

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***VERBASCUM PYRAMIDATUM* BIEB. ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Ecz. E. Derya CİVELEK

**Farmakognozi Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ANKARA

2018

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***VERBASCUM PYRAMIDATUM* BIEB. ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Ecz. E. Derya CİVELEK

**Farmakognozi Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Zeliha Ş. AKDEMİR**

**ANKARA
2018**

ONAY SAYFASI

Verbascum pyramidatum Bieb. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar

Öğrenci: Ecz. Emine Derya CİVELEK

Danışman: Prof.Dr. Zeliha Ş. AKDEMİR

Bu tez çalışması 26/07/2018 tarihinde jürimiz tarafından "Farmakognози Yüksek Lisans Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof. Dr.Funda N.YALÇIN

Hacettepe Üniversitesi



Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Zeliha Ş. AKDEMİR

Hacettepe Üniversitesi



Üye:

Prof. Dr. Ayşe KURUÜZÜM UZ

Hacettepe Üniversitesi



Üye:

Prof. Dr. Esra AKKOL KÜPELİ

Gazi Üniversitesi



Üye:

Prof. Dr. Osman ÜSTÜN

Gazi Üniversitesi



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

03 Ağustos 2018



Prof. Dr. Diclehan Orhan

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezimin aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

09/08/2018

E. Derya CİVELEK

¹“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Zeliha Ş. AKDEMİR danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazdığımı beyan ederim.



Ecz.E. Derya CİVELEK
(İMZA)

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca bilgi, birikim ve deneyimleri ile bana her konuda destek olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Zeliha Ş. AKDEMİR' e ve her daim bilgilerinden yararlandığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. İ. İrem ÇANKAYA' ya,

Tez çalışmalarım süresince uygun ve verimli çalışma ortamlarını sağlayan ve desteklerini esirgemeyen önceki Anabilim Dalı Başkanlarımız Sayın Prof. Dr. İclal SARAÇOĞLU ve Sayın Prof. Dr. A. Ahmet BAŞARAN' a ve şu anda görevine devam etmekte olan Sayın Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN'a,

İzole ettiğim bileşiklerin, NMR analizlerinin yapılmasını sağlayan Sayın Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU (Bezmialem Üniversitesi)' ya,

Aktivite çalışmalarını gerçekleştiren Sayın Prof. Dr. Esra KÜPELİ AKKOL (Gazi Üniversitesi)'a,

Bitki tayinini gerçekleştiren Sayın Prof. Dr. Hayri DUMAN (Gazi Üniversitesi)'a,

Tez çalışmalarım süresince bilgi birikimlerinden yararlandığım ve desteklerini her zaman hissettiğim Farmakognozi ve Farmasotik Botanik Anabilim Dalında görev yapan bütün kıymetli arkadaşlarıma ve sevgili kardeşim Dr. Nadire ÖZENVER'e,

Tüm değerli Hocalarıma,

Tezimin başlangıç aşamasından bu zamana kadar geçen süre zarfında manevi desteklerini esirgemeyen ve çalışmalarımda muvaffak olmam için her türlü fedakarlığı göstererek bana yardımcı olan kıymetli aileme; sevgili ANNEME, BABAMA ve ABİME minnet ve şükranlarımı sunuyor ve çok teşekkür ediyorum.

ÖZET

Civelek ED, *Verbascum pyramidatum* Bieb. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognози Programı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2018. Türkiye’ de halk arasında hemoroid ve romatizma tedavisinde kullanılan *Verbascum pyramidatum* (Scrophulariaceae) bitkisi üzerinde Farmakognozik araştırmalar yapılmıştır. Bitkinin açık havada ve gölgede kurutulan ve toz haline getirilen çiçek ve yaprak kısımları ayrı ayrı metanol ile ekstre edilmiştir. Yoğunlaştırılan metanol ekstralarının suda çözülüp, kloroform ile partisyona tabi tutulması sonucunda kloroform ve sulu ekstraları elde edilmiştir. Bu ekstralar *in vivo* antienflamatuvar (karragen ile oluşturulan arka ayak ödemi testi) ve analjezik (*p*- benzokinon nedenli ağrı testi) aktivite tayin yöntemlerinde denenmiştir. Aktif bulunan çiçeklerden hazırlanan sulu ekstresine uygulanan çeşitli kromatografik yöntemlerle gerçekleştirilen izolasyon çalışmaları neticesinde, 3 iridoit glikoziti (3'-*O*- β -glukopiranozilkatalpol: **VP-1**, Sakkatozit: **VP-2/VP-3a**, 6-*O*-(3''-*O*-*trans*-*p*-kumaroil)- α -ramnopiranozilkatalpol: **VP-3b**) ve 2 feniletanoit glikoziti (Verbaskozit: **VP-4**, Ekinakozit: **VP-5**) elde edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler (^1H NMR, ^{13}C NMR, 2D NMR) kullanılarak aydınlatılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Verbascum pyramidatum*, Scrophulariaceae, izolasyon, antienflamatuvar aktivite, analjezik aktivite

ABSTRACT

Civelek, E.D., Pharmacognostical Researches on *Verbascum pyramidatum* Bieb., Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Pharmacognosy Program, M. S. Thesis, Ankara, 2018. In this research, *Verbascum pyramidatum* which is used for hemorrhoid and rheumatism treatment in Turkish folk medicine has been investigated. The air dried and powdered flowers and leaves of the plant were extracted with methanol separately. The methanolic extracts were dissolved in water and then partitioned with chloroform in order to obtain the water and the chloroform extracts. These extracts were performed for the *in vivo* anti-inflammatory (carageenan-induced hind paw edema model) and *in vivo* analgesic (*p*- benzoquinone-induced writhing reflex) activity assays. The water extract of the flowered parts were found to be the most active and the study was carried on it. By means of a series of chromatographic studies on the active water extract, 3 iridoid glycosides (3'-*O*- β -glucopyranosylcatalpol: **VP-1**, Saccatoside: **VP-2/VP-3a** and 6-*O*-(3''-*O*-*trans*-*p*-coumaroyl)- α -rhamnopyranosylcatalpol: **VP-3b**); 2 phenylethanoid glycosides (Verbascoside: **VP-4**, Echinacoside: **VP-5**) were isolated. The structures of the isolated compounds were elucidated by means of spectroscopic methods (^1H NMR, ^{13}C NMR, 2D NMR).

Key Words: *Verbascum pyramidatum*, isolation, Scrophulariaceae, antiinflammatory activity, analgesic activity

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLOLAR	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Botanik Bilgiler	3
2.1.1. Scrophulariaceae Familyası	3
2.1.2. <i>Verbascum</i> L. Cinsi	3
2.1.3. <i>Verbascum pyramidatum</i> Bieb.	6
2.2. <i>Verbascum</i> Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	9
2.2.1. Fitokimyasal Çalışmalar	10
2.2.2. <i>Verbascum</i> Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları	27
3. DENEYSEL KISIM	37
3.1. Fitokimyasal Çalışmalar	37
3.1.1. Gereç ve Yöntem	37
3.1.2. Kullanılan Aletler	41
3.1.3. Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları	42
3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	45
3.2.1. Antienflamatuvar Etki Tayini	46
3.2.2. Analjezik Etki Tayini	47
3.2.3. Sonuçların İstatistiksel Değerlendirmesi	47
4. BULGULAR	48
4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular	48
4.1.1. İzole edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri	49

4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	82
4.2.1. Antienflamatuvar Etki Tayini Sonuçları	82
4.2.2. Analjezik Etki Tayini Sonuçları	85
5. TARTIŞMA	88
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	94
7. KAYNAKLAR	95
8. EKLER	
EK-1: Etik Kurul Onayı	
9. ÖZGEÇMİŞ	



SİMGELER ve KISALTMALAR

AChE	Asetilkolin esterase
ANOVA	Analysis of Variance
ASA	Asetilsalisilik asit
BChE	Bütirilkolin esterase
APT	Attached Proton Test
CD₃OD	Dötero metanol
CH₃	Metil
CHCl₃	Kloroform
CH₃OH	Metanol
COX	Siklooksijenaz
CVF	Kobra venom faktör
cm	Santimetre
¹³C NMR	¹³ C-Nükleer Manyetik Rezonans
d	Dublet
dd	Dublet dublet
DPPH	Difenil pikrilhidrazil
EtOAc	Etil asetat
FRAP	Demir iyonu indirgeyici antioksidan güç
Fr	Fraksiyon
g	Gram
Glu	Glukoz
H	Hidrojen
¹H NMR	¹ H-Nükleer Manyetik Rezonans
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HORAC	Hidroksil radikali antioksidan kapasitesi
H₂O	Su
H₂SO₄	Sülfürik asit
Hz	Hertz
IL	İnterlökin
İNOS	İndüklenebilir Nitrik oksit sentetaz

İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
J	Kenetlenme Sabiti
KK	Kolon Kromatografisi
L	Litre
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
m	Multiplet
Me	Metil
MeOH	Metanol
MBK	Minimum bakterisidal konsantrasyon
MFK	Minimum fungisidal konsantrasyon
mg	Miligram
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
mL	Mililitre
µg	Mikrogram
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
NO	Nitrik oksit
OCH₃	Metoksil
OH	Hidroksil
ORAC	Oksijen radikali absorbans kapasitesi
Ph	Fenil
ppm	Parts per million (Milyonda bir kısım)
Ram	Ramnoz
s	Singlet
t	Triplet
TNF	Tümör Nekroz Faktör
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein
UV	Ultra-viyolet
VP	<i>Verbascum pyramidatum</i>
VSK	Vakumlu Sıvı Kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1 <i>Verbascum pyramidatum</i> Bieb	8
3.1 <i>Verbascum pyramidatum</i> Bieb. çiçekleri üzerinde yapılan fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları	44
4.1. 3'-O- β -glukopiranozilkatalpol (VP-1)' in ^1H NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz)	53
4.2. 3'-O- β -glukopiranozilkatalpol (VP-1)' in APT Spektrumu (CD ₃ OD; 150 MHz)	54
4.3. Sakkatozit (VP-2)'in ^1H NMR Spektrumu (CD ₃ OD; 600 MHz)	59
4.4. Sakkatozit (VP-2)'in APT Spektrumu (CD ₃ OD; 150 MHz)	60
4.5. Sakkatozit (VP-3a) ve 6-O-(3''-O- <i>trans-p</i> -kumaroil)- α - ramnopiranozil katalpol (VP-3b) karışımının ^1H NMR spektrumu (CD ₃ OD; 600 MHz)	66
4.6. Sakkatozit (VP-3a) ve 6-O-(3''-O- <i>trans-p</i> -kumaroil)- α - ramnopiranozil katalpol (VP3b) karışımının ^{13}C NMR spektrumu (CD ₃ OD;150 MHz)	67
4.7. Sakkatozit (VP-3a) ve 6-O-(3''-O- <i>trans-p</i> -kumaroil)- α - ramnopiranozil katalpol (VP-3b) karışımının HMQC Spektrumu	68
4.8. Sakkatozit (VP-3a) ve 6-O-(3''-O- <i>trans-p</i> -kumaroil)- α - ramnopiranozil katalpol (VP-3b) karışımının HMBC spektrumu	69
4.9. Verbaskozit (VP-4)'in ^1H NMR Spektrumu (CD ₃ OD; 600 MHz)	74
4.10. Verbaskozit (VP-4)'in APT Spektrumu (CD ₃ OD; 150 MHz)	75
4.11. Ekinakozit (VP-5)'in ^1H NMR Spektrumu (CD ₃ OD; 600 MHz)	80
4.12. Ekinakozit (VP-5)'in APT Spektrumu (CD ₃ OD; 150 MHz)	81

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen saponin glikoziti I	10
2.2. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen saponin glikoziti II	10
2.3. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen saponin glikoziti III	11
2.4. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen saponin glikoziti IV	11
2.5. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen iridoit glikozitleri I	12
2.6. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen iridoit glikozitleri II	13
2.7. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen iridoit glikozitleri III	14
2.8. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen iridoit IV	15
2.9. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen iridoit V	15
2.10. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen iridoit VI	15
2.11. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen iridoit VII	16
2.12. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen dimerik iridoit VIII	16
2.13. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen feniletanoit glikozitleri I	17
2.14. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen feniletanoit glikoziti II	18
2.15. <i>Verbascum</i> türlerinden elde edilen flavonoitler	19
4.1. 3'-O- β -glukopiranozilkatalpol (VP-1) 'ün ^{13}C ve ^1H NMR Spektroskopik değerleri (CD_3OD ; ^{13}C : 150 MHz; ^1H : 600 MHz)	52
4.2. Sakkatozit (VP-2)' in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^{13}C : 150 MHz, ^1H : 600 MHz)	58
4.3. Sakkatozit (VP-3a) ve 6-O-(3''-O-trans-p-kumaroil) ramnopiranozil katalpol (VP-3b)' ün ^{13}C NMR ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^{13}C : 150 MHz; ^1H : 600 MHz)	65
4.4. Verbaskozit (VP-4)'in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^{13}C : 150 MHz, ^1H : 600 MHz)	73
4.5. Ekinakozit (VP-5)'in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^{13}C :150 MHz, ^1H : 600 MHz)	79

- 4.6 *V. pyramidatum*' un çiçek ve yapraklarından ayrı ayrı hazırlanan 83
metanol, kloroform ve sulu ekstralarının karragen ile oluşturulan ödem
üzerindeki aktivite sonuçları
- 4.7. *V. pyramidatum* çiçeklerinin sulu ekstresinin poliamit kolon 84
kromatografisine uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların karragen
ile oluşturulan ödem üzerindeki aktivite sonuçları
- 4.8 *V. pyramidatum*' un çiçek ve yapraklarından ayrı ayrı hazırlanan 86
metanol, kloroform ve sulu ekstralarının *p*-benzokinon nedenli ağrı testi
üzerindeki etkisinin ASA ile karşılaştırılması
- 4.9 *V. pyramidatum* çiçeklerinin sulu ekstresinin poliamit kolon 87
kromatografisine uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların *p*-
benzokinon nedenli ağrı testi üzerindeki etkisinin ASA ile
karşılaştırılması

1. GİRİŞ

Scrophulariaceae familyasında yer alan *Verbascum* L. cinsi Türkiye bitki örtüsünde 251 tür ile temsil edilmektedir (1, 2).

‘‘Sığırkuyruğu’’ olarak da bilinen *Verbascum* türlerinin çiçek ve yapraklarından hazırlanan infüzyonlar, Anadolu’ da halk arasında çay şeklinde içilerek göğüs yumuşatıcı ve balgam söktürücü etkisi sebebiyle kullanılmaktadır (3). Ayrıca bazı türlerin de hemoroit ve romatizma tedavisinde (4) ve yara iyi edici amaçlarla (5) kullanıldığı bilinmektedir.

Verbascum türleri üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmaları sonucunda, antimalaryal, antiviral, antitümör, sitotoksik, antihepatotoksik, antihiperlipidemik, antioksidan, antienflamatuvar, antinosiseptif, yara iyi edici, antimikrobiyal, antihelminetik, sedatif, pre anestetik, anksiyolitik etki gösterdikleri tespit edilmiştir (6-12).

Verbascum türlerinden biri olan ve ‘‘Mullein’’ olarak da bilinen *V. thapsus*, Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika’ da tıbbi bir bitki olarak farklı farmasötik formlarda enflamasyon hastalıklarının, spazmodik öksürük, astım ve diğer pulmoner problemlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Bu bitkiden hazırlanan ekstrelerde antitümör ve antibakteriyel aktivite gözlenmiştir (13).

Verbascum türleri üzerinde gerçekleştirilen aktivite çalışmalarında *V. lasianthum* Boiss., *V. pterocalycinum* var. *mutense* Hub.-Mor., *V. salviifolium* Boiss., *V. dudleyanum* (Hub.-Mor.) Hub.-Mor., *V. latisepalum* Hub.-Mor., *V. mucronatum* Lam, *V. stachydifolium* Boiss. & Heldr., *V. uschackense* (Murb.) Hub.-Mor. ve *V. olympicum* Boiss., bitkilerinin çeşitli kısımlarından hazırlanan ekstrelerin ve bu bitkilerden elde edilen bazı sekonder metabolitlerin antienflamatuvar, antioksidan, antinosiseptif, antimikrobiyal, antihelminetik, kolinesteraz enzim inhibitörü ve yara iyileştirici etki gösterdikleri tespit edilmiştir (6-10).

Verbascum türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar incelendiğinde; monoterpen glikozitleri, iridoit glikozitleri, saponinler, feniletanoit ve neolignan glikozitleri, flavonoidler ve steroidler gibi farklı yapıda bileşiklerce zengin oldukları görülmektedir (14).

Hem dünyada hem de Anadolu’nun farklı bölgelerinde halk ilacı olarak kullanılan ve taşıdığı bileşikler sebebiyle de önemli bir cins olan *Verbascum* türlerinin

büyük bir bölümü ülkemizde doğal olarak yetişmektedir. Araştırmamızda halk arasında hemoroid ve romatizma tedavisinde (15) kullanılan ve üzerinde kimyasal çalışma bulunmayan *Verbascum pyramidatum* Bieb.' in çiçek ve yaprak kısımlarının antienflamatuvar ve analjezik etkileri test edilerek, aktif ekstrenin taşıdığı bileşiklerin izolasyonu ve kimyasal yapılarının spektroskopik yöntemlerle tayin edilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma sonucunda elde edilecek bulgular, bugüne kadar *Verbascum* türleri üzerinde yapılmış olan çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile birlikte değerlendirilecektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Scrophulariaceae Familyası

Otsu veya yarı çalimsı (nadiren küçük ağaçlar), ototrof, kısmen ya da nadiren tamamen parazitik otlar, iç floem yok. Yapraklar stipulasız, alternan, karşılıklı veya dairesel dizilişli. Çiçekler erdişi, yaprak koltuklarında tek veya rasemoz veya spika ya da panikula şeklinde. Kaliks 4-5 parçalıdan, bilabiata kadar veya iki loblu. Korolla birleşik genellikle zigomorf ve bilabiata, bazen tabanda mahmuz veya keseli, bazen hemen hemen aktinomorf; korolla parçaları daima tomurcukta kiremit dizilişli. Stamenler korollaya bağlı 4 ve didinam ya da 2, nadiren 5, anterler enine ya da uç tarafta kapaklardan ve teğetsel açılır; verimsiz stamenler 1-3 veya yok. Ovaryum terminal stiluslu, üst durumlu, genellikle horizontal ve iki gözlü; ovüller şişkin eksensel plasenta üzerinde çok veya az miktarda; ovaryum 2 paryetal iki parçalı plasenta ile nadiren bölmesiz (*Lathraea*). Meyvalar genellikle bir kapsul, bazen kendiliğinden açılmaz. Tohumlar çok sayıda (nadiren birkaç), sıkça süslü (16).

2.1.2. *Verbascum* L. Cinsi

Bir, iki ya da çok yıllık otsu, nadiren küçük çalılar, yapraklar alternan, veya nadiren karşılıklı, basit ya da parçalı ve tabanda rozet şeklinde. Bitki tüysüz, salgı ve örtü tüylü, basit veya dallanmış tüylü. Çiçeklenme uçta rasemoz, spika veya panikula. Kaliks eşit ya da çok nadir olarak eşit olmayan bölümlü. Korolla sarı, nadiren mor veya eflatun, kahverengi veya sarımsı ya da mavimsi yeşil, rotat, hemen hemen aktinomorf veya bazen zigomorf. Stamenler 4 veya 5, bazen 4 verimli 1 verimsiz; filamentler tüylü, tüyler sarımsı ya da mor-eflatun ya da nadiren tüysüz, hepsi eşit veya öndeki ikisi (altta) daha uzun ve daha kalın; arkadaki 2 ya da 3 (üstte) daima reniform ve enine ortadan bağlı, diğer öndeki ikisi (altta) benzer veya uzun ve dekurant, tabanda meyilli şekilde uzanır. Stilus tek, ipliksi veya hafifçe çomak şeklinde; stigma yarı küremsi, obovat veya spatulat. Kapsul septisit, küremsi veya oblong-ovoid veya silindirik; tohumlar küçük, çok sayıda, Türkiye’ deki obkonik-prizmatik, enine oyuk (1).

Sinonimleri: *Celsia* L., *Staurophragma* Fischer & Meyer

Türkiye Bitki Örtüsünde Yetişen *Verbascum* Cinsine Ait Grup Tayin Anahtarı

1. Fertil stamenler 4, antersiz beşinci staminot yok veya nadiren var

GRUP A

1. Fertil stamenler 5, hepsi olgun, tam

2. Bitkinin dallanmış tüyü yok; tüyler basit, salgı ve örtü tüylü ya da bitki tüysüz.

GRUP B

2. Bitkinin en azından bir kısmı dallanmış tüylü

3. Çiçek ekseninde her brakte tek çiçekli, nadiren alt brakteler 2 çiçekli

4. Brakteol yok, nadiren alt brakteler brakteollü

GRUP C

4. Brakteol var

GRUP D

3. Çiçek ekseninde her brakte 2 veya daha fazla çiçekli, nadiren üst brakteler sadece tek çiçekli

5. Alt 2 stamenin anterleri uzamış, boylamasına ya da eğik bağlanmış, üstteki 3 stamenin anterleri reniform, enine ortadan bağlı

GRUP E

5. Anterlerin hepsi reniform, enine bağlı

6. Brakteol yok (nadiren 1 brakteol var: *V. cedreti*, 108, *V. tauri*, 111)

GRUP F

6. Brakteol var

7. Çiçek demetleri saplı, nadiren sapsız ve 3-5 brakteollü

GRUP G

7. Çiçek demetleri sapsız, 2 brakteollü

8. Alt iki anterin konnektifi tüysüz, flamentleri çoğunlukla uca yakın yerlerde tüysüz

9. Flament tüyleri eflatun (bazen beyaz ya da sarı ile karışık)

GRUP H

9. Flament tüyleri beyaz ya da sarı

GRUP I

8. Bütün anterlerin konnektifleri iç kısımda sık papilli, tüm filamentler anterlere kadar yünsü tüylü

10. Flament tüyleri eflatun

GRUP J

10. Flament tüyleri beyazımsı sarı

11. En uzun pedisel kaliksin ½' si kadar veya daha kısa

GRUP K

11. En uzun pedisel kaliksten az daha kısa, kaliks kadar ya da daha uzun

12. En uzun pedisel kaliksten en fazla biraz uzun

GRUP L

12. En uzun pedisel kaliksin 2 katı veya daha uzun

GRUP M

Araştırmamızda Grup C'den seçilmiş bir *Verbascum* türü çalışıldığından, sadece Grup C'ye ait tayin anahtarı verilmiştir.

GRUP C

Bitkinin en azından bir kısmı dallanmış tüylerle kaplı. Çiçekler her braktenin koltuğunda yer almış. Brakteolsüz. En uzun pediseller kaliksten çok daha kısa, yarı eşit ya da çok uzun. Verimli stamenler 5. Anterlerin hepsi reniform ya da çok az sıklıkla öndeki ikisi dekurvent; öndeki iki filament genellikle tepede tüysüz, çok az sıklıkla tüm filamentler anterlere kadar tüylü, filament tüyleri mor-eflatun veya beyazımsı-sarı renkte.

1. Anterlerin hepsi reniform, enine ortadan bağlı

5. Korollanın (en azından tomurcukta) dış yüzü örtü tüylü veya salgı tüylü

13. Korolla dış yüzü dallanmış örtü tüylü, sık sık salgı tüyleriyle karışık

15. Kapsula $\pm$ tomentoz, dallanmış örtü tüylü

16. Bitki otsu, iki yıllık veya nadiren çok yıllık, tipik *Verbascum* benzeri görünüşte

22. Bitkinin çiçek durumu salgı tüylü

25. Pediseller meyvede 3-8 mm

26. Alttaki yapraklar bariz krenat

27. Taban yaprakların sapı 1-4 cm; üst gövde yaprakları kordat veya ovat-kordat, birden akuminat; brakteler meyvede pediselle aynı boyda veya daha uzun

V. pyramidatum

2.1.3. *Verbascum pyramdatum* Bieb.

Çok yıllık, 45-150 cm, yoğun olarak yatık-yumuşak yıldızsı tüylü, aşağıya doğru çıplaklaşan, çiçek durumu ve yaprakların üst yüzeyinde sıklıkla salgı tüyleri. Gövde kalınca, köşeli, dallanmış. Taban yaprakları yukarıda yeşilimsi, lanseolat-oblong'tan obovata, 7-40 x 3-15 cm, kabaca bikrenat, krenat-dentat veya hafif loblu, petiol 1-4 cm; üst gövde yaprakları sapsız, kordat ya da genişleyen kordat-ovat, aniden akuminat-kaudat. Çiçek durumu oldukça gevşek, çokça yaysı yükselici dallı, dar veya oblong-piramidat panikula şeklinde. Brakteler meyveye dönen çiçek saplarıyla aynı boyda ya da daha uzun, lanseolattan lineara, akuminattan kaudata. Pediseller 3-8 mm, brakteolsüz. Kaliks 3-6 mm, oblong, mukronat loblu. Korolla sarı, 15-30 mm çapında, dış yüzeyinde yıldızsı-tomentoz, saydam salgı glandı seyrek ya da bulunmaz. Stamenler 5, nadiren 4, anterler reniform, filamentler anterlere kadar morumsu-menekşe rengi yünsü tüylü. Kapsul genişleyen eliptikten ovata, 4-8 x 3-5 mm, yoğun yıldızsı-tomentoz tüylü. Çiçeklenme 6-9. ay (1).

Habitat: İğne yapraklı ve yaprak döken ormanlar, *Quercus* ve *Corylus* çalılıkları, bozkır, üzüm bağları, deniz seviyesinden 2300 m'ye kadar.

Sinonimleri: *V. anatolicum* Somm. & Lev.

Fitocoğrafik bölge: Hirkano-öksin element

Yayılış:

Karadeniz ve İç Anadolu'nun kuzeyi: **A4** Kastamonu: İnebolu'dan Küre'ye, 450 m, *D.* 21673 Çankırı: Ilgaz Dağı zirvesi, 2300 m, *Nydegger* 11348 **A5** Çorum: Kırkdilim boğazı Çorum'dan Osmancığa 22 km, 1120-1250 m, 24.6.1955, *Simon* **A6** Samsun: Samsun'un güneyi, 300 m, *Krause* 3881. Tokat: Tokat'ın 16 km güneyi, 1120 m, *Hub.-Mor.* 12931 Ordu: Ordu'dan Gülköy'e 25 km, 680 m, *Hub.-Mor.* 14741 Sivas: Zara'dan Şerefîye yaylasına 16 km, 1500 m, *Hub.-Mor.* 11805 **A7** Giresun: Tamdere aşağısı, 1600 m, *D.* 20636 Trabzon: Trabzon yukarısındaki tepeler, 14.6.1890, *Sommier & Levier* (*V. anatolicum* tipi). **A8** Rize: Rize'nin 25 km batısı, deniz seviyesi *M. & D.Zohary* 1295 Erzurum: İspir'den Rize'ye 8 km, 1500 m, *Stn. & Hend.* 6247 (16).

A4 Kastamonu: İnebolu Küre, maki, 450m, 8.6.1954, *Davis*, (ANK 21673!) **A4** Kastamonu: Kanlıgöl-Daday arası, Karamuk köyü, 820 m, 31.10.1981, *Demirörs*,

(ANK 782!) **A4** Kastamonu: Daday, Taş ocakları, 950 m, 23.6.1980, *Ketenoglu*, (ANK 702!) **A4** Kastamonu: Cide-Kızılca, 950 m, 20.6.1978, *Ketenoglu*, (ANK 702!) **A4** Bartın: Ardıç bölgesi, Fındıcak düzü, 1400 m, 22.7.1983, *Demirörs* (ANK 1938!) **A4** Kastamonu: Saka dağı civarı, 1000 m, 27.6.1980, *Demirörs*, (ANK 695!) **A5** Kastamonu, Alçıcılar köyü arkası, 900 m, Pinus nigra kesim alanı, 20.7.1993, *Dönmez, Şağban, Kahraman* (HUB 3618!) **A5** Kastamonu: Devrekani, Yaralıgöz dağı, 1300m, 10.7.1991, *Yurdakulol*, (ANK 3584!) **A5** Sinop: Ayancık, Çangalboğaz mevkii, 1300 m, Abies ormanı açıklığı, 21.7.1993, *Dönmez, Şağban, Kahraman* (HUB 3686!) **A5** Yozgat: Çekerek, Dondurmanın başı tepesi, 1400-1500 m, 18.6.1980, *İlarslan*, (ANK 1056!) **A7** Gümüşhane: Kürtün, *Küçük*, (GAZİ 367!) **A8** Rize: İkizdere, Ballıköy (Anzer), Koşmer arası, taşlı arazi, 2200 m, 20.7.1984, *A.Güner*, (HUB 5946!) **A8** Rize: Çamlıhemşin, Çat-Elevit arası, *Picea orientalis* ormanı ve sulak çayırlar, granit arazi, 1200-1500 m, 24.6.1980, *Güner*, (HUB 2508!) **A8** Rize: Çamlıhemşin, Ortayayla köyü çevresi, sulak çayırlar, granit arazi, 2000-2300 m, 5.7.1981, *Güner*, (HUB 3958!) **A8** Erzurum: İspir, çayırılık alanlar, 1948 m, 21.7.2004, *G.Akaydın*, (HUB 9853!) **A9** Artvin: Ardanuç, Lahşet biçeneklerinden Kurdevan Dağına, 1800-3000 m, 8.8.1984, *Demirkuş*, (HUB 2456!) **B8** Bingöl: Yado 100. yıl çeşmesi, 1400 m, 21.6.1983, *Ekim*, (GAZİ 7313!) **B9** Tatvan-Van, Tatvan'dan 5 km sonra, meşelik, 1800-1900 m, 24.6.1983, *Ekim*, (GAZİ 7622!) **A8 Trabzon: Hamsiköy, eski yol, mezarlık çevresi, 1300 m, 23.6.2012, D.Civelek, (HUEF 12001!)**



Şekil 2.1. *Verbascum pyramidatum* Bieb.

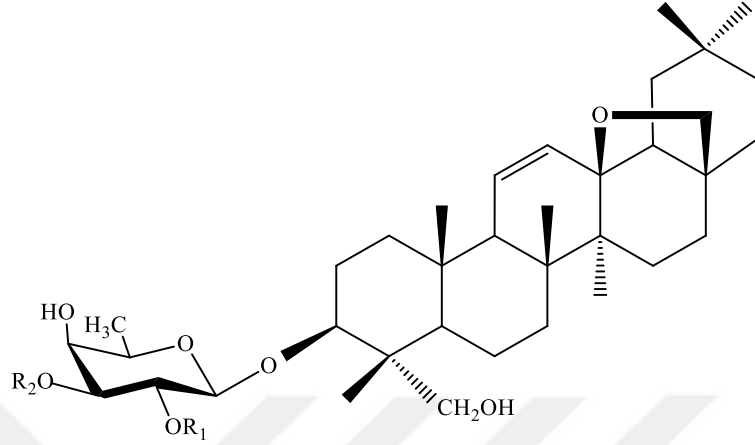
2.2. *Verbascum* Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Verbascum türleri üzerinde 2004 yılına kadar yapılan fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları derleme olarak (12, 14) yayınlanmış, 2004' ten 2009 yılına kadar yapılan çalışmalar ise, *Verbascum mucronatum* Lam. Üzerinde Farmakognozok Araştırmalar isimli tezde (17) verilmiş olduğundan tezimizde 2009 yılından sonraki fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları kendi içinde derlenerek iki bölüm halinde verilmiştir.



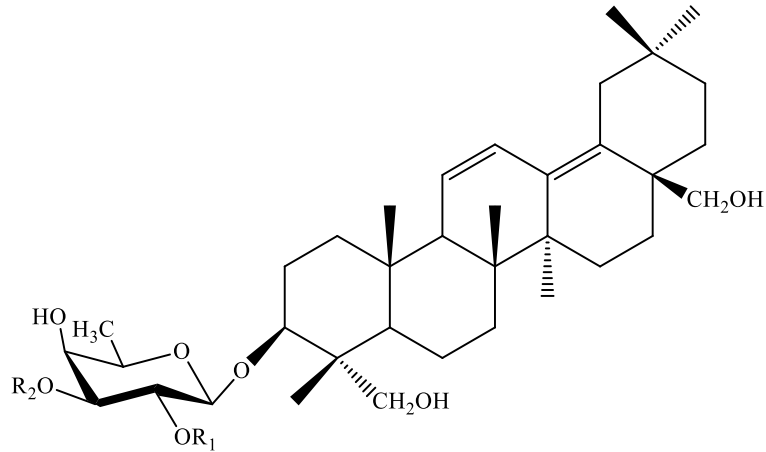
2.2.1. Fitokimyasal Çalışmalar

a. Saponinler



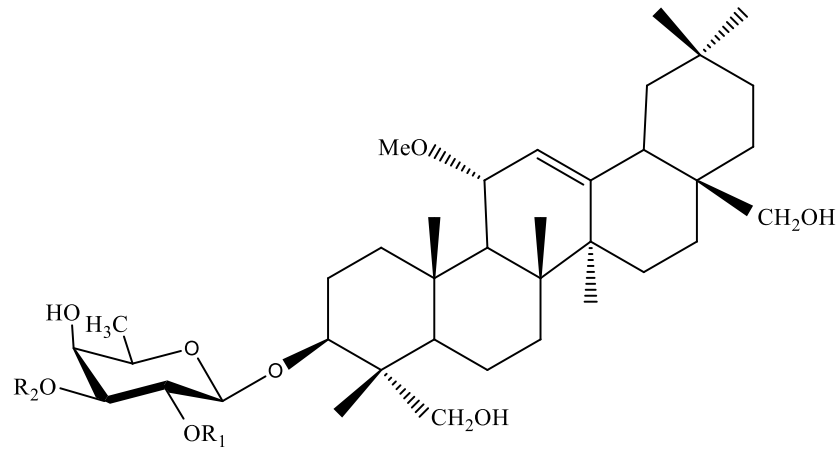
Tablo 2.1. *Verbascum* türlerinden elde edilen saponin glikoziti I

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
İlvensisaponin A	β -D-glukopiranozil	α -L-ramnopiranozil- (1→4)- β -D-glukopiranozil	<i>V. mucronatum</i> Lam. <i>V. nobile</i>	(6) (18)



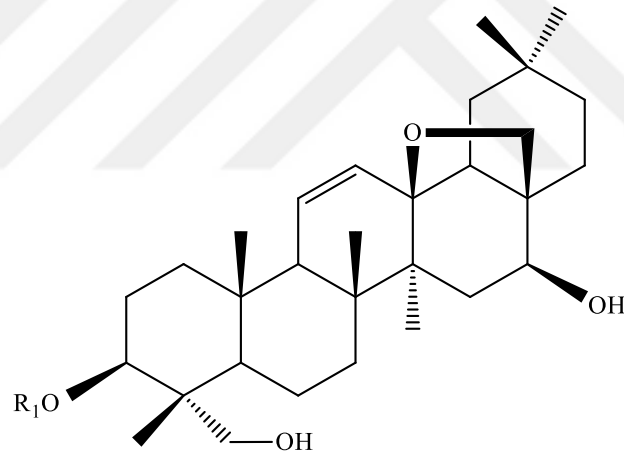
Tablo 2.2 *Verbascum* türlerinden elde edilen saponin glikoziti II

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
İlvensisaponin B	β -D-glukopiranozil	α -L-ramnopiranozil-(1→4)- β -D-glukopiranozil	<i>V. nobile</i>	(18)



Tablo 2.3. *Verbascum* türlerinden elde edilen saponin glikoziti III

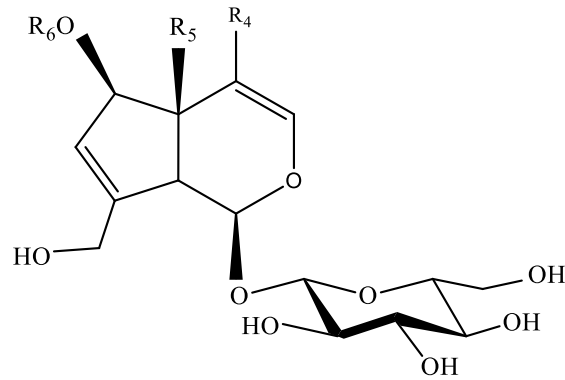
Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
İlvensisaponin C	β -D-glukopiranozil	α -L-ramnopiranozil-(1→4)- β -D-glukopiranozil	<i>V. mucronatum</i> Lam. <i>V. nobile</i>	(6) (18)



Tablo 2.4. *Verbascum* türlerinden elde edilen saponin glikoziti IV

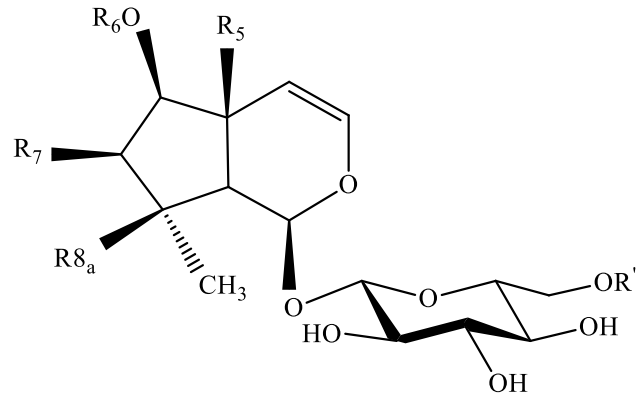
Bileşik	R ₁	Bitki	Kaynak
3-O-fukopiranozilsaikogenin F	β -D-fukopiranozil	<i>V. thapsus</i>	(19)

b. İridoit glikozitleri



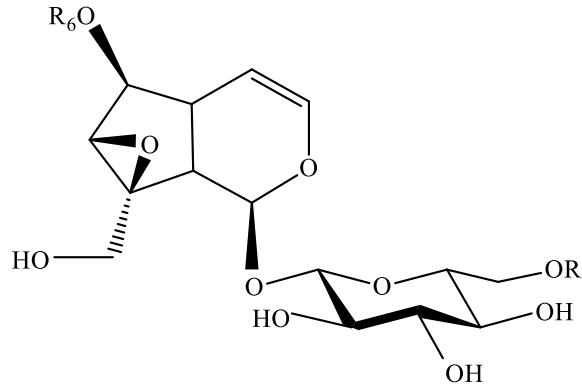
Tablo 2.5. *Verbascum* türlerinden elde edilen iridoit glikozitleri I

Bileşik	R ₄	R ₅	R ₆	Bitki	Kaynak
Okubin	H	H	H	<i>V. phlomoides</i> <i>V. densiflorum</i> <i>V. xanthophoeniceum</i> <i>V. nigrum</i> <i>V. phoeniceum</i> <i>V. mucronatum</i> <i>V. marschallianum</i> <i>V. nobile</i>	(20, 21) (20) (20, 22, 23) (20) (20) (6) (24) (18)
6-O-3''-p-kumaroil ramnopyranozil okubin	H	H	3''-p-kumaroil ramnopyranozil	<i>V. nobile</i>	(18)
Lasiantozit I	H	H	(4''-O-trans-p- kumaroil)-α- ramnopyranozil	<i>V. mucronatum</i>	(6)
Nigrozit III	H	H	2''-O-(p-kumaroil)-α-L- ramnopyranozil	<i>V. xanthophoeniceum</i>	(22, 23)
Nigrozit VI	H	H	2''-O-(p-kumaroil)-3''- O-asetil-α-L- ramnopyranozil	<i>V. xanthophoeniceum</i>	(22, 23)



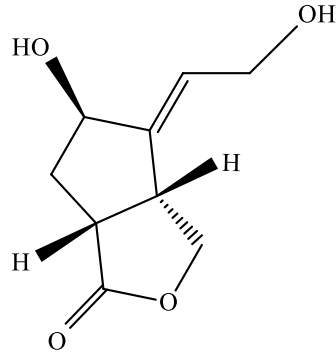
Tablo 2.6. *Verbascum* türlerinden elde edilen iridoit glikozitleri II

Bileşik	R ₅	R ₆	R ₇	R _{8a}	R'	Bitki	Kaynak
Ajugol	H	H	H	OH	H	<i>V. phlomoides</i> <i>V. densiflorum</i> <i>V. xanthophoeniceum</i> <i>V. nigrum</i> <i>V. phoeniceum</i> <i>V. mucronatum</i> <i>V. thapsus</i> <i>V. marschallianum</i>	(20) (20) (20, 22, 23) (20) (20) (6) (19) (24)
Harpajit	OH	H	H	OH	H	<i>V. phlomoides</i> <i>V. densiflorum</i> <i>V. xanthophoeniceum</i> <i>V. nigrum</i> <i>V. phoeniceum</i>	(20) (20) (20, 22) (20) (20)
Harpagozit	OH	H	H	<i>O-trans-sinamoil</i>	H	<i>V. xanthophoeniceum</i> <i>V. nigrum</i> <i>V. thapsus</i> <i>V. laxum</i>	(20, 22, 23) (20, 25, 26) (19) (27)
8-sinamoil-myoporoside	H	H	H	<i>O-trans-sinamoil</i>	H	<i>V. thapsus</i>	(19)
Angeloside	H	H	OH	H	H	<i>V. marschallianum</i>	(24)



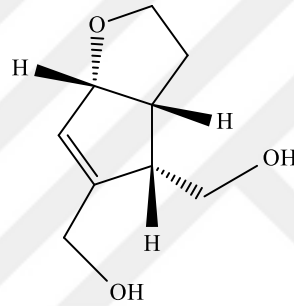
Tablo 2.7. *Verbascum* türlerinden elde edilen iridoit glikozitleri III

Bileşik	R ₆	R'	Bitki	Kaynak
Katalpol	H	H	<i>V. mucronatum</i> <i>V. nobile</i>	(6) (18)
6-O-2''-(E)p-kumaroil-3''-mentiafoloyil-ramnopiranozilkatalpol	2''-(E)p-kumaroil-3''-mentiafoloyil-ramnopiranozil	H	<i>V. nobile</i>	(18)
6-O-2''-(Z)p-kumaroil-3''-mentiafoloyil-ramnopiranozilkatalpol	2''-(Z)p-kumaroil-3''-mentiafoloyil-ramnopiranozil	H	<i>V. nobile</i>	(18)
6-O-3''-p-kumaroil ramnopiranozilkatalpol	3''-p-kumaroil ramnopiranozil	H	<i>V. nobile</i>	(18)
6-O-2'',3''-di-p-kumaroil ramnopiranozilkatalpol	2'',3''-di-p-kumaroil ramnopiranozil	H	<i>V. nobile</i>	(18)
Verbaspinozit	2''-O-(trans-sinamoil)-α-L-ramnopiranozil	H	<i>V. caesareum</i>	(28)
Sakkatozit	2''-O-(p-kumaroil)-α-L-ramnopiranozil	H	<i>V. caesareum</i> <i>V. nobile</i>	(28) (18)



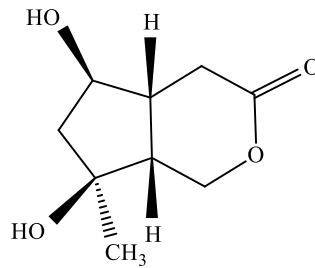
Tablo 2.8. *Verbascum* türlerinden elde edilen iridoit IV

Bileşik	Bitki	Kaynak
Verbathasin A	<i>Verbascum thapsus</i>	(19)



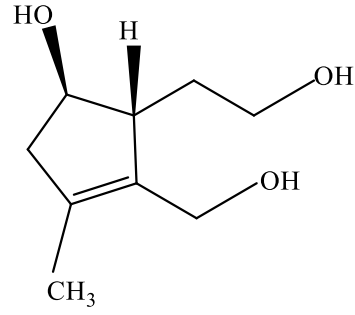
Tablo 2.9. *Verbascum* türlerinden elde edilen iridoit V

Bileşik	Bitki	Kaynak
Ningpogenin	<i>V. thapsus</i>	(19)



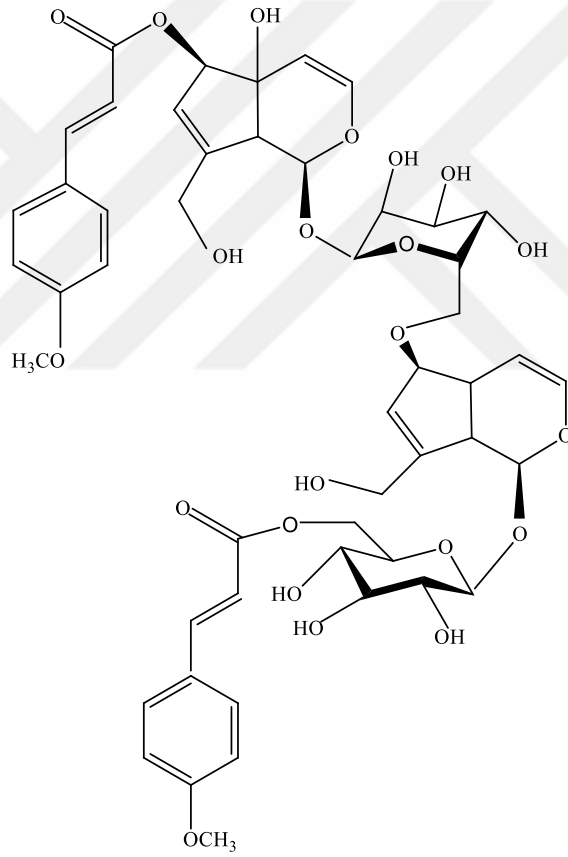
Tablo 2.10. *Verbascum* türlerinden elde edilen iridoit VI

Bileşik	Bitki	Kaynak
Jioglutolit	<i>V. thapsus</i>	(19)



Tablo 2.11. *Verbascum* türlerinden elde edilen iridoit VII

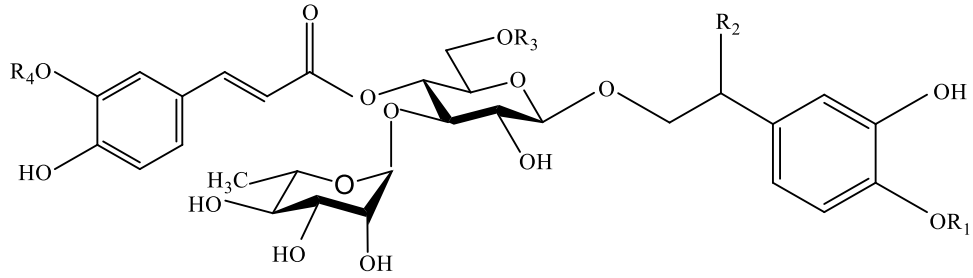
Bileşik	Bitki	Kaynak
10-deoksiökamiyol	<i>V. thapsus</i>	(19)



Tablo 2.12. *Verbascum* türlerinden elde edilen dimerik iridoit VIII

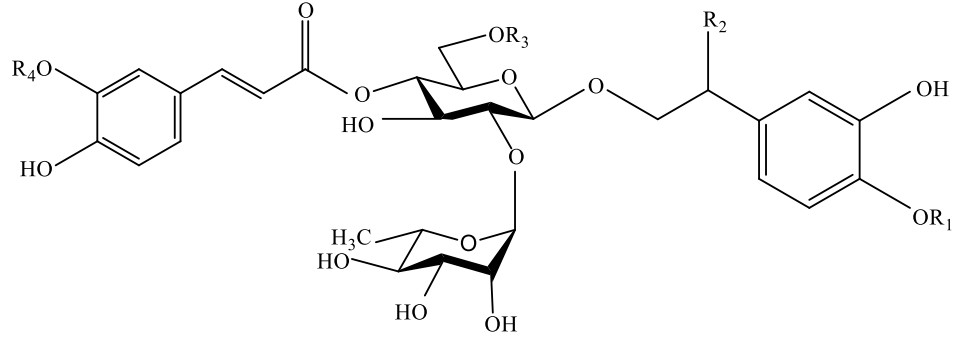
Bileşik	Bitki	Kaynak
Laksozit	<i>V. laxum</i>	(27)

c. Feniletanoit glikozitleri



Tablo 2.13. *Verbascum* türlerinden elden edilen feniletanoit glikozitleri I

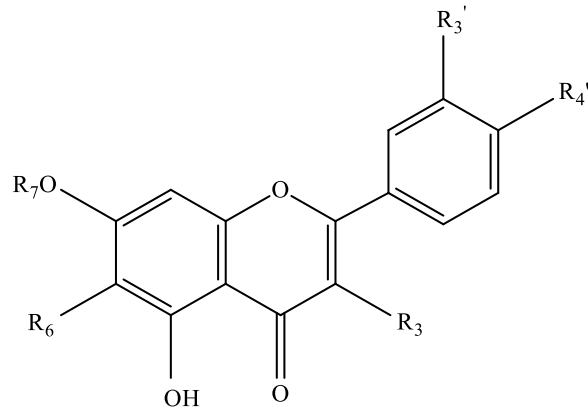
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Bitki	Kaynak
Verbaskozit (=Akteozit)	H	H	H	H	<i>V. densiflorum</i> <i>V. phlomoides</i> <i>V. phoeniceum</i> <i>V. nigrum</i> <i>V. xanthophoeniceum</i> <i>V. thapsus</i> <i>V. lagurus</i> <i>V. mucranatum</i> <i>V. caesareum</i> <i>V. nobile</i>	(20, 25) (20, 25, 26, 29) (20, 25) (20, 25, 26) (20, 22, 23, 25, 30, 31) (26, 32) (33) (6) (28) (18)
Forsitozit B	H	H	β -D-apiopiranozil	H	<i>V. phlomoides</i> <i>V. densiflorum</i> <i>V. phoeniceum</i> <i>V. nigrum</i> <i>V. xanthophoeniceum</i> <i>V. caesareum</i> <i>V. lagurus</i>	(20) (20) (20) (20) (20, 22, 23, 30, 31) (28) (33)
Angorozit A	H	H	α -L-arabinopiranozil	H	<i>V. lagurus</i>	(33)
Lökoseptozit B	CH ₃	H	β -D-apioz	CH ₃	<i>V. phlomoides</i> <i>V. densiflorum</i> <i>V. nigrum</i> <i>V. phoeniceum</i> <i>V. xanthophoeniceum</i>	(20) (20) (20) (20) (20, 23, 30, 31)
Martinozit	CH ₃	H	H	CH ₃	<i>V. xanthophoeniceum</i>	(31)



Tablo 2.14. *Verbascum* türlerinden elde edilen feniletanoit glikoziti II

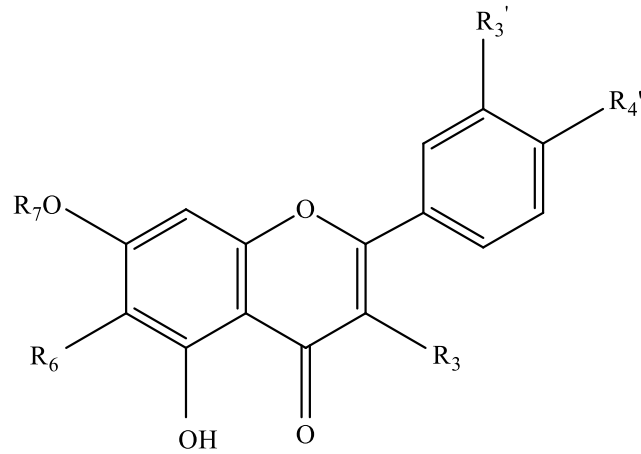
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Bitki	Kaynak
Orobanjozit	H	OH	H	H	<i>V. densiflorum</i>	(34)

d. Flavonoitler



Tablo 2.15. *Verbascum* türlerinden elde edilen flavonoitler

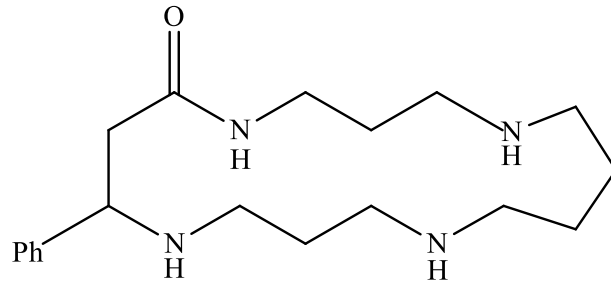
Bileşik	R ₃	R ₆	R ₇	R _{3'}	R _{4'}	Bitki	Kaynak
Luteolin	H	H	H	OH	OH	<i>V. lagurus</i> <i>V. thapsus</i> <i>V. phlomoides</i> <i>V. densiflorum</i> <i>V. caesareum</i> <i>V. sublobatum</i> Murb.	(33) (19, 26) (26, 34) (34) (28) (35)
Luteolin-7-O-glukozit (Sinarozit)	H	H	Glu	OH	OH	<i>V. lagurus</i> <i>V. caesareum</i> <i>V. phlomoides</i> <i>V. nobile</i>	(33) (28) (29) (18)
6-hidroksi-luteolin-7-glukozit	H	OH	Glu	OH	OH	<i>V. caesareum</i>	(28)
Apigenin	H	H	H	H	OH	<i>V. phlomoides</i> <i>V. densiflorum</i> <i>V. sublobatum</i> <i>V. cheiranthifolium</i>	(21, 26, 34) (34) (35) (36)
Nepetin	H	OCH ₃	H	OH	OH	<i>V. caesareum</i>	(28)
Narsisin	O-Rutinoz	H	H	OCH ₃	OH	<i>V. phlomoides</i>	(29)
Kersetin	OH	H	H	OH	OH	<i>V. densiflorum</i> <i>V. phlomoides</i>	(34) (21, 34)
Diosmin	H	H	Rutinoz	OH	OCH ₃	<i>V. phlomoides</i>	(29)



Tablo 2.15. *Verbascum* türlerinden elde edilen flavonoitler (devam)

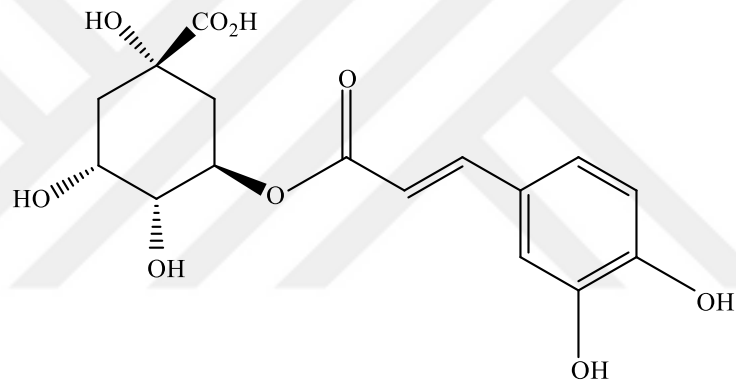
Bileşik	R ₃	R ₆	R ₇	R ₃ '	R ₄ '	Bitki	Kaynak
Diosmetin-7-O-glukozit	H	H	Glukoz	OH	OCH ₃	<i>V. lagurus</i>	(33)
Kersetin-3,7-diglukozit	O-Glukoz	H	Glukoz	OH	OH	<i>V. caesareum</i>	(28)
Apigenin-7-glukozit (Apigetrin)	H	H	Glukoz	H	OH	<i>V. caesareum</i> <i>V. thapsus</i> <i>V. densiflorum</i> <i>V. phlomoides</i>	(28) (19) (34) (34)
Rutin	O-Rutinoz	H	H	OH	OH	<i>V. phlomoides</i> <i>V. flavidum</i>	(34) (37)
Kemferol	OH	H	H	H	OH	<i>V. phlomoides</i>	(34)

e. Makrosiklik spermin Alkaloid

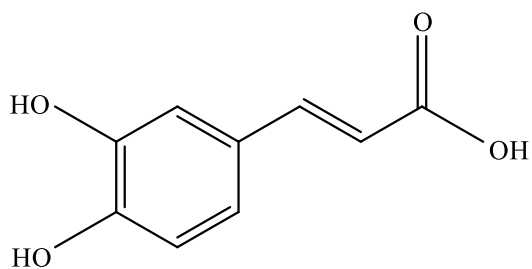


Protoverbin, *V. speciosum* (38)

f. Fenolik asitler



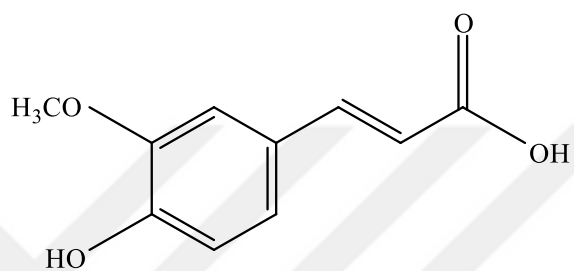
Klorojenik asit, *V. caesareum* (28)
V. phlomoides (21, 26)
V. lagurus (33)
V. nigrum (26)
V. cheiranthifolium (36)
V. flavidum (37)



Kafeik asit,

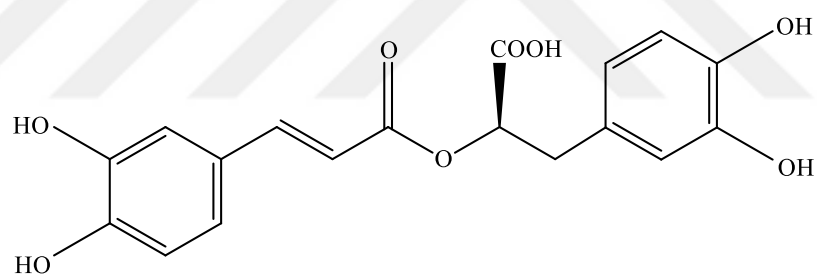
V. phlomoides (21)

V. flavidum (37)



Ferulik asit,

V. phlomoides (21)

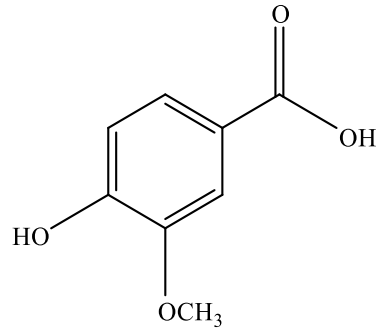


Rosmarinik asit,

V. phlomoides (21)

V. cheiranthifolium (36)

V. flavidum (37)



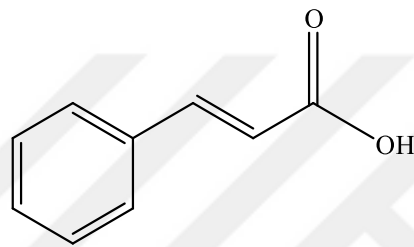
Vanilik asit ,

V. phlomoides

(26)

V.thapsus

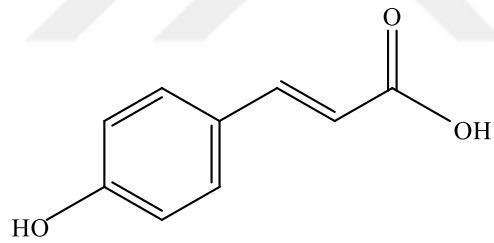
(26)



Sinnamik asit,

V. nigrum

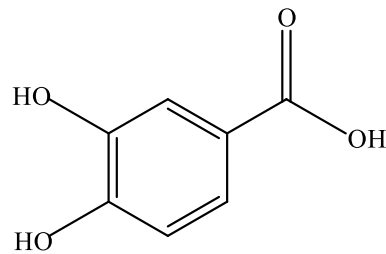
(26)



p-kumarik asit,

V. flavidum

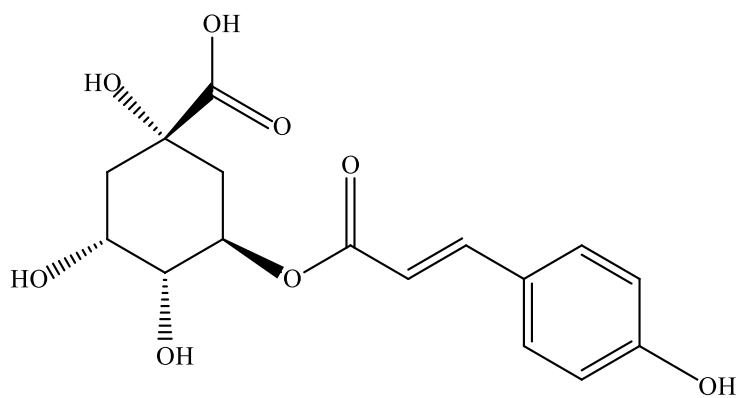
(37)



Protokateşik asit,

V. flavidum

(37)

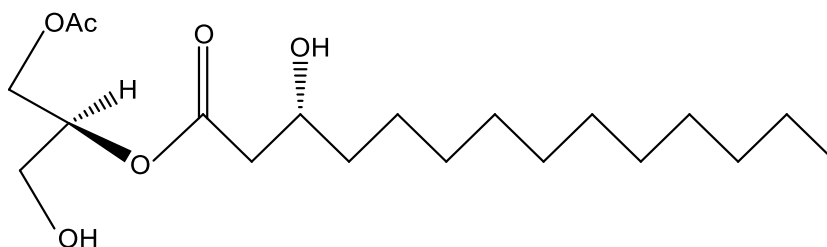


p-kumaroilkinik asit,

V. phlomoides

(29)

g. Diğerleri



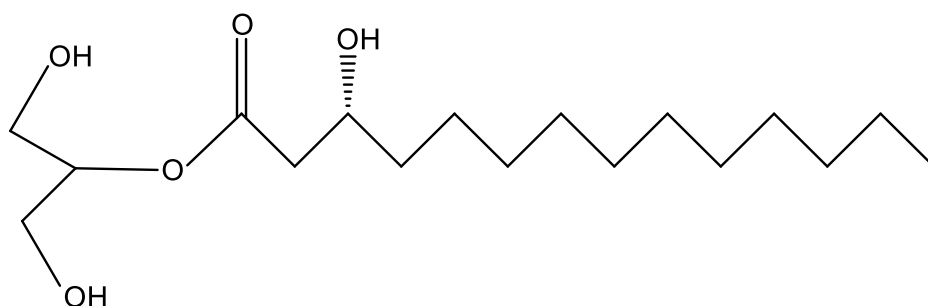
1-O-asetil-2-O-[(R)-3-hidroksitetradekanoil]-*sn*-gliserol

V. blattaria f. *erubescens* (39)



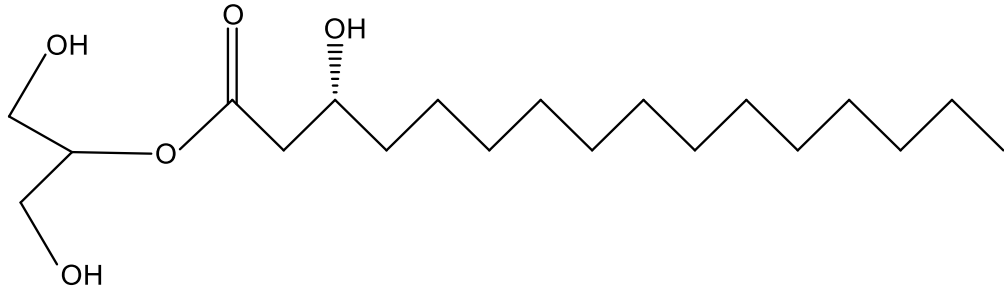
1-O-asetil-2-O-[(R)-3-hidroksiheksadekanoil]-*sn*-gliserol

V. blattaria f. *erubescens* (39)



2-O-[(R)-3-hidroksitetradekanoil]gliserol

V. blattaria f. *erubescens* (39)



2-O-[(R)-3-hidroksiheksadekanoil]gliserol *V. blattaria* f. *erubescens* (39)

V. thapsus' un kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon yoluyla elde edilen uçucu yağın analizi sonucu; 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon (%14.3) ve (*E*)-fitol (%9.3) ana bileşenler olarak tespit edilmiştir (40).

V. speciosum yapraklarından *n*-hekzan ile elde edilen yağda ise, palmitik asit (%18.75), oleik asit (%23.43) ve (3 β , 5 α)-Stigmasta-7,25-dien-3-ol (%7.42) ana bileşenler olarak bulunmuştur (41).

2.2.2. *Verbascum* Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Anadolu’ da halk arasında, *V. phlomoides*, *V. densiflorum* ve *V. thapsus*’un çiçekleri göğüs yumuşatıcı ve balgam söktürücü olarak kullanılmakla birlikte, *V. sinuatum*’ un tohumları ise taşıdıkları saponinlerden dolayı, balıklar için zehirlidir. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi’nde bazı *Verbascum* türleri ‘Balıkotu’ olarak bilinir ve meyvalı dallarının dere ve göl sularına atılarak balıkların öldürülüp yakalanmasında kullanıldığı görülmektedir. Bazı *Verbascum* türlerinin yapraklarının ise infüzyon halinde yatıştırıcı, terletici, balgam söktürücü, idrar artırıcı ve kabız olarak kullanıldığı bilinmektedir (3).

V. cheiranthifolium var. *cheiranthifolium*’un toprak üstü kısımları ve kökleri, *V. chrysochaete*’nin toprak üstü kısımları egzema, romatizma, hemoroit ve menstrual ağrılarda, *V. lasianthum*’un ise yaprak ve çiçekleri hemoroitte kullanılmaktadır (4).

Orta Anadolu’da halk arasında, *V. orientale* çiçekleri ürogenital organlarda terlemeyi önleyici olarak, *V. pumilum*’un toprak üstü kısımları ve kökleri ise yara iyi edici amaçla, karın içi ağrıları ve hemoroitte kullanılmaktadır (5).

Türkiye bitki örtüsünde doğal olarak yetişen ve üzerinde çalışılması planlanan *V. pyramidatum* Anadolu’ da halk arasında hemoroit ve romatizma tedavisinde kullanılmaktadır (15).

Verbascum türlerinin Anadolu’daki kullanımlarının dışında tüm dünyadaki kullanılışları ile ilgili literatür bilgilerinin 2009 yılına kadar olan kısmı ‘*Verbascum mucronatum* Lam. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar’ isimli tezde (17) verilmiş olup, bu kısımda 2009 yılından sonraki kullanılış ve biyolojik aktivite çalışmaları derlenmiştir.

V. xanthophoeniceum Griseb.’ den elde edilen ham ekstre, farklı fraksiyonlar ve saf bileşiklerin *in vivo* ve *in vitro* antienflamatuvar aktivitesinin araştırıldığı çalışmada, ham metanol ekstresi pençe ödemi modelinde denenmiş, farklı fraksiyon ve saf bileşiklerin peritoneal makrofajlar tarafından nitrik oksit (NO) ve sitokin üretimi ve siklooksijenaz (COX-1 ve COX-2) salınımı üzerine etkisi ise *in vitro* olarak test edilmiştir. Ham metanol ekstresinin farelerde kobra venom faktör (CVF) ile indüklenmiş ödeme karşı inhibisyon gösterdiği ortaya koyulmuştur. Saf bileşiklerden nigrozit VI ise, IL-6 ve NO üretimi ve forsitozit B ise Tümör nekroz faktör (TNF- α)

üretimi üzerinde yüksek baskılayıcı etki göstermiş; Lökoseptozit B ise NO salınımını ve COX-1 ekspresyonunu azaltmıştır. Bu çalışmalar *V. xanthophoeniceum*' un, antienflamatuvar etkili aktif bileşikler için bir kaynak olabileceğini göstermiştir (23).

Bazı *Verbascum* türlerinden hazırlanan beş ekstre ve harpagozit akut ve kronik enflamasyon oluşturulan fare modellerinde denenmiş, *Verbascum phoeniceum* ekstresinin COX-1 (%60.2 inhibisyon) ve COX-2 (%44.8 inhibisyon) enzimlerini önemli ölçüde inhibe ettiği ve karragen ile indüklenen pençe ödemi (%55.5 inhibisyon) azalttığı gösterilmiştir. Harpagozitin de, zymosanla oluşturulan artrit modelinde antienflamatuvar etki gösterdiği bulunmuştur (25).

V. thapsus' tan izole edilen verbaskozit'in, süperoksit radikalleri üretimini ve indüklenabilir nitrik oksit sentetaz (İNOS) salınımı ve aktivitesini azaltarak, THP-1 hücrelerinde antienflamatuvar aktivite gösterdiği bulunmuştur (32).

V. cheiranthifolium var. *cheiranthifolium* yaprak ekstresi toksik olmayan konsantrasyonlarda, lipopolisakkarit ile aktive edilmiş RAW 264.7 ve HepG2 hücrelerine uygulandığında NO birikimini baskılamak suretiyle antienflamatuvar aktivite göstermiştir (36).

V. phlomoides çiçeklerinden hazırlanan *n*-butanol ekstresinin antioksidan aktivitesi DPPH metoduyla; antienflamatuvar potansiyeli ise TNF- α ile stimüle olan endotel hücrelerden ICAM-1 (hücre içi adhezyon molekülü 1) salınımının *in vitro* ölçümüyle ve sıçanlarda *in vivo* pençe ödemi deneyiyle çalışılmıştır. Ekstrenin total polifenol ve ana bileşenlerinin miktarları da tayin edilmiştir. Çalışmada konsantrasyona bağlı olarak ekstrenin difenil pikrilhidrazil (DPPH) radikalleri üzerinde süpürücü aktivite gösterdiği (EC₅₀ 7.09 mg/ml) ve insan umbilikal ven endotel hücrelerinde 100 ve 200 μ g/mL' de TNF- α ile indüklenen ICAM-1 salınımını önemli ölçüde inhibe ettiği (%55-58.8), fakat sıçanlarda yumurta akı nedenli pençe ödemi azaltmada ise etkisiz olduğu görülmüştür (21).

V. mucronatum Lam. çiçeklerinin antienflamatuvar, antinositif ve yara iyi edici aktivitesinin araştırıldığı çalışmada antienflamatuvar aktivitenin değerlendirilmesinde; hazırlanan metanol, kloroform ve sulu ekstrelerin farelerde karragen ile indüklenmiş pençe ödemi modeli üzerindeki inhibitör etkisi *in vivo* olarak, bunun yanında yara iyi edici potansiyeli *in vivo* eksizyon ve insizyon yara modelleri kullanılarak, antinositif aktiviteleri ise *p*-benzokinon nedenli abdominal kıvrınma

testi ile çalışılmıştır. Aktif bulunan sulu ekstre üzerinde aynı deney prosedürleri ile çalışılmaya devam edilerek izole edilen bileşiklerden verbaskozitin önemli derecede yara iyi edici, antinosiseptif ve antienflamatuvar aktiviteye sahip olduğu ortaya konulmuştur. Bu deneysel sonuçlar *V. mucronatum*' un dikkat çekici antinosiseptif, yara iyi edici ve antienflamatuvar aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (8).

V. mucronatum sulu ekstresi, fraksiyonları ve sekonder metabolitleri antioksidan, asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BChE) inhibe edici aktiviteleri açısından araştırılmıştır. Antioksidan aktivite; DPPH radikal süpürücü aktivite, metal (demir iyonu)-şelasyon etki ve demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP) testleriyle; AChE aktivite ise bir ELISA mikropalak okuyucu kullanılarak Ellman metoduyla belirlenmiştir. Fitokimyasal araştırmalar sonucu *V. mucronatum*' dan elde edilen verbaskozit içeren sulu ekstre ve fraksiyonlar DPPH radikal süpürücü etki göstermiş ve en iyi FRAP değeri de bunlarda gözlenmiştir. Bu sonuçların yanında feniletanoit fraksiyonlarından bir tanesi en yüksek metal (demir iyonu) şelasyon etkisi göstermiştir. Sadece verbaskozit'in ortalama bir AChE inhibisyonuna sahip olduğu bulunurken, ekstre, fraksiyonlar ve diğer bileşiklerin AChE ve BChE' yi inhibe etmediği tespit edilmiştir (6).

V. phlomoides' ten hazırlanan etanol ve su ekstrelerinin AChE ve tirozinaz enzimlerini inhibe edici etkileri ve antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Antioksidan aktivite DPPH ve Oyaizu metodu ile test edilmiş ve etanol ekstresinin güçlü antioksidan ve enzim inhibe edici aktivite gösterdiği dolayısıyla Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde yararlı olabileceği düşüncesini ortaya çıkartmıştır. Ancak bitkide bulunan bileşiklerin AChE ve tirozinaz enzim aktivitesini hücresel sistemlerde nasıl inhibe ettiklerini açıklayabilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (29).

V. xanthophoeniceum' un metanol ekstresi, toplanan feniletanoit glikozit fraksiyonları ve spesifik aktif bileşikler olan forsitozit B, verbaskozit ve lökoseptozit B' nin antioksidan aktivitesi DPPH, ORAC (oksijen radikali absorban kapasitesi), HORAC, FRAP (demir iyonu indirgeyici antioksidan güç) ve süperoksit anyon radikali süpürücü aktivite deneyleriyle test edilmiştir. Aynı zamanda bu ekstre, fraksiyon ve saf bileşiklerin *in vitro* AChE ve BChE inhibitör aktiviteleri de araştırılmıştır. Kullanılan metoda dayanılarak forsitozit B, verbaskozit ve lökoseptozit

B' nin etkili radikal süpürücüler ve kolinesteraz inhibitörleri olduğu tespit edilmiştir (30).

V. sublobatum Murb. yapraklarından hazırlanan metanol ekstresinin kloroform, etil asetat ve butanol ile partisiyonu sonucu elde edilen üç fraksiyonun antioksidan aktivitesi araştırılmış ve etil asetat fraksiyonunun en yüksek DPPH radikal süpürücü aktiviteyi gösterdiği tespit edilmiştir (35).

Türkiye' de Doğu Anadolu' da yetişen tıbbi bitkilerden olan *V. cheiranthifolium* Boiss. var. *cheiranthifolium* Boiss., *Eryngium bornmuelleri* Nabelek, *Centaurea karduchorum* Boiss. ve *Dactylorhiza chuhensis* Renz. & Taub.' un kök, gövde, yaprak ve çiçekli kısımlarından hazırlanan sulu ekstrelerin antioksidan kapasiteleri FRAP ve ORAC deneyleriyle test edilmiş ve *V. cheiranthifolium* her iki deneyde de diğer bitkilerden daha iyi antioksidan aktivite göstermiştir (42).

V. speciosum' un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin antioksidan ve antifungal etkileri araştırılmıştır. Antioksidan aktivite tayini DPPH deneyiyle test edilmiş ve ekstrenin önemli oranda radikal süpürücü etki gösterdiği tespit edilmiştir (IC₅₀: 32.35 µg/ml). Antifungal aktivite tayininde ise *in vitro* broth mikrodilüsyon metodu uygulanarak minimum inhibitör konsantrasyon (MiK) değerleri belirlenmiş ve ekstrenin çalışılan mikroorganizmalar içinde en yüksek aktiviteyi *Candida parapsilosis* ve *C. alternaria*' ya karşı gösterdiği, farklı mantar türleri arasında önemli farklılıklar gözlenmediği, metanol ekstresinin antifungal potansiyelinin ise yüksek olduğu sonucu ortaya konulmuştur (43).

V. flavidum' dan hazırlanan petrol eteri, aseton, metanol ve su ekstrelerinin antioksidan aktivitesi β-karoten-linoleik asit test sistemi, DPPH serbest radikal süpürücü, ABTS katyon radikal dekolorizasyon, bakır indirgeyici antioksidan kapasite deneyleriyle araştırılmıştır. Sonuçlara göre DPPH serbest radikal süpürme deneyinde metanol ekstresi oldukça yüksek bir aktivite (%72.62 inhibisyon, 100 µg/mL konsantrasyonda), ABTS katyon radikal süpürme deneyinde ise metanol ve su ekstreleri (100 µg/mL konsantrasyonda %86.01 ve % 87.39 inhibisyon), β-karoten-linoleik asit test sisteminde ise petrol eteri ve metanol ekstreleri (%40.26 ve %40.51 oranında) inhibisyon göstermiştir. *V. flavidum*' dan hazırlanan bu ekstrelerin bakır indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) ve antialzheimer aktivite deneylerinde ise aktivite göstermedikleri tespit edilmiştir. Ayrıca bu ekstrelerin *in vitro* disk difüzyon

ve broth dilüsyon metodları yardımıyla beş mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış, petrol eteri ve sulu ekstralarının hiçbir mikroorganizma üzerinde inhibe edici etkisinin olmadığı, metanol ekstresinin *E. coli'* ye karşı (30 mg/mL konsantrasyonda 15 mm inhibisyon zon çapıyla ve 250 ± 0.3 MİK değeriyle) orta düzeyde bir aktivite gösterdiği, ancak tüm bu ekstraların *Pseudomonas. aeruginosa* ve *C. albicans'* a karşı da etkisiz olduğu bulunmuştur (37).

V. pinetorum' dan hazırlanan çeşitli ekstraların antimikrobiyal aktiviteleri agar-kuyu difüzyon metoduyla araştırılmış ve bu ekstraların *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218 ve *C. albicans* ATCC 10231 hariç, test edilen mikroorganizmalar üzerinde farklı değerlerde antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuş, hekzan ekstresi sadece birkaç mikroorganizma üzerinde etkiliyken, diklorometan, metanol ve metanol-kloroform ekstraları ise daha geniş bir yelpazede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bununla birlikte metanol ekstresinin antioksidan aktivitesi, DPPH serbest radikal süpürücü ve β -karoten/linoleik asit test sistemleri uygulanarak tespit edilmiştir. Her iki test sisteminde de antioksidan aktivite görülmekle birlikte *V. pinetorum* metanol ekstresinin DPPH deneyindeki serbest radikal süpürme kapasitesi 13.04 mg/mL olarak ölçülmüş ve bu değer ekstrenin antioksidan etkinliğinin pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve askorbik asitten daha düşük olduğunu göstermiştir. Diğer yandan β -karoten/linoleik asit deneyinde ise ekstrenin linoleik asit oksidasyonunu inhibisyon değeri %89.39 olarak tespit edilmiş ve bu sonuç sentetik bir antioksidan olan BHT' nin %92.46' lık değerine oldukça yakın bulunmuştur (44).

V. pinetorum' dan hazırlanan aseton, metanol, su ve petrol eteri ekstralarının antioksidan aktivitesi β -karoten-linoleik asit test sistemi, DPPH serbest radikal süpürücü aktivite, ABTS katyon radikal dekolorizasyon ve bakır indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) metodları kullanılarak test edilmiş, aseton ve metanol ekstraları bütün aktivite deneylerinde yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Ekstrelerin antikolinesteraz aktivitelerine bakıldığında ise asetilkolinesteraz üzerinde aktivite göstermezken, butirilkolinesteraz üzerinde ise zayıf aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. *V. pinetorum* ekstralarının farklı mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi ise inhibisyon zon çapları ve MİK değerlerine göre test edilmiş, petrol eter ekstresi hariç tüm ekstraların mikroorganizmalar üzerinde farklı derecelerde etki gösterdikleri kaydedilmiştir (45).

V. dudleyanum Hub.-Mor., *V. latisepalum* Hub.-Mor., *V. mucronatum* Lam., *V. olympicum* Boiss., *V. stachydifolium* Boiss.& Heldr., *V. uschackense* (Murb) Hub.-Mor.' un toprak üstü; *V. lasianthum* Boiss.'un çiçekli kısımlarının metanol ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı çalışmada, hazırlanan ekstreler standart bakteri suşları *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) ve standart mantar suşları olan *C. albicans* ATCC 90028, *Candida parapsilosis* ATCC 90018 ve *Candida krusei*'ye karşı, disk difüzyon metodu ile test edilmiştir. *V. mucronatum* ve *V. olympicum* gram pozitif bakteri *S. aureus*' a karşı antibakteriyel, *V. latisepalum* ise *C. krusei*' ye karşı antifungal aktivite gösterirken, diğer türler herhangi bir aktivite göstermemiştir (9).

V. thapsus L.' nin kurutulmuş çiçekli topraküstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi, disk difüzyon metodu kullanılarak ve MİK değerlerinin belirlenmesiyle tayin edilmiştir. *V. thapsus* yağı *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *P. aeruginosa* ve *Aspergillus niger*' e karşı konsantrasyona bağlı antimikrobiyal aktivite gösterirken, *E. coli* ve *C. albicans*' a karşı hiçbir etki göstermemiştir (40).

V. thapsus' un metanol, etanol, sulu ekstresi ve uçucu yağının *Streptococcus pyogenes*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* ve *Aspergillus fumigatus* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitelerinin test edildiği çalışmada disk difüzyon ve mikrodilüsyon metodları kullanılarak, ekstrelerin inhibisyon zon çapları ve MİK değerleri belirlenmiştir. Disk difüzyon testi, *V. thapsus* metanol ekstresinin *E. coli* ve *S. pyogenes* üzerindeki inhibe edici etkisinin etanol ve sulu ekstrelerine nazaran daha fazla olduğunu göstermiştir. Metanol ve sulu ekstreler ise *S. aureus* üzerinde etkili olmamıştır. Metanol ekstresine duyarlı mikroorganizmalar için maksimum inhibisyon zon çapı; 7-16.8 mm ve MİK değeri 31.25 µg/ml, etanol ekstresi için maksimum inhibisyon zon çapı 5.3-11 mm ve MİK değeri 62.5- 125 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Bunun dışında *A. fumigatus* ve *C. albicans*' ın bu ekstrelere duyarlı olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca *V. thapsus* uçucu yağı da bu mikroorganizmalara karşı hiçbir antibakteriyel ya da antifungal aktivite göstermemiştir (46).

V. thapsus yapraklarından hazırlanan metanol ve aseton ekstrelerinin *in vitro* antibakteriyel aktiviteleri *E. coli*, *Yersinia pestis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Listeria monocytogenes* ve *S. aureus* patojenlerine karşı farklı konsantrasyonlarda (25%, 50%, 75% ve 100%) agar-kuyu difüzyon metoduyla test edilmiş ve metanol ekstresinin aseton ekstresinden daha etkili olduğu gösterilmiştir (47).

V. thapsus toprak üstü kısımlarından hazırlanan sulu ekstresinin patojen *Bacillus subtilis* üzerindeki *in vitro* antibakteriyel etkisi Mueller-Hinton broth ortamında makro-dilüsyon metodu ve agar-kuyu ve disk difüzyon metotlarıyla test edilmiş ve etki düzeyinin yüksek olduğu gösterilmiştir (48).

V. thapsus bitkisinin yapraklarından elde edilen etanol ekstresinin anti-stafilokokal aktivitesi metisilin-dirençli *S. aureus* bakterilerine karşı agar-kuyu difüzyon ve mikrodilüsyon metodu ile araştırılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde etanol ekstresinin bu bakterilere karşı antibakteriyel bir aktivite gösterdiği hatta Metisilin ve Gentamisin antibiyotikleriyle karşılaştırıldığında, ekstraktın bu suşlara karşı oldukça etkili olduğu saptanmıştır. *V. thapsus*' un anti-stafilokokal ajan olarak kullanılabilirliği *in vitro* olarak uygun bulunmuş ve *in vivo* çalışmaların da yapılması gerektiği düşünülmüştür (49).

V. thapsus yapraklarından hazırlanan etanol ekstresinin antimikrobiyal aktivitesi, idrar yolu enfeksiyonlarına sebep olan başlıca patojenlerden; *E. faecalis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans*' a karşı disk difüzyon ve mikrodilüsyon metodları kullanılarak araştırılmış, *E. coli*, *E. faecalis* ve *C. albicans*' a karşı (19.2, 16.8 ve 16.2 mm inhibisyon zonları ve MİK, MBK (minimum bakterisidal konsantrasyon) veya MFK (minimum fungisidal konsantrasyon) değerleri 32(64), 64(128) ve 64(128) µg/ml ile) güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği, ama diğer test mikroorganizmalarında ortalama bir etkisinin olduğu kaydedilmiştir (50).

V. chinense yapraklarından çeşitli solvan sistemleriyle hazırlanan ekstrelerin antibakteriyel aktivitesi agar-kuyu difüzyon metoduyla test edilmiştir. Kloroform ve *n*-butanol ekstrelerinin *K. pneumoniae*, *B. subtilis* ve *E. coli* gibi suşlara karşı antibakteriyel aktivitesi yüksek bulunurken; etanol ve etil asetat ekstrelerinin bakteri suşlarına karşı daha düşük aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (51).

V. speciosum yapraklarından hazırlanan metanol ekstresinin çeşitli patojen bakterilere karşı olan antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metodu yoluyla

araştırılmış, etkinin standart olarak kullanılan antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesine oldukça yakın olduğu, hatta *V. speciosum* ekstresinin *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *S. aureus* ve *S. thyphimurium*’ u inhibe edici etkisinin penisilinden daha fazla olduğu tespit edilmiştir (52).

V. caesareum bitkisinin topraküstü kısımlarından hazırlanan su, kloroform, metanol ve etil asetat ekstralarının *in vitro* antimikrobiyal aktiviteleri mikrobrot dilüsyon tekniği kullanılarak araştırılmış, MİK değerleri iki gram-pozitif (*S. aureus* ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 12228) ve üç gram negatif (*P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922 ve *K. pneumoniae* ATCC 4352) bakteri üzerinde, antifungal aktivitesi ise *C. albicans* ATCC 10231 üzerinde test edilmiştir. Sonuçlar, etil asetat ve sulu ekstraların bütün mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur (28).

Türkiye’ de yetişen 13 *Verbascum* türünden hazırlanan metanol ekstraları *in vivo* antihelmintik aktiviteleri açısından araştırıldığında *V. lasianthum*, *V. latisepalum*, *V. mucronatum* ve *V. salviifolium* ekstraları farelerde 100 mg/kg dozda *Aspiculuris tetraptera*’ ya karşı en yüksek inhibitör etkiyi göstermiş, *V. dudleyanum* ve *V. pterocalycinum* var. *mutense* ekstraları genel olarak yüksek oranda etkili bulunmuş fakat diğer türler olan *V. cilicicum*, *V. olympicum*, *V. pycnostachyum*, *V. uschackense*, *V. splendidum*, *V. chionophyllum* ve *V. stachydifolium* ise hiç aktivite göstermemiştir (10).

V. thapsus’ tan izole edilen bileşiklerden bazıları antianjiojenik ve antiproliferatif aktiviteleri bakımından araştırılmış, luteolin ve 3-O-fukopiranozilsaikogenin F’ nin A549 akciğer kanser hücrelerinin apoptozunu indükleyici etkisiyle antiproliferatif aktivite gösterdiği, fakat hiçbir bileşiğin net bir antianjiojenik aktivite göstermediği tespit edilmiştir (19).

V. thapsus ekstresinin sıçanlarda sedatif, pre-anestetik ve anti-anksiyete etkileri diazepamla karşılaştırılarak araştırılmış ve ekstrenin etkinliği diazepamdan daha iyi bulunmuştur (11).

V. thapsus etanol ekstresinin alloxan ile indüklenen diyabetik sıçanlar üzerindeki antidiyabetik aktivitesi araştırılmıştır. Alloxan monohidratın intraperitoneal enjeksiyonuyla sıçanlarda diyabet oluşturulmuş ve sonrasında hazırlanan *V. thapsus* etanol ekstresi bu sıçanlara 21 gün boyunca uygulanmıştır. Kan

glukoz düzeyleri 1, 3, 7, 14 ve 21. günlerde izlenmiş, serum lipid profili ve pankreastaki histopatolojik değişimler 21 gün sonra kontrol edilmiştir. Araştırmada *V. thapsus* etanol ekstresinin farklı dozlarda tatbiki ile oral glukoz tolerans testi de gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonucunda kan glukoz düzeyinde azalma gözlenmiştir. *V. thapsus* etanol ekstresinin uygulanmasıyla diyabetik sıçanlardaki yüksek kolesterol, trigliserit, çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL), düşük dansiteli lipoprotein (LDL) düzeylerinde önemli ölçüde azalma, HDL düzeyinde ise artış gözlenmiştir. Bu sonuçlar *V. thapsus* yapraklarından hazırlanan etanol ekstresinin alloxan ile indüklenen sıçanlarda potansiyel bir antidiyabetik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Fakat etki mekanizmasının tespiti için ise daha fazla çalışmaya gereksinim vardır (53).

Yapılan bir diğer çalışmada ise Türkiye’ de yetişen 13 *Verbascum* türünün metanol ekstrelerinin; linear insizyon ve dairesel eksizyon deney modelleri kullanılarak *in vivo* yara iyi edici aktiviteleri araştırılmış ve iyileştirme potansiyelleri ise referans olarak kullanılan Madecassol® merhemi ile karşılaştırmalı olarak test edilmiştir. Sonuçlar; *Verbascum olympicum*, *Verbascum stachydifolium* ve *Verbascum uschackense*’nin metanol ekstrelerinin her iki yara modelinde de en yüksek aktiviteye sahip olduğunu, bununla birlikte *V. latisepalum*, *V. mucronatum* ve *Verbascum pterocalycinum* var. mutense metanol ekstrelerinin ise genel itibariyle etkisinin yüksek olduğunu ancak diğer türlerin kaydadeğer bir yara iyi edici etki göstermediği tespit edilmiştir (7).

V. thapsus çiçek ekstresinin tavşanlar üzerindeki *in vivo* yara iyi edici aktivitesinin eksizyon yara modeli ile test edildiği araştırmada; hazırlanan %20’lik ekstre merheminin yara iyi edici aktivitesi, yüzeysel yara tedavilerinde sıklıkla kullanılan çinko oksit merheminin iyileştirici etkisiyle karşılaştırılmış, Eucerin ve kontrol gruplarıyla birlikte dört farklı gruptaki yara iyileşme süreci bir arada incelenmiştir. Sonuçlar; iyileşme sürecinin çinko oksit grubunda *V. thapsus*’ a göre daha iyi olduğu göstermekle birlikte, Eucerin’in ise *V. thapsus*’tan daha az etki gösterdiğini ve kontrol grubunda ise bu sürecin en kötü seviyede olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte %20’lik *V. thapsus* ekstre merheminin yara iyileşme parametrelerinden biri olan rejenerasyon üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır (54).

Halk tıbbında da muhtemel diüretik özellikleri sebebiyle böbrek hastalıklarında kullanılan *V. nigrum*' un farklı kısımlarından hazırlanan etanol ekstreleri ve bitkiden izole edilen polar bileşik içerikli fraksiyonlar oral yoldan 50 mg/kg dozda sıçanlara uygulanmış ve uygulamadan 3 ve 6 saat sonraki idrar atılımı ve elektrolit içeriği ölçülmüştür. Kök kısmından hazırlanan ekstre hariç bütün ekstrelerin uygulamadan sonraki ilk 3 saat içinde idrar çıkışında önemli bir artış gösterdiği, gövde kısmından hazırlanan ekstrenin ise kontrol grubunun 5.2 ± 1.4 ml/kg değerine karşı 14.6 ± 0.8 ml/kg değerindeki idrar atılımıyla en yüksek etkiye sahip olduğu görülmüş, aynı zamanda saluretik aktivite de göstermiştir. Diüretik aktivite, flavonoit fraksiyonlarının önemli ölçüde aktivite göstermesi sebebiyle, bitki organlarındaki flavonoit içeriğiyle ilişkilendirilmiştir (55).

V. latisepalum' un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin sıçanlarda torasik aortta endotel bağımlı gevşeme cevabı üzerine etkisi araştırılmıştır. Metanol ekstresinden izole edilen verbaskozitin eNOS tarafından sentezlenip vasküler düz kas hücrelerine difüze olarak vazodilatasyonu başlatan NO'nin sentezi üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğu bulunmuştur (56).

V. nobile toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresi ve seçilen izole bileşiklerin insan Jurkat T hücre hattı ve splenik fare CD3 hücrelerinin konkanavalin (Con A) ile indüklenen T hücre proliferasyonu ve aktivasyonu üzerindeki biyolojik aktivitesi araştırılmıştır. Ekstre ve test edilen 6-O-2''-(E) p-kumaroil-3''-mentiafoloil-ramnopiranozil katalpol, 6-O-2''-(Z) p-kumaroil-3''-mentiafoloil-ramnopiranozil katalpol, katalpol ve verbaskozit bileşiklerinin Jurkat T hücre hattının lektinle indüklenen hücre gelişimini inhibe ettiği tespit edilmiştir (18).

3. DENEYSEL KISIM

3.1. Fitokimyasal Çalışmalar

3.1.1. Gereç ve Yöntem

Bitkisel Materyal

Verbascum pyramidatum Bieb. bitkisi Haziran 2012’de Trabzon, Hamsiköy eski yol, mezarlık çevresinden toplanmıştır. Bitkisel materyale ait herbaryum örnekleri Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu’nda muhafaza edilmektedir. (HUEF 12001)

Bu tez kapsamında gerçekleştirilen fitokimyasal çalışmalarda, bitkinin açık havada ve gölgede kurutulmuş yaprakları ve çiçekli kısımları kullanılmıştır.

Kromatografik Yöntemler

a) İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Kromatografik yöntemlerle gerçekleştirilen ayırım ve izolasyon çalışmalarının izlenmesinde normal faz silika jel ile kaplı hazır plaklardan yararlanılmıştır.

- Adsorban** : Silika Jel (Alüminyum tabanlı hazır plak, Kieselgel 60 F₂₅₄, 0.20 mm, Merck, Art. 5554)
- Solvan sistemleri** CHCl₃-MeOH-H₂O (80:20:2, 61:32:7)
- Tatbikler** Pastör pipeti yardımıyla plağın alt ucunun 1 cm üstünden ve 1 cm aralıklarla tatbik edilir.
- Sürüklenme mesafesi** 7-10 cm
- Lekelerin belirlenmesi** :
- 1) UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm’ de UV lambasında gözlenen floresans
 - 2) Vanilinin derişik sülfürik asitteki %1’ lik çözeltisi püskürtüldükten sonra 105 °C’ de 1-2 dakika ısıtma

b) Poliamit Kolon Kromatografisi (Poliamit KK)

Çalışmalarımız sırasında ana ekstrenin fraksiyonlanması amacıyla poliamit kolon kromatografisi kullanılmıştır.

Adsorban Poliamit [Polyamide (MN Polyamide SC6)]
Solvan sistemleri H₂O-MeOH [100:0→0:100]
Kolonun hazırlanması : 150 g poliamit yeterli miktarda distile su ile süspanse edilerek magnetik bir karıştırıcıda 1 saat bekletilerek şişmesi sağlandı. Süspanse hale gelen karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilen bir cam kolona aktarıldı. Kolondan bir miktar daha distile su geçirilerek materyalin yerleşmesi sağlandı. Numune tatbik edildikten sonra elüsyon H₂O içinde MeOH oranı artırılarak sürdürüldü.

c) Silika Jel Kolon Kromatografisi (Silika jel KK)

VSK' dan alınan fraksiyonların saflaştırılması silika jel kolon kromatografisi ile gerçekleştirilmiştir.

Adsorban : Silika jel (Kieselgel 60, 70-230 mesh, Merck, Art. 7734 ve 230-400 mesh, Merck, Art. 9385)
Solvan sistemleri CHCl₃-MeOH-H₂O (61:32:7)
Kolonun hazırlanması : Yeterli miktarda silika jel tartıldı ve elüsyona başlanacak solvan sistemi ile süspansiyon haline getirildi. Karışım alt ucuna pamuk yerleştirilen cam kolona aktarıldı. Kolondan yeterli miktarda solvan sistemi geçirilerek adsorbanın yerleşmesi sağlandı. Adsorbanın üst yüzeyinde 2-3 mm solvan kalana kadar beklendi ve solvan sisteminde çözülmüş olan numune pastör pipeti yardımıyla kolona tatbik edildi. Yüzeyin bozulmasını engellemek amacıyla tatbikten sonra silika jelin üzerine pamuk yerleştirildi.

d) Vakumlu Sıvı Kromatografisi (VSK)

VSK, ön fraksiyonlama ve saflaştırma amacıyla kullanılmıştır. Numune tatbik edildikten sonra, uygun solvan sistemleri ile elüsyona başlanmış ve solvan sisteminin polaritesinin arttırılması ile devam edilmiştir. Bir vakum pompası ile sağlanan vakum sayesinde hızlı ve düzgün bir ayırım sağlanmıştır.

Adsorban : LiChroprep C₁₈ (25-40 µm, Merck)

Kolon : 4,5 x 25 cm

Solvan sistemleri : H₂O-MeOH [100:0→0:100]

Kolonun hazırlanması: Uygun miktarda adsorban (LiChroprep C₁₈), G₄ filtre taşıyan cam kolona (4,5 x 25 cm) kuru halde dolduruldu ve vakum uygulanarak sıkıştırıldı. Kolondan 20-25 ml metanol geçirilerek adsorbanın doygunluğu sağlandı. Kolon, önce yeterli miktarda su, sonrasında ise elüsyona başlanacak solvan sistemi ile şartlandırılarak tatbik için hazır hale getirildi.

Numune tatbiki: Numune, elüsyona başlanacak solvanda (1-2 ml) çözülerek bir pipet yardımıyla kolona tatbik edildi. Kolonun alt ucu vakum erleninin kapak mantarının içinden geçirilip, mantar kapatılarak kolonun erlene oturması sağlandı. Vakum açılarak numune adsorbana emdirildi ve adsorbanın üst yüzeyinin bozulmasını önlemek amacıyla üzerine bir parça pamuk yerleştirildi. Solvan sistemi kolona eklendi ve fraksiyonların vakum erleni içinde toplanması için vakum açılarak elüsyona başlandı.

Kolon Kromatografisi İçin Numune Tatbiki

A. Yaş (Çözücü yardımı ile) tatbik: Numune, elüsyona başlanacak solvan sisteminin yeterli bir miktarı içinde tamamıyla çözündürüldü ve ardından pastör pipeti yardımıyla kolona tatbik edildi. Kolon musluğu açılarak numune adsorbana emdirildi. Adsorban üzerine, yüzeyinin bozulmasını önlemek amacıyla bir parça pamuk yerleştirildi ve sonrasında kolona yeterli miktarda solvan sistemi ilave edilerek elüsyona başlandı.

B. Kuru tatbik: Numune çok iyi çözündüğü bir solvanın 1-2 ml' si içinde çözündürüldü ve uygun miktarda adsorban ile karıştırıldı. Adsorbanın çözeltiyi iyice adsorbe etmesi ve tam olarak kuruması sağlandı. Karışım kuru halde kolona aktarıldıktan sonra kolonun üzerine, adsorban yüzeyinin bozulmaması için bir parça pamuk yerleştirildi. Sonrasında ise kolona yeterli miktarda solvan sistemi ilave edilerek elüsyona başlandı.

3.1.2. Kullanılan Aletler

Etüv	Elektro-mag
Kromatografi Tankı	Camag (cam küvet, 22 x 23 x 8 cm)
Liyofilizatör	Virtis Freezemobile 6
Magnetik karıştırıcı	Heidolph
NMR Spektrometresi	¹ H NMR: Agilent-NMR-vnmrs600 (600 Mhz) ¹³ C NMR: Agilent-NMR-vnmrs600 (150 Mhz)
Rotavapor	Büchi R-200, Büchi R-210
Ultrasonik banyo	Transsonic 570
UV lamba	Camag
Vakum pompası (VSK için)	Millipore

3.1.3. Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları

Ekstraksiyon: *V. pyramidatum* üzerinde kimyasal ve biyolojik çalışmaların yapılabilmesi amacıyla, bitkinin çiçek ve yaprakları ayrı ayrı, kademeli olarak ekstraksiyona tabi tutulmuştur. İlk olarak, *V. pyramidatum* 'un açık havada ve gölgede kurutulan çiçek ve yaprak kısımları toz edildikten sonra (çiçek: 418.0 g, yaprak: 153.0 g), ayrı ayrı 2.5 L metanol ile 3'er defa 8 saat ekstre edilip, süzölmüş, süzöntüler birleştirilmiş ve sonrasında, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulmuştur (Çiçek MeOH ekstresi: 62.5 g; verim: %14.9; yaprak MeOH ekstresi: 31.20 g; verim: %20.4)

Aktivite deneyleri için metanol ekstrelerinden bir miktar ayrıldıktan sonra kalan ekstreler (çiçek ekstresi 60.65 g ve yaprak ekstresi 29.25 g) ayrı ayrı 40 °C' yi geçmeyen 100'er mL sıcak su içinde süspanse edilerek, 2 defa 100'er mL kloroform ile ekstre edilmiş, böylece polar ve apolar maddelerin ayırımı sağlanmıştır. Birleştirilen kloroformlu fazlar ve kalan sulu fazlar alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulmuştur (Çiçek Su ekstresi: 31.4 g, verim: %7.5; yaprak su ekstresi: 10.2 g, verim: %6.6). Kloroform ve su ekstrelerinden de bir miktar aktivite çalışması için ayrılmıştır. Metanol, kloroform ve su ekstrelerine *in vivo* ön aktivite testleri uygulanmıştır (antienflamatuvar ve analjezik aktivite). Bu testler sonucunda en aktif bulunan 'çiçeklerin sulu ekstresi' üzerinden çalışılmaya devam edilmiş ve ekstre poliamit kolona uygulanarak fenolik ve fenolik olmayan bileşiklerin ayırımına olanak sağlanmıştır.

Aktif bulunan 'çiçeklerin sulu ekstresinin' Poliamit Kolon Kromatografisi ile fraksiyonlanması:

Su ekstresi (30.36 g) yeterli miktar suda çözülüp poliamit kolona tatbik edilmiştir. Elüsyona su ile başlanmış ve metanol yüzdesi (%25-50-75-100, herbiri 500 mL) arttırılarak devam edilmiş ve 7 ana fraksiyon (Fr A-G) elde edilmiştir (Şekil 3.1). Bu fraksiyonlar üzerinde yapılan antienflamatuvar ve analjezik aktivite çalışmaları sonucunda, denenen sistemlerin hepsinde aktif olan Fraksiyon C çalışmaya değer bulunmuştur. Fr C' den maddeleri saf olarak izole etmek üzere çeşitli kolon kromatografisi yöntemleri uygulanmıştır.

Fr (C)' nin Vakum Sıvı Kromatografisi ile fraksiyonlanması:

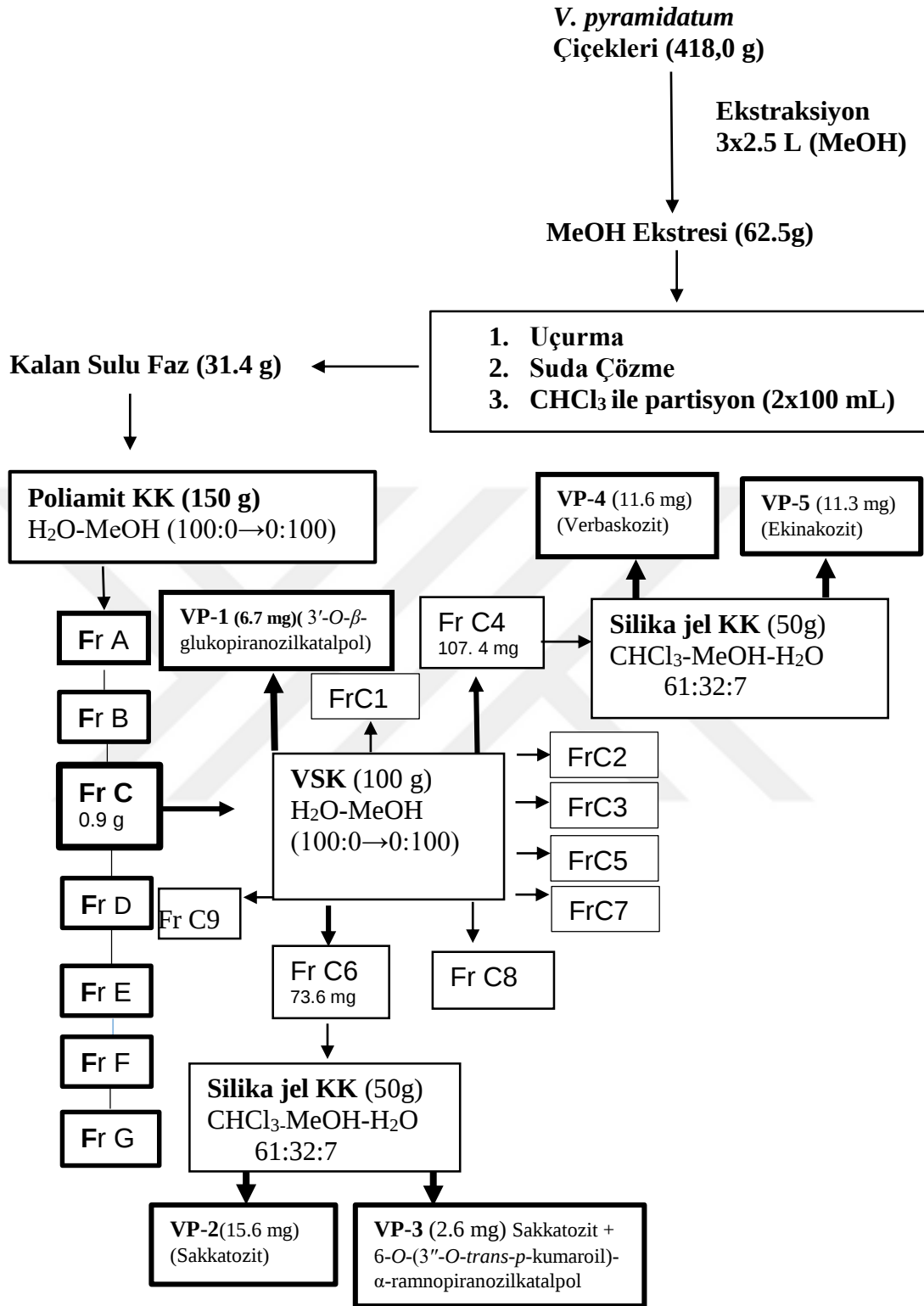
Fr C (0.9 g), VSK (LiChroprep C₁₈) sisteminde, H₂O-MeOH (100:0-0:100) solvan sistemi kullanılarak fraksiyonlanmış, saf halde 3'-O- β -glukopiranozilkatalpol

(VP1) (6.7 mg) bileşiğı ile Fr C1-C9 elde edilmiştir (Şekil 3.1). Yapılan İTK kontrollerinden hareketle Fr C4 ve Fr C6 silika jel kolon kromatografisine uygulanmıştır.

Fr C4 ve Fr C6 üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları:

Fr C4 (107.4 mg) silika jel kolon kromatografisine CHCl_3 :MeOH:H₂O (61:32:7) solvan sisteminde uygulanarak verbaskozit VP4 (11.6 mg) ve ekinakozit VP5 (11.3 mg) bileşikleri saf olarak elde edilmiştir.

Fr C6 (73.6 mg) silika jel kolon kromatografisine CHCl_3 :MeOH:H₂O (61:32:7) solvan sisteminde uygulanarak sakkatozit VP2 (15.6 mg) ve sakkatozit – 6-O-(3''-O-*trans-p*-kumaroil)- α -ramnopiranozilkatalpol VP3 (2.6 mg) bileşikleri elde edilmiştir



Şekil 3.1. *Verbascum pyramidatum* Bieb. çiçekleri üzerinde yapılan fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları

3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

V. pyramidatum bitkisinin çiçek ve yaprak kısımlarından ayrı ayrı hazırlanan metanol, kloroform ve sulu ekstraktlar ve çiçeklerden hazırlanan sulu ekstresinden poliamit kolon kromatografisi tekniğiyle elde edilen fraksiyonların analjezik ve antienflamatuar etkilerinin belirlenmesi amacıyla *in vivo* test yöntemleri uygulanmıştır. Deneylere başlamadan önce, Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan Etik Kurul Onayı alınmıştır (Etik Kurul sayı/No: B.30.2.GÜN.0.05.06.00/129-17542 ve kod no: G.Ü.ET-09.077, 2009)

Deney protokolü

Deney Hayvanları: Deneylerde Kobay Firması, Deney Hayvanları Üretim Laboratuvarından 20 ± 5 g ağırlığında erkek Swiss Albino fareler temin edilmiştir. Hayvanların deney ortamına uyum sağlayabilmesi için deneye başlamadan önce laboratuvar şartlarında hayvanlar en az iki gün bekletilmiş ve bu bekleme süresince standart pellet yem ve su ile beslenmişlerdir. Deneylere başlamadan 24 saat önce hayvanlar aç ve içtikleri su serbest bırakılmıştır (*ad libitum*). Deneylerde her grupta en az altı deney hayvanı kullanılmıştır.

Test numunelerinin hazırlanması: *In vivo* deneylerde kullanılan test numuneleri, deneylere başlamadan hemen önce, %0.5'lik karboksimetil selüloz (CMC) çözeltisi içerisinde, gerekli durumlarda ultrasonik banyo yardımıyla süspansiyon edilmiş ve deney hayvanlarına özel mide gavajı vasıtasıyla *per os* yolla 100 ve 200 mg/kg dozlarda verilmiştir. Kontrol grubundaki hayvanlara ise sadece test numunelerinin hazırlanmasında kullanılan %0.5'lik CMC verilmiştir. Test maddeleri uygulanmasından 60 dakika sonra, çeşitli maddeler kullanılarak deney hayvanlarında ödem veya ağrı oluşturulmuştur.

Referans madde: Deney sonuçlarının karşılaştırılması amacıyla, standart antienflamatuar madde olarak indometasin 10 mg/kg dozda ve analjezik etki için asetil salisilik asit (ASA) 100 ve 200 mg/kg dozda oral yolla uygulanmıştır.

Antienflamatuar ve analjezik olarak tedavide kullanılan ASA (Bayer) ve indometasin (Nobel) %0.5'lik CMC çözeltisinde ultrasonik banyo vasıtasıyla süspansiyon edilmiş ve deney hayvanlarına *per os* yolla gastrik gavaj vasıtasıyla verilmiştir.

Antienflamatuvar ve Analjezik Aktivite Deney Modelleri

V. pyramidatum' dan hazırlanan ekstreler ve elde edilen fraksiyonların antienflamatuvar etkilerinin belirlenmesi amacıyla farelerde karragen ile oluşturulan ayak ödemi testi, analjezik etkilerinin tespiti amacıyla ise *p*-benzokinon nedenli ağrı testi kullanılmıştır.

3.2.1. Antienflamatuvar Etki Tayini

Karragen ile oluşturulan Ayak Ödemi Üzerindeki İnhibisyonun Ölçülmesi

Çalışmamızda, Kasahara ve arkadaşları (57) tarafından farelerde uygulanan yöntem, modifiye edilerek uygulanmıştır (58). Fareler her grupta 6 hayvan olacak şekilde gruplandırılmıştır. Test numuneleri ve referans madde olarak kullanılan indometasin (10 mg/kg) oral yolla uygulandıktan 1 saat sonra, ödem oluşturmak amacıyla, hayvanların sağ arka ayaklarının subplantar dokularına 25 µl serum karragen süspansiyonu (Carrageenan, Sigma Co, No:C-1013) (50 mg'ı 2,5 ml serum fizyolojik içerisinde süspande edilmiş) enjekte edilmiş, hayvanların sol arka ayaklarının subplantar dokusuna ise kontrol amacıyla sadece 25 µl serum fizyolojik solüsyonu enjekte edilmiştir. Ödem oluşumundan itibaren 90 dakika ara ile 360 dk boyunca her iki ayak kalınlıkları mikrometrik kompas (Ozaki Co, Tokyo, Japonya) yardımıyla ölçülerek aralarındaki şişme farkı ödem miktarları olarak kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2. Analjezik Etki Tayini

p-Benzokinon Nedenli Ağrı Testi

Analjezik aktivitenin tespit edilmesi amacıyla, bir *in vivo* deney modeli olan *p*-benzokinon nedenli ağrı testi sık uygulanmaktadır (59). Bu modelde ağrı *p*-benzokinon ile oluşturularak hayvanlarda gelişen kıvrınma refleksi sayılmak suretiyle test numunesinin analjezik aktivitesi tespit edilmektedir (58).

Test maddeleri ve referans madde ASA (100 ve 200 mg/kg) oral yolla uygulandıktan 1 saat sonra, farelerde ağrı oluşturmak amacıyla distile suda çözölmüş %2.5'luk *p*-benzokinon (Merck, Art. No. S 31445 028) çözöltisi 0.1 mL/10g dozda i.p yolla enjekte edilmiştir. *p*-benzokinon uygulamasından 5 dakika sonra başlanarak 15 dakika süresince her hayvandaki kıvrınma (writhing) refleksi oluşumu sayılmıştır. Refleks oluşumundaki inhibisyon istatistiksel olarak değörlendirilmiştir.

3.2.3. Sonuçların İstatistiksel Değörlendirmesi

Deney sonuçları değörlendirilirken tek yönlü ‘‘ANOVA’’ testini içören ‘‘Instat’’ (Windows) istatistik programı ve aktif çıkan numunelerde ayrıca Students-Newman-Keuls posthoc testi kullanılmıştır. Sonuçlar kontrol grubu ve referans grubu ile karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak belirginlik; *: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$ şeklinde ifade edilmiştir.

Enflamasyondaki % inhibisyon oranları hesaplanırken aşğıdaki formöl kullanılmıştır.

% İnhibisyon: $(E_b \times 100 / E_a) - 100$

E_a : Kontrol grubunun enflamasyon derecesi

E_b : Test numunesi uygulanan grubun enflamasyon derecesi

4. BULGULAR

4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait bulgular

Verbascum pyramidatum' un çiçekli kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin kloroform ile partisyona tabi tutulması sonucunda kalan sulu faz üzerinden gerçekleştirilen kromatografik çalışmalar sonucunda, bitkiden 3 iridoit glikoziti, 2 feniletanoit glikoziti elde edilmiştir. Bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler kullanılarak (1D ve 2D NMR) tespit edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin adlandırılmasında Türkçe okunuşları esas alınmıştır.

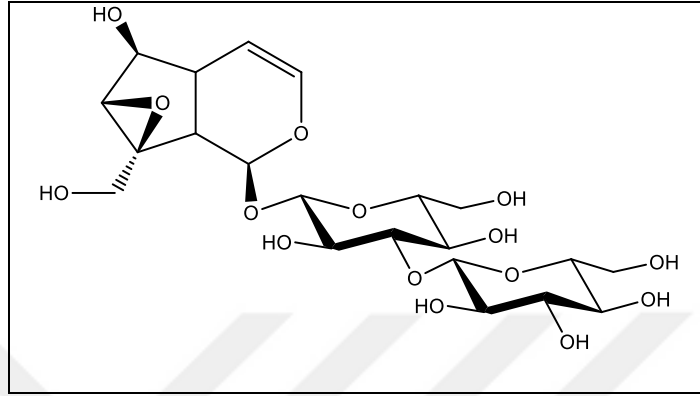
İzole edilen tüm bileşiklerin İngilizce karşılıkları literatür takibini kolaylaştırması amacıyla aşağıdaki listede verilmiştir.

<u>Bileşik</u>	<u>Türkçe</u>	<u>İngilizce</u>
VP-1	3'-O- β -glukopiranozilkatalpol	3'-O- β -glucopyranosylcatalpol
VP-2,VP-3a	Sakkatozit	Saccatoside
VP-3b	6-O-(3''-O-trans-p-kumaroil)- α ramnopiranozilkatalpol	6-O-(3''-O-trans-p-coumaroyl)- α ramnopiranozilkatalpol
VP-4	Verbaskozit (Akteozit)	Verbascoside (Acteoside)
VP-5	Ekinakozit	Echinacoside

4.1.1. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri

a) İridoit Glikozitleri

3'-O- β -glukopiranozilkatalpol (VP-1)



3'-O- β -glukopiranozilkatalpol (**VP-1**): C₂₁H₃₂O₁₅ (Mol. Ağ: 524)

¹ H NMR	Tablo 4.1, Şekil 4.1
APT	Tablo 4.1, Şekil 4.2

[VP-1] 3'-(O- β -glukopiranozil)katalpol

VP 1 bileşiği beyaz renkli ve amorf halde elde edilmiştir. İTK kromotogramındaki davranışı bileşiğin iridoit yapısında olabileceğini düşündürmüştür.

Bileşiğin ^1H NMR ve APT spektrumlarında (Tablo 4.1, Şekil 4.1-4.2), δ_{H} 4.76 (d, $J=8.4$ Hz, H-1') ve 4.47 (d, $J=7.8$ Hz, H-1''); δ_{C} 102.4 (C-1''), δ_{C} 98.2 (C-1')' deki anomerik proton ve karbon sinyalleri, diğer oz sinyalleriyle birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin diglikozit yapıda olduğu ve anomerik protonların kenetlenme sabiti değerlerinden ozların bağ konfigürasyonunun β olduğu anlaşılmaktadır. APT spektrumunda 61.5-78.2 ppm arasında gözlenen ve ozlara ait olan 10 karbon rezonansı da yapıda iki β -glukoz olduğunu göstermektedir. Bileşiğin APT spektrumunda glukozlara ait olan 12 sinyal çıkarıldığında aglikonun 9 karbonlu siklopentan-piran iridoit iskeletinden meydana geldiği; yapısında bir metilen (δ_{C} 60.1) ve yedi metin (δ_{C} 140.0-37.6) rezonansı yanında bir katerner (δ_{C} 64.8) karbon rezonansı gözlenmiştir. ^1H NMR spektrumunda δ_{H} 6.34, 5.10, 5.04, 3.91, 3.43, 2.53, 2.27' deki birer proton şiddetindeki sinyaller siklopentan-piran halkasında 7 metin fonksiyonu varlığını ve AB sistemi şeklinde gözlenen sinyaller (δ_{H} 4.13 d ve 3.79 d, $J=13.8$ Hz) bir hidroksimetilen fonksiyonunun varlığını göstermiştir.

Bu sinyallerden en düşük alanda gözlenen δ_{H} 6.34 (dd, $J=1.8/5.4$) ve 5.10 (d, $J=3.6$)' daki sinyaller piran halkasında C-3 ve C-4 arasında bir çift bağ olduğunu, H-9 sinyalinin ise δ_{H} 2.53' de dd şeklinde gözlenmesi C-5 konumunun süstitüe olmadığını göstermektedir. Bu durumda en yüksek alandaki multipler sinyal (δ_{H} 2.27) H-5' e atfedilmiştir. δ_{H} 5.04' deki asetal sinyali ise piran halkasındaki H-1' e ait olmalıdır.

δ_{H} 3.91 ile 3.43' deki proton sinyallerinin ve δ_{C} 78.0 ve 61.1' deki karbon rezonanslarının kimyasal kayma değerlerinden siklopentan halkasında 2 oksimetin fonksiyonu olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca δ_{C} 64.8' deki katernal C sinyalinin kimyasal kayma değeri C-8' de tersiyer hidroksil varlığını düşündürmüştür. Bu sebeple hidroksimetilen grubunun C-8' den bağlı olduğu belirlenmiştir. Bileşiğin C-7 ve C-8 rezonansları, C-6, C-7 ve C-8 konumlarında oksijenli fonksiyon taşıyan bileşiklerle karşılaştırıldığında, C-6' da serbest hidroksil ve C-7 ile C-8 arasında epoksit taşıyan yapılar ile benzerlik gösterdiği gözlenmiştir. C-9' a ait sinyalin kimyasal kayma

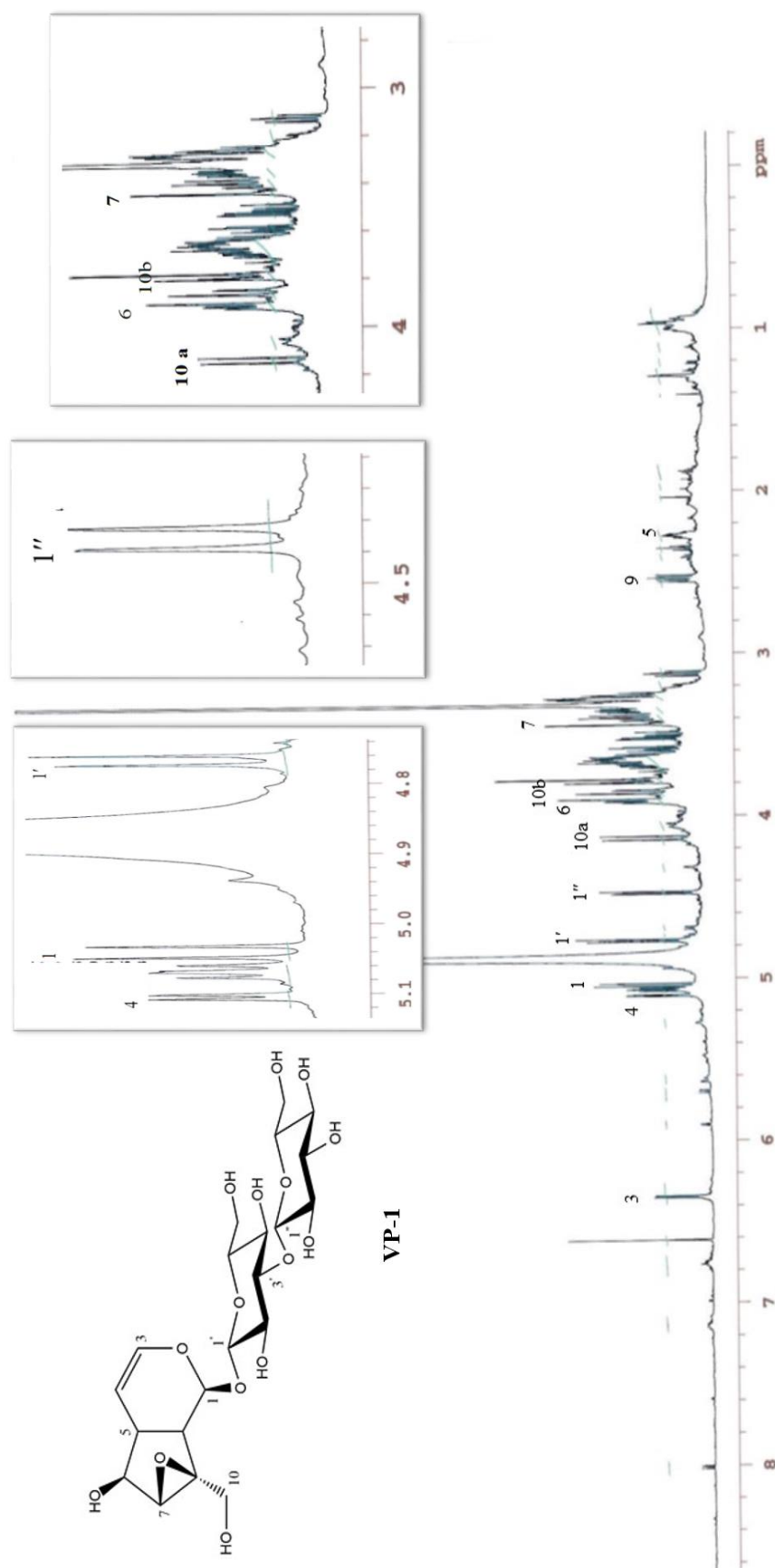
değerinin de δ_C 42.1' de gözlenmesi C (7.8)' de β -epoksi fonksiyonu için karakteristiktir (60). Bileşiğin 1H ve APT spektroskopik bulgularına bakıldığında ikinci oz ünitesinin, birinci glukoz ünitesi üzerinden bağlandığı düşünülmektedir. APT spektrumunda C-3'' ün δ_C 78.2 rezonansının 1.5 ppm düşük alanda, C-2' δ_C 72.4 ve C-4' δ_C 70.3 rezonanslarının ise sırasıyla 1.0 ve 1.3 ppm yüksek alanda gözlenmesi glikozidasyon noktasının C-3' pozisyonundan olduğunu açıklamaktadır.

Bileşik **VP-1** için elde edilen bulgular ve literatür karşılaştırması yapıldığında bileşiğin 3'-O-(β -glukopiranozil) katalpol olduğu görülmüştür (61).

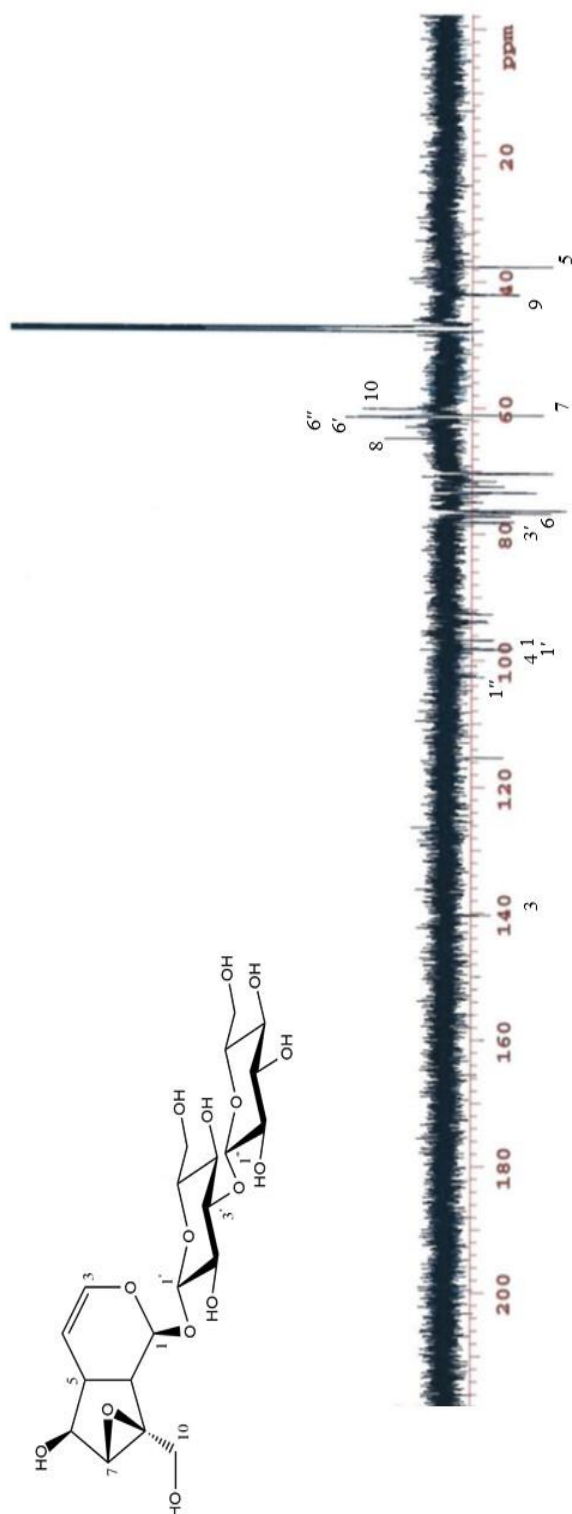


Tablo 4.1. 3'-O- β -glukopiranozil-katalpol (**VP-1**)' ün ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD ; ^{13}C : 150 MHz; ^1H : 600 MHz)

C/H Atom	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), J (Hz)	
Aglikon			
1 CH	96,7	5,04 d	$J=10,2$
3 CH	140,0	6,34 dd	$J=1,8/5,4$
4 CH	98,3	5,10 d	$J=3,6$
5 CH	37,6	2,27 m	
6 CH	78,0	3,91 d	$J=9,0$
7 CH	61,1	3.43 s	
8 C	64,8	-	
9 CH	42,1	2,53 dd	$J=7,8/9,6$
10 CH ₂	60,1	10 a 4,13 d	$J=13,8$
		10 b 3,79 d	$J=13,8$
Glukoz 1			
1' CH	98,2	4,76 d	$J=8,4$
2' CH	72,4		
3' CH	78,2		
4' CH	70,3		
5' CH	76,2		
6' CH ₂	61,5		
Glukoz 2			
1'' CH	102,4	4,47 d	$J=7,8$
2'' CH	73,4		
3'' CH	76,7		
4'' CH	71,6		
5'' CH	77,1		
6'' CH ₂	61,5		

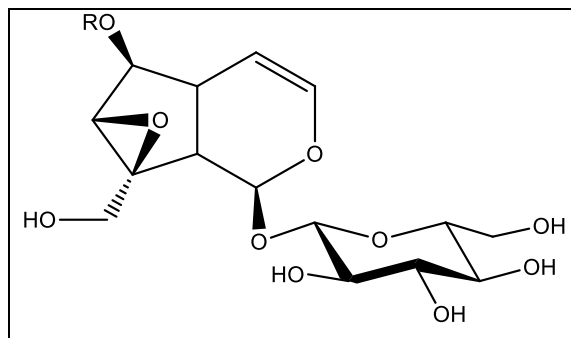


Şekil 4.1. 3'-O- β -glukopiranozilalkatalpol (VP-1)' in ^1H NMR Spektrumu



Şekil 4.2. 3'-O-β-glukopiranozilalkatalpol (VP-1) APT Spektrumu

Sakkatozit (VP-2)



R: 2''-O-(trans-*p*-kumaroil)- α -ramnopiranozil

Sakkatozit (**VP-2**): C₃₀H₃₈O₁₆ (Mol. Ağ.: 654)

¹H NMR	Tablo 4.2, Şekil 4.3
APT	Tablo 4.2, Şekil 4.4

[VP-2] Sakkatozit

VP-2 bileşiği renksiz ve amorf halde elde edilmiştir. Bileşiğin bulunduğu fraksiyonun İTK kromatogramındaki davranışı bileşiğin iridoit yapısında olabileceğini düşündürmüştür.

Bileşiğin ^1H NMR ve APT spektrumlarında (Tablo 4.2, Şekil 4.3-4.4) anomerik proton (δ_{H} 4.67, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'; δ_{H} 4.94, d, $J = 1.2$ Hz, H-1'') ve karbon (δ_{C} 98.2, C-1'; δ_{C} 96.3, C-1'') sinyalleri, (δ_{H} 1.24 d, $J = 6.0$ Hz, H-6'')' da gözlenen sekonder metil sinyali, diğer oz rezonansları ve anomerik protonların kenetlenme sabiti değerleri birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin bir diglikozit olduğu ve yapısında bir β -glukoz ve bir α -ramnoz taşıdığı görülmektedir.

APT spektrumundaki 30 rezonans (Tablo 4.2, Spektrum 4.4); 3 katerner (C), 23 metin (CH), 2 metilen (CH_2), 1 metil (CH_3) ve bir karbonil ($\text{C}=\text{O}$) şeklinde gözlenmiştir. VP-2'nin ^1H NMR ve APT spektroskopik bulguları (Tablo 4.2, Şekil 4.3-4.4) katalpolün (62) bulguları ile karşılaştırıldığında, siklopentan-piran sisteminden oluşan aglikon ve oz (glukoz) ünitesine ait rezonansların benzer oldukları ancak ilave bir oz ünitesi ile aromatik sahadaki sinyaller ve ester karbonili ile farklılık gösterdiği görülmüştür.

^1H NMR spektrumunda δ_{H} 6.29, 5.04, 4.98, 3.96, 3.56, 2.46 ve 2.37 deki birer proton şiddetindeki sinyaller, siklopentan-piran halkasındaki 7 metin fonksiyonu varlığını ve AB sistemi şeklinde gözlenen sinyaller (δ_{H} 3.52 ve 3.80 d, $J = 13.8$ Hz) ise bir hidroksimetilen fonksiyonunun varlığını göstermiştir. Bu sinyallerden düşük alanda gözlenen δ 6.29 ve 4.98' deki sinyaller piran halkasında C-3 ile C-4 arasında çifte bağ olduğuna işaret etmiş; H-9 sinyalinin δ_{H} 2.46' da triplet ($J=7.8$ Hz) şeklinde gözlenmesi de C-5 konumunun süstitüe olmadığını göstermiştir. Burdan hareketle en yüksek alandaki multiplet sinyal (δ_{H} 2.37) H-5' e, δ_{H} 5.04'deki asetal sinyali de, piran halkasındaki H-1'e atfedilmiştir.

δ_{H} 3.96 ile δ_{H} 3.56' daki proton sinyallerinin ve δ_{C} 82.8 ile δ_{C} 57.9' deki karbon rezonanslarının kimyasal kayma değerlerinden, siklopentan halkasında 2 oksimetin fonksiyonunun olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca δ_{C} 65.1' deki katerner karbon sinyalinin kimyasal kayma değeri C-8' de tersiyer hidroksil varlığını düşündürmüştür. Bu durumda hidroksi metilen grubu C-8 üzerinden bağlı olmalıdır. Bileşiğin C-7 ve C-8 rezonansları, C-6, C-7 ve C-8 konumlarında oksijenli fonksiyon taşıyan bileşiklerle

karşılaştırıldığında C-7 ile C-8 arasında epoksit taşıyan yapılar ile benzerlik gösterdiği ancak C-6' daki OH grubunun serbest olmadığı anlaşılmıştır. C-9' a ait sinyalin kimyasal kayma değerinin de δ_C 41.8' de gözlenmesi C (7-8)' de β -epoksi fonksiyonu için karakteristiktir (60). Bileşiğin 1H NMR ve APT spektrumlarında oksimetin proton sinyali H-6 (δ_H 3.96, d, J = 8.4 Hz) ve karbon sinyali C-6 (δ_C 82.8), katalpole göre (δ_H =3.75, d, J = 6.7 Hz, δ_C =77.1) (62) düşük alanda gözlenmiştir. Bu veriler α -ramnozun bağlanma noktasının C-6 (OH) konumu olduğunu göstermiştir.

VP-2'nin spektrumları incelendiğinde, bileşiğin 6-O- α -ramnopiranozilkatalpol açıl türevleri ile benzerlik gösterdiği ve 1H NMR spektrumunda δ_H 7.40–6.72 ppm' de *orto*-kenetlenme gösteren toplam 4H değerindeki rezonanslar ile δ_H 7.57 ve δ_H 6.30' da AX sistemi şeklinde gözlenen olefinik rezonanslar birlikte değerlendirildiğinde, ester yapan asitin kumarik asit olduğu görülmüştür. Olefinik rezonansların kenetlenme sabiti değerinden (J_{AX} = 16.2 Hz), kumarik asitin *trans* pozisyonunda olduğu tespit edilmiştir. APT (Tablo 4.2, Şekil 4.4) spektrumundaki 9 karbon rezonansı, yapıdaki asitin *trans-p*-kumarik asit olduğunu kesinleştirmiştir [δ_C 167.4 (C=O), δ_C 114.4 (C- α), δ_C 145.3 (C- β), δ_C 125.9 (C-1'''), δ_C 159.8 (C-4'''), δ_C 132.4 (C2'''/C6'''), δ_C 115.4 (C3'''/5''')].

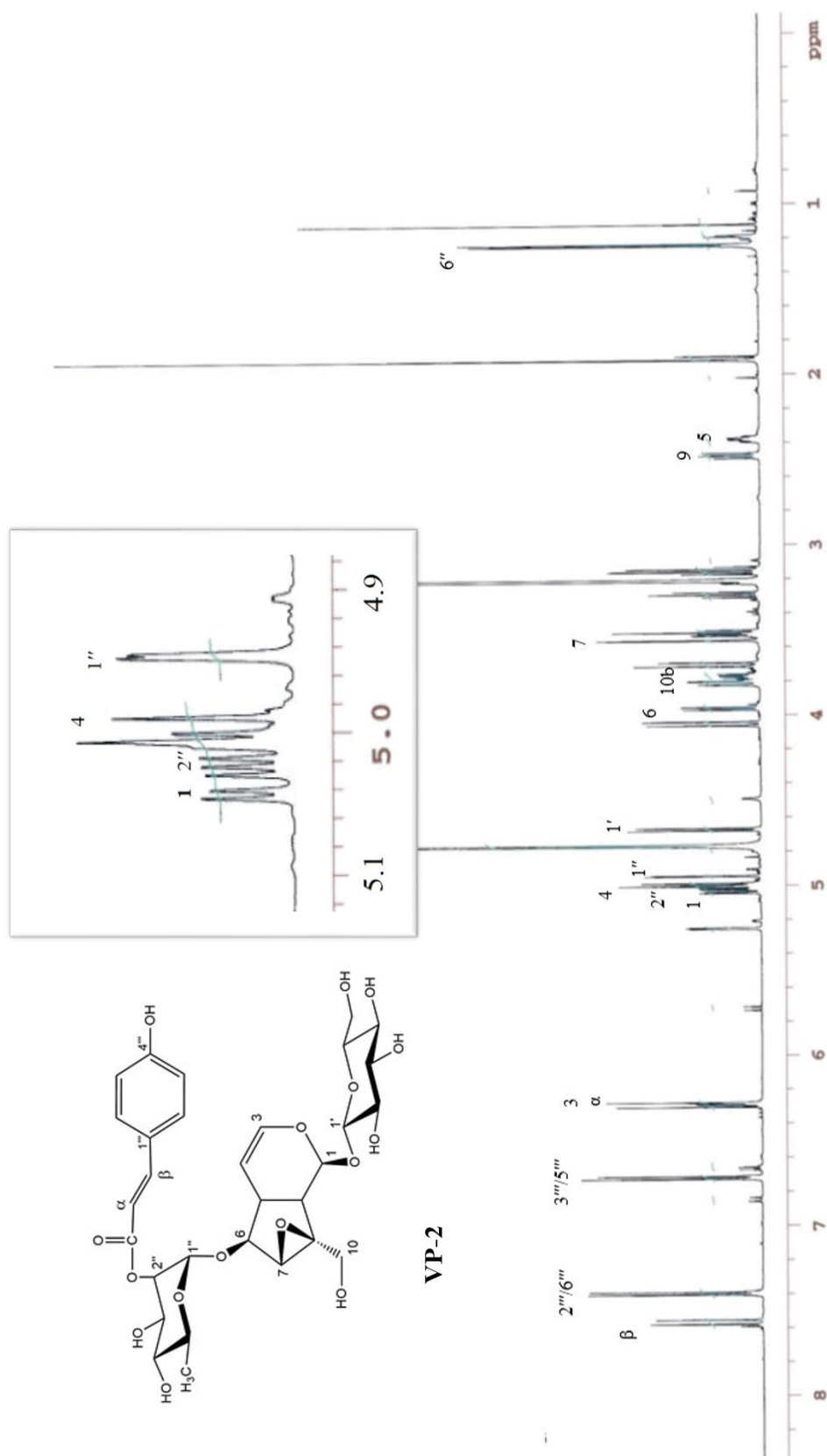
1H NMR ve APT spektrumlarında, β - glukoz ve α -ramnozun proton ve karbon sinyallerinin kimyasal kayma değerlerinden açılasyonun α -ramnoz üzerinden olabileceği düşünülmüştür. VP 2 bileşiğinde α -ramnozun H-2'' protonuna ait rezonansın (δ_H 5.02) düşük alanda gözlenmesi ve ayrıca APT spektrumunda bileşiğin C-2'' (δ_C 72.7) rezonansı düşük alanda, C-1'' (δ_C 96.3) ve C-3'' (δ_C 69.9) rezonanslarının yüksek alanda gözlenmesi esterleşmenin α -ramnozun C-2'' konumu üzerinden gerçekleştiğine işaret etmiştir.

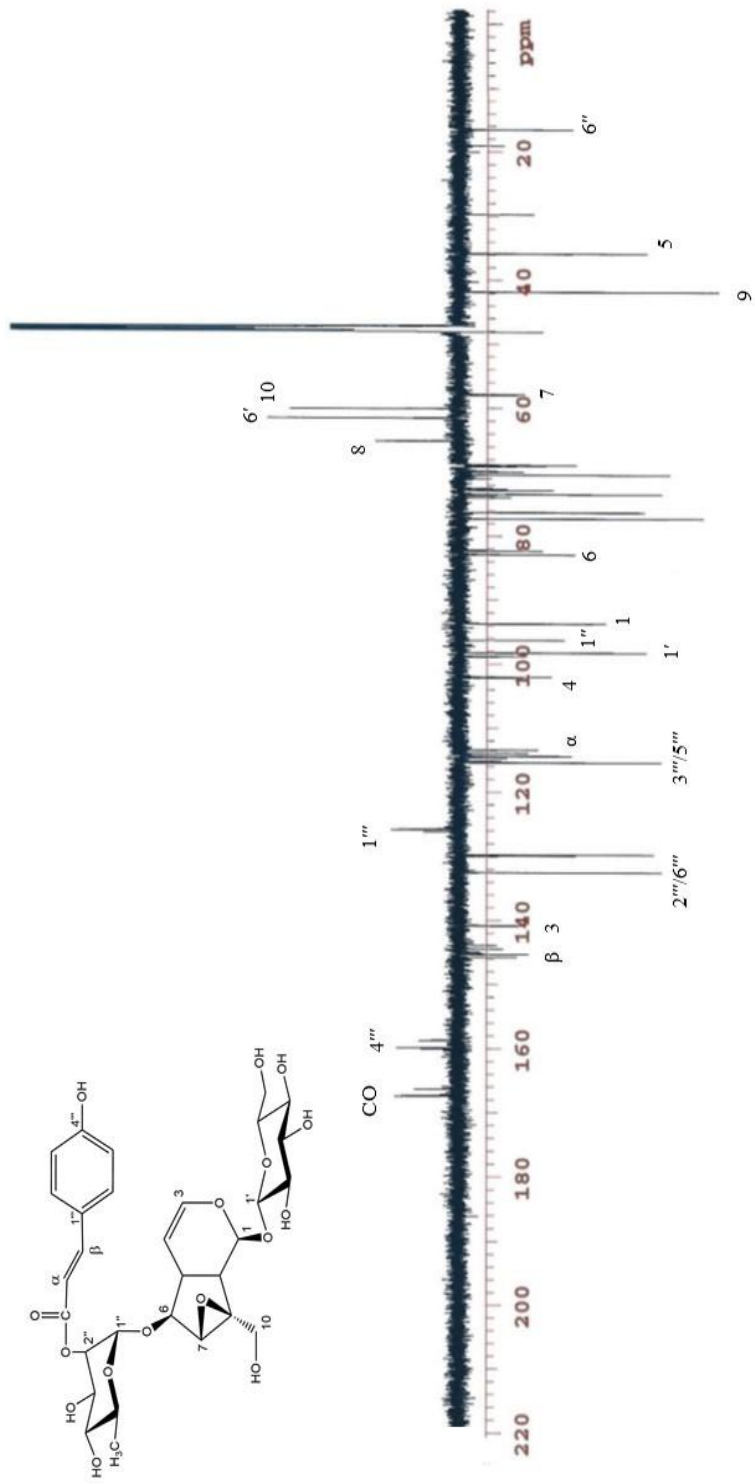
Bu sonuçlara dayanılarak bileşik VP-4'ün yapısı 6-O-(2''-O-*trans-p*-kumaroil)- α -ramnopiranozilkatalpol olarak tespit edilmiş olup literatürde sakkatozit için verilen bulgular ile uyumlu olduğu görülmüştür (62, 63).

Tablo 4.2. Sakkatozit (VP-2)'in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^{13}C : 150 MHz; ^1H : 600 MHz)

C/H atom	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), J (Hz)
Aglikon		
1 CH	93,7	5,04 d (9,6)
3 CH	140,8	6,29 d (6,0)
4 CH	102,0	4,98 d (6,0)
5 CH	35,8	2,37 m
6 CH	82,8	3,96 d (8,4)
7 CH	57,9	3,56 s
8 C	65,1	
9 CH	41,8	2,46 t (7,8)
10 CH_2	60,0	a: 3,52 † b: 3,80 d (13,8)
Glukoz		
1' CH	98,2	4,67 d (7,8)
2' CH	73,4	
3' CH	76,2	
4' CH	70,3	
5' CH	77,2	
6' CH_2	61,5	a: 3,30 † b: 3,70 d (13,2)
Ramnoz		
1'' CH	96,3	4,94 d (1,2)
2'' CH	72,7	5,02 d (3,0)
3'' CH	69,9	
4'' CH	72,6	
5'' CH	68,9	
6'' CH_3	16,5	1,24 d (6,0)
Açıl Kısım		
1''' C	125,9	
2''' CH	132,4	7,40 d (9,0)
3''' CH	115,4	6,72 d (7,8)
4''' C	159,8	
5''' CH	115,4	6,72 d (7,8)
6''' CH	132,4	7,40 d (9,0)
α CH	114,4	6,30 d (16,2)
β CH	145,3	7,57 d (16,2)
C=O	167,4	

† Sinyal örtüşmesi sebebiyle J değerleri ölçülememiştir.

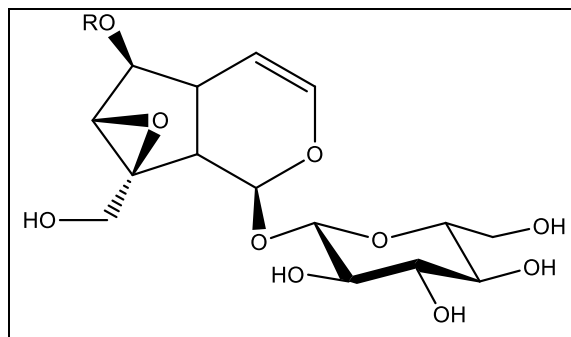




Şekil 4.4. Sakatozitol (VP-2)'in APT Spektrumu

Sakkatozit (VP-3a)

6-O-(3''-O-*trans*-*p*-kumaroil)- α -ramnopiranozilkatalpol (VP-3b)



VP-3a

R: 2''-O-(*trans*-*p*-kumaroil)- α -ramnopiranozil

VP-3b

R: 3''-O-(*trans*-*p*-kumaroil)- α -ramnopiranozil

Sakkatozit (**VP-3a**)

: C₃₀H₃₈O₁₆ (Mol. Ağı.: 654)

6-O-(3''-O-*trans*-*p*-kumaroil)- α -
Ramnopiranozilkatalpol (**VP-3b**)

: C₃₀H₃₈O₁₆ (Mol. Ağı.: 654)

¹ H NMR	Tablo 4.3, Şekil 4.5
¹³ C NMR	Tablo 4.3, Şekil 4.6
HMQC	- Şekil 4.7
HMBC	Tablo 4.3 Şekil 4.8

[VP-3a] Sakkatozit

[VP-3b] 6-O-(3''-O-*trans*-p-kumaroil)ramnopiranozilkatalpol

VP-3 bileşiği, renksiz ve amorf halde elde edilmiş, İTK kromatogramındaki davranışı bileşiğin iridoit yapısında olabileceğini düşündürmüştür. Ancak 1D ve 2D NMR analizleri, VP 3' ün aslında tek bir madde olmayıp benzer yapıda iki maddenin (VP 3a ve VP 3b) 3:2 oranında karışımı olduğunu göstermiştir. Karışımın yorumlanması 2D NMR tekniklerinin yardımı ile yapılabilmektedir. VP 3' ün ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumlarında (Tablo 4.3, Şekil 4.5-4.6) tespit edilen 4 anomerik proton sinyali ve kenetlenme sabiti değerleri (δ_{H} 4.66, d, $J= 7.2$ Hz, H-1'; δ_{H} 4.92, d, $J= 1.2$ Hz, H-1'') ve (δ_{H} 4.56, d, $J= 7.8$ Hz, H-1'; δ_{H} 4.89, d, $J= 1.8$ Hz, H-1''), anomerik karbon (δ_{C} 99.7, C-1', δ_{C} 97.7, C-1''; δ_{C} 100.2, C-1', δ_{C} 97.9, C-1'') sinyalleri, (δ_{H} 1.20, d, $J= 5.4$ Hz, H-6'' ve δ_{H} 1.22, d, $J= 6.6$ Hz, H-6'')' da gözlenen sekonder metil sinyalleri ve diğer oz rezonansları birlikte değerlendirildiğinde VP 3 içeriğindeki 2 ayrı bileşiğin de diglikozit olduğu ve yapılarında birer β -glukoz ve α -ramnoz taşıdıkları ortaya çıkmıştır.

^1H NMR spektrumunda δ_{H} 6.29, 5.04, 4.98, 3.84, 3.54, 2.47, 2.33 ve 6.31, 5.07, 4.99, 3.88, 3.54, 2.46, 2.33' deki birer proton şiddetindeki sinyaller, siklopentan-piran halkasındaki 7 metin fonksiyonu varlığını ve AB sistemi şeklinde gözlenen sinyaller (3.77-3.83) ise bir hidroksimetilen fonksiyonunun varlığını göstermiştir. Bu sinyallerden düşük alanda gözlenen δ 6.29 ve 4.98; 6.31 ve 4.99' daki sinyaller piran halkasında C-3 ile C-4 arasında çifte bağ olduğuna işaret etmiş; H-9 sinyalinin δ_{H} 2.47 (t, $J= 7.8$); 2.46 † şeklinde gözlenmesi de C-5 konumunun süstitüe olmadığını göstermiştir. Yüksek alandaki multipler sinyaller (δ_{H} 2.33) H-5' e; δ_{H} 5.04 ve 5.07' deki asetal sinyalleri de, piran halkasındaki H-1' e atfedilmiştir.

δ_{H} 3.84 ile δ_{H} 3.54; δ_{H} 3.88 ile δ_{H} 3.54' deki proton sinyallerinin ve δ_{C} 84.3 ile δ_{C} 59.4; δ_{C} 83.8 ile δ_{C} 59.5' deki karbon rezonanslarının kimyasal kayma değerlerinden, bileşiklerin siklopentan halkalarında 2 şer oksimetin fonksiyonun olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca δ_{C} 64.4' deki katerner karbon sinyallerinin kimyasal kayma değeri C-8' de tersiyer hidroksil varlığını düşündürmüştür. Bu durumda hidroksimetilen grupları C-8 üzerinden bağlı olmalıdır. Bileşiklerin C-7 ve C-8 rezonansları, C-6, C-7 ve C-8 konumlarında oksijenli fonksiyon taşıyan bileşiklerle karşılaştırıldığında C-7 ile C-8 arasında epoksit taşıyan yapılar ile benzerlik gösterdiği

ancak C-6' daki OH gruplarının serbest olmadığı anlaşılmıştır. C-9' a ait sinyallerin kimyasal kayma değerlerinin de δ_c 43.3' de gözlenmesi C (7-8)' de β -epoksi fonksiyonu için karakteristiktir (60).

Bileşiklerin 1H ve ^{13}C NMR spektrumlarındaki oksimetin proton sinyalleri H-6 (VP-3a: δ_H 3.84, d, $J= 7.2$ Hz ve VP-3b: δ_H 3.88, d, $J= 7.8$ Hz) ve karbon sinyalleri C-6 (VP-3a: 84.3, VP-3b: 83.8) katalpole göre (δ_H 3.75 d, $J=6.7$ Hz, δ_c 77.1) (62) düşük alanda gözlenmiştir. Buna göre α -ramnozların bağlanma noktalarının C-6 (OH) konumu olduğu ortaya çıkmıştır. C-6 karbonu (δ_c 84.3, 83.8) ile H-1'' (δ_H 4.92, d, $J= 1.2$ Hz; δ_H 4.89, d, $J= 1.8$ Hz) arasında gözlenen HMBC korelasyonları da bu sonuçları doğrulamıştır.

VP-3'ün 1H NMR spektrumuna bakıldığında bileşiklerin 6-O- α -ramnopiranozilkatalpolün açıl türevlerine benzerlik gösterdiği ve 1H NMR spektrumlarında δ_H 7.39-6.71; 7.58-6.66 ppm arasında orto-kenetlenme gösteren toplam 4H değerindeki rezonanslar, δ_H 7.57- 7.56 ve δ_H 6.30-6.29' da AX sistemi şeklinde gözlenen olefinik rezonanslar ile birlikte değerlendirildiğinde, ester yapan asitin, kumarik asit olduğu gözlenmiştir. Olefinik rezonansların kenetlenme sabiti değerlerinden ($J_{AX}= 16.2$ Hz), kumarik asitlerin *trans* pozisyonunda olduğu belirlenmiştir. ^{13}C NMR spektrumlarındaki 9' ar karbon rezonansı, yapıdaki asitlerin *trans-p*-kumarik asit olduğunu kesinleştirmiştir. [δ_c 169.0, 169.5 (C=O); 146.8, 147.3 (C- β); 115.4, 114.9 (C- α); 127.3, 127.4 (C-1'''); 161.2, 161.4 (C-4'''); 131.2, 133.8, (C-2'''/6''') ve 116.8, 115.8 (C-3'''/5''')].

1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumlarında, β -glukoz ve α -ramnozun proton ve karbon sinyallerinin kimyasal kayma değerlerinden açılasyonun α -ramnoz üzerinden olabileceği düşünülmüştür.

VP 3 içeriğindeki bileşiklerden VP-3a'ya ait α -ramnozun H-2'' protonuna ait rezonansın (δ_H 5.02); VP-3b' de ise α -ramnozun H-3'' protonuna ait rezonansın (δ_H 5.01) düşük alanda gözlenmesi ve buna bağlı olarak bileşiklerin VP-3a' da C-2'' (δ_c 71.7) rezonansı düşük alanda, C-1'' (δ_c 97.7) ve C-3'' (δ_c 70.3) rezonanslarının ise yüksek alanda gözlenmesi; VP-3b' de de C-3'' (δ_c 73.8) rezonansı düşük alana, C-2'' (δ_c 70.2) ve C-4'' (δ_c 70.4) rezonanslarının ise yüksek alana kayması esterleşme noktalarının VP 3a' da α -ramnozun C-2'' konumu; VP 3b' de ise C-3'' konumu

üzerinden gerçekleştiğine işaret etmiştir. Bu bilgiler HMBC korelasyonu ile de doğrulanmıştır.

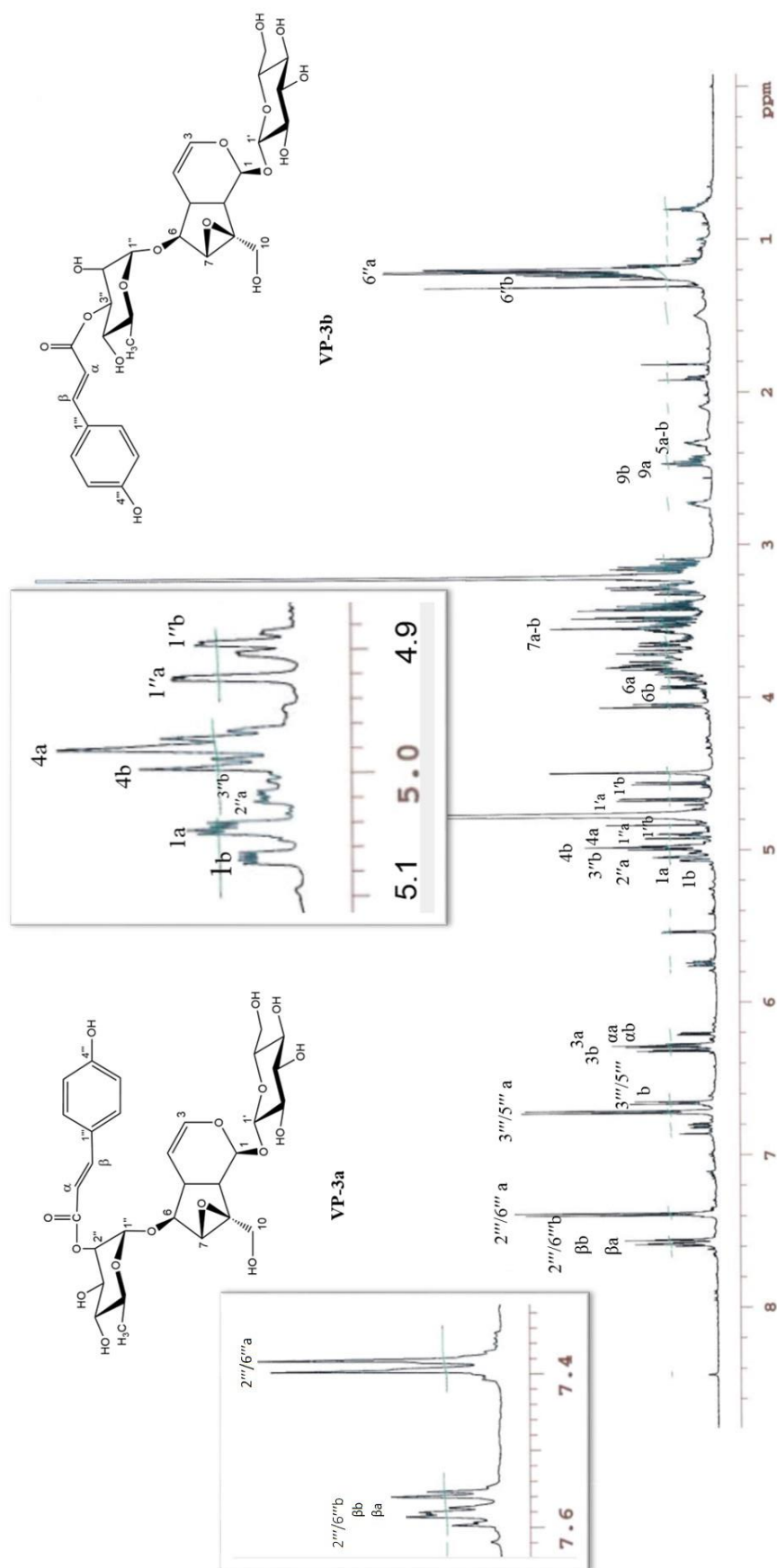
Bu verilerden hareketle **VP 3** içeriğindeki bileşiklerden **VP 3a**'nın yapısı 6-*O*-(2''-*O*-*trans*-*p*-kumaroil)- α -ramnopiranozilkatalpol olarak tayin edilmiş olup literatürde sakkatozit için verilen değerlerle (62, 63) ve VP 2 ile, **VP 3b**'nin yapısı ise literatürde 6-*O*-(3''-*O*-*trans*-*p*-kumaroil)- α -ramnopiranozil katalpol için verilen bulgular ile uyum göstermiştir (62).



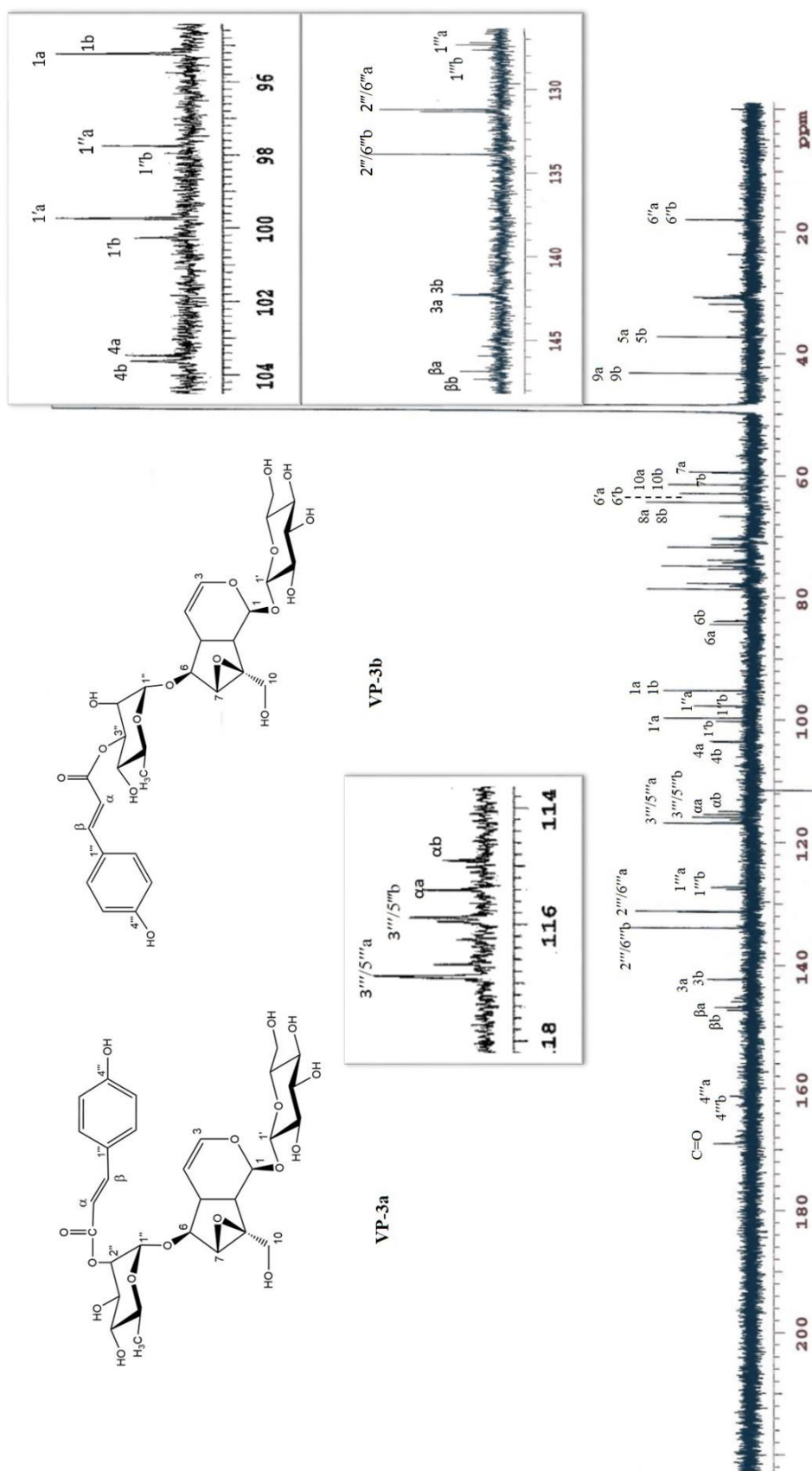
Tablo 4.3. Sakkatozit (**VP-3a**) ve 6-*O*-(3''-*O*-*trans*-*p*-kumaroil)- α -ramnopiranozil katalpol (**VP-3b**)' ün ^{13}C NMR ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^{13}C : 150 MHz; ^1H : 600 MHz)

VP-3a				VP-3b		
C/H atom	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), J (Hz)	HMBC (H $\rightarrow$ C)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), J (Hz)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
Aglikon						
1 CH	95,2	5,04 †		95,2	5,07 †	
3 CH	142,3	6,29 d (5,4)		142,2	6,31 d (4,8)	
4 CH	103,5	4,98 d (5,4)		103,6	4,99 d (4,2)	
5 CH	37,2	2,33 m		37,2	2,33 m	
6 CH	84,3	3,84 d (7,2)		83,8	3,88 d (7,8)	
7 CH	59,4	3,54 s		59,5	3,54 s	
8 C	64,4			64,4		
9 CH	43,3	2,47 t (7,8)		43,3	2,46 †	
10 CH ₂	61,4	10 a 3,77 10 b 3,83		61,4	10 a 3,77 10 b 3,83	
Glukoz						
1' CH	99,7	4,66 d (7,2)		100,2	4,56 d (7,8)	
2' CH	73,8			74,2		
3' CH	74,8			75,3		
4' CH	71,2			71,2		
5' CH	78,6			77,6		
6' CH ₂	62,9	6'a:3,39 d (10,2) 6'b:		62,9		
Ramnoz						
1'' CH	97,7	4,92 d (1,2)	C-6	97,9	4,89 d (1,8)	C-6
2'' CH	71,7	5,02 †	C=O	70,2		
3'' CH	70,3			73,8	5,01 †	C=O
4'' CH	71,3			70,4		
5'' CH	66,7			66,6		
6'' CH ₃	18,0	1,20 d (5,4)		18,0	1,22 d (6,6)	
Açıl Kısım						
1''' C	127,3			127,4		
2''' CH	131,2	7,39 d (9,0)		133,8	7,58 †	
3''' CH	116,8	6,71 d (9,0)		115,8	6,66 d (9,0)	
4''' C	161,2			161,4		
5''' CH	116,8	6,71 d (9,0)		115,8	6,66 d (9,0)	
6''' CH	131,2	7,39 d (9,0)		133,8	7,58 †	
α CH	115,4	6,30 d (16,2)		114,9	6,29 d (16,2)	
β CH	146,8	7,57 d (16,2)		147,3	7,56 d (16,2)	
C=O CH	169,0			169,5		

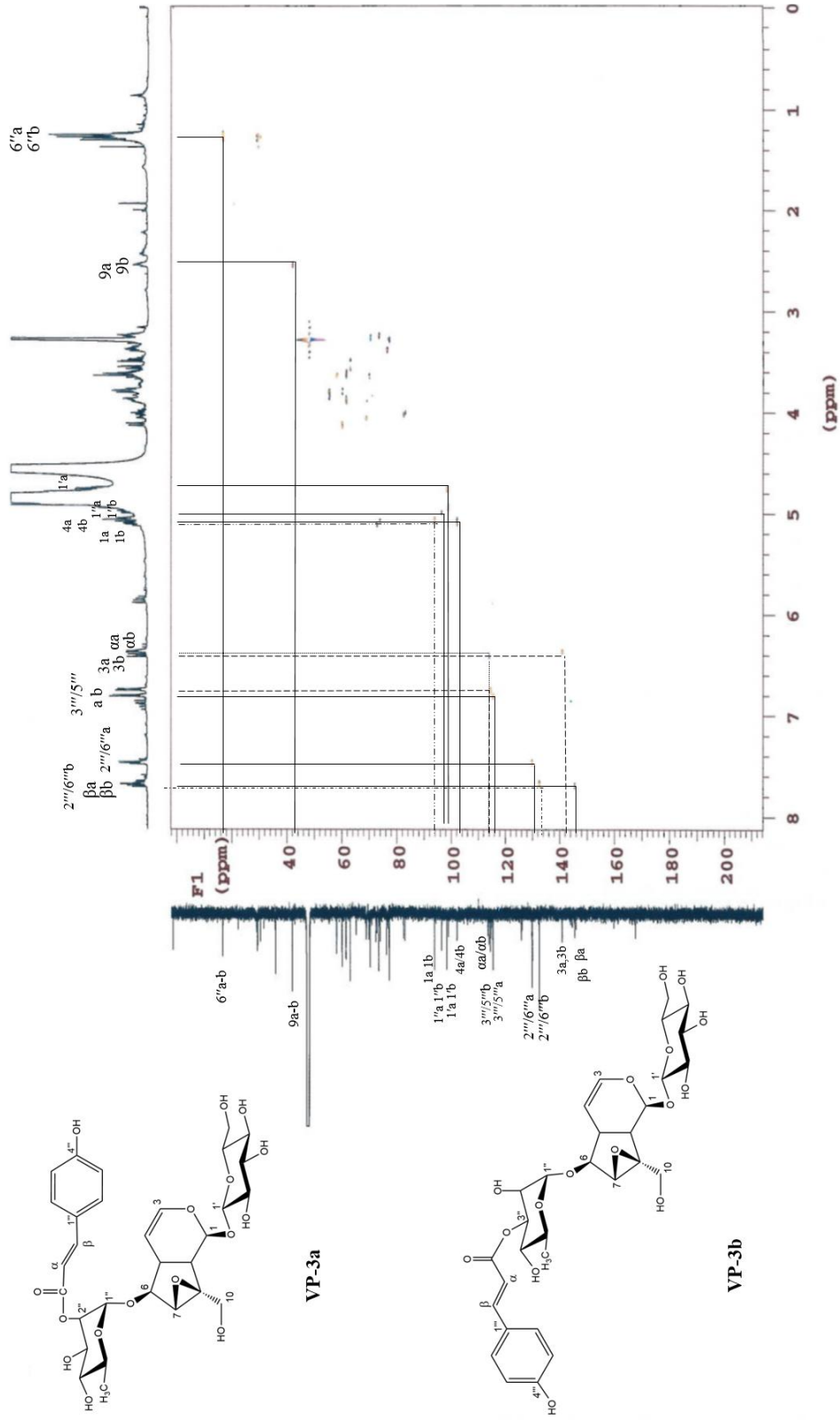
† Sinyal örtüşmesi sebebiyle J değerleri ölçülememiştir.



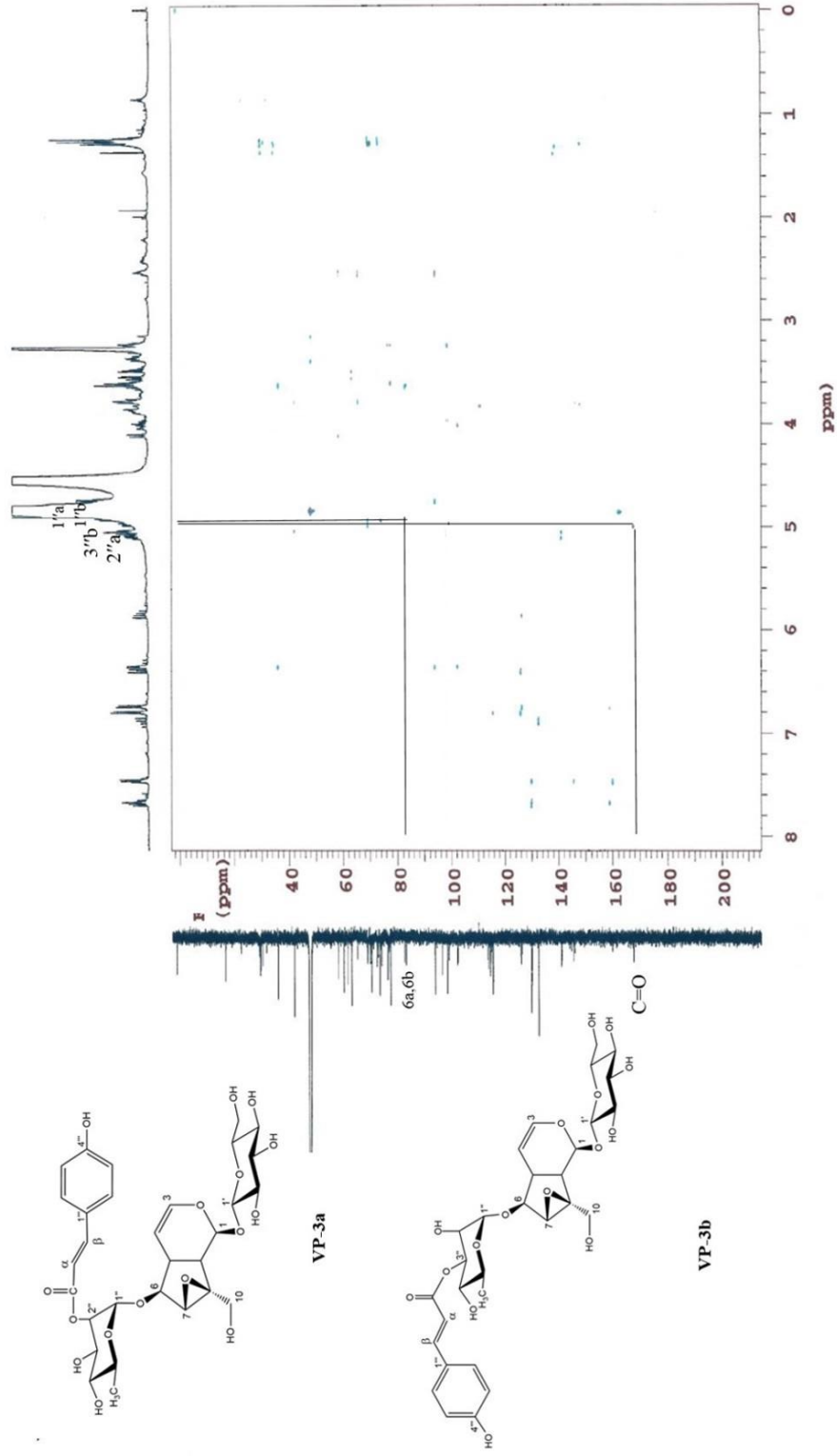
Şekil 4.5. Sakkatozit (VP-3a) ve 6-O-(3''-O-trans-p-kumaril)- α -ramnopiranozil-katalpol (VP-3b) karışımının ^1H NMR spektrumu



Şekil 4.6. Sakkatozid (VP-3a) ve 6-O-(3''-O-trans-p-kumaril)- α -ramnopiranozikatalpol (VP-3b) karışımının ^{13}C NMR spektrumu



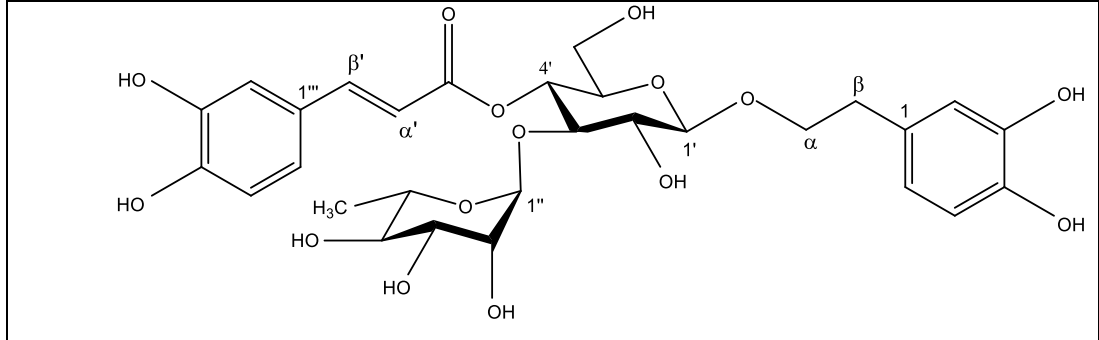
Şekil 4.7. Sakkatozid (VP-3a) ve 6-O-(3''-O-trans-p-kumaroil)-α-ramnopiranozilkatalpol (VP-3b) karışımının HMQC spektrumu



Şekil 4.8. Sakatoz (VP-3a) ve 6-O-(3''-O-trans-p-kumaril)-α-rannopiranozil-katalpol (VP-3b) karışımının HMBC spektrumu

b) Feniletanoit Glikozitleri

Verbaskozit (VP-4)



Verbaskozit (VP-4): $C_{29}H_{36}O_{15}$ (Mol. Ağ.: 624)

1H NMR	Tablo 4.4, Şekil 4.9
APT	Tablo 4.4, Şekil 4.10

[VP-4] Verbaskozit (=Akteozit)

VP-4 bileşiğinin İTK kromotogramında vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile verdiği turuncu-kahverengi renk, maddenin bir feniletanoit glikoziti olabileceğini düşündürmüştür.

VP-4 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumunda (Tablo 4.4, Şekil 4.9) aromatik bölgede (δ_H 6.96-6.47) iki ABX sistemi şeklinde gözlenen toplam 6 aromatik proton sinyali yapıda iki trisüstitüe benzen halkasının varlığına işaret etmektedir. Bununla birlikte, δ_H 7.49 (H- β') ve 6.18 (H- α')' de AX sistemi şeklinde gözlenen sinyaller ise olefinik protonların varlığını göstermiştir. Aglikonun yan zinciri üzerindeki ekivalan olmayan oksimetilen sinyalleri δ_H 3.95 (dd) ve 3.63 (m)' te, benzilik metilen protonuna ait sinyal ise δ_H 2.69 (t)' da görülmüştür. Bu verilere dayanarak, bileşiğin yapısında kafeik asit ve 3,4-dihidroksifeniletıl alkol olduğu düşünülmüştür. AX sistemi şeklinde gözlenen olefinik protonların kenetlenme sabiti değerlerinden ise ($J= 15.6$ Hz) aromatik asitin *trans*-kafeik asit olduğu tespit edilmiştir.

Bu sinyaller ile birlikte görülen iki anomerik proton sinyali, bileşiğin diglikozidik yapıda olduğuna işaret etmiştir. δ_H 4.28 (d, $J= 7.8$ Hz, H-1') ve δ_H 5.08 (d, $J= 1.8$ Hz, H-1'')' de gözlenen iki anomerik proton sinyali, bunların kenetlenme sabitleri ve oz sinyallerine ait karbon rezonansları, δ_H 0.99 (d, $J = 6.0$ Hz, H-6'')' de gözlenen sekonder metil rezonansı ile birlikte değerlendirildiğinde diglikozidik yapıda sırasıyla bir heksoz olan β -glukoz ve bir metilpentoz olan α -ramnoz bulunduğu ortaya konmuştur. APT spektrumunda da (Tablo 4.4, Şekil 4.10) anomerik karbon rezonansları, δ_C 102.8 (β -glukoz) ve 101.6 (α -ramnoz)' da gözlenmiştir. Ramnoza ait rezonanslarda herhangi bir kimyasal kayma gözlenmemiş olması, ramnozun terminal oz olduğuna işaret etmiştir. Aglikonun α -karbon atomunun kimyasal kayma değeri (δ_C 70.8), merkezi konumda bulunan glukoz için glukozun aglikona bağlandığı konumu yani glukozidasyon noktasını göstermiştir. Glukozun H-4' sinyalinin (δ_H 4.82, t, $J= 9.4$ Hz) düşük alanda görülmesi, *trans*-kafeik asitin, glukozun C-4' (OH) konumu üzerinden esterleştiğini göstermiştir (esterleşmeye bağlı α -etki). Diğer taraftan glukozun C-3' (δ_C 80.2) karbon rezonansının da glikozidasyon etkisi ile 2.5 ppm kadar düşük alanda gözlenmesi (glikozidasyona bağlı α -etki), ramnozun glukozu C-3' (OH) konumundan bağlı olduğunu göstermektedir.

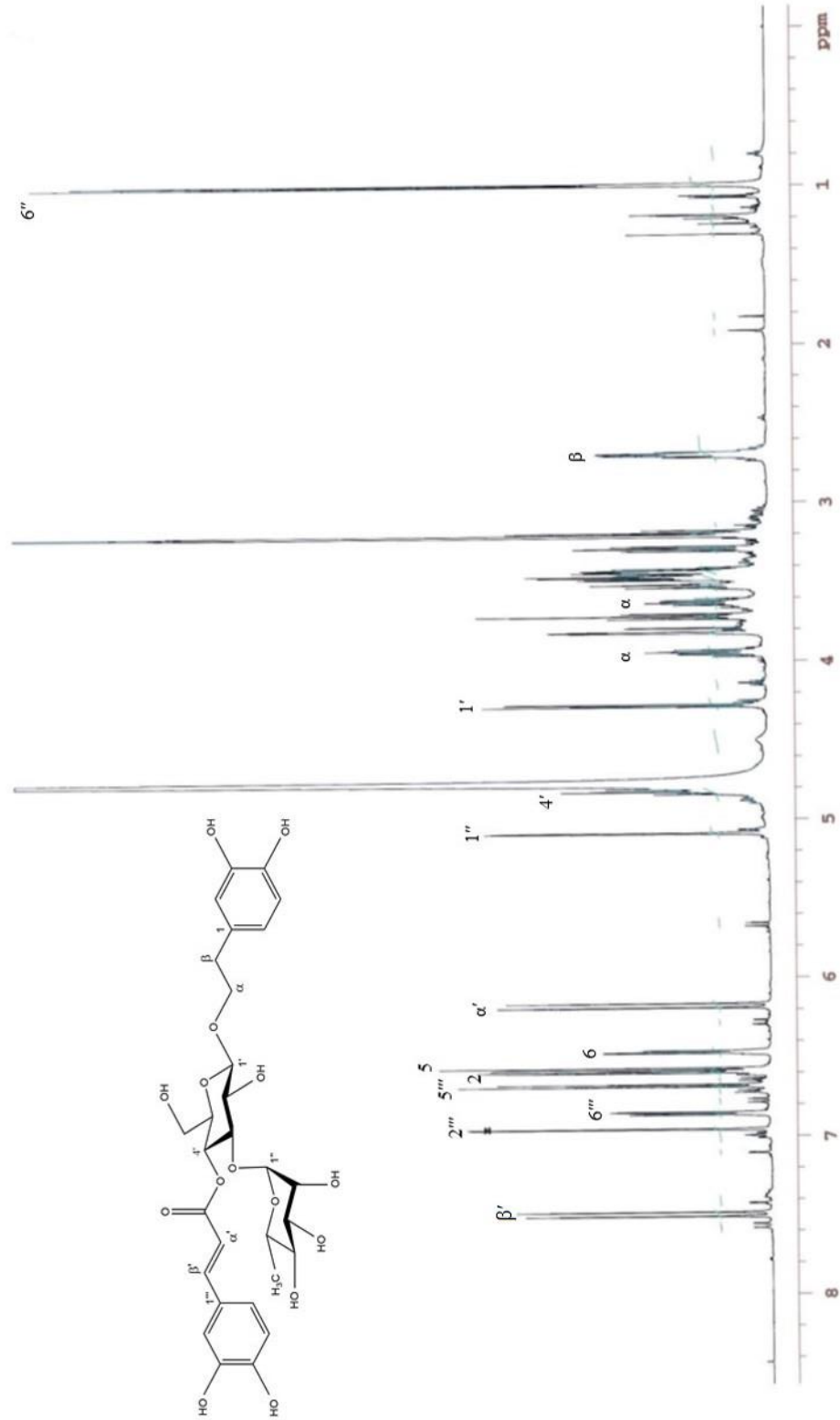
Elde edilen verilere dayanılarak, **VP-4** bileşiminin yapısı 3,4-dihidroksi- β -feniletoksi-*O*- α -ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)-4-*O*-kafeoil- β -glukopiranozit olarak tanımlanmış olup literatürde verbaskozit(=akteozit) için verilen değerler ile uyumlu olduğu görülmüştür (64).



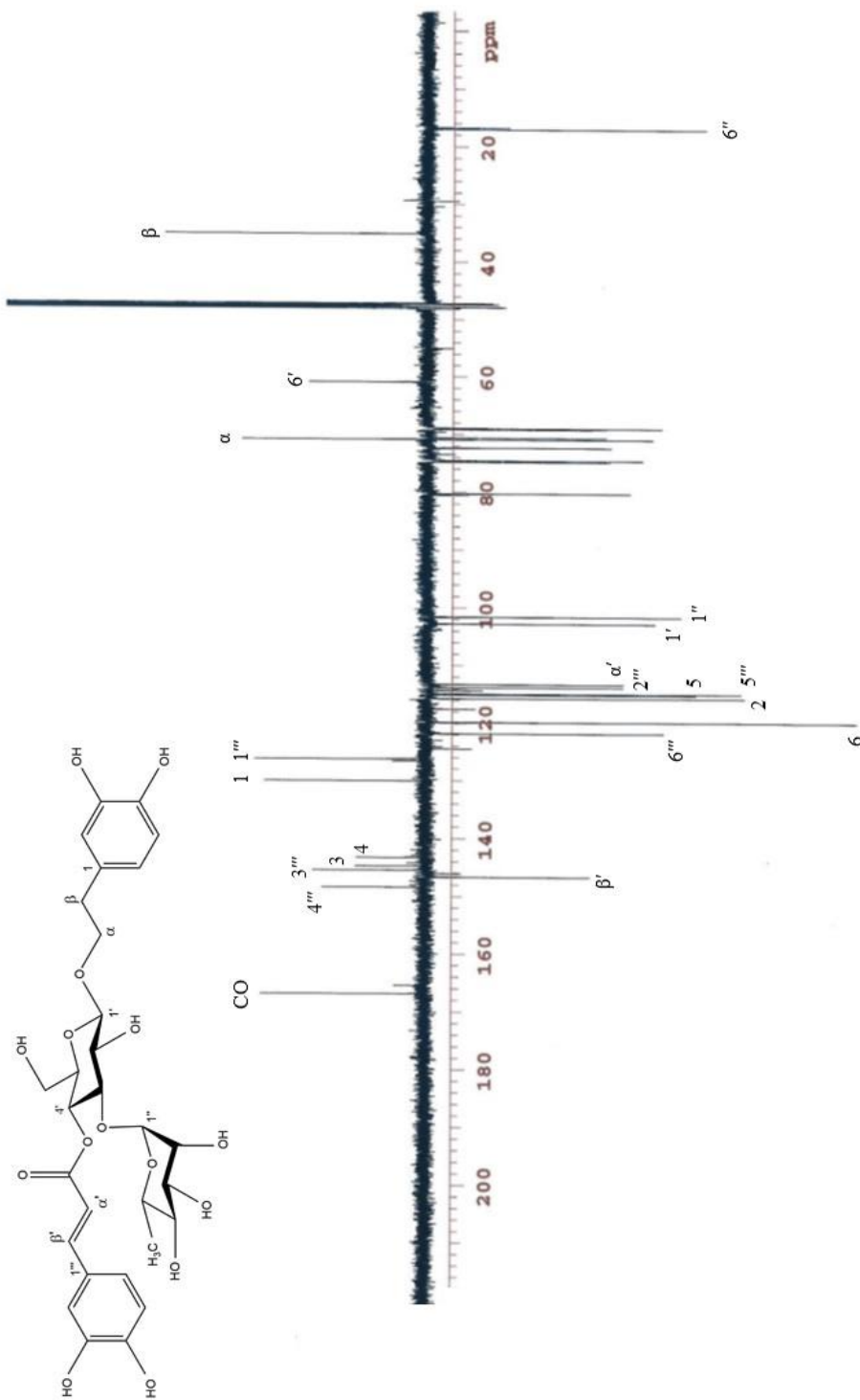
Tablo 4.4. Verbaskozit (**VP-4**)' in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^{13}C : 150 MHz; ^1H : 600 MHz)

C/H Atom		δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), J (Hz)
Aglikon			
1	C	130,0	-
2	CH	115,6	6,59 d $J=1,8$
3	C	144,6	-
4	C	143,2	-
5	CH	114,8	6,58 d $J=8,4$
6	CH	119,8	6,47 dd $J=8,4/1,8$
α	CH_2	70,8	3,63 m
			3,95 dd $J=7,2/9,0$
β	CH_2	35,1	2,69 t $J=6,6$
Glukoz			
1'	CH	102,8	4,28 d $J=7,8$
2'	CH	74,8	3,27- 3,30
3'	CH	80,2	3,70-3,73
4'	CH	69,1	4,82 t $J=9,4$
5'	CH	74,5	3,40-3,5
6'	CH_2	60,9	3,45-3,65 †
Ramnoz			
1''	CH	101,6	5,08 d $J=1,8$
2''	CH	70,9	3,82 dd $J=1,8/3,0$
3''	CH	70,6	-
4''	CH	72,3	-
5''	CH	68,9	-
6''	CH_3	17,0	0,99 d $J=6,0$
Kafeik asit			
1'''	C	126,2	-
2'''	CH	113,7	6,96 d $J=2,4$
3'''	C	145,4	-
4'''	C	148,3	-
5'''	CH	115,0	6,68 d $J=7,8$
6'''	CH	121,7	6,86 dd $J=8,2/1,7$
α'	CH	113,2	6,18 d $J=15,6$
β'	CH	146,6	7,49 d $J=15,6$
C=O	C	166,8	-

† Sinyal örtüşmesi sebebiyle J değerleri hesaplanamamıştır.

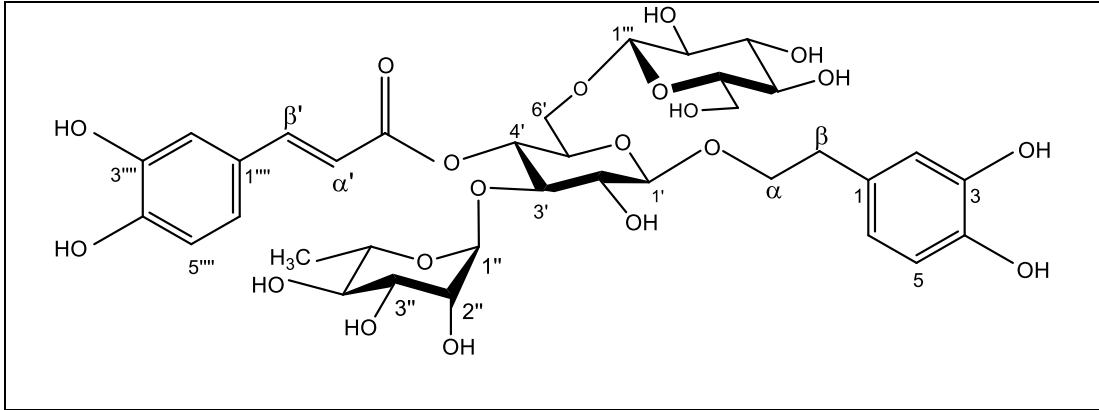


Şekil 4.9. Verbaskozit (VP-4)' in ^1H NMR Spektrumu



Şekil 4.10. Verbaskozit (VP-4)' in APT Spektrumu

Ekinakozit [VP-5]



Ekinakozit (VP-5): $C_{35}H_{46}O_{20}$ (Mol. Ağ.:786)

1H NMR	Tablo 4.5, Şekil 4.11
APT	Tablo 4.5, Şekil 4.12

[VP-5] Ekinakozit

VP-5 kodlu bileşiğin İTK kromatogramında vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile verdiği turuncu-kahverengi renk, bileşiğin bir feniletanoit glikoziti olabileceğini düşündürmüştür.

VP 5 bileşiğinin ¹H NMR spektrumunda (Tablo 4.5, Şekil 4.11), aromatik bölgede (δ_H 6.96-6.47) iki ABX sistemi şeklinde gözlenen toplam 6 aromatik proton sinyali, yapıda iki trisüstitüe benzen halkasının bulunduğunu göstermekle birlikte, δ_H 7.49 (H- β') ve 6.18 (H- α')' de AX sistemi şeklinde gözlenen sinyaller ise olefinik protonların varlığına işaret etmektedir. Aglikonun yan zincirindeki ekivalan olmayan oksimetilen sinyalleri δ_H 3.96 ve 3.64' de ve benzilik metilen protonlarına ait sinyal δ_H 2.70 (dd)' de gözlenmiştir. Buradan hareketle, bileşiğin yapısında kafeik asit ve 3,4-dihidroksifeniletıl alkol gruplarının olabileceği düşünülmüştür. AX sistemi şeklinde gözlenen olefinik protonların kenetlenme sabiti değerlerinden ($J= 15.6$ Hz) aromatik asitin *trans*-kafeik asit olduğu tespit edilmiştir.

¹H NMR Spektrumunda, δ_H 4.14 (d, $J= 7.8$ Hz, H-1'), δ_H 5.08 (d, $J= 1.2$ Hz, H-1'') ve δ_H 4.28 (d, $J= 8.4$ Hz, H-1''')' de gözlenen 3 anomerik proton sinyali, bileşiğin triglikozidik yapıda olduğunu ortaya koymuştur. δ_H 0.99 (d, $J= 6.0$ Hz, H-6'')' de gözlenen sekonder metil rezonansı ile anomerik proton sinyalleri, bu sinyallerin kenetlenme sabiti değerleri ve oz sinyallerine ait karbon rezonansları birlikte değerlendirildiğinde triglikozidik yapıda yer alan ozlardan ikisinin β -glukoz, yapıdaki üçüncü ozun ise metilpentoz yapısında bir α -ramnoz olduğu görülmüştür.

APT spektrumunda (Tablo 4.5, Şekil 4.12) gözlenen anomerik karbon rezonansları δ_C 102.7 (C-1', β -glukoz), δ_C 103.8 (C-1''', β -glukoz), δ_C 101.6 (C-1'', α -ramnoz) da triglikozit yapısını doğrulamaktadır. Glukozun H-4' sinyalinin (δ_H 4.88, t, $J= 9.6$ Hz) düşük alanda gözlenmesi *trans*-kafeik asit grubunun, verbaskozitte olduğu gibi glukozun C-4' (OH) konumu üzerinden esterleşme yaptığını göstermektedir (esterleşmeye bağlı α -etki). Diğer yandan glukozun C-3' (δ_C 80.2) ve C-6' (δ_C 67.9) karbon rezonanslarının da düşük alana kaymış olması, esterleşmeye ilave olarak, üç glikozidasyon noktasının da merkezi konumdaki glukoz üzerinde olduğunu göstermiştir (C-1', C-3', C-6').

İkinci glukoz ünitesine ait C-1'''(δ_C 103.8), C-2'''(δ_C 73.4), C-3'''(δ_C 74.7), C-4'''(δ_C 69.6), C-5'''(δ_C 76.0) ve C-6'''(65.4) rezonanslarının kimyasal kayma değerleri,

ikinci glukoz ünitesinin sübsitüsyon taşımadığını ve terminal konumda olduğunu göstermiştir. Bu verilere göre, ikinci glukoz ünitesinin merkezi konumdaki glukozun C-6' (OH) grubu üstünden bağlı olduğu düşünülmüştür.

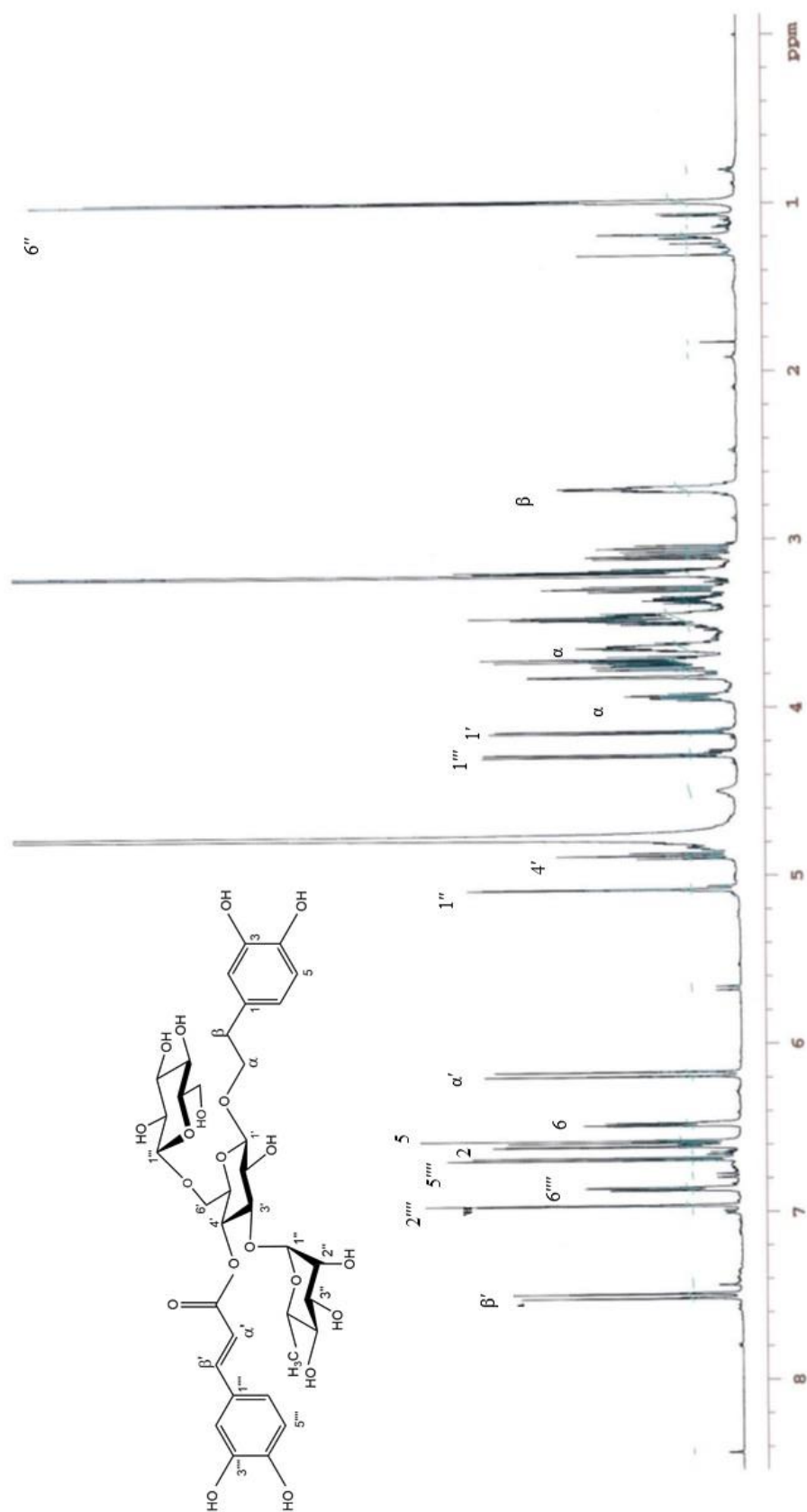
Elde edilen bulgulara dayanılarak, VP 5 bileşiğinin yapısı 3,4-dihidroksi- β -feniletoksi-O- $[\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)-O- $[\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 6)]-4'-O-kafeoil- β -D-glukopiranozit olarak aydınlatılmış olup literatürde ekinakozit için verilen değerlerle uyumlu olduğu görülmüştür (65).



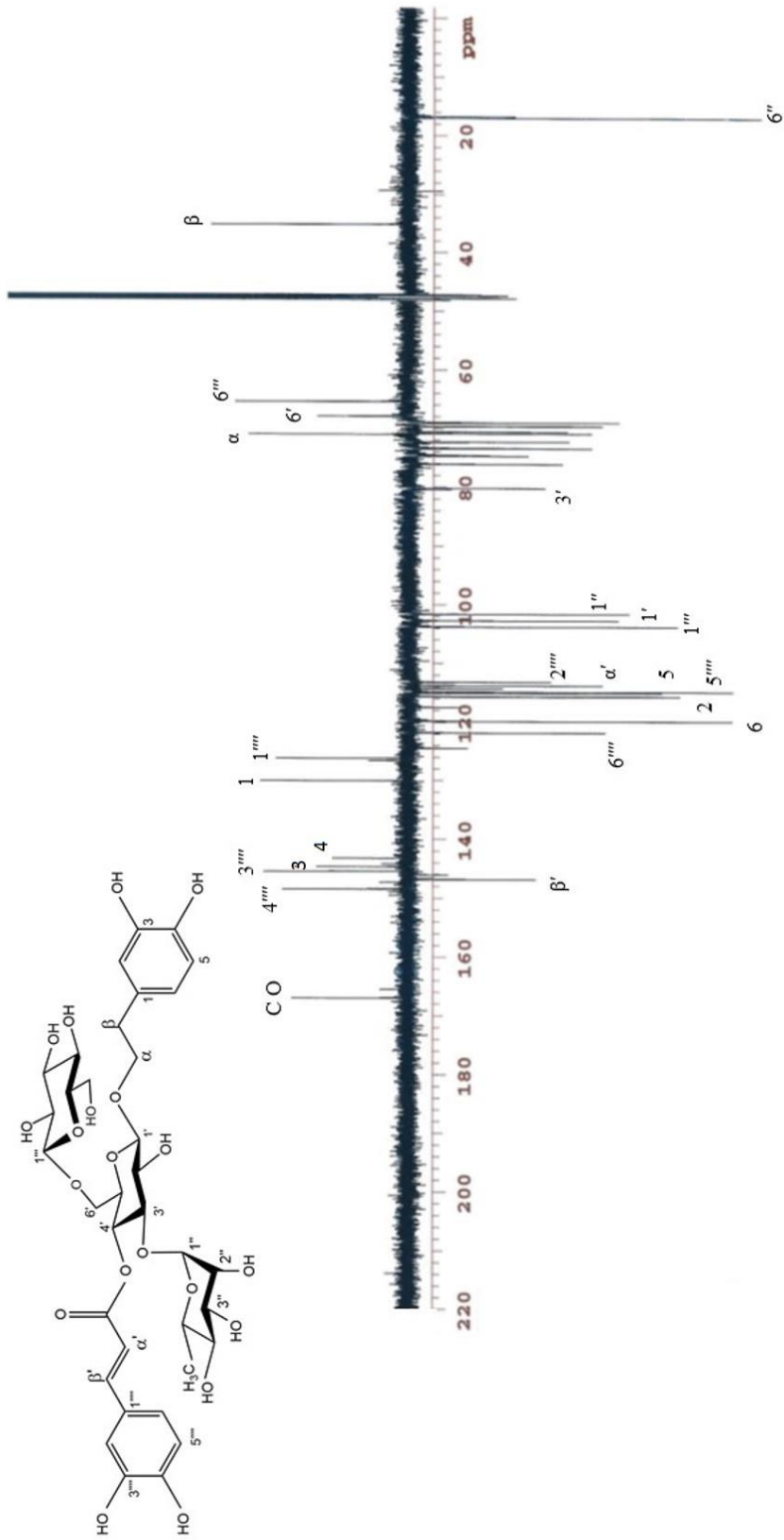
Tablo 4.5. Ekinakozit (**VP-5**)' in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^{13}C : 150 MHz; ^1H : 600 MHz)

C/H Atom		δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), J (Hz)
Aglikon			
1	C	130,0	-
2	CH	115,7	6,61 d $J=2,4$
3	C	144,6	-
4	C	143,2	-
5	CH	115,0	6,58 d $J=7,8$
6	CH	119,9	6,47 †
α	CH_2	71,0	3,96 m, 3,64 †
β	CH_2	35,1	2,70 dd $J=7,8/4,2$
Glukoz			
1'	CH	102,7	4,14 d $J=7,8$
2'	CH	74,6	-
3'	CH	80,2	-
4'	CH	69,0	4,88 t $J=9,6$
5'	CH	73,3	-
6'	CH_2	67,9	-
Ramnoz→(Glu-3)			
1''	CH	101,6	5,08 d $J=1,2$
2''	CH	70,8	3,81 dd $J=3,0/1,8$
3''	CH	70,6	-
4''	CH	72,3	-
5''	CH	69,1	-
6''	CH_3	17,0	0,99 d $J=6,0$
Glukoz→(Glu-6)			
1'''	CH	103,8	4,28 d $J=8,4$
2'''	CH	73,4	-
3'''	CH	74,7	-
4'''	CH	69,6	3,29 t $J=8,4$
5'''	CH	76,0	-
6'''	CH_2	65,4	-
Kafeik asit			
1''''	C	126,1	-
2''''	CH	113,1	6,96 d $J=2,4$
3''''	C	145,4	-
4''''	C	148,4	-
5''''	CH	114,9	6,68 d $J=7,8$
6''''	CH	121,8	6,86 dd $J=7,8/1,8$
α'	CH	113,8	6,18 d $J=15,6$
β'	CH	146,8	7,49 d $J=15,6$
C=O	C	166,9	-

† Sinyal örtüşmesi sebebiyle J değerleri hesaplanamamıştır.



Şekil 4.11. Ekinakozit (VP-5)'in ^1H NMR Spektrumu



Şekil 4.12. Ekinakozit (VP-5)'in APT Spektrumu

4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

V. pyramidatum’ dan hazırlanan ekstreler ve poliamit kolon fraksiyonlarının antienflammatuvar ve analjezik aktivitesi ile ilgili elde edilen deneysel bulgular tablolar halinde verilmiştir.

4.2.1. Antienflammatuvar Etki Tayini Sonuçları

V. pyramidatum’ un çiçek ve yaprak kısımlarından hazırlanan metanol, kloroform ve su ekstrelerinin antienflammatuvar aktivitesi karragen ile oluşturulan arka ayak ödemi ile test edilmiştir. Sonuçlar 200 mg/kg dozda , çiçeklerden hazırlanan sulu ekstresinin en yüksek antienflammatuvar aktiviteye (%8.9 - 29.7) sahip olduğunu göstermiştir. Aktif bulunan çiçeklerin sulu ekstresinin poliamit kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonlar aynı deney protokolüne tabi tutulmuş ve Fr C ve Fr G’ nin yüksek antienflammatuvar aktivite (% 23.8 - 37.1) gösterdiği tespit edilmiştir. Antienflammatuvar aktivite verileri Tablo 4.6 ve Tablo 4.7 de’ sunulmuştur.

Tablo 4.6. *V. pyramidalum*'un çiçek ve yapraklarından ayrı ayrı hazırlanan metanol, kloroform ve sulu ekstraktlarının karragen ile oluşturulan ödem üzerindeki aktivite sonuçları

Materyal	Doz (mg/kg)	Şişme kalınlığı ($\times 10^{-2}$ mm) $\pm$ OSH (%inhibisyon)			
		90 dk	180 dk	270 dk	360 dk
Kontrol		45,5 $\pm$ 2,7	51,8 $\pm$ 2,8	52,5 $\pm$ 2,9	55,1 $\pm$ 3,2
Çiçek-CHCl ₃	100	50,3 $\pm$ 2,5	52,6 $\pm$ 3,5	55,8 $\pm$ 3,8	57,5 $\pm$ 3,5
	200	52,5 $\pm$ 3,3	55,8 $\pm$ 3,9	56,1 $\pm$ 3,2	56,3 $\pm$ 3,4
Yaprak-CHCl ₃	100	47,1 $\pm$ 3,0	51,9 $\pm$ 2,7	53,6 $\pm$ 2,7	55,9 $\pm$ 3,9
	200	50,2 $\pm$ 2,9	53,8 $\pm$ 3,0	53,9 $\pm$ 3,1	56,6 $\pm$ 3,3
Çiçek-MeOH	100	45,8 $\pm$ 3,5	54,2 $\pm$ 2,8	54,2 $\pm$ 3,2	56,1 $\pm$ 4,1
	200	47,6 $\pm$ 2,8	55,5 $\pm$ 3,3	56,0 $\pm$ 3,8	57,3 $\pm$ 3,4
Yaprak-MeOH	100	48,8 $\pm$ 3,4	52,0 $\pm$ 2,9	53,5 $\pm$ 3,3	58,2 $\pm$ 3,8
	200	49,2 $\pm$ 2,7	52,6 $\pm$ 3,1	58,2 $\pm$ 4,0	58,8 $\pm$ 3,1
Çiçek-H ₂ O	100	38,5 $\pm$ 3,5 (15,4)	42,4 $\pm$ 3,0 (18,1)	44,6 $\pm$ 3,3 (15,0)	52,0 $\pm$ 3,0 (5,6)
	200	34,0 $\pm$ 2,0 (25,3)*	36,4 $\pm$ 2,2 (29,7)**	43,3 $\pm$ 2,9 (17,5)	50,2 $\pm$ 3,6 (8,9)
Yaprak-H ₂ O	100	46,2 $\pm$ 3,1	52,7 $\pm$ 2,9	52,7 $\pm$ 3,3	59,2 $\pm$ 4,3
	200	49,3 $\pm$ 2,5	56,7 $\pm$ 3,0	55,1 $\pm$ 2,7	59,8 $\pm$ 4,4
İndometasin	10	32,3 $\pm$ 2,5 (29,0)**	32,3 $\pm$ 1,8 (37,6)***	32,3 $\pm$ 2,1 (38,5)**	32,7 $\pm$ 1,7 (40,7)***

İstatistiksel belirginlik değerleri: *:p<0.05. **:p<0.01. ***:p<0.001 ; OSH: Ortalama standart hata

Tablo 4.7. *V. pyramidatum* çiçeklerinin sulu ekstresinin poliamit kolon kromatografisine uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların karragen ile oluşturulan ödem üzerindeki aktivite sonuçları

Materyal	Doz mg/kg	Şişme kalınlığı (x10 ⁻² mm) ± OSH (%inhibisyon)			
		90 dk	180 dk	270 dk	360 dk
Kontrol		45,5 ± 2,7	51,8 ± 2,8	52,5 ± 2,9	55,1 ± 3,2
Fr A	100	50,2 ± 3,7	55,4 ± 2,1	53,3 ± 3,0	57,6 ± 4,3
	200	53,9 ± 3,9	55,9 ± 3,3	58,6 ± 4,1	58,0 ± 3,9
Fr B	100	38,5 ± 2,6 (15,4)	42,9 ± 3,1 (17,2)	45,9 ± 3,5 (12,6)	49,9 ± 3,7 (9,4)
	200	34,9 ± 2,0 (23,3)*	38,2 ± 2,2 (26,3)*	42,8 ± 2,9 (18,5)	47,9 ± 3,1 (13,1)
Fr C	100	49,1 ± 3,3	52,3 ± 4,3	53,6 ± 3,2	56,1 ± 3,8
	200	52,6 ± 4,1	37,3 ± 3,6 (27,9)**	33,0 ± 3,6 (37,1)**	54,2 ± 3,7 (1,6)
Fr D	100	48,2 ± 3,6	50,5 ± 2,6 (2,5)	49,2 ± 3,6 (6,3)	55,8 ± 2,6
	200	49,5 ± 3,9	49,1 ± 2,5 (5,2)	44,3 ± 2,3 (15,6)	56,6 ± 3,5
Fr E	100	45,6 ± 3,7 (8,7)	47,3 ± 3,3 (8,7)	52,9 ± 4,1	57,6 ± 3,9
	200	42,7 ± 3,5 (6,2)	43,1 ± 3,0 (16,8)	48,6 ± 3,5 (7,4)	59,3 ± 4,2
Fr F	100	41,6 ± 3,3 (8,6)	49,9 ± 3,8 (3,7)	53,6 ± 3,9	59,6 ± 4,0
	200	35,7 ± 2,5 (21,5)*	44,7 ± 4,1 (13,7)	51,8 ± 3,8 (1,3)	60,1 ± 4,3
Fr G	100	49,8 ± 4,1	41,1 ± 2,8 (20,7)*	42,5 ± 3,2 (19,0)	51,9 ± 3,3 (5,8)
	200	40,4 ± 3,5 (11,2)	37,6 ± 2,2 (27,4)**	40,0 ± 2,7 (23,8)*	46,7 ± 3,4 (15,2)
İndometasin	10	32,3 ± 2,5 (29,0)**	32,3 ± 1,8 (37,6)***	32,3 ± 2,1 (38,5)**	32,7 ± 1,7 (40,7)***

İstatistiksel belirginlik değerleri: *:p<0.05. **:p<0.01. ***:p<0.001 ; OSH: Ortalama standart hata

4.2.2. Analjezik Etki Tayini Sonuçları

V. pyramidatum' un çiçek ve yaprak kısımlarının metanol, kloroform ve sulu ekstrelerinin analjezik aktivitesi ASA (asetilsalisilik asit)' nin analjezik aktivitesiyle (%43.6, 100 mg/kg doz; %49.1, 200 mg/kg doz) karşılaştırıldığında sonuçlar çiçeklerin sulu ekstresinin (%23.6, 100 mg/kg doz; %30.5, 200 mg/kg doz) en yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Aktif bulunan ekstrenin poliamit kolon kromatografisine tatbik edilmesiyle elde edilen fraksiyonların (Fr A-G) analjezik aktivitelerine bakıldığında ise Fr B, Fr C ve Fr G' nin 200 mg/kg dozda önemli analjezik aktivite (%34.2; %25.7; %30.3) gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuçlar Tablo 4.8 ve Tablo 4.9' da verilmiştir.

Tablo 4.8. *Verbascum pyramidatum*'un çiçek ve yapraklarından ayrı ayrı hazırlanan metanol, kloroform, sulu ekstralarının *p*-benzokinin nedenli ağrı testi üzerindeki etkisinin ASA ile karşılaştırılması

Materyal	Doz (mg/kg)	Kıvrınma refleksi $\pm$ OSH	İnhibisyon oranı (%)	Ülser oranı
Kontrol		50,9 $\pm$ 5,7		0/6
Çiçek-CHCl ₃	100	54,2 $\pm$ 4,1	-	0/6
	200	50,5 $\pm$ 3,6	0,8	0/6
Yaprak-CHCl ₃	100	49,0 $\pm$ 3,8	3,7	0/6
	200	44,4 $\pm$ 3,9	12,8	0/6
Çiçek-MeOH	100	53,7 $\pm$ 5,4	-	0/6
	200	51,5 $\pm$ 4,1	-	0/6
Yaprak-MeOH	100	55,8 $\pm$ 4,3	-	0/6
	200	50,1 $\pm$ 3,9	1,5	0/6
Çiçek-H ₂ O	100	38,9 $\pm$ 3,8	23,6*	0/6
	200	35,4 $\pm$ 3,2	30,5**	0/6
Yaprak-H ₂ O	100	52,8 $\pm$ 5,1	-	0/6
	200	50,2 $\pm$ 4,5	1,4	1/6
ASA	100	28,7 $\pm$ 2,1	43,6***	3/6
	200	25,9 $\pm$ 2,0	49,1***	6/6

İstatistiksel belirginlik değerleri: *: $p < 0.05$. **: $p < 0.01$. ***: $p < 0.001$; OSH: Ortalama standart hata; ASA: Asetil salisilik asit

Tablo 4.9. *V. pyramidatum* çiçeklerinin sulu ekstresinin poliamit kolon kromatografisine uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonlarının *p*-benzokinon nedenli ağrı testi üzerindeki etkisinin ASA ile karşılaştırılması

Materyal	Doz mg/kg	Kıvrınma refleksi $\pm$ OSH	İnhibisyon oranı%	Ülser oranı
Kontrol		50,9 $\pm$ 5,7		0/6
Fr A	100	57,0 $\pm$ 5,3	-	0/6
	200	55,2 $\pm$ 5,5	-	0/6
Fr B	100	37,6 $\pm$ 3,3	26,1*	0/6
	200	33,5 $\pm$ 2,9	34,2**	0/6
Fr C	100	41,9 $\pm$ 3,1	17,7	0/6
	200	37,8 $\pm$ 2,4	25,7*	0/6
Fr D	100	45,2 $\pm$ 3,3	11,2	0/6
	200	43,6 $\pm$ 3,0	14,3	0/6
Fr E	100	48,1 $\pm$ 4,2	5,5	0/6
	200	41,7 $\pm$ 3,9	18,1	0/6
Fr F	100	51,6 $\pm$ 3,2	-	0/6
	200	40,9 $\pm$ 3,1	19,6	0/6
Fr G	100	43,1 $\pm$ 4,0	15,3	0/6
	200	35,5 $\pm$ 3,3	30,3**	0/6
ASA	100	28,7 $\pm$ 2,1	43,6***	3/6
	200	25,9 $\pm$ 2,0	49,1***	6/6

İstatistiksel belirginlik değerleri: *: $p < 0.05$. **: $p < 0.01$. ***: $p < 0.001$; OSH: Ortalama standart hata; ASA: Asetil salisilik asit

5. TARTIŞMA

Anadolu’da halk arasında tedavi amacıyla sıklıkla kullanılan *Verbascum* türleri (3, 4) üzerinde yapılan araştırmalar incelendiğinde, antienflamatuvar, antioksidan, antinosiseptif, antimikrobiyal, antimalaryal, antitümör, antikanser ve sitotoksik etki olmak üzere pek çok etkisinin var olduğu tespit edilmiştir (12). *V. pyramidatum*’ un toprak üstü kısımları Türkiye’ de halk arasında hemoroid ve romatizma tedavisinde kullanılmaktadır (15). Bu çalışmada, Türkiye bitki örtüsünde doğal olarak yetişen ve halk arasında yaygın kullanıma sahip bir *Verbascum* türü olan ve üzerinde çalışma bulunmayan *V. pyramidatum* bitkisinin fitokimyasal açıdan incelenmesi ve aktif moleküllerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Tez çalışmamızda, bu bitkiden hazırlanan ekstraların antienflamatuvar ve analjezik etkileri araştırılmak suretiyle bu etkilerden sorumlu olabilecek saf bileşikler izole edilmeye çalışılmıştır. Bileşiklerin yapı tayinleri spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır.

V. pyramidatum bitkisinin açık havada ve gölgede kurutulan çiçek ve yaprakları ayrı ayrı toz edildikten sonra 40 °C’de 3’er defa metanol ile ekstre edilmiş ve birleştirilen ekstralar alçak basınç altında kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. Kurutulmuş metanol ekstraları distile suda süspanse edilerek 2’şer defa kloroformla ekstre edilmiş ve böylece polar ve polar olmayan maddelerin ayrılması sağlanmıştır. Birleştirilen kloroformlu fazlar ve kalan sulu fazlar da alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulmuş ve *in vivo* deney modelleri olan karragen ile oluşturulan ayak ödemi ile antienflamatuvar aktivitesi ve *p*-benzokinon nedenli ağrı testi ile de analjezik aktivitesi araştırılarak, aktif bulunan ‘çiçeklerin sulu ekstresi’ üzerinden (Tablo 4.6 ve Tablo 4.8) çalışılmaya devam edilmiştir. Ekstre üzerindeki ön fraksiyonlama ve ayırım işlemleri, çeşitli kromatografi yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

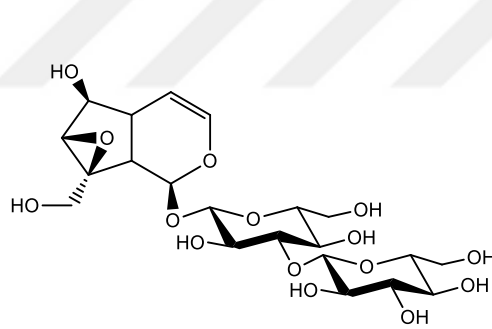
V. pyramidatum çiçeklerinin sulu ekstresi fenolik ve fenolik olmayan bileşiklerin ayırımını sağlayan poliamit kolonda fraksiyonlandırılmış ve Fr A-G elde edilmiştir. Fraksiyonlar aynı *in vivo* deney modellerinde denenmiş ve Fr C uygulanan biyoaktivite deneylerinin hepsinde aktif bulunması sebebiyle (Tablo 4.7 ve Tablo 4.9) çalışmalara bu fraksiyon üzerinden devam edilmiştir. Fr C üzerindeki ön fraksiyonlama ve ayırım işlemleri vakum-sıvı kromatografisi yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Fr C, vakum sıvı kromatografisi ile fraksiyonlandırılmış, Fr C 1-9 ve VP-1 3'-O- β -glukopiranozilkatalpol elde edilmiştir. İTK kontrollerinden hareketle Fr C4 ve Fr C6 çalışmaya değer bulunmuş ve bu fraksiyonlar silika jel kolon kromatografisine tatbik edilmiştir. Fraksiyonlar üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar sonucunda Fr C6'dan VP-2 (sakkatozit) ve VP-3 [sakkatozit (VP-3a) + 6-O-(3''-O-trans-*p*-kumaroil)- α -ramnopiranozilkatalpol (VP-3b)]; Fr C4' den VP-4 (verbaskozit) ve VP-5 (ekinakozit) bileşikleri izole edilmiştir.

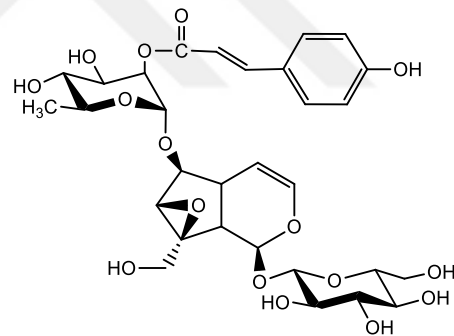
Elde edilen bu bileşiklerin yapı tayinleri spektroskopik 1D ve 2D NMR yöntemleri kullanılarak yapılmıştır.

İzole edilerek yapıları tayin edilen 5 bileşik; iridoit glikozitleri (**VP-1**, **VP-2/VP-3a**, **VP-3b**) ve feniletanoit glikozitleri (**VP-4**, **VP-5**) olmak üzere kimyasal yapılarına göre 2 farklı grup altında incelenmiştir.

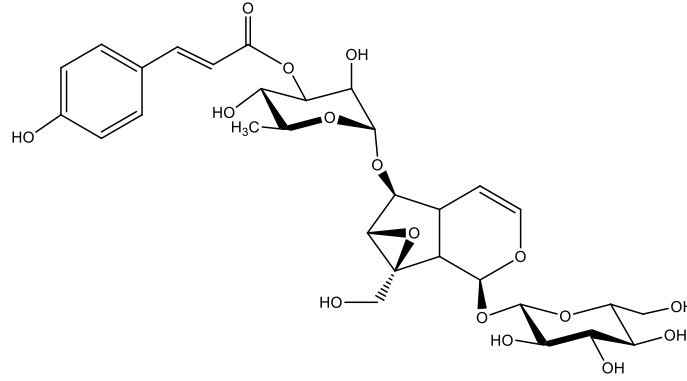
İzolasyon çalışmalarımız sırasında *V. pyramidatum*' dan izole edilen iridoit glikozitleri, 3'-O- β -glukopiranozilkatalpol (**VP-1**), sakkatozit (**VP-2/VP-3a**) ve 6-O-(3''-O-trans-*p*-kumaroil)- α -ramnopiranozilkatalpol (**VP-3b**) olmak üzere 3 tanedir.



3'-O- β -glukopiranozilkatalpol (VP-1)



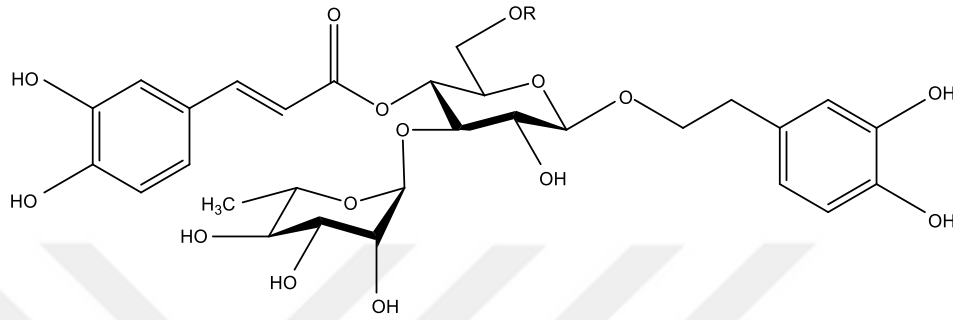
Sakkatozit (VP-2\VP-3a)



6-O-(3''-O-*trans-p*-kumaroil)- α -ramnopiranozilkatalpol (VP-3b)

İridoit bileşikleri VP-1, VP-2/VP-3a ve VP-3b' nin ^1H NMR ve APT spektrumlarında gözlenen anomerik proton ve karbon sinyalleri diglikozidik yapıda olduklarını göstermiştir. Tüm iridoit bileşiklerinde C-1 (OH) konumundan glikozidasyon yapan β -glukoz iken, VP-2\VP-3a ve VP-3b bileşiklerinde C-6 (OH) pozisyonunda glikozidasyon yapan α -ramnozdur. İridoit bileşiklerinin yapıları incelendiğinde, aradaki farkın siklopentan-piran halka sistemindeki fonksiyonel gruplardan ve esterleşme noktasından kaynaklandığı görülmektedir. İridoitlerin hepsi 9 karbonlu siklopentan-piran halka sisteminden oluşan bir aglikona sahiptir ve C-6 konumunda sekonder hidroksil grubu taşımaktadır. VP-1, VP-2\VP-3a ve VP-3b bileşiklerinin hepsinde siklopentan halkasında C-7 ve C-8 arasında bir epoksit köprüsü yer almaktadır. Tüm iridoit bileşiklerinde C-3 ve C-4 arasında bir doymamışlık söz konusudur. Asitle ester yapan iridoitlerde (VP-2\VP3a ve VP-3b) gözlenen yapısal değişiklikler, asitin (*trans-p*-kumarik asit) aglikona C-6 (OH) konumundan bağlı olan α -ramnoz üzerindeki esterleşme noktasının farklılığından kaynaklanmaktadır. VP-2\VP-3a bileşiğindeki esterleşme α -ramnozun C-2'' konumu; VP-3b bileşiğindeki esterleşme ise α -ramnozun C-3'' konumu üzerinden gerçekleşmiştir. Esterleşmenin yeri, esterleşmenin gerçekleştiği hidroksil grubunun geminal proton ve karbonlarına ait sinyallerin, esterleşme olmayanlara göre düşük alana kaymalarından hareketle belirlenmiştir.(esterleşmeye bağlı α -etki). HMBC korelasyonu da bu bilgileri desteklemektedir. VP-1 bileşiğinde ise aglikona C-1 (OH) konumundan bağlı β -glukozun C-3' konumu üzerinden ikinci bir glukoz ünitesi bağlanmıştır. Yapısında açıl kısım olarak *trans-p*-kumaroil grubu taşıyan VP-2\VP-3a ve VP-3b' de ^1H NMR spektrumunda δ_{H} 7.40-6.72\7.39-6.71 ve 7.58-6.66' da *ortho*-kenetlenme gösteren

toplam dört'er proton değerinde sinyaller gözlenmiştir. Bunun yanında δ_H 7.57-6.30\7.57-6.30 ve 7.56-6.29 (H- β - α)' da birer AX sistemi şeklinde olefinik rezonanslar ($J_{AX}=16.2\backslash16.2$ ve 16.2 Hz) görülmüştür. Bu sinyallerin kenetlenme sabiti değerlerinden hareketle çifte bağın konfigürasyonun *trans* olduğu gözlenmiştir.



R: H Verbaskozit (=Akteozit) (VP-4)
R: β - glukoz Ekinakozit (VP-5)

Çalışmamız sırasında iki feniletanoit glikoziti (VP-4 ve VP-5) izole edilmiştir. Bileşiklerin ayrı ayrı H^1 NMR spektrumlarında aromatik bölgede iki ABX sistemi (aglikon ve açıl kısım) şeklinde gözlenen altı proton sinyali ve AX sistemi şeklindeki iki *trans*-olefinik proton sinyalleri her iki bileşiğin de ortak özelliği olarak tespit edilmiştir. Bunun yanında, aglikonun yan zincirine ait ekivalan olmayan (aromatik yapıya ait yan zincirin α - CH_2 -O-) iki oksimetilen protonuna ait sinyaller ve benzilik metilen protonlarına ait sinyaller de diğer ortak özellikleri olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, bileşik VP-4 ve VP-5' in yapısında aglikon olarak 3,4-disübstüfēfeniletanol iskeletinin yer aldığını göstermiştir.

Anomerik protonlara ait sinyaller değerlendirildiğinde, spektrumlarda gözlenen iki anomerik proton sinyali VP-4' ün diglikozidik, üç anomerik proton sinyali ise VP-5' in triglikozidik yapıda olduğuna işaret etmiştir. Oz ünitelerine ait karbon sinyallerinin yorumlanması sonucunda, yapılarında glukoz ve ramnoz bulunduğu anlaşılmıştır. Anomerik proton sinyalleri, bu sinyallerin kenetlenme sabiti değerleri (VP-4: $J = 7.8$ Hz, H-1' ve $J = 1.8$ Hz, H-1''; VP-5: $J = 8.4$ Hz, H-1''', $J = 7.8$ Hz, H-1', $J = 1.2$ Hz, H-1'') ve şeker sinyaline ait 0.99 ppm, H-6'' (VP-4) – 0.99 ppm, H-6'' (VP-5)' de gözlenen sekonder metil rezonansları birlikte değerlendirildiğinde ise

VP-4' de diglikozidik yapıda bir heksoz olan β -glukoz ve bir metilpentoz olan α -ramnoz' un bulunduğu; VP-5' de ise triglikozidik yapıda yer alan ozlardan ikisinin β -glukoz, üçüncü ozun ise α -ramnoz olduğu ortaya konmuştur. Her iki bileşikte glukozun H-4' sinyalinin düşük alana kaymış olması *trans*-kafeik asitin glukozun C-4' (OH) grubu üzerinden ester yaptığını göstermiştir. Verbaskozitte merkezi konumdaki glukozun C-3' karbon rezonansının düşük alana kaymış olması α -ramnozun, glukozu C-3' konumu üzerinden bağlandığını göstermektedir. Ekinakozitte ise merkezi konumdaki glukozun C-3' ile C-6' karbon rezonanslarının düşük alana kaymış olması glukozidasyon noktalarının merkezi konumdaki glukoz üzerinden olduğunu göstermektedir. İkinci glukoz ünitesine ait karbon rezonanslarının kimyasal kayma değerleri, bu glukoz ünitesinin sübsitüsyon taşımadığını ve terminal konumda olduğunu göstermiştir. Bu verilere dayanılarak ikinci glukoz ünitesinin, merkezi konumdaki glukozun C-6' (OH) grubu üstünden bağlı olduğu düşünülmüştür.

V. pyramidatum üzerinde gerçekleştirmiş olduğumuz çalışmalar neticesinde izole edilen iridoit ve feniletanoit bileşikler, Türkiye bitki örtüsünde doğal olarak yetişen *Verbascum* türlerinin bu bileşikler bakımından zengin olduğu bilgisini desteklemektedir (14).

Sakkatozit daha önce *V. thapsus*, *V. virgatum*, *V. cilicicum*, *V. dudleyanum*, *V. caesareum* ve *V. nobile* türlerinden (18, 28, 62, 66-68), 6-O-(3''-O-*trans*-p-kumaroil)- α -ramnopiranozilkatalpol ise *V. thapsus*, *V. virgatum*, *V. cilicicum*, *V. dudleyanum* ve *V. nobile*'den elde edilmiştir (18, 62, 66-68). Ancak 3'-O- β -glukopiranozil katalpolün bir *Verbascum* türünde varlığı ilk defa bu çalışma ile gösterilmiştir. *V. pyramidatum*' dan elde edilen verbaskozit (VP-4) *Verbascum* cinsinde çok yaygın bir madde olmasına karşın (14), Ekinakozit (VP-5) daha önce sadece *V. wiedemannianum*' dan elde edilmiş olup ikinci kez bu çalışma ile rapor edilmiştir (69).

Halk arasında hemoroid ve romatizma tedavisinde (15) kullanılması sebebiyle üzerinde araştırma yaptığımız *V. pyramidatum* Grup C' ye ait bir türdür. *V. pyramidatum*' un çiçeklerinden hazırlanan ekstrelerde antienflammatuvar ve analjezik etkinin saptanmış olması, halk arasındaki kullanılışını desteklemektedir. İzole edilen bileşiklerin üzerinde daha önceden yapılmış olan aktivite çalışmaları incelendiğinde verbaskozit, ekinakozit ve sakkatozitin antienflammatuvar etkiye sahip oldukları

görülmektedir (8, 70-72). Bu bulgular bitkinin etkisinden çalışmalarımızda elde ettiğimiz bu bileşiklerin sorumlu olabileceğini düşündürmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmamız sonucunda tez önerisinde belirtilen hedeflere ulaşılmış ve Türkiye bitki örtüsünde yetişen ve halk arasında kullanılışı olan *Verbascum pyramidatum* hem biyolojik etkileri hem de kimyasal bileşenleri açısından araştırılmıştır.

V. pyramidatum üzerinde gerçekleştirilen fitokimyasal çalışmalar neticesinde 3 iridoit ve 2 feniletanoit bileşiği izole edilmiş olup, fitokimyasal içerik yönünden bir çok *Verbascum* türü ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. *V. pyramidatum*' un Anadolu da halk arasındaki kullanılışı dikkate alınarak antienflamatuvar ve analjezik etkisi araştırılmış, çiçeklerin sulu ekstresinin ve bazı fraksiyonlarının aktif olduğu bulunmuştur. Biyolojik etki çalışmalarını daha ileriye taşımak amacıyla ekstre ve izole edilen bileşiklerin farklı sistemler üzerindeki analjezik ve antienflamatuvar etkilerinin de çalışılarak etki mekanizmalarının araştırılmasının yararlı olacağı görüşüne varılmıştır. Böylece ülkemizde yetişen bu türün dünyada tedavide kullanılan benzerleri yerine önerilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Huber-Morath A. *Verbascum* L. P. H. Davis (Ed). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 6. Edinburg: University Press; 1978. p. 461-603.
2. Öztürk A, Güney KB, Bani B, Güney K, Karavelioğulları FA, Pınar NM, et al. Pollen morphology of some *Verbascum* (Scrophulariaceae) taxa in Turkey. *Phytotaxa*. 2018; 333(2):209-18.
3. Baytop T. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.; 1999.
4. Tuzlacı E, Erol MK. Turkish folk medicinal plants. Part II: Eğirdir (Isparta). *Fitoterapia*. 1999;70(6):593-610.
5. Sezik E, Yeşilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey X. folk medicine in central Anatolia. *J Ethnopharmacol*. 2001;75(2):95-115.
6. Kahraman C, Tatlı II, Orhan IE, Akdemir ZS. Cholinesterase inhibitory and antioxidant properties of *Verbascum mucronatum* Lam. and its secondary metabolites. *Z Naturforsch C*. 2010;65(11-12):667-74.
7. Süntar I, Tatlı II, Küpeli Akkol E, Keleş H, Kahraman Ç, Akdemir Z. An ethnopharmacological study on *Verbascum* species: From conventional wound healing use to scientific verification. *J Ethnopharmacol*. 2010;132(2):408-13.
8. Akdemir Z, Kahraman Ç, Tatlı II, Küpeli Akkol E, Süntar I, Keleş H. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory, antinociceptive and wound healer glycosides from the flowers of *Verbascum mucronatum* Lam. *J Ethnopharmacol*. 2011;136(3):436-43.
9. Kahraman C, Ekizoglu M, Kart D, Akdemir ZŞ, Tatlı II. Antimicrobial activity of some *Verbascum* species growing in Turkey. *FABAD J Pharm Sci*. 2011;36:11-5.
10. Kozan E, Tatlı Çankaya I, Kahraman C, Küpeli Akkol E, Akdemir Z. The *in vivo* anthelmintic efficacy of some *Verbascum* species growing in Turkey. *Exp Parasitol*. 2011;129(2):211-4.
11. Rezaie A, Ebrahimi M, Issabeagloo E, Kumar M, Nazeri M, Rezaie S, et al. Study of sedative, pre-anesthetic and anti-anxiety effects of *Verbascum thapsus* L. extract compared with diazepam in rats. *Adv Biores*. 2012;3(4):84-9
12. Tatlı II, Akdemir ZŞ. Traditional uses and biological activities of *Verbascum* species. *FABAD J Pharm Sci*. 2006;31(2):85-96.
13. Turker AU, Camper ND. Biological activity of common mullein, a medicinal plant. *J Ethnopharmacol*. 2002;82(2):117-25.
14. Tatlı II, Akdemir ZŞ. Chemical constituents of *Verbascum* L. species. *FABAD J Pharm Sci*. 2004;29:93-107.
15. Mükemre M, Behçet L, Çakılcıoğlu U. Ethnobotanical study on medicinal plants in villages of Çatak (Van-Turkey). *J Ethnopharmacol*. 2015;166:361-74.

16. Davis PH. Flora of Turkey and East Aegean Islands. Edinburg: University Press; 1978.
17. Kahraman Ç. *Verbascum mucranatum* Lam. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar [Yüksek lisans tezi]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2009.
18. Dimitrova P, Alipieva K, Grozdanova T, Simova S, Bankova V, Georgiev MI, et al. New iridoids from *Verbascum nobile* and their effect on lectin-induced T cell activation and proliferation. Food Chem Toxicol. 2018;111:605-15.
19. Zhao YL, Wang SF, Li Y, He QX, Liu KC, Yang YP, et al. Isolation of chemical constituents from the aerial parts of *Verbascum thapsus* and their antiangiogenic and antiproliferative activities. Arch Pharm Res. 2011;34(5):703-7.
20. Georgiev MI, Ali K, Alipieva K, Verpoorte R, Choi YH. Metabolic differentiations and classification of *Verbascum* species by NMR-based metabolomics. Phytochemistry. 2011;72(16):2045-51.
21. Grigore A, Colceru Mihul S, Litescu S, Panteli M, Rasit I. Correlation between polyphenol content and anti-inflammatory activity of *Verbascum phlomoides* (mullein). Pharm Biol. 2013;51(7):925-9.
22. Georgiev M, Pastore S, Lulli D, Alipieva K, Kostyuk V, Potapovich A, et al. *Verbascum xanthophoeniceum*-derived phenylethanoid glycosides are potent inhibitors of inflammatory chemokines in dormant and interferon-gamma-stimulated human keratinocytes. J Ethnopharmacol. 2012;144(3):754-60.
23. Dimitrova P, Kostadinova E, Milanova V, Alipieva K, Georgiev M, Ivanovska N. Antiinflammatory properties of extracts and compounds isolated from *Verbascum xanthophoeniceum* Griseb. Phytother Res. 2012;26(11):1681-7.
24. Nykmukanova MM, Eskalieva BK, Burasheva GS, Choudhary MI, Adhikari A, Amadou D. Iridoids from *Verbascum marschallianum*. Chem Nat Compd. 2017;53(3):580-581.
25. Dimitrova P, Georgiev MI, Khan MT, Ivanovska N. Evaluation of *Verbascum* species and harpagoside in models of acute and chronic inflammation. Cent Eur J Biol. 2013;8(2):186-94.
26. Mihailović V, Kreft S, Benković ET, Ivanović N, Stanković MS. Chemical profile, antioxidant activity and stability in stimulated gastrointestinal tract model system of three *Verbascum* species. Ind Crop Prod. 2016;89:141-51.
27. Alaniya MD, Sutiashvili MG, Shalashvili KG, Skhirtladze AV, Mshvildadze VD, Pichette A. Iridoid glycosides from roots of *Verbascum laxum*. Chem Nat Compd. 2014;50(5):842-5.
28. Anil S, Dosler S, Mericli AH. Chemical composition and antimicrobial activity of *Verbascum caesareum*. Chem Nat Compd. 2016;52(1):125-6.
29. Paun G, Neagu E, Albu C, Radu GL. *Verbascum phlomoides* and *Solidago virgaureae* herbs as natural source for preventing neurodegenerative diseases. J Herb Med. 2016;6:180-6.
30. Georgiev M, Alipieva K, Orhan I, Abrashev R, Denev P, Angelova M. Antioxidant and cholinesterases inhibitory activities of *Verbascum*

- xanthophoeniceum* Griseb. and its phenylethanoid glycosides. Food Chem. 2011;128(1):100-5.
31. Georgiev MI, Ludwig Müller J, Alipieva K, Lippert A. Sonication-assisted *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation of *Verbascum xanthophoeniceum* Griseb. for bioactive metabolite accumulation. Plant Cell Rep. 2011;30(5):859-66.
 32. Speranza L, Franceschelli S, Pesce M, Reale M, Menghini L, Vinciguerra I, et al. Antiinflammatory effects in THP-1 cells treated with verbascoside. Phytother Res. 2010;24(9):1398-404.
 33. Sen B, Dosler S, Mericli AH. Chemical constituents and antimicrobial activity of *Verbascum lagurus*. Chem Nat Compd. 2015;51(1):139-40.
 34. Gvazava LN, Kikoladze VS. Orobanchoside and flavonoids from *Verbascum phlomoides* and *V. densiflorum*. Chem Nat Compd. 2012;47(6):991-2.
 35. Shakeri AR, Farokh A. Phytochemical evaluation and antioxidant activity of *Verbascum sublobatum* Murb. leaves. Research Journal of Pharmacognosy. 2015;2(3):43-7.
 36. Dalar A, Guo Y, Konczak I. Phenolic composition and potential anti-inflammatory properties of *Verbascum cheiranthifolium* var. *cheiranthifolium* leaf. J Herb Med. 2014;4(4):195-200.
 37. Boğa M, Ertas A, Haşimi N, Demirci S, Yılmaz MA, Temel H, et al. Phenolic profile, fatty acid and essential oil composition analysis and antioxidant, antialzheimer and antibacterial activities of *Verbascum flavidum* extracts. Chiang Mai J Sci. 2016;43(5):1090-101.
 38. Halimi M, Nasrabadi M. Isolation and identification macrocyclic spermine alkaloid (protoverbine) from *Verbascum speciosum*. Iran Chem Commun. 2018;6:143-47.
 39. Okawa A, Ohyama K, Fujimoto Y. 2-O-(3-Hydroxyhexadecanoyl) glycerol and 2-O-(3-hydroxytetradecanoyl) glycerol and their 1-O-acetyl derivatives from the glandular trichome exudate of *Verbascum blattaria* f. *erubescens*. Nat Prod Res. 2013;27(15):1372-7.
 40. Morteza Semnani K, Saeedi M, Akbarzadeh M. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Verbascum thapsus* L. J Essent Oil Bear Pl. 2012;15(3):373-9.
 41. Vahedi H, Lari J, Halimi M, Nasrabadi M, Vahedi A. Chemical composition of the n-Hexane extract of *Verbascum speciosum* growing wild in Iran. J Essent Oil Bear Pl. 2012;15(6):895-9.
 42. Dalar A, Konczak I. Botanicals from eastern Anatolia region of Turkey: antioxidant capacity and phenolic constituents of endemic herbal medicines. J Herb Med. 2012;2(4):126-35.
 43. Nofouzi K. Study on the antioxidant activity and *in vitro* antifungal activity of *Verbascum speciosum* methanolic extract. Journal of Mycology Research. 2015;2(2):97-103.

44. Ozcan B, Esen M, Caliskan M, Mothana RA, Cihan AC, Yolcu H. Antimicrobial and antioxidant activities of the various extracts of *Verbascum pinetorum* Boiss. O. Kuntze (Scrophulariaceae). Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2011;15(8):900-5.
45. Boğa M, Ertaş A, Yılmaz MA, Kızıl M, Çeken B, Haşimi N, et al. UHPLC-ESI-MS/MS and GC-MS analyses on phenolic, fatty acid and essential oil of *Verbascum pinetorum* with antioxidant, anticholinesterase, antimicrobial and DNA damage protection effects. Iran J Pharm Res. 2016;15(3):393-405.
46. Ghasemi F, Rezaei F, Araghi A, Tabari MA. Antimicrobial activity of aqueous-alcoholic extracts and the essential oil of *Verbascum thapsus* L. Jundishapur J Nat Pharm Prod. 2015;10(3):1-5.
47. Prakash V, Rana S, Sagar A. Studies on antibacterial activity of *Verbascum thapsus*. J Med Plants Stud. 2016;4(3):101-3.
48. Zangeneh MM, Zangeneh A, Tahvilian R, Moradi R, Kiani K, Khalili M, et al. Ethnomedicinal plants: evaluation of *in vitro* antibacterial properties of *Verbascum thapsus* against *Bacillus subtilis* ATCC No.21332 İnt J Ayu Pharm Chem. 2017;6(3):155-66.
49. Dulger G, Tutenocakli T, Dulger B. Anti-staphylococcal activity of *Verbascum thapsus* L. against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Konuralp Tip Dergisi. 2017;9(1):53-57.
50. Dulger G, Tutenocakli T, Dulger B. Antimicrobial potential of the leaves of common mullein (*Verbascum thapsus* L., Scrophulariaceae) on microorganisms isolated from urinary tract infections. J Med Plants Stud. 2015;3(2):86-9.
51. Kaur V, Upadhyaya K. Antibacterial activity of *Verbascum chinense* (Scrophulariaceae) extracts. Int J Curr Microbiol App Sci. 2016;5(4):578-84.
52. Nofouzi K, Mahmudi R, Tahapour K, Amini E, Yousefi K. *Verbascum speciosum* methanolic extract: phytochemical components and antibacterial properties. J Essent Oil Bear Pl. 2016;19(2):499-505.
53. Pothamsetty A, Janarthan M, Faheemuddin M, Hussein M, Ahmed M. Evaluation of anti-diabetic activity of the plant leaves of *Verbascum thapsus* in alloxan induced diabetic rats. Int J Pharm Pharmacol. 2017;1(4):118-24.
54. Mehdinezhad B, Rezaei A, Mohajeri D, Safarmashaei S. Comparison of *in vivo* wound healing activity of *Verbascum thapsus* flower extract with zinc oxide on experimental wound model in rabbits. Am Euras J Toxicol Sci. 2012;4(1):24-30.
55. Kalinina SA, Elkina OV, Kalinin DV, Syropyatov BY, Dolzhenko AV. Diuretic activity and toxicity of some *Verbascum nigrum* extracts and fractions. Pharm Biol. 2014;52(2):191-8.
56. Bozkurt TE, Tatli II, Kahraman C, Akdemir ZS, Sahin Erdemli I. Inhibitory effect of the methanolic extract of *Verbascum latisepalum* Hub.-Mor. on endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta. Z Naturforsch C. 2014;69(5-6):219-25.
57. Kasahara Y, Hikino H, Tsurufuji S, Watanabe M, Ohuchi K. Antiinflammatory actions of ephedrine in acute inflammations. Planta Med. 1985;51(4):325-31.

58. Yesilada E, Küpeli Akkol E. *Clematis vitalba* L. aerial part exhibits potent anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects. *J Ethnopharmacol.* 2007;110(3):504-15.
59. Okun R, Liddon SC, Lasagna L. The effects of aggregation, electric shock and adrenergic blocking drugs on inhibition of the "writhing syndrome". *J Pharmacol Exp Ther.* 1963;139(1):107-9.
60. Chaudhuri RK, Sticher O. New iridoid glucosides and a lignan diglucoside from *Globularia alypum* L. *Helv Chim Acta.* 1981;64(1):3-15.
61. Kanchanapoom T, Ruchirawat S, Kasai R, Otsuka H. Aliphatic alcohol and iridoid glycosides from *Asystasia intrusa*. *Chem Pharm Bull.* 2004;52(8):980-2.
62. Tatlı II, Akdemir ZŞ, Bedir E, Khan IA. 6-O- α -L-rhamnopyranosylcatalpol derivative iridoids from *Verbascum cilicicum*. *Turk J Chem.* 2003;27(6):765-72.
63. Mnatsakanian VA, Arutyunian LS, Eribekian MI. Iridoid glycosides of *Verbascum saccatum*. *Khim Priir Soedin.* 1983;(1):38-41.
64. Akdemir ZŞ, Tatlı II, Bedir E, Khan IA. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Verbascum lasianthum*. *Turk J Chem.* 2004;28(2):227-34.
65. Akdemir Z, Çalış I. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Pedicularis Pontica* Boiss. *Doğa Tr J of Pharmacy.* 1991;67-75.
66. Warashina T, Miyase T, Ueno A. Iridoid glycosides from *Verbascum thapsus* L. *Chem Pharm Bull.* 1991;39(12):3261-4.
67. Tatlı II, Schuhly W, Kunert O, Bedir E, Akdemir ZS. Secondary metabolites from the aerial parts of *Verbascum dudleyanum* and their biological activities. *Chem Nat Compd.* 2008;44(3):292-5.
68. Pardo F, Perich F, Torres R, Monache FD. Plant iridoid glycosides and phyto-growth-inhibitory activity of *Verbascum virgatum*. *Biochem Syst Ecol.* 2004;32(3):367-70.
69. Abougazar H, Bedir E, Khan IA, Çalış I. Wiedemanniosides A-E: New phenylethanoid glycosides from the roots of *Verbascum wiedemannianum*. *Planta Med.* 2003;69:814-9.
70. Kim KH, Kim S, Jung MY, Ham IH, Whang WK. Anti-inflammatory phenylpropanoid glycosides from *Clerodendron trichotomum* leaves. *Arch Pharm Res.* 2009;32(1):7-13.
71. Zhu T, Zhang L, Ling S, Qian F, Li Y, Xu JW. Anti-inflammatory activity comparison among Scropoliosides—catalpol derivatives with 6-O-substituted cinnamyl moieties. *Molecules.* 2015;20(11):19823-36.
72. Speroni E, Govoni P, Guizzardi S, Renzulli C, Guerra MC. Anti-inflammatory and cicatrizing activity of *Echinacea pallida* Nutt. root extract. *J Ethnopharmacol.* 2002;79(2):265-72.

8. EKLER

EK-1 Etik Kurul Onayı



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/129-17542
KONU:

26.10.2009

Sayın

Doç.Dr.Esra AKKOL
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmakognozi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-09.077 kod numaralı ve “Türkiye’de Yetişen Bazı Verbascum Türleri Üzerinde Biyolojik Aktivite Çalışmaları” başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-09.077 and entitled “*Biological Activity Studies on Some Verbascum Species Growing in Turkey*” is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

9. ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı : Emine Derya Civelek
Doğum Yeri ve Yılı : Sinop-13.10.1983
Uyruğu : T.C
İletişim Bilgileri ve telefonu : Anadolu Eczanesi, Sinop
: 0368 261 52 43

II-Eğitimi

Yüksek Lisans

Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı (2018)

Lisans:

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2008)

Ortaöğretim:

Sinop Anadolu Öğretmen Lisesi (2001)

İlköğretim:

Gümüşhane Dumlupınar İlköğretim Okulu
Sinop Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okulu (1997)

III. Mesleki Deneyim:

Sinop Anadolu Eczanesi-Serbest Eczacı (2008-)

IV. Bilimsel Faaliyetleri

Uluslararası kongrelerde sunulan SCI, SCI Expanded, SSCI ve AHCI kapsamındaki; dergi özel sayılarında özeti yayımlanmış poster bildiriler

Civelek D, Suntar İ, Kahraman C, Tatlı II, Kupeli Akkol E, Akdemir ZŞ. Estimation of Anti-inflammatory and Antinociceptive Activities of *Verbascum pyramidatum* Bieb [Poster]. Trends in natural products research: a young scientists meeting of PSE and ÖPhg; July 2013; Austria.