

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOGNOZİ ANA BİLİM DALI

**ŞEKER HASTALIĞINA KARŞI HALK İLACI OLARAK KULLANILAN
JUNIPERUS TÜRLERİ ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

DOKTORA TEZİ

Uzm. Ecz. Nilüfer ORHAN

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Fatma ERGUN

ANKARA
Nisan 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOGNOZİ ANA BİLİM DALI

**ŞEKER HASTALIĞINA KARŞI HALK İLACI OLARAK KULLANILAN
JUNIPERUS TÜRLERİ ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

DOKTORA TEZİ

Uzm. Ecz. Nilüfer ORHAN

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Fatma ERGUN

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 02/2007-07 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Nisan 2011

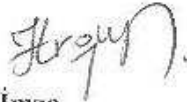
T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 01/04/2011



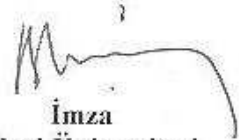
İmza
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı
Prof. Dr. Turhan BAYKAL



İmza
Gazi Üniversitesi
Prof. Dr. Fatma ERGUN



İmza
Yeditepe Üniversitesi
Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA



İmza
Gazi Üniversitesi
Prof. Dr. Bolkan ŞİMŞEK



İmza
Gazi Üniversitesi
Doç. Dr. Mustafa ASLAN

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Grafikler	vi
Resimler	vi
Şekiller	vi
Tablolar	viii
Semboller, Kısaltmalar	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 ETİMOLOJİ VE TARİHÇE	3
2.1.1. <i>Juniperus</i> Kelimesinin Etimolojisi	3
2.1.2. Ardıç Adının Etimolojisi	3
2.1.3. Tarihte Ardıçlar	4
2.1.4. <i>Juniperus</i> Türlerinin Ülkemizdeki Yerel Adları	8
2.2. BOTANİK BİLGİLER	9
2.2.1. <i>Juniperus</i> Cinsinin Taksonomik Yeri	9
2.2.2 Cupressaceae Familyası	9
2.2.3. <i>Juniperus</i> Cinsi	10
2.2.4. <i>Juniperus</i> Türlerinin Botanik Özellikleri	17
2.3. KULLANIM AMAÇLARI	33
2.3.1. Farmakope ve Kaynak Kitaplarda Belirtilen Kullanım Amaçları	33
2.3.2. Halk İlacı Olarak Kullanımı	34
2.3.3. Diğer Kullanım Amaçları	37
2.4. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI	38

2.4.1. <i>Juniperus</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Antidiyabetik Aktivite Çalışmaları	41
2.4.2. <i>J. oxycedrus</i> Üzerinde Yapılmış Biyolojik Aktivite Çalışmaları	44
2.5. KİMYASAL İÇERİK ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR	47
2.6. <i>Juniperus</i> TÜRLERİNİN TOKSİKOLOJİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ	66
2.7. DIABETES MELLITUS	69
2.7.1 Diyabetin Epidemiyolojisi, Maliyeti ve Ülkemizdeki Durum	70
2.7.2. Günümüzde Diyabet Tedavisi	72
2.7.3. Diabetes Mellitus ve Deneysel Diyabet Modelleri	79
3. GEREÇ ve YÖNTEM	81
3.1. MATERYAL	81
3.2. YÖNTEMLER	83
3.2.1. KİMYASAL ARAŞTIRMA YÖNTEMLERİ	83
3.2.1.1. Ekstraksiyon	83
3.2.1.2. Çözücü-Çözücü Ekstraksiyonu	85
3.2.1.3. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	88
3.2.1.4. Kolon Kromatografisi	88
3.2.1.5. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GK/KS)	101
3.2.1.6. Kütle Spektrometrisi	102
3.2.1.7. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektrometrisi	102
3.2.2. BİYOLOJİK AKTİVİTE ARAŞTIRMA YÖNTEMLERİ	103
3.3.2.1. Ham Ekstreler Üzerinde Yapılan Çalışmalar	103
3.3.2.2. Çözücü-Çözücü Ekstraksiyonu İle Elde Edilen Alt Ekstreler Üzerinde Yapılan Çalışmalar	108
3.3.2.3. Şikimik Asitin <i>In vivo</i> Etkilerinin Araştırılması	109
3.2.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER	114

4. BULGULAR	115
4.1. <i>Juniperus</i> Meyve ve Yapraklarından Hazırlanan Etanol Ekstrelerinin Antidiyabetik Etkilerinin İncelenmesi	116
4.2. Joso Meyve ve Yapraklarından Hazırlanan Sulu Ekstrelerin Antidiyabetik Etkilerinin İncelenmesi	119
4.3. Joso Meyve ve Yapraklarının Hazırlanan Etanol Ekstrelerinin Normoglisemik Sıçanlar Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi	121
4.4. Joso Meyve ve Yapraklarından Hazırlanan Etanol Ekstrelerinin Glukoz Hiperglisemik Sıçanlar Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi	122
4.5. Joso Meyve ve Yapraklarından Hazırlanan Etanol Ekstrelerinin Subakut Uygulama Sonucu Etkilerinin İncelenmesi	123
4.5.1. Antidiyabetik Etkilerin İncelenmesi	123
4.5.2. Vücut Ağırlıkları Üzerine Etkinin İncelenmesi	125
4.5.3. Lipit Peroksidasyon Üzerine Etkinin İncelenmesi	126
4.6. Joso Yapraklarından Hazırlanan Etanol Ekstresinden Elde Edilen Alt Ekstrelerin Etkilerinin İncelenmesi	127
4.7. Joso Meyvelerinden Hazırlanan Etanol Ekstresinden Elde Edilen Alt Ekstrelerin Antidiyabetik Etkilerinin İncelenmesi	133
4.8. Yapı Tayini	137
4.8.1. Madde 1: Şikimik Asit	137
4.8.2. Madde 2: Ferulik Asit 4-O-Glukozit	144
4.8.3. Madde 3: Oleuropeik Asit 8-O-Glikozit	150
4.9. Şikimik Asitin <i>In Vivo</i> Etkilerinin İncelenmesi	159
4.9.1. Şikimik Asitin Akut Antidiyabetik Etkisinin İncelenmesi	159
4.9.2. Şikimik Asitin Subakut Uygulamada Antidiyabetik Etkisinin İncelenmesi	160

4.9.3. Şikimik Asitin Plazmada İnsülin Seviyeleri Üzerinde Etkisinin İncelenmesi	161
4.9.4. Şikimik Asitin Subakut Uygulama Sonunda Antioksidan Etkisinin İncelenmesi	162
4.9.5. Şikimik Asitin Plazma Total Kolesterol ve Trigliserit Seviyeleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi	164
4.9.6. Şikimik Asitin Plazma Karaciğer Enzim Seviyeleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi	165
5. TARTIŞMA	166
6. SONUÇ	187
7. ÖZET	188
8. SUMMARY	190
9. KAYNAKLAR	192
10. EKLER	207
11. ÖZGEÇMİŞ	209

Grafikler:

Grafik 1. <i>Juniperus</i> türlerinin yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin antidiyabetik etkileri	117
Grafik 2. <i>Juniperus</i> türlerinin meyvelerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin antidiyabetik etkileri	119

Resimler:

Resim 1. <i>Juniperus</i> habitatı-I (Işık Dağı, Ankara)	11
Resim 2. <i>Juniperus</i> habitatı-II (Koçboğan Mevkii, Yozgat-Sivas Arası)	15
Resim 3. <i>Juniperus</i> habitatı-III (Alaçatı-Çeşme arası, İzmir)	15
Resim 4. <i>J. drupacea</i> yaprak ve meyveler, meyve kesitinde tohumlar	18
Resim 5. <i>J. communis</i> var. <i>saxatilis</i>	20
Resim 6. <i>J. communis</i> var. <i>communis</i> yaprak ve meyvesi, var. <i>saxatilis</i> yaprak ve meyvesi	20
Resim 7. <i>J. oxycedrus</i> subsp. <i>macrocarpa</i> olgun meyve ve yaprakları, subsp. <i>oxycedrus</i> olgun meyve ve yaprakları, subsp. <i>oxycedrus</i> olgunlaşmamış meyveler	26
Resim 8. <i>J. phoeniceae</i> yaprak ve olgun meyveleri, <i>J. sabina</i> yaprak ve olgunlaşmamış meyveleri	27
Resim 9. <i>J. excelsa</i> olgun meyve ve yaprakları, <i>J. foetidissima</i> yaprakları, <i>J. foetidissima</i> olgunlaşmamış meyveleri	30

Şekiller:

Şekil 1. Tercüme-i Cedide Fil Havasi'l Müfrede'de <i>Juniperus sabina</i>	7
Şekil 2. <i>Juniperus</i> türlerinin Dünya'daki yayılışı	16
Şekil 3. <i>Juniperus</i> türlerinin ülkemizdeki yayılışı-I	22
Şekil 4. <i>Juniperus</i> türlerinin ülkemizdeki yayılışı-II	32

Şekil 5. <i>J. oxycedrus</i> ve <i>deltoides</i> yaprak ve yaprak kesiti	32
Şekil 6. Glipizit	76
Şekil 7. Joso yaprak etanol ekstresinin çözücü-çözücü ekstraksiyonu ile alt ekstrelerine ayrılması	86
Şekil 8. Joso meyve etanol ekstresinin çözücü-çözücü ekstraksiyonu ile alt ekstrelerine ayrılması	87
Şekil 9. Joso Meyve n-BuOH ekstresi C fraksiyonundan madde izolasyonu	98
Şekil 10. Sandviç ELISA tekniğinin şematik gösterimi	112
Şekil 11. Joso yaprak etanol ekstresinden elde edilen hekzan alt ekstresinin toplam iyon kromatogramı	131
Şekil 12. Joso yaprak etanol ekstresinden hazırlanan hekzan alt ekstresinin GK-KS analizinde görülen ana maddenin kütle spektrumu	131
Şekil 13. Şikimik asitin (Madde 1'in) kütle spektrumu ve LC-TOFMS kromatogramları	140
Şekil 14. Şikimik asit standardının LC-TOFMS kromatogramları	141
Şekil 15. Şikimik asit standardının kütle spektrumu	141
Şekil 16. Şikimik asitin (Madde 1'in) ^1H spektrumu	142
Şekil 17. Şikimik asitin (Madde 1'in) ^{13}C spektrumu	143
Şekil 18. Ferulik asit 4-O-glikozitinin (Madde 2'nin) kütle spektrumu	148
Şekil 19. Ferulik asit 4-O-glikozitinin (Madde 2'nin) ^1H NMR spektrumu	149
Şekil 20. Oleuropeik asit 8-O-glikozitinin (Madde 3'ün) kütle spektrumu	154
Şekil 21. Oleuropeik asit glikozitinin (Madde 3'ün) ^1H NMR spektrumu	155
Şekil 22. Oleuropeik asit glikozitinin (Madde 3'ün) ^{13}C NMR spektrumu	156
Şekil 23. Oleuropeik asit glikozitinin (Madde 3'ün) 2D ^1H - ^1H homonükleer korelasyonlu NMR spektrumu (COSY)	157

Şekil 24. Oleuropeik asit glikozitinin (Madde 3'ün) 2D ^1H , ^{13}C -heteronükleer korelasyonlu NMR spektrumu (HMBC)	158
Şekil 25. Hipergliseminin kontrolünde muhtemel yaklaşımlar	185

Tablolar:

Tablo 1. <i>Juniperus</i> türleri ile yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları	39
Tablo 2. <i>Juniperus</i> türlerinden izole edilen bileşikler	51
Tablo 3. <i>Juniperus</i> türlerinden hazırlanan sulu ekstrelerin yüzde verimleri	83
Tablo 4. <i>Juniperus</i> türlerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin yüzde verimleri	84
Tablo 5. <i>Juniperus</i> türlerinin yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin antidiyabetik etkileri	116
Tablo 6. <i>Juniperus</i> türlerinin meyvelerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin antidiyabetik etkileri	118
Tablo 7. <i>Juniperus oxycedrus</i> subsp. <i>oxycedrus</i> meyve ve yapraklarından hazırlanan sulu ekstrelerin antidiyabetik etkileri	120
Tablo 8. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan sulu ve etanollü ekstrelerin antidiyabetik etkilerinin karşılaştırılması	120
Tablo 9. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin, normoglisemik sıçanların kan glukoz seviyeleri üzerindeki etkileri	121
Tablo 10. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin glukoz hiperglisemik hayvanların kan glukoz seviyeleri üzerindeki etkileri	123

Tablo 11. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstralarının subakut uygulamada, diyabetik hayvanların kan glukoz seviyeleri üzerindeki etkileri	124
Tablo 12. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstralarının subakut uygulamada, diyabetik hayvanların vücut ağırlıkları üzerine etkileri	125
Tablo 13. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstralarının diyabetik sıçanlarda subakut uygulama sonrası malondialdehit seviyeleri üzerine etkisi	126
Tablo 14. Joso yapraklarından hazırlanan etanol ekstresinden elde edilen alt ekstraların diyabetik hayvanlarda kan glikoz seviyeleri üzerine etkileri	128
Tablo 15. Joso yaprak etanol ekstresinden elde edilen hekzan alt ekstresinin silika kolon fraksiyonlarının diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri	129
Tablo 16. Joso yaprak ekstresi hekzan alt ekstresinden elde edilen F fraksiyonunun alt fraksiyonlarının diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri	130
Tablo 17. Joso yaprak etanol ekstresinden hazırlanan hekzan alt ekstresi ve antidiyabetik etkili F 1-2, F 7-8 kodlu alt fraksiyonların GK-KS analizi sonuçları	132
Tablo 18. Joso meyvelerinden hazırlanan etanol ekstresinden elde edilen alt ekstraların diyabetik hayvanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri	133
Tablo 19. Joso meyve etanol ekstresinden elde edilen n-butanol alt ekstresinin kolon fraksiyonlarının diyabetik hayvanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri	135

Tablo 20. Joso meyve etanol ekstresi n-butanol alt ekstresinden elde edilen C fraksiyonunun alt fraksiyonlarının diyabetik hayvanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri	136
Tablo 21. Şikimik asit (Madde 1'in) ^1H ve ^{13}C NMR spektral değerleri	139
Tablo 22. Ferulik asit 4-O-glikozitinin (Madde 2'nin) ^1H NMR spektral değerleri	146
Tablo 23. Oleuropeik asit 8-O-glikozitinin (Madde 3'ün) ^1H ve ^{13}C NMR spektral değerleri	152
Tablo 24. (-)-Oleuropeik asit 8-O- β -D-glikopiranozit'in ^1H ve ^{13}C NMR spektral değerleri	153
Tablo 25. Şikimik asitin diyabetik hayvanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkisi	159
Tablo 26. Şikimik asitin subakut uygulamada kan glukoz seviyeleri ve vücut ağırlığı üzerine etkisi	160
Tablo 27. Şikimik asitin subakut uygulama sonunda, diyabetik sıçanların plazma insülin seviyeleri üzerine etkisi	161
Tablo 28. Şikimik asitin subakut uygulama sonunda diyabetik sıçanların dokularındaki malondialdehit seviyeleri üzerine etkisi	162
Tablo 29. Şikimik asitin subakut uygulama sonunda diyabetik sıçanların dokularındaki glutatyon seviyeleri üzerine etkisi	163
Tablo 30. Şikimik asitin subakut uygulama sonunda diyabetik sıçanların lipid parametreleri üzerine etkisi	164
Tablo 31. Şikimik asitin subakut uygulama sonunda diyabetik sıçanların karaciğer enzim seviyeleri üzerine etkisi	165
Tablo 32. Juniperus türlerinin yapraklarından hazırlanan etanol ekstratlarının STZ diyabetik sıçanlardaki antidiyabetik etkileri	168

Tablo 33. Juniperus türlerinin meyvelerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin STZ diyabetik sıçanlardaki antidiyabetik etkileri	169
Tablo 34. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin normoglisemik, glukoz hiperglisemik ve diyabetik sıçanların kan glukoz seviyeleri üzerindeki etkileri	170
Tablo 35. Joso yapraklarından hazırlanan etanol ekstresi ve Fraksiyonlarının antidiyabetik etkileri	172
Tablo 36. GK-KS analizi sonuçlarına göre F1-2 ve F7-8 alt fraksiyonlarının içerikleri	174
Tablo 37. Joso meyvelerinden hazırlanan etanol ekstresi ve fraksiyonlarının antidiyabetik etkileri	178

Semboller, Kısaltmalar:

¹H NMR: (Proton **N**uclear **M**agnetic **R**esonance Spectra) Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektrumu

4-AAP: (**4**-Amino**ant**ipyrine) 4-Aminoantipirin

¹³C-NMR: (Carbon **N**uclear **M**agnetic **R**esonance Spectra) Karbon Nükleer Manyetik Rezonans Spektrumu

ADHP: (10-Acetyl-3,7-Di**h**ydroxyphenoxazine)
10-Asetil-3,7-Dihidroksifenoksazin

AEF: **A**nkara Üniversitesi **E**czacılık **F**akültesi Herbariumu

ALP: (**A**lkaline **P**hosphatase) Alkalen Fosfataz

ALT: (**A**lanine Aminotransferase) Alanin aminotransferaz

AST: (**A**spartate **T**ransaminase) Aspartat transaminaz

BAYF: **B**iyolojik **A**ktivite İle **Y**önlendirilen **F**raksiyonlama

CMC: (**C**arboxymethyl **C**ellulose) Karboksimetil Selüloz

COSY: (**C**orrelation **S**pectroscopy) Korelasyon Spektroskopisi

D₂O: (**D**euterium **O**xide) Dötoryum Oksit

DPP-IV: (**D**ipeptidyl **P**eptidase-**IV**) Dipeptidil Peptidaz IV

DTNB: (5,5'-**D**ithiobis-(2-**N**itrobenzoic Acid)) 5,5'-Ditiobis-2-Nitrobenzoik Asit

ELISA: (**E**ntzyme-**L**inked **I**mmunosorbent **A**ssay) Enzim İlintili İmmün Test

EMA: (The **E**uropean **M**edicines **A**gency) Avrupa İlaç Ajansı

ESCAP: (**E**uropean **S**cientific **C**ooperative on **P**hytotherapy) Avrupa Bilimsel Fitoterapi Kooperatifi

ESPA: (N-**E**thyl-N-(3-**S**ulfopropyl)-m-**A**nisidine)
N-Etil-N-(3-Sülfopropil)-m-Anisidin

FDA: (**F**ood and **D**rug **A**dministration) Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi

g: (**G**ravity) Gravite

GAZİ: **G**azi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariumu

GIP: (**G**astric **I**nhibitory **P**olypeptide) Gastrik İnhibitör Polipeptid

GK/KS: (**G**as Chromatography/**M**ass **S**pectrometry) Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi

GLP-1: (**G**lucagon-**L**ike **P**eptide **1**) Glukagon Benzeri Polipeptid-1

GLUT 2: (**G**lucose **T**ransporter **T**ype **2**) Glikoz Taşıma Sistemi Tip 2
GLUT 4: (**G**lucose **T**ransporter **T**ype **4**) Glikoz Taşıma Sistemi Tip 4
GOT: (**G**lutamate **O**xaloacetate **T**ransaminase) Glutamat-Okzaloasetat
Transaminaz
GPT: (**G**lutamate **P**yruvate **T**ransaminase) Glutamat-Pirüvat Transferaz
GSH: (Glutathione) Glutasyon
HbA1c: (**H**emoglobin **A1c**), Glikozillenmiş Hemoglobin
HDL: (**H**igh **D**ensity **L**ipoprotein) Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HMBC: (**H**eteronuclear **M**ultiple **B**ond **C**oherence) Heteronükleer Çoklu Bağ
Korelasyonu
IC₅₀: (The Half Maximal Inhibitory **C**oncentration) %50 İnhibisyon Sağlayan
Konsantrasyon
IFCC: (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)
Uluslar Arası Klinik Kimya ve Laboratuvarlar Tıbbi Federasyonu
ISTF: **İ**stanbul Üniversitesi **F**en Fakültesi Herbariumu
İTK: **İ**nçe **T**abaka **K**romatografisi
Jcvc: *Juniperus communis var. communis*
Joso: *Juniperus oxycedrus subsp. oxycedrus*
Jf: *Juniperus foetidissima*
Js: *Juniperus sabina*
LC-MS: (**L**iquid **C**hromatography-**M**ass **S**pectrometry) Sıvı Kromatografisi-Kütle
Spektrometrisi
LC-TOF MS: (**L**iquid **C**hromatography-**T**ime **o**f **F**light **M**ass **S**pectrometry) Sıvı
Kromatografisi-Uçuş Zamanı Kütle Spektrometrisi
LD: (**L**ethal **D**ose) Letal Doz, Öldürücü Doz
LDL: (**L**ow **D**ensity **L**ipoprotein) Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LPO: (**L**ipid **P**eroxidation) Lipit Peroksidasyon
MDA: (**M**alondialdehyde) Malondialdehit
MS: (**M**ass **S**pectrometry) Kütle Spektrometrisi
NAD: (**N**icotinamide **A**denine **D**inucleotide) Nikotinamit Adenin Dinükleotit
NG: (**N**ormoglycaemic) Normoglisemik

NMR: (**N**uclear **M**agnetic **R**esonans) Nükleer Manyetik Rezonans
NPH: (**N**eutral **P**rotamine **H**agedorn) Nötral Protamin Hagedorn
OAD: (**O**ral **A**ntidiabetics) Oral Antidiyabetikler
OGTT: (**O**ral **G**lucose **T**olerance **T**est) Oral Glukoz Tolerans Testi
PDR: (**P**hysicians' **D**esk **R**eference) Doktorların Başucu Kitabı
PGE₂: **P**rostoglandin **E**₂
PPAR-γ: (**P**eroxisome **P**roliferator-**A**ctivated **R**eceptor-γ) Peroksizom
Proliferator-Aktive Reseptör-γ
RRI: (**R**elative **R**etention **I**ndice) Bağlı Tutulma İndisi
RAPD: (**R**andom **A**mplified **P**olymorphic **D**N A) Rastgele Yükseltgenmiş
Polimorfik DNA
RP: (**R**everse **P**hase) Ters Faz
SDS: (**S**odium **D**odecyl **S**ulfate) Sodyum Dodesil Sülfat
STZ: (**S**treptozotocin) Streptozotosin
SÜ: (**S**ulfonylureas) Sülfonilüre Türevi Oral Antidiyabetikler
T1DM: (**T**ype **1** **D**iabetes **m**ellitus) Tip 1 Diabetes mellitus
T2DM: (**T**ype **2** **D**iabetes **m**ellitus) Tip 2 Diabetes mellitus
TBA: (**T**hiobarbituric **A**cid) Tiyobarbitürik Asit
TCA: (**T**richloroacetic **A**cid) Trikloroasetik Asit
TG: (**T**riglycerides) Trigliserit
TK: (**T**otal **C**holesterol) Total Kolesterol
VLDL: (**V**ery **L**ow **D**ensity **L**ipoprotein) Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

1.GİRİŞ

Gymnospermae'den Cupressaceae familyasında, tüm Dünya'da yayılış gösteren 30 cins ve 140 kadar tür bulunmaktadır. Familya, ülkemizde geniş ormanlar oluşturan *Cupressus* ve *Juniperus* cinsleri ile temsil edilmektedir. *Juniperus* türlerinden *Juniperus communis*, *drupacea*, *deltoides*, *excelsa*, *foetidissima*, *oblonga*, *oxycedrus*, *phoenicea* ve *sabina* ülkemizde doğal olarak yayılış göstermektedir ^{1,2}.

Günümüzde *Juniperus* türlerinin meyveleri, dalları, yaprakları ve bu türlerden elde edilen uçucu yağlar, katranlar; kozmetolojide ve halk ilâcı olarak tedavide çok çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda *Juniperus* türlerinin birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu kanıtlanmıştır ³⁻⁷.

Ülkemizde yapılan halk ilâcı saha çalışmalarında halkın antidiyabetik amaçla kullandığı birçok bitki saptanmıştır. Halk ilâcı olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın bir şekilde kullanımı olan ardıç türlerinden *J. communis*, *oxycedrus*, *foetidissima* ve *sabina*'nın birçok bölgede kan şekerini düşürücü olarak da kullanıldığı görülmüştür ⁸⁻¹². Ancak yaptığımız literatür taramalarında bu türlerden sadece *J. communis* ham ekstrelerinin antidiyabetik aktiviteleri üzerine yapılmış *in vivo* çalışmaların bulunduğu görülmüştür ^{13,14}.

Bu araştırmada; gerek ülkemizde gerekse Dünya çapında halk ilâcı olarak kan şekerini düşürücü amaçla kullanılan *J. communis*, *oxycedrus*, *foetidissima* ve *sabina*'nın antidiyabetik etkilerinin araştırılması ve etkili bulunan türün etkiden sorumlu bileşiklerinin biyolojik aktivite ile yönlendirilen fraksiyonlama tekniği ile tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde öncelikle *Juniperus* ve ardıç adlarının etimolojisi, ülkemizdeki *Juniperus* türlerine verilen yerel adlar ve ülkemizdeki *Juniperus* türlerinin botanik özelliklerinden bahsedilmiştir. Botanik özellikler kısmına, biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılan 4 türün (*J. communis*, *foetidissima*, *oxycedrus* ve *sabina*); ülkemizde ve Dünya'daki yayılış bilgileri ile herbaryum kayıtları eklenmiştir. Daha sonra *Juniperus* türlerinin kullanım amaçları hakkındaki bilgiler derlenmiştir.

Biyolojik aktivite çalışmaları bölümünde, *Juniperus* türleri üzerinde yapılmış biyolojik aktivite çalışmalarına dair bilgiler tablo halinde verilmiştir. Ayrıca *Juniperus* türlerinin antidiyabetik aktivitelerinin araştırıldığı çalışmalar ile tez kapsamında antidiyabetik etkisi ayrıntılı olarak araştırılan *J. oxycedrus* üzerinde bugüne kadar yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları özetlenmiştir.

Kimyasal içerik üzerinde çalışmalar bölümünde *Juniperus* türlerinde bulunan madde grupları kısaca açıklanmıştır. Ayrıca ülkemizdeki türlerden izole edilmiş maddeler tablo halinde özetlenmiştir.

Diabetes mellitus, oksidatif stres, diyabet nedeniyle doku, organ ve sistemlerde meydana gelen komplikasyonlar, antidiyabetik ve antioksidan aktivitenin tayininde kullanılan deney modelleri ve yöntemler hakkındaki genel bilgiler; araştırmacının yüksek lisans tezi ¹⁵ kapsamında ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Bu sebeple genel bilgiler kısmında sadece diyabet, diyabetin epidemiyolojisi ve günümüzde ülkemizdeki durum, diyabet tedavisinde kullanılan ilâçlar, streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturma konularına kısaca yer verilmiştir.

2.1. ETİMOLOJİ VE TARİHÇE

2.1.1. *Juniperus* Kelimesinin Etimolojisi:

Juniperus kelimesinin kökü hakkında iki değişik bilgi bulunmaktadır. Eski Roma'da "Sabiner" adı verilen halk tarafından o bölgede yetişen bir ardıç türünün (daha sonra *J. sabina* olarak teşhis edilmiştir) kozalak ve yaprakları çocuk düşürücü olarak kullanılmıştır. Ardıç cinsine isim verilirken bu bitkinin etkisinden esinlenerek bir Latince isim türetilmiştir. Latince'de "juvenis" genç, çocuk "parere" ise erken doğum, doğma anlamındadır. Bu iki kelime birleştirilerek ardıca "*Juniperus*" denmiştir ¹⁶.

Ayrıca Keltçe "Juniperuse" kelimesi, "kaba, sert" anlamındadır ve *Juniperus*'ların sert ibreli ağaçlar olmasından dolayı bu ismin verildiği düşünülmektedir ¹⁶.

2.1.2. Ardıç Adının Etimolojisi:

Ardıç kelimesinin etimolojisini açıklayan iki sav bulunmaktadır. Arapça'da ardıç ağacına ar-ar denmektedir. Ardıç kelimesi de bu kelimedenden türemiştir. Diğer yandan, Tatarlar tarafından *Juniperus excelsa*'ya "ardıç" denilmektedir, dolayısıyla diğer türler de Türkler tarafından ardıç olarak adlandırılmıştır ¹⁶.

2.1.3. Tarihte Ardıçlar:

Birçok bitki gibi ardıçlar da insanlar tarafından binlerce yıl önce tanınmaya ve kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzden 10.000 yıl öncesinde, neolitik dönemde, Çatalhöyük evlerinin yapımında ardıçların kullanıldığı tespit edilmiştir. Anadolu neolitik çağ yerleşmelerinde, evlerin ortasında ardıç ağacından büyük bir direk bulunurdu. Bu direk evin çatısını ayakta tutmanın yanı sıra kutsal kabul edilir ve evin merkezindeki tanrıyı temsil ederdi ¹⁷. Evin inşasında bu kutsal direğin altına ataların kemikleri gömülürdü. Kalkolitik çağlarda mezarlar yerleşim yeri dışına çıktığında, ardıç ağaçları da bu mezarların başına dikilmiş olmalıdır.

Hititlerde de ardıç en özel ağaçlardan biridir. M.Ö. 13. yüzyılda Hititlere bağlı Kargamış'ın Kralı Ini Teşup, Ugarit Kralı'na yazdığı mektupta ondan iki tane ardıç ağacı istemiştir ¹⁸. Ardıç ağaçlarının niçin talep edildiği Hitit tabletinde belirtilmemektedir, ancak ardıç ağacının krallık yazışmalarına konu olabilecek kadar önem verilen bir ağaç olduğu bu yazışmadan ortaya çıkmaktadır. Hititlerin ardıç ağacının meyvesinden ilâç elde ettiği de bilinmektedir ¹⁹.

Ardıç ağacı her dönemde mezar yapımında kullanılmış ve önder nitelikli kişilerin mezarlarına dikilmiştir. Hitit Kralı Arnuvanda'nın anıt mezarının başına her zaman yeşil kalan bir ardıç ağacının dikildiği bilinmektedir ²⁰. Hititlerin bitki tanrısı Telipinu'yu temsil eden heykel ve tapınakların önüne, bolluk ve bereket getirmesi için ardıçların dikildiği tahmin edilmektedir ²¹. Diğer Anadolu uygarlıkları gibi Friglerde de ardıç, mezar yapımında kullanılmıştır. Frig tümülüslerinde ardıçla kaplanmış mezar odaları bulunmuştur. Ayrıca Frigler ardıçları mobilya malzemesi olarak da kullanmışlardır ²².

İncil'in Tıbbi Bitkileri (Medicinal Herbs of the Bible) adlı kitapta İncil ayetlerinde bahsi geçen bitkiler incelenmektedir. Bu kitapta örnek verilen

ayetlerde *Juniperus excelsa*'nın gemi yapımında kullanıldığı, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* ve *J. phoenicea*'nın çölde fundalık oluşturan bitkiler olduğu ve Arnon nehri kenarında yayılış gösterdiklerinden bahsedilmektedir ²³.

Pedanius Dioscorides'in antik çağın en önemli farmasötik kitapları arasında yer alan eseri *Materia Medica*'da 600'den fazla bitkisel, 35 kadar hayvansal ve 90 kadar madensel drog ele alınmıştır. Eserde drogların bulundukları yerler, botanik tarifleri, özellikleri, tıbbi etkileri, kullanım şekilleri, yan etkileri, dozajları, bitki yetiştirme yöntemleri, veterinerlikte ve tıp dışı kullanımları belirtilmiştir. 2000 yılında yayınlanmış, Osbaldeston ve Wood tarafından düzenlenmiş *Materia Medica* versiyonunda 1. cilt (aromatik bitkiler, yağlar, merhemler, ağaçlar ve onlardan elde edilen usareler, reçineler ve meyveler) ve 5. ciltte (üzümler, şaraplar ve mineraller) *Juniperus* türlerine rastlanmaktadır ²⁴.

Birinci ciltte 103. drog olarak yer alan “Arkeothos megale, Arkeothos mikra”; *Juniperus excelsa* ve *Juniperus communis* olarak tanıtılmaktadır. Metine göre; “ardıçlar keskin lezzetli, diüretik ve enerji vericidir, yakıldığında çıkan duman yılanları uzaklaştırır. Fındıktan bezelyeye kadar boydaki yuvarlak ardıç meyveleri; aromalı, çiğnendiğinde hafifçe acımsıdır. Bu meyveler; enerji verici, hafif astrenjandır, mide için yararlıdır, çayları öksürük ve göğüs hastalıklarına, gaz şikâyeti, sancılar ve zehirli hayvanların ısırıklarına iyi gelir. Ayrıca konvülsiyon, fıtık ve kadın hastalıklarına iyi gelir. Yılan ısırıklarında lapa haline getirilerek veya şarapla suyu içilerek kullanılır. Bitkinin kabuğu yakıldığında (tozu) veya suyla bekletildiğinde cüzzama iyi gelir ancak yutulursa öldürücüdür” ²⁴.

Birinci ciltte 104. drog olarak yer alan “Brathus”; *Juniperus sabina* olarak açıklanmıştır. Metinde yaprakları *Cupressus* ve *Myrica* türlerine benzeyen iki farklı sabin ardıcı varlığından bahsedilir. “Bitki kısa boylu ve gelişirken yanlara doğru ilerleyen bir yapıdadır. Kuvvetli, keskin, yakıcı kokulu yaprakları olan bitki, parfüm yapımında da kullanılmaktadır. Yapraklardan

hazırlanan lapa açık yaralara ve ıbanlara uygulandığında yara ve çıban iyileşir ve enflamasyon azalır. Şarapla alındığında, yenildiğinde veya inhalasyonla kullanıldığında kanı temizler ve gebeliği sonlandırır. Sıcak merhemler ve genellikle gleucinum’lar ile birlikte kullanılır”²⁴.

Üzümler, şaraplar ve minerallerin anlatıldığı beşinci ciltte 45 ve 46. droglar olarak “Oinos Kedrinos, Oinos Arkeuthidites” ardıç şarabı yer almaktadır. “Bitkinin taze dalları (yeni meyvelenmeye başladığında kesilir) veya olgun meyveler güneş altında, ateş yakınında suda bekletilerek terlemesi sağlanır. Daha sonra elde edilen ekstrenin 450 gramı 4.5 litre şarap ile karıştırılır, iki ay kadar bekletilir. 4 gün güneşte bekletildikten sonra ısıtıcı, diüretik, astrenjan olarak kullanılır”²⁴.

Orta Asya Türk lehçelerinde ardıca “arçan, arçın, ardaç, arça ve ardıç” gibi adlar verilmektedir. Ardıç, bütün Türk dünyasında sevilen ve saygı duyulan bir ağaçtır. Mezarlara ardıç dikilmesi bir gelenektir. Ardıç, ateşle yapılan temizliği ve aynı zamanda kötü ruhların kovulmasını sembolize eder. Yakut, Kazak ve Altay Türkleri de ardıcı kutsal kabul etmiş; ev, ahır, yerleşim yerlerini, bebek beşiklerini, dağlarda geçtikleri sarp yolları şeytana, hastalıklara ve her türlü kötülüğe karşı korumak için ardıcı tütsü olarak kullanmışlardır²⁵.

17. yüzyılda yazılan bitkilerle tedavi konulu bir kitap olan Tercüme-i Cedide Fil Havasi’l Müfrede (günümüz Türkçesi ile “Seçkin Drogların Yeni Çevirisi”) adlı kitapta yer alan 110 bitkiden biri de *Juniperus sabina*’dır. Şekil 1’de kitabın 78 sayfasında yer alan metnin Latin harfleriyle yazılmış hali ve orijinali görülmektedir²⁶.



Frengî: Sabiyena furutifera

Arabî: Ebhel

Türkî: Kara ardıç

Tabiatı hâr u yâbistir üçüncü derecede. Eğer yaprağın ve tohumun kaynatıp içseler göğüs illetlerine ve öksürüğe faide eder. Ve hatunların aybaşını açar. Belde ve böbreklerde ve kavkta olan illetlere gayet nâfi'dir. Ağrılarının ve elemelerin def'eder. Hükema-ı efrenç mezkûr ağacın yaprağın ve yemişin panzehirriyetli olan devalarda ziyadesiyle medh etmişlerdir. Ve mezkûr ağacın yemişi gayet ma'kul şeydir. Panzehirriyeti mukarrerdir. Eğer mezkûr ağacın yemişin cem' edip adet üzre indikte taktîr edip yağın ve suyun çıkarıp zikr-i sabık olan illetlerde istimâl etseler bi-emr'illahi-teâlâ azîm nef'i müşahede olunur. Ve gayet Memduh ağaçtır. Buna benzer faidesi çoktur. Gaflet olunmaya, vesselam.

Şekil 1. Tercüme-i Cedide Fil Havasi'l Müfrede'de *Juniperus sabina*

Binlerce yıldır Anadolu'da kurulan uygarlıklar, ardıç odunlarını; yüksek ısı enerjisi vermesi nedeniyle evlerde ve demir atölyelerinde yakacak olarak, çürümeye, kurtlanmaya ve suya dayanıklı olması nedeniyle ise; bina, ambar, kuyu ve sarnıç inşaatlarında, mezar tahtalarında, bahçe çitlerinde, yün boyamada, müzik aleti ve mobilya yapımı ile hayvanlarının beslenmesinde ve halk ilâcı olarak kullanmışlardır ²⁷.

2.1.4. *Juniperus* Türlerinin Ülkemizdeki Yerel Adları:

Yurdumuzda doğal olarak yetişen *Juniperus* türlerinin halk arasında genel olarak ardıç, arduç, arduñ isimleri ile anıldığı ancak farklı yörelerde farklı isimlerin de kullanıldığı görülmektedir. Aşağıda *Juniperus* türlerine verilen Türkçe adlar görülmektedir: ^{16,28}

***Juniperus communis* var. *communis*:** Adi ardıç,

***J. communis* var. *saxatilis*:** Bodur ardıç, cüce ardıç, yapışak ardıç (Eldivan, Çankırı), yapık (Gediz, Murat Dağı)

***J. drupacea*:** Andız, anduz, ındız

***J. excelsa*:** Yüksek ardıç, boylu ardıç, boz ardıç, kara ardıç ve kaba ardıç (Isparta, Eğirdir, Barla), çerkem (Erzincan)

***J. foetidissima*:** Yağ ardıcı, kokar ardıç

***J. oxycedrus*:** Katran ardıcı, kızıl ardıç, diken ardıcı, parda (Bilecik), çakıl ardıcı (Karabük)

***J. phoenicea*:** Finike ardıcı, servi ağacı, selvi

***J. sabina*:** Kara ardıç

2.2. BOTANİK BİLGİLER

2.2.1. *Juniperus* Cinsinin Taksonomik Yeri ¹:

Bölüm	: Spermatophyta
Altbölüm	: Gymnospermae (Coniferophyta)
Şube	: Pinophyta
Sınıf	: Pinopsida
Takım	: Pinales
Familya	: Cupressaceae
Cins	: <i>Juniperus</i>

2.2.2. Cupressaceae Familyası:

Cupressaceae, monoik veya dioik, reçineli ve kendine has kokulu ağaç veya çalıların bulunduğu bir familyadır. Yapraklar kalıcı, genellikle küçük ve pulsu, subulat veya asikular-lanseolat, opozit veya vertisillat dizilişte, bazen dimorfik olabilir. Genç yapraklar geniş olup erişkin yapraklardan daha incedir. Çiçekler kozalak durumunda, kozalaklar odunsu ve pulsu, opozit veya vertisillat dizilişlidir. Pullu erkek kozalak küçük, sürgünlerin üstünde veya ucunda, tek tek veya 2-24 stamenin meydana getirdiği topluluk halinde bulunur. Alt yüzeyinde 3-5 polen kesesi taşır. Dişi kozalak pulsu, genellikle az sayıda (1-12), sürgünlerin ucunda veya yaprakların koltuklarında yer alır. Meyve hemen hemen odunsu bir kozalak şeklinde veya nadiren pullar etlenmiş ve üzüksü meyve haline geçmiştir. Tohumlar kanatlı veya kanatsızdır, çoğunlukla 2, nadiren 5-6 kotiledon taşır ^{1,29,30}.

Cupressaceae familyasının dört alt familyasından (Actinostroboideae, Thujoideae, Cupressoideae, Juniperoideae) biri olan Juniperoideae alt familyasının örnekleri monoik veya dioik, açılmayan etli üzüksü kozalaklı ve odunsu bitkilerdir ^{16,31}.

2.2.3. *Juniperus* Cinsi:

Juniperus L. (Ardıç) herdem yeşil çalı veya ağaçların meydana getirdiği bir cinstir. Gövde kabukları ince, genç yaşlarda küçük pullu veya boyuna liflidir. Genellikle lifler halinde kolaylıkla gövdeden ayrılabilir. Yapraklar, bazı türlerde bitkinin bütün hayatı boyunca iğne yaprak şeklinde ve sürgünlerde üçlü vertisillat dizilişindedir. Bazı türlerde ise, genç yapraklar sert ve iğne şeklinde; ergin yapraklar ise ya imbrikat dizilişli pul yapraklar veya nadiren kısa ve tabanları birleşik olmayan iğne yapraklar şeklindedir. Aynı tür üzerinde hem iğne hem de pul yaprakları beraber görmek mümkündür ³².

Ardıçlar monoik veya dioik bitkilerdir. Erkek çiçekler ya yaprak koltuklarında ya da kısa bir sürgünün ucunda tek tek bulunur, ovat veya silindirik biçimindedir. Dişi çiçekler 3-8 puldan meydana gelir, yaprakların koltuklarında veya sürgünlerin ucunda yer alır. Kozalaklar yuvarlak ve etlidir, bakka tipi meyve olarak kabul edilip, üzüksü kozalak terimi kullanılmaktadır. Renk, büyüklük ve taşıdıkları tohum sayısı bakımından türlere göre farklılık gösterirler. Her üzüksü kozalakta 1-10 tohum bulunur, olgunlaşma süreleri 1-3 yıldır. Tohumlar, derimsi veya sert kabukludur. Kanat taşımaz ^{1, 33}.

Ardıç cinsi ilk defa 1841 de Spach tarafından seksiyonlara ayrılmıştır. Spach yaprakların iğne veya pul halinde oluşunu esas alarak; cinsi *Oxycedrus* Spach. ve *Sabina* Spach. isimli iki seksiyona ayırmıştır ¹⁶. Ancak yapılan sonraki çalışmalarda cinse *Caryocedrus* seksiyonu eklenmiş ve günümüzde *Juniperus drupacea* olarak bilinen tür *Arceuthos drupacea* olarak isimlendirilerek bu seksiyon altında sınıflandırılmıştır.



Resim 1. *Juniperus* habitatı-I (Işık Dağı, Ankara) *

Çam ormanı altında yayılış gösteren *J. communis* var. *saxatilis* *

Juniperus'lar üzerinde 1990'lı yıllardan itibaren sistematik ve fitokimyasal çalışmalar yapan Adams tarafından, *Juniperus* cinsinin 44 taksonunun DNA polimorfizmlerine göre sistematik ilişkileri araştırılmıştır. *Caryocedrus*, *Juniperus* ve *Sabina* seksiyonlarının rastgele yükseltgenmiş polimorfik DNA'lar (random amplified polymorphic DNA, RAPD**) açısından farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. *Arceuthos drupacea*'nın tek tür olarak *Caryocedrus* seksiyonuna dâhil olacağı belirtilmiştir ³⁴. Daha sonra Adams, *J. drupacea*'yı *Juniperus* cinsine ait olan bir tür olarak yani *J. drupacea* Lab. olarak kabul etmiştir ³⁵. Flora Europea ve Flora of Turkey and the East Aegean Islands adlı eserlerde de *J. drupacea* bir *Juniperus* türü olarak kabul edilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda da bu görüş geçerli olarak kabul edilmektedir ^{1,36}.

* : Fotoğraf, Nilüfer Orhan tarafından çekilmiştir.

** : DNA parçalarının farklılıklarını incelemek amacıyla kullanılan bir yöntemdir.

Ardıç sistematüğinde yer alan; *Caryocedrus*, *Juniperus* (*Oxycedrus*) ve *Sabina* seksiyonlarının genel özellikleri şöyledir ³⁵:

Caryocedrus Seksiyonu:

J. drupacea (andız) isimli tek türle temsil edilir. Ardıç seksiyonlarının en ilkeli olarak kabul edilir. Yeryüzünde çok dar alanda yayılış gösterir; Anadolu, Yunanistan, Suriye, Lübnan.

Sabina Seksiyonu:

Juniperus cinsinin en gelişmiş, en çok taksona sahip ve en fazla çeşitlenen seksiyonudur; 56 tür, 24 varyete ve 6 forma ile temsil edilir. Anadolu'da yayılışı bulunan *J. phoenicea* (Fenike ardıcı), bu seksiyonun atası kabul edilir. Etli, tatlı ve besleyici diş kozalakları, evrimsel süreçte çok iyi gelişmiştir.

Seksiyonun tipik türü *J. sabina* (sabin ardıcı)'dır. Seksiyon dioik, nadiren monoik ağaç ve çalılarından oluşur. Pek çok kozalaklı bitki monoik olduğu halde, ardıç cinsinde çok nadir olan bu özelliğın, sadece Sabina seksiyonunda görülmesi ilginç bir olgu olarak değerlendirilir.

Yaprakları, iğnemsı değil, dekurvent veya pul yapraktır. Bazı taksonları, her iki yaprağı da sahiptir. Seksiyonun pek çok türünde, olgun yapraklar pul yaprak halindedir.

Taksonların yaprak kenarı dikkate alınarak, testere dişli ve tam kenarlı olmak üzere iki alt seksiyona ayrılır. Testere dişli alt seksiyon, Batı yarım kürede 21 tür, 4 varyete ve 4 forma ile temsil edilir; Anadolu'da hiçbir taksonu bulunmaz. Tam kenarlı yapraklara sahip ikinci alt seksiyon; 35 tür, 20 varyete ve 2 forma ile Batı ve Doğı yarım kürelerde bulunur. Anadolu'da bulunan tam kenarlı alt seksiyon türleri; *J. excelsa*, *foetidissima*, *phoenicea*, ve *sabina*'dır.

Seksiyonun yayılışı oldukça geniştir. Batı yarım kürenin kuzey kesiminde, Meksika, ABD ve Kanada'nın kuzeybatısında çok geniş; güney kesimlerinde ise Şili ve Arjantin'in güneyinde, dar alanda yayılış gösterir. Doğu yarım kürede, 30-60 derece kuzey enlemleri arasında; Avrupa'nın batısı, ortası ve doğusunda, Rusya Federasyonu'nda, Asya'nın ortası ve doğusunda, Afrika'nın kuzeyi ve doğusunda bulunur.

Juniperus (Oxycedrus) Seksiyonu:

Seksiyonun tipik türü *J. communis*'tir. Seksiyon, 10 tür ve 10 varyete ile temsil edilir; dioik ağaç ve çalıları kapsar. İğnemsî yaprakları biz şeklinde, üçlü çevrel dizilişlidir. Yaprak tabanında, kesitli-ara bölge bulunur. Kozalaklar yaprak koltuğundadır. Sapsız gibi görünen çiçeğinin çok kısa, 0.3-1 mm uzunluğunda sapı vardır. Olgun tohum kozalağı, 6-15 mm çapındadır; 3 pulunun 1(-2)'i çevrel dizilişli kapaklıdır. Genellikle 3 tohumludur ve tohumlar birbiriyle kaynaşmamıştır. Kozalaklar 2(-3) yılda olgunlaşır. Kozalak pullarının birleşim hatları "Mercedes" amblemini anımsatır.

Seksiyon iki gruba ayrılır; kuzey-uzakdoğu grubu ve Akdeniz grubu. Birinci grup *J. communis* ile temsil edilir. Ortak özellikleri, olgun tohum kozalaklarının mavi veya mavi-siyah renkli olması; yaprak üst yüzünde, tek stoma bandı bulunmasıdır. Anadolu'da *J. communis* ile temsil edilir. Akdeniz grubu da katran ardıcı (*J. oxycedrus*) ile temsil edilir. Ortak özellikleri, yaprak üst yüzünde, iki stoma bandı bulunması ve olgun tohum kozalaklarının kırmızı, kırmızı-bakır rengi, kırmızımsı-kahverengi veya kırmızımsı-mor renkli olmasıdır. Anadolu'da *J. oxycedrus* ve *J. deltoides* ile temsil edilir.

Adams'a göre Dünya üzerinde tanımlanmış 67 *Juniperus* türü bulunmaktadır ³⁴. Bunlar genel olarak Kuzey yarım kürede yayılış gösterirler. Kuzey Amerika'dan Orta Amerika, Avrupa, Kuzey ve Doğu Afrika, Asya ve Himalayalar'a değin uzanırlar. Türkiye'de Flora of Turkey and the East Aegean

Islands'a göre 8 *Juniperus* türü doğal olarak bulunmaktadır. Bu türlerin birbirinden ayırt edilmesi için kullanılan anahtar aşağıda verilmiştir ¹.

- 1.Çiçekler yaprak koltuklarında, iğnemsî, batıcı ve tabanda birleşmiş yapraklar her nodusta üç adet ve çevrel dizilişli
 - 2.Üzümsü kozalak 20-25 mm, tohumlar 3 çekirdek teşkil etmek üzere birleşmiş..... **1. *drupacea***
 - 2'.Üzümsü kozalak genellikle 15 mm'yi aşmaz, tohumlar serbest
 - 3.Yaprağın üstünde beyazımsı bir stoma bandı bulunmakta **2. *communis***
 - 3'.Yaprağın üstünde belirgin iki stoma bandı bulunmakta
 - 4.Yapraklar belirgin bir şekilde geriye bükük, olgun üzümsü kozalak siyahımsı-kahverengi **3. *oblonga***
 - 4'.Yapraklar geriye belirgin bir şekilde bükülmemiş, olgun üzümsü kozalak koyu kırmızı, kızıl, parlak renkte **4. *oxycedrus***
 - 1'.Çiçekler terminal, genç bitkilerdeki yapraklar dekussat, pulsu ve imbrikat dizilişli, nadiren iğnemsî, tabanda birleşmemiş
 - 5.Pulsu yaprakların kenarı dar, zarımsı ve ince dişli, olgun üzümsü kozalaklar koyu kırmızımsı renkte **5. *phoenicea***
 - 5'.Pulsu yaprakların kenarı yukarıdaki gibi değil, olgun üzümsü kozalak koyu mordan siyaha kadar olan renklerde
 - 6.Olgun üzümsü kozalak 4-6 mm, geriye dönük sap üzerinde **6. *sabina***
 - 6'.Olgun üzümsü kozalak 7-12 mm, dik bir sap üzerinde
 - 7.Sürgünler dört köşeli, 1 mm veya daha kalın, tohumlar, 1-2 nadiren 3 tane **7. *foetidissima***
 - 7'.Sürgünler yuvarlak, kalınlığı 0.8 mm'den az, tohumlar, 4-6 nadiren 9 tane **8. *excelsa***



Resim 2. *Juniperus* habitatı-II (Koçboğan Mevkii, Yozgat-Sivas Arası) *J. excelsa*, *oxycedrus*, *foetidissima* ve *communis* var. *saxatilis*'in yan yana bulunduğu alan.*

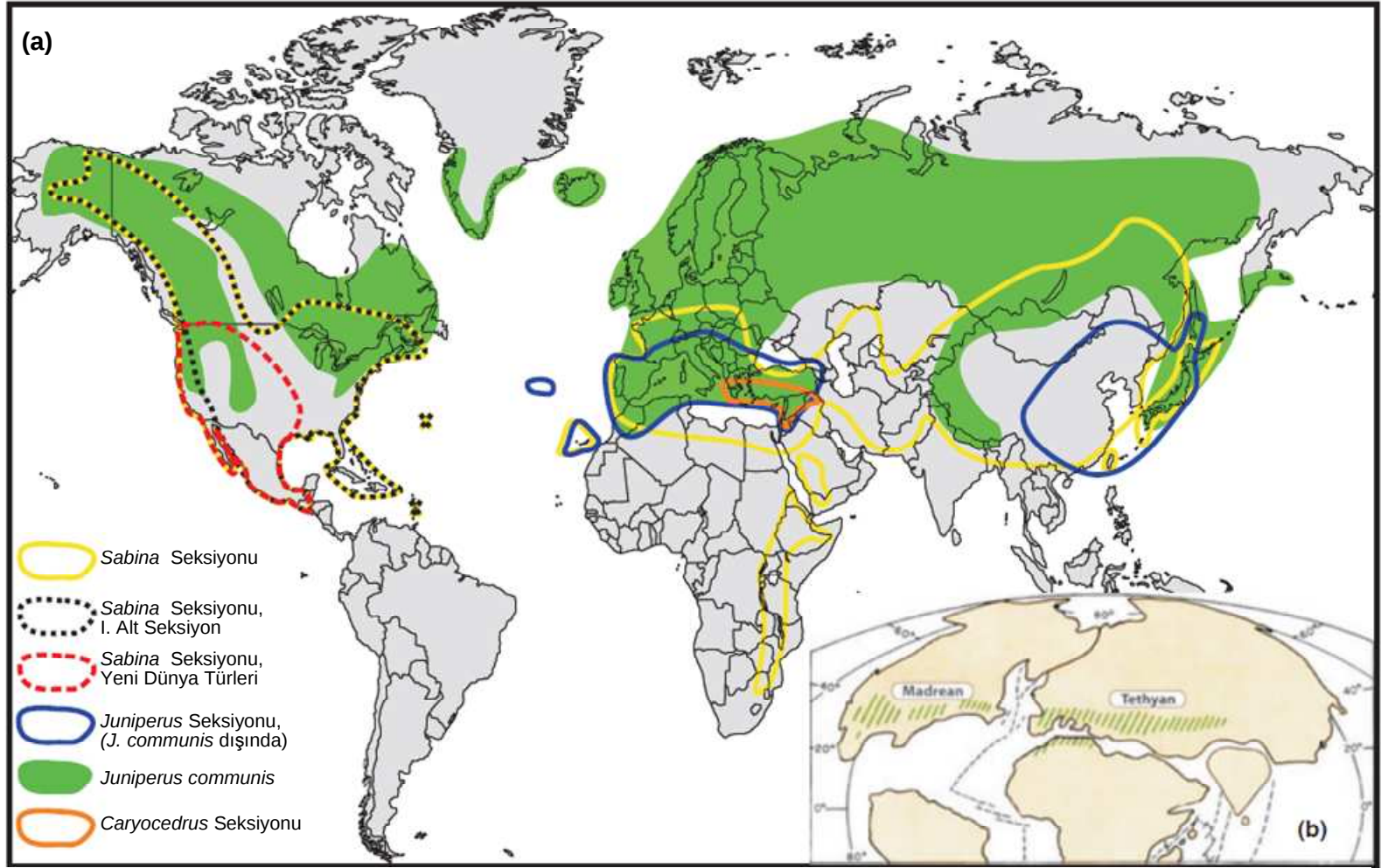
Flora of Turkey and the East Aegean Islands'da ülkemizde 8 *Juniperus* türünün bulunduğu belirtilse de ardıç cinsi hakkında yapılan en kapsamlı monograf çalışması olan “*Juniperus* of the World: The Genus *Juniperus*” adlı kitapta ülkemizde yetişen 9. tür *J. deltoides* olarak açıklanmaktadır ³⁵. Bu sebeple botanik bilgiler kısmında bu türün genel özelliklerine de yer verilmiştir.



Resim 3. *Juniperus* habitatı-III (Alaçatı-Çeşme arası, İzmir). *

Deniz kenarına kadar yayılış gösteren *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* *

* : Fotoğraf, Nilüfer Orhan tarafından çekilmiştir



Şekil 2. *Juniperus* türlerinin Dünya'daki yayılışı ³⁵

(a) Dünya üzerinde *Juniperus*'lar

(b) Cenozoik zaman ortalarında tahmini Madrean (Amerika)-Tethyan (Avrasya) vejetasyon hattı

Ülkemizdeki ardıç ormanlarının % 82'sini *J. excelsa*, % 15'ini *foetidissima* ve % 3'ünü *phoenicea* ormanları oluşturur. 1.1 milyon hektar ardıç ormanlarımızın % 92'sinin niteliksiz olduğu belirtilmişse de sadece Göller Bölgesi, Akdeniz ve Ege Bölgelerinde 250 bin hektar verimli ardıç ormanı vardır.

Ardıçlar ormansızlaşma sürecinde sahayı en son terk eden, zorlu yetiştirme ortamlarına en dayanıklı ağaç türüdür. Yaygın kök sistemleri nedeniyle erozyon kontrolü çalışmalarda, rüzgâr, kar ve ses perdelerinde, estetik formlarından dolayı peyzaj düzenlemelerinde, değerli odunu dolayısıyla odun kökenli sanayide yaygın olarak kullanılırlar ²⁷.

2.2.4. *Juniperus* Türlerinin Botanik Özellikleri

Bu bölümde ülkemizde doğal olarak yetişen ardıç türlerinin genel özellikleri açıklanmıştır. Biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılan 4 türün (*J. communis*, *foetidissima*, *oxycedrus* ve *sabina*) yayılış, dağılış ve herbaryum kayıtlarına da yer verilmiştir.

1. *Juniperus drupacea* Lab.:

Sinonim: *Arceuthos drupacea* (Lab.) Ant. & Kotschy

Genel Özellikleri: 25 m boya, 1 m çapa ulaşabilen, genellikle piramidal tepe formuna sahip bir orman ağacıdır. Dik büyüyen, kısmen aşağı sarkan dallar, hemen hemen üç köşelidir. Kül grisi ve ince olan kabuk, yaşlanınca pul pul olur. Yumurta şeklindeki tomurcukları sivri pullarla örtülmüştür. Yapraklar tam kenarlı, sert, batıcı uçlu ve geniş iğne biçiminde 10-25x3-4 mm ölçülerindedir. Alt yüzün orta kısmında uzunca bir çıkıntı, üst yüzeylerinde ise belirgin iki beyaz stoma bandı bulunur. Çiçekler dioiktir, erkek çiçekler sürgünlerin dip tarafında, çok kere kürecikler halinde toplu olarak

bulunur. Dişi çiçekler üçer üçer çevrel dizilmiş çok sayıda pullardan oluşmuştur, sarımsı renktedir ^{1,35-37}.



Resim 4. *J. drupacea* (a) yaprak ve meyveler ³⁸, (b) meyve kesitinde tohumlar ²⁷

Kozalaklar; sapsız, yaprakların koltuğunda tek olarak yer alan oval veya yuvarlak şekilde, belirgin dişli ve oldukça büyüktür (2-2.5 cm). Kozalaklar ikinci yılda olgunlaşır, olgunlaştığında mor, kırmızı-kahverengiden siyaha renklerde, mavimsi-beyaz bir mum tabakası ile kaplıdır. Etli kozalağın içinde yassı, sert kabuklu, 3 bazen 1-6 tane tohum bulunur. Türkiye, Suriye, Lübnan, Yunanistan gibi Akdeniz ülkelerinde doğal olarak yetişmektedir ^{1,35-37}.

2. *Juniperus communis* L.:

Genel Özellikleri: Ardıç taksonları içinde, Kuzey yarım kürede en çok ve en geniş yayılışı olan türdür. 15 metreye kadar boyolanabilen, çoğu kez çalı halinde, herdem yeşil dioik bir bitkidir. Kabuk kırmızımsı-kahverengi, ince kağıt gibi parçalara ayrılır ve dökülür. İğne yapraklar 1.5 cm uzunluğunda, dipleri geniş, uçlara doğru daralmaktadır. Uçları sivri ve baticıdır. Sürgünlere

geniş bir açı ile üçlü çevrel olarak dizilmişlerdir. Üst yüzlerinde tek bir stoma bandı bulunur, nadiren yaprağın alt yarısında orta damar tarafından ikiye bölünür. Çiçekler çoğunlukla iki evciklidir. Üzümsü kozalak 4-8 mm çapında, kısa saplı, yumurtamsı-küremsi, ilk sene yeşilimsi, ikinci yılda mavimsi-siyahtır, 2-3 yılda olgunlaşır. Tohumlar 3 tane, serbest haldedir ^{37,39, 40}.

Doğal olarak Kuzey Amerika, Avrupa, Akdeniz, Kuzey Afrika, Batı Himalaya ve Japonya'da yetişir ^{37,40}. Ülkemizde iki varyetesi vardır ⁴⁰:

1. Yapraklar 4-7x0.7-1.5(-2) mm, düz, yayılıcı, çalı veya küçük ağaçlar **var. communis**
1. Yapraklar 4-10x1-2 mm, kıvrılmış, imbrikat, nadiren yayılıcı, decumbens (toprak üstüne yatıcı ve uçta yükselici) veya kısa çalılar..... **var. saxatilis**

2.1. *Juniperus communis* L. var. *communis* ³⁹:

Sinonim: *J. suecica* Mill., *J. oblonga* M. Bieb., *J. hemisphaerica* J., *J. depressa* Steven, *J. communis* subsp. *hemisphaerica* (J. & C. Presl) Nyman.

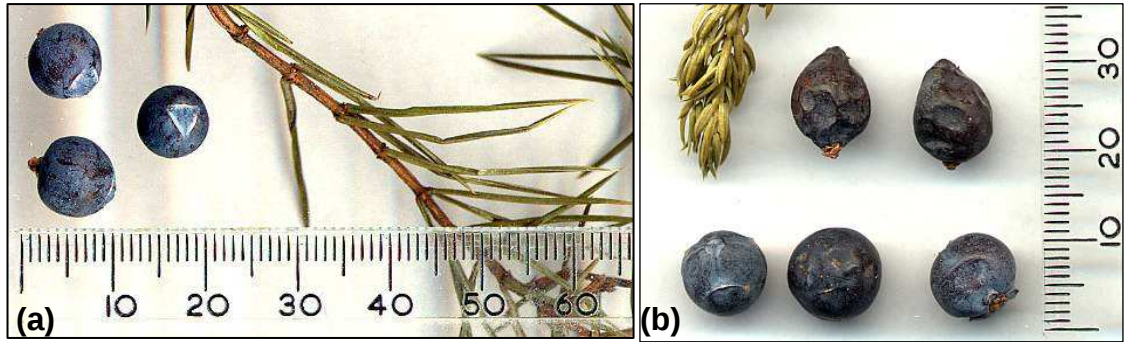
Yetiştği Yer: Volkanik kayalar üzerinde, orman kenarlarında, 2000-2700 m yüksekliklerde. Habitatı Avrupa'nın kuzeyindeki ormanlık bölgelerdir.

Türkiye'deki Yayılışı: B10 Kars: Ağrı Dağı, 2400 m.

Dünya'daki Yayılışı: Avrupa, Kafkasya, Batı Asya, Orta Asya ve Sibirya'da yayılış gösterir ⁴⁰.



Resim 5. *J. communis* var. *saxatilis* *



Resim 6. *J. communis* (a) var. *communis* yaprak ve meyvesi, (b) var. *saxatilis* yaprak ve meyvesi ³⁸

2.2. *Juniperus communis* var. *saxatilis* Pall. ^{40,41}:

Sinonim: *J. sibirica* Burgsd., *J. communis* var. *montana* Aiton, *J. nana* Willd., *J. communis* var. *nana* (Willd.) Baumg., *J. communis* subsp. *nana* (Willd.) Syme, *J. communis* var. *alpina* Suter, *J. pygmaea* K. Koch.

Genel Özellikleri: Kayalık yamaçlar, orman kenarı, fundalıklar, 1300-2700 m, yüksek dağlarda orman sınırından sonraki alanlarda baskın tür olduğundan dağ ardıcı olarak da adlandırılır. Sürünücü, sık dallı, yassı, koyu dokulu bodur çalılar şeklinde görülür. Dalları kısa, kalın ve köşelidir. İğne

* : Fotoğraf, Nilüfer Orhan tarafından çekilmiştir

yaprakları kayık şeklindedir, sürgünlere hemen hemen yatmış gibidir. İğne yapraklar 3-10 mm, batıcı değil, üçlü gruplar halinde çevrel dizilmiş. Üzümsü kozalaklar kısa saplı, 9-10 mm çapında. Kozalaklara üstten bakıldığında kozalak pullarının birleşim hatlarının Mercedes amblemine benzediği gözlenir.

Yetiştği Yer: Bol güneşli, bağıl nemi düşük olmayan yerlerde, taşlı, kumlu, drenajı iyi topraklarda iyi gelişir. Aşırı soğuk ve kuraklığa dayanıklıdır.

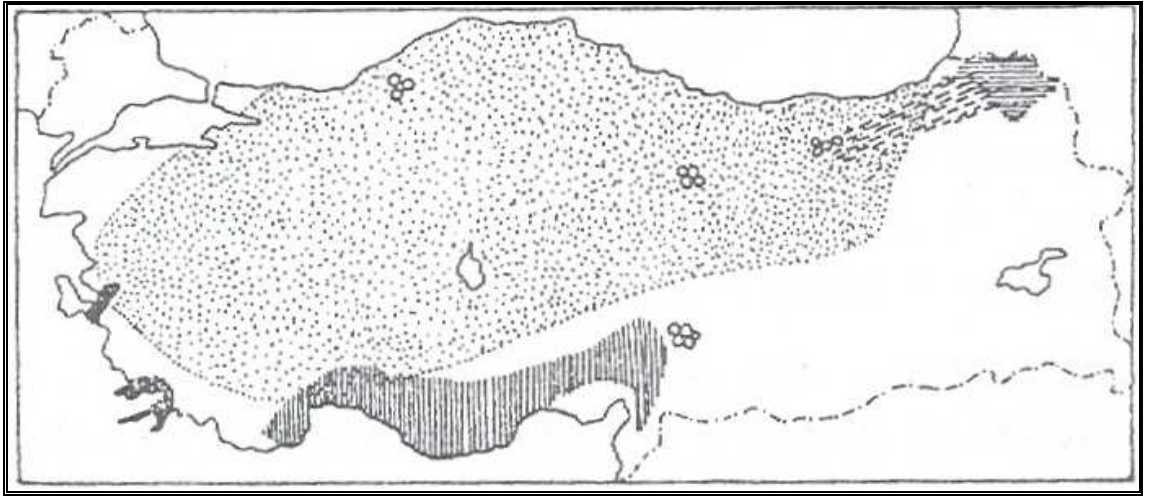
Dağılışı: Yaygın, en geniş yayılışı Kuzey Anadolu'dadır.

Türkiye'deki Yayılışı: A2 Bursa: Uludağ, 1700 m, A3 Bolu: Gerede'den Kızılcahamam'a, 1350 m, A4 Ankara: Işık Dağı, A5 Samsun: Kocacık Tepesi, 1300 m, A6 Tokat: Çamlıbel Dağı, A7 Gümüşhane, A8 Çoruh (Artvin): Kordevan Dağı, 2700 m, B1 Balıkesir: Kaz Dağı, B2 Kütahya: Şaphane Dağı, 1700 m, B6 Sivas: Yıldız Dağı, 2200 m, B7 Erzincan: Sipikor Dağı, Tunceli: Mercan Dağı, 1950 m, B9 Bitlis: Nemrut Dağı, C2 Denizli: Bana Dağı (Honaz Dağı), 1800 m ¹.

Herbaryum Kayıtları: Ankara, Kızılcahamam, Soğuksu Milli Parkı, *Pinus sylvestris*, *Quercus* ve *Populus* altları, 1600 m (GAZI 1263)(!), Kızılcahamam, Çerkeş Yolu (AEF 4996)(!), Işıkdagi (AEF 6841, 13470, 23801)(!), Bitlis, Tatvan Nemrut Krateri (AEF 9356, 24523)(!), Bolu, Abant'a 10 km kala (AEF 2801)(!), Abant gölü üstü (AEF 17813)(!), Bursa (ISTF 119, 8475), Uludağ (AEF 1528, 7019, 8806)(!), Erzurum, Ilıca (AEF 21145)(!), İspir (AEF 3206)(!), Kastamonu, Ilgaz Dağı (AEF 17043, 17286)(!), Muğla, Köyceğiz, Sultaniye, makilik, serpantin taşlık arazi, 150-250 m (GAZI 10439)(!), Rize, Çamlıhemşin *Rhododendron* çalılıkları, 2600 m (GAZI 6126)(!), Zonguldak, Kozlu (AEF 4496)(!).

Dünya'daki Yayılışı: Avrupa, Kafkasya, Batı Asya, Orta Asya, Himalayalar, Sibirya, Kuzeydoğ ve Kuzaybatı Çin, Rusya ve uzakdoğusu, Kore, Japonya, Batı ve Kuzey Amerika, Grönland.

İki varyete arasında farklı varyasyonlar gösteren örnekler mevcuttur. Avrupa'nın birçok bölgesi, Kafkasya ve Batı Asya örneklerinde ekolojik farklılıklar çok daha belirginken Sibiryada örneklerinde çok net değildir. Türkiye florasında yer alan subsp. *hemisphaerica* Farjon tarafından yapılan revizyonda doğrulanmamıştır. Ülkemizde, dağ formu olan var. *saxatilis* hakimken var. *communis* daha az yaygındır⁴⁰.



Şekil 3. *Juniperus* türlerinin ülkemizdeki yayılışı-I⁴²

- | | | | |
|---|--|---|---|
| ☐ <i>Juniperus drupacea</i> , | ☐ <i>J.oblonga</i> , | ☒ <i>J. phoenicea</i> , | ☐ <i>J. sabina</i> |
| ☐ <i>J. communis var. communis</i> , | ☐ <i>J. communis var. saxatilis</i> | | |

3. *Juniperus oblonga* Bieb.:

Çalı. Yapraklar seyrek, daralan lanseolat, en büyüğü 16-20 x 1-1.5 mm, üst yüzeydeki geniş beyaz stoma bandı, belirgin bir orta damarla ikiye ayrılmaktadır. Tabana doğru damar ile bölünme daha kuvvetlidir. Olgun kozalaklar siyahımsı-kahverengi, 7 mm çapta, küremsi, tepede sivri, tohum 3 adettir¹.

Flora of Turkey 1. ciltte bu tür için yukarıdaki açıklamalar yapılmıştır ancak 11. ciltte bu türün ülkemizden toplanmış herbaryum örneğinin bulunmadığı, Ermenistan örnekleri incelendiğinde ise *J. communis* örneklerinin özelliklerini taşıdıkları belirtilmiştir. Bu nedenle bu tür, günümüz floralarında ve yapılan revizyonlarda ayrı bir tür olarak kabul edilmemektedir.

4. *Juniperus oxycedrus* L.:

Genel Özellikleri: Çok fazla genetik çeşitlilik gösterdiğinden, yayılış alanına bağlı olarak, bazen 5-6 m. boyunda küçük ağaç, bazen de 10-15 m boyunda, ağaç formundadır. İğne yapraklar sürgünlere dik bir açı ile üçlü çevrel dizilmiştir. Yapraklar lanseolat, seyrek, 6-25x1.5-2.5 mm, akuminat, mukronat, uçları batıcı, yeşil, üst yüzde 2 belirgin stoma bandı var. Olgun kozalaklar küremsi, 20 mm kadar çaplı, turuncu-koyu kırmızı veya mor-parlak kahverengi-pürüzlü ^{1,27,31}.

Tohumlar, daha çok ardıç kuşları ve diğer bazı hayvanların sindirim sisteminden geçerek yayılmakta, çimlenme engeli böylece aşılmaktadır. Doğal ortamda çimlenme yayılış alanına bağlı olarak; sonbahar, kış ve bahar aylarında gerçekleşir. Daha çok güneşli yamaçlarda, fizyolojik derinliği az ve alkali topraklarda görülür. Geniş alanlarda meşe, kızılçam ve karaçam gibi diğer türlerle karışık bulunur, diğer aslî orman ağaçlarının altında ikinci bir orman tabakası oluşturur ^{27,31}. İki alttürü vardır:

1. Kozalaklar 6-8 mm, yapraklar 1.5 mm genişliğe kadar
..... **subsp. *oxycedrus***
1. Kozalaklar 10-20 mm, yapraklar 2.5 mm genişliğe kadar
..... **subsp. *macrocarpa***

4.1. *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus*:

Sinonim: *J. rufescens*

Genel Özellikleri: 6 metreye kadar boylanabilen, grimsi-kahverengi kabuklu, dağınık dallı, çoğunlukla çalı, bazen küçük bir ağaçtır. Kozalaklar yuvarlak, üzüksü, 8-10 mm çapında, olgunlaştığında parlak, koyu kırmızı-kahverengi veya morumsu, 2-3 tohumludur ³⁹.

Yetiştği Yer: Çam ormanları, meşelikler, maki, deniz seviyesi-1300(-1800) m ¹.

Türkiye'deki Yayılışı: A1 Kırklareli: Çilingöz, A1(A) Çanakkale: Scamara, A2(E) İstanbul: Domuzdere, A2(A) İstanbul: Büyükkada, Bilecik: Bilecik'in kuzeyi, 300 m, A3 Sakarya: Adapazarı'nın batısı, 50 m, A4 Kastamonu: Seydiler'in kuzeyi, 1100 m, A5 Sinop: Boyabat, 300 m, A6 Samsun: Samsun, A7 Trabzon: Maçka, 300 m, B1 İzmir: İzmir, B2 Kütahya: Çavdarhisar'dan Kütahya'ya, 1100 m, B4: Ankara: Bala, Küre Dağı, 1800 m, B5 Kayseri: Erciyes Dağı, B6 Sivas: Yıldızeli'nin 5 km kuzeyi, B9 Bitlis: Bitlis, C3 Antalya: Antalya, C4 İçel: Alahan, Mut'un 20 km kuzeyi, 1500 m, C5 Seyhan: Pozantı Mevkii, Bürüçek, 1300 m, C6 Maraş: Koyunluk Dağı, C7 Adıyaman: Kahta ¹.

Herbaryum Kayıtları: Adana, çam ormanı, 1500 m (GAZI 3176)(!), Afyon, (GAZI 25, 1146)(!), Dazkırı, Hisaralan, Baklan (GAZI 1056)(!), Sincanlı, Kumalar Dağı, meşelik alan, 1200-1350 m (GAZI 1781)(!), Amasya, Yukarıbaraklı Köyü, 1300 m (GAZI 1163)(!), Ankara, Kızılcahamam, Soğuksu Milli Parkı, 1200 m (GAZI 1225)(!), Kızılcahamam, Sey Hamamı (AEF 1304, 4312)(!), Kızılcahamam, Işık Dağı (AEF 6842, 23799)(!), Beypazarı, Uyku Deresi, 900-950 m (GAZI 1029)(!), Çubuk, Ovacık-Saraycık, çalılık yamaç, 1250-1380 m (GAZI 1486)(!), Akyurt-Kalecik arası (AEF 16089)(!), Antalya, orman içi, 1400 m (GAZI 1789)(!), Elmalı Sedir Araştırma Ormanı (AEF 23712)(!), Termessos Milli Parkı (AEF 14614)(!), Artvin (AEF 13773)(!),

Çanakkale, Dardanos Tümölüsü (AEF 25524)(!), Çankırı, Atkaracalar, Dumanlı Dağı, 1350-1500 m (GAZI 1344,1345)(!), Denizli, Honaz Dağı (AEF 4784)(!), Erzurum, step, 1650 m (GAZI 9814)(!), İçel, Mut, Diştaş Köyü, 800 m (GAZI 382)(!), İskenderun, Gökmustafa (AEF 18717)(!), Kahramanmaraş, Engizek Dağı, 1000 m (GAZI 2370)(!), Karaman-Mut arası (AEF 1319)(!), Kastamonu, orman hattında ardıçlarla birlikte, 775 m (GAZI 2776)(!), Kırıkkale, dere, 1050 m (GAZI 1114)(!), Konya, Seydişehir (AEF 18717)(!), Manisa, Spil Dağı, Ayvacık Köyü kuzeyi, orman, 1300-1400 (GAZI 1007)(!), Spil Dağı Milli Parkı (AEF 9613)(!), Nevşehir, Göreme, Arılıburun, 100-1250 m (GAZI 4717)(!), Trabzon, 650 m (GAZI 2111)(!),

Dünya'daki Yayılışı: Adalar: Samos. Güney Avrupa, Batı Suriye, Kuzey İran, Kafkasya (doğusu hariç) ¹.

Manisa Spil Dağı Milli Parkı'nda ana türden farklılıklar gösteren örnekler bulunduğu tespit edilmiştir. (Dik çalı, küçük-8 m uzunluğunda ağaç, yapraklar 6-13x1.1-2 mm.) Bu örnekler küçük kozalaklı katran ardıcının yeni bir varyetesi olarak tanımlanmıştır. Yeni varyete *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* var. *spilinanus* Yalt., Eliçin & Terzioğlu olarak adlandırılmıştır ⁴².

4.2. *Juniperus oxycedrus* subsp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.)

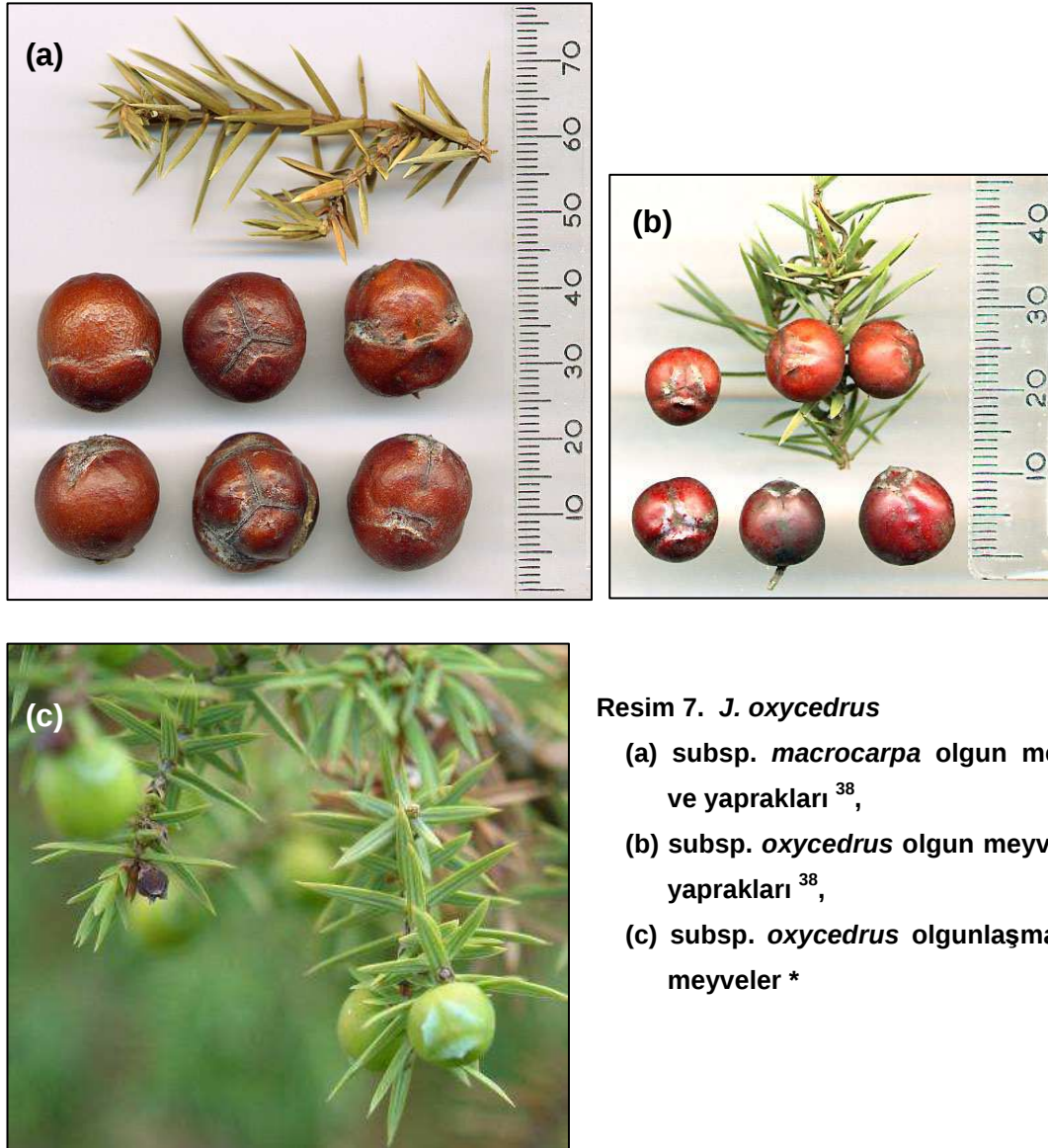
Ball:

Sinonim: *J. macrocarpa* Sibth. & Sm.

Genel Özellikleri: Çoğunlukla çalı, nadiren 5-6 m boylarında, dalları yukarıya yöneliktir. İğne yaprakları yumuşak ve elastiktir. Sürgünler belirgin biçimde üç köşelidir. Tür doğal taksonlar içinde tohumu en büyük olanıdır. Bir Akdeniz elementi olup, kozalaklar iri, 12-18 mm çapında, mat, taze iken mavimsi, üzeri dumanlı, olgunlaşınca kırmızı, kahverengi ve siyahtır ^{1,31}.

Yetiştiği yer: Kıyı habitadı, İzmir ve Aydın çevrelerinde doğal olarak yetişir. Akdeniz kıyı bölgeleri, subsp. *oxycedrus* ile ara formlar oluşturabilir. Akdeniz elementi.

Dünya'daki Yayılışı: Adalar: Lesvos, Samos, Rodos, Ikaria ¹



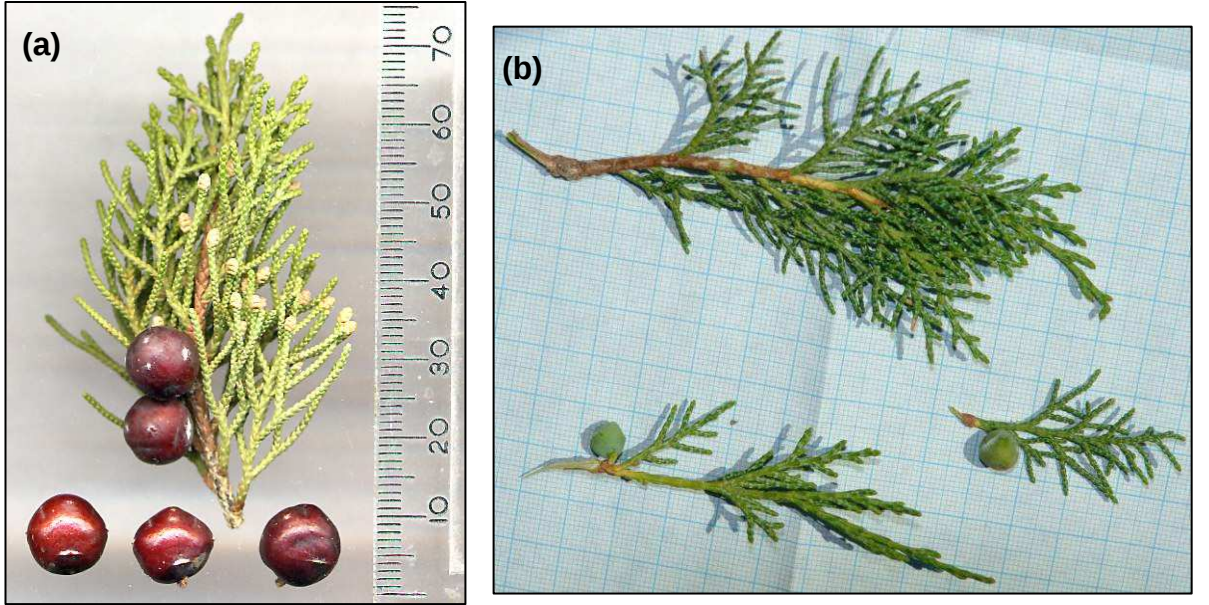
Resim 7. *J. oxycedrus*

- (a) subsp. *macrocarpa* olgun meyve ve yaprakları ³⁸,
- (b) subsp. *oxycedrus* olgun meyve ve yaprakları ³⁸,
- (c) subsp. *oxycedrus* olgunlaşmamış meyveler *

* : Fotoğraf, Nilüfer Orhan tarafından çekilmiştir

5. *Juniperus phoenicea* L.:

Genel Özellikleri: 4 m'ye kadar, küçük, serviye andıran monoik ağaçlardır. Genç sürgünler testere dişlidir. Pulu yapraklar 1.5 mm'ye kadar, baklava dilimi şeklinde, yatık, sırtında oblong, basık salgı dokusu, kenarları zarsıdır. Kozalaklar düzensiz küremsi, yaklaşık 10 mm, erişkinlikte siyahımsı-yeşilimsiden olgunlukta koyu kırmızımsıya renktedir. Tohumlar 3-9 adettir. Kıyı yakınlarında çalı formundadır, 350 m yüksekliğe kadar yayılış gösterir¹.



Resim 8. (a) *J. phoeniceae* yaprak ve olgun meyveleri ³⁸,
(b) *J. sabina* yaprak ve olgunlaşmamış meyveleri *

6. *Juniperus sabina* L.:

Genel Özellikleri: Bodur çalı, genellikle 1 m, nadiren 3-4 metreye ulaşan eğri gövdeli, çoğu kez sürünücüdür. Tek ve kuvvetli bir gövdesi yoktur, sık dallanma gösterir, yaşlı gövdelerin kırmızımsı esmer kabuğu ince levhalar halinde çatlar. Genç sürgünler silindirik, yuvarlağa yakın dört köşelidir. Sürgünler çok ince olup, ortalama onuncu yaştan sonra pul yapraklar oluşur.

* : Fotoğraf, Nilüfer Orhan tarafından çekilmiştir

Bu yapraklar oluştuğunda çok kötü bir koku verir. Pulsu yapraklar ~1 mm, birbirine yakın ve düzenli olarak st üste dizili, üçgen, arkada oblong salgı dokusu, girintili bir çıkıntı oluşturur. Tomurcuk ıplaktır. Kozalaklar küremsi, 6 mm'ye kadar, (olgunlukta) mavi-siyah, geriye kıvrık pedisel üzerinde, önceleri yeşil, sonraları siyahımsı, üstü mavi dumanlıdır. Tohum genellikle 2 adettir ^{1, 31}.

Yetiştiği Yer: Kuzey Anadolu, Anti-Toros, 1400-2000 m arasındaki dağlık alanlar, kurak ve kayalık yamaçlarda yetişmektedir ^{1,31}.

Türkiye'deki Yayılışı: A4 Zonguldak: Kel Tepe, 1700 m, A7 Gümüşhane: Gümüşhane, 1400 m, B6 Sivas: Yıldız Dağı, 1800 m, C6 Maraş: Ahir Dağı, 2000 m ¹.

Herbaryum Kayıtları: Artvin, Yusufeli, Yaylalar Köyü, sarp yamaçlar, granit anakaya, 1710 m (GAZI 9930)(!), Erzurum, Ilıca, Elmalı Köyü (AEF 21193)(!), Kayseri, Pınarbaşı, Kaynar (AEF 1112, 1573)(!), Manisa, Spil Dağı, Atalanı güneyi, alpinik kuşak, 1400 m (GAZI 1009)(!), Rize, İkidere, Anzer, granit anakaya, dik yamaçlar, 2100-2200 m, (GAZI 9746)(!), İkidere, Sivrikaya, ayırılık, 1800-1950 m (GAZI 6232)(!).

Dünya'daki Yayılışı: Güney ve Orta Avrupa, Alpler, Karpatlar, Pireneler, Türkiye, Kırım, Batı Kafkasya, İran, Sibirya'da doğal olarak yetişir.

J. sabina ile *J. foetidissima* arasındaki fark çok belirgin değildir. Yapraklar *J. foetidissima*'da apekte serbest, uçları belirgin ancak *J. sabina* yaprakları tamamen paralel, st üste, sıkışık dizilişli. Ayrıca kozalaklar *J. sabina*'da 6 mm'ye kadar, *J. foetidissima*'da ise 6-9 mm uzunlukta. Ancak bazı *J. sabina* rneklerinde 6 mm'den daha uzun kozalaklar bulunmaktadır. C3 Antalya: Gebiz Mevkii, Bozburun, Dağı, C4 Konya: Beyşehir'den Konya'ya, 1400 m ¹.

7. *Juniperus foetidissima* Willd.:

Genel Özellikleri: 10 nadiren de 20 m'ye kadar, düzgün gövdeli, dalları yukarıya yönelik, piramidal tepeli, dik ağaçlar. Sürgünler kısa, kalın, genç sürgünler belirgin dört köşeli. Kabuk kahverengi grimsi renkte ve diğer taksonlardan daha kalındır. Genç yaşlardan, 10-15 yaşlarına değin, iğne yaprak, daha sonra da pul yaprak bulunur, bazen aynı ağaçta iki tip yaprak birlikte bulunur. Pul yapraklar sürgünde karşılıklı dizilmiştir. Erişkin yapraklar üçgen, akut veya akuminat, uçları biraz belirgin, 1-5-9 mm, yanlarda belirsiz salgı dokusu var. Kozalaklar sürgün uçlarında teker teker bulunur, küremsi, 6-9 mm, dik pediseller üzerinde, koyu kahverengi-siyah, üstleri mavi dumanlı. Kozalaklar üç çift puldan oluşur, tohumlar kirli sarı renkte, 1-2 (-3) adet, serbest ^{1,31}.

Bitki, yaprakları ovuşturulduğunda kötü bir koku verdiğiinden kokar ardıç, odunu çok güzel koktuğu için kokulu ardıç, yaprakları koyu yeşil olduğundan kara ardıç olarak isimlendirilmektedir. Ülkemiz ardıç ormanlarının % 15'ini oluşturmaktadır.

Yetiştği Yer: Yayılış alanı içerisinde yer yer saf meşcereler halinde veya *J. excelsa* (boz ardıç) ile karışık ormanlar kurar. Sedir, karaçam, sarıçam, meşeler ve göknarla da birlikte bulunur ³⁰.

Dağılışı: Ülkemizde deniz ikliminden kaçınarak 800 m ile Alpin hat arasında yayılış gösterir. Güneydoğu ve Doğu Anadolu hariç tüm bölgelerimizde görülür ³⁰.

Türkiye'deki Yayılışı: A3 Ankara: Beypazarı 1250 m, A5 Amasya: Amasya, Ak Dağ, 1700-1900 m, A7 Gümüşhane: Gümüşhane, A9 Çoruh: Artvin ve Ardanuç arası, 700 m, B1 Balıkesir: Kaz Dağları, B2 Kütahya: Murat Dağı, 1000 m, B4 Ankara: Beynam, B6 Maraş: Göksun'un 5 km güneyi, 1600 m, C2 Muğla: Babadağ, Fethiye yukarısı, 1100 m, C4 Konya: Konya'nın batısı, 1300 m, C5 Niğde: Pozantı-Meydan Yaylası arası, 1500-1700 m ¹.

Herbaryum Kayıtları: Afyon, Dazkırı, Sarıkavak, orman, 1800-1950 (GAZI 6232)(!), Dazkırı, Darıcılar, step (GAZI 1249)(!), Bayat, Eğerlidağı, Sarnıç mevki, 1180 m (GAZI 27)(!), Amasya, Yukarıbaraklı, orman, 900 m (GAZI 1326)(!), Ankara, Beypazarı, Uyku Deresi, 900-950 m (GAZI 1028)(!), Antalya, Akseki, Gidefi Dağı, orman içi, 1400 m, (GAZI 1788)(!), Antalya, Elmalı Sedir Araştırma Ormanı (AEF 23711)(!), Artvin, çalılık yamaç, 500 m (GAZI 2017)(!), Yusufeli, *J. excelsa* ormanı, 1300-1400 m (GAZI 9595)(!), Burdur (AEF 4662, 6402)(!), İnsuyu Mağarası yakınları, (AEF 4463)(!), Dirmil Yaylası (AEF 15843)(!), Eskişehir, Mihaliççık civarı, (AEF 4150)(!), Kahramanmaraş, Engizek Dağı, 1800 m (GAZI 2351)(!).

Dünya'daki Yayılışı: Adalar: Samos. Doğal olarak Balkan Yarımadası, Yunanistan, Batı Suriye, Rusya, Azerbaycan, Kırım, Türkiye ve Kıbrıs'ta yayılır ^{1,27,31}.



**Resim 9. (a) *J. excelsa* olgun meyve ve yaprakları * ,
(b) *J. foetidissima* yaprakları, (c) *J. foetidissima* olgunlaşmamış meyveleri ***

* : Fotoğraflar, Nilüfer Orhan tarafından çekilmiştir

8. *Juniperus excelsa* M. Bieb.:

Çalı veya 20 m'ye kadar, önceleri piramidal yaşlandıkça yuvarlaklaşan tepe yapısına sahip bir ağaç türüdür. Kabuk lifli şeritler halinde çatlar. Sürgünler 0.7-1.3 mm genişlikte, testere dişli. Yapraklar 6-8 yaştan sonra pul biçimini alır. İğne yapraklar üçlü, pul yapraklar haç şeklinde dizilmiştir. Nihai sürgünlerdeki erişkin yapraklar üçgen-eşkenar dörtgen, az veya çok yatık, 0.6-1.6 mm uzunlukta, arkasında belirgin ovalden eliptiğe salgı dokusu bulundurur. Kozalaklar küremsi, 6-11(-14) mm, koyu morumsu-kahverengi, çoğunlukla donuk mavimsi-yeşil. Olgun kozalaklar siyah, üzeri dumanlı. Tohumlar (2-)3-6 (-8) adet, serbest. Sivri uçlu tohumlar genelde etli kozlak pullarını delerek çıkar
31, 40 .

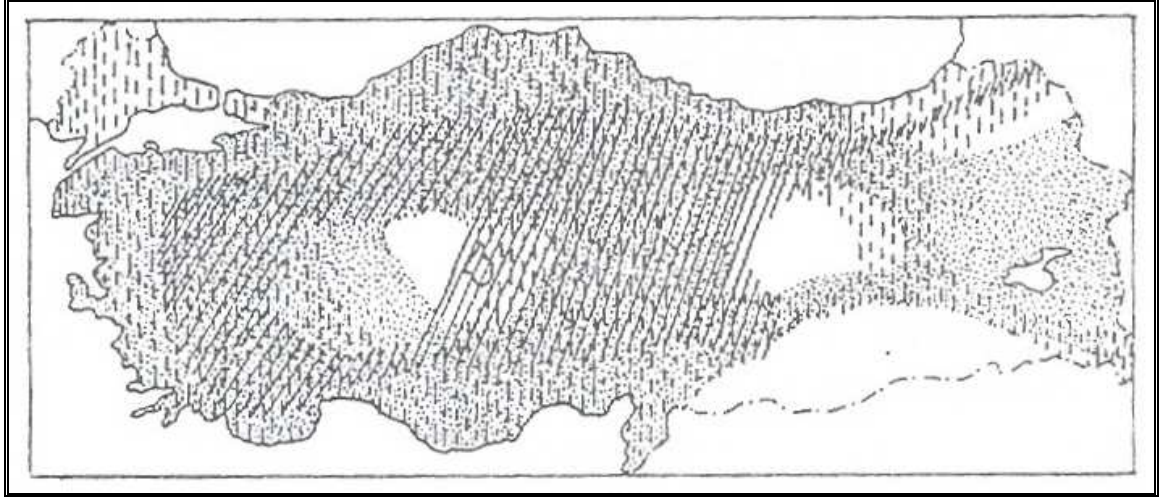
Ülkemizdeki ardıç ormanlarının % 82'sini oluşturmaktadır ²⁷. Orman tahribatından sonra, orman toprağını en son terk eden artçı ağaçlardandır ⁴¹. İki alttüre ayrılır. Bu alttürlerden biri Güney Avrupa, Kırım, Türkiye'nin güneyinden Lübnan'a yayılış gösterirken diğeri Türkiye'nin kuzeyinden Kırgızistan ve Pakistan'a kadar yayılmaktadır:

1. Nihai sürgünler silindirikten çok inceye, 0.7-1 mm çapta, genellikle sürgünler dala yatık, pul yapraklar çok küçük, nihai sürgünlerde 0.6-1 mm uzunlukta, yatık, kozalaklar 6-11 mm çapta **subsp. excelsa**

1. Nihai sürgünler daha kaba ve kalın, 1-1.3 mm çapta, daha düzensiz dizilişli, pul yapraklar daha büyük, nihai sürgünlerde 1.2-1.6 mm uzunlukta, yatık veya bazen uçta serbest, kozalaklar 6-14 mm çapta **subsp. polycarpus** ⁴⁰.

Türkiye Florası'nın 1. cildinde bu tür için alttür ayrımı yapılmamıştır. Ancak batı popülasyonu ile Asya kıtasındaki popülasyon arasında iyi tanımlanabilen farklar mevcuttur, iki takson da Kuzey Anadolu'da

bulunmaktadır. Ülkemizden toplanan *J. polycarpus* örnekleri II. Dünya Savaşı sırasında yok edilmiştir ⁴⁰.



Şekil 4. *Juniperus* türlerinin ülkemizdeki yayılışı-II ⁴²

□ *Juniperus oxycedrus*, □ *J. foetidissima*, □ *J. excelsa*

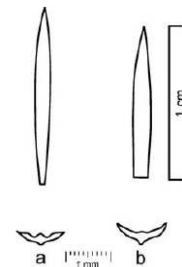
9. *Juniperus deltoides* R.P. Adams ⁴⁴:

Genellikle piramidal tepeli, dioik, çalı veya 12 m'ye kadar ağaçlar. Yapraklar iğnemsî 9-17 mm uzunlukta, 1.5-2.4 mm genişlikte. Yaprak üzerinde genellikle yaprağa gömülü olmayan iki mumsu stoma bandı bulunur. Kozalaklar ikinci yılda olgunlaşır, küremsi, olgunlukta koyu kırmızı, olgunlaşırken yeşilden kahverengimsi sarı. Tohumlar genellikle 3 adet. *J. deltoides*'te yaprak tabanı neredeyse yaprak ayası ile aynı genişlikteyken *J. oxycedrus* yaprakları tabanda daralır, iki tür bu farkla kolayca ayırt edilir. Ayrıca stoma bantları *oxycedrus*'ta yaprak içine gömülü iken *deltoides*'te böyle bir girinti yoktur, yaprak kesiti içbükey bir şekildedir (Şekil 5).

Şekil 5. *J. oxycedrus* ve *deltoides* yaprak ve yaprak kesiti

a) *J. oxycedrus*

b) *J. deltoides*



2.3. KULLANIM AMAÇLARI

2.3.1. Farmakope ve Diğer Bilimsel Kaynaklarda Belirtilen Kullanım Amaçları:

Ülkemizde olduğu kadar yurt dışında da ardıçlar farklı amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır. *J. communis* türünün meyve ve meyve uçucu yağı Avrupa Farmakopesi, Türk Kodeksi, Alman Farmakopesi, İngiliz Bitkisel Farmakopesi (British Herbal Pharmacopoeia), İngiliz Farmakopesi, Martindale, PDR for Herbal Medicines, ve Merck Index’de de yer almaktadır ⁴⁵⁻⁵³. Bu droglar kullanılarak hazırlanan preparatlar; Almanya, Avusturalya, İsviçre, İspanya, Fransa, İngiltere ve İtalya’da; üriner sistem enfeksiyonları, soğuk algınlığı, üst solunum yolları enfeksiyonları, gastrointestinal sistem rahatsızlıkları, kas ve eklem ağrıları, romatizmal rahatsızlıklar, konstipasyona karşı ve karminatif, diüretik ve antiienflamatuvar olarak kullanılmaktadır ⁴⁹. *J. communis* odun ve ince dallarının buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağı Merck Index’te kayıtlıdır ⁵¹. Bu yağ kullanılarak hazırlanan preparat antiromatizmal olarak ve gut hastalığına karşı kullanılmaktadır ⁵². Alman Komisyon E Monograflarında *J. communis* meyvelerinin dispepside ve iştah arttırıcı olarak kullanılabileceği belirtilmiştir ⁵⁴. Ayrıca ESCOP Monograflarında da *J. communis* meyveleri hakkında ayrıntılı bilgi verilmektedir ⁵⁵.

J. oxycedrus odununun kuru kuruya distilasyonu ile elde edilen katran “*Pix Juniperi*” adıyla Amerikan Farmakopesi, Türk Kodeksi, The Pharmaceutical Codex, Martindale ve Merck Index’de kayıtlıdır ^{46,49,51,56,57}. Bu katran kullanılarak hazırlanan preparatlar, Fransa, İngiltere, Kanada, İtalya, Avustralya, Almanya ve İsviçre’de saç derisi ve cilt rahatsızlıklarında, özellikle sedef hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır ^{49,58}.

2.3.2. Halk İlâcı Olarak Kullanımı:

Ardıç türlerinin çoğu hem ülkemizde hem de diğer ülkelerde halk arasında çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Aşağıda, halk ilâcı olarak kullanılan türler ve ülkemizdeki kullanım amaçları tür adına göre sınıflandırılarak açıklanmıştır.

J. communis:

Bitki, orta çağda her derde deva bir ilâç olarak bilinirdi. Günümüzde halk arasında genellikle meyvaları (*Juniperi fructus*), nadiren odunu (*Juniperi lignum*) ve bunlardan elde edilen uçucu yağ kullanılmaktadır. Diüretik, terletici, karminatif, iştah açıcı, antiseptik özellikleri vardır. Kozalakları diüretik ve midevi olarak % 1-2'lik infüzyonu halinde günde 2-3 bardak içilerek kullanılmıştır ⁵⁹. Dahilen yüksek miktarda veya uzun süre kullanıldığında böbrekleri tahriş ettiği ve kanlı idrar gelmesine sebep olduğu bilinmektedir. Bu istenmeyen etkilerin yüksek oranda terpen hidrokarbonları ve düşük miktardaki terpinen-4-ol ile bağlantısının bulunduğu ileri sürülmüştür ⁶⁰.

Üzümsü kozalaklardan elde edilen uçucu yağ yine diüretik, midevi ve karminatif etkilidir ⁵¹⁻⁶⁴. Bu amaçla dahilen günde 2-6 damla suya veya kesme şekere damlatılarak kullanılabilir ⁵⁹. Aynı zamanda bitki halk arasında akne, ekzema gibi cilt hastalıklarında, romatizma, selülit, gut, soğuk algınlığı, grip, amenore, dismenore ve sistit tedavisinde kullanılmaktadır ⁶⁵. Uçucu yağ parfümeri alanında da yaygın bir şekilde kullanılmakta, oda spreylelerinin, traş losyonlarının, parfüm ve kolonyaların yapısına girmektedir. Bazı içkilerin hoş kokulu olması amacıyla *Juniperi aetheroleum* kullanılmaktadır ⁶⁶. Diğer taraftan uçucu yağ haricen romatizma ağrılarını dindirmek için de kullanılmaktadır. Bu amaçla 10 g uçucu yağ 100 g zeytinyağı ile karıştırılarak ağrıyan yere sürülmektedir ⁵⁹. Bitkinin dal uçlarının da diüretik etki gösterdiğine dair kayıtlar bulunmaktadır ⁶⁷.

J. drupacea:

Karaman merkez ve Sarıveliler’de andız meyvesi ve çekirdeklerinden hazırlanan dekoksasyon dâhilen karın ağrısında kullanılmaktadır ⁶⁸. Meyveler kırılıp dekoksasyonu hazırlanarak dâhilen karın ağrısında, soğuk algınlığında ve antihelmentik olarak, taze sürgünlerinden hazırlanan dekoksasyon üriner sistem enflamasyonlarında ve gutta kullanılmaktadır. Dekoksasyonu kullanılmadan en az bir gece serin bir yerde bekletilir ^{69,70}. Meyveleri toz edilip bal ile karıştırılarak dâhilen kurt düşürücü olarak kullanılır ⁵⁹. Pekmezi yapılan meyvelerin tohumları kırılarak içleri çerez olarak yenilmektedir ⁷¹.

Andız pekmezi zengin oz, ozit, polifenol, vitamin ve mineral içeriği nedeniyle besin olarak, kuvvet verici ve afrodizyak olarak kullanılmaktadır ⁵⁹. Andız pekmesinin nişasta ile karıştırılıp kaynatılması ile “palıza” adı verilen bir tatlı yapılır. Bu tatlı yemeklerin yanında soğuk veya sıcak yenilebilir. Palızanın içine ipe dizilmiş cevizlerin batırılıp çıkarılmasıyla “bandırma”, bezler üzerine ince ince serilip güneşte kurutulmasıyla “pestil” elde edilir. Palızadan ayrıca, yarma veya irmikle kaynatılarak kalıplara konup, güneşte kurutulduktan sonra nişastaya batırılarak “köfter” elde edilir. Andız meyvelerinden sirke ve rakı yapıldığı da kayıtlıdır ⁷¹.

Andız katranı solunum ve idrar yolu enfeksiyonlarına karşı tek başına veya çörek otu yağı ile karıştırılarak, Karaman, Ermenek, Ardıçkaya Köyünde anal fistül ve amenorede doğrudan 2 g alınmaktadır ^{59,68}. Konya, Seydişehir, Kesecik Köyünde 3-10 damla katran bir bardak sıcak suya damlatılarak ishale karşı içilmektedir ⁷⁰.

J. excelsa:

Üzümsü kozalaklarından hazırlanan dekoksasyon ülkemizde soğuk algınlığı ve bronşitte kullanılmaktadır ⁶⁸.

J. foetidissima:

Denizli’de kozalaklardan hazırlanan dekoksasyon dahilen soğuk algınlığı ve öksürükte kullanılmaktadır ⁶⁹. Eğirdir’de taze kozalaklar un ve çam terebentini ile karıştırılarak karın ağrılarında kullanılırken, kan şekerini düşürmek amacıyla 3-7 adet kozalak yemekten önce yenmektedir. Ayrıca balla karıştırılan kozalaklar (2-3 kaşık) eklem kireçlenmelerine karşı dahilen kullanılmaktadır ⁸.

J. oxycedrus:

Üzümsü kozalaklar halk arasında stomaşik, karminatif, hemoroit tedavisinde, soğuk algınlığı, karın ağrısı, ülser, tüberküloz, astım, bronşit ve öksürükte, romatizmada, idrar yolları enfeksiyonlarında, böbrek taşlarını ve kan şekerini düşürmek amacıyla kullanılmaktadır ^{8, 11, 12, 68-73}. Ayrıca yapraklardan hazırlanan dekoksasyon da antidiyabetik olarak kullanılmaktadır ⁸.

Toros Dağlarında ve Batı Anadolu’daki köylerde *J. oxycedrus*’un gövde, dal ve kök odunlarının büyük küpler içinde kuru kuruya yakılması ve ürünün süzülmesi ile elde edilen katran, ardıç katranı (*Juniperi oxycedri pix*) olarak bilinir. Bu katran insan ve hayvanlarda görülen (uyuz gibi) bazı deri hastalıklarının tedavisinde haricen kullanılmaktadır. Katran doğrudan deriye sürülür veya 1k katran 9 k vazelinle merhem haline getirilerek kullanılabilir ⁵⁹. Ardıç katranı Avrupa ülkelerinde saç losyonlarına eklenmekte, saçlı deri hastalıklarının, parazit ve kronik ekzema gibi cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır ⁶⁵.

J. oxycedrus uçucu yağı ise analjezik, antiprütik, antiseptik ve vermifüj etkilidir ve sabun, losyon, krem ve parfüm sanayinde kullanılmaktadır.

İzmir civarında *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* meyveleri öğütülüp balla karıştırılarak on gün süreyle, böbrek taşlarını düşürme amacıyla (aç karnına bir çorba kaşığı) kullanılmaktadır ⁷⁴.

J. sabina:

Yapraklar (*Sabinae herba*) ve dal uçlarının (*Sabinae summitates*) toz halde düşük dozlarda emanogog, yüksek dozlarda emetik, müshil ve abortif bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Fakat 0.3-0.6 g'ın üzerindeki miktarlar toksik oldukları için günümüzde değerini yitirmiştir ⁵⁹.

Bitkinin uçucu yağı, antiromatizmal, vermifüj ve emanogog olarak da kullanılmaktadır ⁵⁹. Bitkinin meyvelerinden hazırlanan dekoksasyon mide rahatsızlıklarında, katran ise haricen yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır ⁷⁵. Ayrıca Karabük'te bitkinin odunundan elde edilen katran; un veya balmumu ile karıştırılıp pilül haline getirilir, ekzemaya ve uyuza karşı oral yolla kullanılır ⁷⁶. Erzurum'da bitkinin dallarından hazırlanan dekoksasyonun şeker hastalığına karşı kullanıldığı bilinmektedir ¹⁰.

2.3.3. Diğer Kullanım Amaçları:

Ardıç ekstre, katran veya uçucu yağlarını taşıyan oral preparatlar diüretik, topikal preparatlar ise ekzema, pruritis, atopik dermatit, sedef hastalığı tedavisinde ve analjezik olarak hemoroit kremlerinde kullanılmaktadır. Ardıçlardan elde edilen ürünler; banyo suyu, banyo köpüğü, şampuan, saç spreyi, saç şekillendirici, vücut ve yüz bakım kremi gibi kozmetiklerde de yer almaktadır.

Ardıçların dayanıklı, kolay işlenebilen, ince tekstürlü, cila kabul eden güzel kokulu odunları vardır. Kokusu ve yumuşaklığı nedeniyle kalem, güveleri uzak tutucu etkisi nedeniyle çekmece, sandık, dolap, dayanıklılığı nedeniyle demiryolu traverslerinin ve tarım aletlerinin yapımında kullanılırlar ⁷⁷.

J. communis var. *saxatilis* meyvalarının suda ezilip fermente edilmesi sonucu elde edilen karışımın distilasyonu ile cin isimli içki hazırlanır ⁷⁷.

1999'da EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products)'nın Veteriner Tıbbi Ürünleri Komitesi tarafından yayınlanan özet raporda, *J. communis*'in kurutulmuş meyveleri *Juniperi fructus* olarak tanımlanmakta, meyvelerin kimyasal içeriği ve insanlarda meydana getirdiği farmakolojik etkilere yer verilmektedir. Baharat ve halk ilâcı olarak kullanımının yanında at, sığır, koyun, keçi ve domuzlarda farklı amaçlarla yemlere karıştırılarak kullanılabileceğinden bahsedilmektedir ⁷⁸.

2.4. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Geleneksel tedavide bazı ardıç türlerinin farklı amaçlarla kullanıldığı görülmektedir. Yapılan biyolojik aktivite çalışmalarında bitkinin Dünya çapında halk ilâcı olarak kullanımı hakkında da bilgiler verilmektedir. Örneğin; ardıçların antitüssif, hemostatik ⁷⁹, diüretik, antiseptik, stomaşik, karminatif ⁸⁰, hipoglisemik ¹³, antifertilite etkili ⁸¹ olarak, soğuk algınlığı, üriner sistem enfeksiyonları, ürtiker, dizanteri, hemoraji, vajinal akıntı, romatoit artrit tedavisinde ⁸² kullanıldıkları bilinmektedir. Ayrıca Suudi Arabistan'da *J. excelsa*'nın tüberküloz ve sarılık tedavisinde ⁸³, Bhutan'da böcek kovucu, ateş düşürücü ve diüretik olarak ^{84, 85} kullanıldığı bildirilmektedir.

Morokko'da *J. phoenicea* yaprak ve meyvelerinden hazırlanan dekoksion, hipoglisemik, diüretik ve üriner antiseptik olarak ayrıca menstrual şikâyetlerde, bronko-pulmoner hastalıklarda ve karın ağrılarında kullanılmaktadır. Aynı tür, hipoglisemik olarak Ürdün'de de kullanılmaktadır ⁸⁶.

Ardıç türleri, birçok ülkede halk ilâcı olarak kullanıldığından, bitkinin farklı kısımlarından hazırlanan ekstreler, halkın kullanım amaçlarına yönelik biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılmıştır. Yapılan çalışmaların çoğunda olumlu sonuçlar alınmış, bulgular halk ilâcı kayıtlarını desteklemiştir.

Tablo 1’de *Juniperus* türleri üzerinde bugüne kadar yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları türlere göre sınıflandırılmıştır ⁸⁶.

Tablo 1. *Juniperus* türleri ile yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları–1

Tür Adı	Biyolojik Aktivite ^{Kaynak}
<i>chinensis</i>	Antifungal ⁸⁶
	Antiobezite ⁶
	Antitümöral ⁸⁶
	Hipoglisemik ve hipolipidemik ⁸⁷
	Serbest radikal süpürücü ⁸⁶
<i>communis</i>	12-HETE üretim inhibitörü ⁸⁶
	Analjezik ve antienflamatuvar ⁸⁸
	Antidiyabetik ^{13,14, 89}
	Antienflamatuvar ⁸⁶
	Antifertilite ⁸⁶
	Antihelmentik ⁹⁰
	Antiherpetik ⁸⁶
	Antimikobakteriyel ⁸⁶
	Antioksidan ve antimikrobiyal ⁹¹
	Diüretik ⁸⁶
	<i>In vitro</i> glukoz difüzyonunu azaltıcı ⁹²
	Platelet agregasyonunu engelleyici ⁸⁶
	Sitotoksik ⁸⁶
	Üriner sistem enfeksiyonlarında antimikrobiyal ⁸⁶
<i>drupacea</i>	Analjezik ve antienflamatuvar ⁸⁸
<i>excelsa</i>	Akarisit ⁸⁶
	Antibakteriyel ⁸⁶
	Antifungal ve sitotoksik ⁸⁶
	Antimikrobiyal ve sitotoksik ⁸⁶
	Antimikrobiyal ⁸⁶
<i>osteosperma</i>	Diüretik ⁸⁶
<i>oxycedrus</i>	Analjezik ve antienflamatuvar ^{88,93}

Tablo 1. *Juniperus* türleri ile yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları-2

Tür Adı	Biyolojik Aktivite ^{Kaynak}
<i>oxycedrus</i>	Antioksidan ve α -amilaz inhibitörü ⁹⁴
	Antimikrobiyal ⁶⁹
	Hipotansif ⁹⁵
	Nörotransmitter nedenli kasılmaları engelleyici (Antidiyareik, antiprütik) ⁹⁶
<i>phoenicea</i>	Antimikrobiyal ⁸⁶
	Hepatoprotektif ^{97,98}
	Hipoglisemik ⁹⁹
<i>procera</i>	Antitermit ⁵
	Antimikobakteriyel ¹⁰⁰
<i>rigida</i>	Antifungal ⁸⁶
	Antimikrobiyal ⁸⁶
<i>sabina</i>	Abortif ⁸⁶
	Böceklerde beslenme engelleyici (antifeedant) ⁸⁶
<i>scopolorum</i>	İmmunomodülatör ¹⁰¹
<i>sibirica</i>	Antioksidan, antienflamatuvar ⁷
<i>thurifera</i> var. <i>africana</i>	Abortif ve jinekolojik bozukluklarda ⁸⁶
	Sitotoksik ⁸⁶
<i>virginiana</i>	Antibakteriyel ⁸⁶
	Antimikrobiyal ⁸⁶

Bu bölümde öncelikle ardıç türleri üzerinde yapılmış antidiyabetik aktivite ile ilgili *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar hakkında bilgi verilmiştir. Daha sonra çalışmalarımızda antidiyabetik etkisi ayrıntılı olarak incelenen tür *J. oxycedrus* olduğundan, bu tür üzerinde yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

2.4.1. *Juniperus* Türleri Üzerinde Yapılmış Antidiyabetik Aktivite Çalışmaları

Juniperus türleri üzerinde yapılan antidiyabetik aktivite çalışmalarının bir kısmı *in vitro*, bir kısmı ise fare veya sıçanların kullanıldığı *in vivo* çalışmalardır. Bu çalışmaların çoğu Avrupa'da geniş yayılış gösteren, halk ilâcı ve baharat olarak kullanılan *J. communis* üzerinde yapılmıştır.

***In vitro* Çalışmalar:**

J. communis'un *in vitro* glukoz difüzyonu üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, bitkiden % 2.5'luk dekoksasyon hazırlanmıştır. Santrifüj tüpü içine oturtulan kapaklı diyaliz tüpünden zamanla dış ortama geçen glukoz miktarı incelenerek ekstrenin glukoz difüzyonu üzerine etkisi ölçülmüştür. Ekstrenin 50 g/l'de, glukoz transportunu % 6 oranında azalttığı görülmüştür. Aynı çalışmada etkisi incelenen diğer bitkiler (*Agrimony eupatoria*, *Persea americana*, *Coriandrum sativum* ve *Agaricus campestris*) *J. communis*'e göre çok daha yüksek etkili (% 71-45) bulunmuştur⁹².

Ardıçların antidiyabetik etkileri üzerine yaptığımız literatür araştırmasında; ülkemizde antidiyabetik etkisi sebebiyle halk ilâcı olarak en fazla kullanılan tür *J. oxycedrus* olmasına rağmen, bu bitki üzerinde yapılmış sadece bir çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışma "*J. oxycedrus* Üzerinde Yapılmış Biyolojik Aktivite Çalışmaları" kısmında kısaca açıklanmıştır. Bu çalışmada, Loizzo ve arkadaşları, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* olgun meyvelerinden ve odunundan su distilasyonu ile elde ettikleri uçucu yağların *in vitro* hipoglisemik etkilerini α -amilaz inhibisyonlarını ölçerek incelemişlerdir. Meyve uçucu yağı etkisiz bulunurken odun uçucu yağının IC₅₀ değeri 3.49 µg/ml bulunmuştur⁹⁴.

Aboul-ela ve arkadaşları tarafından *J. phoenicea* meyvelerinin antidiyabetik etkisinin araştırıldığı bir çalışma 2005'te yayınlanmıştır. Bu çalışmanın künye bilgisine yazarların başka bir çalışmasından ulaşılmış, ancak yayının aslına erişilememiştir⁹⁹.

***In vivo* Çalışmalar:**

Ju ve arkadaşları, *J. chinensis* meyvelerinden hazırladıkları sulu ve etanollü ekstrelerin hipoglisemik ve hipokolesterolemik etkilerini, alloxan ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda incelemiştir. Bu amaçla ekstreler diyabetik sıçanlara 100 mg/kg dozda uygulanmış, uygulamadan 1, 3, 5, 7 ve 9 saat sonra sıçanların kan glukoz seviyeleri ölçülmüştür. Ekstreler 7 gün boyunca uygulandıktan sonra anestezi altındaki sıçanlardan kan örnekleri alınmıştır. Plazmaları ayrılan örneklerin glutamat-pirüvat transferaz (GPT), glutamat-okzaloasetat transaminaz (GOT), total kolesterol (TK) ve trigliserit (TG) seviyeleri ölçülmüştür. Kan glukoz seviyesi ölçümlerinde, etanollü ekstrenin sulu ekstreden daha yüksek hipoglisemik etkiye sahip olduğu görülmüştür. 7 günlük uygulama sonunda, etanollü ekstre uygulanan grubun enzim seviyeleri diyabetik sıçanlarla karşılaştırıldığında; GPT seviyesini % 58 oranında düşürdüğü, GOT seviyesini ise % 87 oranında arttırdığı bulunmuştur. Sulu ekstre grubunda ise GPT seviyesi % 40 artmış, GOT seviyesi % 43 azalmıştır. Lipit parametrelerine bakıldığında, sulu ekstrenin (TK'da % 57 ve TG'de % 37 azalma ile) etanollü ekstreden daha yüksek hipolipidemik etkili olduğu görülmüştür. Ancak bu çalışmada antidiyabetik etkinin incelendiği deneyde, her grubun başlangıç kan glukoz seviyesi birbirinden çok farklıdır (Diyabetik kontrol: 464, Etanollü ekstre:372, Sulu ekstre: 533, Glibenklamit: 541 mg/dl). Yani gruplar arası homojenlik sağlanamamıştır, bu sebeple çalışmadan çıkan sonuçların, değerlendirmelerin ve istatistiksel analizlerin doğruluğu tartışmalıdır ⁸⁷.

J. communis meyvelerinin antidiyabetik etkileri üzerine yapılan ilk çalışma, 1990 yılında Swanston-Flatt ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. Çalışmada normal ve streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş farelere, farklı bitkiler yemlere ağırlıkça % 6.25 oranda olacak şekilde karıştırılmış, ek olarak bazı bitkilerden hazırlanan dekoksasyon/infüzyonlar ise içme sularına eklenerek (1g/ 400 ml içme suyu olacak şekilde) uygulanmıştır. (Ancak çalışmada kullanılan bitkiden hangilerinin fazladan içme suyuna karıştırılarak uygulandığı ve ekstrelerin hazırlanış şekilleri belirtilmemiştir.) Normoglisemik farelere 12 gün

boyunca uygulanan bitkilerden hiçbirinin beslenme, su tüketimi, vücut ağırlığı, insülin ve kan glukoz seviyesi üzerinde belirgin etki meydana getirmediği gözlenmiştir. Gruplara 200 mg/kg dozda intraperitoneal yolla streptozotosin uygulandığında, ardıç grubunda streptozotosin nedenli diyabetin şiddetinde azalma olduğu görülmüştür. Ardıç grubunda kan glukoz seviyesinin kontrole göre belirgin olarak azaldığı, ayrıca vücut ağırlığında diyabet nedeniyle meydana gelen ağırlık kaybının ardıç grubunda daha az olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada yöntemde net olarak açıklanmayan hususlar mevcuttur, sonuçlar sayısal olarak verilmemiştir ¹³.

Sanchez de Medina ve arkadaşları tarafından 1993'de yayınlanan bir diğer çalışmada, *J. communis* meyvelerinden hazırlanan dekoksasyonun hipoglisemik etkisi; normoglisemik ve streptozotosin nedenli diyabetik sıçanlarda incelenmiştir. Ekstrenin 250 mg/kg dozda normoglisemik sıçanların kan glukoz seviyelerinde belirgin düşüşe sebep olduğu görülmüştür. Meyvelerden hazırlanan % 10'luk dekoksasyonun (yaklaşık 35 mg/kg dozda) 24 gün boyunca diyabetik hayvanlara uygulanmasıyla; vücut ağırlığı kaybı önlenmiş, kan glukoz seviyelerinde ve ölüm oranında belirgin düşüş gözlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar, yayında sayısal olarak yer almamaktadır ¹⁴.

Petlevski ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, Hırvatistan'da antidiyabetik etkili olarak patent almış bir bitkisel karışımın hipoglisemik etkisi araştırılmıştır. *Myrtilli folium*, *Taraxaci radix*, *Cichorii radix*, ***Juniperi fructus***, *Centaurii herba*, *Phaseoli pericarpium*, *Millefolii herba*, *Morii folium*, *Valerianae radix*, *Urticae herba et radix* bulunduran bitkisel preparattan iki farklı yöntemle etanollü ekstre hazırlanmıştır. Ekstreler 20 mg/kg dozda, alloksan nedenli diyabetik farelere uygulanmış, başlangıç anında ve uygulamanın 10., 30., 60. ve 120. dakikasında kan glukoz seviyeleri tespit edilmiştir. Ekstreler kan glukoz seviyesinde % 10-20 oranında düşüşe sebep olmuştur. Etkisi daha yüksek olan ekstre, diyabetik sıçanlara 20 mg/kg dozda 7

gün uygulandığında; diyabetik kontrole göre kan glukoz seviyesinde % 31'lik düşüş gözlenmiştir ⁸⁹.

2.4.2. *J. oxycedrus* Üzerinde Yapılmış Biyolojik Aktivite Çalışmaları

***In vitro* Çalışmalar:**

Antimikrobiyal Etki:

J. oxycedrus yapraklarından hazırlanan sulu ve metanollü ekstrelerin *in vitro* antimikrobiyal etkileri Karaman ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Ekstrelerin, 143 bakteri suşu (56 farklı türe ait) ve 31 mantar izolatu (5 farklı türe ait) üzerinde antimikrobiyal etkileri; disk difüzyon yönteminde oluşan inhibisyon zonlarının ölçümü, mikrodilüsyon yönteminde minimal inhibisyon konsantrasyonu ve minimal bakterisidal konsantrasyon değerleri hesaplanarak belirlenmiştir. Sulu ekstre denenilen mikroorganizmalar üzerinde etkisiz bulunmuştur. Metanol ekstresi ise *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Brucella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Xanthomonas* gibi türlere ait 57 bakteri suşunun gelişimini inhibe etmiştir. Ayrıca 11 farklı *Candida albicans* izolatu 31.25-250 µg/ml konsantrasyonda inhibe olmuştur ⁶⁹.

Antioksidan ve α-amilaz inhibitörü:

Loizzo ve arkadaşları, *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* olgun meyvelerinden ve odunundan su distilasyonu ile elde ettikleri uçucu yağların bileşimini gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi kullanarak aydınlatmışlardır. Bu çalışmada analizi yapılan uçucu yağ örneklerinin *in vitro* antioksidan etkisi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH') metodu ile incelenmiştir. Odun uçucu yağının IC₅₀ değeri 1.45 µg/ml, meyve uçucu

yağının ise 7.42 µg/ml bulunmuştur. Uçucu yağların α-amilaz inhibitörü etkileri incelendiğinde; meyve uçucu yağı etkisiz bulunurken odun uçucu yağının IC₅₀ değeri 3.49 µg/ml bulunmuştur ⁹⁴.

Ex vivo Çalışmalar:

Nörotransmitter nedenli kasılmaları engelleyici:

Yapılan bir diğer çalışmada, *J. oxycedrus* yaprak ve dallarından hazırlanan ekstrelerin, izole organlarda meydana getirilen nörotransmitter nedenli kasılmalar üzerine etkileri incelenmiştir. Ekstrelerin 1, 10 ve 100 mg/ml/banyo konsantrasyondaki etkileri histamin uygulanmış kobay ileumu, asetilkolin uygulanmış sıçan duodenumu, serotonin uygulanmış sıçan uterusu ve noradrenalin uygulanmış sıçan vas deferens üzerinde incelenmiştir. İki ekstrenin de noradrenalin ile oluşturulan cevabı değiştirmedeği, diklorometan ekstresinin metanol ekstresinden daha yüksek oranda olmak üzere; histamin, asetilkolin ve serotonin ile oluşturulan cevapları azalttığı görülmüştür. Bu bulguların bitkinin halk arasında ürtiker ve diyarede kullanımını desteklediği belirtilmiştir ⁹⁶.

In vivo Çalışmalar:

Analjezik ve Antienflamatuvar Etki:

Küpeli ve arkadaşları, *Juniperus* seksiyonunda yer alan 5 taksonun analjezik ve antienflamatuvar etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla *J. drupacea*, *communis* var. *communis*, *communis* var. *saxatilis*, *oxycedrus* ssp. *oxycedrus* ve *oxycedrus* ssp. *macrocarpa* dal, meyve ve yapraklarından sulu ve metanollü ekstreler hazırlanmıştır. Farelere 100 mg/kg dozda uygulanan ekstrelerin antienflamatuvar etkileri karragen ve prostaglandin E₂ (PGE₂) nedenli pençe ödemi modelleri kullanılarak, analjezik etkileri ise p-benzokinon nedenli kıvrınma ve sıcak zemin (hot plate) yöntemleri ile incelenmiştir. *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* meyve ve yaprak metanol ekstrelerinin p-benzokinon

nedenli kıvranmaları % 27.2-28.2 oranlarında azalttığı görülmüştür. Ekstre verilen hayvanların mideleri incelendiğinde herhangi bir hasara rastlanmamıştır. Sıcak zemin testinde ekstrelerden hiçbirinin belirgin analjezi oluşturmamıştır. görülmüştür. Karragen nedenli pençe ödemi testinde yine *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* meyve ve yaprak metanol ekstrelerinin istatistiksel olarak anlamlı ve belirgin antienflamatuvar etki gösterdiği belirtilmiştir. Aynı ekstreler PGE₂ nedenli pençe ödeminde belirgin inhibisyon meydana getirmiştir ⁸⁸.

Moreno ve arkadaşları, *J. oxycedrus* yaprak ve dallarından hazırladıkları metanol ve diklorometan ekstrelerinin antienflamatuvar etkilerini; karragen nedenli pençe ödemi testinde, analjezik etkilerini; kimyasal uyarı (asetik asit), mekanik uyarı (ayak çekme) ve termal uyarı (sıcak zemin) testleri ile incelemişlerdir. Metanol ekstresi (200 mg/kg) ve alt fraksiyonları belirgin antienflamatuvar etki göstermiştir. Kimyasal uyarı nedenli ağrı testinde her iki ekstre de yüksek analjezik aktivite gösterirken mekanik ve termal uyarı nedenli ağrı testlerinde sadece metanol ekstresi analjezik etkili bulunmuştur. Çalışmada ekstrelerin akut toksisiteyi araştırılmış ve LD₅₀ değeri 3g/kg'ın üzerinde bulunmuştur. Her iki ekstre de uygulandıktan sonraki 30 dakika içinde motor aktivitede % 76 ve % 60 oranlarında düşüşe sebep olmuştur. Ekstrelerin antikonvülsan etkileri araştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilememiştir ⁹³.

Hipotansif:

Bello ve arkadaşları, *J. oxycedrus* yaprak ve dallarından hazırladıkları ekstrelerin hipotansif etkilerini, anestezi altındaki normotansif sıçanlarda incelemişlerdir. Metanol ekstresi 4.8, 16 ve 48 mg/kg, diklorometan ekstresi ise 2, 6 ve 18 mg/kg dozlarda intravenöz yolla uygulanmış; arteriyel kan basıncındaki değişiklikler, basınç başlangıç değerine düşene kadarki süre içerisinde izlenmiştir. Her iki ekstre de sıçanlarda sistolik ve diastolik bazal basıncı belirgin olarak azaltmıştır. Ekstreler noradrenalin uygulanmış sıçanlara uygulandığında noradrenalinin hipertansif etkisini değiştirememiştir. Bu sonuç,

ekstrelerin normotansif hayvanlardaki hipotansif etkilerinin noradrenalinden bağımsız olduğunu göstermektedir ⁹⁵.

2.5. KİMYASAL İÇERİK ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Juniperus türlerinin kimyasal içeriği üzerine yayınlanan ilk çalışma Hartwell ve arkadaşlarının 1952'de basılan araştırmalarıdır, fakat sistematik çalışmalar ancak 1970'lerde başlamıştır. Li-Kang Ho *Juniperus* cinsi üzerindeki kimyasal çalışmalar ve muhtemel biyosentez yollarını 1995'te yayınladığı bir derlemede açıklamıştır; yayın Çince'dir. Seca ve Silva ise, 1970-2004 yılları arasında yayınlanan, *Juniperus*'lardan izole edilen uçucu olmayan bileşikler ve bunların biyolojik aktiviteleri ile ilgili çalışmaları derleyerek 2005'te yayınlamıştır ⁸⁶.

Bu kısımda *Juniperus* türlerinde bulunduğu tespit edilen bileşikler iskelet tipine göre alfabetik olarak sınıflandırılarak açıklanmıştır.

1. Flavonoidler
2. Kumarinler
3. Lignanlar
4. Steroller
5. Terpenler: Üç alt grupta incelenebilir:
 - 5.1. Monoterpenler
 - 5.2. Seskiterpenler
 - 5.3. Diterpenler
6. Bu gruplara dahil olmayan bileşikler ise iki ayrı grup altında sınıflandırılmıştır:
 - 6.1. Diğer alifatik bileşikler
 - 6.2. Diğer aromatik bileşikler

Bu gruplarla ilgili kısaca genel bilgi verilerek, grup ve alt gruptaki bileşikler, alfabetik olarak sıralanmıştır.

1. Flavonoidler: *Juniperus* türlerinden çoğu biflavonol ve flavon türevi 61 flavonoid izole edilmiştir. Bunlara ilaveten Sakar ve Engelshove tarafından *J. drupaceae*'da prosiyanidin dimerleri B1, B2, B3, B4, B5 ve B6'nın da bulunduğu tespit edilmiştir ⁸⁶.

2. Kumarinler: Sekiz *Juniperus* türünden altı kumarin (4-metoksi-5-metilkumarin, siderin, kumarsabin, 8-metoksi-kumarsabin, umbelliferon ve şikimmin) elde edilmiştir ⁸⁶.

3. Lignanlar: *Juniperus* türlerinden toplam 62 lignan izole edilmiştir. Bunlardan bazılarının sitotoksik etkilerinin bulunması, halkın geleneksel tedavideki kullanım amaçlarından bazılarını da desteklemektedir. Bu lignanlardan biri de bitkide çok düşük miktarda bulunan ve antilösemik etkili olan podofillotoksindir. *J. chinensis* kallus kültürlerinde podofillotoksin üretimini arttırmak amaçlı çalışmalar yapılmıştır ⁸⁶.

4. Steroller: Sterollerden sadece 4 farklı iskelet tipine rastlanmıştır. En çok bulunan sterol ise β -sitosteroldür ⁸⁶.

5. Terpenler: Kozalaklıların kemosisitematiği üzerinde yürütülen çalışmalarda özellikle terpenler çok değerlidir. Bunlardan akoranlar, şamigranlar, kuparanlar, tropolonlar ve vidranlar Cupressaceae familyasına özgüdür. Kozalaklıların kemosisitematiğinde seski-, di- ve triterpenoidlerin yeri konusunda yapılmış bir derleme çalışması Otto ve Wilde tarafından yayınlanmıştır ¹⁰².

Bugüne kadar *Juniperus* türlerinden izole edilmiş monoterpenerler başlıca uçucu yağda bulunmaktadır. Cupressaceae familyasına ait bitkilerin uçucu yağları, güçlü asidik karakter gösteren ve yüksek olasılıkla odunun mantar tahribine karşı dayanıklılığında sorumlu olan monoterpenerler taşır.

Asiklik, monosiklik ve bisiklik yapıdaki monoterpenlerden, bütün iğne yapraklılarda bulunan, en önemlileri; α -, β -pinen, limonen, Δ^3 -karen, kamfen, mirsen ve β -fellandren'dir. Monoterpenlerden bazılarının 7'li halka yapısı taşıyan enolon tipinde bileşikler olduğu bulunmuş, bunlar tropolonlar olarak adlandırılmıştır. Bunlara örnek olarak α -, β - ve γ thujaplisinler verilebilir ¹⁰³.

Ardıçlardaki seskiterpenler asiklik (farnesen, nerolidol), monosiklik (germakren), bisiklik (kadinen, kadinol, muurolen) ve daha komplike (longifolen, longipinen) olabilir ¹⁰³.

Humulen ve karyofillen en fazla rastlanan seskiterpendir. Nootkatin ve hidronootkatinol olarak isimlendirilen seskiterpenik tropolon türevleri de *Cupressus* ve *Juniperus*'lardan izole edilmiştir ¹⁰³.

Kozalaklılardan elde edilen terpenlerden diterpenler ve diterpenoik asitler, bulunuş yüzdeleri açısından ön sırada yer alırlar. Sadece hidrokarbon yapılı pimaridien ile hidroksilli türevi pimarinelün yanısıra abienol ve levopimaral da nötral diterpenlere örnek verilebilir ¹⁰³.

Bisiklik diterpenlerden başlıcaları labdan tipindedir. İzokupresik asit en önemli bisiklik diterpenlerden biridir. İzokupresik asitin, (bitkileri besin olarak tüketmeleri sebebiyle) çiftlik hayvanlarında medyana gelen düşüklere sebep olabileceği düşünülmüş, *J. scopulorum*, *osteosperma*, *monosperma*, *communis* gibi ardıç türlerinde bu maddenin miktar tayinine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Ancak yapılan diğer bir çalışmada izokupresik asitin sığır oosit olgunlaşmasına ve preimplante embriyo gelişimine etkisi incelendiğinde, advers etki gözlenmediği belirtilmiştir ⁸⁶.

Ilıman bölgelerde yetişen iğne yapraklılarda belirgin şekilde bulunan reçine asitleri de çoğunlukla trisiklik diterpenlerdir. Bunlara örnek olarak pimarik asit, izopimarik asit, sandarakopimarik asit, abietik asit, neoabietik asit, dehidroabietik asit, levopimarik asit ve palustrik asit verilebilir. Ardıç türlerinden izole edilen trisiklik diterpenlerin çoğu abietan veya pimarane iskeleti taşır. Bu

bileşiklerin kemotaksonomideki önemi Otto ve Wilde'nin derleme çalışmalarında ayrıntılı olarak açıklanmıştır ¹⁰². Ayrıca ardıç türlerindeki sandarakopimarik, izopimarik asit ve abientan asitlerinin miktar tayinleri ve biyolojik aktiviteleri üzerinde yapılmış birçok çalışma mevcuttur ⁸⁶.

Juniperus türlerinden izole edilen triterpenlerin çoğu stearan yapısındadır ve steroidler altında incelenmektedir.

6.1. Diğer Alifatik Bileşikler:

Spesifik iskelet adı olmayan (labdan, seskiterpen veya sterol yapısı taşımayan) alifatik bileşikler bu başlık altında sınıflandırılabilir. Ardıçlarda kutikulada bulunan mumların içeriği, çevre ve popülasyonlara göre farklılıkları üzerine yapılmış çalışmalar da mevcuttur ⁸⁶.

Çeşitli koniferlerin odunlarında 20'den fazla yağ asiti belirlenmiştir. Bunlar genelde, doymuş, monoenik, dienik, trienik 16-22 karbonlu asitlerdir. Bununla birlikte daha düşük asitler (C₁₀-C₁₄) ve daha yüksek (C₂₄-C₃₀) ve tetraenik asitlere de rastlanmıştır. Çeşitli koniferlerin yağ asidi bileşimi incelendiğinde, çoğunlukla oleik (C₁₈:1(9)), linoleik (C₁₈:2(9,12)) ve 5,9,12 oktadekatrienik asitten (C₁₈:3(5,9,12)) oluştuğu görülür. Daha düşük miktarda palmitik, stearik, 14-metilhekzadekanoik ve 5,11,14-eikosatrienik asit de saptanmıştır ¹⁰³.

Mumlara bağlı ve serbest halde bulunan alkoller ise 16-28 karbonlu, düz zincirli doymuş bileşiklerdir ¹⁰³.

6.2. Diğer Aromatik Bileşikler:

Aromatik halka yapısı taşıyan ancak kumarin, flavonoit, lignan veya dehidroabietan yapısında olmayan bileşikler bu başlık altında sınıflandırılabilir ⁸⁶. Bunlardan basit fenoliklere örnek olarak koniferin, koniferil

aldehit, siringin verilebilir. *Pinus* türlerinin öz odunları başta olmak üzere bazı kozalaklılarda resveratrol gibi stilbenlerin de bulunduğu kanıtlanmıştır ¹⁰³.

Juniperus türleri odunları açısından ormancılıkta çok değerli olduğundan Mualla Balaban tarafından “Önemli Yerli Ardıç Türleri Odunlarının Kimyasal Özellikleri” konulu bir doktora tez çalışması yapılmış ve bu çalışmada ardıç odunlarının bileşiminde bulunan temel maddeler; selüloz, poliozlar, lignin ve yan bileşenler (terpenler, yağlar, mumlar, alifatik asitler, fenolik bileşikler ve anorganik maddeler) olarak açıklanmıştır ¹⁰³.

Dünya’da çok sayıda ardıç türünün olması ve bu türler üzerinde yapılan birçok kimyasal çalışma bulunması sebebiyle, bu bölümde sadece ülkemizde yetişen *Juniperus* türlerinde bulunan maddeler tablo 2’de belirtilmiştir. Tablodaki türler ve madde grupları alfabetik sıraya göre düzenlenmiştir. Tabloda ülkemizdeki ardıç türlerinin kimyasal içerikleri üzerine ayrıntılı bilgilerin yer aldığı tezlerden ^{103,104} ve *Juniperus*’lar üzerine 1970-2004 yılları arasında yapılan kimyasal çalışmaların derlendiği Seca ve Silva’nın çalışmasından ⁸⁶ yararlanılmıştır. Literatür taramalarında bulunan diğer maddeler de tabloya eklenerek kaynakları ayrıca belirtilmiştir ¹⁰⁵⁻¹⁰⁹.

Juniperus meyve, yaprak ve odunundan elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi üzerinde yapılmış birçok kapsamlı çalışma mevcuttur. Ülkemizde bu konuda tamamlanmış tezler de bulunduğu tablo 2’de uçucu yağların bileşimi ile ilgili ayrıntılı bilgi verilmemiştir ^{34, 76, 103,104,110,111}.

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler–1 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>communis</i>	Flavonoitler 3',4',5,6,7-Pentahidroksiflavon-6-O-β-D-ksilozit 4',5,6,7-Tetrahidroksiflavon-6-O-β-D-ksilozit 7-Hidroksi-4',5,6-trimethoksiflavon (+)-Afzeleşin Apigenin

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler-2 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>communis</i>	Flavonoitler (devam) Apigenin hekzozit Amentoflavon Bilobetin (-)-<i>Epiafzeleşin</i> (-)-<i>Epigallokateşin</i> (-)-<i>Epikateşin</i> (+)-<i>Gallokateşin</i> Hinokiflavon Hipolaetin-7-<i>O</i>-β-ksilopiranozit Hipolaetin-7-<i>O</i>-glukozit İzokersitrin İzokriptomerin İzoskutellarein-7-<i>O</i>-β-ksilopiranozit İzoskutellarein-8-<i>O</i>-hekzozit (+)-<i>Kateşin</i> Kemferol-3-<i>O</i>-α-ramnopiranozit Kemferol-3-<i>O</i>-β-D-glukozit Kersetin Kersitrin Kersetin-3-α-<i>O</i>-L-ramnofuranozit Kersetin-3-<i>O</i>-arabinozil-glukozit Kesretin-3-<i>O</i>-pentozit Kupressuflavon Kupressuflavon 4'-<i>O</i>-β-D-glukozit Luteolin Luteolin-7-<i>O</i>-β-D-glukozit Naringenin-7-<i>O</i>-β-glikopiranozit Naringenin-4'-<i>O</i>-β-glikopiranozit Nepetin Nepitrin Nikotiflorin Podokarpusflavon A Robustaflavon Rutin Skiadopitisin Skutellarein Kumarinler Umbelliferon Lignanlar (2<i>S</i>,3<i>R</i>)-2,3-Dihidro-7-hidroksi-3-hidroksimetil-2-(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-5benzofuranpropanol-3a-<i>O</i>-α-ramnopiranozit Deoksipodofillotoksin İkarizit E4 Juniperkomnozit A

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler–3 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>communis</i>	Lignanlar (devam) Juniperkomnozit B (7<i>R</i>,8<i>S</i>)-Juniperkomnozit C (7<i>S</i>,8<i>R</i>)-Juniperkomnozit D (-)-Sesamin Yatein Steroller Kampesterol Kolesterol β-Sitosterol γ-Sitosterol Terpenler Monoterpenler β-Fellandren Geraniol Kamfen Δ^3-Karen Limonen Mirsen α-Pinen β-Pinen Sabinen p-Simen α-Terpinen γ-Terpinen Terpinolen α-Tuyaplisin β-Tuyaplisin Seskiterpenler Eleman tipi: β-Elemen-7α-ol Farnesan tipi: Nerolidol Germakren tipi: Germakren B Germakren D (-)-Germakra-1(10),5<i>E</i>-dien-4β-ol Germakra-5<i>E</i>,10(14)-dien-1<i>b</i>,4β-diol Germakra-5<i>E</i>,(14)-dien-1α,4β-diol Himaşalan tipi: α-Himaşalen Humulan tipi: α-Humulen Humulen epoksit İndan tipi: Oplopanon Kadinan tipi : γ-Kadinen δ-Kadinen α-Kadinol T-Kadinol

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler-4 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>communis</i>	Seskiterpenler (devam) Kalamenen tipi: Kalamenen Karyofillan tipi: β-Karyofillen Karyofillen oksit Kuparan tipi: Kuparen Ödesman tipi: β-Selinin Sedran tipi: Sedrol Şamigran tipi: Tuyopsen (Vidren) Vidrol Diğer seskiterpenler: Nootkatin (+)-Nootkaton Diterpenler Bisiklik diterpenler: 3α,15-Dihidroksi-labda(17),13<i>E</i>-dien 3α-Asetoksi-izokupressik asit 3α-Hidroksi-12,13<i>E</i>-biformen 3α-Hidroksi-labda-(17),13<i>E</i>-dien-15-oik asit (+)-3α-Hidroksimanool 3α-Hidroksi-<i>trans</i>-kommunik asit 13,14-<i>Epoksi</i>-imbrikatolik asit 15,16-<i>Epoksi</i>-12-hidroksi-8(17), 13(16), 14-labdatrien-19-oik asit 13-Okso-14,15-dinor-labd-8(17)-en-19-oik asit (14<i>S</i>)-14,15-Dihidroksi-labd-(17),13(16)-dien-19-oik asit Agathadiol Agatholal Antikopalol Manool Metil imbrikatolat Metilizokupressik asit Mirseo-kommunal Mirseo-kommunik asit İmbrikatalik asit İmbrikatolik asit $\Delta^{13(16)}$-İzokommunal İzo-kupressik asit Junisedral <i>cis</i>-Kommunal <i>cis</i>-Kommunik asit <i>trans</i>-kommunik asit <i>cis</i>-Kommunol Mirsekommunik asit dimeri 15-<i>O</i>-Palmitoil izokupressik asit Torulosal Torulosik asit Torulosol

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler-5 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>communis</i>	Diterpenler Trisiklik diterpenler: 4-<i>epi</i>-Dehidroabietol 6,7-Dehidro-ferruginol 7α-Hidroksi-dehidroabietik asit 7α-Hidroksi-sandarakopimarik asit 7-Okso-13-epipimara-8,15-dien-18-oik asit (+)-Abieta-8,11,13-trien-7-on Dehidroabietol Ferruginol Kriptojaponol Ksantoferol İzopimaral İzopimarik asit İzopimarol Metil izopimaral Sandarakopimaral Sandarakopimarik asit Sandarakopimarol Sugiol Diğer Alifatik Bileşikler 5,10-Nonakozanodiol 10-Nonakozanol 16-Hidroksipalmitik asit (Juniperik asit) (3<i>R</i>,9<i>S</i>)-megastigman-5-en-3,9-diol-3-<i>O</i>-[α-L-arabinofuranozil-(1$\rightarrow$6)]-β-D-glikopiranozit (3<i>R</i>,9<i>S</i>)-megastigman-5-en-3,9-diol 3-<i>O</i>-β-D-glikopiranozit (1<i>R</i>,6<i>R</i>,9<i>S</i>)-6,9,11-trihidroksi-4,7-megastigmadien-3-on11-<i>O</i>-β-D-glikopiranozit Fitol Hekzakozan-1,26-diol Kaprik asit Korkoionozit [= (6<i>S</i>,9<i>S</i>)-rozeozit A] Laurik ve palmitik asit Linoleik asit Nonakozan Oleik asit (-) Oleuropeik asit 8-<i>O</i>-β-D-glikopiranozit Diğer Aromatik Bileşikler Juniperkomnozit E Juniperkomnozit F (Rozarin)

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler–6 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>drupacea</i>	Flavonoitler Amentoflavon (-)-<i>Epikateşin</i> Hinokiflavon Kersetin-3-α-O-L-ramnofuranozit Kupressuflavon Terpenler Diterpenler Bisiklik diterpenler: <i>trans</i>-Kommunik asit Trisiklik diterpenler: 4-<i>epi</i>-Abietik asit Ferruginol Sandarakopimarik asit
<i>excelsa</i>	Flavonoitler (-)-<i>Epikateşin</i> Terpenler Seskiterpenler Eleman tipi: 8α-Hidroksielemol Karyofillan tipi: Metil karyofillen Sedran tipi: 4α-Hidroksisedrol Sedrol Şamigran tipi: Tuyopsen (Vidren)
<i>foetidissima</i>	Diterpenler Bisiklik diterpenler: 3α-Asetoksi-labda-8(17),13(16),14-trien-19-oik asit (Juniperekzelsik asit) (-)-<i>ent-trans</i>-kommunik asit İzokommunik asit Trisiklik diterpenler: 3β,12-Dihidroksi-abieta-8,11,13-trien-1-on 3β-Hidroksi-sandarakopimarik asit 4-<i>epi</i>-Abietal 4-<i>epi</i>-Abietik asit 4-<i>epi</i>-Abietol Ferruginol Hinokiol İzopimarik asit Sandarakopimarik asit Seskiterpenler Bisabolan tipi: α-Bisabolol Kadinan tipi: δ-Kadinen izo-Kadinen T-Kadinol Kalamenen tipi: Kalamenen Karyofillan tipi: 14-Hidroksi-karyofillen oksit β-Karyofillen Metil karyofillen

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler-7 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>foetidissima</i>	Seskiterpenler (devam) Murolen tipi: T-Murolol Sedran tipi: 8,14-Sedranoksit 8,14-Sedranolit 13-Karboksilik asit,8S-hidroksi-sedran 13-ol-8-Sedren <i>epi</i>-Sedrandiol α-Sedren α-Sedrenik asit Sedrol Sedrolük asit Şamigran tipi: Hinokiik asit (Vidrenik asit) Tuyopsen (Vidren) Vidrol Diterpenler Bisiklik diterpenler: <i>cis</i>-Kommunik asit <i>trans</i>-Kommunik asit Trisiklik diterpenler: 4-<i>epi</i>-Abietik asit 4-<i>epi</i>-Dehidroabietol 6β-Hidroksi ferruginol 13β-Hidroksi-abieta-8(14)-en-19-al Abiet-8(14)-en-13β,19-diol İzopimarol Sandarakopimarik asit Makrosiklik diterpenler: Formosanin Formosaninol
<i>oxycedrus</i>	Flavonoitler Amentoflavon Hinokiflavon Kupressuflavon Rutin Kumarinler Umbelliferon Steroller Kampesterol Kolesterol β-Sitosterol Stigmasterol Terpenler Monoterpenler α-Fellandren Limonen Mirsen

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler-8 ^{34, 86, 90, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>oxycedrus</i>	Monoterpenler (devam) α-Pinen β-Pinen p-Simen Timokinon β-Tuyaplisin Seskiterpenler Bisabolan tipi: ar-Kurkumen Dihidro-kurkumen Kurkumen (3,5,10 Bisabolatrien) Eleman tipi: β-Elemen Elemol Farnesan tipi: α-Farnesen β-Farnesen <i>E</i>,Nerolidol Germakren tipi: Germakren D Himakalen tipi: α-ar-Himakalen δ-ar-Himakalen Humulan tipi: 14-Asetoksi-α-Humulen α-Humulen Guayan tipi: δ-Guayen β-Maalien Kadinan tipi: 14-Hidroksi-δ-Kadinen 16-nor-Kadina-5-en-4-on <i>epi</i>-Zonaren γ-Kadinen δ-Kadinen Kadinen α-Kadinol δ-Kadinol (Torreyol) T-Kadinol Zonaren Kalakoren tipi: Kadalen α-Kalakoren Kalamenen tipi: (-)14-Hidroksi-kalamenen 14-okso-kalamenen Kalamenen Kalamenenol <i>trans</i>-Kalamenen Karyofillan tipi: 14-Hidroksi-9-<i>epi</i>-β-Karyofillen 15-Hidroksi-β-Karyofillen Betulenal β-Karyofillen <i>cis</i>-Karyofillen epoksit Karyofillen oksit Metil karyofillen

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler–9 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>oxycedrus</i>	Seskiterpenler (devam) Kubeben tipi: α-Kubeben β-Kubeben epi-Kubenol Kubenol Kuparan tipi: Kuparen Longifolen tipi: Longifolen Muurolen tipi: 14-Hidroksi-α-muurolen 14-okso-α-muurolen α-Amorfen α-Kopaen (α-Ylangen) α-Muurolen γ-Muurolen α-Muurolol T-Muurolol Ödesman tipi: İntermedeol (Selina-11-en-4β-ol) İzo-intermedeol Ödesmol β-Selinen Sedran tipi: Junisedranol α-Sedren β-Sedren psödo-Sedrol Sedrol Şamigran tipi: α-Şamigren δ-Şamigren Tuyopsen (Vidren) Vidrol Diğer seskiterpenler: Gleenol α-Gurjunon δ-Gurjunon Nootkatin Nootkaton Siperen Vidringtonik asit II Diterpenler Bisiklik diterpenler: 11β-Hidroksi manoil oksit 13-Okso-14,15-dinor-labd-8(17)-en-19-oik asit Agatik asit <i>cis</i>-Kommunik asit (+)-<i>enantiyo</i>-Oliverik asit İmbrikatalik asit İmbrikatolik asit İzokupressik asit Kupressik asit

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler–10 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>oxycedrus</i>	Bisiklik diterpenler (devam): Manoil oksit Metil imbrikatolat Metilizokupressik asit Mirseokommunal Mirseokommunik asit Mirseokommunik asit dimer <i>trans</i>-Kommunik asit Trisiklik diterpenler: 7α-Hidroksi-abieta-8,11,13-trien Abietik asit Dehidroabietik asit Dehidroabietinol Neoabietik asit Palustrik asit Sandarakopimaral Sandarakopimarik asit Diğer Alifatik Bileşikler: 1,12-Nonakozanodiol 1,14-Tetradekanodiol 5,10-Nonakozandiol 10-Nonakozanol 12-Hidroksilaurik asit (Sabinik asit) 14-Hidroksimiristik asit 16-Hidroksipalmitik asit (Juniperik asit) Araşidik asit Hekzakozan-1,26-diol Kaprik asit Laurik ve palmitik asit Linoleik asit Linolenik asit Miristik asit Nonakozan Oleik asit Palmitoleik asit Skualen Stearik asit
<i>phoenicea</i>	Flavonoitler Amentoflavon Hinokiflavon Hinokiflavon mono ve dimetil eterleri Kupressuflavon Robustaflavon Kumarinler Şikimmin

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler–11 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>phoenicea</i>	Lignanlar Deoksi-pikropodofillotoksin Deoksipodofillotoksin β-Metilpeltatin A Şonanin Steroller Sitosterol Terpenler Monoterpenler β-Fellandren Karvakrol Limonen Mirsen α-Pinen β-Pinen β-Tuyaplisin Seskiterpenler Eleman tipi: Elemol Germakren tipi: Germakren D Humulan tipi: α-Humulen Kadinan tipi: γ-Kadinen α-Kadinol metil eter Karyofillan tipi: β-Karyofillen Karyofillen oksit Ödesman tipi: β-Selinen Diğer seskiterpenler: 6-Hidroksi-junipeionolozit Dihidrofaseik asit 4'-O-β-D-glikopiranozit Junipeionolozit Rozeozit Diterpenler Bisiklik diterpenler: 8,15-Dihidroksi-labda-13<i>E</i>-en-19-oik asit 12(<i>R</i>)-Hidroksi-mirseo-kommunik asit (13<i>S</i>)-15-Hidroksilabd-8(17)-en-19-oik asit 13-<i>epi</i>-Manoil oksit 15-Metil imrikatalik asit Agathadiol Agatholal <i>cis</i>-Kommunal <i>cis</i>-Kommunik asit <i>Eperu</i>-13(14)-ene-8β,15-diol İmrikatalik asit İzokupressik asit Labd-8(17)-en-12-hidroksi-19-oik asit Manoil oksit Mirseokommunik asit

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler–12 ^{34, 86, 91, 98, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>phoenicea</i>	Bisiklik diterpenler (devam): Sklareolik asit (+)-enantio-Oliverik asit <i>trans</i>-Kommunal <i>trans</i>-Kommunik asit Trisiklik diterpenler: 3-β-Hidroksi-izopimarik asit 3-β-Hidroksi-sandarakopimarik asit 4-<i>epi</i>-Abietal 4-<i>epi</i>-Abietik asit 4-<i>epi</i>-Abietinal 4-<i>epi</i>-Abietinol 4-<i>epi</i>-Abietol 4-<i>epi</i>-Dehidroabietal 4-<i>epi</i>-Dehidroabietik asit 4-<i>epi</i>-Dehidroabietol 4-<i>epi</i>-Neoabietik asit 4-<i>epi</i>-Palustrik asit 4-<i>epi</i>-Palustrik asit 9α,13α-endo peroksit 6-α-Hidroksi-sandarakopimarik asit 7α,12β-Dihidroksi-sandarakopimarik asit 7α-Hidroksi-4-<i>epi</i>-dehidroabietal 7α-Hidroksi-kallistrisik asit 7-Okso-kallistrisik asit 12-Okso-8α,15-dihidroksiabiet-13-en-19-oik asit 12-Okso-8α-hidroksiabiet-13-en-19-oik asit 15-Hidroksi-8α,12α-<i>epi</i>-dioksi-abiet-13-en-19-oik asit Abieta-7,13-dien Abieta-7,13-dien-3-on Abietik asit Abietal Abietinol Dehidroabietan Dehidroabietik asit Dehidroabietol Ferruginol Hinokiol İzopimaral İzopimarik asit İzopimarol Sandarakopimaral Sandarakopimarik asit Sandarakopimarol (+)-Totaradiol (+)-Totarol

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler–13 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>phoenicea</i>	Diğer alifatik bileşikler 5-Metil-4-<i>O</i>-(β-D-glikopiranozil)-3-(2-izopropilidenil)-furanon 10-Nonakozanol Foeniserozit Hekzakozan-1,26-diol Linoleik asit Linolenik asit Oleik asit Pisidrin Diğer aromatik bileşikler 1-Galloil-β-glikopiranoz 3',4',5'-Trimetoksi-sinamil izovalerat 7,8-Dehidro-<i>p</i>-kumarik asit 9-<i>O</i>-(β-Glikopiranozit)-3,4-dihidroksisinamil alkol Gallik asit Guayaçilgliserol Junipediol A Junipediol A-8-β-D-glukozit Junipediol B-8-β-D-glukozit Juniperozit Junipetriolozit A Junipetriolozit B Rozarin Şikimik asit
<i>sabina</i>	Flavonoitler Apigenin (-)-<i>Epikateşol</i>-(-)-<i>epikateşol</i> (+)-Kateşol-(+)-kateşol (+)-Kateşol-(-)-kateşol Kersetin-3-α-<i>O</i>-L-ramnofuranozit Kersetin-3-<i>O</i>-β-L-ramnofuranozil-6-<i>O</i>-β-D-glikopiranozit İzokersitrin Kumarinler 8-Metoksi-kumarsabin Kumarsabin Siderin Lignanlar 2'-Metoksi-<i>epipikro</i>-podofillotoksin 2'-Metoksi-pikro-podofillotoksin 2'-Metoksi-podofillotoksin 3'-Demetildihidro-anhidropodorizol (-)-3-<i>O</i>-Demetilyatein Akuminatin Anhidropodorizol

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler–14 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>sabina</i>	Lignanlar (devam): Asetil junaftolik asit Dehidropodofillotoksin Deoksi-pikropodofillotoksin Deoksipodofillotoksin (-)-Deoksipodorizon Dihidroanhidro-podorizol (+)-Dihidrosesamin <i>Epi</i>-pikropodofillotoksin <i>Epi</i>-pikropodofillotoksin asetat <i>Epi</i>pinorezinol (+)-<i>Epi</i>pinorezinol <i>Epi</i>podofillotoksin <i>Epi</i>podofillotoksin asetat Junaftolik asit β-Metilpeltatin A β-Metilpeltatin B Pikropodofillotoksin Pikropodofillotoksin asetat Pikropodofillotokson Podofillotoksin Podorizol Podorizol asetat Steroller Kampesterol Kolesterol Sitosterol β-Sitosterol Stigmasterol Terpenler: Seskiterpenler Farnesan tipi: α-Farnesen Germakren tipi: (-)-Germakra-1(10),5<i>E</i>-dien-4β-ol Germakren B İndan tipi: Oplopanon Oplopenon Kadinan tipi: α-Kadinol Karyofillan tipi: β-Karyofillen Ödesman tipi: β-Selinen Diterpenler: Bisiklik diterpenler: 19-Asetoksi-labda-13<i>E</i>-en-8,15-diol <i>cis</i>-Kommunik asit Eperu-13(14)-ene-8β,15-diol İzokupressik asit Kupressik asit

Tablo 2. *Juniperus* türlerinden izole edilen bileşikler–15 ^{34, 86, 91, 103-109}

Tür Adı	İzole Edilen Bileşikler
<i>sabina</i>	Bisiklik diterpenler (devam) Labd-13E-en-8,15-diol Kupressik asit Mirseokommunik asit <i>trans</i>-Kommunik asit <i>trans</i>-Kommunal Z-Biformen Trisiklik diterpenler: 4-<i>epi</i>-Abietal 4-<i>epi</i>-Abietik asit 4-<i>epi</i>-Abietol 4-<i>epi</i>-Dehidroabietal 4-<i>epi</i>-Dehidroabietol 4-<i>epi</i>-Neoabietik asit 4-<i>epi</i>-Palustral 4-<i>epi</i>-Palustrik asit 9α, 13α-endoperoksit 7α-Hidroksi-kallistrisik asit 7α-Okso-kallistrisik asit Abieta-7,13-dien Abieta-7,13-dien-3-on Abieta-8,11,13-trien-3-on Abietol Kallistrisik asit Sandarakopimaral Sandarakopimarik asit Sandarakopimarol Diğer alifatik bileşikler 10-Nonakozanol Eneikozanoik asit Laurik ve palmitik asit Miristik asit Palmitoleik asit Stearik asit

2.6. *Juniperus* TÜRLERİNİN TOKSİKOLOJİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Juniperus türlerinin toksik etkileri ve güvenilirliği üzerinde yapılan çalışmalar, 2001 yılında Kozmetik Maddeleri Değerlendirme Kurumu Uzmanlar Grubu tarafından düzenlenen bir panelde derlenmiş ve sonuç raporu yayınlanmıştır. Raporda öncelikle *J. communis*, *oxycedrus*, *phoenicea*, *virginiana* ekstreleri, *J. oxycedrus* katran ve meyve uçucu yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri ile üretim (hazırlanış) yöntemleri anlatılmaktadır. Rapora göre; *J. communis* ekstresi ve *J. oxycedrus* ekstresi, bu bitkilerin olgun meyvelerinin etanolle ekstraksiyonu ile elde edilen ekstrelerdir. *J. oxycedrus* katranı, bu türün odunlarının distilasyonu ile, uçucu yağ ise meyvelerin buhar distilasyonu ile elde edilmektedir. *J. phoenicea* ekstresi bitkinin reçinesinden hazırlanan ekstreyi ifade ederken *J. virginiana* ekstresi bu türün odunlarının ekstraksiyonu ile elde edilmektedir. Bu türlerden buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağlar, koku ve parfüm üretiminde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalara göre *J. communis* uçucu yağı ve ekstresinin kimyasal bileşimi benzerdir; her ikisi de çok sayıda terpenoit ve aromatik bileşik, alifatik alkoller ve aldehitler ile az miktarda alkan içerirler. *J. oxycedrus* katranının temel bileşiği; seskiterpen yapılı bir madde olan kadinendir, bunun yanı sıra katranda krezol ve gayakol de bulunmaktadır. Raporda, o tarihte yeterli bilgi bulunmamasına rağmen, ekstraksiyon yöntemi ve bitkinin yetiştirme şartlarının kimyasal bileşimi doğrudan etkileyebileceğine vurgu yapılmıştır. Raporda açıklanan ekstrelerin, farklı amaçlarla kozmetik formülasyonların bileşimine katıldığı, ardıç katranının ve uçucu yağının ise saç preparatlarında ve parfüm yapımında kullanıldığı belirtilmektedir ¹¹².

1984'te Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA), kozmetiklerde ardıç katranının % 1-5, ekstrelerinin ise % 0.1-1 oranlarında kullanılması gerektiğini beyan etmiştir. Japon Kozmetik Standartlarını Ruhsatlandırma Kurumu'nun

1998 yılı verilerine göre, ardıçlardan elde edilen ürünler; banyo suları, banyo köpükleri, maskara, far, ruj, fondöten, pudra gibi makyaj ürünleri, şampuan, saç spreyi, saç şekillendiricileri, vücut ve yüz bakım kremleri, gece kremleri gibi kozmetik amaçlı 47 preparatın yapısında yer almaktadır ¹¹². Ayrıca ekstre, katran ve uçucu yağ taşıyan oral preparatları diüretik, topikal preparatlar ise ekzema, pruritis, atopik dermatit, sedef hastalığı tedavisinde ve analjezik olarak hemoroit kremlerinde kullanılmaktadır ¹¹².

Güvenli kullanımla ilgili yapılan çalışmalarının çoğunun farklı ardıç türlerinden elde edilen uçucu yağlar üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Uçucu yağ ve ekstrelerin kimyasal profilleri benzer olabileceğinden, uçucu yağlarla ilgili bu bilgilerin dikkate alınması gereklidir ¹¹².

Hayvanların kullanıldığı akut çalışmalarda, uçucu yağ ve katran düşük toksisite göstermiştir. *J. communis*, *oxycedrus* ve *virginiana* uçucu yağlarının LD₅₀ değeri sıçanlarda 5g/kg'ın üzerinde bulunmuştur. *J. virginiana* uçucu yağının akut dermal toksisitesinin araştırıldığı bir çalışmada LD₅₀ değeri 5 g/kg'ın üzerinde bulunmuş, bu dozun tavşanlara uygulanması ile hafif şiddette eritem, ödem ve kızarıklıklar meydana geldiği bildirilmiştir. Ardıç katranının akut oral toksisitesi incelendiğinde, LD₅₀ değeri yaklaşık 8 g/kg bulunmuş, bu dozdaki uygulamadan 18 saat sonra gözlenen sıçanlarda yan etki olarak depresyon ve gastrointestinal hasar oluştuğu bildirilmiştir ¹¹².

J. communis, *virginiana* uçucu yağları ve *J. oxycedrus* katranının fare, tavşan ve domuzlara uygulandığında, deride hassasiyet ve iritasyon meydana getirmediği görülmüştür. Uçucu yağların seyreltilmeden fare ve domuzlara uygulanması sonrası herhangi bir fototoksositeye rastlanmamıştır. Yapılan çalışmaların çoğunda ardıç katranı genotoksik bulunurken ardıç ekstrelerinin genotoksitesi ile ilgili bilgiye rastlanmamıştır. *J. communis* ekstresinin, dişi sıçanlara hamileliğin 1. ve 7. gününde 300 ve 500 mg/kg uygulandığında, fertilitiyi etkilediği ve düşüklere sebep olduğu görülmüştür ¹¹².

Klinik çalışmalarda ardıç türlerinden elde edilen uçucu yağların deride iritasyon ve hassasiyete sebep olmadıkları görülmüştür. Ardıç katranı uygulanan deneklerde hassasiyet geliştiği görülmüştür. Kozmetik Maddeleri Değerlendirme Kurumu kurallarına göre, bileşimde yer alan maddelerden biri hakkında yeterli bilgi bulunmuyorsa ürünün güvenilirliğinden bahsedilemez. Bu sebeple kurum, sonuç raporunda; *Juniperus* uçucu yağlarının, ekstrelerinin ve katranının güvenli olup olmadığı hakkında görüş belirtmek yerine eksik olan ve yapılması gereken diğer çalışmaları, toksisite testlerini açıklamayı uygun görmüştür: Günümüzde bu ürünlerin kozmetikler ve diğer preparatlar içindeki konsantrasyonlarının, üretim yöntemlerinin, bulundurabilecekleri pestisitler gibi kirliliklerin bilinmesi, UV absorbsiyonun incelenmesi (UVA ve UVB sınırlarında absorbsiyon oluyorsa fotosensitizasyon testi yapılmalıdır), deri yenilenmesi/ gelişimi üzerine toksisite, genotoksisite testlerinin yapılması gereklidir ¹¹².

Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi'nin (FDA) internet sitesinde yer alan zehirli bitkiler veritabanına, *J. chinensis*, *communis*, *excelsa*, *occidentalis*, *sabina* ve *virginiana*, 1965'de yayınlanan bir makale referans gösterilerek eklenmiştir ^{113,114}. Aynı sitede, gıda olarak güvenli kabul edilenler listesinin 182 numaralı bölümünde, uçucu yağlar, oleorezinler ve ekstreler yer almakta, bunlar arasında *J. communis* meyveleri de yer almaktadır. 346 numaralı bölümde ise reçetesiz satılan anorektal preparatlar bulunmakta, analjezik, anestezik ve antiprritik amaçla kullanılacak bu preparatların bileşiminde kafurun % 0.1-3, mentolün % 0.1-1 ve ardıç katranının % 1-5 oranlarında bulunmasına izin verilmektedir ¹¹⁵.

Craig ve arkadaşları tarafından, *J. occidentalis* uçucu yağının dermal toksik etkileri, fare ve tavşanlar üzerinde incelenmiştir. Uçucu yağ, zeytin yağı ile % 0.5, % 5 ve % 50'ye seyreltilerek farelere uygulanmış; lokal lenf nodu deneyinde % 0.5 ve % 5'lik konsantrasyonlarda hipersensitivite meydana gelmediği görülmüştür. Akut dermal iritasyonun tespiti için uçucu yağ tavşanlara doğrudan uygulandığında, birincil iritasyon indeksi 2.7 bulunmuştur (bu değer ılımlı iritasyonu ifade etmektedir). Ancak % 5'lik uçucu yağ uygulandığında

sadece hafif eritem görülmüş, % 0.5'lik uygulamada ise deride hiçbir değişiklik görülmemiştir ¹¹⁶.

Avrupa İlaç Ajansı (EMA), Bitkisel Tıbbi Ürünler Komitesi'nin (HMPC) 2009 yılında yayınladığı bitki monografları arasında *J. communis pseudo-fructus* monografı da bulunmaktadır. Monografin kontraendikasyonlar kısmında; etkili bileşiklere hipersensitivite, interstisyel nefrit, piyelit, piyelonefrit gibi ciddi enfeksiyöz renal hastalıklar ve kardiyak hastalıklar yer almaktadır. Diüretiklerle birlikte ve 18 yaş altındakilerde kullanılmaması önerilmektedir. Yan etkiler arasında deride allerjik reaksiyonlar yer almaktadır. Güvenilirlik kısmında ise, *J. communis* ekstresinin sıçanlarda fertilitiyi engelleyici ve abortif etki gösterdiği belirtilmiş, genotoksisite ve karsinojenite ile ilgili yeterli bilgi bulunmadığına değinilmiştir ¹¹⁷.

2.7. DIABETES MELLITUS ¹¹⁸:

Diabetes mellitus, bozulmuş insülin sekresyonu veya insülin etkisine direnç veya her iki durumun bir arada bulunması sonucu hiperglisemiyle karakterize metabolik bir hastalıktır. Hiperglisemiyi işaret eden belirtiler; poliüri, polidipsi, kilo kaybı ve yorgunluktur.

Tip I diyabet, pankreas β hücrelerinin otoimmün aracılı yıkımıyla oluşan insülin yetersizliğiyle karakterizedir. Dolayısıyla, hastaların sağkalım ve diyabetik ketoasidozdan korunmak için insülin tedavisine ihtiyacı vardır. İnsüline ya da tamamen pankreas β hücrelerine karşı oluşan otoantikorlar, tanı sırasında hastaların % 85-90'ında saptanabilir.

Tip II diyabet; insülin direnci ve kısmi insülin yetersizliği ile karakterizedir. Tedavide insülin direncinin azaltılması (diyet, egzersiz veya ilaç

tedavisiyle) ve endojen insülin sekresyonunun arttırılması amaçlanır. En sonunda ekzojen insülin verilmesine ihtiyaç duyulur. Ancak, bireysel insülin tedavisi yapılmasa da diyabetik ketoasidoza eğilim olmayabilir, çünkü endojen insülin üretimi küçük miktarlarda da olsa yapılabilmektedir. Patogenez, insülin reseptörü ve onun intraselüler sinyal yolunu içeren ilerleyen insülin direnci ile β hücre yetersizliği arasındaki etkileşimi içerir. Tip II diyabet, genellikle obez bireylerde meydana gelir, hipertansiyon ve dislipidemi ile ilişkilidir. Genetik yatkınlık önemli bir faktördür.

Diabetes mellitustan etkilenen bireylerin % 50'sinden fazlasının tanısının konulamadığı tahmin edilmektedir. Çünkü hiperglisemi yavaş yavaş meydana gelir ve hipergliseminin klasik semptomlarına yol açacak kadar şiddetli değildir.

Bozulmuş glukoz toleransı; normal glukoz homeostazisi ve diabetes mellitus arasında metabolik bir durumdur. Bozulmuş glukoz toleranslı vakalar günlük hayatlarında normal glukoz seviyelerine sahiptirler ve hiperglisemi sadece oral glukoz yüklemesiyle ortaya çıkar. Bozulmuş glukoz toleransı, diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların gelecekte meydana gelmesi için bir risk faktörüdür.

2.7.1 Diyabetin Epidemiyolojisi, Maliyeti ve Ülkemizdeki Durum:

21. yüzyılın yaşamımıza zorunlu olarak getirdiği olumsuz çevre şartları, hareketsiz yaşam, otomobil, televizyon ve bilgisayar karşısında geçirilen saatler, egzersizin azalması, stres ve fast food tarzı hazır yiyecekler şişmanlığın, dolayısıyla tip 2 diyabetin artmasına yol açmıştır. Tip 2 diyabet artık çok daha erken yaşlarda görülmektedir. Bu nedenle son yıllarda diyabet bir epidemi şeklinde istatistiksel tahminlerin ötesinde tüm Dünya'da hızla yayılmaktadır. Birleşmiş Milletler, tarihinde tüberküloz ve AIDS'ten sonra üçüncü

kez bir hastalık için tüm ülkelerin sağlık otoritelerini ortak işbirliğine davet etmiştir ¹¹⁹.

Diyabet tüm Dünya'da 290 milyondan fazla insanı etkilemektedir ve bu sayının 2025 yılında 380 milyona ulaşması beklenmektedir. Ülkemizde ise 6 milyondan fazla diyabet hastası bulunduğu tahmin edilmektedir. Bir bu kadar kişide de bozulmuş glukoz toleransı ya da gizli şeker hastalığı (prediyabet) bulunmaktadır. Bu kişilerde diyabet geliştirme riski normale göre çok yükselmiştir ¹¹⁹.

Batıda diyabetin epidemiyolojisi, tanısız vakaları saptayacak tarama yöntemlerinin kullanılması ile belirlenmiştir. Tip I diabetes mellitus (T1DM) insidansı 18 yaş üzeri çocuklar için 100.000'de 8-20'dir. 20 yaşından sonra, yaşla düşük oranda etkilenmekle birlikte, insidansı daha düşüktür. Tip II diabetes mellitus (T2DM) insidansı 29 yaş yukarısı vakalar için yaklaşık 100.000'de 5 olarak saptanmıştır ve 70 yaşın üzerindeki vakalar için belirgin bir şekilde artarak 100.000'de 500'ün üzerindedir. Diabetes mellitus prevalansı 20-44 yaş arası vakalarda % 2, 65-74 yaş arası vakalarda % 18, 85 ve daha yaşlı vakalarda % 20'den yukarı olarak sıralanmaktadır. Bozulmuş glukoz toleransı 50 yaş ve yukarısı vakaların % 7-10'unda saptanabilir ¹¹⁸.

Her yıl tüm Dünya'da 166 milyar Euro'nun diyabete harcandığı tahmin edilmektedir. Bu harcamalar diyabetin ve komplikasyonlarının tanısı, tedavisi ve bakımını kapsamaktadır. 2025 yılında bu rakamın en az 216 milyar Euro'ya ulaşacağı tahmin edilmektedir. Endüstrileşmiş ülkelerde bu masrafların % 25'i yüksek kan şekerini düşürmeye yönelik tedavilere, % 25'i uzun vadeli komplikasyonlara (özellikle kardiyovasküler hastalıklar) ve % 50'si genel tıbbi tedaviye harcanmaktadır. Örneğin, diyabetli bir son dönem böbrek yetmezliği yani diyaliz hastasının sağlık sistemine maliyeti, diyabetli olmayan bir diyaliz hastasının maliyetinden 3-4 kat fazladır. Diyabetli bir hastanın ortalama yıllık maliyeti Avrupa'da 2.800 Euro'dur. ABD'de ise bu rakam 12.000 USD civarındadır. Doğrudan sağlık giderlerinin yanı sıra diyabetin dolaylı giderleri de

lkeler zeride ciddi bir yüktür. Bu giderlerin içinde diyabete bağlı iŖe devamsızlıklar, sakatlık nedeniyle iŖsizlik ve erken ölümler nedeniyle üretim kaybının getirdiği maliyetler bulunmaktadır. Ülkelerin ulusal sağlık bütçesinin her yıl % 2.5-15'inin diyabet ile ilgili olarak harcandığı görülmektedir. Gayri safi milli hâsıllarının ise yaklaşık % 2-5'inin diyabetin toplam maliyetine harcandığı tahmin edilmektedir. Ülkemizde diyabetin maliyeti ile ilgili güncel alıŖmalar ne yazık ki bulunmamaktadır. Uluslararası oranlar ve rakamlar ülkemize yansıtıldığında diyabetin ülkemize doğrudan maliyetinin her yıl 2-5 milyar Euro düzeyinde olduğu görülmektedir ¹¹⁹.

Diyabetin nlenmesi, etkili bir Ŗekilde tedavi edilmesi, komplikasyonların önlenmesi ve diyabetlilerin yaŖam kalitesinin artırılması için uzun soluklu, ulusal vizyon, hedef ve stratejilere ihtiyaç vardır. Böylece diyabetin yarattığı ekonomik ve sosyal yk azaltılabilir. Diyabet 2020: Vizyon ve Hedefler Projesi, T.C. Sağlık Bakanlığı'nın himayesinde ve Türkiye Diyabet Vakfı koordinatörlüğünde gerekleŖtirilen bir projedir. Proje, lke çapında diyabetten korunma sağlanması, diyabetin etkili tedavisi, komplikasyonlarının önlenmesi ve diyabet hastalarının yaŖam kalitesinin yükseltilmesi için 2020 yılına kadar diyabet alanındaki ulusal vizyonun, hedeflerin ve bunlara ulaŖmak için gerekli stratejilerin geliŖtirmesini amaçlamaktadır. Uluslararası Diyabet Federasyonu Avrupa Bölgesi Yönetim Kurulu, Diyabet 2020 projesinin geliŖmekte olan ülkelere model olarak nerilmesine karar vermiŖtir ¹¹⁹.

2.7.2 Günümüzde Diyabet Tedavisi:

Tüm Tip I Diabetes mellitus'lu (DM) hastalarda, diyet ve oral antidiyabetik kombinasyonlarıyla hedeflenen glisemik kontrolün sağlanamadığı, eŖitli stresler nedeniyle glisemik kontrolün bozulduğu, akut ve kronik komplikasyonların geliŖtiėi, gebelik, cerrahi ve Ŗiddetli hiperglisemi gibi durumlarda insülin tedavisi uygulanır. Vücutta ritmik insülin salıverilmesi, bazal ve ėėn alımına cevaben olmaktadır. 24 saat boyunca salgılanan insülinin

yaklaşık yarısını bazal insülin, geri kalanını da prandiyal insülin oluşturmaktadır. Bu fizyolojiyi taklit etmek üzere öğünlerle uygulanan kısa etkili insülinler ve bazal insülin ihtiyacını karşılamak üzere kullanılan uzun etkili insülinler bulunmaktadır ¹²⁰.

Bazal insülin ihtiyacını karşılayan insülinlerin, tek başına veya prandiyal kısa etkili insülinlerle kombine edilerek kullanıldığı çok farklı insülin rejimleri bulunmaktadır. Günde çok kez insülin enjeksiyonunu gerektiren yöntemler “yoğun rejimler” olarak isimlendirilirler ve bu tedaviler daha çok Tip I (T1) DM hastalarında kullanılmaktaysa da, sıkı glisemik kontrol gerektiren ve β hücre rezervi tükenmiş Tip II (T2) DM hastalarında da kullanılabilirler. Çoklu insülin rejimleri aynı zamanda hastalara öğün alımı konusunda da esneklik sağlar ¹²⁰.

Günümüzde hayvanlardan elde edilen insülinlerin yerine rekombinant yolla üretilen insan insülinleri kullanılmaktadır. İnsülin preparatlarının standart olarak her 1 ml'sinde 100 IU insülin bulunmaktadır.

(i) Kısa etkili regüler insülin: Regüler insülin, kısa etkili insülinin prototipidir. Etkisinin başlaması 30-60 dakika, zirve etkisi 2-4 saat, etki süresi 5-8 saattir. Yemekten 30 dakika önce yapılması gereklidir. İntravenöz kullanılabilen tek insülin tipidir. Diyabetik ketoasidoz-hiperglisemik koma tedavisi ve cerrahi girişimler sırasında uygulanır. Kısa etkili analog insülinlere kıyasla fiyat avantajı bulunmaktadır.

(ii) Kısa etkili analog insülinler: Genetik olarak modifiye edilmiş insülin tipleridir. Daha hızlı emildiklerinden etki kısa sürede başlar, daha kısa sürer. Regüler insüline göre, fizyolojik insülin sekresyonunu daha iyi taklit ederler, daha az hipoglisemiye neden olurlar ancak daha pahalıdırlar.

(iii) Uzun etkili analog insülinler: Genetik olarak modifiye edilmiş insülin tipleridir. NPH (Nötral Protamin Hagedorn) insüline göre daha uzun süreli

ve pik oluşturmeyan bir insülin etkisi sağlarlar. Tedaviye bağılı gelişen hipoglisemi insidansını azaltırlar.

(iv) Karışım insülinler: Piyasada farklı insülin tipleri ile önceden hazırlanmış karışım insülin preparatları bulunmaktadır. Bu karışımlar hasta uyumunu kolaylaştırır ve günlük enjeksiyon sayısını azaltırlar. Karışım insülinler hastalar tarafından enjektörde karıştırılarak da hazırlanabilir ¹²⁰.

Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) nüfusun artışına, toplumların yaşlanmasına, obezitenin ve sedanter hayat tarzının artmasına paralel olarak prevalansı hızla artan, uygun şekilde tedavi edilmediğinde ise morbidite ve mortalite artışına neden olan bir hastalıktır. Erken tanı ve yeterli tedavi ile hastaların hayat kalitesi yükseltilebilir, var olan komplikasyonların gelişimi yavaşlatılabilir, hatta bazı hastalarda önlenmesi mümkün olabilir ¹²¹.

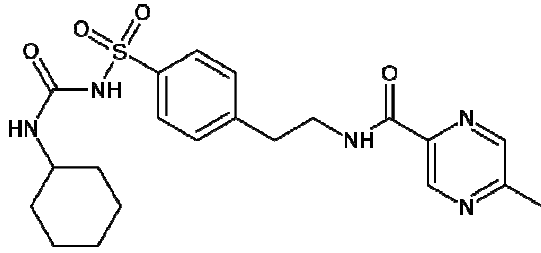
T2DM'de tıbbi beslenme tedavisi ve yaşam tarzı değişikliği ile plazma glukozu ayarlanamazsa tedaviye oral antidiyabetikler eklenir. Kan şekerini kontrol altında tutmaya yarayan oral antidiyabetikler (OAD) genel olarak insülin sekresyonunu arttırma, insüline duyarlılığı arttırma veya karbonhidrat absorpsiyonunu azaltma yoluyla etki gösterirler. İncretin bazlı ilâçların glukagonu baskılayıcı etkisi de bulunmaktadır. İdeal bir antidiyabetik ilâç; plazma glukoz değerlerini normal aralığa çekmeli ve mikro-makrovasküler komplikasyon gelişimini engellemelidir, bu şartları yerine getirirken yan etkisi az olmalıdır. Bu kriterleri sağlayan ideal bir ilâç ne yazık ki bulunmamaktadır; fakat kan şekerini kontrol etmeye yarayan çok sayıda ve farklı grupta ilâçlar mevcuttur. Bu ilâçların avantaj ve dezavantajları gözetilerek, tek başına veya kombinasyonlar halinde kullanılmasıyla, hastalarda hedeflenen glisemi değerlerine ulaşılması mümkün olabilir. Kombinasyon tedavilerinde yan etkiler ve ilâç uyumları gibi faktörler de göz önünde bulundurulmalıdır ¹²¹.

İnsülin Salgılatıcı İlaçlar: Bu grupta pankreas β -hücrelerinden insülin salınımını arttıran sulfonilüreler ile glinidler bulunmaktadır.

(i) Sülfonilüreler: Uzun yıllar boyunca T2DM tedavisinde kullanılmış en eski grup OAD'lardır. β hücreleri üzerindeki özel reseptörlerine (ATP-bağımlı potasyum kanalları) bağlanarak pankreastan insülin salgılanmasını arttırarak etki gösterirler. Tüm sülfonilüreler (SÜ) etkilerini gösterebilmek için insülin salgılama kapasitesi olan bir pankreasa ihtiyaç duyduklarından T1DM tedavisinde kullanılmazlar. Açlık plazma glukozunda 40-60 mg/dl, glukozillenmiş hemoglobin olan HbA1c (Hemoglobin A1c)'de ise % 1-2 düşme sağlarlar. Özellikle birinci kuşak SÜ'lerin hipoglisemi riski olduğundan artık kullanılmamaktadırlar (ör. klorpropamid). Yeni nesil SÜ'ler ise daha güçlüdürler, yan etkileri daha azdır. En belirgin yan etkileri hipoglisemi ve ortalama 2-5 kg civarında kilo alımıdır. SÜ'ler proteinlere bağlandıklarından diğer ilaçlar ile etkileşim gösterebilirler. Nadiren cilt döküntüsü, lökopeni ve trombositopeniye neden olurlar. Genellikle karaciğerde metabolize olup, idrar ile atıldıklarından ağır kalp, karaciğer ve böbrek yetmezliğinde kontrendikedirler. Zamanla SÜ grubu ilaçların antihiperglisemik etkileri azalmaktadır. Tip 2 DM tedavisinde SÜ'ler monoterapi veya diğer oral antidiyabetikler ve insülin ile kombine olarak kullanılabilir.

Çalışmamızda antidiyabetik aktivitenin araştırıldığı deneylerde referans olarak ikinci nesil sülfonilüre türevlerinden glipizit kullanılmıştır. Glipizit, oral yolla kullanılan orta-uzun süre etkili bir SÜ'dür. Etkisini Langerhans adacıklarındaki β hücrelerinin potasyum kanallarını bloke ederek gösterir. Potasyum kanallarının kısmi olarak bloke olması, kalsiyumun hücre dışına çıkışını yavaşlatır ki bu durumda insülinin hücre dışına çıkışı artar. Glipizitin pankreastaki etkisine ek olarak insülin hassasiyetini arttırarak ve hepatik glukoz üretimini azaltarak da kan glukoz seviyesini düşürdüğü bilinmektedir. Glipizit içeren Glucotrol® isimli preparat 1984 yılından bu yana piyasadadır. Günümüzde 2.5, 5 ve 10 mg glipizit içeren tablet formları mevcuttur. Glipizit başlıca hepatik hidroksilasyon ile metabolize olur, metabolit idrar (% 80) ve feçes (% 10) ile atılır. % 10 kadarı ise metabolize edilmeden vücuttan atılır. İlacın yarı ömrü 2-5 saattir. Biyoyararlanım normal formülasyonda % 100 iken

kontrollü salım tabletlerde % 90'dır. Hayvan çalışmalarında LD₅₀ değeri 4 g/kg'ın üzerinde bulunmuştur. Hazımsızlık, diyare ve gaz şikâyetleri görülebilecek yan etkileridir ¹²².



Şekil 6. Glipizit (*N*-(4-[*N*-(sikloheksilkarbamoksil)sulfamoil]fenetil)-5-metilpirazine-2-karboksamit)

(ii) Glinidler (meglitinidler/hızlı etkili insülin sekretegogları): Pankreas β hücrelerinde SÜ'ler ile benzer biçimde, ATP-bağımlı potasyum kanalları üzerinden fakat farklı reseptörler aracılığıyla insülin sekresyonunun 1. fazını arttırarak etkilerler. Bu nedenle etkileri hemen başlar ancak etki süreleri kısadır. Özellikle tokluk plazma glukozu üzerine etkileri belirgindir. Bu özelliklerinden dolayı öğünlerden hemen önce günde 3 defa alınmalıdır. HbA1c'de ortalama % 1-1.5 arasında düşüş sağlarlar. En önemli yan etkileri hipoglisemidir, fakat bu etki SÜ'lerde olduğu kadar belirgin değildir. Kilo aldırıcı etkileri ise SÜ'ler ile benzerdir. Yaşlı hastalarda tercih edilmektedirler ¹²¹.

İnsülin Duyarlılaştırıcı İlaçlar: Bu grupta insülin direncini azaltan biguanidler ve tiazolidindionlar bulunmaktadır. Biguanidler ağırlıklı olarak karaciğerde, tiazolidindionlar ise daha çok yağ dokusunda insülin duyarlılığını arttırıcı etki gösterirler.

(i) Biguanidler (Metformin): Metformin, hem karaciğerin hem de periferik dokuların insüline duyarlılığını arttırır. Karaciğerde hem

glukoneogenezi hem de glukojenolizi baskılar. Kaslarda ise insülin reseptör tirozin kinaz aktivitesini, GLUT 4* sayısını ve glukojen sentezini arttırarak etkili olmaktadır. Daha belirgin olarak açlık, kısmen de tokluk kan şekerini düşürür. Metformin açlık plazma glukozunda yaklaşık 50 mg/dl, HbA1c'de ise % 1.5 azalma sağlar. En uygun doz günde 2 gramdır. İnsülin salınımını etkilemediğinden hipoglisemi nadiren görülmektedir. Diğer antidiyabetiklerin aksine kilo alımına neden olmazlar. En önemli yan etkileri bulantı, kusma, gaz, karın ağrısı, diyare gibi gastrointestinal şikâyetlerdir. Bu etkiler düşük dozda başlanıp yavaş doz artışlarıyla önlenabilir. Metformin ağızda metalik tat hissine ve uzun süreli kullanımda vitamin B12 eksikliğine neden olabilir. Biguanidlerin laktik asidoza neden olabileceği bilinmektedir ¹²¹.

(ii) Tiazolidindionlar (Glitazonlar): PPAR-γ (Peroksizom Proliferator-Aktive Reseptör-γ) agonistleridir. PPAR aktivasyonu ile insüline cevap veren genlerin transkripsiyonunu düzenlerler. Bu gruptaki ilâçlar özellikle iskelet kasında olmak üzere periferik dokuların insülin duyarlılığını arttırarak etkili olurlar. Açlık plazma glukozunu 25-55 mg/dl, HbA1c'yi % 0.5-1.4 düzeyinde düşürürler. Glitazonlar sıvı retansiyonuna ve ödeme neden olabilirler, bu nedenle kalp yetmezliği hastalarında kullanılmaları, özellikle de insülinle birlikte kullanılmaları önerilmemektedir. Diğer yan etkiler arasında anemi, kilo alımı, hepatotoksisitedir, rosiglitazonda daha belirgin olmak üzere LDL kolesterolde artış sayılabilir. Glitazonlar, ALT'nin normalin üst sınırının 2.5 katından yüksek olduğu vakalarda, konjestif kalp yetersizliği olan hastalarda, kronik ağır böbrek yetersizliğinde, gebelikte, T1DM'de, makula ödemi riski bulunan kişilerde kullanılmamalıdır. Ayrıca bu ilâçların postmenopozal kadınlarda ve ileri yaştaki erkeklerde özellikle el ve ayakta kırık riskini arttırdığı da bildirilmiştir ¹²¹.

* Hücrelerde glukoz, glukoz taşıyıcı adı verilen ve GLUT olarak gösterilen protein yapısındaki moleküller aracılığı ile taşınmaktadır. Beyin, eritrosit gibi dokulardaki GLUT 1 glukozu bağımlı olarak işlev görürken yağ ve kas dokusundaki GLUT 4 insüline bağımlıdır. Karaciğerde ve pankreas β hücrelerindeki GLUT 2 ise glukoz algılayıcı olarak görev yapar.

Ülkemizde 2009 yılında Sağlık Bakanlığı tarafından etken maddesi Rosiglitazon olan 12 ürün geri çekilmiştir. 2007 yılında ABD’de yaşanan tartışmalarda bilimadamları, ilâcın kalp hastalıklarından ölüm riskini yüzde 64, kalp krizi riskiniyse yüzde 43 arttırdığını vurgulamıştır. Bunun üzerine FDA tarafından yayınlanan raporda, ilâcın “83 bin kalp krizi vakasıyla ilintili” olduğu belirtilmiş bu etken maddeyi içeren ilâçların kullanımına çok sıkı kısıtlamalar getirilmiştir. Avrupa Birliği ise bu maddeyi içeren Avandia da dâhil birçok ilâcın satışını askıya aldı. Türkiye’de bu gelişmeler dikkate alınarak ‘rosiglitazon’ maddesi içeren ilâçların satışı durduruldu. Tam 12 ilâcın eczanelerden ve depolardan toplatılmasına karar verildi.

Alfa-glukozidaz inhibitörleri: İnce barsakta α -glukozidaz enzimlerini inhibe ederek karbonhidrat emilimlerini geciktirirler. Akarboz, miglitol ve vogliboz bu grupta yer alan ilâçlardır. Türkiye’de yalnızca akarboz bulunmaktadır. Her ana yemeğin başında içilerek veya çiğnenerek alınırlar. Ancak sadece tokluk kan şekerinin yüksek olduğu bilinen öğünlerde kullanılması da mümkündür.

Açlık plazma glukozunda 20-30 mg/dl, HbA1c’de % 0.5-0.7 azalma yaparlar. Tokluk hiperglisemi tedavisinde etkilidirler. Gaz, şişkinlik, abdominal ağrı ve diyare gibi gastrointestinal yan etkilere neden olabilirler. Yan etkilerini azaltmak için tedaviye düşük dozda başlayıp yavaş doz artırılması önerilir. Enflamatuvar barsak hastalığı, kronik ülser, malabsorbsiyon, parsiyel barsak obstrüksiyonu, siroz, gebelik ve laktasyon durumlarında kullanılmamalıdır¹²¹.

İnkretin Mimetik İlaçlar: İnkretinler (GIP: gastrik inhibitör polipeptid veya glukoz bağımlı insülinotropik polipeptid; GLP-1: glukagon benzeri polipeptid-1) gıda ile alınan karbonhidratlara cevap olarak ince barsak K ve L hücrelerinden salgılanırlar. Pankreastan insülin salgısını artırır, gastrik boşalmayı yavaşlatır, T2DM’de artmış olan postprandial glukagon salgısını baskılar ve merkezi sinir sistemi üzerine olan etkileriyle gıda alımını azaltırlar. T2DM’nin patofizyolojisindeki unsurlardan biri de inkretin hormonların düzeyi

ve/veya etkisinin azalmasıdır. İncretin mimetik ilâçlar, incretin hormonları taklit ederek veya incretinlerin degradasyonunu inhibe ederek etki gösterirler. Bu yeni grup bileşikler içinde GLP-1 analogları ve dipeptidil peptidaz IV (DPP-IV) inhibitörleri yer almaktadır ¹²¹.

Eksenatid ve Liraglutid, DPP-IV etkisine dirençli, uzun etkili GLP-1 analoglarıdır. GLP-1 analogları enjeksiyon yoluyla uygulanan ajanlardır. Başlıca yan etkileri bulantı, kusma ve diyaredir. Glukoz-bağımlı etki gösterdikleri için hipoglisemiye sebep olmazlar, kilo kaybettirici etkileri de bulunmaktadır. Hayvan çalışmalarında eksenatid'in β hücre rejenerasyonunu arttırdığı gösterilmiştir.

DPP-IV inhibitörleri oral kullanılan ilâçlardır. T2DM'nin tedavisinde ülkemizde özellikle metformin, SÜ ve tiazolidindionlar ile tedaviye iyi yanıt vermeyen hastalarda kombinasyon tedavilerde yer alırlar. Bazı ülkelerde 1. basamakta monoterapi olarak da kullanılırlar. Bu grup ilâçlardan sitagliptin 100 mg/gün dozunda günde tek sefer, vildagliptin 50-100 mg günde 1-2 kez, saksagliptin 2.5-5 mg günde tek sefer olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde bu grup ilâçlardan yalnızca sitagliptin bulunmaktadır. Genel olarak iyi tolere edilen, hipoglisemi yaratıcı etkileri bulunmayan, kilo üzerine etkisiz ilâçlardır. Böbrek yetmezliği olanlarda doz azaltılmalıdır ¹²¹.

2.7.3. Diabetes Mellitus ve Deneysel Diyabet Modelleri ^{118,123}:

Deneysel diyabet modelleri, spesifik deneysel yöntemler yardımıyla hayvanların diabetik yapılması ve genetik yatkınlığa sahip deney hayvanlarında spontan olarak diyabet gelişimi şeklinde iki ana gruba ayrılabilir.

Deney hayvanlarında, pankreatektomi, virüs kullanımı ve pankreas hücrelerine özgü kimyasallar kullanarak diyabet oluşturmak mümkündür. Alloksan ve streptozotosin intravenöz veya intraperitoneal yolla uygulandığında β hücrelerine sitotoksik olan maddelerdir. Glukozamin-nitrozüre

yapısı içeren streptozotosin, Langerhans adacıklarındaki β hücrelerinde insülin üretiminin yüksek seviyelerinde meydana gelen GLUT-2 glukoz taşıyıcı reseptörleri aracılığıyla hücre içine alınır. Streptozotosinin sitotoksik etkisi, nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) seviyelerinin azaltılması ve hücre içinde serbest radikallerin oluşturulması aracılığıyla (bu konuda bir diğer düşünce DNA zincir kırılmalarıdır). Oksidoredüksiyon reaksiyonlarında rol oynayan enzimlerin ko-enzimi olarak görev alan NAD'ın tüketilmesi tüm hücre fonksiyonlarını bozarak hücrenin ölümüne sebep olur.

Streptozotosin ile diyabet yapılmış sıçanlar hipoinsülinemiktirler ancak hayatta kalmak için insülin tedavisine ihtiyaç duymazlar. Kan glukoz seviyeleri 20-25 mmol/L (360-450 mg/dl) (normalde 5 mmol/L=90 mg/dl)'dir. Diabetes mellituslu insanlarda olduğu gibi, streptozotosin diabetik sıçanlarda da gözler, böbrekler, kalp, kan damarları ve sinir sisteminin etkilendiği hedef organ hasarları gelişir. Streptozotosin diabetik sıçan modeli, kronik hiperglisemi etkilerinin çalışılmasında da kullanışlıdır. Bu modelin endokrinolojik özellikleri ne sadece tip I'i ne de tip II'yi yansıtmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

Bitkisel Materyal: Çalışmada kullanılacak bitkisel materyalin toplanması amacıyla ardıçların ülkemizdeki doğal yayılış alanları araştırılmış, 4 türün birbirinden farklarını incelemek ve bitkinin lokasyon bilgilerini derlemek amacıyla farklı herbaryumlara gidilerek kayıtlı örnekler karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Bu bilgiler ışığında bitkiler Yozgat ili Sorgun ve Akdağmadeni ilçelerinden 16-18 Temmuz 2007 tarihlerinde toplanmıştır.

***J. communis* var. *saxatilis* Pall.:** Sorgun yaylaları, Sorgun, 1500 m.

***J. oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus*:** Karapiri Köyü, Akdağmadeni, 1500 m.

***J. foetidissima* Willd.:** Boyalık Köyü, Akdağmadeni, 1200 m.

***J. sabina* L.:** Koçboğan Mevkii, Akdağmadeni, 1400 m.

Toplanan bitkiler gölge, iyi havalandırılan bir alanda kurutularak yapraklar dallarından ayrılmıştır. Hazırlanan herbaryum örneklerinin teşhisleri tarafımızdan yapılmıştır. Teşhis edilen örneklerin doğruluğu Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden Prof. Dr. Zeki Aytaç tarafından onaylanmıştır.

Bitkilerin meyveleri yaz aylarında küçük ve olgunlaşmamış olduğundan temmuz ayında düzenlenen gezide toplanmamıştır. Bu sebeple olgun meyveler 14-18 Eylül 2007 tarihlerinde aynı lokalitelerden toplanmıştır. Toplanan örnekler gölge ve iyi havalandırılan bir alanda kurutularak meyveler yaprak ve dallarından ayrılmıştır.

Kimyasal Madde ve Malzemeler: Çalışmamız sırasında kullanılan kimyasal maddeler ve solvanlar Merck ve Sigma kalitesindedir. Çalışmamızda izole edilen şikimik asit miktarı, subakut antidiyabetik etkinin incelenmesinde yeterli olmayacağından, Merck'den satın alınarak aktivite deneylerinde kullanılmıştır. [(-)-shikimic acid S5144576827, Katalog no:8.24476.0250]

Kan Şekeri Ölçüm Çubukları ve Cihazı: Deney hayvanlarının kan glukoz seviyelerinin ölçümünde Bayer'in Glucometer Elite ve Ascensia Elite hazır kan şekeri ölçüm çubukları ve çubuklara uygun ölçüm cihazı kullanılmıştır.

Enjektör: Deney hayvanlarına yapılan oral uygulamalarda 2.5 ml'lik enjektörler, intraperitoneal uygulamalarda ise insülin enjektörleri kullanılmıştır.

Gavaj: Deney hayvanlarına oral yolla numunelerin uygulanmasında gastrik gavaj kullanılmıştır.

Deney Hayvanları: Deneylerimizde; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden (GÜDAM) temin edilen Wistar albino erkek sıçanlar (150-250 g) kullanılmıştır. Deney hayvanları şartlara uyum sağlamaları amacıyla çalışmadan en az bir hafta önce laboratuvarımıza getirilmiştir. Hayvanlar normal diyetleri ile beslenerek deneyden 6 saat önce aç bırakılmıştır.

Deney Numuneleri: Hayvanlara oral yolla uygulanacak tüm numuneler, % 0.5'lik karboksimetilselüloz çözeltisi içinde süspanse edilmiştir. Hayvan ağırlığına göre (1 ml/100 g vücut ağırlığı) hesaplanan miktarlarda gastrik gavaj kullanılarak uygulanmıştır. Kan glukoz seviyeleri, hayvanların kuyruk ucu kesilerek toplanan kan örneklerinde ölçülmüştür.

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. KİMYASAL ARAŞTIRMA YÖNTEMLERİ:

3.2.1.1. Ekstraksiyon

Sulu Ekstrelerin Hazırlanışı: 4 *Juniperus* türünün yaprak ve meyvelerinden uygun miktarda tartılarak % 5'lik infüzyonları hazırlanmıştır. (Drog üzerine 50 °C'ye getirilmiş distile su eklenerek parçalayıcı karıştırıcıda homojen olana kadar karıştırılmıştır.) Ekstreler 3 saat çalkalayıcıda bekletildikten sonra süzölmüştür. Rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırılarak verimleri hesaplanmıştır:

Tablo 3. *Juniperus* türlerinden hazırlanan sulu ekstrelerin yüzde verimleri

Bitki:	% Verim (Yaprak)	% Verim (Meyve)
<i>J. communis</i> var. <i>saxatilis</i> (Jcvs)	17	29
<i>J. foetidissima</i> (Jf)	16	18
<i>J. oxycedrus</i> ssp. <i>oxycedrus</i> (Joso)	17	26
<i>J. sabina</i> (Js)	16	16

Etanollü Ekstrelerin Hazırlanışı:

4 *Juniperus* türünün yaprak ve meyvelerinden uygun miktarda (1 kg) tartılarak 80° etanol (10 l) ile karıştırılıp, parçalayıcı karıştırıcıda homojenize edilmiştir. Ekstreler karıştırıcıda 24 saat maserasyona bırakılmıştır. Süzöldükten sonra bitki üzerine tekrar eşit hacimde etanol eklenerek ekstraksiyon işlemi tekrarlanmıştır. Sıvı kısımlar birleştirilerek rotavaporda yoğunlaştırılmış, verimleri hesaplanmıştır:

Tablo 4. *Juniperus* türlerinden hazırlanan etanol ekstralarının yüzde verimleri

Bitki:	% Verim (Yaprak)	% Verim (Meyve)
<i>J. communis</i> var. <i>saxatilis</i> (Jcvs)	29	36
<i>J. foetidissima</i> (Jf)	33	23
<i>J. oxycedrus</i> ssp. <i>oxycedrus</i> (Joso)	35	33
<i>J. sabina</i> (Js)	28	20

Elde edilen etanollü ekstraların diyabetik hayvanların kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri incelendiğinde, *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* (**Joso**) meyve ve yapraklarının diğer ardıç türlerinin meyve ve yaprak ekstralarına göre çok daha etkili olduğu görülmüştür (Tablo 5, Tablo 6).

Bitkinin halk arasındaki kullanım şekline uygun olması açısından **Joso** meyve ve yapraklarının sulu ekstralarının antidiyabetik etkisi de incelenmiştir (Tablo 7). Ancak etanol ekstralarının antidiyabetik etkileri daha yüksek olduğundan çalışmanın devamında etanollü ekstraların kullanılmasına karar verilmiştir (Tablo 8).

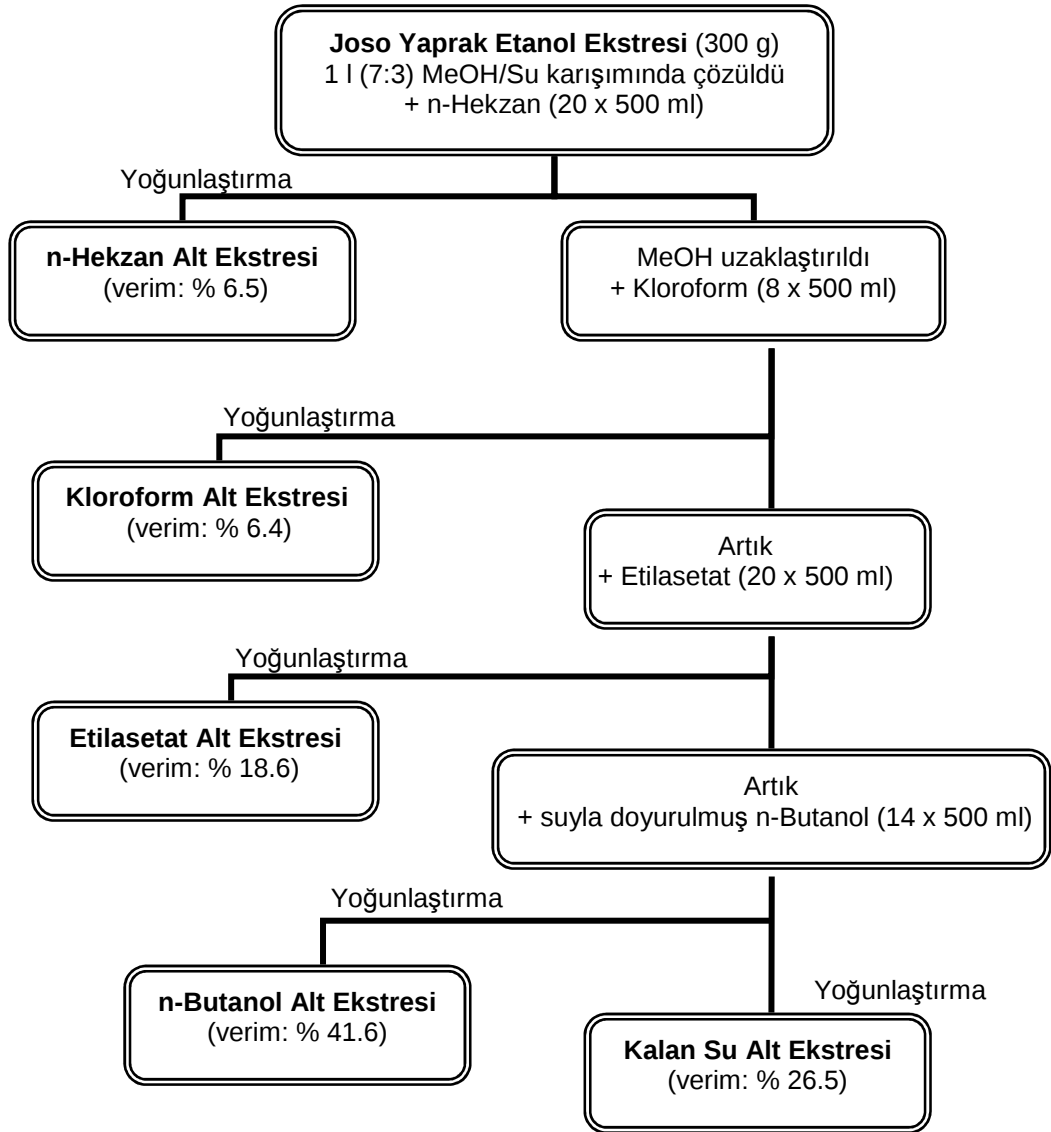
Etkili bulunan **Joso** meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstraları çözücü-çözücü ekstraksiyonu ile alt ekstralarına ayrılmıştır.

3.2.1.2. Çözücü-Çözücü Ekstraksiyonu

***J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* Yaprak Etanol Ekstresinden Alt Ekstrelerin Hazırlanışı:**

Kurutulmuş toz edilmiş 300 g etanollü ekstre, distile su (300 ml) ve metanol (700 ml) karışımında çözülerek hekzan ile çalkalanmıştır. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu sonrası hekzanlı kısım ayrılarak sulu kısım tekrar hekzan ile çalkalanmıştır (20 defa 500'er ml). Ayrılan hekzanlı kısımlar birleştirilerek yoğunlaştırılmış, hekzan alt ekstresi elde edilmiştir (verim: % 6.5). Daha sonra ekstredeki metanol rotavaporda uçurularak sulu kısım üzerine kloroform eklenmiştir. 8 defa 500 ml kloroform ile sıvı sıvı ekstraksiyonu sonrası ayrılan kloroform fazları birleştirilip kurutularak kloroform alt ekstresi elde edilmiştir (verim: % 6.4). Ayırma hunisinde kalan sulu kısım üzerine 500 ml etilasetat eklenerek sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile (20 defa 500 ml ile çalkalanarak) etilasetatlı alt ekstre hazırlanmıştır (verim: % 18.6). Son olarak kalan kısım üzerine suyla doyurulmuş n-butanol eklenmiştir. 14 defa 500'er ml n-butanol ile ekstraksiyon yapılmış ve elde edilen n-butanol alt ekstreleri de ayrılarak (verim: % 41.6) yoğunlaştırılmıştır. Kalan kısım ise kalan su alt ekstresi olarak yoğunlaştırılmıştır (verim: % 26.5) (Şekil 7).

Yaprak etanol (80°) ekstresinden elde edilen alt ekstreler, verimlerine göre hesaplanan dozlarda diyabetik sıçanlara uygulanmıştır. Antidiyabetik etki, numunelerin iki farklı dozda uygulanması ile incelenmiştir. Hekzan alt ekstresinin etkisinin, diğer alt ekstrelerinkinden çok daha kuvvetli olduğu görülmüştür (Tablo 14). Etkili bulunan hekzan alt ekstresinde bulunan maddelerin kolon kromatografisi ile ayrılmasına karar verilmiştir.

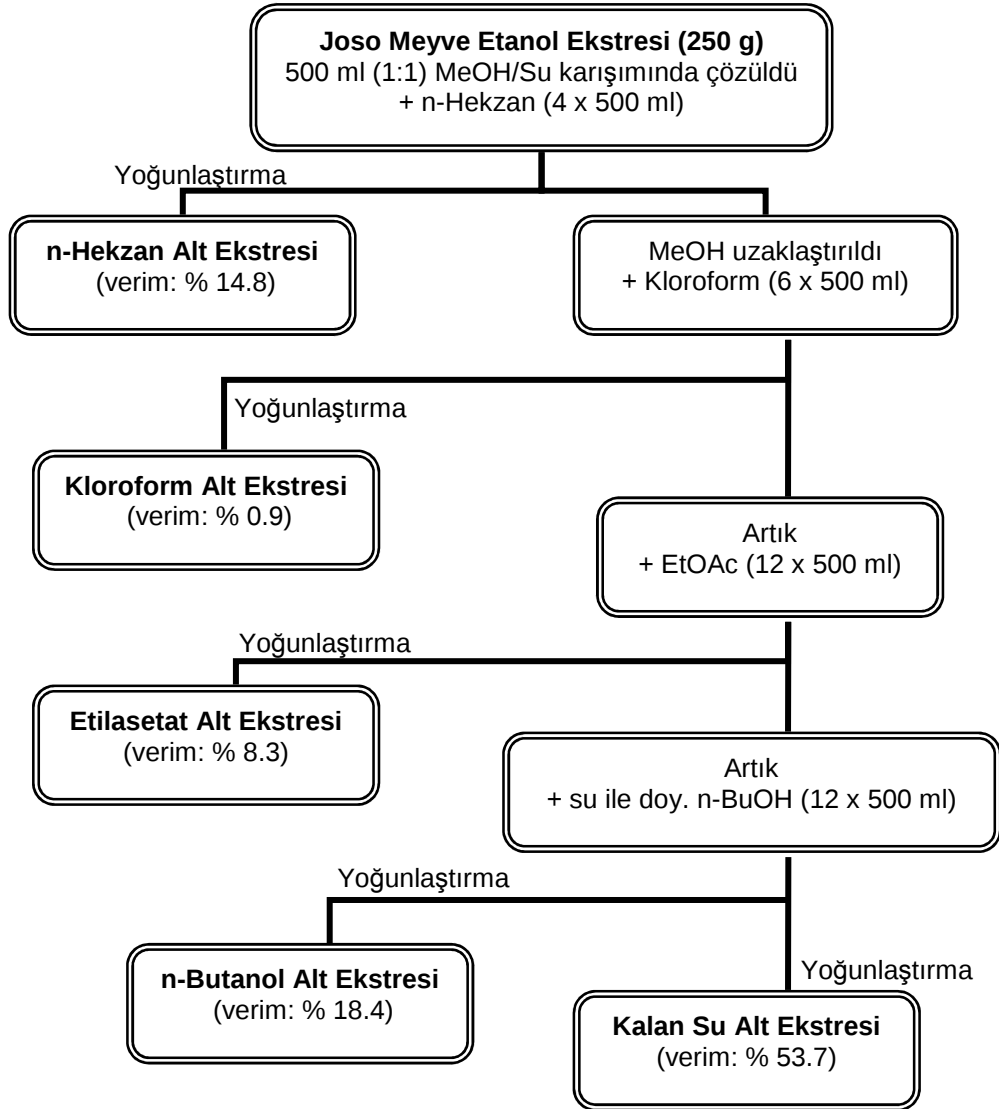


Şekil 7. Joso yaprak etanol ekstresinin çözücü-çözücü ekstraksiyonu ile alt ekstrlerine ayrılması

Joso Meyve Etanol Ekstresinden Alt Ekstrelerin Hazırlanışı:

Kurutulmuş toz edilmiş 250 g etanolü (80°) ekstre, distile su (250 ml) ve metanol (250 ml) karışımında çözülerek yaprak ekstrelerindeki alt ekstre hazırlanışına benzer şekilde, öncelikle hekzan ile çalkalanmıştır. Sulu kısımda kalan metanol uçurulduktan sonra sırasıyla kloroform, etilasetat ve suyla

doğurulmuş n-butanol ile çözücü-çözücü ekstraksiyonu yapılmış ve böylece Joso meyve etanol ekstresi alt ekstrelerine ayrılmıştır (Şekil 8). Solvanlarla ekstraksiyon miktarları ve elde edilen alt ekstrelerin verimleri ve Şema 2’de yer almaktadır.



Şekil 8. Joso meyve etanol ekstresinin çözücü-çözücü ekstraksiyonu ile alt ekstrelerine ayrılması

Meyve etanol ekstresinden elde edilen alt ekstreler verimlerine göre hesaplanan dozlarda diyabetik sıçanlara uygulanmıştır. Alt ekstreler iki farklı dozda uygulanarak antidiyabetik etkileri incelenmiştir. n-Butanol alt ekstresindeki etkinin diğer fraksiyonlardan çok daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 18). Etkili bulunan n-butanol alt ekstresinde bulunan maddelerin kolon kromatografisi ile ayrılmasına karar verilmiştir.

3.2.1.3. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Deneylerimiz sırasında silikajel kaplı, aluminyum tabaka hazır plaklar (Kieselgel 60 F₂₅₄ 0.2 mm) ve RP-18 (ters faz) silikajel kaplı, aluminyum tabaka hazır plaklar kullanılmıştır. Farklı solvan sistemleri ile yürütülen plaklarda ekstre, alt ekstre ve fraksiyon içerikleri incelenmiştir.

Plaklar öncelikle gün ışığında, UV lambası altında 254 ve 366 nm dalga boylarında veya amonyak buharına tutularak gün ışığında incelenerek gözlenen lekeler işaretlenmiştir.

Revelatör olarak % 5 H₂SO₄ veya anisaldehit-sülfürik asit reaktifi kullanılmış, püskürtme sonrası plaklar 105°C'de 5-10 dakika ısıtılarak gözlenen lekeler belirlenmiştir.

3.2.1.4. Kolon Kromatografisi:

Kolon Kromatografisinde Kullanılan Dolgu Maddeleri:

- * Silikajel (Kieselgel 60, 0.063-0.200 mm Merck, Art.7734)
- * Sefadeks (Sephadex LH-20, 25-100 µm, Lot 124H0053, Sigma Chem. Co.)
- * Ters faz (RP-18 Cosmosil 75 C¹⁸, Nacalai USA Inc., Cat. No. 37842-66)

a. Joso Yaprak Etanol Ekstresi Üzerindeki Çalışmalar

Joso Yaprak Etanol Ekstresinin n-Hekzan Alt Ekstresinin Kolon Kromatografisi İle Fraksiyonlanması:

n-Hekzan alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlanması için adsorban olarak kullanılacak silikajel tartılmıştır (350 g). Üzerine hekzan ilave edilerek hava kabarcıkları çıkana kadar karıştırılmış ve ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Altı filtreli cam kolona bir miktar hekzan konulduktan sonra adsorban hızla kolona doldurulmuştur. Adsorbanın kolona homojen olarak yerleşmesi sağlandıktan sonra 10 gram Joso yaprak etanol ekstresinden elde edilen hekzan alt ekstresi, hekzanda çözülmüştür. Çözelti üzerine silika eklenerek rotavaporda kuruluğa kadar uçurulmuştur. Kuruyan silika havanda homojen hale getirildikten sonra kolona eklenmiş ve ilk solvan sistemi ile elüsyona başlanmıştır. Daha sonra polarite zaman içinde arttırılarak 113 fraksiyon toplanmıştır. Toplanan fraksiyonların içerikleri ince tabaka kromatografisinde incelenerek benzer fraksiyonlar birleştirilmiştir. Toplam 9 fraksiyon elde edilmiştir. Birleştirilen fraksiyonlar kurutulularak verimleri hesaplanmıştır.

Ayırımında kullanılan adsorban (miktarı): Silikajel (350 g)

Kolon Özellikleri: Çapı: 5 cm, uzunluğu: 50 cm, altı filtreli vakum bağlanabilen kolon

Kullanılan solvan sistemleri: Hekzan (400 ml)

Hekzan/Etilasetat (90:10) (1500 ml)

Hekzan/Etilasetat (80:20) (3500 ml)

Hekzan/Etilasetat (75:25) (1000 ml)

Hekzan/Etilasetat (60:40) (1500 ml)

Hekzan/Etilasetat (50:50) (2000 ml)

Hekzan/Etilasetat (40:60) (1000 ml)

Hekzan/Etilasetat (30:70) (500 ml)

Kloroform/Metanol (50:50) (1000 ml)

Toplanan fraksiyon sayısı: 113

Fraksiyon toplama hacmi: 100 ml

Fraksiyon verimleri: Fraksiyon A (1-9): % 18.71

Fraksiyon B (10-13): % 4.96

Fraksiyon C (14-29): % 23.19

Fraksiyon D (30-46): % 7.26

(47-55): % 3.85

(56-65): % 4.56

Fraksiyon E (66-81): % 8.09

(82-105): % 5.52

Fraksiyon F (106-113): % 19.55

İ.T.K.'da kullanılan solvan sistemi: Hekzan/Etilasetat (6:4)

Kolon kromatografisi ile ayrılan fraksiyonların verimlerine göre hayvan dozları hesaplanmış ve antidiyabetik etkileri incelenmiştir. En belirgin antidiyabetik etki F kodlu son fraksiyonda görülmüştür (Tablo 15). Fraksiyonun bileşimindeki etkili maddelerin ayırımı için tekrar kolon kromatografisi kullanılmıştır.

Joso Yaprak Etanol Ekstresi n-Hekzan Alt Ekstresinden Elde Edilen Etkili Fraksiyonunun (F) Kolon Kromatografisi İle Fraksiyonlanması:

Antidiyabetik etkili F fraksiyonunu alt fraksiyonlarına ayırmak amacıyla adsorban olarak kullanılacak silikajel tartılmıştır (30 g). Üzerine Kloroform/Metanol (90:10) ilave edilerek hava kabarcıkları çıkana kadar karıştırılmış ve bir süre ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Adsorban, altı filtrelili cam kolona bir miktar solvan sistemi konulduktan sonra hızla kolona doldurulmuştur. Adsorbanın kolona homojen olarak yerleşmesi sağlanmıştır. Bu sırada 1 gram Joso yaprak etanol ekstresinden elde edilen hekzan alt ekstresinin F fraksiyonu, bir miktar solvan sisteminde çözülmüştür. Fraksiyon

kolona pastör pipeti kullanılarak tatbik edilmiştir. Daha sonra polarite zaman içinde arttırılarak 58 alt fraksiyon toplanmıştır. Toplanan alt fraksiyonların içerikleri ince tabaka kromatografisinde incelenerek benzer olanlar birleştirilmiştir. Toplam 8 alt fraksiyon elde edilmiştir. Birleştirilen alt fraksiyonlar kurutularak verimleri hesaplanmıştır.

Ayırımda kullanılan adsorban (miktarı): Silikajel (30 g)

Kolon Özellikleri: Çap: 2 cm, Uzunluk: 40 cm, altı filtreli vakum bağlanabilen kolon

Kullanılan solvan sistemleri: Kloroform/Metanol (90:10) (1000 ml)

Kloroform/Metanol (80:20) (400 ml)

Kloroform/Metanol (60:40) (500 ml)

Kloroform/Metanol (50:50) (500 ml)

Kloroform/Metanol (25:75) (300 ml)

Metanol (500 ml)

Toplanan alt fraksiyon sayısı: 58

Fraksiyon toplama hacmi: 50 ml

Alt fraksiyon verimleri: Fraksiyon F1 (1-3): % 0.98

Fraksiyon F2 (4-9): % 5.22

Fraksiyon F3 (10-19): % 13.36

Fraksiyon F4 (20-29): % 13.36

Fraksiyon F5 (30-35): % 16.44

Fraksiyon F6 (36-42): % 20.13

Fraksiyon F7 (43-46): % 8.12

Fraksiyon F8 (47-58): % 13.13

İ.T.K.'da kullanılan solvan sistemleri:

Kloroform/Metanol (3:1)

Etilasetat/Metanol/Asetik Asit/Su (4:1:1:1)

Kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların antidiyabetik etkileri incelendiğinde F1-2 ve F7-8 kodlu ilk ve son alt fraksiyonlarda belirgin antidiyabetik etki görülmüştür (Tablo 16). Etkili alt fraksiyonlardaki maddelerin

belirlenmesi amacıyla Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GK-KS) yöntemi kullanılmıştır.

b. Joso Meyve Etanol Ekstresi Üzerinde Çalışmalar

Joso Meyve Etanol Ekstresinin n-Butanol Alt Ekstresinin Kolon Kromatografisi İle Fraksiyonlanması:

İlk olarak n-butanol alt ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmasında adsorban olarak kullanılacak silikajel tartılmıştır (250 g). Üzerine kolonda kullanılacak ilk solvan sisteminden ilave edilerek hava kabarcıkları çıkana kadar karıştırılmış ve ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Altı filtreli cam kolona bir miktar aynı solvan sisteminden konulduktan sonra adsorban kolona doldurulmuştur. Adsorbanın kolona homojen olarak yerleşmesi sağlandıktan sonra Joso meyve etanol ekstresinin n-butanol alt ekstresi (10 g), metanolde çözülmüştür. Üzerine 25 gram silika eklenerek rotavapor balonunda kuruluğa kadar uçurulmuştur. Elde edilen kurumuş silika havanda homojen hale getirildikten sonra kolona tatbik edilmiştir. Daha sonra polarite zaman içinde artırılarak 62 fraksiyon toplanmıştır. Toplanan fraksiyonların içerikleri ince tabaka kromatografisinde incelenerek benzer fraksiyonlar birleştirilmiştir. Toplam 8 ham fraksiyon elde edilmiştir. Birleştirilen fraksiyonlar kurutularak verimleri hesaplanmıştır.

Ayırımada kullanılan adsorban (miktarı): Silikajel (250 g)

Kolon Özellikleri: Çapı: 5 cm, uzunluğu: 50 cm, altı filtreli vakum bağlanabilen kolon

Kullanılan solvan sistemleri:

Kloroform/Metanol/Su (90:10:1) (505 ml)

Kloroform/MeOH/Su(85:15:1) (303 ml)

Kloroform/MeOH/Su (80:20:1) (303 ml)

Kloroform/Metanol/Su (80:20:2) (306 ml)

Kloroform/Metanol/Su (75:25:2,5) (307,5 ml)
Kloroform/Metanol/Su (70:30:3) (618 ml)
Kloroform/Metanol/Su (65:35:4) (312 ml)
Kloroform/Metanol/Su (60:40:4) (312 ml)
Kloroform/Metanol/Su (60:40:5) (315 ml)
Kloroform/Metanol/Su (61:32:7) (321 ml)
Kloroform/Metanol/Su (50:50:10) (550 ml)
Kloroform/Metanol/Su (30:70:5) (315 ml)
Kloroform/Metanol/Su (20:80:5) (315 ml)
Kloroform/Metanol/Su (10:90:5) (315 ml)
Metanol (600 ml)
Metanol/Su (600 ml)

Toplanan fraksiyon sayısı: 62

Fraksiyon toplama hacmi: 100 ml

Fraksiyon verimleri: Fraksiyon A (1-6): % 0.32

(7-18): % 1.51

Fraksiyon B (19-23): % 3.91

Fraksiyon C (24-29): % 9.61

Fraksiyon D (30-32): % 7.36

Fraksiyon E (33-41): % 52.05

Fraksiyon F (42-48): % 11.01

(49-60): % 8.62

İ.T.K.'da kullanılan solvan sistemleri:

Kloroform/MeOH/Su (61:32:7)

Butanol/Asetik Asit/Su (4:1:5) (Üst faz)

Kolon kromatografisi ile ayrılan fraksiyonların verimlerine göre uygulama dozları hesaplanmıştır. Ham fraksiyonların iki farklı dozdaki antidiyabetik etkileri incelenmiştir. En belirgin antidiyabetik etki C kodlu 4. fraksiyonda görülmüştür (Tablo 19). Fraksiyonun bileşimindeki etkili maddelerin ayırımı için tekrar kolon kromatografisi kullanılmıştır.

Joso Meyve Etanol Ekstresi n-Butanol Alt Ekstresinden Elde Edilen Etkili C Kodlu Fraksiyonun Kolon Kromatografisi İle Fraksiyonlanması:

Antidiyabetik etkisi yüksek bulunan n-butanol alt ekstresinden fraksiyonunun C kodlu ham fraksiyonu kolon kromatografisi ile tekrar fraksiyonlanmıştır. Bu amaçla adsorban olarak kullanılacak silikajel tartılmıştır (100 g). Üzerine kolonda kullanılacak ilk solvan sisteminden ilave edilerek hava kabarcıkları çıkana kadar karıştırılmış ve ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Adsorban kolona doldurulmuş ve kolona homojen olarak yerleşmesi sağlanmıştır. C fraksiyonu (2 g), metanol eklenerek ultrasonik banyoda bir süre bekletilmiş ve tamamen çözülmüştür. Bir miktar silika ile rotavapor balonunda kuruyana kadar uçurulmuş, balondan kazınan silika havanda homojen olana kadar karıştırılmıştır. Elde edilen ekstre emdirilmiş silika kolonun üzerine eklenmiştir. Üzerine ince bir tabaka pamuk yerleştirilerek ekstrenin solvan sisteminde çözülmesi engellenmiştir. İlk solvan sistemi ile elüsyona başlanmış ve daha sonra polarite zaman içinde arttırılarak 75 alt fraksiyon toplanmıştır. Toplanan alt fraksiyonların içerikleri ince tabaka kromatografisinde incelenerek benzer fraksiyonlar birleştirilmiştir. Toplam 7 alt fraksiyon elde edilmiştir. Birleştirilen alt fraksiyonlar kurutularak verimleri hesaplanmıştır.

Ayırımında kullanılan adsorban (miktarı): Silikajel (100 g)

Kolon Özellikleri: Çap:3 cm, uzunluk: 60 cm

Kullanılan solvan sistemleri:

Diklorometan/Metanol/Su (90:10:1) (505 ml)

Diklorometan/Metanol/Su(87.5:12.5:1)(505 ml)

Diklorometan/Metanol/Su (85:15:1) (505 ml)

Diklorometan/Metanol/Su (80:20:1) (505 ml)

Diklorometan/Metanol/Su (60:40:1) (202 ml)

Diklorometan/Metanol/Su (50:50:1) (252.5 ml)

Diklorometan/Metanol/Su (40:60:1) (252.5 ml)

Diklorometan/Metanol/Su (40:60:1) (330 ml)

Metanol (300 ml)

Toplanan alt fraksiyon sayısı: 75

Fraksiyon toplama hacmi: 50 ml

Alt fraksiyon verimleri: Fraksiyon C1 (1-22): % 1.10

Fraksiyon C2 (23-40): % 0.63

Fraksiyon C3 (41-47): % 2.01

Fraksiyon C4 (48-50): % 6.02

Fraksiyon C5 (51-58): % 37.70

Fraksiyon C6 (59-63): % 21.66

Fraksiyon C7 (64-75): % 25.68

İ.T.K.'da kullanılan solvan sistemleri:

Kloroform/Metanol/Su (61:32:7)

Butanol/Asetik Asit/Su (4:1:5) (Üst faz)

Kolon kromatografisi ile ayrılan alt fraksiyonların verimlerine göre hayvan dozları hesaplanmış ve antidiyabetik etkileri incelenmiştir. Etkinin 5, 6 ve 7. alt fraksiyonlara bölündüğü ancak 7. alt fraksiyonun diğerlerine göre daha aktif olduğu görülmüştür (Tablo 20). Gerek 3 farklı alt fraksiyonda yüksek antidiyabetik etki görülmesi gerekse son alt fraksiyondan izolasyon çalışmalarına devam edecek kadar fazla miktar bulunmaması sebebiyle etkili bileşiklerin ayrılması amacıyla bir önceki kolondan elde edilen etkili fraksiyon olan C'nin kullanılmasına karar verilmiştir.

C fraksiyonundaki ana maddelerin izolasyonu amacıyla, fraksiyonun ters faz ve silikajel plaklarda farklı solvan sistemlerindeki İ.T.K.'ları yapılmış ve incelenmiştir. Elde edilen kromatogramlara göre ters faz kolon kromatografisi ile ayırım yapılmasına karar verilmiştir.

Joso Meyve Etanol Ekstresi n-Butanol Alt Ekstresinden Elde Edilen Etkili C Kodlu Fraksiyondan Madde İzolasyonu:

Biyolojik aktivite çalışmalarımızda C fraksiyonundan elde edilen son alt fraksiyonlarda (C5, C6, C7) antidiyabetik etki yüksek bulunmuştur. Bu alt fraksiyonlarda bulunan maddelerin aydınlatılması amacıyla 2 gram C fraksiyonu 20 ml ılık suda çözülmüş, ön temizleme işlemi için 2 defa 30 ml etilasetat ile çalkalanarak sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile fraksiyonlanmıştır (Sulu kısmın verimi: % 85 [1.7 g], Etilasetatlı kısmın verimi: % 15 [0.3 g]). Aktivitesi yüksek çıkan C5, C6 ve C7'deki maddelerin sulu kısımda olduğu İTK'da yapılan karşılaştırma ile doğrulanmıştır. İzolasyona sulu kısım üzerinden devam edilmiştir (Şekil 9).

Kolon I.) Ters Faz Kolon Kromatografisi: Elde edilen sulu kısım çok az metanol eklenerek ters faz kolona sıvı tatbikle uygulanmış ve alt fraksiyonlara ayrılmıştır.

Ayırımında kullanılan adsorban (miktar): Cosmosil 75 C¹⁸ (50 g)
Kolon Özellikleri: Çap:3 cm, uzunluk: 50 cm, altı filtreli cam kolon
Kullanılan solvan sistemleri:

Su (100 ml)
%10 Metanol (500 ml)
%20 Metanol (900 ml)
%25 Metanol (900 ml)
%30 Metanol (900 ml)
%50 Metanol (600 ml)
%75 Metanol (600 ml)
Metanol (700 ml)
Kloroform (50 ml)
Metanol (200 ml)

Toplanan alt fraksiyon sayısı: 77 (12 grupta toplanmıştır)

Fraksiyon toplama hacmi: 75 ml

İ.T.K.'da kullanılan solvan sistemi:

Kloroform/Metanol/Su (61:32:7)+4 damla asetik asit

Elde edilen 12 alt fraksiyondan verimi en yüksek olan, İTK'da ekstrede ve etkili fraksiyonlarda bulunan belirgin lekeleri taşıyan Fr. 6-10 ve Fr. 15-18 üzerinden izolasyon çalışmalarına devam edilmiştir. Diğer fraksiyonların İTK ile analizinde bileşimlerinin çok zengin olduğu, fraksiyonlarda az miktarda çok sayıda bileşik bulunduğu görülmüştür. Fraksiyonların İTK'larına %5'lik H₂SO₄ püskürtüldükten sonra UV altında (366 nm'de) incelendiğinde, verdikleri renklerden bir kısmının fenolik asit (mavi-yeşil floresans), bir kısmının ise terpenik yapıli maddeler taşıdığı görülmüştür.

Fraksiyon 2-4'ün İTK'da tek leke olarak görülmesi sebebiyle fraksiyon kurutulmuştur (~250 mg). Elde edilen sarımsı-beyaz kristaller (**Madde 1**) NMR tüpüne alınarak D₂O ve 1-2 damla piridin eklenerek çözülmüştür. NMR spektrumları çekilmiştir. Daha sonra kurutulan kısmından 1-2 kristal alınarak kütle spektrumu çekilmiştir.

Kolon II.) Sefadeks Kolon Kromatografisi: I nolu kolondan ayrılan Fr. 6-10 (~125 mg), metanolde çözümlerek sefadeks kolona tatbik edilmiştir.

Ayırırmda kullanılan adsorban (miktar): Sephadex LH20 (40 g)

Kolon Özellikleri: Çap:2 cm, uzunluk: 45 cm, altı filtreli cam kolon

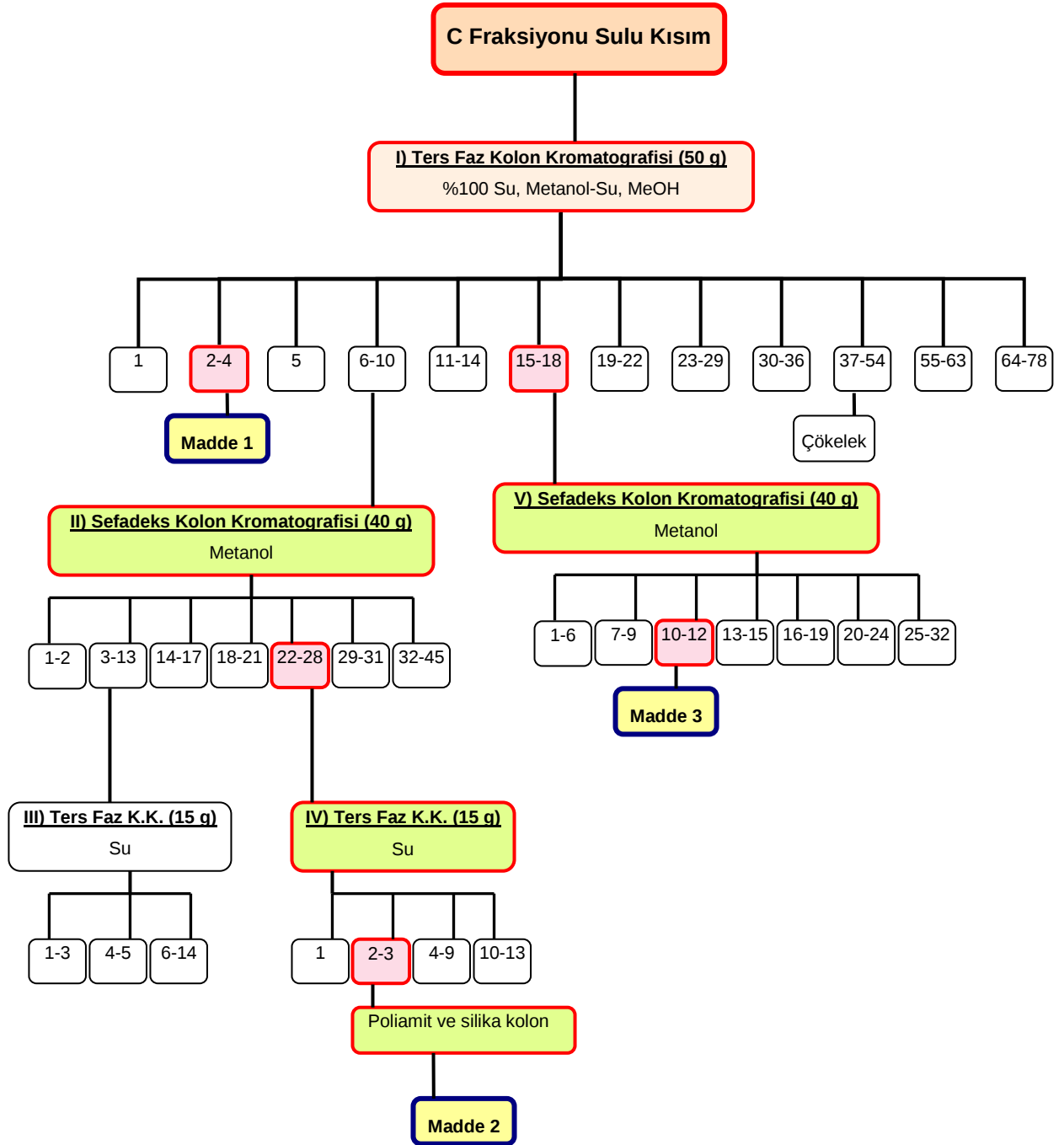
Kullanılan solvan sistemi: Metanol (300 ml)

Toplanan fraksiyon sayısı: 45 (7 grupta toplanmıştır)

Fraksiyon toplama hacmi: 5 ml

İ.T.K.'da kullanılan solvan sistemi:

Kloroform/Metanol/Su (61:32:7)+4 damla asetik asit



Şekil 9. Joso meyve n-BuOH alt ekstresi C fraksiyonundan madde izolasyonu

Kolon III.) Ters Faz Kolon Kromatografisi: II nolu kolondan ayrılan Fr. 3-13 (~58 mg), suda çözülerek ters faz kolona tatbik edilmiştir.

Ayırımında kullanılan adsorban (miktar): Cosmosil 75 C¹⁸ (15 g)

Kolon Özellikleri: Çap:2 cm, uzunluk: 25 cm, altı filtreli cam kolon

Kullanılan solvan sistemi: Su (50 ml)

Toplanan fraksiyon sayısı: 14 (3 grupta toplanmıştır)

Fraksiyon toplama hacmi: 4 ml

İ.T.K.'da kullanılan solvan sistemi:

Kloroform/Metanol/Su (61:32:7)+4 damla asetik asit

Ancak fraksiyon miktarının az olması sebebiyle alt fraksiyonlar üzerinde izolasyona devam edilememiştir.

Kolon IV.) Ters Faz Kolon Kromatografisi: II nolu kolondan ayrılan Fr. 2-28 (~45 mg), suda çözülerek ters faz kolona tatbik edilmiştir.

Ayırımında kullanılan adsorban (miktar): Cosmosil 75 C¹⁸ (15 g)

Kolon Özellikleri: Çap: 2 cm, uzunluk: 25 cm, altı filtreli cam kolon

Kullanılan solvan sistemi: Su (50 ml)

Toplanan fraksiyon sayısı: 13 (4 grupta toplanmıştır)

Fraksiyon toplama hacmi: 4 ml

İ.T.K.'da kullanılan solvan sistemi:

Kloroform/Metanol/Su (61:32:7)+4 damla asetik asit

Fr. 2-3 poliamit kolondan su ile, daha sonra da silika kolondan Kloroform/Metanol/Su (80:20:1) solvan sistemi kullanılarak temizlenmiş, en yüksek oranda bulunan madde, (10 mg) elde edilmiştir. Yapı tayini için NMR analizi yapılmıştır (**Madde 2**).

Kolon V.) Sefadeks Kolon Kromatografisi: I nolu kolondan ayrılan Fr. 15-18 (~130 mg), metanolde çözülerek sefadeks kolona tatbik edilmiştir.

Ayırımında kullanılan adsorban (miktar): Sephadex LH20 (40 gr)
Kolon Özellikleri: Çap:2 cm, uzunluk: 45 cm, altı filtreli cam kolon
Kullanılan solvan sistemi: Metanol (300 ml)
Toplanan fraksiyon sayısı: 32 (7 grupta toplanmıştır)
Fraksiyon toplama hacmi: 10 ml
İ.T.K.'da kullanılan solvan sistemi:

Kloroform/Metanol/Su (61:32:7)+4 damla asetik asit

Yapılan İTK'ya göre, Fr. 10-12'de, önceki fraksiyonlarda kirli olarak bulunan ana maddenin saf halde olduğu görülmüştür. Fraksiyon kurutularak tartılmış (**Madde 3:** 20 mg) ve maddenin NMR spektrumları çekilmiştir.

I nolu kolondan alınan Fr. 37-54 yoğunlaştırıldıktan sonra metanol ilavesi ile beyaz renkli bir çökeleğin meydana geldiği görülmüştür. Oluşan çökelek ayrılarak tartılmıştır (50 mg). Ancak çökeleğin NMR spektrumunu çekmek amacıyla denenen hiçbir solvanda çözünmemesi sebebiyle yapı tayini yapılamamıştır.

3.2.1.5. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GK/KS)

J. oxycedrus ssp. *oxycedrus* yaprak etanol ekstresinden elde edilen hekzan alt ekstresinden kolon kromatografisi ile ayrılmış antidiyabetik etkili fraksiyonlarının bileşimini aydınlatmak amacıyla Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Ana Bilim Dalı laboratuvarlarında bulunan gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi cihazı kullanılmıştır. Alt ekstre, fraksiyon ve alt fraksiyonlar metanolde çözülüp Millipore filtrelerden süzöldükten sonra sisteme enjekte edilmiştir.

GK analizi Agilent 6890N GC sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. FID dedektör sıcaklığı 300°C olarak kaydedilmiştir. Uçucu bileşenler kromatografik ve spektroskopik çalışmalar için doğrudan GK ve GK/KS sistemine verilerek kimyasal bileşimi ve relatif yüzdeleri aydınlatılmıştır. Bileşiklerin relatif oranları FID kromatogramdan bilgisayar yardımıyla hesaplanmıştır. GK kolonda ayrılan uçucu bileşikler daha sonra dedektör görevi gören kütle spektrometrisinde her birinin tek tek kütle spektrumları alınarak tanımlanmıştır.

GK/KS analizi Agilent 5975 GC-MSD sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin ayrımı için Innowax FSC kolon (60 m x 0.25 mm, film kalınlığı 0.25 µm), taşıyıcı gaz olarak Helyum (0.8 ml/dak) kullanılmıştır. GK fırın sıcaklığı 10 dk 60°C'de 4°C/dk artışıyla 220°C'ye artırılıp 10 dk tutulmuştur ve sonra 1°C/dk artışıyla 240°C'ye çıkarılmıştır. Split oranı 40:1 olarak uygulanmıştır. Kütle spektrumları 70 eV enerjisiyle alınmıştır. Kütle değerleri m/z 35 ile 450 arasında kaydedilmiştir. n-Alkanlar referans alınarak maddelerin kolondaki tutunma indeksleri (RRI) hesaplanmıştır.

Maddelerin teşhisi kütle spektrumlarının "BAŞER Uçucu yağ bileşenleri", Wiley, Adams, MassFinder 3.1 kütüphanelerindeki maddelerin ve MS literatürlerindeki maddelerin kütle spektrumlarına benzerliğinin ve aynı tip kolondaki tutunma indekslerinin karşılaştırılması yapılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.6. Kütle Spektrometrisi

Saflaştırma işlemleri sonrasında etkili alt fraksiyonlardan elde edilen maddelerin kütle spektrumları Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda bulunan Waters Micromass TOF-MS, sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS) cihazında alınmıştır.

Suda üzülen saf maddeler, dakikada 0.25  l akış hızıyla (başlangıçta 80:20 su/asetonitril, 6. dakikada 5:95 su/asetonitril, 7. dakikada 80:20 su/asetonitril olacak şekilde) gradient elüsyon ile 5 cm uzunluğunda C¹⁸ kolondan ayrılmıştır. Kolondan çıkan maddeler, UV ve TOF-MS (Time Of Flight-Mass Spectrometer) yardımı ile tespit edilmiş, maddelerin spektrumları M⁺ ve M⁻ modlarda alınmıştır.

3.2.1.7. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektrometrisi

Saflaştırma işlemleri sonrasında etkili fraksiyonlardan elde edilen maddelerin ¹H- ve ¹³C- NMR spektrumları Ege Üniversitesi Fen Fakültesi'ne bağlı Bilim-Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde çekilmiştir.

¹H-NMR: Varian Oxford AS400 (400 MHz)

¹³C-NMR: Varian Oxford AS400 (100 MHz)

3.2.2. BİYOLOJİK AKTİVİTE ARAŞTIRMA YÖNTEMLERİ

Bu çalışmada, halk ilâcı kayıtlarında ülkemizde kan şekerini düşürmek amacıyla kullanıldığı belirlenen 4 *Juniperus* türünün (*J. communis* var. *saxatilis*, *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus*, *J. foetidissima* ve *J. sabina*) meyve ve yapraklarından hazırlanan etanollü ekstrelerin, etkili ekstrelerden hazırlanan alt ekstre ve fraksiyonların antidiyabetik etkileri incelenmiştir.

3.3.2.1. Ham Ekstreler Üzerinde Yapılan Çalışmalar:

Juniperus yapraklarından ve meyvelerinden hazırlanan etanollü ekstrelerin 0.5 ve 1 g/kg dozlardaki antidiyabetik etkileri streptozotosin nedenli diyabetik sıçanlar kullanılarak incelenmiştir. Mukayese amacıyla kontrol grubuna ekstreleri çözerken taşıyıcı olarak kullanılan karboksimetilselüloz (CMC) çözeltisi uygulanırken etkinliğin karşılaştırılabilmesi amacıyla referans grubuna oral antidiyabetiklerden glipizit (Sigma, G117-1G) verilmiştir.

Meyve Ekstrelerinin İncelendiği Deneylerde Gruplar (Doz)

1. Diyabetik kontrol: % 0.5'lik CMC Çözeltisi
2. Referans: Glipizit (10 mg/kg)
3. *Juniperus communis* var. *saxatilis* (Jcvs) Meyve Etanol Ekstresi (0.5 g/kg)
4. *Juniperus communis* var. *saxatilis* (Jcvs) Meyve Etanol Ekstresi (1 g/kg)
5. *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* (Joso) Meyve Etanol Ekstresi (0.5 g/kg)
6. *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* (Joso) Meyve Etanol Ekstresi (1 g/kg)
7. *J. foetidissima* (Jf) Meyve Etanol Ekstresi (0.5 g/kg)
8. *J. foetidissima* (Jf) Meyve Etanol Ekstresi (1 g/kg)
9. *J. sabina* (Js) Meyve Etanol Ekstresi (0.5 g/kg)
10. *J. sabina* (Js) Meyve Etanol Ekstresi (1 g/kg)

Yaprak Ekstrelerinin İncelendiği Deneylerde Deney Grupları (Doz)

1. Diyabetik kontrol: % 0.5'lik CMC Çözeltisi
2. Referans: Glipizit (10 mg/kg)
3. *J. communis* var. *saxatilis* (Jcvs) Yaprak Etanol Ekstresi (0.5 g/kg)
4. *J. communis* var. *saxatilis* (Jcvs) Yaprak Etanol Ekstresi (1 g/kg)
5. *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* (Joso) Yaprak Etanol Ekstresi (0.5 g/kg)
6. *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* (Joso) Yaprak Etanol Ekstresi (1 g/kg)
7. *J. foetidissima* (Jf) Yaprak Etanol Ekstresi (0.5 g/kg)
8. *J. foetidissima* (Jf) Yaprak Etanol Ekstresi (1 g/kg)
9. *J. sabina* (Js) Yaprak Etanol Ekstresi (0.5 g/kg)
10. *J. sabina* (Js) Yaprak Etanol Ekstresi (1 g/kg)

Diyabetik Sıçanlarda Akut Antidiyabetik Etkinin İncelenmesi:

Bu amaçla kullanılacak deney hayvanları, deneyden 1 hafta önce streptozotosin ile diyabet yapılmıştır.

Streptozotosin İle Diyabet Meydana Getirilmesi: 150-200 g Wistar albino erkek sıçanlar 6 saat aç bırakıldıktan sonra tartılmıştır. Sitrat tamponu içinde çözülerek buz banyosunda taze olarak hazırlanan streptozotosin (Sigma, S0130-1G) çözeltisi, hayvanlara 55 mg/kg dozda ve 0.1 ml/kg vücut ağırlığı hacimde intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Hayvanlar normal diyetleri ve su ile (ad libitum) beslenmiştir. Uygulamadan 5 gün-bir hafta sonra hayvanlar 6 saat aç bırakılmıştır. Süre sonunda kuyruk uçlarından alınan kanda glukoz seviyeleri, glukoz ölçüm çubukları ve cihazı ile ölçülmüştür. Kan glukozu 250 mg/dl üzerinde bulunan hayvanlar diyabetik kabul edilmiş ve aktivite çalışmalarında kullanılmıştır.

Streptozotosin ile diyabet yapılmış hayvanlar üzerinde aktivitenin incelenmesi için 6 saat aç bırakılmış diyabetik hayvanlar her grupta 5 hayvan olacak şekilde gruplandırılmıştır. Açlık kan şekerlerinin ölçümünden sonra,

kontrol grubuna CMC, referansa glipizit, deney grubuna ise numuneler gastrik gavajla uygulanmıştır. Uygulamadan sonraki 30., 60., 120. ve 240. dakikalarda kuyruk ucundan alınan kanda glukoz seviyeleri ölçülmüştür.

Etanollü ekstrelerin iki farklı dozu ile diyabetik hayvanlarda yapılan deneyler sonucunda; kan şekerini en fazla düşüren ekstrelerin **Joso meyve ve yaprak ekstreleri** olduğu görülmüştür. Joso meyve ve yaprak ekstreleri 1 g/kg dozda denenen 0.5 g/kg dozdan daha etkili bulunmuştur (Tablo 5 ve 6).

Halkın ardıç meyve ve yapraklarını su ile kaynatarak kullanması veya meyveleri doğrudan yiyerek tüketmesi sebebiyle bitkinin sulu ekstrelerinin de etkili olabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan sulu ekstrelerin de antidiyabetik etkileri incelenmiştir. Ancak sulu ekstreler etanollü ekstrelerden daha düşük etki gösterdiğinden (Tablo 8) çalışmanın devamında etanollü ekstrelerin kullanılmasına karar verilmiştir.

Bu nedenle, antidiyabetik etki deneylerinden sonra Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanollü ekstrelerin; akut etkileri normoglisemik ve glukoz yüklenmiş hayvanlarda, subakut etkileri ise diyabetik sıçanlarda incelenmiştir (Tablo 9,10,11).

Normoglisemik Sıçanlarda Hipoglisemik Etkinin İncelenmesi (NG):

Bu amaçla 6 saat aç bırakılan sağlıklı deney hayvanları uygulama öncesi tartılmış ve açlık kan glukoz seviyeleri ölçülmüştür. Hayvanlar her grupta 6 tane olacak şekilde gruplandırılmıştır. Kontrol grubuna çözücü olarak kullanılan % 0.5'lik CMC, referans grubuna glipizit, deney gruplarına ise uygun dozda tartılmış, CMC'de çözülmüş ekstreler, uygun hacimde (1 ml/100 g vücut ağırlığı) gastrik gavaj ile uygulanmıştır. Numunelerin verildiği başlangıç anı 0. dakika olarak kabul edilmiştir. Bundan sonraki 30., 60., 120., ve 240. dakikalarda hayvanların kuyruk uçlarından alınan kanda glukoz

konsantrasyonları Glucometer Elite ya da Ascensia Elite kan glukozu ölçüm çubukları ve uygun cihaz kullanılarak ölçülmüştür. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Glukoz Hiperglisemik Sıçanlarda Hipoglisemik Etkinin İncelenmesi (OGTT):

Oral glukoz tolerans testi olarak bilinen bu deney modelinde 6 saat aç bırakılan hayvanlar tartılarak açlık kan glukoz seviyeleri ölçülmüş, her grupta 6 denek olacak şekilde gruplandırılmıştır. Kontrol grubuna CMC, referans grubuna glipizit, deney gruplarına CMC'de çözölmüş ekstreler gastrik gavajla uygulanmıştır. Uygulamadan 30 dakika sonra kan glukoz seviyeleri ölçölüp hayvanlara 2g/kg dozda glukoz çözeltisi yüklemesi yapılmıştır. Glukoz çözeltisi, glukozun distile su içinde çözölmesi ile hazırlanmış ve hayvanlara gastrik gavaj yardımıyla uygulanmıştır. Numune uygulanmasından 60, 120, 240 ve 360 dakika sonra kan glukoz seviyeleri ölçölerek sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Diyabetik Sıçanlarda Subakut Antidiyabetik Etkinin İncelenmesi:

Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanollü ekstrelerin hayvanlara 10 gün süresince uygulaması ile subakut etkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla kontrol grubuna CMC, referansa glipizit ve deney gruplarına ekstreler 10 gün boyunca her gün aynı saatte gastrik gavajla uygulanmıştır. Uygulamanın 1., 4., 7. ve 10. günlerinde 6 saat aç bırakılan hayvanların kan glukoz seviyeleri ve ağırlıkları ölçölmüştür. 11. gün hayvanlar anestezi edilerek ekstrelerin dokular üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla

karaciğer ve böbrek dokuları çıkartılmıştır. Dokular serum fizyolojikte yıkanarak temizlendikten sonra tüplere alınarak biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere derin dondurucuda (-80 °C'de) muhafaza edilmiştir.

Antioksidan Etkinin İncelenmesi:

Çalışmanın esası, diyabette artan oksidatif stres nedeniyle deney hayvanlarının dokularında meydana gelen oksidatif hasarın ekstreler ile değişimini izlemeye dayanmaktadır. Bu amaçla, diyabetik hayvanlarda subakut antidiyabetik etkinin incelendiği deneyler sonunda anestezi edilen hayvanların karaciğer ve böbrek dokuları çıkarılmış ve lipit peroksidasyonun tayininde kullanılmıştır.

Deney hayvanlarından alınan doku örneklerinde lipit peroksidasyonun tayini için Jamall ve Smith tarafından modifiye edilen Ohkawa ve arkadaşlarının yöntemi kullanılmıştır ^{124,125}. Yöntem, doku homojenatında lipitlerin peroksidasyonu sonucu oluşan, peroksit lipitlerin yıkım ürünü malondialdehitin (MDA), tiyobarbitürik asitle (TBA) reaksiyonu sonucu oluşan renk şiddetinin ölçümü ile lipit peroksidasyonu tayin edilmesi esasına dayanır.

Bu amaçla;

- Tartılan 0.5 g doku 4.5 ml 0.25 M sakkaroz çözeltisi ile homojenize edilerek % 10'luk (a/h) doku homojenatları hazırlanmıştır.
- Sitozolik fraksiyonlar 10 dakika 1000 gravitede (g) santrifüj edilmiştir.
- Fraksiyonların süpernatantlarından 4'er ml alınarak 30 dakika 2000 g.'de santrifüj edilmiştir.
- 0.2 ml süpernatant üzerine 0.2 ml % 8.1'lik (a/h) sodyumdodesilsülfat (SDS), 1.5 ml % 20'lik asetik asit (pH 3.5), 1.5 ml % 0.8'lik (a/h)

tiyobarbitürik asit (TBA) eklenmiştir. Bu aşamada kör hazırlanırken tüplere TBA yerine eşit hacimde distile su konulmuştur.

- Son hacim distile su ile 4 ml'ye tamamlanmıştır.
- Tüpler ağızları sıkıca kapatılarak 60 dakika 98⁰'deki su banyosunda bekletilmiştir.
- Süre sonunda su banyosundan çıkartılan tüpler musluk suyu altında soğutulmuştur.
- Örneklerden alınan 2 ml örnek üzerine 2 ml % 10'luk (a/h) trikloro asetik asit (TCA) eklenmiştir.
- Örnekler 10 dakika 1000 g'de santrifüj edilmiştir.
- Süpernatant fazın renk şiddeti 532 nm'de okunmuştur.
- Kalibrasyon grafiğinin hazırlanmasında standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan kullanılmıştır.

Sonuçlar nmol MDA/g yaş ağırlık cinsinden ifade edilmiştir.

3.3.2.2. Çözücü-Çözücü Ekstraksiyonu İle Elde Edilen Alt Ekstreler Üzerinde Yapılan Çalışmalar:

Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan ekstraktların sıvı-sıvı ekstraksiyonu sonrasında elde edilen (hekzan, kloroform, etilasetat, n-butanol ve kalan su) alt ekstraktların antidiyabetik etkileri; elde edilen verimlerine uygun olarak hesaplanan dozlarda ve bu dozların iki katı dozlarda diyabetik hayvanlara uygulanmıştır. Kontrol grubuna çözücü olarak kullanılan % 0.5'lik CMC, referans grubuna ise oral antidiyabetiklerden glipizit (10 mg/kg dozda) uygulanmıştır.

Yapılan antidiyabetik aktivite deneyleri sonucunda etkili bulunan **Joso yaprak hekzan alt ekstresi** ve **Joso meyve n-butanol alt ekstresinin** kolon kromatografisi ile fraksiyonlanarak etkili fraksiyonlarının tayin edilmesine karar verilmiştir. Etkili bulunan test numuneleri tekrar kolon kromatografisi ile

fraksiyonlanmış ve elde edilen alt fraksiyonların diyabetik hayvanlar üzerinde akut antidiyabetik etkileri incelenmiştir. Bu aşamadan sonra etkili bulunan alt fraksiyonlardaki madde grupları farklı analiz yöntemleri ile belirlenmiş ve etkiden sorumlu olduğu düşünülen maddeler ayrılmıştır.

Joso meyve n-butanol alt ekstresinden elde edilen etkili alt fraksiyonun yüksek oranda şikimik asit (% 15) içerdiği bulunmuştur. Bu sebeple şikimik asitin akut ve subakut antidiyabetik etkisi incelenmiş, subakut inceleme sonrasında hayvan dokularında lipit peroksidasyon ve glutatyon miktar tayini, alınan kan örneklerinde ise insülin, total kolesterol, trigliserit, karaciğer enzimlerinden aspartat transaminaz (AST), alanin amino transferaz (ALT) ve alkalen fosfataz (ALP) miktarları tespit edilmiştir.

3.3.2.3. Şikimik Asitin *In vivo* Etkilerinin Araştırılması:

Şikimik Asitin Akut Antidiyabetik Etkisinin İncelenmesi

Şikimik asitin antidiyabetik etkisinin ölçümü için 6 saat aç bırakılmış diyabetik hayvanlar her grupta 6 hayvan olacak şekilde gruplandırılmıştır. Açlık kan şekerlerinin ölçümünden sonra, kontrol grubuna CMC, referansa glipizit, deney grubuna ise CMC'de çözülmüş 15 ve 30 mg/kg dozlarda şikimik asit gastrik gavajla uygulanmıştır. Uygulamadan sonraki 30., 60., 120., 240. ve 360. dakikalarda kuyruk ucundan alınan kanda glukoz seviyeleri ölçülmüştür.

Şikimik Asitin Subakut Uygulamada Antidiyabetik Etkisinin İncelenmesi:

Şikimik asitin hayvanlara 8 gün süresince uygulaması ile subakut etkinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla kontrol grubuna CMC, referansa

glipizit ve deney gruplarına 15 ve 30 mg/kg dozlarda şikimik asit 8 gün boyunca her gün aynı saatte gastrik gavajla uygulanmıştır. Uygulamanın 1. ve 8. günlerinde 6 saat aç bırakılan hayvanların kan glukoz seviyeleri ve ağırlıkları ölçülmüştür.

Şikimik Asitin Antioksidan Etkilerinin İncelenmesi:

Şikimik asitin 8 gün boyunca sıçanlara uygulanmasının ardından, 9. gün hayvanlar anestezi edilerek kalp, karaciğer ve böbrek dokuları çıkartılmıştır. Dokular serum fizyolojikte yıkanarak temizlendikten sonra tüplere alınarak ekstrelerin dokular üzerindeki etkilerinin inceleneceği biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere derin dondurucuda (-80 °C) muhafaza edilmiştir.

i. Dokularda Lipit Peroksidasyon Tayini

Deney hayvanlarından alınan doku örneklerinde lipit peroksidasyonun tayini için Jamall ve Smith tarafından modifiye edilen Ohkawa ve arkadaşlarının yöntemi kullanılmıştır ^{124,125}. Yöntem, doku homojenatında peroksida lipitlerin yıkım ürünü olan malondialdehitin (MDA), tiyobarbitürik asitle (TBA) reaksiyonu sonucu oluşan renk şiddetinin ölçümü ile lipit peroksidasyonu tayin edilmesi esasına dayanır.

ii. Dokularda Glutasyon Miktar Tayini

Deney hayvanlarından alınan dokularda glutasyon tayininde Sedlak ve Lindsay'ın yöntemi kullanılmıştır ¹²⁶. Yöntem, dokuda bulunan glutasyonun Ellman reaktifi ile reaksiyonu sonucu oluşan renk şiddetinin ölçümü ile glutasyon miktarının tayin edilmesi esasına dayanır.

Bu amaçla;

- Karaciğer dokularından 0.2 g, kalp ve böbrek dokularından 0.4 g tartılmıştır.
- Dokular 8 ml 0.02 M disodyum EDTA ile homojenize edilmiştir.
- Ayrılan 5 ml homojenat üzerine 4 ml distile su, 1 ml % 50'lik (a/h) TCA eklenmiştir.
- Örnekler 15 dakika 3000 g'de santrifüj edilmiştir.
- Örneklerden alınan 1 ml süpernatant üzerine 2 ml Tris tampon (pH 8.9) ve 0.1 ml DTNB (Ellman reaktifi: 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit) eklenmiştir.
- Örnekler 412 nm'de DTNB'siz köre karşı okunmuştur.

Sonuçlar $\mu\text{mol GSH/g}$ yaş ağırlık cinsinden ifade edilmiştir.

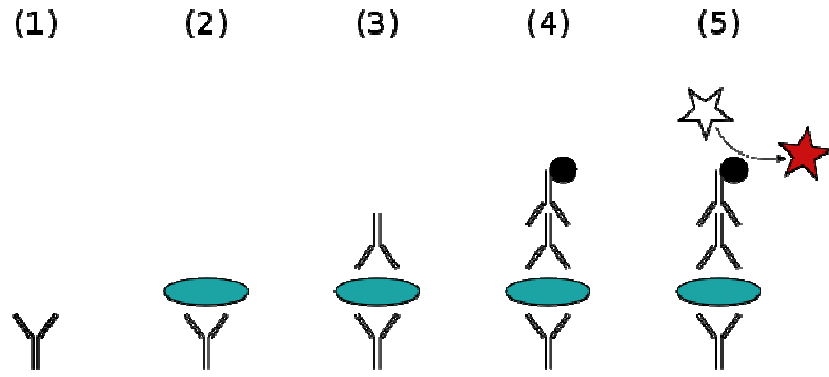
Şikimik Asitin Plazma İnsülin Seviyeleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi:

Şikimik asitin subakut etkilerini gözlemek amacıyla 8 günlük uygulama sonrasında anestezi altındaki sıçanlardan alınan kan örneklerinde insülin, total kolesterol, trigliserit ve karaciğer enzim seviyeleri de ölçülmüştür.

Plazma örneklerinde insülin miktarının ölçümünde sandviç ELISA tekniği kullanılmıştır. ELISA; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay kelimelerinin kısaltmasıdır, Türkçe “Enzime Bağlı İmmün Test” olarak adlandırılabilir. Yöntem; başlıca immunolojide, örnekteki antijen veya antikor varlığını saptamak için, kullanılmaktadır. Ayrıca ELISA tekniği; tıp, biyoloji, bitki patolojisi gibi birçok alanda teşhis amaçlı, endüstride ise kalite kontrol amaçlı olarak kullanılmaktadır.

Plazmadaki insülinin sandviç ELISA tekniği ile ölçümü için 96 kuyucuklu plaklara bilinen miktarda monoklonal fare anti-rat insülin antikorları

doldurulmuştur (1). Kuyucuklara plazma örnekleri eklendiğinde insülin bu antikorlara bağlanır (2). Üzerine insülini bağlayacak, biotin bağlanmış poliklonal antikor içeren reaktif eklenir (3). Biotinlenmiş antikorların sabitlenmesinden sonra üzerine bayırturpu (*Armoracia rusticana*) peroksidazı eklenir (4). Ortamda kalan serbest enzim yıkama ile uzaklaştırılır. Bayırturpu peroksidazı ortama eklenen 3,3', 5,5' tetrametilbenzidin ile reaksiyona girerek mavi renk oluşumuna sebep olur. Plağa asit eklenmesi ile renk sarıya dönüşür (5). Kuyucuklardaki örneklerin renk şiddeti 450 ve 590 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür. İnsülin ile yapılan kalibrasyon denklemine göre okunan absorbanslardan plazmadaki insülin miktarı hesaplanır.



Şekil 10. Sandviç ELISA tekniğinin şematik gösterimi

Çalışmamızda Linco firmasının fare/sıçan insülin eliza kitleri kullanılmıştır (Cat. # EZRMI-13K). Sonuçlar ng/dl cinsinden verilmiştir.

Şikimik Asitin Plazma Total Kolesterol Seviyeleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi:

Çalışmamızda, plazmada total kolesterol miktar tayini amacıyla IBL (Cayman Chemical Company) firmasına ait Kolesterol Test Kiti kullanılmıştır (No. 10007640). Bu amaçla öncelikle kolesterol esteraz kullanılarak kolesterol

esterlerinin kolesterole dönüşmesi sağlanmıştır. Daha sonra eklenen kolesterol oksidaz sayesinde, kolesterol hidrojen peroksit çıkararak ketonlara dönüşür. Açığa çıkan hidrojen peroksit, 10-asetil-3,7-dihidroksifenoksazin (ADHP) ile bayırturpu peroksidazı varlığında reaksiyona girer, floresan bir madde olan resorufin oluşturur. Oluşan floresans uygun dalga boylarında (530-595 nm) ölçülmüş ve sonuçlar mg/dl cinsinden verilmiştir.

Şikimik Asitin Plazma Trigliserit Seviyeleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi:

Çalışmamızda, plazmada trigliserit miktar tayini amacıyla IBL (Cayman Chemical Company) firmasına ait Trigliserit Testi Kiti kullanılmıştır (No.10010303). Bu amaçla plazmadaki trigliseritler lipoprotein lipaz yardımıyla hidroliz edilerek gliserol ve yağ asitleri açığa çıkarılmıştır. Açığa çıkan gliserol bir dizi enzimatik reaksiyon sonucunda ölçülmüştür. (Gliserol, öncelikle ATP ile gliserol kinaz katalizörlüğünde fosforillenmiş, açığa çıkan gliserol-3-fosfat gliserol fosfat oksidaz tarafından dihidroksiaseton fosfata dönüşmüştür. Bu reaksiyon sırasında açığa çıkan hidrojen peroksit, ortama eklenen peroksidaz, 4-aminoantipirin (4-AAP) ve N-etil-N-(3-sülfopropil)-m-anisidin (ESPA) ile oksidoredüksiyon reaksiyonuna girer.) Reaksiyon sonunda oluşan parlak mor renkli kinonimin boyasının renk şiddeti 540 nm’de ölçülerek trigliserit miktarı hesaplanmıştır, sonuçlar mg/dl cinsinden verilmiştir.

Şikimik Asitin Karaciğer Enzim Seviyeleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi:

Plazmada karaciğer enzimlerinden aspartat transaminaz (AST), alanin amino transferaz (ALT) ve alkalin fosfataz (ALP) miktarları IBL-Türkiye standart kitleri kullanılarak ölçülmüştür. Tüm enzim miktarları kit kullanım

kılavuzuna göre kinetik olarak tespit edilmiştir. AST ve ALT ölçümleri IFCC'nin (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) önerdiği yöntemeye uygun olarak ¹²⁷ 340 nm'de, ALP ölçümleri ise 405 nm'de yapılmıştır ^{128,129}. Sonuçlar mg/dl cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

Deney sonuçlarının değerlendirilmesinde Instat-2 bilgisayar programı kullanılmıştır. Programda tek yönlü ANOVA ve Student-Newman-Keuls seçilerek grupların toplam, ortalama, standart sapma ve standart hata değerleri hesaplanmıştır.

Antidiyabetik aktivite deneylerinde her numune grubu kendi zaman birimindeki kontrol ve referans grubu ile karşılaştırılmıştır. Yüzde inhibisyon değerleri kontrol grubuna göre hesaplanarak tablolarda belirtilmiştir.

Antioksidan aktivite deneylerinde numune grupları diyabetik kontrolle karşılaştırılmış böylece diyabetik hayvanlarda meydana gelen hasarın test numuneleri ile değişimi incelenmiştir.

İstatistiksel olarak belirginlik: * p<0.05, ** p<0.01, ***p<0.001

İncelenen aktivitelerde, ölçülen değerlerin % değişimleri incelenirken aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{\text{Numune Grubunun Değeri} \times 100}{\text{Kontrol Grubunun Değeri}} - 100$$

4. BULGULAR

Ülkemizde halk arasında antidiyabetik etkileri amacıyla kullanılan 4 *Juniperus* taksonunun antidiyabetik etkilerinin araştırılması amacıyla öncelikle bitkilerin meyve ve yaprakların etanollü ve sulu ekstreleri hazırlanmıştır. Ekstrelerin bileşiminde bulunan maddelerin kıyaslanması amacıyla ince tabaka kromatografisi kullanılmıştır.

Tüm ekstrelerden eşit miktarlarda tartılıp, eşit hacimlerde çözücüde çözülerek silikajel İTK plaklarına eşit sayıda tatbik edilmiştir. Plaklar, farklı solvan sistemleri denendikten sonra uygun bulunanlarda sürüklenmiştir. Lekeler gün ışığı, 254 nm ve 366 nm'de UV lambası altında incelenmiştir. Revelatör olarak % 5'lik H₂SO₄, anisaldehit-sülfürik asit reaktifi kullanılmıştır.

Solvan Sistemleri:

Toluen/Etilasetat (90:10)

Kloroform/Toluen (75:25)

Kloroform/Metanol/Su (60:40:4)

Etilasetat/Formik Asit/Asetik Asit/Metanol/Su (100:5:5:20:20)

Yapılan İTK çalışmaları sonucunda etanollü ekstrelerin madde bileşimi açısından sulu ekstrelerden çok daha zengin olduğu görülmüştür. Meyve ekstreleri ile yaprak ekstrelerinin içerikleri karşılaştırıldığında, birçok farklı maddenin yanı sıra ortak maddelerin de bulunduğu gözlenmiştir. Hem meyve hem de yapraklarda terpenik maddelerin fazlaca bulunduğu anisaldehit-sülfürik asit reaktifi püskürtülüp ısıtılmış plaklarda belirgin renk değişimi (pembe-mor-kahverengi arasında farklı renkler) ile gözlenmiştir.

4.1. *Juniperus* Meyve ve Yapraklarından Hazırlanan Etanol Ekstrelerinin Antidiyabetik Etkilerinin İncelenmesi:

Juniperus meyvelerinden ve yapraklarından hazırlanan etanollü ekstrelerin 0.5 ve 1 g/kg dozlarda kontrol ve referansa karşı antidiyabetik etkileri streptozotosin nedenli diyabetik sıçanlarda incelenmiştir.

Tablo 5. *Juniperus* türlerinin yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin antidiyabetik etkileri

Grup	Doz (g/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart Hata (% İnhibisyon)					
		Başlangıç	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.	360. dk.
Kontrol	-	381.5±28.0	388.4±9.9	389.4±5.1	356.4±5.5	311.1±10.7	296.0±9.1
Glipizit	0.01	381.5±29.8	380.9±4.9 (%1.9)	355.6±5.7** (%8.7)	315.5±4.5*** (%11.5)	284.1±13.1* (%8.7)	283.4±21.1 (%4.3)
Jcvs	0.5	372.6±6.62	387.3±8.9 (%0.3)	380.2±16.8 (%2.4)	317.6±3.9*** (%10.9)	296.7±8.9 (%4.6)	284.1±10.7 (%4.0)
	1	380.0±15.7	367.7±11.3 (%5.3)	354.3±27.4*** (%9.0)	329.2±11.6* (%7.6)	300.6±11.8 (%3.8)	280.8±16.9 (%5.1)
Jf	0.5	381.9±26.7	357.3±31.7* (%8.0)	361.1±24.8 (%7.3)	365.1±11.2	311.6±13.3	294.3±15.1 (%0.6)
	1	377.8±23.9	363.9±17.4 (%6.3)	337.8±6.1*** (%13.3)	333.5±15.3* (%6.4)	310.4±14.2 (%0.2)	285.0±9.8 (%3.7)
Joso	0.5	389.7±17.3	382.0±14.0 (%1.7)	369.1±8.2* (%5.2)	330.3±10.9* (%7.3)	307.7±16.5 (%1.1)	298.1±13.9 (%0.7)
	1	382.6±21.1	349.7±13.9*** (%10.0)	338.7±7.7*** (%13.0)	301.3±8.4*** (%15.5)	255.0±7.2*** (%18.0)	243.0±6.0*** (%17.9)
Js	0.5	380.8±26.0	361.7±9.6 (%6.9)	345.0±7.2*** (%11.4)	352.8±16.5 (%1.0)	300.6±16.5 (%3.4)	314.6±7.5
	1	381.0±8.3	362.4±21.5 (%6.7)	349.7±4.5*** (%10.2)	339.3±29.3 (%4.8)	299.5±24.0 (%3.8)	300.5±16.6

Jcvs: *J. communis* var. *saxatilis*

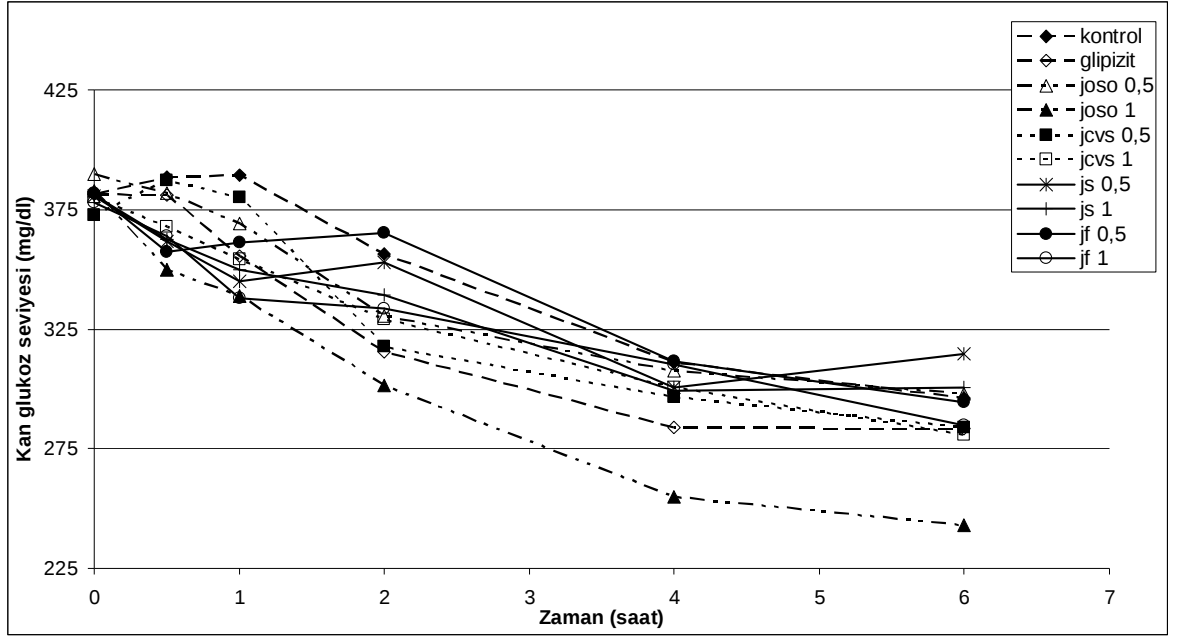
Jf: *J. foetidissima*

Joso: *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*

Js: *J. sabina*

* : p < 0.05, ** : p < 0.01, *** : p < 0.001

Deneyden bir hafta önce streptozotosin ile diyabet oluşturulan hayvanlar deneyden 6 saat önce aç bırakılmıştır. Kan glukoz seviyeleri ölçüldükten sonra başlangıç kan glukoz seviyelerinin ortalamaları birbirine yakın olacak şekilde 5 hayvan içeren gruplar oluşturulmuştur. Hayvan ağırlıkları tartılmış ve kuyruk uçları numaralandırılmıştır. Numuneler % 0.5'lik CMC çözeltisi içinde çözülerek hazırlanmıştır. Referans olarak glipizit kullanılmıştır. Tablo 5'de yaprak ekstralarının, Tablo 6'da ise meyve ekstralarının sonuçları yer almaktadır. Değerlerdeki düşüşün daha net görülmesi için veriler grafiğe de aktarılmıştır.



Grafik 1. *Juniperus* türlerinin yapraklarından hazırlanan etanol ekstralarının antidiyabetik etkileri

Tablo 5 ve Grafik 1'de görüldüğü gibi *Juniperus* türlerinin yapraklarından hazırlanan etanollü ekstraların hepsinde antidiyabetik etki gözlenmiştir. Bunlardan özellikle *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* ekstresi 1 g/kg dozda belirgin ve devamlı etkiye sahiptir.

Tablo 6. *Juniperus* türlerinin meyvelerinden hazırlanan etanol ekstralarının antidiyabetik etkileri

Grup	Doz (g/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart Hata (% İnhibisyon)					
		Başlangıç	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.	360. dk.
Kontrol	-	372.8 ± 24.0	376.3 ± 5.4	382.2 ± 4.2	350.7 ± 7.1	311.3 ± 6.1	313.2 ± 3.9
Glipizit	0.01	372.0 ± 29.5	338.4 ± 4.0*** (%10.1)	342.1 ± 4.9*** (%10.5)	323.1 ± 10.7** (%7.9)	307.4 ± 10.8 (%1.3)	309.4 ± 10.7 (%1.2)
Jcsn	0.5	372.0 ± 13.5	395.8 ± 8.0	388.9 ± 13.0	372.2 ± 5.8	341.3 ± 18.7	322.7 ± 14.3
	1	372.3 ± 17.3	378.6 ± 12.3	370.9 ± 13.0 (%3.0)	296.1 ± 6.2*** (%15.6)	282.2 ± 30.5 (%9.4)	289.9 ± 33.6 (%7.4)
Jf	0.5	376.6 ± 39.7	371.5 ± 19.9 (%1.3)	341.3 ± 7.6*** (%10.7)	325.5 ± 22.7* (%7.2)	277.6 ± 4.1 (%10.8)	306.0 ± 19.6 (%2.3)
	1	380.8 ± 28.9	393.0 ± 17.2	393.8 ± 12.2	365.4 ± 14.6	306.0 ± 21.8 (%1.7)	287.3 ± 12.6 (%8.3)
Joso	0.5	378.8 ± 47.2	356.0 ± 12.3 (%5.4)	352.8 ± 18.3** (%7.7)	311.0 ± 4.4*** (%11.3)	263.7 ± 3.7** (%15.3)	239.2 ± 7.0*** (%23.6)
	1	372.0 ± 25.9	327.3 ± 6.1*** (%13.0)	334.7 ± 9.3*** (%12.4)	277.9 ± 7.1*** (%20.8)	250.7 ± 4.3*** (%19.5)	257.6 ± 7.5** (%17.8)
Js	0.5	382.8 ± 35.5	386.6 ± 20.6	413.2 ± 26.7	339.0 ± 20.97 (%3.35)	311.2 ± 35.9	335.6 ± 46.5
	1	372.1 ± 22.2	397.0 ± 25.3	406.8 ± 24.5	348.1 ± 17.4 (%0.7)	293.7 ± 24.3 (%5.7)	283.7 ± 21.2 (%9.4)

Jcvs: *J. communis* var. *saxatilis*

Jf: *J. foetidissima*

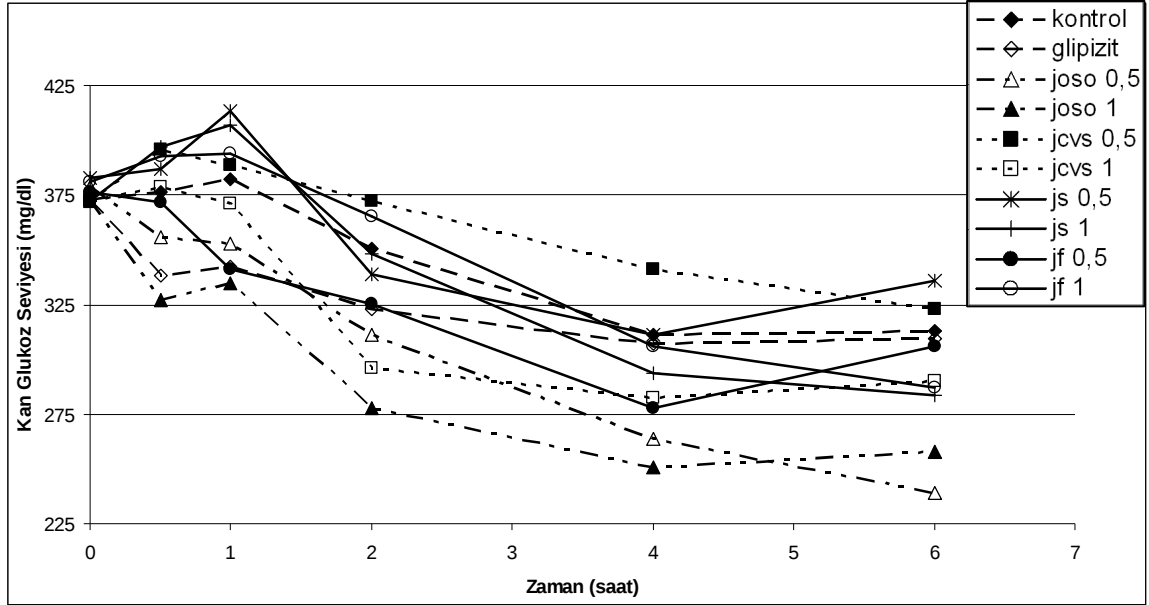
Joso: *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*

Js: *J. sabina*

* : p< 0.05, ** : p < 0.01, *** : p< 0.001

J. oxycedrus subsp. *oxycedrus* meyvelerinden hazırlanan etanolü ekstre, 0.5 ve 1 g/kg dozlarda diğer ekstralardan daha belirgin antidiyabetik etkiye sahiptir (Tablo 6, Grafik 2). Etki sürekli ve referans olarak kullanılan glipizitin bile üzerindedir. *J. communis* var. *saxatilis*'nin 1 g/kg dozu ve *J.*

foetidissima'nın da 0.5 g/kg dozda Joso kadar olmasa da etkili olduğu görülmektedir.



Grafik 2. *Juniperus* türlerinin meyvelerinden hazırlanan etanol ekstratlarının antidiyabetik etkileri

4.2. Joso Meyve ve Yapraklarından Hazırlanan Sulu Ekstrelerin Antidiyabetik Etkilerinin İncelenmesi:

Diyabetik sıçanlar üzerinde yapılan antidiyabetik aktivite çalışmalarında 4 *Juniperus* türünden en etkili olanın *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* olduğu görülmüştür. Yapılan halk ilâcı çalışmalarında bitkinin halk tarafından kaynatılarak kullanılması nedeniyle farklı etken madde grupları içerebileceği düşünülen sulu ekstratlar de hazırlanarak diyabetik sıçanlara 0.5 ve 1 g/kg dozlarda uygulanmıştır. Deney sonuçları Tablo 7'de yer almaktadır.

Tablo 7. *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* meyve ve yapraklarından hazırlanan sulu ekstrelerin antidiyabetik etkileri

Grup	Doz (g/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart Hata					
		(% İnhibisyon)					
		Başlangıç	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.	360. dk.
Kontrol	-	383.0±9.7	457.0±32.6	443.2±20.5	368.6±12.2	347.6±7.8	339.6±16.7
Glipizit	0.01	381.8±20.5	423.8±35.6 (% 7.3)	375.4±12.6*** (% 15.3)	360.2±6.9 (% 2.3)	346.4±1.7 (% 0.4)	336.6±12.4 (% 0.9)
Joso Meyve	0.5	383.6±15.7	433.0±10.0 (% 5.3)	376.2±10.3*** (% 15.1)	324.2±6.2*** (% 12.1)	338.4±5.9 (% 2.7)	334.2±15.0 (% 1.6)
	1	383.4±23.5	465.0±24.0	397.2±10.6*** (% 10.4)	340.8±4.4*** (% 7.6)	349.6±6.9	335.0±15.5 (% 1.4)
Joso Yaprak	0.5	382.8±33.5	456.0±28.2 (% 0.2)	368.4±14.6*** (% 16.9)	337.6±7.6*** (% 8.4)	315.2±11.0*** (% 9.3)	317.8±17.9 (% 6.4)
	1	384.2±18.2	406.2±21.4* (% 10.9)	371.2±7.2*** (% 16.3)	323.8±6.1*** (% 12.2)	325.8±1.7** (% 6.3)	333.0±6.5 (% 1.9)

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001,

Tablo 8. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan sulu ve etanollü ekstrelerin antidiyabetik etkilerinin karşılaştırılması

Grup	Ekstre ve Dozu (g/kg)	Kan glukoz konsantrasyonunda % inhibisyon				
		30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.	360. dk.
Glipizit	0.10	7.3	15.3***	2.3	0.4	0.9
Joso Meyve	Sulu 0.5	5.3	15.1***	12.1***	2.7	1.6
	Etanollü 0.5	5.4	7.7**	11.3***	15.3**	23.6***
	Sulu 1	-	10.4***	7.6***	-	1.4
	Etanollü 1	13.0***	12.4***	20.8***	19.5***	17.8**
Joso Yaprak	Sulu 0.5	0.2	16.9***	8.4***	9.3***	6.4
	Etanollü 0.5	1.7	5.2*	7.3*	1.1	0.7
	Sulu 1	10.9*	16.3***	12.2***	6.3**	1.9
	Etanollü 1	10.0***	13.0***	15.5***	18.0***	17.9***

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001, -: Etki görülmemiştir

Sonuçların meyve ve yaprak etanol ekstreleri ile karşılaştırılması amacıyla sadece yüzde inhibisyon değerlerinin bulunduğu Tablo 8 hazırlanmıştır. Bu iki tabloda da görüldüğü gibi Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstreleri sulu ekstrelerden çok daha etkilidir. Bu nedenle çalışmanın devamında etanol ekstrelerinin kullanılmasına karar verilmiştir.

4.3. Joso Meyve ve Yapraklarından Hazırlanan Etanol Ekstrelerinin Normoglisemik Sıçanlar Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi:

Diyabetik sıçanlarda yüksek antidiyabetik etkili olduğu gözlenen Joso meyve ve yaprak etanol ekstrelerinin, normoglisemik sıçanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkilerini incelemek amacıyla sağlıklı Wistar albino sıçanlar (150–200 g), deneyden 6 saat önce aç bırakılmıştır.

Tablo 9. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin, normoglisemik sıçanların kan glukoz seviyeleri üzerindeki etkileri

Grup	Doz (g/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart Hata (% İnhibisyon)				
		Başlangıç	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.
Kontrol	-	103.2±5.1	98.0±4.4	104.6±4.1	101.8±6.0	108.0±3.2
Glipizit	0.01	103.2±4.4	50.2±2.6*** (% 48.6)	42.8±2.1*** (% 59.1)	45.8±3.0*** (% 55.0)	53.0±3.1*** (% 50.9)
Joso Meyve	0.5	98.8±5.5	102.6±3.0	97.6±2.2 (% 6.7)	95.6±2.3 (% 6.1)	94.2±3.7** (% 12.8)
	1	99.2±4.5	105.2±1.4	98.2±3.1 (% 6.1)	94.6±7.2 (% 7.1)	94.0±1.8* (% 13.0)
Joso Yaprak	0.5	101.2±3.6	97.2±5.7 (% 0.8)	91.8±6.3** (% 12.2)	87.4±6.4* (% 14.2)	80.0±10.7*** (% 25.9)
	1	90.6±3.3	99.6±3.7	93.2±2.5** (% 10.9)	90.0±4.4* (% 11.6)	84.4±3.5*** (% 21.9)

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Her grupta 6 hayvan olacak şekilde gruplandırılıp ağırlıkları tartılmıştır. Başlangıç açlık kan glukoz seviyeleri ölçüldükten sonra hayvan ağırlıklarına göre kontrol grubuna % 0.5'lik CMC, referans grubuna CMC'de çözülmüş glipizit (10 mg/kg) ve Joso yaprak ve meyve etanol ekstreleri oral yolla uygulanmıştır. 30., 60., 120. ve 240. dakikalarda kan glukoz seviyeleri ölçülmüştür.

Normoglisemik hayvanlar üzerinde referans olarak kullanılan glipizitin belirgin hipoglisemik etkisi gözlenmiştir. Bunun yanında Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin her iki dozda da açlık kan glukoz seviyesini düşürdüğü görülmüştür (Tablo 9). Yaprak ekstrelerinin etkisi çok daha belirgin ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

4.4. Joso Meyve ve Yapraklarından Hazırlanan Etanol Ekstrelerinin Glukoz Hiperglisemik Sıçanlar Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi:

6 saat aç bırakılan sağlıklı sıçanlar tartılarak açlık kan glukoz seviyeleri ölçülmüş ve her grupta 6 denek olacak şekilde gruplandırılmıştır. Kontrol grubuna CMC, referans grubuna glipizit, deney gruplarına CMC'de çözülmüş ekstreler gastrik gavajla uygulanmıştır. 30 dakika sonra kan glukoz seviyeleri ölçülüp 2 g/kg dozda glukoz çözeltisi yüklemesi yapılmıştır. Glukoz çözeltisi, glukozun distile su içinde çözülmesi ile hazırlanmış ve hayvanlara gastrik gavaj yardımıyla uygulanmıştır. Numune uygulanmasının 60., 120. ve 240. dakikalarında kan glukoz seviyeleri ölçülerek sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 10'da yer almaktadır.

Normoglisemik hayvanlara 30. dakikada glukoz yüklemesi yapılan oral glukoz tolerans testinde amaç bitki ekstrelerinin glukoz emilimini etkileyip etkilemediklerini gözlemektir. 60. dakika ölçümünde kontrol grubunda kan glukoz değerinin 160'ın üzerinde çıkması, yüklenen glukozun emildiğini ve kana

kariştığını göstermektedir. Ekstre ve referans uygulanan gruplarda ise bu değer 160 mg/dl'nin altındadır. 120. ve 240. dakikalarda da kontrolden düşük bulunan kan glukoz seviyeleri ekstrelerin glukoz emilimi üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir.

Tablo 10. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin glukoz hiperglisemik hayvanların kan glukoz seviyeleri üzerindeki etkileri

Grup	Doz (g/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) � Standart Hata (% İnhibisyon)				
		Başlangıç	30. dk + gl.	60. dk.	120. dk.	240. dk.
Kontrol	-	111.2�1.8	111.2�3.3	165.8�2.5	120.8�3.3	105.5�4.8
Glipizit	0.01	106.0�4.3	75.5�3.2*** (% 32.1)	92.8�3.2*** (% 44.0)	46.3�2.5*** (% 61.7)	39.2�1.7*** (% 62.8)
Joso Meyve	0.5	109.8�3.2	113.8�2.3	147.6�4.3*** (% 11.0)	97.8�5.3*** (% 19.0)	89.0�7.4*** (% 15.6)
	1	110.5�4.2	113.8�2.5	149.3�4.5*** (% 10.0)	115.3�4.9 (% 3.9)	101.3�4.2 (% 4.0)
Joso Yaprak	0.5	103.7�2.5	110.2�2.4 (% 0.9)	161.0�4.5 (% 2.9)	114.5�4.1 (% 5.2)	97.3�3.3 (% 7.8)
	1	101.8�1.8	107.7�2.2 (% 3.2)	146.4�3.8*** (% 11.7)	111.3�4.1 (% 7.8)	94.2�2.9* (% 10.7)

*: p<0.05, ***: p<0.001, gl:glukoz

4.5. Joso Meyve ve Yapraklarından Hazırlanan Etanol Ekstrelerinin Subakut Uygulama Sonucu Etkilerinin İncelenmesi:

4.5.1. Antidiyabetik Etkilerin İncelenmesi:

Diyabetik, normoglisemik ve glukoz hiperglisemik sıçanlarda kan glukoz seviyesinin düşüşüne neden olan Joso yaprak ve meyvelerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin subakut etkisi incelenmiştir. Bu amaçla diyabetik

sıçanlardan yedişerli gruplar hazırlanmıştır. Bunlardan kontrol grubuna CMC, referansa glipizit ve deney gruplarına ekstreler 10 gün boyunca her gün aynı saatte (08:00) oral yolla uygulanmıştır. Uygulamanın 1., 4., 7. ve 10. günlerinde 6 saat aç bırakılan hayvanların kan glukoz seviyeleri ve ağırlıkları ölçülmüştür. 11. gün hayvanlar anestezi edilerek kalplerinden kan örnekleri alınmıştır. Daha sonra biyokimyasal parametrelerin incelenmesi amacıyla karaciğer ve böbrek dokuları çıkartılmıştır. Dokular serum fizyolojikte yıkanarak temizlendikten sonra tüplere alınarak derin dondurucuda (-80 °C) muhafaza edilmiştir. Antidiyabetik etki sonuçları Tablo 11’de, dokularda lipid peroksidasyon tayini sonucu elde edilen sonuçlar ise Tablo 13’de yer almaktadır.

Tablo 11. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin subakut uygulamada, diyabetik hayvanların kan glukoz seviyeleri üzerindeki etkileri

Grup	Doz (g/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart Hata (% İnhibisyon)			
		1. Gün	4. Gün	7. Gün	10. Gün
Kontrol	—	355.2 ± 33.3	370.0 ± 14.1	339.2 ± 13.7	353.2 ± 13.1
Glipizit	0.01	355.2 ± 41.1	341.5 ± 21.2 (% 7.7)	328.0 ± 24.1 (% 3.3)	279.3 ± 14.6 (% 20.9)
Joso Meyve	0.5	354.0 ± 7.8	378.5 ± 13.1	306.3 ± 33.4 (% 9.7)	323.1 ± 43.4 (% 8.5)
	1	355.0 ± 12.6	344.3 ± 12.6 (% 6.9)	276.8 ± 13.7** (% 18.4)	248.9 ± 17.8** (% 29.5)
Joso Yaprak	0.5	355.0 ± 27.5	269.4 ± 22.3*** (% 27.2)	259.0 ± 14.9** (% 23.7)	310.1 ± 37.5 (% 12.2)
	1	354.4 ± 13.9	280.9 ± 16.0*** (% 24.1)	188.0 ± 18.0*** (% 44.6)	317.3 ± 36.2 (% 10.2)

****:** p<0.01, *****:** p< 0.001

Subakut antidiyabetik aktivitenin incelendiği 10 günlük uygulamada hem yaprak hem meyve ekstrelerinin kan şekerini kontrol kan glukoz seviyelerinin altına düşürdüğü görülmüştür. Yaprak ekstrelerinin iki dozunda da antidiyabetik etkinin yüksek olduğu görülmektedir.

4.5.2. Vücut Ağırlıkları Üzerine Etkinin İncelenmesi:

Subakut uygulamalarda diyabet nedeniyle karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmaları bozulan sıçanların vücut ağırlıkları da değişmektedir. Bu nedenle kan şekeri ölçüm günlerinde vücut ağırlıkları da ölçülmüştür. Deneyin başlangıcında, grupların ortalama hayvan ağırlıkları aynı olmadığından, yüzde değişimler kontrole karşı değil, her grubun kendi 1. gün değerine karşı hesaplanmıştır (Tablo 12).

Tablo 12. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin subakut uygulamada, diyabetik hayvanların vücut ağırlıkları üzerine etkileri

Grup	Doz (g/kg)	Vücut Ağırlığı $\pm$ Standart Hata (% Değişim)			
		1. Gün	4. Gün	7. Gün	10. Gün
Kontrol	—	163.7 $\pm$ 2.4	164.4 $\pm$ 3.0 (% +0.4)	152.0 $\pm$ 3.2 (% -7.2)	156.4 $\pm$ 5.3 (% -4.5)
Glipizit	0.01	166.4 $\pm$ 6.0	171.9 $\pm$ 6.0 (% +3.3)	153.6 $\pm$ 5.7 (% -7.7)	162.4 $\pm$ 4.7 (% -2.4)
Joso Meyve	0.5	152.3 $\pm$ 3.8	160.7 $\pm$ 4.5 (% +5.5)	149.4 $\pm$ 3.6 (% -1.9)	152.7 $\pm$ 4.0 (% +0.3)
	1	159.4 $\pm$ 6.3	165.6 $\pm$ 5.9 (% +3.9)	141.6 $\pm$ 5.3 (% -11.2)	143.6 $\pm$ 7.7 (% -10.0)
Joso Yaprak	0.5	167.9 $\pm$ 4.8	171.6 $\pm$ 5.2 (% +2.2)	154.6 $\pm$ 7.0 (% -7.9)	158.0 $\pm$ 6.6 (% -5.9)
	1	166.7 $\pm$ 3.7	176.1 $\pm$ 4.1 (% +5.6)	140.0 $\pm$ 6.5 (% -16.0)	161.7 $\pm$ 6.2 (% -3.0)

Deneyin 4. gün ölçümlerinde tüm grupların vücut ağırlıklarında benzer oranda bir artış görülürken 7. günde düşüşler meydana gelmiştir. 10. günde artışlar görülse de bunlar vücut ağırlıklarını başlangıç değerlerinin üzerine çıkaramamıştır. Joso ekstrelerinde 1 g/kg dozda düşüşlerin daha şiddetli olduğu görülmektedir. Bunun nedeni bitkinin diüretik etkili olması olabilir.

4.5.3. Lipit Peroksidasyon Üzerine Etkinin İncelenmesi:

Bu amaçla subakut çalışma sonunda, anestezi altındaki diyabetik hayvanların karaciğer ve böbrekleri çıkartılmıştır. Dokular üzerinde malondialdehit (MDA) miktar tayinleri yapılmıştır. MDA değerleri nmol/g ıslak ağırlık cinsinden ifade edilmiştir (Tablo 13).

Tablo 13. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin diyabetik sıçanlarda subakut uygulama sonrası malondialdehit seviyeleri üzerine etkisi

Deney Grubu	Doz (g/kg)	MDA Seviyeleri (nmol/g) ± Standart Hata (% Değişim)	
		Karaciğer	Böbrek
Diyabetik Kontrol	-	491.4 ± 12.5	444.0 ± 20.7
Glipizit	0.01	490.3 ± 14.7	363.4 ± 25.1*** (- % 18.2)
Joso Meyve Eks.	0.5	471.4 ± 16.2 (- % 4.1)	317.5 ± 22.6*** (- % 28.5)
	1	373.4 ± 14.2 *** (- % 24.0)	288.6 ± 24.2*** (- % 35.0)
Joso Yaprak Eks.	0.5	298.6 ± 13.3 *** (- % 39.2)	331.8 ± 25.6*** (- % 25.3)
	1	320.9 ± 9.1*** (- % 34.7)	309.6 ± 24.6*** (- % 30.3)

***: $p < 0.001$

Grubumuz tarafından bugüne kadar yapılan çalışmalarda, sıçanlarda oluşturulan deneysel diyabet nedeniyle karaciğer ve böbreklerde lipit peroksidasyonda artış meydana geldiği görülmüştür. Diyabette artan lipit peroksidasyonun Joso meyve ve yaprak ekstrelerinin 10 gün boyunca uygulanması ile azalıp azalmadığını incelemek amacıyla diyabetik kontrol grubu ile ekstre grupları karşılaştırılmıştır. İncelenen ekstre gruplarının hepsinde hem karaciğerde hem de böbreklerde malondialdehit seviyesinin belirgin düzeyde azaldığı yani lipit peroksidasyonun azaldığı gözlenmiştir.

4.6. Joso Yapraklarından Hazırlanan Etanol Ekstresinden Elde Edilen Alt Ekstrelerin Antidiyabetik Etkilerinin İncelenmesi:

Antidiyabetik etkisi bulunan Joso yapraklarından hazırlanan etanol ekstresinin çözücü-çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen hekzan, kloroform, etilasetat, n-butanol ve kalan su alt ekstreleri streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlara uygulanarak antidiyabetik etkileri araştırılmıştır.

Bu amaçla etkili bulunan Joso yapraklarından hazırlanan etanol ekstresinin etkili dozu olan 1 g/kg'ın fraksiyonlama işlemi yapıldığı için etkinin azalmasını engellemek amacıyla iki ile çarpılmıştır. Toplam 2 g/kg doz; fraksiyon verimlerine göre oranlanarak alt ekstrelerin hayvan dozları hesaplanmıştır. Alt ekstrelerin hesaplanan dozlarının 2 katında da etki araştırılmış iki deneyin sonuçları ortak olarak Tablo 14'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi yaprak ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin ilk dozlarında tüm fraksiyonlarda düşük de olsa antidiyabetik etki gözlenmiştir. Ancak ikinci dozlardaki etki incelendiğinde; hekzan alt ekstresinin zamanla artan çok belirgin bir antidiyabetik etkisinin olduğu görülmektedir. Bu etki 4. ve 6. saat ölçümlerinde referans olarak kullanılan glipizit ile hemen hemen aynıdır.

Tablo 14. Joso yapraklarından hazırlanan etanol ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin diyabetik hayvanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri

Grup	Doz (mg/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) $\pm$ Standart Hata (% İnhibisyon)					
		Başlangıç	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.	360. dk.
Kontrol	-	380.0 $\pm$ 26.9	405.5 $\pm$ 24.5	395.5 $\pm$ 18.6	390.7 $\pm$ 10.8	375.0 $\pm$ 21.7	357.4 $\pm$ 16.3
Glipizit	10	380.0 $\pm$ 14.8	387.7 $\pm$ 12.6 (% 4.4)	373.7 $\pm$ 17.4 (% 5.5)	322.7$\pm$18.0* (% 17.4)	226.1$\pm$15.5*** (% 39.7)	224.1$\pm$18.1*** (% 37.3)
Hekzan Alt eks.	130	378.7 $\pm$ 12.0	403.3 $\pm$ 17.3 (% 0.5)	359.7 $\pm$ 15.9 (% 9.1)	359.7 $\pm$ 15.9 (% 7.9)	331.0 $\pm$ 17.8 (% 11.7)	321.7 $\pm$ 10.7 (% 10.0)
	260	384.2 $\pm$ 20.4	413.0 $\pm$ 31.3	379.7 $\pm$ 24.3 (% 4.0)	347.3 $\pm$ 13.3 (% 11.1)	257.3$\pm$16.0*** (% 31.4)	216.2$\pm$16.4*** (% 39.5)
Kloroform Alt eks.	130	380.0 $\pm$ 29.0	412.2 $\pm$ 15.3	390.9 $\pm$ 15.3 (% 1.2)	371.4 $\pm$ 17.2 (% 4.9)	364.8 $\pm$ 15.3 (% 2.7)	354.7 $\pm$ 7.2 (% 0.8)
	260	382.0 $\pm$ 36.1	395.0 $\pm$ 41.0 (% 2.6)	383.2 $\pm$ 33.9 (% 3.1)	371.9 $\pm$ 19.2 (% 4.8)	388.8 $\pm$ 17.8	384.6 $\pm$ 30.5
Etilasetat Alt eks.	370	380.0 $\pm$ 8.0	414.9 $\pm$ 14.6	391.2 $\pm$ 19.6 (% 1.1)	354.3 $\pm$ 14.7 (% 9.3)	349.3 $\pm$ 12.7 (% 6.9)	342.5 $\pm$ 17.5 (% 4.2)
	740	381.0 $\pm$ 46.5	375.5 $\pm$ 56.5 (% 7.4)	352.4 $\pm$ 59.3 (% 10.9)	343.8 $\pm$ 12.5 (% 12.0)	352.1 $\pm$ 57.9 (% 6.1)	333.1 $\pm$ 56.4 (% 6.8)
n-Butanol Alt eks.	830	378.5 $\pm$ 23.5	389.0 $\pm$ 25.4 (% 4.1)	384.5 $\pm$ 22.7 (% 2.8)	358.3 $\pm$ 26.2 (% 8.3)	340.0$\pm$34.7* (% 9.3)	333.5 $\pm$ 35.2 (% 6.7)
	1660	382.0 $\pm$ 26.4	410.0 $\pm$ 22.9	388.0 $\pm$ 22.3 (% 1.9)	366.9 $\pm$ 23.1 (% 6.1)	343.5 $\pm$ 33.9 (% 8.4)	397.7 $\pm$ 47.7 (% 16.7)
Kalan Su Alt eks.	530	380.0 $\pm$ 26.1	406.2 $\pm$ 19.5	396.3 $\pm$ 24.2	366.3 $\pm$ 24.8 (% 6.3)	360.3 $\pm$ 24.2 (% 4.0)	358.7 $\pm$ 23.3
	1060	380.0 $\pm$ 28.6	420.5 $\pm$ 23.0	351.2 $\pm$ 21.9 (% 11.2)	348.1 $\pm$ 38.1 (% 10.9)	337.1$\pm$27.4* (% 10.1)	313.8 $\pm$ 12.6 (% 12.2)

Alt eks. : Alt ekstre, * : p<0.05, *** : p<0.001

Alt ekstreler arasında en yüksek etkinin görüldüğü hekzan alt ekstresi kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmıştır. Hekzan alt ekstresinin etkili dozu 260 mg/kg fraksiyonlama nedeniyle iki ile çarpılmış, toplam 520 mg/kg doz elde edilen fraksiyonların verimlerine göre oranlanmıştır. (Kolondan alınan 9 ham fraksiyondan verimleri çok düşük olan ve İTK profilleri yakın olan 4., 5. ve

6. fraksiyon birleştirilerek D grubuna, 7. ve 8. fraksiyon birleştirilerek E grubuna uygulanmıştır). Sonuçlar tablo 15'de verilmiştir.

Tablo 15. Joso yaprak etanol ekstresinden elde edilen hekzan alt ekstresinin silika kolon fraksiyonlarının diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri

Deney Grubu	Doz (mg/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart Hata (% İnhibisyon)					
		Başlangıç	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.	360. dk.
Kontrol	-	303.6±20.9	305.8±18.4	329.6±19.1	282.6±17.9	262.6±17.3	224.6±15.1
A (1-9)	101.7	290.2±14.3	322.8±13.9	320.8±19.7 (% 2.7)	299.4±20.6	293.6±1.9	274.2±25.1
B (10-13)	27	303.6±53.3	320.5±53.2	319.0±40.3 (% 3.2)	299.9±47.6	289.3±46.1	281.6±46.0
C (14-29)	126	282.6±35.8	309.6±34.5	304.8±34.9 (% 7.5)	282.6±31.2	276.6±28.2	259.0±31.8
D (30-65)	85.1	304.6±32.0	324.2±36.8	316.6±32.2 (% 3.9)	299.8±32.3	280.4±30.9	257.8±42.3
E (66-105)	74.0	297.8±36.3	299.4±28.4 (% 2.1)	287.2±29.7 (% 12.9)	273.2±28.3 (% 3.3)	262.8±39.2	245.2±42.6
F (106-113)	106.2	303.6±26.8	246.6±14.1 (% 19.4)	238.2±18.6 (% 27.7)	196.3±12.6* (% 30.5)	145.9±10.1** (% 44.4)	127.3±15.4*** (% 43.3)
	212.4	306.6±37.5	305.8±12.5 (% 4.2)	297.3±21.0 (% 9.8)	245.9±19.6 (% 13.0)	239.8±25.8 (% 8.7)	207.8±11.5 (% 7.5)

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Diyabetik sıçanlara uygulanan fraksiyonlardan sadece F kodlu sonuncu fraksiyonun devamlı, zamanla artan belirgin bir antidiyabetik etkisinin bulunduğu görülmüştür. Etkili bulunan F fraksiyonun 212.4 mg dozda kan glukoz seviyesi üzerine etkisi incelendiğinde ilk dozdaki etkinin belirgin olarak düştüğü görülmüştür. Verimleri ve etkileri düşük olduğu için diğer fraksiyonların üst dozları denenmemiştir.

Etkili F fraksiyonu tekrar kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmış ve elde edilen alt fraksiyonların antidiyabetik etkileri incelenmiştir. Kolon

kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonlardan 1 ve 2 birleştirilerek ilk gruba; 4,5 ve 6 birleştirilerek 3. gruba, 7 ve 8 birleştirilerek 4. gruba uygulanmıştır. Sonuçlar Tablo 16'da yer almaktadır.

Tablo 16. Joso yaprak ekstresi hekzan alt ekstresinden elde edilen F fraksiyonunun alt fraksiyonlarının diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri

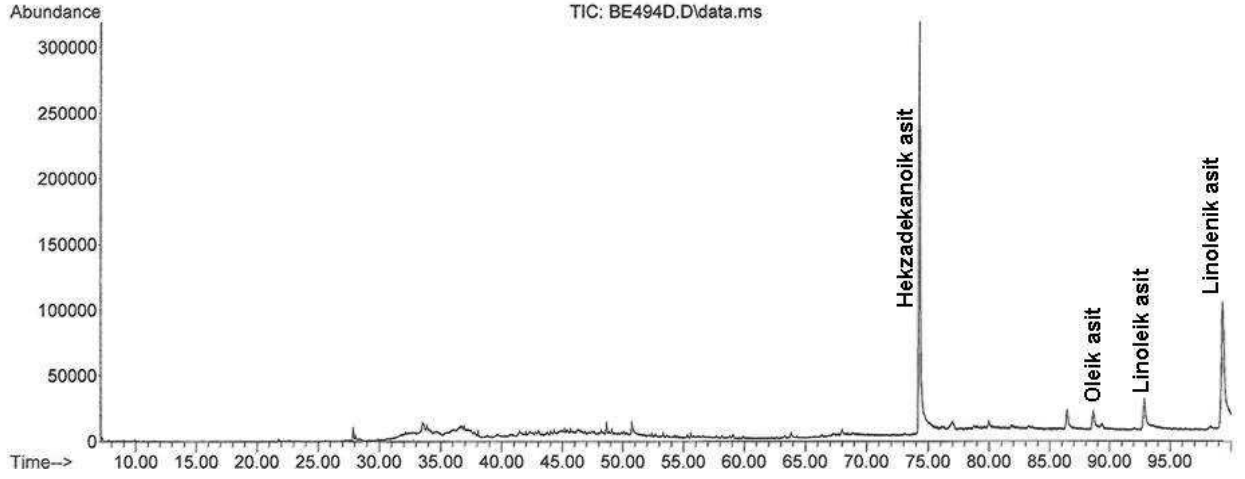
Grup	Doz (mg/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) $\pm$ Standart Hata (% İnhibisyon)					
		Başlangıç	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.	360. dk.
Kontrol	-	382.8 $\pm$ 7.4	424.0 $\pm$ 5.3	385.0 $\pm$ 7.4	354.8 $\pm$ 1.7	282.4 $\pm$ 9.8	243.0 $\pm$ 7.8
Glipizit	10	375.8 $\pm$ 7.1	410.0 $\pm$ 5.8 (% 3.3)	361.9 $\pm$ 7.2 (% 6.0)	321.5 $\pm$ 7.1* (% 9.4)	228.2 $\pm$ 5.2*** (% 19.2)	192.2 $\pm$ 3.6** (% 20.9)
F 1-2 (1-9)	13	373.4 $\pm$ 5.4	376.8 $\pm$ 3.7*** (% 11.1)	352.4 $\pm$ 5.4 (% 8.5)	291.0 $\pm$ 7.5*** (% 18.0)	219.4 $\pm$ 8.8*** (% 22.3)	163.4 $\pm$ 9.8*** (% 32.8)
	26	351.0 $\pm$ 10.7	349.0 $\pm$ 2.3*** (% 17.7)	341.1 $\pm$ 4.3** (% 11.4)	275.7 $\pm$ 5.7*** (% 22.3)	177.6 $\pm$ 9.5*** (% 34.8)	150.7 $\pm$ 6.8*** (% 38.0)
F 3 (10-19)	28	389.2 $\pm$ 5.7	398.8 $\pm$ 3.9 (% 5.9)	380.0 $\pm$ 6.0 (% 1.3)	307.6 $\pm$ 6.6*** (% 13.3)	268.6 $\pm$ 7.8 (% 4.9)	230.6 $\pm$ 10.2 (% 5.1)
F 4-6 (20-42)	106	372.8 $\pm$ 6.9	355.8 $\pm$ 6.3*** (% 16.1)	341.4 $\pm$ 14.5** (% 11.3)	285.0 $\pm$ 9.1*** (% 19.7)	247.4 $\pm$ 8.6 (% 12.4)	226.2 $\pm$ 9.0 (% 6.9)
F 7-8 (43-58)	45	379.6 $\pm$ 2.6	356.4 $\pm$ 6.2*** (% 15.9)	366.6 $\pm$ 8.6 (% 4.8)	279.4 $\pm$ 8.4*** (% 21.3)	222.4 $\pm$ 6.6*** (% 21.3)	202.2 $\pm$ 11.2* (% 16.8)
	90	356.8 $\pm$ 7.0	357.0 $\pm$ 10.4*** (% 15.8)	306.5 $\pm$ 5.5*** (% 20.4)	280.7 $\pm$ 4.4*** (% 20.9)	201.6 $\pm$ 5.5*** (% 28.6)	165.2 $\pm$ 6.1*** (% 32.0)

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

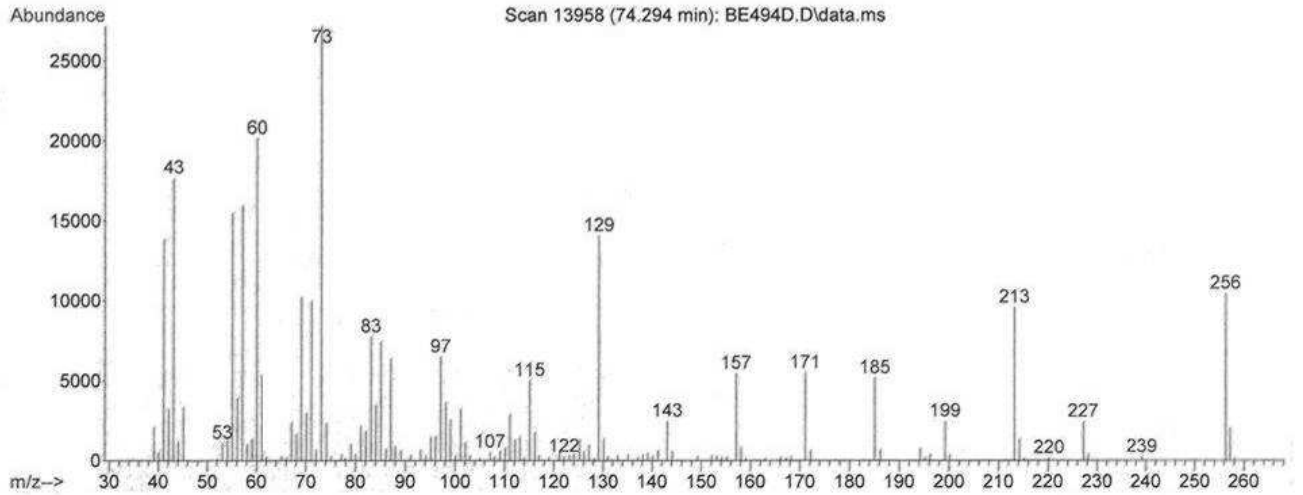
F fraksiyonunun alt fraksiyonları ile yapılan çalışma sonuçlarına göre F1-2 ve F7-8 kodlu alt fraksiyonlarda belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı antidiyabetik etki vardır. Bu alt fraksiyonların etkili maddelerini belirlemek üzere Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi kullanılmıştır. Etkili maddelerin karşılaştırılabilmesi amacıyla bu Joso yaprak etanol ekstresinin hekzan alt ekstresi de GK-KS ile analiz edilmiştir. Sayfa 130'da hekzan alt ekstresinin toplam iyon kromatogramı (TIC) ve en yüksek miktarda bulunan madde olan heksadekanoik (=palmitik) asitin kütle spektrumuna yer verilmiştir.

Hekzan alt ekstresi ve F 1-2, F 7-8 fraksiyonlarının GK-KS analizinden elde edilen sonuçlar tablo 17'de toplu olarak görülebilir.

File :E:\MSD-DATA\BE494D.D
Operator : Betul
Acquired : 22 Mar 2010 10:40 using AcqMethod IWAX-3.M
Instrument : MSD
Sample Name: BE494D - Juniperus oxycedrus hekzan fr
Misc Info : son fr
Vial Number: 1



Şekil 11. Joso yaprak etanol ekstresinden elde edilen hekzan alt ekstresinin toplam iyon kromatogramı



Şekil 12. Joso yaprak etanol ekstresinden hazırlanan hekzan alt ekstresinin GK-KS analizinde görülen ana maddenin (hekzadekanoik=palmitik asitin) kütle spektrumu

Tablo 17. Joso yaprak etanol ekstresinden hazırlanan hekzan alt ekstresi ve antidiyabetik etkili F 1-2, F 7-8 kodlu alt fraksiyonların GK-KS analizi sonuçları

	Hekzan Fraksiyonu			F 1-2			F 7-8		
Madde Adı	Var/Yok (+)/(-)	R.T. (dk)	% B.B.	Var/Yok (+)/(-)	R.T. (dk)	% B.B.	Var/Yok (+)/(-)	R.T. (dk)	% B.B.
Abietatrien	+	55.94	2.42	-			-		
Bilinmeyen (M ⁺ 250)	-			+	48.19	2.42	-		
Bilinmeyen	+	49.72	3.00	+	49.69	1.49	-		
Bilinmeyen (M ⁺ 142)	-			-			+	50.77	9.79
Bilinmeyen alkan	+	99.79	2.44	-			-		
Bilinmeyen diterpen (M ⁺ 284)	+	81.84	12.49	-			-		
Dihidroaktinidiolid	+	52.07	2.61	-			-		
Dodekanoik asit	+	55.17	1.42	-			-		
Etilheksadekanoat	+	49.17	0.19	-			-		
Fitol	+	59.24	11.07	-			-		
δ Germakren	+	35.79	1.73	-			-		
Hekzadekan	-			+	32.04	5.99	-		
Hekzadekanoik asit	+	73.59	11.31	+	73.60	4.52	+	73.56	66.32
Hekzahidrofarnesil aseton	+	45.91	0.36	-			-		
Hentriakontan	+	84.22	1.45	-			-		
(E,Z)-2,4-Heptadienal	-			-			+	27.98	1.73
Humulen epoksit	+	44.68	2.37	-			-		
γ Kadinen	+	37.19	1.69	-			-		
δ Kadinen	+	37.07	1.90	-			-		
Karyofillen oksit	+	43.29	5.04	-			-		
Linoleik asit	+	92.39	0.83	-			+	91.68	4.80
Linolenik asit	+	99.33	6.92	-			+	97.88	11.21
Metillinoleat	-			+	55.36	32.26	-		
Metillinolenat	-			+	57.63	13.79	-		
Metilheksadekanoat	-			+	48.38	25.84	-		
Metiloktadekanoat	-			+	53.25	1.60	-		
Metiloleat	-			+	53.89	7.79	-		
Monoiloksit	+	51.82	14.71	-			-		
Nonakozan	+	72.44	1.19	-			-		
Oktadekanoik asit	-			-			+	85.49	3.64
Oleik asit	+	88.15	1.79	-			+	87.59	2.47
Sandarokopimaradien	+	51.24	1.19	-			-		
α Sedrol	+	46.49	2.12	-			-		
Tetradekan	-			+	25.30	4.26	-		
Tetradekanal	+	41.26	1.27	-			-		
Tetradekanoik asit	+	63.25	3.11	-			-		
Trans Verbenol	+	34.71	3.05	-			-		
Verbenon	+	35.79	1.73	-			-		
	Toplam:		97.61	Toplam:		99.96	Toplam:		99.96

+: Madde fraksiyonda bulunmakta, -: Madde fraksiyonda bulunmamakta, R.T.: Retansiyon zamanı, %B.B.: Yüzdece bağlı bolluk

4.7. Joso Meyvelerinden Hazırlanan Etanol Ekstresinden Elde Edilen Alt Ekstrelerin Antidiyabetik Etkilerinin İncelenmesi:

Antidiyabetik etkisi bulunan Joso meyvelerinden hazırlanan etanol ekstresinin çözücü-çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen hekzan, kloroform, etilasetat, n-butanol ve kalan su alt ekstreleri streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlara uygulanarak antidiyabetik etkileri araştırılmıştır.

Tablo 18. Joso meyvelerinden hazırlanan etanol ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin diyabetik hayvanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri

Grup	Doz (mg/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart Hata (% İnhibisyon)					
		Başlangıç	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.	360. dk.
Kontrol	-	450.0±23.4	453.2±20.7	446.1±16.0	412.7±11.3	413.4±12.4	369.5±16.4
Glipizit	10	450.0±14.8	420.1±12.6 (% 7.3)	399.3±17.4 (% 10.5)	336.1±18.0** (% 18.6)	213.9±15.5*** (% 48.3)	192.6±18.1*** (% 47.9)
Hekzan Alt eks.	150	450.2±13.9	420.1±8.4 (% 6.5)	370.2±10.8 (% 17.0)	413.0±12.4	395.6±17.9 (% 4.2)	331.4±5.1 (% 10.3)
	600	450.6±32.8	428.8±37.7 (% 5.4)	428.6±33.7 (% 3.9)	392.0±18.0 (% 5.1)	401.0±18.4 (% 3.0)	341.8±18.8 (% 7.5)
Kloroform + Hekzan Alt eks. ^{oo}	20+300	450.4±24.0	440.2±25.8 (% 2.9)	430.0±28.1 (% 3.6)	410.6±17.4 (% 0.5)	383.4±20.0 (% 7.3)	312.0±11.5* (% 15.6)
Etilasetat Alt eks.	170	450.0±41.4	398.0±17.8 (% 12.2)	425.6±21.2 (% 6.1)	409.7±20.0 (% 0.7)	363.1±29.1 (% 12.2)	338.7±50.2 (% 8.3)
	340	452.8±27.4	448.2±17.5 (% 1.1)	412.2±16.4 (% 7.6)	385.0±15.9 (% 6.7)	386.6±10.9 (% 6.6)	370.0±6.8
n-Butanol Alt eks.	370	453.6±72.7	450.0±36.7 (% 0.7)	444.6±40.3 (% 0.3)	409.4±30.9 (% 0.7)	372.6±44.3 (% 9.9)	337.6±54.3 (% 8.6)
	740	450.0±11.7	410.2±20.0 (% 9.5)	391.7±12.3 (% 12.2)	337.2±8.1** (% 18.3)	304.3±11.7*** (% 26.4)	255.0±6.9*** (% 31.0)
Kalan Su Alt eks.	1080	450.4±37.3	498.2±33.5	461.8±17.4	417.4±15.0	383.4±43.7 (% 7.3)	302.8±11.8 (% 18.1)
	2160	450.6±19.0	526.9±15.6	490.2±19.9	425.4±13.5	357.2±26.1 (% 13.6)	272.7±7.2*** (% 26.2)

Alt eks.: Alt ekstre, * : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

^{oo} Kloroform alt eks.'nin verimi çok düşük olduğundan hekzan alt eks. ile birlikte uygulanmıştır.

Bu amaçla etkili bulunan Joso meyvelerinden hazırlanan etanol ekstresinin etkili dozu olan 1 g/kg'ın fraksiyonlama işlemi yapıldığı için etkinin azalmasını engellemek amacıyla iki ile çarpılmıştır. Toplam 2 g/kg doz; alt ekstre verimlerine göre oranlanarak alt ekstrelerin uygulama dozları hesaplanmıştır. Alt ekstrelerin hesaplanan dozlarının 2 katında da etki araştırılmış iki deneyin sonuçları ortak olarak Tablo 18'de verilmiştir.

Çalışmalarımızda antidiyabetik etkisi yüksek bulunan Joso meyvelerinden hazırlanan etanol ekstresinin alt ekstrelerinin hepsinde kan glukoz seviyelerini düşürücü etki görülmüştür. Ancak n-butanol alt ekstresinin 740 mg/kg dozdaki etkisi diğer alt ekstrele göre çok daha yüksek bulunmuştur. Bu nedenle çalışmalarımızın devamında n-butanol alt ekstresindeki etkiden sorumlu madde grupları üzerinde çalışılmasına karar verilmiştir.

Fraksiyonlar arasında en yüksek etkinin görüldüğü n-butanol alt ekstresi kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmıştır. n-Butanol alt ekstresinin etkili dozu (740 mg/kg) fraksiyonlama nedeniyle iki ile çarpılmış, toplam 1480 mg/kg doz elde edilen fraksiyonların verimlerine göre oranlanmıştır. (Kolondan alınan 8 fraksiyondan verimleri çok düşük olan ve İTK profilleri yakın olan 1. ve 2. fraksiyon birleştirilerek A grubuna, 7. ve 8. fraksiyon birleştirilerek F grubuna uygulanmıştır). Sonuçlar tablo 19'de verilmiştir.

Antidiyabetik aktivite çalışmalarımız sırasında n-butanol alt ekstresinden elde edilen fraksiyonların etkileri incelendiğinde C ve D kodlu fraksiyonlarının kan glukoz seviyelerini diğer fraksiyonlardan daha belirgin olarak düşürdüğü görülmüştür. Bu nedenle bu iki fraksiyonun da dozu iki katına çıkarılarak yeniden aktiviteleri incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları da akışın takibini kolaylaştırmak amacıyla Tablo 19'a eklenmiştir. C fraksiyonu 301.2 mg/kg uygulandığında etkisi belirgin olarak artarken D fraksiyonunun dozu 230.8 mg/kg'a çıktığında artış bu kadar belirgin olmamıştır. Bu sebeple

çalışmamızın devamında C fraksiyonundaki etkili madde gruplarının ayrılması amaçlanmıştır.

Tablo 19. Joso meyve etanol ekstresinden elde edilen n-butanol alt ekstresinin kolon fraksiyonlarının diyabetik hayvanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri

Grup	Doz (mg/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart Hata (% İnhibisyon)					
		Başlangıç	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.	360. dk.
Kontrol	-	386.2±9.2	409.0±11.2	398.6±7.3	334.4±5.2	337.2±7.8	323.2±11.0
Glipizit	10	375.2±22.1	382.8±15.6 (% 6.4)	372.8±15.4 (% 6.5)	323.2±20.6 (% 3.4)	285.8±8.4* (% 15.2)	258.0±13.3 (% 20.1)
A (0-18)	28.6	378.8±11.0	386.0±9.7 (% 5.6)	363.6±11.0 (% 8.8)	338.4±8.7	323.6±4.7 (% 4.2)	313.2±9.2 (% 3.1)
B (19-23)	61.4	392.0±18.3	403.0±17.1 (% 1.5)	384.2±15.1 (% 3.6)	365.6±8.9	352.6±7.0	349.4±10.5
C (24-29)	150.6	363.2±17.1	377.6±14.1 (% 7.7)	351.6±9.6* (% 11.8)	317.4±12.4 (% 5.1)	303.2±16.6 (% 10.1)	282.2±4.8 (% 12.7)
	301.2	365.4±21.8	388.0±27.4 (% 0.4)	359.8±26.4 (% 6.5)	306.0±5.5* (% 18.6)	264.6±6.6*** (% 20.0)	214.6±9.0*** (% 26.4)
D (30-32)	115.4	369.2±26.8	357.0±8.6* (% 12.7)	332.4±9.0** (% 16.6)	310.2±11.0 (% 7.2)	290.8±4.7 (% 13.8)	284.4±14.8 (% 12.0)
	230.8	370.0±22.3	410.8±26.5	389.4±28.4	362.2±30.0 (% 3.6)	307.6±16.4 (% 6.9)	282.6±31.6 (% 3.1)
E (33-41)	816.2	370.4±18.6	458.6±21.8	431.0±20.4	383.2±12.6	329.4±14.8 (% 2.3)	325.2±15.7
F (42-60)	307.8	385.0±24.6	404.6±5.3 (% 1.1)	398.6±12.3	356.2±6.9	320.5±12.1 (% 5.0)	287.1±16.6 (% 11.2)

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p< 0.001

C fraksiyonunun kolon kromatografisi ile tekrar fraksiyonlanması sonucunda 7 alt fraksiyon elde edilmiştir. Elde edilen alt fraksiyonların antidiyabetik etkileri incelenirken verimi düşük olan ve İTK profilleri benzer olan ilk 4 alt fraksiyon 1. test grubuna uygulanmıştır. Sonuçlar Tablo 20’de yer

almaktadır. İlk 4 alt fraksiyonun uygulandığı ilk grupta etki görülmezken diğer gruplarda % 2.2-14.2 arasında farklı oranlarda etki bulunduğu görülmüştür. Bunun üzerine alt fraksiyonların dozu iki kat arttırılarak aktiviteleri incelenmiştir. Alt fraksiyonların tamamındaki antidiyabetik etkinin belirgin olarak arttığı görülmüştür. C5, C6 ve C7 kodlu alt fraksiyonlardaki bu toplu etki, bu alt fraksiyonda yer alan madde gruplarının aktiviteden sorumlu olduğunu düşündürmüştür.

Tablo 20. Joso meyve etanol ekstresi n-butanol alt ekstresinden elde edilen C fraksiyonunun alt fraksiyonlarının diyabetik hayvanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri

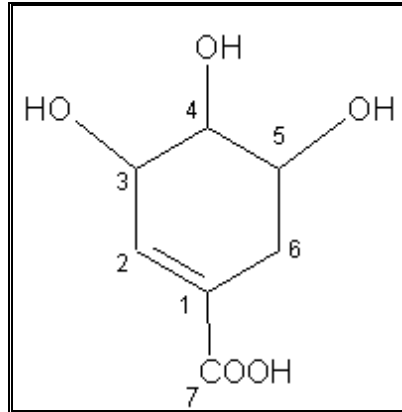
Grup	Doz (mg/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart Hata (% İnhibisyon)					
		Başlangıç	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.	360. dk.
Kontrol	-	345.0±10.6	371.2± 7.6	350.8±7.5	310.4±2.7	263.6±9.0	225.4±5.7
Glipizit	10	339.9±0.7	348.6±1.1 (% 6.1)	325.9±1.4 (% 7.1)	291.8±2.6 (% 6.0)	242.5±2.6 (% 8.0)	218.9±1.0 (% 2.9)
C 1-4 (1-50)	59	343.8±12.9	374.6±8.5	348.0±10.8 (% 0.8)	316.0±8.4	264.4±5.5	246.4±6.8
C5 (51-58)	227	342.0±5.8	348.4±9.1 (% 6.1)	318.4±8.6* (% 9.2)	301.8±5.2 (% 2.8)	265.6±6.6	238.6±7.1
	454	324.0±7.0	334.1±8.3** (% 10.0)	343.1±7.1 (% 2.2)	263.2±5.8*** (% 15.2)	245.4±9.0 (% 6.8)	195.0±6.9* (% 13.5)
C6 (59-63)	131	343.2±8.5	358.6±8.1 (% 3.4)	343.0±7.6 (% 2.2)	327.4±8.0	272.0±1.6	233.0±5.4
	262	329.7±7.3	329.3±7.1** (% 11.3)	324.1±7.4 (% 7.6)	229.7±7.4*** (% 26.0)	223.0±6.6*** (% 15.4)	202.0±7.0* (% 10.4)
C7 (64-75)	155	344.2±8.8	318.4±6.0*** (% 14.2)	303.4±4.4*** (% 13.5)	286.4±10.1 (% 7.7)	233.2±6.5** (% 11.5)	195.8±9.5* (% 13.1)
	310	316.9±4.8	305.1±4.9*** (% 17.8)	298.9±4.1*** (% 14.8)	230.0±4.5*** (% 25.9)	221.7±5.8*** (% 15.9)	172.4±5.7*** (% 23.5)

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Bu amaçla bu alt fraksiyonların elde edildiği C fraksiyonu üzerinden madde izolasyonu çalışmaları başlanmıştır. Yöntemler bölümünde madde izolasyonunda kullanılan teknikler ve adımlar açık olarak belirtilmiştir. Bu sebeple bu bölümde sadece yapı tayini sonuçlarına yer verilecektir.

4.8. YAPI TAYİNİ

4.8.1. Madde 1: ŞİKİMİK ASİT



Formül: $C_7H_{10}O_5$

Molekül Ağırlığı: 174.15

LC-TOFMS m/z : 173.0468 M^- , Şekil 13

1H NMR: Şekil 16, Tablo 21

^{13}C NMR: Şekil 17, Tablo 21

Madde 1'in Kloroform/Metanol/Su (61:32:7) solvan sistemi ile İTK analizinde gün ışığı ve UV altında leke gözlenmezken % 5'lik H₂SO₄ püskürtülen plaklara ısı uygulandığında kararma meydana gelmiştir. Madde sarımsı-beyaz renkte, amorf halde elde edilmiştir. Molekülün negatif iyon TOF-MS spektrumunda gözlenen m/z 173.0468 M⁻ sinyali, ¹H NMR (Tablo 21, Şekil 16) ve ¹³C NMR (Tablo 21, Şekil 17) spektrumları ile birlikte yorumlandığında molekül formülü C₇H₁₀O₅ olarak belirlenmiştir.

¹H NMR spektrumunda en düşük alanda gözlenen δ_H 6.27 sinyali, olefinik çifte bağa aittir. δ_H 2.00-4.5 arası gözlenen sinyaller literatür bilgileri ile karşılaştırılarak değerlendirildiğinde, bileşiğin çifte bağ taşıyan 6 üyeli siklik bir sistem olduğu anlaşılmıştır. ¹H 2.00 ve 2.59'da gözlenen birer proton değerindeki piklerin bir adet metilen karbonuna ait olduğu (δ_C 33.03) düşünülmüştür. Halkaya bağlı oksimetin gruplarının ve metilenin yerleri etkileşim sabitleri ile belirlenmiş ve literatür bilgileri ile doğrulanmıştır.

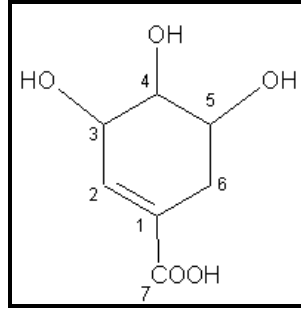
Molekülün ¹³C NMR spektrumunda δ_C 175.19'da gözlenen sinyal, bir karboksilik asit karbonilini temsil etmektedir.

Molekülün oksimetin karbonlarının konfigürasyonlarının tespiti optik rotasyonları alınamadığından belirtilmemiştir.

Tüm veriler birleştirilerek değerlendirildiğinde, **madde 1**'in yapısı **şikimik asit** olarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler literatürde kayıtlı değerler ile uyum göstermektedir ¹³⁰.

Mukayese amacıyla şikimik asit standardının LC-TOF-MS spektrumu alındığında, UV spektrumu ve toplam iyon kromatogramında (TIC) madde 1 ile aynı retansiyon zamanında bir pik gözlenmiş, kütle spektrumu incelendiğinde aynı [M⁻] değerine sahip oldukları görülmüştür.

Şikimik asitin *Juniperus* türleri gibi Gymnospermae'deki birçok türde ve Angiospermae'deki birçok bitkinin farklı kısımlarında bulunduğu bilinmektedir ^{131,132}.



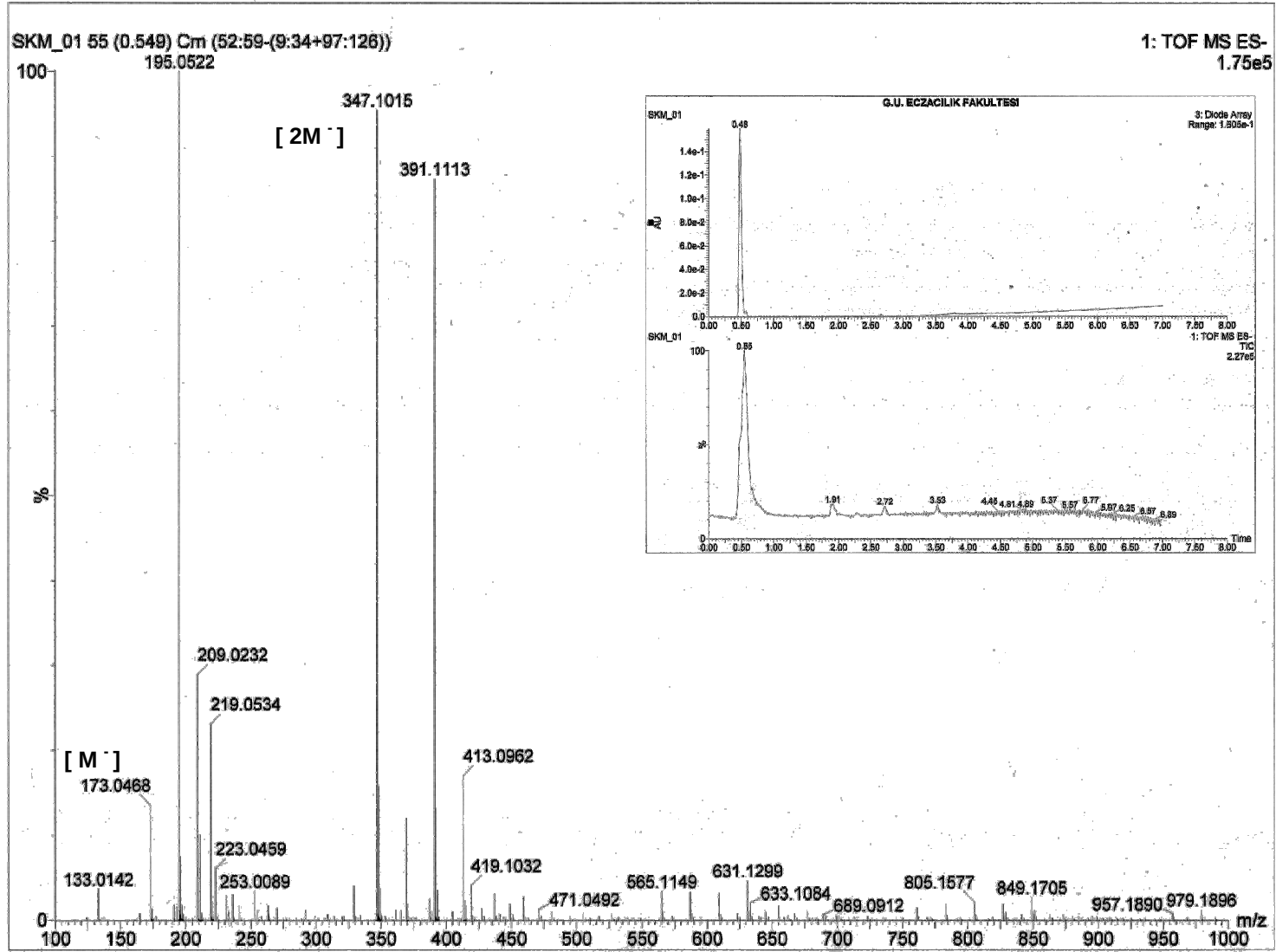
Tablo 21: Şikimik asit (Madde 1'in) ¹H (D₂O, 400 Hz) ve ¹³C (D₂O, 100 Hz) NMR spektral değerleri

H/C	Yapı	δ _H (ppm)	J (Hz)	δ _C (ppm)
1	C			130.61
2	CH	6.27	s	136.62
3	CH	4.18	T (4.0/4.0)	66.50
4	CH	3.49	dd (4.4/9.6)	72.39
5	CH	3.80	dd (14.4/8.4)	67.01
6	CH ₂	2.59	dd (5.6/18.0)	33.03
		2.00	dd (7.6/14.0)	
7	CO			175.19

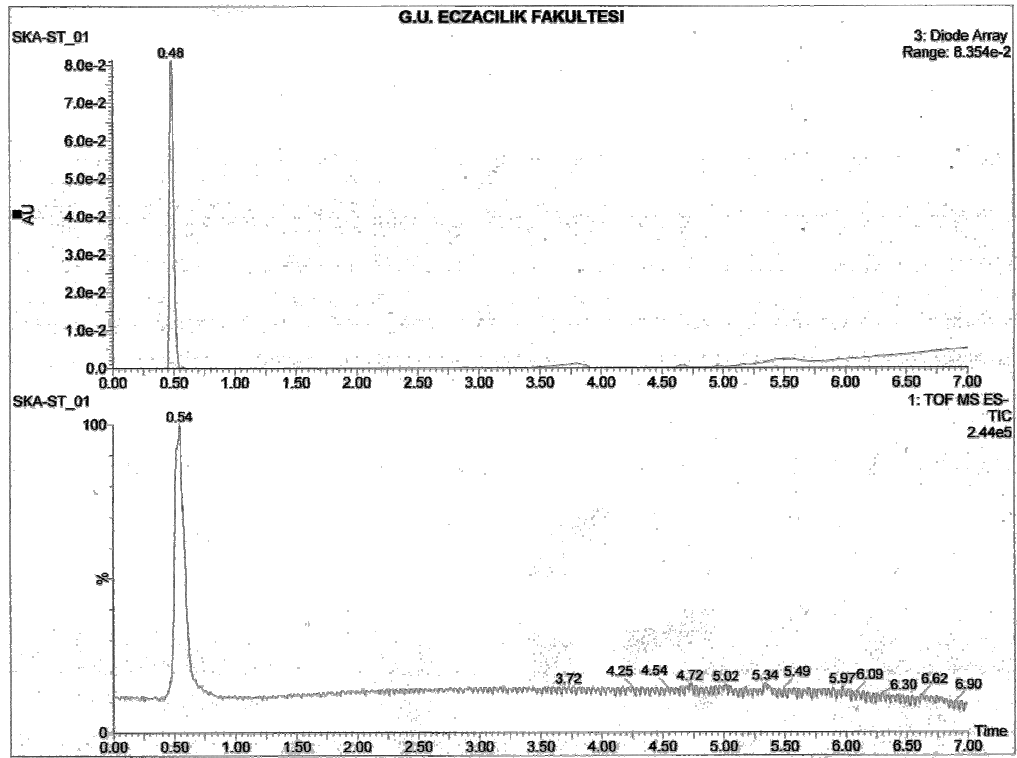
Enrich ve arkadaşlarına göre ¹³⁰,

a. Şikimik asitin ¹H (D₂O, 300 Hz) NMR spektral değerleri: δ 2.20 (1H, dd), 2.74 (1H, dd) 3.77 (1H, dd) 4.04 (1H, td) 4.45 (1H, dd) 4.88 (3H,s) 6.83 (1H, t)

b. Şikimik asitin ¹³C (D₂O, 75 Hz) NMR spektral değerleri: δ 32.62, 67.96, 68.73, 73.30, 131.89, 139.42, 172.18



Şekil 13. Şikimik asitin (Madde 1'in) kütle spektrumu ve LC-TOFMS kromatogramları



Şekil 14. Şikimik asit standardının LC-TOFMS kromatogramları

Elemental Composition Report

Page 1

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

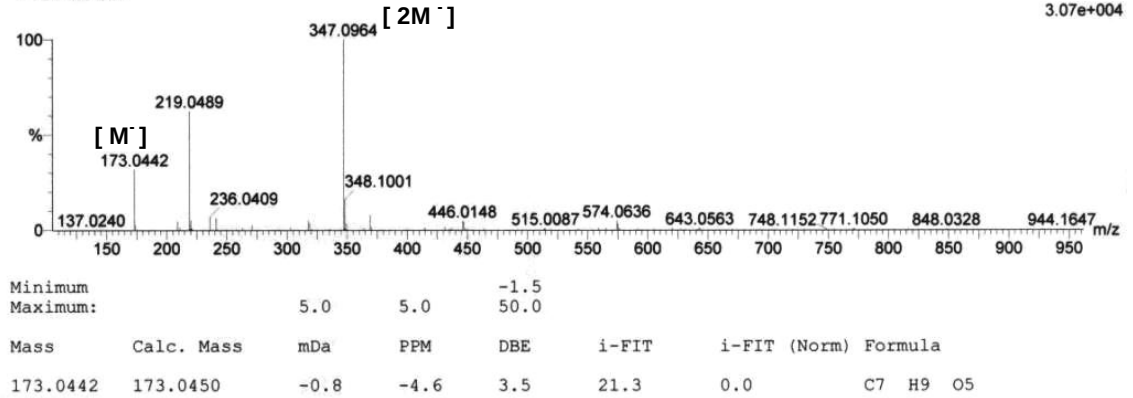
4 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

Elements Used:

C: 1-7 H: 1-10 O: 1-5

SKA-ST_02 57 (0.575) Cm (57:65-(17:45+83:120))

1: TOF MS ES-

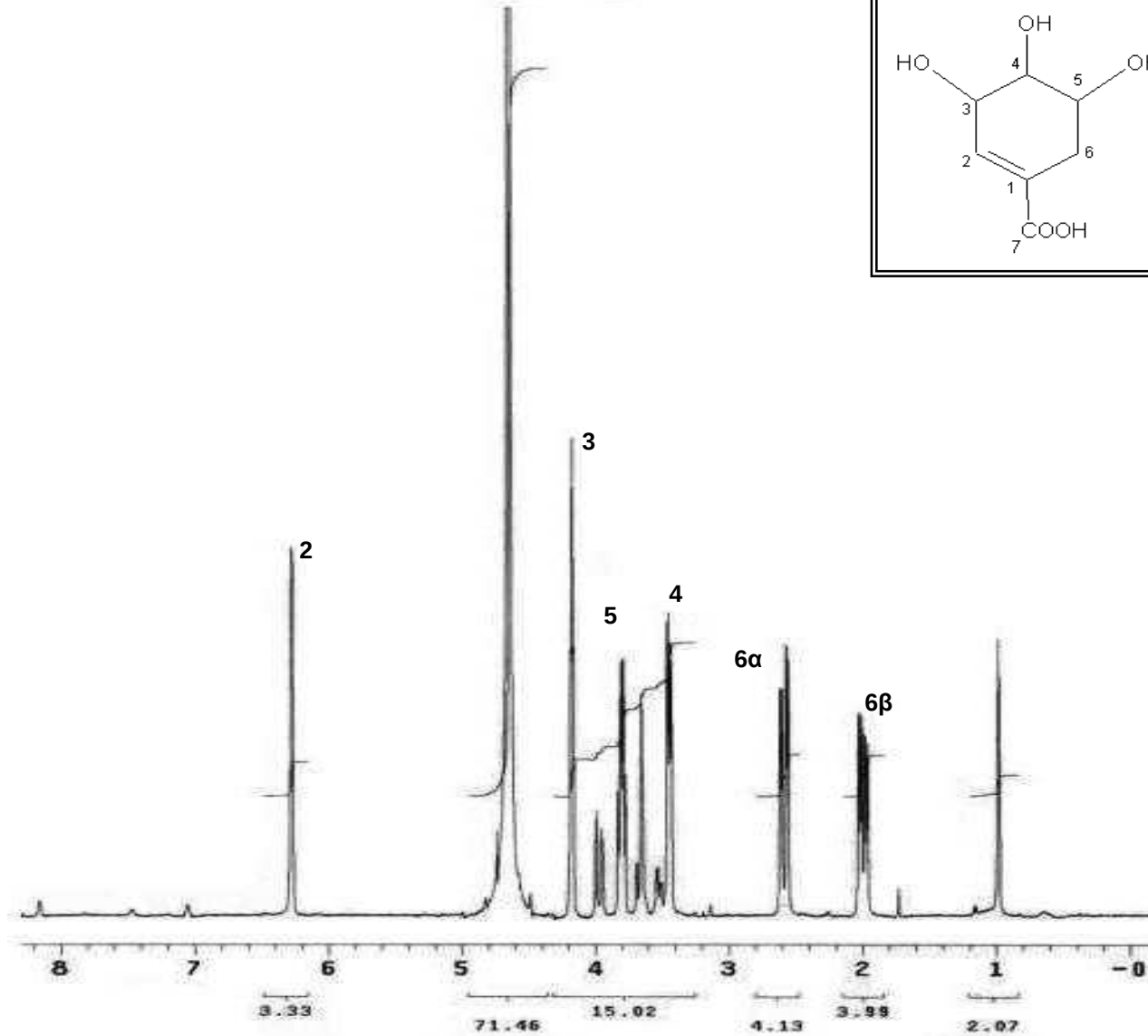
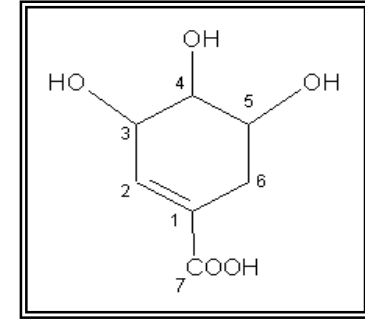


Şekil 15. Şikimik asit standardının kütle spektrumu

```

exp2 s2pu1
SAMPLE
data Jun 25 2010
solvent D2O
file exp
ACQUISITION
sw 6389.8
at 1.998
rp 25528
fb not used
bs 16
di 1.000
nt 8
ct 8
TRANSMITTER
tn H1
sfrq 399.884
tof 431.2
tpwr 62
pw 7.559
DECOUPLER
dn G13
dof 0
dm nnn
dmm c
dpwr 50
dmf 171.00
SPECIAL
temp 30.0
gain not used
spin 30
hst 0.008
pw90 15.100
alfa 20.000
FLAGS
f1 n
in n
dp y
hs nn
PROCESSING
fn not used
DISPLAY
sp -795.2
wp 6389.4
rf1 795.6
rfp 0
rp -0.6
lp -82.7
PLOT
wc 240
sc 0
vs 556
th 2
af cdc ph

```

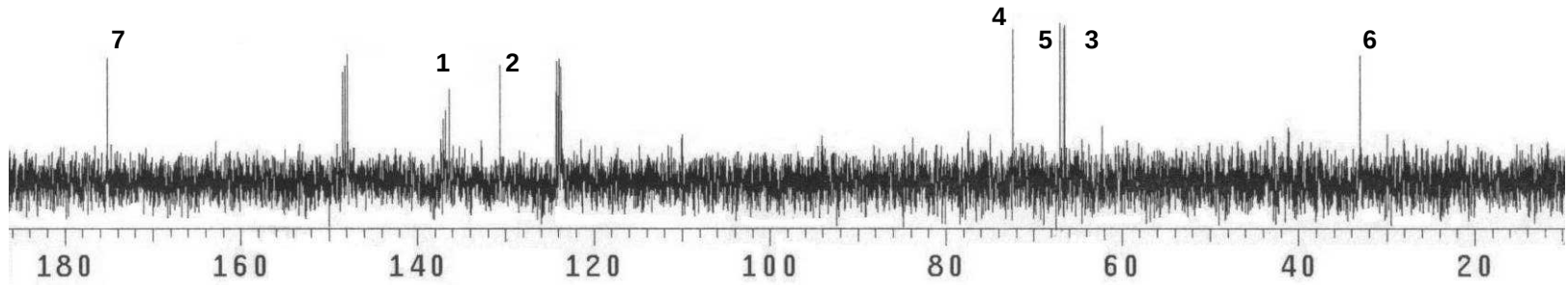
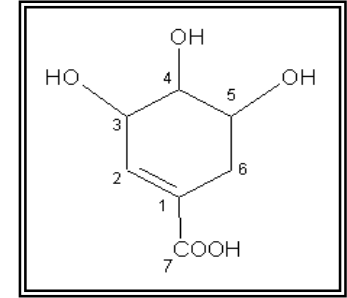


Şekil 16. Şikimik asitin (Madde 1'in) ^1H spektrumu (D_2O - 400 MHz)

```

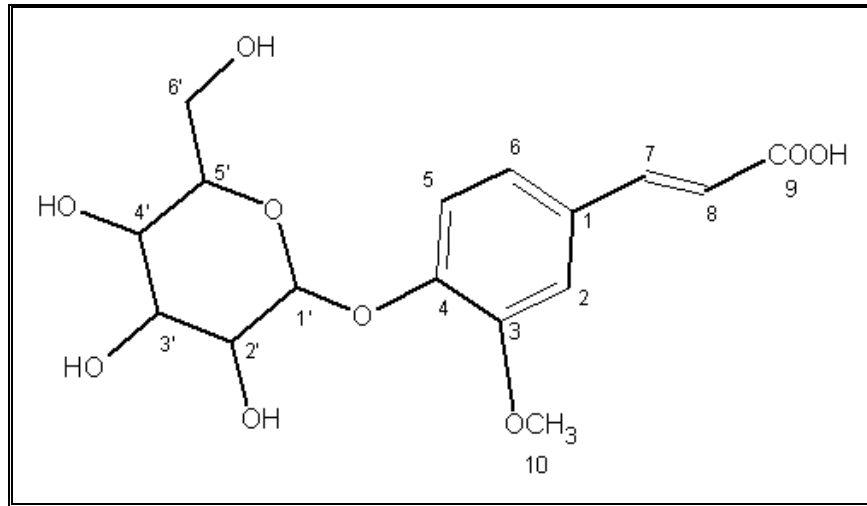
exp2 s2pu1
SAMPLE
date Jun 28 2010
solvent D2O
file exp
ACQUISITION
sw 25125.6
at 1.199
np 60270
fb 13800
bs 4
d1 2.000
nt 2000
ct 2000
TRANSMITTER
tn C13
sfrq 100.561
tof 1553.8
tpwr 80
pw 7.400
DECOUPLER
dn H1
dof 0
dm VVY
dmm w
dpwr 44
dmf 8500
SPECIAL
temp 30.0
gain not used
spin 30
hst 0.008
pw90 14.800
alfa 20.000
FLAGS
il n
in n
dp y
hs nn
PROCESSING
lb 1.00
fn not used
DISPLAY
sp -1501.5
wp 25124.9
rf1 1502.3
rfp 0
fp -14.7
lp -386.4
PLOT
wc 240
sc 0
vs 252
th 7
ai no ph

```



Şekil 17. Şikimik asitin (Madde 1'in) ¹³C spektrumu (D₂O - 100 MHz)

4.8.2. Madde 2: Ferulik Asit 4-O-Glukozit



Formül: C₁₆H₂₀O₉

Molekül Ağırlığı: 356.32

LC-TOFMS *m/z*: 355.0970 M⁻, Şekil 18

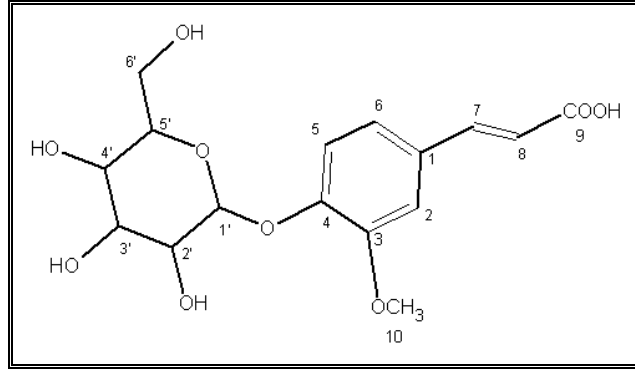
¹H NMR: Spektrum 7, Şekil 19

Madde 2, silikajel plakta Etilasetat/Formik Asit/Asetik Asit/Metanol (100:11:11:26) sistemi ile yürütüldüğünde, plakta gün ışığında açık sarı renkli leke gözlenmiştir. Leke UV 254 nm'de altında koyu renkte, UV 366 nm'de mavimsi floresans vermiş, plaklara % 5'lik H₂SO₄ püskürtülüp ısıtıldıktan sonra lekenin bulunduğu yerde kararma ve morumsu floresans meydana gelmiştir. UV 366 nm'deki floresans sebebiyle maddenin klorojenik asit, kafeik asit gibi bir fenolik asit olabileceği düşünülmüştür. Bu sebeple madde 2, klorojenik asit standardına karşı ve standart ile karıştırılarak İTK plağında yürütülmüştür. Plakta aynı R_f'te benzer renkte gözlenen lekelerin doğrulanması amacıyla ¹H NMR çekilmesi düşünülmüştür. Ancak ¹H NMR verilerine bakıldığında maddenin klorojenik asite benzer yapıdaki farklı bir bileşik olduğu görülmüştür.

Molekülün negatif iyon TOF-MS spektrumunda (Şekil 18) gözlenen *m/z* 355.0970 M⁻ sinyali, ¹H NMR (Tablo 22, Şekil 19) spektrumları ile birlikte yorumlandığında molekül formülü C₁₆H₂₀O₉ olarak belirlenmiştir. TOF-MS spektrumunda glukozun kopması sonucu açığa çıkan ferulik asite ait M⁻ sinyali de 193.0497'de gözlenmiştir.

¹H NMR spektrumunda düşük alanda gözlenen δ_H 7.14, 7.18 ve 7.24 sinyalleri aromatik halka üzerinde yer alan 3 farklı protona aittir. δ_H 7.59'da gözlenen 1 protonluk duplet sinyal ise olefinik çifte bağ taşıyan ve aromatik halkaya komşu karbon üzerindeki (H7) protona aittir. δ_H 6.39'da gözlenen sinyal olefinik çifte bağ taşıyan ve karboksilik asite komşu karbon üzerindeki protona (H8) aittir. δ_H 3.90'da gözlenen 3 proton değerindeki singletin, metoksi protonlarına ait olduğu düşünülmüştür. δ_H 4.96'da gözlenen duplet glukozun 1. karbonu üzerindeki, δ_H 3.30-3.55 arasındaki multipler 2-5. karbonlar üzerindeki protonlara aittir. δ_H 3.69 ve 3.87'deki pikler ise glukozun 6. karbonundaki iki protona aittir. Molekülün *cis-trans* izomerinden hangisine ait olduğu optik rotasyonları alınamadığından belirtilmemiştir.

Tüm veriler birleştirilerek değerlendirildiğinde, **madde 2'nin** yapısı **ferulik asitin 4-O-glukoziti** olarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler literatürde kayıtlı değerler ile uyum göstermektedir ¹³³.



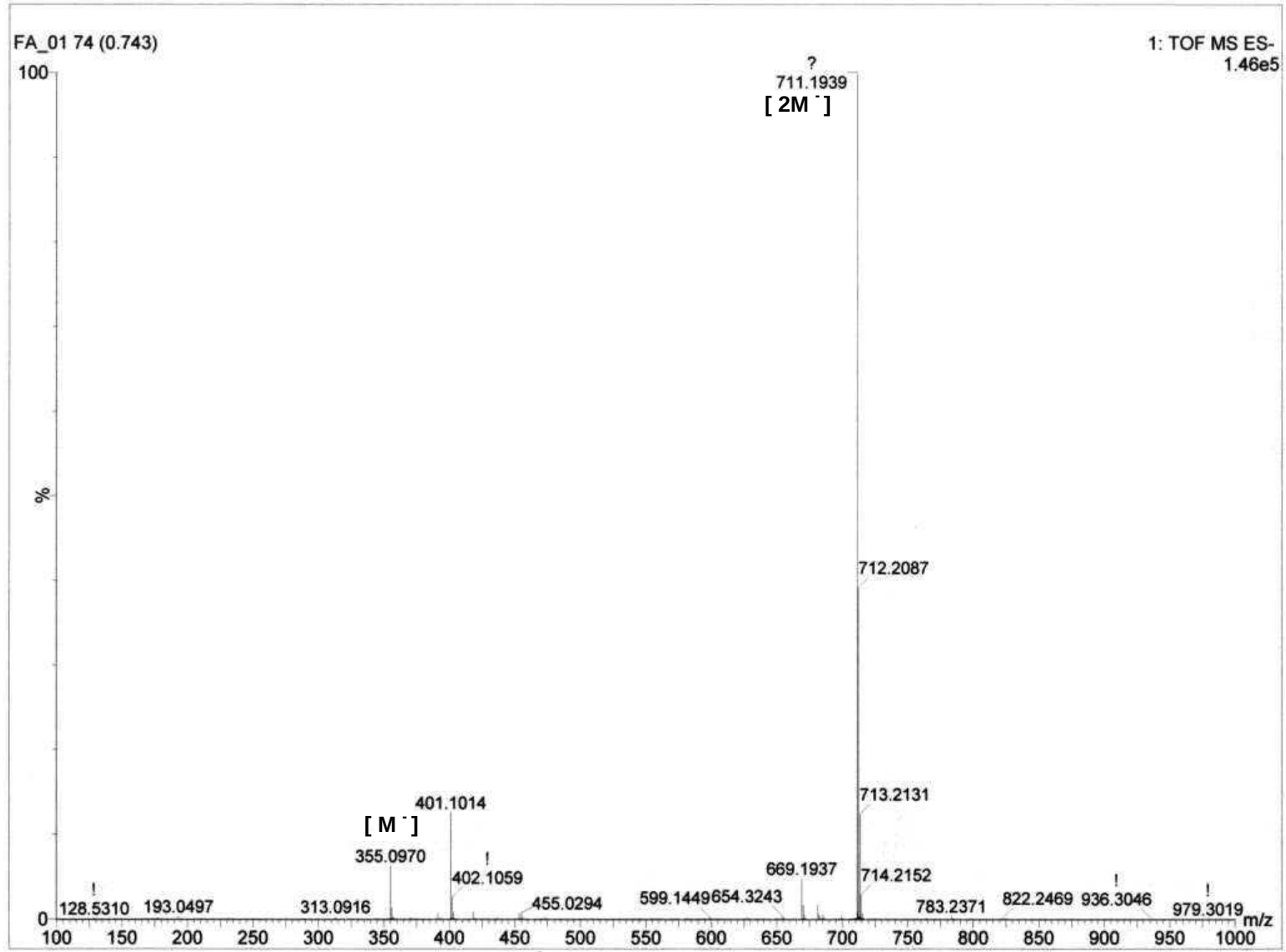
Tablo 22: Ferulik asit 4-O-glukozitinin (Madde 2'nin) ¹H NMR spektral değerleri

H/C	Yapı	δ_H (ppm)	J (Hz)
1	C		
2	CH	7.24	<i>d</i> (1.6)
3	C		
4	CO		
5	CH	7.18	<i>d</i> (8.0)
6	CH	7.14	<i>dd</i> (8.0/1.6)
7	CH	7.59	<i>d</i> (16.0)
8	CH	6.39	<i>d</i> (16.0)
9	CO		
10	CH ₃	3.90	<i>s</i>
1'	CH	4.96	<i>d</i> (7.2)
2'	CH	3.30-3.55	<i>m</i>
3'	CH	3.30-3.55	<i>m</i>
4'	CH	3.30-3.55	<i>m</i>
5'	CH	3.30-3.55	<i>m</i>
6'	CH ₂	3.69	<i>dd</i> (5.2/12.0)
		3.87	<i>d</i> (12.0)

Baderschneider ve Winterhalter'e göre ¹³³,

a. (*E*)-Ferulik asit 4-*O*- β -D-glukozitin ¹H (CD₃OD, 360 Hz) NMR spektral değerleri: δ 3.39-3.51 (4H, m, H2''/H3''/H4''/H5''), 3.69 (1H, dd, *J*=12/5 Hz, H6''a), 3.88 (1H, dd, *J*=12/5 Hz, H6''b), 3.90 (3H, s, OCH₃) 4.96 (1H, d, *J*=7.5 Hz, H1''), 6.39 (1H, d, *J*=16 Hz, H2), 7.13 (1H, dd, *J*=2/8 Hz, H6'), 7.17 (1H, d, *J*=8 Hz, H5'), 7.23 (1H, d, *J*=2 Hz, H2'), 7.55 (1H, d, *J*=16 Hz, H3)

b. (*Z*)-Ferulik asit 4-*O*- β -D-glukozitin ¹H (CD₃OD, 360 Hz) NMR spektral değerleri: δ 3.39-3.49 (4H, m, H2''/H3''/H4''/H5''), 3.68 (1H, dd, *J*=12/5 Hz, H6''a), 3.86 (1H, dd, *J*=12/5 Hz, H6''b), 3.88 (3H, s, OCH₃) 4.90 (1H, d, *J*=7.5 Hz, H1''), 5.95 (1H, d, *J*=13 Hz, H2), 6.45 (1H, d, *J*=13 Hz, H3), 7.07 (1H, dd, *J*=2/8 Hz, H6'), 7.10 (1H, d, *J*=8 Hz, H5'), 7.55 (1H, d, *J*=2 Hz, H2')

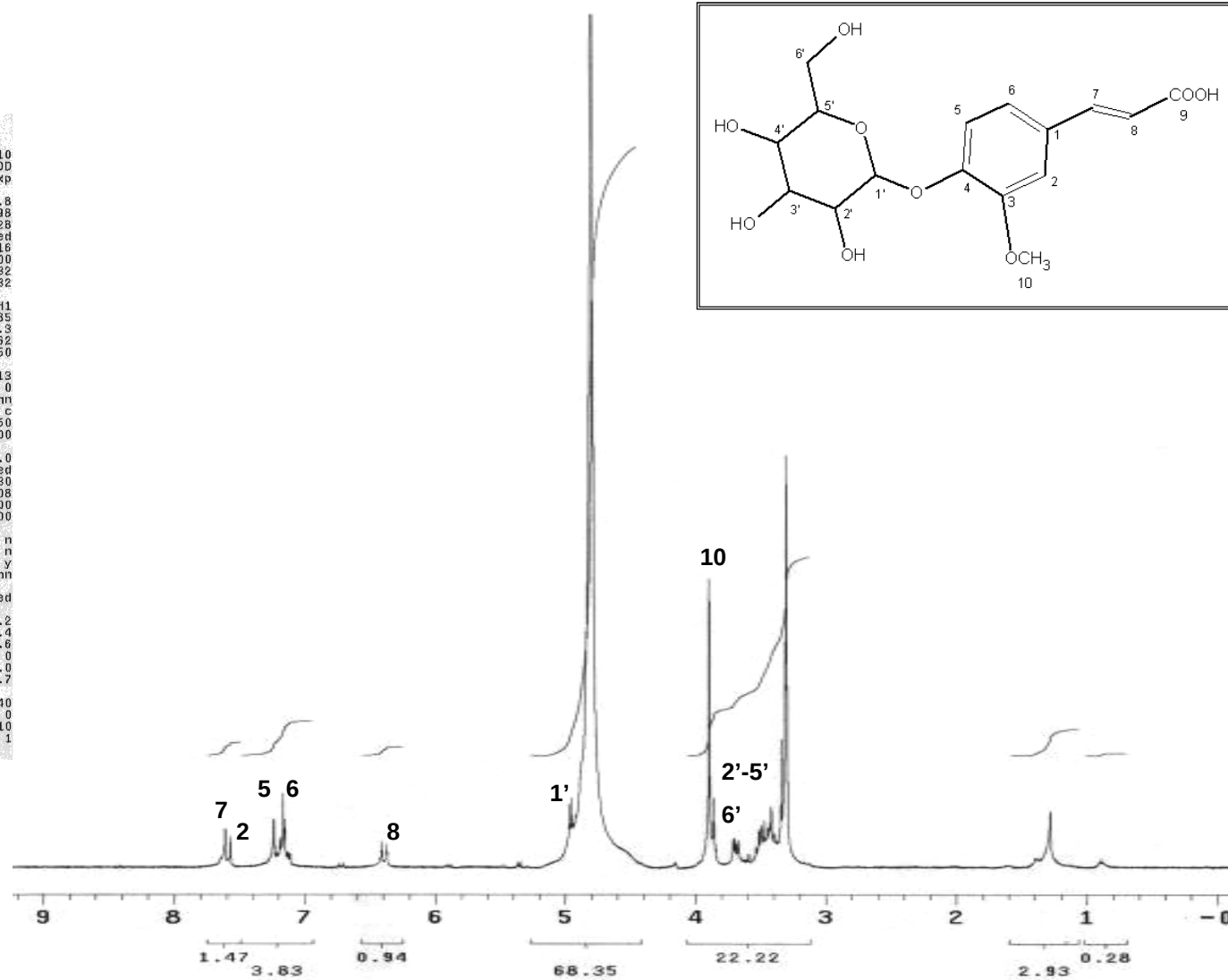


Şekil 18. Ferulik asit 4-O-glukozitinin (Madde 2'nin) kütle spektrumu

```

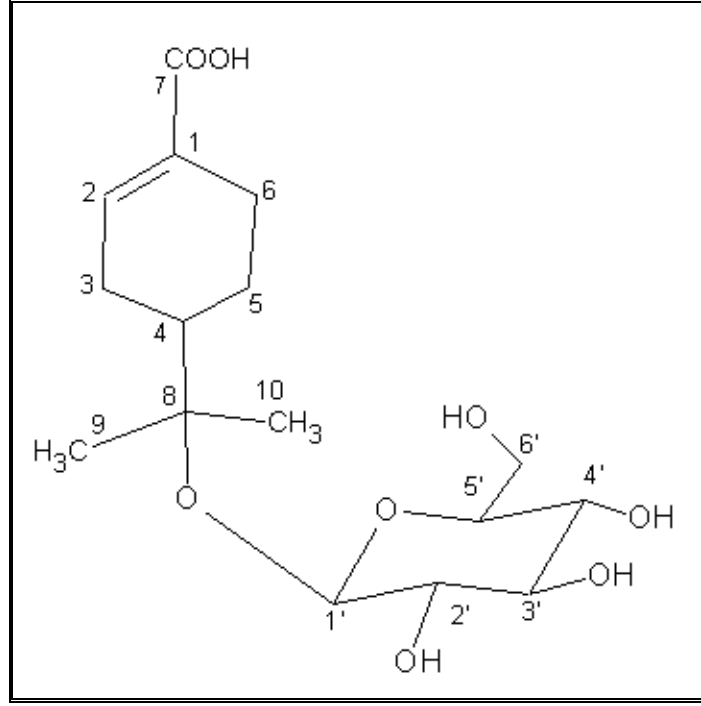
exp8 s2pu1
SAMPLE
date Jul 12 2010
solvent CD3OD
file exp
ACQUISITION
sw 6389.8
at 1.998
np 25528
fb not used
bs 16
d1 2.000
nt 32
ct 32
TRANSMITTER
tn H1
sfrq 399.885
tof 431.3
tpwr 62
pw 7.550
DECOUPLER
dn C13
dof 0
dm nnn
dmm c
dpwr 50
dmf 17100
SPECIAL
temp 30.0
gain not used
spin 30
hst 0.008
pw90 15.100
alfa 20.000
FLAGS
il n
in n
dp y
hs nn
PROCESSING
fn not used
DISPLAY
sp -795.2
wp 6389.4
rfl 795.6
rfp 0
rp -27.0
lp -61.7
PLOT
wc 240
sc 0
vs 510
th 1
ai cdc ph

```



Şekil 19. Ferulik asit 4-O-glukozitinin (Madde 2'nin) ^1H NMR spektrumu (CD₃OD - 400 MHz)

4.8.3. Madde 3: Oleuropeik Asit 8-O-Glukozit



Formül: $C_{16}H_{26}O_8$

Molekül Ağırlığı: 346.37

LC-TOFMS m/z : 345.1550 M^- , Şekil 20

1H NMR: Şekil 21, Tablo 23

^{13}C NMR: Şekil 22, Tablo 23

Madde 3'ün Kloroform/Metanol/Su (61:32:7) solvan sistemi ile İTK analizinde, plakta gün ışığında sarımsı leke halinde görülmüş, UV altında leke gözlenmezken % 5'lik H₂SO₄ püskürtülen plaklara ısı uygulandığında lekelerin önce kızardığı sonra karardığı görülmüştür. Lekeler asit püskürtüldükten sonra UV altında incelendiğinde koyu renkli lekeler olarak gözlenmiş, floresans görülmemiştir. Madde sarımsı renkte, amorf halde elde edilmiştir. Molekülün negatif iyon TOF-MS spektrumunda gözlenen *m/z* 345.1550 M⁻ sinyali, ¹H NMR (Tablo 23, Şekil 21) ve ¹³C NMR (Tablo 23, Şekil 22) spektrumları ile birlikte yorumlandığında molekül formülü C₁₆H₂₆O₈ olarak belirlenmiştir.

¹H NMR spektrumunda en düşük alanda gözlenen δ_H 6.40 sinyali, olefinik çifte bağa aittir. δ_H 0.9.-2.4 arası gözlenen sinyaller literatür bilgileri ile karşılaştırılarak değerlendirildiğinde, bileşiğin çifte bağ taşıyan 6 üyeli siklik bir sistem taşıdığı anlaşılmıştır. ¹H 1.21-1.35 arasında gözlenen multiplerin iki metil grubunun protonlarına ait olduğu (δ_C 23.3 ve 24.2) düşünülmüştür. Molekülün ¹³C NMR spektrumunda δ_C 172.8'de gözlenen sinyal, bir karboksilik asit karbonilini temsil etmektedir. Halkaya karboksilik asit fonksiyonunun bağlandığı ve olefinik çifte bağ taşıyan 1 numaralı karbona ait pik δ_C 138.1'de gözlenmiştir. Çifte bağın bulunduğu halkadaki 2 numaralı karbon ise 130.5'de görülmüştür. Metil gruplarının bağlandığı ve glukozidik bağı taşıyan 8 numaralı karbon piki δ_C 79.0'da görülmüştür.

Glukoz molekülüne ait protonlar 2.8-3.6 arasında gözlenirken, aglikona glukozidik bağla bağlanan karbon üzerindeki proton duplet olarak 4.27'de pik vermiştir. Glukoz karbonları sırasıyla; δ_C 97.7, 74.4, 77.4, 70.1, 77.2, 62.0 ppm'de görülmüştür.

Tüm veriler birleştirilerek değerlendirildiğinde, **madde 3'**ün yapısı **oleanolik asit 8-O-glukozit** olarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler *J. communis* var. *depressa*'dan elde edilen (-)-oleuropeik asit 8-O- β -D-glikopiranozit'in spektral değerleri ile uyum göstermektedir ¹⁰⁷.

Tablo 23: Oleuropeik asit 8-O-glukozitinin (Madde 3'ün) ¹H ve ¹³C NMR spektral değerleri

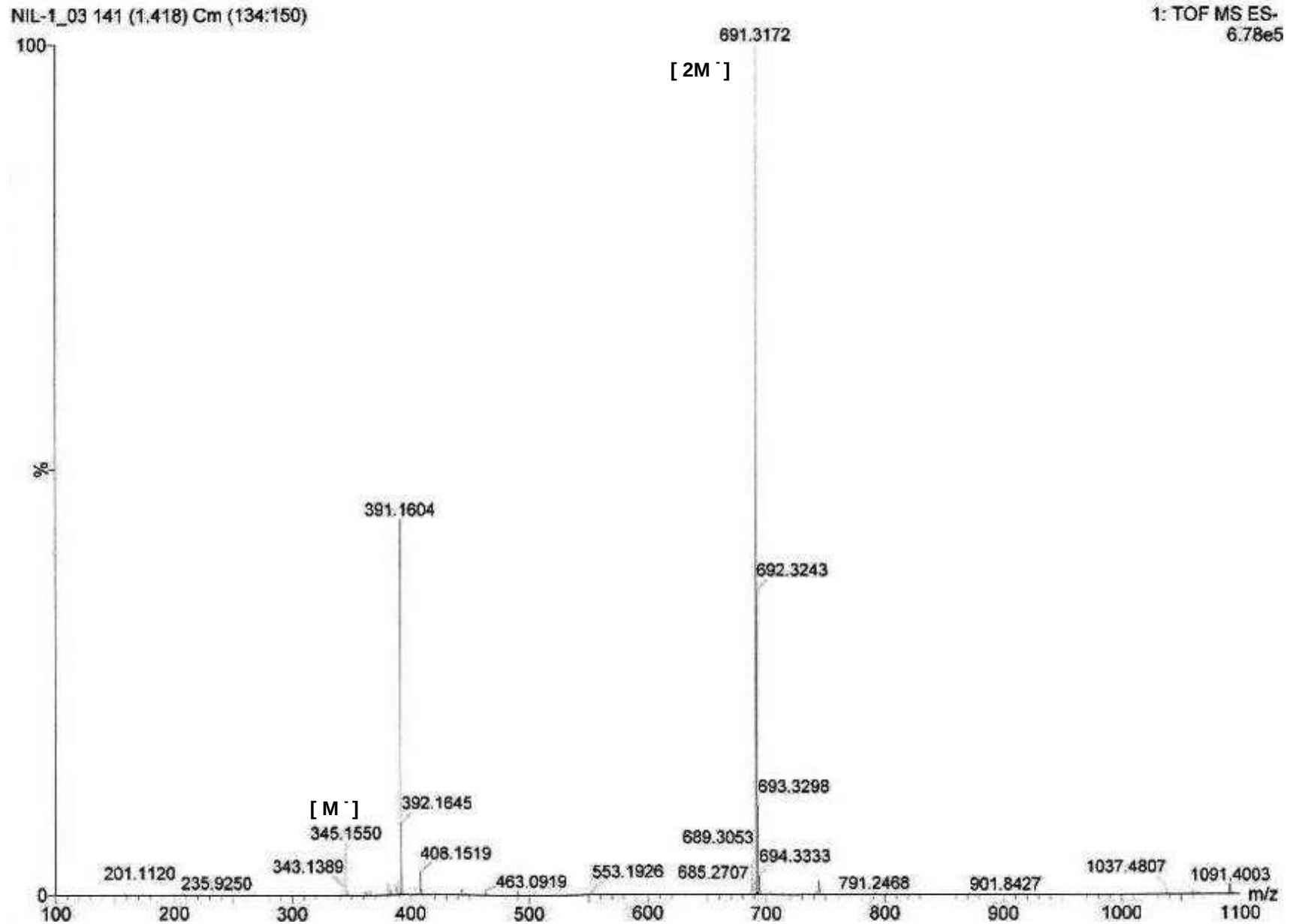
H/C	Yapı	δ _H (ppm)	J (Hz)	δ _C (ppm)
1	C			138.1
2	CH	6.40	<i>brs</i>	130.5
3	CH ₂	2.11 1.80	<i>m</i>	27.3
4	CH	1.5	<i>m</i>	44.0
5	CH ₂	1.92 0.99	<i>brd</i> (9.6) <i>m</i>	24.1
6	CH ₂	2.34 1.80	<i>brd</i> (16.8) †	25.2
7	CO			172.8
8	C			79.0
9	CH ₃	1.21-1.35	<i>m</i>	24.2
10	CH ₃	1.21-1.35	<i>m</i>	23.3
1'	CH	4.27	<i>d</i> (8.0)	97.7
2'	CH	2.88	<i>t</i> (8.0)	74.4
3'	CH	3.14	<i>t</i> (8.0)	77.8
4'	CH	3.05	†	70.1
5'	CH	3.05	†	77.2
6'	CH ₂	3.58 3.40	<i>d</i> (10.8) <i>dd</i> (5.6/11.2)	62.0

†: Sinyallerin çakışması sebebiyle J değerleri hesaplanamamıştır.

Nakanishi ve arkadaşlarına göre ¹⁰⁷ (-)-oleuropeik asit 8-O-β-D-glikopiranozit [= (4S)-4-(1-β-D-glikopiranoziloksi-1-metil)etil-1-siklohekzen-1-karboksilik asit]'in ¹H (C₅D₅N, 600 MHz) ve ¹³C (C₅D₅N, 150 MHz) NMR spektral değerleri tablo 24'de verilmiştir:

Tablo 24: (-)-Oleuropeik asit 8-O-β-D-glikopiranozit'in ¹H ve ¹³C NMR spektral değerleri ¹⁰⁷

H/C	Yapı	δ _H (ppm)	J (Hz)	δ _C (ppm)
1	C			131.8
2	CH	7.27	<i>br dd</i> (3.0/3.0)	139.1
3	CH ₂	2.47	<i>br dd</i> (12.0/16.0)	27.8
		2.08	<i>br d</i> (16.0)	
4	CH	1.85	<i>dddd</i> (12.0/12.0/4.8/1.8)	43.7
5	CH ₂	2.22	<i>br d</i> (12.0)	23.8
		1.26	<i>dddd</i> (12.0/12.0/12.0/4.8)	
6	CH ₂	2.42	<i>m</i>	26.0
		2.80	<i>br d</i> (16.0)	
7	CO			169.9
8	C			79.0
9	CH ₃	1.35	<i>s</i>	24.8
10	CH ₃	1.39	<i>s</i>	23.3
1'	CH	5.02	<i>d</i> (7.8)	98.6
2'	CH	3.98	<i>dd</i> (9.0/7.8)	75.3
3'	CH	4.26	<i>dd</i> (9.0/9.0)	78.8
4'	CH	4.24	<i>dd</i> (9.0/9.0)	71.9
5'	CH	3.91	<i>ddd</i> (9.0/5.2/5.2)	78
6'	CH ₂	4.35	<i>dd</i> (11.8/5.2)	63.0
		4.49	<i>dd</i> (11.8/5.2)	



Şekil 20. Oleuropeik asit 8-O-glukozitinin (Madde 3'ün) kütle spektrumu

exp10 s2pu1

SAMPLE
date Aug 26 2010
solvent DMSO
file /export/home/
vnmr1/vnmrsys/data
/NS3-2D_26Aug2010/
PROTON.fid

ACQUISITION
sw 6389.8
at 1.988
np 25528
fb not used
bs 16
dl 1.000
nt 16
ct 16

TRANSMITTER
tn H1
sfrq 399.885
tof 431.3
tpwr 62
pw 7.550

DECOUPLER
dn C13
dof 0
dm nnn
dmm c
dpwr 51
dmf 17100

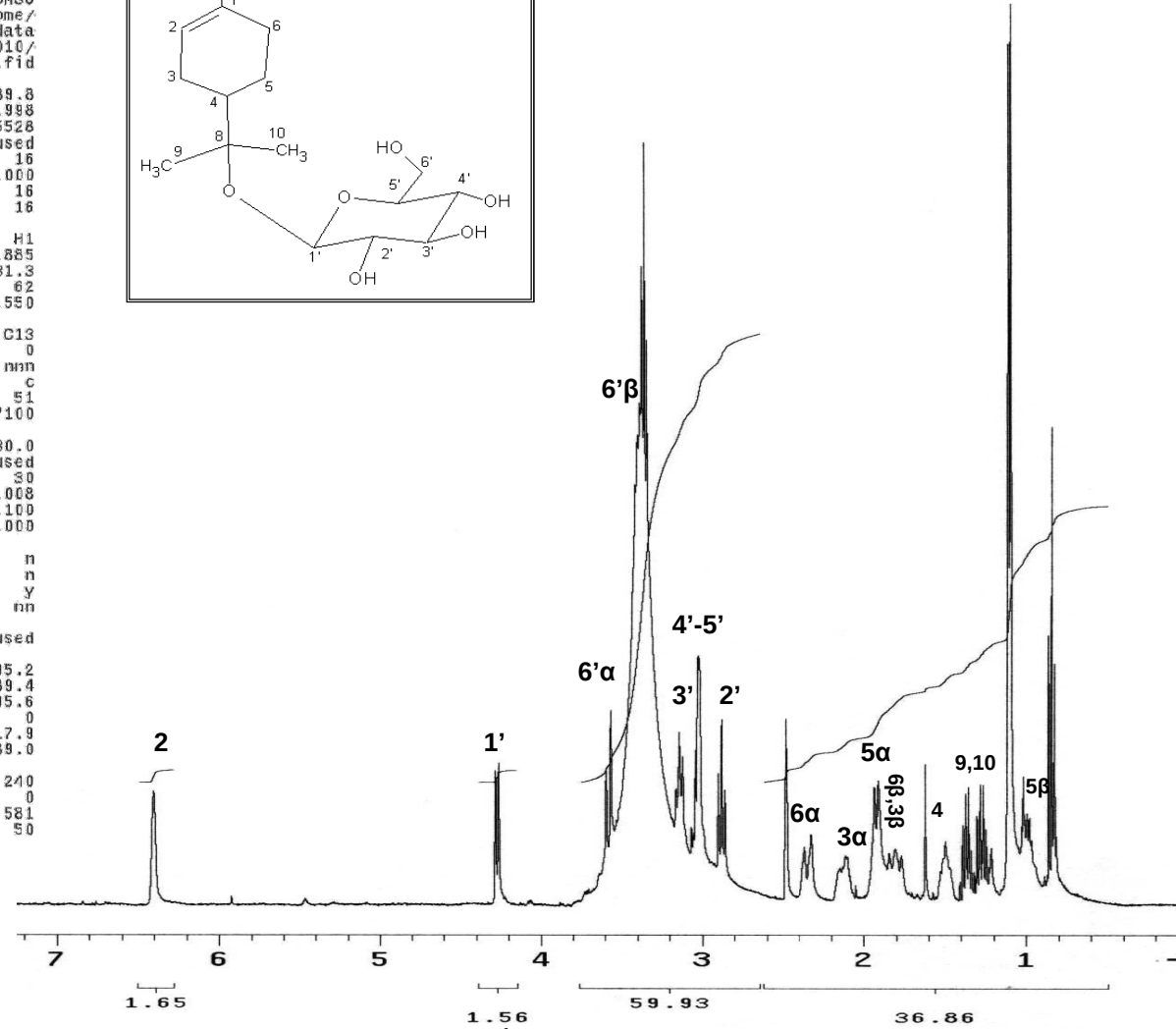
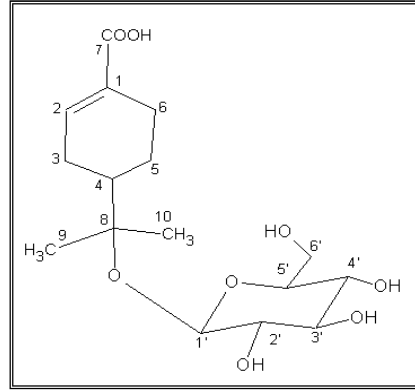
SPECIAL
temp 30.0
gain not used
spin 30
hst 0.008
pw90 15.100
alfa 20.000

FLAGS
il n
in n
dp y
hs nn

PROCESSING
fn not used

DISPLAY
sp -795.2
wp 6389.4
rf1 795.6
rfp 0
rp -17.9
lp -89.0

PLOT
wc 240
sc 0
vs 581
th 50
ai cdc ph



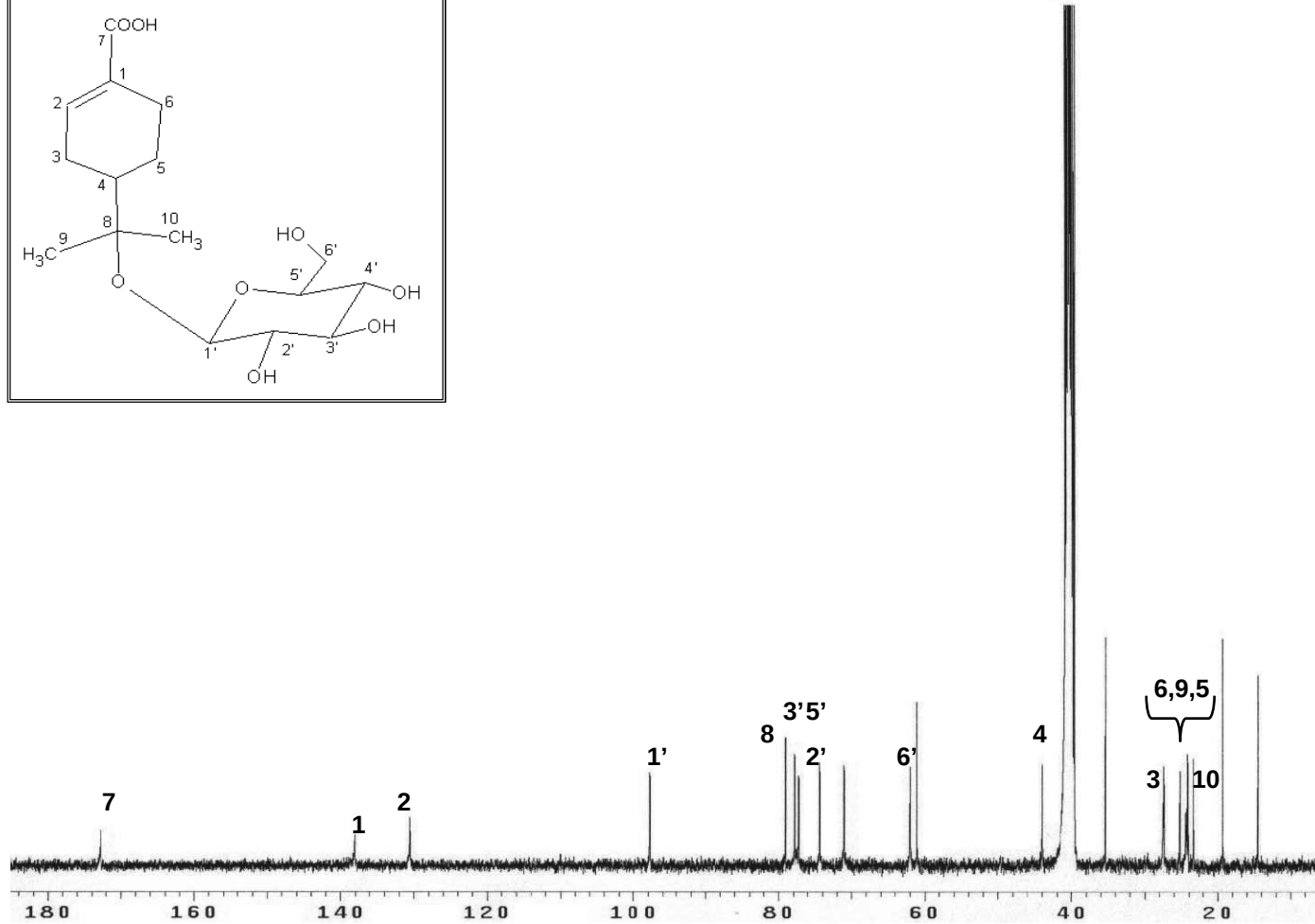
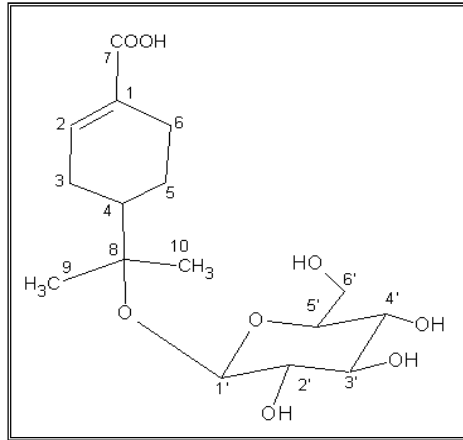
Şekil 21. Oleuropeik asit glukozitinin (Madde 3'ün) ^1H NMR spektrumu (DMSO - 400 MHz)

```

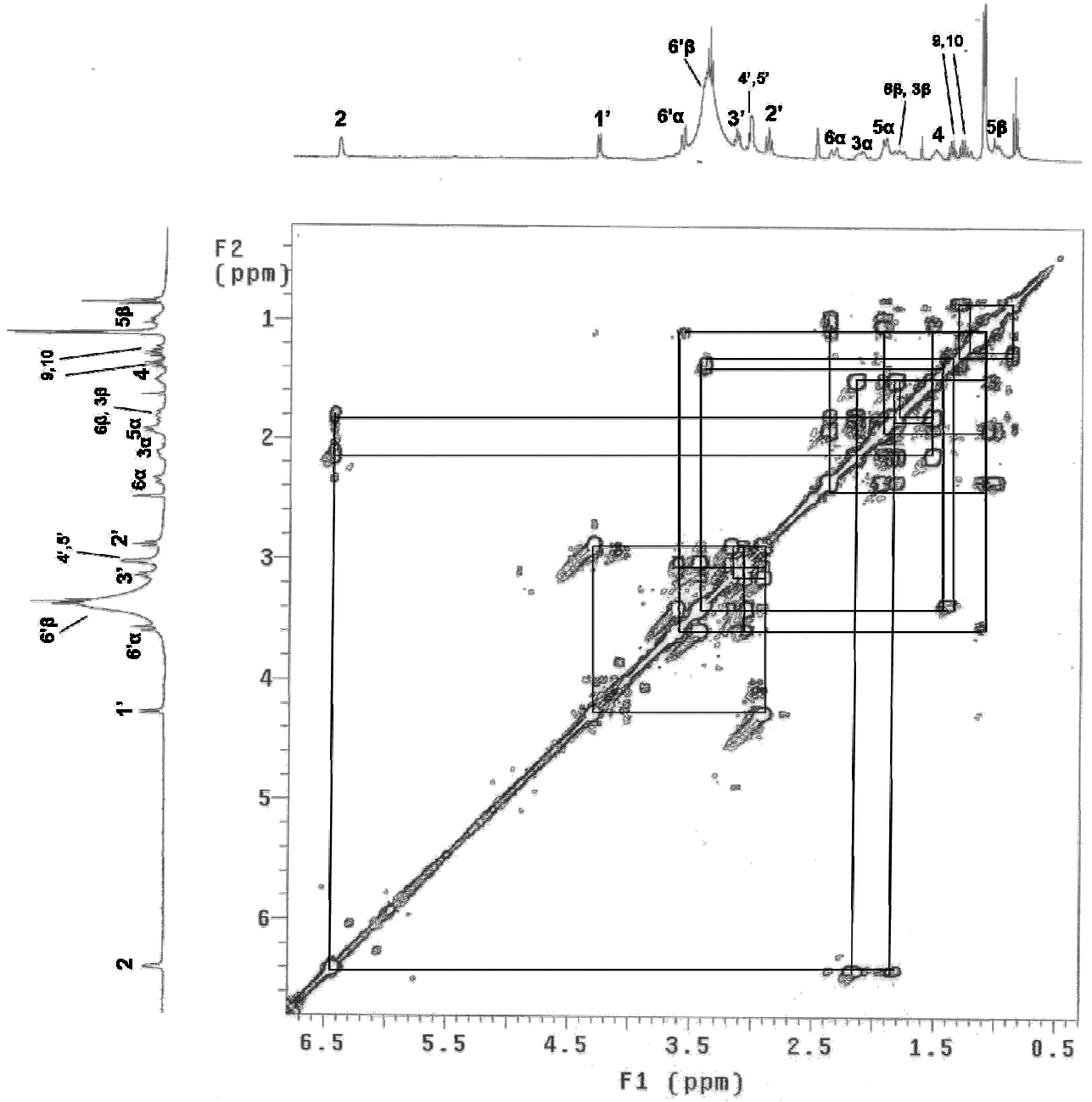
exp10 s2pu1

SAMPLE
date Aug 26 2010
solvent DMSO
file /export/home/
vnmr1/vnmrSYS/data/
NS3-2D_26Aug2010/
CARBON.fid
ACQUISITION
sw 25125.6
at 1.199
np 60270
fb 13800
bs 4
d1 2.000
nt 70000
ct 70000
TRANSMITTER
tn C13
sfrq 100.562
tof 1553.6
tpwr 61
pw 6.975
DECOUPLER
dn H1
dof 0
dm YYY
dmm w
dpwr 44
dmf 8500
SPECIAL
temp 30.0
gain not used
spin 30
hst 0.008
pw90 13.950
alfa 20.000
FLAGS
il n
in n
dp y
hs nn
PROCESSING
lb 1.00
fn not used
DISPLAY
sp -1501.5
wp 25124.9
rf1 1502.3
rfp 0
rp -56.4
lp -320.1
PLOT
wc 240
sc 0
vs 1992
th 34
ai no ph

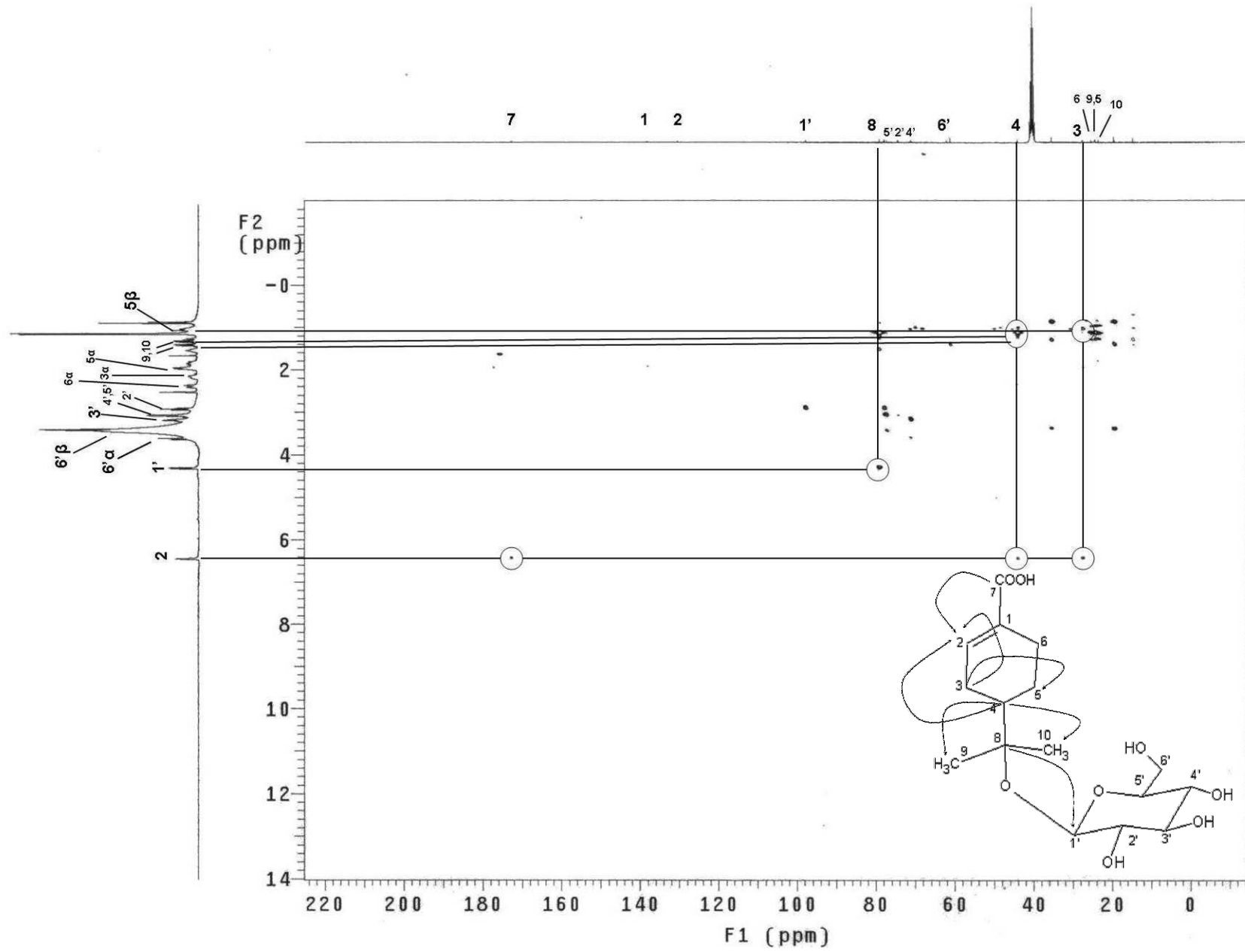
```



Şekil 22. Oleuropeik asit glukozitinin (Madde 3'ün) ^{13}C NMR spektrumu (DMSO - 100 MHz)



Şekil 23. Oleuropeik asit glukozitinin (Madde 3'ün) 2D ^1H - ^1H homonükleer korelasyonlu NMR spektrumu (COSY)



Şekil 24 . Oleuropeik asit glukozitinin (Madde 3'ün) 2D ^1H , ^{13}C -heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) NMR spektrumu (HMBC)

4.9 Şikimik Asitin *In vivo* Etkilerinin İncelenmesi

4.9.1. Şikimik Asitin Akut Antidiyabetik Etkisinin İncelenmesi:

İzolasyon çalışmaları sonucunda en yüksek miktarda elde edilen madde şikimik asit olmuştur. Bu sebeple şikimik asitin iki farklı dozda akut antidiyabetik etkisi ve 8 günlük uygulamada kan glukoz seviyeleri üzerine etkisi incelenmiştir.

Şikimik asitin antidiyabetik etkisinin ölçümü için 6 saat aç bırakılmış diyabetik hayvanlar her grupta 5 hayvan olacak şekilde gruplandırılmıştır. Açlık kan şekerlerinin ölçümünden sonra, kontrol grubuna CMC, referansa glipizit, deney grubuna ise CMC'de çözülmüş 15 ve 30 mg/kg dozda şikimik asit gastrik gavajla uygulanmıştır. Uygulamadan sonraki 30., 60., 120., 240. ve 360. dakikalarda kuyruk ucundan alınan kanda glukoz seviyeleri ölçülmüştür.

Tablo 25. Şikimik asitin diyabetik hayvanlarda kan glukoz seviyeleri üzerine etkisi

Grup	Doz (mg/kg)	Kan Glukoz Konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart Hata (% İnhibisyon)					
		Başlangıç	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.	360. dk.
Kontrol	-	334.0±5.4	346.8±3.5	330.5±5.3	289.9±9.5	235.5±6.0	195.9±4.9
Glipizit	10	339.7±3.7	331.1±6.2 (%4.5)	312.4±8.6 (%5.5)	270.7±9.5 (%6.6)	229.4±3.8 (%2.6)	177.1±3.1* (%9.6)
Şikimik Asit	15	335.3±7.0	332.8±3.1 (%4.0)	318.5±4.2 (%3.6)	271.0±7.9 (%6.5)	243.0±5.5	199.8±3.5
	30	324.7±3.6	317.3±7.8* (%8.5)	303.3±7.6 (%8.2)	252.3±5.1* (%13.0)	200.7±4.8** (%14.8)	148.9±6.9*** (%24.0)

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Tablo 25'de görüldüğü gibi, şikimik asit 30 mg/kg dozda 30. dakikadan itibaren etkisini göstermeye başlamıştır. Bu dozda, antidiyabetik etkinin zamanla arttığı görülmüştür.

4.9.2. Şikimik Asitin Subakut Uygulamada Antidiyabetik Etkisinin İncelenmesi:

Şikimik asitin subakut antidiyabetik etkisinin araştırılması amacıyla, kontrol grubuna CMC, referansa glipizit ve deney gruplarına 15 ve 30 mg/kg dozda şikimik asit 8 gün boyunca her gün aynı saatte gastrik gavajla uygulanmıştır. Uygulamanın 1. ve 8. günlerinde 6 saat aç bırakılan hayvanların kan glukoz seviyeleri ve ağırlıkları ölçülmüştür (Tablo 26).

Tablo 26. Şikimik asitin subakut uygulamada kan glukoz seviyeleri ve vücut ağırlığı üzerine etkisi

Grup	Doz (mg/kg)	Kan Glukoz Kons.± SEM (% İnhibisyon)		Vücut Ağırlığı ± SEM (İlk Ölçüme göre % Değişim)	
		1. gün	8. gün	1. gün	8. gün
Kontrol	-	334.0 ± 5.4	309.6 ± 3.7	178.4 ± 5.9	177.9 ± 6.7 (-%0.3)
Glipizit	10	339.7 ± 3.7	264.3 ± 6.6*** (% 14.6)	185.1 ± 5.3	175.1 ± 10.0 (-%5.4)
Şikimik Asit	15	335.3 ± 7.0	279.0 ± 7.1** (% 9.9)	187.0 ± 6.9	187.3 ± 7.6 (+%0.2)
	30	324.7 ± 3.6	259.9 ± 7.3*** (% 16.1)	189.9 ± 4.8	193.3 ± 6.2 (+%1.8)

** : p<0.01, *** : p<0.001

Şikimik asitin diyabetik hayvanlara 8 gün uygulanması ile kan glukoz seviyelerinde düşüş meydana geldiği görülmüştür. 30 mg/kg dozdaki etki glipizitin etkisinden daha yüksektir ve etki istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir. Diyabetik sıçanlarda, metabolik faaliyetlerin bozulmasına bağlı olarak vücut ağırlıklarında kayıp meydana geldiği bilinmektedir. 8 günlük süre hayvan ağırlıklarında belirgin fark oluşmasına sebep olacak kadar uzun bir süre olmasa da, şikimik asit uygulanan gruplarda vücut ağırlığında artış görülürken, glipizit ve diyabetik kontrol gruplarında düşüş meydana geldiği görülmüştür.

4.9.3. Şikimik Asitin Plazma İnsülin Seviyeleri Üzerinde Etkisinin İncelenmesi:

Şikimik asitin 8 gün uygulanmasından sonra, 9. gün hayvanlar anestezi edilerek toplanan kan örneklerinin plazmaları ayrılmıştır. Plazmada insülin seviyeleri incelenerek şikimik asitin insülin seviyesi üzerine etkisinin gözlenmesi amaçlanmıştır.

Tablo 27. Şikimik asitin subakut uygulama sonunda, diyabetik sıçanların plazma insülin seviyeleri üzerine etkisi

Grup	Doz (mg/kg)	Plazma İnsülin Seviyeleri (ng/dl) $\pm$ SEM
Kontrol	-	50.78 $\pm$ 0.3
Glipizit	10	51.93 $\pm$ 0.8
Şikimik Asit	15	51.22 $\pm$ 0.3
	30	51.01 $\pm$ 0.6

Grupların plazma insülin seviyeleri ölçüldüğünde, tüm gruplardaki insülin seviyelerinin diyabetik kontrol grubunun üzerinde olduğu ancak oluşan farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (Tablo 27).

4.9.4. Şikimik Asitin Subakut Uygulama Sonunda Antioksidan Etkisinin İncelenmesi:

Şikimik asitin diyabetik sıçanlara 8 gün boyunca uygulanmasından sonra, 9. gün dokular üzerindeki etkilerin incelenmesi amacıyla anestezi altındaki hayvanlardan kalp, karaciğer ve böbrek dokuları çıkartılmıştır. Kalp, karaciğer ve böbreklerde diyabet sebebiyle oluşan oksidatif hasarın değişiminin incelenebilmesi amacıyla, dokuda malondialdehit ve glutatyon miktar tayinleri yapılmıştır.

Tablo 28. Şikimik asitin subakut uygulama sonunda diyabetik sıçanların dokularındaki malondialdehit seviyeleri üzerine etkisi

Deney Grubu	Doz (mg/kg)	Malondialdehit Miktarı ± Standart Hata (% Değişim)		
		Karaciğer	Böbrek	Kalp
Kontrol	-	136.3 ± 3.4	386.8 ± 9.1	39.6 ± 1.8
Glipizit	10	67.5 ± 2.7*** (-% 50.2)	122.0 ± 8.3*** (-% 68.5)	11.0 ± 2.2*** (-% 72.2)
Şikimik Asit	15	139.6 ± 1.7 (+% 2.4)	137.3 ± 7.9*** (-% 64.5)	15.1 ± 1.9*** (-% 61.9)
	30	146.7 ± 4.2 (+% 7.6)	142.2 ± 4.3*** (-% 63.2)	37.3 ± 2.6 (-% 5.8)

*** : p<0.001

Malondialdehit miktarları incelendiğinde glipizitin incelenen tüm dokularda lipid peroksidasyonunu diyabetik kontrol grubuna göre belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşürdüğü görülmüştür. Şikimik asit uygulanan grupların böbreklerinde lipid peroksidasyon belirgin olarak azalmıştır. Karaciğer dokularında malondialdehit miktarlarının düşük oranda (% 2.4-7.6) artmıştır. Şikimik asitin 15 mg/kg dozda kalp malondialdehit seviyesini belirgin (% 61.9) ve istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görülmüştür (Tablo 28).

Subakut uygulama sonunda diyabetik sıçanların dokularında glutatyon miktar tayini yapıldığında, kalp dokularında glipizit ve şikimik asitin glutatyon miktarını arttırdığı görülmüştür. Karaciğerdeki glutatyon miktarı hem glipizit hem de şikimik asit gruplarında düşüş göstermiştir. Böbrek dokularında ise sadece 30 mg/kg dozda şikimik asit uygulanan grupta küçük bir artış meydana gelmiştir (Tablo 29).

Tablo 29. Şikimik asitin subakut uygulama sonunda diyabetik sıçanların dokularındaki glutatyon seviyeleri üzerine etkisi

Deney Grubu	Doz (mg/kg)	Glutatyon Miktarı ± Standart Hata (% Değişim)		
		Karaciğer	Böbrek	Kalp
Kontrol	-	152.2 ± 4.9	63.9 ± 1.3	34.2 ± 1.1
Glipizit	10	131.1 ± 4.3* (-% 13.9)	62.8 ± 1.8 (-% 1.7)	34.3 ± 1.8 (+% 0.3)
Şikimik Asit	15	143.4 ± 6.1 (-% 5.8)	63.5 ± 1.7 (-% 0.6)	35.4 ± 1.7 (+% 3.5)
	30	150.2 ± 5.5 (-% 1.3)	66.0 ± 1.6 (+% 3.3)	38.2 ± 1.3 (+% 11.7)

* : p<0.05

4.9.5. Şikimik Asitin Plazma Total Kolesterol ve Trigliserit Seviyeleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi:

Diyabetik hayvanların plazmalarında lipit profilinin belirlenmesi amacıyla total kolesterol ve trigliserit miktarları incelenmiştir (Tablo 30).

Tablo 30. Şikimik asitin subakut uygulama sonunda diyabetik sıçanların lipit parametreleri üzerine etkisi

Grup	Doz (mg/kg)	Total Kolesterol $\pm$ SEM (% Değişim)	Trigliserit $\pm$ SEM (% Değişim)
Kontrol		21.0 $\pm$ 1.7	35.3 $\pm$ 2.1
Glipizit	10	18.7 $\pm$ 3.4 (-% 10.0)	36.6 $\pm$ 2.3 (+% 3.7)
Şikimik Asit	15	24.2 $\pm$ 3.5 (+% 15.2)	36.2 $\pm$ 3.6 (+% 2.6)
	30	26.4 $\pm$ 3.9 (+% 25.7)	34.0 $\pm$ 4.8 (-% 3.7)

Glipizit uygulanan gruptaki plazma total kolesterol seviyeleri, diyabetik kontrol ile karşılaştırıldığında % 10'luk azalma meydana geldiği ancak trigliseritlerin % 3.7 oranında arttığı görülmektedir. Şikimik asit uygulanan gruplarda da total kolesterol artmıştır. Sadece şikimik asitin 30 mg/kg dozda uygulandığı grupta trigliserit seviyesinde düşüş (% 3.7) meydana gelmiştir.

4.9.6. Şikimik Asitin Plazma Karaciğer Enzim Seviyeleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi:

Diyabetik sıçanlara 8 günlük şikimik asit uygulaması sonunda hayvanlardan alınan plazma örneklerinde karaciğer enzimlerinden aspartat transaminaz (AST), alanin amino transferaz (ALT) ve alkalen fosfataz (ALP) miktarları tayin edilmiştir (Tablo 31).

Tablo 31. Şikimik asitin subakut uygulama sonunda diyabetik sıçanların karaciğer enzim seviyeleri üzerine etkisi

Grup	Doz mg/kg	AST ± SEM (% Değişim)	ALT ± SEM (%Değişim)	ALP ± SEM (%Değişim)
Kontrol	-	36.8 ± 4.1	20.7 ± 3.0	122.5 ± 9.1
Glipizit	10	42.4 ± 6.6 (+% 15.2)	27.4 ± 3.2 (+% 32.4)	85.7 ± 11.4* (-% 30.0)
Şikimik Asit	15	34.2 ± 3.6 (-% 7.1)	23.1 ± 2.7 (+% 11.6)	86.9 ± 10.0* (-% 29.1)
	30	25.7 ± 1.7 (-% 30.2)	15.7 ± 1.7 (-% 24.2)	88.4 ± 11.2* (-% 27.8)

* : p<0.05

Karaciğer fonksiyon testi olarak bilinen AST, ALP, ALT gibi enzimlerin ölçümü; karaciğerde hücre harabiyeti veya kolestaz hakkında bilgi vermektedir. Tüm gruplarda ALP seviyelerinin benzer oranda düştüğü görülmüştür. Glipizit uygulanan grupta AST ve ALT değerlerindeki artış ilâcın metabolizasyonu sırasında karaciğerde hücresel boyutta hasar meydana gelmiş olabileceğini düşündürmüştür. Şikimik asitin 30 mg/kg dozda hem AST hem de ALT seviyelerini belirgin düzeyde düşürmesi çarpıcıdır.

5. TARTIŞMA

Diyabet günümüzde yaygın olarak görülen, kalıtım ve çevresel faktörlere bağlı olarak ortaya çıkan önemli bir metabolik hastalıktır. Diyabetik hastalarda gelişen hiperglisemi; karbonhidrat, protein ve lipit metabolizmalarındaki bozukluklar ve artan oksidatif stres, birçok hastalığın gelişimini tetiklemektedir. Günümüzde diyabetik semptomların kontrolünde insülin ve oral antidiyabetiklerden yararlanılmaktadır. Ancak bu amaçla halk arasında birçok bitkinin binlerce yıldır kullanıldığı bilinmektedir.

Ülkemiz florasındaki türlerin çeşitliliği ve Türk Halk Tababeti'nin zenginliği; etnobotanik çalışmalar için uygun bir zemin yaratmıştır. Yıllar boyu yapılan bu arazi çalışmalarında, ülkemizde yetişen 9 ardıç türünün tamamına ait halk ilâcı kayıtlarının bulunduğu görülmüştür. Türkiye'nin değişik illerinde halkın; bitkinin meyvesini, yapraklarını, yapraklı dallarını, bunlardan elde ettikleri infüzyon ve dekoksasyonları, bitkiden elde ettikleri uçucu yağ ve katranı çok farklı amaçlarla kullandığı bilinmektedir. Bu kayıtlar arasında *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* (Joso), *communis* var. *saxatilis*, *foetidissima* ve *sabina*'nın meyvelerinin doğrudan yenmesi, meyve ve yapraklı dal dekoksasyonlarının içilmesi yoluyla kan şekeri düşürücü olarak diyabet tedavisinde kullanıldığına dair kayıtlara da ulaşılmıştır ⁸⁻¹².

Halk ilâcı kayıtlarında en çok rastlanan tür *J. oxycedrus* olmuştur. Honda ve arkadaşlarının çalışmasına göre, Afyon'da kan şekerini düşürmek için bitkinin meyveleri toz edilip yutularak kullanılmaktadır ⁹. Alparslan ve Tuzlacı ile Emre ve Tuzlacı'nın çalışmalarında Kırklareli ve Çanakkale'de Joso'nun diyabette kullanıldığı belirtilmekte ancak hangi kısmının ne şekilde kullanıldığı hakkında bilgi verilmemektedir ^{11,12}. Tuzlacı ve Erol'un Isparta Eğirdir'de yaptığı halk ilâcı çalışmasında ise Joso yaprak ve meyvelerinden hazırlanan dekoksasyonun diyabete karşı dâhilen kullanıldığı belirtilmektedir ⁸.

Çalışmamız kapsamında etkisi araştırılan türlerden biri olan *J. foetidissima*'nın meyvelerinin diyabete karşı, Isparta Eğirdir'de aç karnına günde 3-7 adet yenildiği bildirilmiştir ⁸. Özgen ve arkadaşları, Ilıca (Erzurum)'da yaptıkları halk ilâcı çalışmasında *J. sabina* dallarından hazırlanan dekoksasyonun diyabete karşı kullanıldığını belirtmişlerdir ¹⁰. Ancak gerek *J. sabina*'nın taşıdığı sabinol sebebiyle toksik (abortif) olması, gerekse flora kayıtlarına göre Erzurum civarında *J. sabina* bulunmaması sebebiyle bu kayda şüpheyle yaklaşılmıştır. Araştırmacılar bu çalışmayı XIII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı'nda tam metin olarak yayınladıklarında *J. sabina* ile ilgili bu bilgiye yer vermiş ancak aynı çalışmanın Economic Botany dergisinde yayınlanan makalesinde bu bitkiyle ilgili herhangi bir kayıt vermemişlerdir ¹³⁴.

Çalışmamızda etkisi incelenen 4. tür olan *J. communis*'in ülkemizde diyabete karşı kullanıldığına dair bir halk ilâcı kaydına rastlanmamıştır. Ancak gerek yurtdışında bitkinin meyvelerinin baharat ve halk ilâcı olarak yaygın kullanılması, gerekse bitkinin meyvelerinden hazırlanan ham ekstrelerin antidiyabetik etki yönünden daha önce incelenmiş olması sebebiyle ^{13, 14, 89, 92} (diğer türlerin etkileri ile mukayese yapabilmek, en etkili tür bulunursa etkili maddelerini tespit edebilmek amacıyla) çalışılması düşünülmüştür.

Çalışmamızın kapsamında seçilen bu 4 *Juniperus* türünün hem meyvelerinin hem de yapraklarının antidiyabetik etki yönünden değerlendirilmesi planlanmıştır. Halk ilâcı kayıtlarında, bitkilerden hazırlanan dekoksasyonun yanı sıra bitkinin meyvelerinin doğrudan toz edilip yendiği belirtilmiştir. Halk arasındaki kullanım şeklini tam olarak taklit edebilmek için, bitkilerin hem sulu (dekoksiyona benzer), hem de etanollü ekstreleri (bitkinin toz şeklinde yenilmesine benzer olması amacıyla) hazırlanmıştır. Her iki ekstrenin İTK profilleri karşılaştırılmış ve etanollü ekstrenin sulu ekstredeki maddeleri de içermesi ve daha yüksek verime sahip olması sebebiyle hayvan deneylerinde kullanılmasına karar verilmiştir.

Genel bir tarama yapmak amacıyla hazırlanan meyve ve yaprak ekstralarının 0.5 ve 1 g/kg dozda diyabetik hayvanlara oral yolla uygulanması ile antidiyabetik etkileri mukayese edilmiştir (Tablo 5 ve 6). Sonuçların daha kolay karşılaştırılabilmesi için aşağıda sadece kan glukoz seviyelerindeki yüzde değişimlerin bulunduğu Tablo 32 ve 33 hazırlanmıştır. Yaprak ekstraları arasında en yüksek etki (% 10-18.1) 1 g/kg dozda Joso yapraklarından hazırlanan etanol ekstresinde görülmüştür. *J. sabina* yaprak ekstralarının uygulandığı iki grupta da % 30 oranında ölüm görülmüştür.

Tablo 32. *Juniperus* türlerinin yapraklarından hazırlanan etanol ekstralarının STZ diyabetik sıçanlardaki antidiyabetik etkileri

Grup	Doz (g/kg)	Kan glukoz konsantrasyonunda % inhibisyon				
		0.5 saat	1. saat	2. saat	4. saat	6. saat
Glipizit	0.01	1.9	8.7**	11.5***	8.7*	4.3
Jcvs	0.5	0.3	2.4	10.9***	4.6	4.0
	1	5.3	9.0***	7.6*	3.8	5.1
Jf	0.5	8.0*	7.3	-	-	0.6
	1	6.3	13.3***	6.4*	0.2	3.7
Joso	0.5	1.7	5.2*	7.3*	1.1	0.7
	1	10.0***	13.0***	15.5***	18.1***	17.9***
Js	0.5	6.9	11.4***	1.0	3.4	-
	1	6.7	10.2***	4.8	3.8	-

Joso: *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*

Jcvs: *J. communis* var. *saxatilis*

Jf: *J. foetidissima*

Js: *J. sabina*

:- Etki görülmemiştir

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Meyve ekstreleri arasında en yüksek etki yine Joso ekstrelerinde görülmüş, ekstre hem 0.5 g/kg (% 5.4-23.6) hem de 1 g/kg dozda (% 12.4-20.8) belirgin antidiyabetik etki göstermiştir.

Tablo 33. *Juniperus* türlerinin meyvelerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin STZ diyabetik sıçanlardaki antidiyabetik etkileri

Grup	Doz (g/kg)	Kan glukoz konsantrasyonunda % inhibisyon				
		0.5 saat	1. saat	2. saat	4. saat	6. saat
Glipizit	10	10.1***	10.5***	7.9**	1.3	1.2
Jcvs	0.5	-	-	-	-	-
	1	-	3.0	15.6***	9.4	7.4
Jf	0.5	1.3	10.7***	7.2*	10.8	2.3
	1	-	-	-	1.7	8.3
Joso	0.5	5.4	7.7**	11.3***	15.3**	23.6***
	1	13.0***	12.4***	20.8***	19.5***	17.8**
Js	0.5	-	-	3.4	-	-
	1	-	-	0.7	5.7	9.4

Joso: *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus*

Jcvs: *J. communis* var. *saxatilis*

Jf: *J. foetidissima*

Js: *J. sabina*

:- Etki görülmemiştir

*** : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001**

Çalışmamızda yer alan 4 *Juniperus* türünden en yüksek etkinin görüldüğü Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanollü ekstrelerin üzerinde çalışmaların sürdürülmesine karar verilmiştir. Ancak ileri çalışmalara geçmeden önce sulu ekstrelerin antidiyabetik etkilerinin etanollü ekstreler ile karşılaştırılması düşünülmüştür. Bu amaçla hazırlanan sulu ekstreler etanollü ekstreler ile aynı dozda diyabetik sıçanlara uygulanmış ve kan glukoz

seviyelerindeki değişimler aynı zaman aralıklarında ölçölmüştür (Tablo 8). Bu karşılaştırma sonucunda etanollü ekstrelerin antidiyabetik etkisinin sulu ekstrelerden daha yüksek bulunması ile etanollü ekstrelerin etkilerinin diğer deney modellerinde incelenmesine karar verilmiştir.

Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin, 0.5 ve 1 g/kg dozda normoglisemik ve glukoz yüklenmiş sıçanların kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri de araştırılmıştır. Diyabetik, normoglisemik ve glukoz hiperglisemik sıçanların kan glukoz seviyelerindeki yüzde düşüşler Tablo 34’de toplu olarak görölmektedir.

Tablo 34. Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstrelerinin normoglisemik, glukoz hiperglisemik ve diyabetik sıçanların kan glukoz seviyeleri üzerindeki etkileri

Ekstre	Doz (g/kg)	Deney Modeli	Kan Glukoz Konsantrasyonunda % İnhibisyon				
			0.5. Saat	1. Saat	2. Saat	4. Saat	6. Saat
Joso Meyve	0.5	NG	-	6.7	6.1	12.8**	x
		OGTT	-	11.0***	19.0***	15.6***	x
		Diyabetik	5.4	7.7**	11.3***	15.3**	23.6***
	1	NG	-	6.1	7.1	13.0*	x
		OGTT	-	10.0***	3.9	4.0	x
		Diyabetik	13.0***	12.4***	20.8***	19.5***	17.8**
Joso Yaprak	0.5	NG	0.8	12.2**	14.2*	25.9***	x
		OGTT	0.9	2.9	5.2	7.8	x
		Diyabetik	1.7	5.2*	7.3*	1.1	0.7
	1	NG	-	10.9**	11.6*	21.9***	x
		OGTT	3.2	11.7***	7.8	10.7*	x
		Diyabetik	10.0***	13.0***	15.5***	18.1***	17.9***

NG: Normoglisemik, OGTT: Oral Glukoz Tolerans Testi,
x : Ölçüm yapılmadı, - :Etki görölmedi, * : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Normoglisemik sıçanlarda kan glukoz seviyelerindeki değişim incelendiğinde, Joso yaprak ekstresinin uygulandığı her iki dozda da zamanla artan hipoglisemik etki görülmüştür. Meyve ekstreleri ise yine zamanla artan hipoglisemik etki göstermiştir ancak bu etki yaprak ekstrelerinin etkisine göre çok daha düşüktür.

Normoglisemik hayvanlara ekstre uygulandıktan 30 dakika sonra 2g/kg dozda glukoz yüklemesi yapılan OGTT deney modelinde, ekstrelerin glukoz emilimi üzerindeki etkileri hakkında fikir sahibi olmak mümkündür. Sonuçlara bakıldığında, en yüksek etki 0.5 g/kg dozda Joso meyve ekstresinde görülmüştür. Etki çok belirgin ve yüksek olmasa da, her iki ekstrenin de farklı dozlarda glukoz emilimini bir miktar azalttığını (% 0.9-19.0) söylemek mümkündür.

Ekstrelerin diyabetik sıçanlara 10 gün uygulanması sırasında, 1., 4., 7. ve 10. günlerde kan glukoz seviyeleri ölçülmüş ve diyabetik kontrole göre belirgin düşüşler gözlenmiştir (Tablo 11). Meyve ekstreleri % 6.9-29.5 arasında, yaprak ekstreleri ise % 10.2-44.6 arasında değişen oranlarda inhibitör aktivite göstermiştir. 10. gün sonunda, hayvan ağırlıkları incelendiğinde, başlangıç ile son gündeki vücut ağırlıkları arasındaki değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı ve belirgin olmadığı görülmüştür (Tablo 12). Ayrıca, diyabet sebebiyle karaciğer ve böbrek dokularında oluşan oksidatif hasarın belirlenmesi amacıyla dokularda malondialdehit seviyeleri incelenmiştir (Tablo 13). Meyve ekstrelerinin (sırasıyla 0.5 ve 1 g/kg dozda), karaciğerdeki lipid peroksidasyonunu % 4.1 ve % 24.0, böbrekte ise % 28.5 ve % 35.0 oranında azalttığı, yaprak ekstrelerinin ise karaciğerde % 39.2 ve % 34.7, böbrekte ise % 25.3 ve % 30.3 oranlarında azalttığı görülmüştür. Bu sonuçlar ekstrelerin kan glukoz seviyelerini düşürmenin yanı sıra organlarda oluşan diyabet nedeni doku hasarını da ortadan kaldırmada etkili olduğunu göstermektedir.

Kan glukoz seviyeleri üzerinde belirgin düşüşe sebep olan Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstreleri üzerindeki çalışmalara

devam etmek amacıyla sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile alt ekstreler hazırlanmıştır. Etkili alt ekstrelerin tespiti amacıyla, alt ekstrelerin verimlerine uygun olarak hesaplanan dozlarında diyabetik sıçanlara uygulanmasına karar verilmiştir. Alt ekstreler uygulandıktan 0.5, 1, 2, 4 ve 6 saat sonra kan glukoz seviyeleri ölçülmüş ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

1 g/kg dozda belirgin antidiyabetik etki gösteren Joso yaprak etanol ekstresinin sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen alt ekstreler, diyabetik sıçanlara uygulandığında en yüksek antidiyabetik etki 260 mg/kg dozda n-hekzan (% 4-39.5) alt ekstresinde gözlenmiştir.

Tablo 35. Joso yapraklarından hazırlanan etanol ekstresi ve fraksiyonlarının antidiyabetik etkileri

Deney Grubu	Doz mg/kg	Kan Glukoz Konsantrasyonunda % İnhibisyon				
		0.5 saat	1. saat	2. saat	4. saat	6. saat
Joso Y. EtOH Eks.	500	1.7	5.2*	7.3*	1.1	0.7
	1000	10.0***	13.0***	15.5***	18.1***	17.9***
Hekzan Alt Ekstresi	130	-	0.5	12.8	13.0	12.4
	260	-	4.0	11.1	31.4***	39.5***
F	106.2	19.4	27.7	30.5*	44.4**	43.3***
	212.4	4.2	9.8	13.0	8.7	7.5
F 1-2	13	11.1***	8.5	18.0***	22.3***	32.8***
	26	17.7***	11.4**	22.3***	34.8***	38.0***
F 7-8	45	15.9***	4.8	21.3***	21.3***	16.8*
	90	15.8***	20.4***	20.9***	28.6***	32.0***

- :Etki görülmedi * : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Bunun üzerine n-hekzan alt ekstresi kolon kromatografisi ile fraksiyonlarına ayrılmış, fraksiyonların dozları yine verimlerine göre oranlanarak hesaplanmıştır. Fraksiyonlar diyabetik sıçanlara uygulandığında F kodlu son fraksiyonun 106.2 mg/kg dozda 30. dakikada gözlenen % 19.4'lük inhibitör etkisi 4 saat boyunca artarak devam etmiştir. 6. saat sonunda; kan glukoz seviyelerinde, diyabetik kontrole göre % 43.3 oranında düşüş görülmüştür (Tablo 35).

F kodlu fraksiyondaki etkidenden sorumlu bileşiklerin ayrılabilmesi amacıyla tekrar kolon kromatografisi yapılmış ve İTK profillerine göre içerikleri birbirlerinden farklı 8 alt fraksiyon elde edilmiştir. Alt fraksiyonlardan içerikleri birbirine yakın ve verimleri düşük olanlar birleştirilerek diyabetik sıçanlara uygulanmıştır. F fraksiyonunun kolon alt fraksiyonlarından F 1-2 ve F 7-8'in 30. dakikadan başlayan ve 6. saate kadar artarak devam eden antidiyabetik etkileri dikkat çekici bulunmuş ve alt fraksiyonlardaki etkili maddelerin yapılarının belirlenmesi düşünülmüştür.

Joso yapraklarından hazırlanan etanol ekstresi ve bu ekstrenin etkili fraksiyonlarının diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyeleri üzerindeki etkileri toplu olarak Tablo 35'de yer almaktadır.

Ekstrenin antidiyabetik etkisi, fraksiyonlama ile artmış, F fraksiyonunda ise en üst seviyeye çıkmıştır. F fraksiyonundan elde edilen F1-2 ve F7-8 alt fraksiyonların etkileri de belirgin ve devamlıdır. Yaprak ekstresi ve fraksiyonların etkilerinde dikkat çekici bir nokta da etkinin zamanla belirgin olarak artmasıdır. Bunun sebebi etkili maddelerin metabolizasyon sonucu oluşması olabileceği gibi etkili maddelerin kan şekerini düşürmede dolaylı yollardan etki göstermesi de olabilir.

F1-2 ve F7-8 alt fraksiyonlarının temel bileşiklerini tanımlamak üzere yapılan GK/KS analizlerinde alt fraksiyonların beklenenin aksine

monoterpen, diterpen yapılı maddeler taşımadıkları, içeriklerindeki ana madde grubunun yağ asitleri olduğu bulunmuştur.

Tablo 36. GK-KS analizi sonuçlarına göre F1-2 ve F7-8 alt fraksiyonlarının içerikleri

F 1-2 Kodlu Alt Fraksiyonun İçeriği			
Pik No.	Madde	R.T. (dk)	% Miktar
1	Tetradekan	25.302	4.267
2	Hekzadekan	32.049	5.992
3	Bilinmeyen	48.191	2.424
4	Metilhekzadekanoat (Metilpalmitat)	48.381	25.842
5	Bilinmeyen	49.594	1.499
6	Metiloktadekanoat	53.255	1.604
7	Metiloleat	53.897	7.793
8	Metillinoleat	55.367	32.260
9	Metillinolenat	57.630	13.797
10	Hekzadekanoik asit (Palmitik asit)	73.606	4.520
F 7-8 Kodlu Alt Fraksiyonun İçeriği			
1	(E,Z)-2,4-Heptadienal	27.982	1.736
2	Bilinmeyen	50.773	9.797
3	Hekzadekanoikasit (Palmitik asit)	73.568	66.328
4	Oktadekanoik asit	85.488	3.644
5	Oleik asit	87.591	2.477
6	Linoleik asit	91.681	4.802
7	Linolenik asit	97.885	11.216

R.T. :Retansiyon zamanı, % Miktar: Maddenin fraksiyon içindeki % bağıl bolluğu

Yapılan GK/KS analizinde öncelikle **F** fraksiyonunun bileşimi aydınlatılmış ve yapısında metillinoleat (% 66.05), metiloleat (% 7.26), linolenik asit (% 6.88), palmitik asit (hekzadekanoik asit) (% 3.627), metil palmitat (metilhekzadekanoat) (% 3.29), metil stearat (metiloktadekanoat) (% 1.43) (% 10.51 ve % 0.92 tanımlanamayan iki bileşik) bulunduğu tespit edilmiştir. **F 1-2** alt fraksiyonunda metillinoleat (% 32.26), metil palmitat (% 25.84), metillinolenat (% 13.79) temel bileşenler olarak bulunmuştur. **F 7-8** alt fraksiyonunda ise palmitik asit (% 66.32) ve linolenik asit (% 11.21) yüksek oranda bulunan yağ asitleri olmuştur.

Hekzan alt ekstresinden elde edilen alt fraksiyonların gaz kromatografisine enjeksiyonu öncesi üzerlerine çözünmeleri için hekzan eklenmiştir. Örneklerin kolay çözünmediği görüldüğünden üzerlerine metanol eklenerek ultrasonik banyoda bir süre ısıtılarak tamamen çözünmeleri sağlanmıştır. Fraksiyonlarda görülen yağ asitlerinin metilli türevlerinin bu işlem sırasında oluştuğu düşünülmektedir.

Çeşitli koniferlerin odunlarında 20'den fazla yağ asidi izole edilmiştir. Bunlar genelde, doymuş, monoenik, dienik, trienik 16-22 karbonlu asitlerdir. Bununla birlikte daha düşük asitler (C_{10} - C_{14}) ve daha yüksek (C_{24} - C_{30}) ve tetraenik asitlere de rastlanmıştır. Çeşitli koniferlerin yağ asidi bileşimi incelendiğinde, çoğunlukla oleik ($C_{18}:1(9)$), linoleik ($C_{18}:2(9,12)$) ve 5,9,12 oktadekatrienik asitten ($C_{18}:3(5,9,12)$) oluştuğu görülür. Daha düşük miktarda palmitik, stearik, 14-metilhekzadekanoik ve 5,11,14-eikosatrienik asit de saptanmıştır ¹⁰³. *Juniperus* türlerinde de araşidik, dokoanoik, eneikozanoik, kaprik, laurik, linoleik, linolenik, miristik, oleik, palmitik, palmitoleik, stearik asit ve bunların hidroksilli türevlerinin bulunduğu bilinmektedir ⁸⁶. *J. oxycedrus*'da bulunduğu tespit edilen yağ asitleri ise; araşidik, kaprik, laurik, linoleik, linolenik, miristik, oleik, palmitik ve stearik asittir ⁸⁶. Bu bilgilere göre çalışmamızda F 1-2 ve F 7-8 alt fraksiyonlarında bulunduğu tespit edilen yağ asitleri literatür bilgileri ile desteklenmektedir.

Lipitler; serbest yağ asitleri, doymamış yağ asitleri ve çoklu doymamış yağ asitlerinin diyabet gelişimine etkisi, diyabetik hastalara uygulandığında kan glukoz seviyeleri, insülin seviyeleri ve dokularda antioksidan parametrelerin incelenmesi konulu birçok çalışmaya rastlanmıştır¹³⁵⁻¹⁴¹. Bu çalışmaların değerlendirildiği bir meta analiz çalışmasına göre¹³⁵; tekli doymamış yağ asitlerince zengin diyetin karbonhidratça zengin diyetlere göre lipoprotein profilinin ve glisemik kontrolün sağlanmasında daha başarılı olduğu belirtilmektedir. Tekli doymamış yağ asitlerince zengin diyetlerin plazma tokluk triaçilgliserol ve VLDL kolesterol seviyelerini % 19 ve % 22 oranında düşürdüğü, HDL kolesterol seviyelerini ılımlı olarak arttırırken LDL kolesterol seviyelerini etkilemediği bildirilmektedir. Tekli doymamış yağ asitlerince zengin (TDYAZ) diyetle beslenmeyle glisemik profilde meydana gelen düzelmenin insüline hassasiyetin artması ile bağlantılı olmadığı, karbonhidrat emiliminin azalması nedeniyle olabileceği iddia edilmektedir. Ayrıca TDYAZ diyetle beslenenlerde LDL partiküllerinin oksidasyona hassasiyetleri azalmakta bu sebeple aterojenik potansiyel azalmaktadır. TDYAZ diyetin kan basıncını arttırıp arttırmadığı araştırılması gereken bir konudur. Bu diyetle beslenenlerde enerji alımı kontrol altında olduğu sürece kilo alma problemi görülmez ve bu nedenle kilo kontrolü sağlamaya çalışan Tip II diyabet hastalarına bu diyetin önerilmesi uygundur^{135,136}.

Wistar sıçanlara alloksan enjeksiyonu ile tip I diyabet oluşturulması ile ilgili yapılan bir çalışmada, oral yolla uygulanan ω-3 eikozapentaenoik asit (EPA) ve dokozahekzaenoik asit (DHA), ω-6 γ-linolenik asit ve araşidonik asitin; hayvanları diyabet gelişimine karşı antioksidan etki ve sitokin üretimini baskılayarak koruduğu bulunmuştur¹³⁷. Benzer bir diğer çalışmada; doymuş ve doymamış yağ asitleri, zeytinyağı, mısır yağı, ayçiçeği yağı, keten tohumu yağı ve karbonhidratları farklı oranlarda içeren diyetlerle bir ay beslenen sıçanlara alloksan enjeksiyonu ile diyabetojenik etkiler araştırılmıştır. Doymuş yağ asitlerince zengin diyetle beslenen hayvanların karbonhidratça zengin diyetle beslenenlere göre daha düşük oranda diyabet

oldukları görülmüştür. Kısmen hidrojenlenmiş ayçiçek yağının hayvanları alloksanın toksik ve diyabetojenik etkilerinden koruduğu bulunmuştur ¹³⁸.

Yağ asitlerinin pankreatik beta hücreleri üzerinde *in vitro* etkilerinin incelendiği bir çalışmada, pankreatik beta hücreleri üzerine doymuş yağ asitleri (palmitat, stearat gibi) ve tekli doymamış yağ asitleri (palmitoleat, miristoleat) eklenerek hücre gelişimi ve ölümü incelenmiştir. Doymamış yağ asitlerinin düşük karbon sayılı olanlarının büyük karbon sayılı olanlara göre daha kolay tolere edildiği görülmüştür. Uzun zincirli tekli doymamış yağ asitlerinin antiapoptotik bir mekanizmayı etkileyerek sitoprotektif etki gösterdiği düşünülmektedir ¹³⁹.

Diğer taraftan, aktif fraksiyonumuz içerisindeki ana maddelerden olan linolenik asit ve linoleik asitin diyabet üzerindeki etkileriyle ilgili yapılmış önemli çalışmalar da mevcuttur. 2001 yılında yapılan bir araştırmada, diyetle alınan γ -linolenik asitin sıçanlardan izole edilen adipositlerde glukoz metabolizmasını hızlandırarak glukoz tüketimini arttırdığı, bu etkinin linoleik asitten daha kuvvetli olduğu belirlenmiştir ¹⁴².

2005 yılında yapılan başka bir çalışmada ise, diyetle alınan α -linolenik ve linoleik asitin sıçanlarda sakaroz ile oluşturulmuş insülin rezistansını azalttığı belirlenmiştir. Bu etkinin özellikle insülin rezistansı nedeniyle kardiyovasküler risk grubunda olan diyabetik hastalarda faydalı olabileceği bildirilmiştir ¹⁴³.

Konjuge linoleik asitin diyabet üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise, konjuge linoleik asitin insülin PPAR γ (peroksizom proliferator-aktive reseptör- γ) reseptörlerini aktive ederek insüline karşı oluşan direnci düşürdüğü tespit edilmiştir ¹⁴⁴.

Bu bilgiler ışığında bulgularımız incelendiğinde, Joso yapraklarından elde edilen etkili alt fraksiyonlarda doymamış yağ asitlerinin

bulunması, fraksiyonların diyabet gelişimi ve diyabet semptomları üzerinde gösterdiği pozitif etkiyi açıklamaktadır.

Joso meyvelerinden hazırlanan etanol ekstresi ve bu ekstrenin etkili fraksiyonlarının diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyeleri üzerindeki etkileri toplu olarak Tablo 37’de yer almaktadır.

Tablo 37. Joso meyvelerinden hazırlanan etanol ekstresi ve fraksiyonlarının antidiyabetik etkileri

Deney Grubu	Doz mg/kg	Kan Glukoz Konsantrasyonunda % İnhibisyon				
		0.5 saat	1. saat	2. saat	4. saat	6. saat
Joso Meyve Etanol E.	500	5.4	7.7**	11.3***	15.3**	23.6***
	1000	13.0***	12.4***	20.8***	19.5***	17.8**
n-Butanol Alt Ekstresi	370	0.7	0.3	0.7	9.9	8.6
	740	9.5	12.2	18.3**	26.4***	31.0***
C	150.6	7.7	11.8*	5.1	10.1	12.7
	301.2	0.4	6.5	18.6*	20.0***	26.4***
C5	227	6.1	9.2*	2.8	-	-
	454	10.0**	2.2	15.2***	6.9	13.5
C6	131	3.4	2.2	-	-	-
	262	11.3**	7.6	26.0***	15.4***	10.4*
C7	155	14.2***	13.5***	7.7	11.5**	13.1*
	310	17.8***	14.8***	25.9***	15.9***	23.5***
Şikimik Asit	15	4.0	3.6	6.5	-	-
	30	8.5*	8.2	13.0*	14.8**	24.0***

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001 - :Etki görülmedi

Joso meyve etanol ekstresi hem 0.5 hem de 1 g/kg dozda antidiyabetik etkili bulunmuştur. 6. saate kadarki ölçümlerde daha yüksek etki gösteren 1 g/kg doz, etkili doz seçilmiş, fraksiyonların dozları belirlenirken bu doz üzerinden hesaplamalar yapılmıştır. Meyve etanol ekstresi üzerindeki çalışmalar, ekstrenin sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen hekzan, kloroform, etilasetat, n-butanol ve kalan su alt ekstralarının etkilerinin incelenmesi ile devam etmiştir. Diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyesini düşürmede en yüksek etkili olan alt ekstre, 740 mg/kg dozda n-butanol alt ekstresi (% 9.5-31.0) olmuştur. Aktif olduğu bulunan n-butanol alt ekstresi kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmış ve diyabetik sıçanlara uygulanmıştır.

Fraksiyonlar arasında C fraksiyonunda 301.2 mg/kg dozda belirgin etki (% 0.4-26.4) görülmüştür. C fraksiyonunun kolon kromatografisi ile tekrar fraksiyonlanmasının ardından elde edilen alt fraksiyonların antidiyabetik etkileri incelenmiştir. Deney sonucunda C'nin antidiyabetik etkisinin C5, C6 ve C7 arasında dağıldığı görülmüştür. C5, C6 ve C7'nin farklı oranlarda antidiyabetik etki göstermesi sebebiyle; etkinin ilk fraksiyon (C1-4) dışındaki 3 fraksiyonda (C5, C6 ve C7) yer alan maddelerin toplam etkisinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu nedenle çalışmamızın son aşamasında C fraksiyonunda bulunan temel maddelerin izolasyonu ve yapı tayinleri yapılmıştır. Fraksiyondan elde edilen 3 maddenin yapısı şikimik asit, ferulik asit glukoziti ve oleuropeik asit glukoziti olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* meyvelerinin etanollü ekstralarının n-butanol fraksiyonunun antidiyabetik etkili alt fraksiyonundan izole edilen şikimik asit, ferulik asit glukoziti ve oleuropeik asit glukozitinin bulunduğu bitkiler, maddelerin *Juniperus* türlerindeki varlığı ve biyolojik aktiviteleri ile ilgili literatürler tarafımızdan incelenmiştir.

Şikimik asit 1885'de ilk defa Japonca "shikimi-no-ki" adıyla bilinen *Illicium anisatum*'dan izole edilmiştir ¹⁴⁵. Bitkilerde, primer metabolizmanın önemli üyelerinden olan şikimik asit üzerinden triptofan, tirozin, fenilalanin gibi

esansiyel aminoasitler oluşmakta ve bitki bunlardan hareketle sekonder metabolitleri (alkaloitler, proteinler, flavonoitler, lignanlar, kumarinleri) sentezlemektedir. Molekülün metabolizmadaki önemi ortaya çıktıktan sonra şikimik asitin kimyası, bulunduğu bitkiler ve biyolojik aktiviteleri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. 1954 yılında yapılan bir çalışmada seçilen 34 Gymnosperm'in şikimik asit içerip içermediği incelenmiş, aralarında *J. chinensis* ve *virginiana*'nın da bulunduğu 30 türde şikimik asit bulunduğu bildirilmiştir ¹³¹. Ayrıca Aboul-Ela ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada *J. phoenicea* meyvalarında da şikimik asite rastlanmıştır ⁹⁸. Bohm şikimik asit üzerine yaptığı derleme çalışmasında, o güne kadar şikimik asit taşıdığı belirlenmiş bitkilerin listesine yer vermiştir. Angiospermae ve Gymnospermae'deki birçok farklı familyadan, çalışılan 278 tür arasından 159'unda şikimik asit bulunduğu tespit edilmiştir ¹³².

Çalışmamızda etkili fraksiyondan izole edilen bir diğer madde ferulik asit-4-O-glukozittir. Ferulik asitin Gymnospermae'de şikimik asitten lignin oluşumu sırasında meydana gelen maddelerden biri olduğu bilinmektedir ^{103,146}, bu sebeple maddenin diğer adı koniferik asittir. Ayrıca ferulik asitin hem Angiospermae'den hem de Gymnospermae'den birçok bitkinin hücre zarında bulunduğu bilinmektedir ^{147,148}.

Joso meyve etanol ekstresinin altfraksiyonundan izole edilen 3. maddenin yapısı ise oleuropeik asit-8-O-glukozit olarak tanımlanmıştır. Oleuropeik asit adını ilk defa izole edildiği bitki olan *Olea europa*'dan almıştır ¹⁴⁹. Bir monoterpen glukoziti olan oleuropeik asit Nakanishi ve arkadaşları tarafından *J. communis* var. *depressa*'dan da izole edilmiştir ¹⁰⁷.

C fraksiyonundan izole edilen maddelerden ferulik asitin; antioksidan, antihiperkolestrolemik, ateroskleroz ve trombozlara karşı koruyucu, antimikrobiyal, antikanser etkilerinin yanı sıra antidiyabetik etkisi üzerine de yapılmış birçok çalışmaya rastlanmıştır ¹⁵⁰⁻¹⁵³.

Ohnishi ve arkadaşları, streptozotosin nedenli (Tip I) ve KKA^y (Tip II) diyabetik fareler üzerinde yürüttükleri çalışmalarında, yemlere % 0.01, % 0.05 ve % 0.5 oranda ferulik asit ekleyerek fareleri 6 hafta boyunca bu yemlerle beslemiştir. Deney sonunda kan glukoz seviyelerinin ve karaciğer, böbrek dokularındaki lipid peroksidasyonun belirgin olarak azaldığı görülmüştür ¹⁵¹. 2007'de yayınlanmış diğer bir çalışmada, pirinçten elde edilen fenolik asit fraksiyonu ve ferulik asit 17 gün boyunca Tip II diyabetik farelere oral yolla uygulanmıştır. Deney sonunda kan glukoz seviyelerinde, total ve LDL kolesterolde belirgin düşüşler; insülin seviyeleri, hepatik glikojen sentezi, glikokinaz aktivitesinde ise belirgin artışlar gözlenmiştir ¹⁵². 2011'de yayınlanan bir çalışmada ise Son ve arkadaşları, ferulik asit ve orizolün yağ oranı yüksek diyetle beslenen C57BL/6 farelerin glukoz metabolizması üzerine etkilerini incelemiştir. Fareler 7 hafta boyunca % 0.5 ferulik asit ve orizol içeren diyetle beslenmiştir. Deney sonunda her iki maddenin uygulandığı grupta da kontrole karşı kan glukoz seviyeleri, glukoz-6-fosfataz ve fosfoenolpiruvat karboksikinaz aktivitelerinin azaldığı; glikojen, insülin seviyeleri ve glukokinaz aktivitelerinde artış meydana geldiği görülmüştür ¹⁵³.

Bu bilgilere dayanarak, fenolik asitlerden ferulik asitin hiperglisemiyi; insülin sekresyonunu arttırarak ve hepatik glukoz regülasyonunu etkileyerek azalttığı söylenebilir. Ferulik asitin antidiyabetik etkisi kanıtlanmış olduğundan tez çalışması kapsamında izole edilen ferulik asit glikozitinin antidiyabetik etki açısından değerlendirilmesine gerek görülmemiştir.

C fraksiyonunda en yüksek miktarda elde edilen madde şikimik asittir. Bu sebeple, şikimik asitin öncelikle iki farklı dozda akut antidiyabetik etkisi incelenmiştir. 15 mg/kg dozda kan glikoz seviyelerinde ilk iki saat içinde belirgin olmayan düşüşler gözlenmiş (% 3.6-6.5), 30 mg/kg dozda ise 30. dakikada başlayan etki (% 8.5) 360. dakikaya kadar artarak (% 24) devam etmiştir. Etki istatistiksel olarak anlamlı ve referans olarak kullanılan glipizitin üzerindedir.

Şikimik asitin streptozotosin nedenli diyabetik sıçanlara 8 gün boyunca uygulanması sonunda kan glikoz seviyeleri ölçülmüştür. Kan glukoz seviyeleri, glipizit grubunda kontrole göre % 14.6, şikimik asitin 30 mg/kg dozda uygulandığı grupta ise % 16.1 oranında azalmıştır. Vücut ağırlıklarında ve plazma insülin seviyelerinde belirgin fark gözlenmemiştir.

Deney sonunda kalp, karaciğer ve böbrek dokuları çıkarılan hayvanların dokularında diyabet sebebiyle artan oksidatif hasarın şikimik asit ile değişip değişmediği malondialdehit (MDA) miktarları tayin edilerek incelenmiştir. Karaciğer dokularında lipit peroksidasyonun diyabetik kontrole göre arttığı (% 2.4-7.6) görülmüştür. Böbrek dokularında ise MDA miktarının belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı bulunmuştur (% 64.5-63.2). Kalp doku örneklerinde lipit peroksidasyon azalmış ancak 15 mg/kg dozda % 61.9'luk azalma görülürken 30 mg/kg'lık dozda çok daha düşük bir fark (% 5.8) gözlenmiştir. Dokularda doğal antioksidan mekanizmanın bir üyesi olan glutatyon (GSH) miktarı da tayin edilmiştir. Şikimik asit uygulanan gruplarda GSH miktarları karaciğerde düşük oranda azalmış (% 5.8-1.3), kalpte ise düşük oranda artmıştır (% 3.5-11.7). Diyabet sebebiyle lipit metabolizmasının da bozulduğu bilinmektedir, bu sebeple deney sonunda toplanan kan örneklerinde total kolesterol ve trigliserit miktarları tayin edilmiştir. Total kolesterol şikimik asit uygulanan gruplarda % 15.2-25.7 oranında artarken trigliserit seviyelerinde daha düşük değişiklikler meydana gelmiştir.

Subakut aktivite sonunda kan örneklerinde karaciğer hücrelerindeki hücre harabiyeti ve kolestat hakkında fikir sahibi olmamızı sağlayan AST, ALT ve ALP enzimleri de ölçülmüştür. Diyabet sebebiyle bu üç enzimin seviyelerinde artış meydana geldiği bilinmektedir. Enzimlerden AST ve ALT'nin artışı karaciğer hücrelerinde nekroz, apoptozis veya geçici hücre hasarı sebebiyle meydana gelir ¹⁵⁴. Çalışmamızda subakut uygulama sonrasında, plazma örneklerinde şikimik asit uygulanan gruplardaki AST seviyeleri % 7.1-30.2 oranında azalmıştır. ALT seviyeleri 15 mg/kg dozda şikimik asit uygulanan grupta % 11.6 oranında artarken 30 mg/kg uygulanan grupta % 24.2 oranında

azalmıştır. Bulgular topluca incelendiğinde, şikimik asitin diyabet sebebiyle yükselen AST ve ALT seviyelerini 30 mg/kg dozda belirgin olarak azalttığı görülmüştür. ALP ise karaciğerde kolestatik bozuklukları gösteren enzimlerden biridir. Karaciğer kökenli alkalen fosfataz safra kanal epitelinin yüzeyinde bulunur, kolestaz durumlarında enzim indüklendiği için seruma fazla miktarda sızma görülür ¹⁵⁴. Çalışmamızda şikimik asit uygulanan gruplarda ALP miktarının % 29.1-27.8 oranda düşmesi diyabetik sıçanlarda oluşan kolestatik bozuklukların da iyileşmeye başladığının göstergesidir.

Buna göre şikimik asitin belirgin antidiyabetik etki gösterdiği ancak bu etkinin insülin seviyesini arttırarak oluşmadığı söylenebilir. Şikimik asitin dokularda diyabet sebebiyle oluşan hasarı azaltırken karaciğerde toksisite meydana getirmedeği de görülmüştür.

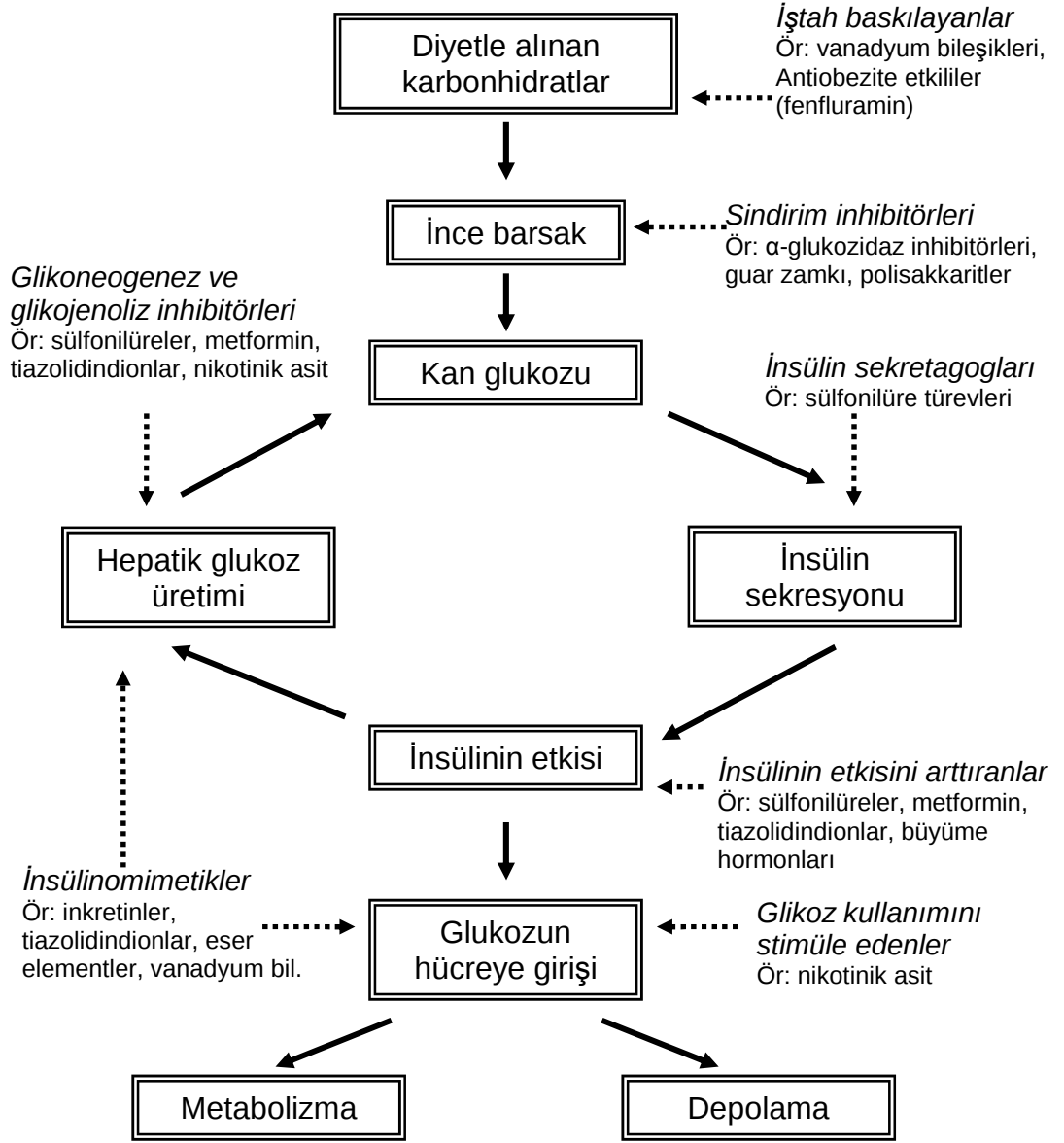
Yaptığımız literatür araştırmasında, şikimik asitin biyolojik aktiviteleri ile sadece bir invivo çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışma şikimik asitin ateroskleroz oluşturulmuş sıçanlarda kan lipit parametreleri ve kan viskozitesi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmadır. Şikimik asitin sıçanlarda trigliserit, total kolesterol, LDL, hemotokrit ve kan viskozitesini azalttığı, HDL seviyesini ise arttırdığı bulunmuştur ¹⁵⁵.

Sakaguchi ve arkadaşları, *Illicium anisatum* meyve, yaprak ve köklerinden hazırlanan sulu ekstraktların B6C3HF1 farelerden alınan bıyık folikülleri üzerinde etkisini incelemişlerdir. Meyve ekstresi ve ekstrede bulunduğu tespit edilen şikimik asitin, sıçır serumu içeren ve içermeyen iki farklı ortamda kültüre alınan foliküllerde saç uzamasını belirgin olarak arttırdığını kanıtlamışlardır. Araştırmacılar, ekstraktların ve şikimik asitin subkutan kan akımını arttırarak etki gösterdiği öne sürmüşlerdir. Deney sonunda alınan folikül örneklerinde, şikimik asit uygulanan grupta insülin benzeri büyüme faktörü-I, vasküler endotelial büyüme faktörü ve keratosit büyüme faktörünün belirgin olarak arttığı görülmüştür. Saç uzamasındaki artışın bu büyüme faktörlerine bağlı olabileceği düşünülmüştür ¹⁵⁶. Çalışmamızın sonuçlarını açıklayabilmek

için, Şikimik asitin insülin benzeri büyüme faktörü-I üzerine etkili olduğunun bulunması önemli bir bulgudur. Bu faktör, molekül yapısı insüline benzer olan bir hormondur. Çocukluk dönemindeki büyüme ve yetişkinlerdeki anabolik faaliyetlerde önemli yeri olan bu hormon, hücre zarındaki iki farklı reseptöre bağlanabilme yeteneğine sahiptir. Bunlar; İnsülin benzeri büyüme faktörü-I reseptörü ve insülin reseptörüdür. Hormonun insülin reseptörlerine afinitesi insülininden daha düşüktür. Klinik çalışmalarda insülin benzeri büyüme hormonu-I'in Tip-I ve Tip-II diyabetli hastalarda HbA1c seviyelerini belirgin oranda düşürmüştür ¹⁵⁷.

Yapılan literatür taramalarında doğrudan Şikimik asitin antidiyabetik etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Şikimik asitin kan glukoz seviyesini düşürücü etkisi ilk kez bu çalışmayla ortaya konmuştur. Şikimik asitin etki mekanizması ile ilgili kesin bilgi bulunmamakla beraber, Sakaguchi ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi, insülin benzeri büyüme faktörü-I'in artışı ile hipoglisemi meydana getirdiği düşünölmektedir.

1978 yılında yapılan bir araştırmada, Şikimik asitin sıçanlarda ne şekilde metabolize olduğu incelenmiştir. Tüm memelilerde, Şikimik asitin barsaklarda bulunan mikroorganizmalar tarafından 3 hippurik asit türevi ve kateşole metabolize olduğu belirtilmiştir. Oluşan kateşolün çok az miktarı konjugasyon sonrasında, büyük bir kısmı ise değişime uğramadan idrar ve feçesle vücuttan atılmaktadır ¹⁵⁸. 2003 yılında kateşol türevlerinin, protein tirozin fosfataz 1B (PTF1B) inhibitörü etkilerinin bulunduğuna dair bir çalışma yapılmıştır. PTF1B inhibitörleri insüline direnci düzelterek plazma glukoz ve insülin seviyesini normalize ederler. Ancak bu çalışmada kateşolün tek başına enzim inhibitörü etkisinin % 4.4 olduğu bulunmuştur ¹⁵⁹. Bu sebeple Şikimik asitin metabolitleri olan kateşol ve hippuratın farklı bir mekanizma ile kan glikoz seviyesini düzenlediği düşünölmektedir.



Şekil 25. Hipergliseminin kontrolünde muhtemel yaklaşımlar ¹⁶⁰

1997 yılında klorojenik asit ve sentetik türevlerinin hepatik glukoz-6-fosfat translokaz enzimi üzerinde inhibitör etkileri sıçan karaciğer mikrozomları kullanılarak incelenmiştir. (Hepatik glukoz-6-fosfat translokaz enzimi vücutta glikoneogenez ve glikojenoliz ile endojen glukozun üretiminden sorumludur.) Klorojenik asit enzim üzerinde zayıf inhibitör etki göstermişken

yapıya şikimik asit eklendiğinde 0.25 mM konsantrasyonda enzimin % 50 oranında inhibe olduğu görülmüştür ¹⁶¹.

Antidiyabetik etkili bitkisel bileşikler farklı mekanizmalar üzerinden kan glukoz seviyesini düzenlerler. Bir grup etkilerini gastrointestinal sistemden karbonhidrat emilimini engelleyerek gösterir ki bunlar ya gastrointestinal sistemdeki karbonhidrat sindirimi ile ilgili enzimleri (alfa glukozidaz, alfa amilaz gibi) inhibe ederler ya da gastrointestinal kanalda kitle oluşturarak besinlerin emilimini engellerler. Bir diğer grup ise pankreasın insülin salgılamasını arttırarak ya da pankreasta hasar görmüş beta hücrelerini yenileyerek insülin üretimini arttırarak etki göstermektedir. Şekil 25'te bu mekanizmalar özetlenmiştir.

Çalışmamızda *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus*'un yapraklarında palmitik, linoleik ve linolenik asit gibi yağ asitlerinin; meyvelerinde ise şikimik asit, ferulik asit glukoziti ve oleuropeik asit glukozitinin bulunduğu fraksiyonların antidiyabetik etkili olduğu bulunmuş fakat etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. Şekil 25'te de görüldüğü üzere, etkili fraksiyonlar içerisindeki maddelerin etkilerini bir veya birden fazla mekanizma ile göstermeleri mümkündür.

6. SONUÇ

Juniperus türlerinin antidiyabetik etkileri üzerine bu güne kadar yapılan çalışmalar genel bilgiler kısmında ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Bunlar arasında, *J. communis*^{13,14} ve *J. chinensis* meyvelerinin⁸⁶ *in vivo* antidiyabetik etkilerinin incelendiği çalışmalarda, ham ekstrelerin kan glikoz seviyesini düşürmede etkili olduğu belirtilmiş, etkili maddeler veya etki mekanizması ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* uçucu yağının *in vitro* antidiyabetik etkisi sadece α -amilaz inhibisyonu yöntemi ile incelenmiştir⁹⁴. Bir diğer *in vitro* çalışmada ise, *J. communis*'in glikoz difüzyonunu % 6 oranında azalttığı bulunmuştur⁹¹. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, çalışmamızın *Juniperus* türleri üzerinde yapılmış en ayrıntılı antidiyabetik aktivite çalışması olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus*'un yapraklarında palmitik, linoleik ve linolenik asit gibi yağ asitlerinin; meyvelerinde ise şikimik asit, ferulik asit glukoziti ve oleuropeik asit glukozitinin bulunduğu fraksiyonların antidiyabetik etkili olduğu bulunmuş fakat etki mekanizmaları aydınlatılamamıştır. Şikimik asitin subakut uygulanmasından sonra kanda insülin seviyelerinde artış görülmemesi, etkinin insülin sekresyonundaki artış ile ortaya çıkmadığını göstermiştir. Maddelerin etki mekanizmalarını aydınlatmaya yönelik deneylerin, ileriki araştırma konularımız arasında yer alması planlanmaktadır.

Çalışmamız ülkemizde geniş yayılım gösteren ve halk ilâcı olarak yaygın kullanıma sahip *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus*'un meyve ve yapraklarının içerdiği farklı madde grupları ile kan şekerini düşürücü etki gösterdiğini kanıtlamaktadır. Meyvelerin halk tarafından diyabette kullanımının doğruluğu bilimsel olarak doğrulanmıştır. Yağ asitlerinin diyabet gelişimi ve glikoz metabolizması üzerinde belirgin etkisinin bulunduğu kanıtlanmıştır.

7. ÖZET

Şeker Hastalığına Karşı Halk İlacı Olarak Kullanılan *Juniperus* Türleri Üzerinde Farmakognozیک Araştırmalar

Juniperus (ardıç) türleri, ülkemizde halk tababetinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Etnobotanik çalışmalarda, Anadolu'nun farklı yörelerinde; *Juniperus communis* var. *saxatilis*, *oxycedrus* subsp. *oxycedrus*, *foetidissima* ve *sabina*'nın (toz edilmiş meyve, meyve ve yaprak dekoksasyonlarının) kan şekerini düşürücü olarak kullanıldığı kayıtlıdır.

Bu çalışmada ülkemizde halk ilacı olarak diyabet tedavisinde kullanıldığı bildirilen bu 4 *Juniperus* taksonunun meyve ve yapraklarının antidiyabetik etki açısından incelenmesi amaçlanmıştır. Hazırlanan meyve ve yaprak etanol ekstreleri (0.5 ve 1 g/kg) diyabetik sıçanlara uygulandığında, en yüksek etki, *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* (Joso) meyve ve yaprak ekstrelerinde bulunmuştur. Bu iki ekstrenin normoglisemik ve glukoz hiperglisemik sıçanlarda da kan glukoz seviyesini düşürdüğü görülmüştür. Subakut uygulamada ekstrelerin uygulandığı grupların kan glukoz seviyelerinde, karaciğer ve böbrek malondialdehit seviyelerinde düşüş görülmüştür.

Joso meyve ve yapraklarından hazırlanan etanol ekstreleri BAYF (Biyoaktivite ile Yönlendirilen Fraksiyonlama) tekniğine uygun olarak fraksiyonlanmıştır. Alt ekstrelerin etkileri incelendiğinde; meyve ekstresinin n-butanol alt ekstresinde (740 mg/kg), yaprağın ise n-hekzan alt ekstresinde (260 mg/kg) belirgin antidiyabetik etki görülmüştür. Etkili alt ekstreler, kolon kromatografisi ile fraksiyonlara ayrılmış, etkisi en yüksek olan fraksiyonlardaki bileşikler gaz kromatografisinin yanı sıra diğer kromatografik ve spektroskopik yöntemler kullanılarak tanımlanmıştır. Joso yaprak ekstresinin etkili alt fraksiyonunda yağ asitlerinin, meyve ekstrelerinin etkili fraksiyonunda ise şikimik

asit, ferulik asit glukoziti, oleuropeik asit glukozitinin bulunduğu tespit edilmiştir. Şikimik asitin diyabetik sıçanlara akut ve subakut uygulanması sonucunda belirgin antidiyabetik etkili olduğu gözlenmiştir.

8. SUMMARY

Pharmacognosic Inverstigations on the *Juniperus* Species Used for Diabetes Mellitus in Folk Medicine

Juniperus species are widely used in traditional medicine for many purposes in Anatolia. According to ethnobotanical reports which were carried out in different parts of Turkey, berries of *Juniperus communis* var. *saxatilis*, *oxycedrus* ssp. *oxycedrus*, *foetidissima*, and *sabina* have been ingested or decoctions of berries and leaves have been taken as tea to lower blood glucose levels.

The aim of this study is to evaluate the antidiabetic activity profile of the berry and leaf extracts of these 4 *Juniperus* taxon. The ethanol extracts of berries and leaves were prepared and given to streptozotocin induced diabetic rats at 0.5 and 1 g/kg doses. *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* (Joso) berry and leaf extracts were the most effective extracts among all. Blood glucose levels of normoglycemic and glucose loaded rats were also reduced after administration of ethanol extracts of Joso berries and leaves. After 10 days administration of Joso extracts to diabetic rats, blood glucose levels and malondialdehyde levels in kidney and liver of rats were decreased significantly.

Ethanol extracts of berries and leaves were fractionated by successive solvent-solvent extraction according to bioactivity guided fractionation techniques. n-Butanol sub-extract of berry extract (740 mg/kg) and n-hexane sub-extract of leaf extract (260 mg/kg) were found to possess high antidiabetic activity. Active sub-extracts were fractionated by column chromatography and the active principles were isolated by using different chromatography techniques. Fatty acids were found in the active fraction of ethanolic extract of Joso leaves, also shikimic acid, ferulic acid glycoside and

oleuropeic acid glycoside were found in the active fraction of berry extracts. After acute and subacute administration of shikimic acid, the blood glucose levels were reduced significantly in diabetic rats.

9. KAYNAKLAR

1. Coode MJE, Cullen J. Cupressaceae. In: Davis PH editor. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh: The University Press; 1997. p.78-83.
2. Baytop A. Farmasötik botanik. İstanbul: İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul Üniversitesi Yayınları; 1983.
3. Prajapati V, Tripathi AK, Aggarwal KK, Khanuja SPS. Insectisidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oil against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. Bioresource Technol 2005; 96 : 1749-57.
4. Salido S, Altarejos J, Nogueras M, Sanchez A, Pannecouque C, Witvrouw M, et al. Chemical studies of essential oils of *Juniperus oxycedrus* subsp. *badia*. J Ethnopharmacol 2002; 81 : 129-34.
5. Kinyanjui T, Gitu PM, Kamau GN. Potential antitermite compounds from *Juniperus procera* extracts. Chemosphere 2000; 41 : 1071-4.
6. Kim SJ, Jung JY, Kim HW, Park T. Anti-obesity effects of *Juniperus chinensis* extract are associated with increades AMP-activated protein kinase expression and phosphorylation in the visceral adipose tissue of rats. Biol Pharm Bull 2008; 31(7) : 1415-21.
7. Lesjak MM, Beara IN, Orcic DZ, Anackov GT, Balog KJ, Franciskovic MM, et al. *Juniperus sibirica* Burgsdorf. as a novel source of antioxidant and anti-inflammatory agents. Food Chem 2011; 124 : 850-6.
8. Tuzlacı E, Erol MK. Turkish folk medicinal plants, part II: Eğirdir (Isparta). Fitoterapia 1993; 70 : 593-610.
9. Honda G, Yeşilada E, Tabata M, Sezik E, Fujita T, Takeda Y, et al. Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. J Ethnopharmacol 1996; 53(2) : 75-87.
10. Özgen U, Coşkun M. Ilıca (Erzurum) ilçesine bağlı köylerde halk ilâcı olarak kullanılan bitkiler. In: Gürkan E, Tuzlacı E, editörler. XIII. Bitkisel İlaç

- Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı. İstanbul: Marmara Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Matbaa Birimi; 2001. p.135-43.
11. Alparslan DF, Tuzlacı E. Babaeski (Kırklareli) yöresinin geleneksel halk ilâcı olarak kullanılan bitkileri. Sezik E, Yeşilada E, Deliorman Orhan D, editörler. XV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı. Ankara: Alp Ofset ve Matbaacılık; 2006. p.251-63.
 12. Emre G, Tuzlacı E. Ezine (Çanakkale) yöresinin geleneksel halk ilâcı olarak kullanılan bitkileri. Sezik E, Yeşilada E, Deliorman Orhan D, editörler. XV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı. Ankara: Alp Ofset ve Matbaacılık; 2006. p.270-8.
 13. Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR. Traditional plant treatments for diabetes. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice. Diabetologia 1990; 33 : 462-4.
 14. Sanchez de Medina F, Gamez MJ, Jimenez I, Jimenez J, Osuna JI, Zarzuelo A. Hypoglycemic activity of juniper berries. Planta Med 1994; 60(3) : 197-200.
 15. Şendoğdu N. *Vitis vinifera* L. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. Yüksek Lisans. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2005.
 16. Eliçin G. Türkiye doğal ardıç (*Juniperus* L.) taksonlarının yayılışları ile önemli morfolojik ve anatomik özellikleri üzerinde araştırmalar. İstanbul: İ.Ü. Orman Fakültesi Yayınları; p.11-15, p.35-82, 1977.
 17. Özdoğan M, Başgelen N. Türkiye’de Neolitik Dönem. Anadolu’da Uygarlığın Doğuşu ve Avrupa’ya Yayılımı. Türkiye’de Neolitik Dönem: Yeni Kazılar, Yeni Bulgular. İstanbul: Arkeoloji ve Sanat Yayınevi; 2007.
 18. Taş İ. Hitit Kralı IV. Tudhaliya. İstanbul: Arkeoloji ve Sanat Yayınevi; 2008.
 19. Baytop T. Türkiye’de tıbbi ve kokulu bitkilerin kullanımına tarihsel bir bakış. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bülteni 1994; 10 : 24-27.
 20. Ünal A. Hititler devrinde Anadolu, 1. Kitap. İstanbul: Arkeoloji ve Sanat Yayınevi; 2002.
 21. Ünal A. Hititler devrinde Anadolu, 2. Kitap. İstanbul: Arkeoloji ve Sanat Yayınevi, 2003.

22. Gültekin HC. Yaşlı ve ölü ağaçlar. Tübitak Bilim ve Teknik 2008; 483 : 66-9.
23. Duke JA, Duke PAK, Cellier JL. Duke's handbook of medicinal plants of the bible. Florida: CRC Press Taylor & Francis Group; 2008.
24. Osbaldeston T, Wood R. Dioscorides de materia medica, a new indexed version in modern English. South Africa: Ibidis Press; 2000.
25. Ergun P. Türk kültüründe ağaç kültü. 2. Baskı. Ankara: Atatürk Kültür Merkezi Başkanlığı Yayınevi; 2004.
26. Barlas U. Tercüme-i cedide fi'l havasi'l-müfrede (17. yüzyılda yazılan bitkilerle sağaltma kitabı). Ankara: Senfoni Matbaası; 2004.
27. T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü Silvikültür Dairesi Başkanlığı. Ardıç ormanlarının rehabilitasyonu eylem planı (2006-2015) [online] 2011 [cited 2011 Feb 10]. Available from: URL: <http://www.ogm.gov.tr/silvikultur/projeler/ardic.pdf>
28. Baytop T. Türkçe bitki adları sözlüğü. 2. Baskı. Ankara: Türk Tarih Kurumu Basımevi; 1997.
29. Tutin TG, Heywood UH, Burger NA, Valentine DH, Walters SM, Webb DA. Flora Europea. Cambridge: The University Press; 1964. p.38.
30. Lavrence GHM. Taxonomy of vascular plants. 10th ed. New York: The Mac Millan Company, 1969 p.366-368.
31. Anşin R, Özkan ZC. Tohumlu bitkiler (Spermatophyta) odunsu taksonlar. 2. Baskı. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi Basımevi; 1997.
32. Yaltırık T, Efe A, Uzun A. İstanbul Adaları'nın doğal ve ekzotik bitkileri. İstanbul: Batur Matbaası; 1993.
33. Christopher JE. The Gymnosperm database. [online] 2010. [cited 2010 Dec 20]. Available from URL: <http://www.conifers.org/cu/ju/index.htm>
34. Adams RP, Demeke T. Systematic relationships in *Juniperus* based on random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). Taxon 42: 553-572, 1993.
35. Adams RP. *Juniperus* of the world. The genus *Juniperus*. Vancouver: Trafford Publishing Co.; 2008.
36. Tutin TG, Heywood UH, Burger NA, Valentine DH, Walters SM, Webb DA. Flora Europea. Cambridge: The University Press; 1964. p.36-9.

37. Gültekin HC. Andız (*Arceuthos drupacea* (Labill.) Ant. Et. Kotschy) ve fidan üretim teknikleri. Çevre ve Orman Bakanlığı Ağaçlandırma ve Erozyon Kontrolü Genel Müdürlüğü Fidanlık ve Tohum İşleri Daire Başkanlığı. Ankara: Tekbaş Matbaası; 2008.
38. Frankis MP. Cone Collection, Arboretum de Villardebelle [online]. 2010 [cited 2010 Dec 29]. Available from: URL: <http://www.pinetum.org/cones/JUcones.htm>
39. Yücel E. Ağaçlar ve çalılar. 1. Baskı. Eskişehir: Kendi Yayını; 2005.
40. Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC. Flora of Turkey and the East Eagean Islands Cilt 11. Edinburgh: Edinburgh University Press; 2000. p.8-10.
41. Mataracı T. Ağaçlar Doğa Severler İçin Rehber Kitap, Marmara bölgesi doğal-egzotik ağaç ve çalıları. 3. Baskı. İstanbul: TEMA Vakfı Yayınları; 2004.
42. Yaltırık F, Eliçin G, Terzioğlu S. *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* var. *spilinanus* Yalt., Eliçin & Terzioğlu: A New Variety from Turkey. Turk J Bot 2007; 31 : 37-40.
43. Seçmen Ö, Gemici Y, Görk G, Bekat L, Leblebici E. Tohumlu bitkiler sistematigi. 6. Baskı. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 2000.
44. Adams RP. *Juniperus deltoides*, A new species, and nomenclatural notes on *Juniperus polycarpus* and *J. turcomanica* (Cupressaceae). Phytologia 2004; 86(2) : 49-53.
45. Deutsches arzneibuch, Deutscher Apotheker. Frankfurt: Verlag Stuttgart Govi-Verlag GMBH; 1978. p.511-512.
46. T.C. Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı. Türk kodeksi. Ankara: 1948. p.343-344, p. 534-535.
47. British Herbal Medicine Association. British herbal pharmacopoeia. London: 1996 p.117-118,
48. The Stationery Office. British Pharmacopoeia 2007. London: 2007.
49. Reynolds JEF, editor. Martindale The complete drug reference. 36th ed. London: The Pharmaceutical Press; 2009.

50. Gruenwald J, editor. PDR for herbal medicines. 2nd ed. Montvale: Medical Economics Company Inc; 2000.
51. The Merck index 12th. The Merck and Co. Inc. New Jersey: Whitehouse; 1996.
52. Hamdard pharmacopoeia of eastern medicine. Karachi: The Times Press; 1970.
53. Council of Europe. European pharmacopoeia 6.2. Strasbourg: 2008.
54. Blumenthal M editor. The complete German commission e monographs. 1st ed. Texas: American Botanical Council; 1998.
55. European scientific co-operative on phytotherapy. ESCOP monographs. 2nd ed. New York: Georg Thieme Verlag Thieme; 2003. p.282-5.
56. The United States pharmacopoeia 31st. United States Pharmacopoeial Conventional Inc. Washington: Lippincott, Grambo & Co.; 2007.
57. The pharmaceutical codex 11th. London: The Pharmaceutical Press; 1979.
58. Barnes J. Anderson LA, Phillipson J.D. Herbal medicines. 3rd ed. London: The Pharmaceutical Pres; 2007.
59. Baytop T. Türkiye’de bitkiler ile tedavi-geçmişte ve bugün. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1999.
60. Heinz S, Dagmar E, Christel K. Gas chromatographic comparison of commercialy available *Juniperus* oils and their toxicological evaluation, 35. Quality control and phytopharmacologica; value determination and suggestions for its standardization. PZ Wiss 1993, 85-91. (Ref: CA No: 119, 278471m,1993.)
61. Duke JA. CRC Handbook of medicinal herbs. Florida: CRC Press; 1985.
62. Stary F, Jirasek V. A concise guide in colour herbs. Newyork: Hamlyn; 1976.
63. David P. Herbal drugs and phytopharmaceuticals. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers; 1994.
64. Lawless J. The complete guide to the use of oils in aromatherapy. London: Element Books; 1995.

65. Arctander S. Perfume and flavor materials of natural origin. New Jersey: Allured Pub Corp.; 1960.
66. Holtom JA, Hylton WH. The complete guide to herbs. Aylesburg: Rodale Press; 1979.
67. Baytop T. Türkiye'nin tıbbi ve zehirli bitkileri. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Matbaası; 1963.
68. Yeşilada E, Honda G, Sezik E, Mamoru T, Tetruso F, Toshihiro T, et al. Traditional medicine in Turkey. V. folk medicine in the Inner Taurus mountains. J Ethnopharmacol 1995; 46 : 133-152.
69. Karaman İ, Şahin F, Güllüce M, Öğütçü H, Şengül M, Adigüzel A, Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. J Ethnopharmacol 2003; 85 : 231-5.
70. Yeşilada E, Honda G, Sezik E, Mamoru T, Katsumi G, Yasumasa I. Traditional medicinal in Turkey, IV. folk medicine in the Mediterranean subdivision. J Ethnopharmacol 1993; 39 : 31-38.
71. Tekeli A. Andız-*Arceuthos drupacea* ant. Orman Mühendisliği Dergisi 2005; 42 : 41-2.
72. Sezik E, Zor M, Yeşilada E. Traditional medicine in Turkey II. folk medicine in Kastamonu province. Int J Pharmacogn 1992; 30(3) : 233-9.
73. Sezik E, Yeşilada E, Tabata M, Honda G, Takaishi Y, Fujita T, et al. Traditional medicine in Turkey VIII. folk medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağrı, Iğdır, Kars, Ardahan provinces. Econ Bot 1997; 51(2) : 184-200.
74. Öztürk M, Pirdal M. Ekonomik botanik uygulama kitabı. İzmir: Ege Üniversitesi Matbaası; 1990.
75. Sezik E, Yeşilada E, Honda G, Takaishi Y, Tanaka T, Takeda Y. Traditional medicine in Turkey X. folk medicine in the eastern part of Central Anatolia. J Ethnopharmacol 2001; 75 : 95-115.
76. Yeşilada E, Sezik E, Honda G, Tanaka T, Takeda Y, Takaishi Y. Traditional medicine in Turkey IX. folk medicine in North-west Anatolia; Sakarya,

- Kocaeli, Bolu, Zonguldak, Bartın, Karabük provinces. J Ethnopharmacol 1999; 64(3) : 199-206.
77. Tümen İ. Doktora. Türkiye'de Yetişen *Juniperus* ssp. Türlerinin İğne Yaprak, Meyve ve Kozalaklarının Kimyasal Bileşenleri. Bartın: Zonguldak Karaelmas Üniversitesi; 2005.
78. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for Veterinary Medicinal Products, Juniperi Fructus Summary Report [online]. 1999 [cited 2010 Dec 10]. Available from: URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014515.pdf
79. Wang WS, Li EW, Jia ZJ. Terpenes from *Juniperus przewalskii* and their antitumor activities. Pharmazie 2002; 57(5) : 343-5.
80. Wichtl M. Herbal drugs and phytopharmaceuticals. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers; 1994.
81. Prakash AO. Potencialities of some indigenous plants for antifertility activity. Int J Crude Drug Res 1986; 24(1): 19-24.
82. But PPH, Kimura T, Gue JX, Sung CK. International collation of traditional and folk medicine Vol 2. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.; 1997.
83. Topçu G, Erenler R, Çakmak O, Johnasson CB, Çelik C, Chain HB, et al. Diterpenes from the berries of *Juniperus excelsa*, Phytochemistry 1999; 50(7) : 1195-9.
84. Pandita K, Agarwal SG, Thappa RK, Dhar KL. Seven new labdane diterpenes from *Juniperus pseudosabina* Hook. Indian J Chem 1987; 26B(5) : 453-8.
85. Kagawa K, Tokura K, Uchida K, Kakushi H, Shike T, Kikushi J, et al. Platelet aggregation inhibitors in Bhutanese medicinal plant, Shug Chler. Chem Pharm Bull 1993; 41(9) : 1604-7.
86. Seca AML, Silva AMS. The chemical composition of the *Juniperus* genus (1970-2004), In: Govil JN, Singh VK, editors. Recent Progress in Medicinal

- Plants Vol.16–Phytomedicines. Houston: Studium Press LLC, 2006. p.399-520.
87. Ju JB, Kim JS, Choi CW, Lee HK, Oh T, Kim SC. Comparison between ethanolic and aqueous extracts from Chinese juniper berries for hypoglycaemic and hypolipidemic effects in alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2008; 115 : 110-5.
 88. Akkol Küpeli E, Güvenç A, Yeşilada E. A Comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa. *J Ethnopharmacol* 2009; 125 : 330-6.
 89. Petlevski R, Hadžija M, Slijepčević M, Juretic D. Effect of antidiabetic herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice. *J Ethnopharmacol* 2001; 75(2-3) : 181-4.
 90. Kozan E, Küpeli E, Yeşilada E. Evaluation of some plants used in Turkish folk medicine against parasitic infections for their *in vivo* anthelmintic activity. *J Ethnopharmacol* 2006; 108 : 211-6.
 91. Miceli N, Trovato A, Dugo P, Cacciola F, Donato P, Marino A, et al. Comparative analysis of flavonoid profile, antioxidant and antimicrobial activity of the berries of *Juniperus communis* L. var. *communis* and *Juniperus communis* L. var. *saxatilis* Pall. from Turkey. *J Agric Food Chem*, 2009; 57: 6570-7.
 92. Gallagher AM, Flatt PR, Duffy G, Abdel-Wahab YHA. The effect of traditional antidiabetic plants on *in vitro* glucose diffusion. *Nutr Res*, 2003; 23 : 413-24.
 93. Moreno L, Bello R, Beltran B, Calatayud S, Primo-Yufera E, Esplugues J. Pharmacological screening of different *Juniperus oxycedrus* L. extracts. *Pharmacol Toxicol* 1998; 82 : 108-12.
 94. Loizzo MR, Tundis R, Conforti F, Saab AM, Statti GA, Menichini F. Comparative chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* L. berry and wood oils from Lebanon. *Food Chem* 2007; 105 : 572-8.

95. Bello R, Moreno L, Beltran B, Primo-Yufera E, Esplugues J. Effects on arterial blood pressure of methanol and dichloromethanol extracts from *Juniperus oxycedrus* L. *Phytother Res* 1997; 11 : 161-2.
96. Moreno L, Bello R, Primo-Yufera E, Esplugues J. *In vitro* studies of methanol and dichloromethanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L., *Phytother Res* 1997; 11 : 309-11.
97. Rizk MZ, Abdallah MS, Sharara HM, Ali SA, İbrahim NA, Moustafa MM, Efficiency of *Cupressus sempervirens* L. and *Juniperus phoenicea* against carbon tetrachloride hepatotoxicity in rats. *Trend Med Res* 2007; 2(2) : 83-94.
98. Aboul-Ela M, El-Shaer N, El-Azim TA. Chemical constituents and hepatotoxic effect of the berries of *Juniperus phoenicea* Part II. *Alex J Pharm Sci* 2005; 11(4): 240-7.
99. Abolu-Ela M, El-Shaer N, Abd El-Azim T. Chemical constituents and antidiabetic effect of *Juniperus phoenicea* Part I. *Alex J Pharm Sci* 2005; 19 : 109-17.
100. Mossa JS, El-Feraly FS, Muhammad I. Antimycobacterial constituents from *Juniperus procera*, *Ferula communis* and *Plumbago zeylanica* and their *in vitro* synergistic activity with isonicotinic acid hydrazide. *Phytother Res* 2004; 18 : 934-7.
101. Schepetkin IA, Faulkner CL, Nelson-Overton LK, Wiley JA, Quinn MT. Macrophage immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Juniperus scopolorum*. *Int Immunopharmacol* 2005; 5 : 1783-99.
102. Otto A, Wilde V. Sesqui-, di-, and triterpenoids as chemosystematic markers in extant conifers- A review. *Bot Rev* 2001; 67(2) : 141-238.
103. Balaban M. Doktora. Önemli Yerli Ardiç (*Juniperus* spp.) Türleri Odunlarının Kimyasal Özellikleri. İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 1997.
104. Tunalier Z. Doktora. *Juniperus foetidissima* Willd. Odun Uçucu Yağları. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, 1999.
105. Innocenti M, Michelozzi M, Giaccherini C, Ieri F, Vincieri FF, Mulinacci N. Flavonoids and biflavonoids in Tuscan berries of *Juniperus communis* L.:

- detection and quantitation by HPLC/DAD/ESI/MS. J Agric Food Chem 2007; 55 : 6596-602.
106. Inatomi Y, Iida N, Murata H, Inada A, Murata J, Lang FA, et al. A Pair of atropisomeric cupressuflavone glucosides isolated from *Juniperus communis* var. *depressa*. Tetrahedron Let 2005; 46: 6533-5.
 107. Nakanishi T, Iida N, Inatomi Y, Murata H, Inada A, Murata J, et al. A monoterpene glucoside and three megastigmane glycosides from *Juniperus communis* var. *depressa*. Chem Pharm Bull 2005; 53(7) : 783-87.
 108. Martin AM, Queiroz EM, Marston A, Hostettmann K. Labdane diterpenes from *Juniperus communis* L. berries. Phytochem Analysis 2006; 17 : 32-5.
 109. Uçar G, Balaban M. The composition of volatile extractives from the wood of *Juniperus excelsa*, *Juniperus foetidissima* and *Juniperus oxycedrus*. Holz Roh Werkst 2002; 60 : 356-62.
 110. Kocakulak E. Yüksek Lisans. *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sibth. and Sm.) Ball. Uçucu Yağı Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. Ankara: Gazi Üniversitesi; 1999.
 111. Kocakulak E. Doktora. *Juniperus drupacea* Lab. Uçucu Yağı Üzerinde Araştırmalar. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2007.
 112. Johanson W, reviewed by cosmetic ingredient review expert panel, final report on the safety assesment of *Juniperus communis* extract, *Juniperus oxycedrus* extract, *Juniperus oxycedrus* tar, *Juniperus phoenicea* extract, and *Juniperus virginiana* extract. Int J Toxicol 2001; 20(2) : 41-56.
 113. U.S. Food and Drug Administration, FDA poisonous plant database [online] 2008 [cited 2011 Jan 21] Available from: URL: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/plantox/detail.cfm?id=10013>
 114. Hoch JH. Poisonous plants of South Carolina. J S Carol Med Assoc, 1965; 61 : 68-70.
 115. U.S. Food and Drug Administration, Code of Federal Regulations Title 21, [online] 2010 [cited 2011 Jan 21] Available from: URL: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm>

116. Craig AM, Karchesy JJ, Blythe LL, Gonzaler-Hernandez MP, Swan LR. Toxicity studies on western juniper oil (*Juniperus occidentalis*) and port-orford-cedar oil (*Chamaecyparis lawsoniana*) extracts utilizing local lymph node and acute dermal irritation assays. *Toxicol Lett* 2004; 154 : 217-24.
117. European Medicines Agency Evaluation of Medicines for Human Use, Committee on Herbal Medicinal Products, Community Herbal Monograph on *Juniperus communis* L., Pseudo-Fructus. [online] 2009 [cited 2011 Jan 21] Available from: URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_Community_herbal_monograph/2010/01/WC500059121.pdf
118. Kılınç İ. Tıpta Uzmanlık. Gliklazid ve insülin tedavisinin streptozotosinle diabet oluşturulmuş rat hipokampus NMDA reseptör subtip konsantrasyonlarına etkisi. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi; 2003.
119. Yılmaz T. Diyabet'te yeni vizyon, yeni hedefler ve çözüm yolları: Diyabet 2020 platformu. *MİSED* 2010; 23–24 : 57-61.
120. Karakoç A, Konca C. Diabetes mellitus'ta insülin tedavisi. *MİSED* 2010; 23–24 : 14-8.
121. Ayvaz G, Kan E. Tip 2 Diabetes mellitus tedavisinde oral antidiyabetik ilaçlar: Tip 2 Diabetes mellitus tedavisi. *MİSED* 2010; 23–24 : 8-13.
122. Roerig, Division of Pfizer Inc., Glucotrol XL® (Glipizide) Extended Release Tablets For Oral Use. [online] 2009 [cited 2011 Feb 06] Available from: URL: http://www.pfizer.com/files/products/uspi_glucotrol_xl.pdf
123. Karasu Ç, Altan VM. Diabet ouşturan ilaçlar ve kimyasal maddeler, eczacılıkta yenilikler. Ankara: Ankara Üniversitesi Matbaası; 1986. p.80-86.
124. Jamall IS, Smith JC. Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and lipid peroxidation in the rat heart: a possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicol Appl Pharm* 1985; 80 : 33-42.
125. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95 : 351-8.

126. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total protein-band and nonprotein sulfhydryl group in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968; 25 : 192-205.
127. Expert Panel on Enzyme of the IFCC. *Clin Chim Acta* 1976; 70 : F19.
128. Scandinavian Society for Clinical Chemistry. Committee on ezymes, recommended methods for the determination of four enzymes in blood. *Scand J Clin Lab Invest* 1974; 33 : 291.
129. German Society for Clinical Chemistry. Standard method for determination of alkaline phosphatase (ALP) activity. *J Clin Chem Clin Bio* 1972; 10: 290.
130. Enrich LB, Scheuermann ML, Mohadjer A, Matthias KR, Eller CF, Newman MS et al. *Liquidambar styraciflua*: a renewable source of shikimic acid. *Tetrahedron Lett* 2008; 49 : 2503-5.
131. Hattori S, Yoshida S, Hasegawa M. Occurence of shikimic acid in the leaves of gymnosperms. *Physiol Plantarum* 1954; 7 : 283-9.
132. Bohm BA. Shikimic acid (3,4,5-Trihydroxy-1-cyclohexene-1-carboxylic acid). *Chem Rev* 1965; 65 (4) : 435–66.
133. Baderschneider B, Winterhalter P. Isolation and characterization of novel benzoates, cinnamates, flavonoids, and lignans from Riesling wine and screening for antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 2001; 49(6) : 2788-98.
134. Özgen U, Kaya Y, Coşkun M. Ethnobotanical studies in the villages of the district of Ilica (province Erzurum), Turkey. *Econ Bot* 2004; 58(4) : 691-6.
135. Garg A. High monounsaturated-fat diets for patients with Diabetes mellitus: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1998; 67 : 577-82.
136. Shah M, Adams-Huet, B, Brinkley L, Grundy SM, Garg A. Lipid, glycemic, and insulin responses to meals rich in saturated, cis-monosaturated, and polyunsaterated (n-3 and n-6) fatty acids in subjets with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30 : 2993-8.
137. Mohan IK, Das UN. Prevention of chemically induced Diabetes mellitus in experimental animals by polyunsaturated fatty acids. *Nutrition* 2001; 17: 126–51.

138. Rodriguez RR, Cattaneo P, Houssy BA, Uno B. Unsaturated fatty acids and alloxan diabetes. *The Journal of Nutrition* 1953; 51(3) : 441-8.
139. Morgan NG, Dhayal S, Diakogiannaki E, Welters HJ. The cytoprotective actions of long-chain mono unsaturated fatty acids in pancreatic β -cells. *Biochem Soc Trans* 2008; 36 : 905-8.
140. Suresh Y, Das UN. Long chain polyunsaturated fatty acids and chemically induced Diabetes mellitus: effect of ω -6 fatty acids. *Appl Nutr Invest* 2003; 19 : 93-114.
141. Sirtori CR, Galli C. N-3 fatty acids and diabetes. *Biomed Pharmacother* 2002; 56 : 397-406.
142. Ide T, Kushiro M, Takahashi Y. Dietary mold oil rich in gamma linolenic acid increases insulin-dependent glucose utilization in isolated rat adipocytes. *Comp Biochem Physiol B* 2001; 130 : 401-409.
143. Ibrahim GA, Natarajan S. Substituting dietary linoleic acid with α -linolenic acid improves insulin sensitivity in sucrose fed rats. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1733 : 67-75
144. Zhou XR, Sun CH, Liu JR, Zhao D. Dietary conjugated linoleic acid increases PPAR γ gene expression in adipose tissue of obese rat, and improves insulin resistance. *Growth Hormone IGF Res* 2008; 18 : 361-368.
145. Eijkman JF. Sur les principes constituants de l'*Illicium religiosum* (Sieb.) (shikimi-no-ki en japonais). *Rec Trav Chim Pays Bas* 1885; 4 : 49.
146. Evans WC. Trease and Evans' Pharmacognosy. 16th ed. London: Saunders Ltd.; 2009.
147. Hutzler P, Fischbach R, Heler W, Jungblut TP, Reuber S, Schmitz R, et al. Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. *J Exp Bot* 1998; 49(323) : 953-65.
148. Carnachan S, Harris PJ. Ferulic acid is bound to the primary cell walls of all gymnosperm families. *Biochem Syst Ecol* 2000; 28 : 865-79.
149. Bianco A, Ramunno A. The chemistry of *Olea europaea*. In: Atta-ur-Rahman editor. *Studies in natural products chemistry*. 2006; 33 : 859-903.

150. Sasak W, Mankowski T, Chojnacki T, Daniewski WM. Polyphenols in *Juniperus communis* needles. FEBS Lett 1976; 64(1) : 55-8.
151. Ohnishi M, Matuo T, Tsuno T, Hosoda A, Nomura E, Taniguchi H et al. Antioxidant activity and hypoglycemic effect of ferulic acid in STZ-induced diabetic mice and KK-A^y mice. BioFactors 2004; 21 : 315–9.
152. Jung EH, Kim SR, Hwang IK, HA TY. Hypoglycemic effects of a phenolic acid fraction of rice bran and ferulic acid in C57BL/KsJ-db/db mice. J Agric Food Chem 2007; 55 : 9800–4.
153. Son MJ, Rico CW, Nam SH, Kang MY. Effect of oryzanol and ferulic acid on the glucose metabolism of mice fed with a high-fat diet. J Food Sci 2011; 76(1) : 7-10.
154. Akarca US. Karaciğer Fonksiyon Testi Yüksekliğine Tanısal Yaklaşım. 9. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi [online]. 2007. [cited 2011 Feb 15] Available from : URL : <http://www.tihud.org.tr/uploads/content/kongre/9/9.54.pdf>
155. Zheng C, Yang D, Xu Q, Wei G. Experimental studies on the effect of shikimic acid on the blood lipid-and hemorrheology in atherosclerosis rats. Zhongguo Yaoshi 2010; 13(10) : 1394-6.
156. Sakaguchi I, Ishimoto H, Matsuo M, Ikeda N, Minamino M, Kato Y. The water-soluble extract of *Illicium anisatum* stimulates mouse vibrissae follicles in organ culture. Exp Dermatol 2004; 13 : 499-504.
157. Insulin-like growth factor 1 [online]. 2011. [cited 2011 Apr 2] Available from: URL : http://en.wikipedia.org/wiki/Insulin-like_growth_factor_1.
158. Brewster D, Jones RS, Parke DV. The metabolism of shikimate in the rat. Biochem J 1978; 170 : 257-64.
159. Ahn JH, Cho SY, Ha JD, Kang SK, Jung SH, Kim HM et al. Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors: catechols. Bull Korean Chem Soc 2003; 24(10) : 1505-8.
160. Gray AM, Flatt PR. Nature's own pharmacy: the Diabetes perspective. Proc Nutr Soc 1997; 56 : 507-17.

161. Hemmerle H, Burger HJ, Below P, Schubert G, Rippel R, Schindler PW et al. Chlorogenic acid and synthetic chlorogenic acid derivatives: novel inhibitors of hepatic glucose-6-phosphate translocase. *J Med Chem* 1997; 40(2) : 137-45.

10. EKLER

Etik Kurul İzin Belgesi



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Deney Hayvanları Etik Kurul Kararları

27.12/2006

SAYI : B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/134-18797
KONU:

Sayın

Prof.Dr.Fatma ERGUN
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmakognozi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-06.087 kod numaralı ve “Şeker Hastalığına Karşı Halk İlacı Olarak Kullanılan *Juniperus Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar*” başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-06.087 and entitled “*Pharmacognosic Investigations On The Juniperus Species Used As Folk Medicine For Diabetes Mellitus*” is in compliance with Gazi University Ethical Council regulations.

With my best regards,

Prof.Dr.Gökhan ALPAŞLAN
Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı
Chairman
Gazi University Experimental Animals Ethical Council

Prof.Dr.Engin ÇALGÜNER

Prof.Dr.Nedret KILIÇ

Prof.Dr.Sevil PEHLİVAN

Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN

Prof.Dr.Deniz ERBAŞ

Prof.Dr.Fatma AKAR

Prof.Dr.Altan DOĞAN

Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU

Uz.Vet.Hek.Şeyda DİKER

Tez çalışmalarım sırasında her türlü desteği ile yanımda olan, bana Farmakognozi yanında hayat dersleri de veren, örnek aldığım Değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Fatma ERGUN'a teşekkürlerimi sunarım.

Desteği ve hoşgörüsü için Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Hocam Prof. Dr. Turhan BAYKAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında her aşamada yanımda olan, desteği ve paylaştığı fikirler ile bu tezi daha değerli kılan Sayın Hocam Doç. Dr. Mustafa ASLAN'a teşekkür ederim.

Bana Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü'ndeki laboratuvarını açan, izolasyon çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen, değerli zamanını bana ayıran, NMR spektrumlarımın çekilmesi ve yorumlanmasındaki yardımlarını hep hatırlayacağım Sayın Hocam Prof. Dr. Erdal BEDİR'e,

Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi analizlerini beraber yürüttüğüm Prof. Dr. Betül DEMİRCİ'ye, sağladıkları imkân ve yardımlarından ötürü Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve yardımcılara,

Kütle spektrumlarının çekilmesindeki yardımı için Sayın Hocam Öğr. Gör. Dr. Murat ŞÜKÜROĞLU'na, biyokimyasal parametrelerin tayini sırasındaki özverili çalışması ve yardımları için Veteriner Hekim Dr. Mert PEKCAN'a, antioksidan aktivite çalışmalarında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Değerli Hocam Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN'a, tezim sırasında yardımları ve bana karşı gösterdikleri anlayış için ana bilim dalımızdaki tüm öğretim üyelerine ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bugüne dek beni her kararımda destekleyen, hep yanımda olan, beni yüreklendiren sevgili aileme ve akademik kariyere başlamamda büyük pay sahibi olan, bana sabrı ve olgunluğu öğreten sevgili hayat arkadaşım Uzm. Ecz. Çağlar ORHAN'a minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

Adı: Nilüfer

Soyadı: ORHAN

Doğum Yeri ve Tarihi: Ankara, 21.06.1980

Eğitimi:

2011-2005 Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda Doktora

2002-2004 Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Programı'nda Yüksek Lisans

2002 Aralık Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak atandı.

2002 Eylül Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Programı'nda Yüksek Lisans çalışmalarına başladı.

1998-2002 Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara

1991-1998 Atatürk Lisesi (Anadolu Kısmı), Ankara

1986-1991 Sarar İlkokulu, Ankara

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Farmakognozi ve Fitoterapi Derneği, Türk Fitoterapi Derneği, Phytochemical Society of Europe (PSE), Society of Medicinal Plant Research (GA)

Bilimsel Etkinlikleri:

Aldığı Burslar ve Ödüller:

Teşvik ödülleri: Science Citation Index'e kaynak teşkil eden dergilerde yayınlanan makaleleri sebebiyle Gazi Üniversitesi Rektörlüğü ve TÜBİTAK tarafından teşvik ödülüne layık görülmüştür (2005-2010).

Kongre destekleri: Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi ve TÜBİTAK tarafından ulusal (5), uluslararası (3) kongrelere katılım desteği almaya hak kazanmıştır.

Diğer: İçerik açısından en iyi poster ödülü: XVIII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 16-18 Ekim, İstanbul, 2008.

Farmakognozi ve Fitoterapi Derneği tarafından seçilen en iyi sözlü bildiri ödülü: XIX. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 27-30 Ekim Mersin, 2010.

BİHAT Organizasyon Komitesi tarafından seçilen en iyi sözlü bildiri ödülü: XIX. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 27-30 Ekim Mersin, 2010.

Projeleri:

1. Ergun F., Deliorman Orhan D., Yeşilada E., Ergun E., Aslan M., Orhan N.: “*Vitis vinifera* Yapraklarının Biyolojik Etkileri Üzerine Araştırmalar”, Proje Kodu: 02/2004-14, GÜBAP.
2. Ergun F., Deliorman Orhan D., Aslan M., Orhan N., Pekcan M.: “Şeker Hastalığına Karşı Halk İlacı Olarak Kullanılan *Juniperus* Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar” Proje Kodu: 02/2007-07, GÜBAP.
3. Aslan M., Şen İ., Batur A.F., Orhan N., Işık Gönül İ.: “Halk Arasında Böbrek Taşlarına Karşı Kullanılan *Helichrysum* Türlerinin Etilen Glikol Nedenli Nefrolitiazise Karşı İn vivo Etkilerinin Araştırılması” Proje Kodu: 02/2010-06, GÜBAP. (Devam ediyor)