

T. C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI

***NIGELLA STELLARIS* BOISS. (RANUNCULACEAE)
BİTKİSİ ÜZERİNDE FARMAKOĞNOZİK
ARAŞTIRMALAR**

Ecz. Sibel SİLAHTAROĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gamze KÖKDİL

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP-SBE-EMB (SS) 2008-6 YL nolu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No:

MERSİN-2009

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalı Farmakognozi Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan '*Nigella stellaris* Boiss. (Ranunculaceae) Bitkisi Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar' adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez savunma tarihi: 20.07.2009

Prof. Dr. Gamze Kökdil
Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmakognozi Anabilim Dalı
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Serpil Ünyayar
Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü
Jüri Üyesi

Yard. Doç. Dr. Ahmet İlçim
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
Jüri Üyesi

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulununtarihli vesayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Zülfî SİLAHTAROĞLU ve Emine SİLAHTAROĞLU... Canım babam ve canım annem her şeyden önce bu tezi size ithaf ediyorum... Gözümü açtığımından bu yana her zaman her konuda sonuna kadar yanımda hissettiğim, bugünlere gelebilmemin en büyük destekçileri olan sizlere ne söylesem hakkınızı ödeyebilirim ki... Umarım bu emeklerinize layık olabiliyorumdur...Çok teşekkür ederim herşey için...

Sayın hocam Prof. Dr. Gamze Kökdil... Üniversite hayatına başladığım ilk dönemden itibaren düşüncelerimin hiçbir zaman değişmediğini gördüm. Sizin gibi değerli bir hocanın öğrencisi olmanın gururunu her zaman hissettim. Hocalık vasıflarının yanı sıra sahip olduğunuz insani değerlerinizle yanımda olduğunuzu her zaman hissettirdiniz gerek söyledikleriniz gerek yaptıklarınızla... Her bağlamda yaşamımda çok önemli bir yere sahip oldunuz hem duruşunuz hem de hayat görüşerinizle...Bu açıdan size büyük bir teşekkür borçluyum. Lisans döneminde olduğu kadar lisans üstü dönemde de çalışmalarımında hiçbir desteğini esirgemeyen, tezin eksiksiz ortaya çıkmasında bütün bilgi birikim ve deneyimini bizlerle paylaşan hocam sonsuz, sonsuz teşekkürler...

Çalışma materyalimin lokalitesinin tespiti, toplanması ve teşhisinde değerli yardımlarını gördüğüm Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. Ahmet İLÇİM'e (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın bir kısmını oluşturan E vitamini ve fenolik bileşikler ile ilgili HPLC analizlerinin yapılmasında yardımcı olan Hamide Şenyuva ve Dilek Çimen'e (Tübitak Ankara Test ve Analiz Laboratuvarı) ve mineral madde analizlerinde yardımcı olan Deniz Yurtsever Sarıca'ya (Tübitak Ankara Test ve Analiz Laboratuvarı) teşekkürler.

Tez çalışmalarımız sırasında elde ettiğimiz bulguların istatistiksel değerlendirmelerinde yol gösteren Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Araş. Gör. İlder Helvacı'ya yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Antioksidan etki çalışmalarımızı gerçekleştirmemiz sırasında laboratuvar imkanlarından yararlanmamızı sağlayan Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Serap Yalın ve Araş. Gör. Mehmet Berköz'e teşekkürler...

Yüksek lisans döneminin bana en büyük kazanımlarından biri de sensindir, senin o güzel arkadaşlığın ve dostluğundur. Selma URAS'ım benim... Tanıştığımız ilk zamanlardan bu yana birbirimize her konuda destek olduk, beraber güldük, beraber ağladık. Düşünüyorum da her sıkıntıda sen varmışsın yanımda. Her sevincimi de seninle paylaşmışım. İyi günde kötü günde yani... Dostluğumuzun bir ömür boyu sürmesi dileğiyle...Yaptığım her şey için çok ama çok teşekkürler...

Okulda bulunduğum süre içinde eczanede bulunamadığım dönemler yokluğumu hissettirmeyen, bana bu konuda olduğu gibi stresimi, sıkıntımı atmamda da çok büyük desteği olan ablam Yasemin SİLAHTAROĞLU'na çok teşekkürler...

Bitkilerimi topladığım dönemde beni yalnız bırakmayan abim Sıraç SİLAHTAROĞLU'na teşekkürler...

Eczane çalışanlarıma... Benim yokluğumda iş yükümü sırtladığınız ve bana bu bağlamda çok büyük destek olduğunuz için teşekkürler...

Ders aralarında bizi sürekli besleyen, moral veren ve atasözleri konusunda beni çok geliştirdiğine inandığım Sultan URAS teyzeme ve eşi A. Cengiz URAS'a da çok teşekkür ederim..

Tez çalışmamızın sonlarına doğru arkadaşlığımı keşfettiğim ve bizi sürekli ziyaret eden, laboratuvarın bir köşesinin okul kantini haline gelmesinde bizlere büyük destek olan Altu GÜNGÖR'e teşekkürler..

Keşke tez hazırlamaya yardımcı olma konusundaki yeteneklerinizi daha önce keşfetseymişim..Şimdiye kadar nasıl da farketmemişim.. Canım kuzenlerim Zeynep ve Sultan İSLAMOĞLU..Çok teşekkür ederim sizlere..

Bu araştırmanın gerçekleşmesi için destek sağlayan Mersin Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1 Botanik Bilgiler	3
2.1.1 Ranunculaceae Familyası	3
2.1.2 <i>Nigella</i> L. Cinsi	3
2.1.3 <i>N. stellaris</i> Boiss.	5
2.2 <i>Nigella</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Araştırmalar	7
2.2.1 Sabit Yağ	7
2.2.2 Protein ve Aminoasitler	10
2.2.3 Lipaz	10
2.2.4 Uçucu Yağ	12
2.2.5 Saponozitler	18
2.2.6. Steroller	20
2.2.7 Fenolik Bileşikler	21
2.2.8 Alkaloitler	24
2.2.9 Vitaminler	27
2.2.10 İnorganik Maddeler	28
2.2.11 Diğer Bileşikler	29
2.3 <i>Nigella</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları	30
2.3.1 <i>N. sativa</i> Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları	30

2.3.1.1 Antiallerjik Etki	30
2.3.1.2 Antimikrobiyal Etki	31
2.3.1.3 Antiparazitik Etki	34
2.3.1.4 Antidiyabetik Etki	34
2.3.1.5 Antienflamatuar ve Antinositif Etki	37
2.3.1.6 İmmun Sistem Üzerine Etki	39
2.3.1.7 Antitümör Etki	40
2.3.1.8 Kardiyovasküler Sistem ve Kan Üzerine Etki	42
2.3.1.9 Gastrointestinal Sistem Üzerine Etki	44
2.3.1.10 Antihepatik ve Nefrotoksik Etki	44
2.3.1.11 Antioksidan Etki	45
2.3.1.12 Sinir Sistemi Üzerine Etki	47
2.3.2 <i>N. damascena</i> L. Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları	48
2.3.2.1 Östrojenik Etki	48
2.3.2.2 Antimikrobiyal ve Mollusidal Etki	48
2.3.2.3 Antileishmanial Etki	49
2.3.3 Diğer <i>Nigella</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları	49
2.3.3.1 Antimikrobiyal Etki	49
2.3.3.2 Kan Biyokimyası ve Oksidan/Antioksidan Denge Üzerine Etkiler... ..	49
3. MATERYAL VE YÖNTEM	51
3.1 Materyal	51
3.2 Yöntem	51
3.2.1 Kullanılan Kimyasallar	51
3.2.2 Kullanılan Cihazlar	52
3.2.3 Ekstraksiyon İşlemler	52
3.2.3.1 Sabit Yağ Elde Edilişi ve Yağ Asidi Metil Esteri Hazırlanması ..	52
3.2.3.2 Uçucu Yağ Elde Edilişi.....	53
3.2.3.3 Timol ve Timokinon Analizleri İçin Yapılan Ekstraksiyon İşlemi ...	53
3.2.3.4 Fenolik Bileşiklerin Analizi İçin Yapılan Ekstraksiyon işlemi	53
3.2.4 GC-MS Analizi	54
3.2.4.1 Sabit Yağın GC-MS Analizi	54
3.2.4.2 Uçucu Yağın GC-MS Analizi	55

3.2.5 Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Yapılan Analizler	56
3.2.5.1 Timol ve Timokinon Analizi	56
3.2.5.2 Fenolik Bileşikler Analizi	56
3.2.5.3 Tokoferol Profili Analizi	57
3.2.6 Mineral Maddeler Analizi	57
3.3 Antioksidan Etki Tayini (DPPH' Yöntemi ile)	57
4. BULGULAR	59
4.1 GC-MS Analizlerine Ait Bulgular	59
4.1.1 Sabit Yağ Analizine Ait Bulgular	59
4.1.2. Uçucu Yağ Analizine Ait Bulgular	61
4.2 Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Analizlerine Ait Bulgular	63
4.2.1 Timol ve Timokinon Analizine Ait Bulgular	63
4.2.2 Fenolik Bileşiklerin Analizlerine Ait Bulgular	65
4.2.3 Tokoferol Profili Analizine Ait Bulgular	75
4.3 Mineral Maddeler Analizine Ait Bulgular	81
4.4 Antioksidan Etkinin DPPH' Yöntemi ile Araştırılmasına Ait Bulgular	81
5. TARTIŞMA	85
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	90
7. KAYNAKLAR	92
8. ÖZGEÇMİŞ	104

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1 <i>N. sativa</i> tohum uçucu yağında bulunan timokinon ve timol formülleri	13
Şekil 2. 2 <i>N. glandulifera</i> 'da bulunan triterpen saponinler	19
Şekil 2. 3 <i>N. damascena</i> 'da bulunan triterpen glikozitler	19
Şekil 2. 4 <i>Nigella</i> türlerinde bulunan bazı fenolik bileşikler	23
Şekil 2. 5 <i>N. damascena</i> tohumunda bulunan damassenin formülü	24
Şekil 2. 6 <i>N. sativa</i> tohumundan izole edilmiş bazı alkaloidler	26
Şekil 2. 7 <i>N. sativa</i> tohumlarında bulunan tokoferollere ait formüller	28
Şekil 4. 1 <i>N. stellaris</i> tohum sabit yağının yağ asidi bileşimine ait total iyon kromatogramı (DB-Wax kolonunda)	60
Şekil 4. 2 <i>N. stellaris</i> uçucu yağının total iyon kromatogramı (DB-23 kolonunda)...	62
Şekil 4. 3 Timokinon ve timol standartlarına ait HPLC kromatogramı.....	63
Şekil 4. 4 Timokinonun kalibrasyon eğrisi	64
Şekil 4. 5 Timolün kalibrasyon eğrisi	64
Şekil 4. 6 <i>N. stellaris</i> tohum metanollü ekstresinin timokinon ve timol analizine ait kromatogramı.....	65
Şekil 4. 7 Fenolik bileşik standartlarına ait HPLC kromatogramı.....	66
Şekil 4. 8 Gallik asitin kalibrasyon eğrisi	67
Şekil 4. 9 3,4-Dihidroksi benzoik asitin kalibrasyon eğrisi	67
Şekil 4. 10 Klorojenik asitin kalibrasyon eğrisi	67
Şekil 4. 11 (+)-Kateşinin kalibrasyon eğrisi	67
Şekil 4. 12 Vanilik asitin kalibrasyon eğrisi	68
Şekil 4. 13 (-)-Epikateşinin kalibrasyon eğrisi	68
Şekil 4. 14 <i>p</i> -Kumarik asitin kalibrasyon eğrisi	68
Şekil 4. 15 Ferulik asitin kalibrasyon eğrisi	68
Şekil 4. 16 Trans-2-hidroksisinnamik asitin kalibrasyon eğrisi	69
Şekil 4. 17 Trans-sinnamik asitin kalibrasyon eğrisi	69
Şekil 4. 18 Apigeninin kalibrasyon eğrisi	69
Şekil 4. 19 Kersetinin kalibrasyon eğrisi	69

Şekil 4. 20 <i>N. stellaris</i> tohum metanollü ekstresinin HPLC kromatogramı.....	70
Şekil 4. 21 <i>N. stellaris</i> toprak üstü metanol ekstresinin (Soxhlet ekstraksiyonu) HPLC kromatogramı	71
Şekil 4. 22 <i>N. stellaris</i> toprak üstü metanol ekstresinin (40°C’de hazırlanan) HPLC kromatogramı	72
Şekil 4. 23 <i>N. stellaris</i> kök metanol ekstresinin (Soxhlet ekstraksiyonu) HPLC kromatogramı	73
Şekil 4. 24 <i>N. stellaris</i> kök metanol ekstresinin (40°C’de hazırlanan) HPLC kromatogramı	74
Şekil 4. 25 Tokoferol standartlarının HPLC kromatogramı	76
Şekil 4. 26 β-tokoferolün HPLC kromatogramı	76
Şekil 4. 27 α-tokoferol asetatın kalibrasyon eğrisi	77
Şekil 4. 28 α-tokoferolün kalibrasyon eğrisi	77
Şekil 4. 29 β-tokoferolün kalibrasyon eğrisi	78
Şekil 4. 30 γ-tokoferolün kalibrasyon eğrisi	78
Şekil 4. 31 δ-tokoferolün kalibrasyon eğrisi	79
Şekil 4. 32 <i>N. stellaris</i> hekzan ekstresinin tokoferol analizine ait HPLC kromatogramı.....	79
Şekil 4. 33 <i>N. stellaris</i> hekzan ekstresi β-tokoferol analizi HPLC kromatogramı...80	

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2. 1 <i>Nigella</i> türleri tohum yağlarının ana yağ asidi bileşenleri (%)	9
Tablo 2. 2 <i>N. sativa</i> tohum yağlarında bulunmuş timokinon ve timol değerleri	13
Tablo 2. 3 <i>Nigella</i> türleri uçucu yağlarında bulunan bileşenler (%)	15
Tablo 2. 4 <i>Nigella</i> türlerinde bulunan fenolik bileşikler	22
Tablo 2. 5 <i>Nigella</i> türlerinden izole edilmiş alkaloidler	25
Tablo 4. 1 <i>N. stellaris</i> tohumlarından elde edilen sabit yağın yağ asidi bileşimi	59
Tablo 4. 2 <i>N. stellaris</i> uçucu yağı bileşenleri ve % miktarları	61
Tablo 4. 3 <i>N. stellaris</i> tohum, toprak üstü ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstrelerine ait verimler	66
Tablo 4. 4 <i>N. stellaris</i> tohumundan Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları	70
Tablo 4. 5 <i>N. stellaris</i> toprak üstü kısmından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları	71
Tablo 4. 6 <i>N. stellaris</i> toprak üstü kısmının 40°C’de tüketilmesi sonucu elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları	72
Tablo 4. 7 <i>N. stellaris</i> köklerinden Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları	73
Tablo 4. 8 <i>N. stellaris</i> köklerinin 40°C’de tüketilmesi sonucu elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları	75
Tablo 4. 9 <i>N. stellaris</i> heksan ekstresinin tokoferol profili	80
Tablo 4. 10 <i>N. stellaris</i> tohumlarında bulunan mineraller ve miktarları	81
Tablo 4. 11 <i>N. stellaris</i> metanol ekstrelerinin ve BHT’nin DPPH’ süpürücü etki tayininde saptanan absorbans değerleri (3 Ortalama± SS) ..	82
Tablo 4. 12 <i>N. stellaris</i> metanol ekstrelerinin DPPH’ süpürücü etkileri (% inhibisyon olarak)	83

ÖZET

Silahtaroglu S. *Nigella stellaris* Boiss. (Ranunculaceae) Bitkisi Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar.

Bu çalışmanın amacı *N. stellaris* bitkisinin farklı kısımlarını fitokimyasal açıdan araştırmak ve antioksidan aktivitelerini değerlendirmektir. Bu çalışmada *N. stellaris* tohumlarının sabit yağının yağ asidi bileşimi GC ve GC-MS ile belirlenmiştir. Yağda altı yağ asidi (%85.60) saptanmıştır. Ana yağ asitleri linoleik (%50.02), oleik (%18.63) ve palmitik asittir (%10.73). *N. stellaris* tohumlarından hidrodistilasyon yöntemiyle %0.5 verimle uçucu yağ elde edilmiştir. GC ve GC-MS analizleri seskiterpenlerin baskın olduğu on bileşenin varlığını göstermiştir. Metil farnesoat (%38.16) ve bisiklogermakren (%19.44) ana bileşenlerdir. *N. stellaris* tohumlarında timol ve timokinon seviyeleri de RP-HPLC ile belirlenmiştir. Ekstrede timokinon miktarı 18.5 µg/ml olarak saptanmıştır. *N. stellaris*'in tohum, toprak üstü ve köklerinin metanollü ekstreleri HPLC ile fenolik bileşimleri açısından analiz edilmiştir. Tohum ekstresinde ana bileşen *p*-kumarik asit iken toprak üstü kısmın ekstrelerinde kersetin ana bileşen olarak belirlenmiştir. Kök ekstrelerindeki ana bileşenler trans-2-hidroksisinnamik asit ve (-)-epikateşindir. *N. stellaris* tohum hekzan ekstresinin tokoferol profili HPLC ile araştırılmıştır. α -tokoferol ana bileşendir. *N. stellaris* tohumlarının mineral analizi on üç mineral içerdiğini göstermiştir. Kalsiyum, fosfor, potasyum ve magnezyum ana elementlerdir. Metanollü ekstreleri DPPH' (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yöntemi ile radikal süpürücü etkileri için araştırılmıştır. Toprak üstü ekstresi diğer ekstrelerden daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Nigella stellaris* Boiss., sabit yağ, uçucu yağ, timol ve timokinon, tokoferol profili, mineraller, fenolik bileşenler, GC ve GC-MS, HPLC

ABSTRACT

Silahtaroglu S. Pharmacognostical Studies on *Nigella stellaris* Boiss. (Ranunculaceae).

The aim of this study was to investigate different parts of *N. stellaris* phytochemically and was to evaluate their antioxidant activity. In this study, the fatty acid composition of fixed oil of *N. stellaris* seeds were determined by GC and GC-MS. Six fatty acids (85.60 %) have been identified in the oil. The main fatty acids were linoleic (50.02%), oleic (18.63%) and palmitic (10.73%) acids. The essential oil of *N. stellaris* seeds was obtained by hydrodistillation, yielding 0.5% of oil. The GC and GC-MS analysis showed the presence of ten components, predominantly sesquiterpenes. The major constituents were methyl farnesoate (38.16 %) and bicyclogermacren (19.44 %). Thymol and thymoquinone of *N. stellaris* seeds were also determined by RP-HPLC. The level of thymoquinone was 18.5µg/ml in the extract .

Methanolic extracts from seeds, aerial parts and roots of *N. stellaris* were analysed for their phenolic composition by HPLC. While *p*-coumaric acid was the main constituents of the seed extract, quercetin was determined as the major compound in the extracts of aerial parts. Trans-2-hydroxycinnamic acid and (-)-epicatechine were the main constituents of the root extracts. Tocopherol profile was investigated in the hexane extract of *N. stellaris* seeds by HPLC. α -tocopherol was the main constituent. Mineral analysis of *N. stellaris* seeds showed that the seeds contained thirteen minerals. Calcium, phosphorus, potassium and magnesium were determined as major elements. The methanolic extracts were tested for their radical scavenging activity by DPPH[·] (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) test. The aerial parts exhibited higher antioxidant activity than the other extracts.

Keyword: *Nigella stellaris* Boiss., fixed oil, essential oil, thymol and thymoquinone, tocopherol profile, minerals, phenolic composition, GC and GC-MS, HPLC

1. GİRİŞ

Nigella L. cinsi Ranunculaceae familyasına ait bir cins olup dünyada 20 türle temsil edilmektedir. Bu cinse ait türler Doğu Akdeniz ülkeleri, Doğu ve Güney Avrupa, Kuzey Afrika, Hindistan ve Türkiye’de yetişmektedir (1, 2). *Nigella* cinsi Türkiye’de 15 tür ile temsil edilmekte olup *N. lancifolia*, *N. arvensis* subsp. *brevifolia* var. *anatolica*, *N. arvensis* subsp. *brevifolia* var. *oblanseolata*, *N. icarica* ve *N. turcica* endemik taksonlardır (3-5).

Bazı *Nigella* türlerinin (*N. sativa*, *N. damascena* ve *N. arvensis*) tohumlarının geleneksel kullanıma sahip olduğu bilinmektedir (2, 6-9). Dünyada çok tanınan ve kullanılan türlerden biri olan *N. sativa*, İngilizce ismi ile “black cumin” ya da “black caraway” Dioscorides, Plinus ve İbn-i Sina tarafından da şifalı bitki olarak bildirilmiş ve 2000 yılı aşkın bir süredir Orta Doğu ve Uzak Doğu’da geleneksel olarak kullanılmaktadır. Hz. Muhammed tarafından tohumun ölüm dışında bütün hastalıklara iyi geldiğinin ifade edilmiş olması bitkinin Müslümanlar için kutsal sayılmasına neden olmuş ve tohumlar özellikle Orta Doğu’da baharat olarak ve tıbbi amaçla çok fazla kullanılmıştır (10, 11). Geleneksel tıpta diüretik, diyaforetik, stomaşik, karaciğer kuvvetlendirici ve dijestif olarak kullanılmış ayrıca migren, lepra, cilt ülserleri, alopesi, egzema, çil, sivilce ve sedef gibi rahatsızlıkların tedavisinde yararlanılmıştır (11-13). *N. sativa*’nın bu yaygın kullanımı bitkinin geniş ölçüde kültürünün yapılmasına neden olmuştur (2, 6).

Literatür incelendiğinde günümüze dek yapılmış bilimsel araştırmaların özellikle *N. sativa* türü üzerinde olduğu görülmektedir. Bunu *N. damascena* ve diğer bazı *Nigella* türleri üzerinde yapılmış çalışmalar takip etmiştir. Araştırmalarda *Nigella* cinsine ait türlerin sabit yağ, proteinler, aminoasitler, lipaz, uçucu yağ, saponozitler, steroller, fenolik bileşikler, alkaloidler, vitaminler ve çeşitli mineraller gibi metabolitleri içerdikleri tespit edilmiştir (1, 2, 11, 13-15).

Biyolojik aktivite çalışmaları da en fazla *N. sativa* türü üzerinde yapılmış antiallerjik, antimikrobiyal, antiparazitik, antidiyabetik, antiinflamatuvar ve antinosiseptif, immün sistem, antitümör, kalp-damar ve gastrointestinal sistem üzerine etki, antihepatito ve

nefrotoksik etki, antioksidan ve sinir sistemi üzerine etkileri çeşitli araştırmalarla saptanmıştır (11, 13, 15-32). Ayrıca *N. damascena*'nın östrojenik, antimikrobiyal ve mollusisidal, antileishmanial aktiviteleri araştırılmışken bazı *Nigella* türlerinin ise antimikrobiyal, kan biyokimyası ve oksidan/antioksidan denge üzerine etkileri araştırılmıştır (30, 33-38) Kimyasal bileşim-aktivite ilişkisi açısından literatür verileri incelendiğinde ise yine *N. sativa* türünde yapılmış araştırmalarda uçucu yağda bulunan timokinon isimli bileşiğin birçok aktiviteden sorumlu tutulduğu görölmektedir ve bu saf bileşik ile de çeşitli biyoaktivite çalışmaları yapılmıştır. Timokinonun antioksidan, antineoplastik, antienflamatuar etkileri olduğu kadar apoptozis ve immün sistem üzerine de etkili olduğu yapılan araştırmalar ile saptanmıştır (11, 13, 15, 16, 39).

Yukarıda sözü edilen gerek fitokimyasal gerekse biyoaktivite çalışmalarının, *N. sativa*, *N. damascena* ve diğer birkaç tür ile sınırlı kalmış olması bu cinse ait diğer türler üzerinde de detaylı araştırmaların yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu tez çalışmasının konusunu oluşturan *N. stellaris* Boiss. türü dar bir yayılış alanına sahip olan řu ana kadar araştırılmamış bir türdür. Çalışmamızda bitkinin tohum, toprak üstü ve köklerinin fitokimyasal açıdan detaylı olarak incelenmesi planlanmıştır. Tohumların diğer *Nigella* türlerinde olduğu gibi sabit ve uçucu yağ içerip içermediği, varsa bunların bileşimlerinin saptanması, tokoferol profili ve mineral içeriğinin belirlenmesi, tohumların gıda olarak değerli olup olmadığını, tıbbi amaçla kullanılıp kullanılamayacağını ortaya koyacaktır. *N. stellaris* tohumlarının hem uçucu yağında hem de metanol ekstresinde timokinon isimli bileşiğin bulunup bulunmadığının tespiti de amaçlanmış olup sonuçta literatürde birçok aktiviteden sorumlu olduğu belirtilen bu bileşik için bitkinin kaynak olup olamayacağı da belirlenmiş olacaktır. *N. stellaris* tohum, toprak üstü ve köklerinin fenolik bileşenlerinin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi ve radikal süpürücü etkilerinin tayin edilmesi de amaçlanmıştır. Sonuçlar bitkinin tüm kısımlarının fenolik bileşen profilinin çıkarılmasını sağlayacak, radikal süpürücü etkisinin belirlenmesi ile *N. stellaris* türünün antioksidan etki açısından değerini ortaya koyabilecek ve bitkinin daha ileriki araştırmalarda değerlendirilebilmesini sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİ

2. 1. BOTANİK BİLGİLER

2. 1. 1 Ranunculaceae Familyası

Ranunculaceae Familyası;

- Spermatophyta Bölümü
- Angiospermae Alt Bölümü
- Dicotyledones Sınıfı
- Dialypetalae Alt Sınıfı
- Ranales Takımı'nda yer alan familyalardan biridir (40, 41).

Dünya genelinde 59 cins ve 1900 türe sahip, Kuzey Yarıkürenin ılıman ve soğuk yörelerinde yetişen bir veya çok yıllık, çoğu otsu, bazıları çalı formunda veya tırmanıcı bitkilerdir (40).

Yapraklar alternan dizilişli, bazen oppozittir veya hepsi tabanda toplanmış, lamina tam, az veya çok parçalı, pennat veya palmat damarlıdır. Çiçekler hermafrodit, hipogin, aktinomorfik veya zigomorfiktir, parçaları asiklik dizilişlidir. Periant ya kaliks-korolla şeklinde ayrılmıştır ya da kaliks petaloittir, üyeleri serbesttir. Çoğunlukla nektaryum görülür. Stamenler çok sayıda, spiral dizilimli, sentripetal, anterler dışa doğrudur. Ovaryum 1 veya çok karpelli ve apokarp, nadiren sinkarp veya tek karpellidir. Folikül, nuks, kapsül, bakka gibi değişik meyva tiplerine rastlanır (40, 41).

2. 1. 2 *Nigella* L. Cinsi

Bir yıllık, yapraklar 1-3 pinnatisekt, üsttekiler bazen trisekt veya tam. Çiçekler yapraklardan oluşan bir involukrum taşır veya çıplak. Periant iki sıralı; sepaller 5, sıklıkla petaloit, meyvada düşücü; petaller 5-10, saplı, nektar taşır, 2 dudaklı, dudak 2 loblu veya ikiye yarık. Foliküller kısmen veya tamamen kapsül oluşturacak şekilde birleşmiş; stiluslar kalıcı, uzun veya kısa (3).

Türkiye’de, *Nigella L.* cinsinin 15 türü yetişmektedir (3-5). *Nigella L.* cinsine ait tayin anahtarı aşağıda verilmiştir (3).

1. Olgun karpeller 2-14, eksene bakan dikiş boyunca açılır; stilus uzun, açılmayan; sepaller petaloit, genellikle petallerden uzun
 2. Karpeller tepede birleşmiş; sepaller mavimsi
 3. Çiçekler involukrumlu değil; kapsüller şişkin **8. *sativa***
 3. Çiçekler involukrumlu; kapsüller düz
 4. Petallerin alt dudak lobları kuneat ve yuvarlak; kapsüller zarımsı, şişkin **9. *damascena***
 4. Petallerin alt dudak lobları şeritsi ek yapılar meydana getirmiş; kapsüller sert, hemen hemen şişkin **10. *elata***
 2. Karpeller tepede birleşmemiş; sepaller sarımsı,mavimsi, grimsi veya kirli beyaz
 5. Foliküller kuvvetlice yassılmış, 2-14; tohumlar disk şeklinde, sepaller sarımsı
 6. Petallerin alt dudağı kısa ikiye yarık; foliküller genellikle stiluslardan biraz daha uzun **1. *orientalis***
 6. Petallerin alt dudağı 2 uzun ipliksi ek yapı taşır; foliküller genellikle stilus’un 1.5-2 katı
 7. Çiçekler ve meyvalar zayıf involukrumlu; yaprak uç parçası linear, 1-2 mm genişliğinde; sepaller oblong, nadiren incelmış kısmı **2. *oxypetala***
 7. Çiçekler ve meyvalar çıplak; yaprak uç kısmı oblong-lanseolat, 2-6 mm genişlikte; sepaller genişçe ovat-eliptik; kısa incelmış kısmı **3. *latisecta***
 5. Foliküller nadiren yassı veya değil, genellikle 5 tane; tohum üçyüzlü, sepaller mavimsi, grimsi veya kirli beyaz
 8. Stilus, düz foliküllerin üçte biri veya yarısı kadar; sepaller eliptik, tedrici olarak daralmış; anterler koyu menekşe **4. *segetalis***
 8. Stilus hemen hemen foliküller kadar veya daha uzun; sepaller ovat-orbikulat; laminanın en az yarısı kadar aniden daralmış; anterler sarımsı veya menekşe
 9. Stiluslar foliküllerden biraz uzun veya biraz kısa, dik veya ayrık; folikül alt yüzü üç damarlı; anterler bariz bir şekilde mukronat, sarımsı **5. *arvensis***
 9. Stiluslar foliküllerden çok daha uzun, yatay olarak yayılarak sert bir yıldız şeklini almış; folikül alt yüzü bir damarlı, anterler hemen hemen mukronat
 10. Anterler menekşe; petallerin üst dudağı mukronat; stiluslar meyvede yaklaşık 15 mm **7. *fumarifolia***
 10. Anterler sarımsı; petallerin üst dudağı akuminat-aristat; stiluslar meyvede 22-40 mm **6. *stellaris***
 1. Olgun karpeller 2-3 tane, her iki dikiş boyunca açılır; stiluslar çok kısa (1mm); iki parçaya açılır; sepaller hemen hemen petaloid, petallerden daha kısa
 11. Petaller sepallerin iki katı, petalin ince kısmı uzamamış; petal alt dudağı oblong tabanda daralmış; iki oblong-linear loba ayrılmış **11. *nigellastrum***
 11. Petaller sepallerin 3-4 katı; petalin ince kısmı çok uzamış; petalin alt dudağı genişçe ovat, tabanda kordat, ikiye yarık **12. *unguicularis***
- Flora of Turkey Volume 10’da (4) yer alan türler; 2a *N. lancifolia* ve 5a *N. icarica*’dır. Yeni bulunan tür ise 8a *N. turcica*’dır (5).

2. 1. 3 *N. stellaris* Boiss. (3)

Bitki genişçe dallanmış, 5-20 cm uzunluğunda, donuk mavimsi yeşil. Yaprak parçaları kılsı. Çiçekler involukrumlu. Sepaller lavanta mavisi, ovat-orbikular, genişliğin yarısı kadar incelmış kısımlı, aniden daralmış. Petal üst dudağı akuminat-aristat, alt dudak aniden şeritsi-çomaksı boynuz şeklinde daralmış. Foliküller akut omurgalı, yoğun siğilli, kısa, eksenden uzak olan yüzü bir damarlı; stiluslar birleşik foliküllerden 3-5 kat daha uzun, 22-40 mm, yatay olarak yayılarak sert bir yıldız şekli almış. Çiçeklenme 4-7, tarla kenarları, 1-600 m.

Tip: [Türkiye **C6** Hatay], Yayladağı, vi 1846, *Boissier* (K!)

Yayılış. Kilikya, Anti-Toros, Amanos, **C5** İçel; Tarsus çevresi, *Bal.* Seyhan: Feke, 600 m, D. 19648! **C6** Hatay: Kasab, 40 m, 10 v 1945, Norsis! Seyhan: Osmaniye, 110 m, *Balls* 1192! **C6** Kahraman Maraş: Avşar Köyü civarları, tarla kenarları, terk edilmiş sahalar, 550-600 m, 13 vi 2008.

Lazkiye. Doğu Akdeniz elementi. *N. fumarifolia* ile yakından akraba



N. stellaris Boiss.



N. stellaris Boiss.

2.2 *Nigella* Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Araştırmalar

2.2.1 Sabit Yağ

Nigella türleri tohumlarının sabit yağı ile ilgili ilk araştırmalar genellikle çok tanınan, kullanılan ve büyük ölçüde kültüre alınan *N. sativa* türü üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmalar öncelikle yağın ekstraksiyonu, yağ verimi, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi şeklinde olmuştur. Ayrıca gaz kromatografik analizlerle de yağ bileşimleri araştırılmıştır. Literatür incelendiğinde bu konuda ayrıntılı araştırmaların çok farklı ülke kaynaklı *N. sativa* türü üzerinde gerçekleştiği görülmekle birlikte yağ bileşimi açısından ortak özelliğin *N. sativa* tohum yağlarında doymamış yağ asitlerinin ana bileşen olmasıdır. Kantitatif olarak bazı farklılıklar görülse de linoleik asit ana doymamış yağ asidi olup bunu oleik ve eikosadienoik asitler izlemektedir. Doymuş yağ asidi olarak başlıca palmitik asitin bulunduğu ve stearik asitin de diğer önemli doymuş yağ asidi olduğu araştırmalarla saptanmıştır (Tablo 2.1). Bunların dışında araşidik, behenik, lignoserik ve erusik asitler açısından kalitatif farklılıklar bulunmakta ve bu yağ asitlerinin yağda bulunsalar da miktarlarının genellikle çok düşük olduğu dikkati çekmektedir. Bu nedenle adı geçen yağ asitleri Tablo 2. 1'e dahil edilmemiştir. (2, 8, 14, 20, 42-52).

N. sativa dışında sabit yağ açısından incelenen türler öncelikle *N. damascena* ve *N. arvensis* olmuştur. Aitzetmüller ve Werner (43) *N. sativa*, *N. damascena* ve *N. arvensis* yağları ile yaptıkları araştırmada her üç türün de ana yağ asidi olarak linoleik asit taşıdığını ve bunu oleik asitin izlediğini belirlemişlerdir. Eikosadienoik asit miktarının bu çalışmada 3.6-4.5 arasında; eikosenoik asit miktarının ise 0.6-0.7 arasında olduğu saptanmıştır.

Akçasu ve Kavalalı (51) *N. damascena* tohum yağında linoleik asit (%45.75), oleik asit (%33.28) ve eikosadienoik asit (%4.85)'leri başlıca doymamış yağ asitleri olarak belirlemişlerdir.

N. damascena tohum sabit yağının basınç uygulanarak, CO₂ ekstraksiyonu veya Soxhlet ekstraksiyonu gibi yöntemlerle elde edildiği ve verimlerin karşılaştırıldığı bir araştırma Douksas ve arkadaşları (8) tarafından yapılmıştır. Sonuçta en yüksek verimler Soxhlet ve CO₂ ekstraksiyonu yöntemlerinde bulunmuş ancak yağ asidi bileşimlerinin farklı olduğu saptanmıştır. Yağ asidi bileşenleri açısından Soxhlet ekstraksiyonu ve basınçla

yapılan ekstraksiyon ile elde edilen yağlar benzerlik göstermektedir. Ancak tüm yöntemlerde de linoleik asit (%43.71-50.83) ve oleik asit (%14.87-23.65) başlıca doymamış yağ asitlerini oluşturmaktadır. Doymuş yağ asitlerinde ise stearik asit (%15.07-23.24) ana yağ asididir (Tablo 2. 1).

N. sativa, *N. damascena* ve *N. arvensis* dışında diğer *Nigella* türlerinin sabit yağlarının incelendiği 2005 yılında yapılmış bir araştırmada ise Türkiye kaynaklı 10 *Nigella* türünün (*N. orientalis* L., *N. oxypetala* L., *N. latisecta* P.H. Davis, *N. segetalis* Bieb., *N. arvensis* L., *N. damascena* L., *N. elata* Boiss., *N. nigellastrum* (L.) Wilk., *N. unguicularis* (Lam.) Spenner ve *N. lancifolia* Hub.-Mor.) yağ asidi bileşenleri incelenmiş olup tüm yağlarda doymamış yağ asidi miktarlarının yüksek olduğu ve başlıca linoleik ve oleik asitlerin bulunduğu saptanmıştır. Eikosenoik asit (C_{20:1}) ise *N. nigellastrum* ve *N. unguicularis*'te yüksek (sırasıyla %23.12, %17.47) iken eikosadienoik asit (C_{20:2}) miktarının *N. nigellastrum*, *N. elata* ve *N. unguicularis* türlerinde %7'nin üzerinde, *N. damascena*, *N. latisecta*, *N. segetalis*, *N. arvensis* ve *N. lancifolia*'da %3'ün üzerinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 2.1) (50).

Tablo 2. 1 *Nigella* türleri tohum yağlarının ana yağ asidi bileşenleri (%)

Yağ asiti	<i>N. sativa</i>	<i>N. damascena</i>	<i>N. orientalis</i>	<i>N. oxypetala</i>	<i>N. latisecta</i>	<i>N. segetalis</i>	<i>N. arvensis</i>	<i>N. elata</i>	<i>N. nigellastrum</i>	<i>N. unguicularis</i>	<i>N. lancifolia</i>
Miristik	0.01-9.8	0.18-0.25	0.25	0.34	0.22	0.14	0.24	0.2	0.09	-	0.17
Palmitik	1.18-20.40	7.84-12.73	10.89	9.00	7.41	6.67	8.80-9.20	11.20	5.88	7.80	7.20
Stearik	0.03-7.70	2.09-23.24	3.12	2.47	2.75	2.67	2.81-3.20	3.29	3.38	3.13	2.94
Oleik	7.47-38.19	14.87-36.03	16.54	17.95	17.26	15.79	16.88-18.50	22.92	23.62	24.87	15.99
Linoleik	31.14-67.54	39.72-57.20	64.47	66.30	66.32	69.50	56.10-63.43	47.39	31.21	36.49	67.62
Eikosenoik	0.60-0.70	0.60-4.24	0.41	0.42	0.79	0.46	0.60-0.90	0.77	23.12	17.47	0.69
Eikosadienoik	1.7-4.5	1.88-5.24	2.59	1.86	3.47	3.25	3.17-3.60	8.39	9.40	7.17	3.48

2.2.2 Protein ve amino asitler

Nigella türlerinden olan *N. sativa* tohumlarının proteinleri ile ilgili çeşitli araştırmalar literatürde kayıtlıdır. Babayan ve arkadaşları, *N. sativa* tohumunda %21.26 protein olduğunu ve on dört aminoasitin (alanin, valin, glisin, izolösin, prolin, treonin, serin, aspartik asit, metiyonin, fenilalanin, glutamik asit, tirozin, lizin ve arjinin) varlığını saptamışlardır (14).

Bir diğer araştırmada Suudi Arabistan kaynaklı tohumların %20.85 protein içerdiği, sekizi esansiyel olan 17 aminoasitin var olduğu ve ana aminoasitler olarak arjinin, aspartik asit, lösin ve glisin varlığı saptanmışken minör aminoasitler de belirlenmiştir (42).

1993 yılında yapılan bir araştırmada da tohumların %20.2 protein taşıdığı saptanmıştır (46). Bir diğer araştırmada ise Hindistan, Suriye, Türkiye ve Ürdün kaynaklı *N. sativa* tohumları incelenmiş ve protein miktarı ortalama 216 g/kg olarak belirlenmiştir (53).

2.2.3 Lipaz

Lipazlar gliserol ester hidrolazlar olarak da adlandırılan enzimlerdir, hidroliz, sentez veya ester bağlarına etkirler ve biyoteknolojide kullanılabilirler. Lipazların üretimini etkileyen faktörler üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Fungal kültürlerin lipolitik aktivitesi, türlerin pH, inkübasyon sıcaklığı, kültür yaşı ve lipid substratının karakteri gibi kültür şartlarında üretilmiş olan suşlarına bağlıdır.

Rudyuk ve Korchagina tarafından (57) *N. damascena* tohumlarından lipazın izolasyon koşulları ve saflaştırılması üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda lipazın alkali ekstresinin muamelesinin yüksek saflık ve yüksek enzim verimi sağladığı ve Sephadex kullanılarak yapılan jel filtrasyon ile %70-80 protein içeren lipolitik fraksiyon oluşturduğu saptanmıştır.

Araştırmacılar bir diğer çalışmalarında ise *N. damascena* tohumlarının lipaz aktivitesi üzerine bazı metal iyonlarının etkisini araştırmışlardır. Tohumlardan izole edilen lipaz aktivatörlerinin Co^{+2} ve Ni^{+2} iyonları olduğunu ve 0.01-0.02 M konsantrasyonda aktivatör etki gözlemlendiğini, 0.04-0.10 M konsantrasyonda ise inhibisyon olduğunu belirlemişlerdir. Bu inhibisyon EDTA ve sodyum dietiltiyokarbamat tarafından kısmen azaltılmıştır. Ag iyonu da lipaz aktivitesini anlamlı

derecede azaltmakta iken Cu^{+2} , Mg^{+2} , Ba^{+2} , Ca^{+2} , Zn^{+2} , Fe^{+2} gibi iyonlar etki göstermemiş veya lipaz aktivitesini çok az inhibe etmiştir (55).

Araştırmacılar devam eden çalışmalarında yağ, safra asitleri ve tiyol reaktifinin *N. damascena* tohumlarının lipaz aktivitesi üzerine etkilerini araştırmışlar ve enzimin lipolitik etkisinin %0.4 konsantrasyonda serbest yağ asitleri tarafından inhibe edildiğini saptamışlardır. Lipazın inhibisyon derecesi inkübasyon karışımındaki konsantrasyon artışıyla yükselirken oleik asidin inhibitör etkisinin koleik asidin eklenmesinden sonra azaldığı belirlenmiştir. Monoiyodoasetik asit ve sodyum florür lipaz aktivitesini inhibe etmezken iyotun farklı konsantrasyonları lipaz aktivitesini güçlü bir şekilde inhibe etmiştir (56).

Saad tarafından yapılan araştırmada (57) *N. sativa* tohumlarından *Aspergillus tamarii* tarafından ekstraselüler lipaz üretimi araştırılmıştır. Üretim için en uygun şartlar; 6 günlük kültür periyodu, kültür sıcaklığı 30°C, pH 7.0 (0.1 mol/L fosfat tamponu) ve %0.15 zeytin yağı olarak saptanmıştır. Ham enzim yüksek pH'larda stabildir ancak termostabil değildir. Enzimin, bazı ticari deterjanların varlığında aktivitesinin %90'ından daha fazlasını koruduğu belirlenmiştir .

Üstün ve arkadaşları (47) *N. sativa* tohumlarında lipaz enziminin varlığının, enzimatik hidrolizle miktarı %40 ya da daha fazlasına arttırdığını saptamışlardır .

Dandik ve Aksoy (58) *N. sativa* yağının lipoliz kinetiğini 20-90°C arasında çalışmışlar ve sonuçta işlem sıcaklığındaki artışın yağ asidi oluşumunu arttırdığını, yağ asitlerinin net verimi, lipaz aktivitesi ve nem içeriğinin yüksek sıcaklıktan etkilenmedikçe arttığını ve öğütülmüş tohumlardaki lipoliz işleminin optimum sıcaklık ve su konsantrasyonunda yürütülürse yağ asidi net veriminin maksimum seviyeye ulaşabileceğini belirlemişlerdir.

1995 yılında yapılmış bir çalışmada ise *N. sativa* tohumlarındaki lipazın yağ asitleri esterifikasyonuna etkileri incelenmiştir (59).

1996 yılında yapılan bir çalışmada ise *N. sativa* tohum lipazı kullanılarak enzim ile katalizlenen yağ hidrolizi ve oleik asit asidin metanol ve gliserol ile esterifikasyonu incelenmiştir. Esterin en yüksek verimi metanol:oleik asit (1:1.5) molar oranı ve %50 preslenmiş tohum içeriği (toplam ağırlık üzerinden hesaplı) kullanılarak 45°C'de yürütülen esterifikasyon reaksiyonuyla elde edilmiştir. Gliserolün oleik asitle esterifikasyonu da incelenmiş ve oleik asidin en yüksek veriminin 45°C'de 4:1

gliserol:oleik asit molar oranı ve yağ ağırlığı üzerinden %45 preslenmiş tohum içeriği ile gerçekleştirilen reaksiyonda elde edildiği saptanmıştır. Triolein sentezleri ise 55°C 'de gerçekleştirilmiş ve toplam ağırlık üzerinden %45 preslenmiş tohum içeriği, gliserol/oleik asit (1:3) kullanılmış ve triolein verimi %81.7 olarak belirlenmiştir (60).

El ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (61) *N. sativa* tohumları ile katalizlenen ayçiçeği yağının gliserolizi araştırılmış ve en yüksek kısmi açılgliserol verimi 60°C'de elde edilmiştir.

Akova ve Üstün tarafından yapılan bir araştırmada (62) fosfat tampon solüsyonlarında (pH=5.0-8.0) 25°C'de *N. sativa* tohumlarının lipazının immobilizasyon işlemi araştırılmış ve enzimin adsorbsiyon ortamının pH'sına bağlı olarak farklı aktivite değerleri gösterdiği, pH 6'da immobilize edilen enzimlerin en yüksek aktivite değerine ulaştığı saptanmıştır.

Tüter ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda (63, 64) *N. sativa* tohum lipazı kısmi olarak saflaştırılmış ve transesterifikasyon reaksiyonlarında katalizör olarak kullanılmıştır. *Borago officinalis* L. yağının seçici hidrolizi, su ve hekzan karışımında 40°C'de *N. sativa*'nın iki lipaz preparatıyla katalizlenmiş ve amonyum sülfatla çöktürülmüş lipaz (*Nigella* PL) ve DEAE-iyon değişim kromatografisi ile kısmen saflaştırılan lipaz (*Nigella* CPL), gama linolenik aside (GLA) karşı negatif spesifite göstermiştir. *Nigella* PL'den 330 U/g yağ kullanıldığında 8 saat sonra GLA seviyesi %21.9'dan ürün karışımının TAG ve DAG fraksiyonlarında sırasıyla %29.6 ve %41.8'e yükselmiştir. *Nigella* CPL'nin 200 U/g yağ enzim konsantrasyonunda 77 saat sonra DAG fraksiyonunda maksimum GLA zenginliği elde edilmiştir.

2.2.4 Uçucu Yağ

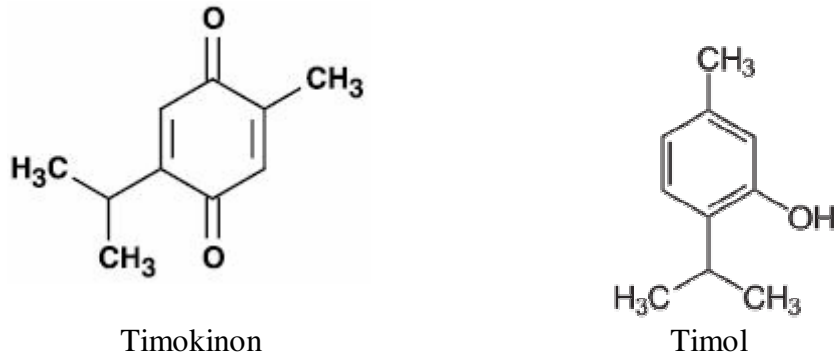
Nigella türlerinden özellikle *N. sativa* ve *N. damascena* tohumlarında uçucu yağ varlığı eski yıllardan beri bilinmektedir. Abou Basha ve arkadaşlarının bildirdiklerine göre (65) *N. sativa* uçucu yağı üzerine ilk çalışmalardan birisi El-Dakhkhny tarafından (1965) yapılmıştır ve yağdan timokinon isimli bir bileşik izole edilerek yağın %24 (a/a)'ünü oluşturduğu belirlenmişken Canonica ve arkadaşlarının (1963) saptamasına göre (65) timokinon yağdan %18.4 a/a verimle elde edilmiştir. *N. sativa* uçucu yağı ile yapılan biyoaktivite çalışmaları sonucu etkilerin birçoğu için timokinon isimli bu bileşik sorumlu tutulmuş ve araştırmalar özellikle tohum ya da uçucu yağdaki timokinon

miktarı ve tayin yöntemleri ile ilgili olmuştur. Bu araştırmalardan elde edilmiş sonuçlar Tablo 2. 2'de görülmektedir (65-70).

Tablo 2. 2 *N. sativa* tohum yağlarında bulunmuş timokinon ve timol değerleri

Timokinon	Timol	Literatür
$0.45 \times 10^3 - 2.9 \times 10^3$ nmol/ml	-	65
$0.1 \times 10^2 - 8.3 \times 10^3$ nmol/ml	-	66
5.62×10^{-2} h/h	9.12×10^{-3} h/h	67
2.09-3.02 mg/g	-	68
1274.6-3098.5 mg/kg	-	69
%12	-	70

İlk miktar tayini yöntemi için dansitometrik TLC kullanılmışken (65), takip eden yıllarda HPLC ile miktar tayini yöntemleri geliştirilmiştir ve 2003 yılında bir çalışmada basit bir palorografik yöntem ile timokinon miktar tayini yapılmıştır (66-68). Tohum metanol ekstresi kullanılarak miktar tayini yapılan tek çalışma mevcuttur, diğer araştırmaların hepsinde tohumdan elde edilen yağ kullanılmıştır. Erkan ve arkadaşları (70) ise tohum yağındaki timokinon miktarını %12 olarak HPLC analizi ile belirlemişlerdir.



Şekil 2. 1 *N. sativa* tohum uçucu yağında bulunan timokinon ve timol formülleri

Literatürde farklı kaynaklı *N. sativa* tohum uçucu yağı kullanılarak yapılmış çok sayıda araştırma mevcutken diğer türlerden *N. damascena*, *N. orientalis* ve *N. arvensis* üzerinde yapılmış birkaç araştırma olduğu dikkati çekmektedir. Bu araştırmalarda incelenmiş *Nigella* türleri uçucu yağlarında bulunan bileşenler ve % miktarları Tablo 2. 3'te görülmektedir (2, 31, 52, 71-82).

1997 yılında yapılan bir araştırmada Türkiye'de yirmi farklı bölgeden sağlanan *N. sativa* tohumları, uçucu yağ miktarları ve bileşenleri açısından karşılaştırılmıştır. Uçucu yağ veriminin %0.09–0.36 arasında olduğu saptanmıştır. Bu yağlarda α -pinen (%0.10–21.06), β -pinen (%2.00–19.00), limonen (%13.70–67.58), β -fellandren (%0.03–24.30), 1,8-sineol (%50.03–1.83), γ -terpinen (%0.11–2.46), *p*-simen (%1.77–28.46) ve terpinolen (%0.02–5.29) varlığı belirlenmiştir; limonen ve β -fellandren ana bileşenler olarak bulunmuştur (2).

Burits ve Bucar (31) yedi farklı *N. sativa* tohumundan Soxhlet ekstraksiyonu ve bunu takiben buhar distilasyonu uygulayarak uçucu yağları elde etmişlerdir. Uçucu yağlarda timokinon miktarı % 28 – 57 arasında değişmektedir. Clevenger ile elde edilen uçucu yağ miktarının % 0.18, timokinon miktarının % 3 olduğunu belirlemişlerdir. İncelenen uçucu yağların hepsinin monoterpenlerce zengin olduğu saptanmıştır.

D'Antuono ve arkadaşları (71) *N. sativa* L. ve *N. damascena* L.'nin uçucu yağ bileşimini araştırmışlar ve *N. sativa* uçucu yağında *p*-simen (%33.75) ve timol (%26.78)'u ana bileşenler olarak belirlemişlerdir. Timokinon (%3.80) oranında yer alırken β -elemen (%5.47) ve longifolen (%3.11) gibi seskiterpenler de bulunmaktadır. *N. damascena* uçucu yağında seskiterpenlerden β -elemen (%73.24) ve germakren A (%10.45) ana bileşenler olarak belirlenmiştir. Timokinon (%0.08) ve timol (%0.03) ise çok düşük oranda bulunmaktadır.

İran kaynaklı *N. sativa* tohum uçucu yağının araştırıldığı bir çalışmada uçucu yağın %86.7'sini oluşturan 32 bileşen saptanmıştır. Yağda *t*-anetol (%38.3) ve *p*-simen (%14.8) ana bileşenler olarak belirlenmiştir. Timokinon %0.6 olarak saptanmıştır (52).

Tablo 2. 3 *Nigella* türleri uçucu yağlarında bulunan bileşenler (%)

Bileşenler	<i>N. sativa</i>	<i>N. damascena</i>	<i>N. orientalis</i>	<i>N. arvensis</i>
tuyen	0.50-7.20	-	-	3.7
α -pinen	0.10-21.06	0.78	-	5.7
β -pinen	0.10-19.00	0.82	-	21.4
limonen	0.20-67.58	0.04	0.1	0.7
β -fellandren	0.01-24.30	-	-	0.2
1.8-sineol	0.02-50.0	-	-	-
γ -terpinen	0.11-12.9	-	-	4.5
p-simen	1.77-60.2	-	<0.05	0.8
terpinolen	0.01-5.29	-	-	0.2
karvon	0.30-4.40	-	-	-
karvakrol	2.12-12.9	-	-	-
karvakrol metil eter	-	-	-	26.4
4-terpineol	0.60-8.90	-	-	0.1
t-anetol	0.2- 38.3	-	-	-
longifolen	1.26-6.32	-	-	0.3
o-simen	3.26	-	-	-
α -kopaen	-	-	0.6	-
β -elemen	5.47	54.7-73.2	68.8	-
β -karyofillen	-	-	1.60	-
timokinon	1.6-57.0	0.08	-	-
timol	0.10-26.8	0.03	-	-
timohidrokinon	6.10- 12.2	0.08	-	-
timohidrokinon metil eter	-	-	-	0.9
cis-4-metoksituyan	0.3	-	-	-
trans-4-metoksituyan	0.4	-	-	-
β -selinen	0.1	2.7	4.3	-
α -selinen	-	4.8	3.3	-
germakren A	-	10.5	2.7	-
δ -kadinen	-	-	5.2	-
3-metoksi N-metil antranilat	-	12.7	-	-

N. damascena ve *N. sativa* tohum uçucu yağlarının araştırıldığı bir diğer çalışmada *N. damascena* uçucu yağında β -elemen (%54.7) ve metil-3-metoksi-N-metil-antranilat (%12.7) yüksek miktarda yer almaktadır. *N. sativa* uçucu yağında ise *p*-simen (%47.4) ve timokinon (%20.8) ana bileşenlerdir (72).

Moretti ve arkadaşları (73) *N. sativa* ve *N. damascena*'nın tohum yağlarını Likens- Nickerson su distilasyonu ile elde etmişlerdir. GC-MS ile yağ içerikleri belirlenmiş ve *N. sativa* yağının *p*-simen (%33.8) ve timol (%26.8)'ü ana bileşen olarak taşıdığını timokinon miktarının ise çok düşük olduğunu (%3.8) saptamışlardır. *N. damascena* yağı seskiterpenlerin ile karakterizedir ve seskiterpenlerin 3/4' ünü β -elemen teşkil etmiştir.

İran kaynaklı *N. sativa* tohumlarının uçucu yağının buhar distilasyonu ile elde edildiği bir çalışmada yirmi bileşen GC/MS analizi sonucu saptanmıştır. *p*-simen (%37.3) ve timokinon (%13.7) ana bileşenler olarak belirlenmiştir (74).

Singh ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (75) *N. sativa* tohum uçucu yağının 38 bileşeni saptanmıştır. Ana bileşen *p*-simen (%36.2) iken timokinon (%11.27), α -tuyen (%10.03), longifolen (%6.32), β -pinen (%3.78), α -pinen (%3.33) ve karvakrol (%2.12) diğer önemli bileşenlerdir.

Benkacı-Ali ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (76) Cezayir kaynaklı *N. sativa* tohumları mikrodalga ekstraksiyonu yöntemi ile ekstre edilerek bileşenleri saptanmıştır. Yağ başlıca *p*-simen (%53.83), α -tuyen (%11.91) ve timokinon (%17.04) içermektedir. Sabinen (%2.79), limonen (%1.88), γ -terpinen (%1.43), longifolen (%1.21), karvakrol (%0.68) ve α - longipinen (%0.36) diğer bileşenlerdir. Yağda monoteren hidrokarbonlar (%76.52) ve ketonlar (%17.31) önemli miktarda bulunmaktadır.

Benkaci-Ali ve arkadaşları bir diğer çalışmalarında (77) Sahara çölünün iki bölgesinden (Timimoun (T) ve Adrar (A) bölgelerinden) sağlanan *N. sativa* tohum uçucu yağlarını su distilasyon ve mikrodalga distilasyon yöntemleriyle elde etmişler ve bileşimlerini GC-MS yöntemi ile araştırmışlardır. Su distilasyonu yönteminde tohum uçucu yağ verimi %0.08 (T) ve %0.11 (A) olarak bulunmuş ve *p*-simen (T ve A'nın içerisinde sırasıyla %7.2, %8.9), 4-terpineol (%0.6, 8.9), timohidrokinon (%6.1, 12.2), timokinon (%1.6, 21.8), karvakrol (%12.9, 12.9), karvon (%4.4, 0.3) ve timol (%1.5, 0.7) önemli bileşenler olarak saptanmıştır. Mikrodalga distilasyonunda tohum uçucu

yağ verimi %0.11 (T) ve %0.20 (A)'dir ve *p*-simen (T ve A içerisinde sırasıyla %28.1 ve %32.0), 4-terpineol (%3.4, 2.0), timohidrokinon (%0.7, 1.1), timokinon (%10.8, 24.6), karvakrol (%3, 6) ve timol (%3, 3) önemli bileşenlerdir.

Wajs ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada (78) Polonya'da kültürü yapılan *N. sativa* tohum uçucu yağ bileşimi araştırılmıştır. *N. sativa* tohumlarında daha önce hiçbir şekilde izole edilmemiş 14 bileşen izole edilmiştir. Bunlar (*Z*) β -o-simen, (*E*) β -o-simen, *trans*-tuyan-4-ol, *cis*-4-metoksituyen, *trans*-4-metoksituyen, *cis*-krisantenil asetat, siklosativen, α -kopaen, *allo*-isolongifolen, miristisin, γ -kadinen, β -karyofillen oksit, apiol, pentadekan-2-on ve farnesal D (*cis*, *trans*)'dir. Yağın ana bileşenlerinin monoterpenler olduğu saptanmıştır. Seskiterpen ve oksijenli sırasıyla %0.7 ve 0.1 oranında bulunmaktadır. Yağın ana bileşenleri *p*-simen (% 60.2), γ -terpinen (%12.9) ve α -tuyen (%7.2)'dir. Bitkide doğal olarak bulunan iki monoterpen (*cis*- ve *trans*- 4-metoksituyen) saptanmış ve 4-metoksituyenlerin yapısı spektroskopik ve kimyasal metodlarla belirlenmiştir.

N. damascena tohumlarında seskiterpen hidrokarbonların varlığı Tillequin ve arkadaşları (79) tarafından belirtilmiştir. Sonraki yıllarda Fico ve arkadaşları tarafından (80) *N. damascena* uçucu yağı incelenmiş ve 28 bileşen belirlenmiştir. Seskiterpen hidrokarbonlar %93.8 oranında bulunmaktadır. Ayrıca çok düşük oranda iki alkaloid varlığı saptanmıştır.

N. sativa ve *N. damascena* türleri dışında diğer *Nigella* türlerinden *N. orientalis* tohum uçucu yağı Kokoska ve arkadaşları tarafından (81) incelenmiştir. Yağın % 90.8'ini oluşturan 18 bileşen belirlenmiş ve başlıca seskiterpen hidrokarbonları (% 90.3) içerdiği saptanmıştır. Ana bileşenler β -elemen (% 68.8), δ -kadinen (% 5.2), β -selinen (% 4.3) ve α -selinen (% 3.3) olarak belirlenmiştir.

Havlik ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada ise (82) % 0.42 verimle *N. arvensis* tohum uçucu yağ elde edilmiş ve bileşimi GC-MS analizi ile belirlenmiştir. Monoterpen hidrokarbonlar (% 39.8) ve oksijenli monoterpenler (% 28.9) yağın ana kısmını oluşturmaktadır. Seskiterpenlere ise daha düşük oranda (%4.6) rastlanmıştır. Ana bileşenler olarak karvakrol metil eter (% 26.4), β -pinen (% 21.4) ve α -pinen (% 5.7) belirlenmiştir.

2.2.5 Saponozitler

Nigella cinsinin saponozit bileşikleri ile ilgili literatürde yer alan çalışmaların birçoğu *N. sativa* üzerinde yapılmıştır. Riaz ve arkadaşlarının (83) belirttiğine göre Ansari ve arkadaşları (1998) *N. sativa* tohumlarının etanollü ekstresinden 3-O-[β -D-ksilopiranozil-(1-3)- α -L-ramnopiranozil-(1-2)- α -L-arabinopiranozil]-28-O-[α -L-ramnopiranozil-(1-4)- β -D-glukopiranozil-(1-6)- β -D-glukopiranozil]-hederagenin olarak adlandırılan bileşiği izole etmişlerdir.

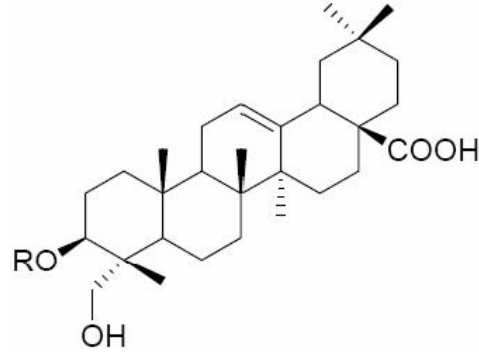
Kumara ve Huat tarafından 1993'te yapılan araştırmada (84) tohumlardan antitümör etkili α -hederin izole edilmiştir.

Taşkın ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (85) *N. sativa* tohum ekstresinden 3-O-[β -D-ksilopiranozil-(1 \rightarrow 3)- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranozil]-28-O-[α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)- β -D-glukopiranoziyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glukopiranozil]-hederagenin, 3-O-[α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranozil]-28-O-[α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glukopiranozil]-hederagenin ve 3-O-[β -D-ksilopiranozil-(1 \rightarrow 3)- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranozil]-hederagenin olarak adlandırılan bileşikler izole edilmiştir. Bu bileşiklerden ikincisi *Nigella* türlerinden ilk defa izole edilen bir bileşiktir.

Mehta ve arkadaşlarının yaptıkları bir araştırmada ise (86) *N. sativa* tohum ekstresinden yeni bir triterpen saponin ve bilinen steroidal glukozit izole edilirken *n*-hekzan ekstresinden sikloartenol izole edilmiştir. Bileşikler 3-O-[β -D-ksilopiranozil(1 \rightarrow 2)- α -L-ramnopiranozil(1 \rightarrow 2)- β -D-glukopiranozil]-11-metoksi-16,23-dihidroksi-28-metilolean-12-enoat, stigma-5,22-dien-3- β -D-glukopiranozit ve sikloart-23-metil-7,20,22-trien-3 β ,25-diol olarak belirlenmiştir.

Aynı araştırmacılar tohumların etanollü ekstresinden yeni bir glikozillenmiş triterpen olan 3-O-[β -D-ksilopiranozil-(1 \rightarrow 3)- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)- β -D-glukopiranozil]-11-metoksi-16-hidroksi-17-asetoksi hederagenini izole etmişlerdir (87).

Tian ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları bir araştırmada (88) *N. glandulifera* tohumlarından sitotoksik etkili iki oleanantriterpen saponin izole edilmiştir. Bileşikler kalopanaxsaponin A (3-O-[α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranozil]-hederagenin ve kalopanaxsaponin I (3-O-[β -D-ksilopiranozil (1 \rightarrow 3)- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopiranozil]-hederagenin olarak isimlendirilmişlerdir (Şekil 2. 2). Bu bileşiklerin bitkinin tohumlarından ilk kez izole edildikleri belirtilmiştir.



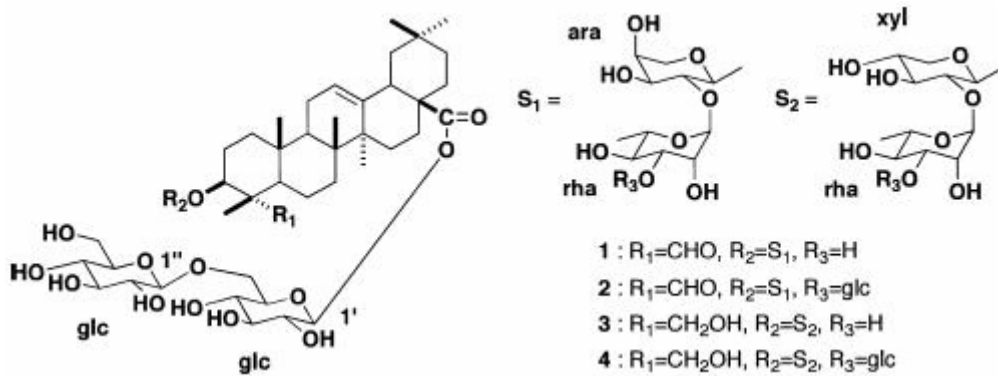
Bileşik

R

- | | |
|---|---|
| 1 | 3-0-[L-ramnopiranozil (1→2)-α-L-arabinopiranozil |
| 2 | 3-0-[β-D-ksilopiranozil (1→3)-α-L-ramnopiranozil-(1→2)-α-L-arabinopiranozil |

Şekil 2. 2 *N. glandulifera*'da bulunan triterpen saponinler

2007 yılında yapılan bir araştırmada *N. damascena*'nın toprak üstü kısımlarından dört yeni triterpen glikozit izole edilmiştir ve nigellozit A, B, C ve D olarak isimlendirilmiştir. Bu yeni bileşiklerin yapıları kimyasal ve spektroskopik tekniklerle belirlenmiştir ve yapıları 3-0-α-L-ramnopiranozil-(1→2)-α-L-arabinopiranozil-gipsogenin 28-β-D-glikopiranozil-(1→6)-β-D-glikopiranozil ester, 3-0-β-D-glikopiranozil-(1→3)-α-L-ramnopiranozil-(1→2)-α-L-arabinopiranozil-gipsogenin 28-β-D-glikopiranozil-(1→6)-β-D-glikopiranozil ester, 3-0-α-L-ramnopiranozil-(1→2)-β-D-ksilopiranozil hederagenin 28-β-D-glikopiranozil-(1→6)-β-D-glikopiranozil ester ve 3-0-β-D-glikopiranozil-(1→3)-α-L-ramnopiranozil-(1→2)-β-D-ksilopiranozil hederagenin 28-β-D-glikopiranozil-(1→6)-β-D-glikopiranozil ester olarak belirlenmiştir (Şekil 2. 3) (89).



Şekil 2. 3 *N. damascena*'da bulunan triterpen glikozitler

2.2.6 Steroller

Nigella cinsine ait türlerin sterol bileşimi ile ilgili olarak literatürde en fazla *N. sativa* türü üzerinde çalışma bulunmaktadır. Riaz ve arkadaşları (83)'nın belirttiğine göre Salam (1973), *N. sativa* tohum yağında kolesterol, kampesterol, stigmasterol, β -sitosterol ve α -spinasterol varlığını bildirmiştir.

1985 yılında yapılan bir araştırmada Türkiye kaynaklı *N. sativa* yohum yağının sterollerini de incelenmiş ve ana sterolün β -sitosterol olduğu saptanmıştır (48).

Meneunos ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer araştırma ise (90) *N. sativa* tohum yağında serbest steroller, steril glukozitler, asetillenmiş steril glikozitler ve steril esterlerin varlığını göstermiştir.

Nergis ve Ötleş tarafından yapılan bir araştırmada (46) *N. sativa* tohum yağında %69.4 β -sitosterol, %18.6 stigmasterol ve %11.9 kampesterol bulunduğu saptanmıştır.

Ramadan ve Mörsel (91) *N. sativa* tohum yağının sabunlaşmayan kısmından 4-desmetil sterollerini izole etmişler ve ana bileşenin yağda 1182 μ g/g miktarda bulunan β -sitosterol olduğunu belirlemişlerdir. Δ 5-avenasterol yapda 1025 μ g/g oranında bulunurken Δ 7-avenasterol 809 μ g/g miktarda bulunmaktadır. Ayrıca stigmasterol, kampesterol ve lanosterol daha düşük miktarlarda bulunmaktadır.

2003 yılında yapılan bir araştırmada ise Mısır kaynaklı *N. sativa* tohumlarından soğukta basınç uygulama ve ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen yağın sterol bileşimi incelenmiştir. Organik solvanla ekstraksiyonda yağda bulunan serbest sterol ve sterol esterleri sırasıyla %5 ve %4.4 oranında iken soğukta basınçla elde edilen yağda bu fraksiyonlar sırasıyla %3 ve %2.5 oranında bulunmuştur. her iki yağın da sterol fraksiyonunda ana bileşen β -sitosterol'dür, diğer steroller ise sırasıyla stigmasterol, kolesterol, kampesterol ve β -sitostanol saptanmıştır (45).

Ramadan ve arkadaşları tarafından yapılan bazı araştırmalarda *N. sativa* tohum yağının sterol bileşimi detaylı olarak incelenmiş ve ana sterollerin β -sitosterol, Δ 5-avenasterol ve Δ 7-avenasterol olduğu bunları stigmasterol ve kampesterolün izlediği saptanmıştır (32, 92).

Mehta ve arkadaşları (93) *N. sativa* tohumlarından ergosta-5,24(28)-dien-2,3-cis-diol'ü izole etmişlerdir.

Hamrouni ve arkadaşları (49) ise Tunus kaynaklı tohumlarda ana sterolün sitosterol olduğunu ve total sterollerin sabit yağın %2.2'sini oluşturduğunu belirlemişlerdir.

Cheikh-Rouhou ve arkadaşları (94) Tunus ve İran kaynaklı *N. sativa* tohumlarında ana sterolün β -sitosterol olduğunu bunu stigmasterolün izlediğini saptamışlardır. Tunus kaynaklı yağda total sterol, sabunlaşmayan kısmın %17.41'ini oluştururken bu oran İran kaynaklı olan yağda %42.66 olarak belirlenmiştir.

2.2.7 Fenolik Bileşikler

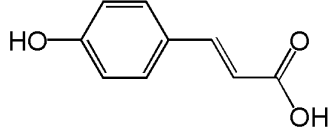
Nigella türlerinin fenolik bileşen içerikleri *N. sativa* türü üzerinde daha fazla olmak üzere *N. damascena* ve *N. glandulifera* üzerinde gerçekleştirilmiş araştırmalarla çalışılmıştır. Bu araştırmalar sonucu izole edilmiş bileşikler Tablo 2.4'te görülmektedir.

N. sativa tohumlarının sulu etanollü ekstesinden kersetin-3-glukozit, kemferol-3-glikozit, rutin gibi bileşiklerle birlikte üç yeni glikozit (kersetin-3-O- β -glukopiranozil (1 \rightarrow 2)-O- β -galaktopiranozil (1 \rightarrow 2)-O- β -glukopiranozil, kemferol-3-O- β -glukopiranozil (1 \rightarrow 2)-O- β -galaktopiranozil (1 \rightarrow 2)-O- β -glukopiranozil ve kersetin-3-O-(6-feruloil- β -glukopiranozil)(1 \rightarrow 2)-O- β -galaktopiranozil (1 \rightarrow 2)-O- β -glukopiranozil) izole edilmiştir (95) (Tablo 2. 4)

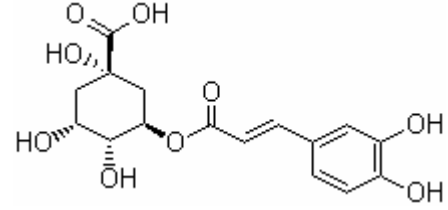
Bourgou ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada (96, 97) *N. sativa* türünün tohum, filiz ve köklerinin metanol ekstrelerini fenolik bileşenler ile antimitojenik, antioksidan etki açısından incelemişlerdir. Tohum metanol ekstresinde vanilik asit varlığı saptanmışken filiz ve köklerde 14 bileşen belirlenmiş (Tablo 2. 4) ve bunların kök ve filizlerdeki dağılımında kantitatif farklılıklar olduğu saptanmıştır. Bu 14 bileşen gallik asit, vanilik asit, *p*-hidroksi benzoik asit, klorojenik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, trans-2-hidroksisinnamik asit, trans-sinnamik asit, epikateşin, (+)-kateşin, kersetin, apigenin ve amentflavondur. Amentoflavonun sadece filizlerde, *p*-kumarik ve ferulik asitin ise sadece köklerde var olduğunu belirtmişlerdir. Vanilik asit kök ve filizlerde ana fenolik bileşen iken trans-sinnamik asit, (+)-kateşin ve apigenin filiz kısmında yüksek oranda bulunmaktadır.

Tablo 2. 4 *Nigella* türlerinde bulunan fenolik bileşikler

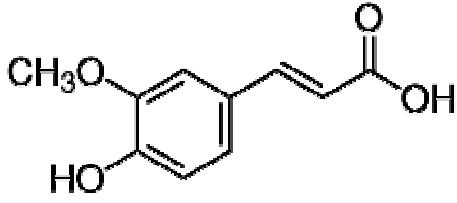
Tür	Kullanılan kısım	Fenolik bileşen	Literatür
<i>N. sativa</i>	tohum	kersetin-3-glukozit	95
		kemferol-3-glukozit	95
		rutin	95
		kersetin-3-O-β-glukopiranozil (1→2)-O-β-galaktopiranozil (1→2)-O-β -glukopiranozil	95
		kemferol-3-O-β-glukopiranozil (1→2)-O-β-galaktopiranozil (1→2)-O-β-glukopiranozit	95
		kersetin-3-O-(6-feruloil-β-glukopiranozil)(1→2)-O-β-galaktopiranozil (1→2)-O-β-glukopiranozit	95
		vanilik asit	96
		gallik asit	96, 97
		(-)- <i>p</i> -hidroksibenzoik asit	96, 97
		klorojenik asit	96, 97
<i>N. sativa</i>	filiz ve kökler	<i>p</i> -kumarik asit	96, 97
		ferulik asit	96, 97
		trans-2-hidroksisinnamik asit	96, 97
		trans-hidroksisinnamik asit	96, 97
		epikateşin	96, 97
		(+)-kateşin	96, 97
		kersetin	96, 97
		apigenin	96, 97
		amentoflavon	96, 97
		flavon	96, 97
		1-O-(2,4-dihidroksi)benzoil-gliserol	98
		3,4-dihidroksi-β-fenetil alkol	98
		2,4-dihidroksi-fenilasetik asit	98
2,4-dihidroksifenilasetik asit metil ester	98		
1-O-(2,4-dihidroksi) fenilasetil gliserol	99		
benzoik asit metil ester	34		
<i>p</i> -kumarik asit	34		
kafeik asit	34		
kemferol	34		
kemferol 3-O-glukopiranozit	34		
<i>N. damascena</i>	tohum	kemferol-3-O-β-D-galaktopiranozil (1→3)-β-D-glukopiranozil (1→3)-β-D-glukopiranozit (nigeglanosit)	100
		2-O-[α-D-galaktopiranozil (1→4)-β-D-glukopiranozil]-β-D-fruktofuranozit (nigeglanoz)	100
		kemferol	101
		kersetin	101
		rutin	101
		salisilik asit	101
		metil-4-hidroksibenzoat	101
		pirogallol	101
<i>N. glandulifera</i>	tohum	kersetin	101
		rutin	101
		salisilik asit	101
		metil-4-hidroksibenzoat	101
		pirogallol	101
		kersetin	101
		rutin	101
		salisilik asit	101



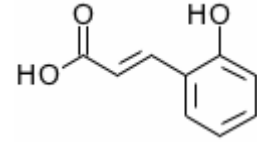
p-kumarik asit



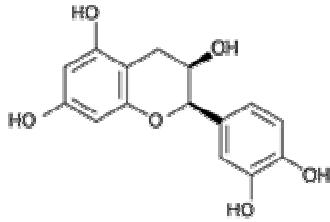
klorojenik asit



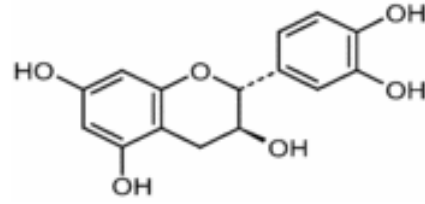
Ferulik asit



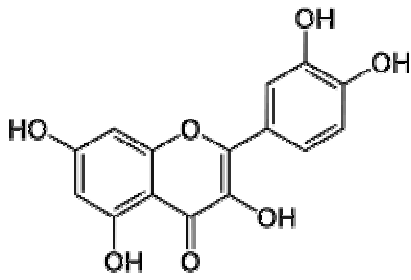
trans-2-hidroksisinnamik asit



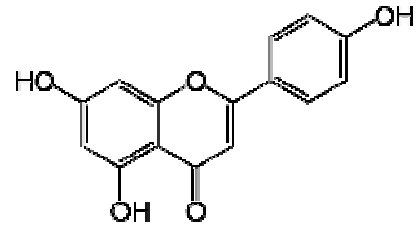
Epikateşin



(+) kateşin



Kersetin



Apigenin

Şekil 2. 4 *Nigella* türlerinde bulunan bazı fenolik bileşikler

N. damascena tohumları üzerinde yapılan birkaç araştırma ile fenolik bileşenleri çalışılmıştır. Bu araştırmalarda iki yeni bir fenolik ester olan 1-O-(2,4-dihidroksi)benzoil-gliserol ile 1-O-(2,4-dihidroksi) fenilasetil gliserol izole edilmiş, . Yapıları spektroskopik yöntemlerle belirlenmiştir (98, 99). Takip eden bir diğer araştırmada ise benzoik asit metil ester, *p*-kumarik kafeik asit, kemferol, kemferol 3-O-glukopiranozit tohumlardan izole edilmiştir, bu saf maddeler ve ekstreler kullanılarak antimikrobiyal ve mollusisidal aktivitelerde araştırılmıştır (34).

N. glandulifera tohumları ile yapılan araştırmalarda ise kemferol-3-O- β -D-galaktopiranozil (1 \rightarrow 3)- β -D-glukopiranozil (1 \rightarrow 3)- β -D-glukopiranozit, 2-O-[α -D-galaktopiranozil (1 \rightarrow 4)- β -D-glukopiranozil]- β -D-fruktofuranozit izole edilmiş ve bu bileşikler sırasıyla nigevlanosit ve nigevlanoz olarak isimlendirilmiştir (100).

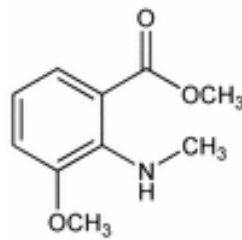
2008 yılında yapılmış bir araştırmada *N. glandulifera* tohumlarında kemferol, kersetin, rutin, salisilik asit, metil-4-hidroksibenzoat ve pirogallol ilk kez izole edilmiştir (101).

2.2.8 Alkaloitler

Literatür incelendiğinde *Nigella* türleri tohumlarının alkaloitler açısından araştırıldığı çalışmaların *N. sativa*, *N. damascena* ve *N. glandulifera* türleri üzerinde gerçekleştirildiği görülmektedir. Bu araştırmalar sonucu izole edilmiş alkaloitler ve izole edildikleri türler Tablo 2. 5’de görülmektedir.

Yapılan ilk araştırmalarda kültür bitkisi olması nedeniyle çok miktarda temin edilebilen *N. sativa* tohumları kullanılmış; izokinolin, indazol ve diterpen yapısında alkaloitler izole edilmiştir (Tablo 2. 5).

N. damascena tohumlarında ise damassenin (3- metoksi-2-(metilamino) benzoik asit metil ester) ve damassinin (3-hidroksi-2-(metilamino) benzoik asit metil ester) varlığı saptanmıştır (Şekil 2. 5).



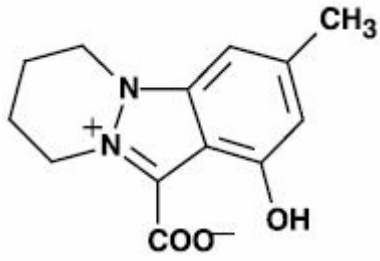
Damassenin

Şekil 2. 5 *N. damascena* tohumunda bulunan damasseninin formülü

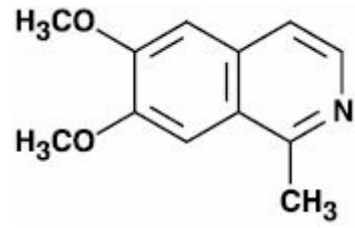
Tablo 2. 5 *Nigella* türlerinden izole edilmiş alkaloidler

Tür	Kullanılan kısım	İzole edilen alkaloid	Literatür
<i>N. sativa</i>	tohum	nigellisin	102
		nigellimin –N-oksit	103
		nigellimin	104
		nigellidin	105
		nigellidin-4-O-sülfid	106
		nigellamin A ₁ -A ₅	107, 108
		nigellamin B ₁ B ₂	107
		nigellamin C	108
<i>N. damascena</i>	tohum	damassenin	34
		damassinin	34
<i>N. glandulifera</i>	tohum	N, N-dimetil,1,2-dimetoksi- 10,11-dihidrik apofinkuaterner klorür	100
		nigeglanin	109
		fuzitin	109

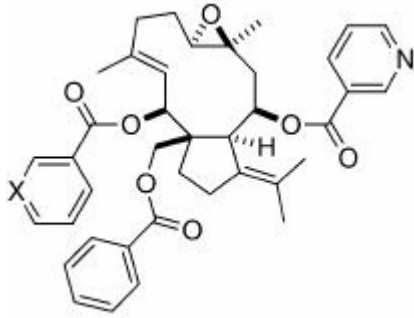
Alkaloidler açısından araştırılan diğer tür ise *N. glandulifera* olup bitkinin tohumlarından aporfin türevi bir alkaloid ile indazol çekirdeği taşıyan nigeglanin isimli bir alkaloid izole edilmiştir.



Nigellisin

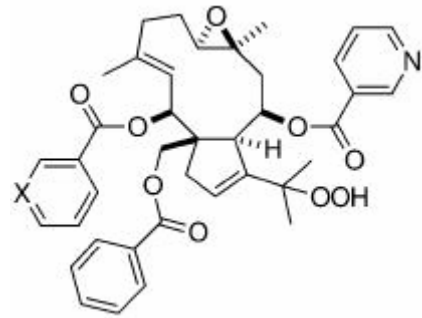


Nigellimin



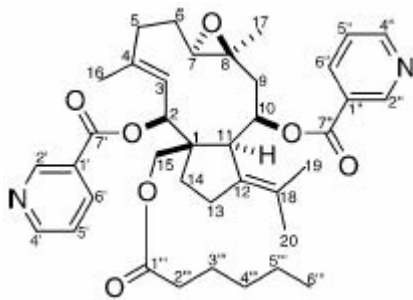
X = CH, Nigellamin A₁

X = N, Nigellamin A₂

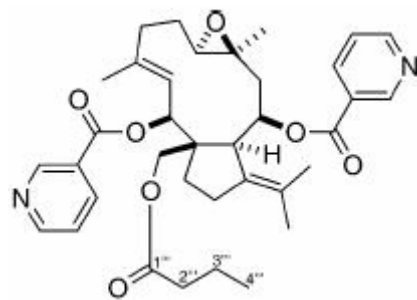


X = CH, Nigellamin B₁

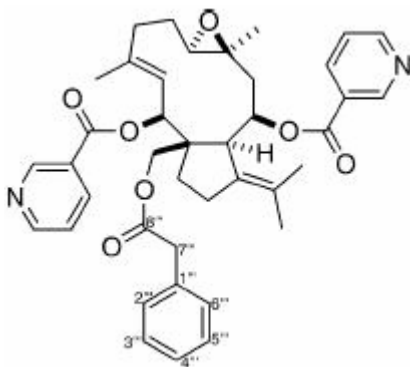
X = N, Nigellamin B₂



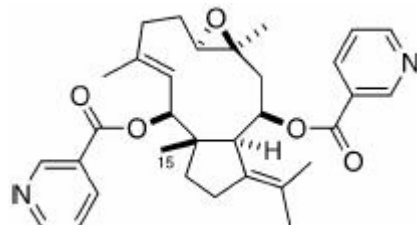
Nigellamin A₃



Nigellamin A₄



Nigellamin A₅



Nigellamin C

Şekil 2. 6 *N. sativa* tohumundan izole edilmiş bazı alkaloidler

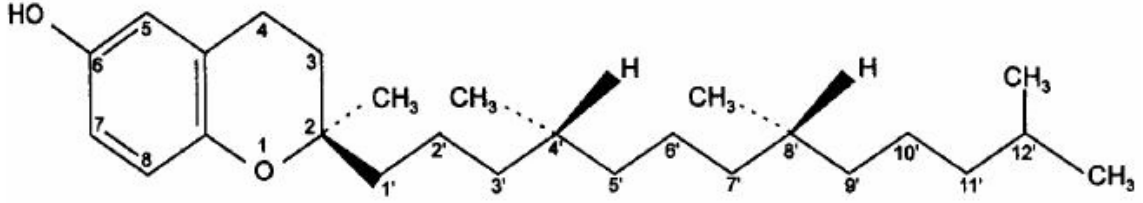
2.2.9 Vitaminler

Riaz ve arkadaşlarının (83) belirttiğine göre Scheunert ve Theile (1952) *N. sativa* yapraklarını vitamin C ve dehidroaskorbik asit içeriği için incelemişler ve ilk örnekte 257.7, 287.2; 10.3, 20.2 mg, ikinci örnekte 270.8, 304.4; 10.0 ve 20.2 mg olarak bulmuşlar iken *N. arvensis* yapraklarının 119 mg askorbik asit içerdiğini saptamışlardır. Ayrıca *N. arvensis*'ten ramnositrin de izole edilmiştir.

Nergis ve Ötleş (46) *N. sativa* tohumlarında yağda çözünen vitaminler için HPLC ile analiz etmişler ve yağda α (40 $\mu\text{g/g}$), β (50 $\mu\text{g/g}$ ve γ (250 $\mu\text{g/g}$) tokoferol bulunduğunu saptamışlardır. Tohumlarda suda çözünen vitaminlerden tiamin (Vitamin B₁), riboflavin (Vitamin B₂), piridoksin (Vitamin B₆), niasin (PP) ve folik asit bulunmaktadır ve miktarları sırasıyla 8.31 $\mu\text{g/g}$, 63 $\mu\text{g/g}$, 789 $\mu\text{g/g}$, 6311 $\mu\text{g/g}$, 42 $\mu\text{g/g}$ 'dir (Şekil 2. 7).

Takruri ve Dameh'in saptamasına göre (53) Hindistan, Ürdün, Suriye-1, Suriye-2, Türkiye kaynaklı *N. sativa* tohumlarında vitamin B₁ (13- 14.6 mgkg^{-1}), vitamin B₆ (4-6.6 mgkg^{-1}), niasin (33-48 mgkg^{-1}) ve folik asit (400-870 mgkg^{-1}) bulunmaktadır.

Ramadan ve Mörsel tarafından yapılan bir araştırmada (110) *N. sativa* tohum yağları *n*-hekzan ve kloroform/metanol ile Soxhlet kullanılarak ekstre edilmiş, yağda çözünen vitaminler ile β -karoten analizleri izokratik normal faz HPLC yöntemi ile belirlenmiştir. Analiz sonuçlarında hekzan ekstresinin diğer ekstreye göre daha yüksek oranda vitamin içerdiği belirlenmiştir. Hekzan ekstresinde total tokoferol (597 $\mu\text{g/g}$ yağ), β -karoten (593 $\mu\text{g/g}$ yağ), α -tokoferol (284 $\mu\text{g/g}$ yağ) ve γ -tokoferol (225 $\mu\text{g/g}$ yağ), vitamin K₁ (2-metil-3-fetil-1,4-naftokinon) (1162 $\mu\text{g/g}$ yağ), total vitamin K (1162 $\mu\text{g/g}$ yağ), total yağda çözünen vitaminler ve β -karoten (2353 $\mu\text{g/g}$ yağ) bulunmaktadır. Kloroform:metanol ekstresinde bu bileşenlerin miktarı sırasıyla 522 $\mu\text{g/g}$ yağ, 569 $\mu\text{g/g}$ yağ, 258 $\mu\text{g/g}$ yağ, 203 $\mu\text{g/g}$ yağ, 1080 $\mu\text{g/g}$ yağ, 1080 $\mu\text{g/g}$ yağ, 2171 $\mu\text{g/g}$ yağdır. Vitamin A-asit, vitamin A-alkol (all-*trans*-retinol), vitamin D (D₂ + D₃) ve vitamin K₃ (2-metil-1,4-naphthoquinone, menadione) bulunmamaktadır.



5,7,8-Trimetil	α -Tokoferol
5,8-Dimetil	β -Tokoferol
7,8-Dimetil	γ -Tokoferol
8-Metil	δ -Tokoferol

Şekil 2. 7 Tokoferollere ait formüller

2006 yılında yapılan bir araştırmada Etiyopya, Hindistan, Suudi Arabistan, Suriye ve Sudan kaynaklı *N. sativa* tohumlarında mg/kg taze ağırlık olmak üzere 9.02 ± 4.84 DL- α -tokoferol, 5.42 ± 3.96 DL- γ -tokoferol, 0.27 ± 0.27 all-trans-retinol bulunduğu belirlenmiştir. En yüksek DL- α -tokoferol ve all-trans-retinol içeriği Hindistan kaynaklı tohumlarda saptanmışken, DL- γ -tokoferol'ce zengin örneğin Etiyopya kaynaklı olduğu belirlenmiştir (69).

2.2.10 İnorganik Maddeler

Literatür incelendiğinde inorganik maddeler açısından sadece *N. sativa* türünün incelendiği, diğer *Nigella* türlerinde ise bu açıdan herhangi bir araştırmanın yapılmamış olduğu görülmektedir. *N. sativa* tohumları farklı kaynaklardan sağlanmış ve çok sayıda araştırma ile inorganik maddeler açısından incelenmiştir.

Babayan ve arkadaşları (14) *N. sativa* tohumunda kalsiyum (%1.06), demir (%0.014), sodyum (%0.98) ve potasyum (%0.582) varlığını saptamışlardır.

Al-Jassir tarafından yapılan bir çalışmada (42) Suudi Arabistan kaynaklı *N. sativa* tohumlarının potasyum, fosfor, sodyum ve demir açısından zengin olduğu belirlenmiştir. Çinko, kalsiyum, magnezyum, mangan ve bakır ise daha düşük oranlarda bulunmaktadır.

Nergis ve Ötleş tarafından yapılan bir çalışmada (46) *N. sativa* tohumlarında potasyumun yüksek miktarda bulunduğu (1180 mg 100 g) belirlenmiştir. Diğer

elementler kalsiyum(188 mg 100 g), demir (157.5 mg 100 g) ve sodyum (85.3 mg 100g) olarak saptanmıştır.

Takruri ve Dameh (53) Hindistan, Suriye-1, Suriye-2, Türkiye ve Ürdün kaynaklı *N. sativa* tohumlarını incelemişlerdir. Tohumlarda bulunan elementler demir (91-130 mg kg⁻¹), bakır (15-24 mg kg⁻¹), sodyum (419-550 mg kg⁻¹), potasyum (4423-5606 mg kg⁻¹), kalsiyum (1544-2005 mg kg⁻¹), çinko (56-66 mg kg⁻¹) ve fosfor (5023-5769 mg kg⁻¹)'dur. Türkiye kaynaklı tohumlarda bulunan elementler ise demir (130 mg/kg), bakır (18 mg/kg), sodyum (440 mg/kg), potasyum (5380 mg/kg), kalsiyum (1544 mg/kg), çinko (56 mg/kg), fosfor (5267 mg/kg)'dur.

Gupta ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada ise (111) incenen *N. sativa* örneğinin yüksek miktarda çinko (ort. 64.9 mg/kg) taşıdığı saptanmıştır. Ayrıca demir, mangan, çinko, bakır, kobalt, nikel, molibden, kurşun, kalsiyum, magnezyum, alüminyum, silisyum ve fosfor elementleri de bulunmaktadır.

Bir diğer çalışmada *N. sativa* tohumlarında magnezyum, alüminyum, fosfor, kükürt, klor, potasyum, kalsiyum, mangan, demir, bakır ve çinko elementlerine rastlandığı, klor (513 mg/kg) ve demir (220 mg/kg)'in ise yüksek miktarda bulunduğu belirlenmiştir (112).

Al- Saleh ve arkadaşları tarafından bir araştırmada (69) Etiyopya, Hindistan, Suudi Arabistan, Suriye ve Sudan bölgelerinden sağlanan *N. sativa* tohumlarında selenyum miktarları incelenmiş ve tüm örneklerdeki selenyum konsantrasyonu 0.17±0.10 mg/kg taze ağırlık olarak belirlenmiştir.

2.2.11 Diğer bileşikler

Enomoto ve arkadaşları (113) *N. sativa* yağından yeni bir bileşen 2-(2-metoksipropil)-5-metil-1,4-benzenediol saflaştırmışlardır ve bu yeni bileşenin kan pıhtılaşmasında inhibitör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Joshi ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada ise *N. sativa* tohumları kloroform ekstresinden yeni bir bileşik olan 5-hidroksi-2,2-dimetil-2,8-dihidro-6-H-furo (3,4-g) kromen-6-on saflaştırılmıştır (114).

Singh ve arkadaşları (115), *N. sativa* tohumlarının hekzan ekstresinden iki yeni alifatik bileşik izole etmişler ve yapılarını spektroskopik yöntemlerle aydınlatmışlardır. Bileşikler 16-triekosen-7-ol ve 6-nonadekanon'dur.

2.3 *Nigella* Türleri Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları

2.3.1 *N. sativa* Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları

2.3.1.1 Antiallerjik Etki

1965 yılında yapılan bir çalışmada (116) *N. sativa* tohum uçucu yağından izole edilen nigellon, bronşiyal astımlı hastalara oral yoldan verilmiş ve semptomların baskılandığı saptanmıştır. Alerjik rinit, bronşiyal astım, atopik egzema gibi alerjik hastalıkları taşıyan hastalara *N. sativa* yağı verilmiş ve IgE'de ve eozonofil sayısında, plazma ve ürin endojen kortizol seviyelerinde azalma olduğu belirlenmiştir.

Ratların peritoneal mast hücrelerinin histamin salınımı üzerine nigellon güçlü inhibitör etki göstermekte ve farklı etkenler (antijen duyarlı hücreler, bileşen 48/80 ve Ca-iyonosfer A23187) bu etkiyi stimüle etmektedir. İnhibitör etkinin histamin salınımını tetikleyen protein kinaz C inhibisyonu ile gerçekleşen intraselüler Ca azalışı aracılıklı olabileceği düşünülmüştür. Tüm bu etkiler özellikle petrol eteri fraksiyonunda görülmüştür (16, 117).

1993 yılında yapılmış çalışmada kobayların solunum sistemi üzerinde *N. sativa* uçucu yağının ve timokinonun etkileri araştırılmıştır. Yağın intravenöz olarak verilmesi doza bağımlı bir yolla direkt olarak histaminerjik mekanizmalar ile histamin salınımı aracılığıyla ve muskarinik kolinerjik mekanizmaların indirekt aktivasyonu ile solunum oranı ve intratekal basıncın her ikisini de arttırmıştır (118).

Mukozal histamin içeriğinde anlamlı bir artışa sebep olan etanolün gastrik ülser modellerinde ülser oluşumundan önce *N. sativa* yağının oral uygulanması ile ratlarda etanol gruplarıyla karşılaştırıldığında %53.56'lık bir koruma oranıyla gastrik mukozal histamin içeriğinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir (12).

Salem'in (16) belirttiğine göre, Al-Majed ve arkadaşları 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada *N. sativa*'nın etkili bileşeni timokinon kontrakte trake düz kasının gerilimini konsantrasyon-bağımlı olarak azaltmıştır ve trakeal ve ince bağırsak düz kaslarında histamin ve serotoninin baskılayıcı etkileri gidermiştir. Bu etkilerin kısmen araşidonik asit metabolizmasında lipooksijenaz üretiminin inhibisyonu ve belki de histamin ve serotonin reseptörlerinin non selektif blokajı aracılıklı olabileceği düşünülmüştür.

2.3.1.2 Antimikrobiyal Etki

Khan (15)'in belirttiğine göre Topozada ve arkadaşları (1965), *N. sativa* uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesini araştırmış ve hem Gram(+) hem de Gram(-) mikroorganizmaların büyümesini inhibe ettiğini ve yağın fenolik kısmından hazırlanan bir çözeltinin ise antibakteriyel etkisinin yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Yağ, insan için toksik değildir, kan basıncı, kalp ve solunumu etkilemediği bildirilmiştir.

Takip eden yıllarda uçucu yağın antibakteriyel özelliği ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. Ali ve Blunden (11)'in belirttiğine göre Agrawal ve arkadaşları 1979 yılında yaptıkları araştırmada *N. sativa* uçucu yağının *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhi*, *S. niger*, *Vibrio cholerae* gibi mikroorganizmalara 1:100 dilüsyonda iyi bir antibakteriyel etki gösterdiği saptamıştır.

Hanafy ve Hatem, 1991 yılında yaptıkları araştırmalarında (18) *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *Candida albicans* üzerinde *N. sativa* tohumunun dietil eterli ekstresinin etkilerini incelemişler ve 25-400 µg ekstre/disk dozlarında hem Gram(+) hem de Gram(-) mikroorganizmalara konsantrasyona bağlı olarak inhibitör etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar metanollü ekstrenin streptomisin ve gentamisin'le kombine edilerek test edildiğinde sinerjistik bir antibakteriyel etki olduğunu saptamışlardır.

Çeşitli uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, *N. sativa* yağı, *C. albicans* (MIC, 2.5 mg/ml)'a karşı çok etkili bulunmuştur. Yağ ayrıca *Chaetomium olivacum* (MIC, 2.5 mg/ml)'a karşı da etkilidir. Pirinç, buğday ve pamuk gibi ürünlerin gelişimini etkileyen parazit olarak bilinen *C. olivacum* mantarına karşı bitkiyi korumada *N. sativa* yağının değerli olduğu sonucuna varılmıştır (19).

Ferdous ve arkadaşları (119) uçucu yağın (IC₅₀, 50-400 µg/ml) 37 enterik organizma (örn: *Shigella dysenteirae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* ve *Shigella boydii*) üzerindeki antibakteriyel etkilerinin ölçülmesiyle umut verici sonuçlar elde etmişlerdir.

Khan (15)'in belirttiğine göre El-Sayed ve arkadaşları (1996) tarafından *N. sativa* yağının gıdaların korunmasında kullanımı (% 0.1 a/a) test edilmiş zararlı bakterilere kuvvetli inhibitör etkili olduğu saptanmıştır ve diğer bir çalışmada Akgül ve Kıvanç (1989) ham tohum ekstresini sorbik asit ve sodyum klorür ile kombine halde

kullanmış ve tohum ekstresinin minimum inhibitör konsantrasyonu yaklaşık olarak % 1.5 a/a olarak saptamışlardır.

El-Kamali ve arkadaşları (120) disk difüzyon metodu ile *N. sativa* uçucu yağının *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı etkili olduğunu bulmuşlar, antibakteriyel etkinin *Bacillus subtilis*'e karşı maksimum olduğunu belirlemişlerdir.

Sokmen ve arkadaşları (121) eterli ekstrenin Gram(+) bakteri (*S. aureus*), Gram(-) bakteri (*P. aeruginosa*) ve *E. coli*'ye karşı invitro antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Tohumların ham alkaloit ekstresi ve sulu ekstresinin septik artritli hastalardan izole edilmiş çok çeşitli mikroorganizmalara karşı etkili olduğu ayrıca *V. cholera*, *E. coli* ve *S. dysenteriae*'nin bütün suşlarını içeren ilaca dirençli bakterilere karşı çok etkili olduğu saptanmıştır (122).

N. sativa, *C. albicans*'a karşı olduğu kadar *E. coli*, *B. subtilis*, *S. faecalis*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* gibi pek çok bakteri suşuna karşı da antibakteriyel etki göstermektedir. Farelerde *C. albicans* inokulumu ile karaciğer, dalak ve böbreklerde üreyen koloniler üzerinde *N. sativa* tohumlarının sulu ekstrelerinin antifungal etkileri araştırılmış ve enfekte farelere *C. albicans* inokulasyonundan 24 saat sonra başlayan günde 3 kez verilen tedavi bütün çalışılan organlarda fungus büyümesini belirli bir şekilde inhibe ettiği gözlenmiştir (123).

Listeria monocytogenes'in 20 suşu üzerinde tohum yağının antibakteriyel etkisini saptamak amacıyla bir çalışma yapılmıştır. 10 µl tohum yağı, bitkisel yağ (yağ kontrol) ya da gentamisin (pozitif kontrol) kullanılmıştır. Tohum yağı gentamisinden daha geniş bir inhibisyon zonu sağlamış ve *L. monocytogenes*'in bütün suşlarına karşı güçlü bir antibakteriyel etki göstermiştir. Tohum yağı ve gentamisin tarafından oluşturulan ana inhibisyon zonları sırasıyla 31.50 ± 1.0 ve 14.80 ± 0.50 'dir (124).

Şistozomisidal etki için, *S. mansoni* mirasidyumu, serkaryası ve erişkin kurtlara karşı *N. sativa* tohumları test edilmiş ve parazitin bütün evrelerine karşı kuvvetli biosidal etkiler saptamıştır. Ayrıca erişkin dişi kurtların yumurta bırakmasını da inhibe etmiştir. Araştırmacılar aynı zamanda konakçı oksidan ölümüne karşı solucanların korunmasında bir rolü olan bazı antioksidan enzimler üzerinde ezilmiş tohumun etkilerini ve konakçılarda içindeki erişkin solucanların hayatta kalmasında önemli bir role sahip olan glikoz metabolizmasından bazı enzimler incelemişlerdir. Antioksidan

enzimler, superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glikoz metabolizma enzimleri, heksokinaz ve glikoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimlerinin aktivitelerindeki azalış ile kendini gösteren erişkin solucanlara karşı bir oksidatif stres oluşmuştur (125).

N. sativa tohumunun eter ekstresi ve aktif bileşen timokinon dermatofitlerden olan *T. rubrum*'un dört suşu ve *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* ve *Microsporum canis*'in bir suşuna karşı test edilmiştir. Griseofulvinin eter ekstresinin MIC değeri 0.00095-0.0155 mg/ml arasında iken *N. sativa* ve timokinonun MIC değeri sırasıyla 10-40 ve 0.125-0.25 mg/ml olarak saptanmıştır. *N. sativa*'nın antidermatofit ilaçlar için potansiyel bir kaynak olacağı düşünülmüştür (126).

Si ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada (127) yağların ya da bileşenlerin pek çoğu *Laktobasilli* ve *bifidobakteriye* karşı çok az inhibisyon ile *Salmonella typhimurium* DT104, *E. coli* O157:H7 ve K88 *E. coli*'ye karşı yüksek etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Yağlar ya da bileşenler *E. coli* O157:H7'ye karşı etkinliklerini korumakta içerikteki *E. coli* ve koliform bakterileri anlamlı bir şekilde inhibe etmektedirler. Laktobasil ve anaerobik bakterilerin çoğu üzerinde çok az etkiye sahiptirler.

Khan'ın belirttiğine göre (15) El-Shayeb ve Mabrouk (1984), toz edilmiş *N. sativa* tohumlarının (%10 konsantrasyonda) *Aspergillus flavus*'un toksijenik suşunun aflatoksin üretimini ve çoğalmasını %85-90 oranında inhibe ettiğini belirlemişlerdir ve Abd. Alla El-Sayed ve arkadaşları (1997) *N. sativa* yağının konsantrasyonu ile bağlantılı olarak aflatoksinlerin çoğalmasını inhibe ettiğini saptamışlardır.

N. sativa yağının bir anti-viral ilaç olarak terapötik potansiyeli de araştırılmıştır. Sitomegalovirüs (MCMV) enfeksiyonuna karşı anti-viral etki oluşturduğu in vivo denemelerle gösterilmiştir. Viral enfeksiyona karşı oluşturulan immünite NK hücreler ve makrofajlar gibi non-spesifik hücreler CD₄ ve CD₈ T hücreleri gibi spesifik hücrelerle kontrol edilmiştir. Virüslerin temizlenmesi için T hücreleri geç fazda NK hücreleri ve makrofajlarlar erken fazda önem teşkil etmekte ve özellikle INF- γ gibi bu hücrelerin tarafından üretilen mediyatörler anti-viral cevapta oldukça önemli faktörler olduğu belirtilmiştir (16, 27, 28).

2.3.1.3 Antiparazitik Etki

Khan (15)'ın belirttiğine göre Agarwal ve arkadaşları (1979) *N. sativa* tohum uçucu yağının yer solucanları (*Pheritima posthuma*), tenya (*Taenia solium*), kancalı kurtlar (*Bunostomum trigonocephalum*) ve noduler kurtlara (*Oesophagastomum colombionum*) karşı antiparazitik etki gösterdiğini belirlemiştir.

Gastrointestinal nematodlar ile enfekte olmuş keçilerde *N. sativa* tohumlarının toplam glikozit içeriklerinin etkisi araştırılmıştır. Keçi gruplarına 100, 150 ve 200 mg/kg vücut ağırlık dozlarında glikozitin oral verilmesiyle antisestodal etkileri kimyasal ajan olan Nilzan (15 ml/15 kg) standart kullanılarak karşılaştırılmıştır. *N. sativa* glikozitlerinin 10-15 gün sonunda gözlenen 150 ve 200 mg/kg dozlarda antisestodal aktivitesi, Nilzan'ın aktivitesiyle kıyaslanacak düzeydedir. Glikozitlerin 100 mg/kg'ın 15 günden sonra neredeyse Nilzan kadar etkili olduğu bulunmuştur. Böylece *N. sativa* glikozitlerinin keçilerde oldukça büyük bir antisestodal potansiyeli olduğu saptanmıştır (29).

2.3.1.4 Antidiyabetik Etki

Al-Hader ve arkadaşlarının yaptıkları bir araştırmada (128) *N. sativa* tohum uçucu yağı 50 g/kg dozda intraperitoneal verilmiş 4-6 saat sonra normal ve hiperglisemik tavşanlarda kan glukoz konsantrasyonunda %15-23 oranında bir azalma saptanmıştır ve insülin konsantrasyonunun tedaviden etkilenmediği belirlenmiştir.

Khan (15)'ın belirttiğine göre Eskander ve arkadaşları (1995) *N. sativa* yağının etkisini oral hipoglisemik ilaç olan Glipizide karşı alloxan-indüklü diyabetik ratlarda araştırmış ve yağın Glipizide göre serum insülin seviyelerini anlamlı bir şekilde yükselttiğini Glipizid aktivitesinin yağ ile birlikte uygulandığı zaman hipoglisemik etkisinin arttığını saptamışlardır.

2001 yılında yapılan bir araştırmada bitki ekstresinin karaciğer ve pankreas histolojisi lipit peroksidaz, glutasyon, seruloplazmin ve glukoz üzerine etkisi araştırılmıştır. Ekstre ile 2 aylık bir tedavi glukoz lipit peroksidlerini önemli ölçüde yükseltmekte, glutasyon ve seruloplazmini azaltmakta ve karaciğer hasarının biyokimyasal ve histolojik belirtilerini iyileştirmektedir (129).

N. sativa tohum yağının insülinotropik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, Streptozotosin ve Nikotinamid indüklü diabetes mellituslu hamsterler kullanılmıştır.

Tedaviden 4 hafta sonra kan glukoz seviyelerinde düşüş, serum albümin seviyelerinde artış olduğu saptanmıştır. Tohum yağının hipoglisemik etkisi kısmen serum insülin seviyesindeki bir artışla birlikte β hücre fonksiyonu üzerindeki stimülatör etkiden kaynaklanmaktadır ve tip-II benzeri modelde insülinotropik özelliklere sahiptir (130).

N. sativa tohumunun petrol eterli ekstresi 4 hafta intragastrik olarak verilmiş normal ratlarda geçici bir kilo kaybına dönüşen, yiyecek alımında %25 azalmaya neden olmuştur. 4 haftalık tedavi sonunda *N. sativa* alan ratlarda daha yavaş artan plazma, insülin ve trigliserit seviyeleri ve hızlı artan HDL-kolesterol seviyesi gözlenmiştir. Ayrıca tüm gruptaki hayvanlardan izole edilen hepatositlerde insüline cevap da değerlendirilmiştir. *N. sativa*'nın petrol eterli ekstresi zayıf bir anoreksik etkiye sahiptir. Bitkide saptanmış olan hipolipidemik aktiviteye neden olmaktadır. Petrol eterli ekstrenin in vivo verilışı hormon reseptörlerinin başlıca iki intraselüler sinyal aktarımı aktivitesini arttırmaktadır ve insülin-duyarlı etkiye sahiptir (131).

N. sativa'nın streptozotosin (STZ)- indüklü diyabetik ratlarda β hücre hasarına karşı olası koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada *N. sativa* (0.2 ml/kg/gün, i.p.), STZ uygulamasından önce 3 gün boyunca uygulanmış ve bu enjeksiyonlar 4 haftalık çalışma boyuncada sürdürülmüştür. Hücresel antioksidan savunma sistemindeki değişimleri saptamak için pankreatik homojenatlardaki enzimlerin (glutatyon peroksidaz (GSHPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi) aktiviteleri ölçülmüştür. Ayrıca lipit peroksidasyonun bir belirteci olan serum nitrik oksit ve eritrosit ve pankreatik doku malondialdehit (MDA) seviyeleride ölçülmüştür. STZ lipit peroksidasyon ve serum NO konsantrasyonlarında anlamlı bir artış ve antioksidan enzim seviyelerinde azalış gözlenmiştir. *N. sativa* yağı lipit peroksidasyon ve serum NO seviyesini azaltmış ve antioksidan enzim aktivitesini arttırmıştır. *N. sativa* verilmiş diyabetik ratlarda insülin yoğunluğunun arttığı ve β -hücre sayısının korunduğu belirlenmiştir. *N. sativa* tedavisinin oksidatif stresi azalttığı ve pankreatik β hücre yoğunluğunu koruduğu böylece diyabette terapötik açıdan koruyucu etkili olduğu belirlenmiştir (132).

N. sativa yağının hipoglisemik etkisinin mekanizmalarını açıklamak ve *N. sativa*'nın makrofajlar üzerindeki olası immünopotansiyel etkisini araştırmak için yapılmış bir çalışmada *N. sativa* yağı ile muamele diyabetin STZ ile oluşturulmasından 6 hafta sonra başlamıştır. *N. sativa* kan glukozunu tedavinin birinci,

ikinci, üçüncü ve dördüncü haftasından sonra düşürmüştür. *N. sativa* yağı verilenler yağ verilmeyen diyabetik hamsterlarla karşılaştırıldığında peritoneal makrofajların fagositik aktivite ve fagositik indeksini ve periferal kan içerisindeki lenfosit miktarını önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür. *N. sativa* yağının hipoglisemik etkisinin hepatik glikoneojenezdeki azalma ile ilişkili olduğu ve immünopotansiyel etkisinin direkt ya da lenfosit aktivasyonu yolu ile makrofaj fagositik aktivitesinin stimülasyonu aracılığıyla olduğunu düşündürmektedir (133).

2004 yılında yapılan çalışmada *N. sativa* tohum ekstraktlarının insülin salgılanması üzerine etkileri araştırılmıştır. Tohumun yağsız fraksiyonu (HRII), iki alt bölüme ayrılmıştır: ilki (HRIII) asidik ve nötral bileşenleri içermekte, ikinci (HRIV) temel bileşenleri içermektedir. Ekstrelerin insülin salgılama etkileri pankreatik adacıklarda değişik konsantrasyonlarda değerlendirilmiş ve yağsız tüm ekstrelerin ya da inkübasyon ortamındaki tohumun temel alt fraksiyonunun eklenmesi önemli ölçüde adacıklardan glukoz yüklü insülin salınımını arttırmaktadır. Asidik ve nötral alt fraksiyon ile stimulator etki sadece yüksek konsantrasyonlarda elde edilmiştir. Pankreatik adacıklardan insülin salınımında konsantrasyon bağımlı artış temel alt fraksiyonla elde edilmiştir. *N. sativa* tohumlarının antidiyabetik özelliklerinin en azından stimüle edilmiş insülin salınımını aracılıklı olabileceğini göstermiştir. Temel alt fraksiyon bu stimulator etkiye büyük ölçüde katkıda bulunmaktadır (134).

Kanter tarafından yapılan bir çalışmada (135) streptozotosin(STZ)-indüklü diyabetik ratlarda siyatik sinirlerdeki histopatolojik değişimler üzerine *N. sativa* (NS) ve timokinonun (TQ) etkileri araştırılmıştır. NS ve TQ alan gruplardaki ratlara NS (400 mg/kg vücut ağırlığı dozunda) ve TQ (50 mg/kg vücut ağırlığında) STZ injeksiyonunda 2 gün sonra başlanarak 12 hafta boyunca oral yoldan günde 1 kez verilmiştir. Kan ve doku örnekleri alınmış biyokimyasal ve histopatolojik araştırmalar yapılmıştır. Diyabetik ratlarda NS ve TQ tedavisi yükselmiş serum glikozunda önemli düşüşe sebep olmuş iken ve azalmış serum insülin konsantrasyonlarında artış gözlenmiştir. STZ insülin immünoreaktif β hücreleri alanında önemli bir azalış oluşturmuştur.

N. sativa tohum ham ekstresinin (INS832/13) ve pankreatik β -hücrelerinin β TC hücre dizileri, insülin sekresyonu, iskelet-kas hücreleri ve 3T3-L1 adipozitlerdeki glukoz kullanımı üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir araştırmada NS ile 18 saatlik tedavi, glukoz stimülasyonlu insülin salgılanmasını %35'ten fazla arttırmıştır. NS tedavisi β

hücre proliferasyonunu hızlandırmış ve NS ile 18 saatlik tedavi bazal glukoz alımını iskelet-kas hücrelerinde %55 ve adipozitlerde %400 arttırmıştır. Sonuçta farklılığa uğrayan pre-adipozitlerde NS uygulaması, 10 µM rosiglitazon tedavisi ile karşılaştırıldığında trigliserit akümülyasyonunu hızlandırdığı belirlenmiştir (136).

2.3.1.5 Antienflamatuar ve Antinosiseptif Etki

Houghton ve arkadaşları (20) *N. sativa* yağı ve timokinonun lipozomlardaki non enzimatik peroksidasyonu inhibe ettiğini belirlemişlerdir. *N. sativa* sabit yağının eikosanoid üretimi ve lipid peroksidasyonu üzerine inhibitör etkisinin timokinonunkinden daha büyük olduğu ve doymamış yağ asitleri (C_{20:2}) diğer bileşenlerin *N. sativa* yağının anti oksidan ve anti eikosanoid etkilerine katkıda bulunabileceği belirtilmiştir.

N. sativa tohumlarının sulu ekstresinin nitrik oksit üretimindeki etkisinin in vitro çalışıldığı bir araştırmada sıçan peritoneal makrofajları, ekstre ile preinkübe edildikten sonra *E. coli* lipopolisakaritleri ile aktive edilmiştir. 24 saat sonra nitrik oksit (NO) üretimi ölçüldüğünde bitki ekstresinin NO üretiminde doza bağımlı bir azalmaya sebep olduğu saptanmıştır. *N. sativa* tohumlarının sulu ekstresinin sıçan makrofajları tarafından NO üretimi üzerinde inhibitör etkili olduğu ve aktif bileşenlerinin non-protein halde bulunduğu belirtilmiştir ve bu araştırma *N. sativa* tohumlarının romatizma tedavisindeki geleneksel kullanımını doğrulamaktadır (137).

Salem (16)'in belirttiğine göre Mansour ve Tornhamre (2004) timokinon ve *N. sativa*'nın sabit yağı, Ca iyonofor A23187 ile stimüle edilmiş sıçan peritoneal lökositlerindeki araşidonat metabolizmasının hem siklogenaz (COX) hem de 5-lipooksijenaz(5-LO) yolağını inhibe ettiğini ve tromboksan B₂, LTC₄ ve LTB₄'de doza bağımlı inhibisyon oluştuğunu, timokinonun yüksek etkili olduğunu saptamışlardır. Bir diğer çalışmada Ca veya iyonoforla uyarılmış polimorfonükleer lökositlerin (nötrofiller) *N. sativa* ekstresi, nigellon veya timokinondan biriyle in vitro tedavisi 5-LO ürünlerinde ve 5-hidroksi-eikosa-tetra-enoik asit üretiminde konsantrasyona bağımlı inhibisyon oluşturmaktadır (138).

Salem (16)'in belirttiğine göre Chakravarty ve arkadaşları (2003) ile Mohamed ve arkadaşları (2003), deneysel allerjik ensefalomiyelit (EAE), kolit ve artriti kapsayan birkaç enflamatuar hastalıkta *N. sativa* bileşenlerinin antienflamatuar etkilerinin

önemini belirlemişlerdir. Ensefalomiyelitli hayvanlara timokinon verildiğinde daha yüksek glutasyon seviyesi görülürken kontrole kıyasla herhangi bir prevasküler enflamasyon görülmemiştir. Sonuçlar timokinonun EAE modellerindeki terapötik potansiyeliyle ilişkilendirilmiş ve insanlarda multiple skleroz tedavisinde etkili olabileceği düşünülmüştür.

N. sativa uçucu yağı bileşimi, analjezik ve antiinflamatuvar özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada asetik asit indüklü kıvrınma, formalin ve ışıkla kuyruk yakma testleri kullanılmıştır. Anti-inflamatuvar aktivite ise karragenan indüklü pençe ödem ve farelerde kroton yağı indüklü kulak ödem kullanılarak değerlendirilmiştir. Uçucu yağın önemli bir analjezik etki oluşturduğu saptanmıştır. Karragenan testinde 100, 200 ve 400µl/kg dozlarda tohum uçucu yağının oral uygulanması önemli ölçüde anti-inflamatuvar etki gösterirken, aynı dozlar intraperitoneal verildiğinde karragenan indüklü pençe ödemi inhibe etmiştir. 10 ve 20 µl/kulak dozlarında tohum uçucu yağı kroton yağı indüklü ödemi azaltmıştır. Opioid reseptörlerden başka diğer mekanizmaların tohum uçucu yağının analjezik etkilerinde de rol oynadığı belirtilmiştir. *N. sativa* yağının lokal ve sistemik uygulamasında gözlenen antiinflamatuvar etkide timokinonun önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir (74).

2006 yılında yapılan bir çalışmada hava yoluyla bulaşan inflamasyon üzerine timokinonun etkisi araştırılmıştır ve ovalbumine duyarlı farelerin hava ile maruziyetinden önce timokinon intraperitoneal verilmiş, akciğer eozinofilinde belirgin bir azalma gözlenmiştir. Ovalbumin antijeni ile hava yolu ile maruziyet sonrasında yüksek Th2 sitokinleri gözlenmiş ve hem in vivo bronkoalveolar lavaj sıvısında hem de in vitro da ovalbuminli akciğer hücrelerinin stimülasyonu belirlenmiştir. Timokinon ayrıca ovalbumine özgü IgG1'in yüksek serum seviyelerini düşürmüştür. Timokinonun allerjen indüklü akciğer eozinofilik enflamasyonu ve mukus üreten goblet hücrelerini önemli ölçüde inhibe ettiği histolojik çalışmalarla saptanmıştır. Timokinon IL4, IL5 ve IL13 inhibisyonunda önemli etki göstermiştir. Sonuçta timokinonun Th2 sitokinlerin inhibisyonu yoluyla alerjik havayolu bulaşan enflamasyonu ve havadaki eozinofil infiltrasyonunu azalttığı belirtilmiştir (139).

Khanna ve arkadaşları (140), *N. sativa* sabit yağının antinosiseptif etkilerini, sıçan ve farelerde üç farklı test yöntemi ile araştırmışlar ayrıca yağın CNS deprese edici etkisi olduğunu da göstermişlerdir.

N. sativa yağı ve timokinonun antinosiseptif etkilerinin araştırıldığı bir diğer çalışmada yağ 50-400mg/kg p.o. verilmiştir ve sıcak zemin, kuyruk sıkıştırma testi, asetik asit indüklü kıvrınma testi ile formalin testi kullanılmıştır. Nosiseptif cevabın doza bağımlı olarak baskılandığı belirlenmiştir. Timokinonun 2.5-10mg/kg, p.o. ve 1.6mg/kg , i.p. intraserebroventriküler (i.c.v) enjeksiyonu (1-4µg/fare) formalin testinin erken faz ve geç fazında nosiseptif cevabı zayıflatmıştır. Nalokson (1mg/kg) ise formalin testinin erken fazında yağı ve timokinon indüklü antinosisepsiyonu önemli ölçüde bloke etmiş ve naloksonun (10µg/fare), µ₁-opioid antagonisti, naloksonazin (1-5µg/fare) ya da κ-opioid reseptör antagonisti nor-binaltorfimin (1-5µg/fare)'in i.c.v. enjeksiyonu, δ-opioid reseptör antagonisti naltrindol (1-5 ng/fare, i.c.v.) her iki fazda da hiçbir etki göstermemiş, formalin testinin ancak erken fazında timokinon indüklü antinosisepsiyonu önemli ölçüde tersine çevirmiştir. Sonuçlar *N. sativa* yağının ve timokinonun supraspinal µ₁ve κ-opioid reseptör alt tiplerinde indirekt aktivasyon ile antinosiseptif etkilere sahip olduğunu göstermiştir (141).

2.3.1.6 İmmun Sistem Üzerine Etki

Ali ve Blunden'in (11) belirttiğine göre *N. sativa* tohumlarının immün sistem üzerine etkileri in vitro olarak insan T hücrelerinde muhtemelen ilk kez El-Kadi ve Kandil (1987) tarafından gösterilmiştir. Bu çalışma daha sonra Haq ve arkadaşları (142) tarafından 1995 yılında yapılan çalışma ile doğrulanmıştır. Haq ve arkadaşları *N. sativa* tohumlarının interlekin, IL-3 salgılayan T-lenfositleri aktive ettiğini ve IL-1β üretimini arttırdığını belirlemiştirler ki bu makrofajlar üzerinde direkt ya da IL-1β yolu ile olan bir stimülatör etkiyi göstermektedir.

Aynı araştırmacılar ilerleyen çalışmalarında *N. sativa* tohumunun toplam ekstresinin ve protein bileşenlerinin immünmodülatör etkilerini araştırmıştır ve bazı proteinlerin supresif etkili olduğu, diğerlerinin lenfosit kültürlerinde stimulan etkili olduklarını saptamışlardır. Proteinler sitokin (örn:IL-1β) üretiminde etkili bulunmuştur (143).

Salem (16)'in belirttiğine göre Wu ve arkadaşları (1999) tarafından yapılan bir araştırmada *N. sativa* ile diyet uygulaması sağlıklı yaşlı bireylerde immün cevabı arttırdığını bulmuşlar iken Christou ve arkadaşları (1989) ise spesifik antijenlere (tetanoz toksoidi ve *Tricophyton. mentagrophytes*) cevapta gecikmiş tip hipersensitivite oluşumundan 24 saat sonra total çapta artma gösterdiğini belirlemiştirler.

Swamy ve Tan (144) fare splenositleri kullanmışlar ve ekstrenin herhangi bir modölatör etki göstermediğini belirlemişlerdir. Optimal dozda mitojen varlığında ise belirgin bir immün cevap artışı saptanmıştır ancak mekanizma açıklanamamıştır.

İslam ve arkadaşları bir araştırmalarında (145) uçucu yağın rat tifoid TH antijeniyle aşılamaıyla oluşturulan antijen-spesifik cevabı üzerine etkisini araştırmışlar ve *N. sativa* yağının, kontrol grubuna göre tifoit aşılamaaya cevapta antikor üretimini 2 kat düşürdüğünü belirlemişlerdir.

2.3.1.7 Antitümör Etki

Salomi ve arkadaşları (146) *N. sativa* tohumlarının metanollü ekstresinin Erlich asit karsinoması, Dalton'un asit lenfoması ve sarkoma 180 hücreleri üzerinde güçlü bir sitotoksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar cilt kanserli farelere *N. sativa*'nın topikal uygulanmasının 7,12-dimetilbenz(α)antrasen/kroton yağı ile oluşturulan papillom oluşumunun başlamasını geciktirdiğini ve sayısını azalttığını saptamışlardır.

Nair ve arkadaşları (147) *N. sativa* ham etanollü ekstresinin sisplatin indüklü farelerde karsinojen etkide belirgin bir azalma göstermişlerdir. Sıçanlara sisplatininden 30 dk. önce verilen *N. sativa* etanol ekstresinin anti-neoplastik ilacın nefrotoksitesine karşı koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır. Ekstrenin koruyucu etkisi kesin olarak bilinmemekle birlikte nefrotoksitedeki olası bir azalma veya sisplatin atılımındaki artış ile ilgili olduğu düşünülmektedir (148). Farelerde timokinonun içme suyu ile (5 mg/kg/gün) 5 gün önce ve 5 gün ifosfomit (IFO) verildiği zaman IFO'nun renal toksitesini anlamlı bir şekilde azalttığı ve antitümör aktivitesini arttırdığı saptanmıştır. Timokinonun antioksidan aktivitesinin IFO'nun nefrotoksitesinin azaltılması mekanizmasıyla gerçekleştiği ileri sürülmüştür. Bu çalışmada timokinonun sisplatinin antitümör aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (149).

Sitotoksik etki için YAC tümör hedeflerine karşı Naturel Killer (NK) hücrelerinin in vivo çoğalmasının test edilmesi ile yapılan araştırmada *N. sativa* tohumları ve *Allium sativum* soğanlarının sulu ekstresi oral olarak farelere verilmiş 1 hafta sonra, 200:1 efektif:hedef oranında spontan aktiviteyle karşılaştırıldığında splenik NK hücrelerinde anlamlı bir çoğalma elde edilmiştir (150).

N. sativa tohum ekstresi ve timokinonun şistozomiyazis ile enfekte olan fare hücrelerine etkisinin test edildiği bir araştırmada *N. sativa* ekstresi ve timokinonun şistozomiyazis sonucunda tetiklenen kromozomal anormalliklere karşı koruyucu ajanlar oldukları belirtilmiştir (151).

N. sativa'nın farelerde KBrO₃-aracılıklı renal oksidatif stres, toksisite ve tümör ilerleme cevabı üzerine kemopreventif etkilerinin çalışıldığı bir araştırmada renal antioksidan enzimleri ile renal glutatyon içeriğinin aktivitelerindeki redüksiyon lipit peroksidasyonunu arttırdığı saptanmıştır. Kan üre azotu (BUN) ve serum kreatininde belirli bir artış gözlenmiştir. Sıçanlara *N. sativa* ekstresi oral olarak verildiğinde profilaksik etki ile renal mikrozomal lipit peroksidasyonu, γ - glutamil transpeptidaz, H₂O₂ ve ksantin oksidazda anlamlı bir azalış gözlenmiştir. Renal glutatyon içeriği ve antioksidan enzimlerde önemli düzelmeler sağlanmıştır. Kan üre azotu, serum kreatinin, renal ODL aktivitesi ve DNA sentezindeki artışta tersine dönüş belirlenmiştir. Sonuçlar *N. sativa*'nın güçlü bir kemopreventif ajan olduğunu göstermektedir (152).

Bir araştırmada *N. sativa* yağının metilnitrozüre veya 1,2-dimetilhidrazin ile oluşturulan kolon karsinogenezisini baskıladığı belirlenmiştir. Başlangıç durumundan sonraki dönemde verilen *N. sativa* yağı belirgin bir şekilde anti-proliferatif bir aktivite göstermiştir (153).

İslam ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada (145) *N. sativa* tohum uçucu yağının immünmodülatör ve sitotoksik özellikleri araştırılmıştır. Sıçanlar spesifik bir antijene maruz bırakılmış (tifoid TH) ve *N. sativa* tohum uçucu yağı ile tedavi edilmiştir. Sıçanlarda splenositler ve nötrofillerin sayısında anlamlı bir azalış görülürken periferik lenfosit ve monositlerde bir yükselme gözlenmiştir. Uçucu yağın sitotoksitesi için beş insan kanser hücresi ve fibroblast hücreleri ile test edilmiştir. Pozitif kontrol olarak vinblastin sülfat ve mitomisin C kullanılmıştır. *N. sativa* tohum uçucu yağı için LC₅₀ değerleri SCL, SCL-6, SCL-37'6, NUGC-4 kanser hücre dizileri ve 3T6 fibroblast hücrelerine karşı sırasıyla 155.02±10.4, 185.77±2.9, 120.40±20.5, 384.53±12.1 ve 286.83±23.3 µg/ml'dir. *N. sativa* tohum uçucu yağının etkili bir immünsupresif sitotoksik ajan olabileceği bildirilmiştir.

N. sativa yağının fibrosarkom hücre HT1080'in fibrinolitik potansiyeli üzerine etkisini ölçmek için yapılan bir araştırmada *N. sativa* yağı, doku tip plazminojen aktivatörü (t-PA), ürokinaz tip plazminojen aktivatörü (u-PA) ve plazminojen aktivatör

inhibitör tip 1 (PAI-1)'in konsantrasyon bağımlı inhibisyonuna neden olmuştur. HT1080 hücrelerine *N. sativa* yağı uygulandığında t-PA, u-PA ve PAI-1 antijenlerinde konsantrasyon bağımlı bir azalma gözlenmiştir. Tohum yağının in vitro ortamda insan fibrosarkom hücresi (HT1080)'nin fibrinolitik potansiyelini azalttığı ortaya konmuştur (154).

Swamy ve arkadaşları (144) *N. sativa* kromatografi ile saflaştırdıkları α -hederinin selektif olarak hepatoselüler karsinoma, lösemik hücre, Lewis akciğer karsinoması ve lösemi hücreleri, farklı kanser hücrelerine karşı antitümör etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

N. sativa tohum ekstralarının in vitro ve in vivo antikanser etkisi için yapılmış bir araştırmada uçucu yağ ve etilasetat ekstralarının P815 hücre dizisine karşı butanol ekstresinden daha sitotoksik olduğu ve bütün ekstraların %0.2'den %0.26'ya (h/h) kadar değişen IC₅₀ değerleriyle ICO1 hücre kültürlerine karşı sitotoksik etkiye sahipken BSR hücre kültürlerinde etil asetat ekstresinin etkili bir sitotoksikite gösterdiği saptanmıştır. Ekstrelerin sitotoksikite gösterdiği etki hücre tipine bağlıdır. İn vivo çalışmada ise DBA2/P815 (H₂^d) fare modeli kullanılmış ve uçucu yağın tümör bölgesine enjeksiyonunun solid tümör gelişimini önemli ölçüde engellediği saptanmıştır. Tedavinin 30. gününde tümör hacmi 2.5±0.6 cm³ iken hayvanlara her 48 saatte (6 kez) sırasıyla 30µl (28.5mg/fare) ve 50µl (47.5mg/fare) enjekte edildiğinde uçucu yağ ile tedavi edilen hayvanlarda tümör hacimleri 0.22±0.1 ve 0.16±0.1cm³ olarak belirlenmiştir. Uçucu yağ uygulaması karaciğer metastaz gelişimini inhibe etmiş ve farenin yaşamını sürdürmesini sağlamıştır (155).

2.3.1.8 Kardiyovasküler Sistem ve Kan Üzerine Etki

1993 yılında yapılan bir araştırmada *N. sativa* uçucu yağı ve timokinonun sıçanların arteriyel kan basıncı ve kalbi üzerine etkileri çalışılmış ve arteriyel kan basıncı ve kalp hızında doz bağımlı bir azalma oluşturduğu saptanmıştır. Bu etkiler siprohepatidin, atropin, heksametonyum, rezerpin ve omurilik yoluyla antagonize edilmiştir. Bu ajanların kardiyovasküler etkilerinin başlıca triptaminerjik ve kolinerjik mekanizmaların dahil olduğu direkt ve indirekt mekanizmalar aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmiştir. Ayrıca sabit yağın sabunlaşmayan fraksiyonu kalp üzerinde belirli bir depresan etki göstermekte ve bradikardi oluşturmaktadır (118, 156).

Ali ve Blunden (11)'in belirttiğine göre Zaoui ve arkadaşları (2000) *N. sativa* tohumlarının diklorometan ekstresinin hipertansif ratlarda güçlü diüretik ve antihipertansif etkiler gösterdiğini saptamıştır. Ekstrenin diüretik etkisi furosemit ile karşılaştırıldığında %16 kadar yükselmiştir (furosemit diürezisi %30 kadar artırır). Cl, Na, K ve üre atılımı diürezise katılmıştır. Ca kanal blokörü olan nifedipinle karşılaştırıldığında hipertansiyonu %22 oranında düşürmüştür. Araştırmacılar *N. sativa*'nın diüretik etkisinin en azından kısmen antihipertansif etkisinden sorumlu olduğunu düşünmüşlerdir.

N. sativa yağının metanollü kısmı araşidonik asit, platelet agregasyonu ve kan koagülasyonu üzerinde inhibitör etki göstermektedir, bu kısımdan yeni bir bileşen 2-(2-metoksipropil)-5-metil-1,4-benzenediol ve iki bilinen bileşen timol ve karvakrol izole edilmiştir. Bu bileşenlerin güçlü inhibitör etkiye sahip olduğu ve trombozis için bilinen bir terapötik ajan olan aspirinden daha etkili oldukları saptanmıştır (113).

Bir diğer çalışmada *N. sativa* tohumlarının sabit yağı 1 mL/kg/gün/12 hafta sıçanlara verilmiş ve kan hemostazı, vücut ağırlığı izlenmiştir. Hemoglobun, hemotokrit ve PCV seviyeleri önemli ölçüde artmış serum kolesterol, trigliserit, glukoz seviyeleri, lökosit ve platelet miktarı azalmıştır (21).

Ibraheim'in 2002 yılında yaptığı araştırmada (22) tohum ve total yağ, sağlıklı dişi gönüllülere verilmiş ve glukoz, kolesterol, trigliserit, kreatin kinaz, prolaktin, kırmızı kan hücreleri, beyaz kan hücreleri, plateletler, hemoglobun ve ALT, AST, ALP ve GGT gibi bazı karaciğer enzimlerinin serum seviyeleri incelenmiştir. Total yağ, hemoglobun seviyelerini yükseltmiştir. Tohumlar ise RBCs, WBCs ve hemoglobun seviyelerinde yükselme sağlamıştır. Total yağ ALT ve AST' de artış sağlarken hem total yağ hem de öğütülmüş tohumlar GGT ve ALP'de önemli bir artış oluşturmuştur.

N. sativa'nın kan koagülasyonu karaciğer fonksiyon testleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada *N. sativa*'nın, sıçanlara toz edilmiş tohumları farklı dozlarda 1, 2 ve 4 hafta verilmiştir. Çift doz iki hafta sonra geçici protrombin zamanında uzama (%7.8) ve trombin zamanında azalma (%13), üçlü doz bir hafta sonra geçici aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanında azalma (%16) ve trombin zamanında azalma (%13) oluşturmuştur. *N. sativa*'nın ekivalen dozu (180 mg/kg rat/gün) 4 hafta sonra önemli ölçüde hiperfibrinojenemi (%14) oluşturmuştur. Fibrinojene paralel olarak

albumin seviyelerinde ve ALT aktivitesinde artış gözlenmişken platelet miktarı, antitrombin III seviyesi ve AST aktivitesinde hiçbir değişim gözlenmemiştir (10).

2.3.1.9 Gastrointestinal Sistem Üzerine Etki

Akhtar ve arkadaşları tarafından 1996 yılında yapılmış bir araştırmada (157) tohumların sulu ekstresinin, asetil salisilik asit verilen sıçanlarda mide özsuyunun asidik içeriğini azalttığı ve (%36) anti ülser aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *N. sativa* yağının iki hafta boyunca (0.88 g/kg/gün) sıçanlara verilerk yapılan bir araştırmada müsin içeriği ve glutasyon seviyesinde artış ve histamin içeriğinde önemli bir azalış gözlenmiş ancak gastrik özsudaki serbest asidite ve peptik aktivite etkilenmemiştir. Bu durum tohum yağının sitoprotektif etkisini doğrulamaktadır. Bir diğer araştırmada yağ ve timokinonun gastroprotektif etkili olduğu saptanmıştır (158). Aqel 1993 yılında yaptığı çalışmada (159) uçucu yağ ve etanollü ekstrenin tavşan jejunumundaki düzenli hareketlenmeleri inhibe ettiğini belirtmiştir.

2003 yılında yapılan bir çalışmada timokinonun düşük dozlarda (5 mg kg⁻¹) kolitte kısmi koruma sağladığı; yüksek dozlarda ise sülfasalazinden bile anlamlı bir şekilde koruma sağladığı saptanmıştır (160).

Kanter ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları çalışmada (161) *N. sativa* (500mg kg⁻¹) ve timokinon (10mg kg⁻¹) alkol ile muamele edilmiş sıçanlara verilmiştir. Her ikisi de gastrik mukozayı saf alkolün zararlı etkilerine karşı korumuş ve ülser iyileşmesini arttırmıştır. *N. sativa* ile muamele mast hücreleri sayısını ve gastrik erozyon sayısını azaltmıştır. Timokinon tedavisi de mast hücreleri sayısını ve gastrik mukoza lezyonlarını azaltmış fakat bu etkiler yağa oranla daha az gözlenmiştir. Gastrik doku histamin seviyeleri ve miyeloperoksidaz aktivitelerinin etanolla muamele edilen ratlarda arttığı saptanmıştır. *N. sativa* veya timokinon verilmesi artışları tersine çevirmiştir. Sonuçta, her iki ilacın özellikle *N. sativa*'nın gastrik mukozayı alkol-indüklü mukozal hasardan koruyabileceği gösterilmiştir.

2.3.1.10 Antihepatik ve Nefrotoksik Etki

Al-Gharably ve arkadaşları 1997 yılında yaptıkları bir araştırmada (162) *N. sativa* uçucu yağının ana bileşeni olan timokinon Swiss albino farelere oral yoldan 6 günlük peryot boyunca verildikten sonra CCl₄ enjekte edilmiş ve karaciğer hasarı

oluşturulmuştur. Timokinon alan hayvanların karaciğerlerinde toksisitenin azaldığı gözlenmiştir.

1998 yılında yapılan bir çalışmada izole sıçan hepatositleri üzerine timokinonun tert-bütil-hidro-peroksite karşı koruyucu etkisini araştırmışlar ve koruyucu etkilerin olduğunu belirlemişlerdir. Timokinon hepatoprotektif ajan silibinle karşılaştırılmış ve silibin kadar etkili bulunmuştur (163).

1999 yılında yapılan bir çalışmada timokinonun farelerde CCl₄ ile oluşturulan hepatotoksisiteye karşı karaciğeri koruduğu belirlenmiştir (164).

El-Dakhakhny ve arkadaşları (165), *N. sativa* yağının 4 hafta uygulandığı sıçanlarda CCl₄ ve D-galaktozamin ile oluşturulan hepatik hasara karşı korumada etkili olduğunu D-galaktozamin ile oluşan hepatotoksisite için ise tam bir koruma sağladığını belirlemişlerdir. Yağ serum toplam kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve trigliserit (TG) seviyelerini düşürmüş ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) seviyesini yükseltmiştir.

2001 yılında yapılmış bir araştırmada tavşanlara *N. sativa* verilerek sonra deneysel karaciğer sirozu oluşturulduğunda siroz ve fibrozunun önlendiği saptanmıştır (166).

Mahmoud ve arkadaşları (167), *S. mansoni* ile enfekte farelerde yağ verildiğinde L-alanin aminotransferaz (ALT), gamma-glutamyl-transferaz (GGT) ve alkalın fosfataz (ALP) aktivitesindeki ve serum albümin içeriğindeki değişiklikleri araştırmışlardır, yağın değişikliklere karşı önemli bir rol oynadığını saptamışlardır.

2003 yılında yapılmış çalışmada *N. sativa* ve *U. dioica*'nın karaciğer fibrozisi ve sirozun önlenmesi üzerindeki etkisi araştırılmış ve karaciğer dokuları histopatolojik ve immünohistokimyasal yönden değerlendirilmiştir. *U. dioica* ve *N. sativa* uygulanan sıçanlarda hepatotoksisitenin anlamlı olarak önlendiği belirlenmiştir (168).

2.3.1.11 Antioksidan Etki

Atta ve Imaizumi (169) 1998 yılında *N. sativa* tohumları ve *Rosmarinus officinalis* L. ekstresinin mısır yağının otooksidasyonu üzerine etkilerini araştırmışlardır. β -karoten emülsiyonu substrat olarak kullanıldığında bitkilerin sulu ve etanollü ekstraları antioksidan aktivite göstermiştir. Ayrıca 100°C'de mısır yağı içerisindeki trigliseritlerin oksidatif bozunmasını geciktirmiştir. Etanollü ekstralar

antioksidan aktivite açısından sulu ekstreden daha aktif bulunmuştur. *N. sativa* tohumunun etanollü ekstresi yağ oksidasyonunu önlemede diğerlerinden daha etkindir ve aktivitesi tersiyer bütül hidrokinon ile eşdeğer bulunmuştur.

2000 yılında yapılan bir araştırmada *N. sativa* tohumlarının uçucu yağı ve ana bileşenler timokinon, karvakrol, *t*-anetol ve 4-terpineol'ün antioksidan etkisi araştırılmıştır. Bileşenler ve uçucu yağ difenilpikrilhidrazil deneyinde test edildiği zaman çeşitli antioksidan aktivite göstermiş. Aynı zamanda lipozomlardaki non-enzimatik lipit peroksidasyon deneyi ve deoksiriboz degradasyon deneyi için etkili bir OH radikal süpürücü ajan olarak rol oynamışlardır (31).

N. sativa tohumları bileşenlerinden timol, timokinon ve ditimokinon, süperoksit anyon radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen gibi radikal oksijen türleri (ROS)'nden meydana gelen reaksiyon üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada test edilen bileşenler çeşitli ROS süpürücüleri olarak etkili olmuşlardır (170).

N. sativa tohumunun uçucu yağı ana bileşeni timokinonun antioksidan ve prooksidan etkileri in vitro olarak araştırılmış ve timokinon ile TBHQ, mikrozomal lipit peroksidasyonunu konsantrasyon bağımlı bir şekilde olarak inhibe ettiği belirlenmiştir. Timokinonun süperoksit anyon süpürücü olarak TBHQ'dan daha aktif olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar timokinonun etkili bir süperoksit anyon süpürücü olarak rol oynadığını göstermiştir (171).

Ramadan ve arkadaşlarının çalışmalarında (32) *N. sativa* ham yağı ve fraksiyonlarının (nötral lipitler, glikolipitler ve fosfolipitler) güçlü bir radikal süpürücü aktiviteleri saptanmıştır.

Suboh ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (172) *Artemisia herba-alba*, *Ferula hermonis*, *Hibiscus sabdariffa*, *N. sativa*, *Teucrium polium*, *Trigonella foenum-graecum* ve *Allium sativum* bitkilerinin protein degradasyonu, lipid peroksidasyonu, eritrosit deformasyonu ve 60 dk boyunca 37⁰C'de 10mM H₂O₂'ye maruz bırakılan eritrositlerin ozmotik fragilitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Eritrositlerin *N. sativa* ve *A. sativum* ile preinkübasyonu eritrositleri protein degradasyonu, deformasyon hasarına karşı korumuş ve H₂O₂'den kaynaklanan ozmotik fragilitiyi azaltmıştır. *F. hermonis*, *H. sabdariffa*, *N. sativa*, *T. polium* ve *A. Sativum*, eritrositleri lipid peroksidasyonuna karşı korumuştur.

Radyoterapi kanser tedavisinde en sık kullanılan tedavilerden biridir. Pek çok çalışma ışın tedavisinin hücrelerdeki radyasyon hasarında önemli rol oynayan reaktif O₂ türlerini (ROS) oluşturduğunu göstermiştir. *N. sativa* ve indirgenmiş glutatyonun (GSH) farklı dokular üzerinde antiperoksidatif etki ve ROS üzerinde süpürücü bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı deneysel modellerde irradyasyon indüklü oksidatif hasara karşı *N. sativa* ve GSH'nin antioksidan ve radyoprotektif rollerini belirlemektir. Araştırmada tek doz 6 Gy radyasyon maruziyetinden önce 30 gün boyunca *N. sativa* grubuna *N. sativa* (1 ml/kg vücut ağırlığı) uygulanmış, GSH grubuna GSH (150 mg/kg vücut ağırlığı) enjekte edilmiş ve kontrol grubuna fizyolojik tuz solusyonu (1 µg/kg vücut ağırlığı) verilmiştir. Bütün gruplarda malondialdehit, nitrat, nitrit (oksidatif stres belirteçleri) ve askorbik asit, retinol, β-karoten, GSH ve serüloplazmin (nonenzimatik antioksidan belirteçleri) seviyeleri ve periferik kan lenfositleri izlenmiştir. Tüm vücut ışınlanması kan malondialdehit, nitrat ve nitrit seviyelerinde anlamlı artışlara sebep olurken daha önceden *N. sativa* ve GSH almış irradyasyona maruz kalan ratlardaki kan oksidatif stres belirteçlerinin seviyeleri önemli derecede azalmıştır ve nonenzimatik antioksidan seviyeleri anlamlı derecede artmıştır. Bu sonuçlar net bir şekilde göstermektedir ki, *N. sativa* ve GSH tedavisi radyasyon etkilerini önemli derecede antagonize etmektedir (173).

2.3.1.12 Sinir Sistemi Üzerine Etki

Al- Naggar ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada (23) yağı uzaklaştırılmış *N. sativa* tohumlarının sulu ve metanollü ekstreleri hazırlanmış ve nörofarmakolojik inceleme yapılmıştır. Her iki ekstrenin güçlü santral sinir sistemi ve analjezik aktiviteye (özellikle metanolik ekstrede depresan etki) sahip olduğu saptanmıştır.

Kanter ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada (24) sıçanlarda metilprednizolonla karşılaştırmalı olarak *N. sativa*'nın spinal cord hasarı üzerine etkileri araştırılmış ve sıçanların nörolojik skorlarının SCI gruplarındakinden farklı olmadığı saptanmıştır. SCI omurilik doku malondialdehit (MDA) ve protein karbonil (PC) seviyeleri arttırmış ancak SCI, superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerini azaltmıştır. Metilprednizolon ve *N. sativa* tedavisi, MDA doku ve PC seviyelerini azaltmış ve SOD, GSH-Px ve CAT

enzimlerinin inhibisyonunu durdurmuştur. *N. sativa* verildiğinde anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Metilprednizolon ve *N. sativa* tedavisi alan gruplarda nöronların morfolojilerinin korunduğu ancak kontrol grubundaki nöronların daha iyi korunduğu belirlenmiştir. *N. sativa* tedavisinin omurilik doku hasarında yararlı olabileceği belirtilmiştir.

Kanter 2008 yılında yaptığı bir araştırmada (25) *N. sativa* (NS) ve timokinonun (TQ) sıçanlarda kronik toluen maruziyetinden sonra hipokampusteki nörodejenerasyonu üzerine etkilerini çalışmıştır. Çalışmada kronik toluen maruziyeti sitoplazma büzülmesi, endoplazmik retikulum boşluğunda hafif genişleme, dejenerasyona uğramış krista ile belirgin bir şekilde şişmiş mitokondri ve hipokampus nöronlarındaki kromatin düzensizliği ile bozulmuş nükleer membran gibi güçlü dejeneratif değişikliklere neden olmuştur. Deforme olmuş sinir hücreleri TQ ve NS tedavisi alan ratlarda büyük ölçüde bulunmamıştır ve TQ ve özellikle NS tedavisinin kronik toluene maruz kalmış sıçanların hipokampuslarındaki nörodejenerasyon üzerinde morfolojik gelişmeler sağladığı belirtilmiştir.

2.3.2 *N. damascena* L. Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları

2.3.2.1 Östrojenik Etki

Agradi ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmalarda (30, 33) *N. damascena* tohumlarının ekstreleri östrojenik aktivite açısından incelenmiştir. Tohumun alkollü ekstreleri artan polaritede fraksiyonlanmış ve fraksiyonlar total alkollü ekstrelerden daha yüksek aktivite göstermiştir. Sonuçta polar bileşiklerin varlığının aktivitedeki rolü açıklanmıştır. Ayrıca aktivitenin konsantrasyona bağlı olarak değiştiği saptanmıştır.

2.3.2.2 Antimikrobiyal ve Mollusidal Etki

Fico ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları bir araştırmada (34) *N. damascena*'nın toprak üstü ve tohumlarından elde edilmiş uçucu yağ, farklı polaritede ekstreler, fraksiyonlar ve saf bileşikler biyoaktivite açısından incelenmiştir. Bitkinin uçucu yağı sadece Gram-pozitif bakterilere karşı etkin iken ekstreler arasında butanol ekstresi *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı aktif bulunmuştur. Mollusidal aktivite ise saptanamamıştır.

2.3.2.3 Antileishmanial Etki

N. damascena'nın tohum ve toprak üstü kısımlarından hazırlanmış olan farklı ekstraler *Leishmania infatum*'un iki farklı formunda denenmiştir. Sonuçta bitkinin her iki kısmında diklorometanlı ekstreleri *Leishmania promastigotes* üzerinde etkili bulunmuş ve pentamidin ve amfoterisin B temelli tedaviye alternatif olabileceği belirtilmiştir (35).

2.3.3 Diğer *Nigella* Türleri Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları

2.3.3.1 Antimikrobiyal Etki

Türkiye'de yetişen 11 *Nigella* türünün tohumlarından elde edilen petrol eterli, diklorometanlı ve metanollü ekstrelerin Gram-pozitif (*S. aureus*, *E. faecalis*, *B. subtilis*) Gram-negatif (*E. coli*, *P. aeruginosa*) bakterilere karşı antibakteriyal aktiviteleri taranmıştır. *N. sativa*'nın tüm ekstreleri ve *N. segetalis*'in petrol eterli ekstresi ile diklorometanlı ekstresi özellikle *S. aureus*' a karşı olmak üzere antibakteriyel etki göstermiştir. *N. sativa*'nın petrol eterli ekstresi *B. Subtilis*'e karşı *S. aureus*'dan daha etkili bulunmuştur (36).

2.3.3.2 Kan Biyokimyası ve Oksidan/Antioksidan Denge Üzerine Etkiler

Kökdil ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan bir araştırmada (37) *N. unguicularis* sabit yağı sıçanlara 4 hafta boyunca oral olarak uygulanarak serum lipit profili, hematolojik parametreler ve oksidan/ antioksidan denge üzerine etkileri araştırılmıştır. Yağın günlük uygulanması (1 ml/kg oral, 4 hafta boyunca) serum total kolesterol, VLDL-kolesterol, trigliserit ve glukoz seviyelerinde önemli bir azalmaya ve serum HDL seviyesinde anlamlı bir artışa sebep olmuştur. Albumin, MCV ve fibrinojen seviyeleri kontrol değerlerine kıyasla anlamlı bir şekilde artarken AST, ALT, alkalin fosfataz, bilirubin, BUN, MCHC önemli ölçüde azalmıştır. Yağ total antioksidan dengede anlamlı bir artış sağlanmış ve MDA konsantrasyonlarını etkilememiştir. Sonuç olarak *N. unguicularis* yağının sıçanlarda kan biyokimyası ve oksidan/antioksidan denge üzerinde faydalı metabolik etkilere sahip olduğu belirlenmiştir.

Araştırcılar devam eden çalışmalarında (38) *N. orientalis* ve *N. segetalis* sabit yağının Biyokimyasal parametreler üzerine etkilerini incelemişlerdir. *N. orientalis* sabit yağının uygulanmasını takiben serum total kolesterol ve VLDL-kolesterol önemli ölçüde azalırken LDL-kolesterol seviyesi her iki yağı alan grupta anlamlı derecede artmıştır. *N. orientalis* sabit yağı sıçanlarda AST, ALP, bilirubin ve üre seviyelerini büyük ölçüde azaltmıştır. MCHC ve RDW seviyesi azalırken albumin, ürik asit ve MCV’de artış gözlenmiştir. *N. segetalis* sabit yağı alan sıçanlarda ALP, BUN, MCHC, RDW önemli ölçüde azalmış, albumin, fibrinojen, hematokrit ve MCV seviyeleri artmıştır. *N. orientalis* ve *N. segetalis* sabit yağlarının MDA retimi üzerine hiçbir etki göstermediği ve total antioksidan dengede anlamlı bir artış sağladığı saptanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

N. stellaris Boiss. bitkisinin çiçekli örnekleri Kahraman Maraş ili Avşarlar Köyü civarından Haziran 2008'de toplandı, kurutularak herbaryum numunesi hazırlandı ve Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumuna konuldu (Herbaryum numarası: Ahmet İLÇİM 1762 KSUH). Çalışma materyalini oluşturacak örnekler (tohum, gövde ve kök) tohumlar olgunlaştığı zaman toplanarak gölgede kurutuldu. Tohum, toprak üstü ve kök kısımları ayrıldı ve değirmende öğütüldü.

3.2 Yöntem

3.2.1 Kullanılan Kimyasallar

Apigenin	Fluka
3,4-Dihidroksi benzoik asit	Merck
1,1 Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH')	Sigma
2,6-Di-tert-bütil-4-metilfenol (BHT)	Merck
(-)-Epikateşin	Fluka
Ferulik asit	Merck
Gallik asit	Sigma
n-Hekzan	Merck
Hidroklorik asit	Merck
(+)-Kateşin	Sigma
Kersetin	Fluka
Klorojenik asit	Sigma
p-kumarik asit	Merck
Metanol	Merck
Timokinon	Aldrich
Timol	Fluka

Trans-2-hidroksisinnamik asit	Aldrich
Trans sinnamik asit	Aldrich
Vanilik asit	Fluka

3.2.2 Kullanılan Cihazlar

Rotary evaporatör	Rotar TVP 200
Su banyosu	Elektro-mag
Ultrasonik Banyo	Bandelin Sonorex
Elektrikli Terazi	Denver Instrument
GC-MS	Agilent Technologies 6890 N Network GC System, Agilent 5973 Network Mass Selective Detector
HPLC	Agilent 1100 series LC
Öğütücüler	IKA 11 basic, Retsch SK 100
Santrifüj	Sigma 2-16 K
Vortex	Heidolph Reax Control
Mantolu Isıtıcı	J.P. SELECTA
UV-VIS	Analytic Jena Specord 50
ICP-MS	Agilent 7500a

3.2.3 Ekstraksiyon İşlemleri

3.2.3.1. Sabit Yağ Elde Edilişi ve Yağ Asidi Metil Esteri Hazırlanması

Öğütülmüş 10 g tohum hekzanla 6 saat boyunca Soxhlet cihazında ekstre edildi. Hekzanlı ekstre rotary evaporatör 40°C’de kuruluğa kadar uçurulduktan sonra tartıldı, % verim hesaplandı ve kullanılabilecek kadar +4°C’de saklandı.

Bir santrifüj tüpüne 0.5 g sabit yağ alındı. Üzerine 10 ml *n*-hekzan ve 2 ml 2N metanollü KOH ilave edildi. Karışım 2 dk vortekste karıştırıldı. 15 dk 4000 rpm’de santrifüjlendi. Üst faz başka bir santrifüj tüpüne alındı ve 5 ml distile su ilave edilerek vortekste 2 dk karıştırıldı. 15 dk 4000 rpm’de santrifüjlendi. Üst faz GC-MS analizi için enjektörle bir GC tüpüne alındı (20).

3.2.3.2 Uçucu Yağ Elde Edilişi

Öğütülmüş 20 g tohum alınarak Clevenger cihazında su distilasyonu uygulandı. Distilasyon işlemine toplama büretindeki yağ miktarı artmayıncaya kadar devam edildi. Yağın hacmi okunarak % uçucu yağ verimi hesaplandı.

3.2.3.3 Timol ve Timokinon Analizi İçin Yapılan Ekstraksiyon İşlemi

Timol ve timokinon analizleri için 0.1 g öğütülmüş tohum 10 ml metanol ile vortekste 1 dk, ultrasonik banyoda 20 dk boyunca karıştırılarak tüketildi. 1 gece bekletilen karışım ultrasonik karıştırıcıda 1 saat, vortekste 1 dk tutulduktan sonra 25 dk 1600 rpm'de santrifüj edildi. Sıvı kısım alındı ve buradan HPLC'ye enjekte edildi (69).

3.2.3.4 Fenolik Bileşiklerin Analizleri İçin Yapılan Ekstraksiyon İşlemi

Tohum: Hekzan ile yağı alınan 30 g tohum 6 saat boyunca Soxhlet cihazında metanol ile tüketildi. Ekstre rotavaporda 40°C'de kuruluğa kadar uçuruldu ve tartılarak % verim hesaplandı.

Toprak üstü kısım: Toprak üstü kısmın 100 g'si Soxhlet'de 500'er ml metanol ile 4 kez 6 saat tüketildi. Ekstre rotavaporda 40°C'de kuruluğa kadar uçuruldu ve % verim hesaplandı.

Bir diğer tüketme işlemi ise düşük sıcaklıkta gerçekleştirilmek üzere 100 g toprak üstü kısım su banyosu üzerinde 40-50°C' de 1500 ml metanol ile 3 gün boyunca tüketildi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Elde edilen metanollü ekstratlar birleştirildi, rotavaporda 40°C'de kuruluğa kadar uçuruldu, tartıldı ve % verim hesaplandı.

Kök: Yukarıdaki şekilde iki farklı sıcaklıkta ekstraksiyon gerçekleştirildi İlk yöntemde 21.61 g öğütülmüş kök Soxhlet'de 6 saat boyunca metanol ile tüketildi. Bu işlem 2 defa tekrarlandı. Elde edilen ekstratlar rotavaporda 40°C'de kuruluğa kadar uçuruldu ve % verim hesaplandı.

İkinci yöntemde ise 21.97 g kök 100 ml absolu metanol ile 1 saat boyunca 40°C'de ultrasonik banyoda tüketildi. 24 saat boyunca +4°C'de bekletildikten sonra Whatman kağıdından süzülüp, rotavaporda kuruluğa kadar uçuruldu, tartıldı ve % verim hesaplandı (96).

Yukarıda anlatılan şekilde hazırlanan ekstratların hidrolizi için her birinden 0.5 g alınarak 40 ml litrede 1 g BHT içeren metanol ve 10 ml 6 M HCl ile 15 dakika boyunca

ultrasonik banyoda karıştırıldı. Karışım geri çeviren soğutucu kullanılarak su banyosu üzerinde 2 saat boyunca 90°C'de ısıtıldı ve süzülerek fenolik bileşiklerin analizinde kullanılmak üzere balonjojeye aktarıldı. Hacim 50 ml'ye metanol ile (1g/lt BHT taşıyan) tamamlandı. Bu çözeltiler HPLC analizleri için kullanıldı.

3.2.4 GC-MS Analizi

3.2.4.1 Sabit Yağın GC-MS Analizi

N. stellaris tohum yağının yağ asitlerinin kalitatif ve kantitatif analizi GC-MS kullanılarak belirlendi.

GC-MS Analizlerinin Koşulları:

Gaz Kromatograf	: Agilent Technologies 6890 N Network GC System
Kütle spektrometresi	: Agilent 5973 Network Mass Selective Detector
Kolonlar	: DB-Wax (60m x 0.25mm ID, 0.25 µm film kalınlığı) DB-23 (60 m x 0.25 mm ID, 0.25 µm film kalınlığı)
Isı programı	:140°C'de 5 dk., 140-165°C'de 5°C/dk., 165°C'de 10 dk., 165-190°C'de 5°C/dk., 190°C'de 55 dk
Enjeksiyon sıcaklığı	:250°C
Akış hızı	:1.5 ml/dk
Transfer line sıcaklığı	: 280°C
İyon kaynağı sıcaklığı	: 210°C
Taşıyıcı gaz	: Helyum
Enjektör	: Agilent Technologies 7683 series oto enjektör
Split oranı	: 1:10

3.2.4.2 Uçucu Yağın GC-MS Analizi

N. stellaris tohum uçucu yağının kalitatif ve kantitatif analizi GC-MS kullanılarak belirlendi.

GC-MS Analizlerinin Koşulları:

Gaz Kromatograf	: Agilent Technologies 6890 N Network GC System
Kütle spektrometresi	: Agilent 5973 Network Mass Selective Detector
Kolonlar	: DB-Wax (60m x 0.25mm ID, 0.25 µm film kalınlığı) DB-23 (60 m x 0.25 mm ID, 0.25 µm film kalınlığı)
Isı programı	: 50°C'de 5 dk., 50- 200°C'de 2°C/dk., 200°C'de 10 dk.
Enjeksiyon sıcaklığı	:250°C
Akış hızı	:1.5 ml/dk
Transfer line sıcaklığı	: 280°C,
İyon kaynağı sıcaklığı	: 210°C
Taşıyıcı gaz	: Helyum
Enjektör	: Agilent Technologies 7683 series oto enjektör
Split oranı	: Splitless

3.2.5 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Yapılan Analizler

3.2.5.1 Timol ve Timokinon Analizi

HPLC Analizlerinin Koşulları;

HPLC cihazı	: Agilent 1100 series LC
Kolon	: ACE 5 C18 (25cmx4.6mm i.d.)
Mobil faz	: Su:Metanol:2-Propanol (50:45:5)
Dedektör	: UV ₂₅₄ nm
Mobil faz akış hızı	: 0.6 mL /dk
Enjektör Hacmi	: 20 µL
Sıcaklık	: 27 °C

3.2.5.2 Fenolik Bileşikler Analizi

HPLC Analizlerinin Koşulları;

HPLC cihazı	: Agilent 1100 series LC
Kolon	: Waters Spherisorb S5 ODS2 (25cm x 4.6 µm)
Mobil faz	: A) % 0.05 Asetik Asit (Su içerisinde) B) % 0.05 Asetik Asit (% 80 Asetonitril %20 Metanol içerisinde)
Dedektör	: DAD, 280 nm
Mobil faz akış hızı	: 0.6 mL /dk
Enjektör Hacmi	: 20 µL
Sıcaklık	: 25 °C

3.2.5.2 Tokoferol Profili Analizi

0.1 g tohum 10 ml ekstraksiyon çözücüsü ile ekstre edildi ve aşağıda belirtilen koşullarda analizler yapıldı.

HPLC Analizlerinin Koşulları;

HPLC cihazı	: Agilent 1100 series LC
Kolon	: Atlantis HILIC silica (250 x 4.6 mm, 5µm)
Çözücü sistemi	: %4 oranında 1,4-dioksan ve %0.04 asetik asit içeren hekzan
Dedektör	: Floresans dedektör Ex = 295 nm Em = 330 nm
Mobil faz akış hızı	: 1 ml/dk
Enjektör Hacmi	: 20 µL

3.2.6 Mineral Maddeler Analizi

Tohumların mineral madde içeriği ile ilgili analizleri Tubitak-ATAL laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Numuneler ANTON PAAR Multiwave 3000 ile çözünmüş ve Agilent 7500a ICP-MS ile analiz edilmiştir.

3.3 Antioksidan Etki Tayini (DPPH[•] Yöntemi ile)

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için hazırlanmış olan tohum, toprak üstü ve köklerin metanollü ekstrelerinden ayrı ayrı 0.5g tartıldı ve balonjojede 100ml'ye tamamlandı (Eppendorf 100, 1000, 5000 µl otomatik pipet kullanıldı.). Bu çözeltiler ana stok olarak kabul edildi ve seyreltmeler aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi:

- 1 ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (0.5mg/ml)
- 2ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (1 mg/ml)
- 3ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (1.5mg/ml)

4ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (2mg/ml)
5ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (2.5mg/ml)
6ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (3mg/ml)
7ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (3.5mg/ml)
8ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (4mg/ml)
9ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (4.5mg/ml)

Standart olarak bütilhidroksitoluen (BHT) kullanıldı. Ana stok için 0.5g BHT tartıldı, 100ml'ye tamamlandı. Bu stoktan yapılan seyreltmeler aşağıda gösterilmiştir.

2ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (0.1mg/ml)
3ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (0.15mg/ml)
4ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (0.2mg/ml)
5ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (0.25mg/ml)
8ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (0.4mg/ml)
9ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (0.45mg/ml)
10ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (0.5mg/ml)

Radikal süpürücü etki tayini için DPPH' testi kullanıldı (174, 175). Bunun için hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerin her birinden 0.1 ml alınıp taze hazırlanmış 6×10^{-5} mol/litre metanollü DPPH' çözeltisinden 2.9 ml ilave edildi ve ½ saat karanlıkta inkübasyona bırakıldı ve ardından UV₅₁₅ nm'de absorbanlar ölçüldü. Metanol çözeltisi kör olarak kullanıldı. Her ölçüm 3 kez tekrarlanarak ortalama ve standart sapmaları hesaplandı. DPPH' çözeltisi kontrol (A₀) olarak kullanıldı. Radikal süpürücü etki, %inhibisyon olarak aşağıdaki formülden hesaplandı:

$$\text{DPPH' süpürücü etki (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀= Kontrolün (DPPH' çözeltisi) absorbanı

A₁= Numune varlığında ölçülen absorban

4. BULGULAR

4.1 GC-MS Analizlerine Ait Bulgular

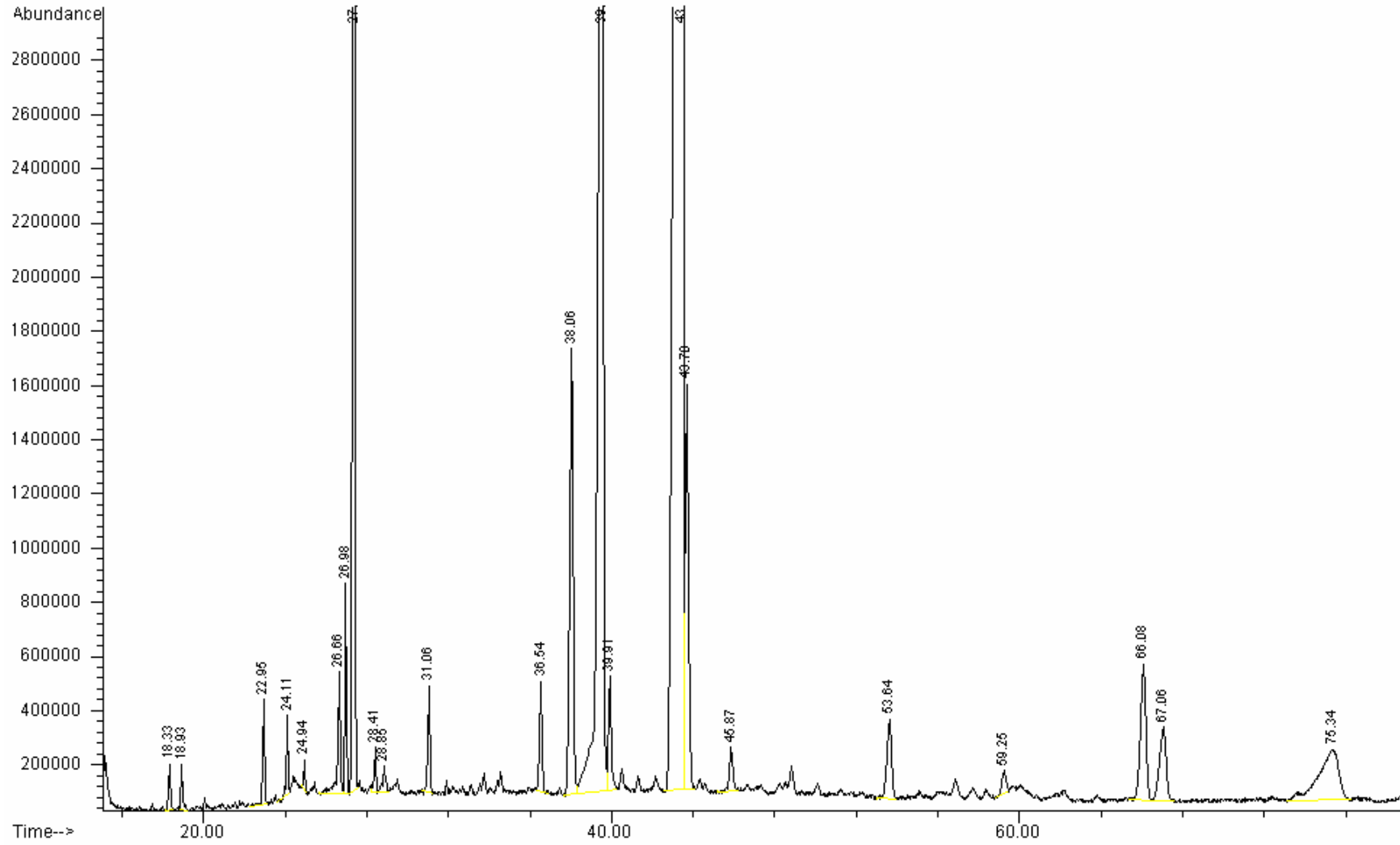
4.1.1 Sabit Yağ Analizine Ait Bulgular

N. stellaris tohumundan Soxhlet ekstraksiyonu ile %34.30 verimle sabit yağ elde edilmiştir. Yağın analizi için metil esteri hazırlanmış ve GC-MS ile yağ asidi bileşimi kalitatif ve kantitatif olarak saptanmıştır. Elde edilen kromatogram Şekil 4. 1’de, yağ asidi bileşimi ise Tablo 4. 1’de görülmektedir.

Tablo 4. 1 *N. stellaris* tohumlarından elde edilen sabit yağın yağ asidi bileşimi

Rt	Yağ asidi	% Miktar
18.94	Miristik asit	0.21
27.40	Palmitik asit	10.73
38.06	Stearik asit	4.05
39.54	Oleik asit	18.63
43.46	Linoleik asit	50.02
66.08	Eikosadienoik asit	1.96
	Toplam doymuş yağ asidi	14.99
	Toplam doymamış yağ asidi	70.61
	Toplam teşhis edilen yağ asidi	85.6
	Toplam teşhis edilemeyen yağ asidi	14.4

Tablo 4. 1’de *N. stellaris* tohum yağının doymamış yağ asitlerince zengin olduğu görülmektedir. Başlıca doymamış yağ asitleri linoleik (C_{18:2}) ve oleik (C_{18:1}) asitlerdir. Bunu %1.96’lık bir oran ile eikosadienoik asit izlemektedir. Bu üç yağ asidi yağın yaklaşık %70.61’ini oluşturmaktadır. Doymuş yağ asitlerinden ise ana bileşen %10.73’lük bir oranla palmitik asittir. Diğer doymuş yağ asitleri ise stearik (C_{16:0}) ve miristik (C_{14:0}) asitlerdir ve yağda oldukça düşük oranda bulunmaktadır.



Şekil 4. 1 *N. stellaris* tohum sabit yağının yağ asidi bileşimine ait total iyon kromatogramı (DB-Wax kolonunda)

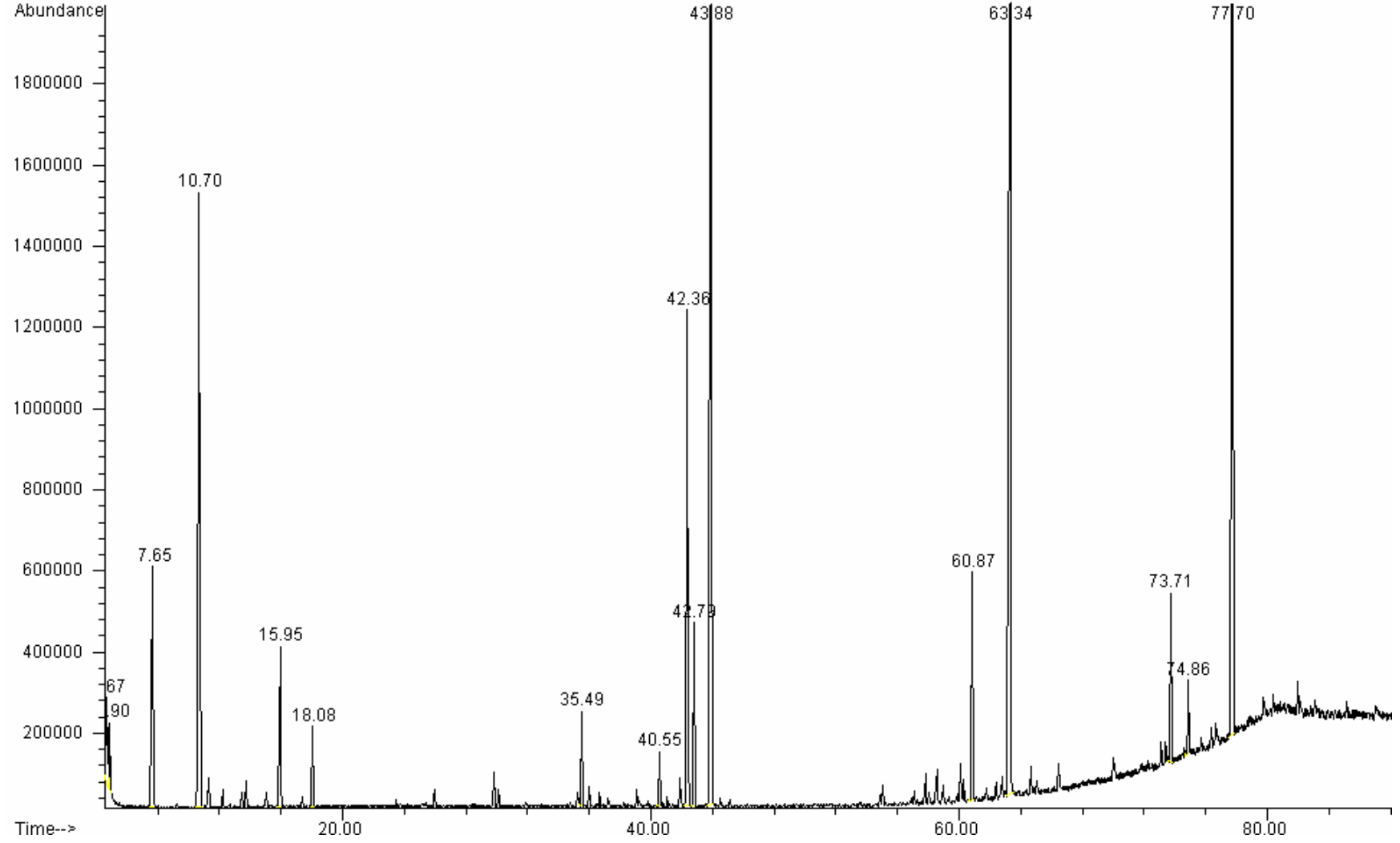
4.1.2 Uçucu Yağ Analizine Ait Bulgular

Tohumlardan Clevenger cihazı kullanılarak hidrodistilasyonla %0.5 verimle elde edilen uçucu yağın analizi GC-MS yöntemi ile yapılmıştır. Uçucu yağın GC-MS analizi sonucu elde edilen kromatogram Şekil 4. 2’de görülmektedir. Kromatogramdaki bileşiklere ait % miktarlar ise Tablo 4. 2’de görülmektedir.

Tablo 4. 2 *N. stellaris* uçucu yağı bileşenleri ve % miktarları

Rt	Bileşik	% Miktar
7.64	α -pinen	3.14
10.70	β -pinen	8.50
15.95	γ -terpinen	1.45
18.07	<i>p</i> -simen	0.73
35.48	Karvakrol metil eter	0.74
40.54	Metil-geranat	0.40
42.35	Germakren-D	5.02
42.79	Anizol	1.40
43.87	Bisiklogermakren	19.44
63.33	Metil farnesoat	38.16
	Toplam teşhis edilen bileşikler	78.98
	Toplam teşhis edilemeyen bileşikler	19.30

Uçucu yağ seskiterpenler yönünden zengindir. Metil farnesoat (%38.16) ve bisiklogermakren (%19.44) ana seskiterpenik bileşikler olup bunu %5.02 ile germakren D takip etmektedir. *N. stellaris* uçucu yağının monoterpenik bileşenlerinde ise başlıca β -pinen (%8.5) ve α -pinen (%3.14) bulunmaktadır. γ -terpinen ise daha düşük oranda yer almaktadır.



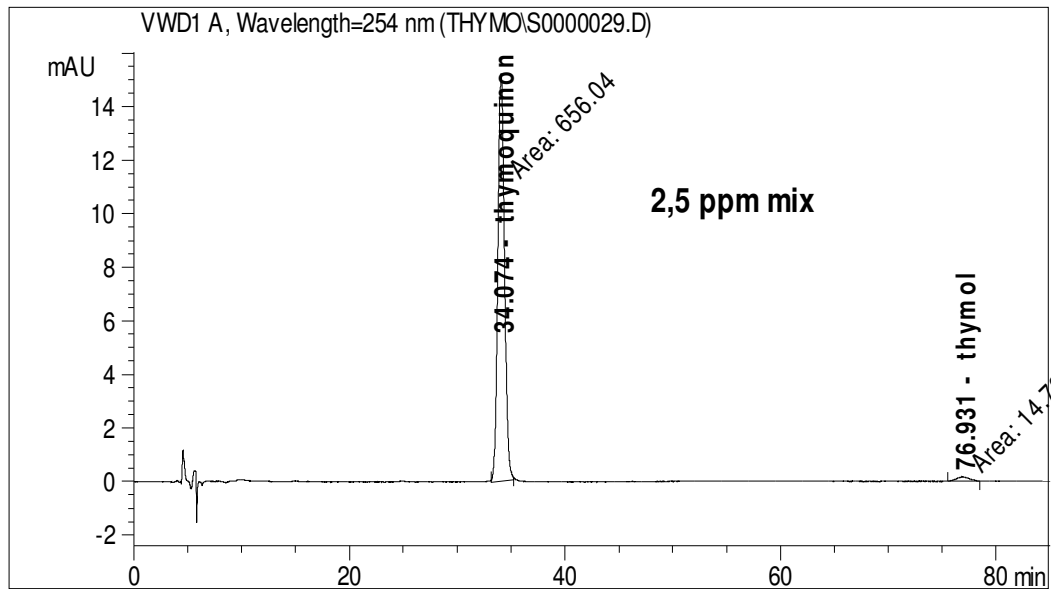
Şekil 4.2 *N. stellaris* uçucu yağının total iyon kromatogramı (DB-23 kolonunda)

4.2 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Analizlerine Ait Bulgular

4.2.1 Timol ve Timokinon Analizine Ait Bulgular

N. stellaris tohumlarından deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan metanol ekstresi timol ve timokinon açısından Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile analiz edilmiştir. Standart bileşenler olarak timol ve timokinon kullanılmıştır (Şekil 4.3).

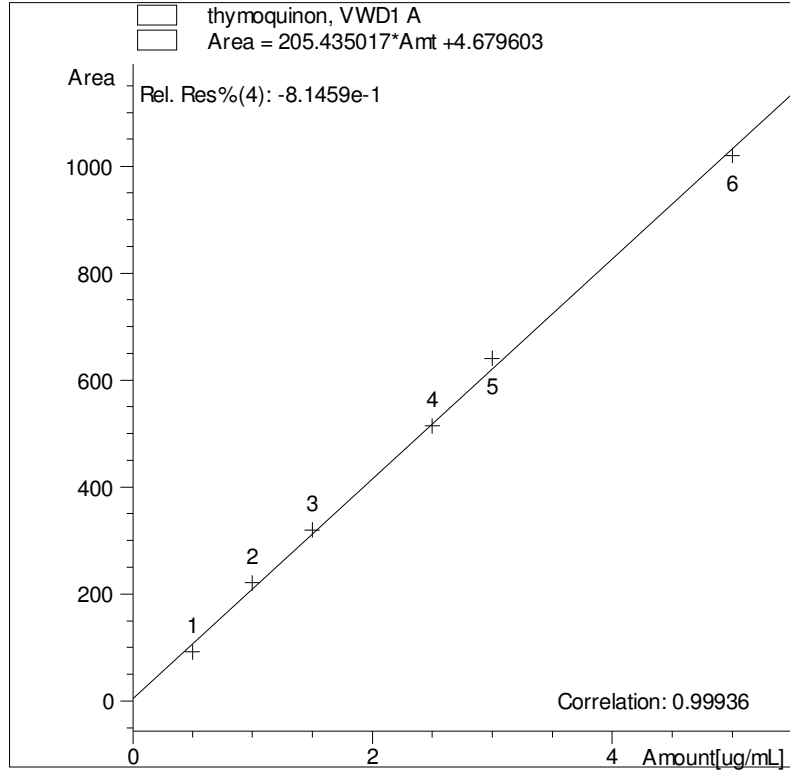
Kantitatif tayin için standartların farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerinin analizlerinin sonucunda her bileşik için kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve regresyon denklemi hesaplanmıştır (Şekil 4. 4, 4. 5). Numunede bulunan timokinon ve timol miktarları ilgili standardın kalibrasyon denkleminde yararlanılarak ve kromatogramdaki pik alanlarının konsantrasyonla ilişkisinden hareketle yapılmıştır. Numuneye ait kromatogramlar Şekil 4. 6'da görülmektedir.



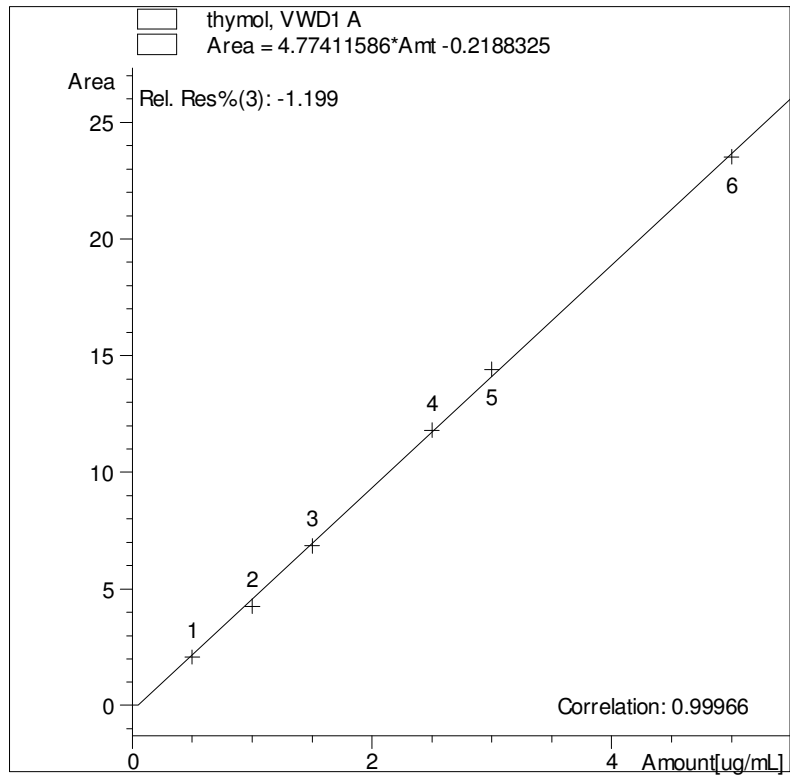
Rt=34.074 timokinon

Rt=76.931 timol

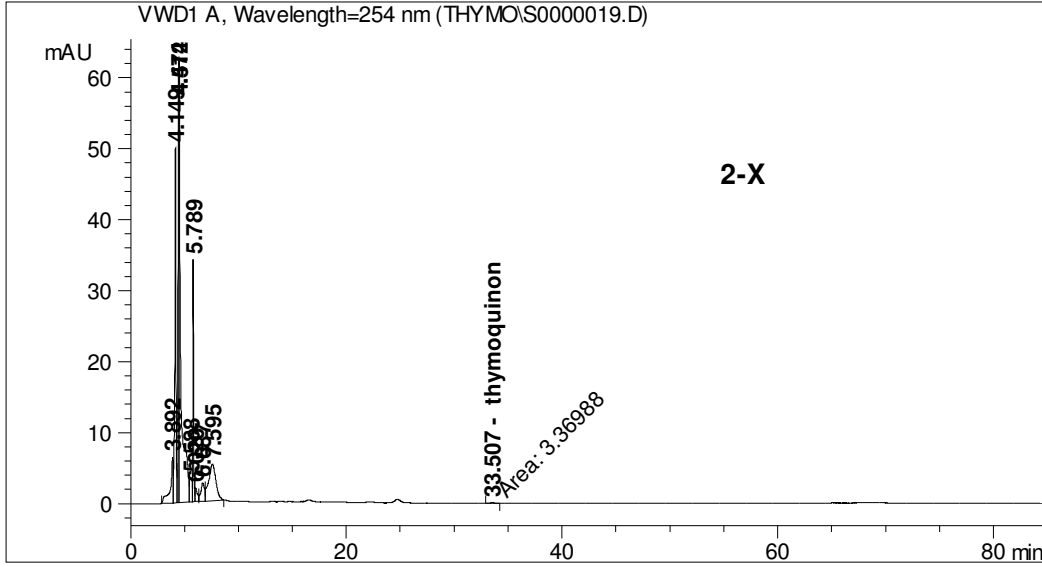
Şekil 4. 3 Timokinon ve timol standartlarına ait HPLC kromatogramı



Şekil 4. 4 Timokinonun kalibrasyon eğrisi



Kalibrasyon eğrisi 4.5 Timolün kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.6 *N. stellaris* tohum metanollü ekstresinin timokinon ve timol analizine ait HPLC kromatogramı

Analiz sonuçlarına göre *N. stellaris* tohum metanol ekstresinde 0.0185 ± 0.0003 $\mu\text{g/ml}$ timokinon varlığı saptanmış olup timole rastlanmamıştır.

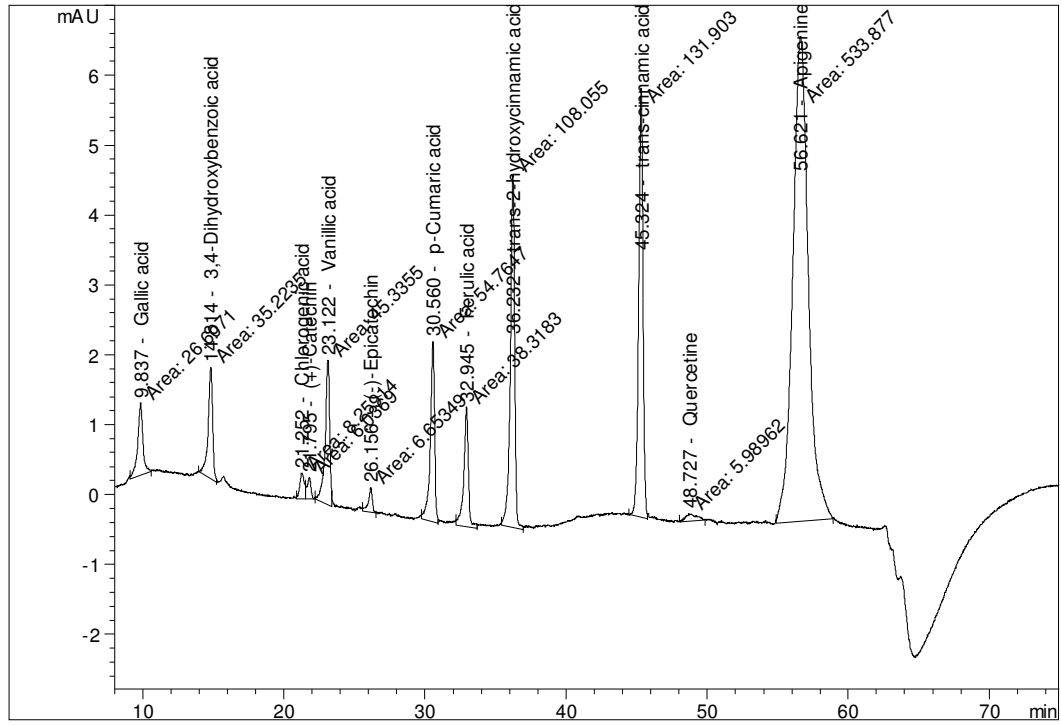
4.2.2 Fenolik Bileşiklerin Analizlerine Ait Bulgular

N. stellaris tohum, toprak üstü ve köklerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu kısmında belirtilen şekilde hazırlanan metanol ekstraktleri hazırlanmış, verimler hesaplanmıştır (Tablo 4. 3). Bu ekstraktlerin hidrolizi ile hazırlanan her bir numunenin fenolik bileşen profili Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile belirlenmiştir. Kalitatif analiz için standart olarak gallik asit, 3,4- dihidroksi benzoik asit, klorojenik asit, (+)-kateşin, vanilik asit, (-)-epikateşin, *p*-kumarik asit, ferulik asit, trans-2-hidroksisinnamik asit, trans-sinnamik asit, kersetin ve apigenin kullanılmıştır.

Kantitatif tayin için standartların farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerinin analizleri sonucunda her bileşik için kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve regresyon denklemi hesaplanmıştır (Şekil 4. 7-4. 19). Numunelerde bulunan fenolik bileşenlerin analizleri, ilgili standartların retansiyon zamanları ve hazırlanan kalibrasyon eğrilerinden yararlanılarak yapılmıştır.

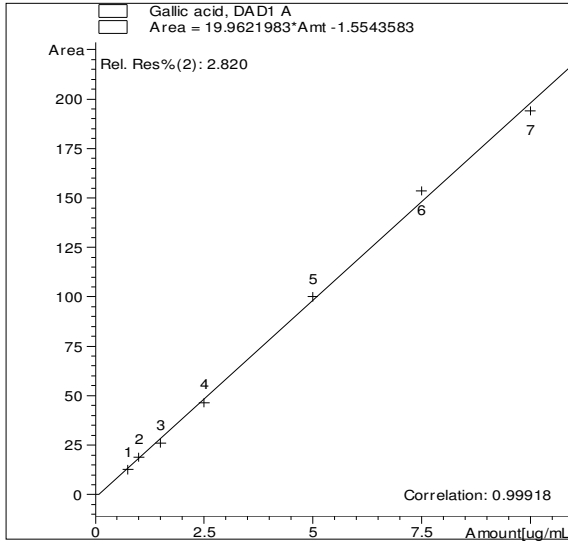
Tablo 4. 3 *N. stellaris* tohum, toprak üstü ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstrele ait verimler

Kullanılan kısım	Soxhlet ekstraksiyonunki Ekstre miktarı	Verim(%)	40°C'de yapılan ekstraksiyon Ekstre miktarı	Verim(%)
Tohum	3.39	11.32	-	-
Toprak üstü	12.97	12.97	15.97	15.97
Kök	2.04	8.31	0.75	2.69

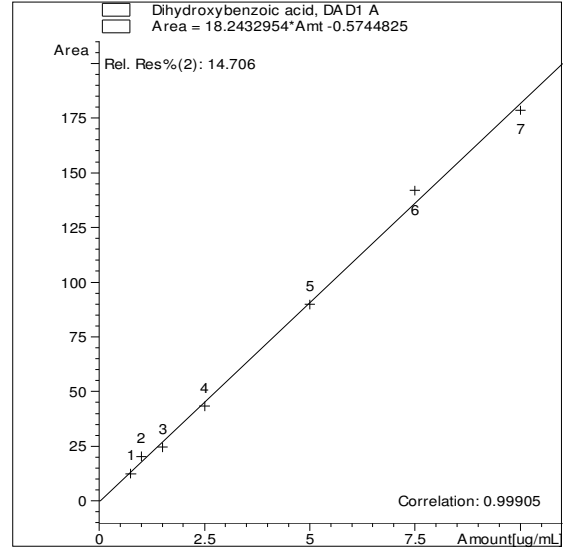


- Rt=9.837 gallik asit
Rt=14.814 3,4-dihidroksi benzoik asit
Rt=21.252 Klorojenik asit
Rt=21.795 (+)-kateşin
Rt=23.122 vanilik asit
Rt=26.156 (-)-epikateşin
Rt=30.560 p-kumarik asit
Rt=32.945 Ferulik asit
Rt=36.232 trans-2-hidroksisinnamik asit
Rt=45.324 trans-sinnamik asit
Rt=48.727 kersetin
Rt=56.621 apigenin

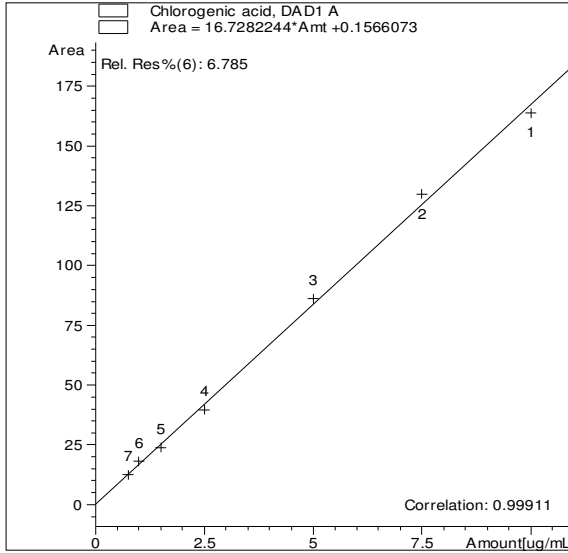
Şekil 4. 7 Fenolik bileşik standartlarına ait HPLC kromatogramı



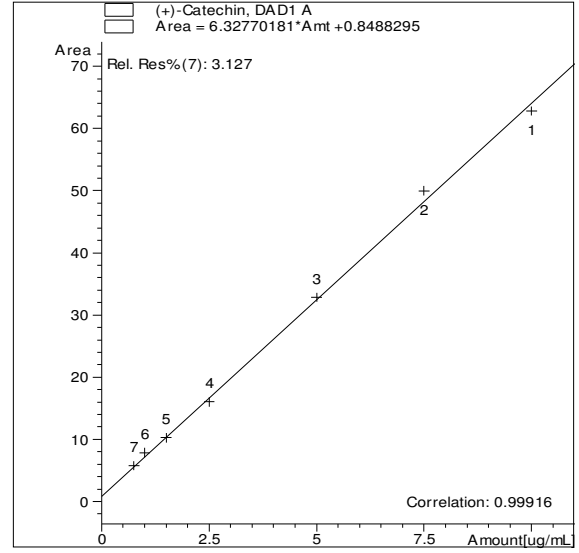
Şekil 4. 8 Gallik asitin kalibrasyon eğrisi



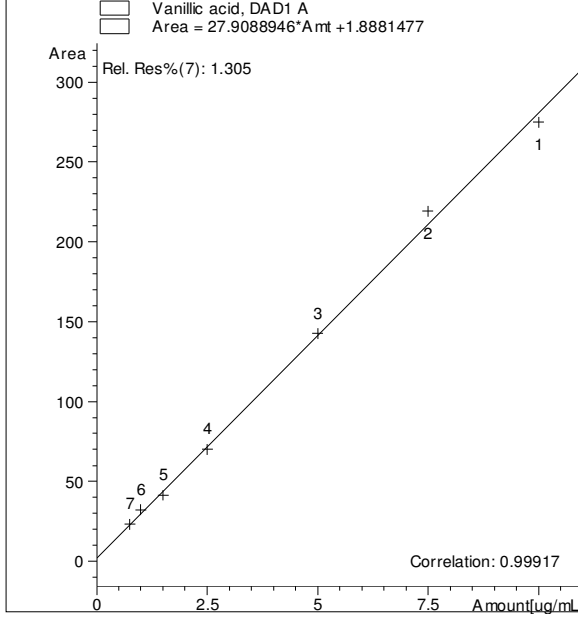
Şekil 4. 9 3,4-Dihidroksi benzoik asitin eğrisi



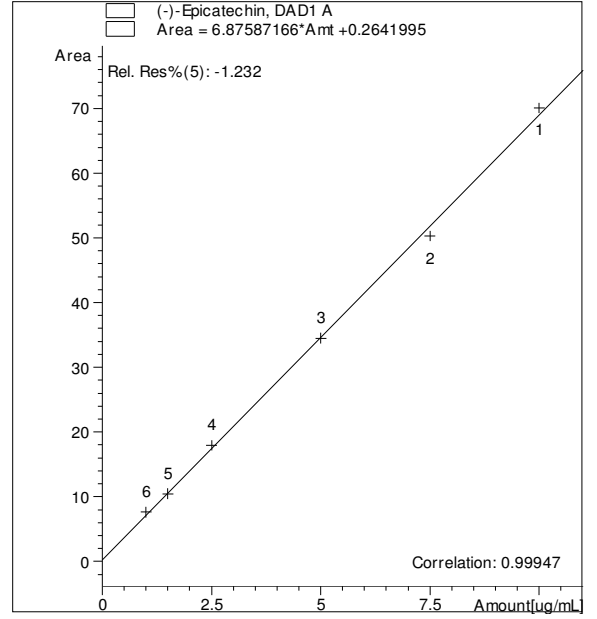
Şekil 4. 10 Klorojenik asitin kalibrasyon eğrisi



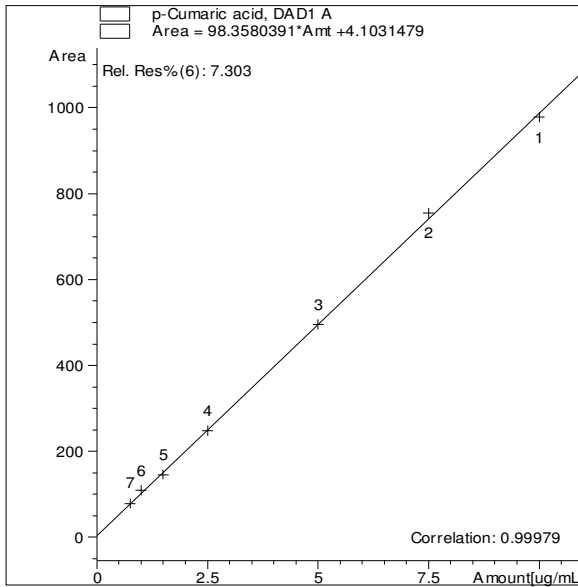
Şekil 4. 11 (+)-Kateşinin kalibrasyon eğrisi



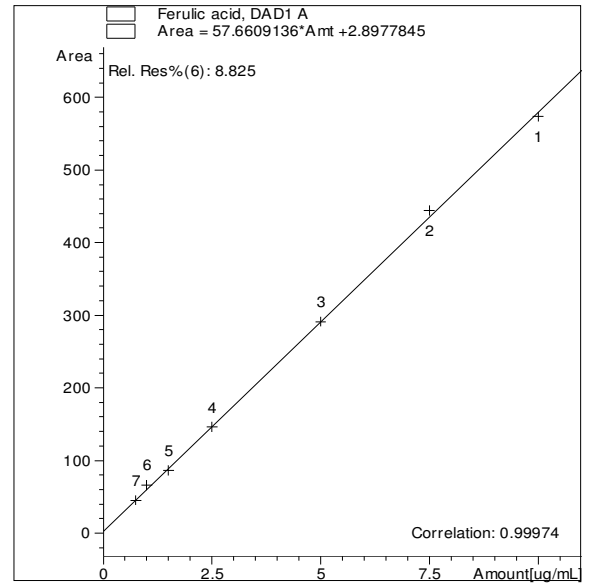
Şekil 4. 12 Vanilik asitin kalibrasyon eğrisi



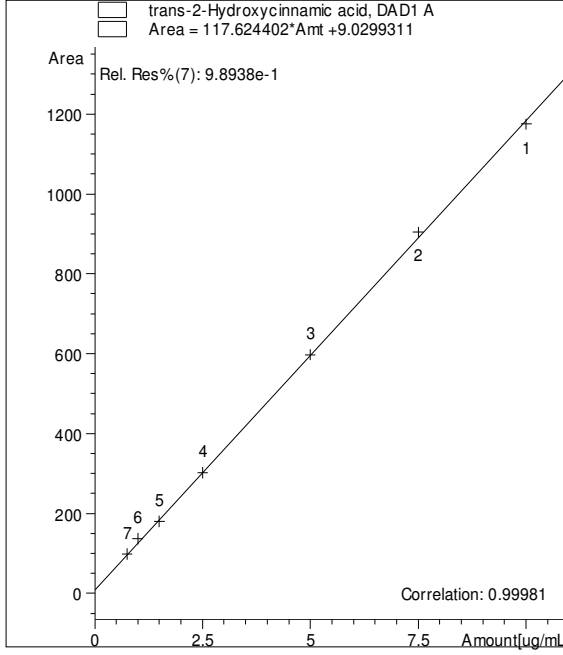
Şekil 4. 13 (-)-Epikateşinin kalibrasyon eğrisi



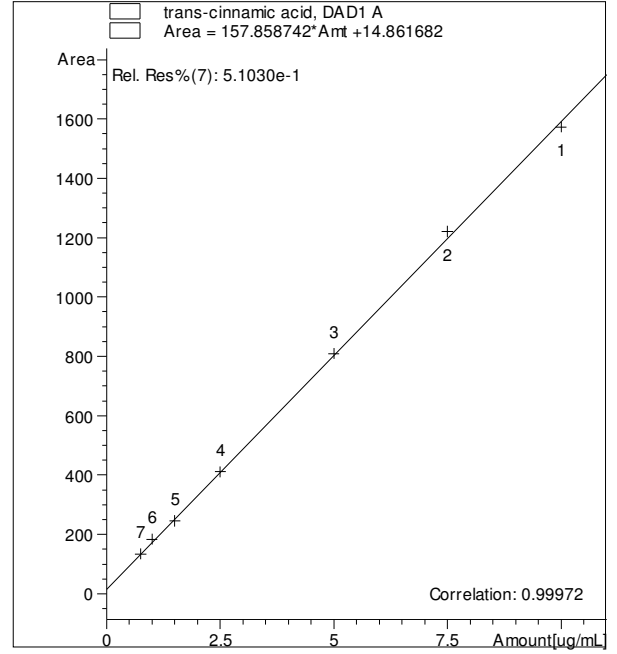
Şekil 4. 14 p-Kumarik asitin kalibrasyon eğrisi



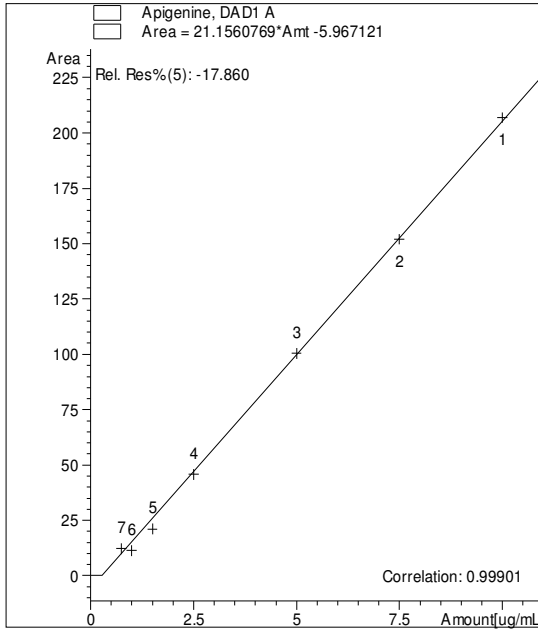
Şekil 4. 15 Ferulik asitin kalibrasyon eğrisi



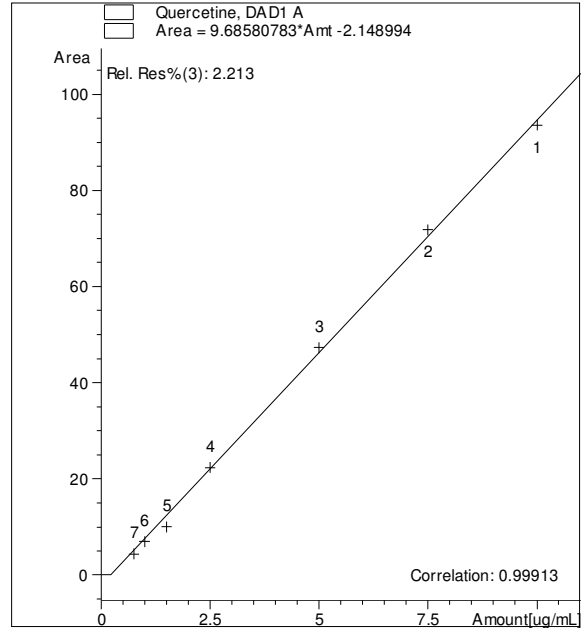
Şekil 4. 16 Trans-2-hidroksisinnamik asitin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4. 17 Trans-sinnamik asitin kalibrasyon eğrisi

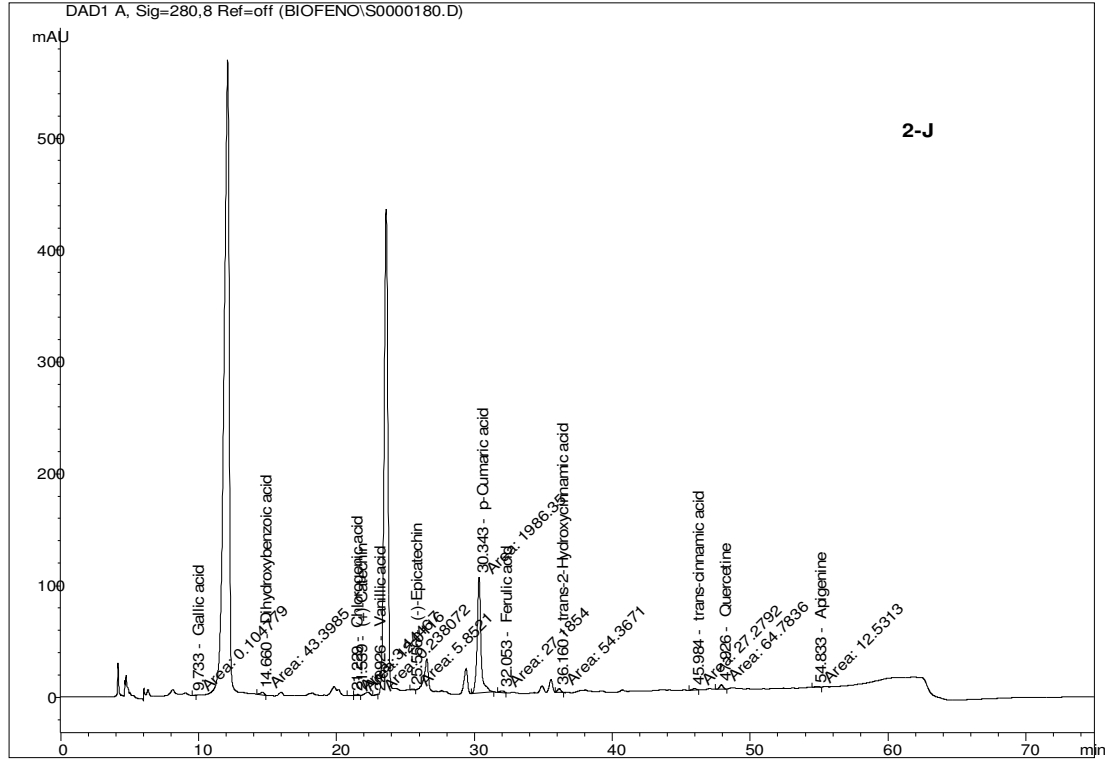


Şekil 4. 18 Apigeninin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4. 19 Kersetinin kalibrasyon eğrisi

N. stellaris tohumundan Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanan metanol ekstresinin fenolik bileşen profili Şekil 4. 20'de görülmektedir. Kromatograma ilişkin kantitatif analiz sonuçları ise Tablo 4. 4'te verilmiştir.



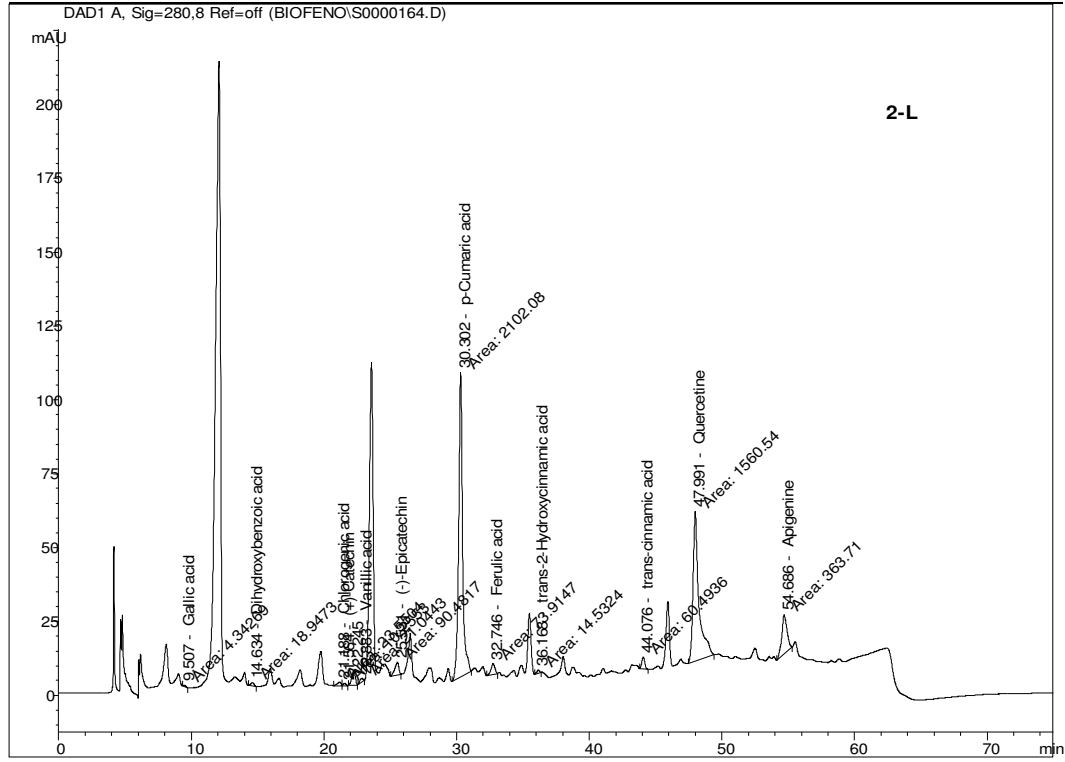
Şekil 4. 20 *N. stellaris* tohum metanolü ekstresinin HPLC kromatogramı

Tablo 4. 4 *N. stellaris* tohumundan Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen metanolü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları

Rt	Fenolik Bileşen	Ortalama \pm SS μ g/ml	Ekstredeki Miktar μ g/gr
14.66	3,4-dihidroksi benzoik asit	2.338 \pm 0.064	233.8
30.34	p-kumarik asit	20.114 \pm 0.174	2011.4
32.05	Ferulik asit	0.435 \pm 0.002	43.5
36.16	trans-2-hidroksisinnamik asit	0.383 \pm 0.013	38.3
45.98	trans-sinnamik	0.092 \pm 0.002	9.2
47.92	Kersetin	6.906 \pm 0.003	690.6

Bitkinin tohum ekstresinde ana bileşenin *p*-kumarik asit olduğu Tablo 4. 4'te görülmektedir. Yüksek miktarda bulunan diğer fenolikler ise kersetin ve 3,4-dihidroksi benzoik asittir.

N. stellaris toprak üstü kısmından Soxhlet ekstraksiyonu ile deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan metanol ekstresinin fenolik bileşen profili Şekil 4. 21’de görülmektedir. Kromatograma ait kantitatif analiz sonuçları ise Tablo 4. 5’te verilmiştir.



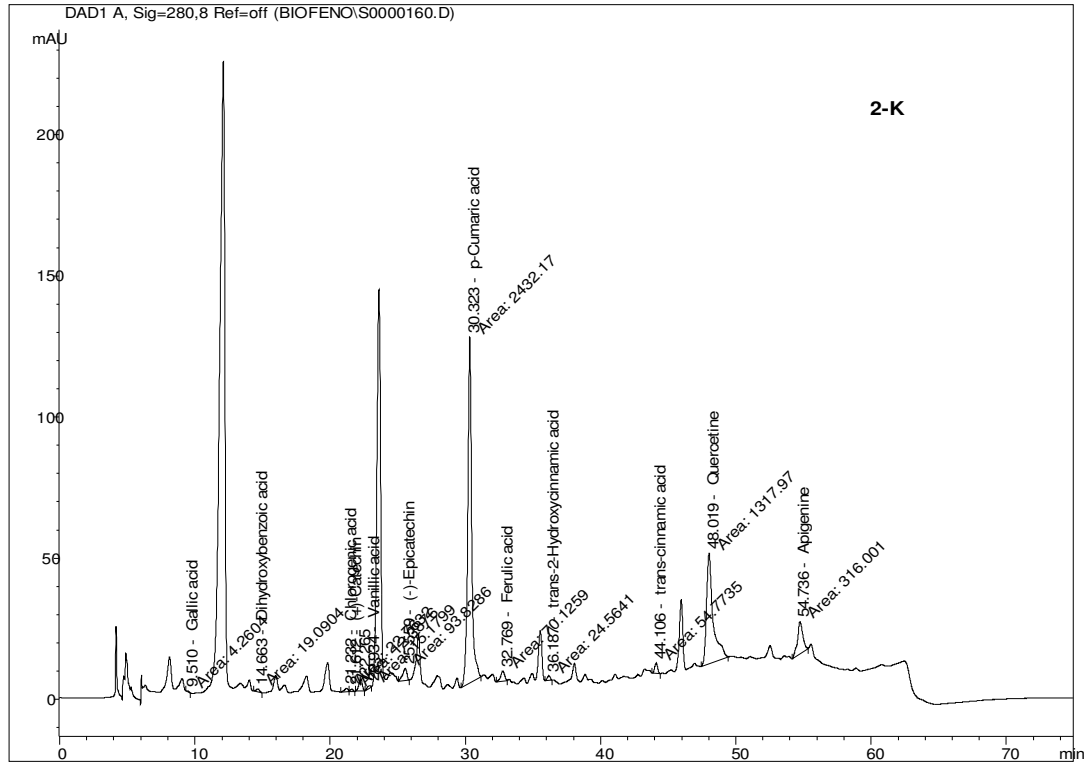
Şekil 4. 21 *N. stellaris* toprak üstü metanol ekstresinin (Soxhlet ekstraksiyonu) HPLC kromatogramı

Tablo 4. 5 *N. stellaris* toprak üstü kısmından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları

Rt	Fenolik Bileşen	Ortalama \pm SS μ g/ml	Ekstredeki Miktar μ g/g
14.63	3,4-dihidroksi benzoik asit	1.043 \pm 0.025	104.3
21.18	Klorojenik asit	1.454 \pm 0.066	145.4
21.56	(+)-Kateşin	1.540 \pm 0.078	154.0
25.53	(-)-Epikateşin	13.455 \pm 0.354	1345.5
30.30	p-kumarik asit	21.217 \pm 0.165	2121.7
32.74	Ferulik asit	1.237 \pm 0.017	123.7
36.16	trans-2-hidroksisinnamik asit	0.185 \pm 0.004	18.5
44.07	trans-sinnamik	0.279 \pm 0.032	27.9
47.99	Kersetin	166.872 \pm 0.971	16687.2
54.68	Apigenin	18.245 \pm 1.021	1824.5

Tablo 4. 5 incelendiğinde ana fenolik bileşenlerin sırasıyla kersetin, *p*-kumarik asit, apigenin ve (-)-epikateşin olduğu göze çarpmaktadır.

Toprak üstü kısmın metanol ile 40°C’de tüketilmesi ile deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan ekstrenin fenolik bileşen profili Şekil 4. 22’de görülmektedir. Kromatograma ilişkin kantitatif analiz sonuçları ise Tablo 4. 6’da verilmiştir.



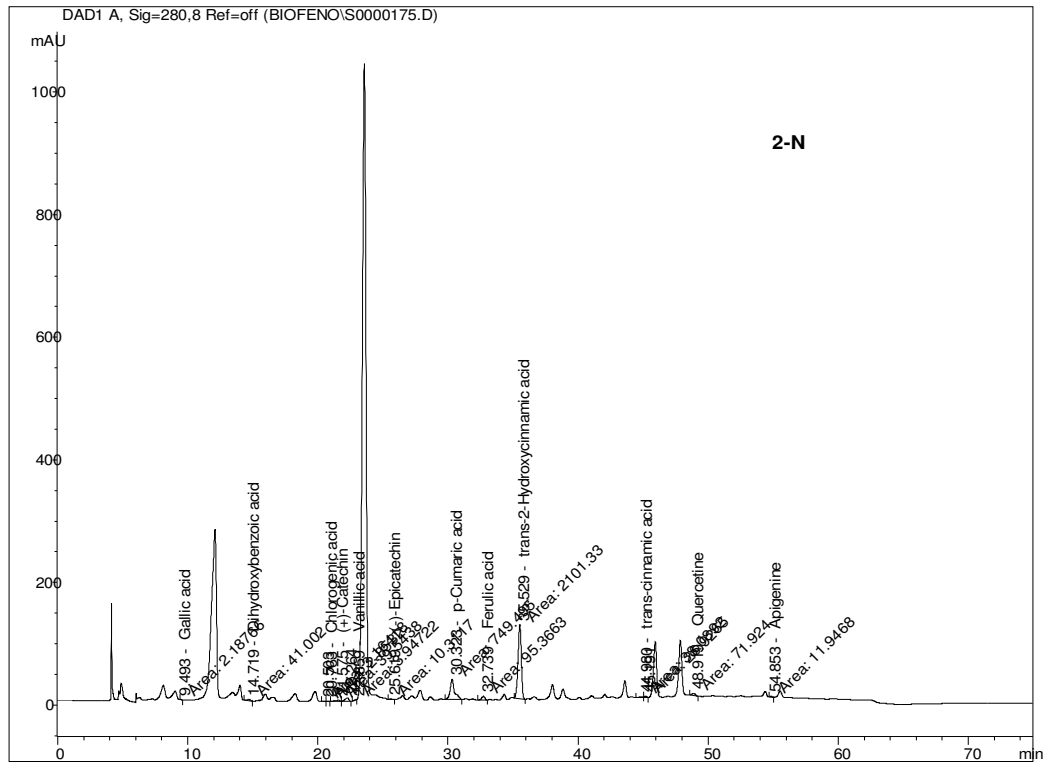
Şekil 4. 22 *N. stellaris* toprak üstü metanol ekstresinin (40°C’de hazırlanan) HPLC kromatogramı

Tablo 4. 6 *N. stellaris* toprak üstü kısmının 40°C’de tüketilmesi sonucu elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları

Rt	Fenolik Bileşen	Ortalama±SS µg/ml	Ekstredeki Miktar µg/g
14.66	3,4-dihidroksi benzoik asit	1.073±0.007	107.3
25.55	(-)-Epikateşin	13.646±0.069	1364.6
30.32	p-kumarik asit	24.504±0.219	2450.4
32.76	Ferulik asit	1.177±0.011	117.7
36.18	trans-2-hidroksisinnamik asit	0.142±0.002	14.2
44.10	trans-sinnamik	0.270±0.004	27.0
48.01	Kersetin	137.966±0.831	13796.6
54.73	Apigenin	15.560±0.429	1556.0

Bitkinin toprak üstü kısmından 40°C’de hazırlanan metanollü ekstrede kersetin ana bileşen iken *p*-kumarik asit, apigenin ve (-)-epikateşin diğer önemli fenoliklerdir (Tablo 4. 6).

N. stellaris bitkisinin köklerinden Soxhlet ekstraksiyonuyla deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan metanol ekstresinin fenolik bileşen profili Şekil 4. 23’te görülmektedir. Kromatograma ilişkin kantitatif analiz sonuçları ise Tablo 4. 7’de verilmiştir.



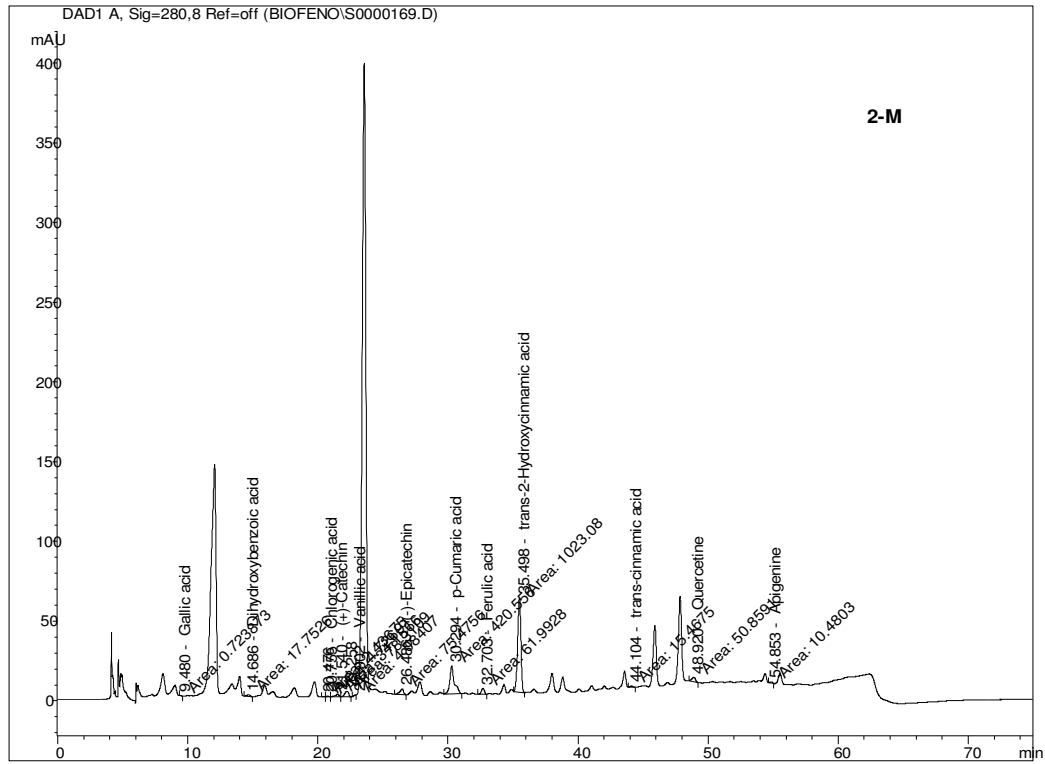
Şekil 4. 23 *N. stellaris* kök metanol ekstresinin (Soxhlet ekstraksiyonu) HPLC kromatogramı

Tablo 4. 7 *N. stellaris* köklerinden Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları

Rt	Fenolik Bileşen	Ortalama±SS µg/ml	Ekstredeki Miktar µg/g
14.71	3,4-dihidroksi benzoik asit	2.295±0.031	229.5
21.57	(+)-Kateshin	6.073±0.107	607.3
30.32	p-kumarik asit	7.468±0.095	746.8
32.73	Ferulik asit	1.605±0.018	160.5
35.52	trans-2-hidroksisinnamik asit	17.770±0.039	1777.0
48.91	Kerşetin	7.640±0.013	764.0
54.85	Apigenin	0.838±0.020	83.8

Tablo 4. 7 incelendiği zaman ana bileşenin trans-2-hidroksisinnamik asit olduğu görülmektedir. Ayrıca kersetin, *p*-kumarik asit ve (+)-kateşin diğer önemli fenoliklerdir.

N. stellaris bitkisinin köklerinin 40°C’de tüketilmesi ile deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan metanol ekstresinin fenolik bileşen profili Şekil 4. 24’te görülmektedir. Kromatograma ilişkin kantitatif analiz sonuçları Tablo 4. 8’de verilmiştir.



Şekil 4. 24 *N. stellaris* kök metanol ekstresinin (40°C’de hazırlanan) HPLC kromatogramı

Tablo 4. 8 *N. stellaris* köklerinin 40°C’de tüketilmesi sonucu elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları

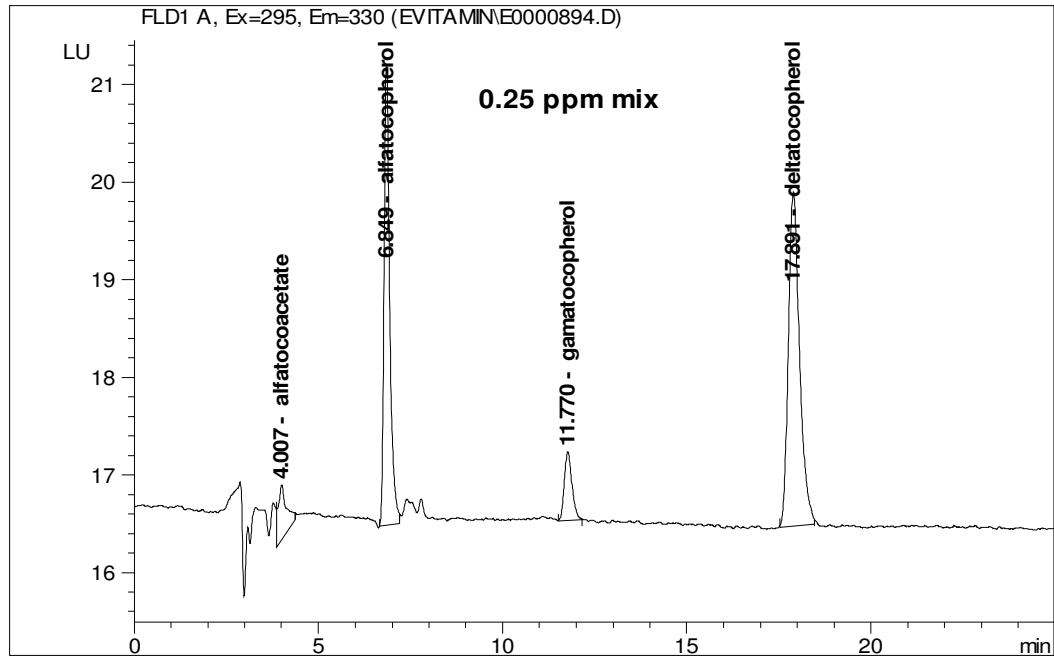
Rt	Fenolik Bileşen	Ortalama\pmSS $\mu\text{g/ml}$	Ekstredeki Miktar $\mu\text{g/g}$
14.68	3,4-dihidroksi benzoik asit	0.994 \pm 0.007	99.4
21.54	(+)-Kateşin	5.332 \pm 0.098	533.2
26.48	(-)-Epikateşin	10.732 \pm 0.410	1073.2
30.29	p-kumarik asit	4.252 \pm 0.095	425.2
32.70	Ferulik asit	1.036 \pm 0.005	103.6
35.49	trans-2-hidroksisinnamik asit	8.590 \pm 0.028	859.0
48.92	Kersetin	5.480 \pm 0.029	548.0
54.85	Apigenin	0.744 \pm 0.013	74.4

Tablo 4. 8’de görüldüğü üzere bitki köklerinin 40°C’de tüketilmesi sonucu elde edilen metanol ekstresinde (-)-epikateşin ve trans-2-hidroksisinnamik asit ana bileşenler olup, bunları kersetin, (+)-kateşin ve p-kumarik asit izlemektedir.

4.2.3 Tokoferol Profili Analizine Ait Bulgular

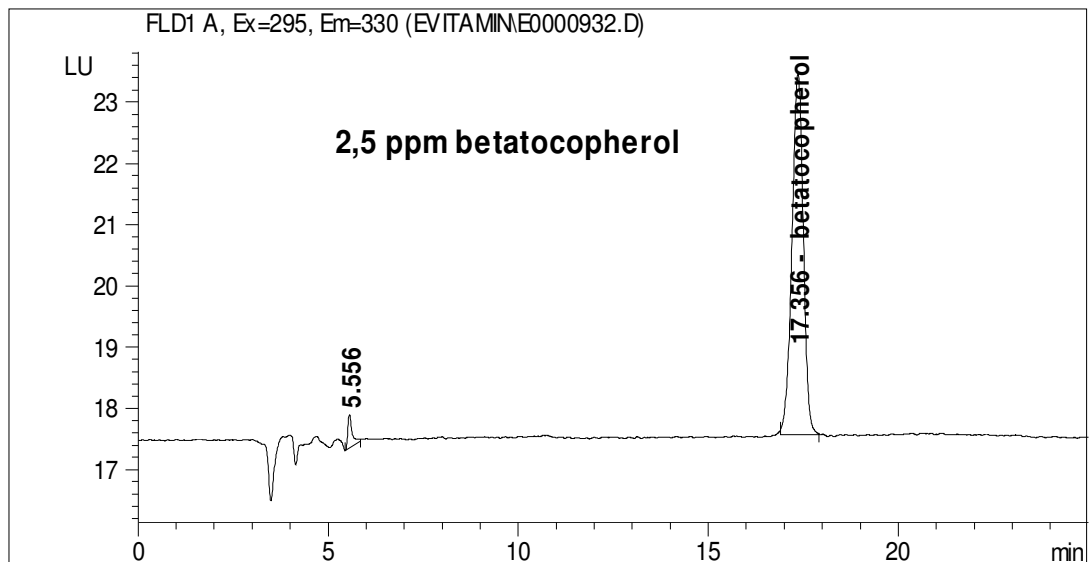
N. stellaris’nın tohumundan deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan hekzan ekstresinin tokoferol profili Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile analiz edilmiştir. Kalitatif analiz için standart olarak α -tokoferol asetat, α -tokoferol, β -tokoferol, γ -tokoferol ve δ -tokoferol kullanılmıştır.

Kantitatif tayin için standartların farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerinin analizleri sonucunda her bileşik için kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve regresyon denklemi hesaplanmıştır. Numunede bulunan tokoferoller ve miktar tayinleri, ilgili standardın kalibrasyon denkleminde yararlanılarak ve kromatogramdaki pik alanlarının konsantrasyonla ilişkisinden hareketle yapılmıştır (Şekil 4. 25-4. 33).



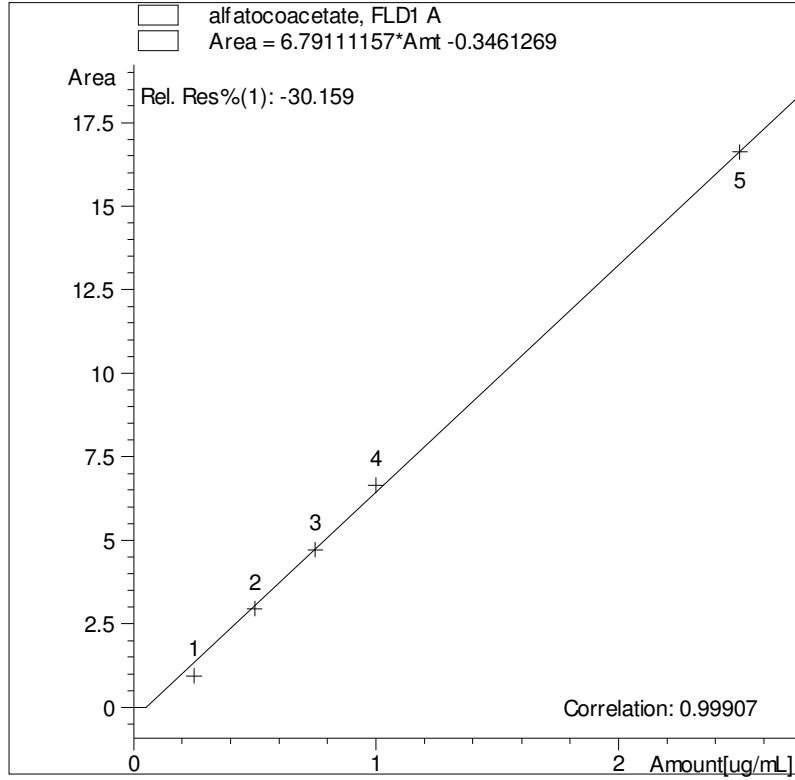
Rt=4.007 α -tokoferol asetat
 Rt=6.840 α -tokoferol
 Rt=11.770 γ -tokoferol
 Rt=17.891 δ -tokoferol

Şekil 4. 25 Tokoferol standartlarının HPLC kromatogramı

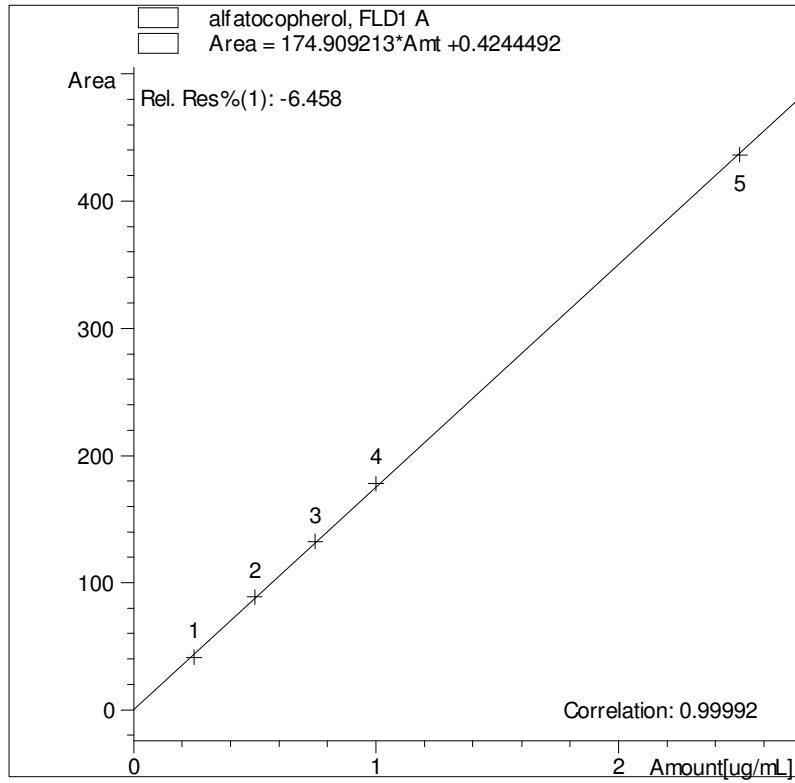


Rt=17.356

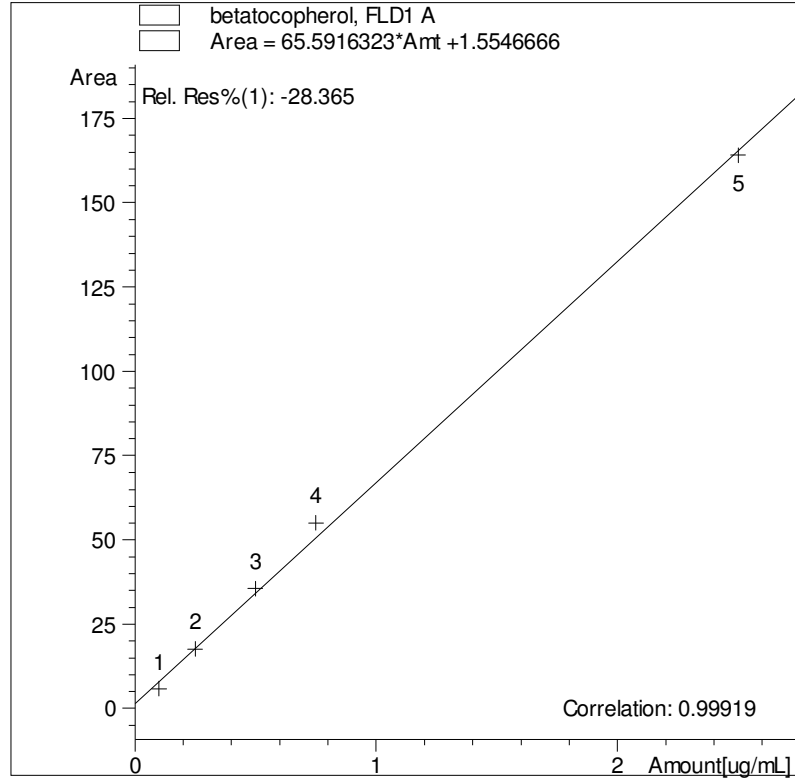
Şekil 4. 26 β -tokoferolün HPLC kromatogramı



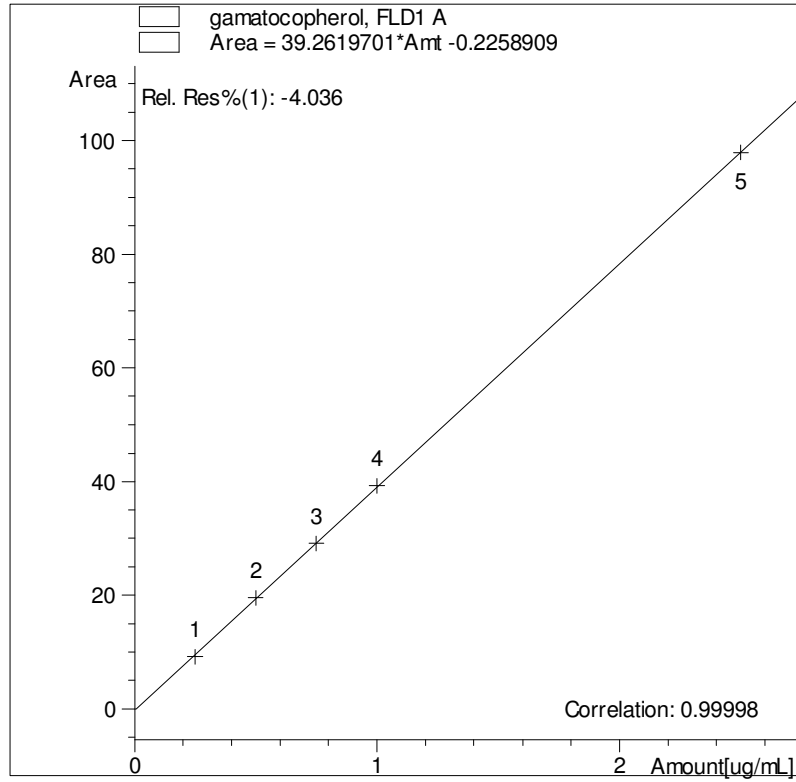
Şekil 4. 27 α -tokoferol asetatın kalibrasyon eğrisi



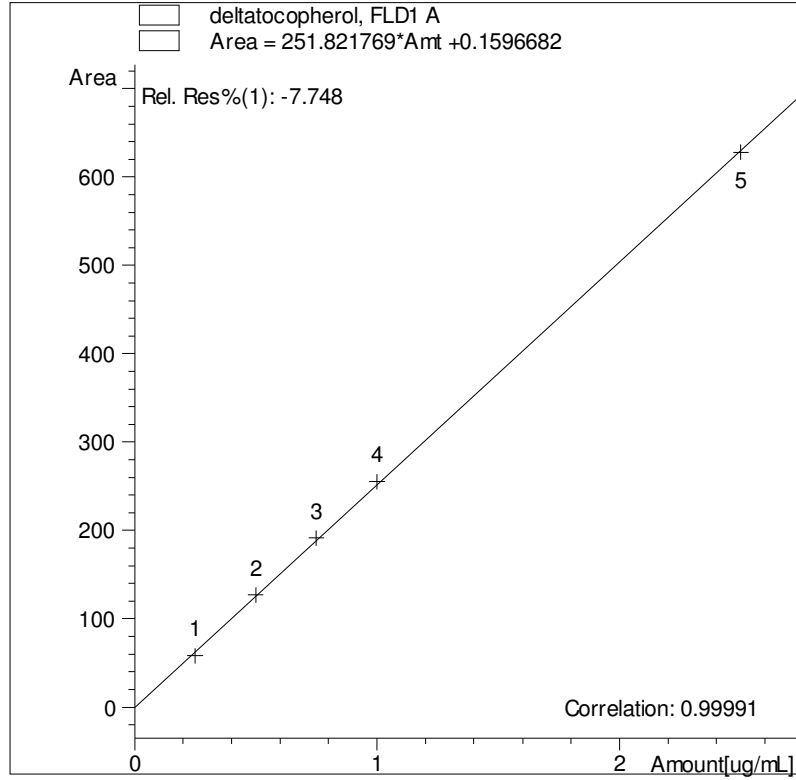
Şekil 4. 28 α -tokoferolün kalibrasyon eğrisi



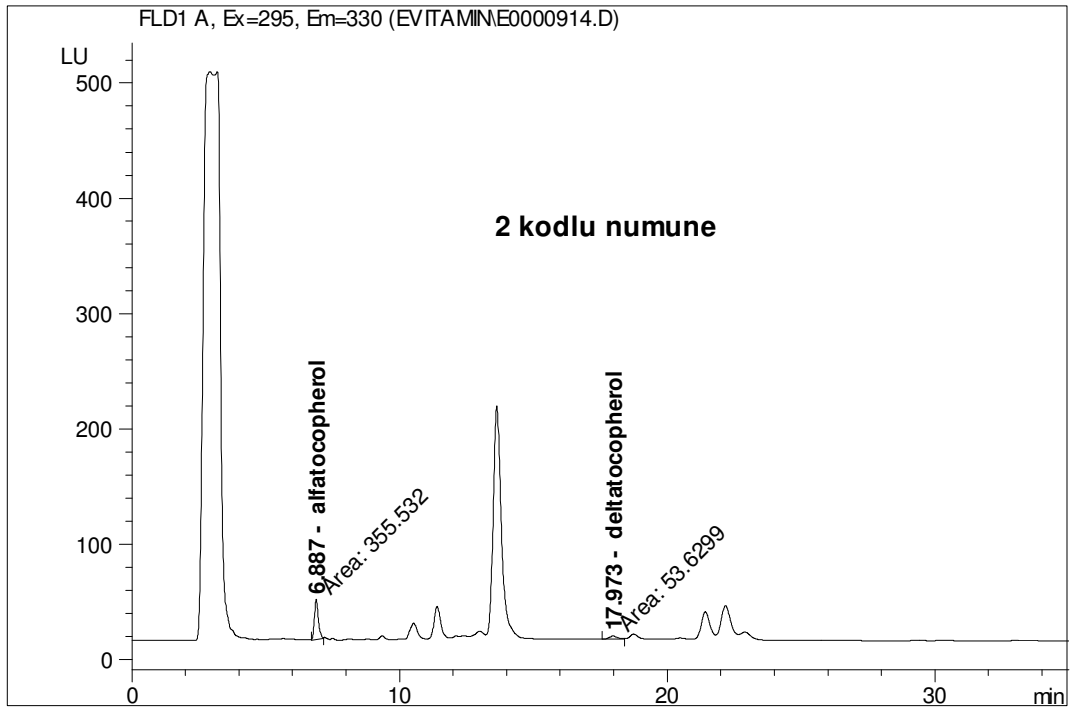
Şekil 4. 29 β -tokoferolün kalibrasyon eğrisi



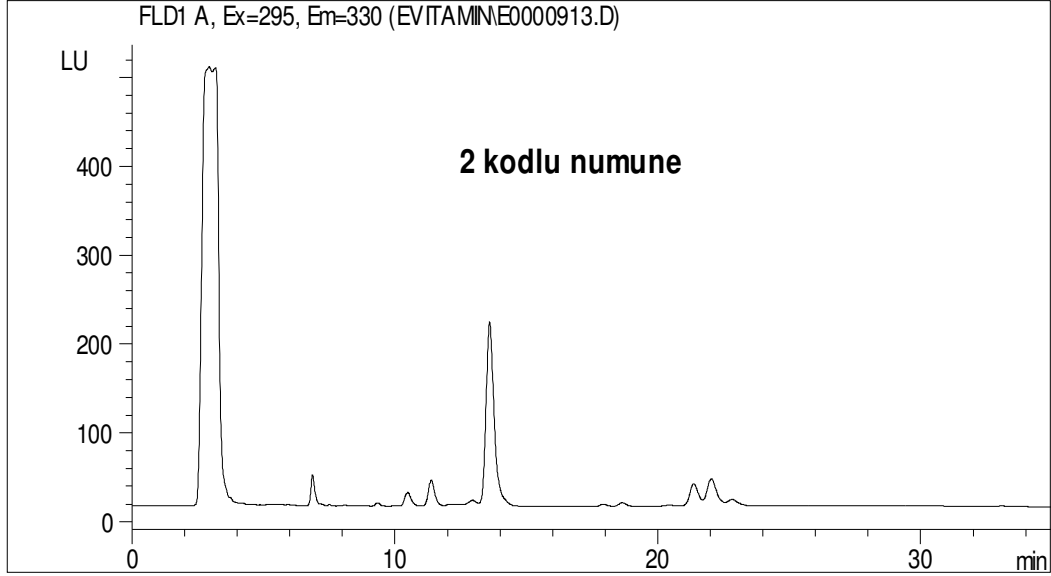
Şekil 4. 30 γ -tokoferolün kalibrasyon eğrisi



Şekil 4. 31 δ-tokoferolün kalibrasyon eğrisi



Şekil 4. 32 *N. stellaris* hekzan ekstresinin tokoferol analizine ait HPLC kromatogramı



Şekil 4. 33 *N. stellaris* hekzan ekstresinin β -tokoferol analizine ait HPLC kromatogramı

N. stellaris tohum yağında saptanan tokoferollerin miktarları, 3'er kez yapılan enjeksiyonlar sonucu, tanımlayıcı istatistikler SPSS 11.5 paket programında hesaplanarak ortalama \pm standart hata cinsinden Tablo 4. 9'da verilmiştir.

Tablo 4. 9 *N. stellaris* hekzan ekstresinin tokoferol profili

Tokoferol	Miktar (mg/100 g)
α -tokoferol asetat	-
α -tokoferol	2.04 \pm 0.072
β -tokoferol	-
γ -tokoferol	-
δ -tokoferol	0.166 \pm 0.011

N. stellaris tohum hekzan ekstresinin tokoferol profili açısından yapılan HPLC analizi sonucunda hekzan ekstresinde α -tokoferol asetat, γ -tokoferol ve β -tokoferolun bulunmadığı saptanmıştır. α -tokoferol 2.04 \pm 0.072 oranında bulunurken δ -tokoferol çok daha düşük oranda bulunmaktadır.

4.3 Mineral Maddeler Analizine Ait Bulgular

N. stellaris tohumlarında bulunan mineral maddeler ve miktarları Tablo 4. 10'da verilmiştir.

Tablo 4. 10 *N. stellaris* tohumlarında bulunan mineraller ve miktarları

Element	Miktar ($\mu\text{g/g}$)
²³ Na	427,9 \pm 13
²⁴ Mg	1612 \pm 49
²⁷ Al	15,32 \pm 2
³¹ P	6913 \pm 117
³⁹ K	3637 \pm 99
⁴⁴ Ca	8660 \pm 111
⁵² Cr	5,766 \pm 0,109
⁵⁵ Mn	21,16 \pm 1,131
⁵⁶ Fe	20,99 \pm 2,02
⁶⁰ Ni	2,482 \pm 0,069
⁶⁴ Zn	58,93 \pm 3,41
⁶⁵ Cu	12,93 \pm 0,323
⁸² Se	1,370 \pm 0,014
²⁰⁷ Pb	<LOD

N. stellaris tohumlarında bulunduğu belirlenen ve Tablo 4. 10'da görülen elementler içerisinde kalsiyumun 8660 \pm 111 $\mu\text{g/g}$ miktarla en yüksek oranda bulunan element olduğu dikkat çekicidir. Bunu 6913 \pm 117 $\mu\text{g/g}$ ile fosfor takip etmektedir. Ayrıca potasyum ve magnezyum da önemli miktarda bulunan diğer elementlerdir. Tohumlarda bulunan selenyum miktarı ise 1,370 \pm 0,014 $\mu\text{g/g}$ 'dir.

4.4 Antioksidan Etkinin DPPH' Yöntemi ile Araştırılmasına Ait Bulgular

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelere ait absorbansların ortalamaları, standart sapmaları ve DPPH' süpürücü etkilerine ilişkin değerler Tablo 4. 11 ve 4. 12'de görülmektedir.

Tablo 4. 11 *N. stellaris* metanol ekstralarının ve BHT'nin DPPH' süpürücü etki tayininde saptanan absorban değerleri (3 Ortalama±SS*)

Konsantrasyon mg/ml	BHT	Absorbans Değerleri			
		Tohum metanol ekstresi	Toprak üstü metanol ekstresi (Soxhlet ekst.)	Toprak üstü metanol ekstresi (40°C'de)	Kök metanol ekstresi (Soxhlet ekst.)
0.1mg/ml	0.343±0.004	-	-	-	-
0.15 mg/ml	0.235±0.011	-	-	-	-
0.2 mg/ml	0.172±0.004	-	-	-	-
0.25 mg/ml	0.123±0.000	-	-	-	-
0.4 mg/ml	0.086±0.002	-	-	-	-
0.45mg/ml	0.115±0.000	-	-	-	-
0.5mg/ml	0.105±0.000	0.525±0.006	0.505±0.002	0.520±0.001	0.555±0.010
1mg/ml	-	0.461±0.002	0.423±0.004	0.443±0.003	0.490±0.003
1.5mg/ml	-	0.403±0.001	0.346±0.002	0.361±0.003	0.306±0.001
2mg/ml	-	0.350±0.009	0.292±0.001	0.254±0.002	0.407±0.002
2.5mg/ml	-	0.290±0.008	0.247±0.037	0.195±0.003	0.343±0.003
3mg/ml	-	0.268±0.002	0.199±0.002	0.305±0.000	0.346±0.004
3.5mg/ml	-	0.188±0.000	0.164±0.005	0.254±0.000	0.305±0.000
4mg/ml	-	0.162±0.003	0.118±0.000	0.198±0.000	0.270±0.000
4.5mg/ml	-	0.122±0.007	0.084±0.001	0.048±0.000	0.260±0.000

SS*: Standart Sapma

Tablo 4. 12 *N. stellaris* metanol ekstralarının DPPH' süpürücü etkileri (% inhibisyon olarak)

Konsantrasyon	BHT	Tohum metanol Ekstresi	% inhibisyon değerleri		
			Toprak üstü metanol ekstresi (Soxhlet ekst.)	Toprak üstü metanol ekstresi (40°C'de)	Kök metanol ekstresi (Soxhlet ekst.)
0.1mg/ml	45.03	-	-	-	-
0.15 mg/ml	62.33	-	-	-	-
0.2 mg/ml	72.43	-	-	-	-
0.25 mg/ml	80.28	-	-	-	-
0.4 mg/ml	86.21	-	-	-	-
0.45mg/ml	81.59	-	-	-	-
0.5mg/ml	83.19	15.86	19.07	16.66	11.05
1mg/ml	-	26.12	32.21	29.00	21.47
1.5mg/ml	-	35.41	44.55	42.14	50.96
2mg/ml	-	43.91	53.20	59.29	34.77
2.5mg/ml	-	53.52	60.41	68.75	45.03
3mg/ml	-	57.10	68.14	51.17	44.61
3.5mg/ml	-	69.90	73.74	59.34	51.17
4mg/ml	-	74.06	81.11	68.30	56.77
4.5mg/ml	-	80.47	86.55	92.31	58.38

Fenolik bileşikler açısından analiz edilmiş olan *N. stellaris* ekstralarının antioksidan aktiviteleri DPPH testi ile kalitatif ve kantitatif olarak ölçülmüştür. Çalışmada tohum, toprak üstü ve kök metanol ekstraları kullanılmış olup bu ekstraların farklı konsantrasyonları için okunan absorbans değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 17’de verilmiştir. Değerleri saptanan ekstraların ve standart olarak kullanılan BHT’nin radikal süpürücü etkileri Tablo 18’de görülmektedir. Tohum metanol ve toprak üstü metanol ekstresi (Soxhlet ekstraksiyonu) için radikal süpürücü etki (% inhibisyon) konsantrasyon arttıkça artarken diğer ekstralarda bu korelasyon 2mg/ml-4mg/ml arasında görülmemiştir. Ancak 4.5mg/ml konsantrasyonda tohum ve toprak üstü ekstralarının her üçünde de %80’in üzerinde bir inhibisyon saptanmışken kök metanol ekstresi aynı konsantrasyonda ancak %58.4’lük bir inhibisyon göstermektedir. Bu durum dikkate alındığında 4.5 mg/ml konsantrasyon için radikal süpürücü etki sırası toprak üstü metanol ekstresi (40°C’de yapılan)>toprak üstü metanol ekstresi (Soxhlet ekstraksiyonu) >tohum metanol ekstresi>kök metanol ekstresi şeklindedir.

5. TARTIŞMA

Literatür incelendiğinde tez çalışmamızın konusunu oluşturan *N. stellaris* türü üzerinde herhangi bir fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmasının bulunmadığı görülmektedir ve tür üzerinde ilk kez araştırma yapılmış olup bitkinin tohum, kök ve toprak üstü kısımları fitokimyasal ve antioksidan aktivite açısından incelenmiştir.

N. stellaris tohumlarından elde edilen sabit yağın, yağ asidi bileşimi GC ve GC-MS yöntemiyle belirlenmiştir. Sonuçta yağın linoleik asit (%50.02) ve oleik (%18.63) asitçe zengin olduğu saptanmıştır. Doymuş yağ asitlerinden ise palmitik asit (%10.73) ana doymuş yağ asidini oluşturmaktadır. Literatür incelendiğinde *N. sativa*'da bulunan başlıca doymuş yağ asitlerinin palmitik (%1.18-20.40) ve stearik asit (%0.03-7.70) iken doymamış yağ asitlerinin ise oleik (%7.47-38.19) ve linoleik asit (%31.14-67.54) olduğu saptanmıştır (Tablo 2. 1). Bunların dışında miristik asite (%0.16-9.8) de rastlanmıştır. *N. sativa* dışında kalan diğer türlere ait yağ asidi bileşenlerine ilişkin literatür verilerinde ise aynı şekilde ana bileşen linoleik asit (%31.21-69.5) iken bunu oleik asitin (%14.87-36.03) izlediği görülmüştür. Doymuş yağ asitlerinin başlıcalarını ise palmitik asit (%5.88-12.73) ve stearik asit (%2.09-23.24) oluşturmaktadır. Miristik asit ise %0.10-0.34 oranında yer almıştır. Araştırmalarımızda elde ettiğimiz bulgular literatür verileriyle kıyaslandığında ana bileşenler olan linoleik ve oleik asitlerin kantitatif açıdan hem *N. sativa* hem de diğer türler için bildirilen aralıkta olduğu bulunmuştur. Yağda düşük oranda bulunan miristik asitin de (%0.21) yine literatürde belirtilen aralıkta olduğu anlaşılmaktadır. Eikosadienoik asit miktarı literatürde *N. sativa* dışındaki türler için %1.86-9.4 arasında değişmekte olup (Tablo 2. 1), bu tez çalışmasında ise %1.96 olarak saptanmıştır. Eikosenoik asite baktığımız zaman ise literatür verilerinde *N. sativa*'nın bu doymamış yağı %0.60-0.70 oranında içerdiği görülmekte olup diğer türler içinse bu değer %0.41-23.12 arasında değişmektedir. Çalışmamızda eikosenoik asit teşhis edilememiştir.

Tez konusunu oluşturan *N. stellaris* bitkisinin uçucu yağ bileşimi ilk kez araştırılmış olup uçucu yağın seskiterpenlerce zengin olduğu belirlenmiştir. Literatürde *N. sativa* dışında *N. damascena*, *N. orientalis* ve *N. arvensis* uçucu yağlarının

bileşimlerinin araştırıldığı görülmektedir (Tablo 2.3). Bu türlerden *N. arvensis* monoterpenlerce zengin iken diğer iki türün seskiterpenik bileşiklerce zengin olduğu bulunmuştur. *N. damascena*'da bulunan başlıca seskiterpenler β -elemen, Germakren A ve α -selinen iken *N. orientalis*'te de β -elemen ana seskiterpendir; bunu δ -kadinen, β -selinen ve α -selinen takip etmektedir (71-73, 79-82). Literatürde *N. sativa* uçucu yağının ise monoterpenik bileşiklerce zengin olduğu, çok düşük miktarlarda seskiterpen bileşen içerdiği kayıtlıdır.

Araştırmamızda elde edilen sonuçların *N. sativa* dışında kalan araştırılmış diğer *Nigella* türlerinin uçucu yağ bileşimleri ile kıyaslandığında genel olarak seskiterpenik bileşiklerce zengin olması yukarıda sözü edilen literatür verileri ile uyumludur. Ancak çalışmamızda saptanan ana seskiterpenik bileşikler olan metil farnesoat, bisiklogermakren ve germekran D diğer *Nigella* türleri uçucu yağ bileşimlerinden farklılığı teşkil etmektedir. *N. damascena*, *N. orientalis* ve *N. arvensis* uçucu yağlarında timokinon saptanmamış olup çalışmamızda da *N. stellaris* uçucu yağının timokinon içermediği bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında *N. stellaris* tohumları timokinon açısından metanol ekstresi hazırlanarak HPLC yöntemi ile de incelenmiştir. Analiz sonuçları tohumların metanol ekstresinde timokinon miktarının düşük oranda bulunduğunu göstermiştir. Literatürde sadece *N. sativa* tohumların timokinon ve timol açısından incelendiği görülmektedir (Tablo 2. 2). Tez çalışmamızdaki bulgular Al-Saleh ve arkadaşları (69) tarafından yapılan ve *N. sativa* tohumundaki timokinon miktarının saptandığı çalışma ile kıyaslanırsa *N. stellaris* tohumlarında timokinon miktarının çok düşük olduğu görülmektedir. Timol ise bulunmamaktadır. İlk kez bu çalışma ile *N. sativa* dışında bir başka *Nigella* türünde özellikle birçok aktiviteden sorumlu bir bileşen olduğu belirtilen timokinonun varlığı araştırılmış ve bulunmadığı belirlenmiştir.

N. stellaris bitkisi fenolik bileşikler açısından tohum, toprak üstü ve köklerinin metanol ekstreleri hazırlanarak incelenmiştir. Toprak üstü ve köklerde iki farklı ekstraksiyon yöntemi (40°C'de su banyosunda ısıtılarak yapılan ekstraksiyon, Soxhlet cihazı kullanılarak yüksek sıcaklıkta yapılan ekstraksiyon) uygulanarak ekstraksiyon işlemlerinin fenolik bileşenlere etkileri de araştırılmıştır. Tohum miktarının sınırlı olması ve tohumlarda farklı analizlerin de yapılması nedeniyle fenolik bileşenlerin analizi için tohumlarda sadece Soxhlet ekstraksiyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. HPLC

analizi sonuçlarına göre tohumlarda *p*-kumarik asit yüksek miktarda bulunmaktadır. Bunu kersetin ve 3,4-dihidroksi benzoik asit izlemektedir. Bu araştırma *N. stellaris* tohumlarının biyofenolikler açısından incelendiği ilk çalışmadır. Sonuçlarımız tohumların özellikle flavanoitler ve fenolik asitler açısından zengin olduğunu ortaya koymuştur.

Literatürde *N. damascena* tohumlarında çeşitli fenolik esterlerin, *N. glandulifera*'da kemferol, kersetol, rutin, salisilik asit esteri ve pirogallolün, *N. sativa* tohumlarında ise glikozitlerin aglikonlarını oluşturan fenoliklerin özellikle kersetin ve kemferol olduğu ayrıca rutin de bulunduğu kayıtlıdır (34, 95-101).

N. stellaris bitkisinin topraküstü kısmının fenolik bileşenleri de çalışmamızda belirlenmiştir. Ekstre iki farklı ekstraksiyon yöntemiyle hazırlanmış olup her iki ekstrenin de başlıca fenolik bileşenleri kersetin, *p*-kumarik asit, apigenin ve (-)-epikateşindir. Ekstraksiyon yöntemlerinin klorojenik asit ve (+)-kateşin dışında (Bu iki bileşik sadece Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstrede saptanmıştır.) diğer fenolik bileşenleri kalitatif olarak etkilemediği farklılığın kantitatif olduğu dikkat çekicidir (Tablo 4. 5 ve 4. 6).

N. stellaris bitkisi kökleri ile yaptığımız çalışmada ise Soxhlet ekstraksiyonunda trans-2-hidroksisinnamik asitin, 40°C'de tüketme ile yapılan ekstraksiyonda ise (-)-epikateşinin ana bileşen olduğu görülmektedir. Özellikle Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstredeki trans-2-hidroksisinnamik asit miktarının 1777.0 µg/g olması dikkat çekicidir. Ekstraksiyon yöntemleri kıyaslandığında 40°C'de yapılan ekstraksiyonda (-)-epikateşinin varlığı, Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstrede ise bu bileşene rastlanmamış olması dikkate değerdir.

Literatürde sadece *N. sativa*'nın fenolik bileşenlerinin oda sıcaklığında hazırlanmış metanol ekstresiyle yapılmış bir araştırma kayıtlıdır. Bu çalışmada da köklerin özellikle vanilik asit açısından zengin olduğu bunu gallik asit ve trans-sinnamik asitin izlediği belirtilmiştir. Flavonoitlerden kersetin ve apigenin daha düşük oranlarda bulunmuştur (96). Tez çalışmamızda saptanan bulgulardaki farklılık bitkinin yetiştiği bölgedeki ekolojik şartlarla ilişkili olduğu kadar tür farklılığından da kaynaklanmaktadır.

N. stellaris tohumlarının hekzan ekstresi tokoferoller açısından HPLC ile analiz edilmiş ve ana bileşenin α -tokoferol olduğu saptanmıştır. Literatürde tokoferoller

açısından yapılmış araştırmalar *N. sativa* türü ile ilgilidir. *N. sativa*'nın hekzan ekstresinde γ - ve α -tokoferoller yüksek oranda bulunurken, δ - ve β -tokoferoller daha düşük miktarda saptanmıştır (46, 69, 110). Literatürde *N. sativa* tohumları dışında diğer *Nigella* türlerinin tohumlarının E vitamini içeriği açısından incelenmemiş olduğu görölmektedir. Bu tez çalışması ile ilk kez farklı bir *Nigella* türü olan *N. stellaris*, tokoferolleri açısından incelenmiş olup başlıca α -tokoferol içerdiği ancak miktarın *N. sativa* tohumlarında bulunan α -tokoferol miktarlarına oranla düşük olduğu saptanmıştır. β -tokoferole ise rastlanmamıştır.

N. stellaris tohumlarını mineraller yönünden incelediğimizde tohumda yüksek oranda Ca (8660 $\mu\text{g/g}$) ve P (6913 $\mu\text{g/g}$) bulunduğu görölmüş, bunu K ve Mg'nin izlediği saptanmıştır. Diğer elementler azalan sırayla Na, Zn, Fe ve Mn'dir. Literatürde *N. sativa* tohumlarının mineral içeriklerinin araştırıldığı çalışmalarda K, Ca, Na, Fe ve P'nin değişen oranlarda en fazla rastlanan elementler olarak göze çarpmaktadır (14, 42, 46, 53, 69, 111, 112). Araştırmamızın sonucunda elde edilen bulgular *N. sativa* dışında bir tür için ilk bulgulardır ve tohumlarda yüksek oranda Ca ve P bulunması bu tohumların da en az *N. sativa* tohumları kadar önemli mineral kaynağı olduğunu ve besleyici değerini göstermektedir. Tohumlarda bulunan K ve Mg miktarının da yüksek olması ayrıca dikkat çekicidir. Tohumların Se içeriği de bu çalışmamızda belirlenmiştir ve miktarın 1.370 $\mu\text{g/g}$ olduğu saptanmıştır.

Literatürde *Nigella* türlerinin antioksidan etkisine ilişkin sadece *N. sativa* üzerinde yapılmış araştırmalar bulunmaktadır (in vitro ve in vivo). İn vitro olarak yapılmış çalışmalarda farklı yöntemler kullanılarak tohum uçucu yağı ve onun etkili bileşenleri açısından incelemeler gerçekleştirilmiştir (31, 32, 169-173). Bu tez çalışması ile *N. sativa* dışında bir *Nigella* türünün ekstrelerinin antioksidan etkisi ve fenolik bileşenleri ilk kez araştırılmıştır. Bourgou ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada (97) *N. sativa* bitkisinin kök ekstreleri etkili bulunmuşken, *N. stellaris* tohum, toprak üstü ve kök metanol ekstrelerinde antiradikal etki açısından en etkin ekstrenin toprak üstü metanol ekstreleri olduğu gözlenmiştir. Bu ekstrelerin her ikisinde de en yüksek konsantrasyonda bulunan fenolik bileşen kersetindir. Bu bileşiği *p*-kumarik asit, apigenin ve (-)-epikateşin izlemektedir ki farklı ekstraksiyon yöntemleri nedeniyle bu bileşenler açısından farklılık sadece kantitatifdir. Bu nedenle toprak üstü metanol ekstreleri (40°C ve Soxhlet ekstraksiyonu) 4.5mg/ml konsantrasyonda sırasıyla %92.3

ve %86.5 radikal süpürücü etki (% inhibisyon olarak) göstermişlerdir. Aradaki farkın fenolik bileşenlerin kantitatif farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Tohum metanol ekstresi de 4.5mg/ml konsantrasyonda %80.47 inhibisyon göstermiştir ki bu ekstrede ana bileşen *p*-kumarik asittir. Bunu *p*-kumarik asitin yaklaşık 1/3 oranında bulunan kersetin izlemektedir.

Literatürde polifenollerin etkili antioksidan bileşikler olduğu, özellikle üç hidroksil grubunun varlığının, etki artışında önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Literatürde fenolik asitlerde de hidroksil grubu sayısının antioksidan etki için önemli olduğu belirtilmektedir (176). İncelediğimiz tohum metanol ekstresinde fenolik asitlerden *p*-kumarik asitin yüksek oranda olması dikkat çekicidir. Bu ekstrede monohidroksilli asit olan ferulik asit yanında pentahidroksi yapıdaki kersetinin varlığının sinerjik etki oluşturduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasından elde edilen bulgulara göre:

- İlk kez *N. sativa* dışında bir *Nigella* türü olan *N. stellaris* bitkisinin tohumları sabit yağ, uçucu yağ, timol ve timokinon içeriği, tokoferoller ve mineraller yönünden incelenmiştir.
 - Tohumlar doymamış yağ asitlerince zengin bir sabit yağ, seskiterpenler yönünden zengin bir uçucu yağ taşımaktadır. Sabit yağın çoklu doymamış yağ asitleri miktarının (linoleik ve eikosadienoik asitler) toplam yağ içerisinde %51.98 ve tek çifte bağ taşıyan oleik asit miktarının da %18.63 olduğu tespit edilmiştir. *N. stellaris* tohumlarının gıda değerinin doymamış yağ asitlerince zengin olması nedeniyle bir kültür bitkisi olan *N. sativa* tohumları kadar yüksek olduğu görülmüştür.
 - *N. stellaris* tohumlarının uçucu yağının seskiterpenler açısından zengin olduğu ve uçucu yağda timol ve timokinonun bulunmadığı ortaya konmuştur. Tohumların metanol ekstresinin timol ve timokinon içerikleri açısından analiz edilmesi farklı yöntemlerin timol, timokinon analizinde kıyaslanmasını sağlamıştır. Tohum uçucu yağında timokinona rastlanmamış olmasına rağmen metanol ekstresinde çok düşük miktarda da olsa timokinon varlığı tespit edilmiştir. Literatürde *N. sativa* tohumlarıyla ilgili yapılmış uçucu yağ çalışmalarında, bileşimdeki timokinon miktarının uçucu yağın elde ediliş yöntemine bağlı olarak değiştiği belirtilmektedir. Buna göre *N. stellaris* tohumlarının metanol ekstresinde bu bileşenin çok düşük olması hidrodistilasyon ile uçucu yağ elde edilirken bu maddenin uçucu yağa geçmediğini düşündürmektedir.
 - Tohum hekzan ekstresinde başlıca α -tokoferolün bulunduğu ancak miktarının *N. sativa* tohumlarında bulunduğu bildirilen literatür değerlerinden düşük olduğu tespit edilmiştir.

- Tohumların mineral madde bileşimi de saptanmış olup ana minerallerin Ca, P, K ve Mg olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışma konusunu oluşturan *N. stellaris* bitkisinin tohumları sabit yağ, tokoferoller ve mineraller yönünden incelenmiştir ve ilk kez *N. sativa*'dan farklı bir *Nigella* türü bu açılardan araştırılmıştır. Elde edilen bulgular diğer *Nigella* türleri üzerinde fitokimyasal ve biyoaktivite çalışması yapacak araştırmacılara yol gösterici olacaktır.

- *N. sativa* dışında bir *Nigella* türü olan *N. stellaris* bitkisinin tüm kısımlarından (tohum, toprak üstü ve kök) hazırlanan ekstreler fenolik bileşenler açısından da ilk kez araştırılmış, aynı zamanda bu ekstraktların olası antioksidan etkileri de DPPH' yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre:

- *N. stellaris* metanol ekstraktlarından; tohum ekstresi kersetin açısından zengindir. Toprak üstü kısımda iki farklı ekstraksiyon yöntemi uygulanarak hazırlanan ekstraktların ikisinde de kersetin, *p*-kumarik asit, apigenin ve (-)-epikateşin yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Uygulanan ekstraksiyon yöntemlerinin, bileşenlerin miktarlarına etkili olduğu bulunmuştur. Kök ekstraktlarında ise trans-2-hidroksisinnamik asit ve kersetin yüksek oranda saptanmıştır. (-)-epikateşin isimli bileşiğin 40°C'de yapılan ekstraksiyon ile elde edilen kök ekstresinde bulunduğu saptanmışken, Soxhlet ekstraksiyonuyla hazırlanan ekstrede bu bileşiğin bulunmadığı ortaya konmuştur. Bu veri, uygulanan ekstraksiyon yönteminin bazı bileşenler açısından önemli olacağını göstermektedir. Bitkiden hazırlanan metanollü ekstraktların DPPH' testi uygulandığında radikal süpürücü etki gösterdikleri saptanmıştır. Bu ekstraktların (kök ekstresi hariç) 4.5 mg/ml için %80'in üzerinde bir inhibisyon göstermesi ekstraktların fenolik bileşenlerinin kantitatif farklılığı ile açıklanabilmektedir.

Sonuç olarak *N. stellaris* bitkisinin bütün kısımlarının fenolik bileşen profili ilk kez bu çalışma ile ortaya çıkarılmış olup sonuçlar diğer *Nigella* türleri üzerinde yapılacak kimyasal ve biyoaktivite çalışmaları için yol gösterici olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. **Hegnauer R.** *Chemotaxonomie der pflanzen*. Basel/Stuttgart: Birkhauser Verlag, **1973**: p. 43.
2. **Türker L, Bayrak A.** Çörek otu (*Nigella sativa L.*)'nun sabit ve uçucu yağ kompozisyonunun araştırılması. *Standart*, **1997**; 430: 128-137.
3. **Davis PH.** *Nigella L.* In: Davis PH, ed. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol.1 , Edinburgh: Edinburgh University Pres, **1965**: 98-105.
4. **Davis PH, Mill RR, Tan K.** *Nigella L.* In: Davis PH, Mill RR, Tan K, eds. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol.10, Edinburgh: The Edinburgh University Pres, **1988**: 13-14.
5. **Dönmez AA, Mutlu B.** A new species of *Nigella (Ranunculaceae)* from Turkey. *Bot J Linn Soc*, **2004**; 146: 251-255.
6. **Dadandi MY, Kökdil G, İlçim A, Özbilgin B.** Seed macro and micro morphology of the selected *Nigella (Ranunculaceae)* taxa from Turkey and their systematic significance. *Biologia*, **2009**; 64: 261-270.
7. **Turner RJ.** *Botanica*. 3th. Ed., Italy: Köneman, **2004**: 605.
8. **Dauksas E, Venskutonis PR, Sıvık B.** Comparison of oil from *Nigella damascena* seed recovered by pressing, conventional solvent extraction and carbon dioxide extraction. *Food Chem. Toxicol*, **2002**; 67(3):1021-1024.
9. **Agradi E, Fico G, Cillo F, Francisci C, Tomè F.** Estrogenic activity of phenolic compounds from *Nigella damascena* evaluated using a recombinant yeast screen. *Planta Med*, **2001**; 67: 553-555.
10. **Al-Jishi SA, Hozaifa BA.** Effect of *Nigella sativa* on blood hemostatic function in rats. *J. Ethnopharmacol*, **2003**; 85: 7-14.
11. **Ali BH, Blunden G.** Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother. Res*, **2003**; 17: 299– 305.
12. **El-Dakhkhny M, Barakat M, El-Halim M, Aly SM.** Effects of *Nigella sativa* oil gastric secretion and ethanol-induced ulcer in rats. *J. Ethnopharmacolo*, **2000**; 72: 299–304.
13. **Ramadan MF.** Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (*Nigella sativa L.*): an overview. *International Journal of Food Science and Technology*, **2007**; 42: 1208–1218.
14. **Babayan VK, Koottungal D, Halaby GA.** Proximate analysis, fatty acid and amino acid composition of *Nigella sativa L.* seeds. *J. Food Sci*, **1978**; 43(4): 1314-1319.
15. **Khan MA.** Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. *Inflammopharmacology*, **1999**; 7(1): 15-35.

16. **Salem ML.** Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology*, **2005**; 5: 1749-1770.
17. **Kalus U, Pruss A, Bystron J, Jurecka M, Smekalova A, Lichius JJ.** Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. *Phytother. Res*, **2003**; 17: 1209– 1214.
18. **Hanafy MS, Hatem ME.** Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cummin). *J. Ethnopharmacol*, **1991**; 34: 275–278.
19. **Aboul Ela MA, El-Shaer NS, Ghanem NB.** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie*, **1991**; 51(12), 993-994.
20. **Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, Hoult JR.** Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta. Med*, **1995**; 61: 33–36.
21. **Zaoui A, Cherrah Y, Alaoui K, Mahassine N, Amarouch H, Hassar M.** Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *J. Ethnopharmacol*, **2002a**; 79: 23–26.
22. **Ibraheim ZZ.** Effect of *Nigella sativa* seeds and total oil on some blood parameters in female doxorubicinvolunteers. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **2002**; 10: 54–59.
23. **Al-Naggar TB, Gómez-Serranillos MP, Carretero ME, Villar AM.** Neuropharmacological activity of *Nigella sativa* L. extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, **2003**; 88: 63-68.
24. **Kanter M, Coskun O, Kalaycı M, Buyukbas S, Cagavi F.** Neuroprotective effects of *Nigella sativa* on experimental spinal cord injury in rats. *Hum. Exp. Toxicol*, **2006**; 25: 127-133.
25. **Kanter M.** *Nigella sativa* and Derived Thymoquinone Prevents Hippocampal Neurodegeneration After Chronic Toluene Exposure in Rats. *Neurochem. Res*, **2008**; 33: 579-588.
26. **Hosseinzadeh H, Parvardeh S.** Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine*, **2004**; 11: 56-64.
27. **Salem ML, Hossain MS.** In vivo acute depletion of CD8(+) T cells before murine cytomegalovirus infection upregulated innate antiviral activity of natural killer cells. *Int. J. Immunopharmacol*, **2000**; 22: 707–718.
28. **Su HC, Nguyen KB, Salazar-Mather TP, Ruzek MC, Dalod MY, Biron CA.** NK cell functions restrain T cell responses during viral infections. *Eur. J. Immunol*, **2001**; 31: 3048–3055.
29. **Akhtar MS, Aslam M.** Anticestodal principles of *Nigella sativa* Linn. (Kolanji) seeds. *Pak. J. Pharmacol*, **1997**; 14(2): 7-14.
30. **Agradi E, Fico G, Cillo F, Francisci C, Tomè F.** Estrogenic Activity of *Nigella damascena* Extracts, Evaluated Using a Recombinant Yeast Screen. *Phytother. Res*, **2002**; 16: 414-416.
31. **Burits M, Bucar F.** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res*, **2000**; 14:323-328.
32. **Ramadan MF, Kroh LW, Mörsel JT.** Radical scavenging activity of black cummin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.), and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) crude seed oils and oil fractions. *J. Agric. Food Chem*, **2003**; 51:6961-6969.

33. **Agradi E, Fico G, Cillo F, Francisci C, Tomè F.** Estrogenic Activity of Phenolic Compounds from *Nigella damascena* Evaluated Using a Recombinant Yeast Screen. *Planta Med*, **2001**; 67 (6): 553-555.
34. **Fico G, Panizzi L, Flamini G, Braca A, Morelli I, Tomè F, Cioni PL.** Biological screening of *Nigella damascena* for antimicrobial and molluscicidal activities. *Phytother. Res*, **2004**; 18: 468-470.
35. **Toma CC, Ollivier E, Delmas F, DiGiorgio C, Balansard G.** Anti-leishmaniasis activity of some extracts isolated from *Nigella damascena* (Ranunculaceae). *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi*, **2007**; 111 (1): 285-289.
36. **Kökdil G, Delialioğlu N, Özbilgin B, Emekdaş G.** Antibacterial activity screening of *Nigella L.* species growing in Turkey. *Ankara Ecz. Fak. Derg*, **2005**; 34(3): 183-190.
37. **Kökdil G, Tamer L, Ercan B, İlçim A, Aras N, Atik U.** Effects of *Nigella unguicularis* fixed oil on blood biochemistry and oxidant/antioxidant balance in rats. *J. Ethnopharmacol*, **2005**; 99: 131-135.
38. **Kökdil G, Tamer L, Ercan B, Çelik M, Atik U.** Effects of *Nigella orientalis* and *N. segetalis* fixed oils on blood biochemistry in rats. *Phytother. Res*, **2006**; 20: 71-75.
39. **Gali-Muhtasib H, Roessner A, Schneider-Stock R.** Thymoquinone: A promising anti-cancer drug from natural sources. *Int J Biochem Cell Biol*, **2006**; 38: 1249-1253.
40. **Evans WC.** *Trease and Evans Pharmacognosy*. 15th. Edition, Edinburgh: W. B. Saunders, **2002**: 23.
41. **Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M.** *Farmasötik Botanik*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 88, **2004**.
42. **Al-Jassir MS.** Chemical composition and microflora of black cummin (*Nigella sativa L.*) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chem*, **1992**; 45: 239– 242.
43. **Aitzetmüller K, Werner G.** Seeds oils of *Nigella* species and of closely related genera. *OCL Ol. Corps Gras Lipides*, **1997**; 4: 385-388.
44. **Ramadan MF, Mörsel JT.** Characterization of phospholipid composition of black cummin (*Nigella sativa L.*) seed oil. *Nahrung/Food*, **2002**; 46(4):240-244.
45. **Atta MB.** Some characteristics of nigella (*Nigella sativa L.*) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry*, **2003**; 83:63-68.
46. **Nergiz C, Ötleş S.** Chemical composition of *Nigella sativa L.* Seeds. *Food Chemistry*, **1993**; 48: 259-261.
47. **Ustun G, Kent L, Cekin N, Civelekoglu H.** Investigation of the technological properties of *Nigella sativa* (black cummin) seed oil. *J. Amer. Oil Chem. Soc*, **1990**; 67: 958-960.
48. **Sener B, Küsmenoglu S, Mutlugil A, Bingol F.** A study with the seed of *Nigella sativa*. *Gazi Univ. Eczacilik Fak. Derg.*, **1985**; 2(1): 1-7.

49. **Hamrouni-Sellami I, Kchouk ME, Marzouk B.** Lipid and aroma composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds from Tunisia. *J Food Biochem*, **2008**; 32(3): 335-352.
Erişim: <http://www3.interscience.wiley.com/journal>
50. **Kökdil G, Yılmaz H.** Analysis of the fixed oils of the genus *Nigella* L. (*Ranunculaceae*) in Turkey. *Biochem Systema Ecol*, **2005**; 33:1203-1209.
51. **Akçasu A, Kavalalı G.** The fatty acids of *Nigella damascena* L. seed oil. *Acta Pharmaceutica Turcica*, **1990**; 32: 41-43.
52. **Nickavar B, Mojab F, Javidnia K, Amoli AMR.** Chemical composition of the fixed and volatile oils of *N. sativa* L. from Iran. *Z.Naturforsch*, **2003**; 58C: 629-631.
53. **Takruri HRH, Dameh MAF.** Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa* L.). *J. Sci. Food Agric*, **1998**; 76:404-410.
54. **Rudyuk VF, Korchagina LN.** Isolation and partial purification of lipase from love-in-a-mist *Nigella damascena* seeds. *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya*, **1976**; 12: 45-48.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
55. **Rudyuk VF, Korchagina LN.** Effect of metal ions on the activity of lipase from *Nigella damascena* seeds. *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya*, **1977**; 13: 319-323.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
56. **Korchagina LN, Rudyuk VF.** Effect of fatty-acids and bile acids and thiol reagents on the lipase activity of *Nigella damascena* seeds. *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya*, **1979**; 15: 112-116
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
57. **Saad RR.** Production of lipase from *Aspergillus tamarii* and its compatibility with commercial detergents. *Folia Microbiol*, **1995**; 40(3): 263-266.
58. **Dandik L, Aksoy HA.** The kinetics of hydrolysis of *Nigella sativa* (black cumin) seed oil catalyzed by native lipase in ground seed. *JAACS*, **1992**; 69: 1239.
59. **Mert S, Dandik L, Aksoy HA.** Production of glycerides from glycerol and fatty acids by native lipase of *Nigella sativa* seed. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **1995**; 50: 333-342.
60. **Dandik L, Aksoy HA.** Applications of *Nigella sativa* seed lipase in oleochemical reactions. *Enzyme Microb Tech*, **1996**; 19: 277-281.
61. **El N, Dandik L, Aksoy HA.** Solvent-free glycerolysis catalyzed by acetone powder of *Nigella sativa* seed lipase. *J. Amer. Oil Chem. Soc*, **1998**; 75: 1207-1211.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
62. **Akova A, Ustun G.** Activity and adsorption of lipase from *Nigella sativa* seeds on Celite at different pH values. *Biotechnol Lett*, **2000**; 22: 355-359.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record

63. **Tuter M, Secundo F, Riva S, Aksoy HA, Ustun G.** Partial purification of *Nigella sativa* L. seed lipase and its application in transesterification reactions. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **2003**; 80: 43-48.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
64. **Tuter M, Aksoy HA, Ustun G, Riva S, Secundo F, Ipekler S.** Partial purification of *Nigella sativa* L. seed lipase and its application in hydrolytic reactions. Enrichment of gamma-linolenic acid from borage oil. *J. Amer. Oil Chem Soc.*, **2003**; 80: 237-241.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
65. **Abou Basha LI, Rashed MS, Aboul-Enein HY.** TLC assay of thymoquinone in black seed oil (*Nigella sativa* Linn) and identification of dithymoquinone and thymol. *Journal of Liquid Chromatography(J. Liq. Chromatogr.)*, **1995**; 18(1):105-115.
66. **Aboul-Enein HY, Abou Basha LI.** Simple HPLC method for the determination of thymoquinone in black seed oil (*Nigella sativa* Linn). *Journal of Liquid Chromatography (J. Liq. Chromatogr.)*, **1995**; 18(5):895-902.
67. **Ghosheh OA, Houdi AA, Crooks PA.** High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.). *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1999**; 19:757-762.
68. **Michelitsch A, Rittmannsberger A.** A simple differential pulse polarographic method for the determination of thymoquinone in black seed oil. *Phytochem. Anal.*, **2003**; 14:224-227.
69. **Al-Saleh IA, Billedo G, El-Doush II.** Levels of selenium, DL- α -tocopherol, DL- γ -tocopherol, all-*trans*-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. *Journal of Food Composition and Analysis*, **2006**; 19:167-175.
70. **Erkan N, Ayranci G, Ayranci E.** Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry*, **2008**; 110: 76-82.
71. **D'Antuono LF, Moretti A, Lovato AFS.** Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. *Ind Crop Prod*, **2002**; 15:59-69.
72. **Rchid H, Nmila R, Bessiere JM, Sauvaire Y, Chokairi M.** Volatile components of *Nigella damascena* L. and *Nigella sativa* L. seeds. *J. Essent. Oil Res.*, **2004**; 16(6): 585-587.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
73. **Moretti A, D'Antuono LF, Elementi S.** Essential oils of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. seed. *J. Essent Oil Res.*, **2004**; 16(3): 182-183.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
74. **Hajhashemi V, Ghannadi A, Jafarabadi H.** Black cummin seed essential oil, as apotent analgesic and antiinflammatory drug. *Phytother. Res.*, **2004**; 18(3): 195-199.
75. **Singh G, Marimuthu P, Heluani CS, Catalan C.** Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. *J. Sci. Food Agric.*, **2005**; 85:2297-2306.
76. **Benkaci-Ali F, Baaliouamer A, Meklati BY.** Kinetic study of microwave extraction of essential oil of *Nigella sativa* L. seeds. *Chromatographia*, **2006**; 64: 227-231.
77. **Benkaci-Ali F, Baaliouamer A, Meklati BY, Chemat F.** Chemical composition of seed essential oils from Algerian *Nigella sativa* extracted by microwave and hydrodistillation. *Flavour Fragr. J.*, **2007**; 22:148-153.

78. **Wajs A, Bonikowski R, Kalemba D.** Composition of essential oil from seeds of *Nigella sativa* L. cultivated in Poland. *Flavour Fragr. J*, **2008**; 23:126-132.
79. **Tillequin F, Leconte C, Paris M.** Sesquiterpene hydrocarbons from *Nigella damascena* seeds. *Planta Med*, **1976**; 30(1): 59-61.
80. **Fico G, Bader A, Flamini G, Cioni PL, Morelli L.** Essential oil of *Nigella damascena* L. (*Ranunculaceae*) seeds. *Journal of Essential Oil Research*, **2003**; 15(1): 57-58.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
81. **Kokoska L, Havlik J, Valterova I, Nepovim A, Rada V, Vanek T.** Chemical composition of the essential oil of *Nigella orientalis* L. seeds. *Flavour Fragr. J*, **2005**; 20:419-420.
82. **Havlik J, Kokoska L, Vasickova S, Valterova I.** Chemical composition of essential oil from the seeds of *Nigella arvensis* L. and assessment of its antimicrobial activity. *Flavour Fragr. J*, **2006**; 21:713-717.
83. **Riaz M, Syed M, Chaudhary FM.** Chemistry of the medicinal plants of the genus *Nigella*. *Hamdard Medicus*, **1996**; 39: 40-45.
84. **Kumara SS, Huat BT.** Extraction, isolation and characterisation of antitumor principle, alpha-hederin, from the seeds of *Nigella sativa*. *Planta Med*, **2001**; 67: 29 – 32.
85. **Taşkın MK, Çalışkan ÖA, Anıl H, Abou-Gazar H, Khan IA, Bedir E.** Triterpene saponins from *Nigella sativa* L. *Turk J. Chem*, **2005**; 29:561-569.
86. **Mehta BK, Pandit V, Gupta M.** New principles from seeds of *Nigella sativa*. *Natural Product Research*, **2009**; 23(2): 138-148.
87. **Mehta BK, Mehta P, Gupta M.** A new naturally acetylated triterpene saponin from *Nigella sativa*. *Carbohydrate Research*, **2009**; 344: 149-151.
88. **Tian Z, Liu Y, Chen S, Yang J, Xiao P, Wang L, Wu E.** Cytotoxicity of Two Triterpenoids from *Nigella glandulifera*. *Molecules*, **2006**; 11: 693-699.
89. **Yoshimitsu H, Nishida M, Okawa M, Nohara T.** Four New Triterpene Glycosides from *Nigella damascena*. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**; 55 (3): 488-491.
90. **Menounos P, Staphylakis K, Gegiou D.** The sterols of *Nigella sativa* seed oil. *Phytochemistry*, **1986**; 25(3): 761-763.
Erişim: <http://www.sciencedirect.com/science>
91. **Ramadan MF, Mörsel JT.** Neutral lipid classes of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oils. *Eur Food Res Technol*, **2002**; 214:202-206.
92. **Ramadan MF, Mörsel JT.** Oxidative stability of black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.), and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) crude seed oils upon stripping. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, **2004**; 106:35-43.
93. **Mehta BK, Gupta M, Verma M.** Steroid and aliphatic esters from the seeds of *Nigella sativa*. *Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry*, **2006**; 45(6): 1567-1571.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record

94. **Cheikh-Rouhou S, Besbes S, Lognay G, Blecker C, Deroanne C, Attia H.** Sterol composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) and Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) seed oils. *J Food Compos Anal*, **2008**; 21:162-168.
95. **Merfort I, Wray V, Barakat HH, Hussein SAM, Nawwar MAM, Willuhn G.** Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa*. *Phytochemistry*, **1997**; 46(2): 359-363.
96. **Bourgou S, Ksouri R, Bellila A, Skandrani I, Falleh H, Marzouk B.** Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *C. R. Biologies*, **2008**; 331:48-55.
97. **Bourgou S, Ksouri R, Skandrani I, Chekir-Ghedira L, Marzouk B.** Antioxidant and antimutagenic activities of the essential oil and metanol extract from Tunisian *Nigella sativa* L. (*Ranunculaceae*). *Italian Journal of Food Science*, **2008**; 20(2): 191-201.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
98. **Fico G, Braca A, Tomè F, Morelli I.** Phenolic derivatives from *Nigella damascena* seeds. *Pharmaceutical Biology*, **2000**; 38(5): 371-373.
99. **Fico G, Braca A, Tomè F, Morelli I.** A new phenolic compound from *Nigella damascena* seeds. *Fitoterapia*, **2001**; 72:462-463.
100. **Hao HF, Ren LJ, Chen YW.** Studies on the chemical constituents of seed from *Nigella glandulifera*. *Yao Xue Xue Bao*, **1996**; 31(9): 689-694.
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>
101. **Xin XL, Aisa HA, Wang HQ.** Flavonoids and phenolic compounds from seeds of the Chinese plant *Nigella glandulifera*. *Chemistry of Natural Compounds*, **2008**; 44(3): 368-369.
102. **Atta-ur-Rahman, Malik S.** Isolation and structure determination of nigellicine, a novel alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron Lett*, **1985**; 26(23): 2759-2762.
103. **Atta-ur-Rahman, Malik S, Zaman K, Ahmad S, Chaudhary I, Habib-ur-Rehman.** Nigellimine N-oxide - A new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Heterocycles*, **1985**; 23(4): 953-955.
104. **Atta-ur-Rahman, Malik S, Zaman K.** Nigellimine: A new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Journal of Natural Products*, **1992**; 55(5): 676-678.
105. **Atta-ur-Rahman, Malik S, Hasan SS, Choudhary MI, Ni CZ, Clardy J.** Nigellidine- A new indazole alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron Lett*, **1995**; 36(12): 1993-1996.
106. **Ali Z, Ferreira D, Carvalho P, Avery MA, Khan IA.** Nigellidine-4-O-sulfite, the first sulfated indazole-type alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *J. Nat. Prod*, **2008**; 71(6): 1111-1112.
107. **Morikawa T, Xu F, Kashima Y, Matsuda H, Ninomiya K, Yoshikawa M.** Novel dolabellane-type diterpene alkaloids with lipid metabolism promoting activities from the seeds of *Nigella sativa*. *Organic Lett*, **2004**; 6(6):869-872.
108. **Morikawa T, Xu F, Ninomiya K, Matsuda H, Yoshikawa M.** Nigellamines A₃, A₄, A₅, and C, new dolabellane-type diterpene alkaloids, with lipid metabolism-promoting activities from the Egyptian medicinal food black cumin. *Chem. Pharm. Bull*, **2004**; 52(4):494-497.

109. **Liu YM, Yang JS, Liu QH.** A new alkaloid and its artificial derivative with an indazole ring from *Nigella glandulifera*. *Chem. Pharm. Bull*, **2004**; 52(4): 454-455.
110. **Ramadan MF, Mörsel JT.** Direct isocratic normal-phase HPLC assay of fat-soluble vitamins and β -carotene in oilseeds. *Eur Food Res Technol*, **2002**; 214:521-527.
111. **Gupta KK, Bhattacharjee S, Kar S, Chakrabarty S, Thakur P, Bhattacharyya G, Srivastava Sc.** Mineral compositions of eight common species. *Comm Soil Sci Plant Anal*, **2003**; 34(5): 681-693.
112. **Al-Bataina BA, Maslat AO, Al-Kofahi MM.** Element analysis and biological studies on ten oriental spices using XRF and Ames test. *J. Trace Elem. Med. Biol*, **2003**; 17(2):85-90.
113. **Enomoto S, Asano R, Iwahori Y, Narui T, Okada Y, Singab AN, Okuyama T.** Hematological studies on black cummin oil from the seeds of *Nigella sativa* L. *Biol. Pharm. Bull*, **2001**; 24: 307– 310.
114. **Joshi BS, Singh KL, Roy R.** Structure of a new isobenzofuranone derivative from *Nigella sativa* Linn. *Magn. Reson. Chem*, **2001**; 39:771-772.
115. **Singh N, Verma M, Mehta D, Mehta BK.** Two new lipid constituents of *Nigella sativa* (Seeds). *Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry*, **2005**; 44(8): 1742-1744.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
116. **El-Dakhakhny M.** Studies on the Egyptian *Nigella sativa* L: IV. Some pharmacological properties of the seeds' active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer. *Arzneimittelforschung*, **1965**; 15: 1227– 1229.
117. **Chakravarty N.** Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone. *Ann. Allergy*, **1993**; 70: 237–242.
118. **El-Tahir KE, Ashour MM, Al-Harbi MM.** The respiratory effects of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in guinea pigs: elucidation of the mechanism(s) of action. *Gen. Pharmacol*, **1993a**; 24: 1115–1122.
119. **Ferdous AJ, Islam SN, Ahsan M, Hasan CM, Ahmed ZU.** Invitro antibacterial activity of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds against multiple drug-resistant isolates of *Shigella spp* and isolates of *Vibrio-cholerae* and *Escherichia-coli*. *Phytother. Res*, **1992**; 6(3): 137-140.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
120. **El-Kamali HH, Ahmad AH, Mohammad AS, Yahia AAM, El-Tayeb I, Ali AA.** Antibacterial properties of essential oils from *Nigella sativa* seeds etc. *Fitoterapia*, **1998**; 69: 77–78.
121. **Sokmen A, Jones BM, Erturk M.** The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **1999**; 67: 79–86.
122. **Morsi NM.** Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria. *Acta MicrobiolPol*, **2000**; 49(1): 63-74.
Erişim: http://apps.isiknowledge.com/full_record
123. **Khan MA, Ashfaq MK, Zuberi HS, Mahmood MS, Gilani AH.** The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. *Phytother. Res*, **2003**; 17: 183–186.

124. **Nair MKM, Vasudevan P, Venkitanarayanan K.** Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, **2005**; 16:395-398.
125. **Mohamed AM, Metwally NM, Mahmoud SS.** *Sativa* seeds against *Schistosoma mansoni* different stages. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **2005**; 100(2): 205-211.
126. **Aljabre SHM, Randhawa MA, Akhtar N, Alakloby OM, Alqurashi AM, Aldossary A.** Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. *J. Ethnopharmacol*, **2005**; 101: 116-119.
127. **Si W, Gong J, Tsao R, Zhou T, Yu H, Poppe C, Johnson R, Du Z.** Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. *J Appl Microbiol*, **2006**; 100: 296-305.
128. **Al-Hader A, Aqel M, Hasan Z.** Hypoglycemic effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds. *Int. J. Pharmacog*, **1993**; 31: 96-100.
129. **Meral I, Yener Z, Kahraman T, Mert N.** Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, anti-oxidant defence system and liver damage in experimentally induced diabetic rabbits. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med*, **2001**; 48: 593- 599.
130. **Fararh KM, Atoji Y, Shimizu Y, Takewaki T.** Insulinotropic properties of *Nigella sativa* in Streptozotocin plus Nicotinamide diabetic hamsters. *Res Vet Sci*, **2002**; 73: 279-282.
131. **Le PM, Benhaddou-Andaloussi A, Elimadi A, Settaf A, Cherrah Y, Haddad PS.** The petroleum ether extract of *Nigella sativa* exerts lipid-lowering and insulin-sensitizing actions in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*, **2004**; 94: 251-259.
132. **Kanter M, Coskun O, Korkmaz A, Oter S.** Effects of *Nigella sativa* on Oxidative Stress and β -Cell Damage in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *The Anat Rec*, **2004**; 279A: 685-691.
133. **Fararh KM, Atoji Y, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Takewaki T.** Mechanisms of the hypoglycaemic and immunopotentiating effects of *Nigella sativa* L. oil in streptozotocin-induced diabetic hamsters. *Res Vet Sci*, **2004**; 77: 123-129.
134. **Rchid H, Chevassus H, Nmila R, Guiral C, Petit P, Chokairi M, Sauvaire Y.** *Nigella sativa* seed extracts enhance glucose-induced insulin release from rat-isolated Langerhans islets. *Fund Clin Pharmacol*, **2004**; 18: 525-529.
135. **Kanter M.** Effects of *Nigella sativa* and its Major Constituent, Thymoquinone on Sciatic Nerves in Experimental Diabetic Neuropathy. *Neurochem. Res*, **2008**; 33: 87-96.
136. **Benhaddou-Andaloussi A, Martineau LC, Spor D, Vuong T, Leduc C, Joly E, Burt A, Meddah B, Settaf A, Arnason JT, Prentki M, Haddad PS.** Antidiabetic Activity of *Nigella sativa* Seed Extract in Cultured Pancreatic β -cells, Skeletal Muscle Cells, and Adipocytes. *Pharmaceutical Biology*, **2008**; 46: 96-104.
137. **Mahmoud MS, Gilani AH, Khwaja A, Rashid A, Ashfaq MK.** The in vitro effect of aqueous extract of *Nigella sativa* seeds on nitric oxide production. *Phytother. Res*. **2003**; 17: 921-924
138. **El-Dakhakhny M, Madi NJ, Lember N, Ammon HP.** *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *J. Ethnopharmacol*, **2002**; 81: 161- 164.

139. **El Gazzar M, El Mezayen R, Marecki JC, Nicolls MR, Canastar A, Dreskin SC.** Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *Inl Immunopharm*, **2006**; 6: 1135-1142.
140. **Khanna T, Zaidi FA, Dandiya PC.** 1993. CNS and analgesic studies on *Nigella sativa*. *Fitoterapia*, **1993**; 5: 407-410
141. **Abdel-Fattah A-FM, Matsumoto K, Watanabe H.** Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. *Eur. J. Pharmacol*, **2000**; 400: 89-97.
142. **Haq A, Abdullatif M, Lobo PI, Khabar KS, Sheth KV, al- Sedairy ST.** *Nigella sativa*: effect on human lymphocytes and polymorphonuclear leukocyte phagocytic activity. *Immunopharmacology*, **1995**; 30: 147– 155.
143. **Haq A, Lobo PI, Al-Tufail M, Rama NR, Al-Sedairy ST.** Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange chromatography. *Int. J. Immunopharmacol*, **1999**; 21: 283– 295.
144. **Swamy SM, Tan BK.** Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds. *J. Ethnopharmacol*, **2000**; 70: 1– 7.
145. **Islam SN, Begum P, Ahsan T, Huque S, Ahsan M.** Immunosuppressive and cytotoxic properties of *Nigella sativa*. *Phytother. Res*, **2004**; 18: 395– 398.
146. **Salomi NJ, Nair SC, Jayawardhanan KK, Varghese CD, Panikkar KR.** Antitumour principles from *Nigella sativa* seeds. *Cancer Letters*, **1992**; 63: 41-46.
147. **Nair SC, Salomi MJ, Panikkar B, Panikkar KP.** Modulatory effects of *Crocus sativus* and *Nigella sativa* extracts on cisplatin-induced toxicity in mice. *J. Ethnopharmacol*, **1991**; 31: 16-20.
148. **El Daly ES.** Protective effect of cysteine and vitamin E, *Crocus sativus* and *Nigella sativa* extracts on cisplatin-induced toxicity in rats. *J. Pharm. Belg*, **1998**; 53(2): 87-95.
149. **Badary OA.** Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **1999**; 67: 135-142.
150. **Abuharfeil NM, Salim M, Von Kleist S.** Augmentation of natural killer cell activity in vivo against tumour cells by some wild plants from Jordan. *Phytother. Res*, **2001**; 15: 109–113.
151. **Aboul-Ela EI.** Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping. *Mutat. Res*, **2002**; 516: 11 – 17.
152. **Khan N, Sharma S, Sultana S.** *Nigella sativa* (black cumin) ameliorates potassium bromate-induced early events of carcinogenesis: diminution of oxidative stress. *Hum Exp Toxicol*, **2003**; 22: 193-203.
153. **Salim EI, Fukushima S.** Chemopreventive potential of volatile oil from black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds against rat colon carcinogenesis. *Nutr. Cancer*, **2003**; 45: 195– 202.
154. **Awad EM.** In vitro decreases of the fibrinolytic potential of cultured human fibrosarcoma cell line, HT1080, by *Nigella sativa* oil. *Phytomedicine*, **2005**; 12: 100-107.
155. **Mbarek LA, Mouse HA, Elabbadi N, Bensalah M, Gamouh A, Aboufatima R, Benharref A, Chait A, Kamal M, Dalal A, Zyad A.** Anti-tumor properties of blackseed

- (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **2007**; 40: 839-847.
156. **El-Tahir KE, Ashour MM, Al-Harbi MM.** The cardiovascular actions of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in rats: elucidation of the mechanism of action. *Gen. Pharmacol*, **1993b**; 24: 1123–1131.
 157. **Akhtar AH, Ahmad KD, Gilani SN, Nazir A.** Antiulcer effect of aqueous extracts of *Nigella sativa* and *Pongamia pinnata* in rats. *Fitoterapia*, **1996**; 67: 195–199.
 158. **El-Abhar HS, Abdallah DM, Saleh S.** Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats. *J. Ethnopharmacol*, **2003**; 84: 251–258.
 159. **Aqel MB.** Effect of *Nigella sativa* seeds on intestinal smooth muscles. *International Journal of Pharmacognosy*, **1993**; 31: 55–60.
 160. **Mahgoub AA.** Thymoquinone protects against experimental colitis in rats. *Toxicol.Lett*, **2003**; 143: 133–143.
 161. **Kanter M, Coskun O, Uysal H.** The antioxidative and antihistaminic effect of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone on ethanol-induced gastric mucosal damage. *Arch. Toxicol*, **2006**; 80: 217-224.
 162. **Al-Gharably NM, Badary O, Nagi M, Al-Shabanah O, Al-Sawaf H, Rikabi A, Al-Bekairi A.** Protective effect of thymoquinone against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *Res. Comm. Pharmacol. Toxicol*, **1997**; 2: 41–50.
 163. **Daba MH, Abdel-Rahman MS.** Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Lett*, **1998**; 95: 23–29.
 164. **Nagi MN, Alam K, Badary OA, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA, Al-Bekairi AM.** Thymoquinone protects against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice via an antioxidant mechanism. *Biochem. Mol. Biol. Int*, **1999**; 47: 153–159.
 165. **El-Dakhkhny M, Mady NI, Halim MA.** *Nigella sativa* L. oil protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats. *Arzneimittelforschung*, **2000**; 50: 832–836.
 166. **Turkdogan MK, Agaoglu Z, Yener Z, Sekeroglu R, Akkan HA, Avci ME.** The role of antioxidant vitamins (C and E), selenium and *Nigella sativa* in the prevention of liver fibrosis and cirrhosis in rabbits: new hopes. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr*, **2001**; 108: 71–73.
 167. **Mahmoud MR, El-Abhar HS, Saleh S.** The effects of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* in mice. *J. Ethnopharmacol*, **2002**; 79: 1–11.
 168. **Turkdogan MK, Ozbek H, Yener Z, Tuncer I, Uygan I, Ceylan E.** The Role of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* in the Prevention of Carbon tetrachloride-induced Hepatotoxicity in Rats. *Phytother. Res*, **2003**; 17: 942-946.
 169. **Atta MB, Imaizumi K.** Antioxidant Activity of *Nigella* (*Nigella sativa* L.) Seeds Extracts. *J. Jpn. Oil Chem. Soc*, **1998**; 47(5): 475-480.
 170. **Kruk I, Michalska T, Lichszeld K, Kladna A, Aboul-Enein HY.** The effect of thymol and its derivatives on reactions generating reactive oxygen species. *Chemosphere*, **2000**; 41: 1059-1064.

171. **Badary OA, Taha RA, Gamal El-Din AM, Abdel-Wahab MH.** Thymoquinone Is a Potent Superoxide Anion Scavenger. *Drug Chem Toxicol*, **2003**; 26(2): 87-98.
172. **Suboh SM, Bilito YY, Aburjai TA.** Protective Effects of Selected Medicinal Plants against Protein Degradation, Lipid Peroxidation and Deformability Loss of Oxidatively Stressed Human Erythrocytes. *Phytother. Res*, **2004**; 18: 280-284.
173. **Cemek M, Enginar H, Karaca T, Ünak P.** In Vivo Radioprotective Effects of *Nigella sativa* L. Oil and Reduced Glutathione Against Irradiation-Induced Oxidative Injury and Number of Peripheral Blood Lymphocytes in Rats. *Photochemistry and Photobiology*, **2006**; 82: 1691-1696.
174. **Kroyer G.Th.** Red clover extract as Antioxidant Active and Functional Food Ingredient. *Innovative Food and Emerging Technologies*, **2004**; 5:101-105.
175. **Koleva II, van Beek, TA, Linssen JPH, Groot A, Evstatieva, LN.** Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparative Study on Three Testing Methods. *Phytochemical Analysis*, **2002**; 13: 8-17.
176. **Sanchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F.** Free Radical Scavenging Capacity and Inhibition of Lipid Oxidation of Winer, Grape Juices and Related Poliphenolic Constituents. *Food Res Int*, **1999**; 32:407-412.

8. ÖZGEÇMİŞ

13.09.1984 yılında Mersin’de doğdu. İlkokulu Aliye Pozcu İlkokulu’nda, ortaokulu Bahçelievler Ortaokulu ve liseyi Yusuf Kalkavan Anadolu Lisesi’nde tamamladıktan sonra 2002 yılında Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’ni kazandı. 2006 yılında mezun olduktan sonra eczacı ünvanıyla soyadını taşıyan Silahtaroğlu Eczanesi adlı işletmesini hayata geçirerek serbest eczacılığa başlamış olup aynı yerde görevine devam etmektedir.