

165553

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SARCOPOTERIUM SPINOSUM L. (ROSACEAE) TÜRÜNDEN
HAZIRLANAN DROGLARIN KALİTE KONTROLÜ VE
E VİTAMİNİ AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Farmakognozi Programı

Yüksek Lisans Tezi

Eczacı Buket BOZKURT

DANIŞMAN

Yard. Doç. Dr. Hüsniye SAĞLAM

İZMİR

2005

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan

: Yard. Doç. Dr.
Hüsnü Saylan



(Danışman)

Üye

: Prof. Dr. Bijen Kıvıncık



Üye

: Prof. Dr. V. Pabuşcuoğlu



Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih:.....

Çalışmamı planlayan, destekleyen, tez danışmanım Yar. Doç. Dr. Hüsniye SAĞLAM'a,

Her konuda yardımlarından dolayı Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mustafa Ali ÖNÜR'e ve değerli hocamız Prof. Dr. Bijen KIVÇAK'a,

Antioksidan aktivite tayinlerindeki yardımları için E. Ü. Ecz. Fak. Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Aysun PAPUÇÇUOĞLU'na,

Antimikrobiyal aktivite tayinlerindeki yardımları için, Atatürk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Medine GÜLLÜCE'ye,

Araştırma projesi olarak (Proje No: 2004-ECZ-008) bu çalışmaya verdiği maddi desteği için Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü'ne,

Maddi ve manevi olarak her zaman yanımda olan, desteğini esirgemeyen sevgili aileme,

Her konuda bilgi ve ilgisini esirgemeyen Arş. Gör. Esmâ Oran'a

Ve tüm çalışma arkadaşlarıma, en içten teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunuyorum.

İZMİR, 2005

Ecz. Buket BOZKURT

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER.....	1
I. GİRİŞ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	2
GEREÇ VE YÖNTEM.....	8
I. BOTANİK BÖLÜM.....	8
A. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> (L.) SPACH ÜZERİNDE BOTANİK İNCELEMELER.....	8
1. TEORİK KISIM.....	8
a. <i>Sarcopoterium</i> generisi	8
b. <i>Sarcopoterium spinosum</i> (L.) Spach.....	8
c. Herba Poterii spinosi.....	9
d. Radix Poterii spinosi.....	9
2. PRATİK KISIM.....	10
a. MATERYAL VE METOT.....	10
II. KİMYASAL BÖLÜM.....	11
A. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDA KALİTE KONTROL ÇALIŞMALARI.....	11
1. TEORİK KISIM.....	11
2. PRATİK KISIM.....	11

a. MATERYAL VE METOT.....	11
(1) Nem Miktar Tayini.....	12
(2) Total Kül Miktar Tayini.....	12
(3) Sülfat Külü Miktar Tayini.....	12
B. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDA E VİTAMİNİ MİKTAR TAYİNİ.....	13
1. TEORİK KISIM.....	13
2. PRATİK KISIM.....	15
a. MATERYAL VE METOT.....	15
(1). EKSTRELERİN HAZIRLANMASI.....	15
(2). EKSTRELERDE BULUNAN E VİTAMİNİNİN TEŞHİSİ VE KONTROLÜ.....	16
(3). <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDAKİ E VİTAMİNİNİN SPEKTROKOLORİMETRİK YÖNTEM İLE MİKTAR TAYİNİ.....	16
(a). E Vitamini ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi	16
(b). Herba Poterii spinosi Droglarında Spektrokolorimetrik Yöntem ile E Vitamini Miktar Tayini	17
(4). <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDAKİ E VİTAMİNİNİN OPTİK DENSİTOMETRİK (TLC) YÖNTEM İLE MİKTAR TAYİNİ.....	19
(a). E Vitamini ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi	19
(b). Herba Poterii spinosi Droglarında Optik Dansitometrik Yöntemi ile E Vitamini Miktar Tayini.....	19
(5). <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDAKİ E VİTAMİNİNİN YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ (HPLC) YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ.....	21
(a). E Vitamini ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi.....	21
(b). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarında HPLC Yöntemi ile E Vitamini Miktar Tayini.....	22

C. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLAR ÜZERİNDE YAPILAN FİTOKİMYASAL ANALİZLER.....	22
1. TEORİK KISIM.....	22
2. PRATİK KISIM.....	22
a. MATERYAL VE METOD.....	22
(1). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarından Etanol Ekstrelerinin Hazırlanışı.....	22
(2). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarından Metanol Ekstresinin Hazırlanışı.....	23
(3). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarından Kloroform Ekstresinin Hazırlanışı.....	23
(4). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarından Etil Asetat Ekstresinin Hazırlanışı.....	23
(5). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarından n-Hegzan Ekstresinin Hazırlanışı.....	23
(6). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarının İnfüzyonunun Hazırlanışı.....	24
b. KULLANILAN YÖNTEMLER.....	24
III. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLAR ÜZERİNDE BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNLERİ.....	26
A. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDA SİTOTOKSİK AKTİVİTE TAYİNİ.....	26
1. TEORİK KISIM.....	26
2. PRATİK KISIM.....	26
a. MATERYAL VE METOT.....	26
(1). <i>Artemia Salina</i> (Brine shrimp).....	27
(2). <i>Artemia Salina</i> Metodu.....	28
B. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDA ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE TAYİNİ.....	28
1. TEORİK KISIM.....	28

2. PRATİK KISIM.....	28
a. MATERYAL VE METOT.....	28
(1). Test Mikroorganizmaları.....	29
(2). Antimikrobiyal Aktivite Testleri.....	39
(2.1). Disk Diffüzyon Metodu.....	29
(2.2). Minimal İnhibitör Konsantrasyonunun (MİK) Saptanması.....	29
Mikrowell Dilüsyon Yöntemi.....	29
MİK agar dilüsyon yöntemi.....	30
C. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN	
DROGLARDA ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ	31
1. TEORİK KISIM.....	31
2. PRATİK KISIM.....	31
a. MATERYAL VE METOT.....	31
BULGULAR.....	33
I. BOTANİK BÖLÜM.....	33
A. MAKROSKOBİK BULGULAR.....	33
B. MİKROSKOBİK BULGULAR.....	33
1. YAPRAĞA AİT İNCELEME VE BULGULAR.....	33
2. ÇİÇEĞE AİT İNCELEME VE BULGULAR.....	40
3. GÖVDEYE AİT İNCELEME VE BULGULAR.....	45
4. KÖKE AİT İNCELEME VE BULGULAR.....	48
5. MEYVE VE TOHUMA AİT İNCELEME VE BULGULAR.....	50
II. KİMYASAL BÖLÜM	55
A. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN	
DROGLAR ÜZERİNDE KALİTE KONTROL ÇALIŞMALARINA AİT	
BULGULAR.....	55
B. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN	
DROGLARDAKİ E VİTAMİNİ MİKTAR TAYİNİ BULGULARI	57
1. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN	
DROGLARDAN ELDE EDİLEN EKSTRE MİKTARI.....	57

2. EKSTRELERDEKİ E VİTAMİNİNİN TEŞHİS VE KONTROLÜ.....	57
3. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDAKİ E VİTAMİNİNİN SPEKTROKOLOROMETRİK YÖNTEM İLE MİKTAR TAYİNİ.....	62
a. E Vitamini ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi	62
b. Herba Poterii spinosi Droglarında Spektrokolorimetrik Yöntem ile E Vitamini Miktar Tayini	62
4. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDAKİ E VİTAMİNİNİN OPTİK DENSİTOMETRİK YÖNTEM İLE MİKTAR TAYİNİ.....	65
a. E Vitamini ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi	65
b. Herba Poterii spinosi Droglarında Optik Dansimetrik Yöntemi ile E Vitamini Miktar Tayini	67
5. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDA BULUNAN E VİTAMİNİN HPLC İLE MİKTAR TAYİNİ....	70
a. E Vitamini ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi	70
b. Herba Poterii spinosi Droglarında Bulunan E Vitamininin Miktar Tayini..	71
6. SONUÇLARIN İSTATİSTİKSEL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ.....	74
C. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARLA YAPILAN FİTOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI.....	76
III. BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNLERİ.....	76
A. <i>SARCOPOTERIUM SPINOSUM</i> BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDA SİTOTOKSİK AKTİVİTE TAYİNİNE AİT BULGULAR.....	76
B. HERBA POTERII SPINOSI DROĞUNDA ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE TAYİNİNE AİT BULGULAR.....	77

C. SARCOPOTERIUM SPINOSUM BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARINDA ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİNE AİT BULGULAR.....	80
TARTIŞMA.....	81
I. BOTANİK ARAŞTIRMALAR.....	81
II. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ARAŞTIRMALARI.....	83
A. NEM, TOTAL KÜL VE SÜLFAT KÜLÜ MİKTAR TAYİNİ.....	83
B. İ.T.K. İLE E VİTAMİNİ TEŞHİS VE KONTROLÜ.....	83
C. E VİTAMİNİ MİKTAR TAYİNİ.....	84
III. BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNLERİ.....	84
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	86
ÖZET.....	XVI
SUMMARY.....	XVII
YARARLANILAN KAYNAKLAR.....	89
ÖZGEÇMİŞ.....	95

RESİMLER

Resim 1. <i>Sarcopoterium spinosum</i> (L.) Spach	9
Resim 2. <i>Sarcopoterium spinosum</i> (L.) Spach	10
Resim 3. Yaprak Orta Damarının Genel Görünüşü	35
Resim 4. Yaprak Enine Kesitinin Genel Görünüşü	35
Resim 5. Yaprak Orta Damarının Enine Kesitte Genel Görünüşü	36
Resim 6. Yaprak Orta Damarı Enine Kesiti	36
Resim 7. Yaprak Enine Kesiti (Çini Mürekkebinde).....	37
Resim 8. Yaprak Enine Kesiti	37
Resim 9. Yaprak Enine Kesiti	38
Resim 10. Yaprak Enine Kesiti	38
Resim 11. Yaprak Enine Kesiti	39
Resim 12. Yaprak Enine Kesiti	39
Resim 13. Yaprak Enine Kesiti	40
Resim 14. Sepal Yüzeysel Görünüşü	41
Resim 15. Sepal Yüzeysel Görünüşü	42
Resim 16. Stamen	42
Resim 17. Flament Genel Görünüşü	43
Resim 18. Anter Yüzeysel Görünüşü ve Polenler	43

Resim 19. Stigma Genel Görünüşü.....	44
Resim 20. Stigma ve Üzerinde Çimlenen Bir Polen.....	44
Resim 21. Brakte Genel Görünüşü.....	45
Resim 22. Gövde Enine Kesit Genel Görünüşü.....	46
Resim 23. Gövde Enine Kesiti.....	47
Resim 24. Gövde Enine Kesiti.....	47
Resim 25. Kök Enine Kesitte Genel Görünüş.....	48
Resim 26: Kök Enine Kesitte Genel Görünüş.....	49
Resim 27: Kök Enine Kesitte Genel Görünüş.....	49
Resim 28: Meyve Enine Kesiti.....	51
Resim 29: Meyve Boyuna Kesiti.....	51
Resim 30: Meyve Enine Kesiti.....	52
Resim 31: Meyve Enine Kesiti.....	52
Resim 32: Meyve Enine Kesiti.....	53
Resim 33: Tohum Enine Kesiti.....	53
Resim 34: Tohum Enine Kesiti.....	54
Resim 35: Tohum Enine Kesiti.....	54
Resim 36. 254 nm UV Işık Altında Standart α -tokoferol ve Herba Poterii spinosi Ekstresinde Bulunan α -tokoferol.....	58
Resim 37. Ölçü Eğrisi Çizimi İçin Standart α -tokoferol'ün Uygulandığı Kromotografi Plağının % 10 CuSO ₄ - % 8 H ₃ PO ₄ Reaktif Püskürtüldükten Sonra Görüntüsü.....	66
Resim 38. Optik Dansitometrik Metodla E Vitamini Miktar Tayini İçin Uygulanan Herba Poterii spinosi Ekstresinin, % 10 CuSO ₄ - % 8 H ₃ PO ₄ Reaktif Püskürtüldükten Sonra Oluşturduğu Lekeler.....	67

TABLOLAR

Tablo 1. <i>Sarcopoterium spinosum</i> Bitkisinden Hazırlanan Droglarda % Nem Miktarı Sonuçları.....	55
Tablo 2. <i>Sarcopoterium spinosum</i> Bitkisinden Hazırlanan Droglarda % Total Kül Miktarı Sonuçları.....	56
Tablo 3. <i>Sarcopoterium spinosum</i> Bitkisinden Hazırlanan Droglarda % Sülfat Kültü Miktarı Sonuçları.....	56
Tablo 4. <i>Sarcopoterium spinosum</i> Bitkisinden Hazırlanan Droglarının n-Hegzan Ekstre Miktarları.....	57
Tablo 5. Standart α -tokoferol ve Herba Poterii spinosi Ekstresinde Bulunan α -tokoferolün R_f Değerlerinin Karşılaştırılması.....	57
Tablo 6. Standart α -tokoferol ile Yapılan Alan Taraması Sonuçları.....	63
Tablo 7. Spektrokolorimetrik Miktar Tayininde Standart α -tokoferolün Absorbans Değerleri.....	63
Tablo 8. Herba Poterii spinosi Droglarının n-Hegzan Ekstresinde Bulunan E Vitamini'nin Spektrokolorimetrik Miktar Tayini Sonuçları.....	64
Tablo 9. Optik Dansitometrik Miktar Tayininde Standart α - tokoferolün Alan Değerleri	65
Tablo 10. (ÇTÜ) örneklerinin n-Hegzan Ekstresinde Bulunan α -tokoferolün Optik Dansitometrik Yöntemle Yapılan Miktar Tayini Sonuçları	68

Tablo 11. (MTÜ) örneklerinin n-Hegzan Ekstresinde Bulunan α -tokoferolün Optik Dansitometrik Yöntemle Yapılan Miktar Tayini Sonuçları.....	69
Tablo 12. HPLC ile Miktar Tayininde Standart α -tokoferolün Alan Değerleri	70
Tablo 13. Herba Poterii spinosi Droğlarından Hazırlanan n-Hegzan Ekstresindeki α -tokoferolün Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini Sonuçları.....	71
Tablo 14. Herba Poterii spinosi Droğundan Hazırlanan n-Hegzan Ekstresindeki E Vitamininin Spektrokolorimetrik Miktar Tayini Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	74
Tablo 15. Herba Poterii spinosi Droğundan Hazırlanan n-Hegzan Ekstresindeki E Vitamininin Optik Dansitometrik Miktar Tayini Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	74
Tablo16. Herba Poterii spinosi (ÇTÜ) Droğundan Hazırlanan n-Hegzan Ekstresindeki E Vitamininin Optik Dansitometrik Miktar Tayini Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	74
Tablo17. Herba Poterii spinosi (MTÜ) Droğundan Hazırlanan n-Hegzan Ekstresindeki E Vitamininin Optik Dansitometrik Miktar Tayini Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	75
Tablo18. Herba Poterii spinosi Droğlarından Hazırlanan n-Hegzan Ekstresindeki E Vitamininin HPLC ile Miktar Tayini Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	75
Tablo19. Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droğlarından Hazırlanan n-Hegzan, Kloroform, Etil asetat, Metanol, Etanol Ekstrelerinin ve İnfüzyonunun Fitokimyasal Analiz Sonuçları.....	76

Tablo20. Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droğlarından Hazırlanan Ekstrelerin ve İnfüzyonun Sitotoksik Aktivite Tayini Sonuçları.....	77
Tablo 21. Test Mikroorganizmaları ve Antibiyotiklerin Oluşturduğu İnhibisyon Zonu Çapları (mm) ile Minimal İnhibitör Derişimler($\mu\text{g/ml}$).....	78
Tablo 22. Test Mikroorganizmaları ve Antibiyotiklerin Oluşturduğu İnhibisyon Zonu Çapları(mm) ile Minimal İnhibitör Derişimler ($\mu\text{g/ml}$).....	79
Tablo 23. Aktif Bulunan Herba Poterii spinosi Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	79
Tablo 24. <i>Sarcopoterium spinosum</i> Bitkisinden Hazırlanan Droğların Ekstrelerinin Antioksidan Aktiviteleri	80



ŞEKİLLER

Şekil 1. Standart α -tokoferole Ait UV Spektrumu.....	59
Şekil 2. Herba Poterii spinosi n-Hegzan Ekstresinden İzole Edilen α -tokoferole Ait UV Spektrumu.....	59
Şekil 3. Standart α -tokoferole Ait IR Spektrumu.....	60
Şekil 4. Herba Poterii spinosi n-Hegzan Ekstresinden İzole Edilen α -tokoferole Ait IR Spektrumu.....	61
Şekil 5. Spektrokolorimetrik Yöntem ile Hazırlanan α -tokoferol Standart Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi.....	64
Şekil 6. Optik Dansitometrik Yöntem ile Hazırlanan α -tokoferol Standart Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi.....	65
Şekil 7. Standart α -tokoferol İçin Standart Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi (HPLC Yöntemi İçin).....	71
Şekil 8 Standart α -tokoferolün 292 nm'de HPLC Kromatogramı.....	72
Şekil 9. Herba Poterii spinosi n-Hegzan Ekstresinin 292 nm'de HPLC Kromatogramı.....	73

GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

I. GİRİŞ

Sarcopoterium spinosum (L.) Spach bitkisi, Doğu Akdeniz ülkelerinde ve yurdumuzda geniş yayılım göstermektedir (15). *Sarcopoterium* cinsi, yurdumuzda tek tür ile temsil edilen, gerek yurt dışında, gerek ülkemizde halk tababetinde kullanılan bir bitkidir (5).

İzmir-Seferihisar mevkiinden 12.04.2004 ve 12.05.2004 tarihlerinde çiçekli ve meyveli olmak üzere iki dönem halinde toplanan bitkiden hazırladığımız **Herba Poterii spinosi** ve **Radix Poterii spinosi** drogları üzerinde yapılan ve dört ayrı bölüme ayırdığımız çalışmalar tezimizin konusunu oluşturmaktadır.

İlk olarak **Herba Poterii spinosi** ve **Radix Poterii spinosi** drogları üzerinde çeşitli makroskobik ve mikroskobik incelemelerin yapılması ve droğun karakteristik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

İkinci çalışmada, 10. Alman Farmakopesi'ndeki (DAB 10) yöntemler esas alınarak, droglar üzerinde çeşitli kalite kontrol denemeleri (Nem miktarı, total kül miktarı ve sülfat külü miktarı tayini) yapılmıştır.

Üçüncü çalışmada, *S. spinosum* bitkisinden hazırlanan droglarda standart madde olarak α -tokoferol ile E vitamininin teşhisinin kromatografik (TLC) olarak yapılması ve drogdaki E vitamini miktarının, spektrokolorimetrik, optik dansitometrik ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak tespit edilmesi ve sonuçların mukayeseli olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Dördüncü çalışmada, droglardan Brine shrimp yöntemiyle sitotoksik aktivite tayini, Disk Diffüzyon ve MİK yöntemiyle antimikrobiyal aktivite tayini, TEAC yöntemiyle ise antioksidan aktivite tayini gerçekleştirilmiştir.

Tezimizde ana amaç, yurdumuzda geniş yayılım gösteren *S. spinosum* bitkisinden hazırlanan droglardaki E vitamini miktarını tayin etmektir. En önemli doğal antioksidan madde olan E vitamini, ilaç endüstrisi için değerli bir hammaddedir. *S. spinosum*'un yüksek E vitamini içerdiği saptandığı takdirde, hem ilaç sanayisinde hem de fitoterapide yüksek E vitamini içeriği nedeniyle yerini almasının sağlanması da hedeflerimizden biridir. Drogların standardizasyonu için kalite kontrol denemeleri, anatomik özelliklerini belirlemek için makroskobik ve mikroskobik incelemeler, kimyasal içerikleri hakkında fikir sahibi olmak için fitokimyasal analizler ve bunların yanında droglara ait sitotoksik aktivite, antimikrobiyal aktivite ve antioksidan aktivite denemeleri de yapılan çalışmalar arasındadır.

Yapılan literatür incelemelerinde, *S. spinosum* bitkisi üzerinde E vitamini miktar tayini ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu sebeple, **Herba Poterii spinosi** ve **Radix Poterii spinosi** droglarının E vitamini içeriği açısından değerlendirilmesi, gerek yöntem gerekse çalışma materyali açısından orijinal bir çalışmadır.

II. GENEL BİLGİLER

S. spinosum, **Rosaceae** familyasına ait, yurdumuzda tek tür olarak temsil edilen bir bitkidir. Doğu Akdeniz ülkelerinde, ülkemizde ise Çanakkale, İstanbul, Sinop, İzmir, Aydın, Antalya, Adana gibi kıyı şehirlerinde, genellikle rakımı 100 m' ye kadar olan deniz seviyesine yakın bölgelerde, bozulmuş makiliklerde, erozyona

uğramış kurak yamaçlarda, yayılış göstermektedir. Genel olarak, doğada 75 cm boylarında, kümeler teşkil eden, dikenli çalılar halinde bulunmaktadır (15).

Bitkinin bilinen sinonimleri; *Pimpinella spinosa* Gaertner, *Poterium spinosum* (L.), *Sanguisorba spinosa* (L.) Bertoloni' dir. Diğer dillerde ise İngilizce'de "Thornburnet", Almanca'da "Dorniger Becherstrauch", Fransızca'da "Pimpinelle épineuse", İtalyanca'da "Spinoporci", ülkemizde ise "abdestbozanotu", "çayırdikeni", "çetirdikeni" gibi isimlerle bilinmektedir (24,55).

Ülkemizde *S. spinosum*' un gerek dal ve gövde kabuklarından hazırlanan %5'lik infüzyon, gerekse toprak üstü ve toprak altı kısımları halk arasında şeker hastalığına karşı kullanılmaktadır (5).

Yapılan literatür araştırmalarına göre, E. Menczel adlı bilim adamı 1963 yılında yaptığı çalışmada, aralarında *S. spinosum*'un da yer aldığı çeşitli bitkilerin ekstrelerinin tavşanlar üzerindeki hipoglisemik etkisini araştırmıştır (29).

G. O. Schluetz ve J. Venulet, *S. spinosum*' un kök ve gövdesinden hazırladığı dekoksasyonlarda farmakolojik incelemeler yapmışlardır. 1964 yılında yapılan bu çalışma sonucunda hazırlanan dekoksasyonların kan şekeri seviyesini düşürdüğü bunun yanı sıra meyvelerinden hazırlanan dekoksasyonun ise kan şekeri konsantrasyonuna hiçbir etkisi olmadığı bulunmuştur (44).

1966 yılında J. Mishkinsky ve çalışma grubu, *S. spinosum*'un sulu ekstresinin subkutan olarak tatbik edildiğinde tavşanlarda hipoglisemik etki göstermezken, 2 g/kg dozunda oral olarak uygulandığında ise önemli hipoglisemik etki gösterdiğini saptamıştır. Aktif maddelerin asit vasatta stabil olmadığı ve uzun süreli kaynatmanın da hipoglisemik etkiyi ortadan kaldırdığı açıklanmıştır. Bazı tavşanların, uygulamayı takip eden ilk saatte kan şekeri seviyesinde hafif bir artış olduğu, bu artışın da

dekoksasyon sırasında glikozit veya polisakkaritlerin hidrolizinden ileri gelebileceği bildirilmiştir (31).

T. M. Quisenberry ve G. Gjerstad, diabet olan bir hasta üzerinde yaptıkları klinik araştırmalar neticesinde *S. spinosum*'un kök kabuklarının hipoglisemik aktivite gösterdiğini doğrulamışlardır. 1967'de yapılan bu çalışmada köklerde kağıt kromotografisi ile yapılan analiz sonucu ise alkaloit ve heterozitlere rastlanmamış ancak α -D- glukoz ve 5 adet amino asit tespit edilmiştir (35).

1968 yılında G. Carraz ve çalışma grubu *P. spinosum*'un köklerinden aseton ekstraksiyonu, ardından benzen, kloroform ve eter ekstraksiyonu ile pentasiklik triterpen yapılı bileşikler izole edip, yapılarını aydınlatmışlardır. Obez fareler üzerinde yapılan biyolojik çalışmada, tüm bileşiklerin hipoglisemik etkili olduğu rapor edilmiştir (11).

1971 yılında yapılan bir çalışmada *P. spinosum*'un genç yaprakları, kökleri ve kök kabuklarından su, alkol ve diğer organik çözücülerde ekstresi hazırlanmış ve ekstrelerin koroner ve periferal dilatör etkili olduğu, oral, rektal ve parenteral olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (52).

P. Vilain ve arkadaşları bitkinin kök kabuklarında metanol ekstresi hazırlamış ve poliflavan heteroziti elde etmişlerdir (53).

1973 yılında A. Pourrat ve çalışma grubu, *S. spinosum* bitkisinin kök kabuklarından metanolla yapılan ekstraksiyon ve ardından dimetil amino metanol ilavesi sonunda etil asetat ve metilen klorür ile çöktürme işlemleri sonucunda suda çözünen ve çözünmeyen kondanse tanenleri izole etmiştir. Suda çözünmeyen kompleksten tormentozit adlı bileşik daha yüksek oranda izole edilmiştir. Yine aynı çalışmada, bitkinin β -sitosterol içerdiği de rapor edilmiştir (34).

J. Durodola 1975 yılında *S. spinosum*'un kök kabuklarından hazırladığı eter ekstresinden kristal yapılı bir bileşik izole etmiş ve tümör inhibitör etkide olduğunu göstermiştir (20).

1977 yılında *S. spinosum*'da klorofil, yağ, azot, serbest ve bağlı aminoasitler ve şeker miktarı N. S. Margaris tarafından mevsimlere göre saptanmış ve kış ayında toplanan yapraklarda daha yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir (28).

1981 yılında E. Verykokidou ve çalışma grubu tarafından yapılan bir araştırmada, *S. spinosum* bitkisinin alkol ekstresinden kersetin, kersitrin, hiperozit, ve 12 serbest amino asit; petrol eteri ekstresinin sabunlaşmayan kısmından ise β -sitosterol, β -karoten izole edilmiş, yağ asitleri de metil esterleri şeklinde gaz kromatografisi ile tespit edilmiştir (51).

1987 yılında, İsrail'de, Z. Yaniv ve çalışma grubu, kapsamlı bir etnobotanik araştırma yapmış, diabet tedavisinde kullanılan bitkiler arasında *S. spinosum*'un da yer aldığını saptamışlardır (54).

A. Muller ve çalışma grubu 1988 yılında tip II diabet hastalığına karşı kullanılan tıbbi bitkilerin krom içeriklerini tayin etmiş ve bu çalışma sonucunda *S. spinosum*'da krom miktarı 3.5 ppm olarak tespit edilmiştir (32).

1990 yılında, N. S. Christodoulakis ve çalışma arkadaşlarının *S. spinosum*'un yaprak yapısını anatomik olarak araştırdığı, yaz aylarında toplanan yapraklarda epidermis hücrelerinden mezofil dokuya kadar olan kısımda yüksek oranda müsilaj bulunduğu, ancak kış aylarında toplanan örneklerde müsilajlı yapıya rastlanmadığı görülmüştür. Yine aynı çalışmada epidermiste bulunan tanenlerin granüler şekilde toplandığına değinilmiştir (14).

Almanya'da 1991'de Reher ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *S. spinosum* bitkisinin kök kabuklarından 23-hidroksi tormentik asit, 23-hidroksi

tormentik asit glikoziti, tormentik asit glikoziti ve triterpenoitler elde edilmiştir (38,39).

1992 yılında yine Almanya'da, Reher ve Budesinsky, *S. spinosum*'un köklerinden hazırlanan metanol ekstresinde triterpenoit yapısında ursolik asit, tormentik asit ile sitosterol izole edilmiştir (37).

M. Slijepcevic ve L. Kraus, alloksan monohidrat verilerek oluşturulan diabetik sıçanlarda çeşitli bitki ekstralarının ve insülin preparatlarının kan şekeri seviyesini azaltıcı etkilerini araştıran yeni, hızlı ve güvenilir bir yöntemi 1997 yılında geliştirmişlerdir. Bu çalışmada, *S. spinosum*'dan elde edilen bazı fraksiyonların da kan şekerini düşürücü etkide olduğu gözlenmiştir (46).

Filistin'de 1998 yılında, yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmasında, halk arasında haricen antienflamatuvar, analjezik, diş ağrıları ve hemoroit tedavisinde, dâhilen ise antidiabetik, mide ağrılarına karşı, diüretik, böbrek taşlarına karşı ve dolaşım stimulanı olarak kök, meyve ve yaprakları kullanılan *S. spinosum* bitkisinden hazırlanan su ve alkol ekstralarının antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (2).

Al- Kurdi-Rohani ve çalışma grubu tarafından 2000 yılında, çeşitli bitkilerin in-vitro olarak *Agrobacterium tumefaciens*'in sebep olduğu tümör oluşumunu engelleme etkisi üzerine yapılan çalışmada *S. spinosum*'un etkili olduğu bildirilmiştir (3).

E vitamini 4 tokoferol (α , β , γ , δ - tokoferol) ve bunlara karşılık gelen tokotrienoller için kullanılan genel bir terim olup, bunlardan biyolojik olarak aktif olan formu α -tokoferol'dür. E vitamini büyüme ve gelişme için insan vücudunun gereksinim duyduğu ve eksikliğinde klinik anormalliklere sebep olan bir vitamindir (26).

Tokoferoller fotosentetik organizmalar tarafından sentezlenen yağda çözünen antioksidanlardır (45).

Antioksidan maddelerce zengin meyve ve sebzelerin yer aldığı diyetler koroner kalp hastalıkları ve kanser vakaları riskini azaltmaktadır (25).

Sentetik tokoferoller, aktif olmayan stereoizomerleri nedeniyle, doğal olanları ile aynı biyolojik aktiviteye sahip değildir (9). Bu nedenle bitkisel kaynaklı antioksidanların araştırılması ile ilgili çalışmalar giderek artmaktadır. Bu çalışmada amacımız, yeni doğal kaynaklı antioksidanların araştırılması, farklı yöntemler ile α -tokoferol içeriğinin saptanmasıdır. Tokoferoller ve tokotrienollerin tayini için kolorimetrik yöntemler, İTK, gaz ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanılmıştır. Günümüzde daha basit olması ve spesifik sonuçlar vermesi nedeniyle HPLC yönteminden yararlanılmaktadır. Tüm E vitamini homologlarını ayırabilmesi ve sonuçların çok kısa sürede alınması da HPLC'ye üstünlük sağlamaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

I. BOTANİK BÖLÜM

A. *SARCOPOTERIUM SPINOSUM* (L.) SPACH ÜZERİNDE BOTANİK İNCELEMELER

1 . TEORİK KISIM

Sarcopoterium spinosum (L.) Spach bitkisi **Rosaceae** familyasına ait, ülkemizde tek tür ile temsil edilen, çok yıllık, alçak boylu, dikenli çalı formunda bir bitkidir (15,55).

Bitki tanımına yönelik aşağıda verilen bilgiler, başta “Flora of Turkey” olmak üzere ilgili bazı kaynaklardan dilimize çevrilmek suretiyle ve hiçbir katkıda bulunmaksızın derlenmiştir.

a. *Sarcopoterium* generusu

Alçak, küme şeklinde dikenli çalılar, dal uçları, dallanmış dikenler halinde. Yapraklar derimsi, imparipinnat, sıklıkla kısa sürgünler üzerinde. Stipulalar küçük, petiolün kın teşkil eden tabanı ile birleşik. Çiçek durumu nodusta yaprağın karşı tarafında veya tepede spika şeklinde, tek eşeyli, eşey dağılımı değişken, sıklıkla yukarıda dişi, aşağıda erkek. Sepaller 4, stamenler çok sayıda, petal yok, karpeller 2 adet. Meyva üzümstü, hipantiyum zamanla etlileşir, sepaller meyve gelişiminde belli bir süre için devam eder. Monotipiktir (15,43).

b. *Sarcopoterium spinosum* (L.) Spach

S. spinosum (L.) Spach, Ann. Sci. Nat. Ser. 3, 5: 43 (1846). Syn: *Poterium spinosum* L., Sp. Pl. 994 (1753). Ic. Fl. Ital. F. 1089 (1899).

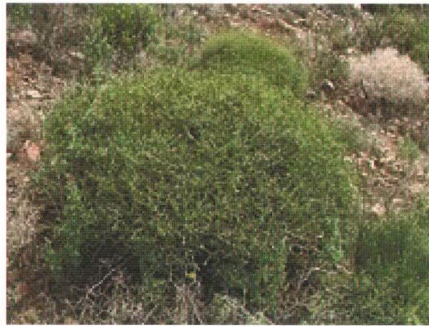
75 cm ya da daha yüksek boyda, tümsek teşkil eden çalılar (**Resim 1,2**). Dış kabuğu gümüş renğinde, boyuna ve dar şeritler halinde düşen dış kabuktan kahverengi renk açığa çıkar. Yapraklar oblong-ovate, yaprakçık kenarları alta doğru kıvrık ve 3–5 dişli. Alt yüzeyde, ekseninde (parçalı yaprağın orta damar bölgesinde) beyazımsı pilozlar. Sepaller yeşil, sıklıkla kenarları beyazımsı, ovate-oblong ve 2 mm genişliğinde. Stigmalar fırçası tüylü, kırmızımsı. Meyveler 3–5 mm çapında küresel, sarımsı-kahverengi renkte (**15**).

c. Herba Poterii spinosi

Taze bitkinin toprak üstü kısımları, gözle görülebilen bütün yabancı maddelerinden ayıklanarak temizlendikten sonra mekanik olarak ufak parçalar halinde doğrandı ve açık havada, gölgede, oda ısısında kurutularak **Herba Poterii spinosi** örnekleri hazırlandı.

d. Radix Poterii spinosi

Radix Poterii spinosi örneklerini hazırlamak için öncelikle taze bitkinin toprak üstü kısımlarından dikkatle ayrılan toprak altı kısımları, gözle görülebilen bütün yabancı maddelerden ayıklanıp temizlenerek, mekanik olarak ufak parçalar haline getirildi. Açık havada, gölgede ve oda ısısında kurutuldu.



Resim 1. *Sarcopoterium spinosum* (L.) Spach



Resim 2. *Sarcopoterium spinosum* (L.) Spach

2. PRATİK KISIM

a. MATERYAL VE METOT

Anatomik çalışmalara konu olan droglar, 12.04.2004 ve 12.05.2004 tarihlerinde İzmir, Seferihisar mevkiinden çiçekli ve meyveli halde toplanmış olan *Sarcopoterium spinosum* (L.) Spach bitkisinden hazırlanmıştır (**Resim 1,2**).

Çiçekli ve meyveli hallerde toplanan bitkisel materyalden öncelikle bitkinin kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyvelerine ait değişik örnekleri içeren bir alkol materyali ile herbaryum örnekleri hazırlanmıştır.

Bitkiye ait herbaryum örnekleri Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumu'nda 1323 numara ile saklı tutulmaktadır.

Drog tozlarının mikroskopik olarak incelenmeleri için yukarıda bahsedildiği şekilde hazırlanan droglardan alınan örnekler, bir tunç havan yardımıyla mekanik

olarak toz haline getirilmiştir. Anatomik çalışmalarda, 70°'lik etanol içinde saklanan, bitkiye ait yaprak, çiçek, meyve, gövde ve kök örnekleri kullanılmıştır. Alkol materyalinde bulunan ve bitkinin muhtelif örneklerinden alınan enine ve yüzeysel kesitlerde, sartur reaktifi ve kloralhidrat reaktifi (16) kullanılarak karşılaştırmalı olarak incelenmiş, saptanan karakteristik yapıların fotoğrafları Carl Zeiss Jena marka mikro-fotografi cihazı yardımıyla çekilmiştir.

II. KİMYASAL BÖLÜM

A. *SARCOPTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDA KALİTE KONTROL ÇALIŞMALARI

1. TEORİK KISIM

Herba Poterii spinosi ve *Radix Poterii spinosi* droglarının Türk Farmakopesinde yer almadığı tespit edilmiştir (50). Yaptığımız literatür araştırmalarına göre, halk arasında özellikle diyabet hastalığında kullanılan ve üzerinde çeşitli farmakolojik araştırmaların yapıldığı bu drogların, kalite kontrolü ile ilgili herhangi bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Tıbbi açıdan önemli olan ve ülkemizde yabani olarak yetişen bu bitkinin ileride yazılacak olan Türk Farmakopesi'nde ve diğer farmakopelerde yer almasının uygun olacağı görüşüyle, çeşitli kalite kontrol denemeleri, 10. Alman Farmakopesi'nde yer alan yöntemlere göre yapılmıştır.

2. PRATİK KISIM

a. MATERYAL VE METOT

Herba Poterii spinosi ve *Radix Poterii spinosi* botanik bölümde anlatıldığı gibi hazırlandıktan sonra elek çapı 1 mm olan Retsch GmbH SK 1 marka değirmende toz edildi.

Daha öncede belirtildiği gibi **Herba** ve **Radix Poterii spinosi** örnekleri üzerinde yapılan çalışmalarda, 10. Alman Farmakopesi'nin genel kısmında yer alan ana yöntemler esas olarak alınmış ve bu amaçla hazırlanan droglara nem miktar tayini, total kül miktar tayini ve sülfat külü miktar tayini denemeleri uygulanmıştır. (19).

(1). Nem Miktar Tayini

Sabit ağırlığa getirilen cam tartım kabında, 1 gram civarında ve tam olarak tartılmış olan drog, 105°C'lik etüvde, sabit vezne gelinceye kadar 1'er saatlik sürelerle ısıtılıp, desikatörde soğumasını takiben tartıldı. Son iki tartım arasındaki fark 0.5'den az olacak şekilde sabit vezne getirildi ve yüzde nem miktarı hesaplandı.

(2). Total Kül Miktar Tayini

Sabit ağırlığa getirilen porselen krozede 1 gram civarında ve tam olarak tartılmış olan drog elektrikli ısıtıcı üzerinde tamamen yanana dek tutuldu ve ardından 600°C' de, Heraeus marka yakma fırınında 1 saat yakılıp, desikatörde soğutulduktan sonra tartıldı. Son iki tartım arasındaki farkın 0,5 mg'dan az olmasına dikkat edilerek sabit vezne getirme işlemi yapıldı. Daha sonra yüzde total kül hesaplandı.

(3). Sülfat Külü Miktar Tayini

Sabit ağırlığa getirilmiş bir porselen kroze, 1 gram civarında ve tam olarak tartılmış drog koyuldu. Üzerine %10'luk sülfürik asit çözeltisinden damla damla 2 ml ilave edildi. Su banyosu üzerinde kuruluğa kadar bekletildikten sonra açık alevde beyazlaşmaya kadar yakıldı. Kroze, 600°C sıcaklığındaki Heraeus yakma fırınında 1 saat tutulmasının ardından desikatörde soğutuldu. Krozeye birkaç damla %10'luk sülfürik asit çözeltisinden tekrar ilave edildi ve yine bir saat yakma fırınında tutuldu. Soğutulmasının ardından birkaç damla % 15,8'lik amonyum karbonat çözeltisi ilave edildi. Kroze sabit vezne gelinceye kadar 1'er saat süreyle yakma fırınında ısıtılıp,

desikatörde soğutulmasını takiben tartıldı. Hesaplamalar sonucunda yüzde sülfat kültü bulundu.

B. SARCOPOTERIUM SPINOSUM BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDA E VİTAMİNİ MİKTAR TAYİNİ

1. TEORİK KISIM

Yaptığımız literatür araştırmalarına *S. spinosum* bitkisinde E vitamini içeriği ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yine yapılan araştırmalarda, özellikle Akdeniz bitkileri başta olmak üzere bazı bitkilerin E vitamini içerdiği görülmüştür.

1963 yılında İngiltere’de V. H. Booth tarafından, bazı bitkisel hücrelerde, spektrokolorimetrik olarak, α -tokoferol miktarı tayin edilmiştir (7). Aynı araştırmacı 1964 yılında da, hayvan yemi olarak kullanılan kaba yonca, yonca ve çimendeki α -tokoferol içeriğini çift dimensiyonlu kâğıt kromatografisi yöntemiyle incelemiştir (8).

1979 yılında A. P. Carpenter adlı bilim adamı, soya fasülyesi, safran, mısır, ayçiçeği, pamuk çekirdeği, yer fıstığı ve zeytinyağlarında α -tokoferol miktarını HPLC yöntemi kullanarak tespit etmiştir (10).

Yine HPLC yöntemi ile Malezya’da 1986 yılında, A. B. Gapor ve çalışma arkadaşları, hurma yaprağından elde edilen yağın içerdiği α -tokoferol miktarını araştırmışlardır (21).

1993 yılında Fransız bilim adamlarından S. Chevolleau ve arkadaşları, 16 Akdeniz bitkisinin (*Centranthus ruber* D. C., *Cistus albidus* (L.), *Conium maculatum* (L.), *Coronilla juncea* (L.), *Eucalyptus globulus* Labill., *Ferula communis* (L.), *Globularia alypum* (L.), *Hedera helix* (L.), *Lavandula angustifolia* (L.), *Myrtus communis* (L.), *Phillyrea angustifolia* (L.), *Pinus halepensis* Mill.,

Quercus ilex (L.), *Rhamnus alaternus* (L.), *Smilax aspera* (L.), *Stachelina dubia* (L.) yapraklarındaki α -tokoferol içeriğini gaz kromatografisi yöntemiyle incelemişlerdir (13).

1997 yılında ise, Brezilya'da L. C. A. Barbosa ve arkadaşları, *Gallesia gorazema* yapraklarındaki E vitamini içeriği Gas-Mass kullanılarak incelenmiştir (4).

Anabilim Dalımızda da benzer çalışmalar yapılmış olup, α - tokoferol miktarı *Arbutus unedo* (L.), *Pistacia terebinthus* (L.), *Pistacia lentiscus* (L.), ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* yapraklarında, ayrıca *Erica arborea* bitkisinin toprak üstü kısımlarında optik dansitometrik ve kolorimetrik yöntemlerle, *Globularia alypum* bitkisinde ise HPLC-UV dedektör sistemi vasıtasıyla tayin edilmiştir (1, 27, 30, 41).

Pahalı olması nedeniyle doğal E vitamini günümüzde yerini sentetik E vitaminine bıraksa da, doğal E vitaminine her zaman ihtiyaç duyulmaktadır. Kullanımı kozmetik ve farmasötik alanlarla sınırlanan doğal E vitamini, son zamanlarda insanların bitkisel kaynaklı maddelere olan ilgisindeki artış nedeniyle önem kazanmaktadır (12).

Ülkemizde tek tür ile temsil edilen *Sarcopoterium spinosum* (L.) Spach üzerinde E vitamini içeriği ile ilgili olarak herhangi bir bilimsel çalışma mevcut değildir. Bu sebeple çalışmamızda, bitkiden elde edilen **Herba Poterii spinosi** ve **Radix Poterii spinosi** droglarının E vitamini içeriklerini ve miktarını tayin etmeyi amaçladık.

2. PRATİK KISIM

a. MATERYAL VE METOT

S. spinosum bitkisinden, 12.04.2004 ve 12.05.2004 tarihlerinde çiçekli ve meyveli olmak üzere iki dönemde toplanan bitkisel materyalden **Herba Poterii spinosi** ve **Radix Poterii spinosi** drogları hazırlandı. Bu şekilde hazırlanan örneklerden, toprak üstü kısımlarından, çiçekli dönemde toplanıp hazırlanana ÇTÜ, meyveli dönemde toplanıp hazırlanana MTÜ, toprak altı kısımlarından, çiçekli dönemde toplanıp hazırlanana ÇTA, meyveli dönemde toplanıp hazırlanana MTA kodları verildi. n-Hegzan ekstreleri üzerinde, E vitamini miktar tayini çalışmaları, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), optik dansitometrik (TLC-dansitometrik) ve spektrokolorimetrik yöntemlerle gerçekleştirildi. Çalışmalar sırasında, standart madde olarak α - tokoferol (dl- α - tokoferol Kod No: 0410276004-Roche) kullanıldı.

(1). EKSTRELERİN HAZIRLANMASI

ÇTÜ, MTÜ, ÇTA ve MTA kodlu örneklerden tam olarak 100'er g tartıldı. 600 ml n-hegzan ile mekanik karıştırıcıda 5 saat katı-sıvı ekstraksiyona tabi tutuldu. 589¹ Black ribbon tipi süzgeç kâğıdından, nuçe yardımıyla süzülen ekstrelerden arta kalan katı kısım üzerine, tekrar 600'ar ml n-hegzan ilave edilip, 8 saat daha mekanik karıştırıcıda, ekstraksiyon işlemine devam edildi. Süzüldükten sonra, arta kalan bakiyeler üzerine yine 600'ar ml n-hegzan koyularak, son kez 8 saat mekanik karıştırıcıda katı-sıvı ekstraksiyonuna bırakıldı. Birleştirilen n-hegzanlı ekstreler, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu (12). Bu işlem ile **Herba Poterii spinosi** ve **Radix Poterii spinosi** droglarının n-hegzan ekstreleri hazırlanmış oldu. **Herba Poterii spinosi** ve **Radix Poterii spinosi** droglarından elde edilen n-hegzan ekstrelerinin miktarı ve verimleri **Tablo 4'**de verilmiştir.

(2). EKSTRELERDE BULUNAN E VİTAMİNİNİN TEŞHİSİ VE KONTROLÜ

Silica gel 60 F₂₅₄ 5744 hazır plakların kloroform:metanol (1:1) mobil fazında yürütülerek doyması sağlandı. Kurutulmasını takiben 100°C'ye ayarlanmış etüvde 10 dakika aktive edildi. Plaklar böylece uygulamaya hazır hale getirildi (40). 10 mg **Herba Poterii spinosi** ekstresi, 2 ml kloroformda çözülerek, plaklara bant şeklinde uygulandı. Yanına α -tokoferolün kloroformdaki stok çözeltisi (%1'lik), şahit olarak bant şeklinde uygulandı. En uygun çözücü sistemi olarak saptadığımız sikloheksan:dietil eter (80:20) çözücü sisteminde plaklar developpe edildi. Kurutulmasının ardından, ekstrede bulunan α -tokoferol bandının yeri, 254 nm dalga boyundaki UV ışık altında, şahit ile karşılaştırılarak belirlendi ve kazındı (Resim 36). Kazınan band 40 ml kloroform ile tüketildi. Kloroform kuruluğa kadar alçak basınç altında uçuruldu. Bakiye, 5 ml kloroform ile çözüldürüldü ve çözeltinin UV ve IR spektrumları çekildi. Ekstrelerden preparatif ince tabaka kromatografisi (TLC) yöntemiyle saflaştırılan α -tokoferol'ün ve standart α -tokoferol'ün UV ve IR spektrumları ayrı ayrı karşılaştırıldı (Şekil 1, 2, 3, 4). Spektrumların incelenmesi sonucunda elüe edilen maddenin α -tokoferol olduğu saptandı.

(3). *SARCOPOTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDAKİ E VİTAMİNİNİN SPEKTROKOLORİMETRİK YÖNTEM İLE MİKTAR TAYİNİ

(a). E Vitamini ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi

α -Tokoferol'ün kloroform içinde % 0.5'lik çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 μ l'lik porsiyonlar, Hamilton enjektörü yardımıyla, 0.5 mm kalınlığındaki Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck 5744) hazır plaklara, 10 cm uzunluğundaki bantlar halinde tatbik edildi. Plaklar sikloheksan:dietileter (8:2)

çözücü sisteminde yürütüldü. 254 nm dalga boyundaki UV ışık altında α -tokoferol bandının yeri belirlenip kazındı. Kazınan bantlar 40'ar ml kloroform ile elüe edildi. Organik çözücü kuruluğa kadar uçurulduktan sonra bakiyeler kloroform ile çözüldürülerek 8 ml'ye tamamlandı. Üzerlerine 1'er ml 2,2'-dipiridil reaktifi ve FeCl_3 reaktifi eklenerek 10 ml'ye tamamlandı (18). Aynı şartlarda bir de boş deneme çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan serinin absorpsiyonları, 50 sn içinde, 1 cm kalınlığındaki küvetlerde, Shimadzu UV 160 A spektrofotometresinde 521.5 dalga boyunda boş deneme çözeltisine karşı ölçüldü (Tablo 7). (Yapılan alan taramalarında, 2,2'-dipiridil ve FeCl_3 reaktifleri ile renklendirilerek yapılan ölçümlerde gerek standart α -tokoferol'ün, gerekse **Herba Poterii spinosi** droğunda bulunan α -tokoferol'ün 521,5 nm'de maksimum absorpsiyon gösterdiği saptanmıştır (Tablo 6).). Absorbans değerlerine karşı konsantrasyon olacak şekilde α -tokoferol için bir ölçü eğrisi çizildi (Şekil 5).

(b). Herba Poterii spinosi Droğlarında Spektrokolorimetrik Yöntem ile E Vitamini Miktar Tayini

Sarcopoterium spinosum bitkisinden elde edilen **Herba Poterii spinosi** ve **Radix Poterii spinosi** droğlarının n-hegzan ekstrelerinden 20'şer mg tartılarak 2 ml kloroformda çözüldü. Bu şekilde 2'şer adet örnek çözeltisi hazırlandı. Kloroform: metanol (1:1) çözücü sisteminde boş olarak yürütülen ve sonrasında kurutulularak 100°C'lik etüvde aktive edilen 2'şer adet Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck 5744) hazır plaklarına bant şeklinde uygulandı. Yanına şahit olarak, α -tokoferolün kloroformdaki stok çözeltisinden (10g/l) bant şeklinde uygulandı. Bunun yanında standart çözeltisi hazırlayabilmek için plağa bant şeklinde saf kloroform uygulandı. Ardından plaklar sikloheksan:dietil eter (8:2) çözücü sisteminde developpe edildi. Kurutulmasını takiben, ekstrelerdeki α -tokoferol bandının yeri, 254 nm dalga boyundaki ultraviyole ışık altında şahit örneği ile karşılaştırılarak belirlendi ve kazındı. Plaklardan kazınan

bantlar bir araya getirilerek 40 ml kloroformla tüketildi. Şahit çözeltisi için, madde uygulaması yapılmadan saf kloroform uygulanan alanın şahit maddenin yürüdüğü hizadaki bölgesi kazınarak 40 ml kloroform ile tüketildi. Kloroform, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Arta kalan bakiyeler 8'er ml kloroform ile çözüldükten sonra, üzerine 1'er ml 2,2'-dipiridil reaktifi ve ölçüm yapılmadan hemen önce de 1'er ml FeCl_3 reaktifi ilave edilerek analiz çözeltisi ve kör olarak kullanılacak çözelti hazırlandı. Analiz çözeltisinin, şahit çözeltisine karşı 521,5 nm dalga boyundaki absorbansı ölçüldü. Üç paralel çalışma sonucu ölçülen absorbans değerleri, ölçü eğrisine yerleştirilerek örneklerdeki E vitamini miktarları tespit edildi. Sonuçlar kuru materyal ağırlığı üzerinden, yüzde miktarlar olarak hesaplandı (Tablo 8).

***2,2'-dipiridil reaktifi:** 0,125 g madde, 25 ml absolü etanolde çözülür. Karanlıkta ve 4–5° C arasında saklanır (18).

**** FeCl_3 reaktifi:** 0,2 g madde 100 ml absolü etanolde çözünür. Karanlıkta ve 4–8° C arasında saklanır (18).

(4). *SARCOPOTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDAKİ E VİTAMİNİNİN OPTİK DANSİTOMETRİK (TLC) YÖNTEM İLE MİKTAR TAYİNİ

(a). E Vitamini ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi

α -tokoferol'ün kloroform içinde %1'lik çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden Thin Layer Scanner (TLC)'de okunabilen değerler bakımından en uygun miktarlar olarak saptanan 2, 4, 6 ve 8 μ l'lik porsiyonlar, Hamilton enjektörü yardımıyla, önceden kloroform:metanol (1:1) çözücü sisteminde boş olarak yürütülüp kurutulmuş ve 100 °C'ye ayarlanmış etüvde 10 dakika bekletilerek aktive edilmiş (40), Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck 5715) hazır plaklarına nokta şeklinde tatbik edildi. Yapılan denemeler sonucunda en uygun çözücü sistemi olduğunu saptadığımız siklohegzan:dietil eter (8:2) çözücü sisteminde yürütülerek kurutulan plaklara, *bakırsülfat-fosforik asit belirteci püskürtüldü. Plaklar, 190°C'ye ayarlanmış etüvde 10 dakika bekletildi. α -tokoferol'ün siyah lekeler halinde belirginleştiği görüldü (40) (Resim 37). Bu lekelerin alan değerleri, Shimadzu CS 920 Thin Layer Scanner aletinde 350 nm'de D₂ lambası kullanılarak belirlendi ve elde edilen değerlere göre ölçü eğrisi çizildi (Şekil 6).

(b). Herba Poterii spinosi Droglarında Optik Dansitometrik Yöntemi ile E Vitamini Miktar Tayini

Sarcopoterium spinosum (L.) Spach bitkisinden hazırlanan **Herba Poterii spinosi** ve **Radix Poterii spinosi** droglarının n-hegzan ekstratlarından, daha önce uygun tartımlar olduğu saptanan, 20, 30, 40, 50 ve 60 mg'lık tartımlar alınarak her biri 2 ml kloroformda çözüldürüldü. Bu çözeltilerden 20 μ l'lik miktarlar Hamilton enjektörü yardımıyla alınarak, daha önce anlatıldığı şekilde hazırlanan plaklara nokta şeklinde uygulandı. Plaklar, siklohegzan:dietil eter (8:2) çözücü sisteminde

yürütüldü. Kurutulduktan sonra *Bakırsülfat-fosforik asit belirteci püskürtülerek, 190°C'ye ayarlanmış etüvde 10 dakika bekletildi. Ekstrede bulunan α -tokoferol'ün oluşturduğu lekelerin (**Resim 38**) alan değerleri, CS 920 Thin Layer Scanner aletinde 350 nm'de D₂ lambası kullanılarak ölçüldü. Ölçü eğrisi yardımıyla, sonuçlar kuru materyal ağırlığı üzerinden yüzde miktarlar olarak hesaplandı (**Tablo 10, 11**).



* %10 CuSO₄ -%8 H₃PO₄ reaktifi: 1 kısım %10'luk Bakır II sülfat çözeltisi + 1 kısım %8'lik Fosforik asit çözeltisi (40).

(5). *SARCOPOTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDAKİ E VİTAMİNİNİN YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ (HPLC) YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ

(a). E Vitamini ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi

Çalışmalarımız sırasında standart madde olarak ve ölçü eğrilerinin hazırlanmasında, dl- α -tokoferol (Kod: 0410276004-Roche) kullanılmıştır. Öncelikle dl- α -tokoferolün, HPLC saflıkta metanol içinde 2 g/l'lik stok çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltiden 0,5; 1; 2; 4; 5; 10; 15; 20; 25 μ g/20 μ l konsantrasyonlarında olacak şekilde enjeksiyonlar yapıldı. Elde edilen değerlere göre çizilen ölçü eğrisi ve regresyon denklemi **Şekil 7'de** verilmiştir.

HPLC sisteminin özellikleri:

Hewlet Packard 1100

Kolon: Hickrom 5 C 18 (25x4,6 i.d.)

Kolon sıcaklığı: 40°C

Mobil Faz: Metanol (HPLC)

Akış hızı: 2ml/dk

Dedektör: UV (HP 1100)

Dalga boyu:292 nm

Basınç:130 bar

α -tokoferol standart çözeltileri uygulama hacmi: 20 μ l

Retansiyon zamanı: 5,231 dk.

(b). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarında HPLC Yöntemi ile E Vitamini Miktar Tayini

Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi droglarından hazırlanan n-hegzan ekstrelerinden 10 mg tartılarak 2.5 ml HPLC metanolde çözündürüldü. Bu şekilde 3'er seri örnek çözeltisi hazırlandı. Örnek çözeltilerinden 10'ar µl Hamilton enjektörü kullanılarak, HPLC kolonuna enjekte edildi. Sonuçlar, önceden hazırlanan standart α -tokoferol ölçü eğrisinde yerine konularak, kuru materyal ağırlığı üzerinden yüzde miktarlar olarak hesaplandı (Tablo13).

C. SARCOPOTERIUM SPINOSUM BİTKİSİNDE HAZIRLANAN DROGLAR ÜZERİNDE YAPILAN FİTOKİMYASAL ANALİZLER

1. TEORİK KISIM

Yapılan fitokimyasal teşhis denemeleri; **Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi** droglarından hazırlanan n-hegzan, etanol, metanol, kloroform, etil asetat ekstreleri ve infüzyonu için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir.

2. PRATİK KISIM

a. MATERYAL VE METOD

S.spinosum bitkisinin toprak üstü ve toprak altı kısımları toplanarak açık havada ve oda sıcaklığında, ara sıra karıştırmak suretiyle kurutuldu. Toz edilen droglardan etanol, metanol, kloroform, etil asetat, n-hegzan ekstreleri ve infüzyonu elde edildi.

(1). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarından Etanol Ekstrelerinin Hazırlanışı

Toz edilen **Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi** droglarından 20'şer g tartılarak üzerlerine 120'şer ml etanol ilave edildi. Mekanik karıştırıcıda 5 saat katı-sıvı ekstraksiyona tabi tutuldu. Süzüldükten sonra kalan bakiye üzerine tekrar

120'şer ml etanol ilave edilip mekanik karıştırıcıda ekstraksiyon işlemine 8 saat daha devam edildi. Kalan bakiyeler üzerine 120'şer ml etanol ilave edilip, son kez 8 saat daha mekanik karıştırıcıda bırakıldı. Tekrar süzdükten sonra, etanollü ekstraleler birleştirildi. Organik solvan alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Böylece **Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi** droglarının etanol ekstraleleri hazırlandı.

(2). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarından Metanol Ekstresinin Hazırlanışı

Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi droglarından etanol ekstresinin hazırlandığı şekilde hazırlanmıştır.

(3). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarından Kloroform Ekstresinin Hazırlanışı

Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi droglarından etanol ekstresinin hazırlandığı şekilde hazırlanmıştır.

(4). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarından Etil Asetat Ekstresinin Hazırlanışı

Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi droglarından etanol ekstresinin hazırlandığı şekilde hazırlanmıştır.

(5). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarından n-Hegzan Ekstresinin Hazırlanışı

Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi droglarından E vitamini miktar tayini kısmında anlatılmıştır.

(6). Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droglarının İnfüzyonunun Hazırlanışı

10 g toz drog tartıldı. Üzerine 100 ml kaynar distile su ilave edilerek kaynar su banyosu üzerine 5 dakika bekletildi. Oda sıcaklığına gelmesinin ardından süzülen kısım, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı ve alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu.

b. KULLANILAN YÖNTEMLER

— **Tanen teşhisi:** 1 g ekstre, 2 ml suda çözüldürülür, üzerine 1–2 damla % 5'lik $FeCl_3$ çözeltisi ilave edilir. Oluşan mavi renkli çökelti tanen varlığını gösterir (42).

— **Flavonozit teşhisi (Shibata=Siyanidin reaksiyonu):** 30 mg ekstre üzerine, 3 ml metanol ve 0,2 mg magnezyum tozu ilave edilir. Ardından derişik HCl damla damla eklenir. Flavon glizokozitleri varlığında numunede turuncu-mor arasında değişen bir renklenme gözlenir (49).

— **Alkaloit teşhisi:** Ekstrelerin her birinden 20 mg tartılır ve 5 ml 1N sülfürik asit ile 1 dakika çalkalanır. Süzüldükten sonra iki ayrı tübe 1'er ml alınır. *Mayer ve **Dragendorf reaktifleri ile muamele edilir. Mayer reaktifi ile beyaz renkte ve Dragendorf reaktifi ile esmer renkte çökelek oluşturması alkaloit varlığını gösterir (42).

— **Steroid sapogennlerin teşhisi (Salkowski Deneyi):** 20 mg ekstre %10'luk H_2SO_4 ile hidroliz edilir, süzülür ve süzüntüyle eşit hacimde olacak şekilde kloroform ilave edilerek çalkalanır. Kloroformlu tabaka ayrılır ve 1 ml kloroformlu kısım 1–2 damla derişik H_2SO_4 ile tabakalandırılır. Önce sarı renkli halka oluşur. Ardından çalkalama veya bekletme ile kloroform tabakasının kan kırmızı renk alması

steroidal saponinlerin varlığını gösterir. Steroidal saponinler için yapılan bir diğer teşhis denemesi **Lieberman Burchard Deneyi**'dir: Salkowski Deneyi için hazırlanan kloroformlu kısmın 1 ml'si alınarak su banyosunda kuruluğa kadar uçurulur. Bakiye 1 ml glasiyel asetik asit ilave edilerek çözülür ve 1–2 damla derişik H_2SO_4 ile tabakalandırılır. İki tabakanın birleşme yüzeyinde önce mor sonra mavi renkli bir halka görülür. Daha sonra renk yeşile döner ve yayılır. Bu da steroidal saponinlerin varlığını gösterir (49).

—**Triterpenik saponozitler (Anisaldehit-Sülfürük asit deneyi)**: Bir kapsüle konan 1-2 mg ekstre üzerine *** Anisaldehit-Sülfürük asit reaktifi damlatıldığında pembeden mora kadar renk değişimi gözlenir (49).

—**Nişasta**: 1 mg ekstre, 1ml su ile 1 dakika boyunca kaynatılır. Soğumasının ardından süzülür. Süzüntünün üzerine 1 damla %1'lik iyot çözeltisi ilavesi ile meydana gelen koyu mavi renk, nişasta varlığını gösterir (17).

***Mayer Reaktifi**: 1,35 g $HgCl_2$, 5 g KI, 100 ml H_2O (42).

****Dragendorf Reaktifi**: 5 g $Bi_2(CO_3)_3$, 10 ml derişik HCl, 25g KI, H_2O q.s.p. 100 ml. (17).

*****Anisaldehit-Sülfürük asit reaktifi**: 0,5 ml anisaldehit, 10 ml glasiyel asetik asit, 85 ml metanol, 5 ml derişik H_2SO_4 . (17).

III. *SARCOPOTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLAR ÜZERİNDE BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNLERİ

A. *SARCOPOTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDA SİTOTOKSİK AKTİVİTE TAYİNİ

1. TEORİK KISIM

Çeşitli Akdeniz ülkelerinde ve ülkemizde geniş bir yayılış gösteren *Sarcopoterium spinosum* türünün, gerek toprak altı gerek toprak üstü kısımları halk hekimliğinde kullanılmaktadır (5,15). Yapılan araştırmalarda bu bitkiden hazırlanan herhangi bir drog üzerinde sitotoksik aktivite çalışması yapılmadığı görüldü. Bunun üzerine drogtan hazırladığımız etanol, metanol, kloroform, etil asetat ve n-hegzan ekstreleri ile infüzyonu üzerinde Brine shrimp (*Artemia salina*) metodu uygulanarak drogların sitotoksik aktivitesi araştırıldı.

2. PRATİK KISIM

a. MATERYAL VE METOT

S. spinosum bitkisi Nisan ve Mayıs aylarında toplanarak, toprak üstü ve toprak altı kısımları, gölgede, oda sıcaklığında, ara sıra karıştırılmak suretiyle kurutuldu ve toz edildi. Etanol, metanol, etil asetat, kloroform, n-hegzan ekstreleri ve infüzyonu hazırlandı. Bu ekstrelerin ve infüzyonun sitotoksik aktivitesi *Artemia salina* (Brine-shrimp) metodu ile araştırıldı.

(1). *Artemia Salina* (Brine shrimp)

Brine shrimp hakkındaki ilk yazılı kayıtlar 1755 yılına dayanmaktadır. Canlının bilinen diğer isimleri “brine worn”, “salztierchen”, “sofereg”, “bahar el dud”, “fezzanwurm” dur. *Artemia salina*, tuzlu göller başta olmak üzere tuzlu sularda, geniş populasyonlar halinde yaşayan bir canlıdır. Bu canlılar, tuzluluğun 300 g tuz/ 1 su’ ya kadar çıktığı zorlu doğa şartlarında bile yaşamlarını sürdürebilmektedirler. Bu özelliğe sahip sular, yalnızca bazı bakteri ve alg populasyonlarının yaşamasına izin veren kırmızı, mavi veya yeşil renkte görülen sulardır. Brine shrimp (*Artemia*), bu zorlu koşullara uyum sağlayabilmiş sınırlı sayıdaki omurgasız hayvanlardan biridir.

Artemia yumurtaları ilk başta göl kenarlarında, su yüzeylerinde yüzen küçük partiküller (200–300 µm çapında) halinde tabakalar teşkil edecek şekilde toplanırlar. Daha sonra rüzgârla ve dalgalarla kıyıya atılırlar. Bu dönem, *Artemia*’ların görünüşte hareketsiz (faaliyetsiz), inaktif kuru kistler olduğu dönemdir. Bu kuru kistler zamanla deniz yüzeyinden dibe batınca ıslanır ve şişerek küre şeklini alır. Bu haldeyken kabuğun içinde embriyonun metabolizması aktifleşmiştir. Birkaç saat içinde kistin dış membranı patlar ve embriyo görünür. Etrafı bir membranla kuşatılır. Bunu takip eden saatlerde embriyo kist kabuğunu terk eder. Çizgili membranın içinde, yeni farklılaşmış olan antenler ve çene hareket etmeye başlar. Bu hal, *Artemia*’nın deneylerde kullanılan halidir. Brine shrimp (*Artemia*) günümüzde, laboratuvarda biyolojik aktivite denemelerinde kullanılan bir canlıdır (48). Laboratuvar çalışmalarımızda, özel olarak hazırlanmış küvetlerde steril yapay deniz suyu hazırlanarak, *Artemia* için uygun ortam yaratıldı. Böylece yumurtalardan *Artemia* larvaları çoğaltılıp, serbestçe yüzebilir hale gelmesi sağlanarak, deneylerde kullanılabilir hale getirildi.

(2). *Artemia Salina* Metodu

1. 3,8 g deniz tuzu (Sigma-9883), 100 ml distile suda çözülür.
 2. Tuzlu su küvete konur ve üzerine Brine-shrimp yumurtaları eklenir.
 3. Devamlı ışık altında bırakılan yumurtalardan, 48 saat içinde larvalar çıkar.
 4. Bitki ekstraterlerinden ve infüzyonundan 1000, 100, 10 ppm olacak şekilde 3 ayrı konsantrasyonda çözeltiler hazırlanır. Kontrol amacıyla çözücülerden de 0.5 ml flakona alınıp azot gazı altında kuruluğa kadar uçması sağlanır ve 5 ml'ye deniz tuzu çözeltisi ile tamamlanır.
 5. 48 saat sonra Brine shrimp larvaları yumurtadan çıkıp, hazır hale gelince her flakona bir miktar % 3,8'lik deniz tuzu çözeltisi ve 10 larva sayılarak konur. Flakonun içeriği deniz tuzu çözeltisi ile 5 ml'ye tamamlanır.
 6. 24 saat sonunda, yaşayan Brine shrimp larvaları sayılır ve kaydedilir.
 7. Veriler bilgisayar yardımıyla değerlendirilerek LC₅₀ değerleri hesaplanır.
- (Tablo 20).

B. *SARCOPTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDA ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE TAYİNİ

1. TEORİK KISIM

Sarcopoterium spinosum özellikle kan şekeri düşürücü etkisi ile halk arasında kullanılmaktadır (5). Yapılan literatür araştırmalarında, antibakteriyel aktivite de gösterdiği bulunmuştur (2).

2. PRATİK KISIM

a. MATERYAL VE METOT

S. spinosum bitkisinin toprak üstü ve toprak altı kısımları 12.04.2004 ve 12.05.2004 tarihlerinde İzmir-Seferihisar mevkiinden toplanmıştır. Droglar,

temizlenip oda sıcaklığında ara sıra karıştırılarak kurutulup, toz edilmiştir. Bu drog tozlarından hazırlanan n-hegzan, etanol, metanol, etil asetat, kloroform ekstreleri ve infüzyonu 30 µg/ml olacak şekilde DMSO (dimetil sülfoksit)'de çözüldürülmüştür. Bu şekilde hazırlanan ekstrelere Disk Diffüzyon ve MİK Metodları uygulanmıştır (33).

(1). Test Mikroorganizmaları

35 adet bakteri, 19 adet küf ve bir maya türü olmak üzere insan, gıda ve bitki kökenli toplam 55 adet mikroorganizma kullanılmıştır. Kullanılan mikroorganizmalar Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bitki Klinik laboratuvarından temin edilmiştir.

(2). Antimikrobiyal Aktivite Testleri

(2.1). Disk Diffüzyon Metodu

Petri plaklarındaki standart besiyerlerine (nutrient agar, sabouraud dextrose agar ve patato dextrose agar) test mikroorganizmaları ekildi ve daha sonra her birinde 300 µg ekstre içeren 6 mm çapındaki standart diskler agar üzerine yerleştirildi. Bakteriler 24, maya 48 ve mantarlar 72 saat 37°C'de inkübe edildi. Bu işlemin ardından petri kaplarında gözlemlenen inhibisyon zon çapları (mm) kaydedildi (33).

(2.2). Minimal İnhibitör Konsantrasyonunun (MİK) Saptanması

Mikrowell Dilüsyon Yöntemi:

12 saat sıvı kültürlerde yetiştirilen mikroorganizmalar 0.5 McFarland standart turbiditeye ayarlandı. Ekstreler %10'luk dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde konsantrasyonu 500µg/ml olacak şekilde ayarlandı. 96 kuyucuk (well) içeren plakların herbir kuyucuğuna 95 µl sıvı besiyeri ve turbiditesi ayarlanmış mikroorganizmalardan 5µl eklendi. Daha sonra ilk kuyucuğa konsantrasyonu 500µg/ml olacak şekilde ayarlanan ekstrelerden 100µl eklendi ve pipetleme işlemi

ile karıştırıldı. Daha sonra ilk kuyucuktan ikinci kuyucuğa 100µl, ikinciden üçüncüye ve yedinci kuyucuğa kadar işlem, 100'er µl alınarak devam ettirildi. Böylece ilk kuyucuktan itibaren 250µg/ml, 125µg/ml, 62.5µg/ml, 31.25µg/ml, 15.625µg/ml ve son olarak altıncı kuyucukta 7.8125µg/ml olacak şekilde dilüsyon kullanılmış oldu. 7. kuyucuğa 195µl sıvı besiyeri ve turbiditesi ayarlanmış mikroorganizmalardan 5µl eklendi. Plağın sütunundaki 8. ve son kuyucuk ise pozitif kontrol olarak kullanıldı. Plak 300 rpm'de 20 saniye kadar karıştırıldıktan sonra 24 saat uygun sıcaklıkta inkübe edildi (22).

MİK agar dilüsyon yöntemi:

Antimikrobiyal çalışmada kullanılan mantarların MİK değerlerinin saptanması için agar dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Ekstreler % 0,5 Tween 20 (v/v) içeren steril patates dekstroz agara aseptik koşullarda, konsantrasyonu 7.8–500 µg/ml olacak şekilde eklendi. Ekstre eklenen besiyerleri hemen vrteksle çalkalandı. Bu işlemlerden sonra katılaştıran petri plaklarına 5µl (10^4 spor/ml) mantar ilave edilerek 37°C'de 72 saat inkübe edildi. Daha sonra gelişmenin olmadığı en düşük konsantrasyon kaydedildi (23).

C. *SARCOPOTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDA ANTIOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ

1. TEORİK KISIM

Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi droglarından hazırlanan etanol, metanol, n-hegzan, kloroform, etil asetat ekstreleri ve infüzyonu için total antioksidan kapasite ölçümleri ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir.

2. PRATİK KISIM

a. MATERYAL VE METOT

S.spinosum bitkisinin toprak üstü ve toprak altı kısımları daha önce anlatıldığı şekilde toplanıp kurutularak toz edildi. Droğun etanol, metanol, n-hegzan, kloroform, etil asetat ekstreleri ve infüzyonu hazırlandı. Hazırlanan bu ekstrelerin ve infüzyonun, total antioksidan kapasite ölçümleri TEAC (Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (36). Bu yöntem, test bileşiğinin, ABTS [2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt] radikalini yakalama yeteneğine dayanarak, total antioksidan aktivitesini tayin etme esasına dayanmaktadır. Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) değeri trolox'un ABTS^{•+} radikalini yakalama yeteneğiyle ilişkili olarak, test bileşiğinin ABTS^{•+} radikalini yakalama yeteneğine dayanmaktadır.

Stok ABTS çözeltisinin potasyum persülfat ile (1:0.5) reaksiyonu sonucu ABTS radikali hazırlanır. Oluşan radikal oda sıcaklığında karanlıkta saklandığı takdirde en az iki günden dayanıklıdır. Bu çözelti, 734 nm'de 0.700 (\pm 0.02) absorbans değeri elde edilinceye kadar etanol ile seyreltilir ve kullanılmadan önce 30°C' deki su banyosunda inkübe edilir. Antioksidan standart olarak trolox kullanılır. Deneyin yapılacağı gün ekstreler belirli konsantrasyonlarda ve uygun çözücülerde çözülerek

hazırlanır. 1.0 ml dilüe ABTS⁺ çözeltilisine 10 µl ekstre veya trolox standart çözeltilisinden ilave edilir ve 30°C' de, 734 nm'deki absorbans değişimi 6 dakika süresince izlenir. Tüm ölçümler en az üç defa gerçekleştirilir ve kör çözelti olarak etanol kullanılır. Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) değeri trolox standart eğrisinden hesaplanır.



BULGULAR

I. BOTANİK BÖLÜM

A. MAKROSKOBİK BULGULAR

Yapraklar çoğunlukla kısa sürgünler üzerinde, 3-5 mm boyunda, 3-5 mm eninde, derimsi, imparipinnat, her bir yaprakçık kenarlarından alta doğru kıvrık şekildedir.

Çiçekler tek eşeyli, çiçek durumu, nodusta yaprağın karşı tarafında veya tepe kısmında spika şeklinde, sepaller 4 adet olup, yeşil, sıklıkla beyaz kenarlı, dikdörtgenimsi-ovate şekillidir. Petallerin olmadığı çiçekte, çok sayıda stamen, penisillat (firça tüylü) kırmızımsı stigmalar bulunmaktadır.

Meyveler, küresel, üzümstü, sarımsı kahverengi renkli, 3-5 mm çapındadır. Hipantiyum zamanla etlileşir, sepaller meyve gelişiminde belli bir süre devam eder.

Gövdede ve köklerde dış kabuk boyuna ve dar şeritler halinde düşmektedir.

B. MİKROSKOBİK BULGULAR

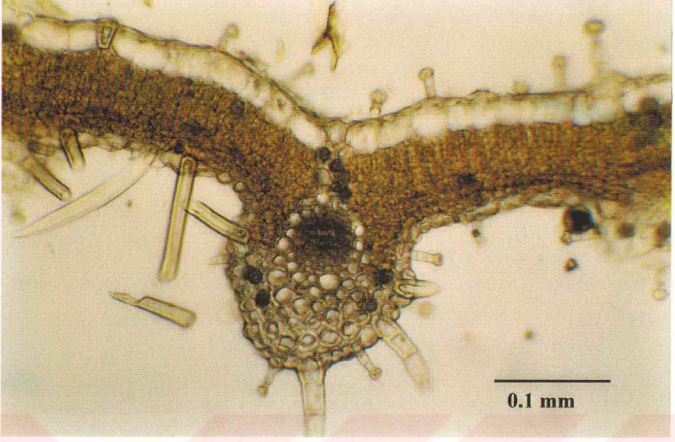
1. YAPRAĞA AİT İNCELEME VE BULGULAR

Sarcopoterium spinosum (L.) Spach (Rosaceae) bitkisinin yapraklarından alınan enine kesitlerde, yaprağın bifasial olduğu görülmektedir. Alt ve üst epiderma ince bir kütikula ile örtülü olup, üst epidermis hücreleri dikdörtgenimsi ve alt epidermis hücrelerine göre daha büyüktür. Üst epidermis hücrelerinin dorsal ve lateral çeperleri ince, ventral çeperi ise iç yüzeye doğru kavisli, kalın ve müsülajiktir.

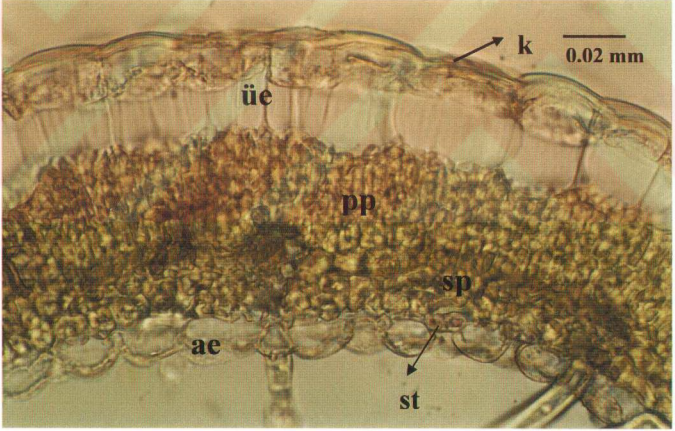
stoma taşıyan alt epidermis hücreleri üst epidermise göre küçük, dış yüzeye doğru papilimsi şekilde kavisli ve çeperleri incedir. İki epidermis arasında yer alan bol kloroplastlı mezofil hücrelerinden palizat parankimasi hücreleri 2 sıra, sünger parankimasi hücreleri ise 2-3 sıra halinde dizilmiş olup hücreler arası boşlukları azdır (**Resim 3, 4, 7**).

Yaprak orta damarı, yaprağın alt yüzeyinde daha belirgin olup, dış yüzeye doğru kavislidir. Orta damarı çevreleyen alt epidermis hücrelerinin çeperleri kalın ve bu hücrelerinin iç kısmında 2 sıra kollenkima bulunmaktadır (**Resim 5**). Nişasta kın hücreleri belirgin olan koleteral iletim demetinin çevresindeki damar parankimasi hücrelerinin çeperleri kalın ve bu hücrelerin bazılarının içerisinde büyük druz kristallerine rastlanmaktadır (**Resim 6**).

Yaprakta bulunan tek hücreli, kütikulası düz, uzun bazen hafif kıvrık olan örtü tüyleri alt epidermiste yer almaktadır (**Resim 8, 9**). Çok sap hücreli (2–10) ve tek baş hücreli salgı tüyleri her iki epidermiste de görülmektedir. Tabandaki sap hücrelerinin kütikulası ince ve boyuna çizgiciklidir (**Resim 10, 11, 12, 13**).



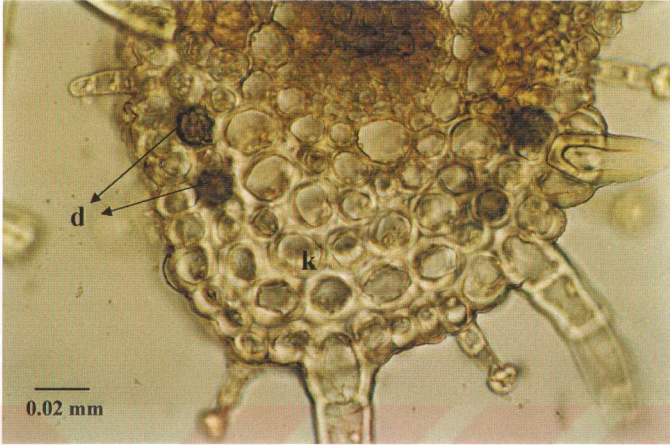
Resim 3. Yaprak Orta Damarının Genel Görünüşü



Resim 4. Yaprak Enine Kesitinin Genel Görünüşü

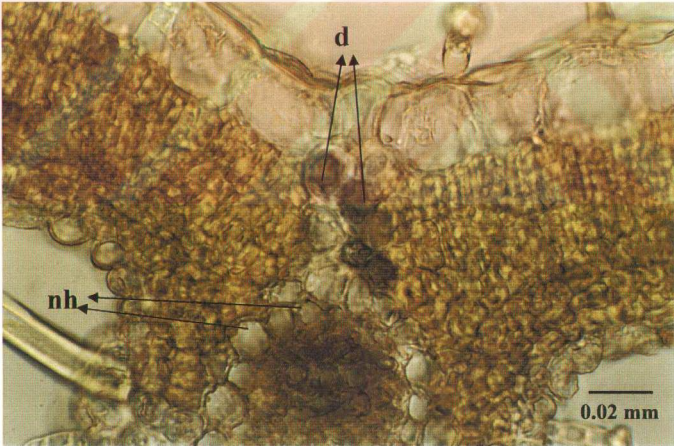
k: kutikula **üe:** üst epidermis **pp:** palizat parankiması **sp:** sünger parankiması

ae: alt epidermis **st :** stoma



Resim 5. Yaprak Orta Damarının Enine Kesitte Genel Görünüşü

d: druzlar **k:** kollenkima



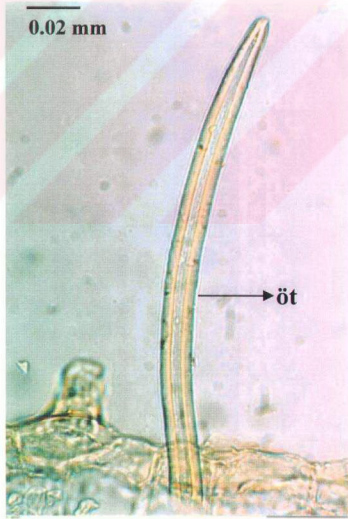
Resim 6. Yaprak Orta Damarı Enine Kesiti

d: druzlar **nh:** nişasta kın hücreleri



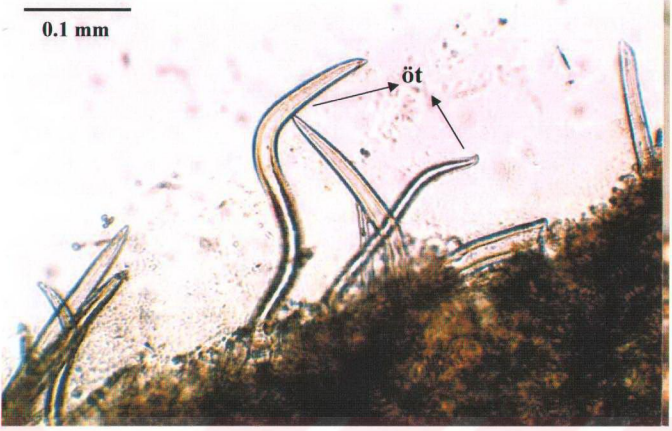
Resim 7. Yaprak Enine Kesiti (Çini Mürekkebinde)

m: müsilaj



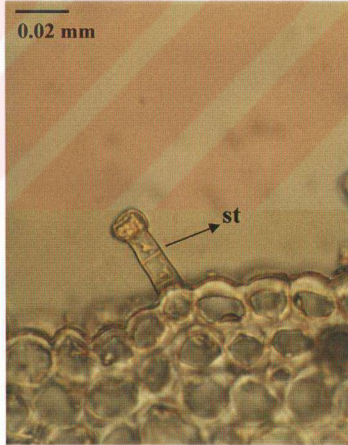
Resim 8. Yaprak Enine Kesiti

öt: örtü tüyü



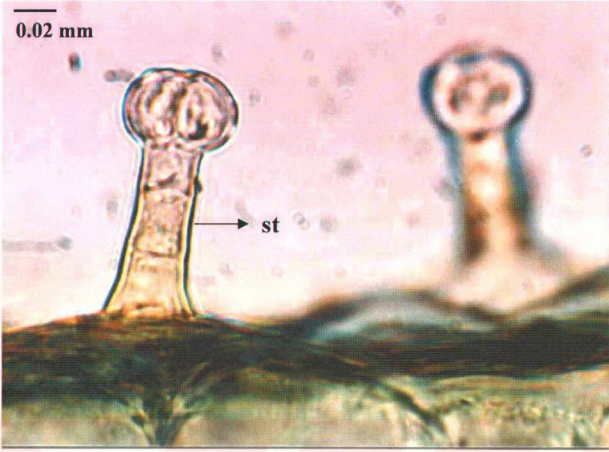
Resim 9. Yaprak Enine Kesiti

öt: örtü tüyleri



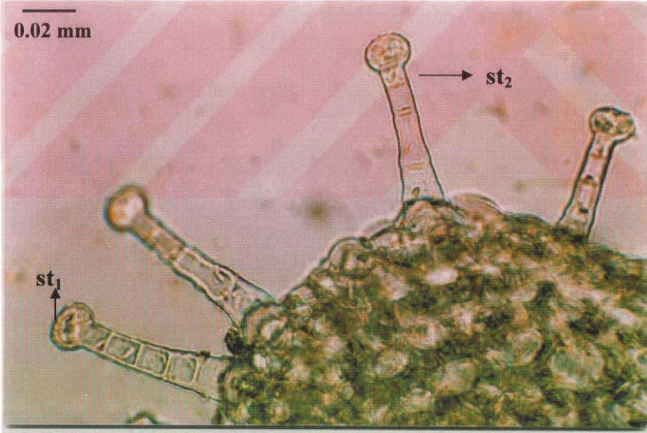
Resim 10. Yaprak Enine Kesiti

st: iki sap hücreli, tek baş hücreli salgı tüyü



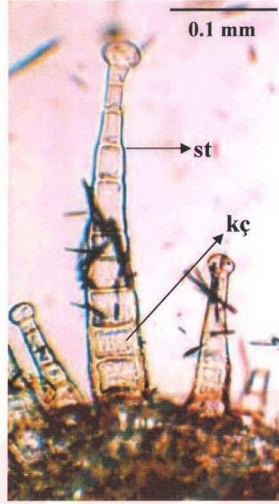
Resim 11. Yaprak Enine Kesiti

st: üç sap hücreli, tek baş hücreli salgı tüyü



Resim 12. Yaprak Enine Kesiti

st₁: beş sap hücreli, tek baş hücreli salgı tüyü **st₂:** dört sap hücreli, tek baş hücreli salgı tüyü



Resim 13. Yaprak Enine Kesiti

st: on sap hücreli, tek baş hücreli salgı tüyü **kç:** kütikula çizgicikleri

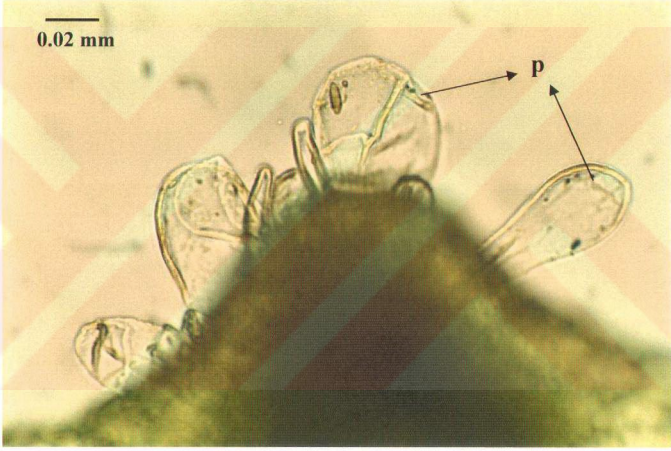
2. ÇİÇEĞE AİT İNCELEME VE BULGULAR

Petallerin bulunmadığı çiçeklerde sepaller ovat-oblong şekilli olup uç kısımda uzun papiller bulunmaktadır (**Resim 14**). Yine sepallerin mezofilinde, özellikle iletim demetlerine yakın yerlerde küçük druzlara rastlanmıştır (**Resim 15**).

Stamenlerin filamentleri uzun ve epidermisleri dış yüzeye doğru hafif kubbemsi çıkıntılı ve kütikulası noktacıklıdır (**Resim 16, 17**). Anter epidermisinin çeperleri ince ve dış yüzeye doğru kubbemsi çıkıntılı olup, bunun iç kısmındaki endotesyum hücrelerinin lateral ve dorsal çeperleri kalınlaşmış ve odunlaşmıştır. Anterler içerisinde gelişen polenler küresmi şekilli ve trikolpattır. Polenlerin eksin zarı düz olup, por çevresinde kalınlaşmıştır (**Resim 18**).

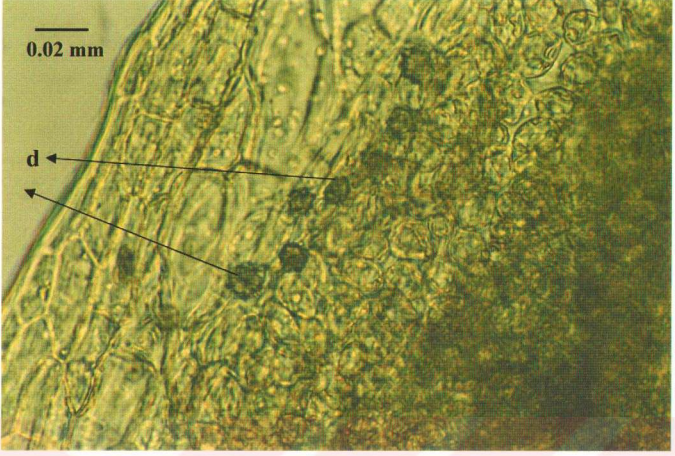
Dişi çiçeklerde bulunan kırmızı renkli stigma, püsküle benzer şekilde dallanmış ve kuvvetli papilli bir yapıya sahiptir. Bu kuvvetli papillere tutunan polenler burada çimlenebilmektedir (**Resim 19,20**).

Gerek dişi, gerekse erkek çiçeklerin dip kısmında bulunan brakte üçgenimsi şekilli olup, tek hücreli, çeperleri kalın, kütikulası ince, hafif dalgalı bazen kıvrık örtü tüylerine özellikle brakte kenarlarında yoğun olarak rastlanmaktadır (**Resim 21**).



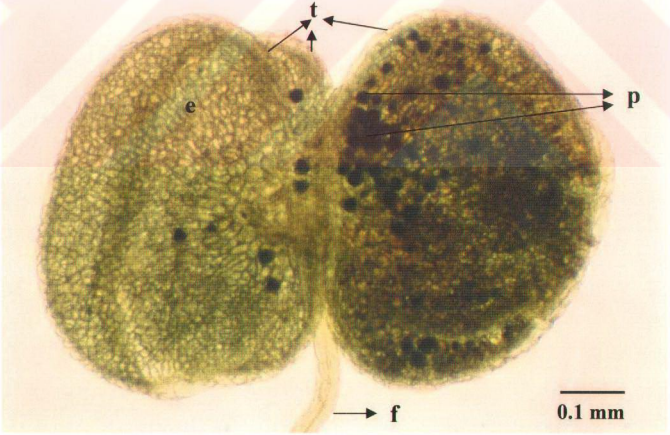
Resim 14. Sepal Yüzeysel Görünüşü

p: papiller



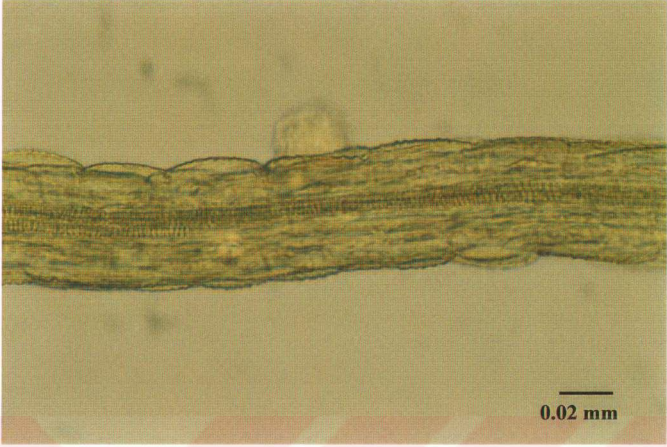
Resim 15. Sepal Yüzeysel Görünüşü

d: druzlar

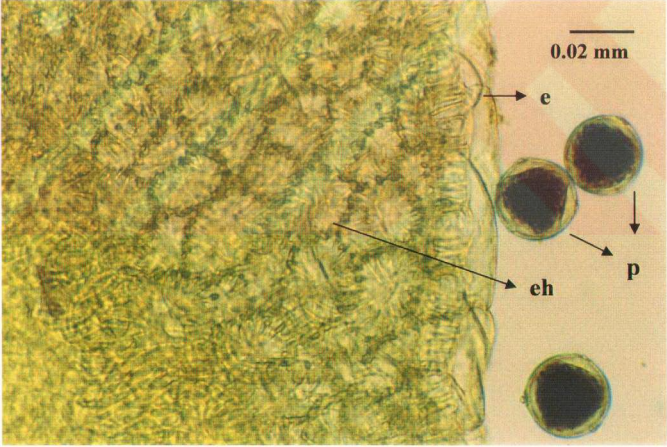


Resim 16. Stamen

p: polenler **t:** tekalar **f:** filament



Resim 17. Filament Genel Görüntüü

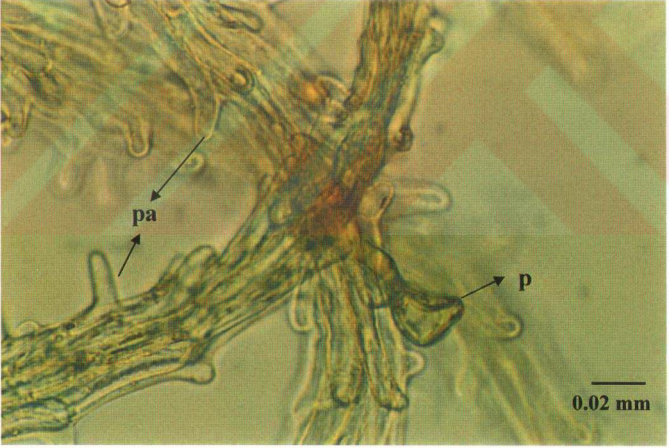


Resim 18. Anter Yüzeysel Görüntüü ve Polenler

e: anter epidermis hücreleri **p:** polenler **eh:** endosperm hücreleri



Resim 19. Stigma Genel Görünüşü



Resim 20. Stigma ve Üzerinde Çimlenen Bir Polen

pa: papiller **p:** polen



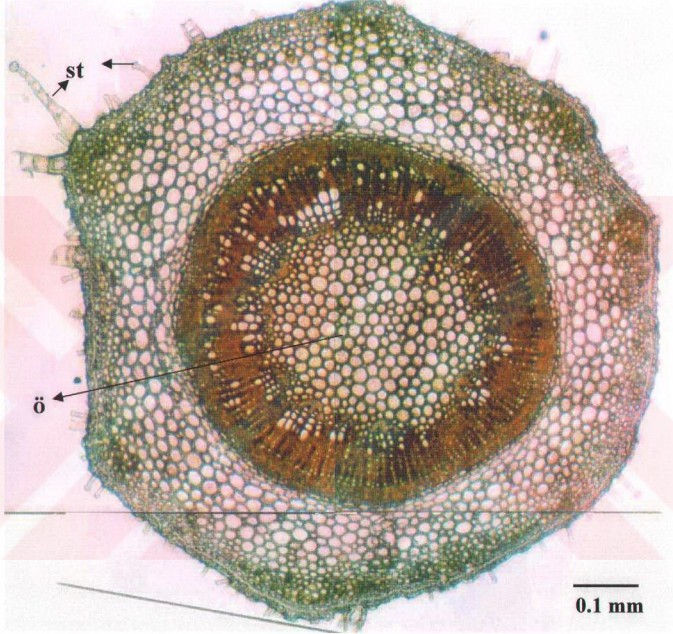
Resim 21. Brakte Genel Görünüşü

öt: örtü tüyleri

3. GÖVDEYE AİT İNCELEME VE BULGULAR

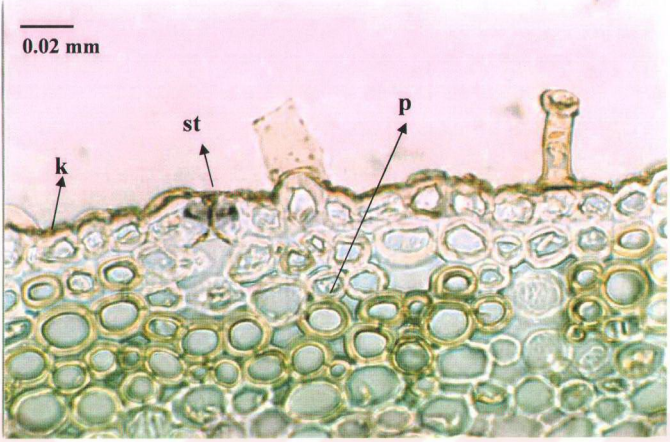
Gövde enine kesiti genel itibariyle 6–7 köşelidir (**Resim 22**). Çok sap ve tek baş hücreli salgı tüyleri bulunan epidermisteki stomalar mezofitik tiptir. Epidermis hücrelerinin çeperleri kalın, dikdörtgenimsi, dış yüzeye doğru kavisli ve ince bir kütikula ile örtülüdür (**Resim 23**). Epiderminin iç kısmında bir sıra çeperleri kalın ve epidermis hücrelerine göre daha büyük hipodermis tabakası bulunmaktadır. Köşelerde, epidermis ve hipodermisin iç kısmında çeperleri kalınlaşmış ve odunlaşmış kollenkima hücreleri, 2 köşe arasındaki hipodermisin iç kısmında ise 2–3 sıra kloroplast içeren parankimatik hücreler gözlenmektedir. Floemin dış kısmında kaspari şeridi belli olan nişasta kın hücreleri (endodermis) dikdörtgenimsi şeklindedir. Parankimatik hücrelerin iç kısmında büyük, içleri boş, kalın çeperli kollenkima hücreleri bulunmaktadır. Bu kollenkima hücreleri ile nişasta kın hücreleri arasındaki

parankimatik hücreler ise yana doğru uzamış durumdadır. Nişasta kın hücrelerinin iç kısmında floem, ksilem, ve merkezde öz bulunmaktadır. Öz, büyük, ince çepirli, parankimatik hücrelerden oluşmuştur (**Resim 22, 23, 24**).



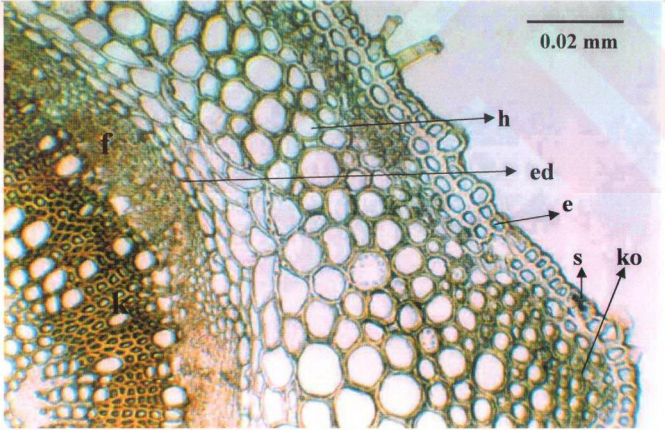
Resim 22. Gövde Enine Kesit Genel Görüntüsü

st: salgı tüyleri **ö:** öz



Resim 23. Gövde Enine Kesiti

k: kütikula **st:** mezofitik tip stoma **p:** parankima hücreleri

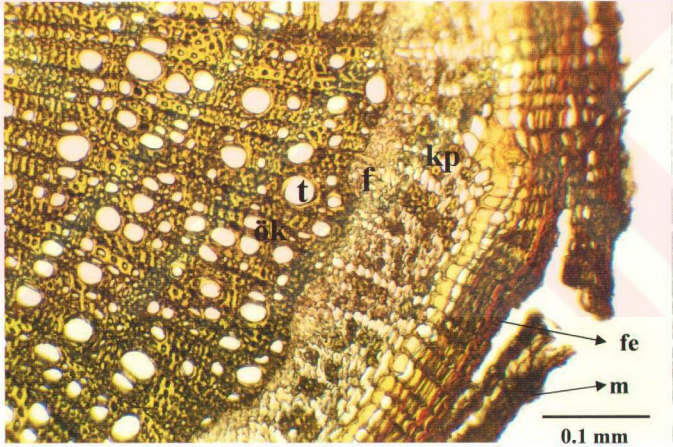


Resim 24. Gövde Enine Kesiti

h: hipodermis **ed:** endodermis **e:** epidermis **ko:** kollenkima hücreleri **s:** stoma
f: floem **k:** ksilem

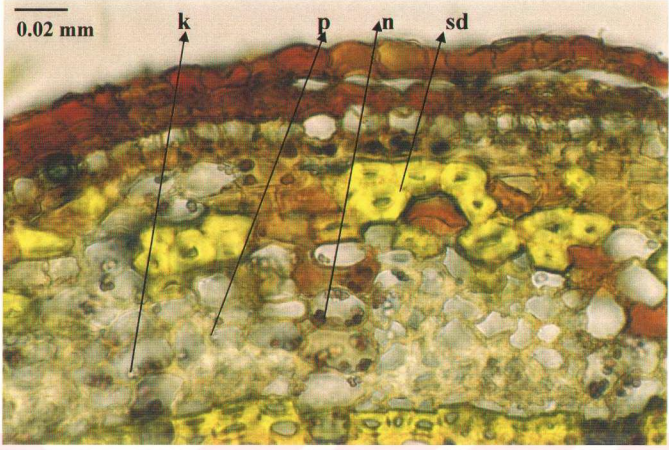
4. KÖKE AİT İNCELEME VE BULGULAR

Kök enine kesitinde en dışta fellogen ve mantar oluşumu görülmektedir. Korteks içerisinde fellogen hücreleri oluşarak, ikinci bir mantar tabakasını teşkil ettiği, kabuğun şeritler şeklinde atıldığı görülmektedir. Yine korteks içerisinde sklerankima demetleri, öz kolları ve parankimatik hücreler bulunmaktadır. Korteksteki öz kolları basit prizmatik billur kristalleri içermektedir. Floem hücreleri çok az bir yer işgal etmektedir. Ksilem kısmındaki öz kolları nişasta içermektedir. Öz, çeperleri kalınlaşmış ve odunlaşmış parankimatik hücrelerden oluşmaktadır (Resim 25, 26, 27).



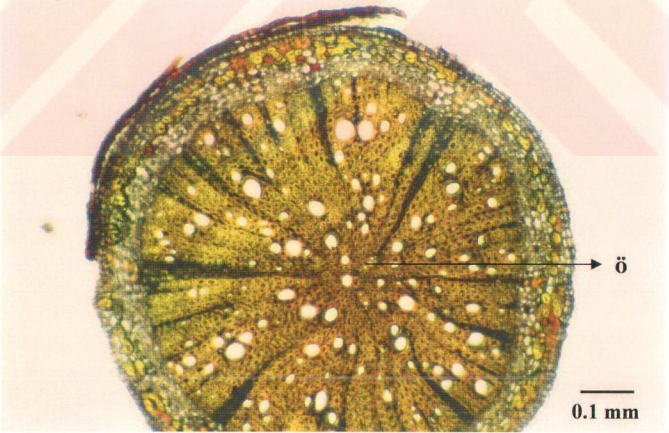
Resim 25: Kök Enine Kesitte Genel Görünüş

m: mantar **fe:** felloderm **kp:** kabuk parankiması **f:** floem **t:** trake **ök:** öz kolu



Resim 26: Kök Enine Kesitte Genel Görünüş

sd: sklerankima demeti **n:** nişasta **p:** parankimatik hücreler **k:** basit prizmatik kristaller



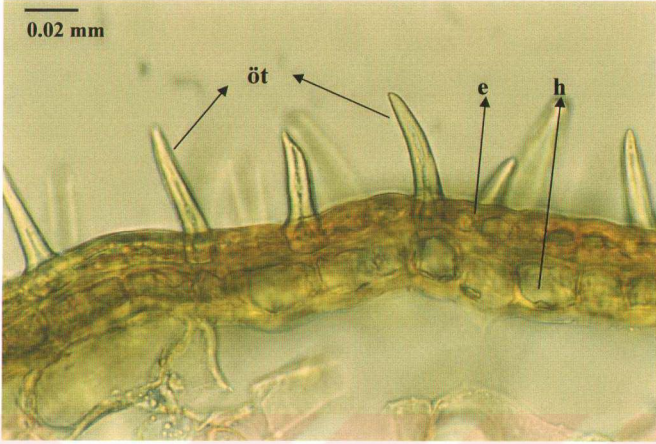
Resim 27: Kök Enine Kesitte Genel Görünüş

ö: öz

5. MEYVE VE TOHUMA AİT İNCELEME VE BULGULAR

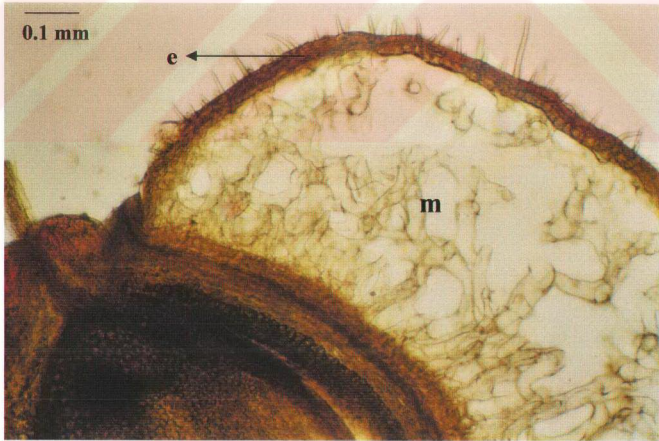
Meyve enine kesitlerinde, çeperleri oldukça kalın, kısa ve kütikulası ince örtü tüyleri taşıyan ekzokarp hücreleri dikdörtgenimsi, kalın ve odunlaşmış çeperlidir. Ekzokarpın iç kısmında, ekzokarp hücrelerine göre daha büyük, çeperleri kalın ve odunlaşmış hipodermis bulunmaktadır (**Resim 28**). Geniş bir alanı kaplayan mezokarp hücreleri iki farklı kısımdan oluşmaktadır. 1. kısım; hipodermisin iç kısmında yer alan hücreler arası boşlukları çok geniş, hücre çeperleri ince, odunlaşmış hücrelerden oluşan kısımdır. 2. kısım ise çeperleri kalın ve odunlaşmamış endodermis ve bunun iç altındaki hipodermisin iç kısmında yer alan çeperleri odunlaşmış ve hücreler arası boşlukları az olan tabakadır (**Resim 29**). İletim demetleri bu tabakada yer almaktadır. Hipodermis içerisinde küçük basit prizmatik billur şeklinde kristaller bulunmaktadır. İletim demetleri dış yüzeyden çeperleri kalınlaşmış ve odunlaşmış hücrelerle desteklenmektedir (**Resim 30, 31**).

Meyve içerisinde 2-4 tohum görülmektedir (**Resim 32**). Tohumlar, testası dış yüzeye doğru kubbemsi çıkıntılar oluşturan testa epiderması ve bunun altında iç kısmında testa parankiması, bir sıra basit prizmatik billurlar içeren malpighi hücreleri ve sklerankimatik yapıda (çeperleri kalınlaşmış ve odunlaşmış) ezilmiş besi dokudan oluşmaktadır. Bunun iç kısmında ise endosperma ve embriyo yer almaktadır (**Resim 33, 34, 35**).



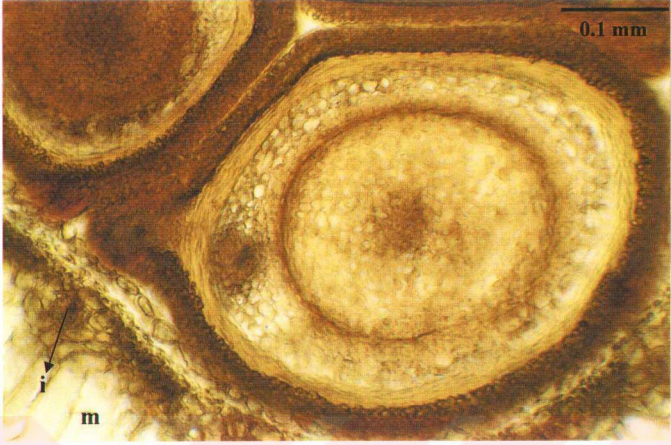
Resim 28: Meyve Enine Kesiti

öt: örtü tüyleri **e:** ekzokarp **h:** hipodermis



Resim 29: Meyve Boyuna Kesiti

e: ekzokarp **m:** mezokarp



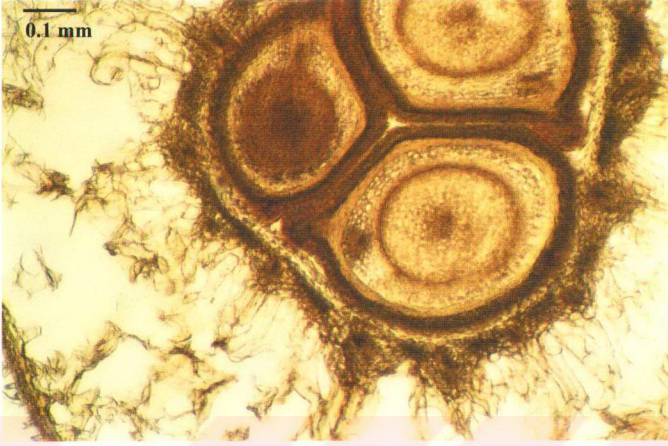
Resim 30: Meyve Enine Kesiti

i: iletim demeti **m:** mezokarp

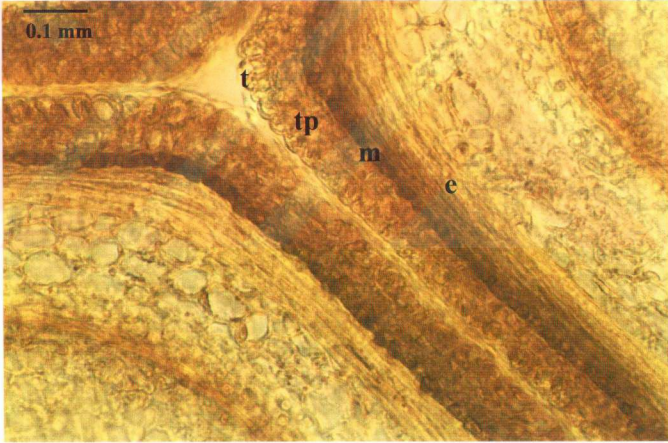


Resim 31: Meyve Enine Kesiti

i: iletim demeti **b:** basit prizmatik billur

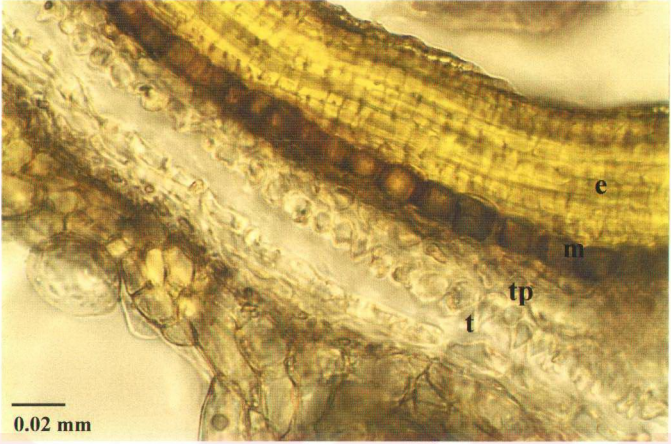


Resim 32: Meyve Enine Kesiti



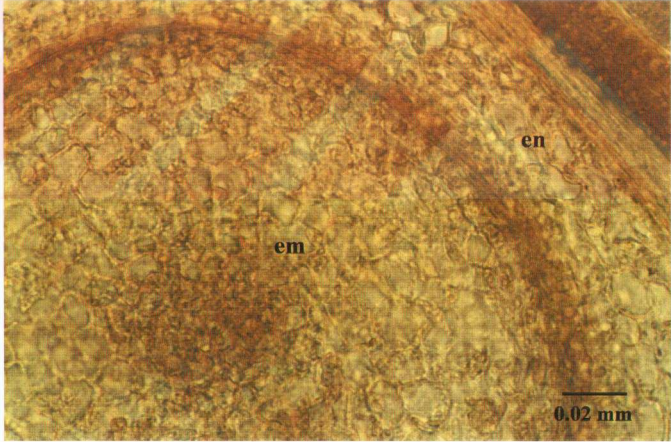
Resim 33: Tohum Enine Kesiti

t: testa epiderması **tp:** testa parankiması **m:** malpighi hücreleri **e:** ezilmiş besi doku



Resim 34: Tohum Enine Kesiti

t: testa epiderması **tp:** testa parankiması **m:** malpighi hücreleri **e:** ezilmiş besi doku



Resim 35: Tohum Enine Kesiti

en: endosperma **em:** embriyo

II. KİMYASAL BÖLÜM

A. *SARCOPOTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLAR ÜZERİNDE KALİTE KONTROL ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR

Alman Farmakopesi (DAB 10)'un genel kısmında belirtilen kalite kontrol yöntemleri esas alınarak toz drog üzerinde 3 paralel deneme yapılmıştır. Bu denemelere ait bulgular tablolar halinde aşağıda verilmiştir.

Drog	Drog Miktarı (g)	% Total Nem Miktarı
ÇTÜ	1.0001	5.4684
ÇTÜ	1.0004	5.3988
ÇTÜ	1.0008	5.4153
Ortalama % Total Nem Miktarı: 5.4275		
MTÜ	0.9990	5.3503
MTÜ	1.0002	5.3299
MTÜ	1.0007	5.3362
Ortalama % Total Nem Miktarı: 5.3388		
ÇTA	1.0003	3.0490
ÇTA	0.9992	3.0394
ÇTA	1.0007	3.0618
Ortalama % Total Nem Miktarı: 3.05		
MTA	1.0009	3.0282
MTA	0.9994	3.0368
MTA	1.0002	3.0413
Ortalama % Total Nem Miktarı: 3.0354		

Tablo 1. *Sarcopoterium spinosum* Bitkisinden Hazırlanan Droglarda % Nem Miktarı Sonuçları

Drog	Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
ÇTÜ	1.0003	4.8435
ÇTÜ	1.0010	4.9200
ÇTÜ	0.9992	5.1230
Ortalama % Total Kül Miktarı: 4.9621		
MTÜ	1.0005	5.1824
MTÜ	0.9997	5.2215
MTÜ	1.0008	5.3037
Ortalama % Total Kül Miktarı: 5.2358		
ÇTA	1.0003	9.8740
ÇTA	1.0014	10.0209
ÇTA	0.9993	9.9979
Ortalama % Total Kül Miktarı: 9.9642		
MTA	1.0001	9.9870
MTA	1.0012	10.0409
MTA	0.9998	10.0340
Ortalama % Total Kül Miktarı: 10.0206		

Tablo 2. *Sarcopoterium spinosum* Bitkisinden Hazırlanan Droglarda % Total Kül Miktarı Sonuçları

Drog	Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
ÇTÜ	1.0000	7.0120
ÇTÜ	0.9997	7.2441
ÇTÜ	1.0015	7.3999
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 7.2186		
MTÜ	1.0012	7.5888
MTÜ	0.9996	7.6010
MTÜ	1.0005	7.6481
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 7.6126		
ÇTA	1.0003	13.0100
ÇTA	0.9992	13.0074
ÇTA	1.0007	13.0598
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 13.0257		
MTA	1.0006	14.0841
MTA	0.9989	14.0995
MTA	1.0008	14.1087
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 14.0974		

Tablo 3. *Sarcopoterium spinosum* Bitkisinden Hazırlanan Droglarda % Sülfat Külü Miktarı Sonuçları

B. *SARCOPOTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDAKİ E VİTAMİNİ MİKTAR TAYİNİ BULGULARI

1. *SARCOPOTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDAN ELDE EDİLEN EKSTRE MİKTARI

Drog	Drog Miktarı (g)	Ekstre miktarı (g)
ÇTÜ	100	1.249
MTÜ	100	1.22
ÇTA	100	1.13
MTA	100	1.121

Tablo 4. *Sarcopoterium spinosum* Bitkisinden Hazırlanan Droglarının n-hegzan Ekstre Miktarları

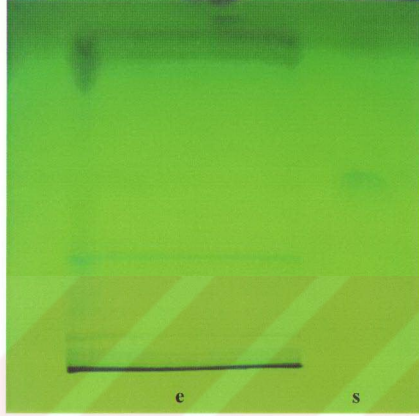
2. EKSTRELERDEKİ E VİTAMİNİNİN TEŞHİS VE KONTROLÜ

Ekstrede bulunan E vitamininin ayrıştırılması ve saflaştırılması amacıyla, daha önceden anlatıldığı şekilde aktive edilen plağa uygulanan **Herba Poterii spinosi** ve **Radix Poterii spinosi** ekstrelerinin ve saf α -tokoferolün, starttan itibaren ~16 cm yükselmesi sağlandı. Ekstredeki E vitamininin ve saf α -tokoferolün R_f değerleri ölçülmüş ve sonuçlar **Tablo 5**'te verilmiştir.

	R_f (cm)
Saf α -tokoferol	9.5 cm- $R_f=0.575$
Herba Poterii spinosi Ekstresindeki α -tokoferol	9.5 cm- $R_f=0.575$

Tablo 5. Standart α -tokoferol ve **Herba Poterii spinosi** Ekstresinde Bulunan α -tokoferolün R_f Değerlerinin Karşılaştırılması

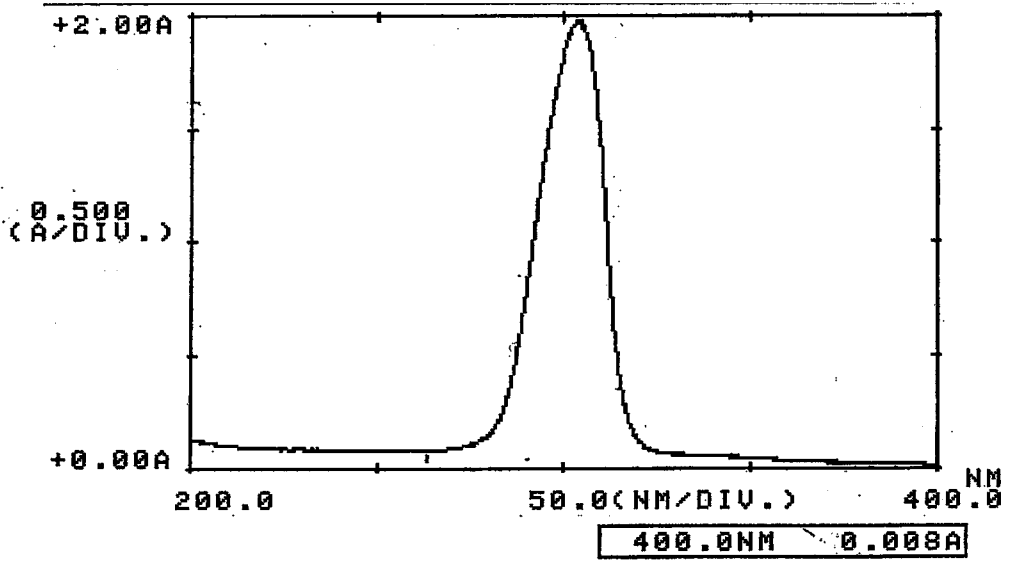
Gün ışığında ve 366 nm'de plak üzerinde hiçbir leke görülmemektedir. 254 nm UV ışık altında plağın çekilen fotoğrafı ise **Resim 36**'de görülmektedir.



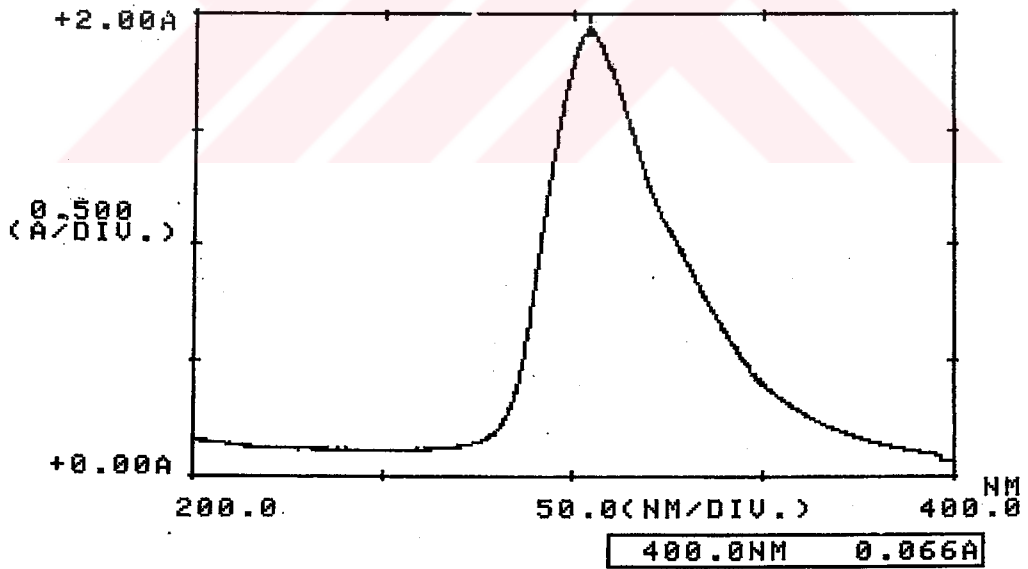
Resim 36. 254 nm UV Işık Altında Standart α -tokoferol ve **Herba Poterii spinosi** Ekstresinde Bulunan α -tokoferol

s: Standart α -tokoferol e: **Herba Poterii spinosi** n-hegzan ekstresi

Ekstreden, preparatif TLC yöntemi ile izole edilen α -tokoferolün ve saf α -tokoferolün UV ve IR spektrumları çekilip birbiriyle karşılaştırıldığında aynı madde oldukları görülmüştür. Çekilen spektrumlar, **Şekil 1-2** ve **Şekil 3-4**'de verilmiştir.

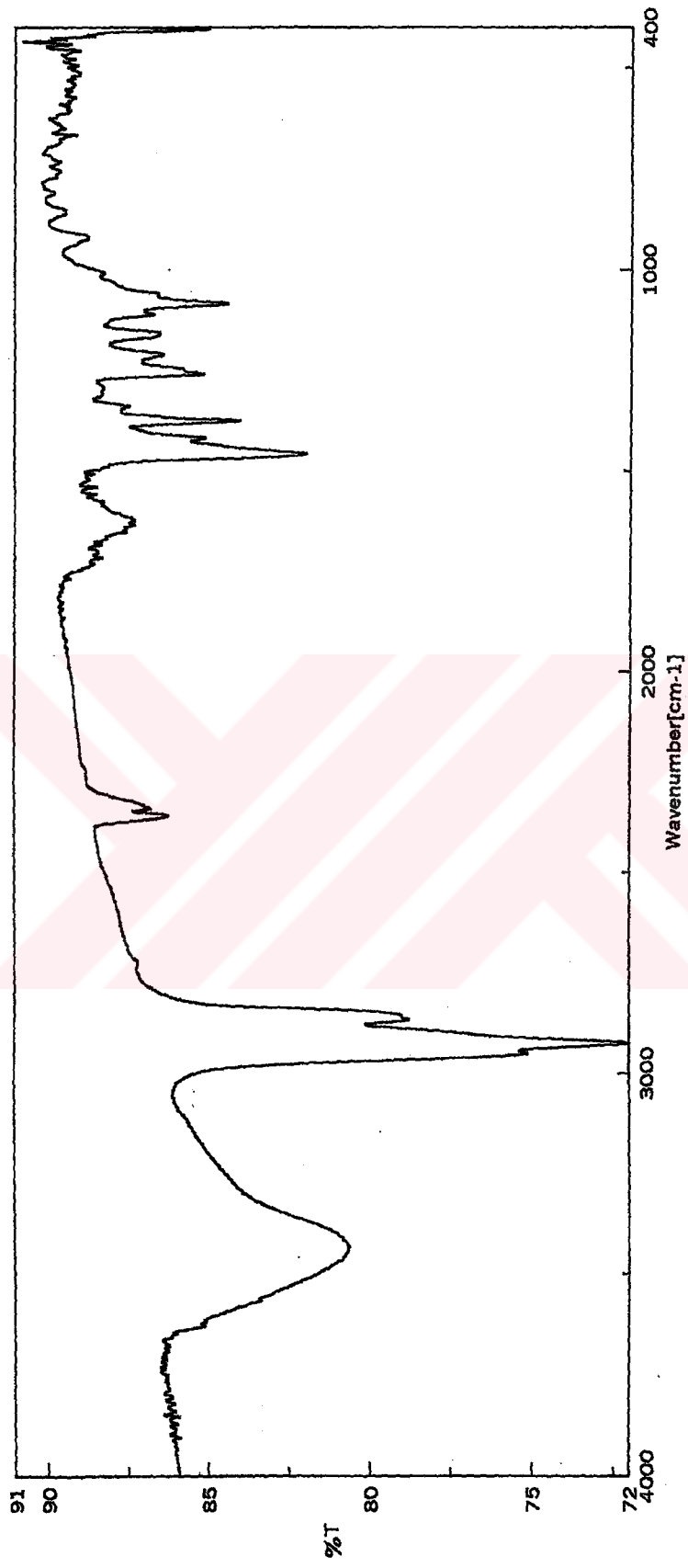


Şekil 1. Standart α -tokoferole Ait UV Spektrumu

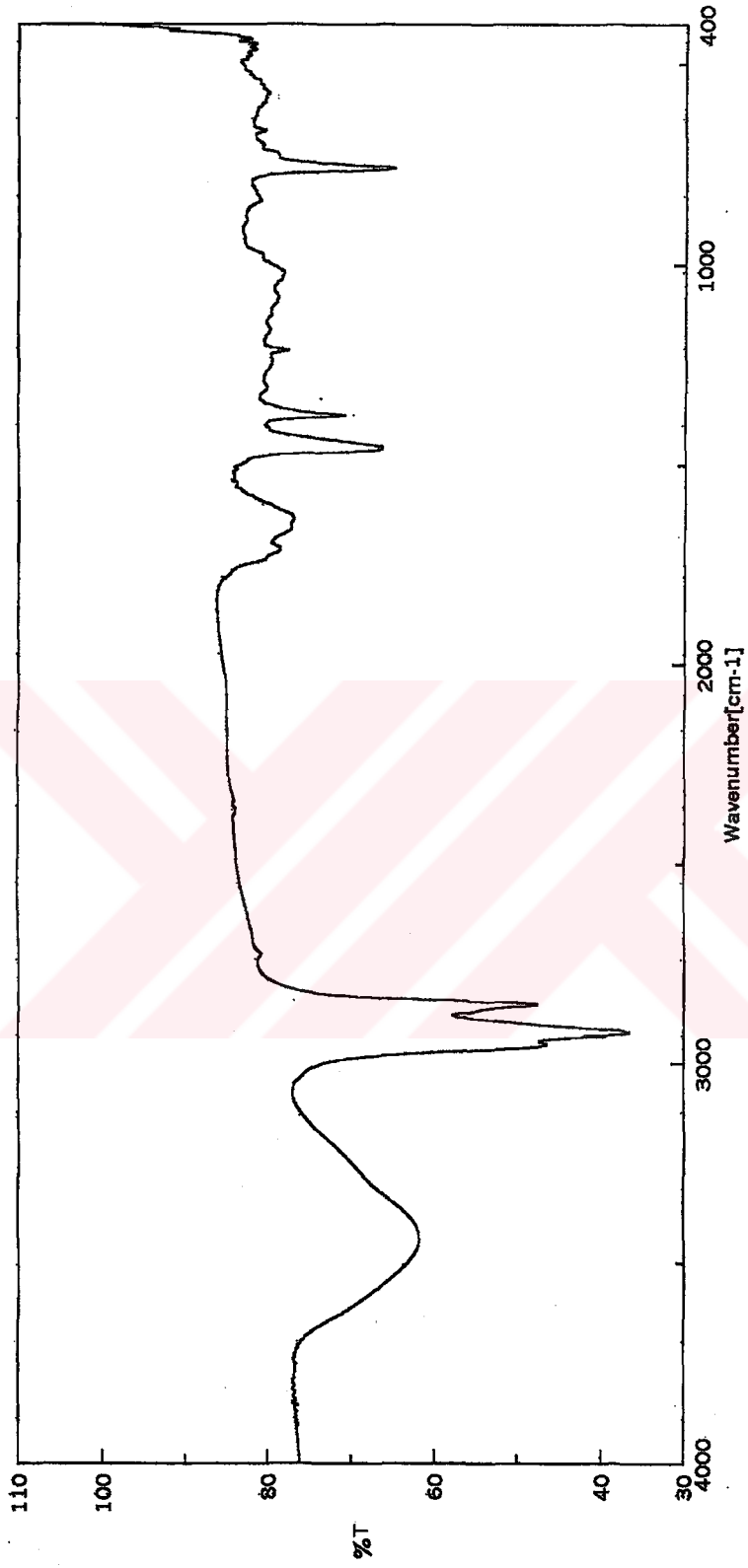


Şekil 2. Herba *Poteris spinosi* n-Hegzan Ekstresinden İzole

Edilen α -tokoferole Ait UV Spektrumu



Şekil 3. Standart α -tokoferole Ait IR Spektrumu



Şekil 4. Herba Poterii spinosi n-Hegzan Ekstresinden İzole Edilen α -tokoferole Ait IR Spektrumu

3. *SARCOPOTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDAKİ E VİTAMİNİNİN SPEKTROKOLOROMETRİK YÖNTEM İLE MİKTAR TAYİNİ

a. E Vitamini ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi

— Saf E Vitamini ile Yapılan Alan Taraması -

α -tokoferol'ün kloroform içinde % 0.5'lik çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden 20, 30, 40, 50 μ l'lik miktarlar alınarak, daha önce anlatıldığı gibi örnek çözeltiler hazırlandı. Maddenin maksimum pik verdiği dalga boyunu tespit etmek için 520–524 nm arasında ölçülen absorbans değerleri **Tablo 6**'da verilmiştir. Maksimum absorpsiyonun gerçekleştiği dalga boyu 521,5 nm olarak tespit edilmiştir. Bunun ardından stok çözeltiden 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 μ l'lik miktarlar alınarak, hazırlanan örnek çözeltilerin 521,5 nm dalga boyundaki absorpsiyonları ölçüldü (**Tablo 7**). Alınan sonuçlara göre çizilen standart ölçü eğrisi ve regresyon denklemi **Şekil 5**'de gösterilmiştir.

b. *Herba Poterii spinosi* Droglarında Spektrokolorimetrik Yöntem ile E Vitamini Miktar Tayini

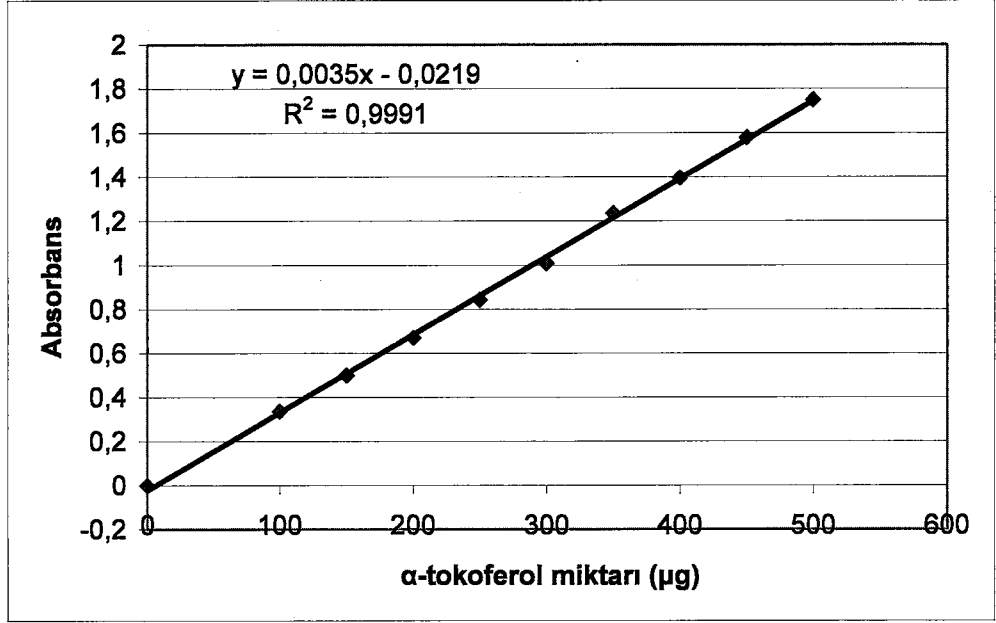
Herba Poterii spinosi droglarında spektrokolorimetrik yöntemle yapılan E vitamini miktar tayinine ait sonuçlar **Tablo 8**'de verilmiştir. **Radix Poterii spinosi** droglarında ise E vitaminine rastlanmamıştır.

Dalga boyu	Uygulanan madde miktarı (μg)			
	100	150	200	250
524	0.337	0.503	0.668	0.930
523,5	0.337	0.503	0.668	0.930
523	0.338	0.503	0.669	0.930
522,5	0.338	0.504	0.669	0.930
522	0.338	0.504	0.669	0.931
521,5	0.339	0.504	0.670	0.931
521	0.338	0.504	0.669	0.930
520,5	0.337	0.504	0.668	0.930
520	0.337	0.503	0.667	0.930

Tablo 6. Standart α -tokoferol ile Yapılan Alan Taraması Sonuçları

α -Tokoferol Miktarı (μg)	521,5 nm Absorbansı
100	0.337
150	0.5
200	0.671
250	0.845
300	1.01
350	1.237
400	1.397
450	1.58
500	1.751

Tablo 7. Spektrokolorimetrik Miktar Tayininde Standart α -tokoferolün Absorbans Değerleri



Şekil 5. Spektrokolorimetrik Yöntem ile Hazırlanan α -tokoferol Standart Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi

Drog	Ekstre Miktarı (mg)	521.5 nm Absorbansı	% E Vitamini
ÇTÜ	40	2.244	0.020215
ÇTÜ	40	2.163	0.019492
ÇTÜ	40	2.195	0.019777
MTÜ	40	3.569	0.031292
MTÜ	40	3.605	0.031605
MTÜ	40	3.524	0.030899

Tablo 8. Herba Poterii spinosi Droğlarının n-Hegzan Ekstresinde Bulunan

E Vitamini'nin Spektrokolorimetrik Miktar Tayini Sonuçları

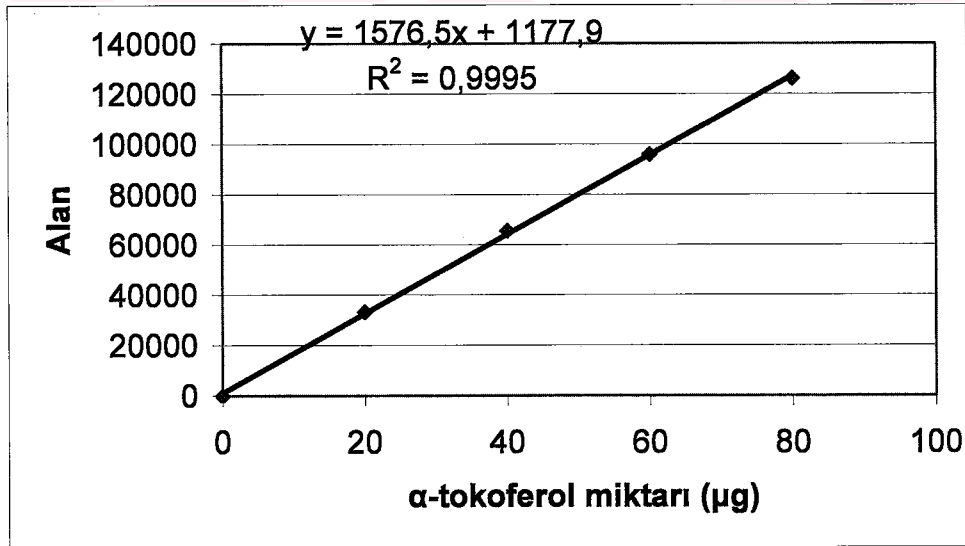
4. *SARCOPTERIUM SPINOSUM* BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDAKİ E VİTAMİNİNİN OPTİK DENSİTOMETRİK YÖNTEM İLE MİKTAR TAYİNİ

a. E Vitamini ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi

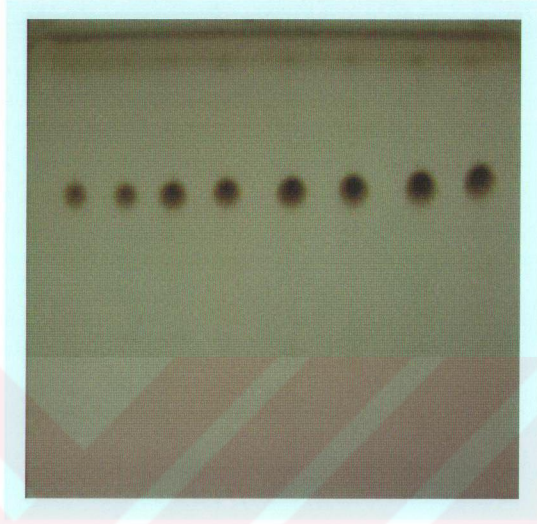
α - tokoferol ile hazırlanan standart seriden ölçülen alan değerleri ile çizilen ölçü eğrisi ve regresyon denklemi **Tablo 9** ve **Şekil 6**'da verilmiştir.

Tatbik Miktarı (μg)	Alan
0.00	0.00
20.00	33244.06
40.00	65661.33
60.00	95310.71
80.00	126260.11

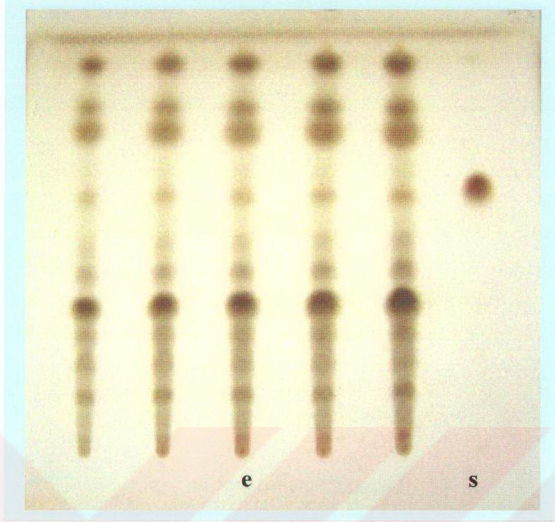
Tablo 9. Optik Dansitometrik Miktar Tayininde Standart α - tokoferolün Alan Değerleri



Şekil 6. Optik Dansitometrik Yöntem ile Hazırlanan α -tokoferol Standart Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi



Resim 37. Ölçü Eğrisi Çizimi İçin Standart α -tokoferolün Uygulandığı Kromatografi Plağının % 10 CuSO_4 - % 8 H_3PO_4 Reaktifi Püskürtüldükten Sonra Görüntüsü



Resim 38. Optik Dansitometrik Metodla E Vitamini Miktar Tayini İçin Uygulanan **Herba Poterii spinosi** Ekstresinin, % 10 CuSO_4 - % 8 H_3PO_4 Reaktifi Püskürtüldükten Sonra Oluşturduğu Lekeler

e: 20, 30, 40, 50, 60 mg/2ml konsantrasyonlarındaki Herba Poterii spinosi n-hegzan ekstresinin oluşturduğu lekeler

s: Standart α -tokoferolün oluşturduğu leke

b. Herba Poterii spinosi Droğlarında Optik Dansitometrik Yöntemi ile E Vitamini Miktar Tayini

Herba Poterii spinosi droğlarında optik dansitometrik yöntemle yapılan E vitamini miktar tayinine ait sonuçlar **Tablo 10** ve **Tablo 11**'da verilmiştir. **Radix Poterii spinosi** droğlarında E vitaminine rastlanmamıştır.

Konsantrasyon	Uygulama Hacmi	Alan	% E Vitamini
20mg/2ml	20 µl	5348	0.016519
		5442	0.016891
		5529	0.017236
30mg/2ml	20 µl	7478	0.016637
		7547	0.016819
		7620	0.017012
40mg/2ml	20 µl	9715	0.016909
		9766	0.017010
		9891	0.017257
50mg/2ml	20 µl	12014	0.017170
		12256	0.017553
		13058	0.018824
60mg/2ml	20 µl	14107	0.017072
		14211	0.017209
		14840	0.018039

Tablo 10. (ÇTÜ) Örneklerinin n-Hegzan Ekstresinde Bulunan α -tokoferolün Optik Dansitometrik Yöntemle Yapılan Miktar Tayini Sonuçları

Konsantrasyon	Uygulama Hacmi	Alan	% E Vitamini
20mg/2ml	20 µl	7107	0.022941
		7191	0.023266
		7278	0.023603
30mg/2ml	20 µl	10308	0.023551
		10445	0.023904
		10661	0.024462
40mg/2ml	20 µl	13353	0.023554
		13417	0.023678
		13564	0.023962
50mg/2ml	20 µl	16684	0.023999
		16715	0.024047
		16866	0.024280
60mg/2ml	20 µl	19383	0.023480
		19452	0.023569
		19680	0.023863

Tablo 11. (MTÜ) Örneklerinin n-Hegzan Ekstresinde Bulunan α -tokoferolün Optik Dansitometrik Yöntemle Yapılan Miktar Tayini Sonuçları

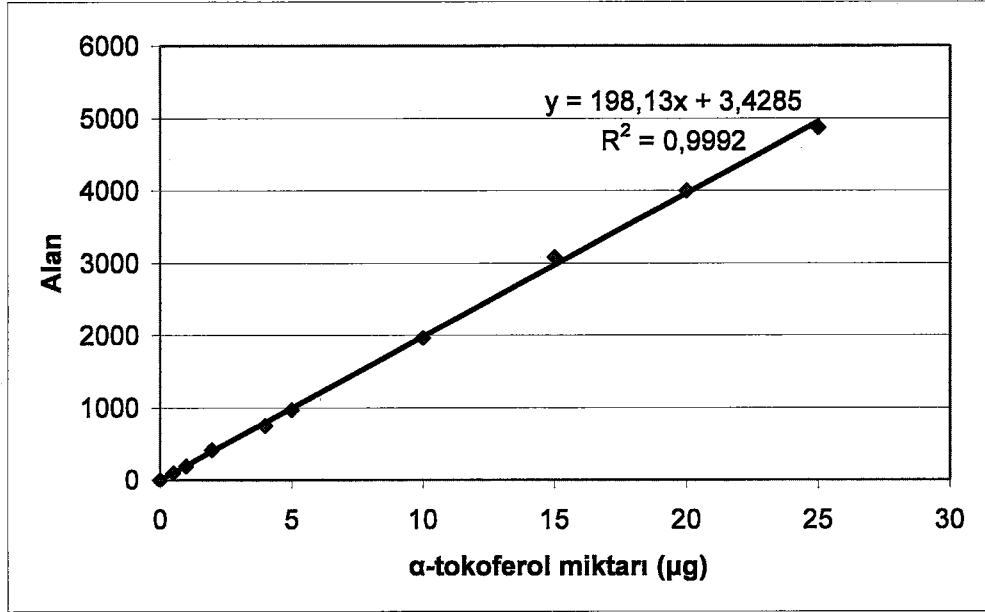
5. SARCOPOTERIUM SPINOSUM BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN DROGLARDA BULUNAN E VİTAMİNİN HPLC İLE MİKTAR TAYİNİ

a. E Vitamini ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi

α - tokoferol ile hazırlanan standart serinin verdiği alan değerleri **Tablo 12**'de, bu alan değerleri ile çizilen ölçü eğrisi ve regresyon denklemi **Şekil 7**'de, HPLC kromatogramı ise **Şekil 8**'de verilmiştir.

α-Tokoferol Miktarı (μg)	Alan Değerleri
5	102.59103
10	196.90248
20	420.88898
40	754.93286
50	972.07153
100	1963.73877
150	3088.25635
200	4004.64893
250	4875.74463

Tablo 12. HPLC ile Miktar Tayininde Standart α -tokoferolün Alan Değerleri



Şekil 7. Standart α -tokoferol İçin Standart Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi

(HPLC Yöntemi İçin)

b. Herba Poterii spinosi Droglarında Bulunan E Vitamininin Miktar Tayini

Herba Poterii spinosi droglarında bulunan E vitamininin, HPLC yöntemi ile tespit edilen % g miktarları **Tablo 13'**de, HPLC spektrumu ise **Şekil 9'**da verilmiştir.

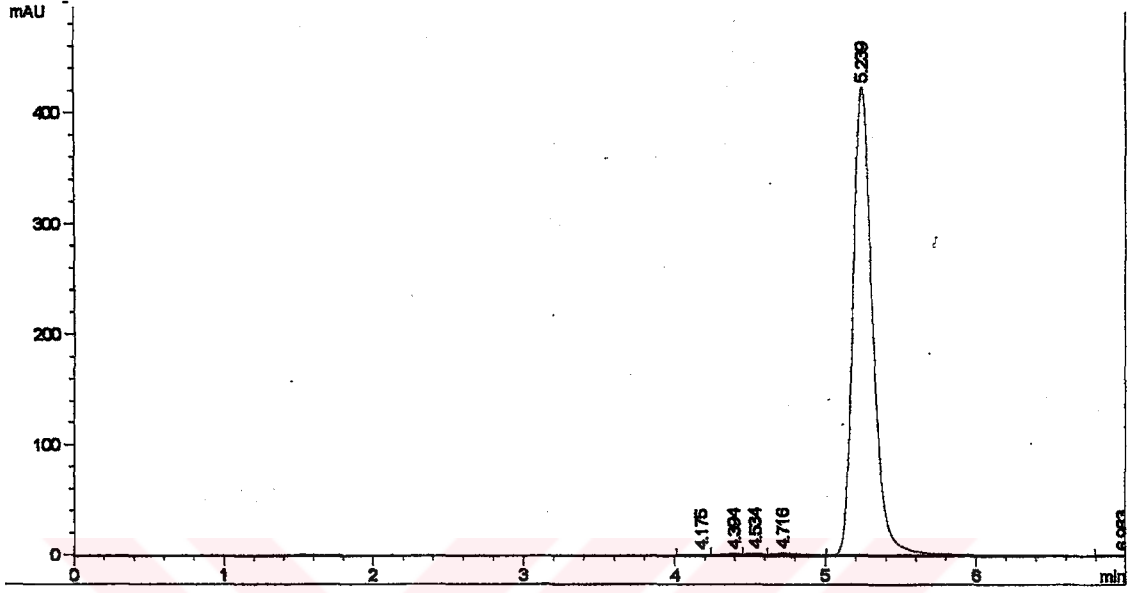
Radix Poterii spinosi droglarında ise E vitaminine rastlanmamıştır.

Drog	Ekstre Miktarı (μg)	Alan	% E vitamini
ÇTÜ	40	165.79111	0.0255881
ÇTÜ	40	168.60803	0.0260320
ÇTÜ	40	170.17031	0.0262782
MTÜ	40	242.25719	0.0367651
MTÜ	40	245.68521	0.0372928
MTÜ	40	247.54780	0.0375795

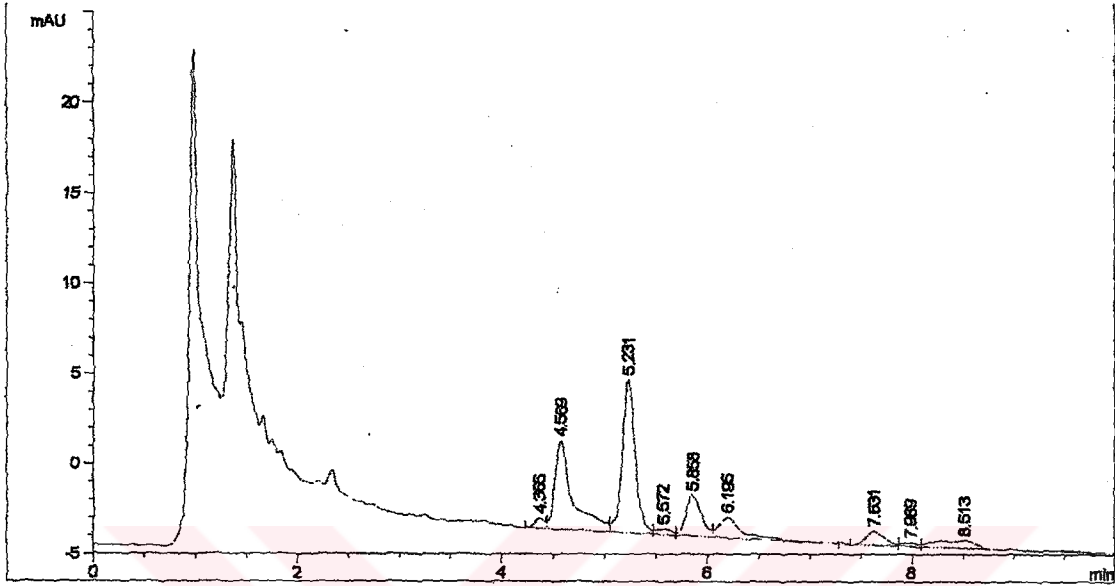
Tablo 13. Herba Poterii spinosi Droglarından Hazırlanan n-Hegzan

Ekstresindeki α -tokoferolün Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile

Miktar Tayini Sonuçları



Şekil 8. Standart α -tokoferolün 292 nm'de HPLC Kromatogramı



Şekil 9. Herba Poterii spinosi n-Hegzan Ekstresinin 292 nm'de HPLC Kromatogramı

6. SONUÇLARIN İSTATİSTİKSEL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Drog	N	Mean	Med	St.Dev.	Min	Max	Q1	Q3
ÇTÜ	3	0.019828	0.019777	0.00021	0.019492	0.020215	0.019634	0.019996
MTÜ	3	0.031265	0.031292	0.000204	0.030899	0.031605	0.031096	0.031449

Tablo 14. Herba Poterii spinosi Droğundan Hazırlanan n-Hegzan Ekstresindeki E Vitamininin Spektrokolorimetrik Miktar Tayini Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog	N	Mean	Med	St.Dev.	Min	Max	Q1	Q3
Ç	15	0.01721	0.017072	0.000149	0.016519	0.018824	0.0169	0.0172465
M	15	0.023744	0.023678	0.0001	0.022941	0.024462	0.0235525	0.0239805

Tablo 15. Herba Poterii spinosi Droğundan Hazırlanan n-Hegzan Ekstresindeki E Vitamininin Optik Dansitometrik Miktar Tayini Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Ekstre Konsantrasyonu	20mg/2ml	30mg/2ml	40mg/2ml	50mg/2ml	60mg/2ml
N	3	3	3	3	3
Ortalama	0.016882	0.016823	0.017059	0.017849	0.01744
St.Dev.	0.000207	0.000108	0.000103	0.0005	0.000302
Min	0.016519	0.016637	0.016909	0.01717	0.017072
Max	0.017236	0.017012	0.017257	0.018824	0.018039

Tablo16. Herba Poterii spinosi (ÇTÜ) Droğundan Hazırlanan n-Hegzan Ekstresindeki E Vitamininin Optik Dansitometrik Miktar Tayini Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Ekstre Konsantrasyonu	20mg/2ml	30mg/2ml	40mg/2ml	50mg/2ml	60mg/2ml
N	3	3	3	3	3
Ortalama	0.02327	0.023972	0.023731	0.024109	0.023637
St.Dev.	0.000191	0.000265	0.000121	0.000086	0.000116
Min	0.022941	0.023551	0.023554	0.023999	0.02348
Max	0.023603	0.024462	0.023962	0.02428	0.023863

Tablo17. Herba Poterii spinosi (MTÜ) Droğundan Hazırlanan n-Hegzan Ekstresindeki E Vitamininin Optik Dansitometrik Miktar Tayini Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog	N	Mean	Med	St.Dev.	Min	Max	Q1	Q3
Ç	3	0.025966	0.026032	0.000202	0.025558	0.026278	0.025810	0.026155
M	3	0.037212	0.037293	0.000239	0.036765	0.03758	0.037028	0.037436

Tablo18. Herba Poterii spinosi Droğlarından Hazırlanan n-Hegzan Ekstresindeki E Vitamininin HPLC ile Miktar Tayini Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

**C. SARCOPOTERIUM SPINOSUM BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN
DROGLARLA YAPILAN FİTOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI**

Ekstreler (%) verim	Flavonoid TÜ/TA		Tanen TÜ/TA		Alkaloid TÜ/TA		Steroidal Sapogenoller TÜ/TA		Triterpenik Saponozitler TÜ/TA		Nişasta TÜ/TA	
n-hegzan 1.249(TÜ) 1.22(TA)	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+
Kloroform 4.0235(TÜ) 3.6589(TA)	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+
Etilasetat 3.0214(TÜ) 2,5689(TA)	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+
Metanol 5.1254(TÜ) 3,0125(TA)	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+
Etanol 4,8596(TÜ) 2,9845(TA)	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+
İnfüzyon 6.1785(TÜ) 5,6214(TA)	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+

Tablo19. Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droğlarından Hazırlanan n-Hegzan, Kloroform, Etil asetat, Metanol, Etanol Ekstrelerinin ve İnfüzyonunun Fitokimyasal Analiz Sonuçları (TÜ: Toprak üstü; TA: Toprak altı)

III. BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNLERİ

A. SARCOPOTERIUM SPINOSUM BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN

DROGLARDA SİTOTOKSİK AKTİVİTE TAYİNİNE AİT BULGULAR

Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi droğlarından hazırladığımız n-hegzan, kloroform etil asetat etanol, metanol ekstreleri ile infüzyonunun sitotoksik aktiviteleri *Artemia Salina* (Brine shrimp) metodu kullanılarak araştırılmış ve sonuçlar Tablo 20'de verilmiştir.

Ekstreler	ppm	LC ₅₀
N-Hegzan (H,R)	1000: 100: 10	> 1000
Kloroform (H,R)	1000: 100: 10	> 1000
Etilasetat (H,R)	1000: 100: 10	> 1000
Etanol (H,R)	1000: 100: 10	> 1000
Metanol (H,R)	1000: 100: 10	> 1000
İnfüzyon (H,R)	1000: 100: 10	> 1000

Tablo20. Herba Poterii spinosi ve Radix Poterii spinosi Droğlarından Hazırlanan Ekstrelerin ve İnfüzyonun Sitotoksik Aktivite Tayini Sonuçları

H: Herba, R: Radix

B. HERBA POTERII SPINOSI DROĞUNDA ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE TAYİNİNE AİT BULGULAR

Herba Poterii spinosi droğunda antimikrobiyal aktiviteleri belirlemek için droğdan hazırlanan etanol, metanol, etil asetat, kloroform, n-hegzan ekstreleri ve infüzyonu kullanılmıştır. Bu amaçla referans standart olarak ofloksazin, sulbaktam, sefoperozan, netilmisin, maksipin, amfoterisin B antibiyotikleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan bakteri, maya, ve mantarlar ile antibiyotiklerin bunlara karşı oluşturduğu aktivite sonuçları **Tablo 21, 22'**de verilmiştir. Aktif bulunan ekstrele ait veriler ise **Tablo 23'**de verilmiştir.

Test Mikroorganizmaları	Antibiyotikler	
	DD ^a	MIC ^a (max)
<i>Acinetobacter baumannii</i> -A8	18 (OFX)	31.25
<i>Acinetobacter lwoffii</i> F1	24 (OFX)	62.50
<i>Bacillus macerans</i> -A199	19 (OFX)	15.62
<i>Bacillus megaterium</i> – A59	9 (SCF)	15.62
<i>Bacillus subtilis</i> -ATCC-6633	28 (OFX)	62.50
<i>Bacillus subtilis</i> -A57	28 (OFX)	125
<i>Brucella abortus</i> A77	12 (SCF)	62.50
<i>Burkholderia cepacia</i> A225	22 (SCF)	125
<i>Clavibacter michiganense</i> -A227	25 (SCF)	16.62
<i>Cedecea davisae</i> F2	14 (OFX)	62.50
<i>Enterobacter cloacae</i> -A135	20 (NET)	31.25
<i>Enterococcus faecalis</i> -ATCC-29122	18 (SCF)	31.25
<i>Escherichia coli</i> -A1	- (OFX)	62.50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> F3	12 (OFX)	125
<i>Klebsiella pneumoniae</i> -A137	12 (OFX)	125
<i>Morganella morganii</i> F4	14 (OFX)	125
<i>Proteus vulgaris</i> -A161	12 (OFX)	125
<i>Proteus vulgaris</i> -KUKEM1329	13 (OFX)	125
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> -ATCC9027	22 (NET)	31.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27859	22 (NET)	15.62
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> F5	18 (NET)	125
<i>Pseudomonas pseudoalkaligenes</i> F6	18 (NET)	125
<i>Pseudomonas syringae</i> pv.tomato A35	24 (OFX)	125
<i>Salmonella cholerasuis arizonae</i> F7	14 (NET)	250
<i>Salmonella enteritidis</i> - ATCC-13076	27 (SCF)	62.50
<i>Serratia plymuthica</i> F8	16 (NET)	125
<i>Shigella sonnei</i> F9	24 (NET)	31.25
<i>Staphylococcus aureus</i> - A215	22 (SCF)	31.25
<i>Staphylococcus aureus</i> -ATCC-29213	22 (SCF)	62.50
<i>Staphylococcus epidermis</i> -A233	- (SCF)	15.62
<i>Staphylococcus hominis</i> F10	- (SCF)	15.62
<i>Streptococcus pyogenes</i> -ATCC-176	10 (OFX)	62.50
<i>Streptococcus pyogenes</i> -KUKEM-676	13 (OFX)	31.25
<i>Xanthomonas campestris</i> -A235	20 (SCF)	31.25
<i>Yersinia enterocolitica</i> F11	16 (OFX)	62.50

Tablo 21. Test Mikroorganizmaları ve Antibiyotiklerin Oluşturduğu İnhibisyon Zonu Çapları (mm) ile Minimal İnhibitör Derişimler ($\mu\text{g/ml}$)

DD^a : OFX=Ofloksazin (10 μg /disc); SCF=sulbaktam (30 μg)+sefoperazon (75 μg) (105 μg /disc) and NET=Netilmisin, (30 μg /disc) pozitif referans standart antibiyotik diskleri olarak kullanıldı (Oxoid)

MIC^a : Maksipin ($\mu\text{g/mL}$) mikro-kuyucuk dilusyon testinde referans standard antibiyotiği olarak kullanıldı (Sigma)

Test Mikroorganizmaları	Antibiyotik
MAYA	MIC^a Amp B)
<i>Candida albicans</i> -A117	31.25
KÜFLER	
<i>Alternaria alternate</i>	31.25
<i>Alternaria solani</i>	31.25
<i>Aspergillus flavus</i>	15.62
<i>Aspergillus niger</i>	15.62
<i>Aspergillus variecolor</i>	15.62
<i>Fusarium acuminatum</i>	62.50
<i>Fusarium oxysporum</i>	62.50
<i>Fusarium solani</i>	62.50
<i>Fusarium tabacinum</i>	62.50
<i>Microsporum canis</i>	62.50
<i>Monilia fructicola</i>	15.62
<i>Mortieraula alpine</i>	62.50
<i>Penicillium spp.</i>	31.25
<i>Rhizopus spp.</i>	125
<i>Rhizoctonia solani</i>	31.25
<i>Sclerotinia minor</i>	125
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	62.50
<i>Trichophyton rubrum</i>	31.25
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	15.62

Tablo 22. Test Mikroorganizmaları ve Antibiyotiklerin Oluşturduğu İnhibisyon Zonu Çapları(mm) ile Minimal İnhibitör Derişimler($\mu\text{g/ml}$)

MIC^a : AmpB = Amfoterisin B ($\mu\text{g/ml}$) mikro-kuyucuk dilusyon testinde referans standard antibiyotiği olarak kullanıldı (Sigma).

Ekstreler	Bakteri türleri	
	<i>Salmonella cholerasuis arizonae</i> F7 DD ^a : 14(NET) MIC ^a :250	<i>Morganella morganii</i> F4 DD ^a :14(OFX) MIC ^a :125
Etil asetat	10 125	10 250
Kloroform	10 250	-
İnfüzyon	10 125	-

Tablo 23. Aktif Bulunan *Herba Poterii spinosi* Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri

**C. SARCOPOTERIUM SPINOSUM BİTKİSİNDEN HAZIRLANAN
DROGLARINDA ANTIOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİNE AİT BULGULAR**

Zaman	Ekstreler (1 mg/ml)	TEAC(mM) (Ort.±S.S.)(n=3)
ÇTÜ	n-hegzan	0.13±0.05
ÇTÜ	Distile su	1.30±0.08
ÇTÜ	Etanol	1.04±0.12
ÇTÜ	Metanol	1.41±0.08
ÇTÜ	Etil Asetat	0.76±0.02
ÇTÜ	Kloroform	0.70±0.02
MTÜ	n-hegzan	0.28±0.11
MTÜ	Distile su	1.45±0.05
MTÜ	Etanol	1.56±0.06
MTÜ	Metanol	1.60±0.08
MTÜ	Etil Asetat	0.69±0.08
MTÜ	Kloroform	0.52±0.04
ÇTA	n-hegzan	0.19±0.01
ÇTA	Distile su	1.46±0.02
ÇTA	Etanol	1.36±0.10
ÇTA	Metanol	1.49±0.08
ÇTA	Etil Asetat	0.53±0.10
ÇTA	Kloroform	0.62±0.06
MTA	n-hegzan	0.19±0.06
MTA	Distile su	1.61±0.02
MTA	Etanol	1.96±0.06
MTA	Metanol	1.97±0.02
MTA	Etil Asetat	0.87±0.12
MTA	Kloroform	0.75±0.03

Tablo 24. *Sarcopoterium spinosum* Bitkisinden Hazırlanan Drogların Ekstrelerinin Antioksidan Aktiviteleri TEAC (Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite): İncelenen ekstrenin 1 mg/ml çözeltilisine karşılık gelen antioksidan kapasiteye sahip trolox çözeltilisinin milimolar cinsinden konsantrasyonudur.

TARTIŞMA

I. BOTANİK ARAŞTIRMALAR

Çeşitli Akdeniz ülkelerinde ve yurdumuzda yabani olarak yetişen, İzmir Seferihisar mevkiinden topladığımız, *Sarcopoterium spinosum* bitkisinden hazırlamış olduğumuz bazı örnekler üzerinde makroskobik ve mikroskobik araştırmalar yapılmıştır.

Ülkemizde tek tür ile temsil edilen *S. spinosum* bitkisinden, ileride Türk Farmakopesinde yer almasının uygun olacağını düşünerek yaptığımız çalışmalar ve sonuçları aşağıda yer almaktadır. :

- a. *S. spinosum* bitkisi doğada, 75 cm boylarında, tümsek teşkil eden çalılar şeklinde bulunmaktadır.
- b. Yaprak kenarları alt yüzeye doğru kıvrık ve ince bir kütikula tabakası ile örtülüdür.
- c. Yaprığın hem üst hem de alt epidermisinde salgı tüyleri bulunmaktadır, örtü tüyelerine ise sadece alt epidermiste rastlanmaktadır. Salgı tüyleri çok sap hücreli ve tek baş hücreli, örtü tüyleri ise tek hücrelidir.
- d. Yaprakta stomalar sadece alt epidermiste olup, kserofitik tiptedir.
- e. Yaprak bifasialdır. Üst epidermis hücreleri dikdörtgenimsi ve alt epidermis hücrelerine göre daha büyüktür. Mezofil hücrelerinden palizat parankiması hücreleri 2 sıra, sünger parankiması hücreleri ise 2-3 sıra halinde dizilmiş olup hücreler arası boşlukları azdır.
- f. Petallerin bulunmadığı çiçeklerde ovat-oblong şekilli sepaller uç kısımda uzun papiller taşımaktadır.

g. Stamenlerin filamentleri uzun ve epidermisleri dış yüzeye doğru hafif kubbemsi çıkıntılıdır.

h. Anterler içerisinde gelişen polenler küremsi ve trikolpat olup, eksin zarları düz, por çevresinde kalınlaşmıştır.

ı. Dişi çiçeklerde bulunan stigma kırmızı renkli, püsküle benzer şekilde dallanmış ve kuvvetli papillidir.

i. Gerek dişi, gerekse erkek çiçeklerin dip kısmında bulunan braktede, tek hücreli, çeperleri kalın, kütikulası ince, hafif dalgalı bazen kıvrık örtü tüylerine yoğun olarak rastlanmaktadır.

j. Gövde epidermis hücreleri de yaprak epidermis hücreleri gibi ince bir kütikula ile örtülüdür.

k. Yine yaprağa benzer şekilde mezofitik tip stoma taşıyan gövde epidermisinden çok sap ve tek baş hücreli salgı tüyleri köken almaktadır.

l. Köklerde, en dışta fellogen ve mantar oluşumu görülmektedir. Korteks içerisinde fellogen hücreleri oluşarak, ikinci bir mantar tabakasını teşkil ettiği, kabuğun şeritler şeklinde atıldığı görülmektedir.

m. Meyvelerde, çeperleri oldukça kalın, kısa ve kütikulası ince örtü tüyleri taşıyan ekzokarp hücreleri dikdörtgenimsi, kalın ve odunlaşmış çeperlidir. Ekzokarpın iç kısmında, ekzokarp hücrelerine göre daha büyük, çeperleri kalın ve odunlaşmış hipodermis bulunmaktadır. Meyve içerisinde 2-4 tohum görülmektedir.

II. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ARAŞTIRMALARI

Çalışmalarımızda 12.04.2004 ve 12.05.2004 tarihlerinde çiçekli ve meyveli olmak üzere iki farklı dönemde topladığımız *Sarcopoterium spinosum* bitkisinden hazırlanan droglar kullanılmıştır.

DAB 10'da yer alan yöntemler esas alınarak, gravimetrik nem miktarı, total kül miktarı ve sülfat külü miktarı olmak üzere kalite kontrol çalışmaları gerçekleştirilmiştir (19). Ayrıca ince tabaka kromatografisi kullanılarak droğun E vitamini içeriğinin kontrolü ve teşhisi gerçekleştirilmiştir.

A. NEM, TOTAL KÜL VE SÜLFAT KÜLÜ MİKTAR TAYİNİ

Nem miktar tayini denemeleri sonucunda elde edilen ortalama değerler, ÇTÜ kodlu örnek için % 5.4275, MTÜ kodlu örnek için % 5.3388, ÇTA kodlu örnek için % 3.05, MTA kodlu örnek için ise % 3.0354 olarak saptanmıştır. Total kül miktar tayini denemeleri sonucunda elde edilen ortalama değerler, ÇTÜ kodlu örnek için % 4.9621, MTÜ kodlu örnek için % 5.2358, ÇTA kodlu örnek için % 9.9642, MTA kodlu örnek için % 10.0206 olarak bulunmuştur. Sülfat külü miktar tayini denemeleri sonucunda elde edilen ortalama değerler ise, ÇTÜ kodlu örnek için % 7.2186, MTÜ kodlu örnek için %7.6126, ÇTA kodlu örnek için % 13.0257, MTA kodlu örnek için % 14.0974'dür.

B. İ.T.K. İLE E VİTAMİNİ TEŞHİS VE KONTROLÜ

Yapılan ön araştırmalar sonucunda en uygun solvan sistemi olarak sikloheksan:dietil eter (8:2) tespit edilmiş, kromatografi için kullanılacak plaklar bu solvan sisteminde develope edilmiştir. Droglardan hazırlanan n-hegzan ekstralarının ve standart α -tokoferolün 254 nm dalga boyundaki UV ışık altında çekilen fotoğraflarına tezimizin "Bulgular" bölümünde yer verilmiştir.

C. E VİTAMİNİ MİKTAR TAYİNİ

İ.T.K. yöntemini kullanarak yaptığımız ön araştırmalarla bitkinin toprak üstü kısımlarında, E vitamininin varlığı standart α -tokoferol ile mukayese edilerek kanıtlanmış, UV ve IR spektrumları ile de saflığı belirlenmiştir. Droglarda var olan E vitamini miktarını tespit etmek için standart α -tokoferolden yararlanılmış ve Spektrokolorimetri, Optik Dansitometri ve Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) olmak üzere üç yöntem kullanılmıştır. Bulgular bölümünde verilen sonuçlara göre en yüksek % E vitamini miktarı HPLC ile elde edilmiştir. Bunu sırasıyla Spektrokolorimetrik ve Optik Dansimetrik yöntemler izlemektedir (**Tablo 8, 10, 11, 13**). Madde kaybının en aza indirildiği HPLC yöntemi bu özelliği ile diğer yöntemlere üstünlük sağlamaktadır.

Yapılan denemeler sonucunda HPLC yöntemiyle bulunan E vitamini miktarları ortalama olarak, ÇTÜ kodlu örnek için % 0.025966, MTÜ kodlu örnek için % 0.037212 olarak bulunmuştur. Bitkinin toprak altı kısımlarında E vitaminine rastlanmamıştır.

Soya Fasülyesi (*Glycine max* (L.) Merr.) yağı, tokoferollerin eldesinde kullanılan çok önemli bir kaynaktır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre *S. spinosum* bitkisinin toprak üstü kısımları, soya fasülyesi yağına oranla (% 0.0051–0.0111) daha yüksek miktarda tokoferol içermektedir (47). Yapılan çalışmalar ile **Herba Poterii spinosi** droğunun potansiyel E vitamini kaynağı olarak değerlendirilebileceği sonucu ortaya çıkmıştır.

III. BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNLERİ

Sarcopoterium spinosum bitkisinden hazırlanan droglarda biyolojik aktivite çalışmalarını gerçekleştirmek üzere drogların n- hegzan, etanol, metanol, kloroform, etil asetat ekstraktları ve infüzyonu hazırlanmıştır.

a. Droğun sitotoksik aktivitesini belirlemek üzere, hazırlanan ekstrelelere Brine Shrimp (*Artemia Salina*) metodu uygulanmıştır. Ekstrelerin hiçbirinde sitotoksik aktivite gözlenmemiştir (Tablo 20).

b. Droğların antimikrobiyal aktivitesini araştırmak amacıyla ekstrelelere Disk Difüzyon ve MİK yöntemi uygulanmıştır. *S.spinosum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etil asetat ekstresinde; G (-) özellikte ve insanda genel enfeksiyon veya besin zehirlenmesine sebep olabilen *Salmonella chloresuis arizonae*' e, ayrıca yine G (-) özellikte olan, insan ve bazı memeli hayvanların bağırsak florasında yaşayan, fırsatçı patojen olarak idrar yolları enfeksiyonlarına neden olabilen *Morganella morgani*'e (6) karşı aktivite gözlenmiştir. Yine bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan kloroform ekstresinde ve su ile hazırlanan infüzyonunda da *Salmonella chloresuis arizonae*'e karşı aktivite bulunmuştur.

c. Droğun antioksidan aktivitesini belirlemek üzere ekstrelelere TEAC Yöntemi uygulanmıştır. Sonuç olarak droğdan hazırlanan etanol, metanol ekstreleri ve infüzyonun antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 24).

Bitkisel droğlar halk arasında çoğunlukla çayı hazırlanarak yani infüzyon şeklinde kullanılmaktadır. Bu nedenle droğumuzdan hazırlanan özellikle infüzyonda ve diğere ekstrelerde sitotoksik aktivite gözlenmemesi ve infüzyonun antioksidan özellikte olması, halk arasındaki kullanımının güvenliği açısından önemlidir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Tezimizde ilk olarak, yurdumuzda tek tür ile temsil edilen *S.spinosum* bitkisinin tayinine yardımcı olacak anatomik özellikleri, makroskobik ve mikroskobik olarak belirlenmiştir. Bu çalışmalarda, bitkinin % 70'lik etanolde saklanmış yaprak, çiçek, meyve, gövde ve kök örnekleri kullanılmıştır.

İkinci çalışmamızda ise, 10. Alman Farmakopesi'ndeki (DAB 10) yöntemler esas alınarak, droglar üzerinde çeşitli kalite kontrol denemeleri (nem miktarı, total kül miktarı ve sülfat külü miktarı tayini) yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda, ÇTÜ kodlu örnek için % 5.4275, MTÜ kodlu örnek için % 5.3388, ÇTA kodlu örnek için % 3.05, MTA kodlu örnek için ise % 3.0354 değerlerinde ortalama nem miktarları; ÇTÜ kodlu örnek için % 4.9621, MTÜ kodlu örnek için % 5.2358, ÇTA kodlu örnek için % 9.9642, MTA kodlu örnek için % 10.0206 değerlerinde ortalama total kül miktarları, ÇTÜ kodlu örnek için % 7.2186, MTÜ kodlu örnek için %7.6126, ÇTA kodlu örnek için % 13.0257, MTA kodlu örnek için % 14.0974 değerlerinde ise ortalama sülfat külü miktarları saptanmıştır (Tablo 1, 2, 3).

Üçüncü çalışmamızda ise droglarda bulunan E vitamini miktarını belirlemek için, öncelikle n-hegzan ekstraktları hazırlanmıştır. Ardından Spektrokolorimetri, Optik Dansitometri ve Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemleri ile drogların E vitamini miktarı belirlenmiştir (Tablo 8, 10, 11, 13). Bu üç yöntem

arasında en yüksek sonuçlar HPLC ile elde edilmiştir. HPLC ile üçer farklı örnek çalışılmış ve ortalama E vitamini miktarları ÇTÜ kodlu örnek için % 0.025966, MTÜ kodlu örnek için % 0.037212 olarak bulunmuştur (Tablo 13). Bu miktar, günümüzde ilaç sanayinde E vitamini kaynağı olarak kullanılan soya fasülyesine (% 0.0051–0.0111) oranla daha yüksektir (47).

Sentetik tokoferoller, aktif olmayan stereoizomerleri nedeniyle, doğal olanları ile aynı biyolojik aktiviteye sahip değildir (11). Bu nedenle bitkisel kaynaklı antioksidanların araştırılması ile ilgili çalışmalar giderek önem kazanmaktadır. Tezimizdeki ana amacımız, yeni doğal kaynaklı antioksidanların araştırılması, α -tokoferol içeriğinin saptanmasıdır. Soya fasülyesinden daha fazla E vitamini içerdiğini tespit ettiğimiz **Herba Poterii spinosi** drogları ilaç endüstrisinde bu amaçla kullanılmaya değerdir.

S. spinosum bitkisinden hazırlanan drogların sitotoksik aktivitesini belirlenmek amacıyla, n-hegzan, etanol, metanol, etil asetat ekstreleri ve infüzyonu hazırlanarak Brine shrimp (*Artemia salina*) metodu uygulanmıştır. Sonuç olarak ekstrelerin ve infüzyonun sitotoksik özellikte olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 20). Ekstrelerin ve infüzyonun sitotoksik aktivite göstermemesi droğun halk arasındaki kullanımının güvenliği açısından önemlidir.

H. Poterii spinosi droglarının antimikrobiyal aktivitesi Disk Difüzyon Metodu ve MİK yöntemi ile araştırılmıştır. Bu amaçla öncelikle droglar Dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözüldürülmüş olup bu madde herhangi bir mikroorganizmanın gelişimini etkilememektedir. Etil asetat ekstresinde, *Salmonella choloesuis arizonae*' e ve *Morganella morgani*' e karşı aktivite gözlenmiştir. Yine bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan kloroform ekstresinde ve su ile hazırlanan infüzyonunda da *Salmonella choloesuis arizonae*'e karşı aktivite bulunmuştur.

S. spinosum bitkisinden hazırlanan drogların antioksidan aktivitesi TEAC yöntemi ile araştırılmıştır. Droğun farklı ekstrelerinde farklı oranda antioksidan etki saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre droğun etanol, metanol ekstreleri ve infüzyonu antioksidan aktivite göstermektedir (**Tablo 24**). Antioksidan etkideki bu değişkenlik droğun farklı ekstrelerinde farklı etken maddelerin bulunmasından kaynaklanmaktadır. Fitokimyasal analiz sonuçlarındaki farklı içerikler de bunu ispatlamaktadır (**Tablo 19**).

Ülkemizde ve çeşitli Akdeniz ülkelerinde halk arasında başta kan şekeri düşürücü özelliği ile çeşitli alanlarda kullanılan *Sarcopoterium spinosum* bitkisi üzerinde yapılan bu araştırmalar ile Türk Farmakopesi'nde yer alması gerektiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca içerdiği yüksek oranda α -tokoferol nedeniyle potansiyel E vitamini kaynağı olarak da değerlendirilebileceği görüşü ortaya çıkmıştır. Bitkiden hazırladığımız çeşitli droglar üzerinde yaptığımız çalışmalar ve bunların karşılaştırmalı sonuçları bu bitki ile ilgili ileride hazırlanabilecek olan monograflara kaynak teşkil etmesi açısından da önemlidir.

ÖZET

Bu araştırmada birinci projede, İzmir-Seferihisar'dan toplanan *Sarcopoterium spinosum* (L.) Spach bitkisi üzerinde anatomik incelemeler yapılmıştır.

İkinci alışmada 10. Alman Farmakopesi'ndeki (DAB 10) yöntemler esas alınarak, droglar üzerinde çeşitli kalite kontrol denemeleri (Nem miktarı, total kül miktarı ve sülfat külü miktarı tayini) yapılmıştır.

Üçüncü projede *S. spinosum* bitkisinden elde edilen drogların, E vitamini (α - tokoferol) içerikleri, Spektrokolorimetrik, Optik Dansitometrik ve Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemleriyle tayin edilmiştir.

Dördüncü projede ise droglardan hazırlanan ekstrelerin sitotoksik aktivitesi Brine shrimp metodu ile, antimikrobiyal özellikleri Disk Difüzyon ve MİK metodu ile ve antioksidan aktivitesi TEAC yöntemiyle tayin edilmiştir.

SUMMARY

In this study, as the first project, anatomical investigations are carried out on *Sarcopoterium spinosum* (L.) Spach collected from Izmir-Seferihisar.

As the second project, quality control determinations on plant materials (humidity, total ash and sulphate ash) are conducted according to methods in DAB 10.

In the third project, vitamin E contents of plant materials prepared from *S. spinosum* are determined with spectrophotometry, optical densitometry and high pressure liquid chromatography (HPLC).

For the fourth project, cytotoxicity with Brine shrimp, antimicrobial properties with disc diffusion and MIC methods and antioxidant activities with TEAC methods are conducted on extracts prepared from plant materials.

YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. Akay, S. (2002). *Pistacia terebinthus* (L.), *Pistacia lentiscus* (L.), *Pistacia lentiscus* var. *chia* (Anacardiaceae) Türlerinden Hazırlanan Folia Pistaciae Drogularının Kalite Kontrolü ve E Vitamini Açısından Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
2. Ali-Shtayeh, M. S., Reem, M. R., Faidi, Y. R., Salem, K., Al-Nuri, M.A. (1998). Antimicrobial Activity of 20 Plants Used in Folklorik Medicine in the Palestinian Area, *Journal of Ethnopharmacology*, 60 (3) : 265–271.
3. Al-Kurdi, R., Khlaif, H., Al-Eissawi, D. (2000). Effectiveness of Selected Plant Extracts in Inhibiting *Agrobacterium tumefaciens* In Vitro and In Suppressing Tumor Formation on Tomato Roots in Greenhouse, *Dirasat-Agricultural- Sciences*, 27 (1) : 10–19.
4. Barbosa, L.C.A., Teixeira, R.R., Demuner, A.J. (1997). Vitamin E and Other Chemical Constituents of the Leaves of *Gallesia grozema*, *Fitoterapia LXVIII*, No:6, 515–519.
5. Baytop, T. (1984). Türkiye’de Bitkilerle Tedavi Geçmişte ve Bugün, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 3255: 167.
6. Bilgehan, H. (1990). Klinik Mikrobiyoloji, Barış Yayınları.
7. Booth, V.H. (1963). Determination of Tocopherol in Plant Tissue, *Analyts*, 88(1049), 627–632, Chem. Abst. (1963). 59: 13357 h.
8. Booth, V.H. (1964). α -Tocopherol Content of Forage Crops, *J. Sci. Food Agr.*, 15 (5) : 342-344.

9. Brigelius-Flohe, R., Traber, M. G. (1999). Vitamin E: Function and Metabolism, *Faseb J.*, 13(10): 1145–55.
10. Carpenter, A.P. JR. (1979). Determination of Tocopherol in Vegetable Oils, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56: 668–671.
11. Carraz, G., Boucherie, A., Dardas, A. (1968). Hypoglycemic Activity of Pentacyclic Triterpenes in Hyperinsulinemic Diabetes, *Comptes Rendus des Seances de l'Academie des Sciences, Serie D: Sciences Naturelles*, 266 (3) : 293–4.
12. Chevolleau, S., Georges, C. (1992). Extraction of d- α -Tocopherol from Plant Leaves, *Fr. Demande*, Patent No: FR 2669032.
13. Chevolleau, S., Mallet, J.F., Debal, A., Ucciani, E. (1993). Antioxidant Activity of Mediterranean Plant Leaves: Occurrence and Antioxidative Importance of α -Tocopherol, *American Oil Chemists' Society*, 70 (8) : 807–809.
14. Christodoulakis, N. S., Tsimbani, H., Fasseas, C. (1990). Leaf Structural Peculiarities in *Sarcopoterium spinosum*, a Seasonally Dimorphic Subshrub, *Annals of Botany*, 65 (3) : 291–296.
15. Cullen, J. (1972). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Ed. Davis P. H., University Press, Edinburg, 4 : 76-77.
16. Çelebioğlu, S., Baytop, T. (1949). Bitkisel Tozların Tetkiki için Yeni Bir Reaktif, *Farmakognozi Enstitüsü Yayınları*, No:10., *Farmakolog*, 19:301.
17. Çubukçu, B. (1976). Analitik Farmakognozi, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.
18. Deacon, Benjamin D., Wamble, Cecil A. (1954). Vitamin E Analytical Procedure for Cottonseed and Its Products, *The Journal of The American Oil Chemists' Society*, 31 : 284–287.
19. Deutsches Arzneibuch 10. (1997).

20. Durodola, J. (1975). Tumour Inhibitory Effects of Crude Extracts from *Poterium spinosum*, *Planta Medica*, 27 (3) : 231–234.
21. Gapor, A.B., Kato, A., Ong, A.S.H. (1986). α -Tocopherol Content in Palm Leaflet, *JAACS.*, 63 (3) : 330-331.
22. Güllüce, M., Sökmen, M., Daferera, D., Agar, G., Özkan, H., Kartal, N., Polissiou, M., Sökmen, A., Şahin, F. (2003). In Vitro Antibacterial, Antifungal, and Antioxidant Activities of the Essential Oil and Methanol Extracts of Herbal Parts and Callus Cultures of *Satureja hortensis* (L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (14): 3958–3965.
23. Güllüce, M., Sökmen, M., Şahin, F., Sökmen, A., Adıgüzel, A., Özer, H. (2004). Biological Activities of the Essential Oil and Methanolic Extract of *Micromeria fruticosa* (L.) Druce ssp *serpyllifolia* (Bieb) PH Davis Plants from the Eastern Anatolia Region of Turkey, *Journal of the Food and Agriculture*, 84: 735–741.
24. Hänsel, R., Keller, K., Rimpler, H., Schneider, G. (1994). Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Springer-Verlag, 607.
25. Harris, A., Devaraj, S., Jialal, I. (2002). Oxidative Stress, Alpha-tocopherol Therapy, and Atherosclerosis, *Curr Atheroscler Rep.*, 4 (5) : 373-80.
26. Huang, M. L., Burckart, G. J., Venkataramanan, R. (1986). Sensitive High-performance Liquid Chromatographic Analysis of Plasma Vitamin E and Vitamin A Using Amperometric and Ultraviolet Detection, *J Chromatogr.*, 380 (2) : 331–8.
27. Kahraman, F. (2004). *Erica arborea* (L.) Bitkisinden Hazırlanan Herba Ericae Droğunun Kalite Kontrolü ve E Vitamini Açısından Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

28. Margaris, N. S. (1977). Physiological and Biochemical Observations in Seasonal Dimorphic Leaves of *Sarcopoterium spinosum* and *Phlomis fruticosa*, *Oecologia Plantarum*, 12 (4) : 343–50.
29. Menczel, E. (1963). Hypoglycemic Substances, Chem. Abstr. No. 1268.
30. Mert, T. (2000). *Arbutus unedo* (L.) (Ericaceae) Türünden Hazırlanan Folium Arbuti Droğunun Kalite Kontrolü ve E Vitamini Açısından Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
31. Mishkinsky, J., Menczel, E., Sulman, F. G. (1966). Hypoglycemic Effects of *Poterium spinosum*, *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, 161 (2) : 306–13.
32. Muller, A., Diemann, E., Sassenberg, P. (1988). Chromium Contents in Medicinal Plants Used for Treating Diabetes Mellitus Type II, *Naturwissenschaften*, 75 (3) : 155–156.
33. Murray, P. R., Baron, E. J., Pfaller M. A., Tenover F. C., Tenover R.H. (1995). Manual of Clinical Microbiology, ASM, Washington DC.
34. Pourrat, A., Pourrat, H., Potier, P. (1973). Composition of *Poterium spinosum*, *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 31 (4) : 321–4.
35. Quisenberry, T. M., Gjerstad, G. (1967). *Poterium spinosum*. Potential Cure for Diabetes, *Quarterly Journal of Crude Drug Research*, 7 (1) : 957–64.
36. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice- Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 26 (9/10): 1231–1237.
37. Reher, G., Budesinsky, M. (1992). Triterpenoids from Plants of the Sanguisorbae, *Phytochemistry*, 31(11) : 3909–3914.

38. Reher, G., Reznicek, G., Baumann, A. (1991). Triterpenoids from *Sarcopoterium spinosum* and *Sanguisorba minor*, *Planta Medica*, 57 (5) : 506.
39. Reher, G., Slijepcevic, M., Kraus, L. (1991). Hypoglycemic Activity of Triterpens an Tannins from (the Root Bark of) *Sarcopoterium spinosum* and Two *Sanguisorba* species (*S. minor* and *S. officinalis*), *Planta Medica* 57 (8) : A57-A58.
40. Ruggeri, B.A., Watkins, T.R., Gray, R.J.H., Tomlins, R.I. (1984). Comparative Analysis of Tocopherols by Thin Layer Chromotography and High-Performance Liquid Chromotography, *Journal of Chromotography*, 291 : 377–383.
41. Sağlam, H., Akay, S., Kıvçak, B. (2004). Quantitative Determination of Alpha-tocopherol in *Globularia alypum* Using High-performance Liquid Chromatography with UV Detection, *Pharmaceutical Biology*, 42 (7) : 519-520.
42. Sakar, K., Tanker M. (1991). Fitokimyasal Analizler, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.
43. Sauer E., Zeybek, N., Zeybek, U., Saygıner B. (1996). İletim Demetli Bitkilerin Tayin Anahtarları, Ege Üniv. Eczacılık Fakültesi Yayınları, İzmir, 130.
44. Schluetz, G. O., Venulet J. (1964). *Poterium spinosum* and its Effect on the Blood Sugar Contents of Rabbits, *Experientia*, 20 (2) : 78–9.
45. Schultz, G., Heintze, A., Hoppe, P., Hagelstein, P., Görlach, J., Meereis, K., Schwanke, U., Preiss, M. (1991). Tocopherol and Carotenoid Synthesis in Chloroplasts: Tight Linkage to Plastidic Carbon Metabolism in Developing Chloroplasts. In: Pell E, Steffen K, eds. Active Oxygen/Oxidative Stress and Plant Metabolism: Proceedings of the 6th Annual Penn State Symposium in Plant Physiology 23–25 May 1991. Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists, 156–170.

46. Slijepcevic, M., Kraus, L. (1997). The Diabetic Mouse as an Experimental for Measuring the Blood Glucose-Lowering Effects of Plant Extracts and Insulin Preparations, *Acta Therapeutica*, 23 (1-2) : 47-58.
47. Slover, H. T., Thomson, J. R., Merola, G. V. (1983). Determination of Tocopherols and Sterols by Capillary Gas Chromatography, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 60: 1524-1528 .
48. Sorgeloos, P. (1969). Zur Ontogenie und Morphologie von *Artemia Salina* L. *Zool Jb. Anat.*, 86, 307-458.
49. Tanker, M., Şarer E., Atastı, E., Yenen, M., Özkal, N., Kurucu, S. (1986). Farmakognozi Uygulama Örnekleri, Ankara Ü. Eczacılık Fakültesi Yayınları.
50. Türk Farmakopesi, (1974).
51. Verykokidou, E., Vitsaropoulou, E., Philianos, S. (1981). Constituents of *Sarcopoterium spinosum* (L.) Spach. (Rosaceae) Leaves, *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 15(1) : 16-20.
52. Vilain, P., Beziat, D., Hatinguais, P., Laresserques, H. (1971). Medicamental Extracts from *Poterium spinosum* Having Coronardilative and Vasodilative Properties, *Fr. Demande*, 7 pp; Chem. Abs. 1971: 501279.
53. Vilain, P., Beziat, D., Hatinguais, P., Laresserques, H. (1972). *Poterium spinosum* Extract Having Coronardilative and Peripheral Vasodilative Activity, *Ger. Offen.*, 10 pp; Chem. Abs 1972: 117505.
54. Yaniv, Z., Dafni, A., Friedman, J., Palevitch, D. (1987). Plants Used for the Treatment of Diabetes in Israel, *Journal of Ethnopharmacology*, 19 (2) : 145-51.
55. Zeybek, N., Zeybek, U. (1994). Farmasötik Botanik, Ege Üniv. Eczacılık Fakültesi Yayınları, İzmir, 232.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Ankara'da doğdum. İlköğrenimimi İsmail Enderuni İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimimi Afyon Süleyman Demirel Fen Lisesi'nde tamamladım. 1998 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ne girerek 2003 yılında mezun oldum. Aynı yıl E.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimime başladım, bir yıl sonra aynı Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Evliyim.

