

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZACILIK MESLEK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
FARMAKOGNOZİ YÜKSEK LİSANS (TEZLİ) PROGRAMI

***VERBASCUM INULIFOLIUM* HUB.-MOR. (*SCROPHULARIACEAE*) BİTKİSİ
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

SEVDA GÜZEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

PROF. DR. GAMZE KÖKDİL

Bu tez Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP-SBE
MB(SG) 2004-3YL no'lu proje olarak desteklenmiştir.

Tez no: 66

MERSİN-2006

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Eczacılık Meslek Bilimleri Anabilim Dalı Farmakognozi Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan '*Verbascum inulifolium* Hub.-Mor. (*Scrophulariaceae*) Bitkisi Üzerinde Farmakognozیک Araştırmalar' adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez savunma tarihi: 10/07/2006

Prof. Dr. Gamze Kökdil

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Eczacılık Meslek Bilimleri Anabilim Dalı
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Şahin Saygı

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Meslek Bilimleri Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

Doç. Dr. Ayşegül Güvenç

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Botanik Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulunun 12/07/2006 tarihli ve 2906/14 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Murat D. Engin

Enstitü Başkanı



TEŞEKKÜR

Tez konumun seçilmesi ve çalışmalarımın yönlendirilmesi sürecinde değerli yardım ve katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gamze KÖKDİL'e,

Tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen desteğini hep yanımda hissettiğim değerli arkadaşım Arş. Gör. Başak ÖZBİLGİN'e çok teşekkür ederim.

Çalışma materyalimin teşhisindeki katkılarından dolayı Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet İLCİM'e ve Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Faik KARAVELİOĞLU'na, biyolojik aktivite çalışmalarım sırasında antioksidan aktivite çalışmalarını yapan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Ayşegül GÜVENÇ'e, antiviral ve antibakteriyel aktivite çalışmalarımın yapılmasına olanak sağlayan Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Aykut ÖZKUL'a, Bulgaristan Bilim Akademisi Mikrobiyoloji Enstitüsü Öğretim üyesi Sayın Dr. Julia SERKEDJIEVA'ya, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Gürol EMEKDAŞ'a, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Nuran DELİALİOĞLU'na teşekkür ederim.

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi analizlerinin gerçekleştirilmesi için laboratuvar imkanlarından yararlanmamıza olanak sağlayan Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Serpil ÜNYAYAR'a ve analizler sırasında teknik konularda yardımcı olan Dr. Hüseyin YILMAZ'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince burs vererek beni destekleyen TÜBİTAK-BAYG (Bilim Adamı Yetiştirme Grubu)'a,

Bu araştırmanın gerçekleşmesi için destek olan Mersin Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Tez çalışmalarını sırasında ilgisini esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Sakine KALEAĞASI'na,

Çalışmalarım sırasında yardımlarının esirgemeyen Arş. Gör. Seda TEZCAN'a, Arş. Gör. Ayşin GÜZEL'e ve arkadaşlarıma teşekkürler.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu çalışmam sırasında da beni yalnız bırakmayan ve sürekli olarak her açıdan destekleyen sevgili anneme, babama, ağabeyime ve kardeşime sonsuz teşekkürler.

Sevda GÜZEL

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	viii
KROMATOGRAMLAR DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1 Botanik Bilgiler	6
2.1.1 <i>Scrophulariaceae</i> Familyası	6
2.1.2 <i>Verbascum</i> L. Cinsi	7
2.1.3 Türkiye’de Yetişen <i>Verbascum</i> Türlerine Ait Gruplar, Tür ve Endemik Tür Dağılımı	8
2.1.4 <i>V. inulifolium</i> Hub. - Mor.	10
2.2 <i>Verbascum</i> Türleri Üzerine Yapılmış Fitokimyasal Araştırmalar	12
2.3 <i>Verbascum</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları	30
2.3.1 Antimikrobiyal Etki	31
2.3.1.1 Antiviral Etki	31
2.3.1.2 Antibakteriyel ve Antifungal Etki	34
2.3.2 Sitotoksik ve Antitümör Etki	43
2.3.3 İmmunomodülatör Etki	44
2.3.4 Antihepatoma Etki	45
2.3.5 Antioksidan Etki	45
2.3.6 Antiülser Etki	50

3. GEREÇ VE YÖNTEM	51
3.1 Gereç	51
3.1.1 Bitkisel Materyal	51
3.1.2 Kullanılan Maddeler	51
3.1.3 Kullanılan Cihazlar	52
3.2 Yöntem	55
3.2.1 Fitokimyasal çalışmalar	55
3.2.1.1 Ekstraksiyon	55
3.2.1.2 Ekstrenin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) ile Kalitatif ve Kantitatif Analizi	55
3.2.2 Biyoaktivite Çalışmaları	58
3.2.2.1 Antioksidan Etki Çalışmaları	58
3.2.2.2 Antimikrobiyal Etki Çalışmaları	60
3.2.2.2.1 Antibakteriyel Etki Çalışmaları	60
3.2.2.2.2 Antiviral Etki Çalışmaları	61
4. BULGULAR	69
4.1 Fitokimyasal Çalışmaya İlişkin Bulgular	69
4.2 Antioksidan Etki Çalışmasının Sonuçları	79
4.3 Antibakteriyel Etki Çalışmasının Sonuçları	80
4.4 Antiviral Etki Çalışmalarının Sonuçları	81
5. TARTIŞMA	83
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	90
7. KAYNAKLAR	93
ÖZGEÇMİŞ	99

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>V. inulifolium</i> 'un yetiştiği yerler	11
Şekil 2. Drandarov'un <i>V. pseudonobile</i> bitkisi üzerinde yaptığı çalışmalar	14
Şekil 3. <i>V. thapsus</i> 'dan elde edilmiş olan steroid yapıda bileşikler	16
Şekil 4. <i>V. thapsus</i> 'dan elde edilmiş olan seskiterpenik asit	17
Şekil 5. <i>V. nigrum</i> 'dan elde edilmiş iridoitler	19
Şekil 6. <i>V. songaricum</i> bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden elde edilen bazı saponozitler	20
Şekil 7. <i>V. phlomoides</i> bitkisinin çiçeklerinden elde edilen saponozitler	23
Şekil 8. <i>V. spinosum</i> 'dan elde edilen yeni bir iridoit olan verbaspinozit	24
Şekil 9. <i>V. lasianthum</i> 'un köklerinden elde edilen metanollü ekstreden izole edilen bazı bileşikler	29
Şekil 10. Ekstrelerin seri seyreltilme işlemi	62
Şekil 11. Virüslerin seri seyreltilme işlemi	64
Şekil 12. Plate'lerin genel görünüşü ve plate'lere uygulanan dilüsyon miktarları	64
Şekil 13. İnternal standart morin'in molekül formülü	73
Şekil 14. Mirsetin molekül formülü, kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	74
Şekil 15. Luteolol molekül formülü, kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	75
Şekil 16. Kemferol molekül formülü, kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	76
Şekil 17. İzoramnetin molekül formülü, kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi	77
Şekil 18: MDA ile Tiyobarbitürik asit'in reaksiyonu	79

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. <i>V. inulifolium</i> bitkisinin herbaryum örneğinin genel görünüşü	53
Resim 2. <i>V. inulifolium</i> bitkisinin herbaryum örneğinin farklı açılardan görünüşü	54
Resim 3. <i>V. inulifolium</i> bitkisinin metanollü ekstresinde gözlenen DPPH testine ait ince tabaka kromatogramı	79

KROMATOGRAMLAR DİZİNİ

Kromatogram 1. <i>V. inulifolium</i> bitkisinin YBSK kromatogramı	69
Kromatogram 2. <i>V. inulifolium</i> bitkisinin YBSK kromatogramı (λ : 349 nm)	70
Kromatogram 3. Mirsetin standardının YBSK kromatogramı	70
Kromatogram 4. Morin standardının YBSK kromatogramı	70
Kromatogram 5. Luteolol standardının YBSK kromatogramı	71
Kromatogram 6. Kemferol standardının YBSK kromatogramı	71
Kromatogram 7. İzoramnetin standardının YBSK kromatogramı	71
Kromatogram 8. <i>V. inulifolium</i> + Kemferol standardının YBSK kromatogramı	72
Kromatogram 9. <i>V. inulifolium</i> + mirsetin + izoramnetin standartlarının YBSK kromatogramı	72
Kromatogram 10. <i>V. inulifolium</i> + Luteolol standardının YBSK kromatogramı	73

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. <i>Scrophulariaceae</i> familyasına ait Türkiye’de yetişen cinsler	7
Tablo 2. Türkiye’de yetişen <i>Verbascum</i> cinsinin gruplara göre tür ve endemik tür dağılımı	10
Tablo 3. Fitokimyasal açıdan incelenmiş <i>Verbascum</i> türleri, kullanılan kısımları, ekstre tipleri ve bulunan etken madde grupları	13
Tablo 4. <i>Scrophulariaceae</i> familyasında p-kumarik, kafeik, ferulik ve sinapik asitlerin mono-, di-, tri- sakkarit esterlerdeki dağılımı	14
Tablo 5. <i>V. pseudonobile</i> bitkisinin total alkaloid ekstresinde bulunan bazı bileşikler	15
Tablo 6. <i>V. macrurum</i> ’un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden elde edilmiş bileşikler	25
Tablo 7. Türkiye’de fitokimyasal yönden araştırılmış <i>Verbascum</i> türleri	26
Tablo 8. <i>V. wiedemannianum</i> ’un toprak üstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstreten izole edilen bileşikler	28
Tablo 9. Biyolojik aktivite açısından incelenmiş <i>Verbascum</i> türleri, incelenen ekstre ve biyoaktivite tipleri	30
Tablo 10. <i>Verbascum</i> türlerinin antiviral aktivite testlerinde kullanılan virüsler	32
Tablo 11. <i>V. thapsus</i> ’un yapraklarından elde edilen metanollü ekstrenin antiviral aktivitesi	33
Tablo 12. <i>Verbascum</i> türleriyle yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılan bakteri ve funguslar	34
Tablo 13. McCutcheon ve arkadaşlarının <i>V. thapsus</i> ’un yapraklarından elde edilen metanollü ekstresinde yaptığı araştırmadan alınan antifungal aktivite sonuçları	35
Tablo 14. <i>V. undulatum</i> bitkisinden elde edilen verbalaktonun antibakteriyel aktivite sonuçları	36
Tablo 15. <i>V. leptostychem</i> bitkisinin çiçeklerinin metanollü ekstresine ait MIC değerleri	37
Tablo 16. Tadeğ ve arkadaşlarının incelediği <i>V. sinaiticum</i> bitkisinin sulu ekstresinin bakteri ve funguslara karşı antimikrobiyal aktivitesi	38

Tablo 17. Türker ve arkadaşının <i>V. thapsus</i> ekstreleri ile yaptıkları antibakteriyel testlerde kullanılan materyaller	39
Tablo 18. Türker ve arkadaşının <i>V. thapsus</i> ekstresi ve saponozitler üzerinde yaptıkları antibakteriyel test sonuçları	41
Tablo 19. <i>V. gypsicola</i> bitkisinin metanollü ekstresi ile yapılmış antimikrobiyal test sonuçları	42
Tablo 20. <i>V. thapsus</i> 'dan elde edilen ekstreler, standart saponozitler, kontroller (su ve kamptotesin) ve tümör oluşum inhibisyon yüzdeleri	44
Tablo 21. <i>V. thapsus</i> 'un sulu ekstresinin antihepatoma aktivite test sonuçları	45
Tablo 22. Verbaskozit ve ekinakozit'in DPPH radikal indirgeme yüzdeleri	48
Tablo 23. <i>V. wiedemannianum</i> bitkisinin metanollü ekstresinde DPPH ve β -karoten / linoleik asit yöntemleri ile yapılan antioksidan etki sonuçları	49
Tablo 24. Bitki ekstresinin sıçanlarda etanolün neden olduğu gastrik lezyonlara karşı etkisi	50
Tablo 25. <i>V. inulifolium</i> bitkisinden elde edilen ekstre miktarları ve % verim	55
Tablo 26. Gradient yönteme göre mobil faz değişimi	56
Tablo 27. Kalibrasyon çözeltilerinin ve internal standardın son konsantrasyonları	57
Tablo 28. Antibakteriyel etki çalışmalarında kullanılan bakteriler	60
Tablo 29. NCCLS'de belirtilen, seri sıvı dilüsyon duyarlılık testlerinde kullanılan ekstrelerin sulandırma şeması	61
Tablo 30. <i>V. inulifolium</i> 'da bulunduğu saptanan flavonoidlerin yüzde miktarları	78
Tablo 31. <i>V. inulifolium</i> metanollü ekstresine ait Tiyobarbitürik asit test (TBA) sonuçları	79
Tablo 32. <i>V. inulifolium</i> bitkisinin ekstrelerinin makrodilüsyon yöntemi ile antibakteriyel etki çalışmasına ait sonuçları	80
Tablo 33. <i>V. inulifolium</i> ekstrelerinin <i>Influenza</i> virus suşlarına karşı gösterdiği antiviral etki sonuçları	81
Tablo 34. <i>V. inulifolium</i> ekstrelerinin <i>Herpes simplex</i> virus suşlarına karşı gösterdiği antiviral etki sonuçları	82

ÖZET

Güzel S. *Verbascum inulifolium* Hub.-Mor. (*Scrophulariaceae*) Bitkisi Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Programı Yüksek Lisans Tezi, Mersin 2006

Verbascum cinsi (*Scrophulariaceae*) dünyada 360 kadar tür ile temsil edilmekte olup bu cinse ait türler Kuzey Yarıkürede ılıman bölgelerde yayılış göstermektedir. Türkiye’de 185’i endemik olmak üzere 233 türü ve 100’den fazla hibriti bulunmaktadır.

V. inulifolium türü Güney Anadolu’da yayılış gösteren endemik bir türdür. Literatürde bu türün fitokimyasal içeriği ve antioksidan, antibakteriyel ve antiviral aktiviteleri ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada *V. inulifolium*’un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi fitokimyasal açıdan incelenirken; ayrıca metanollü ve diklorometanlı ekstrere antioksidan, antibakteriyel ve antiviral etki açısından da test edilmiştir.

Fitokimyasal çalışmalar, bitkinin metanollü ekstresinde Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi analizleri ile yapılmıştır. Bitkide mirsetin (%0.097767±0.0036223), luteolol (%0.158933±0.0004807), kemferol (%0.234000±0.0044230) ve izoramnetin (%0.035500±0.0034429) gibi 4 flavonoidin varlığı saptanmıştır.

V. inulifolium’un toprak üstü kısımları içerdikleri flavonoidler nedeniyle antioksidan etkileri açısından; 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal süpürücü etki testi ve liposom kullanılarak yapılan Tiyobarbitürik asit (TBA) testi gibi iki farklı teknikle test edilmiştir. Bitkinin metanollü ekstresinin TBA testinde yüksek antioksidan etki gösterdiği görülmüştür (IC₅₀: 0.13 mg/ml).

Bitki ekstrere 3 Gram (+) (*B. subtilis*, *S. aureus*, *E. faecalis*) ve 2 Gram (-) (*E. coli*, *P. aeruginosa*) bakteriye karşı makrodilüsyon metodu ile minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC), saptanarak antibakteriyel etki açısından incelenmiştir. Bitkinin metanollü ekstresi Gram (+) bakteri *E. faecalis*’e (MIC: 640 µg/ml, MBC: 1280 µg/ml) karşı antibakteriyel etki gösterirken diklorometanlı ekstre ise *S. aureus* ve *E. faecalis* bakterilerine karşı antibakteriyel etki göstermiştir. Ayrıca diklorometan ekstresi test edilen Gram (-) bakterilerin tümünde antibakteriyel etkili bulunmuştur (MIC: 5120 µg/ml).

Ekstrelerin antiviral aktiviteleri cytopathogenic effect (CPE) reduction assay, %50 end point titrasyon teknikleri kullanılarak *Avian Influenza Virus*, *Human Influenza Virus*, *Herpes Simplex Virüs Type I*, *Herpes Simplex Virus Type II* ve *Bovine Herpes Virus Type-1* virüsleri üzerinde yapılmıştır. Metanollü ekstrenin *Avian Influenza Virus* (SI: 8.0) and *Human Influenza Virus*’e (SI:16.0) karşı antiviral etkili olduğu görülmüştür. Diklorometanlı bitki ekstresi ise test edilen tüm virüslere karşı düşük antiviral etki göstermiştir. Her iki bitki ekstresi *Bovine Herpes Virus Type-1* virüsüne karşı etkili bulunmamıştır.

Anahtar kelimeler: *Verbascum inulifolium*, *Scrophulariaceae*, YBSK, flavonoid, antiviral aktivite, antibakteriyel aktivite, antioksidan aktivite

ABSTRACT

Güzel S. Pharmacognostical Investigations on *Verbascum inulifolium* Hub.-Mor. (*Scrophulariaceae*) Mersin University, Institute of Health Sciences, Pharmacognosy Program, Msc. Thesis, Mersin 2006

The genus *Verbascum* L. (*Scrophulariaceae*) is represented by more than 360 species, distributed throughout the temperate areas of the northern hemisphere. The genus *Verbascum* is represented by 233 species in Turkey, including 185 species that are endemic to this area and also has more than 100 hybrids.

Verbascum inulifolium Hub.-Mor. is an endemic plant which is spread in South Anatolia. There is no report concerning about the antioxidant, antibacterial and antiviral activities of *V. inulifolium* in the literature.

In this study, the extracts of the aerial parts of *V. inulifolium* were investigated phytochemically. Both dichloromethane and methanol extracts of the plant were also tested for their antioxidant, antibacterial and antiviral activities.

In phytochemical studies, the methanolic extract was studied by reversed phase high performance liquid chromatography. Four flavonoids were identified as myricetin (0.097767 ± 0.0036223), luteolol (0.158933 ± 0.0004807), kaempferol (0.234000 ± 0.0044230) and isorhamnetine (0.035500 ± 0.0034429).

The extracts of *V. inulifolium* were tested for their possible in vitro antioxidant activities by two different techniques, namely qualitative 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity and thiobarbituric acid (TBA) assay to detect liposome lipid peroxidation. Methanolic extract showed an antioxidant activity with the DPPH test. High activity was observed in the methanolic extract (IC_{50} : 0.13 mg/ml) with TBA test.

The extracts of the plant were examined for antibacterial activity against three Gram (+) (*B. subtilis*, *S. aureus*, *E. faecalis*) and two Gram (-) (*E. coli*, *P. aeruginosa*) bacteria using the macrodilution method, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). The methanolic extract showed antibacterial activity against *E. faecalis* (MIC: 640 µg/ml, MBC: 1280 µg/ml). The dichloromethane extract showed antibacterial activity against *S. aureus*, *E. faecalis*. Also dichloromethane extract showed antibacterial activity against all Gram (-) bacteria (MIC: 5120 µg/ml).

The antiviral activity of the extracts were determined by cytopathogenic effect (CPE) reduction assay, %50 end point titration technique. *Avian Influenza Virus*, *Human Influenza Virus*, *Herpes Simplex Virus Type I*, *Herpes Simplex Virus Type II* and *Bovine Herpes Virus Type-1* virus were used in the tests. The methanol extract showed antiviral activity against *Avian Influenza Virus* (SI: 8.0) and *Human Influenza Virus* (SI:16.0). The dichloromethane extract showed slight antiviral activity against all viruses. None of the extract was not effective on *Bovine Herpes Virus Type-1*.

Keywords: *Verbascum inulifolium*, *Scrophulariaceae*, HPLC, flavonoid, antiviral activity, antibacterial activity, antioxidant activity

1. GİRİŞ

Verbascum cinsi *Scrophulariaceae* familyasına ait bir cins olup dünyada 360 kadar tür ile temsil edilmektedir. Bu cinse ait türler Kuzey Yarıkürede ılıman bölgelerde yayılış gösterip kuru, açık ve kayalık habitatları tercih etmektedir (1, 2).

Bazı *Verbascum* L. türlerinin yaprak ve çiçeklerinin yüz yıllar boyunca Avrupa, Asya, Afrika ve Kuzey Amerika toplumlarında geleneksel tıpta dahilen ve haricen enfeksiyon tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (3, 4). Avrupa'da ekspektoran ve mukolitik aktiviteleri nedeniyle kullanılmakta olan *Verbascum* türlerinin çiçekleri müsilağ içermesi sebebiyle; çiçeklerinden hazırlanan çay günde birkaç kez içilmek suretiyle boğaz irritasyonu ve öksürük tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca soğuk algınlığı tedavisinde kullanılabilir olması nedeniyle bitki; Almanya'da yayınlanan Commission E monograflarında da yer almaktadır (4, 5). Dünyada çok tanınan ve kullanılan bu türler aşağıda sıralanmıştır (4);

- ❖ *V. thapsus* L.
- ❖ *V. nigrum* L.
- ❖ *V. lychnitis* L.
- ❖ *V. phlomoides* L.
- ❖ *V. thapsiforme* Schrader (Syn *V. densiflorum* Bertol.)

Verbascum türlerinden *V. thapsus* İngilizce ismi ile 'Common Mullein' veya 'Wooly Müllein' çok eski zamanlardan beri tıbbi bitki olarak halk arasında diyare, hemoroit, ateş, kan toplanması, alerji, deri hastalıkları, siğil tedavisi, karın ağrıları, migren, tümör oluşumu, kolik, nezle, boğaz hastalıkları, zatürree, bademcik ve diğer akciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bitki diüretik etkili olup, üriner sistemde antienflamatuvar etkisinden dolayı kullanılırken orta etkili bir sedatif, ayrıca antiseptik ve antimikrobiyal etkilere de sahip olan bir türdür. Bitkinin yaprak ve çiçekleri ekspektoran ve demulsan etki nedeniyle bronşit, kuru öksürük, boğmaca öksürüğü, tüberküloz, astım ve ses kısılması gibi solunum yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bitkinin ekspektoran etkisi, sahip olduğu saponozitlerden ileri gelmektedir (6). Demulsan ve emoliyan etki bitkinin yapısında bulunan müsilağ ve zamktan kaynaklanırken; antienflamatuvar etkinin nedeni ise iridoit glikozitler ve

flavonoitlerdir. Bu bitkinin tohumlarının afrodisyak ve narkotik etkisi olduğu da kayıtlıdır (7, 8).

V. thapsus çiçeklerinin yağlı maseratı, kulak ağrılarında yardımcı olarak kullanılırken ekzema ve diğer iltihaplı cilt hastalıklarının tedavisinde de haricen uygulanmaktadır. Ayrıca bitki astrenjan etkisinden dolayı hemoroid ve diyare tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan deneysel araştırmalarda bitkinin antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkisi de belirtilmiştir (6, 9).

V. thapsus, Kuzey Amerika yerlileri tarafından da tıbbi amaçlarla kullanılmıştır. Yapılan etnobotanik araştırmalarda *V. thapsus*'un 18 farklı kabilede 69 değişik kullanımına rastlanmıştır. Bu kullanımlardan en yaygın olanları; soğuk algınlığı, öksürük, verem ve astım gibi akciğer şikayetleridir. Bunlara ek olarak nezle, kabakulak, salgı bezi rahatsızlıkları ve krup hastalığı gibi antiviral kullanımlara da rastlanmıştır. Kolombiya'da bazı kabileler yapraklarından hazırladıkları çayı soğuk algınlığı, kuru öksürük ve verem tedavisi için dahilen kullanmış ve yaprak sularını siğillere sürmüşlerdir (9). Amerika'da bazı kabileler (Mohikan, Penobscot, Catawba, Choctaw, Creek, Forest Potawatom ve Menomine kabileleri gibi) bitkiyi çeşitli amaçlarla kullanmıştır. Örneğin; Mohikan, Penobscot, Forest Potawatom, Menomine kabileleri bitkinin toz edilmiş halini sigara olarak boğaz ağrısı, astım gibi akciğer hastalıklarının tedavisinde kullanmıştır. Ayrıca; Catawba kabilesi kaynatılmış kökleri tatlandırıp şurup olarak çocuklarda krup hastalığının tedavisinde kullanırken bitkinin yapraklarını lapa haline getirerek ağrı, şişme, burkulma, çürük ve yaralar için lapa olarak kullanmıştır. Choctaw kabilesi; lapa haline getirdikleri yaprakları baş ağrısı tedavisinde kullanırken, Creek kabilesi bitkinin köklerini kaynatarak öksürük için içmiş ve yapraklarını kaynatarak infüzyon haline getirip sıcakken hastaya banyo şeklinde uygulamıştır. Forest Potawatom kabilesi nezle tedavisinde kullanmış ve ayrıca ağır hastaları dirilttiğine inanmışlardır. Beyazlar ise yapraklarını astım ve bronşit tedavisi için içerken; çiçeklerinin diüretik etkili olduğuna inarak verem tedavisinde kullanmıştır. Bitkinin geçmişte Yunanlılar ve Romalılar tarafından kurutulmuş çiçeklerinin yağlanarak meşale olarak kullanıldığı ve bu meşalelerin cadı kovucu olarak adlandırıldığı da kayıtlıdır. *V. thapsus* tarihte sihirli bir bitki olarak bilinmektedir. Sezar'ın emrindeki generallerden Agrippa, bitkinin yapraklarından gelen kokunun cinler üzerinde etkili olduğunu savunmuştur. Biranın içindeki maddelerden biri olduğu ve orta çağda cadılar tarafından

aşk iksiri yapımında kullanıldığı da bilinmektedir. Ayrıca Romalı kadınlar çiçekleri infüzyon halinde küllü suyla karıştırıp saçlarını bu karışımla yıkayarak saçlarını altın sarısına çevirmişlerdir (7). *V. thapsus* İtalya'nın güneyinde yaşayan topluluklar tarafından da antitüsif etkisinden dolayı geleneksel tıpta kullanılmaktadır (10).

V. nigrum (Ing. Dark mullein) ve *V. lychnitis* (Ing. White mullein) türleri başta Polonya olmak üzere neredeyse Avrupa'nın tamamında yayılış gösteren 2 yıllık bitkilerdir. Her iki taksonda çiçekler, *V. phlomoides* ve *V. thapsiforme*'den daha küçük ve infloresansı az veya çok dallanmıştır. Bunlar çoğu zaman homeopati ve geleneksel tıpta *V. thapsiforme* ve *V. phlomoides* de olduğu gibi öksürük kesici, antienflamatuvar ve antiviral hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (11, 12).

V. phlomoides, tıbbi drog olarak kabul edilen *Flos Verbasci*'nin elde edildiği türlerden biridir. Drogtan öksürüğe karşı çay hazırlanıp ekspektoran etkisinden dolayı kullanılmaktadır (13).

Sicilya'da geleneksel tıpta 'barbazzu' olarak bilinen *V. sinuatum* L. bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan dekoksilyon sedef hastalığının tedavisinde kullanılırken; İran Türkmen Çölü'ndeki bitkilerden biri olan *V. gossypium* M. Bieb. bitkisinin yaprakları yetiştiği bölgede çobanlar tarafından yılan ısırıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (14, 15).

V. sinaiticum Benth. türü Etiyopya'da geleneksel tıpta; şarbon, doğum sonrası diyare, romatizma ağrıları, fil hastalığı, kızamık, belsoğukluğu, cüzzam, frengi, yüzeysel fungal enfeksiyonlar ve yara tedavisinde kullanılırken; bitkiden antihelmintik olarak da yararlanılmaktadır (16, 17).

Verbascum cinsi ülkemizde "sığır kuyruğu veya kral şamdani" isimleri ile tanınmakta ve Türkiye Florası'nda 185'i endemik olmak üzere 233 türü ve 100'den fazla hibriti bulunmaktadır (18-20). *Flos Verbasci* olarak bilinen drog Türkiye'de özellikle *V. phlomoides*, *V. thapsiforme* ve *V. thapsus* türleri ile bu grupta bulunan diğer türlerin stamenleri ile birlikte toplanıp gölgede kurutulmuş korollasından elde edilmektedir. Bu türler 50-200 cm yükseklikte, parlak sarı çiçekli, büyük tüylü yapraklı ve iki yıllık bitkilerdir. Dağ ve yol kenarlarında bol olarak bulunmaktadır (21). Dioscorides *Verbascum* türlerinin yaraları iyileştirmede ve gastroprotektif olarak Anadolu'da en az 2000 yıldır kullanıldığını belirtmiştir (22). Bazı türlerin (Türkiye'de yaygın olan *V. sinuatum* L. türü gibi) tohumları taşıdıkları saponinden dolayı zehirli

olup halk arasında bu zehirli tohumlar balık avında kullanılmaktadır. Kuzeydoğu Anadolu bölgesinde “Balıkotu” adıyla da tanınan *Verbascum* türleri ve bunların meyveli dalları göl ve dere sularına atılarak balıkları öldürmek suretiyle avlanmada kullanılmaktadır (21).

Türkiye tıbbi bitki potansiyeli açısından önemli bir ülke olup; bu bitkiler üzerindeki çalışmalar yeterli düzeye ulaşamamıştır. Türkiye’de *V. phlomoides*, *V. thapsiforme* ve *V. thapsus* türleri halk arasında yaygın olarak kullanılan türlerdir ve çiçeklerinden diüretik, sedatif ve ekspektoran amaçla yararlanılmaktadır (3). Anadolu’da *Verbascum* türlerinin infüzyonları; terletici, balgam söktürücü, yatıştırıcı, idrar arttırıcı ve göğüs yumuşatıcı etkisi nedeniyle kullanılırken; bazı *Verbascum* türlerinden haricen yaraların kurutulmasında, anal fistul ve ürogenital organlarda pürütik durumlarda faydalanılmaktadır (23, 24).

Türkiye’de 233 türle temsil edilen *Verbascum* cinsine ait bazı türler üzerinde yapılmış fitokimyasal araştırmalar ve biyoaktivite çalışmaları mevcuttur. Bu araştırmalar;

- *V. thapsus* L.
- *V. pterocalycinum* var. *mutense* Hub.-Mor.
- *V. salviifolium* Boiss.
- *V. cilicicum* Boiss.
- *V. wiedemannianum* Fisch.& Mey.
- *V. macrurum* Ten.
- *V. gypsicola* Vural&Aydogdu
- *V. lasianthum* Boiss.
- *V. cheiranthifolium* Boiss var *cheiranthifolium* türleri üzerinde yapılmıştır.

Özellikle çok tanınan türler olan *V. thapsus*, *V. phlomoides*, *V. lychnitis* ve *V. nigrum* geleneksel tıpta yaygın kullanımları nedeniyle üzerinde çok sayıda araştırma yapılmış olan türlerdir (4). Yapılan çalışmalar incelendiğinde halk tıbbında yukarıda bahsedilen kullanımlara sahip olan *Verbascum* cinsi bitkilerin iridoit glikozitler, oleanan tip triterpenik saponozitler, fenilpropanoit ve fenil etanoit glikozitler, flavonoit, steroid ve alkaloidler gibi sekonder metabolitleri içerdiği tespit edilmiştir (6, 25). Farklı etken madde gruplarını içermeleri nedeniyle ve her bir madde grubunun farklı aktivitelere sahip olacağı da göz önüne alındığında *Verbascum* türlerinin potansiyel tıbbi bitkiler

olduğu göze çarpmaktadır. *Verbascum* türlerinin ekspektoran, diüretik, yatıştırıcı, demulsan, sedatif etkilerinin bulunduğu ve bu etkileri nedeniyle halk arasında dahilen ve haricen kullanımına ek olarak antiviral, antibakteriyel, antifungal, sitotoksik ve antitümör, immunomodülatör, antihepatoma, antioksidan ve antiülser aktivitelerinin çeşitli araştırmalarla saptanmış olması bu cinse ait türler üzerinde detaylı araştırmaların yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır (3, 6, 9, 22, 25-28).

Bu tez Türkiye’de yetişen endemik *Verbascum* türlerinden biri olan ve literatürlere göre bu güne kadar üzerinde herhangi bir kimyasal ve biyoaktivite çalışması yapılmamış olan *V. inulifolium* Hub.-Mor. bitkisinin toprak üstü kısımlarının flavonoit bileşimleri açısından incelenmesi yanı sıra farklı polaritede hazırlanmış ekstrelerin antibakteriyel, antiviral ve antioksidan aktivitelerinin araştırılmasını içeren bir çalışmadır.

2. GENEL BİLGİ

2.1 Botanik Bilgiler

2.1.1 *Scrophulariaceae* Familyası

Scrophulariaceae Familyası;

- *Spermatophyta* Bölümü
- *Angiospermae* Alt Bölümü
- *Dicotyledonae* Sınıfı
- *Sympetalae* Alt Sınıfı
- *Scrophulariales* takımında yer alan familyalardan biridir.

Dünya genelinde 200'den fazla cinsi ve 3000 kadar türü ile en geniş familyalardan biri olan *Scrophulariaceae* familyası kozmopolit bir familya olup ilk olarak Jussieu tarafından tanımlanmıştır. *Scrophulariaceae* familyasına ait cinsler Kuzey Yarıküre'nin ılıman bölgelerinde geniş yayılım göstermektedir. Familyada yer alan *Verbascum* cinsine ait türler, yabancı olarak Avrasya'nın bir çok bölümüne yayılmıştır. Ülkemizde *Scrophulariaceae* familyasına ait 30 cins ve 466 tür yetişmektedir (29-31).

Scrophulariaceae familyasına ait bitkiler tek veya çok yıllık, otsu, çalı veya nadiren ağaç formunda bitkiler olup ototrof veya yarı veya nadiren tam parazittir, internal floem yoktur (18, 29). Yapraklar stipulasız, alternan, oppozit veya dairesel dizilişli, basit veya parçalıdır. Çiçekler hermafrodit, yaprak koltuklarında tek, rasemoz, spika veya panikuladır. Kaliks 4-5 parçalıdan bilabiata veya bilobata doğrudur. Korolla petalleri birleşik, genellikle zigomorf ve bilabiata bazen mahmuzlu veya tabanda keseli, bazen hemen hemen aktinomorf; korolla lobları daima tomurcukta imbrikatır. Stamenler korollaya yapışık, 4 ve didinam, veya 2, nadiren 5; anterler uzunluğuna açılan, veya tepede birleşmiştir ve devamlı yarık şeklinde açılır; verimsiz stamenler var (1-3) veya yoktur. Ovaryum üst durumlu, uçta bir stillus ile, genellikle yatay septumlu iki gözlü; ovüller çok sayıda veya genellikle şişkin plesanta koltuğunda birkaç tane, ovaryum nadiren tek gözlü 2 çepersel bifid plesantalıdır. Meyve genellikle kapsüldür,

bazen açılmayan kapsül de olabilir. Tohum çok sayıda (nadiren az) dır. Çiçek formülü $z.K_{(4-5)} C_{(4-5)} A_{(4,2)} \underline{G}_{(2)}$ dir (18, 29).

Flora of Turkey and the East Aegean Islands’da *Scrophulariaceae* familyasının 30 cinsi kayıtlı bulunmaktadır (Tablo 1) (18).

Tablo 1. *Scrophulariaceae* familyasına ait Türkiye’de yetişen cinsler

No	Cins	No	Cins
1	<i>Verbascum</i> L.	16	<i>Pseudolysimachion</i> W. Koch
2	<i>Scrophularia</i> L.	17	<i>Veronica</i> L.
3	<i>Anarrhinum</i> Desf.	18	<i>Lagotis</i> Gaertner
4	<i>Antirrhinum</i> L.	19	<i>Wulfenia</i> Jacq.
5	<i>Misopates</i> Rafin.	20	<i>Melampyrum</i> L.
6	<i>Chaenorhinum</i> Reichb.	21	<i>Euphrasia</i> L.
7	<i>Linaria</i> Miller	22	<i>Odontites</i> Ludwig
8	<i>Cymbalaria</i> Hill	23	<i>Parentucellia</i> Viv.
9	<i>Kickxia</i> Dumort.	24	<i>Bellardia</i> All.
10	<i>Dodartia</i> L.	25	<i>Pedicularis</i> L.
11	<i>Gratiola</i> L.	26	<i>Rhinanthus</i> L.
12	<i>Lindernia</i> All.	27	<i>Rhynchocorys</i> Griseb
13	<i>Limosella</i> L.	28	<i>Lesquereuxia</i> Boiss.
14	<i>Digitalis</i> L.	29	<i>Bungea</i> C.A. Meyer
15	<i>Rhamphicarpa</i> Benth.	30	<i>Lathraea</i> L.

2.1.2 *Verbascum* L. Cinsi

Latince ‘püsküllü sakal ve kaba tüylü yapraklı’ anlamındaki ‘barba’ kelimesinden gelen ‘barbascum’ sözcüğünün değişmesiyle oluşan *Verbascum* ismi Linneous tarafından bu cinse verilmiştir. *Verbascum* cinsinin türleri yabancı olarak Avrasya’nın bir çok bölümüne yayılmıştır. Türkiye’de özellikle Orta Anadolu’da yoğun olmak üzere 185’i endemik olan 233 türü ve 100’den fazla hibriti bulunmaktadır

Verbascum cinsi ülkemizde “sığır kuyruğu veya kral şamdani” olarak bilinmektedir (18-20, 31).

Verbascum türleri yaklaşık 1.5 m’ye kadar boylanabilen, bir yıllık, iki yıllık veya çok yıllık otsu, nadiren çalı biçiminde bitkiler olup; alternan veya nadiren opozit, basit veya parçalı yapraklı, taban yaprakları rozet oluşturmuştur. Bitki çıplak, guddeli veya guddesiz tüylü, basit veya dallanmış tüylüdür. Çiçekler uçta rasemoz, spika veya panikula durumundadır. Kaliks eşit veya nadiren eşit bölünmemiştir. Korolla sarı, nadiren menekşe veya mor, kahverengi veya sarımsı veya mavimsi yeşildir, aktinomorf veya bazen zigomorftur. Stamenler 4 veya 5 tane olup bazen stamenlerin 1’i verimsiz 4’ü verimlidir. Filamentler ince, uzun, yumuşak tüylü, sarımsı veya mor menekşe renkli tüyler ile kaplı, veya nadiren çıplaktır, hepsi eşit veya öndeki iki tanesi daha uzun ve daha incedir. Arkadaki (üstteki) 2 veya 3 stamenin anterleri her zaman reniform ve enine ortadan bağlıdır. Öndeki 2 stamen benzer veya \pm boyu eninden uzun, boyuna bağlı, aşağı doğru ilerleyici veya nadiren meyilli bağlıdır. Stillus tek, basit ip şeklinde veya hemen hemen çomak şeklinde, stigma yarı küremsi obovat veya spatulattır. Kapsüller, septumlar boyunca yarılan, küremsi, oblong-ovoid veya silindiriktir. Tohumlar çok sayıda, küçük, Türkiye’deki türlerde ters koni veya prizmatik şekilde, enine çukurludur (18).

Teşhisin kolay olması bakımından, toplama işlemi sırasında örneklerin hem meyveli hem de çiçekli toplanmasına dikkat edilmelidir. Tüm çiçek durumu, taban yaprakları, gövdenin yapraklı kısımları toplanmalıdır. Ayrıca bitkinin tek yıllık, çok yıllık veya iki yıllık olup olmadığı ve özellikle filament tüylerinin renkleri not edilmelidir (18).

2.1.3 Türkiye’de Yetişen *Verbascum* Türlerine Ait Gruplar, Tür ve Endemik Tür

Dağılımı

Türkiye’de Orta Anadolu’da yoğun olmak üzere 185’i endemik olan 233 tür ve 100’den fazla hibriti bulunmaktadır. Hibritler özellikle iki veya daha fazla türün bir arada olduğu bozulmuş habitatlarda bulunmaktadır. Bunlar morfolojik özellikleri bakımından iki türün ortasında ve daima verimsizdir (18-20).

Verbascum türleri teşhislerinin kolaylaştırılması açısından Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Vol.6) da 13 gruba ayrılarak incelenmektedir. Bu gruplar A-M şeklinde sıralanmaktadır. Buna göre gruplar ayrılırken aşağıdaki özellikler göz önünde bulundurulur (18);

1. Verimli stamen 4, 5. stamensiz veya nadiren 5. anterisiz staminot ile **Grup A**
1. Verimli stamen 5
2. Bitki dallanmış tüysüz; tüyler basit, guddeli veya guddesiz, veya bitki çıplak **Grup B**
2. Bitki en azından kısmen dallanmış tüylü
3. Her brakte koltuğunda tek çiçek ile, nadiren alt brakteler 2 çiçekli
4. Brakteoller yok, nadiren alt brakteler brakteollü **Grup C**
4. Brakteoller var **Grup D**
3. Her brakte koltuğunda 2 veya daha fazla çiçekli, nadiren üst brakteler sadece tek çiçekli
5. Öndeki iki uzun stamenin anteri uzun, uzunluğuna veya meyilli bağlı, arkadaki 3 stamenin anteri reniform, enine ortadan bağlı **Grup E**
5. Anterlerin hepsi reniform, enine ortadan bağlı
6. Brakteol yok (nadiren tek brakteol var: *V. cedreti*, *V. tauri*) **Grup F**
6. Brakteol var
7. Çiçek kümesi saplı, nadiren sapsız ve o zaman 3-5 brakteollü **Grup G**
7. Çiçek kümesi sapsız, 2 brakteol ile
8. Öndeki 2 anterin konnektifi tüysüz, onların filamentlerinin tepeye yakın kısımları çoğunlukla tüysüz
9. Filament tüyleri mor (bazen beyaz veya sarı tüyler araya karışmış) **Grup H**
9. Filament tüyleri beyaz veya sarı **Grup I**
8. Bütün anterlerin konnektiflerinin içleri yoğun olarak papilli, bütün filamentler tam anterlere kadar yünümsü tüylü
10. Filament tüyleri mor **Grup J**
10. Filament tüyleri beyazımsı sarı.
11. En uzun pedisel kaliksin yarısı kadar veya daha kısa **Grup K**
11. En uzun pedisel kaliksten nadiren daha kısa veya onun kadar veya uzun
12. En uzun pedisel kaliksten en fazla biraz uzun **Grup L**

Türkiye’de yetişen *Verbascum* türlerinin gruplara göre tür ve endemik tür dağılımı ise Tablo 2’de görülmektedir.

Tablo 2. Türkiye’de yetişen *Verbascum* cinsinin gruplara göre tür ve endemik tür dağılımı

Gruplar	Tür sayısı	Endemik tür sayısı
A	27	19
B	12	7
C*	27*	23*
D	7	4
E	17	10
F	21	19
G	13	11
H	14	11
I	27	24
J	13	10
K	21	17
L	17	16
M	12	10
Toplam	228	181

* *V. inulifolium* türünün içinde bulunduğu grup

Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol.10 ve 11’de kayıtlı *Verbascum* türleri:

- *V. alpigenum* C. Koch
- *V. basivelatum* Hub.-Mor. (Endemik)
- *V. pumiliforme* Hub.-Mor. (Endemik)
- *V. transolympicum* Hub.-Mor. (Endemik)
- *V. gypsicola* Vural&Aydoğdu (Endemik)

Buna göre Türkiye’de 185’i endemik olmak üzere 233 *Verbascum* türü bulunmaktadır (18-20).

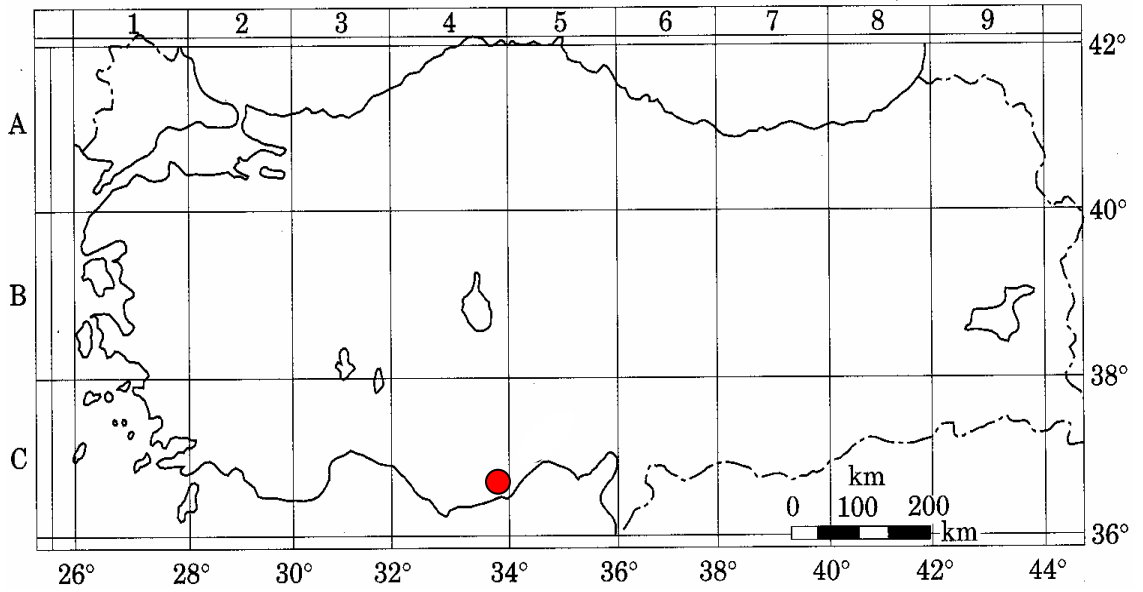
2.1.4 *V. inulifolium* Hub. - Mor.

Çok yıllık, 20-60 cm boyda, tabanda odunsu, her tarafı yoğun beyaz-tomentoz tüylü, üst kısımlarda seyrek glandular tüyler ile kaplı, gövde silindirik, üstte dallanmıştır. Taban yaprakları küçük, genişçe ovat, obovat veya orbikular, 1.5-4 x 1-3

cm, krenulat; petiol 0.5-2 cm; gövde yaprakları ovattan genişçe eliptiğe doğru, sapsız; infloresans gevşek, basit veya alt kısımları az dallanmış; brakteler linear-lanseolatdan lineara doğru, 2-10 mm, akuttan akuminata doğru; pediseller 1 mm, brakteolsüzdür. Kaliks 4-8 mm, loblar lanseolat-linear, akut; korolla sarı, yaklaşık 15 mm çapında, şeffaf salgı tüysüz, dışta yıldız şeklinde tüylü tomentoz; stamenler 5 tane; anterler reniform; filamentler mor menekşe renkli yünlümsü, öndeki 2'si tepeye yakın çıplak; kapsül ovattan eliptiğe doğru, 4-5 x 2-3 mm, yoğun yıldız tüylü tomentoz. Çiçeklenme zamanı 5-8 aylardır.

Habitat: *Pinus brutia* ormanları, makiler, 120-840 m'de yetişir.

V. inulifolium bitkisi endemik Doğu Akdeniz elementidir. *V. orbicularifolium* türüne yakın bir türdür. Şekil 1'de *V. inulifolium* türünün yetiştiği yerler görülmektedir (18).



• *V. inulifolium*

Şekil 1. *V. inulifolium*'un yetiştiği yerler

2. 2 *Verbascum* Türleri Üzerine Yapılmış Fitokimyasal Araştırmalar

Verbascum cinsinin çok sayıda türe sahip olması ve yetiştiği bölgelerde geleneksel tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılması nedeniyle; özellikle yaygın kullanıma sahip türleri olmak üzere bir çok *Verbascum* türü fitokimyasal açıdan detaylı olarak incelenmiştir. Tablo 3’de fitokimyasal olarak incelenmiş *Verbascum* türleri, bitkinin kullanılan kısmı, ekstre tipi özetlenmiştir.

V. sinuatum’un toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanollü ekstrenin ana bileşik olarak okubin ve harpagin ile yüksek polariteye sahip dört yeni iridoit glikozit içerdiği saptanmıştır. Bu bileşiklerden biri iridoit glikozitlerde nadir görülen D-ksiloz unitesi içeren 6-*O*- β -D-ksilopiranosilokubin olarak tayin edilmiştir (32).

Verbascum cinsinin ait olduğu *Scrophulariaceae* familyasında fenilpropanoik asit esterlerine rastlanmaktadır. Bu esterlerde yer alan asitler p-kumarik, kafeik, ferulik ve sinapik asitlerdir. Okteozit ve kusaginın olarak bilinen verbaskozit yaygın disakkarit esterlerden biri olup *V. sinuatum*’dan izole edilmiştir (Tablo 4) (33).

Seifert, Johne ve Hesse’nin *V. phoeniceum* L. ve *V. nigrum*’da bulunan spermin alkaloitlerden verbaskenin yapısını açıklamasından sonra Kablicova ve arkadaşları, *V. pseudonobile* Stoj. et Stef. bitkisinde bu grubun diğer bir üyesi olan verbaskin bileşiği üzerinde çalışmışlar; kimyasal analizler ve spektroskopik yöntemlerle verbaskin (C₂₉H₃₆N₄O₃) yapısını tayin etmişlerdir (34).

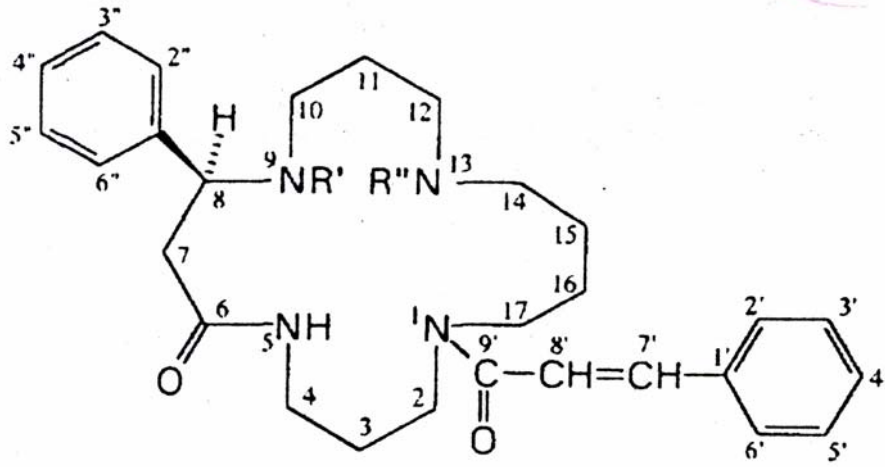
V. pseudonobile bitkisinin yapraklarından hazırlanan total alkaloit içeren ekstreden (kuru yapraklarda %0.6 alkaloit) 17 üyeli laktam alkaloiti verbasin ve spermin, E-(veya Z-)-sinnamoil ve fenilpropionil prekürsör üniteleri içeren verballosin alkaloitleri izole edilmiştir. Drandarov yaptığı çalışmada daha önce bulunan verbaskin bileşiğinin aslında doğal bir madde olmadığını, ekstrede kullanılan kloroformdaki fogsenden kaynaklı bir artefakt olduğunu bulmuştur. Verbasinin kimyasal olarak tek bir bileşik olmadığı; verbakin (%50), verballosin (%40), verbasitrin (%1) ve izoverbasitrin (%10) karışımından oluştuğu belirlemiştir (Şekil 2) (35).

Tablo 3. Fitokimyasal açıdan incelenmiş *Verbascum* türleri, kullanılan kısımları, ekstre tipleri, bulunan etken madde grupları

Tür adı	Kullanılan kısım	Ekstre	Etken madde grupları	Literatür
<i>V. sinuatum</i> L.	Toprak üstü	Etanol	Fenil etanoit ve Fenil propanoit glikozit İridoit	32, 33
<i>V. pseudonobile</i> Stoj. et Stef.	Yaprak	Kloroform	Alkaloit	34-37
<i>V. thapsiforme</i> Schrader	Çiçek Toprak üstü Tohum	Metanol	Sapozozit Flavonoit İridoit Fenil etanoit ve Fenil propanoit glikozit	12, 28, 38, 43, 45
<i>V. thapsus</i> L.	Yaprak Kök	Alkollü ekstre	Sapozozit Flavonoit İridoit Steroidal Bileşikler Seski Terpen Asitler Fenil etanoit ve Fenil propanoit glikozit	6, 8, 11, 39, 40, 53
<i>V. nigrum</i> L.	Yaprak Çiçek Toprak üstü	Metanol Bütanol	Sapozozit İridoit glikozit Alkaloit	11, 12, 28, 31, 36, 41-43, 45
<i>V. songaricum</i> Schrenk	Toprak üstü	Metanol	Sapozozit	5, 41, 42
<i>V. lychnitis</i> L.	Çiçek	Metanol Bütanol Etil eter Etil asetat	Sapozozit Fenil etanoit ve Fenil propanoit glikozitler	11, 12, 28, 43
<i>V. sinaiticum</i> Benth.	Toprak üstü Yaprak	Metanol Eter	Sapozozit Flavonoit	17, 44, 45
<i>V. phlomoides</i> L.	Çiçek	Petrol eteri Etanol Kloroform	Sapozozit İridoit Fenil etanoit ve Fenil propanoit glikozitler	12, 13, 28, 45
<i>V. laxum</i> Filar.&Jaw.	-	-	İridoit glikozit Fenil propanoit glikozit	31, 53
<i>V. phoeniceum</i> L.	Yaprak	Metanol	Alkaloit	46
<i>V. fructiculosum</i> Post.	Toprak üstü	Metanol	Sapozozit	45
<i>V. spinosum</i> Lim.	Toprak üstü	Metanol Diklorometan	İridoit Fenil etanoit ve Fenil propanoit glikozitler	47
<i>V. undulatum</i> Lam.	Kök Toprak üstü	Metanol Diklorometan	İridoit Fenil etanoit ve Fenil propanoit glikozitler	48
<i>V. macrurum</i> Ten.	Toprak üstü	Metanol	Fenil propanoit glikozit İridoit	49
<i>V. pulverulentum</i> Vill.	-	-	Fenil propanoit glikozit İridoit	53
<i>V. saccatum</i> C. Koch	-	-	Fenil propanoit glikozit İridoit	53
<i>V. virgatum</i> Stokes	Toprak üstü	Etanol	Fenil propanoit glikozit İridoit	50

Tablo 4. *Scrophulariaceae* familyasında p-kumarik, kafeik, ferulik ve sinapik asitlerin mono-, di-, tri- sakkarit esterlerdeki dağılımı

	Monosakkaritler	Disakkaritler	Trisakkaritler
Fenolik asitler			
p-kumarik asit	+	+	-
Kafeik asit	+	+	+
Ferulik asit	+	+	+
Sinapik asit	-	-	-



Bileşenler	R'	R''	C ^{7'} -C ^{8'} bağlar
1 (Verbasiin)	H	H	Trans
2 (Verballosin)	H	H	Cis
3	H	H	Dihidro
4 (Verbaskenin ⁴)	H	COCH ₃	Trans
5 (Verbaskenin ³)	COCH ₃	COCH ₃	Trans
6	-CO-		Trans
7	-CO-		Cis
8 ³	-CO-		Dihidro
9	-CH ₂ -		Trans
10	-CH ₂ -		Cis
	-CH ₂ -		Dihidro

Şekil 2. Drandarov'un *V. pseudonobile* bitkisi üzerinde yaptığı çalışmalar sonucu tespit ettiği bileşikler

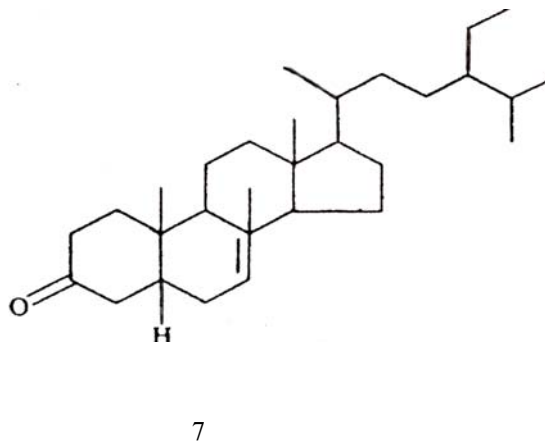
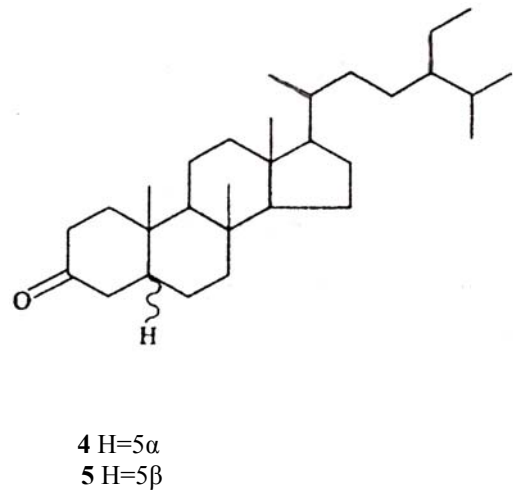
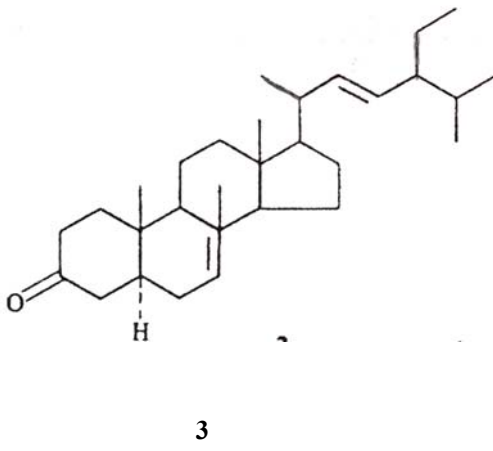
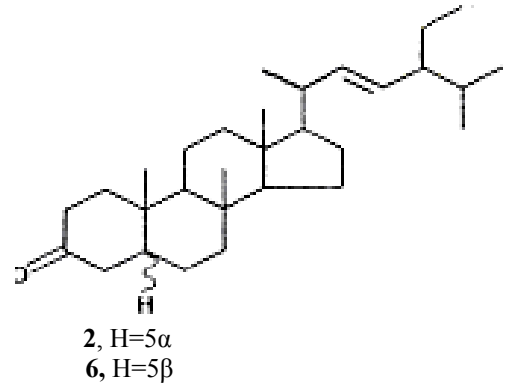
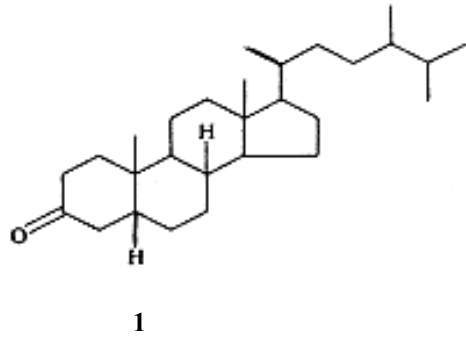
Bulgaristan’da prelinik ve klinik çalışmaları yapılmış olan ve spazmolitik etkili tablet ve supozituarları bulunan ‘Verbascan’ adlı ekstreden, 1971 yılında makrosiklik spermin alkaloidi olan verbaskin (C₂₉ H₃₆ N₄ O₃) izole edilmiş fakat yapısı daha sonra tayin edilmiştir. *V. pseudonobile* ve *V. phoeniceum* bitkisinden 12 E-Z izomer çifti makrosiklik spermin alkaloidi, ilgili bileşikler ve bunların altı dihidro türevi izole edilmiştir. Bu alkaloidler spazmolitik ve hipotansif etkilidir (36). *V. pseudonobile* bitkisinin total alkaloid ekstresinde bulunan alkaloidlerin (E/Z) izomer çiftleri olan bazı bileşiklerle, bunların N,N’-metilen-köprülü türevleri izole edilirken HPLC ve MS teknikleri ile 4 minör alkaloid bileşiği de bulunmuştur (37). Bu bileşikler Tablo 5’te görülmektedir.

Tablo 5. *V. pseudonobile* bitkisinin total alkaloid ekstresinde bulunan bazı bileşikler

➤ (E/Z) izomer çiftleri	➤ N,N’-metilen-köprülü türevleri	➤ Minör alkaloidler
(-)(S)-verbasin	(+)(S)-verbametin	Verbasikrin
(-)(S)-verballosin	(+)(S)-izoverbametin	İzoverbasikrin
(-)(S)-verbasitrin	(+)(S)-verbametrin	Verbamektrin
(-)(S)-izoverbasitrin	(+)(S)-izoverbametrin	İzoverbamektrin

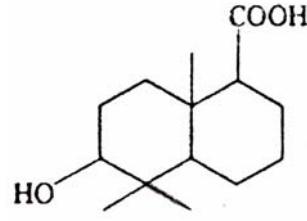
V. thapsiforme’nin çiçeklerinden hazırlanan sıcak sulu liyofilize infüzyonda (FVI) flavonoit, iridoit, fenolik asit, serbest şekerler, saponozitler, aminoasitler ve müsülaj bulunduğu saptanmıştır (38).

V. thapsus’un polisakkaritler; harpagozit gibi iridoit glikozitler; özellikle yaprakta harpagit ve okubin; 3’-metilkersetin, hesperidin gibi flavonoitler; verbaskozit gibi saponozitler ve uçucu yağ gibi etken maddeleri içerdiği tespit edilmiştir (6). Khuroo ve arkadaşları, Himalaya’ların ılıman kesimlerinde geniş yayılış gösteren *V. thapsus* türünün yapraklarından hazırladıkları etanollü ekstreden iridoit glikozitler, oleanan tipi triterpenoit saponinler, lipidler (sitosterol ve ergostan-7-en-3-ol), çeşitli asitler (palmitik asit, steorik asit, linoleik asit, orşidiak asit, benzenik asit, oleik asit) gibi çeşitli bileşikler izole etmiştir. Ayrıca bu çalışmada; *V. thapsus*’da iki iridoit glikozit ve alışılmışın dışında steron iskeletine sahip bileşikler ve bir seskiterpen asit izole edilerek yapıları Şekil 3 ve 4’te verilmiştir (8).



1, C₂₈H₄₈O 2,6,7,C₂₉H₄₈O 4,5,C₂₉H₅₀O

Şekil 3. *V. thapsus*'dan elde edilmiş olan steroid yapıda bileşikler



Şekil 4. *V. thapsus*' dan elde edilmiş olan seskiterpenik asit

1992 yılında yapılan bir çalışmada *V. thapsus* bitkisinden hazırlanan sulu ekstrede bilinen 3 feniletanoit glikozit ve 4'ü lignan ve biri lignan glikoziti olan 5 yeni feniletanoit glikozit izole edilerek yapıları tayin edilmiştir (39). *V. thapsus* türünün köklerinde çok sayıda enzim aktivitesi tespit edilmiş ancak sadece α -galaktozidaz enzimi izole edilebilmiştir. Bu çalışmaya kadar *V. thapsus*'un köklerinde α -galaktozidaz enziminin varlığı ve bu enzimin izolasyonu araştırılmamıştır (40). Bu araştırmayla kökte pek çok enzim aktivitesi tespit edilmiş (%90) ancak bu enzimler hücre duvarının yapısında olmaları veya α -galaktozidaz enziminin izolasyonu sırasında oluşan sekonder metabolitlerden kaynaklı olarak ortaya çıkmaları ve çeşitli basamaklarda enzim aktivitelerini kaybetmeleri nedeniyle izole edilememiş, sadece α -galaktozidaz enzimi izole edilebilmiştir (40).

V. nigrum'un çiçeklerinden elde edilen metanollü ekstreten 2 yeni triterpen saponin izole edilmiştir ve yapıları aşağıdaki gibi tayin edilmiştir.

- 3-*O*-{[α -L-ramnosil-(1→4)-(β-D-glikopiranosil-(1→3))]-β-D-glikopiranosil]-(1→2)-β-fukopiranosil)-13β,28-epoxyolean-11-en-3β,23-diol
- 3-*O*-{[α -L-ramnosil-(1→4)-(β-D-glikopiranosil-(1→3))]-β-D-glikopiranosil]-(1→2)-β-fukopiranosil)-11-metoksi-olean-12-en-3β,23,28-triol

V. thapsus ve *V. lychnitis*'de bulunan tapsuin A'nın, *V. nigrum*'dan izole edilen saponinlerden 3-*O*-{[α -L-ramnosil-(1→4)-(β-D-glikopiranosil-(1→3))]-β-D-glikopiranosil]-(1→2)-β-fukopiranosil)-13β,28-epoxyolean-11-en-3β,23-diol'ün aynı aglikon ve aynı şeker kompozisyonuna sahip olduğu fakat bu yapıların farklı şekilde düzenlendiği tespit edilmiştir. 3-*O*-{[α -L-ramnosil-(1→4)-(β-D-glikopiranosil-(1→3))]-β-D-glikopiranosil]-(1→2)-β-fukopiranosil)-11-metoksi-olean-12-en-3β,23,28-triol'ün ise hem şeker kompozisyonu hem de C-11 pozisyonundaki hidroksilin yerine metoksilin

bulunmasıyla tapsuin B'den farklı olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar bu bileşiklerin ekstraksiyon sırasında oluşan artefaktlar olma olasılığından söz etmişlerdir. Daha önce yapılan çalışmalarda ise *V. nigrum*'un yapraklarından iridoit, alkaloit ve verbaskosaponin; çiçeklerinden ise müsilaj, flavonoit, verbaskozit ve saponozit izole edilmiştir (11).

V. nigrum'un toprak üstü kısımlarında yapılan araştırmalarda lateriozit, okubin, sinuatol, nigrozit I ve nigrozit II gibi iridoitler izole edilmiştir. *V. nigrum*'un toprak üstü kısımlarından 6-O-{3-O-[(E)-p-kumaroil]- α -L-ramnopiranosil}okubin bileşiği izole edilmiştir. Bu bileşik, önceki yıllarda *V. laxum*'dan da elde edilmiş bir bileşiktir. Ayrıca *V. nigrum*'dan 3 yeni açıl iridoit diglikozit de izole edilmiştir.

Bu üç yeni bileşiğin yapısı;

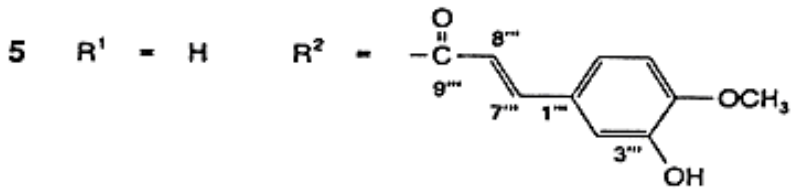
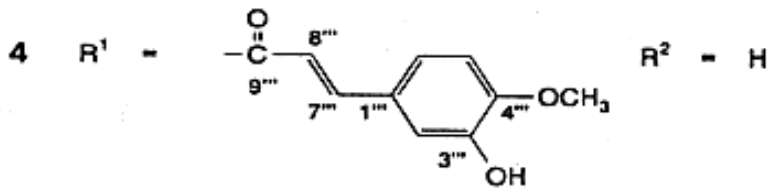
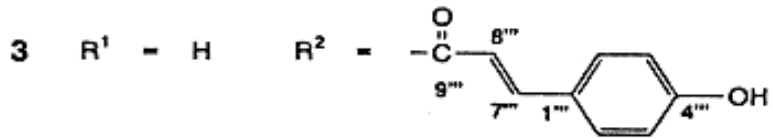
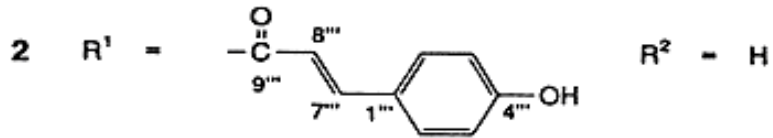
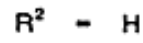
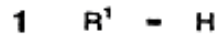
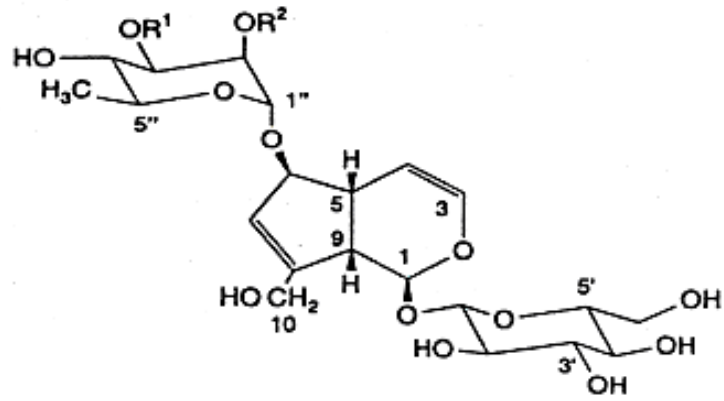
- 6-O-{2-O-[(E)-p-kumaroil]- α -L-ramnopiranosil} okubin (**Nigrozit III**)
- 6-O-{3-O-[(E)-izoferuloil]- α -L-ramnopiranosil-} okubin (**Nigrozit IV**)
- 6-O-{2-O-[(E)-izoferuloil]- α -L-ramnopiranosil}okubin (**Nigrozit V**)

olarak tayin edilmiştir. Ayrıca *V. nigrum*'un köklerinde harpagozit bileşiğinede rastlanmıştır (Şekil 5) (31).

Avrupa'da yetişen *Verbascum* türlerinden dördü olan *V. nigrum*, *V. thapsiforme*, *V. lychnitis* ve *V. phlomoides*'in etken madde grubu olarak flavonoit, saponozit ve fenilpropanoit taşıdıkları saptanmıştır. Bu bileşikler; verbaskosaponin, luteolin, 7-O-glukozit, verbaskozit ve forsitozit B, forsitozit ve spesiozit'tir (28).

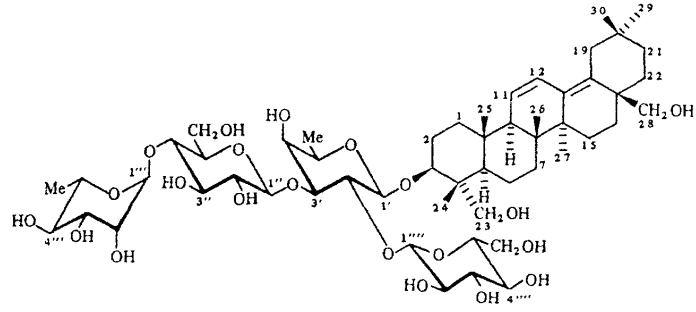
Araştırmacılar *Verbascum* türlerinin saikosaponin homologları bakımından çok zengin olduğunu düşünmektedir. Örneğin *V. songaricum*'da songarosaponinler C ve D, *V. nigrum*'da ilwensiasaponin A (mimengozitA) ve *V. phlomoides*'de verbaskosaponin ve desramnosilverbaskosaponin bulunmaktadır. *V. songaricum*'un kurutulmuş toprak üstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstrede yeni triterpen saponinler olan songarosaponin A (C₅₄H₈₈O₂₁), B (C₅₄H₉₀O₂₂), C (C₅₄H₈₈O₂₂); D (C₅₄H₈₈O₂₃); E (C₅₄H₈₈O₂₂), F (C₅₄H₈₈O₂₃) ve bilinen bir bileşik olan buddleja saponin I (C₅₄H₈₈O₂₂) izole edilmiştir (Şekil 6) (5, 41, 42).

Ayrıca bu çalışmada *Buddleja japonica* (*Buddlejaceae*) bitkisinden izole edilen buddlejasaponin I ile songarosaponin A ve B'nin aynı oligosakkarit zincire sahip olduğu da saptanmıştır. *V. songaricum*'dan elde edilen saikosaponin benzeri bileşikler aynı aglikon ve farklı kombinasyonlarda glikoz, fukoz ve ramnoz taşıyan oleanan türevi

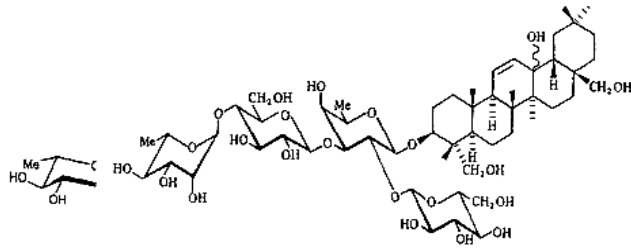


1, Sinuatol 2, Okubin, 3, Nigrozit III 4, Nigrozit IV 5, Nigrozit V

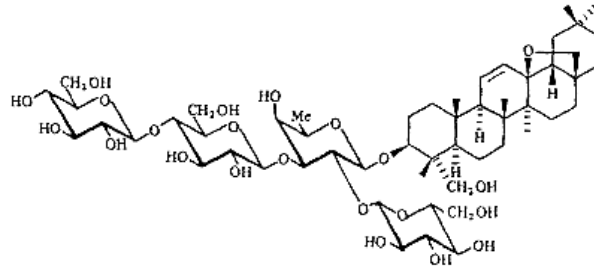
Şekil 5. *V. nigrum*'dan elde edilmiş iridoitler



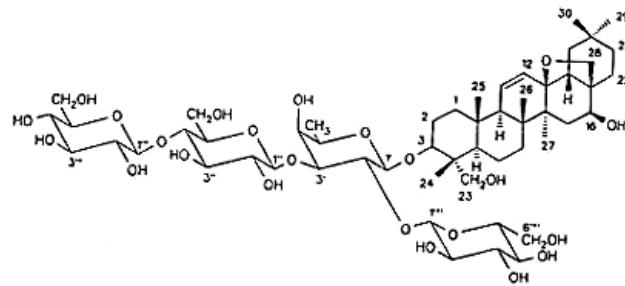
Songarosaponin A



Songarosaponin B



Songarosaponin C



Songarosaponin D

Şekil 6. *V. songaricum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstrelerinden elde edilen bazı saponozitler

bileşiklerdir. Saikosaponinler *Bupleurum sp. (Umbelliferae)*, *Corchorus acutangulus (Tiliaceae)* ve *Polycarpon loeflingiae (Caryophyllaceae)* bitkileri için önemli ve farmakolojik olarak aktif bileşenlerdir (5).

İngilizce ‘white mullen’ olarak bilinen *V. lychnitis* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan metanollü, %80 metanollü ve butanollü ekstraterden 6 flavonoit glikozit izole edilmiştir. Bunlardan üçü daha önce *V. thapsiforme*’nin çiçeklerinden izole edilen bileşiklerle karşılaştırılarak belirlenen; apigenin-7-*O*- β -D-glikozit, luteolin-7-*O*- β -D-glikozit, kersetin-7-*O*- β -D-glikozit’dir. Diğer üç bileşik ise; apigenin-7-*O*- β -D-glukuronit, luteolin-7-*O*- β -D-glukuronit ve kersetin-7-*O*- β -D-glukuronit’dir (12). Bunlara ek olarak çalışmada İngilizce ‘dark müllein’ olarak bilinen *V. nigrum*’un çiçeklerinden yukarıdaki bileşiklerden ikisi apigenin, luteolin-7-*O*- β -D-glukuronit ve daha önce *V. phlomoides*’in çiçeklerinden izole edilmiş olan diosmetin 7-*O*-glikozit (diosmin) elde edilmiştir. Bu çalışmada Klimek ilk kez *Verbascum* türlerinden flavonoit 7-*O*-glukuronit bileşikleri izole etmiştir. Daha önceki araştırmalarda flavon-7-*O*-glukuronit bileşiklerine sadece *Digitalis purpurea* ve *Antirrhinum majus* gibi *Scrophulariaceae* familyasına ait bazı türlerde rastlanmıştır. Ayrıca burada *V. lychnitis*’den 7-*O*-p-kumarolkatalpol (spesiozit) izole edilmiştir. Her iki türde de p-kumarik, kafeik- ve izoferulik asit gibi serbest fenolik asitler bulunmaktadır (12). Kafeik asit türevi (esterler, glikozitler ve açilglikozitler) bileşikler bir çok dikotiledonda bulunan sekonder metabolitlerdir. *Scrophulariaceae* familyasında da kafeik asitle açillenmiş feniletanoit glikozitleri bulunmaktadır (43).

V. lychnitis’in kurutulmuş çiçeklerinin butanollü ve metanollü ekstresinde feniletanoit triglikozit izole edilmiştir. Kafeik asitle açillenmiş bu bileşik verbaskozit 6’-*O*- β -D-apiofuranozit (forsitozit B) olarak isimlendirilmiş ve ayrıca forsitozit B’nin ilk defa izole edildiği *Oleaceae* familyasına ait *Forsythia coreana* bitkisindeki forsitozit bileşiğiyle aynı özelliklere sahip olduğu da tespit edilmiştir. Bu bileşik *V. lychnitis* ve *V. nigrum*’un çiçeklerinde bulunan önemli bir bileşik olmasına rağmen *V. phlomoides* ve *V. thapsiforme*’de düşük miktarda bulunmuştur (43).

V. sinaiticum bitkisinin yapraklarından hazırlanan etanollü ekstreden 2 flavanolignan; hidrokarpin ve yeni bir bileşik olan sinaitisin ile birlikte krisoriol ve luteolin flavonları elde edilmiştir. Böylelikle *Scrophulariaceae* familyasında ilk kez flavanolignanların varlığı görülmüştür (44).

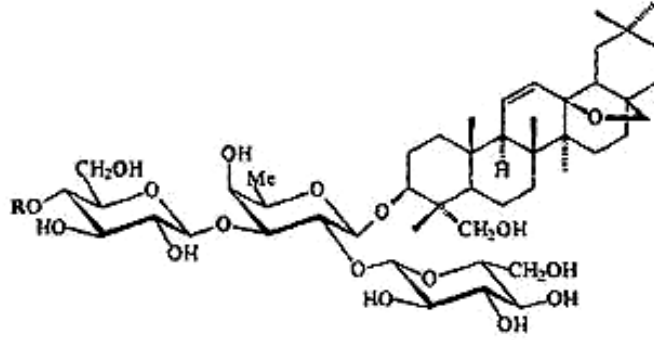
Buddlejaceae, *Scrophulariaceae* ve *Labiatae* familyalarında saikosaponin homologlarının incelenmesi amacıyla yapılan kemotaksonomik ve fitokimyasal araştırmalar sırasında *Scrophulariaceae* familyasına ait bir cins olan *Verbascum* cinsi de incelenmiştir. Önceki çalışmalara dayanarak bu türe ait saponinler saikosaponin homoloğu olarak bilinen *V. songaricum* türünden izole edilen songarosaponinler C ve D; *V. nigrum* türünden izole edilen ilwensiasaponin A ve *V. phlomoides* türünden izole edilen verbaskosaponin ve desramnosilverbaskosaponin'dir. Bu çalışmada Miyase ve arkadaşları yukarıdaki bilgilerin ışığında *V. sinaiticum*, *V. thapsiforme* ve *V. fruticosum* türlerinde saikosaponinleri incelemiş ve yapılarını tayin etmişlerdir. Bu türlerin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrelerde "mülleinsaponinler I-VII" adı verilen 13,28-epoksi-olean-11-en iskeletine sahip 7 yeni saikosaponin homoloğu bileşik ile 3-O-β-D-fukopiranosil saikogenin F, saikosaponin a, desramnosilverbaskosaponin, songarosaponin C ve D, mimengozit A ve buddlejasaponin I, IV gibi bilinen 8 saikosaponin homoloğu bileşiğin varlığı tespit edilmiştir. Kimyasal ve spektroskopik yöntemlerle belirlenen bu 7 yeni saikosaponin homoloğu bileşiğin yapısı;

- 3-O-β-D-glukopiranosil-(1→3)-β-D-fukopiranosil-6-deoksisaikogenin F
- 3-O-α-L-ramnopiranosil-(1→4)-β-D-glukopiranosil-(1→3)-β-D-fukopiranosil-16-deoksisaikogenin F
- 3-O-α-L-ramnopiranosil-(1→4)-β-D-glukopiranosil-(1→3)-β-D-fukopiranosil-saikogenin F
- 3-O-α-L-ramnopiranosil-(1→4)-β-D-glukopiranosil-(1→3)-[β-D-glukopiranosil-(1→2)]-β-D-fukopiranosil-21β-hidroksisaikogenin F
- 3-O-α-L-ramnopiranosil-(1→4)-β-D-glukopiranosil-(1→3)-[β-D-glukopiranosil-(1→2)]-β-D-fukopiranosil-21β-asetoksisaikogenin F
- 3-O-α-L-ramnopiranosil-(1→4)-β-D-glukopiranosil-(1→3)-[β-D-glukopiranosil-(1→2)]-β-D-fukopiranosil-16β-asetoksisaikogenin F
- 3-O-α-L-ramnopiranosil-(1→4)-β-D-glukopiranosil-(1→3)-[β-D-glukopiranosil-(1→2)]-β-D-fukopiranosilsaikogenin F 16-O-β-D-glukopiranozit

olarak tayin edilmiştir (45).

Klimek'in 1996 yılında yaptığı çalışmada *V. phlomoides* bitkisinin çiçeklerinin toprak üstü kısımlarından hazırlana etanollü ekstreten yeni bir bileşik olan p-kumarik

asitle açillenmiş iridoit ester glikoziti yani okubin'in ester glikoziti ve spesiozit izole edilmiş; kafeik asit esterleri, verbaskozit ve forsitozit B'ye de minör bileşikler olarak rastlanmıştır. Bunlara ek olarak yeni bir saponin olan desramnosilverbaskosaponin'in varlığı tespit edilmiş ve yapısı tayin edilmiştir (Şekil 7). Bu türle yapılan başka çalışmalarda bitkiden verbaskosaponin, verbaskosaponin A ve B, polisakkaritler, hesperidin, diosmin, tamariksetin'in 7-O-rutinozit ve 7-O-glukozit, luteolin, apigenin, fenolik asitler (p-kumarik, kafeik, ferulik, p-hidroksibenzoik ve vanilik asit), okubin, katalpol ve bunların 6-O-ksilozitleri izole edilmiştir (13).



Verbaskosaponin R=Rha
Desramnoverbaskozit R=H

Şekil 7. *V. phlomoides* bitkisinin çiçeklerinden elde edilen saponozitler

Drandarov'un 1997 yılında yaptığı araştırmada *V. phoeniceum*'un yapraklarından elde edilen verballoskenin olarak adlandırılan bileşiğinin yapısı tayin edilmiştir (46).

Diğer *Verbascum* türleri gibi otsu olmayıp dallanmış çalı formunda olan ve Yunanistan'da yetişen; endemik bir tür *V. spinosum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrede yeni bir iridoit glikozit olan; verbaspinozit (6-O-[(2''-O-trans-sinamol)- α -L-ramnopiranozil]-katalpol) izole edilmiş, yapısı ve temel kimyasal özellikleri tanımlanmıştır (Şekil 8) (47).

Buna ek olarak üç bilinen iridoit ve üç fenilpropanoit glikozit izole edilmiştir. Bunlar;

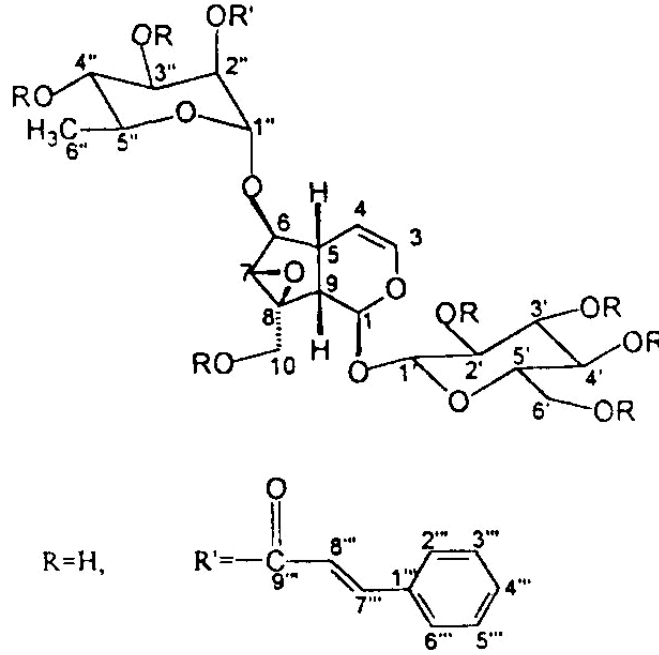
İridoitler

- Okubin
- Katalpol
- Ajugol

Fenilpropanoit glikozitler

- Akteozit
- Angorozit A
- Angorozit C

Şu ana kadar *Scrophularia* türleri ile *V. sinuatum*, *V. saccatum*, *V. laxum*, *V. thapsus* ve *V. pulverulentum* gibi *Scrophulariaceae* familyasına ait birçok türde açılınmış 6-O-[(2''-O-trans-sinamol)- α -L-ramnopiranozil]-katalpol türevi bileşiklere rastlanmıştır. Burada ise ilk kez *Verbascum* türlerinden izole edilen angorozit A ve C bileşiği daha önce sadece *Scrophularia* cinsine ait bitkilerden izole edilmiştir (47).



Verbaspinosid

Şekil 8. *V. spinosum*'dan elde edilen yeni bir iridoit olan verbaspinosid

V. undulatum'un köklerinden hazırlanan metanollü ve diklorometanlı ekstrelerde makrosiklik dimer lakton yapısında yeni bir bileşik olan verbalakton; bilinen beş iridoit glikozit: harpagozit, lateriozit, harpagit, ajugol, okubin; üç feniletanoit glikozit: verbaskozit, martinozit, 2-(3-hidroksi-4-metoksifenil)etanol-1-O- α -L-ramnopiranozil

(1→3)-[β-D-ksilopiranozil (1→6)]-(4-ferrulol)-β-D-glukopranozit) izole edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda ise *V. undulatum* türünün toprak üstü kısımlarında 6-O-α-L ramnopiranosilokubin türevi sekiz iridoit glikozit ve dört feniletanoit glikozit (verbaskozit, martinozit, arenariozit ve 6-O-asetil-martinozit) tanımlanmıştır (48).

Antioksidan aktiviteye sahip fitokimyasalları içeren türlerden biri olan *V. macrurum*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden 4 fenilpropanoit glikozit ve 6 iridoit izole edilmiştir (Tablo 6) (49).

Şili'den toplanan *V. virgatum*'un kurutulmuş toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanollü ekstreden;

- 6-O-α-L-(2''-O-trans-p-kumarol) ramnopiranosilkatalpol
- 6-O-α-L-(3''-O-trans-p-kumarol) ramnopiranosilkatalpol

bileşikleri ile bunlara ek olarak ajugol ve okubin izole edilmiştir (50).

Tablo 6. *V. macrurum*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden elde edilmiş bileşikler

Fenilpropanoit glikozitler	İridoitler
6'-O-β-D-ksilopiranozil martinozit	Okubin
Akteozit	Sakkatozit
Martinozit	Ajugol
6'-O-α-L-arabinopiranozil	Geniposidik asit
	6-O-p-kumaroilokubin
	3''-O-p-kumaroilsinuatol

Ekstreden izole edilen açılramnopiranosilkatalpol türevleri 6-O-α-L-(2''-O-trans-p-kumarol) ramnopiranosilkatalpol ve 6-O-α-L-(3''-O-trans-p-kumarol) ramno piranosilkatalpol gibi bileşikler *Scrophulariaceae* familyası için taksonomik marker olarak bilinmektedir. Açılramnopiranosilkatalpol türevleri *Scrophulariaceae* familyası, bu familyanın içerisinde kabul edilen *Buddlejaceae* familyası ve bunlarla bağlantılı olan *Lamiaceae* familyasına ait türlerde bulunmuştur. Buğday tohumlarının büyümesini inhibe eden plumierit ve onun aglikonu olan plumieriti ve birlikte buğday embriyolarının büyümesini inhibe eden genipozit ve geniposidik asit aglikonları gibi bazı iridoitlerin bitkilerde büyümeyi inhibe ettiği bilinmektedir. Okubin, katalpol, asperulozit, genipozit ve geniposidik asit gibi glikozitler pirinç ve marul tohumlarında büyümeyi inhibe eden bileşiklerdir. Buna ek olarak iridoit glikozit 6-O-asetilshanzhizit metil ester buğday embriyolarında büyümeyi

inhibe etmektedir. Ayrıca glikozit, laterozit, harpagozit ve okubin'in *Hordeum vulgare* tohumlarında çimlenmeyi ve köklerin büyümesini önleyici etki gösterdiği saptanmıştır. Bu çalışmada *V. virgatum* bitkisinde büyümei inhibe eden iridoit glikozitler izole edilerek *Hordeum vulgare*'de bölünme ve tohum büyümesi üzerine etkileri test edilmiştir. Bileşiklerden okubin 1 mM konsantrasyonda tohumların bölünmesini %30 oranında inhibe etmiş ve ayrıca tohum kök uzunluğunu %70 oranında azaltmıştır. Ajugol, uygulamalarda tohum büyümesi ve bölünme üzerine etki göstermemiştir (50).

Türkiye'de yetişen *Verbascum* türleri ile ilgili yapılmış fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmaları da mevcuttur. Bu araştırmaların çoğunluğu endemik olan türler üzerinde yapılmıştır. İncelenen türler, bitkinin kullanılan kısımları, incelenen ekstre tipleri Tablo 7'de görülmektedir.

Tablo 7. Türkiye'de fitokimyasal yönden araştırılmış *Verbascum* türleri

Bitki adı	Kullanılan kısımları	Ekstre çeşidi	Toplandığı yer	Literatür
<i>V. pterocalycinum</i> var. <i>mutense</i> Hub.-Mor. (E)	Çiçek	Metanol	Güney Anadolu	51
<i>V. salviifolium</i> Boiss. (E)	Toprak üstü	Metanol	BURDUR / Yeşilova	52
<i>V. cilicicum</i> Boiss. (E)	Toprak üstü	Metanol	Güney Anadolu	53
<i>V. wiedemannianum</i> Fisch&Mey (E)	Kök Toprak üstü	Metanol	SİVAS / Yıldızeli	25
<i>V. lasianthum</i> Boiss.	Kök	Metanol	İZMİR / Urla	23, 24

E: Endemik tür

Türkiye florasında endemik olan *V. pterocalycinum* var. *mutense* bitkisinin çiçekleri metanol ile ekstre edilmiş ve bu ekstrenin suda çözünen kısmı üzerinde yapılan kromatografik incelemeler sonucu aşağıdaki bileşikler izole edilmiş ve spektroskopik yöntemlerle yapıları tayin edilmiştir (51).

- 3-O- $\{[\alpha\text{-L-ramnosil-(1}\rightarrow\text{4)}-(\beta\text{-D-glukopiranosil-(1}\rightarrow\text{3))}] - [\beta\text{-D-glukopiranosil-(1}\rightarrow\text{2)]-}\beta\text{-fukopiranosil)-13}\beta$, 28-epoksiolean-11-en-3 β , 23 diol
- 3-O- $\{[\alpha\text{-L-ramnosil-(1}\rightarrow\text{4)}-(\beta\text{-D-glukopiranosil-(1}\rightarrow\text{3))}] - [\beta\text{-D-glukopiranosil-(1}\rightarrow\text{2)]-}\beta\text{-fukopiranosil)-11 metoksi-olean-12-en-3}\beta$, 23, 28-triol

- 1-(β -D-glukopiranosil)-8-hidroksi-3,7-dimetil-okt-2(E), 6(E)-dienoat

Burdur, Yeşilova'dan toplanan *V. salviifolium* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrede antioksidan özelliğe sahip 4 flavonoit glikoziti izole edilmiş ve spektroskopik yöntemlerle yapıları tayin edilmiştir.

Bu bileşikler:

- Apigenin-7-O- β -glukopiranozit
- Luteolin-7-O- β -glukopiranozit
- Krizoeriyol-7-O- β -glukopiranozit
- Luteolin-3'-O- β -glukopiranozit'dir.

Bu çalışmada izole edilen bileşiklerden luteolin-3'-O- β -glukopiranozit bileşiği *Verbascum* türlerinden ilk kez izole edilmiştir (52).

V. cilicicum'un toprak üstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstreden bir dizi kromatografik teknikle bilinen 6 iridoit glikozit;

- Katalpol
- Verbaspinozit
- Sakkatozit
- 6-O-(3''-O-trans-sinamol)- α -L-ramnopiranozilkatalpol
- 6-O-(4''-O-trans-sinamol)- α -L-ramnopiranosilkatalpol
- 6-O-(3''-O-trans-p-kumarol)- α -L-ramnopiranosilkatalpol

izole edilmiş ve spektroskopik tekniklerle yapıları belirlenmiştir (53).

Kuzey ve İç Anadolu'da yayılış gösteren ve Sivas Yıldızeli'nden toplanan *V. wiedemannianum* türünün köklerinden ve toprak üstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstreden 4 yeni feniletanoit glikozit olan wiedemanniozit B-E izole edilirken bunlara ek olarak wiedemanniozit A (6-O-asetilmartinozit), verbaskozit, martinozit, ekinakozit ve lökoszeptozit B gibi bilinen 5 bileşik daha izole edilmiş ve spektroskopik yöntemlerle yapıları tayin edilmiştir (25). İridoitler *Scrophulariaceae* familyasında geniş dağılım gösteren metabolitlerdir. Okubin, katalpol ve bunların türevleri *Verbascum* türleri için yaygın olan iridoit glikozitlerdir. Abougazar ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada *V. wiedemannianum*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden çeşitli bileşikler izole edilmiştir (Tablo 8). Bu bileşiklerden angelozit ilk defa *Angelino integerrima* (*Scrophulariaceae*) türünden izole

edilirken bu çalışmayla ilk defa *Verbascum* türlerinden de izole edilmiştir. Ayrıca ilk defa ursen tipi triterpen saponinlerin varlığı da bu türde tespit edilmiştir (54).

İzmir Urla'dan toplanan *V. lasianthum*'un köklerinin metanollü ekstresinin suda çözünen kısımları üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar sonucu Tatlı ve arkadaşları aşağıdaki bileşikleri izole etmiş ve spektroskopik yöntemlerle yapılarını belirlemiştir (23).

- 6-*O*-(α -L-ramnopiranosilkatalpol
- Verbaskozit A
- Pulverulentozit I
- Buddlejozit A₅
- Okubin
- Undulozit III

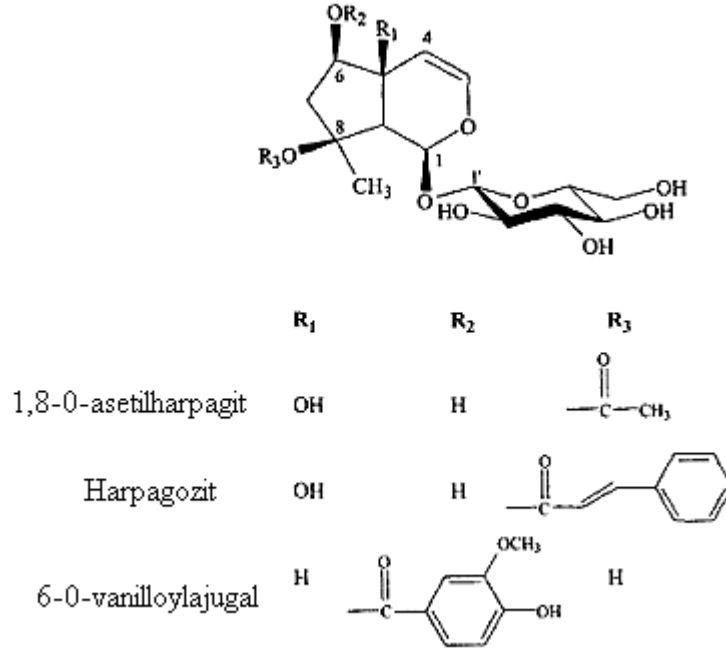
Tablo 8. *V. wiedemannianum*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstreten izole edilen bileşikler

İridoit glikozitler	Non glikozidik iridoitler	Saponozitler	Diğer bileşikler
Okubin Katalpol	Rehmaglutin D	Rosmatin Niga-işigozit F1	Luteolin Sitosterol-3- <i>O</i> - β -D-glukopiranozit 5,7,3',4'-tetrahidroksi-flavon
Ajugol Angelozit Glutinozit			

V. lasianthum türü ile yapılan başka bir çalışmada ise bitkinin köklerinden elde edilen metanollü ekstreten; 8-*O*-asetilharpagit, harpogozit, 6-*O* vanilloilajugol gibi üç iridoit glikozit izole edilmiş ve bu bileşiklerin yapıları tayin edilmiştir (Şekil 9). Ayrıca bitkiden; iki feniletanoit glikozit:

- Verbaskozit{=okteozit[β -(3,4-dihidroksifenil)-etil]-(3'-*O*- α -L-ramnopiranosil)-(4'-*O*- kaffeol)- β -D-glukopiranozit}
- Poliumozit{=[β -(3-4-dihidroksifenil)-etil]-(3'-6'-*O*- α -L-diramnopiranosil)-(4'-*O*-kaffeol)- β - D-glukopiranozit

izole edilmiştir.



Şekil 9. *V. lasianthum*'un köklerinden elde edilen metanollü ekstreden izole edilen bazı bileşikler

Bu bileşiklerden 6-O vanilloilajugal ilk olarak *V. thapsus*'dan; poliumozit altı farklı *Verbascum* türünden; 8-O-asetilharpagit *V. phlomoides* ve *V. thapsiforme*'den izole edilmiştir. Akdemir ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ilk defa *Verbascum* türlerinde 8-O-asetilharpagit'in yapısı belirlenmiş ve böylece *V. lasianthum* türünden ilk defa bir feniletanoit glikozit bileşiği izole edilmiştir (24).

Yapılan literatür çalışmaları incelendiğinde *Verbascum* cinsine ait bitkilerin iridoit glikozitler, saponozitler, triterpenik saponozitler, fenilpropanoit ve feniletanoit glikozitler, flavonoitler, steroidler, seskiterpen asit, makrosiklik dimer lakton ve alkaloit gibi sekonder metabolitleri içerdiği görülmektedir (6, 25).

2.3 *Verbascum* Türleri Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları

Yapılan literatür taramalarında *Verbascum* türlerinin farklı kısımları kullanılarak hazırlanan çeşitli ekstrelerde pek çok biyoaktivite ve fitokimyasal araştırmanın yapıldığı görülmektedir. Biyoaktivite çalışmalarında antiviral, antibakteriyel, antifungal, sitotoksik ve antitümör, immunomodülatör, antihepatoma, antioksidan ve antiülser etkiler araştırılmıştır (Tablo 9).

Tablo 9. Biyolojik aktivite açısından incelenmiş *Verbascum* türleri, incelenen ekstre ve biyoaktivite tipleri

Tür adı	Kullanılan kısımlar	Ekstre çeşidi	İncelenen Aktivite	Literatür
<i>V. thapsiforme</i> Schrader	Çiçek	Liyofilize infüzyon (FVI)	Antiviral İmmünomodülatör	28, 38, 57
<i>V. thapsus</i> L.	Yaprak Çiçek Kapsül	Metanol Etanol Su	Antimikrobiyal Antihepatoma Antitümör Sitotoksik etki	6, 9, 26, 27
<i>V. phlomoides</i> L.	Çiçek	Dekoksiyon	Antiviral Antimikrobiyal İmmünomodülatör	13, 28, 55
<i>V. lychnitis</i> L.	Çiçek	Metanol Bütanol	Antibakteriyel İmmunomodilator	28, 43
<i>V. undulatum</i> Lam.	Kök	Metanol Diklorometan	Antibakteriyel	48
<i>V. leptostychem</i>	Yaprak Çiçek	Metanol Su	Antimikrobiyal	56
<i>V. sinaiticum</i> Benth.	Yaprak	Etil asetat, Metanol Dietil eter Sulu-alkollü	Antitümör Antimikrobiyal	16, 44
<i>V. pterocalycinum</i> var. <i>mutense</i> Hub.-Mor. (E)	Çiçek	Metanol	Antimikrobiyal	51
<i>V. gypsicola</i> Vural&Aydoğdu (E)	Toprak üstü	Metanol	Antimikrobiyal	3
<i>V. olympicum</i> Boiss.(E)	-	-	Antimikrobiyal	3
<i>V. prusianum</i> Boiss.(E)	-	-	Antimikrobiyal	3
<i>V. bombyciferum</i> Boiss. (E)	-	-	Antimikrobiyal	3
<i>V. macrurum</i> Ten.	Toprak üstü	Metanol	Antioksidan	49
<i>V. salviifolium</i> Boiss.(E)	Toprak üstü	Metanol	Antioksidan	52
<i>V. lasianthum</i> Boiss.ex Benth.	Kök	Metanol	Antioksidan	24
<i>V. wiedemannianum</i> Fisch&Mey (E)	Kök	Metanol	Antioksidan	25, 61, 62
<i>V. cheiranthifolium</i> Boiss. var. <i>cheiranthifolium</i>	Çiçek	Dekoksiyon	Antiülser	22

E: Türkiye için endemik türler

Türkiye’de *Verbascum* cinsi bitkilerden çoğunluğu endemik olan bazı türler üzerinde biyoaktivite çalışmaları yapılmıştır.

2.3.1 Antimikrobiyal Etki

Bir çok bakteri türü mukozaya girerek veya deri lezyonlarından sonra deride veya kıl folüküllerinde bakteriyel enfeksiyonlara yol açmaktadır. Bu enfeksiyonlar kıl kökü iltihapları, ülser, bademcik ve orofariks inflamasyonları gibi lokal iltihaplara neden olmakta veya septisemi gibi genel kan enfeksiyonları şeklinde de ortaya çıkmaktadır. Bu enfeksiyonların tedavisinde antibiyotikler kullanılırken günümüzde bir çok patojenik bakteri bu antibiyotiklere direnç kazanmıştır. Antibiyotiklere direnç kazanan bu patojen mikroorganizmalara *Escherichia coli*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* ve *Candida albicans* örnek olarak verilebilir. Bitkilerde bulunan antimikrobiyal bileşenlerin farklı mekanizmalarla bakterilerde büyümeyi inhibe ettiği ve bitkisel preparatların direnç kazanan bu mikroorganizmalara karşı etkili şekilde klinik çalışmalarda kullanılabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle yüksek bitkilerden elde edilen merhem, gargara ve kompres uygulamaları antibakteriyel ajanlar olarak haricen kullanımda tercih edilmektedir (55, 56).

2.3.1.1 Antiviral Etki

Antiviral aktivite çalışmalarında bir çok *Verbascum* türünden elde edilen çeşitli ekstrelerde, çeşitli virüslere karşı antiviral etki incelenmiştir (Tablo 10) (6, 9, 38, 43, 57, 58).

V. thapsiforme’nin çiçeklerinden hazırlanmış liyofilize infüzyonunun (**Flos Verbasci İnfüzyon (FVI)**) invitro ortamda *Herpes simplex Virus Type I* (HSV-1) virüsü ile enfekte edilmiş GMK, Vero hücreleri, CEF (tavuk embriyo fibroblastları) ve RK-13 hücre kültürlerinde toksik olmayan konsantrasyonlarda antiviral aktivitesi test edilmiş ve FVI’nın bu hücrelerde HSV üzerinde antiviral aktivitesinin olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak FVI’nın HSV üzerinde virüsidal etkisi olduğu da görülmüştür.

Tablo 10. *Verbascum* türlerinin antiviral aktivite testlerinde kullanılan virüsler

Virüsler	
<i>Bovine respiratory syncytial virus</i>	<i>Bovine herpesvirüs Type 1</i>
<i>Bovine parainfluenza virus Type 3</i>	<i>Bovine coronavirus</i>
<i>Vesicular stomatitis virus</i>	<i>Bovine rotavirus</i>
<i>Herpes simplex virus Type 1</i>	<i>Fowl plaque virus</i>
Çeşitli <i>Influenza A ve B</i> virüsleri	<i>Vaccinia virus</i>

Daha önceki araştırmalarda **Flos Verbasci**'nin dekoksijenlerinin nezle virüsü enfekte edilmiş tavuk embriyo fibroblastlarında (CEF) virüs replikasyonunu inhibe ettiği tespit edilmiştir (38). FVI'nın *Fowl plaque virus* suşlarına, farklı A ve B nezle virüslerine ve *Herpes simplex* virüsüne karşı invitro ortamda antiviral aktivite çalışmalarında etkili olduğu görülmüştür. Daha önceki çalışmalarda FVI'da bulunan flavonoit, iridoit, fenolik asit, serbest şekerler, saponozitler, aminoasitler ve müsilaj gibi bileşiklerden birinin antiviral etkili olduğu düşünülmekte iken bu bileşiklerden hangisinin bu etkiye sahip olduğu tespit edilememiştir. Takip edilen yıllarda bir çok araştırmacı antiviral etkinin bir bileşikten kaynaklanmadığını bunun aksine bu bileşiklerin birbiriyle sinerjik etki göstererek antiviral aktiviteye sahip oldukları fikri üzerinde durmaya başlamıştır (57). Serkedjieva 2000 yılında yaptığı bir çalışmada FVI'nın nezle virüsü enfekte edilmiş doku kültürlerinde hemaglutinasyonu ve enfeksiyonu azalttığını bulmuştur. FVI ile nezle virüslerinin üremesini önleyen en etkili sentetik bileşiklerden olan amandatin türevleri; rimandatin hidroklorit, gludantan-adamantanamin glukoronit (GI) ve onun türevi dGI ve bunlardan oluşan karışımın nezle virüsü enfekte edilmiş tavuk embriyo fibroblast hücre kültürlerinde antiinfluenza etkisi incelenmiştir. Rimandatin hidroklorit Influenza A virüs enfeksiyonlarında ve nezleden korunmada en etkili ilaçlardan biridir, gludantan-adamantanamin glukoronit ise amantadine göre hücre kültürleri için daha az toksikdir ve birçok Influenza A virüsünün üremesini inhibe etmektedir. Sentetik ve doğal viral inhibitörlerin kombinasyonu ile antiviral aktivite sırasında bitkisel preparatların daha etkili olması sağlanırken toksik bileşen dozu da azaltılabilmektedir. Bu araştırma da FVI ile adamantanamin glukoronit

kombinasyonunun etkili olduğu gösterilmiştir. FVI'nın 1500 µg/mL üzerindeki konsantrasyonlarının, tavuk embriyosu fibroblast hücre kültürü için toksik etkili olduğu da görülmüştür (58).

McCutcheon ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; içlerinde *V. thapsus*'un da bulunduğu 96'sı yerel kabileler tarafından tıbbi amaçlı kullanılan 100 bitkinin metanollü ekstresinde 7 farklı virüse karşı antiviral etki araştırılmıştır. *V. thapsus*'un yapraklarından elde edilen metanollü ekstrenin sadece *Bovine herpes virüs Type 1*'e karşı antiviral etki gösterdiği tespit edilmiştir. Tablo 11'de testde kullanılan virüsler ve ekstrenin gösterdiği aktiviteler görülmektedir (9).

Tablo 11. *V. thapsus* 'un yapraklarından elde edilen metanollü ekstrenin antiviral aktivitesi

Kullanılan virüsler	Aktivite
<i>Bovine coronavirus</i> (BCV, <i>Coronaviridae</i>)	-
<i>Bovine herpes virüs Type 1</i> (BHV1, <i>Herpesviridae</i>)	+
<i>Bovine parainfluenza virus Type 3</i> (BPI3, <i>Paramyxoviridae</i>)	-
<i>Bovine rotavirus</i> (BRV, <i>Reoviridae</i>)	-
<i>Bovine respiratory syncytial virus</i> (BRSV, <i>Paramyxoviridae</i>)	-
<i>Vaccinia virus</i> (<i>Poxviridae</i>)	-
<i>Vesicular stomatitis virus</i> (VSV, <i>Rhabdoviridae</i>)	-

(+) aktif, (-) aktif değil

V. phlomoides; **Flores Verbasci (Flos Verbasci)** droğunun hazırlandığı *Verbascum* türlerinden biri olup bu bitkinin çiçeklerinden hazırlanan dekoksiyonunun A₂ ve B nezle virüsüne karşı etkili olduğu saptanmıştır (13).

2.3.1.2 Antibakteriyel ve Antifungal Etki

Verbascum türlerinden elde edilen çeşitli ekstrelerde bir çok bakteri ve fungusla karşı antimikrobiyal aktiviteye bakılmıştır (Tablo 12) (3, 6, 16, 17, 26, 43, 48, 55, 56).

Tablo 12. *Verbascum* türleriyle yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılan bakteri ve funguslar

Bakteriler		Funguslar
Gram (+) pozitif	Gram (-) negatif	
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Trichophyton violaceum</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Fusarium tricinctum</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Kluyveromyces fragilis</i>	<i>Mycobacter phlei</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>Trichoderma viridae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Shigella dysenteriae A</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Shigella flexineri B</i>	<i>Microsporum gypseum</i>
<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Microsporum cookerii</i>
	<i>Proteus sp.</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>
	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Cryptococcus neoformas</i>
	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Brantner ve Grein'in yaptığı çalışmada tarihi bitkisel kitaplardan ve geleneksel kullanımlarından yararlanılarak elde edilen 28 familyaya ait 48 bitki üzerinde antimikrobiyal aktivite çalışması yapılmış ve bu bitkiler içerisinde bulunan *V. phlomoides* türünün çiçeklerinden hazırlanan sulu ekstrenin sık sık hastalıklara neden olan *S. aureus* (ATCC 6538, ATCC 9144), *E. faecalis* (ATCC 6057) ve *B. subtilis* (ATCC 9372) gibi Gram (+) bakterilere ve *E.coli* (ATCC 11229) gibi Gram (-) bakterilere karşı antibakteriyel etki göstermediği görülmüştür (55).

McCutcheon ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Moerman'ın etnobotanik araştırmaları içeren 'Medicinal Plants of Native America' adlı kitabından belirlediği ve

96'sı Amerikan yerlilerince antifungal olarak kullanılan içlerinde *V. thapsus*'un da bulunduğu 100 bitki 9 mantar türüne karşı antifungal aktivite açısından taranmıştır. *V. thapsus*'un yapraklarından hazırlanmış metanollü ekstrede; *A. flavus*, *A. fumigatus*, *C. albicans*, *F. tricuiatum*, *M. cookerii*, *M. gypseum*, *S. cerevisiae*, *T. viridae* ve *T. mentagrophytes* funguslarına karşı antifungal aktivite test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 13'de verilmiştir. Çalışmalar sonunda *V. thapsus*'dan hazırlanan ekstrenin muhtemel antifungal olduğu; *M. cookerii* ve *M. gypseum* mikroorganizmalarının büyümesini inhibe ettiği görülmüştür. Sonuç olarak bu bitkinin geleneksel tıpta kullanımı ile antifungal aktivitesi arasında yüksek korelasyon olduğu saptanmıştır (26).

Tablo 13. McCutcheon ve arkadaşlarının *V. thapsus* 'un yapraklarından elde edilen metanollü ekstresinde yaptığı araştırmadan alınan antifungal aktivite sonuçları

Kullanılan funguslar	Aktivite
<i>Aspergillus flavus</i>	-
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-
<i>Trichoderma viridae</i>	-
<i>Candida albicans</i>	-
<i>Fusarium tricuiatum</i>	-
<i>Microsporum cookerii</i>	+
<i>Microsporum gypseum</i>	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	-

(+) aktif, (-) aktif değil

V. lychnitis'in çiçeklerinin butanollü ve metanollü ekstrelerinden bir feniletanoit triglikozit izole edilmiş ve bu bileşik kafeik asitle açillenmiş verbaskozit 6'-O-β-D-apiofuranozit (forsitozit B) olarak isimlendirilmiştir. Diğer açillenmiş feniletanoit glikozitler gibi forsitozit B bileşiğinin de antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir (43).

V. undulatum'un köklerinden hazırlanan metanollü ve diklorometanlı ekstrelerde yapılan araştırmalarda makrosiklik dimer lakton olan verbalakton izole edilmiştir. Bu bileşik agar dilusyon metoduyla 3 Gram (+) bakteriye ve 5 Gram (-) bakteriye karşı test

edilmiş ve antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur. Tablo 14'te kullanılan mikroorganizmalar ve MIC değerleri görülmektedir. Ekstrenin en etkili olduğu Gram (+) bakteriler; *S. aureus* ve *S. epidermidis*'deki MIC değerleri 62,5 µg/mL iken Gram (-) bakterilerden *S. enteritidis*'de MIC değeri ise 125 µg/mL olarak tespit edilmiştir (48).

Tablo 14. *V. undulatum* bitkisinden elde edilen verbalaktonun antibakteriyel aktivite sonuçları

Mikroorganizmalar	
Gram (+) Mikroorganizmalar	Antibakteriyel aktivite (MIC µg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>	62.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	62.5
<i>Lactobacillus casei</i>	125
Gram (-) Mikroorganizmalar	
<i>Escherichia coli</i>	250
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	500
<i>Enterobacter aerogenes</i>	>500
<i>Salmonella enteritidis</i>	125
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	250

Barbour ve arkadaşları, Lübnan halk tıbbında kullanılan içlerinde *V. leptostychem* bitkisinin de bulunduğu 27 bitki türünün farklı kısımlarından elde edilen 39 sulu ve 39 metanollü ekstrenin invitro ortamda antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmada *E. coli*, *Proteus sp.*, *P. aeruginosa*, *S. dysenteriae*, *S. enteritidis*, *S. typhi*, *S. aureus*, *S. faecalis* ve *C. albicans* mikroorganizmaları kullanılarak disk difüzyon yöntemi ve minimum inhibitör konsantrasyon tayinini (MIC) gerçekleştirmişlerdir. Disk difüzyon yönteminde disklere her bir bitki ekstresinden 10 µg ve 20 µg uygulanmış ve 20 µg uygulanan disklerde içlerinde *V. leptostychem*'un çiçeklerinin ve yapraklarının bulunduğu 39 metanollü bitki ekstresinden 10'u mikroorganizmaların %88.8'ine karşı inhibitör etki göstermiştir. *V. leptostychem*'un metanollü ekstresinin MIC değerleri *S. enteritidis* için 1:2.5; *E. coli*, *S. aureus* ve *C. albicans* için ise 1:3.5 aralığında değişmektedir (Tablo 15). Uygulanan her iki yöntemden, içlerinde *V. leptostychem*'un da bulunduğu metanollü bitki ekstrallerinden sadece ikisi mikroorganizmaların %99.9'una karşı oldukça etkili bulunmuştur. Ayrıca bitkilerin metanollü ekstrallerinin, sulu ekstrallere göre mikroorganizmalara karşı daha

etkili olduğu da görülmüştür. Araştırmacılar bu sonucun metanollü çözücülerin bitkideki pek çok bileşiği çözebilmesinden kaynaklandığını; sulu çözücülerin ise bitkide sadece antosiyanin, nişasta, tanen, saponozit, terpenoit, polipeptit ve lektinleri çözebildiğini belirtmişlerdir (56).

Tablo 15. *V. leptostychem* bitkisinin çiçeklerinin metanollü ekstresine ait MIC değerleri

Mikroorganizmalar	MIC Değerleri
<i>E. coli</i>	1/3.5
<i>Proteus sp.</i>	1/3.0
<i>P. aeruginosa</i>	1/3.0
<i>S. dysenteriae</i>	1/3.0
<i>S. enteritidis</i>	1/2.5
<i>S. typhi</i>	1/3.0
<i>S. aureus</i>	1/3.5
<i>S. faecalis</i>	1/2.5
<i>C. albicans</i>	1/3.5

6500-7000 arası bitki türünü içeren ve bunların %12'si endemik olan Etiyopya'da geleneksel tıpta kullanılan, içlerinde *V. sinaiticum* bitkisinin de bulunduğu 8 tıbbi bitkinin antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Etiyopya'da geleneksel tıpta şarbon, doğum sonrası diyare, romatizma ağrıları, fil hastalığı, kızamık, antihelmentik, belsoğukluğu, cüzzam, frengi, yüzeysel fungal enfeksiyonlar ve yaraların tedavisinde kullanılan *V. sinaiticum* bitkisinin yapraklarından hazırlanan sulu-alkollü ekstrenin, insanlarda farklı deri enfeksiyonlarına neden olduğu bilinen çeşitli bakteri ve funguslara karşı aktivitesi incelenmiştir. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar, konsantrasyonlar ve inhibisyon zon çapları Tablo 16'da görülmektedir. 100, 50, 25 mg/ml'lik üç farklı konsantrasyonda, yapılan testlerle gentamisin (0.1 mg/ml) ve ketokonazol (0.3 mg/ml) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

V. sinaiticum bitkisinin sulu-alkollü ekstresi *S. aureus* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı antibakteriyel etki gösterirken diğer mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etki göstermemiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda bu bitkinin in vitro

kültürünün etanollü ekstresinin geniş bir aralıkta antibakteriyel etkiye sahip olduğu ve bitkiden izole edilen tüm bileşiklerin lösemi hücrelerinde doza bağlı sitotoksositeye neden olduğu da belirlenmiştir (16).

Tablo 16. Tadeğ ve arkadaşlarının incelediği *V. sinaiticum* bitkisinin sulu ekstresinin bakteri ve funguslara karşı antimikrobiyal aktivitesi

Test örneği	Konsantrasyon (mg/ml)	İnhibisyon zonu (mm)					
		Bakteriler			Funguslar		
		Sa	Ec	Pa	Ca	Tm	An
<i>V. sinaiticum</i>	100	25±0.6	-	20±0.5	-	-	-
	50	21±1.0	-	18±1.0	-	-	-
	25	19±0.6	-	16±0.3	-	-	-
Gentamisin ^a	0.1	29±0.0	22±1.3	21±0.5	NT	NT	NT
Ketokonazol ^a	0.3	NT	NT	NT	37±1.6	23±2.4	-

Sa: *Staphylococcus aureus*, Ec: *Escherichia coli*, Pa: *Pseudomonas aeruginosa*, An: *Aspergillus niger*, Tm: *Trichophyton mentagrophytes*, Ca: *Candida albicans*,

NT: test edilmedi; -: aktivite görülmedi

^a pozitif kontrol

Etiyopya’da yapılan bir diğer çalışmada *V. sinaiticum* bitkisinin yapraklarından elde edilen metanollü ekstrede antimikrobiyal aktivite incelenmiştir. Aktivite çalışmalarında *N. gonorrhoea* (ATCC 49226), *S. pyogenes* (ATCC 19615), *S. pneumonia* (ATCC 49619), *S. aureus* (ATCC 27853), *E. coli* (ATCC 25922), *A. flavus* (ATCC 18748), *A. niger* (ATCC 10535) suşları ile birlikte *S. typhi*, *S. typhimurium*, *S. flexineri* B, *S. dysenteriae* A, *B. cereus*, *C. albicans*, *T. mentagrophytes*, *T. violacum* ve *C. neoformas* gibi klinik izolatlar kullanılmıştır. Çalışma 2000 µg/ml, 1000 µg/ml, 500 µg/ml ve 250 µg/ml konsantrasyonlarda yapılmış ve bitki ekstresi sadece 2000 µg/ml konsantrasyonda *N. gonorrhoea*’ya karşı etki göstermiş, diğer mikroorganizmalara karşı etki göstermemiştir (17).

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları Türkiye’de yetişen *Verbascum* türleri üzerinde de çeşitli mikroorganizmalar kullanılarak yapılmıştır.

Endemik bir tür olan *V. pterocalycinum* var. *mutense*’nin çiçekleri metanol ile ekstre edilmiş ve bu ekstrenin suda çözünen kısmı üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar sonucu izole edilen bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir (51).

V. thapsus bitkisinden hazırlanan ve ticari olarak piyasada bulunan çay, tablet, çiçeklerinden elde edilen yağlı ekstre; bitkinin kapsül ve yapraklarından hazırlanan

metanollü, etanollü ve sulu ekstralar kullanılarak antibakteriyel aktivite çalışmaları yapılmıştır. Müllein'in çok eski zamanlardan beri tıbbi amaçla üst solunum yolu enfeksiyonlarında, deri hastalıklarını içine alan iltihaplı hastalıklarda ve pek çok tümör tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Türker ve Camper yaptığı çalışmalarda *V. thapsus* bitkisinin ekstraları ile piyasada bulunan ürünlerinin bulunduğu kadar yararlı olup olmadığı ve toksik etkilerinin bulunup bulunmadığını araştırmıştır. Var olduğu düşünülen yararların saponozitten kaynaklandığı üzerinde duran araştırmacılar saponozitten hazırlanan çeşitli ekstralar ile bitkinin sulu ekstresi, alkolle hazırlanan ekstraları (metanol ve etanol) ile sulu-alkollü çözeltilerinin etkilerini karşılaştırarak incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan *V. thapsus* bitkisinden elde edilen çeşitli ekstralar ve ticari olarak piyasada bulunan ürünler ve test edilen saponozitlerin kısaltmaları Tablo 17'de görülmektedir (6).

Tablo 17. Türker ve arkadaşının *V. thapsus* ekstraları ile yaptıkları antibakteriyel testlerde kullanılan materyaller

Test materyali	Kısaltılmış ismi	Test materyalinin kaynağı
Metanollü ekstralar	FL-MeOH (40gr)	Tarla yaprakları
	IL-MeOH (40gr)	İn vitro kültür yaprakları
	CL-MeOH (40gr)	Ticari ürünlerin yaprakları
	FC-MeOH (40gr)	Tarla kapsülleri
Etanollü ekstre	FL-EtOH (40gr)	Tarla yaprakları
	IL-EtOH (40gr)	İn vitro kültür yaprakları
	CL-EtOH (40gr)	Ticari ürünlerin yaprakları
Sulu ekstre	FL-Inf (40gr)	Tarla yaprakları
	FL-Dec (40gr)	Tarla yaprakları
	IL-Dec (40gr)	İn vitro kültür yaprakları
	CL-Dec (40gr)	Ticari ürünlerin yaprakları
Ticari ürünler	TB-Com	Müllein çayı
	SC-Com	Müllein Emme tabletleri
	AE-Com	Alkollü Müllein ekstresi
	FO-Com	Müllein çiçeği yağı
Çeşitli saponinler	Gly	Glycyrrhizic asit
	Sap Q	<i>Quillaja</i> kabuğundan elde edilen saponin
	Sap P	Saf saponin
	Sap IL	<i>Scrophularia ilwensi</i> 'den elde edilen ilwensisaponin A

Türker ve Camper yapmış oldukları antibakteriyel aktivite çalışmalarında solunum yolları enfeksiyonlarına neden olan; *K. pneumoniae* (ATCC 13883), *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) gibi Gram (-) bakterileri ve *S. pyogenes* (ATCC 19615), *S. epidermidis* (ATCC 12228) ve *S. aureus* (ATCC 25923) gibi Gram (+) bakterileri kullanmıştır. Çalışmada *V. thapsus*'un çiçeklerinden elde edilen yağ, *S.*

pyogenes ve *S. epidermidis* dışında diğer mikroorganizmalarda büyümei inhibe etmiştir (Tablo 18). Ticari kaynaklı bitkiden hazırlanan alkol ekstresi *K. pneumoniae*'da inhibitör etki gösterirken; ticari kaynaklı yapraklardan hazırlanan dekoksasyon *P. aeruginosa* ve *S. pyogenes* dışındaki mikroorganizmalarda, bitki çayı ise sadece *K. pneumoniae*'da inhibitör etki göstermiştir. Genel olarak bitkiden hazırlanan sulu ekstrelerin antibakteriyel aktivite yönünden diğer ekstrele göre daha etkili olduğu gözlenmiştir. Yapılan testlerde sulu ekstre *K. pneumoniae* ve *S. aureus* bakterilerine karşı hassasiyet göstermiştir. *K. pneumoniae* ve *S. aureus*'un solunum yolları hastalıklarına; *K. pneumoniae*'nın idrar yolları hastalıklarına neden olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada bu tür hastalıkların tedavisinde *V. thapsus*'un geleneksel tıpta kullanım alanları ile yapılan çalışmanın benzer sonuçlar verdiği görülmektedir. Yapılan araştırmalar sonucu sıcak suyla hazırlanan bitki infüzyonlarının ve sıcak suda kaynatılarak hazırlanan dekoksasyonlarının en etkili preparatlar olduğu belirlenmiştir. McCutcheon ve arkadaşları tarafından daha önce yapılan çalışmalarda *V. thapsus* bitkisinin metanollü ekstresinin *E.coli*, *M. phlei* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etki gösterdiği, *K. pneumoniae*'a karşı ise antibakteriyel etki göstermediği bulunmuştur. Türker ve Camper'in yaptığı çalışmalarda ise metanollü ekstrenin *E. coli*'nin büyümesine etki etmediğini sadece *K. pneumoniae*'ya karşı antibakteriyel etki gösterdiğini tespit etmiştir. Bu durum biyolojik olarak değerlendirilirse ekstre hem Gram (+) hem de Gram (-) bakterilere karşı aktivite göstermektedir (6).

Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan *V. gypsicola* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstre kullanılarak antimikrobiyal aktivite incelenmiştir. Çalışmada; *E. coli* (ATCC 11230), *S. aureus* (ATCC 6538P), *K. pneumoniae* (UC57), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *B. cereus* (ATCC7064), *P. vulgaris* (ATCC 8427), *R. rubra* (DMS 70403), *K. fragilis* (ATCC 8608), *M. smegmatis* (CCM 2067), *L. monocytogenes* (ATCC15313), *M. luteus* (CCM 169), *C. albicans* (ATCC 10231) mikroorganizmaları kullanılmış ve disk difüzyon yöntemi uygulanarak P10 (penisilin G (10 unit)), SAM20 (amfisilin 10 µg), CTX30 (sefotaksim 30 µg), VA30 (vankomisin 30 µg), OFX5 (oflaksasin 5 µg), TE30 (tetrasiklin 30 µg), NY100 (nistatin 100 µg) standart antibiyotikleri ile karşılaştırılıp antimikrobiyal etki incelenmiştir (Tablo 19) (3).

Tablo 18. Türker ve arkadaşının *V. thapsus* ekstresi ve saponozitler üzerinde yaptıkları antibakteriyel test sonuçları

Test materyali	Antibakteriyel aktivite (mm ± S.E)*					
	Kp	Ec	Pa	Se	Sa	Sp
FL-MeOH	8.6 ± 0.3 ^{hl}	-	-	-	9.5±0.2 ^g	-
IL-MeOH	8.0±0.0 ^j	-	-	-	-	-
CL-MeOH	8.0±0.0 ^j	-	-	-	-	-
FC-MeOH	-	-	-	-	-	-
FL-EIOH	-	-	-	-	-	-
IL-EIOH	-	-	-	-	8.0±0.0 ^h	-
CL-EIOH	9.2±0.2 ^{fgh}	-	-	-	12.0±0.0	-
FL-Inf	9.3±0.2 ^{gh}	-	-	-	14.4±0.2 ^e	-
FL-Dec	9.8±0.4 ^g	-	-	-	8.6±0.2 ^{gh}	-
IL-Dec	9.5±0.4 ^{gh}	-	-	-	8.8±0.3 ^{gh}	-
CL-Dec	11.7±0.4 ^c	10.1±0.1 ^c	-	10.0±0.3 ^c	8.5±0.2 ^{gh}	-
TB-Com	6.0±0.0 ^j	-	-	-	-	-
SC-Com	-	-	-	-	-	-
AE-Com	7.7±0.1 ^l	-	-	-	-	-
FO-Com	10.3±0.2 ^l	9.0±0.0 ^l	9.3±0.2 ^b	-	9.5±0.2 ^x	-
Gly (1mg/ml)	-	-	-	-	-	-
Sap Q (1mg/ml)	-	-	-	-	-	-
Sap P (1 mg/ml)	-	-	-	-	-	-
Su	-	-	-	-	-	-
MeOH	-	-	-	-	-	-
MeOH:Su (50:50)	-	-	-	-	-	-
EIOH:Su (50:50)	-	-	-	-	-	-
Eritromisin (E-15)	13.0±0.3 ^d	-	-	41.3±0.3 ^a	30.1±0.2 ^c	22.0±0.5 ^d
Karbonisillin (CB-100)	8.4±0.2 ^u	27.7±0.6 ^g	21.8±0.5 ^a	32.8±0.5 ^c	-	44.3±0.6 ^a
Sefalotin (CF-30)	21.6±0.6 ^c	19.0±0.4 ^d	-	41.5±0.9 ^a	37.0±0.7 ^a	32.1±0.5 ^b
Kloromfenikol (C-30)	30.0±0.5 ^b	26.0±0.3 ^b	-	35.8±0.3 ^c	25.9±0.6 ^d	25.8±0.1 ^c
Sulfiksozalk (G-25)	32.2±0.5 ^a	22.6±0.3 ^g	-	19.3±0.3 ^d	32.8±0.6 ^b	15.2±0.5 ^e

Kp, *Klebsiella pneumoniae*; Ec, *Escherichia coli*; Pa, *Pseudomonas aeruginosa*; Sp, *Streptococcus pyogenes*; Se, *Staphylococcus epidermidis* ve Sa, *Staphylococcus aureus*

Aynı harfli sütunlarda P>0.05'de anlamlı fark yok.

*Milimetredeki bakteri büyüme inhibisyon alanı

Sonuç olarak *V. gypsicola* bitkisinden hazırlanan metanollü ekstrenin *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* gibi Gram (-) bakterilere karşı aktivite göstermediği buna karşılık *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *M. luteus* ve *M. smegmatis* gibi Gram (+) bakterilere karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Tablo 19. *V. gypsicola* bitkisinin metanollü ekstresi ile yapılmış antimikrobiyal test sonuçları

Mikroorganizmalar	Mikroorganizmaların inhibisyon zonu (mm)							Bitki <i>V. gypsicola</i>
	Standart antibiyotikler							
	P 10	SAM 20	CTX 30	VA 30	OFX 5	TE 0	NY 100	
<i>E. coli</i>	18	12	10	22	30	28	-	-
<i>S. aureus</i>	13	16	12	13	24	26	-	17.6
<i>K. pneumoniae</i>	18	14	13	22	28	30	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	8	10	54	10	44	34	-	-
<i>P. vulgaris</i>	10	16	18	20	28	26	-	-
<i>B. cereus</i>	14	12	14	18	30	25	-	15.2
<i>M. smegmatis</i>	15	21	11	20	32	24	-	10.4
<i>L. monocytogenes</i>	10	12	16	26	30	28	-	9.6
<i>M. luteus</i>	36	32	32	34	28	22	-	14.6
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	-	20	15.3
<i>K. fragilis</i>	-	-	-	-	-	-	18	9.2
<i>R. rubra</i>	-	-	-	-	-	-	18	10.4

P10 (penisilin G (10 unit)), SAM20 (amfisilin 10 µg), CTX30 (sefotaksim 30 µg), VA30 (vankomisin 30 µg), OFX5 (oflaksasin 5 µg), TE30 (tetrasiklin 30 µg), NY100 (nistatin 100 µg).

Ayrıca bitkinin test edilen tüm mantarlara karşı aktivite gösterdiği belirlenmiş ve *S. aureus*'un *V. gypsicola* bitkisinden hazırlanan ekstreya karşı standart antibiyotikler OFX5 ve TE30'la karşılaştırıldığında daha hassas olduğu da görülmüştür. Benzer şekilde ekstrenin P10, SAM ve CTX30 standart antibiyotikleriyle karşılaştırıldığında *B. cereus*'un diğer mikroorganizmalara göre daha hassas olduğu görülmüştür. Ayrıca ekstre *C. albicans*'a karşı oldukça güçlü antifungal etki göstermiştir (3).

Meurer-Grimes ve arkadaşlarının *Verbascum* L. türlerinden 9'u ile yaptığı antimikrobiyal aktivite çalışmasında kök, çiçek, tohum ve yapraklardan elde edilen ekstrelerde güçlü antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir. Ekstrelerin özellikle Gram (+) bakterilerden *S. aureus* ve mayalardan *C. albicans*'a karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Dülger ve Gönüz'un daha önceki çalışmasında *V. olympicum* Boiss., *V. prusianum* Boiss. ve *V. bombyciferum* Boiss. gibi 3 endemik *Verbascum* türünden elde edilen ekstrelerle yapılan aktivite çalışmalarında aynı bakteriler için paralel sonuçlar bulunmuştur. Araştırmalar *Verbascum* türlerinin Gram (+) bakterilere ve mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Bu durumda araştırmacıları genel olarak Gram (-) bakterilerin hücre duvarlarındaki lipopolisakkaritlerden dolayı Gram (+) bakterilere göre ekstrelere karşı daha dirençli olduğu sonucuna ulaştırmaktadır (3).

2.3.2 Sitotoksik ve Antitümör Etki

Sitotoksik etki ve büyüme inhibe edici etki incelenirken; *Artemia salina* larvaları ve *Raphanus sativus* tohumları kullanılmış ve bunlarda yüksek konsantrasyonda *V. thapsus*'un kapsül, yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan metanollü, etanollü ve sulu ekstralarının sitotoksitesisi ve büyüme inhibe edici etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda Brine shrimp larvalarında görülen toksisite ile 9KB'da görülen (insan nasofaringel karsinoma) sitotoksitesisi arasında pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur. *Raphanus sativus* tohumları fitotoksik bileşiklere karşı çok hassas olmaları nedeniyle kullanılmıştır. *Raphanus sativus* tohumlarında tüm ekstraların yüksek dozda büyüme inhibe ettiği ve kök uzamasını engellediği görülmüştür. Tohumun bölünmesinde ise Müllein ekstraları 7500 mg/L konsantrasyonda inhibe edici etki göstermektedir. Düşük dozlarda ise (1000 mg/L) inhibe edici etki çok düşüktür. Diğer ekstralara göre etanollü ekstralar büyüme ve bölünmeyi daha çok inhibe etmektedir. Saponozit standart testleri ise tohumun bölünmesini Müllein ekstralarına göre daha az inhibe etmekte, kök büyümesini ise inhibe etmemektedir. Sitotoksik etki ekstraların 1000 mg/L gibi dozunda gözlenmiştir. Sulu ekstralar da ise dekoksilyonun infüzyondan daha toksik olduğu saptanmıştır (6).

V. sinaiticum bitkisinin yapraklarının etil asetat ve dietil eterli ekstralarından elde edilen 2 flavonolignan: hidnokarpin ve yeni bir bileşik olan sinaitisin; 2 flavon: krisoeriol ve luteolin bileşiklerinin doza bağlı sitotoksik etkili olup; murine lenfositik lösemi P-388 hücrelerine karşı inhibitör etki gösterdiği ve bu hücreleri önemli ölçüde baskıladığı belirlenmiştir. Bitkinin yapraklarından hazırlanan eterli ekstradan elde edilen luteolin ve hidnokarpin ile yapılan testler de hidnokarpinin 6 insan kanser hücresine karşı ve L-1210 murine hücrelerine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu flavonolignanların CF₁ farelerinde 'Ehrlich ascites' karsinomasının büyümesini engellediği, antiinflamatuvar ve hipolipidemik aktivite gösterdiği görülmüştür (44).

V. thapsus bitkisinden hazırlanan ve ticari olarak piyasada bulunan çay, tablet ve çiçeklerinden elde edilen yağ; bitkinin kapsül ve yapraklarından hazırlanan metanollü, etanollü ve sulu ekstraları kullanılarak antitümör aktivite araştırılmıştır. Antitümör çalışmalarında; *V. thapsus*'dan elde edilen tüm ekstraların, *Agrobacterium tumefaciens*

enfekte edilmiş patates (*Solanum tuberosum*) plaklarında antitümör etki gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca yapılan çalışma; genelde ticari ürünlerde tümör inhibisyon etkisinin daha az olduğunu göstermiştir (Tablo 20) (6).

Tablo 20. *V. thapsus*'dan elde edilen ekstreler, standart saponozitler, kontroller (su ve kamptotesin) ve tümör oluşum inhibisyon yüzdeleri

Ekstreler	Tümörlerin ortalama sayısı	% Tümör inhibisyonu
Su	53±5 ^b	-
MeOH:Su (50:50)	60±4 ^a	-
Kamprodesin	0±0	100
FL-MeOH	27±3 ^{dc}	48
IL-MeOH	2±1 ⁱ	97
CL-MeOH	3±1 ⁱ	95
FC-MeOH	10±2 ^h	81
FL-EtOH	12±2 ^{gh}	76
IL-EtOH	24±3 ^{def}	54
CL-EtOH	21±3 ^{def}	59
FL-Inf	19±2 ^{efg}	63
FL-Dec	19±3 ^{efg}	63
IL-Dec	13±3 ^{gh}	76
CL-Dec	12±2 ^{gh}	77
TB-Com	40±3 ^c	25
SC-Com	37±4 ^c	30
AE-Com	29±3 ^d	45
FO-Com	26±2 ^{dc}	50
Gly (1mg/ml)	15±2 ^{fg}	71
(0.5mg/ml)	23±2 ^{def}	57
SapQ (1mg/ml)	16±2 ^{fgh}	70
0.5 mg/ml	22±2 ^{def}	59
Sap P(1mg/ml)	23±2 ^{def}	56
(0.5mg/ml)	24±2 ^{def}	54
SapIL (1mg/ml)	20±3 ^{defg}	66
(0.5mg/ml)	26±4 ^{dc}	56

Aynı harfli numaralarda P>0.05 değerlerde anlamlı sonuçlar bulunamamıştır

2.3.3 İmmunomodülatör Etki

Avrupa'da yetişen *Verbascum* türlerinden dördü *V. phlomoides*, *V. thapsiforme*, *V. nigrum* ve *V. lychnitis*'den izole edilen verbaskosaponin, luteolin, 7-O-glukozit, verbaskozit, spesiozit ve forsitozit B bileşiklerinin in vitro ortamda; sıçan dalak lenfosit hücrelerindeki çoğalma (proliferasyon) üzerine etkileri incelendiğinde bu bileşiklerin 100 µg/ml konsantrasyonunda antiproliferatif etki gösterdiği; düşük konsantrasyonda (0,1 µg/ml) ise verbaskozit, forsitozit ve spesiozit bileşiklerinin bölünme hızını arttırdığı

görülmüştür. Bu ön testler bu bileşiklerin immunomodülatör etkili olabileceğini, sitotoksik ve immunostimulan özelliklerinin incelenmesi için daha ileri çalışmaların yapılması gerektiğini düşündürmüştür (28).

2.3.4 Antihepatoma Etki

Kanada halk tıbbında içlerinde *V. thapsus*'un da bulunduğu tedavi amaçlı kullanılan 15 bitki; Hep G2/C3A, SK-HEP-1, HA22T/VGH ile Hep3B ve PLC/PRF/5 gibi 5 insan karaciğer kanser hücre topluluğu kullanılarak antihepatoma aktivite açısından incelenmiştir. Tablo 21'de görüldüğü gibi ekstreden, bu hücre topluluklarından Hepatit B virüs genomu taşıyanların taşımayan hücre topluluklarına göre farklı etkilendikleri tespit edilmiştir (27).

Tablo 21. *V. thapsus*'un sulu ekstresinin antihepatoma aktivite test sonuçları

	HBV(-) hücreler			İnhibisyon oran %	HBV(+) hücreler		
	Hep G2/C3A	HA22T/VGH (IC ₅₀) 2000 µg/mL de %inhibisyon	SK-HEP-1		PLC/PRF/5 (IC ₅₀) 2000 µg/mL de %inhibisyon	Hep3B	İnhibisyon oran %
<i>V. thapsus</i>	31.0	69.9	-	33.6	11.6	-	5.8+

2.3.5 Antioksidan Etki

Süperoksit iyonları (O₂⁻), hidroksil (OH⁻) ve nitrikoksit radikalleri (NO⁻) gibi serbest radikaller ile hidrojenperoksit (H₂O₂) ve nitrik asit (HNO₂) gibi serbest olmayan radikalleri içeren reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri(RNS) aktif oksijen ve azotun çeşitli formlarıdır. Yaşayan organizmalarda ROS ve RNS farklı yollardan oluşmaktadır. Normal aerobik solunumda; uyarılmış polimorfonükleer lökositler, makrofajlar ve peroksizomlar hücreler tarafından üretilen antioksidanların büyük bir kısmı için ana endojen kaynaklar olarak görülmektedir. Bazı eksojen serbest radikal

kaynakları olarak da sigara, iyonize radyasyon, organik solventler ve pestisitler örnek verilebilir. Serbest radikaller; yiyeceklerin bozulmasına neden olan lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır. Oksidasyon sadece lipidleri etkilememektedir. ROS ve RNS mutasyona yol açan DNA tahribatlarına da neden olabilmektedir. Buna ek olarak ROS ve RNS; sıtma, kalp hastalıkları, felç, arteriosklerozis, diyabet ve kanser gibi 100'den fazla hastalıkla da ilgili görülmektedir. Aşırı üretildiği zaman ROS doku yaralanmalarına neden olabilmekte iken, doku yaralanmalarının kendisi de; ROS oluşumuna neden olabilmektedir. Ama yine de insanları da içine alan tüm aerobik organizmalar; tahribatları ortadan kaldıran, enzimleri onaran veya tahrip olmuş molekülleri onaran, oksidatif tahribata karşı koruyucu antioksidan savunma mekanizmalarına sahiptir. Doğal antioksidan savunma mekanizmaları; diyet yoluyla dışarıdan antioksidan bileşikleri alarak oksidatif tahribatı etkisiz hale getirilebilmektedir. Bu da bu bileşiklerin önemini günümüzde daha da arttırmaktadır. Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) gibi gıdaların işlenmesi sırasında sıklıkla kullanılan sentetik antioksidanların yan etkilerinin olabileceği belirtilmektedir. Diyet yoluyla dışarıdan antioksidanlarca zengin gıdaların alınmasıyla bir çok hastalığın ortaya çıkışı arasında ters ilişki olduğu da düşünülmektedir. Bu nedenle doğal antioksidan kaynaklarının bulunması ile ilgili araştırmalar daha da önem kazanmaktadır. Lipid peroksidasyonu zincirleme bir reaksiyon olup, bu reaksiyon reaktif radikalın non-radikalden bir elektron almasıyla başlar böylece radikal non-radikale dönüşür, uyarılan yeni bir radikal oluşur ve reaksiyon bu şekilde devam eder. Fenolik bileşikte hazır bulunan hidroksil hidrojene bir elektronunu vererek radikali süpürmektedir. Bu durumda yeni oluşan fenoksi radikali daha önceden oluşan radikale göre daha karardır. Böylece zincirleme reaksiyon geciktirilebilmektedir (59).

Son dönemde yapılan araştırmalarda insanların safra kesesinde ve hayvanların safra akıntısında lipid peroksidasyon ürünlerine rastlanmıştır. Safra kesesi duvarında veya karaciğer yağlanması gibi kesin karaciğer hastalıklarının inflamasyonlarında görülen yaygın serbest radikal reaksiyonları; safra bileşiminin değişmesine, safra fonksiyonlarında ciddi karışıklıklara ve en son olarak da kolesterol safra taşlarının oluşumuna neden olmaktadır. Diyetle alınan doğal antioksidanların; karaciğer ve

safrada farklı enzimatik ve non-enzimatik reaksiyonlar yoluyla patolojik serbest radikallere dönüşebileceği hayvan deneyleri ile saptanmıştır (60)

Son yıllarda yapılan çalışmalarda çok çeşitli gıdalar üzerinde etkili olabilecek sentetik ve doğal antioksidanların bulunması amacıyla bitkisel ekstratler incelenmektedir. Bu amaçla çeşitli bitki grupları tarandığında *Verbascum* türlerinde antioksidan aktiviteye sahip fitokimyasalların bulunduğu tespit edilmiştir (49).

Fenolik doğal bileşenler sahip oldukları oksijen radikal süpürücü etkileri nedeniyle potansiyel antioksidan maddeler olarak bilinmektedir. Bu nedenle flavanoitler gibi fenolik doğal bileşenler antioksidan aktivite açısından ilgi çekici fitokimyasallardır. Serbest radikal süpürücü etkiye sahip antioksidanlar özellikle kardiyovasküler hastalıklar, yaşlanma, kanser ve enflamatuvar hastalıkların tedavisinde önemli rol oynamaktadır. Bu antioksidan bileşiklerin tespiti için pek çok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden özellikle 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil'in (DPPH) kullanıldığı serbest radikal süpürücü yöntem hem güvenilir olması hem de kısa sürede sonuç vermesi nedeniyle tercih edilmektedir (52).

Antioksidan aktiviteye sahip fitokimyasalları içeren türlerden biri olan *V. macrurum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstratde antioksidan aktivite araştırılmış ve serbest radikal süpürücü etkiye sahip 2,2-difenil-1-pikrilhidrazile (DPPH) karşı antioksidan etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca Lancimat metoduyla oksidatif bozulma incelenmiştir. Gıdaların işlenmesi, paketlenmesi ve dağıtım sırasında meydana gelen ve yiyeceklerin bozulmasından sorumlu olan lipid oksidasyonunun en önemli nedeni serbest radikal aktivite sonucu oluşan oksidatif transformasyondur. *V. macrurum*'dan; akteozit, martinozit, 6'-O- α -L-arabinopiranozil ve 6'-O- β -D-ksilopiranozil martinozit gibi 4 fenilpropanoit glikozit ve okubin, ajugol, geniposidik asit, sakkatozit, 3''-O-p-kumaroilsinatol ve 6-O-p-kumaroilokubin gibi 6 iridoit izole edilmiştir. Bir polihidroksillenmiş fenilpropanoit glikozit türevi olan okteozit'in diğer bileşiklere göre serbest radikal süpürücü potansiyelinin çok yüksek olduğu ve ay çiçek yağının oksidatif ekşimesine karşı en yüksek koruma faktörüne sahip olduğu da gözlenmiştir. Bu bileşik sentetik bir antioksidan olan BHT ile karşılaştırıldığında açıkça daha yüksek doğal bir α -tokoferol'dür ve nontoksik bir bileşiktir. Bu nedenle gıdaların oksidatif ekşimeye karşı doğal yollardan korunmasında okteozit önemli bir bileşiktir (49).

Burdur, Yeşilova'dan toplanan *V. salviifolium* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrede 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ile aktif olduğu tespit edilen flavonoidler bulunmuş ve bunların radikal süpürücü özellikleri incelenmiştir. Sonuç olarak 4 flavonoid glikozit izole edilmiş olup bunlardan apigenin – 7-O-β-glukopiranozit ve krizoeriyol-7-O-β-glukopiranozit'in DPPH'ye karşı radikal süpürücü etki gösterdiği belirlenmiştir (52).

Kuzey ve İç Anadolu'da yayılış gösteren ve Sivas Yıldızeli'nden toplanan endemik *V. wiedemannianum* türünün köklerinden hazırlanan metanollü ekstrede radikal süpürücü etki saptanmıştır (61). Bir başka çalışmada yine Sivas Yıldızeli'nden toplanan *V. wiedemannianum* türünün köklerinden ve toprak üstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstrede 4 yeni feniletanoit glikozit olan wiedemanniozit B–E izole edilirken bunlara ek olarak wiedemanniozit A (6-O-asetilmartinozit), verbaskozit, martinozit, ekinakozit ve lökosceptozit B gibi bilinen 5 bileşik daha izole edilmiş ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazile (DPPH) karşı radikal süpürücü etkisi incelenmiştir (25).

Tablo 22. Verbaskozit ve ekinakozit'in DPPH radikal indirgeme yüzdeleri

Bileşikler	Konsantrasyon (µM)					IC ₅₀ (µM)
	10	25	50	100	200	
Verbaskozit	29.1	38.3	48.6	59.1	60.0	63
Ekinakozit	28.6	27.7	32.6	46.9	59.1	113
Askorbik asit	36.3	38.9	44.6	46.6	59.4	129

Yeni bileşiklerden wiedemanniozit B, C ve bilinen feniletanoit glikozitlerin radikal süpürücü etkiye sahip 2,2-difenil-1-pikrilhidrazile (DPPH) karşı antioksidan etkili oldukları görülmüştür. Bu nedenle bu bileşikler daha ileri spektroskopik yöntemlerle radikal süpürme kapasiteleri bakımından test edilmiştir. Tablo 22'de görüldüğü gibi sadece verbaskozit ve ekinakozitte belirgin bir aktivite görülmüştür. Askorbik asit ise referans bileşik olarak kullanılmıştır (25).

Tepe ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada içlerinde *V. wiedemannianum*'un da bulunduğu beş bitkiden elde edilen metanollü ekstrede *in vivo* olarak antioksidan aktivite iki farklı yöntemle incelenmiştir. Bu yöntemler DPPH

serbest radikal süpürücü etki ve β -karoten / linoleik asit testleridir. Deneylede BHT, askorbik asit ve kurkumin pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Tablo 23'te görüldüğü gibi DPPH yönteminde ölçümler 517 nm de; β -karoten / linoleik asit testinde ölçümler 490 nm de yapılmıştır. DPPH yönteminde diğer bitkilere göre *V. wiedemannianum* bitkisi oldukça zayıf antioksidan aktivite gösterirken β -karoten / linoleik asit testinde ise *V. wiedemannianum* diğer bitkilere göre 2.sırada antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür (62)

Tablo 23. *V. wiedemannianum* bitkisinin metanollü ekstresinde DPPH ve β - karoten / linoleik asit yöntemleri ile yapılan antioksidan etki sonuçları

	DPPH IC ₅₀ (μ g/ml)	β -karoten / linoleik asit İnhibisyon yüzdesi
<i>V. wiedemannianum</i>	117 \pm 0.56	52.5 \pm 3.11
BHT	18.0 \pm 0.40	96.6 \pm 1.29
Kurkumin	7.80 \pm 0.32	89.3 \pm 2.14
Askorbik asit	3.80 \pm 0.17	94.8 \pm 1.86

İzmir Urla'dan toplanan *V. lasianthum*'un köklerinden elde edilen metanollü ekstreden 3 iridoit glikozit; 8-O-asetilharpağit, harpagozit ve 6-O vanilloylajugol izole edilmiştir. Bunlara ek olarak iki feniletanoit glikozit, verbaskozit {=okteozit [β -(3,4-dihidroksifenil)-etil]-(3'-O- α -L-ramnopiranosil)-(4'-O-kaffeol)- β -D-glukopiranozit} ve poliumozit {=[β -(3-4-dihidroksifenil)-etil]-(3'-6'-O- α -L-diramnopiranosil)-(4'-O-kaffeol)- β -D-glukopiranozit}'de izole edilmiştir. Bunlardan harpagozit ve poliumozit serbest radikal süpürücü etkiye sahip 2,2-difenil-1-pikrilhidrazile (DPPH) karşı antioksidan etki göstermiştir (24).

2.3.6 Antiülser Etki

Antiülser potansiyeldeki bitkilerden biri olarak düşünülen; 'calba veya yalangi' olarak da bilinen *V. cheiranthifolium* Boiss var. *cheiranthifolium* bitkisinin

çiçeklerinden folklorik uygulamalara göre hazırlanan dekoksionunun antiülser aktivitesi incelenmiştir.

Tablo 24. Bitki ekstresinin sıçanlarda etanolün neden olduğu gastrik lezyonlara karşı etkisi

Bitki materyali	Doz (mg/kg)	Ülser indeksi (\pm S.E.M.)	Ülserden korunma	İnhibisyon (%)
<i>V.cheiranthifolium</i> var. <i>cheiranthifolium</i>	1227	27.1 \pm 8.9*	0/6	82.6

* P<0.001

Tablo 24’de in vivo deney sonuçları gösterilmektedir. Pınarbaşı’nda ülser semptomlarına karşı antiülser etkisinden dolayı halk tıbbında kullanılan *V. cheiranthifolium* Boiss var. *cheiranthifolium* bitkisinin sıçanlarda belirgin antiülser aktivite gösterdiği bulunmuştur. Histopatolojik tekniklerin de kullanıldığı çalışmada; bitki ekstresi sadece deneklerin küçük bir bölümünde midenin lamina epitelindeki bütünlüğü yer yer tahrip etmiş ve lamina açılmıştır. Laminadaki salgı bezlerinden bazılarında dejenerasyondan nekrozlara kadar değişimler gözlenmiştir (22).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Bitkisel Materyal

V. inulifolium Hub.-Mor. bitkisi 2004 yılı Haziran ayında bitki çiçekli iken C₄ İçel ili Silifke Kalesi, 120 m'de taşlık alandan toplanmış ve gölgede kurutulmuştur (Resim 1, 2). Kullanılan bitkisel materyale ait herbaryum örneği, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'n da saklanmaktadır (AEF 23713).

3.1.2 Kullanılan Maddeler

Rimantadin Hidroklorit	Hoffman-La Roche Inc , Nutley , NJ , USA
(E)-5-(2-Bromovinlyl)-2'-Deoxyuridine	Sigma Aldrich Chemie
Madin-Darby Canine Kidney	Gibco BRL, Scotland , UK
Madin-Darby Bovine Kidney	Gibco BRL, Scotland , UK
Dulbecco's Eagle Medyum	Gibco BRL, Scotland , UK
Fetal Calf Serum	Bio Whittaker Europe, Germany
Fetal Bovine Serum	BioChrom/ Germany
Diklorometan	Akkimya
Metanol (HPLC)	Merck
Metanol	Akkimya
Asetonitril	Merck
HCl	Merck
Trifloroasetik asit	Fluka
Mirsetin	Fluka
Luteolin	Fluka
Kersetin	Fluka
Kemferol	Fluka
İzoramnetin	Fluka

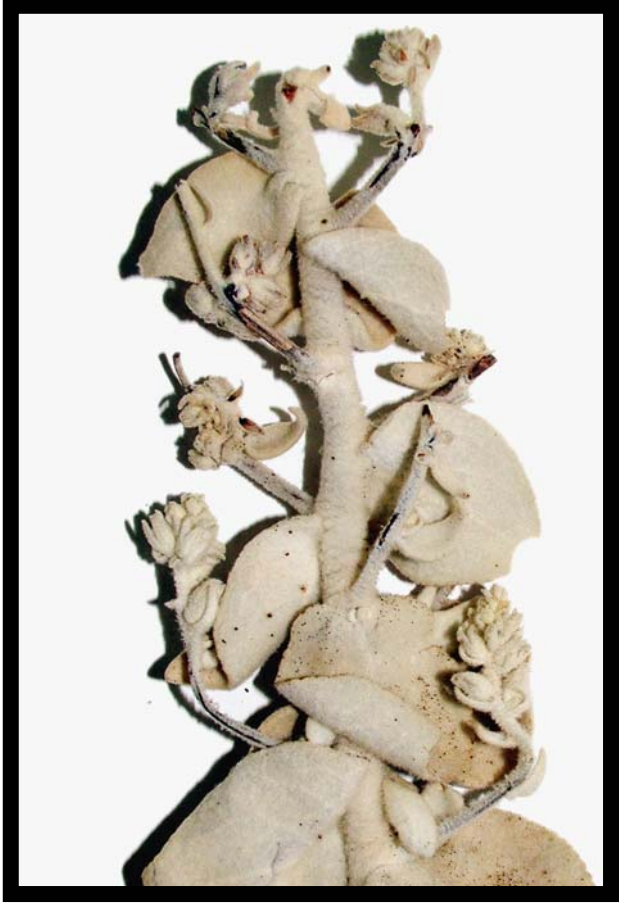
Morin	Riedel de haen
Etanol	Merck
TLC plak	Merck
Karboksi Metil Selüloz	Sigma
Kristal Viöle	Sigma
Formaldehit	Merck/Germany

3.1.3 Kullanılan Cihazlar

Rotavapor	Rotar TVP 200
HPLC	Agilent 1100 Series
Su Banyosu	Elektro-mag
Ultrasonik Banyo	Bandelin Sonorex (Almanya)
Kolon	C 18 Symmetry Kolon, (150 mmx 3.9 Mm, I.D 5 µm)
Elektrikli Hassas Terazî	Denver Instrument 040111 M
Etüv	Memmert RS 232
Ph metre	Mettler Toledo
Manyetik Karıştırıcı	Velp Scientifica
Spektrofotometre	Perkin Elmer



Resim 1: *V. inulifolium* bitkisinin herbarium örneğinin genel görünüşü



Resim 2. *V. inulifolium* bitkisinin herbarium örneğinin farklı açılardan görünüşü

3.2 Yöntem

3.2.1 Fitokimyasal çalışmalar

3.2.1.1 Ekstraksiyon

Diklorometanlı Ekstrenin Hazırlanması: *V. inulifolium* bitkisinin gölgede kurutulan toprak üstü kısımları toz edilerek tartıldı (700 g). Diklorometanla 40 °C'yi geçmeyen sıcaklıkta karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak bir hafta bekletildikten sonra süzüldü. Ekstraksiyon aynı miktar çözücü ile aynı şartlarda iki kez daha tekrarlandı. Birleştirilen ekstratlar rotavaporla alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu.

Metanollü Ekstrenin Hazırlanması: Diklorometanlı ekstrenin süzülmesinden sonra geriye kalan bitki kurutularak çözücünün tamamen uçması sağlandı ve metanol ile 40 °C'yi geçmeyen sıcaklıkta karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak bir hafta bekletildikten sonra süzüldü. Ekstraksiyon aynı miktar çözücü ile aynı şartlarda iki kez daha tekrarlandı. Bitkilerden elde edilen ekstre miktarları ve % verim Tablo 25'te görülmektedir.

Tablo 25. *V. inulifolium* bitkisinden elde edilen ekstre miktarları ve % verim

	Diklorometanlı ekstre (g, %)	Metanollü ekstre (g, %)
Toprak üstü (700 g)	15.49 gr, % 2	54.2 gr, % 7.74

3.2.1.2 Ekstrenin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) ile Kalitatif ve Kantitatif Analizi

V. inulifolium bitkisinin metanollü ekstresinin flavonoit içeriği yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) yöntemi kullanılarak incelenmiştir. YBSK analizleri Agilent 1100 cihazında yapılmıştır. Çalışma koşulları aşağıda belirtilmiştir (63).

Çalışma Koşulları:

YBSK saflığında çözücüler kullanılmıştır. Gradient uygulanmıştır (Tablo 26).

Kolon: Symmetry C18 kolon, 150 x 3.9 mm I.D 5 µm

Çözücü: % 15 Asetonitril / su (A) pH: 2.5 (Trifloroasetik asit ile pH:2.5'e ayarlanmıştır)
% 35 Asetonitril / su (B) pH: 2.5 (Trifloroasetik asit ile pH:2.5'e ayarlanmıştır)

Mobil Faz Akış Hızı: 1 ml / dak

Pompa: G1311A

Degasser: G1379A

Dedektör: UVD G1314A

UV-370 nm

UV-349 nm-Luteolin için

Enjeksiyon Hacmi: 20 µl

Tablo 26. Gradient yönteme göre mobil faz değişimi

Zaman (dk)	%A	%B
0.00	100.0	0.0
20.00	0.0	100.0
30.00	0.0	100.0

YBSK Analizlerinde Kullanılan Metanollü Ekstrenin Hazırlanması

Metanollü ekstrenin hazırlanması sırasında, flavonoid glikozitlerinin hidrolizi için Hertog ve arkadaşlarının optimize ettikleri hidroliz şartlarına ilişkin yöntemden yararlanılmıştır (64). Ekstraksiyon kısmında belirtildiği şekilde hazırlanmış metanollü ekstreden 0.5 g tartılarak 250 ml'lik balona alındı. 40 ml % 62.5'lik sulu metanol ilave edildikten sonra üzerine 6 M HCl'den 10 ml ilave edildi. Böylece karışım 1.2 M HCl içeren % 50'lik sulu metanol haline dönüştü. Daha sonra 2 saat 90 °C su banyosunda geri çeviren soğutucu ile ısıtıldı. Sistem açılmadan balonlar ara sıra karıştırıldı. Balon soğutulduktan sonra 100 ml'lik balon jöjeye kantitatif olarak aktarıldı ve metanol ile

hacim 100 ml'ye tamamlandı. Balon jojeler ultrasonik banyoda 5 dk tutuldu. 0.45 µm milipor filtreden geçirilerek 0.5 mg/ml konsantrasyonda enjeksiyona hazır hale getirildi.

Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Standart olarak; mirsetin, kersetol, kemferol, luteolol, izoramnetin ve morin (internal standart olarak) kullanılmıştır. Her standarttan 5 mg ayrı ayrı tartılmış ve 10 ml'lik balon jojelerde hidroliz için kullanılan çözelti ile hacim tamamlanmıştır. Hazırlanan bu stok standart çözeltilerin her birinden ayrı ayrı 1 ml alınıp 10 ml'lik balon jodede tekrar seyreltilmiş ve seyreltik çözeltilerden 4 farklı konsantrasyon hazırlanmıştır. 0.5 ml, 1 ml, 1.5 ml, 2 ml'lik standart karışımları oluşturulmak üzere balon jojelere alınmış ve üzerine sabit miktarda (0.5 ml) internal standart (morin) ilave edilerek hacimler 10 ml'ye tamamlanmıştır.

İnternal Standardın Hazırlanması

5 mg morini 10'luk balon jodede hidroliz için kullanılan çözelti ile tamamlandıktan sonra bu karışımdan 4 ml alıp tekrar 10 ml'ye aynı çözelti ile tamamlanarak hazırlanan çözeltiden 0.5 ml alınıp standart karışımlara ve ekstreye eklenmiştir. Bu durumda kalibrasyon çözeltisinin ve internal standardın son konsantrasyonları Tablo 27'de verilmiştir.

Bu standartlar ve ekstreler 370 nm'de analiz edildikten sonra, luteolin için 349 nm de analiz tekrarlanmıştır.

Tablo 27. Kalibrasyon çözeltilerinin ve internal standardın son konsantrasyonları

Kalibrasyon Çözeltilerinin Konsantrasyonları	İnternal standardın (Morin) konsantrasyonu
0.0025 mg/ml = 2.5 ppm	0.001 mg/ml = 10 ppm
0.005 mg/ml = 5 ppm	
0.0075 mg/ml = 7.5 ppm	
0.001 mg/ml = 10 ppm	

3.2.2 Biyoaktivite Çalışmaları

3.2.2.1 Antioksidan Etki Çalışmaları

Bu çalışma için iki farklı yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemler;

- 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Testi
- Tiyobarbitürik asit (TBA) Testi'dir.

2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Testi

DPPH testi; *V. inulifolium* bitkisinden elde edilen ekstrenin antioksidan aktivitesini serbest radikal süpürücü etkisini değerlendirerek belirlenmesi için kullanılan hızlı sonuç veren bir yöntemidir. Mor renkli kararlı serbest radikal olan 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil'in (DPPH), antioksidan bileşiklerin varlığında indirgenerek sarı renkli difenilpikrilhidrazin'e dönüşmesi esasına dayanır. İnce tabaka plaklarına püskürtüldükten sonra, var ise antioksidan bileşikler mor zemin üzerinde sarı bir nokta şeklinde gözlenir (65). *V. inulifolium*'un ekstresinden hazırlanan 1 mg/ml çözeltinin 2 µl'si Wiretrol II mikropipetler yardımıyla ile silika jel TLC plaklarına uygulandıktan sonra etanoldeki % 0.2'lik DPPH solüsyonu plaklara püskürtülerek 20°C'de bekletildi ve püskürtmeden 30 dakika içinde sonuçlar incelendi (65).

Lipozom Kullanılarak Yapılan Tiyobarbitürik Asit (TBA)Testi

TBA testi; lipozomların lipid peroksidasyonundan korunmasında bileşiklerin etkinliğinin değerlendirmesi amacıyla kullanılan invitro antioksidan aktivite testidir ve lipozomun lipid peroksidasyonu tayin edilerek yapılır. TBA reaksiyonu, birçok membran sisteminin peroksidasyonu sonucu az miktarda serbest malondialdehitin (MDA) oluşumuna neden olması esasına dayanır. MDA'nın bir molekülü, TBA'nın 2 molekülü ile reaksiyona girerek asidik ortamda 532 nm de ışığı absorbe eden renkli bir ürün verir ve bu ürün organik çözücülerle kolaylıkla ekstrakte edilebilir. Böylece spektrofotometrik olarak miktar ölçülebilir ve rengin yoğunluğu MDA konsantrasyonunu verir. Karışımda herhangi bir antioksidan bileşiğin bulunması

durumunda peroksidasyonun boyutu indirgenir ve böylece renk oluşumu ve absorbans azalır (65).

V. inulifolium bitkisinin diklorometanlı ve metanollü ekstraktları fosfat-buffer tuzunda (5 mg/ml) test edildi. Örneklerin peroksidasyonu 0.1 ml FeCl₃ (1 mM) ve 0.1 ml askorbik asit (1 mM) ilavesi ve 37 °C 20 dakika inkübe edilerek sağlandı. Askorbik asit iyi bilinen bir antioksidandır. Fakat aynı zamanda demir veya bakır gibi belirli iletken metal iyonlarının varlığında prooksidan özelliğe sahiptir. Bu nedenle TBA testi boyunca lipid peroksidasyonunu önlemek amacıyla etanoldeki 2,6-ditertbütül-4-metilfenol (BHT) eklenmiştir. 0.02 mg/ml ile 6.4x10⁻⁵ mg/ml aralığında değişen 7 farklı konsantrasyonda propil gallat pozitif kontrol olarak kullanılmış ve deneyler 4 kez tekrarlanmıştır.

Lipid peroksidasyonunun % inhibisyonu, inhibitör konulmamış reaksiyon karışımının absorbansı ile içerisine test ekstresi konulmuş reaksiyon karışımının absorbansının kıyaslanması esasına göre değerlendirildi. Tek başına ekstrenin ve lipozomun absorbansı dikkate alınarak aşağıdaki gibi hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 \times \frac{(\text{FRM} - \text{B}) - (\text{ET} - \text{B} - \text{EA})}{(\text{FRM} - \text{B})}$$

FRM: Tüm reaksiyon karışımının absorbansı (lipozom + demir kaynağı + test maddesinin bulunmadığı çözücü)

B: Kör karışımın (yalnızca lipozomun bulunduğu) absorbansı

ET: Test maddesinin içinde bulunduğu toplam karışımın absorbansı

EA: Yalnızca ekstrenin bulunduğu karışımın absorbansı (65).

V. inulifolium bitki ekstresinin inhibitör konsantrasyonunun yarısı (IC₅₀) lineer regresyon analizleri PRISM software'ı kullanılarak hesaplandı.

3.2.2.2 Antimikrobiyal Etki Çalışmaları

3.2.2.2.1 Antibakteriyel Etki Çalışmaları

Antibakteriyel aktivite çalışmalarında *V. inulifolium* bitkisinden elde edilen metanollü ve diklorometanlı ekstreler kullanılmıştır. *V. inulifolium* bitkisinden elde edilen metanollü ekstrenin 1 g'ı %10'luk 10 ml dimetilsülfoksitde (DMSO); diklorometanlı ekstrenin 1 g'ı 10 ml diklorometanda çözülerek yapılacak aktivite çalışmaları için hazır hale getirilmiştir.

Aktivite çalışmalarında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Kültür Koleksiyonları, Endüstriyel Mikrobiyoloji ve Biyoteknoloji Derneği'nden (KÜKEM) sağlanan bakteriler kullanılmıştır (Tablo 28). Testler makrodilüsyon yöntemi ile yapılmıştır.

Tablo 28. Antibakteriyel etki çalışmalarında kullanılan bakteriler

Gram (+)	Gram (-)
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	

Makrodilüsyon Yöntemi

Bir gecelik bakteri kültüründen 0.5 Macfarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlandı ve bu 1/100 oranında seyreltildi. Ekstrelerin The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)'de belirtilen şekilde seri dilüsyonları yapıldı (Tablo 29) (66).

Tablo 29 NCCLS’de belirtilen, seri sıvı dilüsyon duyarlılık testlerinde kullanılan ekstrelerin sulandırma şeması

Adım	Konsantrasyon	Kaynak	Hacim ^a	CAMHB ^b hacim	Son konsantrasyon	Log ₂
1	5120 µg/mL	Stok	1 mL	9 mL	512 µg/mL	9
2	512	Adım 1	1	1	256	8
3	512	Adım 1	1	3	128	7
4	512	Adım 1	1	7	64	6
5	64	Adım 4	1	1	32	5
6	64	Adım 4	1	3	16	4
7	64	Adım 4	1	7	8	3
8	8	Adım 7	1	1	4	2
9	8	Adım 7	1	3	2	1
10	8	Adım 7	1	7	1	0
11	1	Adım10	1	1	0.5	-1
12	1	Adım10	1	3	0.25	-2
13	1	Adım10	1	7	0.125	-3

a: seçilecek hacimler, yapılacak test sayısına bağlı olarak bu rakamların herhangi bir katı olabilir.

b: CAMHB, katyonu ayarlanmış Mueller-Hinton buyyon. Katyon ayarlama, eğer gerekliyse bu adımdan önce yapılır.

Çözülen çözücüler Tablo 29’a göre 1/5120, 1/2560, 1/1280, 1/640, 1/320 ve 1/160 oranında sulandırıldı. Seri sulandırmadan sonra tüplere 0.5 ml ekstre ve 0.5 ml bakteri süspansiyonu dağıtıldı. Tüplerdeki son bakteri süspansiyonu 5×10^5 CFU / ml olacak şekilde yapıldı. 18-24 saat 35°C de etüvde inkübasyondan sonra tüplerde bulanıklık olup olmadığı değerlendirildi. İnkübasyon süresinin sonunda katı besiyerlerine pasajlar yapılarak minimal bakterisidal konsantrasyon (MBC) ve minimal inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerleri tayin edildi. Minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri bulanıklığın görülmediği en düşük konsantrasyon değeri olarak belirlendi (66).

3.2.2.2.2 Antiviral Etki Çalışmaları

Bovine Herpes Virus Type-1 (BHV-1)’e Karşı Antiviral Etki

Çalışmalarda Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı kaynaklı *Bovine Herpes Virus Type-1 (BHV-1)* virüsünün Cooper standart suşu kullanılmıştır.

Test Ekstrelerinin Hazırlanması

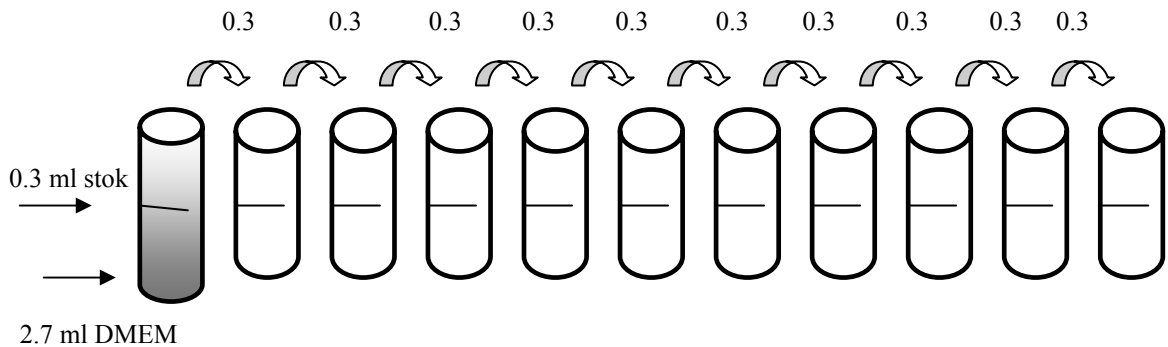
Test için, *V. inulifolium* bitkisinden elde edilen diklorometanlı ve metanollü bitki ekstreleri 1 g/ml konsantrasyonda hazırlandı.

Ekstrelerin Seyreltilmesinde Kullanılan Carboxy-Methyl-Cellulose(CMC) Hazırlanması

12.8 g CMC ve 0.6 g Na-bikarbonat tartılarak 200 ml distile suyla manyetik karıştırıcıda çözününceye kadar yaklaşık 2 saat karıştırıldı. Çözündükten sonra 200 ml 2xDulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) ortama konarak manyetik karıştırıcıda karıştırılmaya devam edildi ve iyice çözündükten sonra elde edilen %4'lük CMC testte kullanıldı.

Ekstrelerin Seyreltilmesi

24 gözlü platelerde Madin-Darby Bovine Kidney (MDBK) hücre monolayerleri üzerine 100DKID₅₀ oranında sulandırılan *Bovine Herpes Virus Type-1* (BHV-1) 200'er µl hacimde eklenerek karbondioksit etüvünde bir saat süreyle inkübe edildi. Ekstrelerin (1 g/ml konsantrasyonda) serumsuz DMEM ile 1/10'lük dilüsyonu hazırlandı. Bu amaçla 2.7 ml DMEM üzerine 0.2 nm çaplı membran filtreden geçirilerek steril edilen ekstreden 0.3 ml ilave edildi (100 mg/ml madde). Ekstrelerin 10⁻¹¹'e kadar 10 katlı dilüsyonları yapıldı. İnkubasyonunu tamamlayan virüs ile enfekte plate gözlerine ekstre sulandırmalarından dağıtıldı ve sistem ileri inkubasyona alındı.



Şekil 10. Ekstrelerin seri seyreltilme işlemi

Şekil 10'da görüldüğü gibi bütün tüplere 2.7 ml DMEM eklendi. Daha sonra birinci tüpe 0.3 ml stok ekstre çözeltisinden ilave edildi ve vorteksde karıştırıldı. Buradan ikinci tüpe 0.3 ml aktararak karıştırıldı ve bu şekilde diğer tüpler de seri sulandırıldı. Böylece aşağıda formüle edildiği gibi stok çözeltinin 10 katlı sulandırması hazırlanmış oldu.

1. tüp= 10^{-1} = 100 mg/ml (stok)
2. tüp= 10^{-2} = 10 mg/ml
3. tüp= 10^{-3} = 1 mg/ml
4. tüp= 10^{-4} = 100 µg/ml
5. tüp= 10^{-5} = 10 µg/ml
6. tüp= 10^{-6} = 1 µg/ml
7. tüp= 10^{-7} = 100 ng/ml
8. tüp= 10^{-8} = 10 ng/ml
9. tüp= 10^{-9} = 1 ng/ml
10. tüp= 10^{-10} = 100 pg/ml
11. tüp= 10^{-11} = 10 pg/ml

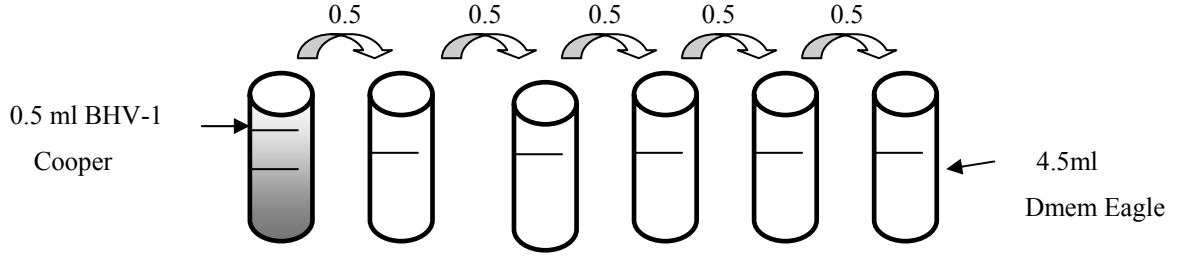
Sitotoksosite Testi

Çalışmaların bu basamağında; antiviral aktivite deneylerinde kullanılacak olan mikroskopik hücre kültürlerinde metanollü ve diklorometanlı bitki ekstralarının toksik etki göstermediği ekstre dilüsyon oranı belirlendi. MDBK hücrelerinde bitki ekstralarının değişik konsantrasyonları inkübe edildi. Hücrelerdeki morfolojik değişimler 48. saatte gözlemlendi. Non-toksik ekstre konsantrasyonu; hücre morfolojisinde belirgin değişikliğe neden olmayan en yüksek ekstre konsantrasyonu olarak tanımlandı. Sitotoksosite bulguları sonucunda antiviral aktivite çalışması için toksik etkinin görülmediği en yüksek konsantrasyondaki ekstraların kullanılmasına karar verildi.

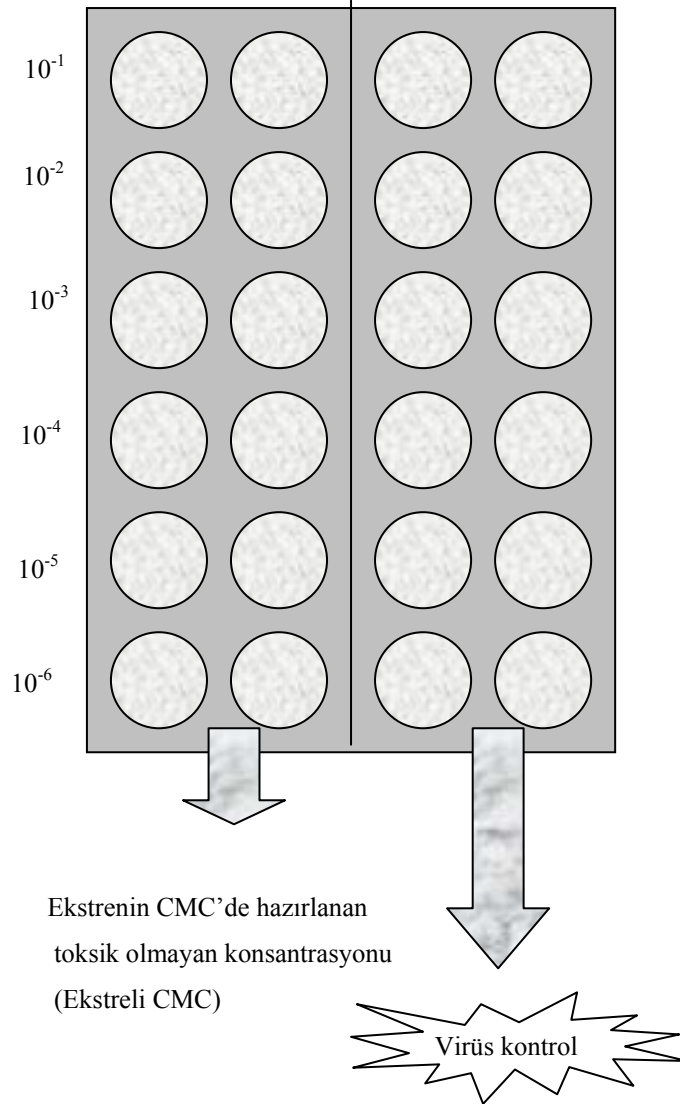
Virüsün log₁₀ Tabanına Göre Sulandırılarak Hazırlanması

100DKID₅₀'si bilinen BHV-1 virüsünün Cooper suşu log₁₀ tabanına göre 1×10^{-1} den 1×10^{-6} aralığına kadar sulandırıldı (Şekil 11).

Her bir dilüsyondan 4'er göze 200'er µl inokule edildi ve 1 saatlik adsorbsiyondan sonra ekstreler eklendi. Virüs kontrole ise sadece normal CMC eklendi ve etüve kaldırıldı (Şekil 12).



Şekil 11. Virüslerin seri seyreltilme işlemi



Şekil 12. Platelere genel görünüşü ve platelere uygulanan dilüsyon miktarları

Plak redüksiyon tekniği ile Antiviral Etkinin Tayini

Testin yapılışı

Virüsler %10 FBS (Fetal Bovine Serum) ve antibiyotik içeren DMEM ile kültüre edilen MDBK hücrelerinde üretildi ve infektivitesi Reed-Muench yöntemine göre tespit edildi. Bütün uygulamalarda hücreler 37 °C’de, nemli, %5 CO₂ içeren ortamda inkübe edildi.

Her ekstre için bir plate kullanıldı. MDBK hücrelerinin 24 saatlik monolayerleri farklı dilüsyonlarda hazırlanan BHV-1 Cooper suşu ile 0.2 ml (200 µl) hacimde infekte edildi ve 37 °C’de 1 saat virüs adsorbsiyona bırakıldı. Toksik olmayan 1 mg/ml’lik konsantrasyonda bitki ekstresi CMC (Carboxy-Methyl-Cellulose) ile sulandırılarak hazırlandı. Virüsün bir saatlik absorbsiyon periyodundan sonra hücre üzerine taze ekstre sulandırmalarının 1 mg/ml’lik çözeltisinden 1’er ml kondu. Plateler uzunlamasına 2’ye ayrıldı yarısına ekstre sulandırması diğer yarısına da sadece normal CMC çözeltisi konuldu. Deneylerde virüs ve hücre kontrolleri kullanıldı. Platelerde 37 °C’de, nemli, %5 CO₂ içeren etüvde en az 5 gün inkübe edildi. CPE’ler (Cito Patologic effect) mikroskopik olarak her gün gözlemlendi. Virüsün sitopatik etkisi ile meydana gelen plakların daha iyi görünmesi için tespit işlemi uygulandı. Testin sonunda hücrelerin tespit işlemi için platelerdeki kuyucukların her birinin üzerine 1 ml formaldehit eklendi. 1 saat bekletilerek tespit işlemi yapıldı. Tespit sonunda formaldehit çeşme suyu ile yıkanarak uzaklaştırıldı. Plateler kuruyuncaya kadar 37 °C’deki etüvde bekletildi. Plakların daha iyi görünmesi için platelerin kuyucuklarına %1’lik Kristal Viole’den 1’er ml ilave edilerek boyandı. Yarım saat bekletildikten sonra boyalar dökülerek yavaş akan çeşme suyu ile yıkama işlemi yapıldı. Plateler kurutma kağıdına vurularak kurutuldu. Ekstre ile muamele edilmiş ve muamele edilmemiş kültürlerdeki virüs plakları invert mikroskopta veya gözle sayıldı (9, 38, 57, 58).

Influenza Virus ve Herpes Simplex Virus’e Karşı Antiviral Etki

Çalışmalarda Sofya Bulgar Bilim Akademisi Mikrobiyoloji Enstitüsü koleksiyonu kaynaklı aşağıda isimleri verilen suşlar kullanılmıştır.

- *Avian Influenza Virus* A/Chicken/Germany/27; Weybridge (H7N7) (A/Weybridge)
- *Human Influenza Virus* A/Aichi/2/68 (H3N2) (A/Aichi)
- *Herpes Simplex Virüs Type I*; DA (HSV-I)
- *Herpes Simplex Virus Type II*; Bja (HSV-2)

Çalışmalar 1998 yılında Serkedjieva ve Hay tarafından yayınlanan ‘Antiviral araştırmalar’ adlı makaleye göre yapılmıştır (67).

Test Ekstrelerinin Hazırlanması

V. inulifolium bitkisinden elde edilen diklorometanlı ekstresinin 2 g’ı diklorometan’da (DMC) ve metanollü ekstrenin 2 g’ı dimetilsülfoksitte (DMSO % 10’luk) çözüldü. Ayrıca ekstreler deneyler sırasında hücre kültür ortamında da 2-4 kat seyreltildi

Testin Yapılışı

MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) ve MDBK (Madin-Darby Bovine Kidney) hücreleri Dulbecco’s Eagle ortamında (Gibco BRL, Scotland , UK) pasajlandı ve %5 fetal calf serumu (FCS) (Bio Whittaker Europe, Germany) ve 100 IU/ml benzilpenisilin ve 100 mg/ml streptomisin antibiyotikleri eklendi; hücre kültürleri 37°C’de % 5 CO₂ varlığında monolayer formasyonları oluşuncaya kadar yetiştirildi. Antiviral deneyler sırasında % 0,5 FCS eklendi.

Virüslerin log₁₀ Tabanına Göre Sulandırılarak Hazırlanması

Avian Influenza Virus A/Chicken/Germany/27’nin Weybridge (H7N7) (A/Weybridge) suşu ve *Human Influenza Virus* A/Aichi/2/68 (H3N2) (A/Aichi) suşu 11 günlük fertil tavuk yumurtasında büyütüldü ve allantoik sıvı virüs aşılanması için kullanıldı. Virüs infeksiyon titrasyon aralığı 10⁶-10⁷ TCID₅₀/ml (%50 doku kültürü infeksiyon dozu/ml) ve hemaglutinasyon (HA) titrasyon aralığı 1024-2048 değerlerinin

üzerindedir. *Herpes Simplex Virüs Type I*'in DA (HSV-1) suşu ve *Herpes Simplex Virus Type II*'nin Bja (HSV-2) suşu MDBK hücrelerinde pasajlandı, bunların enfeksiyon titrasyonu $10^{9,5}$ - 10^{13} TCID₅₀/ml aralığının üzerindedir. Hazırlanan virüs stokları -80°C'de saklanmıştır.

Sitotoksosite Tayini

96 bölmeli plastik platelerde birbirine karışmış MDCK ve MDBK hücre monolayerları büyüme ortamında 4 kat seyreltilmiş bitki ekstraktları ile inkübe edildi. İnkübasyonun 24, 48 ve 72'ci saatlerde hücre morfolojisinde gözlenen değişiklikler ve yaşama kabiliyetleri mikroskopik olarak incelendi. İnvirt mikroskop altında sitopatik etki (CPE) tesbit edildi. Buna göre; sonuç 0 =0 %CPE, sonuç 1 = 0-25 % CPE, sonuç 2 =25-50 % CPE, sonuç 3 =50-75 % CPE, sonuç 4 =75-100 % CPE aralıkları belirlenmiştir. Böylece %50 CPE (TC₅₀)'den sorumlu dilüsyon oranı hücre kontrolü ile belirlenmiş oldu.

'Cytopathogenic Effect Reduction (CPE)' Testi

Antiviral etki çalışmaları sırasında virüslerin yeniden üremesi için virüs tarafından oluşturulan sitopatolojik etki (CPE), ölçü olarak kullanıldı.

96 gözlü platelerde 4 katlı monolayerler, 2 kat (2X) ilaç içeren ortam (0.1 ml) ve eşit miktarda virüs süspansiyonu ile kaplandı (100 TCID₅₀/ml). Virüs tarafından oluşturulan CPE'ler yukarıda belirtildiği gibi 37°C'de 48-72 saat inkübe edildikten sonra tespit edildi. CPE'yi %50 (EC₅₀) azaltan konsantrasyon, virüs kontrolü ile birlikte (virüs enfekte edilmiş kontrol hücreleri) grafiklerden yararlanılarak belirlendi.

Buna göre seçici index (SI) TC₅₀ / EC₅₀ oranı tanımlandı. Seçici index'in ≥ 4 olmasının anlamlı seçici inhibisyon olarak değerlendirildi.

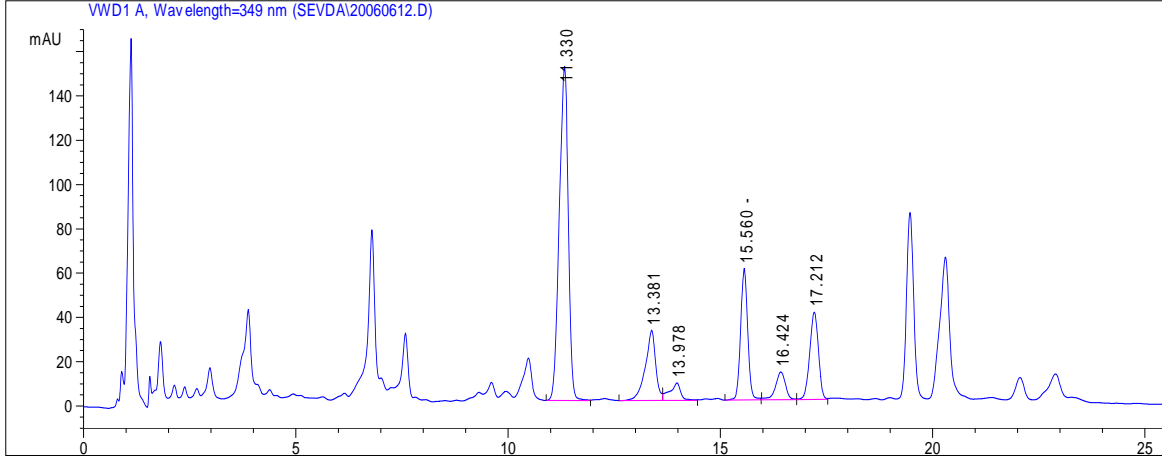
'%50End Point Titration Technique (EPTT)' ile yapılan Test

Bu teknik Vanden Berghe ve arkadaşları tarafından 1986 yılında belirlenen yöntemle yapıldı. Bu yöntemle; 96 gözlü mikrotitrasyon platelerin 4 katlı monolayerleri, 10 kat seyreltilmiş virüs süspansiyonunun 0,05 ml'si ile enfekte edildikten sonra doku kültür ortamında (0,05 ml) 2 kat seyreltilmiş şekli eklendi ve kültürler

37°C'de inkübe edilerek CPE'ler mikroskopta günlük olarak incelendi. CPE yukarıda tanımlandığı gibi hesaplandı.

Kontrol virüsleri ile, uygulama yapılan virüsler arasındaki virüs titrasyon farkına göre antiviral aktivite tespit edildi ve Student-T testi ile de farkın anlamlı olup olmadığı değerlendirildi. %90 oranında etkili olan yani viral infeksiyon titrasyonunun 1 log TCID₉₀/ml'lik azalmasına neden olan konsantrasyon (EC₉₀) grafiklerden yararlanılarak belirlendi.

Nezle tedavisinde kullanılan Rimantadin hidroklorür ve herpes tedavisinde kullanılan BVDU ((E)-5-(2-bromovinil)2'-deoksiuridin) ilacı pozitif kontrol olarak kullanıldı (67, 68).



Mirsetin: 11.330

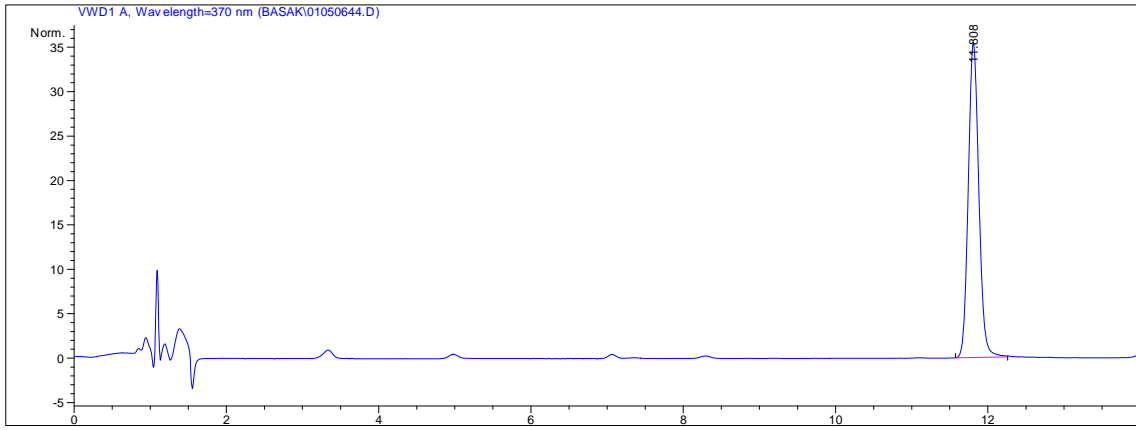
Morin: 13.381

Luteolol: 15.560

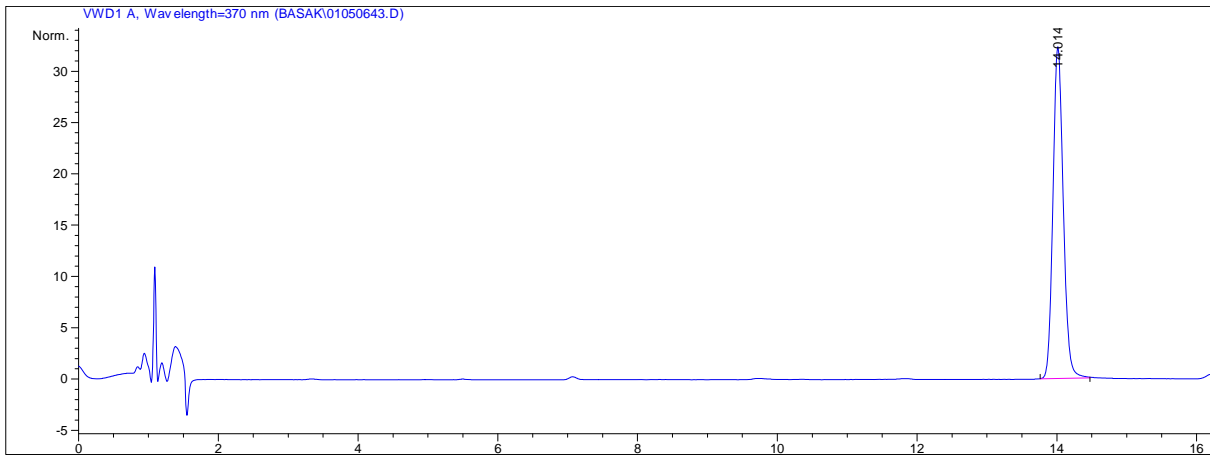
Kemferol: 20.320

İzoramnetin: 21.120

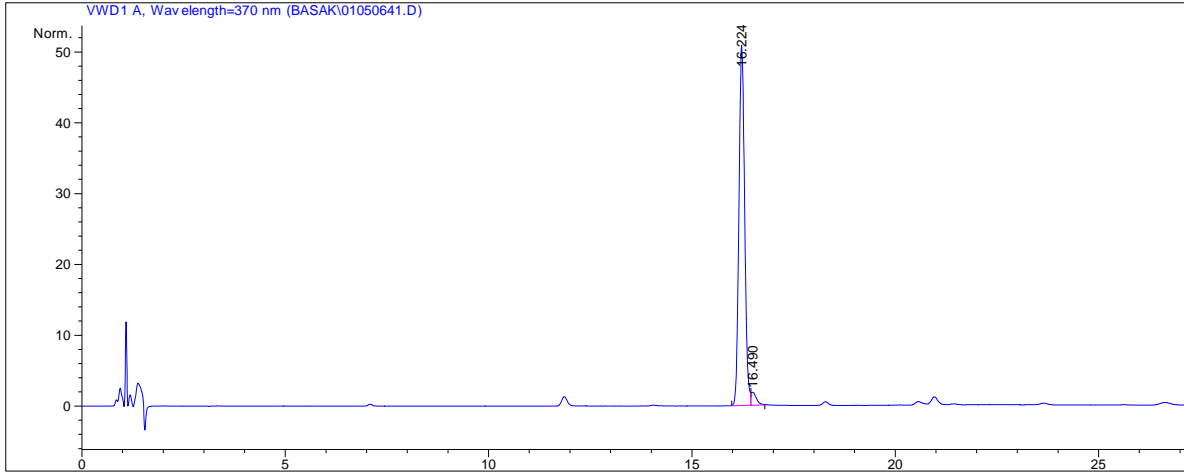
Kromatogram 2. *V. inulifolium* bitkisinin YBSK kromatogramı (λ: 349 nm)



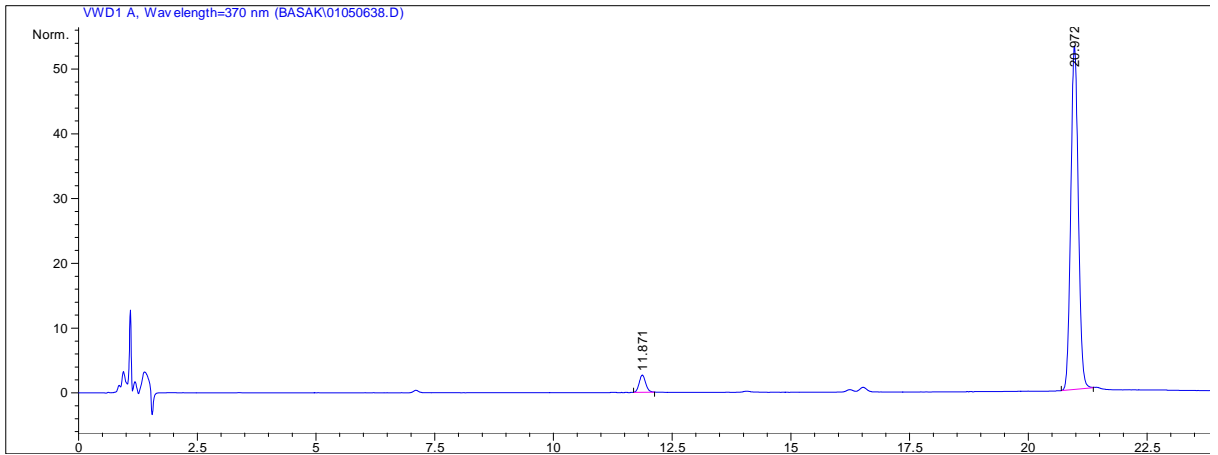
Kromatogram 3. Mirsetin standardının YBSK kromatogramı



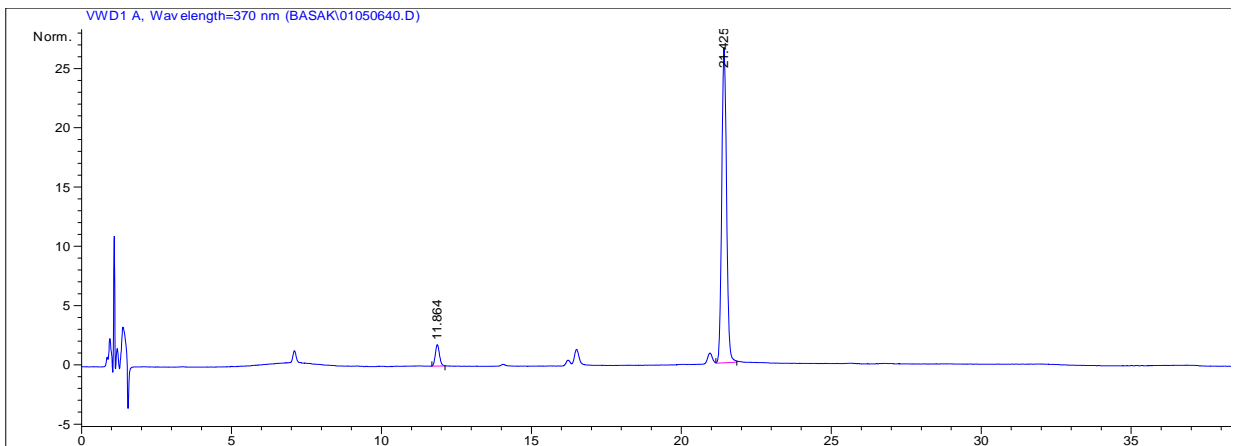
Kromatogram 4. Morin standardının YBSK kromatogramı



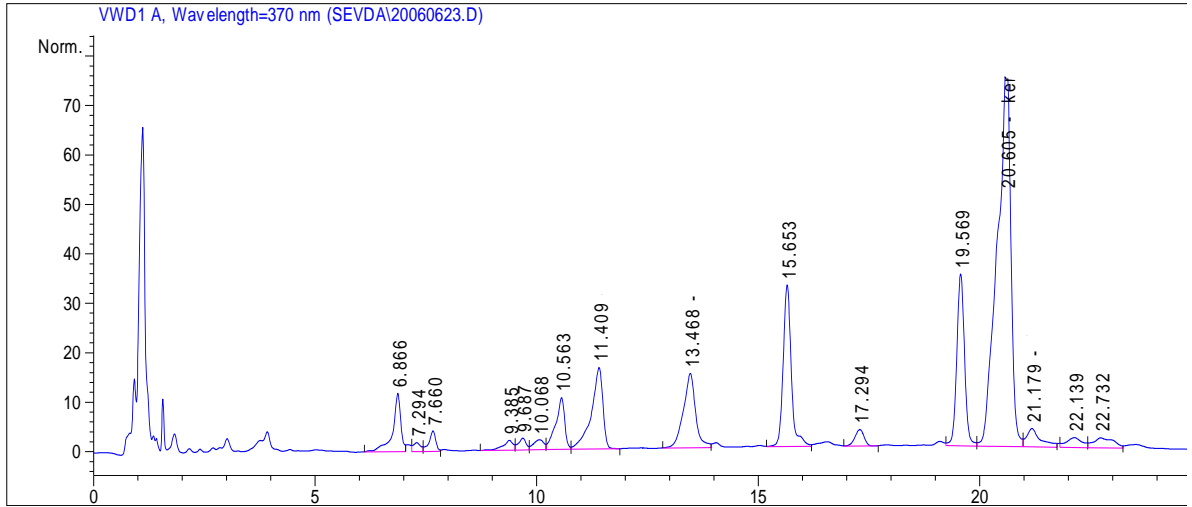
Kromatogram 5. Luteolol standardının YBSK kromatogramı



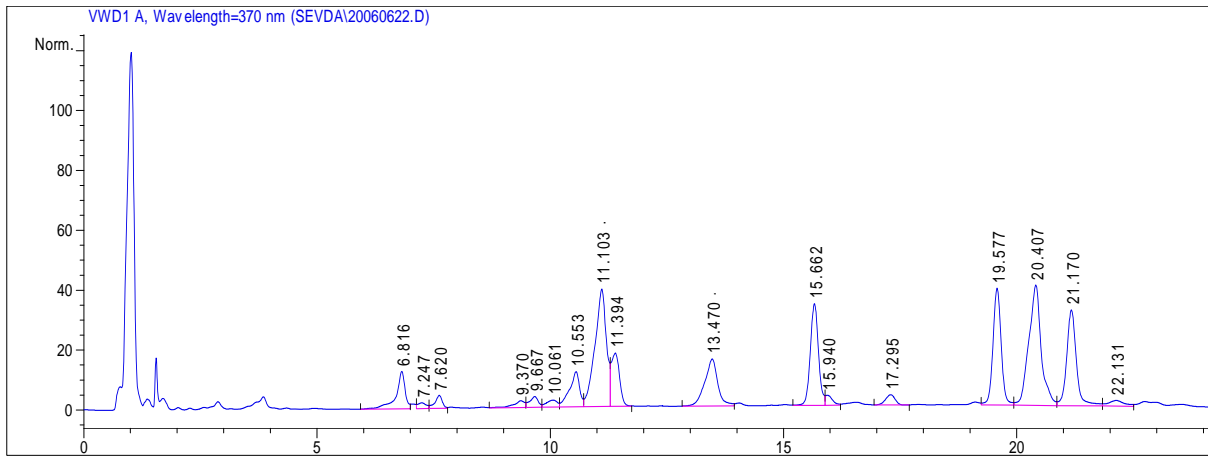
Kromatogram 6. Kemferol standardının YBSK kromatogramı



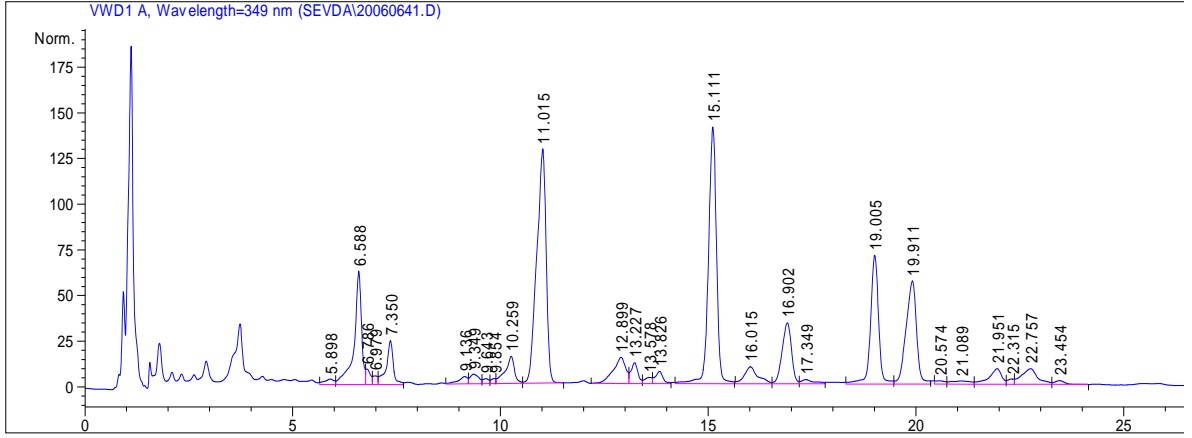
Kromatogram 7. İzoramnetin standardının YBSK kromatogramı



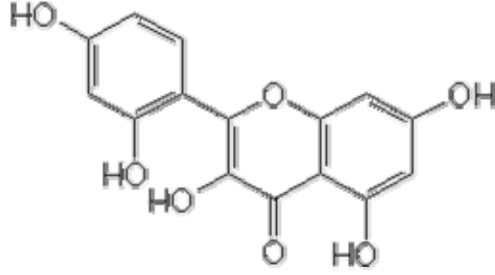
Kromatogram 8. *V. inulifolium* + Kemferol standardının YBSK kromatogramı



Kromatogram 9. *V. inulifolium* + mirsetin + izoramnetin standartlarının YBSK kromatogramı

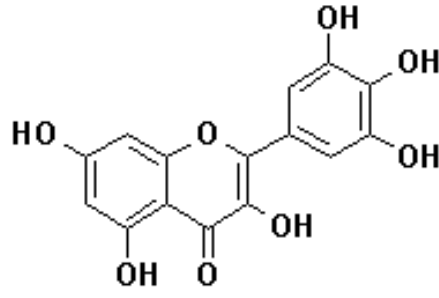


Kromatogram 10. *V. inulifolium* + Luteolol standardının YBSK kromatogramı

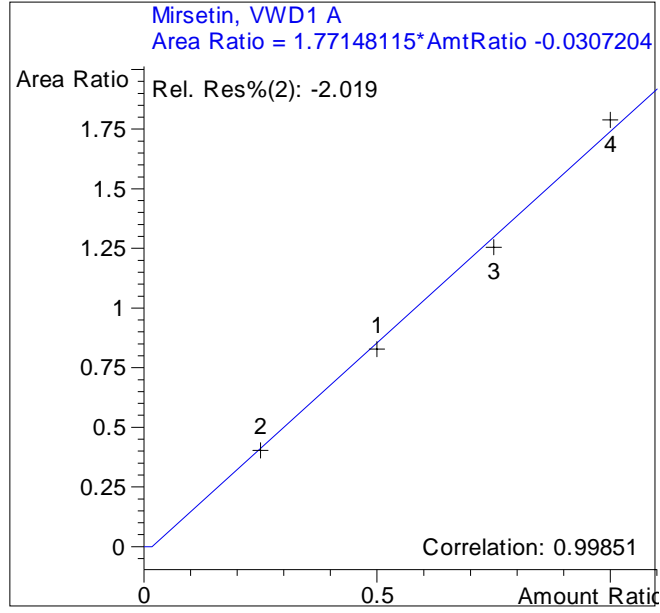


Morin

Şekil 13. İnternal standart morin'in molekül formülü

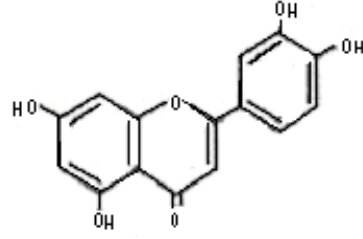


Mirsetin

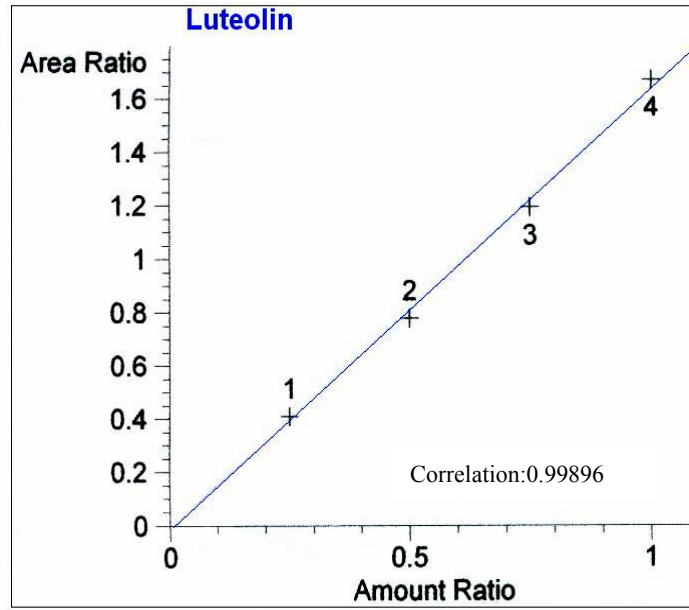


$$y = 1.77148x - 3.07204e^{-2}$$

Şekil 14. Mirsetin molekül formülü, kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi

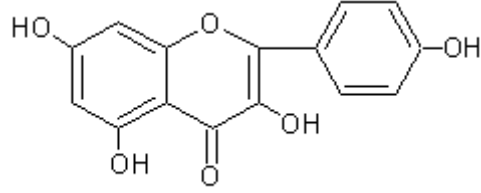


Luteolol

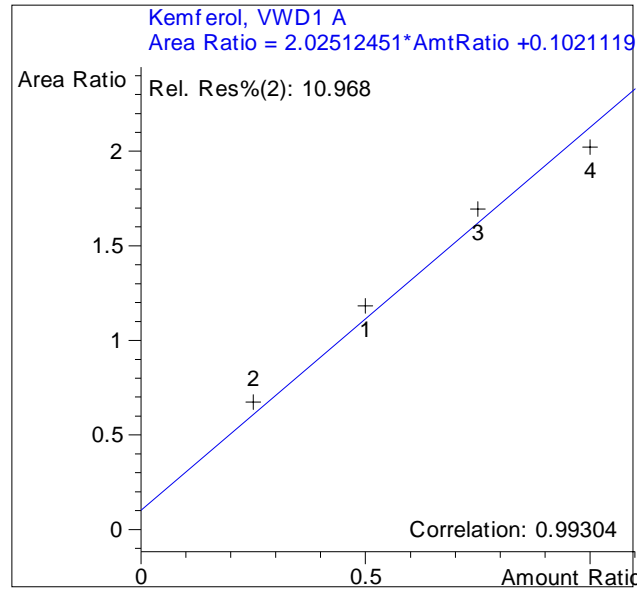


$$y = 1.64928x - 1.46653e^{-2}$$

Şekil 15. Luteolol molekül formülü, kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi

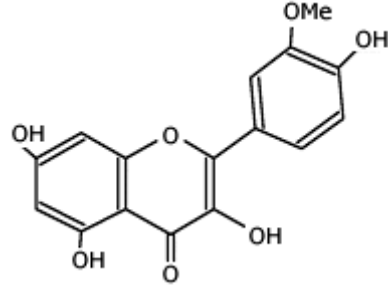


Kemferol

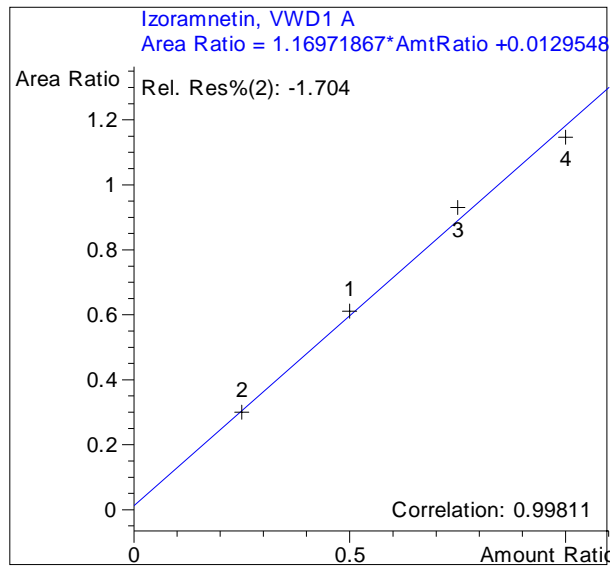


$$y = 2.02512x + 1.02112e^{-1}$$

Şekil 16. Kemferol molekül formülü, kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemini



İzoramnetin



$$y = 1.16972x + 1.29548e^{-2}$$

Şekil 17. İzoramnetin molekül formülü, kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi

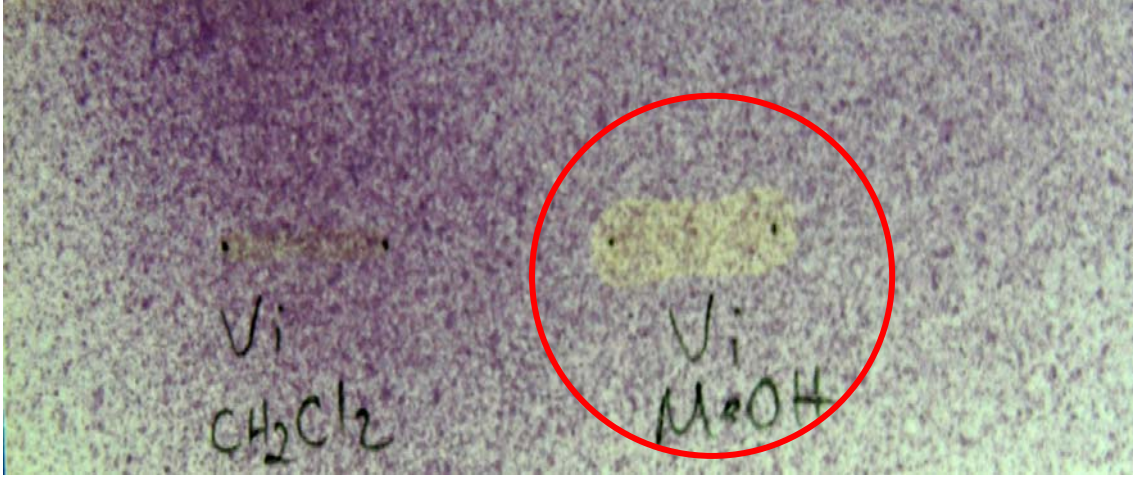
Tablo 30. *V. inulifolium*'da bulunduğu saptanan flavonoidlerin yzde miktarları

Flavonoidler	Yzde miktarları
Mirsetin	0.097767±0.0036223
Luteolol	0.158933±0.0004807
Kemferol	0.234000±0.0044230
İzoramnetin	0.035500±0.0034429

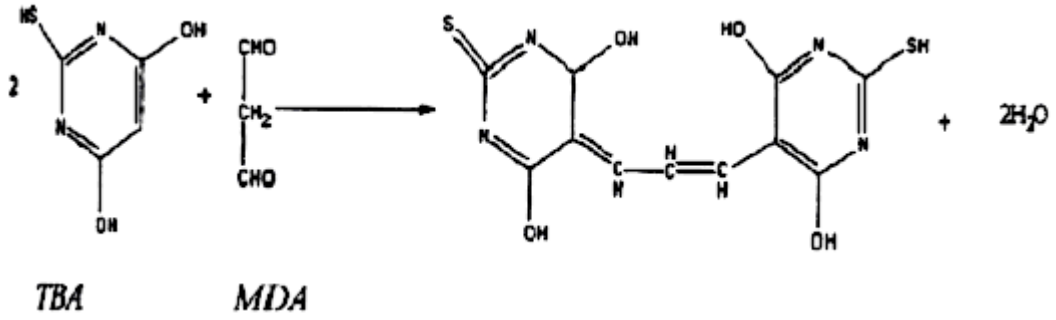
V. inulifolium'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinde bulunduğu saptanan flavonoidlerin yzde miktarları, üç kez yapılan enjeksiyonlar sonucu, tanımlayıcı istatistikler SPSS 11.5 paket programında hesaplanarak ortalama ± standart hata cinsinden Tablo 30'da verilmiştir. Ekstrede bulunan flavonoidlerden kemferol (%0.234000±0.0044230) miktarının diğer bileşiklere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur.

4.2 Antioksidan Etki Çalışmasının Sonuçları

2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Testi ile yapılan incelemede sadece metanol ekstresinin etkili olduğu gözlenmiştir. Deneye ait ince tabaka kromatogramı Resim 3'te görülmektedir. Bu nedenle Tiyobarbitürik asit (TBA) Testi metanol ekstresi ile yapılmış ve Propil gallat pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Sonuçlar Tablo 31'de görülmektedir.



Resim 3. *V. inulifolium* bitkisinin metanollü ekstresinde gözlenen DPPH testine ait ince tabaka kromatogramı



Şekil 18: MDA ile Tiyobarbitürik asit'in reaksiyonu (69)

Tablo 31. *V. inulifolium* metanollü ekstresine ait Tiyobarbitürik asit (TBA) test sonuçları

<i>V. inulifolium</i>	IC ₅₀ mg/ml
Metanol ekstresi	0.13
Propil gallat (pozitif kontrol)	0.02

Yapılan testler sonucu bitkinin metanollü ekstresinde pozitif kontrol propil gallat ile karşılaştırıldığında çok yüksek antioksidan aktivite gözlenirken; bitkinin diklorometanlı ekstresinde antioksidan aktiviteye rastlanmamıştır.

4.3 Antibakteriyel Etki Çalışmasının Sonuçları

V. inulifolium'un toprak üstü kısımlarından elde edilen metanollü ve diklorometanlı ekstralar 3 Gram (+) ve 2 Gram (-) bakteriye karşı antibakteriyel etki açısından makrodilüsyon yöntemi ile test edilmiştir.

Yapılan çalışmada *V. inulifolium*'dan elde edilen metanollü ekstrenin Gram (+) bakterilerden *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği (MIC: 640 µg/ml, MBC: 1280 µg/ml) buna karşı *S. aureus* ve *B. subtilis* ile Gram (-) bakteriler olan *E. coli* ve *P. aeruginosa* karşı antibakteriyel aktivite göstermediği görülmüştür (Tablo 32). Bitkinin diklorometanlı ekstresinin ise Gram (+) bakterilerden *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği; *B. subtilis*'e karşı antibakteriyel etki göstermediği bulunmuştur. Testte kullanılan Gram (-) bakterilerin tamamına karşı diklorometanlı ekstrenin 5120 µg/ml dilüsyonda minimum inhibisyon gösterdiği saptanmıştır.

Gram (+) bakterilerden *B. subtilis* de metanollü ve diklorometanlı ekstraların bütün dilüsyonlarında tüplerin bulanık olduğu yani bakteri üremesinin olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak her iki bitki ekstresinde, *B. subtilis*'e karşı antibakteriyel aktivite görülmemiştir. Testlerde kullanılan ekstralardan diklorometan ekstresinin kullanılan 5 mikroorganizmadan ikisi üzerinde MIC ve MBC açısından etkili oldukları görülmektedir. Ekstre Gram (-) bakterilere karşı ise inhibitör etki göstermektedir.

Tablo 32. *V. inulifolium* ekstralarının makrodilüsyon yöntemi ile antibakteriyel etki çalışmasına ait sonuçları

Bakteriler	MIC / MBC (µg/ml)	
	Metanol Ekstresi	Diklorometan Ekstresi
Gram(+) Bakteriler		
<i>B. subtilis</i>	-	-
<i>S. aureus</i>	-	5120 / 5120
<i>E. faecalis</i>	640 / 1280	2560 / 2560
Gram (-) Bakteriler		
<i>E. coli</i>	-	5120 (MIC)
<i>P. aeruginosa</i>	-	5120 (MIC)

MBC: Minimum bakterisidal konsantrasyon

MIC: Minimum inhibisyon konsantrasyonu

-:Etkisiz

4.4 Antiviral Etki Çalışmalarının Sonuçları

Tablo 33'te görüldüğü gibi *V. inulifolium* bitkisinin metanollü ekstresi; *Avian Influenza Virus A / Chicken / Germany / 27*'nin Weybridge (H7N7) (A/Weybridge) suşuna karşı belirgin antiviral etki göstermektedir (SI: 8.0). Bitkinin metanollü ekstresi ise *Human Influenza Virus A/Aichi/2/68* (H3N2) (A/Aichi) suşuna karşı (SI: 16.0) yüksek antiviral etki göstermiştir. Ekstrenin EC₅₀ değeri 0.1 mg/ml'dir.

Tablo 33. *V. inulifolium* ekstrelerinin *Influenza* virus suşlarına karşı gösterdiği antiviral etki sonuçları

Ekstre	MDCK hücreleri	A/Weybridge (H7N7)			A/Aichi (H3N2)		
	TC ₅₀ ^a mg/ml	EC ₅₀ ^b mg/ml	SI ^c	EC ₉₀ ^d Mg/ml	EC ₅₀ ^b mg/ml	SI ^c	EC ₉₀ ^d mg/ml
Metanol ekstresi	1.6	0.2	8.0	-	0.1	16.0	0.1
Diklorometan ekstresi	1.6	0.4	4.0	-	0.6	2.7	-

^a 50% toksik konsantrasyon, hücre kültürlerinin 50%'inde gözle görülebilen değişikliğe neden olan, istenen doz

^b 50% etkili konsantrasyon, Virüslerin neden olduğu CPE'lerde 50% redüksiyona neden olan doz

^c Seçici indeks (TC₅₀/EC₅₀).

^d 90% etkili konsantrasyon, virüslerde virüs enfeksiyonunda 1 lg TCID₅₀/ml'lik azalmaya neden olan doz
A/Weybridge (H7N7): *Avian Influenza Virus A/Chicken/Germany/27*'nin Weybridge (H7N7) (A/Weybridge) suşu,
A/Aichi (H3N2): *Human Influenza Virus A/Aichi/2/68* (H3N2) (A/Aichi).

Tablo 34'te görüldüğü gibi bitkinin metanollü ekstresi *Herpes Simplex Virus Type I* ve *Type II* virüslerine karşı antiviral etki göstermemiştir. Diklorometanlı bitki ekstresi metanollü bitki ekstresine göre daha düşük etkili olmakla birlikte tüm virüslere karşı etki göstermiştir. Özellikle ekstrenin *Avian Influenza Virus A / Chicken / Germany / 27*'nin Weybridge (H7N7) (A/Weybridge) suşuna karşı (SI: 4.0) diğer virüslere göre biraz daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

V. inulifolium bitkisinin metanollü ve diklorometanlı ekstrelerinin *Bovine Herpes Virus Type-1* (BHV-1) virüsünün Cooper standart suşuna karşı hiçbir dilüsyonda etki göstermediği saptanmıştır.

Tablo 34. *V. inulifolium* ekstralarının *Herpes simplex* virus suşlarına karşı gösterdiği antiviral etki sonuçları

Ekstre	MDBK hücreleri		HSV-1		HSV-2		
	TC ₅₀ ^a Mg/ml	EC ₅₀ ^b mg/ml	SI ^c	EC ₉₀ ^d mg/ml	EC ₅₀ ^b mg/ml	SI ^c	EC ₉₀ ^d mg/ml
Metanol ekstresi	1.1	> TC ₅₀	-	-	> TC ₅₀	-	-
Diklorometan ekstresi	0.62	0.31	2.0	-	0.31	2.0	-

^a 50% toksik konsantrasyon, hücre kültürlerinin 50%'inde gözle görülebilen değişikliğe neden olan, istenen doz

^b 50% etkili konsantrasyon, Virüslerin neden olduğu CPE'lerde 50% redüksiyona neden olan doz

^c Seçici indeks (TC₅₀/EC₅₀).

^d 90% etkili konsantrasyon, virüslerde virüs enfeksiyonunda 1 lg TCID₅₀/ml'lik azalmaya neden olan doz

HSV-1: *Herpes Simplex Virüs Type I* in DA

HSV-2: *Herpes Simplex Virus Type II* in Bja

5. TARTIŞMA

Verbascum cinsi *Scrophulariaceae* familyasına ait bir cins olup dünyada 360 kadar tür ile temsil edilirken ülkemizde bu cinsin 185'i endemik olmak üzere 233 türü ve 100'den fazla hibriti bulunmaktadır (1, 2, 18-20) *Verbascum* türleri, ekspektoran, diüretik, yatıştırıcı, demulsan, sedatif gibi etkileri nedeniyle halk arasında dahilen ve haricen kullanılan ve antiviral, antibakteriyel, antifungal, sitotoksik ve antitümör, immunomodülatör, antihepatoma, antioksidan ve antiülser aktiviteleri çeşitli araştırmalarla saptanmış olan bitkilerdir (3, 6, 9, 22, 25-27). Türkiye'de "sığır kuyruğu veya kral şamdanı" isimleri ile tanınan *Verbascum* türlerinin liyofilize infüzyonları terletici, balgam söktürücü, yatıştırıcı, idrar arttırıcı ve göğüs yumuşatıcı etkileri nedeniyle kullanılmakta, bazı *Verbascum* türlerinden haricen yaraları kurutmada, anal fistul ve ürogenital organlardaki pürüritik durumlarda faydalanılmaktadır (23, 24). Türkiye'de *V. phlomoides*, *V. thapsiforme* ve *V. thapsus* türleri halk arasında yaygın olarak kullanılan türlerdir ve çiçeklerinden diüretik, sedatif ve ekspektoran amaçla yararlanılmaktadır (3). Özellikle çok tanınan türler olan *V. thapsus*, *V. phlomoides*, *V. lychnitis* ve *V. nigrum* geleneksel tıpta yaygın kullanımları nedeniyle üzerinde çok sayıda araştırma yapılmış olan türlerdir (4).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde halk tıbbında; *Verbascum* cinsi bitkilerde; iridoit glikozitler, oleanan tip triterpenik saponozitler, fenilpropanoitler ve feniletanoit glikozitler, flavonoitler, steroidler, seskiterpen asitler, makrosiklik dimer lakton ve alkaloidler gibi sekonder metabolitlerin bulunduğu tespit edilmiştir (6, 25).

Günümüzdeki *Verbascum* türleri ile yapılan tüm araştırmalar bitkide bulunan bileşiklerin izolasyonları, yapı-miktar tayinleri ve çeşitli aktivite çalışmaları şeklindedir. Tez konusunu oluşturan *V. inulifolium* bitkisi Türkiye'de yetişen endemik bir tür olup günümüze kadar fitokimyasal ve biyoaktivite açısından incelenmemiştir. Bu çalışmada *V. inulifolium* bitkisinden elde edilen metanollü ekstrenin flavonoit içeriği açısından incelenmesi amaçlanmış ve ekstre Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) yöntemi ile analiz edilmiştir. Yapılan YBSK analizlerinde bitkide bulunan flavonoitler; standart bazı flavonoitlerle (mirsetin, luteolol, morin, kersetol, kemferol ve izoramnetin) karşılaştırılarak kalitatif ve kantitatif olarak incelenmiştir. Bitkinin metanollü

ekstresinde mirsetin (%0.097767±0.0036223), luteolol (%0.158933±0.0004807), kemferol (%0.234000±0.0044230) ve izoramnetin (%0.035500±0.0034429) flavonoidlerinin bulunduğu gözlenmiştir. Ekstrede bulunduğu saptanan flavonoidlerden kemferol'ün (%0.234000±0.0044230) miktarının diğer bileşiklere göre daha yüksek olduğu da belirlenmiştir.

V. inulifolium bitkisinden elde edilen metanollü ve diklorometanlı ekstralar aynı zamanda biyolojik aktiviteler açısından (antioksidan, antibakteriyel ve antiviral etki) da araştırılmıştır.

V. inulifolium ekstraları ile yapılan antioksidan etki testleri 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve Tiyobarbitürik asit (TBA) yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Yapılan testler sonucu bitkinin metanollü ekstresinin çok yüksek düzeyde antioksidan etkiye sahip olduğu gözlenirken; diklorometanlı ekstrede antioksidan etkiye rastlanmamıştır.

Literatürde çeşitli *Verbascum* türlerinin antioksidan etki açısından incelendikleri görülmektedir. Aligiannis ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları çalışmada, *V. macrurum*'un toprak üstü kısımlarından hazırladıkları metanollü ekstrenin antioksidan etkisini DPPH yöntemi ile incelemiş ve ekstrenin antioksidan etkiye sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca çalışmada Lancimat metodu da uygulanmıştır ve bitkiden izole edilen fenilpropanoitler ve iridoit glikozitler de test edilmiştir. Fenilpropanoit glikozit olan okteozit bileşiğinin diğer bileşiklere göre serbest radikal süpürücü potansiyelinin çok yüksek olduğu ve ay çiçek yağının oksidatif ransiditisine karşı en yüksek koruma faktörüne sahip olduğu gözlenmiştir (49).

Akdemir ve arkadaşları 2003 yılında *V. salviifolium* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrede 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ile aktif olduğu tespit edilen flavonoidler bulmuş ve bunların radikal süpürücü etkilerini incelemiştir. Sonuç olarak 4 flavonoid glikozit izole edilmiş olup bunlardan apigenin-7-O-β-glukopiranozit ve krizoeriyol-7-O-β-glukopiranozit'in DPPH'ye karşı radikal süpürücü etki gösterdiği saptanmıştır (52). Çalış ve arkadaşları 2001 yılında yaptıkları çalışmada *V. wiedemannianum* türünün köklerinden hazırladıkları metanollü ekstrede radikal süpürücü etki saptamıştır (61). *V. wiedemannianum* türünün kökleri ve toprak üstü kısımlarının metanollü ekstralarından izole edilen 4 yeni feniletanoit glikozit ve bilinen feniletanoit glikozitler 2,2-difenil-1-pikrilhidrazile (DPPH) karşı radikal

süpürücü etki açısından incelenmiştir. Yeni bileşiklerden wiedzmanniozit B,C ve bilinen feniletanoit glikozitlerin antioksidan etkili oldukları görülmüştür. İleri spektroskopik yöntemlerle yapılan testlerde ise sadece verbaskozit ve ekinakozitte belirgin bir aktivite görülmüştür (25).

Tepe ve arkadaşlarını yaptığı bir çalışmada *V. wiedzmannianum*'un metanollü ekstresi DPPH serbest radikal süpürücü etki ve β -karoten / linoleik asit testleri gibi iki farklı yöntemle incelenmiştir. DPPH yönteminde diğer bitkilere göre *V. wiedzmannianum* bitkisi oldukça zayıf antioksidan aktivite gösterirken β -karoten / linoleik asit testinde ise *V. wiedzmannianum* diğer bitkilere göre 2. sırada antioksidan etki göstermiştir (62).

Literatürde antioksidan etki açısından incelenmiş ve *Verbascum* türlerinin metanollü ekstrelerinin etkili oldukları; bu etkinin de bileşimdeki feniletanoit, fenilpropanoit ve flavonoid gibi sekonder metabolitlerden kaynaklandığı görülmüştür. Tez konusunu oluşturan *V. inulifolium*'un da metanollü ekstresinde bu etkinin yüksek bulunmuş olması literatür bulguları ile uyumludur ve ekstrenin daha ileri fitokimyasal araştırmalarla incelenmesi gerekliliğini ortaya koymuştur. Özellikle metanollü ekstrenin kemferol ve luteolol açısından zengin olduğu YBSK sonuçlarında görülmektedir.

V. inulifolium bitkisinde yapılan antibakteriyel etki çalışmalarında diklorometanlı ve metanollü ekstrelerin; *B. subtilis*, *E. faecalis* ve *S. aureus* gibi Gram(+) bakteriler ve *P. aeruginosa* ve *E. coli* gibi Gram (-) bakterilere karşı etkileri makrodilüsyon yöntemi ile incelenmiştir. Sonuçta; *V. inulifolium*'dan elde edilen metanollü ekstrenin Gram (+) bakterilerden *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği (MIC 640 μ g/ml, MBC 1280 μ g/ml) buna karşı *S. aureus* ve *B. subtilis* ile Gram (-) bakteriler olan *E. coli* ve *P. aeruginosa* karşı antibakteriyel aktivite göstermediği görülmüştür.

Bitkinin diklorometanlı ekstresinin ise Gram (+) bakterilerden *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği; *B. subtilis*'e karşı antibakteriyel aktivite göstermediği bulunmuştur. Testte kullanılan Gram (-) bakterilerin tamamına karşı diklorometanlı ekstrenin 5120 μ g/ml dilüsyonda minimum inhibisyon gösterdiği saptanmıştır.

V. inulifolium bitkisinden elde edilen metanollü ve diklorometanlı ekstrelerde *B. subtilis*'e karşı antibakteriyel aktivite görülmemiştir. Testler de kullanılan ekstrelerden diklorometan ekstresinin, kullanılan 5 mikroorganizmadan ikisi üzerinde MIC ve MBC

açısından etkili oldukları görülmektedir. Ekstre Gram (-) bakterilere karşı ise inhibitör etki göstermektedir.

Brantner ve Grein 1994 yılında yaptıkları çalışmada *V. phlomoides* bitkisinin çiçeklerinden hazırladıkları sulu ekstrenin *S. aureus*, *E. faecalis* ve *B. subtilis* gibi Gram (+) bakterilere ve *E.coli* gibi Gram(-) bakterilere karşı etkili olmadığını belirlemiştir (55).

Barbour ve arkadaşları *V. leptostychem* bitkisinden elde ettikleri sulu ve metanollü ekstrelerin invitro ortamda *E. coli*, *Proteus sp.*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitelerini incelemiş ve metanollü ekstrenin MIC değerlerinin *E. coli* ve *S. aureus* için 1:3.5 aralığında değiştiğini; bitkinin metanollü ekstresinin sulu ekstresine göre mikroorganizmalara karşı daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Bu da metanollü çözücülerin bitkideki pek çok bileşiği çözebilmesinden kaynaklanmaktadır (56).

Tadeg ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları çalışmada Etiyopya'da geleneksel tıpta kullanılan *V. sinaiticum* bitkisinin; *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesini araştırmış ve *V. sinaiticum*'un sulu-alkollü çözeltisinin *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ye etkili iken diğer mikroorganizmalara karşı etkili olmadığını görmüştür (16).

Bir diğer çalışmada Geyid ve arkadaşları, *V. sinaiticum* bitkisinin yapraklarından elde ettikleri metanollü ekstrenin; *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antibakteriyel etkisini agar dilüsyon metodunu kullanarak incelemişler ve ekstrenin incelenen konsantrasyonlarının (250-2000 µg/l) bu bakteride antibakteriyel etki göstermediğini bulunmuştur (17).

Türkiye'de yetişen *Verbascum* türlerinin de antimikrobiyal etkilerinin incelendiği bazı araştırmalar bulunmaktadır. *V. thapsus* bitkisinden hazırlanan ve ticari olarak piyasada bulunan çay, tablet ve çiçeklerinden elde edilen yağı ile bitkinin kapsül ve yapraklarından hazırlanan metanollü, etanollü ve sulu ekstreleri kullanılarak *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakterilerinin antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. *V. thapsus*'un çiçeklerinden hazırlanan yağın bu bakterilerde büyümeyi inhibe ettiği gözlenmiştir. Yapraklardan ticari olarak hazırlanan dekoksilyon *P. aeruginosa* dışındaki bakterilerde etkili olmuştur. Genel olarak bitkiden hazırlanan sulu ekstrelerin antibakteriyel aktivite yönünden diğerlerine göre daha etkili olduğu gözlenmiştir.

Yapılan testlerde sulu ekstre *S. aureus* karşı hassasiyet göstermiştir. Yapılan araştırmalar sonucu sıcak suyla hazırlanan bitki infüzyonlarının ve sıcak suda kaynatılarak hazırlanan dekoksasyonlarının en etkili preparatlar olduğu belirlenmiştir. McCutcheon ve arkadaşları tarafından daha önce yapılan çalışmalarda *V. thapsus* bitkisinin metanollü ekstresinin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur. Türker ve Camper'in yaptığı bu çalışmada ise metanollü ekstrenin *E. coli*'nin büyümesine etki etmediği gözlenmiştir. Bu durum biyolojik olarak değerlendirilirse ekstre hem Gram (+) hem de Gram (-) bakterilere karşı aktivite göstermektedir (6).

Dülger ve Gönüz'ün 2004 yılında yaptığı çalışmada *V. gypsicola* bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresini kullanarak bitkinin; *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı antibakteriyel etkisi incelenmiş ve ekstrenin *E. coli* ve *P. aeruginosa* gibi Gram (-) bakterilere karşı aktivite göstermediği buna karşılık *S. aureus* gibi Gram (+) bakteriye karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca *S. aureus*'un *V. gypsicola* bitkisinden hazırlanan ekstreye karşı standart antibiyotikler OFX5 ve TE30'la karşılaştırıldığında daha hassas olduğu da görülmüştür. Meurer-Grimes ve arkadaşlarının *Verbascum* L. türlerinden 9'u ile yaptığı antimikrobiyal aktivite çalışmasında güçlü antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir. Ekstrelerin özellikle Gram(+) bakterilerden *S. aureus* karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Araştırmalar *Verbascum* türlerinin Gram (+) bakterilere ve mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Bu durumda genel olarak Gram (-) bakterilerin hücre duvarlarındaki lipopolisakkaritlerden dolayı Gram (+) bakterilere göre ekstrele karşı daha dirençli olduğu sonucunu düşündürmektedir (3).

Tez çalışmamızda incelenen türde özellikle diklorometan ekstresinin kullanılan mikroorganizmalardan *B. subtilis* hariç hepsine etkili olması dikkat çekicidir. Ekstrenin Gram (+) bakteriler *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı bakterisidal olarak da etkili ve MBC değerlerinin 2560-5120 µg/ml dilüsyonlarda olduğu saptanmıştır.

V. inulifolium bitkisinde yapılan antiviral aktivite çalışmalarında iki farklı polaritede hazırlanan ekstrelerin;

- *Avian Influenza Virus* A/Chicken/Germany/27'nin Weybridge (H7N7) (A/Weybridge) suşu
- *Human Influenza Virus* A/Aichi/2/68 (H3N2) (A/Aichi) suşu

- *Herpes Simplex Virüs Type I* in DA (HSV-1) suşu
- *Herpes Simplex Virus Type II* in Bja (HSV-2) suşu
- *Bovine Herpes Virus Type-1* (BHV-1) virüsünün Cooper standart suşlarına karşı antiviral etkisi incelenmiştir.

V. inulifolium bitkisinin metanollü ekstresi, *Human Influenza Virus A/Aichi/2/68* (H3N2) (A/Aichi) suşuna karşı antiviral etki göstermiştir. Ekstre *Avian Influenza Virus A / Chicken / Germany / 27*'nin Weybridge (H7N7) (A/Weybridge) suşuna karşı da etkili bulunmuştur. Ancak metanollü ekstre *Herpes simplex Virus Type I* ve *Type II* virüslerine karşı antiviral aktivite göstermemiştir. DCM'lı ekstre metanollü ekstreye göre daha düşük etkilidir. Özellikle *Avian Influenza Virus A / Chicken / Germany / 27*'nin Weybridge (H7N7) (A/Weybridge) suşuna karşı diğer virüslere göre biraz daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

V. inulifolium bitkisinin metanollü ve diklorometanlı ekstrelerinin *Bovine Herpes Virus Type-1* (BHV-1) virüsünün Cooper standart suşuna karşı hiçbir dilüsyonda etki göstermediği saptanmıştır.

Verbascum türleri üzerinde yapılmış çeşitli antiviral etki çalışmalarından içlerinde bu tez çalışmasında kullanılan virüslerin bulunduğu araştırmalardan biri olan Słagowska ve arkadaşlarının 1987 yılında yaptığı bir araştırmada; *V. thapsiforme*'nin çiçeklerinden elde edilen infüzyonun (FVI), invitro ortamda *Herpes simplex Type I* virüsüne (HSV-1) karşı antiviral etkisinin olduğu belirlemiştir. Bu çalışmada ayrıca FVI'nın HSV üzerinde virüsidal etkisi olduğu da görülmüştür. Daha önceki araştırmalarda **Flos Verbasci**'nin dekoksionlarının nezle virüsü enfekte edilmiş tavuk embriyo fibroblastlarında (CEF) virüs replikasyonunu inhibe ettiği tespit edilmiştir (38). FVI'nın farklı A ve B nezle virüslerine ve *Herpes simplex* virüsüne karşı invitro ortamda antiviral etkileride araştırılmıştır ve etkili olduğu görülmüştür (57).

McCutcheon ve arkadaşlarının 1995 yılında yaptığı çalışmada ise *V. thapsus*'un yapraklarının metanollü ekstresinin *Bovine Herpes Virüs Type 1* (BHV1, *Herpesviridae*) virüsüne karşı antiviral etkisi incelenmiş ve bu virüse karşı etkili olduğu tespit edilmiştir (9). Klimek'in 1996 yılında yaptığı çalışmada; **Flores Verbasci (Flos Verbasci)** droğunun hazırlandığı *Verbascum* türlerinden biri olan *V. phlomoides* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan dekoksionun A₂ ve B nezle virüsüne karşı etkili olduğunu saptamıştır (13).

Literatürde *Verbacum* türlerinin antiviral etkileri ile ilgili araştırmalardan elde edilen bulgular ile, tez çalışmamızda kullanılan virüsler *Human Influenza Virus* ve *Avian Influenza Virus* ile yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular paralel çıkmıştır. Buna karşılık *Bovine Herpes Virüs Type 1* ile yapılan çalışmalar ile literatür bulguları arasında fark olduğu gözlenmiştir. Bu durum tez konusunda incelenen *V. inulifolium*'un ekstrelerine göre literatürde incelenmiş olan türün ekstresinde virüse karşı etkili farklı bileşiklerin olabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Scrophulariaceae familyasının en geniş cinslerinden biri olan *Verbascum* L. cinsi ülkemizde de çok fazla türle temsil edilen bir cinistir. Türkiye’de yetişen 233 türün 185’inin endemik olması ve bu türlerin bir çoğunun henüz araştırılmamış olması *Verbascum* türlerini ilgi çekici hale getirmektedir. Literatür incelendiğinde *Verbascum* türlerinin başta iridoit glikozitler olmak üzere fenilpropanoit ve feniletanoit glikozitler, saponozitler ve flavonoidler gibi sekonder metabolitleri taşıdığı görülmektedir. Bu güne kadar yapılmış olan biyolojik aktivite çalışmalarında ise özellikle antibakteriyel ve antiviral etki üzerinde durulmuştur. Son yıllarda ise bazı türlerin antioksidan etkileri de araştırılmıştır. Bunların dışında antifungal, sitotoksik ve immunomodülatör, antihepatoma ve antiülser etkilerin de bazı türlerde araştırıldığı göze çarpmaktadır. Yapılan fitokimyasal araştırmalar daha çok izolasyon ve yapı tayini şeklinde olup, türlerin flavonoid içeriği de ancak izolasyon çalışmaları ile belirlenebilmiştir. Flavonoid içeriği açısından incelenmiş olan türler *V. thapsus*, *V. thapsiforme*, *V. sinaiticum*, *V. salviifolium*’dur. Bu türlerde flavonoidlerin izole edildiği ancak bitkilerdeki miktarlarına yönelik herhangi bir bilgi olmadığı göze çarpmıştır. Türkiye’de yetişen *V. thapsus*, *V. pterocalycinum* var. *mutense*, *V. salviifolium*, *V. cilicicum*, *V. gypsicola*, *V. wiedemannianum*, *V. macrurum*, *V. lasianthum* ve *V. cheiranthifolium* Boiss.var. *cheiranthifolium* türleri dışındaki türler henüz araştırılmamıştır. Bu türlerden biri olan *V. inulifolium* türü Doğu Akdeniz’de yetişen endemik bir türdür. Bu türün fitokimyasal açıdan incelenmesi düşünülmüş ve son yıllarda insan sağlığında çeşitli yararları nedeniyle üzerinde çok durulan etken madde gruplarından biri olan flavonoidlerinin incelenmesi amaçlanmıştır (70).

Flavonoid içerikleri; bitkiden hazırlanan mentollü ekstrenin YBSK analizleri ile belirlenmiş olup ekstrede başlıca; mirsetin (%0.097767±0.0036223), luteolol (%0.158933±0.0004807), kemferol (%0.234000±0.0044230) ve izoramnetin (%0.035500±0.0034429) flavonoidleri saptanmıştır. Bu flavonoidlerden kemferol majör bileşik olarak tespit edilmiştir. *V. inulifolium* türünün halk arasında geleneksel olarak kullanımına ait herhangi bir kayda rastlanmadığından bu türün biyolojik aktivite açısından öncelikle diğer *Verbascum* türlerinde sıklıkla gözlenmiş olan antioksidan, antibakteriyel ve antiviral aktiviteleri açısından incelenmesi düşünülmüş ilerideki

fitokimyasal araştırmalara da yarar sağlayabilmesi için iki farklı polaritede ekstre hazırlanmıştır. Diklorometan ve metanol ekstrlerinin kimyasal açıdan farklı etken maddeler taşması nedeniyle biyolojik aktivite testlerinde her iki ekstrede kullanılmıştır.

Antioksidan aktivitede; testlerde hızlı sonuç veren DPPH ön testinden sonra metanol ekstresinin aktif olduğu gözlenerek TBA testi uygulanmış ve IC₅₀: 0.13 mg/ml olduğu tespit edilmiştir. Buna göre *V. inulifolium*'un metanol ekstresinin antioksidan aktivite açısından değerlendirilebilir olduğu ve bu etkiden sorumlu olan bileşiğin daha ileri araştırmalarla tespit edilmesinin uygun olduğu görölmektedir.

Bu ekstrele ait antibakteriyel etki testlerinde ise metanollü ekstre *E. feacalis*'e karşı MIC: 640 µg/ml ve MBC: 1280 µg/ml aralığında dikkat çekici antibakteriyel etki göstermiştir. Buna karşı *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı antibakteriyel etki göstermediği görölmüştür. Ancak diklorometan ekstresinin test edilen mikroorganizmalar *B. subtilis* hariç diğerlerinde orta dereceli etki gösterdiği saptanmıştır. Bitki *E. feacalis* bakterisine karşı antibakteriyel etkisi nedeniyle değerlendirilebilir.

Verbascum türleri üzerinde yapılan antiviral testlerde yaygın olarak kullanılan virüslerden olan; *Avian Influenza Virus*, *Human Influenza Virus*, *Herpes Simplex Virus Type I*, *Herpes Simplex Virus Type II* ve *Bovine Herpes Virus Type-1* virüsleri tez çalışmamızda kullanılmıştır.

V. inulifolium bitkisinin diklorometanlı bitki ekstresi, metanollü bitki ekstresine göre daha düşük etkili olmakla birlikte tüm virüslere karşı etki göstermiştir. Özellikle *Avian Influenza Virus* suşuna karşı (SI: 4.0) diğer virüslere göre biraz daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *V. inulifolium* bitkisinin metanollü ve diklorometanlı ekstrlerinin *Bovine Herpes Virus Type-1* (BHV-1) virüsünün Cooper standart suşuna karşı hiçbir dilüsyonda etki göstermediği saptanmıştır. Bitkinin metanollü ekstresi *Herpes simplex Virus Type I* ve *Type II* virüslerine karşı antiviral etki göstermezken; *Avian Influenza Virus* suşuna karşı belirgin antiviral etki göstermektedir (SI: 8.0); *Human Influenza Virus*'de SI: 16.0 olması ise bitki ekstremizin bu virüs üzerinde antiviral etki açısından değer taşıdığını ve ekstrenin değerlendirilebilir olduğunu düşündürmektedir.

V. inulifolium bitkisi üzerinde yapılan bu araştırma sonuçları bitkinin antioksidan ve antiviral aktivite açısından değer taşıdığını göstermiştir. Bitkide özellikle metanol

ekstresinin; bu iki aktivitenin gözlenmesi nedeniyle kimyasal açıdan detaylı olarak incelenip aktivitelerle ilişkilendirilmesinin uygun olacağı önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. **Juan R, Fernandez I, Pastor J.** Systematic consideration of microcharacters of fruits and seeds in the genus *Verbascum* (*Scrophulariaceae*). *Annals of Botany*, **1997**; 80:591-598.
2. **Heywood VH.** *Flowering Plants of the World*. Oxford: Oxford University, **1979**: 243.
3. **Dülger B, Gönüz A.** Antimicrobial Activity of Some Endemic *Verbascum*, *Salvia* and *Stachys* Species. *Pharmaceutical Biology*, **2004**; 42(4-5):301-304.
4. **Robbers JE, Tyler VE.** *Tyler's Herbs of Choice (The therapeutic Use of Phytomedicinals)*. New York: The Harworth Herbal Pres, **1999**:119.
5. **Hartleb I, Seifert K.** Triterpenoid saponins from *Verbascum songaricum*. *Phytochemistry*, **1995**; 38(1):221-224.
6. **Türker UA, Camper ND.** Biological activity of Common Mullein, a medicinal plant. *Journal of Ethnopharmacology*, **2002**; 82:117-125.
7. **Türker AU, Gurel E.** Common mullein (*Verbascum thapsus* L.): recent advances in research. *Phytotherapy Research*, **2005**; 19: 733-739.
8. **Khuroo MA, Qureshi MA, Razdak TK, Nichols P.** Sterones, iridoids and a sesquiterpene from *Verbascum thapsus*. *Phytochemistry*, **1988**; 27(11):3541-3544.
9. **McCutcheon AR, Roberts TE, Gibbons E, Ellis MS, Babiuk AL, Hancock WER, Towers NHG.** Antiviral screening of British Columbian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **1995**; 49:101-110.
10. **Pieroni A, Quave CL,** Tradional pharmacopoeias and medicines among Albanians and Italians in southern Italy:A comparison. *Journal of Ethnopharmacology* **2005**; 101; 258-270.
11. **Klimek B, Lavaud C, Massiot G.** Saponins from *Verbascum nigrum*. *Phytochemistry*, **1992**; 31(12):4368-4370.
12. **Klimek, B.** Flavonoid glucuronides from *Verbascum lychnitis* and *Verbascum nigrum*. *Acta Poloniae Pharmaseutical Drug Research*, **1995**; 52(1):53-56.
13. **Klimek, B.** Hydroxycinnamoly ester glycosides and saponins from flowers of *Verbascum phlomoides*. *Phytochemistry*, **1996**; 43(6):1281-1284.
14. **Amenta R, Camarda L, Stefano VD, Lentini F, Venza F.** Traditional medicine as a source of new therapeutic agents against psoriasis. *Fitoterapia*, **2000**; 71:13-20.

15. **Ghorbani A.** Studies on pharmaceutical ethnobotany in the region of Turkmen Sahra, north of Iran (Part 1): General results. *Journal of Ethnopharmacology*, **2005**; 102:58-68.
16. **Tadeg H, Mohammed E, Asres K, Gebre-Mariam T.** Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. *Journal of ethnopharmacology*, **2005**; 100:168-175.
17. **Geyid A, Abebe D, Debella A, Makonnen Z, Aberra F, Teka F, Kebede T, Urga K, Yersaw K, Biza T, Mariam BH, Guta M.** Screening of some medicinal plants of Ethiopia for their antimicrobial properties and chemical profiles. *Journal of Ethnopharmacology*, **2005**; 97:421-427.
18. **Davis PH.** *Scrophulariaceae*. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Edinburgh: Edinburgh University Press, Vol 6, **1978**: 458-603.
19. **Davis PH, Mill RR, Tan K.** *Scrophulariaceae*. Flora of Turkey and The East Aegean Islands (Supplement). Edinburgh: Edinburgh University Press, Vol 10, **1988**: 190-192.
20. **Güner A, Özhatay N, Tuna E, Başer K.H.C.** *Scrophulariaceae*. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. (Supplement 2) Edinburgh: Edinburgh University Press, Vol 11, **2000**;193.
21. **Baytop T.** *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, **1999**: 334-336.
22. **Gürbüz İ, Özkan AM, Yeşilada E, Kutsal O.** Anti-ulcerogenic activity of some plants used in folk medicine of Pınarbaşı (Kayseri, Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, **2005**; 313-318.
23. **Tatlı İİ, Akdemir ŞZ, Bedir E, Khan AI.** *Verbascum lasianthum*'dan elde edilen katalpol türevi bileşikler. 14. BİHAT. Eskişehir, **2002**: A-43.
24. **Akdemir ŞZ, Tatlı İİ, Bedir E, Khan AI.** Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Verbascum lasianthum*. *Turk J. Chem*, **2004**; 28:227-234.
25. **Abougazar H, Bedir H, Khan IA, Çalış İ.** Wiedemanniosides A-E: new phenylethanoid glycosides from the roots of *Verbascum wiedemannianum*. *Planta Medica*, **2003**; 69:814-819.
26. **McCutcheon AR, Ellis SM, Hancock REW, Towers GHN.** Antifungal screening of medicinal plants of British Columbian native peoples. *Journal of Ethnopharmacology*, **1994**; 44:157-169.
27. **Lin LT, Liu LT, Chiang LC, Lin CC.** In vitro anti-hepatoma activity of fifteen natural medicines from Canada. *Phytotherapy Research*, **2002**; 16:440-444.
28. **Klimek B, Stepien H.** P17 Effect of some constituents of Mullein (*Verbascum sp.*) on proliferation of Rat splenocytes in vitro. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1994**; 2:117-194.

29. **Seçmen Ö, Gemici Y, Görk G, Bekat L, Leblebici E.** *Tohumlu Bitkiler Sistematigi*. 5. Baskı, İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, **1998**; 283-284.
30. **Juan R, Pastor J, Fernandez I.** Sem and light microscope observations on fruit and seeds in *Scrophulariaceae* from Southwest Spain and their systematic significance. *Annals of Botany*, **2000**; 86:323-338.
31. **Vesper T, Seifert K.** Iridoids from *Verbascum nigrum*. *Liebigs Annaelen Der Chemie*, **1994**; 751-753.
32. **Bianco A, Guiso M, Iavarone C, Passacantilli P, Trogolo C.** 6-O-β-D- Xylopyranosylaucubin from *Verbascum sinuatum*. *Phytochemistry*, **1980**; 19:571-573.
33. **Molgaard P, Ravn H.** Evolutionary aspects of caffeoyl ester distribution in Dicotyledones. *Phytochemistry*, **1988**; 27(8):2411-2421.
34. **Koblicova Z, Turecek F, Nimova P, Trojanek J, Blaha K.** Verbascine, a macrocyclic spermine alkaloid of a novel type from *Verbascum pseudonobile* Stoj. et Stef. (*Scrophulariaceae*). *Tetrahedron Letters*, **1983**; 24(40):4381-4384.
35. **Drandarov K.** Verbacine and verballocine, novel macrocyclic spermine alkaloids from *Verbascum pseudonobile* Stoj. et Stef. (*Scrophulariaceae*). *Tetrahedron Letters*, **1995**; 36(4):617-620.
36. **Drandarov K, Hais IM.** Separation of E-Z isomeric macrocyclic spermine alkaloids of *Verbascum pseudonobile* and *Verbascum phoeniceum* and of their derivatives using thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography A*, **1996**; 724:416-423.
37. **Youhnovski N, Drandarov K, Guggisberg A, Hesse M.** Macrocyclic spermine alkaloids from *Verbascum* :Isolation, structure elucidation and syntheses of the (E / Z)-isomeric pairs (S)-verbasikrine / (S)- isoverbasikrine and (S)-verbamekrine / (S)-isoverbamekrine. *Helvetica Chimica Acta*, **1999**; 82(8):1185-1194.
38. **Slagowska A, Zgorniak-nowasielska I, Grzybek J.** Inhibition of Herpes Simplex Virus replication by *Flos Verbasci* infusion. *Pol. J. Pharmacol. Pharm*, **1987**; 39:55-61.
39. **Warashina T, Miyase T, Ueno A.** Phenylethanoid and lignan glycosides from *Verbascum thapsus*. *Phytochemistry*, **1992**; 31(3):961-965.
40. **Bom I, Van Wassenaar D, Boot J.** Hybrid affinity chromatography of α-galactosidase from *Verbascum thapsus* L.. *Journal of Chromatography A*, **1998**; 808:133-139.
41. **Seifert K, Preiss A, Johne S, Schmidt J, Lien TN, Lavaud C, Massiot G.** Triterpene saponins from *Verbascum songaricum*. *Phytochemistry*, **1991**; 30(10):3395-3400.

42. **Hartleb I, Seifert K.** Songarosaponin D-A triterpenoid saponin from *Verbascum songaricum*. *Phytochemistry*, **1994**; 35(4):1009-1011.
43. **Klimek, B.** 6'-O-apiosyl-verbascoside in the flowers of mullein (*Verbascum* species). *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, **1996**; 53:137-140.
44. **Affi MSA, Ahmed MM, Pezzuto MJ, Kinghorn DA.** Cytotoxic flavonolignans and flavones from *Verbascum sinaiticum* leaves. *Phytochemistry*, **1993**; 34(3):839-841.
45. **Miyase T, Horikoshi C, Yabe S, Miyasaka S, Melek RF, Kusano G.** Saikosaponin homologues from *Verbascum* spp. the structures of mulleinsaponins I-VII. *Chem.Pharm.Bull*, **1997**; 45(12):2029-2033.
46. **Drandarov K.** Verballoscenine, the Z isomer of verbascenine from *Verbascum phoeniceum*. *Phytochemistry*, **1997**; 44(5):971-973.
47. **Kalpoutzakis E, Aligiannis N, Mitakou S, Skaltsounis AL.** Verbaspinoside, a new iridoid glycosides from *Verbascum spinosum*. *J.Nat.Prod*, **1999**; 62:342-344.
48. **Magiatis P, Spanakis D, Mitaku S, Tsitsa E, Mentis A, Harvala C.** Verbalactone, a new macrocyclic dimer lactone from the roots of *Verbascum undulatum* with antibacterial activity. *Journal of Natural Products*, **2001**; 64(8):1093-1094.
49. **Aligiannis N, Mitaku S, Tsardis TE, Harvala C, Tsaknis I, Lalas S, Haroutounian S.** Methanolic extract of *Verbascum macrurum* as a source of natural preservatives against oxidative rancidity. *J. Agric Food Chem*, **2003**; 51:7308-7312.
50. **Pardo F, Perich F, Torres R, Monache DF.** Plant iridoid glycosides and phyto-growth-inhibitory activity of *Verbascum virgatum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **2004**; 32:367-370.
51. **Tatlı İİ, Akdemir ŞZ, Bedir E, Khan AI.** *Verbascum pterocalycinum* var. *mutense*'den elde edilen doğal bileşikler ve bunların antimikrobiyal aktiviteleri. 14. BİHAT. Eskişehir, **2002**: 27.
52. **Akdemir ŞZ, Tatlı İİ, Bedir E, Khan AI.** Antioxidant flavonoids from *Verbascum salviifolium* Boiss. *Fabad J. Pharm. Sci*, **2003**; 28:71-75.
53. **Tatlı İİ, Akdemir ŞZ, Bedir E, Khan AI.** 6-O- α -L-Rhamnopyranosylcatalpol derivative iridoids from *Verbascum cilicicum*. 7. International Symposium on Pharmaceutical Sciences. Ankara, **2003**: 223
54. **Gazar AH, Taşdemir D, Ireland MC, Çalış I.** Iridoids and triterpene saponins from *Verbascum wiedemannianum* (*Scrophulariaceae*). *Biochemical Systematics and Ecology*, **2003**; 31:433-436.

55. **Brantner A, Grein E.** Antibacterial activity of plant extracts used externally in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **1994**; 44:35-40.
56. **Barbour K E, Sharif A M, Sagherian K V, Harbe N A, Talhouk S R, Talhouk N S.** Screening of Selected Indigenous Plants of Lebanon for Antimicrobial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **2004**; 93:1-7.
57. **Zgorniak-Nowosielska I, Grzybek J, Manolova N, Serkedjieva J, Zawilinska B.** Antiviral activity of *Flos Verbasci* infusion against Influenza and Herpes Simplex Viruses. *Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis+Supplements*, **1991**; 39(1-2):103-108.
58. **Serkedjieva J.** Combined antiinfluenza virus activity of *Flos Verbasci* infusion and amantadine derivatives. *Phytotherapy Research*, **2000**; 14:571-574.
59. **Özgen U, Mavi A, Terzi Z, Coşkun M, Yıldırım A.** Antioxidant Activities and Total Phenolic Compounds Amount of Some *Asteraceae* Species. *Turkish J.Pharm. Sci*, **2004**; 1(3):203-216.
60. **Lugasi A, Dworschak E, Blazovics A, Kery A.** Antioxidant and free radical scavenging properties of squeezed juice from black radish (*Raphanus sativus* L. var *niger*) Root. *Phytotherapy research*, **1998**; 12:502-506.
61. **Çalış I, Gazar AH, Bedir H, Khan A.** Phenylethanoid glycosides with free radical scavenging properties from *Verbascum wiedemannianum*. 3rd IUPAC International Conference on Biodiversity. Antalya, **2001**:64.
62. **Tepe B, Sökmen M, Akpulat HA, Yumrutaş Ö, Sökmen A.** Screening of antioxidative properties of the methanolic extracts of *Pelargonium endlicherianum* Fenzl., *Verbascum wiedemannianum* Fisch.&Mey., *Sideritis libanotica* Labill. supsp. *linearis* (Bentham) Born., *Centaurea mucronifera* DC. and *Heracium cappadocicum* Feryn from Turkish flora. *Food Chemistry*, **2005**.
63. **Crozier A, Jensen E, Lean MES, McDanold MS.** Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.A*, **1997**; 761: 315-321.
64. **Hertog MGL, Hollman PCH, Venema DP.** Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J. Agric Food Chem.*, **1992**; 40:1591-1598.
65. **Güvenç A, Houghton PJ, Duman H, Coşkun M, Şahin P.** Antioxidant Activity Studies on Selected *Sideritis* Species Native to Turkey. *Pharmaceutical Biology*, **2005**;43:173-177.
66. **Wayne PA.** *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standart.* The National Committee for Clinical Laboratory Standarts (NCCLS) 6. Baskı, NCCLS Document, **2003**: M7-A6 (ISBN 1-56238-486-4).
67. **Serkedjieva J, Hay A J.** *Antiviral Res*, **1998**; 37: 221-230.

68. **Vanden Berghe D A, Vlietinck A J, Van Hoof L.** *Bull. Inst. Pasteur*, **1986**; 84: 101.
69. **Dip A.** Arsenik Toksisitesinde Serbest Radikaller ve Antidot Çalışmaları. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2001**.
70. **Merken H M, Merken C D, Beecher G R.** Quantitation of Anthocyanidins, Flavonols and Flavones in Food. *J. Agric Food Chem.*, **2001**; 49: 2727-2732.

ÖZGEÇMİŞ

04.04.1979 yılında Kayseri ilinin Sarız ilçesinde doğdu. İlk öğrenimini çeşitli illerde tamamladıktan sonra, orta öğrenimini Mersin Gazipaşa İlköğretim Okulu'nda; lise öğrenimini ise Mersin 19 Mayıs (Süper Lise) Lisesi'nde tamamladı. Üniversite öğrenimini Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü bölüm birincisi olarak 2001-2002 öğretim yılında bitirdi. 08.09.2003 tarihinde Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Meslek Bilimleri Anabilim Dalı Farmakognozi programında yüksek lisans öğrenimine başladı. Yüksek lisans eğitimi süresince TÜBİTAK-BAYG'dan yurt içi yüksek lisans bursu almaya hak kazandı. Yüksek lisans eğitimini halen burada sürdürmektedir.

Sevda GÜZEL