



***SIDERITIS GERMANICOPOLITANA* SUBSP. *VIRIDIS* HAUSSKN. EX.
BORNM. BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL İÇERİĞİNİN VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Dilek KRCKOVSKA

Eskişehir 2022

***SIDERITIS GERMANICOPOLITANA* SUBSP. *VIRIDIS* HAUSSKN. EX.
BORNM. BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL İÇERİĞİNİN VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Dilek KRCKOVSKA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fatih GÖGER

Eskişehir

**Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

Ocak 2022

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Dilek KRCKOVSKA'nın “*Sideritis germanicopolitana* subsp. *viridis* Hausskn. ex. Bornm. Bitkisinin Fitokimyasal İçeriğinin ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi” başlıklı tezi .../.../... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı- Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı):	Doç. Dr. Fatih GÖGER	.
Üye:	Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU	
Üye:	Doç. Dr. Ali ŞEN	

Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

FINAL APPROVAL FOR THESIS

This thesis titled “Determinaton of the Phytochemical Content and Antioxidant Activity of The Plant *Sideritis germanicopolitana* subsp. *viridis* Hausskn. ex. Bornm. ” has been prepared and submitted by Dilek KRCKOVSKA in partial fullfilment of the requirements in “Anadolu University Directive on Graduate Education and Examination” for the Degree of Master of Science in Pharmacognosy Department has been examined and approved on .../.../....

	<u>Committee Members</u>	<u>Signature</u>
Member (Supervisor):	Assoc. Prof. Dr. Fatih GÖGER	
Member:	Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU	
Member:	Assoc. Prof. Dr Ali ŞEN	

Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ

Director

Graduate School of Health Sciences

ÖZET

Sideritis germanicopolitana subsp. *viridis* Hausskn. ex. Bornm. Bitkisinin Fitokimyasal İçeriğinin ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Dilek KRCKOVSKA

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2022

Tez danışmanı: Doç. Dr. Fatih GÖGER

Bu çalışmada, Eskişehir, Türkmen Dağı orman yolu kenarından toplanan endemik *Sideritis germanicopolitana* BORNM. subsp. *viridis* HAUSSKN. EX BORNM (Lamiaceae) türünün toprak üstü kısımlarından çeşitli polaritelerde çözücülerle hazırlanan ekstreleri ile infüzyonunun ve uçucu yağının fitokimyasal incelemesi yapılmıştır. Ekstrelerin, toplam fenolik madde miktar tayini, antimikrobiyal ve antioksidan etkileri belirlenmiştir. Antioksidan aktivite, DPPH[•] ve ABTS^{•+} radikal süpürücü etki üzerinden test edilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımları üç saat boyunca Clevenger apereyi ile su-distilasyonu'na tabi tutulmuş, elde edilen uçucu yağ ve yağ altı suyunun bileşenleri Gaz Kromatografisi ve Gaz Kromatografisi/Kütle spektrometrisi sistemi ile belirlenmiştir. Polar ekstre içerikleri Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi/ Kütle Spektrometrisi ile incelenmiştir. Uçucu yağ oksijenli seskiterpenler (%29,6), monoterpen hidrokarbonlar (%28,7), seskiterpen hidrokarbonlar (%21,9) gibi madde grupları tespit edilmiş olup, T-Murol (%18,5) ve Sabinen (%15,7) bileşikleri yüksek miktarda bulunmuştur. Polar ekstrelerde YPSK-KS/KS analizi sonrasında flavonoit ve feniletanoit glikozitlere rastlanmıştır. Ekstrelerin antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin standartlar kadar yüksek olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Sideritis germanicopolitana* subsp. *viridis*, Ekstre, Antioksidan aktivite, Antimikrobiyal aktivite, Fitokimyasal analiz.

ABSTRACT

Determinaton of the Phytochemical Content and Antioxidant Activity of The Plant
Sideritis germanicopolitana subsp. *viridis* Hausskn. ex. Bornm.

Dilek KRCKOVSKA

Department of Pharmacongosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, January 2022

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih GÖGER

In this study, essential oil, infusion and the extracts, prepared with different polarity solvents from herbal parts of endemic *Sideritis germanicopolitana* BORNM. subsp. *viridis* HAUSSKN. EX BORNM (Lamiaceae) collected from Türkmen Mountain forest road of the Eskişehir, were investigated phytochemically. The total phenolic content, antimicrobial and antioxidant effects of the extracts were determined. The antioxidant activity has been tested on DPPH[•] and ABTS^{•+} radical scavenging effect. Herbal parts of the plant were distilled with a Clevenger aparatus for three hours. The components of the essential oil and aromatic water volitelis were determined by GC and GC/MS system. Phytochemical analysis of polar extracts were determined with LC-MS/MS system. As a result of the data obtained, the extracts of our plant were evaluated in terms of phytochemicals and the components of the volatile compounds were analyzed. Among volatile compound components; Oxygenated sesquiterpenes (29,6%), monoterpene hydrocarbons (28,7%), sesquiterpene hydrocarbons (21,9%), T- Muurol (18,5%) and Sabinene (15,7) were detected in high amounts. Flavonoid and phenylethanoid glycosides were found in polar extracts. It was determined that the antioxidant and antimicrobial activity of the extracts were not as high as the standards.

Keywords: *Sideritis germanicopolitana* subsp. *viridis*, Extract, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, Phytochemical Analysis.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresi boyunca büyük destek ile sabrını ve anlayışını esirgemeyen, kadim ve değerli bilgilerini bana aktaran ve bitkimiz üzerinde çalışmalar gerçekleştirip farmakognozik bilgilerini benimle paylaşıp benden desteğini esirgemeyen sevgili tez danışmanım sayın Doç. Dr. Fatih GÖGER' e,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında değerli bilgi birikimini paylaşan ve tezimin uçucu bileşenlerinin GC ve GC/MS analizini büyük bir özveri ile gerçekleştiren ve aynı zamanda proses ve işleyiş hakkında beni bilgilendiren sayın Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU hocama,

Antimikrobiyal aktivite tayini çalışmalarında yardımcı olan bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan sayın Prof. Dr. Gökâl İŞCAN hocama,

Tez yazım aşamasında kimyasal yapılar ve şekiller hakkında beni bilgilendiren sayın ve sevgili Prof. Dr. Mehlika Dilek ALTINTOP' a,

Tez bitkimin teşhisi, toplanması ve teminini gerçekleştiren sayın Öğr. Gör. Dr. Ömer Koray YAYLACI'ya,

Dualarıyla, sevgileriyle, maddi ve manevi olarak, ilk adım attığımdan bu günümü kadar geldiğim süre boyunca beni destekleyen, yanımda olan, benimle birlikte sevinip benimle birlikte üzülen, kendilerinden ve her şeyden önce beni düşünen canım dedem ve babaanneme, bu yaşıma kadar desteğim olan, fiziksel olarak yanımda olamasa bile ruhu ile dualarıyla yanı başımda olan canım babama, motive eden ve beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, şu hayattaki en sağlam dayanağım olan canım kardeşim Fatih KRCKOVSKI' ye ve bu günlere gelmem için beni teşvik eden sevgili anneme ve burada saymayı unuttuğum ve benim bugünkü Dilek olmamı sağlayan herkese teşekkürlerimi sunuyorum.

Dilek KRCKOVSKA

.../.../...

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmamın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı” yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Dilek KRCKOVSKA

.../.../...

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

I hereby truthfully declare that this thesis is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “scientific plagiarism detection program” used by Anadolu University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

Dilek KRCKOVSKA

İÇİNDEKİLER

Sayfa

JÜRİ ENSTİTÜ ONAYI.....	i
FINAL APPROVAL FOR THESIS.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
GÖRSELLER DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
TABLolar DİZİNİ.....	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Botanik bilgiler.....	4
2.1.1. Lamiaceae Familyasının Genel Özellikleri.....	4
2.1.2. <i>Sideritis</i> cinsi.....	5

Sayfa

2.1.3. *Sideritis germanicopolitana* subsp.
viridis HAUSSKN. EX BORNH. Türünün

Taksonomik Hiyerarşisi.....	7
2.1.4. Türkiye’de Yetişen <i>Sideritis</i> Türleri.....	7
2.1.5. <i>S. germanicopolitana</i> subsp.viridis	9
2.2. <i>Sideritis</i> Türlerinin Fitokimyasal Özellikleri	10
2.2.1. Flavonoidler	11
2.2.2. Glikozitler	12
2.2.2.1. Feniletanoid glikozitler	13
2.2.3. Uçucu bileşikler	14
2.2.4. Diğer bileşikler	15
2.3. Farmakolojik aktivite	16
2.3.1. Antioksidan aktivite	17
2.3.2. Antimikrobiyal aktivite	19
3. YÖNTEM.....	20
3.1. Bitki Materyali	20
3.2.Kimyasal Maddeler ve Cihazlar.....	21
3.2.1. Kimyasal maddeler	21
3.2.2. Cihazlar	21
3.3. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması	22
3.4. Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini	25
3.5. Gaz kromatografisi- Gaz kromatografisi/ Kütle Spektrometrisi ile Uçucu Bileşenlerinin Belirlenmesi.....	28
3.6. Antioksidan Aktivite Tayinleri	28
3.6.1. DPPH* (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini süpürücü etki tayini.....	28
3.6.2. ABTS ⁺ radikal katyonu süpürücü etki tayini	29
3.6.3. Ekstrelerin enolik profillerinin LC-MS/MS ile belirlenmesi.....	30
3.7. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	31

Sayfa

4. BULGULAR.....	32
4.1. Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini ve Ekstraksiyon	
Verimleri.....	32
4.2. Antioksidan Aktivite Çalışmaları	33
4.3. Ekstrelerin Fenolik İçeriğinin LC-MS/MS ile Belirlenmesi... .	35
4.4. <i>Sideritis germanicopolitana</i> subsp. <i>viridis</i> türünün Uçucu	
Yağ Tayini.....	55
4.4.1. <i>Sideritis germanicopolitana</i> subsp. <i>viridis</i> türünün	
uçucu yağ bileşenleri	55
4.4.2. <i>Sideritis germanicopolitana</i> subsp. <i>viridis</i> türünün yağ	
altı suyu bileşenleri tayin sonuçları	57
4.4.3. Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/	
Kütle Spektrometrisi (GC/MS) Analiz şartları.....	58
4.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Sonuçlarının	
Değerlendirilmesi.....	59
5. SONUÇ.....	60
6. TARTIŞMA	61
6.1. Antioksidan Aktivite Tayinleri.....	61
6.2. Uçucu Yağ Profili.....	61
6.3. Polar Ekstrelerin LC-MS/MS analizleri.....	62
KAYNAKÇA	63
ÖZGEÇMİŞ	

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1.	<i>Sideritis germanicopolitana</i> subsp. <i>viridis</i>	
	ekstresine ait LC-MS/MS analiz sonucu.....	36
Çizelge 4.2.	DMSO’lu ekstrelenin <i>Candida</i> suşları üzerinde	
	antimikrobiyal etkisi.....	59



GÖRSELLER DİZİNİ

		<u>Sayfa</u>
Görsel 2.1.	<i>Sideritis germanicopolitana</i> subsp. <i>viridis</i> türünün Türkiye haritası üzerinde dağılımı.....	9
Görsel 2.2.	<i>Sideritis germanicopolitana</i> subsp. <i>viridis</i> bitkisi....	10
Görsel 2.3.	Feniletanoit glikozit iskelet yapısı.....	13
Görsel 2.4.	Verbaskozit bileşiğinin kimyasal yapısı.....	14
Görsel 3.1.	<i>Sideritis germanicopolitana</i> subsp. <i>viridis</i> Hausskn. ex. Bornm türüne ait herbaryum örneği.....	20
Görsel 3.2.	Rotary Evaporator/Rotavapor (BUCHI, Switzerland).....	23
Görsel 3.3.	<i>Sideritis germanicopolitana</i> subsp. <i>viridis</i> türünün toprak üstü kısımlarından hazırlanan %10'luk infüzyon	24
Görsel 3.4.	<i>Sideritis germanicopolitana</i> subsp. <i>viridis</i> türünün toprak üstü kısımlarının herbalarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ.....	25
Görsel 3.5.	Toplam fenolik madde miktar tayini'nde kullanılan 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın üzerinde ilk tatbikten sonra ortaya çıkan görüntü.....	26
Görsel 3.6.	Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini'nde kullanılan 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın 2 saat karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletildikten	
		<u>Sayfa</u>

	sonra ortaya çıkan görüntüsü.....	27
Görsel 3.7.	96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın dolumunda kullanılan ekipmanlar.....	27
Görsel 3.8.	DPPH [•] süpürücü etki tayininde 10 mg/mL konsantrasyonda eklenen örneklerin 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakadaki görüntüsü.....	29
Görsel 3.9.	ABTS ^{•+} süpürücü etki tayininde kullanılan 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın görüntüsü....	30
Görsel 3.10.	96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın üzerinde turkuaz renk ile işaretlenen <i>C. albicans</i> ' ın tatbik edildiği kısım.....	31

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1.	Gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	32
Şekil 4.2.	Polar ekstrelerin toplam fenolik madde içeriği.....	32
Şekil 4.3.	Ekstrelerin DPPH• radikal süpürücü etki değerleri...	33
Şekil 4.4.	ABTS ⁺⁺ inhibisyon deneyinde troloks'un kalibrasyon denklemi sonuçları.....	34
Şekil 4.5.	Polar ekstrelerin LC-DAD kromatogramları.....	35
Şekil 4.6.	Disakkarit.....	37
Şekil 4.7.	Kinik asit.....	38
Şekil 4.8.	Bilinmeyen 1.....	39
Şekil 4.9.	3-Kafeoilkinik asit (klorojenik asit)	40
Şekil 4.10.	Ekinakozit.....	41
Şekil 4.11.	Forsitozit B.....	42
Şekil 4.12.	Verbaskozit.....	42
Şekil 4.13.	Ksantomikrol heksozit.....	43
Şekil 4.14.	Kafeik asit türevi.....	44
Şekil 4.15.	Kafeik asit heksozit.....	45
Şekil 4.16.	Forsitozit A.....	46
Şekil 4.17.	4'-O-Metillizoskutellarein-7-O-allozil (1→2) glukozit.....	46

Sayfa

Şekil 4.18.	4'-O-Metillizoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]-	
-------------	---	--

	<i>allozil (1-2) glukozit.....</i>	47
Şekil 4.19.	<i>Leucoptozit A.....</i>	48
Şekil 4.20.	<i>İzoskutellarein 7-O-allozil (1-2) glukozit.....</i>	49
Şekil 4.21.	<i>Apigenin glukozit.....</i>	50
Şekil 4.22.	<i>Apigenin 7-O-[6''-O-acetyl]-allosyl(1 -2) glukozit....</i>	50
Şekil 4.23.	<i>Apigenin rutinozit.....</i>	51
Şekil 4.24.	<i>İzoskutellarein / luteolin 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil</i> <i>(1-2) glukozit.....</i>	52
Şekil 4.25.	<i>Bilinmeyen 2.....</i>	53
Şekil 4.26.	<i>Sirsimaritin.....</i>	53
Şekil 4.27.	<i>Ksantomikrol benzeri bileşik.....</i>	54
Şekil 4.28.	<i>Gardenin benzeri bileşik.....</i>	54

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1.	Taksonomik hiyerarşi.....	7
Tablo 2.2.	Türkiye’de halk arasında bazı <i>Sideritis</i> türlerine verilen isimler.....	7
Tablo 2.3.	Bazı <i>Sideritis</i> türlerinin bölgesel olarak gösterdikleri dağılım.....	9
Tablo 2.4.	<i>Sideritis</i> türlerinden izole edilen flavonoitlerin yapı ve aktiviteleri.....	12
Tablo 2.5.	Türkiye’de yetişen bazı <i>Sideritis</i> türlerinin gösterdiği farmakolojik aktiviteler.....	16
Tablo 4.1.	<i>Sideritis germanicopolitana</i> subsp. <i>viridis</i> türünün uçucu yağ bileşenleri.....	55
Tablo 4.2.	<i>Sideritis germanicopolitana</i> subsp. <i>viridis</i> türünün yağ altı suyu bileşenleri.....	57

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS^{•+} 2,2'-Azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)

ACET	Asetik asit
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolienesteraz
AMP-B	Amfoterisin- B
ATTC	American Type Culture Collection
BCBT	β - karoten ağartma testi
CLSI	Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü
COX	Siklooksijenaz enzimi
dk	Dakika
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DPPH [*]	1,1- Difenil-2-pikrilhidrazil radikali
ESI	Elektro Sprey İyonlaşma
FCR	Folin- Ciocalteu Reaktifi
FID	Alev İyonlaşma Ddektörü
GA	Galik Asit
GAE	Galik Asit'e Eşdeğer Miktar
GK/KS	Gaz Kromatografisi /Kütle Spektrometrisi
GİS	Gastrointestinal Sistem
HIV	İnsan Bağışıklık Yetme4zliği Virüsü
YPSK	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HS-GC	Headspace Gaz kromatografisi

IC50	%50 İnhibisyon Gösteren Değer
KETO	Ketokonazol
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometrisi
LOX	Lipooksijenaz enzimi
<i>m/z</i>	kütle/yük
MeOH	Metanol
MET	Metanol
MIK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MS ²	Fragmentler
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NCCLS	National Comitee for Clinical Laboratory Standards
PDA	Patato Dextrose Agar
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Besiyeri
RRI	Relatif Tutunma İndeksi
S.	<i>Sideritis</i>
SGA	Sabouraud Glucose Agar
TEAC/TEAK	Troloks'a Eşdeğer Antioksidan Kapasite
TRAP	Toplam Radikal Yakalama Parametresi
TY	Tanımlama Yöntemi
UV	Ultraviyole

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Antik çağlardan ve insanlığın var oluşundan beri insanlar tıbbi bitkileri tedavi amaçlı kullanmaktadırlar. Bu amaçla hazırlanan; ekstreler, çaylar ve merhemler kullanılmışlardır. (Şimşek Sezer ve Uysal, 2021)

Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyası tıbbi kullanımı olan ve aromatik bitkilerin de bulunduğu yaklaşık 7200 tür ve 240 cinsi içermektedir. Familyadaki bitkilerin önemli bir kısmı, yüzyıllardır geleneksel tıp alanında, hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Bu amaçla, ağırlıklı olarak aromatik bitkilerin; ekstreleri, uçucu yağları, izole bileşenleri (fenolik ve terpenik) kullanılmaktadır. Günümüzdeki güncel literatür verileri bu familyadaki bitkilerin; antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal etkinliğini ortaya koymaktadır. Familyaya ait bazı türlerin ise gıda takviyesi olarak kullanımı önerilmektedir. Gıda veya gıda katkı maddesi olarak (baharat şeklinde) kullanılacak bazı Lamiaceae türleri; kardiyovasküler sistem hastalıklarını, diyabet ve kanser oluşum riskini önleyebilmektedir (Patrignani vd., 2021). *Sideritis* türlerinin; gastroprotektif, sitotoksik ve nöroprotektif özelliklerinin olduğu ve hiperpigmentasyonda da etkili olabildiği saptanmıştır (Ceylan vd., 2021).

Sideritis latince adını, metallerin neden olduğu yaraları iyileştirmek için kullanılması sebebiyle Yunanca demir anlamına gelen “σίδηρο” kelimesinden türetilerek almıştır (Bardakci vd., 2020). Zira o dönemlerde demir silahlardan yaralanmalar gerçekleştiğinde, yaraları iyileştirmede *Sideritis* cinsine ait bitkilerin kullanılmaktaydı. Türkiye’de geleneksel kullanımda “dağ çayı” veya “yayla çayı” olarak bilinen *Sideritis* türleri, başlıca Akdeniz bölgesinde dağılım gösteren çok yıllık olup ve %80’i endemik olan 143 türle temsil edilir. Tıbbi kullanımı olan *Sideritis* türü; Avrupa ve Türkiye’de toprak üstü kısımlarının çay şeklinde demlenmesi ile başta sindirim sistemi rahatsızlıkları olmak üzere öksürük kesici ve soğuk algınlığı tedavisinde kullanılmaktadır (Ceylan vd., 2021).

Sideritis türleri; antimikrobiyal, sindirim sistemi üzerine etkileri ve antiinflamatuvar özellikleri nedeni ile Balkanlar ve Doğu Akdeniz’in geleneksel tıbbında da kullanılmıştır. Selanik’in çayları ise; hazımsızlık, anemi, ateş, grip, soğuk algınlığı tedavisinde, idrar söktürücü ve tonik olarak kullanılmaktadır. Bronş ve bronşiyal astımda, soğuk algınlığında ve akciğer amfizeminde sıklıkla kullanılan *Sideritis* türü; *Sideritis raeseri* ve *S. scardica* aynı zamanda; inflamasyonda, Gastrointestinal Sistem (GİS) bozukluklarında, aneminin önlenmesinde kullanılmaktadır. *S. scardica* ve *S. euboea*, demans hastalarında faydalı olduğu

kadar sağlıklı yetişkinlerde de hafızanın iyileştirilmesi için etkili bulunmuştur. *S. clandestina* çayı, anksiyeteye karşı önerilmektedir. Yapılan araştırmalar *Sideritis* türlerinde farklı fitokimyasal profillerin varlığını göstermektedir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada Balkanlardan toplanmış *Sideritis* türlerindeki polifenolik profillerin, tür farklılığından daha ziyade çevresel ve coğrafi faktörlere göre değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Obón vd., 2021).

Taksonomik olarak sınıflandırmada, *Sideritis* türlerinin hibridizasyon ve ekotip varyasyonu fazla olduğundan, kemotaksonomik tanımlanması açısından ikincil metabolitlerin ayırt edilmesi ve diterpenoit ve flavonoit içeriğinin aydınlatılması, karışıklığı önlemek açısından önem taşımaktadır. (http-1)

Oksidasyon reaksiyonları canlı organizmalarda yaşamsal faaliyetleri sürdürmek adına önem arz etmektedir. Fakat aşırı oksidasyon faaliyeti, zararlı sonuçlara sebebiyet vermektedir. Serbest radikallerin fazla oranda üretimi, endojen kaynaklı antioksidanların seviyesindeki azalmalar, oksidatif stresin artışına, hücresel boyutta ve organlar düzeyinde hasarlara neden olmaktadır (Bessada vd.; 2015, Sevindik, 2015).

Elektronlar atomların orbitallerinde çiftler halinde birbirleriyle kararlı bir yapı oluşturacak şekilde bulunurlar. Kararlı yapının bozulması ile serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller elektron çiftini oluşturan elektronlardan bir tanesinin ortamdan uzaklaşması ile kararsız hale gelen diğer elektron çiftinin bağ kurma ihtiyacından meydana gelir. Bu anlamda bir serbest radikal bir veya birden fazla eşleşmemiş elektrona sahiptirler. Bağlanma ihtiyacı içindeki elektron diğer moleküller ile veya canlı hücresi içinde oluşan metabolizma süreçlerinde açığa çıkan yapılar ile eşleşme eğilimi göstererek ilgili yapılardan elektron veya hidrojen koparmak veya doğrudan bağlanmak suretiyle etki gösterirler. Böylelikle kararsız yapılarını sonlandırırlar. Fakat bu durumda elektronunu veya hidrojen atomunu kaybeden gruplar serbest radikal haline gelebilir. Bu durum bir zincirleme reaksiyona sebep olur Bazen serbest radikaller bu kararsızlıklarını DNA üzerine bağlanarak sonlandırırlar ki bu durumda canlı dokular üzerinde kanser oluşumuna sebep olabilir. Serbest radikaller, radikal olmayan özellikteki moleküllere kendilerini oldukça reaktif hale getirerek atak gerçekleştirirler ve son orbitallerinde bulunan eşleşmemiş elektron açığını bu şekilde kapatırlar. Bu durumda radikal olmayan farklı moleküller ile hızlı bir biçimde reaksiyon başlatırlar ve diğer moleküllerden de elektron transfer ederek onların da radikal hale gelmesine vesile olarak zincirleme bir reaksiyonun başlamasına sebep olurlar (Ayçiçek, 2021; Göger, 2007).

Yapılan araştırmalarda, oksidatif stresin patofizyolojik durumların gelişiminde önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Yüksek stres koşulları altında insan vücudu, enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlardan daha yüksek miktarda reaktif oksijen ve nitrojen türleri (ROS/RNS) üretmektedir. Üretilen yüksek miktardaki reaktif oksijen ve reaktif nitrojen neticesinde, hücre hasarı ve sayısız sağlık problemi oluşabileceği tespit edilmiştir. Oksidatif stres neticesinde oluşan fizyolojik dengesizlik; nörodejeneratif (Alzheimer hastalığı, Parkinson, beyin tümörü), kardiyovasküler hastalıklar (kalp-damar sistemi üzerine (ör: aterosklerotik plak oluşumları)), kronik iltihaplı hastalıklar, diyabet, bazı kanser türleri ve aynı zamanda erken yaşlanmaya zemin hazırlamaktadır. Endojen kaynaklı antioksidan savunma sistemi patolojik koşullar altında, artan hücresel oksidatif türlerin seviyelerini dengelemek için yeterli değildir. Endojen antioksidan savunma sistemlerinin etkilerinin yetersizliğini dengelemek adına, genel antioksidanların güçlendirilmesi ve eksojen antioksidanların uygulanması, stres durumunda antioksidan yanıtı iyileştirebilir. Antioksidanlar serbest radikaller ile kendileri etkileşime girerek bu radikallerin hasar verici yollarını önler ve terapötik bir etki sağlarlar (Bessada vd., 2015).

Bu çalışmada, Lamiaceae familyasına ait, *S. germanicopolitana* subsp. *viridis* türünün farklı polaritedeki ekstralarına içerik kromatografik ve spektrometrik sistemler ile içerik analizi antioksidan, antimikrobiyal aktiviteleri aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla bitkinin toprak üstü kısımlarından; hekzan, etil asetat, metanol çözücüler ve %10'luk infüzyon olarak hazırlanan ekstralar hazırlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Lamiaceae Familyasının Genel Özellikleri

Lamiaceae familyası genel olarak 7200 tür ve 240 cins ile karakterizedir. (Oalđe vd, 2021). Genellikle Akdeniz bölgesinde, bazı küçük grupları ise; Güney’de ve Güneybatı Asya’da, Avustralya ve Amerika’da dağılım gösterir. Antik çağlardan beri bu, familyanın bitkileri yaygın olarak; aromatan, baharat, çay ve geleneksel ilaç olarak kullanılmışlardır. Familyaya ait bazı bitkiler ise uçucu yağ eldesinde kaynak olarak kullanılmaktadır.

Lamiaceae familyasında çiçekler yaprakların hemen koltuğunda, kümeler halinde sık bir biçimde bulunur. Tedavi amaçlı ve kozmetikte kullanılan uçucu yağların birçoğu bu familyadaki bitkilerden elde edildiğinden, uçucu yağlarca zengin önemli bir familya olarak bilinmektedir. Lamiaceae familyasındaki bitkilerin uçucu yağları, yaprak epiderması üzerindeki salgı tüylerinde bulunmaktadır. Bu familyaya karakteristik salgı tüylerinin baş kısmı, 8 hücreli pul şeklindedir. (Göger, 2007)

Morfolojik özelliklerine baktığımızda Lamiaceae familyasındaki bitkiler, tek veya çok yıllık bitki veya çalılardır. Genel olarak aromatik ve yoğun salgılıdır, sapları ise genellikle dört açılıdır. Yapraklar genellikle dekusat dizilişli ve basittir. Lamiaceae familyasının çiçekleri hermafrodit veya kısır erkek (işlevsel olarak dişi) şeklinde ve vertisillaster oluştururlar. Genellikle sivri uçlar, tepecik veya ziller şeklinde düzenlenmişlerdir. İki dudaklı veya nadiren tek dudaklı kaliksler genel olarak beş loblu ve aktinomorfiktir. İki dudaklı korollalar simpetal bazen tek dudaklı veya az çok aktinomorfiktir. Stamenler genel olarak 4 adet ve nadiren 2 tanedir. Posterior (üst) çift, anterior (alt) çifte göre nispeten daha kısadır. Olgunlaştığında eşit olarak dört loblu görünen ovaryum, superior ve çift karpelattır. Bitkiler genellikle tek stiluslu, jinobazik ve bifidtir. Tek tohumlu yemiştin, 4 adet kuru çok nadiren ise etli meyve oluşur. Meyveler şizokarp olup ve 4 nuksa ayrılmaktadır ve her nuks 1 tohumludur (Akcós, 1994). Non-glandüler (salgı bezi olmayan) veya örtü tüylerinin yanı sıra, Lamiaceae bitkilerinin yaprakları ve diğer solunum yapan kısımları sayıca fazla glandüler trikóm taşır. Lamiaceae familyasındaki bitkilerde salgılama prosesi; glandüler tüyle (kapitat tüyler) ile peltat tüylerde gerçekleşir. Uçucu yağın büyük bir kısmı glandüler kısımlarda üretilmektedir. Alt yaprak yüzeyi el merceği ile incelendiğinde, boyutları ve sayıları nedeniyle parlak sarımsı noktalar olarak görülebilirler (Kokkini, vd., 2003). Türkiye’de tıbbi kullanımı olan ve halk arasında çay

olarak tüketilen bitkilerin büyük kısmını Lamiaceae familyasındaki bitkiler oluşturmaktadır (Göger, 2007).

Lamiaceae familyası uçucu yağları taze veya kuru bitkilerin buhar veya su distilasyonuna tabi tutulmasıyla elde edilmektedir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağların kalitatif ve kantitatif özelliklerini belirleyen parametreler arasında; bitkinin toplanma zamanı, yetiştiği bölgedeki çevresel faktörler ve genetik farklılıklar yer alır. Lamiaceae familyasındaki bitkilerin genellikle aromatik kabul edilmesine rağmen bazı türleri eser miktarda uçucu yağ içermekte veya kokusuzdurlar. Uçucu yağ bakımından eser miktarda kokulu bileşik içeren bitkiler arasında *Sideritis* türleri bulunmaktadır (Kokkini vd., 2003).

2.1.2. *Sideritis* cinsi

Sideritis cinsi Türkiye’de Akdeniz bölgelerinden başlayıp Güneydoğu Anadolu bölgesine kadar varan kıyı şeridi dahil, Marmara, Ege ve İç Anadolu bölgesine kadar büyük bir alanda yayılım göstermektedir. Toroslar’da ve Güney Anadolu bölgesinde oldukça yaygındır. Türkiye’de *Sideritis* cinsinin, büyük bir önemi vardır. Deniz seviyesinden 50-2500 metre yüksekliğe kadar oldukça geniş bir alanda yayılım göstermektedir (Akcós, 1994).

Cinsin kendi türleri arasında fazla sayıda hibridizasyonu (melezlenmesi) olması nedeniyle karmaşık bir taksonomik sınıflandırma ortaya çıkmıştır. *Sideritis* türleri geleneksel olarak; besin amaçlı, tatlandırıcı (baharat olarak) veya çay şeklinde kullanılmaktadır. Bunun yanında; antioksidan, antispazmotik, antikonvülsan, antiinflamatuvar, antiülseratif, antimikriyal, analjezik, yara iyi edici ve gaz giderici gibi farmakolojik etkilerinden dolayı halk arasında tedavi edici olarak kullanılmışlardır. *Sideritis* cinsinin belirttiğimiz farmakolojik etkilerinden, yapılarında taşıdıkları; terpenler, flavonoidler, uçucu yağlar, iridoidler, kumarinler, lignanlar ve steroller gibi aktif kimyasal bileşenler sorumludur. Cinsin içerdiği; flavonoidler, diterpenler ve uçucu yağlar hemen hemen her türde bulunmakta ve bu madde grupları gözlenen *in vivo-in vitro* farmakolojik aktivitelerden sorumludurlar (González-Burgos vd., 2011).

S. scardica türü, Balkan Yarımadası’nda; soğuk algınlığı, bronşit, bronşiyal astım, akciğer amfizemi ve anemi tedavisinde kullanılmaktadır. Türkiye’de Karaisalı’da yetişen endemik tür olan *S. bilgerana*, mide ağrılarına karşı kullanılmaktadır (Zengin vd., 2019).

Sideritis türlerinin gelişimini toprağın hafif alkali özellikte olması olumu etkilemektedir. Türkiye, İspanya ve Yunanistan toprakaları bu özellikleri taşıdığı için en fazla *Sideritis* türüne ev sahipliği yapmaktadır (Dincer vd., 2017).

Cinse ait bitkiler çalimsı veya otsu ve tek yıllık ya da çok yıllıktır. Nadiren tüysüz, salgı tüyü az veya hiç yok, tomentoz ya da piloz tüylüdür ve genel olarak dallanmış, taban kısmı odunsu yükselici dik gövdeye sahiptirler. Yapraklar pennat damarlanmalı ve karşılıklı dizilişli, dekusat ve tamamen veya krenat-dentat kenarlı. Çiçek durumu vertisillastrum. Vertisillatların mesafesi birbirine yakın veya spika şeklinde kümeleşmiş ve her vertisillat toplamda 5-6 çiçekli. Brakteler tıpkı yaprak gibi kaliks tüpünü örtmüş ve tam iken brakteol mevcut değil. Kaliksler bazen bilabiat ve genellikle tubulat-kampanulat, 5 dişli 5-10 damarlı ve dişler boyut olarak birbirine eşit veya üst diş alttaki 4 diştten daha büyük. Genel olarak korollalar sarı renkte, bazen mor veya beyaz ve korolla tüpü kaliksten daha uzun. Bifit ya da tam, 3 loblu az çok dik üst dudak. Stamenler didinam, iki sıra halinde alttakiler uzun üsttekiler kısa olacak şekilde birbirine paralel, 4 adet ve korolla tüpü içerisinde. Ginobazik stilus bifit ve korolla tüpü içinde. Üst lobu saracak şekilde alt lob genişlemiş şekilde. Korolla tüpü stilus ve stamenlerden uzun. 4 gözlü ovaryum ise üst durumlu ve iki karpelli ve her göz tek ovüllü. Şizokarp meyve kuruduğu zaman 4 merikarba ayrılan, tüysüz uçta yuvarlak ve ovat. *Sideritis* cinsinin karakteristik özelliğini daha net bir şekilde belirlenmesi üzere iki alt cinsi bulunmaktadır. Bunlar;

1. Tek yıllık (*Hesiodia Benth*)
2. Çok yıllık (*Empedoclia (Rafin.) Benth*)

Tek yıllık alt cinslerde kaliksler 2 dudaklı. Brakteler yaprağa benzer ve az çok tam. 4 alt diş üst diştten daha küçük. Çok yıllık alt cinslerde kaliksler eşit dişli. Brakteler yaprak gibi değil tam ve taban kısmında odunsu bitkilerdir. Türkiye’de Flora Of Turkey (Türkiye’nin Florası)’e göre *Sideritis* cinsinden 31’i endemik olmak üzere 38 tür mevcuttur. Bunlardan 34 tür, 7 alt tür ve 2 varyete çok yıllık olup *Empedoclia* seksiyonuna ve geri kalan 4 tür ve 2 alttür tek yıllık olup *Hesiodia* seksiyonuna kayıtlıdır (Akcós, 1994).

2.1.3. *S. germanicopolitana* subsp. *viridis* Hausskn. ex. Bornm. Türünün Taksonomik Hiyerarşisi

Tablo 2.1. Taksonomik hiyerarşi (http 2)

ÜST ALEM	<i>Plantae</i>
ALEM	<i>Tracheobionta</i>
ŞUBE	<i>Magnoliophyta</i>
SINIF	<i>Magnoliopsida</i>
ALTSINIF	<i>Asteridae</i>
TAKIM	<i>Lamiales</i>
AİLE	<i>Lamiaceae</i>
CİNS	<i>Sideritis</i>
TÜR	<i>Sideritis germanicopolitana</i> Bornm.

2.1.4. Türkiye’de Yetişen *Sideritis* Türleri

Türkiye’de 52 tür *Sideritis* yetişmektedir. Bunlardan bazıları endemik olmakla birlikte Türkiye sınırları içerisinde spesifik bölgelerde dağılım göstermektedir. (http-2)

Türkiye’de yetişen bazı *Sideritis* türlerine halk arasında yerel isimler verilmiştir. Bunlardan birkaçı Tablo 2.2.’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Türkiye’de halk arasında bazı *Sideritis* türlerine verilen isimler (Akcoş,1994)

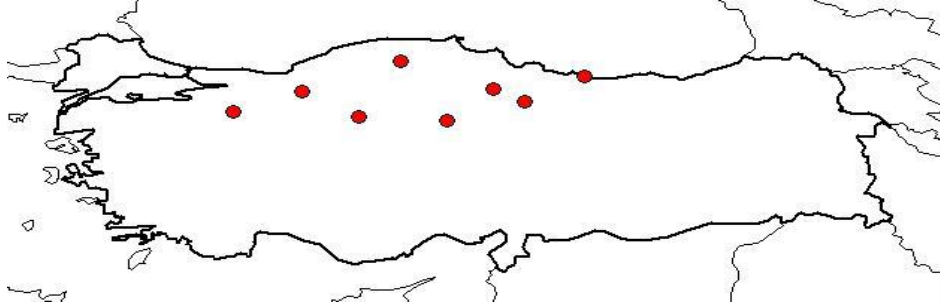
LATİNCE ADI	TÜRKÇE ADI
<i>S. ARGYREA</i> P.H. DAVIS	Eşek çayı, acı çay
<i>S. ATHOA</i> PAPANIKOLAU ET KOKKINI	Kedi kuyruğu çayı
<i>S. DICHOTOMA</i> HUTER	Sarıköz çayı
<i>S. CONGESTA</i> P.H. DAVIS ET HUB-MOR	Dağ çayı, yayla çayı
<i>S. LIBONATICA</i> LABTI	Bozla çayı, dağ çayı, yayla çayı
<i>S. LIBONATICA</i> SUBSP. <i>LINEARIS</i> (BENTH.) BORNM.	İnce çay, yayla çayı, çay otu, Altınbaş, acem arpası
<i>S. PERFOLIATA</i>	Dağ çayı, yayla çayı
<i>S. PISIDICA</i> BOISS. ET HELDR	Çay çalbası, dağ çayı, Eldivan çayı
<i>S. TMOLEA</i> P.H. DAVIS	Balbaş, Sivri çayı
<i>S. STRICTA</i> BOISS. ET HELDR	Dağ çayı
<i>S. ARGUTA</i> BOISS. ET HELDR	Dağ çayı, yayla çayı

Tablo 2.3. Bazı *Sideritis* türlerinin bölgesel olarak gösterdikleri dağılım (<http-2>)

TÜRÜN ADI	DAĞILIM GÖSTERDİĞİ BÖLGE
<i>S. amasiaca</i> BORNM. <i>S. scardica subsp scardica</i> GRISEB.	Kuzey ve Orta Anadolu Trakya, Makedonya, Arnavutluk, Yunanistan, Bulgaristan
<i>S. serratifolia</i> HUB.-MOR. <i>S. perfoliata</i> L.	Güney Anadolu Kuzeybatı/Batı ve Güney Anadolu, Yunanistan, Kıbrıs, Suriye, Lübnan
<i>S. athoa</i> PAPANIKOLAOU ET KOKKINI	Batı Anadolu, Yunanistan
<i>S. libanotica</i> LABILL. subsp. <i>violascens</i> (P.H. DAAVIS) P.H. DAVIS	Güney Anadolu
<i>S. caesarea</i> H. DUMAN, AYTAÇ ET BAŞER	Orta Anadolu
<i>S. vuralii</i> H. DUMAN ET BAŞER	Güney Anadolu
<i>S. galatica</i> BORNM.	Orta Anadolu
<i>S. trojana</i> BORNM.	Kuzeybatı Türkiye
<i>S. lanata</i> L.	Batı/Kuzeybatı/Güneybatı ve Orta Anadolu, Balkanlar
<i>S. romana</i> L. subsp. <i>romana</i> L. <i>S. curvidens</i> STAPF	Kuzeybatı Türkiye (İstanbul)
<i>S. montana</i> L. subsp. <i>montana</i> L.	Batı/Güneybatı Anadolu, Yunanistan, Kıbrıs, Lübnan
<i>S. montana</i> L. subsp. <i>remota</i> (D' URV.) P.W. BALL EX HEYWOOD	Güney/Güneybatı Avrupa, Kuzey Afrika, Güneybatı Asya ve Türkiye'nin birçok yerinde
<i>S. hololeuca</i> BOISS. ET HELDR. APUD BENTHAM	Trakya, Dış Anadolu, Orta Anadolu, Ege, Yunanistan
<i>S. phlomoides</i> BOISS. ET BAL. <i>S. sipylea</i> BOISS.	Güney Anadolu
<i>S. erythrantha</i> BOISS. ET HELDR. APUS BENTHAM varyete <i>erythrantha</i> BOISS. ET HELDR. APUS BENTHAM	Güney Anadolu (Anti-Toroslar) Batı ve orta Anadolu, Ege adaları
<i>S. brevidens</i> P. H. DAVIS	Güneybatı Anadolu
<i>S. strica</i> BOISS. ET HELDR. APUD BENTHAM	Güney Anadolu
<i>S. vulcanica</i> HUB.-MOR.	Güneybatı Anadolu
<i>S. akmanii</i> AYTAÇ, EKİCİ ET DÖNMEZ	Batı Anadolu
<i>S. tmolea</i> P. H. DAVIS	Güneybatı Anadolu
<i>S. congesta</i> P. H. DAVIS ET HUB.-MOR.	Batı Anadolu
<i>S. cilicica</i> BOISS. ET BAL.	Güney Anadolu
<i>S. niveotomentosa</i> HUB.-MOR.	Güney Anadolu
<i>S. arguta</i> BOISS. ET HELDR	Güney Anadolu
<i>S. lycia</i> BOISS. ET HELDR. APUD BENTHAM	Güney Anadolu
<i>S. leptoclada</i> O. SCHWARZ ET P. H. DAVIS	Güneybatı Anadolu
<i>S. brevibracteata</i> P. H. DAVIS	Güneybatı Anadolu
<i>S. albiflora</i> HUB.-MOR.	Güney Anadolu
<i>S. rubriflora</i> HUB.-MOR.	Güney Anadolu
<i>S. germanicopolitana</i> BORNM. susp. <i>germanicopolitana</i> BORNM.	Güney Anadolu
<i>S. germanicopolitana</i> BORNM. subsp. <i>viridis</i> HAUSSKN. EX BORNM.	Kuzey ve Orta Anadolu Kuzey ve Karasal Anadolu
<i>S. akmanii</i> AYTAÇ, EKİCİ ET DÖNMEZ	Güneybatı Anadolu

2.1.5. *Sideritis germanicopolitana* subsp. *viridis*

İç ve Kuzey Anadolu'da yetişen ve Türkiye'de endemik bir tür olan *Sideritis germanicopolitana* çok yıllık bir bitkidir.



Görsel 2.1. *Sideritis germanicopolitana* subsp. *viridis* türünün Türkiye haritası üzerinde dağılımı (http 2)

Görsel 2.1.'de harita üzerinde kırmızı nokta ile gösterildiği üzere *S. germanicopolitana* subsp. *viridis* Türkiye'de endemik olup Ankara, Amasya, Bilecik, Ordu, Tokat, Yozgat, Bolu, Kastamonu şehirlerinde yetişmektedir (http-2). *S. germanicopolitana* subsp. *viridis* bitkisinin morfolojik olarak gövdesi örtü tüysüz veya az örtü tüylü, salgı tüylü ve yeşil renktedir. *S. germanicopolitana* subsp. *viridis* ve *S. germanicopolitana* subsp. *germanicopolitana* her iki bitkinin gövdesinde tüylenme benzer özelliktedir. Bu iki alttürde yapraklar eliptik lanseolattan linear lansolata kadar farklılık gösteren şekillerde, uçlarda obtus veya akuminat tabanda rodundat veya kuneat, kenarları ise düz ya da dentikulat-serat şeklindedir. *S. germanicopolitana* subsp. *viridis* alttüründe salgı tüyleri yoğun iken örtü tüyleri az veya hiç bulunmamaktadır. Brakteler sapsız ve taban kısmında daralmış şekilde ve boyutları 1.5-6.5 x 1.4-23 cm civarındadır ve braktelerdeki salgı tüyleri yoğun miktarda, örtü tüyleri ise az veya seyrek. Türde vertisilatlar 6 çiçekli olup tepeye doğru uzadıkça çiçekler arasındaki mesafe daralmaktadır. Kaliksler 10 damarlı, tubulat, 5 dişli ve dişler kaliksin 1/3 kadar uzunlukta, tepe kısmında akut-akuminat ve yeşil renktedir. Korollalar hemen hemen aynı boyutta ve açık sarı renktedir. Nükslerin alt ve üst yüzeyleri obovat, kahverengi ve pürüzlüdür (Kaya, 1990).



Görsel 2.2. *Sideritis germanicopolitana* subsp. *viridis* bitkisi (<http-2>)

Tür üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar neticesinde sırasıyla; inflamatuvar ve Alzheimer hastalığı ile ilişkili lipoksijenaz (LOX), asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzimleri üzerindeki *in vitro* inhibitör etkiler, izole edilen saf bileşikler üzerinden test edilmiştir. (Kırmızıbekmez vd., 2021)

2.2. *Sideritis* Türlerinin Fitokimyasal Özellikleri

Yapılan çalışmalarda *Sideritis* türlerinin fitokimyasal bileşimi; monoterpenler, seskiterpenler, diterpenler, flavonoidler, feniletanoit glikozitler, iridoit glikozitler, kumarinler, fenilpropanoitler, uçucu bileşikler ve diğer bileşikler ile temsil edilmektedir (Fraga, 2012). Türkiye, Yunanistan ve İspanya olmak üzere, Akdeniz ülkelerinde; mide ülserleri, gastrit, mukoza iltihapları gibi hastalıkların tedavisinde bazı *Sideritis* türleri kullanıldığı gibi aynı zamanda; gribal enfeksiyonlarda, soğuk algınlığında da infüzyon ve çay şeklinde halk arasında tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Akcós, 1994; Kırmızıbekmez vd., 2021).

S. germanicopolitana türünün MeOH ekstresi üzerinde gerçekleştirilen fitokimyasal çalışmalarda iridoit glikozitler, feniletanoit glikozitler, flavonoidler ve lignanlara ait 14 sekonder metabolit tespit edilmiştir (Kırmızıbekmez vd., 2021).

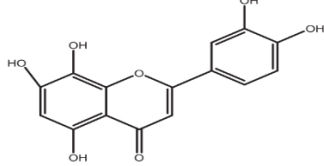
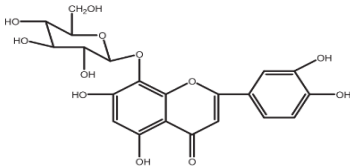
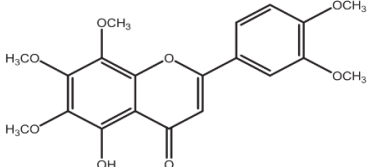
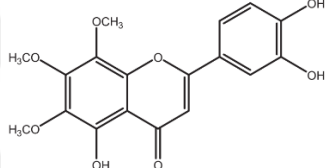
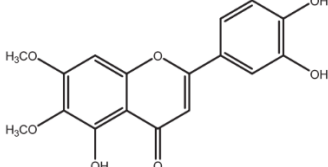
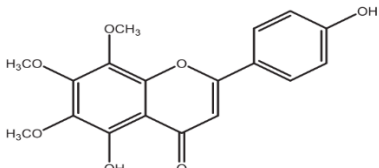
2.2.1. Flavonoitler

Flavonoitler birçok farmakolojik özelliklere sahip, fenil ikameli kromon (benzopiran türevi) yapıya sahiptir. (Vazhappilly vd., 2021) Birçok bitki flavonoiti glikolizit halinde bulunur. Glikoziltler, fenolik hidroksillere α - veya β -D-glikozidik bağlar yoluyla bağlanmaktadır. Bu tür modifikasyon, tek bir oligosakkarit veya bazı durumlarda bir polisakkarit parçası içerebilmektedir. Bitkilerde bulunan flavonoit glikozitlerin yaygın olarak bilinen faydaları arasında; hastalıkları önleme veya hastalık döneminde antioksidan ve antiinflamatuvar etki göstermeleridir (Kytidou vd., 2020).

Flavonoit içeriğin aydınlatılması, bunların farmakolojik potansiyel ilişkilerinin kurulmasına olanak sağlar (Faggio vd., 2017). Farmakolojik olarak flavonoitler; antiviral, antifungal, antibakteriyel, antitümör, antineoplastik, antiinflamatuvar, antitrombojenik, antiosteoporotik, antiaterosklerotik ve antihepatotoksik etkiler göstermektedir (Dwivedi vd., 2017). Bunlarla beraber flavonoitler; kanser, nörodejeneratif veya kardiyovasküler hastalık gibi çeşitli hastalıklara karşı olumlu etkileri olan güçlü antioksidanlar olup ve bitkilerde bol miktarda bulunan polifenolik bileşiklerdir. Etki mekanizması olarak bazı flavonoitlerin arazişidonic asit yolağını inhibe ettikleri veya farklı yollar aracılığıyla anti-trombosit agregasyon etkilerine sahip olduğu tespit edilmiştir (Faggio vd., 2017).

Antiinflamatuvar ve antiülserojenik etkiyi izole edilen sekonder metabolitleri ile de gösterir. Bu etkiler genel olarak içerdikleri flavonoit ve terpenoid içeriğine bağlı olarak farklılık gösterir. Flavonoitlerin östrojen, androjen ve tiroid hormonları gibi bazı hormonlar üzerinde düzenleyici etkileri vardır. Bitkisel sekonder metabolitler üzerine daha kapsamlı araştırmalar arttıkça flavonoitlerin hem gıda takviyesi hem de farmasötik kullanımı açısından kullanım alanları artmıştır. Bu amaçla farmakolojik etkinlik ve aktiviteleri nedeni ile fonksiyonel olarak sentetik, flavonoit polimerler ve amin içeren polimer-flavonoit konjugatlar da geliştirilmiştir (Dwivedi vd., 2017).

Tablo 2.4. *Sideritis* türlerinden izole edilen flavonoitlerin yapı ve aktiviteleri (González-Burgos vd., 2011)

Bileşik	Kimyasal yapı	Aktivite
Hipolaetin		Antiinflamatuvar
Hipolaetin-8- glukozit		Antiinflamatuvar Antiülseratif
5-O-demetilnobiletin		Antiinflamatuvar
Sideritoflavon		Antiinflamatuvar
Sirsiliol		Antiinflamatuvar
Ksantomikrol		Antiinflamatuvar

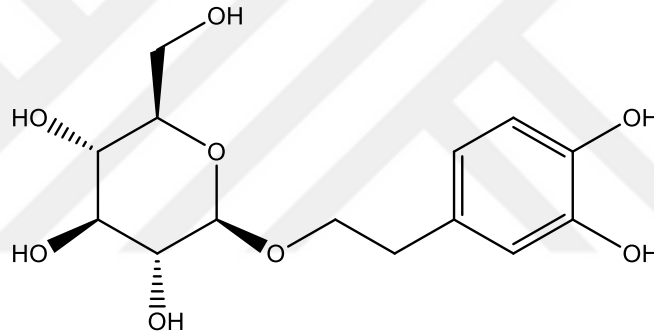
2.2.2. Glikozitler

Doğadaki birçok bitki sekonder metaboliti glikozit formunda bulunmaktadır. Bitkilerde var olan glikozitler çoğunlukla, bitki enzimleri, glikotrasferazlar üzerinden katalize edilen sekonder metabolitlerin postmodifikasyonu ile oluşmaktadırlar. Glikozitlerin diğer modifikasyonları sıklıkla oksidasyon, asilasyon ve bozunmalar neticesinde gerçekleşir. Bitkilerdeki sekonder metabolitler olan glikozitlerin henüz bütün fizyolojik etkileri

aydınlatılmamış olsa da bitki dokusu içinde taşınıp depolanadıkları bilinmektedir. Polar karakterli olmaları sebebiyle suda çözünen sekonder metabolit olan glikozitler bitkide; büyüme-gelişme, bitki regülasyonu, sinyal iletimi ve allelopatide (bir bitkinin başka bir bitkinin gelişimini engellemesi) önemli rol oynamaktadır. Aynı zamanda bitkilerin patojenlere ve herbivorlara (otçullara) karşı oluşturdıkları savuma sisteminde glikozitler yer alır (Bartnik and Facey, 2017).

2.2.2.1. Feniletanoit glikozitler

Feniletanoit glikozitler (PHG); feniletil alkol, kafeik asit ve glikozil parçalarından oluşmuş bileşiklerdir. Çeşitli bitki türlerinde yaygın olarak bulunan bitki bileşenleri ailesidir. İskelet yapısı aşağıdaki gibidir

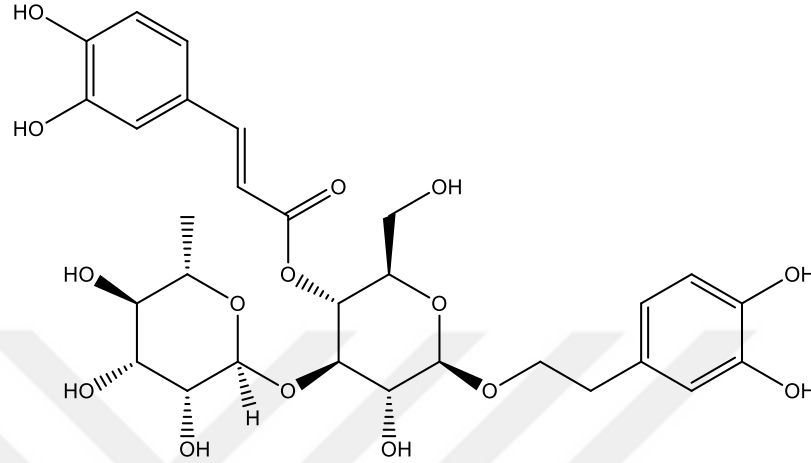


Görsel 2.3 Feniletanoit glikozitlerin iskelet yapısı

Feniletanoit glikozitlerinin çekirdek yapısında en az bir glikozil parçası bulunduğundan, suda çözünürlükleri yüksektir ve geleneksel yöntemler ile kolay izole edilebilir. Ayrıca yapılarındaki fenolik hidroksil grubu da antioksidan aktivitesini arttırmaktadır. Bitkilerden yüzlerce benzer fizyolojik özellik gösteren bileşikler izole edilmiştir. *İn-vivo* ve *in-vitro* deneyler sonucunda daha önce de belirtildiği gibi bu bileşiklerin; antiviral, antiinflamatuvar, antitümör, hepatoprotektif, antioksidan, analjezik, anti-aging, immünomodülatör, kardiyoprotektif, antibakteriyel, nöro-protektif, anti-radyasyon, yorgunluğa karşı vb. gibi biyolojik aktiviteleri gösterdikleri saptanmıştır. Bu bileşiklerden akteozit ve ekinakozit (feniletanoit glikozitleri) bileşikler sahip oldukları özellikler ve gösterdikleri kuvvetli etkilerden dolayı ilgi görmüşlerdir (Tian vd.,2021).

8 *Sideritis* türünden (*S. congesta*, *S. scardica*, *S. montana*, *S. ozturkii*, *S. lycia*, *S. perfoliata*, *S. syriaca* ve *S. reaeseri* Boiss. & Heldr.) üç temel feniletanoit glikozit olan

lökopeptosit A, verbaskozit ve martinosit yapılan çalışmalarda saptanmış ve izole edilmiştir. *S. congesta* türü üzerinde gerçekleştirilen fitokimyasal analiz çalışmalarında, *S. germanicopolitana* BORN. türünden de daha önce izole edilen bir feniletanoit glikozit türü olan verbaskozit saptanmıştır (Bardakci vd.,Cevik, 2020).



Görsel 2.4. Verbakozit bileşiğinin kimyasal yapısı

2.2.3. Uçucu bileşikler

Sideritis türlerinin uçucu bileşikleri veya yağları çeşitli yapıda mono ve diterpenoit maddeler bakımından zengindir (Kessler vd., 2014). Bu maddelerin yanı sıra *Sideritis* ekstrelerinin fizyolojik etkisi bulunmaktadır (Dimaki vd.,2017).

S. germanicopolitana BORN. üzerinde GC/MS (Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektrometrisi) ile yapılan uçucu yağ analizi sonucunda birçok aktif kimyasal bileşene rastlanmıştır. Toplam 20 bileşen arasında yüksek oranda başta α - pinen olmak üzere- limonen, β -pinen ve manoil oksit uçucu yağın içeriğinde belirlenmiştir. Aktif bileşenler olarak *Sideritis germanicopolitana* BORN. türünden elde edilen uçucu yağının analizi sonucunda yukarıda belirtilen aktif bileşenler haricinde; Tuyon, Kamfen, 3- karen, α -terpinen, limonen, β -felandren, Osimen ve γ – terpinen de dahil olmak üzere toplamda 20 aktif bileşen tespit edilmiştir (Bayan ve Aksit, 2016).

Türk *Sideritis* türlerinin %57'si ana madde grupları olarak monoterpen hidrokarbonları içermektedir. α -pinen, β -pinen, β -felandren, sabinen ve mirsen bileşikleri yüksek miktarda bulunmaktadır (González-Burgos vd., 2011). *S. germanicopolitana* BORN. türünün uçucu

yağının ise gelecekte bitkilerde meydana gelen hastalıkların kontrolünde kullanılabileceği düşünülmektedir (Bayan ve Aksit, 2016).

S. bilgerana, *S. tmolea* ve *S. congesta* türünün toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağının yükselen sıra ile 0,26 / 0,33 ve 0,83 (v/w) olarak tespit edilmiştir. Yağların GC-FID ve GC-MS ile incelenmesi sonucunda *S. bilgerana* türünü %81,4 monoterpenoit içerik ile ana maddeler olarak β -pinen (%51,2) ve α -pinen (%30,2) olarak tespit edilmiştir. *S. congesta* yağının %79,7'sini temsil eden otuz altı bileşen belirlenmiş olup yüksek muurol-5-en-4 α -ol (%11,7) ve muurol-5-en-4 β -ol (%33,0) içerdiği görülmüştür. *S. tmolea* yağının %89,6'sını oluşturan kırık dört bileşen tanımlanmış olup ana bileşenler α -kadinol (%21,9), β -k (%10,6), kalamenen (7,05), muurol-5-en-4 β -ol (%7,05) ve α -pinen (%5,1) bileşikler belirlenmiştir. Tüm yağlar monoterpenik hidrokarbonlar, oksijenli monoterpenler ve seskiterpenlerden oluşmaktadır. Muurol-5-en-4 α -ol ve muurol-5-en-4 β -ol, yüksek yüzdelerde *S. congesta* türünün farklı bileşenleri olarak göze çarpmıştır (Özcan vd., 2001).

Diterpenler açısından zengin olan *Sideritis* türlerinden dikkate değer bir yapısal değişkenliğe sahip en az 160 çeşit diterpen bitkinin toprak üstü kısımlarından izole edilmiştir. Türkiye'den *Sideritis* türlerinin uçucu yağlarında yağ verimi ile ana bileşen grupları arasında bir ilişki kurulmuştur. Elde edilen yağ verimi ne kadar yüksek olursa o kadar yüksek oranda monoterpen hidrokarbon içeriğine sahip olduğu, yağ verimi ne kadar düşükse seskiterpen içeriğinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Diterpenler ise herhangi bir verimde oluşabilmektedir. Monoterpen hidrokarbonların Yunanistan'da yetişen ve bazı İspanyol *Sideritis* türlerinde de uçucu yağ ana bileşeni olduğu bildirilmiştir. Ayrıca uçucu yağın bazı bileşenlerinin bazı *Sideritis* türlerine özgü olduğunu belirtmekte fayda vardır. Örnek olarak *S. congesta* türünün uçucu yağ bileşeni olan muurol-5-en-4 α -ol ve muurol-5-en-4 β -ol örnek olarak verilebilir (González-Burgos vd., 2011).

2.2.4. Diğer bileşikler

Türkiye'de yetişen on beş *Sideritis* türünün tohumundan elde edilen yağın bileşiminde, yağ asitlerinin varlığını bildirmiştir. İncelenen her türde %45,4-%64 oranla linoleik asit ana yağ asidini ve ardından %12,3-26,5 oranla oleik asit tespit edilmiştir. Belirtildiği üzere iridoit glikozitlerinin varlığı da *Sideritis* türlerinde söz konusudur. Yapılan en son çalışmalarda *S. lanata* türünün toprak üstü kısımlarından bir iridoit diglukozit yapıda olan 10-O-(E)- *p*-kumaroilmelittozit izole edilmiştir. Macaronezya bölgesinde yetişen *S. massoniana* var.

crassifolia ve *S. canariensis*'ten *siderin* adı verilen bir kumarin ve *sesamin* adlı bir lignan türü izole edilmiştir. Ayrıca fenilpropanoid glikozitler, çeşitli *Sideritis* türlerinin toprak üstü kısımlarından izole edilmiştir. *S. ozturkii* ve *S. perfoliata* türlerinde verbaskozit, lökoskeptozit ve matrinosit tanımlanmıştır. *S. lysia* ve *S. stricta*'da verbaskozit ve ayrıca *S. lysia* türünde ise lavandulifoliosit tespit edilmiştir (González-Burgos vd., 2011).

2.3. Farmakolojik aktivite

İçerdikleri aktif bileşenler sayesinde *Sideritis* türlerinin birçok fizyolojik etkisi söz konusudur. Halk arasında da yaygın kullanımı olan *Sideritis* türlerinin bazı örnekleri aşağıdaki tabloda derlenmiştir.

Tablo 2.5. Türkiye’de yetişen bazı *Sideritis* türlerinin gösterdiği farmakolojik aktiviteler (González-Burgos vd.,2011)

Türün adı	Bitkinin yerel ismi	Geleneksel kullanım	Farmakolojik aktivite	Aktivitenin gözlemlendiği aktif bileşen
<i>S. albiflora</i> Hub.-Mor (E)	Yayla çayı	Antimikrobiyal	Antimiktobiyal	Etanol ve Metanol ekstraktları, butanol, kloroform fraksiyonları
<i>S. amasica</i> Bornm. (E)	Tosbağa otu	Bitki çayı	Antioksidan	Metanol ekstresi
<i>S. brevidens</i> P.H. Davis (E)	Ada çayı, Özel çay	Gatroprotektif, bitki çayı	Antiülseratif Antimikrobiyal Antioksidan	Sulu metanol ekstresi
<i>S. cilicica</i> Boiss & Bal. (E)	Dağ çayı, yayla çayı Kozalı	Bitki çayı	Antimikrobiyal Antioksidan	Metanol ve sulu ekstraktlar
<i>S. condensata</i> Boiss. & Heldr. (E)	kekik, Kozalı çay, Aromatik dağ çayı	Grip Stres Boğaz ağrısı	Antimikrobiyal Antioksidan	Metanol ve sulu ekstre
<i>S. galatica</i> Bornm. (E)	Dağ çayı	Apperitif Karminatif	Antifungal	Metanol ekstresi
<i>S. germanicopolitana</i> Bornm. subsp. <i>germanicopolitana</i> (E)	Anadolu çayı	-	Antioksidan	Metanol ekstresi
<i>S. germanicopolitana</i> Bornm. subsp. <i>viridis</i> Hausskn. Ex Bornm (E)	-	-	Antioksidan	Metanol ekstresi
<i>S. libanotica</i> Labill subsp. <i>libanotica</i> (E)	Altınbaş Göktepe çayı	Bitki çayı	Antioksidan	Sulu ekstre

Tablo 2.5. (Devam) Türkiye’de yetişen bazı *Sideritis* türlerinin gösterdiği farmakolojik aktiviteler (González-Burgos vd.,2011)

<i>S. ozturkii</i> Aytaç & Aksoy (E)	<i>Ada çayı</i>	<i>Tıbbi çay Baharat</i>	<i>Antioksidan Antimikrobiyal Antiinflamatuvar Analjezik</i>	<i>Metanol ve aseton ekstresi, Flavonoidler (Ozturkoside C)</i>
<i>S. rubiflora</i> Hub.-Mor. (E)	Dağ çayı	Bitki çayı	Antifungal Antifeedant Antioksidan	Metanol ekstresi, Diterpenoidler (sideroxol) Metanol ekstresi
<i>S. scardica</i> Griseb subsp. <i>scardica</i> (E)	Tilki kuyruğu	Bronhitis, Öksürük Soğuk algınlığı, Grip		
<i>S. trojana</i> Bornm. (E)	Kazdağı çayı Sarıkız çayı	Bitki çayı Boğaz ağrısı Antiülseratif Göğüs hastalığı	Antifungal İnsektisid	Uçucu yağ Aseton ekstresi Diterpenoidler (7-epicandicandiol 18-acetylsideroxol, 7-epicandicanol diacetate)

2.3.1. Antioksidan aktivite

Oksidatif stresin birçok kronik hastalığın patofizyolojisinde ve yaşlanma fizyolojisinde önemli rol oynamakta olduğu günümüzde birçok araştırmacı tarafından kabul edilmektedir. Canlı organizmalarda insanlar da dahil olmak üzere tüm aerobik organizmalarda ROS’un (Reaktif Oksijen Türleri) üretimi dengededir. Vücut kendi endojen antioksidan savunma sistemini kullanarak ortamda salıverilen serbest radikalleri ortadan kaldırabilme kabiliyetine sahiptir (Bojović vd., 2011; Sarikurkcu vd., 2021). Maruziyet süresine bağlı olarak, uzun süreli reaktif oksijen türlerine maruz kalma, organizmadaki serbest radikallere karşı endojen antioksidan savunma sistemleri, hücrelerdeki serbest radikallere karşı yetersiz kalabilmekte ve fonksiyon gösterememektedir. En iyi bilinen reaktif oksijen türleri arasında hidrojen peroksit, hidroksil ve süperoksit radikalleri yer almaktadır. Hücresel düzeyde ise reaktif nitrojen türlerinin ciddi hasarlara sebebiyet verebileceği bilinmektedir. Peroksinitril ve nitrik oksit radikalleri, hücresel boyutta oluşabilecek hasarlarda büyük tehlike arz eden serbest radikaller arasındadır. Araştırmacılar, son yıllarda yaptıkları güncel yapılan araştırmalarda antioksidan moleküllerinin aydınlatılması üzerine yoğunlaşlardır. Bazı moleküllerin aydınlatılması ile beraber, oksidatif stresin sonucunda oluşan patofizyolojik durumları ortadan kaldırmak veya düzeltmek adına elde edilen antioksidan moleküllerin terapötik potansiyelleri görülmüş ve bu durum tıp alanında ilgi uyandırmıştır (Sarikurkcu vd., 2021).

Türkiye Cumhuriyeti'ne özgü olan *S. congesta* ve *Sidertits arguta* türlerinin yüksek antioksidan içeriği tespit edilmiş olup DPPH• ve ABTS+• ile gerçekleştirilen antioksidan aktivite analizlerinde *Sidertis arguta* türünün- aseton ve *S. arguta* türünün ise -metanol ekstralarının antioksidan aktiviteleri, tüm *Sideritis* ekstraları arasında en yüksek olduğu tespit edilmiştir (Erkan vd., 2011).

Oksidatif hasara karşı protektif etkinin elde edilmesi, bitkilerdeki en yaygın olarak tanımlanan özelliklerinden biridir ve antioksidan aktivite buna bağlıdır. *S. scardica* türünden farklı polaritelere sahip çözücüler ile elde edilen ekstraların ve alt ekstraların antioksidan aktivitesin β -karoten ağartma testi (BCBT), 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) radikal süpürme aktivite tayini ile ve headspace gaz kromatografisi (HS-GC) ile belirlenmiştir. IC₅₀ ile DPPH• radikal süpürme aktivitesi Makedonya'nın farklı bölgelerinden toplanan *S. scardica* türünün etanol ekstraları için 3,2 mg/mL ve 8,9 mg/mL olarak bulunmuştur. (Todorova ve Trendafilova, 2014)

Kanser ve kalp hastalıkları, mikrobiyal ve/veya viral enfeksiyonlar, inflamasyonla ilgili patolojik hastalıklar arasında en sık rastlananlardır. Bazı kanser türlerinde (örneğin prostat, akciğer ve cilt kanserleri gibi), kanser hücrelerinde gerçekleşen apoptoz, yoğun bilimsel çalışmalar neticesinde elde edilen verilere göre başta flavonoidler olmak üzere çeşitli fitokimyasallar tarafından desteklenmektedir (Sarıkurkcu vd., 2021).

Bitki çayı şeklinde kullanımı olan *S. lycia* ve *S. libanotica* türlerinden izole edilen ve antioksidan aktiviteye sahip bileşikler kersetin, morin, apigenin ve bazı fenolik asitler olarak tayin edilmiştir (Zengin vd., 2019).

Yakın zamanda *S. euboea* türünün antioksidan aktivitesini ölçmek adına yapılan çalışmada, plasebo kontrollü çalışma yapılmıştır. Bir ay boyunca sağlıklı gönüllüler *S. euboea* ile zenginleştirilmiş jöleli tatlı tüketmiş ve plasebo ve müdahale grubu arasında biyokimyasal kan parametrelerinde (glutatyon, nitritler, koenzim Q₁₀ veya C, A ve E vitaminleri arasında) gözle görülür bir fark olmadığı saptanmıştır. *Sideritis* türlerinin üzerinde yapılan bütün antioksidan aktivite çalışmalara rağmen hepsinden bu etkiyi elde etmeye yönelik çalışmaların sonucu olumlu olmamaktadır. *S. scardica* bitkisinden elde edilen etanol, dietil eter, etil asetat ve n-bütanol ekstraları sıçan birincil aterositlerinde ve C₆ sıçan gliomasında reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu artırıp kaspaz kaskadı aktive ederek apoptik hücre ölümüne neden olduğu saptanmıştır (González-Burgos vd., 2011).

2.3.2. Antimikrobiyal aktivite

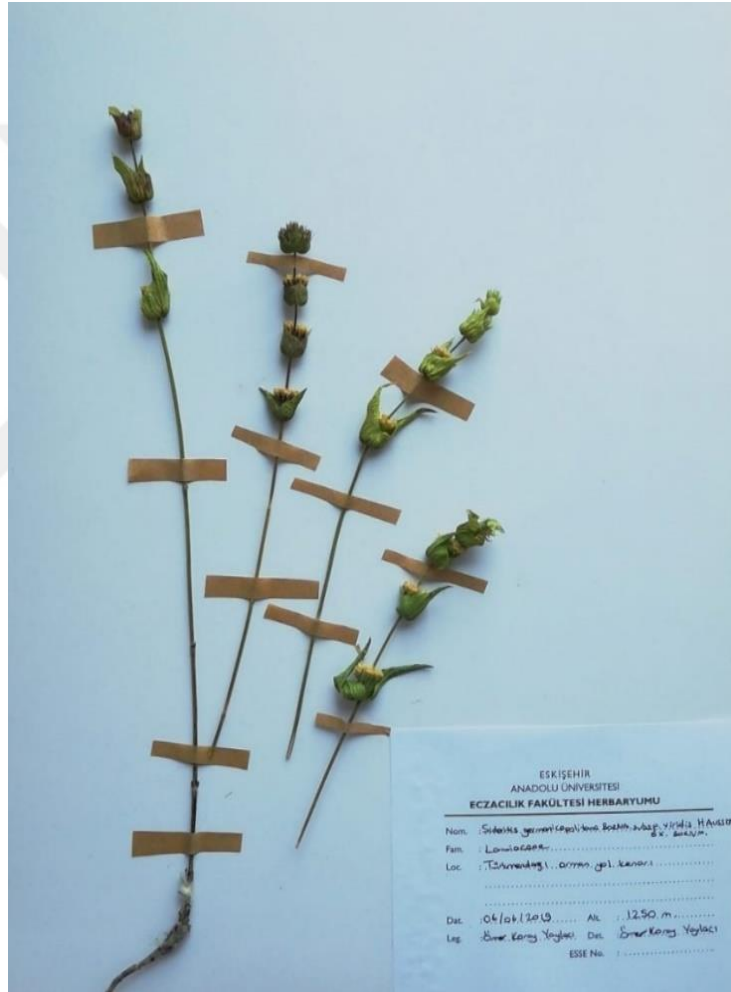
Sideritis türlerinden (*S. ineana*, *S. tragoriganum*, *S. javalambrensis*, *S. angustifolia*, *S. mugronensis*, *S. leucantha*, *S. scorclioides* ve *S. funkiana*) elde edilen hekzan, etilasetat , kloroform, metanol ekstralarının antimikrobiyal etkilerini saptamak adına, biyootografi ve agar dilüsyon yöntemleri ile inceleme yapılmıştır. Sonuçta elde edilen bütün ekstraların *Escherichia coli* haricinde bütün gram(+) ve gram(-) bakterilere ve funguslara karşı etkili oldukları saptanmıştır. Diterpenoitler olan siderol, linearol ve epikandikandiol'un antimikrobiyal aktivitesine bakıldığında ise, epikandikandiol'un *Candida albicans*'lara karşı aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Siderol ve linearolde asetil grubunun mevcudiyeti, azalmış bir aktivite ile ilişkili görülmektedir (González-Burgos vd., 2011).

Bazı *Sideritis* türlerinden (*S. candicans*, *S. gomerae*, *S. dentro-chahorra*, *S. dasygnaphala*, *S. canariensis*) izole edilen lignan türevi (+)- sesamin, diterpen ve bir kumarin çeşidi olan siderin üzerinde gerçekleştirilen antimikrobiyal ve antikanser aktivite tayininde, HeLa 229 hücreleri üzerinde inhibitör etkiyi siderine kıyasla (+)- sesamin daha yüksek göstermiştir. Sitostatik etkiler bakımından kumarinlerin düşük aktivite gösterdiği bilinmektedir. *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis*'e karşı (+)-sesamin kısmen etki gösterirken, *Staphylococcus aureus*'a karşı tamamen etkili olduğu tespit edilmiştir. Gram- pozitif bakterilerden olan *Staphylococcus aureus* üzerinde siderin kısmen aktivite göstermiş olup, geriye kalan bakterilerde de direnç meydana geldiği saptanmıştır. (Akcós, 1994)

3. YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Deneyisel çalışmamızda kullanılan *S. germanicopolitana* subsp. *viridis* Hausskn. ex Bornm. (Lamiaceae) bitkisi, 06.06.2019 tarihinde, 1250m’de Türkmendağı orman yol kenarından Öğr. Gör. Dr. Ömer Koray YAYLACI tarafından toplanıp teşhis edilmiş ve gerçekleştirdiğimiz çalışma sonucunda “Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi” herbaryumunda ESSE No: 15809 ile kayıt altına alınarak saklanmıştır.



Görsel 3.1. *Sideritis germanicopolitana* subsp. *viridis* Hausskn. ex Bornm. herbaryum örneği

3.2. Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

3.2.1. Kimyasal maddeler

Sodyum karbonat	(Sigma Aldrich, Almanya)
Sodyum persülfat	(Sigma Aldrich, Almanya)
Trolox	(Sigma Aldrich, Almanya)
Gallik asit	(Sigma Aldrich, Almanya)
Folin Ciocalteu's Reagent	(Sigma Aldrich, Almanya)
ABTS ^{•+}	(Sigma Aldrich, Almanya)
DPPH [•]	(Sigma Aldrich, Almanya)
Dimetilsülfoksit (DMSO)	(Sigma Aldrich, Almanya)
Metanol	(Sigma Aldrich, Almanya)
Etanol	(Sigma Aldrich, Almanya)
Etil asetat	(Sigma Aldrich, Almanya)
Hekzan	(Sigma Aldrich, Almanya)

3.2.2. Cihazlar

LC-MS/MS	(ABSciex, USA)
Çalkalayıcı	(GFL 3015 Orbital Çalkalayıcı)
ELISA H ₁ mikropalak okuyucusu	(Biotek Powerwave XS, Amerika)
Hassas terazi	(Shimadzu, AEX 200G)
Liyofilizatör	(Labconco, Cansas City USA)
Rotavapor	(Buchi, Switzerland)
Spektrofotometre	(Shimadzu Kyoto, Japonya)
Su banyosu	(Nüve BM 302, Türkiye)

3.3. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

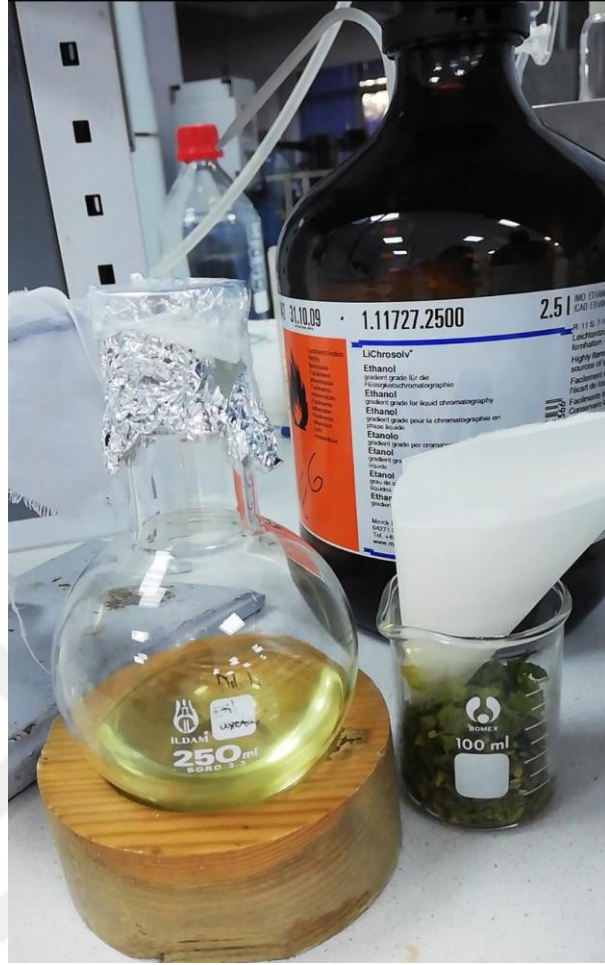
Ekstraksiyon işlemi için; hekzan, etilasetat, metanol çözücüler ile ekstraksiyonun yanı sıra halk arasındaki kullanımını temsilen %10'luk infüzyon örnekleri hazırlanmıştır. Ekstraksiyon işlemlerinde aynı materyal üzerinde sıralı bir ekstraksiyon metodu tercih edilmemiş, bunun yerine tüm ekstraksiyon prosedüründe çözücüler değişikçe bitkisel materyal de değişmiş ve bu işlemlerde 10 g kuru herba olarak yeniden tartılarak ekstre edilmiştir. Aşağıda hekzan için verilen örnek diğer ekstratler için de uygulanmıştır.

Hekzan ile ekstraksiyon; Ekstrelerin hazırlanması için, gölgede kurutulan *S. germanicopolitana* subsp. *viridis* türünün toprak üstü kısımları kullanılmıştır. Bu amaçla herba kaba toz haline getirilmiştir. Bitkinin 10 g ışıktan etkilenmemesi için alüminyum folyoya sarılı erlenmayer içine konularak 200 ml hekzan ile 24 saat çalkalama işlemine (ORBİTAL, Çalkalayıcı) maruz bırakılmıştır. 24 saatin sonunda ekstre süzölmüş, bakiye 200 ml hekzan ilave edilmiştir. İşlem 3 kez tekrarlanıp sonlandırılmıştır. Süzöntöler birleştirilerek ve toplam 600 ml süzöntü elde edilmiş ve ekstrenin çözücüsü rotary evaporatörde (Görsel 3.2.) 40°C'yi aşmayan sıcaklıkta kontrollü bir şekilde uçurulmuştur. Hekzanı uzaklaştırılan ekstre kapaklı tüplerde +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Ekstre verimi hekzan için %1,5 olarak bulunmuştur. Benzer metotla farklı çözücülerle yapılan ekstraksiyon işlemlerinde ekstre verimi etil asetat için %5,7, metanol için %15,6 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca metanol ekstraksiyonu yapılmamış olup bu amaçla aynı bitkiden daha önce hazırlanmış ve LC-MS analizleri yapılmış metanol ekstresi kullanılmıştır.



Görsel 3.2. Rotary Evaporator/Rotavapor cihazı (BUCHI, Switzerland)

%10'luk infüzyon hazırlanması; Bitkinin %10'luk infüzyonu için 10 g örnek üzerine 100 mL kaynar su eklenmiş ve 10 dk demlendikten sonra süzölmüştür. Süzöntü derin dondurucuda dondurulduktan sonra liyofilize edilmiştir. Tüm ekstrelerin ağızları sıkı şekilde kapatılıp, etrafları alüminyum folyo ile sarılarak analiz esnasına ve deneylerde kullanılabilecek kadar derin dondurucuda saklanmıştır. Elde edilen kuru ekstrenin verimi %6,9 olarak bulunmuştur.



Görsel 3.3. *Sideritis germanicopolitana* subsp. *viridis*'in toprak üstü kısımlarından hazırlanan %10'luk infüzyon

Uçucu yağ eldesi; 75 g *S. germanicopolitana* subsp. *viridis* türünün toprak üstü kısımları mekanik olarak ufalanıp kaba toz haline getirildikten sonra 3 saat boyunca Clevenger apareyinde su distilasyonuna tabi tutulmuştur. Distilasyonun sonucunda uçucu yağ ve yağ altı suyu hekzan ile alınıp, GC/MS analizine hazır bir şekle getirilmiştir (Görsel 3.4.). Analiz sonucunda ise uçucu yağ verimi %0,2 olarak bulunmuştur.

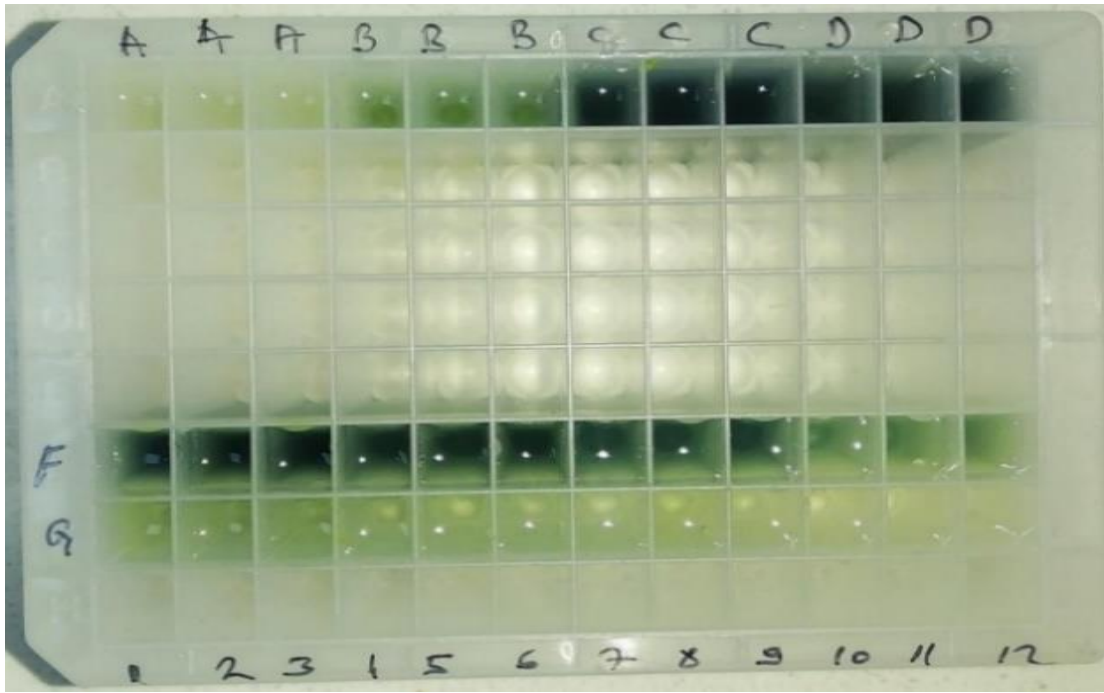


Görsel 3.4. *Sideritis germanicopolitana* subsp. *viridis* 'in toprak üstü kısımlarının herbalarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ

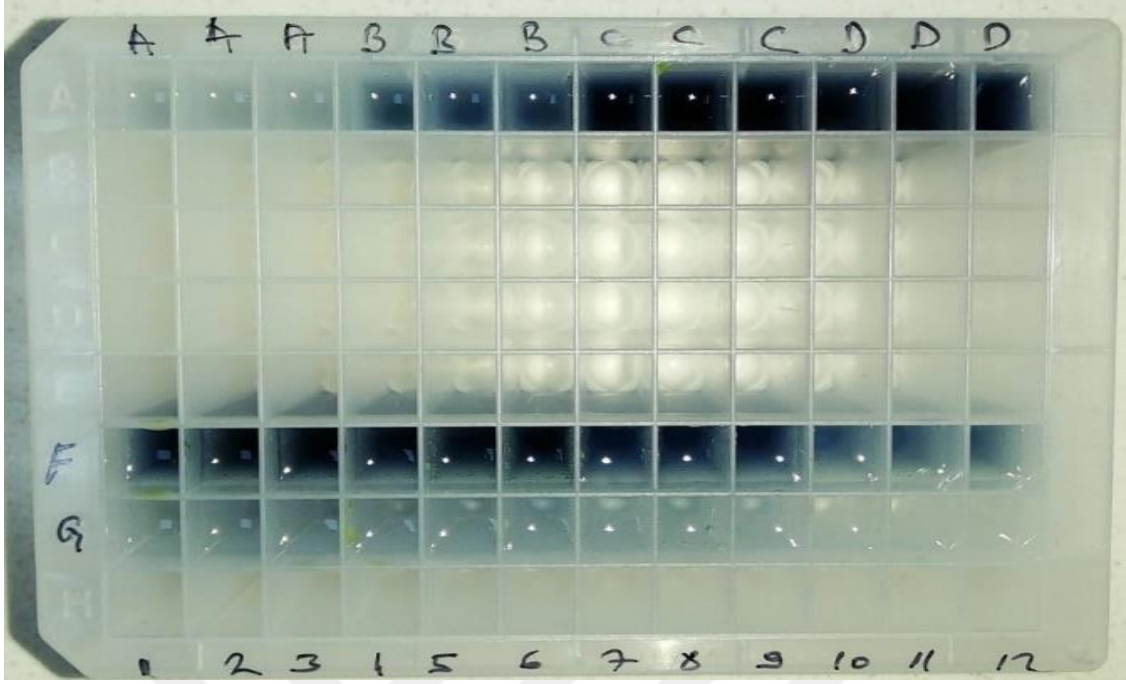
3.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Toplam fenolik madde miktarı tayini Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmış, sonuçlar pozitif kontrol olarak kullanılan gallik asitin aynı deney sonucunda verdiği kalibrasyon eğrileri üzerinden, gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Bu amaçla, 10 mg ekstre 1ml metanolde çözülerek örneklerin 10 mg/mL derişime sahip çözeltileri hazırlanmıştır. Standart olarak kullanılan gallik asitten de farklı derişimlerde (0,1 mg/mL, 0,35 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,7 mg/mL, 1 mg/mL) çözeltiler hazırlanmıştır. Deney için, 20 µL numune üzerine 1560 µL distile su ve 100 µL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir.

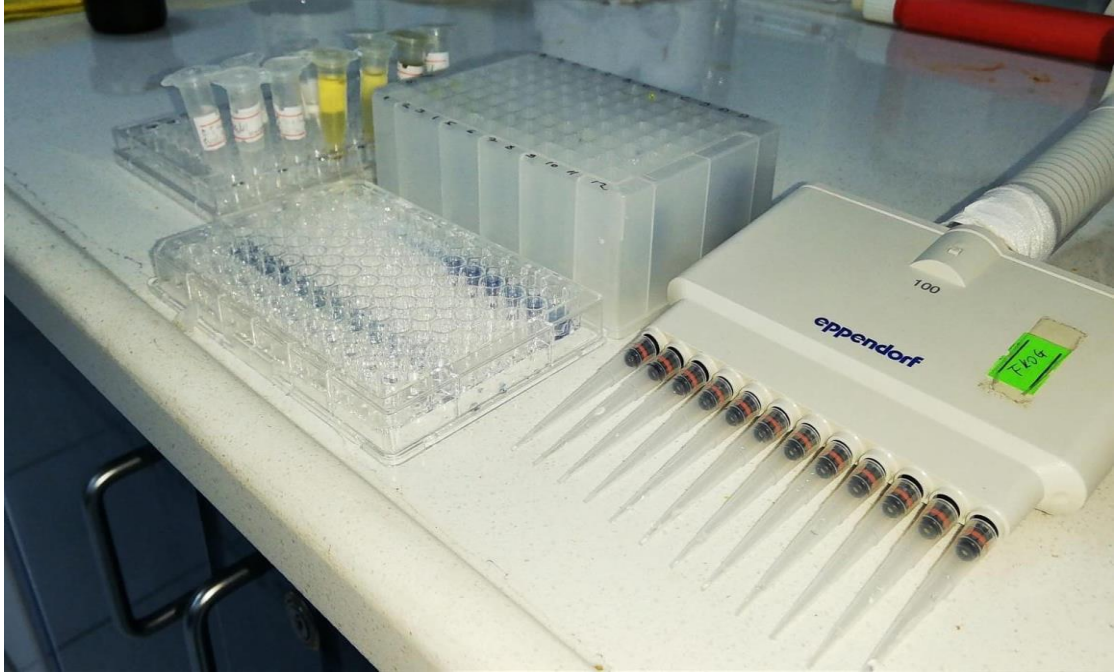
Reaktifin homojen dağılması için 1-2 dk. beklendikten sonra, 300 µL %20'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) eklenerek reaksiyon başlatılmıştır (Görsel 3.5. ve Görsel 3.6.). Ekstre içermeyen reaktif-metanol karışımı, kör kontrol olarak kullanılmış ve tüm örnekler karanlık ortamda ve oda sıcaklığında iki saat bekletilmiştir. Ardından örneklerin UV spektrofotometresiyle 760 nm'de absorbanları ölçülmüştür. Bu işlemler her örnek için 3 kez tekrar edilmiştir.



Görsel 3.5. *Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini'nde kullanılan 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın üzerinde örneklerin ilk tatbikinden sonra ortaya çıkan görüntü*



Görsel 3.6. *Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini'nde kullanılan 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın 2 saat karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletildikten sonra ortaya çıkan görüntüsü*



Görsel 3.7. *96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın dolumunda kullanılan ekipmanlar*

Polifenoller, elektron veya hidrojen verme potansiyelleri nedeniyle önemli antioksidan özelliğe sahip bileşiklerdir. Bu özellik yapılarında ki hidroksil gruplarının sayısı arttıkça artmaktadır. Hidroksil grupları arttıkça molekülün polaritesi de artmaktadır. Folin-Ciocalteu reaktifi, fenolik moleküller ile bağ yaparak mavi renkli molibden-tungsten kompleksini oluşturur. Bu renk OH sayısı arttıkça artar. Dolayısıyla antioksidan etki arttıkça da artar. 760 nm dalga boyunda spektrofotometreyle yapılan ölçüm ile mavi renk şiddeti belirlenir. Renk şiddeti standart gallik asitin çeşitli konsantrasyonları ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırılarak fenolik madde miktarı gallik asit üzerinden kantitatif olarak hesaplanır (Akkol vd., 2008).

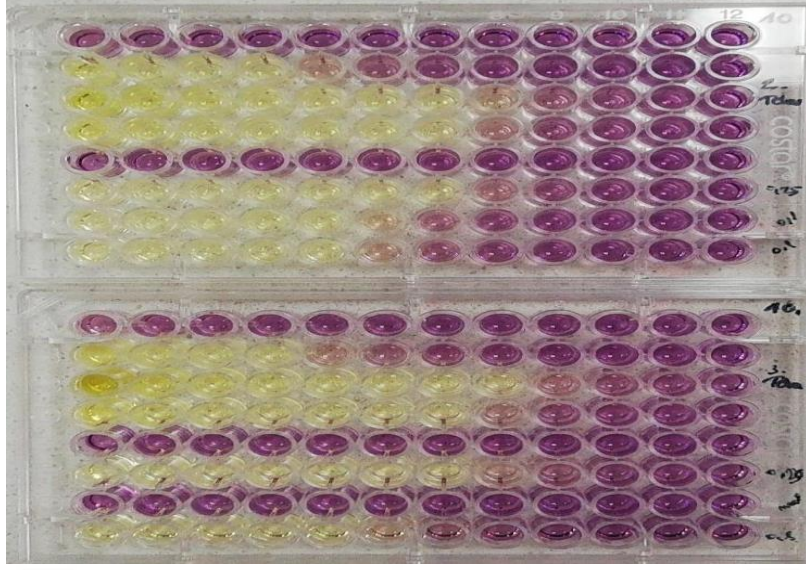
3.5. Gaz kromatografisi- Gaz kromatografisi/ Kütle Spektrometrisi ile Uçucu Bileşenlerinin Belirlenmesi

S. germanicopolitana subsp. *viridis* türünün toprak üstü kısımlarından Clevenger apereyinde gerçekleştirilen su distilasyonu sonucunda elde edilen uçucu yağın ve yağ altı suyunun uçucu bileşenleri GC/MS sistemi ile belirlenmiştir.

3.6. Antioksidan Aktivite Tayinleri

3.6.1. DPPH[•] (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini süpürücü etki tayini

DPPH[•] serbest radikaline, H⁺ transferi reaksiyonu temeline dayanan bu metod ile radikal halde mor renkli olan DPPH[•] metanollü çözeltisinin, mor renginin giderilmesi spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Deney sonunda mor rengin sarıya dönmesi, DPPH[•] radikalinin radikal özelliğini kaybettiğini ve ekstrelerin antioksidan etkiye sahip olup/olmadığını belirlemeye yarar. Antioksidan etkinliği test etmek adına 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plak kullanılıp ilk sütunlarına sırasıyla, 200'er µl metanolde (MeOH) çözülmüş örneklerin konsantrasyonlarının bilinen miktarları aktarılmıştır. Geriye kalan kuyucukların hepsine, çok-kanallı pipet ile 100'er µl MeOH konulmuştur. İlk kuyucuktan 100 µl numune alınarak, sırası ile 10 seri seyreltme işlemi yapılmıştır. Seyreltilen örnekler üzerine 100 µl DPPH[•] çözeltisinden eklenip 30 dakika karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Sonuçlar spektrofotometre'de 517 nm' de UV absorbans değeri üzerinden ölçülmüştür.



Görsel 3.8. *DPPH• süpürücü etki tayininde 10 mg/mL konsantrasyonda eklenen örneklerin 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakadaki görüntüsü*

Yüzde (%) inhibisyon değerleri ise aşağıdaki formüle göre hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar ile Sigma plotta IC₅₀ (IC₅₀: Radikalın %50'sini inhibe eden konsantrasyon değerleri hesaplanmıştır.

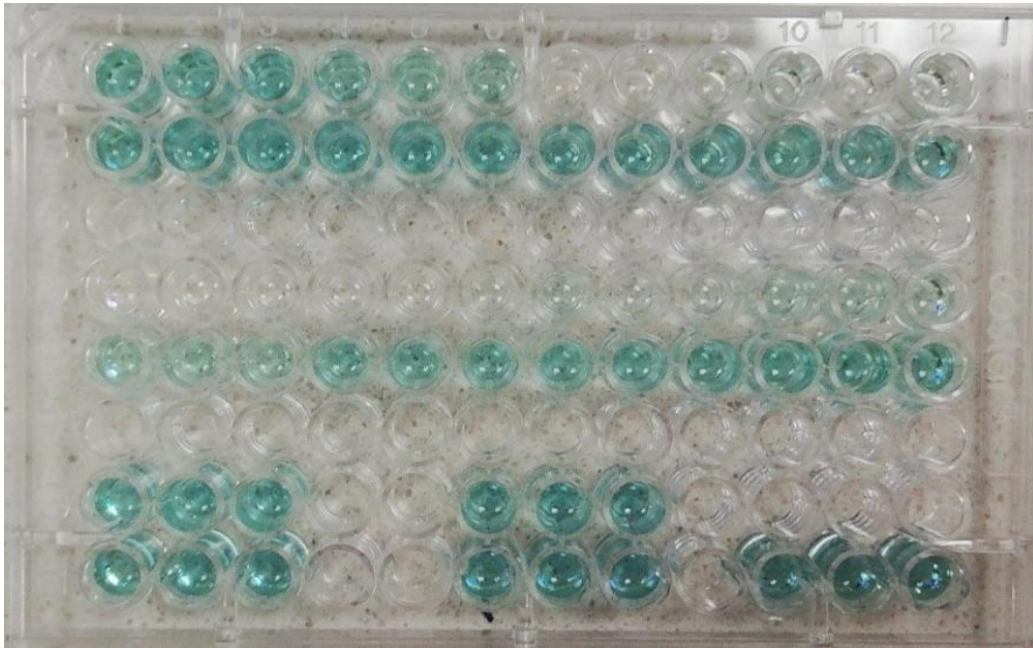
$$\%Inh = [(A0 - A1) / A0] \times 100$$

A0: kontrol absorban, A1: numune absorbanıdır.

3.6.2. ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) radikal katyonu süpürücü etki tayini

Bu yöntemde (TEAC), (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) (ABTS)'in sodyum persülfat oksidasyonu, ABTS^{•+} radikali oluşturulmakta ve deney sırasında kullanılan örneklerin DPPH• radikali süpürücü etki testine benzer şekilde ABTS^{•+} radikali süpürücü etkileri ölçülmektedir. Bu amaçla, kalibrasyon eğrisi için standart gallik asit yerine Troloks (6-hidroksi-2, 5, 7, 8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) kullanılmakta ve sonuçlar standart kalibrasyon eğrisi üzerinden değerlendirilmektedir. (Buyuktuncel, 2013) Bu amaçla, 7 mM ABTS^{•+} ve 2,5 mM sodyum persülfat (Na₂S₂O₈) karıştırılarak ve 12 ila 16 saat karanlıkta bekletilmiş ve mavi-yeşil renkli ABTS^{•+} radikali oluşumu sağlanmıştır. Hazırlanan stok radikal çözeltinin absorban değerinin 734 nm'de 0,7-0,8 olana kadar etanol ile seyreltilmiştir. Deney

için ekstrelerin 0,1 mg/mL ve 10 mg/mL konsantrasyonlarda çözeltileri de kullanılmıştır. Standart olarak kullanılacak Troloksun ise kalibrasyon eğrisini çizmek amacıyla; 3 mM, 2,5 mM, 2 mM, 1,5 mM, 1 mM, 0,5 mM ve 0,1 mM olmak üzere konsantrasyonları hazırlanmıştır. 0,1 mg/mL gallik asit ise pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Hem bitki hem de standartlar ile hazırlanan numunelerden 10 µl mikropalak kuyucuklarına sırasıyla konulmuş ve üzerlerine 990 µl ABTS^{•+} çözeltisi eklenmiştir (Görsel 3.10.). 30 dk. Sonunda örneklerin 734 nm’de absorbansı ölçülmüştür. Troloksa’a Eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) standart Troloks’un kalibrasyon eğrisi üzerinden hesaplanmıştır.



Görsel 3.9. ABTS^{•+} radikal katyonu süpürücü etki tayininde kullanılan 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın görüntüsü

3.6.3. Ekstrelerin fenolik profillerinin LC-MS/MS ile belirlenmesi

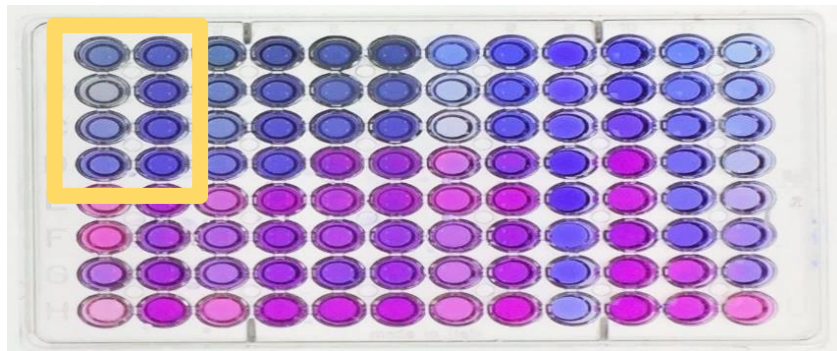
LC-MS / MS analizi, Applied Biosystems 3200 Q-Trap MS/MS dedektörüne bağlı, Shimadzu 20A HPLC sistemi ile yapılmıştır. İyonlaşma modu Elektro Sprey İyonlaşma (ESI) ile negatif modda gerçekleştirildi. Kromatografik ayırma için 150 × 4.6 mm, 3 µm ODS kolon kullanıldı. Analizler 40 °C ve PDA detektörü ile gerçekleştirildi. Mobil fazla (A) metanol: su: formik asit (10: 89: 1, v/v/v) ve (B) metanol: su: formik asit (89: 10: 1, v/v/v) olarak seçildi.

B'nin konsantrasyonui 40 dakikada %10' dan %100' e çıkarıldı. Akış 0.5 ml/ dakika olarak ayarlandı. Kütle taraması (EMS) için 100-800 amu kütle aralığı seçildi.

3.7. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Mikroorganizmalar: Deneyde kullanılacak mikroorganizmalar -85° C'de %50'lik steril gliserol solüsyonu içerisinde muhafaza edilmiştir. Testlerde *C. albicans*'ın iki suşu (ATCC-10231, ATCC 90028, *Candida utilis* (NRRL Y-900), *Candida krusei* (ATCC 6258), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019) ve *Candida tropicalis* (ATCC 750) kullanılmıştır. *Candida* türleri Sabouraud Glucose Agar (SGA), plaklarına ekilerek 37°C'de canlandırılmıştır.

Mikrodilüsyon Deneyi: Ekstre DMSO içerisinde dilüe edilmiştir. Testler “Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü”nün yayımladığı CLSI (NCCLS) M27-A2 protokollü uyarınca yapılmıştır. Patojen mayalara karşı test örneklerinin antifungal etkilerini M 27-A2 metodu ortaya koymaktadır. Gecelik *Candida* kültürlerinin konsantrasyonu (10^6 cfu/ml) steril salin solüsyonu (8.5 g/L NaCl; 0.85% saline) içinde McFarland No:0.5 bulanıklık standardına göre bulanıklık ölçme cihazında (Biosan, Latvia) ayarlanmıştır. Her bir kültür son konsantrasyonu 5.0×10^2 ile 2.5×10^3 hücre/mL olacak şekilde hazırlanmıştır. *Candida* süspansiyonları her kuyucuğa 100 µl gelecek şekilde pipetlenmiştir. RPMI ve mikroorganizma eklenen sütun pozitif gelişim kontrolü, son sütun sterilite kontrolü olarak ayrılmıştır. 35°C' de 24 saat inkübasyonun sonunda üremenin olmadığı ilk kuyucuk minimum inhibitor konsantrasyonu (MIK) olarak belirlenmiştir. Daha net bir değerlendirme için Resazurin çözeltisi ile pipetlenen plaklar 3 saat boyunca 35°C'de tekrar inkübe edilmiştir. Ketokonazol (Sigma) ve Afoterisin-B standart antifungal ajan olarak kullanılmıştır (Wayne, 2002)



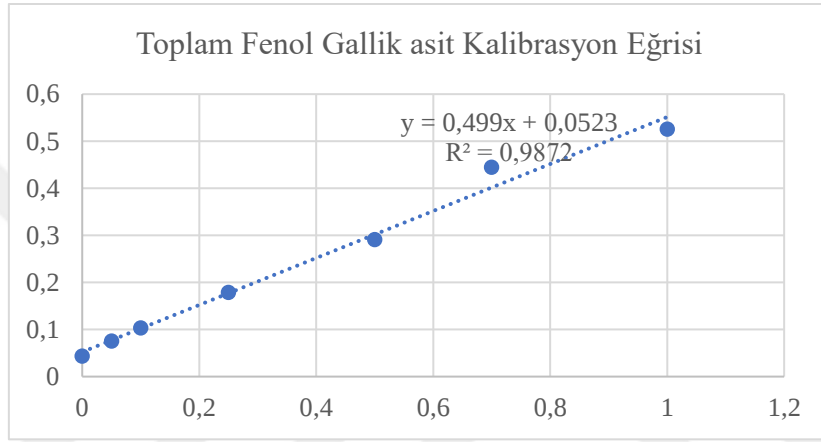
C. albicans ATCC 90028

Görsel 3.10. 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın üzerinde turkuaz renk ile işaretlenen kısım *C. albicans*'ın tatbik edildiği kısımdır

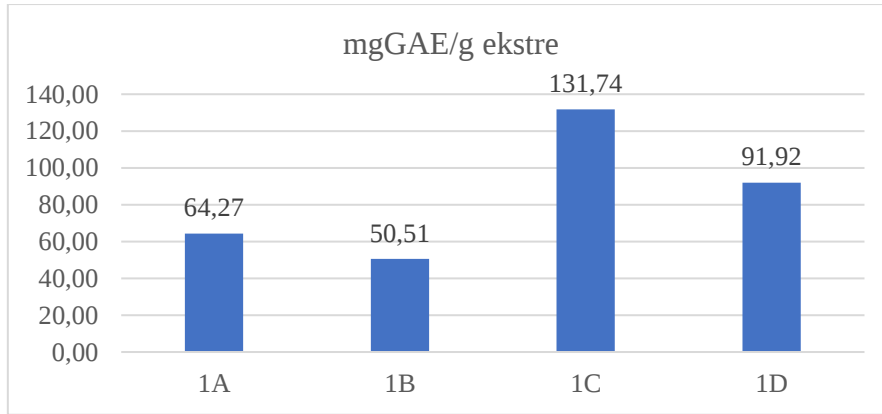
4. BULGULAR

4.1. Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini ve Ekstraksiyon Verimleri

Sonuçları değerlendirebilmek için; hesaplama ile standart gallik asitin kalibrasyon eğrisi çizilmiş (Şekil 4.1.), daha sonra standart eğri denklemine göre ekstraktların içerdiği total fenolik madde miktarları bulunmuştur. Şekil 4.2.' de ayrıntılı sonuçlar verilmiştir.



Şekil 4.1. Gallik asit kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2. Polar ekstraktların toplam fenolik madde içeriği

1A: Hekzan ekstresi

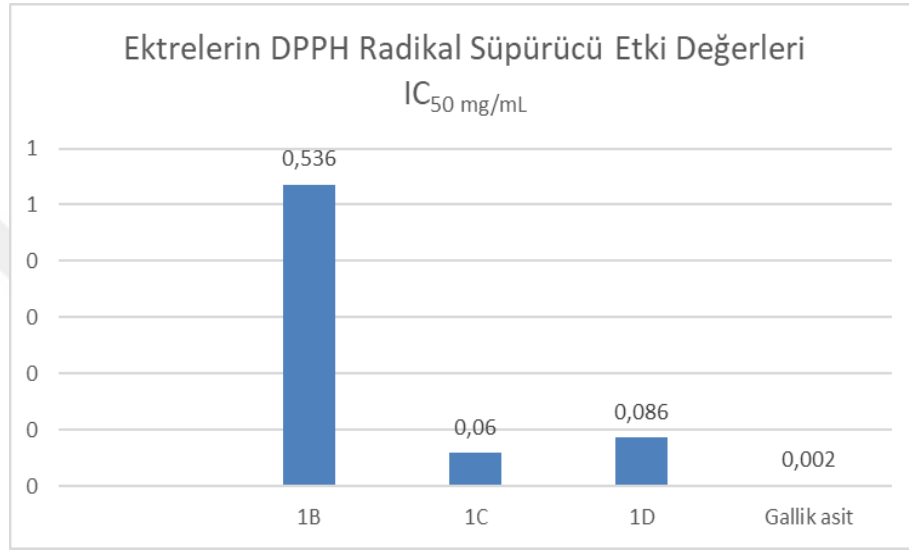
1B: Etil asetat ekstresi

1C: Metanol ekstresi

1D: %10'luk infüzyon

4.2. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Sonuçlar DPPH'ini %50 oranında inhibe eden konsantrasyon (IC_{50}) olarak hesaplanmıştır. IC_{50} değeri standart gallik asit için 0,0022 mg/mL olarak bulunmuştur. Ekstrelerin IC_{50} değerleri şekilde gösterilmiştir. (Şekil 4.3.). 1A ekstresinin IC_{50} değeri 10mg/mL den büyük olarak belirlenmiştir.



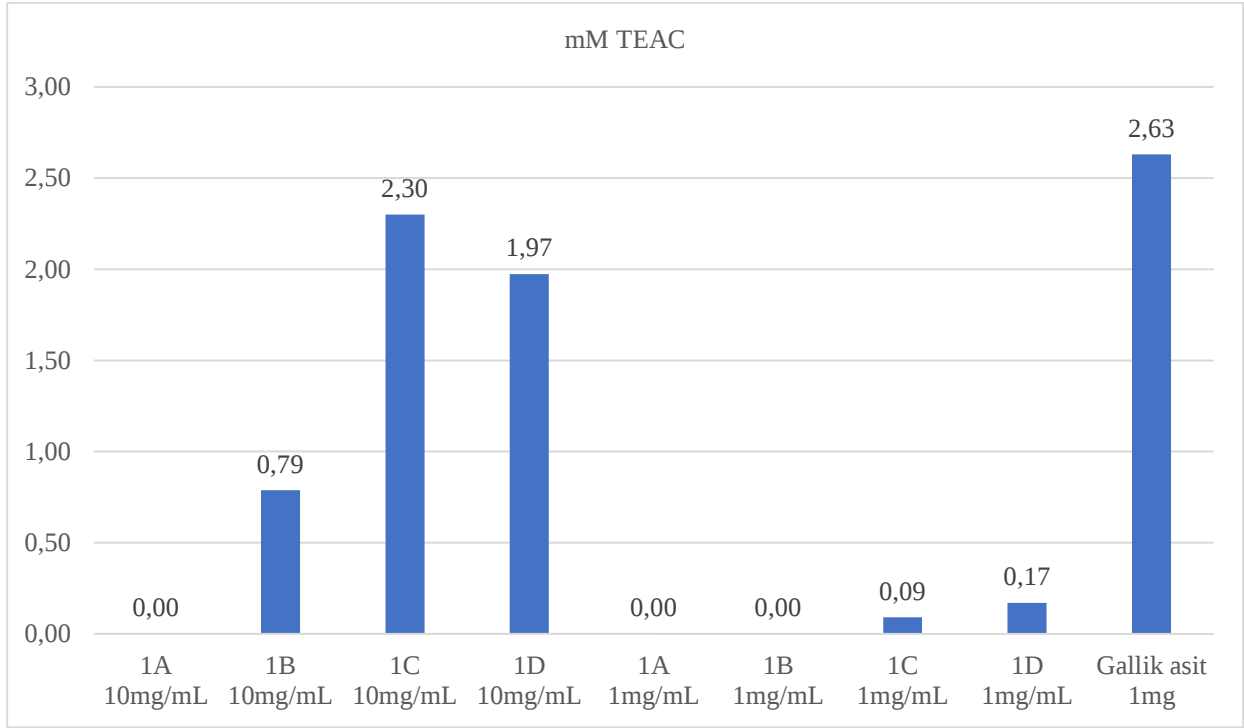
Şekil 4.3. Ekstrelerin IC_{50} değerleri

1B: Etil asetat ekstresi

1C: Metanol ekstresi

1D: %10'luk infüzyon

Ekstrelerin Troloks' a Eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) miktarları mM olarak farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Troloks'un ABTS^{•+} radikalinin inhibisyona dayalı kalibrasyon denklemi ile hesaplanmıştır. Deneyden hemen önce hazırlanan ABTS^{•+} aktif reaktifi kullanılmıştır. Hazırlanan reaktif oda sıcaklığında karanlıkta 16 saat bekletilmesinin ardından aktif hale geldikten sonra 96 kuyucuklu mikrolaka kuyucuklarında deneyi gerçekleştirmek üzere; 10 μ L numune ve 990 μ L ABTS^{•+} olacak şekilde 12- kanallı (Eppendorf) otomatik pipetör ile doldurulmuştur. Plaka 30 dakika oda sıcaklığı ve karanlık ortamda bekletildikten sonra 734 nm dalgaboyunda ölçüm yapılmıştır. Trolox'a ait kalibrasyon denklem eğrisi sonuçları Şekil 4.4.'te verilmiştir. Konsantrasyonların değişkenliğine bağlı olarak aktivitede de farklılık gözlenmiştir.



Şekil 4.4. Ekstrelerin ABTS^{•+} radikaline karşı Troloks'a eşdeğer olarak hesaplanan sonuçları

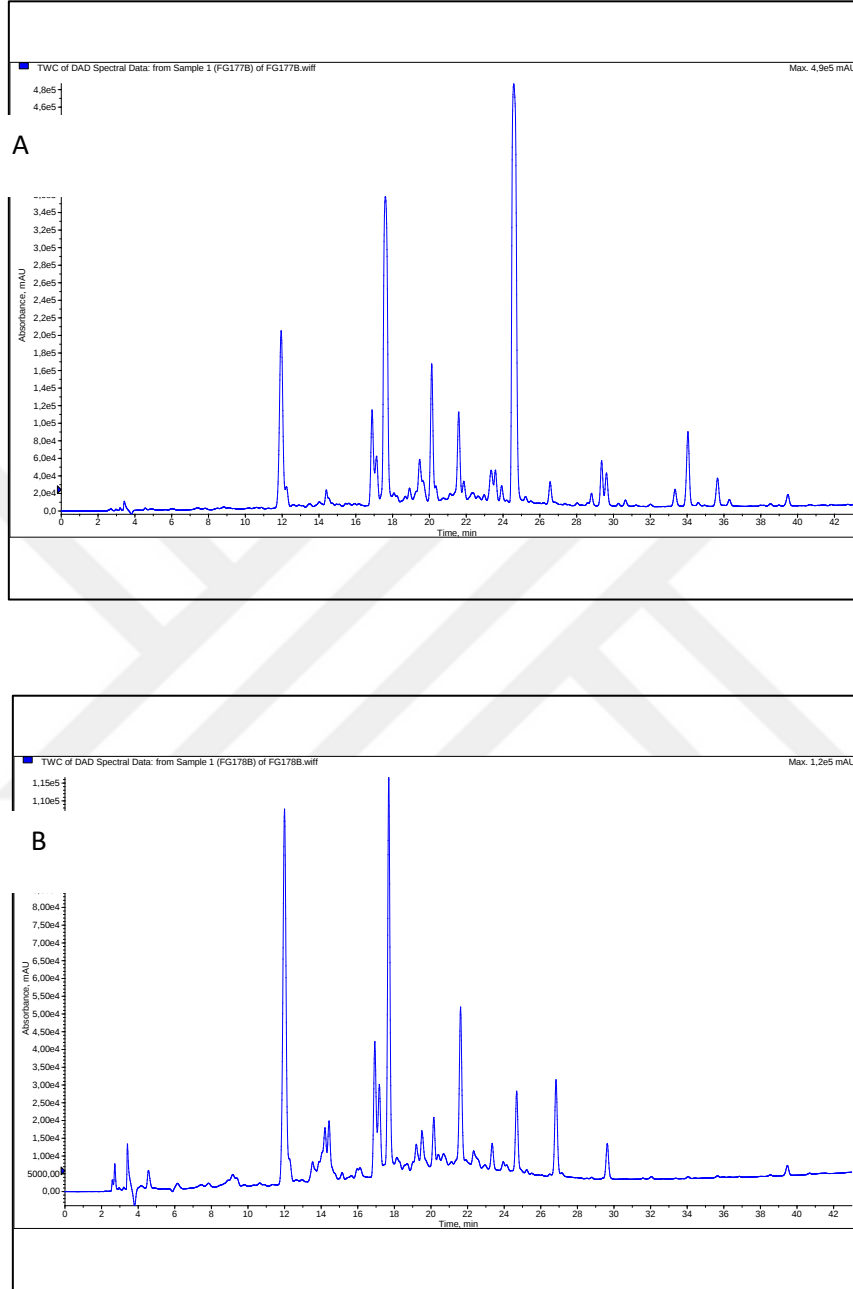
1A: Hekzan ekstresi

1B: Etil asetat ekstresi

1C: Metanol ekstresi

1D: %10'luk infüzyon

4.3.Esktrelerin Fenolik içeriğinin LC-MS/MS ile Belirlenmesi

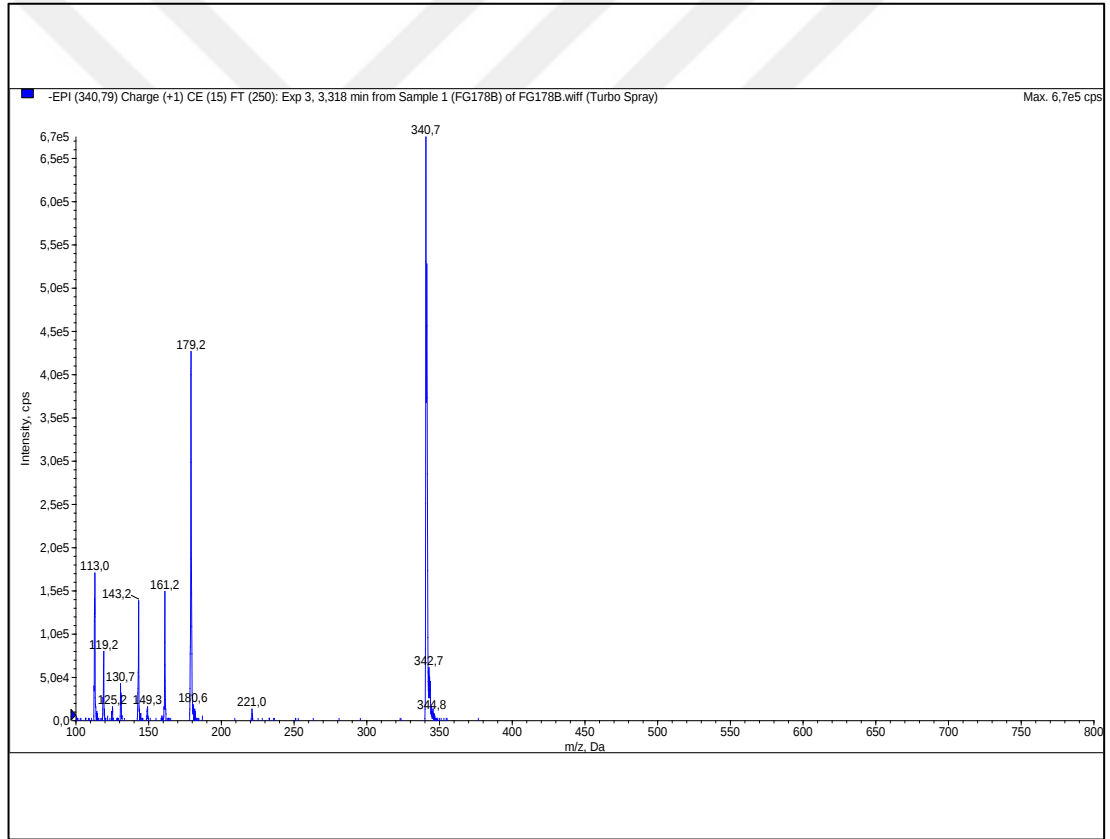


Şekil 4.5. DAD kromatogramları: A; MeOH ekstresi, B; %10' luk İnfüzyon

Çizelge 4.1. *S. germanicipolitana* subsp. *viridis* ekstrelerine (A,B) ait LC-MS/MS analiz sonucu

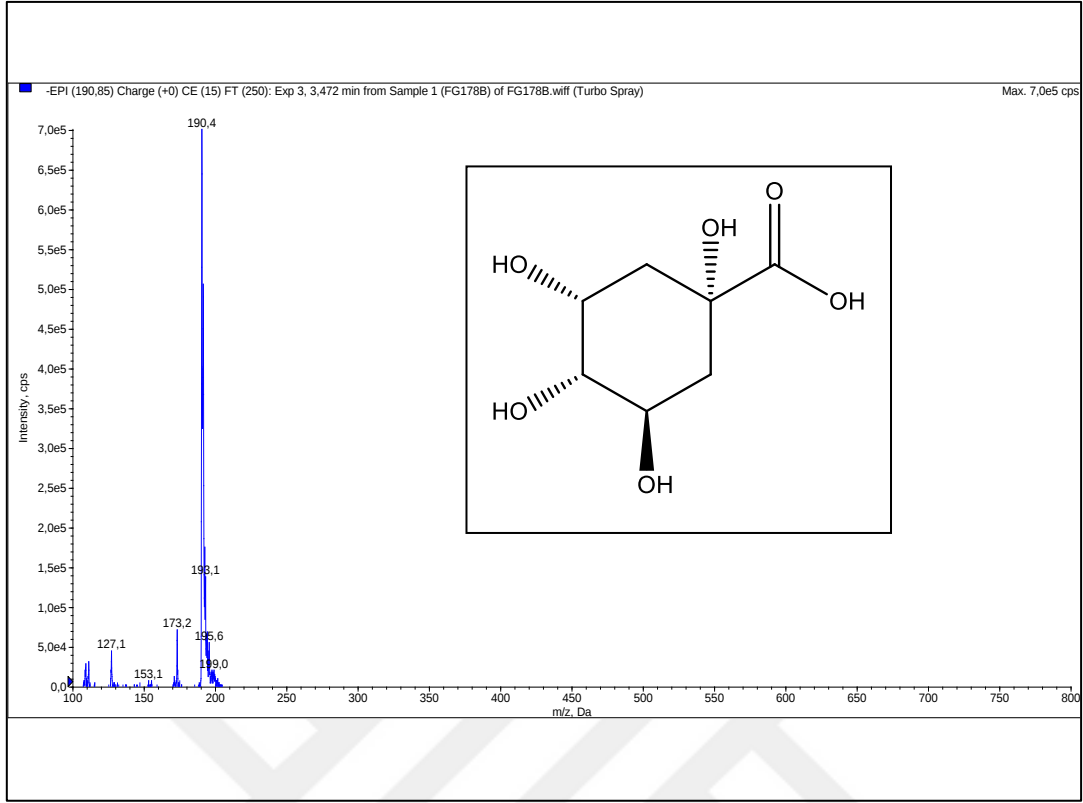
	Rt _{min}	m/z [M-H] ⁻	Parçalanma	Tanımlama	Ekstre
1	3.4	341	179, 161,131	Kafeoil glukoz	M, İ
2	3.5	191	173, 127 /128	Kinik asit	M, İ
3	8.0	461	315, 297, 153, 135	Fenilpropanoit benzeri	M, İ
4	12.0	353	191,179	Klorojenik asit	M, İ
5	17.0	785	623, 461, 315, 297,179	Ekinakozit	M, İ
6	17.3	755	623, 593, 461,315,179,135	Forsitozit B	M, İ
7	17.9	623	477, 461, 315,297,179,135	Verbaskozit	M
8	18.7	519	357, 341, 311, 151	Ksantomikrol heksozit benzeri	M
9	19.1	537	423, 323, 179, 161	Kafeik asit türevi	M
10	19.2	399	341, 179,161,131	Kafeik asit heksozit türevi	M
11	19.6	623	461, 315, 297, 179, 161	Forsitozit A	M, İ
12	20.2	637	461, 315, 297, 193,175	Leukoptozit A	M, İ
13	21.7	609	573, 447, 429, 285	İzoskutellarein 7-O-allozil (1-2) glukozit	M, İ
14	23.0	431	269	Apigenin glukozit	M, İ
15	23.6	651	609, 429, 339, 285, 175, 151	İzoskutellarein/luteolin diglukozit	M, İ
16	23.6	635	431, 413, 311, 269	Apigenin 7-O-[6''-O-asetil]-allozil (1 - 2)glukozit	M, İ
17	24.8	651	609,591,447,429,285	İzoskutellarein/luteolin asetildiglukozit	M, İ
18	26.7	598	447, 461, 452, 341, 331, 315, 307,300, 289, 161, 135	Bilinmeyen	M, İ
19	26.9	623	299, 284	Metillizoskutellarein-O-allozil(1→2)glukozit	İ
20	29.0	577	431, 413, 269, 163, 145, 117	Apigenin rutinozit	M
21	29.7	665	623, 461, 443, 299, 284	4'-O-Metillizoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozit	M, İ
22	33.4	313	297, 283, 269, 255	Sirsimaritin benzeri bileşik	İ
23	34.2	343	328, 313, 298, 285, 270	Ksantomikrol benzeri bileşik	İ
24	36.4	373	358, 343,328, 313	Gardenin D benzeri bileşik	İ

Kolonu 9,5 dakikada terk eden ve m/z 341 $[M-H]^-$ moleküler ağırlığa sahip molekül, yapısından bir heksoz (-162 amu) kopartarak m/z 179 iyonunu ve sonrasında H_2O (-18 amu) kaybı ile de m/z 161 iyonunu oluşturmuştur (Şekil 4.6.). Bu tarz parçalanmalar; kafeoil heksozit veya herhangi bir disakkarit için geçerlidir. Bu noktada ayırım kafeik asit'in yapıda olup olmadığı üzerinden yapılabilir. Bu durum da m/z 135 iyonunun (Kafeik asit- CO_2) spektrumda görülüp görülmemesi ile gerçekleştirilebilir. Yapılan incelemede m/z 135 iyonu spektrumda görülmediğinden 1 numaralı madde disakkarit olarak adlandırılmıştır. Kullanılan kolon özelliği de dikkate alındığında (Ters Faz Kolon) tutunma zamanının bu kadar düşük olması da maddenin bir disakkarit olduğunu destekler niteliktedir.



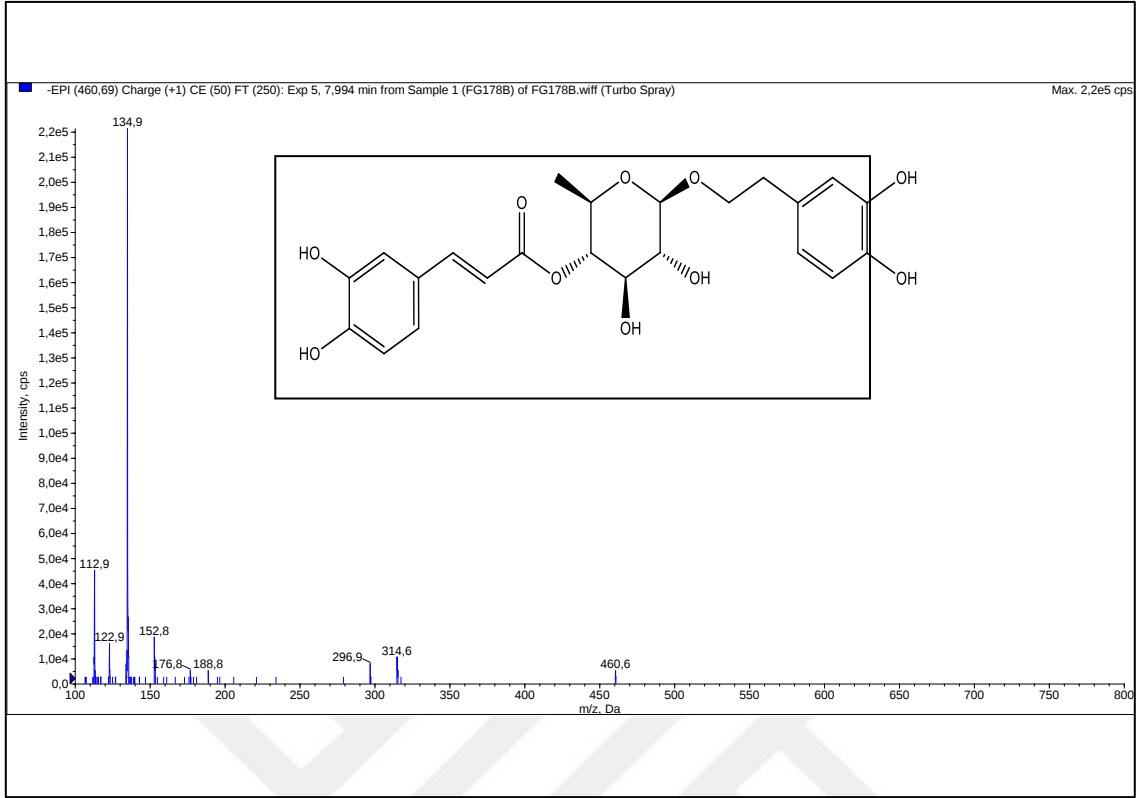
Şekil 4.6. Disakkarit

2 numaralı madde kolonu 3,5 dakikada terk etmiş ve m/z 191 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki ile kendini göstermiştir (Şekil 4.7). Moleküler iyon pikinden bir molekül su çıkışı ile oluşan m/z 173 $[M-H]^-$ ve ardından 46 amu' luk karboksilik asit kopmasıyla oluşan m/z 127/128 iyonları gözlemlenmiştir. Bu parçalanmalar Kinik asit'in karakteristik parçalanmalarıdır ve literatür bilgileri ile de uyumludur (Clifford vd., 2005).



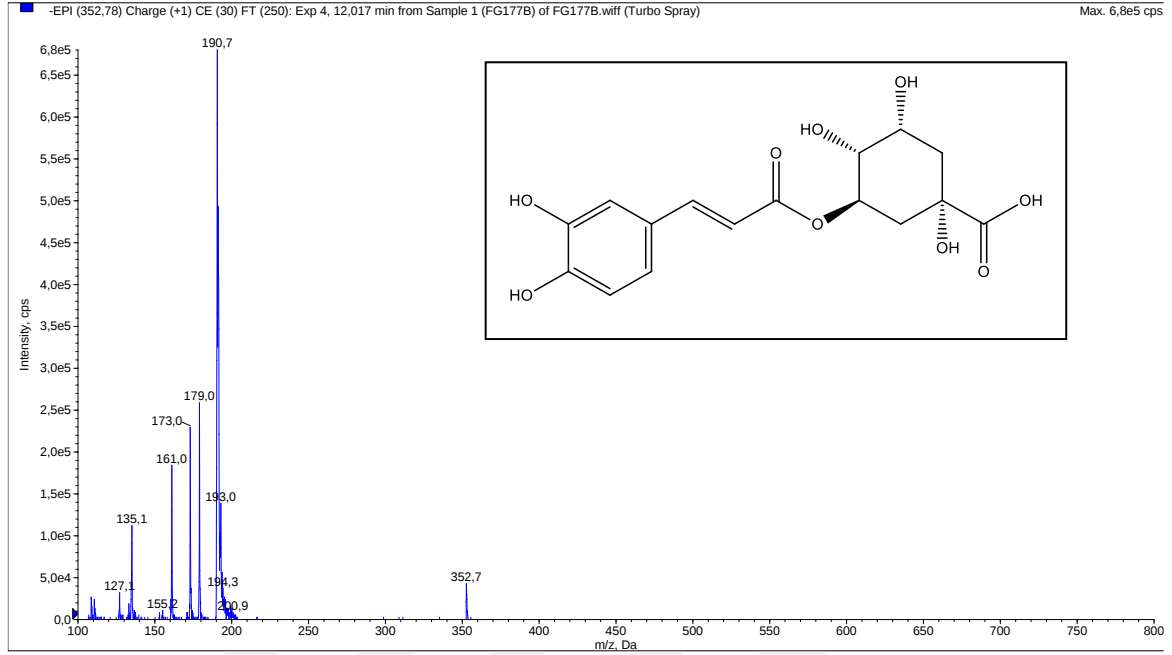
Şekil 4.7. Kinik asit

Kolonu 8. dakikada terk eden m/z 461[M-H]⁻ moleküler iyon pikli madde üzerinde yapılan incelemelerde moleküler iyon pikinden 146 amu kopması (-ramnoz) ile m/z 315 iyon piki ardından da 162 amu (-kafeik asit) kopmasıyla m/z 297 görülmüştür (Şekil4.8). Molekül bu haliyle 5 numaralı verbaskozitten bir glukoz, 7 numaralı ekinakozitten ise bir glukoz ve ramnoz eksik olarak muhtemel yapı formülü aşağıdaki gibi bir madde olarak belirlenmiştir. *Sideritis* türlerinde tanımlanan böyle bir maddeye rastlanmadığı için ve maddenin izolasyon ve diğer spektroskopik yöntemlerle yapı tayini şu hali ile mümkün olmadığından madde fenilpropanoid türevi olarak adlandırılmıştır.



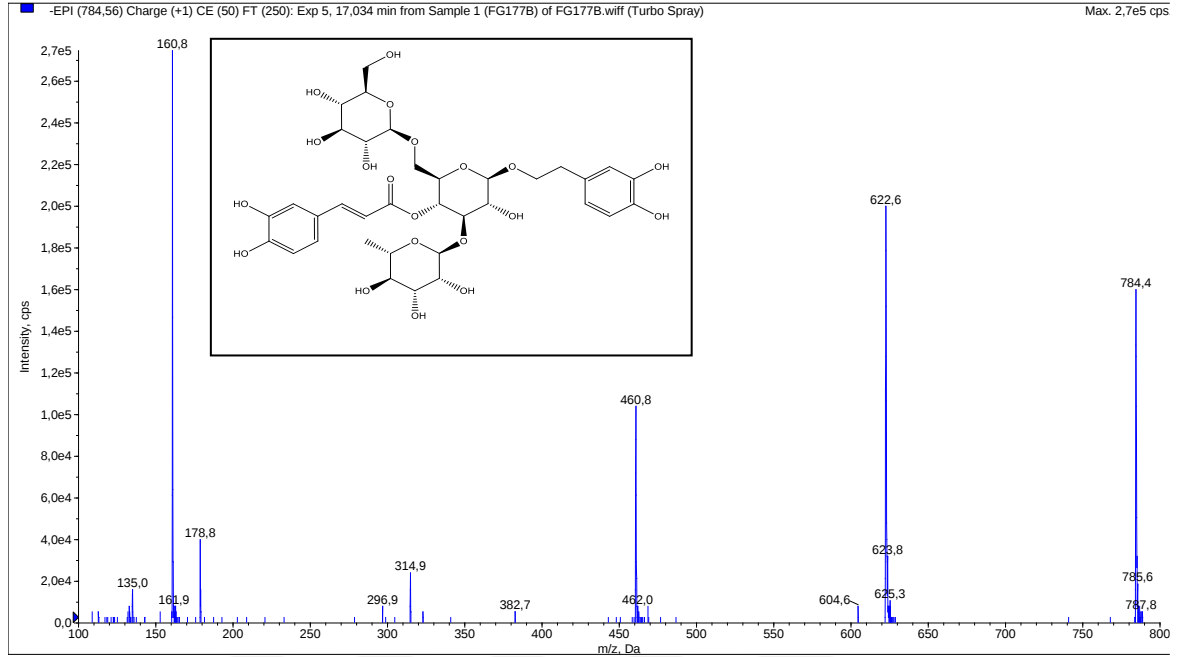
Şekil 4.8. Fenilpropanoit benzeri bileşik

Kolonu 12. dakikada terk eden ve m/z 353 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikinin yanında m/z 191 temel pik ile gözlemlenen 4 numaralı maddede görülen; 191, 173 ve 179 iyonları madenin kinik asit türevi olduğunu göstermiştir (Şekil4.9). Kinik asit m/z 191 $[M-H]^-$ ve m/z 353 $[M-H]^-$ arasında görülen 162 amu'luk fark m/z 179 $[M-H]^-$ ve 135 $[M-H]^-$ pikleri ile varlığı kanıtlanan (1 numaralı maddede anlatıldığı sebepten dolayı) kafeik asit karakteristik parçalanmaları olduğundan mevcut 162 amu' luk farkın kafeik asit kopmasından kaynaklandığı anlaşılmış ve molekül kafeoilkinik asit olarak belirlenmiştir. m/z 191 iyonunun temel pik olması bu iki molekülün birbirlerine 1, 3 veya 5 pozisyonundan bağlandığını göstermektedir. m/z 179 iyonunun bağıl şiddetinin yüksek olması bağlanma pozisyonunun 3 numaralı C üzerinde olduğunu göstermiştir. Bu bilgiler ışığında molekül, 3-kafeoilkinik asit (klorojenik asit) olarak adlandırılmıştır ve literatür bilgileri ile parçalanmalar uyum göstermiştir.



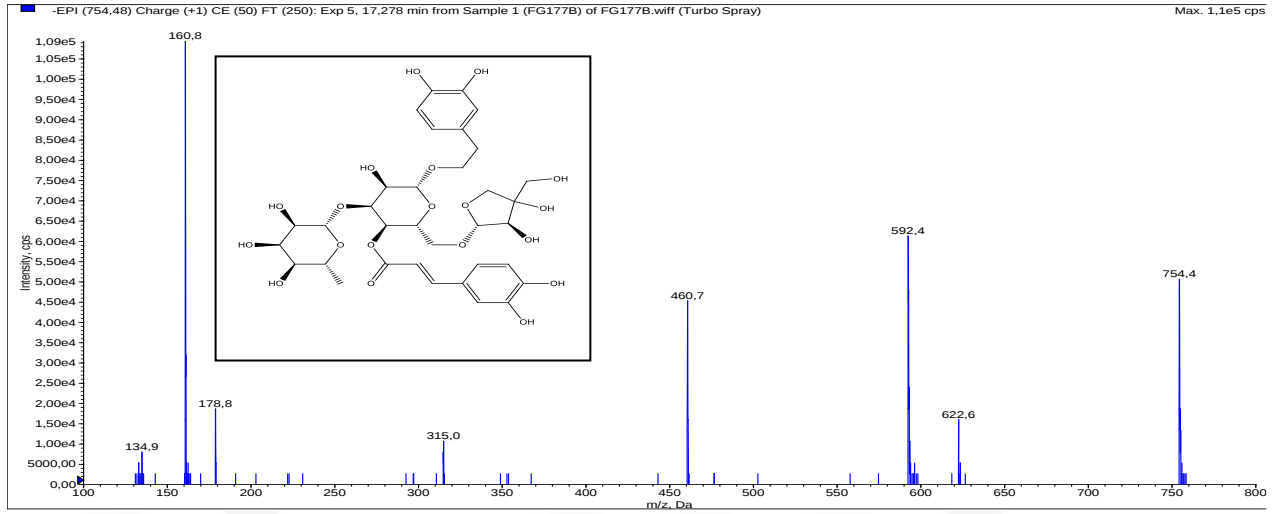
Şekil 4.9. 3-Kafeoilkinik asit (klorojenik asit)

4 numaralı madde 15.4 tutunma zamanı ve m/z 785 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki ve bir heksoz veya kafeoil kopması ile temel iyon piki olarak m/z 461 iyonunu göstermiştir(Şekil4.10). Diğer parçalanma ürünleri m/z 179 and m/z 161, kafeik asit parçalanmaları olarak belirlenmiştir. 4 numaralı madde ile aynı molekül ağırlıklı ve benzer parçalanmaları gösteren bir madde *Sideritis* türlerinde daha önce yapılan çalışmalarda ekinakozit olarak tanımlandığından 4 numaralı madde de aynı şekilde adlandırılmıştır (Petreska vd.; 2011, Petreska vd .,2012).



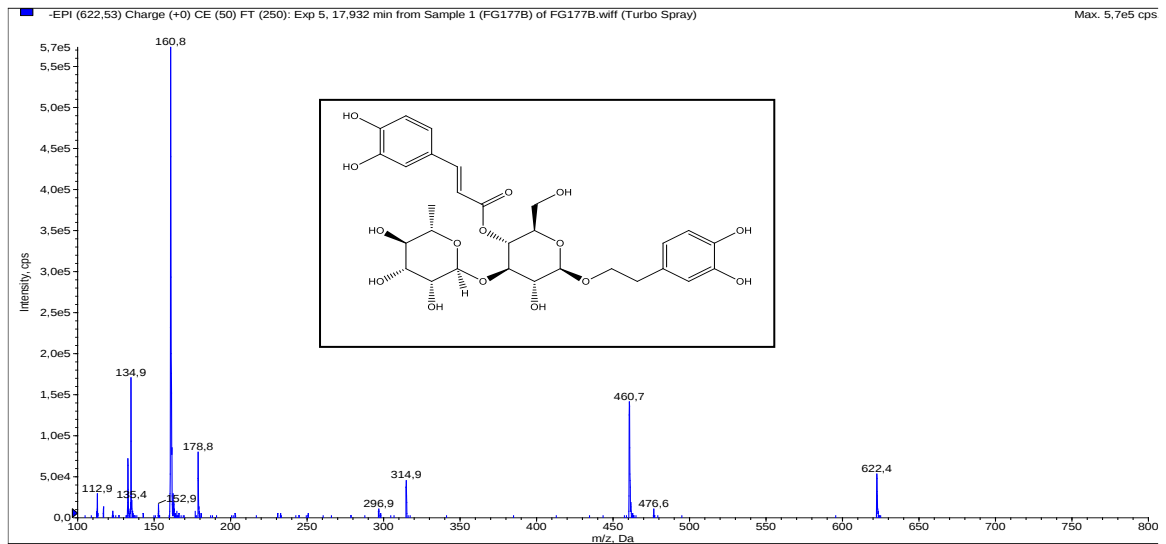
Şekil 4.10. Ekinakozit

4 numaralı madde m/z 755 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki göstermiştir. Kafeoil kaybından dolayı m/z 593'te temel pik oluşturmuştur. Bir pentoz kaybı m/z 461 iyonu ($M-H-132$) oluşturmuştur (Şekil4.11). Diğer şeker kaybı ramnoz, m/z 315'te bir iyon ($M-H-132-146$) oluşmasını sağlamıştır. Kafeik asit ile ilgili iyonlar m/z 179 m/z 161 ve m/z 135' de gözlemlendi. Bu parçalanma davranışı, 4 numaralı maddenin bir kafeoil feniletanoit glukozit olduğunu anlamamıza neden oldu. MS fragmentasyonu, Forsitozit B ile uyumludur.



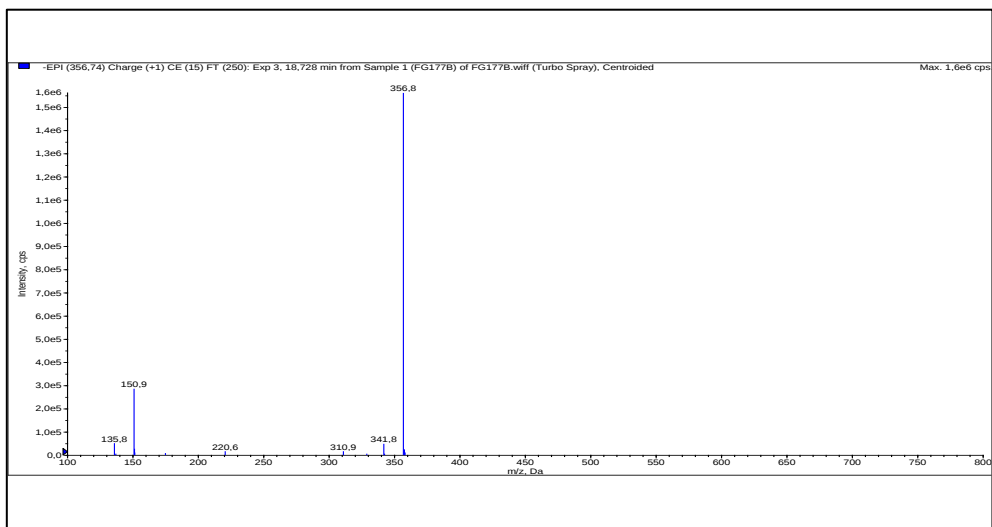
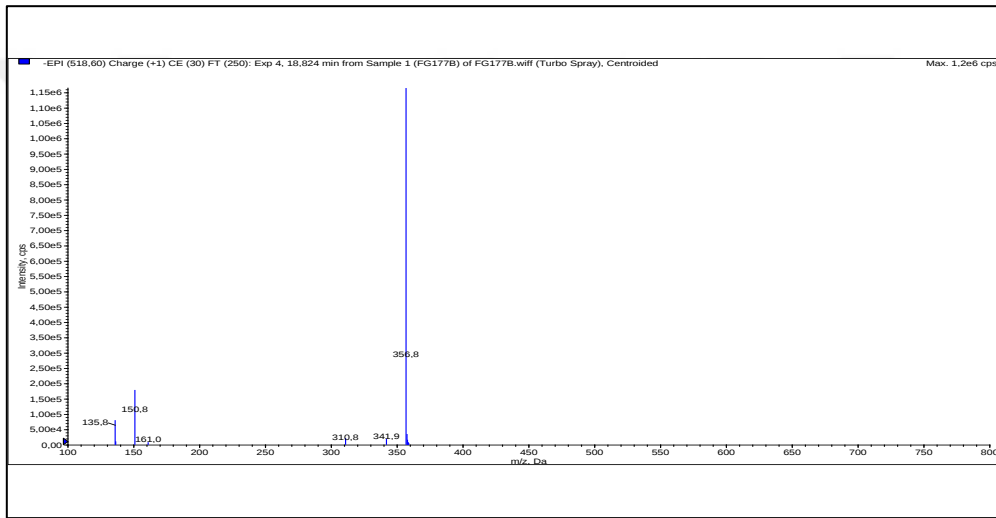
Şekil 4.11. Forsitozit B

5 numaralı madde m/z 623 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki göstermiş ve sonraki parçalanmaları forsitozit B ile aynı görülmüştür (Şekil4.12). Forsitozit ile arasındaki 132 amu'luk fark apioz kaybından ileri gelmektedir. Forsitozit B'den bir apioz eksik olarak tanımlanabilecek madde verbaskozittir ve molekülün kütle spektrum parçalanmaları verbaskozit ile uyumludur.



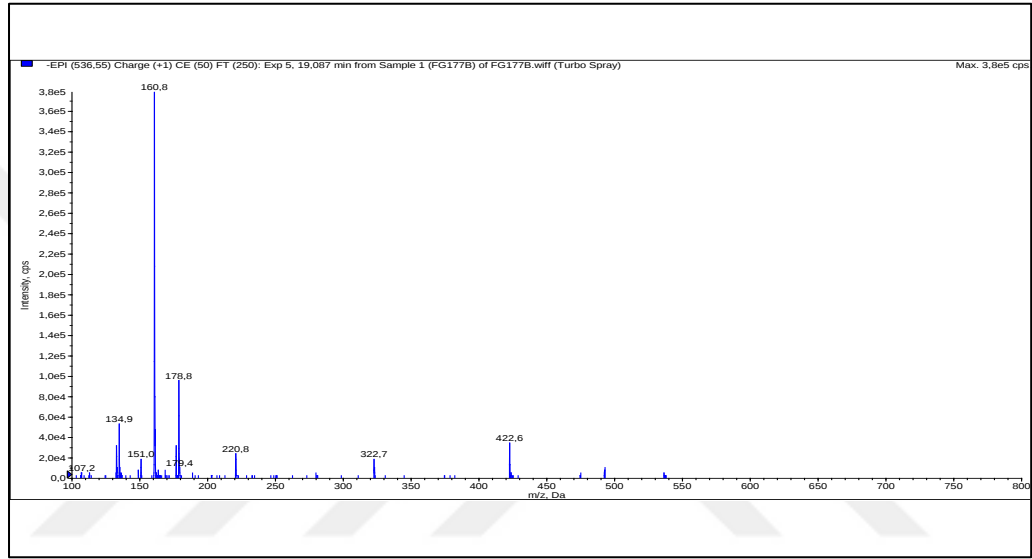
Şekil 4.12. Verbaskozit

m/z 519 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikli maddenin spektrumu üzerinde yapılan incelemelerde moleküler iyon piki ve temel pik arasında 162 amuluk bir kopma bir glukoz kaybından ileri gelmektedir. Bu durumda bu madde aglikon olarak m/z 357 $[M-H]^-$ taşıyan bir glukozit olmalıdır. m/z 357'nin daha ayrıntılı spektrumu incelendiğinde metil kopmaları görülmektedir (Şekil 4.13). Ksantomikrol (4',5-Dihidroksi-6,7,8-trimetoksiflavon) aynı molekül ağırlığına sahip ve daha önce *Sideritis* türlerinde belirlenmiş bir flavonoidtir (Janeska vd., 2007). Bu durumda molekül ksantomikrol glukozit olarak adlandırılabilir de glukozit hali ile ilgili *Sideritis* türlerinde bir bilgi bulunmadığından tabloda kesin bir ifadeden kaçınılmış ve ksantomikrol heksozit benzeri bileşik olarak adlandırılmıştır.



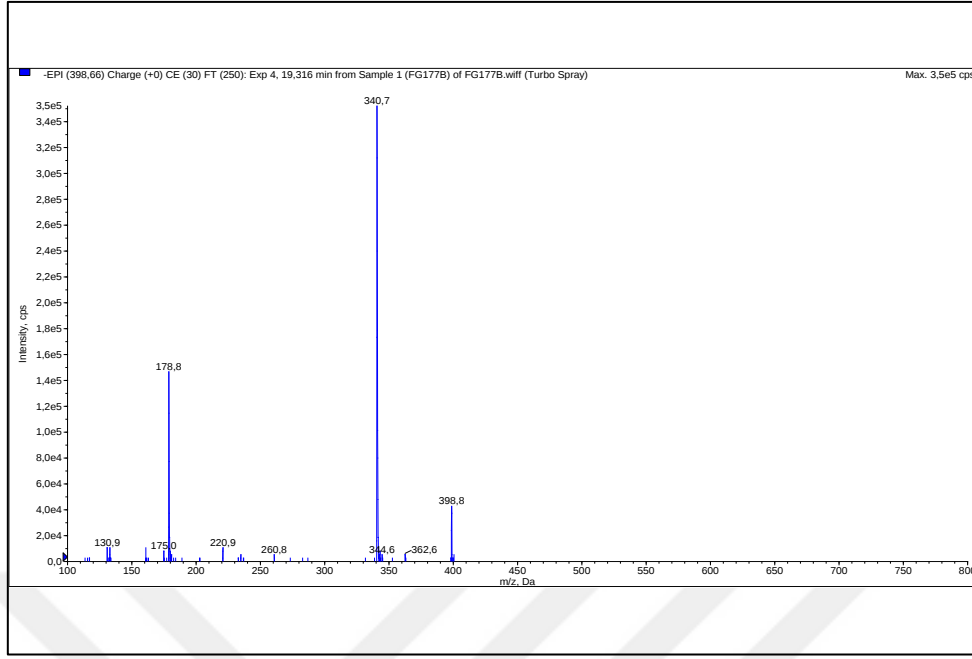
Şekil 4.13. Ksantomikrol heksozit

9 numaralı m/z 537 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin spektrumu incelendiğinde; m/z 179, m/z 161 ve m/z 135 dikkat çekmektedir (Şekil4.14). Bunlar kafeik asit parçalanmalarıdır. Molekül ağırlığı dikkate alındığında, dikafeoilkinik asitler m/z 515 $[M-H]^-$ ile bir sodyum bağlanmış olabileceği düşünüldüyse de m/z 191 kinik asit ile ilgili herhangi bir bulgu olmadığından bu madde kafeik asit türevi olarak adlandırıldı. Benzer bir tanımlama 10 numaralı madde için de yapıldı. Burada da kafeik asit parçalanmaları ve bir glukoz kaybı (-162 amu) spektrum üzerinde görülebilmektedir.



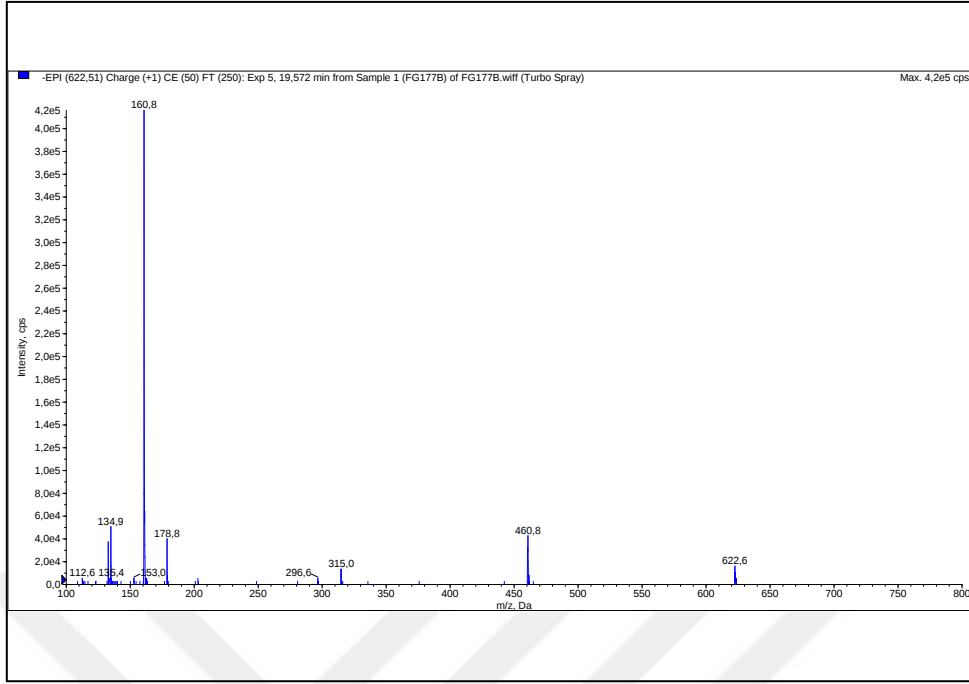
Şekil 4.14. Kafeik asit türevi

m/z 399 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin kafeik asit parçalanmaları ve m/z 341 iyonu ile de kafeik asite bir heksoz bağlantısı görülmektedir (Şekil4.15). Madde kafeik asit heksozit türevi olarak adlandırılmıştır.



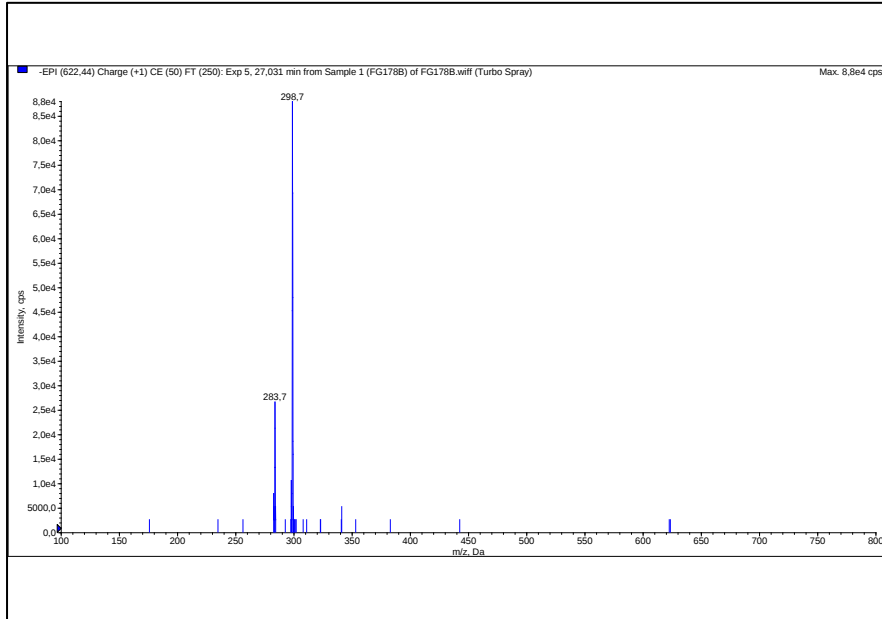
Şekil 4.15. Kafeik asit heksozit

m/z 623 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikli 11 numaralı maddenin MS parçalanmaları verbaskozit ve forsitozit A ile benzer parçalanmalar gösterdi. MS^2 parçalanmalarında ise m/z 461, 315, 161 and 135 iyonları gözlemlendi. Daha önce *Sideritis* türlerinde yapılan çalışmada (Petreska vd., 2012) aynı molekül ağırlıklı 3 madde olduğu (verbaskozit, forsitozitA ve 4"-O-metilizoskutellarein-7-O-allozil(1-2)-glukozit) tespit edilmiştir. Bu maddenin verbaskozit'ten sonra gelen forsitozit A olduğu belirtildiğinden 11 numaralı madde forsitozit A olarak adlandırıldı (Şekil4.16.). Yapısında metil olduğu, kolonda daha uzun süre tutunan maddenin ise 19 numaralı madde metilisoskutellarein glukozit (Şekil4.17) olduğu tespiti tentatif olarak yapıldı, 21 numaralı maddenin ise bunun asetilli türevi (Şekil4.18) olduğu tentaif olarak tespit edildi.

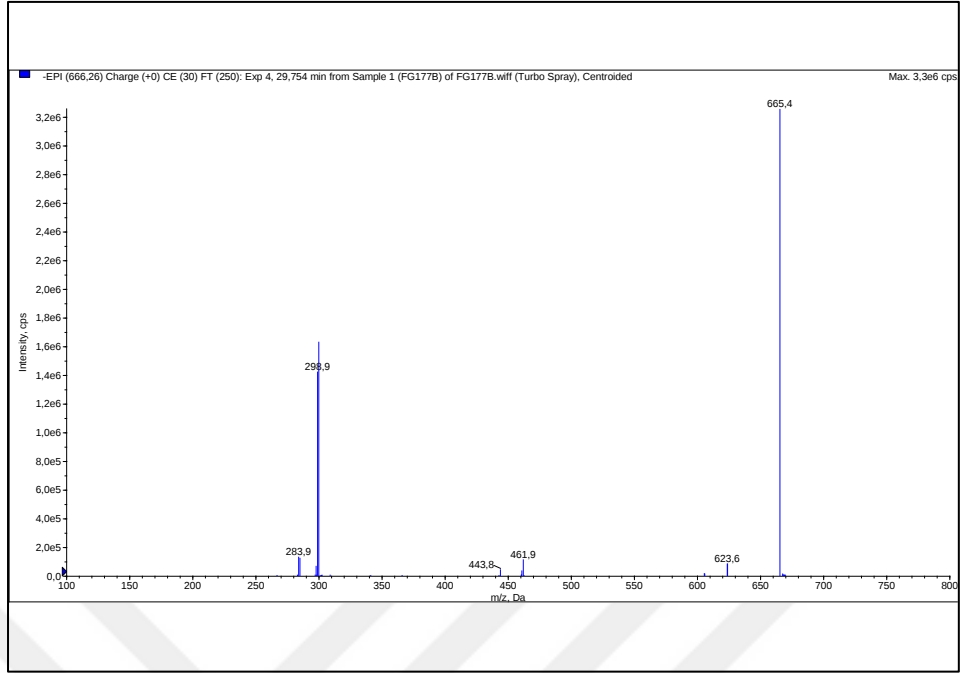


Şekil 4.16. Forsitoz A

19 ve 21 numaralı maddeler daha önce yapılan *Sideritis* türleri üzerindeki yayınlardaki spektrum bilgilerine istinaden metilizoskutellarein diglukozit ve metilizoskutellarein asetildiglukozit olarak tanımlanmıştır.

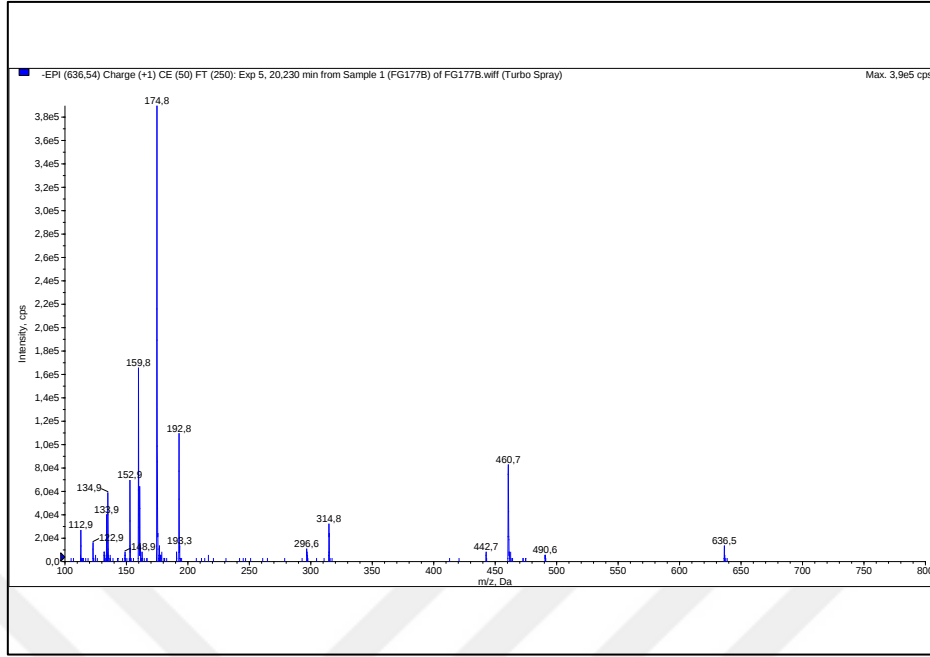


Şekil 4.17. 4'-O-Metillizoskutellarein-7-O-allozil (1→2) glukozit



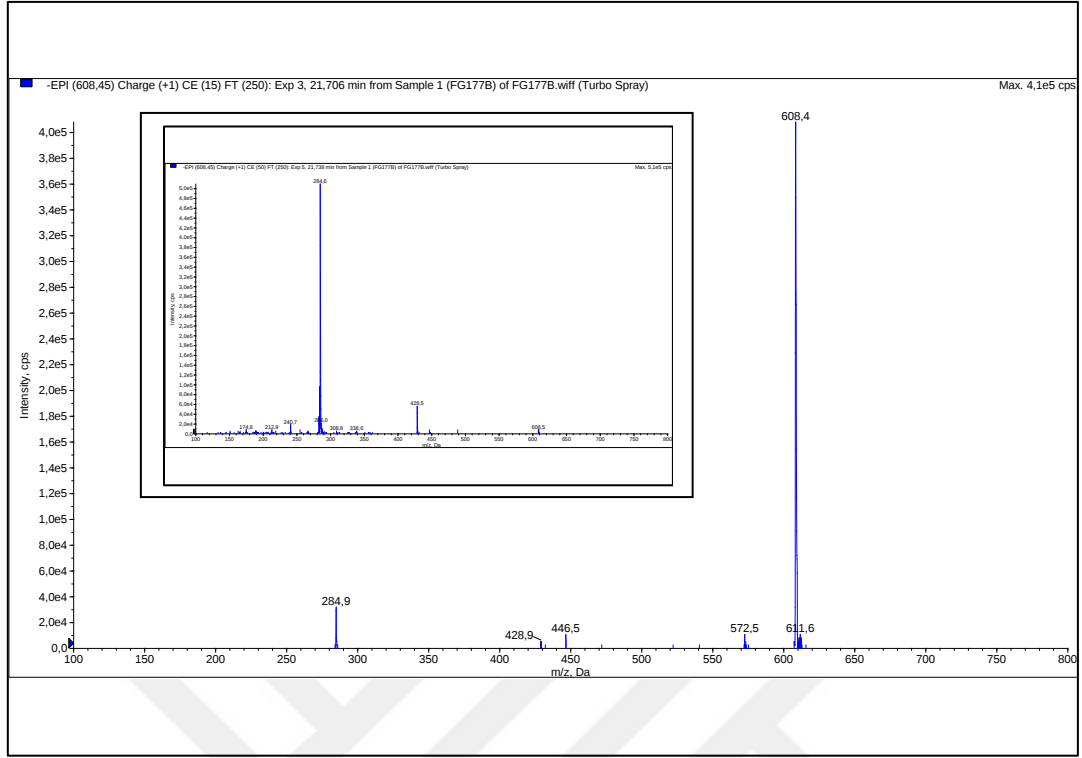
Şekil 4.18. 4'-O-Metillizoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil (1-2) glukozit

12 numaralı madde m/z 637 $[M - H]^-$ moleküler iyon piki ve MS/MS parçalanmalarında 175 amu kayıp ile (-ferulik asit) m/z 461 temel iyon piki göstermiştir. Ferulik asit varlığı m/z 175 ve sonraki parçalanmalarda desteklenmektedir. m/z 315 iyonu bir ramnoz (-146 amu) kaybından ileri gelmektedir (Şekil4.19). Bu bilgiler dahilinde 12 numaralı madde lökoptozit A olarak adlandırılmıştır.



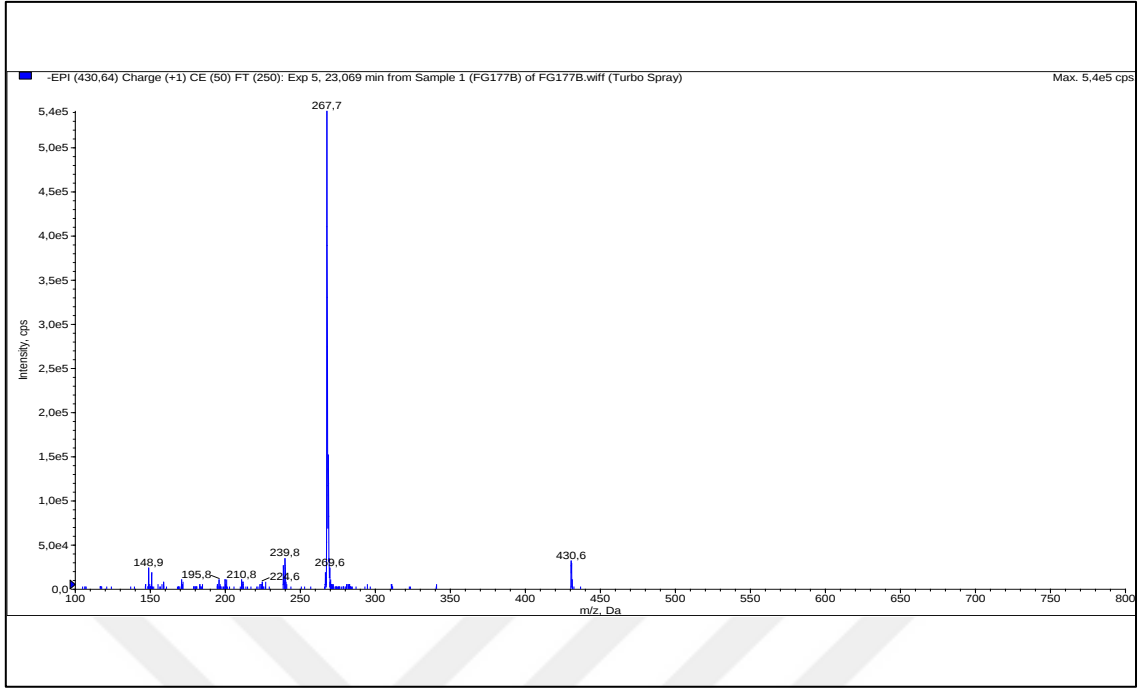
Şekil 4.19. Löktoz A

13 numaralı madde m/z 609 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki ve MS^2 spektrumunda temel iyon piki olarak 324 amu, diglukoz kaybı ile $-(162+162)$ m/z 285 iyonunu oluşturmuştur (Şekil 4.20). m/z 429 iyonunun varlığı glikozidasyon pozisyonunun iki şeker arasında ve 1-2 şeklinde olduğunu göstermektedir (M-H-180). İzoskutellarein-7-O-allozil (1-2) glukozit bu parçalanmalara uyan ve daha önce *Sideritis* türlerinde tanımlanmış bir flavonoit diglukozittir (Petreska vd., 2011).

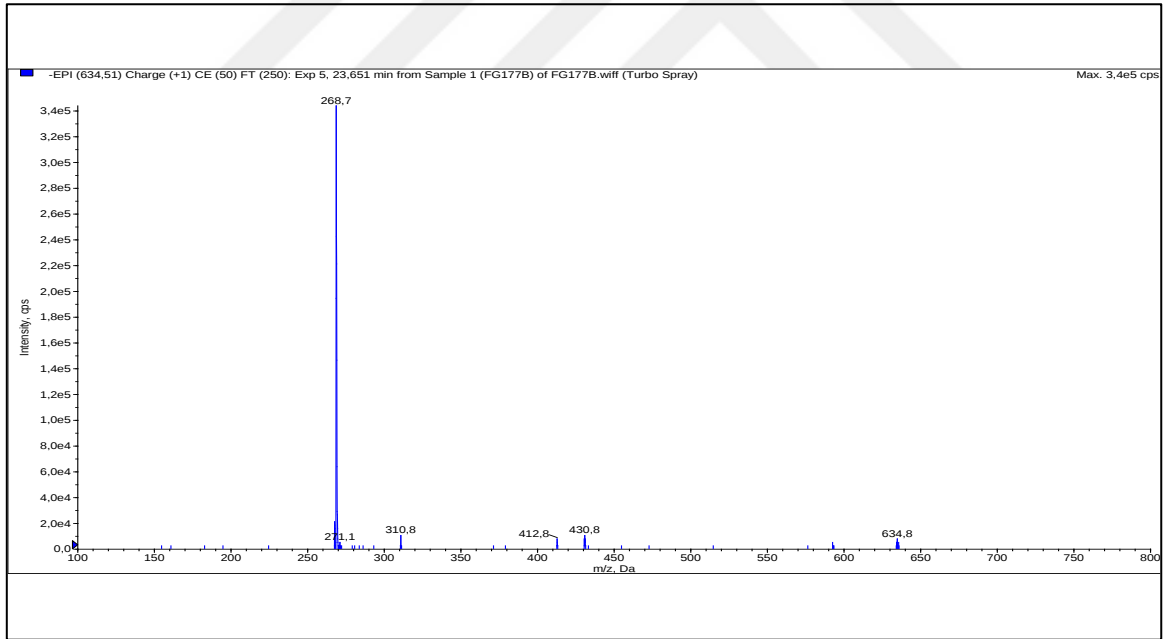


Şekil 4.20. İzoskutellarein-7-O-allozil (1-2) glukozit

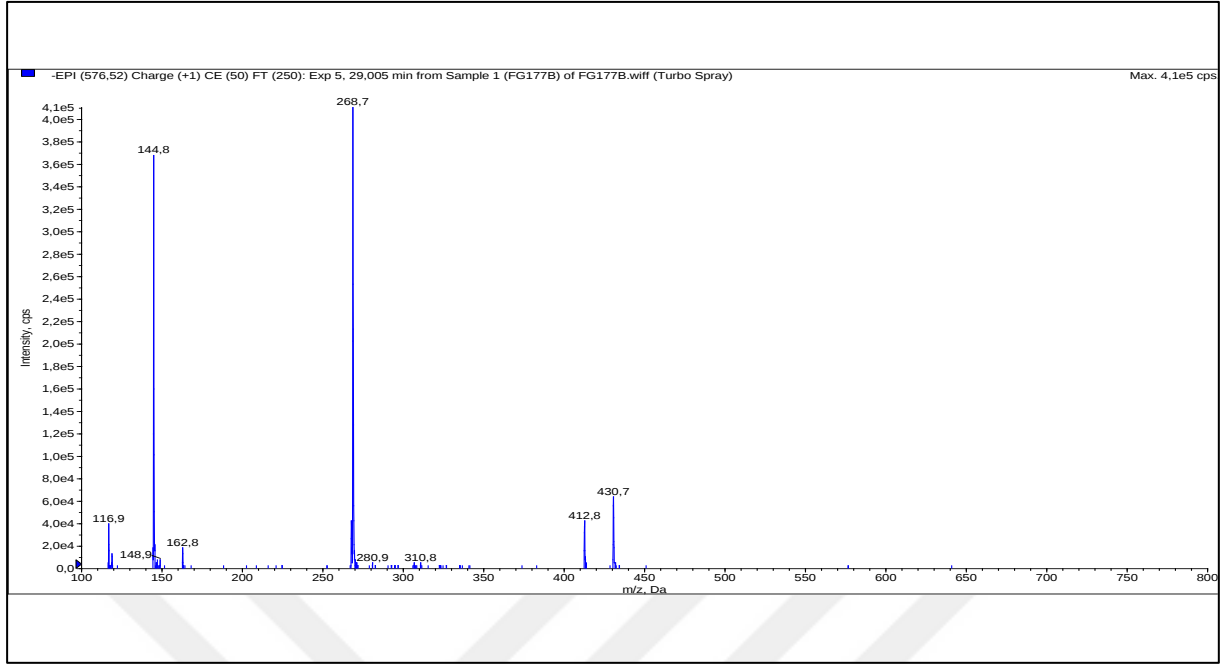
14 numaralı maddenin m/z 431 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki ve m/z 269 $[M-H]^-$ da aglikon iyonu göstermiş ve molekül ağırlığında bu aglikondan 162 amu fazla olduğu görülmüştür. m/z 269 molekül ağırlıklı aglikon *Sideritis* cinsinde yaygın olarak bulunan apigenin olmalıdır ve bu farkın bir glukoz kaynaklı olduğu düşünüldüğünde 14 numaralı madde apigenin glukozit olarak adlandırılmıştır (Şekil4.21).16 numaralı madde ise Apigenin asetildiglukozit olarak tanımlanmıştır (Şekil4.22). m/z 635 $[M-H]^-$ ise apigenin aglikondan fazla olarak gösterdiği 366 amu'luk fark ile (diglukoz + asetil) spektrum bilgileri tanımlamayı doğrulamaktadır. Apigenin glukozit türevleri *Sideritis* türünde tanımlıdır (Petreska vd., 2011). 20 numaralı madde m/z 577 $[M-H]^-$ molekül ağırlıklı ve $([M-H]-308)$ 'lik bir kayıpla oluşan karakteristik parçalanma ürünü olan m/z 269' luk (apigenin) ile karakterizedir. Oluşan m/z 308'lik fark ise rutinoz (glukoz + ramnoz) kaybından ileri gelmektedir (Sánchez-Rabaneda vd., 2003). m/z 431 iyonu 146 amu'luk ramnoz kaybına ve sonrasında m/z 431 ile aglikon apigenin arasındaki -162 amu'luk fark ise glukoz kaybını desteklemektedir (Şekil4.23). 20 numaralı bu madde apigenin rutinozit olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.21. Apigenin glukozit

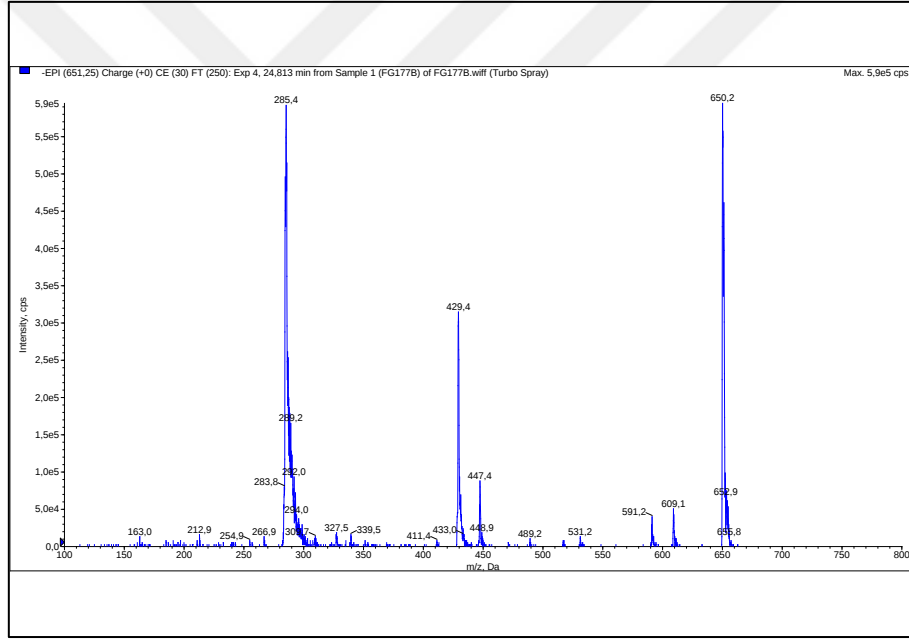
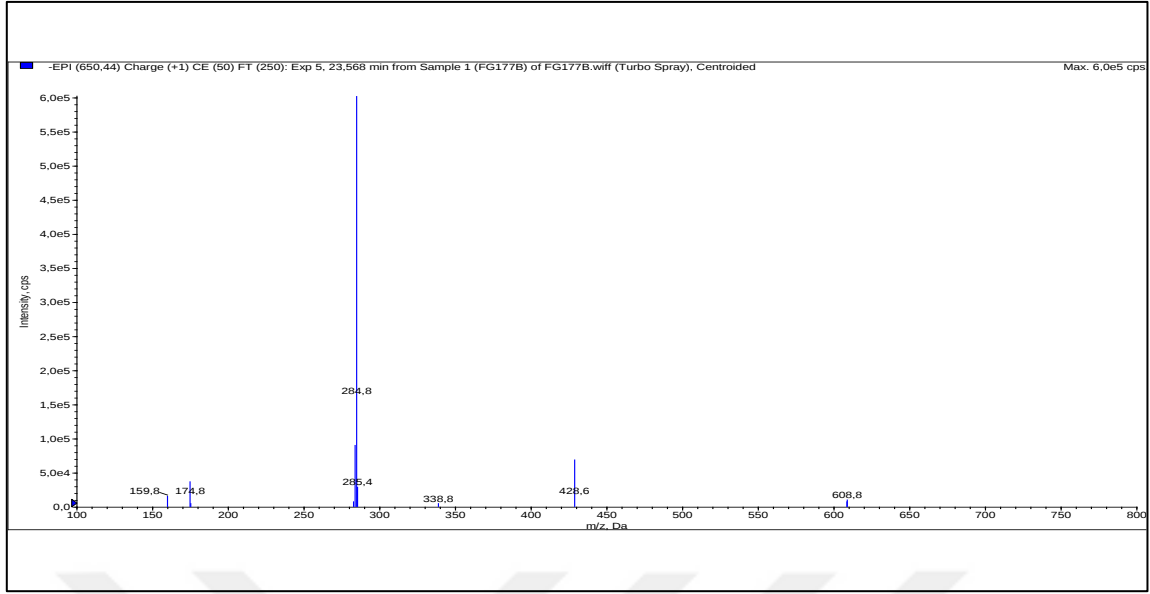


Şekil 4.22. Apigenin 7-O-[6''-O-asetill]-allozil(1-2)glukozit



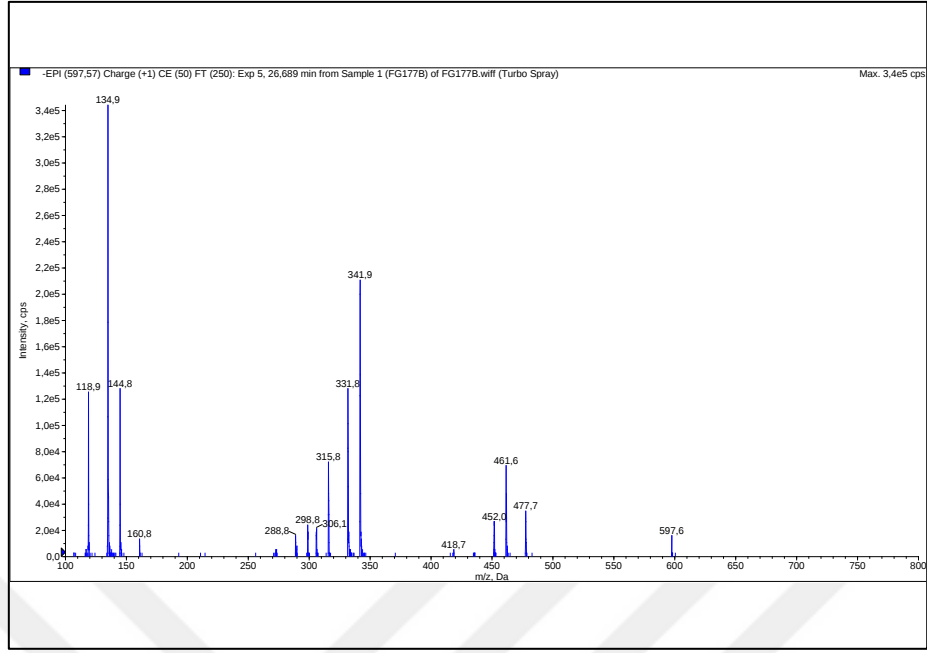
Şekil 4.23. Apigenin rutinozid

Molekül ağırlığı 651 olan ve tutunma zamanları birbirlerine çok yakın iki madde belirlenmiştir. Her ikisinde de temel pik 285 olarak görülmektedir. Bu maddeler *Sideritis* türlerinde daha önce tanımlanmış olan izoskutellarein asetildiglukozit ve luteolin asetildiglukozit türevleri olabilir. *Sideritis* türlerinde aynı molekül ağırlıklı ve parçalanmalara sahip 3 molekül tespit edilmiştir. Bunlar luteolin 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil (1→2) glukozit, luteolin 7-O-allozil-(1→2)-[6''-O-asetil] glukozit, izoskutellarein 7-O- [6'''-O- asetil] allozil (1→2) glukozit'dir (Petreska vd., 2011; Petreska vd., 2012). Bunlardan benzer kromatografik şartlarda birbirine yakın tutunma zamanıyla gelen maddelerden kolonu ilk terk edenin luteolin 7-O-allozil-(1→2)-[6''-O-asetil] glukozit ve daha sonra terk edenin izoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil] allozil (1→2) glukozit olduğu belirlenmiştir (Petreska vd., 2012). Elimizdeki spektrum verilerinde -CH₃ grupları gibi tutunma zamanlarını birbirlerinden büyük oranda farklılaştıracak gruplar da olmadığından, herhangi bir karışıklık olmaması açısından tabloya bu maddeler İzoskutellarein/luteolin asetildiglukozit olarak kesin bir tanımlama yapmaktan kaçınarak yazılmıştır (Şekil4.24).



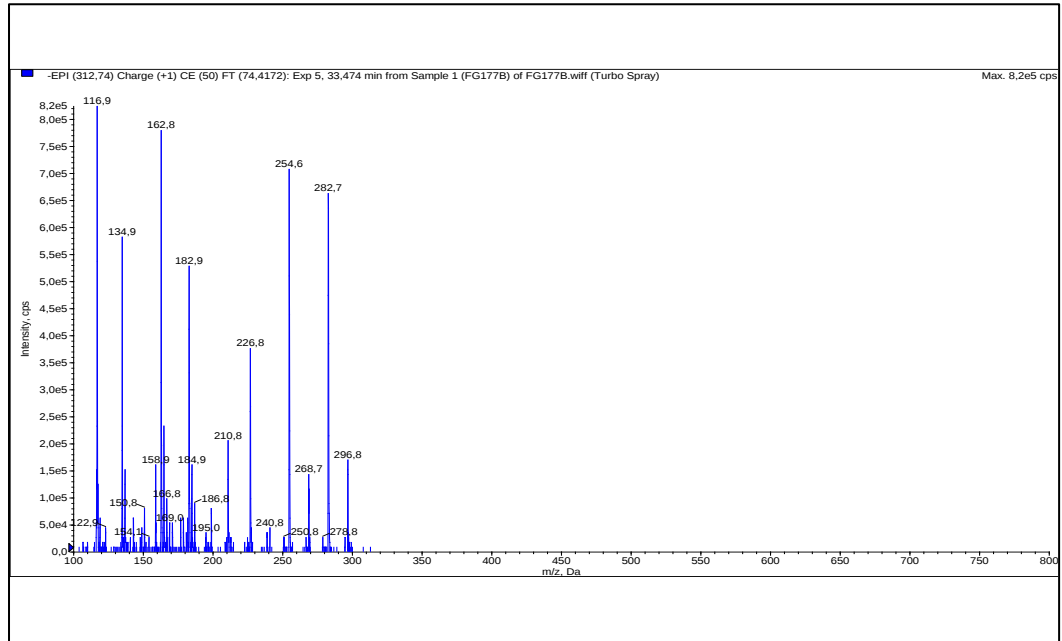
Şekil 4.24. İzoskutellarein / luteolin 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil (1-2) glukozit

18 numaralı madde spektrumu incelendiğinde, C-glikozitlere benzer parçalanmalar, (-120 amu) ve deoksiheksoz kopmaları (-146 amu) ile beraber kafeik asit türevi sayılabilecek parçalanmaların görülmesine rağmen yetersiz verilerden dolayı herhangi bir tanımlama yapılmaktan kaçınılmış ve madde bilinmeyen olarak kalmıştır (Şekil4.25).



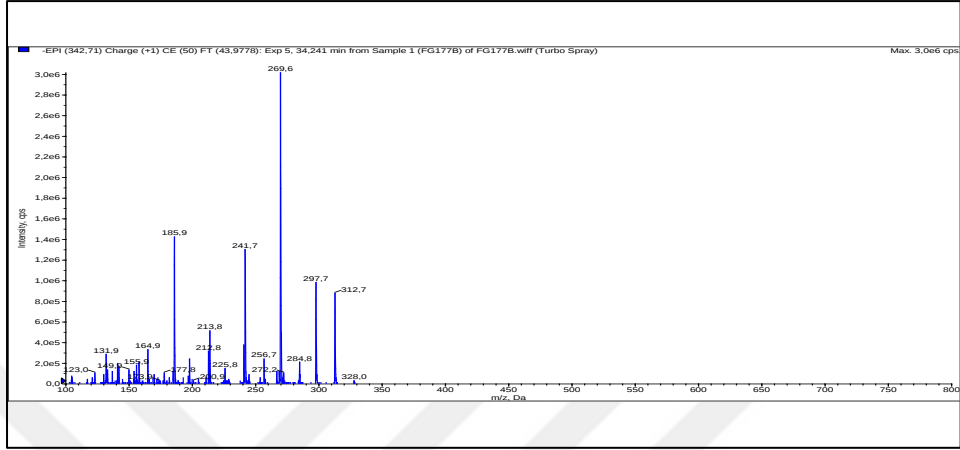
Şekil 4.25. Bilinmeyen bileşik

Sirsimaritin daha önce *Sideritis* türlerinde tanımlanmış bir dimetoksiflavon olup (Bojović vd., 2011) spektrum parçalanmaları 22 numaralı madde ile benzerlik göstermektedir (Şekil 4.26). (Ozarowski vd., 2013), fakat aynı molekül ağırlıklı dimetoksiflavonlar olabileceğinden (ermanin gibi) 22 numaralı madde Sirsimaritin benzeri bileşik olarak tanımlanmıştır.



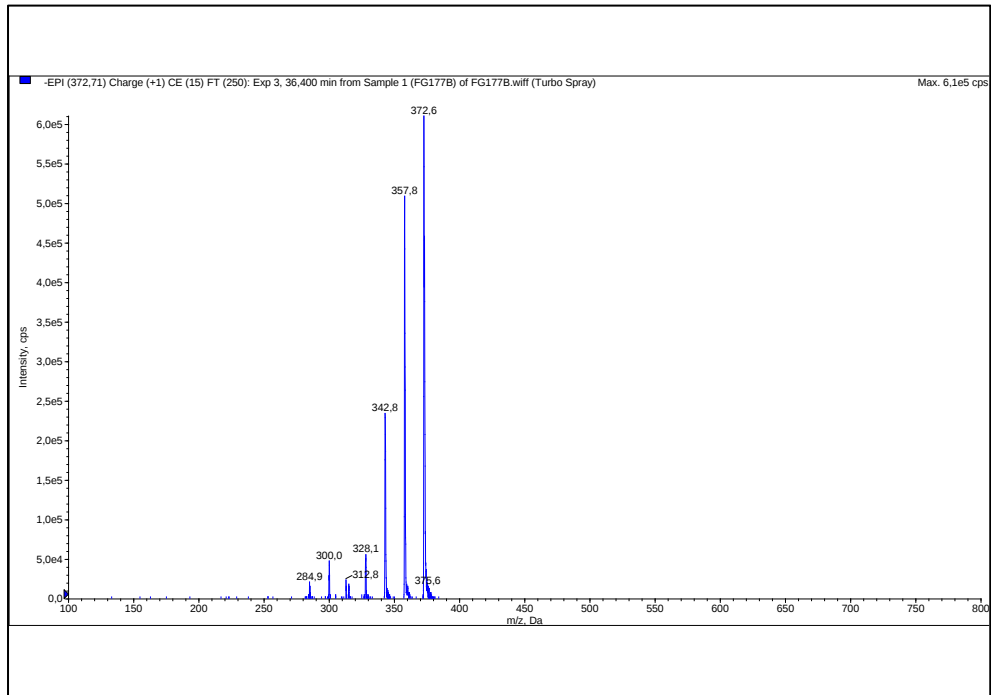
Şekil 4.26. Sirsimaritin benzeri bileşik

Ksantomikrol daha önce *Sideritis* türlerinde tanımlanmış trimetoksiflavondur (Bojović vd., 2011). 23 numaralı madde spektrumunda metil kopmaları dikkati çekmektedir (Şekil 4.27). Bu hali ile madde 22 numaradaki madde ile benzer bir tanımlama yolu izlenerek ksantomikrol benzeri bileşik olarak adlandırılmıştır.



Şekil 4.27. Ksantomikrol benzeri bileşik

Gardenin D daha önce *Sideritis* türlerinde tanımlı (Janeska vd., 2007) m/z 373 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki gösteren tetrametoksi flavonoittir. 24 numaralı madde spektrumunda peşe 4 metil kopması görülmektedir (Şekil 4.28). Bu hali ile madde Gardenin D benzeri bileşik olarak adlandırılmıştır.



Şekil 4.28. Gardenin benzeri bileşik

4.4.Sideritis germanicopolitana subsp. viridis Uçucu Yağ Tayini

4.4.1. Sideritis germanicopolitana subsp. viridis türünün uçucu yağ bileşenleri tayin sonuçları

Tablo 4.1. Sideritis germanicopolitana subsp. viridis türünün uçucu yağ bileşenleri

RRI	BİLEŞİKLER	%	TY
1032	α -Pinen	1.9	t _R , MS
1035	α -Tuyen	1.0	MS
1118	β -Pinen	3.0	t _R , MS
1132	Sabinen	15.7	t _R , MS
1174	Mirsen	1.3	t _R , MS
1176	α -Fellandren	0.3	t _R , MS
1188	α -Terpinen	1.4	t _R , MS
1203	Limonen	0.8	t _R , MS
1213	1,8-Sineol	0.2	t _R , MS
1218	β -Fellandren	0.3	t _R , MS
1255	γ -Terpinen	1.8	t _R , MS
1280	p -Simen	0.8	t _R , MS
1290	Terpinolen	0.4	t _R , MS
1466	α -Kubeben	0.4	MS
1497	α -Kopaene	1.8	MS
1535	β -Burbonen	0.5	t _R , MS
1544	α -Gurjunen	0.2	MS
1550	β -Kubeben	0.2	MS
1611	Terpinen-4-ol	0.7	t _R , MS
1612	β -Karyofillen	3.0	t _R , MS
1635	Kadina-3,5-dien	0.5	MS
1678	<i>epi</i> -Zonaren	0.7	MS
1703	γ -Murolen	0.1	MS
1704	γ -Kurkumen	0.1	MS
1706	α -Terpineol	0.4	t _R , MS
1722	Bisiklosesquifellandren	1.2	MS
1726	Germakren D	2.2	MS
1740	α -Murolen	0.5	MS
1751	Bisiklogermakren	1.1	MS
1755	β -Kurkumen	0.2	MS
1772	δ -Kadinen	5.8	t _R , MS
1786	<i>ar</i> -Kurkumen	0.6	MS
1797	Kadina-1,4-dien	0.8	MS
1853	<i>cis</i> -Kalamenen	1.2	MS
1900	Epikubebol	2.1	MS
1941	α -Kalakoren	0.3	MS
1957	Kubebol	3.0	MS
2008	Karyofillen oksit	1.3	t _R , MS
2080	Kubenol	1.0	MS
2088	1- <i>epi</i> -Kubenol	1.3	MS
2104	Viridiflorol	0.7	MS
2131	Hekzahidrofarnesil aseton	0.2	t _R , MS
2144	Spatulenol	0.3	t _R , MS

Tablo 4.1. (Devam) *S. germanicopolitana* subsp. *viridis*'in uçucu yağ bileşenleri

2145	Valeranon	0.3	MS
2209	T-Murolol	18.5	MS
2219	δ -Kadinol	0.4	MS
2232	α -Bisabolol	0.2	t _R , MS
2241	Beyeren	0.1	MS
2256	Kadalen	0.5	MS
2269	Dimircene izomer II-b	0.7	MS
2337	Kaur-15-en	1.1	t _R , MS
2376	Manoil oksit	1.2	MS
2392	Karyofillenol II	0.3	MS
2438	Kaur-16-en	0.7	t _R , MS
2931	Hekzadekanoik asit	0.4	MS
	Monoterpen Hidrokarbon	28.7	
	Oksijenli Monoterpen	1.3	
	Seskiterpen Hidrokarbon	21.9	
	Oksijenli Seskiterpen	29.6	
	Diterpen	2.6	
	Oksijenli Diterpen	1.2	
	Diğerleri	0.4	
	Bileşik Sayısı	56	
	Toplam %	85.9	

RRI: Alkanların kolonda tutunma sürelerine dayanarak hesaplanan Relatif Tutunma İndeksleri.

% FID kromatogramlarından hesaplanan relatif % değerler.

TY: Tanımlama Yöntemi

t_R: HP Innnowax kolonda standart bileşiklerin analizi ile belirlenen tutunma zamanlarına ve spektrumlarına dayalı tanımlama.

MS: Kullanılan kütüphane ve literatürlerdeki indeksler ve mas spektrumları ile karşılaştırmaya dayalı tanımlama.

4.4.2. *Sideritis germanicopolitana* subsp. *viridis*'in yağ altı suyu bileşenleri tayin sonuçları

Yağ altı suyu

Im-SPME

Oda sıcaklığı 30dk-mavi uç

GC/MS

Tablo 4.2. *S. germanicopolitana* subsp. *viridis*'in yağ altı suyu bileşenleri

RRI	Bileşikler	%	TY
1032	α -Pinene	1.4	t _R , MS
1118	β -Pinen	1.0	t _R , MS
1213	1,8-Sineol	5.4	t _R , MS
1255	γ -Terpinen	1.8	t _R , MS
1280	<i>p</i> -Simen	4.1	t _R , MS
1393	3-Oktanöl	tr	MS
1452	<i>p</i> -Siymenen	1.4	MS
1466	α -Kubeben	1.0	MS
1553	Linalöl	1.1	t _R , MS
1586	Pinokarvon	2.4	MS
1611	Terpinen-4-öl	25.5	t _R , MS
1648	Mirtenal	4.1	MS
1651	Sabinaketon	1.0	MS
1671	trans-Pinokarveöl	2.2	t _R , MS
1706	α -Terpineöl	8.2	t _R , MS
1719	Borneöl	0.8	t _R , MS
1726	Verbenon	1.2	t _R , MS
1740	α -Murolen	0.4	MS
1747	<i>p</i> -Menha-1,5-dien-8-öl	0.9	MS
1772	δ -Kadinen	1.2	t _R , MS
1798	Mirtenöl	1.5	MS
1804	Kumin aldehit	2.3	t _R , MS
1815	<i>p</i> -Menta-1,3-dien-7-al	0.8	MS
1849	trans-Karveöl	0.4	t _R , MS
1921	β -Kalakoren	0.5	MS
1941	α -Kalakoren	0.6	MS
2012	trans- β -Ionon-5,6-epoksit	0.2	t _R , MS
2029	Perilla alkol	0.3	MS
2073	<i>p</i> -Menta-1,4-dien-7-öl	4.8	MS
2080	Kubenöl	0.7	MS
2088	1- <i>epi</i> -Kubenöl	1.1	MS
2113	Kumin alkol	2.0	t _R , MS
2144	Spatulenöl	1.1	t _R , MS
2174	Nonanoik asit	0.6	MS
2192	Öjenöl	0.7	t _R , MS
2209	T-Murolöl	10.5	MS
2219	δ -Kadinöl	0.2	MS
2239	Karvakrol	1.2	t _R , MS

Tablo 4.2. (Devam) *Sideritis germanicopolitana* subsp. *viridis*'in yağ altı suyu bileşenleri

2264	4,7-Dimetill-1-tetralon	1.0	MS
	Monoterpen Hidrokarbon	9.7	
	Oksijenli Monoterpen	65.0	
	Seskiterpen Hidrokarbon	3.7	
	Oksijenli Seskiterpen	13.6	
	Diğerleri	3.6	
	Bileşik Sayısı	39	
	Toplam %	95.6	

RRI: Alkanların kolonda tutunma sürelerine dayanarak hesaplanan Relatif Tutunma İndeksleri.

% FID kromatogramlarından hesaplanan relatif % değerler.

TY: Tanımlama Yöntemi

tR: HP Innowax kolonda standart bileşiklerin analizi ile belirlenen tutunma zamanlarına ve spektrumlarına dayalı tanımlama.

MS: Kullanılan kütüphane ve literatürlerdeki indeksler ve mas spektrumları ile karşılaştırmaya dayalı tanımlama.

4.4.3. Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC/MS)

Analiz şartları

S. germanicopolitana spp. *viridis* türünün toprak üstü kısımlarından (herba) Clevenger apareyi kullanılarak %0.2 oranında elde edilen uçucu yağın Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) analizi ile yağ altı suyunun Daldırmalı Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu (Im-SPME) işleminden sonra yapılan GC/MS analizleri aşağıda belirtilen şartlarda yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 4.1. ve Tablo 4.2.'de de verilmiştir.

Analiz Koşulları:

Sistem: Agilent 5975 GC-MSD sistemi

Kolon: HP-Innowax Silika kapiler (60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 mm film kalınlığı)

Sıcaklık programı: 60°C de 10 dak // 4°C/dak artışla 220°C ye // 220°C de 10 dak // 1°C/dak artışla 240°C ye

Enjektör: 250°C

Taşıyıcı gaz: Helyum (0.8 ml/dak)

Split oranı: 40:1

Elektron enerjisi: 70 eV

Kütle aralığı: m/z 35-450

Kütüphane: BAŞER Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi, Wiley ve Adams-LIBR (TP)

Kütüphane tarama Yazılımları

Gaz Kromatografisi (GC) Analiz Koşulları:

GC analiz koşulları; eş zamanlı olarak GC/MS sistemindeki madde çıkış zamanları ile aynı olacak şekilde ayarlanmıştır (FID 300°C).

4.5.Antimikrobiyal Aktivite Tayini Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Çizelge 4.2. DMSO'lu ekstrenin *Candida* suşları üzerinde antimikrobiyal etkisi

	MİK (µg/mL)		
	MeOH EKstresi	AMP-B	KETO.
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	500	1	0.25
<i>C. utilis</i> NRRL Y-900	250	1	0.25
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	500	0.5	0.12
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	250	1	0.12
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	500	0.12	0.12
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	125	0.5	0.25

AMP-B: Amfoterisin-B

KETO.: Ketokonazol

Candida albicans ATCC 10231 üzerinde gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite tayin sonucunda elde edilen veriler neticesinde *S. germanicopolitana* subsp. *viridis* türünün DMSO ile 125- 500 µg/mL konsantrasyonarda hazırlanan MeOH ekstresinin antimikrobiyal analizleri değerlendirildiğinde ekstrenin 125 µg/mL'lik konsantrasyonu *C. krusei* ATCC 6258 üzerinde en etkili bulunmuştur. *Candida albicans* ATCC 10231, *C. albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşlarına ise 500 µg/mL'lik konsantrasyonlar standart olarak kullanılan maddelerden 500 ve 2000 kat daha düşük etkili olarak belirlenmiştir. *C. krusei* ATCC 6258 suşuna ise MeOH ekstresi etkili olarak bulunmuş fakat etkinliği pozitif kontroller ile karşılaştırıldığında istenilen düzeyde olmamıştır.

5. SONUÇ

Sonuç olarak bu tez kapsamında gerçekleştirdiğimiz çalışmalar neticesinde *Sidertis germanicopolitana* subsp. *viridis* türünden elde edilen farklı polaritelerdeki ekstrelerin içerdikleri çeşitli yapıda fitokimyasallar nedeniyle farmakolojik etkinlik bağlamında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği tespit edilmiştir. Bitkinin özellikle endemik olması büyük önem taşımaktadır. Bunun yanı sıra, endemik ve yabani bitkiler göz önünde bulundurulduğunda, ülkeye özgü olması ve kendi gen kaynağına sahip olması açısından özellikle büyük önem teşkil etmektedir.

Endemik bitkilerden elde edilen farklı polaritelerdeki ekstrelerin, çeşitli farmakolojik özelliklerinin aydınlatılması, diğer yabani türlerden ayrımı konusunda da bilgilendirici olmaktadır. Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmanın farmakolojik açıdan kullanımı olabilecek ve çeşitli farmakolojik çalışmalara fayda sağlayacak bir çalışma olduğunu düşünmekteyiz. Bu çalışmanın sonuçlarının ileride *S. germanicopolitana* subsp. *viridis* bitkisinden maddelerin izole edileceği çalışmaların yanı sıra izole edilecek aktif fitokimyasal bileşenleri tek başına ve/veya bir arada etkilerinin araştırılacağı çalışmalara da referans olabileceğini düşünmekteyiz.

Türkiye için endemik olan *S. germanicopolitana* subsp. *viridis* türünden çeşitli çözücüler kullanılarak elde ettiğimiz ekstreler üzerinde gerçekleştirdiğimiz aktivite tayinleri (antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite) neticesinde, türün farmakolojik açıdan birçok hastalığın tedavisinde potent olarak kullanılabileceğini tespit ettik. Aynı zamanda uçucu yağ bileşenlerinin içeriğine baktığımızda aktif bileşen sayısının fazla olması ve birçok bileşiğin izole edildiği taktirde, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Lamiaceae familyasındaki diğer *Sideritis* türleri gibi *S. germanicopolitana* subsp. türünün de antioksidan özelliği yüksek olmasından dolayı; antitümör, anti-Alzheimer ve birçok oksidatif strese bağlı hastalığın tedavisinde kullanılabileceği sonucuna varmaktayız.

6. TARTIŞMA

6. 1. Antioksidan Aktivite Tayinleri

Ekstre verimleri incelendiğinde tüm ekstreler içinde en yüksek verimin % 15,5 ile metanol ekstresine ait olduğu, daha sonra bunu %6,9 ile infüzyonunun izlediği görülmüştür. Etil asetat ekstresinin verimi %5,7 bulunurken en düşük ekstre verimi ise %1,5 ile hekzan ekstresinde bulunmuştur.

Toplam Fenolik madde miktarı tayini sonuçlarına bakıldığında (**Şekil 4.2.**) polar ekstresinin daha çok fenolik madde içerdiği görülmektedir. Bunlar içerisinde metanol ekstresinin 132 mg GAE/gram ekstre ile en yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu görülürken, ikinci en yüksek fenolik madde içeriği sulu ekstrede görülmüştür. Bu ekstrede fenolik madde miktarı 92mg GAE/gram ekstre olarak hesaplanmıştır.

DPPH• radikal süpürücü etki sonuçları **Şekil 4.3**'te verilmiştir bu sonuçlara göre 1A ekstresinin IC₅₀ değeri 10mg/mL den büyük olarak hesaplanmıştır ve en etkisiz olarak belirlenmiştir. 1C ekstresi ise en etkili olarak bulunmuştur. Hiçbir ekstre gallik asit kadar etkili bulunmamıştır.

Ekstrelerin Troloks' a eşdeğer olarak sergiledikleri Antioksidan Kapasite (TEAC) miktarları **Şekil 4.4**'te gösterildiği üzere, tüm ekstreler 1mg/mL konsantrasyonda ABTS^{•+} radikalini süpürücü etki konusunda yetersiz kalmış olup, etkiler ancak ekstrelerin 10mg/mL'lik konsantrasyonlarında görülmeye başlamıştır.

6.2. Uçucu Yağ Profili

Uçucu yağ verimi bitkide %0,2 olarak hesaplanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda aynı bitkiye ait uçucu yağ verimlerinde benzer olarak %0,33 ile düşük bulunmuştur (Kirimer vd., 1992). Uçucu yağ veriminin örnek olarak verilen literatürde hesaplanabilir olması; mevsimsel koşullar, sıcaklık farklılıkları ve toprak özellikleri ile açıklanabilir.

Bitkinin uçucu yağ analizinde 56 madde tanımlanmış ve uçucu yağ içeriğinin %85,9'u aydınlatılmıştır. Bitkide T-Murolol %18,5 ile ana bileşik olarak belirlenmiştir. Sabinen ise %15,7 ile ikinci yüksek miktarda tespit edilen bileşik olmuştur. Sabinen *S. germanicopolitana* türünde yüksek oranda bildirilen ana maddelerdendir. (Kirimer,Koca, 1992)

Elde edilen kimyasal profil kendi içinde gruplara ayrılabilir. Bu durumda uçucu yağ profili; monoterpen hidrokarbonlar, diterpen hidrokarbonlar ve seskiterpen hidrokarbonlar olmak üzere üç ana gruba ayrılabilir. Her grup da kendi içinde oksijenli türevleri olarak bir alt gruba ayrılabilir. Uçucu yağ içindeki toplam monoterpen hidrokarbonların oranı %30'dur. Bu oran içinde %1,3' lük kısmı ise Oksijenli monoterpenler oluşturmaktadır. Toplam diterpen hidrokarbonların oranı %3,8' dir. Bu oran içinde %1,2' lik kısım oksijenli diterpenlerden oluşmaktadır. Seskiterpen hidrokarbonlar toplamda uçucu yağın %51,5'ini oluşturmaktadır. Oksijen taşıyan seskiterpenlerin oranı ise %29,6 dır.

Genel profil incelendiğinde seskiterpenlerin oranı uçucu yağ içinde baskın olarak bulunmuştur. Oksijenli bir seskiterpen olan T-Muurolol seski terpenler içinde %18,5 ile en büyük grubu oluşturmaktadır. Epikubebol, kubebol, kubenol, viridiflorol, spathulenol, valeranon, T-muurolol, δ -cadinol, α -bisabolol, Karyofillenol II uçucu yağ içindeki diğer oksijenli seskiterpenleri oluşturmaktadır. %30 toplam orana sahip monoterpenler içinde ise sabinen %15,7 ile en çok rastlanan madde olmuştur. 1,8-Sineol, terpinen-4-ol, α -terpineol oksijenli monoterpenler olarak belirlenmiştir fakat uçucu yağ içindeki oranı düşüktür. Uçucu yağ içinde en az miktarda bulunan grubu diterpenler oluşturmaktadır. Bu grup içinde en yüksek oranda rastlanılan madde %1,2 ile oksijenli bir diterpen olan Manoil oksit olmuştur ve bu madde yağ içinde belirlenen tek oksijenli diterpendir.

Yağ atı suyunun SPME ile ekstrakte edilen uçucu bileşenlerinin analizinde uçucu bileşenlerin %95,6'sı tanımlanmış ve oksijenli bir monoterpen olan terpinen-4-ol yağ altı suyunda %25, 5 ile en çok tespit edilen ana bileşik olmuştur.

6.3. Polar Ekstrelerin LC-MS/MS analizleri

Polar ekstrelerden metanol ekstresi ve infüzyona ait LC-MS/MS analizleri yapılmış bütünlüğü bozmamak ve spektrum verileri ile değerlendirilmesi daha kolay olması açısından ayrıntılı değerlendirmeler bulgular kısmında verilmiştir.

KAYNAKÇA

- Akcos, Y. (1994). *Sideritis lycia* Boiss. & Heldr. üzerinde farmakognozik araştırmalar. *Bilim Uzmanlığı Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.*
- Akkol, E.K., Göger, F., Kořar, M. and Başer, K.H.C. (2008). Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chemistry*, 108(3), 942-949.
- Ayçiçek, K. (2021). *Tanacetum armenum* (DC) Sch. Bip. bitkisinin kimyasal kompozistonu ve biyolojik aktiviteleri.: in Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Anadolu Üniversitesi: Eskişehir.
- Bardakci, H., Cevik, D., Barak, T.H., Gozet, T., Kan, Y. and Kirmizibekmez, H. (2020). Secondary metabolites, phytochemical characterization and antioxidant activities of different extracts of *Sideritis congesta* PH Davis et Hub.-Mor. *Biochemical Systematics and Ecology*, 92, 104120.
- Bartnik, M. and Facey, P., *Glycosides*, in *Pharmacognosy*. 2017, Elsevier. p. 101-161.
- Bayan, Y. ve Aksit, H. (2016). Antifungal activity of essential oils and plant extracts from *Sideritis germanicopolitana* BORNM. growin in Turkey.
- Bessada, S.M., Barreira, J.C. ve Oliveira, M.B.P. (2015). Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review. *Industrial Crops and Products*, 76, 604-615.
- Bojović, D., Janković, S., Potpara, Z. ve Tadić, V. (2011). Summary of the phytochemical research performed to date on *Sideritis* species. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*, 12(3), 109-122.
- Buyuktuncel, S. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan baslica spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 2, 93-103.

- Ceylan, R., Demirbas, A., Ocsoy, I. and Aktumsek, A. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extracts of three *Sideritis* species from Turkey and evaluations bioactivity potentials. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 21, 100426.
- Clifford, M.N., Knight, S. and Kuhnert, N. (2005). Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MS n. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 3821-3832.
- Dimaki, V.D., Iatrou, G. and Lamari, F.N. (2017). Effect of acidic and enzymatic pretreatment on the analysis of mountain tea (*Sideritis* spp.) volatiles via distillation and ultrasound-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 1524, 290-297.
- Dincer, C., Torun, M., Tontul, I., Topuz, A., Sahin-Nadeem, H., Gokturk, R.S., Tugrul-Ay, S. and Ozdemir, F. (2017). Phenolic composition and antioxidant activity of *Sideritis lycia* and *Sideritis libanotica* subsp. linearis: Effects of cultivation, year and storage. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 5, 26-32.
- Dwivedi, S., Malik, C. ve Chhokar, V., *Molecular structure, biological functions, and metabolic regulation of flavonoids*, in *Plant Biotechnology: Recent Advancements and Developments*. 2017, Springer. p. 171-188.
- Erkan, N., Cetin, H. ve Ayranci, E. (2011). Antioxidant activities of *Sideritis congesta* Davis et Huber-Morath and *Sideritis arguta* Boiss et Heldr: Identification of free flavonoids and cinnamic acid derivatives. *Food Research International*, 44(1), 297-303.
- Faggio, C., Sureda, A., Morabito, S., Sanches-Silva, A., Mocan, A., Nabavi, S.F. and Nabavi, S.M. (2017). Flavonoids and platelet aggregation: A brief review. *European journal of pharmacology*, 807, 91-101.
- Fraga, B.M. (2012). Phytochemistry and chemotaxonomy of *Sideritis* species from the Mediterranean region. *Phytochemistry*, 76, 7-24.

- González-Burgos, E., Carretero, M. and Gómez-Serranillos, M. (2011). *Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities—A review. *Journal of ethnopharmacology*, 135(2), 209-225.
- Göger, F. (2007). *Salvia Virgata* Jacq. ve *Salvia Halophila* Hedge'nin antioksidan etkilerinin ve bileşenlerinin belirlenmesi. Anadolu University (Turkey).
- Janeska, B., Stefova, M. ve Alipieva, K. (2007). Assay of flavonoid aglycones from species of the genus *Sideritis* (Lamiaceae) from Macedonia with HPLC UV DAD. *Acta Pharmaceutica*, 57(3), 371-377.
- Kaya, A. (1990). *Sideritis germanicopolitana* türü üzerine morfolojik ve anatomik araştırmalar. : in Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Anadolu Üniversitesi: Eskişehir.
- Kessler, A., Villmann, C., Sahin, H., Pischetsrieder, M. and Buettner, A., *Electrophysiological Characterization of Neurotropic Activity of Sideritis Tea Volatiles*, in *Flavour Science*. 2014, Elsevier. p. 71-75.
- Kirimer, N., Koca, F., Baser, K., Özek, T., Tanriverdi, H. ve Kaya, A. (1992). Composition of the essential oils of two subspecies of *Sideritis germanicopolitana* bornm. *Journal of Essential Oil Research*, 4(5), 533-534.
- Kırmızıbekmez, H., Erdoğan, M., Kúsz, N., Karaca, N., Erdem, U., Demirci, F. and Hohmann, J. (2021). Secondary metabolites from the aerial parts of *Sideritis germanicopolitana* and their in vitro enzyme inhibitory activities. *Natural product research*, 35(4), 655-658.
- Kokkini, S., Karousou, R. and Hanlidou, E. (2003). Herbs of the Labiatae the encyclopedia of food science and nutrition. Elsevier Science Ltd.
- Kytidou, K., Artola, M., Overkleeft, H.S. and Aerts, J.M. (2020). Plant glycosides and glycosidases: a treasure-trove for therapeutics. *Frontiers in plant science*, 11, 357.

- Oalđe, M., Lunić, T., Mandić, M., Duletić-Laušević, S. and Božić Nedeljković, B. (2021). Immunomodulatory potential of ethanolic extracts of selected Lamiaceae species. *European Journal of Immunology*.
- Obón, C., Rivera, D., Fonollá, E., Alcaraz, F. and Attieh, L. (2021). A comparison study on traditional mixtures of herbal teas used in Eastern Mediterranean area. *Frontiers in pharmacology*, 12.
- Ozarowski, M., Mikolajczak, P.L., Bogacz, A., Gryszczynska, A., Kujawska, M., Jodynisliefert, J., Piasecka, A., Napieczynska, H., Szulc, M. ve Kujawski, R. (2013). Rosmarinus officinalis L. leaf extract improves memory impairment and affects acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in rat brain. *Fitoterapia*, 91, 261-271.
- Özcan, M., Chalchat, J. ve Akgül, A. (2001). Essential oil composition of Turkish mountain tea (*Sideritis* spp.). *Food Chemistry*, 75(4), 459-463.
- Patrignani, F., Prasad, S., Novakovic, M., Marin, P.D. ve Bukvicki, D. (2021). Lamiaceae in the treatment of cardiovascular diseases. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 26, 612-643.
- Petreska, J., Stefova, M., Ferreres, F., Moreno, D.A., Tomás-Barberán, F.A., Stefkov, G., Kulevanova, S. ve Gil-Izquierdo, A. (2011). Potential bioactive phenolics of Macedonian *Sideritis* species used for medicinal “Mountain Tea”. *Food Chemistry*, 125(1), 13-20.
- Petreska Stanoeva, J., Bagashovska, D. and Stefova, M., *Characterization of urinary bioactive phenolic metabolites excreted after consumption of a cup of mountain tea (Sideritis scardica) using liquid chromatography – tandem mass spectrometry*. 2012. Vol. 31. 2012.
- Sánchez-Rabaneda, F., Jáuregui, O., Casals, I., Andrés-Lacueva, C., Izquierdo-Pulido, M. and Lamuela-Raventós, R.M. (2003). Liquid chromatographic/electrospray ionization

- tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*). *Journal of mass spectrometry*, 38(1), 35-42.
- Sarikurkcü, C., Ozer, M.S., Istifli, E.S., Sahinler, S.S. and Tepe, B. (2021). Chromatographic profile and antioxidant and enzyme inhibitory activity of *Sideritis leptoclada*: An endemic plant from Turkey. *South African Journal of Botany*.
- Sevindik, H.G. (2015). Bazı Achillea türleri üzerinde farmakognozik araştırmalar.: in Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Atatürk Üniversitesi: Erzurum.
- Şimşek Sezer, E.N. and Uysal, T. (2021). Phytochemical Analysis, Antioxidant and Anticancer Potential of *Sideritis niveotomentosa*: Endemic Wild Species of Turkey. *Molecules*, 26(9), 2420.
- Tian, X.-Y., Li, M.-X., Lin, T., Qiu, Y., Zhu, Y.-T., Li, X.-L., Tao, W.-D., Wang, P., Ren, X.-X. and Chen, L.-P. (2021). A review on the structure and pharmacological activity of phenylethanoid glycosides. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112563.
- Todorova, M. ve Trendafilova, A. (2014). *Sideritis scardica* Griseb., an endemic species of Balkan peninsula: Traditional uses, cultivation, chemical composition, biological activity. *Journal of ethnopharmacology*, 152(2), 256-265.
- Vazhappilly, C.G., Amararathna, M., Cyril, A.C., Linger, R., Matar, R., Merheb, M., Ramadan, W.S., Radhakrishnan, R. and Rupasinghe, H.V. (2021). Current methodologies to refine bioavailability, delivery, and therapeutic efficacy of plant flavonoids in cancer treatment. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 108623.
- Wayne, P. (2002). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, approved standard. *CLSI document M27-A2*.
- Zengin, G., Uğurlu, A., Baloglu, M.C., Diuzheva, A., Jekő, J., Cziáky, Z., Ceylan, R., Aktumsek, A., Picot-Allain, C.M.N. and Mahomoodally, M.F. (2019). Chemical fingerprints, antioxidant, enzyme inhibitory, and cell assays of three extracts obtained

from *Sideritis ozturkii* Aytaç & aksoy: an endemic plant from turkey. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 171, 118-125.

http 1- Sideritis - Vikipedi (wikipedia.org) (Erişim tarihi: 06.07.2021)

http 2- TÜBİVES (Erişim tarihi: 23.05.2021)



ÖZGEÇMİŞ

Adi Soyadı : Dilek KRCKOVSKA

Yabancı Dil : İngilizce, Makedonca, Boşnakça, Arnavutça, Bulgarca

Doğum Yeri ve Yılı :

e-mail

ORCHID No : 0000-0002-0993-9992

Öğrenim Bilgisi:

- 2019 Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi/ Eczacılık