

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Plantago anatolica Tutel & R.R. Mill **BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ
VE POTANSİYEL SAĞLIK DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Muzaffer MÜKEMRE

1. DANIŞMAN: Prof. Dr. Murat ÜNAL

2. DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Abdullah DALAR

VAN – 2018

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ
VE POTANSİYEL SAĞLIK DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Muzaffer MÜKEMRE

**Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)
tarafından 215S046 no'lu proje olarak desteklenmiştir.**

VAN – 2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

Biyoloji Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Murat ÜNAL ve Dr. Öğr. Üyesi Abdullah DALAR danışmanlığında, Muzaffer MÜKEMRE tarafından sunulan "*Plantago anatolica* Tutel & R. Mill. **BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ VE POTANSİYEL SAĞLIK DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI**" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 13.09.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Murat ÜNAL

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Nilüfer ÇİRİĞ SELÇUK

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Süleyman Mesut Pınar

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Abdullah DALAR

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Aydın Şükrü BENGÜ

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Mustafa RÜSTEMOĞLU

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi İbrahim DEMİR

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 21.09.2018 tarih ve 2018/46-1 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Muzaffer MÜKEMRE



ÖZET

***Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ VE POTANSİYEL SAĞLIK DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

MÜKEMRE, Muzaffer
Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanları: 1. Prof. Dr. Murat ÜNAL
2. Dr. Öğr. Üyesi Abdullah DALAR
Eylül 2018, 149 sayfa

Bu çalışma ile beraber ülkemizin Doğu Anadolu Bölge'sinde yayılış gösteren ve yöre halkı tarafından halk hekimliğinde çeşitli hastalıkların (diyabet, karın ağrısı) tedavisinde yoğun bir biçimde kullanılan endemik bir tıbbi bitki türü olan *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisi farmakobotanik ve farmakognozik açıdan incelenmiştir. Farmakobotanik çalışmalar çiçeklenme ve meyvelenme dönemlerinde toplanan *P. anatolica* bitki örneklerinin morfolojik ve anatomik açıdan karşılaştırılması aşamalarını kapsamaktadır. Farmakognozik çalışmalar, *P. anatolica* bitki örneklerinden elde edilen liyofilize ardışık (sırasıyla; n-hekzan, kloroform, etil asetat, aseton, etanol ve saf su), infüzyon, dekoksasyon ve su ekstralarının antioksidan kapasite ve enzim inhibisyonu aktiviteleri ve fitokimyasal kompozisyonunun ayrıntılı bir şekilde incelenmesi aşamalarından oluşmaktadır.

Farmakobotanik çalışmalar *P. anatolica* bitkisinin diğer *Plantago* türlerinden köklerin inulin sferokristallerini içermesi, skapusun enine kesitte 11 oluklu, yaprak sapının enine kesitte parankimatik hücreler içine gömülü 7 gelişmiş ve 2 tane az gelişmiş iletim demeti ile yaprağın alt ve üst yüzeylerinde anomositik ve polositik tipte stomaların olması ile anatomik olarak farklı olduğunu göstermiştir.

Farmakognozik çalışmalar neticesinde *P. anatolica* bitki örneklerinden elde edilen ekstraların fenolik (kafeik asit, klorojenik asit, apicenin ve kemferol) ve lipofilik bileşikler (palmitik asit, linolenik asit ve benzotiazol) yönünden zengin kaynaklar olduğu tespit edilmiştir. Kafeik asit başta olmak üzere fenolik bileşikler yönünden zengin olarak tespit edilen ekstralar içerisinde, etanol fraksiyonu ve infüzyon ekstresi oldukça yüksek ORAC (1923 ve 1010 µmol Troloks eşdeğeri/g ekstre), FRAP (891 ve 660 µmol Fe²⁺/g ekstre), DPPH (IC50: 0,87 ve 0,34 mg/ml), demir şelatlama (IC50: 0,09 mg/ml), orta düzeyde antiamilaz (IC50: 4,31 ve 5,32 mg/ml), yüksek

antiglukozidaz (IC50: 0,76 ve 0,64 mg/ml) ve antilipaz (IC50: 0,07 ve 0,04 mg/ml) aktiviteleri göstermiştir.

Diğer *Plantago* türlerinden farmakobotanik açıdan farklı olan *Plantago anatolica* bitkisi fenolik ve lipofilik bileşikler açısından zengin bir kaynak olup, bu bitkiden elde edilen etanol fraksiyonu ve infüzyon ekstresi yüksek antioksidan ve enzim inhibitörlüğü özelliklerinden dolayı *in vivo* çalışmalar için seçilmiş aktif ekstratler olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, Enzim inhibisyonu, Fenolik bileşikler, *Plantago anatolica*.



ABSTRACT

ANALYSIS OF PHYTOCHEMICALS AND EVALUATION OF POTENTIAL HEALTH BENEFITS OF *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill PLANT

MÜKEMRE, Muzaffer
Ph.D. Thesis, Biology
Supervisors: 1. Prof. Dr. Murat ÜNAL
2. Dr. Abdullah DALAR
September 2018, 149 pages

Within this study, *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill plant which is an endemic medicinal plant species grown in Eastern Anatolia Region of our country and extensively used in the treatment of various disorders (diabetes and stoma ache) by local people was evaluated in terms of pharmacobotany and pharmacognosy. Pharmacobotanic studies comprised of the morphological and anatomical comparison stage of *P. anatolica*, which was collected at flowering and fructification periods. Pharmacognosic studies consisted of the comprehensive evaluation of the stages of antioxidant capacity and enzyme inhibition activities and phytochemical composition of the lyophilized sequential (n-hexane, chloroform, ethyl acetate, acetone, ethanol and water, respectively), infusion, decoction and water extracts obtained from *Plantago anatolica* plant samples.

Pharmacobotanic studies revealed that *P. anatolica* plant is differed in the presence of inulin spherocrystalyses in roots, 11 veined scapus in crosscut, 7 mature and 2 less mature vascular structure in leafstalk and anomocytic and polocytic stoma in leaf inferior and upper surfaces as anatomically from the other *Plantago* species.

In consequence of pharmacognosic studies, it was determined that the extracts obtained from *P. anatolica* plant samples were rich sources of phenolic (caffeic acid, chlorogenic acid, apigenin and kaempferol) and lipophilic (palmitic acid, linolenic acid and benzotiazole) compounds. Among the extracts rich of phenolic compounds dominated by caffeic acid, ethanol fraction and infusion extract showed pronounced high ORAC (1923 and 1010 μmol Trolox equivalent /g extract), FRAP (891 and 660 μmol Fe^{2+} /g extract), DPPH (IC₅₀: 0,87 and 0,34 mg/ml), ferric chelation (IC₅₀: 0,09 mg/ml), mild levels of antiamylase (IC₅₀: 4,31 and 5,32 mg/ml) and high

antiglucosidase (IC50: 0,76 and 0,64 mg/ml) and antilipase (IC50: 0,07 and 0,04 mg/ml) activities.

Plantago anatolica plant, which is different from other *Plantago* species pharmacobotanically, is a rich source of phenolic and lipophilic compounds, and ethanol fraction and infusion extract obtained from this plant might be used for *in vivo* studies as selected active extractions because of their high antioxidant and enzyme inhibition properties.

Keywords: Antioxidant, Enzyme inhibition, Phenolic compounds, *Plantago anatolica*.



ÖN SÖZ

Bu çalışmanın her aşamasında bilgi birikimi ve tecrübeleri ile bana yardımcı olan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Murat ÜNAL'a, doktora öğrenimim boyunca maddi ve manevi olarak bana yardımcı olan, tez çalışmamın her aşamasında bana rehberlik eden, verdiği fikirlerle hayatıma yön vermeme sağlayan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ikinci danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Abdullah DALAR'a, ve tez izleme komitesi üyeleri, sayın Dr. Öğr. Üyesi Nilüfer ÇİRİĞ SELÇUK ve Dr. Öğr. Üyesi Süleyman Mesut PINAR'a destekleri ve yönlendirmeleri için teşekkürlerimi sunarım. Çalışmanın deneysel ve yazım aşamalarının gerçekleştirildiği Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Laboratuvarı ve Van Pharmaceutical Herbarium'unda doktora tez çalışmalarımı yapmama yardımcı olan Eczacılık Fakültesi Yönetimi ve tüm akademik ve idari personeline, kromatografik çalışmaların yürütülmesinde bana yardımcı olan saygıdeğer Dr. Öğr. Üyesi Aydın Şükrü BENGÜ'ye, mikrobiyolojik çalışmalar esnasında destek veren değerli dostum Dr. Öğr. Üyesi Metin ERTAŞ'a ve maddi-manevi her türlü konuda desteklerini esirgemeyen hocalarıma, arkadaşlarıma ve aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

Bu çalışmanın yürütülmesinde TÜBİTAK 215S046 nolu proje ile finansal olarak yardımcı olan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na özellikle şükranlarımı sunarım. Ayrıca yazım aşamasında desteklerini ve yardımlarını gördüğüm Fen Bilimleri Enstitüsü yetkililerine de teşekkür ederim.

2018

Muzaffer MÜKEMRE



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ.....	5
3. GENEL BİLGİLER.....	19
3.1. Botanik Bilgiler.....	19
3.1.1. <i>Plantaginaceae</i> familyasının genel özellikleri.....	19
3.1.2. <i>Plantago</i> cinsiyle ilgili genel bilgiler.....	19
3.1.3. <i>Plantago</i> Cinsinin Tayin Anahtarı.....	19
3.1.4. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin botanik özellikleri.....	22
3.2. Tıbbi Bitkiler.....	23
3.2.1. Tıbbi kullanım.....	23
3.2.2. Tıbbi bitkilerin toplanması.....	23
3.2.3. Tıbbi bitki yetiştiriciliğinin önemi.....	25
3.3. Fitokimyasal (Sekonder) Bileşikler.....	26
3.3.1. Sekonder metabolitlerin fonksiyonları.....	26
3.3.2. Sekonder metabolitlerin bitkilerde bulunduğu lokalizasyonlar.....	26
3.3.3. Sekonder Metabolitlerin Sınıflandırılması.....	27
3.3.3.1. Karetenoidler.....	27
3.3.3.2. Alkaloidler.....	27
3.3.3.3. Terpenoidler.....	28
3.3.3.4. Fenolikler.....	28

	Sayfa
3.3.4. Sekonder Metabolitlerin Biyoaktif Özellikleri.....	34
3.3.4.1. Serbest radikaller, oksidatif stres ve antioksidanlar.....	34
3.3.4.2. Sekonder Metabolitlerin Enzim İnhibisyonu.....	39
3.3.4.2.1. Tip-2 diyabet: Fenolik bileşiklerin α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu üzerindeki etkileri.....	41
3.3.4.2.2. Obezite: Fenolik bileşiklerin pankreatik lipaz enziminin inhibisyonu üzerine etkileri.....	43
3.3.4.2.3. Hipertansiyon: Fenolik bileşiklerin angiotensin dönüştürücü enziminin (ACE) inhibisyonu üzerine etkileri.....	44
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	47
4.1. Kullanılan Malzeme ve Teçhizatlar.....	47
4.2. Örneklerin toplanması.....	44
4.2.1. Anatomik metot.....	48
4.3. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mil Bitkisinin Ekstraktlarının Hazırlanması.....	49
4.3.1. Ekstraksiyon öncesi ön hazırlık işlemleri.....	49
4.3.2. Ekstraksiyon aşamaları.....	51
4.3.3. Liyofilize ardışık fraksiyonların hazırlanması.....	52
4.3.4. Liyofilize infüzyon ekstresinin hazırlanması.....	52
4.3.5. Liyofilize dekoksasyon ekstresinin hazırlanması.....	52
4.3.6. Liyofilize ultra saf su ekstresinin hazırlanması.....	53
4.4. Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	54
4.4.1. Ferrik İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) metodu.....	54
4.4.2. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC) metodu.....	54
4.4.3. DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi metodu.....	55
4.4.4. Demir Şelatlama Aktivitesi.....	55
4.5. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları.....	56
4.6. Enzim İnhibisyon Çalışmaları.....	56
4.6.1. α -Amilaz Enzimi İnhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi.....	56
4.6.2. α -Glukozidaz Enzimi İnhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi.....	57
4.6.3. Pankreatik Lipaz Enzimi İnhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi.....	58

	Sayfa
4.6.4. Angiotensin Dönüştürücü Enzimi (ACE) İnhibisyon	
Aktivitesinin belirlenmesi.....	58
4.7. Fitokimyasal İçerik.....	59
4.7.1. Total fenolik grup kompozisyonlarının belirlenmesi.....	59
4.7.1.1 Total fenolik içerik (Folin-Ciocalteu Metodu).....	59
4.7.1.2. Total proantosiyanidin içeriklerinin belirlenmesi.....	59
4.7.1.3. Total flavonoid içeriklerinin belirlenmesi.....	60
4.7.1.4.Total hidroksisinnamik asit ve flavonol içeriklerinin	
belirlenmesi.....	60
4.7.1.5. Total antosiyanin içeriklerinin belirlenmesi.....	60
4.7.2. Vitamin C içeriğinin belirlenmesi.....	61
4.7.3. GC-MS analizi.....	61
4.7.4. HPLC-MS/MS analizi.....	62
4.7.4.1. HPLC analizi.....	62
4.7.4.2. LC-PDA-MS/MS ile analizi.....	64
4.7.5. Asit Hidroliz analizi.....	64
4.8. Mineral analizi.....	65
4.9. Verilerin istatistiksel analizi.....	65
5. BULGULAR.....	67
5.1. Farmakobotanik Bulgular.....	67
5.1.1. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R. R. Mill bitkisinin habitat	
özellikleri.....	68
5.1.2. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R. R. Mill bitkisini tehdit eden	
Faktörler.....	69
5.1.3. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R. R. Mill bitkisinin morfolojik	
özellikleri.....	69
5.1.4. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin anatomik	
özellikleri.....	74
5.1.4.1. Kök anatomisi.....	74
5.1.4.2. Skapus anatomisi.....	75
5.1.4.3. Yaprak anatomisi.....	78

	Sayfa
5.2. Farmakognozik Çalışmaları.....	80
5.2.1. Ekstraksiyon verimi.....	80
5.3. Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	81
5.3.1. Ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP).....	81
5.3.2. Oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC).....	82
5.3.3. DPPH radikali süpürme aktivitesi.....	84
5.3.4. Demir şelatlama aktivitesi.....	85
5.4. Antimikrobiyal Aktivite.....	86
5.5. Enzim İnhibisyonu.....	87
5.5.1. Alfa-amilaz enzimi inhibisyonu.....	88
5.5.2. Alfa-glukozidaz enzimi inhibisyonu.....	88
5.5.3. Pankreatik lipaz enzimi inhibisyonu.....	89
5.5.4. Angiotensin dönüştürücü enzimi (ACE) inhibisyonu	89
5.6. Fitokimyasal İçerik.....	90
5.6.1. Total Fenolik Grup Kompozisyonlarının Belirlenmesi.....	90
5.6.1.1. Total fenolik içerik (Folin-Ciocalteu Metodu).....	90
5.6.1.2. Total proantosiyanidin içeriklerinin belirlenmesi.....	90
5.6.1.3. Total flavonoid içeriklerinin belirlenmesi.....	92
5.6.1.4. Total hidroksisinnamik asit ve flavonol içeriklerinin Belirlenmesi.....	93
5.6.1.5. Total antosiyanin içeriklerinin belirlenmesi.....	93
5.7. Vitamin C içeriğinin belirlenmesi.....	93
5.8. GC-MS analizi.....	93
5.9. HPLC-MS analizi.....	95
5.10. Mineral analizi.....	99
6. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	101
6.1. Farmakobotanik Özellikler.....	101
6.1.1. Morfoloji.....	101
6.1.1.1. Önerilen morfolojik tayin anahtarı.....	101
6.1.2. Anatomi.....	102
6.1.2.1. Önerilen anatomik drog tayin anahtarı.....	102

	Sayfa
6.2. Uygun Ekstraksiyon Çözücü Seçimi.....	102
6.3. Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	106
6.3.1. Hat-temelli metodlar.....	108
6.3.2. ET-temelli metodlar.....	109
6.4. Enzim İnhibisyonu.....	112
6.5. Fitokimyasal İçerik.....	117
6.5.1. Total fenolik içerik (Folin-Ciocalteu Metodu).....	172
6.5.2. Total proantosiyanidin içerik.....	119
6.5.3. Total flavonoid içerik.....	119
6.5.4. Total hidroksisinnamik asit ve flavonol içerikler.....	120
6.5.5. Total antosiyanin içerik.....	121
6.5.6. Fenolik kompozisyon.....	121
6.6. Yağ Asidi Bileşikleri.....	122
6.7. Mineraller.....	123
6.8. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill Bitkisinde Tespit Edilen Fitokimyasal Bileşiklerin Biyolojik Etkileri.....	125
6.8.1. Antioksidan aktivite-Fitokimyasal ilişkisi.....	125
6.8.2. Enzim inhibisyonu-Fitokimyasal ilişkisi.....	128
KAYNAKLAR.....	135
ÖZGEÇMİŞ.....	149



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Bitkilerden elde edilen ilaçlar ve kullanım alanları.....	2
Çizelge 2.1. <i>Plantago</i> türlerinde tespit edilen kimyasal bileşikler.....	7
Çizelge 2.2. <i>Plantago</i> cinsine ait taksonlarda tespit edilen uçucu ve yağ asidi bileşikleri.....	12
Çizelge 2.3. <i>Plantago</i> cinsine ait taksonların mineral içerikleri.....	14
Çizelge 2.4. <i>Plantago</i> cinsine ait taksonların antioksidan aktivite sonuçları.....	15
Çizelge 4.1. HPLC analizlerinde kullanılan olan sistemler.....	63
Çizelge 4.2. HPLC analizlerinde kullanılan gradient programı.....	63
Çizelge 4.3. LC-MS analizlerinde kullanılan sistemler.....	64
Çizelge 4.4. LC-MS analizlerinde kullanılan gradient programı.....	64
Çizelge 5.1. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisine ait temel ve etnobotanik bilgiler.....	67
Çizelge 5.2. <i>Plantago anatolica</i> bitkisinin yetiştiği alanların toprak analizleri.....	68
Çizelge 5.3. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill Bitkisinin Morfolojik Özellikleri...	71
Çizelge 5.4. Liyofilize Ekstrelerin Ekstraksiyon Verimleri.....	80
Çizelge 5.5. Liyofilize Ekstrelerin Ferrik İndirgeme Gücü (FRAP).....	81
Çizelge 5.6. Liyofilize Ekstrelerin Oksijen Radikal Absorbans Kapasiteleri (ORAC).....	83
Çizelge 5.7. Ekstrelerin DPPH radikali süpürme aktivitesi.....	84
Çizelge 5.8. Ekstrelerin demir şelatlama aktivitesi.....	85
Çizelge 5.9. Ekstrelerin alfa-amilaz anhibisyonu aktiviteleri.....	88
Çizelge 5.10. Ekstrelerin alfa-glukozidaz inhibisyonu aktiviteleri.....	89
Çizelge 5.11. Ekstrelerin pankreatik lipaz inhibisyonu aktiviteleri.....	89
Çizelge 5.12. Ekstrelerin ACE inhibisyon aktiviteleri.....	89
Çizelge 5.13. Ekstrelerin total fenolik içerikleri.....	91
Çizelge 5.14. Ekstrelerin total proantosiyanidin içerikleri.....	92
Çizelge 5.15. Ekstrelerin total flavonoid içerikleri.....	92

Çizelge	Sayfa
Çizelge 5.16. Ekstrelerin Total Hidroksisinnamik asit ve Total Flavonol İçerikleri.....	93
Çizelge 5.17. Ekstrelerin uçucu ve yağ asidi bileşikleri kompozisyonu.....	94
Çizelge 5.18. Liyofilize ekstrelerdeki fenolik bileşiklerin spektrometrik kütle detayları ve konsantrasyonları.....	96
Çizelge 5.19. Liyofilize Ekstrelere Ait Mineral Kompozisyon.....	99
Çizelge 6.1. Ekstrasyonda yaygın olarak kullanılan çözücülerin polarite ve kimyasal profilleri.....	104
Çizelge 6.2. Klorojenik asit, kafeik asit, kemferol bileşiklerin antioksidan Aktiviteleri.....	126
Çizelge 6.3. Klorojenik ve kafeik asitlerin diyabet üstündeki etkisi.....	128
Çizelge 6.4. Klorojenik ve kafeik asitlerin lipid düşürücü etkisi.....	128
Çizelge 6.5. Klorojenik asit, kafeik asit ve kemferolün obezite ve vücuttaki fazla kiloya etkisi.....	129

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill Bitkisinin Organları.....	22
Şekil 3.2. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması.....	30
Şekil 3.3. Fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları.....	31
Şekil 3.4. Fenolik bileşiklerin sağlık için bazı faydaları.....	32
Şekil 3.5. Fenolik bileşiklerin C6-C3-C6 iskelet yapısı.....	33
Şekil 3.6. Hidroksisinnamik asit türevlerinin önlediği hastalıklar.....	33
Şekil 3.7. Reaktif oksijen ve azot türleri.....	35
Şekil 3.8. Serbest radikallerin hücrel biyomoleküllerine etkileri.....	36
Şekil 3.9. İnsan bünyesinde oksidatif stres kaynaklı hastalıklar.....	37
Şekil 3.10. Serbest radikallerin temel kaynakları.....	38
Şekil 3.11. Antioksidanların sınıflandırılması.....	39
Şekil 3.12. Yarışmalı inhibisyon.....	40
Şekil 3.13. Yarışmasız inhibisyon.....	40
Şekil 3.14. Yarıyarışmalı inhibisyon.....	41
Şekil 3.15. α -Amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin modern ilaç ve tıbbi bitkiler ile inhibisyon mekanizması.....	42
Şekil 3.16. Pankreatik lipaz enzimi ve inhibitörlerinin etki mekanizması.....	44
Şekil 3.17. Rennin-angiotensin sistemi ve ACE enziminin modern ilaç ve tıbbi bitkiler ile inhibisyon mekanizması.....	45
Şekil 4.1. Bitki materyaline ait herbaryum örnekleri.....	47
Şekil 4.2. % 70 alkol bulunan kavanozlara alınmış bitki örnekleri.....	48
Şekil 4.3. Preparat hazırlamada kullanılan boyalar.....	49
Şekil 4.4. Bitki materyali toplanması esnasındaki arazi fotoğrafları.....	50
Şekil 4.5. Bitkilerin kurutulması.....	51
Şekil 4.6. Ekstraksiyon aşamaları.....	53
Şekil 5.1. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill.....	67

Şekil	Sayfa
Şekil 5.2. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin habitatı.....	68
Şekil 5.3. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill toprak örneği alınırken.....	69
Şekil 5.4. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill Bitkisinin Morgedik baraj gölünün suları altında kalan habitatı.....	70
Şekil 5.5. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R. R. Mill bitkisinin genel görünüşü.....	71
Şekil 5.6. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R. R. Mill bitkisinin yaprak, scapus ve spike (başak) şekilleri.....	71
Şekil 5.7. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R. R. Mill bitkisinin çiçek yapısı.....	72
Şekil 5.8. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R. R. Mill bitkisinin meyva yapısı.....	72
Şekil 5.9. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R. R. Mill bitkisinin tohum Yapısı.....	73
Şekil 5.10. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R. R. Mill bitkisinin tohum enine kesit (A) ve embriyo yapısı (B).....	73
Şekil 5.11. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin kökünde alınan enine kesitte A. genel, B. vasküler silindir ayrıntılı.....	74
Şekil 5.12. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin kökün parankima dokusundan alınan kesitlerde inulin sferokristalleri.....	75
Şekil 5.13. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin skapusunda alınan enine kesitte genel görünüş.....	76
Şekil 5.14. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin skapusunda alınan enine kesitte ayrıntılı görünüş.....	76
Şekil 5.15. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & .R. Mill bitkisinin yaprak sapında (petiol) alınan enine kesiti.....	77
Şekil 5.16. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin yaprak sapı (petiyol) alt (a) ve üst (b, c, d) yüzey kesitti.....	78
Şekil 5.17. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin yaprak laminası orta damar enine kesit: A. genel, B. yaprak enine ve C. Ayrıntılı görünümü.....	79
Şekil 5.18. <i>Plantago anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin yaprak yüzeysel kesit. A. Alt yüzey, B. üst yüzey.....	80
Şekil 5.19. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivitenin hesaplanması.....	82
Şekil 5.20. ORAC deneyinin prensibi.....	83
Şekil 5.21. Antimikrobiyal Aktivite.....	87

Şekil	Sayfa
Şekil 5.22. Ekstrelerdeki uçucu ve yağ asidi bileşikleri kompozisyonuna ait temsili kromatogram.....	90
Şekil 5.23. Ekstrelerdeki fenolik bileşiklere ait temsili kromatogram (HPLC).....	97
Şekil 5.24. Ekstrelerde tespit edilen fenolik bileşiklere ait UV Spektrum verileri.....	97
Şekil 5.25. Ekstrelerdeki fenolik bileşiklere ait temsili kromatogram (LC-MS).....	98
Şekil 5.26. Ekstrelerde tespit edilen fenolik bileşiklere ait SRM modu veriler.....	98
Şekil 6.1. <i>P. anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan ardışık fraksiyonlu ekstraksiyon verimleri.....	105
Şekil 6.2. <i>P. anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin geleneksel ekstrasyon yöntemleri (infüzyon, dekoksasyon ve su ekstresi).....	106
Şekil 6.3. <i>P. anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstrelerin, standardize bitkisel ekstrelerin ve sentetik antioksidanların oksijen radikal absorban kapasiteleri (ORAC).....	109
Şekil 6.4. <i>P. anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstrelerin, standardize bitkisel ekstrelerin ve sentetik antioksidanların Ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP).....	110
Şekil 6.5. <i>P. anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstrelerin, standardize bitki ekstrelerin ve Trolox'un DPPH radikali süpürme aktivitesi.....	111
Şekil 6.6. <i>P. anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstrelerin, standardize bitki ekstrelerin ve standartın (EDTA) demir şelatlama aktiviteleri.....	112
Şekil 6.7. <i>P. anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstrelerin, standardize bitki ekstrelerin Total Fenolik İçerikleri (Folin-Ciocalteu Metodu).....	118
Şekil 6.8. <i>P. anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstrelerin total flavonoid içerikleri.....	119
Şekil 6.9. <i>P. anatolica</i> Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstrelerin total hidrosisinnamik asit ve flavonol içerikleri.....	121



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Simgeler	Açıklama
α	Alfa
β	Beta
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
dk	Dakika
g	Gram
μ	Mikro
L	Litre
m	Mili
M	Molar
n	Nano
N	Normal
nm	Nanometre
R^2	Bağlılık indeksi
rpm	Devir/dakika
sn	Saniye
v/v	Hacim/hacim

Kısaltmalar

Kısaltmalar	Açıklama
AAPH	2,2'-Azobis(2-metilpropionamid) dihidroklorid
DAD	4-(dimetilamino) sinnamaldehit
DMSO	Dimetil sulfoksid
EC50	Medyan etkin konsantrasyon
F-C	Folin-Ciocalteu
FRAP	Ferrik indirgeme antioksidan gücü
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
GA	Gallik asit

Kısaltmalar**GAE****HCl****HPLC****IC₅₀****LC****m/z****MS****4-MUO****Na₂CO₃****NaOH****ORAC****TFA****Troloks****UV****TPTZ****VPH****Açıklama**

Gallik Asit Eşdeğeri

Hidroklorik asit

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

Yarı maksimal inhibisyon
konsantrasyonu

Sıvı kromatografisi

Kütle/iyon

Kütle spektrumu

4-metilumbelliferil oleat

Sodyum karbonat

Sodyum hidroksit

Oksijen radikal absorban kapasitesi

Trifluoroasetik asit

Hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-
karboksilik asit

Ultraviyole

2, 4, 6-Tripiridil-s-triazin

Van Pharmaceutical Herbariyumu

1.GİRİŞ

Anadolu halkı yüzyıllardan beri genellikle çevrede yetişen veya yetiştirilen bitkileri tanımış, tanıtmış ve çeşitli amaçlarla kullanmıştır. Hititler dönemi tıbbi tabletlerinde bulunan reçete formüllerinde kayıtlı bitki adları bunun bir kanıtı olup, bu dönemlerden beri yabancı bitkilerden tıbbi tedavi amaçlı olarak faydalanılmış ve bu bitkilerden önemli bir kısmı drog elde etmek amacıyla yetiştirilmiştir (Baytop, 1999).

Çok sayıda doğal bitki türü tedavi amaçlı kullanılmakla beraber, bunların önemli bir kısmının henüz kimyasal içerikleri araştırılmamıştır. Geleneksel halk ilacı olarak kullanılan bitkilerin kimyasal içeriklerinin belirlenmesi ve farmakolojik açıdan incelenmesi önemli bir araştırma alanı olagelmıştır. Bu alanda araştırma yapan etnobotanik, etnofarmakognozi, etnofarmakoloji gibi bilim dalları günümüzde popüler bilim dalları haline gelmişlerdir. Kültürel kodlamalar neticesinde farklı terapötik amaçlar için kullanılan bitki materyallerinden bilimsel kanıta dayalı ilaç ve veya terapötik etkili preperat, nötrasötik, fitofarmakon ve fitofarmasötik elde edilmesi etnobotanik, etnofarmakognozi ve etnofarmakoloji bilim dalları tarafından multidisipliner çalışmalar yürütülmesine bağlıdır.

Tıbbi bitkiler dahil olmak üzere tüm bitkiler değişken oranlarda tek veya multi fonksiyonlu biyoaktif bileşenler içermektedir. Bu aktif bileşenler bitkinin neslinin devamı, savunma, korunma, yapısal karakter oluşumu gibi birçok aktivitenin gerçekleştirilmesinden sorumludur. Hastalıkların tedavisi ve/veya önlenmesi amacıyla hem yabancı hem de tıbbi amaçlı olarak kullanılan bitkiler bilimsel araştırmalara konu olmuş ve bilimsel literatüre bu konu ile ilgili birçok veri sunulmuştur. Bununla beraber, yerel kültürler tarafından uzun dönemlerden beri hastalıkların tedavisi ve/veya önlenmesinde kullanılan bitkiler zaman, emek, işgücü tasarrufu sağlayacağından dolayı, bilimsel çalışmaların bu bitkilere odaklanması daha tutarlı bir yöntem olarak göze çarpmaktadır. Yeni modern ilaçların keşfedilmesinde önemli bir kısayol potansiyeline sahip olan geleneksel tıbbi bitkiler, rastgele seçilen yabancı bitkilere göre çok daha etkili ve yüksek terapötik potansiyele sahiptirler. Aynı zamanda etnobotanik çalışmalar sonucu tespit edilen ve tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin farmakolojik açıdan incelenmesi ve farmakolojik temellerinin anlaşılması halk sağlığının korunması

noktasında ciddi katkılar sunacaktır (Sadıkoğlu, 1998; Phillipson, 2001; Alves ve Rosa, 2007; Gertsch, 2009; Tan ve ark., 2010).

Günümüzde ağrı kesici olarak morfin ve kodein; antitömür olarak vinblastin ve vinkristin; damar genişletici olarak atropin; kalp-damar sisteminin çalışmasını stimule edici ve kan basıncını yükseltici olarak efedrin ve kan basıncını düşürücü olarak kullanılan rezerpin gibi maddelerin keşfi ve ilaç endüstrisine kazandırılması multidisipliner etnobotanik, etnofarmakognozik ve etnofarmakolojik araştırmalar sayesinde (Çizelge 1.1). Bugün tedavide kullanılan bitkisel kaynaklı doğal bileşiklerin %75'i geleneksel halk ilaçlarının araştırılması sonucu ortaya çıkmıştır (Kinghorn, 2001; Mamamadov, 2014).

Çizelge 1.1. Bitkilerden elde edilen ilaçlar ve kullanım alanları (Seçkin, 2014'ten uyarlanmıştır)

Bitkinin adı	İlaç	Kullanım-Tedavi
<i>Aesculus hippocastanum</i>	Aeskin	Antienflamatuvar
<i>Ardisia japonica</i>	Bercenin	Antitusif
<i>Artemisia annua</i>	Artemisinin	Sıtma
<i>Atropa belladonna</i>	Atropin	Antikolinerjik
<i>Berberis vulgaris</i>	Berberin	Basili dizanteri
<i>Camellia sinensis</i>	Kafein	Stimulant
<i>Camptotheca acuminata</i>	Kamptoteşin	Antitümör
<i>Capsicum frutescens</i>	Kapsaisin	Antmikrobiyal
<i>Carica papaya</i>	Simopapin	Mukolitik
<i>Catharanthus roseus</i>	Vinblastin, Vinkristin	Lösemi
<i>Centella asiatica</i>	Ajmasilin	Yüksek tansiyon
<i>Cinchona ledgerina</i>	Asiatikosid	Yara iyileştirici
<i>Cinchona ledgerina</i>	Kinin	Antimalariyal
<i>Colchium autumnale</i>	Kolşisin	Antitümör (Gut)
<i>Curcuma longa</i>	Kurkumin	Koleretik
<i>Digitalis purpurea</i>	Digitoksin, Citalin	Kalp
<i>Ephedra sinica</i>	Efedrin	Sempamometik
<i>Erythoxylum coca</i>	Kokain	Lokal anestetik
<i>Hycosamus niger</i>	Hyoskamin	Antikolinerjik
<i>Papaver somniferum</i>	Morfin	Analjezik
<i>Podophyllum peltatum</i>	Etoposid, Podofillotoksin	Antitümör
<i>Rauwolfia serpentine</i>	Ajmalisin	Kan dolaşımı rahatsızlıkları
<i>Salix alba</i>	Salisin	Aneljezik
<i>Taxus brevifolia</i>	Taksol	Kanser

“Türkiye Bitkileri Listesi” (Damarlı Bitkiler) adlı kitaba göre Türkiye Florasında toplam tür sayısı, yabancı kaynaklı ve kültür bitkileri dahil 9.996’dır. Endemizm

bakımından, Floradaki endemik tür sayısı 3.035' dir. Bu sayıya endemik olan 500 alttürü ve 253 varyeteyi dahil ettiğimizde toplam endemik takson sayısı 3.788'e çıkmaktadır (Güner ve ark., 2012). Türkiye'deki bitki türü sayısı, yapılan çalışmalar sonucunda tanımlanan yeni türlerle her geçen gün artmaktadır. Yurdumuz endemik tür oranı ve çeşitliliği açısından Orta Doğu'nun en zengin florasına sahiptir. (Ekim ve ark., 2000). Anadolu çok sayıda bitki türü ve çeşitliliği içermesi bakımından, doğadan toplanan ve kültürü yapılan tıbbi ve aromatik bitkiler açısından büyük bir ekonomik potansiyele sahip olmasına rağmen bu bitki zenginliğinden yeterince faydalanılmamaktadır. Hem bu zengin bitki örtüsünün hem de halk ilacı kültürünün tanınması, korunması ve dolayısıyla gelecek kuşaklara daha sağlıklı bir şekilde aktarılması önem arz etmektedir.

Van ilinin coğrafi konumu ve yapısı, yaylacılık kültürü, kırsal yaşam tarzı ve ekonomik nedenler yerel halkın yabancı bitkilerden azami ölçüde faydalanmasını sağlamış, bu sayede doğal ortam büyük bir mutfak ve eczane görevi üstlenmiştir (Mükemre, 2013). Ancak modernleşme, kırsal alanlardan şehirlere göç, sağlık hizmetlerine daha kolay erişim, yol ve ulaşım araçlarındaki gelişmeler ve en önemlisi genç nesillerin ilgisizliği nedeniyle insan-bitki ilişkisi giderek azalmakta ve etnobotanik bilgiler gün geçtikçe hızla kaybolmaktadır. Ayrıca, doğal ortamların insanlar tarafından bilinçsiz bir şekilde tahribi bazı bitki türlerinin neslinin devamını tehdit etmektedir. Bu nedenlerle bu bilgilerin kayıt altına alınması ve bu bilgilerin farmakolojik açıdan değerlendirilmesi oldukça önemlidir.

Çalışmamız materyali Van İli Erciş ilçesi sınırları içerisinde bulunan popülasyonu, Morgedik barajının yapılmasıyla habitatı büyük oranda baraj suyu altında kalan ve erken ve aşırı otlatmadan dolayı doğal habitatı her geçen gün daralan ve yöre halkı tarafından çeşitli tıbbi amaçlar için kullanılan *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill olarak seçilmiştir. Bu bitki türü, ülkemiz için endemik olup, sadece Doğu Anadolu bölgemizde yayılış göstermektedir. Bu çalışmanın temel hedefleri *Plantago anatolica* Tutel & R. Mill. bitkisinin farmakobotanik (morfolojik ve anatomik) ve farmakognozok (fitokimyasal kompozisyon ve biyolojik aktivite) açıdan incelenmesi ve bu sayede ülkemizin biyolojik mirasının korunması, drog tayini, doğru ve pratik teşhis ve ilaç endüstrisine muhtemel hammadde sunulmasına katkıda bulunulmasıdır.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Plantago cinsi dünya genelinde yaygın bir şekilde halk hekimliğinde kanamayı durdurucu, antimikrobiyal, gut, balgam söktürücü, idrar söktürücü, yatıştırıcı, cilt hastalıkları, ağrı ve kanser tedavisinde bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır (Samuelsen, 2000; Beara ve ark., 2012). *Plantago* türleri ülkemizde ise karın ağrıları, hemoroid, yaralanma, apse tedavilerinde (Tabata ve ark., 1994; Özgökçe ve Özçelik, 2004; Mükemre ve ark., 2015), iltihap, ülser, kanser tedavilerinde (Altundag ve Ozturk, 2011) ve diyabet tedavisinde (Kaval ve ark., 2014) halk ilacı olarak kullanılmaktadır.

Bazı ülkelerde *Plantago* türleri normal diyetin bir parçası olarak düzenli olarak tüketilmektedir. Örneğin, *P. asiatica* Çin'de popüler bir diyet sebzesi olarak (Xu ve Xu, 2007), *P. coronopus*, *P. lanceolata* ve *P. serraria* türlerinin tohumları ve yaprakları Fransa, İtalya ve Güney Afrika'da salata ve bebek maması olarak kullanılmaktadır. (Pieroni ve ark., 2002).

Beara ve ark. (2012)'nin "Comparative analysis of phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of two closely-related Plantain species: *Plantago altissima* L. and *Plantago lanceolata* L." adlı çalışmada *Plantago lanceolata* ve *Plantago altissima* L. bitkilerinden elde edilen liyofilize ekstraktların kayda değer bir biçimde antioksidan, antiinflamatuvar ve enzim inhibisyon aktiviteleri gösterdiği ve yüksek miktarda fenolik bileşikler içerdiği tespit edilmiş olup, fenolik kompozisyonun genel olarak klorojenik asit, luteolin heksosid başta olmak üzere çeşitli flavonoid ve fenolik asitlerden oluştuğu bildirilmiştir.

Beara ve ark. (2009)'un "Plantain (*Plantago* L.) species as novel sources of flavonoid antioxidants" çalışmasında *P. argentea* Chaix., *P. holosteam* Scop., *P. major* L., *P. maritima* L., ve *P. media* L. türlerinin yüksek antioksidan özellik gösteren flavonoidlerden luteolin-7-O-glukozid, apicenin-7-O-glukozid, luteolin, apicenin, rutin, ve kersetin içerdikleri belirlenmiş olup, kromatografik olarak miktarları belirlenmiştir.

Dalar ve Konczak (2013), "Phenolic contents, antioxidant capacities and inhibitory activities against key metabolic syndrome relevant enzymes of herbal teas from Eastern Anatolia" adlı çalışmada *Plantago lanceolata* bitkisinden elde edilen liyofilize ekstraktların kayda değer bir biçimde antioksidan ve enzim inhibisyon

aktiviteleri gösterdiği ve çeşitli tıbbi bitkilere oranla yüksek miktarda fenolik bileşikleri içerdiği tespit edilmiş olup, fenolik kompozisyonun genel olarak klorojenik asit, luteolin heksosid başta olmak üzere çeşitli flavonoid ve fenolik asitlerden oluştuğu bildirilmiştir.

Dalar ve ark. (2012)'nin, "Antioxidant capacity and phenolic constituents of *Malva neglecta* Wallr. and *Plantago lanceolata* L. from Eastern Anatolia Region of Turkey" adlı çalışmada *Plantago lanceolata* bitkisinin kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyve kısımlarından elde edilen sıvı metanol ekstratlarının çeşitli tıbbi ve baharat bitkilerine oranla daha yüksek veya karşılaştırılabilir seviyelerde oksijen radikal absorban aktivite ve serbest radikal indirgeyici aktiviteleri gösterdiklerini ve bu ekstratların yüksek miktarda flavonoid ve hidrokisisinnamik asit içeriklerine sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Gálvez ve ark. (2005a), "Antioxidant activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species" adlı çalışmalarında *Plantago* cinsine ait *P. afra*, *P. coronopus*, *P. lagopus*, *P. lanceolata*, ve *P. serraria* türlerinin güçlü DPPH radikali süpürücü özelliklere sahip oldukları ve yüksek miktarda fenolik ve fenilpropanoid içerdikleri tespit edilmiştir.

Gonçalves ve Romano (2016), "The medicinal potential of plants from the genus *Plantago* (Plantaginaceae)" adlı çalışmada *Plantago* türlerinin fenilpropanoid glikosidler, iridoidler, triterpenler, flavonoidler ve fenolik asitler gibi diğer önemli biyoaktif bileşikler ürettikleri ve *Plantago* cinsinin yeni biyoaktif moleküller ve çok fonksiyonlu polisakaritler için umut verici bir kaynak olabileceği bildirilmiştir.

Gonçalves ve ark. (2015), "Antioxidant activity and verbascoside content in extracts from two uninvestigated endemic *Plantago* spp." adlı çalışmada Portekiz'de doğal olarak yetişen endemik *Plantago algarbiensis* Samp. ve *Plantago almogravensis* Franco türlerinde baskın bileşiğin verbaskosid olduğu kromatografik yöntemlerle belirlenmiş ve verbaskosid yönünden zengin bu endemik *Plantago* türlerinin yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri bildirilmiştir.

Kartini ve ark. (2014), "HPTLC simultaneous quantification of triterpene acids for quality control of *Plantago major* L. and evaluation of their cytotoxic and antioxidant activities" adlı çalışmalarında *Plantago major* türünü triterpen asitler yönünden incelemiş ve ursolik asit ve oleanolik asit bileşikler major triterpen asitleri olarak belirlenmiştir.

Selamoglu ve ark. (2017), “*In-vitro* Antioxidant Activities of the Ethanolic Extracts of Some Contained-Allantoin Plants” adlı çalışmada *Plantago lanceolata*, *Plantago major*, *Robinia pseudoacacia*, *Platanus orientalis* and *Aesculus hippocastanum* taksonların etanol ekstrelerinin antioksidan özelliklerini incelenmiş ve P.major taksonunun diğer türlere nazaran daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Jankovic ve ark. (2012), “Comparative study of some polyphenols in *Plantago* species” adlı çalışmada *Plantago schwarzenbergiana* ve *Plantago reniformis* taksonlarında ilk defa flavonoid bileşiklerini saptamış olup, *Plantago schwarzenbergiana* türünde apicenin, *Plantago atrata*, *Plantago coronopus*, *Plantago holosteam* ve *Plantago lanceolata* türlerinde ise luteolin ve luteolin heksosid bileşiklerinin baskın flavonoidler olduğu bildirilmiştir.

Plantago türlerinin fitokimyasal analizi ile ilgili yürütülen ve bilimsel literatürde yayımlanan çalışmalar ve bu çalışmalar sonucunda tespit edilen bileşikler Çizelge 2.1’de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. *Plantago* türlerinde tespit edilen kimyasal bileşikler

Takson	Bitki Materyali	Fitokimyasal bileşik	Kaynaklar
<i>P. altissima</i>	Toprak üstü	p-Hidroksibenzoik asit, 2,5-Dihidroksibenzoik asit, Protokatekuik asit, Vanilik asit, Gallik asit, Sinnamik asit, p-Kumarik asit, Kafeik asit, Ferulik asit, Klorojenik asit; Apicenin, Apicenin-7-O-glukozit, Kemferol, Kemferol-3-O-glukozit, Luteolin, Luteolin-7-O- glukozit, Kersetin, Rutin	Beara et al. (2012)
<i>P. amplexicaulis</i>	Yaprak	Kemferol 3-0-β-D-glukozit, Kemferol 3,7-di-0-β-D-glukozit Apicenin, Apicenin 7-O-glukozit,	Salama ve Saffan (2003)
<i>P. argentea</i>	Toprak üstü	Luteolin, Luteolin-7-O- glukozit, Rutin	Beara ve ark. (2009)

Çizelge 2.1. *Plantago* türlerinde tespit edilen kimyasal bileşikler (Devam)

Takson	Bitki Materyali	Fitokimyasal bileşik	Kaynaklar
<i>P. asiatica</i>		Plantagozıt	Genç (2011)
		6-Hidroksiluteolin 7- O-glukozit	Nishibe (1994)
	Toprak üstü	Trisin, Trisin 7-O- glukuronit, Kersetin, Kersetin 3-O-rutinozıt, İzoramnetin 3-O-rutinozıt	Murai ve ark. (2008)
		Plantaginın	Zaghloul ve Ahmed (2000); Miyase ve ark. (1991)
<i>P. bellardii</i>	Yapraklar	Rozolik asit Klorojenik asit	Li ve ark. (1995) Rønsted ve ark. (2000; 2003)
Fenolik asitler			
<u>Hidroksibenzoik asitler:</u>			
	Kökler, yapraklar, çiçekler	Gallik asit, p-Hidroksibenzoik asit, Vanillik asit, Sirinjik asit, Salisilik asit	
<u>Hidroksisinnamik asitler:</u>			
	Çiçekler	Kafeik asit, Ferulik asit, Kumarik asit, Verbaskosid,	
<i>P. coronopus</i>	Kökler, yapraklar, çiçekler	Rosmarinik asit	Pereira ve ark. (2017)
	Kökler, yapraklar		
Flavonoidler			
<u>Flavanoller:</u>			
	Çiçekler Kökler, yapraklar, çiçekler	Katekin, Epikateşin	
<u>Flavonoller:</u>			
	Kökler, yapraklar, çiçekler	Kersetin <u>Flavonlar:</u> Luteolin-7-O- glukozit, Luteolin, Apicenin	
<i>P. crassifolia</i>	Yapraklar	Trisin 7-O-glukozit	Zaghloul ve Ahmed (2000)
<i>P. cretica</i>	Yapraklar	Klorojenik asit	Rønsted ve ark. (2000; 2003)
<i>P. depressa</i>	Yapraklar	Hispidulin, Homoplantaginın	Wu ve ark. (2006)
<i>P. hakusanensis</i>	Yapraklar	Apicenin, Luteolin 7-O- glukuronit, Hispidulin, Nepetin 7-O-glukuronit	Murai ve ark. (2008)
<i>P. holosteam</i>	Toprak üstü	Apicenin 7-O- glukozit, Luteolin, Luteolin-7-O- glukozit	Beara ve ark. (2009)

Çizelge 2.1. *Plantago* türlerinde tespit edilen kimyasal bileşikler (Devam)

Takson	Bitki Materyali	Fitokimyasal bileşik	Kaynaklar
<i>P. lagopus</i>	Toprak üstü	Apicenin 7- <i>O</i> - arabinozit, 6-Hidroksiluteolin (Nornepetin), 6-Hidroksiluteolin 7- <i>O</i> - arabinozit, Luteolin 7- <i>O</i> -arabinozit	Afifi ve Maatooq (1990)
		Luteolin 7- <i>O</i> -glukozit Kersetin 3'-metileter (İzoramnetin) Klorojenik asit Rozmarinik asit	Rønsted ve ark. (2000) Velazquez ve ark. (1992) Rønsted ve ark. (2003) Fiz ve ark. (2000)
	Yapraklar	Fenolikler, flavonoidler, tanen, saponin, glikozitler Apicenin, Luteolin,	Abate ve ark. (2017)
	Yapraklar	Klorojenik asit, Katalpol, 7,3',4'- Trihidroksiflavon 7-glukozit, Luteolin-7- <i>O</i> -β- glukozit Kafeik asit, o-Kumarik asit,	Nichita ve ark. (2016)
	Yapraklar	Rutin, Kersetin, Kemferol p-Hidroksibenzoik asit, 2,5-Dihidroksibenzoik asit, Protokatekuik asit, Vanilik asit, Gallik asit, Sinnamik asit, p-Kumarik asit, Kafeik asit,	Rodica ve Vârban (2012)
<i>P. lanceolata</i>	Toprak üstü	Ferulik asit, Klorojenik asit; Apicenin, Apicenin-7- <i>O</i> -glukozit, Kemferol-3- <i>O</i> -glukozit, Luteolin, Luteolin-7- <i>O</i> - glukozit, Kersetin, Rutin b-Hidroksi-akteozit, Plantamajozit, Lavandulifoliozit,	Beara ve ark. (2012)
	Toprak üstü	Akteozit, Luteolin-3,7-diglucuronid, Kafeik asit, Luteolin, Luteolin-7-diglucuronid Trisin,	Fleer ve Verspohl (2007)
<i>P. lanceolata</i>	Toprak üstü	Trisin 7- <i>O</i> - glukuronit, Kersetin, Kersetin 3- <i>O</i> -rutinozit	Murai ve ark. (2008)

Çizelge 2.1. *Plantago* türlerinde tespit edilen kimyasal bileşikler (Devam)

Takson	Bitki Materyali	Fitokimyasal bileşik	Kaynaklar
<i>P. major ssp. spleiosperma</i>	Tüm bitki	Plantamajosit	Mølgaard (1986)
<i>P. maritima</i>	Toprak üstü	Apicenin 7-O-glukozit, Luteolin, Luteolin-7-O-glukozit	Beara ve ark. (2009)
<i>P. media</i>	Toprak üstü	Apicenin 7-O-glukozit, Rutin	Beara ve ark. (2009)
<i>P. ovata</i>	yapraklar	Apigenin, Apigenin 7- metileter, Luteolin	Afifi ve ark. (2000)
		Fenolik asidler	
	Toprak üstü	p-Hidroksibenzoik asid, 2,5-Dihidroksibenzoik asid, Protokateşik asit, Vanillik asit, Gallik asit, Sirinjik asit, Sinnamik asit, o-Kumarik asit, p-Kumarik asit, Kaffeik asit, Ferulik asit, 3,4-Dimetoksisinnamik asit, Sinapik asit, Klorojenik asit	
<i>P. reniformis</i>		Flavonoidler	Beara ve ark. (2012)
	Toprak üstü	Apicenin, Apicenin-7-O-glukozit, Apiin, Viteksin, İzoramnetin, Kemferol, Kemferol-3-O-glukozit, Luteolin, Luteolin-7-O-glukozit, Kersetin, Kersitrin, Kersetin-3-O-glukozit, Hiperozit, Rutin, Narincenin	
<i>P. squarrosa</i>	Toprak üstü	Luteolin 3'-metileter (Krizoeriyol), Krizoeriyol 7-O-glukozit	Afifi ve ark. (2001)

Literatür taraması sonucunda *Plantago* cinsine ait taksonlarda tespit edilen yağ asitleri Çizelge 2.2’de sunulmuştur

Çizelge 2.2. *Plantago* cinsine ait taksonlarda tespit edilen uçucu ve yağ asidi bileşikleri

Takson	Kullanılan kısım	Bileşik	Kaynaklar
<i>P. crassifolia</i>	Yaprak	Lupeol, Plantakrassin	Genç (2011)
	Tohum	Ursolik asit, Oleanolik asit	Zaghloul (2006).
<i>P. cynops</i>	Yaprak	Oleanolik asit	Debrauwer ve ark. (1989)
<i>P. depressa</i>	Tohum	Ursolik asit	Yan ve ark. (2009)
<i>P. lagopus</i>	Yapraklar	Oleanolik asit, Oleanolik asit 3- <i>O</i> -asetat	
<i>P. major</i>	Toprak üstü	Palmitik asit, Linoleik asit	Mazzutti ve ark. (2017)
	Toprak üstü	Oleanolik asit, Ursolik asit	Samuelsen (2000); Kartini ve ark. (2014)
	Yapraklar	Araşidik asit, Behenik asit	Guil ve ark. (1997)
	Tohum	Miristik asit	Swiatek ve ark. (1980)
	Tohum	Oleik asit, Linoleik asit, Linolenik asit	Ahmed ve ark. (1968), Swiatek ve ark. (1980)
	Yapraklar	Palmitik asit, Sterik asit, Oleik asit, Linoleik asit, Linolenik asit	Ahmed ve ark. (1968)
	Tohum	9-Hidroksi- <i>cis</i> -11-oktadesenoik asit	Ahmed ve ark. (1968)
	Tohum	Lignoserik asit	Pailer ve Haschke- Hofmeister (1969)
	Tohum	Ursolik asit, Oleanolik asit	Tarvainen ve ark. (2010)
	<i>P. ovata</i>	Tohum	Oleanolik asit Oleanolik asit 3- <i>O</i> -asetat
<i>P. psyllium</i>	Tohum	Linoleik asit, Oleik asit, Palmitik asit	ESCAP (2003)
<i>P. reniformis</i>	Toprak üstü	Linoleik asit	Beara ve ark. (2012)
	Toprak üstü	Palmitik asit, Linoleik asit	Mazzutti ve ark. (2017)
<i>P. lanceolata</i>	Yapraklar	Monoterpenler: α -Pinen, δ -3-Caren, p-Simen, Limonen, β - <i>cis</i> -Osimen, α -Osimen, γ -Terpinen, α -Terpinolen, Okside edilmiş monoterpenler: 1,8-Sineol, Fenchon, Linalool, β - Tujon, Kamfor, Menton, izomenton, Neomentol, Mentol, α -Terpineol, Nerol, Pulegon, Karvon, Geraniol, Timol, Karvakrol	Bajer ve ark. (2016)

Çizelge 2.2. *Plantago* cinsine ait taksonlarda tespit edilen uçucu ve yağ asidi bileşikleri
(Devam)

Takson	Kullanılan kısım	Bileşik	Kaynaklar
<i>P. lanceolata</i>	Yapraklar	<u>Sesquiterpenler;</u> β-Bourbonen, α-Gurjunen, β-Caryophyllen, (E)-α-bergamoten, (E)-β-Farnesen, (E,E)-α-Farnesen, β-Bisabolen, β-Sesquiphellandren.	Bajer ve ark. (2016)
		<u>Okside edilmiş sesquiterpenler;</u> Kabreuva okside A, B,D, (E)-Nerolidol, Spatulenol, Viridiflorol, Fokienol, Humulen epoksid II, İzospatulenol, α-Bisabolol oksid B, β-ödesmol, Valeranon, α-Bisabolon oksid A, Valerenal, α-Bisabolol oksid A, Xanthorhizol.	
		<u>Okside edilmiş diterpenler;</u> Fiton, İzofitol, Geranil linalool, 13-Epimanool, Fitol.	
		<u>Apokarotenoidler;</u> β-İzoforon, α-İzoforon, Safranal, β-Siklositral, β-Damascenon, Tetrahidrojeranilaseton, Geranilaseton, E)-β-İnonon, 5,6-Epoksi-β-ionon, (E,E)-Pseudoionon, Megastigmatrienon, (5E,9E)-Farnezil aseton.	
		<u>Aldehit ve Ketonlar;</u> Profil vinil keton, (3E,5E)-1,3,5-Heptatrien, Etil profil keton, Metil butil keton, Kapronaldehit, (E)-2-hekzenal, (Z)-4-Heptenal, Heptanal, α-Etilkaproaldehit, (E)-2-Heptenal, Benzaldehit, Pentil vinil keton, 2,3-Oktanediol, Kaprilaldehit, (E,E)-2,4-Heptadienal, 2,2,6-Trimetilsikloheksanon, Fenilasetaldehit, 2-Oktenal, Asetofenon, Nonanal, (E,E)-2,4-oktadienal, (E,Z)-2,6-nonadienal, (E)-2-nonenal, p-Etilbenzaldehit, p-Metilasetofenon, Kapraldehit, Undekanal, (E,E)-2,4-dekadienal, Benzofenon, Pentadekanal, p-Metilbenzofenon, Palmitaldehit.	
		<u>Alkoller;</u> 2-Hekzanol, (Z)-3-hekzen-1-ol, 1-Okten-3-ol, 3-Oktenol, Oktanol, Tetradekanol.	
		<u>Fenol ve fenolik eterler;</u> p-Allilanol, (E)-anethol, p-Vinilguaiacol, Eugenol, 2,5-Di-tert-butilfenol.	
		<u>Esterler;</u> Metil salisilat, Linalil asetat, Bornil asetat, Mentil asetat, α-Terpil asetat, Neril asetat, 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirat, İzoprofil laurat, Metil miristat, Metil palmitat, Metil linoleat, Metil linolenat, Etil linoleat.	

Çizelge 2.2. *Plantago* cinsine ait taksonlarda tespit edilen uçucu ve yağ asidi bileşikleri (Devam)

Takson	Kullanılan kısım	Bileşik	Kaynaklar
<i>P. lanceolata</i>	Yapraklar	<u>Alifatik hidrokarbonlar:</u> Dodekan, Tridekan, Tetradekan, Pentadekan, Setan, Heptadekan, Oktadekan, Nonadekan.	Bajer ve ark. (2016)
		<u>Aromatik hidrokarbonlar:</u> Toluen, 1,3-Diizoprofilnaftalen, 1,4- Diizoprofilnaftalen, 2,7- Diizoprofilnaftalen, 1,6- Diizoprofilnaftalen, 2,6- Diizoprofilnaftalen, Diizobutil ftalat, Dibutil ftalat.	
		<u>Yağ asitleri:</u> Kaprik asit, Miristik asit, Pentadekanoik asit, Palmitik asit, Margarik asit, Linoleik asit, Linolenik asit	

Plantago cinsine ait bazı taksonların mineral içerikleri Çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çizelge 2.3. *Plantago* cinsine ait taksonların mineral içerikleri

Takson	Bitki materyali	Mineral	İçerik	Kaynaklar
<i>P. coronopus</i>	Yapraklar	Sodyum (Na)	50.0 mg/g	Pereira ve ark. (2017)
		Kalsiyum (Ca)	14.0 mg/g	
		Potasyum (K)	8.02 mg/g	
		Magnezyum (Mg)	6.34 mg/g	
		Demir (Fe)	0.41 mg/g	
		Mangan (Mn)	0.01 mg/g	
		Çinko (Zn)	0.05 mg/g	
		Bakır (Cu)	Tespit edilmedi	
		Krom (Cr)	Tespit edilmedi	
		Nikel (Ni)	Tespit edilmedi	
<i>P. lanceolata</i>	Yapraklar	Kadmiyum (Cd)	Tespit edilmedi	Guil-Guerrero (2001)
		Sodyum (Na)	29.0 mg/100 g	
		Potasyum (K)	387 mg/100 g	
		Kalsiyum (Ca)	60 mg/100 g	
		Magnezyum (Mg)	49.3 mg/100 g	
		Fosfor (P)	30.2 mg/100 g	
		Demir (Fe)	1.54 mg/100 g	
		Bakır (Cu)	0.14 mg/100 g	
		Çinko (Zn)	0.58 mg/100 g	
		Mangan (Mn)	0.38 mg/100 g	
<i>P. major</i>	Yapraklar	Bakır (Cu)	6,97 mg/l	Yiğit (2013)
		Çinko (Zn)	26,44 mg/l	
		Mangan (Mn)	22,76 mg/l	
		Demir (Fe)	199,93 mg/l	
		Kalsiyum (Ca)	4434,44 mg/l	
		Potasyum (K)	4913,69 mg/l	
Magnezyum (Mg)	3309,57 mg/l			

Çizelge 2.3. *Plantago* cinsine ait taksonların mineral içerikleri (Devam)

Takson	Bitki materyali	Mineral	İçerik	Kaynaklar
<i>P. major</i>	Yapraklar	Sodyum (Na)	124 mg/100 g	Guil-Guerrero (2001)
		Potasyum (K)	318 mg/100 g	
		Kalsiyum (Ca)	108 mg/100 g	
		Magnezyum (Mg)	95.3 mg/100 g	
		Fosfor (P)	23.4 mg/100 g	
		Demir (Fe)	1.74 mg/100 g	
		Bakır (Cu)	0.18 mg/100 g	
		Çinko (Zn)	0.41 mg/100 g	
		Mangan (Mn)	0.40 mg/100 g	
		Sodyum (Na)	35.0 mg/100 g	
		Potasyum (K)	440 mg/100 g	
		Kalsiyum (Ca)	143 mg/100 g	
		Magnezyum (Mg)	55.1 mg/100 g	
		<i>P. media</i>	Yapraklar	
Demir (Fe)	2.62 mg/100 g			
Bakır (Cu)	0.22 mg/100 g			
Çinko (Zn)	0.97 mg/100 g			
Mangan (Mn)	0.89 mg/100 g			

Taranan literatürlerde *Plantago* cinsine ait çok sayıda taksonun antioksidan aktivitesinin deney sonuçları tablo şeklinde sunulmuştur (Çizelge 2.4).

Çizelge 2.4. *Plantago* cinsine ait taksonların antioksidan aktivite sonuçları

Takson	Kullanılan kısım	Çözücü	Deney	Sonuç	Kaynaklar
<i>P. afra</i>	Toprak üstü	MeOH	DPPH	IC ₅₀ : 85.22 µg/ml	Gálvez ve ark. (2005)
<i>P. algarbiensis</i>	Toprak üstü	%80 MeOH	DPPH	IC ₅₀ : 18.51 µg/ml	Gonçalves ve ark. (2015)
<i>P. almogravensis</i>	Yapraklar	%80 MeOH	DPPH	IC ₅₀ : 13.59 µg/ml	Beara ve ark. (2012)
<i>P. altissima</i>	Toprak üstü	%80 MeOH	DPPH, FRAP	DPPH IC ₅₀ : 10.74 µg/ml, FRAP 66.70 mg AAE/g	Beara ve ark. (2012)
<i>P. arachnoidea</i>	Tohum	%60 MeOH	DPPH	IC ₅₀ : 93.24 µmol/g	Zhou ve ark. (2013)
<i>P. arborescens</i>	Yapraklar	%50 EtOH	ORAC	~450 µmol TE/g kuru ağırlık	Tavares ve ark. (2010)
<i>P. argentea</i>	Toprak üstü	%80 MeOH	DPPH, FRAP	DPPH IC ₅₀ : 7.38, 120.47, 50.04 and 11.29 µg/ml; FRAP 120.02 mg AAE/g	Beara ve ark. (2009)
<i>P. asiatica</i>	belirtilmemiş	MeOH	DPPH, FRAP	DPPH:IC ₅₀ : 173.1 µg/ml ve :0.74 mmol/g	Choi ve ark. (2008)
<i>P. asiatica</i>	Tüm bitki	%80EtOH ve ardışık hekzan, etil asetat ve su	ORAC	~1500–8000 µmol TE/g	Amakura ve ark. (2012)

Çizelge 2.4. *Plantago* cinsine ait taksonların antioksidan aktivite sonuçları (Devam)

Takson	Kullanılan kısım	Çözücü	Deney	Sonuç	Kaynaklar
<i>P. bellardii</i>	Toprak üstü	MeOH	DPPH	IC ₅₀ : 23.70 µg/ml	Gálvez ve ark. (2005b)
<i>P. camtschatica</i>	Tohumlar	%60 MeOH	DPPH	18.45 µmol TE/g	Zhou ve ark. (2013)
	Toprak üstü	%70 EtOH	DPPH, Fe ²⁺ şelatlama	DPPH IC ₅₀ : 456.97 mg yaş ağırlık/mg; %9 Fe ²⁺ şelatlama kabiliyeti 66.7 mg /ml >10 mg /ml;	Choi ve ark. (2008)
<i>P. coronopus</i>	Kökler	Hekzan, Etil asetat, Metanol, Su	DPPH	0.47 mg /ml; 0.51 mg /ml; 0.81 mg /ml	Pereira ve ark. (2017)
	Yapraklar	Hekzan, Etil asetat, Metanol, Su		8.56 mg /ml; 1.66 mg /ml; 1.21 mg /ml; 1.88 mg /ml;	
	Çiçekler	Hekzan, Etil asetat, Metanol, Su		>10 mg /ml; 4.33 mg /ml; 0.88 mg /ml; 0.76 mg /ml;	
<i>P. depressa subsp. turczaninowii</i>	Tohumlar	%60 MeOH	DPPH	99.13 µmol TE/g	Zhou ve ark. (2013)
<i>P. holosteum</i>	Toprak üstü	%80 MeOH	DPPH, FRAP	DPPH IC ₅₀ :6.28 µg/ml, FRAP: 115.99 mg AAE/ g kuru ağırlık	Beara ve ark. (2009)
	Kök, yaprak, çiçek, meyve, tüm bitki	%80 MeOH ve %1'lik HCl	FRAP, ORAC	FRAP:kök, yaprak, meyve ve tüm bitki sırasıyla 190.1, 130.4, 369.1, 255.2, 144.7 ve 201.4 µmol Fe ²⁺ /g kuru ağırlık; ORAC: sırasıyla 920.8, 925.2, 1625.0, 1134.0, 738.0 ve 930.5 µmol TE/g kuru ağırlık	Dalar ve ark. (2012)
<i>P. lanceolata</i>	Tüm bitki	%80 EtOH	FRAP, ORAC	FRAP ve ORAC deneyleri sırasıyla;~1100 µmol Fe ²⁺ /g DW ve 3500 µmol TE/g DW	Dalar ve Konczak (2013)
	Yaprak	MeOH	DPPH	IC ₅₀ : 263.57 µg/ml	Kartini ve ark. (2014)
	Yaprak	Su, Etanol	DPPH	19,08 µg/ml, 10,33 µg/ml	Yiğit (2013)
<i>P. major</i>	Yaprak	Su, Etanol	Metal-şelat	57,82 µg/ml, 56,80 µg/ml,	
	Toprak üstü	%80 MeOH	DPPH, FRAP	DPPH:IC ₅₀ : 5.35 µg/ml, FRAP: 73.89 mg AAE/ g DW	Beara ve ark. (2009)

Çizelge 2.4. *Plantago* cinsine ait taksonların antioksidan aktivite sonuçları (Devam)

Takson	Kullanılan kısım	Çözücü	Deney	Sonuç	Kaynaklar
<i>P. maritima</i>	Toprak üstü	%80 MeOH	DPPH, FRAP	DPPH:IC ₅₀ ; 6.79 µg/ml, FRAP: 93.39 mg AAE/ g DW	Beara ve ark. (2009)
<i>P. media</i>	Toprak üstü	%80 MeOH	DPPH, FRAP	DPPH:IC ₅₀ ; 5.77 µg/ml, FRAP: 120.02 mg AAE/ g DW	Beara ve ark. (2009)
<i>P. minuta</i>	Tohumlar	%60 MeOH	DPPH	98.38 µmol TE/g	Zhou ve ark. (2013)
<i>P. reniformis</i>	Toprak üstü	%80 MeOH	DPPH, FRAP	DPPH:IC ₅₀ ; 11.07 µg/ml, FRAP: 44.48 mg AAE/ g DW	Beara ve ark. (2012)
<i>P. serraria</i>	Tohumlar	MeOH	DPPH	7.60 µg/ml	Gálvez ve ark. (2005a)

DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil; DW: kuru ağırlık; EtOH: etanol; FRAP: ferrik indirgeyici antioksidan gücü; MeOH: metanol; ORAC: oksijen radikalli absorban kapasitesi; TE: trolox eşdeğerleri

Taranan literatür çalışmaları neticesinde *Plantago anatolica* bitkisinin fitokimyasal analiz ve sağlık arttırıcı etkileri konusunda bilimsel literatürde herhangi bir veri tespit edilememiş olup, bu konuda ciddi bir boşluk bulunduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın ana materyali olan *Plantago anatolica* bitkisi yerel halk tarafından yüzyıllardır diyabet, epilepsi ve karın ağrısı tedavisinde kullanılmakta ve bölgede yaşayan insanlar tarafından oldukça faydalı olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle bu bitkinin kimyasal içeriğinin belirlenmesi ve potansiyel sağlık değerlerinin test edilmesi bilimsel literatürde yer alan boşluğun doldurulmasında katkı sunacağı ve ülkemizde geleneksel tıbbi tedavide kullanılan diğer bitki türlerinin de benzer ve/veya daha kapsamlı bir şekilde analiz edilmesi konusunda yönlendirici etki oluşturacağı düşünülmektedir.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Botanik Bilgiler

3.1.1. *Plantaginaceae* familyasının genel özellikleri

Otsular ya da nadiren dallanmış yarı çalılardır. Yapraklar genellikle dipte, almaşlı ya da nadiren karşılıklı, basittir. Çiçekler skapos, başçık ya da spikalarda, genellikle erdişi, ışınsal simetridir. Sepaller 4, birleşik, zarımsı yapıdadır. Petaller 4 (3) birleşik, derimsi yapıdadır. Stemenler 4 (nadiren 1-2), petallere bağlıdır. Pistil 1, ovaryum üst durumlu, 1-4 (nadiren 2) lokuluslu, 2 karpelli, ovüller her lokulusta 1-çok sayıda, plasentasyon genellikle eksensel ya da bazaldır. Meyve kapaklı kapsula ya da nukstur (Davis, 1965-85).

Ilıman bölgelerde ve tropiklerdeki yüksek dağlarda yayılışı olan aile 120 cins ve 1614 tür, alttür ve varyete düzeyinde takson içerir. Ülkemizde 18 cinse ait 217 takson bulunur (Güner ve ark. 2012).

3.1.2. *Plantago* cinsiyle ilgili genel bilgiler

Tek ya da çok yıllık otsular ya da yastıkçık oluşturan çalılardır. Yapraklar; tabanda birbirini izleyen sık rozet şeklinde veya gövde üzerinde karşılıklı dizilmiştir. Yaprakları, şeritsi'den yumurtamsı-küremsiye kadar değişmektedir. Korolla huni şeklinde ya da rotattır. Petaller 4(3) birleşik, derisi yapıda, Sepaller 4 birleşik (zarımsı yapıda), Stamenler 4 (nadiren 1-2), petallere bağlıdır. Pistil 1, ovaryum üst durumlu, meyveleri kapsula ya da nuks.

Kozmopolit bir cins olup tüm dünyada 268 takson içerir. *Plantago* cinsinin ülkemizde takson sayısı fazla; fakat endemizm oranı düşüktür. Türkiye'de tür, alttür ve varyete düzeyindeki takson sayısı 28 olup ve bunlardan ikisi (*Plantago anatolica* Tutel & R. Mill. ve *Plantago euphratica* Decne. ex Barneoud) endemiktir.

3.1.3. *Plantago* cinsinin tayin anahtarı

1. Bitki saplıdır; yapraklar karşılıklı (Sect. *Psyllium*)
2. Bodur çalı
2. Çok yıllık veya tek yıllık bitkiler
3. Çok yıllık; başaklar 1-3 cm

20. sempervirens

21. euphratica

3. Tek yıllık; başaklar 0.5-1.5 cm

4. Gövde açık dallı, yumuşak tüyler aşağıya doğru kıvrık; öndeki sepaller, arkadakinden daha uzun; korolla tübü sadece çok az buruşuk veya hiç buruşuk değil.

17. squarrosa

4. Gövde yükselen dallı, belirgin veya yükselen tüylü; ön sepaller arkadakilerle eşit; korolla tübü ± kuvvetli buruşuk

5. Daha aşağıdaki brakteler geniş omurgalı ve orbikular-ovat tabanlı, şeritsi-biz; üst brakteler geniş spatulat; bitki sert ve salgı tüylü

18. scabra

5. Tüm braktelerin şekli benzer; bitki genellikle yukarda güçlü salgı tüylü

19. afra

1. Bitki genellikle sapsız; yapraklar bazal rozet veya birbirini takip eder şekilde(alternat)

6. Korolla tübü tüylü; 3-5 ovüllü (Sect. *Coronopus*)

7. Gövde dallanmamış veya nadir dallanmış; yapraklar dişli veya 1-2 pinnatifid, nadiren düz; kapsüla 3 gözlü

2. coronopus

7. Gövde dallanmış, birkaç rozetli, yaprakların kenarları düz veya nadiren dişli (dentat); kapsüla 2 gözlü

8. Yapraklar etli; arka sepaller zarımsı, ince, kanat sepalin kalan kısmının 1/2 genişliğinde, omurga geniş

3. crassifolia

8. Yapraklar etli değil; arka sepaller çok dar kanatlı

9. Yapraklar şeritsi, ± kalın, düz, sert değil; kenarları silli değil: gövde gevşek dallanmış

4. maritima

9. Yapraklar dar şeritsi (linear), 1 mm genişlikte, uçta üç köşeli, sert, damarlar arası oluklu, kenarları kılsı-silli (setulose-ciliate); gövde sık dallanmış.

6. Korolla tüpü tüysüz; 2 veya daha fazla ovüllü

10. Ön sepaller uzunluklarının 1/2 'sinden daha fazla bitişik; sap (skapus) oluklu (Sect. *Arnoglossum*)

11. Brakteler ve sepaller yoğun ince uzun yumuşak tüylü (villous)

12. lagopus

11. Brakte ve sepaller çıplak veya çok kısa tüylü

12. Rozetler genellikle birkaç, yapraklar mızraksı (lanseolat) veya nadir eliptik, tüysüz (glabrus), yumuşak kılsı (pilo) veya ince uzun yumuşak tüylü (villous), 3-7 damarlı; skapus belirgin 5-oluklu; arkadaki sepallerin omurgası tüylü; korolla beyazımsı

10. lanceolata

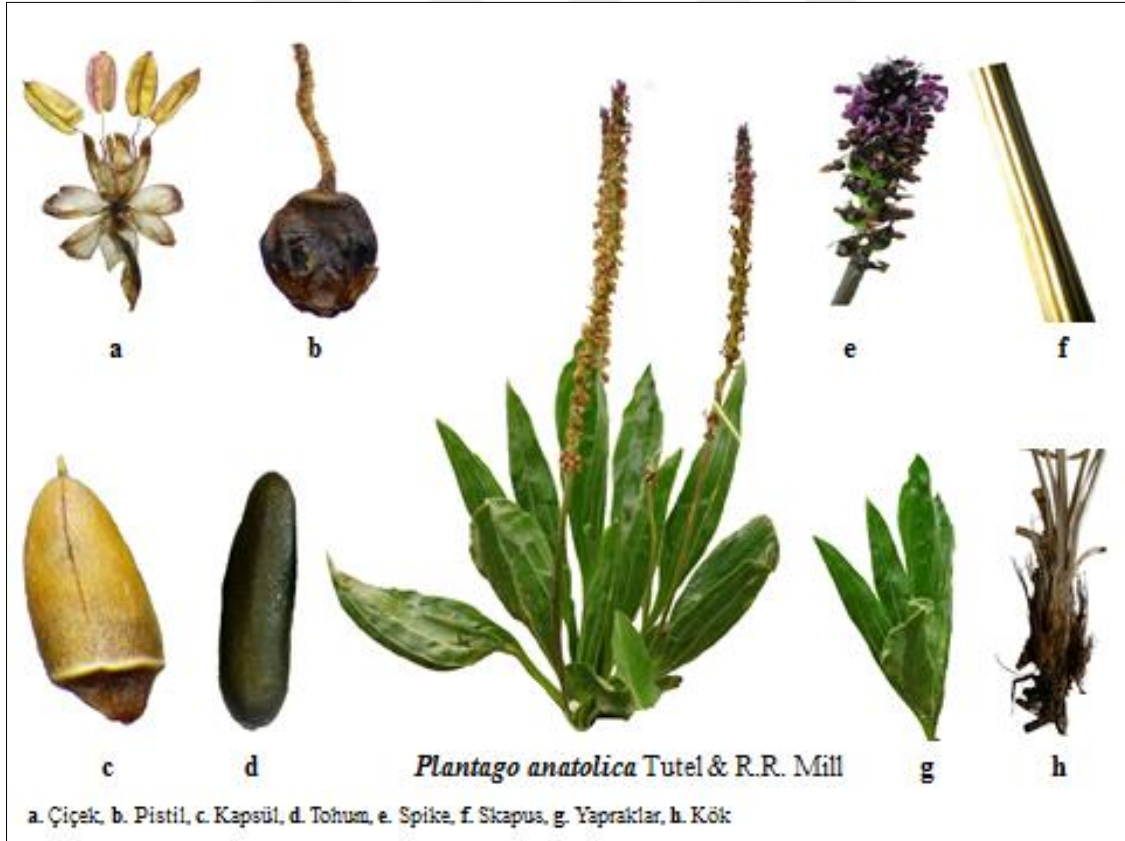
12. Rozetler genellikle tek; yapraklar lanseolat veya dar linear-lanseolat, yumuşak ipeksi tüylü, 3-7 damarlı; sap oluklu veya çizgili; arkadaki sepaller tüysüz; korolla toz renkli veya parlak beyaz
- 11. argentea**
10. Öndeki sepaller uzunluklarının 1/2' sinden daha fazla serbest; sapları genellikle düz ve yuvarlak, nadiren oluklu
13. Tüm bitki bariz sık uzun-tüylü; anterlerin ucu geniş, apikulat ve zarımsı (Sect. *Hymenopsyllium*)
14. Sap (skapus) yünlü, yay şeklinde kıvrık- geri kıvrık (arcuate-recurved), meyvada kısa ve kalınlaşmış, korolla lobları orbikular-ovat
- 15. cretica**
14. Sap piloz, dik veya değil, meyvada kalın değil, salgısız-tüylü; korolla lobları ovat-lanseolat
- 16. bellardii**
13. Tüm bitki yoğun uzun-tüylü değil; anterler uçta çok az kısa keskin noktalı (apikulat)
15. Brakteler dairemsi (orbikular), 4-4.5 x 5-6 mm, uçta trunkat veya emarginat (Sect. *Oreades*)
- 7. atrata**
15. Brakteler 4 mm'den daha az
16. Gövde dallanmış; öndeki sepaller asimetric, yanal omurgalı (Sect. *Leucopsyllium*)
- 13. albicans**
16. Gövde dallanmamış, sepaller asimetric değil
17. Öndeki sepallerde omurga ve damar yok
- 14. loeflingii**
17. Tüm sepallerde omurgalı ve damarlı
18. Brakteler orbikular, 1-1.5 mm, omurga dar, damarlar belirgin (Sect. *Gentianoides*)
- 8. gentianoides subsp. gentianoides**
18. Brakteler orbikular değil, 1.5 mm veya daha uzun, omurga belirgin veya kalınlaşmış
19. Sapı tüysüz, açıkça 11-oluk, gevşek başaklar boyunca alttaki birbirinden çiçekler uzak
- 9. anatolica**
19. Sap tüylü, çizgili veya belirsiz oluklu; başaklar sık (sadece bazen tabanda gevşek)
20. Yapraklar eliptik, ovat-orbikular veya ovat; korolla lobları üç köşeli, 1 mm'den daha az; sapları (skapus) tek hücreli tüylü; başaklar 4-40 cm (Sect. *Plantago*)
- 1. major**

20. Yapraklar eliptik-ovat; korolla lobları lanseolat-ovat, parlak beyaz, 2 mm, saplar bölmeli tüylü; başaklar 3-15 cm (Sect. *Lamprosantha*)

6.media

3.1.4. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin botanik özellikleri

Plantago anatolica Tutel & R.R. Mill Ağrı İlinin Patnos İlçesinden Tutak ilçesine doğru 18. km. çayırılık alanlarda 1928 yılında bilim dünyasına tanıtılmıştır. Boyu 30-45 cm uzunluğunda olan çok yıllık bir bitkidir. Yapraklar dar eliptik, (8-)10-18 x 1.5-3 cm, 7 damarlı, tüysüz ya da nadiren ince tüylü, yaprak kenarı düz, yaprak sapı 6-7 cm uzunluğunda. Skapus 25-40 cm uzunluğundadır. Uzanmış spika (5.5-)8-15.5 cm, dar silindirik, çiçekler gevşek, alt çiçekler birbirinden uzak. Sepaller serbest (taban hariç) 3.2-3.5 x 1.5-2.2 mm, dar omurgalı ovattır. Korolla 5 mm, lobları kısa sipsivri. Ovüller (2-)4 (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin organları.

3.2. Tıbbi Bitkiler

Hastalıkların tedavisinde ve sağlıklı bir yaşamın sürdürülmesinde kullanılan bitkinin kök, gövde, yaprak, kabuk, tohum, meyve ve çiçeklerini kapsamaktadır (Tang ve Halliwell, 2010).

3.2.1. Tıbbi kullanım

Bitkilerin tamamı ya da bir kısmı kullanılır: Bitkinin tamamı (herba), kök (radix), yeraltı gövde (rizom), yumru gövde (tuber), soğan (bulbus), kabuk (korteks) yaprak (folia), çiçek (flos), meyve (fructus), tohum (semen); bitkilerin işleminden geçmesiyle elde edilen kısımlar: zamk (gummi), reçine (balsam); sadece etken maddesi: mentol; tentür, şurup, hulasa, ekstre gibi galenik preparatlar halinde kullanılabilir.

3.2.2. Tıbbi bitkilerin toplanması

Tıbbi bitkileri toplayan kişinin temel botanik bilgisi olmalı, tıbbi bitkileri planlı bir şekilde toplamalı ve tabiatı korumaya özen göstermelidir. Etkili tedavi sağlamak için bitki örnekleri taze bir şekilde toplanmalıdır. Bunun için;

- ❖ Yapraklar, bitki çiçek açmaya başladığı zaman,
- ❖ Çiçekler, tamamen açılmadan veya tomurcuk halinde,
- ❖ Kökler, bitkinin toprak üstündeki kısımları kuruduktan sonra,
- ❖ Kabuklar, bitki yapraklarını döktükten sonra,
- ❖ Meyveler, olgunlaştıktan sonra toplanmalıdır.

Kurallara uygun bir şekilde toplanmış olan bitki örnekleri temiz bezlerin veya baskısız ve boyasız kağıtların üzerine serpiştirilerek gölgeli, havadar ve sıcak yerlerde en çabuk şekilde kurutulur.

Tedavi amacıyla kullanılacak bitkilerden etkin sonuç alabilmek için;

- ❖ Doğru bitki, doğru zamanda, doğru kısmının kurutma ve saklanma işlemleri doğru bir şekilde yapılarak kullanılmalı,
- ❖ Doğru dozda alınmalı,
- ❖ Ekstraksiyon yöntemleri ve analizleri uygun olmalı,
- ❖ Bitkisel ürün ilaç hazırlamaya uygun miktar ve doğru bitki kimyasallarını içermeli,
- ❖ Şartlara uygun olarak hazırlanan bitkisel ürünün, standardize edilmiş ve hijyenik şartlarda ambalajlanmalıdır (Kaya, 2010).

Bitkilerle tedavi edici veya tedaviye yardımcı ürün hazırlamada dikkat edilmesi gereken konuları şu şekilde sıralanabilir:

a) Yapısal ve kimyasal farklar: Bir cins içerisinde yer alan türler botanik açıdan birbirlerine çok benzeyebilir, kimyasal yapısı türler arasında farklılık gösterebilir. Örneğin, *Papaver somniferum* L. (Haşhaş) bitkisi morfin içerirken, *Papaver rhoeas* L. ise morfin içermeyip, başka bir alkaloid olan kodein taşır. Ayrıca bir cinsin içerisinde çok sayıda farklı türler yer alabilir ve içerdikleri etken maddeye bağlı olarak türlerden sadece bir kısmı hedef tıbbi etkili olabilir. Bitkisel ürün hazırlanırken en etkili tür kullanılmalıdır.

Aynı familyadan yer alan cinsler botanik açıdan birbirlerine çok benzeyebilirler. *Matricaria*, *Tanacetum*, *Cota*, *Tripleuospermum*, *Anthemis* vb. cinslere ait bazı taksonlar kolaylıkla sistematik olarak karıştırılabilir ve dolayısıyla etkili ürün hazırlanamayabilir. Bu nedenle kullanılacak türün bitki teşhis uzmanı tarafından tanımlanması ve toplanması oldukça önem arz etmektedir. Bitkilerle tedavide en önemli sorun bitki türünün yanlış teşhis edilmesidir. Morfolojik olarak benzer veya aynı, fakat ayrıntılı morfolojik ve anatomik teşhis neticesinde farklı olduğu tespit edilen bitkiler farklı biyolojik aktiviteye sahiptirler. Kullanılacak her bitkinin familyası, cinsi, türü doğru bir şekilde ve kurallara uygun bir biçimde tanımlanmalıdır. Ayrıca, bitkilerin kimyasal yapısındaki bileşiklerin miktarları toplanma dönemine göre değişebilmektedir. Örneğin *Hypericum perforatum* L. (Sarı kantaron) bitkisinin en verimli ve etken madde bakımından en zengin olduğu dönemi tomurcuklanma dönemidir. Bu nedenle, doğru türün etkili maddelerinin doğru zaman ve dönemde toplanması oldukça önemlidir.

b) Yetiştirme koşulları: Bitkilerin yetiştiği bölgedeki coğrafi durum, yağış miktarı, toprak yapısı ve toplanma zamanı bitkilerin kimyasal yapılarını etkilemektedir. Aynı türün farklı bölgelerden toplanan ya da aynı bölgeden farklı mevsimlerde toplanan bitki örneklerinin kimyasal yapıları arasında nitelik olmasa da nicelik farkı olabilmektedir.

c) Çevresel faktörler: Çevre kirliliği önemli bir sorundur. Yapılan testlerde daha fazla kirliliğin olduğu trafiğin yoğun karayolları civarından toplanan tıbbi bitkilerde ağır metallere, haşerelere karşı pestisit kullanılan ekim alanlarından toplanan bitkilerde ise pestisit kalıntılarının rastlanmaktadır.

d) Saklama koşulları: Bitkisel ürünler hızlı ve doğru bir şekilde kurutulmalı, enzimatik dönüşümler engellenmelidir. Aksi takdirde, aktif bileşenleri bozulabileceği gibi zararlı etkileri olabilecek maddelere dönüşebilmektedirler. Toplanan bitkilerin saklama koşulları dikkatle oluşturulmalıdır, nemli ortamlarda bırakılan bitkilerde aflatoksinler oluşabilmektedir.

e) Bitki isim karışıklıkları: Bitkinin bilimsel ismi tam olarak verilmediği zaman isim ve bitkiler karıştırılabilir. *Matricaria*, *Tanacetum*, *Cota*, *Tripleuospermum* ve *Anthemis* taksonlara ait türler morfolojik benzerlikten dolayı karıştırılabilmektedir.

f) Sinerjik etki: Tek başlarına etkisiz bazı bileşikler, bir bitki ekstresi içerisinde birbirlerine katkı yaparak (sinerjik etki göstererek) tıbbi bir etki ortaya çıkarabilirler. Örneğin tek başına kolaylıkla okside olan bir bileşik olan hiperforin, *Hypericum perforatum* L. (Sarı kantaron) bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrenin hafif ve orta şiddetteki depresyona karşı gösterdiği etkinin ortaya çıkmasına en fazla katkıda bulunmakta ve diğer etken maddelerin daha yüksek aktivite göstermesine ciddi oranda katkı sunmaktadır (ESCOP Monographs, 2003; Ersöz, 2010; Seçkin, 2014).

g) Doz miktarındaki belirsizlik: Etken maddelerin miktarları bir cinse üye farklı türlerde ve hatta alttürlerde bile değişkenlik gösterebilmektedir. Bundan dolayı kullanılacak miktar oldukça önemlidir.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin, doğru zamanda, doğru kısmı toplamak için bitkilerin kültüre alınarak tarımı yapılmalıdır. Tıbbi ve aromatik bitkilerin kültüre alınarak yetiştirilmesi kalitatif ve kantitatif özelliklerinin korunması ve geliştirilmesi bakımından büyük öneme sahiptir.

3.2.3. Tıbbi bitki yetiştiriciliğinin önemi

- ❖ Doğal populasyonların tahrip edilmesini önlemek,
- ❖ Biyolojik çeşitliliği korumak,
- ❖ Daha ucuz ve kaliteli ürün elde etmek,
- ❖ Kolay ve bol miktarda üretim yapmak,
- ❖ Kitle üretimi yapabilme imkanı sağlamak,
- ❖ Bitkisel materyali toplama sırasında oluşabilecek hata veya yanlışlıkları önlemek,
- ❖ Az alanda çok ürün elde etmek,
- ❖ Bitkilerin toplanması ve kurutmasını doğru zamanda yapmak,

- ❖ Saf bitkisel materyali elde etmek (Yücel, 2010).

3.3. Fitokimyasal (Sekonder) Bileşikler

Bitki kimyasalları kabaca primer ve sekonder olmak üzere iki büyük gruba ayrılmaktadır. Primer metabolitler: Karbonhidratlar, yağlar, proteinler vb. doğada yaygın olup, bitkilerin tohum ile vejetatif dokularında fazla bulunur. Bitkilerin fizyolojik gelişimi için gereklidirler. Sekonder metabolitler ise bitki büyüme ve gelişiminde doğrudan görev almayıp, çevresel koşullara uyum, tozlaşmada, mikroorganizma, böcek ve diğer predatörlere (avcılara) karşı kimyasal savunma, diğer bitkilerle yarışma gibi gerekli temel görevleri yerine getirirler.

3.3.1. Sekonder metabolitlerin fonksiyonları

- ❖ Bitkiyi kuraklık, tuzluluk, ışık, ultraviyole (UV) vs. gibi çevre faktörlerinin oluşturduğu stres faktörlerine karşı koyma,
- ❖ Bitkiyi herbivorlara (böcek, sürüngen vb.), mikroorganizmalara (bakteri ve mantar vb.) patojen karşı savunma,
- ❖ Tozlaşmayı ve tohum dağılımı için hayvanları ve diğer taşıyıcıları cezbetme.

Her ne kadar, sekonder ürünlerin bitkideki görevleri farklılık gösterse de mikrobiyal patojenlere karşı sitotoksik etkili olanlar “antimikrobiyal madde” olarak kullanılmaktadır (Osborn, 1996). Herbivorlara karşı etkileri merkezi sinir sistemi üzerine nörotoksik şekilde olup, bunlardan “anti-depresant”, sakinleştirici, kas gevşetici olarak ya da anestetik ilaçların eldesinde yararlanılmaktadır. Ayrıca bazılarının yapıcı hormonlara, signal transdüksiyon molekülleri veya nörotransmitlere benzerlik göstermesinden dolayı, merkezi sinir sistemi ile endokrin sisteme karşı etkili ilaçların elde edilmesinde kullanılmaktadır (Cowan, 1999).

3.3.2. Sekonder metabolitlerin bitkilerde bulunduğu lokalizasyonlar

Sekonder metabolitler kimyasal yapılarına bağlı olarak farklı hücre ve dokularda lokalize olabilirler.

Hücre: Sekonder metabolitlerin sentezi plastidler ve sitozolde (tamamen endoplazmik retikulum) yapılmaktadır. Bitkiler farklı sekonder metabolit türleri değişik organellerde sentez etme özelliğe sahiptirler. Seski- ve triterponoidler sitozolde,

mevalonik yolda, mono-, di- ve tetraterpanoidler plastidlerde, mevalonik olmayan alternatif yollarla, fenolik bileşenler ise hem sitozol hem de plastidlerde sentez edilmektedir. Sentezlenen sekonder metabolitler ya vakuolde ya da hücre duvarında depolanırlar. Alkoloidler ve glikozitler vakuolde; izoterpenler ve fenolik bileşenler hem vakuolde hem de hücre duvarında depo edilirler.

Doku: Sekonder metabolitlerin dokularda depolanması farklı hormonların etkilerine bağlıdır. Sekonder metabolitleri dış ortama veren trikomalara, iç ortama veren tek hücreli (idioblast) yapı ve depo (boşluklar ve kanallar) bulunur.

Organ: Sekonder metabolitlerin bitki organlarında dağılımı eşit olmayıp, belirli organlarda lokalize olmuşlar. Örneğin; tanenler daha çok bitkilerin yeraltı organlarında, eterik yağlar çiçek yaprakları, meyve, yaprak, gövde ve köklerde; alkoloidler yaprak, meyve, tohum, kök ve gövdelerde bulunmaktadır. Sekonder metabolitlerin lokalizasyonu bitkinin türüne, çevre koşullarına, maddelerin tipine ve fonksiyonuna bağlıdır (Mamamadov 2014).

3.3.3. Sekonder metabolitlerin sınıflandırılması

Naczka ve Shadidi (2006) ve Quideau ve ark. (2011)'a göre fitokimyasal bileşikler kabaca dört büyük gruba ayrılmaktadır. Bunlar;

3.3.3.1. Karetenoidler

Provitamin ve antioksidan rollerine sahip, doğada en yaygın bulunan fitokimyasal gruptur. Şimdiye kadar 600'den fazla karetenoid tanımlanmış olup, bunlardan sadece 40 adet kadarının insan gıdaları arasında yer aldığı bilinmektedir (Liu, 2004). Karetenoidlerin içeriği ve miktarı bitkinin türüne, genotipine, almış olduğu ışık ve azot miktarına, toprak yapısına ve meyvelerin olgunluk gibi faktörlerin etkisine bağlıdır.

3.3.3.2. Alkaloidler

Bitkilerde oynadıkları savunma rollerinin yanı sıra tıp ve ilaç sanayinde geniş bir şekilde kullanılmasından dolayı oldukça önemlidirler. Günümüzde yaklaşık olarak 12 binden fazla alkaloid bilinmektedir. Alkaloidlerin, diğer fitokimyasallardan ayrılan en önemli özellikleri yapılarında bir miktar azot içermeleridir. Bitkiler alevinin bütün

bölümlerinde alkaloidlere rastlanır. Alkaloidler bitkilerde toksik koruma sistemini oluşturarak, herbivora karşı koruma sağlamaktadır.

Alkaloidlerin keşfedilmesi tıpta yeni bir dönemin başlamasını sağlamıştır. Kan kanserinde kullanılan *Cataranthus roseus* alkaloidleri, *Papaver somniferum* bitkisinden elde edilen opium alkaloidleri ve *Datura* cinsine ait bitki türlerinden izole edilen belladonna alkaloidleri tıp ve eczacılık bilimleri için oldukça önem arz etmektedir (Newman ve ark. 2003; Gurib-Fakim, 2006; Graham ve ark. 2008). Atropin, morfin, kodein, kafein, kinin, papaverin, rezerpin, vinblastin, efedrin vb. bitkilerden izole edilen önemli alkaloidlerdir. Morfin ve kodein ağrı kesici; vinblastin, vinkristin antitömür; atropin damar genişletici; efedrin kalp-damar sisteminin çalışmasını stimule edici ve kan basıncını yükseltici ve rezerpin ise kan basıncını düşürücü olarak kullanılmaktadır. Parazitlere karşı mücadelede alkaloidler etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Örneğin; kinin sıtma paraziti karşı kullanılmaktadır. Alkaloidler tedavi edici özelliklerinin yanı sıra güçlü toksinlerdir ve öldürücü etkileri bulunmaktadır (Mamamadov, 2014).

3.3.3.3. Terpenoidler

Terpenoidler yapısı itibarı ile izopren gazına benzeyen, genel formülü $(C_5H_8)_n$ olup bitkiler aleminde geniş bir dağılımı bulunan sekonder bileşiklerdir. Başlangıçta terpenler (terebentin yağından gelir) olarak adlandırılmıştır. Doğada, yaklaşık olarak 30 bin farklı terpenoid bileşiği olduğu tahmin edilmektedir. Eterik yağların ve reçinelerin yapısında bulunan terpenoidler, bitkilerin kök veya gövdesinde meydana gelen yaraların çabuk iyileşmesine yardımcı olurlar. Terpenoidlerin bitkilerin ekolojik etkileşimlerindeki rolü büyüktür. Örneğin; ot yiyen hayvanlara ve mikroorganizmalara karşı koruma, tozlaştırıcıları cezbetmek ve allelopatik etki. Bitkilerden elde edilen terpenoidler çoğunlukla parfümeri, kozmetik ve aromaterapide kullanımının yanı sıra ilaç endüstrisinde de (Ör: Taksol) etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Graham ve ark., 2008). Terpenoidler genel olarak polar olmayan çözücüler ile, uçucu yağlar ise buhar damıtımı ile başarılı bir şekilde elde edilmektedir (Satyajit ve ark., 2006).

3.3.3.4. Fenolikler

Fenolik bileşikler en az bir benzen veya diğer kompleks aromatik bileşiği ve hidroksil grubunu içeren, genel olarak moleküler ağırlıkları 500-4000 Da aralığında

değişen ve suda çözünebilen bileşiklerdir (Dai ve Mumper, 2010; Croizer ve ark., 2009; Ferrazanno ve ark., 2011).

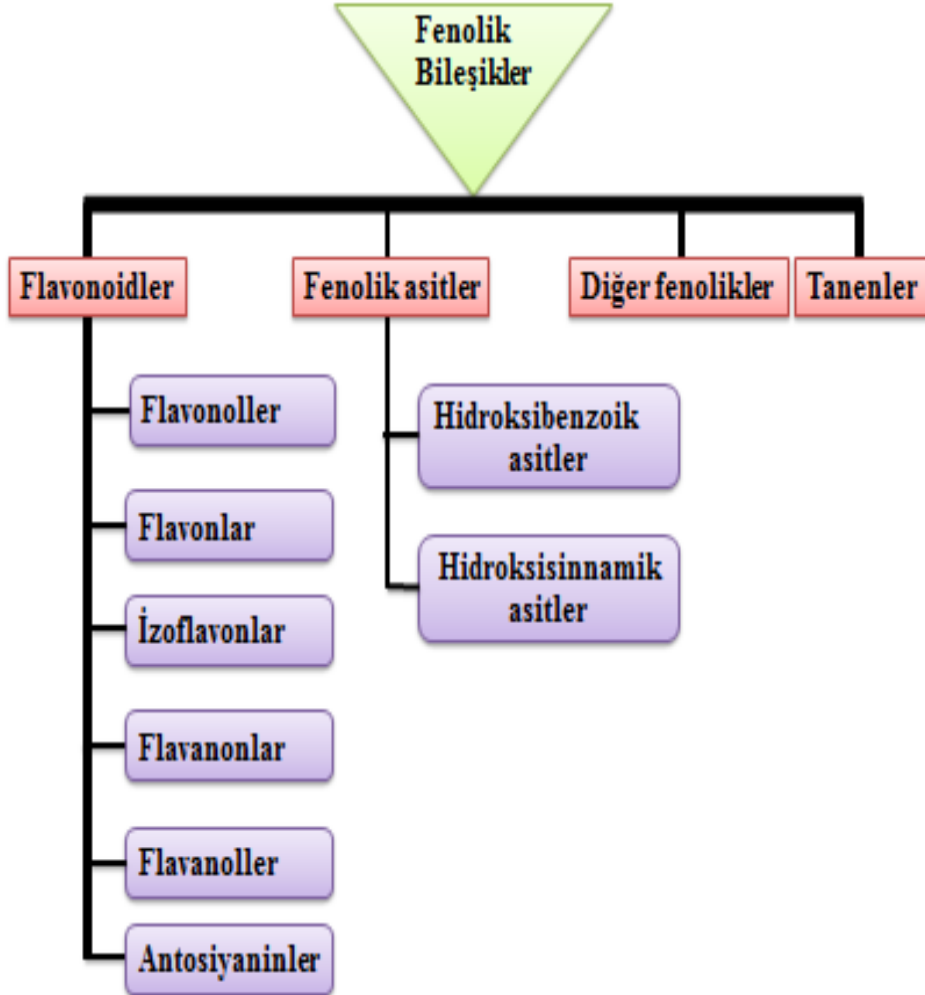
Günümüze kadar 8 binden fazla fenolik madde tanımlanmış olup, bunların çoğunluğunu flavonoidler oluşturmaktadır (Martin ve Appel, 2010). Flavon ismi Latince flavus (sarı) kelimesinden gelmektedir. Bitkilerden elde edilen ve genellikle sarı renkli olan bu bileşikler “flavonoid” olarak isimlendirilmiştir. Günümüze kadar yapılan çalışmaların sonucunda bitkilerden 4000’den fazla flavonoid izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerin en önemli özelliği yüksek antioksidan aktivite göstermeleri ve gıda ve tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerde yoğun bir şekilde bulunmalarıdır. Flavonoidlerin çoğunluğu polifenolik bitki pigmenti olup meyve ve sebzelere kırmızı, turuncu, sarı, mavi ve mor renk verirler (Naczki ve Shahidi, 2004).

Fenolik bileşiklerin en yoğun şekilde buldukları doğal kaynaklar bitkilerdir (Mamamadov, 2014). Fenolik bileşikler; bitkilerin kök, gövde, dal, yaprak, çiçek, meyve ve tohumlarında bulunabilirler. Bu bileşikler, bitkinin epidermal, altopidermal ve bekçi hücrelerinin merkezi vakuollerinde, hücre duvarlarında, mumlarda ve bazı bitkilerin nükleuslarında bulunmaktadır (Lattanzio ve ark., 2008). Genelde çözünmeyen fenolik bileşikler hücre duvarında bağlı halde bulunurken, çözünebilen fenolikler ise hücre vakuollerinde bulunmaktadır. Fenolik bileşikler genel olarak bitkilerin, yaprak, çiçek, meyve gibi canlı dokularında glikozitler şeklinde, odunsu dokularda aglikonlar ve çekirdeklerinde ise her iki formda da bulunmaktadır (Mamamadov, 2014). Ayrıca, bitkilerin dış kısımları iç kısımlara kıyasla daha fazla fenolik bileşik içermekte (Naczki ve Shahidi, 2006) ve çoğunlukla glikozit yapısında depo edilmektedirler (Tsao, 2010). Fenolik bileşikler bitkilerdeki tat ve renk özelliklerinden sorumlu temel bileşenlerdir (Stahl ve ark., 2002).

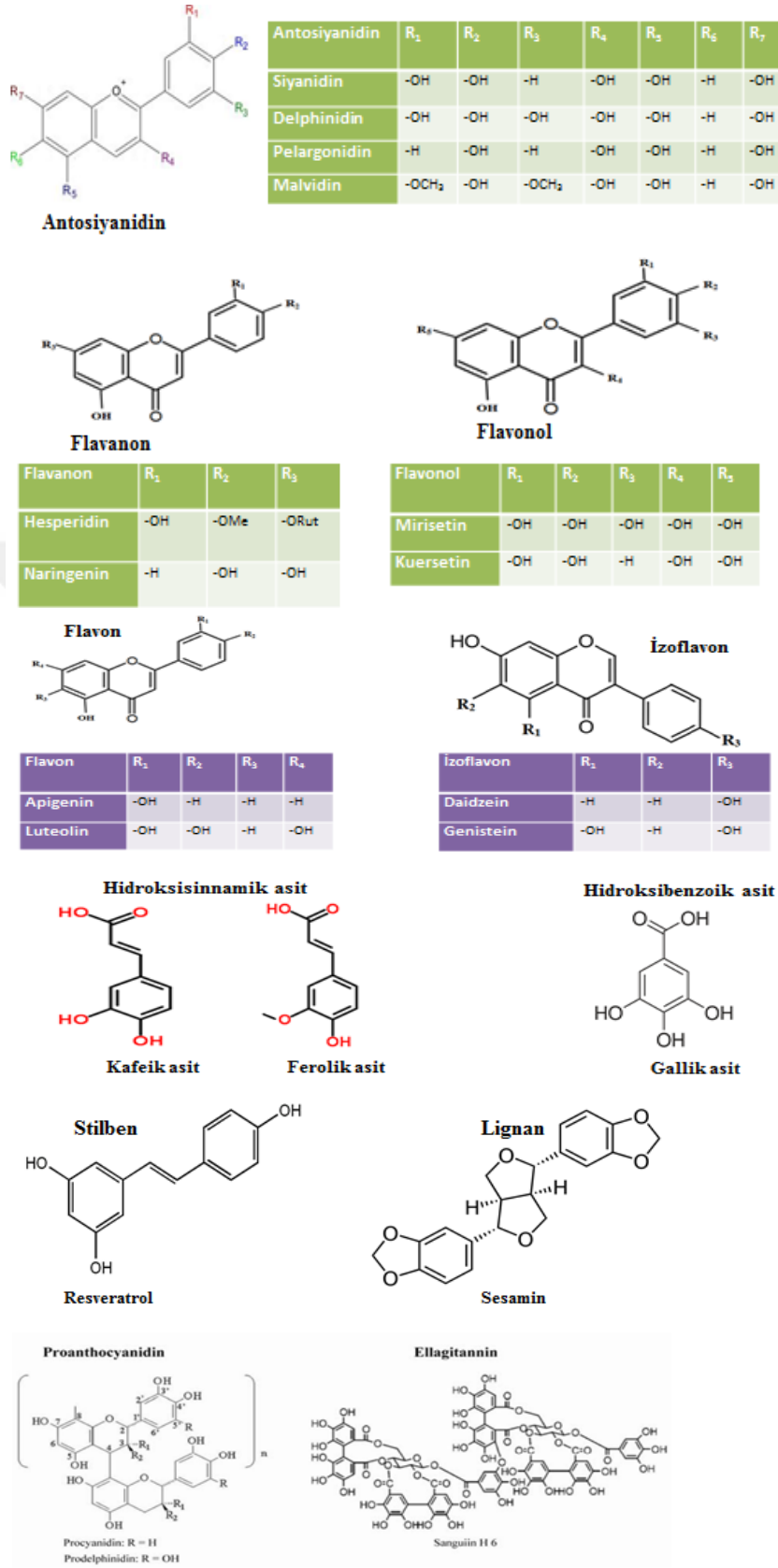
Bitkisel kaynaklardaki fenolik bileşikler nitelik ve nicelik açısından; bitki varyasyonları, yetiştirme ortamı koşulları, hasat sonrası işlemler, hasat esnasındaki olgunluk, saklama koşulları gibi koşullara göre değişkenlik gösterebilirler (Mitjavila ve Moreno, 2012). Özellikle UV radyasyon, patojen ve parazit saldırıları, yaralanma, hava kirliliği ve aşırı sıcaklık gibi stres şartlarına maruz kalan bitkilerde fenolik madde miktarı artabilmektedir (Naczki ve Shahidi, 2006). Fenolik bileşiklerin bitki büyüme ve gelişmesinde doğrudan rol almadıkları kabul edilmekle beraber, moleküler ve metabolik açıdan önemli fonksiyonları bulunmaktadır.

Fenolik bileşikler; kökenleri, biyolojik fonksiyonları, içerdikleri fenol halkalarının sayısı ve halkalara bağlanan elementlerin yapıları, karbon atomlarının sayısı ve düzeni gibi ölçütler dikkate alındığında, fenolik bileşikler fenolik asitler, flavonoidler, tanenler ve diğer fenolikler olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadırlar (Şekil 3.2) (Croizer ve ark., 2009; Tsao, 2010; Dai ve Mumper, 2010).

Fenolik bileşikler çok çeşitli grupları içermesine rağmen, bu bileşiklerin kökeni ortak bir aminoasit (fenilalanin ve tirozin)'tir. Fenolik bileşiklerin alt gruplarındaki yapısal farklılık hidroksilasyon, metilasyon, prenilasyon veya glikozilasyonun takip ettiği yol ve derecesine göre değişmektedir (Dai ve Mumper, 2010). Şekil 3.3'te fenolik bileşiklerin alt gruplarının kimyasal yapıları verilmiştir.



Şekil 3.2. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması.



Şekil 3.3. Fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları (Mamamadov (2014)'den uyarlanmıştır).

Fenolik bileşiklerin absorpsiyon ve emilimlerinde molekül boyutu, lipofilikliği, çözünürlüğü, şelat oluşumu, gıdanın karışımı (yağ, protein, karbonhidrat), uygulanan parçalama ve pişirme işlemi ve süresi, fizikokimyasal faktörler, midede kalış ve bağırsaklardan geçiş süresi, lümenin pH'sı, bağırsak membranlarının geçirgenliği, ilk geçiş etkisi ve karaciğerdeki biyotransformasyon ya da konjugasyon, safra salgıları, ince-kalın bağırsaklardaki mikroflora enzimlerinden ileri gelebilecek yıkıcı etkileşimler, içeriğin duodenuma boşalma hızı, ileumda emilim için geçen süre gibi biyolojik faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir (Stahl ve ark., 2002).

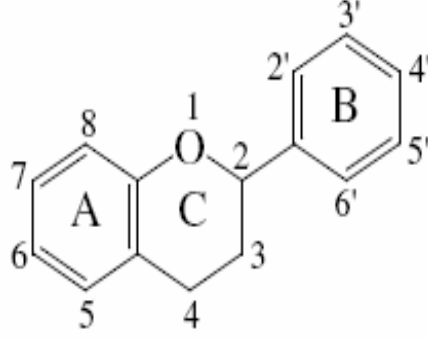
Fenolik bileşikler; biyolojik olarak antioksidan, enzim inhibisyonu ve antimikrobiyal aktivite gösteren güçlü bileşikler olarak kabul edilmektedirler (Şekil 3.4). Bundan dolayı, hastalıkların tedavisi veya önlenmesinde fenolik bileşikler önem taşımaktadırlar (Parejo ve ark., 2002; Tsao, 2010).



Şekil 3.4. Fenolik bileşiklerin sağlık için bazı faydaları (Gonçalves ve Romano, 2017).

Flavonoidler C6-C3-C6 karbon iskeleti ile karakterize edilirler (Peterson ve Dwyer, 1998). Molekül yapılarında bir aromatik halka (A), bir heterosiklik halka (C) ve buna bağlı ikinci bir aromatik halka (B) bulundurlar (Şekil 3.5). Fenolik bileşikler güçlü antioksidan özellikleri üç özellikten kaynaklanır; aromatik halka yapılarındaki hidroksil grupları sayesinde hidrojen vererek redoks reaksiyonlarına girebilirler. Bu

sayede serbest radikalleri yok edebilirler. Aromatik heterosiklik ve çoklu doymamış bağlardan oluşan yapılarıyla dayanıklı bir kimyasal yapı oluştururlar. Metal şelatlama kapasitesine sahip yapısal grupları vasıtasıyla OH- ve O-2 gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyebilirler (Cam ve Hışıl, 2003).



Şekil 3.5. Fenolik bileşiklerin C6-C3-C6 iskelet yapısı.

B halkasındaki 3'-4'-5' pozisyonlarındaki hidroksil grupların varlığı tek hidroksil içeren gruplara kıyasla antioksidan aktiviteyi artırmaktadır. Aynı zamanda C halkasındaki 3- hidroksil grupları ve 2-3 çift bağlar antioksidan özellik üzerinde etki yapmaktadır (Madhavi ve ark. 1996).



Şekil 3.6. Hidroksisinnamik asit türevlerinin önlediği hastalıklar (Alam ve ark. 2016'dan uyarlanmıştır).

Hidroksisinnamik asit türevleri ise, bitkilerdeki Mavolanat-Şikimat biyosentez yollarından kaynaklanan fenolik bileşiklerin önemli bir sınıfıdır. Güçlü antioksidan ve anti-enflamatuar özelliklere sahip olan sinnamik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit, klorojenik asit ve rozmarinik asit gibi basit fenolik bileşikler hidroksisinnamik asit sınıfına aittir. Bu hidroksisinnamik asitler meyve, sebze, tahıl ve meyve tohumlarında bol miktarda bulunurlar. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda sinnamik asit türevlerinin farklı hastalıklarda, çeşitli sağlık yararları olduğu gösterilmiştir (Şekil 3.6) (Alam ve ark., 2016).

3.3.4. Sekonder metabolitlerin biyoaktif özellikleri

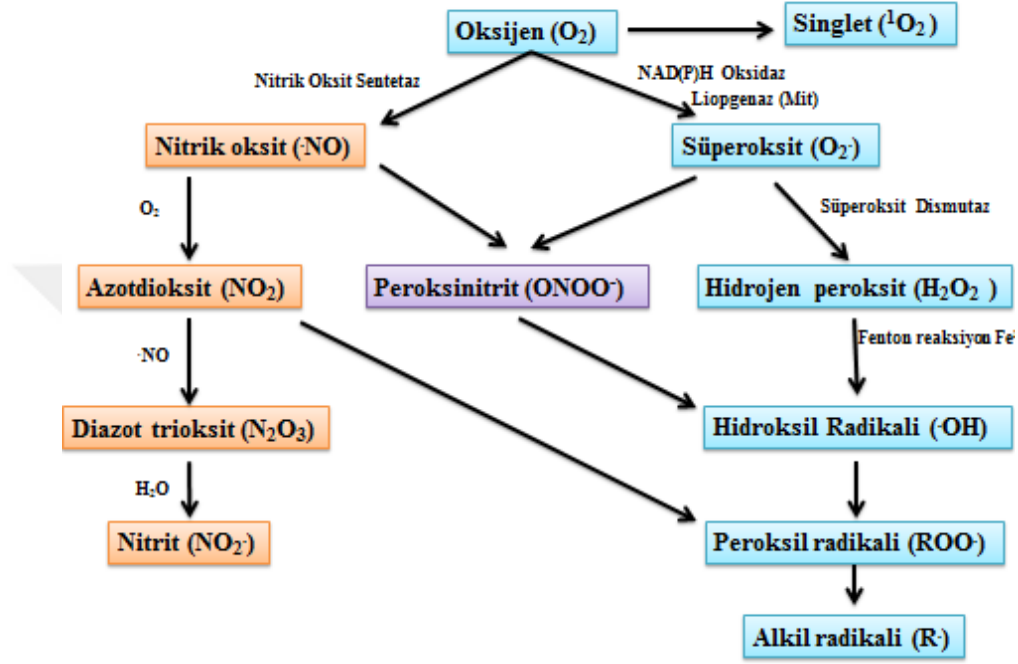
Sekonder metabolitlerin insan sağlığı üzerinde birçok faydalı etkinlikleri bulunmaktadır. Bu etkinlikler arasında birçok hastalığın tedavisi ve/veya önlenmesi noktalarındaki katkılarından dolayı antioksidan ve enzim inhibisyonu aktiviteleri oldukça önemli bir konuma sahiptirler.

3.3.4.1. Serbest radikaller, oksidatif stres ve antioksidanlar

Serbest radikaller ve oksidanlar; dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron bulunan, ömürleri kısa, reaktif atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller, radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron çıkmasıyla veya radikal olmayan bir atom veya moleküle bir elektron ilavesiyle oluşurlar. Radikallerin elektrik yükü; pozitif, negatif veya nötr olabilirler. Bir serbest radikaldeki eşleşmemiş elektron, herhangi bir kimyasal bağ içinde bir başka elektronla spin paylaşmadığı için, radikaller, ekstra elektronları başka atomlara lokalize oluncaya kadar ya da elektron alıncaya kadar oldukça reaktiftir. Aşırı reaktif bu maddeler diğer atom ve moleküllerle elektron alışverişine girerek, onların kimyasal yapılarını değiştirip kararsız (reaktif) bir atom haline getirme eğilimindedirler (Karafakoğlu, 2004). Şekil 3.7’de bazı reaktif oksijen ve azot türleri verilmiştir.

Bir ortamda oksijen bulunuyorsa, fiziksel ve kimyasal etkenlerle, metabolik reaksiyonlar sonucu oksijen radikalleri üretilir. Oksijen serbest radikalleri biyolojik sistemlerde bulunan en yaygın ve önemli olanı süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$)’dir (Prior, 2015). Tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali oluşmaktadır. Süperoksit radikalleri biyolojik sistemler için oldukça toksik; fakat ölümcül mikroorganizmaları inaktive etmek için bağışıklık sistemindeki

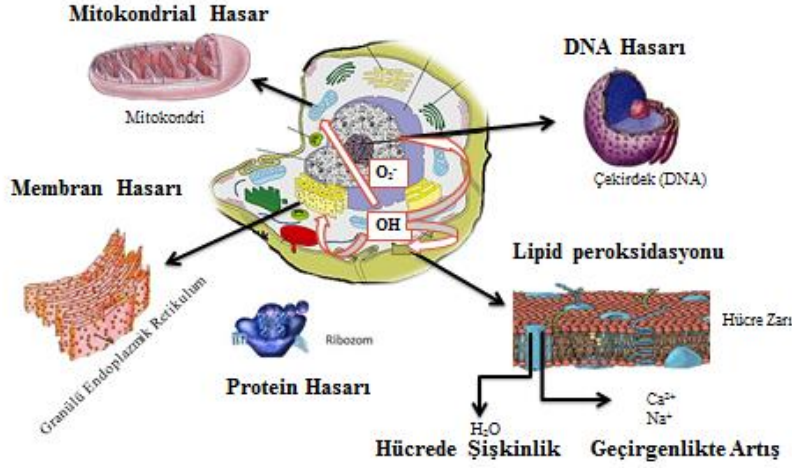
fagositik hücreleri NADPH oksidaz enzimi yardımıyla bol miktarda süperoksit radikali üretilir (Prior, 2015). Süperoksidin fizyolojik bir serbest radikal olan NO^\bullet ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitritler direkt olarak proteinlere olumsuz bir şekilde etki etmektedirler.



Şekil 3.7. Reaktif oksijen ve azot türleri (Prior, 2015).

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu Hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. H_2O_2 'nin biyolojik sistemlerdeki üretimi süperoksidin nonenzimatik veya süperoksit dismutaz (SOD) katalizli dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 'ye dönüşmesiyle gerçekleşir. Hidroksil radikali geçiş metalleri varlığında H_2O_2 'nin indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu) oluşur. Yarılanma ömrü çok kısa (10^{-9}) olmasına rağmen, bilinen en reaktif ve toksik oksijen radikal türüdür. Protein ve karbonhidratlardaki kovalent bağları kırarak lipid peroksidasyon ve hücre membran yıkımına neden olur (Gutowski ve Kowalczyk, 2013; Prior, 2015). Peroksil ve alkolsil radikalleri iyi birer oksidasyon ajanı olup, redüksiyon potansiyelleri ile diğer moleküllerde hidrojen koparabilirler. Singlet oksijen yapısında eşleşmemiş elektron ihtiva etmediğinden dolayı radikal olarak kabul edilmez fakat; dönme yönünün farkından dolayı oksijenin reaktif bir formu olarak kabul edilmektedir. Serbest radikaller hücrel biyomolekülleri ile reaksiyona girerek;

mitokondrial, DNA, membran, protein ve lipid peroksidasyonu gibi hücresel hasarlara neden olurlar (Şekil 3.8).

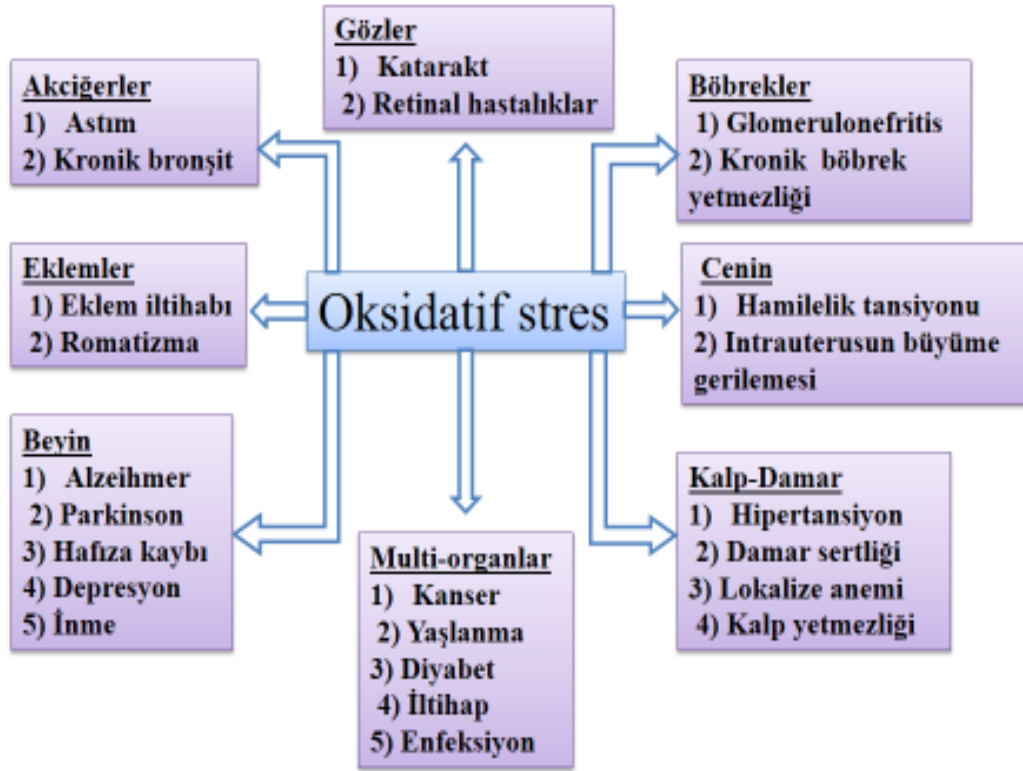


Şekil 3.8. Serbest radikallerin hücresel biyomoleküllerine etkileri (Onat ve ark. (2002) ve Sánchez (2017)'den uyarlanmıştır).

Sağlıklı kişilerde serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi denge halindedir. Fakat antioksidan tüketiminin azalması veya serbest radikal oluşumunun artması durumunda denge bozulmaktadır. Reaktif oksijen türleri veya diğer serbest radikaller ile antioksidan sistem arasında oluşan dengesizlik oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır. Bu dengesizlik hücrenin önemli kısımlarında geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilmekte ve birçok hastalığın oluşmasına neden olabilmektedir (Şekil 3.9) (Günaydın ve Çelebi 2003; Öğüt, 2014, Prior, 2015).

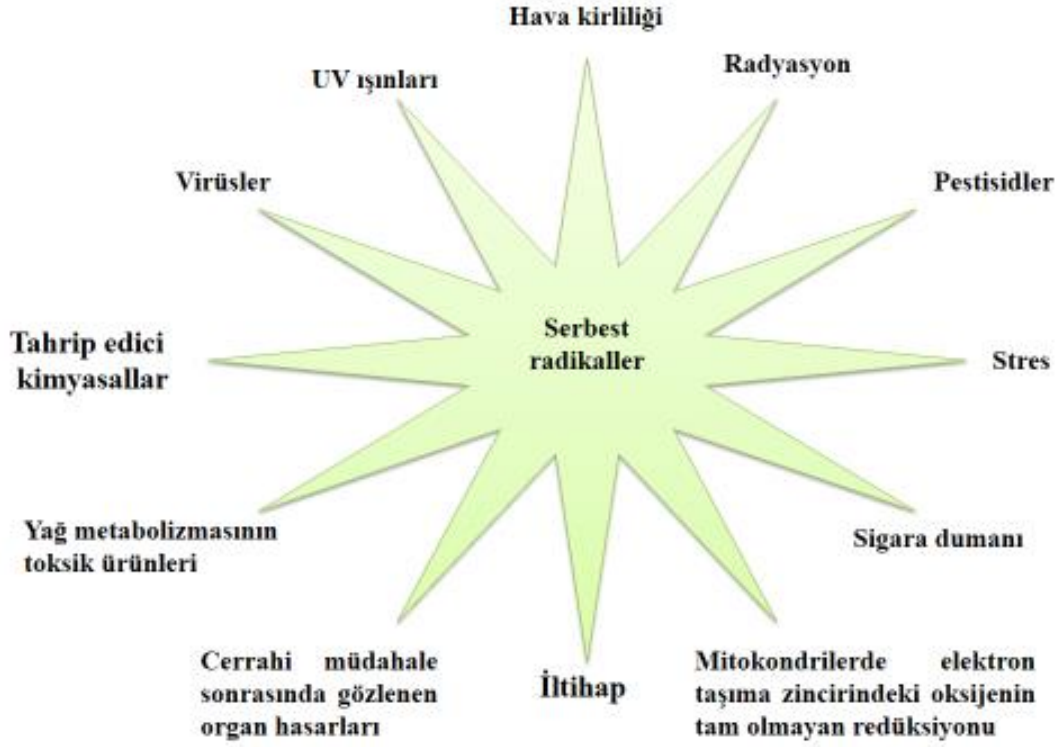
İnsan vücudu hücre bileşenlerini reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hasarlardan koruyabilmek için birden fazla endojen mekanizmaya sahiptir. Fakat bu savunma sistemi yani hücresel antioksidan düzeyinin, reaktif oksijen düzeylerine karşı yetersiz kalması ya da reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi sonucu oluşan serbest radikaller nötralize edilmediği durumlarda, hücre membran lipid ve proteinlerini yıkarak hücrelerin ölümüne veya hücre membranını sertleştirip hücreleri yaşlandırmasına ya da fonksiyonlarını engellemesine, nörodejeneratif (Alzheimer, Parkinson, Şizofreni), kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, böbrek hastalıkları, solunum sistemi hastalıkları ve sindirim sistemi hastalıklarına sebep olabilmektedirler. Ayrıca, bu reaktif bileşikler

çekirdekdeki genetik materyale etki ederek DNA üzerinde bulunan nükleik asit ve bazların değişimine neden olmakta ve dolayısıyla DNA'yı mutasyonlara açık hale getirmektedir. DNA üzerindeki zincirlerde kırılmalar meydana gelmesi kanser oluşumuna sebep olmakta ve bağışıklık sisteminin etkisini azaltmak gibi hasarlara neden olabilmektedir (Sertsever ve Gök, 2003; Moldovan, 2004, Prior, 2015).



Şekil 3.9. İnsan bünyesinde oksidatif stres kaynaklı hastalıklar (Pham-Huy ve ark. (2008)'dan uyarlanmıştır).

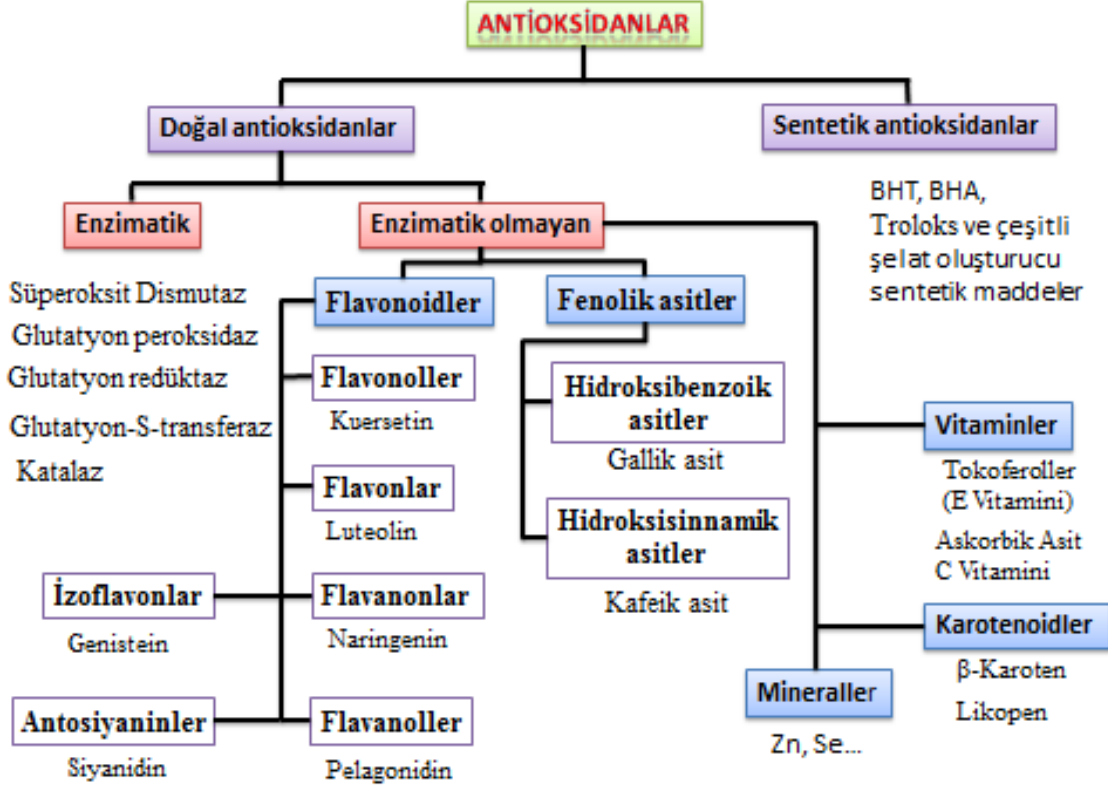
Serbest radikal oluşturan kaynaklar arasında UV, radyasyon, güneş ışınlarının bir kısmı, fosil kökenli yakıt maddelerinin bazı yanma ürünleri, virüsler, sigara dumanı, stres, enfeksiyon, iltihap, yağ metabolizmasının toksik ürünleri, tahrip edici kimyasallar, mitokondrilerde elektron transport zincirindeki oksijenin tam olmayan redüksiyonu, zirai mücadele ilaç kalıntıları, bakır ve demir gibi metallerin aracılık ettiği bazı kimyasal reaksiyonlar, cerrahi müdahale sonrasında gözlenen organ hasarları yer almaktadır (Şekil 3.10) (Günaydın ve Çelebi, 2003; Lee ve ark., 2002).



Şekil 3.10. Serbest radikallerin temel kaynakları (Günaydın ve Çelebi (2003); Lee ve ark. (2002).

Prooksidanlar (reaktif oksijen ve azot türleri, serbest radikaller) toksik maddelerdir. Prooksidanlar lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara sebep olur ve bunun sonucunda çeşitli patolojik olaylara ve/veya hastalıklara yol açar. Prooksidan gibi tehlikeli bileşikler etkin bir şekilde engeleyen antioksidanlar sağlıklı bir yaşam için önemlidir (Cao ve Prior, 1999). Çünkü antioksidanlar, canlılardaki serbest radikallerin oluşumunu engellemek, nötralize etmek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen veya kendini yenilemesini sağlayan yani oksidatif hasara karşı biyolojik bir hedefi koruyan ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir (Kahkönen ve ark. 1999; Sertsever ve Gök, 2003; Gutteridge ve Halliwell, 2010; Halliwell, 2011). Antioksidanlar, lipidlerin oksidasyonunda serbest radikal içeren yağlara hidrojen veya elektron vererek, ya da yağ asidi zinciri ile serbest radikallerin arasında kompleks oluşturarak radikal zincirine son verirler. Antioksidanlar, kendi yapısındaki elektronlarını vererek serbest radikalleri etkisizleştirirken kendileri ise serbest radikallere dönüşmezler; dolayısıyla da her iki formda da kararlı bileşiklerdir (Anıl, 2006).

Antioksidan savunma sistemleri doğal ve sentetik antioksidanlar olarak iki gruba ayrılırlar. Doğal antioksidanlar da kendi aralarında enzimatik ve non-enzimatik (enzimatik olmayan) antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir (Şekil 3.11).



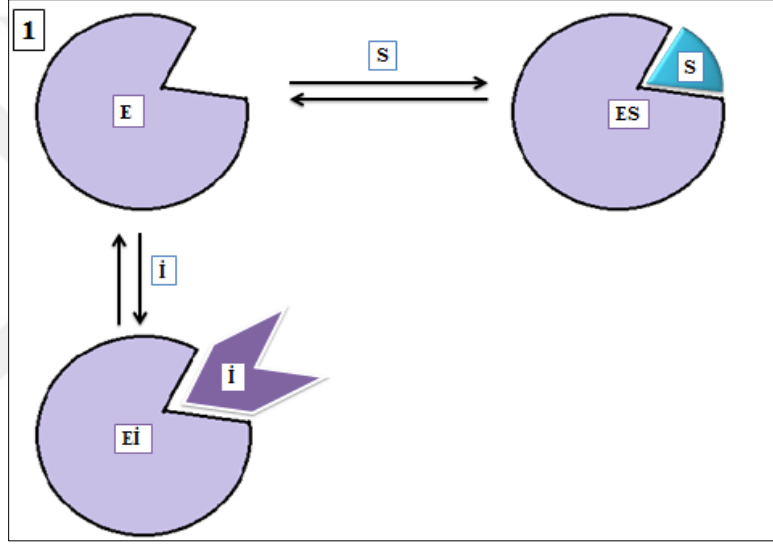
Şekil 3.11. Antioksidanların sınıflandırılması.

3.3.4.2. Sekonder Metabolitlerin Enzim İnhibisyonu

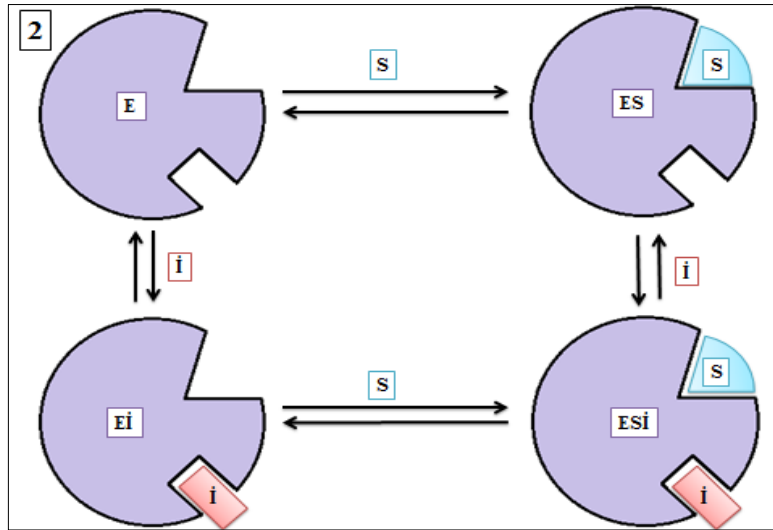
Enzimler, canlı organizmalardaki biyokimyasal tepkimeleri hızlandıran ve hiçbir yan ürün olmasına fırsat vermeden %100'lük verim sağlayan katalizörlerdir. Katalitik RNA moleküllerinin küçük bir kısmı hariç enzimler protein yapısındadır. Enzimlerin yapısında sadece protein olabileceği gibi, buna ilaveten bir metal iyonu (kofaktör)'da içerebilir. Enzimin proteinden yapılmış kısmına apoenzim denir. Apoenzimi aktive eden faktöre koenzim veya kofaktör adı verilir. Enzimin spesifik olarak etki ettiği maddeye substrat adı verilir. Enzim molekülü üzerinde substrat bağlama özelliği olan, aktif bölge denilen özel bölge bulunur. Substrat bu özel bölgeye tutunur ve enzim-substrat kompleksi meydana gelir (Keha ve Küfrevioğlu, 2005).

Enzimle tepkimeye girecek ürünlerden başka inhibe edici maddeler de bulunur. Bu maddeler özgül enzimlerin etkilerini seçici olarak inhibe edilebilirler. İnhibitör

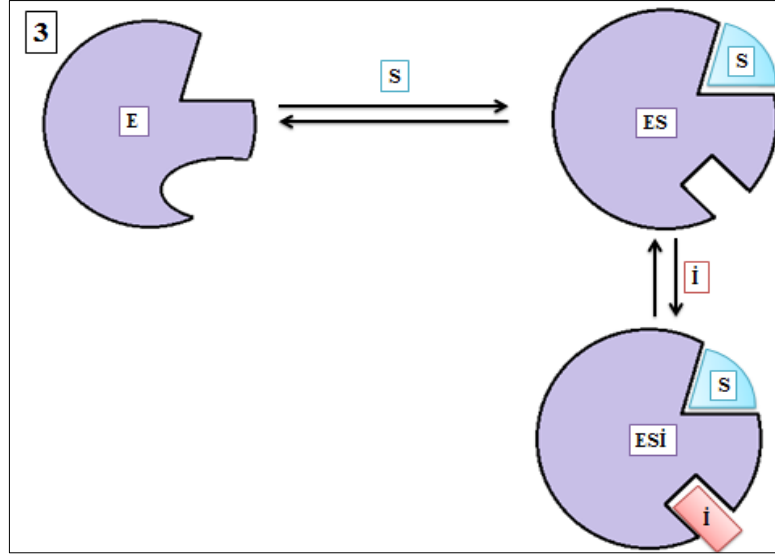
enzime kovalent bağlarla tutunursa, bu tür inhibisyon geri-dönüşümsüzdür. İnhibitör enzime zayıf bağlarla bağlanırsa inhibisyon geri-dönüşümlüdür. Geri-dönüşümlü inhibisyon; **1.** Kompetitif (Yarışmalı), **2.** Non-kompetitif (Yarışmasız) ve **3.** Unkompetitif (Yarıyarışmalı) inhibisyon olmak üzere üçe ayrılır. Yarışmalı inhibisyon (Şekil 3.12); inhibitör substrat molekülüne benzer ve aktif bölge için onunla yarışır. İnhibitör, substratların aktif bölgelere girmesini engelleyerek, enzimi inhibe eder. Yarışmasız inhibisyon (Şekil 3.13); inhibitör, aktif bölge için substrat ile rekabet etmez. Bunun yerine, enzimin başka bir yerine bağlanır ve enzimi inhibe eder. Yarı-yarışmalı inhibisyon (Şekil 3.14); inhibitör, aktif enzim-substrat kompleksine bağlanarak, aktif olmayan enzim-substrat-inhibitör kompleksini oluşturur (Gonçalves ve Romano, 2017).



Şekil 3.12. Yarışmalı inhibisyon (Copeland 2000).



Şekil 3.13. Yarışmasız inhibisyon (Copeland 2000).



Şekil 3.14. Yarıyarışmalı inhibisyon (Copeland 2000).

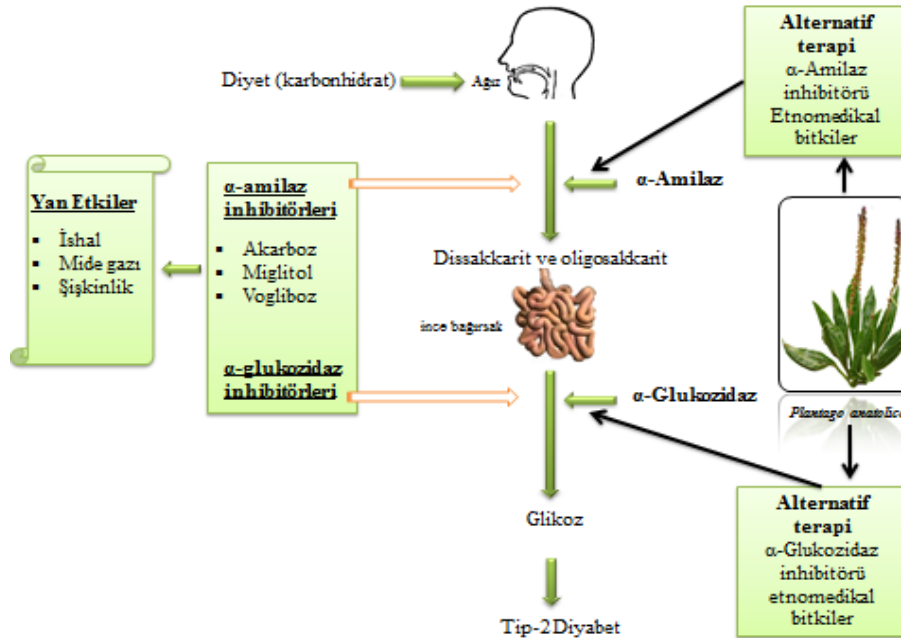
Fenolik bileşiklerin en önemli özelliklerinden bir tanesi hipertansiyon, metabolik bozukluklar, iltihaplanmalar ve nörodejeneratif çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olan enzimlere bağlanarak, enzimlerin aktivitelerini durdurmaları veya enzimleri inhibe edebilmeleridir (Mai ve ark., 2007; Ranilla ve ark., 2010; Gholamhoseinian ve ark., 2010; Sudha ve ark., 2011; Siah ve ark., 2012; Dalar ve Konczak, 2013; Gonçalves ve Romano, 2017). Sentetik enzim inhibitörlerin yan etkileri hakkındaki endişelerinden dolayı günümüzde bitkisel bazlı enzim inhibitörlerinin kullanımı önem kazanmıştır. Araştırmalar ağırlıklı olarak angiotensin dönüştürücü enziminin (ACE), α -amilaz ve α -glukozidaz, lipaz, kolinesterazlar, proinflatuar enzimler ve tirozinaz ile bunların bağlantılı olduğu sırasıyla; hipertansiyon, tip II diyabet, obezite, Alzheimer, iltihap ve cilt hiperpigmentasyonu hastalıkları üzerine odaklanmıştır (Copeland, 2000).

3.3.4.2.1. Tip-2 diyabet: Fenolik bileşiklerin α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu üzerindeki etkileri

Fenolik bileşiklerce zengin tıbbi bitkilerin α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu üzerinde potansiyel rolü vardır. Bundan dolayı aktif α -amilaz ve α -glukozidaz enzim inhibitörü olan bitkiler, tip-2 olarak adlandırılan diyabet hastalığının tedavisinde kullanılabilirler. Tip-2 diyabet hastalığı, dünya genelinde hızla yayılan hastalıklardan birisidir. Dünya çapında ciddi bir sağlık sorunu haline gelen tip-2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, böbrek yetmezliği, körlük ve nörolojik komplikasyonlar gibi birçok hastalıkla ilişkilidir. Tip-2 diyabet, dünya

çapında diyabet vakalarının yaklaşık olarak % 90'ını oluşturmaktadır (Dananei ve ark., 2011; Sales, 2012; Asgar, 2013)

Sindirim sisteminin anahtar enzimlerinden birisi olan α -amilaz enzimi, ağızda nişasta gibi büyük yapıdaki polisakkaritlere etki ederek onları daha küçük yapıdaki dissakkarit veya oligosakkaritlere dönüştürür. Bu şekerler daha sonra, ince bağırsağın epitelyumunda bulunan membrana bağlı α -glukozidaz enzimi tarafından glikoza dönüştürülmektedir. α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerin faaliyetleri sonucu kandaki glikoz oranı artmakta ve tip-2 olarak adlandırılan diyabet hastalığı oluşabilmektedir (Apostolidis ve ark., 2006; Mentreddy, 2007). Tip-2 diyabet hastalığının tedavisinde kullanılan akarboz, miglitol ve vogliboz, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin inhibisyonları üzerinde oldukça etkili olmakla beraber, karaciğer, göğüs ağrısı, gaz, ishal, mide ve bağırsak rahatsızlıkları gibi çeşitli yan etkilere neden olmaktadır (Shobana, 2009; Sudha ve ark., 2011). Bu ilaçları kullanan diyabet hastalarının yaklaşık olarak % 20'sinde, şişkinlik, karın ağrıları, ishal ve gaz sıklığı gibi yan etkilerden dolayı tedavi durdurulmuştur (Chiasson ve ark., 2002). Bu yüzden, güvenli, yan etkisi olmayan veya ihmal edilecek seviyede olan, etkili α -amilaz ve α -glukozidaz enzim inhibitörlerinin keşfedilmesi oldukça önem arz etmektedir (Şekil 3.15).



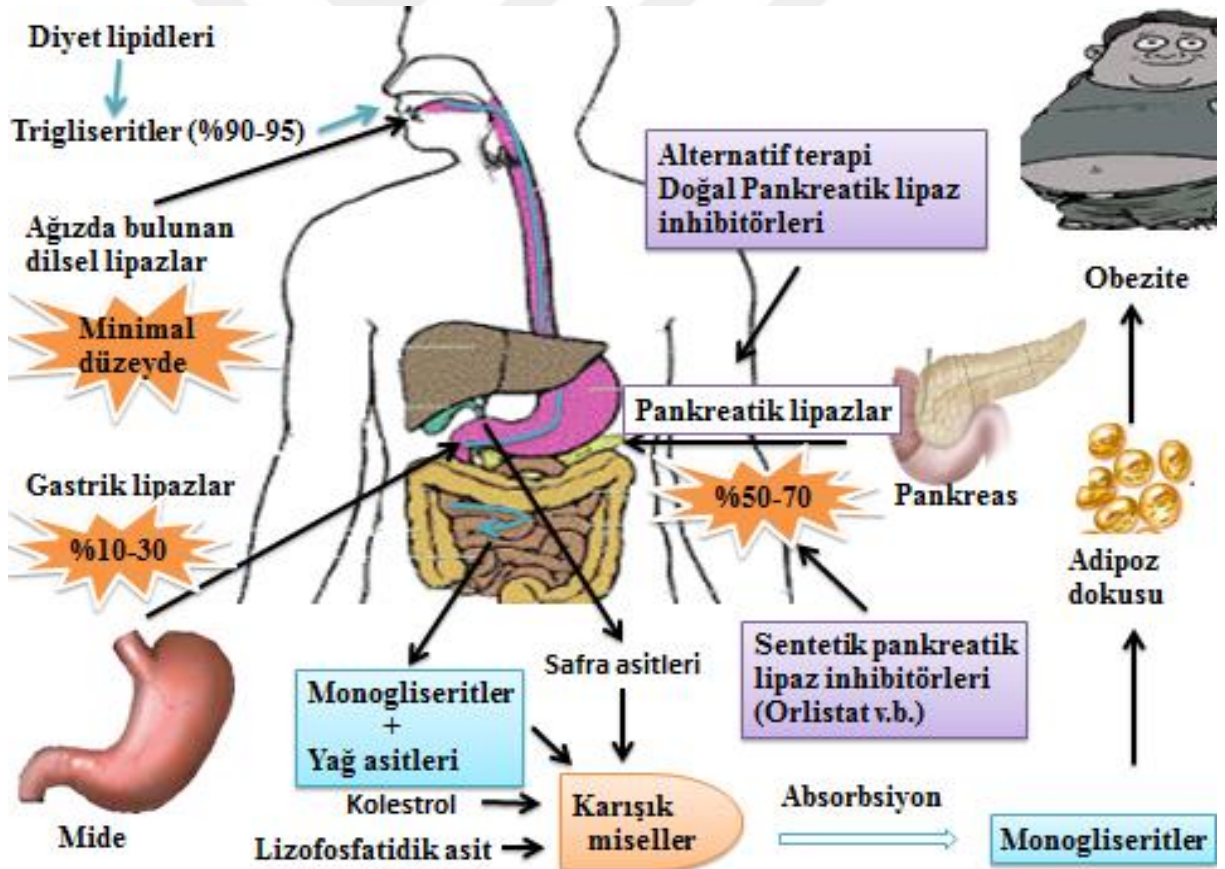
Şekil 3.15. α -Amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin modern ilaç ve tıbbi bitkiler ile inhibisyon mekanizması (Ponnusamy ve ark. (2011)'den uyarlanmıştır).

Tıbbi bitki materyallerden izole edilen, kersetin, kemferol, mirisetin gibi flavonollar, gallik asit, kafeik asit, klorojenik asit gibi fenolik asitler, antosiyaninler,

izoflavonollar gibi fenolik bileşikler etkili α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri inhibitörüdür. Bu yüzden tıbbi bitkilerin çoğu içerdikleri kimyasal bileşiklerden dolayı diyabet hastalığında kullanılmaktadırlar (Kumar ve ark., 2012; Oboh ve ark., 2015).

3.3.4.2.2. Obezite: Fenolik bileşiklerin pankreatik lipaz enziminin inhibisyonu üzerine etkileri

Diyet lipidlerin çoğu trigliserid (% 90-95) şeklinde ağız yoluyla alınır ve hidrolizleri ağızda başlar (minimal düzeyde), buradan da mideye geçen lipidlerin %10-30'u midede bulunan gastrik lipaz ve %50-70'i onikiparmak bağırsağında bulunan pankreatik lipaz enziminin hidrolizi sonucu monogliserid ve yağ asitlerine dönüştürülmektedirler. Sonuç olarak vücuttaki yağ asidi seviyesi yükselmekte ve obezite oluşabilmektedir (Şekil 3.16) (Armand, 2007; Garza ve ark., 2011).



Şekil 3.16. Pankreatik lipaz enzimi ve inhibitörlerinin etki mekanizması (Birari ve Bhutani (2007)'den uyarlanmıştır).

Obezite, lipid metabolizmasının bir bozukluğu olup, kardiyovasküler bozukluklar, kas-iskelet bozuklukları, diyabet, hipertansiyon ve bazı kanser türlerin oluşmasına, yaşam kalitesinin azalmasına ve ölümlere yol açabilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2008 verilerine göre, 1.4 milyardan fazla erişkin (20 ve üzeri) aşırı kilolu olup, yaklaşık olarak 300 milyon obez hastası bulunmakta ve bu rakam gün geçtikçe artmaktadır (WHO, 2014).

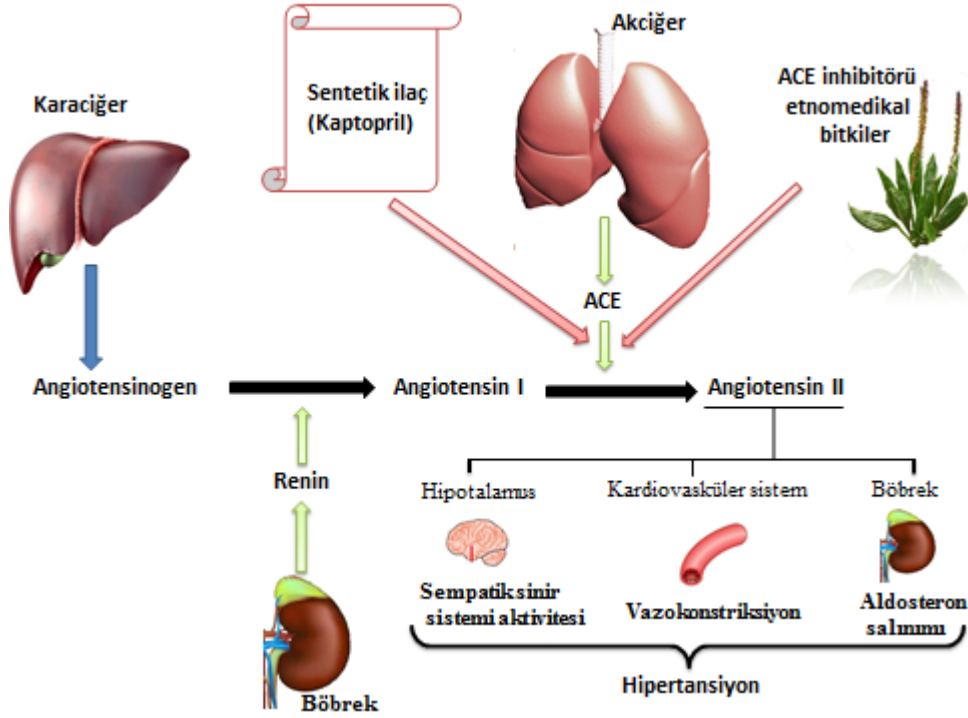
Dünya genelinde obezite tedavisinde kullanılan, gastrik ve pankreatik lipazın güçlü bir inhibitörü olan orlistat, lipazların aktif bölgesi ile kovalent bir bağ oluşturup, lipaz enzimini inhibe ederek, trigliserit absorpsiyonunu azaltmaktadır. Fakat, orlistatin sıvı dışı, yağda eriyen vitamin eksiklikleri, idrar tutamama ve gastrointestinal rahatsızlıklar gibi oldukça ciddi yan etkileri bulunmaktadır (Kaila and Raman, 2008). Obezite tedavisinin en umut verici stratejilerden biri, merkezi mekanizmaları değiştirmeden, gastrointestinal mekanizmalar yoluyla enerji alımını azaltan besin sindirimi ve emilim inhibitörlerinin geliştirilmesidir (Birari ve Bhutani, 2007). Fenolik bileşikler, pankreatik lipaz, lipoprotein lipaz ve gliserofosfat dehidrogenaz gibi yağ metabolizmasına bağlı enzimlerin aktivitesini inhibe ederek, obeziteyi önleme potansiyeline sahiptirler. Pankreatik lipaz inhibitör kapasitesine sahip bileşiklere; *Citrus unshiu* kabuklarından hesperidin, *Cassia mimosoides*'den proantosiyanidinler ve çaydan kateşinler örnek olarak verilebilir (Buchholz ve Melzig, 2015; Yoshikawa ve ark., 1998).

3.3.4.2.3. Hipertansiyon: Fenolik bileşiklerin angiotensin dönüştürücü enziminin (ACE) inhibisyonu üzerine etkileri

Hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar ve komplikasyonlar için büyük bir risk oluşturan yaygın ve sıklıkla ilerleyen bir hastalıktır (Chalmers, 1999). Hipertansiyon dünya çapında artan bir sağlık sorunu olup, yetişkin nüfusun yaklaşık dörtte biri bu hastalıktan etkilenmektedir (Al Shukor ve ark., 2013). Dünya genelinde yaklaşık olarak 1.25 milyar hipertansiyon hastasının bulunduğu ve 2025 yılına kadar bu sayının 1.5 milyara yaklaşabileceği tahmin edilmektedir (Mittal ve ark., 2010).

Kan basıncının ve normal kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde anahtar rol oynayan enzim Angiotensin dönüştürücü enzim (ACE)'dir. ACE, akciğerler başta olmak üzere beyin, testis, böbrek vb. dokularda; plazma, semen gibi fizyolojik

sıvıların yanı sıra, makrofajlar ile kan damarlarında önemli oranlarda bulunur. Kalp-damar sisteminde merkezi bir rol oynamaktadır (Donoghue, 2000). ACE, angiotensin I'i katalize ederek angiotensin II'ye dönüştürür. Böylece, kan basıncı artar ve hipertansiyon hastalığı oluşur (Huang ve ark., 2005; Shalaby ve ark., 2006). Hipertansiyon hastalığının tedavisi ve kontrol altına alınmasının etkin yollarından birisi ACE enziminin aktivitesini inhibe etmektir. Kaptopril, lizinopril, enalapril gibi hipertansiyon tedavisinde kullanılan bazı ACE inhibitörleri bulunmaktadır. Fakat, bu ilaçların uzun süre kullanımından dolayı ciddi bazı yan etkileri olmaktadır (Balasuriya ve Rupasinghe, 2011; Hügel ve ark., 2016). Bu nedenle, özellikle bitki orjinli doğal kaynaklardan elde edilecek ve yan etkileri tolere edilebilecek olan yeni ACE inhibitörlerine ihtiyaç bulunmaktadır. Birçok araştırma fenolik bileşikler açısından zengin gıdaların ACE inhibisyonu ile hipertansiyondan korunma ve tedavisinde etkili olduğunu göstermiştir (Balasuriya ve Rupasinghe, 2011; Siah ve ark., 2012; Hügel ve ark., 2016). ACE enziminin aktivitesi ve ACE inhibitörlerinin etki mekanizması Şekil 3.17'de sunulmuştur.



Şekil 3.17. Rennin-angiotensin sistemi ve ACE enziminin modern ilaç ve tıbbi bitkiler ile inhibisyon mekanizması (Balasuriya ve Rupasinghe (2011)'den uyarlanmıştır).

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Kullanılan Malzeme ve Teçhizatlar

Deneyleerde kullanılan kimyasal ürünlerin tümü Sigma-Aldrich A.Ş.'den tedarik edilmiştir.

4.2. Örneklerin toplanması

Araştırma materyalini oluşturan *Plantago anatolica* bitkisi vejetasyon dönemi ve yöre halkının tıbbi amaçlar için bitki topladığı aylar dikkate alınarak 2016 yılının Haziran-Eylül aylarında Van ilinin Muradiye ilçesine bağlı Devetaş ile Çotuklu köylerinin çevresindeki çayırılık, tarla ve step alanlardan, doğru ve tam teşhis için çiçekli ve meyveli dönemlerde toplanmıştır. *P. anatolica* bitkisinin morfolojik ve anatomik açıdan ayrıntılı olarak incelenmesi için yeterli miktarlarda ve uygun şekilde toplanmıştır. Teşhis edilen örneklerin bir kısmının, ayrıntılı morfolojik özelliklerinin belirlenmesi için biyometrik ölçümleri yapılırken; bir kısmı ise herbarium örneği haline getirilerek (VPH) Van Pharmaceutical Herbariumu'nda korumaya alınmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Bitki materyaline ait herbarium örnekleri.

4.2.1. Anatomik metot

Arazi çalışması sırasında toplanan örneklerin bir kısmı anatomik çalışmalarda kullanılmak üzere, içinde % 70 alkol bulunan kavanozlara alındı ve kavanozlar etiketlenerek ışık almayan bir dolapta saklandı (Şekil 4.2). Anatomik çalışmalarda, jilet yardımıyla manuel olarak her taksona ait en az yirmişer preparat üzerinden değerlendirme yapılmıştır. Kök, skapus, yaprak sapı (petiol) ve yaprak orta damar enine kesiti ile yaprak ve yaprak sapının (petiol) alt ve üst yüzeysel kesitleri alınmıştır. Anatomik incelemeler Leica DM500 marka ışık mikroskobu altında gerçekleştirilmiş ve mikro-fotoğrafları çekilmiştir.



Şekil 4.2. % 70 alkol bulunan kavanozlara alınmış bitki örnekleri.

Geçici preparatların boyanmasında lugol (IKI) ve sıvı anilin mavisi kullanıldı (Şekil 4.3).

IKI (lugol) solüsyonu:

1,5 g IK (potasyum iyodit)

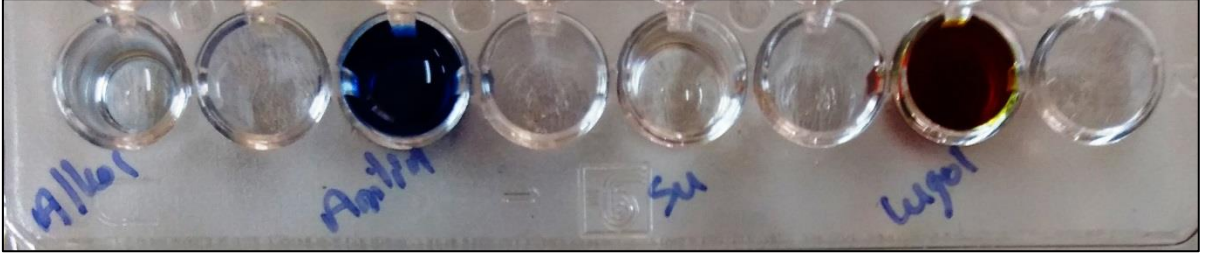
0,3 g I₂ (iyot)

100 ml distile su

Hazırlanışı: Yukarıda belirtilen miktarlarda iyot ve potasyum iyodit temiz bir havan içine kondu ve üzerine bir miktar distile su ilave edilerek iyice ezildi. Daha sonra üzerine 100 ml'e tamamlanacak şekilde distile su eklenerek iyice karıştırıldı.

Geçici preparatlar olarak hazırlanan el kesitlerinin boyama işlemleri için aşağıda verilen basamaklar sırasıyla uygulandı:

- Öncelikle kesit alınacak bitki materyali 1-2 cm parçalar halinde kesilip %96'lık etanol çözeltisi içinde 5 dakika bekletildi.
- Müteakiben alkol içinden alınan materyal zarar görmeyecek şekilde baş ve işaret parmakları arasına yerleştirilerek, bir jilet yardımıyla materyale göre dik açılı olacak şekilde kesitler alındı. Özellikle hassas olan yaprak veya saçak kökler gibi bitki materyallerinden kesit almak için, materyalden bir parça kesilerek strafor köpük içerisine yerleştirilip, jilet yardımıyla ince kesitler alındı.
- Alınan kesitler anilin mavisi içinde 20-25 saniye bekletildi.
- Anilin mavisi içinde çıkarılan kesitler önce distile su içine batırılıp çıkarıldıktan sonra lügol solüsyonu içinde 20-25 saniye bekletildi.
- Süre sonunda lügol solüsyonu içinde çıkarılan kesitler distile suyla yıkandı. Kesitler temiz lam üzerine damlatılmış bir damla saf suyun içerisine konulduktan sonra üzerine uygun bir lamel kapatıldı.
- Böylece hazır hale gelmiş preparatlar mikroskopta incelenerek fotoğrafları çekildi.



Şekil 4.3. Preparat hazırlamada kullanılan boyalar.

4.3. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mil Bitkisinin Ekstraktlarının Hazırlanması

4.3.1. Ekstraksiyon öncesi ön hazırlık işlemleri

Araziden toplanan bitki materyalleri (toprak üstü kısımlar) (Şekil 4.4) farklı bitki türleri ile karışmasının önlemesi amacıyla tek tek ayıklanmış olup, toz, kir, zararlılar ve kontaminasyonlardan uygun bir şekilde arındırıldı. Herbaryum hazırlık odasında serilen kurutma kağıtları üzerine yerleştirilen bitki materyalleri, yöre halkının bitkisel ilaç elde etmek için kullandığı gölgede havayla kurutma yöntemi ile kurutuldu (Şekil 4.5). Bitkilerin kurutulmasında kullanılan kurutma kağıtları gün aşırı olarak değiştirildi. 14-21 gün boyunca gölgede kurutulmuş bitki materyalleri kauçuk eldiven kullanılarak küçük parçalara ayrıştırıldı. Bitkisel materyalin çözücü ile daha iyi bir şekilde etkileşmesini

sağlayan geniş ekstraksiyon alanı elde etmek amacı için bitki parçacıkları, öğütücü yardımı ile toz materyal haline getirildi ve elde edilen toz bitki materyalleri plastik kaplara konulup, kapak parafilm ile kapatıldı. Bitki materyalleri analiz işlemlerine başlanana kadar, +4 °C’de saklandı.



Şekil 4.4. Bitki materyali toplanması esnasındaki arazi fotoğrafları.



Şekil 4.5. Bitkilerin kurutulması.

4.3.2. Ekstraksiyon aşamaları

Bitki materyalindeki kimyasal kompozisyonun kapsamlı bir şekilde incelenmesi ve aktif bileşik veya bileşiklerin belirlenmesi amacıyla biyoaktivite rehberli ardışık fraksiyonlar hazırlanmış ve lipofilik-hidrofilik bileşik dengesi gözetilerek çözümler n-hekzan, kloroform, etil asetat, aseton, etanol ve ultra saf su olarak belirlenmiştir. Ardışık fraksiyonlar her ne kadar bitkinin kimyasal kompozisyonunun açığa çıkartılması konusunda yeterli olsa da halkın kullandığı yöntemlerin karşılaştırılması olarak kullanılmasının bütüncül ve kapsamlı bir çalışma açısından gerekli olduğu düşünülmüş ve bundan dolayı yerel halkın etnomedikal bitkisel ilaç hazırlama biçimi göz önüne alınarak infüzyon, dekoksasyon ve saf su ekstraktları de karşılaştırmalı olarak hazırlanmıştır.

Sonuç olarak deneylerde;

- Liyofilize ardışık fraksiyonlar (sırasıyla; n-hekzan, kloroform, etil asetat, aseton, etanol ve ultra saf su)
- Liyofilize infüzyon ekstresi
- Liyofilize dekoksasyon ekstresi
- Liyofilize ultra saf su ekstresi olmak üzere toplamda 4 farklı ekstraksiyon biçimi kullanılmıştır.

4.3.3. Liyofilize ardışık fraksiyonların hazırlanması

Liyofilize ardışık fraksiyonlar, öğütülmüş bitki örneklerinin çeşitli polaritelere sahip olan farklı organik çözücüler ile ardışık olarak ekstre edilmesi esasına göre hazırlandı. Özetle, öğütülmüş bitki örneğinden 100 gr tartılarak, bir cam behere konuldu ve 1 lt n-hekzan ile tüketilene kadar beherin üzeri alüminyum folyo ile kapatılmış şekilde, +4 °C'de, 2 saat süreyle çalkalayıcıda homojenize edildi. Daha sonra karışım santrifüj cihazına yerleştirildi. Homojenize karışım 20 dk. boyunca, 10 000 rpm'de santrifüj edildi ve elde edilen supernatant vakum filtrasyon yardımı ile 0.45 µm'lik hidrofilik filtreden geçirilerek evaporatör yardımıyla +37 °C'de çözücünden arındırıldı. Supernatanttan arta kalan çökelti ardışık sıra ile kloroform, etil asetat, aseton (%80), etanol (%80) ve ultra saf su kullanılarak aynı ekstraksiyon işlemlerine tabi tutuldu (Şekil 4.6). Elde edilen yoğunlaştırılmış ham n-hekzan, kloroform, etil asetat, etanol ve ultra saf su fraksiyonları, -51 °C sıcaklık ve 50 millitor basınç altında liyofilizatör cihazında 5 gün süreyle bekletildi. Elde edilen liyofilize ardışık fraksiyonlar analiz işlemlerine başlanana kadar, -20 °C'de saklandı.

4.3.4. Liyofilize infüzyon ekstresinin hazırlanması

Öğütülmüş bitki numunesinden 100 gr alınarak üzerine 1000 ml kaynatılmış saf su eklendi, homojenize edildi ve daha sonra 5-6 dk süreyle inkübe edildi. Homojenize karışım müteakiben santrifüj cihazına yerleştirilerek, 20 dk. boyunca, 10 000 rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen supernatant enjektör yardımı ile 0.45 µm'lik hidrofilik filtreden geçirilerek evaporatör yardımıyla +37 °C'de çözücünden arındırıldı. Elde edilen yoğunlaştırılmış ham infüzyon ekstresi, -51 °C sıcaklık ve 50 millitor basınç altında liyofilizatör cihazında 3 gün süreyle bekletildi. Elde edilen liyofilize infüzyon ekstresi analiz işlemlerine başlanana kadar, -20 °C'de saklandı.

4.3.5. Liyofilize dekoksasyon ekstresinin hazırlanması

Öğütülmüş bitki numunesinden 100 gr alınarak üzerine 1000 ml soğuk saf su eklendi, homojenize edildi ve çözgen kaynayıncaya kadar inkübe edildi. Kaynama başladıktan sonra 10 dk süreyle kaynar durumda ve ara sıra karıştırılmak suretiyle inkübe edilen karışım, daha sonra soğumaya bırakıldı. Ilık hale gelen homojenize karışım daha sonra santrifüj cihazına yerleştirildi. Homojenize karışım 20 dk. boyunca,

10 000 rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen supernatant enjektör yardımı ile 0.45 µm'lik hidrofilik filtreden geçirilecek evaporatör yardımıyla +37 °C'de çözücünden arındırıldı. Elde edilen yoğunlaştırılmış ham dekoksasyon fraksiyonları, -51 °C sıcaklık ve 50 millitor basınç altında liyofilizatör cihazında 3 gün süreyle bekletildi. Elde edilen liyofilize dekoksasyon ekstraları analiz işlemlerine başlanana kadar, -20 °C'de saklandı.

4.3.6. Liyofilize ultra saf su ekstresinin hazırlanması

Öğütülmüş bitki numunesinden 100 gr tartılarak, bir cam behere konulup, 1 lt ultra saf su ile ekstre edilerek, beherin üzeri alüminyum folyo ile kapatıldı. +4 °C'de, 2 saat süreyle çalkalayıcıda homojenize edilen karışım, daha sonra santrifüj cihazına yerleştirildi. Homojenize karışım 20 dk. boyunca, 10 000 rpm'de santrifüj edilmiş olup, elde edilen supernatant vakum filtrasyon yardımı ile 0.45 µm'lik hidrofilik filtreden geçirilecek evaporatör yardımıyla +37 °C'de çözücünden arındırıldı. Supernatanttan arta kalan çökelti aynı ekstraksiyon işlemine tekrar tabi tutuldu. Elde edilen yoğunlaştırılmış ham su fraksiyonları, -51 °C sıcaklık ve 50 millitor basınç altında liyofilizatör cihazında 3 gün süreyle bekletildi. Elde edilen liyofilize saf su ekstraları analiz işlemlerine başlanana kadar, -20 °C'de saklandı.



Şekil 4.6. Ekstraksiyon aşamaları.

4.4. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

4.4.1. Ferrik İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) metodu

Bitki ekstralarının ferrik indirgeme kapasitelerinin belirlenmesi işlemi, Dalar vd. (2012) metoduna göre yürütüldü. Öncelikli olarak; 300 mmol/l'lik asetat tamponundan 10 ml, 20 mmol/l'lik $FeCl_3$ 'ten 10 ml ve 10 mmol/l'lik TPTZ solüsyonundan 1 ml içeren FRAP reaktif solüsyonu hazırlandı. FRAP reaktif solüsyonunda kullanılan kimyasal maddeler aşağıda belirtildiği şekilde hazırlandı.

- Asetat tamponu: 1 litre ultra saf suya, 3.1 g sodyum asetat ve 16 ml asetik asit eklendi ve pH'ı 3.6'ya ayarlandı.
- TPTZ (2,4,6-Tripiridil-s-triazin) solüsyonu: 10 ml hidroklorik aside, 31.2 mg TPTZ eklendi.

Saf su kullanılarak seyreltilen bitki ekstralarından 10 µl, 96 havuzlu mikrotablaya eklendikten sonra üzerine 200 µl FRAP reaktif solüsyonu eklendi ve 15-20 saniye kadar çalkalayıcıda bekletildi. 8 dakika inkübasyon işleminden sonra, spektrofotometre kullanılarak 600 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Bitki ekstralarının total indirgeme kapasitesi, Fe^{2+} 'nin standart eğrisi ve standardize edilmiş kontrol kullanılarak, µmol Fe^{2+} /g ekstre olarak hesaplandı. Analiz işlemleri en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Pozitif kontrol olarak standardize *Centella asiatica* (Gotu Kola) ve *Camellia sinensis* (Green Tea) ekstraları kullanıldı.

4.4.2. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC) metodu

Oksijen radikali süpürme kapasitesinin belirlenmesi işlemi, Dalar vd. (2012) metoduna göre gerçekleştirildi. İlk olarak; fosfat tamponu (75 mM, pH:7.0) kullanılarak, floresin (120 nM) ve AAPH [(2,2-azobis(2-metilpropionamid) dihidroklorid)] (360 mM) hazırlandı. 96 havuzlu mikrotablaya, kontrol ve fosfat tamponu ile seyreltilmiş bitki ekstraksiyonlarından 20 µl eklendi ve +37 °C'ye ayarlanmış bir floresens spektrofotometreye yerleştirildi. Daha sonra, 120 µl floresin mikrotablaya eklendi. Bunu müteakip, 20 µl AAPH mikrotablaya eklendi ve floresens ölçümleri başlatıldı. Floresens sıfırlanmaya ve kinetik eğri oluşturuluncaya kadar dakikada bir floresens (eksitasyon dalga boyu 495 nm ve emisyon dalga boyu 515 nm) ölçümleri kaydedildi. Kinetik eğrinin altındaki bölge hesaplandı ve kontrol örneği kullanılarak standardize edildi. Tüm ölçümler en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

Bitki ekstralarının oksijen radikal absorban kapasiteleri Troloks'un standart eğrisi kullanılarak, μmol Troloks eşdeğeri/g ekstre olarak belirlendi. Pozitif kontrol olarak standardize *Centella asiatica* (Gotu Kola) ve *Camellia sinensis* (Green Tea) ekstraları kullanıldı.

4.4.3. DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi metodu

DPPH radikali süpürme aktivitesi Konczak vd. (2003) metoduna göre yürütüldü. Özetle, 150 μl 0.1 M 2-morfolinoetanolsülfonik asit (MES) buffer (pH 6.0) içeren mikrotablaya, liyofilize bitki ekstralarından alınan solüsyon (75 μL) eklendikten sonra, 75 μL DPPH solüsyonu eklenerek total hacim 300 μl 'ye tamamlandı. Uygun bir biçimde çalkalanan solüsyon, 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra DPPH radikalinin absorbanındaki düşüş spektrofotometre yardımıyla 520 nm'de ölçüm yapıldı. Analiz işlemleri en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Liyofilize ekstraların DPPH radikalini indirgeme kapasiteleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı. DPPH Radikali İnhibisyon Aktivitesi (%) = [(Kontrol absorban – Ekstrenin absorbanı) / Kontrol absorban] \times 100.

Bitki örneklerinin DPPH inhibisyon etkisi IC50 (maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer) (mg/ml) hesaplanarak tespit edildi. Standart olarak Troloks, pozitif kontrol olarak standardize *Centella asiatica* (Gotu Kola) ve *Camellia sinensis* (Green Tea) ekstraları kullanıldı.

4.4.4. Demir şelatlama aktivitesi

Metal şelatlama aktiviteleri Dinis vd. (1994) tarafından belirlenen metota göre belirlendi. Bitki örneklerinin değişik konsantrasyonlarındaki ekstralarının her birinden 1'er ml alındı ve 0.05 ml'lik 2mM'lık FeCl_2 solüsyonuna eklendi. Reaksiyon, 5 mM'lık 0.2 ml ferrozine ($\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{NaO}_6\text{S}_2$) eklenmesiyle başlatıldı. Toplam hacim kullanılan çözücü ile 5 ml'ye tamamlandıktan sonra çözelti hızlı bir şekilde karıştırılıp, 10 dk. oda sıcaklığında bekletildi ve daha sonra 562 nm'de absorban değerleri okundu. Kör için 0.05 ml FeCl_2 üzerine toplam hacim 4 ml olacak kadar çözücü eklendi.

Demir şelatlama aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı. % İnhibisyon = (AK – A1) / AK \times 100 (AK : Kontrol Absorbansı, A1 : Numune Absorbansı) Standart olarak EDTA, pozitif kontrol olarak standardize *Centella asiatica* (Gotu Kola) ve *Camellia sinensis* (Green Tea) ekstraları kullanıldı.

4.5. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Ekstrelerin antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini tespit etmek için agar-disk difüzyon, agar dilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanıldı. Bu çalışmada gram pozitif bakteriler *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pneumoniae*; gram negatif türler *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* ve maya mantarları *Candida albicans* ile *Cryptococcus meningitis* kullanıldı. Kültürler için ilk bakteriyel konsantrasyonlar (yaklaşık 5×10^5 cfu/ml) 0.5 McFarland bulanıklık standartlarıyla ölçüldü. Antibakteriyel standart olarak kloramfenikol, tetrasiklin ve ofloksasin kullanılırken antifungal standart olarak nistatin kullanıldı.

4.6. Enzim İnhibisyon Çalışmaları

4.6.1. α -Amilaz enzimi inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi

Ekstrelerin α -amilaz enzimini inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi işlemi Matsui vd. (2001)'na göre gerçekleştirildi. Deney Tip 1-A: DFP ile muamele edilmiş porsin pankreasından elde edilmiş α -amilaz enzimi ve Wako Amilaz-Test kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Deneyin yürütülebilmesi için fosfat tamponu hazırlandı. Bunun için; 20 mM NaH_2PO_4 ve 6.7 mM NaCl ayrı ayrı birer litre saf suda çözüldükten sonra karıştırıldı ve pH'ı 6.9' a ayarlandı. Ekstreler 20 dakika süreyle homojenizasyon için sonike edildi ve enjektör yardımı ile 0.45 μm 'lik hidrofilik filtreden geçirildi. Deney, 200 μl nişasta örneği (0.4 mg/ml) ve fosfat tamponu kullanılarak, çözünmüş 100 μl ekstre oda sıcaklığında kuartz küvete yerleştirilmesi ile başlatıldı. Daha sonra, fosfat tamponu ve 50 μl α -amilaz enzimi (1ünite/ml) küvete yerleştirilerek, toplam hacim 500 μl 'ye tamamlandı. Karışım homojenize edilerek ve enzimatik tepkimenin gerçekleşmesi için oda sıcaklığında 3 dakika bekletildi. Tepkime, karışıma %0.1'lik HCl'den 1 ml eklenmesi ile sonlandırıldı. Daha sonra, iyodin reaktif solüsyonundan (Wako amilaz kiti) 200 μl eklendi ve karışım homojenize edildi. Nişasta konsantrasyonunda, α -amilaz enziminin aktivitesinden dolayı meydana gelen düşüş, spektrofotometre kullanılarak 660 nm'de absorbans ölçümü yapılarak tespit edildi. Bitki ekstrelerinin α -amilaz enzimini inhibisyon etkisi, aşağıdaki formül kullanılarak tespit edildi.

Inhibisyon (%) = $[(A_{CB}-A_C) - (A_{SB}-A_S)] / (A_{CB} - A_C) \times 100$. (A_{CB} : Enzim eklenmemiş kontrol, A_C : Kontrol, A_{SB} : Enzim eklenmemiş örnek, A_S : Enzim eklenmiş örnek).

Ekstrelerin inhibisyon etkisi IC50 (maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer) hesaplanarak tespit edildi. Pozitif kontrol olarak, uluslararası kabul gören α -amilaz inhibitörlerinden Akarboz kullanıldı.

4.6.2. α -Glukozidaz enzimi inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi

Ekstrelerin α -glukozidaz enzimini inhibe etkisinin belirlenmesi işlemi, sakaroz hidrolizi sonucu açığa çıkan glukozun miktarının ölçülmesi esasına dayanan Sakulnarmrat ve Konczak (2012)'ın metodu uygulanarak tespit edildi. Öncelikle; α -glukozidaz enzimi kaynağı olarak, sıçan bağırsaklarından elde edilen aseton ekstresinden ham enzim hazırlandı. Bunun için aseton ekstresinden 100 mg tartıldı ve üzerine 0.1 M maleik asit (pH: 6.0) tamponundan 1 ml eklendi. Enzim karışımı daha sonra ultrasonikatör yardımı ile 6 dakika süreyle homojenize edildi. Homojenize edilen enzim karışım, 30 dakika süreyle, 3 bin rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen supernatant çökteldiden alındı ve maleik asit tamponu ile %50 seyreltilerek deney için hazır hale getirildi. Maleik asit tamponu içinde çözünen ekstreler 20 dakika süreyle homojenizasyon için sonike edildi ve enjektör yardımı ile 0.45 μ m'lik hidrofilik filtreden geçirilerek filtre edildi.

Deney eşit miktardaki ekstre, enzim solüsyonu ve %2'lik sakaroz şekerinin karıştırılması ile başlatıldı. Su banyosunda 1 saat süreyle +37 °C'de bekletilen karışım, daha sonra 10 dakika süreyle 100 °C'de kaynatıldı. Bu karışımdan 20 μ l alındı ve renklendirici reaktif solüsyonu (Glukoz C2 Test kiti) eklendi. Daha sonra bu karışım 5 dakika süreyle +37 °C'de inkübe edildi ve spektrofotometre yardımı ile 505 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Ekstrelerin α -glukozidaz enzimini inhibisyon etkisi, aşağıdaki formül kullanılarak tespit edildi.

Inhibisyon (%) = $[(A_{CB}-A_C) - (A_{SB}-A_S)] / (A_{CB} - A_C) \times 100$. (A_{CB} : Enzim eklenmemiş kontrol, A_C : Kontrol, A_{SB} : Enzim eklenmemiş örnek, A_S : Enzim eklenmiş örnek).

Ekstrelerin inhibisyon etkisi IC50 (maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer) hesaplanarak tespit edildi. Pozitif kontrol olarak, uluslararası kabul gören α -glukozidaz inhibitörlerinden Akarboz kullanıldı.

4.6.3. Pankreatik lipaz enzimi inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi

Ekstrelerin pankreatik lipaz enzimini inhibe etme aktivitesinin belirlenmesi Shimura vd. (1992)'na göre belirlendi. İlk olarak porsinden elde edilmiş pankreatik lipaz enziminden, 0.085 g alındı ve 1 ml McIlvaine tamponu (0.1 M Sitrik asit + 0.2 M Disodyum fosfat, pH: 7.4) içinde çözdürüldü. 10 000 rpm hızında, 10 dakika süreyle santrifüj edilen enzim solüsyonundan supernatant alındı ve deneyde kullanılmak üzere saklandı. McIlvaine tamponu içinde çözdürülen ekstreler 20 dakika süreyle homojenizasyon için sonike edildi ve enjektör yardımı ile 0.45 µm'lik hidrofilik filtreden geçirildi. Deney 50 µl ekstre ve 0.1 mmol 4-MUO (4-methylumbelliferyl oleate)'dan 100 µl'nin kuartz küvete alınması ile başlatıldı. Karışıma 50 µl enzim solüsyonu eklendi ve tüp karıştırıcı yardımı ile homojenize edildi. Daha sonra bu karışım 20 dakika süreyle +37 °C'de inkübe edildi. Tepkime, 0.1 N HCl'den 1 ml eklenmesi ile sonlandırıldı. Karışımın pH'sı, 0.1 M Sodyum sitrat'tan 2 ml eklenmesi ile 4.3'e ayarlandı. Daha sonra bu karışımda, pankreatik lipaz enziminin açığa çıkardığı 4-metilumbelliferonun miktarı, floresens spektrometre yardımı ile florometrik olarak ölçüldü. Ekstrelerin pankreatik lipaz enzimini inhibisyon etkisi, aşağıdaki formül kullanılarak tespit edildi.

Inhibisyon (%) = $[1 - (F_S - F_{SB}) / (F_C - F_{CB})] \times 100$. (F_{CB} : Enzim eklenmemiş kontrol, F_C : Kontrol, F_{SB} : 4-MUO eklenmemiş örnek, F_S : Enzim eklenmiş örnek).

Ekstrelerin inhibisyon etkisi IC50 (maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer) hesaplanarak tespit edildi. Pozitif kontrol olarak, uluslararası kabul gören pankreatik lipaz inhibitörlerinden Orlistat kullanıldı.

4.6.4. Angiotensin dönüştürücü enzimi (ACE) inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi

Ekstrelerin ACE baskılama aktivitesinin belirlenmesi Shalaby vd. (2006)'na göre gerçekleştirildi. İlk olarak oda sıcaklığındaki ekstreler, standart (Kaptopril) ve tris-HCl tamponundan 10'ar µl alınarak, mikrotabluya eklendi. Daha sonra, mikrotabla +37 °C sıcaklığa ayarlanmış olan spektrofotometreye yerleştirildi. Cihazdaki pompalar, ACE enzimi (0.25 ünite/ml) ve FA-PGG solüsyonunun (0.88 mmol) enjeksiyonu için ayarlandı. Daha sonra 340 nm'de 30 dk boyunca her 30 saniyede bir absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen ham veriler, $Inhibisyon (\%) = [1 - (e_{gim\ inhibitör} - e_{gim\ kontrol})] \times$

100 formülü kullanılarak, bitki ekstresinin ACE inhibisyonu olarak belirlendi. Pozitif kontrol olarak, Uluslararası kabul gören ACE inhibitörlerinden Kaptopril kullanıldı.

4.7. Fitokimyasal İçerik

4.7.1 Total Fenolik Grup Kompozisyonlarının belirlenmesi

4.7.1.1 Total fenolik içerik (Folin-Ciocalteu metodu)

Bitki ekstralarının total fenolik içerikleri Dalar vd. (2012)'nin metoduna göre belirlendi. Saf su ile seyreltilmiş ekstralardan 25 µl, 96 havuzlu mikrotabluya eklendikten sonra, üzerine daha önceden saf su ile seyreltilmiş (1:10 h/h) Folin-Ciocalteu reaktif solüsyonundan 125 µl eklendi ve 3 dakika süreyle çalkalayıcıda bekletildi. Bunu müteakip, askorbik asit tashihi/düzeltilmesi (ekstredeki askorbik asit değerinin, total indirgeme değerinden düşülmesi) için, spektrofotometre kullanılarak 600 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Daha sonra, mikrotabluya 125 µl Na₂CO₃ eklendi ve 12 dakika süreyle çalkalayıcıda bekletilen reaksiyona ait absorbans ölçümü 600 nm'de gerçekleştirildi. Ekstrelerin Folin-Ciocalteu indirgeme (FCR) gücü, Gallik asit standart eğrisi kullanılarak, mg Gallik asit eşdeğeri/g ekstre olarak hesaplandı. Analiz işlemleri en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Pozitif kontrol olarak bitkisel *Centella asiatica* (Gotu Kola) ve *Camellia sinensis* (Green Tea) standardize ekstraları kullanıldı.

4.7.1.2. Total proantosiyanidin içeriklerinin belirlenmesi

Total proantosiyanidin içerikleri, Li vd. (1996)'nin DMACA-HCl [4-(dimetilamino) sinnaldehit-hidroklorik asit] metodunun modifiye edilmiş şekli (Dalar vd., 2012) sayesinde belirlendi. İlk olarak, eşit hacimli soğuk metanol ve 6 N HCl karışımına, %2'lik DMACA eklenerek, DMACA reaktif solüsyonu hazırlandı. Ekstrelerden 160 µl alınarak, içinde 80 µl metanol bulunan 96 havuzlu mikrotabluya eklendi ve antosiyanın düzeltilmesi için 640 nm'de absorbans ölçümü yapıldı. Daha sonra, %2'lik DMACA reaktif solüsyonundan 40 µl mikrotabluya eklendi ve oda sıcaklığında 20 dk süreyle bekletildi. Daha sonra 640 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Analiz işlemleri en az 3 defa olarak tekrarlandı. Ekstrelerin total proantosiyanidin içerikleri Kateşin standard eğrisi ve standardize edilmiş kontrol kullanılarak, mg Katekin eşdeğeri/g ekstre olarak hesaplandı.

4.7.1.3. Total flavonoid içeriklerinin belirlenmesi

Ekstrelerdeki total flavonoid içerikleri Michalska vd. (1999)'nın Alüminyum klorid kolorimetrik metoduna göre belirlendi. %80'lik metanolde seyreltilen bitki ekstrelerinden 0.25 ml kuartz küvete eklendi ve 1.25 ml saf su ile seyreltildi. Daha sonra 75 µl %5'lik NaNO₂ eklenip, 5 dakika süreyle inkübe edildi. Bunu müteakip, %10'lik AlCl₃•6H₂O'den 150 µl eklendi ve 6 dakika inkübe edildikten sonra 0.5 ml NaOH eklenip, tüp karıştırıcı yardımı ile çalkalandı ve spektrofotometre yardımı ile 510 nm'de absorbans ölçümü yapıldı. Analiz işlemleri en az 3 defa olacak şekilde tekrarlandı. Ekstrelerdeki total flavonoid içerikleri Rutin standard eğrisi ve standardize edilmiş kontrol kullanılarak, mg Rutin eşdeğeri/g ekstre olarak hesaplandı.

4.7.1.4. Total hidroksisinnamik asit ve flavonol içeriklerinin belirlenmesi

Total hidroksisinnamik asit ve flavonol içeriklerinin belirlenmesi işlemleri, Glories metodunun (Mazza vd., 1999) modifiye edilmiş şekline göre (Dalar vd., 2012) gerçekleştirildi. Özetle, 10 µl ekstre ve %95 etanol içinde çözülmüş %0.1'lik HCl'den 10 µl mikrotabakaya eklendi. Daha sonra, %2'lik HCl'ten 182 µl eklenip, çalkalayıcıda karışımın homojenleşmesi sağlandı ve 15 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra flavonollar için 360 nm'de, hidroksisinnamik asitler için 320 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Ekstrelerdeki total hidroksisinnamik asit içerikleri Kafeik asit standard eğrisi ve standardize edilmiş kontrol kullanılarak, mg Kafeik asit eşdeğeri/g kuru ağırlık olarak hesaplandı. Flavonol içerikleri ise, Rutin standard eğrisi ve standardize edilmiş kontrol kullanılarak, mg Rutin eşdeğeri/g kuru ağırlık olarak hesaplandı. Analiz işlemleri en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

4.7.1.5. Total antosiyanin içeriklerinin belirlenmesi

Total antosiyanin miktarı pH değişim metodu ile belirlendi (Cardozo vd., 2011). Özetle, liyofilize ekstreler 25 mM potasyum klorid solüsyonu (pH = 1.0) ve 400 mM sodyum asetat tamponu (pH = 4.5) içerisine eklendi ve sırasıyla 520 ve 700 nm dalga boylarında absorbans ölçümü yapıldı. Bitki ekstrelerindeki total antosiyanin içerikleri Siyanidin 3-glikozit standard eğrisi ve standardize edilmiş kontrol kullanılarak, mg Siyanidin 3-glikozit eşdeğeri/g ekstre olarak hesaplandı. Analiz işlemleri en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

4.7.2. Vitamin C içeriğinin belirlenmesi

C Vitamini analizi işlemi HPLC kullanılarak belirlendi. Özetle, ekstreler 1 mg/ml oranıyla %4,5 metafosforik asit ile ekstre edilip, 5 dakikalık sonikasyon işleminden sonra santrifüj edildi (5 dakika, 12000 rpm) ve elde edilen supernatantlar 10 µl enjeksiyon miktarı ile HPLC cihazına yüklendi. İzokratik şartlar altında ekstrede ayırıştırma işlemi gerçekleştirildi. C Vitamini belirleme işlemi 215 dalga boyunda 1,0 ml/dakika akış hızı ile gerçekleştirildi. Tanımlama işlemi 215 nm dalga boyunda sentetik L-askorbik asit standardının geliş zamanı ve karakteristik UV-VIS spektral özelliklerinin karşılaştırılması yoluyla gerçekleştirildi.

4.7.3. GC-MS analizi

GC-MS analiz işlemleri iki aşamalı olarak uçucu bileşen analizi (Head Space) ve metil ester analizi yöntemleri kullanılarak yürütüldü. Analiz işlemleri, Varian 2000 ion trap mass spectrometer arayüzlü ve alev iyonizasyon detectör (FID) donanımlı Varian 3800 gaz kromatografisinde, 260°C enjektör sıcaklığında gerçekleştirildi.

1. Uçucu Bileşen Analizi (Head Space Yöntemi): Her ekstreten 1 gr 15 ml'lik vial eklendi. Sıcaklığı 100 °C'ye ayarlı olan headspace haznesi 30 dk boyunca 500 rpm hızla çalkalama gerçekleştirildi ve daha sonra vial 80 °C'de inkübasyonda bekletildi. 30 dk sonunda enjektör 3 kez vialden gaz çekti ve içerisine geri boşalttı. 4. kez çektiği gazın hacmini 2500 mikrolitre'ye ayarlayarak SGE Analytical – BPX90 (100m x 0.25mm x 0.25µm) kolona enjekte edildi. Analiz işlemi sıcaklığın 80°C'ye ayarlanması ile başlatıldı, müteakiben sıcaklık 5°C/dakika oranla 190°C'ye yükseltildi, 190°C sıcaklıkta 3 dakika bekletildi. Daha sonra, 5°C/dakika oranıyla, sıcaklık 260°C'ye yükseltildi ve bu sıcaklıkta 3 dakika inkübe edildi ve ardından 2°C/dakika oranıyla sıcaklık 275°C'ye yükseltildi, 12,5 dakika bekletildi. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı. Uçucu bileşikler total molekül ağırlıkları, parçalanma iyonları ve geliş zamanlarının NIST (National Institute of Standards and Technology) kütüphanesi ve Van den Dool ve Kratz (1963) tarafından tanımlanan kütle spektrum verileri ve güncel literatür verileri ile mukayase edilmesi sonucu tanımlandı.
2. Methyl esteri analizi: Metilasyon işlemi için iki yöntem denendi. İlk yöntemde 100 mg bitki ekstresi 10 ml hekzan ile muamele edildi. Daha sonra, 100 µl 2N

KOH (metanolde çözülmüş) ile tüketildikten sonra vortekslenip, santrifüjlendi ve supernatant kısmı vialde alındı. İkinci yöntemde (Hara ve Radin, 1978) ise ekstreden 1 gr alındı ve üzerine 5 mL hekzan/izopropanol (3:2) ilave edilip, 5000 rpm de 10 dk süreyle santrifüj edildi. Santrifüjden sonra, üst kısım alınıp, süzülerek deney tüplerine kondu. Üzerine % 2 lik metanolik sülfirik asitten 2,5 mL eklenip vortekslenildi. Bu karışım 50 C lik etüvde 15 saat metillenmesi için inkübe edildi. 15 saat sonunda tüpler çıkarılarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 2,5 mL % 5 lik NaCl eklenerek vortekslenildi. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri (FAME), 2,5 mL hekzan ile ekstre edildi ve hekzan fazı üstten pastör pipeti ile alınarak 2,5 mL % 2 lik KHCO₃ ile muamele edildi ve fazların ayrılması için yaklaşık olarak 1 saat beklendi. Daha sonra metil esterlerini ihtiva eden karışımın çözücüsü 45 C de azot altında uçuruldu ve deney tüplerinin altındaki yağ asidleri 1 mL hekzan ile çözülerek ağzı kapaklı GC viallerine alındı.

Elde edilen solüsyonlar daha sonra Likit enjeksiyon ile 1 mikrolitre ekstre 60 x 0.25 mm i.d., 0.2 µm SGE Analytical – BPX70 kolona enjekte edildi. Analiz işlemi sıcaklığın 120 °C'ye ayarlanması ile başlatıldı, müteakiben sıcaklık 5°C/dakika oranla 250°C'ye yükseltildi, 3 dakika bu sıcaklıkta bekletildi. Daha sonra, 2°C/dakika oranıyla, sıcaklık 270°C'ye yükseltildi ve bu sıcaklıkta 16 dakika inkübe edildi. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı. Fatty acid metil esterleri total molekül ağırlıkları, parçalanma iyonları ve geliş zamanlarının NIST (National Institute of Standards and Technology) kütüphanesi ve Van den Dool ve Kratz (1963) tarafından tanımlanan kütle spektrum verileri ve güncel literatür verileri ile mukayese edilmesi sonucu tanımlandı.

4.7.4. HPLC-MS/MS analizi

4.7.4.1. HPLC analizi

Ekstrelerde bulunan fenolik bileşiklerin tanımlanması ve konsantrasyonlarının belirlenmesi işlemleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Analitik yüksek basınçlı sıvı kromatografisi +30 °C'de yürütüldü ve örnekler 250 nm, 280 nm, 326 nm, 370 nm ve 520 nm dalga boylarında kontrol edildi. HPLC analizlerinde kullanılan sistemler (Çizelge 4.1) ve gradient programı (Çizelge 4.2) aşağıda sunulduğu şekilde gerçekleştirildi. Çalışmada HPLC'ye özgü fenolik

bileşik standartları kullanıldı. Analiz işlemi için HPLC'ye yüklenen tüm ekstreler ve standartlar enjektör yardımı ile 0.22 µm'lik hidrofilik filtreden geçirilerek filtre edildi.

Çizelge 4.1. HPLC analizlerinde kullanılan olan sistemler

Sistem	Özellikleri
Detektör	DAD (SPD-M10ADVP)
Oto enjektör	SIL-10ADVP
Sistem kontrolcüsü	SCL-10A
Pompa	LC-10ADVP
Degaze	DGU-12A
Kolon firması	CTO-1-ADVP
Kolon	Waters Atlantis DC ₁₈ , (4.6 mm×100 mm), 5 µm
Mobil faz	A: %0.5 TFA (Trifloroasetik asit) + %95 Ultra saf su. B: %0.5 TFA + %4.5 Ultra saf su + %95 Asetonitril.
Akış hızı	1 ml/da.
Enjeksiyon hacmi	10 µl
Kolon sıcaklığı	30 °C

Çizelge 4.2. HPLC analizlerinde kullanılan gradient programı

Zaman (dakika)	A ¹ (%)	B ² (%)
2	100	0
5	80	20
10	60	40
15	40	60
20	20	80
25	0	100
30	0	100
32	100	0
40	100	0
40.01	0	0

¹ %0.5 TFA (Trifloroasetik asit), ² %0.5 TFA + %4.5 Ultra saf su + %95 Asetonitril

Fenolik bileşiklerin tanımlanması işlemi, ko-kromatografi, fenolik bileşik standartlarının spektral karakteristikleri ve geliş zamanları ile mukayese edilmesi sonucu gerçekleştirildi. Kanitatif analizler en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Miktar tayini yapılan bileşiklere (Kafeik asit, klorojenik asit, apigenin ve kemferol) ait standard eğrisi kullanılarak, mg fenolik bileşik / g ekstre olarak hesaplandı.

4.7.4.2. LC-PDA-MS/MS ile analizi

Sıvı kromatografisi kütle spektrometresi analizleri; dört parçalı çözücü iletim sistemi, kolon fırını ve çoklu fotodiyod dedektör (PDA) ile donanımlı, Quantum triple stage quadrupole (TSQ) kütle spektrometresi (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, ABD) ile yürütüldü. Çoklu fotodiyod dedektörü, 190-520 nm aralığında bulunan verileri elde etmede kullanıldı. Kütle spektrometresi analizleri; tam tarama, nötral analiz ve hedef reaksiyon görüntüleme (SRM) modları kullanılarak yürütüldü. Çalışmada incelenen ekstreler 1 mg/ml konsantrasyonunda hazırlandı. Kütle spektrumu için gerekli olan iyonlar elektrosprey kaynağı kullanılarak elde edildi. Analiz işlemleri için pozitif ve negatif modlar kullanıldı. Pozitif mod optimizasyonu için kuersetin-3-glikozit ve negatif mod optimizasyonu için klorojenik asit kullanıldı. LC-MS analizlerinde kullanılan sistemler (Çizelge 4.3) ve gradient programı (Çizelge 4.4) aşağıda sunulmuştur.

Çizelge 4.3. LC-MS analizlerinde kullanılan sistemler

Sistem	Özellikleri
Kolon	Phenomenex Luna Synergy Hydro (2.1 mm×150 mm), 5 µm
Mobil faz	A: %0.5 Formik asit + %99.5 Ultra saf su.
Akış hızı	200 µl/dakika
Enjeksiyon hacmi	3 µl
Kolon sıcaklığı	30 °C
İyon kaynağı	Elektrosprey iyonlaşma
İyon modu	Pozitif ve negatif
Mod Optimizasyonu	Klorojenik asit (negatif) ve Kuersetin-3-glukozid (pozitif)

Çizelge 4.4. LC-MS analizlerinde kullanılan gradient programı

Zaman (dakika)	A ¹ (%)	B ² (%)
2	100	0
8	60	40
16	40	60
20	0	100
22	100	0
22.01	0	0

¹ %0.5 Formik asit + %95 Ultra saf su, ² %0.5 Formik asit + %95 Asetonitril.

4.7.5. Asit Hidroliz analizi

Asit hidroliz işlemi için, ekstrelerden 10 mg tartılıp, cam tüpe konuldu, ve 2 ml 2N Triflorik asit (TFA) ile muamele edildi. Tüp ısıtıcıya yerleştirilen ve 2 saat süreyle,

+120 °C'de bekletilen solüsyonlar 5 ml'lik volumetrik şişelere aktarıldı ve %80'lik metanol ile hacim 10 ml'e tamamlandı ve filtre edilerek HPLC-MS/MS kullanılarak ilgili analiz işlemleri yürütüldü.

4.8. Mineral analizi

Liyofilize ekstraler HNO₃ asit solüsyonu kullanılarak mikrodalga ekstraksiyon sistemi ile homojenize edilerek AAS, ICP-MS VE ICP-OS cihazları kullanılarak tespit edildi. Tüm element miktarları mg/kg ekstre cinsinden hesaplandı. Elementlerin limit değerlerini tespit için Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü referans malzemeleri kullanıldı.

4.9. Verilerin istatistiksel analizi

Çalışma sonuçları en az 3 tekrarlı ve birbirinden bağımsız deneyler ve ilgili standart sapmalar sonucunda elde edildi. Verilerin anlamlandırılması işlemi, Graphad Prism 5.04 (Graphad Yazılımı, ABD) kullanılarak p< 0.05 düzeyinde, tek yönlü varyant analizi ve Bonferroni post hoc analizi ile gerçekleştirildi. Tüm IC₅₀ değerleri, en az 4 tepkime noktası kullanılarak Microsoft Excel programı yardımı ile belirlendi.

5. BULGULAR

5.1. Farmakobotanik Bulgular

Plantago anatolica Tutel & R.R. Mill Plantaginaceae familyasına üye endemik etnomedikal bir bitki türüdür (Şekil 5.1). Endemik bir bitki olan *Plantago anatolica* bitkisine ait temel bilgiler ve etnobotanik açıdan kullanımı Çizelge 5.1’ de sunulmuştur.

Çizelge 5.1. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisine ait temel ve etnobotanik bilgiler

Ömür:	Çok yıllık
Yapı:	Ot
Habitat:	Sulu alanlar
Yükseklik:	1750-2200m
Endemik:	Endemik
Element:	İran-Turan
Türkiye dağılımı:	Doğu Anadolu
Genel Dağılımı:	Türkiye
Lokalitesi:	Van; Muradiye, Devetaş köyü güneyi ile Çotuklu köyü doğusundaki arazi (38S 0386709.98E 4332814.87 N; 2258 m).
Vejetasyon dönemi:	Haziran-Eylül ayları
Yöresel adlar:	Sinir otu, belghevizar
Toplanma dönemleri:	Haziran-Eylül
Kullanılan kısım:	Toprak üstü kısımlar
Kullanım amacı:	Tedavi
Kullanım şekli:	Aç karna yenir veya herbal infüzyonu hazırlanır.



Şekil 5.1. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill.

5.1.1. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill bitkisinin habitat özellikleri

Bitkinin topluluk oluşturduğu alanlardan (Devetaş köyü güneydeki çayırliklar ile Çotuklu köyü doğusundaki çayırlardan (Şekil 5.2)) bitki ve toprak örnekleri alınmıştır (Şekil 5.3). Biçilme zamanına kadar bu çayırlikların geliştii sahaler nemlilik özelliklerini korurlar. Tınlı bünyeye sahip olan topraklar, hafif tuzludur. Topraklarda kireç (CaCO_3) oranı iyi değerde ve pH hafif bazik reaksiyondadır. Topraklarda organik madde oranı az, potasyum (K_2O) miktarı yüksek ve fosfor (P_2O_5) miktarı çok düşük düzeydedir (Çizelge 5.2).



Şekil 5.2. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill bitkisinin habitatı.

Çizelge 5.2. *Plantago anatolica* bitkisinin yetiştii alanların toprak analizleri

Bünye	Su ile doymuşluk	E.C.X10 ³ Mmhos (25 ⁰ C)	pH	CaCO ₃ (%)	P ₂ O ₅ (kg/da)	K ₂ O (Kg/da)	Organik Madde (%)
Tınlı	45	5,6	7,5	19,71	1,48	70,57	1,86



Şekil 5.3. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill toprak örneği alınırken.

5.1.2. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill bitkisini tehdit eden faktörler

Morgedik Köyü ve Çotuklu Mezrası arasında, Serçeva deresi boyunca, Miras ve Kırmekii arasındaki çayırılık alan ile Kürük çayırı ve Devzer çayırındaki bulunan sulu çayırılık alanlarda endemik bir takson olan *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill bitkisi 2012 yılına kadar bölgedeki dominant bitki örtüsünü oluşturmaktaydı. Deliçay üzerinde kurulan Morgedik barajındaki su seviyesinin yükselmesi ile beraber endemik bir tür olan *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill taksonunun geniş bir yayılış gösterdiği alanların büyük çoğunluğu baraj gölünün suları altında kalmıştır (Şekil 5.4). Ancak barajın dışında kalan çayırılık kesimlerinde yayılış göstermesi taksonun bu alanda neslinin tükenmesini engellemiştir. Fakat erken ve aşırı olatmadan dolayı habitat yayılışında kademeli bir azalma sözkonusudur. Ağrı İli Tutak ilçesindeki popülasyonda da ciddi bir habitat kaybı var. Dolayısıyla tür koruma altına alınmasa yok olma tehdidiyle karşı karşıyadır. Bu yüzden *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill bitkisinin kritik (CR) sınıfına dahil edilmelidir (IUCN, 2010).



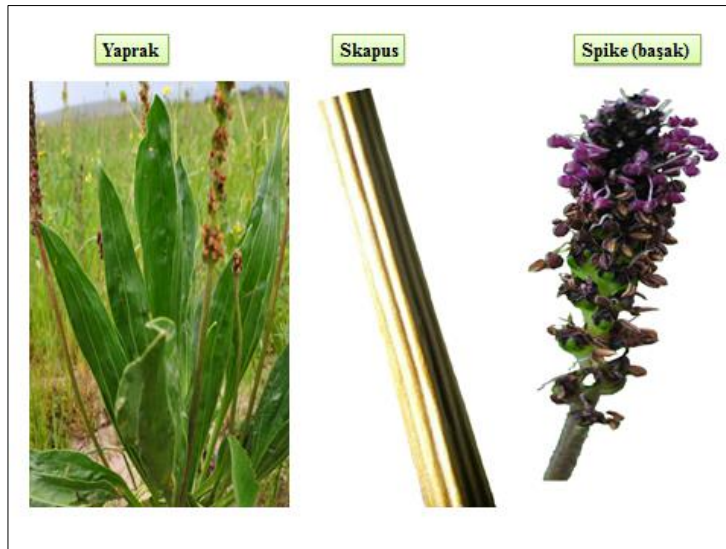
Şekil 5.4. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill Bitkisinin Morgedik baraj gölünün suları altında kalan habitatı.

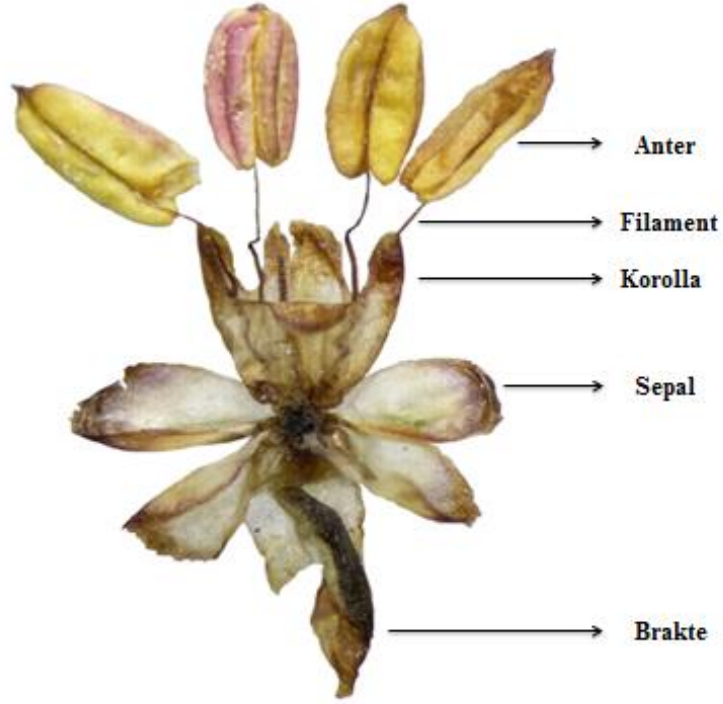
5.1.3. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill Bitkisinin Morfolojik Özellikleri

Tıbbi ve aromatik bir materyalin organoleptik özellikleri karakteristiktir. Organoleptik tayinler beş duyu organı ile yaptığımız incelemeleri kapsamaktadır. Görünüş, renk, büyüklük, kırılma yüzeyi, yüzey özellikleri, tekstür, koku ve tat bu analizin temelini oluşturmaktadır. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill bitkisi diğer *Plantago* türleri aynı veya benzer yöresel isimler ile adlandırılmakta ve benzer morfolojik özellikler göstermektedir. *Plantago anatolica* taksonuna ait toz halindeki drogların, bilimsel olarak doğru adlandırılması ve teşhisi için makroskopik ve mikroskobik bazı özellikleri incelendi (Çizelge 5.3 ve Şekil 5.5-5.10).

Çizelge 5.3. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill Bitkisinin Morfolojik Özellikleri

Yapı (Şeki 15.5)	Yapraklar (Şekil 5.6)	Scapus (Şekil 5.6)	Spike (başak) (Şekil 5.6)	Brakte(ler) (Şekil 5.7)	Sepal (Şekil 5.7)	Korolla (Şekil 5.7)	Meyve (Şekil 5.8)	Tohum (Şekil 5.9; 5.10)
Ot	Mızrak-sı-dar eliptik, 8-18 x 1.5-3.2 cm, 7 damarlı, tüysüz veya nadiren yumuşak tüylü, petiol 6-7 cm.	25-45 cm, yapraklar dan çok uzun, aşağı doğru daralan 11 oluk (sulcate) bulunur, tüysüz.	Spike uzamış (elongate), (5.5-)8-15.5 cm, dar silindirik, gevşek, alt çiçekler birbirinden uzaklaşmış.	Oblong(dikdörtgeni)-ovat (yumurtamsı), 3-3.5 x 1.2-1.5 mm, uc kısma doğru dar bir omurga uzanır.	Serbest, 3.2-3.5 x 1.5-2.2 mm, ovat	5 mm, loblar kısa sivri uçlu.	Kapsül, silindirik si-elips	bir kapsüldeki tohum sayısı 2-4 tane, kayıksı, yüzeyi peteksi

Şekil 5.5. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill bitkisinin genel görünüşü.Şekil 5.6. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill bitkisinin yaprak, scapus ve spike (başak) şekilleri.



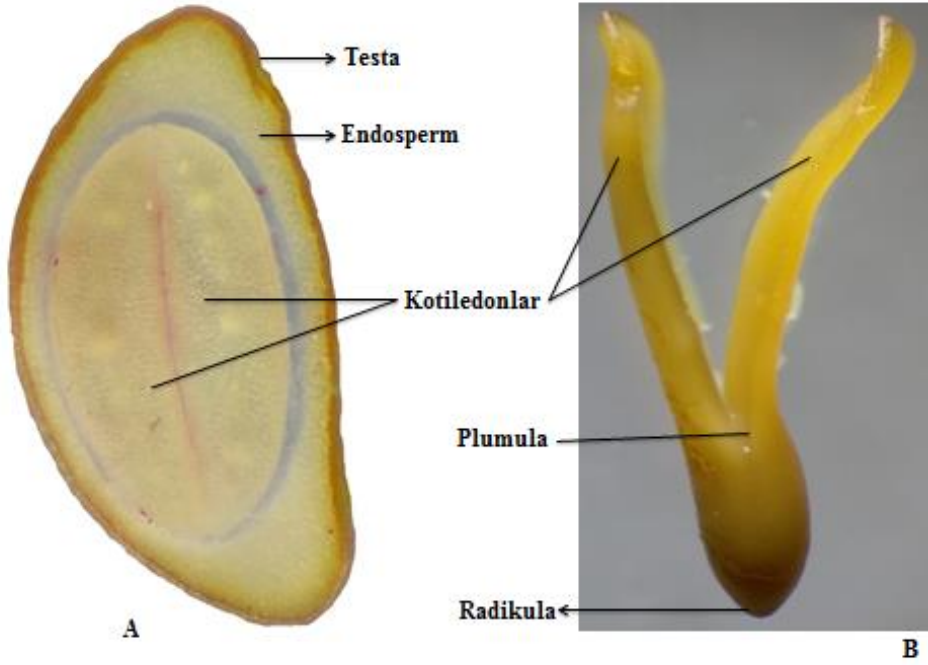
Şekil 5.7. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill bitkisinin çiçek yapısı.



Şekil 5.8. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill bitkisinin meyva yapısı.



Şekil 5.9. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill bitkisinin tohum yapısı.

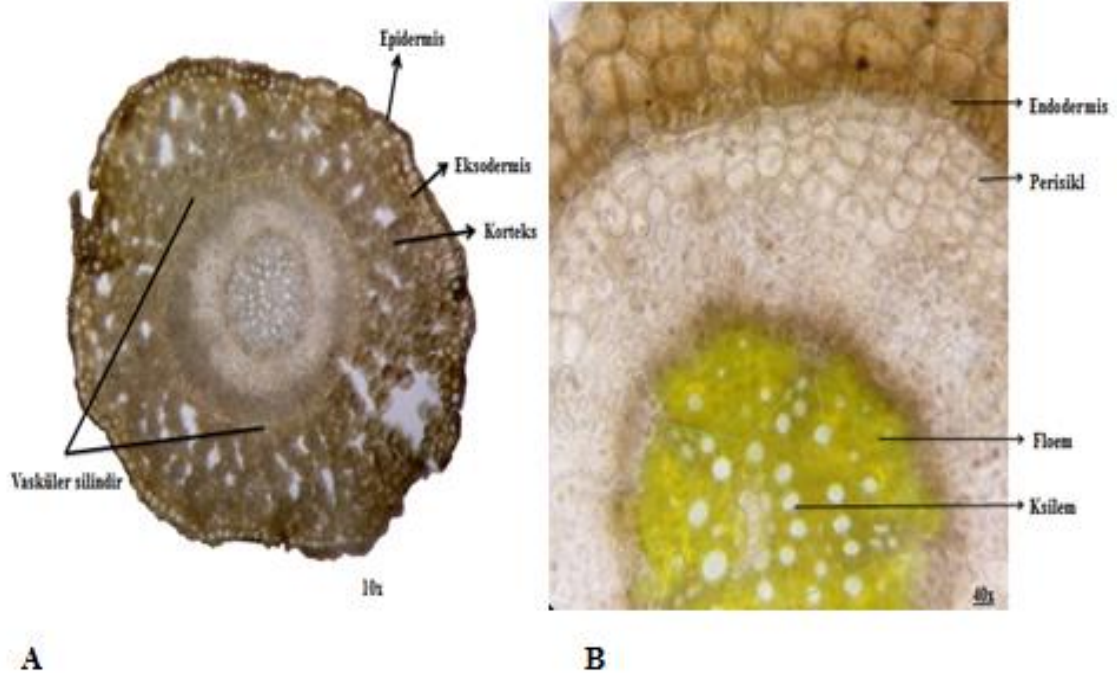


Şekil 5.10. *Plantago anatolica* Tutel & R. R. Mill bitkisinin tohum enine kesit (A) ve embriyo yapısı (B).

5.1.4. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill Bitkisinin Anatomik Özellikleri

5.1.4.1. Kök anatomisi

En dışta epidermis, epidermisin altında 1-2 sıralı ekzodermis, ekzodermis altında oval ya da dikdörtgen şekilli çok sıralı hücrelerden oluşmuş korteks gelmektedir. Daha sonrasında ise yuvarlak hücrelerden oluşmuş endodermis yer almaktadır. Endodermisin altında periskl iyi ayırt edilmektedir. Bununla beraber iletim demetindeki floem ve ksilem arasında yer alan kambiyum iyi seçilememektedir. İletim demetinde floem ksileme göre daha az bir alan kaplamaktadır. (Şekil 5.11). Ayrıca kökün parankima dokusundan alınan kesitlerde inulin sferokristalleri tespit edildi (Şekil 5.12).



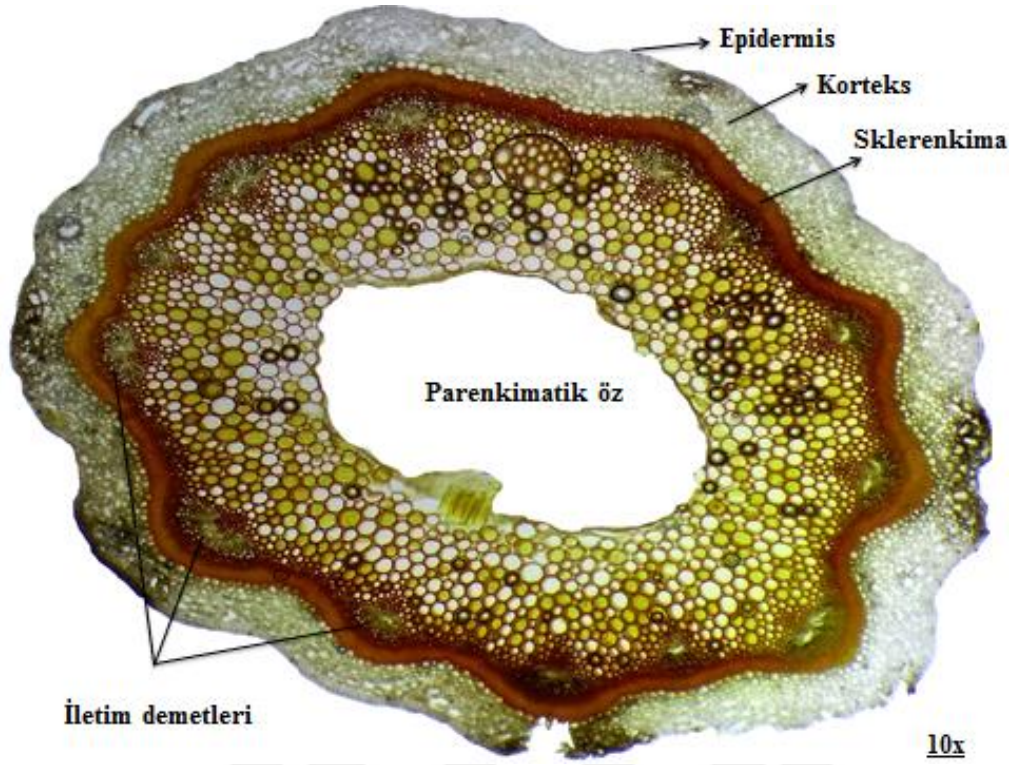
Şekil 5.11. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin kökünde alınan enine kesitte **A.** genel, **B.** vasküler silindir ayrıntılı.



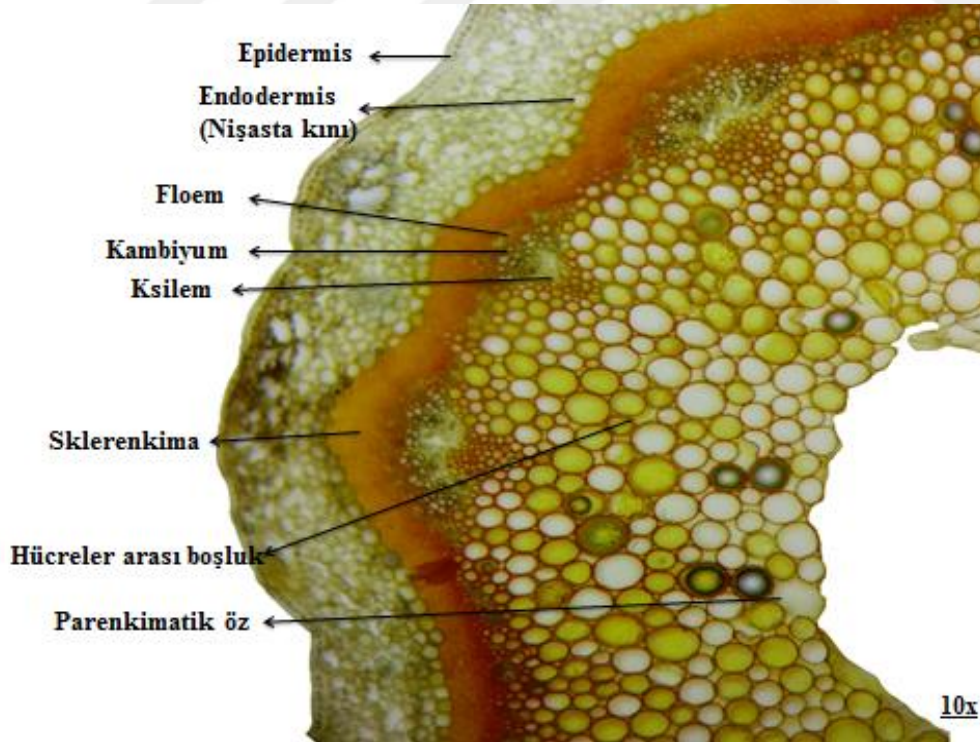
Şekil 5.12. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin kökün parankima dokusundan alınan kesitlerde inulin sferokristalleri.

5.1.4.2. Skapus anatomisi

Tipik 11 oluklu olan skapus, en dışta irili ufaklı hücrelerden oluşmuş epidermis bulunur. Daha sonra yuvarlak parenkimatik hücrelerden oluşan korteks dokusu gelmektedir. En içte endodermis (nişasta kını) bir hücre sırası gözlemlenmiştir. Endodermisin altında sklerenkima tabakası bulunur. Daha sonra floem ve ksilemden oluşan iletim demeti gelmektedir. Floem ile ksilem arasında kambiyum görülmektedir. Ksilemden sonra ise parenkimatik öz bulunmaktadır. Öz bölgesinin yuvarlak, farklı boyutlardaki hücreler arasında şizogen boşluklar bulunur. Skapusun orta kısmı boştur (Şekil 5.13; 5.14).



Şekil 5.13. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin skapusunda alınan enine kesitte genel görünüş.

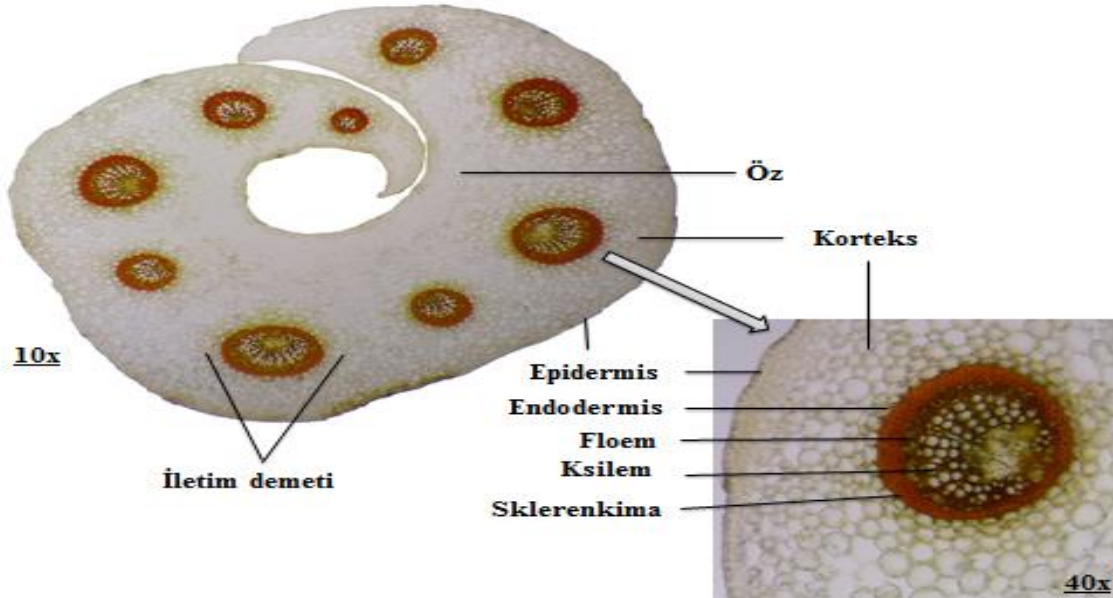


Şekil 5.14. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin skapusunda alınan enine kesitte ayrıntılı görünüş.

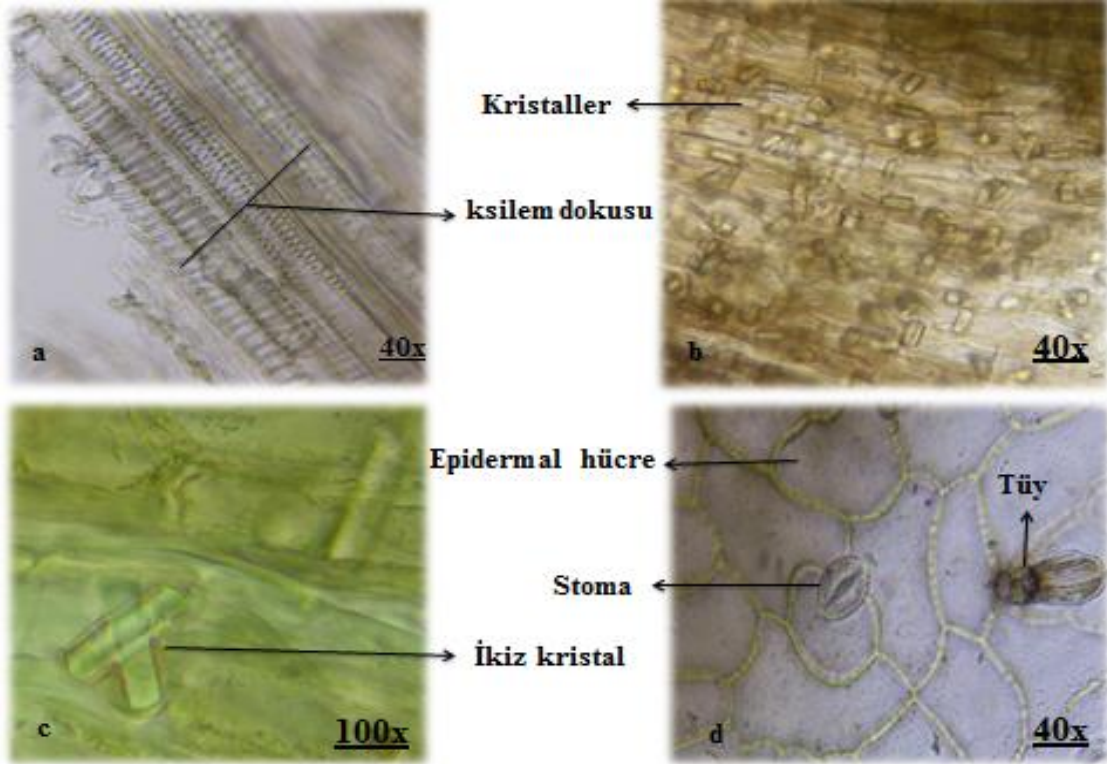
5.1.4.3. Yaprak anatomisi

Yaprak sapı (petiyol) enine kesiti spiral biçimdedir. Petiyolun enine kesitinin alt ve üst yüzeyi düzenli olarak sıralanmış oval veya dörtgenimsi tek sıra epidermis tabakasıyla örtülüdür. Her iki yüzeyinde epidermisi örten ince bir kütikula tabakası bulunmaktadır. Epidermisin altında 6-7 sıralı şekilleri yuvarlak farklı boyutlarda parankimatik hücrelerden oluşan ve bu hücreler arasında şizogen boşlukları bulunan korteks tabakası vardır. Parankimatik hücreler içine gömülü 7 tane gelişmiş ve 2 tane az gelişmiş iletim demeti var. En ortadaki iletim demeti en büyüktür. İletim demetleri saran yumurtamsı şekilde hücrelerde oluşan endodermis görülmektedir. Endodermisin altında floem ve ksilemi saran sklerenkima bulunmaktadır. Ksilemin kapladığı alan floeme oranla daha fazladır. Öz bölgesinde yuvarlak şekilli olan hücreler oldukça büyük olup, hücreler arasında şizogen boşluklar vardır (Şekil 5.15).

Yaprak sapının üst yüzeyinde alınan yüzeysel kesitte; kenarları dalgalı epiderma hücreleri, salgı tüyü, basit ve ikiz kritallerin yanı sıra iki stoma bekçi hücrelerinin marjinalopolar tarafına tutturulmuş stoma komşu hücre olan, dolayısıyla bu yardımcı hücre genelde bir U veya at nalı şeklindeki polositik tipi stoma görülmektedir. Yaprak sapının alt yüzeyinde alınan yüzeysel kesitte ise ksilem dokusu görülmektedir (Şekil 5.16).

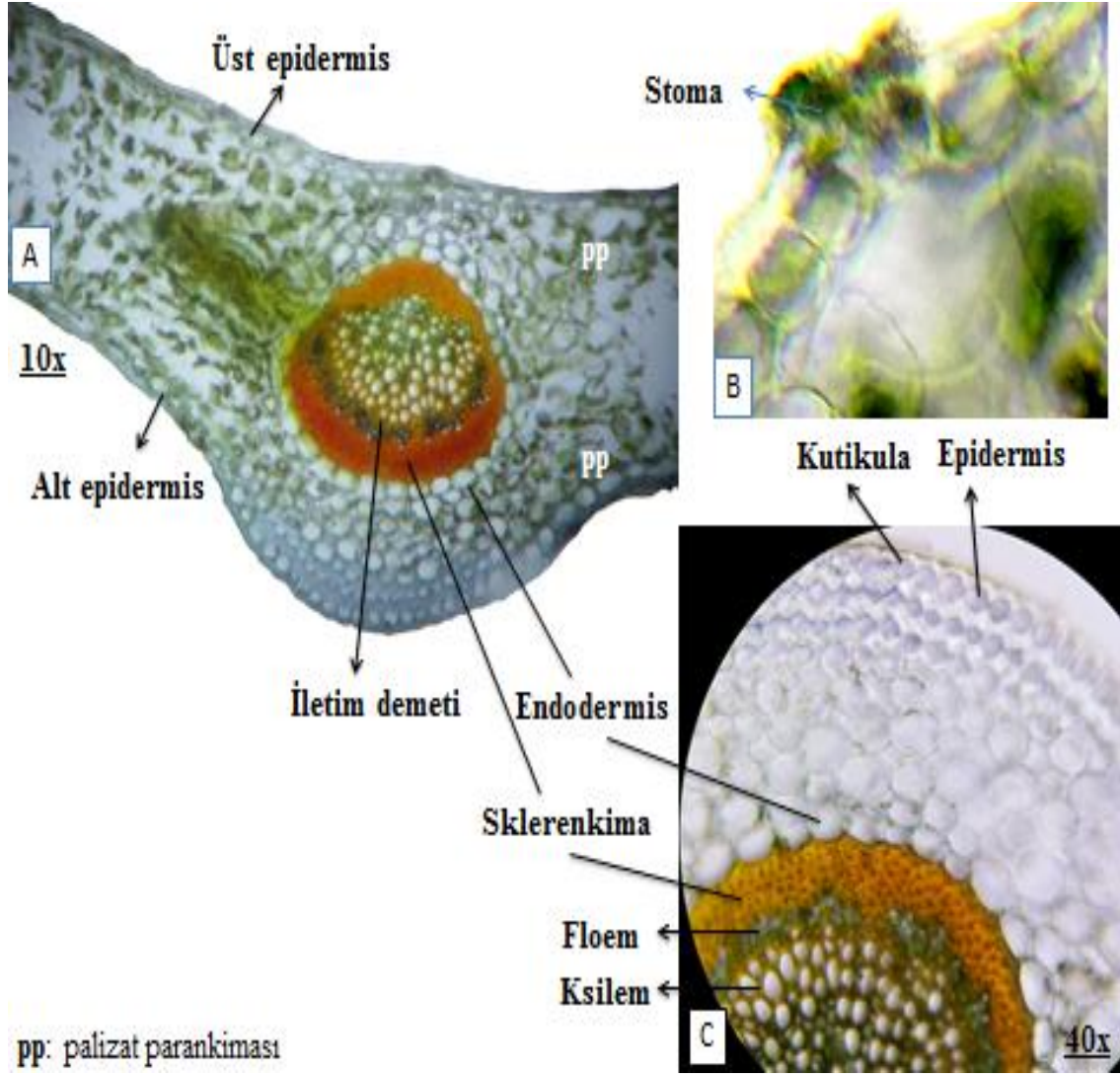


Şekil 5.15. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin yaprak sapında (petiyol) alınan enine kesiti.



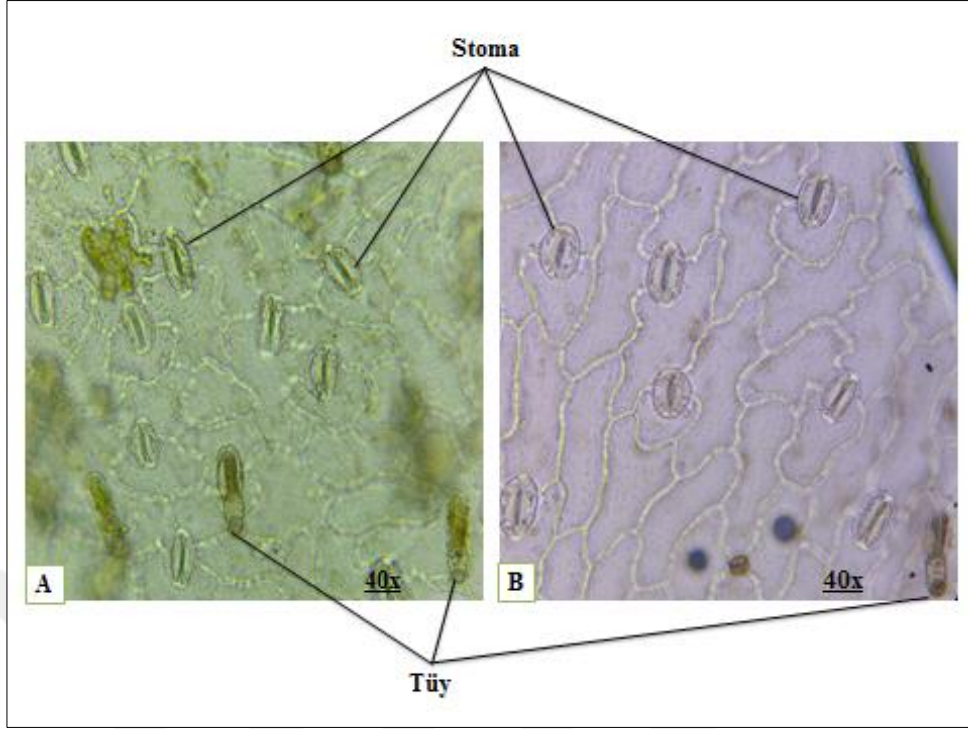
Şekil 5.16. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin yaprak sapı (petiyol) alt (a) ve üst (b, c, d) yüzey kesiti.

Yaprağın enine kesiti incelendiği zaman her iki yüzeyinin de düzenli olarak sıralanmış tek sıra epidermis tabakasıyla örtülü olduğu görülmektedir. Üst yüzey oval, alt yüzey yuvarlak hücrelerden oluşan epidermisin her iki yüzeyi kutikula tabakası ile kaplanmıştır. Epidermiste bekçi hücrelerin yapısına göre amaryllis tipi stoma bulunmaktadır. Stomalar epidermisten daha yukarı seviyede yer aldığı için bitki higromorf özellik göstermektedir. Mezofil palizat ve sünger parankimasından meydana gelmiştir. Palizat parankiması hücreleri silindir şeklinde ve iki sıralı olup, daha sonra gelen sünger parankimasının hücreleri ise dağınık dizilişli 4-5 sıralı yuvarlak hücrelerden oluşmaktadır. Mezofilin hem alt hem üst yüzeyinde palizat parenkiması yer alması sebebiyle yaprak ekvifasiyal (izolateral)dir. Yaprağın hem alt hem üst yüzeyinde stomalar bulunur. Bu nedenle yaprak amfistomatiktir. Yaprağın enine kesitte orta damar bölgesinde iletim demetin en büyüğü, orta damarda bulunmaktadır. İletim demetin etrafı endodermis ile çevrilidir. Üst epidermisten içe doğru; Palizat parankiması, sünger parankiması, iletim demeti (sklerenkima, ksilem, floem, sklerenkima), palizat parankiması ve alt epidermis bulunur (Şekil 5.17).



Şekil 5.17. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin yaprak laminası orta damar enine kesit: A. genel, B. yaprak enine ve C. Ayrıntılı görünümü.

Yaprağın alt ve üst yüzeylerinin, yüzeysel kesiti incelendiğinde epidermis hücrelerinin çeperleri dalgalı olduğu görülmektedir. Alt ve üst yüzeyi saran her iki epidermis tabakası üzerinde glandular tüyler bulunmaktadır. Takson sucul olmasından dolayı stoma hücreleri yüzeysel bir yerleşim göstermektedir. Yaprağın hem alt hem üst yüzeyinde stomalar bulunur. Bu nedenle yaprak amfistomatiktir. Bitkinin yaprak alt ve üst yüzeylerinde anomositik yanısıra polositik tipte stomalar görülmektedir (Şekil 5.18).



Şekil 5.18. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin yaprak yüzeysel kesit. **A.** Alt yüzey, **B.** üst yüzey.

5.2. Farmakognozic Çalışmalar

5.2.1. Ekstraksiyon verimi

Ekstrelelere ait ekstraksiyon verimleri aşağıdaki şekilde formül kullanılmak suretiyle belirlenmiş olup Çizelge 5.4'te sunulmuştur. Ekstraksiyon verimi = (Nihai net liyofilize ağırlık x 100) / ilk ağırlık.

Çizelge 5.4. Liyofilize Ekstrelerin Ekstraksiyon Verimleri

Ekstreler	Fraksiyon	Ekstraksiyon verimi
1. Ardışık Ekstre	Hekzan	0,21
	Kloroform	0,64
	Etil Asetat	0,32
	Aseton	0,67
	Etanol	14,5
	Ultra Saf Su	14,4
2. İnfüzyon Ekstresi		16,4
3. Dekoksiyon Ekstresi		29,0
4. Saf Su Ekstresi		34,7

Çizelge 5.4'te sunulduğu üzere, en yüksek ekstraksiyon verimi yüksek polariteli çözümlerin kullanıldığı ekstraktelerde (etanol ve su) belirlendi. Lipofilik bileşiklerin elde edilmesinde kullanılan düşük polariteli hekzan, kloroform, etil asetat çözümleri ile hem lipofilik hem de hidrofilik bileşiklerin elde edilmesinde kullanılan orta polariteli aseton çözümü kullanılarak elde edilen ekstraktlerdeki ekstraksiyon verimleri oldukça düşük olarak tespit edildi.

5.3. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

5.3.1. Ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP)

Bu metodun temel mekanizması düşük pH'da Fe(III TPTZ) oksidan kompleksinin antioksidanlar varlığında renkli Fe(II) şelatına indirgenmesi esasına dayanmaktadır (Apak, 2005).

Çizelge 5.5. Liyofilize Ekstrelerin Ferrik indirgeme gücü (FRAP)

Ekstreler	Fraksiyon	Ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$)
1. Ardışık Ekstre	Hekzan	124,1 \pm 5,9j
	Kloroform	165,5 \pm 9,6i
	Etil Asetat	305,6 \pm 17,3g
	Aseton	441,1 \pm 24,6f
	Etanol	891,4 \pm 15,9c
	Ultra Saf Su	227,9 \pm 5,4h
2. İnfüzyon Ekstresi		660,5 \pm 23,5d
3. Dekoksasyon Ekstresi		570,6 \pm 19,3e
4. Saf Su Ekstresi		183,9 \pm 10,2i
5. Standardize Bitkisel Ekstreler	Gotu Kola	72,1 \pm 2,7k
	Green Tea	4594,7 \pm 16,3b
6. Sentetik Antioksidanlar	BHA	5020,6 \pm 14,0a
	Askorbik asit	5063,1 \pm 11,2a

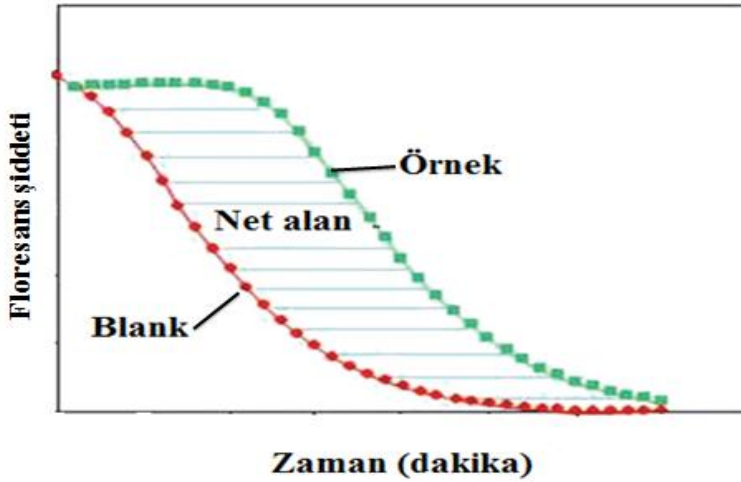
Aynı sütundaki farklı harfler ($p < 0.05$) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.

Plantago anatolica'dan elde edilen liyofilize ekstraktler ve pozitif kontrollere (standardize bitkisel ekstraktler ve sentetik antioksidanlar) ait FRAP değerleri Çizelge 5.5'te sunulmuştur. Ardışık ekstraktlerde en yüksek FRAP değerleri etanol, aseton ve etil asetat fraksiyonlarında belirlenirken, en düşük FRAP değerleri ise n-hekzan ve kloroform ekstraktlerinde tespit edildi. Geleneksel hazırlanma biçimleri arasında en

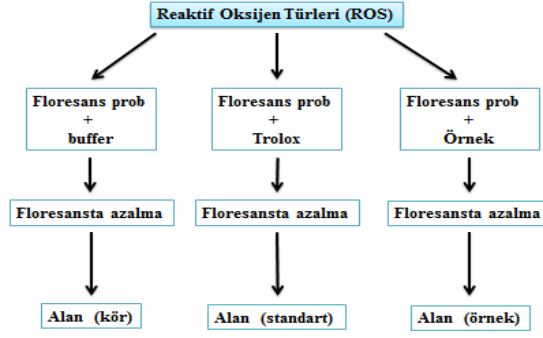
yüksek FRAP değerleri infüzyon ekstresinde, en düşük FRAP değeri ise su ekstresinde belirlenmiştir. Liyofilize ekstratlar pozitif kontroller ile mukayese edildiğinde sentetik antioksidanlardan daha düşük aktiviteye sahip oldukları, standardize bitkisel ekstratlar ile mukayese edildiğinde ise sadece Gotu Kola ekstresinden daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiği, Green Tea ekstresine göre daha zayıf antioksidan aktivite gösterdiği gözlenmiştir.

5.3.2. Oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC)

Oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC) yöntemi bitkisel droglarda elde edilen ekstratların, fitokimyasalların ve gıdaların antioksidan aktivitesinin ölçülmesinde kullanılan yöntemlerden biridir (MacDonald-Wicks ve ark., 2006). ORAC yönteminde oksidasyon sonucu oluşan peroksil radikallerinin, antioksidan madde tarafından inhibe edilmesi ölçülür. Hidrojen atomu antioksidan madde tarafından radikale transfer edilir. Bu yöntemde antioksidan oksijen kapasite şu şekilde ölçülür: Peroksil radikalleri floresans bir madde (prob) ile reaksiyon vererek floresans özellikte olmayan bir ürün oluşturulur. Antioksidan kapasitesi zamanla bu oluşan ürünün oranında ve miktarındaki azalma ile belirlenir (Prior ve ark., 2005). Bu metotta AAPH, fluoressein fluoresansında azalmaya neden olur. Antioksidan varlığında AAPH radikalleri giderilir ve flüoresans azalması inhibe edilir. ORAC yönteminde antioksidan kapasitesi blank (kör) ve örnek arasındaki floresans şiddeti farkından (net alandan) yararlanarak hesaplanmaktadır. Şekil 5.19 ve 5.20’de antioksidan aktivitesinin nasıl hesaplandığı gösterilmiştir.



Şekil 5.19. ORAC yöntemi ile antioksidan aktivitenin hesaplanması.



$$\text{Antioksidan Kapasite} = (\text{Alan}_{\text{örnek}} - \text{Alan}_{\text{kör}}) / (\text{Alan}_{\text{standart}} - \text{Alan}_{\text{kör}}).$$

Şekil 5.20. ORAC deneyinin prensibi (Huang ve ark. (2005)).

Çizelge 5.6. Liyofilize Ekstrelerin Oksijen Radikal Absorbans Kapasiteleri (ORAC)

Ekstreler	Fraksiyon	Oksijen Radikal Absorbans Kapasiteleri (ORAC) (μmol Troloks eşdeğeri /g ekstre)
1. Ardışık Ekstre	Hekzan	95,1 \pm 4,8j
	Kloroform	23,0 \pm 1,1m
	Etil Asetat	459,7 \pm 9,6g
	Aseton	1061,7 \pm 19,9d
	Etanol	1923,3 \pm 63,0b
	Ultra Saf Su	700,5 \pm 10,3f
2. İnfüzyon Ekstresi		1010,0 \pm 27,2d
3. Dekoksiyon Ekstresi		942,8 \pm 13,0e
4. Saf Su Ekstresi		397,8 \pm 17,6h
5. Standardize Ekstreler	Bitkisel	
	Gotu Kola	283,1 \pm 16,8i
	Green Tea	1465,6 \pm 97,0c
6. Sentetik Antioksidanlar	BHA	6393,6 \pm 47,6a
	Askorbik asit	77,7 \pm 1,8k

Aynı sütundaki farklı harfler ($p < 0.05$) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.

Çizelge 5.6, *Plantago anatolica*'dan elde edilen liyofilize ekstreler, standardize bitki ekstreleri ve sentetik antioksidanlara ait ORAC değerlerini sunmaktadır. Liyofilize ekstrelerin standardize ekstrelerden genel itibariyle daha yüksek veya karşılaştırılabilir düzeyde ORAC değerlerine sahip oldukları, sentetik antioksidanlardan BHA'a göre daha zayıf, askorbik aside göre ise daha güçlü oksijen radikali absorbans aktiviteleri gösterdikleri tespit edilmiş olup, lipofilik ekstrelerin daha zayıf ORAC ve hidrofilik ekstrelerin ise daha güçlü ORAC değerlerine sahip oldukları belirlendi.

5.3.3. DPPH (Difenil-1-pikrilhidrazil) radikali süpürme aktivitesi

DPPH, koyu mor renkte bir radikaldir. Antioksidanlarla muamele, DPPH'ten kaynaklanan mor rengin şiddetinin azalmasına ve absorbansın düşmesine sebep olacaktır. DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) hidrojen atomu verebilen bileşiklerle tepkimeye girebilen kararlı bir radikaldir ve 517 nm'de maksimum absorbans oluşturmaktadır. Antioksidan tarafından indirgenince rengi soluk olduğu için reaksiyonun ilerleyişi spektrofotometre ile izlenir. Absorbanstaki azalma ne kadar yüksek olursa radikal yakalama aktivitesi o kadar yüksektir (Mathew ve Abraham, 2006a). Farklı örnek derişimleri ile muamele edilen DPPH radikalinin absorbansındaki değişim ölçülerek derişime karşılık gelen absorbanslarla grafik çizilerek $y=ax+b$ denkleminde DPPH[•] derişimini yarıya düşüren örnek miktarı $\mu\text{g/mL}$ cinsinden belirlenmekte ve IC_{50} değeri olarak ifade edilmektedir (Prior ve ark., 2005).

Çizelge 5.7. Ekstrelerin DPPH radikali süpürme aktivitesi

Ekstreler	Fraksiyon	DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi (IC_{50})
1. Ardışık Ekstre (mg/ml)	Hekzan	7.73±0.33h
	Kloroform	8.38±0.39h
	Etil Asetat	3.61±0.08g
	Aseton	0.28±0.02c
	Etanol	0.87±0.01e
	Ultra Saf Su	1.71±0.02f
2. İnfüzyon Ekstresi (mg/ml)		0.34±0.04d
3. Dekoksasyon Ekstresi (mg/ml)		0.88±0.02e
4. Saf Su Ekstresi (mg/ml)		3.77±0.01g
5. Standardize Bitkisel Ekstreler	Gotu Kola (mg/ml)	11.99±0.13i
	Green Tea ($\mu\text{g/ml}$)	4.94±0.04b
6. Trolox ($\mu\text{g/ml}$)		3.67±0.03a

Aynı sütundaki farklı harfler ($p<0.05$) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.

Çizelge 5.7'de *Plantago anatolica*'dan elde edilen liyofilize ekstreler, standardize bitki ekstreleri ve Trolox'un DPPH radikali süpürme aktivitesi sunulmuştur. En yüksek DPPH radikali süpürme aktivitesi standart olarak kullanılan Trolox'ta gözlenirken, en düşük süpürme aktivitesi ise standardize Gotu Kola ekstresinde belirlenmiştir. Ardışık ekstreler incelendiğinde, hidrofilik karakterli ekstrelerin lipofilik karakterli ekstrelerle göre daha yüksek süpürme aktivitesi gösterdiği göze çarpmaktadır. Geleneksel drog hazırlama yöntemlerine göre hazırlanan ekstrelerdeki en yüksek DPPH

değeri infüzyon ekstresinde, en düşük DPPH değeri ise saf su ekstresinde tespit edilmiştir. Tüm bitki ekstraları göz önüne alındığında aseton fraksiyonu ve infüzyon ekstresinin en güçlü DPPH radikali süpürücüsü oldukları, hekzan ve kloroform fraksiyonlarının ise en zayıf DPPH radikali süpürücüsü oldukları göze çarpmaktadır.

5.3.4. Demir şelatlama aktivitesi

Metal şelatlama aktivitesi, ortamda bulunan Fe^{2+} iyonlarının inhibisyonuna dayanır. Yaşamamız için temel elementlerden biri olması yanı sıra lipit, protein ve diğer bileşenlerle istenmeyen oksidatif reaksiyonlara ve demir fenton reaksiyonları sonucunda hidroksil ve peroksit gibi radikal oluşumunu neden olabilmektedir. Metal şelatlama özelliği olan antioksidan maddeler serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirirler ve böylece fenton reaksiyonları sonucu oluşan hidroksil ve peroksit gibi radikal oluşumunu inhibe ederler. Bu nedenle metal şelatlama özelliği antioksidan aktiviteyi belirlemede önemli rol oynamaktadır (Arora ve ark., 1998). Aktivite kendini şelat ajanlarının demir iyonlarını şelatlaması sonucu kırmızı renkteki azalmayla gösterir. Geçiş metalleri içerisinde Fe^{+2} iyonlarının yüksek reaktivitesinden dolayı lipit oksidasyonuna yol açan en önemli pro-oksidan olduğu bilinmektedir (Gülçin, 2005; Mathew ve Abraham, 2006).

Çizelge 5.8. Ekstrelerin Demir şelatlama aktivitesi

Ekstreler	Fraksiyon	Demir Şelatlama Aktivitesi (IC50; ug/ml)
1. Ardışık Ekstre (mg/ml)	Hekzan	5.69±0.23i
	Kloroform	8.27±0.35j
	Etil Asetat	4.93±0.07h
	Aseton	0.37±0.03e
	Etanol	0.09±0.01c
	Ultra Saf Su	0.19±0.01d
2. İnfüzyon Ekstresi (mg/ml)		0.09±0.01c
3. Dekoksiyon Ekstresi (mg/ml)		0.40±0.00e
4. Saf Su Ekstresi (mg/ml)		1.95±0.01f
5. Standardize Bitkisel Ekstreler	Gotu Kola (mg/ml)	2.91±0.01g
	Green Tea (µg/ml)	29.62±0.96b
6. EDTA (µg/ml)		9.5±0.2a

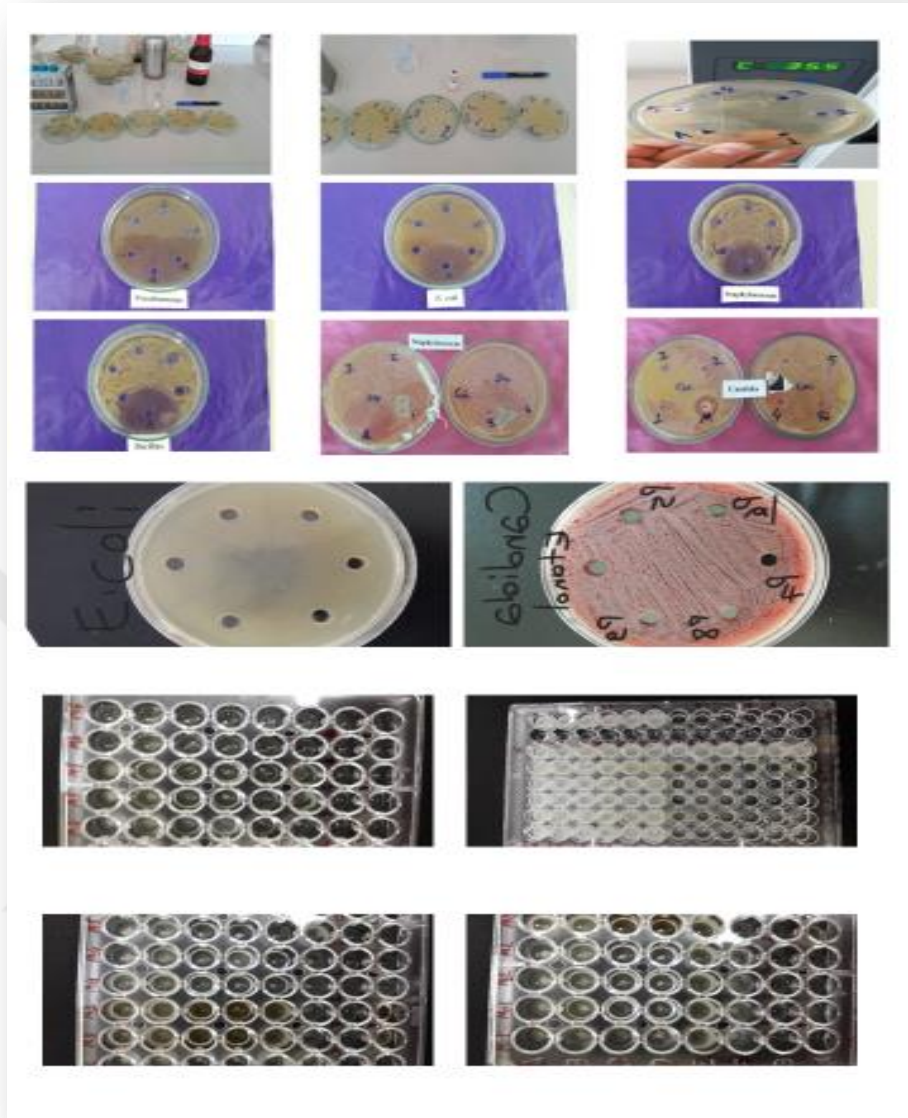
Aynı sütundaki farklı harfler ($p<0.05$) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.

Ekstreler, standart (EDTA) ve pozitif kontrollere ait demir şelatlama aktiviteleri Çizelge 5.8’de sunulmuştur. En yüksek aktivite standartta (EDTA) tespit edilirken, en düşük aktivite ise kloroform fraksiyonunda belirlendi. Ardışık ekstrelerde en yüksek aktivite etanol fraksiyonunda gözlenirken, müteakiben ultra saf su > aseton > etil asetat > hekzan > kloroform sıralaması belirlendi. Geleneksel drog hazırlama yöntemleri incelendiğinde infüzyon > dekoksasyon > saf su ekstresi sıralaması tespit edildi. Standardize bitkisel ekstrelerden Green Tea ekstresi numunemize ait tüm ekstrelerden daha yüksek aktivite göstermiş olup, Gotu Kola ekstresi ise hidrofilik ekstrelerden daha düşük, lipofilik ekstrelerden ise daha yüksek aktivite göstermiştir.

5.4. Antimikrobiyal Aktivite

Ekstrelerin antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini tespit etmek için agar-disk difüzyon metoduna ek olarak, agar dilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanıldı. Bu çalışmada gram pozitif bakteriler *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pneumoniae*; gram negatif türler *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* ve maya mantarları *Candida albicans* ile *Cryptococcus meningitis* kullanıldı. Antibakteriyel standart olarak kloramfenikol, tetrasiklin ve ofloksasin kullanılırken antifungal standart olarak nistatin kullanıldı.

Liyofilize ekstreler; 0,01 mg/ml, 0,02 mg/ml, 0,04 mg/ml, 0,08 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,8 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 40 mg/ml ve 80 mg/ml dozlarında denendi. Yapılan antimikrobiyal aktivite çalışması neticesinde bitki ekstrelerine ait kayda değer bir antimikrobiyal aktivite gözlenmedi (Şekil 5.21)



Şekil 5.21. Antimikrobiyal Aktivite.

5.5. Enzim İnhibisyonu

5.5.1. Alfa-amilaz enzimi inhibisyonu

Ekstrelerin ve pozitif kontrollerin alfa-amilaz enzimini inhibisyon dereceleri ve Akarboz eşdeğerleri Çizelge 5.9'da sunulmuştur. Saf su ekstresi 2.82 ± 0.25 IC50 değeri ile en yüksek alfa-amilaz baskılama aktivitesi gösterirken, en düşük baskılama derecesi ultra saf su ekstresinde belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan Green Tea ve Gotu Kola ekstreleri tüm ekstrelerden daha yüksek alfa-amilaz enzimi baskılama aktivitesi göstermiştir.

Çizelge 5.9. Ekstrelerin Alfa-Amilaz İnhibisyonu Aktiviteleri

Ekstreler	Fraksiyon	İnhibisyon	Akarboz
		(IC-50; mg/ml)	Eşdeğeri
1. Ardışık Ekstre	Hekzan	4.21±0.03f	6.79±0.05f
	Kloroform	4.15±0.16f	6.89±0.26f
	Etil Asetat	3.00±0.07c	9.53±0.21c
	Aseton	3.27±0.06d	8.74±0.17d
	Etanol	4.31±0.07g	6.64±0.10g
	Ultra Saf Su	6.56±0.24i	4.36±0.16i
2. İnfüzyon Ekstresi		5.32±0.21h	5.38±0.21h
3. Dekoksiyon Ekstresi		3.82±0.10e	7.49±0.19e
4. Saf Su Ekstresi		2.82±0.25c	10.19±0.96c
5. Standardize Bitkisel Ekstreler	Gotu Kola	2.05±0.11b	13.97±0.75b
	Green Tea	0.40±0.04a	71.60±6.92a

Aynı sütundaki farklı harfler ($p<0.05$) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.

5.5.2. Alfa-glukozidaz enzimi inhibisyonu

Çizelge 5.10'da sunulduğu üzere infüzyon ekstresi ve etanol fraksiyonu ekstreler içinde en yüksek alfa-glukozidaz inhibisyonu derecelerini gösteren ekstreler olurken, en düşük aktivite hekzan ve kloroform fraksiyonlarında belirlendi. Genel itibariyle hidrofilik karakterli ekstreler lipofilik karakterli ekstrele göre daha yüksek inhibisyon aktiviteleri göstermiş olmakla beraber, pozitif kontrol olarak kullanılan Green Tea ekstresine göre daha düşük aktivite göstermiş oldukları belirlendi.

Çizelge 5.10. Ekstrelerin Alfa-Glukozidaz İnhibisyonu Aktiviteleri

Ekstreler	Fraksiyon	İnhibisyon	Akarboz Eşdeğeri
		(IC-50)	($\mu\text{mol/g}$ ekstre)
1. Ardışık Ekstre (mg/ml)	Hekzan	4.32±0.1i	10.7±0.1i
	Kloroform	4.24±0.2i	10.9±0.1i
	Etil Asetat	1.67±0.2e	27.6±1.0e
	Aseton	1.88±0.1f	24.5±0.8f
	Etanol	0.76±0.1c	60.6±2.4c
	Ultra Saf Su	2.0±0.1f	23.0±1.7f
2. İnfüzyon Ekstresi (mg/ml)		0.64±0.1b	72.0±1.8b
3. Dekoksiyon Ekstresi (mg/ml)		0.82±0.1d	56.2±1.2d
4. Saf Su Ekstresi (mg/ml)		2.4±0.1g	19.2±0.1g
5. Standardize Bitkisel Ekstreler	Gotu Kola (mg/ml)	2.8±0.2h	16.5±0.4h
	Green Tea (mg/ml)	0.045±0.0a	1024±1.8a

Aynı sütundaki farklı harfler ($p<0.05$) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.

5.5.3. Pankreatik lipaz enzimi inhibisyonu

Pankreatik lipaz enziminin ekstrere tarafından baskılanma dereceleri ve Orlistat eşdeğerleri Çizelge 5.11’de sunulmuştur. Pozitif kontrol Green Tea ekstresi 6.1 ± 0.4 IC50 değeri ile en yüksek inhibisyon potansiyeline sahip olurken, onu takiben en yüksek inhibisyon derecesi infüzyon ekstresinde tespit edilmiştir. En düşük lipaz inhibisyon dereceleri hekzan ve kloroform fraksiyonlarında belirlenmiştir (Çizelge 11).

Çizelge 5.11. Ekstrelerin Pankreatik Lipaz İnhibisyonu Aktiviteleri

Ekstreler	Fraksiyon	İnhibisyon (IC-50; $\mu\text{g/ml}$)	Orlistat Eşdeğeri ($\mu\text{mol/g}$ ekstre)
1. Ardışık Ekstre	Hekzan	$614.7 \pm 14.6i$	$4.49 \pm 0.11i$
	Kloroform	$616.3 \pm 59.7i$	$4.51 \pm 0.44i$
	Etil Asetat	$217.8 \pm 6.4e$	$12.67 \pm 0.36e$
	Aseton	$433.0 \pm 13.2h$	$6.38 \pm 0.36h$
	Etanol	$71.5 \pm 5.9c$	$38.68 \pm 3.24c$
	Ultra Saf Su	$283.1 \pm 15.2f$	$9.77 \pm 0.57f$
2. İnfüzyon Ekstresi		$43.6 \pm 2.8b$	$63.42 \pm 4.28b$
3. Dekoksiyon Ekstresi		$143.1 \pm 1.9d$	$19.28 \pm 0.26d$
4. Saf Su Ekstresi		$424.4 \pm 38.0h$	$6.54 \pm 0.60h$
5. Standardize Bitkisel Ekstreler	Gotu Kola	$378.3 \pm 26.7g$	$7.32 \pm 0.53g$
	Green Tea	$6.1 \pm 0.4a$	$457.25 \pm 33.98a$

Aynı sütundaki farklı harfler ($p < 0.05$) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.

5.5.4. Angiotensin dönüştürücü enzimi (ACE) inhibisyonu

Çizelge 5.12. Ekstrelerin ACE İnhibisyon Aktiviteleri

Ekstreler	Fraksiyon	ACE Aktivitesi *(%)	Kaptopril Eşdeğeri
1. Ardışık Ekstre	Hekzan	$36 \pm 2.0c$	$4.0 \pm 0.2c$
	Kloroform	$31 \pm 1.0d$	$2,9 \pm 0.2e$
	Etil Asetat	$30 \pm 2.0d$	$2,7 \pm 0.1e$
	Aseton	$32 \pm 2.0cd$	$3,1 \pm 0.1d$
	Etanol	$24 \pm 2.0f$	$1.8 \pm 0.1f$
	Ultra Saf Su	$28 \pm 1.0e$	$2.3 \pm 0.1f$
2. İnfüzyon Ekstresi		$36 \pm 2.0c$	$4.0 \pm 0.1c$
3. Dekoksiyon Ekstresi		$36 \pm 2.0c$	$4.0 \pm 0.1c$
4. Saf Su Ekstresi		$28 \pm 1.0e$	$2.3 \pm 0.1e$
5. Standardize Bitkisel Ekstreler	Gotu Kola	$42 \pm 1.0b$	$6.1 \pm 0.2b$
	Green Tea	$88 \pm 2.0a$	$66,3 \pm 2.0a$

*Final konsantrasyon $250 \mu\text{g/ml}$.

Aynı sütundaki farklı harfler ($p < 0.05$) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.

Çizelge 5.12 ekstrelerin Angiotensin dönüştürücü enzim seviyelerini sunmaktadır. Ekstrelerin genel itibariyle oldukça düşük seviyelerde inhibisyon aktiviteleri gösterdikleri belirlendi. En yüksek inhibisyon derecesi Green Tea ekstresinde belirlendi.

5.6. Fitokimyasal İçerik

5.6.1. Total Fenolik Grup Kompozisyonlarının Belirlenmesi

5.6.1.1. Total fenolik içerik (Folin-Ciocalteu Metodu)

Bitkisel ürünlerin içeriğinde bulunan toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi, antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları hakkında fikir vermesi açısından önemlidir. Folin-Ciocalteu (F-C) metodu doğal ürünlerde toplam fenolik madde ölçümü için rutin olarak kullanılmaktadır. Bununla beraber temel çalışma mekanizma oksidasyon redüksiyon reaksiyonlarına dayandığından dolayı antioksidan kapasite ölçüm metodu olarak ta kullanılabilir (Huang ve diğ., 2005; Prior ve diğ., 2005).

Fenolik olmayan maddeler tarafından da indirgenebilen F-C reaktantı sadece fenoliklere karşı spesifik değildir. Fenolik bileşenler F-C reaktantı ile bazik şartlar altında reaksiyon verirler (sodyum karbonat ile pH yaklaşık 10' a ayarlanır). Fenolik protonların disosiyasyonu ile fenolat anyonu oluşur ve buda F-C'yi indirgeyebilme özelliğine sahiptir. Fenolat anyonu ve F-C reaksiyonundan oluşan mavi renkli bileşen fenolik maddenin yapısından bağımsızdır (Huang ve diğ., 2005). Bu metot basit, duyarlı ve kesinliği yüksek bir metottur. Ancak reaksiyon asidik pH'ta yavaştır ve spesifikliğini kaybeder. Metodun en önemli dezavantajı, ekstrede bulunması muhtemel olan ve indirgeme özelliğine sahip olan protein, askorbik asit ve indirgeyici şeker grupları ile de tepkime vermesidir. (Huang ve ark., 2005). Standart bir analizin eksikliğinden dolayı, farklı araştırma grupları tarafından rapor edilen sonuçları karşılaştırmak zordur. En önemli problem gıdalardaki ve biyolojik örneklerdeki antioksidan aktiviteyi güvenilir şekilde ölçen analiz metotlarının validasyon eksikliğidir (Huang ve ark., 2005; Prior ve diğ., 2005). Bununla beraber bilimsel çalışmalarda rutin bir şekilde total fenolik ölçümü amacıyla kullanıldığından dolayı karşılaştırma amaçlı olarak hem total fenolik hem de antioksidan aktivite ölçüm deneyi olarak kullanılabilir.

Çizelge 5.13. Ekstrelerin Total Fenolik İçerikleri

Ekstreler	Fraksiyon	Total Fenolik İçerik (mg Gallik asit/g ekstre)
1. Ardışık Ekstre	Hekzan	12,3±0,6h
	Kloroform	10,5±0,4i
	Etil Asetat	71,9±0,6c
	Aseton	75,6±0,2b
	Etanol	61,3±0,5d
	Ultra Saf Su	29,1±0,1g
2. İnfüzyon Ekstresi		45,3±0,4e
3. Dekoksasyon Ekstresi		42,1±0,6f
4. Saf Su Ekstresi		26,7±0,1g
5. Standardize Ekstreler	Bitkisel Gotu Kola	4,6±0,1j
	Green Tea	313,1±2,3a

Aynı sütundaki farklı harfler ($p<0.05$) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.

Çizelge 5.13’de görüleceği üzere organik çözügen kullanılarak elde edilen ekstrelerin su bazlı ekstrele göre daha yüksek total fenolik içeriğine sahip olduğu gözlenmektedir. Sıcaklık kullanılarak elde edilen infüzyon ve dekoksasyon ekstralarının sıcaklığın stabil tutulduğu su ekstralarına göre daha yüksek oranda fenolik bileşik içerdikleri belirlendi. En yüksek total fenolik içerik aseton fraksiyonunda, en düşük total fenolik içerik ise hekzan fraksiyonunda belirlendi. Organik solventler incelendiğinde orta polariteli çözügenlerin kullanıldığı ekstraların en yüksek total fenolik içeriklere sahip oldukları belirlendi. En düşük total fenolik içerikler hekzan ve kloroform ekstralarında belirlenmiştir. Ekstreler pozitif bitkisel standardize ekstralardan Gotu Kola’ya göre daha yüksek ve Green Tea ‘ye göre daha düşük total fenolik içermektedirler (Çizelge 5.13).

5.6.1.2. Total proantosiyanidin içeriklerinin belirlenmesi

Çizelge 5.14’te ekstrele ait total proantosiyanidin içerikleri sunulmuştur. Lipofilik ekstralarda proantosiyanidin içeriğine sadece iz halinde rastlanırken, en yüksek proantosiyanidin içeriği etanol ve aseton ekstralarında tespit edildi. Genel itibariyle ekstralarda bulunan proantosiyanidin içerikleri oldukça düşük düzeylerde tespit edildi.

Çizelge 5.14. Ekstrelerin Total Proantosiyanidin İçerikleri

Ekstreler	Fraksiyon	Total Proantosiyanidin İçeriği (mg Kateşin eşdeğeri /g ekstre)
1. Ardışık Ekstre	Hekzan	İH
	Kloroform	İH
	Etil Asetat	İH
	Aseton	0,048±0,00b
	Etanol	0,078±0,00a
	Ultra Saf Su	0,015±0,00d
2. İnfüzyon Ekstresi		0,020±0,00c
3. Dekoksiyon Ekstresi		0,021±0,00c
4. Saf Su Ekstresi		0,014±0,00d

İH: İz halinde

Aynı sütundaki farklı harfler ($p<0.05$) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.

5.6.1.3. Total flavonoid içeriklerinin belirlenmesi

Çizelge 5.15'te görüldüğü üzere flavonoid içeriği genellikle polar çözümlerin kullanıldığı ekstrelerde daha yüksek oranda tespit edildi. Apolar çözümlerin kullanıldığı hekzan, kloroform ve etil asetat ekstrelerinde flavonoid miktarı göreceli olarak daha düşük düzeylerde tespit edildi. En yüksek total flavonoid içerik dekoksiyon ekstresinde, en düşük total flavonoid içerik ise kloroform fraksiyonunda belirlendi (Çizelge 5.15).

Çizelge 5.15. Ekstrelerin Total Flavonoid İçerikleri

Ekstreler	Fraksiyon	Total Flavonoid İçeriği (mg Rutin eşdeğeri /g ekstre)
1. Ardışık Ekstre	Hekzan	1.03±0.05f
	Kloroform	0.96±0.00g
	Etil Asetat	1.12±0.04f
	Aseton	3.34±0.13d
	Etanol	2.14±0.02e
	Ultra Saf Su	3.58±0.06c
2. İnfüzyon Ekstresi		5.54±0.06b
3. Dekoksiyon Ekstresi		6.16±0.24a
4. Saf Su Ekstresi		3.32±0.10d

Aynı sütundaki farklı harfler ($p<0.05$) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.

5.6.1.4. Total hidroksisinnamik asit ve flavonol içeriklerinin belirlenmesi

Ekstrelerdeki total hidroksisinnamik asit ve flavonol içerikleri Çizelge 5.16'de sunulmuştur. Ekstrelerde hidroksisinnamik asitlerin baskın halde bulunduğu, flavonollların ise oldukça düşük düzeylerde bulunduğu tespit edildi. En yüksek hidroksisinnamik asit içeriği ardışık ekstrelerde aseton ve etanol fraksiyonlarında tespit edilirken, su bazlı ekstrelerde ise infüzyonda tespit edildi. En yüksek total flavonol içerik dekoksasyon ekstresinde belirlendi (Çizelge 5.16).

Çizelge 5.16. Ekstrelerin Total Hidroksisinnamik asit ve Total Flavonol İçerikleri

Ekstreler	Fraksiyon	Total Hidroksisinnamik Asit İçerik (mg Kafeik eşdeğeri /g ekstre)	Total Flavonol İçerik (mg Rutin eşdeğeri /g ekstre)
1. Ardışık Ekstre	Hekzan	1.91±0.07h	0.52±0.04e
	Kloroform	3.9±0.2g	0.40±0.00f
	Etil Asetat	6.9±0.1e	0.36±0.00g
	Aseton	118.2±3.9b	3.26±0.10b
	Etanol	158.1±4.1a	2.70±0.20d
	Ultra Saf Su	4.7±0.2f	2.89±0.03c
2. İnfüzyon Ekstresi		39.9±0.2c	3.20±0.10b
3. Dekoksasyon Ekstresi		22.1±2.1d	4.72±0.20a
4. Saf Su Ekstresi		3.6±0.5	2.70±0.10d

Aynı sütundaki farklı harfler ($p<0.05$) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.

5.6.1.5. Total antosiyanin içeriklerinin belirlenmesi

Ekstrelere ait total antosiyanidin içerikleri tüm ekstrelerde iz halinde tespit edildi. Sonuçlar ekstrelerde antosiyanidin içeriklerinin bulunmadığını göstermektedir.

5.7. Vitamin C İçeriğinin Belirlenmesi

Kromatografik analizler neticesinde elde edilen veriler sonucunda liyofilize ekstrelerde C Vitamini içeriği tespit edilemedi.

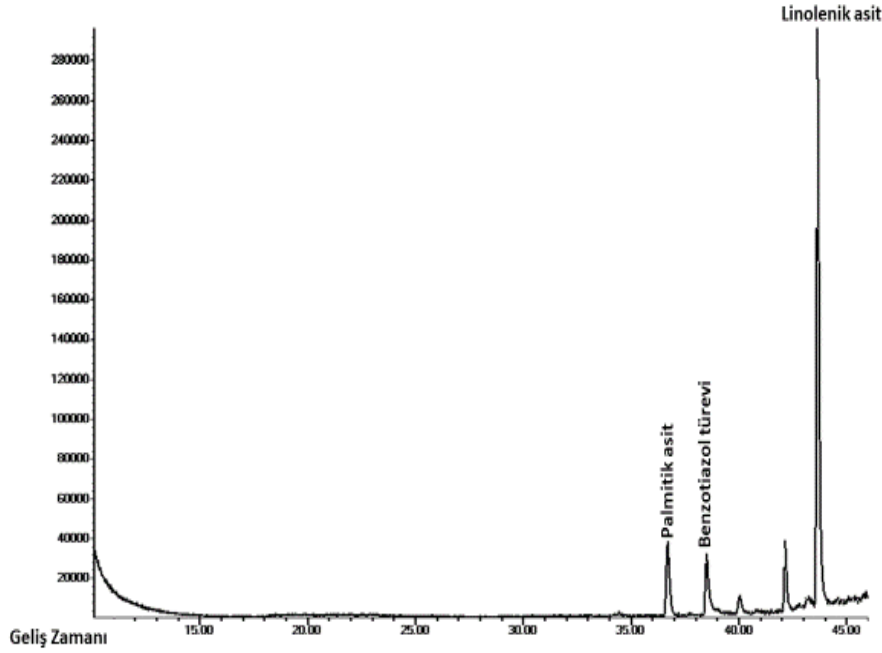
5.8. GC-MS analizi

Ön GC-MS denemelerinde *Plantago anatolica*'dan elde edilen ekstrelerde Headspace ve methyl ester analizi olmak üzere 2 adet yöntem kullanıldı. Her iki yöntem neticesinde ekstrelerde herhangi bir uçucu yağ ve yağ asidi bileşikleri tespit edilemedi ve bitkinin uçucu yağ ve yağ asitleri bakımından fakir bir kaynak olduğu kanısına

varıldı. Bununla beraber daha sonra yapılan literatür taramaları neticesinde lipofilik bileşenlerin etkin bir şekilde eldesine ve lipofilik olmayan bileşenlerin uzaklaştırılmasına olanak veren Hara ve Radin (1978)'in metilasyon metodu denendi ve ekstrelerdeki uçucu bileşik ve yağ asitleri belirlendi (Çizelge 5.17).

Çizelge 5.17. Ekstrelerin uçucu ve yağ asidi bileşikleri kompozisyonu

Bileşiğin Adı	Palmitik asit	Benzotiazol türevi	Linolenik asit	
Geliş Zamanı	36.7	38.5	43.7	
Molekül Ağırlığı	256	135	278	
Fragman iyonlar	60, 73, 83, 97, 129, 143, 185, 213, 227, 239, 256	54, 63, 69, 82, 91, 108, 135	55, 67, 79, 93, 108, 121, 135, 149, 177, 191, 209, 222, 235, 249, 264, 278	
Ekstraksiyon Adı	Relatif Konsantrasyon (%)			
1. Ardışık Ekstre	Hekzan	4.17	78.6	13.0
	Kloroform	5	4.1	85
	Etil Asetat	12.3	9.25	78.4
	Aseton	5.2	12.5	82.1
	Etanol	-	79.7	-
	Ultra Saf Su	-	93.4	-
2. İnfüzyon ekstresi	-	78.1	-	
3. Dekoksasyon ekstresi	-	77.9	-	
4. Saf su ekstresi	-	56.7	-	



Şekil 5.22. Ekstrelerdeki uçucu ve yağ asidi bileşikleri kompozisyonuna ait temsili kromatogram.

Çizelge 5.17 ve Şekil 5.22’de sunulduğu üzere elde edilen molekül ağırlığı ve fragman iyonları verilerine göre ekstrelerde palmitik asit, benzotiazol türevi ve linolenik asit olmak üzere başlıca 3 adet bileşik tespit edildi. Polaritesi düşük olan hekzan, kloroform, etil asetat ve aseton ekstrelerinde her 3 bileşik tespit edilirken, etanol ve su bazlı ekstrelerde sadece benzotiazol türevi tespit edildi. Ardışık ekstrelerde yağ asidi ekstresi bakımından kloroform ve etil asetat hekzan çözücüsüne göre göreceli olarak daha etkin olduğu belirlendi.

5.9. HPLC-MS analizi

Ekstrelerdeki bulunan bileşiklerin tanımlanması LC-MS verileri ve HPLC ko-kromatogram verilerine göre, konsantrasyon belirleme işlemi ise HPLC kullanılarak belirlenmiş olup, Çizelge 5.18 ve Şekil 5.23’de sunulmuştur. HPLC analizlerinde elde edilen fenolik bileşiklere ait spektrum verileri Şekil 5.24’te sunulmuştur. Fenolik bileşiklerin doğrulanması amacıyla LC-MS analizleri yürütülmüştür (Şekil 5.25 ve Şekil 5.26). Ekstrelerde mevcut bulunan fenolik bileşiklerin tespiti için öncelikle nötral kayıp modu uygulanmış olup, herhangi bir glikozit veya glucuronid fonksiyonel molekül parçacığı tespit edilemedi. Bu durum ekstrelerde bulunan bileşiklerin bileşiklerin aglikon olduğunu göstermektedir. Daha sonra fenolik bileşiklere ait Selective Reaction Monitoring modunda (SRM) parçalanma iyonları tarandı. LC-MS’te Selective Reaction Monitoring modu ve HPLC’de ko-kromatogram ile çeşitli denemeler yapıldıktan sonra ekstrelerde bulunan bileşiklerin tentatif olarak kafeik asit, klorojenik asit, apicenin ve kemferol olduğu belirlendi.

Ekstrelerde bulunan bileşiklere ait kütle spektrumuna ait bulgular aşağıda sunulmuştur.

1. Bileşik: Bu bileşik en yüksek absorpsiyonu 326 nm’de gösterdi. Parçalanma iyonu olarak negatif modda 353 m/z fragmanı elde edildi. SRM’ de negatif modda 353 m/z’ye 191 m/z fragmanı elde edildi. Nötral kayıp modunda herhangi bir veri elde edilemedi. Özgün klorojenik asit standardının sıvı kromatografisinde ko-kromatografi ve kütle spektrumu bulguları ile bu bileşiğin klorojenik asit olduğu tentatif olarak belirlendi.
2. Bileşik: Bu bileşik en yüksek absorpsiyonu 326 nm’de gösterdi. Parçalanma iyonu olarak negatif modda 179 m/z fragmanı elde edildi. SRM’ de negatif moda 179 m/z’ye 135 m/z fragmanı elde edildi. Nötral kayıp modunda herhangi

bir veri elde edilemedi. Özgün kafeik asit standardının sıvı kromatografisinde ko-kromatografi ve kütle spektrumu bulguları ile bu bileşiğin kafeik asit olduğu tentatif olarak belirlendi.

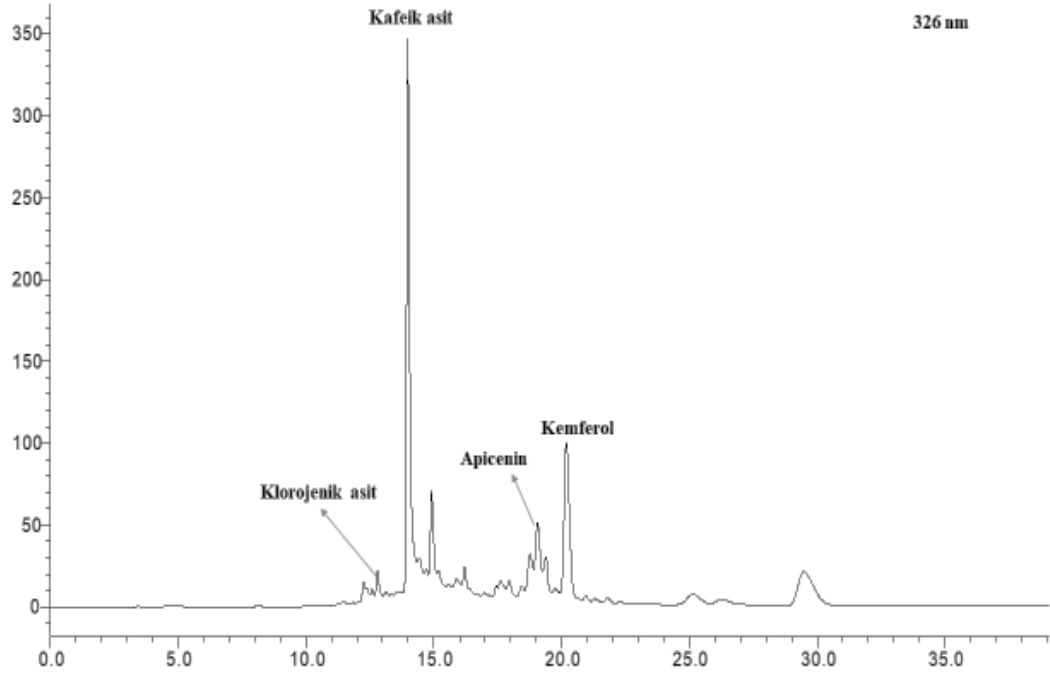
3. Bileşik: Bu bileşik en yüksek absorpsiyonu 326 nm'de gösterdi. Parçalanma iyonu olarak negatif modda 269 m/z fragmanı elde edildi. SRM' de negatif moda 269 m/z'ye 117 m/z fragmanı elde edildi. Nötral kayıp modunda herhangi bir veri elde edilemedi. Özgün Apicenin standardının sıvı kromatografisinde ko-kromatografi ve kütle spektrumu bulguları ile bu bileşiğin Apicenin olduğu tentatif olarak belirlendi.
4. Bileşik: Bu bileşik en yüksek absorpsiyonu 326 nm'de gösterdi. Parçalanma iyonu olarak negatif modda 285 m/z fragmanı elde edildi. SRM' de negatif moda 285 m/z'ye 285 m/z fragmanı elde edildi. Nötral kayıp modunda herhangi bir veri elde edilemedi. Özgün Kemferol standardının sıvı kromatografisinde ko-kromatografi ve kütle spektrumu bulguları ile bu bileşiğin Kemferol olduğu tentatif olarak belirlendi.

Ekstrelerde tespit edilen başlıca fenolik bileşikler yukarıda da belirtildiği üzere kafeik asit, klorojenik asit, apicenin ve kemferol bileşiklerinden oluşmaktadır. Ekstrelerde baskın fenolik bileşik kafeik asit olarak tespit edildi. Hekzan ve kloroform ekstralarında fenolik bileşik tespit edilemedi.

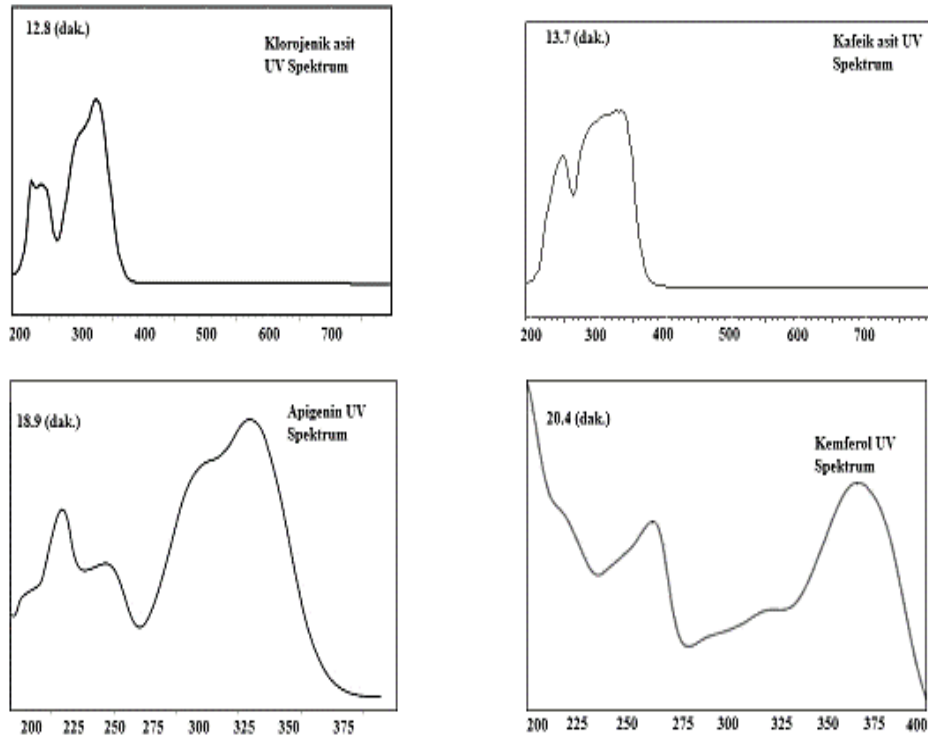
Çizelge 5.18. Liyofilize ekstrelerdeki fenolik bileşiklerin spektrometrik kütle detayları ve konsantrasyonları.

Fenolik Bileşik		Klorojenik	Kafeik asit*	Apigenin*	Kemferol*
MS/MS	[M+1] ⁺ /[M-1] ⁻	-/353	-/179	-269/	-/285
	Fragmanlar	-/191	-/135	-/117	-/285
	(m/z) (+/-)				
1. Ardışık	Hekzan	-	-	-	-
Ekstre	Kloroform	-	-	-	-
	Etil Asetat	1.9±0.0f	8.21±0.03g	EM	EM
	Aseton	9.1±0.4b	144.4±0.9b	EM	EM
	Etanol	3.8±0.2d	188.4±0.7a	0.5±0.0b	1.1±0.0c
	Ultra Saf Su	2.9±0.4e	36.1±0.2e	0.2±0.0d	1.6±0.0a
2. İnfüzyon ekstresi		15.3±1.1a	72.2±0.5c	0.4±0.0c	1.2±0.0b
3. Dekoksiyon ekstresi		8.2±0.7c	65.1±0.4d	0.7±0.0a	0.9±0.0d
4. Saf su ekstresi		1.9±0.2f	12.0±0.1f	0.2±0.0d	0.4±0.0e

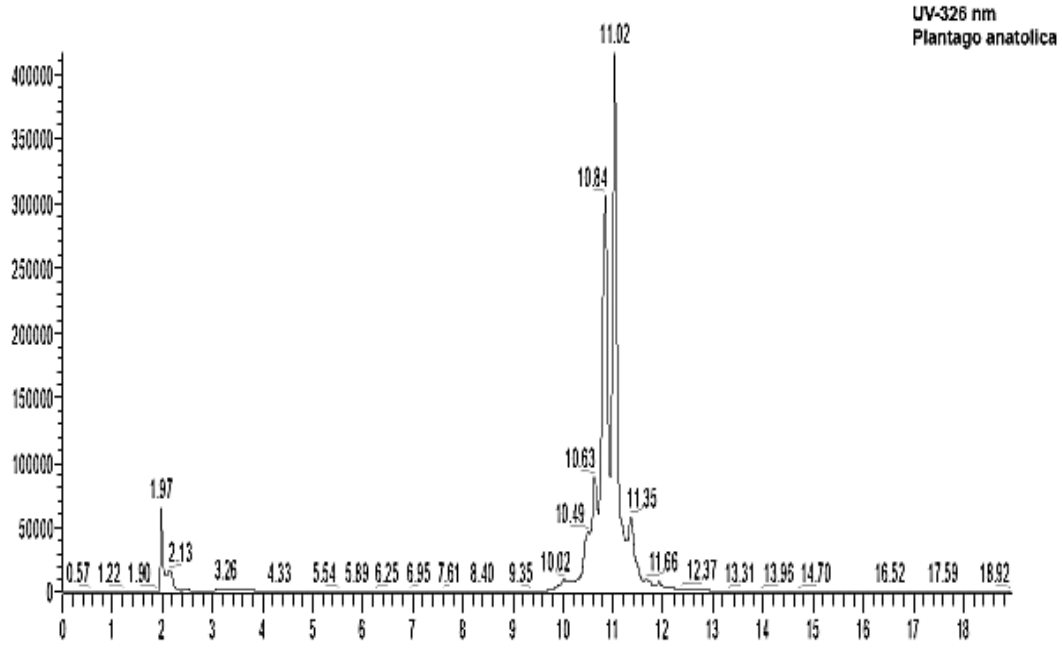
* (mg/g ekstre); Aynı sütündeki farklı harfler (p<0.05) seviyesinde, önemli ölçüdeki farklılığı ifade etmektedir.



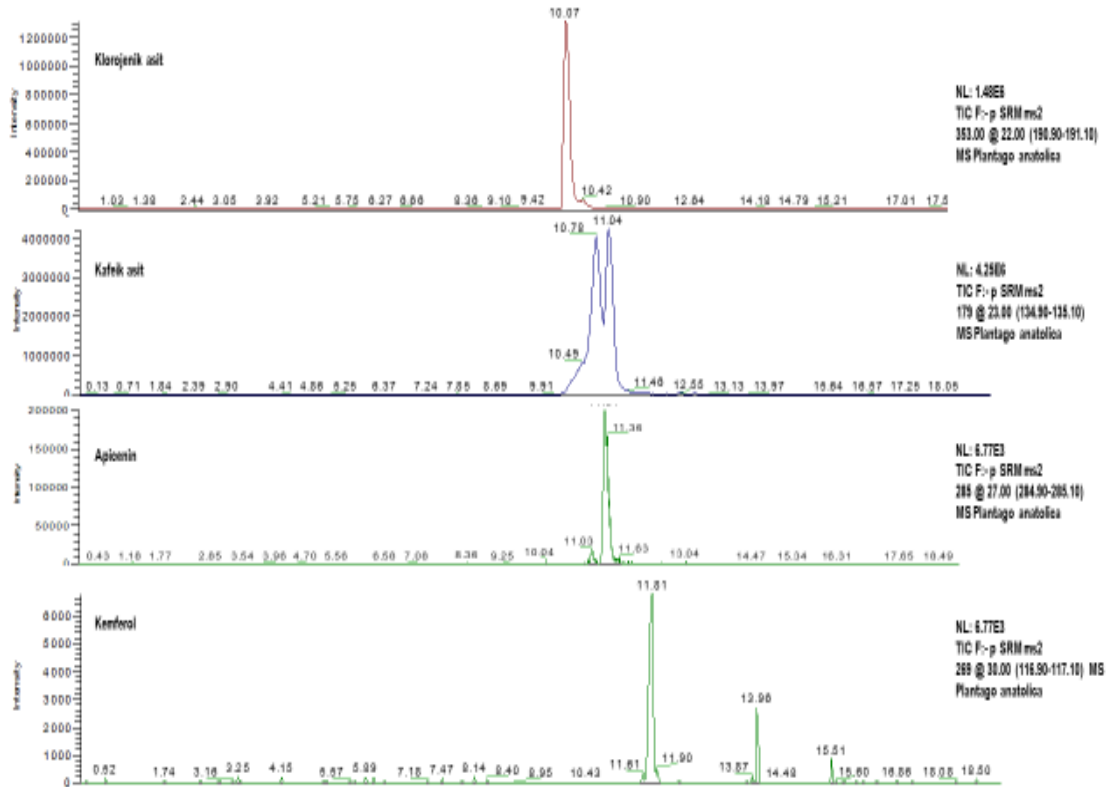
Şekil 5.23. Ekstrelerdeki fenolik bileşiklere ait temsili kromatogram (HPLC).



Şekil 5.24. Ekstrelerde tespit edilen fenolik bileşiklere ait UV Spektrum verileri.



Şekil 5.25. Ekstrelerdeki fenolik bileşiklere ait temsili kromatogram (LC-MS).



Şekil 5.26. Ekstrelerde tespit edilen fenolik bileşiklere ait SRM modu verileri.

5.10. Mineral analizi

Liyofilize ekstrelelere ait mineral kompozisyon Çizelge 5.19’de sunulmuştur. Ekstreler mineral bileşikler açısından zengin olup, özellikle K, Mg, Pb, Si ve Ca bileşikleri bulunmaktadır. Su bazlı ekstrelerin K, Mg ve Ca ekstraksiyonu açısından daha etkili oldukları göze çarpmaktadır. Bununla beraber, etanol çözgeni haricindeki organik çözgenlerin Pb ve Si ekstraksiyonu açısından etkin oldukları belirlendi. Ayrıca, ekstreler V, Zn, Na ve Fe mineralleri açısından zengin içeriklere ve Ag, Ba, Cd, Co, Cu, Mn, Se ve Ti bileşikleri açısından sınırlı ve fakir kaynaklar oldukları tespit edildi.

Çizelge 5.19. Liyofilize Ekstrelelere Ait Mineral Kompozisyon (µg/g ekstre)

Mineral	Geleneksel Ekstraksiyon				Ardışık Ekstreler					
	Drog	Su	İnfüzyon	Dekoksiyon	n-Hekzan	Kloroform	Etil asetat	Aseton	Etanol	Su
Ag	-	-	-	2,1	2,4	-	-	-	-	3,2
Ba	1,4	0,8	0,8	1,1	-	-	-	-	-	0,3
Cd	0,2	0,2	0,1	0,1	0,3	0,7	0,4	0,5	0,1	0,2
Co	0,3	0,3	0,4	0,3	-	-	-	-	0,1	0,5
Cu	1,5	1,8	0,1	0,6	-	3,8	-	-	0,5	1,9
K	1898,2	4025,9	3449,2	4204,6	8,4	-	-	67,7	1685,8	4519,5
Mg	4170,1	6829,3	6443,8	6743,3	127,2	433,3	198,4	38,0	169,4	10237,8
Mn	1,9	1,5	1,2	2,0	-	-	-	-	-	1,2
Pb	666,4	610,9	641,2	604,1	2448,0	2932,5	2254	2057,8	597,9	137,3
Se	0,08	-	-	-	3,3	0,7	-	-	-	-
Si	1110,9	841,8	957,6	936,2	2527,4	3060,2	2647	2274,8	764,4	22,2
Ti	9,4	10,5	9,8	10	-	-	-	-	0,8	15,0
V	39,8	39,6	42,9	36,4	206,4	228,9	158,8	151,5	39,9	37,3
Zn	58,3	28,2	18,2	16,7	52,6	74,3	39,4	33,7	11,6	38,4
Na	236,4	494	453,2	291,3	650,4	824,33	525,2	705,3	313,7	863,3
Fe	325,9	47	16,8	30,3	85,0	431,6	67,4	52,1	101,4	25,3
Ca	15238,6	24277,8	19881,8	18911,5	559,4	4234,9	2521,2	1561,2	3781,3	27001,2

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kozmopolit bir cins olan tüm dünyada 268 taksonla ve ülkemizde ise 28 taksonla (bunlardan ikisi endemik, *P. anatolica* Tutel & R.R. Mill ve *P. euphratica* Decne. ex Barneoud) temsil edilen *Plantago* cinsi dünya genelinde yaygın bir şekilde halk hekimliğinde kanamayı durdurucu, antimikrobiyal, gut, balgam söktürücü, idrar söktürücü, yatıştırıcı, cilt hastalıkları, ağrı kesici, diyabet, epilepsi, kanser, karın ağrıları, hemoroid, yaralanma, apse, iltihap, ülser tedavisinde halk ilacı olarak kullanılmaktadır (Samulsen, 2000; Tabata ve ark., 1994; Özgökçe ve Özçelik, 2004; Altundag ve Ozturk, 2011; Beara vd., 2012; Kaval vd., 2014; Mükemre vd., 2014). Halk ilacı olarak kullanılan bitkilerle ilgili bilgiler iinsanoğlunun uzun vadede elde ettiği deneyim ve tecrübelerinin bir sonucu olup sentetik ilaçların üretilmesine katkı sağlamıştır. Bu yüzden; yeni ilaçların keşfedilmesi veya alternatif tedavilerin geliştirilmesinin kısa yolu, halk arasında tedavi amacıyla kullanılan bitkilerle ilgili bilgilerden geçmektedir.

Bu çalışmanın ana materyalini oluşturan, endemik bir bitki olan, yerel halk tarafından diyabet, epilepsi ve karın ağrısı tedavisinde kullanılan ve bölgede yaşayan insanlar tarafından oldukça faydalı olduğu bildirilen *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisi farmakobotanik ve farmakognozok açıdan incelendi.

6.1. Farmakobotanik Özellikler

6.1.1. Morfoloji

Bulgular kısmındaki çizelge 5.3'te elde edilen sonuçlar incelendiğinde, değişmez ve en tutarlı karakterlerin yaprak, skapus, başak, brakte ve tohumlarda olduğu görülmektedir. Elde edilen bulgular neticesinde, *Plantago anatolica* bitkisi başta olmak üzere Van ilinde yayılışı olan ve tedavi amacıyla kullanılan *Plantago* cinsine ait taksonlar için aşağıda belirtilen bir tayin anahtarı önerilmektedir.

6.1.1.1. Önerilen morfolojik tayin anahtarı

1. Skapus belirgin bir şekilde oluklu.
2. Skapus belirgin 5-oluklu, tüylü; yapraklar mızraksı, 3-7 damarlı; başak (spike) konik veya küremsi; tohum kayıksı, yüzeyi pürüzsüz, bir kapsülde 2 tane.

P. lanceolata

2. Skapus belirgin 11-oluklu, tüsüz; mızraksı-dar eliptik, 7 damarlı; başak elongat; tohum kayıksı, yüzeyi peteksi, bir kapsülde 2-4 tane.

P. anatolica

1. Skapus düz ve yuvarlak, nadiren çizgili.
3. Yapraklar eliptik-ovat; brakteler yumurtamsı, 2-2.5 mm.
4. Yapraklar eliptik-ovat; skapus tek hücreli tüylü, hafif çizgili; başaklar aşağı doğru uzanmış, 5-40 cm; tohum üçgeni, yüzeyinde enine çizgili, kırışık, bir kapsülde 6-30 tane.

P. major

4. Yapraklar eliptik-ovat, parlak beyaz; skapuslardaki tüyler bölmeli, hafif çizgili; başak 3-15 cm; tohum kayıksı, yüzeyi çizgili-kırışık.

P. media

3. Yapraklar mızraksı; skapus düz-yuvarlak yoğun tüylü; brakteler dairemsi, 4-4.5 x 5-6 mm, emarginat (uçta derin girintili); tohum kayıksı, omurga mevcut, yüzeyi kırışık.

P. atrata**6.1.2. Anatomi**

Anatomik açıdan bitkilerin kök kısımlarından alınan kesitler *P. anatolica*'da ayırıcı bir anatomik yapı olan inulin sferokristallerinin varlığını göstermiştir. Skapusun enine kesitte, 11 oluklu olması ve tüsüz olması durumları bu taksonun morfolojik karakterlerini destekleyen ayırt edici özelliklerdir. Aynı şekilde; yaprak sapı (petiyol) enine kesitinde korteksi oluşturan parankimatik hücreleri içine gömülmüş iletim demet sayısı, taksonların yapraklarında bulunan damar sayısı ile aynı olduğunda morfolojik karakteri desteklemektedir. Elde edilen anatomik verilere dayanarak *Plantago anatolica* bitkisi başta olmak üzere Van ilinde yayılışı olan ve tedavi amacıyla kullanılan *Plantago* cinsine ait taksonlar için aşağıda belirtilen drog tayin anahtarı önerilmektedir.

6.1.2.1. Önerilen anatomik drog tayin anahtarı

	<i>P. anatolica</i>	<i>P. atrata</i>	<i>P. lanceolata</i>	<i>P. major</i>	<i>P. media</i>
Kök	inulin sferokristalleri mevcut	-	-	-	-
Skapus enine kesit	11 oluklu, tüysüz	Düz, tüylü	5 oluklu, tüylü	Çizgili, tüylü	Çizgili, tüylü
Yaprak sapı (petiyol) enine kesiti	Spiral	Yarım ay	7 yuvarlağımsı köşesi olan konveks	5 yuvarlağımsı köşesi olan konveks	7 yuvarlağımsı köşesi olan konveks biçimdedir
Yaprak sapı (petiyol) enine kesitinde iletim demet sayısı	7 tane gelişmiş ve 2 tane az gelişmiş	5 tane gelişmiş ve 2 tane az gelişmiş	7 tane gelişmiş	3 tane gelişmiş ve 2 tane az gelişmiş	7 tane gelişmiş
Komşu hücrelerin dizilişine göre stoma tipi	Anomositik, polositik	Anomositik, diasitik	Diasitik	Anomositik	Anomositik
Bekçi hücrelerin yapısına göre stoma tipi	Amaryllis	Amaryllis	Amaryllis	Amaryllis	Amaryllis
Bitkilerin yaşadığı ortama göre stoma tipi	Higromorf	Mezomorf	Mezomorf	Higromorf	Mezomorf
Mezofil dokusunun durumuna göre	Ekvifasiyal (izolateral)	Ekvifasiyal (izolateral)	Ekvifasiyal (izolateral)	Bifasiyal (dorsiventral)	Bifasiyal (dorsiventral)

6.2. Uygun Ekstraksiyon Çözücü Seçimi

Ekstraksiyon verimi kullanılan bitki kısmının kimyasal doğasına ve ekstraksiyon süresince uygulanan değişkenlere göre farklılık gösterebilir. Bitkilerin çiçek, yaprak, gövde, kök, meyve ve meyve kabukları gibi farklı kısımları, farklı biyolojik ve tıbbi özelliklere sahiptirler. Benzer şekilde, uygulanan çözücülerin farklı polarite özellikleri özütlenecek olan tekil bileşik ve/veya bileşik gruplarını nitel ve nicel olarak etkileyebilmektedir. Başka bir ifade ile ekstraksiyon çözücüsünün seçimi esas olarak polarite ve ilgili biyoaktif bileşik(ler)'in çözünürlüğüne bağlıdır. Örneğin; Abate ve ark. (2017), %90, %100'lık metanol, kloroform ve petrol eter çözücüleri kullanarak, *Plantago lanceolata* bitkisinin yapraklarından hazırladıkları ekstraktların tümünde

fenolikler, flavonoidler, saponinler, alkaloidler ve glikozitleri tespit ederken, tanenler ise sadece %90'lık metanol çözücüsünün kullanıldığı ekstrede tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

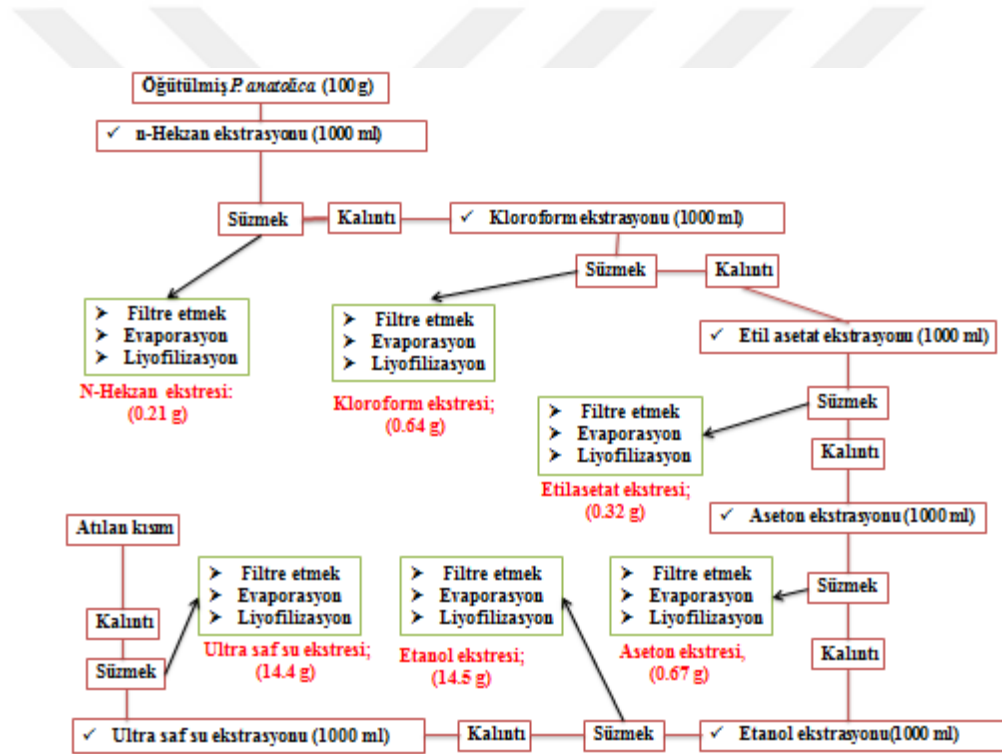
Suyun baskın bir şekilde başlıca çözen olarak kullanıldığı geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin tersine modern sıvı faz ekstraksiyon yöntemlerinde farklı çözünürlükteki bitki bileşenlerinin elde edilmesi amacıyla farklı polaritelere sahip olan organik çözücüler sıklıkla (tek başına veya farklı kombinasyonları) kullanılmaktadır. Ekstrenin kimyasal profili sıvı faz ekstraksiyonda direkt olarak uygulanan çözücünün cinsine ve polaritesine bağlıdır (Çizelge 6.1).

Çizelge 6.1. Sıvı faz ekstraksiyonda yaygın olarak kullanılan çözücülerin polarite ve kimyasal profilleri

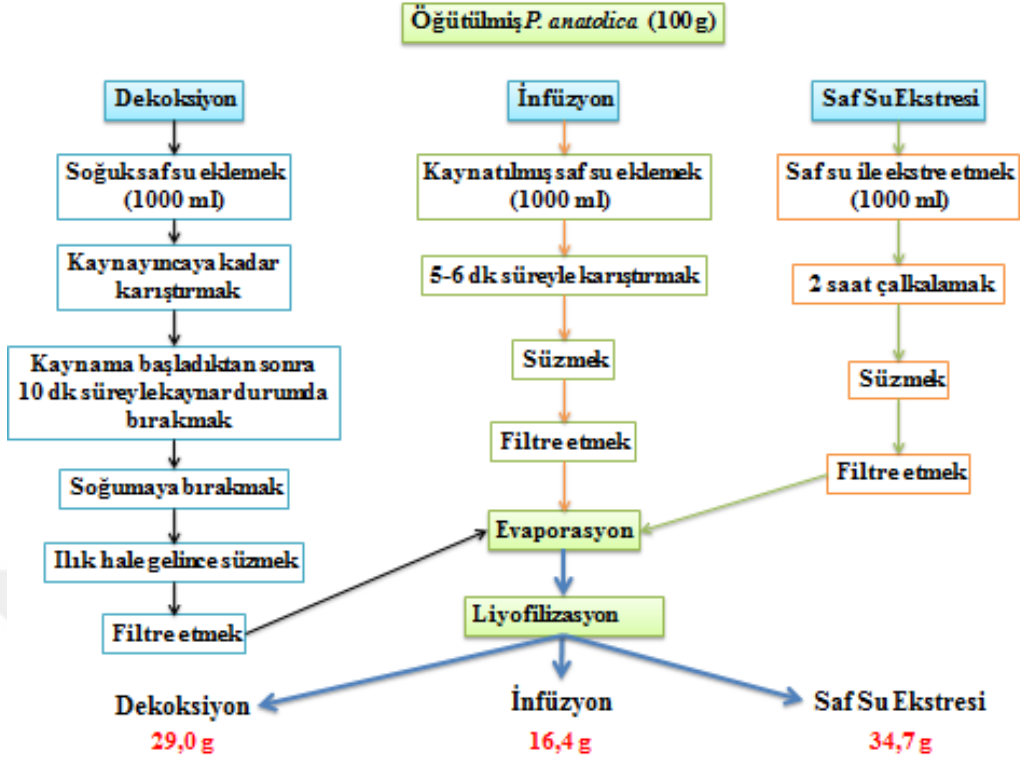
Polarite	Çözücü	Ekstrenin kimyasal profili	Kaynak
Düşük	n-Hekzan	Yağ asitleri, mumlar ve tepenoidler	Ayaffor ve ark. (1994); Cowan (1999)
	Kloroform	Yağ asitleri, mumlar ve tepenoidler	Petit ve ark. (1995); Cowan (1999); Bruneton (1999)
Orta	Diklorometan,	Organik çözücüler ile düşük polariteli ve polar flavonoidler, tanenler ve glikozitler	Bruneton (1999); Scalbert ve ark. (2005)
	Etil-asetat	Organik çözücüler ile düşük polariteli ve polar flavonoidler, tanenler ve glikozitler	Bruneton (1999); Scalbert ve ark. (2005)
	Aseton	Organik çözücüler ile düşük polariteli ve polar flavonoidler, tanenler ve glikozitler	Bruneton (1999); Scalbert ve ark. (2005); Eloff (1998)
Yüksek	Etanol	Polar flavonoidler, tanenler ve glikozitler (saponinler)	Bruneton (1999); Cowan (1999)
	Metanol	Karbonhidratlar, amino asitler, polipeptitler ve alkaloidler	Bruneton (1999); Scalbert ve ark. (2005)
	Su	Karbonhidratlar, amino asitler, polipeptitler ve alkaloidler	Jones ve Kinghorn (2005)
	Sıvı asit veya baz	Alkaloidler	Bruneton (1999)

Bitkisel kaynağın kimyasal kompozisyonu biliniyorsa, ekstraksiyon yöntemi en fazla verim ve saflaştırmayı sağlayacak şekilde düzenlenebilir. Ekstraksiyon verimi kullanılan çözücünün cinsine, ekstraksiyon süresine, sıcaklığa, numune-çözücü oranına, numunenin fiziksel özelliklerine ve kimyasal kompozisyonuna bağlıdır (Nacz ve Shahidi, 2006; Dai ve Mumper, 2010). Tüm bu hususlar göz önüne alınarak, daha önce

fitokimyasal kompozisyonu ile ilgili herhangi bir veri bulunmadığından dolayı, toz haline getirilmiş *P. anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin toprak üstü kısımları kimyasal kompozisyonunun kapsamlı bir şekilde açığa çıkartılması amacıyla Çizelge 6.1’de sunulan literatür bilgileri esas alınarak polaritenin arttırılması esasına dayalı ve hidrofilik-lipofilik bileşik dengesi gözetilerek sırasıyla n-hekzan, kloroform, etil asetat, aseton, etanol, ve ultra saf su çözümleri kullanmak vasıtasıyla ardışık olarak ekstre edilerek ilgili fraksiyonlar elde edildi. Ayrıca karşılaştırma amaçlı olarak geleneksel ekstraksiyon yöntemi olan infüzyon, dekoksasyon ve su ekstreleri de hazırlandı. Hazırlanan tüm ekstre ve fraksiyonların verimleri Şekil 6.1 ve 6.2’de sırasıyla sunulmuştur.



Şekil 6.1. *P. anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan ardışık fraksiyonlu ekstraksiyon verimleri.



Şekil 6.2. *P. anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin geleneksel ekstrasyon yöntemleri (İnfüzyon, dekoksiyon ve su ekstresi).

Çalışmamızda en yüksek ekstraksiyon veriminin etanol ve su bazlı ekstraktelerde tespit edilmesi bitkinin kimyasal yapısının daha çok polar karakterdeki bileşiklerden oluştuğuna işaret etmektedir. Bu husus HPLC-MS/MS ve GC-MS çalışmaları neticesinde elde edilen veriler ile uyum göstermektedir. Su bazlı ekstrakteler incelendiğinde kullanılan su miktarı ile ekstraksiyon verimi arasında pozitif bir korelasyon göze çarpmaktadır. Bu husus bitkinin kimyasal kompozisyonunu oluşturan bileşik ve/veya bileşiklerin hidrofilik karakterde olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca sıcaklık ile ekstraksiyon verimi arasında göze çarpan korelasyon aktif bileşiklerin eldesinde göreceli bir sıcaklığa duyarlılık özelliğine işaret etmektedir.

6.3. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

İnsan vücudu hücre bileşenlerini reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hasarlardan koruyabilmek amacıyla birden fazla savunma mekanizmasına sahiptir. Sağlıklı kişilerde serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi denge halindedir. Ancak, çevresel yaşam koşulları ve patolojik durumlardan dolayı savunma sistemi yani hücresel antioksidan düzeyi, reaktif oksijen düzeylerine karşı yetersiz kalması

durumunda denge bozulabilmektedir. Reaktif oksijen türleri veya diğer serbest radikaller ile antioksidan sistem arasında oluşan dengesizlik oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres, diyabet, alzheimer, parkinson başta olmak üzere birçok nörolojik ve metabolik hastalıklara sebebiyet verebilmektedir (Moldovan, 2004, Prior, 2015). Bundan dolayı serbest radikallerin oluşumunu durdurucu, oksidatif stresi erteleyici veya engelleyici fonksiyonlara sahip olan ve tolere edilebilir düzeyde yan etkiye sahip olan doğal kaynaklı antioksidan bileşiklere ihtiyaç duyulmaktadır. Bitkisel materyallerde doğal olarak bulunan fenolik bileşikler, canlılardaki serbest radikallerin oluşumunu engelleyici, nötralize edici veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyici güçlü antioksidan bileşenlerdir (Halliwell, 2011).

Bitkilerin yapısında bulunan, antioksidan etkiye sahip bir çok bileşik kompleks halinde bulunduğundan dolayı; daha güvenilir sonuçların elde edilmesi için bitkisel materyallere ait antioksidan aktivitelerinin incelenmesinde farklı ve kapsayıcı metodlar kullanılmalıdır. Çünkü kullanılan her metodun kendine has avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır (Yoo ve ark., 2007). Bitkisel materyallerdeki kapsayıcı antioksidan kapasitesinin tek bir antioksidan ölçüm metodu ile belirlemek oldukça güçtür. Bundan dolayı mekanizmaları farklı olan ve birbirlerini tamamlayıcı özelliğe sahip olan metotların uygulanması gerekmektedir. Reaksiyon mekanizmalarına göre antioksidan kapasite tayin yöntemleri kabaca iki gruba ayrılmaktadır. Bunlar; hidrojen atom transferine dayanan (HAT) ve tekli elektron transferine dayanan (SET) yöntemleridir (Prior ve ark., 2005).

Daha önce yapılan çalışma sonuçlarına incelendiğinde (literatür bildirişleri bölümü Çizelge 2.3) genelde *Plantago* türlerinin doğal antioksidan bileşikleri bakımından zengin kaynaklar olduğu ve SET mekanizmasına dayalı antioksidan ölçüm metotlarının uygulandığı göze çarpmaktadır. Bu konudaki eksikliğin giderilmesi amacıyla, çalışmamızda HAT mekanizmasını temsilen 1.Uluslararası Antioksidan Metotları Konferansı'nda antioksidan kapasitesinin standardizasyonu için tavsiye edilen, oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC) (Prior ve ark., 2005) ve SET mekanizmasını temsilen ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP), DPPH radikali süpürme aktivitesi, demir şelatlama aktivitesi ve Folin-Ciocalteu (F-C) metotları uygulandı.

6.3.1. Hat-temelli metotlar

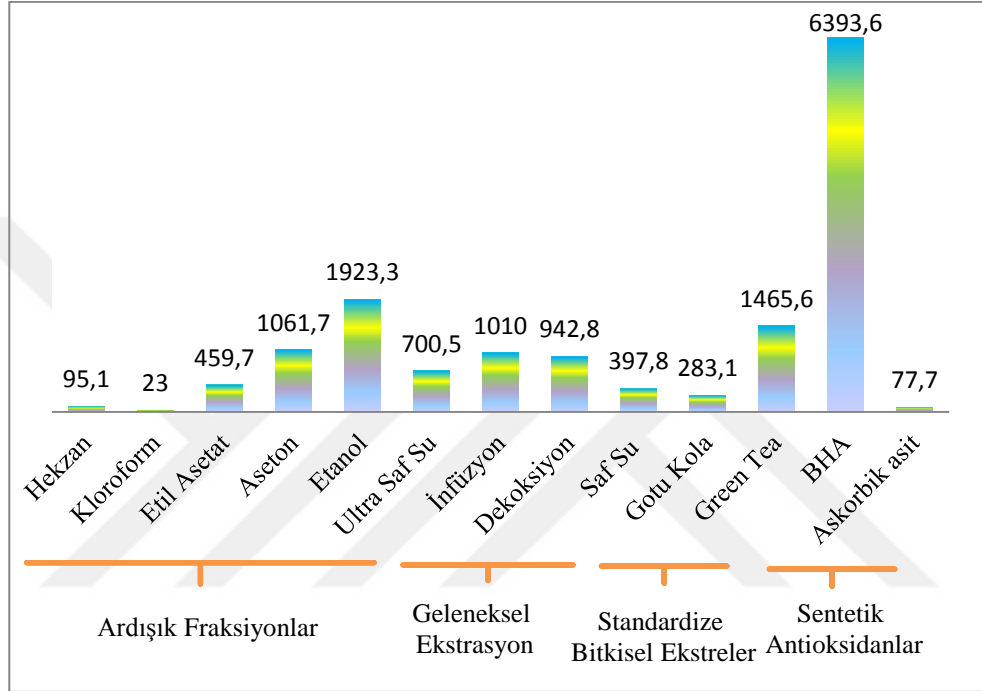
Bu metotların temel esası antioksidan bileşenlerin oksidan bileşiğine hidrojen atomu transfer ederek oksidatif stres oluşumunu engellemesine dayanır (Büyüktuncel, 2013). Oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC) yöntemi bitkisel droglarda elde edilen ekstrelerin, fitokimyasaların ve gıdaların antioksidan aktivitesinin ölçülmesinde kullanılan en etkili ve pratik yöntemlerden biridir (MacDonald-Wicks ve ark., 2006). Bu yöntemin en önemli avantajlarından biri hem hidrofilik hem de lipofilik ekstre veya bileşiklerin HAT esaslı antioksidan kapasitelerini ölçebilme özelliğine sahip olmasıdır. İnsan vücudunda en çok üretilen serbest radikaller, oksijen radikalleri olduğundan ve ORAC deneyi, direkt olarak antioksidan maddelerin peroksil radikalının oluşumunu engelleme seviyesini ölçtüğünden dolayı ORAC deneyi insan biyolojisi ile ilintili en iyi antioksidan ölçüm deneyi olarak kabul edilmektedir. Bu yüzden; bitkisel materyaller ne kadar yüksek ORAC değerlerine sahip olursa, insan vücudunu oksijen radikallerinin vereceği zararlara karşı koruma kapasitesi de o kadar yüksek olur (Prior ve ark., 2005).

Bu çalışmada incelenen liyofilize ekstrelerin, standardize bitkisel ekstrelerden genel itibariyle daha yüksek veya karşılaştırılabilir düzeyde ORAC değerlerine sahip oldukları, sentetik antioksidanlardan BHA'a göre daha zayıf, askorbik aside göre ise daha güçlü oksijen radikali absorban aktiviteleri gösterdikleri tespit edilmiştir (Şekil 6.3). Hidrofilik ekstreler, lipofilik ekstrelere göre daha güçlü ORAC aktiviteleri göstermiştir. Bu durumun muhtemel bir sebebi ekstrelerdeki baskın kimyasal bileşiklerin daha hidrofilik karakterli olmalarıdır.

Plantago anatolica'dan elde edilen liyofilize ekstrelerinde yüksek derecelerde oksijen radikalini absorbe etme kapasiteleri tespit edildi. Ardışık ekstrelerde 23-1923.3 µmol Troloks eş./g ekstre ve geleneksel yöntemlerle hazırlanan ekstrelerde ise 397.8-1010 µmol Troloks eş./g ekstre ORAC değerleri belirlendi (Şekil 6.3).

Tavares ve ark. (2010), *P. arborescens* bitkisinin yaprakları ile hazırlanan %50'lik etanol ekstrenin ORAC değerini ~450 µmol Troloks eş./g ekstre; Amakura ve ark. (2012) *P. asiatica* bitkisinin tüm kısımlarında hazırlanan %80 etanol ve ardışık (hekzan, etil asetat, su) ekstrelerin ORAC değerleri ~1500–8000 µmol Troloks eş./g kuru ağırlık aralığında ve Dalar ve ark. (2012) ise *P. lanceolata* bitkisinin kök, yaprak, çiçek, meyve ve tüm bitkinin %80 MeOH çözücü ile hazırladıkları ekstrelerin ORAC değerlerini sırasıyla 920.8, 925.2, 1625.0, 1134.0, 738.0 ve 930.5 µmol Troloks eş./g

kuru ağırlık tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Literatür verileri ve pozitif kontrol olarak kullanılan ve antioksidan özelliği iyi bilinen Green Tea extract ile mukayese edildiğinde *P.anatolica* bitkisinden elde edilen hidrofilik karakterli ekstrelerde daha yüksek ve/veya karşılaştırılabilir düzeyde ORAC değerleri gözlemlendiği göze çarpmaktadır. Bununla beraber elde edilen değerler sentetik antioksidanlardan BHA'ya göre oldukça düşük düzeyde kalmıştır.



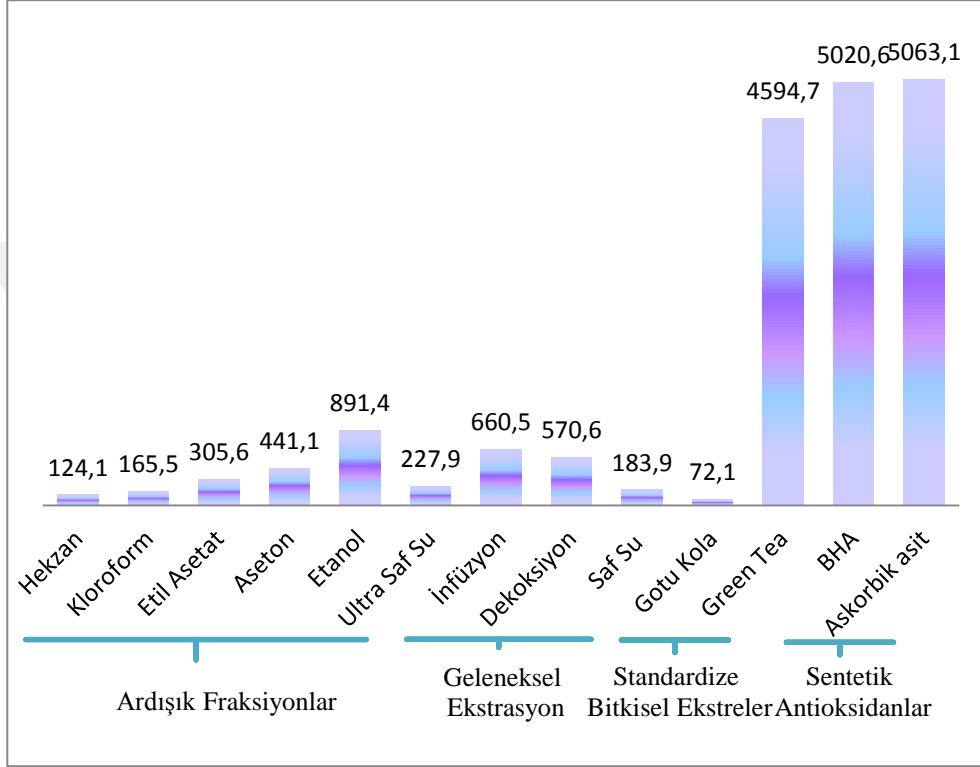
Şekil 6.3. *P. anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstrelerin, standardize bitkisel ekstrelerin ve sentetik antioksidanların oksijen radikal absorpsiyon kapasiteleri (ORAC).

6.3.2. ET-temelli metotlar

Bu metotların temeli antioksidan bileşiğin bir oksidan tarafından yükseltgenmesi sonucunda oksidana tekli elektron transfer edilmesi ve oksidanın etkisiz hale getirilmesi esasına dayanmaktadır. Çalışmamızda bitkisel materyallerin tekli elektron transferi (SET) yoluyla gösterdikleri antioksidan kapasitelerinin ölçülmesinde ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP), DPPH radikali süpürme aktivitesi, demir şelatlama aktivitesi ve Folin-Ciocalteu (F-C) metotları yöntemleri uygulandı.

Plantago anatolica'dan elde edilen liyofilize ekstrelere, pozitif kontrollere (standardize bitkisel ekstreler ve sentetik antioksidanlar) ait FRAP değerleri Şekil 6.4' te verilmiştir. Ardişık ekstrelerde FRAP değerleri 124.1-891.4 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ ekstre olarak

belirtilmiş olup, en yüksek FRAP değeri etanol fraksiyonunda tespit edildi. Geleneksel ekstrasyon yöntemlerinin FRAP değerleri 183.9-660.5 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ ekstre aralıkları olarak belirlendi. Liyofilize ekstratlar pozitif kontroller ile mukayese edildiğinde sentetik antioksidanlardan daha düşük aktiviteye sahip oldukları, standardize bitkisel ekstratlar ile mukayese edildiğinde ise sadece Gotu Kola ekstresinden daha güçlü, Green Tea ekstresinden ise daha zayıf antioksidan aktivite gösterdiği tespit edildi.

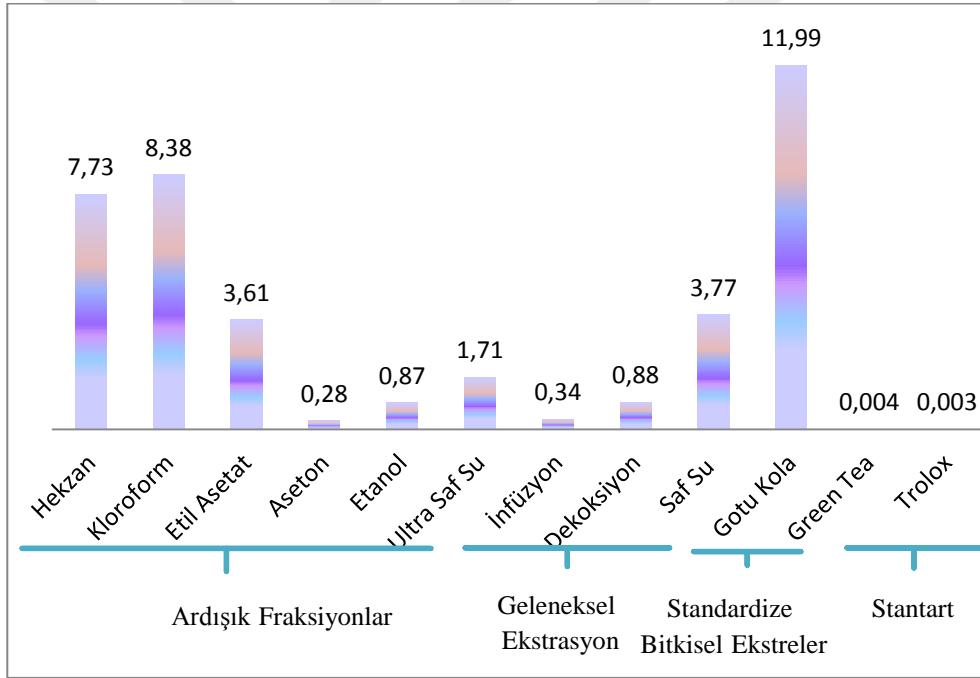


Şekil 6.4. *P. anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstratların, standardize bitkisel ekstratların ve sentetik antioksidanların Ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP).

Tedavi amacıyla kullanılan *Plantago* cinsine ait taksonların FRAP değerleri çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. Beara ve ark. (2012) ve Beara ve ark. (2009), *P. altissima*, *P. argentea*, *P. holosteam*, *P. major*, *P. maritima*, *P. media* ve *P. reniformis* bitkilerin %80'lik metanol ekstratların FRAP değerlerini 44.48-120.02 mg AAE/ g kuru ağırlık aralığında tespit edildiklerini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Dalar ve ark. (2012), *P. lanceolata* bitkisinin farklı organlarından elde edilen sıvı ekstratların FRAP değerlerinin 190.1-369.1 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ kuru ağırlık aralığı olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir.

DPPH radikal süpürme kapasitesi, antioksidan aktivitesi hesaplaması için en çok tercih edilen yöntemlerden biridir. Fenolik antioksidanların aktiviteleri üzerinde yapı etkisini çalışmak için kullanılan ilk sentetik antioksidanlardandır.

Plantago anatolica'dan elde edilen liyofilize ekstreler, standardize bitki ekstreleri ve Trolox'un DPPH radikali süpürme aktivitesi Şekil 6.5'te sunulmuş olup, en yüksek DPPH radikali süpürme aktivitesi pozitif kontrollerde standart olarak kullanılan Trolox'ta ve en düşük süpürme aktivitesi ise standardize Gotu Kola ekstresinde belirlenmiştir. Ardışık ekstrelerde, hidrofilik karakterli ekstreler lipofilik karakterli ekstrelere göre daha yüksek süpürme aktivitesi gösterdiği göze çarpmaktadır. Geleneksel drog hazırlama yöntemlerine göre hazırlanan ekstrelerdeki en yüksek DPPH değeri infüzyon ekstresinde, en düşük DPPH değeri ise saf su ekstresinde tespit edilmiştir.

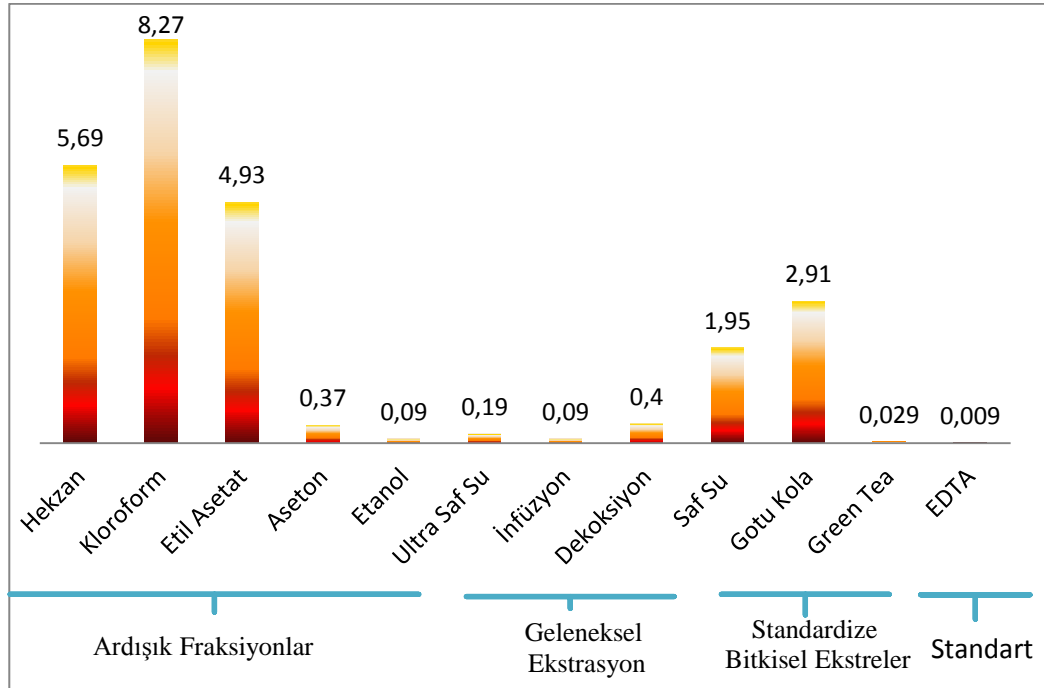


Şekil 6.5. *P. anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstrelerin, standardize bitki ekstrelerin ve Trolox'un DPPH radikali süpürme aktivitesi(mg/ml).

Plantago cinsine ait türlerin DPPH radikali süpürme aktivitesi birçok bilimsel çalışmaya konu olmuştur. *P. afra*, *P. algarbiensis*, *P. almogravensis*, *P. altissima*, *P. argentea*, *P. bellardii*, *P. holosteam*, *P. lanceolata*, *P. major*, *P. maritima*, *P. media*, *P. reniformis* ve *P. serraria* bitkilerin farklı kısımlarından hazırlanan %80'lik metanol ekstrelerin DPPH değerleri sırasıyla IC₅₀: 85.22; 18.51; 13.59; 10.74; 7.38; 23.70; 6.28; 263.57; 5.35; 6.79; 5.77; 11.07; 7.60 µg/ml olarak bildirilmiştir (Gálvez ve ark., 2005;

Beara ve ark., 2009; Beara ve ark., 2012; Kartini ve ark., 2014; Gonçalves ve ark., 2015). Başka bir çalışmada Pereira ve ark. (2017), *P. coronopus* bitkisinin kök, yaprak ve çiçeklerinden ayrı ayrı hazırlanan ardışık (hekzan, etil asetat, metanol, su) ekstraların DPPH değerleri, kökte 0.47-10; yaprakta 1.21-8.56 ve çiçekte 0.76-10 mg/ml aralıklarında olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan ekstraların, standart (EDTA) ve pozitif kontrollerin demir şelatlama aktiviteleri Şekil 6.6'da verilmiştir. Ardışık ekstralara ait demir şelatlama aktivite değerleri (IC₅₀; 0.09±0.01-8.27±0.35 mg/ml aralığında olarak belirlendi. En yüksek aktivite standartta (EDTA) tespit edilirken, en düşük aktivite ise kloroform fraksiyonunda belirlendi. Ardışık ekstralarda demir şelatlama aktivitesi en yüksek etanol fraksiyonunda ve geleneksel drog hazırlama yöntemlerinde ise en yüksek aktivite infüzyon ekstresinde göstermiştir. Sonuçlar incelendiğinde lipofilik karakterli ekstraların hidrofilik karakterli ekstralara nazaran oldukça zayıf metal şelatlama özelliği gösterdiği göze çarpmaktadır. Bu durum lipofilik ekstraların hazırlandığı çözümlerin (hekzan, kloroform ve etil asetat) özütleyebildiği yağ asitleri, mumlar, terpenoidler ve düşük polariteli glikozit bileşiklerinin nitel ve nicel olarak oldukça düşük miktarlarda bulunması ve/veya bu bileşiklerin metal şelatlama özelliklerinin zayıf olması ile açıklanabilir.



Şekil 6.6. *P. anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstraların, standardize bitki ekstraların ve standartın (EDTA) demir şelatlama aktiviteleri

6.4. Enzim İnhibisyonu

Enzim molekülü üzerindeki substratın (enzimin spesifik olarak etki ettiği madde) aktif bölge denilen özel bölgeye tutunması neticesinde enzim-substrat kompleksi ve sonuç olarak metabolik faaliyet meydana gelir. Enzim-substrat kompleksinin oluşmasını farklı şekillerde etkileyen, enzim faaliyetinin bazı doğal ya da yapay kimyasal maddeler tarafında hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak azalmasına veya durdurmasına olayına enzim inhibisyonu adı verilir. Enzimlerin istenmeyen aktivitelerini önlenmesi ya da kontrol altında tutulmasında bazı doğal ya da yapay inhibe edici özelliği maddeler kullanılır (Keha ve Küfrevioğlu, 2005).

İnhibitörler, enzimin protein yapısını oluşturan ve kendisine spesifik olan amino asitte bağlanır. Örneğin; Kafeik asitin, pankreatik lipaz ile etkileşime girdiği bölgeler Histidin²⁶⁴ (His²⁶⁴), Tirozin¹¹⁵ (Tyr¹¹⁵), Serin¹⁵³ (Ser¹⁵³), Fenilalanin⁷⁸ (Phe⁷⁸) ve Proline¹⁸¹ (Pro¹⁸¹)' dir (Martinez-Gonzalez ve ark., 2017b). İnhibitörler enzime kovalent bağla bağlanırsa geri-dönüşümsüz ve zayıf bağlarla bağlanırsa geri-dönüşümlüdür. Geri dönüşümlü inhibisyon yarışmalı, yarışmasız ve yarıyarışmalı olmak üzere üçe ayrılır. Yarışmalı inhibitörün yapısı substratın yapısına benzer ve enzimin aktif bölgesine bağlanarak, substratın enzime bağlanmasını engelenir. Yarışmasız inhibisyonda, inhibitör enzimin aktif bölgesine değil de başka bir yerine bağlanır. Yarıyarışmalı inhibisyonda ise inhibitör, enzim-substrat (ES) kompleksine bağlanarak, enzim aktivitesini inhibe eder (Keha ve Küfrevioğlu, 2005).

Fenolik bileşikler hipertansiyon, metabolik bozukluklar, iltihaplanmalar ve nörodejeneratif çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olan enzimlere bağlanarak, enzimlerin aktivitelerini durdurma veya enzimleri inhibe etme gibi önemli biyolojik aktiviteler sahiptirler (Mai ve ark., 2007; Gonçalves ve Romano, 2017). Fenolik bileşiklerce zengin tıbbi bitkilerin α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu üzerinde potansiyel rolü olduğu için bu bitkiler, tip-2 olarak adlandırılan diyabet hastalığının tedavisi ve/veya kontrol altında tutulmasında kullanılabilir.

Çalışmamız materyali olan *Plantago anatolica* bitkisinden elde edilen liyofilize ekstratlar ve pozitif kontrollerin alfa-amilaz enzimini inhibe edebilme potansiyelleri incelendiğinde, saf su ekstresinin 2.82 ± 0.25 IC-50 değeri ile en yüksek alfa-amilaz baskılama aktivitesi gösterdiği, bununla beraber bu inhibisyon derecesinin deneyde kullanılan pozitif kontrollere kıyasla inaktif olduğu gözlemlenmiştir. Ekstrelerin alfa-

glukozidaz enzimini inhibe edebilme potansiyelleri incelendiğinde; infüzyon ekstresi (IC50: 0.64±0.1 mg/ml) ve etanol fraksiyonu ekstresi (IC50: 0.76±0.1 mg/ml) ekstreler içinde en yüksek alfa-glukozidaz inhibisyonu derecelerini gösteren ekstreler olurken, en düşük aktivite hekzan (IC50: 4.32±0.1 mg/ml) ve kloroform (IC50: 4.24±0.2 mg/ml) gibi lipofilik karakterli fraksiyonlarında belirlendi.

Literatür araştırmaları *Plantago* türlerinin aktif enzim inhibitörleri olduğunu göstermektedir. Örneğin, Dalar ve ark. (2016) *P. lanceolata* bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçeklerin α -glukozidaz enziminin inhibisyonlarını IC50 değeri sırasıyla kök: 2.21 mg/mL; gövde: 2.70; yaprak: 1.43; çiçek: 1.32 mg/ml olarak bildirmiştir.

Fenolik bileşiklerce zengin bitki materyallerin antidiyabetik ajanlar elde etmek amacıyla yürütülmüş çalışmalarda, fenolik bileşikler ile α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu arasında oldukça güçlü pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Mai ve ark., 2007; Kaisoon ve ark., 2012). Başka bir çalışmada çalışma materyalimizin major fenolik bileşikleri olarak tespit edilen kafeik asit ve klorojenik asit bileşiklerinin α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerini etkin bir şekilde baskıladıkları bildirilmiş olup IC-50 değerleri sırasıyla şu şekilde belirtilmiştir: Klorojenik asit, α -amilaz 9.10 μ g/mL ve α -glukozidaz 9.24 μ g/mL; kafeik asit, α -amilaz 3.68 μ g/mL ve α -glukozidaz 4.98 μ g/mL (Obob ve ark., 2015).

Plantago cinsine ait türlerin antidiyabetik etkisi ile ilgili *in vivo* olarak yapılan çalışma sonuçlarına incelendiğinde *Plantago major*'un kan glikoz konsantrasyonunu düşürdüğü (Noor ve ark., 2000); *P. psyllium*'un koroner kalp hastalıkları riskini azalttığı ve tip 2 diyabet hastalarında metabolik kontrolde yararlı terapötik etkisi olduğunu (Sierra ve ark., 2002); ve diyabetli hastalarda kan şekeri seviyelerini düzenlediği (Ziaia ve ark., 2005); *Plantago maxima*'nın yüksek antidiyabetik aktivite gösterdiği (Tinkov ve ark., 2014) bildirilmiştir.

Antidiyabetik ajan veya preperat olarak kullanılacak bir bitki veya bitkisel materyalin α -amilaz enzimini düşük ve α -glukozidaz enzimini ise yüksek seviyelerde inhibe etmesi arzu edilmektedir. Çünkü α -amilaz yönünden yüksek inhibisyon aktivitesi olması durumunda, kalın bağırsakta sindirilmemiş yüksek miktarda karbonhidrat birikimi olur. Bu da anormal bakteriyel fermantasyonuna, dolayısıyla ishal ve mide gazı gibi yan etkilere sebep olmaktadır (Exteberria ve ark., 2012). Çalışmamızda en yüksek α -glukozidaz inhibisyonu, ardışık ekstrelerde etanol ve geleneksel ekstrelerde de ise

infüzyon ekstresinde tespit edildi. Alfa-amilaz inhibisyon kapasitesi, sindirim açısından herhangi bir yan etkiye yol açmayacak düzeyde yani inaktiftir.

Obezite, sağlığı bozacak şekilde vücutta anormal veya aşırı yağ birikmesi ve bunun sonucunda diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, gastrointestinal sistem hastalıkları ve bazı kanser türleri ile ilişkisi olan, yaşam kalitesini olumsuz etkileyen bir hastalıktır (Weiss ve ark., 2013). Obez olan kişilerin egzersiz uygulaması ve diyet kısıtlamasına rağmen, genellikle fazla kiloları verme konusunda başarısız olduklarından dolayı, kilo kaybını destekleyen, fenolik bileşik içeren bitkisel materyaller gibi anti-obezitik ajanlara ilgi artmıştır. Fenolik bileşiklerce zengin olan bitkisel materyallerin pankreatik lipaz enzimini *in vitro* ve *in vivo* olarak etkili bir şekilde inhibe edebildikleri çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Cho ve ark., 2010; Karthikesan ve ark., 2010; Dalar ve ark., 2014; Zhang ve ark. (2015).

Plantago anatolica bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen liyofilize ekstratlar ve pozitif kontrollerin pankreatik lipaz enzim inhibisyonu karşılaştıracak olursak; pozitif kontrol Green Tea ekstresi 6.1 ± 0.4 $\mu\text{g/ml}$ IC50 değeri ile en yüksek inhibisyon potansiyeline sahip olurken, onu takiben en yüksek inhibisyon derecesi infüzyon (IC50: 43.6 ± 2.8 $\mu\text{g/ml}$) ekstresinde tespit edilmiştir.

Dalar ve ark. (2016) *P. lanceolata* bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçeklerinin pankreatik lipaz enzimini inhibisyon derecelerini araştırmış ve IC50 değerlerini sırasıyla, kök: 6.76; gövde: 7.44; yaprak: 4.53; çiçek: 3.85 mg/mL olarak bildirmiştir. Bu sonuçlar *Plantago anatolica* bitkisiyle kıyaslandığında, oldukça düşük seviyelerde olduğu göze çarpmaktadır. Birçok çalışmada *Plantago* cinsine ait türlerin antiobezit olduğunu bildirilmiştir. Örneğin; *P. psyllium* plazma total kolesterol ve trigliserit düzeylerini düşürücü etkisi olduğu (Ziaia ve ark, 2005; Tourkostani ve ark., 2009), *P. lanceolata*'nın vücuttaki fazla kiloları, iç organlardaki yağları, serumdaki serbest yağların ve glikoz seviyesini düşürerek obezite etkisini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Tinkov ve ark.,2014).

Fenolik bileşiklerin konsantrasyonu ve enzim inhibisyonu arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır (Martinez-Gonzalez ve ark., 2017b). Çalışmamızda en yüksek pankreatik lipaz inhibisyon derecesi etanol (IC50: 71.5 ± 5.9 $\mu\text{g/ml}$) ve infüzyon (IC50: 43.6 ± 2.8 $\mu\text{g/ml}$) ekstresinde tespit edilmiştir. Kafeik asit en fazla sırasıyla etanol, aseton ve infüzyon ekstratlarında tespit edilirken, klorojenik asit en fazla infüzyon ekstresinde

tespit edilmiştir. Bu durum infüzyon ekstresinde lipaz inhibisyonun yüksek oluşunun kafeik asit yanında diğer bileşiklerin de olumlu bir etkisi olduğuna işaret etmektedir. Konsantrasyonların yanında bileşiklerin moleküler yapıları da inhibisyon değerini etkilemektedir. Örneğin You ve ark. (2012) molekül ağırlıkları 302.2 g/mol olan kersetin ve elajik asit IC-50 değerlerini 276.8 μM ve 342.4 μM olarak bildirmiştir. Kersetin'in moleküler yapısında iki aromatik ve bir heterosiklik halka; elajik asit yapısında ise iki aromatik ve iki heterosiklik halka bulunmaktadır (Martinez-Gonzalez ve ark., 2017a). Farklı ekstrelerdeki pankreatik lipaz inhibisyon eksikliği, diğer ekstrelerdeki yüksek inhibitör aktivitesi olan biyoaktif bileşiklerin yoğunluğu ya da ekstrelerdeki biyoaktif bileşikler arasındaki sinerjistik/antagonistik etkilerle açıklanabilir (Worsztynowicz ve ark., 2014). Chen ve Kang (2013) yaptıkları bir çalışmada sadece içinde kapsaisin ve *p*-coumaric acid olan acı biberde pankreatik lipaz aktivitesini düşük seviyede, fakat içinde kafeik asit ya da kersetin olan ekstrelerde pankreatik lipaz inhibisyonu yüksek olduğunu bildirmiştir.

Polifenolik bileşiklerin anti-obezite etkilerini, pankreatik lipaz gibi sindirim enzimlerinin etkileşimi ve inhibisyonu çeşitli mekanizmalar açıklayabilir (Martinez-Gonzalez ve ark., 2017b). Polifenolik bileşiklerin sindirim enzimleri için belirlenen ana inhibisyon modu yarışmasız inhibisyon modudur. Fakat bazı çalışmalarda yarışmalı inhibisyon modu da gözlenmiştir (Hu ve ark., 2015; Cai ve ark., 2015). Kersetin pankreatik lipazla etkileşimin varlığı birçok çalışmada rapor edilmiş, fakat sonuçlarda tutarsızlıklar olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda hem yarışmalı hem de yarışmasız inhibisyon modları rapor edilmiştir (Li ve ark., 2011). Kafeik asit ve kemferolün, a-glukosidaz ve a-amilazla inhibisyon modu, yarışmasız inhibisyon modudur (Shobana ve ark. 2009). Bütün polifenolik bileşikler pankreatik lipazda bir bağlanma bölgesine sahiptir. Pankreatik lipaz, polifenolik bileşikler bağlanmak için esas olarak Phe⁷⁸, Tyr¹¹⁵, His¹⁵² ve Phe²¹⁶ gibi dört pankreatik lipaz amino asit bağlama bölgesinden oluşmuştur. Polifenolik bileşiklerin sindirim enzimleri ile daha yüksek bağlanma ve inhibe etme kabiliyeti, esas olarak polifenolik bileşiklerin yapısı ile ilgilidir. Polifenolik bileşiklerin göz önünde bulundurulması gereken özellikleri, hidroksil gruplarının sayısı ve B ve C halkalarındaki konumları; polifenolik bileşiklerde glikozilasyon varlığı, glikozil birimlerinin konumu ve sayısı ile polifenolik bileşiklerin kompleks yapısıdır (Martinez-Gonzalez ve ark., 2017a).

Diyabet ve obezite gibi birçok hastalık vücutta üretilen ya da biriken fazla miktardaki reaktif oksijen radikalleri ile yakından alakalıdır. Antioksidan aktiviteye sahip fenoliklerce zengin bitkisel materyaller, reaktif oksijen radikallerini süpürerek diyabet ve obezite gibi metabolik hastalıkları önlenmesine veya kontrol altında tutulmasına yardımcı olur. Çalışmamızda *Plantago anatolica* bitkisinin toprak üstü kısımlarında elde edilen liyofilize ekstreler α -amilaz enzimi inaktif, α -glukozidaz ve pankreatik lipaz enzimlerin ise aktif bir şekilde inhibe etmeleri ve oldukça yüksek seviyelerde reaktif oksijen radikali absorbans aktivitelerine sahip olmalarından dolayı doğrudan veya dolaylı olarak diyabet ve obezite gibi metabolik hastalıklarını önleme aktivitelerine sahip oldukları söylenebilir.

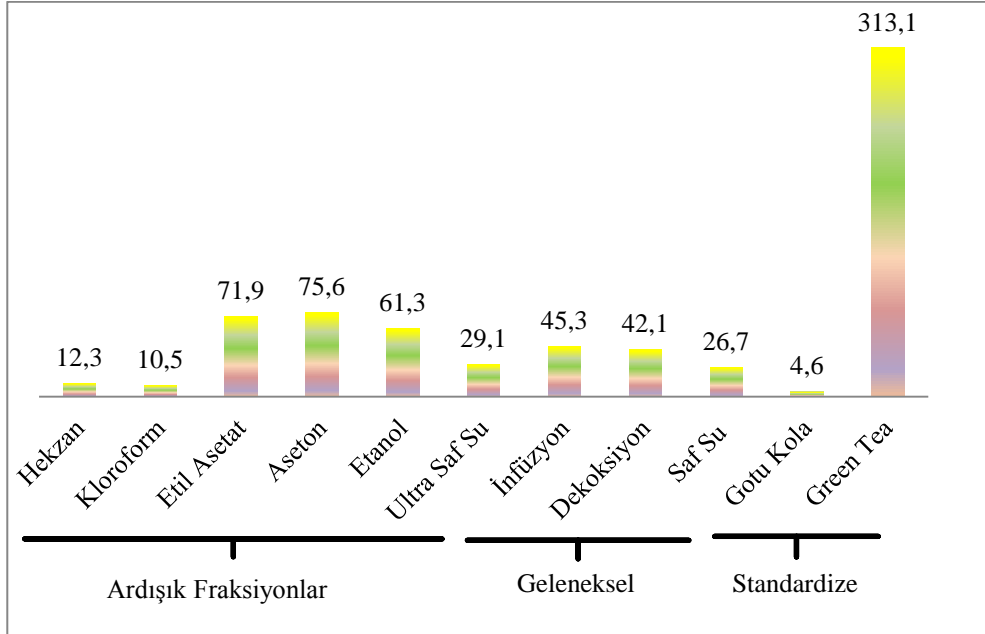
6.5. Fitokimyasal İçerik

6.5.1. Total fenolik içerik (Folin-Ciocalteu metodu)

Fenolik bileşikler; bitkilerin kök, gövde, dal, yaprak, çiçek, meyve ve tohumlarında doğal olarak en yoğun şekilde bulunabilen fitokimyasal bileşiklerdir (Lattanzio ve ark., 2008; Mamamadov, 2014). Bitkiler UV radyasyon, patojen ve parazit saldırıları, yaralanma, hava kirliliği ve aşırı sıcaklık gibi stres şartlarına maruz kaldıklarında fenolik madde miktarı artar. Bununla beraber bitkisel kaynaklardaki fenolik bileşikler, bitki varyasyonları, yetiştirme ortamı koşulları, hasat sonrası işlemler, hasat esnasındaki olgunluk, saklama koşulları gibi koşullara göre nitelik ve nicelik açısından değişkenlik gösterebilir (Mitjavila ve Moreno, 2012).

Çalışmamızın materyali olan *Plantago anatolica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen liyofilize ekstrelerinin F-C indirgeme değerleri Şekil 6.7’de verilmiştir. En yüksek total fenolik içerik aseton fraksiyonunda, en düşük total fenolik içerik ise hekzan fraksiyonunda belirlendi. Organik solventler incelendiğinde orta polariteli çözümlerin (etil asetat, aseton) kullanıldığı ekstrelerin en yüksek total fenolik içeriklere sahip oldukları görülmektedir. Bu durum ekstrelerde mevcut bulunan baskın bileşiklerin orta polariteye sahip olan ve daha çok hidrofilik karakterli bileşenler olduğuna işaret etmektedir. Sıcaklık kullanılarak elde edilen infüzyon ve dekoksasyon ekstrelerinin sıcaklığın stabil tutulduğu su ekstrelerine göre daha yüksek oranda fenolik bileşik içerdikleri tespit edildi. Pozitif bitkisel standardize Green Tea, çalışmamızın materyali olan liyofilize ekstreler göre daha yüksek total fenolik içermektedir.

Abate ve ark. (2017), %90, %100'lük metanol, kloroform ve petrol eter çözücülerini kullanarak, *Plantago lanceolata* bitkisinin yapraklarından hazırladıkları ekstrelerde total fenolik bileşik değerleri sırasıyla 344.70, 295.05, 205 ve 185.07 mg Gallik asit eş./100 g ekstre olarak bildirilmiştir. Başka bir çalışmada Gálvez ve ark. (2005a), *P. afra*, *P. coronopus*, *P. lagopus*, *P. lanceolata* ve *P. serraria* bitkilerin yapraklarında hazırlanan metanol ekstrelerin total fenolik içeriklerini sırasıyla 4.84, 7.11, 5.44, 8.16 ve 16.83 mg Gallik asit/g ekstre olarak bildirilmiştir. Beara ve ark. (2009), *P. argentea*, *P. holosteam*, *P. major*, *P. maritima* ve *P. media* bitkilerin F-C değerleri 38.43-70.97 mg GAE/g kuru ağırlık aralığında olduğunu bildirilmiştir. *Plantago lanceolata* bitkisinin F-C değerleri kökte 15.4, skapusta, 12.2, yaprakta 35.3, çiçekte 22.3, kapsülde 12.9 ve tüm bitkide 19.0 mg Gallik asit eş./g kuru ağırlık olarak tespit edilmiştir (Dalar ve ark., 2012). Yine başka bir çalışmada *P. coronopus* bitkisinin kök, yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan ardışık (hekzan, etil asetat, metanol, su) ekstrelerin F-C değerlerini kökte 0.56-30.6; yapraklarda 2.07-28.1 ve çiçeklerde 1.26-15.7 mg Gallik asit eş./g kuru ağırlık aralıklarında olduğunu bildirilmiştir (Pereira ve ark., 2017). Elde edilen total fenolik içerik sonuçları literatürde diğer *Plantago* türleri üzerine yürütülen çalışmalardan elde edilen sonuçlar (Genç, 2011) ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu göstermektedir.



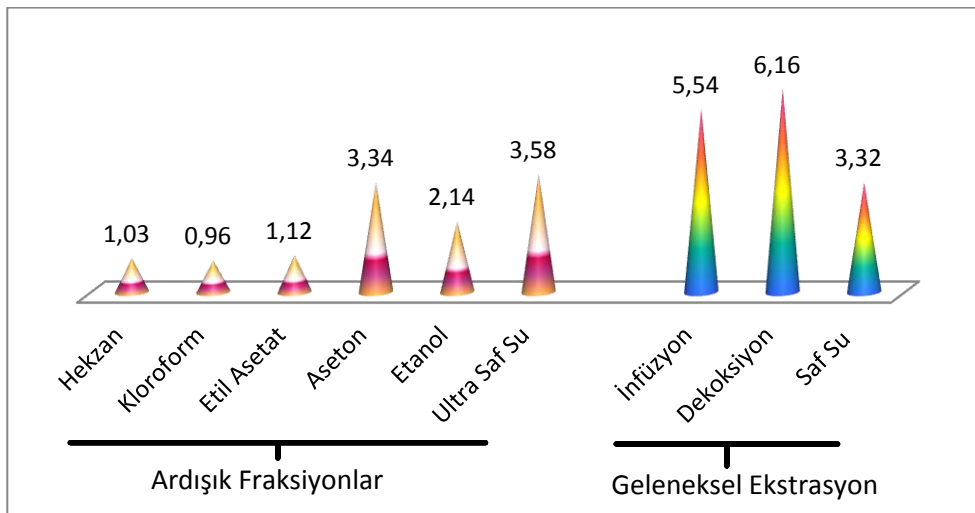
Şekil 6.7. *P. anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstrelerin, standardize bitki ekstrelerin Total Fenolik İçerikleri (mg Gallik asit/g ekstre).

6.5.2. Total proantosiyanidin içerik

Plantago anatolica Tutel & R.R. Mill bitkisinin hekzan, kloroform ve etil asetat ekstralarında proantosiyanidin içeriğine sadece iz halinde rastlanırken, en yüksek proantosiyanidin içeriği etanol (0,078 mg Kateşin eşdeğeri /g ekstre) ve aseton (0,048±0,00 mg Kateşin eşdeğeri /g ekstre) ekstralarında ve genel itibariyle ekstralarda bulunan proantosiyanidin içerikleri oldukça düşük düzeylerde tespit edildi. Dalar ve ark. (2012) *Plantago lanceolata* bitkisinin total proantosiyanidin içeriklerini kökte 0.004, skapusta, 0.006, yaprakta 0.009, çiçekte 0.006, kapsülde 0.004 ve tüm bitkide 0.28 mg Kateşin eşdeğeri /g kuru ağırlık olarak bildirilmiştir. Spektrofotometrik olarak ekstralarda proantosiyanidin içeriklerinin iz halinde bulunması, kromatografik (HPLC-MS/MS) çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile örtüşmekte ve bu durum ekstralarda proantosiyanidin bileşiklerinin bulunmadığına işaret etmektedir. İz halinde elde edilen proantosiyanidin içerik sonuçları muhtemel interferasyonlara işaret etmektedir.

6.5.3. Total flavonoid içerik

En yüksek total flavonoid içerik dekoksiyon (6.16±0.24 mg Rutin eşdeğeri /g ekstre) ekstresinde, en düşük total flavonoid içerik ise kloroform (0.96±0.00 mg Rutin eşdeğeri /g ekstre) fraksiyonunda belirlendi. Genel olarak incelendiğinde polar çözümlerin kullanıldığı ekstralarda flavonoid içeriği daha yüksek, apolar çözümlerin kullanıldığı (hekzan, kloroform ve etil asetat) ekstralarda ise daha düşük düzeylerde tespit edildi (Şekil 6.8).



Şekil 6.8. *P. anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstraların total flavonoid içerikleri.

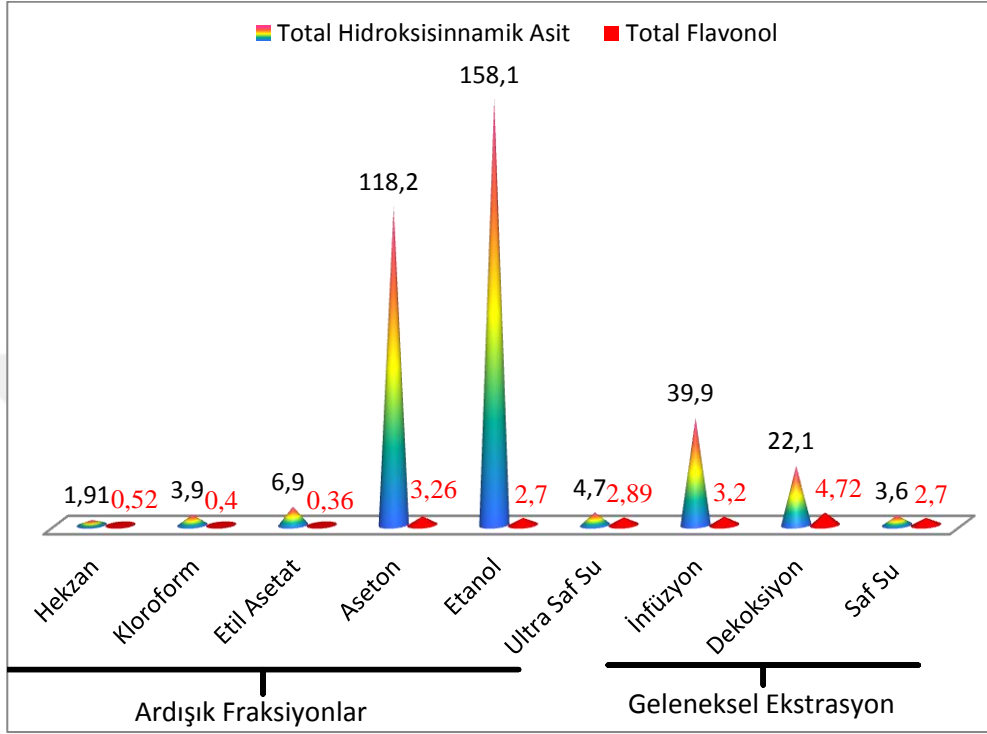
Gálvez ve ark. (2005a), *P. afra*, *P. coronopus*, *P. lagopus* *P. lanceolata* ve *P. serraria* bitkilerin yapraklarında hazırlanan metanol ekstrelerin total flavonoid içerikleri sırasıyla 1.12;1.05; 3.09;1.24; 0.69 mg Rutin eşdeğeri /g ekstre olarak bulunduğunu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada Abate ve ark. (2017), %90, %100'lük metanol, kloroform ve petrol eter çözücülerini kullanarak, *Plantago lanceolata* bitkisinin yapraklarından hazırladıkları ekstrelerde total flavonoid içerikleri sırasıyla 45.23, 26.13, 10.24 ve 2.156 mg Kateşin eşdeğeri/100 g ekstre olarak bildirilmiştir. Yine başka bir çalışmada Dalar ve ark. (2012) *Plantago lanceolata* bitkisinin total flavonoid içeriklerini kökte 4.23, skapusta, 3.43, yaprakta 9.67, çiçekte 6.57, kapsülde 2.98 ve tüm bitkide 5.78 mg Rutin eşdeğeri /g kuru ağırlık olarak bildirilmiştir. Beara ve ark. (2009), *P. argentea*, *P. holosteuum*, *P. major*, *P. maritima* ve *P. media* bitkilerin total flavonoid içeriklerini sırasıyla 6.77, 13.10, 5.31, 12.93 ve 8.30 mg Kateşin eşdeğeri/g kuru ağırlık olarak bildirilmiştir. *P. coronopus* bitkisinin kök, yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan ardışık (hekzan, etil asetat, metanol, su) ekstrelerin total flavonoid içeriklerini kökte 0.10-82.2; yapraklarda 12.1-146 ve çiçeklerde 1.6-34 mg Rutin eşdeğeri /g kuru ağırlık aralıklarında olduğunu bildirilmiştir (Pereira ve ark., 2017). Elde edilen spektrofotometrik sonuçlar, kromatografik sonuçlar ile doğrulanmış ve ekstrelerdeki ikinci büyük fenolik grubun flavonoidler olduğunu göstermiştir.

6.5.4. Total hidroksisinnamik asit ve flavonol içerikler

Plantago anatolica bitkisinin toprak üstü kısımlarında elde edilen liyofilize ekstrelerinin hidroksisinnamik asit ve flavonol içerikleri Şekil 6.9'da verilmiştir. Genel itibariyle incelendiğinde, ekstrelerde hidroksisinnamik asitlerin baskın halde, flavonollların ise oldukça düşük düzeylerde olduğu görülmektedir. En yüksek hidroksisinnamik asit içeriği ardışık fraksiyonlarında aseton ve etanol ekstrelerinde; su bazlı ekstrelerde ise infüzyonda belirlenirken, en yüksek total flavonoid içerik deoksijon ekstresinde tespit edildi.

Dalar ve ark. (2012) *Plantago lanceolata* bitkisinin kök, skapus, yaprak, çiçek, kapsül ve tüm bitkinin total hidroksisinnamik asit ve flavonol içeriklerini sırasıyla total hidroksisinnamik asit içeriklerini kökte 1.58, skapusta 1.65, yaprakta 4.34, çiçekte 2.46, kapsülde 1.36, tüm bitkide 2.15 mg Kafeik eşdeğeri /g kuru ağırlık ve flavonol içeriklerini kökte 1.80, skapusta 2.48, yaprakta 7.24, çiçekte 3.14, kapsülde 1.61, tüm

bitkide 3.03 mg Rutin eşdeğeri /g kuru ağırlık olarak bulunduğunu bildirilmiştir. Elde edilen spektrofotometrik sonuçlar, kromatografik sonuçlar ile doğrulanmış ve ekstrelerdeki en büyük fenolik grubun hidroksisinnamik asitler olduğunu göstermiştir.



Şekil 6.9. *P. anatolica* Tutel & R.R. Mill bitkisinin liyofilize ekstrelerin total hidroksisinnamik asit ve flavonol içerikleri.

6.5.5. Total antosiyanin içerik

Ekstrelelere ait total antosiyanidin içerikleri tüm ekstrelerde iz halinde tespit edilmiş olup, sonuçlar ekstrelerde antosiyanidin içeriklerinin bulunmadığını göstermektedir.

6.5.6. Fenolik kompozisyon

Ekstrelerdeki bulunan bileşiklerin tanımlanması LC-MS verileri ve HPLC kromatogram verilerine göre, konsantrasyon belirleme işlemi ise HPLC kullanılarak belirlenmiştir. Ekstrelerde tespit edilen başlıca fenolik bileşikler kafeik asit, klorojenik asit, apicenin ve kemferol bileşiklerdir. Ekstrelerde baskın fenolik bileşik kafeik asit olarak tespit edildi. Hekzan ve kloroform ekstrelerinde fenolik bileşik tespit edilemedi.

Çalışmamızda en yüksek absorpsiyon 280 ve 326 nm dalga boyunda gösterdi. 520 nm dalga boyunda herhangi bir absorpsiyon gözlenmemesi, ekstrelerde antosiyanin bileşiklerinin bulunmadığını göstermekte ve spektrofotometrik çalışmaları doğrulamaktadır. Bileşiklerin tanımlanması işlemi özgün standartlar ile mukayese, sıvı kromatografisinde ko-kromatografi ve kütle spektrumu bulguları (nötral kayıp, selektif reaksiyon ve total molekül ağırlığı) yoluyla gerçekleştirildi. Baskın fenolik bileşik olarak tespit edilen kafeik aside ait en yüksek konsantrasyon, orta ve yüksek polariteli hidrofilik karakterli ekstrelerde tespit edildi. Çalışmamızda kafeik asit, klorojenik asit, apicenin ve kemferol bileşiklerinin en fazla aseton, etanol ve su bazlı ekstrelerde tespit edilmesi bitkinin kimyasal yapısının daha çok polar karakterdeki bileşiklerden oluştuğunu göstermektedir.

Plantago cinse ait olan bir çok türde yürütülen birçok çalışmada, hidroksisinnamik asit sınıfı içinde yer alan kafeik asit ve klorojenik asit; flavon sınıfına ait apicenin ile flavonol sınıfına ait kemferol bileşiklerinin baskın fenolik bileşikler olduğu bildirilmiştir. Örneğin; *P. altissima* bitkisinde kafeik asit, klorojenik asit, apicenin ve kemferol (Beara et al. 2012); *P. amplexicaulis* bitkisinde kemferol glikozitleri (Salama ve Saffan, 2003); *P. argentea* bitkisinde apicenin ve apicenin glikozitleri (Beara ve ark., 2009); *P. bellardii* bitkisinde klorojenik asit (Ronsted ve ark., 2000; 2003); *P. coronopus* bitkisinde kafeik asit ve apicenin (Pereira ve ark., 2017); *P. cretica* bitkisinde klorojenik asit (Ronsted ve ark., 2000; 2003); *P. hakusanensis* bitkisinde apicenin (Murai ve ark., 2008); *P. holosteum* bitkisinde apicenin glikozitleri (Beara et al., 2009); *P. lagopus* bitkisinde apicenin glikozitleri ve klorojenik asit (Afifi ve Maatooq, 1990; Ronsted ve ark., 2003); *P. lanceolata* bitkisinde apicenin, klorojenik asit, kafeik asit ve kemferol (Fleer ve Verspohl, 2007; Beara ve ark., 2012; Rodica ve Vârban, 2012; Nichita ve ark.,2016); *P. major* bitkisinde apicenin, klorojenik asit ve kafeik asit (Maksyutina, 1971; Samuelsen, 2000; Beara ve ark., 2009); *P. maritima* ve *P. media* bitkilerinde apicenin glikozitleri (Beara ve ark., 2009); *P. ovata* bitkisinde apicenin (Afifi ve ark., 2000) ve *P. reniformis* bitkisinde klorojenik asit, kafeik asit apicenin ve kemferol (Beara ve ark., 2012) bileşikleri bulunduğu bildirilmiştir. Bu durum *Plantago anatolica* bitkisinin diğer *Plantago* taksonları ile benzer fitokimyasal karaktere sahip olduğunu göstermektedir.

6.6. Yağ asidi bileşikleri

Bitkilerin çoğu nitel ve nicel olarak çok geniş bir yelpazedeki yağ asidi bileşenlerini içermektedirler. Bitkisel yağlar kozmetik ve ilaç sektöründe, içeceklerde, çeşitli el ve vücut kremlerinde, ağız bakım ürünlerinde ve çeşitli şampuanlarda kullanılmaktadır (Teixeira ve ark., 2013). Bitkisel yağların kimyasal yapısı; genetik varyasyonlar, bitki ekotip ve varyeteleri, bitki besinleri, uygulanan ilaçlar, habitatlar, iklim koşulları ve maruz kaldığı stresten etkilenir. Bununla beraber kullanılan bitki kısmı ve ekstrasyon şekli de verim ve bileşimi etkiler (Hussain ve ark., 2008). Örneğin; bitkilerin çiçek, yaprak, gövde, kök, meyve ve meyve kabukları gibi farklı kısımları, farklı biyolojik ve tıbbi özellikler sergiler. Benzer şekilde, farklı polariteli çözücüler farklı bileşik gruplarını ekstre etmektedir (Cowan, 1999).

GC-MS denemelerinde *Plantago anatolica*'dan elde edilen ekstrelerde önce Headspace ve methyl ester analizi yöntemleri kullanıldı. Her iki yöntem sonucunda ekstrelerde herhangi bir uçucu yağ ve yağ asidi bileşikleri tespit edilememesi, bitkinin uçucu yağ ve yağ asitleri bakımından fakir bir kaynak olduğunu göstermektedir. Daha sonra yapılan literatür taramaları neticesinde lipofilik bileşenlerin etkin bir şekilde eldesine ve lipofilik olmayan bileşenlerin uzaklaştırılmasına olanak sağlayan Hara ve Radin (1978)'in metilasyon metodu yüksek ekstre miktarı kullanılarak denendi ve ekstrelerde oldukça düşük seviyelerde bulunan uçucu bileşik ve yağ asitleri belirlendi. Sonuç olarak ekstrelerde palmitik asit, benzotiazol türevi ve linolenik asit olmak üzere başlıca 3 adet bileşik tespit edildi. Polaritesi düşük olan hekzan, kloroform, etil asetat ve aseton ekstrelerinde her 3 bileşik tespit edilirken, etanol ve su bazlı ekstrelerde sadece benzotiazol türevi tespit edildi. Ardışık fraksiyonlarda yağ asidi ekstresi bakımından kloroform ve etil asetat fraksiyonlarının, hekzan fraksiyonuna göre göreceli olarak daha etkin olduğu belirlendi.

Daha önce yapılan çalışmalarda *Plantago* cinsine ait olan birçok türde benzer bileşiklerin olduğu bildirilmiştir. Bajer ve arkadaşları (2016) farklı üç lokalitede topladıkları *P. lanceolata* bitkisinden hazırladıkları kuru ve yağ ekstrelerde 236 bileşik tespit etmiş olup bunların içinde palmitik asit ve linolenik asitin baskın bir şekilde bulunduğunu bildirmişlerdir. *P. lanceolata* ve *P. major* bitkilerinin toprak üstü kısımlarında Mazzutti ve arkadaşları (2017) palmitik asit tespit etmiştir. Ahmed ve arkadaşları (1968) *P. major* bitkisinin tohumunda linolenik asit, yapraklarında ise

palmitik ve linolenik tespit ettiğini bildirmiştir. *Plantago* cinsine ait türlerde daha çok tohumlarda yağ asitleri bulunması (Mazzutti ve ark., 2017) ve çalışmamızın materyalinin toprak üstü kısımlardan en çok yaprak organını içermesi ve tohum oluşumu evresi öncesi bitki materyali toplanması ekstrelerdeki yağ asitlerinin nitel ve nicel olarak düşük seviyelerde bulunmasını izah etmektedir.

6.7. Mineraller

Tıbbi değeri olan bitkilerin yapısında organik ve inorganik kombinasyonlar halinde bulunan mineral maddeler sağlıklı beslenmek ve hastalıklarda korumak için gereklidirler. İnsan vücudunda bulunan mineral maddeler besleyici, dengeleyici ve biyolojik reaksiyonlarda katalizör işlevi görürler. Sinir hücrelerinden, diş, kemik, doku, kan ve kaslardan vuku bulan fiziksel olaylar için hayati öneme sahip olan mineraller insan yaşamı için gereklidir. Örneğin; hemoglobinin yapısında bulunan demir (Fe), kanda oksijen taşınması ve enerji metabolizmasında görev alır. Kalsiyum (Ca), kalp kaslarının normal kasılma ve dinlenmesini sağlamak, sindirim ve metabolizmada görevli enzimlerin aktif hale gelmesine yardımcı olmak, kemik ve diş sağlığını koruma, ileri yaştaki bireyler için kemiklerin kırılma riski veya osteoporozu önlemesi (kemik erimesi) açısından önemlidir. Magnezyum (Mg), normal kas ve sinir fonksiyonlarının gerçekleşmesi, fosfataz fosforilaz gibi enzimlerin aktivatörlüğü, ATPaz enziminin inhibitörlüğü, normal kan basıncının desteklenmesi, hipertansiyon, kalp ve damar hastalıklarının engellenmesinde etkili olup, kemik ve dişlerin yapı taşlarını oluşturmaktadır. Fosfor (P), DNA ve RNA'nın yapısına katılmaktadır. Bütün organizmalar için fosfodiester bağları nükleik asitlerin oluşumunda etkilidir. Proteinlerin ve enzimlerin yapısına katılır. Kalsiyumla birlikte kemik ve dişlerin yapı maddesidir. Oksijen taşınması ve H⁺ tamponlanmasında etkilidir. Çinko (Zn) bazı enzimlerin bileşiminde bulunur protein sentezi ve doku yapımında rol oynar ve krom (Cr) lipit metabolizması ve insülin fonksiyonuyla ilintilidir. Bununla beraber vücutta vitamin emilimi için gerekli mineraller de mevcuttur. Örneğin; vitamin C emilimi için kalsiyum (Ca), vitamin A için çinko (Zn), B kompleks vitaminleri için magnezyum (Mg) ve vitamini E için gereklidir (Joyo ve ark 1997; Sonni, 2002; Samur, 2008). Mineral maddelerin olumlu yönleri yanında olumsuz yönleri de vardır. Aşırı miktarda ya da uzun süreli mineral maddelerin vücuda alınımı toksik etkiler oluşturmaktadır.

Bakır (Cu) fazla alındığında karaciğer ve böbreklerde hasara yol açar. Ağır metallerin (arsenik, kadmiyum, kurşun, nikel) düşük dozları bile uzun süreli alındığında oldukça zararlıdır. Demirin fazlası insanlar için zehirleyicidir. Çünkü aşırı miktarda alınan iki değerli demir vücuttaki peroksitlerle reaksiyona girerek serbest radikaller oluşturabilmektedir (Tüzen, 2009). Antioksidan savunmada sisteminde yer alan Cu, Fe, Mn, Se ve Zn, enzimlerin kofaktörleridir. Örneğin; glutatyon peroksidazlar (GPx)'ın biyosentezlerinde sağlık için önemli ve hücreleri serbest radikallere karşı koruyan, temel iz elementlerden biri olan selenyuma ihtiyaç duymaktadır (Falandysz, 2008; Turlo ve ark., 2010).

Çalışmamızda *Plantago anatolica* bitkisinin toprak üstü kısımlarında elde edilen liyofilize ekstratlar ve toz drog'u major ve minör mineraller ile ağır metallerin de içinde olduğu 17 farklı element bakımından incelenmiştir. Ekstreler mineral bileşikler açısından zengin olup, özellikle K, Mg, Pb, Si ve Ca bileşikleri bulunmaktadır. Su bazlı ekstratların K, Mg ve Ca ekstraksiyonu açısından daha etkili oldukları göze çarpmaktadır. Bununla beraber, etanol çözgeni haricindeki organik çözgenlerin Pb ve Si ekstraksiyonu açısından etkin oldukları belirlendi. Ayrıca, ekstratlar V, Zn, Na ve Fe mineralleri açısından zengin içeriklere ve Ag, Ba, Cd, Co, Cu, Mn, Se ve Ti bileşikleri açısından sınırlı ve fakir kaynaklar oldukları tespit edildi.

Pereira ve ark. (2017) *P. coronopus* bitkisinin yapraklarının mineral içeriği daha araştırmış ve sodyum ve kalsiyum değerlerini yüksek seviyede tespit etmiştir. Guil-Guerrero (2001) *P. lanceolata*, *P. media* ve *P. major* bitkilerinin yapraklarında yüksek miktarda potasyum, orta seviyede kalsiyum, magnezyum, fosfor ve sodyum, düşük miktarda demir, bakır, çinko ve mangan olduğunu bildirmiştir. Yiğit (2013) *P. major* bitkisinin yapraklarında yüksek seviyede potasyum, kalsiyum ve magnezyum; orta seviyede demir ve düşük seviyede mangan, çinko ve bakır elementleri tespit etmiştir.

6.8. *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill Bitkisinde Tespit Edilen Fitokimyasal Bileşiklerin Biyolojik Etkileri

6.8.1. Antioksidan aktivite-Fitokimyasal ilişkisi

Fenolik bileşikler yapılarındaki fenollerin içerdikleri hidroksil gruplardan dolayı, antioksidan aktivite olarak rol oynar. Çünkü serbest radikalleri temizlemek için kolayca hidrojen transfer eder ve kararlı bileşiklere dönüştürürler (Miser-Salihoglu ve ark.,

2013). Fenolik bileşiklerin kombinasyonları genellikle tekil bileşiklere göre daha etkin antioksidan aktiviteleri göstermektedir. Örneğin; Gonçalves ve ark. (2015) *P.lagopus* bitkisinin total fenolik bileşiklerin ve verbaskosid bileşiğinin FRAP değerlerini karşılaştırılmış ve sonuç olarak total fenolik bileşiklerin FRAP değerlerinin, verbaskosid tekil bileşiğinin FRAP değerinden daha yüksek olduğunu bildirilmiştir. Çalışmamızda major fenolik bileşikler olarak belirlenen klorojenik asit, kafeik asit ve kemferol bileşiklerinin aktif antioksidan bileşikler oldukları literatürde bildirilmiştir (Çizelge 6.2)

Çizelge 6.2. Klorojenik asit, kafeik asit, kemferol bileşiklerin antioksidan aktiviteleri

Bileşiğin Adı	Aktivite Türü	Metod	Referans
Klorojenik asit	<i>İn vitro</i>	DPPH (IC ₅₀ : 2.799 µg/mL)	Yavaşer (2011)
		DPPH (IC ₅₀ : 16.79 µg/mL)	Kartini ve ark. (2014)
		DPPH (IC ₅₀ : 51.23 µg/mL).	Oboh ve ark. (2015)
		DPPH (IC ₅₀ : 1,11mM)	Villaño ve ark. (2005)
Kafeik asit	<i>İn vitro</i>	ORAC (6,63 µm/µm)	Dávalos ve ark. (2004)
		DPPH (IC ₅₀ : 8.65 µg/mL)	Kartini ve ark. (2014)
		DPPH (38.83 µg/mL)	Oboh ve ark. (2015)
Kemferol	<i>İn vitro</i>	DPPH (0,82 mM)	Villaño ve ark. (2005)
		DPPH (IC ₅₀ =2,612 µg/mL)	Yavaşer (2011)

Çalışmamızda kullanılan ardışık ve geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde, antioksidan aktivite yönünde ekstrelerimiz HAT ve SET mekanizması açısından aktif olduğunu tespit edildi. Ardışık fraksiyonlarda en yüksek oksijen radikal absorban kapasiteleri (ORAC) etanol ve asetonda tespit edildi. Bu durumun 280 ve 326 nm dalga boyundaki kromatografik yöntemde belirlenen fenolik özellikteki bileşikler sayesinde gerçekleştiği göze çarpmaktadır. Çünkü klorojenik ve kafeik asit bileşikleri en yüksek absorpsiyonu 326 nm'de, etanol ve aseton fraksiyonlarda göstermiştir. Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde ise en yüksek ORAC değeri infüzyon eksresinde tespit edildi. Ardışık fraksiyonlarda olduğu gibi total fenolik bileşik miktarı en fazla infüzyonda belirlendi. Yani tespit edilen fenolik bileşiklerin ORAC değerlerine önemli ölçüde katkı sağladığı söylenebilir. Ou ve ark. (2001), klorojenik asit ve kafeik asit bileşiklerinin HAT mekanizmasına ait oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAC) deneyinde en aktif antioksidan bileşikler arasında bulduklarını bildirilmiştir.

Tespit edilen total fenolik değerleri ile ORAC değerleri arasında orta seviyede bir ilişkinin olması, F-C değerlerine etki eden indirgeyici başka bileşiklerin (indirgeyici şekerler, protein vb.) gercek total fenolik değerlerinden sapmaya neden olması ile açıklanabilir. Zheng ve Wang (2003), indirgeyici şekerlerin ORAC deneyinde etkisiz bileşikler olduğu bildirilmişlerdir. Al-İsmail ve Aburjai (2004), kimyasal yapıları farklı olan fenolik bileşiklerin, farklı antioksidan aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir. FRAP ve DPPH sonuçlarına dayanarak ekstrelerin gösterdikleri farklı antioksidan aktivitelerin, ekstraksiyon esnasında ozcye geçebilen antioksidan özellik gösteren bileşiklerin miktarı ve bu bileşiklerin kimyasal yapılarında kaynaklandığını söylenbilir.

Çalışmamızda demir şelatlama aktivitesini, ardışık fraksiyonlarda en yüksek etanol; geleneksel yöntemde ise en yüksek değer infüzyon ekstresinde tespit edildi. Bu durum hem etanol hem de infüzyonda kafeik asit yanında klorojenik asit, apicenin ve kemferolün diğer ekstrelelere göre yüksek miktarda bulunması ile açıklanabilir. Çünkü, fenolik bileşiklerin yapısında bulunan fonksiyonel grupların pozisyonu ve miktarları demir şelatlama kapasitesini etkileyen önemli özelliklerdendir. Gülçin (2005), yapısında -OH, -SH, -COOH, -PO₃H₂, C=O, -NR₂, -S ve -O- fonksiyonel grupların en az iki tanesini bulunduran ve bu fonksiyonel gruplarına uygun yapı ve fonksiyonel kompozisyondaki fenolik bileşiklerin, demir şelatlama aktivitesinin daha iyi olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda ekstrelerde tespit edilen flavonoid bileşiklerinden apicenin antioksidan, anti-enflamatuar, antitmr, anti-genotoksik, anti-alerjik, nöroprotektif, kardiyoprotektif ve antidiyabetik gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri sergilemektedir ve bu aktiviteler apicenin bileşiğinin yüksek antioksidan aktivitesi ile ilişkilendirilmektedir (Zheng ve ark., 2005; Wu ve ark., 2014; Shukla ve Gupta, 2014; Harrison ve ark., 2014; Catarino ve ark., 2015; Yap, 2015; Labbe ve ark., 2015; Lee ve ark., 2016; Ali ve ark., 2017). Ekstrelerde tespit edilen bir diğer flavonoid bileşik olan kemferol içeren gıdaların tüketimi ile kanser ve kardiyovasküler gibi kronik hastalık riskini azalması arasında ilişki vardır. Tekil kemferol bileşiği ve kemferol içeren bitkiler yüksek antioksidan aktivite göstermektedir. Kemferol C halkasında 3 nolu pozisyonunda hidroksil grubuna sahiptir. Bu grup molekülün düzlemsel yapıda olmasını ve kemferolün DPPH radikali ile daha etkin düzeyde reaksiyona girmesini sağlar (Butkovic ve ark., 2004).

6.8.2. Enzim inhibisyonu-Fitokimyasal ilişkisi

Hidroksisinnamik asitler farmakolojik olarak önemli özelliklere sahiptirler. Örneğin hidroksisinnamik asitler antienflamatuar, antioksidan, enzim inhibisyonu, antimikrobiyal, antialerjik, sitotoksik antitümör, antimutajenik, kardiyovasküler, antidiyabetik, antiobezitik gibi çeşitli sağlık yararları vardır (Alam ve ark., 2016). Çalışmamız materyali olan *P. anatolica* bitkisinde tespit edilen hidroksisinnamik asitler (kafeik asit ve klorojenik asit) ve flavonoidler (kemferol ve apicenin)'in sağlık açısından faydalı olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir (Çizelge 6.3-6.5).

Çizelge 6.3. Klorojenik ve kafeik asitlerin diyabet üstündeki etkisi

Bileşimin Adı	Aktivite Türü	Etki mekanizması	Referans
Klorojenik asit	<i>In vitro</i>	α -amilaz enziminin inhibisyonu (IC ₅₀ : 9.10 μ g/mL)	Oboh ve ark. (2015)
	<i>In vitro</i>	α -glukozidaz enziminin inhibisyonu (IC ₅₀ : 9.24 μ g/mL)	Oboh ve ark. (2015)
	<i>In vivo</i>	Açlık kan şekeri seviyesini dengeler	Ong ve ark. (2012)
	<i>In vivo</i>	Hipoglisemik ve antidiyabetik etkisi var	Karthikesan ve ark.
	<i>In vivo</i>	Kan şekeri seviyesini düşür	Jung ve ark. (2006)
Kafeik asit	<i>In vivo</i>	Erkek plazmasında insülin düzeyini artırdı	Cy ve ark. (2010)
	<i>In vitro</i>	α -amilaz enziminin inhibisyonu (IC ₅₀ : 3.68 μ g/mL)	Oboh ve ark. (2015)
	<i>In vitro</i>	α -glukozidaz enziminin inhibisyonu (IC ₅₀ : 4.98 μ g/mL)	Oboh ve ark. (2015)

Çizelge 6.4. Klorojenik ve kafeik asitlerin lipid düşürücü etkisi

Bileşimin Adı	Aktivite Türü	Etki mekanizması	Referans
Klorojenik asit	<i>In vivo</i>	Yağ asit sentezinin aktivitesini azaltır, plazma kolesterolü düşürür.	Cho ve ark. (2010)
		Plazma lipidini; kolesterol, serbest yağ asitleri ve trigliseritleri düşürür.	Karthikesan ve ark. (2010)
Kafeik Asit	<i>In vivo</i>	Plazma kolesterol ve trigliseritleri azaltır. Karaciğer yağlanmasında iyileşme.	Bezerra ve ark. (2012)

Çizelge 6.5. Klorojenik asit, kafeik asit ve kemferolün obezite ve vücuttaki fazla kiloya etkisi

Bileşimin Adı	Aktivite Türü	Etki mekanizması	Referans		
Klorojenik asit	<i>In vivo</i>	Vücut ağırlığını, iç organlardaki yağ kitlesini, plazma leptin ve insülin seviyesini düşürür. Yağ asidi sentezi, 3-hidroksi-3-metilglutaryl CoA redüktaz ve asil-CoA: kolesterol asiltransferaz aktivitesini inhibe eder. Karaciğerde yağ asidi β-oksidasyon aktivitesi artar. Plazma ve doku trigliseritleri, serbest yağ asitlerini azaltır. Karaciğerde lipid birikimini engeler Total kolesterol, trigliseritleri, yüksek yoğunluklu lipoprotein ve düşük yoğunluklu lipoproteini düşürür Intracellular trigliseritleri inhibe eder (% 25.1) Intracellular trigliseritleri inhibe eder (% 25.1) Karaciğerde yağ emilimini inhibe eder	Cho ve ark. (2010) Karthikesan ve ark. (2010)		
		Hücre kültürü	Gliserol-3-fosfat dehidrogenaz (GPDH) aktivitesi inhibe eder (%32.0)	Hsu ve Yen (2007)	
		Klorojenik asit (<i>Eryngium borrmuelleri</i>)	<i>In vitro</i>	Pankreatik lipaz enziminin inhibisyonu (IC ₅₀ : 5.01 mg/mL) Pankreatik lipaz enziminin inhibisyonu (IC ₅₀ : 13.8 µg/mL)	Dalar ve ark. (2014)
		Klorojenik asit (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	<i>In vivo</i>	Gliserol-3-fosfat dehidrogenaz (GPDH) aktivitesini inhibe eder.	Bustanji ve ark. (2010)
Kafeik asit	<i>In vivo</i>	Hücre kültürü	Intracellular trigliseritleri inhibe eder (%25.8)	Juman ve ark. (2011)	
			Gliserol-3-fosfat dehidrogenaz (GPDH) aktivitesi inhibe eder (%34.6)	Hsu ve Yen (2007)	
			Vücut ağırlığını, iç organlardaki yağ kitlesini, plazma leptin ve insülin seviyesini düşürür Yağ asidi sentezi, 3-hidroksi-3-metilglutaryl CoA redüktaz ve asil-CoA: kolesterol asiltransferaz aktivitesini inhibe eder Pankreatik lipaz enziminin inhibisyonu (IC ₅₀ : 10µM)	Cho ve ark (2010)	
Kemferol	<i>In vitro</i>	Pankreatik lipaz enziminin inhibisyonu (IC ₅₀ : 21.5µM)	Karamać ve Amarowicz (1996) Zhang ve ark. (2015)		

Bu literatür bildirişleri klorojenik ve kafeik asit bileşiklerinin trigliserit miktarında önemli ölçüde azalma başta olmak üzere aktif lipid düşürücü ve oluşumunu engelleyici ajanlar olduklarını göstermektedir. Çalışmamızda klorojenik ve kafeik asit bileşiklerinin en yüksek seviyelerde bulunduğu etanol fraksiyonu ve infüzyon

ekstresinin en aktif lipaz inhibitörleri olması ve kayda değer bir şekilde oksijen radikali oluşumunu engellemeleri, bu bileşiklerin antilipaz aktivitelerine en yüksek seviyede katkıda bulunan bileşikler olduklarına ve trigliserit oluşumunu etkin lipaz inhibisyonu üzerinden gerçekleştirebileceklerini göstermektedir.

Plantago anatolica bitkisinde tespit edilen linolenik asit, palmitik asit ve benzotiazol türevi bileşikleri birçok biyolojik aktiviteye sahiptir: Linolenik asit; cilt hastalıklarında, egzama ve menstrual ağrılarda kullanılır. Sinir sistemine etki eden prostoglandin için ve kan dolaşımı için enerji kaynağı, metabolizma ve hormon düzenleyici ve mide sıvısının fazla üretilmesini engelleyici özelliktedir (Rafajlovska ve ark., 2001). Linolenik asit, serum kolesterol, trigliseritler ve LDL kolesterol seviyelerini düşürerek; arteri-oloslroz, kanser ve alerjik hastalık riskini azaltır (Lee ve ark., 2002). Palmitik asit; hayvanlarda, sebzelerde ve aynı zamanda insan sütü yağında doğal olarak bulunan yağ asididir (Fattore ve Fanelli, 2013). Palmitik asit *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*'e karşı antibakteriyel ve antifungal ajanlar olarak etki gösterdiği tespit edilmiştir (Agoramoorthy ve ark., 2007). Benzotiazol; antikanser, antimikrobiyal, antidiyabetik, anti-enflamatuvar, antiviral, antitüberkül gibi biyolojik aktivitelere sahiptir (Ali ve Siddiqui, 2013). Bununla beraber, ekstrelerde tespit edilen yağ asidi ve uçucu bileşiklerin miktarlarının oldukça düşük düzeyde olması ekstrelerin gösterdiği yüksek antioksidan ve enzim inhibisyonu aktivitelerinin fenolik bileşiklerden sonra ikincil olarak katkıda bulduklarını göstermektedir.

Sonuç olarak farmakobotanik çalışmalar *P. anatolica* bitkisinin diğer *Plantago* türlerinden (*P. atrata*, *P. lanceolata*, *P. major*, *P. media*) scapusun tüysüz, 7 damarlı, belirgin bir şekilde 11 oluklu ve tohum yüzeyinin peteksi oluşu ile morfolojik olarak köklerin inulin sferokristallerini içermesi, skapusun enine kesitte 11 oluklu ve tüysüz, yaprak sapının enine kesitte parankimatik hücreler içine gömülü 7 gelişmiş ve 2 tane az gelişmiş iletim demeti ile yaprağın alt ve üst yüzeylerinde anomositik ve polositik tipte stomaların olması ile anatomik olarak farklı olduğunu göstermiştir. Farmakognozok çalışmalar neticesinde *P. anatolica* bitki örneklerinden elde edilen ekstrelerin fenolik (kafeik asit, klorojenik asit, apicenin ve kemferol) ve lipofilik bileşikler (palmitik asit, linolenik asit ve benzotiazol) yönünden zengin kaynaklar olduğu tespit edilmiştir. Kafeik asit başta olmak üzere fenolik bileşikler yönünden zengin olarak tespit edilen ekstreler içerisinde, etanol fraksiyonu ve infüzyon ekstresi oldukça yüksek ORAC

(1923 ve 1010 μmol Troloks eşdeğeri/g ekstre), FRAP (891 ve 660 $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ /g ekstre), DPPH (IC50: 0,87 ve 0,34 mg/ml), demir şelatlama (IC50: 0,09 mg/ml), orta düzeyde antiamilaz (IC50: 4,31 ve 5,32 mg/ml), yüksek antiglukozidaz (IC50: 0,76 ve 0,64 mg/ml) ve antilipaz (IC50: 0,07 ve 0,04 mg/ml) aktiviteleri göstermiştir. Diğer *Plantago* türlerinden farmakobotanik açıdan farklı olan *Plantago anatolica* bitkisi fenolik ve lipofilik bileşikler açısından zengin bir kaynak olup, bu bitkiden elde edilen etanol fraksiyonu ve infüzyon ekstresi yüksek antioksidan ve enzim inhibitörlüğü özelliklerinden dolayı *in vivo* çalışmalar için seçilmiş aktif ekstreler olarak kullanılabilir.



KAYNAKLAR

- Abate, L., Abebe, A., Mekonnen, A., 2017. Studies on antioxidant and antibacterial activities of crude extracts of *Plantago lanceolata* leaves. *Chemistry International*, **3**(3):277.
- Afifi, M.S.S., O. M., Maatooq, G. T., 1990. Phytochemical study of two *Plantago* species. Part I: Sterols and flavonoids. *Mansoura Journal of Pharmaceutical Sciences*, **6**(4):1-15.
- Afifi, M.S.Z., Mona, G., Hassan, Madiha, A., 2000. Phytochemical investigation of the aerial parts of *Plantago ovata*. *Mansoura Journal of Pharmaceutical Sciences*, **16**(2):178-190.
- Afifi, M.S.A.A., Mohammed, M. A., Zaghloul, Ahmed, M., Ahmad, Mamdouh M., Kinghorn, A. D., Zaghloul, Mona, G., 2001. Chemical constituents of *Plantago squarrosa*. *Mansoura Journal of Pharmaceutical Sciences*, **17**(1):65-84.
- Agoramoorthy, G., Chandrasekaran, M., Venkatesalu, V., Hsu, M.J. 2007. Antibacterial and antifungal activities of fatty acid methyl esters of the blind-your-eyemangrove from India. *Braz. J. Microbiol.*, **38**: 739–742.
- Ahmed, Z.F., Hammouda, F.M., Rizk, A.M., Wassel, G.M., 1968. Phytochemical studies of egyptian *Plantago* species. *Planta Medica*, **4**:404–410.
- Alam, Md.A., Subhan, N., Hossain, H., Hossain, M., Reza, H.M., Rahman, MdM., Ullah, M.O., 2016. Hydroxycinnamic acid derivatives: a potential class of natural compounds for the management of lipid metabolism and obesity. *Nutrition & Metabolism*, **13**:27.
- Al-İsmail, K.M., Aburjai, T., 2004. Antioxidant activity of water and alcohol extracts of chamomile flowers, anise seeds and dill seeds. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, **84**:173-178.
- Ali, R., Siddiqui, N., 2013. Biological Aspects of Emerging Benzothiazoles: A Short Review. *Journal of Chemistry*, Vol. 2013, ID 345198, 12s.
- Ali, F., Naz, F., Jyoti, S., Siddique, Y.H., 2017. Health functionality of apigenin: A review. *International Journal of Food Properties*, **20**(6):1197-1238.
- Altundag, E., Ozturk, M., 2011. Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia–Social and Behavioral Sciences*, **19**:756–777.
- Alves, R. R. N., Rosa, I. L., 2007. Biodiversity, traditional medicine and public health: where do they meet? *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, **3**(14):1-9.
- Al Shukor, N., Van Camp, J., Gonzales, GB., Staljanssens, D., Struijs, K., Zotti, MJ., Raes, K., Smagghe, G., 2013. Angiotensin-converting enzyme inhibitory effects by plant phenolic compounds: a study of structure activity relationships. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **61**:11832–11839.
- Amakura, Y., Yoshimura, A., Yoshimura, M., Yoshida, T., 2012. Isolation and characterization of phenolic antioxidants from *Plantago* herb. *Molecules*, **17**: 5459–5466.
- Anıl, M., 2006. Antioksidan Olarak Tahıllar. *Hububat - Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi*, 7-8 Eylül 2006, Gaziantep.
- Apak, R., 2005. “Gıda maddelerinde toplam antioksidan kapasite tayin yöntemleri arasında Cu(II) indirgeyici antioksidan kapasite CUPRAC.” *XIX. Ulusal Kimya Kongresi*, Kuşadası, 30 Eylül-4 Ekim.

- Apostolidis, E., Kwon, Y.-I., Shetty, K., 2006. Potential of cranberry-based herbal synergies for diabetes and hypertension management. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, **15**(3):433-441.
- Armand, M., 2007. Lipases and lipolysis in the human digestive tract: where do we stand? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.*, **10**:156–164.
- Arora, A., Nair, M.G., Strasburg, G.M., 1988. Structure activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radical Biology and Medicine*, **24**:1355-1363.
- Asgar, A., 2013. Anti-diabetic potential of phenolic compounds: A review. *International Journal of Food Properties*, **16**:91–103.
- Ayaffor, J.F., Tehuendem, M.H.K., Nyasse, B., 1994. Novel active diterpenoids from *Afromomum aulacocapos*. *Journal of natural products*, **57**:917-923.
- Bajer, T., Janda, V., Bajerová, P., Kremr., D., Eisner, A., 2016. Chemical composition of essential oils from plantago lanceolata L. leaves extracted by hydrodistillation. *J. Food Sci Technol*, **53**(3):1576–1584.
- Balasuriya, B.W., Rupasinghe, H.P.V., 2011. “Plant flavonoids as angiotensin converting enzyme inhibitors in regulation of hypertension”, *Functional Foods in Health and Disease*, **5**:172-188.
- Baytop, T., 1999. *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 480.
- Beara, I.N., Lesjak, M.M., Jovin, E.D., Balog, K.J., Anačov, G.T., Orčić, D.Z., Mimica-Dukić, N.M., 2009. Plantain (*Plantago* L.) species as novel sources of flavonoid antioxidants. *J. Agric. Food Chem.*, **57**:9268–9273.
- Beara, I. N., Lesjak, M. M., Orčić, D. Z., Simin, N. Đ., Četojević-Simin, D. D., Božin, B. N., Mimica-Dukić, N. M., 2012. Comparative analysis of phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of two closely-related Plantain species: *Plantago altissima* L. and *Plantago lanceolata* L.. *LWT – Food Science and Technology*, **47**(1):64–70.
- Bezerra, RMN., Veiga, LF., Caetano, AC., Rosalen, PL., Amaral, MEC., Palanch, AC., de Alencar, SM., 2012. Caffeic acid phenethyl ester reduces the activation of the nuclear factor κ B pathway by high-fat diet-induced obesity in mice. *Metabolism*. **61**(11):1606–14.
- Birari, R. B., Bhutani, K. K., 2007. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discovery Today*, **12**:879-889.
- Bruneton, J., 1999. *Pharmacognosy, Phytochemistry and Medicinal Plants*. Intercept. Ltd. England, U.K.
- Buchholz, T., Melzig, M., 2015. “Polyphenolic Compounds as Pancreatic Lipase Inhibitors.” *Planta Medica*, **81** (10):771-783.
- Bustanji, Y., Issa, A., Mohammad, M., Hudaib, M., Tawah, K., Alkhatib, H., Almasri, I., Al-Khalidi, B., 2010. Inhibition of hormone sensitive lipase and pancreatic lipase by *Rosmarinus officinalis* extract and selected phenolic constituents. *J. Med. Plant. Res.*, **4**:2235-2242.
- Butkovic, V., Klasinc, L., Bors, W. 2004. Kinetic study of flavonoid reactions with stable radicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**:2816-2820.
- Büyüktuncel, E., 2013. “Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler.” *Marmara Pharmaceutical Journal*, **17**:93-103.

- Cai, X., Yu, J., Xu, L., Liu, R., Yang, J., 2015. The mechanism study in the interactions of sorghum procyanidins trimer with porcine pancreatic α -amylase. *Food Chem*, **174**:291–298.
- Cam, M. ve Hışıl, Y., 2003. “Gıdalardaki flavonoidler ve önemleri,” **3. Gıda Mühendisliği Kongresi**, Ankara, 2-4 Ekim, s. 67-82.
- Cao, G., Prior, R. L., 1999. The measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. *Methods in Enzymology*, **299**:50-62.
- Cardozo, M. L., Ordoñez, R. M., Alberto, M. R., Zampini, I. C., Isla, M. I., 2011. “Antioxidant and anti-inflammatory activity characterization and genotoxicity evaluation of Ziziphus mistol ripe berries, exotic Argentinean fruit”. *Food Research International*, **44**:2063–2071.
- Catarino, D.M., Alves-Silva, J., Pereira, R.O., Cardoso, M.S., 2015. Antioxidant Capacities of Flavones and Benefits in Oxidative-Stress Related Diseases. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **15**:105–119.
- Chalmers, J., MacMahon, S., Mancia, G., Whitworth, J., Beilin, L., Hansson, L., Neal, B., Rodgers, A., Ni Mhurchu, C., Clark, T., 1999. *World Health Organization – international society of hypertension guidelines for the management of hypertension*. Guidelines sub-committee of the World Health Organization. Clinical and Experimental Hypertension. **21**:1009–60.
- Chen, L., Kang, YH., 2013. Anti-inflammatory and antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum* L.) stalk extracts: Comparison of pericarp and placenta extracts. *J Funct Food*, **5**:1724-31.
- Chiasson, J.L., Josse, R.G., Gomis, R., Hanefeld, M., Karasik, A., Laakso, M., 2002. Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: *the STOP-NIDDM randomized trial*. *Lancet*, **359**:2072-2077.
- Cho, A.S., Jeon, S.M., Kim, M.J., Yeo, J., Seo, K.I., Choi, M.S., Lee, M.K., 2010. Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food Chem Toxicol*, **48**(3):937–43.
- Choi, S.-Y., Jung, S.-H., Lee, H.-S., Park, K.-W., Yun, B.-S., Lee, K.-W., 2008. Glycation inhibitory activity and the identification of an active compound in *Plantago asiatica* extract. *Phytother. Res.*, **22**: 323–329.
- Copeland, R. A., 2000. *Enzymes: A practical introductions to structure, mechanism and data analysis*. 2nd ed. New York: Wiley, 416 s.
- Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Review*, **12**:564–582.
- Crozier, A., Jaganath, I. B., Clifford, M. N., 2009. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, **26**(8):1001-1043.
- Cy, C., Mc, M., Kc, C., Mc, Y., 2010. Anti-glycative and anti-inflammatory effects of caffeic acid and ellagic acid in kidney of diabetic mice. *Mol Nutr Food Res.*, **54**(3):388–95.
- Dai, J., Mumper, R. J., 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, **15**:7313-7352.
- Dalar, A., Türker, M., Konczak, I., 2012. Antioxidant capacity and phenolic constituents of *Malva neglecta* Wallr. and *Plantago lanceolata* L. from Eastern Anatolia Region of Turkey. *Journal of Herbal Medicine*, **2**:42-51.

- Dalar, A., Konczak, I., 2013. Phenolic contents, antioxidant capacities and inhibitory activities against key metabolic syndrome relevant enzymes of herbal teas from Eastern Anatolia. *Industrial Crops and Products*, **44**:383-390.
- Dalar, A., 2013. *Eryngium bornmuelleri* Nab. **Bitkisinin Fenolik Bileşiklerinin Tanımlanması ve Potansiyel Sağlık Değerlerinin Araştırılması** (doktora tezi). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Dalar, A., Türker, M., Zabarar, D., Konczak, I., 2014. Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Eryngium bornmuelleri* leaf. *Plant Foods Hum Nutr*, **69**:30-36.
- Dalar, A., Uzun, Y., Turker, M., Mukemre, M., Konczak, I., 2016. Health attributes of ethnic vegetables consumed in the Eastern Anatolia region of Turkey: Antioxidant and enzyme-inhibitory properties. *J Ethn Foods*, **3**:142-149.
- Danaei, G., Finucane, M. M., Lu, Y., Singh, G. M., Cowan, M. J., Paciorek, C. J., Lin, J. K., Farzadfar, F., Khang, Y. H., Stevens, G. A., Rao, M., Ali, M. K., Riley, L. M., Robinson, C. A., Ezzati, M., 2011. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *The Lancet*, **378**:31-40.
- Dávalos, A., Gómez-Cordovés, C., and Bartolomé, B., 2004. Extending applicability of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC-Fluorescein) assay. *J. Agric. Food Chem.*, **52**:48–54.
- Davis, P. H., 1965-85. *Flora of Turkey and East Aegean Islands*. Vol. 1-9. Edinburgh University Press. Edinburgh.
- Debrauwer, L.M., C., Babadjamian, A., Vidal-Ollivier, E., Laget, M., Salmona, G., Afzal-Raffi, Z., 1989. Study in the chemical constituents of *Plantago cynops* L. and antibacterial evaluation of verbascoside. *Pharmaceutica Acta Helveticae*, **64**(7):183-187.
- Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C. ve Almeida, M.L.M. 1994. "Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **315**:161-169.
- Donoghue, M., Hsieh, F., Baronas, E., Godbout, K., Gosselin, M., Stagliano, N. vd., 2000. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9 3. *Circ Res*. **87**:E1.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N., 2000. *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı*, Yayın no: 18, Ankara.
- Eloff, J.N., 1998. Which extractant should be used for screening and isolation of antimicrobial components from plants? *Journal of Ethnopharmacology*, **60**:1-8.
- Ersöz, T., 2010. Bitkisel Ürünler ve Güvenirlikleri. *Bitkilerle Tedavi Sempozyomu* (Zeytinburnu-Türkiye) Bildiriler, (5-6 Haziran 2010), 89-93.
- ESCOP (European Scientific Cooperative on Phytotherapy), 2003. *The scientific foundation for herbal medicinal products*.2. Stuttgart.
- Exteberria, U., Garza, A. L., Campión, J., Martínez, J. A., Milagro, F. I., 2012. "Antidiabetic effects of natural plant extracts via inhibition of carbohydrate hydrolysis enzymes with emphasis on pancreatic alpha amylase", *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, **16** (3):269-297.
- Falandysz, J., 2008. Selenium in edible mushrooms. *J. Environ. Sci. Health C Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.*, **26**:256-299.

- Fattore, E., Fanelli, R., 2013. Palm oil and palmitic acid: a review on cardiovascular effects and carcinogenicity. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **64**:648–659.
- Ferrazzano, G. F., Amato, I., Ingenito, A., Zarelli, A., Pinto, G., Pollio, A., 2011. Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules*, **16**:1486-1507.
- Fiz, M.P.V., Lanza, A.M.D., Matellano, L.F., 2000. Polyphenolic compounds from *Plantago lagopus* L. *Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences*, **55**(11-12):877-880.
- Fleer, H., Verspohl, E.J., 2007. Antispasmodic activity of an extract from *Plantago lanceolata* L. and some isolated compounds. *Phytomedicine*, **14**:409–415.
- Gálvez, M., Martín-Cordero, C., Houghton, P.J., Ayusom, M.J., 2005a. Antioxidant activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species. *J. Agric. Food Chem.*, **53**:1927–1933.
- Gálvez, M., Martín-Cordero, C., Houghton, P.J., Ayuso, M.J., 2005b. Antioxidant activity of *Plantago bellardii* All. *Phytother. Res*, **19**:1074–1076.
- Garza, A. L., Milagro, F. I., Boque, N., Campión, J., Martínez, J. A., 2011. Natural inhibitors of pancreatic lipase as new players in obesity treatment. *Planta Medica*, **77**:773-785.
- Genç, Y., 2011. *Plantago Lagopus L. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar*. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Programı, (Yüksek Lisans Tezi), 144s.
- Gertsch, J., 2009. How is the science in ethnopharmacology? Historical perspectives and epistemological problems. *Journal of Ethnopharmacology*, **122**:177-183.
- Gholamhoseinian, A., Shahouzehi, B., Sharifi-far, F., 2010. Inhibitory effect of some plant extracts on pancreatic lipase. *International Journal of Pharmacology*, **6**(1):18–24
- Gonçalves, S., Grevenstuck, T., Martins, N., Romano, A. 2015. Antioxidant activity and verbascoside content in extracts from two uninvestigated endemic *Plantago* spp. *Industrial Crops and Products*, **65**:198–202.
- Gonçalves, S., ve Romano, A., 2016. “The medicinal potential of plants from the genus *Plantago* (Plantaginaceae)”. *Industrial Crops and Products*, **83**:213–226.
- Gonçalves, S., Romano, A., 2017. *Inhibitory Properties of Phenolic Compounds Against Enzymes Linked with Human Diseases*. Erişim: <http://dx.doi.org/10.5772/66844>.
- Graham, L. E., Graham, J. M., Wilcox, L. W., 2008. *Plant Biology*. Second edition. Prentice Hall, Inc., New Jersey, USA. 580.
- Gülçin, İ., 2005. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, **217**:213-220.
- Günaydın, B., Çelebi, H., 2003. Genel Anesteziklerin Serbest Radikaller Ve Antioksidanlarla İlişkileri. *Anestezi Dergisi*, **11**:87-98.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T., (edlr.), 2012. *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul.
- Guil-Guerrero vd., 1997. Nutritional & toxic factors in selected wild edible plants. *Plant foods, Hum. Nutr.* **51**(2):99–107.
- Guil-Guerrero, J.L., 2001. Nutritional composition of *Plantago* species (*P. major* L., *P. lanceolata* L., and *P. media* L.). *Ecology of Food and Nutrition*, **40**(5):481-495.

- Gurib-Fakim, A., 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, **27**:1-93.
- Gutowski, M., Kowalczyk, S., 2013. A study of free radical chemistry: Their role and pathophysiological significance. *Acta Biochimica Polonica*, **60**:1-16.
- Gutteridge, J. M. C., Halliwell, B., 2010. Antioxidants: Molecules, medicines and myths. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **393**:561-564.
- Halliwell, B., 2011. Free radicals and antioxidants – quo vadis? *Trends Pharmacological Sciences*, **32**:125-130.
- Hara, A., Radin, N.S., 1978. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical biochemistry*, **90**(1):420-426.
- Harborne, J.B., Williams, C.A., 1971. 6-Hydroxyluteolin and scutellarein as phyletic markers in higher plants. *Phytochemistry*, **10**:367-378.
- Harrison, M.E., Coombs, M.R.P., Delaney, L.M., Hoskin, D.W., 2014. Exposure of Breast Cancer Cells to a Subcytotoxic Dose of Apigenin Causes Growth Inhibition, Oxidative Stress, and Hypophosphorylation of Akt. *Experimental and Molecular Pathology*, **97**:211-217.
- Hsu, CL., Yen, GC., 2007. Effects of Flavonoids and Phenolic Acids on the Inhibition of Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes. *J. Agric. Food Chem.*, **55**:8404-8410.
- Hügel, HM., Jackson, N., May, B., Zhang, AL., Xue, CC., 2016. Polyphenol protection and treatment of hypertension. *Phytomedicine*, **23**:220-231.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**:1841-1856.
- Hu, B., Cui, F., Yin, F., Zeng, X., Sun, Y., Li, Y., 2015. Caffeoylquinic acids competitively inhibit pancreatic lipase through binding to the catalytic triad. *Int. J. Biol. Macromol.*, **80**:529-535.
- Hussain, A.I., Anwar, F., Hussain Sherazi, S.T., Przybylski, R., 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem.*, **108**:986-995.
- IUCN, 2010. IUCN Standards and Petitions Subcommittee. **Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria**. Version 8.1. Prepared by the Standards and Petitions Subcommittee.
- Jankovic, T., Zdunic, G., Beara, I., Balog, K., Pljevljakusic, D., Stesevic, D., Savikin, K., 2012. "Comparative study of some polyphenols in *Plantago* species." *Biochemical Systematics and Ecology*, **42**:69-74.
- Jones, W.P., Kinghorn, A.D., 2005. Natural product isolation: Extraction of Plant Secondary Metabolites. *Methods in Biotechnology*, **20**:323-351.
- Joyo, M., Ali, S.S., Kazi, T., Kazi, G.H., 1997. Determination of trace elements in *Helotropium europaeum* L. *Hamdard Medicus*, **40**(4):50-53.
- Juman, S., Yasui, N., Okuda, H., Ueda, A., Negishi, H., Miki, T., Ikeda, K., 2011. Caffeic acid phenethyl ester suppresses the production of adipocytokines, leptin, tumor necrosis factor -alpha and resistin, during differentiation to adipocytes in 3 T3-L1 cells. *Biol Pharm Bull.* **34**(4):490-4.
- Jung, UJ., Lee, MK., Park, YB., Jeon, SM., Choi, MS., 2006. Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in db/db mice. *J Pharmacol Exp Ther*, **318**(2):476-83.
- Kaila, B., Raman, M., 2008. Obesity: a review of pathogenesis and management strategies. *Can J Gastroenterol*, **22**:61-8.

- Kaisoon, O., Konczak, I., Siriamornpun, S., 2012. Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. *Food Research International*, **46**(2):563-571.
- Karafakoğlu, Y.S., 2004. Tütün çalışanlarında oksidan-antioksidan durum. *The Medical Journal of Kocatepe*, **5**:7.
- Karamac, M., Amarowicz, R., 1996. Inhibition of pancreatic lipase by phenolic acids-examination in vitro. *Z. Naturforsch*, **51**:903-905.
- Karthikesan, K., Pari, L., Menon, VP., 2010. Antihyperlipidemic effect of chlorogenic acid and tetrahydrocurcumin in rats subjected to diabetogenic agents. *Chem. Biol. Interact.*, **188**(3):643-50.
- Kartini, Piyaviriyakul, S., Siripong, P., Vallisuta, O., 2014. HPTLC simultaneous quantification of triterpene acids for qualitycontrol of *Plantago major* L. and evaluation of their cytotoxic and antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, **60**:239-246.
- Kaval, İ., Behçet, L., Çakılcıoğlu, U., 2014. Ethnobotanical study on medicinal plants in Geçitli and its surrounding (Hakkari-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, **155**:171-184.
- Kawashty, S.A., Gamal-el-din, E., Abdalla, M.F., Saleh, N.A.M., 1994. Flavonoids of *Plantago* species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, **22**:729-733.
- Kaya, A., 2010. Tıbbi Bitkiler ve Etnobotanik Çalışmalar. **Bitkilerle Tedavi Sempozyomu** (Zeytinburnu-Türkiye), Bildiriler, (5-6 Haziran 2010), 11-18.
- Keha, E.E., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2005. *Biyokimya*. Erzurum, Türkiye.
- Kinghorn, DA., 2001. Pharmacognosy in the 21st century. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **53**:135-148.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**:3954-3962.
- Konczak, I., Yoshimoto, M., Hou, D-X., Terahara, N., Yamakawa, O. 2003. "Potential Chemopreventive Properties of Anthocyanin-rich Aqueous Extracts from in vitro Produced Tissue of Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**:5916-5922.
- Konczak, I., Zabarás, D., Dunstan, M., Aguas, P., 2010. Antioxidant capacity and phenolic compounds in commercially grown native Australian herbs and spices. *Food Chemistry*, **122**:260-266.
- Kumar, S., Kumar, V., Rana, M., Kumar, D., 2012. Enzyme inhibitors from plants: an alternate approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Communications*, **2**(2):18-33.
- Labbe, D.P., Zadra, G., Ebot, E.M., Mucci, L.A., Kantoff, P.W., Loda, M., Brown, M., 2015. Role of diet in prostate cancer: The epigenetic link. *Oncogene*, **34**:4683-4691.
- Lattanzio, V., Kroon, P., Quideau, S., Treutter, D., 2008. Recent Advances in Polyphenol Research, Vol. 1, Chap. 1. *Plant Phenolics- Secondary metabolites with diverse functions* (Editors: F. Daayf, V. Lattanzio). Blackwell Publishing, West Sussex, UK. 393.
- Lee, J.Y., Kim, Y.S., Shin, D.H., 2002. Antimicrobial synergistic effect of linolenic acid and monoglyceride against *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. *J. Agric. Food Chem.*, **50**:2193-2199.
- Lee, Y.M., Lee, G., Oh, T.I., Kim, B.M., Shim, D.W., Lee, K.H., Lim, J.H., 2016. Inhibition of glutamine utilization sensitizes lung cancer cells to apigenin-

- induced apoptosis resulting from metabolic and oxidative stress. *International Journal of oncology*, **48**:399-408.
- Li, M.Z., Yonghe, Pu Huishan, Li, Jingdao; Zheng, Yunhua. 1995. Isolation and structure identification of liposoluble chemical constituents in rhizome of *Plantago asiatica* L. *Yanbian Yixueyuan Xuebao*, **18**(2):85-87.
- Li, Y. G., Tanner, G., Larkin, P., 1996. The DMACA-HCL protocol and the threshold proanthocyanidin content for bloat safety in forage legumes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **70**:89-101.
- Li, S-Y., Chang, CQ., Ma, FY., Yu, CL., 2009. Modulating effects of chlorogenic acid on lipids and glucose metabolism and expression of hepatic peroxisome proliferator-activated receptor- α in golden hamsters Fed on high Fat diet. *Biomed Environ Sci.*, **22**(2):122–9.
- Liu, R. H., 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *Journal of Nutrition*, **134**(12):3479-3485.
- Li, YQ., Yang, P., Gas, F., Zhang, ZW., Wu, B., 2011. Probing the interaction between 3 flavonoids and pancreatic lipase by methods of fluorescence spectroscopy and enzymatic kinetics. *Eur Food Res Technol*, **233**:63-9.
- MacDonald-Wicks, L.K., Wood, L.G., Garg, M.L., 2006. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: a review. *J. Sci. Food Agric.*, **86**:2046–2056.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., Salunkhe, D.K., 1996, Food antioxidants: *Technological, toxicological, health perspective*, 1-5.
- Mai, T. T., Thu, N. N., Tien, P. G., Chuyen, N. V., 2007. Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of Vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, **53**:267-276.
- Mamamadov, R., 2014. *Tohumlu Bitkilerde sekonder Metabolitler*, Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmalık Tic. Ltd. Şti, Ankara, 412s.
- Maksytina, N.P., 1971. Baicalein and scutellarein derivatives in the leaves of *Plantago major*. *Chemistry of Natural Compounds*, **7**:352.
- Martin, KR., Appel, CL., 2010. Polyphenols as dietary supplements: a doubleedged sword. *Nutrition and Dietary Supplements*, **2**:1-12.
- Martinez-Gonzalez, AI., Diaz-Sanchez, AG., de la Rosa, LA., Vargas-Requena, CL., Bustos-Jaimes, I., Alvarez-Parrilla, E., 2017a. Polyphenolic compounds and digestive enzymes: in vitro non-covalent interactions. *Molecules*, **22**:669.
- Martinez-Gonzalez, AI., Alvarez-Parrilla, E., Diaz-Sanchez, AG., de la Rosa, LA., Nunez-Gastelum, JA., Vazquez-Flores, AA., Gonzalez-Aguilar. GA., 2017b. *In vitro* Inhibition of Pancreatic Lipase by Polyphenols: A Kinetic, Fluorescence Spectroscopy and Molecular Docking Study. *Food Technol. Biotechnol*, **55**(4):519-530.
- Mathew, S. and Abraham, T.E., 2006. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extracts assayed by different methodologies , *Food and Chemical Toxicology*, **44**:198-206.
- Matsui, T., Ueda, T., Oki, T., Sugita, K., Terahara, N., Matsumoto, K., 2001. α -Glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 1. Survey of natural pigments with potent inhibitory activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**:1948-1951.

- Mazza, G., Fukumoto, L., Delaquis, P., Girard, B., Ewert, B., 1999. Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**:4009-4017.
- Mazzutti, S., Riehl, C.A.S., Ibañez, E., Ferreira, R.S., 2017. Green-based methods to obtain bioactive extracts from *Plantago major* and *Plantago lanceolata*. *J. of Supercritical Fluids*, **119**:211–220.
- Mentreddy, SR., 2007. Medicinal plant species with potential antidiabetic properties. *J. Sci. Food Agric.*, **87**:743-750.
- Michalska, A., Ceglinska, A., Amarowicz, R., Piskula, M. K., Szawara-Nowak, D., Zielinski, H., 2007. Antioxidant contents and antioxidative properties of traditional rye breads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**:734-740.
- Miser-Salihoglu, E., Akaydin, G., Caliskan-Can, E., Yardim-Akaydin, S., 2013. Evaluation of antioxidant activity of various herbal folk medicines. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, **3**:222.
- Mitjavila, M.T., Moreno, J. J., 2012. The effects of polyphenols on oxidative stress and the arachidonic acid cascade. Implications for the prevention/treatment of high prevalence diseases. *Biochemical Pharmacology*, **84**(9):1113-22.
- Mittal, B. V., Singh, A. K., 2010. Hypertension in the developing world: challenges and opportunities. *American Journal of Kidney Diseases*, **55**(3):590-598.
- Miyase, T., Ishino, M., Akahori, C., Ueno, A., Ohkawa, Y., Tanizawa, H., 1991. Phenylethanoid Glycosides from *Plantago-Asiatica*. *Phytochemistry*, **30**(6):2015-2018.
- Mølgaard, P., 1986. Population genetics and geographical distribution of caffeic acid esters in leaves of *Plantago major* in Denmark. *Journal of Ecology*, **74**:1127–1137.
- Moldovan, L., Moldovan, NI., 2004. Oxygen Free Radicals And Redox Biology Of Organelles.” *Histochemistry and Cell Biology*, **122**:395–412.
- Mükemre, M., 2013. *Konalga, Sirmalı, Dokuzdam (Çatak-Van) ve Çevrelerinin Etnobotanik Özellikleri* (yüksek lisans tezi). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Mükemre, M., Behçet, L., Çakılcıoğlu, U., 2015. Ethnobotanical study on medicinal plants in villages of Çatak (Van-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, **166**:361–374.
- Murai, Y., Kanemoto, T., Iwashina, T., 2008. Flavone glucuronides from *Plantago hakusanensis* endemic to Japan. *Biochem. Syst. Ecol*, **36**:815–816.
- Naczka, M., Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054**:95-111.
- Naczka, M., Shahidi, F., 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**:1523-1542.
- Newman, D. J., Cragg, G. M., Snader, K. M., 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *Journal of Natural Products*, **66**:1022-1032.
- Nichita, C., Neagu, C., Cucu, A., Vulturescu, V., Berteşteanu, Ş.V.G., 2016. Antioxidative Properties of *Plantago lanceolata* L. Extracts Evaluated By Chemiluminescence Method. *AgroLife Scientific Journal*, **5**:2.
- Nishibe, S., 1994. Bioactive Phenolic-Compounds in Traditional Medicines. *Pure and Applied Chemistry*, **66**(10-11):2263-2266.

- Noor, H., Juing, M., Chee, B.J., Kueh, B.L., Othman, Z., 2000. Medicinal Properties of *Plantago major* : Hypoglycaemic and Male Fertility Studies, *Pertanika J. Trap. Agric. Sci.* **23**(1):29–35.
- Oboh, G., Agunloye, O.M., Adefegha, S.A., Akinyemi, A.J., Ademiluyi, A.O., 2015. Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (in vitro): a comparative study. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, **26**(2):165–170.
- Onat, T., Emerk, K., Sözman, E.Y., 2002. *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Ong, KW., Hsu, A., Tan, BK., 2012. Chlorogenic acid stimulates glucose transport in skeletal muscle via AMPK activation: a contributor to the beneficial effects of coffee on diabetes. *PLoS One*, **7**(3).
- Osourn, AE., 1996. Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack. *Plant Cell.*, **8**:1821-1831.
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Prior, R. L. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**:4619–4626.
- Özgökçe, F., Özçelik, H., 2004. Ethnobotanical aspects of some taxa in East Anatolia, Turkey. *Economic Botany*, **58**(4):697-704.
- Öğüt S. 2014. Doğal Antioksidanların Önemi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* **11**(1):25–30.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., Pouységu, L., 2011. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, **50**(3):586-621.
- Pailer, V.M., Haschke-Hofmeister, E., 1969. Inhaltstoffe aus *Plantago major*. *Planta Medica*, **17**:139–145.
- Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rossas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J. and Codina, C., 2002. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**:6882-6890.
- Pereira, C.G., Custódio, L., Rodrigues, M. J., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Carlier, J., Costa, M. C., Varela, J., Barreira, L., 2017. Profiling of antioxidant potential and phytoconstituents of *Plantago coronopus*. *Braz. J. Biol.*, **77**(3):632-641.
- Peterson, J., Dwyer, J., 1998. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutr Res.*, **18**:1995–2018.
- Petit, P.R., Sauvaire, Y.D., Hillaire-Buys, D.M., Leconte, O.M., Baissac, Y.G., Ponsin, G.R., Ribes, G.R., 1995. Steroid saponins from *Fenugreek* seeds extraction, purification, and pharmacological investigation on feeding behavior and plasma cholesterol. *Steroids*, **60**:674–680.
- Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huyc, C., 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, **4**(2):89-96.
- Phillipson, J., 2001. Phytochemistry and medicinal plants. *Phytochemistry*, **56**:237-243.
- Pieroni, A., Nebel, S., Quave, C., Münz, H., Heinrich, M., 2002. Ethnopharmacology of liakra: traditional weedy vegetables of the Arbëreshë of the Vulture area in southern Italy. *J. Ethnopharmacol*, **81**:165–185.
- Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**:4290-4302.

- Prior, R.L., 2015. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): New horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits. *Journal of functional foods*, **18**:797-810.
- Ponnusamy, S., Ravindran, R., Zinjarde, S., Bhargava, S., Kumar, A. R., 2011. Evaluation of traditional Indian antidiabetic medicinal plants for human pancreatic amylase inhibitory effect in vitro. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1-10.
- Rafajlovska, V., Rizova, V., Djarmati, Z., Tesevic, V., Cvetkov, L., 2001. Contents of Fatty Acids in Stinging Nettle Extracts Obtained by Supercritical Carbon Dioxide. *Acta Pharm.*, **51**:45-51.
- Ranilla, L. G., Kwon, Y. I., Apostolidis, E., Shetty, K., 2010. Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresource Technology*, **101**:4676-4689.
- Rodica, V., Varban, D., 2012. Comparative Study of the Active Ingredients Content *Plantago lanceolata* L. *Pro Environment*, **5**:248 – 250.
- Rønsted, N., Göbel, E., Franzyk, H., Jensen, S.R., Olsen, C.E., 2000. Chemotaxonomy of *Plantago*. Iridoid glucosides and caffeoyl phenylethanoid glycosides. *Phytochemistry*, **55**:337–348.
- Rønsted, N., Franzyk, H., Mølgaard, P., Jaroszewski, J.W., Jensen, S.R., 2003. Chemotaxonomy and evolution of *Plantago* L. *Plant Syst. Evol.*, **242**:63–82.
- Sadıkoğlu, N., 1998. *Cumhuriyet Dönemi Türk Etnobotanik Araştırmalar Arşivi*, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 75 s.
- Sakulnarmrat, K., Konczak, I., 2012. Composition of native Australian herbs polyphenolic-rich fractions and in vitro inhibitory activities against key enzymes relevant to metabolic syndrome. *Food Chemistry*, **134**(2):1011-1019.
- Salama, H.M.H., Saffan, S.E., 2003. Triterpenoids and flavonoids from the air-dried aerial parts of *Plantago amplexicaulis*. *Kuwait Journal of Science & Engineering*, **30**(2):109-118.
- Sales, PM., de Souza, PM., Simeoni, LA., Magalhães, PO., Silveira, D., 2012. α -Amylase inhibitors: A review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **15**:141–183.
- Samuelsen, A. B., 2000. The traditional uses, chemical constituents, and biological activities of *Plantago major* L. A review. *Journal of Ethnopharmacology*, **71**:1-21.
- Samur, G., 2008. *Vitaminler, Mineraller ve Sağlığımız*, T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Beslenme ve Fiziksel Aktiviteler Daire Başkanlığı, Klasmat Matbaacılık, Ankara.
- Sánchez, C., 2017. Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. *Synthetic and Systems Biotechnology*, **2**:13-22.
- Sanz, M.J., Ferrandiz, M.L., Cejudo, M., vd., 1994. Influence of a series of natural flavonoids on free-radical generating systems and oxidative stress. *Xenobiotica*, **24**:689–699.
- Satyajit, D., Sarker, Z., Latif, A., Gray, I., 2006. *Natural product isolation*. Second edition. Humana Press Inc., New Jersey, USA. 514.

- Scalbert, A., Williamson, G., 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, **130**:2073-285.
- Scalbert, A., Johnson, I.T., Saltmarsh, M., 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am. J. Clin. Nutr.*, **82**:15-217.
- Schneider, G., 2009. Arzneidrogen, Ein Kompendium für Pharmazeuten, Biologen und Chemiker, Wissenschaftsverlag, *Mannheim, Germany*, s. 131.
- Schneider, G., 1990. Arzneidrogen, Ein Kompendium für Pharmazeuten, Biologen und Chemiker. Wissenschaftsverlag, *Mannheim, Germany*, p. 132.
- Seçkin, T., 2014. *İşlevsel Bitki Kimyası*, Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti, Ankara, 836s.
- Selamoglu, Z., Dugun, C., Akgul, H., Gulhan, M.,F., 2017. *In-vitro* Antioxidant Activities of the Ethanolic Extracts of Some Contained-Allantoin Plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **16**:92-98.
- Sertsever, A. ve Gök, V., 2003. Doğal antioksidanların biyoyararlılığı, **3. Gıda Mühendisliği Kongresi**, Ankara, 2-4 Ekim, s. 83-98.
- Siah, S. D., Konczak, I., Agboola, S., Wood, J. A., Blanchard, C. B., 2012. Potential health benefits of Australian grown faba beans (*Vicia faba* L.): chemopreventative capacity and inhibitory effects on the angiotensin converting enzyme, α -glucosidase and lipase. *British Journal of Nutrition*, **108**:123-134.
- Sierra, M., García, J.J., Fernández, N., Diez, M.J., Calle, A.P., Group, F., 2002. Therapeutic effects of psyllium in type 2 diabetic patients. *European Journal of Clinical Nutrition*, **56**:830–842.
- Shalaby, S. M., Zakora, M., Otte, J., 2006. Performance of two commonly used angiotensin-converting enzyme inhibition assays, using FA-PGG and HHL as substrates, *Journal of Dairy Research*, **73**:178-186.
- Shimoda, H., Seki, E., Aitani, M., 2006. Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 6, makale 9.
- Shimura, S., Tsuzuki, W., Kobayashi, S., Suzuki, T., 1992. Inhibitory effect on lipase activity of extracts from medicinal herbs. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **56**:1478-1479.
- Shobana, S., Sreerama, Y.N., Malleshi, N.G., 2009. Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) seed coat phenolics: Mode of inhibition of α -glucosidase and pancreatic amylase. *Food Chem.*, **115**:1268–1273.
- Shukla, S.; Fu, P., Gupta, S., 2014. Apigenin Suppresses Inhibitor of Apoptosis Family Protein Expression and Disrupts Ku70-Bax Interaction in Prostate Cancer Cells in Culture and in Vivo. *Cancer Research*, **74**:1238–1238.
- Skari, K.P. vd., 1999. *Radical scavengers & inhibitors of enzymatic lipid peroxidation from plantago major, A Medicinal Plant. Poster 495 at 2000 Years of Natural Products Research —Past, Present and Future*, Amsterdam, The Netherlands.
- Sonni, A., 2002. Importance of minerals and trace minerals in human nutrition. *Website: www.mgwater.com/imp or. Shtml* (08.08. 2018).
- Stahl, W., Berg, H., Arthur, J., vd., 2002. Bioavailability and metabolism. *Mol Aspects Med.*, **2**(23):39–100.
- Sudha, P., Smita, S. Z., Shobha, Y. B., Ameeta, R. K. 1., 2011. Potent α -amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **11**:5.

- Swiatek, K., Kurowska, A., Gora, J., 1980. Chemical composition of some *Plantago* species seed oil. *Herba Polonica*, **4**:213–217.
- Tabata, M., Sezik, E., Honda, G., Yeşilada, E., Fukui, H., Goto, K., Ikeshiro, Y., 1994. Traditional medicine in Turkey III. folk medicine in East Anatolia, Van and Bitlis provinces. *Pharmaceutical Biology*, **32**(1):3-12.
- Tan, A. C., Konczak, I., Sze, D. M. Y., Ramzan, I., 2010. Towards the discovery of novel phytochemicals for disease prevention from native Australian plants: an ethnobotanical approach. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, **19**:330-334.
- Tang, S. Y., Halliwell, B., 2010. Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **394**:1-5.
- Tarvainen, M., Suomela, J.-P., Kallio, H., Yang, B., 2010. Triterpene acids in *Plantago major*: identification, quantification and comparison of different extraction methods. *Chromatographia*, **71**:279–284.
- Tavares, L., Carrilho, D., Tyagi, M., Barata, D., Serra, A.T., Duarte, C.M.M., Duarte, R.O., Feliciano, R.P., Bronze, M.R., Chicau, P., Espírito-Santo, M.D., Ferreira, R.B., Santos, C.N., 2010. Antioxidant capacity of Macaronesian traditional medicinal plants. *Molecules*, **15**:2576–2592.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N.R., Nogueira, J.M., Saraiva, J.A., Nunes, M.L., 2013. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Ind. Crops Prod.*, **43**:587–595.
- Tinkov, A.A., Nemereshina, O.N., Popova, E.V., Polyakova, V.S., Gritsenko, V.A., Nikonorov, A.A., 2014. *Plantago maxima* leaves extract inhibits adipogenic action of a high-fat diet in female wistar rats. *Eur. J. Nutr.*, **53**:831–842.
- Tourkostani, R., Al Balouni, I., Said Moselhy, S., Kumosani, AT., vd. 2009. A Diet Rich Fiber Improves Lipid Profile in Rats Fed on High Fat Diet. *Turk J Biochem*, **34**(2):105–111.
- Tsao, R., 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, **2**:1231-1246.
- Turlo, J., Gutkowska, B., Herold, F., 2010. Effect of selenium enrichment on antioxidant activities and chemical composition of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegl. mycelial extracts. *Food and Chemical Toxicology*, **48**:1085-1091.
- Tüzen, M., 2009. Toxic and essential trace elemental contents in fish species from the Black Sea, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, **47**(8):1785-1790.
- Xu, G.S., Xu, S.S., 2007. Development of composite health care beverage with plantain herb and caulis *Lonicera japonica*. *Food Sci.* **28**:616–619.
- Van Den Dool, H., Kratz P.D. 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas–liquid partition chromatography, *Journal of Chromatography*, **11**:463-471.
- Velazquez, M.P.D., A. M., Fernandez, L., Lapica, B., 1992. Phytochemical study of *Plantago lagopus* L. *Ars Pharmaceutica*, **33**:466.
- Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Troncoso, A. M., and García-Parrilla, M. C., 2005. Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites in vitro. *Anal. Chim. Acta*, **538**:391–398.
- Weiss, R., Bremer, A., Lusting, R., 2013, What is metabolic syndrome, and why children getting it?. *Annals of new york academy of science*, **1281**:123-40.

- WHO Media Centre, *Obesity and Overweight*. Geneva, Switzerland, Dünya sağlık örgütü (WHO); 2014. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/>.
- Worsztynowicz, P., Napierała, M., Białas, W., Grajek, W., Olkowicz, M., 2014. Pancreatic α -amylase and lipase inhibitory activity of polyphenolic compounds present in the extract of black chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.). *Process Biochem.*, **49**:1457-63.
- Wu, F.-H.L., Jing-Yu, Chen, Rong, Wang, Qi-Zhi, Li, Wei-Guang., 2006. Chemical constituents and hepatoprotective activity of *Plantago depressa*. *Zhongguo Tianran Yaowu*, **4**(6):435-439.
- Wu, D.G., Yu, P., Li, J.W., Jiang, P., Sun, J., Wang, H.Z., Zhang, L.D., Wen, M.B., Bie, P., 2014. Apigenin Potentiates the Growth Inhibitory Effects by IKK- β -Mediated NF- κ B Activation in Pancreatic Cancer Cells. *Toxicology Letters*, **224**:157-164.
- Yan, P.L.G., Zhao, S., Song, L., Tan, L., Jin, Y., Li, X., 2009. Chemical constituents of *Plantago depressa* Willd. *Zhongguo Yaoxue Zazhi (Beijing, China)* **44**(1):19-21.
- Yap, S., 2015. Reversing breast cancer in a premenopausal woman: A case for phytonutritional therapy. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, **4**:25-39.
- Yavaşer, R., 2011. *Doğal Ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması*, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, (Yüksek Lisans Tezi), 104s.
- Yiğit, Z. 2013. *Sinir Otu (Plantago major L.) Bitkisinin Antioksidan Kapasitesi, Bazı İz Elementler (Cu, Zn, Fe Ve Mn) Ve Vitamin C Düzeylerinin Araştırılması*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, (Yüksek Lisans Tezi), 78s.
- Yoo, K.M., Kim, D.O., Lee, C.Y., 2007. Evaluation of different methods of antioxidant measurement. *Food Science and Biotechnology*, **16**(2):177-82.
- Yoshikawa, M., Murakami, T., Yashiro, K., Matsuda, H., 1998. Kotalanol, a potent alpha-glucosidase inhibitor with thiosugar sulfonium sulfate structure, from antidiabetic Ayurvedic medicine *Salvia reticulata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **46**(8):1339-1340.
- You, Q., Chen, F., Wang, X., Jiang, Y., Lin, S., 2012. Anti-diabetic activities of phenolic compounds in muscadine against alpha-glucosidase and pancreatic lipase. *LWT - Food Sci Technol.*, **46**:164-8.
- Yuting, C. vd., 1990. Flavonoids as superoxide scavengers & antioxidants, *Free Radic. Biol. Med.*, **9**(1):19-21.
- Yücel, E., 2010. Tıbbi Bitki Islahı ve Yetiştiriciliği. *Bitkilerle Tedavi Sempozyumu (Zeytinburnu-Türkiye)*, Bildiriler,(5-6 Haziran 2010), 97-116.
- Zaghloul, M.G.Z., Ahmed M., 2000. A new phenylpropanoid glycoside from the aerial parts of *Plantago crassifolia*. *Mansoura Journal of Pharmaceutical Sciences*, **16**(1):56-68.
- Zaghloul, M.G., 2006. A new triterpenoidal compound from the roots of *Plantago crassifolia* Forssk. *Alexandria Journal of Pharmaceutical Sciences*, **20**(1):50-55.
- Zhang, B., Deng, Z., Ramdath, DD., Tang, Y., Chen, PX., Liu, R., Liu, Q., Tsao, R., 2015. Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to

- antioxidant activity and inhibitory effects on α -glucosidase and pancreatic lipase. *Food Chem.*, **172**:862-872.
- Zheng, P.W., Chiang, L.C., Lin, C.C., 2005. Apigenin Induced Apoptosis Through p53-Dependent Pathway in Human Cervical Carcinoma Cells. *Life Sciences*, **76**:1367–1379.
- Zhou, Q., Lu, W., Niu, Y., Liu, J., Zhang, X., Gao, B., Akoh, C.C., Shi, H., Yu, L., 2013. Identification and quantification of phytochemical composition and anti-inflammatory, cellular antioxidant, and radical scavenging activities of 12 *Plantago* species. *J. Agric. Food Chem.*, **61**:6693–6702.
- Ziaia, SA., Larijanib, B., Akhoondzadeha, S., Fakhrzadehb, H., Dastpaka, A., Bandarianb, F., Rezaia, A., Badic, H.N., Emamid, T., vd., 2005. Psyllium decreased serum glucose and glycosylated hemoglobin significantly in diabetic outpatients. *Journal of Ethnopharmacology*, **102**(2):202-207.
- Zubair, M., Nybom, H., Lindholm, C., Rumpunen, K., 2011. Major polyphenols in aerial organs of greater plantain (*Plantago major* L.), and effects of drying temperature on polyphenol contents in the leaves. *Sci. Hortic.* **128**:523–529.

ÖZGEÇMİŞ

Van İli Çatak İlçesine bağlı Konalga köyünün Tanrıverdi mezarında 1983 yılında dünyaya geldi. İlkokulu Bostaniçi İlköğretim Okulu'nda ve Ortaokulu Mustafa Necati İlköğretim okulu'nda tamamladıktan sonra, Lise öğrenimini Van Atatürk Lisesi'nde tamamladı. Yüksek öğrenimine 2005 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde başladı ve 2009 Haziran döneminde mezun oldu. 2010 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. 2013'te yüksek lisansını bitirdikten sonra 2013'te aynı üniversite ve bölümde doktora öğrenimine başladı.



T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 18/09/2018

Tez Başlığı / Konusu: *Plantago anatolica* Tutel & R.R. Mill BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ VE POTANSİYEL SAĞLIK DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI


Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 82 sayfalık kısmına ilişkin, 18/09/2018 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 7 (Yedi) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.



Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Muzaffer MÜKEMRE

Öğrenci No:12911320080

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı: Botanik

Statüsü: Y. Lisans

Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR



Dr. Öğr. Üyesi Abdullah Daler

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR



