

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

***NIGELLA SATIVA* L. (RANUNCULACEAE) BİTKİSİ  
ÜZERİNDE FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Biyolog Ş. Selma URAS

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gamze KÖKDİL

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

Tez No:

MERSİN-2009

## Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan '*Nigella sativa* L. (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 Kurulunun ..... tarih ve .....sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Kendimi bildim bileli hayatımın her anında ve her konuda olduğu gibi yüksek lisansım boyunca da benden maddi-manevi desteklerini esirgemeyen, hep güç veren, ne yapsam da haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim, hayatımın en değerli varlıkları;

Canım Annem Sultan URAS ve

Canım Babam A. Cengiz URAS'a sonsuz teşekkürler.

Bu tez sizin için...

Tez konumun seçilmesinde ve çalışmalarımın yönlendirilmesinde bilgi, görüş ve önerilerini esirgemeyen, tez süresince oluşan tüm aksamalara rağmen tezin zamanında ve eksiksiz bitmesinde derin bilgi birikimi ve tecrübesi ile bana fazlasıyla yardımcı olan, sürekli yanımda hissettiğim, Sayın Hocam Prof. Dr. Gamze KÖKDİL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

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 Arş. 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'a ve Arş. Gör. Mehmet Berköz'e teşekkürler.

Yüksek lisansa başladığımda acaba kiminle birlikte çalışacağım, anlayabilecek miyim diye endişe duyarken nerden bilebilirdim ki akademik hayata birlikte adım attığım bu insanın bana gerçek dost olacağını... Bu üç yılın bana en büyük getirilerinden biri olan, kimi zaman sabahlara kadar çalıştığımız, kimi zaman stres atmak için bol bol gezdiğimiz, bütün tez çalışmalarımız boyunca ve özel hayatımızda her konuda yardımlaştığımız, yol arkadaşım, dostum, Eczacı Sibel SİLAHTAROĞLU'na sonsuz teşekkürler...

Ne zaman tanıştığımızı hatırlayamayacak kadar hayatımda eski bir geçmişe sahip ama bu zorlu tez dönemimde her zamankinden daha fazla yanımda olan, moral veren, bunun yanında enerjimizi kaybetmememiz için gerekli gıda lojistiğini sağlayan, kısacası maddi-manevi her konuda yanımda olan Altu GÜNGÖR'e sonsuz teşekkürler...

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

Selma URAS

# İÇİNDEKİLER

<b>KABUL ve ONAY</b> .....	ii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	v
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	viii
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	x
<b>ÖZET</b> .....	xii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİ</b> .....	6
2.1 Botanik Kısım .....	6
2.1.1 Ranunculaceae Familyası .....	6
2.1.2 <i>Nigella</i> L. Cinsi .....	6
2.1.3 <i>N. sativa</i> L. ....	6
2.2 <i>Nigella</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Araştırmalar .....	9
2.2.1 Sabit Yağ ve Steroller .....	9
2.2.2 Uçucu Yağ .....	19
2.2.3 Vitaminler .....	27
2.2.4 Alkaloidler .....	30
2.2.5 Fenolik Bileşikler .....	34
2.2.6. Saponozitler .....	37
2.2.7 İnorganik Elementler .....	38
2.2.8 Lipaz .....	39
2.2.9 Protein ve Aminoasitler .....	42
2.2.10 Diğer Bileşikler .....	43
2.3 <i>Nigella</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Biyolojik Aktivite Çalışmaları .....	43
2.3.1 Antioksidan Etki .....	43
2.3.1.1 İn vitro antioksidan etki .....	44
2.3.1.2 İn vivo antioksidan etki .....	46

2.3.1.3 Timokinonun in vivo antioksidan etkisi	46
2.3.2 Antiallerjik Etki	47
2.3.3 Antienflamatuar Etki	49
2.3.3.1 İn vitro antienflamatuar etki	49
2.3.3.2 İn vivo antienflamatuar etki	50
2.3.4 İmmunomodulatör Etki	52
2.3.5 Antibakteriyel ve Antifungal Etki	53
2.3.6 Antiviral Etki	57
2.3.7 Antisestod Etki	58
2.3.8 Antitümör Etki	58
2.3.8.1 İn vitro antitümör etki	58
2.3.8.2 İn vivo antitümör etki	61
2.3.9 Antidiyabetik Etki	65
2.3.10 Antihepatoto ve Nefrotoksik Etki	70
2.3.11 Kardiyovasküler Sistem ve Kan Üzerine Etki	73
2.3.12 Gastrointestinal Sistem Üzerine Etki	75
2.3.13 Antiaflatoksin Etki	76
2.3.14 Östrojenik Etki	77
2.3.15 Antinosiseptif Etki	77
2.3.16 Nöroprotektif Etki	78
2.3.17 Antikonvulzan Etki	79
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b>	<b>81</b>
3.1 Materyal	81
3.2 Yöntem	81
3.2.1 Kullanılan Kimyasallar	81
3.2.2 Kullanılan Cihazlar	82
3.2.3 Ekstraksiyon İşlemleri	82
3.2.3.1 Sabit Yağ Ekstraksiyonu ve Yağ Asidi Metil Esteri Hazırlanması	82
3.2.3.2 Uçucu Yağ Ekstraksiyonu	83
3.2.3.3 Timol ve Timokinon Analizleri İçin Yapılan Ekstraksiyon İşlemi	83
3.2.3.4 Fenolik Bileşiklerin Analizleri İçin Yapılan Ekstraksiyon İşlemi	83
3.2.4 GC-MS Analizi	84

3.2.4.1 Sabit Yağın GC-MS Analizi .....	84
3.2.4.2 Uçucu Yağın GC-MS Analizi .....	85
3.2.5 Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Yapılan Analizler .....	86
3.2.5.1 Timol ve Timokinon Analizi .....	86
3.2.5.2 Fenolik Bileşikler Analizi .....	86
3.2.5.3 E Vitamini Analizi .....	87
3.2.6 Mineral Madde Analizi .....	87
3.3 Antioksidan Etki Tayini (DPPH' Yöntemi ile) .....	87
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>89</b>
4.1 GC-MS Analizlerine Ait Bulgular .....	89
4.1.1 Sabit Yağ Analizi .....	89
4.1.2 Uçucu Yağ Analizi .....	91
4.2 Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Analizlerine Ait Bulgular .....	93
4.2.1 Timol ve Timokinon Analizleri .....	93
4.2.2 Fenolik Bileşiklerin Analizleri .....	95
4.2.3 E Vitamini Analizleri .....	106
4.3 Mineral Madde Analizlerine Ait Bulgular .....	112
4.4 Antioksidan Etkinin DPPH' Yöntemi ile Araştırılmasına Ait Bulgular.....	113
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>116</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b> .....	<b>121</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b> .....	<b>123</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>135</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1 <i>N. sativa</i> tohum uçucu yağında bulunan bazı bileşenler .....	20
Şekil 2. 2 <i>N. sativa</i> tohumlarında bulunan tokoferoller .....	29
Şekil 2. 3 <i>N. sativa</i> tohumundan izole edilen bazı alkaloidler .....	31
Şekil 2. 4 <i>N. sativa</i> tohumundan izole edilen dolabellan tipi diterpen alkaloidler....	32
Şekil 2. 5 <i>N. damascena</i> tohumundan izole edilen alkaloid .....	33
Şekil 2. 6 <i>N. sativa</i> bitkisinde bulunan fenolik bileşikler .....	36
Şekil 4. 1 <i>N. sativa</i> tohum sabit yağının yağ asidi bileşimine ait total iyon kromatogramı (DB-Wax kolonunda) .....	90
Şekil 4. 2 <i>N. sativa</i> uçucu yağının total iyon kromatogramı (DB-23 kolonunda) .....	92
Şekil 4. 3 Timokinon ve timolün HPLC kromatogramı .....	93
Şekil 4. 4 Timokinonun kalibrasyon eğrisi .....	94
Şekil 4. 5 Timolün kalibrasyon eğrisi .....	94
Şekil 4. 6 <i>N. sativa</i> tohum metanollü ekstresinde bulunan timokinon ve timole ait HPLC kromatogramı .....	95
Şekil 4. 7 Fenolik bileşik standartlarına ait HPLC kromatogramı .....	96
Şekil 4. 8 Gallik asitin kalibrasyon eğrisi .....	97
Şekil 4. 9 3,4-Dihidroksi benzoik asitin kalibrasyon eğrisi .....	97
Şekil 4. 10 Klorojenik asitin kalibrasyon eğrisi .....	97
Şekil 4. 11 (+)-Kateşinin kalibrasyon eğrisi .....	97
Şekil 4. 12 Vanilik asitin kalibrasyon eğrisi .....	98
Şekil 4. 13 (-)-Epikateşinin kalibrasyon eğrisi .....	98
Şekil 4. 14 <i>p</i> -Kumarik asitin kalibrasyon eğrisi .....	98
Şekil 4. 15 Ferulik asitin kalibrasyon eğrisi .....	98
Şekil 4. 16 Trans-2-hidroksisinnamik asitin kalibrasyon eğrisi .....	99
Şekil 4. 17 Trans-sinnamik asitin kalibrasyon eğrisi .....	99
Şekil 4. 18 Apigeninin kalibrasyon eğrisi .....	99
Şekil 4. 19 Kersetinin kalibrasyon eğrisi .....	99



<b>Şekil 4. 20</b> <i>N. sativa</i> tohum metanollü ekstresinde bulunan fenolik bileşenlere ait HPLC kromatogramı .....	100
<b>Şekil 4. 21</b> <i>N. sativa</i> toprak üstü metanol ekstresinin (Soxhlet ekstraksiyonu) HPLC kromatogramı .....	101
<b>Şekil 4. 22</b> <i>N. sativa</i> toprak üstü metanol ekstresinin (40°C’de hazırlanan) HPLC kromatogramı .....	103
<b>Şekil 4. 23</b> <i>N. sativa</i> kök metanol ekstresinin (Soxhlet ekstraksiyonu) HPLC kromatogramı .....	104
<b>Şekil 4. 24</b> <i>N. sativa</i> kök metanol ekstresinin (40°C’de hazırlanan) HPLC kromatogramı .....	105
<b>Şekil 4. 25</b> Tokoferol standartlarının HPLC kromatogramı .....	107
<b>Şekil 4. 26</b> $\beta$ -Tokoferolün HPLC kromatogramı .....	107
<b>Şekil 4. 27</b> $\alpha$ -Tokoferol asetatın kalibrasyon eğrisi .....	108
<b>Şekil 4. 28</b> $\alpha$ -Tokoferolün kalibrasyon eğrisi .....	108
<b>Şekil 4. 29</b> $\beta$ -Tokoferolün kalibrasyon eğrisi .....	109
<b>Şekil 4. 30</b> $\gamma$ -Tokoferolün kalibrasyon eğrisi .....	109
<b>Şekil 4. 31</b> $\delta$ -Tokoferolün kalibrasyon eğrisi .....	110
<b>Şekil 4. 32</b> <i>N. sativa</i> hekzan ekstresi tokoferol analizi HPLC kromatogramı .....	110
<b>Şekil 4. 33</b> <i>N. sativa</i> hekzan ekstresi $\beta$ -tokoferol analizi HPLC kromatogramı .....	111

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 2. 1</b> <i>N. sativa</i> tohumlarından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen yağlardaki yağ asidi bileşenleri .....	14
<b>Tablo 2. 2</b> Türkiye kaynaklı <i>N. sativa</i> tohum yağlarındaki yağ asitleri .....	16
<b>Tablo 2. 3</b> Türkiye kaynaklı bazı <i>Nigella</i> türlerinin tohum yağlarındaki başlıca yağ asitleri .....	18
<b>Tablo 2. 4</b> <i>N. sativa</i> tohumlarından Clevenger ile elde edilen uçucu yağda bulunan bileşenler (% miktar) .....	25
<b>Tablo 2. 5</b> <i>N. sativa</i> tohumlarının HPLC yöntemi ile saptanan timokinon, ditimokinon, timohidrokinon ve timol miktarları .....	26
<b>Tablo 2. 6</b> <i>N. sativa</i> tohumlarının tokoferol profili .....	29
<b>Tablo 4. 1</b> <i>N. sativa</i> tohumlarından elde edilen sabit yağın yağ asidi bileşimi.....	89
<b>Tablo 4. 2</b> <i>N. sativa</i> uçucu yağında bulunan bileşikler ve % miktarları .....	91
<b>Tablo 4. 3</b> <i>N. sativa</i> tohum, toprak üstü ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstrele ait verimler .....	96
<b>Tablo 4. 4</b> <i>N. sativa</i> tohumundan Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları .....	100
<b>Tablo 4. 5</b> <i>N. sativa</i> toprak üstü kısmından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları.....	102
<b>Tablo 4. 6</b> <i>N. sativa</i> toprak üstü kısmının 40°C’de tüketilmesi sonucu elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları.....	103
<b>Tablo 4. 7</b> <i>N. sativa</i> köklerinden Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları.....	105
<b>Tablo 4. 8</b> <i>N. sativa</i> köklerinin 40°C’de tüketilmesi sonucu elde edilen metanollü ekstrede bulunan fenolik bileşenler ve miktarları .....	106
<b>Tablo 4. 9</b> <i>N. sativa</i> heksan ekstresinin tokoferol profili .....	111
<b>Tablo 4. 10</b> <i>N. sativa</i> tohumlarında bulunan mineraller ve miktarları.....	112
<b>Tablo 4. 11</b> <i>N. sativa</i> metanol ekstrelerinin ve BHT’nin DPPH’ süpürücü etki tayininde saptanan absorbans değerleri (Ortalama±SS) .....	114

<b>Tablo 4. 12</b> <i>N. sativa</i> metanol ekstrelerinin DPPH' süpürücü etkileri (% inhibisyon olarak) .....	115
--	-----

## ÖZET

Uras Ş S. *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae) Bitkisi Üzerinde Farmakognozیک Araştırmalar.

Bu çalışmanın amacı *N. sativa* bitkisinin farklı kısımlarını fitokimyasal açıdan araştırmak ve antioksidan aktivitelerini değerlendirmektir. Bu çalışmada Doğu Akdeniz'de doğal olarak yetişen *N. sativa* tohumlarının sabit yağının yağ asidi bileşimi GC ve GC-MS ile belirlenmiştir. Yağda sekiz yağ asidi (%94.75) saptanmıştır. Yağda bulunan ana yağ asitleri linoleik asit (%51.60), oleik (%13.50) ve palmitik asittir (%13.50). *N. sativa* tohumlarından hidrodistilasyon yöntemiyle %3.3 verimle uçucu yağ elde edilmiştir. GC ve GC-MS analizleri yağda monoterpenlerin baskın olduğu 12 bileşenin varlığını göstermiştir. Ana bileşenler *p*-simen (%38.34), timokinon (%18.93) ve  $\alpha$ -tuyen (%16.68)'dir. *N. sativa* tohumlarında timol ve timokinon seviyeleri de HPLC ile belirlenmiştir. Ekstrede timol bulunmazken timokinon seviyesi 268.3µg/ml olarak saptanmıştır.

*N. sativa*'nın tohum, toprak üstü ve köklerinin metanollü ekstreleri HPLC ile fenolik bileşimleri açısından incelenmiştir. Baskın fenolik bileşen kersetindir. İlave olarak *N. sativa* tohum hekzan ekstresindeki tokoferol profili HPLC ile araştırılmıştır. Ekstrede dört tokoferol türevi saptanmıştır.  $\gamma$ - ve  $\delta$ -tokoferol ana bileşenlerdir. *N. sativa* tohumlarının mineral analizi, tohumların on üç mineral içerdiğini göstermiştir. Fosfor, potasyum ve kalsiyum ana elementlerdir. Metanollü ekstreler DPPH' (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yöntemi ile radikal süpürücü etkileri için de araştırılmıştır. Toprak üstü kısımları diğer kısımlardan daha yüksek radikal süpürücü etki göstermiştir.

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

## ABSTRACT

Uras S S. Pharmacognostical Studies on *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae)

The aim of this study was to investigate different parts of *N. sativa* phytochemically and was to evaluate their antioxidant activity.

In this study, the fatty acid composition of fixed oil of *N. sativa* seeds growing wild in East Mediterranean were determined by GC and GC-MS. Eight fatty acids (94.75 %) have been identified in the oil. The main fatty acids of the oil were linoleic acid (51.60%), oleic (13.50%) and palmitic acids (13.50%). The essential oil of *N. sativa* seeds was obtained by hydrodistillation, yielding 3.3% of oil. The GC and GC-MS analysis of the oil showed the presence of 12 components, predominantly monoterpenes. The major constituents were *p*-cymene (38.34%), thymoquinone (18.93%) and  $\alpha$ -thujene (16.68%) in the oil. The levels of thymol and thymoquinone of *N. sativa* seeds were also determined by HPLC. The level of thymoquinone was 268.8 $\mu$ g/ml in the extract whereas thymol was not detected.

Methanolic extracts from seeds, aerial parts and roots of *N. sativa* were analysed for their phenolic composition by HPLC. The predominant phenolic compound was quercetin. In addition, tocopherol profile was investigated in the hexane extract of *N. sativa* seeds by HPLC. Four tocopherol derivatives were identified in the extract.  $\gamma$ - and  $\delta$ -tocopherol were the major components in the extract. Mineral analysis of *N. sativa* seeds showed that the seeds contained thirteen minerals. Phosphorus, potassium, calcium were determined as the major elements.

The methanolic extracts were tested for radical scavenging activity by DPPH' (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) test. The aerial parts exhibited higher radical scavenging activity than the other extracts.

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

## 1. GİRİŞ

Ranunculaceae familyası dünyada 59 cins ve 1900 kadar tür ile temsil edilen büyük bir familyadır. Familya bitkileri kuzey ve güney yarıkürenin ılıman ve soğuk bölgelerinde daha fazla olmakla birlikte tüm dünyada yayılış göstermektedir (1, 2). *Aconitum*, *Helleborus* ve *Delphinium* gibi tedavide kullanıma sahip olan cinslerin yanı sıra *Nigella* cinsi de bu familya bitkileri arasında gıda ve baharat olarak kullanıldığı gibi tıbbi açıdan da dikkat çeken bir cinstir (1, 3, 4). *Nigella* cinsi dünyada 20 türle temsil edilmektedir. Tür sayısı çokluğu nedeniyle Türkiye cinsin en çok yayılış gösterdiği ülkelerden biridir ve 15 tür içermektedir. Bunlardan üç tür (*N. lancifolia*, *N. icarica* ve *N. turcica*) ve iki varyete (*N. arvensis* subsp. *brevifolia* var. *anatolica*, *N. arvensis* subsp. *brevifolia* var. *oblanseolata*) endemiktir (5-8). Bu cinsin anavatanı Doğu Akdeniz ülkeleri, Doğu ve Güney Avrupa'dır. Buradan dünyanın diğer ülkelerine yayılmıştır. İkinci vatanının Kuzey Afrika, Hindistan ve Türkiye olduğu söylenmektedir. Günümüzde *Nigella* Güney Avrupa, Rusya, Sudan, Etiyopya, Türkiye, Suriye, İran, Afganistan ve Hindistan'da büyük ölçüde üretilmekte ve tüketilmektedir (9).

*Nigella* cinsinin en çok kullanılan türleri *N. sativa* ve *N. damascena*'dır (10). *N. sativa* Orta doğu, Batı Avrupa, Doğu ve Orta Asya'da yetişirken *N. damascena* Akdeniz'in bazı bölgelerine özgüdür ve Güney Avrupa, Kıbrıs, Kafkasya ve Orta Asya'da doğal olarak yetişir (11, 12). Her iki türün tohumları aromatik bir tada sahiptir ve doğuda ekmek ve peynir gibi gıda maddeleri için çeşni olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (13). *N. sativa* ("black cumin" ya da "black caraway") tıbbi alanda ve yiyecek formülasyonlarında *N. damascena* ile karşılaştırıldığında çok daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yüzden *N. sativa* daha kapsamlı olarak araştırılmaktadır (11).

*N. sativa* günümüzde olduğu kadar geçmişte de ilgi görmüş bir bitkidir. 2000 yıldan fazla bir süredir Orta Doğu ve Uzak Doğu'da doğal bir ilaç olarak kullanılmıştır. Müslümanlar için *N. sativa*'nın asıl önemi Hz. Muhammed tarafından söylenen kutsal ifadelerden ileri gelmektedir. Tohumun ölüm dışında bütün hastalıklara deva olduğu inancı benimsenmiştir. Basra Körfezi bölgesindeki özellikle Suudi Arabistan'daki

insanlar bu bitkiye karşı güçlü inanışlara sahiptirler ve bitkiyi çok fazla miktarda tüketmektedirler. İncil’de de *N. sativa* şifalı bitki olarak tanımlanmıştır; Hipokrat, Dioscorides ve Plinus tarafından da aynı şekilde dile getirilmiştir. Bu bitkinin geleneksel kullanımları da mevcuttur. İbn-i Sina (1037) hemostaz üzerine etkisine değinerek *N. sativa*’nın balla birlikte yalnız kullanıldığı zaman menorajiye sebep olduğundan bahsetmiştir. Ancak bu durumun aksine bazı burun kanaması durumlarında *N. sativa*’nın doğal yağ ekstresi, ilacın burun deliğine pek çok kez uygulanmasından sonra hiçbir kanama tekrarı olmaksızın böyle durumları düzeltmede yararlı olmuştur (14, 15). *N. sativa* Fas’tan Pakistan’a kadar bütün İslam ülkelerinde ve yerel olarak Güney Avrupa’da solunum ve gastrointestinal rahatsızlıkları iyileştirmek amacıyla geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Tohumların özellikle Türk halkı arasında yaygın olan bir kullanımı da ekmek ve salamura gibi gıda maddeleri için baharat olarak kullanılmasıdır (16).

*N. sativa* tohumu gıda amaçlı olarak ve farmasötik alanda çeşitli kullanımlara sahiptir. Tohum çay, kahve veya ekmeclere eklenmekte; konserve üretiminde kullanılmaktadır. Öğütülmüş tohum bal ile karıştırılabilmekte veya salatalara serpilmektedir. Buna ek olarak tohumun yararlarını araştıran birçok insan kapsül formundaki yağını almaktadır. Bazı insanlar yağı sedef hastalığı ve egzema gibi deri rahatsızlıklarının tedavisinin yanında kozmetikte haricen kullanılmaktadırlar. Yağın balmumu ile karışımı yanıklar, deri enfeksiyonları, eklem ağrılarını azaltmada, nemlendirici ve kırışik önleyici ajan olarak kullanılabilir. Bu kullanımlara ilave olarak tohumları doğal bir ilaç olarak kullanıldığı gibi baharat, karminatif, çeşni ve aromatik amaçlı olarak geniş kullanıma sahiptir. Geleneksel olarak diüretik, diyaforetik, stomaşik, karaciğer kuvvetlendirici ve dijestif olarak kullanılmaktadır. Diğer maddelerle birlikte hazırlanan preparatları ağız kokusunu gidermenin yanında diyare, hazımsızlık ve dispepside kullanılmaktadır. Tohumlar yayık ayranı ile birlikte verildiği zaman tedavisi zor hıçkırığın iyileşmesinde rol oynamaktadır. İştah kaybında, kusmada, ödem ve lohusa dönemi ile ilgili hastalıklarda yararlı olmuştur. Diğer maddelerle farklı kombinasyonlarda, tohumlar obezite ve nefes darlığında kullanılmaktadır. Safra taşına karşı koruyucu özelliğe sahiptir ve aralıklı seyreden ateş için dahilen kullanılmaktadır. Bitki hepatik ve dijestif rahatsızlıklarda önemli bir ilaç olarak kabul edilmektedir. Ayrıca kronik baş ağrısı ve migrende kullanılmaktadır. Civa zehirlenmesi, deri ülserleri

ve leprada yararlıdır. Tohum l kodermi, alopesi, egzema,  il ve sivilce tedavisinde haricen kullanılmaktadır. Antihelmintik ve antibakteriyel ajan olarak kullanımları da mevcuttur ( 15, 17, 18).

Bu denli önemli geleneksel kullanımlara sahip olan *N. sativa*  zerinde yapılmış çok sayıda fitokimyasal ve biyoaktivite araştırmaları mevcuttur. Farmakolojik etkilerden daha çok sabit (9, 19-23) ve uçucu yağ (23-26) sorumlu olduğu için çalışmalar bu iki etken madde grubu üzerinde yoğunlaşmıştır. Tohumlarda bulunan sabit yağın özellikle çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengin olması antioksidan (27-30), antiallerjik (30, 31), antienflamatuar (21, 30, 31), immünmodülatör (30), antibakteriyel (24, 32, 33), antiviral (30), antitümör (15, 30), antidiyabetik (15, 18, 24), hepatoprotektif (24, 34), kardiyovasküler sistem-kan (15, 35, 36) ve gastrointestinal sistem (15)  zerine etkilerine katkıda bulunmaktadır.

Yapılan fitokimyasal araştırmalarda uçucu yağda bulunan timokinonun birçok biyolojik etkiden sorumlu olduğu ortaya konmuştur (15, 18, 24, 30). Timokinon ilk olarak El-Dakhakhny tarafından 1963 yılında izole edilmiştir. Timokinonun in vitro ve in vivo antienflamatuar, antioksidan ve antineoplastik etkiler gösterdiği bulunmuştur. Tohum yağının biyoaktif bileşeni sadece timokinon değildir. HPLC ile saptanan diğer farmakolojik olarak aktif bileşenler ditimokinon, timohidrokinon ve timoldur. Molekül kütlesi 10-94 kDa arasında değişen diğer fraksiyonlanmış proteinler de biyoaktif olarak bulunmuştur. Timokinon normal hücrelere çok az toksik etkili iken insan pankreatik adenokarsinoma, uterin sarkoma ve lösemik hücrelere karşı anlamlı bir antineoplastik aktivite göstermektedir. Timokinon ayrıca antioksidan etkiler göstermiştir ve hayvan modelleri ve hücre kültür sistemlerinde enflamasyonu inhibe etmiştir. Timokinonun etkin antikanser, antioksidan ve antienflamatuar etkileri hakkındaki bu bilgilere rağmen etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Timokinonun ayrıca apoptozis, hücre döngüsü ve immün sistem üzerine de etkileri bulunmuştur (37). Bitkide sabit ve uçucu yağ dışında başka bileşiklerde bulunmaktadır. Bunlar arasında steroller (38, 39), vitaminler (40-43), alkaloitler (44-49), fenolik bileşikler (50-53), saponozitler (54-57), çeşitli inorganik elementler (40, 41, 43, 58, 59) yer almaktadır. Bitkide yüksek miktarda lipaz enziminin varlığının da *N. sativa*'ya olan ilginin özellikle de gıda endüstrisinde artmasına neden olmuştur (16, 60-64). Ayrıca bitkide protein ve aminoasitlere de



rastlanmıştır (20, 40, 59). Bitkinin saponinleri incelendiği zaman ise tohumlardan izole edilen  $\alpha$ -hederinin antitümör aktiviteye (in vivo) sahip olduğu gözlenmiştir (65).

Yukarıda sözü edildiği gibi bitkinin geleneksel olarak kullanımı yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarla bilimsel temele dayandırılmaktadır. Şu ana kadar bu konuyla ilgili birçok literatür mevcuttur. Bu araştırmalar neticesinde bitkinin antioksidan (27, 28, 30, 66-69), antiallerjik (15, 31, 70), antienflamatuar (15, 21, 30, 31, 71-75), immünmodulator (76, 77), antibakteriyel (32, 78, 79), antifungal (80), antiviral (30, 81, 82), antiseptik (24, 83), antitümör (72, 81, 84-86), antidiyabetik (87, 88), antihepatonefrotoksik (15, 28, 34, 67, 89-91), kardiyovasküler sistem ve kan üzerine (35, 36, 92, 93), gastrointestinal sistem üzerine (94-97), antiaflatoksin (24), östrojen (98), antinosiseptif (99), nöroprotektif (100-102) ve antikonvülzan (103) etkiler gösterdiği saptanmıştır.

Literatürde sözü geçen *N. sativa* ile ilgili çalışmalar genellikle yaygın kullanıma sahip olduğu ülkelerde yetiştirilmiş olan bitkiden elde edilen tohumlar veya piyasada bulunan tohum yağı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Türkiye’de yapılan araştırmalarda ise dünyada olduğu gibi en fazla çalışmanın kültüre alınmış olan *N. sativa* tohumları kullanılarak yapıldığı görülmektedir. Bunu *N. damascena* izlemiştir. Yapılan fitokimyasal araştırmalarda genellikle tohumun çalışılmış olduğu, bitkinin diğer kısımlarının yeterince incelenmediği de görülmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmamızda literatürde yer alan çalışmalardan farklı olarak bitki, doğal yayılış alanlarından biri olan Kahramanmaraş ilinden toplanmıştır ve doğal olarak yetişen bitkinin fitokimyasal ve biyolojik aktivite açısından incelenmesi, kültür bitkisi ile elde edilmiş literatür bulguları ile kıyaslanarak incelenen bitkinin gıda ve tıbbi olarak kullanılma potansiyelinin olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu kapsamda tohumların sabit ve uçucu yağ içeriklerinin, tokoferol profilinin, mineral içeriğinin belirlenmesi ile tohumların gıda ve tıbbi değeri ortaya konacaktır. Ayrıca uçucu yağda ve tohumun metanollü ekstresinde literatürde çok çeşitli aktivitelerden sorumlu olduğu düşünülen timokinon isimli bileşiğin bulunup bulunmadığının saptanması ve var ise miktarlarının belirlenmesi ile tohumların bundan sonraki aktivite araştırmalarında kaynak olup olamayacağı saptanabilecektir. Bitkinin tohum, toprak üstü ve köklerinden hazırlanan metanol ekstreslerinin fenolik bileşik içeriğinin de HPLC yöntemi ile kalitatif ve kantitatif olarak saptanması sonucu ilk kez bitkinin tüm

kısımlarının biyofenolik bileşen profilinin belirlenmesi ve bu ekstrelerin radikal süpürücü etkilerinin DPPH' (1,1 Difenil-2-Pikrilhidrazil) yöntemi ile incelenmesi ile de ekstrelerde antioksidan etki-kimyasal bileşim ilişkisinin saptanması amaçlanmıştır. Elde edilecek tüm sonuçlar doğal kaynaklı *N. sativa* türünün kimyasal açıdan kültür bitkisi ile kıyaslanmasını sağlayacak ve daha ileri biyolojik aktivite çalışmaları için yol gösterici olacaktır.

## 2. GENEL BİLGİ

### 2. 1 BOTANİK KISIM

#### 2. 1. 1 Ranunculaceae Familyası

Otsu, nadiren odunsu tırmanıcılar. Yapraklar genellikle alternat stipulasız nadiren stipulalı, bazen tamamı tabanda, nadiren oppozit. Çiçekler hermafrodit, hipogin, aktinomorfik veya zigomorfik. Periant tek sıralı veya 2 sıralı, segmentler genellikle serbest, iç halkadakiler sıklıkla nektarlı. Stamenler genellikle çok sayıda, spiral dizilimli, sentripetal, dış yüzden yarılan anterler. Ginekeum apokarp, nadiren sinkarp veya tek karpelli. Meyva aken veya foliküller topluluğu, nadiren bir foliküllü, veya bakka (5).

#### 2. 1. 2 *Nigella L.* Cinsi

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

#### 2. 1. 3 *Nigella sativa L.*

Bitki  $\pm$  kısa yumuşak tüylü veya kısa yapışkan-az çok yumuşak tüylü, 15-30cm, dallanmış. Yaprak parçaları oblong-lanceolat, biraz kısa. Çiçekler involukrumsuz. Sepaller beyazımsı, ovat, az incelmış. Alt dudak lopları ovat, petaller kısa saplı ve küt akuminat. Karpeller tepede birleşmiş, siğilli, stiluslar kadar uzunlukta kapsül. Tohumlar üç yüzlü. *Fl.*5-7. Yayılış alanı: Hububat ve nadasa bırakılmış tarlalar içinde, belli yerlerde kültüre alınmış. Mısır ve Girit'ten tanımlı.

Dağılımı. **A2(E)** İstanbul: Rumelikavağından Rumelifenerine, *Azn.!* **A2(A)** Kocaeli: Tuzla, 24 vii 1898, *Azn.!* **A5** Amasya, Wiedemann! **A9** Kars: Tuzluca (Groosheim 4: map 16). **C5** İçel: Mersin çevresi, *Bal.* 727! **C6** Gaziantep: Gaziantep, *Aucher* 93! Maraş: Maraş, 580 m, *Balls* 1139! **C8** Siirt: Siirt, 900 m, *Nabelek* 2161. **Ada:**

Sakız Adası, *Pauli*. C6 Maraş: Avşar Köyü civarları tarla kenarları, terk edilmiş sahalar, 550-600 m, 13 vi 2008.

Büyük olasılıkla doğal (ve kültür) Güney Batı Asya'da, Avrupa'da kültür ve naturalize olmuş. Türkiye'de aromatik tohumları için yetiştirilir, ekmeklerde kullanılır, fakat muhtemelen doğal, en azından güneyde. Orada var. *hispidula* Boiss.ile temsil edilir, kültür bitkisinden çok uzun ve kabarık tüy örtüsü, kısa, yaprağın parçacıkları birbirine çok yakın ve sıklıkla çok yoğun tüberkülat kapsüller ile farklı. Ancak bu ve geniş olarak kültüre alınan form arasında geçişler bulunur (5). Türkiye bitki örtüsünde, *Nigella* L. cinsinin üç türü ve bir varyetesi endemik olmak üzere 15 türü yetişmektedir (6, 7, 104). *Nigella* L. cinsine ait tayin anahtarı aşağıda verilmiştir (5).

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, siğilli **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 iplikli 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 incelmüş kısımlı **2. *oxypetala***
7. Çiçekler ve meyvalar çıplak; yaprak uç kısmı oblong-lanseolat, 2-6 mm genişlikte; sepaller genişçe ovat-eliptik; kısa incelmüş kısımlı **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 ayırık; 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 (1 mm); iki parçaya açılır; sepaller hemen hemen petaloit, 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 (6) yer alan türler "2a. *N. lancifolia*" ve "5a. *N. icarica*"dır. Diğer yeni tür ise 8a. "*N. turcica*"dır (104).



*N. sativa* L.



*N. sativa* L.

## 2.2 *Nigella* Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Araştırmalar

### 2.2.1 Sabit Yağ ve Steroller

*Nigella* cinsine ait türlerde sabit yağlara ilişkin ilk detaylı kimyasal araştırmalar 1978 yılında Babayan ve arkadaşları tarafından (20) yapılan bir çalışmada araştırmacılar tohumlardan elde edilen yağın fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirlemişlerdir. Oleik asit olarak saptanan serbest yağ asidi %0.55, sabunlaşma indisi 189.4, iyot indisi 124.63, spesifik ağırlık 0.9201 ve refraksiyon indeksi 1.4728 olarak saptanmıştır. Aynı zamanda Soxhlet kullanılarak ekstraksiyonla elde edilen sabit yağ miktarı %35.49 olarak bulunmuştur ve yağ asidi içeriği belirlenmiştir. Ana yağ asidi %56.12 ile linoleik asit olarak saptanmıştır. Bunu %24.64 ile oleik asit izlemiştir. Yağın aynı zamanda %12.08 palmitik asit, %3.11 stearik asit, %2.53 eikozadienoik asit, %0.7 linolenik ve %0.16 miristik asit içerdiği belirlenmiştir.

1986 yılında Menounos ve arkadaşları (38) tarafından yürütülen bir çalışmada *N. sativa* tohum yağı ve belirlenen bileşenlerinden izole edilen serbest steroller, steril esterler, steril glukozitler ve asetillenmiş steril glukozitler izole edilmiştir. Steril glukozitler ana sterol formudur. Steril esterler serbest sterollere kıyasla 4-metilsterol ve triterpen alkollerde daha yüksek miktarlarda saptanmıştır. Obfusifoliol ( $\Delta$ 8-4 $\alpha$ -metilsterol)'lerde de yüksek miktarda bulunan  $\Delta$ -7 steroller sadece steril ester fraksiyonunda bulunmuştur. Tohum yağının toplam yağ asitleri doymamış yağlar içerisinde asetillenmiş steril glukozitler ve steril esterlerden daha fazla gözlenmiştir.

Al-Jassir (58) tarafından yapılan bir çalışmada Suudi Arabistan kökenli *N. sativa* tohumlarından elde edilen sabit yağın verimi %38.2 olarak saptanmıştır. Yağ asidi içeriği GC ile belirlenmiştir. Doymamış yağ asitleri %83.70 olarak saptanmıştır. Geri kalanını doymuş yağ asitleri oluşturmuştur. Ana doymuş yağ asidi palmitik asit iken bunu stearik, lignoserik, miristik ve araşidik asit izlemiştir. Linoleik ve oleik asit ise ana doymamış yağ asitlerini oluşturmuştur. Bahsedilen yağ asitleri içerisinde baskın olan yağ asidinin toplam yağ asidinin %59'undan fazlasını oluşturan linoleik asit olduğu belirlenmiştir.

Farklı kaynaklı *N. sativa* tohum örneklerinin (Etiyopya, Hindistan, Suriye, Al-Amin, Al-Khaial) ITK ve GC kullanılarak sabit yağ bileşimi araştırılmıştır. Bütün kaynaklarda ana yağ asidi linoleik asit olarak belirlenmiştir. Bunu oleik, palmitik,

eikozadienoik, stearik,  $\alpha$ -linolenik, miristik ve araşidik asit izlemiştir. Sabit yağlardaki timokinon içeriği (% a/h) Etiyopya tohum yağında 0.17, Al-Amin ticari yağında 0.15, Al-Khaial ticari yağında 0.13 olarak bulunmuştur (21).

Aitzetmüller ve Werner tarafından 1997 yılında (105) yapılan bir çalışmada *N. sativa*, *N. arvensis* ve *N. damascena*'yı içeren üç *Nigella* türünden elde edilen yağların bileşimleri analiz edilmiştir. Bütün tohum yağlarının önemli miktarlarda dihomolinoleik asit (11,14-cis, cis-eikozadienoik asit) içerdiği bulunmuştur. Bu yağ asidinin oranı *N. sativa*'da %45, *N. damascena*'da %57.2, *N. arvensis*'te %56.1 olarak belirlenmiştir. Oleik asit ise sırasıyla %34, %18.5, %26.1 olarak saptanmıştır. Palmitik asit içeriğine bakıldığında ise sırasıyla %9.8, %9.2 ve %10.6 değerleri gözlenmiştir. Araştırılan *Nigella* türlerindeki eikozadienoik asit içeriğinin (%3.6-4.5), eikosenoik asit içeriğinden (%0.6–0.7) daha yüksek olduğu saptanmıştır.

2002 yılında Ramadan ve Mörsel (106), n-hekzan ve kloroform-metanol (2:1) kullanarak *N. sativa* tohum yağlarını ekstre etmişlerdir. Nötral lipid fraksiyonunun yağ asidi, triaçilgliserol ve sterol içeriği belirlenmiştir. n-hekzan ve kloroform-metanol ekstralarında sırasıyla %97.2 ve %96.1 oranında nötral lipid varlığı saptanmıştır. Nötral lipid profili yüksek oranda serbest yağ asitleri ile (nötral lipidlerin %14.3–16.2'si) karakterize edilmesine rağmen triaçilgliserollerin ana nötral lipid sınıfını oluşturduğu saptanmıştır (toplam nötral lipidlerin %80.8–83.1'i). Linoleik asitin baskın yağ asidi olduğu ve bunu oleik ve palmitik asitin izlediği ortaya konmuştur. Sabunlaşmayan fraksiyondan izole edilen 4-desmetilsterollerin içerisinde  $\beta$ -sitosterollerin (1135-1182  $\mu\text{g/g}$  yağ) ana bileşen olduğu saptanmıştır. Bunu  $\Delta$ 5-avenasterol (925-1025  $\mu\text{g/g}$  yağ) ve  $\Delta$ 7-avenasterol (615-809  $\mu\text{g/g}$  yağ) izlemiştir. Stigmasterol, kampesterol ve lanosterolün düşük miktarlarda bulunduğu belirlenmiştir.

Araştırmacılar bir başka çalışmalarında *N. sativa* tohum yağının fosfolipid bileşimini her iki ekstrede de incelemişlerdir. Toplam lipid miktarının kloroform-metanol fraksiyonunda (%39.2) n-hekzan ekstresinden (%37.9) daha yüksek olduğu görülmüştür. Ana fosfolipid sınıflarının fosfatidilkolin (toplam fosfolipidlerin %46–48'i) olduğu bulunmuştur. Bunu sırasıyla fosfatidilamin, fosfatidilserin ve fosfatidilinositol izlemiştir. Fosfatidilgliserol, lizofosfatidiletanolamin ve izofosfatidilkolin daha düşük miktarlarda elde edilmiştir. Aynı ekstrelerde *N. sativa* tohum yağının karakteristik ve nitelikleri araştırılmıştır. Bunlar arasında peroksit değeri,

asit değeri, saponifikasyon değeri, iyodin değeri, fosfor, toplam karbonhidrat, nitrojen yer almıştır. İki ekstrede de bahsedilen özellikler açısından önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Bu çalışmada yağ ekstresinin % 26 sabit yağ içerdiği bulunmuştur. Yağdaki başlıca yağ asitleri miristik, palmitik, stearik asit profilinin yanı sıra *N. sativa* tohum yağı içerisindeki lipid sınıfları da araştırılmıştır. Ana lipid sınıfının %96.1–97.2 oranında yer alan nötral lipidler olduğu ortaya konmuştur. Polar lipidler ise %3 oranında yer almıştır. Yağ asidi profilleri incelendiğinde ise yüksek seviyelerde linoleik asit, daha düşük seviyelerde oleik asit saptanmıştır. Doymuş yağ asitlerinin ana bileşeni palmitik asit olarak gözlenmiştir ve diğer doymuş yağ asidi olan stearik asit düşük miktarlarda bulunmuştur (107).

Zaoui ve arkadaşları tarafından 2002 yılında (22) yapılan bir araştırmada *N. sativa* yağının yağ asitleri oleik, linoleik, linolenik ve araşidik asit olarak bulunmuştur.

Atta, 2003 yılında (108) yaptığı bir çalışmada Mısır'da tarımı yapılan *N. sativa* tohumlarının fizikokimyasal özelliklerini belirlemiştir. Bunun için soğukta presleme ve solvan ekstraksiyon yöntemlerini kullanmıştır. *Nigella* tohumlarından soğukta presleme ile ekstre edilen ham yağın solvan ekstraksiyonu ile elde edilenden daha düşük miktarda olduğu gözlenmiştir (sırasıyla %24.76, %34.78). İki farklı metot ile elde edilen ham yağın benzer lipit sınıflarına sahip olmasına rağmen bileşimlerinde kantitatif farklılıklar görülmüştür. Örneğin; organik solvanla ekstre edilen yağda serbest sterol, triaçilgliserol ve sterol esterleri fraksiyonları (%5, %63.2, %4.4) soğuk basıçla elde edilenden ( % 3, %57.5, %2.5) daha yüksek oranlarda saptanmıştır. Solvan ekstraksiyonu ile yapılan çalışmada toplam doymuş yağ asidi %24.8, doymamış yağ asidi ise %73.5 olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada *Nigella* tohum yağındaki ana yağ asitlerinin miristik (eser), palmitik (%9.9) ve stearik (%3.3), oleik (%20.1), linoleik (%49) ve linolenik (%2.7) asit olduğu belirlenmiştir. Ayrıca doymuş yağ asitleri olarak araşidik (%0.7), behenik (%0.8) ve lignoserik (%0.3) asitler ve mono-doymamış yağ asitleri olarak palmitoleik (%0.7) ve erusik (%1) asitler de ölçülebilen miktarlarda gözlenmiştir. Soğukta presleme ile elde edilen yağın toplam doymuş ve doymamış yağ asitleri sırasıyla %29.2 ve %69.7 olarak saptanmıştır. Miristik asit, monoaçilgliserol (%37.8) ve sterol esterleri (%48.7) içinde bulunan ana yağ asidi iken; linoleik asit, triaçilgliserol (%44) , diaçilgliserol (%37) ve serbest yağ asidi (%30.7) içerisindeki baskın yağ asidi olarak saptanmıştır.



İran'da yetişen *N. sativa* tohumlarının sabit yağlarının kimyasal bileşimi Nickavar ve arkadaşları tarafından 2003 yılında (23) yapılan bir çalışmada ortaya konmuştur. *N. sativa*'nın Soxhlet ekstraksiyonu çok az aromatik tada sahip, yeşil renkli, yağlı bir ekstre vermiştir. Sabit yağın %99.5'ini oluşturan sekiz yağ asidi saptanmıştır. Ekstre dört doymuş yağ asidi (laurik, miristik, palmitik, stearik asit) (%17) ve dört doymamış yağ asidi (oleik, linoleik, linolenik, eikozadienoik asit) (%82.5)'nden oluşmaktadır. Linoleik asit (%55.6), oleik asit (%23.4) ve palmitik asit (%12.5)'in ana bileşenler olduğu belirlenmiştir.

Ramadan ve arkadaşları (29, 109) *N. sativa* tohum yağlarını n-hekzan ile ekstre etmişlerdir. Bu çalışma ile yağlar ekstraksiyon işlemi sonrasında nötral lipid, fosfolipid ve glikolipid fraksiyonlarına ayrılmıştır. Linoleik (% 57.3) ve oleik (% 24.1) asidin ana yağ asitleri olduğu gözlenmiştir. Mono-doymuş yağ asidinin, çoklu-doymamış yağ asitlerine oranı 0.40 olarak bulunmuştur. Sterol içeriği açısından incelendiğinde  $\beta$ -sitosterolün ana sterol olduğu saptanmıştır. Bunu  $\Delta$ 5-avenasterol izlemektedir.  $\Delta$ 7-avenasterol, stigmasterol, kampesterol ve lanosterol de tohum içerisinde bulunan diğer sterollerdir.

Ramadan ve Mörsel tarafından 2003 yılında (110) yapılan bir çalışmada ise *N. sativa*'dan kromatografi ile toplam glikolipitler (TGL) ayrılmıştır. Daha sonra farklı GL alt sınıfları belirlenmiştir ve HPLC kullanılarak ayrılmıştır. Ayırma işlemi 206 nm'de isooktan/2-propanol (1:1, h/h) karışımıyla izokratik elüsyon yöntemiyle Zorbax-Sil (5 $\mu$ m) kolon kullanılarak tamamlanmıştır. Yapılan çalışmada yüksek TGL seviyelerine rastlanmıştır. *N. sativa* tohum yağlarında bütün GL alt sınıfları belirlenmiştir. Diglukozildiaçilgliserol (DGD) ana bileşen olarak saptanmıştır. Bunu ikinci bir ana alt sınıf olarak glukoserebrosit (CER) takip etmiştir. Açılınmış steril glukozit (ASG), steril glukozit (SG) ve monogalaktozildiaçilgliserol (MGD) eşit miktarlarda ve birlikte TGL'lerin % 30'unu oluşturacak şekilde yer almıştır. Sulfolipitler (toplam glikolipitlerin % 5'ini oluşturmaktadır.) de *N. sativa* tohum yağlarında belirlenmiştir.

Aynı çalışmada *N. sativa*'dan elde edilen TG'lerin yağ asidi bileşenleri saptanmıştır. TGL ve alt sınıfları TAG'lara göre daha çok doymuş, daha az doymamış yağ asidi içerdiği saptanmıştır. Doymuş yağların doymamışlara oranı 25.7 olarak belirlenmiştir. İki çifte bağ taşıyan doymamış yağ asidi linoleik asit (yağ asidi metil esterlerinin

%50'sinden daha fazla) GL'lerin açıl residüellerinden en çok olanıdır. Bunu ikinci bir doymamış yağ olarak oleik asit izlemiştir. Doymuş yağ asitleri arasında en yüksek miktarda bulunan palmitik asit olmuştur. Bunu daha düşük miktarda bulunan stearik asit izlemiştir. Bu çalışmada steril glikozit ve açılmiş steril glikozitlerin sterol bileşenleri GLC/FID kullanılarak analiz edilmiştir. Dört sterol üyesi belirlenmiştir. *N. sativa* alt sınıflarında  $\Delta$ 7-avenasterol en yüksek miktarda bulunan (%43.7) steroldür. Bunu  $\beta$ -sitosterol (%35,3) takip etmiştir.  $\Delta$ 5-avenasterole de rastlanmıştır (%0.9).

Singh ve arkadaşları (111) *N. sativa* tohumlarından hazırlanan hekzanlı ekstresinden iki yeni alifatik bileşen izole etmişlerdir. Bileşenler IR,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -NMR, EIMS ve kimyasal kaynaklar kullanılarak 16-triekosen-7-ol ve 6-nondekanon olarak karakterize edilmiştir.

Mehta ve arkadaşları (112) tarafından yapılan bir çalışmada *N. sativa* tohumlarından üç yeni bileşik, bir steroid ve iki alifatik ester izole edilmiştir. Spektral ve kimyasal analizlere dayanarak ergosta-5,24(28)-dien-2,3-cis-diol, pentil undekanoat, metiloktadeka-14,16-dienoat saptanmıştır.

Bir çalışmada ise Tunus kaynaklı *N. sativa* L. tohumlarının kimyasal bileşimi araştırılmıştır. Sonuçlar toplam yağ asitlerinin %65.1'ini oluşturan linoleik asitin ana yağ asidi olduğunu göstermiştir. Bunu oleik asit (%12.7) izlemiştir. Triaçilgliserollerin, toplam nötral lipitlerin %98.4'ünü oluşturduğu gözlenmiştir. Digalaktozildiaçilgliserol ana galaktolipit iken ana fosfolipit alt sınıfı olan fosfatidilkolinin polar lipidlerin büyük çoğunluğunu oluşturduğu saptanmıştır. Toplam steroller sabit yağın %2.2'sini oluşturmuştur. Toplam sterollerin %60.2'sini oluşturan sitosterol ana steroldür. Sonuçlar göstermiştir ki steroller büyük çoğunlukla esterifiye ve serbest halde bulunmaktadır (sırasıyla toplam sterol içeriğinin %51.2 ve %36.1'i) (113).

Cheikh-Rouhou ve arkadaşları tarafından 2008 yılında (39) yapılan bir çalışmada Tunus ve İran kökenli *N. sativa* tohumlarının yağ sterol bileşimleri açısından analiz edilmiştir. Sabunlaşmayan maddeler Tunus ve İran kökenli *N. sativa* tohumlarında sırasıyla %15.58 g/kg yağ ve %14.82 g/kg yağ olarak belirlenmiştir. Çalışılan yağlarda toplam sterol içeriği sabunlaşmayan maddelerin sırasıyla %17.41 ve %42.66'sını oluşturmuştur.  $\beta$ -sitosterol Tunus ve İran kökenli *N. sativa* tohum yağlarındaki sterollerin %54 ve %74'ünü teşkil eden ana sterol olarak belirlenmiştir. Diğer ana sterol ise her iki *Nigella* tohum yağında (toplam sterollerin %16.57-20.92'si)

stigmasterol olarak gözlenmiştir. Kolesterol Tunus ve İran kaynaklı *N. sativa* yağında sırasıyla %1.28 ve %0.93 olarak belirlenmiştir.

*N. sativa* yağ verimi ve bileşimi üzerine fosfor uygulanması ve tohum ekme peryotlarının etkisini incelemek üzere bir araştırma yapılmıştır. Sonuçlar göstermiştir ki vejetatif büyüme peryodu içerik veriminin kontrolünde ana etken iken iklim şartları ve fosfor dozları küçük etkindir. Örneğin kışın ekilen tohumda maksimum tohum verimi (1037-1534 kg ha<sup>-1</sup>), yağ asidi içeriği (%30.2-37.9) ve uçucu yağ içeriği (%0.31-0.56) sağlanmıştır. Yağ asitlerinden ana bileşen olanlar linoleik, palmitik ve oleik asit olarak belirlenmiştir. Linoleik asit oranı %43.34-%51.50 arasındadır (114).

Yukarıda özetlenen literatür çalışmalarında Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen yağlardaki bileşenler ile ilgili veriler Tablo 2. 1'de görülmektedir.

**Tablo 2. 1** *N. sativa* tohumlarından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen yağlardaki yağ asidi bileşenleri

Yağ asiti	% Miktar	Literatür No.
<u>Doymuş yağ asiti</u>		
Palmitik asit	9.80-13.0	20, 21, 23, 58, 105, 107, 108
Stearik asit	2.28-3.30	20, 21, 58, 107, 108
Miristik asit	0.16-9.80	20, 21, 58, 108
Araşidik asit	0.14-0.70	21, 58, 108
Behenik asit	0.80	108
Lignoserik	0.30-1.08	58, 108
<u>Doymamış yağ asiti</u>		
Linoleik asit	45.0-65.10	21, 23, 58, 105, 107, 108, 113
Oleik asit	12.70-34.0	20, 21, 23, 58, 105, 107, 108, 113
Eikozadienoik asit	2.53-4.5	20, 21, 105, 107
Linolenik asit	0.30-2.70	20, 58, 108
Eikosenoik asit	0.70	105
Palmitoleik asit	0.30-0.70	58, 108
Erusik asit	1.0	108

*N. sativa* dışında diğer bazı *Nigella* türleri üzerinde de sabit yağ analizleri yapılmıştır. Bu türlerden biri de *N. damascena*'dır. 2002 yılında bitki tohumları üzerine yapılan bir çalışmada soğukta basınç uygulama, Soxhlet ve CO<sub>2</sub> ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır. Bu yöntemlerden soğukta basınç uygulaması ile en düşük

verim elde edilmiştir (%7.65). Soxhlet ekstraksiyonunda bu değer %33.56 iken CO<sub>2</sub> ekstraksiyonunda %10.57-37.14 arasında değişmiştir. Soğukta basınç ve Soxhlet ekstraksiyonunda yağ asidi bileşimleri benzer sonuçları verirken CO<sub>2</sub> ekstraksiyonunda biraz daha farklı yüzdeler ortaya çıkmıştır. Bütün yöntemlerde linoleik asit ana yağ asidi (%43.71-50.83)'dir. Bunu oleik (%14.87-23.65) asit, palmitik (%10.13-12.07) asit ve stearik (%15.07-23.24) asit izlemiştir (11).

Yukarıda sözü edilen *Nigella* türleri tohum sabit yağı ve steroller üzerindeki araştırmaların yanı sıra Türkiye'de de bitkinin tohumu üzerinde yapılmış araştırmalar mevcuttur.

Şener ve arkadaşları 1985 yılında (115) yaptıkları bir çalışmada Türkiye kaynaklı *N. sativa* tohumunun %26.6 yağ içerdiğini bulmuşlardır. Ana yağ asitleri linoleik (%64.6) ve palmitik (%20.4) olarak saptanmıştır. Doymamış kısım üçü sterol olan 5 nokta vermiştir.  $\beta$ -sitosterol bu sterollerin başında gelmektedir.

1990 yılında yapılan bir araştırmada Kütahya, Denizli ve Konya kaynaklı üç farklı *N. sativa* tohumu analiz edilmiş; tohum yağlarının fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir. Presleme ve solvan ekstraksiyonu metodlarıyla tohumlardan yağ elde edilmiştir. Yağların bileşimleri GC ile belirlenmiştir. Bahsedilen bölgelerden alınan örneklerin yağ veriminin oldukça benzer olduğu saptanmıştır (sırasıyla; %29.4, %29.5 ve %29.7). Ana yağ asitlerinin oleik (%21.84-23.76) ve linoleik (61.84-58.38) asitler olduğu ortaya konmuştur. Palmitik (%12.70-15.12) ve stearik (%1.62-2.08) asitlere de rastlanmıştır. Miristik (%0.34-0.49) ve araşidik (%0.22-0.37) asit eser miktarda bulunurken eikozadienoik aside rastlanmamıştır. Yazarlar bu araştırma sonuçlarında *N. sativa* tohum yağlarının oleik-linoleik tip yağ (yarı kuru yağ) olduğu sonucuna varmışlardır (62).

Bir diğer araştırmada *N. sativa* tohumlarındaki toplam yağ içeriği n-hekzan kullanılarak yapılan ekstraksiyon yöntemiyle belirlenmiştir. Sabit yağ miktarı %32'dir. GC kullanılarak yağ içeriği saptanmıştır. Ana yağ asidinin %60.8 ile linoleik asit olduğu bulunmuştur. Bunu %21.9 ile oleik, %11,4 ile palmitik, %2.9 ile stearik, %1.7 ile eikozadienoik, %1.2 ile miristik asit izlemiştir. Araşidik asit ise eser miktarda bulunmuştur. Aynı çalışmada ekstre edilen yağın sterol bileşimi de belirlenmiştir. Yağda %69.4  $\beta$ -sitosterol, %18.6 stigmasterol ve %11.9 kampesterol bulunmaktadır (40).

1997 yılında Türker ve Bayrak (9) tarafından yapılan bir çalışmada Adana-1, Adana-2, Amasya, Ankara, Balıkesir, Burdur, Denizli-1, Denizli-2, Eskişehir, Gaziantep, Isparta, İzmir-1, İzmir-2, Kayseri-1, Kayseri-2, Konya, Malatya, Manisa, Tokat-1, Tokat-2 bölgelerinden temin edilen yirmi *N. sativa* tohum örneğinin sabit yağ miktarları ile bileşimleri araştırılmıştır. Tohumlarda %24.96-%34.17 arasında sabit yağ saptanmıştır ve bu yağın içerisinde beş yağ asidi belirlenmiştir; miristik asit (%0.01-4.8), palmitik asit (%1.18-14.81), stearik asit (%0.03-7.70), oleik asit (%7.47-38.19), linoleik asit (%31.14-67.54). Saptanan toplam doymamış yağ asitleri oranı %50.46-89.78'dir.

Tablo 2. 2'de söz konusu literatürlerde yer alan verilerin özeti sunulmaktadır.

**Tablo 2. 2** Türkiye kaynaklı *N. sativa* tohum yağlarındaki yağ asitleri

Yağ asitleri	% Miktar	Literatür No.
<u>Doymuş yağ asiti</u>		
Palmitik asit	1.18-20.40	9, 40, 62, 115
Stearik asit	0.03-7.70	9, 40, 62
Miristik asit	0.01-4.83	9, 40, 62
Araşidik asit	eser-0.37	40, 62
Behenik asit	0.17-0.26	62
<u>Doymamış yağ asiti</u>		
Linoleik asit	31.14-67.54	9, 40, 62, 115
Oleik asit	7.47-38.19	9, 40, 62
Eikozadienoik asit	1.7	40

*N. sativa* türü dışında diğer bazı *Nigella* türleri tohumları üzerinde de çeşitli araştırmalar yapılmıştır. 1990 yılında *N. damascena* (kültür bitkisi-Lithuania) tohumları kullanılarak yapılan bir çalışmada tohumlardan petrol eteri ekstraksiyonuyla %40 yağ elde edilmiştir. Yağ asitleri daha sonra GC ile analiz edilmiş ve başlıca doymamış yağ

asitleri içerdiği saptanmıştır. Ana yağ asidi bileşenlerinin linoleik (45.75), oleik (%33.28), palmitik (%7.84) ve eikozadienoik (%4.85) asit olduğu saptanmıştır. Tohum yağında kaprik, miristik, palmitik, linolenik ve stearik asit küçük bileşenler olarak bulunmuştur. Toksik olan erusik aside rastlanmamıştır (116).

Kökdil ve Yılmaz 2005 yılında (19) yaptıkları bir çalışmada Türkiye’de yetişen *Nigella* cinsine ait doğal olarak yetişen on türün tohumlarından elde edilen sabit yağların yağ asidi bileşimini araştırmışlardır. Bu türler şunlardır: *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.) Spenser ve *N. lancifolia*. Hub.- Mor.. Tohumların %17.6- 41.3 arasında sabit yağ içerdiği saptanmıştır. En düşük yağ verimi (%17.6) *N. oxypetala* tohumlarından elde edilmişken en yüksek yağ verimi (%41.3) *N. arvensis* tohumlarında gözlenmiştir. Bütün sabit yağlar içerisinde doymamış yağ asit miktarları doymuş analoglarından daha yüksek miktarda bulunmuştur. Bu bileşenler yağın %79.80-89.47’sini oluşturmuştur. Linoleik (%31.21-69.5) ve oleik (%15.79-36.03) asitlerin yağlardaki ana doymamış yağ asitleri olduğu, palmitik asitin (%5.88-12.73) ana doymuş yağ asidi olduğu belirlenmiştir. *N. nigellastrum*, *N. damascena*, *N. elata*, *N. unguicularis* ve *N.segetalis* tohumlarının yağ içeriğinin benzer olduğu bulunmuştur. Eikosenoik asit *N. nigellastrum* ve *N.unguicularis* tohum yağlarında yüksek miktarda bulunmuştur (sırasıyla %23.12 ve %17.47). *N. nigellastrum*, *N. elata* ve *N. unguicularis* tohum yağlarının yüksek konsantrasyonda eikozadienoik asit içeren türler olduğu saptanmıştır (sırasıyla %9.40-%8.39-%7.17).

Özgüven ve Şekeroğlu (117) Türkiye’nin Çukurova bölgesinin kuru toprak ve temel koşullarında nitrojenin dört dozu (0, 30, 60 ve 90 kg/ha) ve fosforun üç dozu (0, 30 ve 60 kg/ha)’nun *N. sativa* verimi ve niteliği üzerine etkisini belirlemek için iki yıl süren bir araştırma yürütmüşlerdir. Bitki boyu, dal sayısı, kapsül sayısı, tohum verimi, bin-tohum ağırlığı ve tohum sabit yağının en yüksek değerleri sırasıyla 100.1 cm, 12.73 dal/bitki, 22.2 kapsül/bitki, 1006 kg/ha, 2.35 kg ve %39.0 olarak belirlenmiştir (Tablo 2. 3). Aşağıdaki tabloda bu konuda bahsedilenlerin özeti yer almaktadır.

**Tablo 2. 3** Türkiye kaynaklı bazı *Nigella* türlerinin tohum yağlarındaki başlıca yağ asitleri

Türler	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	Linoleik asit	Araşidik asit	Eikozadienoik asit	Literatür No.
<i>N. damascena</i>	7.84-12.73	2.09-19.35	17.44-36.03	39.72-47.62	0.45	3.95-4.85	11, 19, 116
<i>N. orientalis</i>	10.89	3.12	16.54	64.47	0.28	2.59	19
<i>N. oxypetala</i>	9.00	2.47	17.95	66.30	0.22	1.86	19
<i>N. latisecta</i>	7.41	2.75	17.26	66.32	0.25	3.47	19
<i>N. segetalis</i>	6.67	2.67	15.79	69.50	0.18	3.25	19
<i>N. arvensis</i>	8.80	2.81	16.88	63.43	0.69	3.17	19
<i>N. elata</i>	11.20	3.29	22.92	47.39	0.26	8.39	19
<i>N. nigellastrum</i>	5.88	3.38	23.62	31.21	0.38	9.40	19
<i>N. unguicularis</i>	7.80	3.13	24.87	36.49	0.37	7.17	19
<i>N. lancifolia</i>	7.20	2.94	15.99	67.62	0.25	3.48	19

### 2.2.2 Uçucu Yağ

*N. sativa* bitkisinin birçok farmakolojik etkisinin uçucu yağı ve bileşimindeki timokinondan ileri geldiği düşünüldüğü için ilk araştırmalar da yağın timokinon bileşimi ile ilgili olmuştur. Timokinon yeni bir bileşik olarak El-Dakhakhny tarafından 1963 yılında *N. sativa* tohum uçucu yağından izole edilmiştir. Bileşiğin erime noktası, Rf değeri, UV ve IR spektrumu ile ve timolden oksidasyon ile elde edilen timokinon ile karşılaştırılarak yapısı doğrulanmıştır (54).

Abou Basha ve arkadaşları tarafından 1995 yılında (118) yapılan bir çalışmada piyasada bulunan üç ticari *N. sativa* tohum uçucu yağında timokinon bileşimi İTK metodu kullanılarak araştırılmıştır. Çözücü sistemi benzen-izopropileter (1:1)'dir. Timokinon, timol ve ditimokinon için Rf değerleri sırasıyla 0.77, 0.37 ve 0.52 olarak saptanmıştır. Timokinon miktarları dansitometrik olarak belirlenmiştir ve birinci örnekte  $2.9 \times 10^3$  nmol/ml, ikinci örnekte  $0.9 \times 10^3$  nmol/ml, üçüncü örnekte ise  $0.45 \times 10^3$  nmol/ml olarak saptanmıştır.

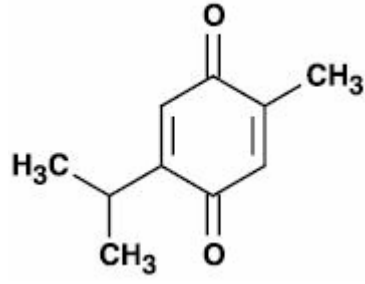
*N. sativa* tohumu üzerinde yapılan çalışmalardan birinde uçucu yağdan timokinon izole edilmiş ve miktarı uçucu yağın ağırlığının %24'ü (a/a) olarak belirlenmiştir. Bir başka çalışmada ise timokinon yağdan %18.4 (a/a) verimle izole edilmiştir. Uçucu yağda belirlenen diğer bileşenler timol ve timokinon dimeri olan ditimokinon olarak saptanmıştır.

Aynı araştırmacılar bu örnekteki timokinon miktarının belirlenmesi için izokratik normal faz HPLC metodu geliştirmişlerdir. Çözücü sistemi olarak hekzan: 2-propanol (99: 1) (h/h) kullanılırken kolon olarak Ekonosfer CN kolon kullanılmıştır. Timokinon miktarı birinci örnekte  $8.3 \times 10^3$  nmol/ml, ikinci örnekte  $2.4 \times 10^3$  nmol/ml, üçüncü örnekte ise  $0.1 \times 10^2$  nmol/ml olarak saptanmıştır (119).

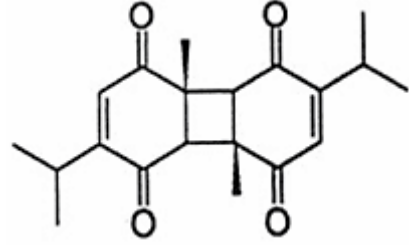
1999 yılında Ghosheh ve arkadaşları (120) tarafından yapılan bir araştırmada *N. sativa* tohumlarında yer alan timokinon, ditimokinon, timohidrokinon ve timol varlığı ters faz HPLC metodu kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 2. 1). Ticari *N. sativa* tohum yağından elde edilen timol miktarı  $9.12 \times 10^{-3}$  h/h, timohidrokinon  $7.67 \times 10^{-4}$  h/h, timokinon ise  $5.26 \times 10^{-2}$  h/h olarak belirlenmiştir. Ditimokinona ise eser miktarda rastlanmıştır.

Yukarıda sözü edilen çalışmalar Tablo 2. 5'de özetlenmiştir.

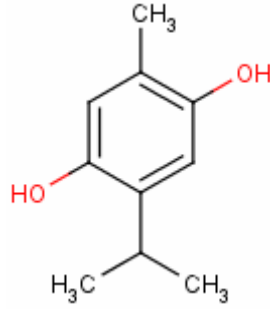




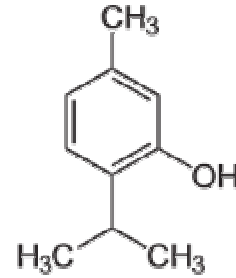
Timokinon



Ditimokinon



Timohidrokinon



Timol

Şekil 2. 1 *N. sativa* tohum uçucu yağında bulunan bazı bileşenler

Türker ve Bayrak tarafından 1997 yılında (9) yapılan bir çalışmada Türkiye'nin değişik bölgelerinden toplanmış toplam yirmi *N. sativa* tohum örneğinin uçucu yağ miktarları ile bileşenleri araştırılmıştır. Tohumlardan Clevenger aparatı kullanılarak hidrodistilasyon yöntemiyle %0.09–0.36 oranında uçucu yağ ve bu uçucu yağda 8 bileşen belirlenmiştir;  $\alpha$ -pinen (%0.10–21.06),  $\beta$ -pinen (%2.00–19.00), limonen (%13.70–67.58),  $\beta$ -fellandren (%0.03–24.30), 1,8-sineol (%50.03–1.83),  $\gamma$ -terpinen (%0.11–2.46), *p*-simen (%1.77–28.46), terpinolen (%0.02–5.29). Bütün örneklerde *p*-simen çok düşük miktarlarda görülürken, limonen ve  $\beta$ -fellandren çok yüksek görülmüştür. Araştırmada elde edilen uçucu yağ miktarları, en yüksek Amasya örneğinde % 0.36, en düşük İzmir-1 kaynaklı örnekte % 0.09 olarak bulunmuştur.

Burits ve Bucar tarafından 2000 yılında (27) yapılan bir çalışmada farklı kaynaklardan elde edilen yedi *N. sativa* tohumunun Soxhlet ekstraksiyonu ve devamında yapılan hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağın veriminin sırasıyla %

0.41 – 0.44 olduğu görülmüştür. Yağlardaki timokinon oranı ise % 28 – 57 arasındadır. Clevenger aparatıyla distilasyonda uçucu yağ miktarının % 0.18, timokinonun % 3 olduğu görülmüştür. Soxhlet ekstraksiyonu ve buhar distilasyonu ile elde edilen *N. sativa*'nın farklı uçucu yağ örneklerinde kalitatif açıdan farklılık gözlenmezken, kantitatif açıdan farklılıklar göze çarpmıştır. 32 bileşen saptanmıştır. Çalışılan bütün uçucu yağların ana fraksiyonu monoterpenler karışımından oluşmaktadır. Ana bileşenlerin timokinon (%30–48), *p*-simen (%7–15), karvakrol (%6–12), 4-terpineol (%2–7), *t*-anetol (%1-4) ve seskiterpen longifolen (%1-8) olduğu gözlenmiştir. Uçucu yağda aynı zamanda doymuş ve doymamış yağ asitlerinin esterleri eser miktarda saptanmıştır.

D'Antuono ve arkadaşları 2002 yılında (16) yaptıkları bir araştırmada *N. sativa* L. ve *N. damascena* L.'nin uçucu yağ bileşimi belirlenmiştir. Çalışmada *N. sativa* tohumlarında en çok rastlanan bileşikler tuyen (%3.27), *o*-simen (%3.26), *p*-simen (%33.75), timokinon (%3.80), timol (%26.78),  $\beta$ -elemen (%5.47), longifolen (%3.11) olarak belirlenmiştir. *N. damascena*'da bileşim ise timokinon (%0.08), timol (%0.03),  $\beta$ -burbonen +  $\beta$ -karyofillen (%2.10),  $\beta$ -elemen (%73.24),  $\beta$ -selinen (%2.68),  $\alpha$ -selinen (%4.75), germakren A (%10.45) olarak belirlenmiştir.

Nickavar ve arkadaşları (23) tarafından yürütülen bir araştırmada İran'da yetişen *N. sativa* L. tohumlarının uçucu yağının kimyasal bileşimi GC ve GC-MS kullanılarak belirlenmiştir. *N. sativa* tohumlarının hidrodistilasyonla ekstresi sarımsı bir uçucu yağ vermiş ve uçucu yağın %86.7'sini oluşturan 32 bileşen belirlenmiştir. Yağın; 6 adet fenil propanoid bileşeni (%46.1), 9 adet monoterpenoit hidrokarbon (%26.9), 4 adet monoterpen keton (%6), 8 adet nonterpenoit hidrokarbon (%4), 3 adet monoterpen alkol (%2.7), 2 adet seskiterpenoit hidrokarbon (%1)'dan oluştuğu gözlenmiştir. Yağda yüksek seviyelerde *t*-anetol (%38.3) ve *p*-simen (%14.8) varlığı saptanmıştır. Diğer önemli bileşenler limonen (%4.3) ve karvon (%4) olarak belirlenmiştir.

2003 yılında yapılan bir çalışmada *N. sativa* yağında timokinonu saptamak için pulse polarografik metodu kullanılmıştır. Araştırmacılar Avusturya'daki farmasötik marketlerde mevcut olan *N. sativa* yağı içeren iki farklı bitkisel ilacı timokinon yönünden incelemişlerdir. Bu ilaçlardaki timokinon miktarının saptanabilmesi için differansiyel pulse polarografik metodu kullanarak basit bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemin teşhis sınırı 0.052  $\mu\text{g}/\text{ml}$  olarak hesaplanmıştır. Araştırmacılar bu yöntemin

etkili, basit ve bütün çalışmalarda timokinon içeren bitkisel ilaçların kalite kontrolünde kullanılabilceğini belirtmişlerdir (121).

Rchid ve arkadaşları tarafından 2004 yılında (25) yapılan bir çalışmada *N. damascena* ve *N. sativa* tohumlarından elde edilen uçucu yağın ve kloroform ekstresinin uçucu bileşenleri GC ve GC-MS kullanılarak analiz edilmiştir. Uçucu bileşenler her iki türde de farklılık göstermiştir. *N. damascena*'nın bu türlere aroma özelliği veren seskiterpenleri içerdiği saptanmıştır. Bunlar arasında  $\beta$ -elemen (%27.7 ekstre, %54.7 yağ) ve metil-3-metoksi-N-metil-antranilat (%30.7 ekstre, %12.7 yağ) yüksek miktarda yer almaktadır. *N. sativa*'da ise *p*-simen (%49 ekstre, %47.4 yağ) ve timokinon (%20.6 ekstre, %20.8 yağ)'u içeren yalnızca monoterpenlere rastlanmıştır.

Moretti ve arkadaşları tarafından 2004 yılında (122) yapılan bir çalışmada *N. sativa* ve *N. damascena*'nın tohum yağı Likens- Nickerson su distilasyonu ile elde edilmiştir. GC-MS ile yağın içeriği saptanmıştır. *N. sativa* yağının ana bileşenleri *p*-simen (%33.8) ve timol (%26.8) iken timokinon miktarının çok düşük olduğu (%3.8) saptanmıştır. *N. damascena* yağı seskiterpenlerin varlığıyla karakterize olup seskiterpenlerin 3/4' ünü  $\beta$ - elemen teşkil etmiştir.

2004 yılında Hajhashemi ve arkadaşları (74) tarafından yapılan bir çalışmada İran kaynaklı *N. sativa* L. tohumlarının uçucu yağlarının bileşenleri buhar distilasyonu ile elde edilmiştir. Yağın GC/MS analizinden sonra yirmi bileşen %0.4 (h/a) verimle belirlenmiştir.. Bunların arasında *p*-simen (%37.3) ve timokinon (%13.7)'un ana bileşenler olduğu saptanmıştır.

Singh ve arkadaşları tarafından 2005 yılında (68) yapılan bir araştırmada *N. sativa* tohumlarından uçucu yağ ve aseton ekstresi elde edilmiştir. Hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen toplam uçucu yağın %84.65'ini oluşturan 38 bileşenden ana bileşen *p*-simen (%36.2) olarak saptanmıştır. Bunu timokinon (%11.27),  $\alpha$ -tuyen (%10.03), longifolen (%6.32),  $\beta$ -pinen (%3.78),  $\alpha$ -pinen (%3.33) ve karvakrol (%2.12) takip etmiştir. Ekstrenin ise toplam miktarın %97.9'unu oluşturacak şekilde 16 bileşen taşıdığı gözlenmiştir. Aseton ekstresinin uçucu bileşenleri GC-MS ile analiz edilmiştir. Ana bileşenlerin linoleik asit (%53.6), timokinon (%11.8), palmitik asit (%10), *p*-simen (%8.6), longifolen (%5.8) ve karvakrol (%3.7) olduğu gözlenmiştir.

2006 yılında Benkacı-Ali ve arkadaşları (123) tarafından yapılan bir çalışmada Cezayir'de tarımı yapılan *N. sativa* L. tohumlarının mikrodalga ekstraksiyonunun

kinetik çalışması ile bileşenleri araştırılmıştır. Verim %0.57 olarak belirlenmiştir. Mikrodalga metodunda *p*-simen (%53.83),  $\alpha$ -tuyen (%11.91), timokinon (%17.04), sabinen (%2.79), limonen (%1.88) ve  $\gamma$ -terpinen (%1.43) olarak saptanmıştır. Diğer bileşenler ise longifolen (%1.21), karvakrol (%0.68) ve  $\alpha$ - longipinen (%0.36) olarak belirlenmiştir. Ayrıca monoterpen hidrokarbonlar (%76.52) ve ketonlar (%17.31) önemli bileşenlerken seskiterpen hidrokarbonlar (%1.77), alkoller (%1.61), esterler (%0.23), aldehytler (%0.01) ve diterpen hidrokarbonlar (eser miktarda) düşük miktarlarda bulunmuştur.

Al-Saleh ve arkadaşları tarafından 2006 yılında (43) yapılan bir araştırmada Etiyopya, Hindistan, Suudi Arabistan, Suriye, Sudan bölgelerinden alınan *N. sativa* tohumlarındaki timokinon ve timol miktarı HPLC ile tayin edilmiştir. Test edilen bütün tohumlarda timokinon ve timol ortalama konsantrasyonu sırasıyla  $2224.49 \pm 1629.50$  ve  $169.35 \pm 100.12$ . Bütün farklı kaynakların timol ve timokinon açısından zengin olduğu ortaya konmuştur. Etiyopya kaynaklı tohumun en yüksek miktarda timokinon (3098.5 mg/kg) ve timol (230.6 mg/kg) içerdiği saptanmıştır. Timokinon (1274.6 mg/kg) ve timol (113.4 mg/kg) miktarının en düşük görüldüğü kaynak ise Sudan'dan elde edilen tohumlardır (Tablo 2.5).

Hamrouni- Sellami ve arkadaşları 2008 yılında (113) yaptıkları bir çalışmada Tunus kaynaklı *N. sativa* tohumlarının kimyasal bileşimini araştırmışlardır. Oleorezindeki uçucu yağın aroma bileşimi pek çok biyoaktif bileşenin varlığını göstermiştir. Bunların arasında *p*-simen ana bileşendir. Bunu *o*-simen,  $\alpha$ - tuyen, okten-3-ol, 1,8-sineol ve timol takip etmiştir.

2007 yılında Benkaci-Ali ve arkadaşları (124) tarafından yürütülen bir çalışmada Sahara çölündeki Timimoun (T) ve Adrar (A) bölgelerinden toplanan *N. sativa* tohum uçucu yağlarının ekstraksiyonu su distilasyon ve mikrodalga distilasyon yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağın bileşimi kapiler gaz kromatografisi ve GC-MS spektrometrisi ile araştırılmıştır. Su distilasyonu ile yapılan yöntemde tohum uçucu yağ verimi sırasıyla %0.08 (T) ve %0.11 (A) olarak bulunmuştur. *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) gibi aktif bileşenlerin ana bileşenler olduğu saptanmıştır. Bu bileşenler T ve A uçucu yağlarının sırasıyla %36 ve %64'ünden daha fazlasını oluşturmuştur. Mikrodalga

distilasyonunda tohum uçucu yağ verimi %0.11 (T) ve %0.20 (A) olarak saptanmıştır. *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) saptanmıştır. Bu bileşenler T ve A yağları içinde sırasıyla %46.1 ve %66 olarak yer almıştır.

Wajs ve arkadaşları 2008 yılında (26) yaptıkları bir araştırmada Polonya'da kültürü yapılan *N. sativa* tohumlarından hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağında 48 bileşen belirlemiştir. Bunlardan 14'ü *N. sativa* tohumlarında daha önce hiçbir şekilde izole edilmemiştir, (*Z*) $\beta$ -o-simen, (*E*) $\beta$ -o-simen, *trans*-tuyan-4-ol, *cis*-4-metoksituyen, *trans*-4-metoksituyen, *cis*-krisantenil asetat, siklosativen,  $\alpha$ -kopaen, *allo*-isolongifolen, miristisin,  $\gamma$ -kadinen,  $\beta$ -karyofillen oksit, apiol, pentadekan-2-on, farnesal D (*cis*, *trans*). Yağın ana bileşenlerinin monoterpenler (%87.7) ve bunların oksijenli türevleri (%9.9) olduğu saptanmıştır. Seskiterpen ve oksijenli türevlerinin ise uçucu yağın çok düşük bir kısmını oluşturduğu belirlenmiştir (sırasıyla %0.7, 0.1). Polonya'da yetiştirilen bitkiden izole edilen yağın ana bileşenleri *p*-simen (% 60.2),  $\gamma$ -terpinen (%12.9),  $\alpha$ -tuyen (%7.2), karvakrol (%3),  $\alpha$ -pinen (%2) ve  $\beta$ -pinen (%2.1) olarak saptanmıştır. Bu çalışmada ilk defa bitkide doğal olarak bulunan, özellikle bitki tohumlarının uçucu yağında sırasıyla %0.3 ve %4 oranında bulunan iki monoterpenoid '*cis*- ve *trans*- 4-metoksituyen' belirlenmiştir. 4-metoksituyenlerin yapısı ise spektroskopik ve kimyasal metodlarla ortaya konmuştur.

2008 yılında Erkan ve arkadaşları (69) tarafından *N. sativa* tohum uçucu yağının HPLC analizleri ile %12 timokinon içerdiği saptanmıştır. Bu yağın toplam fenolik içeriği 282 mg gallik asit ekivalanı/g olarak bulunmuştur.

Yukarda özetlenen çalışmalar Tablo 2. 4'de görülmektedir.

**Tablo 2. 4** *N. sativa* tohumlarından Clevenger ile elde edilen uçucu yağda bulunan bileşenler (% miktar)

Bileşenler	Lit. 9	Lit. 16	Lit. 23	Lit. 25	Lit. 122	Lit. 74	Lit. 68	Lit. 124	Lit. 26
$\alpha$ -pinen	0.10-21.06	-	-	-	-	-	3.33	-	2
$\beta$ -pinen	2.00-19.00	-	-	-	-	-	3.78	-	2.1
limonen	13.70-67.58	-	4.3	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -fellandren	0.03- 24.30	-	-	-	-	-	-	-	-
1.8-sineol	50.03- 1.83	-	-	-	-	-	-	-	-
$\gamma$ -terpinen	0.11- 2.46	-	-	-	-	-	-	-	12.9
p-simen	1.77- 28.46	33.75	14.8	49	33.8	37.3	-	7.2-8.9	60.2
terpinolen	0.02- 5.29	-	-	-	-	-	-	-	-
karvon	-	-	4	-	-	-	-	4.4-0.3	-
karvakrol	-	-	-	-	-	-	2.12	12.9-12.9	3
4-terpineol	-	-	-	-	-	-	-	0.6-8.9	-
t-anetol	-	-	38.3	-	-	-	-	-	-
longifolen	-	3.11	-	-	-	-	6.32	-	-
$\alpha$ -tuyen	-	3.27	-	-	-	-	10.03	-	7.2
o-simen	-	3.26	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -elemen	-	5.47	-	-	-	-	-	-	-
timokinon	-	3.80	-	20.8	3.8	13.7	11.27	1.6-21.8	-
timol	-	26.78	-	-	26.8	-	-	1.5-0.7	-
timohidrokinon	-	-	-	-	-	-	-	6.1-12.2	-
cis-4-metoksituyan	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3
trans-4-metoksituyan	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4

**Tablo 2. 5** *N. sativa* tohumlarında saptanan timokinon, ditimokinon, timohidrokinon ve timol miktarları

Literatürler	Timokinon	Ditimokinon	Timohidrokinon	Timol
43*	1274.6-3098.5mg/kg	-	-	113.4-230.6 mg/kg
69*	%12	-	-	-
118**	0.45x10 <sup>3</sup> -2.9x10 <sup>3</sup> nmol/ml	-	-	-
119*	0.1x10 <sup>2</sup> -8.3x10 <sup>3</sup> nmol/ml	-	-	-
120*	5.26x10 <sup>-2</sup> h/h	eser	7.67x10 <sup>-4</sup> h/h	9.12x10 <sup>-3</sup> h/h
121***	2.09-3.02mg/g	-	-	-

\* *N. sativa* tohumundan farklı yöntemlerle elde edilen uçucu yağ ve metanollü ekstresinde HPLC ile saptanan miktarlar

\*\* *N. sativa* tohumundan sudistilasyonu ile elde edilen uçucu yağda TLC ile saptanan miktar

\*\*\* *N. sativa* tohumundan sudistilasyonu ile elde edilen uçucu yağda polarografik metod ile saptanan miktar

Yukarıda özetlenen *N. sativa* uçucu yağları üzerindeki araştırmalardan başka diğer bazı *Nigella L.* türlerinin uçucu bileşenleri üzerinde yapılmış bazı araştırmalar mevcuttur. Bu araştırmalar aşağıda belirtilen türler üzerinde yapılmıştır.

Tillequin ve arkadaşları tarafından 1976'da (125) yapılan bir çalışmada *N. damascena* tohumlarından iki seskiterpen hidrokarbon, (+)β-elemen ve (-)α-selinen izole edilmiştir.

2003 yılında Fico ve arkadaşları (126) tarafından yapılan bir araştırmada *N. damascena* tohumlarının uçucu yağlarının kimyasal bileşimi ticari tohumlarla karşılaştırmak amacıyla incelenmiştir. 28 bileşen izole edilmiştir. 10 seskiterpen hidrokarbon (%93.8), iki alkaloid (%0.3) ve üç monoterpen eser miktarda bulunmuştur. Ticari tohumlardan ise 26 bileşen izole edilmiştir. 15 seskiterpen hidrokarbon (%90.4), iki alkaloid (%3.3) ve dokuz monoterpen eser miktarda bulunmuştur.

2004 yılında yayınlanmış bir makalede ise *N. damascena* ve *N. sativa* tohumlarının uçucu yağları ve tohumların kloroform ekstraktlarının uçucu bileşenleri GC, GC-MS yöntemi ile analiz edilmiştir. Uçucu bileşenler her iki türde de farklılık göstermiştir. *N. damascena*'nın bu türlere aroma özelliği veren seskiterpenleri içerdiği saptanmıştır. Bunlar arasında β-elemen (%27.7 ekstre, %54.7 yağ) ve metil-3-metoksi-N-metil-antranilat (%30.7 ekstre, %12.7 yağ) yüksek miktarda yer almaktadır. *N.*

*sativa*'da ise *p*-simen (%49 ekstre, %47.4 yağ) ve timokinon (%20.6 ekstre, %20.8 yağ)'u içeren yalnızca monoterpenlere rastlanmıştır (25).

Kokoska ve arkadaşları tarafından 2005 yılında (127) yapılan bir araştırmada hidrodistilasyonla *N. orientalis* tohum uçucu yağı elde edilmiş ve kimyasal bileşimi GC-MS ile araştırılmıştır. 18 bileşen tayin edilmiştir. Bunlar toplam yağın % 90.8'ini oluşturmaktadır. Yağın başlıca seskiterpen hidrokarbonları (% 90.3) içerdiği saptanmıştır. Oksijenli seskiterpenler % 0.4, 2-monoterpen hidrokarbonlar % 0.1 ve oksijenli monoterpenler çok az ya da eser miktarlarda gözlenmiştir. Ana bileşenlerin  $\beta$ -elemen (% 68.8),  $\delta$ -kadinen (% 5.2),  $\beta$ -selinen (% 4.3) ve  $\alpha$ -selinen (% 3.3) olduğu belirlenmiştir.

2006 yılında yapılan bir çalışmada ise hidrodistilasyonla % 0.42 verimle *N. arvensis* tohumlarından uçucu yağ elde edilmiştir. GC ve GC-MS analizleri 69 bileşenin varlığını göstermiştir. Bu toplam yağın % 99.2' sini oluşturmaktadır. Uçucu yağ başlıca monoterpen hidrokarbonlar (% 39.8) ve oksijenli monoterpenler (% 28.9)'den oluşmuştur. Düşük miktarda (% 4.6) seskiterpenlere rastlanmıştır. Analizler n-alkanlar (% 17.4) gibi doymuş ve doymamış alifatik hidrokarbonların varlığını göstermiştir. Bunları terpenoit aldehytler ve alkenler takip etmiştir. Uçucu yağın ana bileşenleri karvakrol metil eter (% 26.4),  $\beta$ -pinen (% 21.4), *n*-undekan (% 13.2) ve  $\alpha$ -pinen (% 5.7) olarak belirlenmiştir (128, 129).

### 2.2.3 Vitaminler

*N. sativa* yapraklarının iki örneği vitamin C ve dehidroaskorbik asit içeriği açısından analiz edilmiştir. Sonuçlar birinci örnek için 257.7, 287.2, 10.3, 20.2, ikinci örnek için 270.8, 304.4, 10.0 ve 20.2 olarak bulunmuştur (54).

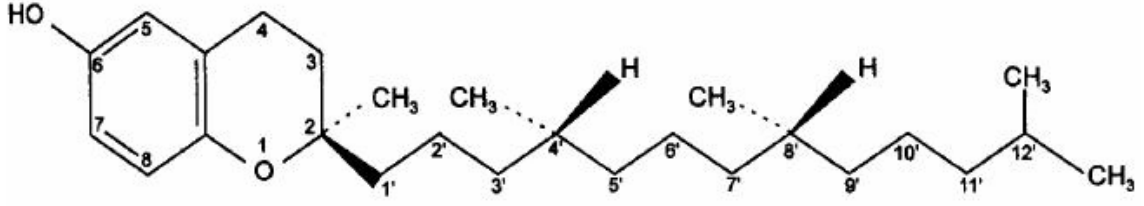
1993 yılında Nergis ve Ötleş (40) tarafından yapılan bir çalışmada *N. sativa* tohumlarındaki toplam polifenol ve tokoferol içerikleri tespit edilmiş ve yağda çözünen vitaminlerin HPLC ile analizleri yapılmıştır. Yağın  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  tokoferol içerdiği ve bunların miktarının sırasıyla 40  $\mu\text{g/g}$ , 50  $\mu\text{g/g}$  ve 250  $\mu\text{g/g}$  olduğu bulunmuştur. Tohumların toplam polifenoller açısından (1744  $\mu\text{g/g}$ ) zengin olduğu tespit edilmiştir. Tohumlar vitaminler yönünden incelendiği zaman tiamin (Vitamin B<sub>1</sub>), riboflavin (Vitamin B<sub>2</sub>), piridoksin (Vitamin B<sub>6</sub>), niasin (PP) ve folik asit içerdiği belirlenmiştir (sırasıyla; 8.31  $\mu\text{g/g}$ , 63  $\mu\text{g/g}$ , 789  $\mu\text{g/g}$ , 6311  $\mu\text{g/g}$ , 42  $\mu\text{g/g}$ ).



1998 yılında Takruri ve Dameh (41) tarafından yapılan bir çalışmada beş farklı kaynaktan alınan (Hindistan, Ürdün, Suriye-1, Suriye-2, Türkiye) *N. sativa* tohumlarının vitamin içeriği HPLC ile analiz edilmiştir. Vitamin B<sub>1</sub> (13- 14.6 mgkg<sup>-1</sup>), Vitamin B<sub>6</sub> (4-6.6 mgkg<sup>-1</sup>), niasin (33-48 mgkg<sup>-1</sup>) ve folik asit (400-870 mgkg<sup>-1</sup>) tespit edilmiştir.

2002 yılında Ramadan ve Mörsel (42) tarafından yapılan bir araştırmada *N. sativa* tohum yağları iki farklı solvan [(n-hekzan (H) ve kloroform/metanol (CM)] ile Soxhlet kullanılarak ekstre edilmiştir. Yağda çözünen vitaminler ve β-karoten analizleri ise Zorbax-Sil silika kolonu kullanılarak izokratik normal faz HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Vitamin E için isooktan/etilasetat (96:4 h/h) kullanılırken, yağda çözünen diğer vitaminler ve β-karoten için isooktan/2-propanol (99:1 h/h) kullanılmıştır. Yapılan analizlere göre H ekstresinde vitamin içerikleri CM'ye göre daha yüksek bulunmuştur. H ekstresinde ana bileşenler; toplam tokoferol (597 µg g<sup>-1</sup> yağ), β-karoten (593 µg g<sup>-1</sup> yağ), α-tokoferol (284 µg g<sup>-1</sup> yağ) ve γ-tokoferol (225 µg g<sup>-1</sup> yağ), vitamin K<sub>1</sub> (2-metil-3-fetil-1,4-naphthochinon) (1162 µg g<sup>-1</sup> yağ), toplam vitamin K (1162 µg g<sup>-1</sup> yağ), toplam yağda çözünen vitaminler ve β-karoten (2353 µg g<sup>-1</sup> yağ) olarak saptanmıştır. CM ekstresinde ise aynı bileşenlerin miktarı sırasıyla 522 µg g<sup>-1</sup> yağ, 569 µg g<sup>-1</sup> yağ, 258 µg g<sup>-1</sup> yağ, 203 µg g<sup>-1</sup> yağ, 1080 µg g<sup>-1</sup> yağ, 1080 µg g<sup>-1</sup> yağ, 2171 µg g<sup>-1</sup> yağ olarak saptanmıştır. Vitamin A-asit, vitamin A-alkol (all-*trans*-retinol), vitamin D (D<sub>2</sub> + D<sub>3</sub>) ve vitamin K<sub>3</sub> (2-metil-1,4-naphthoquinone, menadione)'e rastlanmamıştır.

2003 yılında Ramadan ve arkadaşları (29) tarafından yapılan bir araştırmada *N. sativa* tohumlarının tokoferol içeriği incelenmiştir. α-tokoferol (0.284 g/kg) ve γ-tokoferol (0.225 g/kg)'ün yüksek miktarlarda bulunduğunu, bunu δ-tokoferol ve β-tokoferolün izlediğini ortaya koymuşlardır (Şekil 2. 2).



5,7,8-Trimetil	$\alpha$ -Tokoferol
5,8-Dimetil	$\beta$ -Tokoferol
7,8-Dimetil	$\gamma$ -Tokoferol
8-Metil	$\delta$ -Tokoferol

**Şekil 2. 2** *N. sativa* tohumlarında bulunan tokoferoller

Al-Saleh ve arkadaşları tarafından 2006 yılında (43) yapılan bir araştırmada Etiyopya, Hindistan, Suudi Arabistan, Suriye ve Sudan bölgelerinden alınan *N. sativa* tohumlarındaki DL- $\alpha$ -tokoferol, DL- $\gamma$ -tokoferol ve all-trans-retinol seviyeleri çalışılmıştır. Bu bileşenler HPLC ile ölçülmüştür. Bütün test edilen tohumlarda bileşenlerin ortalama konsantrasyonu (mg/kg taze ağırlık sırasıyla;  $9.02 \pm 4.84$ ,  $5.42 \pm 3.96$ ,  $0.27 \pm 0.27$ ) olarak saptanmıştır. Hindistan tohumları en yüksek DL- $\alpha$ -tokoferol ve all-trans-retinol içeriğine sahipken, Etiyopya tohumlarının DL- $\gamma$ -tokoferol bakımından zengin olduğu anlaşılmıştır.

*N. sativa* tohumlarında bulunan tokoferol profili Tablo 2. 6'da verilmiştir.

**Tablo 2. 6** *N. sativa* tohumlarının tokoferol profili.

Tokoferol	Miktar ( $\mu\text{g/g}$ )	Literatür No.
$\alpha$ -Tokoferol	5.65-284	29, 40, 42, 43
$\beta$ -Tokoferol	40-50	29, 40, 42
$\gamma$ -Tokoferol	2.26-250	29, 40, 42, 43
$\delta$ -Tokoferol	48	29, 42

#### 2.2.4. Alkaloitler

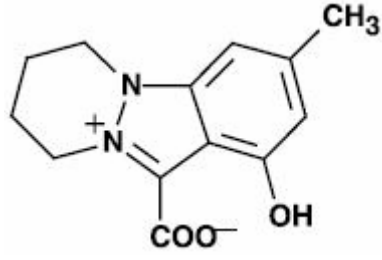
*N. sativa*'da alkaloitlerin varlığı bilinmesine rağmen izolasyonları ve yapı tayinleri 1985 ve sonrasında yapılabilmıştır.

Atta-ur-Rahman ve Malik tarafından 1985 yılında (44) yapılan bir çalışmada *N. sativa* tohumlarının asitli alkol ile ekstraksiyonundan sonra alkali ilavesi ve kloroform ekstraksiyonu ile elde edilen kloroform ekstresinden nigellisinin yapısı X- ray difraksiyon ve spektroskopik metodlarla belirlenmiştir (Şekil 2. 3).

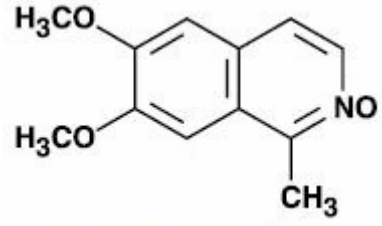
Aynı araştırmacılar *N. sativa* tohumlarından yukarıdaki şekilde elde edilen kloroform fraksiyonundan yeni bir izokinolin alkaloit olan nigellimin N-oksit izole etmişlerdir. Bu bileşiğin yapısı da spektral tekniklere dayanılarak belirlenmiştir (Şekil 2. 3) (45).

Atta-ur-Rahman ve arkadaşları (47) *N. sativa* tohumları ile ilgili yaptıkları bir diğer çalışmalarında ise indazol çekirdeği taşıyan yeni bir alkaloit, "nigellidin" izole etmişler ve yapısı spektroskopik ve X- ray difraksiyon teknikleriyle karakterize edilmiştir.

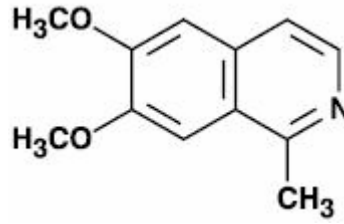
1992 yılında yapılan bir başka çalışmada ise *N. sativa* tohumlarının etanollü ekstresinden kloroformlu fraksiyonunda eser miktarda var olan bir bileşen olarak yeni bir izokinolin alkaloit, nigellimin izole edilmiştir. Yapısı kimyasal ve spektroskopik yöntemlerle anlaşılmıştır (Şekil 2. 3) (46).



Nigellisin



Nigellimin N-oksit

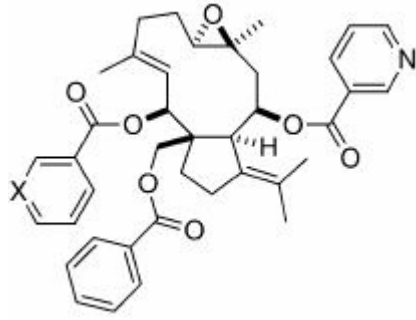


Nigellimin

Şekil 2. 3 *N. sativa* tohumundan izole edilen bazı alkaloidler

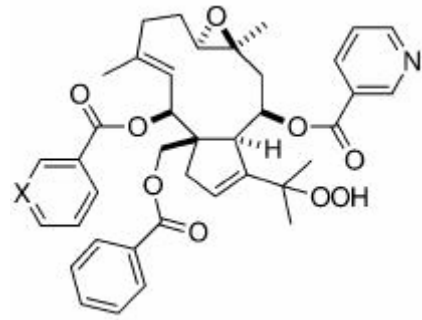
*N. sativa* tohumlarının metanollü ekstrelerinden dört yeni dolabellan tipi diterpen alkaloid, nigellamin A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>1</sub> ve B<sub>2</sub> izole edilmiştir. Yapıları kimyasal ve fizikokimyasal temellere dayanılarak belirlenmiştir (Şekil 2. 4) (48).

2004 yılında Morikawa ve arkadaşları (49) tarafından yapılan bir araştırmada Mısır kökenli *N. sativa* tohumlarının metanollü ekstresinden hazırlanan etil asetat fraksiyonundan yeni dolabellan tipi diterpen alkaloidler, nigellamin A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub> ve C izole edilmiştir (Şekil 2. 4). Bu bileşiklerin muhtemel konsantrasyonları kimyasal ve fizikokimyasal kanıtlara dayanılarak belirlenmiştir.



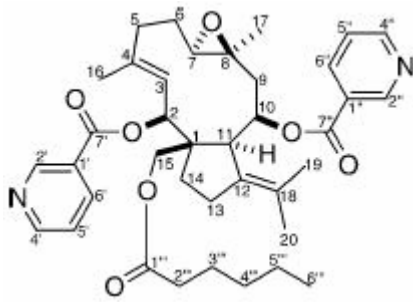
X = CH, Nigellamin A<sub>1</sub>

X = N, Nigellamin A<sub>2</sub>

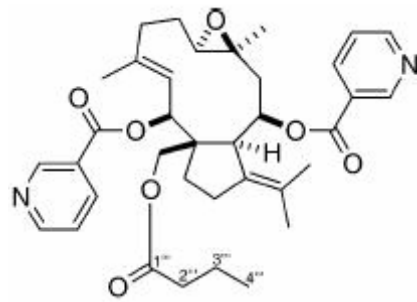


X = CH, Nigellamin B<sub>1</sub>

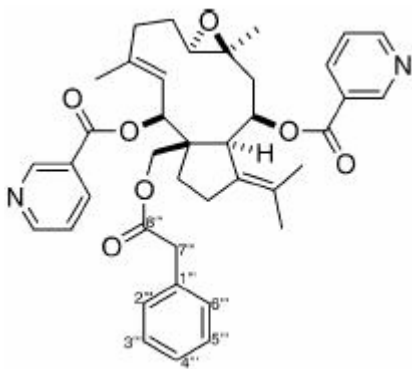
X = N, Nigellamin B<sub>2</sub>



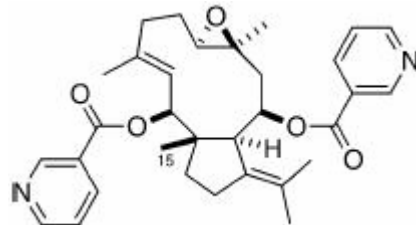
Nigellamin A<sub>3</sub>



Nigellamin A<sub>4</sub>



Nigellamin A<sub>5</sub>



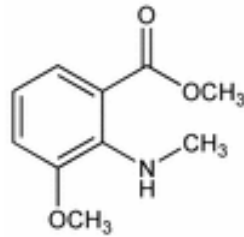
Nigellamin C

Şekil 2. 4 *N. sativa* tohumundan izole edilen dolabellan tipi diterpen alkaloidler

2008 yılında Ali ve arkadaşları (130) tarafından yürütülen bir araştırmada *N. sativa* tohum yağı hekzanla uzaklaştırıldıktan sonra hazırlanan metanollü ekstrenin kalan kısmı ile alkaloid izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu izolasyonda *N. sativa* tohumlarında nadir rastlanan indazol tip alkaloid, nigellidin 4-O-sülfat varlığı belirlenmiştir. İzolasyon işlemi boyunca sülfat yapısının hidrolizi yoluyla nigellidin öncül molekülü olabileceği düşünülmüştür. Nigellidin-4-O-sülfat yapısı NMR, MS ve X-ray kristalografik verilerle aydınlatılmıştır ve bu çalışma sülfatlı indazol-tip alkaloidlerin doğada varlığını ilk kez göstermiştir.

*N. sativa* dışında diğer bazı *Nigella* türleri de alkaloid bileşimi yönünden incelenmiştir. Bu konuda ilk çalışmalar *N. damascena* tohumları üzerinde olmuştur ve tohumlardan damassenin ve damassinin isimli iki alkaloid varlığı saptanmıştır. Yapı tayini MS, IR ve NMR yöntemi ile belirlenmiştir.

2004 yılında Fico ve arkadaşları (131) tarafından yapılan bir çalışmada *N. damascena* tohumlarının bütanollü ekstresi RP-HPLC ile incelendiğinde iki bileşik bulunmuştur. Bunlar damassenine (3- metoksi-2-(metilamino) benzoik asit metil ester) ve damassinine (3-hidroksi-2-(metilamino) benzoik asit metil ester)'dir (Şekil 2. 5). Bu bileşikler İTK ve HPLC kullanılarak belirlenmiştir.



Damassenin

Şekil 2. 5 *N. damascena* tohumundan izole edilen alkaloid

1996 yılında *N. glandulifera* tohumlarının kimyasal bileşimi ile ilgili bir araştırmada tohumlardan N, N-dimetil,1,2-dimetoksi-10,11-dihidrik aporfin kuaterner klorürü izole edilmiştir (132).

*N. glandulifera* tohumlarından yeni bir bileşik olan, nigeplanin ve bunun yeni bir artefaktının izolasyonu 2004 yılında Liu ve arkadaşları (133) tarafından yapılan bir

çalışmada izole edilmiştir. Bunların yanı sıra bilinen bir aporfin alkaloid, fuzitin de izole edilmiştir. Yapıları iki boyutlu NMR spektroskopisini de kapsayan spektroskopik tekniklerle tayin edilmiştir. Nigeplanin, indazol çekirdeği taşıyan doğal bileşenlerin üçüncüsüdür.

### 2.2.5 Fenolik Bileşikler

1997 yılında Merfort ve arkadaşları (50) tarafından yapılan bir araştırmada *N. sativa* tohumları % 70'lik etanolla ekstre edilmiş ve bu ekstreten üç yeni flavonoid glikoziti izole edilmiştir. Bu bileşikler şunlardır: kersetin-3-O-β-glukopiranozil (1→2)-O-β-galaktopiranozil (1→2)-O-β-glukopiranozil, kemferol-3-O-β-glukopiranozil (1→2)-O-β-galaktopiranozil (1→2)-O-β-glukopiranozil ve kersetin-3-O-(6-feruloil-β-glukopiranozil)(1→2)-O-β-galaktopiranozil (1→2)-O-β-glukopiranozil. Bu yeni bileşiklerle birlikte kersetin-3-glukozit, kemferol-3-glukozit ve rutin de izole edilmiştir. Yapıları enzimatik, asit hidrolizler ve spektral verilerle (UV, MS, <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR, 2-D NMR) belirlenmiştir.

Bourgou ve arkadaşları (53, 134) tarafından yapılan bir çalışmada Tunus kaynaklı *N. sativa* tohumlarının metanol ekstresinde fenolik bileşen vanilik asite rastlanmıştır (190 +/- 0.34 mg/100 g kuru ağırlık). Bu bileşen RP-HPLC ile belirlenmiştir.

2008 yılında Bourgou ve arkadaşları (53) yaptıkları bir çalışmada Tunus kaynaklı *N. sativa* bitkisinin filiz ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstrenin fenol içeriği RP-HPLC ile belirlenmiştir. 14 fenolik bileşen izole edilmiştir. Bunlar; gallik asit, (-)-p-hidroksibenzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, trans-2-hidroksisinnamik asit, trans-hidroksisinnamik asit, epikateşin, (+)-kateşin, kersetin, apigenin, amentoflavon ve flavon'dur (Şekil 2. 6). Sonuçlar *N. sativa* filiz ve köklerindeki fenolik bileşenler arasında miktar farklılıklarına rastlandığını göstermiştir. Kalitatif açıdan farklılıklara ise pek rastlanmamıştır. Ancak p-kumarik ve ferulik aside sadece köklerde, amentoflavon ise filiz kısmında gözlenmiştir. Bunlar dışında *N. sativa* bitki kısımları benzer bileşim göstermiştir. Vanilik asit, kökler ve filiz kısmında yer alan ana fenolik bileşendir (sırasıyla; 89.94 mg/100 g kuru ağırlık ve 143.21 mg/100 g kuru ağırlık); toplam miktarın %66'sını oluşturmuştur. Gallik asidin de baskın olduğu ancak köklerde (30.59 mg/100 g kuru ağırlık), filiz kısmından (27.86 mg/100 g kuru ağırlık)

biraz daha fazla miktarda olduğu bulunmuştur. Trans-sinamik asit, (+)kateşin ve apigenin de filiz kısmında yüksek seviyelerde bulunmuştur. Toplam fenol bileşenlerin seviyeleri *N. sativa* filiz ve kök kısımlarında HPLC ile sırasıyla 2.15 ve 1.35 mg/g olarak tespit edilmiştir. Toplam fenol içeriği filiz kısmında köklerin toplam polifenol içeriğinden 2.5 kat daha yüksek miktarda bulunmuştur (sırasıyla; 10.4 mg GAE/g kuru ağırlık, 4.01 mg GAE/mg kuru ağırlık).

Fico ve arkadaşları (51) tarafından yürütülen bir araştırmada *N. damascena* tohumlarından yeni bir fenolik ester, 1-O-(2,4-dihidroksi)benzoil-gliseroil izole edilmiştir. Bunların yanında üç bilinen fenolik bileşen, 3,4-dihidroksi-β-fenetil alkol, 2,4-dihidroksi-fenilasetik asit ve 2,4-dihidroksifenilasetik asit metil ester de saptanmıştır. Yapıları NMR spektroskopisi ve MS ile belirlenmiştir.

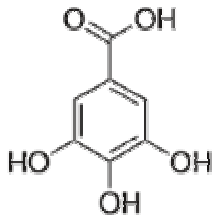
Fico ve arkadaşları tarafından 2001 yılında (52) yapılan bir çalışmada *N. damascena* tohumlarından yeni bir fenolik ester izole edilmiş ve yapısı <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C-NMR, spektral veri ve EI-MS analizleri ile 1-O-(2,4-dihidroksi) fenilasetil gliserol olarak belirlenmiştir.

2004 yılında Fico ve arkadaşları (131) tarafından yapılan bir çalışmada *N. damascena* bitki tohumları ve ticari olarak bulunan tohumların yağı n-hekzan ile uzaklaştırıldıktan sonra kloroform, kloroform-metanol (9:1) ve metanol ile ekstre edilmiştir. Sephadex LH-20 ve RP-HPLC ile bütanol ekstresinin ayırımı dört bileşeni vermiştir. Bunlar *p*-kumarik ve kafek asit, kemferol, kemferol-3-O-glukopiranozit'tir. Bu bileşenler ITK ve HPLC kullanılarak belirlenmiştir.

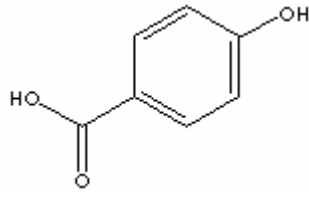
Bir diğer bitki *N. glandulifera* tohumlarından yedi bileşik izole edilmiştir. Bunlar kemferol-3-O-β-D-galaktopiranozil (1→3)-β-D-glukopiranozil (1→3)-β-D-glukopiranozit, 2-O-[α-D-galaktopiranozil (1→4)-β-D-glukopiranozil]-β-D-fruktofuranozit, β-sitosterol ve siklolanenol olarak belirlenmiştir. Bu bileşenlerden ilk ikisi nigeplanosit ve nigeplanoz olarak isimlendirilen yeni bileşenlerdir (132).

Xin ve arkadaşları tarafından 2008 yılında (135) yapılan bir çalışmada *N. glandulifera* Freyn tohumlarının %50'lik etanolik ekstresi ile flavanoit ve fenolik bileşenlerin varlığı saptanmıştır. İzole edilen bileşenler spektral analizler (UV, IR, NMR) kullanılarak belirlenmiştir. Kemferol, kersetin, rutin, salisilik asit, metil-4-hidroksibenzoat ve pirogallol *N. glandulifera*'dan ilk kez izole edilmiştir.

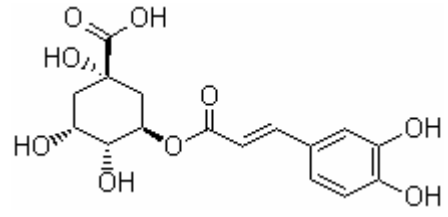




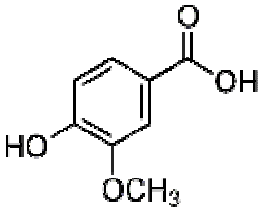
Gallik asit



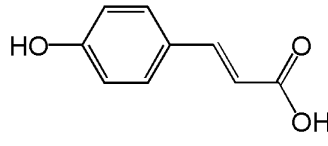
*p*-Hidroksibenzoik asit



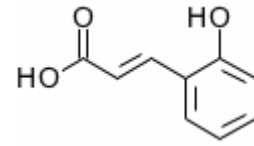
Klorojenik asit



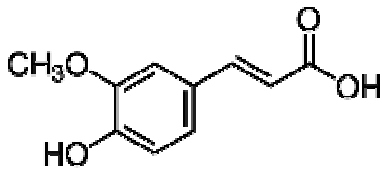
Vanilik asit



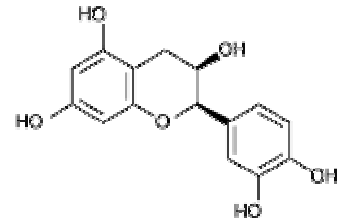
*p*-Kumarik asit



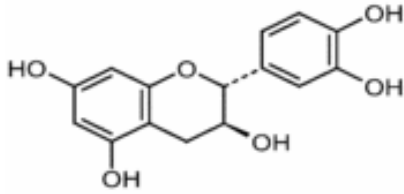
Trans-2-hidroksisinnamik asit



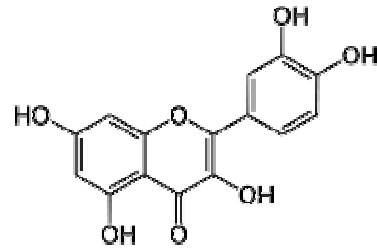
Ferulik asit



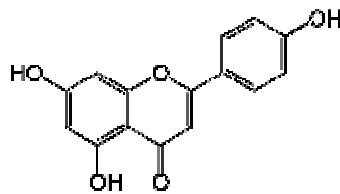
Epikateşin



(+)-Kateşin



Kersetin



Apigenin

Şekil 2. 6 *N. sativa* bitkisinde bulunan fenolik bileşikler

### 2.2.6. Saponozitler

1998 yılında yapılan bir çalışmada *N. sativa* tohumlarının etanollü ekstresinden bir saponin izole edilmiştir. Bu bileşen 3-O-[ $\beta$ -D-ksilopiranozil-(1-3)- $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1-2)- $\alpha$ -L-arabinopiranozil]-28-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1-4)- $\beta$ -D-glukopiranozil-(1-6)- $\beta$ -D-glukopiranozil]-hederagenin olarak karakterize edilmiştir (54).

2005 yılında Taşkın ve arkadaşları (55) tarafından yapılan bir araştırmada *N. sativa* tohumları ve metanol ekstresi hazırlanmıştır. İzmir’de satılan bu ticari ekstrede bilinen triterpen glikozit izole edilmiştir. Bileşenlerin yapıları kimyasal ve spektral metodlarla 3-O-[ $\beta$ -D-ksilopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopiranozil]-28-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranozil]-hederagenin, 3-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopiranozil]-28-O-[ $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranozil]-hederagenin, ve 3-O-[ $\beta$ -D-ksilopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinopiranozil]-hederagenin olarak belirlenmiştir. İkinci bileşen *Nigella* türlerinden ilk defa izole edilmiştir.

2009 yılında Mehta ve arkadaşları (56) tarafından yürütülen bir araştırmada *N. sativa* tohumlarının alkollü ekstresinden yeni bir triterpen saponin ve bilinen steroidal glukozit; n-hekzan ekstresinden ise sikloartenol izole edilmiştir. Bu saponinlerin yapıları spektral analizlerle tayin edilmiş ve sırasıyla 3-O-[ $\beta$ -D-ksilopiranozil(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-ramnopiranozil(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glukopiranozil]-11-metoksi-16,23-dihidroksi-28-metilolean-12-enoat, stigma-5,22-dien-3- $\beta$ -D-glukopiranozit ve sikloart-23-metil-7,20,22-trien-3 $\beta$ ,25-diol olarak saptanmıştır.

Mehta ve arkadaşları (57) tarafından *N. sativa* saponozitleri üzerine yapılmış bir başka çalışmada bitki tohumlarının etanollü ekstresinden yeni bir glikozillenmiş triterpen 3-O-[ $\beta$ -D-ksilopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glukopiranozil]-11-metoksi-16-hidroksi-17-asetoksi hederagenin saptanmıştır. Doğal olarak bulunan bu asetillenmiş saponinin belirlenmesi FABMS,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  iki boyutlu NMR ve DEPT’i içeren spektroskopik analizlerle yapılmıştır.

### 2.2.7 İnorganik Elementler

Babayan ve arkadaşları tarafından 1978 yılında (20) yapılan bir çalışmada *N. sativa* tohumundaki toplam karbonhidrat % 33.96, kalsiyum %1.06, demir %0.014, sodyum %0.98 ve potasyum %0.582 olarak bulunmuştur.

1992 yılında Saleh Al-Jassir (58) tarafından yapılan bir çalışmada Suudi Arabistan'da yetişen *N. sativa* tohumlarının mineral içeriğine bakıldığında potasyum, fosfor, sodyum ve demirin baskın olduğu gözlenmiştir. Çinko, kalsiyum, magnezyum, manganez ve bakır daha düşük seviyelerde bulunmuştur. Kadmiyum, arsenik ve kurşuna rastlanmamıştır.

Nergis ve Ötleş tarafından 1993 yılında (40) yapılan bir araştırmada *N. sativa* tohumlarındaki kalsiyum, demir, potasyum ve sodyum atomik absorpsiyon spektrofotometrisi kullanılarak belirlenmiştir. Mineraller içerisinde potasyum daha yüksek miktarda bulunmuştur (1180 mg 100 g). Kalsiyum daha düşük miktarda gözlenmiştir (188 mg 100g). Ayrıca demir (157.5 mg 100 g) ve sodyum (85.3 mg 100g)'a rastlanmıştır.

1998 yılında Takruri ve Dameh (41) tarafından yürütülen bir çalışmada beş farklı (Hindistan, Suriye-1, Suriye-2, Türkiye ve Ürdün) *N. sativa* tohumlarının taşıdığı mineraller bu beş bölgede yetişen tohumlarda demir (91-130 mg kg<sup>-1</sup>), bakır (15-24 mg kg<sup>-1</sup>), sodyum (419-550 mg kg<sup>-1</sup>), potasyum (4423-5606 mg kg<sup>-1</sup>), kalsiyum (1544-2005 mg kg<sup>-1</sup>), çinko (56-66 mg kg<sup>-1</sup>) ve fosfor (5023-5769 mg kg<sup>-1</sup>) minerallerine rastlanmıştır. Türkiye kaynaklı tohumlarda ise Fe (130 mg/kg), Cu (18 mg/kg), Na (440 mg/kg), K (5380 mg/kg), Ca (1544 mg/kg), Zn (56 mg/kg), P (5267 mg/kg) olarak belirlenmiştir.

2003 yılında Gupta ve arkadaşları (59) tarafından yapılan bir çalışmada *N. sativa*'nın mineral içeriği incelenmiştir. Sonuçlar tohumların mineral içeriği açısından oldukça yüksek konsantrasyonlara sahip olduğunu göstermiştir. Demir, mangan, çinko, bakır, kobalt, nikel, molibden, kurşun, kalsiyum, magnezyum, alüminyum, silisyum ve fosfor elementlerine rastlanmıştır. En yüksek miktarda bulunan element çinko iken (ort. 64.9 mg/kg) kobalt en düşük miktarda (0.19 mg/kg) bulunan element olarak saptanmıştır.

2003 yılında Al-Bataina ve arkadaşları (136) tarafından yapılan bir çalışmada *N. sativa* tohumlarında değişik konsantrasyonlarda magnezyum, alüminyum, fosfor,

kükürt, klor, potasyum, kalsiyum, mangan, demir, bakır ve çinko elementlerine rastlanmıştır. Klor (513 mg/kg) ve demir (220 mg/kg) en yüksek miktarda bulunan mineraller olarak saptanmıştır.

Al- Saleh ve arkadaşları tarafından 2006 yılında (43) yapılan bir araştırmada Etiyopya, Hindistan, Suudi Arabistan, Suriye ve Sudan bölgelerinden alınan *N. sativa* tohumlarındaki selenyum seviyeleri incelenmiştir. Bütün alınan örneklerdeki ortalama selenyum konsantrasyonu  $0.17 \pm 0.10$  mg/kg taze ağırlık olarak saptanmıştır.

### 2.2.8 Lipaz

Lipazlar (gliserol ester hidrolazlar) çok yönlü katalizörlerdir ve hidroliz, sentez veya ester bağlarındaki değişimi kapsayan bir takım biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabilirler. Lipazların ayrıca deterjan preparatlarında kullanımı için uygun olduğu bildirilmiştir. Lipazların biyoteknolojik yararlarından dolayı, bunların üretimlerini düzenleyen faktörler üzerinde geniş çaplı araştırmalar yapılmıştır. Fungal kültürlerin lipolitik aktivitesi, türlerin belirli kültür şartlarında (pH, inkübasyon sıcaklığı, kültür yaşı ve lipid substratının karakteri gibi) üretilmiş olan suşlara bağlıdır. 1995 yılında Saad tarafından yapılan bir araştırmada *N. sativa* tohumlarından *Aspergillus tamarii* tarafından ekstraselüler lipaz üretimi ve ticari deterjanlarla uygunluğu araştırılmıştır. Üretim için en uygun şartlar; kültür periyodu 6 gün, kültür sıcaklığı 30°C, pH 7.0 (0.1 mol/L fosfat tamponu) ve %0.15 zeytin yağı olarak belirlenmiştir. Ham enzim yüksek pH stabilitesine sahipken termostabil değildir. Enzimin, bazı ticari deterjanların varlığında aktivitesinin %90'ından daha fazlasını koruduğu saptanmıştır (137).

Üstün ve arkadaşları tarafından 1990 yılında (62) yapılan bir çalışmada tohumlarda lipaz enziminin varlığının, uygun sıcaklıkta enzimatik hidrolizle yağın içerdiği serbest miktarını %40 ya da daha fazlasına çıkardığı saptanmıştır.

Yapılan bir diğer çalışmada *N. sativa* tohumlarında bulunan doğal lipaz tarafından katalizlenen *N. sativa* yağının lipolizlerinin kinetiği 20-90°C arasında çalışılmıştır. Sonuçlar göstermiştir ki işlem sıcaklığındaki artış yağ asidi oluşumunu arttıracaktır. Yağ asitlerinin net verimi, lipaz aktivitesi ve nem içeriği yüksek sıcaklıktan etkilenmedikçe artabilecektir. Böylece öğütülmüş tohumlardaki lipoliz işlemi optimum sıcaklık ve su konsantrasyonunda yürütülürse yağ asidi net verimi maksimum seviyeye ulaşabilecektir (60).

Mert ve arkadaşları tarafından 1995 yılında (138) yapılan bir araştırmada yağ asitlerinin gliserole esterifikasyonunda *N. sativa* tohum doğal lipazının olası etkileri araştırılmıştır. Parametrelerin işleme etkileri ve reaksiyon üzerine enzim selektifliği belirlenmiştir.

Dandik ve Aksoy tarafından 1996 yılında (139) yapılan bir çalışmada işlem parametreleriyle ilişkili olarak oleokimyasal reaksiyonlarda *N. sativa* tohum lipazının olası uygulamaları araştırılmıştır. Araştırılmış enzim-katalizli reaksiyonlar kullanılan aşırı ısıtılmış yağın hidrolizi ve oleik asidin gliserol ve metanolle esterifikasyonu olmuştur. Bütün reaksiyonlar solvan olmadan yürütülmüş ve lipaz kaynağı olarak preslenmiş tohum kullanılarak katalizlenmiştir. Preslenmiş tohumla katalizlenen hidroliz reaksiyonları reaksiyon üzerinde benzer etkiler gösteren iki non-iyonik yüzey aktif maddelerin varlığında tamamlanmıştır. Oleik asidin metanolle esterifikasyonu meydana gelen su uzaklaştırılmaksızın gerçekleştirilmiştir. Esterin en yüksek verimi 1:1.5 metanol:oleik asit molar oranı ve toplam ağırlık üzerinden %50 preslenmiş tohum içeriği kullanılarak 45°C'de yürütülen esterifikasyon reaksiyonuyla elde edilmiştir. Gliserolün oleik asitle esterifikasyonu meydana gelen su uzaklaştırılmadan ya da uzaklaştırılarak gerçekleştirilmiştir. Meydana gelen su uzaklaştırılmadan yapılan işlem 1:4.5, 2:1, 3:1 ve 4:1 gliserol:oleik asit molar oranda yürütülmüştür. Oleik asidin en yüksek oluşumu 45°C'de 4:1 gliserol:oleik asit molar oranı ve yağ ağırlığı üzerinden %45 preslenmiş tohum içeriği ile gerçekleştirilen reaksiyonda elde edilmiştir. Reaksiyon ürünü olarak %15.7 triolein, %15.8 oleik asit, %37.3 diolein ve %31.2 monoolein oluşmuştur. En iyi triolein sentezleri 55°C 'de gerçekleştirilmiştir. Meydana gelen su uzaklaştırılarak toplam ağırlık üzerinden %45 preslenmiş tohum içeriği ile 1:3 sitokiyometrik gliserol/oleik asit molar oranında elde edilmiştir. Triolein verimi en son %81.7 olarak elde edilmiştir.

El ve arkadaşları tarafından 1998 yılında (61) yapılan bir çalışmada *N. sativa* tohumlarının asetonlu tozu tarafından katalizlenen ayçiçeği yağının solvensiz gliserolizi araştırılmıştır. En yüksek kısmi açılgliserol verimi 60°C'de elde edilmiştir. Gliseroliz reaksiyonları yağın gliserole oranının 1:1, 2:1 ve 3:1 olduğu molar oranlarda yürütülmüş, aseton tozu miktarı yağ ağırlığının %30'u civarında kullanılmış ve sıcaklık 60°C'de tutulmuştur. Reaksiyon 2 saat sonra dengeye ulaşmıştır. Ürünlerin en yüksek

kısmi açılıgliserol içeriği %66 (1:1 molar oran) ve %60 (2:1 molar oran) olarak saptanmıştır.

Akova ve Üstün tarafından 2000 yılında (140) yapılan bir araştırmada 25°C'de pH değerinin 5.0-8.0 arasında değiştiği fosfat tampon solüsyonlarında Celite 535 üzerinde adsorbsiyonla *N. sativa* tohumlarının lipazı immobilize edilmiştir. Lipazın adsorbsiyonu için saturasyon kapasitesi 14.5'ten 24.3'e yükselmiştir. Adsorbsiyon pH'sı olarak Celite 8'den 5'e inmiştir. Fakat adsorbsiyon sabiti sabit kalmıştır ve  $1.92 \times 10^5$  M-1 olarak belirlenmiştir. Adsorbe edilen enzimler adsorbsiyon ortamının pH'sına bağlı olarak farklı aktivite değerleri göstermiştir. pH 6'da immobilize edilen enzimler en yüksek aktivite değeri göstermiştir.

Tüter ve arkadaşları tarafından 2003 yılında yapılan bir çalışmada yağı uzaklaştırılmış tohumlardan izole edilen *N. sativa* tohum lipazı kısmi olarak saflaştırılmış ve transesterifikasyon reaksiyonlarında katalizör olarak kullanılmıştır (64). Aynı araştırmacıların bir başka çalışmalarında *Borago* (*Borago officinalis* L.) yağının seçici hidrolizi, borago yağı, su ve hekzan karışımında 40°C'de *N. sativa*'nın iki lipaz preparatıyla katalizlenmiştir. 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. En iyi sonuçlar 330 U/g yağ *Nigella* PL ve 200 U/g yağ *Nigella* CPL ile yürütülen deneylerle elde edilmiştir. *Nigella* PL'den 330 U/g yağ kullanıldığı zaman 8 saat sonra GLA seviyesi başlangıç yağında %21.9'dan ürün karışımının TAG ve DAG fraksiyonlarında sırasıyla %29.6 ve %41.8'e yükselmiştir (toplam hidrolize olmamış açılıgliserol fraksiyonundaki GLA'dan 1.5 kat daha zengin). *Nigella* CPL'nin 200 U/g yağ enzim konsantrasyonunda 77 saat sonra DAG fraksiyonunda maksimum GLA zenginliği elde edilmiştir. DAG'ın GLA içeriği neredeyse 1.6 kat zenginliğe tekabül edecek şekilde %34.6'ya yükselmiştir. *N. sativa* lipazlarının TAG'ın GLA kısmının hidrolizine olan negatif spesifitesi GLA taşıyan yağların hidrolize olmamış açılıgliserol fraksiyonlarında bu asidin zenginleştirilmesi için kullanılabileceği belirtilmiştir (63).

*N. sativa* dışında *N. damascena* tohumlarının da lipaz içeriği incelenmiştir. Rudyuk ve Korchagina yaptıkları çalışmalarda bu konuya değinerek çeşitli bilgiler ortaya koymuşlardır.

Bu araştırmacılar tarafından 1976 yılında yapılan araştırmada *N. damascena* tohumlarından lipazın izolasyon koşulları ve saflaştırılması üzerine çalışmalar yapılmıştır. Amonyum sülfat ve aktif kömür tarafından lipazın bir alkali ekstresinin muamelesi yüksek saflık ve yüksek enzim verimi sağlamıştır. Sephadex kullanılarak yapılan jel filtrasyon %70-80 protein içeren bir lipolitik fraksiyon oluşturmuştur (141). Aynı araştırmacılar 1977 yılında yaptıkları bir diğer çalışmada ise *N. damascena* tohumlarının lipaz aktivitesi üzerine bazı metal iyonlarının etkisini çalışmışlardır. Bitki tohumlarından izole edilen lipaz aktivatörleri 0.01-0.02 M konsantrasyonda reaksiyon karışımında var olan  $Co^{+2}$  ve  $Ni^{+2}$  iyonları olmuştur. Daha yüksek konsantrasyonlarda (0.04-0.10 M) lipaz aktivitesi inhibe edilmiştir. İnhibisyon EDTA ve sodyum dietiltiyokarbamat tarafından kısmen azaltılabilmıştir. Ag iyonu lipaz aktivitesini anlamlı derecede azaltmıştır. Diğer metal iyonları ( $Cu^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Ba^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Fe^{+2}$ ) hiçbir etki göstermemiştir ya da lipaz aktivitesini hafif bir şekilde inhibe etmiştir (142). 1979 yılında yaptıkları bir başka çalışmada ise yağ, safra asitleri ve tiyol reaktifinin *N. damascena* tohumlarının lipaz aktivitesi üzerine etkilerini çalışmışlardır. Enzimin lipolitik etkisi %0.4 konsantrasyonda serbest yağ asitleri tarafından inhibe edilmiştir. Lipazın oleik asit tarafından inhibisyon derecesi inkübasyon karışımındaki (%0.01-0.4 konsantrasyon limitleriyle) konsantrasyon artışıyla yükselmiştir. Oleik asidin inhibitör etkisi koleik asidin eklenmesinden sonra azalmıştır. Monoiyodoasetik asit ve sodyum florür hiçbir konsantrasyonda *Nigella* lipaz aktivitesini inhibe etmemiştir. Farklı iyot konsantrasyonları lipaz aktivitesini güçlü bir şekilde inhibe etmiştir (143).

### 2.2.9 Protein ve amino asitler

Babayan ve arkadaşları tarafından 1978 yılında (20) yapılan bir çalışmada *N. sativa* tohumundaki protein hidrolizatının aminoasit analizi gaz kromatografisi kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar saf proteinin % 21.26 oranında olduğunu göstermiştir. Dokuz esansiyel aminoasit içeren onbeş aminoasitin varlığı saptanmıştır. Aminoasitlerin alanin, valin, glisin, izolösin, prolin, treonin, serin, aspartik asit, metiyonin, fenilalanin, glutamik asit, tirozin, lizin ve arjininden oluştuğu saptanmıştır. Arjininin ana aminoasit olduğu anlaşılmıştır.

1992 yılında Al-Jassir (58) tarafından yapılan bir çalışmada Suudi Arabistan'da yetişen *N. sativa* tohumlarının %20.85 protein, %31.94 toplam karbonhidrat içerdiği

gözenmiştir. Tohumlarda sekizi esansiyel olmak üzere toplam 17 aminoasit rastlanmıştır. Ana aminoasit glutamik asit olarak belirlenmiştir. Bunu arjinin, aspartik asit, lösin ve glisin izlemiştir. Bu aminoasitler toplam aminoasitlerin %54'ünden daha fazlasını oluşturmuştur. Sistin ve metiyonin tohumda bulunan küçük aminoasitlerdir. Triptofana rastlanmamıştır.

Nergis ve Ötleş tarafından 1993 yılında (40) yapılan bir araştırmada *N. sativa* tohumlarının içerdiği ham protein miktarı %20.2 olarak saptanmıştır.

1998 yılında Takruri ve Dameh (41) tarafından yürütülen bir çalışmada beş farklı (Hindistan, Suriye-1, Suriye-2, Türkiye ve Ürdün) *N. sativa* tohumlarının taşıdığı ham proteinin 216 g ve karbonhidratların 249 g olduğu saptanmıştır.

### **2.2.10 Diğer bileşikler**

*N. sativa* yağının metanollü kısmı yeni bir bileşen 2-(2-metoksipropil)-5-metil-1,4-benzenediol için saflaştırılmıştır. Bu bileşenin kan pıhtılaşmasında inhibitör etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır (144).

2001 yılında Joshi ve arkadaşları (145) tarafından yapılan bir araştırmada *N. sativa* tohumlarının kloroform ekstresinin yeni bir izobenzofuranon türevi içerdiği saptanmıştır. Bileşiğin yapısı 5-hidroksi-2,2-dimetil-2,8-dihidro-6-H-furo (3,4-g) kromen-6-on olarak aydınlatılmıştır.

## **2.3 *Nigella* Türleri Üzerinde Yapılmış Biyolojik Aktivite Çalışmaları**

Literatürde farklı *Nigella* türleri üzerinde çok sayıda fitokimyasal araştırmalar yapıldığı yukarıda anlatıldığı üzere görülmektedir. Bu kimyasal içerik araştırmalarının yanı sıra aşağıda belirtilen etkiler yönünden de çeşitli araştırmalar yapıldığı görülmektedir.

### **2.3.1 Antioksidan Etki**

Yapılan in vitro ve in vivo araştırmalar sonucunda bitkinin antioksidan etkilere sahip olduğu gösterilmiştir.



### 2.3.1.1 İn vitro antioksidan etki

*N. sativa* tohumları ve *Rosmarinus officinalis* L. ekstresinin mısır yağının otooksidasyonu üzerine etkileri araştırılmıştır.  $\beta$ -karoten emülsiyonu substrat olarak kullanıldığı zaman iki bitkinin de hem sulu hem de etanollü ekstreleri antioksidan aktivite göstermiştir. Ayrıca 100°C'de mısır yağı içerisindeki trigliseritlerin oksidatif bozunmasını geciktirmiştir. Etanollü ekstrelerin antioksidan aktivitesinin sulu ekstreninkinden daha fazla olduğu saptanmıştır. Dört ekstrenin arasında etanollü *N. sativa* tohumu ekstresi yağ oksidasyonunu önleme açısından diğerlerine üstünlük sağlamıştır ve antioksidan aktivitenin *t*-bütilhidrokinonla (2-*t*-butilbenzen-1,4-diol) aynı olduğu saptanmıştır (66).

2000 yılında Burits ve Bucar (27) tarafından yapılan bir araştırmada *N. sativa* tohumlarının uçucu yağının antioksidan aktivitesi üzerinde çalışılmıştır. Araştırma sonucunda timokinon, karvakrol, *t*-anetol ve 4-terpineol önemli ölçüde radikal süpürücü aktivite göstermiştir. Bu dört bileşen ve uçucu yağ difenilpikrilhidrazil deneyinde test edildiği zaman çeşitli antioksidan aktivite göstermiştir. Söz konusu bileşenler ve yağ aynı zamanda lipozomlardaki non-enzimatik lipit peroksidasyon deneyi ve deoksiriboz degradasyon deneyi için etkili bir OH radikal süpürücü ajan olarak rol oynamışlardır. *N. sativa* tohumlarının altı farklı ekstresi ve ticari olarak oluşturulan bir sabit yağdan elde edilen uçucu yağın GC-MS analizleri neredeyse aynı kalitatif etkilerle birlikte antioksidan etkiler göstermiştir. Farklılıklar başlıca kantitatif bileşimde görülmüştür.

*N. sativa* tohumları bileşenlerinden timol, timokinon ve ditimokinonun süperoksit anyon radikali ( $O_2^-$ ), hidroksil radikali ( $HO^\cdot$ ) ve singlet oksijen ( $^1O_2$ ) gibi radikal oksijen türleri (ROS)'nden meydana gelen reaksiyon üzerine etkisi kemilüminesens ve spektrofotometrik metodlarla test edilmiştir. Tüm test edilen bileşenler çeşitli ROS süpürücüleri olarak görev yapmışlardır (146).

*N. sativa* tohumunun uçucu yağının doğal ana bileşeni ve *tert*-bütilhidrokinon (TBHQ)'un yapıca ilişkili sentetiği timokinonun antioksidan ve prooksidan etkileri in vitro olarak araştırılmıştır. Timokinon ve TBHQ, demir bağımlı mikrozomal lipit peroksidasyonunu sırasıyla 16.8 ve 14.9  $\mu$ M olan ortalama inhibitör konsantrasyon ( $IC_{50}$ ) değerleri ile konsantrasyon bağımlı bir şekilde etkili olarak inhibe etmiştir. TBHQ 2,2'-difenil-*p*-pikrilhidrazil (DPPH $^\cdot$ ) radikalinin süpürücüsü ( $IC_{50}=5\mu$ M, timokinondan 200 kez daha aktif) olarak ve 4.6 $\mu$ M  $IC_{50}$  ile hidroksil radikali

süpürücüsü olarak (timokinondan neredeyse 10 kez daha aktif) timokinondan daha güçlü bulunmuştur. Timokinonun bir TBHQ'nun 18.1µM olan IC<sub>50</sub>'sine karşılık olarak 3.35µM IC<sub>50</sub> ile bir superoksit anyon süpürücü olarak TBHQ'dan daha aktif olduğu gözlenmiştir. Sonuçlar timokinon ve TBHQ'nun farklı serbest radikallerin süpürücü yeteneği vasıtasıyla güçlü antioksidan potansiyeli olduğunu göstermektedir. Daha ötesi veriler timokinonun etkili bir superoksit anyon süpürücü olarak rol oynadığını belirtmektedir (147).

*N. sativa* ham yağı ve fraksiyonları (nötral lipitler, glikolipitler ve fosfolipitler) ham yağların başlangıçta peroksit değerleriyle olduğu kadar bunların çoklu doymamış yağ asitleri, sabunlaşmayan kısım ve fosfolipitlerin toplam içeriği ile bağlantılı bir şekilde yapılan çalışmalarda güçlü bir in vitro radikal süpürücü aktivite göstermiştir (29).

Yapılan bir başka çalışmada peritoneal makrofajların sulu ekstresi veya *N. sativa* tohumlarının ekstresinin kaynamış fraksiyonu ile inkübasyonu, *Escherichia coli*'nin lipopolisakariti ile aktive edildiğinde NO üretiminde doz bağımlı düşüşe neden olmuştur (73).

Timokinon ayrıca izole hepatositleri L-alanin aminotransferaz (ALT) ve alkalın fosfataz (AP) azalışıyla kanıtlandığı şekilde tert-bütildihidroperoksit ile oluşturulan toksisiteye karşı anlamlı bir şekilde korumuştur (148).

Başka bir çalışmada timokinon doz ve zaman bağımlı bir yolla NO sentezi için bir parametre olan nitrit üretimini azaltmıştır. Hücrenin yaşamsallığını etkilemeksizin LPS ile stimüle edilmiş makrofajların supernatantlarındaki INOS'ların protein sentez seviyesi ve gen ekspresyonunu azaltmıştır (149).

Bir başka çalışma polimorfonükleer lökositlerin timokinon ile stimüle edilmesi etkin süperoksit radikal süpürücü özelliğine işaret edecek şekilde fitokimyasal, biyokimyasal yolla veya Ca iyonofordan kaynaklanan süperoksit anyon radikale karşı koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymuştur (150).

*Artemisia herba-alba*, *Ferula hermonis*, *Hibiscus sabdariffa*, *N. sativa*, *Teucrium polium*, *Trigonella foenum-graecum* ve *Allium sativum*'u kapsayan yedi tıbbi bitkinin protein degradasyonu, lipid peroksidasyonu, eritrosit deformasyonu ve 60 dk boyunca 37<sup>0</sup>C'de 10mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye maruz bırakılan eritrositlerin ozmotik fragilitesi üzerine etkileri çalışılmıştır. Eritrositlerin *N. sativa* ve *A. sativum* ile preinkübasyonu

eritrositleri protein degradasyonu, deformasyon hasarına karşı korumuştur ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den kaynaklanan ozmotik fragiliteyi azaltmıştır. Fakat diğer bitkiler eritrositleri bu zararlardan korumada etkili olmamıştır. *F. hermonis*, *H. sabdarifa*, *N. sativa*, *T. polium* ve *A. sativum* eritrositleri lipid peroksidasyonuna karşı korumuştur. Sonuçlar, eritrositlerin reolojik özellikleriyle uyum içerisinde oksidatif olarak zarar görmüş hücrel proteinlerin önemini göstermektedir. Bu şekilde anti-protein-oksidan aktiviteye sahip tıbbi bitkilerin (Örneğin; *N. sativa* ve *A. sativum*) özellikle serbest radikallerle ilişkili patolojik durumlarda reolojik açıdan yararlı olabileceğini göstermektedir (151).

### 2.3.1.2 İn vivo antioksidan etki

CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan toksisitede *N. sativa* yağı serum lipit profilini düzelterek (34, 67) hepatotoksositeye karşı koruma sağlamıştır. Yükselmiş K ve Ca seviyelerini düşürerek, azalmış RBC, WBC, PCV ve Hb seviyelerini iyileştirerek (152, 153), yükselmiş LPD ve karaciğer enzim seviyelerini düşürerek ve azalmış anti oksidan enzim seviyelerini arttırarak (154) *N. sativa* yağı anti oksidan durumu iyileştirerek tavşanlarda CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan karaciğer fibrozisini önlemiştir (28).

Gentamisin ile oluşturulan toksisitede *N. sativa* yağı ile tedavi GSH konsantrasyonu ve renal korteksteki toplam anti oksidan durumu içeren süpürücü savunma sistemindeki artışla birlikte nefrotoksitenin biyokimyasal ve histolojik göstergelerini doz-bağımlı düzelttiği yapılan bir başka çalışmada ortaya konmuştur (30).

Diğer bir in vivo araştırma ratlarda oral verilen *N. sativa* ekstresinin KBrO<sub>3</sub> aracılıklı renal oksidatif stres profilaksisi, renal glutatyon içeriği ve antioksidan enzimlerdeki belli iyileşmelerle birlikte renal LPD ve oksidatif strese anlamlı bir düşüşle sonuçlanmıştır(30).

### 2.3.1.3 Timokinonun in vivo antioksidan etkisi

Yapılan bir çalışmada CCl<sub>4</sub> enjeksiyonundan 1 saat önce farelerin timokinon ile profilaktik tedavisi, yükselmiş serum enzim seviyelerindeki anlamlı bir azalış ve hepatik GSH içeriğindeki anlamlı artışla kanıtlandığı gibi CCl<sub>4</sub>'ün hepatotoksitesini düzeltmiştir (27, 144). *p*-simen veya  $\alpha$ -pinen, diğer uçucu yağ bileşenleri hiçbir değişim oluşturmamıştır. Timokinonun ratlarda doksorubusin ile oluşturulan nefrotoksosite, kardiyotoksosite ve oksidatif stres üzerine etkisi göstermiştir ki timokinon uygulanması

nefrotik hiperlipidemi ve hiperproteinürinin ilerleyişini önlemiştir ve normale karşı oksidatif stresin biyomarker değerlerini onarmıştır (91).

Bir başka çalışma göstermiştir ki ratların hem *N. sativa* yağı hem de timokinon ile muamelesi plazma trigliserit seviyeleri, lipid peroksidasyonu, kolesterol ve anti oksidan aktiviteleri iyileştirme yoluyla metiyonin ile oluşturulmuş HHcy'ye karşı koruma sağlamıştır (30).

2003 yılında yapılan bir çalışmada ratlara iskemi/reperfüzyona uğradığı zaman *N. sativa* yağı veya timokinonun enjeksiyonu LDL, GSH ve SOD seviyelerini normale dönüştürmeye çalışmıştır; timokinon yağdan daha yüksek bir etki göstermiştir (155).

*N. sativa* ile tedavinin CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan karaciğer fibrozisi olan ratlarda hepatoselüler nekroz ve dejenerasyonu azalttığı; fibrozisi önlediği yapılan bir çalışmada ortaya konmuştur (28). *Schistosoma mansoni* enfeksiyonu kromozomal bozuklukların görülme sıklığındaki anlamlı bir artışla genotoksik etkiler oluşturmuştur (30). İlginç bir şekilde *S. mansoni* ile enfekte olan farelere *N. sativa* yağı veya saflaştırılmış timokinon verilmesi kromozomal bozuklukların yüzdesindeki ve kromozom delesyonları ve tetraploidi sıklığındaki azalma ile kanıtlanarak enfeksiyon ile oluşturulan genotoksosite üzerinde koruyucu etki göstermiştir (156).

### 2.3.2 Antiallerjik Etki

El-Dakhakhny tarafından 1965 yılında (71) yapılan bir çalışmada *N. sativa* tohum uçucu yağından izole edilen ditimokinon dimeri, nigellonun bronşiyal astımı olan hastalara ağızdan verildiği zaman hastalarda semptomları baskıladığı gözlenmiştir. Bu çalışmayı takiben bronşiyal astımı olan çocuklara ve yetişkinlere nigellon verilmiştir. Hiçbir toksisiteye rastlanmadan etkili sonuçlar elde edilmiştir.

Bir klinik çalışmada alerjik rinit, bronşiyal astım, atopik egzema gibi alerjik hastalıkları taşıyan hastalara *N. sativa* yağının verilmesi sonucunda IgE'de ve eozonofil sayısında, plazma ve ürin endojen kortizol seviyelerinde azalma gözlenmiştir (71).

*N. sativa* tohumunun anti-allerjik etkileri anti-histaminik etkileriyle ilişkili bulunmuştur. İn vitro çalışmalar bunu desteklemiştir. *N. sativa*'nın sulu ekstresi daha önceden kasılı duruma getirilen trake zincirlerinde gevşetici ve anti-histaminik etkiler göstermiştir. Bu etki normal ve kalsiyumsuz Krebs çözeltisi varlığında elde edilmiştir. Bu durum bitkinin kalsiyum kanal bloke edici etkisinin gevşetici etkisiyle ilişkisi

olmadığını göstermiştir. Bu etkilerin bir kalsiyum kanal blokörü olan verapamilin oluşturduğu etkiye benzediği düşünülmüştür. KCl ile oluşturulmuş kontraksiyonun olmadığı durumlarda herhangi bir etki saptanmamıştır (15, 92). Ratların peritoneal mast hücrelerinin histamin salınımı üzerine nigelonun güçlü inhibitör etkisi farklı etkenler tarafından stimüle edilmektedir. Bu etkenler antijen duyarlı hücreler, bileşen 48/80 ve Ca-iyonosfer A23187 olarak sayılabilir. Bu inhibitör etkinin histamin salınımını tetikleyen bir madde olarak bilinen protein kinaz C inhibisyonu ile gerçekleşen intraselüler Ca azalışı aracılıklı olabileceği düşünülmüştür. Bu sayılan farmakolojik etkiler petrol eteri fraksiyonunda ham ekstreden on kat daha yüksek bulunmuştur (30, 70).

Kobaylardan izole edilen trakeal zig-zag preparatı üzerindeki etkisi araştırıldığında, timokinon daha önceden karbakol ile kontrakte edilen trake düz kasının gerilimi üzerinde konsantrasyon-bağımlı azalmaya sebep olmuştur. Timokinon kobaydan izole edilen trakeal ve ince bağırsak düz kaslarında histamin ve serotoninin baskılayıcı etkilerini tamamen kaldırmıştır. Timokinonun bu etkilerinin en azından kısmen araşidonik asit metabolizmasında lipooksijenaz üretiminin inhibisyonu ve belki de histamin ve serotonin reseptörlerinin non selektif blokajı aracılıklı olabileceği düşünülmüştür (30).

Prelinik ve klinik çalışmalar ayrıca *N. sativa* tohumlarının anti-histaminik etkilerini ortaya koymuştur. Mukozal histamin içeriğinde anlamlı bir artışa sebep olan etanolün gastrik ülser modellerinde oral uygulanması ülser oluşumundan önce *N. sativa* yağı alan ratlarda etanol gruplarıyla karşılaştırıldığında %53.56'lık bir koruma oranıyla gastrik mukozal histamin içeriğinde anlamlı bir azalma sağlamıştır (154).

Timokinon için yukarıda bahsedilen gevşetici etkilere kanıt olarak bir başka çalışmada stimulan etki gösterilmiştir. Bu çalışmada ürethanla anesteziye edilmiş kobayların solunum sistemi üzerinde *N. sativa* uçucu yağının etkileri timokinonunkilerle karşılaştırılmıştır. 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 (94). Diğer taraftan timokinonun intravenöz uygulanması solunum hızında hiçbir etki oluşturmaksızın intratekal basınçta anlamlı artışlar oluşturmuştur. Ayrıca *N. sativa* yağının farklı aktif bileşenlerinin histamin

salınımı üzerinde farklı etkiler oluşturduğu düşünülmüştür. *N. sativa* tohumlarının ham ekstresinin aktif içeriği nigellon Ca kanal blokörü olarak görev yapmaktadır. Bu durumun *N. sativa*'nın diyare, astım ve hipertansiyondaki geleneksel terapötik kullanımlarını açıklayabileceği düşünülmüştür (30).

### 2.3.3 Antienflamatuar Etki

#### 2.3.3.1 İn vitro antienflamatuar etki

Timokinon ve *N. sativa*'nın sabit yağı Ca iyonofor A23187 ile stimüle olmuş rat peritoneal lökositlerindeki araşidonat metabolizmasının hem siklogenaz (COX) hem de 5-lipooksijenaz(5-LO)'ı inhibe etmiştir. Sırasıyla tromboksan B<sub>2</sub>, LTC<sub>4</sub> ve LTB<sub>4</sub>'de doza bağlı inhibisyon görülmüştür. Timokinon daha yüksek etki göstermiştir. Her iki madde ayrıca beyin fosfolipid lipozomlarındaki non enzimatik peroksidasyonu inhibe etmiştir. Yine timokinon 10 kat kadar daha etkili bulunmuştur. *N. sativa* sabit yağının eikosanoid üretimi ve lipid peroksidasyonu üzerine inhibitör etkisi timokinonunkinden daha büyüktür. Doymamış yağ asitleri gibi diğer bileşenlerin *N. sativa* yağının anti oksidan ve anti eikosanoid etkilerine katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca Ca veya iyonoforla uyarılmış polimorfonükleer lökositlerin (nötrofiller) *N. sativa* ekstresi, nigellon veya timokinondan biriyle in vitro tedavisi 5-LO ürünlerinde ve 5-hidroksi-eikoza-tetra-enoik asit üretiminde konsantrasyona bağlı inhibisyon oluşturmaktadır (21, 30, 72).

Kacem ve Meraihi tarafından 2006 yılında (157) yapılan bir çalışmada Cezayir'in güneyinden toplanmış *N. sativa* tohumlarından su distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ ele edilmiştir. Bu uçucu yağın insan nötrofil elastaz aktivitesi üzerine etkilerini araştırmışlar ve inhibitör etkinin doza bağlı olarak görüldüğünü, en yüksek inhibisyonun 5.8 mg/ml dozda gözlemlendiğini belirlemişlerdir. Ayrıca uçucu yağın ana bileşenleri timokinon, timol, karvakrol, karvon ve *p*-simenin çeşitli konsantrasyonlarda etkiside araştırmışlar ve karvakrolün IC<sub>50</sub> değerinin 12 µM konsantrasyon gibi çok düşük bir değerde görüldüğünü saptamışlardır. Araştırmacılar uçucu yağın başlıca biyoaktif bileşeninin karvakrol olduğunu belirtmişler ve doğal bir antielastaz ajan olarak fitoterapide, bazı patolojik durumlarda (Örn: kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve amfizem gibi) uygulanabileceğini belirtmişlerdir.

### 2.3.3.2 İn vivo antienflamatuar etki

*N. sativa* bitkisinin bileşenlerinin deneysel allerjik ensefalomyelit (EAE), kolit ve artriti kapsayan birkaç enflamatuar hastalıkta antienflamatuar etkilerin değerini arttırdığı gösterilmiştir. Ensefalomyelitli hayvanlar timokinon aldığı zaman daha yüksek glutasyon seviyesi görülmüştür ve kontrole kıyasla herhangi bir prevasküler enflamasyon görülmemiştir. Bu verilerin timokinonun EAE modellerindeki terapötik potansiyeliyle ilişkili olduğu bulunmuştur ve insanlarda multiple skleroz tedavisinde olası etkisine dikkat çekilmiştir (30).

Yapılan çalışmalar göstermiştir ki *N. sativa* yağı artritin etkilerini hafifleten antienflamatuar etkilere sahiptir (15). Bu incelemelerle uygunluk içerisindeki çalışmalar merhem formundaki harici uygulamalarda tohumların antienflamatuar aktivitesinin cilt allerjisi yapmaksızın ticari ürünlere benzer etki gösterdiğini ortaya koymuştur (71).

*N. sativa* yağının emülsyonunun enjeksiyonu lipopolisakkarite cevap olarak endotoksin şokunda anlamlı bir azalmaya neden olmuştur ve karragenan veya kroton yağının neden olduğu ödemi önemli derecede inhibe etmiştir (15, 31).

*N. sativa* tohumlarının sulu ekstresi sıçan makrofajları tarafından nitrik oksit üretimindeki in vitro etkisinin çalışıldığı bir araştırmada sıçan peritoneal makrofajları, ekstre ile preinkübe edilmiştir ve sonra *E. coli* lipopolisakkaritleri ile aktive edilmiştir. 24 saat sonra nitrik oksit (NO) üretimi spektrofotometri ile ölçülmüştür. Bitki ekstresi NO üretiminde doz bağımlı bir azalmaya sebep olmuştur. Diyaliz edilen ekstre preparatı NO üretimini etkilememiştir. Ancak, ekstrenin kaynatılmış fraksiyonu tüm ekstreyle karşılaştırıldığında gözle görülebilir şekilde NO üretiminde doz bağımlı bir inhibisyona sebep olmuştur. Bu sonuçlar göstermektedir ki, *N. sativa* tohumlarının sulu ekstresi sıçan makrofajları tarafından NO üretimi üzerinde inhibitör etkilidir ve aktif bileşenleri doğada non-protein haldedir. Buna göre NO pro-inflamatuar mediyatörüdür, bu çalışma *N. sativa* tohumlarının romatizma tedavisindeki geleneksel kullanımını doğrulamaktadır (73).

İran kaynaklı siyah kimyon tohumunun buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın bileşimi, analjezik ve antienflamatuar özellikleri için araştırılmıştır. GC/MS ile yağ analizinden sonra %0.4 (h/a) verimle 20 bileşik saptanmıştır. Bunların arasında *p*-simen (%37.3) ve timokinon (%13.7) ana bileşenlerdir. Asetik asit indüklü kıvrınma, formalin ve ışıkla kuyruk yakma testleri kullanılmıştır. Anti-inflamatuar aktivite

ratlarda karragenan indüklü pençe ödem ve farelerde kroton yağı indüklü kulak ödem kullanılarak değerlendirilmiştir. Uçucu yağın yapılan testlerde önemli bir analjezik etki ürettiği bulunmuştur. Opioid antagonisti olan Nalokson, formalin testinde gözlenen analjezik etkiyi tersine çevirememiştir. Karragenan testinde 100, 200 ve 400µl/kg dozlarda tohum uçucu yağının oral uygulanması önemli ölçüde anti-inflamatuar etki göstermesine rağmen, aynı dozların intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonu karragenan indüklü pençe ödemi inhibe etmiştir ( $p < 0.001$ ). 10 ve 20 µl/kulak dozlarında tohum uçucu yağı kroton yağı indüklü ödemi azaltabilmiştir. Opioid reseptörlerden başka diğer mekanizmaların tohum uçucu yağının analjezik etkilerinde de rol oynadığı düşünülmektedir. Yağın sistemik ve lokal uygulamaları anti-inflamatuar aktivite göstermiştir ve ana bileşen olan timokinon bu farmakolojik etkilerinde önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir (74).

*N. sativa* tohumlarından elde edilen uçucu yağın ana aktif bileşeni olan timokinonun enflamasyon ve bronşiyal astım üzerinde immün stimülatör ve anti-inflamatuar etkili olduğu açıklanmıştır. 2006 yılında yapılan bir çalışmada alerjik astımın bir fare modelinde hava yoluyla bulaşan enflamasyon üzerine timokinonun etkisine bakılmıştır. Ovalbumine duyarlı farelerin hava ile maruziyetinden önce timokinonun intraperitoneal enjeksiyonu akciğer eozinofilinde belirgin bir azalmayla sonuçlanmıştır. Ovalbumin antijeni ile hava yolu ile maruziyet sonrasında yüksek Th2 sitokinleri gözlenmiştir. Hem in vivo bronkoalveolar lavaj sıvısında hem de in vitro da ovalbuminli akciğer hücrelerinin stimülasyonu saptanmıştır. Timokinon ayrıca ovalbumine özgü IgG1'in yüksek serum seviyelerini düşürmüştür. Akciğer dokularının histolojik çalışmaları göstermiştir ki, timokinon allerjen indüklü akciğer eozinofilik enflamasyonu ve mukus üreten goblet hücrelerini önemli ölçüde inhibe etmiştir. Timokinon IL4, IL5 ve IL13 inhibisyonunda önemli ölçüde etki göstermiştir. BAL sıvısındaki IFN- $\gamma$  üretiminin indüksiyonunda bazı etkilere sahipken ovalbumin antijeni ile stimüle edilmiş akciğer hücrelerinin kültüre alınması yoluyla IL4'ün in vitro üretimi üzerinde önemsiz bir etki göstermiştir. Bu veriler timokinonun Th2 sitokinlerin inhibisyonu yoluyla alerjik havayolu bulaşan enflamasyonu ve havadaki eozinofil infiltrasyonunu azalttığını ileri sürmektedir. Bu durum timokinonun akciğerlerdeki allerjik cevap sırasındaki potansiyel anti-inflamatuar rolünü göstermektedir (75).



### 2.3.4 İmmunomodulatör Etki

Yapılan bir in vivo çalışmada *N. sativa* yağı ile dört hafta tedavi gören deneklerin çoğunda CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub>'de %55 oranında artış ve NK hücre fonksiyonlarında %30 artış görülmüştür (30).

Bir başka çalışmada *N. sativa* tohumunun toplam ekstresinin ve protein bileşenlerinin immünomodulatör etkileri in vitro olarak araştırılmıştır. Tohumların bütün ve çözülebilir fraksiyonlarının farklı mitojenlere, insan periferel kan mononükleer hücrelerin (PBMC) cevapları üzerine in vitro etkileri araştırılarak bileşenlerin T hücre mitojenleri fitohemaglutin ya da concanavalin-A (Con A)'ya PBMC'nin cevapları üzerine hiçbir önemli stimulatör etki göstermediği anlaşılmıştır. Aksine bileşenler allojenik hücrelere PBMC yanıtı üzerine stimulatör etkiyi baskılamıştır. Böylece karışık lenfosit kültürlerinde *N. sativa*'nın 4 farklı saf proteini stimulatör etkiler göstermiştir. Lenfositler B hücre mitojen (PWM) ile aktive edildiğinde 4 fraksiyonun da düzgün supresif etkisinin farkına varılmıştır (77, 84).

*N. sativa* proteinlerinin PBMC'nin B hücre mitojenleri LPS ve PWM cevaplarını baskıladığının bulunduğu daha önceki in vitro deneylerden elde edilen sonuçlara dayanılarak *N. sativa* bileşenlerinin B hücre mediyatörlerinin immüniteyi down regüle etme eğilimi gösterdiği bulunmuştur (30, 77).

İnsan PBMC'si kullanılarak *N. sativa* tohum proteinlerinin sitokin üretimi üzerine etkileri araştırılarak proteinlerin allojenik hücreler varlığında ya da olmaksızın kültüre alındığında lenfositler tarafından IL-3 ve IL-1'in üretimini arttırdığı gözlenmiştir. Bu *N. sativa* proteinlerinin saf hücrelerinin kendisi üzerinde stimulatör etki oluşturduğunu göstermektedir. Yine de aynı üretim şartları altında *N. sativa* tohumlarının saf ekstresi ya da çözünebilir fraksiyonları IL-2 ve IL-4'ün üretimi üzerine hiçbir etki göstermemiştir (84). *N. sativa* proteinleri aktive olmamış PBMC'de IL-8 üretimini baskılamıştır. Hem *N. sativa* hem de fraksiyonlanmış proteinlerinin hem aktive olmamış hem de mitojen aktive PBMC tarafından TNF- $\alpha$  üretimi üzerine stimulatör etkisi olduğu belirtilmiştir (77).

*N. sativa* yağının T hücre proliferasyonu üzerine stimulatör etkisiyle tutarlı olarak etil-asetat kolon kromatografik fraksiyonu ve su fraksiyonu Con A'ya karşı proliferatif cevabi arttırmıştır. Fakat B hücre mitojen LPS'ye cevap artmamıştır (76).

*N. sativa* tohumlarının sulu ekstrelerinin 1 haftalık oral uygulaması kontrol NK hücreleriyle karşılaştırıldığında, splenik NK hücre sayısını ve onların YAC-1 tümör hedeflerine karşı sitotoksitelerini yaklaşık 2 kat arttırmıştır (158). İlave olarak *N. sativa* yağının streptozotosin indüklü diyabetlilere 6 hafta oral verilmesi belirgin faydalı etkiler sağlamıştır. Peritoneal makrofajların aktivitesinde artma, periferik kanda muamele görmemiş diyabetik hamsterlerle kıyaslandığında lenfosit sayısında artış saptanmıştır (30).

*N. sativa* ile destek diyet uygulaması T hücre aktivasyonu ile yakından ilişkili olan faktörlerdeki değişiklik aracılığıyla sağlıklı yaşlı bireylerde immün cevabı arttırmıştır. *N. sativa* yağı ile muamele plasebo grubuyla karşılaştırıldığı zaman spesifik antijenlere (tetanoz toksoidi ve *Tricophyton. mentagrophytes*) cevap olarak gecikmiş tip hipersensitivite oluşumundan 24 saat sonra toplam çapta artma göstermiştir (30).

*N. sativa* tohumlarının uçucu yağlarının ratların tifoid TH antijeniyle aşılansıyla oluşturulan antijen-spesifik cevabı üzerine in vivo çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada *N. sativa* yağı ile tedavi, kontrol ratlarıyla karşılaştırıldığında tifoid aşılama cevaptaki antikor üretimini 2 kat düşürmüştür (85).

### 2.3.5 Antibakteriyel ve Antifungal Etki

Yapılan bir çalışmada *N. sativa* uçucu yağının *Pseudomonas aeruginosa*'nın bazı suşları hariç olmak üzere hem Gram(+) hem de Gram(-) mikroorganizmaların büyümesini inhibe ettiği görülmüştür. Fraksiyonlama işlemlerinden sonra yağın biyolojik aktivitesinin, fenolik içeriğinden kaynaklandığı anlaşılmıştır (24).

*N. sativa*'nın sulu metanollü ekstresinin (IC<sub>50</sub>, 10-30 µg/ml) *Streptococcus mutans*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği açıklanmıştır. Bitki ekstresinin böylece diş çürümesi ve plakların önlenmesinde etkisi kanıtlanmıştır (24).

*N. sativa*'dan elde edilmiş etilen glikoldeki çözeltisinin ve uçucu yağının invitro olarak bazı mikroorganizmalara (*Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *S. typhi*, *S. niger*, *Vibrio cholerae*) 1:100 dilüsyonda bile iyi bir antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır. Yağın Gram(+) ve Gram(-) mikroorganizmalara karşı çok etkili olduğu ve ayrıca özellikle *Aspergillus penicillum* ve *Mikrosporyum* türlerine karşı invitro antifungal aktivitesi Disk Difüzyon Metodu kullanılarak test edilmiş ve mükemmel antifungal aktivite gösterdiği bulunmuştur (15).

Yapılan bir araştırmada tohumların uçucu yağ fraksiyonu antibakteriyel aktivite açısından test edildiğinde fraksiyonun daha yüksek bir aktiviteye sahip olduğu ve özellikle de Gram(+) 'lere karşı etkin olduğu saptanmıştır (24).

Gıdaların korunmasında *N. sativa* yağının kullanımı (% 0.1 a/a) test edildiğinde zararlı bakteri ve gıda bozulmalarına kuvvetli inhibitör etkili olduğu saptanmıştır. Daha önce yapılan bir diğer çalışmada ise ham tohum ekstresinin sorbik asit ve sodyum klorür ile kombine halde kullanılmasıyla araştırılmıştır. Tohum ekstresinin minimum inhibitör konsantrasyonu yaklaşık olarak % 1.5 a/a olarak saptanmıştır (24).

Hanafy ve Hatem tarafından 1991 yılında (32) yapılan bir çalışmada *S. aureus*, *P. aeruginosa* gibi Gram(+) bakteriler ve *Candida albicans* gibi mayalar üzerinde *N. sativa* tohumlarının dietil eterli ekstresi ile çalışılmıştır. *N. sativa* tohumlarının eterli ekstresi (25-400 µg ekstre/disk) hem Gram(+) (*S. aureus*) hem de Gram(-) (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans*) mikroorganizmalara konsantrasyona bağlı olarak inhibitör etki göstermektedir.

Aynı araştırmacıların bir başka çalışmalarında ise metanollü ekstre ticari antibiyotikler olan streptomisin ve gentamisin'le kombine edilerek test edilmiş ve sinerjistik bir antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (32).

Diğer bir invitro çalışmada uçucu yağın (IC<sub>50</sub>, 50-400 µg/ml) 37 enterik organizma (örn: *Shigella dysenteirae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* ve *Shigella boydii*) üzerindeki antibakteriyel etkilerinin ölçülmesiyle önemli sonuçlar elde edilmiştir. Metanollü ekstrenin *S. mutans*'ı inhibe ederek anti-plak etki gösterdiği, böylece diş çürümesini engellediği bulunmuştur (78).

*N. sativa* yağını da içeren 16 uçucu yağın antimikrobiyal ve antifungal özellikleri üzerine yapılan bir çalışmada, bütün yağlar arasından *N. sativa*, *C. albicans* (MIC, 2.5 mg/ml)'a karşı çok etkili olmuştur ve ikinci olarak ise *Chaetomium olivacum* (MIC, 2.5 mg/ml)'a karşı etkili bulunmuştur. *N. sativa* yağının, pirinç, buğday ve pamuk gibi ürünlerin gelişimini etkileyen parazitler olarak bilinen *C. olivacum* mantarına karşı bitkiyi korumada değerli olduğu sonucuna varılmıştır (33).

El-Kamali ve arkadaşları (159) tarafından yapılan bir araştırmada, araştırmacılar disk difüzyon metodunu kullanarak *N. sativa* uçucu yağının Gram(+) (*S. aureus*, *Bacillus subtilis*) ve Gram(-) (*E. coli* ve *P. aeruginosa*) bakterilere karşı etkili olduğunu bulmuşlardır. Antibakteriyel etki *Bacillus subtilis* kullanıldığında maksimum olmuştur.

Ayrıca uçucu yağının *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei*, *Shigella boydii*, *Vibrio cholerae* ve *E. coli*'ye karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

Sokmen ve arkadaşları (160) yaptıkları bir çalışmada, eterli ekstre Gram(+) bakteri (*S. aureus*), Gram(-) bakteri (*P. aeruginosa*) ve *E. coli*'ye karşı invitro antibakteriyel etki göstermiştir.

Tohumların ham alkaloit ekstresi ve sulu ekstresinin septik artritli hastalardan izole edilmiş çok çeşitli mikroorganizmalara karşı etkili olduğu bulunmuştur. Ekstrenin, *V. cholera*, *E. coli* ve *S. dysentriae*'nin bütün suşlarını içeren ilaca dirençli bakterilere karşı çok etkili olduğu kanıtlanmış (79).

*N. sativa*, patojenik maya *C. albicans* ve mantara karşı olduğu kadar *E. coli*, *B. subtilis*, *S. faecalis*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* gibi pek çok bakteri suşuna karşı antibakteriyel etki göstermiştir (32, 79, 80).

*N. sativa* tohumlarının çözülebilir fraksiyonlarının in vitro tedavisinin *S. aureus* ile kültüre alındığı zaman hiçbir bakteriyel fagositozis veya bu hücreleri öldürücü aktiviteye sahip olmadığı gözlenmiştir. *N. sativa* tohumunun dietil eterli ekstresiyle in vivo tedavi, enfeksiyon bölgesine enfekte edildiği zaman farelerde başarılı bir şekilde öldürücü olmayan subkutanöz stafilokokkal enfeksiyonu yok etmiştir (32).

*C. albicans*'ın farelere inokulumu ile karaciğer, dalak ve böbreklerde organizma kolonileri üremiştir. Bu model kullanılarak *N. sativa* tohumlarının sulu ekstralarının antifungal etkilerinin çalışılmasıyla, enfekte farelere *C. albicans* inokulasyonundan 24 saat sonra başlayan günde 3 kez verilen tedavi bütün çalışılan organlarda fungus büyümesini belirli bir şekilde inhibe etmiştir. Bu çalışma bitkinin mantar enfeksiyonundaki geleneksel kullanımını onaylamıştır (80).

*N. sativa*'nın sulu ekstresi, farelerde kandidiyazis'e karşı invivo olarak güçlü antifungal etki göstermektedir (18).

2004 yılında yapılan bir çalışmada *N. damascena* bitki ve tohumlarından elde edilen uçucu yağ, farklı polaritedeki çeşitli ekstralar, fraksiyonlar ve saf bileşikler biyolojik aktivite için incelenmiştir. Antimikrobiyal testler göstermiştir ki; uçucu yağ sadece Gram(+) bakterilere karşı; ekstralar arasından ise bütanollü ekstre *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı etkilidir. Mollusidal aktivite saptanmamıştır (131).

*Listeria monocytogenes*'in 20 suşu üzerinde disk difüzyon metodu ile tohum yağının antibakteriyel etkisini saptamak amacıyla 2005 yılında bir çalışma yapılmıştır.

10 µl tohum yağı, bitkisel yağ (yağ kontrol) ya da gentamisin (pozitif kontrol) ile doyurulan 3 disk (6mm çapında) her inokule edilen petriye yerleştirilmiştir. Petriler 24 saat boyunca 37<sup>0</sup>C’de inkube edilmiştir ve *L. monocytogenes* büyümesi inhibisyon zonu için gözlenmiştir. Tohum yağı gentamisinden daha anlamlı bir şekilde ( $P<0.01$ ) daha geniş bir inhibisyon zonu sağlayarak *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. Bitkisel yağ, *L. monocytogenes* üzerinde hiçbir inhibitör etki oluşturmamıştır. Sonuçlar göstermiştir ki; tohum yağı *L. monocytogenes*’i inhibe etmek için etkili bir şekilde kullanılabilir. Fakat yiyeceklerdeki uygun uygulamaların onaylanması gerekmektedir (161).

*N. sativa* tohumlarının şistozomisidal özellikleri, *S. mansoni* mirasidyumu, serkaryası ve erişkin kurtlara karşı in vitro test edilmiştir. Sonuçlar parazitin bütün evrelerine karşı kuvvetli biosidal etkilere sahip olduğunu işaret etmiştir. Ayrıca erişkin dişi kurtların yumurta bırakmasını inhibe ettiğini göstermiştir. Bu çalışmada ayrıca konakçı oksidan ölümüne karşı erişkin solucanların korunmasında bir rolü olan bazı antioksidan enzimleri üzerinde ezilmiş tohum etkilerini ve buna ek olarak konakçıların içindeki erişkin solucanların hayatta kalmasında önemli bir role sahip olan glikoz metabolizmasından bazı enzimleri çalışmışlardır. Veriler kullanılan ilaçlar, 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 oluşturduğunu göstermektedir (162).

*N. sativa* tohumunun eter ekstresinin antifungal etkisi ve aktif bileşen timokinon dermatofitlerin sekiz suşuna karşı test edilmiştir. Bunlar: *T. rubrum*’un dört suşu ve *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* ve *Microsporum canis*’in bir suşudur. *N. sativa*, timokinon ve griseofulvinin eter ekstresinin seri dilüsyonları agar difüzyon metodunda çalışılmıştır. İnkübasyon 30<sup>0</sup>C’de 14 günde tamamlanmıştır. Her bir dilüsyonda mantar kolonilerinin çapı ve mantar üremesinin inhibisyon oranı tespit edilmiştir. %80-100 oranında mantar üremesini baskılayan minimum inhibisyon konsantrasyonu, minimum ilaç konsantrasyonu olarak kabul edilmiştir. Griseofulvinin eter ekstresinin MIC değeri 0.00095-0.0155 mg/ml arasında iken *N. sativa* ve timokinonunki sırasıyla 10-40 ve 0.125-0.25 mg/ml arasındadır. Bu sonuçlar *N.*

*sativa*'nın antidermatofit ilaçlar için potansiyel bir kaynak olduğunu göstermekte ve halk tıbbında mantarlı deri enfeksiyonlarının tedavisi için kullanımını desteklemektedir (12).

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 göstermiştir. Ayrıca düşük pH'ya da dayanıklıdırlar. Domuz bağırsak içeriği ile karıştırıldıklarında bu yağlar ya da bileşenler *E. coli* O157:H7'ye karşı etkinliklerini korumaktadırlar. Ek olarak, içerikteki *E. coli* ve koliform bakterileri anlamlı bir şekilde inhibe etmişlerdir; fakat çok sayıda laktobasil ve anaerobik bakteriler üzerinde çok az etkiye sahiptirler. Bazı uçucu yağ ya da bileşenler etkinlik, düşük pH'ya dayanıklılık, bakteriyel patojenlere karşı seçicilik, domuz intestinal yolağındaki insan ve hayvan bakteriyel patojenlerini azaltma gibi iyi bir potansiyel göstermiştir (163).

### 2.3.6 Antiviral Etki

Yapılan bir çalışmada *N. sativa* yağının bir anti-viral ilaç olarak terapötik potansiyeline işaret edecek şekilde yağın sitomegalovirüs (MCMV) enfeksiyonuna karşı çarpıcı bir anti-viral etki oluşturduğu in vivo denemelerle gösterilmiştir. Viral enfeksiyona karşı oluşturulan immünite hem NK hücreler ve makrofajlar gibi non-spesifik hücreler hem de CD<sub>4</sub> ve CD<sub>8</sub> T hücreleri gibi spesifik hücrelerle kontrol edilmiştir. Her hücre popülasyonu enfeksiyon sonrasında belirli bir zaman noktasında merkezi bir anti-viral rol oynamıştır. T hücreleri geç fazda virüslerin temizlenmesi için elzemken NK hücreleri ve makrofajlar erken fazda önem teşkil etmiştir. Özellikle INF- $\gamma$  gibi bu hücreler tarafından üretilen mediyatörler anti-viral cevapta oldukça önemli faktörlerdir (30, 81, 82).

İntraperitoneal olarak verilen *N. sativa* yağının farelerde MCMV enfeksiyonuna karşı güçlü etki gösterdiği görülmüştür. Etkinin kalıtsal bağışıklık üzerine yağın potansiyel etkisi ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (81).

Viral enfeksiyonun konaklardaki lenfosit eksikliğine sebep olan apoptozisi oluşturduğu ve anti oksidan ajanların hedef hücrelerdeki viral replikasyonlar kadar virüs kaynaklı apoptozisi de inhibe edebileceği belirtilmiştir. *N. sativa*'nın anti oksidan etkisinin anti viral aktivitesine katkıda bulunan bir diğer mekanizmayı oluşturduğu düşünülmektedir (30).

### 2.3.7 Antisestod Etki

*N. sativa* tohumlarının toplam glikozit içeriklerinin etkisi gastrointestinal nematodlar ile doğal olarak enfekte olmuş keçilerde araştırılmıştır. 15 günün üzerinde periyotlarla enfekte edilen 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 durumdadır. 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 görülmüştür (83).

*N. sativa* tohum uçucu yağının yer solucanları (*Pheritima posthuma*), tenya (*Taenia solium*), kancalı kurtlar (*Bunostomum trigonocephalum*) ve noduler kurtlara (*Oesophagostomum colombionum*) karşı oldukça iyi antiparazitik aktivite gösterdiği açıklanmıştır. Yer solucanları ve tenyalara karşı antihelmintik aktivitenin kimyasal ajan piperizin fosfatı ile benzer olduğu bulunmuştur (24).

### 2.3.8 Antitümör Etki

#### 2.3.8.1 İn vitro antitümör etki

İn vitro ve in vivo çalışmalar *N. sativa* tohumlarının hem yağı hem de aktif bileşenlerinin antitümör etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Farklı insan kanser hücreleri üzerinde *N. sativa* tohum uçucu yağının etkilerinin araştırılmasıyla yağın bu hücreler üzerinde belirli sitotoksik etkiler gösterdiği bulunmuştur.

Salomi ve arkadaşları (164) bu bitkinin tohumlarının metanollü ekstresinin normal lenfositlere minimal toksisite göstermesine rağmen Erlich asit karsinoması, Dalton'un asit lenfoması ve sarkoma 180 hücreleri üzerinde güçlü bir sitotoksik etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Polipeptit ekspresyonundaki değişikliklerin *N. sativa*'nın biyolojik aktivitesinde rol oynadığı gösterilerek bitki tohumlarının uçucu yağının Jukart T lenfoma hücrelerindeki spesifik polipeptitlerin hücresel ekspresyonunu değiştirdiği ortaya konmuştur (15).

MCF-7 meme hücrelerinin sulu ve alkollü ekstrelere tek başına ya da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında maruziyeti bu hücrelerin büyümesini tamamen inaktive etmiştir (30). Bu durum *N. sativa*'nın tek başına ya da oksidatif stresle kombine halde iken etkili bir anti-kanser ajan olduğunu göstermiştir. *N. sativa* yağının antitümör mekanizmalarını tayin etmek amacıyla yapılan çalışmalar göstermiştir ki *N. sativa* ekstreleri konstrasyon bağımlı bir yolla tip 4 kollajenaz, metalloproteinaz ve serinproteinaz inhibitörleri , anjiyojenik protein-fibroblastik büyüme faktörü, doku-tip plazminojen aktivatör, ürokinaz tipi plazminojen aktivatör ve plazminojen aktivatör inhibitör tip 1 gibi metastaz indüklü faktörleri inhibe etmiştir (30, 76, 85).

*N. sativa* toplam ekstresinin antitümör etkilerine ek olarak timokinon, ditimokinon ve diğer aktif bileşenler de sitotoksik etkiler göstermiştir. İn vitro ortamda tohum zankı, sabit yağı ve iki saflaştırılmış bileşenin (timokinon ve ditimokinon) bunların pek çok parenteral ve çoklu ilaç dirençli (MDR) insan tümör hücrelerine karşı sitotoksiteleri için test edilmiştir. Timokinon ve ditimokinonun her ikisi de pankreatik adenokarsinoma, insan uterin sarkoma ve insan lösemisine karşı eşit şekilde sitotoksik etkiliyken zank ve yağ (%1 a/h) sitotoksik etki göstermemişlerdir. Hem parenteral hücreler hem de bunların ilişkili MDR varyantları-ki bunlar pek çok standart anti-neoplastik ilaca karşı dirençlidir- timokinon ve ditimokinona karşı eşit şekilde duyarlı bulunmuştur. Bu iki bileşenin sitotoksik ajan olarak etkilerinin serbest radikal üretimiyle ilişkili olmadığı bulunmuştur (15).

Bir başka çalışmada etil-asetat kolon kromatografik fraksiyonu (CC-5) ile elde edilen aktif bileşen ya da  $\alpha$ -hederin selektif olarak hepatoselüler karsinoma, lösemik hücre, Lewis akciğer karsinoması ve lösemi hücreleri, farklı kanser hücrelerine karşı antitümör etkiler göstermiş. Bunu intraselüler GSH'in hızla azalması ve mitokondriyal membran potansiyelinde oluşan düzensizliklerle birlikte sonuç olarak reaktif oksijen türlerinin üretimindeki artış yoluyla ortaya çıkartmıştır (30, 76).

Yukarda sözü edilen insan tümör hücrelerine karşı saptanmış olan sitotoksik etkiler p53 geni ve protein ekspresyonundaki artış ve anti-apoptotik Bcl-2 proteininin inhibisyonu ile alakalı olarak bu hücrelerin hücre zincirinin G1 fazında büyümesini durdurarak apoptozislerini tetikleme yoluyla gösterdiği düşünülmektedir. Bu sonuçlar göstermiştir ki timokinonun anti-neoplastik etkisi Bcl-2 tarafından düzenlenen pro-apoptotik etkiler aracılığıdır ve p53 ile bağlantılıdır (30).



*N. sativa*'dan izole edilen ana biyoaktif bileşen timokinon (TQ) potansiyel bir kemopreventif ve kemoterapötik bileşendir. TQ'nun ümit vaat eden antineoplastik aktivitelerine rağmen, farmakolojik etkilerinin moleküler mekanizması çok az anlaşılmıştır. 2005 yılında yapılan bir çalışmada, TQ'nun antiproliferatif etki gösterdiği, apoptozisi uyardığı, mitokondriyal membran potansiyelini bozduğu ve miyeloblastik lösemi HL-60 hücrelerinde kaspaz 8, 9 ve 3'ün aktivasyonunu tetiklediği belirtilmektedir. TQ tarafından uyarılan apoptozis kaspaz -8- spesifik inhibitör, z-IETD-FMK ile olduğu kadar genel kaspaz inhibitör, 2- VAD- FMK, bir kaspaz -3- spesifik-inhibitör, 2-DEVD-FMK ile de inhibe edilmektedir. Hatta kaspaz- 8- inhibitör TQ-indüklü kaspaz-3 aktivasyonunu, PARP ayrılmasını ve mitokondriden sitoplazma içerisine sitokrom C salınımını bloke etmiştir. İlave olarak, HL-60 hücrelerine TQ maruziyeti Bax'ın upregülasyonu ve Bcl2 proteinlerinin downregülasyonu ile ilişkili olan Bax/Bcl2 oranında belirgin bir azalışa sebep olmuştur. Bu sonuçlar göstermiştir ki, TQ-indüklü apoptozis bir üst yolak aktivatörü olarak rol oynayan kaspaz-8 ile kaspaz 8, 9 ve 3'ün aktivasyonu ile ilişkilidir. Aktive kaspaz-8 TQ-indüklü apoptozis boyunca sitokrom C salınımını başlatmaktadır. Bu sonuçlar p53-null HL-60 kanser hücrelerinde TQ-indüklü apoptozis için bir potansiyel mekanizma öngörmektedir (165).

Tümör hücrelerinin fibrinolitik potansiyelinin genellikle kötü huylu fenotipi ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir. *N. sativa* yağı bazı hücrelerin fibrinolitik potansiyelinin değişimi vasıtasıyla bu yağın antitümör aktiviteye sahip olup olmadığını açıklamak için fibrosarkom hücre HT1080'in fibrinolitik potansiyeli üzerine bu yağın etkisini ölçmek için çalışılmıştır. *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 inhibisyonunu oluşturmuştur. HT1080 hücreleri yağla muamele edildiğinde t-PA, u-PA ve PAI-1 antijenlerinde konsantrasyon bağımlı bir azalma gözlenmiştir (0.0-200 µg yağ/ml). Bu sonuçlar göstermiştir ki, tohum yağı in vitro ortamda insan fibrosarkom hücre (HT1080)'nin fibrinolitik potansiyelini azaltır, bu durum lokal tümör yayılması ve metastazın inhibisyonunun bağlanabileceği mekanizmalardan biri olabilir (166).

### 2.3.8.2 İn vivo antitümör etki

*N. sativa*'nın topikal uygulanması cilt kanserli farelerde 7,12-dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen/kroton yağı ile oluşturulan iki basamaklı başlatma/ilerletme etkisini inhibe etmiştir. Papillom oluşumunun başlaması geciktirilmiş ve sayısı azaltılmıştır. Tohumların sitotoksik özelliğini farelere 10 gün boyunca 2 mg ekstre/fare/gün verilmesiyle Erlich assit karsinomasını ve Dalton assit karsinomasını inhibe ettiğini göstererek ortaya koymuşlardır (30, 164).

Bir başka çalışmada Nair ve arkadaşları etanollü ekstre tedavisinin anlamlı bir şekilde sisplatin indüklü farelerde karsinojen etkiyi azalttığını ortaya koymuştur (167). Ratlara sisplatininden 30 dk. önce verilen *N. sativa* ekstresinin anti-neoplastik ilacın nefrotoksisitesine karşı koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur. Ekstrenin koruyucu etkisi kesin olarak bilinmemektedir fakat nefrotoksisitedeki olası bir azalma veya sisplatin atılımındaki artışa bağlanmıştır (168). Farelerde yağın ana bileşeni timokinon içme suyu ile (5 mg/kg/gün) 5 gün önce ve 5 gün ifosfomit (IFO) verildiği zaman IFO'nun renal toksisitesini anlamlı bir şekilde azaltmıştır ve antitümör aktivitesini arttırmıştır. Timokinonun antioksidan aktivitesinin IFO'nun nefrotoksisitesinin azaltılması mekanizmasıyla gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu, fare ve ratlardaki daha önceden belirtilen timokinonun sisplatin nefrotoksisitesi üzerindeki koruyucu etkisine benzemektedir. Bu araştırmacılar ayrıca timokinonun sisplatinin antitümör aktivitesini arttırdığını göstermişlerdir (169).

Çeşitli kanser türlerini tedavi etmek için geleneksel tıpta sıklıkla kullanılan Ürdün kaynaklı bitkilerden hazırlanan 12 sulu ekstre YAC tümör hedeflerine karşı sitotoksisite oluşturmada natural killer (NK) hücrelerinin in vivo çoğalması için farelerde test edilmiştir. Taze *N. sativa* tohumları ve *Allium sativum* soğanlarının sulu ekstresinin oral uygulanmasından 1 hafta sonra, 200:1 efektör:hedef oranında spontan aktiviteyle karşılaştırıldığında splenik NK hücrelerinde anlamlı bir çoğalma elde edilmiştir (%62.3 $\pm$ %6.4 ve %52.6 $\pm$ %5.4 sitotoksisite, sırasıyla). Yüksek ve ortalama aktivite gösteren bitkilerden oluşan bir karışımın taze sulu ekstresi, her bitkinin tek başına gösterdiğinden daha az bir NK çoğalma aktivitesi göstermiştir.(%72.7 $\pm$ %6.7 sitotoksisite) (158).

*N. sativa* tohum ekstresi ve ana bileşeni timokinonun koruyucu etkisi şistozomiyazis ile enfekte olan fare hücrelerinde çalışılmıştır. Kromozomal

bozuklukların tetiklenmesindeki doğal bileşenlerin potansiyel koruyucu etkisini değerlendirmede in vivo çalışmalarda dalak hücreleri kullanılmıştır. Fare hücrelerinin karyotipi anomalitelerin özellikle kromozom 2, 6 ve kromozom 13 ve 14'ün bazılarındaki aralık, fragmanlar ve silinmeler olduğunu göstermiştir. *N. sativa* ekstresi ve timokinonun şistozomiyazisin sonucu olarak tetiklenen kromozomal anormalliklere karşı koruyucu ajanlar oldukları düşünülmektedir (156).

Yapılan bir araştırmada *N. sativa*'nın farelerde  $KBrO_3$ -aracılıklı renal oksidatif stres, toksisite ve tümör ilerleme cevabı üzerine kemopreventif etkileri araştırılmıştır.  $KBrO_3$  (125 mg/kg vücut ağırlığı, intraperitoneal) renal antioksidan enzimleri ve renal glutasyon içeriğinin aktivitelerindeki redüksiyon ile lipit peroksidasyonu ( $\gamma$ - glutamil transpeptidaz, hidrojen peroksit ve ksantin oksidaz) arttırmaktadır. Kan üre azotu (BUN) ve serum kreatininde belirli bir artış elde edilmiştir.  $KBrO_3$  ayrıca ornitin dekarboksilaz (ODC) aktivitesi ve renal DNA'ya [ $^3H$ ] girişini arttırmaktadır. Ratların *N. sativa* ekstresi ile oral profilaksisi ( 50 mg/kg vucüt ağırlığı ve 100 mg/kg vucüt ağırlığı) renal mikrozomal lipit peroksidasyonu ( $P<0.001$ ),  $\gamma$ - glutamil transpeptidaz ( $P<0.001$ ),  $H_2O_2$  ( $P<0.001$ ) ve ksantin oksidaz ( $P<0.05$ )'da anlamlı bir azalışla sonuçlanmıştır. Renal glutasyon içeriği ( $P<0.01$ ) ve antioksidan enzimlerde ( $P<0.001$ ) önemli iyileşmeler sağlanmıştır. Ayrıca kan üre azotu, serum kreatinin, renal ODL aktivitesi ve DNA sentezindeki artışta tersine dönüşüm vardır ( $P<0.001$ ). Veriler *N. sativa*'nın güçlü bir kemopreventif ajan olduğunu göstermekte ve ratlarda  $KBrO_3$ -aracılıklı renal oksidatif stresi, toksisiteyi ve tümör ilerleme cevabı baskılayabilir (170).

2004 yılında yapılan bir çalışmada *N. sativa* tohum uçucu yağı immünmodülatör ve sitotoksik özellikleri için araştırılmıştır. Seçilmiş immün öğeleri üzerinde *N. sativa* tohum uçucu yağının etkilerini incelemek için bir rat modeli dizayn edilmiştir. Long-Evans ratları spesifik bir antijenle maruz bırakılmış (tifoid TH) ve *N. sativa* tohum uçucu yağı ile tedavi edilmiştir ve splenositler ve periferal immün hücrelerle beraber serum antikor titresinde oluşan değişimler analiz edilmiştir. Deneysel hayvanlarda splenositler ve nötrofillerin sayısında anlamlı bir azalış ( $P<0.05$ ), fakat periferal lenfosit ve monositlerde ise bir yükselme oluşmuştur. *N. sativa* tohum uçucu yağının sitotoksitesini test etmek için beş insan kanser hücresi ve fibroblast hücreleri kullanılmıştır. Hücre mortalitesini hesaplamak için MTT deneyi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak vinblastin sülfat ve mitomisin C kullanılmıştır. *N. sativa* tohum uçucu

yağı için LC<sub>50</sub> 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 yağı etkili bir immünsupresif sitotoksik ajan olarak düşünülebileceği belirtilmiştir (85).

*N. sativa* ile oral beslenmenin ratlarda dietilnitrozamin veya parsiyel hepatektomi ile oluşturulan hepatik tümörü baskıladığı bulunmuştur. Takip eden çalışmalardan *N. sativa* yağının metilnitrozüre veya 1,2-dimetilhidrazin ile oluşturulan kolon karsinogenezisini baskıladığı ortaya konmuştur. Bu çalışmada başlangıç durumundan sonraki dönemde verilen *N. sativa* yağı belirgin bir şekilde anti-proliferatif bir aktivite göstermiştir. Ayrıca  $\alpha$ -hederin, *N. sativa* yağının ham ekstresinin bir diğer bileşeninin tümör oluşan farelerde yaşam zincirini uzatarak lösemi ve Lewis akciğer kanserine karşı in vivo antitümör aktivitesi bulunmuştur (30, 86, 65).

*N. sativa* tohumları, *Hemidesmus indicus* kök kabuğu ve *Smilax glabra* rizomunu içeren bir dekoksasyon Sri Lanka'daki geleneksel iyileştiriciler tarafından kanser hastalarına tavsiye edilmektedir. Daha önce yapılan araştırmalar göstermiştir ki, bu dekoksasyonla kısa süreli tedavi (10 hafta) rat karaciğerinde glutatyon S-transferaz P formun (GST-P) ekspresyonuna aracılık eden dietilnitrozamin (DEN)'i önemli ölçüde inhibe edebilmiştir. Bu araştırmanın hedefi, rat karaciğerlerinde inhibisyonun dekoksasyonla uzun süreli tedavinin (16 ay) başarılı olup olamayacağını tayin etmektir. Yalnız DEN'e aracılık eden GST-P'nin ekspresyonu değil, ayrıca belirgin şekilde görülebilen tümörlerin (OT) gelişimine veya tümör gelişimine yol gösteren histopatolojik değişikliklere aracılık eden karsinogeni inhibe etmekte başarılı olup olmayacağı da tayin edilmektedir. Çalışmanın sonucunda DEN ve distile su alan gruptaki (grup 1) ratlardan birinde 9 ayın sonunda hepatoselüler adenoma gelişmiştir (çalışma 1). 16 ayın sonunda (çalışma 2), ikinci grubun bütün ratlarının karaciğerinde OT ve HT gelişmiştir. Ayrıca GST-P pozitif noktaların geniş bölgeleri elde edilmiştir. Diğer grupların hiçbirinde hiçbir OT, histopatolojik değişim ya da GST-P pozitif nokta gözlenmemiştir. Bu çalışmalar göstermiştir ki *N. sativa* tohumları, *S. glabra* rizomu ve *H. indicus* kök kabuğundan oluşan dekoksasyon ile uzun süreli tedavi sonucunda, rat karaciğerinde DEN-aracılıklı karsinogenik değişimlere karşı koruma sağlanabilecektir (171).

Radyoterapi kanser tedavisinde en sık kullanılan tedavilerden biridir. Pek çok çalışma ışın tedavisinin hücrelerdeki radyasyon hasarında önemli rol oynayan reaktif O<sub>2</sub> 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. Tez 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 ölçülmüştür. Gruplar arasında bütün parametreler için istatistik açıdan önemli farklılıklar oluşmuştur (P<0.05). Tüm vücut ışınlanması kan malondialdehit, nitrat ve nitrit seviyelerinde anlamlı artışlara sebep olmuştur. Daha önce *N. sativa* ve GSH almış irradyasyona maruz kalan ratlardaki kan oksidatif stres belirteçlerinin seviyeleri önemli derecede azalmıştır; ancak nonenzimatik antioksidan seviyeleri anlamlı derecede artmıştır. Bu sonuçlar net bir şekilde göstermektedir ki, *N. sativa* ve GSH tedavisi radyasyon etkilerini önemli derecede antagonize etmektedir. Böylelikle *N. sativa* ve GSH iyonize radyasyon ilişkili doku hasarına karşı yararlı bir ajan olabilir (172).

2007 yılında yapılan bir çalışmada *N. sativa* tohum ekstraktlarının in vitro ve in vivo antikanser etkisi değerlendirilmiştir. Uçucu yağ (IC<sub>50</sub>=%0.6, h/h) ve etilasetat (IC<sub>50</sub>=%0.75) ekstraktlarının P815 hücre dizisine karşı butanol ekstresinden (IC<sub>50</sub>=%2) daha sitotoksik olduğu bulunmuştur. Benzer sonuçlar Vero hücre kültürleri ile elde edilmiştir. Bununla beraber bütün ekstraktlar %0.2'den %0.26'ya (h/h) kadar değişen IC<sub>50</sub> değerleriyle ICO1 hücre kültürlerine karşı karşılaştırmalı bir sitotoksik etkiye sahipken BSR hücre kültürleri üzerine yapılan testler uçucu yağ (IC<sub>50</sub>=%1.2)'a göre etilasetat ekstresinde (IC<sub>50</sub>=%0.2) yüksek bir sitotoksik etki göstermiştir. Bu veriler göstermiştir ki, her ekstraktın sitotoksitesisi tümör hücre tipine bağlıdır. İn vivo'da, kullanılan DBA2/P815 (H<sub>2</sub><sup>d</sup>) fare modeli sonuçları uçucu yağın tümör bölgesine enjeksiyonunun solid tümör gelişimini önemli ölçüde engellediğini göstermiştir. Tedavinin 30. gününde tümör hacmi 2.5±0.6 cm<sup>3</sup> 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  $0.22 \pm 0.1$  ve  $0.16 \pm 0.1 \text{cm}^3$  olmuştur. Tümör bölgesine uçucu yağ uygulaması karaciğer metastaz gelişimini inhibe etmiştir ve farenin yaşamını sürdürmesini sağlamıştır (173).

Timokinonun benzo( $\alpha$ )pinenle oluşturulan mide tümöründe denenmesi ile başarılı sonuçlar elde edildiği için *N. sativa* yağının anti-tümör etkilerinin timokinondan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Benzer bir şekilde timokinonun kür tedavisinin hepatik lipit peroksitlerindeki azalma ve GST ve GSH aktiviteleri ve enzim içeriğinin artışıyla bağlantılı olarak 2-metilkloantrenle oluşturulan yumuşak doku fibrosarkomunda tümör sıklığı ve yüklemesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Aynı fibrosarkom tümör modeli kullanılarak metilkloantrenin subkütan uygulanmasından 30 gün sonra *N. sativa* ekstresinin verilmesi, kontrol grubu farelerle kıyaslandığında terapötik özelliğine dikkat çekecek şekilde fibrosarkoma tümör sıklığını %33.3'e indirmiştir. Ayrıca Ehrlich asit karsinoma ksenograft oluşturulan farelere timokinonun oral uygulaması önemli ölçüde daha az vücut ağırlığı kaybı ve mortalite oranı ile birlikte ifosfaminin anti-tümör etkisini arttırmıştır. İlginç bir şekilde timokinon anti-tümör aktivitesi ile birlikte doksorubisin ile oluşturulan kardiyotoksisiteye karşı koruma sağlamıştır (30).

### 2.3.9 Antidiyabetik Etki

Yapılan bir başka çalışmada *N. sativa*'yı içeren beş bitki karışımı Kuveyt diyabetikleri tarafından hiperglisemi kontrolüne yardım etmek için kullanılmıştır. Bu bitki karışımının streptozotosin diyabetik ve normal ratlarda glukoz toleransını iyileştirdiği saptanmıştır(15).

*N. sativa*'yı içeren bitki karışımıyla yapılan daha ileriki çalışmalar kan glukozunu düşürücü etkinin hepatik glukoneogenezin inhibisyonuyla ilgili olabileceğini göstermiştir (15, 18).

Bitki ekstresinin kan şekerini düşürücü etkisi hayvan deneylerinde araştırılmış ve sonuçlar ekstrenin insülin bağımlı olmayan diyabetes mellitusun tedavisinde yararlı bir terapötik ajan olduğunu göstermiştir (24).

Bir başka çalışmada *N. sativa* tohumlarının uçucu yağının intraperitoneal uygulanmasından (50 g/kg ) 4-6 saat sonra normal ve hiperglisemik tavşanlarda kan

glukoz konsantrasyonunda %15-23 oranında bir azalma saptanmıştır. Hipoglisemik etkinin insülini içeren bir mekanizmayla ilişkili olmadığını doğrular bir şekilde insülin konsantrasyonu tedaviden etkilenmemiştir (87).

Mısır kaynaklı *N. sativa* ve diğer dört tıbbi bitkinin alloksanan indüklü diyabetik ratlardaki hipoglisemik etkisi araştırılmıştır. Bu beş bitki karışımının diğer bilinen tıbbi bitkilerin hipoglisemik aktivitesine göre kan glukoz seviyelerini düşürmede daha etkili olduğu gözlenmiştir. 10 gün sonra tedaviyi almayan deneysel hayvanların karaciğer, böbrek ve pankreaslarında önemli doku hasarları gözlenirken; bitki karışımı alanlarda 20 gün sonra hiçbir patolojik anormallite gözlenmemiştir (24).

Yapılan bir araştırmada *N. sativa*'nın etkisi, oral hipoglisemik ilaç olan Glipizide karşı alloxan-indüklü diyabetik ratlarda gözlenmiştir. Yağın oral uygulanması Glipizide göre serum insülin seviyelerini anlamlı bir şekilde yükseltmiştir. Glipizid aktivitesi *N. sativa* yağı ile birlikte uygulandığı zaman hipoglisemik etkide önemli ölçüde artış sağlamıştır (24).

Gönüllü insanların katıldığı bir klinik çalışmada günde iki kez 1 g *N. sativa* tohumunun oral verilmesinden 2 hafta sonra kan glukoz seviyelerinde bir azalma gerçekleşmiştir (18).

*N. sativa* tohum ekstresi ile tedavinin diyabetik ratlarda pankreasın yapısal bütünlüğünün yenilenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (15).

*N. sativa*'nın hipoglisemik etkisinin stimüle edilmiş insülin salınımından daha çok ekstrapankreatik etkiler aracılıklı olduğu öne sürülmüştür. Ek olarak streptozotosin indüklü diyabetik ratlarda tohum yağının kan glukoz konsantrasyonu üzerindeki etkisi de çalışılmıştır. Nigellon ve timokinon gibi diğer bileşenler ve tohum yağının 3, 5.6 veya 11.1 mM glukoz varlığında izole rat pankreatik adacıklarının insülin sekresyonu üzerine etkisi çalışılmıştır. Yağ, nigellon ve timokinon varlığında insülin salınımının stimülasyonu ile paralel olmayan bir şekilde 2, 4 ve 6 haftadan sonra diyabetik ratlardaki kan glukoz konsantrasyonlarını anlamlı bir şekilde düşürmüştür. Bütün bunlar *N. sativa* yağının hipoglisemik etkilerinden ekstrapankreatik etkilerin sorumlu olduğuna işaret etmiştir (18).

Meral ve arkadaşları 2001 yılında (153) diyabetik tavşanlarda bitki ekstresinin karaciğer ve pankreas histolojisi kadar lipit peroksidaz, glutatyon, seruloplazmin ve glukoz üzerine etkisini araştırmışlardır. Sonuçlar, ekstre ile 2 aylık bir tedavinin glukoz

lipit peroksitlerini önemli ölçüde yükselttiğini; glutatyon ve seruloplazmini azalttığını ve karaciğer hasarının biyokimyasal ve histolojik belirtilerini iyileştirdiğini göstermiştir. Diyabetlilerde *N. sativa*'nın yararlı etkisinin antioksidan özelliğiyle ilişkili olabileceği öne sürülmüştür.

Bir diğer çalışma hamsterlardaki streptozotosin ve Nikotin-amid indüklü diyabetes mellitusta *N. sativa* tohum yağının olası insülinotropik özellikleri araştırılmıştır. Yağ ile tedaviden 4 hafta sonra kan glukoz seviyelerindeki düşüşle birlikte serum albümin seviyelerinde artış gözlenmiştir. Sonuçlar göstermiştir ki tohum yağının hipoglisemik etkisi en azından kısmen serum insülin seviyesindeki bir artışla birlikte  $\beta$  hücre fonksiyonu üzerindeki stimülatör etkiden kaynaklanmıştır ve tip-II benzeri modelde insülinotropik özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir (88).

*N. sativa* tohumunun petrol eterli ekstresinin 4 haftalık intragastrik sonda ile verilisinin normal ratlarda kan glukozu, insülin ve lipitler üzerine etkisi çalışılmıştır. Petrol eterli ekstresi geçici bir kilo kaybına dönüşen, yiyecek alımında %25 azalmaya sebep olmuştur. Bitkinin in vivo veya in vitro hiçbir toksisitesine rastlanmamıştır. *N. sativa* tedavisi boyunca artan plazma glukozu stabil kalmıştır. 4 haftalık tedavinin sonunda *N. sativa*'ya maruz kalan ratlarda çift- beslenen ratlarla karşılaştırıldığında daha yavaş artan plazma, insülin ve trigliserit seviyeleri ve hızlı artan HDL-kolesterol gözlenmiştir. Fosforillenmiş MAPK p44/42erk ve PKB'nin Westernblot analizleri ile tüm gruptaki hayvanlardan izole edilen hepatositlerde insüline cevap değerlendirilmiştir. İnsüline cevap içerisinde in vivo *N. sativa* tedavisi MAPK ve PKB'nin doz-bağımlı aktivasyonunda mükemmel şekilde sonuçlanmıştır. Bu sonuçlar *N. sativa*'nın petrol eterli ekstresinin zayıf bir anoreksik etkiye sahip olduğunu ve bu daha önceden bitkide saptanmış olan hipolipidemik aktiviteyi içerdiğini göstermiştir. Daha belirgin bir şekilde, veriler petrol eterli ekstresinin in vivo tedavisinin hormon reseptörlerinin başlıca iki intraselüler sinyal aktarımı aktivitesinin arttırılma yoluyla insülin-duyarlı etkiye sahip olduğunu göstermiştir (174).

2004 yılında yapılan bir çalışmada *N. sativa*'nın streptozotosin (STZ)- indüklü diyabetik ratlarda  $\beta$  hücre hasarına karşı olası koruyucu etkileri değerlendirilmiştir. STZ diyabeti oluşturmak için 50 mg/kg tek dozda intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. *N. sativa* (0.2 ml/kg/gün, i.p.) STZ uygulamasından önce 3 gün boyunca enjekte edilmiştir ve bu enjeksiyonlar 4 haftalık çalışma boyunca devam etmiştir. Oksidatif stresin



diyabetes mellitus patojenezinde rol oynadığına inanılmıştır. Hücrel antioksidan savunma sistemindeki değişimleri belirlemek için pankreatik homojenatlardaki enzimlerin (glutasyon peroksidaz (GSHPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi) aktivitesi ölçülmüştür. Ayrıca oksidan ve antioksidan durum arasında bir dengesizlik olup olmadığını gözlemek için lipit peroksidasyonun bir belirteci olan serum nitrik oksit ve eritrosit ve pankreatik doku malondialdehit (MDA) seviyeleri ölçülmüştür. Pankreatik  $\beta$  hücreleri immünohistokimyasal metodlarla gözlemlenmiştir. STZ lipit peroksidasyon ve serum NO konsantrasyonlarında anlamlı bir artış ve antioksidan enzim seviyelerinde azalışa sebep olmuştur. NO tedavisi lipit peroksidasyon ve serum NO seviyesini azaltarak ve antioksidan enzim aktivitesini arttırarak koruyucu bir etki sağladığı gösterilmiştir. STZ indüklü diyabetik ratlarda adacık hücre dejenerasyonu ve zayıf insülin immünohistokimyasal bulgular elde edilmiştir. *N. sativa*'ya maruz kalmış diyabetik ratlarda insülin yoğunluğunun arttığı ve  $\beta$ -hücre sayısının korunduğu gözlenmiştir. Bu bulgular *N. sativa* tedavisinin oksidatif stresi azaltarak ve pankreatik  $\beta$  hücre yoğunluğunu koruyarak diyabette terapötik açıdan koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Sonuç olarak *N. sativa*  $\beta$  hücreleri oksidatif strese karşı korumada klinik açıdan yararlı olabileceği düşünülmektedir (175).

Hepatik glukoz üretimiyle bağlantılı olarak stretozotosin( STZ)- indüklü diyabetik hamsterlarda *N. sativa* yağının hipoglisemik etkisinin altında yatan mekanizmaları açıklamak ve *N. sativa*'nın makrofajlar üzerindeki olası immünopotansiyel etkisini araştırmak için bir çalışma yapılmıştır. Diyabet STZ'nin 65 mg/kg vücut ağırlığında intraperitoneal enjeksiyonuyla sağlanmaktadır. *N. sativa* yağı ile muamele diyabetin gastrik sonda ile 400 mg/kg dozda oluşturulmasından 6 hafta sonra başlamaktadır. İzole hepatositler karaciğer glukoz üretimini belirlemek için kollagenaz kullanılarak toplanmıştır. Fagositik aktivite floresans lateksin (2 $\mu$ m çapında) intraperitoneal enjeksiyonuyla değerlendirilmiştir. Bunu 24 saat sonra peritoneal makrofajların toplanması işlemi takip etmiştir. *N. sativa* tedaviden önce 391 $\pm$ 3.0 mg/dl olan kan glukozunu tedavinin birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü haftasından sonra sırasıyla 325 $\pm$ 4.7, 246 $\pm$ 5.9, 208 $\pm$ 2.5 ve 179 $\pm$ 3.1'e düşürmüştür. *N. sativa* yağı ile maruziyet, maruz kalmayan diyabetik hamsterlarla karşılaştırıldığında peritoneal makrofajların fagositik aktivite ve fagositik indeksini ve periferik kan içerisindeki lenfosit miktarını önemli ölçüde arttırmıştır. Verileri *N. sativa* yağının hipoglisemik

etkisinin en azından bir açıdan hepatik glikoneojenezdeki azalma ile ilişkili olduğuna ve immünopotansiyel etkisinin direkt ya da lenfosit aktivasyonu yolu ile makrofaj fagositik aktivitesinin stimülasyonu aracılıklı olduğuna işaret etmektedir (176).

*N. sativa* şeker hastalığı gibi pek çok rahatsızlığın tedavisinde Fas'ta da halk tıbbında sıklıkla kullanılmaktadır. 2004 yılında yapılan bu çalışmada farklı *N. sativa* tohum ekstraktlarının insülin salgılanması üzerine etkileri araştırılmıştır. Tohumun farklı fraksiyonları hazırlanmıştır: yağsız fraksiyon (HRII), iki alt bölüme ayrılmıştır: ilki (HRIII) asidik ve nötral bileşenler içerir ve ikinci (HRIV) temel bileşenleri içerir. Bu ekstraktların insülin salgılama etkileri 8.3 mM/L glukoz varlığındaki in vitro izole edilen ratların pankreatik adacıklarında değişik konsantrasyonlarda (0.01, 0.1, 1 ve 5mg/ml) başlı başına değerlendirilmiştir. Sonuçlar göstermiştir ki, yağsız tüm ekstrenin ya da inkübasyon ortamındaki tohumun temel alt fraksiyonunun eklenmesi önemli ölçüde adacıklardan glukoz yüklü insülin salınımını arttırmaktadır. Asidik ve nötral alt fraksiyon varlığında, stimulatör etki sadece yüksek konsantrasyonlarda elde edilmiştir (5mg/ml). Ancak, izole edilen pankreatik adacıklardan insülin salınımında net bir konsantrasyon bağımlı artış temel alt fraksiyonla elde edilmiştir. Veriler *N. sativa* tohumlarının antidiyabetik özelliklerinin belkide en azından kısmen stimüle edilmiş insülin salınımı aracılıklı olabileceğini göstermiştir. Temel alt fraksiyon bu stimulatör etkiye büyük ölçüde katkıda bulunmaktadır. Daha ileriki fitokimyasal çalışmalar *N. sativa* tohumlarının insülinotropik etkisinden sorumlu farmakolojik bileşen (lerin) izole edilmesini sağlamak için başlatılmıştır (177).

2008 yılında Kanter (178) tarafından yapılan bir çalışmada streptozotosin(STZ)-indüklü diyabetik ratlarda siyatik sinirlerdeki histopatolojik değişimler üzerine *N. sativa* (NS) ve timokinonun (TQ) olası yararlı etkileri araştırılmıştır. Ratlar randomize şekilde 4 deneysel gruba bölünmüştür: A (Kontrol), B (diyabetik tedavi almayan), C (diyabetik NS ile tedavi edilen) ve D (diyabetik TQ ile tedavi edilen); her grup 10 hayvan içermektedir. B, C ve D grupları diyabeti başlatmak için STZ almıştır. NS ve TQ alan gruplardaki ratlara sırasıyla NS (400 mg/kg vücut ağırlığı dozunda) ve TQ (50 mg/kg vücut ağırlığında) STZ injeksiyonunda 2 gün sonra başlanarak 12 hafta boyunca intra-gastrik intübasyonla oral yoldan günde 1 kez verilmiştir. Kan ve doku örnekleri biyokimyasal ve histopatolojik araştırmalar için alınmıştır. STZ-indüklü diyabetik ratlarda NS ve TQ tedavisi yükselmiş serum glikozunda (P<0.01, 0.05, sırasıyla) keskin

bir düşüşe sebep olmuştur ve azalmış serum insülin konsantrasyonlarında ( $P < 0.01$ ,  $0.05$ , sırasıyla) bir artışa sebep olmuştur. STZ insülin immünoaktif  $\beta$  hücreleri alanında önemli bir azalış oluşturmuştur. STZ-indüklü diyabetik ratların siyatik sinirlerinde NS ve TQ tedavisinden kaynaklanan hiçbir histopatolojik değişim belirtilmemiştir. Bu çalışmada TQ ve özellikle NS ile tedavi edilen diyabetik hayvanların dokularının histolojik değerlendirmesi çok az morfolojik değişiklikler göstermiştir. Miyelin hasarı NS ve TQ tedavisinden sonra önemli ölçüde azalmıştır. Aksonların ultra yapısal özellikleri dikkate değer gelişmeler göstermiştir. NS ve TQ'un yararları üzerine yapılacak daha ileriki çalışmaların STZ indüklü diyabetik ratlardaki periferik nöropati üzerine etkili bir tedavi olarak bu maddelerin yararını ortaya koyacağı belirtilmiştir.

*N. sativa* tohumları, Kuzey Afrika ve Orta Doğu'daki geleneksel tıpta şeker hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır. Çok yaygın kullanımı ve çok sayıda bilimsel çalışmalarına rağmen hedef dokular ve bu bitki ürünlerinin hücresel etki mekanizmaları iyi bilinmemektedir. Bu çalışma *N. sativa* tohum ham ekstresinin INS832/13 ve pankreatik  $\beta$ -hücrelerinin  $\beta$ TC hücre dizileri insülin sekresyonu, iskelet-kas hücreleri ve 3T3-L1 adipozitlerdeki glikoz kullanımı üzerine etkilerini değerlendirmektedir. NS ile 18 saatlik tedavi, glukoz stimulyasyonlu insülin salgılanmasını glukoz duyarlılığı etkilemeksizin %35'ten daha fazla arttırmıştır. NS tedavisi ayrıca  $\beta$  hücre proliferasyonunu hızlandırmıştır. NS ile 18 saatlik tedavi bazal glukoz alımını iskelet-kas hücrelerinde %55 (100 nM insülinin aşağı yukarı iki kat etkisine eşit) ve adipozitlerde neredeyse %400 (100 nM insülin etkisine eşdeğer) arttırmıştır. Bu etki adipozitlerdeki insüline katkı sağlamaktadır. Sonuç olarak farklılığa uğrayan pre-adipozitlerde NS ile maruziyet, 10  $\mu$ M rosiglitazon tedavisi ile karşılaştırıldığında trigliserit akümülyasyonunu hızlandırmıştır. NS tohum ekstresinin *in vivo* antihiperglisemik etkileri terapötik açıdan birbiriyle ilişki insülinotropik ve insülin-benzeri özelliklerin kombinasyonu olarak sonuçlandırılabilir (179).

### **2.3.10 Antihepatoto ve Nefrotoksik Etki**

*N. sativa* tohum yağının hepatotoksositeye karşı koruyucu rolü hayvan deneylerinde araştırılmıştır. *N. sativa* yağı (0.27 g/100 g vücut ağırlığı/ gün) ratlara karaciğer ve böbreklerdeki fonksiyonel ve yapısal değişimler gibi yaşlanmayla alakalı olabilecek parametrelerin ölçülmesiyle yaşlanma prosesi üzerindeki olası etkilerini

belirlemek için uygulanmıştır. Kontrol grubunda çekirdek DNA bileşimi yükselmiştir ancak muamele gören ratlarda serum kolesterol, toplam lipitler, gama-glutamil transferaz, üre, ürik asit ve nükleer DNA içeriğinde azalmalar gözlenmiştir. Sonuçlar *N. sativa* tohum yağının ratlardaki yaşlanma prosesini geciktirdiğini göstermiştir (24).

Yapılan bir başka çalışmada *N. sativa* uçucu yağının ana bileşeni olan timokinonun hayvan deneylerinde kimyasal olarak oluşturulan hepatik hasara karşı etkili bir sitoprotektif ajan olduğu bulunmuştur. Swiss albino farelerine oral yoldan 6 günlük peryot boyunca timokinon (8 mg/kg vücut ağırlığı /gün ) verilmiştir ve sonra CCl<sub>4</sub> ile enjekte edilerek (25µl/kg i.) karaciğer hasarı oluşturulmuştur. Uygulamayı alan hayvanların karaciğer profillerine bakıldığında toksisitenin azaldığı görülmüştür (89).

Daba ve Abdel-Rahman 1998 yılında (148) izole edilmiş rat hepatositlerini kullanarak *N. sativa*'dan izole edilen timokinonun tert-bütül-hidro-peroksite (TBHP) karşı koruyucu etkisini araştırmışlardır. Timokinon TBHP'ye karşı koruyucu etkiler göstermiştir. Timokinonun hepatoprotektif özelliği bilinen bir hepatoprotektif ajan olan silibinle karşılaştırılmıştır ve hepatik fonksiyonların korunmasıyla ilgili verilerde silibin kadar etkili olmuştur. Timokinonun hepatoprotektif etki mekanizması belli değildir fakat intraselüler glutatyonun korunmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Etki mekanizmasının ayrıca timokinonun tromboksan B<sub>2</sub> üretimi üzerindeki inhibitör etkisiyle bağlantılı olabileceği düşünülmüştür.

Nagi ve arkadaşları 1999 yılında (67) yaptıkları bir çalışmada timokinonun antioksidan mekanizmalar yoluyla farelerde CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan hepatotoksisiteye karşı karaciğeri koruduğu saptanmıştır.

Ratların *N. sativa* yağı ile 4 haftalık tedavisinin CCl<sub>4</sub> ve D-galaktozamin ile oluşturulan hepatik hasara karşı korumada etkili olduğu düşünülmektedir. CCl<sub>4</sub> ile oluşan hepatotoksisiteye karşı koruma kısmi olmasına rağmen D-galaktozamin ile oluşan hepatotoksisite için tam bir koruma sağlanmıştır. Yağ oral yoldan 800 mg/kg/gün dozda 4 hafta verildiği zaman karaciğer fonksiyonlarında herhangi bir hastalık etkisi görülmemiştir. Yağın ayrıca serum total kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve trigliserit (TG) seviyelerini düşürdüğü ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) seviyesini yükselttiği bulunmuştur (34).

Tavşanlarda *N. sativa*'nın önce verilmesiyle deneysel olarak oluşturulan karaciğer sirozu ve fibrozunu önlediği bulunmuştur (CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan). Tohum ekstresi karaciğerin histolojik tablo ve oksidatif durumunu düzeltmiştir (28).

Tohum yağının hepatoprotektif etkileri karaciğer toksisitesinin bazı modellerinde gösterilmiştir. *S. mansoni* ile enfekte olan farelerde yağ uygulanmıştır ve L-alanin aminotransferaz (ALT), gamma-glutamil-transferaz (GGT) ve alkalın fosfataz (ALP) aktivitesindeki ve serum albümin içeriğindeki değişiklikler saptanmıştır. Yağın *S. mansoni* enfeksiyonuyla oluşan değişikliklere karşı önemli bir rol oynadığı belirlenmiştir. Bu etkinin antioksidan etkileriyle immünolojik durumu korumalarıyla ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Bu sonuçlar *N. sativa* ekstrelerinin ve bileşenlerinin karaciğer fonksiyonları üzerindeki iyileştirici etkisiyle ilişki içinde olduğunu göstermiştir (90).

*N. sativa* ve *U. dioica*'nın CCl<sub>4</sub> indüklü karaciğer fibrozisi ve sirozun önlenmesi üzerindeki rolü araştırılmıştır. Elli Sprague-Dawley ratları 5 gruba bölünmüştür (I, IIA ve B, IIIA ve B) ve CCl<sub>4</sub> bütün gruplara iki haftada bir enjekte edilmiştir. Grup I (kontrol, sadece CCl<sub>4</sub>), Grup IIA ve B (*N. sativa* sabit yağı ve uçucu yağı), Grup IIIA ve B (*U. dioica* sabit yağı ve dekoksion ekstresi) ratları 12 hafta sonunda öldürülmüş ve karaciğer dokularının histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeleri yapılmıştır. Kontrol grubunda periasinal bölgelerdeki ve portal yolaklardaki fibrozislerle alakalı olarak periasinal bölgelerde (bölge 3) koagülasyon nekrozisi ve hidropik dejenerasyon belirlenmiştir. Grup IIA-B ve IIIA-B'de periasinal bölgelerdeki seyrek koagülasyon nekrozisleri dışında herhangi bir ciddi histopatolojik bulguya rastlanmamıştır. Miyofibroblastik transformasyonlu ASMA-pozitif perisinüzoidal hücreler ve fibrogenezisi düşündüren lizozomal enzim aktivitesi, kontrol gruplarında *N. sativa* ve *U. dioica* gruplarında olduğundan anlamlı bir şekilde daha yaygındır. *U. dioica* ve *N. sativa* ratlardaki CCl<sub>4</sub> indüklü hepatotoksitenin engellenmesinde anlamlı bir şekilde etkili olarak görülmektedir (180).

*N. sativa* tohum ekstresinin (50 mg/kg) nefrotoksik ilaç sisplatinin uygulanmasından 30 dk. önce verilmesi nefrotoksitenin biyokimyasal ve fizyolojik belirteçlerini düzeltmede etkili olmuştur (15).

### 2.3.11 Kardiyovasküler Sistem ve Kan Üzerine Etki

El-Tahir ve arkadaşları tarafından 1993 yılında (94) yapılan bir çalışmada *N. sativa* uçucu yağı ve aktif bileşeni timokinonun anesteziye edilen ratların arteriyel kan basıncı ve kalbi üzerine etkileri araştırılmıştır. İki ajan da intravenöz enjekte edildiği zaman arteriyel kan basıncı ve kalp hızında doz bağımlı bir azalma oluşturmuştur. Bunu 5-hidroksitriptaminerjik ve muskarinik mekanizmaların katıldığı indirekt ve direkt mekanizmalar aracılığıyla sağlamıştır. Bu etkiler siprohepatidin (bir serotonin ve histamin (H<sub>1</sub>) reseptör antagonisti), atropin (kolinerjik (M) reseptör antagonisti), hekzametonyum (gangliyonik nikotinik (N) reseptör antagonisti), rezerpin (adrenerjik deprese edici ajan) ve omurilik yoluyla antagonize edilmiştir. Bu ajanların kardiyovasküler etkilerinin multifaktöriyel olduğu ve başlıca triptaminerjik ve kolinerjik mekanizmaların dahil olduğu direkt ve indirekt mekanizmalar aracılığıyla gerçekleştiği düşünülmüştür. Yağın antihipertansif ilaç olarak kullanılabilmesi önerilmiştir (93). Ayrıca sabit yağın sabunlaşmayan fraksiyonu kalp üzerinde belirli bir depresan etki göstermiştir ve bradikardi oluşturmuştur.

Bir başka çalışmada *N. sativa* tohumlarının diklorometan ekstresinin hipertansif ratlarda güçlü diüretik ve antihipertansif etkiler gösterdiği bulunmuştur. Ekstrenin (0.6 mL/kg) diüretik etkisi furosemit ile (5 mg/kg) karşılaştırıldığında %16 kadar yükselmiştir (furosemit diürezisi %30 kadar artırır). Cl, Na, K ve üre atılımı diürezise katılmıştır. *N. sativa* bir Ca kanal blokörü olan nifedipinle (0.5 mg/kg) karşılaştırıldığında hipertansiyonu %22 oranında düşürmüştür (nifedipin arteriyel kan basıncında %18 düşüş sağlar.). Araştırmacılar *N. sativa*'nın diüretik etkisinin en azından kısmen antihipertansif etkisinden sorumlu olduğunu düşünmüşlerdir. Antihipertansif etki için merkezi bir mekanizma olabileceği belirtilmiştir (15, 93).

Yapılan bir başka çalışmada *N. sativa* tohumlarının timol gibi aktif bileşenlerinin Ca kanallarının blokajı ile kan basıncını düşürdüğünü ortaya koymuşlardır. Bu çalışmalar göstermiştir ki bitki çok çeşitli basamaklarda rol oynayan antihipertansif etkili çok çeşitli kimyasallar içermektedir. *N. sativa* tohum tedavisinin ayrıca serum kolesterol seviyelerini düşürdüğü bulunmuştur (18).

Bir diğer çalışmada *N. sativa* tohumlarının dislipidemi ve hiperglisemi tedavisindeki geleneksel kullanımını destekleyecek şekilde ratlarda sabit yağın etkisi (1 mL/kg/gün/12 hafta) toksisiteye ek olarak kan hemostazı ve vücut ağırlığının moniterize

edilmesiyle araştırılmıştır. Hemoglobin, hemotokrit ve PCV seviyeleri önemli ölçüde artarken serum kolesterol, trigliserit, glukoz seviyeleri, lökosit ve platelet miktarı azalmıştır. Bu sonuçlar hiperglisemi ve hiperlipidemi ve belki de aneminin bazı tiplerinin tedavilerine yardımcı olacak şekilde yararlı etkilerine işaret etmiştir (15, 35).

Öğütülmüş tohumlar ve toplam yağ, sağlıklı dişi gönüllülerde glukoz, kolesterol, trigliserit, kreatin kinaz, prolaktin, kırmızı kan hücreleri, beyaz kan hücreleri, plateletler, hemoglobin ve ALT, AST, ALP ve GGT gibi bazı karaciğer enzimlerinin serum seviyeleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Toplam yağ, hemoglobin seviyelerini yükseltirken öğütülmüş tohumlar RBCs, WBCs ve hemoglobin seviyelerinde anlamlı bir yükselme sağlamıştır. Sadece toplam yağ ALT ve AST' de önemli bir artış sağlamıştır. Hem toplam yağ hem de öğütülmüş tohumlar GGT ve ALP'den önemli bir artış sağlamıştır. *N. sativa* tohum ekstresinin hemoglobin seviyesi ve lökosit miktarında sisplatin kaynaklı azalmalara karşı koruma sağladığı bulunmuştur (36).

*N. sativa* Suudi Arabistan ve Körfez ülkelerinde çok fazla tüketilmektedir. *N. sativa*'nın kan koagülasyonu ve normal yetişkin beyaz erkek ratların bazı karaciğer fonksiyon testleri üzerine etkileri araştırılmıştır. *N. sativa*'nın bir un hamuru ile birleştirilmiş toz edilmiş tohumlarının ekivalen (180 mg *N. sativa* /kg rat/gün), yarım, çift ve üçlü dozları 1, 2 ve 4 hafta boyunca uygulanmıştır. Kontroller sade un hamuru almıştır. Her besleme periyodunun sonunda platelet miktarı, protrombin zamanı, aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı, trombin zamanı, fibrinojen seviyeleri, antitrombin III, albumin, aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) aktivite seviyeleri belirlenmiştir. Kontrolle karşılaştırmalı olarak çift doz iki hafta sonra anlamlı bir şekilde geçici protrombin zamanında uzama (%7.8) ve trombin zamanında azalma (%13), üçlü doz bir hafta sonra önemli ölçüde geçici aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanında azalma (%16) ve trombin zamanında azalma (%13) oluştururken *N. sativa*'nın ekivalen dozu 4 hafta sonra önemli ölçüde hiperfibrinojenemi (%14) oluşturmuştur. Fibrinojene paralel olarak albumin seviyelerinde ve ALT aktivitesinde artış olmuştur. Platelet miktarı, antitrombin III seviyesi ve AST aktivitesinde hiçbir değişim gözlenmemiştir. Sonuç olarak kullanılan *N. sativa* dozları ratların koagülasyon aktivitesinde geçici değişimler oluşturmuştur (14).

Bir diğerk çalışmada albino ratlarda timokinonun kan kolesterol, TG, HDL ve LDL seviyeleri üzerine çalışılmıştır. 4 gün sonra TG, LDL ve HDL üzerinde düşürücü bir etki oluşmuştur (18).

*N. sativa* yağının metanollü kısmı araşıdonik asit, platelet agregasyonu ve kan koagülasyonu üzerinde inhibitör etkiler göstermiştir. Metanollü kısım yeni bir bileşen 2-(2-metoksipropil)-5-metil-1,4-benzenediol ve iki bilinen bileşen timol ve karvakrol için saflaştırılmıştır. Bu bileşenlerin çok güçlü inhibitör etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır ve trombozis için bilinen bir terapötik ajan olan aspirinden daha etkili oldukları bulunmuştur (144).

### **2.3.12 Gastrointestinal Sistem zerine Etki**

*N. sativa* tohumları GIS rahatsızlıklarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada *N. sativa* yağının sitoprotektif etkilere sahip olduğu gözlenmiştir (15).

Başka bir çalışmada tohumların sulu ekstresinin, asetil salislik asit verilen ratlarda mide zsuyunun asidik içeriğini azaltarak (%36) anti ülser aktivite gösterdiği saptanmıştır (96). Ratlarda alkollü ekstre pilorun bağlanması ve aspirin ile oluşturulmuş gastrik ülser modelleri kullanılarak anti ülser aktiviteyi değerlendirmek için kullanılmıştır. Gastrik asit sekresyon hacmi, serbest asidite, toplam asidite ve ülser indeksi anlamlı derecede azalmıştır (18). Ratlarda *N. sativa* yağının iki hafta verilmesiyle (0.88 g/kg/gün) msin içeriği ve glutasyon seviyesinde önemli bir artış ve karın bölgesindeki mukozal histamin içeriğinde önemli bir azalış sağlanmıştır. Fakat gastrik zsudaki serbest asidite ve peptik aktivitesini etkilememiştir. Bu durum ratlardaki etanol ile oluşturulmuş ülsere karşı iyi bir koruma sağladığını göstermiştir (154). Tohum yağı ve timokinonun gastrik mukozal durumu korumayla bağlantılı olarak gastrik lezyonlara karşı gastroprotektif etkiler gösterdiği bulunmuştur (155). Sulu tohum ekstresi ince bağırsağın asetilkoline duyarlılığını arttırmış ve doz bağımlı bir yolla serotoninle etkileşime girmiştir (18). Uçucu yağ ve etanollü ekstre tavşan jejunumundaki düzenli hareketlenmeleri inhibe etmiştir. Aynı zamanda agonist-indüklü kasılmalar ve kalsiyum kanal blokajını içine alan spazmolitik etkileri de inhibe etmiştir (95). Sulu metanollü ekstre aynı zamanda diyarenin geleneksel kullanımında ki bilimsel temeli oluşturan kalsiyum antagonist etkisiyle spazmolitik etkiler göstermiştir (18).



Bir başka çalışma göstermiştir ki timokinon ratlardaki asetik asit ile oluşturulmuş kolitte çeşitli etkilere sahiptir. Timokinon düşük dozlarda (5 mg kg<sup>-1</sup>) kısmi koruma sağlamıştır. Daha yüksek dozlarda sülfasalazinden bile anlamlı bir şekilde tam bir koruma sağlamıştır. Koruyucu etkilerin olası mekanizmalarının kısmen antioksidan etkilerle ilişkili olabileceği düşünülmüştür (97).

Kanter ve arkadaşlarının 2006 yılında (181) yaptıkları çalışmada 4 aylık 40 erkek rat 4 gruba bölünmüştür (her grup 10 hayvanı içeriyor); kontrol grubu fizyolojik tuz (10ml kg<sup>-1</sup>) almış ve etanol grubu sonda ile 1ml saf alkol (her rat) almıştır. 3. ve 4. gruplar ayrıca sırasıyla alkol uygulanmasından 1 saat sonra sonda ile *N. sativa* (500mg kg<sup>-1</sup>) ve timokinon (10mg kg<sup>-1</sup>) almıştır. Her iki ilaç (*N. sativa* ve timokinon) gastrik mukozayı saf alkolün zararlı etkilerine karşı koruyabilmiştir ve ülser indeks değerlerinden kanıtlandığı üzere ülser iyileşmesini arttırabilmiştir. Gastrik zararın histomorfolojik olarak etanole maruz kalan ratlardaki gastrik erozyonlar ve mast hücrelerinin sayılarındaki önemli artıştan ileri geldiği düşünülmektedir. *N. sativa* maruziyeti mast hücreleri sayısını anlamlı şekilde azaltmış ve gastrik erozyon sayısını indirmişdir. Aynı şekilde timokinon tedavisi ayrıca mast hücreleri sayısını ve gastrik mukoza lezyon tehlikesini indirgeyebilmiş fakat bu etkiler bitkiye oranla daha az bir derecede olmuştur. Gastrik doku histamin seviyeleri ve miyeloperoksidaz aktivitelerinin etanole muamele edilen ratlarda arttığı saptanmış; *N. sativa* veya timokinon tedavisi bu artışları tersine çevirmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, her iki ilacın özellikle *N. sativa*'nın gastrik mukozayı alkol-indüklü mukozal hasardan koruyabileceğini ortaya koymaktadır. Bu gastroprotektif etkiler bunların antiperoksidatif, antioksidan ve antihistaminik etkileriyle ilişkili olduğunu göstermektedir.

### **2.3.13 Antiaflatoksin Etki**

Farklı konsantrasyonlarda *N. sativa*'yı da içeren çok sayıda tıbbi bitki ile aflatoksin oluşumunun inhibisyonu üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde toz edilmiş tohumlar (%10 konsantrasyonda) *Aspergillus flavus*'un toksijenik suşunun aflatoksin üretimini ve çoğalmasını %85-90 oranında inhibe etmiştir. *N. sativa* yağı ayrıca yağın artan konsantrasyonu ile bağlantılı olarak aflatoksinlerin çoğalmasını inhibe etmiştir. İnhibitör konsantrasyon çoğalma ortamında kullanılan sükroz seviyesinin minimum olduğu durumda maksimuma ulaşmıştır (24).

### 2.3.14 Östrojenik Etki

*N. damascena* tohumlarından elde edilen ekstrelerin östrojenik aktivitesini ölçmek için insan östrojen reseptörünü içeren yeast estrogen screen (YES) kullanılmıştır. Artan polariteli solvanlar ile ekstraksiyon sonrasında meydana gelen alkol ekstresi güçlü östrojenik aktivite gösterirken tohumların direk ekstraksiyonu ile meydana gelen alkol ekstrahları düşük östrojenik aktivite göstermiştir. Bu durum çok polar bileşiklerin aktivitelerini maskeleyebilen apolar bileşiklerin daha önce elimine edilmesinden sonra *Nigella*'daki polar bileşiklerin aktiviteleri açık bir şekilde gösterilmiştir. Her iki alkol fraksiyonunun cevabı, konsantrasyon bağımlı bir ilişki olduğunu göstermektedir (98).

### 2.3.15 Antinosiseptif Etki

Farelerde *N. sativa* yağı ve ana bileşeni timokinonun antinosiseptif etkileri araştırılmıştır. *N. sativa* yağının (50-400mg/kg) p.o. uygulaması sıcak zemin, kuyruk sıkıştırma testi, asetik asit indüklü kıvranma testi ve formalin testinin erken fazında nosiseptif cevabı doz bağımlı olarak baskılamaktadır. Timokinonun sistemik uygulanması (2.5-10mg/kg, p.o. ve 1.6mg/kg, i.p.) ve intraserebroventriküler (i.c.v) enjeksiyonu (1-4µg/fare) formalin testinin sadece erken fazında değil aynı zamanda geç fazında da nosiseptif cevabı zayıflatmaktadır. Subcutan enjekte edilen nalokson (1mg/kg) formalin testinin erken fazında *N. sativa* yağı ve timokinon indüklü antinosisepsiyonu önemli ölçüde bloke etmiştir. Daha da ötesi, naloksonun (10µg/fare), µ<sub>1</sub>-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 yapmazken, formalin testinin geç fazında değil ancak erken fazında timokinon indüklü antinosisepsiyonu önemli ölçüde tersine çevirmektedir. Morfinin antinosiseptif etkisi, timokinon ve *N. sativa* yağı tolere eden farelerde önemli ölçüde azalmıştır fakat tersi geçerli değildir. Bu sonuçlar *N. sativa* yağının ve timokinonun supraspinal µ<sub>1</sub>ve κ-opioid reseptör alt tiplerinde indirekt aktivasyon ile antinosiseptif etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur (99).

### 2.3.16 Nöroprotektif Etki

Yağı alınmış *N. sativa* tohumlarının santral sinir sistemi ve analjezik aktivite üzerine etkilerini ölçmek için sulu ve metanollü ekstratlarla farmakolojik çalışmalar yürütülmüştür. Gözlemler, *N. sativa*'nın iki ekstresinin de güçlü bir santral sinir sistemi ve analjezik aktiviteye (özellikle metanolik ekstratda depresan etki) sahip olduğunu göstermiştir (100).

Yapılan bir çalışmada ratlarda deneysel spinal cord hasarı (SCI) üzerine metilprednizolonla karşılaştırmalı olarak *N. sativa*'nın olası yararlı etkileri araştırılmıştır. SCI T11-12 seviyelerinde ekstradural olarak anevrizma kesesinin çıkarılmasıyla gerçekleşmiştir. Ratlar travmadan 24 saat sonra nörolojik olarak test edilmiştir. Omurilik doku örnekleri hem biyokimyasal hem de histopatolojik değerlendirilmeleri için alınmıştır. Ratların nörolojik skorlarının SCI gruplarındakinden farklı olmadığı bulunmuştur. SCI omurilik doku malondialdehit (MDA) ve protein karbonil (PC) seviyelerini önemli ölçüde arttırmıştır. Buna rağmen SCI, kontrolle karşılaştırıldığında superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerini azaltmıştır. Metilprednizolon ve *N. sativa* tedavisi, MDA doku ve PC seviyelerini azaltmıştır. Dokularda SOD, GSH-Px ve CAT enzimlerinin inhibisyonunu durdurmuştur. En anlamlı sonuçlar *N. sativa* verildiğinde elde edilmiştir. SCI ve plasebo gruplarında omurilik doku nöronları büyük ölçüde koyulaşmıştır ve piknotik çekirdek ile dejenere olmuştur. Metilprednizolon ve *N. sativa* tedavisi alan gruplardaki nöronların morfolojileri iyi korunmuştur ancak kontrol grubundaki nöronlar daha iyi korunmuştur. SCI ve plasebo gruplarının omurilik dokularındaki nöronların sayısı; kontrol, laminektomi, metilprednizolon ve *N. sativa* tedavisi alan gruplardan anlamlı bir şekilde daha azdır. Sonuç olarak *N. sativa* tedavisi omurilik doku hasarında yararlı olabileceği ve bu yüzden klinik kullanımlar için etkili olabileceği düşünülmüştür (101).

*N. sativa* (NS) ve bundan elde edilen timokinonun (TQ) ratlarda kronik toluen maruziyetinden sonra hipokampusteki nörodejenerasyon üzerine olası yararlı etkilerini araştırmak için bir çalışma yapılmıştır. Ratlar randomize olarak 4 gruba ayrılmıştır: A (Kontrol), B (toluenle tedavi gören), C (NS ve toluenle tedavi gören) ve D (TQ ve toluenle tedavi gören); her grup 10 hayvan içermektedir. Toluen tedavisi 12 hafta boyunca düzenli bir şekilde 8 saat/gün ve 6 gün/hafta olarak 3.000ppm toluenin

inhalasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu 1ml serum fizyolojik almıştır ve NS ve TQ tedavisi alan gruplardaki ratlara (C ve D) toluene maruz kalmaya başladıktan hemen sonra 12 hafta boyunca intra gastrik intübasyon kullanılarak oral yoldan günde 1 defa sırasıyla NS (vücut ağırlığına göre 400 mg/kg dozda) ve TQ (yüzde ağırlığına göre 50mg/kg) verilmiştir. Histopatolojik araştırmalar için doku örnekleri alınmıştır. Bugüne kadar kronik toluene maruz kaldıktan sonra NS ve TQ tedavisine ait hipokampustaki nörodejenerasyonla ilgili hiçbir histopatolojik değişim belirtilmemiştir. Bu 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 yoktur. Bu çalışma sonucunda TQ ve özellikle NS tedavisi kronik toluene maruz kalmış ratların hipokampuslarındaki nörodejenerasyon üzerinde morfolojik gelişmeler sağladığı gözlenmiştir (102).

### **2.3.17 Antikonvulzan Etki**

*N. sativa* tohumlarının ana bileşeni timokinonun (TQ) antikonvulzan etkileri pentilentetrazol (PTZ) ve maksimal elektroşok (MES) indüklü nöbet modelleri kullanılarak araştırılmıştır. Ayrıca TQ'nun fenobarbital indüklü hipnoz, lökomotor aktivite ve motor koordinasyon etkileri de çalışılmıştır. PTZ indüklü nöbette TQ 40 ve 80 mg/kg dozlarda intraperitoneal enjeksiyonla nöbet başlangıcını uzatmış ve myoklonik nöbetlerin süresini kısaltmıştır. TQ'nun mortaliteye karşı koruyucu etkisi bahsedilen dozlarda sırasıyla %71.4 ve %100'dür. MES modelinde TQ mortaliteye karşı tam bir koruma sağlamasına rağmen nöbetlerin süresini kısaltmada başarısız kalmıştır. PTZ modelinde GABA<sub>A</sub>-BZD reseptör kompleksindeki BZD bölümünün bir antagonisti olan flumazenil (10 mg/kg, i.p.) nöbet gecikme süresinin uzayışını inhibe etmiştir. Fakat myoklonik nöbetlerin süresinde hiçbir etki göstermemiştir. Ayrıca nalokson ile tedavi (0.1 ve 0.3 mg/kg, i.p.), myoklonik nöbet gecikme süresinin uzayışını inhibe etmiştir ve PTZ modelinde TQ (40 ve 80 mg/kg, i.p.) ile indüklenen myoklonik nöbet süresinin redüksiyonunu antagonize etmiştir. Daha da ötesi, TQ (40 ve 80 mg/kg) fenobarbital indüklü hipnozda hiçbir hipnotik etkiye sahip değildir fakat motor koordinasyonu bozmakta ve lokomotor aktiviteyi azaltmaktadır. Bu sonuçlar

GABAergic kasılmalarındaki opioid reseptör aracılıklı artışla belki de hafif seyreden epilepsilerde antikonvulsan aktiviteye sahip olabileceğini göstermiştir (103).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Araştırma materyalini oluşturan *N. sativa* L. bitkisi C6 Maraş: Avşar Köyü yakınlarından Haziran 2008'de toplandı. Çiçekli ve tohumlu iken ayrı ayrı herbaryum örnekleri alındı, kurutularak herbaryum numunesi hazırlandı ve Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumuna konuldu (Herbaryum numarası: Ahmet İLÇİM 1759 KSUH). Çalışma materyalini oluşturacak örnekler (tohum, toprak üstü ve kök) tohum olgunlaşma zamanında toplanarak gölgede kurutuldu. Tohum, toprak üstü kısım ve kökler ayrılarak öğütüldü ve ekstraksiyon işlemleri için hazır hale getirildi.

#### 3.2 Yöntem

##### 3.2.1 Kullanılan Kimyasallar

Apigenin	Fluka
1,1 Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH')	Sigma
3,4-Dihidroksi benzoik asit	Merck
2,6-Di-tert-bütil-4-metilfenol (BHT)	Merck
(-)-Epikateşin	Fluka
Ferulik asit	Merck
Gallik asit	Sigma
Hidroklorik asit	Merck
(+)-Kateşin	Sigma
Kersetin	Fluka
Klorojenik asit	Sigma
Metanol	Merck
n-Hekzan	Merck
<i>p</i> -Kumarik asit	Merck
Trans-sinamik asit	Aldrich

Timokinon	Aldrich
Timol	Fluka
Trans-2-hidroksisinnamik asit	Aldrich
Vanilik asit	Fluka

### 3.2.2 Kullanılan Cihazlar

Rotary Evaporatör	Rotar TVP 200
Su banyosu	Elektro-mag
Ultrasonik Banyo	Bandelin Sonorex
Elektrikli Terazî	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 Ekstraksiyonu ve Yağ Asidi Metil Esteri Hazırlanması

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

Bir santrifüj tüpüne 0.5g hekzanlı ekstre alınıldı. 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 analiz için enjektörle küçük bir şişede toplanarak analize kadar +4°C’de saklandı (21).

### 3.2.3.2 Uçucu Yağ Ekstraksiyonu

Öğütülmüş 15g tohum alınarak Clevenger cihazında su distilasyonu uygulandı. Distilasyon işlemine toplama büretindeki yağ miktarı artmayıncaya kadar devam edildi. Yağın hacmi büretten okunarak % yağ verimi hesaplandı.

### 3.2.3.3 Timol ve Timokinon Analizleri İçin Ekstraksiyon İşlemi

Timol ve timokinon analizleri için, 0.1g 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 sıvı kısım balonjojeye alındı, eksilen hacim 10 ml'ye tamamlandı ve buradan HPLC'ye enjekte edildi (43).

### 3.2.3.4 Fenolik Bileşiklerin Analizleri İçin Yapılan Ekstraksiyon İşlemi

Tohum: 30g tohum önce hekzanla Soxhletde ekstraksiyona tabi tutuldu, hekzan alındıktan sonra kalan tohum 6 saat boyunca Soxhlet cihazında metanol ile tüketildi. Ekstre rotari evaporatörde 40°C'de kuruluğa kadar uçuruldu ve tartılarak % verim hesaplandı.

Toprak üstü kısım: Toprak üstü kısmın 80g'ı Soxhlet'de 500'er ml metanol ile 4 kez her birinde 6 saat olmak üzere tüketildi. Ekstre rotari evaporatörde 40°C'de kuruluğa kadar uçuruldu ve % verim hesaplandı.

Bir diğer tüketme işlemi ise düşük sıcaklıkta gerçekleştirilmek üzere yapıldı. 80g 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, rotari evaporatörde 40°C'de kuruluğa kadar uçuruldu, tartıldı ve % verim hesaplandı.

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

İkinci yöntemde ise 21.97g 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, rotari evaporatörde kuruluğa kadar uçuruldu, tartıldı ve % verim hesaplandı (53).

Yukarıda anlatılan şekilde hazırlanan ekstrelerin her birinden hidroliz işlemi için 0.5g alınarak 40 ml 1 g/lt 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 ve HPLC analizlerinde kullanıldı.

### **3.2.4 GC-MS Analizi**

#### **3.2.4.1 Sabit Yağın GC-MS Analizi**

*N. sativa* tohum sabit yağının yağ asitlerinin kalitatif ve kantitatif analizi GC-MS kullanılarak belirlendi.

#### GC-MS Analizine Ait Teknik Bilgiler:

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)
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	: 1:30

### 3.2.4.2 Uçucu Yağın GC-MS Analizi

*N. sativa* tohum uçucu yağının kalitatif ve kantitatif analizi GC-MS kullanılarak belirlendi. Analizler yukarıda belirtilen cihazda yapılmış olup analiz şartları aşağıda belirtilmiştir;

#### GC-MS Analizine Ait Teknik Bilgiler;

Kolon	: 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	: 1:20

### 3.2.5 Yüksek Basınçlı 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)
Detektör	: UV <sub>254</sub> 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
Analitik 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)
Detektör	: DAD, 280 nm
Mobil faz akış hızı	: 0.6 mL /dk
Enjektör Hacmi	: 20 µL
Sıcaklık	: 25°C

### 3.2.5.3 E Vitamini Analizi

0.1g tohum alındı ve 10ml ekstraksiyon çözücü ile ekstrakte edildikten sonra HPLC’de analizler gerçekleştirildi.

#### 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
Detektör	: FLD (Floresans dedektör) Ex = 295 nm Em = 330 nm
Mobil faz akış hızı	: 1 ml/dk
Enjektör Hacmi	: 20 µL

### 3.2.6 Mineral Madde Analizi

Tohumların mineral madde içeriği ile ilgili analizler Tübitak-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. Bu çözeltiler ana stok olarak kabul edildi ve seyreltmeler aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi: (Eppendorf 100, 1000, 5000 µl’lik otomatik pipetler kullanıldı.)

1ml 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)

Absorbanslar okunduktan sonra hesaplanan % inhibisyon değerleri düşük çıktığı için tekrar ana stok 1g ekstre tartılıp 100ml'ye tamamlanarak hazırlandı. Bu stoktan seyreltmeler aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

4.5ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (4.5mg/ml)

6.5ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (6.5mg/ml)

8.5ml alınıp 10ml'ye tamamlandı (8.5mg/ml)

Bu seyreltme işlemi tohum ve toprak üstü ekstraları için yapıldı. Kök ekstresinin miktarı yetmediği için önceki değerler ana stok çözeltisinin absorbansı hesaplamalarda kullanıldı.

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 (182, 183). Bunun için hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerin her birinden 0.1 ml alınıp taze hazırlanmış  $6 \times 10^{-5}$  mol/litre metanollü DPPH çözeltisinden 2.9ml ilave edildi ve ½ saat karanlıkta inkübasyona bırakıldı ve ardından UV<sub>515</sub> nm'de absorbanslar ölçüldü. Her ölçüm 3 kez tekrarlanarak ortalama ve standart sapmaları hesaplandı. DPPH çözeltisi kontrol (A<sub>0</sub>) olarak kullanıldı. Radikal süpürücü etki, % inhibisyon olarak aşağıdaki formülden hesaplandı:

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

A<sub>0</sub>= Kontrolün (DPPH çözeltisi) absorbansı

A<sub>1</sub>= Numune varlığında ölçülen absorbans

## 4. BULGULAR

### 4.1 GC-MS Analizlerine Ait Bulgular

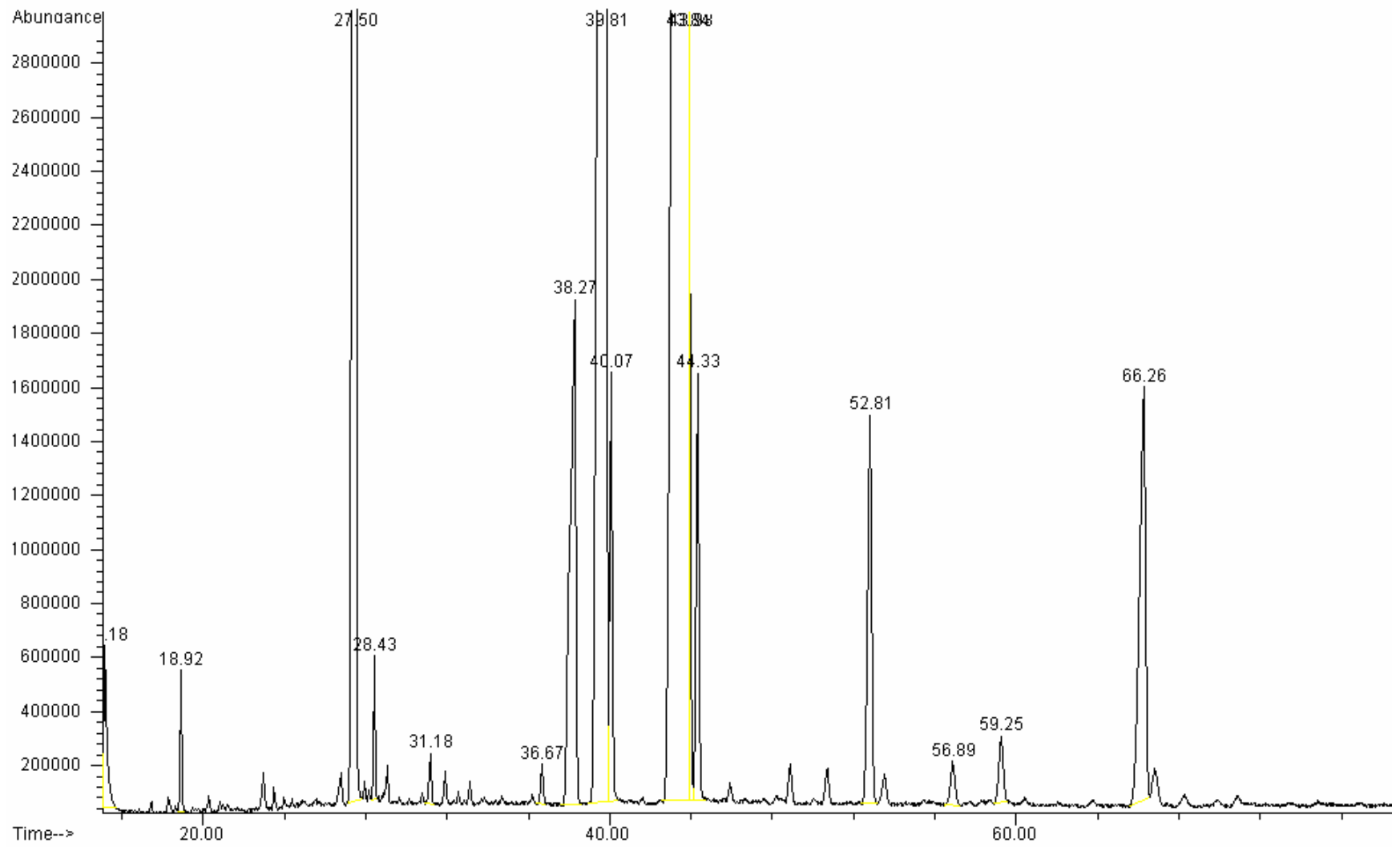
#### 4.1.1 Sabit Yağ Analizi

*N. sativa* tohumundan Soxhlet ekstraksiyonunda %43.75 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. sativa* tohumlarından elde edilen sabit yağın yağ asidi bileşimi

Rt	Yağ asidi	% Miktar
18.92	Miristik asit	0.24
27.49	Palmitik asit	<b>13.50</b>
28.42	Palmitoleik asit	0.25
38.27	Stearik asit	3.15
39.80	Oleik asit	<b>22.38</b>
43.83	Linoleik asit	<b>51.60</b>
48.87	Linolenik asit	0.14
56.89	Araşidik asit	0.21
59.26	Eikosenoik asit	0.35
66.26	Eikozadienoik asit	2.81
	Belirlenen yağ asidi	94.63
	Belirlenemeyen yağ asidi	5.37
	Belirlenen doymuş yağ asidi	17.10
	Belirlenen doymamış yağ asidi	77.53

İncelenen tohum yağı, %51.6 oranında linoleik (C<sub>18:20</sub>) ve %22.38 oranında oleik (C<sub>18:1</sub>) asit içermektedir. Bu iki doymamış yağ asidinin yağın yaklaşık %74’ünü oluşturmaktadır. Ayrıca eikozadienoik asit (C<sub>20:2</sub>) miktarı da %2.81 oranında olup, tüm bu veriler doymamış yağ asitleri açısından yağın zenginliğini göstermektedir. Doymuş yağ asitleri içerisinde en yüksek miktarda palmitik asit (C<sub>16:0</sub>) bulunmaktadır ki bu asit yağda %13.5 oranında bulunmaktadır. Stearik (C<sub>18:0</sub>) ve miristik (C<sub>14:0</sub>) asitlerin ise düşük miktarlarda olduğu saptanmıştır.



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

#### 4.1.2 Uçucu Yağ Analizi

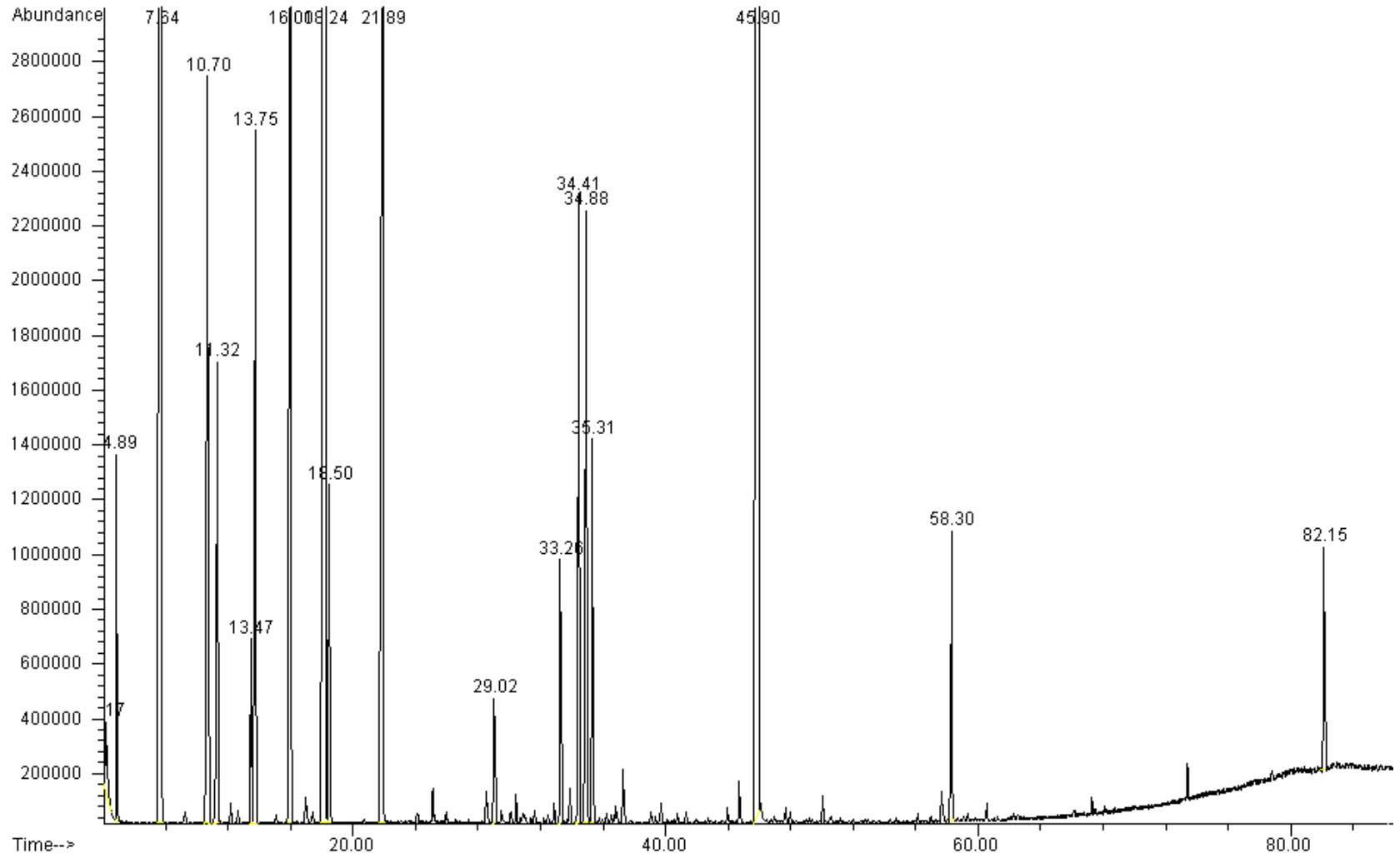
Tohumlardan Clevenger cihazı kullanılarak hidrodistilasyonla %3.33 verimle elde edilen uçucu yağın analizi GC-MS yöntemi ile yapılmıştır. Uçucu yağın GC-MS analizi sonucu elde edilen kromatogramı Şekil 4. 2’de görülmektedir. Kromatogramdaki bileşiklere ait % miktarlar ise Tablo 4. 2’de görülmektedir.

**Tablo 4. 2** *N. sativa* uçucu yağında bulunan bileşikler ve % miktarları

<b>Rt</b>	<b>Bileşik</b>	<b>% Miktar</b>
7.63	$\alpha$ -tuyen	<b>16.68</b>
10.69	$\beta$ -pinen	2.87
11.31	Sabinen	1.47
13.47	$\alpha$ -terpinen	0.48
13.74	dl-limonen	1.82
15.99	$\gamma$ -terpinen	4.89
18.23	<i>p</i> -simen	<b>38.34</b>
29.02	$\alpha$ -longipinen	0.42
34.88	İzolongifolen	1.97
35.30	4-terpineol	0.88
45.90	Timokinon	<b>18.93</b>
58.30	Karvakrol	0.64
	Toplam belirlenen bileşikler	89.39
	Toplam belirlenemeyen bileşikler	9.76

İncelenen uçucu yağın monoterpenik bileşenlerce zengin olduğu ve başlıca *p*-simen (%38.3) ile  $\alpha$ -tuyen (%16.68) içerdiği göze çarpmaktadır. Timokinon miktarı ise %18.93 olarak belirlenmiştir. Yağda belirlenen seskiterpenik bileşiklerin ise çok düşük oranlarda bulunduğu görülmektedir. Bu kısımdaki seskiterpenlerde izolongifolen %1.97 oranında bulunurken bunu daha düşük oranda  $\alpha$ -longipinen takip etmektedir.





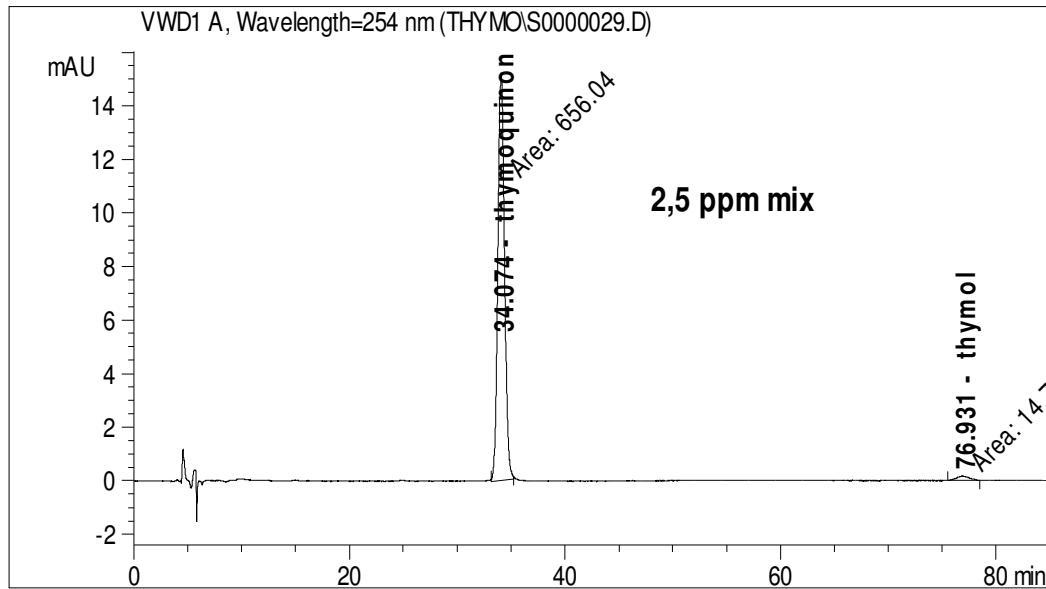
Şekil 4. 2 *N. sativa* uçucu yağının total iyon kromatogramı (DB-23 kolonunda)

## 4.2 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Analizlerine Ait Bulgular

### 4.2.1 Timol ve Timokinon Analizleri

*N. sativa* tohumlarından deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan metanol ekstresinin timol ve timokinon profili Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile analiz edilmiştir. Kalitatif analiz için standart olarak timol ve timokinon kullanılmıştır (Şekil 4. 3).

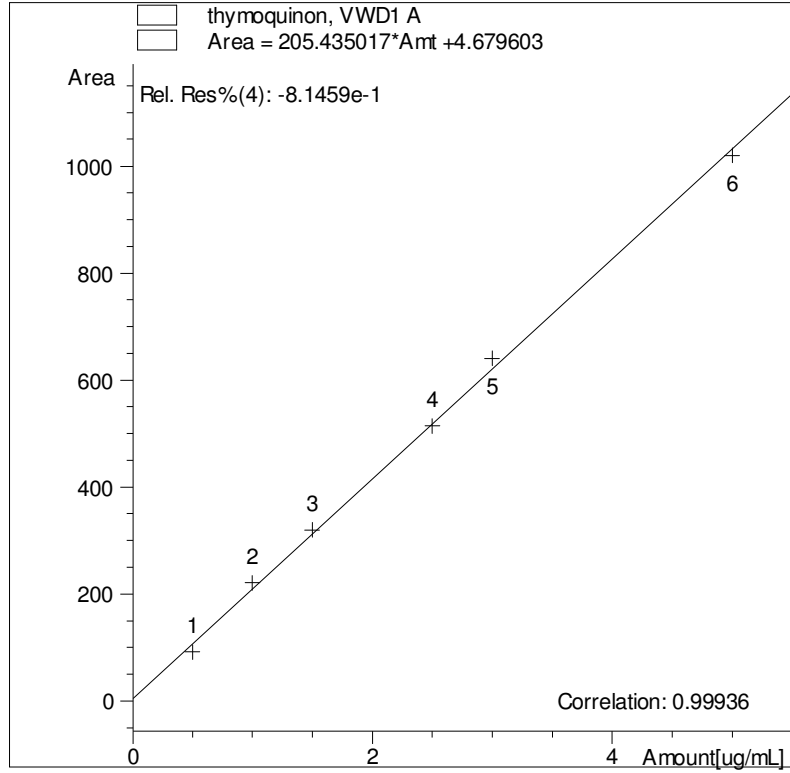
Kantitatif tayin için standartların farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerinin analizlerinin sonucunda her bileşik için kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve regresyon denklemi hesaplanmıştır (Şekil 4. 4 ve 4. 5). Numunede bulunan timokinon ve timol miktarları ilgili standardın kalibrasyon denkleminde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



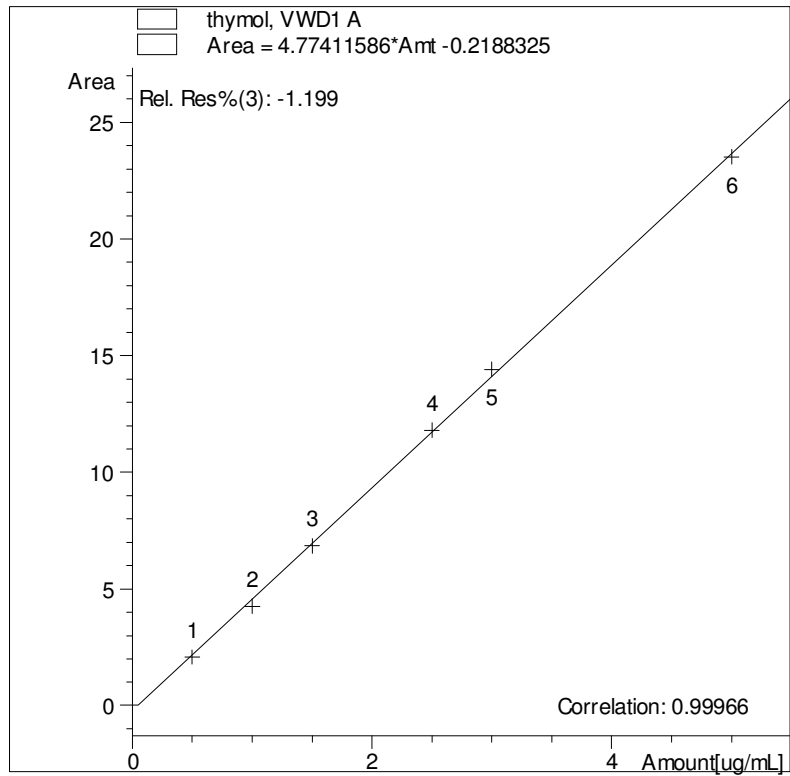
Rt=34.074 Timokinon

Rt=76.931 Timol

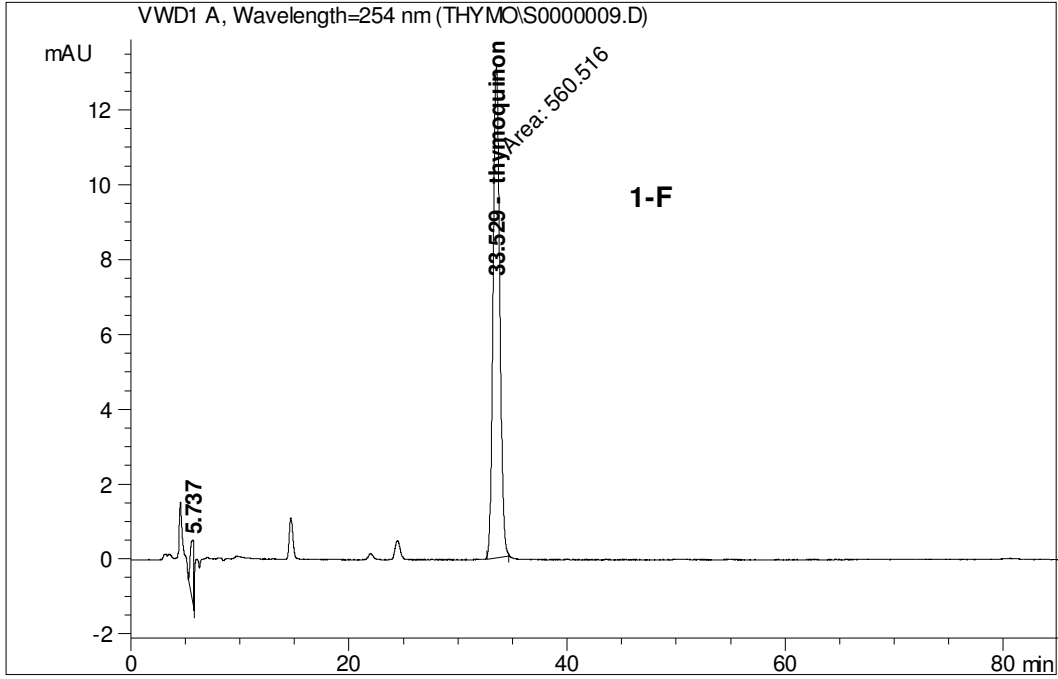
Şekil 4. 3 Timokinon ve timolün HPLC kromatogramı



Şekil 4. 4 Timokinonun kalibrasyon eğrisi



Şekil 4. 5 Timolün kalibrasyon eğrisi



Şekil 4. 6 *N. sativa* tohum metanollü ekstresinde bulunan timokinon ve timole ait HPLC kromatogramı

Analiz sonuçlarına göre; tohum metanol ekstresinde  $268.333 \pm 0.378 \mu\text{g/ml}$  timokinon varlığı saptanmış olup timol miktarının çok düşük olduğu gözlenmiştir.

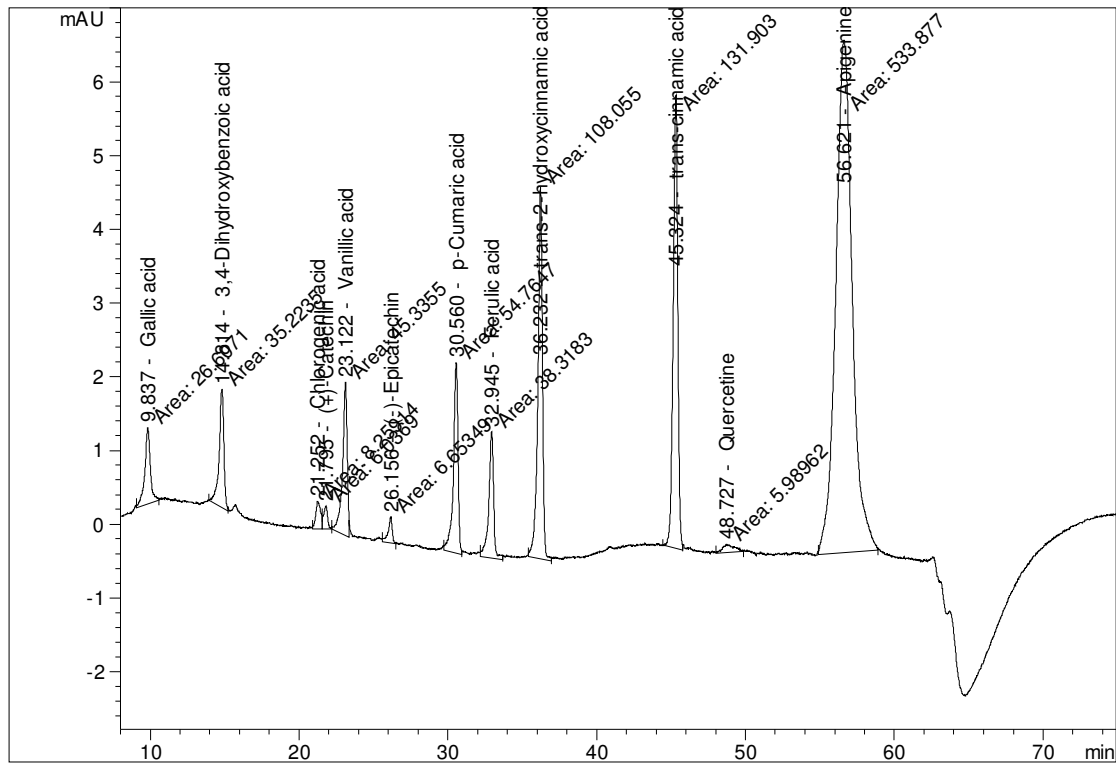
#### 4.2.2 Fenolik Bileşiklerin Analizleri

*N. sativa* tohum, toprak üstü ve köklerinden deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan metanol ekstralarının verimleri Tablo 4. 3'de görülmektedir. Ekstrelerin HPLC'de kalitatif analizleri 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.

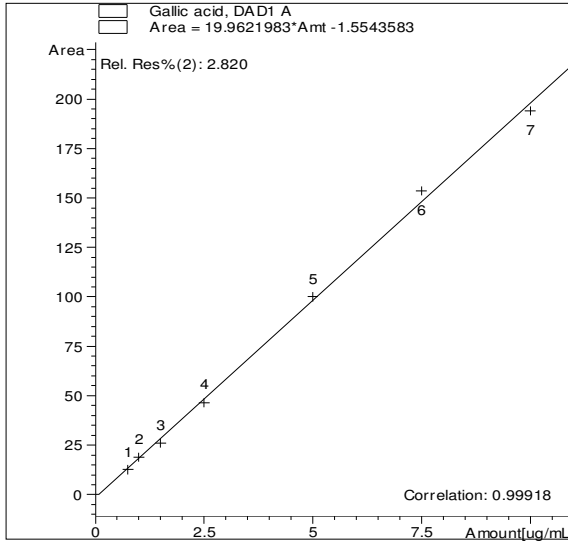
**Tablo 4. 3** *N. sativa* tohum, toprak üstü ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstrelere ait verimler

Kullanılan kısım	Soxhlet ekstraksiyonu Ekstre miktarı	Verim(%)	40°C’de yapılan ekstraksiyon Ekstre miktarı	Verim(%)
Tohum	3.99	13.28	-	-
Toprak üstü	27.84	34.8	21.41	26.76
Kök	1.75	8.1	0.8	3.74

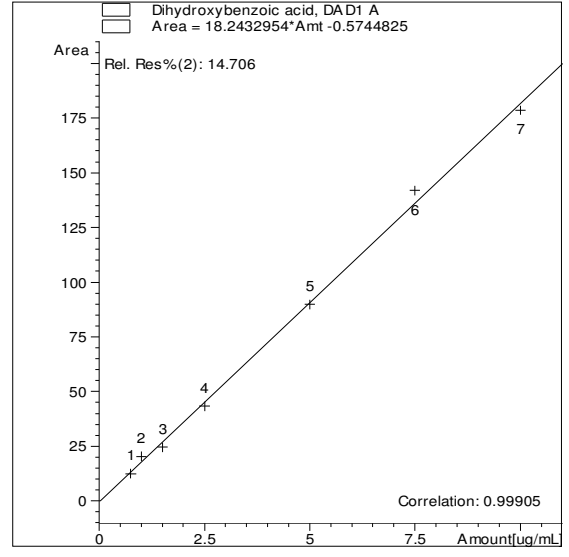


- Rt=9.837 Gallik asit  
Rt=14.814 3,4-Dihidroksi benzoik asit  
Rt=21.252 Klorojenik asit  
Rt=21.795 (+)-Kateşin  
Rt=23.122 Vanilik asit  
Rt=26.156 (-)-Epikateşin  
Rt=30.560 *p*-Kumarik asit  
Rt=32.945 Ferulik asit  
Rt=36.232 Trans-2-hidroksisinnamik asit  
Rt=45.324 Trans-sinnamik asit  
Rt=48.727 Kersetin  
Rt=56.621 Apigenin

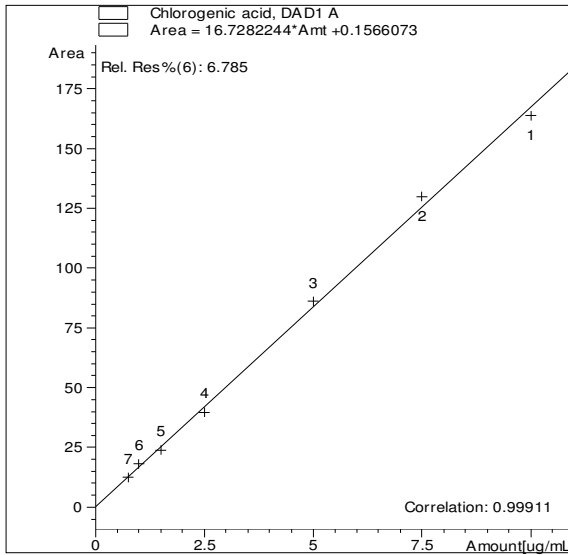
**Şekil 4. 7** Fenolik bileşik standartlarına ait HPLC kromatogramı



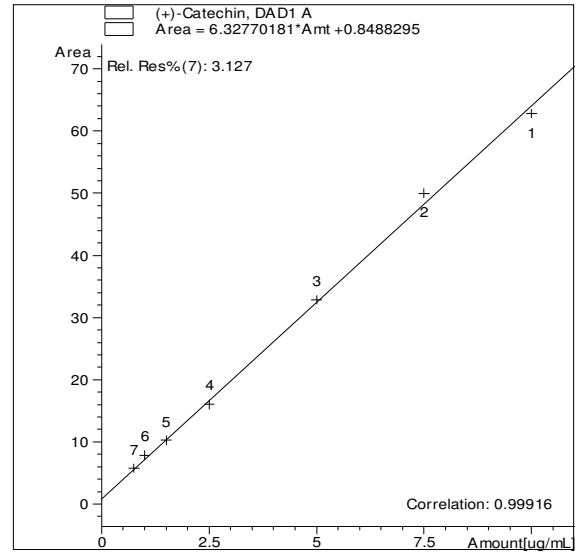
Şekil 4. 8 Gallik asitin kalibrasyon eğrisi



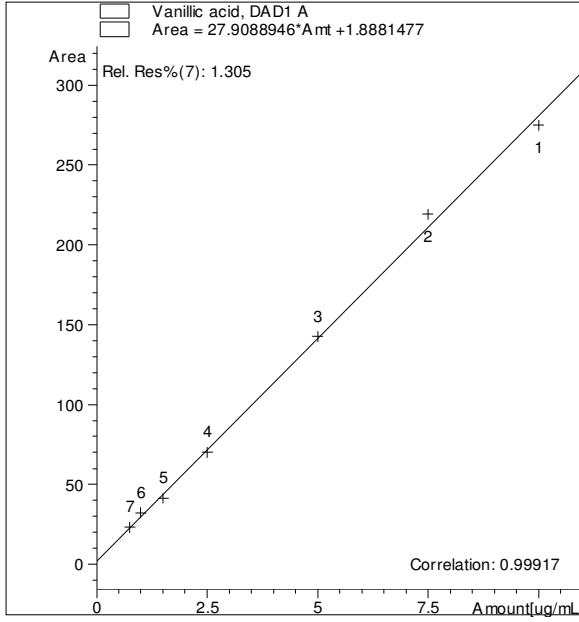
Şekil 4. 9 3,4-Dihidroksi benzoik asitin kalibrasyon eğrisi



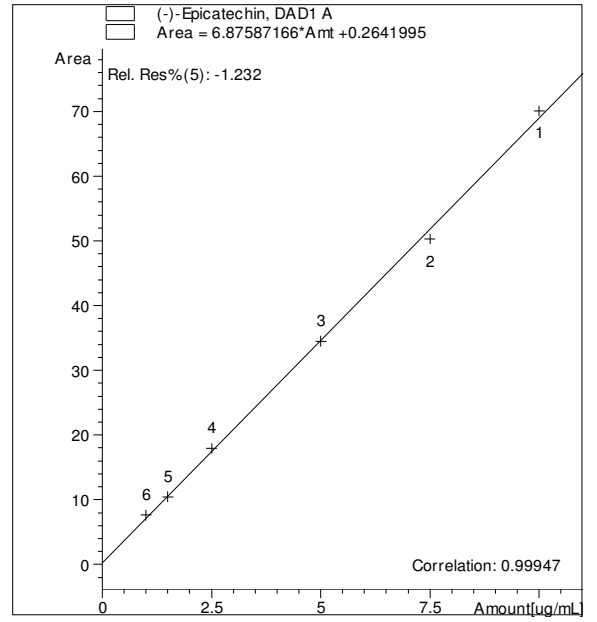
Şekil 4. 10 Klorojenik asitin kalibrasyon eğrisi



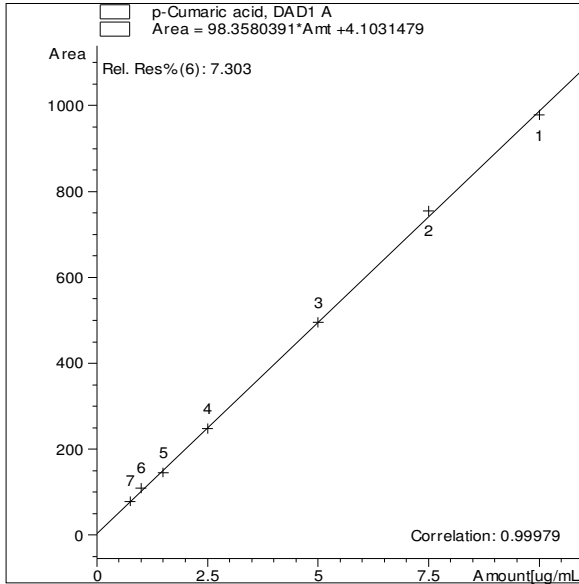
Şekil 4. 11 (+)-Kateşinin kalibrasyon eğrisi



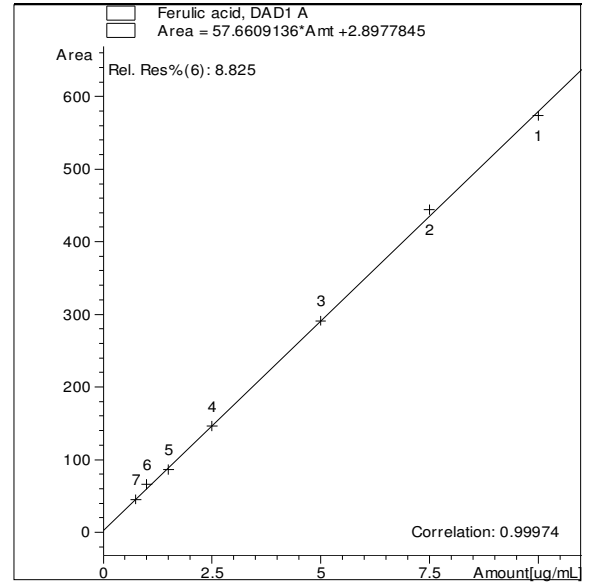
Şekil 4. 12 Vanilik asitin kalibrasyon eğrisi



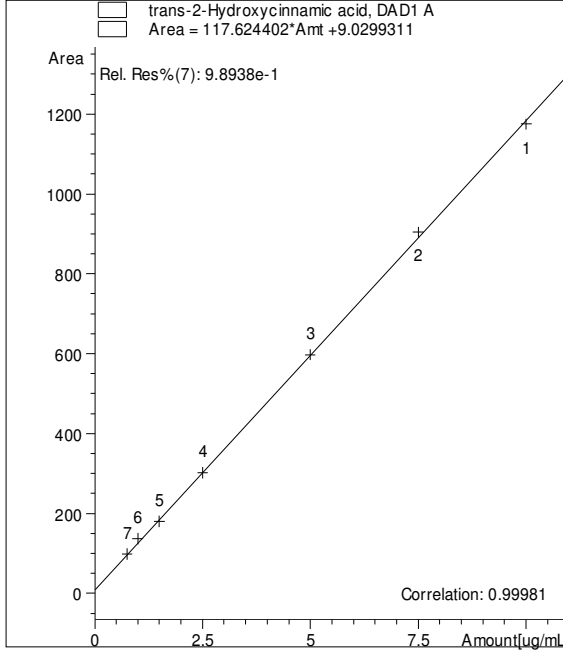
Şekil 4. 13 (-)-Epikateşinin kalibrasyon eğrisi



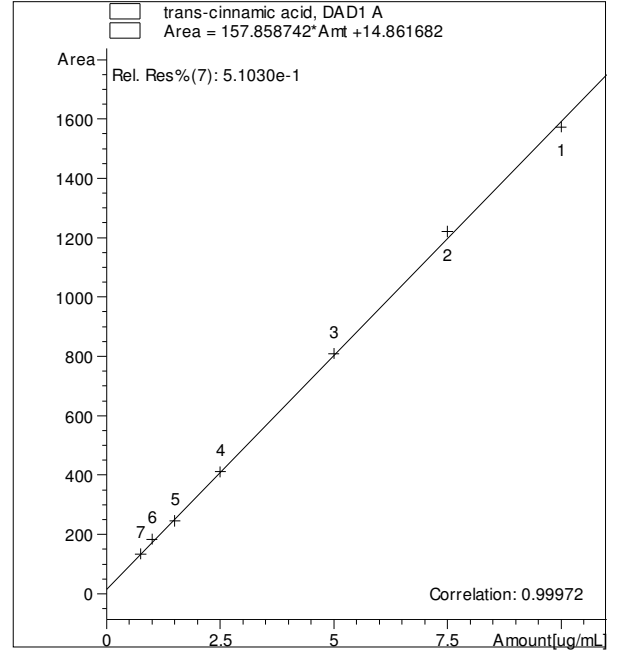
Şekil 4. 14 p-Kumarik asitin kalibrasyon eğrisi



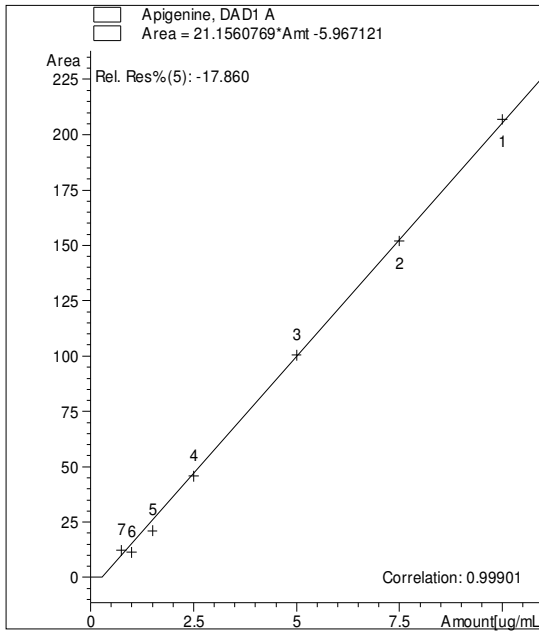
Şekil 4. 15 Ferulik asitin kalibrasyon eğrisi



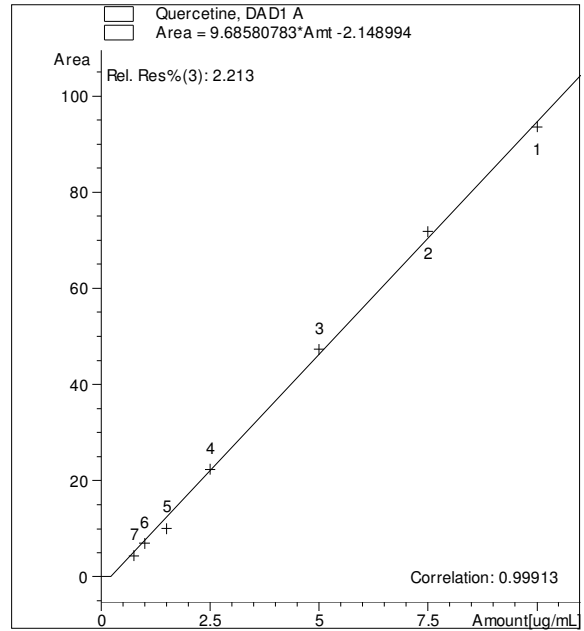
Şekil 4. 16 Trans-2-hidroksisinnamik asitin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4. 17 Trans-sinnamik asitin kalibrasyon eğrisi



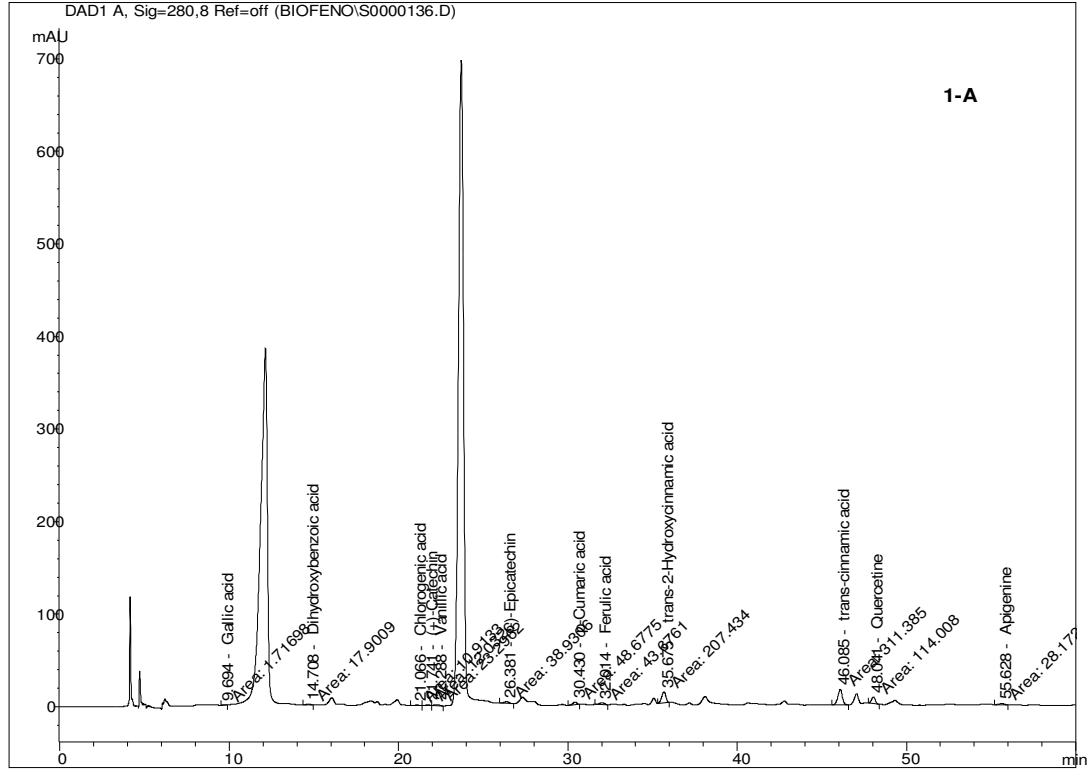
Şekil 4. 18 Apigeninin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4. 19 Kersetinin kalibrasyon eğrisi



*N. sativa* tohumundan Soxhlet ekstraksiyonu ile deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan metanol ekstresinin fenolik bileşen profili Şekil 4. 20'de görülmektedir. Kromatograma ilişkin kantitatif analiz sonuçları ise Tablo 4. 4'de verilmiştir.



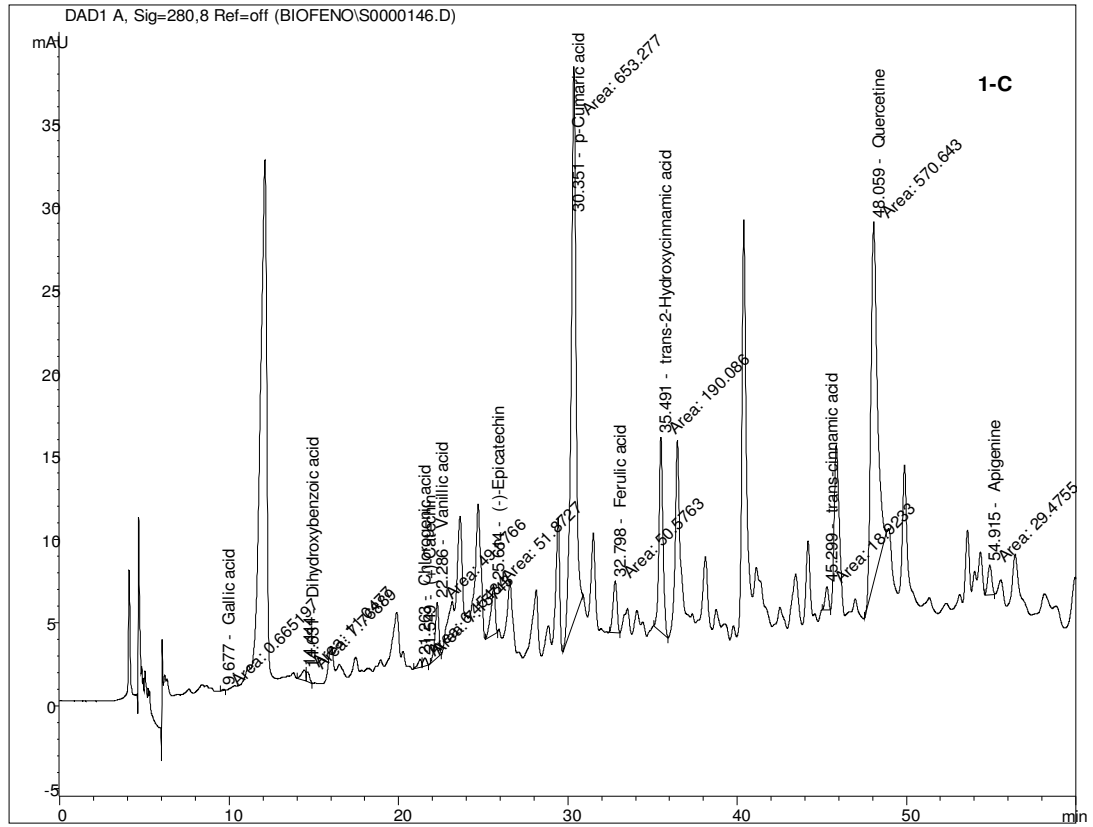
Şekil 4. 20 *N. sativa* tohum metanollü ekstresinde bulunan fenolik bileşenlere ait HPLC kromatogramı

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

Rt	Fenolik Bileşen	Ortalama miktar $\pm$ SS ( $\mu$ g/ml)	Ekstredeki Miktar ( $\mu$ g/g)
14.70	<b>3,4-Dihidroksi benzoik asit</b>	1.065 $\pm$ 0.059	106.5
26.38	<b>(-) Epikateşin</b>	4.818 $\pm$ 0.166	481.8
30.43	<b>p-Kumarik asit</b>	0.462 $\pm$ 0.008	46.2
32.01	<b>Ferulik asit</b>	0.706 $\pm$ 0.013	70.6
35.67	<b>Trans-2-hidroksisinnamik asit</b>	1.705 $\pm$ 0.012	170.5
46.08	<b>Trans-sinnamik</b>	1.893 $\pm$ 0.005	189.3
48.04	<b>Kersetin</b>	12.099 $\pm$ 0.161	1209.9
55.62	<b>Apigenin</b>	1.592 $\pm$ 0.005	159.2

*N. sativa* tohumlarının flavonoidlerden özellikle kersetin açısından zengin olduğu göze çarpmaktadır. Kersetini 481.8µg/g miktarla diğer bir fenolik bileşen olan (-)-epikateşin izlemektedir. Ayrıca ekstrede trans-sinamik asit ve trans-2-hidroksisinnamik asit miktarı da dikkate değerdir (Tablo 4. 4).

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



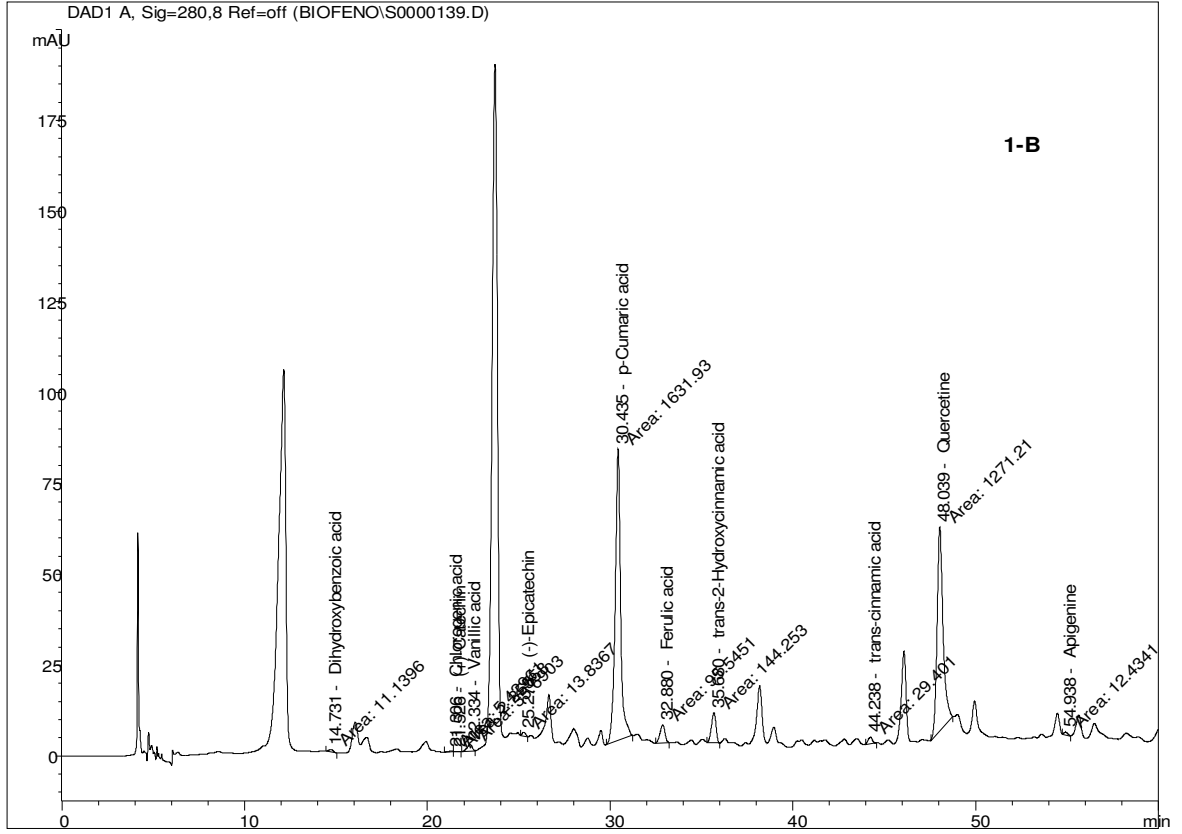
Şekil 4. 21 *N. sativa* toprak üstü metanol ekstresinin (Soxhlet ekstraksiyonu) HPLC kromatogramı

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

<b>Rt</b>	<b>Fenolik Bileşen</b>	<b>Ortalama miktar<math>\pm</math>SS (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>	<b>Ekstredeki Miktar (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>
14.63	<b>3,4-Dihidroksi benzoik asit</b>	0.444 $\pm$ 0.015	44.4
21.26	<b>Klorojenik asit</b>	0.358 $\pm$ 0.043	35.8
21.54	<b>(+) Katesin</b>	0.451 $\pm$ 0.062	45.1
22.28	<b>Vanilik asit</b>	1.728 $\pm$ 0.022	172.8
25.61	<b>(-) Epikatesin</b>	7.481 $\pm$ 0.059	748.1
30.35	<b><i>p</i>-Kumarik asit</b>	7.343 $\pm$ 0.081	734.3
32.79	<b>Ferulik asit</b>	0.833 $\pm$ 0.023	83.3
35.49	<b>Trans-2-hidroksisinnamik asit</b>	1.540 $\pm$ 0.019	154.0
45.29	<b>Trans-sinnamik</b>	0.046 $\pm$ 0.005	4.6
48.05	<b>Kersetin</b>	59.439 $\pm$ 0.190	5943.9
54.91	<b>Apigenin</b>	1.626 $\pm$ 0.034	162.6

Tablo 4. 5’de toprak üstü kısmında Soxhlet ile yapılan ekstraksiyon işleminden elde edilen ekstrenin kersetin açısından çok zengin olduğu görülmektedir. Ayrıca (-)-epikatesin ve *p*-kumarik asit de yüksek miktarda görülmektedir. Bunun yanı sıra ekstrede vanilik asit, apigenin ve trans-2-hidroksisinnamik asit de 100 $\mu\text{g/g}$ ’ın üzerinde bulunmaktadır.

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



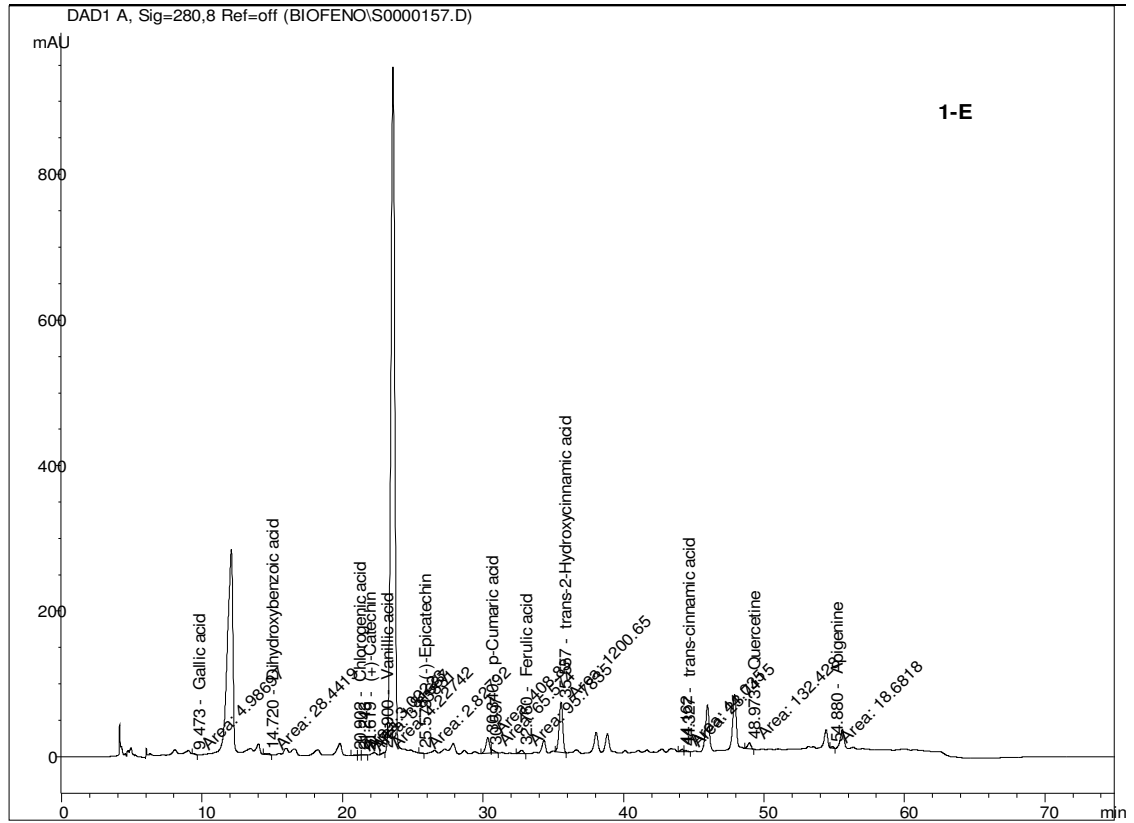
**Şekil 4. 22** *N. sativa* toprak üstü metanol ekstresinin (40°C’de hazırlanan) HPLC kromatogramı

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

Rt	Fenolik Bileşen	Ortalama miktar $\pm$ SS ( $\mu$ g/ml)	Ekstredeki Miktar ( $\mu$ g/g)
14.73	<b>3,4-Dihidroksi benzoik asit</b>	0.644 $\pm$ 0.001	64.4
22.33	<b>Vanilik asit</b>	1.249 $\pm$ 0.050	124.9
25.27	<b>(-) Epikateşin</b>	1.039 $\pm$ 0.144	103.9
30.43	<b>p-Kumarik asit</b>	16.671 $\pm$ 0.071	1667.1
32.88	<b>Ferulik asit</b>	1.579 $\pm$ 0.003	157.9
35.68	<b>Trans-2-hidroksisinnamik asit</b>	1.147 $\pm$ 0.004	114.7
44.23	<b>Trans-sinnamik</b>	0.104 $\pm$ 0.001	10.4
48.03	<b>Kersetin</b>	134.069 $\pm$ 0.953	13406.9
54.93	<b>Apigenin</b>	0.782 $\pm$ 0.044	78.2

Tabloda yer alan fenolik bileşenlerden kersetin başlıca fenolik bileşen iken diğer bileşiklerden ferulik asit, trans-2-hidroksisinnamik asit ve (-)-epikateşin miktar açısından önemli olan bileşenlerdir.

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



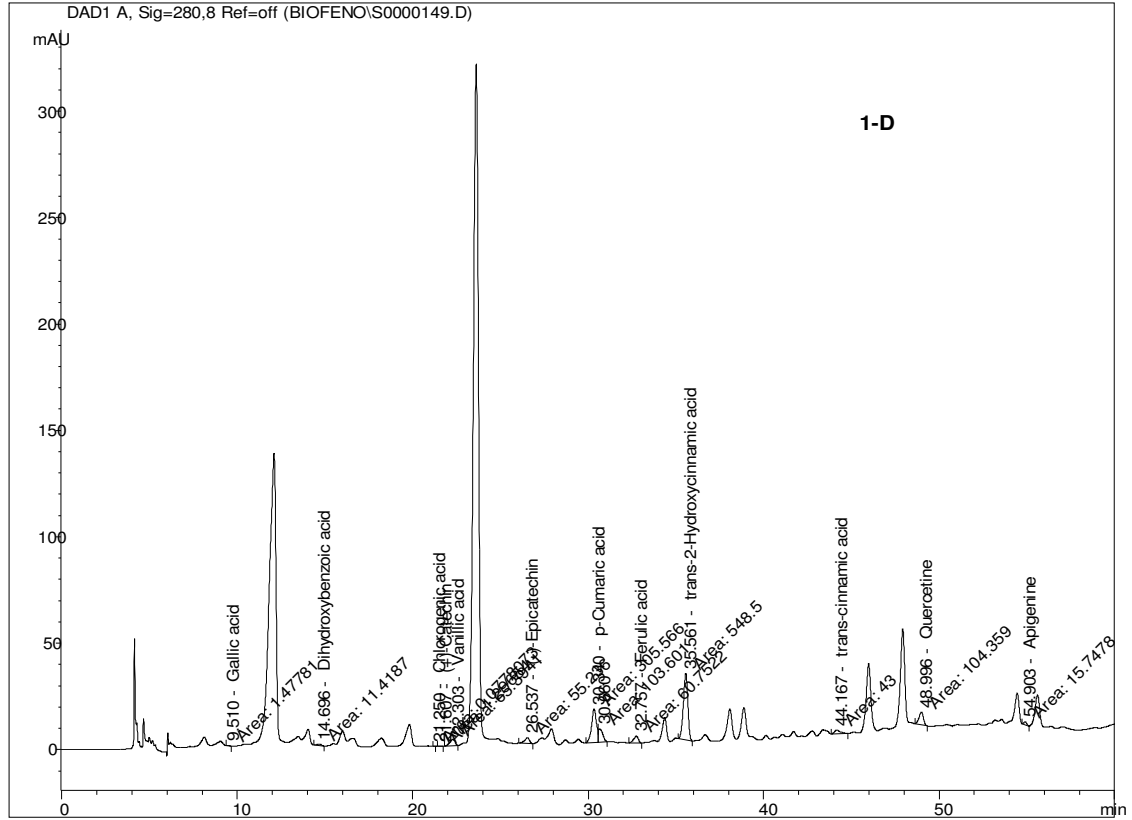
Şekil 4. 23 *N. sativa* kök metanol ekstresinin (Soxhlet ekstraksiyonu) HPLC kromatogramı

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

Rt	Fenolik Bileşen	Ortalama miktar $\pm$ SS ( $\mu$ g/ml)	Ekstredeki Miktar ( $\mu$ g/g)
30.59	<i>p</i> -Kumarik asit	4.171 $\pm$ 0.047	417.1
32.78	Ferulik asit	1.638 $\pm$ 0.045	163.8
35.55	Trans-2-hidroksisinnamik asit	10.279 $\pm$ 0.301	1027.9
44.32	Trans-sinnamik	0.071 $\pm$ 0.015	7.1
48.97	Kersetin	13.989 $\pm$ 0.035	1398.9
54.88	Apigenin	1.118 $\pm$ 0.019	111.8

Tablo incelendiğinde kersetin ve trans-2-hidroksisinnamik asitin ana bileşenler olduğu göze çarpmaktadır. Bu iki bileşeni ferulik asit ve apigenin izlemektedir.

*N. sativa* bitkisinin köklerinin 40°C'de tüketilmesi deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan metanol ekstresinin fenolik bileşen profili Şekil 4. 24'de görülmektedir. Kromatograma ilişkin kantitatif analiz sonuçları ise Tablo 4. 8'de verilmiştir.



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

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

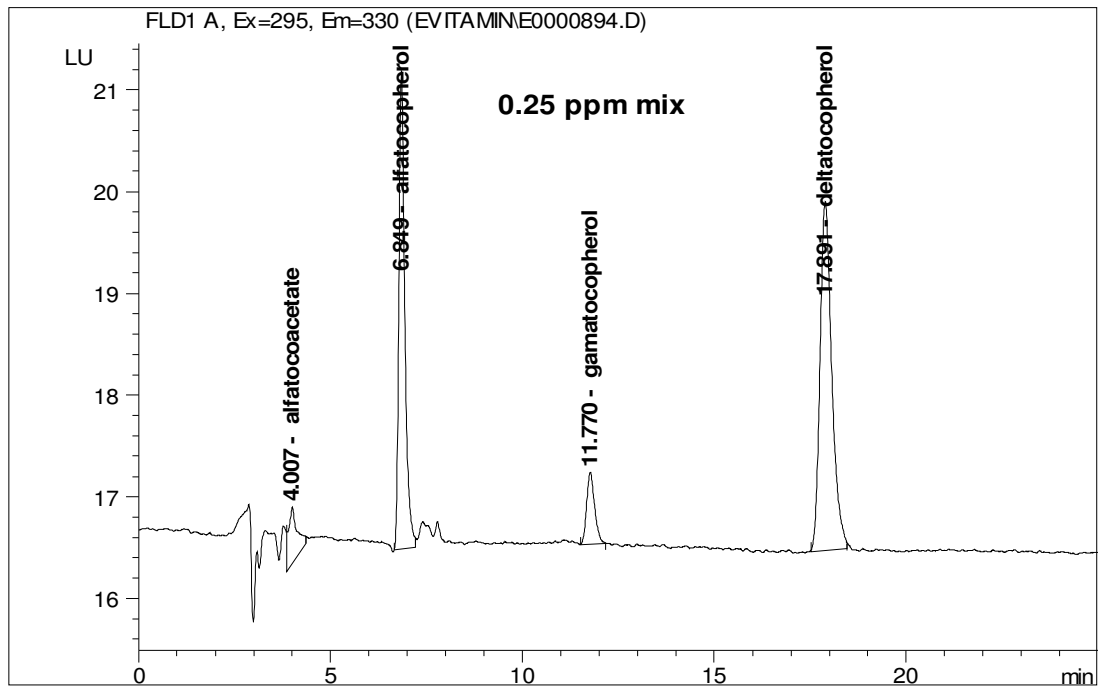
<b>Rt</b>	<b>Fenolik Bileşen</b>	<b>Ortalama miktar<math>\pm</math>SS (<math>\mu</math>g/ml)</b>	<b>Ekstredeki Miktar (<math>\mu</math>g/g)</b>
14.69	<b>3,4-Dihidroksi benzoik asit</b>	0.669 $\pm$ 0.037	66.9
22.30	<b>Vanilik asit</b>	2.296 $\pm$ 0.015	229.6
26.53	<b>(-) Epikateşin</b>	8.010 $\pm$ 0.044	801.0
30.34	<b>p-Kumarik asit</b>	3.120 $\pm$ 0.050	312.0
32.76	<b>Ferulik asit</b>	1.013 $\pm$ 0.004	101.3
35.56	<b>Trans-2-hidroksisinnamik asit</b>	4.609 $\pm$ 0.020	460.9
44.16	<b>Trans-sinnamik</b>	0.193 $\pm$ 0.002	19.3
48.99	<b>Kersetin</b>	10.931 $\pm$ 0.185	1093.1
54.90	<b>Apigenin</b>	0.993 $\pm$ 0.008	99.3

Tablo incelendiğinde kersetinin ana fenolik bileşen olduğu görülmektedir. (-)-epikateşin, trans-2-hidroksisinnamik asit, p-kumarik asit ve vanilik asit de kantitatif açıdan önemli diğer bileşiklerdir.

#### 4.2.3 E-Vitamini Analizleri

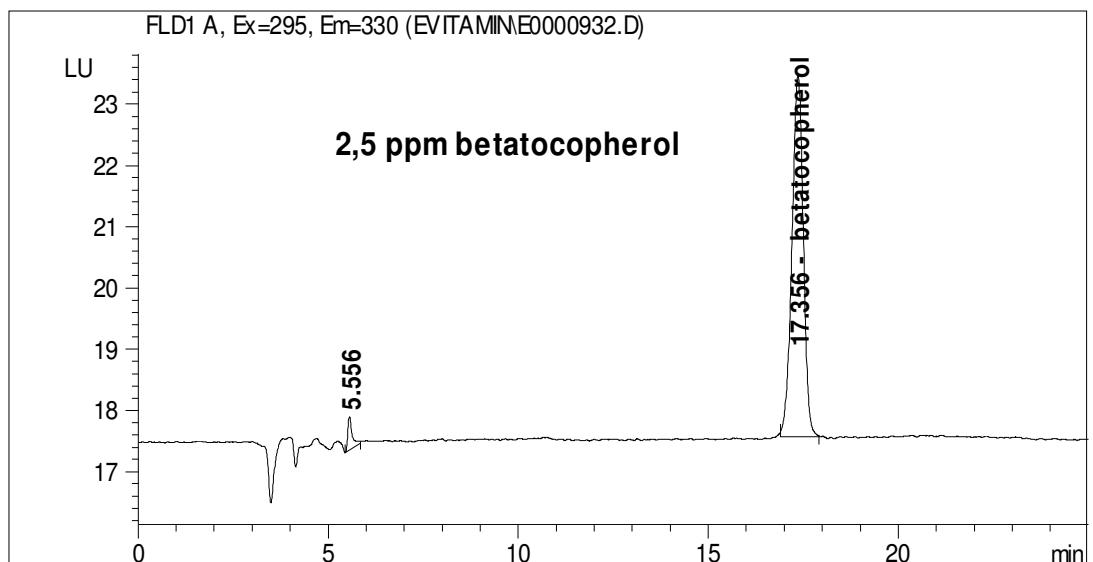
*N. sativa*’nın tohumundan deneysel kısımda belirtilen şekilde hazırlanan hekzan ekstresinin tokoferol profili Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile analiz edilmiştir. Kalitatif analiz için standart olarak  $\alpha$ -tokoferol asetat,  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -tokoferol,  $\gamma$ -tokoferol ve  $\delta$ -tokoferol kullanılmıştır.

Kantitatif tayin için standartların farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerinin analizlerinin sonucunda her bileşik için kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve regresyon denklemi hesaplanmıştır. Numunede bulunan tokoferollerin analizleri, ilgili standartların retansiyon zamanları ve hazırlanan kalibrasyon eğrilerinden yararlanılarak yapılmıştır (Şekil 4. 25- 4. 31). Numuneye ait kromatogramlar Şekil 4. 32 – 4. 33’de görülmektedir.



Rt=4.007  $\alpha$ -Tokoferol asetat  
 Rt=6.840  $\alpha$ -Tokoferol  
 Rt=11.770  $\gamma$ -Tokoferol  
 Rt=17.891  $\delta$ -Tokoferol

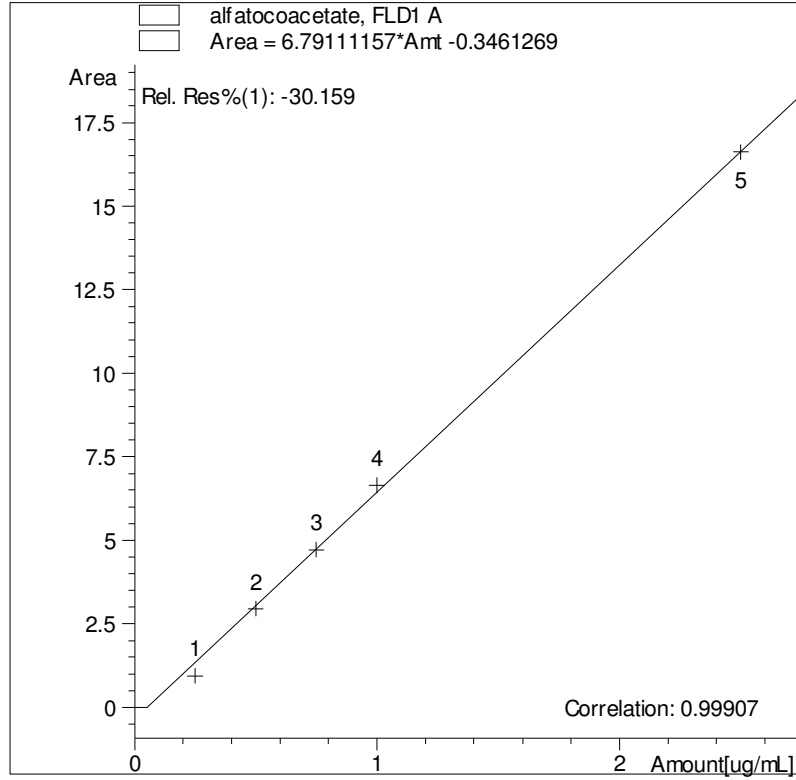
Şekil 4. 25 Tokoferol standartlarının HPLC kromatogramı



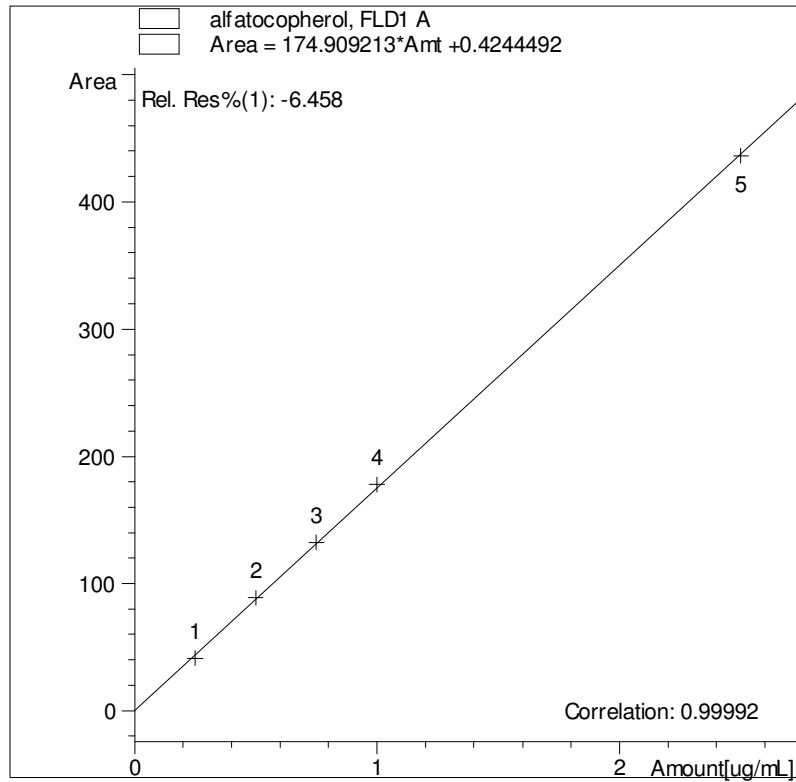
Rt=17.356  $\beta$ -Tokoferol

Şekil 4. 26  $\beta$ -tokoferolün HPLC kromatogramı

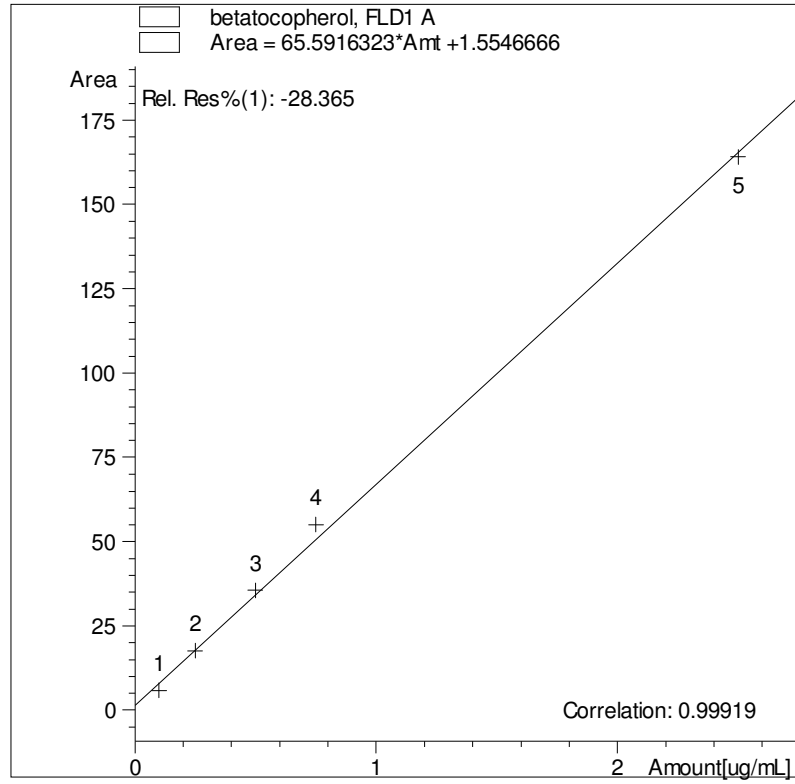




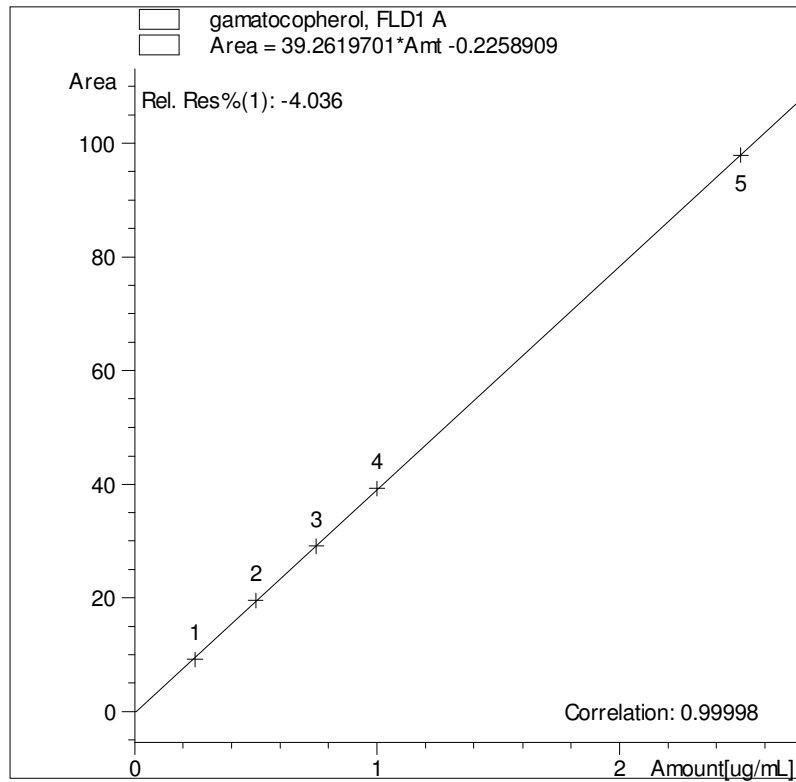
Şekil 4. 27  $\alpha$ -Tokoferol asetatın kalibrasyon eğrisi



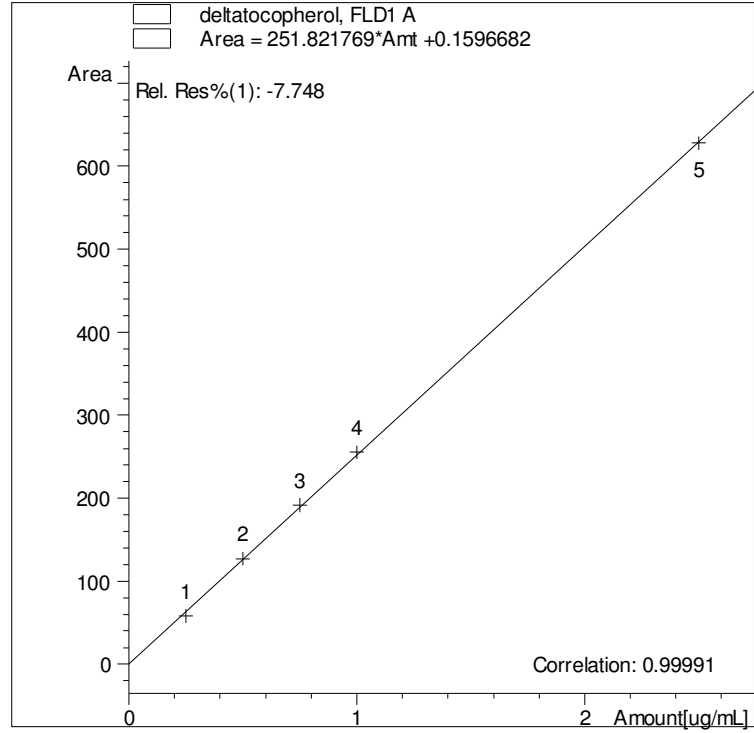
Şekil 4. 28  $\alpha$ -Tokoferolün kalibrasyon eğrisi



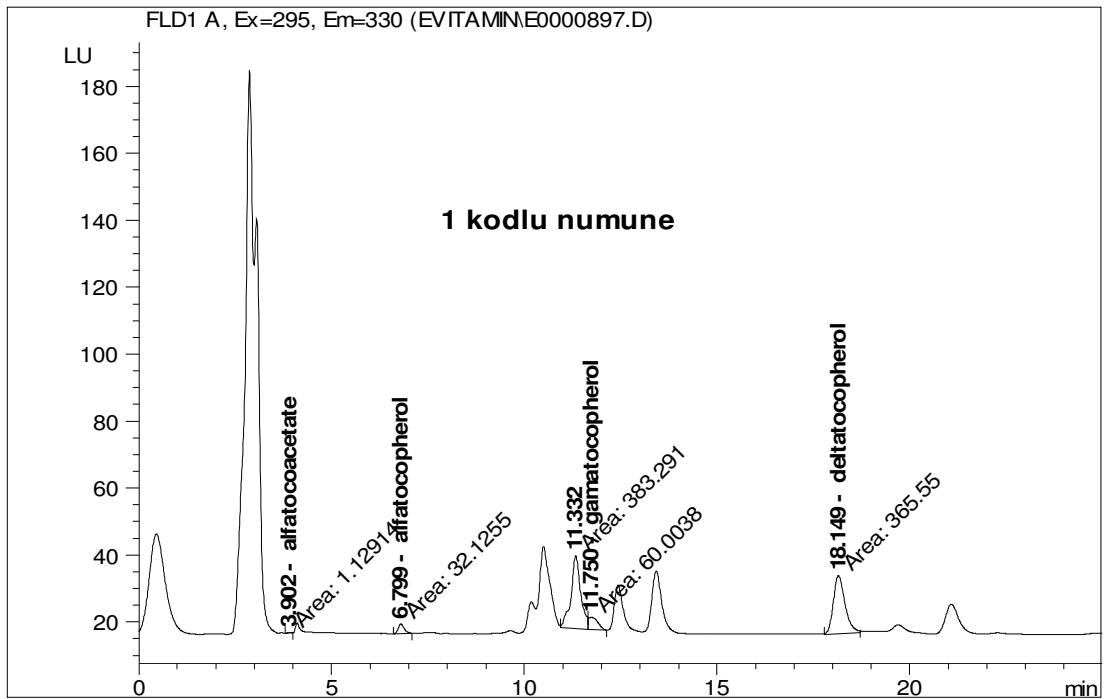
Şekil 4. 29  $\beta$ -Tokoferolün kalibrasyon eğrisi



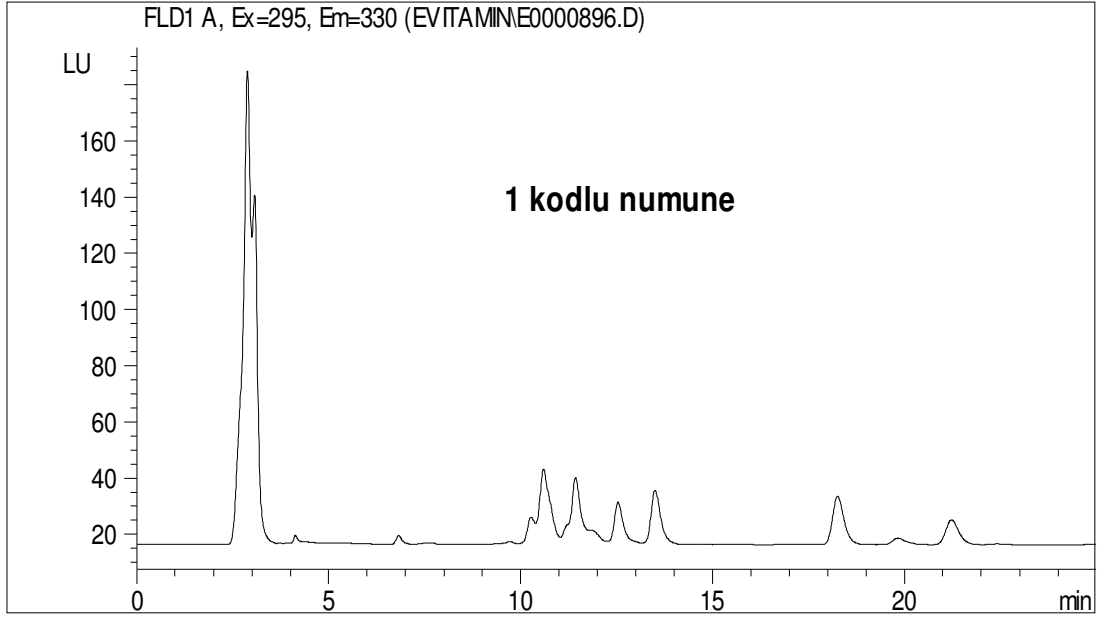
Şekil 4. 30  $\gamma$ -Tokoferolün kalibrasyon eğrisi



Şekil 4. 31 δ-Tokoferolün kalibrasyon eğrisi



Şekil 4. 32 *N. sativa* hekzan ekstresi tokoferol analizi HPLC kromatogramı



Şekil 4. 33 *N. sativa* hekzan ekstresi  $\beta$ -tokoferol analizi HPLC kromatogramı

*N. sativa* tohum hekzan ekstrelerinde 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. sativa* tohum hekzan ekstresinin tokoferol profili

Tokoferol	Miktar (mg/100g)
$\alpha$ -Tokoferol asetat	2.1067 $\pm$ 0.083
$\alpha$ -Tokoferol	1.7 $\pm$ 0.072
$\beta$ -Tokoferol	-
$\gamma$ -Tokoferol	14.86 $\pm$ 0.642
$\delta$ -Tokoferol	14.6 $\pm$ 0.1

Tokoferol profili açısından yapılan HPLC analizi *N. sativa* ekstresinde ana bileşikler olarak  $\gamma$ - ve  $\delta$ -tokoferollerin bulunduğunu göstermiştir.  $\alpha$ -tokoferol asetat ve  $\alpha$ -tokoferol ise daha düşük miktarlarda saptanmıştır.  $\beta$ -tokoferole ise rastlanmamıştır.

### 4.3 Mineral Madde Analizlerine Ait Bulgular

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

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

Element	Miktar ( $\mu\text{g/g}$ )
<sup>23</sup> Na	367,4 $\pm$ 11
<sup>24</sup> Mg	1387 $\pm$ 54
<sup>27</sup> Al	21,46 $\pm$ 3
<sup>31</sup> P	5284 $\pm$ 109
<sup>39</sup> K	4218 $\pm$ 97
<sup>44</sup> Ca	4214 $\pm$ 98
<sup>52</sup> Cr	5,745 $\pm$ 0,071
<sup>55</sup> Mn	25,83 $\pm$ 1,772
<sup>56</sup> Fe	77,37 $\pm$ 14,23
<sup>60</sup> Ni	3,974 $\pm$ 0,087
<sup>64</sup> Zn	78.79 $\pm$ 3,29
<sup>65</sup> Cu	8,501 $\pm$ 0,479
<sup>82</sup> Se	1,722 $\pm$ 0,0977
<sup>207</sup> Pb	<LOD

Tohumların P, K, Ca ve Mg yönünden zengin olduğu görülmektedir, bu elementlerden fosfor 5284 $\pm$ 109 $\mu\text{g/g}$  miktar ile en yüksek oranda bulunan element olup bunu potasyum ve kalsiyum (4214 $\pm$ 98 ve 4218 $\pm$ 97 $\mu\text{g/g}$ ) izlemektedir. Pb haricinde Tablo 4. 10'da isimleri yazılı minerallerin de tohumlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Tohumlarda bulunan selenyum miktarı ise 1,722 $\pm$ 0,0977 oranındadır.

#### 4.4 Antioksidan Etkinin DPPH' Yöntemi ile Araştırılmasına Ait Bulgular

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

Fenolik bileşikler açısından analiz edilmiş olan *N. sativa* ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri DPPH' testi ile kalitatif ve kantitatif olarak ölçülmüştür. Çalışmada tohum, toprak üstü ve kök metanol ekstreleri kullanılmış olup, bu ekstrelerin farklı konsantrasyonları için okunan absorban değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 4. 11'de verilmiştir.

Kök metanol ekstrelerinden 40°C'de ekstraksiyon ile hazırlanan ekstre miktarı yeterli olmadığından testler bu ekstreye uygulanamamıştır. Kökün diğer ekstre miktarı da nispeten az olduğundan diğer ekstrele uygulanan tüm konsantrasyonlar bu ekstre için hazırlanamamıştır. Absorbans değerleri saptanan ekstrelerin ve standart olarak kullanılan BHT'nin radikal süpürücü etkileri (% inhibisyon olarak) Tablo 4. 12'de görülmektedir.

Tüm ekstrelerin radikal süpürücü etkileri konsantrasyon arttıkça artmıştır. Bu etki sırası ile (tüm konsantrasyonlar dikkate alındığında) toprak üstü metanol ekstresi (Soxhlet ekstraksiyonu) > toprak üstü metanol ekstresi (40°C) > tohum metanol ekstresi > kök metanol ekstresi (Soxhlet ekstraksiyonu) şeklindedir. Genel olarak ekstreler 5mg/ml konsantrasyon ve sonrasında %50'nin üzerinde inhibisyon göstermişlerdir.

**Tablo 4. 11** *N. sativa* metanol ekstrelerinin ve BHT'nin DPPH' süpürücü etki tayininde saptanan absorbans değerleri (Ortalama± SS\*)

Konsantrasyon mg/ml	Absorbans Değerleri				
	BHT	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±0.001	0.565±0.005	0.610±0.009	0.551±0.009	0.620±0.002
1mg/ml	-	0.516±0.007	0.526±0.002	0.480±0.000	0.572±0.004
1.5mg/ml	-	0.481±0.003	0.473±0.005	0.419±0.005	0.531±0.005
2mg/ml	-	0.433±0.150	0.399±0.310	0.385±0.003	0.486±0.004
2.5mg/ml	-	0.408±0.009	0.366±0.003	0.337±0.004	0.465±0.006
4.5mg/ml	-	0.374±0.002	0.239±0.001	0.278±0.002	0.314±0.001
5mg/ml	-	0.322 ±0.001	0.068±0.002	0.144±0.002	0.239±0.006
6.5mg/ml	-	0.199±0.007	0.156±0.003	0.165±0.002	-
8.5mg/ml	-	0.073±0.002	0.052±0.001	0.145±0.001	-

\*SS: Standart Sapma

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

Konsantrasyon	BHT	% inhibisyon 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	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	9.45	2.24	11.69	0.64
1mg/ml	-	17.30	15.70	23.07	8.33
1.5mg/ml	-	22.91	24.19	32.85	14.90
2mg/ml	-	30.60	36.05	38.30	22.11
2.5mg/ml	-	34.61	41.34	45.99	25.48
4.5mg/ml	-	40.13	61.74	55.49	49.73
5mg/ml	-	48.45	89.11	76.94	61.74
6.5mg/ml	-	68.14	75.02	73.58	-
8.5mg/ml	-	88.31	96.47	76.78	-



## 5. TARTIŞMA

*Nigella L.* cinsi dünyada 20, ülkemizde ise 15 türle temsil edilen Ranunculaceae familyasına ait önemli cinslerden biridir (7,8). Bu türlerden tez çalışmasının konusunu oluşturan doğal kaynaklı *N. sativa* türü üzerinde daha önce herhangi bir fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırması yapılmamıştır. Doğal kaynaklı bitkinin tohumları, kök ve toprak üstü kısımları fitokimyasal ve antioksidan aktivite açısından incelenmiştir.

*N. sativa* tohumlarından hekzan kullanılarak elde edilen sabit yağ, yağ asidi bileşimi açısından GC ve GC-MS yöntemiyle analiz edilmiştir. Yağ doymamış yağ asitlerince zengin olup, ana doymamış yağ asidi linoleik asit (%51.60)'dir. Bunu oleik asit (%22.38) takip etmektedir. Doymuş yağ asitlerinden ise palmitik asit (%13.50) ana doymuş yağ asidini oluşturmaktadır. Literatür incelendiğinde *N. sativa*'da bulunan başlıca doymuş yağ asitlerinin palmitik (%9.80-13.0) ve stearik asit (%2.83-3.30) iken, doymamış yağ asitlerinin ise oleik (%12.70-34.0) ve linoleik (%45.0-65.10) asit olduğu saptanmıştır (Tablo 2. 1). Araştırmalarımızda elde ettiğimiz bulgular literatür verileriyle karşılaştırıldığında ana bileşenler olan linoleik ve oleik asitlerin kantitatif açıdan *N. sativa* için bildirilen aralıkta olduğu bulunmuştur. Eikozadienoik asit miktarı literatürde *N. sativa* için %2.53-4.5 (Tablo 2. 1) arasında değişmekte olup, bu tez çalışmasında ise %2.81 olarak saptanmıştır. Literatür verilerine göre belirlenen diğer doymuş yağ asitleri miristik (%0.16-9.80) ve araşidik (eser-%0.70) asit iken, diğer doymamış yağ asitleri ise palmitoleik (%0.30-0.70), linolenik (%0.30-2.70) ve eikosenoik (%0.70) asittir (Tablo 2. 1 ve 2. 2). Bizim bulgularımızda ise miristik, araşidik, palmitoleik, linolenik ve eikosenoik asit miktarları sırasıyla %0.24, %0.21, %0.25, %0.14, %0.35'dir (Tablo 2. 3). Bu bulgulara göre sonuçlarımız literatür verileriyle uyumludur. Ayrıca literatürde yer alan lignoserik (%0.30-1.08) ve behenik (%0.17-0.80) asite ise incelediğimiz tohum yağında rastlanmamıştır (Tablo 2. 1, 2. 2 ve 2. 3).

Tez çalışmamızda incelediğimiz *N. sativa* uçucu yağında ana bileşen *p*-simen'dir ve bunu timokinon ve  $\alpha$ -tuyen takip etmiştir. Timokinon miktarı çalışmamızda %18.93 olarak saptanmıştır. Literatürde yer alan *N. sativa* tohum uçucu yağları üzerinde yapılmış çalışmalar incelendiğinde, yağın monotерpenler yönünden zengin olduğu

dikkat çekicidir ve ana bileşenler çoğunlukla *p*-simen ve  $\alpha$ -tuyen olarak görülmektedir (16, 23, 25, 26, 74, 113, 122-124). Literatürde, Clevenger cihazı kullanılarak elde edilmiş *N. sativa* uçucu yağlarının GC-MS analizleri sonucu saptanan timokinon miktarının %1.6-21.8 arasında değiştiği görülmektedir (16, 25, 68, 74, 122-124). Çalışmamızda saptanan timokinon miktarı literatür verileri ile uyumludur. İncelediğimiz uçucu yağ literatürde belirtilen şekilde düşük miktarda seskiterpenik bileşikler taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında *N. sativa* tohumlarının timokinon içerip içermediği metanol ekstresi hazırlanarak HPLC yöntemiyle de araştırılmış ve timokinon miktarının oldukça yüksek oranda bulunduğunu görmüştür. Literatürde tohumların metanollü ekstresinde HPLC yöntemi ile timokinon ve timol olup olmadığının araştırıldığı ve bulunan maddelerin miktarlarının saptandığı bazı çalışmalar bulunmaktadır (43, 118-121). Tez çalışmamızdaki bulgular 2006 yılında Al-Saleh ve arkadaşları (43) tarafından yapılan ve tohumdaki timokinon miktarının saptandığı çalışma ile karşılaştırıldığında timokinon miktarının literatürde verilen miktardan daha yüksek olduğu ve timolün ise miktarının tayin edilemeyecek kadar düşük olduğu görülmektedir (Tablo 2.5). Bitkinin birçok etkisinden timokinonun sorumlu olduğu literatürde belirtilmektedir, bu ise incelediğimiz doğal kaynaklı *N. sativa* tohumlarının bu açıdan önemli olacağını göstermektedir.

Tez çalışmamızda *N. sativa* bitkisi fenolik bileşik açısından tohum, toprak üstü ve kök olarak ayrı ayrı incelenmiştir. Her üç bitki kısmının metanol ekstraktları analiz edilmiştir. Toprak üstü ve köklerde iki farklı ekstraksiyon yöntemi (40°C'de su banyosunda ısıtılarak yapılan ekstraksiyon ve 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. Tez çalışmamızda yapılan HPLC analizi sonuçlarına göre tohumlarda kersetin yüksek miktarda bulunmakta bunu (-)-epikateşin izlemektedir.

Literatür incelendiğinde *N. sativa*, *N. damascena* ve *N. glandulifera* tohumlarında izolasyon ile çeşitli fenolik glikozitlerinin izole edildiği görülmektedir. *N. damascena* tohumlarında çeşitli fenolik esterler, *N. glandulifera*'da ise kemferol, kersetol, rutin, salisilik asit esteri ve pirogallol bulunmaktadır. *N. sativa* tohumlarında glikozitlerin

aglikonlarını oluşturan fenoliklerinin özellikle kersetin ve kemferol olduğu ayrıca rutin de bulunduğu göze çarpmaktadır (50, 51, 131, 132, 135).

*N. sativa* topraküstü kısmın fenolik bileşenleri ilk kez bu araştırma ile ortaya konmuştur. Ekstre iki farklı ekstraksiyon yöntemiyle hazırlanmış olup her iki ekstrenin de başlıca fenolik bileşeni kersetin'dir; 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. sativa* bitkisi kökleri ile yaptığımız çalışmada ise her iki ekstraksiyon yönteminde de ana bileşenin yine kersetin olduğu görülmektedir. Köklerde trans-2-hidroksisinnamik asit varlığı dikkat çekicidir ve özellikle Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstredeki miktarının 1027.9µg/g olması dikkat çekicidir. Ekstraksiyon yöntemleri kıyaslandığında 40°C'de yapılan ekstraksiyonda 3,4-dihidroksibenzoik asit ve vanilik asidin varlığı Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstrede ise bu iki bileşene rastlanmamış olması dikkate değerdir.

Literatürde *N. sativa* köklerinin fenolik bileşenleriyle ilgili bir adet çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmada köklerin özellikle vanilik asit açısından zengin olduğu bunu gallik asit ve trans-sinnamik asitin izlediği belirtilmiştir. Flavonoidlerden kersetin ve apigenin daha düşük oranlarda bulunmaktadır (53). Literatürde kayıtlı bu çalışmada ekstraksiyon işlemi oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmamızda saptanan bulgulardaki farklılığın bitkinin yetiştiği bölgedeki ekolojik şartlarla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

*N. sativa* tohumlarının hekzan ekstresinin tokoferol profili HPLC analizi ile belirlenmiş olup ekstredeki ana bileşenlerin  $\gamma$ - ve  $\delta$ -tokoferol olduğu bunları daha düşük oranda  $\alpha$ -tokoferol asetat ve  $\alpha$ -tokoferolün izlediği görülmüştür.  $\beta$ -tokoferole ise rastlanmamıştır. Literatürde tokoferoller açısından yapılmış çalışmalarda *N. sativa* hekzan ekstresinde genellikle  $\gamma$ - ve  $\alpha$ -tokoferollerin yüksek oranda buldukları, bunları  $\delta$ - ve  $\beta$ -tokoferollerin izlediği görülmektedir (40, 42, 43). Ramadan ve arkadaşları tarafından 2003 yılında yapılan çalışmada ise ana tokoferoller olarak  $\alpha$ - ve  $\gamma$ -tokoferol saptanmış, bunu  $\delta$ - ve  $\beta$ -tokoferolün izlediği belirtilmiştir (29). Sonuçlarımız literatür bulguları ile karşılaştırıldığında  $\gamma$ - ve  $\delta$ -tokoferollerin hemen hemen eşit oranda bulunması farklılık oluşturmaktadır.

Bu tez çalışmasında *N. sativa* tohumları mineraller yönünden incelendiğinde tohumda en yüksek oranda bulunan elementin P olduğu (5284µg/g) bunu K, Ca ve Mg'nin izlediği saptanmıştır (sırasıyla 4218, 4214, 1387µg/g). Diğer elementler ise kantitatif olarak azalan sırayla Na, Zn, Fe ve Mn'dır. Literatürde farklı ülke kaynaklı *N. sativa* tohumlarının mineral içeriklerinin araştırıldığı çalışmalarda sıklıkla K, Ca, Na, Fe ve P'nin değişen oranlarda en fazla rastlanan elementler olduğu görülmektedir (20, 40, 41, 58, 59, 136). Takruri ve Dameh'in 1998 yılında yaptıkları araştırmada 4 farklı ülke (Hindistan, Suriye, Türkiye ve Ürdün) kaynaklı *N. sativa* tohumlarının taşıdığı mineraller karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Araştırmacılar Türkiye kaynaklı tohumlarda yüksek oranda bulunan elementlerin K ve P olduğunu bunu Ca ve Na'nın izlediğini saptamışlardır. Fe ve Zn ise bu elementleri izleyen diğer minerallerdir (41). Araştırmamızın sonucunda elde edilen bulgular, literatürdeki bulgularla kalitatif açıdan uyumludur. Tohumda bulunan mineraller kantitatif olarak farklılık göstermektedir. Tohumlar özellikle P, K ve Ca açısından zengindir ve bu elementler tohumların besleyici özelliğini göstermektedir. İncelediğimiz tohumlar doğal olarak yetişen bitki tohumları olup mineral açıdan en az kültür bitkisi kadar değerli olduğu görülmektedir. Tohumların Se içeriği de bu çalışmamızda belirlenmiştir ve miktarının 1.722µg/g olduğu saptanmıştır. Literatürde *N. sativa* tohumlarının Se içeriğine ilişkin tek araştırma Al-Saleh ve arkadaşları (43) tarafından yapılmış olup, beş farklı ülke (Etiyopya, Hindistan, Suudi Arabistan, Suriye ve Sudan) kaynaklı tohumların Se içeriğinin 0.13-0.20 mg/kg arasında değiştiği bildirilmiştir.

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 antioksidan aktivite test edilmiştir. Bu araştırmalar çoğunlukla tohum uçucu yağı ve onun etkili bileşenleri açısından yapılmıştır (27, 29, 73, 146-151). Literatürde yer alan Bourgo ve arkadaşlarının (2008) kök metanol ekstresinin fenolik bileşenleri ve biyolojik aktivitesini araştırdıkları çalışmada ise antiradikal etki DPPH' yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Köklerin metanol ekstresininin 0.45mg/ml konsantrasyonda %50 inhibisyon gösterdiğini, standart BHT'nin ise aynı oranda inhibisyonu 0.016mg/ml gibi daha düşük konsantrasyonda oluşturduğunu bildirmişlerdir (134). Tez çalışmamızda da benzer şekilde kök ekstresinin antiradikal etkili olduğu ancak %50'nin üzerindeki inhibisyonu 5mg/ml

konsantrasyonda gösterdiği belirlenmiştir. Literatürde bildirilen konsantrasyondan farklı bir konsantrasyonda etkinin görülmesi bileşimdeki fenolik maddelerin kalitatif ve kantitatif olarak farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Bourgou ve arkadaşlarının araştırmalarında (53) en fazla miktarda bulunan fenolik bileşen vanilik asittir ve bunu gallik asit, (+)-kateşin hidrat, kersetin, trans-2-hidroksisinnamik asit, apigenin izlemektedir. Tez çalışmamızda antioksidan etki testlerinde kullandığımız kök metanol ekstresi literatürden farklı olarak Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilmiştir ve ana fenolik bileşen olarak kersetin, trans-2-hidroksisinnamik asitleri içermekte buna *p*-kumarik asit ve ferulik asit izlemektedir. Bitkinin doğal kaynaklı olması, yetiştiği yer ve iklim koşulları gibi etkilerden dolayı fenolik bileşen kompozisyonunun farklı olabileceğini düşündürmektedir. Araştırmalarımızda kullandığımız diğer ekstreler için ise literatürde yapılmış herhangi bir antioksidan etki çalışması bulunmamaktadır. Bu araştırmamız ile tohum ve topraküstü metanol ekstrelerinin hem fenolik bileşenleri hem de antioksidan etkileri ilk kez araştırılmıştır. Antioksidan etki-fenolik bileşen ilişkisi açısından sonuçlar değerlendirilecek olursa en etkin ekstre olan toprak üstü metanol ekstresinin Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanan ekstre olduğu ve ana bileşenin kersetin olduğu bunu (-)-epikateşin ve *p*-kumarik asitin takip ettiği görülmektedir. Tohum metanol ekstresinin de antioksidan etkisinin yüksek olduğu ve aynı şekilde kersetin ve (-)-epikateşin açısından zengin olduğu görülmektedir.

Literatürde kimyasal yapı-aktivite ilişkisi açısından çeşitli fenolik bileşikler kullanılarak DPPH' metodu ile yapılmış araştırmalar mevcuttur. Polifenollerden flavonoitlerde 2,3-arası çifte bağ ile 3-hidroksi grubunun varlığının yüksek antioksidan etki oluşturduğu bilinmektedir (184, 185). Bu çalışmamızda kullanılan ekstrelerden etkili olanların da kersetin ve (-)-epikateşin gibi polifenollerce zengin olması etkiye bu bileşenlerin katkısını açıklamaktadır.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasından elde edilen bulgulara göre:

- İlk kez doğal olarak yetişen bir *N. sativa* bitkisinin tohumları sabit ve uçucu yağ, timol ve timokinon içeriği, tokoferoller ve mineraller yönünden incelenmiştir.
  - Tohumlar doymamış yağ asitlerince zengin bir yağ, monoterpenler yönünden zengin bir uçucu yağ taşımaktadır. Sabit yağın çoklu doymamış yağ asitleri miktarının (linoleik ve eikozadienoik asit) toplam yağ içerisinde %54.41 ve tek çifte bağ taşıyan oleik asit miktarının da %22.38 olduğu tespit edilmiştir. Bu açıdan en az kültüre alınmış *N. sativa* tohumları kadar doğal kaynaklı bitki de gıda değeri yüksek tohum taşımaktadır.
  - Tohumların uçucu yağ bileşimi de GC ve GC-MS yöntemleri ile incelendiğinde sonuçların literatürde yer alan kültür bitkisi *N. sativa* tohumları üzerinde yapılmış çalışmalarla paralellik gösterdiği saptanmıştır. Uçucu yağda timokinon miktarının %18.93 olması da önemli bir bulgudur ve doğal olarak yetişen bitkide de bu etkili bileşenin literatür verilerindeki aralıkta yer aldığı saptanmıştır.
  - Tohumların ayrıca metanol ekstresinin timol ve timokinon içerikleri açısından HPLC ile analiz edilmesi sonucu tohumda timokinonun çok yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır.
  - Tohumlardan hazırlanan hekzan ekstresinin tokoferol profili HPLC ile belirlenmiş olup  $\gamma$ - ve  $\delta$ -tokoferollerin ana bileşenler olduğu tespit edilmiştir.
  - Tohumların mineral maddeler bileşimi de saptanmış olup ana minerallerin P, K ve Ca oldukları belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışma konusunu oluşturan *N. sativa* bitkisinin tohumlarının sabit yağ, tokoferoller ve mineraller yönünden en az kültür bitkisi *N. sativa* kadar değerli olduğu saptanmıştır ve sonuçlar tohumların gıda olarak kullanımının yararlı olacağını göstermiştir. Timokinon miktarının da yüksek

olması nedeni ile bu bitkinin daha ileri araştırmalarda yapılacak biyoaktivite çalışmaları için değerli bir kaynak oluşturacağı düşünülmektedir.

- İlk kez doğal olarak yetişen bir *N. sativa* bitkisinin tüm kısımlarından (tohum, topraküstü ve kök) hazırlanan ekstreler fenolik bileşenler açısından HPLC yöntemi ile araştırılmış aynı zamanda bu ekstrelerin olası antioksidan etkileri de DPPH' yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre:

- Tüm ekstrelerin flavonoidlerden kersetin açısından zengin olduğu ve DPPH' testinde hepsinin de radikal süpürücü etki gösterdiği saptanmıştır. % inhibisyon değerlerindeki farklılığın ise ekstrelerin bileşimlerinde bulunan diğer fenollerin sinerjik/antagonist etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak ilk kez bu çalışma ile bitkinin tüm kısımlarının fenolik bileşen profili çıkarılmış olup ortaya konan sonuçlar bu konuda yapılacak araştırmalara yön verecektir.

## 7. KAYNAKLAR

1. **Evans WC.** *Trease and Evans Pharmacognosy*. 15th. Edition, Edinburgh: W. B. Saunders, **2002**: 23.
2. **Heywood VH.** *Flowering Plants of the World*. Oxford: Oxford University, **1979**.
3. **Tanker M, Tanker N.** *Farmakognozi Cilt I / Cilt II*. 2 Baskı, Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, **1998**.
4. **Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M.** *Farmasötik Botanik*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 88, **2004**.
5. **Davis PH.** *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol.1 , Edinburgh: Edinburgh University Pres, **1965**: 95-108.
6. **Davis PH.** *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol.10, Edinburgh: Edinburgh University Pres, **1988**: 13-14.
7. **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.
8. **Hegnauer R.** *Chemotaxonomie der pflanzen*. Basel/Stuttgart: Birkhauser Verlag, **1973**: p. 43.
9. **Türker L, Bayrak A.** Çörek otu (*Nigella sativa L*)'nun sabit ve uçucu yağ kompozisyonunun araştırılması. *Standart*, **1997**; 430: 128-137.
10. **Turner RJ.** *Botanica*. 3<sup>th</sup>. Ed., Italy: Köneman, **2004**: 605.
11. **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.
12. **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.
13. **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.
14. **Al-Jishi SA, Hozaifa BA.** Effect of *Nigella sativa* on blood hemostatic function in rats. *J. Ethnopharmacol*, **2003**; 85: 7-14.
15. **Ali BH, Blunden G.** Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother. Res*, **2003**; 17: 299– 305.
16. **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.



17. **El-Dakhakhny M, Barakat M, El-Halim M, Aly SM.** Effects of *Nigella sativa* oil gastric secretion and ethanol-induced ulcer in rats. *J. Ethnopharmacol*, **2000**; 72: 299–304.
18. **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.
19. **Kökdil G, Yılmaz H.** Analysis of the fixed oils of the genus *Nigella* L. (*Ranunculaceae*) in Turkey. *Biochem. Systema. Ecol*, **2005**; 33:1203-1209.
20. **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.
21. **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.
22. **Zaoui A, Cherrah Y, Mahassini N, Alaoui K, Amarouch H, Hassar M.** Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine*, **2002**; 9:69-74.
23. **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.
24. **Khan MA.** Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. *Inflammopharmacology*, **1999**; 7(1): 15-35.
25. **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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
26. **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.
27. **Burits M, Bucar F.** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res*, **2000**; 14:323-328.
28. **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: newhopes. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr*, **2001**; 108: 71– 73.
29. **Ramadan MF, Kroh LW, Mörsel JT.** Radical scavenging activity of black cumin (*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.
30. **Salem ML.** Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int. Immunopharm*, **2005**; 5: 1749-1770.
31. **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.
32. **Hanafy MS, Hatem ME.** Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). *J. Ethnopharmacol*, **1991**; 34: 275–278.
33. **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.

34. **El-Dakhakhny 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.
35. **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.
36. **Ibraheim ZZ.** Effect of *Nigella sativa* seeds and total oil on some blood parameters in female doxorubicinvolunteers. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **2002**; 10: 54–59.
37. **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.
38. **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>
39. **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.
40. **Nergiz C, Ötleş S.** Chemical composition of *Nigella sativa* L. Seeds. *Food Chemistry*, **1993**; 48: 259-261.
41. **Takruri HRH, Dameh MAF.** Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa* L). *J. Sci. Food Agric*, **1998**; 76:404-410.
42. **Ramadan MF, Mörsel JT.** Direct isocratic normal-phase HPLC assay of fat-soluble vitamins and  $\beta$ -carotene in oilseeds. *Eur. Food Res. Technol*, **2002**; 214:521-527.
43. **Al-Saleh IA, Billedo G, El-Doush II.** Levels of selenium, DL- $\alpha$ -tocopherol, DL- $\gamma$ -tocopherol, all-*trans*-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. *J. Food Compos. Anal*, **2006**; 19:167-175.
44. **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.
45. **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.
46. **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.
47. **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.
48. **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.
49. **Morikawa T, Xu F, Ninomiya K, Matsuda H, Yoshikawa M.** Nigellamines A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, 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.
50. **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.

51. **Fico G, Braca A, Tomè F, Morelli I.** Phenolic derivatives from *Nigella damascena* seeds. *Pharmaceutical Biology*, **2000**; 38(5): 371-373.
52. **Fico G, Braca A, Tomè F, Morelli I.** A new phenolic compound from *Nigella damascena* seeds. *Fitoterapia*, **2001**; 72:462-463.
53. **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.
54. **Riaz M, Syed M, Chaudhary FM.** Chemistry of the medicinal plants of the genus *Nigella*. *Hamdard Medicus*, **1996**; 39: 40-45.
55. **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.
56. **Mehta BK, Pandit V, Gupta M.** New principles from seeds of *Nigella sativa*. *Natural Product Research*, **2009**; 23(2): 138-148.
57. **Mehta BK, Mehta P, Gupta M.** A new naturally acetylated triterpene saponin from *Nigella sativa*. *Carbohydrate Research*, **2009**; 344: 149-151.
58. **Al-Jassir MS.** Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chem*, **1992**; 45: 239– 242.
59. **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.
60. **Dandik L, Aksoy HA.** The kinetics of hydrolysis of *Nigella sativa* (black cumin) seed oil catalyzed by native lipase in ground seed. *J. Amer. Oil Chem. Soc*, **1992**; 69: 1239.
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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
62. **Ustun G, Kent L, Cekin N, Civelekoglu H.** Investigation of the technological properties of *Nigella sativa* (black cumin) seed oil. *J. Amer. Oil Chem. Soc*, **1990**; 67: 958-960.
63. **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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
64. **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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
65. **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.
66. **Atta MB, Imaizumi K.** Antioxidant Activity of *Nigella* (*Nigella sativa* L.) Seeds Extracts. *J. Jpn. Oil Chem. Soc*, **1998**; 47(5): 475-480.

67. **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.
68. **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.
69. **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.
70. **Chakravarty N.** Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone. *Ann. Allergy*, **1993**; 70: 237–42.
71. **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.
72. **El-Dakhakhny M, Madi NJ, Lembert 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.
73. **Mahmood 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.
74. **Hajhashemi V, Ghannadi A, Jafarabadi H.** Black cumin seed essential oil, as apotent analgesic and antiinflammatory drug. *Phytother. Res*, **2004**; 18(3): 195-199.
75. **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. *Int. Immunopharm*, **2006**; 6: 1135-1142.
76. **Swamy SM, Tan BK.** Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds. *J. Ethnopharmacol*, **2000**; 70: 1– 7.
77. **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.
78. **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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
79. **Morsi NM.** Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria. *Acta Microbiol. Pol*, **2000**; 49(1): 63-74.  
Erişim: [http://apps.isiknowledge.com/full\\_record](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
80. **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.
81. **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.

82. **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.
83. **Akhtar MS, Aslam M.** Anticestodal principles of *Nigella sativa* Linn. (Kolanji) seeds. *Pak. J. Pharmacol*, **1997**; 14(2): 7-14.
84. **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.
85. **Islam SN, Begum P, Ahsan T, Huque S, Ahsan M.** Immunosuppressive and cytotoxic properties of *Nigella sativa*. *Phytother. Res*, **2004**; 18: 395– 398.
86. **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.
87. **Al-Hader A, Aqel M, Hasan Z.** Hypoglycemic effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds. *Int. J. Pharmacog*, **1993**; 31: 96–100.
88. **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.
89. **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.
90. **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.
91. **Badary OA, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FM.** The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*, **2000**; 143: 219– 226.
92. **Boskabady MH, Shirmohammadi B, Jandaghi P, Kiani S.** Possible mechanism(s) for relaxant effect of aqueous and macerated extracts from *Nigella sativa* on tracheal chains of guinea pig. *BMC Pharmacol*, **2004**; 4: 1471-2210.
93. **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.
94. **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.
95. **Aqel MB.** Effect of *Nigella sativa* seeds on intestinal smooth muscles. *Int. J. Pharmacog*, **1993**; 31: 55–60.
96. **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.
97. **Mahgoub AA.** Thymoquinone protects against experimental colitis in rats. *Toxicol.Lett*, **2003**; 143: 133–143.
98. **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.

99. **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.
100. **Al-Naggar TB, Gómez-Serranillos MP, Carretero ME, Villar AM.** Neuropharmacological activity of *Nigella sativa* L. extracts. *J. Ethnopharmacol*, **2003**; 88: 63-68.
101. **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.
102. **Kanter M.** *Nigella sativa* and Derived Thymoquinone Prevents Hippocampal Neurodegeneration After Chronic Toluene Exposure in Rats. *Neurochem. Res*, **2008**; 33: 579-588.
103. **Hosseinzadeh H, Parvardeh S.** Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine*, **2004**; 11: 56-64.
104. **Dönmez AA, Mutlu B.** A new species of *Nigella* (*Ranunculaceae*) from Turkey. *Bot. J. Linn. Soc*, **2004**; 146: 251-255.
105. **Aitzetmüller K, Werner G.** Seeds oils of *Nigella* species and of closely related genera. *OCL Ol. Corps Gras. Lipides*, **1997**; 4: 385-388.
106. **Ramadan MF, Mörsel JT.** Neutral lipid classes of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oils. *Eur. Food Res. Technol*, **2002**; 214:202-206.
107. **Ramadan MF, Mörsel JT.** Characterization of phospholipid composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil. *Nahrung/Food*, **2002**; 46(4):240-244.
108. **Atta MB.** Some characteristics of nigella (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry*, **2003**; 83:63-68.
109. **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.
110. **Ramadan MF, Mörsel JT.** Analysis of glycolipids from black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.) and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) oilseeds. *Food Chemistry*, **2003**; 80:197-204.
111. **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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
112. **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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
113. **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>

114. **Kizil S, Kirici S, Cakmak O, Khawar M.** Effects of sowing periods and P application rates on yield and oil composition of black cumin (*Nigella sativa* L.). *J. Food Agr. & Environ*, **2008**; 6(2): 242-246.  
Erişim: [http://apps.isiknowledge.com/full\\_record](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
115. **Sener B, Küsmenoglu S, Mutlugil A, Bingol F.** A study with the seed of *Nigella sativa*. *Gazi Üniv. Eczacılık Fak. Derg.*, **1985**; 2(1): 1-7.
116. **Akçasu A, Kavalalı G.** The fatty acids of *Nigella damascena* L. seed oil. *Acta Pharmaceutica Turcica*, **1990**; 32: 41-43.
117. **Ozguven M, Sekeroglu N.** Agricultural practices for high yield and quality of black cumin (*Nigella sativa* L.) cultivated in Turkey. *Proceedings of the International Symposium on Medicinal and Nutraceutical Plants*, **2007**; 756: 329-337.  
Erişim: [http://apps.isiknowledge.com/full\\_record](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
118. **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. *J. Liq. Chromatogr*, **1995**; 18(1):105-115.
119. **Aboul-Enein HY, Abou Basha LI.** Simple HPLC method for the determination of thymoquinone in black seed oil (*Nigella sativa* Linn). *J. Liq. Chromatogr*, **1995**; 18(5):895-902.
120. **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.
121. **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.
122. **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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
123. **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.
124. **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.
125. **Tillequin F, Leconte C, Paris M.** Sesquiterpene hydrocarbons from *Nigella damascena* seeds. *Planta Med*, **1976**; 30(1): 59-61.
126. **Fico G, Bader A, Flamini G, Cioni PL, Morelli L.** Essential oil of *Nigella damascena* L. (*Ranunculaceae*) seeds. *J. Essent. Oil Research*, **2003**; 15(1): 57-58.  
Erişim: [http://apps.isiknowledge.com/full\\_record](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
127. **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.
128. **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.
129. **Havlik J, Kokoska L, Vasickova S, Valterova I.** Volatile constituents from the seeds of *Nigella arvensis* L. *Flavour Fragr. J*, **2006**; 21.

130. **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.
131. **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.
132. **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>
133. **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.
134. **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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
135. **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.
136. **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.
137. **Saad RR.** Production of lipase from *Aspergillus tamarii* and its compatibility with commercial detergents. *Folia Microbiol.*, **1995**; 40(3): 263-266.
138. **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.
139. **Dandik L, Aksoy HA.** Applications of *Nigella sativa* seed lipase in oleochemical reactions. *Enzyme Microb. Tech.*, **1996**; 19: 277-281.
140. **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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
141. **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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
142. **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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
143. **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](http://apps.isiknowledge.com/full_record)
144. **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.



145. **Joshi BS, Singh KL, Roy R.** Structure of a new isobenzofuranone derivative from *Nigella sativa* Linn. *Magn. Reson. Chem*, **2001**; 39:771-772.
146. **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.
147. **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.
148. **Daba MH, Abdel-Rahman MS.** Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Lett*, **1998**; 95: 23– 29.
149. **El-Mahmoudy A, Matsuyama H, Borgan MA, Shimizu Y, El- Sayed MG, Minamoto N, Takewaki T.** Thymoquinone suppresses expression of inducible nitric oxide synthase in rat macrophages. *Int. Immunopharmacol*, **2002**; 2: 1603– 1611.
150. **Nagi MN, Mansour MA.** Protective effect of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: a possible mechanism of protection. *Pharmacol. Res*, **2000**; 41: 283– 289.
151. **Suboh SM, Bilto 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.
152. **Meral I, Kanter M.** Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on selected mineral status and hematological values in CCl<sub>4</sub>-treated rats. *Biol. Trace. Elem. Res*, **2003**; 96: 263– 270.
153. **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.
154. **Kanter M, Meral I, Dede S, Gunduz H, Cemek M, Ozbek H, Uygan I.** Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl<sub>4</sub>-treated rats. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med*, **2003**; 50: 264– 268.
155. **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.
156. **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.
157. **Kacem R, Meraihi Z.** Effects of essential oil extracted from *Nigella sativa* (L.) seeds and its main components on human neutrophil elastase activity. *The Pharmaceutical Society of Japan*, **2006**; 126(4): 301-305.
158. **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.
159. **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.
160. **Sokmen A, Jones BM, Erturk M.** The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*, **1999**; 67: 79–86.

161. **Nair MKM, Vasudevan P, Venkitanarayanan K.** Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, **2005**; 16:395-398.
162. **Mohamed AM, Metwally NM, Mahmoud SS.** *Sativa* seeds against *Schistosoma mansoni* different stages. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **2005**; 100(2): 205-211.
163. **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.
164. **Salomi NJ, Nair SC, Jayawardhanan KK, Varghese CD, Panikkar KR.** Antitumour principles from *Nigella sativa* seeds. *Cancer Letters*, **1992**; 63: 41-46.
165. **El- Mahdy MA, Zhu Q, Wang Q-E, Wani G, Wani AA.** Thymoquinone induces apoptosis through activation of caspase-8 and mitochondrial events in p53-null myeloblastic leukemia HL-60 cells. *Int. J. Cancer*, **2005**; 117: 409-417.
166. **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.
167. **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.
168. **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.
169. **Badary OA.** Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. *J. Ethnopharmacol*, **1999**; 67: 135-142.
170. **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.
171. **Iddamaldeniya SS, Thabrew MI, Wickramasinghe SMDN, Ratnatunge N, Thammitiyagodage MG.** A long-term investigation of the anti-hepatocarcinogenic potential of an indigenous medicine comprised of *Nigella sativa*, *Hemidesmus indicus* and *Smilax glabra*. *J. Carcinog*, **2006**; 5(11): 1-7.
172. **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.
173. **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. *Braz. J. Med. Biol. Res*, **2007**; 40: 839-847.
174. **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. *J. Ethnopharmacol*, **2004**; 94: 251-259.
175. **Kanter M, Coskun O, Korkmaz A, Oter S.** Effects of *Nigella sativa* on Oxidative Stress and  $\beta$ -Cell Damage in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *The Anat. Rec*, **2004**; 279A: 685-691.

176. **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.
177. **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.
178. **Kanter M.** Effects of *Nigella sativa* and its Major Constituent, Thymoquinone on Sciatic Nerves in Experimental Diabetic Neuropathy. *Neurochem. Res*, **2008**; 33: 87-96.
179. **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  $\beta$ -cells, Skeletal Muscle Cells, and Adipocytes. *Pharmaceutical Biology*, **2008**; 46: 96-104.
180. **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.
181. **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.
182. **Kroyer G.Th.** Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **2004**; 5: 101-105.
183. **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.
184. **Wojdylo A, Oszmiański J, Czemerzys R.** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem*, **2007**; 105: 940-949.
185. **Sánchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F.** Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wine, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*, **1999**; 32: 407-412.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

29. 08. 1983 yılında Mersin’de doğdu. İlköğrenimini İleri İlkokulu’nda, ortaöğrenimini Pirireis Ortaokulu’nda, lise öğrenimini 19 Mayıs Süper Lisesi’nde tamamladıktan sonra 2002 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nü kazandı. 2006 yılında mezun olduktan sonra aynı yıl Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2007 yılında Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak göreve başlamış olup, aynı göreve devam etmektedir.