



***SIDERITIS MONTANA SUBSP. MONTANA VE SIDERITIS MONTANA
SUBSP. REMOTA ÜZERİNE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR***

Yüksek Lisans Tezi

Buğra Han KOCADORU

Eskişehir 2023

***SIDERITIS MONTANA SUBSP. MONTANA VE SIDERITIS MONTANA SUBSP.
REMOTA ÜZERİNE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR***

BUĞRA HAN KOCADORU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Farmakognozi Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Fatih GÖGER**

**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Temmuz 2023**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Buğra Han Kocadoru'nun "*Sideritis montana* subsp. *montana* ve *Sideritis montana* subsp. *remota* üzerine Farmakognozik araştırmalar" başlıklı tezi 28/07/2023 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	

ÖZET

SİDERİTİS MONTANA SUBSP. *MONTANA* VE *SİDERİTİS MONTANA* SUBSP. *REMOTA* ÜZERİNE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Buğra Han KOCADORU

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temmuz 2023

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Fatih GÖGER

Bu çalışmada, Çorum Yeşilgöl’de orman içinde toplanan *Sideritis montana* subsp. *montana* (Lamiaceae) ve Kütahya Dumlupınar’da yol kenarından toplanan *Sideritis montana* subsp. *remota* (Lamiaceae) bitkilerinin metanol ekstreleri, %10’luk infüzyonu ve uçucu yağının fitokimyasal incelemesi yapılmıştır. Ekstrelerin; toplam fenolik madde miktar tayini, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Antioksidan aktivite, DPPH[•] ve ABTS^{•+} radikal süpürücü etki üzerinden test edilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımlarından su-distilasyonu işlem sonrası elde edilen uçucu yağın bileşenleri Gaz Kromatografisi ve Gaz Kromatografisi/Kütle spektrometrisi sistemi ile belirlenmiştir. Polar ekstre içerikleri Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi/Kütle Spektrometrisi ile incelenmiştir. Bitkilerin uçucu yağında ağırlıklı olarak monoterpen hidrokarbonlar, seskiterpen hidrokarbonlar ve diterpenler, *Sideritis montana* subsp. *montana*’nın uçucu yağında ise *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisinden farklı olarak oksijenli bir diterpen olan manoiloksit maddesi düşük oranda tespit edilmiştir. *Sideritis montana* subsp. *montana*’nın uçucu yağının ana bileşiği, bir monoterpen olan ve yağda % 23.2 oranında bulunan α -Pinen olurken *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisinin uçucu yağının ana bileşiği ise %28.8 oranında bulunan 1-İzobütil 4-izopropil 3-izopropil -2,2-dimetil süksinat’tır. Bu çalışmada yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinde izoflavon tipi olarak düşündüğümüz madde tanımlanmıştır. İzoflavonlar fitoöstrojenik etki gösterirler. *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin halk arasında çay şeklinde kullanımı olsa da bu bitkinin gösterdiği fitoöstrojenik etkisiden dolayı günlük kullanımına uygun olmadığını düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: Ekstre, Aktivite, Analiz, Uçucu yağ

ABSTRACT

PHARMACOGNOSTICAL RESEARCHES ON *SİDERİTİS MONTANA* SUBSP. *MONTANA* VE *SİDERİTİS MONTANA* SUBSP. *REMOTA*

Buğra Han KOCADORU

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, July 2023

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih GÖGER

In this study, the phytochemical analysis of extracts prepared from the aboveground parts of *Sideritis montana* subsp. *montana* (Lamiaceae) collected from the forest in Çorum Yeşilgöl and *Sideritis montana* subsp. *remota* (Lamiaceae) collected from the roadside in Kütahya Dumlupınar was conducted. The extracts were prepared using a solvent, and the analysis included determination of the total phenolic content as well as antimicrobial and antioxidant activities. The antioxidant activity was tested through DPPH• and ABTS•+ radical scavenging effects. The aboveground parts of the plant were subjected to water distillation using a Clevenger apparatus for three hours to obtain the essential oil, and the components of the oil were determined using Gas Chromatography and Gas Chromatography/Mass Spectrometry. The polar extract contents were analyzed using High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry. The essential oil of the plants contained primarily monoterpenes, sesquiterpene hydrocarbons, and diterpenes. In the volatile oil of *Sideritis montana* subsp. *montana*, a low amount of manoiloxide, an oxygenated diterpene compound not found in *Sideritis montana* subsp. *remota*, was detected. The main compound in the volatile oil of *Sideritis montana* subsp. *montana* was α -Pinene, a monoterpene, which constituted %23.2 of the essential oil. The main compound in the volatile oil of *Sideritis montana* subsp. *remota* was 1-Isobutyl 4-isopropyl 3-isopropenyl-2,2-dimethyl succinate, which constituted %28.8 of the oil. Flavonoid and phenylethanoid glycosides were detected in the polar extracts through HPLC-MS/MS analysis. The antioxidant and antimicrobial effects of the extracts were found to be lower compared to the standards. We do not recommend using herbs as tea.

Keywords: Extract, Activity, Analysis, Essential Oil.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmamın başlangıcından sonuçlanana kadar geçen sürecin her basamağında bana destek veren fikirleriyle ve deneyimiyle yol gösteren bilgisiyle çalışmamı şekillendiren değerli hocamlarım Doç. Dr. Fatih GÖGER'e, Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU'na, Prof. Dr. Gökarp İŞCAN'a, Öğr. Gör. Dr Ömer Koray Yaylacı'ya, Araş.Gör. Burak TEMİZ'e ve Bilge MUTLU'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma süresince ve hayatımda bana desteklerini her zaman hissettiren KOCADORU ailesine ve arkadaşlarıma, çalışma süresince ve iş hayatımda beni destekleyen ve mesleki açıdan gelişimimi sağlayan meslek büyüklerime ve hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

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 çalışmanın 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.

.....
Buğra Han KOCADORU

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
GÖRSELLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Labiatae (Lamiaceae) Familyasının Genel Özellikleri.....	2
2.2. <i>Sideritis</i> Cinsinin Özellikleri (<i>Sideritis</i> L.).....	3
2.3 Ülkemizde Yetişen <i>Sideritis</i> Cinsine Ait Bitkiler.....	5
2.4. <i>S. montana</i> subsp. <i>montana</i> ve <i>Sideritis montana</i> subsp <i>remota</i> Bitkilerinin Botanik Bilgileri.....	6
2.5. <i>Sideritis montana</i> subsp <i>montana</i> ve <i>Sideritis montana</i> subsp <i>remota</i> Bitkilerinin Ülkemizdeki Yayılımı.....	9
2.6. <i>Sideritis</i> Cinsinin Etnofarmakolojik Özellikleri.....	10

2.7. Sideritis Cinsinin Ve Çalışılan Bitkilerin Fitokimyasal	
İçeriklerinin İncelenmesi.....	10
2.7.1. Flavonoit Sınıfı Bileşikler.....	11
2.7.2. Flavonoitlerin Gruplandırılması.....	13
2.7.3. Terpenik Bileşikler.....	14
2.7.4. Feniletanoit Glikozitler.....	16
2.7.5 İridoit Glikozitler.....	17
2.7.6 Uçucu Bileşikler.....	18
3. YÖNTEM.....	20
3.1. Bitki Materyali.....	20
3.2. Kimyasal Maddeler ve Cihazlar.....	22
3.2.1. Kimyasal maddeler.....	22
3.2.2 Cihazlar.....	22
3.3. Ekstrelerinin Hazırlanması.....	22
3.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı	26
3.5. Gaz kromatografisi- Gaz kromatografisi/ Kütle Spektrometrisi	
ile Uçucu Bileşenlerinin Belirlenmesi.....	27
3.6. Antioksidan Aktivite Tayinleri.....	28
3.6.1. DPPH [•] (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalinin	
süpürme aktivitesi.....	28
3.6.2. ABTS [•]	
(2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit))	
radikal katyonunu süpürme aktivitesi.....	29
3.6.3. Ekstrelerin içerdiği fenolik bileşenlerin LC-MS/MS	
ile belirlenmesi.....	30
3.7. Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	31
4. BULGULAR.....	32

4.1. <i>S. montana</i> subsp. <i>montana</i> ve <i>S. montana</i> subsp. <i>remota</i> Bitkilerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Ekstraksiyon Verimleri.....	32
4.2. <i>S. montana</i> subsp. <i>montana</i> ve <i>S. montana</i> subsp. <i>remota</i> Bitkilerinin Antioksidan Aktivitesi.....	34
4.3. <i>S. montana</i> subsp. <i>montana</i> ve <i>S. montana</i> subsp. <i>remota</i> Bitkilerinden Elde Edilen Ekstrelerin Fenolik içeriğinin LC-MS/MS ile Belirlenmesi.....	36
4.4. <i>S. montana</i> subsp. <i>montana</i> ve <i>S. montana</i> subsp. <i>remota</i> Bitkilerinin Uçucu Yağ Tayini.....	64
4.4.1. <i>Sideritis montana</i> subsp. <i>montana</i> ve <i>Sideritis montana</i> subsp. <i>remota</i> türlerinin uçucu yağ bileşenleri tayin sonuçları.....	64
4.4.2. Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC/MS) analiz şartları.....	65
4.5. <i>S. montana</i> subsp. <i>montana</i> ve <i>S. montana</i> subsp. <i>remota</i> Bitkilerinden Elde Edilen Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	67
5. SONUÇ.....	69
6. TARTIŞMA.....	70
6.1. Antioksidan Aktivite Tayinleri.....	70
6.2. Uçucu Yağ Profili	72
6.3. Ekstrelerin LC-MS/MS analizleri	73
KAYNAKÇA.....	74

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1	<i>Sideritis</i> cinsine ait bazı bitkilerin yetiştiği bölgeler	5
Tablo 4.1.	<i>S. montana</i> subsp. <i>montana</i> ve <i>Sideritis montana</i> subsp. <i>remota</i> <i>Bitkilerinin Uçucu Yağ Bileşenleri</i>	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 4.1. Toplam Fenolik Madde miktarı hesaplamasında kullanılan Gallik asit Kalibrasyon denklemi.....	32
Şekil 4.2. Bitkilere ait olan metanollü ve infüzyon ekstrelerin toplam fenolik madde içeriği.....	33
Şekil 4.3. Bitkilerin metanol ve infüzyon ekstrelerinin IC50 mg/ml cinsinden sonuçları.....	34
Şekil 4.4. Bitkilere ait olan metanollü ve infüzyon ekstrelerin radikale karşı Troloks'a eşdeğer olarak hesaplanan sonuçları.....	35
Şekil 4.5. Sideritis montana subsp. montana infüzyon ekstresi.....	36
Şekil 4.6. Sideritis montana subsp remota infüzyon ekstresi.....	36
Şekil 4.7. Sideritis montana subsp montana metanollü ekstresi.....	37
Şekil 4.8. Sideritis montana subsp remota metanollü ekstresi.....	37
Şekil 4.9. Kinik asit.....	41
Şekil 4.10. 5-Kafeoil kinik asit.....	42
Şekil 4.11. Feruloilkinik asit	43
Şekil 4.12. Protokateşik asit.....	44
Şekil 4.13. Protokateşik asit heksoziti.....	44
Şekil 4.14. Akubin.....	45
Şekil 4.15. Loganik asit benzeri.....	46
Şekil 4.16. Ekinakozit.....	47
Şekil 4.17. Lavandulifoliosit veya Forsitozit B.....	48
Şekil 4.18. Verbaskozit metanol.....	49

Şekil 4.19. Lökoptozit A.....	50
Şekil 4.20. Luteolin / Kemferol.....	51
Şekil 4.21. Luteolin heksozit	52
Şekil 4.22. Luteolin heksozit Metanol Su.....	53
Şekil 4.23. İzoskutellarein 7-O-allozil (1-2)glukozit.....	53
Şekil 4.24. 4'-O-Metilizoskutellarein 7-O-allozil(1-2)glukozit Su,metanol.....	54
Şekil 4.25. İzoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozit.....	55
Şekil 4.26. 4'-O- Metilizoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozit.....	56
Şekil 4.27. Hipolaetin 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozil.....	57
Şekil 4.28. 3'-O-Metilhipoletin 7-O-[6''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozit.....	58
Şekil 4.29. Kersetin glukozit	58
Şekil 4.30. Krizoeriol su.....	59
Şekil 4.31. Krizoeriol heksosit metanol su.....	59
Şekil 4.32. Apigenin.....	60
Şekil 4.33. Dihidroksi-izoflavanon-C-glukoziti benzeri madde.....	62
Şekil 4.34. Bilinmeyen madde spektrumu.....	62

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 2.1. <i>Lamiaceae</i> Familyasına Ait Endemik Bitkilerin Türkiye'deki Yoğun Yayılım Gösterdiği Bölge ve Endemik Taksyon sayısı.....	4
Görsel 2.2. <i>S. montana</i> subsp. <i>montana</i>	7
Görsel 2.3. <i>Sideritis montana</i> subsp. <i>remota</i>	8
Görsel 2.4. <i>Sideritis montana</i> subsp. <i>remota</i> 'nın Türkiye üzerindeki yayılımı.....	9
Görsel 2.5. <i>Sideritis montana</i> subsp. <i>montana</i> 'nın Türkiye üzerindeki yayılımı.....	9
Görsel 2.6. Flavon omurgasının moleküler yapısı (2-fenil 1,4benzopiron).....	12
Görsel 2.7. <i>Sideritis</i> türlerinden izole edilmiş diterpenere ait bazı temel iskelet yapıları.....	14
Görsel 2.8. <i>Sideritis</i> cinsine ait bitkilerden izole edilen bazı terpenik bileşikler	16
Görsel 2.9. Verbaskosit molekülü.....	17
Görsel 2.10. Harpagit.....	18
Görsel 2.11. Germakren D	19
Görsel 2.12 beta-Pinen.....	19
Görsel 3.1. <i>S. montana</i> subsp. <i>montana</i>	20
Görsel 3.2. <i>Sideritis montana</i> subsp <i>remota</i>	21
Görsel 3.3. Rotavapor cihazı (BUCHI, Switzerland).....	23
Görsel 3.4. <i>Sideritis montana</i> subsp. <i>montana</i> bitkisinin Clevenger apareyinde su distilasyonu işlemi gerçekleşirken	24
Görsel 3.5. <i>Sideritis montana</i> subsp. <i>montana</i> bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilmiş olan uçucu yağ.....	25
Görsel 3.6. <i>Sideritis montana</i> subsp. <i>remota</i> bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen edilmiş olan uçucu yağ.....	25
Görsel 3.7. Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini deneyi için kullanılan 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 2 saat bekletildikten sonraki görüntüsü.....	26

- Görsel 3.8.** *DPPH[•] radikalini süpürme aktivitesi deneyinde kullanılan 96- kuyucuklu mikrotitrasyon plakasının 1 mg/mL konsantrasyonda eklenen örneklerinin gerçekleştirilen seri seyreltme işlemi sonrasında oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dk karanlıkta bekletildikten sonraki görüntüsü ve kullanılan ekipmanlar.....28*
- Görsel 3.9.** *ABTS^{•+} radikal katyonu süpürme aktivitesinde kullanılan 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın görüntüsü ve kullanılan diğer ekipmanlar.....30*
- Görsel 3.10.** *96-kuyucuklu mikrotitrasyon plağının üzerindeki 1., 2., 3. ve 4. sarı renk ile işaretlenen satırları; çalışılan ekstreler üzerine Serratia marcescens NRRL B-2544 şusu tatbik edilmiş görüntüsü 31*

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 4.1. <i>Sideritis montana</i> subsp. <i>montana</i> ve <i>Sideritis montana</i> subsp. <i>remota</i> bitkilerinin infüzyon ve metanollü ekstrelerine ait LC-MS/MS analiz sonucu.....	38
Çizelge 4.2. <i>DMSO</i> ’lu ekstrelerin suşlar üzerinde antimikrobiyal etkisi.....	65

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACET:	Asetik asit
CLSI:	Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü
cox:	Siklooksijenaz enzimi
dk:	Dakika
DMSO:	Dimetil Sülfoksit
DPPH:	I , l- Difenil-2-pikrilhidrazil radikali
ESİ:	Elektro Sprey İyonlaşma
FCR:	Folin- Ciocalteu Reaktifi
GAE:	Galik Asit'e Eşdeğer Miktar
GK/KS:	Gaz Kromatografisi [Kütle Spektrometrisi
GIS:	Gastrointestinal Sistem
YPSK:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HS-GC:	Headspace Gaz kromatografisi
IC50:	%50 İnhibisyon Gösteren Değer
LC-MS/MS:	Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometrisi
LOX:	Lipooksijenaz enzimi
m/z:	kütle/yük
MeOH:	Metanol
MIK:	Minimum İnhibitör Konsantrasyon

MS2: Fragmentler

NADPH: Nikotinamid adenin dinökleotit fosfat

TEAC/TEAK: Trolox'a Eşdeğer Antioksidan Kapasite

TRAP: Toplam Radikal Yakalama Parametresi



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Şifalı bitkilerin kullanımı oldukça eskiye dayanmaktadır. İnsanlar; bitkileri deneme yanılma yoluyla kullanarak ve hayvanları gözlemleyerek zamanla kendi tecrübelerini oluşturmuşlardır. Biriken tecrübeyle beraber insanlar bitkileri şifalı ve zehirli olarak kategorize etmiştir. Yıllar geçtikçe şifalı bitkilerin ve onların şifa gücünün tanımı artmış olup insanoğlu bu bilgileri nesilden nesile aktarmıştır. Günümüzde Dünya üzerinde bulunan 800.000-1.000.000 arasındaki bitki türünün yaklaşık 20.000 kadarı tıbbi amaçlı tedavide kullanıldığı bilinmektedir. (Güner vd., 2012)

Bu tez kapsamında kullanılan *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkileri Türkçesi Ballıbabagiller anlamına gelen Lamiaceae familyasına ait bitkilerdir. Bu familya aromatik özellikli de olabilen hastalıkların tedavisinde ve hastalıklardan korunma amaçlı da kullanılabilen bitkileri bulunduran 7200 tür ve 240 cins ile temsil edilmektedir. (Güner vd., 2012) Lamiaceae familyasına ait bitkilerin çoğu geçmişten günümüze hastalıklardan korunmak hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılmıştır. Bu familyaya ait bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarla bitkilerin fitokimyasal profilleri sebebiyle antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antitümoral, gastroprotektif ve nöroprotektif etkinliği ortaya çıkmıştır . Halk arasında bitkilerin toprak üstü kısımlarının çay şeklinde demlenmesi şeklinde soğuk algınlığı, öksürüğü azaltma, sindirim sıkıntılarını giderme ve astımın semptomlarını azaltma etmek amacıyla kullanımı vardır. Bu çalışma esnasında yapılan literatür araştırmaları esnasında *Sideritis* L. Cinsine ait bitkilerde farklı fitokimyasal profillerin varlığını görülmüştür. Bu farklı fitokimyasal profillerin tespit edilmesi amacıyla gerçekleşen bir çalışmada Balkanlardan toplanmış *Sideritis* L. ait bitkilerde fenolik madde profillerinin farklılığının daha çok çevresel ve coğrafi faktörlere göre değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. (Bardakci vd., 2020)

Bu çalışmadaki amacımız Lamiaceae familyasına ait *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin ekstrelerini ve uçucu yağlarının kromatografik ve spektrometrik sistemler ile içeriklerinin analizinin edilmesi ve ekstrelerine ait antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerin aydınlatılmasıdır. Bu amaçla bitkilerin toprak üstü kısımlarından; metanol ekstreleri ve bitkilerin %10'luk infüzyonları hazırlanmıştır

Çalışmadaki başka amacımız ve bu çalışmayı diğer çalışmalardan ayıran özellik bitkilerin halk arasında çay olarak kullanılmasının uygunluğunun tespit edilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Labiatae (Lamiaceae) Familyasının Genel Özellikleri

S. montana subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* Lamiaceae familyasına ait bitkilerdir. Familyadaki bitkiler genellikle aromatik ve sekonder metabolitlerce zengin bitkilerdir. Labiatae (Lamiaceae) familyası bünyesinde tıbbi kullanımı olan adaçayı, kekik ve nane gibi birçok tıbbi bitki barındırır ve bu bitkilerin halk arasında çay şeklinde kullanımı oldukça yaygındır. Familya yaklaşık 235 cins 7250 tür ile temsil edilir. Lamiaceae familyası ülkemizde ise 46 cins, 586 tür ve 53 takson ile temsil edilmektedir (Güner vd., 2012)

Lamiaceae familyasına ait bitkiler ülkemizdeki endemik türlerin önemli bir bölümünü oluşturur.

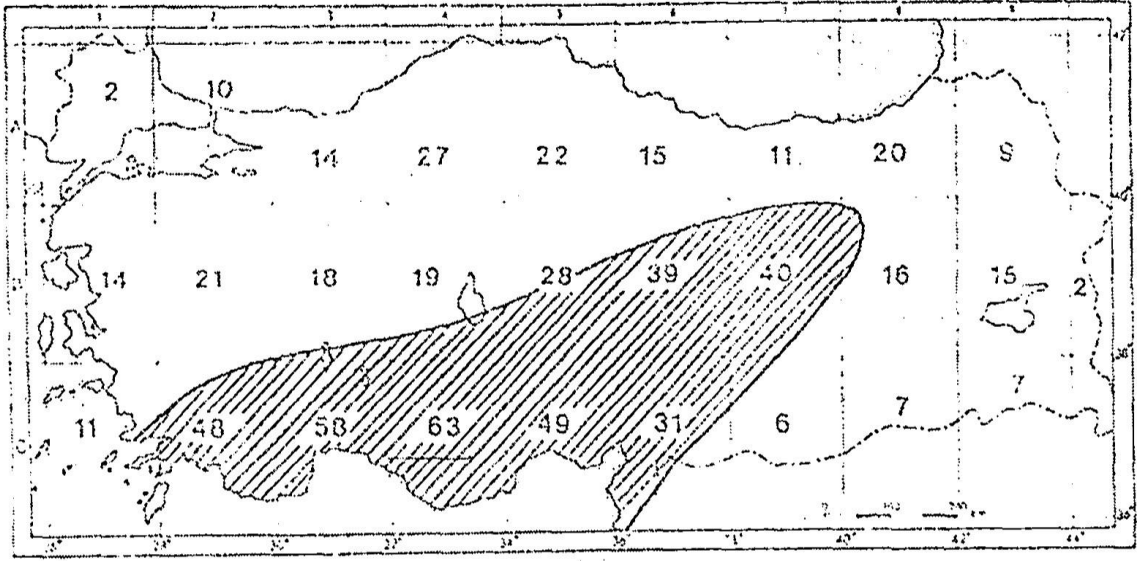
Lamiaceae familyasındaki bitkileri morfolojik yönden ağaç, çalı veya yarı çalimsı şeklindedir. Kökler genellikle kazık kök formundadır. Gövdeler genellikle dört köşeli ya da nadir de olsa gövdenin yaşlı kısımları yuvarlağımsı yapıdadır. Örtü tüyler genellikle uzun çoğunlukla da çok hücreli tek sıralı basit şekildedir. Baş hücrelileri uzundur. (Ersoy, 2009) Yapraklar genellikle basit yapılı olup dekusat olarak ve yapraklar genellikle stipulasızdır. Yapraklar bazen pinnat yapısında da gözlemlenebilir. Familyaya ait bitkilerin çiçeklenmesi vertasillastrum (4-)-6-(10) durumundadır. Çiçekleri büyük çoğunlukla hermafrodittir. Brakteleri yaprağa benzemekte olup brakteolleri çoğunlukla eksiktir. Kaliks tubular – çan şekilli genellikle bilabiat (iki dudaklı) ve 5 loplu olup aktinomorf özelliklidir. Korolla genellikle sarı, bazen açık sarı (beyaza yakın) ya da kırmızı renktedir. Korolla tübü kaliks içinde ve bilabiattır. Stamenler didinam (4 stamenin 2'si kısa 2'si uzun) ve korolla tübünün içindedir. Anterler 2 gözlüdür ve uzunlamasına yarıklarla açılır. Stilus korolla tübü içinde silindirik ve ginobazıktır. Ovaryum; üst durumlu 4 gözlü ve tüysüzdür. Meyveler şizokarp yapılı olup 4 nuksa ayrılmaktadır. Nukslar genellikle tek tohumludur.(Akcós, 1994)

2.2. *Sideritis* Cinsinin Özellikleri (*Sideritis* L.)

Sideritis, Lamiaceae familyasına ait cinslerden biridir. *Sideritis* cinsi 150 ye yakın tür içerir. 40 taksonu endemik özelliktedir. *Sideritis* cinsi ağırlıklı olarak ılıman ve subtropikal iklim kuşaklarında yayılış göstermektedir. Dünyada ılıman bir iklim kuşağındaki Portekiz-İspanya'da (Akdeniz havzasında) yoğun bir şekilde yayılış göstermektedir. *Sideritis* türlerine ait bitkilerin gelişiminde toprak özelliğinin önemli bir etkisi vardır. Alkali özellikteki toprak *Sideritis* türlerine ait bitkilerin gelişimini olumlu yönde etkiler. Ilıman bir iklim gösteren ve çoğunlukla toprakları alkali özellikli olan Türkiye, İspanya ve Yunanistan çok fazla sayıda *Sideritis* cinsine ait bitkilere ev sahipliği yapar.

Cinse ait türler ot veya küçük çalı formunda tek veya çok yıllıklardır. Yaprakları genellikle dişlidir. Bitkilerin uzunlukları 20-70 cm arasındadır. Brakteleri kaliks tüpünü örter. Genellikle brakteol taşımaz. Kaliksler çoğunlukla silindirik veya çan şeklinde olup dişlidir. Cinse ait bitkilerin büyük bir çoğunluğu yünsü tüylere sahiptir ve çiçekleri vertisillat (dairesel) durumunda olup (4-)6(-10) çiçeklidir. Vertisillatlar birbirlerine yakın durumunda veya spika şeklinde kümelenmiş haldedir. (Yılmaz, 2013) Korolla açık renkte olup (sarı, beyaz vb.) nadir de olsa mor renklidir. Stamenler korolla tüpünden uzun değildir. Stiluslar ginobazik formdadır ve korolla tüpünün içerisinde. Üst durumlu olan ovaryum 2 karpellidir ve 4 gözlüdür. Meyveler ise şizokarp tipinde olup kuruyunca 4 merikarpa ayrılır. Meyveler genellikle yuvarlak (uçta ovat) ve tüsüzdür. (Uçar ve Turgur, 2009)

Halk arasında tedavi edici özelliği olduğu düşünülen *Sideritis* L. bitkilerinin mikrop öldürücü, iştah açıcı, gaz söktürücü, ağrı kesici ve yara iyileştirici olarak kullanımları vardır. (Dincer vd., 2017) *Sideritis* cinsine ait bazı bitkilerin aromalarından dolayı başta ülkemizde olmak üzere Akdeniz ve Balkan ülkelerinde çay olarak kullanımları vardır. İran'da çay olarak tüketiminin yanı sıra baharat olarak da kullanımı vardır. (Huber-Morath, 1982)



Görsel 2.1. *Lamiaceae* Familyasına Ait Endemik Bitkilerin Türkiye'deki Yoğun Yayılım Gösterdiği Bölge ve Endemik Taksyon sayısı (<http-1>)

2.3. Ülkemizde Yetişen *Sideritis* Cinsine Ait Bitkiler

Türkiye Asya-Avrupa arasında doğal bir köprüdür. Bu durum ülkemize iklim çeşitliliği yanında zengin bir flora da sağlamaktadır. Ülkemiz bitki çeşitliliği bakımından dünyada nadir ülkelerden biridir. Ülkemiz 9 bin tür bitkiye sahiptir. Bu bitki türlerinin 3 bini endemik bitkidir. Avrupada 12 bin bitki türü bulunmaktadır. Avrupa kıtasında ise 2750 endemik tür bulunmaktadır. Kültür ve Turizm Bakanlığı'nın internet sitesindeki verilere göre Türkiye'de en çok endemik bitki türüne sahip 3 il 578 endemik bitkiyle Antalya, 478 türle Konya ve 366 türle İçel'dir. Endemik tür çeşitliliğince zengin olan Türkiye'de yaklaşık 52 tür *Sideritis* yetişmektedir. Türkiye'de yetişen *Sideritis* türlerinden bazıları endemiktir.

Aşağıdaki tabloda Türkiye'de yetişen bazı *Sideritis* cinsine ait bitkilerin yetiştiği bölgeler yer almaktadır. (Akcós, 1994)

Tablo 2.1 *Sideritis* cinsine ait bazı bitkilerin yetiştiği bölgeler (Akcós, 1994)

Bitki İsmi	Yetiştği Bölge
<i>Sideritis montana</i> subsp. <i>montana</i>	Avusturya'nın Güney Bölgesi, İtalya, Hırvatistan ve çevresi, Fas, Cezayir, Tunus ve çevresi, Güneybatı Asya ve Türkiye'nin birçok bölgesine
<i>Sideritis romana</i> subsp. <i>romana</i>	Trakya Bölgesi ve İstanbul'un Batısı
<i>Sideritis perfoliata</i> L.	Balıkesir, Çanakkale çevresi ve Yunanistan
<i>S. montana</i> subsp. <i>remota</i>	Kuzey Batı Marmara , Türkiye'nin iç ve orta kısmı, Ege Bölgesinin sahil kısımları

2.4. *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* Bitkilerinin Botanik Bilgileri

S. montana subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkileri tek yıllık ve otsu bitkilerdir. Bitkilerin gövde boyu 10-40 cm arasındadır ve gövde rengi ise alt türe göre değişmekte olup yeşilimsi sarımtırak veya mor renktedir. Her iki bitkide de gövde tüylerle kaplıdır. Gövde tüylerinin boyu 2.5-5 mm arasındadır eglandular durumdadır. *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota*'nın yaprakları dikdörtgen-mızraksı ya da düz, akut veya dikensi uçlu şeklindedir. Yaprak ayasının boyutları genellikle 10-30 x 2-10 mm'dir. Vertisillatlar (3-)4-6 çiçekli durumda bulunurlar. Vertisillatların aralığı 0.5-3.5 cm'dir. Üst brakteler alt türe göre farklılık göstermiş olup sarı veya mor renklidir. *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota*'nın çiçeklenme zamanı Mayıs-Ağustos ayları arasındadır. Bitkilere ait kaliksler 6-10 mm boyundadır. Kalikslerin rengi alt türe göre farklılık göstermiş olup kaliksler mor veya yeşil renktedir. Bitkilere ait korollalar sarı veya kahverengi (esmer sarı) renkte olup bu korollalar 5-7 mm boyundadır. Meyveler fındıksı obovat şeklinde olup esmer renklidir. Meyve boyutları 1.5-2 x 1-1.5 mm'dir. *S. montana* subsp. *montana* ve *Sideritis montana* subsp. *remota* rakımı 2000 m'ye kadar olan ormanlık ve tarım arazilerinde yayılış gösterir. (Davis, 1982)

S. montana subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* birbirlerine morfolojik olarak benzerler. Bu iki alt türü birbirinden kaliks rengi brakte rengi ve vertisillatların tüy yoğunluğuna göre ayrılır.

Sideritis montana subsp. *montana*'nın kaliksi yeşil braktesi sarı renkli vertisillat yapısı ise nadiren yünsü ince tüylerle kaplıdır.

Sideritis montana subsp. *remota*'nın kaliksi mor braktesi menekşe rengine vertisillat yapısı ise genellikle yünsü ince tüylerle kaplıdır. (Güvenç ve Duman 2010)

Huber-Morath ise bu alt tür ayrımını sağlamak için bir tayin anahtarı belirtmiştir:

Bitki seyrek sıklıkta ince uzun yumuşak yünsü tüylü ve 2.5mm olan yeşil renkli tüyler düzenli dağılmış ise *Sideritis montana* subsp. *montana*

Bitki yoğun sıklıkta ince uzun yumuşak yünsü tüylü ve yaklaşık 5mm olan tüyler beyaz tomentum bulundurup vertisillasterlerin yakınına kadar örter ise *Sideritis montana* subsp. *remota* (Ersoy, 2009)



Görsel 2.2. *S. montana* subsp. *montana* ([http-2](#))



Görsel 2.3. *Sideritis montana* subsp. *remota* (<http-3>)

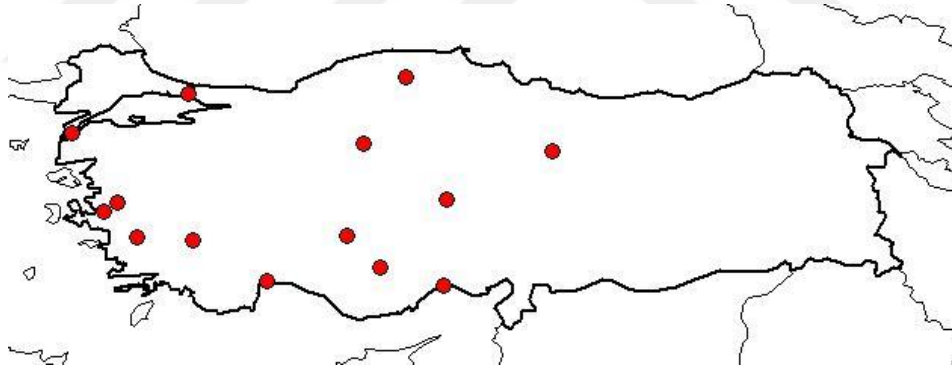
2.5. *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* Bitkilerinin Ülkemizdeki Yayılımı:

S. montana subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkileri Türkiye’de bulunan farklı coğrafi bölgelerin farklı şehirlerinde yayılım gösterir.

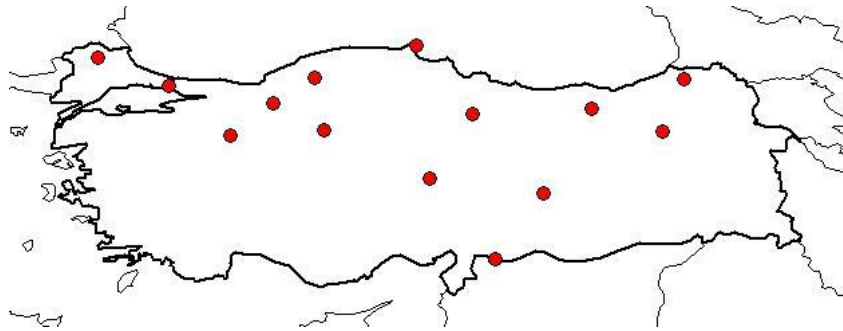
Sideritis montana subsp. *remota* bitkisinin yayılımı daha çok ülkemizin batı kesimindedir. Bitki yayılım gösterdiği illere İstanbul, Ankara, Antalya, Çanakkale, Denizli ve Manisa örnek verilebilir.

Sideritis montana subsp. *montana*’nın Türkiye üzerindeki yayılımı *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisine kıyasla daha geniş bir alandadır. (Ülkemizin Güneybatı kısmı dışında) yayılım gösterir. *Sideritis montana* subsp. *montana*’nın yayılım gösterdiği şehirlere Bolu, Kilis, Ankara, Malatya, Sinop, Erzurum ve Eskişehir örnek verilebilir.

Aşağıdaki şekillerde *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin Türkiye üzerindeki yayılımı gösterilmektedir.



Görsel 2.4. *Sideritis montana* subsp. *remota*’nın Türkiye üzerindeki yayılımı (http-4)



Görsel 2.5. *Sideritis montana* subsp. *montana*’nın Türkiye üzerindeki yayılımı (http-5)

2.6. *Sideritis* Cinsinin Etnofarmakolojik Özellikleri

Sideritis cinsine ait bitkiler bulundukları bölgelerde farklı isimler alabilirler ve farklı bölgelerde halk arasındaki kullanım şekli de değişiklik gösterebilmektedir. *Sideritis* cinsine ait bitkilerin Anadolu’da bazı bölgelerde demleme yoluyla elde edilen çayın gaz giderici, idrar söktürme, spazm azaltıcı, sindirim düzenleyici ve antitüssif etkileri sebebiyle tüketimi gözlenmektedir. *Sideritis* cinsine ait bitkilerin aktarlarda bazı hastalıklarda semptom giderici özelliği olduğu düşünülen karanfil, zencefil ve tarçın gibi bitkiler ile birlikte aynı pakette ismiyle “kış çayı” adı ile sunulmaktadır.

Fareler üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada *Sideritis libanotica subsp. kurdica*, *Sideritis athoa*, *Sideritis lanata* ve *Sideritis pefoliata* bitkilerinin ekstreleri sinir sistemi üzerinde uyarıcı etkisi ve anti-stress aktivitesi gözlemlenmiştir. (Akşit, 2017)

Sideritis verilen örneklerdeki gibi dahilen kullanımlarının yanı sıra Anadolu’da haricen yakı olarak da kullanımları gözlemlenmiştir. Akdeniz Bölgesinin yüksek rakımlı bölgelerinde yetişen *S. psicida* bitkisinin halk arasında yaprakların suda kaynatıldıktan sonra rende edilmiş soğan ve arpa unu ile lapa şeklinde bel bölgesindeki ağrılara yakı olarak kullanımı vardır. (Yeşilada vd., 1995)

2.7. *Sideritis* Cinsinin ve Çalışılan Bitkilerin Kimyasal İçeriklerinin İncelenmesi

Sideritis cinsine ait bitkiler yapılarında birçok sekonder biyoaktif madde içerirler. Yapılan çalışmalarla *Sideritis* cinsine ait bitkilerden terpen, flavonoit, uçucu yağlar, iridoid, kumarin, lignan ve sterol sınıf bileşikler izole edilmiştir. *Sideritis* cinsine ait bitkilerin uçucu yağ profilleri benzerlik gösterir ve cinsine ait bitkilerde bulunan flavonoit ve diterpen sınıfındaki bileşikler çoğunlukla benzer karakterlerde bulunur. *Sideritis* cinsindeki terpen, flavonoit, uçucu yağlar, iridoit, kumarin, lignan ve sterol sınıf bileşikler cinse ait in vivo-in vitro farmakolojik etkilerinden sorumludur. (Fraga, 2012)

Türkiye’de yetişen 15 *Sideritis* cinsine ait bitkinin tohumlarından yağ elde edilmiştir. Bu yağın içeriğinde yüksek oranda linoleik asit ve oleik asit yağ asitleri tespit edilmiştir. İncelenen yağda en yüksek oranda gözlemlenen yağ asidi %45.4-%64 oranında bulunan linoleik asit olmuştur. Daha sonra 2. yüksek oranda bulunan yağ asidi %12,3-26,5 oranında gözlemlenen oleik asittir. (González-Burgos vd., 2011) *Sideritis montana subsp montana* tohumlarının yağ içeriğinde ise ergosterol, stigmasterol ve β -sitosterol bileşiklerinin bulunduğu gözlemlenilmiştir. (Emre vd., 2011)

Marchev ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada, *Sideritis* cinsine ait bitkilerin içerdiği yüksek oranda fenolik bileşiklerden dolayı gıda, kozmetik ve ilaç sektöründe koruyucu olarak kullanılabileceğini düşünmüşlerdir. Ayrıca *Sideritis* cinsine ait bitkilerin içeriğindeki terpenoit bileşiklerinden dolayı gıda sektöründe aroma verici olarak da kullanılabilirler. (Marchev vd., 2021)

Toth ve arkadaşları 2017’de yaptığı bir çalışmada, *Sideritis montana* bitkisinin metanol ile hazırlanan ekstresinden sideritin A, sideritin B ve pomiferin E maddelerini izole edilmiştir. İzole edilen Sideritin A ve Sideritin B maddeleri yeni bileşiklerdir. Toth ve arkadaşları izole ettikleri bu bileşiklerin antiproliferatif aktivitesini değerlendirilmiş ve bu bileşiklerin orta derecede antiproliferatif aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. (Tóth vd., 2017)

2.7.1. Flavonoid sınıfı bileşikler

Flavonoidler adlarını gösterdiği renginden dolayı latince ‘sarı’ anlamına gelen ve ‘flavus’ kelimesinden alan fenolik bileşiklerdir. Flavonoidler kimyasal yapısında iki fenil halka (A ve B halkaları) ve bir heterosiklik halka bulunduran 15 karbonlu bir yapıya sahiptir.

Flavonoidlere bitkilerde olduğu kadar mantarlarda da rastlamak mümkündür. Günümüzde 8000 flavonoid tanımlanmış olup bu fenolik bileşikler sebze, meyve, kuruyemiş, günlük tüketilen polifenol içeren içecekler ve şarap gibi besinlerde yüksek oranda bulunmaktadır. (Nakipoğlu ve Otan 1994)

Flavonoidler bitkinin kök, sap, çiçek, polen, meyve ve tohum gibi organlarında tespit edilmiştir. Flavonoidler bir sekonder metabolittir. Sekonder metabolit olmasına rağmen flavonoidler karbonhidratlar, aminoasitler gibi birincil metabolitlerden türerler. Çoğunlukla glikozit halinde bulunur. Glikozitler yapıları fenolik hidroksillere α - veya β -D-glikozidik bağlarıyla oluşmaktadır. Fenolik yapıları nedeniyle flavonoidler antioksidan etkilidirler (Kytidou vd., 2020).

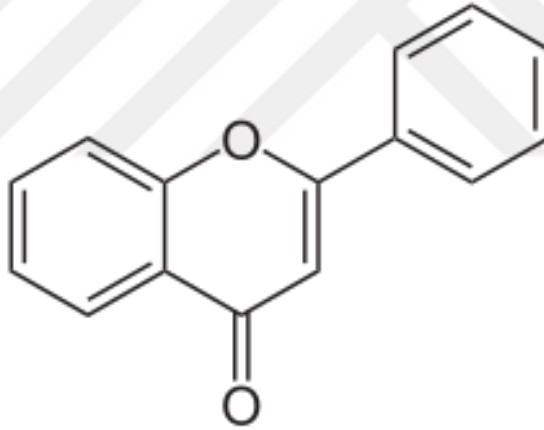
Flavonoidleri içeren tıbbi bitkiler antifungal, antibakteriyel ve antitrombojenik aktivite gibi birçok farmakolojik aktiviteye sahiptir. Bazı flavonoidler arazişonik asit yolağını inhibe eder. Ayrıca farklı yollarla antiplatelet aktiviteleri yapılan literatür çalışmalarında tespit edilmiştir. Bazıları sitotoksik aktiviteye sahiptir. Bu sitotoksik aktivite *Eupatorium* türlerinde bulunan metoksiflavonlarda görülebilir. (Dwivedi vd., 2017) Yapılan bir çalışmada metoksiflavonların tümör inhibitörü özellikte olduğu tespit

edilmiştir. Metoksiflavonların insanda nazofarenks kanserlerine karşı orta derecede etkili olduğu gösterilmiştir. Flavonoitler serbest radikal temizleme ve karsinojenleri detoksifiye eden enzimleri modifiye etme mekanizmasıyla kanserden koruma etkisi de göstermektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda flavonoitlerin östrojen, androjen ve tiroid hormonları düzenleyici etkileri görülmüştür. (Faggio vd., 2017)

Flavonitler bu etkilerinin yanı sıra fizyolojik özellikleri ile de ön plana çıkan bileşiklerdir. Bu fizyolojik etkilere ultraviyole radyasyonlar, patojenler ve herbivorlara karşı bitkilerin koruması örnek verilebilir. (Faggio vd., 2017)

2.7.2. Flavonoitlerin gruplandırılması

Flavonoitler 6 gruba ayrılırlar. Bu gruplar flavanol, antosiyanidin, flavonol, flavon, flavan ve izoflavon gruplarıdır.



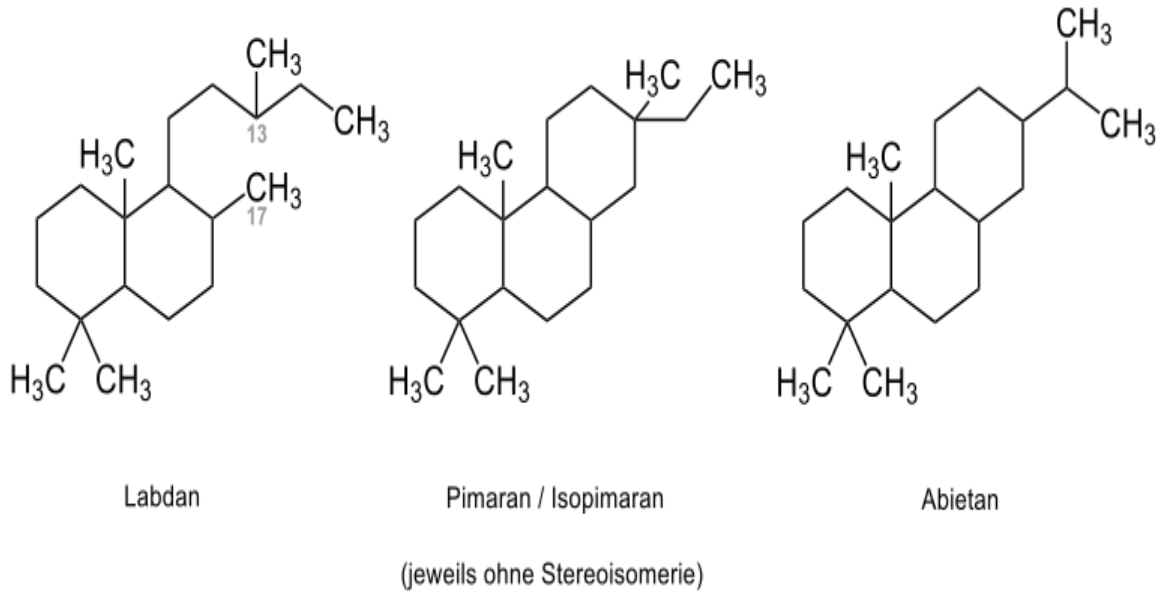
Görsel 2.6. Flavon omurgasının moleküler yapısı (2-fenil-1,4-benzopiron)

Yapılan araştırmalarda *Sideritis* cinsine ait bitkilerden farklı ana iskelete sahip aglikon ve glikozit halde bulunan birçok flavon türevi bileşikler izole edilmiştir. İzoskutellarein ve hipolaetin iskeletine sahip olan moleküller; *Sideritis* L. Cinsine ait bitkilerden izole edilmiş flavon glikozitlerinden en yaygın olarak bulunanlarıdır. Glikozit halinde bulunan flavonitler çoğunlukla 7-O-allosil glikozitleri şeklinde bulunur. *Sideritis* cinsine ait bitkilerden izoskutellarein, hipolaetin, luteolin, apigenin ve krizoriol izole edilmiştir. (Akşit, 2017)

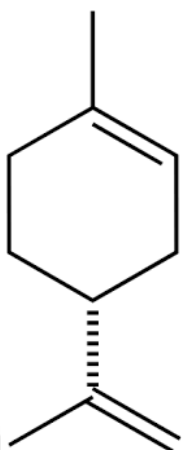
2.7.3. Terpenik bileşikler

Terpenler; izoprenlerin (2-metil-1,3-bütadien) birleşmelerinden oluşurlar. Terpenler doğal ürünlerde en yaygın bulunan moleküllerdir. Oksijen içeren terpenler, terpenoit olarak adlandırılır. Mono ve seskiterpenlerin genellikle uçucudurlar. Diterpenler ve karbon sayısı diterpenlerden fazla olan terpenler uçucu değildir. Günümüzde 20.000'den fazla terpenin yapısı bilinmektedir. Yapıları tanımlanmış olan terpenlerin çoğu monoterpen olup uçucudurlar. *Sideritis* türlerinde genellikle monoterpenlerle birlikte diterpenler ağırlıklı olarak bulunur. 1968 yılında *S. sicula* bitkisinden sideridiol ve siderol maddeleri tanımlanmıştır. Tanımlanan bu maddeler *Sideritis* türlerinde tanımlanan ilk diterpenik maddeler olmuştur. Seskiterpenler (15 karbonlu) ve triterpenler (30 karbonlu) *Sideritis* cinsine ait bitkilerde çok nadir bulunur. (Piozzi, 1968)

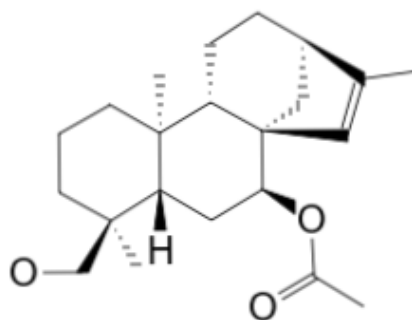
Türkiye'deki *Sideritis* cinsine ait bitkilerde çoğunlukla kauren iskeletine sahip diterpenler tespit edilmiştir. (Akşit, 2017)



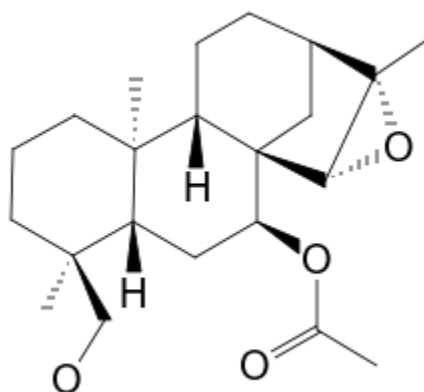
Görsel 2.7. *Sideritis* türlerinden izole edilmiş diterpenlere ait bazı temel iskelet yapıları (<http-10>)



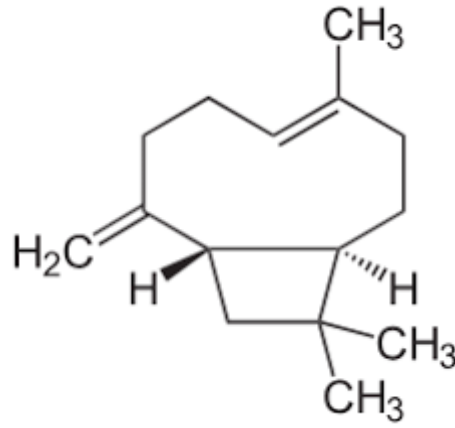
Limonen ([http-11](#))



Siderol ([http-9](#))



Epoksisiderol ([http-8](#))

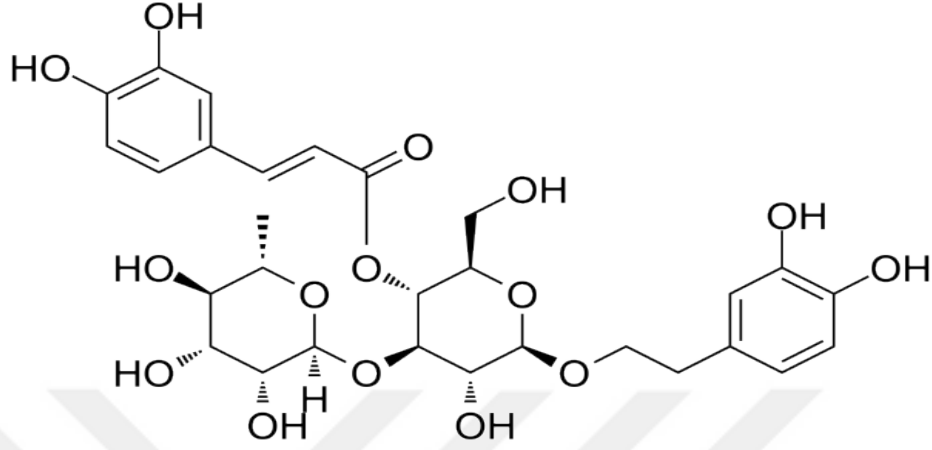


Karyofilen (<http-12>)

Görsel 2.8. *Sideritis cinsine ait bitkilerden izole edilen bazı terpenik bileşikler*

2.7.4. Feniletanoit glikozitler

Feniletanoit türevleri hidroksi feniletıl grubunun glikozidik bağ ile bir heksoza bağlanmasıyla oluşur. Feniletanoit türevi bileşiklerin suda çözünürlükleri yüksektir. Bunun sebebi bileşiğin çekirdek yapısında en az bir glikozil parçası bulunmasıdır. Kolay izole edilirler. *Sidertis* türüne ait bitkilerde en yaygın bulunan feniletanoit türevi verbaskosit molekülüdür. Feniletanoit türevi bileşiklerin *in-vivo* ve *in-vitro* deneyler sonucunda antibakteriyal, antiviral, antioksidan ve karaciğer koruma gibi birçok tıbbi açıdan önemli özelliklere sahip olduğu gözlemlenmiştir.

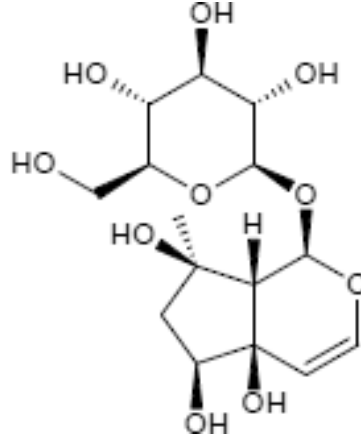


Görsel 2.9. Verbaskosit molekülü (http-6)

2.7.5 İridoit glikozidler

İridoitler; yapılarında siklopentan iskeleti bulunan bir monoterpenoidtir. Yapılan araştırmalarda antikanser, antioksidan, karaciğer koruyucu, spazm giderici vb. birçok tıbbi özellikleri olduğu gözlemlenmiştir. İridoitlerin tadları acıdır bu sebeple iridoit izole edilen bitkilerin tonik olarak kullanımları gözlemlenilmiştir.

Venditti ve ark. 2016' da İtalya'da *S montana subsp montana* bitkisinin etanollü ekstresinin üzerinde yaptığı bir çalışmada, ekstreden iroidoit türevleri olan harpagit, 8-O-asetil-harpagit, melittozit, 8-epilogenik asit elde edilmiştir. Bu iridoit türevi maddelerin yanında fenolik biyoaktif bir madde olan klorojenik asit ve metil arbutin de izole edilmiştir. (Venditti vd., 2016)



Görsel 2.10. Harpagid (<http-7>)

2.7.6 Uçucu bileşikler

Bitkiler tarafından üretilen uçucu yağlar sekonder metabolittir. Uçucu yağlar kuvvetli kokuları bulunan sıvı haldeki yağ benzeri karışımlardır. Uçucu yağlar su buharı ile kolay sürüklenirler bundan dolayı uçucu yağlar genellikle su buharı distilasyonu ile elde edilirler. Uçucu yağların bitkilerde birçok önemli rolleri vardır. Bu rollere tozlaşmayı sağlayıcı böcekleri kendine çekme (etkileme) ve zararlı mikroorganizmalara kendini koruma örnek olarak verilebilir. (Bakkali vd., 2008)

Yapılan çalışmalarda uçucu yağlara bitkinin çiçek, yaprak, meyve, odunsu kısımları ile sap ve kabuk kısımları gibi çeşitli organlarında rastlanılmıştır. Bitkisel kaynaklardan elde edilen uçucu yağlar içeriğinde yüksek miktarda terpen türevi maddeler bulundurmaktadır. Ayrıca uçucu yağlar içeriğinde fenolik, azotlu ve kükürtlü bileşikler ve aldehit, alkol ve ester sınıfı grubundan maddeleri de içerebilir. (Kılıç, 2008)

Sideritis cinsine ait bitkilerin Lamiaceae familyasındaki diğer cinslere ait bitkilere nazaran uçucu yağı bakımından zayıf oldukları yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir.

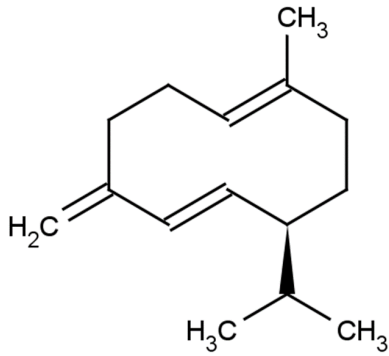
Sideritis türlerinin uçucu yağları genellikle düşük karbon sayısı olan mono ve diterpen sınıfı bileşiklerce zengindir. Türkiye’de yayılım gösteren *Sideritis* türlerinin yarısından fazlası ana madde grupları olarak monoterpen hidrokarbonları içermektedir. Bu bileşikler pinenler, sabinen, mirsen ve β -fellandren gibi moleküllerdir. Diterpenler açısından da zengin olan *Sideritis* cinsine ait bitkilerin toprak üstü kısımlarından yaklaşık 160 çeşit diterpenik bileşik izole edilmiştir.

Sideritis cinsine ait bitkilerden elde edilen uçucu yağların verimi ile uçucu yağın içeriği arasında bir ilişki gözlemlenmiştir. *Sideritis* cinsine ait bitkilerden elde edilen uçucu yağın içeriğinde yoğun olarak monoterpen hidrokarbon varsa uçucu yağ veriminin arttığı gözlemlenmiştir ve elde edilen uçucu yağın verimi düşük olduğu durumda ise elde edilen uçucu yağ seskiterpen içeriğince zengin olduğu gözlemlenmiştir. (Krczkovska, 2022)

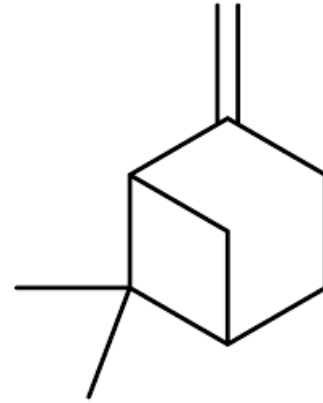
Neşe Kırimer ve arkadaşlarının Ocak 2011’de bazı *Sideritis* cinslerinin uçucu yağı üzerinde çalışma yapmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota*’nın uçucu yağının seskiterpen hidrokarbonlarca zengin olduğu ve uçucu yağın bisiklogermakren ve germakren maddelerini ağırlıklı içerdiği tespit edilmiştir. (Kırimer vd., 2000)

Sideritis montana subsp. *remota*’nın uçucu yağının başlıca bileşenleri %7.33 β -pinen, %5.75 hekzadekonik asit, %13.86 bisiklogermakren ve %10.33 germakren D şeklindedir.

Sideritis montana subsp. *montana*’nın uçucu yağının başlıca bileşenleri %24.59 germakren D, %10.80 bisiklogermakren, %5.46 viridiflorol ve %5.94 tetradekonik asit şeklindedir.



Görsel 2.11. Germakren D



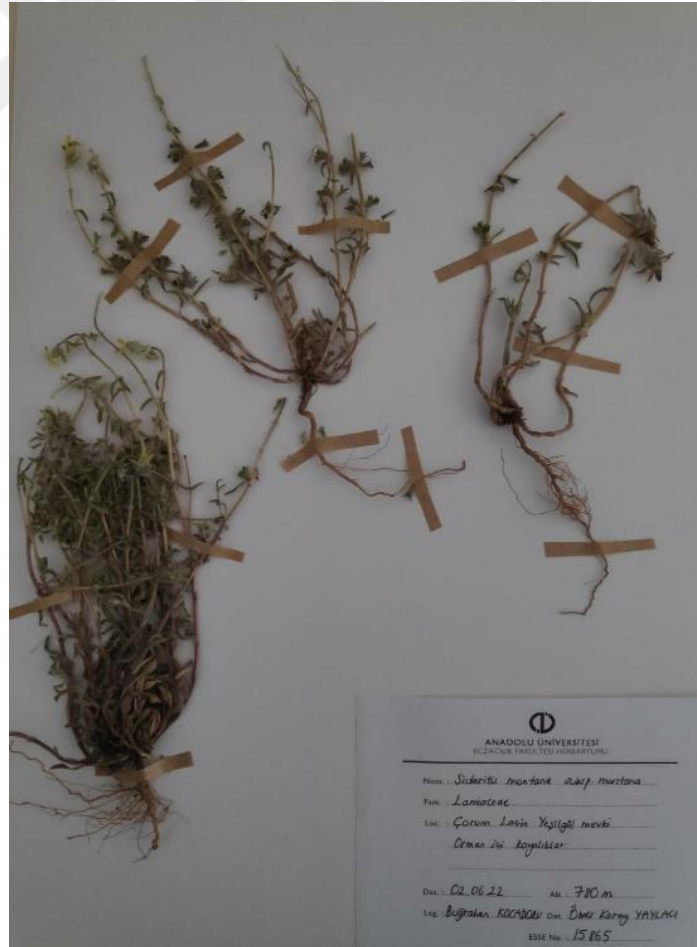
Görsel 2.12 β -Pinen

3. YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Deney çalışmalarımızda kullandığımız *Sideritis montana subsp. montana* ve *Sideritis montana subsp. remota* (Lamiaceae) bitkileri Öğr. Gör. Dr. Ömer Koray YAYLACI tarafından toplanmış ve teşhis edilmiştir. *Sideritis montana subsp. montana* 02.06.2022 tarihinde, 780 metre rakımlı Çorum ili Laçın ilçesi Yeşilgöl mevkiisinde orman içindeki kayalık bölgeden toplanılmış olup “Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi” herbaryumunda ESSE No: 15865 ile kayıt altına alınarak saklanmıştır.

S. montana subsp. remota bitkisi ise 05.07.2022 tarihinde, 1270 metre rakımlı Kütahya ili Dumlupınar-Altıntaş yolu 20. km’de yol kenarı yamaç bölgeden toplanılmış olup ESSE No: 15866 ile kayıt altına alınarak saklanmıştır.



Görsel 3.1. *S. montana subsp. montana*



Görsel 3.2. *Sideritis montana* subsp. *remota*

3.2. Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

3.2.1. Kimyasal maddeler

Potasyum persülfat

Gallik asit

Sodyum karbonat

Folin Ciocalteu's Reagent

ABTS⁺

DPPH[•]

Metanol

Hekzan

3.2.2. Cihazlar

Applied Biosystems 3200 Q-Trap MS/MS dedektörüne bağlı, Shimadzu 20A HPLC

Çalkalayıcı (GFL 3015 Orbital Çalkalayıcı)

ELISA H1 mikropalak okuyucusu (Biotek Powerwave XS, Amerika)

Hassas terazi (Shimadzu, AEX 200G)

Rotavapor (Buchi, Switzerland)

Spektrofotometre (Shimadzu Kyoto, Japonya)

Su banyosu (Nüve BM 302, Türkiye)

3.3. Ekstrelerinin Hazırlanması

S. montana subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin ekstreleri hazırlanırken çözücü olarak metanol kullanılmıştır. Metanol ile ekstrasyon işlemi *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkileri için aynı yöntemle yapılmış olup aşağıda yapılan anlatım bir bitki için yapılan örnek bir anlatımdır.

Metanol ile ekstraksiyon; *Sideritis montana* subsp. *montana*'nın ekstresi bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanmıştır. Toprak üstü kısımları gölgede kurutulduktan sonra herba toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen bitki ışık sebebiyle bozulmaya engel olmak amacıyla alüminyum folyo ile sarılmış erlenmayer içine 10 g konulduktan sonra 200 ml metanol ile bir gün çalkalama işlemine (ORBİTAL, Çalkalayıcı) maruz bırakılmıştır. 24 saat çalkalanan karışım bu sürenin sonunda süzölmüştür. Süzölme işleminden sonra erlenmayer içinde kalan bakiyeye 200 ml metanol ilave edilmiştir. Bu işlem yukarıdaki gibi 3 kez tekrarlanmıştır. 3 defa tekrarlanan bu işlemler sonucunda elde edilen süzöntüler birleştirilmiş ve elde edilen ekstrede çözücü olarak bulunan metanol rotary evaporatörde 40°C'den yüksek olamayacak sıcaklıkta uçurulmuştur. Çözücüsü uzaklaştırılan ekstre, Eppendorf tüplerinde +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. *Sideritis montana* subsp. *montana*'nın metanollu ekstresinin verimi %20,38; *Sideritis montana* subsp. *remota*'nın metanollu ekstresinin verimi ise %3.86 olarak hesaplanmıştır.



Görsel 3.3. Rotavapor cihazı (BUCHI, Switzerland)

Bu çalışmada tıbbi bitkilerin geçmişten günümüze halk arasında en yaygın kullanımı olarak görülen çay şeklinde kullanımı temsilen %10'luk infüzyon örnekleri hazırlanmıştır. 10g *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinden alınarak cam beherglas'a konulmuştur. Beherglasın içine 100 ml 100°C sıcaklığındaki su konulmuştur ve yaklaşık 20 dk. demlendikten sonra süzölmüştür. Elde edilen infüzyon

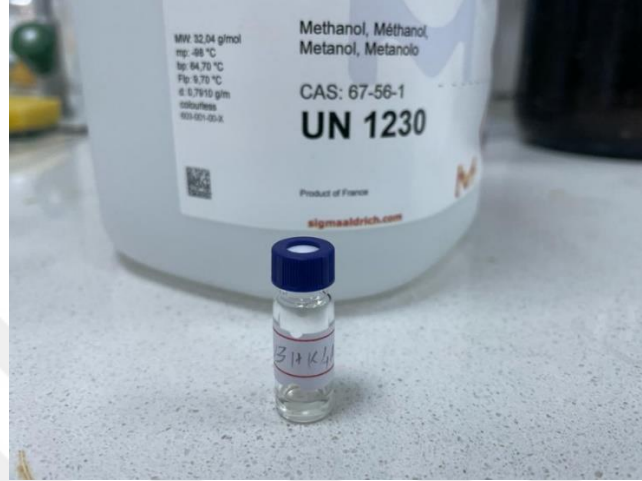
kapaklı ve etrafı alüminyum folyo ile sarılmış kaplarda derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.



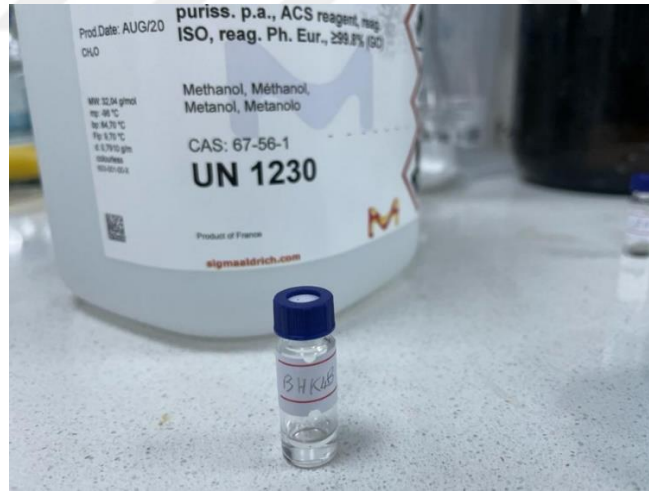
Görsel 3.4. *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin Clevenger apareyinde su distilasyonu işlemi gerçekleşirken

Uçucu yağ eldesi; 30 g *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin toprak üstü kısımları mekanik olarak ufalandıktan sonra 180 dakika boyunca Clevenger apareyinde su distilasyonuna işlemi uygulanmıştır. Gerçekleşen su distilasyonu işlemi sonucunda uçucu yağ ve yağ altı suyu elde edilmiş ve heksan ile alınmıştır. Uçucu özellikteki yağ

GC/MS analizine hazır bir şekilde getirilmiştir. Aynı işlemler *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisi için de yapılmış olup diğer bitkideki yapılan işlemlerden farklı olarak *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisinden 5 g kullanılmıştır. Analiz sonucunda *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin uçucu yağ verimi %0,32; *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisinin uçucu yağ verimi ise %0,28 olarak hesaplanmıştır.



Görsel 3.5. *S. montana* subsp. *montana* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilmiş olan uçucu yağ



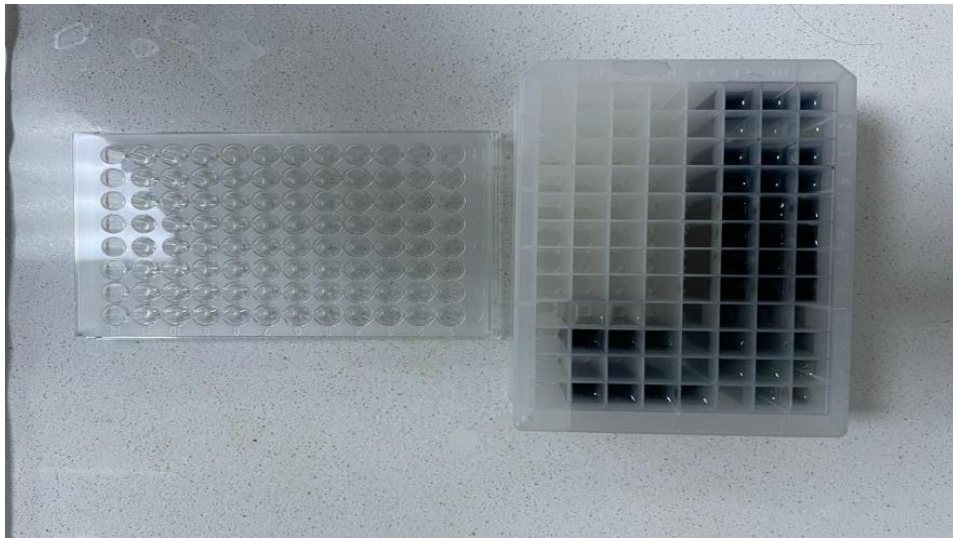
Görsel 3.6. *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen edilmiş olan uçucu yağ

3.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Folin-Ciocalteu yöntemi ile *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin içeriğindeki toplam fenolik madde miktarı tayini gerçekleştirilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan gallik asit üzerinde gerçekleştirilen deneyin sonucundan gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

Gerçekleştirilecek olan deney için *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin ekstresinden 33 mg alınmış olup 3,3 ml metanolde çözündürülmüştür. *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisinin ekstresinden ise 11 mg alınmış olup 1,1 ml metanolde çözündürülmüştür. Bu işlemler sonucunda deneyde kullanacağımız 10 mg/mL konsantrasyonuna sahip çözeltiler hazırlanmıştır. Deneyimizde Gallik asit standart olarak kullanılmıştır. Bunun için 0,1 ile 1 mg/mL aralığındaki farklı derişimlerde gallik asit çözeltileri hazırlanmıştır. Deney için 20 µL numune üzerine 1560 µL distile su ve 100 µL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Birkaç dk. beklenilerek reaktifin dağılması sağlanmıştır. Daha sonra 300 µL %20'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi eklenmiştir. Yapılan bu işlemler sonucunda tepkime başlamıştır. Örnekler oda sıcaklığında 2 saat boyunca karanlık ortamda bekletildikten sonra örneklerin UV spektrofotometresiyle 760 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Her örnek için bu işlemler 3 kere tekrar edilmiştir.

Ekstre içermeyen çözücü olarak kullanılan metanol ve reaktif içeren karışım kör kontrol olarak kullanılmıştır.



Görsel 3.7. Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini deneyi için kullanılan 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 2 saat bekletildikten sonraki görüntüsü

Polifenoller güçlü antioksidan özellik gösteren bileşiklerdir. Polifenoller etkilerini elektron veya hidrojen verme potansiyelleri ile gösterir. Bileşiklerin gösterdiği antioksidan etki bileşiğin hidroksil gruplarının sayısı arttıkça artmaktadır. Hidroksil grupları bileşiğin polaritesinin artırır böylece antioksidan aktivite de artmış olur. Folin-Ciocalteu reaktifi fenolik moleküller ile bağ yapar. Reaktif ve fenolik moleküller arasında gerçekleşen bu bağ sebebiyle mavi renkli molibden-tungsten kompleksini oluşur. Ölçüm 760 nm dalga boyunda spektrofotometreyle gerçekleştirilmiştir. Yapılan ölçüm ile kompleksin mavi renginin şiddeti belirlenir. Rengin şiddeti standart olarak kullanılan gallik asitin çeşitli konsantrasyonları ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi ile değerlendirilmiştir. Böylece fenolik madde miktarı gallik asit üzerinden hesaplanmıştır. (Akkol vd., 2008)

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

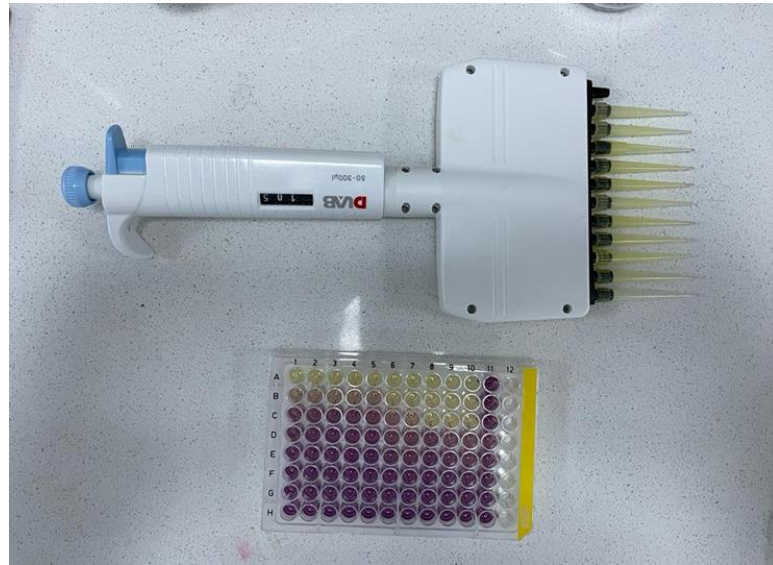
Bu çalışma için *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin toprak üstü kısımları kullanılmıştır. Bitkinin toprak üst kısımları su distilasyonu işlemine Clevenger apereyinde tabi tutulmuştur.. Bu işlem sonucunda uçucu özellikli bir yağ elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağların uçucu bileşenleri Gaz kromatografisi/ Kütle Spektrometrisi (GC/MS) sistemi ile belirlenmiştir.

3.6. Antioksidan Aktivite Tayinleri

3.6.1. DPPH[•] (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini süpürme aktivitesi

Deneyde antioksidan aktivite tayini için kullanılan metot DPPH[•]'in serbest radikale, H⁺ transferi reaksiyonuna dayanır. Bu yöntemin temel prensibi radikal halde mor renkli olan DPPH[•] metanollü çözeltisinin mor rengini kaybetmesinden kaynaklı absorbansın spektrofotometrik olarak ölçülmesidir. Gerçekleştirilen çalışmanın sonucunda çözeltinin sahip olduğu mor rengin sarı renge dönmesi DPPH[•] radikalinin radikal özelliğini kaybettiğini gösterir. Çözeltide gerçekleşen bu renk değişimi ekstrelerin antioksidan etkiye sahip olup veya olmadığını belirlemeye yardımcı olur.

DPPH[•] çözeltisi elde etmek amacıyla 2,5 mg DPPH[•] katısı 25 ml metanolde çözündürülmüştür. Kullanılan mikropiğin ilk sütunlarına örneklerin 200'er µl MeOH'da çözölmüş ve konsantrasyonlarının belirlenmiş olan miktarları aktarılmıştır. İlk sütun dışındaki kalan bütün kuyucuklara 100'er µl metanol konulmuştur. İlk kuyucuktan 100 µl numune alınmıştır ve sırası ile 7 defa seyreltme işlemi yapılmıştır. 7 defa seri seyreltilmiş örneklerin üzerine 100 µl DPPH[•] çözeltisinden eklenmiştir ve oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dakika beklenilmiştir. Sonuçları elde edebilmek için 517 nm'ye ayarlanan spektrofotometre, sonuçları UV absorbans değeri üzerinden ölçmüştür.



Görsel 3.8. DPPH[•] radikalini süpürme aktivitesi deneyinde kullanılan 96- kuyucuklu mikrotitrasyon plakasının 1 mg/mL konsantrasyonda eklenen örneklerinin gerçekleştirilen seri seyreltme işlemi sonrasında oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dk. karanlıkta bekletildikten sonraki görüntüsü ve kullanılan ekipmanlar

3.6.2. ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) radikal katyonunu süpürme aktivitesi

Bu yöntem ABTS^{•+} radikali süpürücü etkisinin ölçülmesine dayanır. Radikal süpürücü etkinin tespiti (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) (ABTS)'in ABTS^{•+} radikali oluşturulmasıyla ve örneklerin ABTS^{•+} radikalini süpürücü etkisiyle ölçülmektedir. Bu radikal (ABTS)'in potasyum persülfat ile oksidasyon tepkimesi vermesi sonucunda oluşur (Büyüktuncel, 2013).

Antioksidan tayini için gerçekleştirilen bu çalışmada, 36 mg ABTS^{•+} katısı ve 6,6 mg potasyum persülfat (K₂S₂O₈), 10 ml distile suda çözündürülmüştür. Oluşan çözelti 18 saat karanlık ortamda bekletilmiştir. Yapılan bu işlemler sonucunda mavi-yeşil renkli ABTS^{•+} radikali oluşmuştur. Radikal stok çözeltinin absorbans değeri önemlidir. 734 nm dalga boyunda absorbans değeri 0,7-0,8 olana kadar hazırlanan stok çözeltisi EtOH ile seyreltilmiştir.

Gerçekleştirilen çalışmada *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin ekstreleri ve infüzyonlarından 1 mg/mL ve 10 mg/mL konsantrasyonlardaki çözeltileri kullanılmıştır. Standart olarak kalibrasyon eğrisini çizmek amacıyla 1 mM ve 0,1 mM konsantrasyon aralığında troloks çözeltileri hazırlanmıştır. Hem bitki hem de standartlar ile hazırlanan numunelerden 10 µl mikropipet kuyucuklarına konulmuştur. Daha sonra üzerlerine 990 µl ABTS^{•+} çözeltisi konulmuştur. Örnekler 30 dk. bekletildikten sonra 734 nm'de örneklerin absorbansı ölçülmüştür. Troloks'a Eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) standart Troloks'un kalibrasyon eğrisi üzerinden hesaplanmıştır.



Görsel 3.9. *ABTS⁺ radikal katyonu süpürme aktivitesinde kullanılan 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plakanın görüntüsü ve kullanılan diğer ekipmanlar*

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

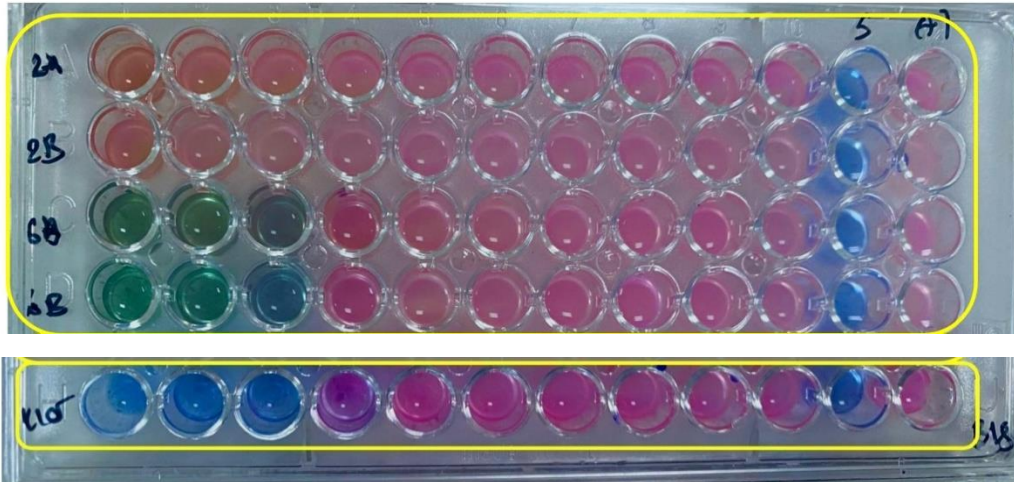
Gerçekleştirilen LC-MS / MS analizinde iyonlaşma modu Elektro Sprey İyonlaşma (ESI) ile negatif modda gerçekleşmiştir. Kromatografik ayırma için kullanılan kolon özellikleri önemlidir. 150 × 4.6 mm, 3 µm ODS özelliklerindeki kolon kromatografik ayırma işleminde kullanılmıştır. Analiz, 40 °C sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Analiz işleminde PDA dedektörü kullanılmıştır. Mobil faz olarak (A) metanol: su: formik asit (10: 89: 1, v/v/v) ve (B) metanol: su: formik asit (89: 10: 1, v/v/v) çözeltileri seçilmiştir. B'nin konsantrasyonu, 40 dakikada %10' dan %100'e çıkarılmıştır. Akış dakikada 0.5 ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Kütle taraması (EMS) için 100-800 amu kütle aralığı seçilmiştir..

3.7. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Mikroorganizmalar: Çalışmamızda kullanılan mikroorganizmalar, -85 C’de %50’lik steril gliserol solüsyonu içerisinde muhafaza edilmiştir. Deneyde *Escherichia coli* NRRL B-3008, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Serratia marcescens* NRRL B-2544, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Klebsiella pneumoniae* NCTC 9633 test mikroorganizmaları kullanılmıştır.

Mikrodilüsyon Deneyi: Test edilecek örnekler kısmen modifiye edilmiş “Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü”nün yayımladığı CLSI (NCCLS) M7-A7 protokolü çerçevesinde gerçekleştirilmiştir. M7-A7 protokolü aerobik olarak gelişen bakterilerin duyarlılıkları standart kloramfenikol eşliğinde test edilmiştir. Antikandidal test protokolünden farklı olarak, besi ortamında MHA (Mueller Hinton Agar) ve MHB (Mueller Hinton Broth) kullanılmıştır(Wayne, 2006) Deneyler çift tekrarlı yapılmıştır.

RPMI ve mikroorganizma eklenen en sağda bulunan 12. sütun pozitif gelişim kontrolü için ayrılmıştır. En sağdaki sütunun bir solunda bulunan 11. sütun ise sterilit kontrolü olarak ayrılmıştır. 35°C’ de gerçekleşen ve bir gün süren inkübasyonun sonunda üremenin olmadığı ilk kuyucuk minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) olarak belirlenmiştir. Resazurin çözeltisi ile pipetlenen plaklar 35°C’de 3 saat boyunca tekrar inkübe edilerek daha net bir değerlendirme sağlanmıştır. Kloramfenikol standart antibakteriyel ajan olarak kullanılmıştır

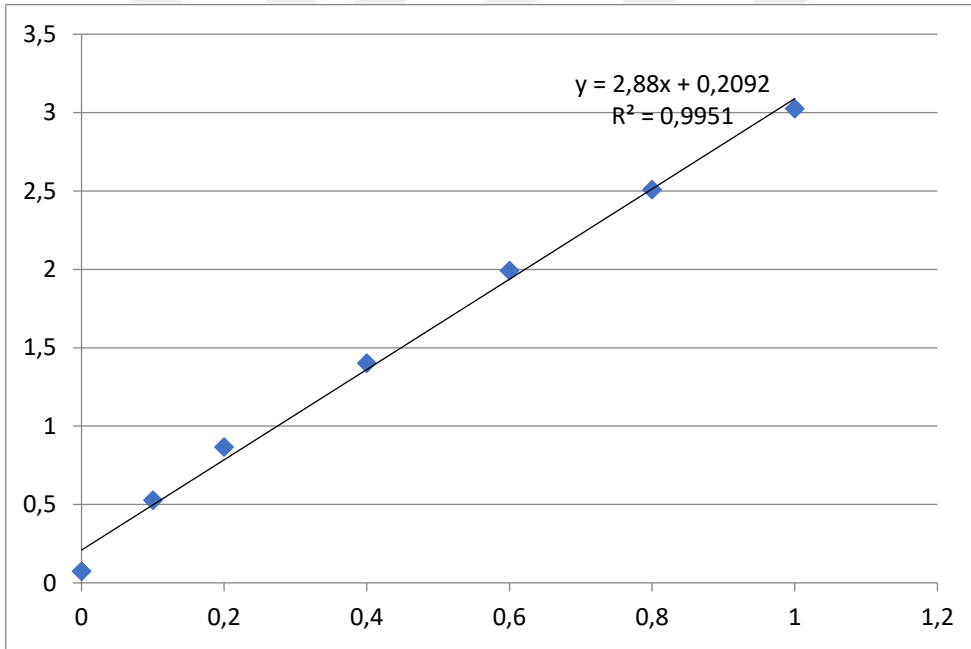


Görsel 3.10. 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plağının üzerindeki 1., 2., 3. ve 4. sarı renk ile işaretlenen satırları; çalıştığımız ekstreler üzerine *Serratia marcescens* NRRL B-2544 şusu tatbik edilmiş görüntüsü

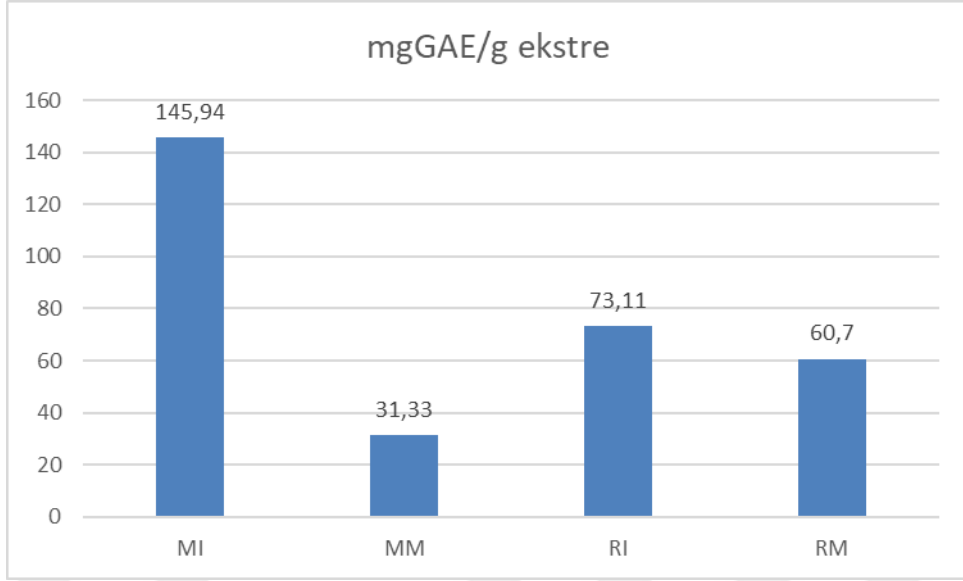
4. BULGULAR

4.1. *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* Bitkilerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Ekstraksiyon Verimleri

Gerçekleştirdiğimiz toplam fenolik madde miktar tayini deneyinin sonuçlarını değerlendirebilmek için elde edilen verilere dayanarak hesaplama ile standart gallik asitin kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bitkilere ait olan metanollü ve infüzyon ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları çizmiş olduğumuz standart eğri denklemine göre hesaplanmıştır. *Sideritis montana* subsp. *montana*'nın metanol ekstresinin verimi %20,38 olarak hesaplanmış olup *Sideritis montana* subsp. *remota*'nın metanol ekstresinin verimi ise %3.86 olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar aşağıda ayrıntılı şekilde gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Toplam Fenolik Madde miktarı hesaplamasında kullanılan Gallik asit Kalibrasyon denklemi



Şekil 4.2. Bitkilere ait olan metanollü ve infüzyon ekstraktların toplam fenolik madde içeriği

MI: *S. montana* subsp. *montana* infüzyon ekstresi

MM: *S. montana* subsp. *montana* metanol ekstresi

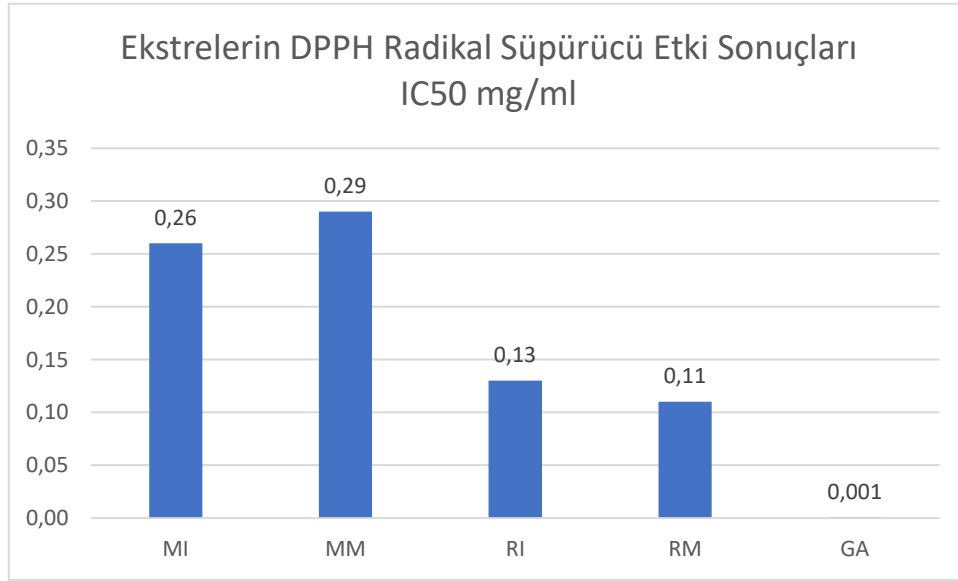
RI: *S. montana* subsp. *remota* infüzyon ekstresi

RM: *S. montana* subsp. *remota* metanol ekstresi

4.2. *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* Bitkilerinin Antioksidan Aktivitesi

Gerçekleştirilen antioksidan aktivite çalışmalarının değerlendirilmesi için sonuçlar DPPH[•] 'i %50 oranında inhibe eden konsantrasyon (IC₅₀) olarak hesaplanmıştır. Standart gallik asit için IC₅₀ değeri 0,001 mg/mL olarak bulunmuştur.

Ayrıntılı sonuçlar aşağıdaki grafikte gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Bitkilerin metanol ve infüzyon ekstralarının IC₅₀ mg/ml cinsinden sonuçları

MI: *S. montana* subsp. *montana* infüzyon ekstresi

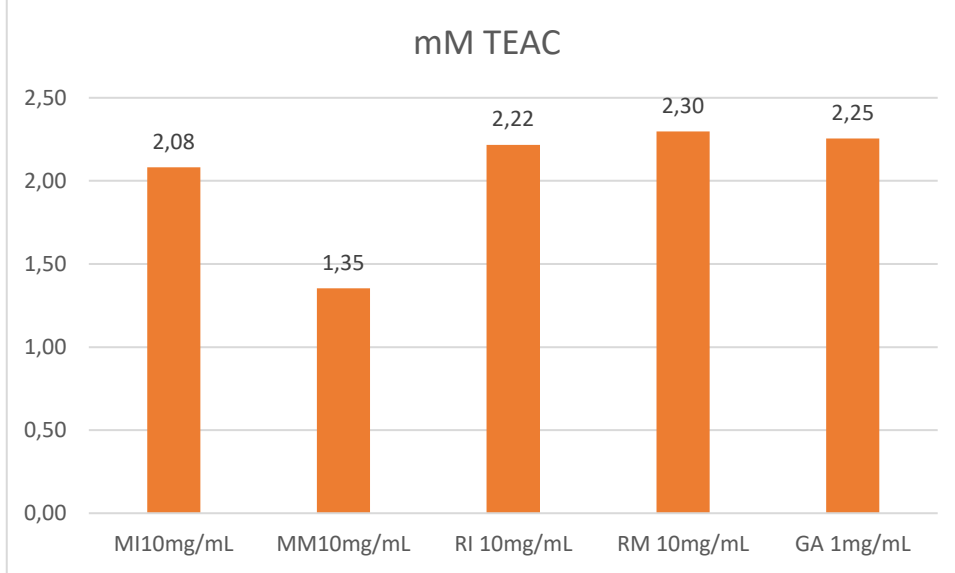
MM: *S. montana* subsp. *montana* metanol ekstresi

RI: *S. montana* subsp. *remota* infüzyon ekstresi

RM: *S. montana* subsp. *remota* metanol ekstresi

Bitkilere ait metanollü ve infüzyon ekstralarının Troloks' a Eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) miktarı, ABTS^{•+} radikalini inhibe eden Troloks'un kalibrasyon denklemi ile hesap edilmiştir. Deneyden önce hazırlanan ABTS^{•+} aktif reaktifi kullanılmıştır. Oluşan çözelti 16 saat oda sıcaklığında karanlık ortamda bekletilmiştir ve mavi-yeşil renkli aktif ABTS^{•+} radikalinin oluşması sağlanmıştır. Yapılan bu işlemle ABTS^{•+} radikali aktif hale getirilmiştir. Çalışma yapacağımız 96 kuyucuklu mikroparka kuyucuklarına; 10 µL numune ve 990 µL ABTS^{•+} radikali ile doldurulmuştur. Plaka

karanlık ortamda oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 734 nm dalgaboyunda ölçüm yapılmıştır. Gösterilen aktivite konstrasyon değişiklerine bağlı olarak farklılık göstermiştir. Ayrıntılı sonuçlar aşağıdaki grafikte gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Bitkilere ait olan metanollü ve infüzyon ekstrelerin radikale karşı Troloks'a eşdeğer olarak hesaplanan sonuçları

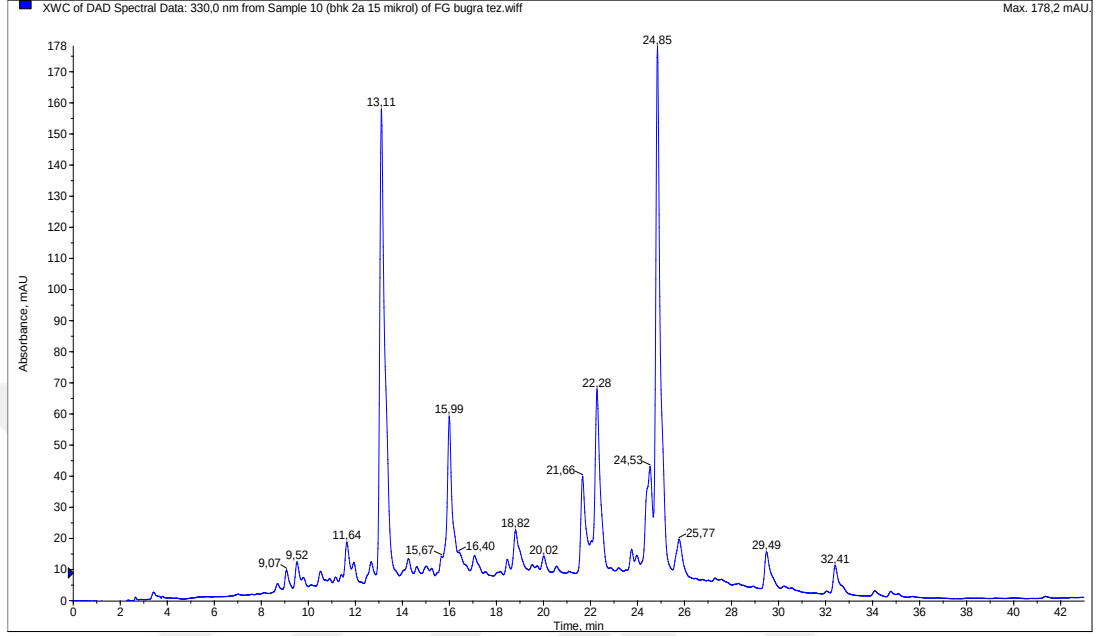
MI: *S. montana* subsp. *montana* infüzyon ekstresi

MM: *S. montana* subsp. *montana* metanol ekstresi

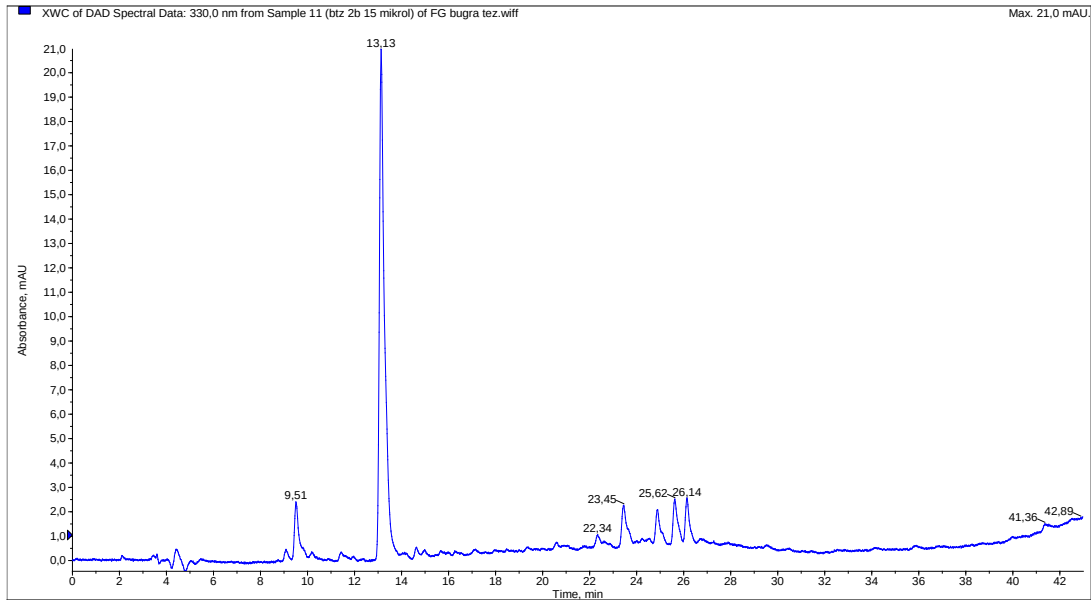
RI: *S. montana* subsp. *remota* infüzyon ekstresi

RM: *S. montana* subsp. *remota* metanol ekstresi

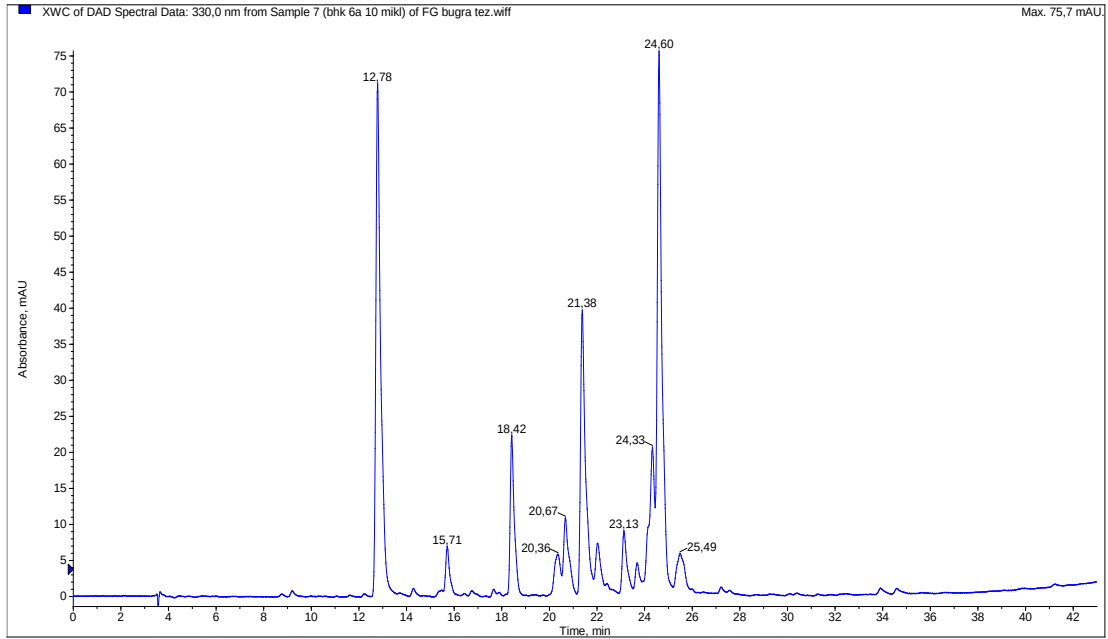
4.3. *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* Bitkilerinden Elde Edilen Ekstrelerin Fenolik İçeriğinin LC-MS/MS ile Belirlenmesi



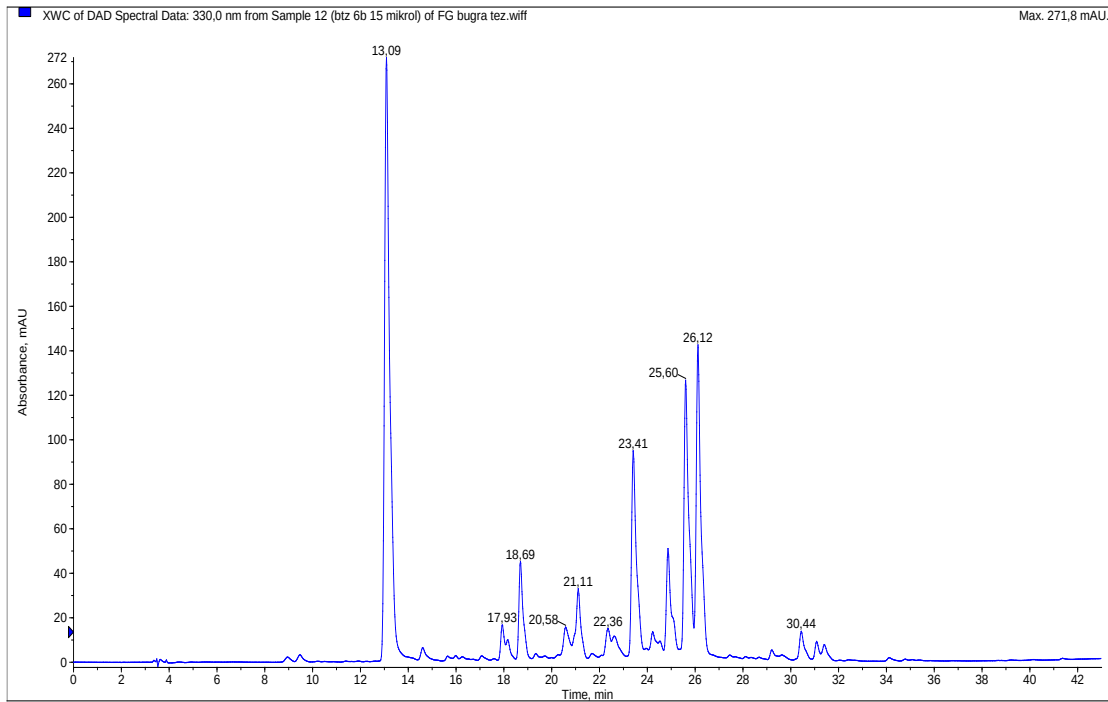
Şekil 4.5. *Sideritis montana* subsp. *montana* infüzyon ekstresi



Şekil 4.6. *Sideritis montana* subsp. *remota* infüzyon ekstresi



Şekil 4.7. *Sideritis montana* subsp. *montana* metanol ekstresi



Şekil 4.8. *Sideritis montana* subsp. *remota* metanol ekstresi

Çizelge 4.1. *Sideritis montana subsp. montana* ve *Sideritis montana subsp. remota* bitkilerinin infüzyon ve metanollü ekstrelerine ait LC-MS/MS analiz sonucu

	Rt	[M-H]-	Parçalanma	Tanımlama	Ekstre
1	8.0	363	201, 183, 165, 139	Harpagit	Mİ
2	8.8	345	183, 165	Akubin	Rİ
3	9.6	375	213, 169, 151, 107	Loganik asit	Mİ Rİ, RM,
4	10.4	153	109	Protokateşik asit	Mİ, RM
5	11.4	315	153, 109	Protokateşik asit heksozit	Mİ, RM
6	12.0	353	191,179	*Klorojenik asit	Mİ, MM Rİ, RM
7	16.2	417	357,255,211,151	*Dihidroksiisoflavanon - C-glukozit benzeri	MM, Mİ, RM
8	17.7	367	191, 179, 161, 135	Feruloilkinik asit	Mİ, RM, MM
9	18.1	785	623, 461, 161	Ekinakozit	RM, MM
10	18.3	755	593, 461 ,135	Lavandulifoliosit / Forsitozit B	RM
11	18.8	623	461,315,297,179,161	*Verbaskozit	MM, RM
12	19.8	357	342, 311, 151, 136	Bilinmeyen	RM
13	20.2	637	461, 315, 297, 193,175	Leukoptozit A	Mİ, RM
14	20.4	447	285,239,137	*İzoskutellarein /luteolin glukozit	Mİ, RM, MM
15	20.7	463	301, 271	Kersetin heksozit	RM, MM
16	21.5	447	285, 151, 133	İzoskutellarein /luteolin glukozit	Mİ, RM, MM
17	21.7	609	573, 447, 429, 285	İzoskutellarein 7-O-allozil (1-2)glukozit	Mİ, RM
18	22.4	623	299, 284	4'-O-Metillizoskutellarein-7-O-allosyl allozil(1→2)glukozit	Mİ, MM, Rİ, RM
19	23.2	667	625, 607, 463,445, 301	*Hipolaetin 7-O-[6'''-O-asetil]-allosil(1-2)glukozit	MM, RM, Mİ
20	24.3	461	446, 299, 283, 269, 255	Kirisoeriol heksozit	Mİ, RM, MM
21	24.7	665	623, 461, 443, 299, 284	*4'-O-Metillizoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozit	Mİ, Rİ, RM, MM
22	26.3	681	639, 621, 477, 459, 315, 300	*3'-O-Metilhipolaetin 7-O-[6''O-asetil]-allosil(1-2)glukozit	Rİ, MM, RM
23	26.9	651	609, 591, 429, 285	*İzoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]allosyl(1→2)glukozit	RM, MM
24	29.6	285	151, 133	İzoskutellarein /luteolin	Mİ, RM

25	32.2	269	117	Apigenin	Mİ
26	32.6	299	284, 255, 227, 151, 13	Krizoeriol	Mİ

MI: *S. montana* subsp. *montana* infüzyon ekstresi

MM: *S. montana* subsp. *montana* metanol ekstresi

RI: *S. montana* subsp. *remota* infüzyon ekstresi

RM: *S. montana* subsp. *remota* metanol ekstresi

*Koyu renkli bileşikler *Sideritis montana* subsp. *montana* ve *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkilerinin infüzyon ve metanollü ekstraktlarının LC-MS/MS analizi sonucuna göre tespit edilen ana bileşikleridir.

S. montana subsp. *montana* infüzyon ekstresi üzerinde gerçekleştirilen LC-MS/MS analizi sonucuna göre Klorojenik asit, Dihidroksiisoflavanon -C-glukozit benzeri madde, İzoskutellarein /luteolin glukozit, Hipolaetin 7-O-[6'''-O-asetil]-allosil(1-2)glukozit 4'-O-Metillizoskutellarein ve 7-O-[6'''-O-asetil]-allosil(1-2)glukozit maddeleri ekstrede ana madde olarak tespit edilmiştir.

S. montana subsp. *montana* metanol ekstresi üzerinde gerçekleştirilen LC-MS/MS analizi sonucuna göre Klorojenik asit, Dihidroksiisoflavanon -C-glukozit benzeri madde, İzoskutellarein /luteolin glukozit, Hipolaetin 7-O-[6'''-O-asetil]-allosil(1-2)glukozit, 4'-O-Metillizoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]-allosil(1-2)glukozit, 3'-O-Metilhipolaetin 7-O-[6'''-O-asetil]-allosil(1-2)glukozit ve İzoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]allosyl(1→2)glukozit maddeleri ekstrede ana madde olarak tespit edilmiştir.

S. montana subsp. *remota* infüzyon ekstresi üzerinde gerçekleştirilen LC-MS/MS analizi sonucuna göre Klorojenik asit, 4'-O-Metillizoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]-allosil(1-2)glukozit ve 3'-O-Metilhipolaetin 7-O-[6'''-O-asetil]-allosil(1-2)glukozit maddeleri ekstrede ana madde olarak tespit edilmiştir.

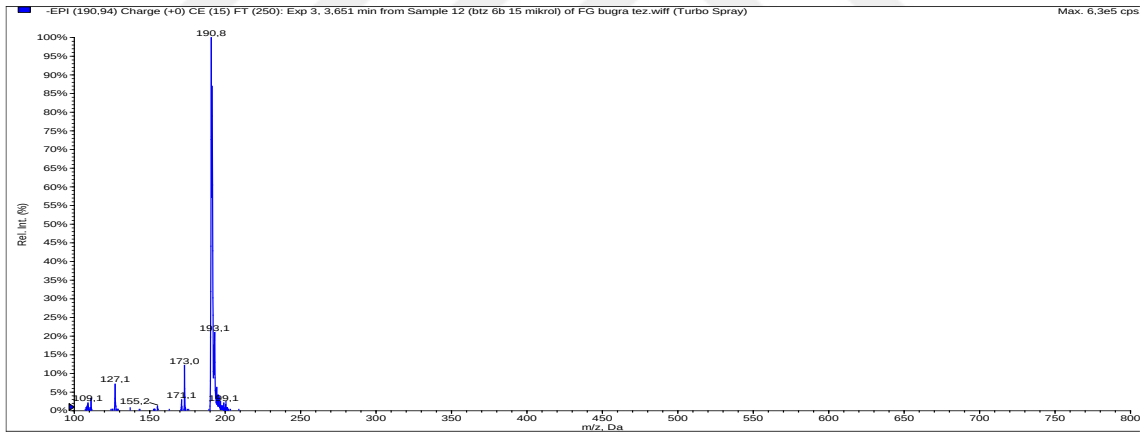
S. montana subsp. *remota* metanol ekstresi üzerinde gerçekleştirilen LC-MS/MS analizi sonucuna göre Klorojenik asit, Dihidroksiisoflavanon -C-glukozit benzeri madde, Verbaskozit, İzoskutellarein /luteolin glukozit, Hipolaetin 7-O-[6'''-O-asetil]-allosil(1-2)glukozit, 4'-O-Metillizoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]-allosil(1-2)glukozit, 3'-O-Metilhipolaetin 7-O-[6'''-O-asetil]-allosil(1-2)glukozit ve İzoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]allosyl(1→2)glukozit maddeleri ekstrede ana madde olarak tespit edilmiştir.

Elde edilen ekstreler üzerinde gerçekleştirilen analiz sonuçlarına göre ekstrelerde yüksek oranda sayılabilecek miktarda izoflavon yapısında madde bulunmuştur. Dihidroksiizoflavanon yapılı madde bir fitostrojendir. Bitkilerde aglikon veya glukozit halinde bulunur. Fitoöstrojenlerin etkilerini değişik yollarla gösterebilir. Fitoöstrojenlerin hastalıktan korunma ve hastalıkların tedavi edicilikleri üzerine gerçekleştirilen çeşitli çalışmalar vardır. Fitoöstrojenlerin kanser türlerine karşı koruyucu etkili olabileceği yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir. Ayrıca fitoöstrojenlerin menopozda, kemik erimesi, kalp ve damar hastalıklarında, şeker hastalığında ve fitoöstrojen maddeler içeren soyalı ürünlerin tüketimiyle kemik dansisitesinin arttığı literatür çalışmalarında tespit edilmiştir

İzoflavon taşıyan soya protein preparatları üzerinde yapılan bir çalışmada kullanım dozunun belirli seviyede tutulmasıyla halk arasında kötü kolesterol olarak bilinen LDL' yi ve total kolesterol seviyelerinde azalma görülmüştür. (Alan, 2009) Fitostrojen bir madde olan Daidzein maddesi üzerinden yürütülen bir başka çalışmada ise fareler kullanılarak daidzeinin arilhidrokarbon reseptörün işleyişini azaltarak kimyasal karsinojen olan 7,12-dimetilbenz(a)antraseni karsinojenik metabolitlerine oksitleyen karaciğer sitokrom P450 enzimlerinin katalitik aktivitesini doza bağımlı olarak azalttığı gösterilmektedir. Yapılan bu çalışmanın sonucunda daidzeinin kanserde kimyasal koruyucu işleviyle kullanılabileceği gözlemlenilmiştir (Alan, 2009) Tümör hücresinin gelişimini ve farklılaşması üzerinde etkili olan apoptozis olayı üzerinde yapılan bir çalışmada, fitoöstrojen olan daidzein meme kanseri hücreleri olan MCF-7 ve MDA-MB-453 hücrelerine 100 μ M dozunda ve 72 saat süresince uygulanmıştır ve daidzeinin apoptozisin öncüsü olan kaspaz -9 aktivitesini arttırdığı gözlemlenilmiştir.

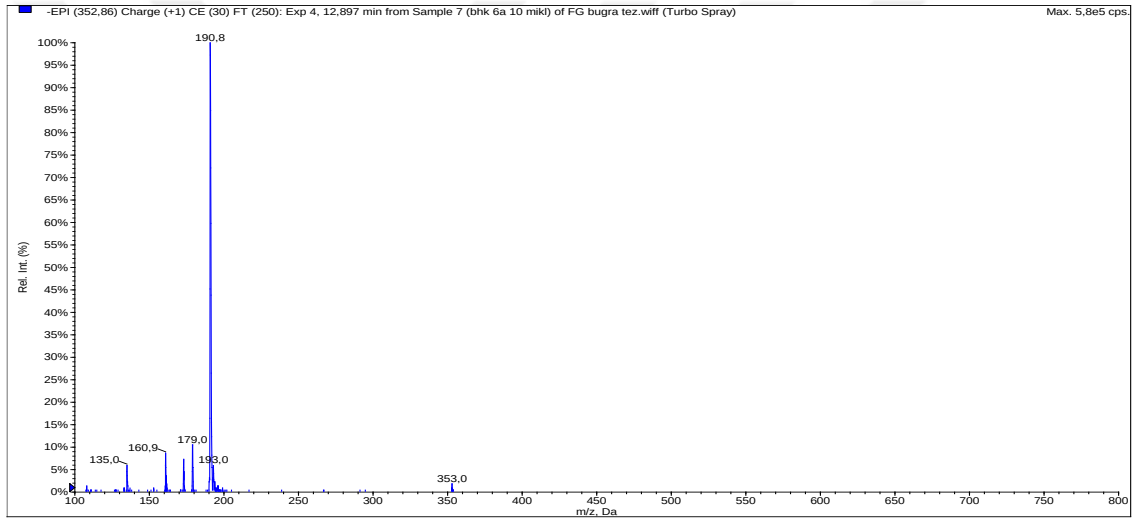
Hidroksi sinnamik asit türevi bileşikler;

Hidroksi sinnamik asitlerde kinik asit esterleşmesi sıklıkla görülür. Kinik asit gösterdiği m/z 191 moleküler iyon piki ve sonrasında bir molekül su çıkışıyla oluşan m/z 173 iyonunu oluşturur. Tespit edilen molekülün konjuge çifte bağların yokluğu ile UV absorbansının oluşmaması sebebiyle karakterize kütle spektrumu parçalanmaları gösterir. Molekül yüksek polaritesi sebebiyle apolar özellikteki kolonu ilk terk eden maddeler arasında bulunur. Yüksek polaritideki molekül kolonu 3.5 dakikda sonunda terk etmiştir. Molekülün gerçekleştirdiği benzer parçalanmaları sitrik asit de geçirir. Fakat burada kinik asit tanımlaması yapmamıza sebep olan ekstre içinde ana madde olarak rastladığımız 6 numaralı madde olarak tanımlanan 5-Kafeoil kinik asit varlığı olmuştur. Sitrik asit ve kinik asit ayrımlarında her ne kadar benzer kütle spektrumu parçalanmaları gösterse de sitrik asit gösterdiği m/z 173 iyonunun şiddeti daha yüksektir. Ayrıca sitrik asitte kinik asitte gözlemlenen moleküler iyon pikinden 2 molekül su ve 1 molekül CO kaybıyla oluşan m/z 127 iyonu görülmez (Ng vd., 2004, Sanes 2019).



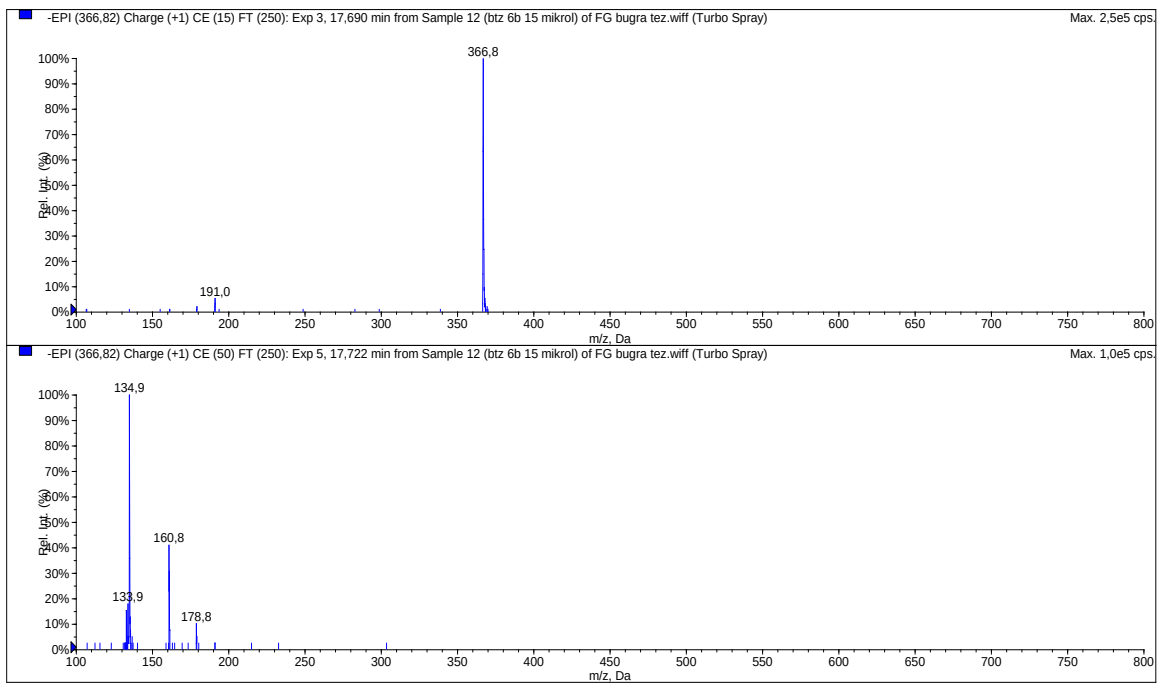
Şekil 4.9. Kinik asit

Molekülde gözlemlenen moleküler iyon piki m/z 353 $[M-H]^-$ ile temel pik m/z 191 $[M-H]^-$ arasında görülen 162 amu'luk fark kafeik asit kopmasından kaynaklandığı anlaşılmıştır. Gösterdiği bu parçalanmalar kafeoilkinik asit olarak tanımlanan bu molekülün kafeik asit ve kinik asit esterleşmesinin 1, 3 veya 5 pozisyonuna bağlandığını göstermektedir. Clifford ve arkadaşlarının yaptığı tayin anahtarına göre m/z 179 iyonunun bağıl şiddetinin düşüktür. Bunun sebebinin bağlanma pozisyonunun 5 numaralı C üzerinde gerçekleşmesidir. Bu veriler değerlendirildiğinde molekül 5-Kafeoilkinik asit olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.10) ve yapılan kaynak taramaları sonucunda ulaşılan veriler parçalanmalar ile uyum göstermiştir (Clifford vd., 2003)



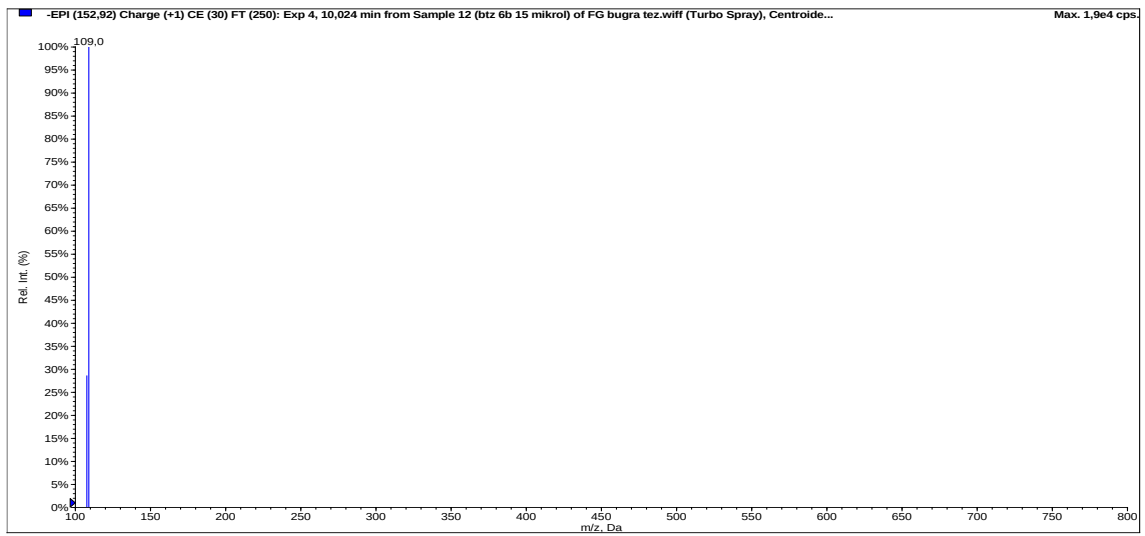
Şekil 4.10. 5-Kafeoil kinik asit

8 numaralı madde m/z 367 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikinin yanında m/z 191 (kinik asit) temel pikini göstermektedir. Moleküler iyon piki ve temel pik arasındaki -176 amuluk fark ferulik asit kopmasından kaynaklanmaktadır. Clifford ile arkadaşları tayin anahtarında bu molekülü Feruloilkinik asit olarak tanımlamışlardır. Temel pikin 191 olması sebebiyle kinik asit ve ferulik asit esterleşmesinin 5 numaralı karbon üzerinden olduğu düşünülmektedir (Clifford vd., 2003). Bu haliyle molekül 5-Feruloilkinik asit olarak tanımlanmıştır (şekil 4.11) .

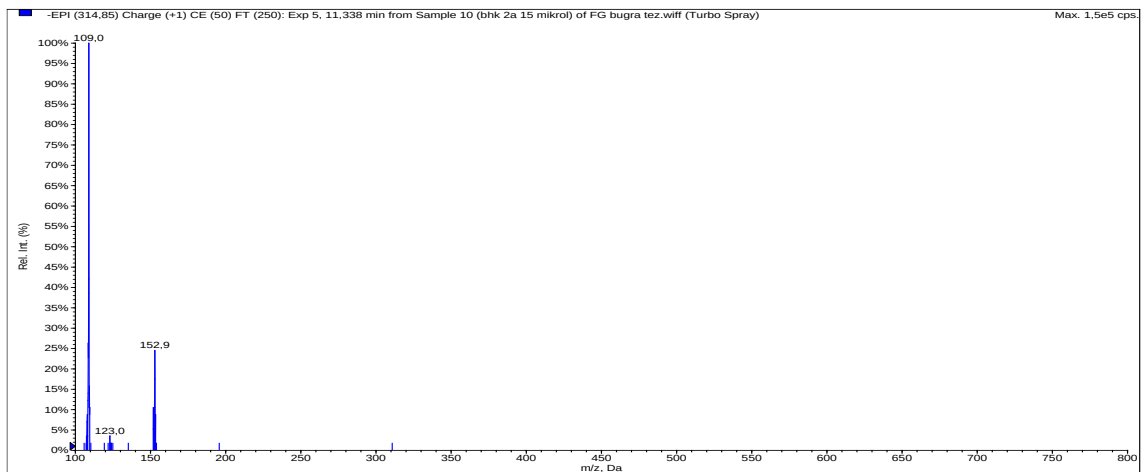


Şekil 4.11. Feruloilkinik asit

4 numaralı madde, m/z 153 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikini göstermiş olup ve 1 molekül CO_2 çıkışıyla (-44 amu) m/z 109 iyonu ortaya çıkmıştır. Literatür taramalarında bu parçalanmalar dihidroksi benzoik asitle olan protokateşik asitle örtüşmektedir (Liu vd., 2007). Protokateşik asite *Sideritis* cinsi bitkilerinde rastlanmıştır (İraklı vd., 2018) (Sarıkurkcu vd., 2020). 4 numaralı maddenin 162 amu fazlası 5 numaralı madde olarak tanımlanmıştır. 5 numaralı madde yapılan literatür çalışmaları sonucunda elde edilen verilerle de örtüştüğü için protokateşik asit glukozit olarak adlandırılmıştır (Şekil 4. 13) (Ghareeb vd.,2023).



Şekil 4.12. Protokateşik asit

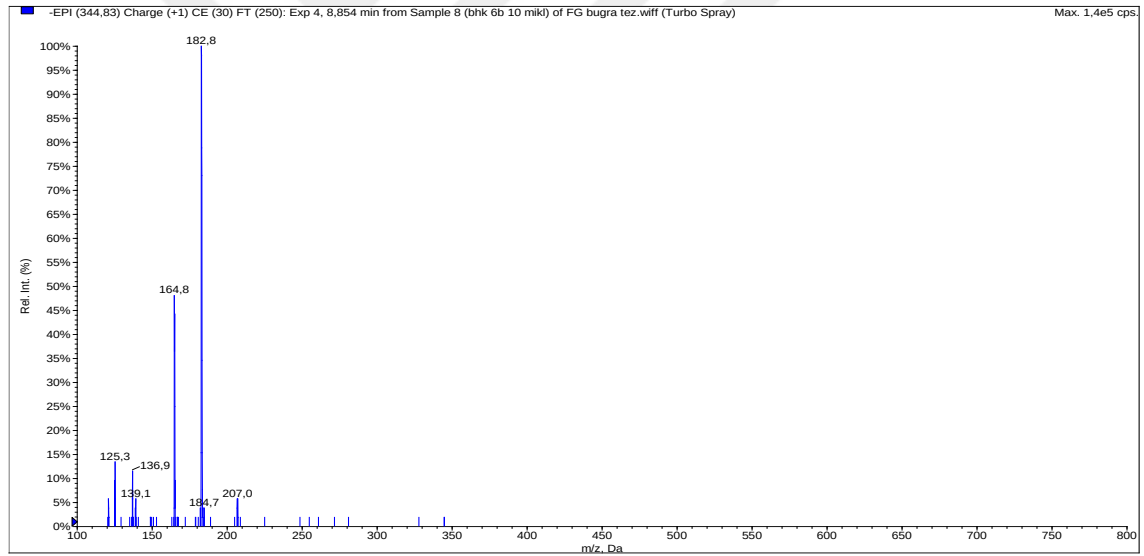


Şekil 4.13. Protokateşik asit heksoziti

İridoit türevi bileşikler;

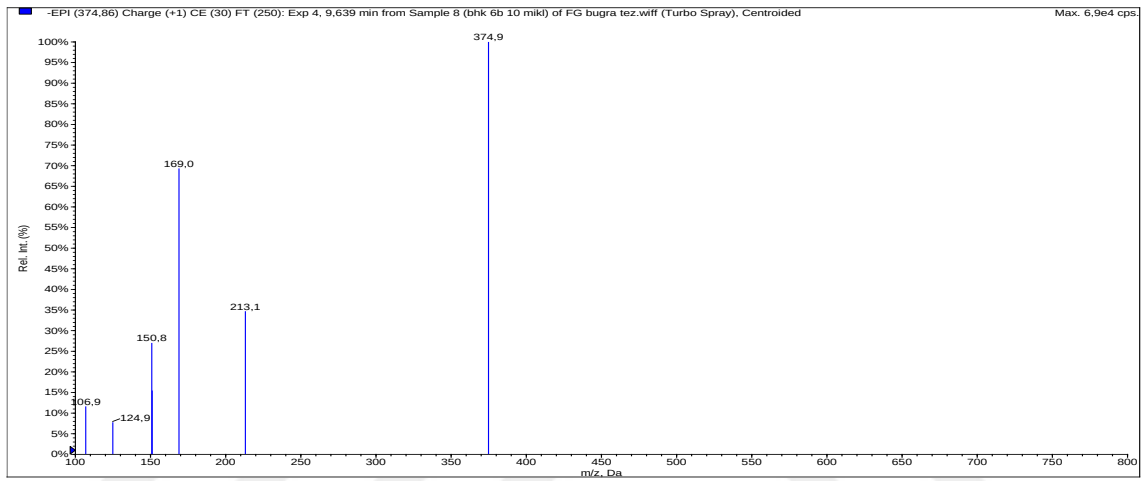
2 ve 3 numaralı maddeler iridoit grubu olması muhtemel iki madde olarak düşünülmüştür.

2 ile numaralandırılmış olan madde kolonu 8.8 dakikada terk etmiş ve m/z 345[M-H] moleküler iyon piki göstermiştir. Glukoz kopması molekülde [M-H-162] m/z 183 iyonunu göstermiştir. Ardından bir molekül su çıkışıyla madde m/z 165 [M-H-162-18] iyonunu göstermiştir. Kütle spektrumu akubin maddesine uymaktadır (Rehecho vd., 2011). *Sideritis* cinsi bitkileri üzerinde daha önce gerçekleştirilen çalışmalarda akubin maddesine rastlanılmıştır. Bu sebeplerden ve molekülün gösterdiği parçalanmalardan 2 numaralı madde akubin (Şekil 4.14) olarak tanımlanmıştır. (Venditti vd., 2016) (Kırmızıbekmez vd., 2021).



Şekil 4.14. Akubin

3 ile numaralandırılmış olan bileşik, m/z 375 [M-H]⁻ moleküler iyon piki göstermiş olup kolonu 9.6 dakikada terk etmiştir. Madde m/z 213 iyonunu -162 amu'luk glukoz kopması ile m/z 169 iyonu ise 44 amu'luk CO₂ çıkışı ile oluşturmuştur. Loganik asite daha önce *Sideritis* cinsine ait bitkilerde rastlanılmıştır Bu kopmalar sebebiyle 3 numaralı madde loganik asit (Şekil 4.15) olarak tanımlanmıştır ve kütle spektrumu literatür verileri ile uyumludur (Ling vd., 2014, Wang vd., 2014, Sun vd., 2018, Chrysargyris vd., 2019, Hanoğlu vd., 2020)

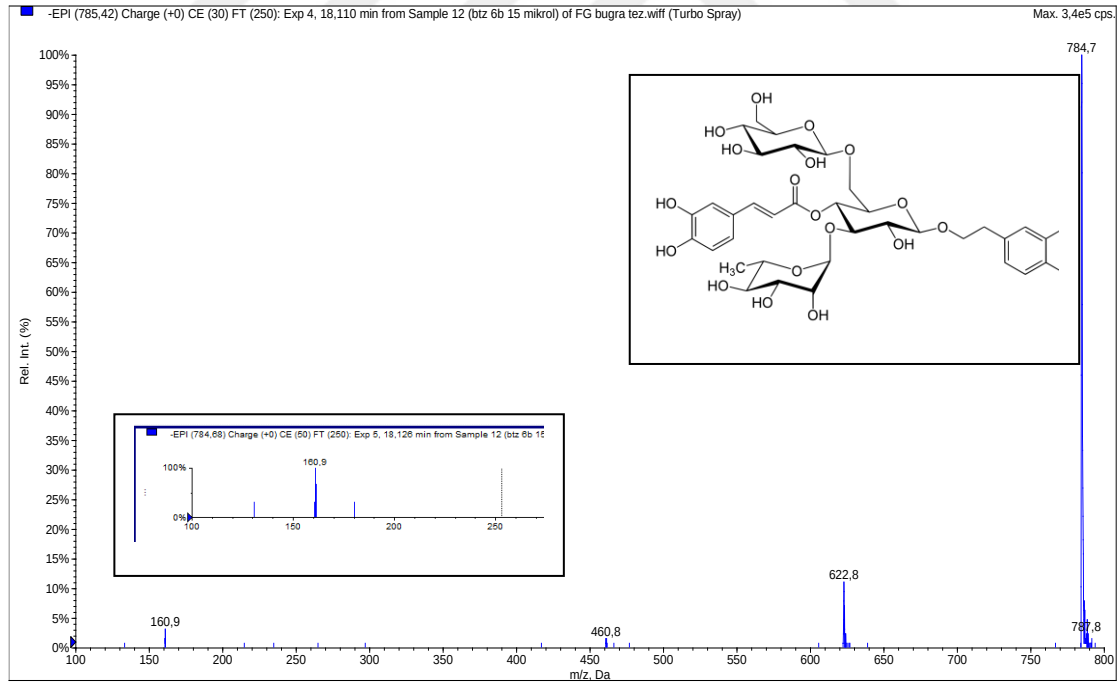


Şekil 4.15. Loganik asit benzeri

Feniletanoit türevi bileşikler;

Ekstrelerde 18. dakika ve 20. dakika arasında feniletanoit türevi maddelere rastlanmıştır.

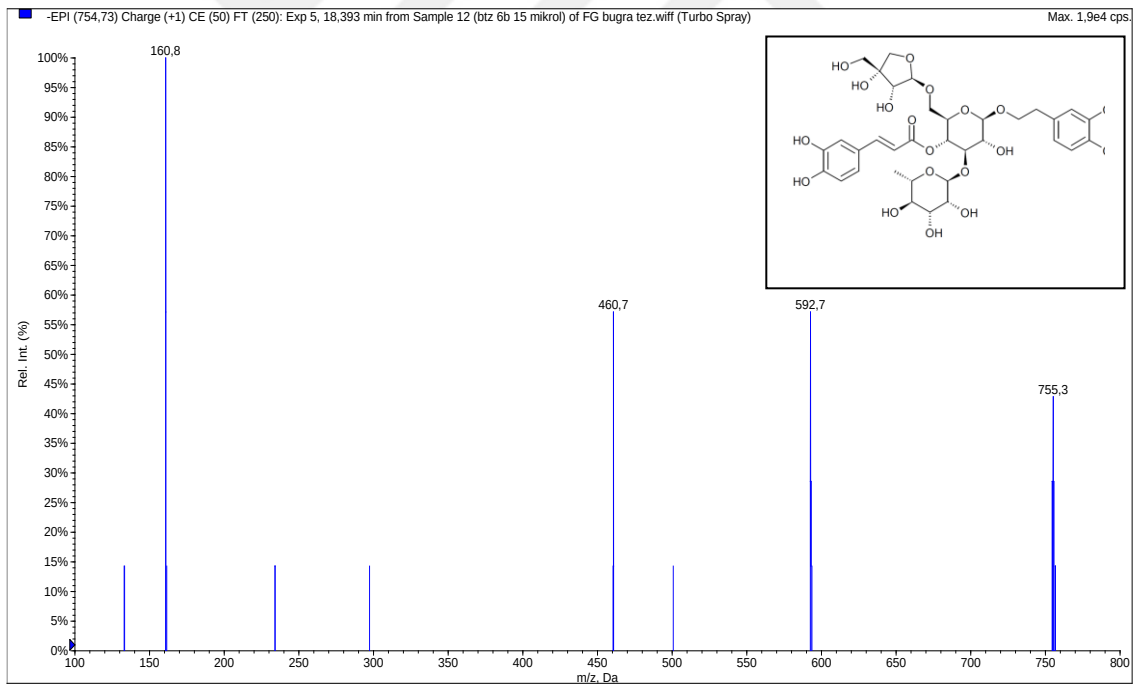
18. dakikada m/z 785 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki ile gösteren 9 numaralı madde, -162 amu'luk heksoz (veya kafeoil) kaybı nedeniyle m/z 623 temel pikini göstermiştir. Madde -146 amu'luk ramnoz (deoksiheksoz) kaybıyla eser miktarda kendini belli eden m/z 639 iyonu spektrumda görülmektedir. Temel pikte meydana gelen -162 amu luk benzer bir kopma ile m/z 461'de iyonu oluşmuştur. Maddenin gösterdiği m/z 179 ve m/z 161 iyonları eser miktarda görülmektedir. Bu durum yapıda sinamik asit türevlerinin varlığını göstermektedir. Ekinakozit yapısında iki glukoz ve bir ramnoz taşıyan feniletanoit bir glikozittir. Yapılan literatür çalışmaları sonucunda da elde edilen verilerle uyum göstermesi sebebiyle 9 numaralı madde ekinakozit (şekil 4.16) olarak tanımlanmıştır. (Petreska vd., 2011)



Şekil 4.16. Ekinakozit

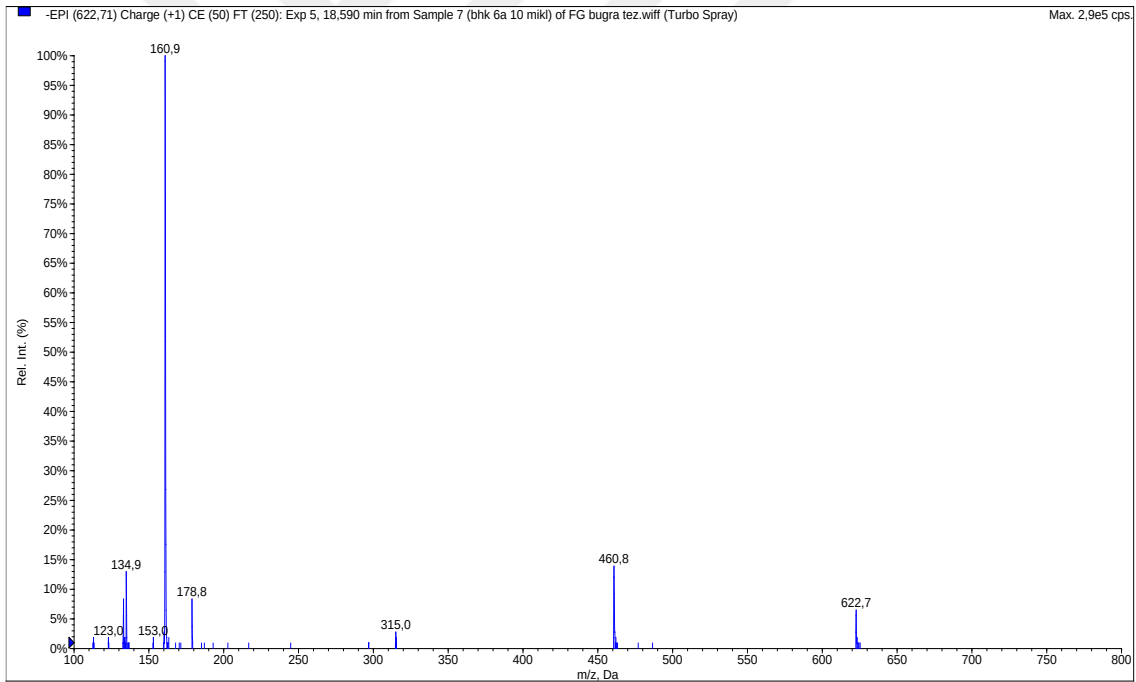
10 numaralı madde kolonu 18.3 dakikada terk etmiş olup m/z 755 [M-H] moleküler iyon pikini göstermiştir. Madde bir -162 kafeoil kaybı nedeniyle m/z 593 iyonunu -132 amu bir pentoz kaybı ile de m/z 461 iyonunu göstermiştir. Ayrıca m/z 161 ve 135 iyonları da kafeik asitle ilgili iyonlar olarak gözlemlenmiştir. Bu parçalanmalar bu molekülün kafeoil feniletanoit glikozit olduğunu işaret etmektedir. Yapılan literatür çalışmalarında Lavandulifoliosit (şekil 4.17) maddesi *Sideritis* cinsi bitkilerde daha önce tanımlanmış olduğu gözlemlenmiş olup ve kütle spektrumu parçalanma karakteristiklerinin madde ile uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. (Petreska vd., 2011).

Bu maddenin Forsitozit B olma ihtimalide göz ardı edilmemelidir (Kırmızıbekmez vd., 2005), (Mitreski vd., 2014). Forsitozit B ve Lavandulifoliosit aynı molekül ağırlıklı ve aynı kütle spektrumu parçalanmaları gösteren bir feniletanoit glikozitleridir. Bu nedenle ayrımları kütle spektrumu karşılaştırarak mümkün olmamaktadır.



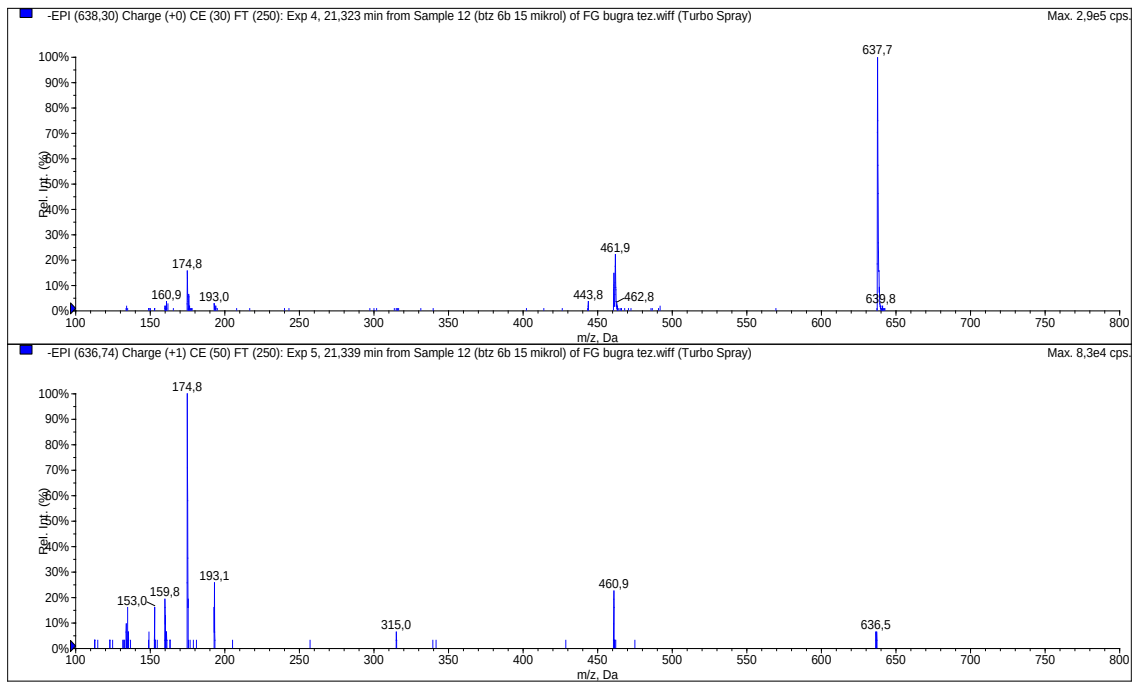
Şekil 4.17. Lavandulifoliosit veya Forsitozit B

11 numaralı madde, m/z 623 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki göstermiş olup -162 amu kayıpla m/z 461 iyonunu oluşturmuştur. Bu parçalanma sebebiyle maddenin yapısında en az bir tane kafeik asit veya glukoz bağlı olduğu anlaşılmıştır. Maddenin gösterdiği m/z 315 iyonu ise yapıdan bir ramnoz çıkışına (-146 amu) işaret etmektedir. Maddenin gösterdiği m/z 179, m/z 161 ve m/z 135 iyonları karakteristik kafeik asit parçalanmalarıdır. Maddenin gösterdiği parçalanmalar molekülün bir glukoz, bir ramnoz ve bir kafeik asit taşıdığını gösterir. 11 numaralı madde 10 numaralı maddeden 132 amu (apioz) eksik molekül ağırlığına sahip olduğu da dikkate alındığında, 11 numaralı madde verbaskozit olarak tanımlanmıştır (şekil 4. 18). Yapılan literatür çalışmalarında Verbaskozit maddesinin daha önce *Sideritis* cinsi bitkilerinde tespit edildiği gözlemlenmiştir. (Koleva vd., 2003), (Petreska vd., 2011)



Şekil 4.18. Verbaskozit metanol

13 numaralı madde Leukoptozit A olarak tanımlanmıştır. Molekül, m/z 637 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip olup -176 amu kayıpla (Feruloil) m/z 461 iyonunu oluşturmuştur. Feruloil kopması kendisini spektrumda m/z 175 iyonu ile de belli etmektedir. Molekül yapısından -132 amu'luk bir ramnoz kaybı kendini m/z 315 iyonu ile göstermektedir. Leukoptozit A (şekil 4. 19) maddesi daha önce *Sideritis* cinsi bitkilerde tanımlanmıştır. (Petreska, vd., 2011)



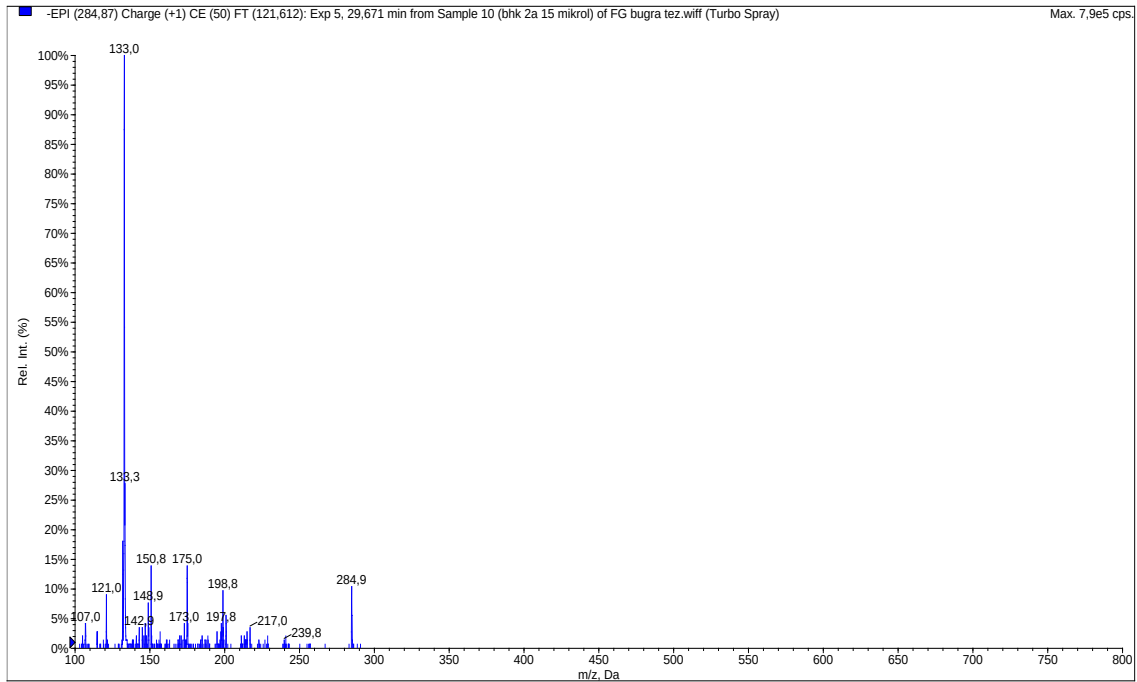
Şekil 4.19. Leukoptozit A

Flavonoit Glikozit türevi bileşikler;

Flavonoit glikozitlerden 6 tanesi Luteolin veya izoskutellarein ile irtibatlı bulunmuştur. Her iki flavonoit de *Sideritis* cinsi bitkilerde yaygın olarak gözlemlenmiştir (Ulubelen, Topcu et al. 2005). Luteolin ve izoskutellarein ayrımı teorik olarak MS/MS ile mümkündür. Luteolinde C halkası üzerinde gerçekleşen parçalanmalar ile sırasıyla m/z 133 ve m/z 151 iyonları görülür. Aynı parçalanmalar izoskutellareinde m/z 117 ve m/z 167 olarak görülür. Bu maddelerin glikozitlerinde ise net bir ayrım yapılması güçtür (Petreska vd., 2011).

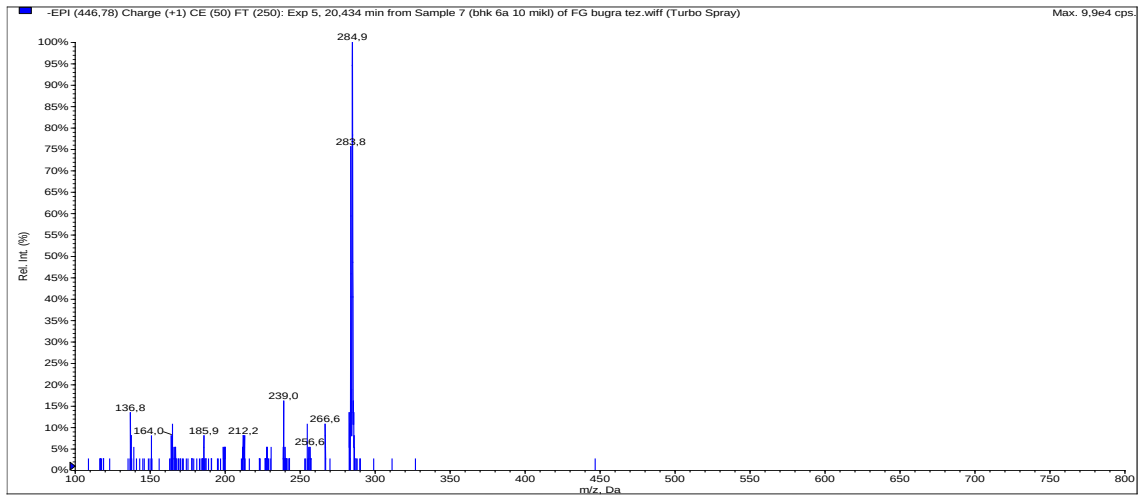
Sideritis montana subsp. *montana* ve *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkileri *Sideritis* cinsinin Hesiodia seksiyonunda bulunmaktadır (Davis, 1984). Bu seksiyonda ağırlıklı olarak luteolin ve apigenin türevlerine rastlanmaktadır (Tomás-Barberán vd., 1988). *Sideritis*lerin bir diğer seksiyonu olan Empedoclea seksiyonunda ise ağırlıklı olarak İzoskutellarein ve türevlerine rastlanılmaktadır (Venditti vd., 2013). Luteolin ve İzoskutellarein türevlerinin her ikisine birlikte ise ülkemizden (Dedeoğlu, 2017) ve İtalya'dan (Venditti vd., 2016) toplanan *Sideritis montana* L. bitki örneklerinde rastlanmıştır. Bu durum *Sideritis montana* L. Empedoclea seksiyonu ile de kimyasal olarak yakın ilişkide olduğunu doğrular niteliktedir (Toth vd., 2017). Bu durumun cins içinde yüksek orandaki hibridizasyondan kaynaklandığı belirtilmektedir (Venditti vd., 2016).

Madde 14, 16, 17, 18, 21, 23, 24 izoskutellarein veya luteolin türevi maddeler olarak tanımlanmıştır. 24 numaralı madde, m/z 285 [M-H]⁻ moleküler iyon piki ve m/z 175, m/z 151 ve m/z 133 parçalanmaları göstermiştir. Bu madde luteolin olarak tanımlanmıştır ve daha önce *Sideritis*lerde rastlanmıştır (Venditti vd., 2016). Kütle spektrumu parçalanmaları luteolinle (şekil 4. 20) uyumludur (Mitreski vd., 2014).

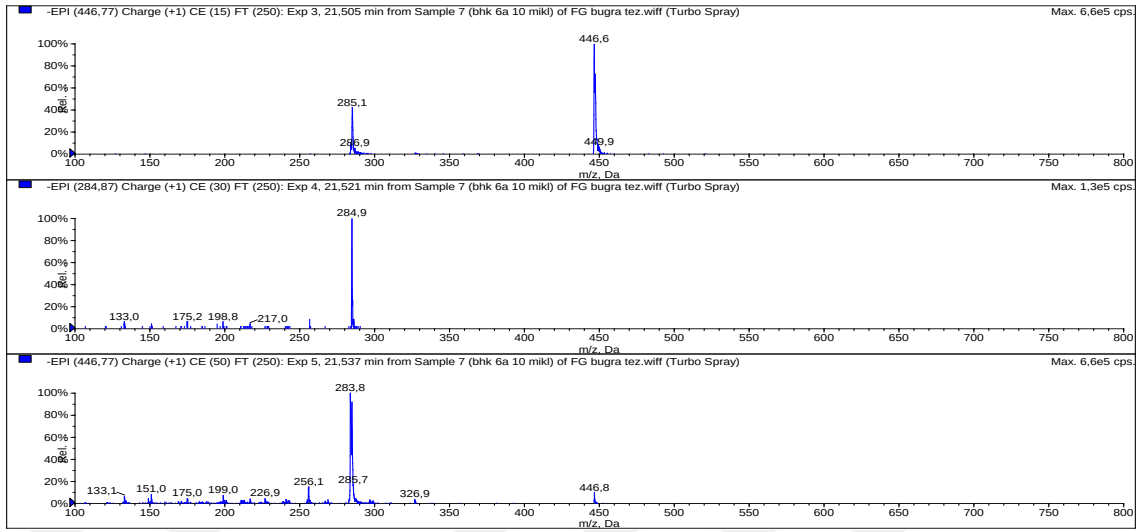


Şekil 4.20. Luteolin / Kamferol

14 ve 16 numaralı maddeler luteolin maddesinin gösterdiği iyon pikinden 162 amu (heksoz) daha fazla bir iyon olan m/z 447 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikini gösterir. Maddelerin sonrasında -162 amu kayıpla m/z 285 temel pikini göstermiştir. Gözlemlenen bu parçalanmalar sonucunda molekül luteolin glukozit (şekil 4. 21) olarak tanımlanmıştır. Kütle spektrumu luteolin glukozit ile uyumludur (Mitreski vd., 2014). Luteolin glukozit daha önce *Sideritis montana* L. üzerinde yapılan çalışmalarda da izole edilerek tanımlanan maddeler arasında yer almıştır (Dedeoğlu, 2017; Bilgin vd., 2018).

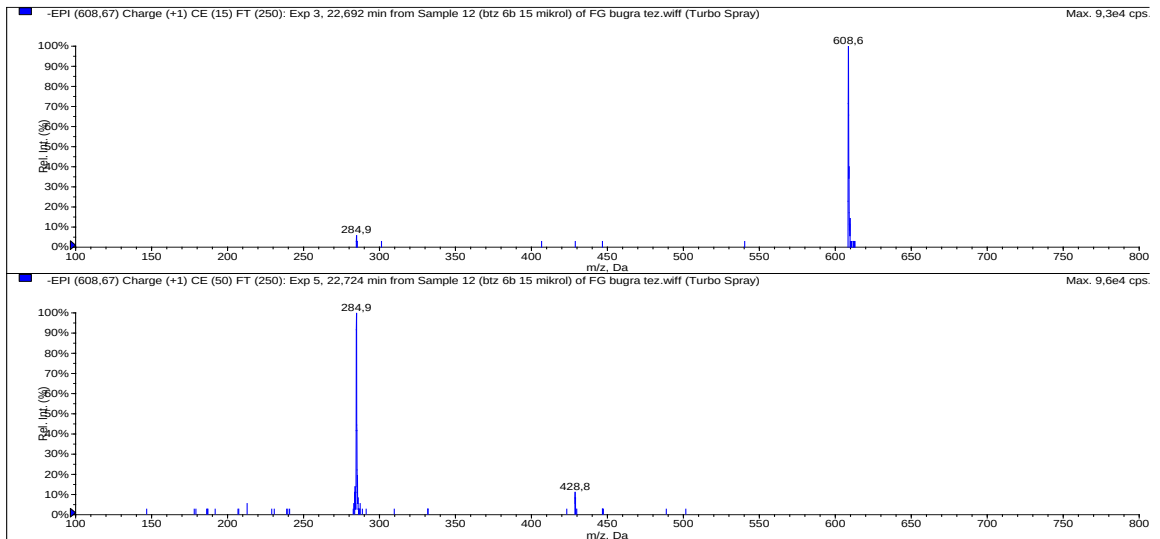


Şekil 4.21. Luteolin heksozit



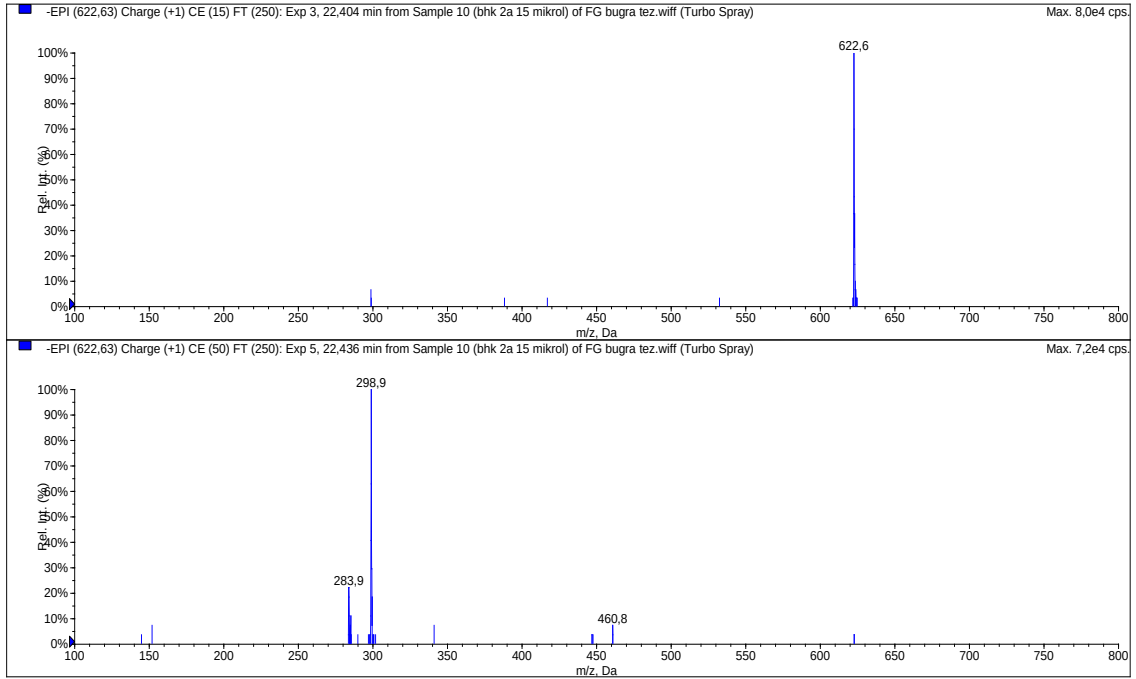
Şekil 4.22. Luteolin heksozit Metanol Su

Daha önce *Sideritis* cinsi bitkilerinde yapılan çalışmalarda elde edilen spektrum verileri ile elde ettiğimiz verilerin örtüşmesi (Petreska vd., 2011) sebebiyle ve daha önce yapılan çalışmalarda *Sideritis montana* L.' de izoskutellarein türevi maddeler tanımlandığı için (Venditti vd., 2016; Dedeoğlu, 2017) 17 numaralı madde İzoskutellarein 7-O-allozil (1-2)glukozit olarak tanımlanmıştır. (Şekil 4.23; Petreska vd., 2011).



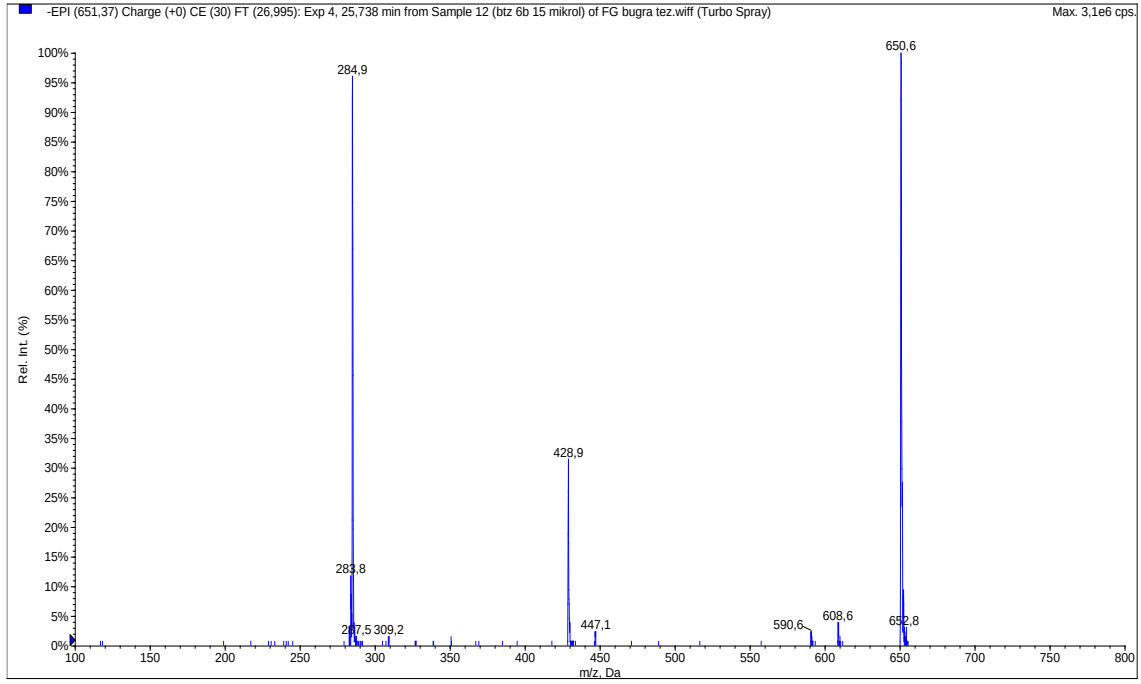
Şekil 4.23. İzoskutellarein 7-O-allozil (1-2)glukozi

Madde 21, 4'-O-Metillizoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozit, (Şekil 4.24) olarak tanımlanmıştır. Bu madde daha önce *Sideritis* cinsi bitkilerinde tanımlanmış olup ve maddenin gözlemlenen kütle spektrumu ile literatür çalışması sonucunda elde ettiğimiz kütle spektrumu verileri birebir örtüşmüştür (Petreska vd., 2011).



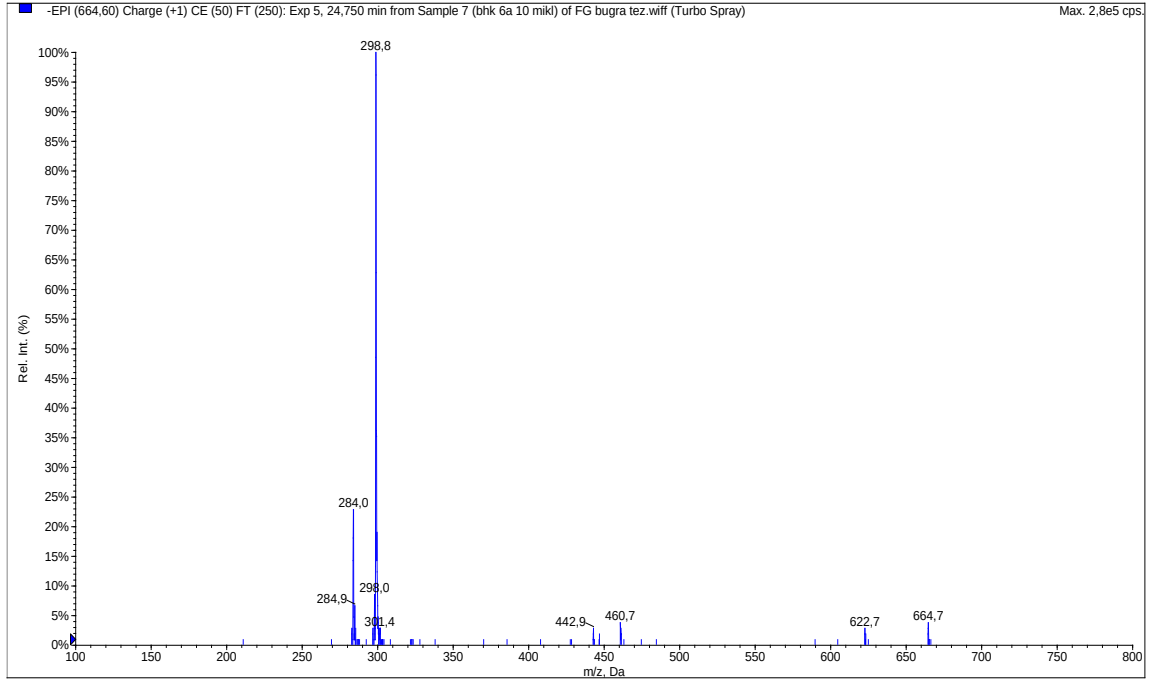
Şekil 4.24. 4'-O-Metillizoskutellarein 7-O-allozil(1-2)glukozit Su,metanol

Madde 23 ise, izoskutellarein-*O*-[6'''-*O*-asetil]-allozil(1-2)glukozit (şekil 4. 25) olarak tanımlanmıştır(Petreska vd., 2011). Bu madde daha önce *Sideritis* cinsi bitkilerinde tanımlanmış olup maddenin kütle spektrumu bu madde ile birebir örtüşmektedir.



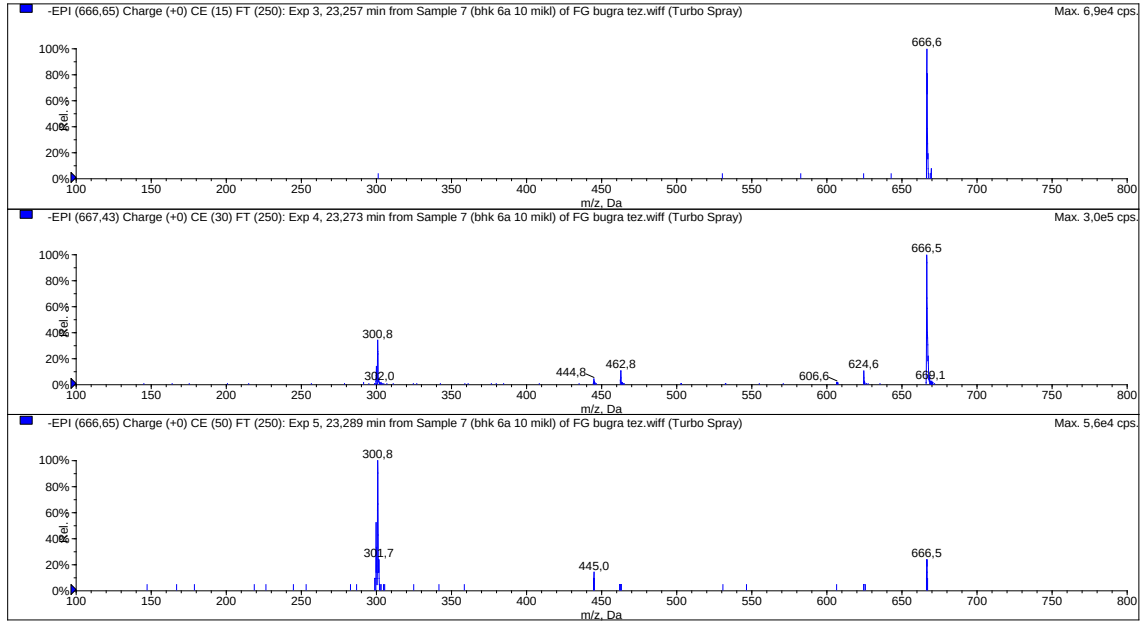
Şekil 4.25. İzoskutellarein 7-*O*-[6'''-*O*-asetil]-allozil(1-2)glukozit

4'-O-Metilizoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozit maddesi daha önceden *Sideritis montana* L.' den izole edilmiş ve yapısı aydınlatılmış bir maddedir (Dedeoğlu,2017). Çalışmamızda elde ettiğimiz kütle spektrumu verileri (şekil. 4.26) ile daha önce *Sideritis* cinsi bitkilerde tanımlanan bu maddenin kütle spektrumu verileri bire bir benzerlik göstermiştir (Petreska vd., 2011).

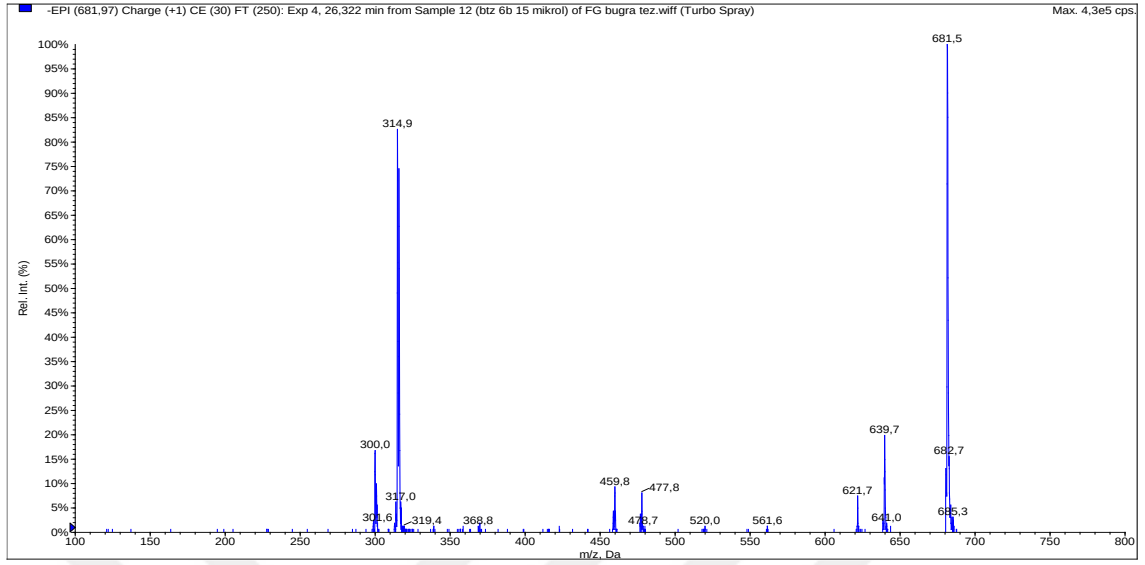


Şekil 4.26. 4'-O- Metilizoskutellarein 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozit

19 ve 22 numaralı maddeler de sırasıyla Hipolaetin 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozit (şekil 4. 27) ve 3'-O-Metilhipoletin 7-O-[6''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozit (şekil 4. 28) olarak tanımlanmıştır bu maddeler daha önce *Sideritis* cinsi bitkilerinde tanımlanmış olup kütle spektrumları bitkilerde tanımlanan bu bileşiklerle birebir örtüşmektedir (Petreska vd., 2011).

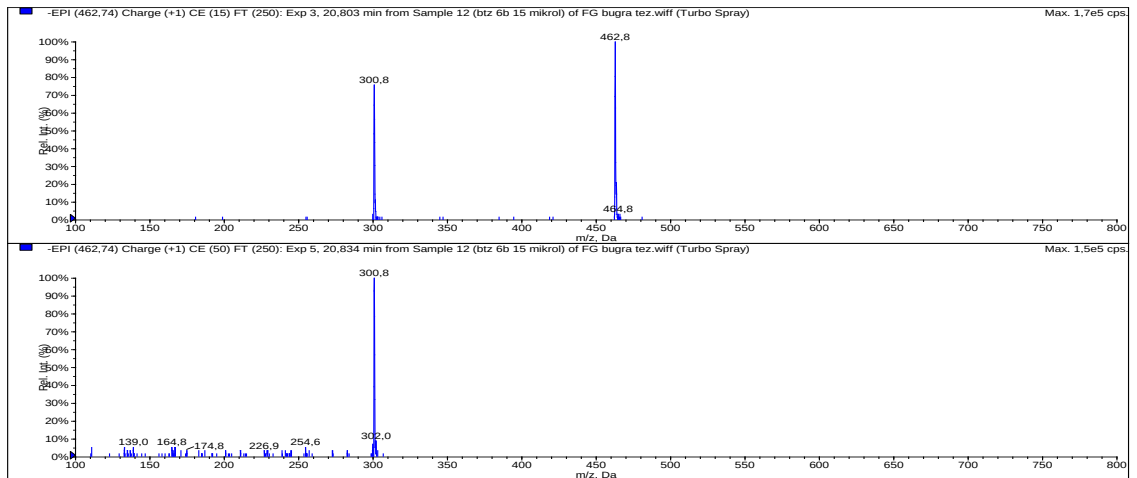


Şekil 4.27. Hipolaetin 7-O-[6'''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozil



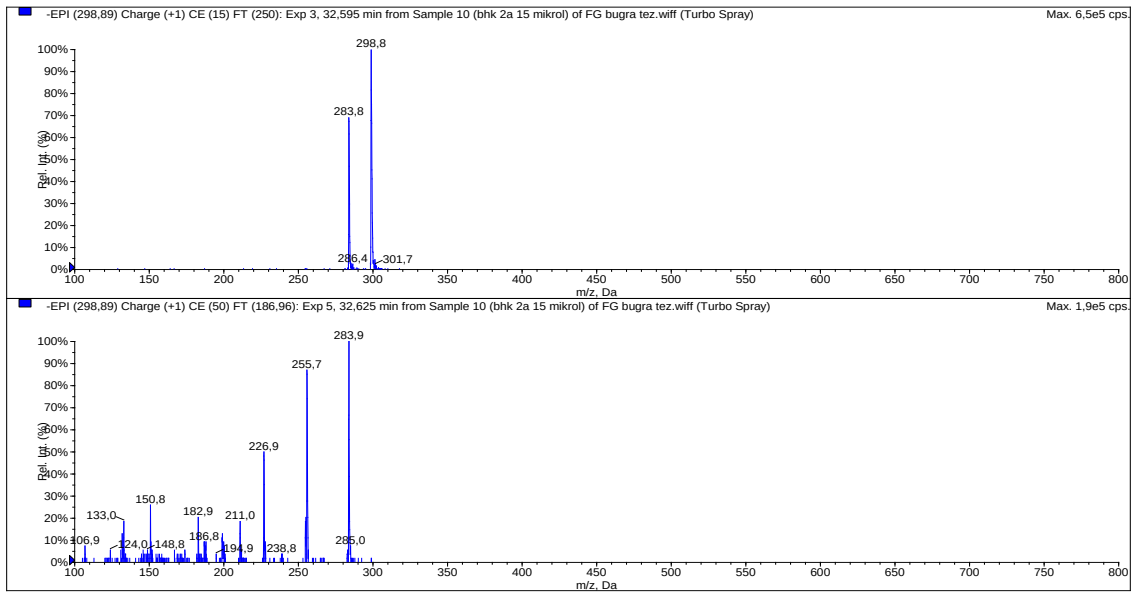
Şekil 4.28. 3'-O-Metilhipoletin 7-O-[6''-O-asetil]-allozil(1-2)glukozit

15 numaralı madde, karakteristik kersetin heksozit parçalanmalarını ve aglikon olarak m/z 301 kersetin ve C halkası parçalanmaları olan m/z 151 ve 133 iyonlarını göstermiştir. Aglikon ve moleküler iyon piki arasındaki 162 amu fazlalık kersetine bağlı bir glukoz olduğunu düşündürmektedir. Fakat moleküle bağlı olan şekerin yapısının galaktozit veya başka bir heksoz olma ihtimali de bulunduğundan yapı kersetin heksozit (şekil 4. 29) olarak adlandırılmıştır. Kersetin daha önce *Sideritis* cinsine ait bitkilerde de tanımlanmıştır. (Emre vd., 2011)

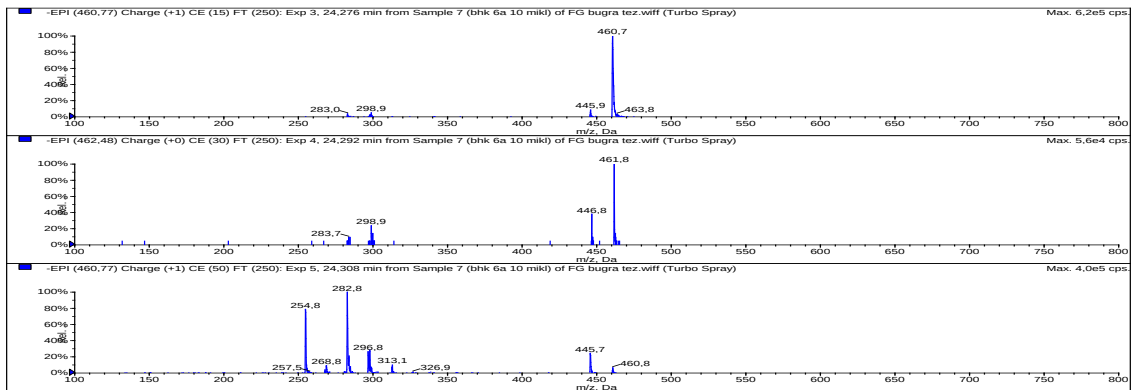


Şekil 4.29. Kersetin glukozit

26 numaralı madde, m/z 299 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki ve bir metil kopmasıyla açığa çıkan m/z 284 iyonu ile karakterize bir metoksisflavon yapısı göstermiştir. Krizoeriol maddesi daha önce *Sideritis* cinsinin Hesiodia seksiyonunda bulunan (Tomás-Barberán vd., 1993) *Sideritis montana* L.' de tanımlanmıştır (Toth vd., 2015). Bu verinin ışığında ve molekül ağırlığı 300 olan bir metoksi flavonoit olduğundan bu madde (şekil 4. 30) krizoeriol olarak tanımlanmıştır. Bu maddenin heksoz bağlanmış hali de krizoeriol heksozit olarak (şekil 4. 31) tanımlanmıştır.

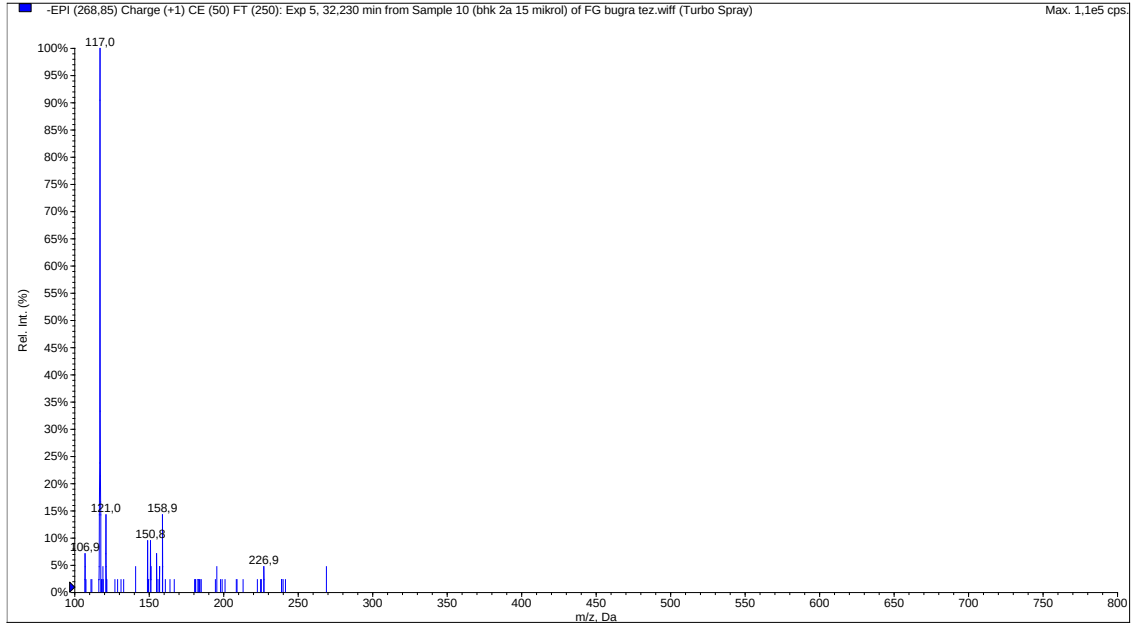


Şekil 4.30. Krizoeriol



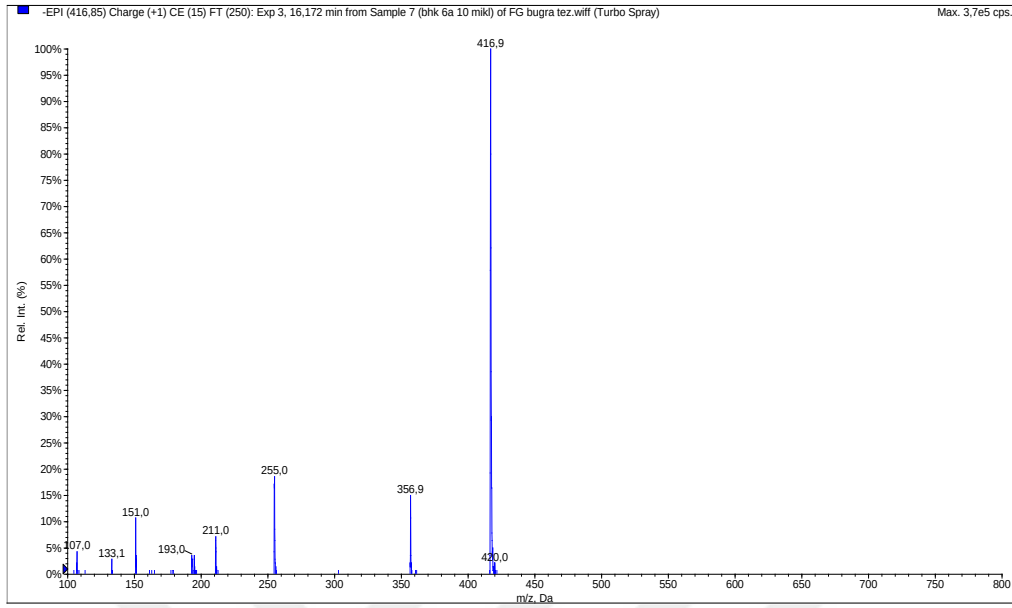
Şekil 4.31. Krizoeriol heksozit metanol su

25 numaralı madde kolonda, 32,2 dakikada tutunmuş olup m/z 269 [M-H]⁻ moleküler iyon pikini göstermiştir (Şekil 4. 32). Madde apigenin karakteristik parçalanmalarından olan fenol ve 2 karbonlu hidrokarbon kopmasını göstermiştir (Qiao vd., 2011). M/z 269 molekül ağırlıklı aglikon *Sideritis* cinsinde yaygın olarak bulunan apigenin maddesi olarak tespit edilmiştir.



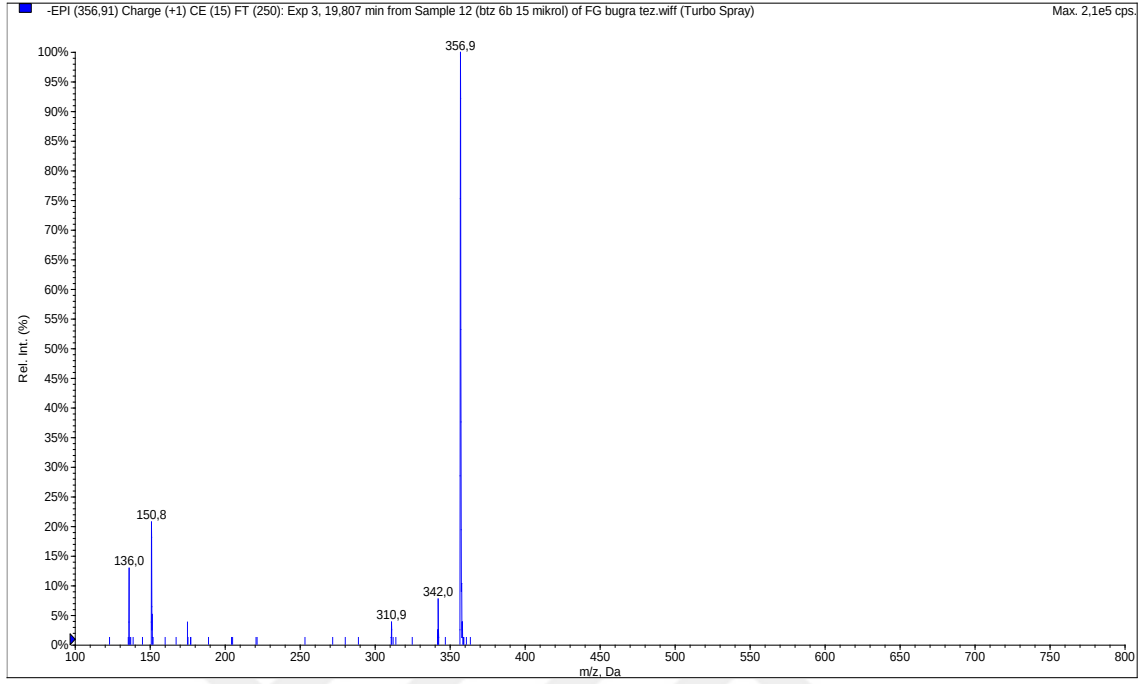
Şekil 4.32. Apigenin

7 numaralı madde, m/z 417 [M-H] moleküler iyon piki ve 162 amu heksoz kaybıyla m/z 255 iyonunu göstermiştir. Moleküler iyon pikinden 60 amu kayıpla m/z 357 iyonunun oluşması şeker molekülünün C üzerinden bağlandığını göstermiştir. Temel pik olan 255 [M-H]⁻ iyonu aglikonun dihidroksiizoflavanon yapısında (daidzein benzeri) olduğunu düşündürmüştür. Çalışılan bitkinin cinside göz önüne alındığında izoflavon türevlerinin bitkide bulunacağı düşünülmüştür. ChemDraw ile yapılan deneysel çizimler ile maddenin dihidroksi-izoflavanon-C-glukoziti benzeri olduğu sonucuna varılmıştır. Kesin bir tanımlama yapmak için kütle spektrumu verilerinin yeterli olmadığını belirtmek isteriz. Bu durum sadece 7 numaralı madde için değil tanımlaması yapılan tüm maddeler için geçerlidir. Örneğin tanımlamalarda luteolin dediğimiz her madde kamferol veya izosakurenatin de olabilir. Tez içinde tanımlanan maddeler literatür bilgileri ve spektrum yorumlamaları ile olasılığı kuvvetli olan ihtimaller üzerinden yapılmıştır. Kesin tanımlama ancak madde izolasyonu ve diğer spektroskopik teknikler kullanılarak yapıldığında geçerli olmaktadır.



	Chemical Formula: $C_{27}H_{32}O_{12}$ Exact Mass: 60.02 m/z: 60.02 (100.0%), 61.02 (2.2%)	m/z: 162.05 (100.0%), 163.06 (6.8%), 164.06 (1.2%)
m/z 417 [M-H]	m/z 357 [M-H]	m/z 255 [M-H]

Şekil 4.33. Dihidroksi-izoflavanon-C-glukoziti benzeri madde spektrumu ve olası parçalanmaları



Şekil 4.34. Bilinmeyen madde spektrumu

4.4. *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* Bitkilerinin Uçucu Yağ Tayini

4.4.1. *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* türlerinin uçucu yağ bileşenleri tayin sonuçları

Tablo 4.1. *S. montana* subsp. *montana* ve *Sideritis montana* subsp. *remota* Bitkilerinin Uçucu Yağ Bileşenleri

RRI	Bileşik	<i>Sideritis montana</i>		Tanımlama yöntemi
		% subsp. <i>montana</i>	% subsp. <i>remota</i>	
1032	α-Pinen	20.8	tr	t _R , MS
1076	Kampen	0.2	-	t _R , MS
1118	β-Pinen	23.1	1.2	t _R , MS
1132	Sabinen	0.7	-	t _R , MS
1174	Mirsen	1.3	-	t _R , MS
1190	Silvestren	0.9	-	
1203	Limonen	8.2	1.2	t _R , MS
1218	β -Felandren	0.3	-	t _R , MS
1495	Bisikloelemen	3.0	5.6	MS
1497	α-Kopaene	0.4	2.4	MS
1535	β -Burbonen	0.5	1.3	t _R , MS
1589	β -Ylangen	0.6	0.7	MS
1600	β -Elemene	0.3	0.6	MS
1604	β -Kubeben izomeri	0.5	0.5	MS
1612	β -Karyofilen	2.4	2.8	t _R , MS
1668	(Z)- β-Farnesen	2.5	9.7	MS
1671	Asetofenon	-	0.3	MS
1704	γ -Kurkumin	-	1.7	MS
1726	Germakren D	13.2	9.0	MS
1727	α-Zingiberen	-	1.8	MS
1755	Bisiklogermakren	13.7	20.9	t _R , MS
1773	δ -Kadinen	0.7	3.8	t _R , MS
1776	β -Kadinen	0.3	0.8	MS
1786	ar-Kurkumin	0.1	0.8	MS
1798	Metil salisilat	0.6	-	MS
1868	(E)-Geranil aseton	0.1	0.6	t _R , MS
1882	1-İzobütil 4-izopropil 3-izopropil -2,2-dimetil süksinat	3.0	28.8	MS
1958	(E)- β -İyonon	0.2	-	MS
2131	Hekzahidrofarnezil aseton	0.5	1.4	t _R , MS

2179	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	0.3	-	t _R , MS
2300	Trikozan	-	1.0	t _R , MS
2357	İzopimara-8, 15-dien	0.2	1.6	MS
2379	Manoil oksit	0.1	-	MS
2524	Abietatrien	0.1	tr	MS
				t _R , MS
	Toplam %	% 85.1	% 98.5	
	Monoterpen hidrokarbonlar	55.5	2.4	
	Seskitерpen hidrokarbonlar	38.2	62.4	
	Diterpenler	0.3	1.6	
	Diğer	4.7	32.1	

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

% FID kromatogramlarından hesaplanan relatif % değerler.

TY: Tanımlama Yöntemi

t_R: 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.

4.4.2. Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC/MS) analiz şartları

S. montana subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin uçucu yağı, bitkilerin toprak üstü kısımlarından (herba) 3 saat boyunca Clevenger apareyinde su distilasyonu işlemi uygulanması sonucunda elde edilmiştir. Uçucu yağların verimi *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisi için %0,32 hesaplanmış olup *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisi için %0,28 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen uçucu yağlar, Gaz

Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) ile analiz edilmiştir.

Analiz Koşulları:

Sistem: Agilent 6890N GC-MSD sistemi

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

Enjektör: 250°C

Sıcaklı 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

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

Uçucu yağların GC analiz koşulları

GC analizi, 300 °C sıcaklıkta bir FID dedektör seti ile donatılmış Agilent 6890N GC sistemi ile yapılmıştır. GC analiz koşullarının eş zamanlı olmalıdır. Sistem eş zamanlı olarak ayarlanmış olup GC/MS sistemindeki madde çıkış zamanları ile aynı olacak şekilde ayarlanmıştır.

4.5. *S. montana* subsp. *montana* ve *Sideritis montana* subsp. *remota* Bitkilerinden Elde Edilen Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Çizelge 4.2. DMSO'lu ekstrenin suşlar üzerinde antimikrobiyal etkisi

(MIK, µg /mL)	BHK2	BHK2	BHK6	BHK6	KLRM
	A	B	A	B	
<i>Escherichia coli</i> NRRL B-3008	1500	4000	4000	4000	4
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1500	4000	4000	4000	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1500	4000	500	500	16
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	1500	4000	4000	1000	4
<i>Serratia marcescens</i> NRRL B-2544	1500	4000	1000	1000	16
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9633	1500	4000	1000	1000	16

KLRM: Kloramfenikol (µg/mL)

MIK değeri: Üremenin engellendiği en düşük antibiyotik konsantrasyonudur

BHK2A: *S. montana* subsp. *montana* infüzyon ekstresi

BHK2B: *S. montana* subsp. *remota* infüzyon ekstresi

BHK6A: *S. montana* subsp. *montana* metaol ekstresi

BHK6B: *S. montana* subsp *remota* metanol ekstresi

Escherichia coli NRRL B-3008, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Serratia marcescens* NRRL B-2544, *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311) ve *Klebsiella pneumoniae* NCTC 9633 suşlarında gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite tayin deneyinin sonucunda elde ettiğimiz verilerin sonucuna göre *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin DMSO ile çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan MeOH ekstresinin antimikrobiyal analizleri

değerlendirildiğinde hazırlanan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde en etkili bulunmuştur. *Escherichia coli* NRRL B-3008, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Serratia marcescens* NRRL B-2544, *Klebsiella pneumoniae* NCTC 9633 suşlarına ise çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan ekstreler standart olarak kullanılan maddelerden 62.5, 93.75, 250, 1000 ve 2000 kat daha düşük etkili olduğu tespit edilmiştir. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşuna ise her iki bitkinin metanol ekstreleri etkili olarak bulunmuştur. Fakat pozitif kontrol olarak kullanılan maddelere göre ekstrelerin etkinliği düşük seviyede kalmıştır.



5. SONUÇ

Gerçekleştirdiğimiz bu çalışma kapsamında yaptığımız araştırmalar ve deneyler sonucunda *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinden elde edilen ekstrelerin içerikleri sebebiyle farmakolojik etkinliklere sahip olduğu gözlemlenilmiştir. Bu farmakolojik etkinliklere binaen *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Bitkilerin ülkemizde yetişebilen bitkiler olması ve bitkilerin tohumlarının kolaylıkla bulunabilecek olması araştırmada büyük bir önem teşkil etmektedir. *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinden elde edilen ekstrelerin çeşitli farmakolojik özelliklerinin aydınlatılması ve tıbbi bir öneme sahip olması bitkiyi diğer tedavi edici özelliği olmayan bitkilerden ayırımı konusunda özel bir önem teşkil etmektedir. Ülkemizde doğal olarak ormanlık alanlarda(hattayol kenarlarında bile) yetişen *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinden metanol çözücüsü kullanarak elde ettiğimiz ekstreler üzerinde gerçekleştirdiğimiz antioksidan ve antimikrobiyal aktivite sonucunda bitkilerin tedavi edici özellikte olabileceği, bazı hastalıkların tedavisine yardımcı olarak eklenebileceğini ve bazı hastalıklardan da korunma amacıyla kullanılabileceğinin mümkün olabileceği tespit edilmiştir.

S. montana subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin su distilasyonu sonucunda elde ettiğimiz uçucu yağlarının bileşenlerini incelediğimizde bir çok aktif fitokimyasal bileşen olduğu ve bu bileşiklerin izole edildiği takdirde çeşitli hastalıklardan korunma ve hastalıkların tedavisinde yardımcı olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Lamiaceae familyasındaki *Sideritis* türlerine ait diğer bitkiler gibi *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin de antioksidan özelliği yüksek olmasından dolayı oksidatif strese bağlı hastalıkların tedavisinde, kanser tedavisinde (antiproliferatif özelliğinden dolayı) ve Alzheimer tedavisinde kullanılabileceği düşünmekteyiz.

Bu çalışmanın sonuçlarının ileride *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinden izole edilen maddeler üzerinde yapılan çalışmalara ve izole edilecek aktif fitokimyasal bileşenlerin etkilerinin araştırılacağı çalışmalara da referans olabileceğini düşünmekteyiz.

6. TARTIŞMA

6.1. Antioksidan Aktivite Tayinleri

S. montana subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin metanol ekstreleri hazırlanmıştır. *Sideritis montana* subsp. *montana*'nın metanol ekstresinin verimi %20,38 olarak hesaplanmış olup *Sideritis montana* subsp. *remota*'nın metanol ekstresinin verimi ise %3.86 olarak hesaplanmıştır.

Toplam Fenolik madde miktarı tayini sonuçları incelendiğinde *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin metanol ekstresinin daha çok fenolik madde içerdiği görülmekte olup bu türün metanol ekstresinin total fenolik bileşik miktarı 145,94mg GAE/gram olarak hesaplanmıştır. İkinci en yüksek fenolik madde içeriği *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisinin infüzyon ekstresinde görülmüştür. Bu infüzyon ekstresinde fenolik madde miktarı 73,11 GAE/gram ekstre olarak hesaplanmıştır.

Gerçekleştirilen DPPH* radikal süpürücü aktivite tespiti deneyinin sonuçlarına göre *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin metanol ekstresinin IC₅₀ değeri 0,29 mg/mL olarak hesaplanmıştır ve en düşük olarak belirlenmiştir. *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisinin metanol ekstresinin IC₅₀ değeri 0,11mg/mL olarak hesaplanmış olup çalışılan ekstreler arasında radikal süpürme aktivitesi olarak en etkili olarak bulunmuştur. Deney çalışması gerçekleştirilen 4 ekstrede galik asit ile karşılaştırılamayacak seviyede düşük radikal süpürme etkisi göstermiştir.

Ekstrelerin Troloks'a eşdeğer olarak sergiledikleri Antioksidan Kapasite (TEAC) miktarları; ekstrelerin 10 mg/mL konsantrasyonunda ABTS^{•+} radikalini süpürücü etkilerini göstermeye başlamışlardır. *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin metanol ekstresinin dışındaki diğer 3 ekstre etkililik açısından birbirlerine benzer etki göstermiş olup göre *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin metanol ekstresi bu diğer 3 ekstreten daha düşük etki göstermiştir.

Korhan Dedeoğlu'nun 2017'de *Sideritis montana* subsp. bitkisinin metanollü özütünün üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada toplam fenolik madde miktarı 182.06 mg/GAE bulunmuştur. Elde edilen bu sonuç bizim çalışmamızdaki sonuca benzerlik göstermiştir.

İrfan Emre ve ark. 2011’de McFarland standardına göre *Sideritis montana* subsp. *montana* ekstresi üzerinde antimikrobiyal aktivite tayini gerçekleştirmiştir. Bitki Streptomisin antibiyotiğine göre çok düşük antimikrobiyal etki göstermiştir.

Sideritis montana subsp. *montana* ekstresinden izole edilmiş maddelerden biri olan hipolaetin ile gerçekleştirilen bir çalışmada hipolatine maruz kalan farelerin mukus üretimini artırdığı ve böylece mide pH’nı yükseltmesiyle beraber peptik gastriti azaltarak gastrik lezyonu ve gastrik ülseri azalttığı gözlemlenilmiştir. *Sideritis montana* subsp. *montana* ekstresinden izole edilmiş maddelerden olan hipolaetin ve izoskutellarin maddeleri karşılaştırıldığında hipolaetin türevleri izoskutellarein türevlerinden daha aktif bulunmuştur. Hipolaetin üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise hipolaetin stimule edilmiş fare peritoneal lökositlerinde üzerinde 5-lipoksijenaz yolağı üzerinden eikonozoit üretimini inhibe edip antienflamatuvar aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. (Alan, 2009)

Ghitu ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptığı çalışmada yapmış olduğu çalışmada Apigeninin kanserli hücrelerde çoğalmı önleyici, proapoptotik, kan damarlarının büyümesini ve yenilerinin oluşmasını baskılayan ve immün sistem düzenleyici bitkisel kaynaklı bileşik olarak kapsamlı bir değerlendirmesini yapmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda belirlenen deneysel koşullarda, Apigenin A375 insan melanom hücre hattına karşı antiproliferatif aktivite, hücre döngüsünde bir G2/M tutuklaması ve laktat dehidrojenaz salınımının ortaya çıkardığı sitotoksik olarak gösterilmiştir. (Ghitu vd., 2019).

Li ve arkadaşlarını 2020 yılında düzenlediği bir diğer çalışmada; sitotoksik etki gösteren apigeninin akciğer kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan Cisplatin ile birlikte uygulanmıştır ve tümör özellik olan A549, H1299 ve A549R hücrelerinde ölçülmüştür. Çalışmanın sonucunda apigeninin maddesinin kanser kök hücrelerini ortadan kaldıracak ve tümör önleyici bir protein olan p53 ile Cisplatin’in NSCLC’ (küçük hücreli dışı akciğer kanseri) deki antitümör etkilerini artırabileceği gösterilmiştir (Li vd., 2020).

İzole edilen moleküller üzerinde yapılan çalışmalarda, Verbaskozit anti-radikal aktivitesi klorojenik asit ile karşılaştırıldığında daha yüksektir. Bu durum verbaskozit molekülündeki klorojenik asit molekülünde bulunmayan 3,4-dihidroksi feniletıl grubu ile açıklanabilir. 3,4-dihidroksi feniletıl grubunun anti-radikal aktiviteye pozitif katkı olarak

etki gösterdiği düşünülmüştür. Radikal giderme aktivitesi olarak test edilen moleküller içinde en yüksek olan molekül bir flavon glikoziti olan Luteolin-7-O-glikozit molekülüdür. Radikal giderme aktivitesi olarak test edilen moleküller içinde en düşük olan molekül bir flavon allosil glikozit olan 4'-O-metilizoskutellerain-7-O-[6'''-O-asetil-allosil-(1→2)-glikozit]) molekülüdür.

Bu çalışmada yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinde izoflavon tipi olarak düşündüğümüz madde tanımlanmıştır. İzoflavon tipi maddeler fitoöstrojenik özelliklidir. Bu sebeple *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin çay şeklinde demleme olarak kullanılmasını günlük hayatta kullanılmamasını önersek de kesin sonuç için birkaç farklı bölgeden *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisi toplanılıp üzerinde gereken analizler yapılmalıdır.

6.2. Uçucu Yağ Profili

Uçucu yağ eldesi sonucunda ise *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin uçucu yağ verimi %0,32 olarak hesaplanmış olup *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisi için uçucu yağ verimi %0,28 olarak hesaplanmıştır.

Neşe Kırimer ve arkadaşlarının 2000 yılında yağtığı bir başka çalışmada bu iki bitkiye ait uçucu yağ verimlerinde benzer yüzdelik oranlarda düşük verimlilik bulunmuştur.

Bitkilerin toprak üstü kısımlarından su distilasyonu işlemi sonucunda uçucu özellikli yağda 34 madde tanımlanmıştır. *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin uçucu yağında ana bileşik %23.2 α -Pinen'dir. Tespit edilen ikinci en yüksek miktardaki madde ise %20.8 oranıyla β -Pinen olmuştur. *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisinin uçucu yağında ise ana bileşik %28.8 1-İzobütil 4-izopropil 3-izopropil -2,2-dimetil süksinat'dir. Tespit edilen ikinci en yüksek miktardaki madde ise %20.9 oranıyla Bisiklogermakren olmuştur. Elde edilmiş olan uçucu yağdan izole edilmiş bileşikler kendi aralarında gruplara ayrıldığında yağın monoterpen hidrokarbonlar, diterpen hidrokarbonlar, seskiterpen hidrokarbonlar ve diğer maddeler olmak üzere 4 sınıfta madde grubu içerdiği söylenebilir. ayrılabilir. Gruplar kendileri içinde oksijenli türevleri olarak bir alt gruba ayrılabilir. Bu durumda *Sideritis montana* subsp. *montana* bitkisinin uçucu yağının Monoterpen hidrokarbonlar (%55.5), seskiterpen hidrokarbonlar (%38.2), diterpenler (%0.3) ve diğer (%4.7) madde gruplarını içerdiği görülmüştür.

Bitkinin uçucu yağ profil incelendiğinde oranı en yüksek olan grup, monoterpen hidrokarbon grubudur. Monoterpen hidrokarbonların büyük bir grubunu α -Pinen, β -Pinen ve Limonen oluşturmaktadır. %38.2 toplam orana sahip seskiterpen hidrokarbonlar içinde ise Germakren D %13,7 ile en çok rastlanan madde olmuştur. Diterpen grubu maddeler %0.3 oran ile uçucu yağ içinde en az miktarda bulunan gruptur. Uçucu yağ içinde belirlenen tek oksijenli diterpen Manoiloksittir.

Sideritis montana subsp. *remota* bitkisinin uçucu yağının ise monoterpen hidrokarbonlar (%2.4), seskiterpen hidrokarbonlar (%62.4), diterpenler (%1.6) ve diğer (%32.1) grupları içerdiği görülmüştür.

Bitkinin genel uçucu yağının profili incelendiğinde, seskiterpen hidrokarbonların oranı uçucu yağ içinde baskın olarak bulunmuştur. Seskiterpen hidrokarbonların büyük bir grubunu Bisiklogermakren ve (Z)- β -Farnesen oluşturmaktadır. %32,1 toplam orana sahip diğer maddeler kısmını oluşturanların içinde ise 1-İzobütil 4-izopropil 3-izopropil -2,2-dimetil süksinat %28,8 ile en çok rastlanan madde olmuştur. *Sideritis montana* subsp. *remota* bitkisinin uçucu yağı içinde diterpenler ayırdığımız madde gruplarının arasında en az miktarda bulunan grubu oluşturmaktadır.

6.3. Ekstrelerin LC-MS/MS analizleri

Çalıştığımız *S. montana* subsp. *montana* ve *S. montana* subsp. *remota* bitkilerinin metanollü eksterlerine ve infüzyon ekstrelerine ait LC-MS/MS analizleri anlam kolaylığı için bütünlülüğü bozmamak adına ayrıntılı değerlendirmeler bulgular kısmında verilmiştir

KAYNAKÇA

- Akcos, Y., *Sideritis lycia* Boiss. & Heldr. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Yüksek Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1994
- Akkol, E.K., Göger, F., Koşar, 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
- Akşit, H. *Sideritis germanicopolitana* Bornm., *Sideritis perfoliata* L. ve *Sideritis libanotica* Labill. bitkilerinden sekonder metabolitlerin izolasyonu ve antiproliferatif aktivitelerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çankırı, 2017
- Alan, B., *Genista Sandrasica* Hartwig & Strid Bitkisinin Genistein Ve Daidzein Yönünden Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2009
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M., "Biological Effects of Essential Oils-A Review", *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475, (2008).
- 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
- Bilgin, M., E. A. A. Elhussein, M. Ozyurek, K. Guclu and S. Sahin (2018). "Optimizing the extraction of polyphenols from *Sideritis montana* L. using response surface methodology." *J Pharm Biomed Anal* 158: 137-143.
- Buyuktuncel, S. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan baslica spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 2, 93-103
- Chrysargyris, A., C. Kloukina, R. Vassiliou, E.-M. Tomou, H. Skaltsa and N. Tzortzakis (2019). "Cultivation strategy to improve chemical profile and anti-oxidant activity of *Sideritis perfoliata* L. subsp. *perfoliata*." *Industrial crops and products* 140: 111694.
- Clifford, M. N., K. L. Johnston, S. Knight and N. Kuhnert (2003). "Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(10): 2900-2911.
- Davis, P. (1984). *Flora of Turkey, Volume 7*, Edinburgh University Press.

Davis, P.H., "Flora of Turkey and the East Agean Islands", University of Edinburg Press, Edinburg, 7, (1982) 297.

Dedeoğlu, K. (2017). Sideritis montana bitkisindeki sekonder metabolitlerin izolasyonu ve karakterizasyonu / Isolation and characterisation of secondary metabolites of Sideritis montana and antioxidant activity. Yüksek Lisans Tezi.

Dinçer, C., Torun, M., Tontul, I., Topuz, A., Sahin-Nadeem, H., Göktürk, R.S., Tuğrul-Ay, S., Ozdemir, F., *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, 2017

Dwivedi, S., Malik, C. ve Chhokar, V., Molecular structure, biological functions, and metabolic regulation of flavonoits, in Plant Biotechnology: Recent Advancements and Developments. 2017, Springer. p. 171-188.

Emre, I., M. Kurşat, O. Yılmaz, P. Erecevit, *Some biological compounds, radical scavenging capacities and antimicrobial activities in the seeds of Nepeta italica L. and Sideritis montana L. subsp. montana from Turkey*, Grasas y Aceites, 62(1), 71-72, 2011

Emre, I., M. Kurşat, Ö. Yılmaz and P. Erecevit (2011). "Some biological compounds, radical scavenging capacities and antimicrobial activities in the seeds of Nepeta italica L. and Sideritis montana L. subsp. montana from Turkey." grasas y aceites 62(1): 68-75.

Ersoy, H., EDTU Herbaryumun'da Bulunan Lamiaceae (Ballıbabagiller) Familyası'nın Revizyonu, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 2009

Faggio, C., Sureda, A., Morabito, S., Sanches-Silva, A., Mocan, A., Nabavi, S.F. and Nabavi, S.M. (2017). Flavonoits and platelet aggregation: A brief review. European journal of pharmacology, 807, 91-101

Fraga, B.M., Phytochemistry and chemotaxonomy of *Sideritis* species from the Mediterranean region. Phytochemistry, 76, 7-24, 2012

Ghareeb, M. A., M. Sobeh, T. Aboushousha, M. Esmat, H. S. Mohammed and E. S. El-Wakil (2023). "Polyphenolic Profile of Herniaria hemistemon Aerial Parts Extract and Assessment of Its Anti-Cryptosporidiosis in a Murine Model: In Silico Supported In Vivo Study." Pharmaceutics 15(2): 415.

Ghitu, A., Schwiebs, A., Radeke, H.H., Avram, S.,¹ Zupko I., Bor, A., Pavel I.Z., Dehelean, C.A., Oprean, C., Bojin, F., Farcas, C., Soica, C., Duicu, O. and Danciu, C. (2019). "A Comprehensive Assessment of Apigenin as an Antiproliferative,

Proapoptotic, Antiangiogenic and Immunomodulatory Phytocompound". *Nutrients*, 11: 858.

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.

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., ve Babaç, M.T. (edlr.) (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi Damarlı Bitkiler*, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmalı Derneği Yayını, Flora Dizisi 1, İstanbul

Güvenç, A., Duman, H., "*Morphological and anatomical studies of annual taxa of Sideritis L. (Lamiaceae), with notes on chorology in Turkey*", *Turkish Journal of Botany*, 34, 89, 2010

Hanoğlu, D. Y., A. Hanoğlu, H. Yusufoglu, B. Demirci, K. H. C. Başer, İ. Çalış and D. Ö. Yavuz (2020). "Phytochemical investigation of endemic *Sideritis cypria* Post." *Rec. Nat. Prod* 14(2): 105-115.

Huber-Morath, H., *Sideritis* L., *Flora of Turkey and East Aegean Islands*, Davis, P. H. (ed.), University Press, Edinburgh, 7, 193, 1982

Irakli, M., K. Tsifodimou, E. Sarrou and P. Chatzopoulou (2018). "Optimization infusions conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Sideritis scardica* tea using response surface methodology." *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 8: 67-74.

Janeska, B., M. Stefova and K. Alipieva (2007). "Assay of flavonoit aglycones from species of the genus *Sideritis* (Lamiaceae) from Macedonia with HPLC UV DAD." *Acta Pharmaceutica* 57(3): 371-377.

Kılıç, A., "Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri", *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10, 13, (2008)

Kırimer, N., Tabanca, N., Özek, T., Tümen, G., Başer, H., *Essential Oils of Annual Sideritis Species Growing in Turkey*, *Pharmaceutical Biology*, 38(2), 106-110, 2000

Kırmızıbekmez, H., M. Erdoğan, N. Kúsz, N. Karaca, U. Erdem, F. Demirci and J. Hohmann (2021). "Secondary metabolites from the aerial parts of *Sideritis germanicopolitana* and their in vitro enzyme inhibitory activities." *Natural Product Research* 35(4): 655-658.

- Kırmızıbekmez, H., P. Montoro, S. Piacente, C. Pizza, A. Dönmez and İ. Çalış (2005). "Identification by HPLC-PAD-MS and quantification by HPLC-PAD of phenylethanoid glycosides of five *Phlomis* species." Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques 16(1): 1-6.
- Koleva, I. I., J. P. Linssen, T. A. van Beek, L. N. Evstatieva, V. Kortenska and N. Handjieva (2003). "Antioxidant activity screening of extracts from *Sideritis* species (Labiatae) grown in Bulgaria." Journal of the Science of Food and Agriculture 83(8): 809-819.
- Krckovska, D., *Sideritis germanicopolitana* subsp. *Viridis* hausskn. ex. bornm. bitkisinin fitokimyasal içeriğinin ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 2022
- Li, Y., Chen, X., He, W., Xia, S., Jiang, X., Li, X., Bai, J., Li, N., Chen, L. Yang, B. (2020). "Apigenin Enhanced Antitumor Effect of Cisplatin in Lung Cancer via Inhibition of Cancer Stem Cells". *Nutrition and Cancer*, <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1802494>
- Ling, Y., K. Liu, Q. Zhang, L. Liao and Y. Lu (2014). "High performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization and quadrupole time-of-flight–mass spectrometry as a powerful analytical strategy for systematic analysis and improved characterization of the major bioactive constituents from *Radix Dipsaci*." Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 98(0): 120-129.
- Liu, A. H., H. Guo, M. Ye, Y. H. Lin, J. H. Sun, M. Xu and D. A. Guo (2007). "Detection, characterization and identification of phenolic acids in Danshen using high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization mass spectrometry." Journal of Chromatography A 1161(1-2): 170-182.
- Marchev, A. S., Vasileva, L. V, Amirova, K. M., Savova, M. S., Koycheva, I. K., BalchevaSivenova, Z. P., Vasileva, S. M., Georgiev, M. I., *Rosmarinic acid - From bench to valuable applications in food industry*, Trends in Food Science & Technology, 117, 183, 2021
- Mitreski, I., J. P. Stanoeva, M. Stefova, G. Stefkov and S. Kulevanova (2014). "Polyphenols in representative *Teucrium* species in the flora of R. Macedonia: LC/DAD/ESI-MS(n) profile and content." Nat Prod Commun 9(2): 175-180.

- Nakipoğlu, M. ve Otan, H. 1994. Tıbbi bitkilerin flavonoitleri, Anadolu, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 4(1), 70-93.
- Ng, L. K., P. Lafontaine and M. Vanier (2004). "Characterization of cigarette tobacco by direct electrospray ionization-ion trap mass spectrometry (ESI-ITMS) analysis of the aqueous extract--a novel and simple approach." J Agric Food Chem 52(24): 7251-7257.
- Petreska, J., G. Stefkov, S. Kulevanova, K. Alipieva, V. Bankova and M. Stefova (2011). "Phenolic compounds of mountain tea from the Balkans: LC/DAD/ESI/MSn profile and content." Nat Prod Commun 6(1): 21-30.
- Petreska, J., M. Stefova, F. Ferreres, D. A. Moreno, F. A. Tomas-Barberan, G. Stefkov, S. Kulevanova and A. Gil-Izquierdo (2011). "Dietary burden of phenolics per serving of "Mountain tea" (*Sideritis*) from Macedonia and correlation to antioxidant activity." Nat Prod Commun 6(9): 1305-1314.
- Petreska, J., M. Stefova, F. Ferreres, D. A. Moreno, F. A. Tomás-Barberán, G. Stefkov, S. Kulevanova and A. Gil-Izquierdo (2011). "Potential bioactive phenolics of Macedonian *Sideritis* species used for medicinal "Mountain Tea". " Food Chemistry 125(1): 13-20.
- Piozzi, F., P. Venturella, A. Bellino, R. Mondelli, 1968. Diterpenes from *Sideritis sicula* ucria. Tetrahedron, 24(11), 4073-4081.
- Qiao, S., R. Shi, M. Liu, C. Zhang, W. Yang, X. Shi, X. Jiang, C. Wang and Q. Wang (2011). "Simultaneous quantification of flavonoids and phenolic acids in *Herba Scutellariae barbatae* and its confused plants by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry." Food Chemistry 129(3): 1297-1304.
- Rehecho, S., O. Hidalgo, M. García-Iñiguez de Cirano, I. Navarro, I. Astiasarán, D. Ansorena, R. Y. Caverio and M. I. Calvo (2011). "Chemical composition, mineral content and antioxidant activity of *Verbena officinalis* L." LWT - Food Science and Technology 44(4): 875-882.
- Sanes, J. R. (2019). "Tell me a story." eLife 8.
- Sarikurkcu, C., M. Locatelli, A. Mocan, G. Zengin and B. Kirkan (2020). "Phenolic profile and bioactivities of *Sideritis perfoliata* L.: The plant, its most active extract, and its broad biological properties." Frontiers in Pharmacology 10: 1642.

- Sun, X., Y. Zhang, Y. Yang, J. Liu, W. Zheng, B. Ma and B. Guo (2018). "Qualitative and quantitative analysis of furofuran lignans, iridoid glycosides, and phenolic acids in *Radix Dipsaci* by UHPLC-Q-TOF/MS and UHPLC-PDA." Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 154: 40-47.
- Tomás-Barberán, F. A., M. I. Gil, F. Ferreres, D. Rivera, C. Obón and F. Tomás-Lorente (1993). "Distribution of 8-Hydroxyflavone glycosides and flavonoid aglycones in some Spanish *Sideritis* species." Biochemical Systematics and Ecology 21(4): 487-497.
- Tomás-Barberán, F. A., M. Rejdali, J. B. Harborne and V. H. Heywood (1988). "External and vacuolar flavonoids from iberio-North African *Sideritis* species. A chemosystematic approach." Phytochemistry 27(1): 165-170.
- Toth, B., L. Bartho, A. Vasas, Z. Sandor, N. Jedlinszki, G. Pinke and J. Hohmann (2015). "Dual excitatory and smooth muscle-relaxing effect of *Sideritis montana* extract on guinea-pig ileum." Nat Prod Commun 10(3): 487-490.
- Toth, B., N. Kusz, P. Forgo, N. Bozsity, I. Zupko, G. Pinke, J. Hohmann and A. Vasas (2017). "Abietane diterpenoids from *Sideritis montana* L. and their antiproliferative activity." Fitoterapia 122: 90-94.
- Tóth, B., N. Kúsz, P. Forgo, N. Bózsity, I. Zupkó, G. Pinke, J. Hohmann, A. Vasas, 2017. Abietane diterpenoids from *Sideritis montana* L. and their antiproliferative activity. Fitoterapia, 122, 90-94
- Uçar, E., Turgur, K., *Bazı Dağ Çayı (Sideritis) Türlerinin In Vitro Çoğaltımı*, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 22(1), 52, 2009
- Ulubelen, A., G. Topcu and U. Kolak (2005). Labiatae flavonoids and their bioactivity. Studies in Natural Products Chemistry. R. Atta ur, Elsevier. Volume 30: 233-302.
- Venditti, A., A. Bianco, C. Frezza, M. Serafini, G. Giacomello, C. Giuliani, M. Bramucci, L. Quassinti, G. Lupidi, D. Lucarini, F. Papa and F. Maggi (2016). "Secondary Metabolites, Glandular Trichomes and Biological Activity of *Sideritis montana* L. subsp. *montana* from Central Italy." Chem Biodivers 13(10): 1380-1390.
- Venditti, A., A. Bianco, F. Maggi and M. Nicoletti (2013). "Polar constituents composition of endemic *Sideritis italica* (MILL.) GREUTER et BURTER from Central Italy." Natural Product Research 27(15): 1408-1412.

- Venditti, A., C. Frezza, L. Guarcini, S. Foddai, M. Serafini and A. Bianco (2016). "Phytochemical study of a species with ethnopharmacological interest: *Sideritis romana* L." Eur. J. Med. Plants **12**(3): 1-9.
- Wang, D.-d., J. Liang, W.-z. Yang, J.-j. Hou, M. Yang, J. Da, Y. Wang, B.-h. Jiang, X. Liu, W.-y. Wu and D.-a. Guo (2014). "HPLC/qTOF-MS-oriented characteristic components data set and chemometric analysis for the holistic quality control of complex TCM preparations: Niu Huang Shangqing pill as an example." Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis **89**(0): 130-141.
- Wayne, P. (2006), Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, Approved Standard, 2nd ed., CLSI document M7-A7.
- Yeşilada, E., G. Honda, E. Sezik, M. Tabata, T. Fujita, T. Tanaka, Y. Takeda, Y. Takaishi, 1995. Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. Journal of Ethnopharmacology, **46**(3), 133-152..
- Yılmaz, E., Toroslar'da Yetişen 7 Endemik *Sideritis* Türünün Fenolik Maddeleri, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2013
- http-1:** <https://acikbilim.yok.gov.tr/handle/20.500.12812/604049> (Erişim tarihi: 06.07.2022)
- http-2:** <https://www.biolib.cz/en/image/id75228/> (Erişim tarihi: 24.07.2022)
- http-3:** <https://www.dogalhayat.org/tespit/Sideritis-montana-subsp-remota-morkaracay-2> (Erişim tarihi: 26.06.2022)
- http-4:** http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7651 (Erişim tarihi: 03.01.2023)
- http-5:** http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7650 (Erişim tarihi: 04.02.2022)
- http-6:** <https://www.medchemexpress.com/Verbascoside.html> (Erişim tarihi: 04.05.2022)
- http-7:** <https://www.internetchemie.info/chemie-lexikon/stoffe/h/harpagid.php> (Erişim tarihi: 14.08.2022)
- http-8:** <https://spectrabase.com/spectrum/3BuCSqQsCn3> (Erişim tarihi: 12.08.2022)
- http-9:** <https://spectrabase.com/compound/K4WD0Mavi75> (Erişim tarihi: 14.06.2022)
- http-10:** https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Labdan_zu_Pimaran_und_Abietan_ohne_Stereochemie_SV0.svg (Erişim tarihi: 28.05.2022)

http-11: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Limonene> (Erişim tarihi: 20.06.2023)

http-12: <https://en.wikipedia.org/wiki/Caryophyllene> (Erişim tarihi: 20.06.2023)



ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Buğra Han KOCADORU

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Geçmişi:

- Lisans: 2020, Anadolu, Eczacılık, Eczacılık.
- Lise: 2014, Özel Atayurt Fen Lisesi.
- İlk ve Orta Öğretim: 2010, Özel Çağdaş İlköğretim Okulu.

