



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***Teucrium parviflorum* ve *Teucrium polium* BİTKİLERİNİN
KİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE YÖNÜNDEN
İNCELENMESİ**

Goncagül SUVARİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet BOĞA

DİYARBAKIR- 2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***Teucrium parviflorum* ve *Teucrium polium* BİTKİLERİNİN
KİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE YÖNÜNDEN
İNCELENMESİ**

Goncagül SUVARİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet BOĞA

DİYARBAKIR- 2019



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Goncagül SUVARİ'nin hazırladığı “*Teucrium parviflorum* ve *Teucrium polium* Bitkilerinin Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 11/07/2019

Danışman Doç. Dr. Mehmet BOĞA

Jüri Üyeleri

Jüri Başkanı Doç. Dr. M. Hüseyin ALKAN

Üye Doç. Dr. Nesrin HAŞİMİ

Üye Doç. Dr. Mehmet BOĞA

İmza

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../20.. tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

25/07/2019

Goncagül SUVARİ

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında, gece gündüz ayırt etmeksizin bilgi ve tecrübesiyle yardımcı olan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet BOĞA'ya,

Tez bitkilerimi toplamamda desteğini esirgemeyen ve teşhisini yapan İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Dr. Öğretim Üyesi Yeter YEŞİL'e,

GC-MS analizleri için Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Gökhan ZENGİN'e,

LC-MS/MS analizleri için İstanbul Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet Ceyhan GÖREN'e,

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğrencilerinden Muhammed TUNEĞ'e ve kadim dostum Irmak TANAMAN'a,

Tez yazım aşamasında desteğini esirgemeyen can dostum Aliye BULUT'a,

Beni yetiştiren ve bugüne gelmemde tarifsiz emeği olan canım anneme ve babama ve kardeşlerime,

Ve her daim yanımda olan sevgili eşim Cevahir SUVARİ'ye,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından ECZACILIK.19.003 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Goncagül SUVARİ

İÇİNDEKİLER

ONAY	Error! Bookmark not defined.
BEYAN	iv
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
RESİMLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ	ix
1.1. ÖZET.....	1
1.2. ABSTRACT	3
2. GİRİŞ ve AMAÇ	5
3. GENEL BİLGİLER.....	8
3.1. Botanik Bilgiler	8
3.1.1. Lamiaceae familyası	8
3.1.2. <i>Teucrium</i> cinsi.....	8
3.1.3. <i>Teucrium parviflorum</i>	9
3.1.4. <i>Teucrium polium</i>	10
3.2. <i>Teucrium</i> Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı	12
3.3. <i>Teucrium</i> Türleri ile Yapılan Kimyasal Çalışmalar	14
3.4. <i>Teucrium</i> Türleri ile Yapılan Aktivite Çalışmaları	18
3.5. Sekonder Metabolitler	22
3.5.1. Terpenler	23
3.5.2. Fenolik bileşikler ve flavonoidler	25

3.6. Serbest Radikaller.....	30
3.7. Antioksidan Sistem.....	32
3.7.1. Antioksidanların sınıflandırılması.....	33
3.7.2. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri.....	35
3.8. Alzheimer Hastalığı.....	38
3.8.1. Kolinesteraz inhibitörlerinin Alzheimer hastalığındaki mekanizması	39
4. GEREÇ VE YÖNTEM	41
4.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer.....	41
4.2. Bitkisel Materyaller	41
4.3. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler	41
4.4. Cihazlar ve Diğer Gereçler	42
4.5. Ekstrelerin Hazırlanışı.....	42
4.6. Uçucu Yağ Eldesi	43
4.7. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoid İçeriklerinin Belirlenmesi.....	43
4.7.1. Toplam fenolik içeriklerinin belirlenmesi	43
4.7.2. Toplam flavonoid içeriklerinin belirlenmesi.....	44
4.8. Antioksidan Tayin Yöntemleri	45
4.8.1. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikal giderim yöntemi	45
4.8.2. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi	45
4.8.3. Metal bağlama aktivitesi.....	46
4.8.4. CUPRAC yöntemi	46
4.9. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi	47
4.9.1. Ellman metodu.....	47
4.10. İstatistik Hesaplamalar	48
4.11. Kromatografik Yöntemler	48
4.11.1. Gaz kromatografisi-Kütle spektroskopisi (GC-MS) şartları	48
4.11.2. Sıvı kromatografisi-Sıralı kütle spektroskopisi (LC-MS/MS) şartları	49

5. BULGULAR	50
5.1. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Miktarları.....	50
5.2. <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları	51
5.2.1. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi sonuçları	51
5.2.2. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi sonuçları.....	52
5.2.3. Metal bağlama aktivitesi yöntemi ile antioksidan aktivite sonuçları	54
5.2.4. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite sonuçları.....	54
5.3. <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları	55
5.4. <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Kimyasal İçerikleri	56
5.4.1. <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitki türlerinin GC-MS ile analizi	56
5.4.1. <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitki türlerinin LC-MS/MS ile analizi	59
6. TARTIŞMA.....	70
7. SONUÇ	76
8. KAYNAKLAR.....	78
9. ÖZGEÇMİŞ.....	99
10. TEZ SAVUNABİLİRLİK VE ORJİNALLİK BEYAN FORMU	100

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

A β	: Amiloid beta
ABTS	: 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat)
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
AH	: Alzheimer hastalığı
APP	: Amiloit prekürsör protein
BChE	: Butirilkolinesteraz
BHA	: Bütilenmişhidroksi anisol
BHT	: Bütilenmişhidroksi toluen
Co A	: Koenzim A
CUPRAC	: Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
DAD	: Diode-Array-Detektörü
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5-Ditiyobis(2-nitro benzoik asit)
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Cemiyeti
FRAP	: Demir (III) indirgeme antioksidan gücü
GC	: Gaz kromatografisi
GC-MS	: Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi
GP	: Glutasyon peroksidaz
GST	: Glutasyon S-transferaz
HAT	: Hidrojen atom transferi
HO $\cdot$	: Hidroksil radikali
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
KAT	: Katalaz
NDGA	: Nordihidroguayaretik asit
NFY	: Nörofibriler yumak
NMDA	: N-metil-D-aspartat
¹ O ₂	: Singlet oksijen

$O_2^{\bullet -}$	: Süperoksit anyon
$OH^{\bullet}$	: Hidroksil radikali
$OHCl^-$	: Hidroklorik asit
$ONOO^-$	: Peroksinitrit
ORAC	: Oksijen radikalini absorplama kapasitesi
RNT	: Reaktif azot türleri
$RO^{\bullet}$	: Alkoksi radikali
$ROO^{\bullet}$	: Peroksi radikali
ROT	: Reaktif oksijen türleri
RSC	: Radikal süpürme kapasitesi
SET	: Tek elektron transferi
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBHQ	: t-Bütilhidrokinon
TEAC	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
TOC	: α –Tokoferol
TRAP	: Toplam radikal tutma parametresi
UV	: Ultraviyole
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitkilerinin Türkiye’de yetiştiği yerler	12
Şekil 2: Sekonder metabolitlerin oluşumu	23
Şekil 3: İzopren molekülü	24
Şekil 4: Backbone veya Friedo düzenlemesi	25
Şekil 5: Fenoliklerin biyosentetik yolları	27
Şekil 6: Fenolik asitlerin kimyasal grupları	28
Şekil 7: Flavonoid iskeletleri	29
Şekil 8: En çok kullanılan radikal uzaklaştırıcı deneylerde yer alan kimyasal reaksiyonlar	37
Şekil 9: Pirokatekolün ölçü grafiği	43
Şekil 10: Kersetinin ölçü grafiği	44
Şekil 11: <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri	52
Şekil 12: <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktiviteleri.....	53
Şekil 13: <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktiviteleri.....	55
Şekil 14: <i>T. polium</i> bitkisinden hazırlanan uçucu yağın GC-MS kromatogramı	58
Şekil 15: <i>T. parviflorum</i> bitkisinden hazırlanan uçucu yağın GC-MS kromatogramı.....	58
Şekil 16: <i>T. polium</i> toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-1	62
Şekil 17: <i>T. polium</i> toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-2.....	63
Şekil 18: <i>T. polium</i> toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-3.....	64
Şekil 19: <i>T. polium</i> toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-4.....	65
Şekil 20: <i>T. polium</i> kök ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-1.....	66
Şekil 21: <i>T. polium</i> kök ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-2.....	67
Şekil 22: <i>T. parviflorum</i> toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-1.....	68
Şekil 23: <i>T. parviflorum</i> toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-2.....	69

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: <i>T. parviflorum</i>	10
Resim 2: <i>T. polium</i>	11



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: <i>Teucrium</i> türlerinde saptanan ana kimyasal bileşikler.....	14
Tablo 2: <i>T. polium</i> 'un biyolojik aktiviteleri ve farklı çalışmalara göre tıbbi özellikleri	19
Tablo 3: Terpenlerin sınıflandırılması	24
Tablo 4: Fenolik bileşikler ve yaygın örnekleri	26
Tablo 5: ROT ve RNT örnekleri	31
Tablo 6: Serbest radikal reaksiyonları	31
Tablo 7: LC-MS/MS çalışma şartları	49
Tablo 8: Ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları	51
Tablo 9: <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitkilerinden hazırlanan ekstraların DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri	52
Tablo 10: <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitkilerinden hazırlanan ekstraların ABTS kation radikali giderim aktiviteleri	53
Tablo 11: <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitkilerinden hazırlanan ekstraların metal bağlama aktivitesi	54
Tablo 12: <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitkilerinden hazırlanan ekstraların antikolinesteraz aktivite sonuçları	55
Tablo 13: <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitkilerinden hazırlanan uçucu yağların GC-MS analiz sonucu	56
Tablo 14: <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitkilerinden hazırlanan uçucu yağların GC-MS analizi sonucu saptanan bileşiklerin sınıflandırılması ve karışımdaki % miktarları	59
Tablo 15: <i>T. parviflorum</i> ve <i>T. polium</i> bitkilerinin LC-MS/MS analiz sonucu.....	60

***Teucrium parviflorum* ve *Teucrium polium* Bitkilerinin Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi**

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Goncagül SUVARİ

Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet BOĞA

Anabilim Dalı: Analitik Kimya Anabilim Dalı

1.1.ÖZET

Amaç: Literatürde antioksidan özelliklerine atıfta bulunulan Lamiaceae familyası üyeleri *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinin etanol ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid miktarları ile antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri, GC-MS ile uçucu yağlarının içerikleri ve LC-MS/MS ile kimyasal içeriklerinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: *T. parviflorum*'un toprak üstü, *T. polium*'un kök ve toprak üstü kısımlarının etanol ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid miktarları belirlendi. DPPH serbest radikal giderimi, ABTS katyon radikali giderimi, metal bağlama ve CUPRAC yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri ve Ellman metoduyla antikolinesteraz aktiviteleri belirlendi. LC-MS/MS ile fenolik bileşik içerikleri belirlendi. Ayrıca Clavenger aparatıyla elde edilen uçucu yağların GC-MS ile analizi yapıldı.

Bulgular: *T. polium* köklerinin etanol ekstresinin toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin en yüksek değere sahip olduğu bulundu. Ekstrelerden hiçbirisi metal bağlama ve asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi göstermedi. *T. polium*'un kök ve toprak üstü ekstraktlarının, tüm yöntemlerde *T. parviflorum* ekstresinden daha iyi antioksidan potansiyelinin olduğu belirlendi. *T. polium* kök ekstresinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesinde standart olarak kullanılan BHT'den ve ABTS katyon radikali giderim aktivitesinde standart olarak kullanılan BHA'dan daha iyi aktivite gösterdiği belirlendi. GC-MS analizinde *T. parviflorum*'un major bileşeni germakren D (%32,7), *T. polium*'un (Z)- β -farnesen (%28,9) olarak saptandı. LC-MS/MS analizinde *T. polium*'un toprak üstü ve kök ekstraktlarındaki major bileşenler sırasıyla; naringenin (16327 μ g/g ekstre) ve (-)-epigallokateşin gallat (3694 μ g/g ekstre), *T. parviflorum*'un hesperidin (5687 μ g/g ekstre) olarak tespit edildi.

Sonuç: *T. polium*'un yüksek fenolik içeriğinden kaynaklı yüksek antioksidan potansiyele sahip olduğu sylenabilir. *T. parviflorum* bitkisinin antikolinesteraz aktivitesi ve LC-MS/MS ile kimyasal içeriğı ilk kez bu tezde çalışıldı.

Anahtar kelimeler: *Teucrium parviflorum*, *Teucrium polium*, Antioksidan, Antialzheimer, GC-MS



Investigation *Teucrium parviflorum* and *Teucrium polium* Plants in Terms of Chemical and Biological Activity

1.2. ABSTRACT

Student's Surname and Name: SUVARİ Goncagül

Adviser of Thesis: Assoc. Prof. Dr. Mehmet BOĞA

Department: Analytical Chemistry

Aim: It was aimed to determine that the total phenolic and flavonoid amounts and antioxidant-anticholinesterase activities of the ethanol extracts of *T. parviflorum* and *T. polium* plants that are cited as their antioxidant activity in the literature, also phenolic contents were studied with LC-MS/MS, and volatile oil contents were studied with GC-MS.

Material and Method: Root and aerial parts of *T. parviflorum* and *T. polium* were extracted by ethanol and, total phenolic and flavonoid amounts of these extracts were detected. Antioxidant activities were determined by DPPH, ABTS, metal binding and CUPRAC methods. Also, anticholinesterase activities were determined via Ellman method. Volatile oils obtained by Clavenger method were analyzed by GC-MS. In addition, phenolic compound contents were obtained with LC-MS/MS.

Results: *T. polium* roots were found that they include the highest amounts of total phenolic and flavonoid contents. None of the extracts have demonstrated the metal binding and acetylcholinesterase inhibition activity. Activities of root and aerial parts extracts of *T. polium* have shown better antioxidant potential than *T. parviflorum* for all methods. Also, it was determined that root extracts of *T. polium* shows better activity than BHT used as standard for DPPH; and than BHA compound which are used as standard for ABTS methods. Major compounds of volatile oil contents obtained by GC-MS analysis were gained as germakren D (32.7%) for *T. parviflorum*; and (Z)- β -farnesen (28.9%) for *T. polium*. Also major compounds of phenolic contents obtained by LC-MS/MS analysis were gained as naringenin (16327 $\mu\text{g/g}$ extract) for *T. polium* aerial parts, (-)-epigallocatechin gallate (3694

µg/g extract) for *T. polium* roots, and hesperidin (5687 µg/g extract) for *T. parviflorum* aerial parts.

Conclusion: *T. polium* might be considered as having high antioxidant potential due to its phenolic content. Chemical contents with LC-MS/MS and anticholinesterase activity of *T. parviflorum* plant was studied for the first time.

Keywords: *Teucrium parviflorum*, *Teucrium polium*, Antioxidant, Antialzheimer, GC-MS



2. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından, insanların ortalama %80'inin sağlık alanındaki ilk ihtiyaçlarını geleneksel ilaçlar ile karşıladıkları ve bu tedavilerin çoğunun da bitki ekstreleri ile etkin maddelerinden oluştuğu tahmin edilmektedir (1). Tıbbi bitkilerin iyileştirici özellikleri fenolik içeriklerine, en çok da flavonoidler ile fenolik asitlere bağlanmaktadır (2).

Dış yörüngelerinde eşleşmemiş bir elektron bulunduran serbest radikaller, genellikle kararsız ve çok reaktiftirler. Bu yüzden çevrelerindeki atom ve moleküllere saldırırlar. Serbest radikallerin büyük kısmı reaktif oksijen içeren türler ile reaktif azot içeren türlerden oluşmaktadır (3). Oksijen, canlılarda kimyasal reaksiyonlarda en çok görev yapan elementlerden biri olduğundan kolaylıkla metabolizmada serbest radikale dönüşebilir, bu nedenle oksijenden oluşan radikaller canlılar için önem arz etmektedir (4). Ayrıca teknolojinin gelişmesiyle beraber artan çevre kirliliği, sigara, UV gibi dış etkenler de eklendiğinde serbest radikal oluşumu tetiklenmektedir (5).

Antioksidanlar, vücudun reaktif oksijen türlerinin (ROT) temizleyici antagonistleri olarak düşük miktarlarda görev alan ve oksidasyonu kolay olan maddelerdir. Materyallerin oksidasyonunu yüksek oranda geciktirerek ya da engelleyerek etkilerini gösterirler (6). Ancak vücut içerisinde meydana gelen oksidanlara ek olarak dış etkenlerle maruz kalınan oksidanların miktarının artışıyla antioksidanların koruması sınırlı kalmaktadır. Metabolizmada üretilen H_2O_2 , $HO\cdot$ ve $O_2^{\cdot-}$ gibi ROT'ların miktarındaki artış antioksidanlarla dengelenemediğinde denge oksidanlar tarafına kayar ve oksidatif stres gelişir (7).

Uzun yıllardır sentetik antioksidanlar olarak bütillenmiş hidroksi tolueen (BHT) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), gıdaların besin değerini kaybetmesini engellemek ve raf ömrünü uzatmak amacıyla gıda üreticileri tarafından kullanılmışlardır. Ancak bilim insanları tarafından yapılan çalışmalarda bu sentetik antioksidanların kanserojen oldukları bildirilmiştir (8). Bu sebeple, insan sağlığını tehdit eden sentetik antioksidanların yerine bitkisel materyallerin kullanımı dünya

apında büyük bir ilgi görmüştür. Şifalı bitki araştırmalarına olan bu ilgi, geleneksel terapötik potansiyeli olan bitkisel ürünler üzerine odaklanmıştır (9).

Geleneksel tıpta, birçok farmakolojik aktivite *Teucrium* cinsinin antioksidan, antispazmodik, antihelmintik, antiromatoik, diüretik, antidiyabetik ve antikanser etkilerine atfedilmiştir (10).

Günümüzde, yaşam standartlarının iyileşmesi ve yaşam süresinin uzamasıyla beraber dünyanın yaşlı nüfusu da artmaktadır. İleri yaş demans hastalığı olan Alzheimer hastalığının (AH) da görülme sıklığı artan yaşam süresiyle birlikte artış göstermektedir. 2016 yılında yayınlanan Dünya Alzheimer Raporu'nda, şu anda demansla yaşayan yaklaşık 47 milyon kişi sayısının 2050 yılında 131 milyon olacağı bildirilmiştir (11).

Bilişsel ve işlevsel olarak ilerleyici seyreden kötüleşme ve hafıza ile diğer entellektüel faaliyetlerde bozulmayla karakterize olan AH nörodejeneratif bir hastalıktır. AH'nin en önemli ayırıcı özellikleri; neokortikal bölgede nöronlar arasında beta amiloid plaklarının birikimi, nöron içinde fibriller yumakların varlığı ve sinaptik iletinin bozulmasıdır. Beta amiloid, amiloid prekürsör proteinin proteolitik işlenmesi sonucu oluşan bir peptiddir ve AH'de beta amiloid peptidler birikerek, suda çözünmeyen sert plaklar oluştururlar. Nörofibriller yumakların içinde yer alan tau proteini mikrot b lle ilişkili olup, AH'de hiperfosforile durumdadır (12).

AH'de, merkezi sinir sisteminde selektif olarak gözlenen asetilkolin miktarındaki azalma ve kolinerjik ileti bozulması ile karakterize edilen kolinerjik yetmezlik, hastalığın patogenezisinde önemli bir role sahip olduğundan; hastalıkta asetilkolin miktarının arttırılmasının bilişsel fonksiyonlarda iyileşme sağlayabileceği düşünülmektedir. Amerikan Gıda ve İlaç Cemiyeti (FDA) 1993 yılından itibaren takrin, donepezil, rivastigmin ve galantamin olmak üzere dört tane kolinesteraz inhibitörünün Alzheimer hastalarında kullanılmasını onaylamıştır. Ancak bu ilaçların hastalık üzerinde etkilerinin az ve geçici olduğu ifade edildiğinden kolinerjik sistemin yanı sıra hastalıkta gözlenen diğer patolojik değişimlere de etki edebilecek multimodal ilaçların geliştirilmesine yönelik araştırmalar halen devam etmektedir (13).

Bu yüksek lisans tezi kapsamında, *Teucrium parviflorum* bitkisinin toprak üstü kısımları ile *Teucrium polium* bitkisinin toprak üstü ve kök kısımlarının etanol ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid miktarları, DPPH serbest radikal giderimi, ABTS kation radikali giderimi, metal bağlama aktivitesi ve CUPRAC yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri, asetilkolinesteraz ve bütirilkinesteraz inhibisyonu ile antialzheimer aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Ayrıca LC-MS/MS ile etanol ekstraktların fenolik asitlerinin ve diğer bulunması olası fenolik bileşiklerinin analizi ve Clevenger aparatıyla elde edilen uçucu yağların içeriğinin GC-MS ile analizi amaçlanmıştır. Ayrıca *T. parviflorum* bitkisinin antikolinesteraz aktivitesi ve LC-MS/MS ile kimyasal içeriği ilk kez çalışıldı.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Botanik Bilgiler

3.1.1. Lamiaceae familyası

1789 yılında De Jussieu tarafından Labiatae olarak adlandırılan familyanın ismini 1836'da Lindley Lamiaceae olarak değiştirmiştir (14).

Tzima ve ark. 2018 yılında yayınladıkları çalışmada, Lamiaceae familyasının yaklaşık olarak 236 cins ve 6900 ile 7200 arasında tür barındırdığını bildirmişlerdir (18). Bu aileye ait tıbbi bitkiler, çeşitli hayvan ve insan hastalıklarının tedavisinde antibakteriyel, antioksidan, antitümöral, antifungal, analjezik ve böcek öldürücü olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır. Lamiaceae familyasının iyi bilinen cinsleri *Lamium*, *Teucrium*, *Stachys*, *Marrubium*, *Satureja*, *Salvia*, *Ajuga*, *Phlomis* ve *Origanum*'dur. Bu familyadaki en büyük cins yaklaşık 1000 türü mevcut olan *Salvia*'dır (16).

Lamiaceae familyasında; gövde dört köşeli olup yapraklar genellikle basit dizilişlidir. Çiçekler her nodusta vertisillastrum durumunda, zigomorf ve bilabiattır. Çiçeklerde kaliks beş loblu, genellikle bilabiattır; korolla bilabiattır fakat bazen üst dudak eksik olabilir. İki stamen bulunabileceği gibi çoğu zaman dört tanedir, filamentler eşit boydadır ve genellikle didinamdır (17).

Türkiye, coğrafik olarak farklı iklim kuşaklarının bulunduğu bir konuma sahip olmasıyla, bitki çeşitliliği açısından zengin bir ülkedir. Alternatif tıpta farmakolojik etkilerinden sıklıkla faydalanan Lamiaceae familyasına ait bitkiler bakımından Türkiye önemli bir gen merkezidir. Lamiaceae familyası ülkemizde 46 cins ve 260'ı endemik olan 586 tür ile temsil edilir. %44,2 olan endemizm oranı ile Türkiye'nin bitki tür ve çeşitliliği açısından en zengin üçüncü familyasıdır (18-20).

3.1.2. *Teucrium* cinsi

Polimorfik ve kozmopolit olan *Teucrium* cinsi yaklaşık 290 türden (380 takson) oluşur. *Teucrium* Avrupa, Asya, Amerika ve Avustralya'da yaygın olarak dağılım

gösterir, ana dağılım alanı tüm taksonların yaklaşık %96'sını içeren Akdeniz bölgesidir (20).

Teucrium türleri, tüm dünyada kaliks şekilleri ve çiçeklenme yapıları açısından 10 seksiyona ayrılmıştır. Bunlar; *Teucriopsis* Benth., *Teucrium*, *Chamaedrys* Miller Schreber, *Polium* Miller Schreber, *İzotriodon* Boissier, *Pycnobotrys* Benth., *Scorodonia* (Hill) Schreber, *Stachyobotrys* Benth., *Scordium* Reichenbach ve *Spinularia* Boissier'dir. *Teucriopsis* ve *Pycnobotrys* seksiyonları Türkiye'de bulunmamaktadır. *Teucrium* cinsinin 18'i endemik olmak üzere 49 taksonu (36 tür) Türkiye'de doğal olarak yetişmektedir (21).

Polium Benth. seksiyonunun üyesi olan *Teucrium polium*, *Teucrium multicaule* Montbret Et Aucher Ex Benth., *Teucrium parviflorum* Schreber ve *Teucrium chamaedrys* türleri Türkiye'de oldukça geniş bir coğrafik yayılıma sahiplerdir (22).

Teucrium cinsi bitkileri; çalimsı, yarı çalimsı ve çok yıllık bitkiler olup, yapraklar karşılıklı, sapsız veya saplı, basit, kenarları düz, dişli veya lobludur. Çiçek düzenleri basitten birleşige kadar çeşitlidir. Çanak yapraklar ışınsaldan 2 dudaklıya, tüpsü, çansı ya da tüpsü-çansı, 5 loblu, çoğunlukla 10 damarda bariz belli ya da bazen ana damarlar daha belirgin, loblar aynı veya biri diğer 4'ünden farklı ya da değişik türlerde değişik loblar farklılık göstermekle birlikte çanak yaprak tüpü alt tabanda şişkin veya olmayabilir. Taç yapraklar çok farklı renklerde genellikle bir dudaklıdır. Erkek organ 2'si kısa 2'si uzun 4 adet, filamentler düz veya kıvrımlı ve anter kabukları birbirinden ayrılmış şekildedir. Polen kapakçıklı, dış kısımda genellikle siğilimsidir. Dişi organ 2 odacıklı ve 4 lobludur. Genellikle endosperm mevcuttur (17).

3.1.3. *Teucrium parviflorum*

Teucrium parviflorum, boş araziler, tarla kenarları ve nadas arazilerde doğal olarak bulunur. Türkiye'de en çok İç Anadolu Bölgesinde yayılış gösterir. Çiçeklenme dönemi Mayıs-Ağustos aylarıdır (17).



Resim 1: *T. parviflorum* (Orijinal; Hasankeyf/Batman, 2018)

T. parviflorum bariz rizomlu, tabanda odunsu çok yıllıktır. Gövdesi bariz dört köşelidir. Yaprakları kalpsi ya da yumurtamsı, alttakiler hafif yuvarlağımsı çoğunlukla 3 parçalıdır. Braktesi de genellikle 3 parçalıdır. Çiçek düzeni birleşik salkım şeklinde, çiçek sapları bariz kaliks ve braketlerden uzun, yeşilimsi mavimsi renktedir. Kaliks çan şeklinde, bariz 10 damarlı, dişler birbirine hemen hemen eşit, dar üçgenimsi ya da mızrağımsı, uçta sivrimsi, dişler yarısından üstte ya da tamamen mavimsi-morumsudur. Korolla altta kamburlu, daha çok mavimsi ya da mavi-mor, korolla tüpü lobları yuvarlağımsıdır. Stamen, korolla tüpünü çok az geçmiş, kısa olanlar 3-3,5 mm, uzun olanlar 4 mm, 1-2 hücreli örtü tüylü ve 1 sap hücreli salgı tüylü, saplı salgılılar üstte daha yoğun ve tabanda yoğun örtü tüylüdür (17).

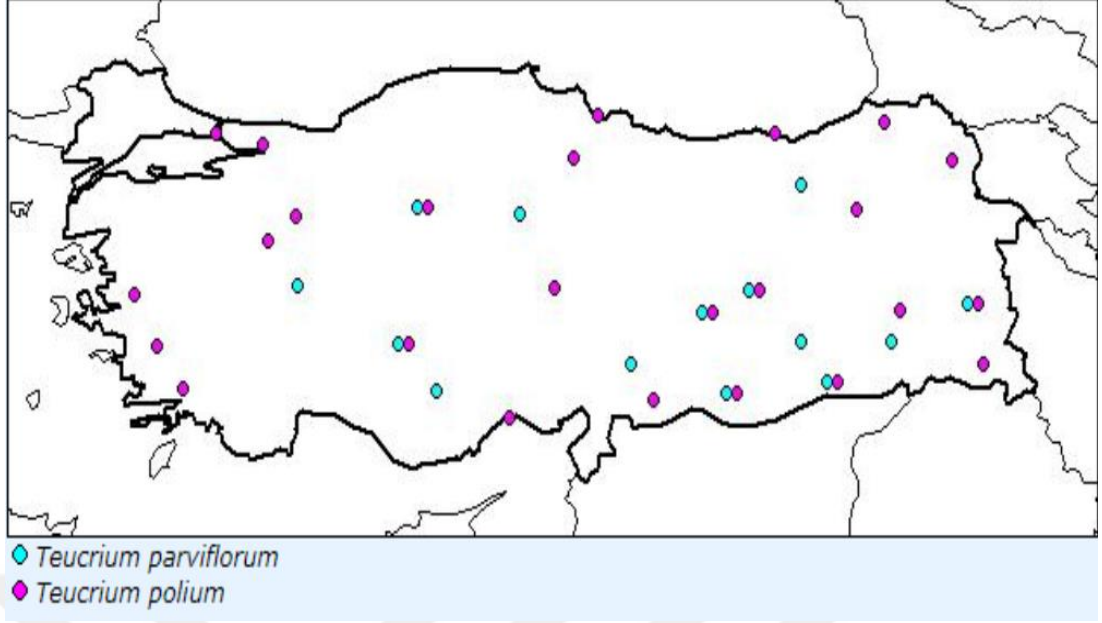
3.1.4. *Teucrium polium*

Halk arasında “Taşkekiği, Acıyavşan, Meryem otu, Oğlan otu, Sancı otu, Kurtluca, Yer çamı” isimleri ile bilinen *Teucrium polium*, Akdeniz'in kayalık ve kumlu bölgelerinde, Avrupa'nın farklı bölgelerinde, Afrika'nın kuzeyi ve Güneybatı Asya bölgelerinde dağılım göstermekle birlikte ülkemizde de bütün bölgelerde doğal olarak yetişmektedir. Çalılık ve makiliklerde, bozkırlarda, tarlalarda, su kıyılarında, kayalıklarda ve kurak yamaçlarda yayılış göstermektedir (23, 24).



Resim 2: *T. polium* (Orijinal; Maden/Elazığ, 2018)

Çok yıllık olan bitkinin gövdesi, 10-40 cm'ye kadar boylanabilen, toprak üzerinde yatık veya dik, beyaz veya gri renkli ve tüylü yapıdadır. Yapraklar dikdörtgensel, dar ters yumurtamsı şekilde, kenarları uca doğru dişli ve içe doğru kıvrıktır. Çiçekler çok kısa saplıdır. Çiçek yaprakları doğrusal şekilde, çentikli veya bütündür. Taç yapraklar beyazımsıdır ve tohumlar 2 mm boyutundadır. Haziran-Eylül aylarında çiçeklenir. Bitkinin görsel karakteristiğini, çiçeklerinden çok tüylü gövdesi ve yapraklarının yapısı oluşturmaktadır (25).



Şekil 1: *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinin Türkiye’de yetiştiği yerler (<http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php>, Erişim tarihi: 15 Mayıs 2019)

3.2. *Teucrium* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı

Teucrium türleri, 2000 yıldan daha fazla süredir diüretik, terletici, antiseptik ve antipiretik maddeler olarak kullanılmıştır. Bazı türlerin anti-feedant aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (26). Yemeni halk tıbbında antispazmodik ve böcek kovucu madde olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (27). *Teucrium* türleri tonik, terletici ve iştah açıcı olarak, antispazmodik, idrar söktürücü, antidiyabetik, antiseptik, antiromatoid, antihelmintik, antiflojistik, karminatif ve tatlandırıcı ajanlar olarak Türk halk tıbbında kullanılmıştır (28, 29).

T. polium geleneksel olarak; antispazmodik, antidiyareik ve antiülseratif etkileri ile gastrointestinal bozukluklar, inflamasyon, egzama, idrar yolu enfeksiyonu, diyabet ve romatizmal hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Etnobotanik olarak, genellikle çay ve toniklerin hazırlanmasında ve ayrıca bir baharat bitkisi olarak kullanılır. Bu bitki temel olarak halk hekimliğinde zihinsel performansı iyileştirmek için kullanılmaktadır (30, 31). Türkiye’de coğrafik yayılımı geniş olan *T. polium*’un anti-romatizmal, zayıflatıcı, tansiyon düşürücü gibi birçok tıbbi etkiye sahip olduğu (32), yaprakları çiğ olarak çiğnendiğinde ağrıları, özellikle de karın ağrısını kısa sürede kestiği ayrıca bu bitkilerin serbest radikal giderici ve

bitki ekstralarının de doğal antioksidan olarak kullanılabileceği ortaya konulmuştur (33).

T. chamaedrys, Balkan Ülkeleri'nde geleneksel olarak cilt iltihaplarının, açık yaraların, eklem ağrısının, karaciğer hastalıklarının tedavisinde ve idrar söktürücü olarak kullanılır (34). Ayrıca geleneksel İngiliz tıbbında, romatizma ve gut tedavisinde Portland Tozu'nun bir parçası olarak kullanılmıştır (35). Haricen de diş eti kanamalarını durdurucu ve yaraların tedavisinde kullanılmaktadır. Çok yaygın ve oldukça fazla araştırılan bir tür olan *T. chamaedrys* kilo kontrolünde kullanımından dolayı pazarlanmaktadır. Ancak Avrupa Ülkeleri'nde yoğun kullanımı olan *T. chamaedrys* ile yapılan toksisite çalışmalarında, içeriğindeki furanoneoklerodan diterpenlerin hepatotoksisiteden sorumlu bileşikler olduğu bildirilmiştir, ardından *T. chamaedrys* içeren preparatlar yasaklanmıştır (36).

T. chamaedrys subsp. *sinuatum*'un hemoroidde, antispazmodik olarak ve bağırsak kolığında kullanılmıştır (37).

T. alopecurus geleneksel tıpta yaygın olarak anti-enflamatuvar olarak kullanılmaktadır (38).

T. pruinosum esansiyel yağı, geleneksel tıpta gastrointestinal bozukluklar, enfekte olmuş yaralar, ateş ve soğuk algınlığı semptomlarının tedavisi için kullanılmıştır (39).

Lübnan'da *T. orientale* çiçeklerinin infüzyonu halk hekimliğinde hipoglisemik, antihelmintik, antipiretik ve gastrointestinal problemlerin tedavisinde kullanılmıştır. Yemeni halk tıbbında antispazmodik ve böcek kovucu olarak kullanılmaktadır. Sardunya, Siniscola Baronesi'nde geçmişte sıtmayı tedavi etmek için kullanılmıştır (28).

İran'da endemik bir bitki olan *T. persicum* geleneksel olarak baş ağrısı ve kolit gibi karın ağrıları tedavisinde kullanılır (40).

T. stocksianum Boiss yaprakları sarılık, öksürük, ishal, karın ağrısında kullanılır (41).

Suudi Arabistan ve Yemen'de yaygın olarak yetiştirilen Reehal Fatima olarak bilinen *T. yemense*, böbrek hastalıkları, romatizma ve diyabet tedavisinde kullanılmaktadır (26).

T. divaricatum bitkisinin antiülserojenik etkisinin olduğu, ayrıca etanol ekstresinin sivrisinek larvalarına karşı oldukça etkili bir toksik olduğu bildirilmiştir (42).

3.3. *Teucrium* Türleri ile Yapılan Kimyasal Çalışmalar

Literatür çalışmalarında *Teucrium* türleri için saptanan ana kimyasal bileşikler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1: *Teucrium* türlerinde saptanan ana kimyasal bileşikler

Elde edilen <i>Teucrium</i> türü	Bileşik Sınıfı	Kaynaklar
Fenolik asitler		
<i>T. polium</i>	Kafeik asit, ferulik asit	Proestos ve ark. 2006 (43)
<i>T. arduini</i>	Kersetin, ferulik asit, rosmarinik asit	Kremer ve ark. 2013 (44)
<i>T. quadrifarium</i>	Protokateşik asit, p-hidroksibenzoik asit, klorogenik asit, kafeik asit, şiringik asit	Tripathi ve ark. 2014 (45)
<i>T. polium</i>	Vanillik asit, ferulik asit, rosmarinik asit	Özşahin ve ark. 2016 (46)
<i>T. orientale</i> <i>var. glabrescens.</i>	Rosmarinik asit, p-kumarik asit, p-hidroksibenzoik asit	Yildirmiş ve ark. 2017 (47)
<i>T. polium</i>	Gallik asit, vanillik asit, kafeik asit, klorogenik asit, p-kumarik asit, sinapinik asit	Milošević-Djordjević ve ark. 2018 (48)
<i>T. scordium</i>	Vanillik asit, p-kumarik asit, sinapinik asit	Milošević-Djordjević ve ark. 2018 (48)
Flavonoidler		
<i>T. polium</i>	Rutin, luteolin, apigenin, cirsiliol, salvigenin	Rizk ve ark. 1986 (49)
<i>T. polium</i>	Luteolin	Proestos ve ark. 2006 (43)
<i>T. polium</i>	Luteolin, apigenin	Mitreski ve ark. 2014 (50)
<i>T. polium</i> <i>var. Gnaphalodes</i>	Jaranol, isorhoifolin	Boghrati ve ark. 2016 (51)
<i>T. oliverianum</i>	8-O-acetylharpagid, eupatorin	Shahat ve ark. 2016 (52)

<i>T. gnaphalodes</i>	Diosmin	Prabhu ve ark. 2016 (53)
<i>T. polium</i>	Kateşin, rutin, mirsetin, luteolin, kersetin, apigenin	Milošević-Djordjević ve ark. 2018 (48)
<i>T. scordium</i>	Kateşin, rutin	Milošević-Djordjević ve ark. 2018 (48)
<i>T. chamaedrys</i>	Cirsiliol	Frezza ve ark. 2018 (54)
Neoklerodan Diterpenler		
<i>T. bicolor</i>	(12R)-epi-teuscordonin, montanin C, teucvin, 12-epi-teucvin, teupolin I, 12-epi-teupolin I, and (12S)-teucrin H-2	Labbe ve ark. 1989 (55)
<i>T. chamaedrys</i> ssp. <i>sypsiense</i>	Syspirensins A, syspirensins B	Çalış ve ark. 1996 (56)
<i>T. sandrasicum</i>	Sandrasin A, 6-deasetilsandrasin A, sandrasin B	Topçu ve ark. 1996 (57)
<i>T. alpestre</i>	Teupyrenon, 3-acetylteumicropin, teumicropin, deacetylteupyrenone	Piozzi ve ark. 1997 (58)
<i>T. cuneifolium</i>	Deacetylteupyrenone	Piozzi ve ark. 1997 (58)
<i>T. divaricatum</i>	Teucrin A, teuflin, teuflidin, teuscordinone, 6 β -hydroxyteuscordin, teugin, dihydroteugin, montanin D	Piozzi ve ark. 1997 (58)
<i>T. flavum</i>	Teuflin, teucvidin, 12-epi-teucvidin	Piozzi ve ark. 1997 (58)
<i>T. massiliense</i>	Teumassilenins A, teumassilenins B, teumassilenins C, teumassilenins D,	Fontana ve ark. 1998 (59)
<i>T. maghrebinum</i>	12-epi-teucjaponin A, 12-epi-montanin D, 12-epi-montanin B, teucjaponin A, montanin D, 19-deacetylteuscorodol, teusalvin C, montanin B	Bruno ve ark. 2000 (60)
<i>T. montbretii</i> subsp. <i>libanoticum</i>	3 β -hydroxyteubutilin A, 12-epi-montanin G, 20-epi-3,20-di-Odeacetylteupyreinidin, 6-ketoteuscordin, teuscordinon, 6 β -hydroxyteuscordin, montanin D, 3,20-di-O-deacetylteupyreinidin, montanin G, 3-Odeacetylteugracilin A	Bruno ve ark. 2002 (61)
<i>T. oliverianum</i>	12-O-methylteucrolin A, teucrolivin, teucrolivin B	Shahat ve ark. 2016 (52)

<i>T. polium</i>	20-O-acetyl-teucrasiatin	Venditti ve ark. 2017 (62)
<i>T. yemense</i>	Fatimanol A, fatimanol B, fatimanol C, fatimanol D, fatimanol E, fatimanon	Nur-E-Alam ve ark. 2017 (26)
İridoitler		
<i>T. yemense</i>	Teucardosid, 8-O-acetylharpagid	Abdel-Sattar ve ark. 1998 (63)
<i>T. oliverianum</i>	8-O-acetylharpagid	Shahat ve ark. 2016 (52)
<i>T. chamaedrys</i>	Harpagide, 8-O-acetyl-harpagide	Frezza ve ark. 2018 (54)
Doymuş ve doymamış yağ asitleri		
<i>T. paederotoides</i>	Hegzadekanoik asit	Kaya ve ark. 2013 (36)
<i>T. pseudochamaepitys</i>	Hegzadekanoik asit	Hammami ve ark. 2015 (64)
<i>T. polium</i>	Palmitik asit, oleik asit, linoleik asit	Özşahin ve ark. 2016 (46)
Steroidler ve triterpenler		
<i>T. oliverianum</i>	24 (S)-stigmasta-5, 22, 25-trin-3 β -ol	Shahat ve ark. 2016 (52)
Fenil etanoid glikozitleri		
<i>T. chamaedrys</i>	Verbaskozit, forsitozit b, samiozit, alyssonoside	Frezza ve ark. 2018 (54)
Uçucu yağ bileşenleri		
Monoterpenler		
<i>T. sauvagei Le Houerou.</i>	α -Thujen, sabinen	Bel Hadj Salah ve ark. 2006 (66)
<i>T. ramosissimum</i>	α -Thujen, sabinen,	Ben Sghaier ve ark. 2007 (67)
<i>T. chamaedrys</i> subsp. <i>Sypirens</i>	α -Pinen	Kaya ve ark. 2009 (68)
<i>T. chamaedrys</i> subsp. <i>trapezenticum</i>	α -Pinen	Kaya ve ark. 2009 (68)

<i>T. polium</i>	α - Pinen, β -pinen, sabinen, mirsen	De Martino ve ark. 2010 (69)
<i>T. arduini</i>	Pulegon, piperiton oksit	Kremer ve ark. 2015 (70)
<i>T. polium</i> L. <i>subsp. Polium</i>	β -Pinen	Hayta ve ark. 2017 (71)
<i>T. polium</i>	α -Pinen, cis-verbenol, mirtenal	Nikpour ve ark. 2018 (72)
Seskiterpenler		
<i>T. polium</i>	Germakren D-4-ol, β -karyofilen, spatulenol	Vokou ve Bessiere 1985 (73)
<i>T. salviastrum</i>	E- β -farnesen, E-karyofilen, germakren D	Cavaleiro ve ark. 2002 (74)
<i>T. marum</i>	İsokaryofilen, β -bisabolen, β -seskifellandren, α -santalen, dolichodial, α - karyofilen	Ricci ve ark. 2005 (75)
<i>T. chamaedrys</i>	Germakren D, (Z)- β -farnesene, β -karyofilen	Katayoun ve ark. 2005 (76)
<i>T. sauvagei</i> Le Houerou.	β -Eudesmol, T-kadinol, γ -kadinen,	Bel Hadj Salah ve ark. 2006 (66)
<i>T. ramosissimum</i>	B-eudesmol, karyofilen oksit, T-kadinol	Ben Sghaier ve ark. 2007 (67)
<i>T. chamaedrys</i> subsp. <i>sypirens</i>	Karyofilen oksit, karyofilenol II	Kaya ve ark. 2009 (68)
<i>T. chamaedrys</i> subsp. <i>trapezenticum</i>	β -Karyofilen, germakren D, karyofilen oksit	Kaya ve ark. 2009 (68)
<i>T. chamaedrys</i>	β -Karyofilen, germakren D	Muselli ve ark. 2009 (77)
<i>T. chamaedrys</i>	Germakren D, β -karyofilen, bisiklogermakren, ve β -farnesen	Bağcı 2010 (78)
<i>T. multicaule</i>	Germakren D, karyofilen oksit, spatulenol, β -karyofilen	Polat 2010 (79)
<i>T. orientale</i> var. <i>orientale</i>	β -Karyofilen, germakren D, karyofilen oksit	Küçükbaş ve ark. 2011 (28)
<i>T. orientale</i> var. <i>puberulens</i>	β -Karyofilen, karyofilen oksit, germakren D	Küçükbaş ve ark. 2011 (28)
<i>T. parviflorum</i>	β -Karyofilen, germakren D, karyofilen oksit, bisiklogermakren	Bağcı 2011 (80)
<i>T. orientale</i> var. <i>orientale</i>	Germakren D, bisiklogermakren	Özek ve ark. 2012 (81)
<i>T. orientale</i> var. <i>puberulens</i>	Germakren D, bisiklogermakren	Özek ve ark. 2012 (81)
<i>T. orientale</i> var. <i>glabrescens</i>	β -Cubeben, α -cubeben, α -copaen	Özek ve ark. 2012 (81)
<i>T. persicum</i> Boiss	α -Kadinen, 1,4-kadinadien, linalool,	Miri ve ark. 2012 (82)
<i>T. scorodonia</i> L. subsp. <i>scorodonia</i>	Germakren B, γ -elemen	Djabou ve ark. 2012 (83)

<i>T. cavernarum</i>	β -Karyofilen, germakren D, karyofilen oksit, bisiklogermakren	Kaya ve ark. 2013 (36)
<i>T. paederotoides</i>	Germakren-D, pulegon, bisiklogermakren, spatulenol	Kaya ve ark. 2013 (36)
<i>T. lamiifolium</i> subsp. <i>lamiifolium</i>	β -Karyofilen, trans- β -bergamoten, germacren D, (Z) - β -farnesen	Doğu ve ark. 2013 (84)
<i>T. lamiifolium</i> subsp. <i>stachyophyllum</i>	Trans- β -bergamoten, β -karyofilen	Doğu ve ark. 2013 (84)
<i>T. arduini</i>	β - Karyofilen, germakren	Kremer ve ark. 2013 (44)
<i>T. polium</i>	11-Acetoxyeudesman-4- α -ol, α -bisabolol, β -bisabolol, (E)-karyofilen, karyofilen oksit, α -bisabololoksit B	Sadeghi ve ark. 2014 (85)
<i>T. polium</i> subsp. <i>capitatum</i>	α -Kadinol, karyofilen oksit, α -muurolol epi, kadalen, longiverbenon	Khani ve ark. 2014 (86)
<i>T. arduini</i>	β - Karyofilen, karyofilen oksit	Kremer ve ark. 2015 (70)
<i>T. flavum</i>	β - Karyofilen, α -humulene	Hammami ve ark. 2015 (65)
<i>T. pseudochamaepitys</i>	Apiole, karyofilen oksit, myristicin, E- β -damascenon, α -cubeben, β - karyofilen, elemicin	Hammami ve ark. 2015 (64)
<i>T. multicaule</i> Montbret Et Aucher Ex Benth	Karyofilen oksit	Hayta ve ark. 2017 (71)
<i>T. ramosissimum</i>	δ -Kadinen, δ -kadinol, γ -eudesmol, γ -gurjunen, 8-cedren	Ghazouani ve ark. 2017 (87)
<i>T. hircanicum</i>	(E)- α -Bergamoten, (E)- β -farnesen	Rahimi ve ark. 2018 (88)
<i>T. alopecurus</i>	(+)-Epibisiklo seskifellandren, α -Bisabolol, T-muurolol, α -cadinol, β -felandren, limonen	Guesmi ve ark. 2018 (38)
<i>T. pruinosum</i>	Agarospinol, karyofilen, D-limonen, α - β - fellandren, β -humulen	Jaradat ve ark. 2018 (89)

3.4. *Teucrium* Türleri ile Yapılan Aktivite Çalışmaları

Şifalı bitkilerin terapötik faydaları genellikle antioksidan özelliklerine atfedilir (90, 91). Antioksidanlar, kardiyovasküler hastalık riskini azaltmada önemli rol oynarlar ve hepatoprotektif ve antibakteriyel aktiviteler de dahil olmak üzere çok

çeşitli biyolojik aktiviteler sergilerler (92). Son yıllarda yapılan farklı araştırmalar, *T. polium*'un yüksek antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) analizi ile *Tecrium* türlerinde en yüksek flavonoid seviyelerinin *T. chamaedrys* ve *T. polium*'da olduğu gösterilmiştir. Tablo 2'de *T. polium*'un biyolojik aktiviteleri ve farklı çalışmalara göre tıbbi özellikleri verilmiştir.

Tablo 2: *T. polium*'un biyolojik aktiviteleri ve farklı çalışmalara göre tıbbi özellikleri

Kaynaklar	Grup	<i>Teucrium polium</i>
Twaij ve ark. 1987 (93)	Sıçan	Mide ülserinde iyileşme
Gharaibeh ve ark. 1988 (94)	Sıçan	Kan şekeri konsantrasyonunda belirgin azalma
Lalibert ve Villeneuve 1996 (95)	İnsan	Letarji, sarılık, yüksek karaciğer enzimleri (<i>T. polium</i> 6 ay kullanıldığında)
Zal ve ark. 2001 (96)	Sıçan	8 gün içerisinde glukoz azalması Karaciğer loblarında dejeneratif değişiklikler
Rasekh ve ark. 2001 (97)	Hiperlipidemik sıçan	Hipolipidemik etki
Suboh ve ark. 2004 (98)	In vitro	Eritrositlerin lipid peroksidasyonuna karşı korunması
Afifi ve ark. 2005 (99)	Tavşan	Kan şekeri üzerinde önemli bir etkisi yoktur
Baluchnejadmojarad ve ark. 2005 (100)	Sıçan	Analjezik etki
Kadifkova ve ark. 2005 (33)	Sıçan	Karaciğerdeki demir kaynaklı lipid peroksidasyonunun Trolox benzeri baskılanması
Shahraki ve ark. 2006 (101)	Sıçan	Diyabetik farelerin kan şekeri seviyesini düşürür
Panovska ve ark. 2007 (102)	Sıçan	Karaciğer onarımı ve rejenerasyonu
Nematollahi-Mahani ve ark. 2007 (103)	In vitro	Hücre hatlarında büyümenin inhibisyonu
Eskandary ve ark. 2007 (104)	In vitro	REYF-1 klonal hücre hattı formasyonunu azaltmak
Rajabalian 2008 (105)	In vitro	Hücre hatlarında sitotoksiste
Mehrabani ve ark. 2009 (106)	Sıçan	Mide ülseri indeksini % 90 azaltır

Menichini ve ark. 2009 (107)	In vitro	Hücre hatlarında sitotoksiste
Mousavi ve ark. 2012 (108)	Sıçan	Düşük obezite parametreleri
Mahdinia ve ark. 2013 (109)	In vitro	Hücre hatlarında sitotoksiste
Ayoubi ve ark. 2013 (110)	Sıçan	Diyabetik farelerde düşük glukoz
Belmekki ve ark. 2013 (111)	In vitro	Bakteriler üzerinde inhibisyon etkisi
Sharma ve ark. 2013 (112)	In vitro	Lenfositlerde radyasyona bağlı kromozom hasarı üzerinde koruyucu etki
Tabatabaei ve ark. 2014 (113)	In vitro	Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etki
Mousavi ve ark. 2015 (114)	Sıçan	Diyabetin hafıza üzerindeki yıkıcı etkilerini iyileştirmek
Abadian ve ark. 2016 (115)	İnsan	Dismenorede azalma (adet döngüsünün ilk üç günü her altı saatte bir <i>Teucrium polium</i> tozu)
Sevindik ve ark. 2016 (116)	In vitro	Bakteriler üzerinde inhibisyon etkisi
Baali ve ark. 2016 (31)	Sıçan	Hepatoprotektif aktivite ile hepatik oksidatif stresin azaltılması
Khodaei ve ark. 2018 (117)	In vitro	Kolorektal kanser hücre hattında mitokondriyal değişiklikler yoluyla antikanser aktivite

Ricci ve ark.'nın *T. marum* ile yaptığı çalışmada, bitkinin antimikrobiyal ve antioksidan etkileri olduğu açığa çıkarılmıştır (75).

Stankovic ve ark.'nın farklı *Teucrium* türleri ile yaptığı çalışmada; *T. chamaedrys*, *T. montanum*, *T. arduini* ve *T. scordium* subsp. *scordium*'un antiproliferatif etkilere sahip oldukları bu nedenle etkili antikanser bileşenlerini bulmak için daha ileri çalışmalar için uygun adaylar olarak düşünülebilicekleri bildirilmiştir (118).

Türkoğlu ve ark. tarafından *T. parviflorum* ile yapılan çalışmada; bitkinin yaprak ve çiçeklerinin su ve etanol özütlerinin, BHA, BHT ve α - tokoferol gibi standartlara kıyasla güçlü antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (119).

Prescott ve ark. tarafından yapılan preklinik bir çalışmada, *T. chamaedrys*'in ana aktif bileşeni olarak teukrioizid tanımlanarak, bunun kalsinörinin inhibe edilmesinde etkili olduğu, dolayısıyla potansiyel olarak enflamatuvar durumların azaltılmasında rol oynadığı sonucuna varılmıştır (120). Kouzi ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada da, *T. chamaedrys*'in başlıca furanoneoklerodan diterpenlerinden biri olan teukrin A'nın farelerde hepatotoksositeye neden olduğu bildirilmiştir (121).

Diğer taraftan çok sayıda çalışmada; büyük ölçüde konsantrasyon (122) ve ayrıca fizyolojik parametrelere (123) bağlı olarak görülen antimutajenik / promutajenik ve antioksidan / prooksidan aktiviteler ile flavonoidlerin çift biyolojik aktiviteleri olduğu gösterilmiştir. Milošević-Djordjević ve ark.'nın *T. polium* ve *T. scordium* ile yaptığı çalışmada; her iki bitkinin yalnızca en yüksek metanolik özüt konsantrasyonlarının genotoksik etkilere sahip olduğu ve ekstrenin daha yüksek konsantrasyonlarında bulunan flavonoidlerin yüksek seviyelerinin promutajenik etkiye neden olabileceği gösterilmiştir (48). Bununla beraber Erdem ve ark.'nın 2012'de yaptıkları çalışma, yüksek dozda vanilik asidin in vitro olarak DNA üzerinde genotoksik etkileri olduğunu ve uygun bir şekilde düşük dozda kullanıldığında oksidatif DNA hasarını önleyebileceğini göstermiştir (124).

Kremer ve ark. 2013 yılında yaptıkları çalışmada, *T. arduini*'nin kersetin, ferulik asit, rosmarinik asit bileşiklerinden dolayı radikal süpürücü ve şelatlayıcı özelliklere sahip iyi bir antioksidan kaynağı olduğunu göstermiştir (44).

“Mor Kuyruklar” olarak da bilinen *T. hyrcanicum*, İran'a özgü bir bitki olup, analjezik ve anti-enflamatuvar faaliyetler sergilediği gösterilmiştir (125). Yapılan başka bir çalışmada, *T. hyrcanicum*'un yüksek flavonoid içeriğinin önemli antioksidan etkileri olduğu gözlemlenmiştir (126).

Ben Sghaier ve ark. tarafından, *T. ramosissimum* ekstraktının flavonoidler ve polifenoller gibi bileşiklerden türetilebilecek güçlü antioksidan, antiproliferatif ve antigenotoksik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (127).

Guesmi ve ark. tarafından *T. alopecurus*'un alternatif tamamlayıcı kanser tedavisi olarak kullanımının araştırıldığı hücre kültürü çalışmasında, *Teucrium*

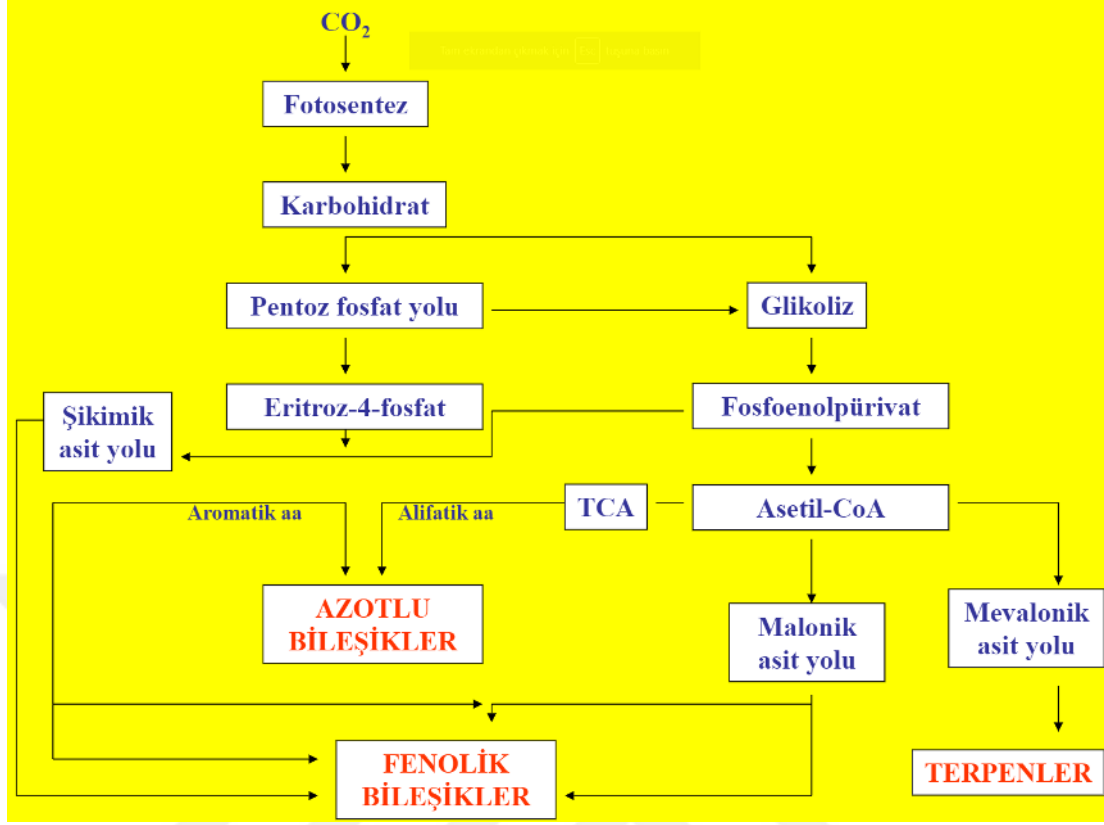
esansiyel yağının, kolon karsinom hücrelerinin büyümesini baskılamakta etkin olduğunu ortaya çıkarılmıştır (38).

T. pruinosa esansiyel yağıyla Jaradat ve ark. tarafından yapılan çalışmada, siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimine karşı seçici inhibisyonu ile etodolak ile hemen hemen aynı potansiyel anti-enflamatuvar aktiviteye sahip olduğu, aynı zamanda serviks adenokarsinomlu hücrelerde sitotoksik etki gösterdiği ve antioksidan etkilerinin olduğu bildirilmiştir (89).

3.5. Sekonder Metabolitler

Patojenik yaşam tarzını temsil edenler de dahil olmak üzere bitkiler sürekli olarak mikrobiyal zararlılara maruz kalır. Bu sürekli maruziyete karşın, genellikle patojenik mikroorganizmaların bitkilerin doğal habitatlarında başarılı bir kolonizasyon gerçekleştirmeleri nadirdir. Bu durum son yıllarda büyük ölçüde deşifre edilen bitki bağışıklık sistemlerinin sağlamlığını göstermektedir. Ancak, patojenlerin büyümemesi süreci hakkında nispeten az şey bilinmektedir. Deneysel çalışmalar hücre duvarı sağlamlaştırılmasının, antimikrobiyal peptitlerin üretiminin ve düşük moleküler ağırlıklı sekonder metabolitlerin biyosentezinin enfeksiyonun ilerlemesinin kısıtlanmasına katkıda bulunduğunu göstermektedir. (128). Ayrıca sekonder metabolitler UV radyasyonuna, fotosentez stresine, reaktif oksijen türlerine ve yaralara karşı koruma sağlar ve tozlaşmaya katkıda bulunur (129).

Sekonder metabolitler, sadece belirli bir cins/türe özel olabilir, biyosentez esnasında belirli bir zaman ve miktarda oluşur, sentezlendikleri yerden farklı organ, doku veya sistemlerde depolanır ve gerektiğinde sentezlerde kullanılır ya da enerji ihtiyacını karşılar (130). Sekonder metabolitlerin oluşumu Şekil 2’de gösterilmiştir.

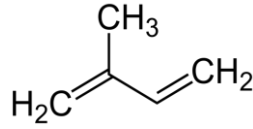


Şekil 2: Sekonder metabolitlerin oluşumu (131)

Bu çalışmamızda *Teucrium* türlerinde başlıca görülen sekonder metabolitlerden bahsedeceğiz.

3.5.1. Terpenler

Terpenler, sekonder metabolitler içerisinde en geniş sınıfı barındırır. Terpenler pek çok bitkide herbivorlara karşı savunma görevi yapar. Terpenlerin gösterdiği toksisite, bitkisel olarak beslenen memeli ve böcekler için caydırıcı özelliktedir. Bitkilere kendine özgü kokularını veren uçucu yağlar genellikle terpen yapılıdır. Terpenler, Şekil 3'te yapısı verilen izopren adlı beş karbonlu ünitelerin çeşitli sayılarda birleşmesi sonucu oluşur (130).



Şekil 3: İzopren molekülü (C₅H₈)

Tablo 3'te de gösterildiği gibi terpenler kendilerini oluşturan karbon sayılarına göre sınıflandırılırlar.

Tablo 3: Terpenlerin sınıflandırılması (130)

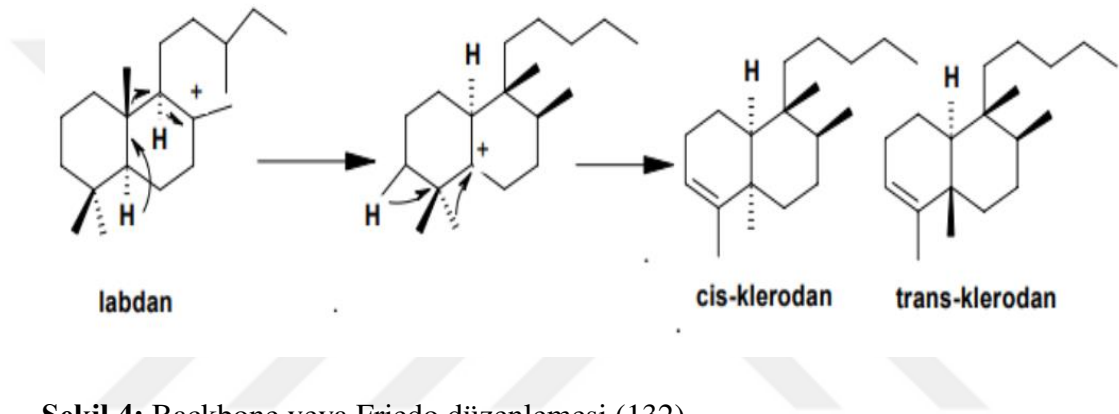
Terpenler	İzopren molekül sayısı	Karbon sayısı	Oluşturduğu yapı
Monoterpen	2	10	Uçucu ya da eterik yağlar örn; Limonen, mentol
Seskiterpen	3	15	Uçucu ya da eterik yağlar, fitoaleksiner, absisik asit
Diterpen	4	20	Reçineler, fitoaleksiner, gibberellin.
Triterpenler	6	30	Brassinosteroidler, fitoaleksiner, pek çok toksin, fitosteroller, mumlar
Tetraterpenler	8	40	Karotenoidler
Politerpenler	>8	>40	Kauçuk

Aromatik bitkilerden farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen uçucu yağlara, oda sıcaklığında ve hava ile temasında uçucu hale geçtiklerinden dolayı bu isim verilmiştir ve halk arasında esans diye de adlandırılmaktadır. Fenilpropanoidler, yağ asitleri ve esterleri gibi bileşenler uçucu yağlarda tespit edilse de; monoterpenler, seskiterpenler ve diterpenler uçucu yağlarda en çok tespit edilen maddelerdir (130).

Literatür çalışmaları incelendiğinde, uçucu yağların *Teucrium* türlerinde sıklıkla çalışıldığı görülmektedir. *Teucrium* türlerinde genellikle β -karyofilen, germakren D, karyofilen oksit, β -farnesen ve isokaryofilen tespit edilen major bileşenlerdendir ve seskiterpen grubunu oluşturmaktadırlar (36, 44, 64, 81, 84).

Teucrium, *Ajuga* ve *Scutellaria* türlerinden izole edilen klerodanlar ve neoklerodanlar insekt anti-feedant olarak etki göstermektedir. Klerodanlar ve neoklerodanlar Backbone veya Friedo düzenlemeleri sonucu labdanlardan elde

edilebilir. Bu düzenlemeler C8 çift bağının protonlanmasıyla C9'dan C8'e hidrür göçmesiyle başlar ve sonra C10'dan C9'a bir metil grubu göçer. C5'ten C10'a ileri bir hidrür göçü ve C4'ten C5'e bir metil grubunun göçmesiyle düzenlenme tamamlanır. Bu düzenlemeler sonucu C4 karbonundaki metil gruplarının göçüne göre hem cis hem de trans klerodan bileşikler oluşmaktadır. *ent*-labdan yapısından da yine trans ve cis bileşikler oluşur ancak C8 ve C9 karbonlarına bağlı metil süstitüentleri α , C10 karbonundaki hidrojen β konumundadır. Şekil 4'te Backbone veya Friedo düzenlemesi gösterilmektedir (132).



Şekil 4: Backbone veya Friedo düzenlemesi (132)

1990'lı yıllarda, Fransa'da rapor edilen hepatotoksisite vakalarının *T. chamaedrys* içeren preparatların neoklerodan diterpenoid içeriğinden kaynaklandığı ve bu nedenle Fransa'da yasaklandığı bildirilmiştir (58).

3.5.2. Fenolik bileşikler ve flavonoidler

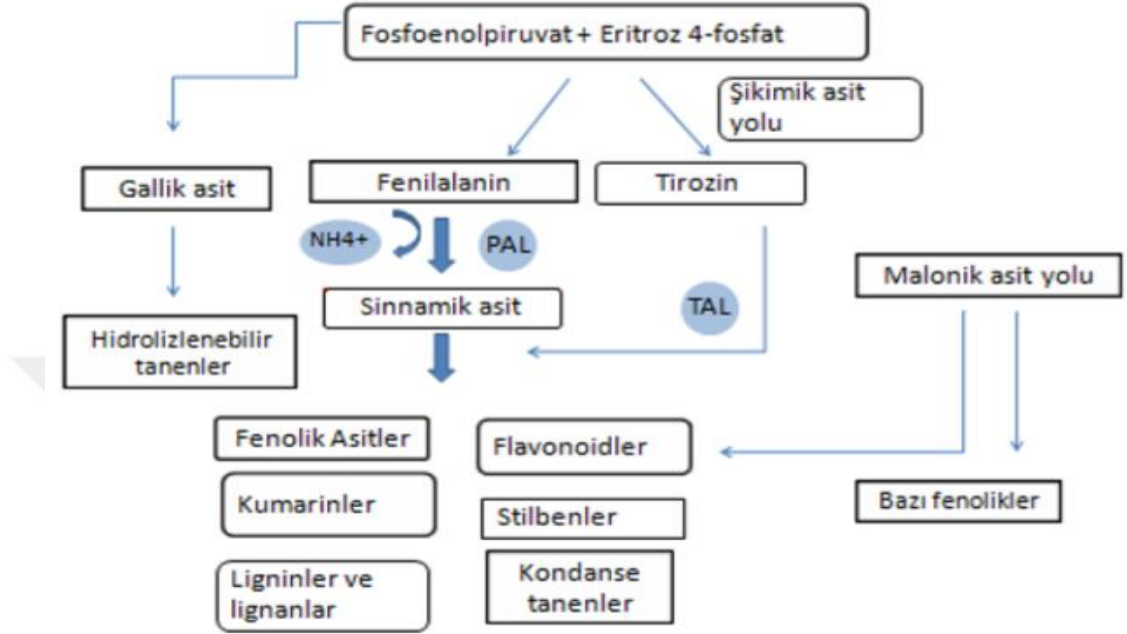
Polifenoller veya fenolik bileşiklerde benzen halkasına bir ya da daha fazla HO⁻ grubu bağlıdır. Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler; fenolik asitler ve flavonoidlerdir (133). Tablo 4'te fenolik bileşikler sınıflandırılarak yaygın örnekleri gösterilmektedir.

Tablo 4: Fenolik bileşikler ve yaygın örnekleri (134)

Fenolik Grup Adı	Yaygın Örnek
Fenolik asitler	
Hidroksibenzoik asitler	Gallik asit, siringik asit, total galatlar
Hidroksisinamik asitler	Kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit
Stilbenler	Resveratrol
Flavonoidler	
Antosiyaninler	Depihidin-3-glikozit, siyanidin-3-glikozit, petunidin-3-glikozit, malvidin-3-glikozit
Flavonoller	Kuersetin, kaemferol, kuersatagetin
Flavanoller (Flavan-3-oller)	Kateşin, epikateşin, epikateşin galat, epikateşin-3-gallat
İzoflavonoidler	Genistein, formononotein, diadzein
Flavonlar	Rutin, apigenin, luteolein
Flavononlar	Mirisetin, naringin, naringenin

Polifenoller, bitkiler tarafından sekonder metabolitler olarak sentezlenen küçük organik molekül grubudur. Bu moleküller, bitkileri ultraviyole (UV) radyasyonu, enfeksiyonlar, kesikler, vb. streslerden korur. Polifenollerin birçok tanımı vardır, ancak en yaygın olarak kabul edilenler: “*Sadece Şikimat / fenilpropanoid ve / veya birden fazla fenolik üniteye sahip ve azot bazlı fonksiyonlardan yoksun olan poliketid yolu*”dur (135). Bu tanıma dayanarak, genel olarak polifenoller olarak adlandırılan birçok bileşik polifenoller olarak nitelendirilemez. Örneğin, genellikle polifenollerle listelenen kinik asit, şikimat yolundan bağımsız olarak biyosentezlendiğinden fenolik asit olarak kabul edilemez. Pirokatekol, hidrokinon, kafeik asit, vanilin, vanilik asit, şiringik aldehit gibi bileşikler polifenoller olarak anılmaktadır. Polifenollerin doğal oluşumu genellikle glukoz, selüloz, proteinler ve aynı veya diğer polifenoller ile oligomerler oluşturan konjugasyonlardır. Yüksek bitkilerde birkaç bin polifenol rapor edilmiş olup bu yapısal çeşitlilik, analizlerinin karmaşıklığına neden olan faktörlerden biridir (136).

Şekil 5'te de gösterildiği üzere fenolikler, şikimik asit ve malonik asit adlı iki ayrı biyosentetik yoldan kökenlenirler. Hidrolizlenebilir tanenler, gallik asit ve ellagik asit gibi bazıları da alternatif yollardan türevlenmektedir.



PAL: fenilalanin amonyum liyaz

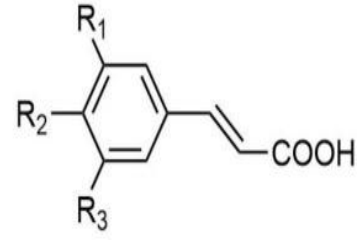
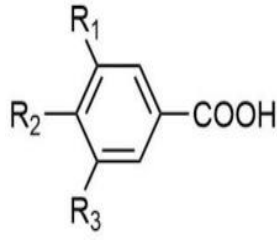
TAL: tirozin amonyum liyaz

Şekil 5: Fenoliklerin biyosentetik yolları (130)

Diyet polifenollerinin potansiyel sağlık yararları doğrudan antioksidan aktiviteleri ile hücre ve doku redoks dengesini düzenlenmesi etkilerine atfedilmiştir (137).

3.5.2.1. Fenoller ve fenolik asitler

Fenolik asitler, hidroksisinnamik asitler ve türevleri ile hidroksibenzoik asitler ve türevleri şeklinde sınıflandırılmaktadır. Hidroksisinnamik asitler, hidroksibenzoik aside göre özellikle bitkisel gıdalarda daha yaygın bulunmaktadır (130). Şekil 6'da fenolik asit türevlerinin kimyasal yapılarına ait gruplar gösterilmiştir.



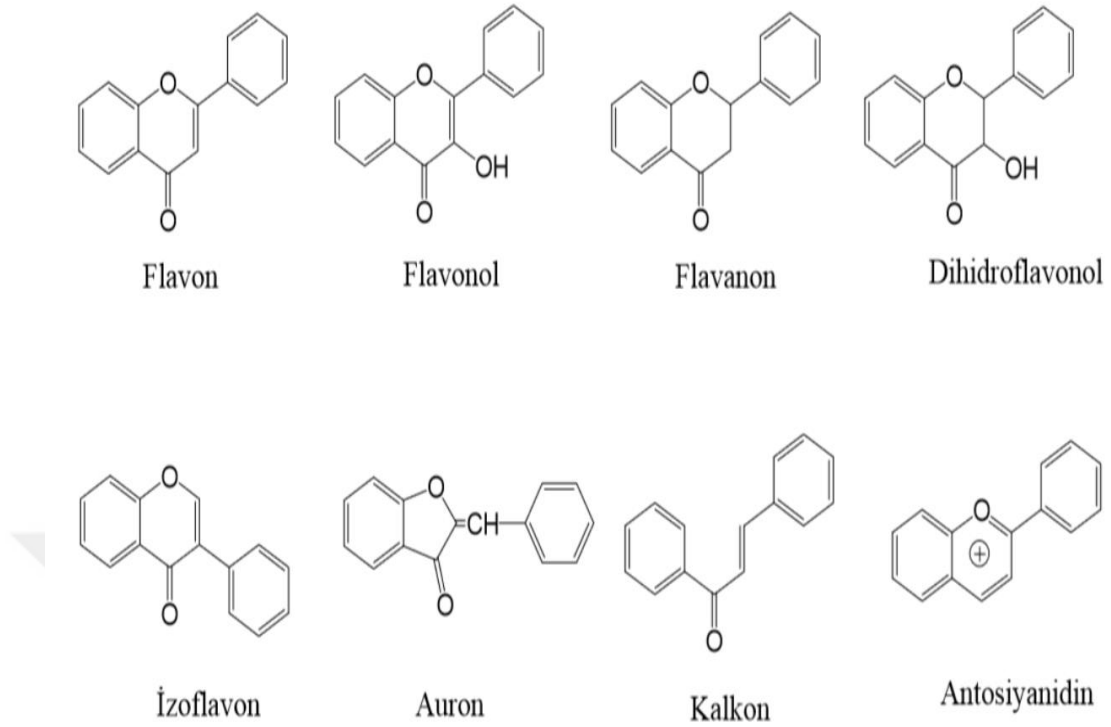
Hidroksibenzoik asit türevleri	R1	R2	R3	Hidroksisinnamik asit türevleri	R1	R2	R3
<i>p</i> -Hidroksibenzoik	H	OH	H	<i>p</i> -Kumarik	H	OH	H
Protokateşik	OH	OH	H	Kafeik	OH	OH	H
Vanilik	OCH ₃	OH	H	Ferulik	OCH ₃	OH	H
Şiringik	OCH ₃	OH	OCH ₃	Sinapik	OCH ₃	OH	OCH ₃
Gallik	OH	OH	H				

Şekil 6: Fenolik asitlerin kimyasal grupları (138)

Lamiaceae familyasının en çok çalışılan kimyasalları hidroksisinnamik ve hidroksibenzoik asitin (bağımsız ya da glikozitlere ve esterlere bağlı) insan sağlığı üzerinde, serbest radikal süpürücü, metal kelatlama, enzimatik reaksiyonları düzenleme gibi çok çeşitli yararları vardır (139). Son on yılda, tüketicilere temel beslenmenin üzerinde sağlık yararları sağlayabilen fonksiyonel gıda ürünlerinin geliştirilmesi için büyük çaba harcanmıştır. Bilimsel verilerin yanı sıra epidemiyolojik bulgular, flavonoidler ve hidroksisinnamik asitler gibi polifenoller açısından zengin bir diyetin etkin sağlık etkilerine sahip olduğunu ve dejeneratif hastalık risklerine karşı koruma sağlayabileceğini göstermiştir (140).

3.5.2.2. Flavonoidler

Flavonoidler, fenolik bileşiklerin en büyük sınıflarından birini oluşturur. Flavonoidlerin karbon iskeleti iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan 15 karbon atomu içeren, difenilpropan (flavan) (C₆-C₃-C₆) yapısı göstermektedir (141). Şekil 7’de iskeletleri farklı flavonoidler gösterilmiştir.



Şekil 7: Flavonoid iskeletleri

Flavonoid iskeleti heterosiklik halka ile bir zincirle bağlanmış iki fenolik halka içeren 15 karbon iskeletine bağlıdır. Yapıdaki heterosiklik halka, karakteristik özelliklerini belirler (142). Flavanoidler, gıdalarda genellikle renk, tat, vitamin ve enzimlerin korunması ile yağ oksidasyonunun engellenmesinden sorumludur (143).

Oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonu birçok hastalığın en önemli etkenlerindendir. Flavonoidler, lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin ve lipid peroksi radikallerinin oluşumunu engelleyerek antioksidan olarak görev yaparlar (144). Flavonoidlerin antioksidan ve radikal süpürücü özelliklerinin yanı sıra antimikrobiyal, antifungal, immünomodülatör ve antienflamatuvar aktiviteleri de bulunur (145, 146).

3.6. Serbest Radikaller

Birçok metabolik yolun normal ürünleri olan radikaller, bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektron içerir. Bazı radikaller temel metabolik işlevlerini yerine getirirken kontrollü formda bulunurken bazıları da serbest halde bulunur ve çeşitli doku bileşenleri ile etkileşime girer. Bu tür etkileşimler metabolizmada hem akut hem de kronik fonksiyon bozukluğuna neden olabilir. Endojen veya ksenobiyotik türevli serbest radikallerin birçok hastalık patolojisinde potansiyel rollerinin olması bilim dünyasında kapsamlı araştırmaların yapılmasını tetiklemiştir (147).

Literatürde serbest radikallere atıfta bulunmak için oksiradikaller, serbest oksijen radikalleri ve bunların çeşitli türevlerini içeren terminolojiler kullanılır. Ancak genel olarak reaktif oksijen türleri (ROT) terimi tercih edilir, çünkü singlet oksijen, H_2O_2 , endojen lipidler ile ksenobiyotiklerin hipokloröz asit, peroksit, hidroperoksit ve epoksit metabolitleri kimyasal olarak reaktif oksijen içeren fonksiyonel gruplar bulundurur, ancak bunlar radikal değildir ve dokularla radikalite reaksiyonlarla etkileşime girmezler. Hatta, süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) biyolojik sistemlerde oksitleyici türlerden bile daha iyi bir redüktandır. Bu nedenle, ROT'a yalnızca oksitleyici maddeler olarak atıfta bulunmak yanıltıcıdır. Biyolojik sistemlerde karbon, azot ve kükürt merkezli radikaller de bulunmaktadır (147).

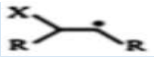
Serbest radikallerin büyük kısmı reaktif oksijen içeren türler ile reaktif azot içeren türlerden (RNT) oluşmaktadır (3). Oksijen, canlılarda kimyasal reaksiyonlarda en çok görev yapan elementlerden biri olduğundan kolaylıkla metabolizmada serbest radikale dönüşebilir ve bu nedenle oksijenden oluşan radikaller canlılar için büyük bir önem arz etmektedir (4). Tablo 5'te serbest radikallerden ROT ve RNT'ye başlıca örnekler verilmiştir.

Tablo 5: ROT ve RNT örnekleri (148)

Reaktif Oksijen Türleri		Reaktif Azot Türleri	
Radikaller	Radikal Olmayanlar	Radikaller	Radikal Olmayanlar
Superoksit ($O_2^{\cdot-}$)	Ozon (O_3)	Nitrik dioksit ($NO^{\cdot}$)	Diazot tetraoksit (N_2O_4)
Hidroksil ($HO^{\cdot}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Azot dioksit ($NO_2^{\cdot}$)	Diazot trioksit (N_2O_3)
Peroksil ($RO_2^{\cdot}$)	Hipokloröz asit ($HOCl$)		Nitroksil anyon ($NO^{\cdot-}$)
Alkoksil ($RO^{\cdot}$)	Hipobromoz asit ($HOBr$)		Nitroksil katyon (NO^+)
Hidroperoksil ($HO_2^{\cdot}$)	Singlet oksijen		Nitröz asit (HNO_2)

Radikaller beş temel reaksiyon ile etkilerini gösterirler (Tablo 6). Bunlar üç kategoriye ayrılır: (1) net radikal türlerin sayısının arttığı başlangıç reaksiyonları. Bu reaksiyonlar bir kovalent bağın yükseltgenmesini, indirgenmesini veya homolitik bölünmesini içerebilir; (2) radikallerin sayısının değişmediği yayılma reaksiyonları; ve (3) ürünlerin radikal tür içermediği sonlandırma reaksiyonları. Serbest radikal reaksiyonları, yaşadığımız aerobik ortamın bir sonucu olarak DNA, protein ve lipitler gibi biyolojik molekülleri sürekli olarak etkiler. Bununla birlikte hücreler de DNA, protein ve lipidlerde oluşan oksidatif değişikliklerle ilişkili hasarları önlemek ve/veya onarmak için savunma sistemleri geliştirmişlerdir (147).

Tablo 6: Serbest radikal reaksiyonları (147)

Başlama	$RH + Enerji \rightarrow R^{\cdot}$
Hidrojen ayrılması	$A^{\cdot} + RH \rightarrow AH + R^{\cdot}$
Elektron transferi	$X^{\cdot} + Y \rightarrow X + Y^{\cdot}$
Yayılma	$X^{\cdot} + RCH=CHR \rightarrow$ 
Sonlanma	$A^{\cdot} + A^{\cdot} \rightarrow A_2$
Disproporsiyon	$CH_3CH_2^{\cdot} + CH_3CH_2^{\cdot} \rightarrow CH_3CH_3 + CH_2=CH_2$

Serbest radikallerin hücrel kaynakları plazma membranında NADPH oksidaz, lipooksijenaz ve prostaglandin sentaz; endoplazmik retikulumda Sitokrom P450; lizozomda miyeloperoksidaz; peroksizomda oksidazlar ve flavoproteinler; sitoplazmada ksantin oksidaz, otooksidasyon (flavin ve katekol gibi) ve geçiş metali iyonları (Fe, Cu) ile mitokondire solunum zinciri bileşenleridir (147).

Biyolojik ortamlardaki serbest radikallerin yüksek miktarlarda olması DNA, protein ve lipidlerde modifikasyonlara neden olarak normal hücre fonksiyonunu engeller. Bu da enflamasyon, erken yaşlanma, mutasyon, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi nörodejeneratif olmayan hastalıkların yanı sıra Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıklara neden olabilir (Mishina 2006). Bununla birlikte biyolojik ortamlardaki serbest radikaller, metabolizmada doğal olarak bulunan endojen antioksidanlar ile enzimatik veya enzimatik olmayan reaksiyonlara girerler. Böylece serbest radikallerin sağlığa zararlı etkileri, onları uzaklaştırmak veya reaktif olmayan formlara dönüştürmek suretiyle elimine edilir. Endojen antioksidanların konsantrasyonu biyolojik ortamda üretilen tüm serbest radikalleri temizlemek için yeterince düşük olduğunda hastalıklar meydana gelebilir. Bunun önüne geçilmesinde diyetteki meyve ve sebzelerden elde edilen eksojen antioksidanlar çok faydalıdır (149).

3.7. Antioksidan Sistem

Antioksidanlar, vücudun ROT temizleyici antagonistleri olarak düşük miktarlarda görev alan ve oksidasyonu kolay olan maddelerdir. Materyallerin oksidasyonunu yüksek oranda geciktirerek ya da engelleyerek etkilerini gösterirler (6). Ancak metabolizma içerisinde kendiliğinden oluşan oksidanlara ek olarak dış etkenlerle maruz kalınan oksidanların miktarının artışıyla antioksidanların korunması sınırlı kalmaktadır. Metabolizmada üretilen H_2O_2 , $HO\cdot$ ve $O_2^{\cdot-}$ gibi ROT'ların miktarındaki artış antioksidanlarla dengelenemediğinde denge oksidanlar tarafına kayar ve oksidatif stres gelişir (7).

Antioksidanlar üç farklı yolda etkilerini gösterirler:

1. Bir veya daha fazla protonu serbest bir radikal veya serbest bir peroksit radikali ile değiştirerek çoğalma reaksiyonunu durdurma (fenolik ajan)

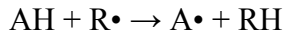
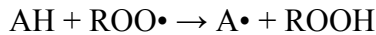
2. Metalleri bağlayarak serbest radikallerin oluşumunu azaltma veya bloke etme (şelatlayıcı ajanlar)
3. Reaktif oksijen veya ROT (oksijen veya ROT süpürme ajanı) konsantrasyonunu azaltma (147).

3.7.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Temelde birincil ve ikincil antioksidanlar şeklinde iki ana antioksidan grubu vardır. Fenolik bileşikler ayrıca birincil antioksidanlar olarak adlandırılırken, şelatlayıcı ve oksijen/ROT giderici ajanlar ikincil antioksidanlar veya sinerjik antioksidanlar olarak adlandırılır. Etki mekanizmaları kimyasal yapılarına göre farklılık gösterir (150).

3.7.1.1. Birincil veya fenolik antioksidanlar

Fenolik antioksidanlar, temelde otooksidasyon sürecindeki serbest radikallerin oluşumunu önleyerek etki eder. Bunu da radikale bir proton transfer ederek gerçekleştirir. Oksidasyon reaksiyonları, zincir reaksiyonlarını başlatabilen serbest radikalleri üretebilir. Gıdalarda, petrol ürünlerinde veya bir hücrede zincir reaksiyonları oluştuğunda, ürünlerde hasara veya hücrede ölüme neden olabilir. Antioksidanlar, serbest radikal ara maddelerini uzaklaştırmak suretiyle bu zincir reaksiyonları sonlandırmakta ve daha ileri oksidasyon reaksiyonlarını engellemektedir. Antioksidanlar, zincir reaksiyonlarını kendileri okside ederek durdurabilirler (151).



Genel olarak kullanılan primer veya fenolik antioksidanlar BHA, BHT, TBHQ veya gallatlar gibi sentetik antioksidanlardır. BHA ve BHT gibi yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanların olası olumsuz sağlık etkileri ile ilgili endişeler, çoğunlukla yaygın olarak tüketilen doğal kaynaklı gıdalardan elde edilen antioksidanların bulunmasına yönelik araştırmalara yönelimi artırmıştır (152). Karasal bitkiler, sağlığı teşvik eden diğer fitokimyasalların yanı sıra en değerli doğal

antioksidan kaynaklarından birini oluşturur. Özellikle otlar ve baharatlar yüksek polifenol içerikleri nedeniyle güçlü antioksidan aktiviteler gösterirler (153).

Tokoferoller, polifenoller, protein ve peptidler doğal antioksidanlardır. Bitkisel yağlarda doğal olarak bulunan tokoferoller, doğal fenolik antioksidanlar arasındadır (154).

Sağlığa ve gıda kalitesinin korunmasına yönelik potansiyel katkılarından dolayı otlar ve baharatlardaki biyoaktif bileşiklere büyük önem verilmiştir. Yapılan bilimsel çalışmalarda doğal kaynaklardan gelen polifenollerin, sentetik antioksidanların kullanımına potansiyel bir alternatif olabileceğini öne sürülmüştür. Bu antioksidanlar, tüketicilerin de rahatlıkla kabulünü kazandığı gibi sentetik eşdeğerleri ve bunların güvenlikleri için birçok düzenleme gerekliliklerinin de azlığı ile birçok avantaja sahiptir. Çeşitli botanik kaynaklardan gelen doğal antioksidanlar, tek bir türe, cinse, kökene, popüleriteye, uygulamalara, biyoaktivitelere, seçilen antioksidan gruplarına ve belirli fitokimyasal gruplara odaklanılarak düzenli olarak incelenmiştir. Bu bağlamda, 236 cins ve yaklaşık 6900-7200 tür ile dünyadaki en büyük bitki ailelerinden biri olan Lamiaceae, ekstraktlarının yüksek radikal giderme kapasitesini (RSC) gösteren sayısız araştırmaya konu olmuştur (155, 156).

3.7.1.2. İkincil antioksidanlar

Sinerjik antioksidanlar, düşük veya dolaylı antioksidan özelliklere sahiptir. Ancak fenolik antioksidanlarla kombinasyon halinde kullanıldığında, sağladıkları sinerjik etkiler nedeniyle fenolik bileşiklerin etkinliğini önemli ölçüde artırma özelliğine sahiptirler. Bu sinerjik etkiler;

(1) fenolik antioksidanların yenilenmesi,

(2) antioksidan oksidasyonu sonrası peroksitlerin dekompozisyonunun önlenmesi,

(3) oksidasyon reaksiyonlarında iz metal katalizörünün inaktivasyonu ve

(4) oksidasyon reaksiyonlarının ortadan kaldırılması veya azaltılmasıdır (150).

Sinerjik antioksidanlar, şelatlayıcı ve oksijen giderici ajanlar olarak iki ana gruba ayrılabilir.

Şelatlayıcı ajanlar, kimyasal yapılarındaki eşleşmemiş elektronlarla metal iyonları ile stabil kompleksler oluşturarak oksidasyon reaksiyonlarının katalizörü olan metali etkisiz hale getirir. Demir iyonları ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$) gibi geçiş metalleri tarafından katalize edilen Fenton reaksiyonu, $\cdot\text{OH}$ radikallerinin üretilmesine neden olan ünlü bir kimyasal reaksiyondur. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA), polifosfatlar, tartarik ve sitrik asit en yaygın şelatlama ajanlarıdır. Protein hidrolizi ile açığa çıkan peptitler de şelatlama özelliği gösterir. Metal iyonlarını şelatlamak için en reaktif amino asit, imidazol içeren histidindir (150).

Oksijen giderimi reaksiyon mekanizması, ortamda bulunan serbest oksijen molekülleri ile reaksiyona girerek onları oksidasyon reaksiyonları için kullanılamaz hale getirmektir. Bu antioksidanlar, $\text{HO}\cdot$, O_2^- , H_2O_2 ve singlet oksijeni ($^1\text{O}_2$) gibi ROT'ları ortadan kaldırabilir (150).

Oksijen veya ROT gidericileri içerisinde askorbik ve izoaskorbik asit, sülfidler ile fruktanlar, rafinoz ailesi oligosakaritleri, arabinoksilatlar, p-glukanlar gibi sindirilmeyen karbonhidratlar, protein ve glutatyon gibi peptidlerin yanı sıra süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GP) gibi metabolizma enzimleri de bulunmaktadır (150).

3.7.2. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri

3.7.2.1. Antioksidan içerik tayini

Antioksidan içeriğin belirlenmesi için, Diode-Array-Detektörü (DAD), Kütle Spektroskopisi (MS) veya floresan detektörü ile birleştirilmiş HPLC gibi kromatografik yöntemler kullanılabileceği gibi daha az spesifik kolorimetrik yöntemler de kullanılabilir (138).

Total polifenol içeriği: Folin-Ciocalteu reaktifiyle kolorimetrik spektrofotometre yöntemiyle belirlenebilir. Bu reaktif fosfomolibdik/fosfotungstik asit (Folin-Ciocalteu reaktifi) kompleksleri içerir. Ana dezavantajlardan biri, reaktifin fenolikler dışındaki diğer bileşikler tarafından azaltılabilmesi nedeniyle total polifenol içerik yönteminin spesifik olmamasıdır (157).

Total antosiyanin içeriği: Genellikle pH diferansiyel yöntemle bulunur. Antosiyanin pigmentleri, farklı absorbans spektrumları ile pH'da oluşturulan bir

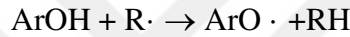
değişiklik ile geri dönüşümlü yapısal değişimlere uğrar. Siyanidin-3-glukozit standart olarak kullanılır ve sonuçlar genellikle numunenin veya ekstrenin kütlesinin gramı başına siyanidin-3-glukozit kütlesi (C₃G) olarak ifade edilir. Toplam antosiyanin miktarının doğru ve hızlı ölçümlerini sağlar (158).

Askorbik asit içeriği: Askorbik asit içeriği titrasyon, spektrofotometri, kromatografi veya voltametri gibi çeşitli yöntemlerle belirlenebilir. Sonuçlar genellikle mg askorbik asit / 100 g taze ağırlık olarak ifade edilir (159).

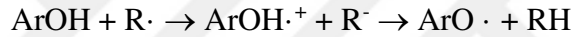
3.7.2.2. Radikal uzaklaştırma deneyleri

Fenolik antioksidanların (ArOH) radikalleri temizlediği mekanizmayı açıklamak için genel olarak üç yol tartışılır:

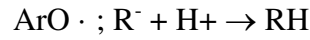
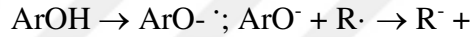
1. H-atom transferi (HAT)



2. Kademeli olarak elektron transfer-proton transferi (ET-PT)

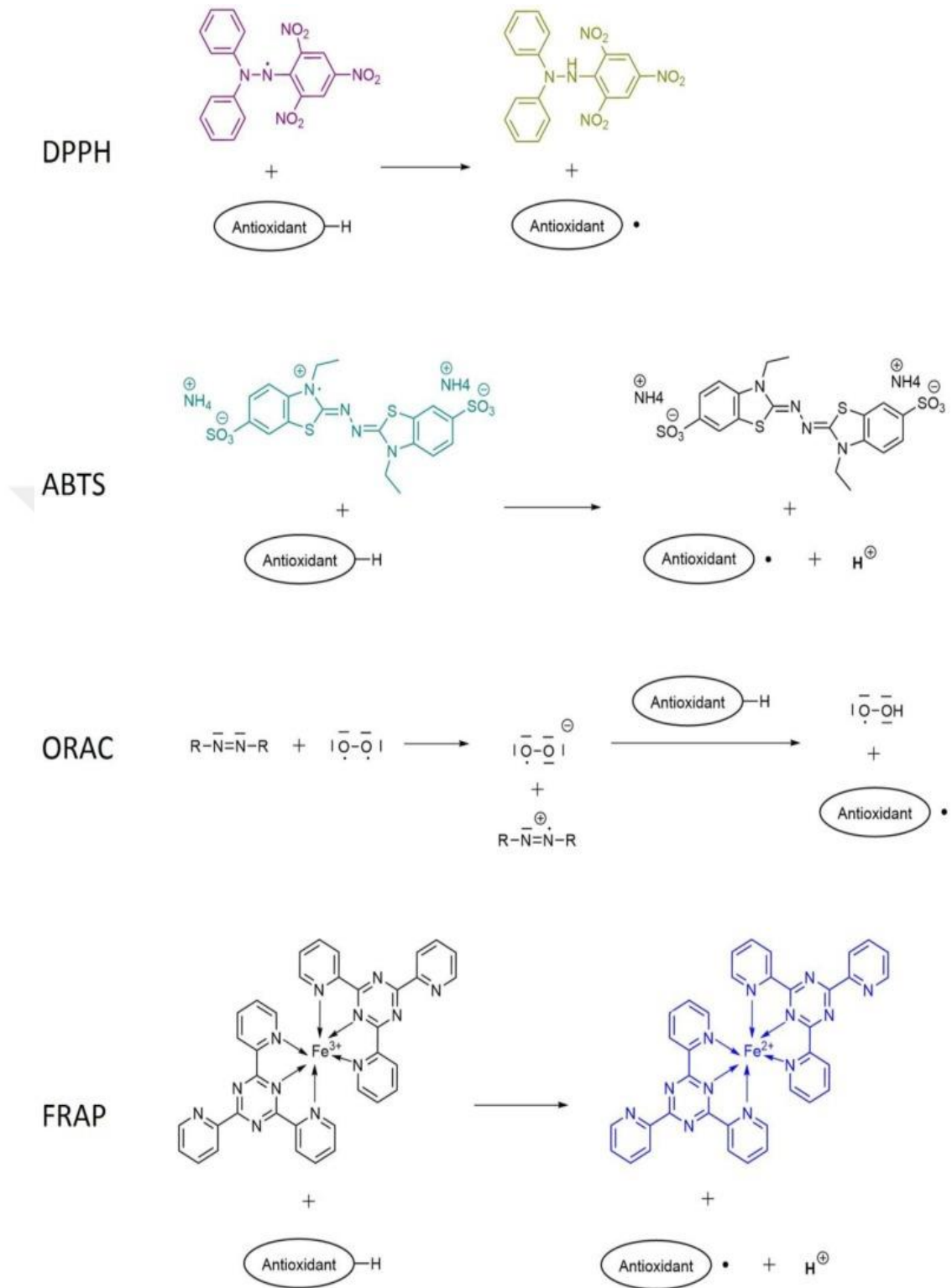


3. Sıralı proton kaybı elektron transferi (SPLET)



İlk yol (HAT), bir O-H bağının homolitik ayrışmasıyla ilgilidir. Yük ayrımı içermediğinden, kutupsal olmayan çözücülerde baskın mekanizma olduğu kabul edilmiştir. 2. (ET-PT) ve 3. (SPLET) yollar ise polar çözücüler için tercih edilmelidir (160).

Şekil 8’de en çok kullanılan radikal uzaklaştırıcı deneylerde yer alan kimyasal reaksiyonlar şematize halde gösterilmiştir.



Şekil 8: En çok kullanılan radikal uzaklaştırıcı deneylerde yer alan kimyasal reaksiyonlar (138)

3.8. Alzheimer Hastalığı

Günümüzde, yaşam standartlarının iyileşmesi ve yaşam süresinin uzamasıyla beraber dünyanın yaşlı nüfusu da artmaktadır. İleri yaş demans hastalığı olan Alzheimer hastalığının (AH) da görülme sıklığı artan yaşam süresiyle birlikte artış göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), AH ve diğer demanslar da dahil olmak üzere, 2016 yılında iskemik kalp hastalığı, felç, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve alt solunum yolu enfeksiyonlarından sonra dünya çapında beşinci ölüm nedeni (yaklaşık 2 milyon ölüm) olarak tanımlamıştır (161). 2016 yılında yayınlanan Dünya Alzheimer Raporu'nda şu anda demansla yaşayan yaklaşık 47 milyonun 2050 yılında 131 milyon olacağını bildirilmiştir (World Alzheimer Report 2016). AH, Kuzey Amerika ve Avrupa'daki demans vakalarının yaklaşık %60-80'ini oluşturur ve dünya çapında demansa bağlı ölümlerin en büyük nedenidir (162).

AH, etkilenen bireyin normal günlük yaşam aktivitelerini aşamalı olarak engelleyen çeşitli bilişsel bozuklukların görüldüğü nöropatolojik bir durumdur (163). AH'da klinik belirtilerin başlıcaları günlük yaşantıyı etkileyen bellek kaybı ve yapılan işlerde zorluk yaşama, konuşmada güçlük, yargılamada azalma ile birlikte problem çözme ve plan yapmada azalma şeklindedir (164).

Genel olarak AH sporadik bir temelde gerçekleşirken, amiloid öncü proteini (APP), presenilin 1 (PSEN1) ve presenilin 2 (PSEN2) olarak tanımlanan üç gende meydana gelen mutasyon nadir olan (<% 0,5) ailesel AH formuna neden olur. Hastalık belirtileri tipik olarak 30 ile 50 yaş arasında, sporadik AH'de daha erken görülür. Tipik geç başlangıçlı AH'nin, genetik ve çevresel faktörlerin karmaşık etkileşiminden kaynaklanması muhtemeldir. Son zamanlarda AH riskinin ~%70'inin genetik faktörlere bağlı olduğu düşünülmektedir. APOE geni, sporadik AH için en büyük risktir. İlgili genom çalışmaları 20'den fazla genetik risk faktörü tanımlamıştır. Özellikle, amiloid birikimine cevap olarak mikrogial aktivasyonun son zamanlarda AH patogenezinde kilit bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Epidemiyolojik kanıtlar, eğitim ve fiziksel egzersizin AH'ye karşı koruyucu olduğunu ancak orta yaştaki hipertansiyon ve diyabetin riskinin olumsuz etkilediğini göstermektedir (165).

AH patolojisinde, amiloid plaklar ve nörofibril yumakların (NFY) yanında asetilkolin (ACh) ve hiperfosforile tau proteini gibi diğer faktörler de AH'nin başlaması ve ilerlemesinde ilişkili olduğu düşünülmektedir. AH patogenezinde amiloid hipotezi, amiloid prekürsör proteinin (APP), β ve γ -sekretaz enzimleriyle proteolitik bölünmesi ile oluşan amiloid beta proteininin ($A\beta$) patolojik formlarının temizlenmesindeki dengesizlik sonucu beyinde birikimini önerir. NFY'lerin oluşumu ve ardından nöronal disfonksiyon ve nörodejenerasyonla ilgili sürecin ilerlediği düşünülmektedir (166, 167).

Yoğun plaklardaki fibriller amiloidin AH'nin gelişiminde kritik olduğu düşünülse de, son yıllarda yapılan çalışmalar ışığında çözünür $A\beta$ oligomerlerinin en patolojik formları olabileceği düşünülmektedir (168).

3.8.1. Kolinesteraz inhibitörlerinin Alzheimer hastalığındaki mekanizması

Genel olarak AH'nin mevcut klinik tedavisi esas olarak kolinerjik hipoteze dayanmaktadır. Bu hipotez, beyindeki ACh seviyelerinin azalmasının, AH hastalarında hafıza ve bilişsel bozukluklara yol açtığını ve ACh metabolizmasının inhibe edilmesinin, ACh seviyesini artırabileceğini böylece semptomların hafiflediğini önerir (169). Bu görüşe dayanarak, Amerikan Gıda ve İlaç Cemiyeti (FDA) 1993 yılından itibaren takrin, donepezil, rivastigmin ve galantamin olmak üzere dört tane kolinesteraz inhibitörünün AH'de kullanılmasını onaylamıştır. Ancak bu ilaçların hastalık üzerinde etkilerinin az ve geçici olduğu ifade edildiğinden kolinerjik sistemin yanı sıra hastalıkta gözlenen diğer patolojik değişimlere de etki edebilecek multimodal ilaçların geliştirilmesine yönelik araştırmalar halen devam etmektedir (13).

Asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BuChE), merkezi sinir sisteminde ACh'yi parçalayabilen iki kolinesteraz türüdür. AChE'nin aksine, AH'deki BuChE'nin patolojik mekanizması henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Her ne kadar birkaç çalışma BuChE'nin AH tedavisinde faydalı olabileceğini gösterse de, BuChE temel olarak periferik dokularda dağılır, dolayısıyla BuChE'nin inhibisyonu periferik sistemde ters etkilere neden olabilir. Şöyle ki, hem AChE hem de BuChE inhibe edici aktiviteleri ile AH tedavisi için onaylanan ilk ilaçlardan biri olan takrin,

periferik sistemdeki ciddi hepatotoksisite ve diğer yan etkileri nedeniyle geri çekilmiştir (169).

AH'nin semptomatik tedavisinde, klinisyenler tarafından en çok tercih edilen asetilkolinesteraz inhibitörleridir (AChEI). Asetilkolinesterazın sinapstaki yıkımını engelleyerek etkisini gösteren AChEI'ler, bu sayede asetilkolinin kullanılabilirliğini artırır. Her ne kadar periferik kolinerjik yan etkileri olsa da, düşük dozlu kullanımında genellikle iyi tolere edilir (161). Ayrıca, düşük afiniteli bir N-metil-D-aspartat reseptör antagonisti olan memantin orta ve şiddetli AH'de kullanılır. Fizyolojik etkilerine müdahale etmeden L-glutamat uyarıcı nörotoksisitesiyi azaltmayı amaçlar (165).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer

Bu yüksek lisans tez çalışması Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Araştırma Laboratuvarı 1’de gerçekleştirilmiştir.

4.2. Bitkisel Materyaller

T. polium bitkisi 22 Mayıs 2018 tarihinde Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mehmet BOĞA, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilimdalı Dr. Öğretim Üyesi Yeter YEŞİL ve yüksek lisans öğrencileri Goncagül SUVARİ ile Irmak TANAMAN tarafından Elazığ’ın Maden ilçesinden Diyarbakır’ın Ergani ilçesine giderken 10. km sağ tarafı yol kenarında toplandı. Teşhisi İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilimdalı Dr. Öğretim Üyesi Yeter YEŞİL tarafından yapılmıştır. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi herbaryumunda kayıt altına alınmıştır (ISTE No: 115658).

T. parviflorum bitkisi 25 Mayıs 2018 tarihinde İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilimdalı Dr. Öğretim Üyesi Yeter YEŞİL tarafından Batman ili Hasankeyf Sancak Köyünden Üç Yol Köyüne giderken ekili alan etrafında toplanarak teşhis edilmiştir. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi herbaryumunda kayıt altına alınmıştır (ISTE No: 115665).

4.3. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

Kersetin, pirokatekol, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), 2,6-di-t-bütil-1-hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), DTNB (5,5-ditiyobis-(2-nitro benzoik asit)), asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz, α -tokoferol, potasyum peroksi disülfat ($K_2S_2O_8$), ABTS, bakır (II) klorür Sigma firmasından (St. Louis); Tween-40, kloroform, diklorometan, metanol, etanol, alüminyum nitrat, potasyum asetat, demir (II) klorür tetra hidrat, ferrozin (3-(2-piridil)-5,6-bis-(4-fenil sülfonik asit)-1,2,4-triazin monosodyum tuzu) Merck (Darmstadt, Almanya), galantamin hidrobromür, neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) (Sigma-Aldrich), asetiltiyokolin iyodür, Folin-Ciocalteu reaktifi (Applichem), butiriltiyokolin iyodür

(Fluka), sodyum karbonat, amonyum asetat, sodyum hidrojen fosfat ve sodyum dihidrojen fosfat Riedel-de-Haen firmasından temin edildi. Kullanılan kimyasal maddeler ve tüm çözücüler analitik saflıktadır.

4.4. Cihazlar ve Diğer Gereçler

- GC-MS/FID (Agilent Technologies Inc. 7890A GC - Agilent 5975 GC-MSD, İngiltere)
- LC-MS/MS (LC-HRMS Thermo Q Exactive)
- Ultraviyole Spektrofometre Cihazı (UV-Vis), (PG Instruments T80+ UV/VIS Spectrometer, İngiltere)
- Eliza (BioTek EON Microplate Reader, Amerika Birleşik Devletleri)
- Rotaevaporator (Heidolph, Almanya)
- Otomatik pipetler (20-200 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL) (Brand, Almanya)
- Hassas terazi (Shimadzu ATX224, Japonya)
- Manyetik karıştırıcı (Heidolph MR 3001, Almanya)
- pH-metre (Thermo, Amerika Birleşik Devletleri)
- Elma S15 ultrasonik banyo (Almanya)
- Ultra saf su cihazı (Merck Millipore Direct-Q 3 UV, Almanya)
- Vortex (LMS Co. LTD, Japonya)

4.5. Ekstrelerin Hazırlanışı

T. parviflorum bitkisinin toprak üstü kısımları gölgede kurutulup toz edildikten sonra 10 g bitki etanol ile oda sıcaklığında arada çalkalanarak masere edildi (24 saat x 3). Rotary evaporatörde çözücüsü buharlaştırıldıktan sonra 469,4 mg ekstre elde edildi. Yüzde verimlilik (g/g) = (Ekstraksiyon sonrası elde edilen özüt / Başlangıçta ölçülen kuru bitki miktarı) x 100 formülünden hesaplanarak % 4,69 olarak saptandı.

T. polium bitkisinin kök ve toprak üstü kısımları gölgede kurutulup toz edildikten sonra 10 g toprak üstü, 30 g kök kısımlarından alınarak etanol ile oda sıcaklığında arada çalkalanarak masere edildi (24 saat x 3). Rotary evaporatörde çözücüler buharlaştırıldıktan sonra toprak üstü kısmından 350,6 mg, kök kısmından 252,6 mg ekstre elde edildi. Yüzde verimlilik (g/g) = (Ekstraksiyon sonrası elde

edilen özüt / Başlangıçta ölçülen kuru bitki miktarı) x 100 formülünden hesaplanarak toprak üstü ekstresinde % 3,51, kök ekstresinde % 0,84 olarak saptandı.

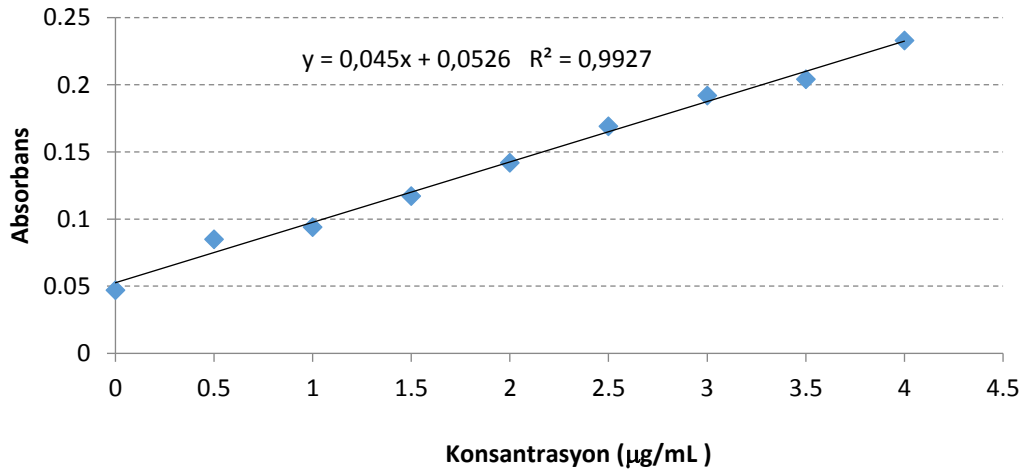
4.6. Uçucu Yağ Eldesi

Bitkilerden 100'er gram alınarak 1 litrelik balona kondu ve 500 ml su ilave edildi. 3 saat kaynadıktan sonra Clevenger apareyi ile uçucu yağı elde edildi. Uçucu yağ miktarı çok az olduğundan petrol eteri ile birlikte sudan ayrıldı. GC-MS analizleri yapılana kadar NaSO₄ ile kurutularak +4 °C'de bekletildi.

4.7. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoid İçeriklerinin Belirlenmesi

4.7.1. Toplam fenolik içeriklerinin belirlenmesi

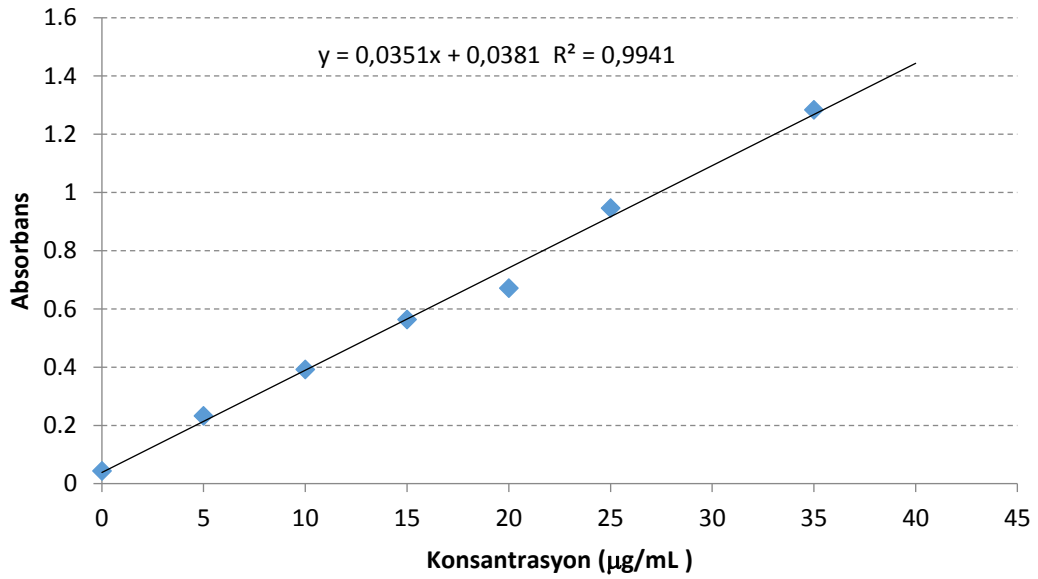
T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin toplam fenolik içerikleri, Slinkard ve Singleton'ın metodu esasına dayanılarak pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi (170). 100 ppm konsantrasyonda pirokatekol çözeltisi ile 1000 ppm konsantrasyonlarda *T. parviflorum* bitkisinin toprak üstü ve *T. polium* bitkisinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstrelerinin hazırlanmasının ardından, bu stok çözeltilerden belirli miktar oranlarında hazırlanan örneklerle, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle, FCR ve %2'lik Na₂CO₃ çözeltisi ilavesi ve 2 saatlik bekleme süreci ardından 760 nm'de absorbansları okundu. Toplam fenolik içerikler, Şekil 9'da gösterilen standart pirokatekol grafiğinden saptanan Absorbans = 0,045x + 0,0526 (R² = 0,9927) eşitliğine dayalı belirlendi.



Şekil 9: Pirokatekolün ölçü grafiği

4.7.2. Toplam flavonoid içeriklerinin belirlenmesi

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin toplam flavonoid içerikleri, Moreno ve ark.nın kullandığı metot esasına dayanılarak kersetine eşdeğer olarak belirlendi (171). 1000 ppm konsantrasyonda kesretin çözeltisi ile 1000 ppm konsantrasyonlarda *T. parviflorum* bitkisinin toprak üstü ve *T. polium* bitkisinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstrelerinin hazırlanmasının ardından, bu stok çözeltilerden belirli miktar oranlarında hazırlanan örneklerle, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle, potasyum asetat ve alüminyum nitrat çözeltisi ilavesi ve 40 dakika bekleme süreci ardından 415 nm’de mikropilaka okuyucu kullanılarak absorbansları okundu. Toplam flavonoid içerikler, Şekil 10’da gösterilen standart kersetin grafiğinden saptanan Absorbans= $0,0351x + 0,0381$ ($R^2: 0,9941$) eşitliğine dayalı belirlendi.



Şekil 10: Kersetinin ölçü grafiği

4.8. Antioksidan Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivite tayini için *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinin etanol ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderim, ABTS katyon radikal giderim, metal bağlama aktivitesi ve CUPRAC yöntemleri ile aktiviteleri tayin edildi. Bütün yöntemlerin grafiklerindeki konsantrasyonlar reaksiyon karışımındaki son konsantrasyonlardır.

4.8.1. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikal giderim yöntemi

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin serbest radikal giderme aktiviteleri, Blois'in metodu esasına dayanılarak 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali ile belirlendi (172). *T. parviflorum* bitkisinin toprak üstü ve *T. polium* bitkisinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstrelerinden alınan 10 mg ile hazırlanan stok çözeltilerden belirli miktar oranlarında hazırlanan örneklerle, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle, DPPH ilavesi ardından 30 dakika bekleme sürecinden sonra 517 nm'de absorbanları okundu ve BHA, BHT ve α -Toc standartları baz alınarak değerlendirildi. Ayrıca ekstrelerde saptanan absorbanlardan % İnhibisyon değeri $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$ eşitliğine dayalı belirlendi.

4.8.2. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin katyon radikali giderme aktiviteleri, Re ve ark.nın metodu esasına dayanılarak 2,2'-azino-bis(3etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) ile belirlendi (173). *T. parviflorum* bitkisinin toprak üstü ve *T. polium* bitkisinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstrelerinden alınan 10 mg ile hazırlanan stok çözeltilerden belirli miktar oranlarında hazırlanan örneklerle, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle, ABTS çözeltisi ilavesi ve 6 dakika bekleme süreci ardından 734 nm'de absorbanları okundu ve BHA, BHT ve α -Toc standartları baz alınarak değerlendirildi. Ayrıca ekstrelerde saptanan absorbanlardan % İnhibisyon değeri $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$ eşitliğine dayalı belirlendi.

4.8.3. Metal bağlama aktivitesi

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin metal bağlama aktiviteleri, Kolak ve ark.nın kullandığı metot esasına dayanılarak Fe(II)-Ferrozin ile belirlendi (174). 1000 ppm konsantrasyonlarda *T. parviflorum* bitkisinin toprak üstü ve *T. polium* bitkisinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstratlarının hazırlanmasının ardından, bu stok çözeltilerden belirli miktar oranlarında hazırlanan örneklerle, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle, Fe(II) ve ferrozin reaktifleri ilavesi ve 10 dakika bekleme süreci ardından 562 nm'deki absorbansları, kersetin ile EDTA standartları baz alınarak değerlendirildi. Ayrıca ekstratlerde saptanan absorbanslardan % İnhibisyon değeri $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$ eşitliğine dayalı belirlendi.

4.8.4. CUPRAC yöntemi

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin antioksidan aktivitesi CUPRAC yöntemi için, Apak ve ark.nın da metot esası olan, antioksidanlarla renkli Cu(I)-Nc kelata dönüşen Cu(II)Neokuproin (Nc) kompleksinin kullanımına dayanılarak belirlendi (175). *T. parviflorum* bitkisinin toprak üstü ve *T. polium* bitkisinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstratlarının stok çözeltilerinin hazırlanmasının ardından, bu stok çözeltilerden belirli miktar oranlarında hazırlanan örneklerle, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle Cu (II), neokuproin ve NH₄OAc tamponu ilavesi ve 1 saat bekleme süreci ardından 450 nm'de absorbansları okundu ve BHA, BHT ve α -Toc standartları baz alınarak değerlendirildi.

4.9. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi

4.9.1. Ellman metodu

Ellman ve ark. tarafından 1961 yılında hızlı kolorimetrik belirleme yöntemi olarak uygulanan metod, AChE ile yıkılan asetilkolinden açığa çıkan tiyokolinin 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyonu sonucu oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun mikropilaka reader ile ölçümüne dayanır (176). Çalışmamızda Ellman metodu kullanılarak aktivite tayini gerçekleştirildi.

3.9.1.1. AChE aktivite testi

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin AChE aktivitesi için belirtildiği üzere Ellman metodu kullanıldı (176). 4000 ppm konsantrasyonlarda *T. parviflorum* bitkisinin toprak üstü ve *T. polium* bitkisinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstraktlarının hazırlanmasının ardından, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle, yöntemde kullanılan mikropilakalara fosfat tamponu, stok çözeltiden belirli miktar ve asetilkolinesteraz enzimi ilavesi ve 10 dakika bekleme süreci ardından DTNB reaktifi ve asetiltiyokolin iyodür eklenip ELISA okuyucu kullanılarak 412 nm'de absorbansları okundu ve galantamin standardı baz alınarak değerlendirildi. Ayrıca ekstraktlarda saptanan absorbanslardan % İnhibisyon değeri $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$ eşitliğine dayalı belirlendi.

4.9.1.2. BChE aktivite testi

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin BChE aktivitesi için belirtildiği üzere Ellman metodu kullanıldı (176). 4000 ppm konsantrasyonlarda *T. parviflorum* bitkisinin toprak üstü ve *T. polium* bitkisinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstraktlarının hazırlanmasının ardından, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle, yöntemde kullanılan mikropilakalara fosfat tamponu, stok çözeltiden belirli miktar ve butirilkinesteraz enzimi ilavesi ve 10 dakika bekleme süreci ardından DTNB reaktifi ve butiriltiyokolin iyodür eklenip ELISA okuyucu kullanılarak 412 nm'de absorbansları okundu ve galantamin standardı baz alınarak değerlendirildi. Ayrıca ekstraktlarda saptanan absorbanslardan % İnhibisyon değeri $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$ eşitliğine dayalı belirlendi.

4.10. İstatistik Hesaplamalar

Antioksidan ve antikolinesteraz aktivite deneyleriyle saptanan veriler üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak uygulandı. Sonuçlar Student's t-testine göre %95 güven sınırları içinde bulundu. Anlamlılık sınırı için $p < 0,05$ kabul edildi. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regresyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesiyle yapıldı.

4.11. Kromatografik Yöntemler

4.11.1. Gaz kromatografisi-Kütle spektroskopisi (GC-MS) şartları

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin etanol ekstraherinden Clevenger aпараты kullanarak hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağların bileşenleri Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesinde GC-FID ve GC-MS teknikleri ile analiz edildi.

GC-MS analizi, Agilent 7890A GC'ye (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA) bağlı Agilent 5975 GC-MSD ile yapıldı. 60 m x 0.25 mm, 0.25 µm film kalınlığı standartlarına sahip HP-Innowax FSC kolonundan 1,2 ml/dk hızla taşıyıcı gaz olarak %99,99 saflıktaki helyum geçirildi. GC'deki fırın sıcaklığı ilk olarak 10 dk boyunca 60°C ayarlandı, 10 dk sonra dakikada 4°C'lik artış ile 220°C'ye getirildi ve yine 10 dk boyunca 220°C ayarlandı. Ardından dakikada 1°C'lik artış ile 240°C'ye programlandı. Split oranı da 40:1 şeklinde sisteme kaydedildi. Enjektör sıcaklığı da 250°C olarak programlandı. Kütle ağırlığı 35-450 m/z olarak ayarlandı ve kütle spektrumları 70 eV'da alındı. GC-FID analizi, Agilent 7693A serisi otomatik numune cihazı kullanılarak otomatik enjeksiyonla gerçekleştirildi; N-heksan (%10, h/h) ile seyreltilmiş 1 µl uçucu yağ GC-MS sistemine enjekte edildi.

GC analizi, Agilent 7890A GC sistemi ile gerçekleştirildi. GC-MS ile aynı elüsyon sırasını saptayabilmek adına, aynı operasyonel koşullar kullanılarak eş zamanlı üçlü enjeksiyonlar yapıldı. FID sıcaklığı 300 °C idi. Bileşenlerin tanımlanması, aynı deneysel koşullar altında, n-alkanlar (C8-C30) serilerine göre birlikte enjeksiyonla belirlenen tutunma indeksi temelinde gerçekleştirildi. Kütle spektrumlarının; NIST 05 ve Wiley 8. Versiyon ve bilinen uçucu yağ bileşenlerinden oluşturulan home-made MS kütüphanesi ile karşılaştırılmasının yanı sıra, tutunma

indekslerinin literatür değerleri ile karşılaştırılmasıyla daha ileri bir tanımlama yapıldı (177).

4.11.2.Sıvı kromatografisi-Sıralı kütle spektroskopisi (LC-MS/MS) şartları

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin LC-MS-MS analizleri, Bezmialem Vakıf Üniversitesi İlaç Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarında LC-HRMS Thermo Q Exactive marka LC-MS/MS cihazı ile Tablo 7’de belirtilen çalışma şartlarında gerçekleştirildi.

Tablo 7: LC-MS/MS çalışma şartları

Mobil Faz A: %1 Formik Asit - %0,1 Amonyum Format – H₂O

Mobil Faz B: %1 Formik Asit - %0,1 Amonyum Format – MeOH

Kolon: 3 µm Fortis C18 – 150 x 3,0 mm

Gradyent zamanı	Akış hızı (ml/dk)	%B
0,00	0,35	50
1,00	0,35	50
3,00	0,35	100
6,00	0,35	100
7,00	0,35	50
10,00	0,35	50

5. BULGULAR

Bu tez çalışmasında; *T. parviflorum* bitkisinin toprak üstü, *T. polium* bitkisinin toprak üstü ve kök kısımlarından hazırlanan etanol ekstralarının DPPH serbest radikali giderimi, ABTS katyon radikali giderimi, metal bağlama aktivitesi ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak antioksidan aktivite tayinleri yapıldı. Tüm ekstraların toplam fenolik miktarları pirokatekole eşdeğer, toplam flavonoid miktarları da kersetine eşdeğer olarak belirlendi ve üç ekstrenin antikolinesteraz aktivite tayini asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimlerinin kullanıldığı Ellman yöntemi ile yapıldı.

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin GC-MS ile uçucu yağlarının içerikleri, antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri incelendi ve LC-MS/MS ile fenolik bileşik içerikleri çalışıldı. Ayrıca *T. parviflorum* bitkisinin antikolinesteraz aktivitesi ve LC-MS/MS ile kimyasal içeriği ilk kez çalışıldı.

5.1. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Miktarları

Tüm ekstraların toplam fenolik miktarları pirokatekole eşdeğer, toplam flavonoid miktarları da kersetine eşdeğer olarak belirlendi. Tablo 8’de de görüleceği üzere; *T. polium* toprak üstü (*TpoTÜ*) ve *T. parviflorum* toprak üstü (*TpaTÜ*) ekstralarının toplam flavonoid miktarlarının toplam fenolik miktarlardan daha yüksek olduğu, üç ekstrenin toplam flavonoid miktarlarının yakın değerlerde olduğu, en yüksek toplam flavonoid miktarının *T. polium* kök (*TpoK*) ekstresinde olduğu; *T. polium* kök ekstresinin toplam fenolik miktarının, *T. polium* toprak üstü ve *T. parviflorum* toprak üstü ekstralarının fenolik miktarlarından daha yüksek olduğu tespit edildi.

Tablo 8: Ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları

Ekstreler	Toplam Fenolik Miktarı (μg pirokatekole eşdeğer)/mg Ekstre ^a	Toplam Flavonoid Miktarı (μg kersetine eşdeğer)/mg Ekstre ^b
<i>TpoTÜ</i>	27,67 $\pm$ 0,36	35,94 $\pm$ 0,82
<i>TpoK</i>	49,89 $\pm$ 1,36	43,54 $\pm$ 1,85
<i>TpaTÜ</i>	17,11 $\pm$ 0,00	41,17 $\pm$ 1,42

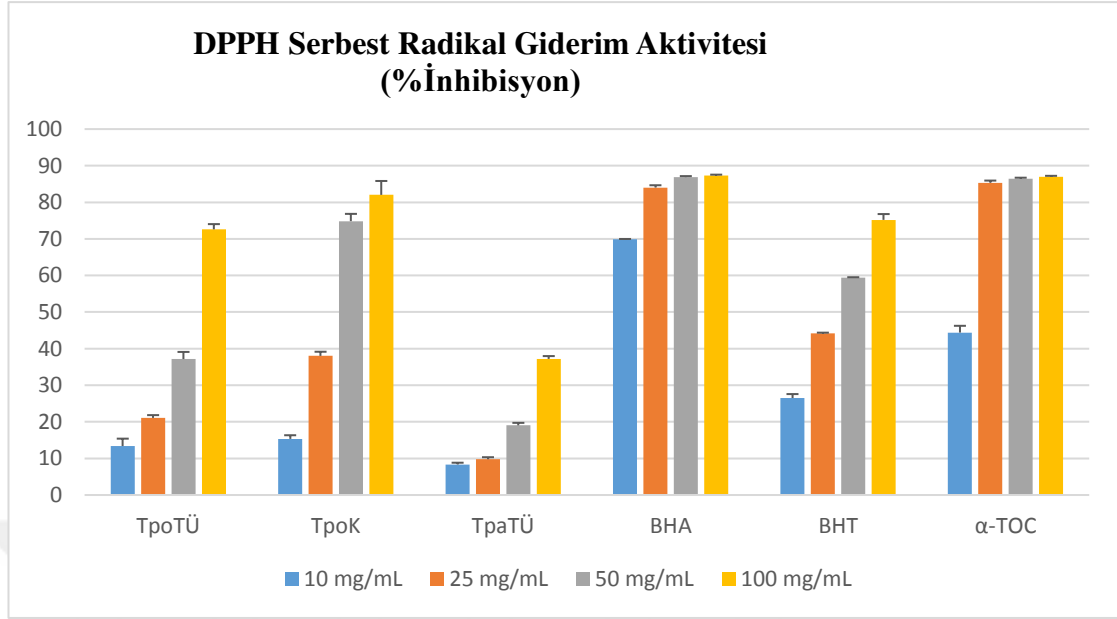
a: Pirokatekole eşdeğer fenolik içerik. ($y=0,045x + 0,0526$ $R^2=0,9927$)

b: Kersetine eşdeğer flavonoid içerik. ($y=0,0351x + 0,0381$ $R^2=0,9941$)

5.2. *T. parviflorum* ve *T. polium* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

5.2.1. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi sonuçları

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlardaki ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktivitelerinde standart olarak aynı konsantrasyonlarda hazırlanan BHA, BHT, ve α -TOC kullanıldı. Şekil 11 ve Tablo 9’da görüleceği üzere; tüm ekstrelerde konsantrasyonun artmasıyla aktivitenin arttığı ve *T. polium* kök ekstresinin en yüksek aktivite ($\text{IC}_{50}= 33,72\pm0,05$ $\mu\text{g/mL}$) gösterdiği belirlendi. *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinin düşük aktivite ($\text{IC}_{50}= 133,49\pm1,64$ $\mu\text{g/mL}$) gösterdiği belirlendi. *T. polium* kök ekstresinin standart olarak kullanılan BHT’den ($\text{IC}_{50}= 58,86\pm0,50$ $\mu\text{g/mL}$) daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi.



Şekil 11: *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri

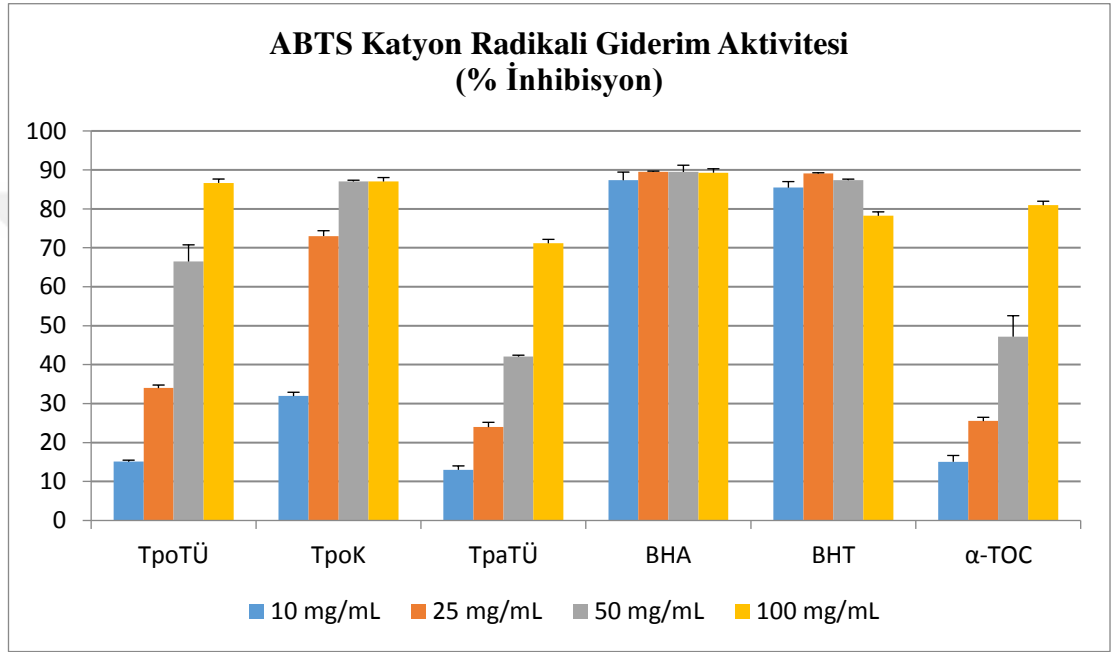
Tablo 9: *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri

Ekstreler	IC ₅₀ değerleri (µg/mL)
<i>TpoTÜ</i>	67,39±1,33
<i>TpoK</i>	33,72±0,05
<i>TpaTÜ</i>	133,49±1,64
BHA	7,88±0,20
BHT	58,86±0,50
α-TOC	16,30±0,79

5.2.2. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi sonuçları

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan 10, 25, 50, 100 µg/mL konsantrasyonlardaki ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktivitelerinde standart olarak aynı konsantrasyonlarda hazırlanan BHA, BHT, ve α-TOC kullanıldı. Şekil 12 ve Tablo 10'da görüleceği üzere; tüm ekstrelerde konsantrasyonun

artmasıyla aktivitenin arttığı ve *T. polium* kök ekstresinin tüm konsantrasyonlarda en yüksek aktivite ($IC_{50}= 15,01\pm0,10 \mu\text{g/mL}$) gösterdiği belirlendi. En düşük aktiviteyi *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinin ($IC_{50}= 24,54\pm0,45 \mu\text{g/mL}$) gösterdiği belirlendi. *T. polium* kök ekstresinin standart olarak kullanılan BHA'dan ($IC_{50}= 17,59\pm0,10 \mu\text{g/mL}$) daha iyi aktivite gösterdiği tespit edildi.



Şekil 12: *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktiviteleri

Tablo 10: *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktiviteleri

Ekstreler	IC_{50} değerleri ($\mu\text{g/mL}$)
<i>TpoTÜ</i>	$22,20\pm1,81$
<i>TpoK</i>	$15,01\pm0,10$
<i>TpaTÜ</i>	$24,54\pm0,45$
BHA	$17,59\pm0,10$
BHT	$13,25\pm0,27$
α -TOC	$9,74\pm0,42$

5.2.3. Metal bağlama aktivitesi yöntemi ile antioksidan aktivite sonuçları

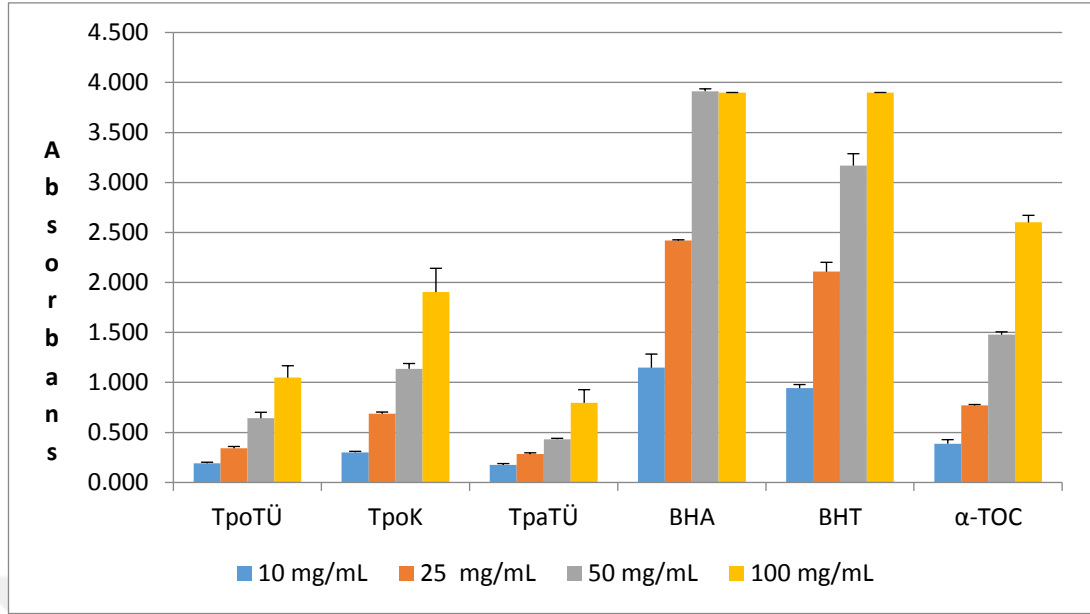
T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan 10, 25, 50, 100 µg/mL konsantrasyonlardaki ekstrelerin metal bağlama aktivitelerinde standart olarak aynı konsantrasyonlarda hazırlanan EDTA kullanıldı. Tablo 11’de görüleceği üzere, ekstrelerin hiçbirisi metal bağlama aktivitesi göstermedi (IC₅₀ değerleri >1000 µg/mL).

Tablo 11: *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin metal bağlama aktivitesi

Ekstreler	IC ₅₀ değerleri (µg/mL)
<i>TpoTÜ</i>	>1000
<i>TpoK</i>	>1000
<i>TpaTÜ</i>	>1000
EDTA	26,82±0,10

5.2.4. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite sonuçları

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan 10, 25, 50, 100 µg/mL konsantrasyonlardaki ekstrelerin CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivitelerinde standart olarak aynı konsantrasyonlarda hazırlanan BHA, BHT, ve α-TOC kullanıldı. Şekil 13’te görüleceği üzere; tüm ekstrelerde konsantrasyonun artmasıyla aktivitenin arttığı ve *T. polium* kök ekstresinin en yüksek, *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinin de en düşük aktiviteyi gösterdiği belirlendi. Ancak tüm ekstrelerin BHA, BHT ve α-TOC standartlarından daha düşük aktivite gösterdiği tespit edildi.



Şekil 13: *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktiviteleri

5.3. *T. parviflorum* ve *T. polium* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyonuna dayanarak *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin antikolinesteraz aktivitelerinde standart olarak aynı konsantrasyonlarda hazırlanan galantamin kullanıldı. Tablo 12’de görüleceği üzere, üç ekstrenin de AChE enzim inhibisyonu aktivitesinin olmadığı, sadece *T. polium* kök ekstresinin BChE enzimini orta seviyede inhibe ettiği (%İnhibisyon= 40,31±1,06) tespit edildi.

Tablo 12: *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin antikolinesteraz aktivite sonuçları

Ekstreler	AChE (%İnhibisyon)	BChE (%İnhibisyon)
<i>TpoTÜ</i>	AD	27,41±1,03
<i>TpoK</i>	AD	40,31±1,06
<i>TpaTÜ</i>	AD	19,60±0,95
Galantamin	80,04±0,23	88,65±0,99

AD: Aktif değil

5.4. *T. parviflorum* ve *T. polium* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Kimyasal İçerikleri

5.4.1. *T. parviflorum* ve *T. polium* bitki türlerinin GC-MS ile analizi

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin Clavenger aparatı ile hazırlanan uçucu yağlarının GC-MS analizi ile tespit edilen içerikleri Tablo 13'te gösterilmiştir.

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin uçucu yağ bileşimleri sırasıyla %98,2 ve %97,4 oranında aydınlatıldı. *T. parviflorum* bitkisinin major bileşenleri germakren D (%32,7), linalool (%19,9), α -kopaen (%10,6), δ -kadinen (%9,4), 1-okten-3-ol (%7,5), bisiklogermakren (%7,3) ve timol (%6,2) iken *T. polium* bitkisinin major bileşenleri (Z)- β -farnesen (%28,9), β -karyofilen (%17,6), germakren D (%12,4), bisiklogermakren (%8,2), karyofilen oksit (%6,3) ve T-kadinol (%5,8) olduğu tespit edildi.

Tablo 13: *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan uçucu yağların GC-MS analiz sonucu

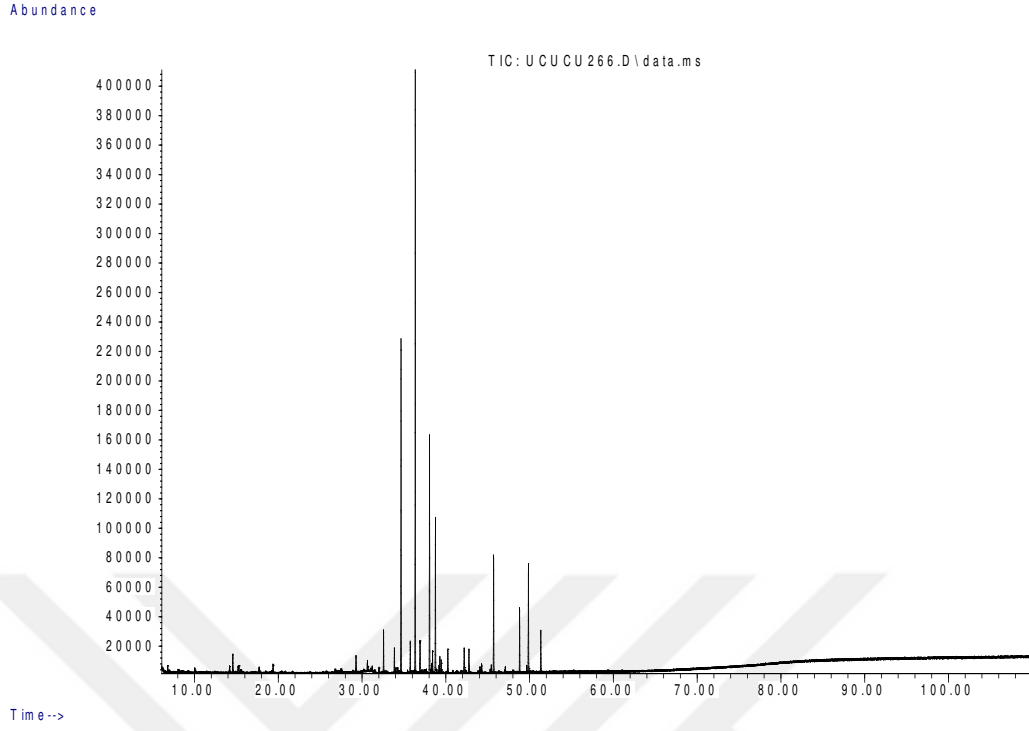
No	Uçucu yağ bileşenleri	RRİa	<i>T. polium</i> (%)	<i>T. parviflorum</i> (%)
1	2-Metil-2-pentanol	1095	1.2	-
2	Limonen	1201	0.3	-
3	1-Okten-3-ol	1450	0.9	7.5
4	α -Kubeben	1465	-	2.7
5	α -Kopaen	1501	-	10.6
6	(E,E)-2,4-Heptadienal	1504	-	1.9
7	Linalool	1548	2.0	19.9
8	Pinokarvon	1588	1.3	-
9	β -Karyofilen	1614	17.6	-
10	Mirtenal	1651	1.6	-
11	(Z)- β -Farnesen	1670	28.9	-
12	α -Humulen	1689	2.7	-
13	Germakren D	1729	12.4	32.7

14	β -Bisabolon	1738	0.3	
15	Bisiklogermakren	1754	8.2	7.3
16	δ -Kadinen	1773	0.7	9.4
17	γ -Kadinen	1779	0.5	-
18	Mirtenol	1806	1.6	-
19	Karyofilen oksit	2017	6.3	
20	Spatulenol	2147	3.1	
21	T-Kadinol	2193	5.8	-
22	Timol	2196	-	6.2
23	α -Kadinol	2254	2.0	
Toplam Tanımlanan (%)			97.4	98.2

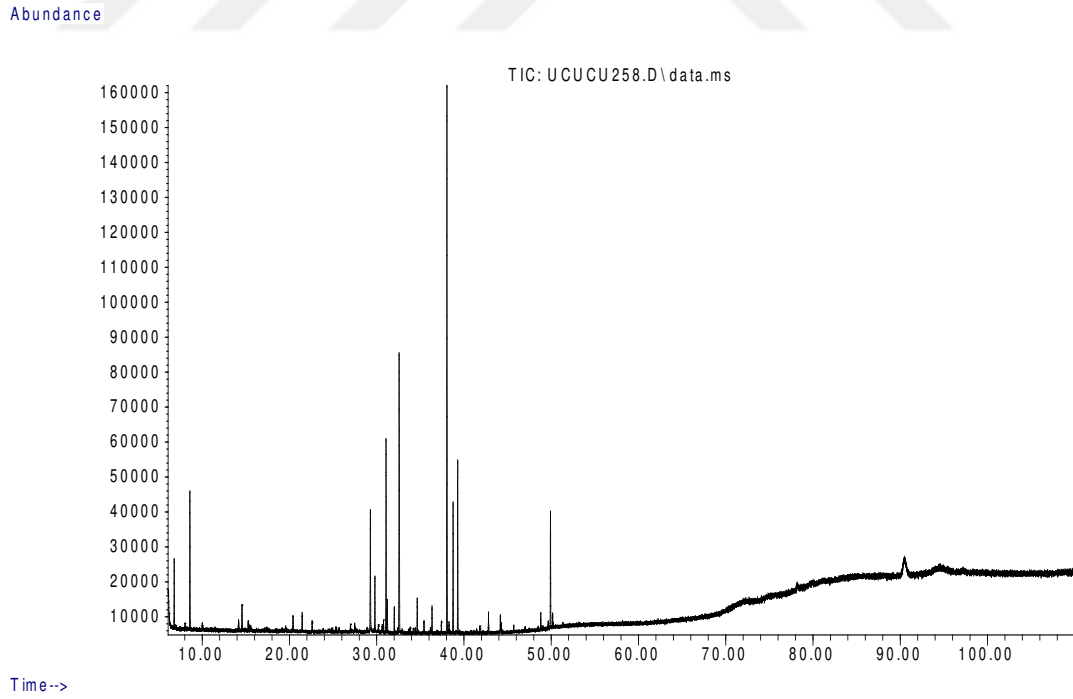
a Alkan serisi kullanılarak hesaplanan Relatif Retention İndeks

b Eser (<0.1%).

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin Clavenger aparatı ile hazırlanan uçucu yağlarının GC-MS kromatogramı Şekil 14 ve Şekil 15'te gösterilmiştir.



Şekil 14: *T. polium* bitkisinden hazırlanan uçucu yağın GC-MS kromatogramı



Şekil 15: *T. parviflorum* bitkisinden hazırlanan uçucu yağın GC-MS kromatogramı

Yüzde bileşenleri açısından bileşik sınıfları Tablo 14’te verilmiştir. Bileşikler 6 farklı sınıfta gruplandırılmış olup bunlar; monoterpenler, monoterpenoidler, seskiterpenler, seskiterpenoidler, alkoller ve aldehitler şeklindedir. 23 adet doğal bileşiğin 20 tanesini terpen türü bileşikler olup bunlardan seskiterpenler *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinde sırasıyla %62,7 ve %70,94 oranlarıyla miktarı en fazla olan gruptur. 5 adet bileşen *T. parviflorum* ve *T. polium* bitki türleri için ortak olup bunların oranları sırasıyla %24,2 ve %76,8 şeklindedir.

Tablo 14: *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan uçucu yağların GC-MS analizi sonucu saptanan bileşiklerin sınıflandırılması ve karışımdaki % miktarları

Bileşik sınıfı	<i>T. polium</i>		<i>T. parviflorum</i>	
	%Miktar	Bileşik sayısı	%Miktar	Bileşik sayısı
Monoterpenler	0,3	1	-	-
Monoterpenoidler	6,5	4	26,1	2
Seskiterpenler	70,94	8	62,7	5
Seskiterpenoidler	17,2	4	-	-
Alkoller	2,1	2	7,5	1
Aldehitler	-	-	1,9	1
Ortak bileşikler	24,2	5	76,8	5
Toplam	97,04	19	98,2	9

5.4.1. *T. parviflorum* ve *T. polium* bitki türlerinin LC-MS/MS ile analizi

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin fenolik bileşen içerikleri LC-MS/MS ile tespit edilerek Tablo 15’te gösterilmiştir.

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin LC-MS/MS analiz sonucu incelendiğinde; *T. polium* toprak üstü ekstresinde naringenin (16327 µg/g ekstre), apigenin-7-glukozit (9415 µg/g ekstre) ve (-)-epigallokateşin gallat (4082 µg/g ekstre), *T. polium* kök ekstresinin de (-)-epigallokateşin gallat (3694 µg/g ekstre), verbaskozit (3566 µg/g ekstre) ve hesperidin (2380 µg/g ekstre) major bileşenler

olarak tespit edilirken *T. parviflorum* toprak üstü ekstresindeki major bileşenler de hesperidin (5687 µg/g ekstre), (-)-epigallokateşin gallat (4451 µg/g ekstre) ve verbaskozit (3616 µg/g ekstre) olarak tespit edildi.

Verbaskozit ve hesperidin, *T. polium* kök ekstresi ile *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinde major bileşenler içerisinde yer alırken, (-)-epigallokateşin gallatın tüm ekstrlerde major bileşenler içinde yer aldığı tespit edildi.

Tablo 15: *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinin LC-MS/MS analiz sonucu

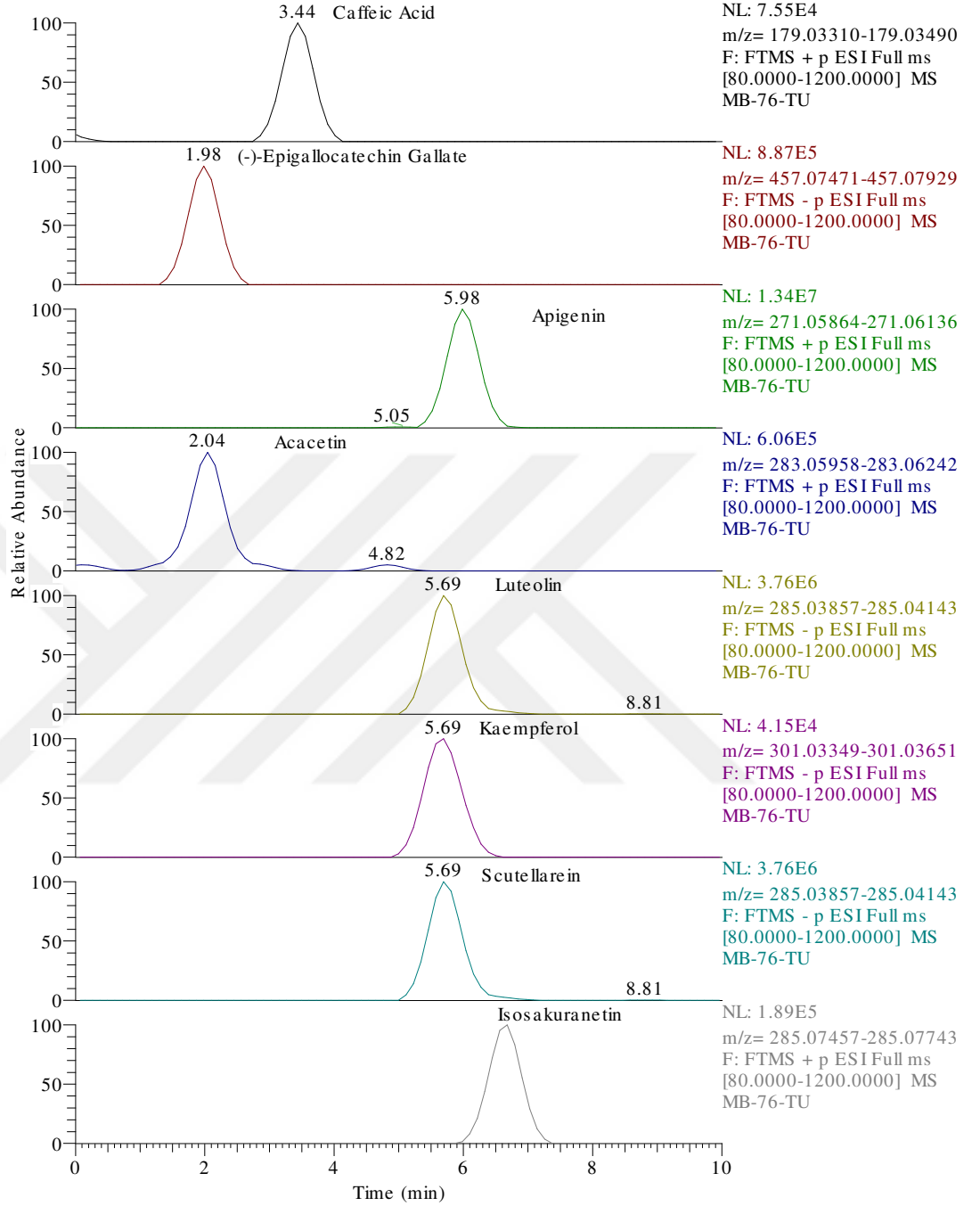
Madde Adı	TpoTÜ µg/g Ekstre	TpoK µg/g Ekstre	TpaTÜ µg/g Ekstre
Kafeik asit	218	131	TE
(+)-Kateşin	TE	TE	TE
(-)-Epigallokateşin gallat	4082	3694	4451
Apigenin	2756	17	TE
Emodin	TE	47	TE
Asasetin	311	242	250
Luteolin	367	63	73
Kaempferol	107	TE	TE
Scutellarein	366	54	65
Isosakuranetin	1083	317	TE
Dihidrokaempferol	955	TE	TE
Hispidulin	1290	288	345
Rhamnocitrin	1338	311	394
(+)-Trans taksifolin	TE	TE	TE
(-)-Epigallokateşin	157	TE	TE
Penduletin	274	TE	1007
Eupatilin	254	TE	1018
Orientin	121	TE	51
Apigenin 7-glukozit CRS	9415	TE	TE
Kersitrin	120	TE	51

Mirsitrin	370	TE	TE
Nepetin-7-glukozit	153	TE	TE
Luteolin-7-rutinozit	591	144	TE
Verbaskosid	3876	3566	3616
Hederagenin	2100	TE	911
Quillaic asit	TE	TE	TE
Herniarin	421	229	191
Kaempferol-3-O-glukozit	127	TE	64
Nepetin	TE	TE	TE
Hiperozid	403	TE	TE
3-o-Metil kersetin	374	TE	TE
(-)Epikateşin	TE	TE	TE
Kersetin	126	TE	TE
Rosmarinik Asit	TE	TE	TE
Hesperidin	126	2380	5687
Naringin	944	TE	TE
Naringenin	16327	280	92
Chrysin	TE	TE	TE
Fumarik asit	TE	TE	TE
Rutin	TE	245	TE

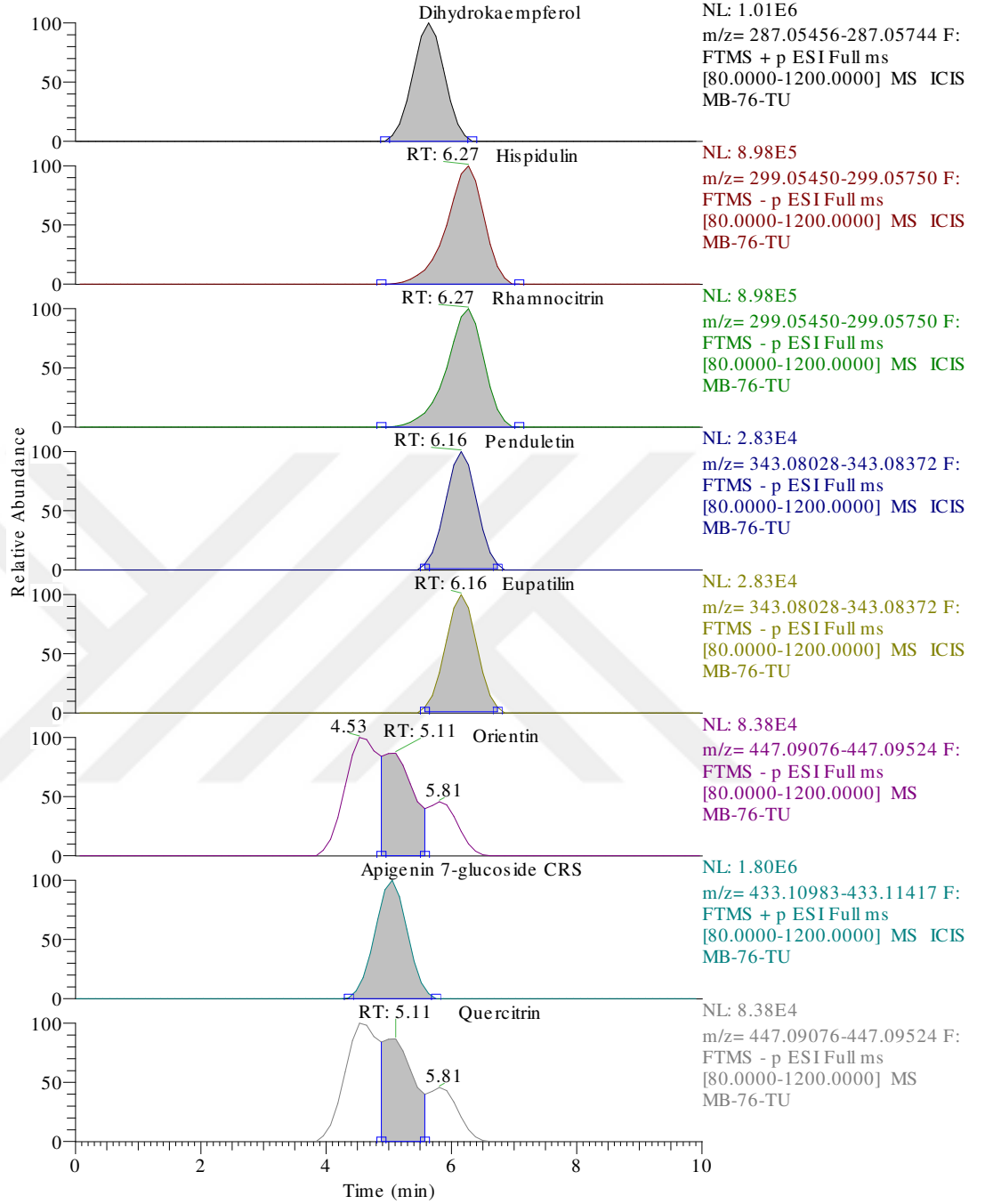
TE: Tespit edilemedi

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin fenolik bileşen içeriklerinin LC-MS/MS kromatogramları Şekil 16, Şekil 17, Şekil 18, Şekil 19, Şekil 20, Şekil 21, Şekil 22 ve Şekil 23'te gösterilmiştir.

RT: 0.00 - 10.00 SM: 11G

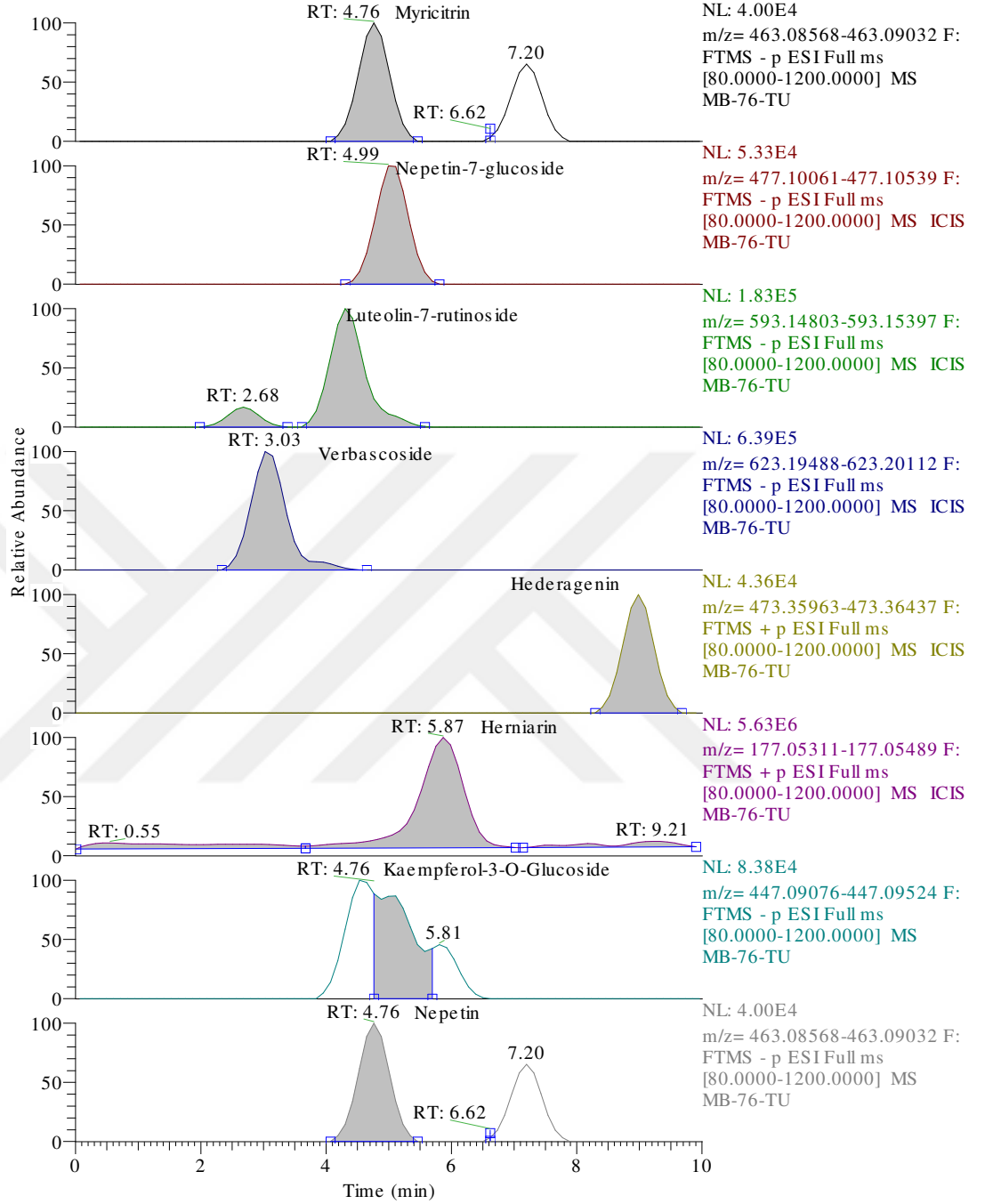
Şekil 16: *T. polium* toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-1

RT: 0.00 - 10.00 SM: 11G

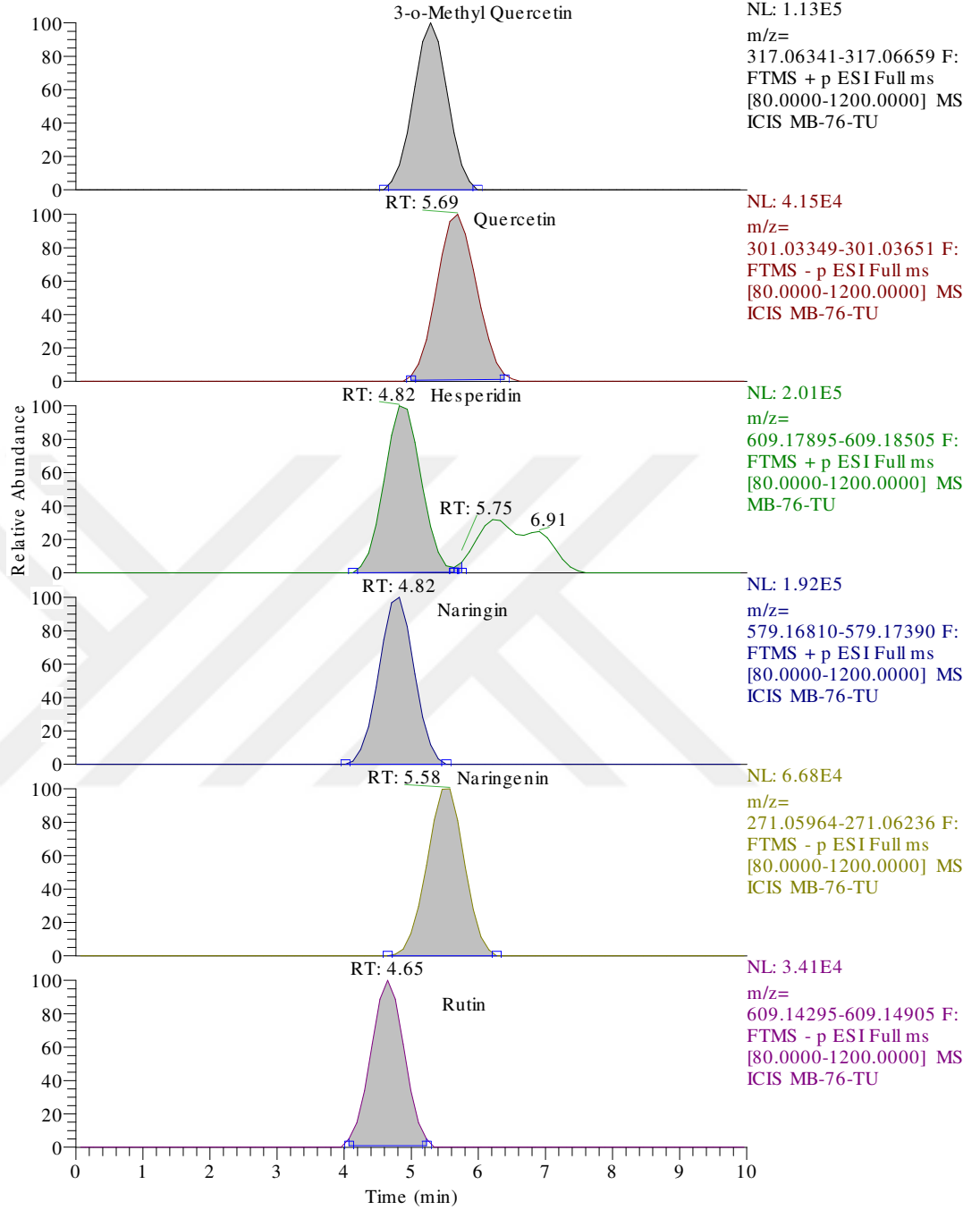


Şekil 17: *T. polium* toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-2

RT: 0.00 - 10.00 SM: 11G

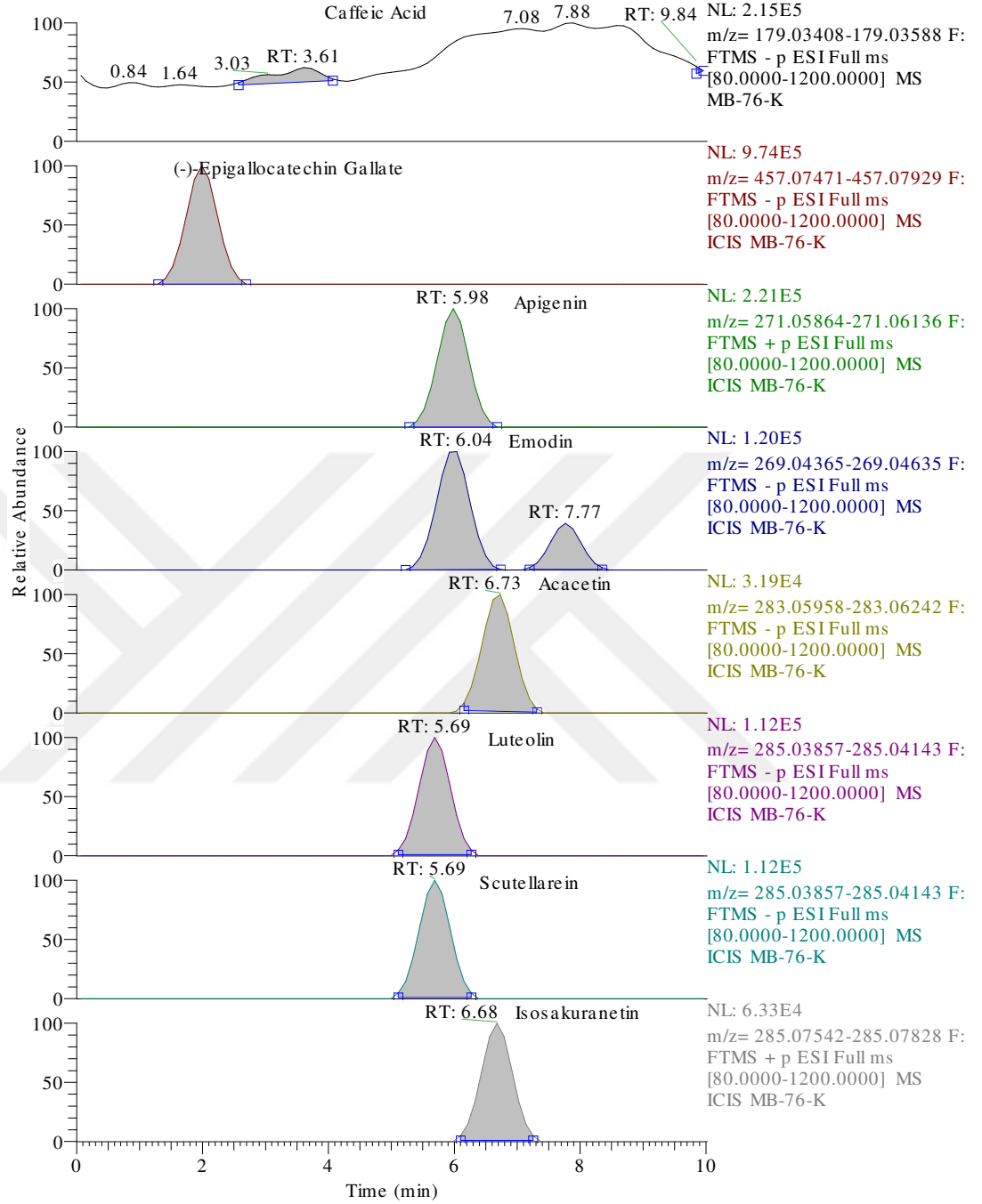
Şekil 18: *T. polium* toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-3

RT: 0.00 - 10.00 SM: 11G

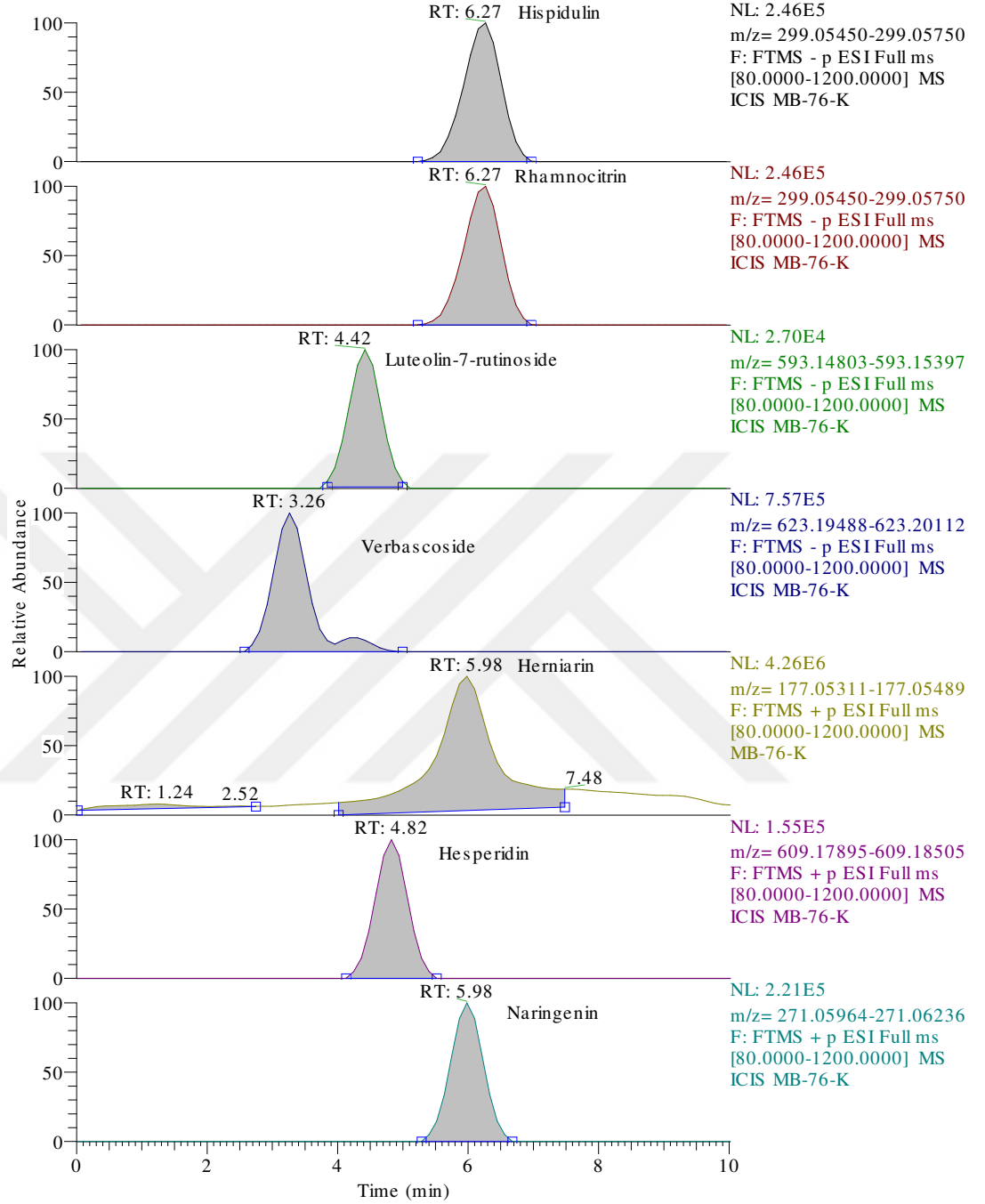


Şekil 19: *T. polium* toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-4

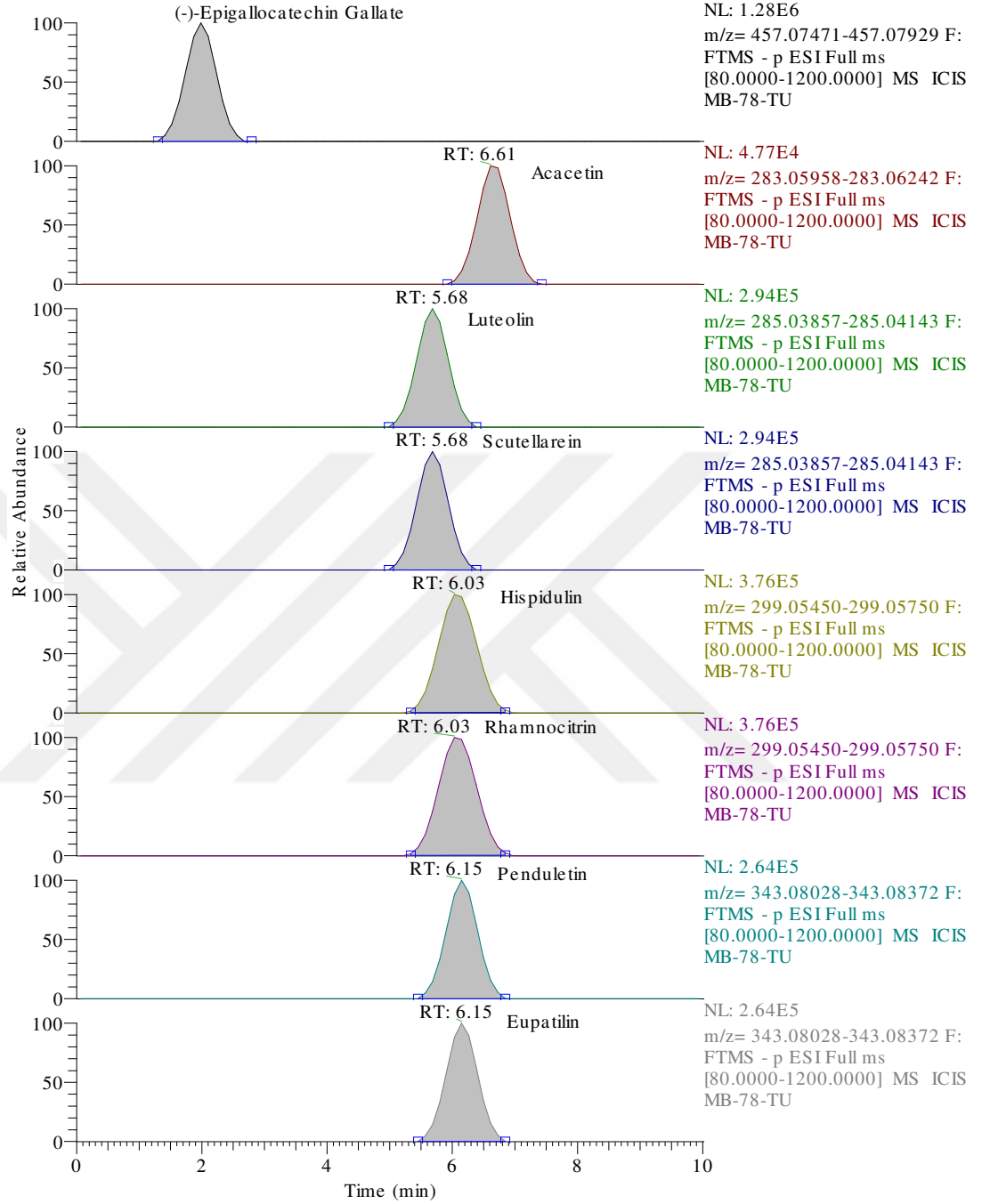
RT: 0.00 - 10.02 SM: 11G

Şekil 20: *T. polium* kök ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-1

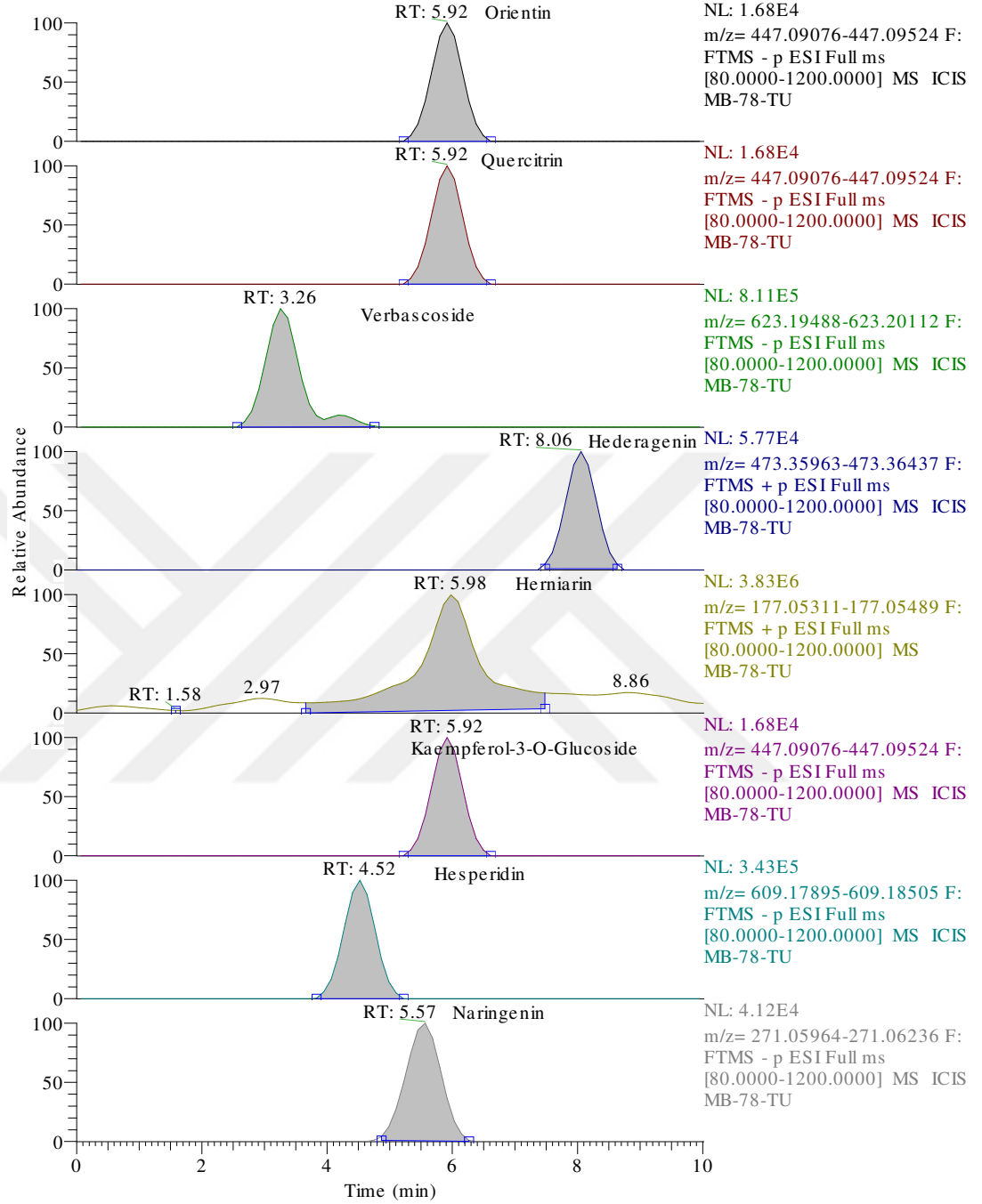
RT: 0.00 - 10.02 SM: 11G

Şekil 21: *T. polium* kök ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-2

RT: 0.00 - 10.02 SM: 11G

Şekil 22: *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-1

RT: 0.00 - 10.02 SM: 11G

Şekil 23: *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı-2

6. TARTIŞMA

Geleneksel bitkisel ilaçların kullanımı dünya çapında büyük ilgi görmüştür. Şifalı bitki araştırmalarına olan bu ilgi, geleneksel terapötik potansiyeli olan bitkisel ürünler üzerine odaklanmıştır. Ancak, ilaçların keşfedilmesinde doğal ürünlerin kullanılması, yeni farmasötik preparatların araştırılmasında önemli bir sorun olarak kalmıştır (9). Şifalı bitkilerin terapötik faydaları genellikle antioksidan özelliklerine atfedilir (90, 91). Antioksidanlar, kardiyovasküler hastalık riskini azaltmada önemli rol oynarlar ve hepatoprotektif ve antibakteriyel aktiviteler de dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik aktiviteler sergilerler (92).

Lamiaceae familyasında en çok çalışılan kimyasallar olan hidroksisinamik ve hidroksibenzoik asitin (bağımsız ya da glikozitlere ve esterlere bağlı) insan sağlığı üzerinde, serbest radikal süpürücü, metal bağlama, enzimatik reaksiyonları düzenleme gibi çok çeşitli yararları vardır (139). Son on yılda, tüketicilere temel beslenmenin üzerinde sağlık yararları sağlayabilen fonksiyonel gıda ürünlerinin geliştirilmesi için büyük çaba harcanmıştır. Bilimsel verilerin yanı sıra epidemiyolojik bulgular, flavonoidler ve hidroksisinamik asitler gibi polifenoller açısından zengin bir diyetin etkin sağlık etkilerine sahip olduğunu ve dejeneratif hastalıkların, örneğin kardiyovasküler hastalıkların risklerine karşı koruma sağlayabileceğini göstermiştir (140).

Teucrium türleri, 2000 yıldan daha fazla diüretik, terletici, antiseptik ve antipiretik amaçlarla kullanılmıştır (26). Geleneksel tıpta da, birçok farmakolojik aktivite *Teucrium* cinsinin antioksidan, antispazmodik, antihelmintik, antiromatoik, diüretik, antidiyabetik ve antikanser etkilerine atfedilmiştir (10).

T. parviflorum ve *T. polium* bitkileri kurutulup toz haline getirildikten sonra, *T. parviflorum* bitkisinin toprak üstü, *T. polium* bitkisinin toprak üstü ve kök kısımlarından hazırlanan etanol ekstratların toplam fenolik ve flavonoid miktarları belirlendi. DPPH serbest radikal giderimi, ABTS katyon radikali giderimi, metal bağlama ve CUPRAC yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri ve asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz inhibisyon yöntemleri ile antikolinesteraz aktiviteleri belirlendi. Clavenger aparatı ile elde edilen uçucu yağ içerikleri GC-MS ile çalışıldı. Bitkilerin

etanol ekstralarının LC-MS/MS ile fenolik bileşik içerikleri belirlendi. Ayrıca *T. parviflorum* bitkisinin antikolinesteraz aktivitesi ve LC-MS/MS ile kimyasal içeriği ilk kez bu yüksek lisans tezi ile çalışıldı.

T. parviflorum bitkisinin toprak üstü, *T. polium* bitkisinin de toprak üstü ve kök kısımlarından hazırlanan etanol ekstralarının toplam fenolik miktarlarının pirokatekole eşdeğer, toplam flavonoid miktarlarının da kersetine eşdeğer olarak belirlendiği çalışmamızda; *T. polium* kök ekstresinin hem toplam fenolik içerik hem de toplam flavonoid içerik bakımından en yüksek değerlere sahip olduğu, üç ekstrenin toplam fenolik miktarlarının $17,11 \pm 0,00$ ile $49,89 \pm 1,36$ μg pirokatekole eşdeğer/mg arasında olduğu ve üç ekstrenin toplam flavonoid miktarlarının yakın değerlerde ($35,94 \pm 0,82$ ile $43,54 \pm 1,85$ mg QE/g) olduğu tespit edildi. Çalışmamıza benzer şekilde; 2016'da Semiz ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmada *T. alyssifolium* staph. bitkisinin yaprak, çiçek ve gövde ekstralarının toplam fenolik içerikleri 13,99 ile 41,54 mg GAE/g arasında tespit edilirken, toplam flavonoid içerikleri 16,82 ile 49,52 mg Ru/g arasında tespit edilmiştir (178). Ait Chaouche ve ark. tarafından 2018'de *T. polium* ile yapılan çalışmada, bitkinin etanol ekstresinin toplam flavonoid içeriği $34,46 \pm 2,24$ mg QE/g olarak tespit edilmiş olup, çalışmamızdaki sonucumuzu destekler niteliktedir (179). Stankovic ve ark. tarafından 2012 yılında *T. polium* subsp. *polium*'un yaprak, çiçek ve köklerinden hazırlanan 20 ayrı ekstrenin Ginkgo ve yeşil çay standartlarıyla karşılaştırıldıkları çalışmalarında, total fenolik içeriğin ekstradaki miktarının 14,57 ile 157,84 mg GaA/g, total fenolik içeriğin ekstradaki miktarının da 6,48 ile 139,87 mg GaA/g arasında değiştiği ve en yüksek fenolik içeriğin bitkinin yaprak kısmının metanolik ekstresinde elde edildiği bildirilmiştir (118).

Bitkilerin fenolik bileşikleri çok önemlidir; çünkü fenolik bileşikler, önemli ölçüde serbest radikal temizleme aktiviteleri sergiler (139). Genel olarak fenolikler açısından zengin bitkisel materyaller, lipidlerin oksidatif bozunmasını geciktirerek gıdanın kalitesini ve besin değerini artıran gıda endüstrisinde giderek daha fazla kullanılmaktadır (180). Çalışmamızdaki *T. polium* kök ekstresindeki yüksek toplam fenolik içeriği, *T. polium*'un önemli antiradikal ve antioksidan aktivitesi ile ilgili olabilir.

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin etanol ekstrelerinin tümünde doza bağlı radikal temizleme kapasitesi ile *T. polium* kök ekstresinin (IC_{50} değeri: $33,72 \pm 0,05$ $\mu\text{g/mL}$) en yüksek aktivite gösterdiği, *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinin düşük aktivite gösterdiği belirlendi. *T. polium* kök ekstresinin standart olarak kullanılan BHT'den daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. Çalışmamıza benzer şekilde, Sharififar ve ark. *T. polium*'un DPPH serbest radikal giderim IC_{50} değerini metanol ekstresinde $20,1 \pm 1,7$ $\mu\text{g/mL}$, su ekstresinde $40,6 \pm 4,0$ $\mu\text{g/mL}$ tespit etmiştir (181). Yine Mahmoudi ve ark. tarafından *T. marum* ile yapılan çalışmada, DPPH metodu ile aktiviteyi IC_{50} değeri olarak $65,65 \pm 2,78$ $\mu\text{g/mL}$ tespit etmiştir (182); bu da çalışmamızdaki *T. polium* toprak üstü ekstresindeki IC_{50} değeri $67,39 \pm 1,33$ $\mu\text{g/mL}$ olan sonucumuzla birbirine çok yakındır.

Chedia ve ark. tarafından *T. polium*'un metanol ekstresi ile yapılan çalışmada, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi ile IC_{50} değeri $21,00 \pm 0,5$ $\mu\text{g/mL}$ olarak bildirilmiş olup, çalışmamızdaki *T. polium* kök ekstresinin IC_{50} değeri olan $33,72 \pm 0,05$ $\mu\text{g/mL}$ ile benzerdir (183). Ancak Ait Chaouche ve ark. tarafından *T. polium* ile yapılan çalışmada, DPPH temizleme kapasitesi olarak IC_{50} değeri $8,01 \pm 0,07$ $\mu\text{g/mL}$ tespit edilmiş olup (179), çalışmamızdaki radikal temizleme kapasitesi en yüksek olan *T. polium* kök ekstresinin $33,72 \pm 0,05$ $\mu\text{g/mL}$ saptanan IC_{50} değerinden farklılık göstermektedir. Bu farklılığın, Cezayir'de yetişen *T. polium* türlerindeki fenolik içeriklerin değişiminden kaynaklandığı düşünülebilir.

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin etanol ekstrelerinin tümünde doza bağlı ABTS katyon radikali giderim aktivitesinin mevcut olduğu ve *T. polium* kök ekstresinin en yüksek aktivite (IC_{50} değeri: $15,01 \pm 0,10$ $\mu\text{g/mL}$) gösterdiği, *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinin de en düşük aktiviteyi (IC_{50} değeri: $65,60 \pm 0,45$ $\mu\text{g/mL}$) gösterdiği belirlendi. *T. polium* kök ekstresinin standart olarak kullanılan BHA'dan daha iyi aktivite gösterdiği tespit edildi.

Chedia ve ark. tarafından *T. polium*'un metanol ekstresi ile yapılan çalışmada, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi ile IC_{50} değeri $15,00 \pm 0,1$ $\mu\text{g/mL}$ olarak bildirilmiştir (183). Chedia ve ark. tarafından elde edilen sonuç ile çalışmamızdaki *T. polium* kök ekstresinin IC_{50} değeri olan $15,01 \pm 0,10$ $\mu\text{g/mL}$ ile aynı olmasına karşın, *T. polium* bitkisinin sürgünleri ile çalışan Alm Mustafa ve Althunibat ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi ile IC_{50} değerini

146,4±1,1 µg/mL olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızdaki en düşük aktiviteyi gösteren *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinin IC₅₀ değeri 65,60±0.45 µg/mL olarak saptanmıştır. Aradaki yüksek farkın çalışmanın gerçekleştirildiği Pakistan'dan toplanan *Teucrium polium* örneğinin içerdiği fenolik bileşiklerin farklılığından kaynaklanabilir (184).

Vujanović ve ark. nın *T. chamaedrys* ve *T. montanum* ile yaptıkları çalışmada, metal bağlama aktivitesi yöntemi ile antioksidan aktivite sonuçları sırasıyla sırasıyla 7,61±0,31 mg EDTAE/g ve 1,38±0,39 saptanarak yüksek düzeyde aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (185). Bu sonucun aksine, çalışmamızda EDTA standardı kullanılarak *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinin etanol ekstrelerinin metal bağlama aktivitesi yöntemine göre antioksidan aktiviteleri tayin edildiğinde, ekstrelerin hiçbirinin metal bağlama aktivitesi göstermediği tespit edildi.

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinden hazırlanan 10, 25, 50, 100 µg/mL konsantrasyonlardaki ekstrelerin CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktiviteleri tüm ekstrelerde konsantrasyonun artmasıyla aktivitenin arttığı ve 100 µg/mL konsantrasyondaki *T. polium* kök ekstresinin en yüksek aktiviteyi (Absorbans: 1,905±0,037), *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinin de en düşük aktiviteyi gösterdiği belirlendi. Çalışmamıza benzer şekilde, Özer ve ark.'nın 2018'de *T. polium* dekoksasyonu ile yaptıkları çalışmada, CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivitenin 2,2±0,4 mmol/TR g değeri ile standart olarak kullanılan kurkuminden (0,9 mmol/TR g) daha iyi bir aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir (186). Ayrıca Vujanović ve ark. nın *T. chamaedrys* ve *T. montanum* ile yaptıkları çalışmada, antioksidan değerleri sırasıyla 113,11 ± 4,13 mg TE/g ve 125,91 ± 2,01 saptanarak yüksek düzeyde aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (185). Bu sonuç da çalışmamızı destekler niteliktedir.

Ek olarak, çalışmamızda DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi ve CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite deneylerinde, antioksidan aktivite ile *T. polium* kök ekstresindeki toplam fenolik içeriği arasında pozitif bir korelasyon olduğu görüldü. *T. polium* kök ekstresinin fenolik içeriğindeki artışın IC₅₀ değerini düşürmesi önemlidir. Literatüre bakıldığında, bitki ekstreleri ile antioksidan aktivite tayininin yapıldığı sayısız

araştırmada da fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri arasında yüksek bir doğrusal ilişki olduğu bildirilmiştir (187-189).

Orhan ve Aslan tarafından Lamiaceae familyasına ait farklı türler ile gerçekleştirilen çalışmada, *T. polium*'un antikolinesteraz aktivitesi 1 mg/mL'de %65,8 ölçülerek Alzheimer hastalığı tedavisinde alternatif olabileceği bildirilmiştir (190). Vladimir-Knežević ve ark tarafından *T. arduini*, *T. chamaedrys*, *T. montanum* ve *T. polium* ile yapılan çalışmada da rosmarinik asidin, antikolinesteraz aktivite ile antioksidan aktiviteden sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır (191). Ancak çalışmamızda, AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyonuna dayanarak ekstrelerin antikolinesteraz aktiviteleri incelendiğinde, üç ekstrenin de AChE enzim inhibisyonu aktivitesinin olmadığı, sadece *T. polium* kök ekstresinin BChE enzim inhibisyonunu orta seviyede (%40,31±1,06 inhibisyon) gerçekleştirdiği, standart olarak kullanılan galantamin (%88,65±0,99 inhibisyon) kadar aktif olmadığı tespit edildi.

Çalışmamızda *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinin Clavenger aparatı ile hazırlanan uçucu yağlarının GC-MS analizi ile içerikleri; *T. parviflorum* bitkisi için major bileşenler germakren D (%32,7), linalool (%19,9) ve α -copaen (%10,6), *T. polium* bitkisi için ise major bileşenleri (Z)- β -farnesen (%28,9), β -karyofilen (%17,6) ve germakren D (%12,4) olarak tespit edildi. Sevindik tarafından 2016 yılında *T. polium* bitkisinin uçucu yağının araştırıldığı çalışmada bizim çalışma sonucumuzda da major bileşen olarak tespit edilen (Z)- β -Farnesen (%15,49) tespit edilmiştir (116). 2011 yılında Bağcı tarafından *T. parviflorum* ile yapılan çalışmada da Germakren D (%9,2) major bileşenlerden biri olarak tespit edilmiştir (80). Genel olarak farklı *Teucrium* türlerinde de aynı bileşenler major bileşen olarak tanımlanmıştır. Kremer ve ark. tarafından 2015 yılında *T. arduini* ile yapılan çalışmada %22,1'lik oranı ile β -karyofilen major bileşen olarak tespit edilmiştir (70). Muselli ve ark. tarafından Korsika ve Sardinia'daki *T. chamaedrys* ile yapılan çalışmada major bileşenler sırasıyla, β -karyofilen (%29,0 ve %27,4) ile germakren D (%19,4 ve %13,5) olarak tespit edilmiştir (77). Çalışmamız ile benzer şekilde, Cavaleiro ve ark. tarafından 2002 yılında *T. salviastrum* ile yapılan araştırmada major bileşenler E- β -Farnesen (%29,3), E-karyofilen (%24,1) ve germakren D (%21,6) olarak tespit edilmiştir (74). Aynı çalışmada, GC/MS ile %95,9 oranında uçucu yağ bileşenleri tanımlanan *T. salviastrum* yaprak ekstresinde %81,9 oranında miktarı en fazla grup tespit edilen

seskiterpenler; benzer şekilde çalışmamız sonucunda da *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinde sırasıyla %62,7 ve %70,94 elde edilen oranlarıyla miktarı en fazla saptanan gruptur.

T. parviflorum ve *T. polium* bitkilerinin LC-MS/MS analizinde; *T. polium* toprak üstü ekstresinde naringenin (16327 µg/g ekstre), apigenin-7-glukozit (9415 µg/g ekstre) ve (-)-epigallokateşin gallat (4082 µg/g ekstre), *T. polium* kök ekstresinin de (-)-epigallokateşin gallat (3694 µg/g ekstre), verbaskozit (3566 µg/g ekstre) ve hesperidin (2380 µg/g ekstre) major bileşenler olarak tespit edilirken *T. parviflorum* toprak üstü ekstresindeki major bileşenler de hesperidin (5687 µg/g ekstre), (-)-epigallokateşin gallat (4451 µg/g ekstre) ve verbaskozit (3616 µg/g ekstre) olarak tespit edildi. Çalışmamızda *T. polium* kök ekstresi ile *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinde major bileşenler içerisinde tespit edilen bir fenilpropanoid glikozit olan verbaskozit, Boghrati ve ark. tarafından 2016 yılında *Teucrium polium* L. var. *gnaphalodes* ile yapılan çalışmada da major bileşenlerden biri olarak tespit edilmiştir (51). Diğer taraftan, 2018 yılında Özer ve ark.'nın *T. polium*'un LC-MS/MS ile fenolik içerik analizi çalışmalarındaki major içerikler, dekoksasyonu için fumarik asit, luteolin-7-O-glukozit, luteolin-5-O-glukozit ve pelargonin, infüzyonu için de fumarik asit, luteolin-7-O-glukozit, pelargonin ve luteolin-5-O-glukozit olup (186), her iki ekstrenin de major bileşenleri olan fumarik asit, luteolin-7-O-glukozit, luteolin-5-O-glukozit ve pelargonin bizim çalışmamızda tespit edilememiştir. Yine çalışmamızdan farklı olarak, Sharififar ve ark.'nın 2009 yılında *T. polium* ile yaptıkları analizde rutin, apigenin, 3',6-dimetoksi apigenin ve 4',7-dimetoksi apigenin major bileşenler olarak tespit edilmiştir (181).

7. SONUÇ

Bu tez çalışmamızda, *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkileri kurutulup toz haline getirildikten sonra, kök ve toprak üstü kısımları etanol ile ekstre edildi ve bu ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid miktarları belirlendi. Daha sonra DPPH serbest radikal giderimi, ABTS katyon radikali giderimi, metal bağlama ve CUPRAC yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri ve asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz inhibisyon yöntemleri ile antikolinesteraz aktiviteleri belirlendi. Clavenger aparatı ile elde edilen uçucu yağların GC-MS ile analizi yapıldı. Ayrıca bitkilerin etanol ekstralarının LC-MS/MS ile fenolik bileşik içerikleri belirlendi.

T. polium kök ekstresinin hem toplam fenolik içerik hem de toplam flavonoid içerik bakımından en yüksek değere sahip olduğu bulundu.

DPPH serbest radikal giderimi aktivitesi yönteminde, tüm ekstrelerde konsantrasyonun artmasıyla aktivitenin arttığı ve *T. polium* kök ekstresinin en yüksek aktivite, *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinin ise düşük aktivite gösterdiği ayrıca *T. polium* kök ekstresinin standart olarak kullanılan BHT'den daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yönteminde, tüm ekstrelerde konsantrasyonun artmasıyla aktivitenin arttığı ve *T. polium* kök ekstresinin tüm konsantrasyonlarda en yüksek aktivite gösterdiği ve standart olarak kullanılan BHA'dan daha iyi aktivite gösterdiği belirlendi. CUPRAC yönteminde, tüm ekstrelerde konsantrasyonun artmasıyla aktivitenin arttığı ve *T. polium* kök ekstresinin en yüksek, *T. parviflorum* toprak üstü ekstresinin de en düşük aktiviteyi gösterdiği belirlendi. *T. polium* kök ekstresinin bütirilkolinesteraz inhibisyon yönteminde en iyi aktivite gösterdiği belirlendi. Ekstrelerden hiçbiri metal bağlama ve asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi göstermedi.

Clevenger aparatı ile elde edilen uçucu yağların içeriği GC-MS analizi ile belirlendi ve *Teucrium parviflorum* için major bileşenler germakren D (%32,7), linalool (%19,9) ve α -copaen (%10,6), *Teucrium polium* için ise (Z)- β -farnesen (%28,9), β -karyofilen (%17,6) ve germakren D (%12,4) olarak tespit edildi.

LC-MS/MS analizinde; *T. polium* toprak üstü ekstresinde naringenin (16327 µg/g ekstre), apigenin 7-glukozit (9415 µg/g ekstre) ve (-)-epigallokateşin gallat (4082 µg/g ekstre), *T. polium* kök ekstresinin de (-)-epigallokateşin gallat (3694 µg/g ekstre), verbaskozit (3566 µg/g ekstre) ve hesperidin (2380 µg/g ekstre) major bileşenler olarak tespit edilirken *T. parviflorum* toprak üstü ekstresindeki major bileşenler de hesperidin (5687 µg/g ekstre), (-)-epigallokateşin gallat (4451 µg/g ekstre) ve verbaskozit (3616 µg/g ekstre) olarak tespit edildi.

T. polium'un yüksek fenolik içeriğinden kaynaklı yüksek antioksidan potansiyele sahip olduğu söylenebilir. *T. parviflorum* bitkisinin antikolinesteraz aktivitesi ve LC-MS/MS ile kimyasal içeriği ilk kez bu yüksek lisans tezi ile çalışıldı.

8. KAYNAKLAR

1. Winston JC. Health-promoting properties of common herbs. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999; 70(1): 491-499.
2. Amaral S, Mira L, Nogueira JM, Da Silva AP, Helena Florêncio M. Plant extracts with anti-inflammatory properties-a new approach for characterization of their bioactive compounds and establishment of structure-antioxidant activity relationships. *Bioorg Med Chem.* 2009; 17:1876-1883.
3. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995;41:1819-1828.
4. Halliwell B. Free Radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet.* 1994;344:721-724.
5. Hochstein P, Atallah AS. The nature of oxidant and antioxidant systems in the inhibition of mutation and cancer. *Mutat Res.* 1988;202:363-75.
6. MacDonald-Wick LK, Wood LG, Garg ML, Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review, *J. Sci. Food Agric.* 2006; 8: 2046–2056.
7. Kopáni M, Celec P, Danišovič L, Michalka P, Biró C. Oxidative stress and electron spin resonance. *Clin Chim Acta.* 2006;364(1):61-6.
8. Ito N, Fukushima S, Hasegawa A, Shibata M, Ogiso T. Carcinogenicity of butylatedhydroxyanisole in 344 rats. *J Natl Cancer Inst.* 1983;70: 343-347.
9. Leonti M, Verpoorte R. Traditional Mediterranean and European herbal medicines. *J Ethnopharmacol.* 2017; 199:161–167.
10. Jaradat NA, Ayesh OI, Anderson C. Ethnopharmacological survey about medicinal plants utilized by herbalists and traditional practitioner healers for treatments of diarrhea in the West Bank/Palestine. *J Ethnopharmacol.* 2016; 182:57–66.

11. World Alzheimer Report (2016). Improving healthcare for people living with dementia: coverage, quality and costs now and in the future. <https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2016.pdf> (Erişim: 02/03/2019).
12. Akkaya Ç. Alzheimer Hastalarında Oksidatif DNA Hasarı ve Redoks Statüsünün Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2015, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Yıldız DİNÇER).
13. Lopez OL, Becker JT, Wahed AS. Saxton J, Sweet RA, Wolk DA, Klunk W, Dekosky ST. Long-term effects of the concomitant use of memantine with cholinesterase inhibition in Alzheimer disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80(6):600-607.
14. Kılıçkaya N. Edinburgh (İngiltere) Herbaryumu'nda Bulunan *Marrubium* L. (Lamiaceae) Cinsine Ait Bazı Türlerin Polen Morfolojisi. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2017, Nevşehir (Danışman: Doç. Dr. Gençay AKGÜL).
15. Tzima K, Brunton NP, Rai DK. Qualitative and quantitative analysis of polyphenols in Lamiaceae plants-a review. *Plants (Basel)*. 2018; 7(25):1-30.
16. Hossain MB, Rai DK, Brunton NP, Martin-Diana AB, Barry-Ryan C. Characterization of phenolic composition in Lamiaceae spices by LC-ESI-MS/MS. *J Agric Food Chem*. 2010; 58(19), 10576-10581.
17. Özcan T. *Teucrium* L. (Lamiaceae) Cinsinin Revizyonu. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2015, Balıkesir (Danışman: Doç. Dr. Tuncay DİRMENCİ)
18. Baser KHC. Essential oils of anatolian Labiateae: a profile. *Acta Horti*. 1993; 333:217-237.
19. Kocabaş YZ, Karaman S. Essential oils of Lamiaceae family from south east Mediterranean region (Turkey), *Pak J Biol Sci*. 2001; 4: 1221-1222.

20. Özcan T, Dirmenci T, Martin E, Altınordu F. Cytotaxonomical study in five taxa of the genus *Teucrium* L. (Lamiaceae). *Caryologia*. 2015; 68(1):1-8.
21. Ecevit Genç G, Özcan T, Dirmenci T. Leaf indumentum in some Turkish species of *Teucrium* (Lamiaceae). *Istanbul J Pharm*. 2018; 48(1):6-11.
22. Yazgın A. Bazı *Teucrium* L. (Lamiaceae) Türlerinin Kemotaksonomik Yönden Araştırılması. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2010, Elazığ (Danışman: Doç. Dr. Eyüp BAĞCI)
23. Tekin Z. Türkiye İçin Endemik Bir Tür Olan *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın (Lamiaceae) Antioksidan Özelliklerinin ve Enzim İnhibitör Etkisinin Değerlendirilmesi. Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2018, Konya (Danışman: Prof. Dr. Gökalep Özmen GÜLER)
24. Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed M, Ghorbani A. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iran J Pharm Res*. 2010;4:63-79.
25. Davis PH. Flora of Turkey and The East Aegaen Islands. Edinburg University Press, Eurasian J. Agric & Environ Sci. 1982; 5(6):843-846.
26. Nur-E-Alam M, Yousaf M, Ahmed S, Al-Sheddi ES, Parveen I, Fazakerley DM, Bari A, Ghabbour HA, Threadgill MD, Whatley KCL, Hoffmann KF, Al-Rehaily AJ. Neoclerodane diterpenoids from Reehal Fatima, *Teucrium yemense*. *J Nat Prod*. 2017; 80(6):1900-1908.
27. Ali NAA, Wurster M, Arnold N, Lindequist U, Wessjohann L. Chemical composition of the essential oil of *Teucrium yemense* Deflers. *Rec Nat Prod*. 2008; 2:25-32.
28. Küçükbay FZ, Yıldız , Kuyumcu E, Gunal S. Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oils of *Teucrium orientale* var. *orientale* and *Teucrium orientale* var. *puberulens*. *Chem Nat Compd*. 2011; 47:547-913.

29. Tunçtürk R, Tunçtürk M, Eryiğit T. Van Florasında Yayılış Gösteren *Teucrium* Cinsine Ait Bazı Türlerin Kimyasal İçerikleri. KSU J Agric Nat. 2019; 22(1): 138-142.
30. Djabou N, Muselli A, Alkali H, Dib ME, Tabti B, Varesi L, Costa J. Chemical and genetic diversity of two Mediterranean subspecies of *Teucrium polium* L. Phytochemistry. 2012; 83: 51-62.
31. Baali N, Belloum Z, Baali S, Chabi B, Pessemesse L, Fouret G, Ameddah S, Benayache F, Benayache S, Feillet-Coudray C, Cabello G, Wrutniak-Cabello C. Protective activity of total polyphenols from *genista quadriflora* munby and *Teucrium polium geyrii* maire in acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Nutrients. 2016; 8(4):193.
32. Bruno M, Maggio AM, Piozzi F, Puech S, Rosselli S, Simmonds MS. Neoclerodane diterpenoids from *Teucrium polium* subsp. *polium* and their antifeedant activity. Biochem Syst Ecol. 2003; 31(9):1051-1056.
33. Kadifkova Panovska T, Kulevanova S, Stefova M. In vitro antioxidant activity of some *Teucrium* species (Lamiaceae). Acta Pharm. 2005;55:207-214.
34. Redzic S. Wild medicinal plants and their usage in traditional human therapy (Southern Bosnia and Herzegovina), J Med Plant Res. 2010; 4:1003–1027.
35. Nencini C, Galluzzi P, Pippi F, Menchiari A, Micheli L. Hepatotoxicity of *Teucrium chamaedrys* L. decoction: role of difference in the harvesting area and preparation method. Indian J Pharmacol. 2014;46(2):181–184.
36. Kaya A, Demirci B, Dinç M, Doğu S, Baser HC. Compositions of the essential oils of *Teucrium cavernarum* and *Teucrium paederotooides*, two endemic species from Turkey. J Essent Oil Bear Pl. 2013; 16:588-594.
37. Çakılcıoğlu U, Türkoğlu I. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey). J Ethnopharmacol. 2010; 132: 165-175.
38. Guesmi F, Tyagi AK, Prasad S, Landoulsi A. Terpenes from essential oils and hydrolate of *Teucrium alopecurus* triggered apoptotic events dependent on caspases activation and PARP cleavage in human colon cancer cells

- through decreased protein expressions. *Oncotarget*. 2018; 9(64):32305-32320.
39. Baydoun S, Chalak L, Dalleh H, Arnold N. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in traditional medicine by the communities of Mount Hermon, Lebanon. *J Ethnopharmacol*. 2015; 173:139-156.
40. Javidnia K, Miri R, Khosravi A. Composition of the essential oil of *Teucrium persicum* Boiss. from Iran. *J Essent Oil Res*. 2007; 19:430-432.
41. Rahim G, Qureshi R, Gulfraz M, Arshad M, Rahim S. Preliminary phytochemical screening and ethnomedicinal uses of *Teucrium stocksianum* from Malakand Division. *J Med Plants Res*. 2012; 6(5): 704-707.
42. Çetin H, Cinbilgel I, Yanıkoğlu A, Gökçeoğlu M. Larvicidal activity of some Labiatae (Lamiaceae) plant extracts from Turkey. *Phytother Res*. 2006; 20: 1088-1090.
43. Proestos C, Sereli D, Komaitis M. Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. *Food Chem*. 2006; 95: 44-52.
44. Kremer D, Kosir IJ, Kosalec I, Koncic MZ, Potocnik T, Cerenak A, Bezic N, Srecec S, Dunkic V. Investigation of chemical compounds, antioxidant and antimicrobial properties of *Teucrium arduini* L. (Lamiaceae). *Curr Drug Targets*. 2013; 14(9):1006-1014.
45. Tripathi S, Prakash O, Pant AK. Phytochemical examination and biocidal activity of *Teucrium quadrifarium* Ham. *J Indian Chem Soc*. 2014; 91(9):1775-1778.
46. Özşahin AD, Kireççi OA. Antioxidant properties, characterization of nutrients, and phytochemistry of seven medicinal plants. *Chem Nat Compd*. 2016; 52(6): 1081-1083.
47. Yildirmiş S, Rezzan Aliyazicioglu R, Ozan Emre Eyupoglu OE, Ufuk Ozgen U, Alpay Karaoglu A. Biological activity and characterization of volatile compounds of *Teucrium orientale* var. *glabrescens* by SPME and GC- FID/MS. *J Food Biochem*. 2017; 41 (1): e12284.

48. Milošević-Djordjević O, Radović Jakovljević M, Marković A, Stanković M, Ćirić A, Marinković D, Grujić D. Polyphenolic contents of *Teucrium polium* L. and *Teucrium scordium* L. associated with their protective effects against MMC-induced chromosomal damage in cultured human peripheral blood lymphocytes. *Turk J Biol.* 2018; 42(2): 152-162.
49. Rizk AM, Hammouda FM, Rimpler H, Kamel A. Iridoids and flavonoids of *Teucrium polium* herb. *Planta Med.* 1986; (2):87-88.
50. Mitreski I, Petreska Stanoeva J, Stefova M., Stefkov G, Kulevanova S. Polyphenols in representative *Teucrium* species in the Flora of R. Macedonia: LC/DAD/ESI-MSn profile and content. *NPC.* 2014; 9: 175-180.
51. Boghrati Z, Naseri M, Rezaie M, Pham N, Quinn RJ, Tayarani-Najaran Z, Iranshahi M. Tyrosinase inhibitory properties of phenylpropanoid glycosides and flavonoids from *Teucrium polium* L. var. *gnaphalodes*. *Iran J Basic Med Sci.* 2016;19(8):804-811.
52. Shahat AA, Alsaid MS, Khan JA, Higgins M, Dinkova-Kostova AT. Chemical constituents and NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) inducer activity of *Teucrium oliverianum* Gng. ex Benth. *Indian J Tradit Know.* 2016; 15(2):232-236.
53. Prabhu V, Sathyamurthy D, Ramasamy A, Das S, Anuradha M, Pachiappan S. Evaluation of protective effects of diosmin (a citrus flavonoid) in chemical-induced urolithiasis in experimental rats. *Pharm Biol.* 2016; 54(9):1513-1521.
54. Frezza C, Venditti A, Matrone G, Serafini I, Foddai S, Bianco A, Serafini M. Iridoid glycosides and polyphenolic compounds from *Teucrium chamaedrys*. *Nat Prod Res.* 2018; 32(13):1583-1589.
55. Labbe C, Polanco MI, Castillo M. 12-epi-teuscordonin and other neoclerodanes from *Teucrium bicolor*. *J Nat Prod.* 1989;52(4):871-874.
56. Çalış I, Bedir E. Neoclerodane diterpenoids from *Teucrium chamaedrys* subsp. *sypsiense*. *J Nat Prod.* 1996; 59:457-460.

57. Topçu G, Eriş C, Che CT, Ulubelen A. C-10 oxygenated neo-clerodane diterpenes from *Teucrium sandrasicum*. *Phytochemistry*. 1996; 42:775-778.
58. Piozzi F, Bruno M, Ciriminna R, Fazio C, Vassallo N, Arnold NA, de la Torre MC, Rodriguez B. Putative hepatotoxic neoclerodane diterpenoids from *Teucrium* species. *Planta Med*. 1997 Oct;63(5):483-4.
59. Fontana G, Paternostro MP, Savona G, Rodriguez B, de la Torre MC. Neoclerodane diterpenoids from *Teucrium massiliense*. *J Nat Prod*. 1998; 61(10):1242-1247.
60. Bruno M, Bondi ML, Rosselli S, Piozzi F, Al-Hillo MR, Lamara K, Ladjel S. Neoclerodane diterpenoids from *Teucrium maghrebinum*. *J Nat Prod*. 2000; 63(7):1029-31.
61. Bruno M, Bondi ML, Rosselli S, Maggio A, Piozzi F, Arnold NA. Neoclerodane diterpenoids from *Teucrium montbretii* subsp. *libanoticum* and their absolute configuration. *J Nat Prod*. 2002;65(2):142-6.
62. Venditti A, Frezza C, Trancanella E, Zadeh SMM, Foddai S, Sciubba F, Delfini M, Serafini M, Bianco A. A new natural neo-clerodane from *Teucrium polium* L. collected in Northern Iran. *Ind Crops Prod*. 2017; 97: 632-638.
63. Abdel-Sattar E. Iridoids from *Teucrium yemense*. *Arch Pharm Res*. 1998; 21(6):785-786.
64. Hammami S, Jmii H, El Mokni R, Khmiri A, Faïdi K, Dhaouadi H, El Aouni MH, Aouni M, Joshi RK. Essential oil composition, antioxidant, cytotoxic and antiviral activities of *Teucrium pseudochamaepitys* growing spontaneously in Tunisia. *Molecules*. 2015; 20(11):20426-20433.
65. Hammami S, El Mokni R, Faïdi K, Falconieri D, Piras A, Procedda S, Mighri Z, El Aouni MH. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from aerial parts of *Teucrium flavum* L. subsp. *flavum* growing spontaneously in Tunisia. *Nat Prod Res*. 2015; 29(24):2336-2340.

66. Bel Hadj Salah K, Mahjoub M, Chaumont JP. Chemical composition and in vitro antifungal and antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of *Teucrium sauvagei* Le Houerou. Nat Prod Res. 2006; 20(12):1089–1097.
67. Ben Sghaier M, Chraief I, Skandrani I, Bouhlel I, Boubaker J, Kilani S, Neffati A, Mahmoud A, Hammami M, Chekir-Ghedira L, Ghedira K. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Teucrium ramosissimum* (Lamiaceae). Chem Biodivers. 2007; 4(7):1480–1486.
68. Kaya A, Demirci B, Hüsni K, Başer C. Compositions of essential oils and trichomes of *Teucrium chamaedrys* L. subsp. *trapezunticum* Rech. fil. and subsp. *sympirens* (C. Koch) Rech. fil. Chem Biodivers. 2009; 6:96-104.
69. De Martino L, Formisano C, Mancini E, De Feo V, Piozzi F, Rigano D, Senatore F. Chemical composition and phytotoxic effects of essential oils from four *Teucrium* species. Nat Prod Commun. 2010; 5(12):1969-1976.
70. Kremer D, Bolarić S, Ballian D, Bogunić F, Stešević D, Karlović K, Dunkić V. Morphological, genetic and phytochemical variation of the endemic *Teucrium arduini* L. (Lamiaceae). Phytochemistry. 2015; 116:111-119.
71. Hayta Ş, Yazgın A, Bağcı E. Composition of the essential oils of two *Teucrium* species from Turkey. Bitlis Eren Univ J Sci & Technol. 2017; 7(2):140-144.
72. Nikpour H, Mousavi M, Asadollahzadeh H. Qualitative and quantitative analysis of *Teucrium polium* essential oil components by GC-MS coupled with MCR and PARAFAC methods. Phytochem Anal. 2018; 29(6):590-600.
73. Vokou D, Bessiere JM. Volatile constituents of *Teucrium polium*. J Nat Prod. 1985;48:498-499.
74. Cavaleiro C, Salgueiro LR, Antunes T, Sevinat-Pinto I, Barroso JG. Composition of the essential oil and micromorphology of trichomes of *Teucrium salviastrum*, an endemic species from Portugal. Flavour Fragr J. 2002; 17(4):287–291.

75. Ricci D, Fraternale D, Giamperi L, Bucchini A, Epifano F, Burini G, Curini M. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). J Ethnopharmacol. 2005; 98(1-2):195-200.
76. Katayoun M, Akbarzadeh M, Rostami B. The essential oil composition of *Teucrium chamaedrys* from Iran. Flavour Fragr J. 2005; 20(5):544- 554.
77. Muselli A, Desjobert JM, Paolini J, Bernardini AF, Costa J, Rosa A, Dessi MA. Chemical composition of the essential oils of *Teucrium chamaedrys* L. from Corsica and Sardinia. J Essent Oil Res. 2009; 21(2):138-143.
78. Bağcı E, Yazgın A, Hayta Ş, Çakılcıoğlu U. Composition of the essential oil of *Teucrium chamaedrys* L. (Lamiaceae) from Turkey. J Med Plant Res. 2010; 4(23):2587-2589.
79. Polat T, Özer H, Öztürk E, Çakır A, Kandemir A, Demir Y. Chemical composition of the essential oil of *Teucrium multicaule* Montbret Et Aucher Ex Benth from Turkey. J Essent Oil Res. 2010; 22:443-445.
80. Bağcı E, Hayta S, Yazgın A, Dogan G. Composition of the essential oil of *Teucrium parviflorum* L. (Lamiaceae) from Turkey. J Med Plants Res. 2011; 5:3457–3460.
81. Özek G, Özek T, Dinç M, Doğu S, Başer KHC. Chemical diversity of volatiles of *Teucrium orientale* L. var. *orientale*, var. *puberulens*, and var. *glabrescens* determined by simultaneous GC-FID and GC/MS techniques. Chem Biodivers. 2012; 9:1144-1154.
82. Miri A, Monsef-Esfahani HR, Amini M, Amanzadeh Y, Hadjiakhoondi A, Hajiaghache R, Ebrahimi A. Comparative chemical composition and antioxidant properties of the essential oils and aromatic water from *Teucrium persicum* Boiss. Iran J Pharm Res. 2012; 11(2):573-581.
83. Djabou N, Allali H, Battesti MJ, Tabti B, Costa J, Muselli A, Varesi L. Chemical and genetic differentiation of two Mediterranean subspecies of *Teucrium scorodonia* L. Phytochemistry. 2012; 74:123-132.

84. Doğu S, Dinç M, Kaya A, Demirci B. Taxonomic status of the subspecies of *Teucrium lamiifolium* in Turkey: reevaluation based on macro- and micro-morphology, anatomy and chemistry. Nord J Bot. 2013; 31:198-207.
85. Sadeghi H, Jamalpoor S, Hassan Shirzadi M. Variability in essential oil of *Teucrium polium* L. of different latitudinal populations. Ind Crops Prod. 2014; 54:130-134.
86. Khani A, Heydarian M. Fumigant and repellent properties of sesquiterpene-rich essential oil from *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.). Asian Pac J Trop Med. 2014; 7(12): 956–961.
87. Ghazouani N, Sifaoui I, Bachrouch O, Abderrabba M, E Pinero J, Lorenzo-Morales J. Essential oil composition and anti *Acanthamoeba* studies of *Teucrium ramosissimum*. Exp Parasitol. 2017; 183:207-211.
88. Rahimi MA, Nazeri V, Andi SA, Sefidkon F. Variation in essential oil composition of *Teucrium hircanicum* L. from Iran-A rich source of (E)- α -bergamotene. Nat Prod Res. 2018; 21:1-6.
89. Jaradat N, Al-Lahham S, Abualhasan MN, Bakri A, Zaide H, Hammad J, Hussein F, Issa L, Mousa A, Speih R. Chemical constituents, antioxidant, cyclooxygenase inhibitor, and cytotoxic activities of *Teucrium pruinosum* Boiss. Essential Oil. Biomed Res Int. 2018;2018:4034689.
90. Hertog MG, Feskens EJ, Kromhout D, Hollman P, Katan M. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. Lancet. 1993;342:1007–1011.
91. Zhang Z, Chang Q, Zhu M, Huang Y, Ho WK, Chen Z-Y. Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. J Nutr Biochem. 2001;12:144–152.
92. Tiwari AK. Imbalance in antioxidant defence and human diseases: multiple approach of natural antioxidants therapy. Curr Sci. 2001; 81: 1179-1187.
93. Twaij HA, Albadr AA, Abul-Khail A. Anti-ulcer activity of *Teucrium polium*. Int J Crude Drug Res. 1987;25:125–128.

94. Gharaibeh MN, Elayan HH, Salhab AS. Hypoglycemic effects of *Teucrium polium*. J Ethnopharmacol. 1988; 24:93-99.
95. Laliberte L, Villeneuve JP. Hepatitis after the use of germander, a herbal remedy. CMAJ. 1996;154:1689.
96. Zal F, Vasei M, Rasti M, Vessal M. Hepatotoxicity associated with hypoglycemic effects of *Teucrium polium* in diabetic rats. Arch Iran Med. 2001; 4:188-192.
97. Rasekh HR, Khoshnood-Mansourkhani MJ, Kamalinejad M. Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats. Fitoterapia. 2001; 72(8):937-939.
98. Suboh S, Bilto Y, Aburjai T. Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. Phytother Res. 2004;18:280–284.
99. Afifi F, Al-Khalidi B, Khalil E. Studies on the in vivo hypoglycemic activities of two medicinal plants used in the treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine following intranasal administration. J Ethnopharmacol. 2005;100:314-318.
100. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Roghani-Dehkordi F. Antinociceptive effect of *Teucrium polium* leaf extract in the diabetic rat formalin test. J Ethnopharmacol. 2005;97(2):207-210.
101. Shahraki M, Miri ME, Palan M, Mirshekari H, Shahraki E. The survey of *Teucrium polium* toxicity effect on liver and serum lipoproteins in normoglycemic male rats. Zahedan J Res Med Sci. 2006;8:227-232.
102. Panovska T, Kulevanova S, Gjorgoski I, Bogdanova M, Petrushevska G. Hepatoprotective effect of the ethyl acetate extract of *Teucrium polium* L. against carbontetrachloride-induced hepatic injury in rats. Acta Pharm. 2007; 57:241-248.
103. Nematollahi-Mahani SN, Rezazadeh-Kermani M, Mehrabani M, Nakhaee N. Cytotoxic Effects of *Teucrium polium*. on Some established cell lines. Pharm Biol. 2007; 45(4):295-298.

104. Eskandary H, Rajabalian S, Yazdi T, Eskandari M, Fatehi K, Ganjooei NA. Evaluation of cytotoxic effect of *Teucrium polium* on a new glioblastoma multiforme cell line (reyf-1) using mtt and soft agar clonogenic assays. Int J Pharmacol. 2007;3(5):435-437.
105. Rajabalian S. Methanolic extract of *Teucrium polium* L. potentiates the cytotoxic and apoptotic effects of anticancer drugs of vincristine, vinblastine and doxorubicin against a panel of cancerous cell lines. Exp Oncol. 2008; 30: 133–138.
106. Mehrabani D, Rezaee A, Azarpira N, Fattahi MR, Amini M, Tanideh N, et al. The healing effects of *Teucrium polium* in the repair of indomethacin-induced gastric ulcer in rats. Saudi Med J. 2009; 30:494-499.
107. Menichini F, Conforti F, Rigano D, Formisano C, Piozzi F, Senatore F. Phytochemical composition, anti-inflammatory and antitumour activities of four *Teucrium* essential oils from Greece. Food Chem. 2009; 115(2):679–686.
108. Mousavi SE, Shahriari A, Ahangarpour A, Vatanpour H, Jolodar A. Effects of *Teucrium polium* ethyl acetate extract on serum, liver and muscle triglyceride content of sucrose-induced insulin resistance in rat. Iran J Pharm Res. 2012;11(1):347-355.
109. Mahdinia Z, Eftekhavaghefi R, Nabipour F. In vitro inhibition of the growth of glioblastoma by *Teucrium polium* crude extract and fractions. Int J Phytomed. 2013; 4:582-588.
110. Ayoubi A, Omid A, Valizade R, Mousaei A. Effect of hydroalcoholic extract of *Aloe vera* and *Teucrium* on serum glucose and lipid profile in streptozotocin diabetic male rats. J Birj Univ Med Sci. 2013; 20:144-152.
111. Belmekki N, Bendimerad N, Bekhechi C. Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from Western Algeria. J Med Plant Res. 2013; 7:897-902.

112. Sharma NK. Modulation of radiation-induced and mitomycin C-induced chromosome damage by apigenin in human lymphocytes in vitro. *J Radiat Res.* 2013; 54:789-797.
113. Tabatabaei YF, Alizadeh BB, Heidari SM, Mortazavi S. The in vitro study of antimicrobial effect of *Teucrium polium* extract on infectious microorganisms. *Sci J Hamadan Univ Med Sci.* 2014; 21:16-24.
114. Mousavi SM, Niazmand S, Hosseini M, Hassanzadeh Z, Sadeghnia HR, Vafae F. Beneficial effects of *Teucrium polium* and metformin on diabetes-induced memory impairments and brain tissue oxidative damage in rats. *Int J Alzheimer's Dis.* 2015; 2015:493729.
115. Abadian K, Keshavarz Z, Mojab F, Alavi Majd H, Abbasi NM. Comparison the effect of mefenamic acid and *Teucrium polium* on the severity and systemic symptoms of dysmenorrhea. *Complement Ther Clin Pract.* 2016; 22: 12–15.
116. Sevindik E, Abaci ZT, Yamaner C, Ayvaz M. Determination of the chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Teucrium polium* and *Achillea millefolium* grown under north Anatolian ecological conditions. *Biotechnol Biotechnol Equip.* 2016; 30: 375-380.
117. Khodaei F, Ahmadi K, Kiyani H, Hashemitabar M, Rezaei M. Mitochondrial effects of *Teucrium polium* and *Prosopis farcta* extracts in colorectal cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018;19(1):103-109.
118. Stankovic MS, Curcic MG, Zizic JB, Topuzovic MD, Solujic SR, Markovic SD. *Teucrium* plant species as natural sources of novel anticancer compounds: antiproliferative, proapoptotic and antioxidant properties. *Int J Mol Sci.* 2011; 12:4190-4205.
119. Türkoğlu S, Çelik S, Türkoğlu İ, Çakılcıoğlu U, Bahsi M. Determination of the antioxidant properties of ethanol and water extracts from different parts of *Teucrium parviflorum* Schreber. *Afr J Biotechnol.* 2010; 9(40): 6797-6805.

120. Prescott TAK, Veitch NC, Simmonds MSJ. Direct inhibition of calcineurin by caffeoyl phenylethanoid glycosides from *Teucrium chamaedrys* and *Nepeta cataria*. J Ethnopharmacol. 2011;137(3):1306-1310.
121. Kouzi SA, McMurtry RJ, Nelson SD. Hepatotoxicity of germander (*Teucrium chamaedrys* L.) and one of its constituent neoclerodane diterpenes teuclin A in the mouse. Chem Res Toxicol. 1994; 7(6):850-6.
122. Labieniec M, Gabryelak T. Effects of tannins on Chinese hamster cell line B14. Mutat Res. 2003; 539: 127-135.
123. Noel S, Kasinathan M, Rath SK. Evaluation of apigenin using in vitro cytochalasin blocked micronucleus assay. Toxicol In Vitro. 2006; 20: 1168-1172.
124. Erdem MG, Cinkilic N, Vatan O, Yilmaz D, Bağdaş D, Bilaloğlu R. Genotoxic and anti-genotoxic effects of vanillic acid against mitomycin C-induced genomic damage in human lymphocytes in vitro. Asian Pac J Cancer Prev. 2012; 13: 4993-4998.
125. Farshchi A, Ghiasi G, Asl AA. Antinociceptive and antiinflammatory effects of *Teucrium hyrcanicum* aqueous extract in male mice and rats. J Physiol Pharmacol. 2010;14(1):78–84.
126. Golfakhrabadi F, Yousefbeyk F, Mirnezami T, Laghaei P, Hajimahmoodi M, Khanavi M. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activity of *Teucrium hyrcanicum*. Pharmacognosy Res. 2015;7(5):15-19.
127. Sghaier MB, Ismail MB, Bouhlel I, Ghedira K, Chekir-Ghedira L. Leaf extracts from *Teucrium ramosissimum* protect against DNA damage in human lymphoblast cell K562 and enhance antioxidant, antigenotoxic and antiproliferative activity. Environ Toxicol Pharmacol. 2016; 44:44-52.
128. Piasecka A, Jedrzejczak-Rey N, Bednarek P. Secondary metabolites in plant innate immunity: conserved function of divergent chemicals. New Phytol. 2015; 206(3):948-964.

129. Kondratyuk TP, Pezzuto JM. Natural product polyphenols of relevance to human health. *Pharm Biol.* 2004; 42:46-63.
130. Koca N. Ekzojen Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin ve Fenilalaninin Fesleğen (*Ocimum Basilicum* L.) Bitkisinde Sekonder Metabolitlere ve Fenilalanin Amonyum Liyaz (Pal) Enzim Aktivitesine Etkisi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, 2013, Kahramanmaraş (Danışman: Prof. Dr. Şengül KARAMAN)
131. Boğa M. *Cirsium Leucopsis* ve *Cirsium Sippleum* Bitkilerinden Sekonder Metabolitlerin Saflaştırılması, Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2012, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Ufuk KOLAK)
132. Karabacak Ç. Bazı *Scutellaria orientalis* Türlerinin İçerisindeki Ekstraktif Bileşiklerin Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2007, Isparta (Danışman: Prof. Dr. Mustafa CENGİZ)
133. Åkerström, A. (2010). Factors affecting the anthocyanidin concentration in fruits of *Vaccinium myrtillus* L. *Sveriges Lantbruksuniv, Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*. Doktora Tezi, No. 52.
134. Meral R, Doğan İS, Kanberoğlu GS. Fonksiyonel gıda bileşeni olarak antioksidanlar. *Iğdır Univ J Inst Sci & Tech.* 2012; 2(2): 45-50.
135. Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouysegu L. Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angew Chem Int Ed.* 2011; 50: 586–621.
136. Kalili KM, Villiers A. Recent developments in the HPLC separation of phenolic compounds. *J Sep Sci.* 2011; 34: 854–876.
137. Cipolletti M, Solar Fernandez V, Montalesi E, Marino M, Fiocchetti M. Beyond the antioxidant activity of dietary polyphenols in cancer: the modulation of estrogen receptors (ERs) signaling. *Int J Mol Sci.* 2018;19(9). pii: E2624.

138. Hidalgo GI, Almajano MP. Red fruits: extraction of antioxidants, phenolic content, and radical scavenging determination: a review. *Antioxidants* (Basel). 2017; 6(1):7.
139. Rice-Evans AC, Miller NJ, Papanga G. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med*. 1996; 20: 933–956.
140. Chan CL, Gan RY, Corke H. The phenolic composition and antioxidant capacity of soluble and bound extracts in selected dietary spices and medicinal herbs. *Int J Food Sci Technol*. 2016; 51: 565–573.
141. Erçebi H. Flavonoidlerin Yapıları ve Onların Fizikokimyasal Özellikleri. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2012, Trabzon (Danışman: Prof. Dr. Rıza ABBASOĞLU)
142. Kocabaş N. Homosisteinin İndüklediği Oksidatif Stres Üzerinde Quercetin'in Koruyucu Etkisi. Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2008, Afyonkarahisar (Danışman: Doç. Dr. Ahmet KAHRAMAN)
143. Yao LH, Jiang YM, Shi J, Barberan FA, Datta N, Singanusong R, Chen SS. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods Hum Nutr*. 2004; 59: 113–122.
144. Liu RH. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *J Nutr*. 2004; 134, 3479-3485.
145. Medeirosa KCP, Figueiredo CAV, Figueiredo TB, Freire KRL, Santosd FAR, Alcantara-Neves NM, Silvaa TMS, Piuvezama MR. Antiallergic effect of bee pollen phenolic extract and myricetin in ovalbumin-sensitized mice. *J Ethnopharmacol*. 2008; 119: 41–46.
146. Pascoal A, Rodrigues S, Teixeira A, Feás X, Estevinho LM. Biological activities of commercial bee pollens: antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food Chem Toxicol*. 2014; 63: 233-239.

147. Kehrer JP, Klotz LO. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for Health. Crit Rev Toxicol. 2015;45(9):765-798.
148. Tongur T. *Daphne sericea* ve *Daphne gnidioides* Bitki Ekstraktlarının Bileşimlerinin ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2014, Antalya (Danışman: Prof. Dr. Erol AYRANCI)
149. Tiwari MK, Jena NR, Mishra PC. Scavenging of hydroxyl, methoxy, and nitrogen dioxide free radicals by some methylated isoflavones. J Chem Sci. 2018; 130:105-121.
150. Bazinet L, Doyen A. Antioxidants, mechanisms, and recovery by membrane processes. Crit Rev Food Sci Nutr. 2015; 57(4):677-700.
151. Van den Ende W, Peshev D, De Gara L. Disease prevention by natural antioxidants and prebiotics acting as ROS scavengers in the gastrointestinal tract. Trends Food Sci. Technol. 2011; 22:689-697.
152. Damašius J, Venskutonis P, Kaškonienė V, Maruška A. Fast screening of the main phenolic acids with antioxidant properties in common spices using on-line HPLC/UV/DPPH radical scavenging assay. Anal Methods. 2014; 6: 2774–2779.
153. Šulniute V, Pukalskas A, Venskutonis PR. Phytochemical composition of fractions isolated from ten *Salvia* species by supercritical carbon dioxide and pressurized liquid extraction methods. Food Chem. 2017; 224: 37–47.
154. Baldioli M, Servili M, Perretti G, Montedoro G. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. J Am Oil Chem Soc. 1996; 73:1589-1593.
155. Calucci L, Pinzino C, Zandomenighi M, Capocchi A, Ghiringhelli S, Saviozzi F, Tozzi S, Galleschi L. Effects of γ -irradiation on the free radical

- and antioxidant contents in nine aromatic herbs and spices. *J Agric Food Chem.* 2003; 51: 927–934.
156. Aghakhani F, Kharazian N, Gooini ZL. Flavonoid constituents of *Phlomis* (Lamiaceae) species using Liquid Chromatography Mass Spectrometry. *Phytochem Anal.* 2017; 29: 180–195.
 157. Bessada SMF, Barreira JCM, Oliveira MBPP. *Asteraceae* species with most prominent bioactivity and their potential applications: a review. *Ind Crops Prod.* 2015; 76: 604–615.
 158. Stoica R, Senin RM, Ion R. Ethanol concentration effect on the extraction of phenolic compounds from *Ribes nigrum* assessed by spectrophotometric and HPLC-DAD methods. *Rev Chim.* 2013; 64: 620–624.
 159. Pantelidis GE, Vasilakakis M, Manganaris GA, Diamantidis G. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chem.* 2007; 102: 777–783.
 160. Estévez L, Otero N, Mosquera RA. A computational study on the acidity dependence of radical-scavenging mechanisms of anthocyanidins. *J Phys Chem B.* 2010; 114(29):9706-9712.
 161. Mitra S, Behbahani H, Eriksdotter M. Innovative therapy for Alzheimer's disease-with focus on biodelivery of NGF. *Front Neurosci.* 2019;13(38):1-21.
 162. Puzzo D, Gulisano W, Arancio O, Palmeri A. (2015). The keystone of Alzheimer pathogenesis might be sought in Abeta physiology. *Neuroscience.* 2015; 307: 26–36.
 163. Lista S, O'Bryant SE, Blennow K, Dubois B, Hugon J, Zetterberg H. Biomarkers in sporadic and familial Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2015; 47: 291–317.
 164. Topbaş E. Alzheimer Tipi Hafif Demans Tanılı Hastalarda Kognitif Yetilerle Ölüm Anksiyetesi İlişkisinin Değerlendirilmesi. *Haydarpaşa*

Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Uzmanlık Tezi, 2017, İstanbul (Danışman: Uz. Dr. Meliha Zengin EROĞLU)

165. Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease. Eur J Neurol. 2017; 25(1):59-70.
166. Scarpini E, Scheltens P, Feldman H. Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives. Lancet Neurol. 2003; 2(9):539-547.
167. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. Science. 2002; 297(5590):353-356.
168. Forloni G, Artuso V, La Vitola P, Balducci C. Oligomeropathies and pathogenesis of Alzheimer and Parkinson's diseases. Mov Disord. 2016; 31:771-781.
169. Jiang N, Ding J, Liu J, Sun X, Zhang Z, Mo Z, Xie SS. Novel chromanone-dithiocarbamate hybrids as multifunctional AChE inhibitors with β -amyloid anti-aggregation properties for the treatment of Alzheimer's disease. Bioorg Chem. 2019; 103027.
170. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. Am J Enol Vitic. 1977; 28:49-55.
171. Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuena MA. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J Ethnopharmacol. 2000; 71:109-114.
172. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 1958; 181:1199-1200.
173. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med. 1999; 26:1231-1237.
174. Kolak U, Öztürk M, Özgökçe F, Ulubelen A. Norditerpene alkaloids from *Delphinium linearilobum* and antioxidant activity. Phytochemistry. 2006; 67:2170-2175.

175. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Agric Food Chem.* 2004; 52: 7970-7981.
176. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.* 1961; 7:88-95.
177. Zengin G, Sarıkürkçü C, Aktümsek A, Ceylan R. Antioxidant potential and inhibition of key enzymes linked to Alzheimer's diseases and diabetes mellitus by monoterpene-rich essential oil from *Sideritis galatica* Bornm. endemic to Turkey. *Rec Nat Prod.* 2016; 75:42-50.
178. Semiz G, Çelik G, Gönen E, Semiz A. Essential oil composition, antioxidant activity and phenolic content of endemic *Teucrium alyssifolium* staph. (Lamiaceae). *Nat Prod Res.* 2016; 30(19):2225-2229.
179. Ait Chaouche FS, Mouhouche F, Hazzit M. Antioxidant capacity and total phenol and flavonoid contents of *Teucrium polium* L. grown in Algeria. *Med J Nutrition Metab.* 2018; 11(2):135-144.
180. Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agri Food Chem.* 1999; 47(10):3954-3962.
181. Sharififar F, Dehghn-Nudeh G, Mirtajaldini M. Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistr.* 2009; 112(4):885-888.
182. Mahmoudi R, Nosratpour S. *Teucrium polium* L. essential oil: phytochemical component and antioxidant properties. *Int Food Res J.* 2013; 20(4):21-27.
183. Chedia A, Ghazghazi H, Brahim H, Abderrazak M. Secondary metabolite, antioxidant and antibacterial activities of *Teucrium polium* methanolic extract. *Int J Agron Plant Prod.* 2013; 4:1790-1797.

184. Almustafa A, Althunibat O. Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pak J Biol Sci.* 2008;11(3):351-358.
185. Vujanović M, Zengin G, Đurović S, Mašković P, Cvetanović A, Radojković M. Biological activity of extracts of traditional wild medicinal plants from the Balkan Peninsula. *S Afr J Bot.* 2019; 120:213-218.
186. Özer Z, Kılıç T, Çarıkçı S, Yılmaz H. Investigation of phenolic compounds and antioxidant activity of *Teucrium polium* L. decoction and infusion. *J. BAUN Inst Sci Technol.* 2018; 20(1):212-218.
187. Leccese A, Viti R, Bartolini S. The effect of solvent extraction on antioxidant properties of apricot fruit. *Cent Eur J Biol.* 2011; 6:199-204.
188. Stankovic MS, Niciforovic N, Mihailovic V, Topuzovic M, Solujic S. Antioxidant activity, total phenolic content and flavonoid concentrations of different plant parts of *Teucrium polium* l. subsp. *polium*. *Acta Soc Bot Pol.* 2012; 81:117-122.
189. Alimpić A, Oaldje M, Matevski V, Marin PD, Duletić-laušević S. Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of *Salvia amplexicaulis* lam. extracts. *Arch Biol Sci.* 2014; 66:307-316.
190. Orhan I, Aslan M. Appraisal of scopolamine-induced anti-amnesic effect in mice and in vitro antiacetylcholinesterase and antioxidant activities of some traditionally used Lamiaceae plants. *J Ethnopharmacol.* 2009; 122(2):327-332.
191. Vladimir-Knežević S, Blažeković B, Kindl M, Vladić J, Lower-Nedza AD, Brantner AH. Acetylcholinesterase inhibitory, antioxidant and phytochemical properties of selected medicinal plants of the Lamiaceae family. *Molecules.* 2014; 19(1):767-782.



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Goncagül	Soyadı	SUVARİ
Doğum Yeri	Diyarbakır	Doğum Tarihi	15.08.1987
Uyruğu	T.C.	Tel	(0543) 388 14 73
E-posta	bulutgonci@hotmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2014
Lisans	İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2009
Lise	Diyarbakır Anadolu Lisesi	2005

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Eczacı	Diyarbakır Sağlık Sosyal Güvenlik Merkezi	2016-Halen
Eczacı	İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi	2014-2016

Yabancı Dil Sınav Notu

ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
52,50								

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı (2008)	95,465	93,882	91,640



DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
10. TEZ SAVUNABİLİRLİK VE ORJİNALLİK
BEYAN FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ

ADI VE SOYADI	Goncagül SUVARI
ÖĞRENCİ NO	16878012
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2018-2019
YARIYIL	☐ Güz ☒ Bahar
ANABİLİM DALI/BİLİM DALI	
PROGRAM	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora
TEZ BAŞLIĞI	<i>Teucrium parviflorum</i> ve <i>Teucrium polium</i> Bitkilerinin Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi

İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ

RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	89
BENZERLİK ORANI	% 14
RAPORLAMA TARİHİ	25/07/2019

Yukarıda başlığı gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 89 sayfalık kısmına ilişkin, 25/07/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 14'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

- ☒ Kabul/Onay sayfaları hariç,
- ☒ Kaynakça hariç
- ☒ Alıntılar dâhil
- ☐ Diğer

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve bu Uygulama Esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Goncagül SUVARI
25/07/2019

Yukarıda bilgileri verilen tezi bilimsel, şekilsel ve etik kurallar çerçevesinde inceledim. Tezin Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği ve Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olduğunu onaylarım. Jüri karşısında savunabilir olduğunu bilgilerinize arz ederim.

Doç. Dr. Mehmet BOĞA
25/07/2019

ORIJINALLIK RAPORU

%14

BENZERLİK ENDEKSİ

%5

İNTERNET
KAYNAKLARI

%2

YAYINLAR

%12

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

Submitted to Batman University

Öğrenci Ödevi

%4

2

Submitted to Balıkesir Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

%2

3

polen.itu.edu.tr

İnternet Kaynağı

%1

4

Submitted to Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

%1

5

Submitted to Mugla University

Öğrenci Ödevi

%1

6

Submitted to Hacettepe University

Öğrenci Ödevi

%1

7

Submitted to The Scientific & Technological
Research Council of Turkey (TUBITAK)

Öğrenci Ödevi

<%1

8

dspace.trakya.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<%1