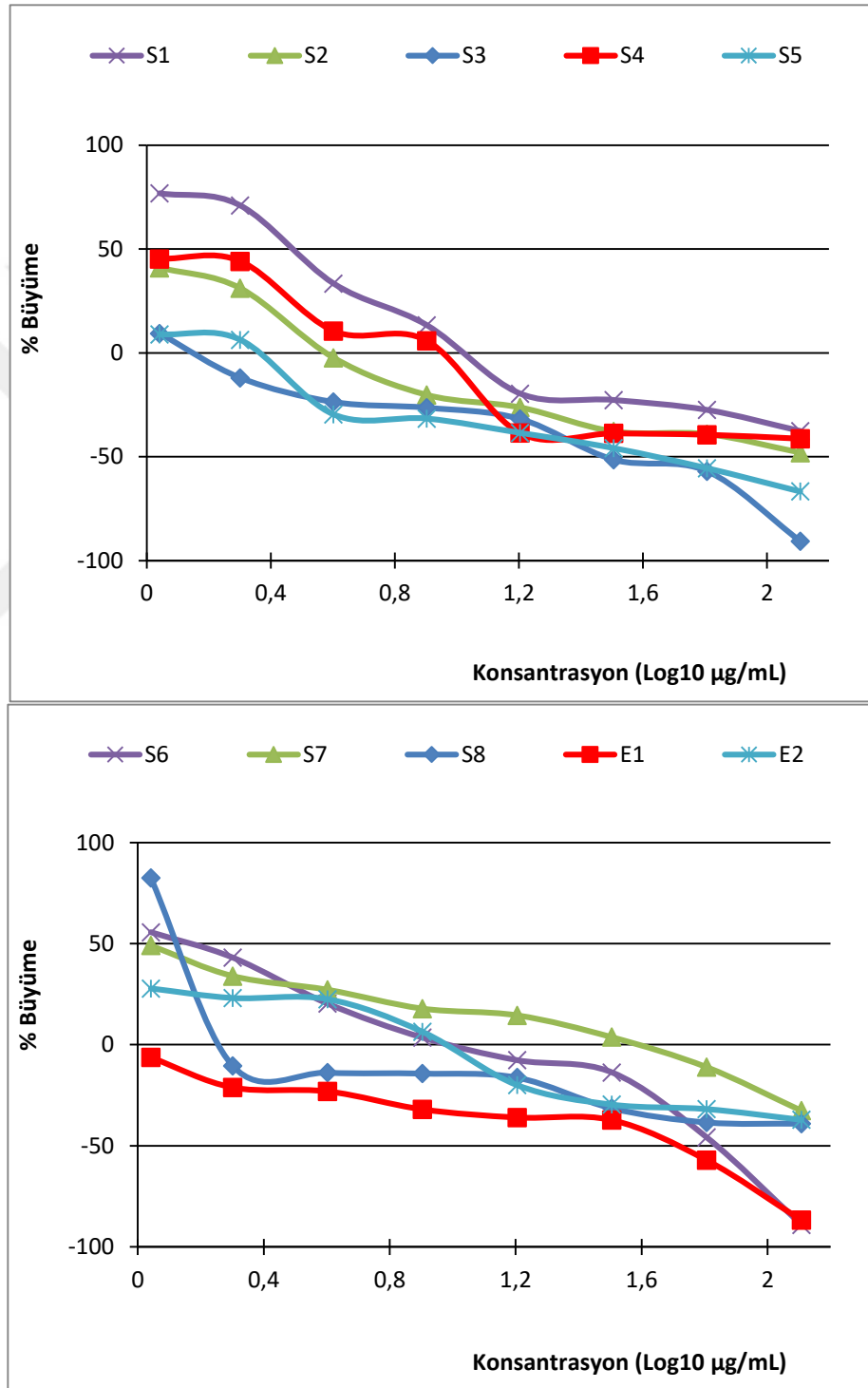
Ek-1 Devam MTT test sonuçları

Bileşiklerin H1650 hücre hattı üzerindeki anti proliferatif etkilerinin MTT testiyle belirlenmesi. Grafik üzerindeki negatif değerler hücre ölümlerini, pozitif değerler büyüme inhibisyonunu göstermektedir.



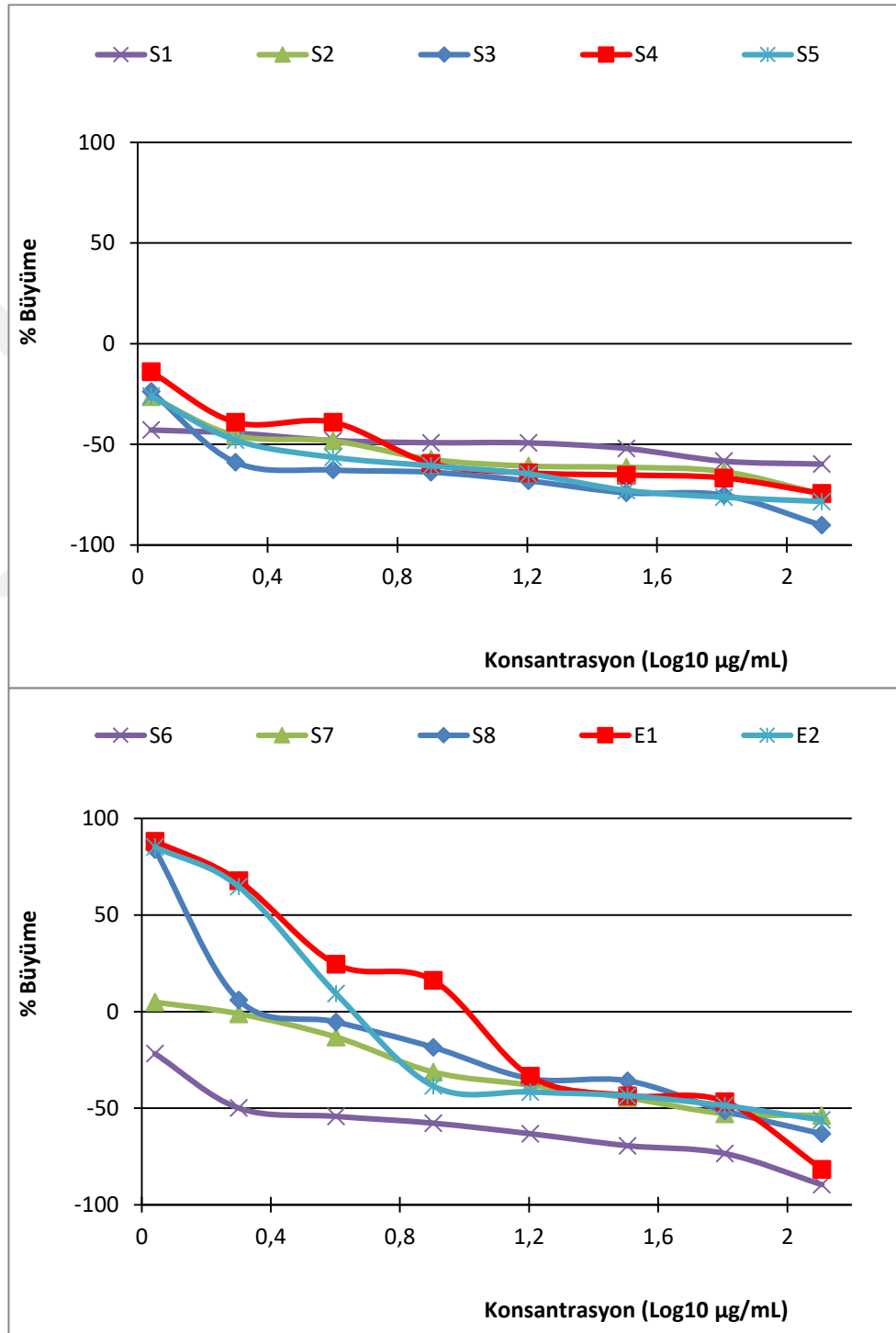
Ek-1 Devam MTT test sonuçları

Bileşiklerin A172 hücre hattı üzerindeki anti proliferatif etkilerinin MTT testiyle belirlenmesi. Grafik üzerindeki negatif değerler hücre ölümlerini, pozitif değerler büyüme inhibisyonunu göstermektedir.



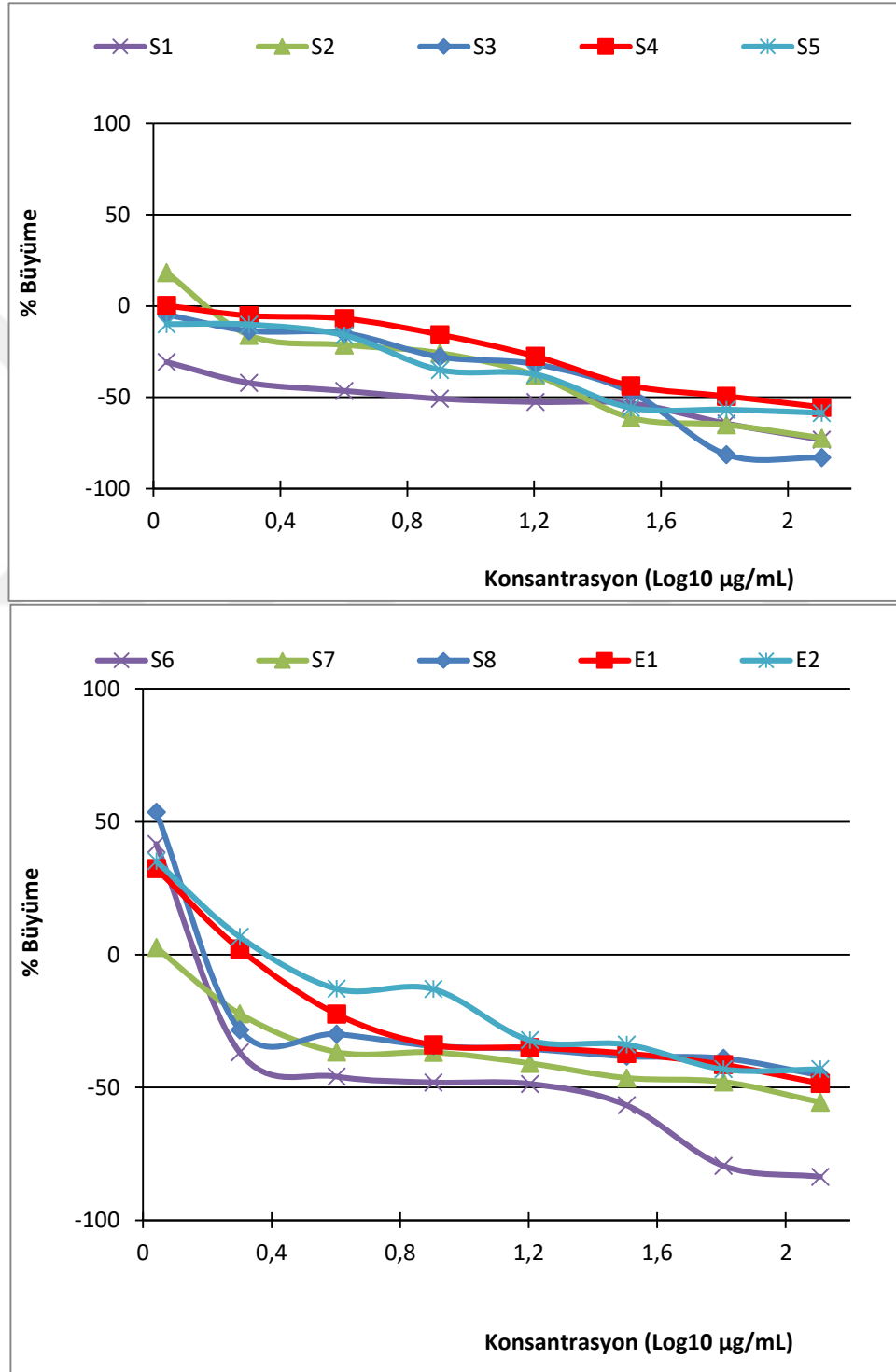
Ek-1 Devam MTT test sonuçları

Bileşiklerin C6 hücre hattı üzerindeki anti proliferatif etkilerinin MTT testiyle belirlenmesi. Grafik üzerindeki negatif değerler hücre ölümlerini, pozitif değerler büyüme inhibisyonunu göstermektedir.



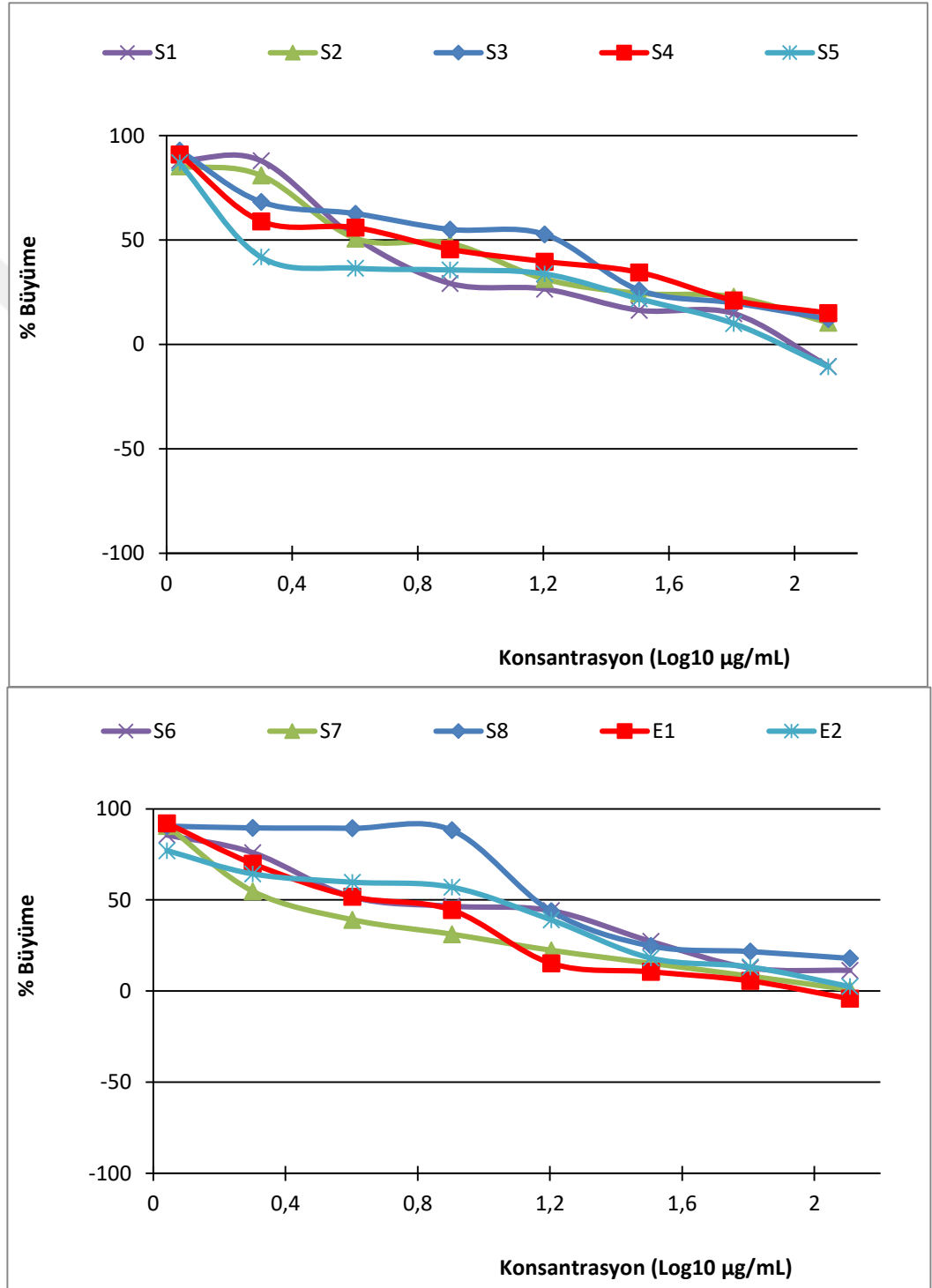
Ek-1 Devam MTT test sonuçları

Bileşiklerin SH-SY5Y hücre hattı üzerindeki anti proliferatif etkilerinin MTT testiyle belirlenmesi. Grafik üzerindeki negatif değerler hücre ölümlerini, pozitif değerler büyüme inhibisyonunu göstermektedir.



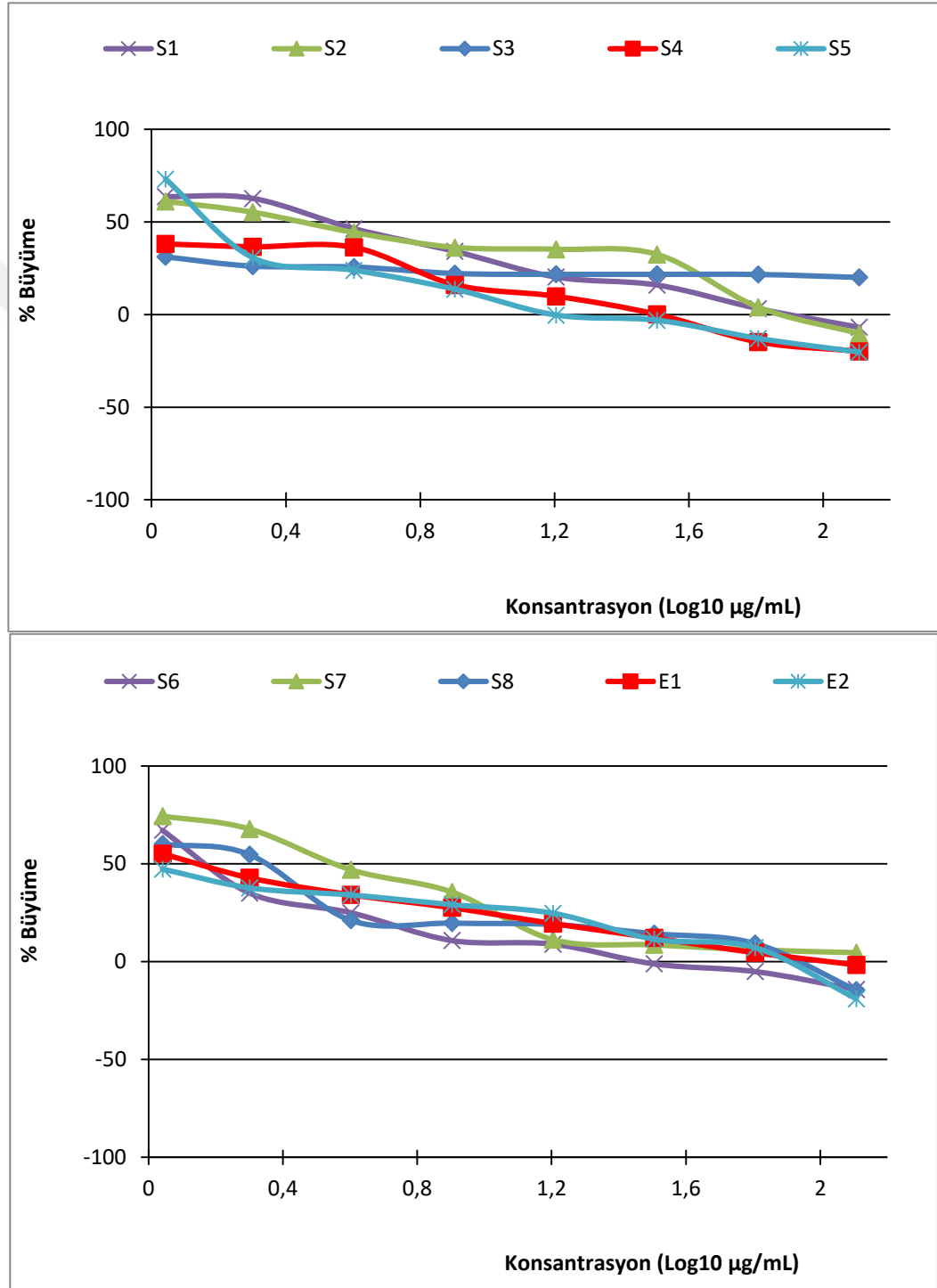
Ek-1 Devam MTT test sonuçları

Bileşiklerin FL hücre hattı üzerindeki anti proliferatif etkilerinin MTT testiyle belirlenmesi. Grafik üzerindeki negatif değerler hücre ölümlerini, pozitif değerler büyüme inhibisyonunu göstermektedir.



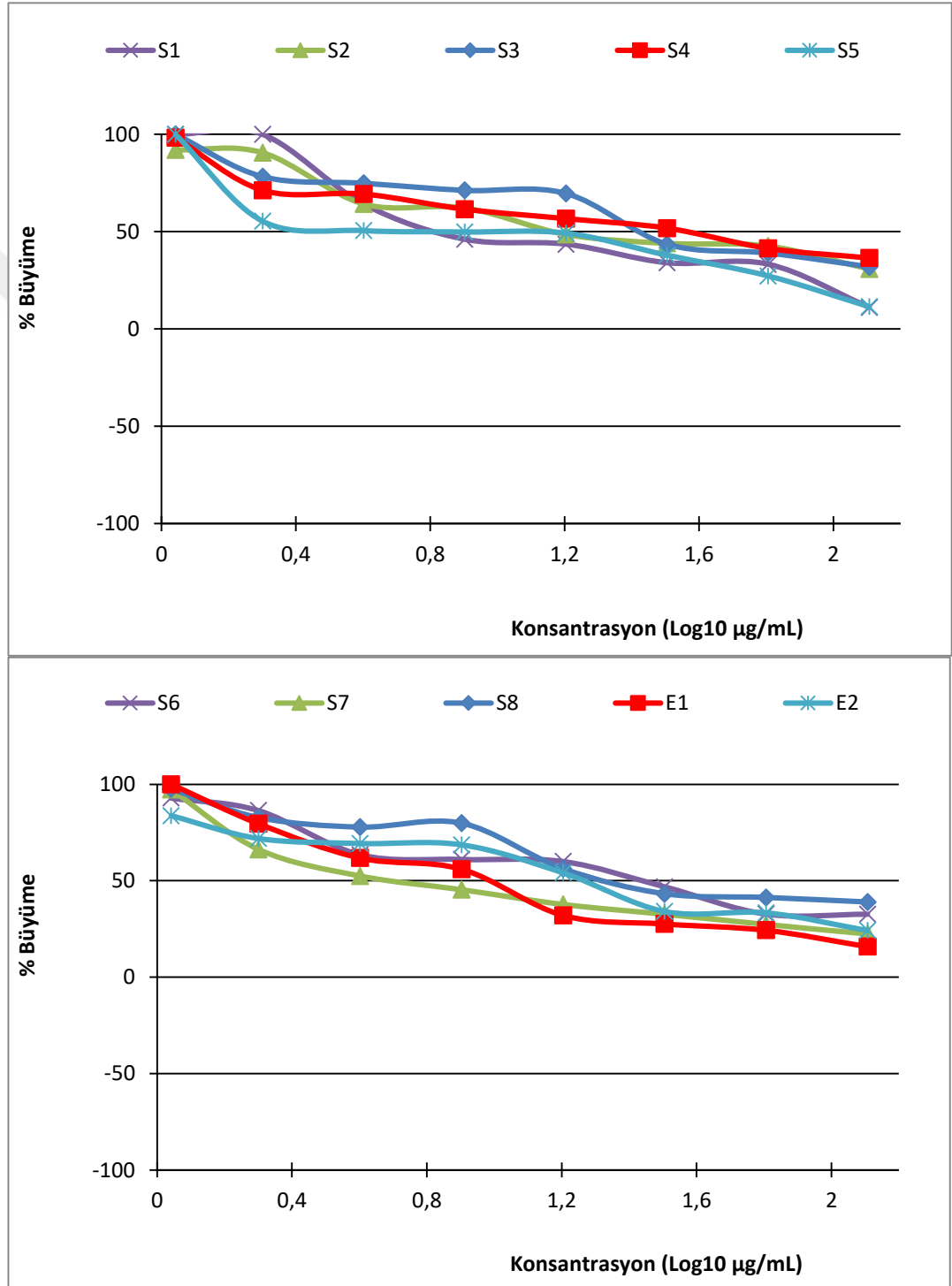
Ek-1 Devam MTT test sonuçları

Bileşiklerin MCF7 hücre hattı üzerindeki anti proliferatif etkilerinin MTT testiyle belirlenmesi. Grafik üzerindeki negatif değerler hücre ölümlerini, pozitif değerler büyüme inhibisyonunu göstermektedir.

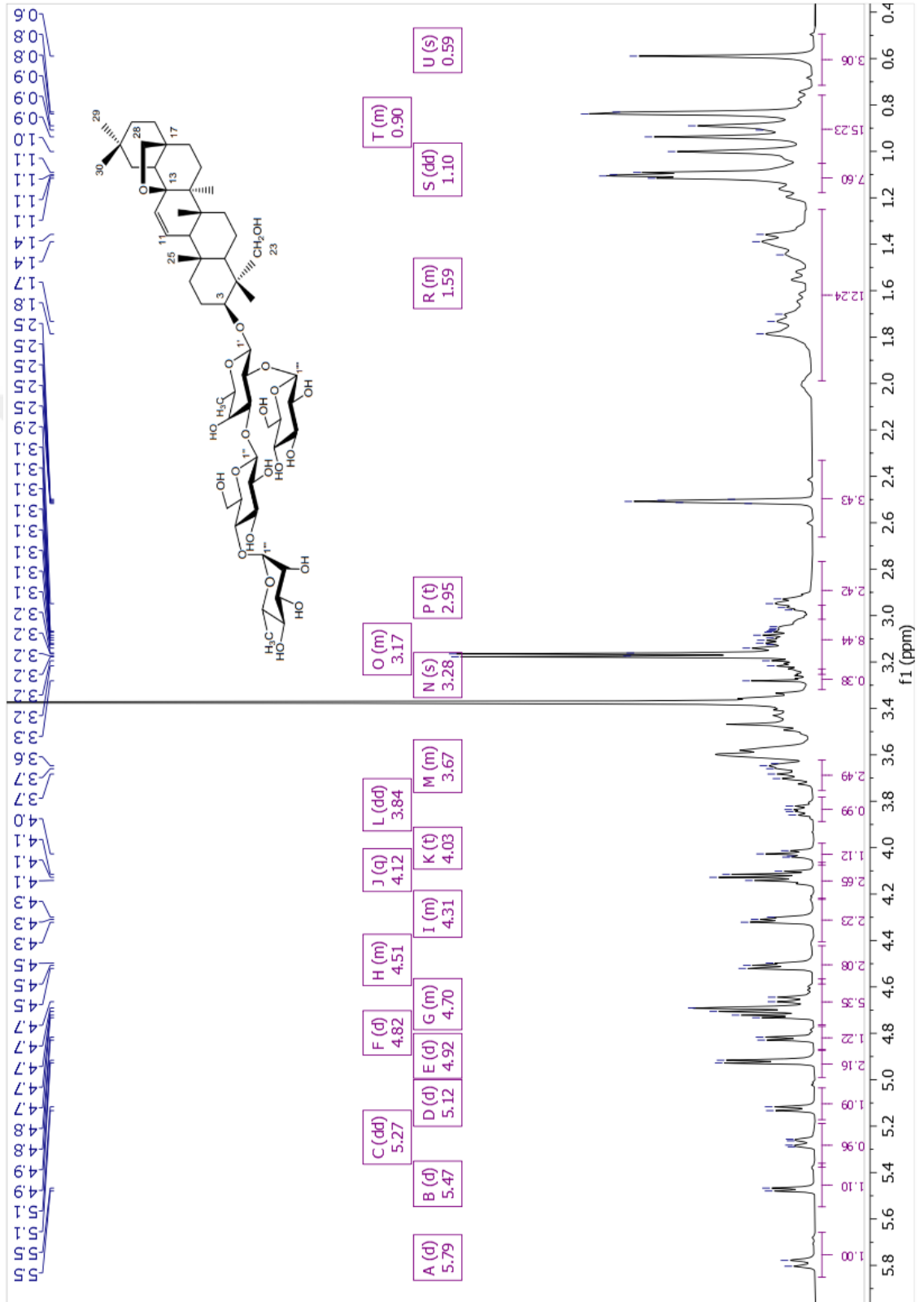


Ek-1 Devam MTT test sonuçları

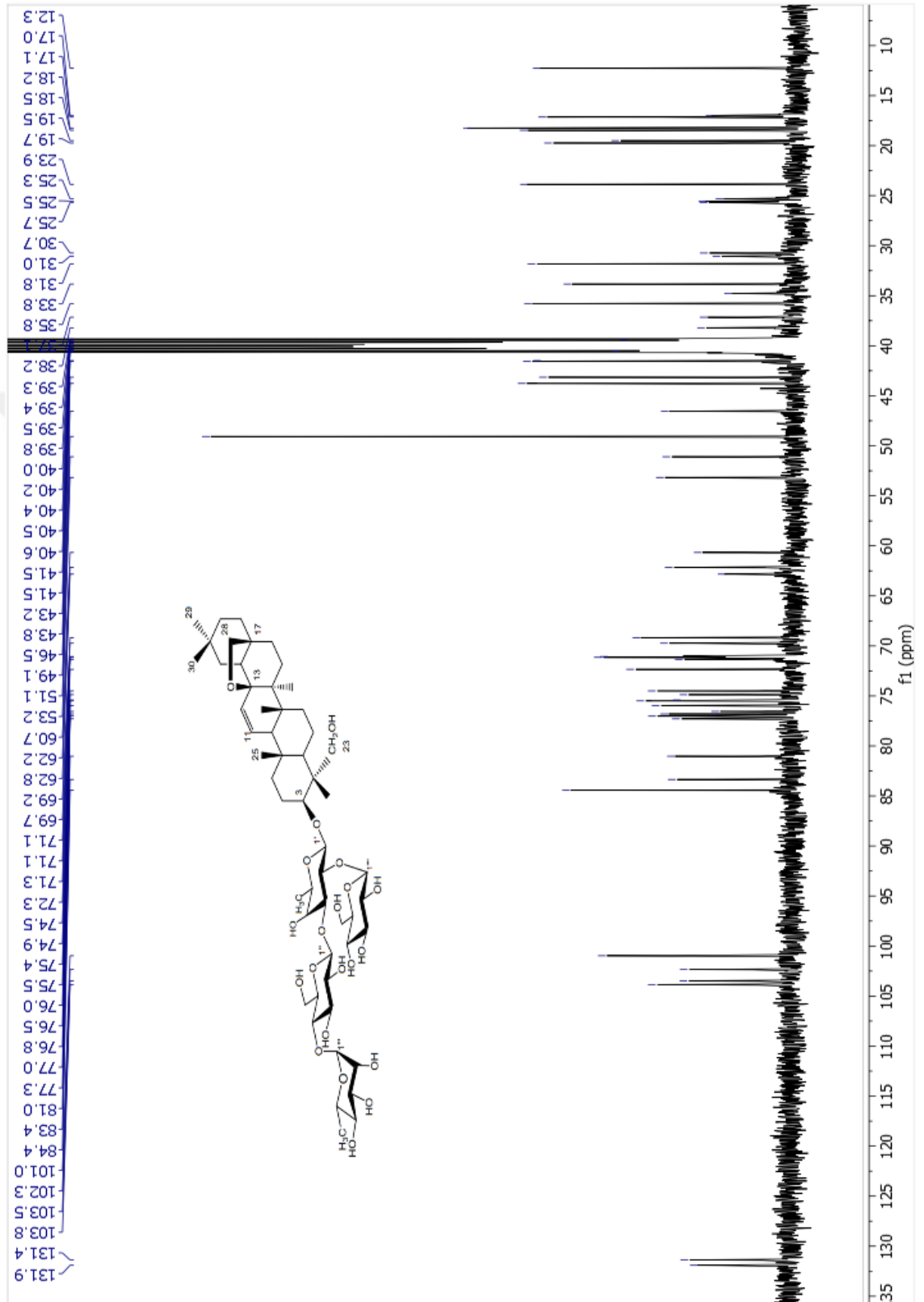
Bileşiklerin SW620 hücre hattı üzerindeki anti proliferatif etkilerinin MTT testiyle belirlenmesi. Grafik üzerindeki negatif değerler hücre ölümlerini, pozitif değerler büyüme inhibisyonunu göstermektedir.



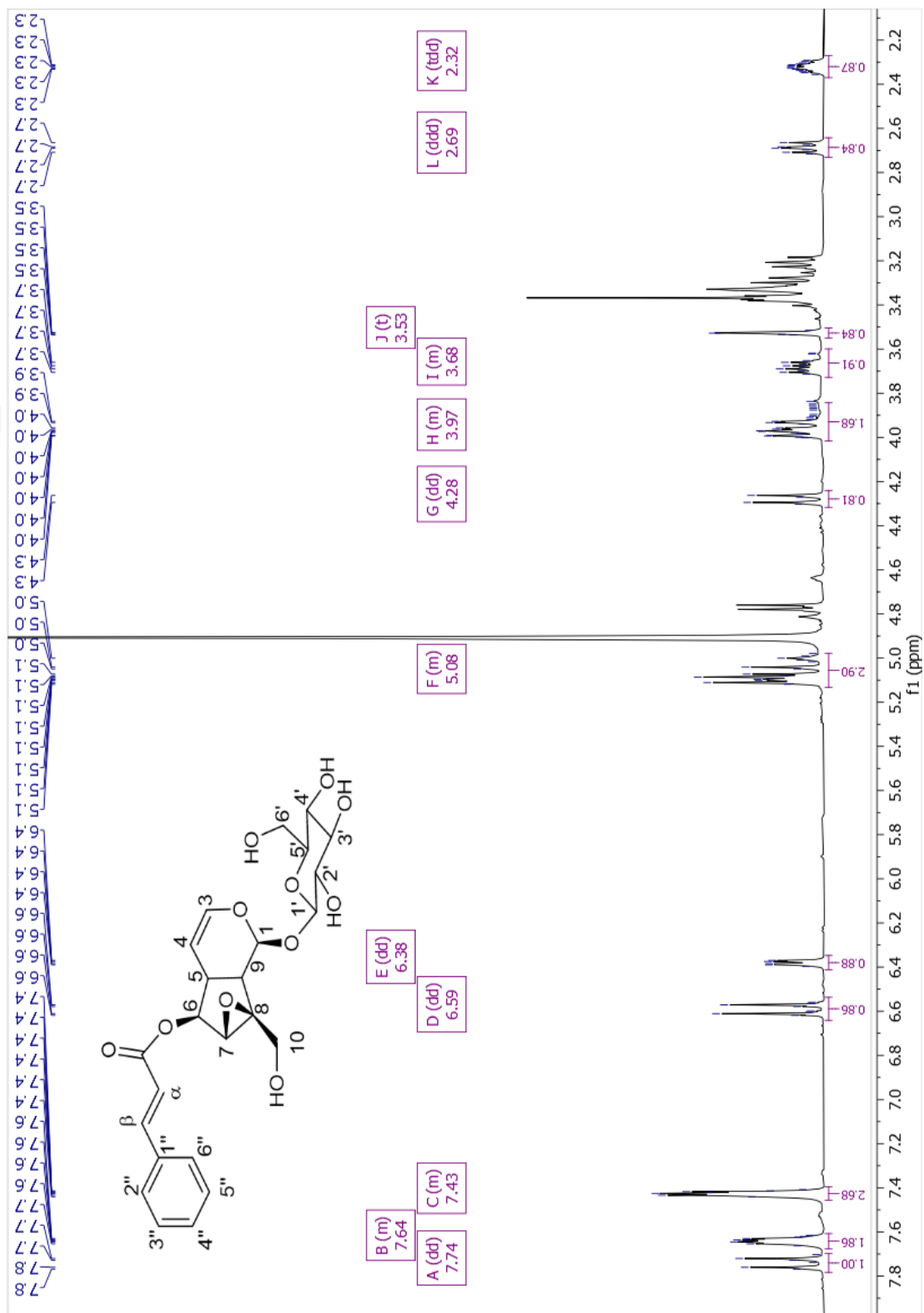
Ek-2 S1 ve E4 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6)



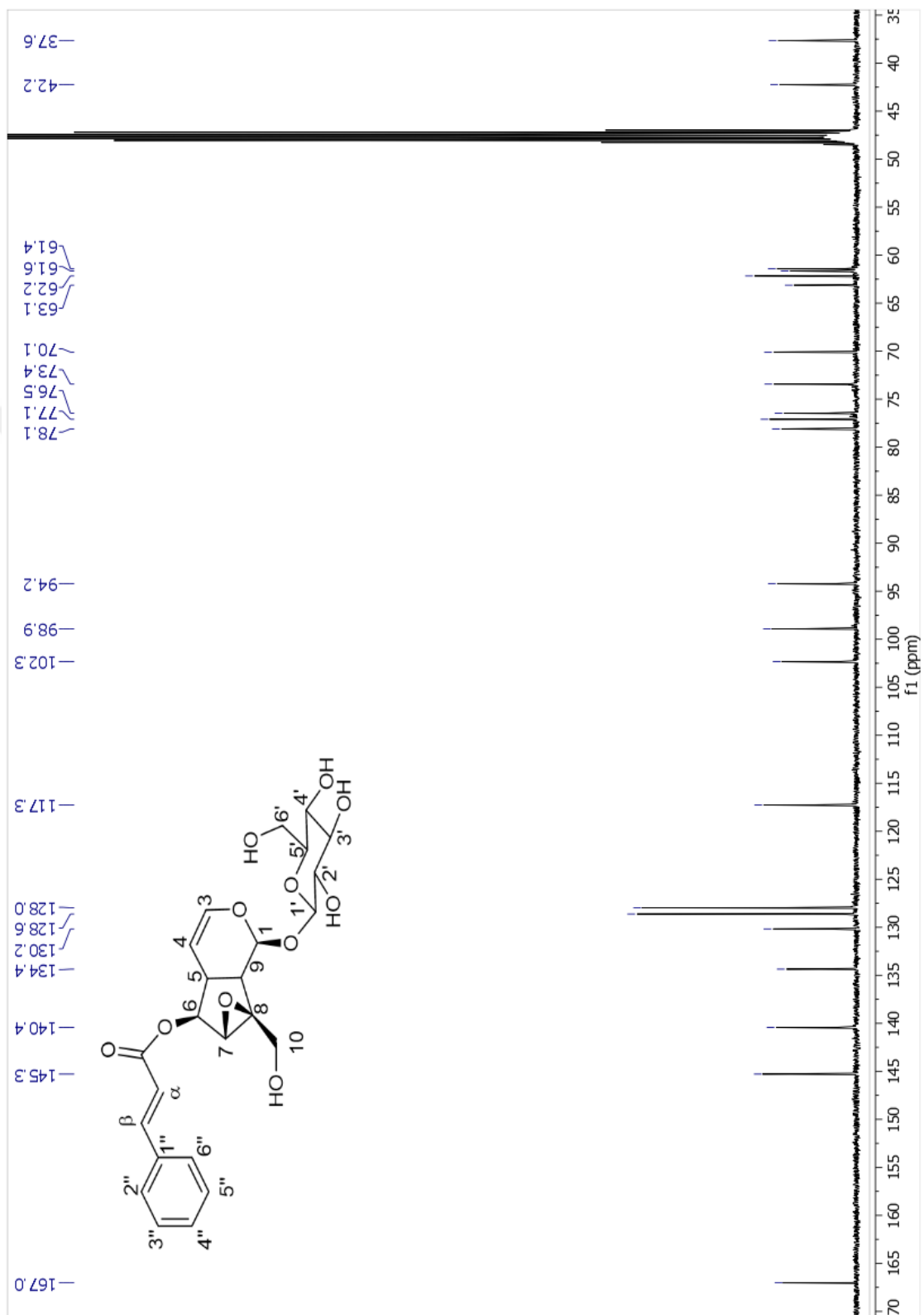
Ek-3 S1 ve E4 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6)



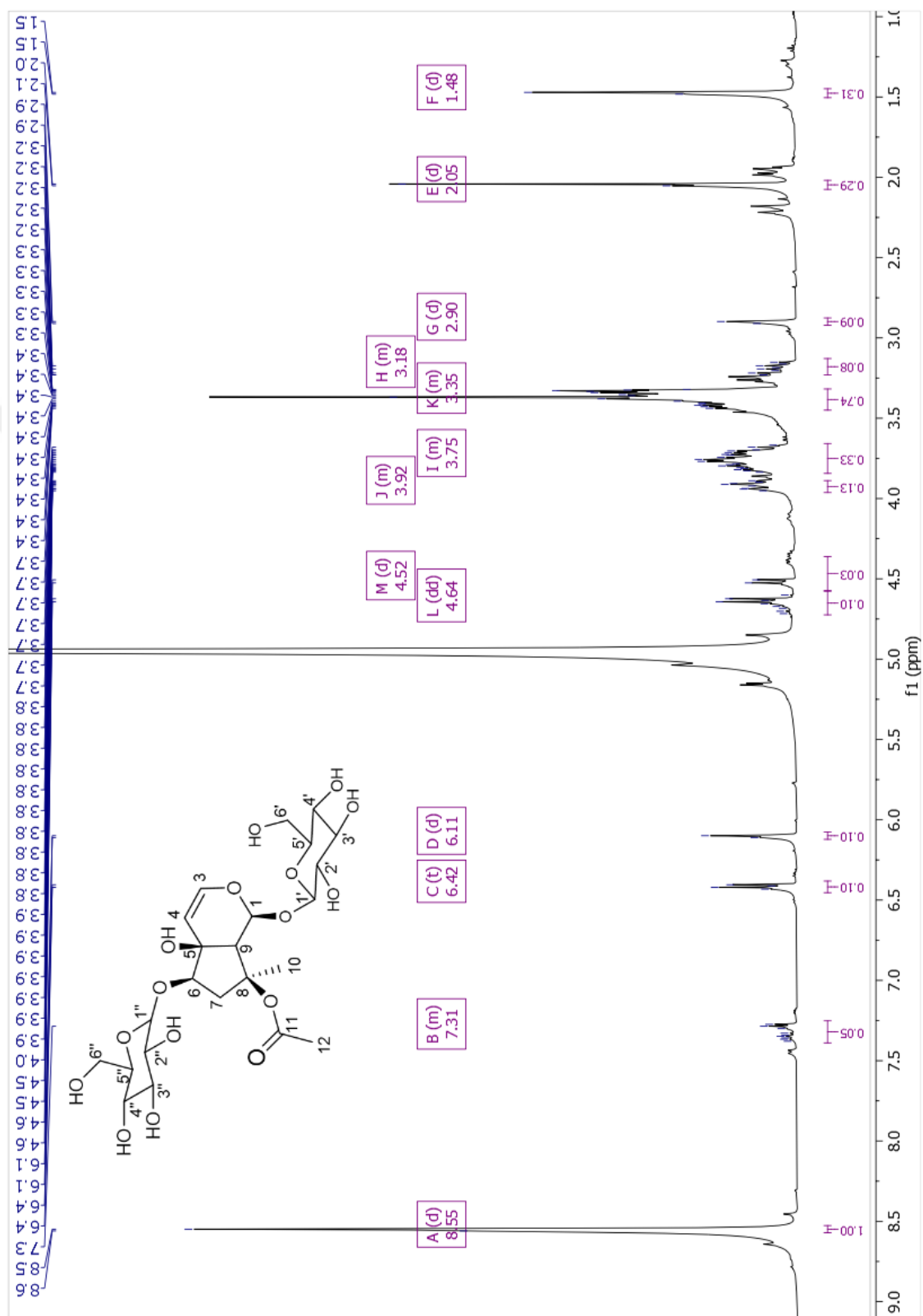
Ek-4 S2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6)



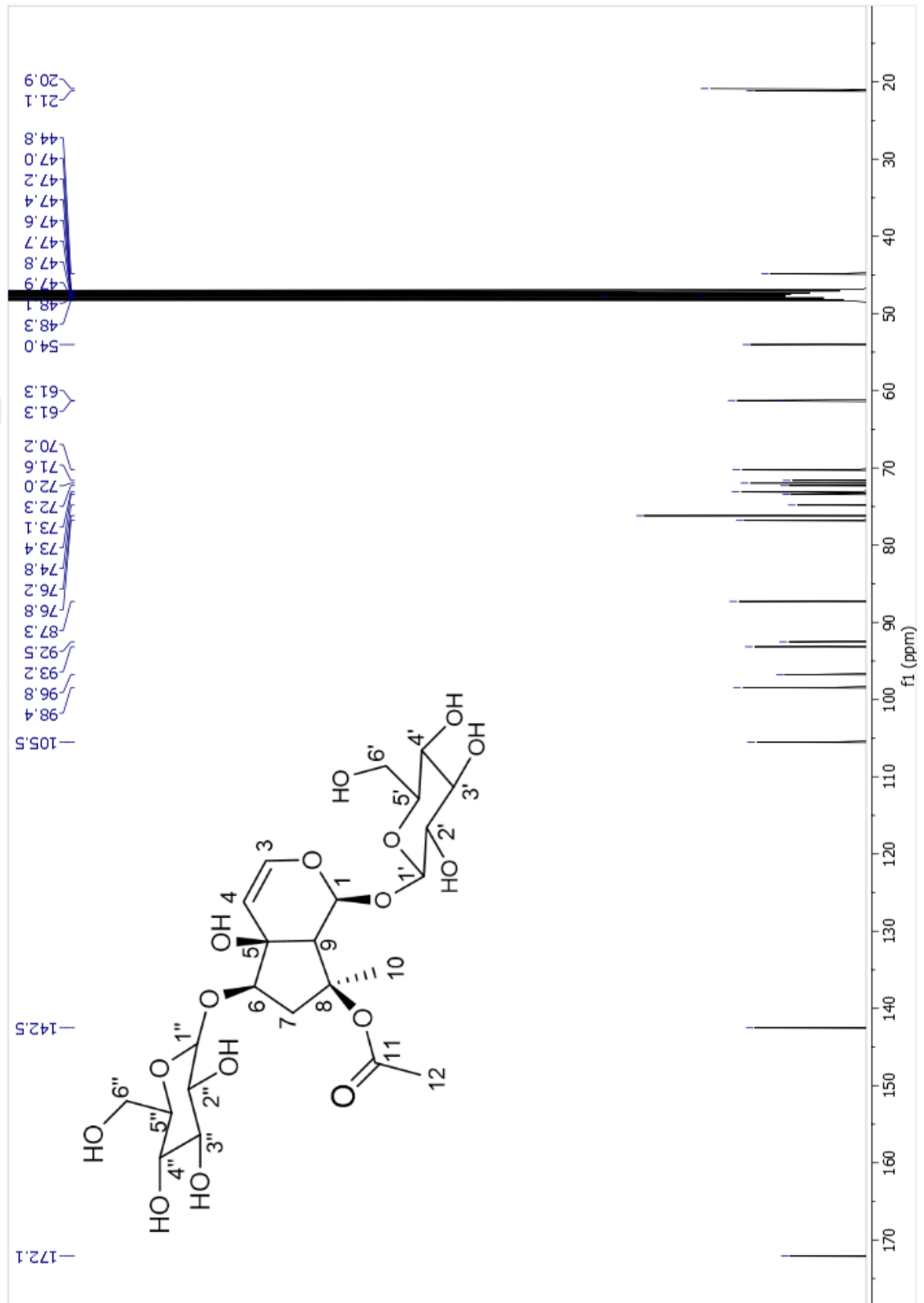
Ek-5 S2 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6)



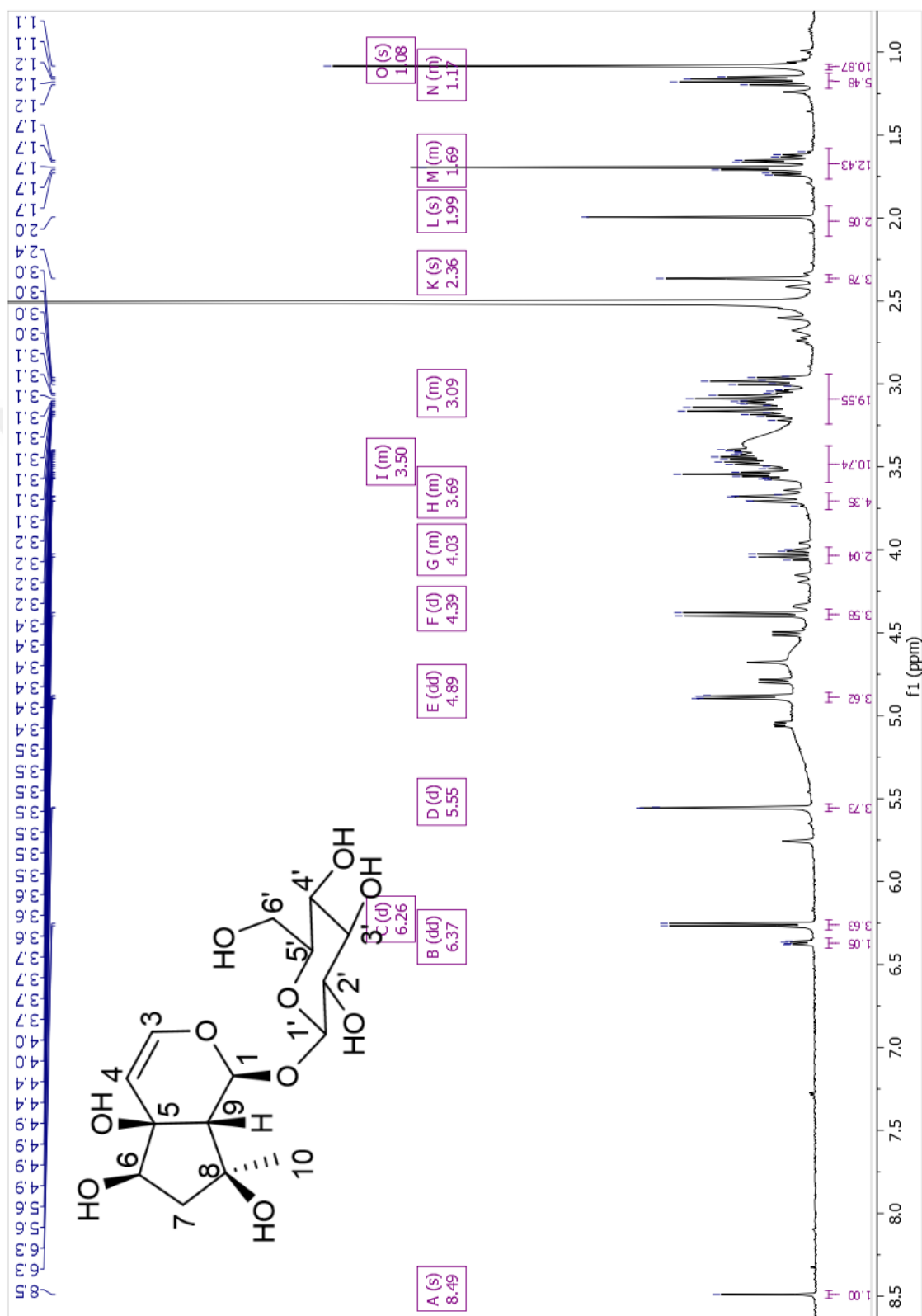
Ek-6 S3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6)



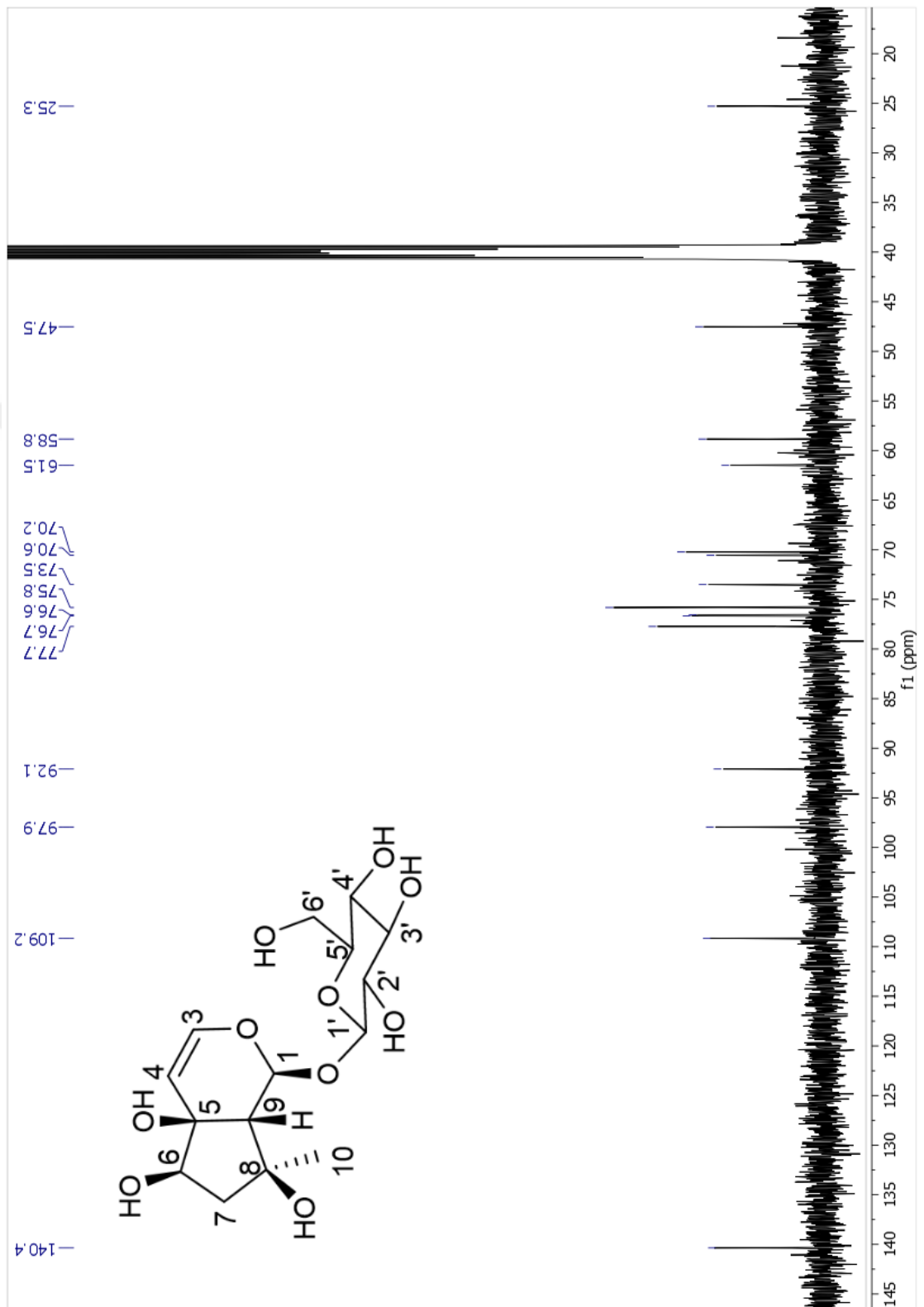
Ek-7 S3 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6)



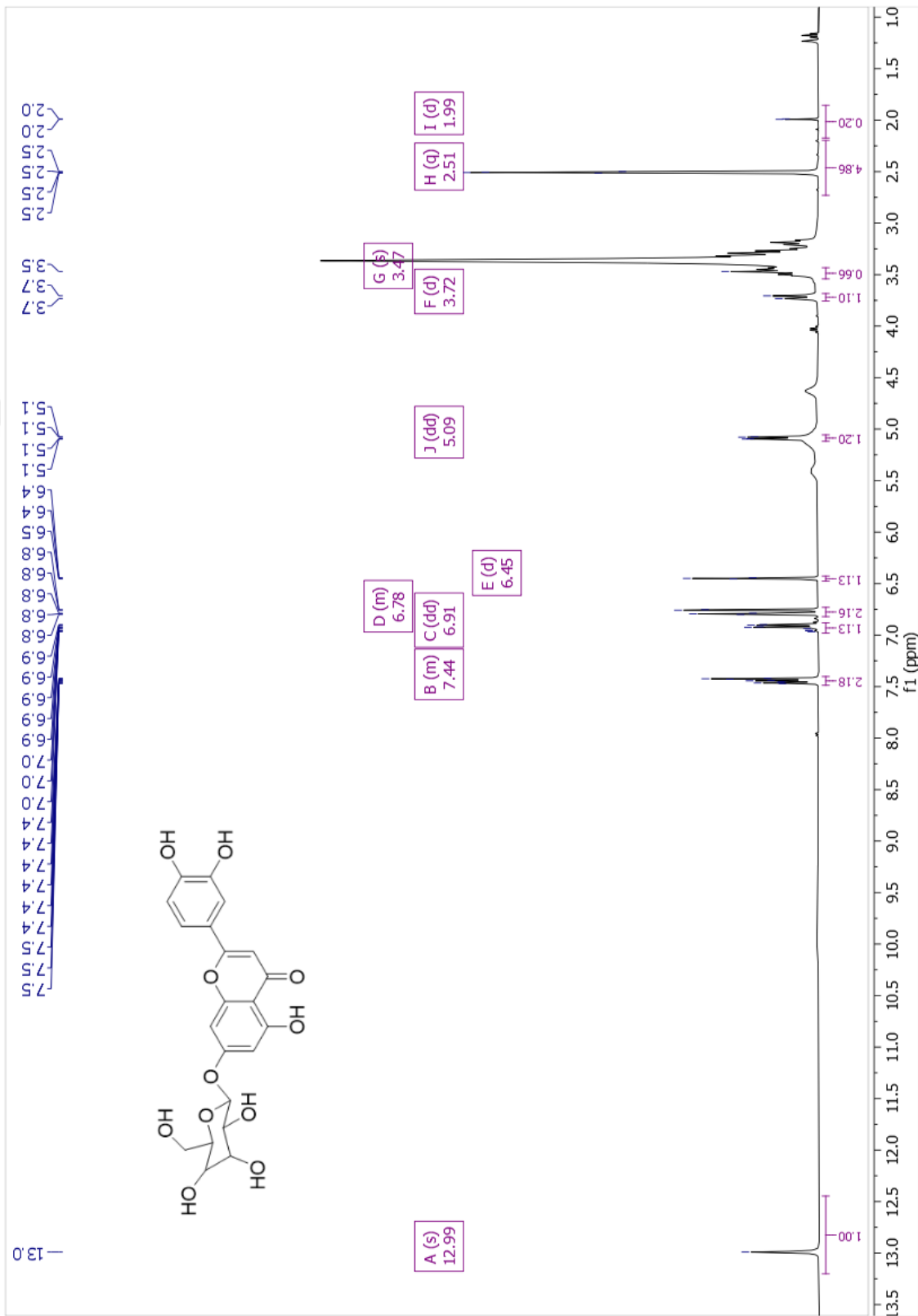
Ek-8 S4 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6)



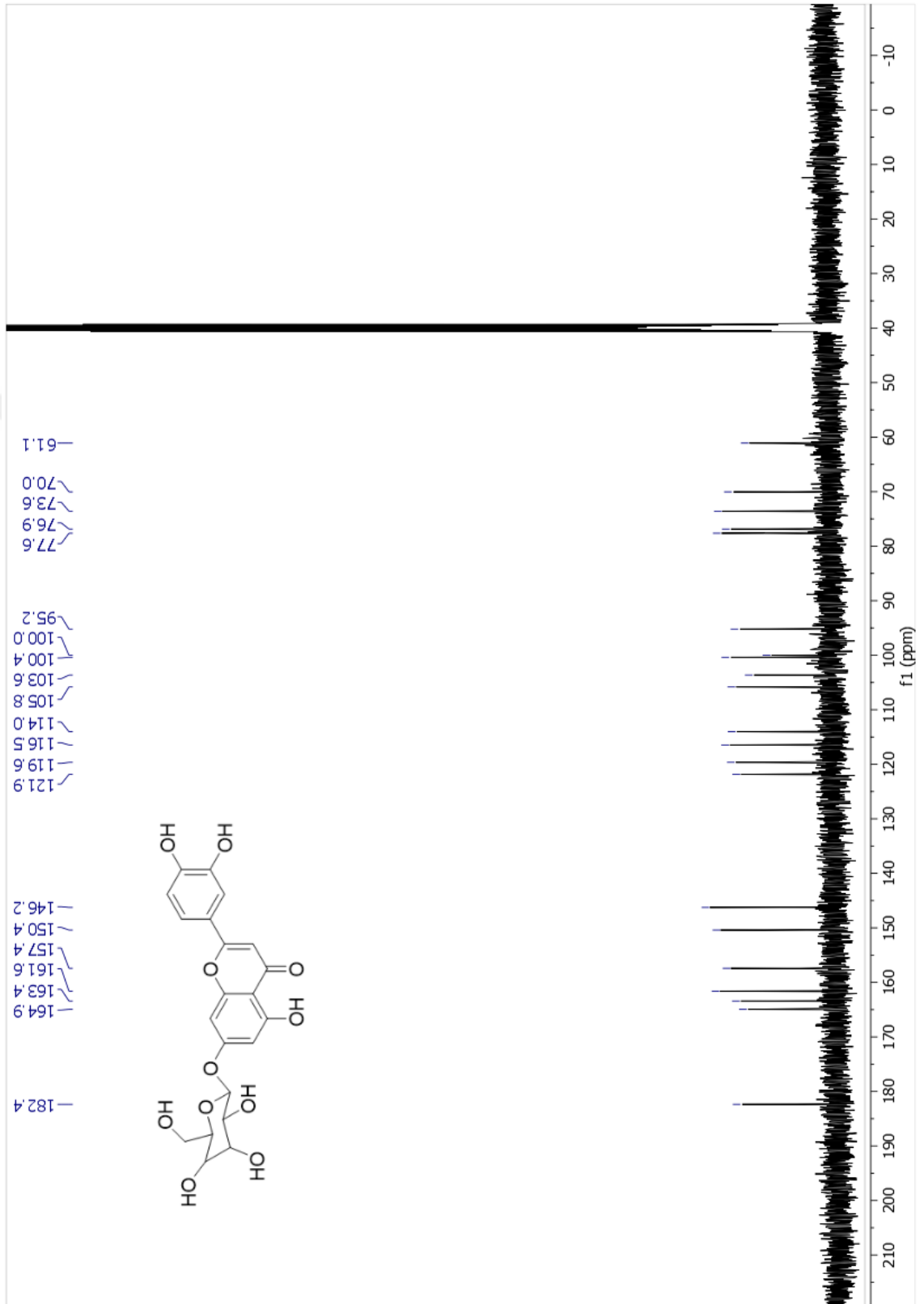
Ek-9 S4 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6)



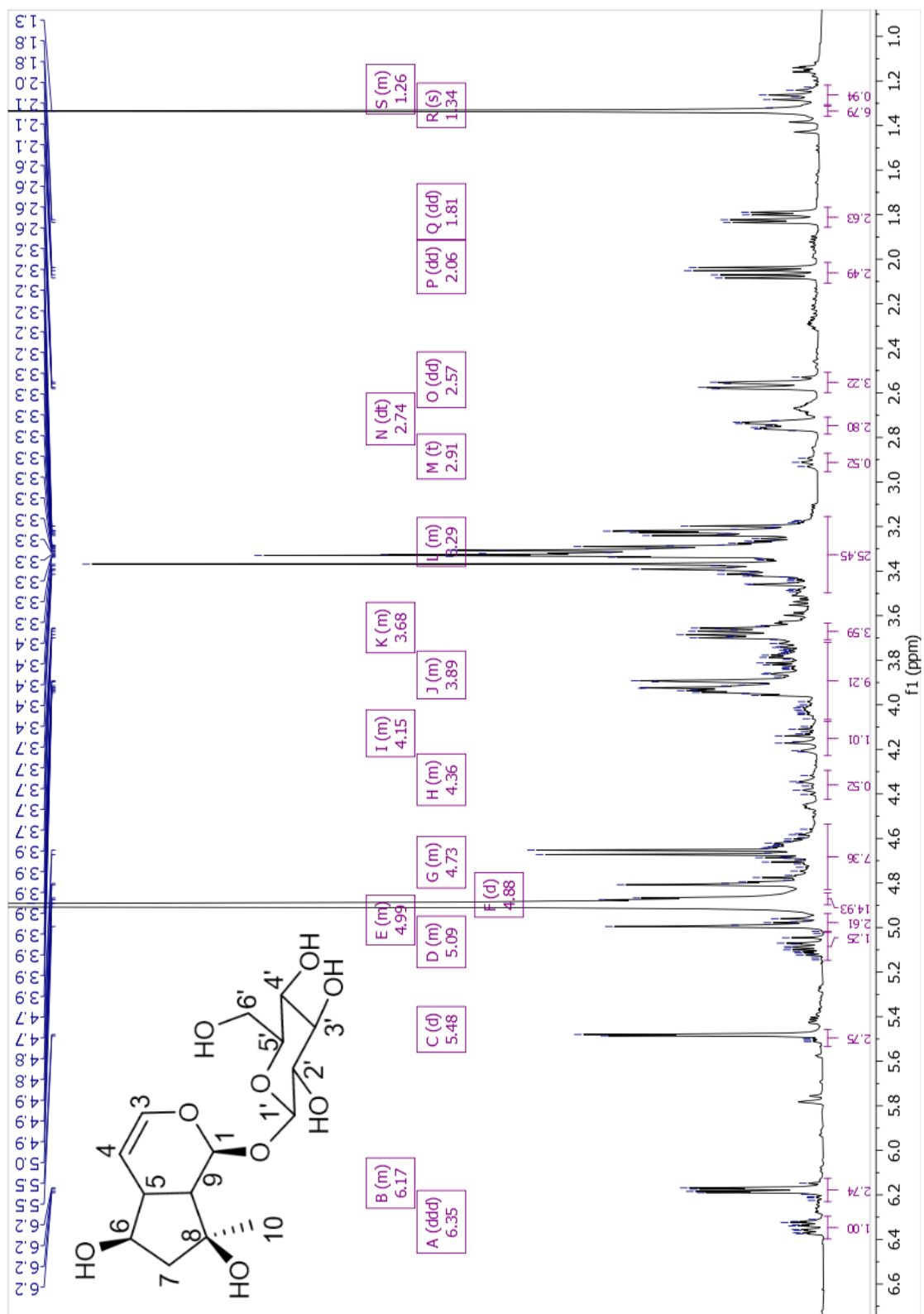
Ek-10 S5 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6)



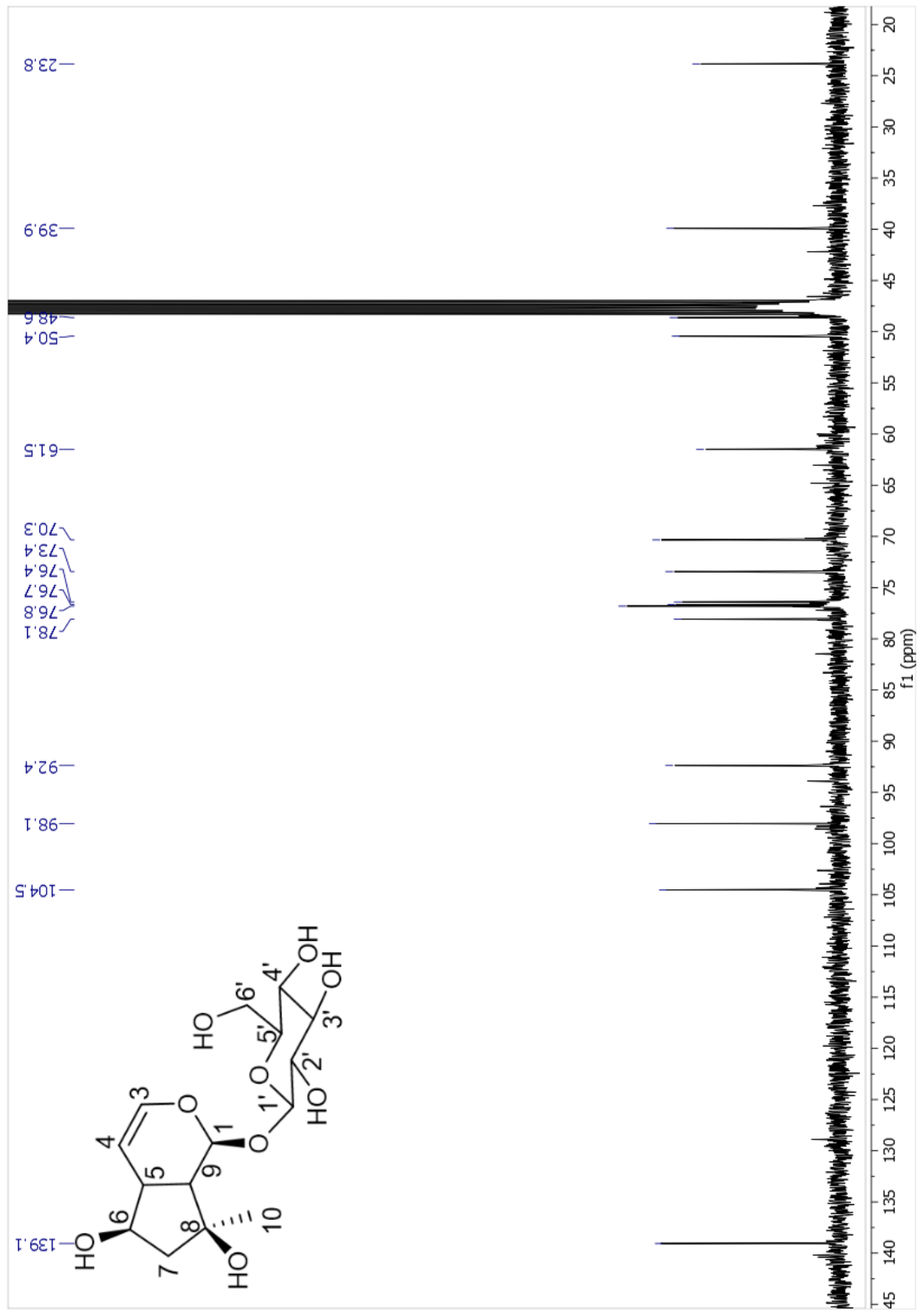
Ek-11 S5 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6)



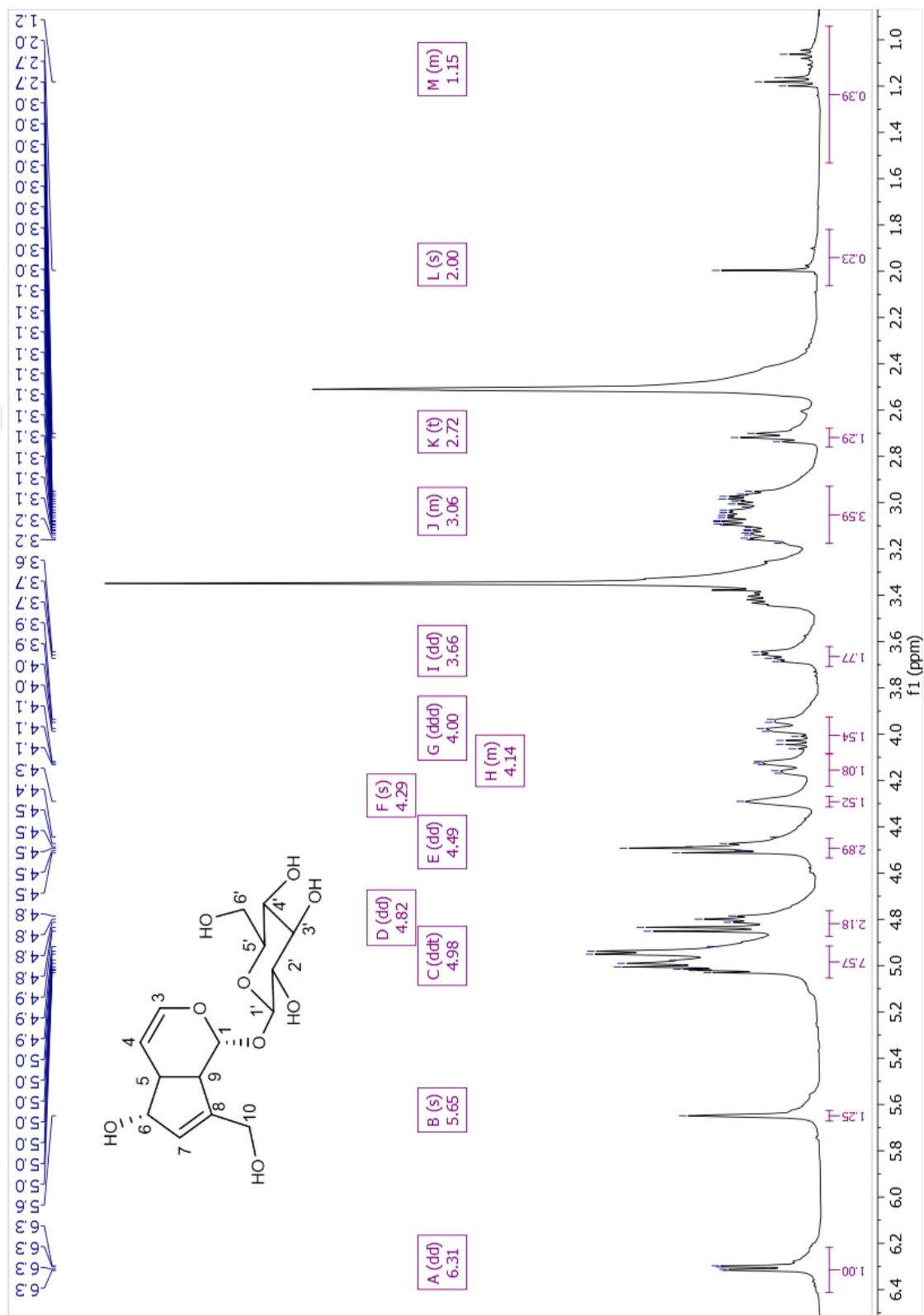
Ek-12 S6 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6)



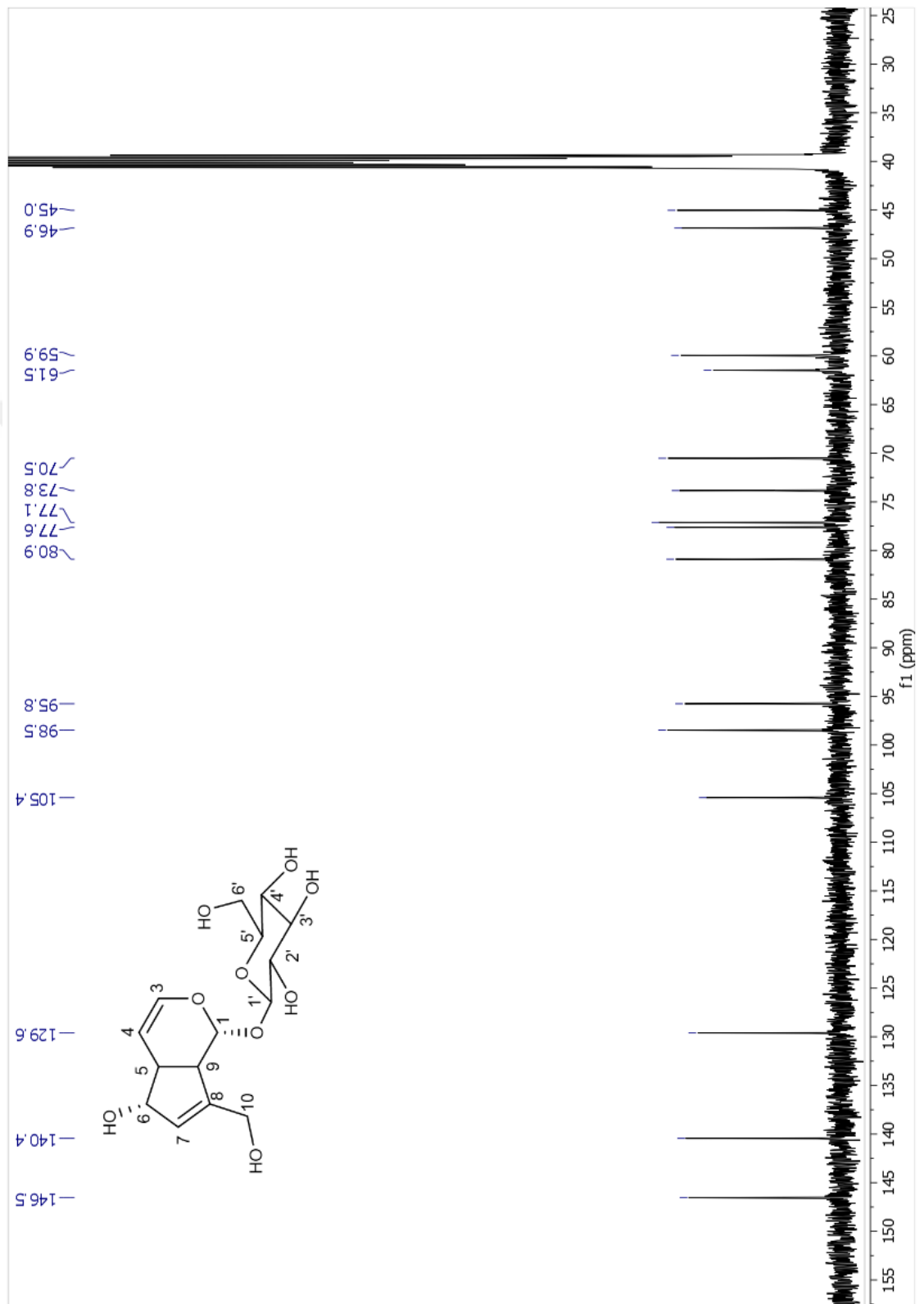
Ek-13 S6 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO-d_6)



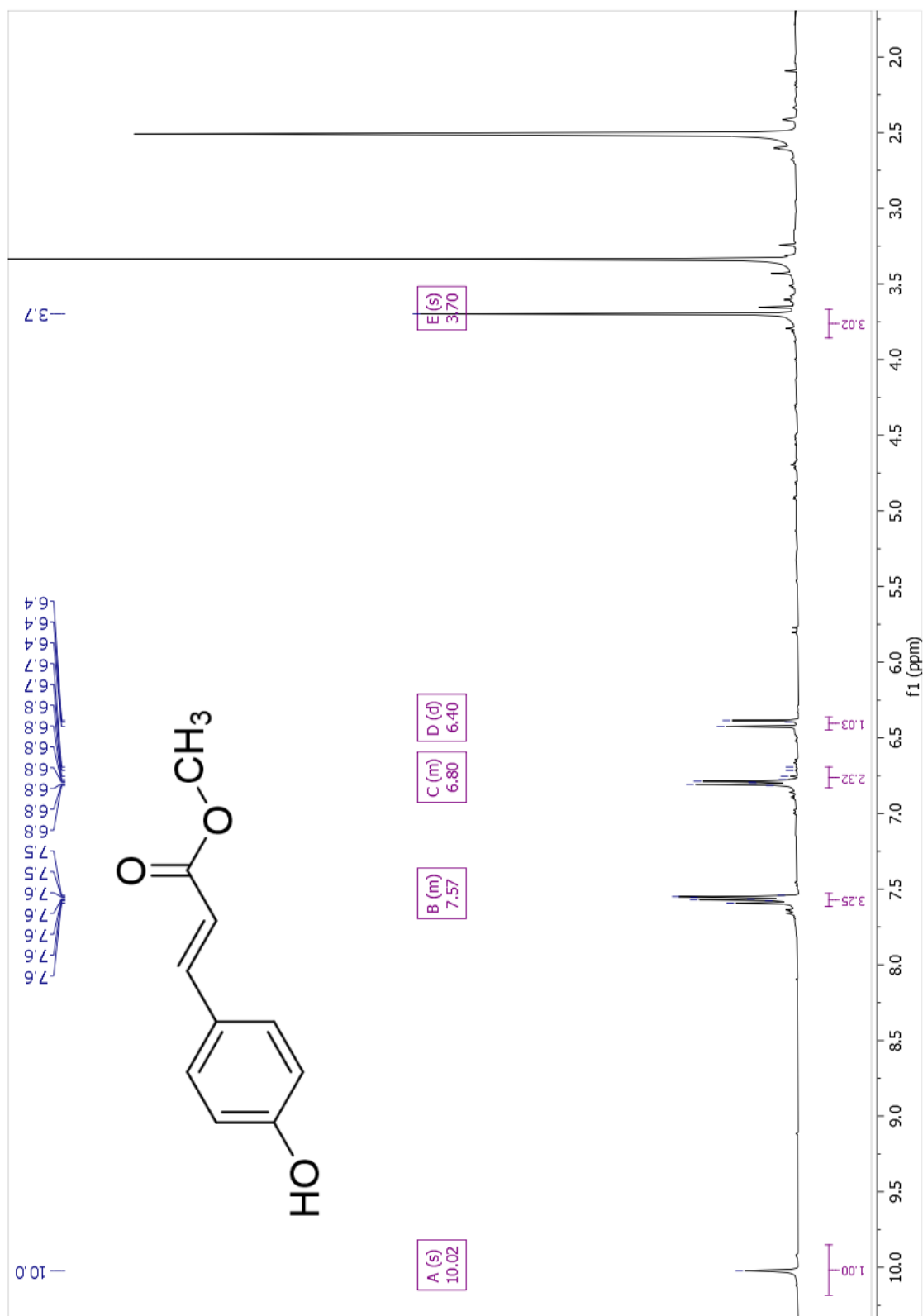
Ek-14 S7 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO-d_6)



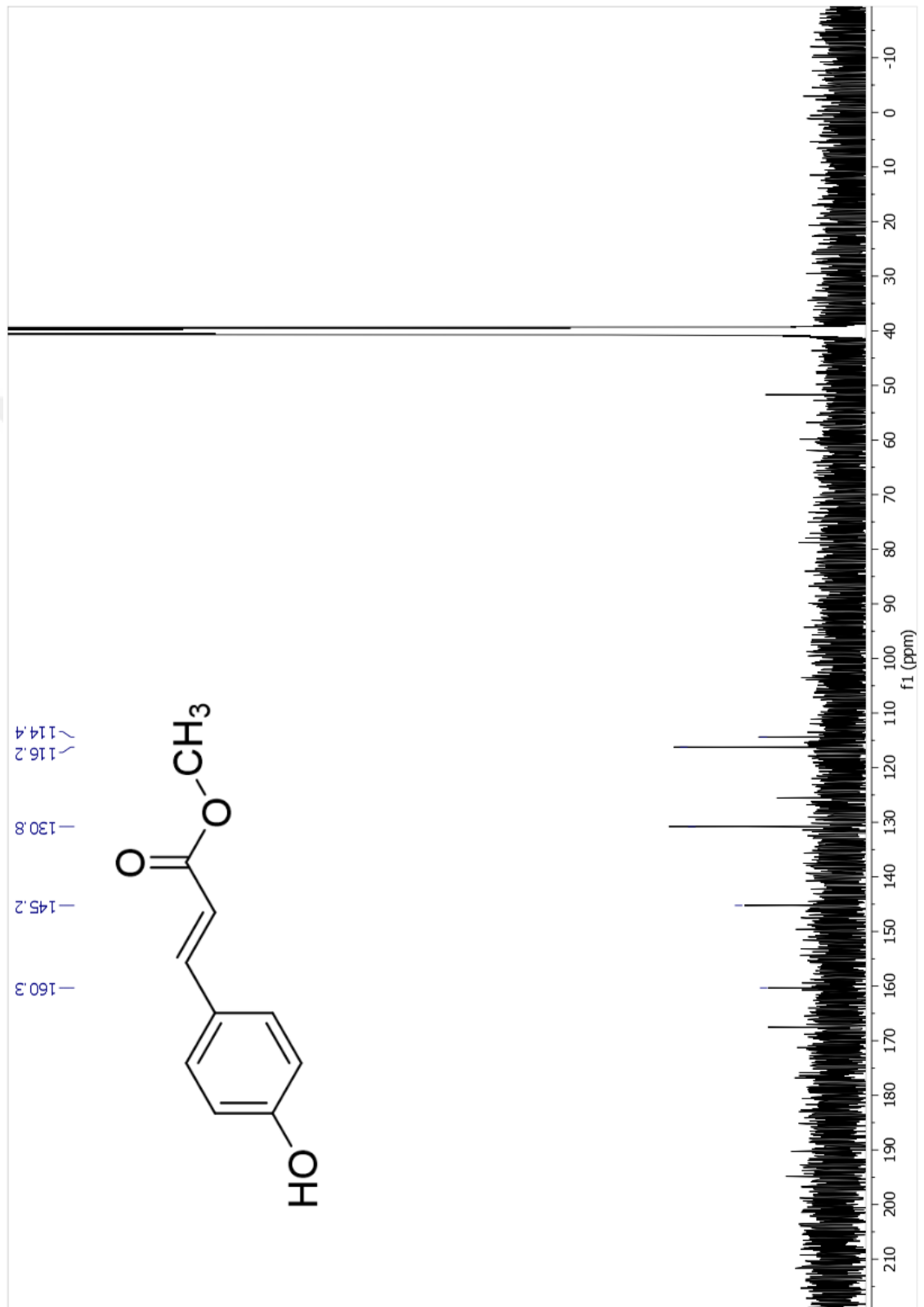
Ek-15 S7 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6)



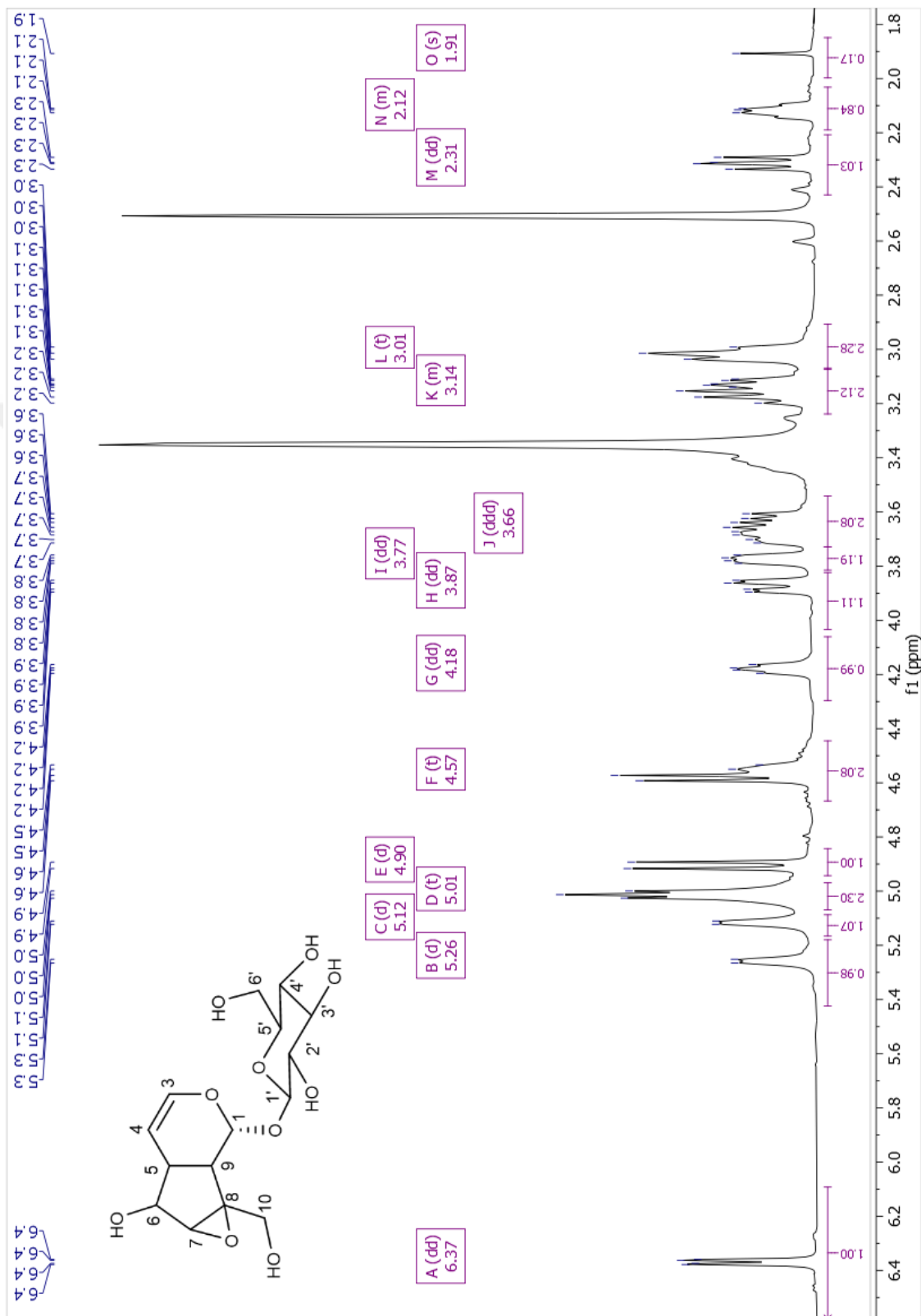
Ek-16 S8 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6)



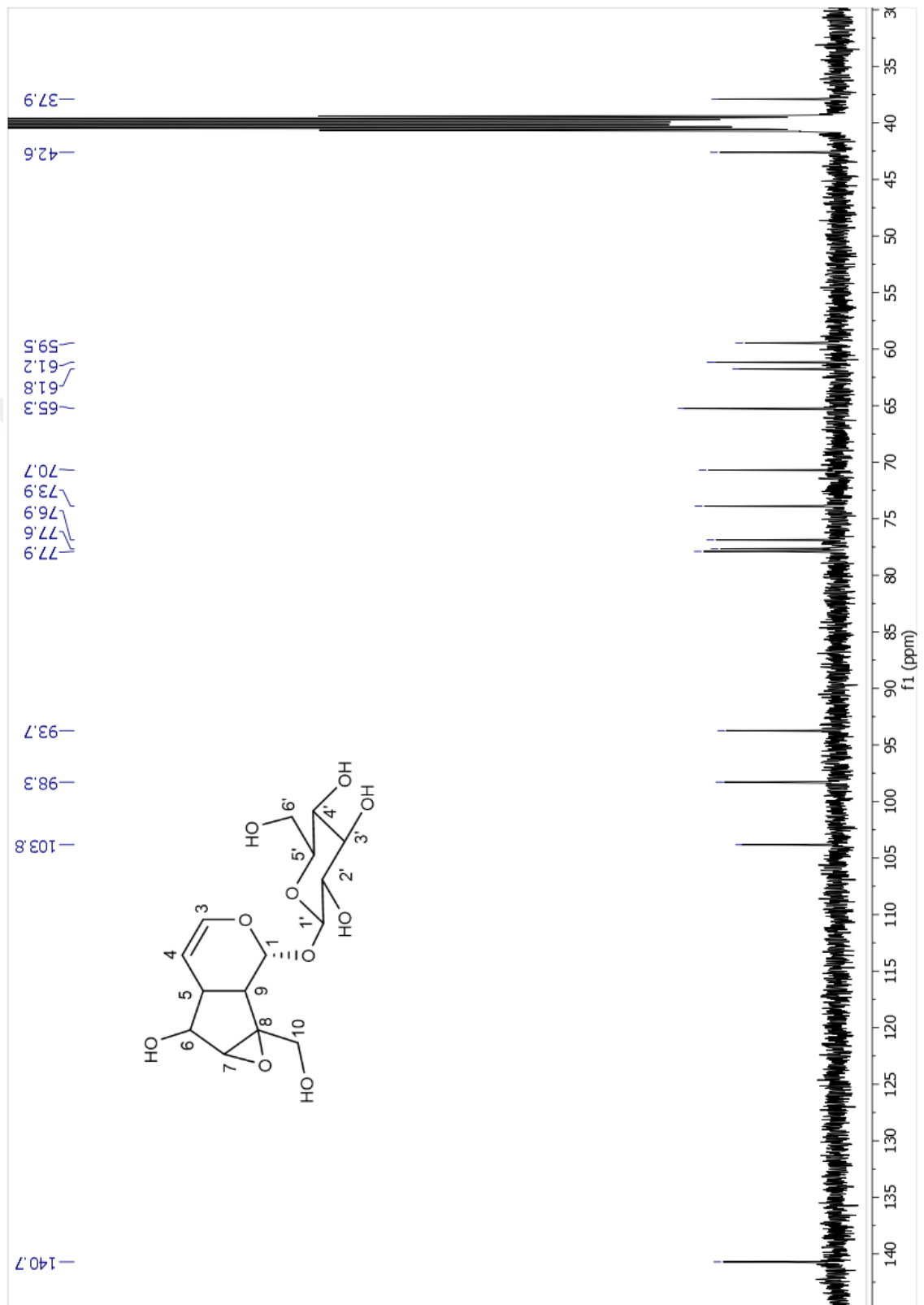
Ek-17 S8 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6)



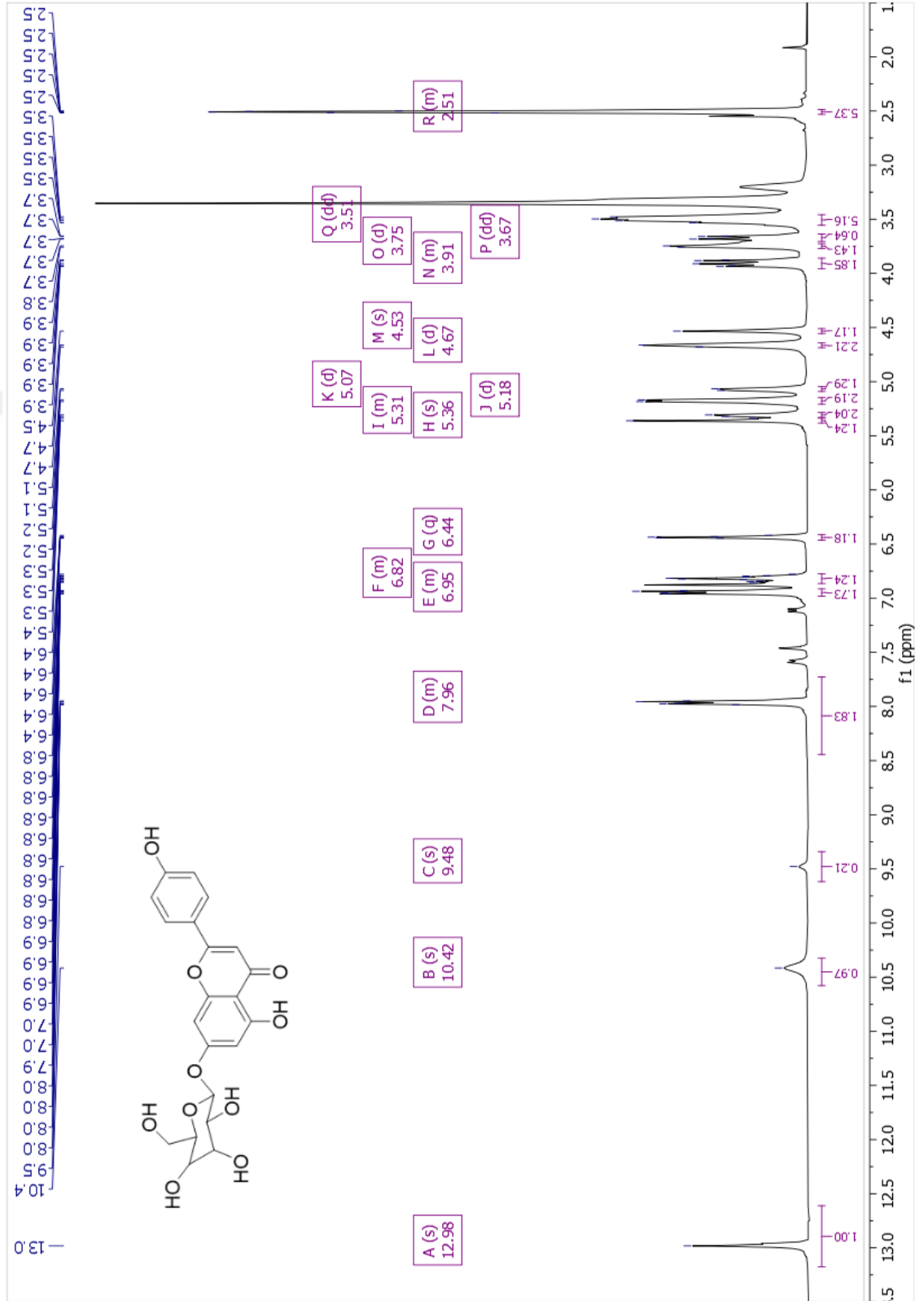
Ek-18 E1 bileşığının ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6)



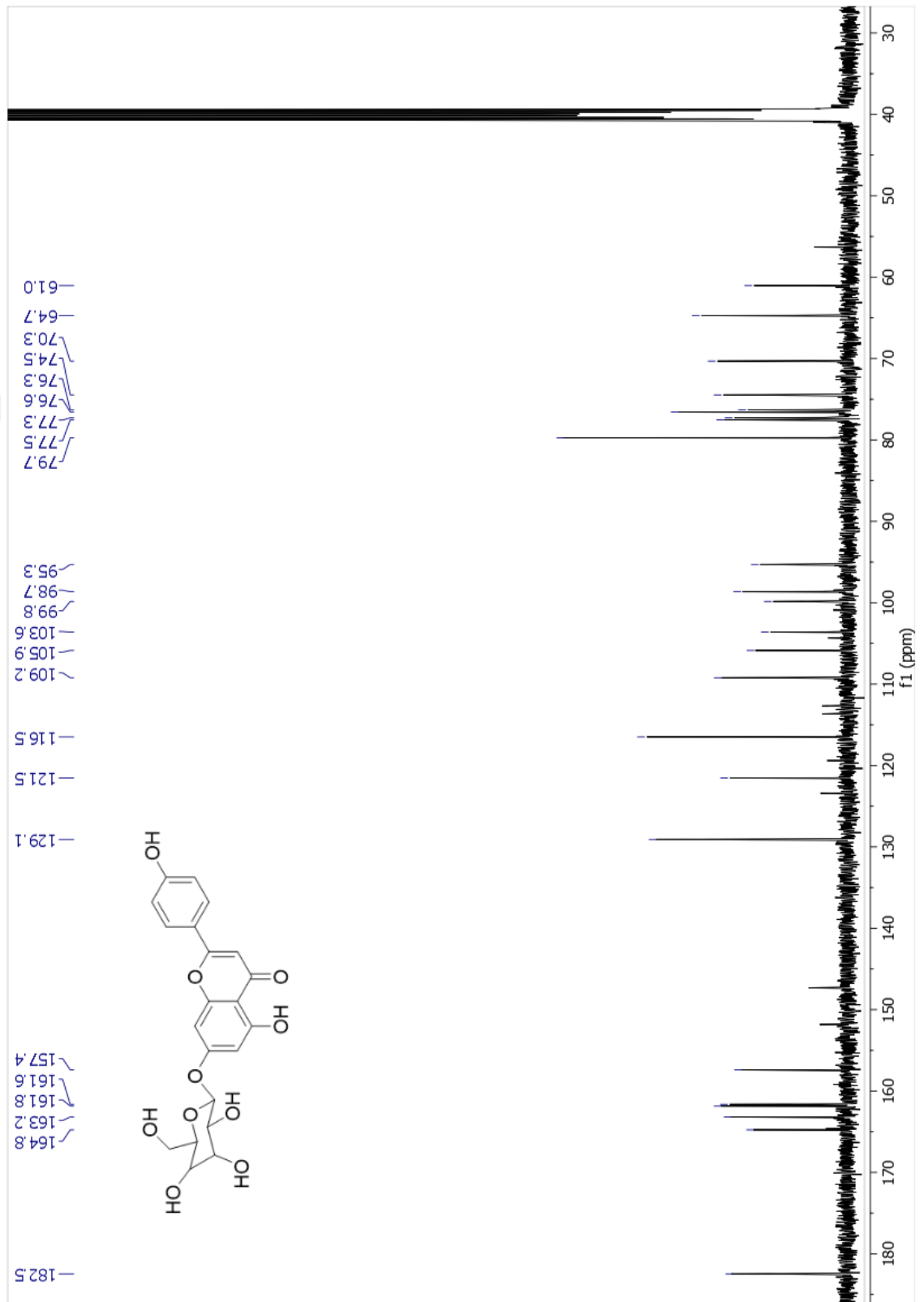
Ek-19 E1 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6)



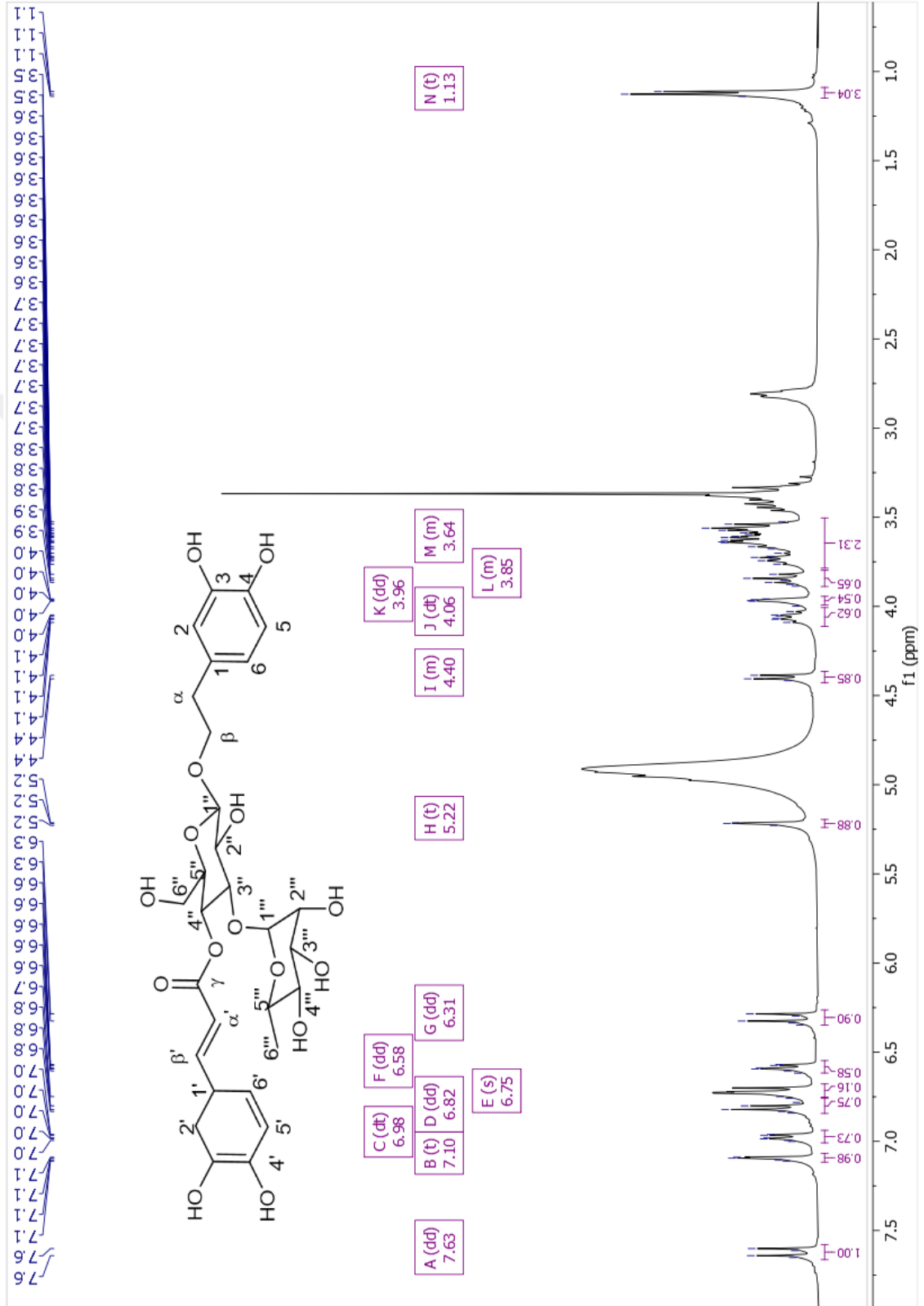
Ek-20 E2 bileşığının ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6)



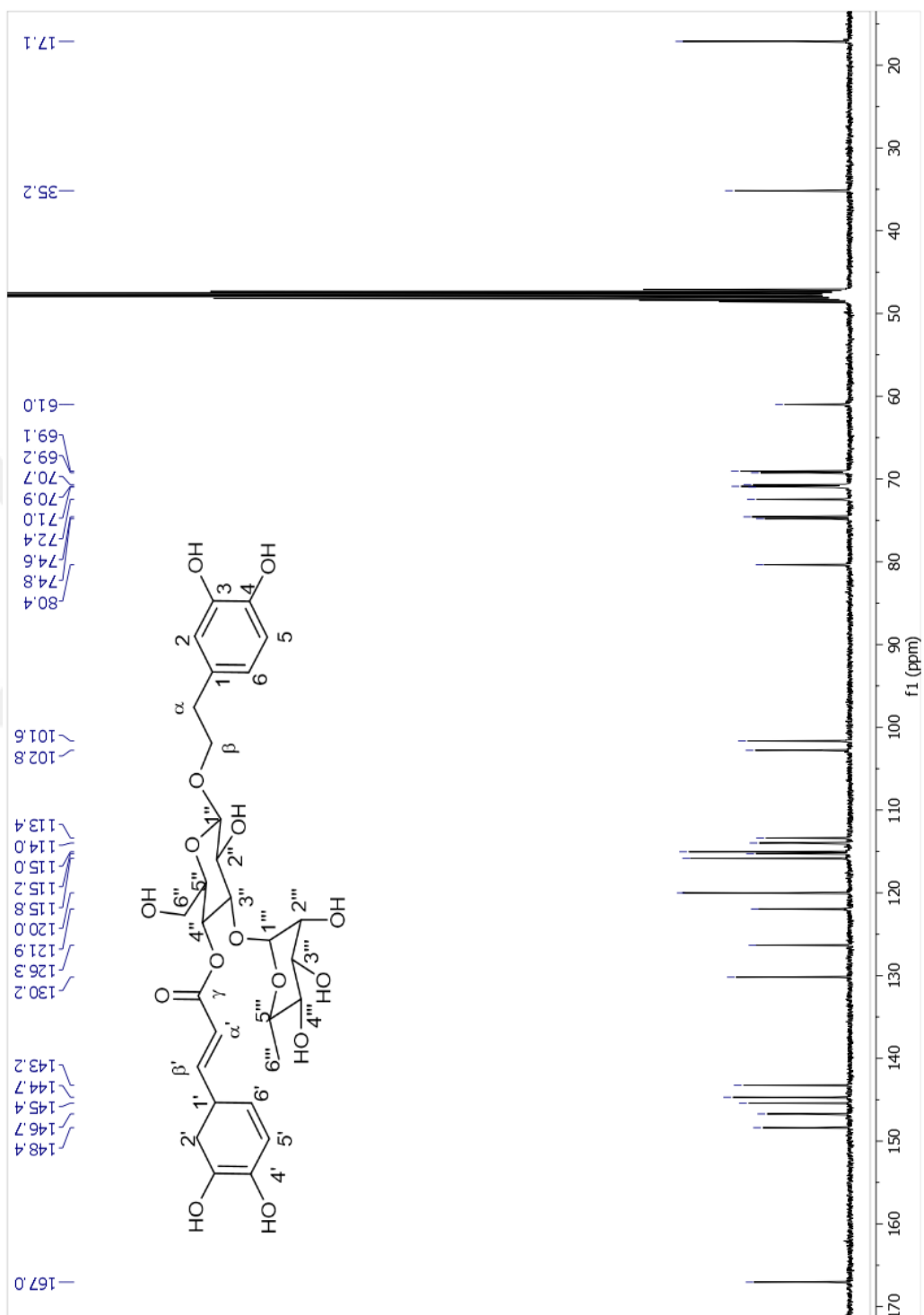
Ek-21 E2 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6)



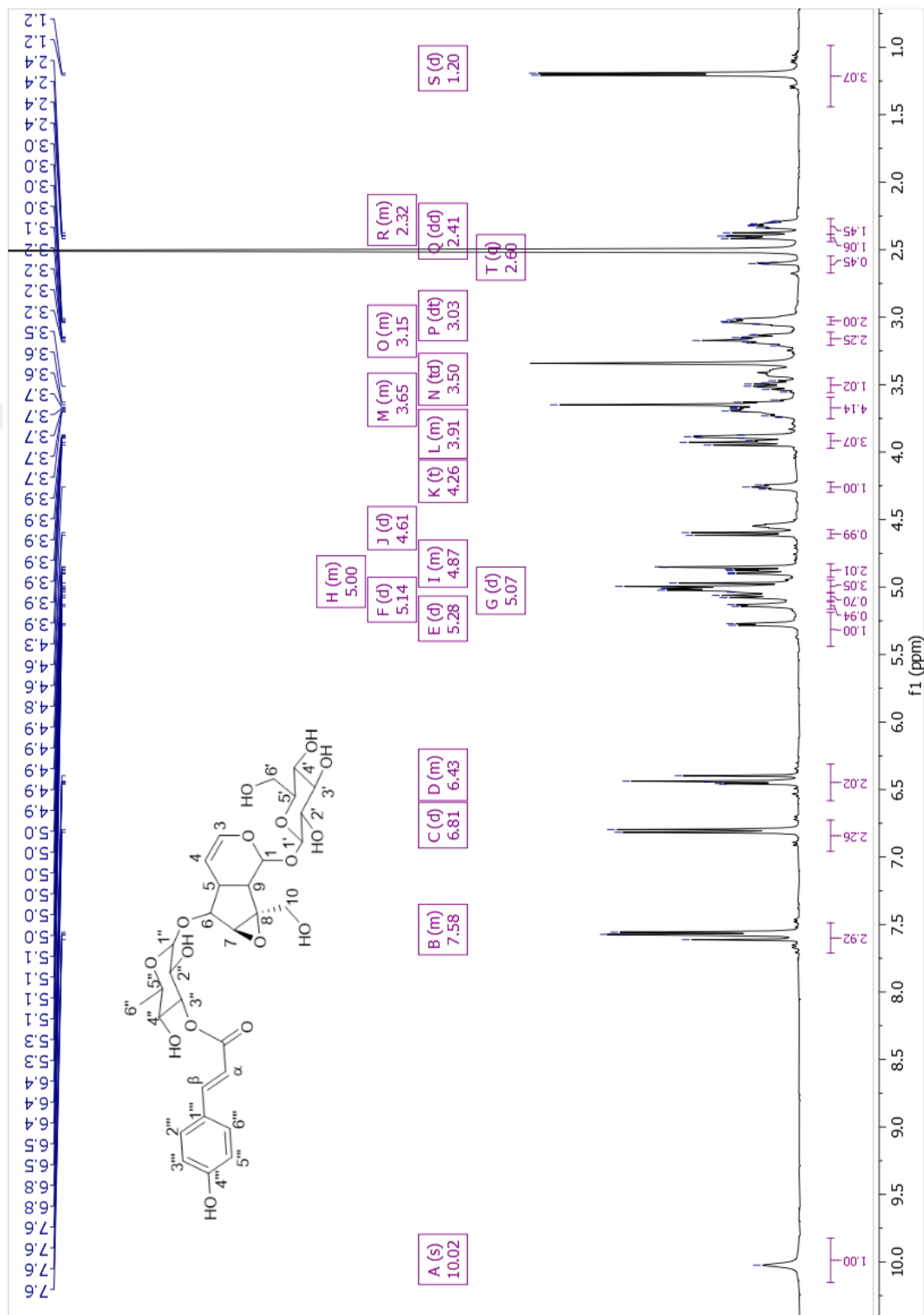
Ek-22 E3 bileşığının ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6)



Ek-23 E3 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6)



Ek-24 E5 bileşğinin ^1H NMR spektrumu (DMSO- d_6)



Ek-25 E5 bileşğinin ^{13}C NMR spektrumu (DMSO- d_6)

