

T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI



TÜRKİYE' DE YETİŞEN ENDEMİK *SIDERITIS* L.  
TÜRLERİNİN (*SIDERITIS PISIDICA* BOISS. ET HELDR. APUD  
BENTHAM, *S. PHRYGIA* BORNM., *S. BREVIRACTEATA* P.H.  
DAVIS ) FİTOKİMYASAL ANALİZLERİ

DOKTORA TEZİ

ZÜLEYHA ÖZER SAĞIR

BALIKESİR, MART - 2016

T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI



TÜRKİYE' DE YETİŞEN ENDEMİK *SIDERITIS* L.  
TÜRLERİNİN (*SIDERITIS PISIDICA* BOISS. ET HELDR. APUD  
BENTHAM, *S. PHRYGIA* BORNH., *S. BREVIRACTEATA* P.H.  
DAVIS ) FİTOKİMYASAL ANALİZLERİ

DOKTORA TEZİ

ZÜLEYHA ÖZER SAĞIR

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Turgut KILIÇ (Tez Danışmanı)

Prof. Dr. Hilmi NAMLI

Prof. Dr. Tuncay DİRMENCİ

Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ

Doç. Dr. Benan KILBAŞ

BALIKESİR, MART - 2016


## KABUL VE ONAY SAYFASI

Züleyha ÖZER SAĞIR tarafından hazırlanan “TÜRKİYE’ DE YETİŞEN ENDEMİK *SIDERITIS* L. TÜRLERİNİN (*SIDERITIS PISIDICA* BOISS. ET HELDR. APUD BENTHAM, *S. PHRYGIA* BORNM., *S. BREVIBRACTEATA* P.H. DAVIS ) FİTOKİMYASAL ANALİZLERİ” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 04.03.2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

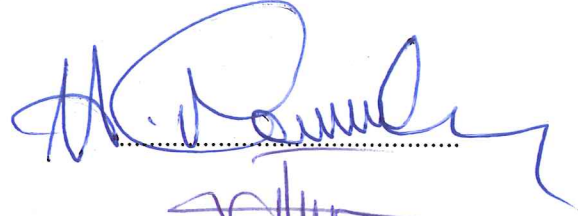
İmza

Danışman  
Prof. Dr. Turgut KILIÇ



.....

Üye  
Prof. Dr. Hilmi NAMLI



.....

Üye  
Prof. Dr. Tuncay DİRMENCİ




.....

Üye  
Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ



.....

Üye  
Doç Dr. Benan KILBAŞ



.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doç. Dr. Necati ÖZDEMİR

.....

**Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 113Z710 nolu proje ile desteklenmiştir.**

## ÖZET

### TÜRKİYE’ DE YETİŞEN ENDEMİK *SIDERITIS* L. TÜRLERİNİN (*SIDERITIS PISIDICA* BOISS. ET HELDR. APUD BENTHAM, *S. PHRYGIA* BORNM., *S. BREVIBRACTEATA* P.H. DAVIS ) FİTOKİMYASAL ANALİZLERİ

#### DOKTORA TEZİ

ZÜLEYHA ÖZER SAĞIR

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANA BİLİM DALI  
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. TURGUT KILIÇ)  
BALIKESİR, MART – 2016

Bu çalışmada Türkiye’ de yetişen türler arasında en yüksek endemizm oranına sahip olan *Sideritis* türlerinden, Türkiye’ ye endemik olan *Sideritis phrygia* Bornm., *S. pisidica* Boiss. Et Heldr., *S. brevibracteata* P.H. Davis bitkileri fitokimyasal olarak incelenmiştir. Öncelikle bitkilerden elde edilen uçucu yağlar GC-MS ile analiz edilmiş ve sırasıyla 42, 31 ve 26 bileşenin yapısı aydınlatılmıştır. Uçucu yağ ana bileşenleri *S. phrygia*; limonen (%10.6), *S. pisidica* ve *S. brevibracteata*; karyofilen (%31.8, % 43.3) olarak belirlenmiştir.

Bitkilerin toprak üstü kısımlarından hazırlanan hekzan, aseton ve metanol ekstraktları terpen bileşikler bakımından incelenmiştir. *S. phrygia* Bornm. bitkisinden bilinen 7 terpen bileşiği izole edilmiş ve yapıları, Siderol (1) Sideroxol (2), Oleanolik asit (3), Sideridiol (4), Linearol (5), 7-epicandiciol (6) ve Athanolone (7) olarak belirlenmiştir. Çalışılan ikinci tür olan *Sideritis pisidica* Boiss. Et Heldr. Bitkisinden bilinen 4 terpen bileşiği izole edilmiş olup yapıları Siderol (1), Sideridiol (4), Linearol (5) ve Eubol (8) olarak belirlenirken, çalışılan üçüncü tür olan *Sideritis brevibracteata* P.H. Davis bitkisinden bilinen 5 terpen bileşiği izole edilmiş ve yapıları, Siderol (1), Sideridiol (4), Linearol (5), Athanolone (7) ve Eubotriol (9) olarak belirlenmiştir. Çalışılan üç bitkiden toplamda 9 terpen bileşiği izole edilmiş olup yapıları IR, NMR ( <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR ) ve Kütle spektroskopisi ile aydınlatılmıştır.

Bitkilerden hazırlanan hekzan, aseton ve metanol ekstraktlarının LC-MS/MS ile sekonder metabolitleri tanımlanmıştır. Aynı zamanda ekstraktların antioksidan aktiviteleri, DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi, Lipid Peroksidasyonu İnhibisyonu ( $\beta$ -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi) ve CUPRAC (Cu (II) İyonu İndirgeyici antioksidan kapasite) yöntemleri ile belirlenmiş ve Antikolinesteraz Aktivite Tayini Ellman Yöntemi kullanılarak Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirikolinesteraz (BChE) enzimlerine karşı yapılmıştır.

**ANAHTAR KELİMELER:** *Sideritis pisidica* Boiss, *S. phrygia* Bornm., *S. brevibracteata* P.H. Davis, Terpen, Uçucu yağ, Antioksidan aktivite, Antikolinesteraz aktivite.

## ABSTRACT

### PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF ENDEMIC *SIDERITIS* L. SPECIES FROM TÜRKİYE (*SIDERITIS PISIDICA* BOISS. ET HELDR. APUD BENTHAM, *S. PHRYGIA* BORNM., *S. BREVIBRACTEATA* P.H. DAVIS)

#### PH.D THESIS

ZÜLEYHA ÖZER SAĞIR

BALIKESİR UNIVERSITY, INSTITUTE OF SCIENCE,  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY  
(SUPERVISOR: PROF. DR. TURGUT KILIÇ)  
BALIKESİR, MARCH - 2016

Among the species which growing in Türkiye, *Sideritis* species have high endemism ratio. In this study, three *Sideritis* species, endemic for Türkiye, *Sideritis phrygia* Bornm., *S. pisidica* Boiss. Et Heldr., *S. brevibracteata* P.H. Davis have been analyzed for phytochemical. The essential oils were obtained from the plants and analyzed by GC-MS. 42, 31, 26 components were characterized respectively. The main component of these species were found to be *S. phrygia*; limonene (10.6%), *S. pisidica* and *S. brevibracteata*; caryophyllene (31.8%, 43.3%).

The hexane, acetone and methanole extract, prepared for upper side of soil, have been studied in terms of terpene compounds. *S. phrygia* Bornm. were give 7 known terpens and their structures elucidated as Siderol (1) Sideroxol (2), Stigmasterol (3), Sideridiol (4), Linearol (5), 7-epicandicandiol (6) and Athanolone (7). From the second studied species *Sideritis pisidica* Boiss. Et Heldr. Apud Bentham hexane, acetone and methanole extracts, 4 known terpene compounds were isolated. Their structures were determined as Siderol (1), Sideridiol (4), Linearol (5) and Eubol (8). The hekzane, acetone and methanole extract of third plant, *S. brevibracteata* P.H. Davis 5 known terpene compounds were isolated and their structures identified as, Siderol (1), Sideridiol (4), Linearol (5), Athanolone (7) and Eubotriol (9). From the three studied plants, totally 9 known diterpenoids were isolated and all structures were identified by using IR, NMR (<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR) and Mass spectroscopy.

The hexane, acetone and methanole extract, prepared for plants have been studied secondary metabolite by LC-MS/MS. As well the antioxidant activity of the extracts was established by using, DPPH Free Radical Scavenging Methods,  $\beta$ -Carotene Bleaching for Lipid Peroxidation Inhibition and CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity), Extracts were also screened for the anticholinesterase activity by Ellman method against acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) enzymes.

**KEYWORDS:** *Sideritis pisidica* Boiss., *S. phrygia* Bornm., *S. brevibracteata* P.H. Davis, Terpene, Essential oil, Antioxidant activity, Anticholinesterase activity.

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ .....	xii
SEMBOL LİSTESİ.....	xv
ÖNSÖZ.....	xvi
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1 Bitkiler Hakkında Genel Bilgi.....	3
1.1.1 Labiatae (Lamiaceae) Familyası.....	3
1.1.2 <i>Sideritis</i> Cinsi.....	3
1.1.3 <i>Sideritis pisidica</i> Boiss. Et Heldr. Apud Bentham .....	6
1.1.4 <i>Sideritis phrygia</i> Bornm.....	8
1.1.5 <i>Sideritis brevibracteata</i> P.H. Davis.....	10
1.2 <i>Sideritis</i> L. Cinsinde Sekonder Metabolitler.....	12
1.2.1 Uçucu Yağ.....	12
1.2.1.1 Uçucu Yağların Sınıflandırılması.....	13
1.2.1.1.1 Kimyasal Bileşimlerine Göre.....	13
1.2.1.1.2 Aromatik Özelliklerine Göre.....	13
1.2.1.1.3 Farmakolojik ve Terapik Etkilerine Göre.....	14
1.2.1.2 Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri.....	14
1.2.1.2.1 Distilasyon Yöntemi.....	14
1.2.1.2.2 Su Distilasyonu.....	15
1.2.1.2.3 Su ve Buhar Distilasyonu.....	15
1.2.1.2.4 Buhar Distilasyonu.....	15
1.2.1.2.5 Kuru Distilasyon.....	15
1.2.1.2.6 Hidrodifüzyon.....	16
1.2.1.2.7 Ekstraksiyon Yöntemi.....	16
1.2.1.2.8 Mekanik Yöntem (Presleme Yoluyla Uçucu Yağ EldeEdilmesi).....	16
1.2.1.3 Uçucu Yağ Bileşiklerinin Analizi.....	16
1.2.2 Fenolik Bileşikler.....	17
1.2.2.1 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması ve Önemi.....	18
1.2.2.1.1 Fenolik Asitler.....	19
1.2.2.1.2 Flavonoidler.....	20

1.2.2.1.2.1 Flavonoidlerin Yapı Özellikleri ve Sınıflandırılması.....	21
1.2.2.1.3 Fenolik Maddelerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri...	22
1.2.3 Terpenler.....	23
1.2.3.1 Monoterpenler.....	26
1.2.3.1.1 Asiklik Monoterpenler.....	26
1.2.3.1.2 Monosiklik Monoterpenler.....	27
1.2.3.1.3 Bisiklik Monoterpenler.....	28
1.2.3.2 Seskiterpenler.....	29
1.2.3.2.1 Asiklik Seskiterpenler.....	30
1.2.3.2.2 Monosiklik Seskiterpenler.....	31
1.2.3.2.3 Bisiklik Seskiterpenler.....	31
1.2.3.2.4 Trisiklik Seskiterpenler.....	32
1.2.3.3 Diterpenler.....	32
1.2.3.3.1 Diterpenlerin Adlandırılması.....	34
1.2.3.3.2 Asiklik Diterpenler.....	35
1.2.3.3.3 Monosiklik Diterpenler.....	35
1.2.3.3.4 Bisiklik Diterpenler.....	36
1.2.3.3.4.1 Labdanlar.....	36
1.2.3.3.4.2 Klerodanlar.....	36
1.2.3.3.5 Trisiklik Diterpenler.....	37
1.2.3.3.5.1 Pimaranlar.....	37
1.2.3.3.5.2 Abietanlar.....	37
1.2.3.3.5.3 Kassanlar.....	38
1.2.3.3.5.4 Rosanlar.....	39
1.2.3.3.6 Tetrasiklik Diterpenler.....	39
1.2.3.3.7 Kaurenler.....	40
1.2.3.4 Triterpenler.....	40
1.2.3.4.1 Tetrasiklik Triterpenler.....	41
1.2.3.4.2 Pentasiklik Triterpenler.....	41
1.2.3.5 Tetraterpenler (Karotenler).....	42
1.2.3.6 Politerpenler.....	43
1.3 Biyolojik Aktivite Çalışmaları Hakkında Genel Bilgiler.....	43
1.3.1 Antioksidanlar.....	43
1.3.1.1 Antioksidan Savunma Sistemleri.....	45
1.3.2 Enzimler.....	46
1.3.2.1 Süperoksit dismutaz (SOD).....	47
1.3.2.2 Katalaz (CAT).....	47
1.3.2.3 E Vitamini (Tokoferol ).....	47
1.3.2.4 C Vitamini (Askorbik Asit).....	48
1.3.2.5 A Vitamini (Retinol).....	48
1.3.3 Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri.....	48
1.3.3.1 Elektron Transfer (ET) Yöntemleri.....	49



1.3.3.1.1	CUPRAC Yöntemi (Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite).....	49
1.3.3.1.2	TEAC Metodu (Trolox Ekivalenti	
1.3.3.1.3	Antioksidan Kapasite).....	50
1.3.3.1.4	Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Yöntemi.....	50
1.3.3.1.5	Folin-Ciocalteu Ayıracağı (FCR) ile Toplam Fenolik Yöntemi.....	50
1.3.3.1.6	DPPH (Difenil-1-pikrihidrazil) Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi.....	51
1.3.3.1.7	$\beta$ -Karoten-linoleik Asit Yöntemi (Total Antioksidan Aktivite).....	52
1.3.3.2	Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT) .....	52
1.3.4	Antikolinesterazlar .....	53
1.3.4.1	AChE ve BChE İnhibitörleri.....	53
1.3.4.2	Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemleri.....	53
1.3.4.3	AChE ve BChE Aktivite Testleri.....	54
1.3.5	Antimikrobiyal Aktivite.....	54
1.3.5.1	Antimikrobiyal Ajanlar.....	54
<b>2.</b>	<b>DENEYSEL BÖLÜM.....</b>	<b>56</b>
2.1	Materyal.....	56
2.1.1	Bitkisel Materyal.....	56
2.1.2	Kimyasal Materyal.....	56
2.2	Yöntem.....	57
2.2.1	Bitkilerin Uçucu Yağ Bileşiminin GC-MS Analizi.....	57
2.2.2	Bitkilerin Sekonder Metabolitlerinin LC-MS/MS Analizi.....	57
2.2.3	Terpen Bileşiklerinin İzolasyonu.....	61
2.2.3.1	Ekstraksiyon.....	61
2.2.3.2	Kromatografi.....	62
2.2.3.2.1	Kolon Kromatografisi.....	62
2.2.3.2.2	İnce Tabaka Kromatografisi.....	62
2.2.3.2.3	Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi.....	63
2.2.3.3	Kullanılan Belirteçler.....	63
2.2.3.3.1	Serik Sülfat Çözeltilisinin Hazırlanması.....	63
2.2.3.4	Spektroskopik Yöntemler.....	64
2.2.3.4.1	NMR Spektroskopisi.....	64
2.2.3.4.2	IR Spektroskopisi.....	64
2.2.4	Biyolojik Aktivite Testlerinde Kullanılan Deneysel Yöntemler.....	64
2.2.4.1	Antioksidan Aktivite Yöntemleri.....	64
2.2.4.1.1	DPPH (Difenil-1-pikrihidrazil) Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi.....	64
2.2.4.1.2	CUPRAC (Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi.....	65
2.2.4.1.3	$\beta$ -Karoten Linoleik Asit Yöntemi.....	65
2.2.4.2	Antikolinesteraz Aktivite Yöntemi.....	66
2.2.4.3	Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi.....	67
2.2.4.3.1	Disk Difüzyon Metodu.....	67

<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>68</b>
3.1 Uçucu Yağ Analizi.....	68
3.1.1 Uçucu Yağ Analizlerinin Değerlendirilmesi.....	69
3.2 Bitki Ekstrelerinin ( <i>Sideritis phrygia</i> , <i>S. pisidica</i> , <i>S. brevibracteata</i> ) LC-MS/MS Sonuçları.....	74
3.2.1 LC-MS/MS Analizi İçin Ekstrelerin Hazırlanması.....	74
3.3 <i>Sideritis phrygia</i> Bornm, <i>S. pisidica</i> Boiss & Heldr , <i>S. brevibracteata</i> P.H. Davis Bitkilerinden İzole Edilen Terpen Bileşikleri.....	94
3.3.1 İzolasyon Çalışmaları İçin Hazırlanan Ekstreler.....	94
3.3.2 <i>Sideritis phrygia</i> Bornm. Bitkisinden İzole Edilen Terpen Bileşikleri.....	95
3.3.2.1 Siderol (Ent-7 $\alpha$ -asetoksi,18-hidroksi-kaur-15-ene) (1).....	96
3.3.2.2 Sideroxol (ent-7 $\alpha$ ,18-dihidroksi-15 $\beta$ , 16 $\beta$ - epoksikauran(2).....	102
3.3.2.3 Oleanolik Asit (4aS,6aR,6As,6Br ,8Ar,10S,12Ar, 14bS)-10-hydroxy-2,2,6a,6b,9,9,12a-heptamethyl- 1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahydrop ,cene-4a-carboxylic acid) (3).....	106
3.3.2.4 Sideridiol (ent-7 $\alpha$ , 18 $\beta$ -dihidroksi kaur-15en)(4)...	109
3.3.2.5 Linearol (ent-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -dihidroksi-18-asetoksikaur-16 -en)(5).....	115
3.3.2.6 7- epicanthidiol (ent-7 $\alpha$ ,18-hidroksikaur-16-en) (6).....	119
3.3.2.7 Athanolone ( ent-7 $\alpha$ ,17,18-trihidroksi-9,11-(en)- 12-on) (7).....	125
3.3.3 <i>Sideritis pisidica</i> Boiss & Heldr Bitkisinden Elde Edilen Bileşikler .....	128
3.3.3.1 Siderol (Ent-7 $\alpha$ -asetoksi,18-hidroksi-kaur-15-ene) (1).....	128
3.3.3.2 Sideridiol (ent-7 $\alpha$ , 18 $\beta$ -dihidroksi kaur-15-en) (5).....	128
3.3.3.3 Linearol (ent-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -dihidroksi-18-asetoksikaur- 16-en) (6).....	128
3.3.3.4 Eubol (ent-7 $\alpha$ -asetil-15 $\beta$ ,18-dihidroksikaur-16-en) (9).....	129
3.3.4 <i>Sideritis brevibracteata</i> P.H. Davis Bitkisinden Elde Edilen Bileşikler.....	132
3.3.4.1 Siderol (Ent-7 $\alpha$ -asetoksi,18-hidroksi-kaur-15-ene) .....	132
3.3.4.3 Sideridiol (ent-7 $\alpha$ , 18 $\beta$ -dihidroksi kaur-15-en).....	132
3.3.4.4 Linearol (ent-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -dihidroksi-18-asetoksikaur-16en)132	
3.3.4.5 Athanolone ( ent-7 $\alpha$ ,17,18-trihidroksi-9,11-(en)-12-on)132	
3.3.4.6 Eubotriol (ent-7 $\alpha$ ,15 $\beta$ ,18-trihidroksikaur-16-en) .....	133
3.3.5 Elde Edilen Diğer Bileşikler.....	135
3.3.5.1 Stigmasterol (3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(E,2R, 5S)-5-ethyl-6-methylhept-3-en-2-yl]-10,13-dimethyl 2,3 ,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H cyclopenta [a]phenanthren-3-ol) (10).....	135
3.4 Biyolojik Aktivite Analiz Sonuçları.....	138
3.4.1 Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları.....	138

3.4.1.1 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları.....	138
3.4.1.2 Lipid Peroksidasyon İnhibisyonu ( $\beta$ -Karoten / Linoleik Asit)Yöntemi Sonuçları.....	140
3.4.1.3 CUPRAC Yöntemi.....	143
3.4.2 Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları.....	144
3.4.3 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	146
<b>4. SONUÇ VE TARTIŞMA.....</b>	<b>147</b>
<b>5. KAYNAKLAR.....</b>	<b>162</b>



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1: <i>Sideritis pisidica</i> Boiss. Et Heldr. Apud Bentham .....	7
Şekil 1.2: <i>Sideritis pisidica</i> 'nın ülkemizdeki yayılış alanı.....	7
Şekil 1.3: <i>Sideritis phrygia</i> Bornm.....	9
Şekil 1.4: <i>Sideritis phrygia</i> 'nın ülkemizdeki yayılış alanı.....	9
Şekil 1.5: <i>Sideritis brevibracteata</i> P.H. Davis.....	11
Şekil 1.6: <i>Sideritis brevibracteta</i> 'nın ülkemizdeki yayılış alanı.....	11
Şekil 1.7: Fenolik asitlerin kimyasal yapıları.....	19
Şekil 1.8: Flavonoidlerin genel yapısı.....	20
Şekil 1.9: Flavonoid süstitüentlerin en yaygın yerleşme pozisyonları.....	21
Şekil 1.10: Bazı flavonoid bileşiklerinin iskelet yapıları.....	22
Şekil 1.11: Bazı monoterpen yapıları.....	26
Şekil 1.12: Limonen oluşumu.....	28
Şekil 1.13: Üç olası bisiklik yapısı.....	29
Şekil 1.14: Seskiterpen oluşumu.....	29
Şekil 1.15: Bazı seskiterpen yapıları.....	30
Şekil 1.16: Bazı diterpen iskeletleri.....	33
Şekil 1.17: Bazı diterpenlerinin numaralandırılması.....	35
Şekil 1.18: Backbone veya Friedo düzenlenmesi ile klerodanların oluşumu.....	37
Şekil 1.19: Abietanların oluşumu.....	38
Şekil 1.20: Abietan türevleri.....	38
Şekil 1.21: Rosan türevleri.....	39
Şekil 1.22: Bazı tetrasiklik diterpenler.....	39
Şekil 1.23: Kauren ve <i>ent</i> -Kauren iskeletleri.....	40
Şekil 1.24: Bazı triterpen yapıları.....	41

<b>Şekil 1.25:</b> Antioksidan aktivite testlerinde kullanılan standartlar.....	45
<b>Şekil 1.26:</b> DPPH radikalinin indirgenmesi.....	52
<b>Şekil 1.27:</b> Asetilkolinesteraz inhibisyon reaksiyonu.....	54
<b>Şekil 2.1:</b> Kullanılan standartların LC-MS/MS kromatogramı (2.5 mg/L).....	60
<b>Şekil 3.1:</b> <i>Sideritis phrygia</i> bitkisinin uçucu yağ ana bileşenleri.....	69
<b>Şekil 3.2:</b> <i>Sideritis phrygia</i> bitkisinin uçucu yağ bileşenleri.....	69
<b>Şekil 3.3:</b> <i>Sideritis pisdica</i> bitkisinin uçucu yağ ana bileşenleri.....	71
<b>Şekil 3.4:</b> <i>Sideritis pisdica</i> bitkisinin uçucu yağ bileşenleri .....	71
<b>Şekil 3.5:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> bitkisinin uçucu yağ ana bileşenleri.....	73
<b>Şekil 3.6:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> bitkisinin uçucu yağ bileşenleri.....	74
<b>Şekil 3.7:</b> <i>Sideritis phrygia</i> ekstratlarında bulunan kuersetagetin-3,6-dimetileter içerikleri (mg/kg).....	78
<b>Şekil 3.8:</b> <i>Sideritis phrygia</i> ekstratlarında bulunan pelargonidin miktarları (mg/kg)79	
<b>Şekil 3.9:</b> <i>Sideritis phrygia</i> ekstratlarında bulunan klorojenik asit miktarları (mg/kg).....	80
<b>Şekil 3.10:</b> <i>Sideritis pisdica</i> ekstratlarındaki penduletin miktarları (mg/k).....	82
<b>Şekil 3.11:</b> <i>Sideritis pisdica</i> ekstratlarında bulunan rutin bileşiği (mg/kg).....	83
<b>Şekil 3.12:</b> <i>Sideritis pisdica</i> ekstratlarında bulunan klorojenik asit (mg/kg).....	84
<b>Şekil 3.13:</b> Sekonder metabolitlerin LC-MS/MS kromatogramı (SPs 1.3).....	84
<b>Şekil 3.14:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> bitkisinin ekstratlarında bulunan penduletin ve kuersetin-3,6-dimetileter miktarları (mg/kg).....	87
<b>Şekil 3.15:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> ekstratlarında bulunan luteolin miktarları (mg/kg).....	88
<b>Şekil 3.16:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> ekstratlarının klorojenik asit miktarları (mg/kg)..	89
<b>Şekil 3.17:</b> Sekonder metabolitlerin LC-MS/MS kromatogramı (SBr 3).....	90
<b>Şekil 3.18:</b> Bitkilerden tanımlanan flavonoidlerin yapıları (LC-MS/MS).....	91
<b>Şekil 3.19:</b> Bitkilerden tanımlanan fenolik asitlerin yapıları (LC-MS/MS).....	92
<b>Şekil 3.20:</b> Bitkilerden tanımlanan diğer bileşiklerinin yapısı (LC-MS/MS).....	93
<b>Şekil 3.21:</b> Bitkilerden tanımlanan terpen bileşiklerinin yapısı (LC-MS/MS).....	93

<b>Şekil 3.22:</b> Siderol bileşiğinin IR spekturumu.....	98
<b>Şekil 3.23:</b> Siderol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spekturumu.....	99
<b>Şekil 3.24:</b> Siderol Bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR Spekturumu (APT).....	100
<b>Şekil 3.25:</b> Siderol bileşiğinin EI/MS spekturumu.....	101
<b>Şekil 3.26:</b> Sideroxol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR Spekturumu.....	103
<b>Şekil 3.27:</b> Sideroxol bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR Spekturumu.....	104
<b>Şekil 3.28:</b> Sideroxol bileşiğinin EI/MS spekturumu.....	105
<b>Şekil 3.29:</b> Oleanolik asit bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spekturumu.....	107
<b>Şekil 3.30:</b> Oleanolik asit bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spekturumu.....	108
<b>Şekil 3.31:</b> Sideridiol bileşiğinin IR spekturumu.....	111
<b>Şekil 3.32:</b> Sideridiol bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.....	112
<b>Şekil 3.33:</b> Sideridiol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spekturumu.....	113
<b>Şekil 3.34:</b> Sideridiol bileşiğinin EI/MS spekturumu.....	114
<b>Şekil 3.35:</b> Linearol bileşiğinin IR spekturumu.....	116
<b>Şekil 3.36:</b> Linearol bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spekturumu.....	117
<b>Şekil 3.37:</b> Linearol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spekturumu.....	118
<b>Şekil 3.38:</b> 7-Epicandicandiol bileşiğinin IR spekturumu.....	121
<b>Şekil 3.39:</b> 7-Epicandicandiol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spekturumu.....	122
<b>Şekil 3.40:</b> 7-Epicandicandiol bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spekturumu.....	123
<b>Şekil 3.41:</b> 7-Epicandicandiol Bileşiğinin EI/MS Spekturumu.....	124
<b>Şekil 3.42:</b> Athanolone bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spekturumu.....	126
<b>Şekil 3.43:</b> Athanolone bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spekturumu.....	127
<b>Şekil 3.44:</b> Eubol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spekturumu.....	130
<b>Şekil 3.45:</b> Eubol bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spekturumu.....	131
<b>Şekil 3.46:</b> Eubotriol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spekturumu.....	134
<b>Şekil 3.47:</b> Stigmasterol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spekturumu.....	136
<b>Şekil 3.48:</b> Stigmasterol bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spekturumu.....	137
<b>Şekil 3.49:</b> Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi Sonuçları (% İnhibisyon).....	139

<b>Şekil 3.50:</b> Lipit peroksidasyon ( $\beta$ -Karoten / Linoleik asit) yöntemi antioksidan aktivite sonuçları (% inhibisyon).....	141
<b>Şekil 3.51:</b> CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivite sonuçları.....	144
<b>Şekil 3.52:</b> Ekstrelerin BChE % inhibisyon sonuçları.....	145
<b>Şekil 4.1:</b> Bitkilerin uçucu yağ ana bileşenleri.....	148
<b>Şekil 4.2:</b> <i>Sideritis phrygia</i> bitkisinden izole edilen bileşikler.....	149
<b>Şekil 4.3:</b> <i>Sideritis pisdica</i> bitkisinden izole edilen terpen bileşikleri.....	151
<b>Şekil 4.4:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> bitkisinden izole edilen terpen bileşikleri.....	152
<b>Şekil 4.5:</b> <i>Sideritis phrygia</i> bitkisinde bulunan flavonoid yapıları.....	153
<b>Şekil 4.6:</b> <i>Sideritis phrygia</i> bitkisinde bulunan fenolik asit yapıları.....	154
<b>Şekil 4.7:</b> <i>Sideritis pisdica</i> bitkisinde bulunan flavonoid yapıları.....	155
<b>Şekil 4.8:</b> <i>Sideritis pisdica</i> bitkisinde bulunan fenolik asit yapıları.....	155
<b>Şekil 4.9:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> bitkisinde bulunan flavonoid yapıları.....	157
<b>Şekil 4.10:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> bitkisinde bulunan fenolik asit yapıları.....	157
<b>Şekil 4.11:</b> <i>Sideritis phrygia</i> iki farklı yöntem ile antioksidan % inhibisyon sonuçları.....	158
<b>Şekil 4.12:</b> <i>Sideritis pisdica</i> iki farklı yöntem ile antioksidan % inhibisyon sonuçları.....	159
<b>Şekil 4.13:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> iki farklı yöntem ile antioksidan % inhibisyon sonuçları.....	161

## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 1.1:</b> Bitkilerdeki fenolik bileşiklerin sınıfları.....	18
<b>Tablo 1.2:</b> Terpenlerin sınıflandırılması.....	25
<b>Tablo 1.3:</b> Seskiterpenlerin sınıflandırılması.....	30
<b>Tablo 2.1:</b> LC-MS/MS cihaz parametreleri .....	59
<b>Tablo 2.2:</b> LC-MS/MS yöntemi validasyon parametreleri .....	61
<b>Tablo 3.1</b> Bitkilerden elde edilen uçucu yağ miktarları.....	68
<b>Tablo 3.2:</b> <i>Sideritis phrygia</i> bitkisinin uçucu yağ bileşenleri.....	70
<b>Tablo 3.3:</b> <i>Sideritis pisdica</i> bitkisinin uçucu yağ bileşenleri.....	72
<b>Tablo 3.4:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> bitkisinin uçucu yağ bileşenleri.....	73
<b>Tablo 3.5:</b> Bitkilerden elde edilen ekstre verimleri.....	75
<b>Tablo 3.6:</b> <i>Sideritis phrygia</i> bitkisinin tanımlanan sekonder bileşikleri (mg/kg) (LC-MS/MS).....	76
<b>Tablo 3.7:</b> <i>Sideritis phrygia</i> bitkisinde tanımlanan flavonoid bileşikleri (mg/kg)...	77
<b>Tablo 3.8:</b> <i>Sideritis phrygia</i> bitkisinde tanımlanan fenolik asitler (mg/kg).....	79
<b>Tablo 3.9:</b> <i>Sideritis pisdica</i> bitkisinde tanımlanan sekonder bileşikler (mg/kg) (LC-MS/MS).....	81
<b>Tablo 3.10:</b> <i>Sideritis pisdica</i> bitkisinde tanımlanan flavonoid bileşikleri (mg/kg) (LC-MS/MS).....	82
<b>Tablo 3.11:</b> <i>Sideritis pisdica</i> bitkisinde bulunan fenolik asitler (mg/kg) (LC- MS/MS).....	83
<b>Tablo 3.12:</b> <i>S. brevibracteata</i> bitkisinin sekonder bileşikleri (mg/kg) (LC- MS/MS).....	85
<b>Tablo 3.13:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> bitkisinin flavonoid bileşikleri (mg/kg) (LC- MS/MS).....	86



<b>Tablo 3.14:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> bitkisinden elde edilen fenolik asitler (mg/kg) (LC-MS/MS).....	88
<b>Tablo 3.15:</b> Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin sınıflandırılması.....	90
<b>Tablo 3.16:</b> Siderol bileşiğinin IR verileri (cm <sup>-1</sup> ).....	97
<b>Tablo 3.17:</b> Siderol Bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR verileri (ppm).....	97
<b>Tablo 3.18:</b> Siderol bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR verileri (ppm).....	97
<b>Tablo 3.19:</b> Sideroxol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR verileri (ppm).....	102
<b>Tablo 3.20:</b> Oleanolik asit bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR verileri (ppm).....	106
<b>Tablo 3.21:</b> Oleanolik asit bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR verileri (ppm).....	106
<b>Tablo 3.22:</b> Sideridiol bileşiğinin IR verileri (cm <sup>-1</sup> ).....	109
<b>Tablo 3.23:</b> Sideridiol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR verileri (ppm).....	109
<b>Tablo 3.24:</b> Sideridiol bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR verileri (ppm).....	109
<b>Tablo 3.25:</b> Linearol bileşiğinin IR Verileri (cm <sup>-1</sup> ).....	115
<b>Tablo 3.26:</b> Linearol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR verileri (ppm).....	115
<b>Tablo 3.27:</b> Linearol bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR verileri (ppm).....	115
<b>Tablo 3.28:</b> 7-epicandicandiol bileşiğinin IR verileri (cm <sup>-1</sup> ).....	119
<b>Tablo 3.29:</b> 7-epicandicandiol bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR verileri (ppm).....	119
<b>Tablo 3.30:</b> 7- epicandicandiol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR verileri (ppm).....	119
<b>Tablo 3.31:</b> Athanolone bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR verileri (ppm).....	125
<b>Tablo 3.32:</b> Athanolone bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR verileri (ppm).....	125
<b>Tablo 3.33:</b> Eubol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR verileri (ppm).....	129
<b>Tablo 3.34:</b> Eubol bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR verileri (ppm).....	129
<b>Tablo 3.35:</b> Eubotriol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR verileri (ppm).....	133
<b>Tablo 3.36:</b> Stigmasterol bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR verileri (ppm).....	135
<b>Tablo 3.37:</b> Stigmasterol bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR verileri (ppm).....	135
<b>Tablo 3.38:</b> DPPH yöntemiyle elde edilen antioksidan aktivite sonuçları.....	138
<b>Tablo 3.39:</b> Lipit peroksidasyon ( $\beta$ -Karoten/linoleik asit) yöntemi ile antioksidan aktivite % inhibisyon sonuçları.....	141

<b>Tablo 3.40:</b> CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivite test sonuçları (mmol TR g <sup>-1</sup> ).....	143
<b>Tablo 3.41:</b> Ekstrelerin Antikolinesteraz AChE ve BChE aktivite sonuçları (% İnhibisyon).....	145
<b>Tablo 4.1:</b> Bitkilerden hazırlanan ekstre miktarları.....	148
<b>Tablo 4.2:</b> <i>Sideritis phrygia</i> bitkisinin antioksidan aktivite sonuçları.....	158
<b>Tablo 4.3:</b> <i>Sideritis pisidica</i> bitkisinin antioksidan aktivite sonuçları.....	159
<b>Tablo 4.4:</b> <i>Sideritis brevibracteata</i> bitkisinin antioksidan aktivite sonuçları.....	160



## SEMBOL LİSTESİ

<b>cm</b>	:	Santimetre
<b>mm</b>	:	Milimetre
<b>m</b>	:	Metre
<b>°C</b>	:	Santigrat derece
<b><math>\alpha</math></b>	:	Alfa
<b><math>\beta</math></b>	:	Beta
<b><math>\gamma</math></b>	:	Gama
<b>nm</b>	:	Nanometre
<b>mg</b>	:	Miligram
<b>L</b>	:	Litre
<b>g</b>	:	Gram
<b>m/z</b>	:	Kütle/ elektron
<b>mm</b>	:	Milimetre
<b><math>\mu</math>L</b>	:	Mikrolitre
<b>v/v</b>	:	Hacim/hacim
<b><math>\mu</math>m</b>	:	Mikrometre
<b>V</b>	:	Volt
<b>psi</b>	:	İnçkareye etki eden pound
<b>s/m</b>	:	Saniye/metre
<b>mg/kg</b>	:	Miligram/klogram
<b>mg/L</b>	:	Miligram/litre
<b>Hz</b>	:	Hertz
<b>MHz</b>	:	Mega Hertz
<b>mM</b>	:	Milimolar
<b>mL</b>	:	Mililitre
<b>mmol</b>	:	Milimol
<b><math>\delta</math></b>	:	Delta
<b>p</b>	:	Para
<b>t</b>	:	Triplet
<b>s</b>	:	Singlet
<b>d</b>	:	Dublet
<b>m</b>	:	Multiplet
<b>ppm</b>	:	Pert Per Million
<b>mg</b>	:	Migrogram

## ÖNSÖZ

Çalışmalarım süresince ve araştırmamın her aşamasında yapıcı ve yönlendirici fikirleri ile bana daima yol gösteren, araştırma konumun tüm detayları ile ele alınmasını, düzenlenmesini, değerlendirilmesini sağlayan ve her koşulda destek ve ilgilerini eksik etmeyen hep yanımda olan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Turgut KILIÇ' a teşekkürlerimi sunarım.

113Z710' nolu proje kapsamında bu tezi destekleyen TÜBİTAK'a;

Laboratuvar çalışmalarım sırasında benden bilgisini, yardımlarını esirgemeyen Dr. Sema ÇARIKÇI' ya teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren, üzerime titreyip emek veren, hayatımın tüm evrelerinde maddi ve manevi desteklerini her zaman üzerimde hissettiğim bana her zaman güvenen sevgili babam İsmail ÖZER' e ve annem Şenay ÖZER' e;

Her konuda beni cesaretlendirip teşvik eden, her zaman yanımda olduğunu hissettiğim sevgili eşim Orhan SAĞIR' a yürekten teşekkürler.

**Züleyha ÖZER SAĞIR**

## 1. GİRİŞ

Tıbbi bitkiler biyolojik aktivite gösteren ve eski çağlardan beri halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan materyallerdir. 224 cins ve yaklaşık 7.200 tür içeren zengin Labiatae familyasına ait bitkilerin çoğu antik çağlardan bu yana halk ilacı olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmalarının yanı sıra, tıpta, gıda endüstrisinde, kozmetik ve parfümeride yer alan bitkilerdir. Ayrıca günümüzde 'Fitoterapi' de kullanılan pek çok preperatta da bu familya bitkilerinin yer aldığı görülmektedir [1].

Dünyada 150 den fazla türe sahip olan *Sideritis* L. Labiatae familyasının en önemli cinslerinden birisini oluşturmaktadır. Bu cins, Kuzey yarım kürenin ılıman ve tropikal bölgeleri başta olmak üzere Akdeniz ülkeleri, Kanarya adaları ve Kafkasya'ya kadar geniş bir yayılım göstermektedir. İspanya ve Türkiye, en fazla *Sideritis* türüne sahip olan ülkelerdir [2]. Türkiye' de *Sideritis* cinsi 46 tür 12 alt tür ve 2 varyetesi ile temsil edilmektedir [3-5]. Başlıca Batı Anadolu olmak üzere İç ve Güney Anadolu' da oldukça yaygındır. Daha çok 'Ada çayı' ya da 'Dağ çayı' adı ile bilinmekte olan bu cinse ait türler hem Türkiye hem de Avrupa' da kırsal yörede halk arasında kullanılmaktadır [6].

*Sideritis* L. cinsinin ismi Yunanca kökenli bir kelime olan ve demir anlamına gelen 'sideros' dan gelmektedir. Bu isim bu cinse ait bitkilerin yaraları iyileştirme özelliğinden dolayı verilmiştir. Ayrıca son yıllarda taşıdıkları di- ve triterpenler nedeniyle antiinflamatuvar, antiviral, hepatotoksik, sitosoksik/antitümör aktivitelerinin yanı sıra taşıdıkları flavonların, antioksidan, antimikrobiyal, sitotoksik vb. pek çok aktiviteye sahip olmaları nedeniyle bu cinse olan ilgi artmıştır [6,7].

Bu tez çalışmasında Türkiye' ye endemik olan üç *Sideritis* türünün (*Sideritis pisdica* Boiss. Et Heldr., *S. phrygia* Bornm., *S. brevibracteata* P.H. Davis) uçucu yağlarının GC-MS ile analizi, bitkilerden hazırlanan hekzan, aseton ve metanol

ekstrelerinin terpen bileşiklerinin izole edilmesi, bunların çeşitli kromatografik yöntemlerle saflaştırılarak yapılarının aydınlatılması, hekzan, aseton ve metanol ekstralarının LC-MS/MS ile sekonder metabolitlerinin tanımlanması, aynı zamanda ekstraların antioksidan aktivitelerinin, DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi, Lipid Peroksidasyonu İnhibisyonu ( $\beta$ -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi) ve CUPRAC (Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan kapasite) yöntemleri ile belirlenmesi, Antikolinesteraz Aktivitesinin Ellman Yöntemi kullanılarak Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirikolinesteraz (BChE) enzimlerine karşı tayini amaçlanmıştır.



## 1.1 Bitkiler Hakkında Genel Bilgi

### 1.1.1 Labiatae (Lamiaceae) Familyası

Labiatae familyası, özellikle Akdeniz ülkelerinde doğal olarak yetişen ve ılıman iklim kuşağında yer alan birçok ülkede de kültürü yapılan bitkilerden oluşan 224 cins ve yaklaşık 7.200 türle temsil edilen en geniş çiçekli bitki familyalarından birisidir [1]. Lamiaceae familyası için önemli bir gen merkezi olan ülkemizde, bu familya toplam 45 cins, 565 tür ve 765 takson ile temsil edilmektedir. Çoğunlukla güzel kokulu, bir ya da çok yıllık, otsular, nadiren çalılar veya ağaçları kapsayan bir çiçekli bitkiler familyasıdır. Yapraklarında, kokulu yağ salgılayan küçük salgı bezleri bulunur. Dolayısıyla başta nane, kekik ve lavanta çiçeği olmak üzere bu familyaya ait çiçekler bol ıtırılı olur. Familya üyeleri farmakoloji ve parfüm sanayinde uçucu ve aromatik yağ içermelerinden dolayı kullanılırlar. Baharat olarak da kullanılır ve süs bitkisi olarak yetiştirilirler [8].

Labiatae familyası dünyanın birkaç bölgesinin dışında tüm habitat ve yüksekliklerde yetişmekte olup, Kuzey Kutbu'nda Himalayalar'a kadar, Güneydoğu Asya'dan Hawaii'ye kadar, ayrıca Avusturalya'da, tüm Afrika'da ve Amerika'nın kuzeyi ve güneyi boyunca yayılış göstermektedir [8].

Güneybatı Asya'da, Yunanistan dışında Labiatae (Lamiaceae) familyasının yaklaşık 66 cins ve 1100 türü bulunmaktadır. Bu rakam dünya toplamının 1/3'üne karşılık gelir. Familyanın bölgedeki endemizm oranı %70 in üzerindedir. Güneybatı Asya'da yetişen 66 cinsin 9'u Amerika ve Avusturalya kıtalarında bulunmaktadır [8].

### 1.1.2 *Sideritis* L. Cinsi

Bitkiler aleminin zengin familyalarından olan Lamiaceae familyasına ait *Sideritis* cinsi dünyada başlıca Akdeniz Bölgesi olmak üzere Kanarya Adalar'ında Kafkas'lara uzanan bir yelpazede 150'yi aşkın türle temsil edilmektedir [9]. Ülkemizde bu cinsin takson sayısı 46 tür, 12 alt tür ve 2 varyete ile toplam 54' dür. Bunlardan 41'i endemiktir. Ülkemizde *Sideritis* cinsi, 2 seksiyon ile temsil edilmektedir: *Empedoclia* (Rafin) Bentham ve *Hesiodia* Bentham. %80 lik

endemizm oranı ile *Empedoclia* seksiyonunun gen merkezi Türkiye'dir. *Sideritis* cinsinin diğer gen merkezi *Sideritis* seksiyonuna ait yaklaşık 50 türün bulunduğu Güneybatı Avrupa'daki Iberian Peninsula bölgesidir. *Sideritis* cinsinin ismi Yunanca kökenli bir kelime olan ve demir anlamına gelen 'sideros' dan gelmektedir. Bu isim bu cinse ait bitkilerin yaraları iyileştirme özelliğinden dolayı verilmiştir [6].

*Sideritis* türleri bir veya çok yıllık, otsu ya da çalimsı bitkiler şeklindedir. Gövde dik, yükselici, genellikle dallanmış ve tabanda odunsu haldedir. Pilos veya tomentos tüylü, nadiren tüysüz, salgı tüylü veya salgı tüyüne sahip değildirler. Yaprakları genellikle karşılıklı, dekusat, tam veya krenat-dentat kenarlıdır. Damarlanma pennat olup çiçek durumu vertisillastrumdur. Vertisillatlar 4-20 adettir. Her vertisillat 5-6 çiçekli, vertisillatların arası mesafeli veya birbirine yakın ve spika şeklinde kümelenmiştir. Brakteler yaprak gibi, tam veya kaliks tüpünü örtmüş bir haldedir. Brakteol yoktur. Kaliks tubulat-kampanulat, bazen bilabilat şeklinde olup 5-10 damarlı ve 5 dişlidir. Dişler birbirine eşit veya üst diş alt dişten daha geniştir. Korolla genellikle sarı, bazen beyaz ya da mor renklidir. Korolla tüpü kaliksten kısa veya uzun olabilmektedir. Üst dudak hemen hemen dik, tam veya bifit; alt dudak yatık ve 3 lobludur. Stamenler korolla tüpü içinde, 4 tane, didinam ve birbirine paralel iki sıra meydana getirmiştir. Alt stamenler üst tamenlerden daha uzundur. Anterler 2 gözlü ve çoğunlukla şekli bozulmuş bir haldedir. Stilus korolla tüpü içinde, ginobazik, bifit, alt lob genişlemiş, üst lobu sarar durumdadır. Stamenlerin ve stilusun boyu, korolla tüpünden uzun değildir. Ovaryum üst durumlu, iki karpelli, 4 gözlü, her gözde tek ovüllüdür. Meyva kuruyunca 4 merikarp'a ayrılan şizokarp, ovat, uçta, yuvarlak ve tüysüzdür [10].

### ***Sideritis* L. Cinsinin Ekonomik ve Tıbbi Önemi**

Ülkemizde halk ilacı ve bitkisel çay olarak geniş çapta kullanılmakta olan *Sideritis* cinsleri en çok dağ çayı, yayla çayı, sarıkız çayı, kuyruk çayı, adaçayı gibi değişik yöresel isimlere sahiptirler [9]. Halk arasında sinir sistemi uyarıcısı, antiinflamatuvar, antispazmodik, karminatif, analjezik, sedatif, antitussif, stomaşik ve antikonsulsan etkilerinden dolayı ve soğuk algınlıklarında öksürük kesici ve gastrointestinal hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır [11]. Son yıllarda yapılan araştırmalarla bazı *Sideritis* türleri ekstrelerinin antifeedant [12], antistres [13], analjezik



[14], antioksidan [15], antibakteriyal[16,17], antiinflamatuvar etkileri belirlenmiştir. Ayrıca bu türlerin diterpen yapısındaki bileşikleri ve uçucu yağlar ile ilgili pek çok araştırma yapılmıştır [11,18-25].

*Sideritis* cinsleri, güzel kokulu yağlar ve yaygın olarak kullanılan aromatik maddeler içerirler ve soğuk algınlığı tedavisinde kullanılırlar. Buna ek olarak, bu bitkilerin hoş aromatik kokuları ve temel yağları ve aromatik bitkilerin ekstraktları lipit alt tabakada güçlü antioksidan aktivitesine sahiptirler. *Sideritis* lerin içerdiği birçok aktivite antimikrobiyel özelliklerinden kaynaklanmaktadır. *Sideritis* lerin kaynatılması ile yapılan ilaçlar, iltihaplanma karşıtı iki mekanizmaya uygulanır. *Sideritis* ler özellikle andalusol olarak tanımlanan diterpenoidlerden oluşurlar [26,27].

### 1.1.3 *Sideritis pisidica* Boiss. Et Heldr. Apud Benth.

Çok yıllık, otsu, tabanda odunsu. Gövde dik, 25-75 cm, basit veya dallanmış, altta uzun, üstte kısa seyrek örtü ve yoğun ve salgı tüylü. Yapraklar her iki yüzde de dağınık örtü ve salgı tüylü, belirgin ağsı damarlı; alt gövde yaprakları (alt 2 yaprak) saplı, sap (0,5-)1,5-3 cm, lamina eliptikten oblonga kadar, 4,5-7 x 1,1-1,3 cm, tepesi akut, kenarı krenat-serrat veya tam, tabanı kuneat; orta gövde yaprakları sapsız, lamina oblongtan linear-lanseolata kadar, 4-7 x 0,5-2 cm, tepesi akut, kenarı tam veya krenat-serrulat, tabanı ± trunkat; üst yapraklar sapsız, lamina linear-lanseolat, 3-4,5 x 1-1,2 cm, tepesi akut, kenarı tam veya krenat-serrulat, tabanı + amplexikaul. Yapraklar orta ve altta genellikle internodyumlardan uzun. Internodyumlar 4-6 cm boyunda. Çiçek durumu basit veya dallanmış. Vertisillatlar 3-15, her vertisillat 6 çiçekli, vertisillatlar arası alt kısımlarda 3-6(-8) cm, üst kısımlarda 1 cm ye kadar sıklaşır. Brakteler silili, her iki yüzü tüysüz veya seyrek, ince örtü ve salgı tüylü, belirgin ağsı damarlı; alt brakteler ovat, kordat, 1,8-2,3 x 1,4-1,6 cm, tepesi akuminat; orta brakteler orbikulat kordattan reniforma kadar, akumenle birlikte 1-2 x 1,3-1,6 cm, akumen (-3) 4-7 mm; üst brakteler orbikulat- reniform, akumenle birlikte 1-1,4 x 1,2-1,6 cm, akumen 2-4 mm; bütün braktelerin kenarları tam. Kaliks 8,5-10 mm, tüp 5-7 mm, dişler linear-lanseolat, 3-4 x 1 mm, tepesi akuminat, hemen hemen eşit, dişlerin dış yüzü kısa salgı tüylü, tüp kısmı ise seyrek, kısa, dik örtü ve kısa salgı tüylü. İç yüzde dişler seyrek basık örtü tüylü, kenarlarda yoğun uzun, basık örtü tüylü, kaliks boğazı seyrek tüylü. Koralla parlak sarı, 9-13 mm, kaliksten uzun, tüpün üst kısmı ve loplara iç ve dış yüzü yoğun basık örtü tüylü, tüpün iç kısmında filamentlerin alt bölgesindeki tüyler tam halka şeklinde değil. Üst dudağın iç kısmında 2 kahverengi çizgi var.

**Çiçeklenme Zamanı:** Temmuz-Ağustos.

**Habitat ve Yetiştirme Yüksekliği:** Kalkerli yamaçlar, çalılıklar, 0-2100 m.

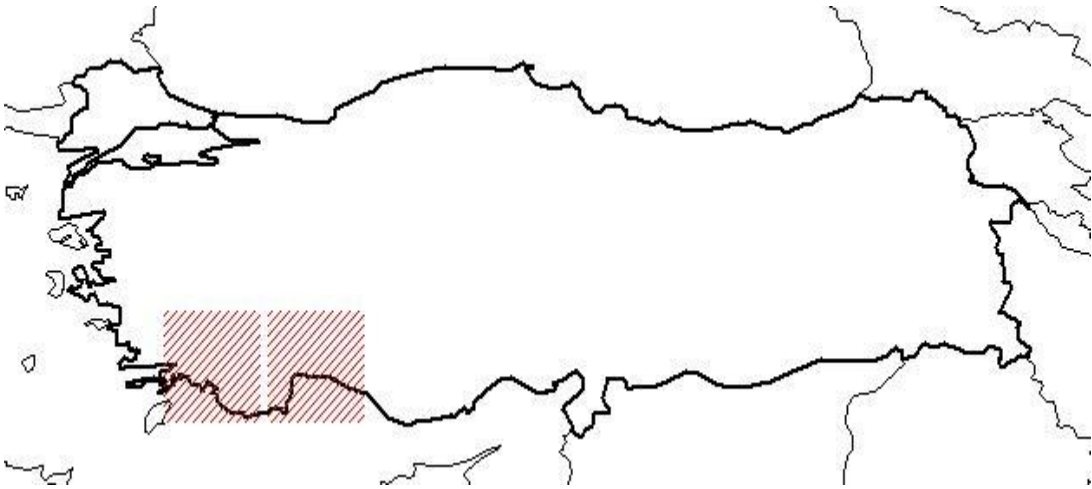
**Türkiye Yayılışı:** Batı Akdeniz.

**Fitocoğrafik Bölgesi:** Doğu Akdeniz elementi.

**Endemizm:** Endemik.



Şekil 1.1: *Sideritis pisidica* Boiss. Et Heldr. Apud Bentham.



Şekil 1.2: *Sideritis pisidica* 'nın ülkemizdeki yayılış alanı.

#### **1.1.4 *Sideritis phrygia* Bornm.**

Çok yıllık, otsu, tabanda odunsu. Gövde dik veya yükselici, 20-70 cm basit ve dallanmış, basık, beyaz, tomentoz örtü tüylü. Yapraklar her iki yüzde de beyaz tomentoz örtü tüylü, belirgin ağsı damarlı; alt gövde yaprakları 0,5- (-1,7) cm ye kadar saplı, lamina eliptik, oblanceolat, obovat, 3-4 x 0,8-1,6 cm, tepesi akut-obtus, akut-akuminat, kenarı serrat, tabanı kuneat, attenuat; orta gövde yaprakları sapsız veya 1 cm ye kadar saplı, lamina spatulat, oblanceolat, linear-lanseolat, (-2)4-6 x 0,5-1 cm, tepesi akuminat, kenarı serrat- krenat, tabanı attenuat; üst yapraklar sapsız, lamina linear-lanseolattan linear-oblonga kadar 1,5-2 x 0,3-0,5 cm, tepesi akuminat, ucu sarımsı batıcı, kenarı tam veya hafif dentikulat, tabanı truncat. Yapraklar internodyumlardan kısa. Internodyumlar orta ve üstte 4-9 cm boyunda, altta daha kısa. Çiçek durumu basit veya az dallanmış. Vertisillatlar 4-8 (-15) her vertisillat 5-6 çiçekli, vertisillatlar arası alt kısımlarda 0,5-2 (-4,5) cm, üst 0,5 cm ye kadar sıklaşır. Brakteler dış yüzde tomentoz örtü tüylü, iç yüzü üstte tomentoz, altta basık beyaz örtü tüylü; belirgin ağsı damarlı; alt brakteler orbikulattan reniforma kadar, akumenle birlikte 1,3-1,5 x 0,9-1,1 cm, akumen 3-5 (-6) mm; orta brakteler ovattan orbikulat-reniforma kadar, akumenle birlikte 1-1,5 x 0,8-1,1 cm akumen 2-5 mm; üst brakteler ovat- orbikulat, akumenle birlikte 0,8-1,0 x 0,8-0,9 cm, akumen 2-4 mm, bütün braktelerin kenarları tam. Kaliks 8-10 mm, tüp 5-7 mm, dişler triangular-lanseolat, 3-3,5 x 1-1,5 m, hemen hemen eşit dişlerin dış yüzü ve tüp sık, uzun, dağınık örtü ve yoğun salgı tüylü. İç yüzde dişler basık örtü tüylü, tüp tüysüz. Korolla sarı, 12-13 mm, kaliksten bariz uzun, tüpün üst kısmı ve loplara dış yüzü yoğun, basık örtü tüylü, dudakların iç yüzü boğaza kadar örtü tüylü, tüpün iç kısmında filamentlerin alt bölgesindeki tüyler tam halka şeklinde değil. Üst dudağın iç kısmında 2 kahverengi çizgi var veya yok.

**Çiçeklenme Zamanı:** Haziran-Temmuz.

**Habitat ve Yetiştirme Yüksekliği:** Kayalık yamaçlar, 1100-1500 m.

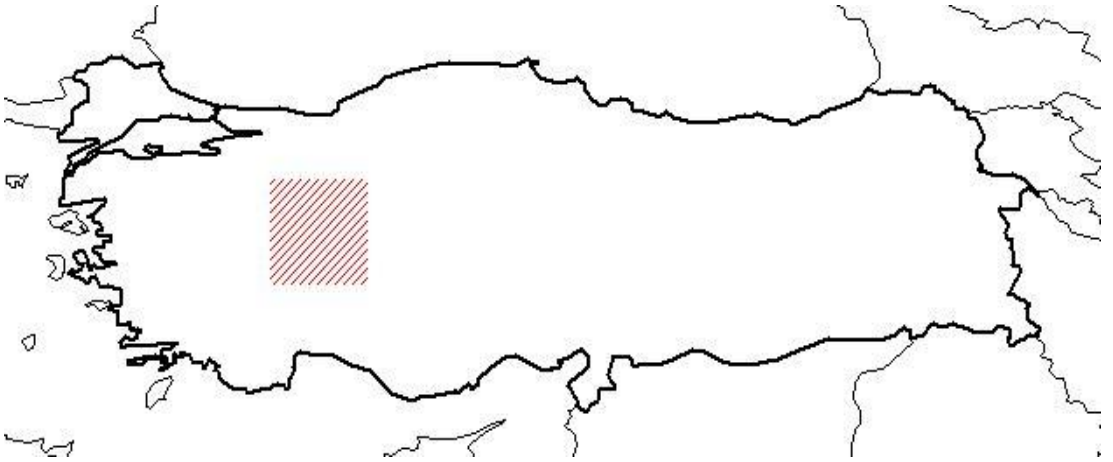
**Türkiye Yayılışı:** Afyon.

**Fitocoğrafik Bölgesi:** İran-Turan elementi.

**Endemizm:** Endemik.



Şekil 1.3: *Sideritis phrygia* Bornm.



Şekil 1.4: *Sideritis phrygia* 'nın ülkemizdeki yayılış alanı.

### 1.1.5 *Sideritis brevibracteata* P.H. Davis

Çok yıllık, otsu, tabanda odunsu. Gövde dik veya yükselici, 70-90 cm, basit veya az dallanmış, alt kısımlarda yoğun, üstte daha seyrek, basık, beyaz tomentoz örtü tüylü. Yaprakların alt yüzü daha yoğun olmak üzere, her iki yüzü de beyaz tomentoz örtü tüylü, skrobikulat, belirgin ağsı damarlı; alt yapraklar sapsız veya 3 mm ye kadar kısa saplı, lamina spatulat, obovat, oblanseolat, (1,4-) 2-2,5 x (0,4-) 0,5-0,8 cm, tepesi kuneat, akut, bazen obtus, kenarı krenattan krenat-dentata kadar, tabanı attenuat; orta gövde yaprakları lamina linear, linear oblong, linear obovat, bazen linear falkat (1-) 2,1-3,6 x (0,2) 0,6-0,8 cm, tepesi akut-obtus, kenarı krenat-dentat, tabanı attenuat + aurikulat; üst yapraklar sapsız, lamina linear, bazen falkat veya subulat, 1-2,1 x 0,2-0,35 cm tabanı aurikulat, kenarı krenat dentat, tepesi akut. Internodyumlar üstte 4-6,5 cm ye kadar, ortada 3-4 cm, alt kısımlarda daha kısa. Çiçek durumu dallanmış. Vertisillatlar 3-15, her vertisillat 6 çiçekli, vertisillatlar arası alt kısımlarda 2-4,5 cm, üstlere doğru 0,5 cm ye kadar sıklaşır. Brakteler dış yüzde ince puberulent, iç yüzde seyrek ince uzun basık beyaz örtü tüylü, belirgin ağsı damarlı; alt brakteler ovat, orbikulat-reniform, 1,5-3 mm lik akumenle birlikte 0,7-1,2 x 0,9-1,2 cm; orta brakteler genişçe orbikulattan reniforma kadar, 1-2 mm lik akumenle beraber 0,6-0,8 x 0,8-1 cm; üst brakteler orbikulat-reniform, 0,4-0,6 x 0,5-0,8 cm; bütün braktelerin tabanları amplexikaul, genellikle yeşil-kırmızımsı. Kaliks 6,5-9 mm, tüp 4-6 mm; dişler linear, 2-3 x 1 mm eşit, esmer- kırmızı, tüp ve dişler dış yüzde puberulent, korolla alt lobunun altında kalan kısım, seyrek dağınık örtü tüylü, iç yüzde tüp tüysüz, dişler uzun basık örtü tüylü. Korolla sarı 9-10 mm, kaliksten uzun, tüpün üst kısmı ve lopların dış yüzü marjinler hariç yoğun örtü tüylü, iç yüzde korolla tüpünün ağız kısmı örtü tüylü filamentlerin alt bölgesindeki tüyler tam halka şeklinde. Üst dudağın iç kısmında kahverengi çizgi var.

**Çiçeklenme Zamanı:** Mayıs- Ağustos.

**Habitat ve Yetiştirme Yüksekliği:** Kayalık yamaçlar, maki, frigana, 30-2000 m.

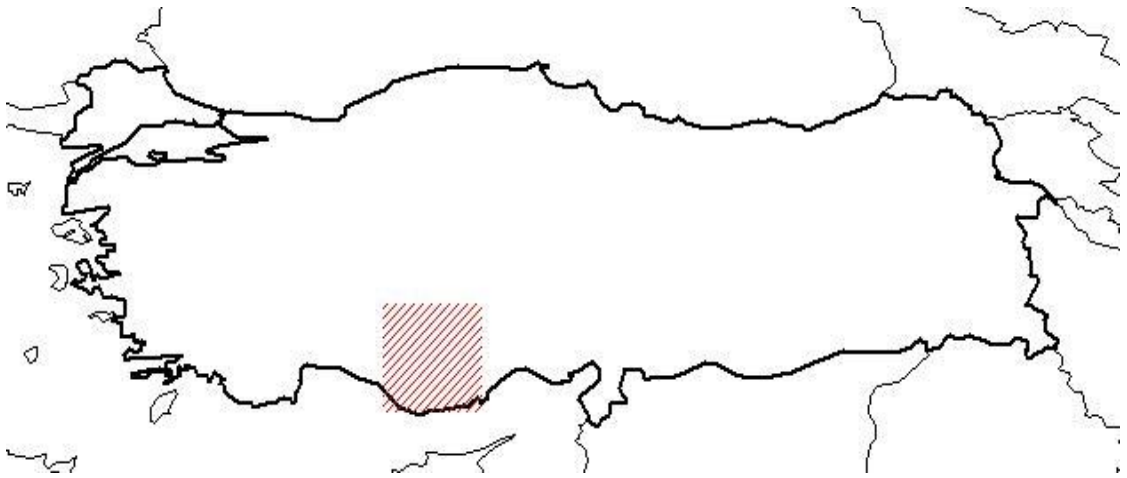
**Türkiye Yayılışı:** Batı Akdeniz.

**Fitocoğrafik Bölgesi:** Doğu Akdeniz Elementi.

**Endemizm:** Endemik.



Şekil 1.5: *Sideritis brevibracteata* P.H. Davis.



Şekil 1.6: *Sideritis brevibracteata* 'nın ülkemizdeki yayılış alanı.

## 1.2 *Sideritis L.* Cinsinde Sekonder Metabolitler

*Sideritis* cinsinde terpenler, flavonoidler, uçucu yağlar, iridoidler, kumarinler, lignanlar ve steroller gibi pek çok kimyasal bileşen tanımlanmıştır. Bu bileşenler aynı zaman da bitkiler de bulunan sekonder metabolitler olarak bilinmektedir.

### 1.2.1 Uçucu Yağ

Uçucu yağlar, bitkilerden ya da bitkisel droglardan çeşitli yöntemlerle elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde olan, su buharı ile sürüklenebilen, kolaylıkla kristalleşebilen uçucu özellikte, bitkilerin karakteristik kokuları veren, yağimsı karışımlardır. Su ile karışmadıklarından ve su yüzeyinde tabaka oluşturduklarından, “yağ” adı ile anılırlar, oda sıcaklığında bile buharlaşabildiklerinden bunlara uçucu yağ veya eterik yağ denilmektedir. Ayrıca uçucu yağlar genellikle güzel kokulu olduklarından ve bir de parfüm sanayinde kullanıldıklarından “esans” olarak adlandırılmaktadırlar [28].

Uçucu yağ içeren bitkiler daha çok tropik ve subtropik bölgelerle ılıman iklim kuşağının sıcak bölgelerinde yetişmektedirler. Soğuk iklimlerde daha az sayıda aromatik bitki bulunmaktadır. Uçucu yağ taşıyan bitkiler açısından en zengin alanlardan birisi de ülkemizi de içine alan Akdeniz Fitocoğrafik bölgesidir [28].

Uçucu yağlar bitkinin tüm organlarında veya bitkinin belirli bir organında bazen de bir organın belirli dokularında da bulunabilmektedir. Birçok bitki sekonder metabolitler olan uçucu yağları normal büyüme ve gelişim dönemlerinde ya da strese tepki olarak veya patojen saldırılara karşı üretmektedirler [29].

Uçucu yağlar taze iken genellikle renksiz veya açık sarı renklidir. Fakat karanfil yağı gibi sarıdan kahverengiye veya papatya yağı gibi yeşilden maviye kadar değişik renkte olanları da vardır. Uçucu yağlar kendilerine özel kuvvetli bir kokuya, tada ve renge sahiptirler. Terpenlerin oksitlenmesiyle meydana gelen oksijenli türevler uçucu yağın kendine özgü kokusunu, tadını ve terapötik özelliğini verir. Bazı uçucu yağlar ışık ve oksijenin etkisi ile oksitlenerek, koku değişimine ve kalite azalmasına maruz kaldıkları için yağlar serin bir yerde ve koyu renkli şişelerde saklanmalıdırlar [30-32].



Yağlar genellikle oda sıcaklığında sıvıdırlar fakat katı olanlarda vardır. Uçucu yağlar, su buharında sürüklenirler, süzgeç kağıdı üzerinde leke bırakmazlar, zamanla acılaşırlar. Ancak ışık ve hava karşısında bir süre sonra oksitlenir ve reçineleşirler. Etanol de çözünebilirler [31,32].

### **1.2.1.1 Uçucu Yağların Sınıflandırılması**

#### **1.2.1.1.1 Kimyasal Bileşimlerine Göre**

Uçucu yağların kompozisyonunu oluşturan kimyasal maddeleri dört grup altında toplayabiliriz: terpenik maddeler, aromatik maddeler, düz zincirli hidrokarbonlar, azot ve kükürt taşıyan bileşikler.

Uçucu yağların yapısında 2000 'den fazla kimyasal bileşik bulunur, bunların % 90 'ı terpenik maddelerden oluşmuştur. Yapılarında 150 'den fazla monoterpen, 1000 kadar seskiterpen ile diterpenler bulunmuştur. Bunların yanında alkoller (benzil alkol, sinamik alkol, sitronello), organik asitler (asetik asit, benzoik asit, sinamik asit), fenoller (karvakrol, kativol, timol), ketonlar (kafur, karvon, pulegon), aldehytler (benzaldehyt, sinamik aldehyt, sitral), esterler (benzil benzoat, bornil asetat, granil asetat), fenol esterleri (anetol, öjenol, safrol), ve diğer bileşikler (sülfür, nitrojen, kumarin) bulunmaktadır. Terpenlerin oksitlenmesi ile oluşan oksijenli türevlerden, uçucu yağların kendisine has kokusu ve tadı meydana gelir [28,31,33].

#### **1.2.1.1.2 Aromatik Özelliklerine Göre**

Uçucu yağlar koku ve tat özelliklerine göre de sınıflandırılabilirler. Buna göre uçucu yağlar üçe ayrılırlar; “aromatika-aroma” (kokulu ve acı tadı olanlar), “aromatika-acria” (kokulu ve tadı keskin olanlar), “aromatika” (çok kokulu ve tadı iyi olanlar) [28].

### **1.2.1.1.3 Farmakolojik ve Terapik Etkilerine Göre**

Uçucu yağlar farmakolojik ve terapik etkilerine göre de gruplandırılır. Uçucu yağlar nervinatik (sinir yatıştırıcı), rubefiyen (deriyi kızartan), irritan (uyarıcı), ekspektoran (balgam söktürücü), antitussif (öksürüğü kesen), antiromatizmal, diüretik (idrar söktürücü), emmenagog (adet söktürücü), stomasik (midevi), karminatif (gaz giderici), koleretik (safra sökücü), antihelminetik (solucan düşürücü), antienflamatuar, antiseptik, antibiyotik, antifungal, antioksidant ve sedatif etkilerine göre bir gruplandırmaya tabi tutulurlar [28,34,35]. Uçucu yağların toksik etkisi lipitlerde erimelerinden ve hücre içine girerek plazmayı bloke etmelerinden ileri gelir. Toksik etki mukozayı tahriş eder ve sinir sistemini uyuşturur. Uçucu yağlar birden fazla maddeden oluştuğu için aynı uçucu yağ değişik amaçlarla kullanılabilir. Bugün uçucu yağlar yerine, daha çok içindeki aromatik etken maddeler veya terpenik maddeler ilaç olarak kullanılmaktadır [36].

### **1.2.1.2 Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri**

Uçucu yağlar bitkilerden, miktarlarına ve bileşenlerinin özelliklerine bağlı olarak ve diğer bir yönden de uçucu yağ elde edilecek bitki kısmına göre değişik şekillerde elde edilir [28,31]

#### **1.2.1.2.1 Distilasyon Yöntemi**

Distilasyon yöntemi, ucuz ve kolay olup uçucu yağı kolaylıkla veren bitkiler için uygulanır Bu yöntem bitki materyallerindeki bütün uçucu maddeleri buharlaştırma ve yoğunlaştırma yoluyla ayırma yöntemidir [28].

Bitkiler çok ince toz haline getirilmeden distile edilmelidir. Genellikle çiçekler doğrudan, yapraklar hafif ufalandıktan sonra, kök vs. ise küçük parçalara ayrıştırıldıktan sonra distile edilirler. Gül, lavanta, portakal çiçeği, anason, karanfil, nane, kekik, adaçayı gibi bitkilerde bu yöntem uygulanır [28]. Uçucu yağların elde edilmesinde beş tip distilasyon yönteminden faydalanılır.

#### **1.2.1.2.2 Su Distilasyonu**

Kuru bitki materyali distilasyon aygıtı içinde sıcak su ile kaynatılır. Geleneksel olarak uçucu yağ üretiminde kullanılan imbikler ve laboratuvar tipi Klevenger aygıtı bu yöntem için kullanılır. Uçucu yağ buhar ile sürüklenerek soğutucudan yoğunlaştırılarak bir kaptan toplanır. Kaptan su ve yağ tabakası ayrılır ve uçucu yağ alınır [28,37].

#### **1.2.1.2.3 Su ve Buhar Distilasyonu**

Bu metotta hem kuru hem de taze bitki materyali doğrudan doğruya sıcak su ile değil, buharla temas etmektedir. Uçucu yağlar maserasyona tabi tutulmuş materyalden su buharı geçirilerek ayrıştırılır. Yüksek ısı ile parçalanma olasılığını ortadan kaldırmak için su buharı başka bir yerde elde edilir ve bir boru yardımıyla maseratin içine yöneltir. Uçucu yağlar su buharı ile sürüklenerek soğutucu ünitesine gelerek yoğunlaşır toplama kabında birikir [28,37].

#### **1.2.1.2.4 Buhar Distilasyonu**

Bu yöntem daha çok taze bitki materyallerine uygulandığından ve bu taze materyal yeterince su taşıdığından materyal maserasyona tabi tutulmaz. Sıcak su buharı distilasyon kazanının ızgarası üzerine konan materyalin içersinden doğrudan geçirilir. Yağ damlacıkları buhar ile beraber sürükleyerek toplama kabında birikir [28,37].

#### **1.2.1.2.5 Kuru Distilasyon**

Bazı droglar kuru kuruya ısıtıldıkları zaman uçucu maddeler kısmen oldukları gibi kısmen de parçalanarak distile olurlar. Özel çelikten yapılmış imbiklerde uygulanan bu yönteme "Pirojenasyon" adı verilir. Materyal odun ya da dal ise küçük parçalar halinde kazanlara doldurularak, yüksek sıcaklıkta havasız ortamda kuru kuruya distile edilir [31].

#### **1.2.1.2.6 Hidrodifüzyon**

Uçucu yağın bir kısmı bitkisel dokuların yüzeyinde bulunurken, bir kısmı da iç kısımlarda bulunur. Yüzeğe yakın yerlerdeki uçucu yağ buhar ile almak kolaydır. Yüzeğe yakın olmayan bölgelerdeki uçucu yağ ise ancak difüzyon işleminden sonra yüzeğe ulaşır. Hidrodifüzyon işlemi, distilasyonunun işelminin aksine buharın kazana üstten verilmesi ve alttan çıkan buharın yoğunlaştırılması şeklinde uygulanır. Hidrodifüzyonun getirdiği birtakım avantajlar vardır. Bunlar; kazanın yüklenmesi ve boşaltılması işlemlerinin kolaylığı, distilasyon süresinin kısalığı, daha az buhar harcanmasıdır [31].

#### **1.2.1.2.7 Ekstraksiyon Yöntemi**

Çözücüler kullanılarak, bitkisel materyalden etken maddeleri elde etme yöntemidir. Ekstraksiyon yöntemi üç farklı şekilde yapılabilmektedir. Bunlar; Organik Çözücü ile Ekstraksiyon, Sabit Yağ ile Ekstraksiyon, Sıvılaştırılmış Gazlarla Ekstraksiyon (SAE: Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu) yöntemleridir [37,38].

#### **1.2.1.2.8 Mekanik Yöntem (Presleme Yoluyla Uçucu Yağ Elde Edilmesi)**

Distilasyon yöntemi bazı bitkisel droglara uygulandığında droglardaki uçucu yağ bozulmaktadır. Bu gibi durumlarda droglardan mekanik yöntemle yağ elde edilmektedir. Bu yöntem ile genel olarak portakal, limon, bergamut ve mandalina gibi turuncu meyve kabuklarından uçucu yağ elde edilebilir. Mekanik yöntemle uçucu yağ elde etmek için preslerde sıkma veya benzeri cihazlar kullanılır [28,37].

#### **1.2.1.3 Uçucu Yağ Bileşiklerinin Analizi**

Uçucu yağ bileşenlerinin analizinde Gaz kromatografisi / Kütle spektrometresi kullanılmıştır. Gaz kromatografisinde karışımındaki maddeler birbirinden ayrıldıktan sonra iyonlaştırarak kütle spektrometresinde karışımındaki maddelerin kütlelerine bağlı olarak elementler tayin edilir. Ayırma işlemi, yüzeyi geniş katı bir destek üzerindeki hareketsiz faz ile hareketli faz arasında ayrılması istenen bileşiklerin adsorbsiyon hızlarının farklı olmasından yararlanarak yapılır.

Kromatografide ayrılması istenen karışım, üzeri durucu fazla kaplanmış destek katısı ile doldurulmuş bir kolondan geçirilerek ayrılma gerçekleştirilir. Ayrılan bileşikler kolonun diğer ucundan farklı zamanlarda çıkar ve uygun bir dedektör ile tespit edilip miktarına bağlı olarak elementler tayin edilir. Ayrılmanın gerçekleştiği kolondan çıkan akışkanın toplamına kolon efluenti, bunun hareketli faza ait kısmına eluent ve ayrılmış bileşene ait kısmına eluat denir [39].

Gaz kromatografisi kütle spektrometresi'nde kolon girişinde bulunan enjeksiyon kısmında, ayrılacak karışım bir enjektör yardımı ile kolonun ön kısmına verilir ve 500 °C' ye kadar ısıtılır. Karışım burada hemen buharlaşır ve taşıyıcı gaz tüpünden alınan taşıyıcı gaz yardımıyla kolona girer. Kolonda her bileşik durucu fazdan taşıyıcı faza ve taşıyıcı fazdan durucu faza farklı hızlarla göç ederek devamlı taşınırlar ve böylece birbirinden ayrılarak farklı zamanlarda kolondan çıkarlar. Kolondan gaz elektron bombardımanı ve kimyasal iyonlaşma ile iyonlaştırılır ve radyo frekans manyetik alanın da depolanır. İyonlar daha sonra kütle/yük oranının taranmasının yapılabilmesi için elektron çoğaltıcı dedektöre sevk edilir. Spektrometrik detektörler genellikle anında sinyal görüntüleri ve bilgisayarda yeniden biçimlendirilmiş sinyal görüntüleri olmak üzere iki tip sinyal görüntüsü verebilirler. Bu sinyal görüntüleri bilgisayar ekranında pik şeklinde gözlenebilir ve cihazdaki bilgi bankası aracılığı ile maddeler tanımlanabilir [39,40].

### **1.2.2 Fenolik Bileşikler**

Benzen halkası içeren organik maddeler genel olarak fenolik bileşikler olarak adlandırılmakta olup bunlar bitkiler de bulunan ikincil metabolitlerdir. Kimyasal açıdan iki gruptan oluşurlar; flavonoidler (antosiyeninler, flavon-3-ol monomerleri ve polimerleri, flavonoller ve proantosiyanidinler) ve flavonoid olmayanlar (hidroksisinnamik, hidroksibenzoik asit ve türevleri, fenolik alkoller) [41].

“Fenolik” veya “Polifenol” terimi kimyasal olarak kısaca, sahip olduğu aromatik halkada çeşitli fonksiyonel grupların yanında bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan madde olarak tanımlanır [41].

### 1.2.2.1 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması ve Önemi

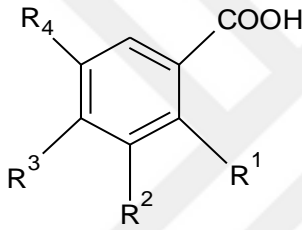
Bitkilerdeki fenolik bileşiklere ait ilk modern sınıflandırma, basit fenoller, fenolik asitleri, fenil asetik asitleri, sinnamik asitleri, kumarinleri, izokumarinleri, lignanları, flavonoidi, ligninleri, taninleri, benzofenonları, ksantonları, stilbenleri, kinonları ve betasiyaninleri içermektedir (Tablo 1.1) [42].

**Tablo 1.1:** Bitkilerdeki fenolik bileşiklerin sınıfları.

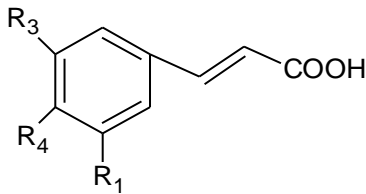
Sınıf	Karbon Atomu Sayısı	Temel İskelet	Örnek
<b>Basit Fenoller</b>	6	C6	Kateşol, hidrokinon,
<b>Benzokininler</b>			2,6-dimetoksi benzokinin
<b>Fenolik asit</b>	7	C6-C1	p-hidroksi benzoik asit, Salisilik asit
<b>Asetofenonlar</b>	8	C6-C2	3-asetil-6-metoksi
<b>Fenilasetik asitler</b>			benzaldehit, p-hidroksifenilasetik asit
<b>Hidroksisinnamik asitler</b>	9	C6-C3	Kafeik asit, ferulik asit,
<b>Fenil propenler</b>			miristisin, eugenol,
<b>Kumarinler</b>			umbellifenon, aesculetin,
<b>İzokumarinler</b>			bergenin, eugenin.
<b>Kromonlar</b>	10	C6-C4	Juglon, plumbagin
<b>Naftakinonlar</b>			
<b>Ksantonlar</b>	13	C6-C1-C3	Mangiferin
<b>Stilbenler</b>	14	C6-C2-C6	Lunularik asit, Emodin
<b>Antrakininler</b>			
<b>Flavonoidler</b>	15	C6-C3-C6	Kesretin, siyanidin,
<b>İzoflavonoidler</b>			genistein
<b>Lignanlar</b>	18	(C6-C3)2	Pinoresinol, eusiderin
<b>Neolignanlar</b>			
<b>Biflavonoidler</b>	30	(C6-C3-C6)2	Amentoflavon

### 1.2.2.1.1 Fenolik Asitler

Fenolik asitler, kimyasal yönden hidroksisinnamik (sinamik) ve hidroksibenzoik (benzoik) asitler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Tablo 1.1). Hidroksibenzoik asitler C6-C1 (fenilmetan), hidroksisinnamik asitler ise C6-C3 (fenilpropan) yapısındadır. Benzoik asit türevlerine örnek olarak, protokateşuik asit, p-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, salisilik asit ve gentsik asit verilebilir. Kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit ise sinamik asit türevlerindedir [41,43,44].



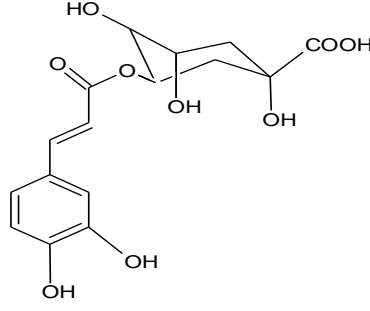
<b>Benzoik Asit</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>
P-hidroksibenzoik asit	H	H	OH	H
Protokateşuik asit	H	OH	OH	H
Vanilik asit	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Gallik asit	H	OH	OH	OH
Şirincik asit	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>
Salisilik asit	OH	H	H	H
Gentsik asit	OH	H	H	OH



<b>Hidroksisinnamik Asit</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
p-kumarik asit	H	OH	H
Kafeik asit	OH	OH	H
Ferulik asit	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Sinapik asit	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>

**Sekil 1.7:** Fenolik asitlerin kimyasal yapıları.

Hidroksisinnamik asitler serbest halde bulunabileceği gibi, klorojenik asitte olduğu gibi kuinik asitler, 1-o-sinamoil glukozdaki gibi şekerle esterleşmiş halde bulunabilirler. En sık bulunan esterler, sinamoil amidlerin yanı sıra, metil ve etil sinamatler, şeker ve organik (kuinik asit vb.) asitlerin sinamoil esterleridir [45].

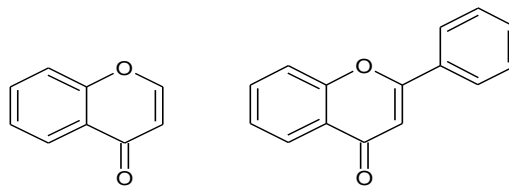


**Klorojenik asit**

### 1.2.2.1.2 Flavonoidler

Flavonoidler (flavon türevleri) yapısında 15 karbon atomu bulunan, C6-C3-C6 (difenilpropan) formunda iki fenil halkasının propan zinciri ile bağlanmasından oluşan fenolik bileşiklerdir. 5 alt gruba ayrılırlar: antosiyanidinler, flavonlar, flavonoller, katesin ve lökoantosiyanidinler ile protoantosiyanidinler. Flavonoidlerin yapısındaki OH grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla glikozitlenir [41,43,44].

Flavonoidlerin, 6400'den fazla farklı yapısı aydınlatılmıştır [46]. Gerçekleştirilen araştırmalar sonucu flavonoidlerin çeşitli biyokimyasal ve farmakolojik aktivitelere sahip oldukları belirlenmiştir. Bunlara örnek olarak antioksidant [47], antikanser, antiülserojenik, östrojenik, antifungal, antiviral [48], antibakteriyal [49] verilebilir. Fenolik bileşiklerin bitkilerde çeşitli görevleri vardır. Örneğin; baklagillerin köklerinden salgılanan flavonoidler, topraktaki bakterileri uyarak köke yerleşmelerinde rol oynar. Flavonoidler bitkilerde antioksidan, enzim inhibitörü ve aynı zamanda ışıktan koruma gibi bazı önemli özelliklere sahip oldukları gibi, bitkilerde enerjinin dönüşümüne ve büyüme hormonlarına da etki etmektedirler. Flavonoidler ayrıca solunum ve fotosentez reaksiyonlarında elektron taşıma sisteminde görev alırlar ve bulaşıcı hastalıklara karşı savunma fonksiyonlarına sahiptirler [50]. *Sideritis* türleri fenolik maddelerce çok zengin türlerdir [51].



**Şekil 1.8:** Flavonoidlerin genel yapısı.

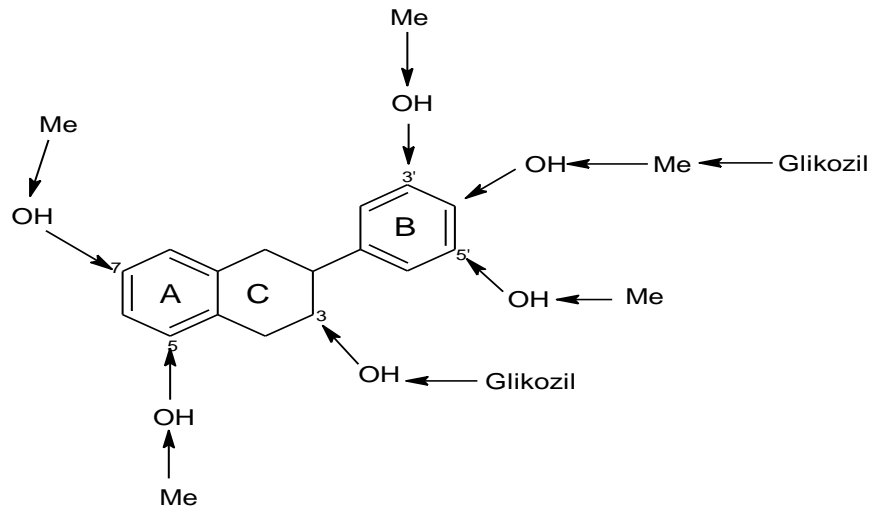


Flavonoidler doğal olarak bulunan fenollerin en büyük gruplarından birini oluşturlar. Bakteri ve yosunların büyük bir kısmı hariç en yüksek yapılı bitkilerden basit yapılı mantarlara kadar hemen her bitki türünde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Ayrıca flavonoidler sahip oldukları biyolojik etkinliklerinden dolayı bitkilerin sekonder metabolitleri arasında en önemli bileşik sınıflarından birisini oluşturlar.

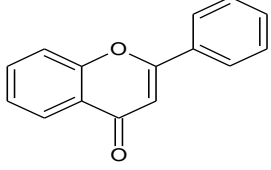
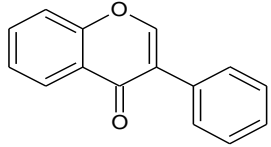
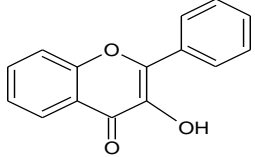
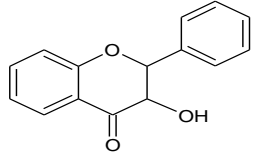
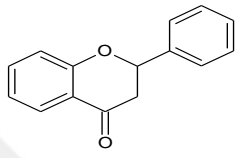
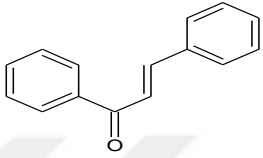
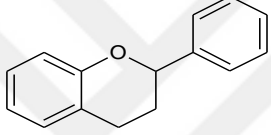
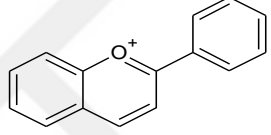
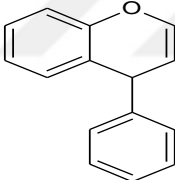
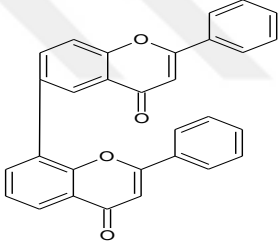
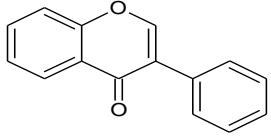
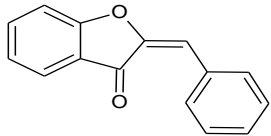
Limon kabuğundan 1936 yılında elde edilen flavon bileşiklerinin, P-vitamini adı altında, kılcal damar geçirgenliği ve kırılgenliğini düşürmede kullanılmaya başlanması ile Flavonoidlere karşı ilgi artmaya başlamıştır [52]. 1970' li yıllarda flavonoidlerle yapılan çalışmaların boyutu daha da genişlemiş ve bu araştırmaların sonucu olarak bugün bitkilerden 4000'den fazla flavonoid elde edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır [52].

#### 1.2.2.1.2.1 Flavonoidlerin Yapı Özellikleri ve Sınıflandırılması

Flavonoidlerin karbon iskeleti 15 karbon atomu içerir ve iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşur. Yapılar C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> konfigürasyonunda düzenlenmiştir. Flavonoidler, üç karbonlu propan zincirinin üçüncü bir halka oluşturması, farklı şekiller alması veya fenil gruplarının farklı pozisyonlarda bağlanması sonucu farklı sınıflardan oluşurlar [52].



Şekil 1.9: Flavonoid süstitüentlerin en yaygın yerleşme pozisyonları.

 <p><b>Flavonlar</b></p>	 <p><b>İzoflavonlar</b></p>
 <p><b>Flavonoller</b></p>	 <p><b>Dihidroflavonoller</b></p>
 <p><b>Flavononlar</b></p>	 <p><b>Kalkonlar</b></p>
 <p><b>Flavanlar</b></p>	 <p><b>Antosyanidler</b></p>
 <p><b>Neoflavonoitler</b></p>	 <p><b>Biflavanoitler</b></p>
 <p><b>İzofalvonlar</b></p>	 <p><b>Oronlar</b></p>

**Şekil 1.10:** Bazı flavonoid bileşiklerinin iskelet yapıları.

### 1.2.2.2 Fenolik Maddelerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Fenolik maddelerin en önemli biyolojik özelliği, antioksidatif etkiye sahip olmalarıdır. Oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunun, kalp damar hastalıkları, kanser ve kronik iltihaplanma gibi hastalıkların en önemli etkenleridir. Flavonoidler lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin ve lipid peroksi radikallerinin

oluşumunu engellemektedir. Flavonoidlerin metal iyonlarını bağlayarak lipidlerin oksidasyonunu önleyebildiği ve radikallerin oluşumunda görev yapan enzim sistemlerini inhibe edebildiği belirlenmiştir [53]. Fenolik maddelerin sağlıkla ilişkisinde toplam fenolik miktarı veya flavonol, flavon gibi alt grupların miktarından çok bu maddelerin türevleri ve her birinin miktarının önemli olduğu belirtilmiştir [54].

Biyolojik etkili flavonoidler vitamin P maddeleri olarak da bilinmektedir. Siyah çay, soğan ve elmadaki flavonoidlerin yüksek miktarlarda alınmasının yaşlılarda kalp hastalıklarına bağlı ölümleri azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir. Flavonoidlerin kılcal damarlarda kanama ve çatlamaı engelleyici etkileri olduğu ve diğer maddelerin oksidasyonunu yavaşlatıcı etki gösterdikleri bildirilmektedir [55].

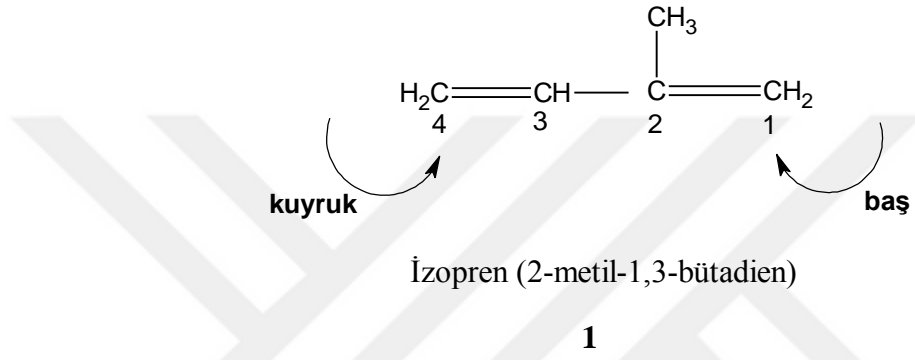
Meyve ve sebze tüketiminin kanser, kalp hastalıkları ve beyin damarlarına bağlı hastalıklarda ölüm oranı, tümör oluşumunu azalttığı ve kan basıncını düşürdüğü belirtilmiştir. Meyve ve sebzelerin bu etkiyi yapılarında bulunan antioksidanlarla sağladıkları, bu antioksidan etkinin ise fenolik maddelerden kaynaklandığı kaydedilmiştir [56].

### 1.2.3 Terpenler

Genel yapıları  $C_{10}H_{16}$  şeklindedir. İsimleri içerdikleri karbon sayılarına göre değişir;  $C_{20}$  diterpen,  $C_{30}$  triterpen,  $C_{40}$  tetraterpen,  $C_5$  hemiterpen,  $C_{15}$  sesquiterpen gibi. Oksijen gibi başka elementler içeren terpenlere terpenoidler denir [9]. Terpenler reçinenin ana bileşenleridir ve gerçekte 'terpen' ismi reçineden elde edilen bir bileşik olan 'turpentin' isminden türemiştir. Terpenler aromatik özelliklerinden dolayı geniş bir kullanım alanına sahiptir. Geleneksel ilaç tedavilerinde rol oynarlar. Bugün gerek açık zincirli gerekse halkalı yapıda olan çeşitli fonksiyonel gruplara sahip 20.000 den fazla terpen yapısı bilinmektedir [10,57-62].

Terpenler bitki dokularında genellikle serbest olarak, organik asit esterleri ya da glikozitleri halinde, bazen de proteinlerle birleşmiş olarak bulunurlar. 15 karbona kadar olan terpenler bitkilerden su buharı distilasyonu ile daha fazla karbonlu olanlar ekstraksiyon yöntemleri ile izole edilirler [57].

Terpenler izoprenin (2-metil-1,3-bütadien) oligomer veya polimerleridir. İzopren molekülünde bulunan çift bağlar eşleniktir. Yani iki çift bağ arasında yalnız bir tek bağ bulunmaktadır. böyle eşlenik çift bağ taşıyan maddeler büyük tepkime yeteneğine sahiptirler ve başka maddelerle birleşebilirler. İzoprenin kendisi doğal olarak bulunmadığı halde doğada izopren moleküllerinin polimerizasyonu sonucu oluşan bileşikler yaygındır. Doğal bileşiklerin çoğunda izopren moleküllerinden birinin baş kısmı ile diğerinin kuyruk kısmı birleşmiştir. Bununla birlikte iki baş ya da kuyruğun birleştiği maddelerde vardır [58].



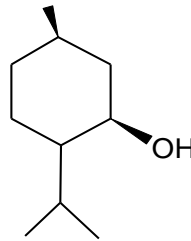
Bu kurala göre izopren ünitelerindeki 1 nolu karbon (dallanmış taraftaki) baş olarak adlandırılırken, 4 nolu karbon (dallanmanın olmadığı taraftaki) kuyruk olarak adlandırılır [58].

İzopren Kuralına göre bütün terpenik bileşiklerin karbon iskeletleri izopren birimlerinin iki ya da daha fazlasının birleşmesiyle oluşmuştur. Terpenler izopren ünitesinin büyüklüğüne göre sınıflandırılırlar [63].

**Tablo 1.2:** Terpenlerin sınıflandırılması.

İzopren sayısı	Karbon Sayısı	Terpen Sınıfı
1	5	<b>Hemiterpenler</b>
2	10	<b>Monoterpenler</b>
3	15	<b>Seskiterpenler</b>
4	20	<b>Diterpenler</b>
5	25	<b>Sesterpenler</b>
6	30	<b>Triterpenler</b>
8	40	<b>Tetraterpenler</b> <b>(karotenoidler)</b>
N	(5)n	<b>Politerpenler</b>

Küçük molekülü, su buharı destilasyonu ile sürüklenabilen monoterpenler ve bazı seskiterpenler uçucu terpenler olarak adlandırılır. Uçucu yağlarda monoterpen yapısında olan maddelerle, bazı seskiterpenik maddelere rastlanmaktadır. Bunlar uçucu yağların öz suyunda ve bazı bitkilerin dokularında bulunmaktadır [63]. Bu terpenlere örnek olarak mentol (2) verilebilir.



Mentol

2

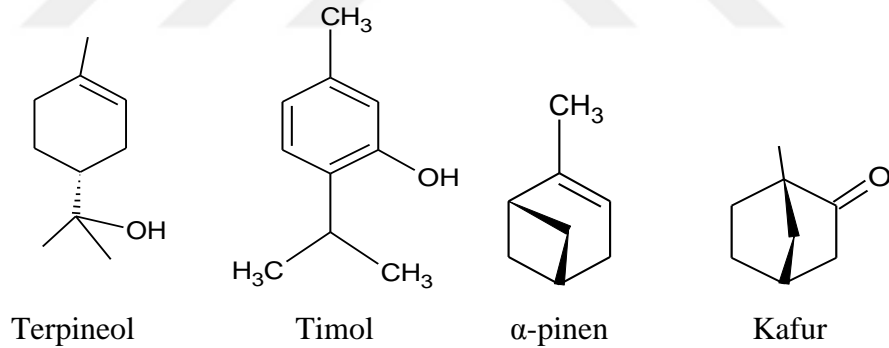
Seskiterpenlerin bir kısmı ile diterpen, sesterpen, triterpen ve politerpenler ise uçucu olmayan bileşiklerdir. Uçucu yağların içinde erimiş olarak bulunurlar, ancak su buharı ile sürüklenemediklerinden, elde etme sırasında uçucu yağa geçemezler. Di ve triterpenler bitki ve ağaç sakız ve reçinelerinden elde edilir. Tetraterpenler -

karotenler- düzenlenmiş bir gruptur ve bu grup bir ayırıcı grup olarak davranabilir. En çok bilinen politerpen kauçuktur [63].

Monoterpenler ve seskiterpenler bitkilerde bulunurken, daha yüksek karbonlu terpenler hem bitkilerde hem de hayvanlarda bulunurlar ve her iki canlı türlerinde de çok büyük biyolojik öneme sahiptirler [62].

### 1.2.3.1 Monoterpenler

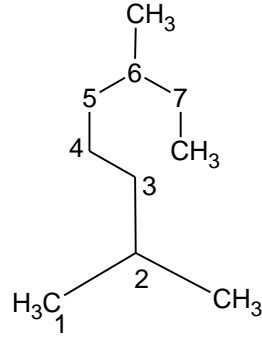
Monoterpenler  $C_{10}H_{16}$  molekül formülüne sahiptirler. iki izopren ünitesinden oluşurlar. Çoğu yüksek bitkilerden izole edilen, 100'den fazla bilinen monoterpen vardır. Monoterpenler bazı böceklerin koruma ve feromonal salgılarında da bulunmuştur, deniz organizmalarından izole edilmiş halojenli monoterpenler de vardır. Monoterpenler bitkilerde bulunan tat ve kokudan sorumlu olan yaygın bileşendir. Monoterpenlerin öne çıkan karakteristiği keskin kokuları ve uçuculuğudur [64].



Şekil 1.11: Bazı monoterpen yapıları.

#### 1.2.3.1.1 Asiklik Monoterpenler

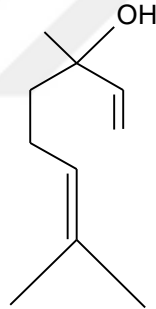
Asiklik monoterpenler üç çifte bağ ve 2,6-dimetiloktan (3) iskeletini taşır. Oksijenli türevleri primer alkol, tersiyer alkol, ester ve aldehit grupları taşıyabilir, monoetilenik ya da dietilenik olabilir [65].



2,6-dimetikoktan

3

Asiklik monoterpenlere örnek olarak, *Lavandula officinalis* 'in (Labiatae) taze çiçekli dal uçlarından su buharı distilasyonu ile elde edilen lavanta esansında (oleum lavanduale) bulunan linalool (4) (%30-40) verilebilir. Ayrıca linalool bileşiği birçok çiçek ve baharatta bulunur. Parfümeri ve kozmetikte hoş koku vermek amacıyla sabun, deterjan, şampuan ve losyon gibi ürünlerde kullanılır [62].

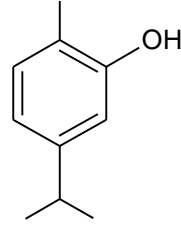


Linalool

4

#### 1.2.3.1.2 Monosiklik Monoterpenler

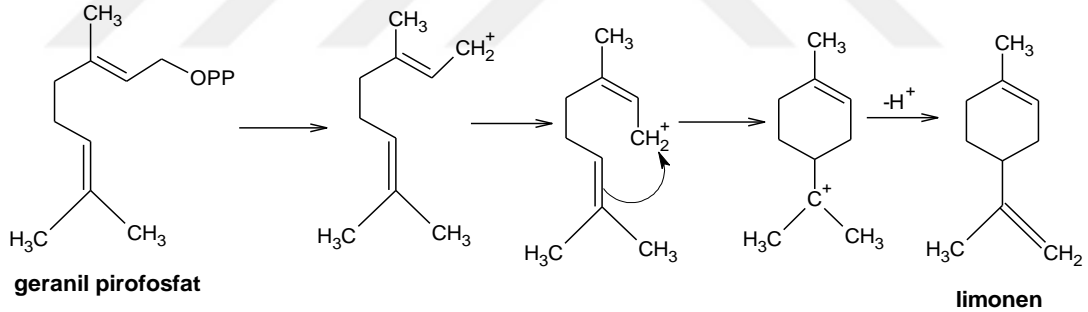
Altı halkalı bir üye içerir ve bu hususta Ingold (1921) bir gem-dialkil grubunun sikloheksan halkasının kararsız kılmasına yol açtığına işaret etmiştir. Bu nedenle açık zinciri bir sikloheksanhalkası olarak kapamak “gem-dialkil kuralı”nın kullanımını birkaç olası yapıyla sınırlar. Örneğin karvakrol (5), limonen, mentol ve timol önemli monosiklik monoterpenlerdir [63].



Karvakrol

5

Başka bir örnek de geranil pirofosfatın limonene yapısına cyclization reaksiyonudur. Limonene, monosiklik monoterpen sınıfına ait bir hidrokarbondur. Renksiz, çok keskin portakal kokusuna sahip, oda sıcaklığında sıvı olan ve diğer narenciye meyvelere kokusunu verir bir bileşiktir. Endüstriyel olarak; kozmetikte, gıdalara limon ve portakal tadı vermede, temizlik ürünlerinde özellikle el temizliğinde yine limon ve portakal kokusu vermede kullanılır [62]. Şekil 1.12' de limonen oluşumu verilmiştir.

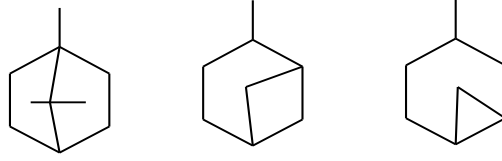


Şekil 1.12: Limonen oluşumu.

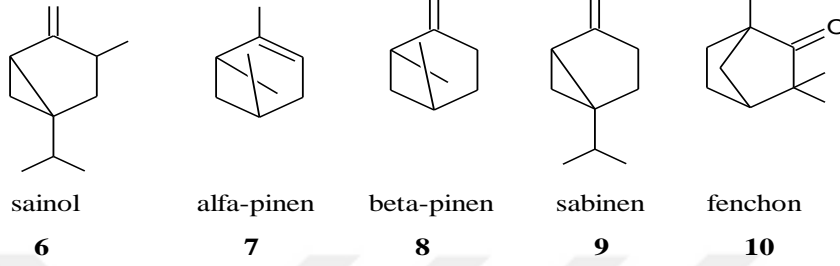
### 1.2.3.1.3 Bisiklik Monoterpenler

Bisiklik monoterpenler bir altılı halka ve bir üçlü, dörtlü veya beşli halka içerir. Ayrıca siklopropan ve siklobütan halkasının doğada oluşumunu yeterli derecede kararlı kılmak için bir gem-dimetil grubuyla başlaması gerekmektedir. Üç olası bisiklik yapısı vardır (Şekil 1.13). Örnek olarak; sainol (6),  $\alpha$ -pinen (7),  $\beta$ -pinen (8), sabinen (9), fenchon (10) bileşiklerini verebiliriz [66].





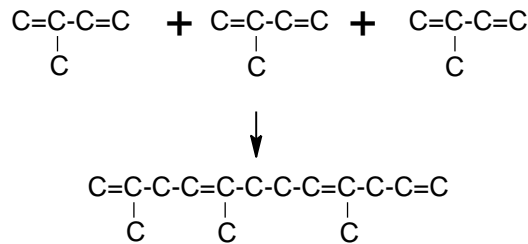
**Şekil 1.13:** Üç olası bisiklik yapısı.



### 1.2.3.2 Seskiterpenler

Seskiterpenler terpenlerin en geniş sınıfıdır ve doğada geniş bir dağılıma sahiptir. Doğadan izole edilen seskiterpenlerin içinde ardıç katranından izole edilen  $\beta$ -kadinen ve karanfil yağından izole edilen  $\beta$ -karyofilen bulunur. Seskiterpen laktanları diğer seskiterpenlerden bir  $\alpha$ -metilen  $\gamma$ -lacton sisteminin varlığı ile farklılık gösterir. Seskiterpenlerin çoğu epoksitlerde olduğu gibi  $\alpha$ - $\beta$ -doymamış karbonil grubu içerir [63].

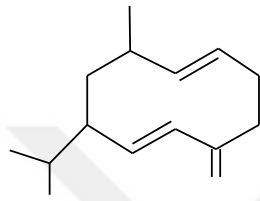
Seskiterpenler asiklik, monosiklik, bisiklik, trisiklik olmak üzere yapıda bulunan halka numarasına göre dörde ayrılır. İzopren kuralına göre, izopren üniteleri birbirine (baştan kuyruğa) bağlandığında bir asiklik seskiterpen hidrokarbon formu oluşur, sonuncu dört tane çift bağ içerecektir. Her izopren ünitesi iki çift bağ içerir, fakat bir tanesi her parça bağlandığında kaybolur [63].



**Şekil 1.14:** Seskiterpen oluşumu.

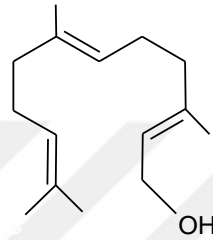
**Tablo 1.3:** Seskiterpenlerin sınıflandırılması.

Çift Bağ Sayısı	Seskiterpen sınıfı	Moleküler Refraksiyon
4	Asiklik	69,5
3	Monosiklik	67,8
2	Bisiklik	66,1
1	Trisiklik	64



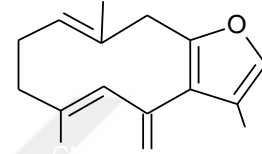
Germacrene D

11



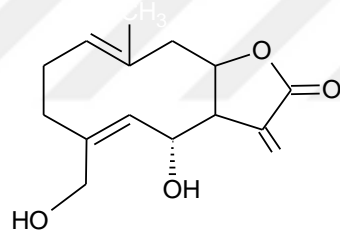
Farnesol

12



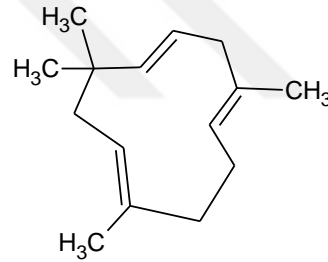
Furanodienone

13



Artemisifolin

14



Humulene

15

**Şekil 1.15:** Bazı seskiterpen yapıları.

### 1.2.3.2.1 Asiklik Seskiterpenler

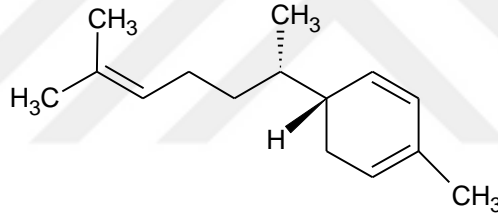
Asiklik seskiterpenlere örnek olarak farnesol (12) verilebilir. Farnesol ambrette tohumlarının yağında bulunan renksiz, leylak kokusunda ve suda çözünmeyen fakat yağda çözünebilir doğal bir organik bileşiktir. Ayrıca misk, gül, zambak, sıklamen, portakal çiçeği, kına çiçeği gibi esansiyel yağlarda da bulunur. Kozmetik ve parfümeride hoş koku vermek amacıyla kullanılır. Aynı zamanda

fernesol bazı böceklerde hormon görevi de görür ve kurtçuk şeklinden güve şekline dönüşümü başlatır [62,67].

### 1.2.3.2.2 Monosiklik Seskiterpenler

Dört farklı tip monosiklik seskiterpen yapısı bilinmektedir, bunlar: elemene, bisabalon, humulen ve germacren. Örneğin humulen (**15**) doğal olarak bulunan bir monosiklik seskiterpendir. Humulen, ismini aldığı şerbetçi otu bitkisinin (*Humulus lupulus*) esansiyel yağında bulunur. Ayrıca *Lindera strychnifolia* bitkisinin esansiyel yağında da bulunur.

Başka bir örnek de zencefil (*Zingiber officinale*) bitkisinin yağının ana bileşeni olan zingiberene (**16**), ilaç endüstrisinde kullanılır. Bitki kökü birçok antioksidan içerir [62].



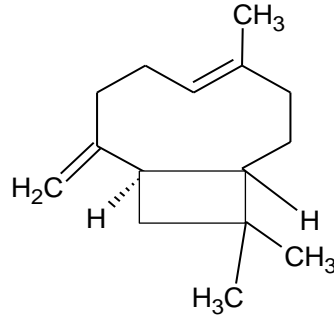
Zingiberene

16

### 1.2.3.2.3 Bisiklik Seskiterpenler

Bisiklik seskiterpenler, kadinen, eudesman ve perhidroazulen grubu olmak üzere üç grupta incelenir [62].

Örneğin doğal bir bisiklik seskiterpen olan karyofilen (**17**) bazı esansiyel yağların bileşenidir, özellikle karanfil yağı, bazı bitkilerin gövde ve saplarında bulunan yağlar ve *Syzygium aromaticum* (karanfil ağacı) bitkisinin çiçeğinden elde edilen yağlarda bulunur [61,62].



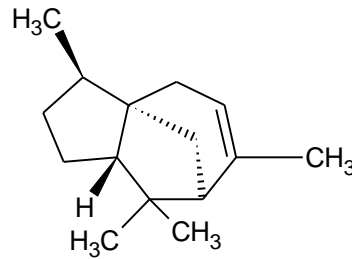
Karyofilen

17

#### 1.2.3.2.4 Trisiklik Seskiterpenler

Kedren ve Longifolen olmak üzere iki gruptur [70].

Kedren (**18**) sedir ağacından (*Cedrus*) elde edilen zengin bir aromatik yağdır. Ayrıca kedren bakımından zengin türler arasında karanfil (*Syzygium aromaticum*), kuyruklu biber (*Piper cubeba*), ardıç (*Juniperus*) ve sandal ağacı (*Santalum*) bulunur [62].

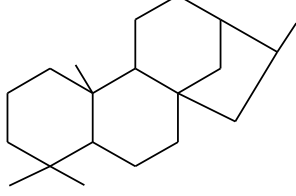
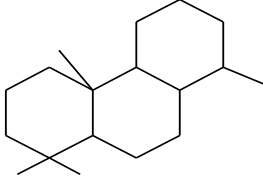
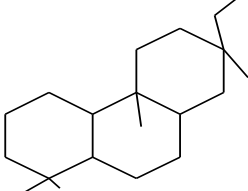
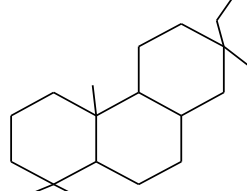
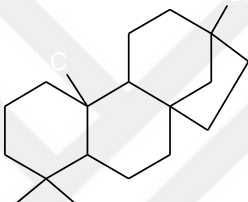
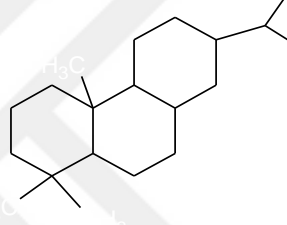
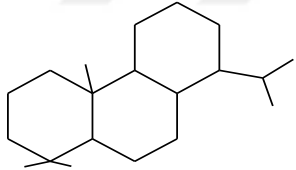
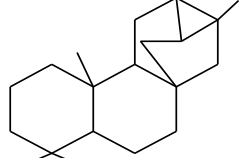


Kedren

18

#### 1.2.3.3 Diterpenler

Diterpenler, dört izopren molekülünden meydana gelen, çeşitli farmakolojik etkilere sahip olan, 20 C' lu bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Diterpenler taşıdıkları ana iskelete göre sınıflandırılırlar, doğada çok bulunan diterpen iskeletleri Şekil 1.16' de gösterilmiştir [69].

	
<b>Kauren</b>	<b>Labdan</b>
	
<b>Rozan</b>	<b>Pimaran</b>
	
<b>Stakan</b>	<b>Abietan</b>
	
<b>Totalal grup</b>	<b>Trakiloban</b>

**Şekil 1.16:** Bazı diterpen iskeletleri.

Doğal ürünler içerisinde, diterpenler, en geniş biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerdir. Diterpenler hormonlarını geliştiren bitkilerde bulunmaktadır. Örneğin, Gibralin; bitki büyüme hormonu, Podolakton; bitki büyüme inhibitörü, klerodan; acı madde özelliği, anti-feedantlar böcekleri; anti-tümör kanser etkisi ve bazı antibiyotiklere benzer özellikleri, bunun yanı sıra yüksek tansiyonu düşürücü etkisi olduğu gibi sclareol ve türevlerinin parfümeri endüstrisinde kullanıldığında görülmektedir [70].

Diterpenler arasında bulunan yapı çeşitliliği ve farklılığı fitokimyanın gelişmesini de kolaylaştırmaktadır. Değişik ekstraksiyon sistemi ve ayırma yöntemleriyle kompleks diterpen karışımları izole edilebilir. Ayrıca siklik diterpenlerde biyolojik aktivite daha fazla gözlenir [70].

*Sideritis* türlerinde genellikle kauren diterpenler yaygın olarak bulunmaktadır. Kauren diterpenlerin yanında labdan, pimaran ve beyeren diterpenler de nadir de olsa bulunmaktadır. Ülkemizde mevcut olan bir diğer Labiatae familyası üyesi *Salvia* türlerinde abietanlar [71], *Teucrium* ve *Inula* türlerinde ise kloredan ve neokloredanlar yaygın olarak bulunmaktadır [72].

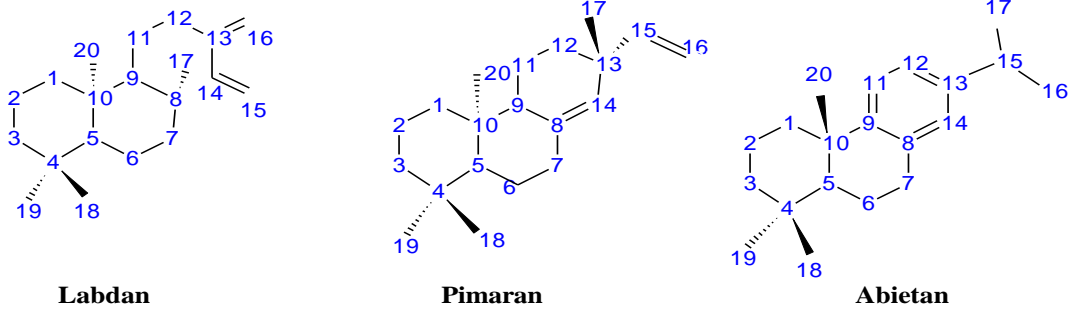
Çeşitli biyolojik aktiviteye sahip diterpenlerin oksijenli türevleri kimyasal yapılarına göre şu şekilde gruplandırılabilir:

- a) Asiklik diterpenler
- b) Monosiklik diterpenler
- c) Bisiklik diterpenler
- d) Trisiklik diterpenler
- e) Tetrasiklik diterpenler
- f) Pentasiklik diterpenler
- g) Lakton ya da furan halkası içeren diterpenler [63].

#### 1.2.3.3.1 Diterpenlerin Adlandırılması

Diterpenlerin numaralandırılması Şekil 1.17' da görüldüğü gibi çeşitli şekillerde olabilir, genellikle numaralandırma A halkasından başlamaktadır. Ayrıca diterpenlerin çoğunluğu ent-stereokimyasına göre adlandırılmaktadır. Buradaki en önemli özellik (yani bileşiğin okunuşunun başına *ent* gelmişse) gerçekte  $\alpha$  pozisyonunda olan süstitüent  $\beta$  olarak,  $\beta$  pozisyonunda olan da  $\alpha$  olarak okunmaktadır [70].

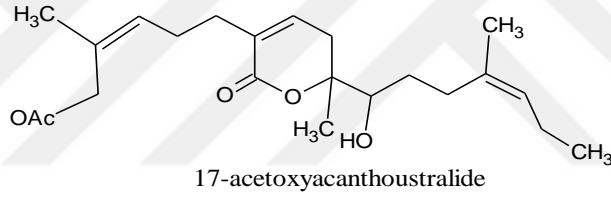
Ayrıca numaralandırma yapılırken 20 no'lu metilin önde ya da arkada olması önemlidir. 20 no'lu karbon arka pozisyonunda ise numaralandırmaya A halkasından başlanır [63].



**Şekil 1.17:** Bazı diterpenlerinin numaralandırılması.

### 1.2.3.3.2 Asiklik Diterpenler

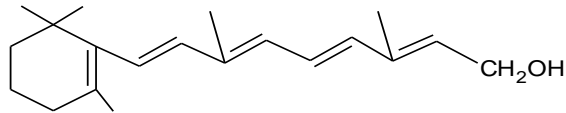
Halkalı olmayan bu diterpen yapıları yirmi karbon ve bağlı süstitüentlere göre yirminin üzerinde karbona sahip olan doymuş ya da doymamış yapılardır. Örnek olarak 17-acetoxycanthoustralide (**19**) verilebilir [63].



**19**

### 1.2.3.3.3 Monosiklik Diterpenler

En çok bilinen monosiklik diterpen A1 vitaminidir (Retinol) (**20**). Retinol omurgalı hayvan organizmasında C40-karotenoidlerin ikiye bölünmesi ile oluşan bir bileşiktir, bitkilerde bulunmaz [57].

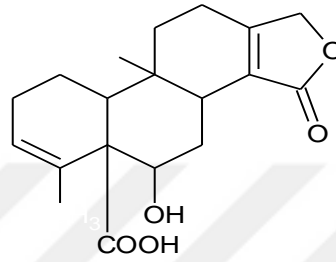


Retinol

**20**

#### 1.2.3.3.4 Bisiklik Diterpenler

Bisiklik diterpenler Kloredanlar ve Labdanlar olmak üzere iki iskelet yapısında incelenir. Klerodan diterpenler genellikle çift çenekli bitkilerden izole edilirken bakteri, mantar, koyunotu gibi tek çenekli bitkilerden de izole edilir. *S. melissodira* Lag. ve *S. languiduline*' den bir klerodan diterpenoit olan melisodorik asit (**21**) izole edilmiştir.



Melisodorik asit

**21**

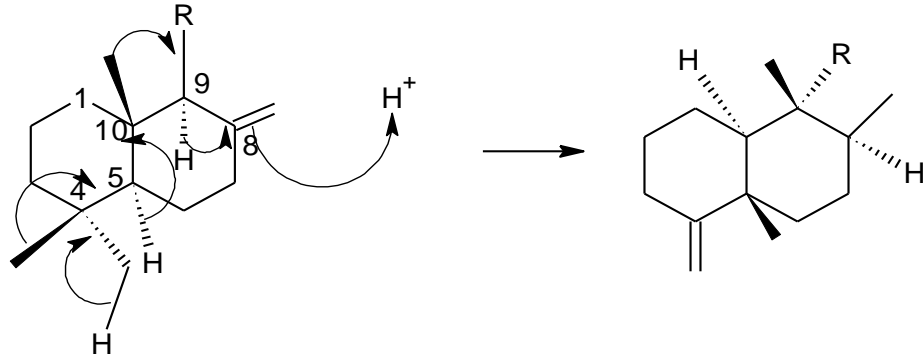
#### 1.2.3.3.4.1 Labdanlar

Triterpenler ve stereoidlerin aksine diterpenlerin karakteristik bir özelliği bu aşamada ortaya çıkar. Bunlar hem normal hem deantipodal A/B halka kaynaşması gösterirler. Bu durum siklaz enzim yüzeyi üzerinde zincir çıkış bileşiğinin farklı sarılma modları üzerinden oluşmaktadır. Her iki serinin örnekleri de oldukça yaygındır [70].

#### 1.2.3.3.4.2 Klerodanlar

Klerodanlar bir seri backbone veya friedo düzenlenmeleri sonucunda elde edilirler. Bu düzenlenmeler C-8 çift bağının protonlanması ve C-9'dan C-8'e hidrür kayması ile başlar, arkasından C-10'dan C-9'a bir metil grubunun kayması olur. C-4'den C-5'e bir metil kayması ve C-5'den C-10'a daha ileri bir hidrür kayması ile düzenlenme tamamlanır. Bu iskelet tipi içinde birçok stereokimyasal varyasyonlar vardır. Yalnızca her iki enantiomerik seri gerçekleşmekle kalmaz, H-8 ve C-9 süstitüenti arasında hem trans hem de cis ilişkisi bulunduran bileşiklere de rastlanır [70].





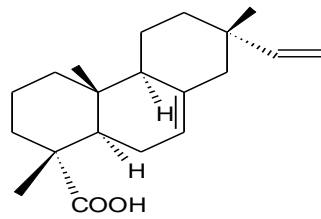
**Şekil 1.18:** Backbone veya Friedo düzenlenmesi ile klerodanların oluşumu.

### 1.2.3.3.5 Trisiklik Diterpenler

Trisiklik diterpenler Pimaranlar (Pimarenes), Abietanlar (Abietans), Kasanlar (Cassanes), Rosanlar (Rosanes) olmak üzere dört iskelet yapısına sahiptir.

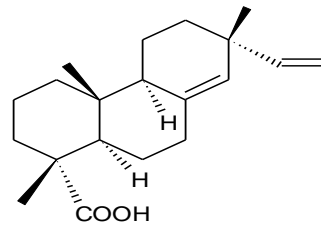
#### 1.2.3.3.5.1 Pimaranlar

Pimaradienler, ayrılan grup pirofosfatın aktivasyonu sonucu oluşmuşlardır. Merkezi çift bağın son pozisyonu değişik şekillerde olabilmektedir. Pimaradien iskeletine sahip olan diterpenler oldukça yaygındırlar ve izopimarik asit (**22**), sandrakopimarik asit (**23**) de bunlara dağildir. Birkaç çeşit çam reçinesinde bulunurlar [70].



İzopimarik asit

**22**

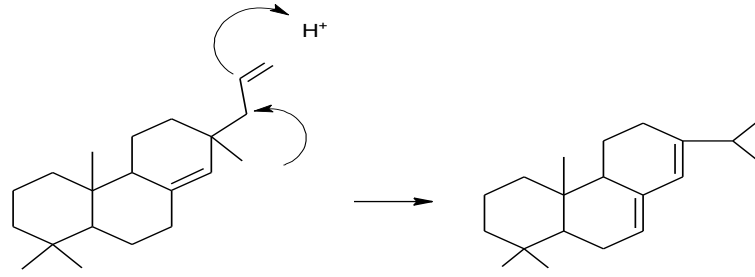


Sandrakopimarik asit

**23**

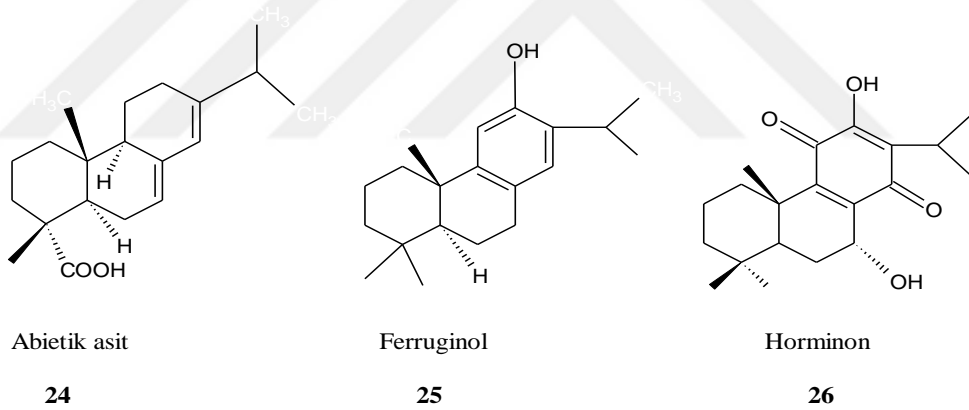
#### 1.2.3.3.5.2 Abietanlar

Trisiklik pimaradienler basit bir metil grubunun göçüyle abiatedienleri oluştururlar (Şekil 1.19) [70].



**Şekil 1.19:** Abietanların oluşumu.

Abietanlara verilebilecek en yaygın örnek abietik asittir (**24**). C halkası fenolik hale geçerek *Salvia* türlerinde çok yaygın olan aromatik abietan olan ferruginol (**25**)' ü oluşturur. Podokarpik asitin ve onunla ilgili olan bileşiklerin kimyası detaylı olarak araştırılmıştır. Bu serinin kolayca okside olan üyeleri de izole edilmiştir. *Coleus* ve *Plecthranthus* türlerinin yaprak bezleri kinon ve kinon metidlerinin bir serisini ferruginol (**25**) hormininon (**26**) oluşturur [70].



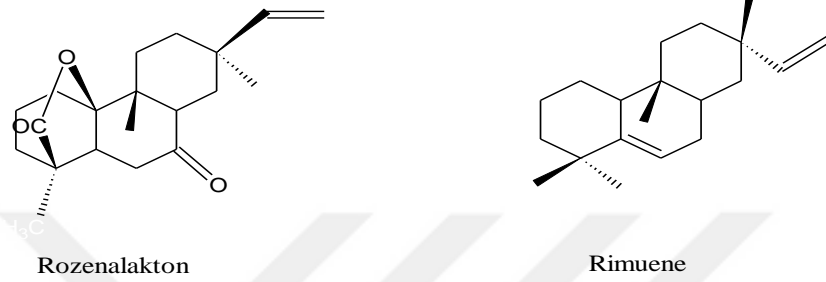
**Şekil 1.20:** Abietan türevleri.

### 1.2.3.3.5.3 Kassanlar

Kassanlarda, abietanlardan farklı olarak yeniden düzenlenmeyle bir metil grubu C-14' e geçer. Bu tip diterpenler *Erithrophleum*'den elde edilmişlerdir. Bu tipin daha kuvvetli okside olabilen diğer örnekleri caessalpinler oluşturur. *Podocarpus totora*'dan izole edilmiş totarol'de olduğu gibi izopropil grubunun C-13' ten değil de C-14' den bağlanmış olduğu diterpenler de izole edilmişlerdir [70].

#### 1.2.3.3.5.4 Rosanlar

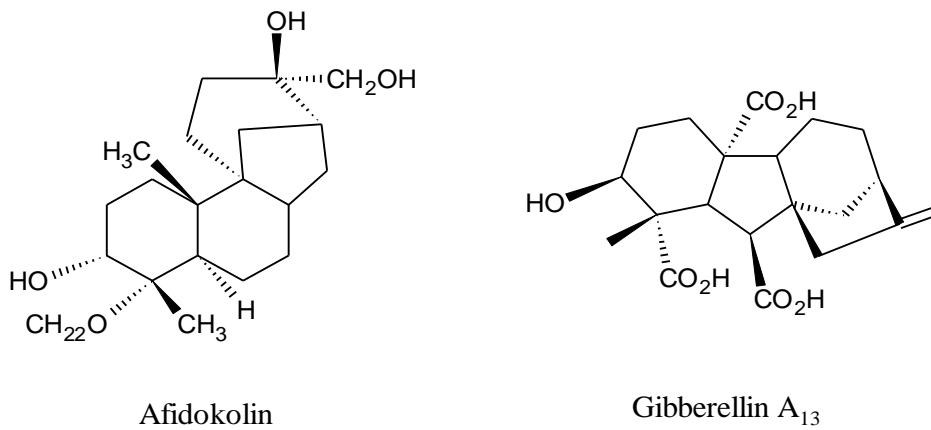
Bir Friedo veya Backbone tipi düzenlenme içeren alternatif bir halkalaşma modu, *Trichothecium roseum*'dan olan rozenalakton gibi rosan diterpenler görülebilir. *Erythoxylon*'dan izole edilen bazı yükseltgenme ürünleri ve yapıları elde edilmiştir [70].



Şekil 1.21: Rosan türevleri.

#### 1.2.3.3.6 Tetrasiklik Diterpenler

Tetrasiklik diterpenlerin ilk olarak uygun yönlendirilmiş pimaradienlerin klasik olmayan bir karbokasyon ara ürününe siklizasyonuyla oluştuğu düşünülmektedir [70].

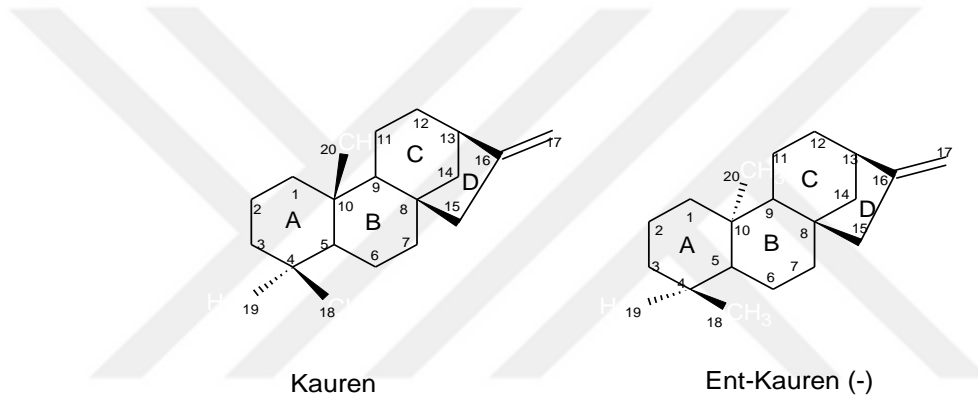


Şekil 1.22: Bazı tetrasiklik diterpenler.

### 1.2.3.3.7 Kaurenler

Geranil-geranil pirofosfat kendi arasında düzenlenmeye uğrayarak diterpenleri oluşturabilir. Bunlardan biride bir diterpen türü olan tetrasiklik yapıdaki kauren iskeletidir.

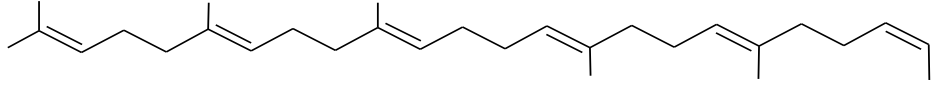
Kaurenler adlandırılırken önce A halkasından başlanır, sonra B halkası, C ve D halkaları ile devam edilir. Metil grupları 18, 19 ve 20 nolu olacak şekilde numaralandırılır. Burada önemli olan 20 nolu metilin önde ( $\beta$ ) veya arkada ( $\alpha$ ) olmasıdır. Eğer 20 nolu metil arkada ise bu bileşik *ent*-Kauren, önde ise kauren olarak adlandırılır (Şekil 1.23) [70].



Şekil 1.23: Kauren ve *ent*-Kauren iskeletleri.

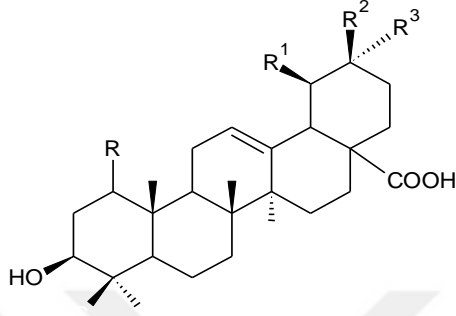
### 1.2.3.4 Triterpenler

Triterpenler  $C_{30}H_{48}$  molekül formülüne sahiptirler ve altı izopren ünitesinin bağlanmasıyla oluşurlar. Düz zincirli bir triterpen olan ve köpekbalığının karaciğerinden elde edilen yağın ana bileşeni olan skualen (**27**), iki çift farnesil pirofosfat molekülünün indirgenmesi ile oluşur. Nikel ile katalitik hidrojenasyon skualeni perhidrosqualene ( $C_{30}H_{62}$ ) dönüştürür, bu yüzden skualenin 6 tane çift bağı vardır ve asiklidir. Molekül yapısına bakıldığında, molekülün merkez bölümünde birbirine kuyruk kuyruğa bağlı iki izopren molekülü bulunmaktadır [63].



Skualen

27



Ursolik asit; R=H, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=Me

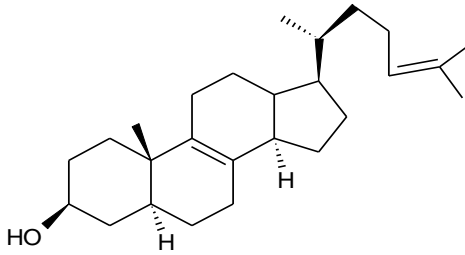
Oleanolik asit; R=R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=Me

Virgatik asit; R=O, R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=Me

Şekil 1.24: Bazı triterpen yapıları.

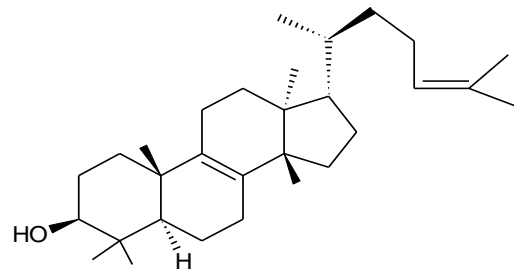
#### 1.2.3.4.1 Tetrasiklik Triterpenler

Steroid karbon iskeleti içeren önemli bir bileşik sınıfıdır. Bu sınıf temelde iki grupta incelenir; lanosterol (**28**) ve euphol (**29**) [63].



Lanosterol

28



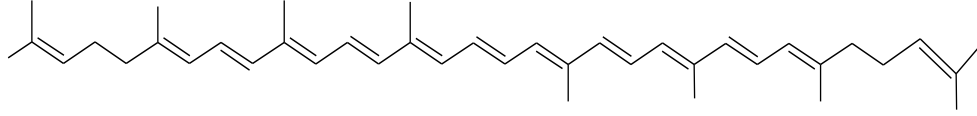
Euphol

29

#### 1.2.3.4.2 Pentasiklik Triterpenler

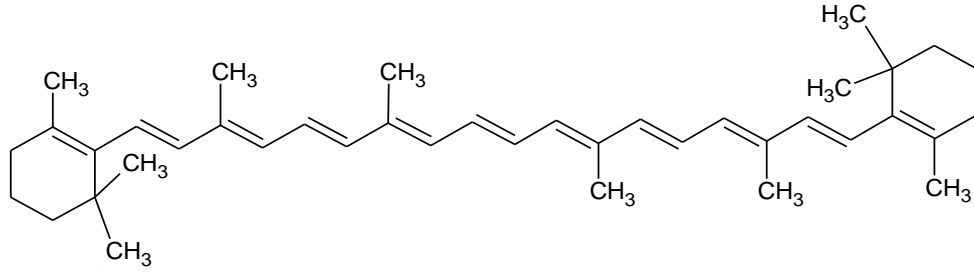
Bunlar da çeşitli alt gruplarda incelenebilir. Ör: Oleanane ( $\beta$ -amyirin) (**30**) grubu, Ursane grubu ( $\alpha$ -amyirin) (**31**), Lupane grubu (lupeol) (**32**) [63].





Likopen

33

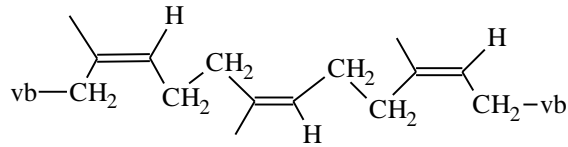


Beta-karoten

34

### 1.2.3.6 Politerpenler

Politerpenler birçok izopren ünitesinin bağlanarak uzun zincir oluşturması ile meydana gelirler. Politerpenlerin en iyi bilinen üyesi kauçuktur. Kauçuk, daha çok tropik bölgelerde yetişen ağaçlardan elde edilen bir politerpendir ve diğer adı latekştir [61].



cis-1,4-poliizopren

35

## 1.3 Biyolojik Aktivite Çalışmaları Hakkında Genel Bilgiler

### 1.3.1 Antioksidanlar

Antioksidan, bir başka molekülün oksidasyonunu önleyebilen veya yavaşlatabilen bir molekül olarak tanımlanabilir. Antioksidanlar vücutta serbest

radikaller ile reaksiyona girerek oto oksidasyonu önleyen savunma sistemleridir. Hayatsal olayların devamlılığı için gerekli olan oksijen aynı zamanda birçok hastalık ve dejeneratif gelişimin nedeni olarak görülmektedir [74].

Reaktif oksijen ara ürünlerden oluşan radikaller, kararsız ve canlı sistemlerde diğer madde ve gruplarla kolay bir şekilde reaksiyona girerler. Oluşan yeni ürünler hücre harabiyeti, yaşlanma, hücre ölümü ve birçok hastalığa neden olabilen zararlı ürünlerdir. Biyolojik membran lipitleri, kolayca oksitlenebilen çoklu doymamış yağ asitleri içerirler. Özellikle bu yağ asitleri reaktif oksijen ara ürünlerinden etkilenerek hücre yıkımına ve hücre ölümüne yol açar [75].

Serbest radikaller yaşlanmayı kolaylaştırdığı gibi alzeimier, parkinson, kanser, romatizma hastalıkları, kalp rahatsızlığı ve damar sertliği gibi hastalıklara öncülük eder. Reaktif oksijen ara ürünleri, lipit peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve dejenerasyonu, DNA hasarı gibi ciddi zararlara neden olur. Canlı vücutlar, katabolizma sonucu oluşan ürünleri zararsız hale getirerek çeşitli sistemlerle dışarı atarlar. Vücuttaki zararsızlaştırma sistemlerinden birisi antioksidan sistemi olarak tarif edilen antioksidan madde ve antioksidan enzim sistemidir (glutatyon reduktaz, superoksit dizmutaz vb.). Bu sistem katabolizma sonucu meydana gelen reaktif oksijen ara ürünleri ile reaksiyona girerek zararlı etkilerini ortadan kaldırır. Örnek olarak, flavanoidlerin singlet oksijen ve hidroksil radikallerini zararsız hale getirmesi verilebilir [75].

Antioksidanlar başlıca dört şekilde oksidanları inaktive eder;

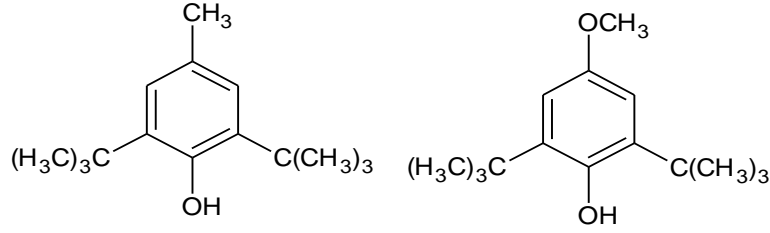
**1. Söndürme (Quenching):** Antioksidanların oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktive etmesidir. Flavanoidler, vitaminler, timetazidin ve mannitol bu sekide etki eder.

**2. Süpürme (Scavenging):** Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirme şeklidir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller örnek olarak verilebilir.

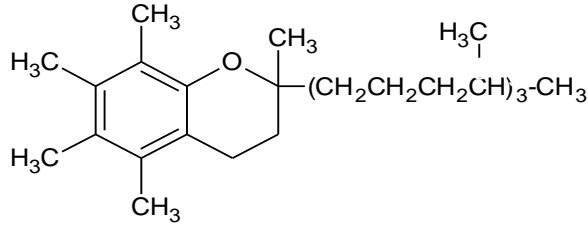
**3. Zincir reaksiyonlarını kırarak (Chain Breaking):** Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır mineraller oksidanları kendilerine bağlar ve etkisiz hale getirir.

**4. Onarma (Repair):** Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar.





Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT)    Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA)



$\alpha$ -Tokoferol (Vitamin E)

**Şekil 1.25:** Antioksidan aktivite testlerinde kullanılan standartlar.

En önemli antioksidanlar fenol grubu içerenler ve bunların dihidroksi türevleridir. Bu yapıların temel örneği hidrokinon olup tersinir olarak kinona yükseltgenir. Sadece orto ve para polifenoller antioksidan özelliğe sahiptir. Fenolün kendisi antioksidan değildir fakat yerdeğişimli benzenler, birden fazla benzen halkasını içeren aromatik bileşikler veya heterosiklik bileşikler, yapıları orto ve para hidroksi bileşiklerine benziyorsa antioksidan olabilirler. Örneğin, susam yağında bulunan sesamol bileşiği bir tane hidroksil grubuna sahip olduğu halde, bu grup oksijenlerden birine göre para pozisyonunda olduğundan, antioksidandır. Flavonoidler, bitkilerde bulunan fenolik antioksidanlardır. Doğal fenolik antioksidanların bir grubunu, tokoferoller yani E vitaminleri oluşturur. Antioksidan özelliği en fazla olan ise  $\alpha$ - tokoferoldür [76].

### 1.3.1.1 Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar reaktif oksijen veya nitrojen türlerini oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Antioksidanlar hem membran hem de sıvı kısımlarında bulunabilirler. Antioksidanlar, peroksidasyon reaktif oksijen türlerini toplayarak ve zincir reaksiyonunu engelleyerek lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidan

savunma sistemleri iki gruba ayrılır; endojen (doğal) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar [77].

### **Endojen (doğal) antioksidanlar**

#### 1- Enzimler

- a) Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi
- b) Süperoksid dismutaz
- c) Katalaz
- d) Glutatyon-S-transferaz
- e) Hidroperoksidaz

#### 2-Enzim olmayanlar

##### a) Lipid fazda bulunanlar

- E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol)
- $\beta$ -karoten

##### b) Sıvı fazda (Hücre sitozolünde veya kan plazmasında) bulunanlar.

- C vitamini (Askorbik asit)
- A vitamini (retinol)
- Melatonin
- Ürat
- Sistein
- Seruloplazmin

### **Eksojen antioksidanlar**

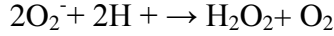
- a) Vitaminler
- b) İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanları
- c) Gıdalardaki eksojen antioksidanları

### **1.3.2 Enzimler**

Bunlar radikal oluşumunu engellerler ve oluşmuş radikalleri daha az zararlı hale getirirler. Bu enzimlere örnek olarak süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, mitokondrial sitokromoksidaz, glutatyon, S-transferaz ve hidroperoksidaz verilebilir [77].

### 1.3.2.1 Süperoksit dismutaz (SOD)

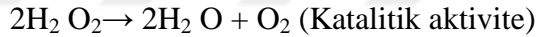
Bu enzim süperoksit radikalini dismutasyona uğratarak yok eder. Organizmada substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzim süperoksit dismutaz'dır. SOD' lar aşağıdaki reaksiyonu katalizleyen metaloenzimlerdir [77,78].



Süperoksit dismutaz' ın Cu/Zn, Fe veya Mn içeren izoenzimleri vardır. Bu izoenzimler bitki hücrelerinin çeşitli kısımlarında bulunur. Bütün bitkilerin kloroplastlarında Cu/Zn-SOD bulunurken Fe-SOD bazı türlerin kloroplastlarında bulunur [77,78].

### 1.3.2.2 Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi aerobik hücrelerin peroksizomlarında mevcut olup serbest radikalleri oluşturmaksızın hidrojen peroksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) moleküler hidrojen ve suya dönüştürerek hidrojen peroksidin zararlı etkisinden hücreyi korur.



Peroksidaz aktivitesine sahip olmasına ek olarak bu enzim bir molekül hidrojen peroksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) elektron verici bir substrat olarak; diğerini de oksijen veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Kan, kemik iliği, mukoz membran, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarda bulunmaktadır. Beynin katalaz aktivitesi oldukça düşüktür [79].

### 1.3.2.3 E Vitamini (Tokoferol )

Tokoferol yapısında olup farklı izomerleri vardır. α-tokoferol, β-tokoferol, γ-tokoferol, δ-tokoferol geniş doğal dağılımı ve en büyük antioksidan aktiviteyi gösterir. Antioksidan aktivitesi en büyük olan α-tokoferoldür. Fenolik hidroksil gruplu aromatik halka vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır [80].

E vitamini vücutta oksijenin en iyi şekilde kullanılmasına yardım ederek, yaşlanmayı geciktirir ve cildin elastikiyetini korur. Kalp rahatsızlıklarına karşı etkilidir. E vitamini bitkisel yağlarda, etlerde, kuruyemişte, keten tohumunda bulunur. Yağın sindirimi sırasında açığa çıkar ve pasif difüzyonla emilir. Vitamin E fazlalığı, bağırsak kramplarına ve hipertansiyona, vitamin E eksikliği ise kas yorgunluğu ve zayıflığına yol açar [80].

#### **1.3.2.4 C Vitamini (Askorbik Asit)**

Kapalı formülü  $C_6H_8O_6$  olan bir heksooikasidin laktonudur. Yapısı karbonhidratlardan heksozlara benzer. İnsanlar C vitamini sentezi yapamazlar fakat hayvanların çoğu yapabilir. C vitamini vücutta hidroksilasyon reaksiyonları, demir emilimi antioksidan olarak görev alır. Kollojen sentezi için gereklidir. Hidroksilasyon bozukluğunda; kırık, dentin, kemiklerdeki proteinlerinin sentezi bozulur [80].

#### **1.3.2.5 A Vitamini (Retinol)**

Molekül formülü  $C_{20}H_{30}O$  dur. Alkol olduğu için genellikle ester oluşturur, yüksek karbonlu yağ asitleri ile esterleşmiş durumdadır. Hava oksijeni, sıcaklık, ışık etkisi, katalizörler gibi fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı dayanıklıdır. Bu vitaminin özellikle göz sağlığı, cilt kuruluğu ve bağışıklık sistemi üzerinde önemli olduğu bilinmektedir. Büyüme döneminde çok gerekli olan bu vitamin, hamilelik ve emzirme dönemleri için de önemlidir. Hücrelerin gelişmesi, yeniden yapılanmasında, kemiklerin ve dişlerin oluşumu içinde önemlidir. Doğal A vitamini kaynakları; karaciğer, süt ürünleri, ciğer, balık ve yumurtadır [80].

### **1.3.3 Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri**

Antioksidan aktivite tayin yöntemleri, kullanılan kimyasal reaksiyon açısından temel olarak iki sınıfta toplanabilir:

- a) Tek elektron transferi reaksiyonlarına dayananlar (ET).
- b) Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT).

### 1.3.3.1 Elektron Transfer (ET) Yöntemleri

Elektron transferi reaksiyonlarına dayanan analiz yöntemleri, antioksidan maddenin indirgenmesinde renk değiştiren bir oksidan maddeyi indirgeme kapasitesinin ölçümüne dayanır. Renk değişiminin derecesi örnekteki antioksidan derişimi ile bağlantılıdır. Altı tür ET esaslı analiz yöntemi vardır:

- a) CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) yöntemi,
- b) Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü,
- c) Ferik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ölçümü,
- d) Cu (II) kompleksini oksidan olarak kullanılan “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi,
- e) Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde analizi,
- f) DPPH kullanarak “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi, olarak sıralanabilir [81,82].

#### 1.3.3.1.1 CUPRAC Yöntemi (Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite)

Bu yöntemde, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin-Nc)' in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neocuproin kompleksinin (Cu(II)- Nc), 450 nm' de maksimum absorban veren bakır(I)-neocuproin [Cu(I)-Nc] şelatının indirgenme yeteneğinden yararlanılarak antioksidan kapasitesi hesaplanmaktadır. Bu özellikten yola çıkarak geliştirilen antioksidan kapasite yöntemine bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC) denilmiştir. Yöntem; sulu Cu (II) klorür çözeltisi, alkolde hazırlanmış neocuproin çözeltisi ve sulu amonyum asetat (pH 7 tamponu) çözeltilerinin karıştırılmasından sonra, üzerine tayin edilecek herhangi bir antioksidan çözeltisinin ilave edilmesi ve bunu takip eden 30 dakika sonunda, içerisinde antioksidan bulunmayan referansa karşı 450 nm'de absorbanlarının ölçülmesinden ibarettir [83].

### **1.3.3.1.2 TEAC Metodu (Trolox Ekvivalenti Antioksidan Kapasite)**

İlk kez 1993 yılında Miller ve Rice-Evans tarafından bulunan metod daha sonraki yıllarda geliştirilmiştir. Bu metotta metmiyoglobin/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sisteminin oluşturduğu ferrilmiyoglobin radikali ABTS ile etkileşerek bu maddenin katyonik radikalini (ABTS•<sup>+</sup>) üretir. Oluşan radikalın antioksidan tarafından giderilmesi 734 nm’de absorbansın azalmasıyla takip edilir. Antioksidan kapasite E vitaminin suda çözünen bir analogu olan troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilroman-2-karboksilik asit) konsantrasyonu (mM) olarak tayin edilir. TEAC, 1 mM troloks ile aynı aktiviteyi göstermek için gerekli olan antioksidan konsantrasyonunu ifade eder. En büyük dezavantajı sentetik 2,2’-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) ABTS radikalının biyolojik sistemlerde bulunmamasıdır [81].

### **1.3.3.1.3 Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Yöntemi**

Benzei ve Strain tarafından geliştirilen bu yöntemde Fe (III)’in indirgenme kapasitesi yoluyla antioksidanlarının toplam miktar tayini yapılmaktadır. Düşük miktarlarda oluşan Fe(III)’ün, tripiridiltriazin (TPTZ) ile reaksiyonu sonucu oluşan [Fe(III)-TPTZ] kompleksi antioksidanların etkisiyle Fe(II)-tripiridiltriazin [Fe(II)-TPTZ] kompleksine indirgenmektedir (TPTZ=2,4,6-tripiridil s-triazin). Meydana gelen Fe(II)-TPTZ kompleksinin rengi koyu mavi olup absorpsiyon maksimumu 593 nm’dir. Sonuçlar troloks eşiti olarak ifade edilir [15]. Bu yüzden, TEAC ve FRAP yöntemleri arasında pek fark yoktur. TEAC yöntemi, nötral pH’da, FRAP yöntemi ise demirin çözünürlüğünü sağlamak için asidik koşullarda (pH 3.6) gerçekleştirilir [84].

FRAP yönteminin en önemli avantajı, basitliği, hızı, ucuzluğu ve sağlamlığıdır. Özel bir ekipman gerektirmez. Otomatik, yarı otomatik ve manuel metotlarla gerçekleştirilebilir [85].

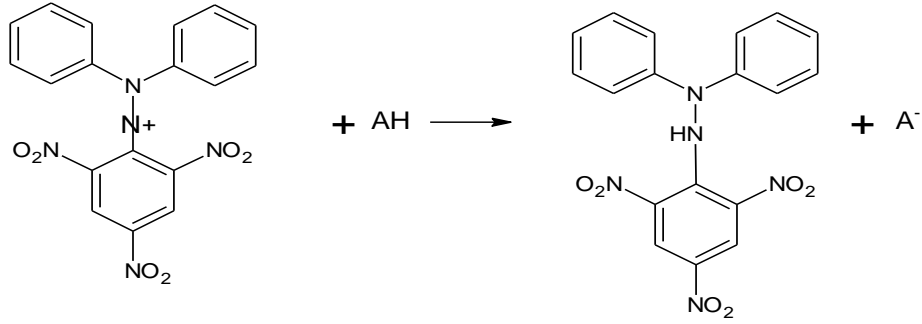
### **1.3.3.1.4 Folin-Ciocalteu Ayıracağı (FCR) ile Toplam Fenolik Yöntemi**

FC yöntemi fenolik bileşikler ve diğer indirgeyici bileşiklerden molibdenyum’a elektron transfer edilmesine dayanmaktadır. Mavi renkli kompleks oluşumu 750-765 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülür. Fenolik bileşikler FCR ile

yalnız bazik koşullar altında reaksiyona girerler (sodyum karbonat çözeltilisi ile pH 10' a ayarlanır). Standart bileşik olarak genellikle gallik asit kullanılır ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak (mg/L) ifade edilir. FC ayıracı fenolik bileşikler için spesifik değildir. Fenolik olmayan bir çok bileşik (sülfür dioksit, aromatik aminler, askorbik asit, Fe (II) ve Cu (I) gibi) tarafından indirgenebilir. Bu nedenle “toplam fenolik madde” belirlenmesi için uygun değildir. Son zamanlarda FC yöntemi toplam indirgeyici kapasitenin ölçülmesinde kullanılmaktadır. FC yöntemi ile diğer yöntemler (TEAC ve DPPH) arasında ilişki bulunmaktadır. FC yöntemi ile toplam fenol tayini güvenilir, basit ve tekrarlanabilir. Yöntemin zaman alması, rutin analizler için uygulanmasını zorlaştırmaktadır. Aynı zamanda sulu fazda gerçekleştirildiği için, lipofilik bileşikler için uygulanmamaktadır [86].

#### **1.3.3.1.5 DPPH (Difenil-1-pikrihidrazil) Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi**

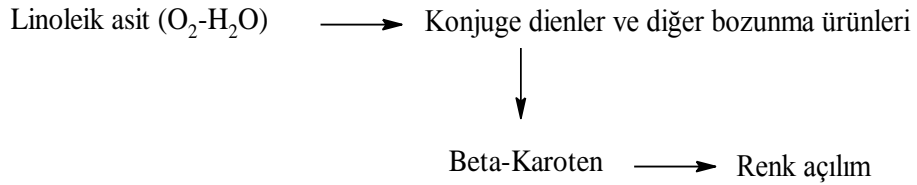
Bu metot ilk olarak Brand-Williams ve arkadaşları tarafından 1995 yılında bulunmuş olup sonrasında Sanchez ve arkadaşları tarafından 1998 yılında değiştirilerek kullanılmaya başlanmıştır. DPPH (2,2-difenil-1- pikrihidrazil) ticari olarak elde edilebilen stabil organik nitrojen radikalidir [13]. DPPH radikal süpürme kapasitesi analiz yöntemleri doğal ekstraktların antioksidan kapasitesini ölçmede çok sık kullanılan bir metottur. Bu yöntem temel olarak antioksidanlar tarafından bir redoks reaksiyonuna bağlı olarak DPPH radikalinin süpürülmesi temeline dayanır. UV-GB absorpsiyon maksimumu 517 nm'dir. Metanolik DPPH çözeltisinin koyu menekşe rengi açılır ve absorbanstaki azalma UV-GB spektrofotometresiyle ölçülür. Bu metot basit, basit, hızlı ve birçok örneğin radikal süpürme aktivitesini izlemek için farklı örneklerin çözünürlüklerine elverişlidir. Ancak ışığa, oksijene ve kirliliğe olan hassasiyeti bu metodun kullanımda belli oranda sınırlamalara neden olmaktadır [87].



**Şekil 1.26:** DPPH radikalinin indirgenmesi.

### 1.3.3.1.6 $\beta$ -Karoten-linoleik Asit Yöntemi (Total Antioksidan Aktivite)

$\beta$ -Karoten renk açılım yöntemi iki şekilde uygulanabilir: Agar difüzyon ve spektroskopik yöntem. Her iki yöntem de linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonunun ölçülmesine dayanmaktadır. Reaksiyon sonunda çözeltilerde  $\beta$ -karotenin kaybolan karakteristik sarı renginin absorbansı 470 nm'de UV-spektrofotometrede kaydedilerek sonuçlar standart olarak kullanılan sentetik antioksidanlar ile karşılaştırılarak verilmektedir [88].



### 1.3.3.2 Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT)

Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayanan analiz yöntemlerinin çoğunda yarışmalı reaksiyon kinetiği izlenir. Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar yöntemlerde genellikle bir sentetik serbest radikal oluşturucu, bir oksitlenebilen prob ve bir antioksidandan oluşur.

Tek elektron transferi reaksiyonlarına dayananlar yöntemler reaksiyon sonunun indikatörü olarak bir oksidan (aynı zamanda reaksiyonu takip etmek için prob olarak kullanılır) ile redoks reaksiyonunu içerir. HAT ve ET esaslı yöntemler



bir örneğin koruyucu antioksidan kapasitesi yerine radikal (veya oksidan) süpürücü kapasitesini ölçmeye dönüktür. Dört tür HAT analiz yöntemi vardır:

- a) İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu,
- b) Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP),
- c) Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC),
- d) Crocin bleaching deneyleri olarak sıralanabilir.

### **1.3.4 Antikolinesterazlar**

#### **1.3.4.1 AChE ve BChE İnhibitörleri**

Kolinesteraz inhibitörleri Alzheimer hastalığının ilk ilaç tedavisi olarak US Food and Drug Administration (FDA) tarafından kanıtlanmıştır. Alzheimer hastalarındaki tedavi edici etkileri 6 ile 36 hafta arasındaki tedavi süresine incelenmiş ve bilimsel fonksiyonlarındaki artış gözlenmiştir [89,90]. Bunun kanıtı olarak alzheimer hastalığının nörotoksitesinin kolinesteraz inhibitörlerinin tedavi edici etkisiyle karşılaşması ve sonunda sadece sinir hücrelerindeki asetilkolin açığa çıkmasının engellenmesi değil hastalığın oluşumunda da gecikme gözlenmesidir [91,92]. Kolinesterazların hastalığı engelleyici ve nörolojik olarak koruyucu etkisinden dolayı, hastalığın ilk safhalarında da nörotoksiteyi ve fonksiyonel komplikasyonları engellemesi Alzheimer hastalığının tedavisinde umut olmuştur. Normal erişkin beyinde AChE (asetilkolinesteraz) yaygın olarak bulunurken, BChE (bütilkolinesteraz) sınırlı miktarlarda bulunmaktadır [93]. Asetilkolinesteraz enzimi uyarılabilen tüm dokularda bulunurken, bütilkolinesteraz enzimi merkezi ve periferik sinir sistemi, karaciğer ve plazmada bulunmaktadır [94].

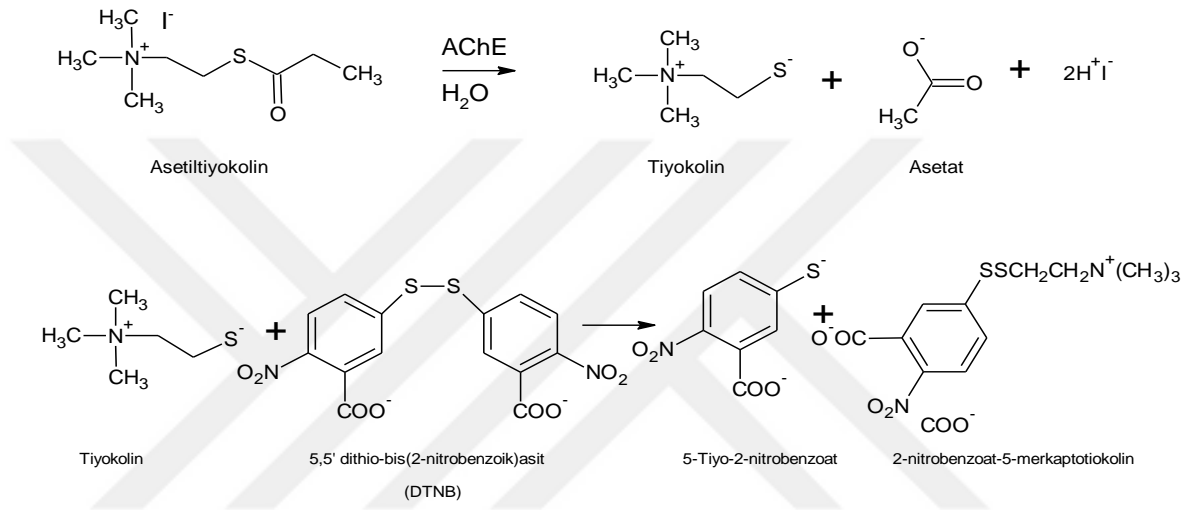
#### **1.3.4.2 Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemleri**

- Michel Yöntemi
- Ellman Yöntemi
- De la Huerge Yöntemi

### 1.3.4.3 AChE ve BChE Aktivite Testleri

Asetil- ve bütül- kolinesteraz aktiviteleri Ellman, Courtney, Andres ve Featherston tarafından geliştirilen spektrometrik metot ile ölçülmüştür [95].

Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak asetilkolinesteraz enzimi, substrat olarak ise asetiltiyokolin iyodür kullanılmaktadır. Reaksiyon şematik olarak Şekil 1.27' de gösterilmektedir.



Şekil 1.27: Asetilkolinesteraz inhibisyon reaksiyonu.

Sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun konsantrasyonu spektrofotometrede 412 nm'de ölçülmektedir.

### 1.3.5 Antimikrobiyal Aktivite

#### 1.3.5.1 Antimikrobiyal Ajanlar

Tıbbi ve aromatik bitkilerin antiseptik özellikleri eski çağlardan beri bilinmesine rağmen, ancak 1900'lü yılların başında laboratuvarlarda bu özellikleri araştırmak için girişimler başlamıştır. Bitkilerin gövde, yaprak, tohum ve köklerinden birçok mikroorganizmanın büyümesini durdurabilecek maddeler izole edilmiştir. Antik çağlardan bu yana, insanoğlu bazı yaygın enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde bitkileri kullanmıştır. Halk arasında yaban mersini (*Myrtus communis*)

üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde, oğulotu (*Melissa officinalis*), sarımsak (*Allium sativum*) ve çay ağacı (*Melaleuca alternifolia*) gibi türler geniş spektrumlu antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılırlar. Pek çok bitkisel özüt; solunum, üriner ve gastrointestinal sistemlerdeki bulaşıcı patojenlerin tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Antimikrobiyal etki gösteren kimyasallar genel olarak alkaloid, flavonoid, isoflavonoidler, taninler, kumarinler, terpenler, fenilpropenler ve organik asitlerdir. Antimikrobiyal ajanların etki mekanizmaları mikroorganizmaların hedef bölgeleri ve bakteri hücre yapıları ile ilişkilidir. Bakteriler hücre duvarı yapılarına göre gram pozitif ve gram negatif olmak üzere 2 grupta incelenir [96].



## 2. DENEYSEL BÖLÜM

### 2.1 Materyal

#### 2.1.1 Bitkisel Materyal

*Sideritis phrygia* Bornm. bitkisi 08.07.2013 tarihinde, Afyon Akşehir, Sultandağı Cankurtaran Köyü, 1600 m den toplanmıştır. Herbaryum numarası: 4202.

*S. pisidica* Boiss. Et Heldr. Apud Bentham bitkisi 10.07.2014 tarihinde, Burdur, Ağlasun, taşocakları civarından toplanmıştır. Herbaryum numarası: 4213.

*S. brevibracteata* P.H. Davis bitkisi 12.07.2014 tarihinde, Alanya, Alanya-Türbelinaz yolu, Bektas çevresi, kalkerli kayalıklar civarından toplanmıştır.

Bitkiler Prof. Dr. Tuncay DİRMENCİ tarafından teşhis edildi ve birer örnekleri Balıkesir Üniversitesi NEF Botanik Laboratuvarı'na konuldu.

#### 2.1.2 Kimyasal Materyal

Kolon kromatografisi için; silikajel 60G (Kieselgel 60G 0.063-0.200, Merck). İTK ve Preparatif İTK için silikajel kaplı Alüminyum plaklar (DC alufolien Kieselgel 60 F<sub>24</sub>, Merck) ve plaklar için Silikajel 60G ile Silikajel 60 HF<sub>254</sub> (Merck) kullanıldı.

Saflaştırma ve ayırma işlemlerinde; Hekzan (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), Kloroform (CHCl<sub>3</sub>), Diklorometan (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), Aseton ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) ve Metanol (CH<sub>3</sub>OH) kullanıldı.

## 2.2 Yöntem

### 2.2.1 Bitkilerin Uçucu Yağ Bileşiminin GC-MS Analizi

Uçucu yağ analizinde kullanılmak üzere bitkideki yağ klevenger aparatı ile elde edildi. Bu amaçla yaklaşık 100 gram kadar bitki 2 litrelik bir balona alındı ve balonun yarısı kadar hacimde su ile 4 saat süre su buharı destilasyonuna tabi tutuldu. Destilasyon sonunda elde edilen uçucu yağ viale alındı ve analiz süresine kadar +4 °C' de muhafaza edildi.

Numune Thermo Scientific TSQ marka GC-MS cihazı ile analiz edildi. Taşıyıcı gaz olarak 1 ml/dk akış aralığı olan helyum gazı kullanıldı. MS transfer sıcaklığı 250 °C, injeksiyon sıcaklığı 220 °C olarak ayarlandı. Fırın sıcaklığı programı 5 dak. 50 °C' de bekletildi, 5 dakikada 250 °C' ye çıkarıldı ve 10 dak. bekletildi. Kütle aralığı 50-650 *m/z*. Kolon olarak Nonpolar Phenomenex DB5 silika kolon (30 m x 0.25 mm, 0.5 µ film kalınlığı) kullanıldı.

### 2.2.2 Bitkilerin Sekonder Metabolitlerinin LC-MS/MS Analizi

LC-MS/MS analizinde standart olarak;

Fumarik asit (%99, Sigma-Aldrich ), pirogallol (%98, Sigma-Aldrich), rutin (%94, Sigma-Aldrich), klorojenik asit (%95, Sigma-Aldrich), gallik asit (%99, Merck), şiringik asit (%95, Sigma-Aldrich), *t*-ferulik asit (%99, Sigma-Aldrich), kafeik asit (%98, Sigma-Aldrich), pelorganin klorit (%98, Sigma-Aldrich), kuersitrin (%97, Sigma-Aldrich ), salisilik asit (%99, Sigma-Aldrich), *p*-kumarik asit (%98, Sigma-Aldrich), luteolin-7-O-glikozit (%99, AppliChem), rosmarinik asit (%96, Sigma-Aldrich), siderol (%98, Sigma-Aldrich), pirogallol (%98, Sigma-Aldrich), apigenin (%95, Sigma-Aldrich), kamferol (%96, Sigma-Aldrich), linearol (%98, Sigma-Aldrich) ve isorhamnetin (%98, Genay-France) kullanıldı.

Standart çözeltiler metanol içerisinde sırasıyla 10 mg/L, 5 mg/L ve 0.1 mg/L şeklinde hazırlandı. Kullanılan metanol Merck (Darmstadt, Germany) den temin

edildi. Kurkimin çözeltisi 100 mg/L hazırlandı. Deneylerin her birinde 50 µL kullanıldı.

Örnek çözeltilerin hazırlanması;

50 mg ekstre 5 ml etanol-su karışımında (50:50 v/v) çözüldü. Karışım 1 saat geri soğutucu altında kaynatıldı. Daha sonra üzerine 50 µL kurkumin ilave edildi, metanol ile seyreltildi. Elde edilen son çözeltiden 1 ml alınarak kapaklı vial otomatik numune şişelerine konuldu ve 10 µL çözelti LC ye enjekte edildi. Otomatik numune şişelerindeki örnekler deney boyunca 15 °C de tutuldu.

Kromatografi koşulları aşağıda belirtilmiştir;

Cihaz: Zivak® HPLC ve Zivak® Tandem Gold Triple quadrupole (Istanbul, Turkey) kütle spektrometresi

Kolon: Synergy Max C18 kolon (250 x 2 mm ID., 5 µm tanecik büyüklüğü)

Mobil faz: Su (A, 0.1 % formik asit), metanol (B, 0.1 % formik asit)

Kademeli elüsyon: 0-1.00 dakika 55 % A ve 45 % B, 1.01-20.00 dakika 100 % B ve son olarak 20.01-23.00 55 % A ve 45 % B.

Akış hızı: 0.25 mL/dakika

Kolon sıcaklığı: 30 °C

Enjeksiyon hacmi: 10 µL.

ESI parametreleri:

Gaz basıncı: 2.40 m Torr CID

Enjektör voltajı: 5.000.00 V

Koruma voltajı: 600.00 V

Gaz sıcaklığı: 300.00 °C

API sıcaklığı: 50.00 °C

Nebullizer gaz basıncı: 55 psi

Kurutucu gaz basıncı: 40.00 psi

Tablo 2.1' de tanımlanan deneme parametreleri verilmiştir.

**Tablo 2.1:** LC-MS/MS cihaz parametreleri.

	<b>Bileşikler</b>	<b>Ana iyon</b>	<b>Parçalanma iyonu</b>	<b>Çarpışma enerjisi (V)</b>
1	<b>Herniarin</b>	177	121	12
2	<b>Kamferol</b>	287	152,3	30
3	<b>Salvigenin</b>	329	295,8	15
4	<b>Penduletin</b>	345,2	311	25
5	<b>Kuersitrin</b>	471,9	309,9	16
6	<b>Fumarik asit</b>	115	71	8
7	<b>pirogallol</b>	125	80	16
8	<b>Salisilik asit</b>	136,7	92,5	10
9	<b>p-kumarik asit</b>	163,2	118,7	14
10	<b>Kafeik asit</b>	179	135	10
11	<b>t-ferulik asit</b>	193	133	15
12	<b>Şiringik asit</b>	196,7	181,4	12
13	<b>Luteolin</b>	285	132	30
14	<b>Kuersetin</b>	301	178,5	16
15	<b>Ellagik asit</b>	301	228,3	25
16	<b>Kuersetağetin-3,6-dimetileter</b>	345,1	329,5	16
17	<b>Klorojenik asit</b>	353	191	14
18	<b>Rosmarinik asit</b>	359,2	160,5	15
19	<b>Luteolin-7-glikozit</b>	447	284,5	14
20	<b>Luteolin-5-glikozit</b>	447	289,5	20
21	<b>Ursolik asit</b>	455,6	455,1	10
22	<b>Kamferon-3-O-Rutinoside</b>	593	284,4	18
23	<b>Rutin</b>	609	301	16
24	<b>Apigenin</b>	269	151	22
25	<b>Gallik asit</b>	168,6	124	13
26	<b>p-OH benzoik asit</b>	136,7	92,6	12
27	<b>Vanilin</b>	150,7	135,4	12
28	<b>Isorhamnetin</b>	315	300	15
29	<b>Kurkumin*</b>	369,3	176,9	20

\* İç standart olarak kullanıldı.

Yapılan tüm deneylerde kurkumin iç standart olarak kullanılmıştır. Her bir bileşik için lineer aralıkları, korelasyon katsayıları ( $r^2$ ), lineer regresyon denklemleri Tablo 2.2' de verilmiştir. Sekonder bileşiklerinin miktarsal tayinlerinin validasyonunda her bileşiğin LOD (3s/m), LOQ (10s/m) ve % geri kazanım değerleri hesaplanmıştır (Tablo 2.2).

Hesaplanan derişimler aşağıdaki denklem ile mg/kg değerine çevrilmiştir [97,98,99,100].

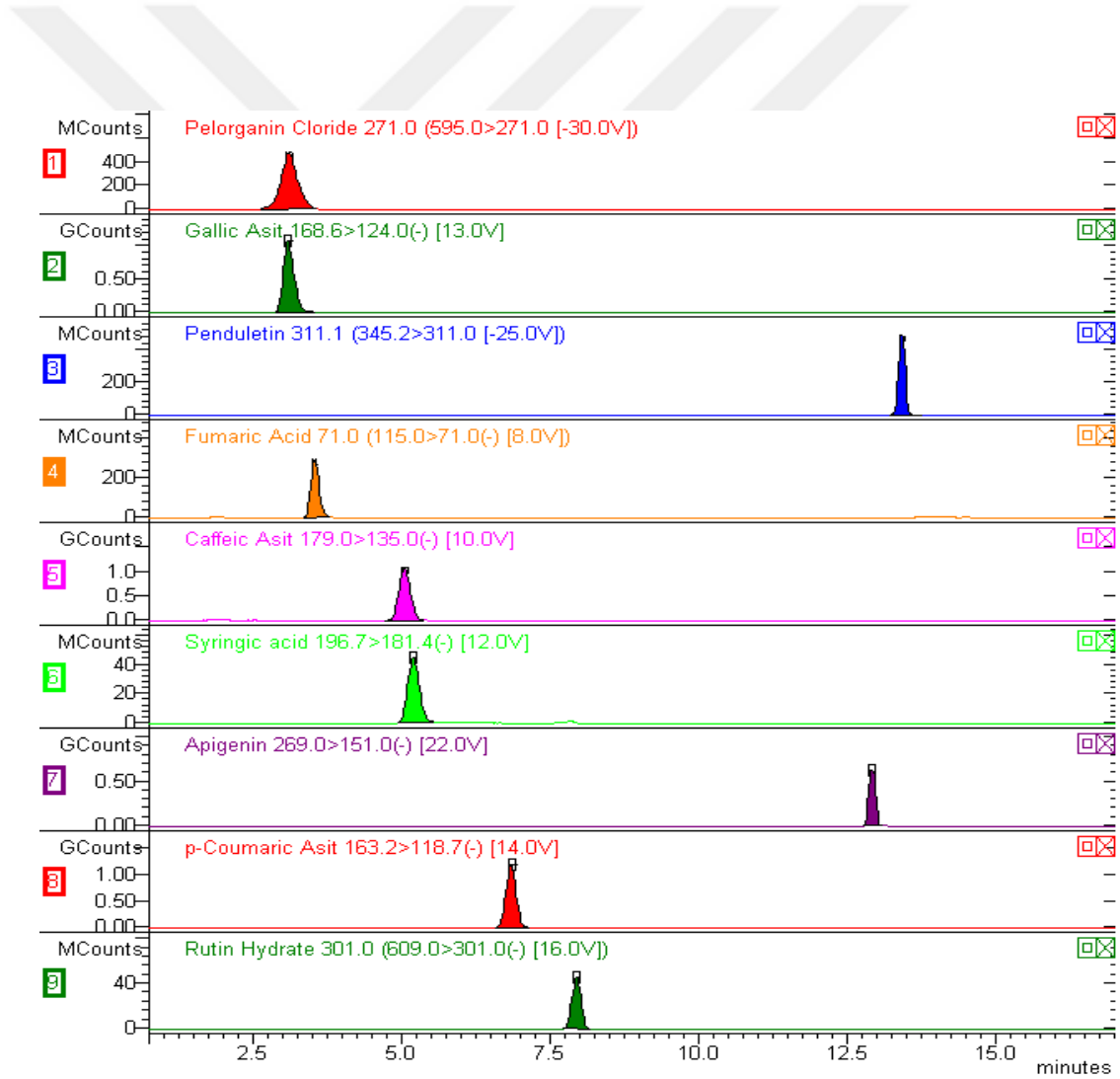
$$\text{Miktar (mg/kg)} = \frac{C_a \times V_{\text{son}}}{m \times V_{\text{ilk}}} \times 1000$$

$C_a$ : Analit derişimi (mg/L)

$V_{\text{son}}$ : Analizden nceki son seyreltik hacim (L)

m: Ekstrat miktarı (g)

$V_{\text{ilk}}$ : İlk rnek hacmi (L)



şekil 2.1: Kullanılan standartların LC-MS/MS kromotogramı (2.5 mg/L).



**Tablo 2.2:** LC-MS/MS yöntemi validasyon parametreleri.

	Bileşikler	Doğrulama Denklemi	$R^2$	LOD* (mg/L)	LOQ** (mg/L)	RSD*** (%)
1	Herniarin	$y=0,0946x+0,0271$	0,9917	0,37	1,233	9,47
2	Kamferol	$y=0,2040x+0,0573$	0,9925	0,002	0,008	5,47
3	Salvigenin	$y=0,1630x+0,0262$	0,9965	0,036	0,119	5,21
4	Penduletin	$y=0,0290x+0,0058$	0,9918	0,089	0,297	9,47
5	Kuersitrin	$y=0,0290x+0,0058$	0,9918	0,001	0,002	4,28
6	Fumarik asit	$y=0,0569x+0,0177$	0,9912	0,003	0,01	5,44
7	pirogallol	$y=0,0438x+0,0073$	0,9803	0,001	0,002	5,47
8	Salisilik asit	$y=0,0255x+0,1780$	0,9701	0,211	0,704	0,21
9	p-kumarik asit	$y=0,2670x+0,1810$	0,9774	0,006	0,021	6,39
10	Kafeik asit	$y=0,3300x+0,0036$	0,9924	0,028	0,093	8,04
11	t-ferulik asit	$y=0,0655x+0,0266$	0,9925	0,047	0,158	5,21
12	Şiringik asit	$y=0,0305x+0,0079$	0,9973	0,022	0,073	8,39
13	Luteolin	$y=0,2120x+0,0699$	0,9937	0,062	0,207	0,16
14	Kuersetin	$y=0,1150x+0,0078$	0,9938	0,001	0,002	0,11
15	Ellagik asit	$y=0,0244x+0,0048$	0,9951	0,02	0,068	0,11
16	Kuersetagetin-3,6-dimetileter	$y=0,0181x+0,0202$	0,9924	0,022	0,074	0,1
17	Klorojenik asit	$y=0,2620x+0,0674$	0,9980	0,445	1,483	5,45
18	Rosmarinik asit	$y=0,1960x+0,0043$	0,9982	0,022	0,072	3,73
19	Luteolin-7-glikozit	$y=0,1350x+0,0246$	0,9957	0,022	0,072	8,56
20	Luteolin-5-glikozit	$y=0,2300x+0,0413$	0,9926	0,01	0,034	1,12
21	Ursolik asit	$y=0,0149x+0,0037$	0,9947	0,008	0,027	0,3
22	Kamferon-3-O-Rutinoside	$y=0,1080x+0,0135$	0,9977	0,014	0,045	8,15
23	Rutin	$y=0,0232x+0,0008$	0,9969	0,01	0,034	7,9
24	Apigenin	$y=0,1780x+0,0850$	0,9961	0,15	0,501	4,01
25	Gallik asit	$y=0,0569x+0,0177$	0,9912	0,002	0,008	4,85
26	p-OH benzoik asit	$y=0,1230x+0,0280$	0,9939	0,002	0,007	4,78
27	Vanilin	$y=0,0982x+0,0158$	0,9982	0,019	0,064	6,57
28	Isorhamnetin	$y=0,0739x+0,5100$	0,9608	0,088	0,294	3,67
29	Isokuersetin	$y=0,0115x+0,0215$	0,9959	0,199	0,665	9,42

\* tayin sınırı, \*\* tayin edilebilen en küçük derişim, \*\*\* % geri kazanım.

## 2.2.3 Terpen Bileşiklerinin İzolasyonu

### 2.2.3.1 Ekstraksiyon

Yaş olarak toplanan bitkilerin gövde kısımları gölgede ve nem olmayan bir yerde kurutulduktan sonra toz haline getirildiler. Toz haline getirilen bitkiler büyük

cam kavanozlarda üç günde bir süzölmek koşulu ile önce hekzan, sonra sırasıyla aseton ve metanol çözücülerinde iki hafta masere edildi. Birleştirilerek kuruluğa kadar yoğunlaştırılan ekstrelerden ham ekstraktlar elde edildi.

### **2.2.3.2 Kromatografi**

#### **2.2.3.2.1 Kolon Kromatografisi**

Kolon kromatografisi elde edilen ekstreleri fraksiyonlara ayırmak için kullanıldı.

Elde edilen her bir ekstre bir miktar hekzan-kloroform karışımında çözüldü ve 0.040-0.060 (230-400 mesh E.Merck) parçacık büyüklüğüne sahip silikajel 60G (Merck 9385) çözeltilere ilave edildi. Karışımların çözücüsü evaporatör ile uçurulduktan sonra homojenliği sağlamak amacı ile ekstre ile karıştırılmış silikajel iyice karıştırılarak kurutuldu ve toz haline getirildi. Bu işlemler üç bitkinin hekzan, aseton ve metanol ekstreleri için uygulandı. Hazırlanan bütün ekstratlar, ekstrelerin miktarlarına bağılı olarak seçilen kolonların 2/3' si aynı tip silikajel ile doldurulduktan sonra kolonların üst kısmına ilave edildi. Kolon kromatografisine hekzan ile başlandı ve gradient elüsyonu ile sırasıyla kloroform, aseton ve metanol ile polarite arttırılarak en sonunda metanol ile yıkamaya devam edilerek kolon sona erdirildi. Daha sonra elde edilen fraksiyonların madde miktarına göre seçilen yeni kolon yardımıyla fraksiyonlar kolonun üst kısmından ilave edilerek tekrar kolon kuruldu.

#### **2.2.3.2.2 İnce Tabaka Kromatografisi**

Kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonlar miktarlarına göre silikajel kaplı hazır alüminyum plakalara (DC- Alufolien Kieselgel 60 F24 Merck) tatbik edilerek uygun çözücü sistemlerinde yürütöldü. Maddelere ait lekeler UV (254nm) ışık altında incelenerek, seryum (IV) sülfat belirteci püskürtölüp 105 °C' lik etüvde yakıldı. Oluşan lekeler incelendi. Benzer fraksiyonlar birleştirildi ve kolon

kromotografisinden alınan fraksiyonların tümü inceleninceye kadar bu işleme devam etti, benzer fraksiyonlar birleştirildi.

### **2.2.3.2.3 Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi**

Silikajel kaplı alüminyum plaklar miktarı az olan fraksiyonları ayırmak için kullanıldı. Miktarı fazla olan (30 mg'dan fazla) fraksiyonları ayırmak için preparatif ince tabaka kromatografisi kullanıldı. Bunları hazırlamak için 100 g silikajel 60 G ve 50 g silikajel 60 HF<sub>254</sub> absorbanları bir balon içerisinde 300 mL distile su ile homojen oluncaya kadar karıştırıldı. Karışım iyice homojen olduktan sonra CAMAG cam plak çekme aleti ile 0.5 mm'lik 20cm × 20cm ebadındaki camlara 0.5mm kalınlığında kaplandı. Oda sıcaklığında kurutulmuş cam plaklar 1 saat süre ile etüvde 105 °C aktive edildi. Karışım halde bulunan fraksiyonlar miktarına göre cam plaklara tatbik edilerek uygun çözücü sistemleri ile bileşenlerine ayrıldılar. Uygun çözücü sistemi farklı denemeler sonucunda bulundu. Her farklı fraksiyon için gerektiğinde farklı denemeler yapılarak her birinin en iyi ayrıldığı sistem bulundu. UV (254nm) ışık altında maddelere ait bantlar işaretlendi ve kazınarak erlenlere aktarıldı. Uygun çözücü ile erlende 15-30 dakika bekletilen maddeler süzülerek alındı ve çözücüleri uçurularak saflaştırıldı. Bu işleme tüm maddeler saflaştırılana kadar devam edildi. Saf olarak elde edilen maddelerin yapısını belirlemek için spektroskopik yöntemlerden yararlanıldı.

### **2.2.3.3 Kullanılan Belirteçler**

Terpenleri belirlemek amacı ile kromatografik yöntemlerde serik sülfat çözeltisi kullanıldı.

#### **2.2.3.3.1 Serik Sülfat Çözeltisinin Hazırlanması**

10 g Seryum (IV) sülfat 50 mL %98'lik sülfirik asit çözeltisinde çözümlenerek distile su ile 500 mL'ye tamamlandı.

Serik sülfat belirteci plakalara püskürtüldükten sonra 105 °C lik etüvde yaklaşık beş dakika kadar (lekeler oluşana kadar) bekletildi.

### **2.2.3.4 Spektroskopik Yöntemler**

#### **2.2.3.4.1 NMR Spektroskopisi**

NMR spektrumları Varian 600 MHz cihazında alınmıştır. Referans bileşik olarak tetrametilsilan (TMS) kullanılmıştır, çözücü olarak ise CDCl<sub>3</sub>, aseton-d<sub>6</sub>, metanol-d<sub>4</sub>, dmsö-d<sub>6</sub> çözücülerinden uygun olanı seçilmiştir.

#### **2.2.3.4.2 IR Spektroskopisi**

IR spektrumları Perkin Elmer Spectrum (version 10.02.00) cihazında alındı.

### **2.2.4 Biyolojik Aktivite Testlerinde Kullanılan Deneysel Yöntemler**

#### **2.2.4.1 Antioksidan Aktivite Yöntemleri**

##### **2.2.4.1.1 DPPH (Difenil-1-pikrihidrazil) Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi**

Radikal süpürücü kapasite yönteminde DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil) [104] radikali kullanıldı. DPPH radikali 517 nm de absorbands gösterir. Fakat antioksidant ve bir radikal türü absorbsiyonu düşürür. DPPH nin metanol içersinde 0,1 mM çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiden 4 ml, değişik konsantrasyonlar da metanol içersinde hazırlanan örnek çözeltilerin 1 ml' sine eklendi. 30 dk sonra absorbands 517 nm ölçüldü. Düşük absorbands, reaksiyon karışımının yüksek radikal süpürücü aktivitesinin belirtisidir. DPPH radikal süpürücü kapasitesi aşağıdaki eşitlikle ölçülmüştür.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 1000$$

#### 2.2.4.1.2 CUPRAC (Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite)

##### Yöntemi

1 mM DMF, 10 mM CuCl<sub>2</sub>, 7,5 mM neokuproin, 1M amonyum asetat (NH<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>COO) (Ph:7) çözeltisi ve saf su 1:1:1:0,6 oranlarında karıştırıldı. Karışım 30 dk bekletildikten sonra çözeltiler içinde örnek bulunmayan referans çözeltiye karşı 450 nm' deki absorpsanları ölçüldü. Analizde 'Beckman Coulter DTX 880 Multimode Detection System' cihazı kullanıldı. TEAC CUPRAC sonucu, referans olarak trolox (TR) üzerinden mmol TR g<sup>-1</sup> olarak verilmiştir [102-104]. (+) denetim olarak Kurkumin bileşiği kullanılmış olup kurkumin için bakır indirgeme kapasitesi bu yöntemle 0,9 mmol TR g<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir [102].

$$\text{TEAC (mmol TR g}^{-1}\text{)} = (\text{Absorbans} / \epsilon_{\text{TR}}) (205/25) (20/1) (2/0,02).$$

Burada absorpsan  $\epsilon_{\text{TR}} = 16700$  [102],

(205); toplam reaksiyon hacmi

(25); reaksiyona katılan bileşiklerin hacmi

(20/1); seyreltme faktörü

(2); bitki ekstraktındaki çözelti hacmi (ml)

(0.02); bitki ekstre miktarı (g)

(2/0,02); yerine kullanılan katsayı

#### 2.2.4.1.3 $\beta$ -Karoten Linoleik Asit Yöntemi

Metotta öncelikle emülsiyon çözeltisi hazırlandı. Bunun için 0,5 mg  $\beta$ -karoten 1 ml kloroform da çözüldü. Bu karışıma 25  $\mu$ l linoleik asit ve 200 mg Tween 40 eklendi.  $\beta$ -karoten 2 ml kloroformda çözüldü. Bu karışıma 50  $\mu$ l linoleik asit ve 200 mg Tween 40 eklendi. Karışım iyice karıştırıldı. Kloroform rotary evaporatörde iyice uçuruldu. Kalan kısım üzerine 100 ml saf su eklendi. Böylece emülsiyon çözeltisi hazırlanmış oldu. Emülsiyonun 4000 mikrolitresi değişik konsantrasyonlarda örnek bulunan test tüplerine eklendi. Emülsiyon test tüplerine ilave edilir edilmez spektrofotometre kullanılarak başlangıç absorpsanları 470 nm' de ölçülmüştür. Tüpler 50 °C' de 2 saat inkübasyona bırakılarak;  $\beta$ -karotenin rengi kayboluncaya kadar inkübasyona devam edilmiştir (120 dakika). BHT, BHA ve  $\alpha$ -

tokoferol standart olarak kullanıldı [105]. Toplam antioksidant aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$AA (\% \text{ İnhibisyon}) = [(R_{\text{kontrol}} - R_{\text{örnek}}) / R_{\text{kontrol}}] \times 100$$

Burada:

AA: Antioksidant aktivite

R=  $\ln(a/b) / t$

In= doğal logaritma

a: başlangıç absorbansı

b: 120 dk sonraki absorbans

#### 2.2.4.2 Antikolinesteraz Aktivite Yöntemi

Aktivite testinde Ellman metodu kullanıldı [95]. 100 mM sodyum fosfat tamponundan (PH 8) 150 µL, bileşiklerin çözeltileri ve AChE ve BChE çözeltileri karıştırıldı ve 15 dk 25 °C inkübe edildi ve 0,5 mM DTNB eklendi. Reaksiyon başladıktan sonra Asetiltiyokolin iyodür (0,71 mM) veya bütiltiyokolin klorit (0.2 mM) eklendi. DTNB ile tiyokolin' in reaksiyonu sonucu oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitro benzoat anyonunun spektrofotometrede dalga boyu 412 nm olarak ölçülmüştür. Metanol çözücü olarak kullanıldı. AChE ve BChE yüzde inhibisyon değerleri örnek reaksiyon oranları ile boş örnekler (etanol içersinde fosfat PH 8 tamponu) karşılaştırılarak tanımlandı. Standart olarak *Galanthus* bitkisinden izole edilen alkaloid tipi ilaç olan Galantamin kullanıldı.

Antikolinesteraz aktivitesi, kontrole göre % inhibisyon olarak aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$[(E-S) / E] \times 100$$

E; test örnekleri olmayan enzim aktivasyonu

S; test örnekleri olan enzim aktivasyonu

### **2.2.4.3 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi**

#### **2.2.4.3.1 Disk Difüzyon Metodu**

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde Disk Difüzyon Yöntemi uygulanmıştır. Disk Difüzyon Metodu aynı zamanda “Kirby Bauer” Metodu olarakta bilinir ve antimikrobiyal aktivite tayinlerinde kullanılmaktadır [106,107].



### 3. BULGULAR

#### 3.1 Uçucu Yağ Analizi

Uçucu yağ eldesi ve miktarının belirlenmesi için gölgede kurutulmuş ve küçük parçalara ayrılmış lokasyonlara ait 100 g bitki materyalinden su buharı destilasyonu yöntemi ile uçucu yağ elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağ miktarlarına ait sonuçlar Tablo 3.1’ de özetlenmiştir.

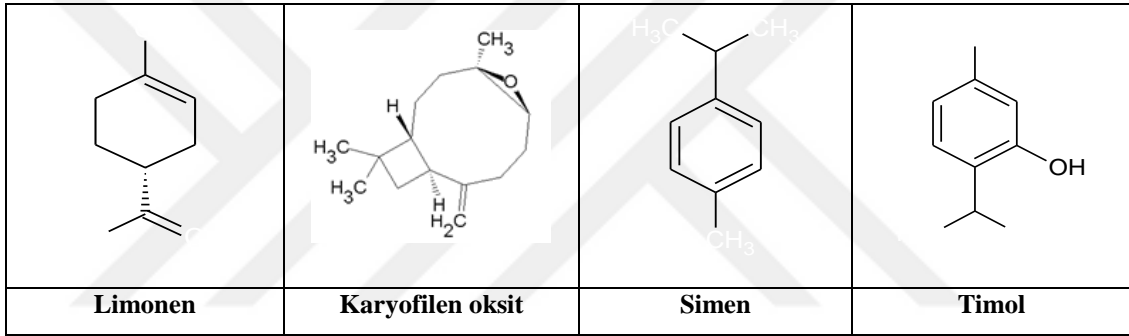
**Tablo 3.1:** Bitkilerden elde edilen uçucu yağ miktarları.

Tür Adı	Lokasyon	Toplanma Zamanı	Herba Miktarı (g)	Yağ Miktarı (mg)	Uçucu Yağ Oranı (%)
<i>Sideritis phrygia</i>	Afyon, Akşehir	Temmuz, 2013	100 g	52 mg	0.052
<i>S. pisidica</i>	Burdur, Ağlasun	Temmuz, 2014	100 g	68 mg	0.068
<i>S. brevibracteata</i>	Alanya	Temmuz, 2014	100 g	84 mg	0.084

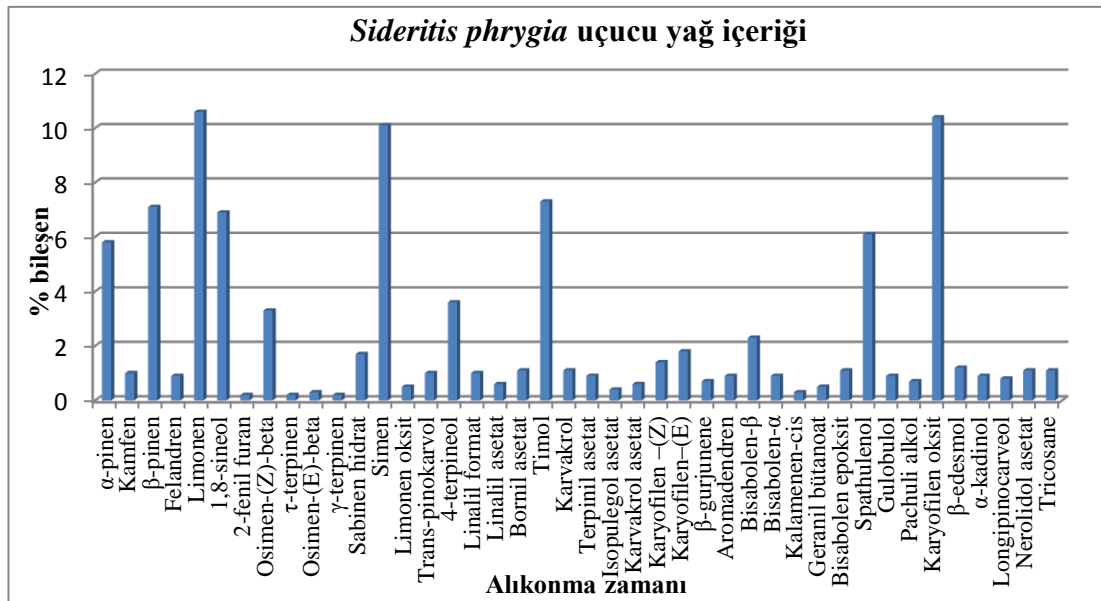


### 3.1.1 Uçucu Yağ Analizlerinin Değerlendirilmesi

*S. phrygia* Bornm.; Afyon Akşehir, Sultandağı Cankurtaran Köyü civarından toplanan *S. phrygia*'nın uçucu yağında toplam 42 farklı bileşik analiz edilmiştir. Bu bileşiklerin oranları % 0.2 ile % 11.4 aralığında değişirken, en yüksek değere % 10.6 ile limonen maddesi sahiptir. Öne çıkan diğer maddeler % 10.4 ile karyofilen oksit, % 10.1 ile simen, %7.3 ile timol (Şekil 3.1) maddeleridir. 2-fenil furan,  $\tau$ -terpinen ve  $\gamma$ -terpinen ise % 0.2 ile en düşük orandaki maddelerdir. Analiz sonuçları Tablo 3.2 ve Şekil 3.2' de verilmiştir. Belirlenen moleküller yapılarına göre sınıflandırıldığında bitkinin % 46.4 monoterpen, % 21.4 oksijenli seskiterpen, % 17.1 oksijenli monoterpen, % 8.3 seskiterpen, hidrokarbondan oluştuğu tespit edilmiştir.



Şekil 3.1: *Sideritis phrygia* bitkisinin uçucu yağ ana bileşenleri.



Şekil 3.2: *Sideritis phrygia* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri.

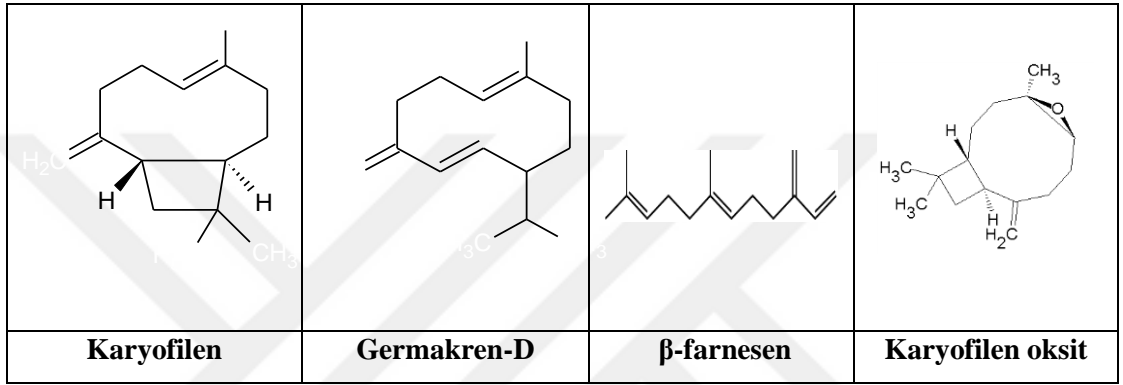
**Tablo 3.2:** *Sideritis phrygia* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri.

KI*	RT**	Bileşikler	<i>S. phrygia</i> %
939	5.37	$\alpha$ -pinen	5,8
954	6.08	Kamfen	1
979	6.70	$\beta$ -pinen	7,1
1003	7.31	Felandren	0,9
<b>1029</b>	<b>7.56</b>	<b>Limonen</b>	<b>10,6</b>
1031	7.80	1,8-sineol	6,9
	8.65	2-fenil furan	0,2
1037	8.80	Osimen-(Z)-beta	3,3
1048	8.94	$\tau$ -terpinen	0,2
1050	9.28	Osimen-(E)-beta	0,3
1059	9.39	$\gamma$ -terpinen	0,2
1070	9.51	Sabinen hidrat	1,7
<b>1085</b>	<b>9.69</b>	<b>Simen</b>	<b>10,1</b>
1137	12.52	Limonen oksit	0,5
1139	14.98	Trans-pinokarvol	1
1182	15.77	4-terpineol	3,6
1216	17.47	Linalil format	1
1257	17.58	Linalil asetat	0,6
1289	18.00	Bornil asetat	1,1
<b>1290</b>	<b>18.30</b>	<b>Timol</b>	<b>7,3</b>
1299	18.61	Karvakrol	1,1
1301	19.05	Terpinil asetat	0,9
1335	19.41	Isopulegol asetat	0,4
1367	19.76	Karvakrol asetat	0,6
1409	20.08	Karyofilen -(Z)	1,4
1419	20.22	Karyofilen-(E)	1,8
1434	20.63	$\beta$ -gurjunene	0,7
1437	20.85	Aromadendren	0,9
1506	22.02	Bisabolen- $\beta$	2,3
1507	22.85	Bisabolen- $\alpha$	0,9
1540	23.64	Kalamenen-cis	0,3
1564	24.11	Geranil bütanoat	0,5
	26.68	Bisabolen epoksit	1,1
1578	28.08	Spathulenol	6,1
1585	28.59	Gulobulol	0,9
	29.14	Pachuli alkol	0,7
<b>1583</b>	<b>29.51</b>	<b>Karyofilen oksit</b>	<b>10,4</b>
1651	31.36	$\beta$ -edemol	1,2
1660	31.45	$\alpha$ -kadinol	0,9
	33.93	Longipinokarveol	0,8
1717	36.88	Nerolidol asetat	1,1
2300	39.83	Trikosan	1,1
<b>TOPLAM</b>			<b>99,5</b>

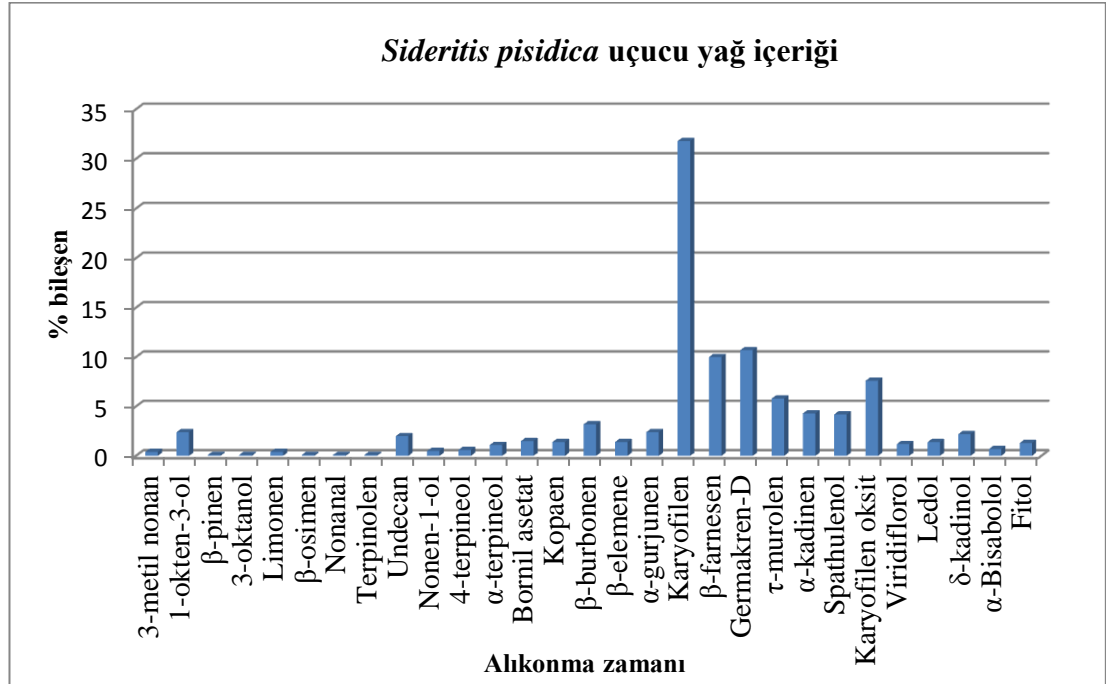
\* Kolonda alıkonma süreleri.

\*\* Kolonda kratz eşitliği ile hesaplanmış retensiyon indeksi.

***Sideritis pisidica* Boiss. Et Heldr. Apud Bentham;** Bu çalışma kapsamında Burdur, Ağlasun, Taşocakları civarından toplanan *S. pisidica* türüne ait uçucu yağın içerik analizi yapılmıştır. Analiz sonuçları Tablo 3.3’ de tablo olarak ve Şekil 3.4’ de grafik olarak verilmiştir. Toplam otuz bir bileşiğin tanımlandığı analiz sonuçlarına göre ana bileşikleri, karyofilen (%31,8), germakren-D (%10,7),  $\beta$ -farnesen (%10) ve karyofilen oksit (%7,6) oluşturmaktadır. Bitki % 71 seskiterpen, % 18.6 oksijenli seskiterpen, % 1.7 oksijenli monoterpen, % 0.7 monoterpen hidrokarbon içerir.



**Şekil 3.3:** *Sideritis pisidica* bitkisinin uçucu yağ ana bileşenleri.



**Şekil 3.4:** *Sideritis pisidica* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri.

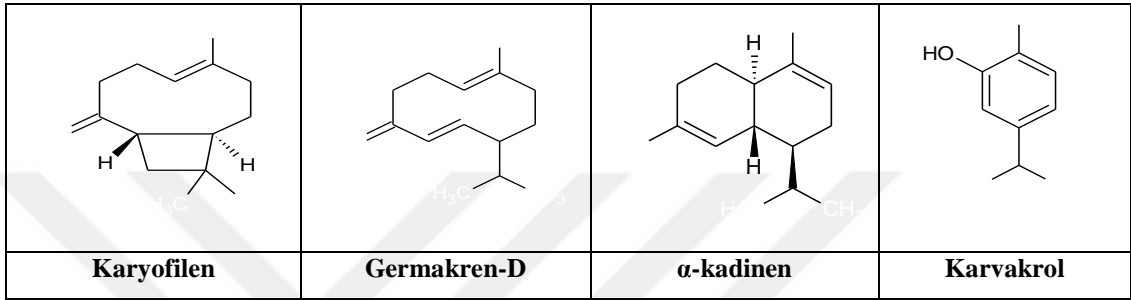
**Tablo 3.3:** *Sideritis pisdica* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri.

KI*	RT**	Bileşikler	<i>S. pisdica</i> %
971	6.87	3-metil nonan	0,4
979	7.16	1-okten-3-ol	2,4
979	7.55	$\beta$ -pinen	0,1
991	7.72	3-oktanol	0,1
1025	8.60	Simen	t
1029	8.75	Limonen	0,4
1037	9.20	$\beta$ -osimen	0,1
1060	9.82	$\tau$ -terpinen	t
1098	10.39	Nonanal	0,1
1089	10.81	Terpinolen	0,1
1100	11.28	Undecan	2,0
1157	11.38	Nonen-1-ol	0,5
1177	13.51	4-terpineol	0,6
1189	13.89	$\alpha$ -terpineol	1,1
1289	16.65	Bornil asetat	1,5
1377	19.10	Kopaen	1,4
1388	19.27	$\beta$ -burbonen	3,2
1391	19.60	$\beta$ -elemene	1,4
1410	19.89	$\alpha$ -gurjunen	2,4
<b>1409</b>	<b>20.10</b>	<b>Karyofilen</b>	<b>31,8</b>
<b>1457</b>	<b>21.15</b>	<b><math>\beta</math>-farnesen</b>	<b>10,0</b>
<b>1485</b>	<b>21.70</b>	<b>Germakren-D</b>	<b>10,7</b>
1480	22.00	$\tau$ -murolen	5,8
1539	22.69	$\alpha$ -kadinen	4,3
1572	23.90	Spathulenol	4,2
<b>1583</b>	<b>24.03</b>	<b>Karyofilen oksit</b>	<b>7,6</b>
1593	24.22	Viridiflorol	1,2
1590	24.47	Ledol	1,4
1636	25.10	$\delta$ -kadinol	2,2
1686	26.30	$\alpha$ -Bisabolol	0,7
1943	29.70	Fitol	1,3
<b>TOPLAM</b>			<b>99</b>

\* Kolonda alıkonma süreleri

\*\* Kolonda kratz eşitliği ile hesaplanmış retensiyon indeksi

*S. brevibracteata* P.H. Davis; *S. brevibracteata* bitkisinden % 0.084 verimle elde edilen uçucu yağın GC-MS analizi sonucunda, toplam uçucu yağın % 98,6 sını oluşturan toplam 26 tane kimyasal bileşenin varlığı saptanmıştır. Ana bileşenlerinin ise karyofilen (% 43,3), germakren-D (% 10,6),  $\alpha$ -kadinen (% 10,3), karvakrol (% 5,3) olduğu gözlenmiştir. Bitkinin % 74.6 seskiterpen, % 9.5 monoterpen, % 6.3 oksijenli monoterpen, % 4.4 oksijenli seskiterpen hidrokarbondan oluştuğu tespit edilmiştir.

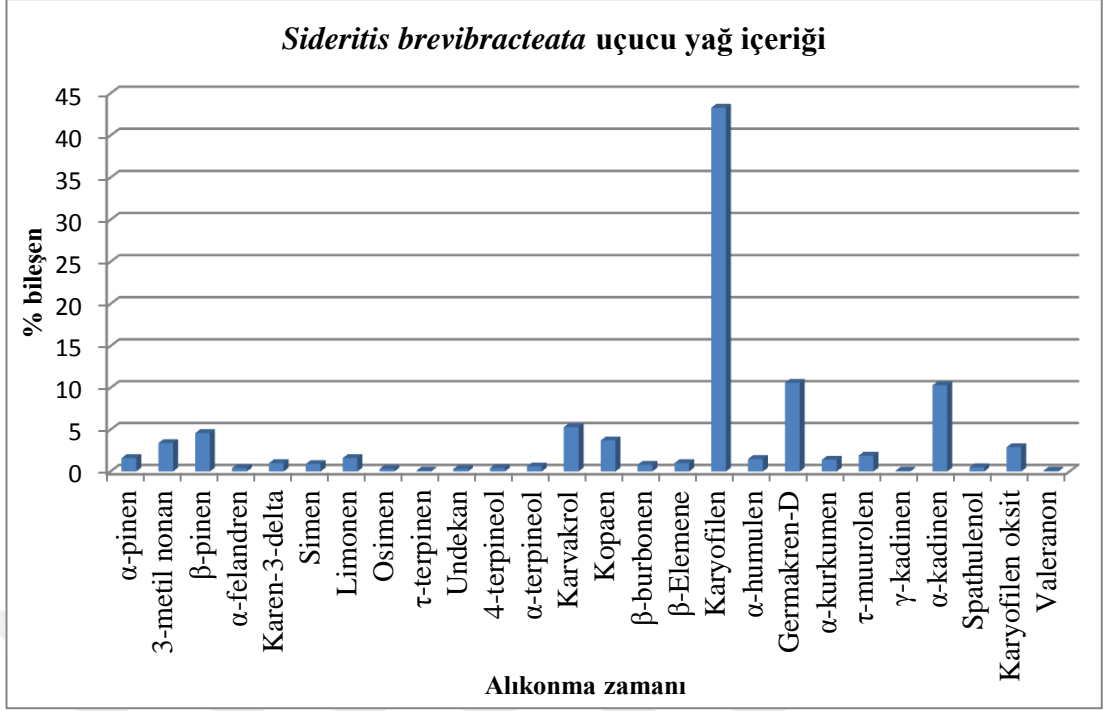


**Şekil 3.5:** *Sideritis brevibracteata* bitkisinin uçucu yağ ana bileşenleri.

**Tablo 3.4:** *Sideritis brevibracteata* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri.

KI*	RT**	Bileşikler	<i>S. brevibracteata</i> %
939	5.44	$\alpha$ -pinen	1,6
971	6.87	3-metil nonan	3,4
979	7.55	$\beta$ -pinen	4,6
1003	7.90	$\alpha$ -felandren	0,4
1031	8.11	Karen-3-delta	1,0
1025	8.59	Simen	0,9
1029	8.75	Limonen	1,6
1037	9.20	Osimen	0,3
1060	9.80	$\tau$ -terpinen	0,1
1100	11.31	Undekan	0,3
1177	13.50	4-terpineol	0,4
1189	13.89	$\alpha$ -terpineol	0,6
<b>1299</b>	<b>17.15</b>	<b>Karvakrol</b>	<b>5,3</b>
1377	19.05	Kopaen	3,7
1388	19.27	$\beta$ -burbonen	0,8
1391	19.58	$\beta$ -Elemene	1,0
<b>1409</b>	<b>20.14</b>	<b>Karyofilen</b>	<b>43,3</b>
1455	20.97	$\alpha$ -humulen	1,5
<b>1485</b>	<b>21.65</b>	<b>Germakren-D</b>	<b>10,6</b>
1487	21.75	$\alpha$ -kurkumen	1,4
1480	22.00	$\tau$ -muurolen	1,9
1514	22.45	$\gamma$ -kadinen	0,1
<b>1539</b>	<b>22.69</b>	<b><math>\alpha</math>-kadinen</b>	<b>10,3</b>
1572	23.89	Spathulenol	0,5
1583	24.00	Karyofilen oksit	2,9
1675	26.00	Valeranon	0,1
<b>TOPLAM</b>			<b>98,6</b>

\* Kolonda alıkonma süreleri., \*\* Kolonda kratz eşitliği ile hesaplanmış retensiyon indeksi.



**Şekil 3.6:** *Sideritis brevibracteata* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri.

### 3.2 Bitki Ekstrelerinin (*Sideritis phrygia*, *S. pisidica*, *S. brevibracteata*) LC-MS/MS Sonuçları

#### 3.2.1 LC-MS/MS Analizi İçin Ekstrelerin Hazırlanması

Çiceklenme zamanında toplanan bitkilerin gövde kısımları gölgede kurutulduktan sonra toz haline getirildi. öğütülen bitkilerden 100 gram alınarak önce 2L hekzan içerisine konulmuş, 15 gün masere edildikten sonra süzülüp kuru ekstre elde edilene kadar çözücüsü buharlaştırılmıştır. Kalan bitki asetona koyularak maseresyona devam edilmiş, 15 gün sonra aynı işlemler tekrarlanmıştır. Aseton ekstresinden kalan bitki son olarak metanolle muamele edilmiş ve kuru ekstre elde edilene kadar çözücüsü buharlaştırılmıştır. Ekstrelerin kodları hekzan için 1.1, aseton için 1.2, metanol için 1.3 olarak verilmiştir. Ayrıca hazırlanan iki adet 100 gramlık bitki doğrudan aseton ve doğrudan metanole konularak 2 ve 3 numaralı ekstreler elde edilmiş ve analize gönderilmiştir.

Ekstreler ve kodları şu şekildedir:

**SP 1.1:** *S. phrygia* bitkisinin hekzan ekstresi.

**SP 1.2:** *S. phrygia* bitkisinin hekzan sonrası alınan aseton ekstresi.

**SP 1.3:** *S. phrygia* bitkisinin aseton sonrası alınan metanol ekstresi.

**SP 2:** *S. phrygia* bitkisinin aseton ekstresi.

**SP 3:** *S. phrygia* bitkisinin metanol ekstresi.

**SPs 1.1:** *S. pisidica* bitkisinin hekzan ekstresi.

**SPs 1.2:** *S. pisidica* bitkisinin hekzan sonrası alınan aseton ekstresi.

**SPs 1.3:** *S. pisidica* bitkisinin aseton sonrası alınan metanol ekstresi.

**SPs 2:** *S. pisidica* bitkisinin aseton ekstresi.

**SPs 3:** *S. pisidica* bitkisinin metanol ekstresi.

**SBr 1.1:** *S. brevibracteata* bitkisinin hekzan ekstresi.

**SBr 1.2:** *S. brevibracteata* bitkisinin hekzan sonrası alınan aseton ekstresi.

**SBr 1.3:** *S. brevibracteata* bitkisinin aseton sonrası alınan metanol ekstresi.

**SBr 2:** *S. brevibracteata* bitkisinin aseton ekstresi.

**SBr 3:** *S. brevibracteata* bitkisinin metanol ekstresi.

Elde edilen ekstre miktarları ve verimleri Tablo 3.5' de verilmiştir.

**Tablo 3.5:** Bitkilerden elde edilen ekstre verimleri.

Ekstre	Bitki Miktarı (g)	Ekstre Miktarı (g)	Verim (%)
<b>SP 1.1</b>	100 g	0,95 g	0,95
<b>SP 1.2</b>	100 g	2,80 g	2,80
<b>SP 1.3</b>	100 g	18,21 g	18,21
<b>SP 2</b>	100 g	3,23 g	3,23
<b>SP 3</b>	100 g	15 g	15
<b>SPs 1.1</b>	100 g	0,8038 g	0,8038
<b>SPs 1.2</b>	100 g	2,4329 g	2,4329
<b>SPs 1.3</b>	100 g	8,9702 g	8,9702
<b>SPs 2</b>	100 g	3,1763 g	3,1763
<b>SPs 3</b>	100 g	9,8909 g	9,8909
<b>SBr 1.1</b>	100 g	0,25 g	0,25
<b>SBr 1.2</b>	100 g	3,20 g	3,20
<b>SBr 1.3</b>	100 g	18,02 g	18,02
<b>SBr 2</b>	100 g	5,1 g	5,1
<b>SBr 3</b>	100 g	19,2 g	19,2

**Tablo 3.6:** *Sideritis phrygia* bitkisinin tanımlanan sekonder bileşikleri (mg/kg) (LC-MS/MS).

	SP 1.1	SP 1.2	SP 1.3	SP 2	SP 3
<b>Siderol</b>	89,13±9,07	-	53,39±5,43	65,55±6,67	100,9±10,27
<b>Pelargonidin</b>	-	57,07±5,81	22,39±2,28	48,19±4,9	26,81±2,73
<b>Liriodendrin</b>	-	-	9,39±0,73	-	8,91±0,69
<b>Linearol</b>	189,75±13,16	103,44±7,17	-	86,22±5,98	46,15±3,2
<b>Gallik asit</b>	4,6±0,32	5,84±0,41	5,36±0,37	5,45±0,38	4,53±0,31
<b>7-asetil sideroxol</b>	78,1±5,71	41,06±3	-	22,27±1,63	26,98±1,97
<b>Salvigenin</b>	47,62±3,24	17,27±1,18	-	26,47±1,8	2,46±0,17
<b>Eubotriol</b>	1163,05±90,23	571,81±44,36	3,17±0,25	799,85±62,06	263,92±20,48
<b>Penduletin</b>	51,74±5,24	315,54±31,99	27,46±2,78	719,19±72,91	111,43±11,3
<b>Fumarik asit</b>	-	72,42±5,02	284,93±19,76	109,19±7,57	298,92±20,73
<b>Pirogallol</b>	-	-	9,52±0,63	-	-
<b>Vanilin</b>	2,51±0,23	-	-	-	-
<b>p-kumarik asit</b>	-	119,16±18,34	-	79,74±12,28	10,45±1,61
<b>Kafeik asit</b>	-	-	-	15,49±3,07	-
<b>t-ferulik asit</b>	-	11,82±0,83	-	13,16±0,92	3,81±0,27
<b>Apigenin</b>	-	51,46±4,15	9,52±0,77	44,65±3,6	17,05±1,37
<b>İzorhamnetin</b>	-	-	-	5,98±0,53	-
<b>Kuersetağetin-3,6-dimetileter</b>	149,52±28	650,04±121,71	76,34±14,29	1629,83±305,16	262,6±49,17
<b>Klorojenik asit</b>	6,76±0,94	98,5±13,64	275,52±38,15	106±14,68	321,6±44,53
<b>Rosmarinik asit</b>	3,56±0,27	3,42±0,26	3,51±0,27	3,87±0,3	3,57±0,27
<b>Luteolin-7-glikozit</b>	-	3,65±0,37	7,94±0,81	5,36±0,55	7,74±0,79
<b>Ursolik asit</b>	41,61±2,89	40,25±2,79	-	51,48±3,57	-

*S. phrygia* bitkisinden 22 sekonder bileşik tanımlanmıştır. Bunlardan siderol, linearol, 7-asetil sideroxol, eubotriol tanımlanan diterpen bileşikleri, ursolik asit ise triterpen bileşiğidir.

Tanımlanan diğer bileşiklerden olan pirogallol (1, 2, 3-trihidroksibenzen) basit fenol yapısında olan allelokimyasaldır. Allelokimyasalları bitkinin savunma sisteminde patojenlere karşı sinyal moleküller olarak görev almaktadır. Bunlar, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas pyocyanea*, *Corynebacterium xerosis*, *Fusarium oxysporium* ve *Penicillium italicum* fitopatojenleri olarak sıralanabilir [108]. Vanilin (4-hidroksi-3-metoksibenzaldehit) ise vanilya bitkisinin (*Vanilla planifolia*) yeşil tohum kesesinde, hoş kokulu, glikozid şeklinde bulunan bir maddedir. İlk olarak 1858 yılında Nicolas- Theodore Goblev tarafından vanilya ekstresinden elde edilmiş olup erime noktası 82 °C'dir [109].

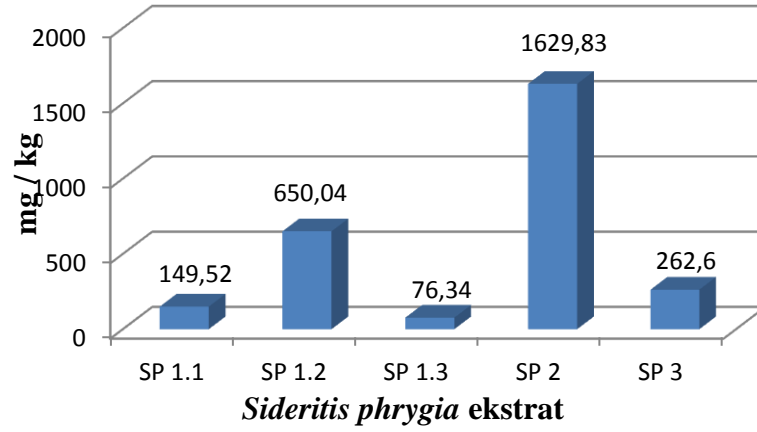


**Tablo 3.7:** *Sideritis phrygia* bitkisinde tanımlanan flavonoid bileşikleri (mg/kg).

Flavonoid							
Flavonol				Flavon			Antosiyanin
	Kuersetağeti n-3,6- dimetileter	Penduletin	İzorhamn etin	Apigenin	Salvigenin	Luteolin- 7-glikozit	Pelargonidin
SP 1.1	149,52±28	51,74±5,24	-	-	47,62±3,24	-	-
SP 1.2	650,04±121,7 1	315,54±31,99	-	51,46±4,15	17,27±1,18	3,65±0,37	57,07±5,81
SP 1.3	76,34±14,29	27,46±2,78	-	9,52±0,77	-	7,94±0,81	22,39±2,28
SP 2	1629,83±305, 16	719,19±72,91	5,98±0,53	44,65±3,6	26,47±1,8	5,36±0,55	48,19±4,9
SP 3	262,6±49,17	111,43±11,3	-	17,05±1,37	2,46±0,17	7,74±0,79	26,81±2,73

Tabloda görüldüğü gibi *Sideritis phrygia* bitkisinin aseton ekstresi (SP 2) flavonoid bileşikleri bakımından oldukça zengindir. Hekzan ekstresi de (SP 1.1) diğerlerine oranla oldukça düşük miktarlarda flavonoid içerir.

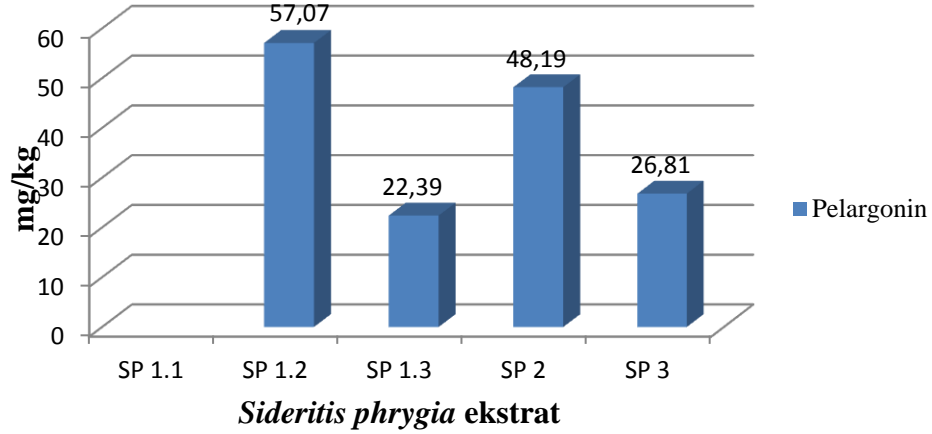
Flavonol yapısında bir flavonoid olan kuersetagetin-3,6-dimetileter, tüm ekstrelerde en fazla miktarda belirlenen bileşiktir. Bileşiğinin iltihaplanmayı doğrudan engelleme özelliği ile önemli bir iltihap önleyici aktiviteye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Histamine ve diğer alerjik/iltihaplanmanın serbest bırakılmasını ve üretimini yavaşlatır. Serbest radikal yakalama özelliğinden dolayı güçlü bir antioksidandır. Bu özelliğiyle kalp ve damar hastalıklardan koruduğu düşünülmektedir. Kuersetagetin-3,6-dimetileter, flavonol bileşiği bunun yanı sıra, C vitamini gibi sitrat döngüsüne katılarak antioksidan özellik gösterir. Antikanserojen özellikte olması sebebiyle akut belirtiler için de kullanılmaktadır. Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol oksidasyonunu azaltarak kalp hastalıklarına karşı koruyucu özelliği araştırılmaktadır [110].



**Şekil 3.7:** *Sideritis phrygia* ekstratlarında bulunan kuersetagetin-3,6-dimetileter içerikleri (mg/kg).

Isorhamnetin bitkinin sadece aseton ekstresinden (SP 2) analiz edilen bir flavanol dur. Isorhamnetin ve kuersetin karaciğer toplam kolesterolünü azaltma etkisi gösterir [111].

Antosiyanin olan pelargonin fenolik bileşiği bitkinin hekzan ekstresi (SP 1.1) hariç diğer ekstralarında bulunmaktadır. Şekil 3.8' de görüldüğü gibi pelargonin aseton ekstralarında (SP 1.2 ve SP 2) diğer ekstralara oranla daha fazla miktarlarda tespit edilmiştir. Antosiyaninlerin gıdalara çekicilik kazandırma özellikleri yanında, sağlık açısından da yararlı bileşikler olduğu ve farmakolojik özellikleri nedeniyle çeşitli hastalıklarda tedavi etme amacıyla kullanıldığı bilinmektedir. Son yıllardaki çalışmalarla, antosiyaninlerin çeşitli kan dolaşımı bozukluklarında, bazı göz hastalıklarında tedavi edici niteliği bulunduğu ortaya konulmuştur [112]. Özellikle siyanidin glikozitlerinin, antimitojenik ve antikanserojenik aktivite, gastrite karşı koruyucu etki ve oksidatif stresin azaltılması gibi çeşitli biyolojik özellikleri vardır [113]. Bu yüzden, antosiyanin içeren birçok farmasotik ürünlerin piyasaya sunulmaya başlandığı bilinmektedir.



Şekil 3.8: *Sideritis phrygia* ekstratlarında bulunan pelargonidin miktarları (mg/kg).

Tablo 3.8: *Sideritis phrygia* bitkisinde tanımlanan fenolik asitler (mg/kg).

Fenolik Asitler							
	Klorojenik asit	Fumarik asit	<i>p</i> -kumarik asit	<i>t</i> -ferulik asit	Gallik asit	Rosmarinik asit	Kafeik asit
SP 1.1	6,76±0,94	-	-	-	4,6±0,32	3,56±0,27	-
SP 1.2	98,5±13,64	72,42±5,02	119,16±18,34	11,82±0,83	5,84±0,41	3,42±0,26	-
SP 1.3	275,52±38,15	284,93±19,76	-	-	5,36±0,37	3,51±0,27	-
SP 2	106±14,68	109,19±7,57	79,74±12,28	13,16±0,92	5,45±0,38	3,87±0,3	15,49±3,07
SP 3	321,6±44,53	298,92±20,73	10,45±1,61	3,81±0,27	4,53±0,31	3,57±0,27	-

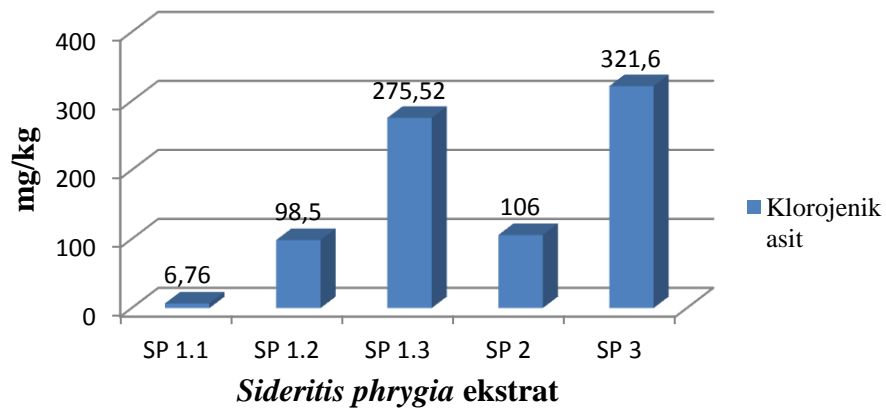
*Sideritis phrygia* bitkisinin hazırlanan ekstratlarından yedi farklı fenolik asit analiz edilmiştir. Bunlar Tablo 3.8’ de bulunma miktarlarına göre sıralanmıştır. En fazla bulunan klorojenik asit, en az bulunan ise kafeik asittir. Bitkinin hekzan ekstresi (SP 1.1) fenolik asit bakımından en fakir bulunurken, metanol ekstresi (SP 3) en zengin olarak bulunmuştur.

Bitkinin aseton ekstresinden (SP 2) diğer ekstratlerden farklı olarak kafeik asit belirlenmiştir. Kafeik asit (3,4-dihidroksisinnamik asit;  $C_9H_8O_4$ ) ayçiçeği

tohumlarında ve ay çekirdeğinde en fazla bulunan hidroksisinnamik asittir ve bitki proteininin çözünürlüğünü oldukça fazla etkilemektedir. Ayrıca patatesten bulunur, enzimatik esmerleşme reaksiyonundan sorumludur ve antioksidan olarak davranır [114]. Kafeik asidin, düşük yoğunluklu lipoproteindeki  $\alpha$ -tokoferolu koruduğu düşünülmektedir. Kafeik asit ve türevlerinin (kafeik asit fenetil ester (CAPE)) polifenol oksidazlar için iyi birer substrat olduğu ve uygun koşullar altında bitki dokularında oksitlenebildikleri düşünülmektedir [115].

Klorojenik asit ( $321,6 \pm 44,53$ ) metanol ekstresinde (SP 3) anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Fumarik asit ( $298,92 \pm 20,73$ ) diğer ekstrere oranla metanol ekstresinden (SP 3), *p*-kumarik asit ( $119,16 \pm 18,34$ ) aseton ekstresinden (SP 1.2), *t*-ferulik asit ( $13,16 \pm 0,92$ ) de aseton ekstresinden (SP 2) daha fazla miktarda analiz edilmiştir. Gallik asit ve rosmarinik asit ise bitkinin tüm ekstrlerinde yakın oranlarda tanımlanmıştır. *p*-kumarik asit, nitrosamin sentezini durdurarak mide kanserini engelleyen bir fenolik bileşiktir [116].

Klorojenik asit [1,3,4,5-tetrahidroksisikloheksankarboksilik asit 3-(3,4-dihidroksisinnamat);  $C_{16}H_{18}O_9$ ] meyve, sebze, siyah çay ve bazı Çin ilaçlarında bulunan bir tür hidroksisinnamik asit türevidir. Sadece antioksidan fonksiyonuna sahip olmayıp; aynı zamanda hipertansiyonu önleyici, bitkilerin çiçeklenmesini tetikleyici ve tripsin, amilaz ve bazı diğer enzimlerin aktivitelerini etkileyici özelliklere sahiptir. Klorojenik asit çığ kahvenin acı tadını oluşturan başlıca bileşendir. Çeşitli tattaki hazır kahvelerin yapımında klorojenik asidin eliminasyonu etkili olmaktadır [117].



Şekil 3.9: *Sideritis phrygia* ekstrlerinde bulunan klorojenik asit miktarları (mg/kg).

**Tablo 3.9:** *Sideritis pisdica* bitkisinde tanımlanan sekonder bileşikler (mg/kg) (LC-MS/MS).

	SPs 1.1	SPs 1.2	SPs 1.3	SPs 2	SPs 3
<b>Eubotriol</b>	215,22±16,7	30,61±2,38	-	92,82±7,2	-
<b>Penduletin</b>	244,06±24,7 4	260,44±26,4	43,69±4,43	286,44±29,04	75,08±7,61
<b>Kuersitrin</b>	-	65,74±4,19	38,58±2,46	66,55±4,25	-
<b>Fumarik asit</b>	44,18±3,06	21,82±1,51	186,06±12,9	49,49±3,43	195,1±13,53
<b>Pirogallol</b>	-	-	20,75±1,38	-	17,04±1,13
<b>Salisilik asit</b>	-	3,37±1,36	1,71±0,69	-	-
<b>Kafeik asit</b>	-	12,07±2,39	2,2±0,44	5,34±1,06	-
<b><i>t</i>-ferulik asit</b>	4,66±0,33	6,05±0,42	4,25±0,3	-	7,01±0,49
<b>Şiringik asit</b>	-	43,42±2,92	8,8±0,59	32,24±2,17	23,66±1,59
<b>Kuersetağetin-3,6-dimetileter</b>	1,95±0,37	-	-	-	-
<b>Klorojenik asit</b>	-	115,32±15,97	303,4±42,01	161,32±22,34	263,96±36,55
<b>Luteolin-7-glikozit</b>	-	25,96±2,64	21,26±2,16	22,82±2,32	18,96±1,93
<b>Luteolin-5-glikozit</b>	-	16,79±1,08	18,37±1,18	12,37±0,8	15,3±0,98
<b>Ursolik asit</b>	97,67±6,78	-	-	-	-
<b>Kuersetin</b>	-	2,78±0,8	1,59±0,46	1,9±0,55	1,31±0,38
<b>Linearol</b>	35,97±2,79	-	-	-	-
<b>Rutin</b>	0,68±0,04	2,98±0,2	6,12±0,4	6,4±0,42	6,57±0,43
<b>Liriodendrin</b>	-	-	11,73±0,91	12,97±1,01	-
<b>Siderol</b>	-	1137,47±88,2 5	31,34±2,43	14,61±1,13	115,85±8,99
<b>Ellagik asit</b>	-	-	5,54±0,37	-	-

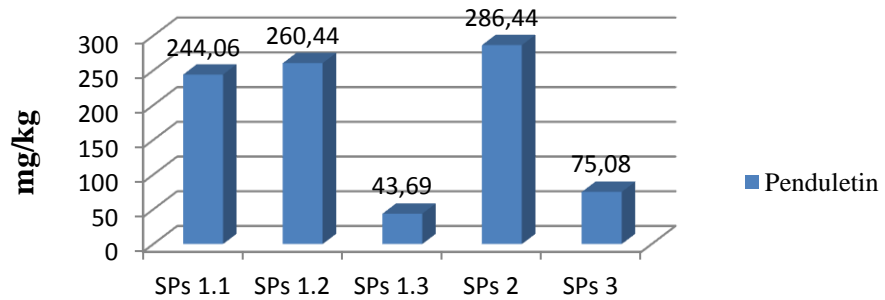
*Sideritis pisdica* bitkisinden 20 farklı sekonder bileşik tanımlanmıştır. Bunlardan siderol, linearol, eubotriol ve ursolik asit terpen yapısındadır. Penduletin, kuersitrin, kuersetağetin-3,6-dimetileter, luteolin-5-glikozit, kuersetin, rutin, luteolin-7-glikozit flavonoid yapısında, klorojenik asit, fumarik asit, şiringik asit, *t*-ferulik asit, kafeik asit, salisilik asit, ellagik asit fenolik asit yapısında bileşiklerdir.

**Tablo 3.10:** *Sideritis pisdica* bitkisinde tanımlanan flavonoid bileşikleri (mg/kg) (LC-MS/MS).

Flavonoid							
	Flavonol			Flavon			
	Penduletin	Kuersitrin	Kuersetage tin-3,6- dimetileter	Luteolin- 5-glikozit	Kuersetin	Rutin	Luteolin- 7-glikozit
SPs 1.1	244,06±24,7	-	1,95±0,37	-	-	0,68±0,04	-
SPs 1.2	260,44±26,4	65,74±4,19	-	16,79±1,0 8	2,78±0,8	2,98±0,2	25,96±2,6 4
SPs 1.3	43,69±4,43	38,58±2,46	-	18,37±1,1 8	1,59±0,46	6,12±0,4	21,26±2,1 6
SPs 2	286,44±29,0	66,55±4,25	-	12,37±0,8	1,9±0,55	6,4±0,42	22,82±2,3 2
SPs 3	75,08±7,61	-	-	15,3±0,98	1,31±0,38	6,57±0,43	-

Tablo 3.10’ da görüldüğü gibi bitkiden yedi flavonoid bileşiği analiz edilmiştir. Bunlardan üçü flavonol yapısında, dördü flavon yapısında olan flavonoidlerdir. Aseton ekstresi (SPs 2) flavonoid bakımından en zengin, hekzan ekstresi (SPs 1.1) ise en fakir ekstrelerdir.

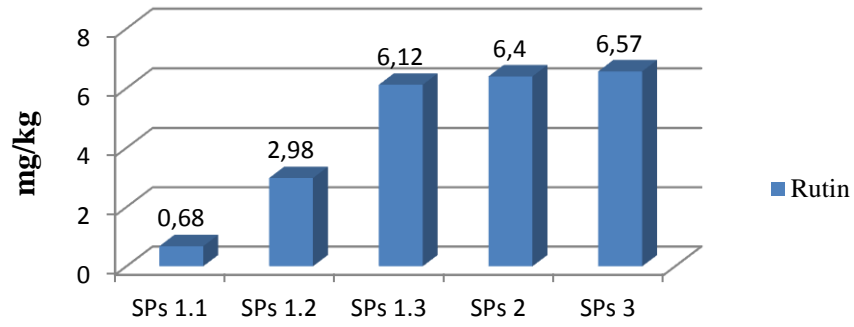
Elde edilen flavonoid bileşiklerinin miktarlarına bakıldığında penduletin en fazla, kuersetage-tin-3,6-dimetileter en az bulunan bileşiklerdir. Penduletin flavonol bileşiği tüm ekstrelerde bulunurken, bitkinin aseton ekstresinde (SPs 2) en fazla miktarda (286,44±29,0) bulunur. Kuersetage-tin-3,6-dimetileter bitkinin sadece hekzan ekstresinde (SPs 1.1) eser miktarda (1,95±0,37) tespit edilmiştir.



### *Sideritis pisdica* ekstrat

**Şekil 3.10:** *Sideritis pisdica* ekstratlarındaki penduletin miktarları (mg/kg).

Çalışılan diğer bitkilerden farklı olarak *Sideritis pisdica* bitkisinin ekstrelerinden rutin bileşiği belirlenmiştir. En yüksek miktarda metanol (SPs 3), en az miktarda hekzan (SPs1.1) ekstresinde bulunmaktadır. Rutin bileşiği ilk kez *Ruta gravolens* bitkisinden izole edilmiş bir flavondur. Kan plazmasını azaltır ve kanı incelterek kan dolaşımını kolaylaştırır. Kan pıhtılaşmasını azaltarak, kalp krizini engeller [116]. Antioksidan, anti-inflamatuar, antitrombotik ajandır. Antihipotansif, spazmolitik özelliklere sahiptir. Varis ve hemoroit tedavisinde kullanılır ve aynı zamanda anti-HIV aktivite göstermektedir [118].



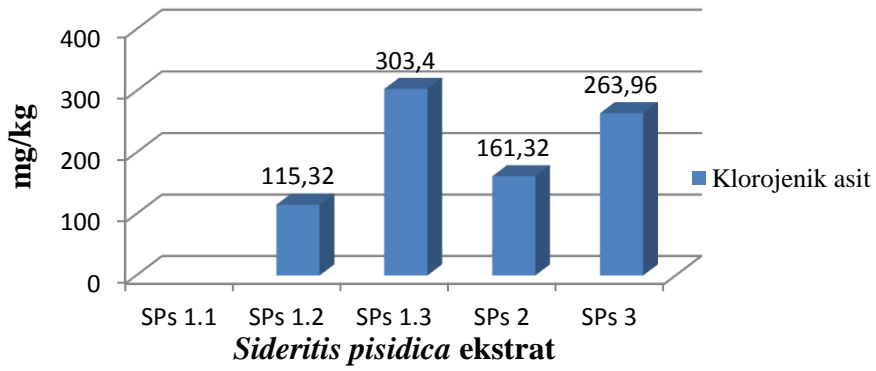
*Sideritis pisdica* ekstrat

Şekil 3.11: *Sideritis pisdica* ekstratlarında bulunan rutin bileşiği (mg/kg).

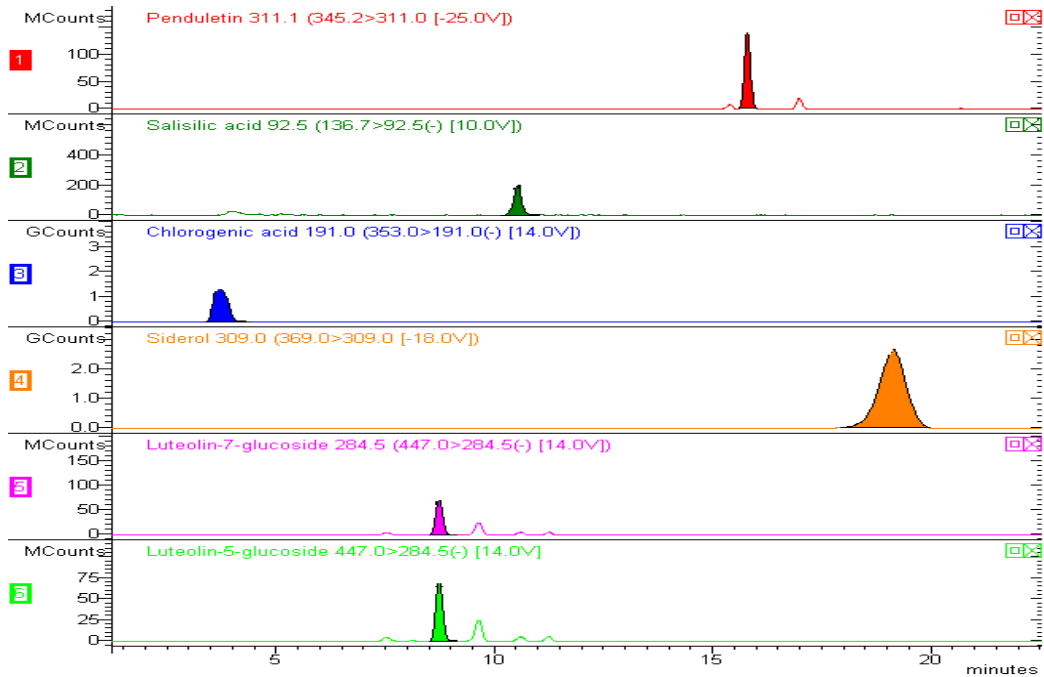
Tablo 3.11: *Sideritis pisdica* bitkisinde bulunan fenolik asitler (mg/kg) (LC-MS/MS).

	Fenolik Asit						
	Klorojenik asit	Fumarik asit	Şiringik asit	t-ferulik asit	Kafeik asit	Salisilik asit	Ellagik asit
SPs 1.1	-	44,18±3,06	-	4,66±0,33	-	-	-
SPs 1.2	115,32±15,97	21,82±1,51	43,42±2,92	6,05±0,42	12,07±2,39	3,37±1,36	-
SPs 1.3	303,4±42,01	186,06±12,9	8,8±0,59	4,25±0,3	2,2±0,44	1,71±0,69	5,54±0,37
SPs 2	161,32±22,34	49,49±3,43	32,24±2,17	-	5,34±1,06	-	-
SPs 3	263,96±36,55	195,1±13,53	23,66±1,59	7,01±0,49	-	-	-

Tablo 3.11’ de görüldüğü gibi sırasıyla klorojenik asit, fumarik asit, şiringik asit, t-ferulik asit, kafeik asit, salisilik asit, ellagik asit miktarı en yüksek fenolik asit olarak bulunmuştur. Klorojenik asit bu bitkinin hekzan ekstresinde (SPs 1.1) bulunmazken, diğer ekstrelerde en yüksek oranda bulunan fenolik asittir. Hekzan ekstresi (SPs 1.1) fenolik asit bakımından en fakir, metanol ekstreleri (sırasıyla SPs 1.3, SPs 3) en zengin bulunmuştur. Antioksidan, anti-mutajen ve anti-kanser özelliklere sahip ellagik asit bitkinin sadece metanol ekstresinden (SPs 1.3) tanımlanmış bir fenolik asittir.



Şekil 3.12: *Sideritis pisdica* ekstratlarında bulunan klorojenik asit (mg/kg).



Şekil 3.13: Sekonder metabolitlerin LC-MS/MS kromotogramı (SPs 1.3)



**Tablo 3.12:** *S. brevibracteata* bitkisinin sekonder bileşikleri (mg/kg) (LC-MS/MS).

	SBr 1.1	SBr 1.2	SBr 1.3	SBr 2	SBr 3
Gallik asit	4,59±0,32	5,74±0,4	5,35±0,37	5,49±0,38	4,6±0,32
Kamferol	-	10,26±0,72	-	1,63±0,11	-
Salvigenin	9,23±0,63	-	-	-	-
Eubotriol	1163,2±90,25	306,96±23,82	-	185,36±14,38	317,6±24,64
Penduletin	58,37±5,92	454,15±46,04	26,97±2,73	347,32±35,21	105,78±10,72
Kuersitrin	-	-	20,98±1,34	-	-
Fumarik asit	-	35,08±2,43	253,56±17,58	38,24±2,65	384,13±26,64
Pirogallol	-	-	15,96±1,06	-	14,26±0,95
Salisilik asit	-	11,4±4,6	7,63±3,08	3,35±1,35	-
<i>p</i> -OH benzoik asit	-	20,7±1,64	21,63±1,72	-	41,11±3,27
Vanilin	5,29±0,48	22,08±2,02	18,37±1,68	-	37,53±3,43
<i>p</i> -kumarik asit	-	3,76±0,58	-	-	-
Kafeik asit	4,7±0,93	35,21±6,97	12,35±2,44	23,27±4,61	12,31±2,44
<i>t</i> -ferulik asit	-	5,51±0,39	54,54±3,81	-	116,93±8,17
Şiringik asit	-	6,45±0,43	-	-	-
İzorhamnetin	-	8,57±0,76	-	4,68±0,41	-
Kuersetagetin-3,6-dimetileter	138,17±25,87	192,86±36,11	52,25±9,78	61,82±11,58	42,86±8,02
Klorojenik asit	8,21±1,14	1309,84±181,38	2141,89±296,6	1132,58±156,83	1787,33±247,5
Rosmarinik asit	3,38±0,26	8,59±0,66	19,16±1,47	8,78±0,67	28,3±2,17
Luteolin-7-glikozit	-	30,37±3,09	17,2±1,75	25,17±2,56	13,92±1,42
Luteolin-5-glikozit	-	10,46±0,67	1,97±0,13	5,91±0,38	3,65±0,23
Ursolik asit	-	168,08±11,66	73,2±5,08	-	164,11±11,39
Kuersetin	-	5,35±1,54	5,53±1,59	4,19±1,2	3,04±0,87
7-asetil sideroxol	78,17±5,42	3,92±0,27	13,38±0,93	27,83±1,93	-
Linearol	213,7±14,82	44,34±3,07	-	37,96±2,63	71,51±4,96
Siderol	-	-	-	-	1501±28,02
Pelargonidin klorit	-	-	-	-	110,81±7,35

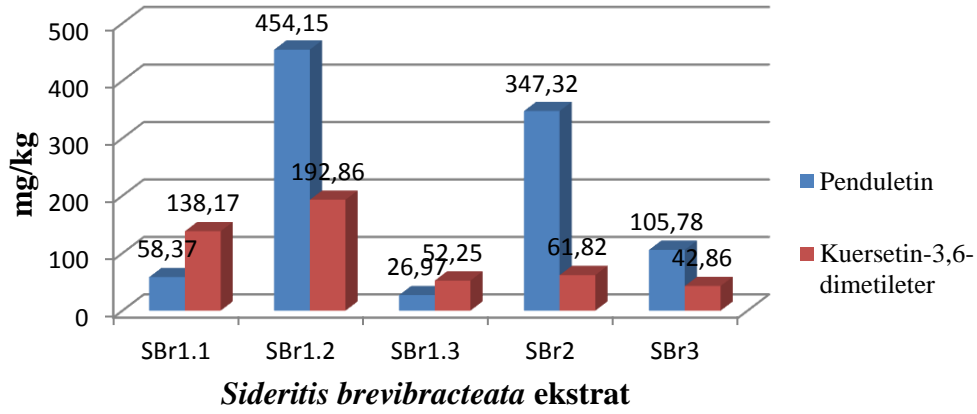
*Sideritis brevibracteata* bitkisinin LC-MS/MS analizi sonucunda 27 sekonder bileşik tanımlanmıştır. Bunlardan eubotriol, 7-asetil sideroxol, linearol, siderol ve ursolik asit terpen yapındaki bileşiklerdir. Ursolik asit biyolojik aktif bir molekül olup bazı tepkimeleri tetikler. Anti-tümör, kas yapımı ve kardiyolojik hastalıklarda hastalıklarda etken oluşu bilinmektedir [116].

Çalışılan diğer bitkiler ile karşılaştırıldığında *Sideritis brevibracteata* bitkisi sekonder bileşikler bakımından en zengin bitkidir. Özellikle flavonoid ve fenolik asit oranları yüksektir. Bu oranın yüksek olması, bitkinin gösterdiği yüksek aktivite değerinin açıklayan en önemli unsurlardan biridir.

**Tablo 3.13:** *Sideritis brevibracteata* bitkisinin flavonoid bileşikleri (mg/kg) (LC-MS/MS).

<b>Flavonol</b>						
	Penduletin	Kuersetagetin-3,6-dimetileter	Kuersitrin	Kuersetin	İzorhamnetin	Kamferol
<b>SBr1.1</b>	58,37±5,92	138,17±25,87	-	-	-	-
<b>SBr1.2</b>	454,15±46,04	192,86±36,11	-	5,35±1,54	8,57±0,76	10,26±0,72
<b>SBr1.3</b>	26,97±2,73	52,25±9,78	20,98±1,34	5,53±1,59	-	
<b>SBr2</b>	347,32±35,21	61,82±11,58	-	4,19±1,2	4,68±0,41	1,63±0,11
<b>SBr3</b>	105,78±10,72	42,86±8,02	-	3,04±0,87	-	-
<b>Flavon</b>				<b>Antosiyanin</b>		
	Luteolin-5-glikozit	Luteolin-7-glikozit	Salvigenin	Pelargonidin klorit		
<b>SBr1.1</b>	-	-	9,23±0,63	-		
<b>SBr1.2</b>	10,46±0,67	30,37±3,09	-	-		
<b>SBr1.3</b>	1,97±0,13	17,2±1,75	-	-		
<b>SBr2</b>	5,91±0,38	25,17±2,56	-	-		
<b>SBr3</b>	3,65±0,23	13,92±1,42	-	110,81±7,35		

Tabloda 3.13’ de görüldüğü gibi bitkiden altı tane flavonol yapıda (penduletin, kuersetagetin-3,6-dimetileter, kuersitrin, kuersetin, izorhamnetin, kamferol), üç tane flavon yapısında (luteolin-5-glikozit, luteolin-7-glikozit, salvigenin) bir de antosiyanin (pelargonidin klorit) yapısında flavonoid analiz edilmiştir. Bunlardan penduletin ve kuersetagetin-3,6-dimetileter kayda değer şekilde miktar bakımından diğerlerinden fazladır.

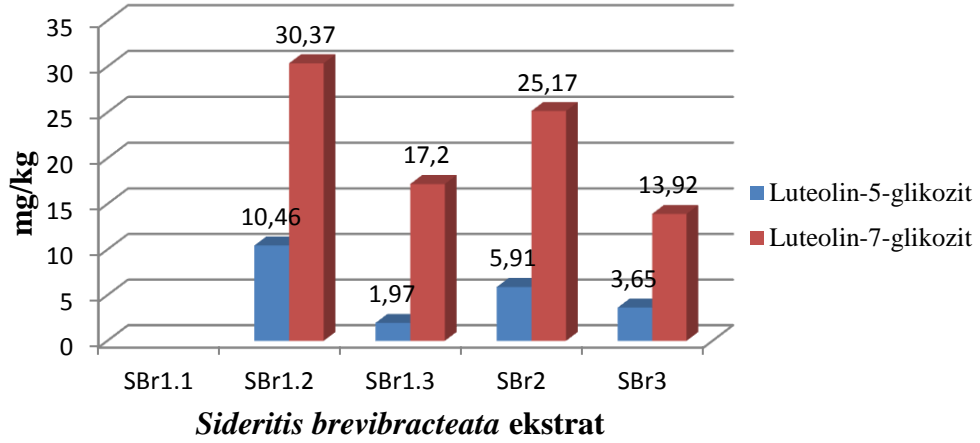


**Şekil 3.14:** *Sideritis brevibracteata* bitkisinin ekstrelerinde bulunan penduletin ve kuersetin-3,6-dimethyleter miktarları (mg/kg).

Antosiyanin olan pelargonidin klorit ( $110,81 \pm 7,35$ ) bitkinin sadece metanol ekstresinde (SBr 3) bulunmuştur. Antosiyaninler, doğada bitkiler aleminde bulunan en yaygın pigment gruplarından birisidir. Antosiyaninler bir grup bileşiğin adı olup, doğada 400' den fazla antosiyanin bulunduğu tahmin edilmektedir [112]. Son yıllarda yapılan birçok araştırmada da, antosiyaninlerin antioksidatif etkilerinin bulunduğu saptanmıştır [119].

Kamferol flavonol grubunda, doğal bir favonoid bileşiğidir. Bitkinin aseton ekstrelerinde (SBr 1.2 ve SBr 2) belirlenmiştir. Kamferol sarı renkte berrak bir katıdır. Erime sıcaklığı  $276-278^{\circ}\text{C}$  arasındadır. Suda çok az çözünür. Metanol, sıcak etanol ve dietileter gibi organik çözücülerde iyi çözünmektedir. Kamferol pankreas kanseri ve kalp hastalıkları riskini azaltan, antidepresan özelliği olan doğal bir antioksidan maddedir. Özellikle brokoli ve çayda bulunur [110].

Bitkisel kökenli bir polifenolik bileşik olan luteolin [2-(3,4-dihidroksifenil)-5,7-dihidroksi-4-kromenon;  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$ ], flavonoidlerin flavon alt sınıfına aittir ve genellikle kereviz, yeşilbiber, perilla (biftekotu) yaprağı ve papatya çayında glikozillenmiş formda bulunur. Antimutajenik, tümör oluşumunu engelleyici, pıhtılaşmayı önleyici, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinin yanında antibakteriyel etkilere de sahiptir [120].



Şekil 3.15: *Sideritis brevibracteata* ekstralarında bulunan luteolin miktarları (mg/kg).

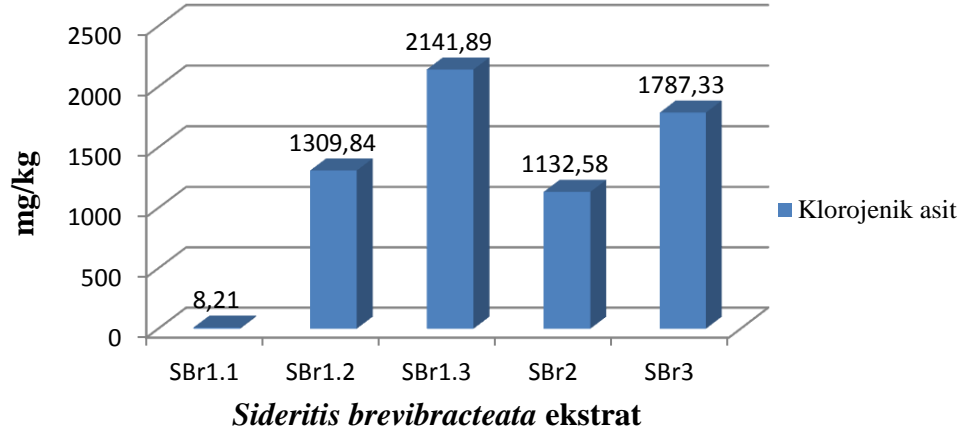
Tablo 3.14: *Sideritis brevibracteata* bitkisinden elde edilen fenolik asitler (mg/kg).

Fenolik asit					
	Klorojenik asit	Fumarik asit	<i>t</i> -ferulik asit	Kafeik asit	<i>p</i> -OH benzoik asit
SBr1.1	8,21±1,14	-	-	4,7±0,93	-
SBr1.2	1309,84±181,38	35,08±2,43	5,51±0,39	35,21±6,97	20,7±1,64
SBr1.3	2141,89±296,6	253,56±17,58	54,54±3,81	12,35±2,44	21,63±1,72
SBr2	1132,58±156,83	38,24±2,65	-	23,27±4,61	-
SBr3	1787,33±247,5	384,13±26,64	116,93±8,17	12,31±2,44	41,11±3,27
	Rosmarinik asit	Gallik asit	Salisilik asit	Şiringik asit	<i>p</i> -kumarik asit
SBr1.1	3,38±0,26	4,59±0,32	-	-	-
SBr1.2	8,59±0,66	5,74±0,4	11,4±4,6	6,45±0,43	3,76±0,58
SBr1.3	19,16±1,47	5,35±0,37	7,63±3,08	-	-
SBr2	8,78±0,67	5,49±0,38	3,35±1,35	-	-
SBr3	28,3±2,17	4,6±0,32	-	-	-

*S. brevibracteata* bitkisinin tüm ekstrallerinden 10 farklı fenolik asit tespit edilmiştir. Bitkinin metanol ekstresi (SBr 3) fenolik bileşikler açısından en zengin bulunurken, hekzan ekstresi (SBr 1.1) en fakirdir.

Bitkide yüksek miktarlarda bulunan fenolik asitler (fenil propanoidler), hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitleri içeren iki gruptan oluşmaktadır. Bu grubun çoğunluğunu hidroksisinnamik asitler oluşturmaktadır. L-trosin ya da L-

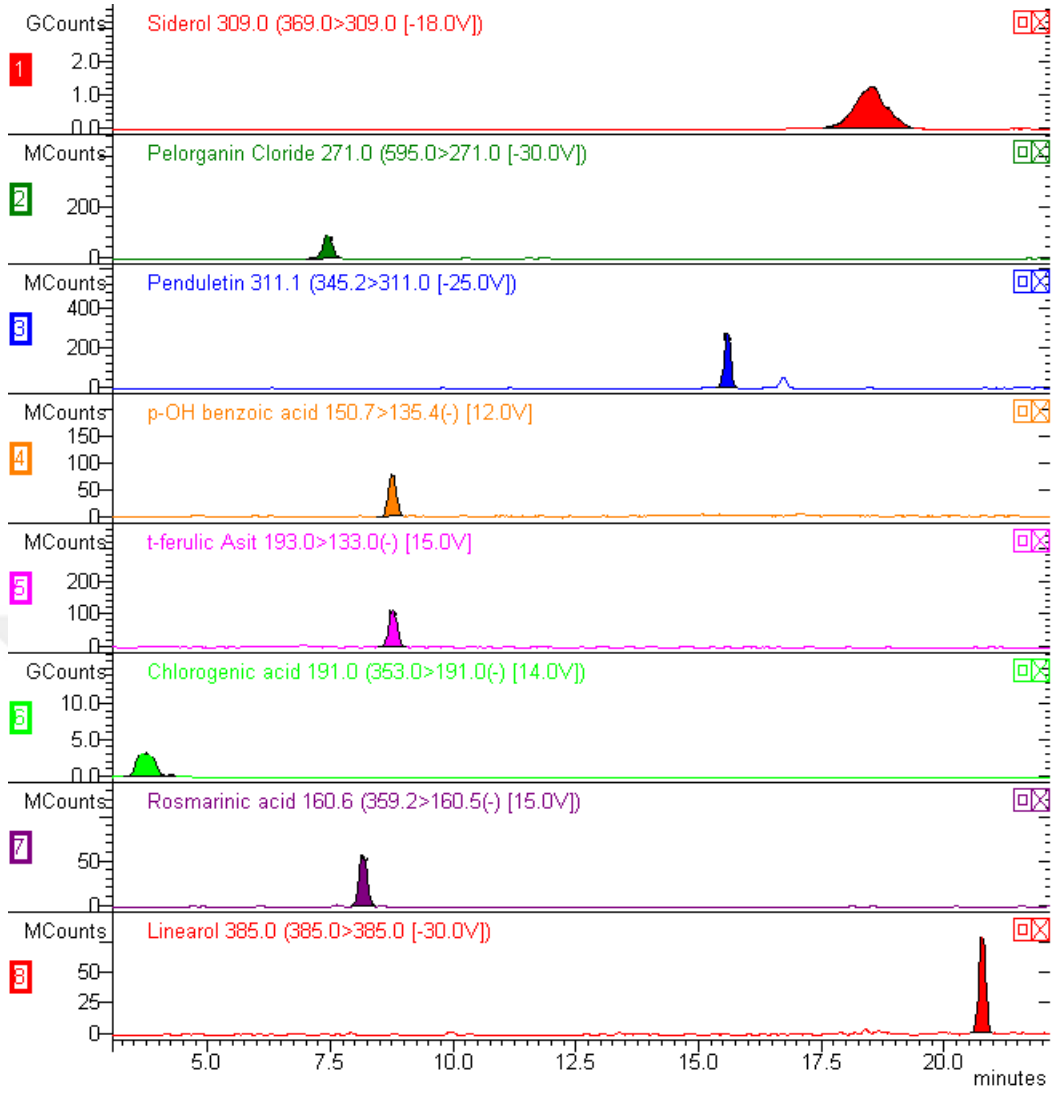
fenil'den ferulik, kafeik, sinapik, klorojenik ve *p*-kumarik asitler meydana gelmektedir. Yapılarında bulunan  $-CH=CH-COOH$  gruplarından dolayı, hidrojen verme kabiliyetleri artmaktadır. Ayrıca benzoik asitlere kıyasla radikalleri daha kararlı hale getirebilmektedirler. Benzoatlardan daha etkilidirler. Hidroksibenzoik asitler yapılarında bulunan metoksi ve hidroksi grupları sayıları ve yerleşimlerine göre çeşitlenmektedirler. Resorsilik, şiringik asit, vanilik asit ve gallik asit bu gruba örnek olarak verilebilir. Hidroksil radikallere gösterdikleri yüksek reaktivite ve hidroksillenme eğilimlerinden ötürü, monohidroksibenzoatlar etkili hidroksil süpürücüler olarak bilinmektedir [121].



**Şekil 3.16:** *Sideritis brevibracteata* ekstratının klorojenik asit miktarları (mg/kg).

Tablo 3.16'de görüldüğü gibi klorojenik asit *S. brevibracteata* bitkisinin çalışılan tüm ekstralarında en fazla miktarda bulunan fenolik asittir. Bitkide bulunan diğer fenolik asitlere oranla çok yüksek miktarlarda belirlenmiştir. Şekil 3.16' da bitki ekstratlarında bulunan klorojenik asit miktarları karşılaştırılmıştır. En fazla metanol ekstralarında (sırasıyla SBr 1.3 ve SBr 3) bulunur.

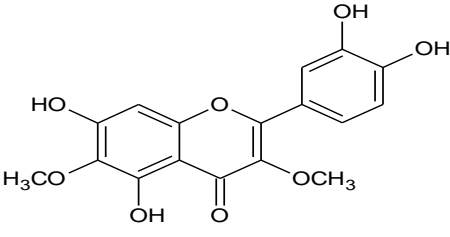
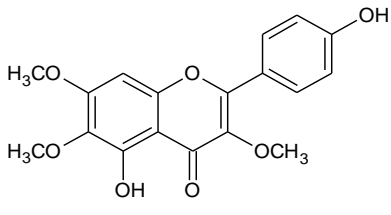
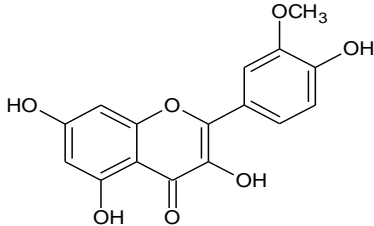
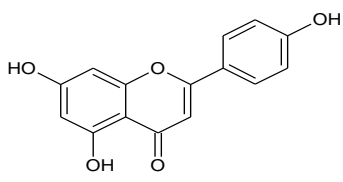
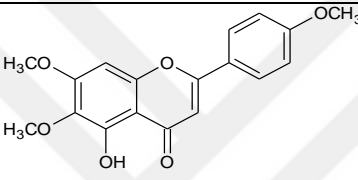
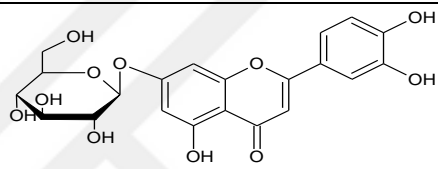
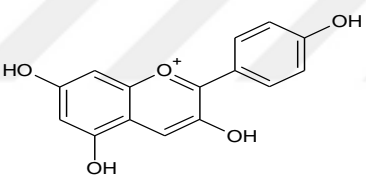
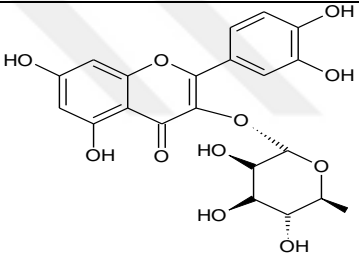
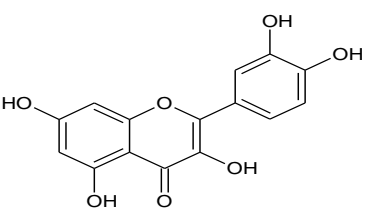
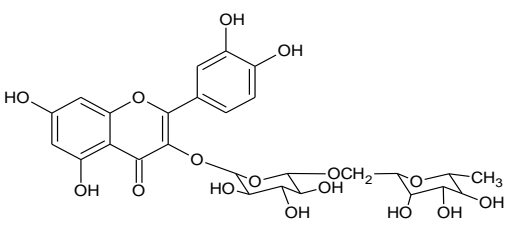
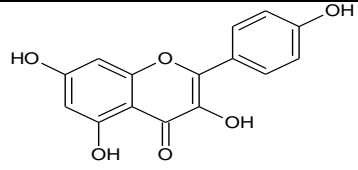
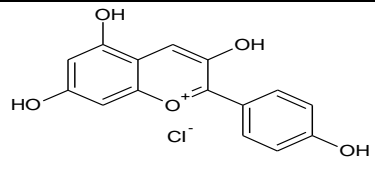
Bitkinin hekzan (SBr1.1) ve metanol (SBr 3) ekstresi hariç diğer ekstralarında bulunan salisilik asit, genellikle bir hidroksil grubu ya da onun fonksiyonel türevini taşıyan, aromatik bir halkaya sahip bitki fenoliklerinin bir grubudur. Son yıllarda bitkilerde salisilik asidin biyolojisi ile ilgili yapılan çalışmaların sonucunda, salisilik asidin diğer birçok fenolik bileşik gibi, bitki büyümesinin düzenlenmesi, gelişimi ve diğer organizmalarla etkileşiminde temel rol oynadığı görüşü ortaya çıkmıştır [122]



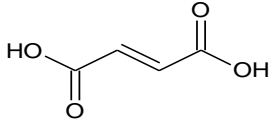
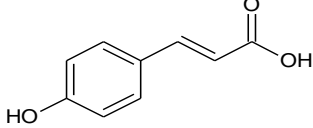
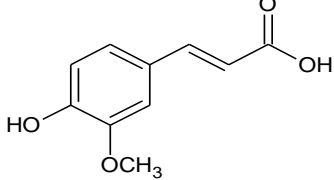
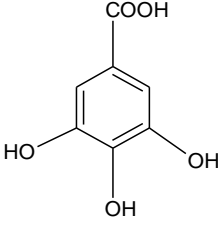
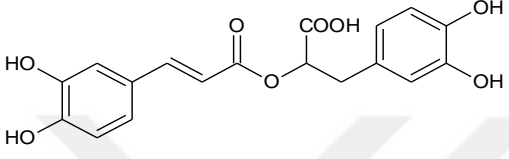
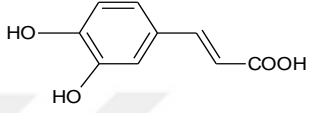
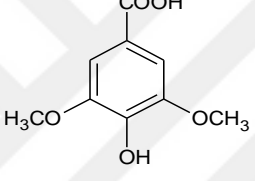
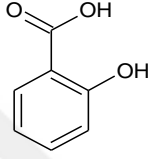
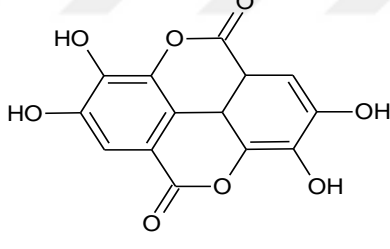
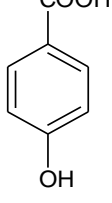
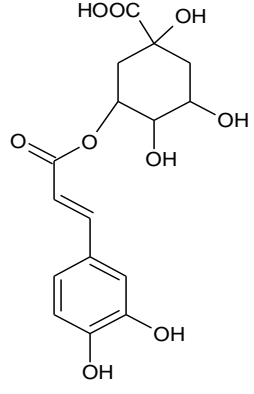
Şekil 3.17: Sekonder metabolitlerin LC-MS/MS kromotogramı (SBr 3).

Tablo 3.15: Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin sınıflandırılması.

Fenolik Asitler		Flavonoid	
	Flavonol	Flavon	Antosiyanidin
Gallik Asit	İzorhamnetin	Salvigenin	Pelargonin
Kafeik Asit	Kuersitrin	Apigenin	Pelargonin klorit
Fumarik Asit	Kuersetin	Luteolin-5-O-glikozit	
<i>p</i> -kumarik Asit	Kamferol	Luteolin-7-O-glikozit	
<i>t</i> -ferulik Asit	Kuersetagetin-3,6-dimetileter	Rutin	
Klorojenik Asit	Penduletin		
Rosmarinik Asit			
Salisilik Asit			
<i>p</i> -OH Benzoik Asit			
Ellagik Asit			
Şiringik Asit			

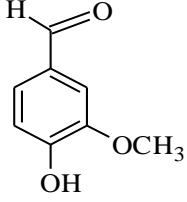
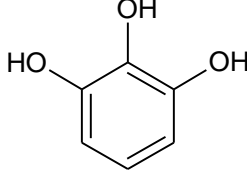
	
<b>Kuersetagin-3,6-dimeteleter (1)</b>	<b>Penduletin (2)</b>
	
<b>İsorhamnetin (3)</b>	<b>Apigenin (4)</b>
	
<b>Salvigenin (5)</b>	<b>Luteolin-7-glikozit (6)</b>
	
<b>Pelargonidin (7)</b>	<b>Kuersitrin (15)</b>
	
<b>Kuersetin (17)</b>	<b>Rutin (18)</b>
	
<b>Kamferol (22)</b>	<b>Pelargonidin klorit (23)</b>

**Şekil 3.18:** Bitkilerden tanımlanan flavonoidlerin yapıları (LC-MS/MS).

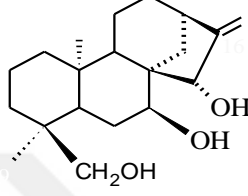
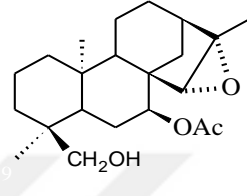
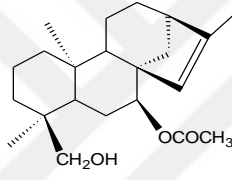
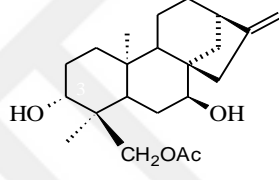
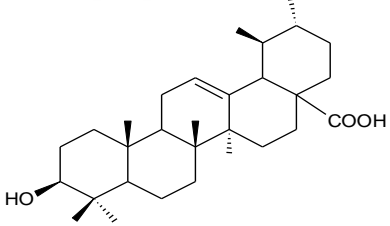
	
<b>Fumarik asit (9)</b>	<b><i>p</i>-kumarik asit (10)</b>
	
<b><i>t</i>-ferulik asit (11)</b>	<b>Gallik asit (12)</b>
	
<b>Rosmarinik asit (13)</b>	<b>Kafeik asit (14)</b>
	
<b>Şiringik asit (19)</b>	<b>Salisilik asit (20)</b>
	
<b>Ellagik asit (21)</b>	<b><i>p</i>-hidroksi benzoik asit (24)</b>
	
<b>Klorojenik asit (8)</b>	

**Şekil 3.19:** Bitkilerden tanımlanan fenolik asitlerin yapıları (LC-MS/MS).



	
<b>Vanilin</b>	<b>Progallool</b>

**Şekil 3.20:** Bitkilerden tanımlanan diğer bileşiklerinin yapısı (LC-MS/MS).

	
<b>Eubotriol</b>	<b>7-asetil sideroxol</b>
	
<b>Siderol</b>	<b>Linearol</b>
	
<b>Ursolik asit</b>	

**Şekil 3.21:** Bitkilerden tanımlanan terpen bileşiklerinin yapısı (LC-MS/MS).

### **3.3 *Sideritis phrygia* Bornm, *S. pisidica* Boiss. Et Heldr. Apud Bentham, *S. brevibracteata* P.H. Davis Bitkilerinden İzole Edilen Terpen Bileşikleri**

#### **3.3.1 İzolasyon Çalışmaları İçin Hazırlanan Ekstreler**

3 kg yaş olarak toplanan *Sideritis phrygia* bitkisi gölgede kurutulduktan sonra öğütülerek toz haline getirildi. Öğütülen bitkinin 1.5 kg' ı önce hekszanda iki hafta masere edildi. Daha sonra aseton ve metanol ile aynı işlemler yapıp, kuruluğa kadar yoğunlaştırılan ekstrelerden 18.32 g hekzan, 52.0 g aseton ve 96.60 g metanol ham ekstraktları elde edildi.

4 kg yaş olarak toplanan *Sideritis pisidica* bitkisi gölgede kurutulduktan sonra öğütülerek toz haline getirildi. Öğütülen bitkinin 2 kg' ı önce hekszanda iki hafta masere edildi. Daha sonra aseton ve metanol ile aynı işlemler yapıp, kuruluğa kadar yoğunlaştırılan ekstrelerden 20.0 g hekzan, 60.0 g aseton ve 98.2 g metanol ham ekstraktları elde edildi.

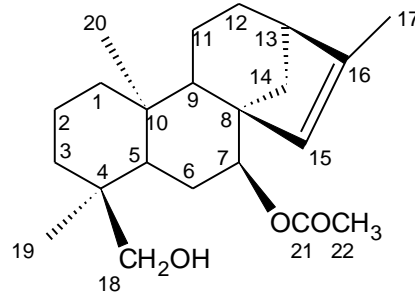
1 kg yaş olarak toplanan *Sideritis brevibracteta* bitkisi gölgede kurutulduktan sonra öğütülerek toz haline getirildi. Öğütülen bitkinin 600 g' ı önce hekszanda iki hafta masere edildi. Daha sonra aseton ve metanol ile aynı işlemler yapıp, kuruluğa kadar yoğunlaştırılan ekstrelerden 5.8 g hekzan, 17.0 g aseton ve 35.6 g metanol ham ekstraktları elde edildi.

### 3.3.2 *Sideritis phrygia* Bornm. Bitkisinden İzole Edilen Terpen Bileşikleri

*Sideritis phrygia* Bornm. bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan hekzan, aseton ve metanol ekstrelerinden bilinen 7 terpen bileşiği izole edildi. Elde edilen bileşiklerin yapıları:

- Siderol (Ent-7 $\alpha$ -asetoksi,18-hidroksi-kaur-15-ene) (1)
- Sideroxol (ent-7 $\alpha$ ,18-dihidroksi-15 $\beta$ , 16 $\beta$ -epoksikauran) (2)
- Oleanolik asit (4aS,6aR,6As,6Br,8Ar,10S,12Ar,14bS)-10 hydroxy2,2,6a,6b,9,9,12a-heptamethyl-1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahydrop, cene-4a-carboxylic acid) (3)
- Sideridiol (ent-7 $\alpha$ , 18 $\beta$ -dihidroksi kaur-15-en) (4)
- Linearol (ent-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -dihidroksi-18-asetoksikaur-16-en) (5)
- 7- epicandicandiol (ent-7 $\alpha$ ,18-hidroksikaur-16-en) (6)
- Athanolone ( ent-7 $\alpha$ ,17,18-trihidroksi-9,11-(en)-12-on) (7)

### 3.3.2.1 Siderol (Ent-7 $\alpha$ -asetoksi,18-hidroksi-kaur-15-ene) (1)



**Siderol**

Siderol bileşiği *S. phrygia* bitkisinin hekzan, aseton ve metanol ekstrelerinden toplamda 146.4 mg olarak beyaz toz halinde izole edilmiştir.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (Şekil 3.23) singletler halinde dört adet metil izlendi. Bunlardan ikisi daha üst alanda  $\delta$  0.67 ve 1.11 ppm 'de izlenen piklerdir. Asetil metiline ait olan protonlar 2.03 ppm' de, vinilik metil sinyali 1.13 ppm' de gözlemlendi. H-13 protonu ise 16-en kaurenlere göre biraz daha üst alanda  $\delta$  2.37 ppm' de multipl olarak izlenirken 18 nolu karbondaki hidroksimetilen piki ise  $\delta$  2.98 ve 3.31 ppm' de (J=11.5Hz) dubletler halinde izlendi. H-7 protonu  $\delta$  4.60 ppm' de triplet (J=2.5 Hz) olarak gözlemlendi. 5.25 ppm' de izlenen singlet ise bir çifte bağ varlığına işaret etmiştir.

APT tekniği ile alınan <sup>13</sup>C-NMR spektrumunda (Şekil 3.24) 4 metil, 8 metilen, 5 metin ve 5 kuarterner karbon olmak üzere toplam 22 adet karbon piki izlendi. Metil karbonları ise  $\delta$  15.4, 17.6 ve 17.9 ppm' lerde izlenirken asetil metili 21.4' de izlendi. Hidroksil bağlı (C-18) karbonu ise 71.4 ppm' de gözlemlendi. Çift bağ C-15 karbonuna ait olan pik, 130 ppm' de gözlemlendi. Çifte bağın katerner karbon (C-16) sinyali ise 145.8 ppm' de gözlemlenirken asetil grubun karbonil karbonu ise 171.1 ppm' de izlendi.

Saf olarak elde edilen bileşiğin alınan spektrumları (IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HMQC, COSY ve EIM S) bileşiğin daha önceki çalışmalardan da elde edilen siderol bileşiği olduğu belirlendi [60,61,10,68,73].

**Tablo 3.16:** Siderol bileşığının IR verileri (cm<sup>-1</sup>).

O-H	C-H	O=C	C=C
3450	2960	1730	1640-780

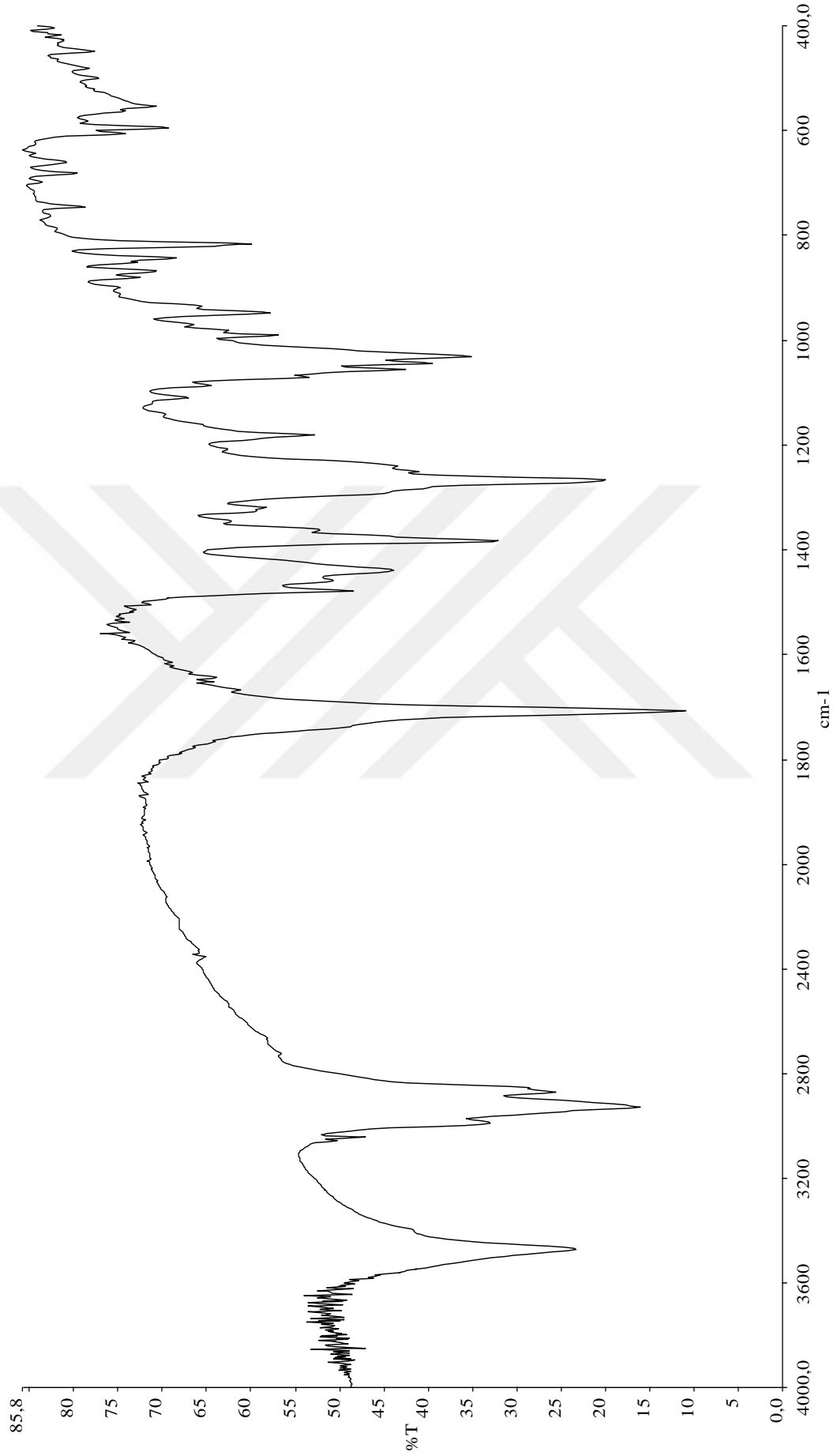
**Tablo 3.17:** Siderol Bileşığının <sup>1</sup>H-NMR verileri (ppm).

H-7	H-13	H-15	H-17	H-18a	H-18b	H-19	H-20	OAc
4.60 (t,J=2.5 Hz)	2.37(m)	5.25(s)	1.13(s) (3H)	2.98(dd) J=11.5 Hz)	3.31 (dd) J=11.5 Hz)	0.67(s)	1.11(s)	2.03

**Tablo 3.18:** Siderol bileşığının <sup>13</sup>C-NMR verileri (ppm).

C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11
42.0	18.4	35.4	36.9	44.5	23.6	78.4	51.8	44.9	39.2	17.9
C-12	C-13	C-14	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	O- COCH <sub>3</sub>	O- COCH <sub>3</sub>
24.7	39.8	39.8	130.0	145.8	15.4	71.4	17.6	17.9	21.4	171.1

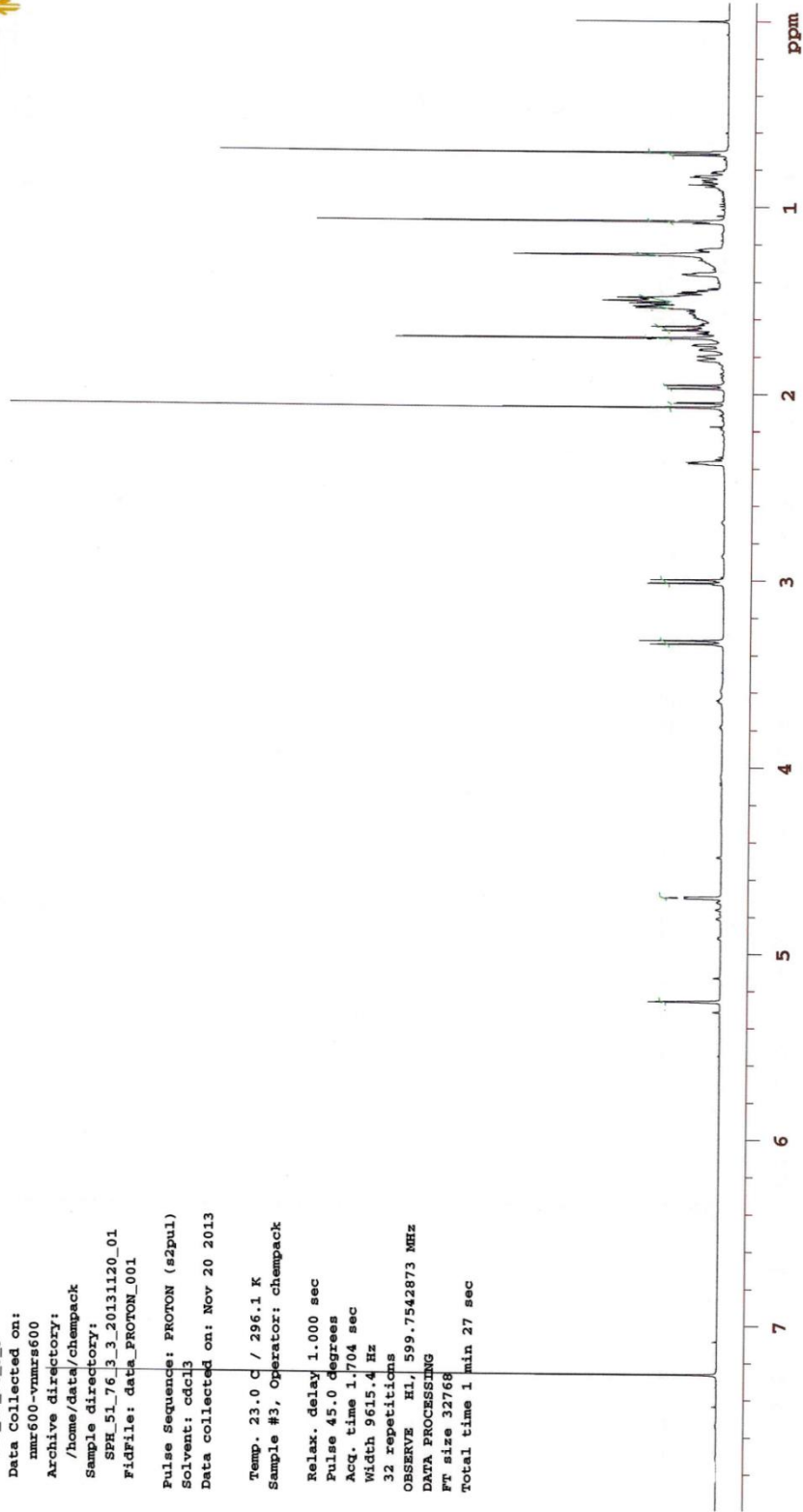
**EIMS (rel.int.) m/z:** 346.0 [M]<sup>+</sup> (33) (C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub>), 315.0 [M-31]<sup>+</sup> (4), 303.9 [M-44]<sup>+</sup> (71), 287.0 [M-OAc]<sup>+</sup> (76), 268.1 [M-60-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (76), 256.0 (92), 241.0 (32), 227.0 (33), 203.0 (34), 185.1 (61), 161.0 (64), 147.0 (54), 133.0 (54), 118.0 (79), 109.0 (100), 93.0 (75), 81.0 (74), 67.0 (57)



Şekil 3.22: Siderol bileşiğinin IR spektrumu.



Sample Name:  
SPH\_51\_76\_3\_3  
Data Collected on:  
nmr600-vnmrs600  
Archive directory:  
/home/data/chempack  
Sample directory:  
SPH\_51\_76\_3\_3\_20131120\_01  
Fidfile: data\_PROTON\_001  
Pulse Sequence: PROTON (szpul)  
Solvent: cdcl3  
Data collected on: Nov 20 2013  
Temp. 23.0 C / 296.1 K  
Sample #3, Operator: chempack  
Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.704 sec  
Width 9615.4 Hz  
32 repetitions  
OBSERVE H1, 599.7542873 MHz  
DATA PROCESSING  
FT size 32768  
Total time 1 min 27 sec

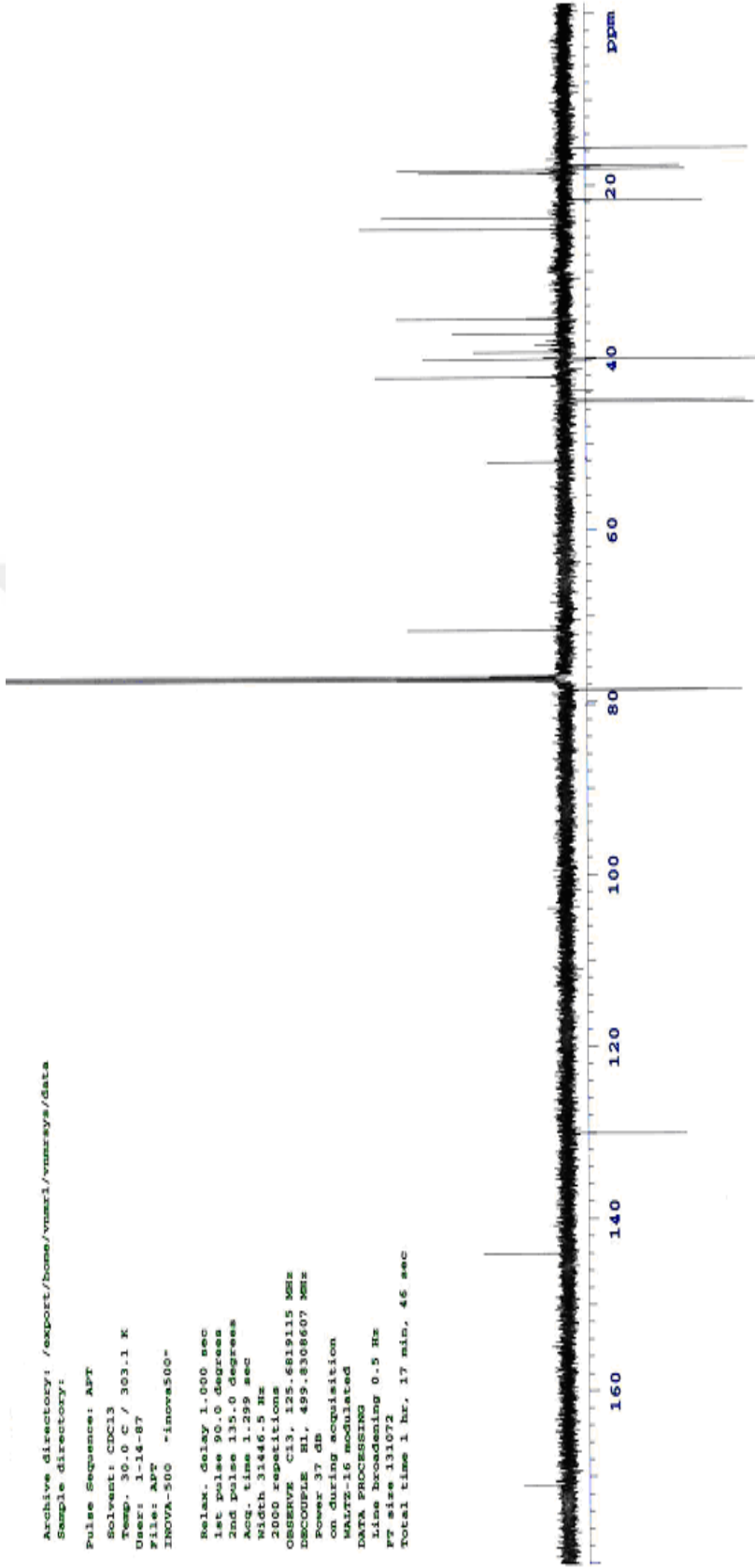


Şekil 3.23: Siderol bileşiginin <sup>1</sup>H-NMR spekturumu.

Archive directory: /export/home/vmar1/vmar1s/data  
Sample directory:

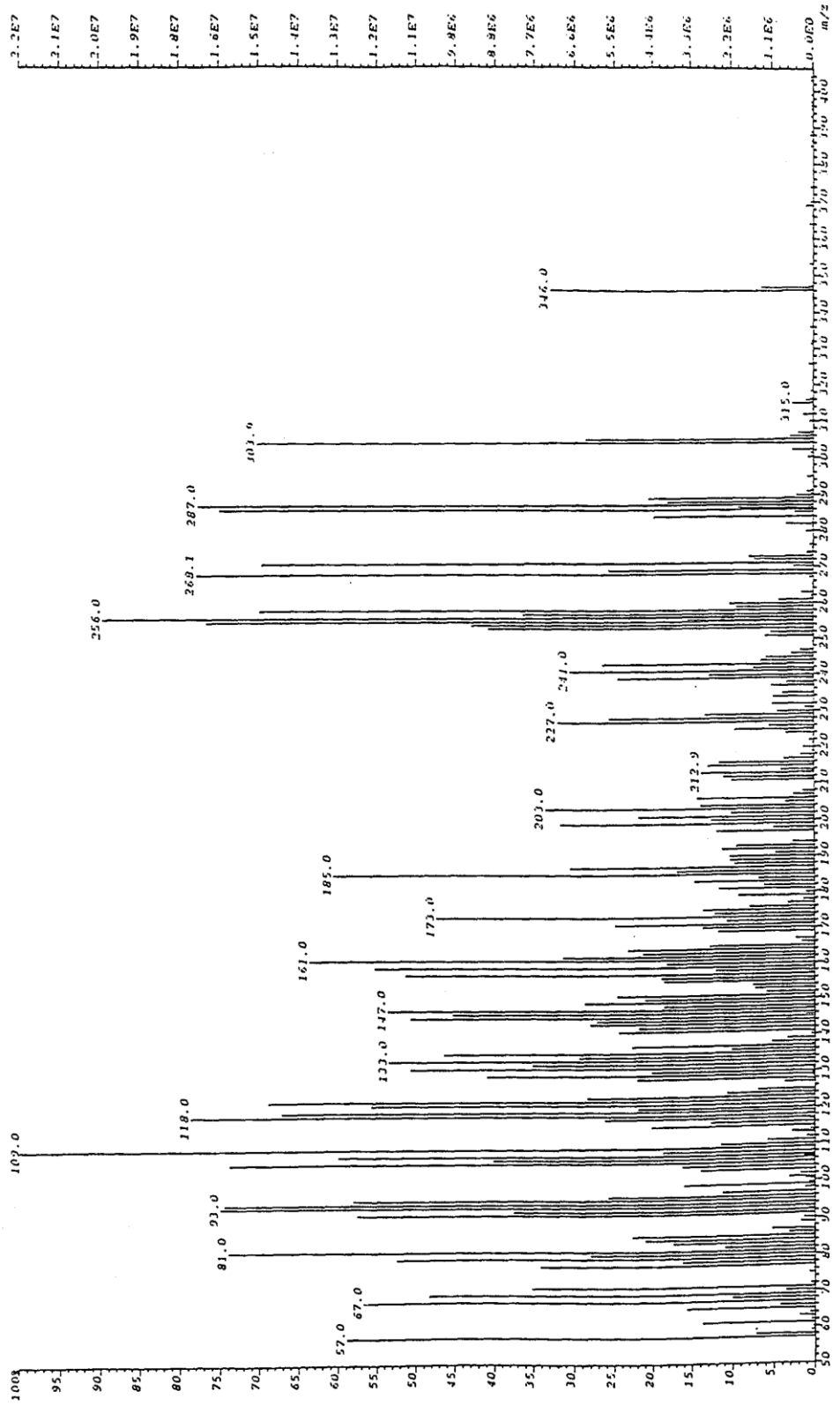
Pulse Sequence: APT  
Solvent: CDCl3  
Temp. 30.0 C / 303.1 K  
Date: 14-87  
File: APT  
PROVA-500 \*inova500\*

Relax. delay 1.000 sec  
1st pulse 90.0 degrees  
2nd pulse 135.0 degrees  
Acq. time 1.299 sec  
Width 31446.5 Hz  
2000 repetitions  
OBSERVE C13, 125.681915 MHz  
DECOUPLE H1, 499.8308607 MHz  
Power 37 dB  
on during acquisition  
MARRS16 scheduled  
Data processing  
File beginning 0.5 Hz  
F7 size 131072  
Total time 1 hr, 17 min, 46 sec



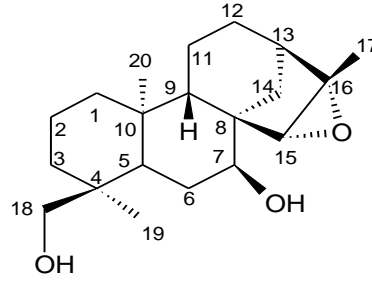
Şekil 3.24: Siderol Bileşiminin <sup>13</sup>C-NMR Spekturumu (APT).





Şekil 3.25: Siderol bileşiğinin EI/MS spekturumu.

### 3.3.2.2 Sideroxol (ent-7 $\alpha$ ,18-dihidroksi-15 $\beta$ , 16 $\beta$ -epoksikauran) (2)



**Sideroxol**

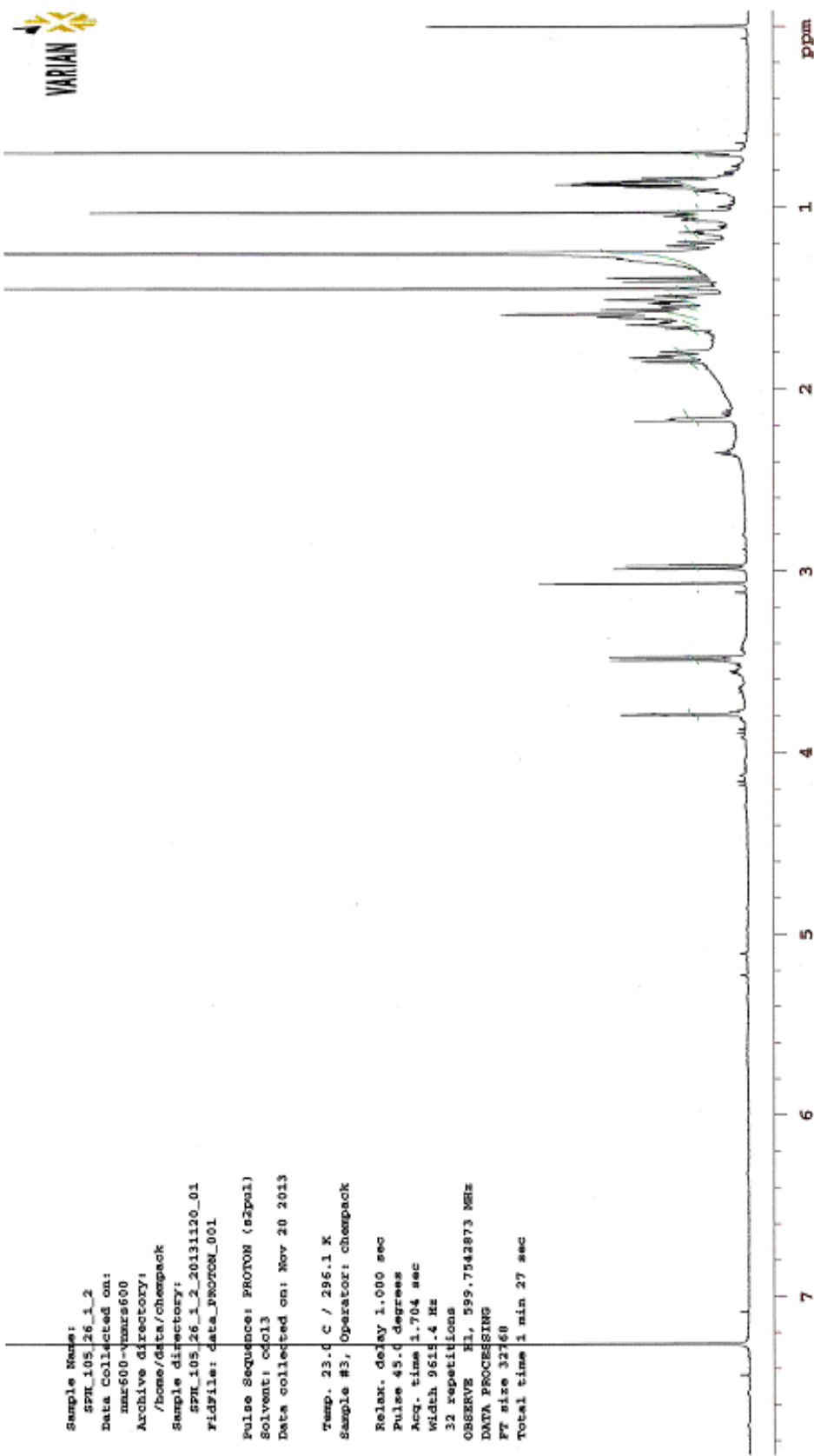
*S. phrygia* bitkisinin hekzan ekstresinden 3.9 mg olarak elde edilmiştir. Bileşiğin spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapısının ent-7 $\alpha$ ,18-dihidroksi-15 $\beta$ , 16 $\beta$ -epoksikauran (sideroxol) olduğu belirlenmiştir [12,58,123].

DEPT teknikleriyle alınan  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumunda (Şekil.3.27) metil, 8 metilen, 5 metin ve 4 katerner karbon olmak üzere toplam 20 karbon sinyali gözlemlendi. Moleküldeki sekonder hidroksil grubuna komşu metin karbonuna (C-7) ait sinyal 71.3 ppm' de gözlenirken oksijen taşıyan diğer bir karbon olan C-15 63.8 ppm' de gözlemlendi. Karakteristik C-18 karbonuna ait sinyal ise 71.2 ppm' de gözlemlendi. Moleküldeki üç metil karbonuna ait sinyaller 14.1, 17.40 ve 18.1 ppm' de gözlemlendi.

**Tablo 3.19:** Sideroxol bileşiğinin  $^1\text{H}$ -NMR verileri (ppm).

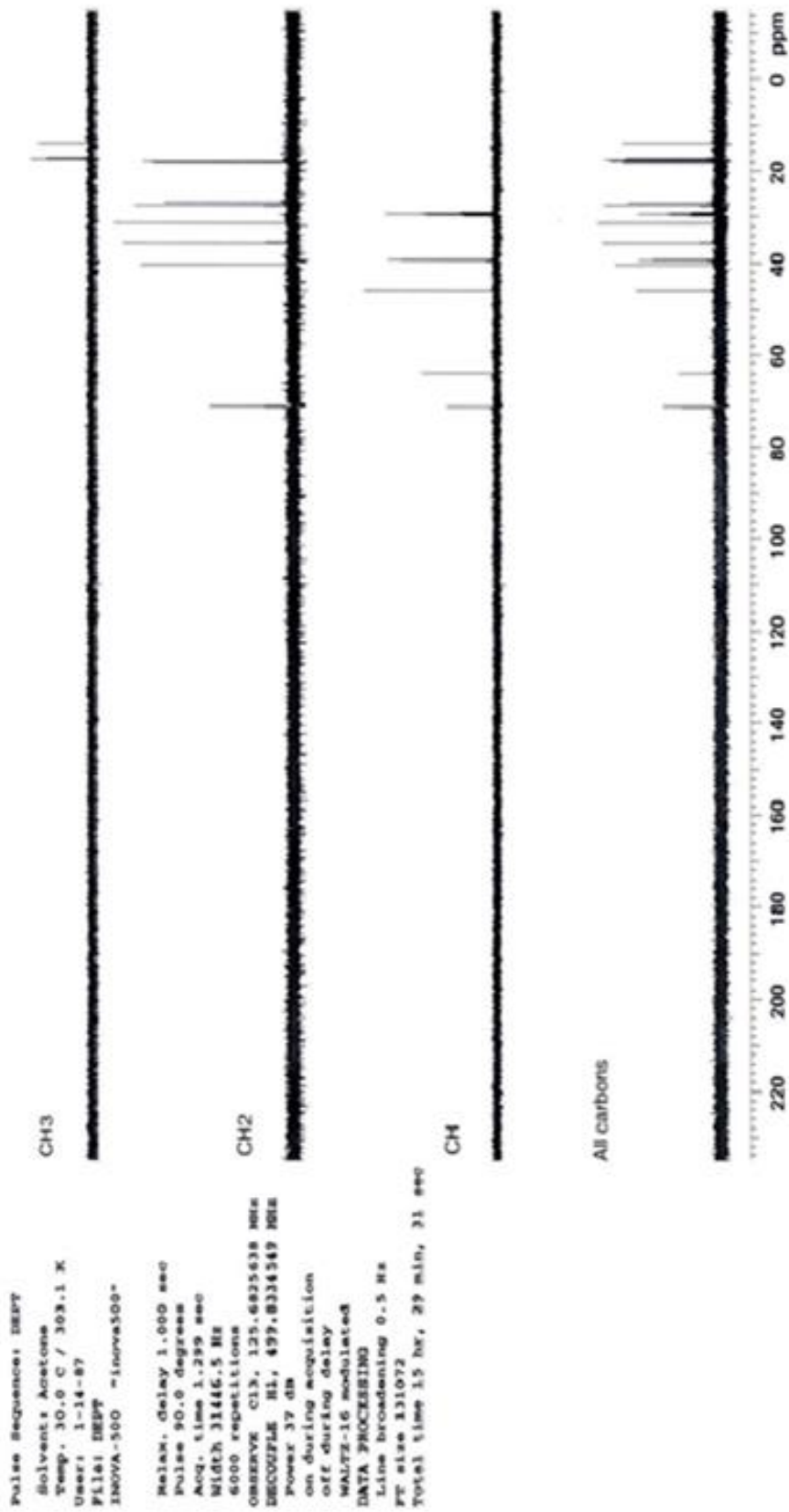
H-7	H-18a	H-18b	Me-17	Me-19	Me-20
4.79 (J=3 Hz)	2.96 (d, J=12 Hz)	3.49 (d, J=12 Hz)	1.40 (3H,s)	1.04 (3H,s)	0.69 (3H,s)

**EIMS (70 eV) m/z:** 320.3  $[\text{M}]^+$  (10), 302.2  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$  (13) 289.2  $[\text{M}-\text{CH}_2\text{OH}]^+$  (22), 271.2 (79), 257.2 (28), 245.2 (20), 227.2 (13), 213.1 (17), 197.1 (23), 187.1 (16), 173.1 (24), 159.1 (20), 133.1 (25), 123.1 (40), 106.0 (56), 91.0 (100), 81.0 (35), 67.0 (123), 57.0 (6).

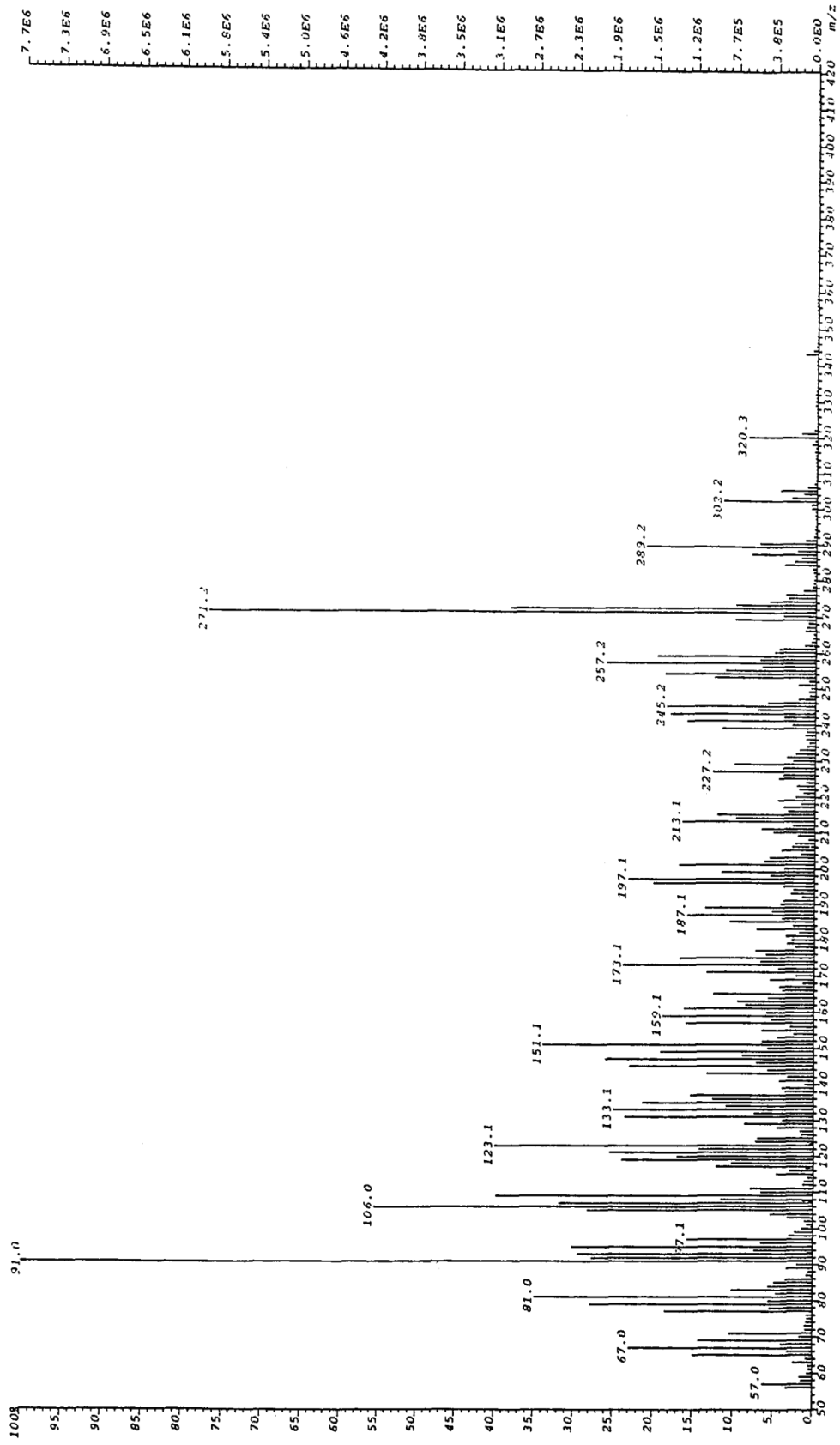


Sample Name:  
 SPH\_105\_26\_1\_2  
 Data Collected on:  
 nmr500-vmars600  
 Archive Directory:  
 /home/data/chempack  
 Sample directory:  
 SPH\_105\_26\_1\_2\_20131120\_01  
 Fidfile: data\_PROTON\_001  
 Pulse Sequence: PROTON (zgpg30)  
 Solvent: cdCl3  
 Data collected on: Nov 20 2013  
 Temp. 23.0 C / 296.1 K  
 Sample #3, Operator: chempack  
 Relax. delay 1.000 sec  
 Pulse 45.0 degrees  
 Acq. time 1.704 sec  
 Width 9615.4 Hz  
 32 repetitions  
 OBSERVE F1, 599.7542873 MHz  
 DATA PROCESSING  
 FT size 32760  
 Total time 1 min 27 sec

Şekil 3.26: Sideroxol bileşiminin <sup>1</sup>H-NMR Spekturumu.

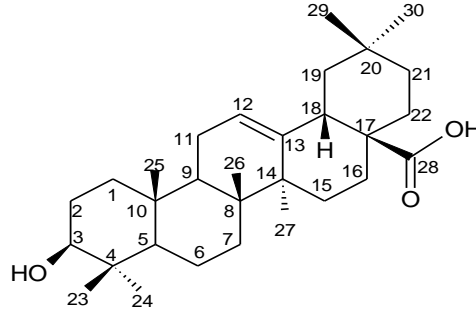


Şekil 3.27: Sideroxol bileşiminin  $^{13}\text{C}$ -NMR Spekturumu(DEPT).



Şekil 3.28: Sideroxol bileşiğinin EI/MS spekturumu.

**3.3.2.3 Oleanolik Asit (4aS,6aR,6As,6Br,8Ar,10S,12Ar,14bS)-10-hydroxy-2,2,6a,6b,9,9,12a-heptamethyl-1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahydrop,cene-4a-carboxylic acid) (3)**



**Oleanolik asit**

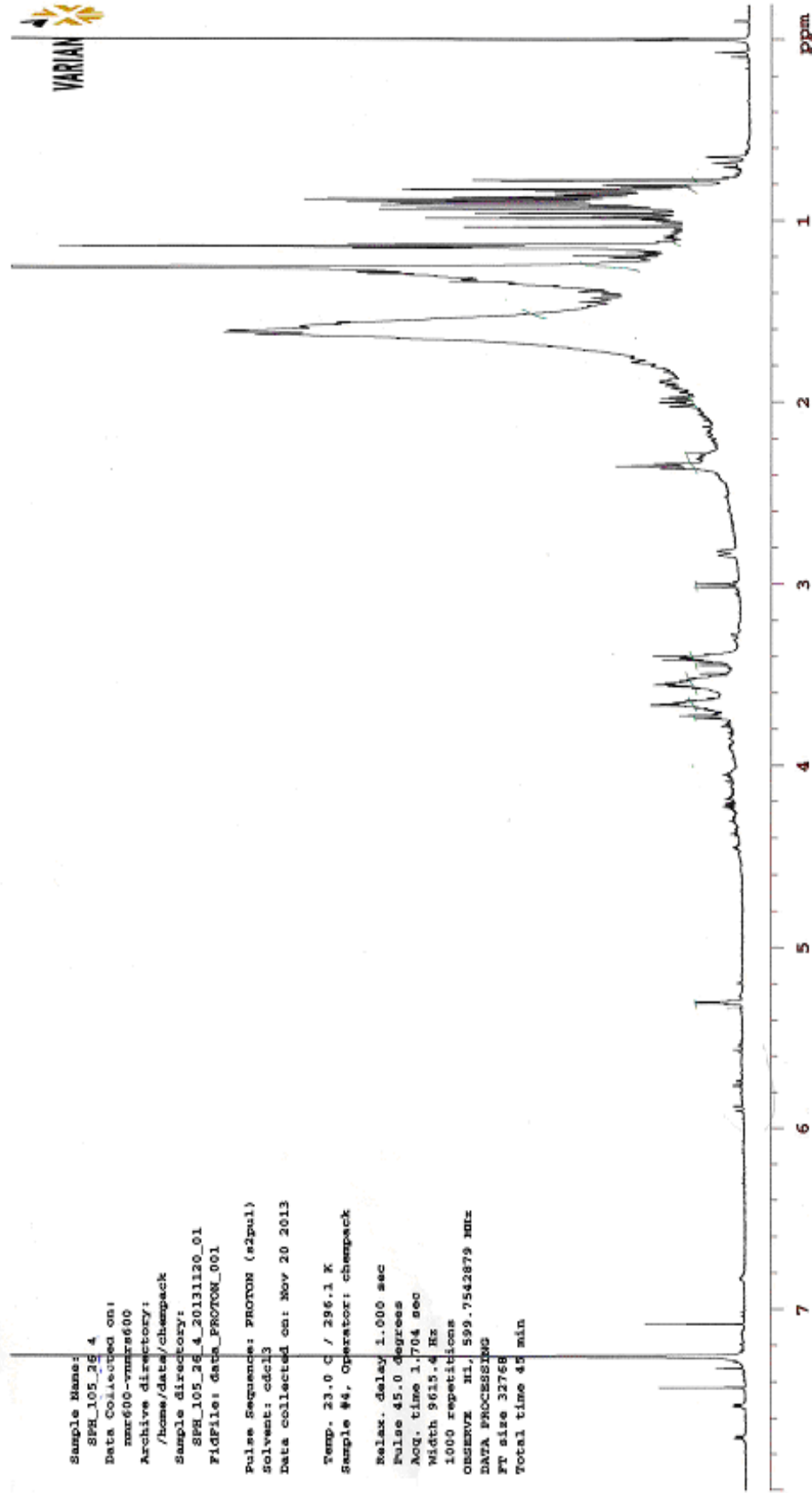
*S. phrygia* hekzan ekstresinden 0.7 mg olarak elde edilmiştir. Bileşiğin spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapısının Oleanolik asit (3- $\beta$ -Hydroxyolean-12-en-28-oic acid) olduğu belirlenmiştir [127].

**Tablo 3.20:** Oleanolik asit bileşiğinin  $^1\text{H-NMR}$  verileri (ppm).

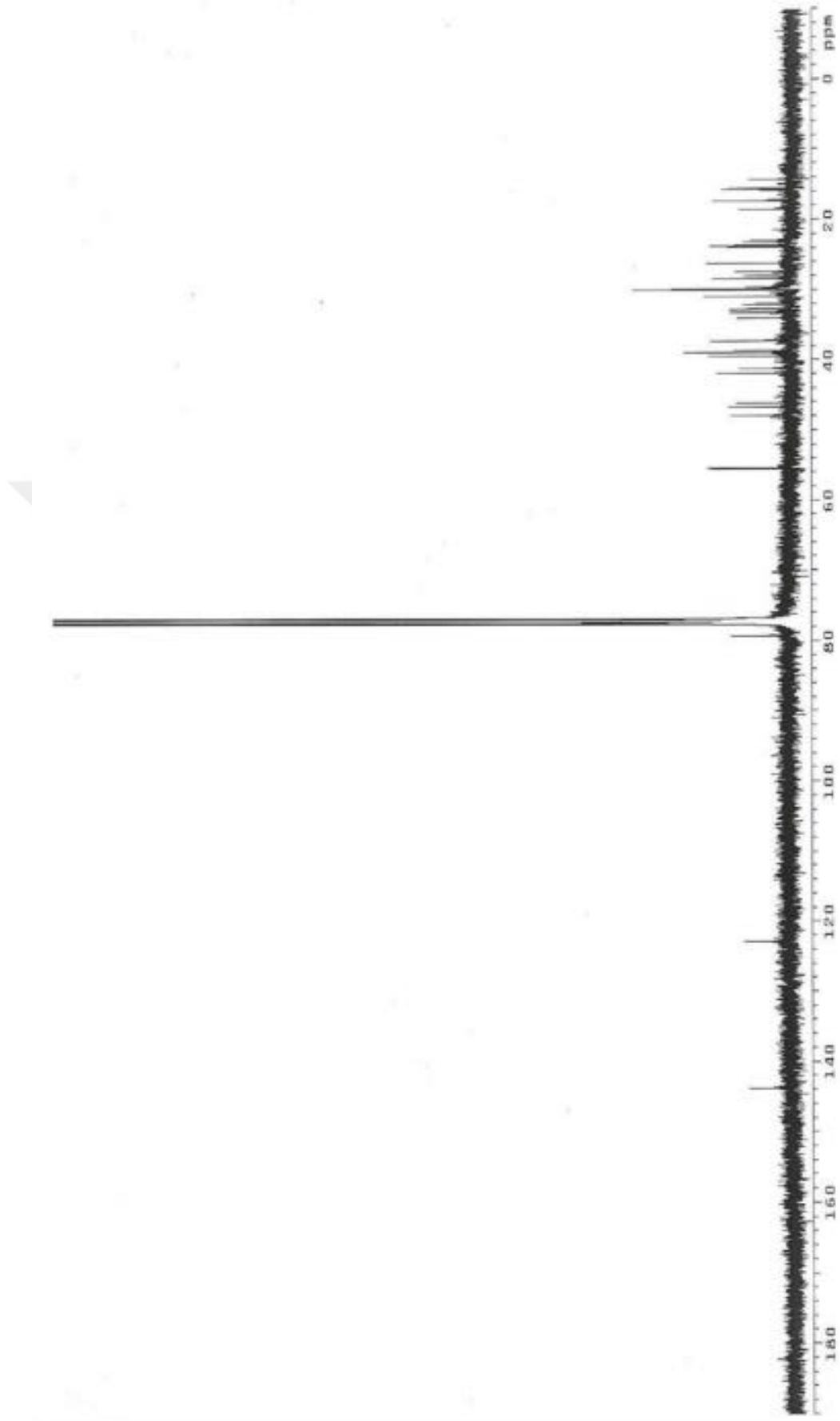
H-1	H-2	H-3	H-5	H-6	H-7	H-9	H-11
1.01		3.41 dd	0.9 d	1.57	1.53	1.7	1.98
1.56	1.79			1.39	1.35		
H-12	H-15	H-16	H-18	H-19	H-21	H-22	
5.5s	1.22	2.12 tr	3.3 dd	1.83	1.46	1.82	
	2.19	1.96		1.32	1.23	2.04	
H-23	H-24	H-25	H-26	H-27	H-29	H-30	
1.24s	1.01s	0.93s	1.03s	1.30s	0.97s	1.02s	

**Tablo 3.21:** Oleanolik asit bileşiğinin  $^{13}\text{C-NMR}$  verileri (ppm).

C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10
40.0	28.2	77.1	39.4	55.8	18.8	33.3	39.8	48.2	37.4
C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20
23.8	121.6	146.3	42.2	28.4	23.8	44.7	42.0	46.5	31.0
C-21	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28	C-29	C-30
34.5	33.2	28.8	16.6	15.6	17.5	26.2	180.2	31.3	23.8



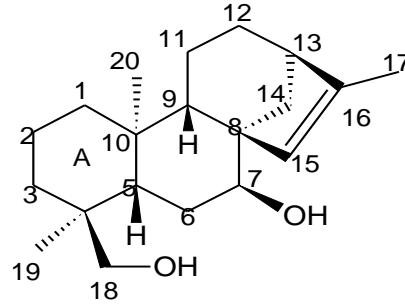
Şekil 3.29: Oleonik asit bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spekturumu.



**Şekil 3.30:** Oleanolik asit bileşiğinin  $^{13}\text{C-NMR}$  spekturumu.



### 3.3.2.4 Sideridiol (ent-7 $\alpha$ , 18 $\beta$ -dihidroksi kaur-15-en) (4)



**Sideridiol**

Sideridiol bileşiği, *S. phrygia* bitkisinin aseton ekstresinden 13.3 mg, metanol ekstresinden 3.5 mg elde edilmiştir. Bileşiğin spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapısının Sideridiol (ent-7 $\alpha$ , 18 $\beta$ -dihidroksi kaur-15-en) olarak belirlenmiştir [58,68,73,128].

**Tablo 3.22** Sideridiol bileşiğinin IR verileri (cm<sup>-1</sup>).

O-H	C-C	C=C
3400	2960-300	1600 ve 850

**Tablo 3.23:** Sideridiol bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR verileri (ppm).

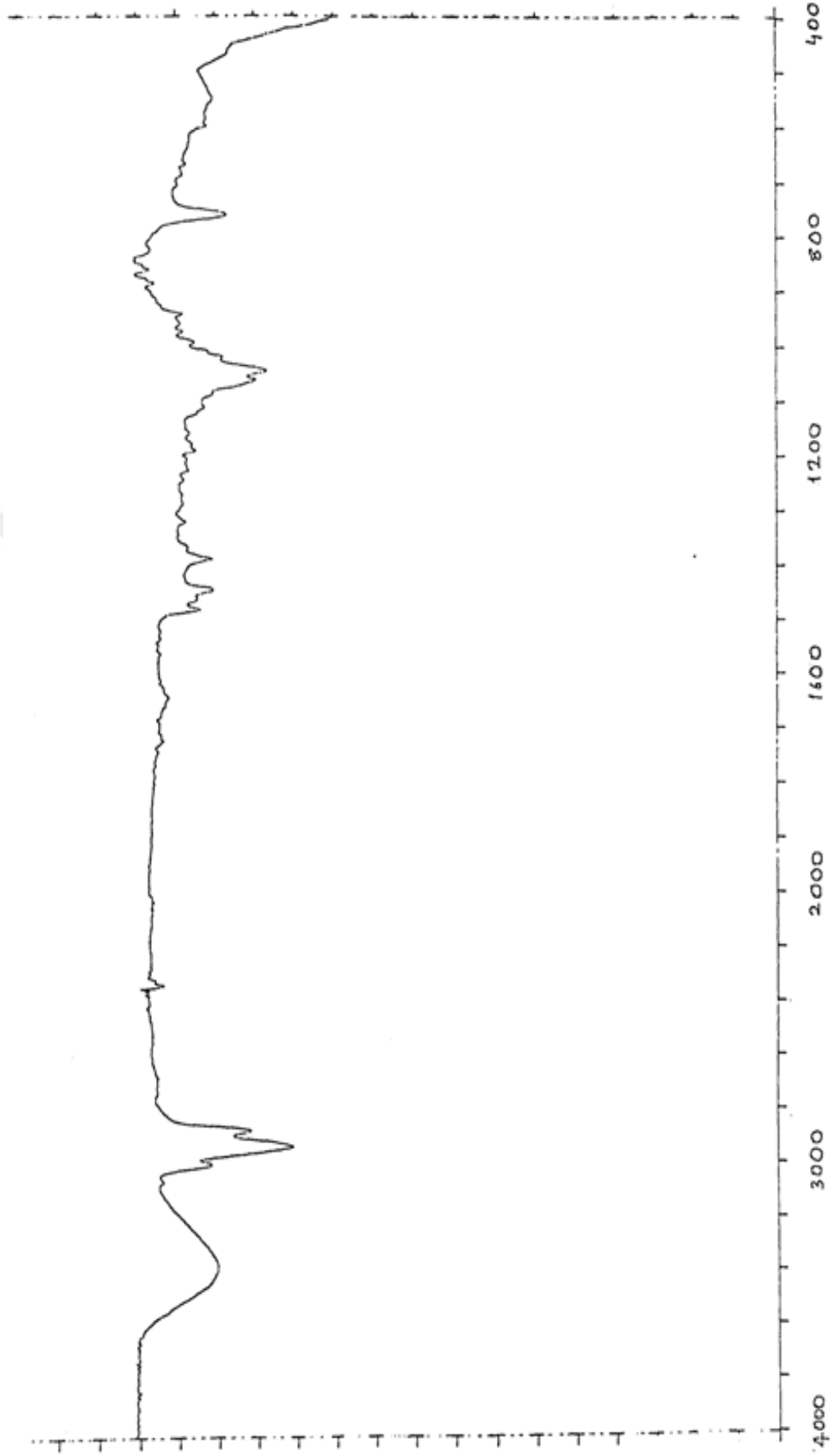
H-7	H-15	H-18a	H-18b	H-13	Me-17	Me-19	Me-20
3.61 (1H, t, J=2.5 Hz)	5.45 (1H, s)	2.95 (1H, d, J=11.5 Hz)	3.47 (1H, d, J=11.5 Hz)	2.36 (1H, m)	1.73 (3H, d, J=1 Hz)	0.68(3H, s)	1.05 (3H, s)

**Tablo 3.24:** Sideridiol bileşiğinin <sup>13</sup>C-NMR verileri (ppm).

C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10
42.02	18.35	35.24	37.10	44.60	25.00	75.42	51.80	44.80	39.29
C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20
18.05	26.32	44.24	44.24	129.65	146.08	15.53	71.08	17.72	17.72

**EIMS (rel.int.)  $m/z$ :** 304.2  $[M]^+$  (94) ( $C_{20}H_{32}O_2$ ), 286.2  $[M-H_2O]^+$  (58), 273.2  $[M-CH_2OH]^+$  (54), 268.2  $[M-2H_2O]^+$  (6), 255.2 (92), 241.2 (23), 227.2 (28), 211.1 (15), 199.1 (19), 185.1 (16), 173.1 (22), 164.1 (87), 149.1 (50), 131.1 (42), 123.1 (99), 109.0 (87), 94.0 (100), 81.0 (71), 67.0 (37), 57.0 (21).





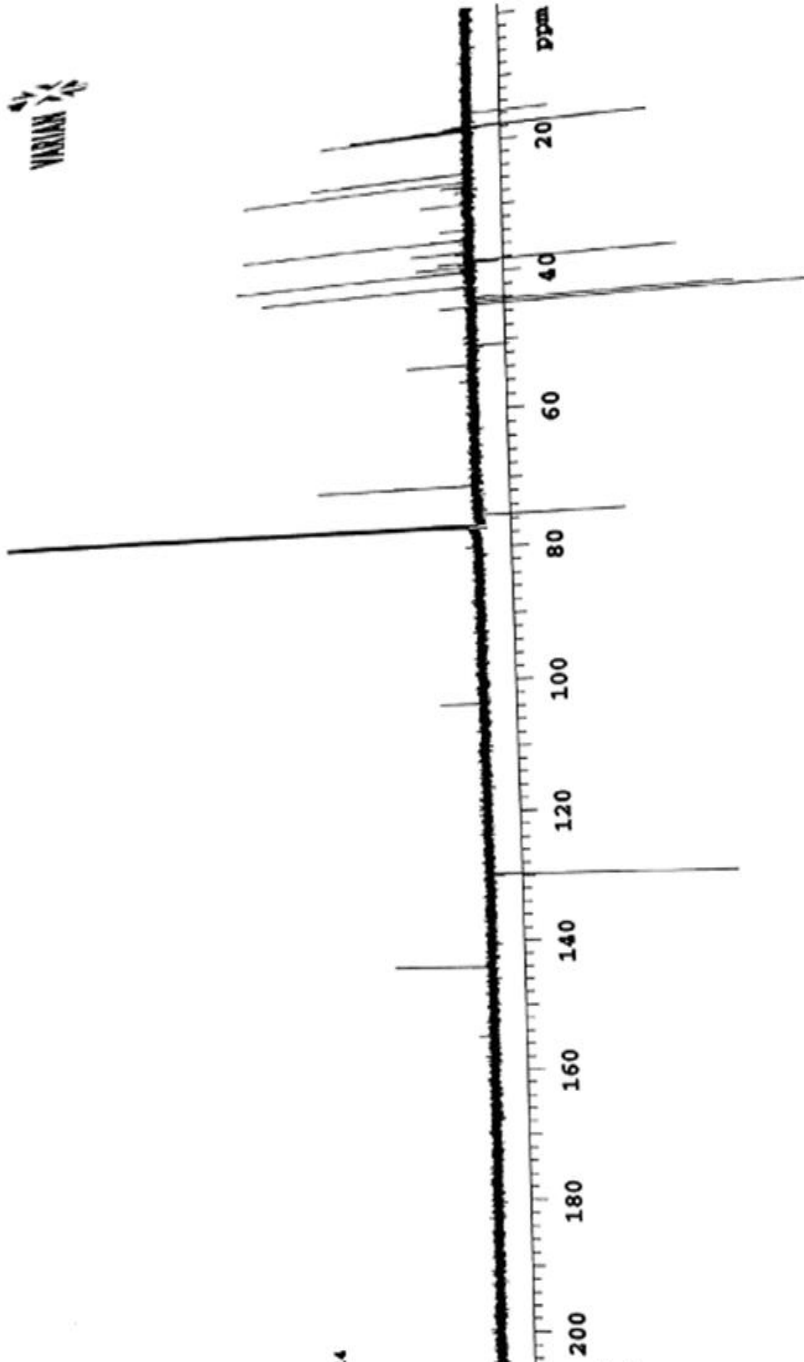
**Şekil 3.31:** Sideridiol bileşiğinin IR spekturumu.



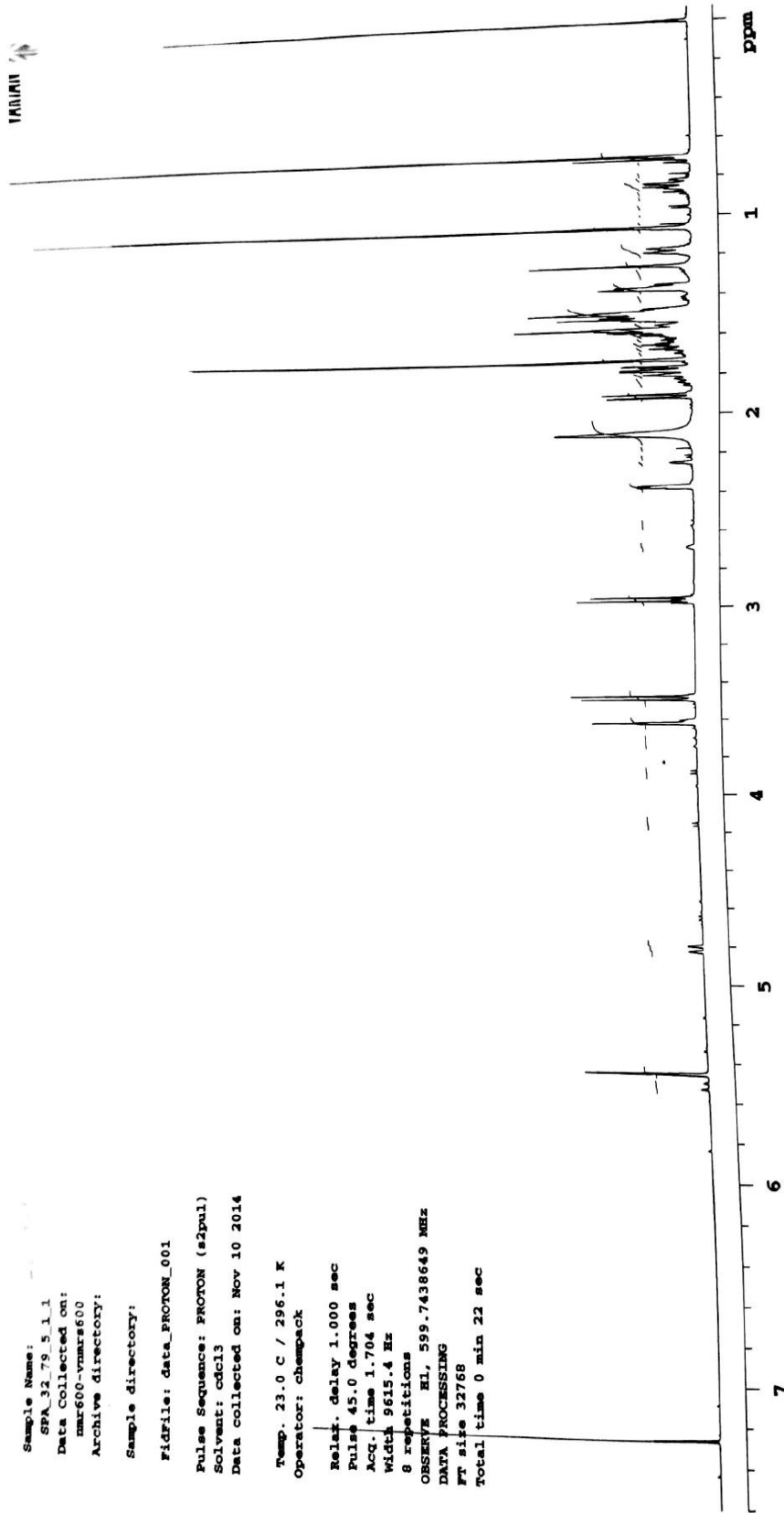
STANDARD CARBON PARAMETERS

Sample Name:  
SPA\_32\_79\_3\_1\_1  
Data Collected on:  
nmr600-vmars600  
Archive directory:  
Sample directory:  
FIDFile: data\_APT\_001  
Pulse Sequence: APT  
Solvent: cdcl3  
Data collected on: Nov 10 2014

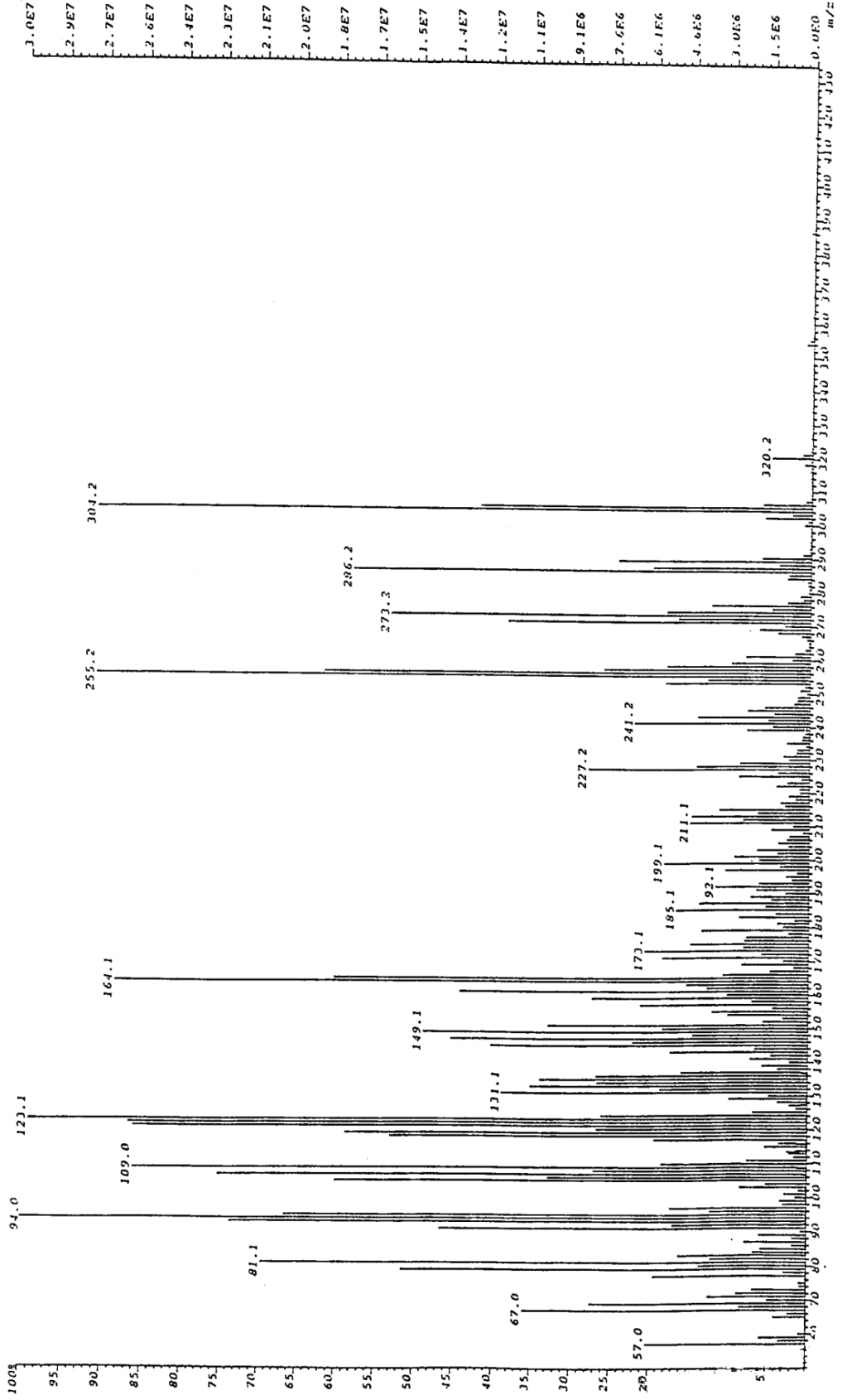
Temp. 23.0 C / 296.1 K  
Operator: champack  
Relax. delay 1.000 sec  
1st pulse 90.0 degrees  
2nd pulse 45.0 degrees  
Acq. time 0.865 sec  
Width 37878.8 Hz  
5000 repetitions  
OBSERVE C13, 150.8057169 MHz  
DECOUPLE H1, 599.7468720 MHz  
Power 44 dB  
on during acquisition  
MULTI-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 0.5 Hz  
FT size 65536  
Total time 2 hr, 37 min



Şekil 3.32: Sideridiol bileşiğinin <sup>13</sup>C-NMR spektrumu (APT).

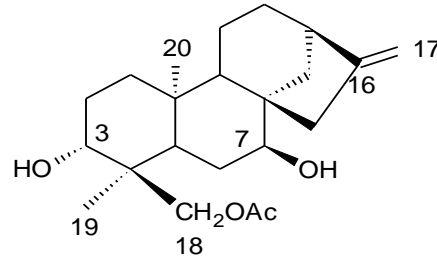


Şekil 3.33: Sideridiol bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu.



Şekil 3.34: Sideridiol bileşiğinin EI/MS spektrumu.

### 3.3.2.5 Linearol (ent-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -dihidroksi-18-asetoksikaur-16-en) (5)



**Linearol**

Linearol bileşiği *S. phrygia* bitkisinin hekzan ekstresinden 2.3 mg, aseton ekstresinden 8.8 mg, metanol ekstresinden 7.4 mg olarak elde edilmiştir. Bileşiğin spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapısının Linearol (ent-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -dihidroksi-18-asetoksikaur-16-en) olarak belirlenmiştir [58,61,73,128].

**Tablo 3.25:** Linearol bileşiğinin IR Verileri (cm<sup>-1</sup>).

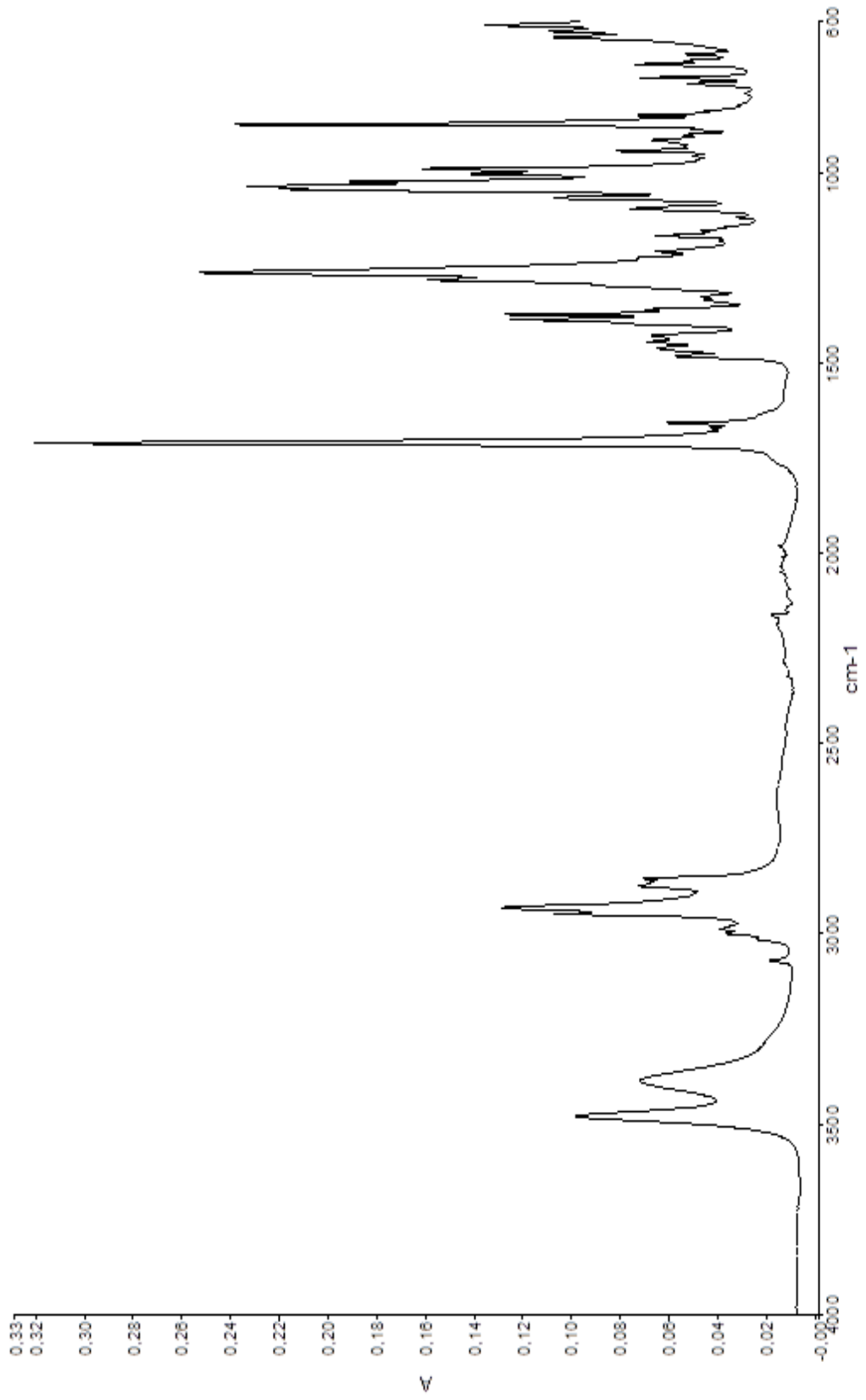
O-H	C-H	C=O	C=C
3400-3445	2920	1717	875-1665

**Tablo 3.26:** Linearol bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR verileri (ppm).

H-3	H-7	H-13	H-17	H-18	H-19	H-20	OAC
3,53(H) (d j=7,5Hz)	3,61 (H) (t,j=2,5Hz)	2,72 (H) (m)	4,79-4,82 (2H)	3,99-4,07 (2H) (d, j=11,5 Hz)	0,77 (3H) (s)	1,05 (3H) (s)	2,09 (3H) (s)

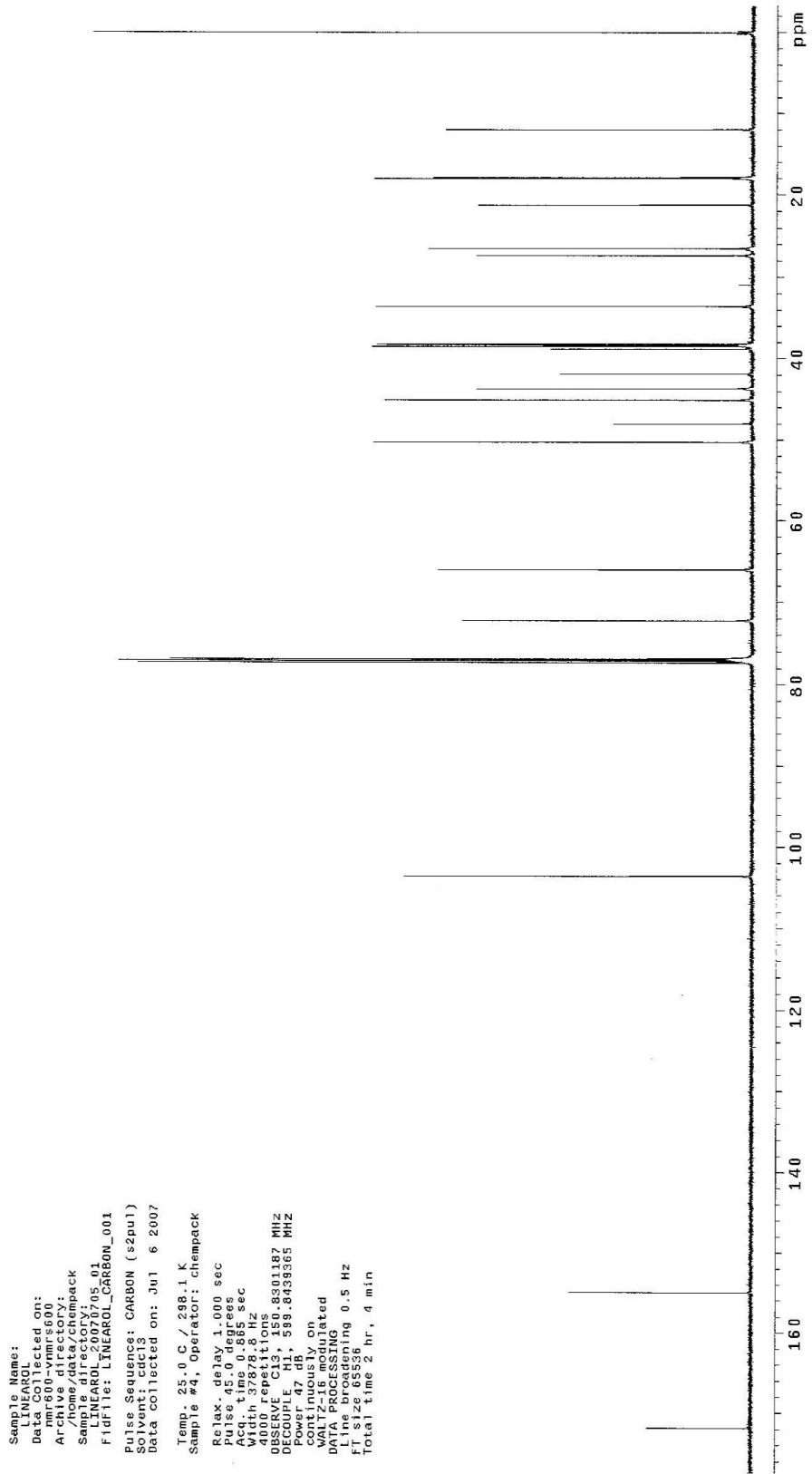
**Tablo 3.27:** Linearol bileşiğinin <sup>13</sup>C-NMR verileri (ppm).

C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	
38,42	27,33	72,22	38,77	38,29	26,48	76,24	
C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	
45,04	50,02	38,17	17,84	33,53	43,84	38,14	
C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	COCH3	COCH3
44,64	154,99	103,55	66,04	11,94	17,97	171,82	21,19

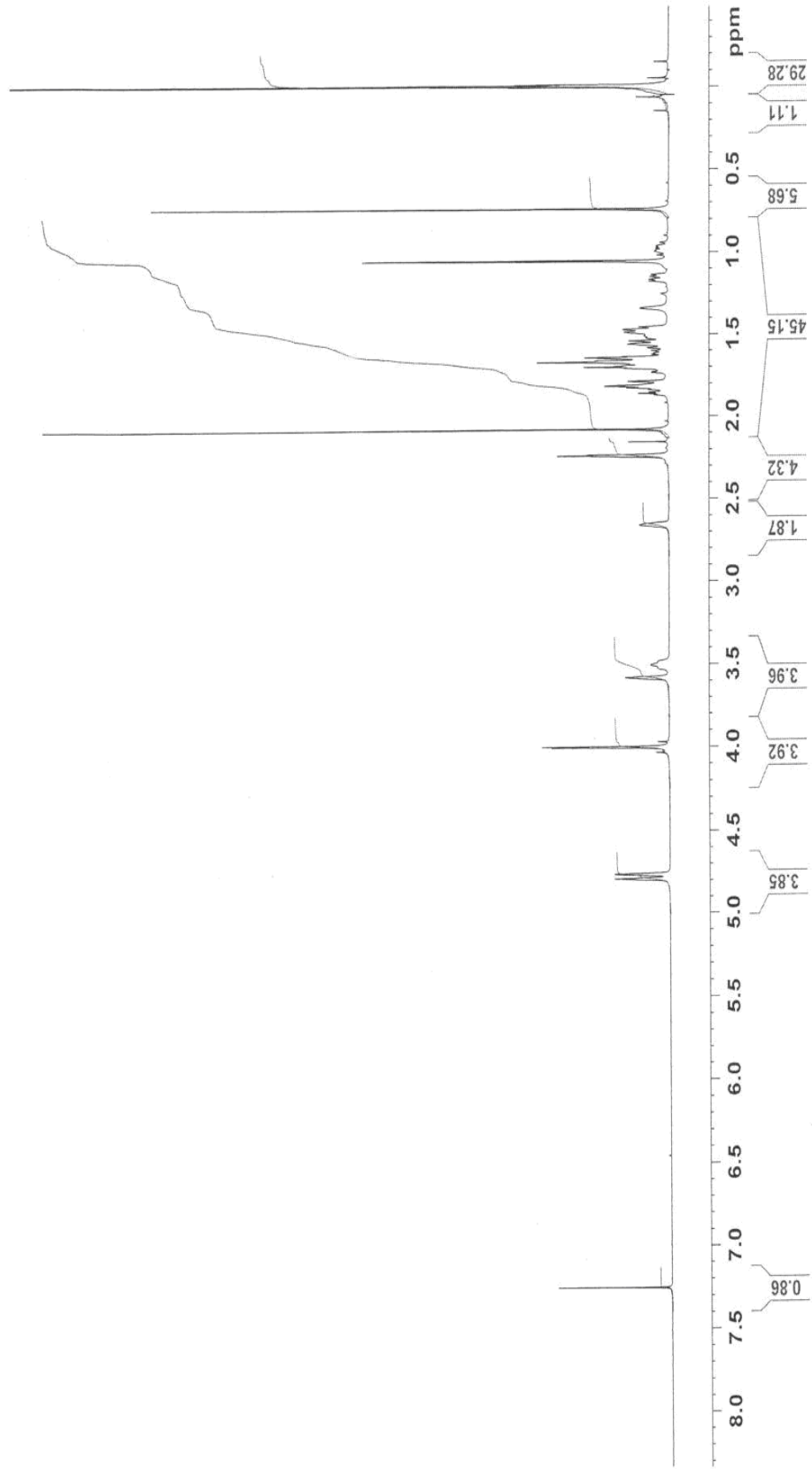


**Şekil 3.35:** Linearol bileşiğinin IR spekturumu.



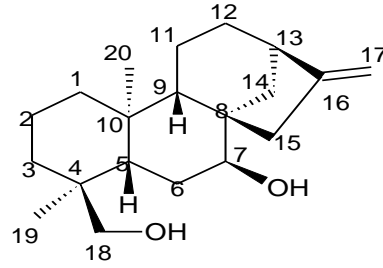


Şekil 3.36: Linearol bileşiğinin <sup>13</sup>C-NMR spekturumu.



Şekil 3.37: Linearol bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu.

### 3.3.2.6 7-epicandiciol (ent-7 $\alpha$ ,18-hidroksikaur-16-en) (6)



**7- epicandiciol**

7-epicandiciol bileşiği *S. phrygia* metanol ekstresinden 1.8 mg olarak elde edilmiştir. Bileşiğin spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapısının 7-epicandiciol (ent-7 $\alpha$ ,18-hidroksikaur-16-en) olduğu belirlenmiştir [12,58,70,128,129].

**Tablo 3.28:** 7-epicandiciol bileşiğinin IR verileri (cm<sup>-1</sup>).

O-H	C=C
3400	1660-880

**Tablo 3.29:** 7-epicandiciol bileşiğinin <sup>13</sup>C-NMR verileri (ppm).

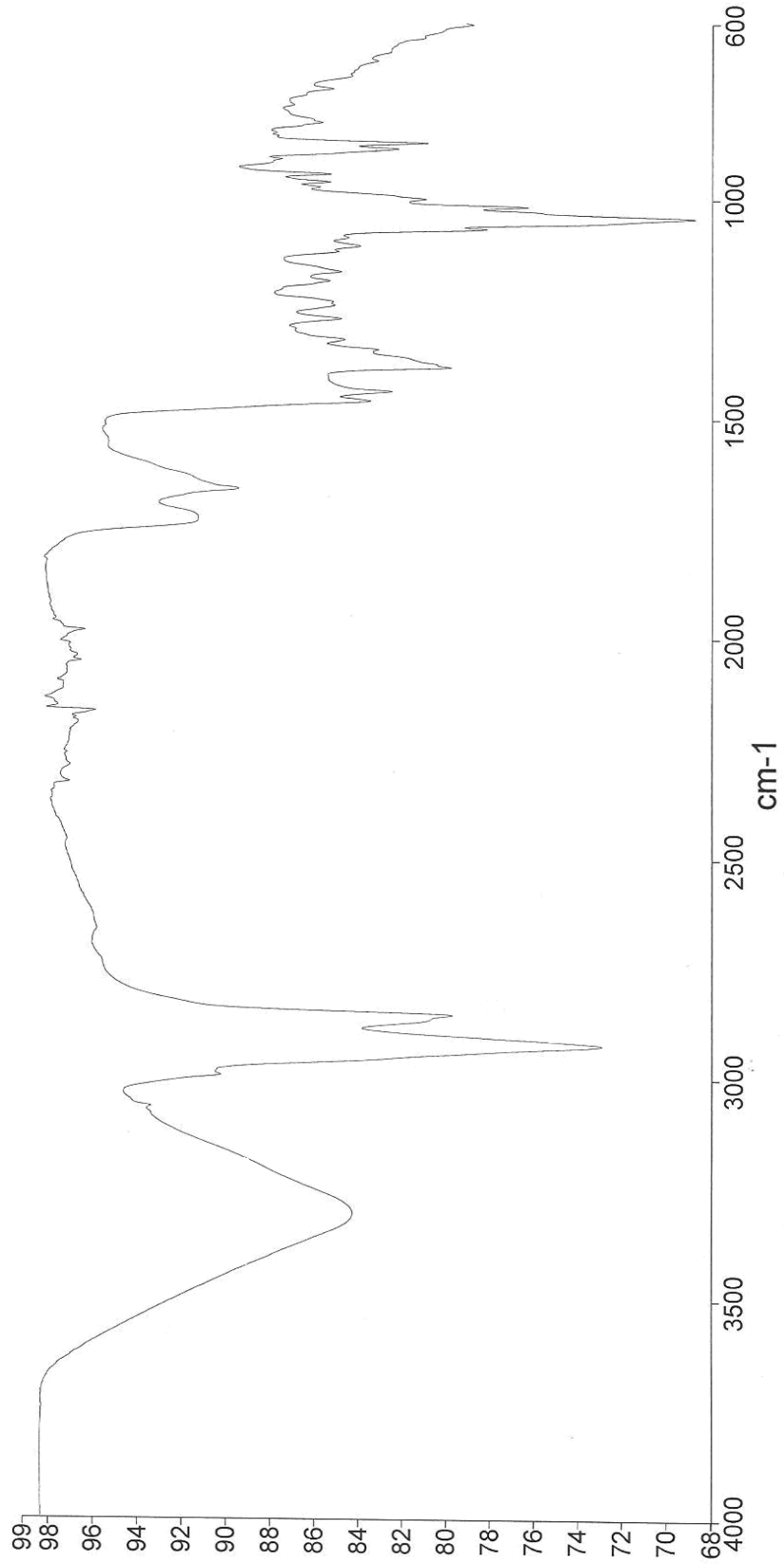
C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10
39,70	17,98	38,90	37,77	38,57	28,92	77,32	50,44	50,44	39,27
C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20
17,80	34,44	43,46	35,45	45,21	154,18	103,44	70,55	18,99	17,72

**Tablo 3.30:** 7- epicandiciol bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR verileri (ppm).

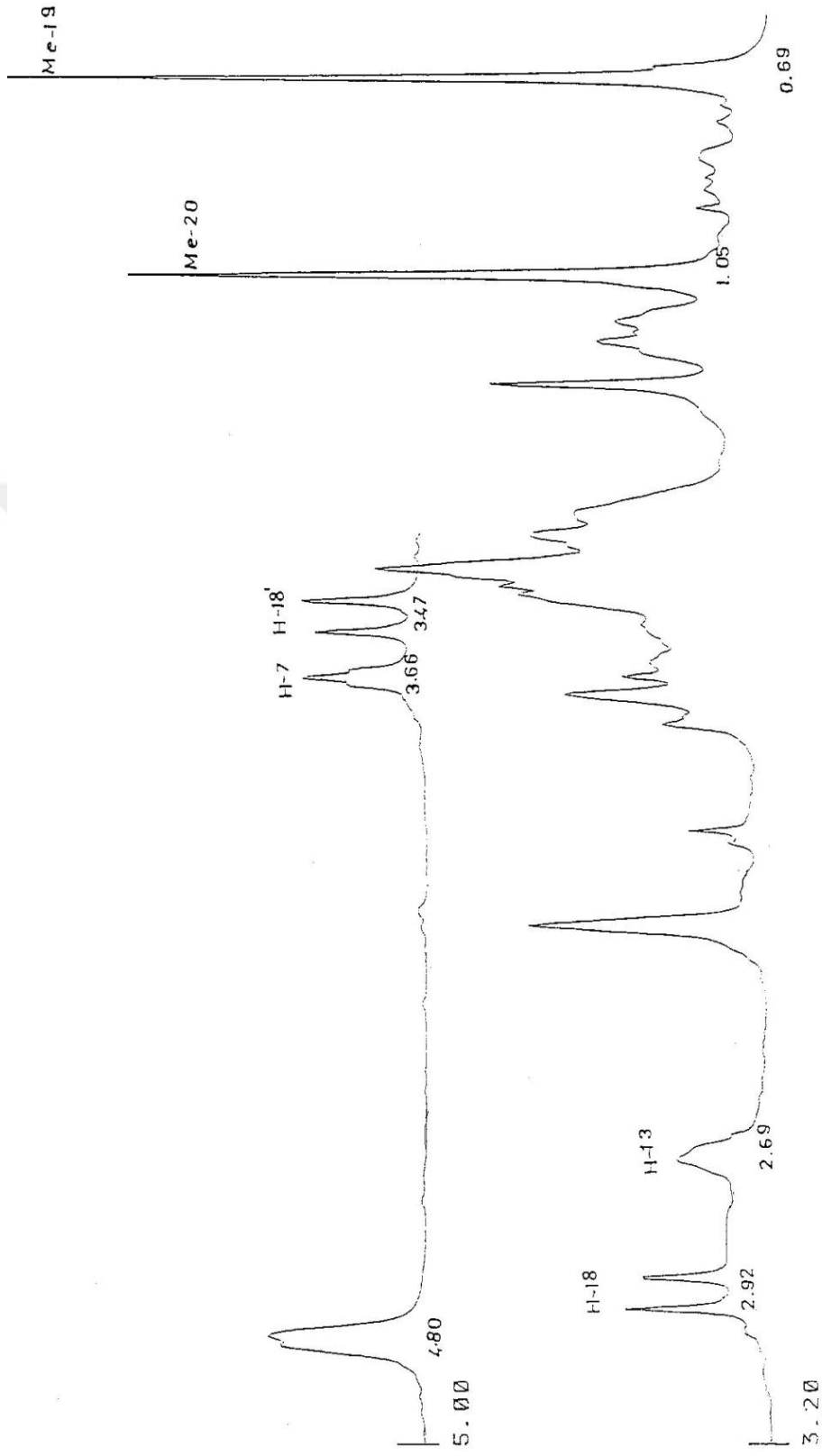
H-7	H-13	H-17a	H-18a
3,66 (1H, t, J=2.2 Hz)	2,69 (1H, m)	4,80	3,47 (d, J=12 Hz)
H-18b	H-19a	H-20a	
2,92 (d, J=12 Hz)	0,693H, s, Me-19)	1,05 (3H, s, Me-20)	

**EIMS (rel.int.)  $m/z$ :** 304.0  $[M]^+$  (4) ( $C_{20}H_{32}O_2$ ), 286.2  $[M-H_2O]^+$  (44), 271.0  $[286-CH_3]^+$  (21), 268.0  $[M-2H_2O]^+$  (15), 256.0  $[286-CH_3]^+$  (100), 241.0 (42), 213.0 (39), 199.0 (36), 185.0 (32), 173.0 (36), 159.0 (29), 145.0 (33), 131.0 (35), 121.0 (42), 109.0 (43), 93.0 (46), 81.0 (44), 67.0 (27).

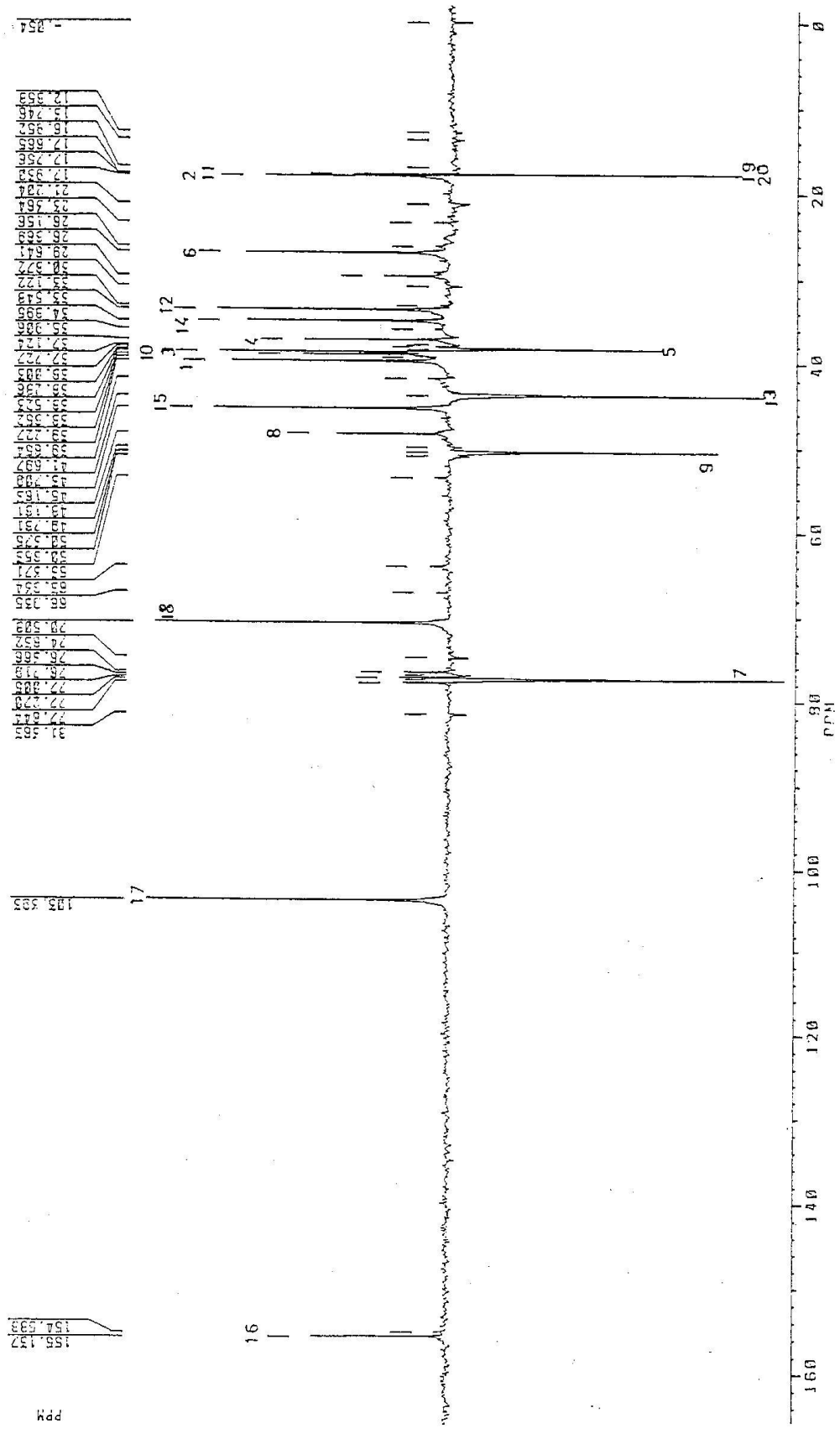




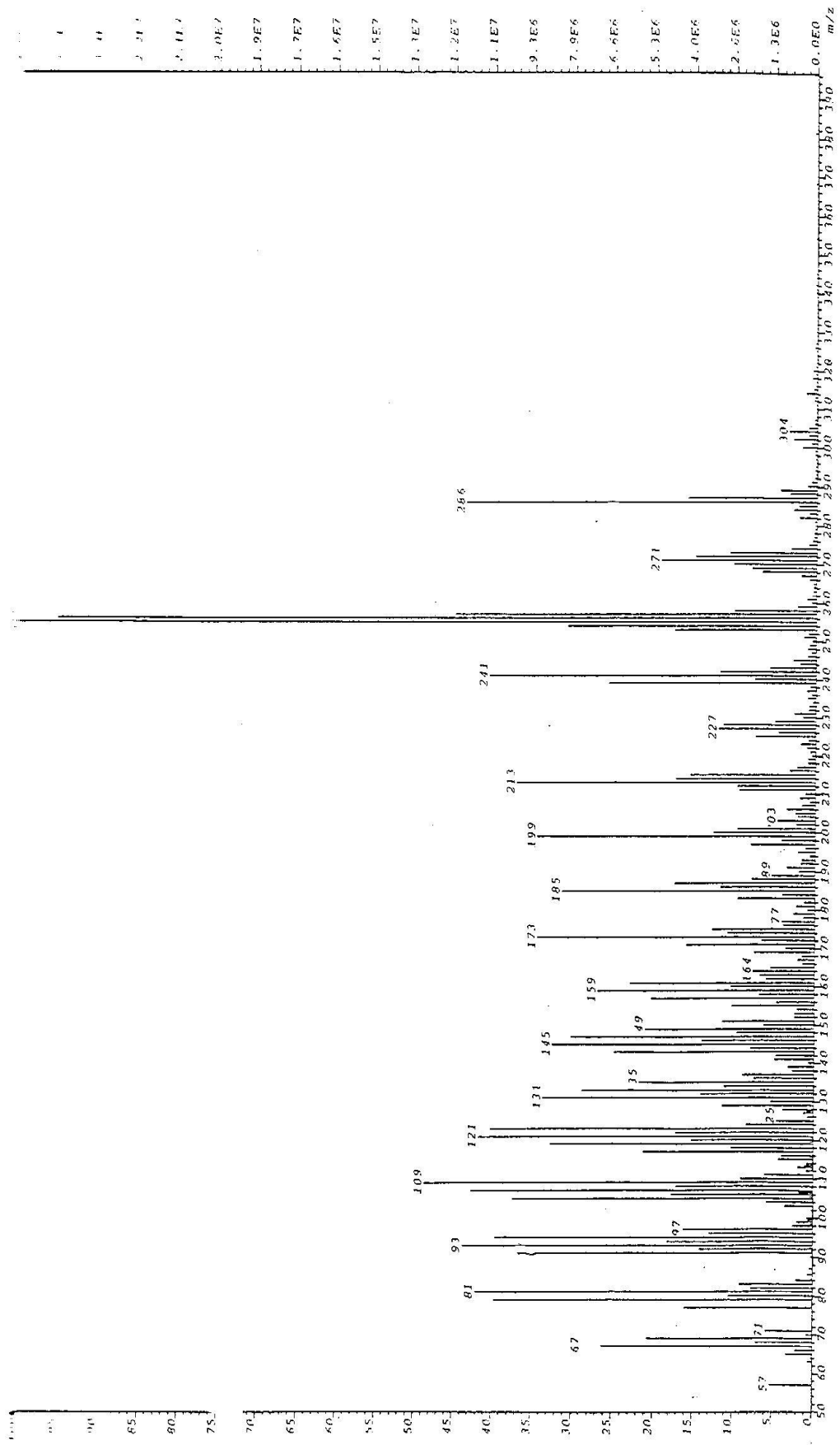
**Şekil 3.38:** 7-Epicandiciandiol bileşiğinin IR spekturumu.



**Şekil 3.39:** 7-Epicandiciol bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu.



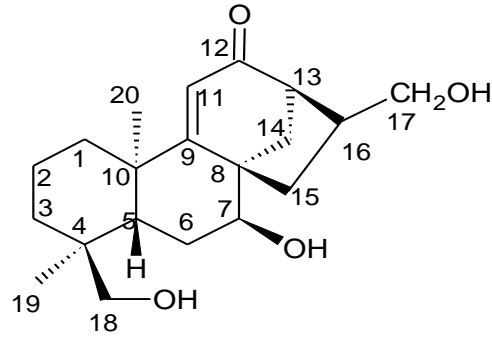
Şekil 3.40: 7-Epicandiciol bileşiğinin <sup>13</sup>C-NMR spekturumu.



Şekil 3.41: 7-Epicandiciol Bileşiğinin EI/MS Spekturumu.



### 3.3.2.7 Athanolone ( ent-7 $\alpha$ ,17,18-trihidroksi-9,11-(en)-12-on) (7)



**Athanolone**

Athanolone bileşiği *S. phrygia* metanol ekstresinden 3.7 mg olarak elde edilmiştir. Bileşiğin spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapısının Athanolone (ent-7 $\alpha$ ,17,18-trihidroksi-9,11-(en)-12-on) olduğu belirlenmiştir [58,128].

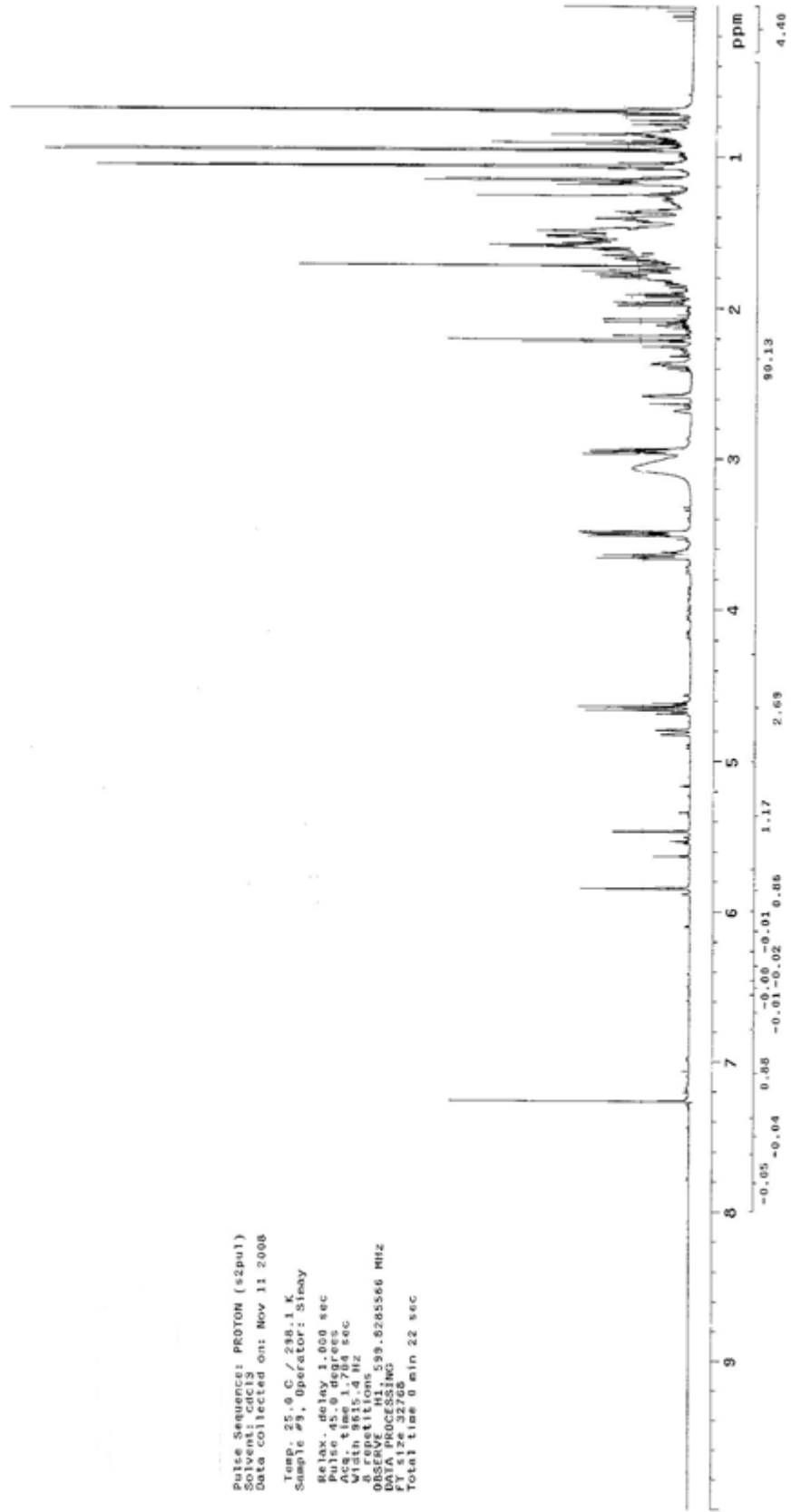
**Tablo 3.31:** Athanolone bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR verileri (ppm).

H-7	H-11	H-13	H-15	H-17	H-18	H-19	H-20
3.65 (t)	5.80 (s)	2.57 (m)	2.97 (s)	4.65 (s)	2.98-3.47 (dd, J=12Hz)	0.69 (s)	1.06 (s)

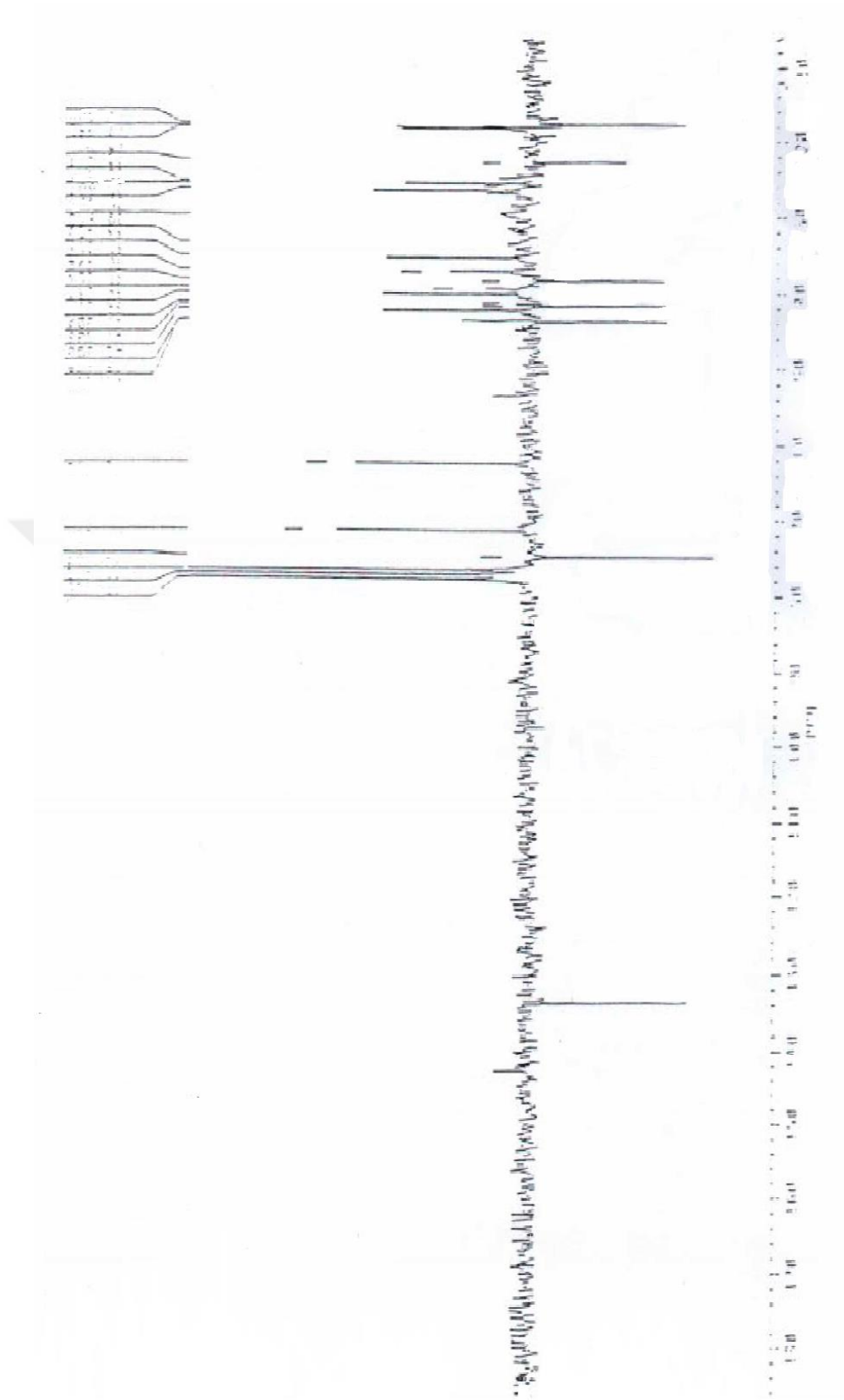
**Tablo 3.32:** Athanolone bileşiğinin <sup>13</sup>C-NMR verileri (ppm).

C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10
39.2	18.1	35.2	39.3	38.2	25.8	74.6	43.4	142.1	42.0
C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20
133.4	24.1	43.5	26.3	42.0	41.1	71.0	62.1	17.6	22.4

Pulse Sequence: PROTON (szpul)  
Solvent: CDCl3  
Data collected on: Nov 11 2008  
Temp. 25.0 C / 298.1 K  
Sample #9, Operator: Simay  
Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.704 sec  
Width 9615.4 Hz  
Waltz 9015.4 Hz  
Observer: H. H. H.  
OBSERVE F1: 599.828566 MHz  
DATA PROCESSING:  
F1: 512x 32768  
Total time 0 min 22 sec



Şekil 3.42: Athanolone bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spekturumu.



**Şekil 3.43:** Athanolone bileşiğinin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu.

### **3.3.3 *Sideritis pisidica* Boiss. Et Heldr. Apud Bentham Bitkisinden Elde Edilen Bileşikler**

*Sideritis pisidica* Boiss & Heldr bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan hekzan, aseton ve metanol ekstrelerinden bilinen 4 terpen bileşiği izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapıları aşağıdaki gibi belirlendi:

- Siderol (Ent-7 $\alpha$ -asetoksi,18-hidroksi-kaur-15-ene) (1)
- Sideridiol (ent-7 $\alpha$ , 18 $\beta$ -dihidroksi kaur-15-en) (4)
- Linearol (ent-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -dihidroksi-18-asetoksikaur-16-en) (5)
- Eubol (ent-7 $\alpha$ -asetil-15 $\beta$ ,18-dihidroksikaur-16-en) (8)

#### **3.3.3.1 Siderol (Ent-7 $\alpha$ -asetoksi,18-hidroksi-kaur-15-ene) (1)**

*Sideritis pisidica* bitkisinin hekzan, aseton ve metanol ekstrelerinden toplamda 40 mg izole edilen siderol bileşiğinin spektral verileri için sayfa 96 ve 97' ye bakınız.

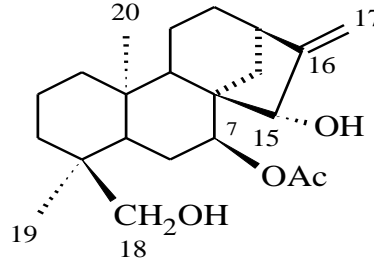
#### **3.3.3.2 Sideridiol (ent-7 $\alpha$ , 18 $\beta$ -dihidroksi kaur-15-en) (5)**

Sideridiol bileşiği *Sideritis pisidica* bitkisinin hekzan ekstresinden 14.7 mg, aseton ekstresinden 5.5 mg izole edilmiştir. Spektral veriler için sayfa 109' a bakınız.

#### **3.3.3.3 Linearol (ent-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -dihidroksi-18-asetoksikaur-16-en) (6)**

Linearol bileşiği *Sideritis pisidica* bitkisinin hekzan ekstresinden 10.1 mg, aseton ekstresinden 5.9 mg izole edilmiştir. Spektral veriler için sayfa 115' e bakınız.

### 3.3.3.4 Eubol (*ent*-7 $\alpha$ -asetil-15 $\beta$ ,18-dihidroksikaur-16-en) (8)



**Eubol**

Eubol (*ent*-7 $\alpha$ -asetil-15 $\beta$ ,18-dihidroksikaur-16-en) bileşiği bitkinin metanol ekstresinden 2.8 mg olarak elde edildi.

Bileşiğin alınan  $^1\text{H-NMR}$  spektrumunda (Şekil 3.44)  $\delta$  0.68 ve 1.07' de singletler halinde iki metil sinyali gözlemlendi.  $\delta$  2.82 ve 3.23'de izlenen dubletler C-18 hidroksimetilen grubuna ait AB protonları olarak belirlendi.  $\delta$  4.97' de izlenen triplet asetilene komşu H-7 protonuna işaret etti.  $\delta$  4.21' de gözlenen singlet H-15 protonuna işaret etti. Çift bağ protonları singletler halinde 5.11 ve 5.23 ppm' de izlendi. H-13 protonu multipllet halinde 2.78 ppm' de gözlemlendi.

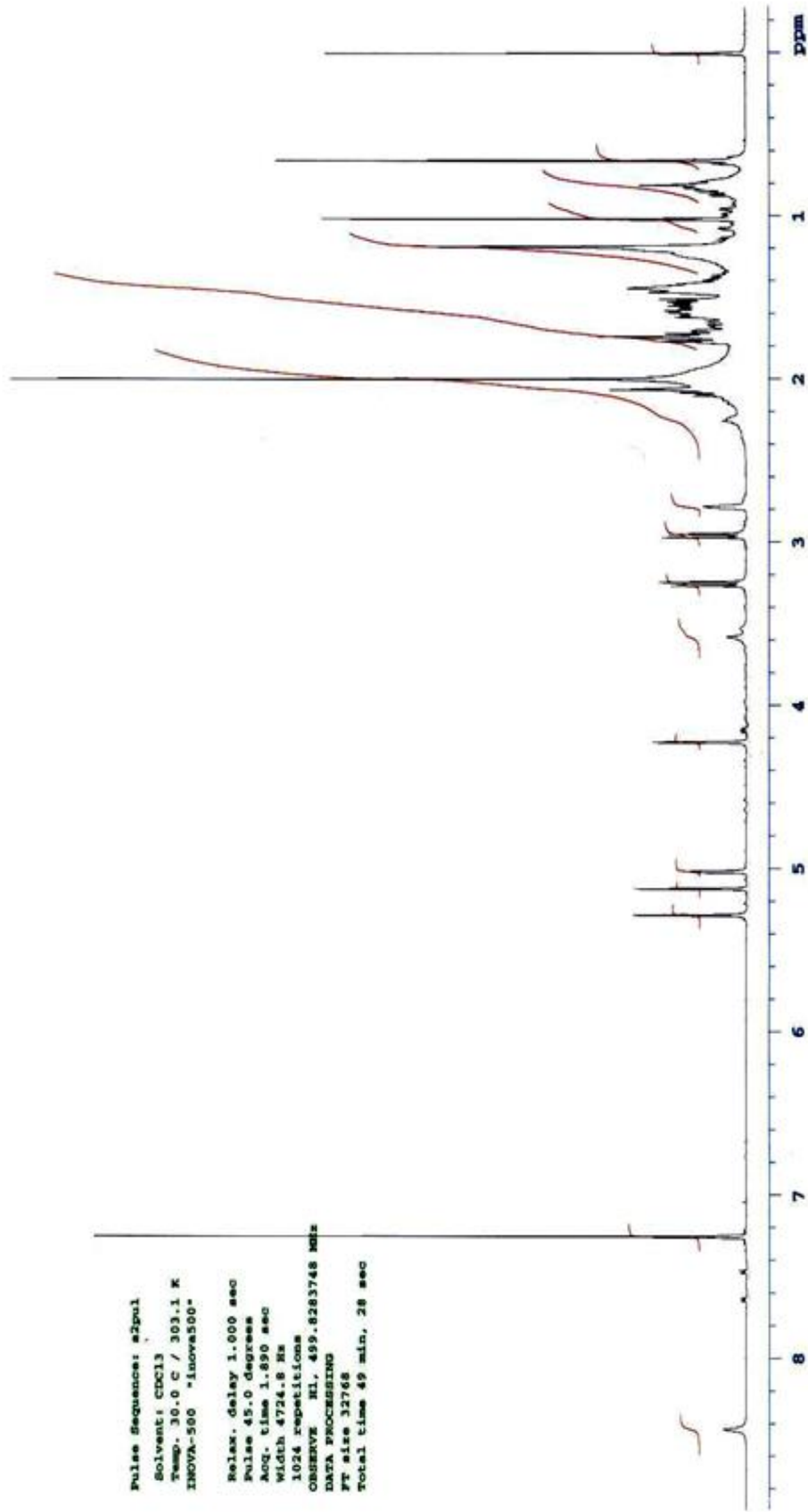
Bileşiğin spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında Eubol (*ent*-7 $\alpha$ -asetil-15 $\beta$ ,18-dihidroksikaur-16-en) olduğu belirlendi [58,61,70, 73,130,131,132].

**Tablo 3.33:** Eubol bileşiğinin  $^1\text{H-NMR}$  verileri (ppm).

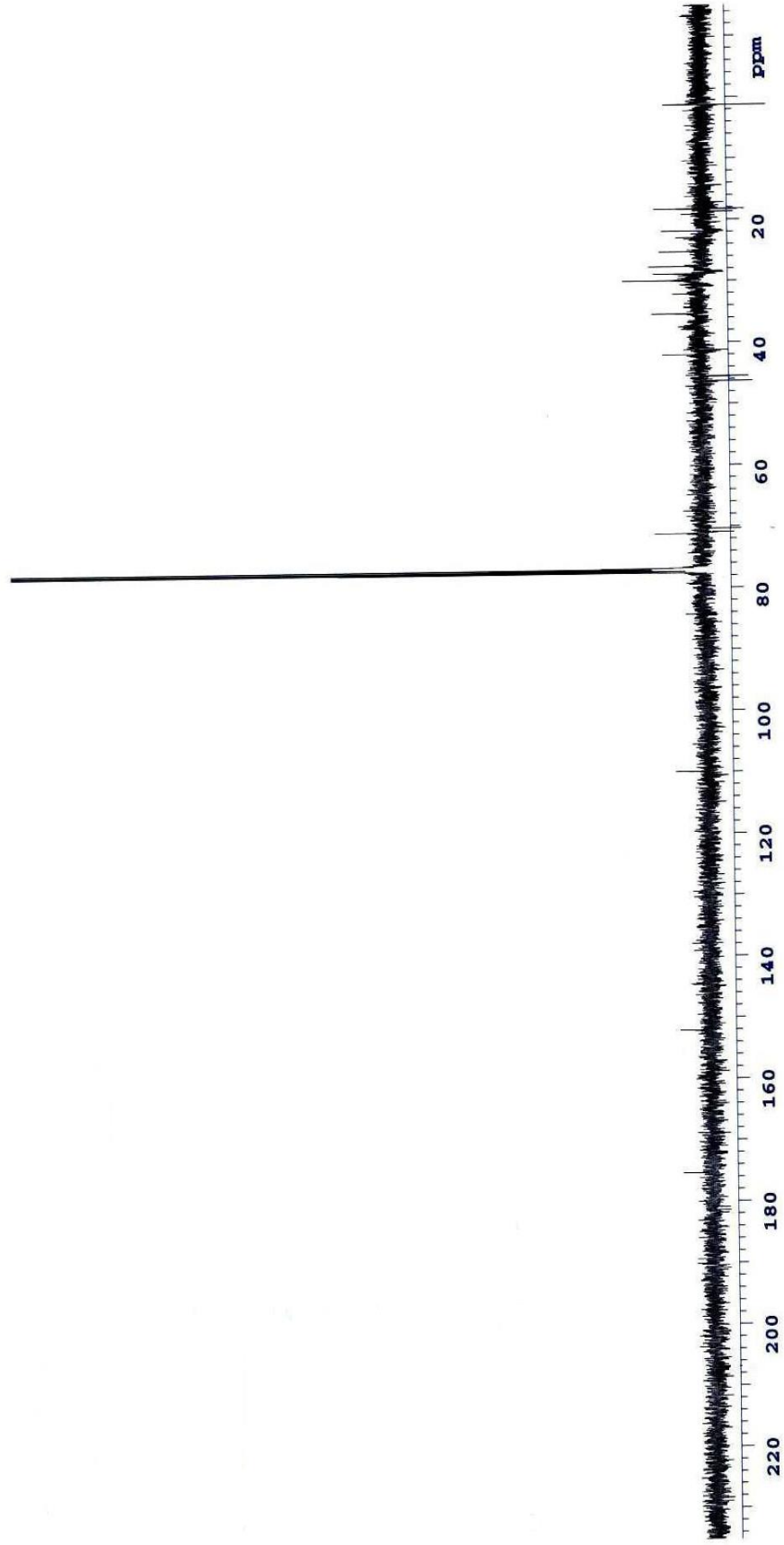
H-17	H-7	H-15	H-18a	H-18b	H-13	OAc	Me-20	Me-19
$\delta$ 5.11-5.23 (2H, s)	4.97 (1H, t, $J=2$ Hz)	4.21 (1H, s)	3.23 (1H, d, $J=12$ Hz)	2.82 (1H, d, $J=12$ Hz)	2.78 (1H, m)	2.07 (3H, s)	1.07 (3H, s)	0.68 (3H, s)

**Tablo 3.34:** Eubol bileşiğinin  $^{13}\text{C-NMR}$  verileri (ppm).

C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11
41.02	18.20	35.90	31.80	45.90	23.80	71.02	52.20	46.10	40.75	18.22
C-12	C-13	C-14	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	O-COCH <sub>3</sub>	O-COCH <sub>3</sub>
24.85	39.15	39.03	70.36	156.13	110.0	71.21	18.72	18.14	21.80	172.10



Şekil 3.44: Eubol bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spekturumu.



Şekil 3.45: Eubol bileşiğinin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu.

### 3.3.4 *Sideritis brevibracteata* P.H. Davis Bitkisinden Elde Edilen Bileşikler

*Sideritis brevibracteata* P.H. Davis bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan hekzan, aseton ve metanol ekstrelerinden bilinen 5 terpen bileşiği izole edilmiştir.

- Siderol (Ent-7 $\alpha$ -asetoksi,18-hidroksi-kaur-15-ene) (1)
- Sideridiol (ent-7 $\alpha$ , 18 $\beta$ -dihidroksi kaur-15-en) (4)
- Linearol (ent-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -dihidroksi-18-asetoksikaur-16-en) (5)
- Athanolone ( ent-7 $\alpha$ ,17,18-trihidroksi-9,11-(en)-12-on) (7)
- Eubotriol (ent-7 $\alpha$ ,15 $\beta$ ,18-trihidroksikaur-16-en) (9)

#### 3.3.4.1 Siderol (Ent-7 $\alpha$ -asetoksi,18-hidroksi-kaur-15-ene) (1)

Siderol (Ent-7 $\alpha$ -asetoksi,18-hidroksi-kaur-15-ene) bileşiği *Sideritis brevibracteata* bitkisinin hekzan, aseton ve metanol ekstrelerinden toplamda 22.2 mg olarak elde edilmiştir. Bu bileşiğin spektral verileri için sayfa 96 ve 97' ye bakınız.

#### 3.3.4.2 Sideridiol (ent-7 $\alpha$ , 18 $\beta$ -dihidroksi kaur-15-en) (4)

Sideridiol (ent-7 $\alpha$ , 18 $\beta$ -dihidroksi kaur-15-en) bileşiği *Sideritis brevibracteata* bitkisinin hekzan, aseton ve metanol ekstrelerinden toplam 7.4 mg izole edilmiştir. Bileşiğin spektral verileri için sayfa 109' a bakınız.

#### 3.3.4.3 Linearol (ent-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -dihidroksi-18-asetoksikaur-16-en) (5)

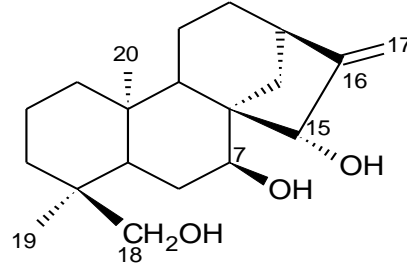
Linearol (ent-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -dihidroksi-18-asetoksikaur-16-en) bileşiği *Sideritis brevibracteata* bitkisinin metanol ekstresinden 2.3 mg izole edilmiştir. Bileşiğin spektral verileri için sayfa 115' e bakınız.

#### 3.3.4.4 Athanolone ( ent-7 $\alpha$ ,17,18-trihidroksi-9,11-(en)-12-on) (7)

Athanolone (ent-7 $\alpha$ ,17,18-trihidroksi-9,11-(en)-12-on) bileşiği *Sideritis brevibracteata* bitkisinin aseton ekstresinden 1.4 mg izole edilmiştir. Bileşiğin spektral verileri için sayfa 125' e bakınız.



### 3.3.4.6 Eubotriol (ent-7 $\alpha$ ,15 $\beta$ ,18-trihidroksikaur-16-en) (9)



**Eubotriol**

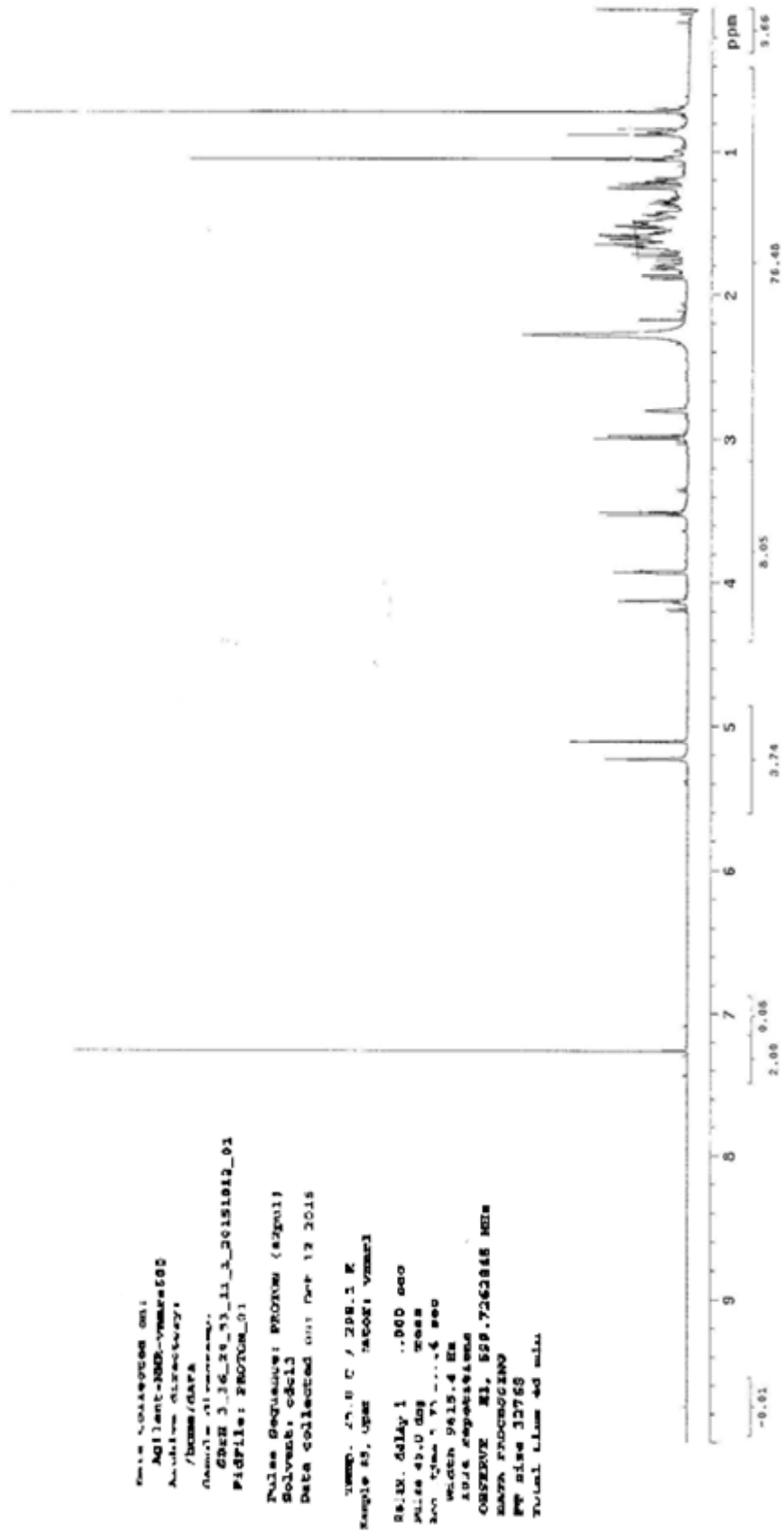
Eubotriol (ent-7 $\alpha$ ,15 $\beta$ ,18-trihidroksikaur-16-en) bileşiği *Sideritis brevibracteata* bitkisinin hekzan ekstresinden 3.2 mg izole edilmiştir.

Bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (şekil 3.46) iki metil sinyali 0.86 ve 1.04 ppm'de gözlendi. AB sistemine ait karakteristik (C-18) hidroksimetilen protonları 2.97 ve 3.52 ppm'lerde gözlendi. 4.01 ppm'de gözlenen triplet, H-7 protonuna, 4.14 ppm'de gözlenen genişlemiş singlet ise H-15 protonuna işaret etmiştir. 5.05 ve 5.19 ppm'lerde gözlenen singletler ise bize halka dışı metilen (H-17) protonlarının varlığını gösterdi.

Bütün bu veriler ışığında ve literatür çalışmalarında bileşiğin daha önce izole edilen bilinen bir diterpen olan Eubotriol (ent-7 $\alpha$ ,15 $\beta$ ,18 trihidroksikaur-16-en) olduğu belirlenmiştir [26,61,70,73,128-133].

**Tablo 3.35:** Eubotriol bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR verileri (ppm).

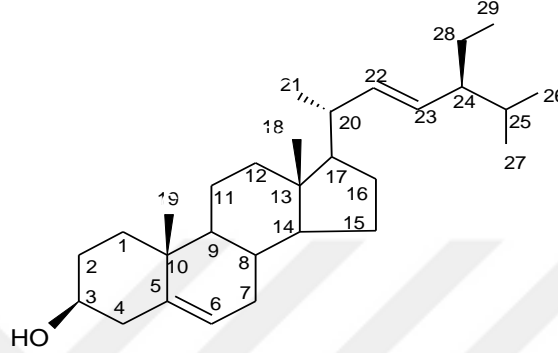
<b>H2-17</b>	<b>H-15</b>	<b>H-7</b>	<b>H-18a</b>
5.05-5.19 s	4.14, s	4,01, t	3.52, d
<b>H-18b</b>	<b>Me-20</b>	<b>Me-19</b>	
2.97,d	1.04	0.86	



Şekil 3.46: Eubotriol bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu.

### 3.3.5 Elde Edilen Diğer Bileşikler

#### 3.3.5.1 Stigmasterol (3*S*,8*S*,9*S*,10*R*,13*R*,14*S*,17*R*)-17-[(*E*,2*R*,5*S*)-5-ethyl-6-methylhept-3-en-2-yl]-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1*H* cyclopenta[*a*]phenanthren-3-ol) (10)



**Stigmasterol**

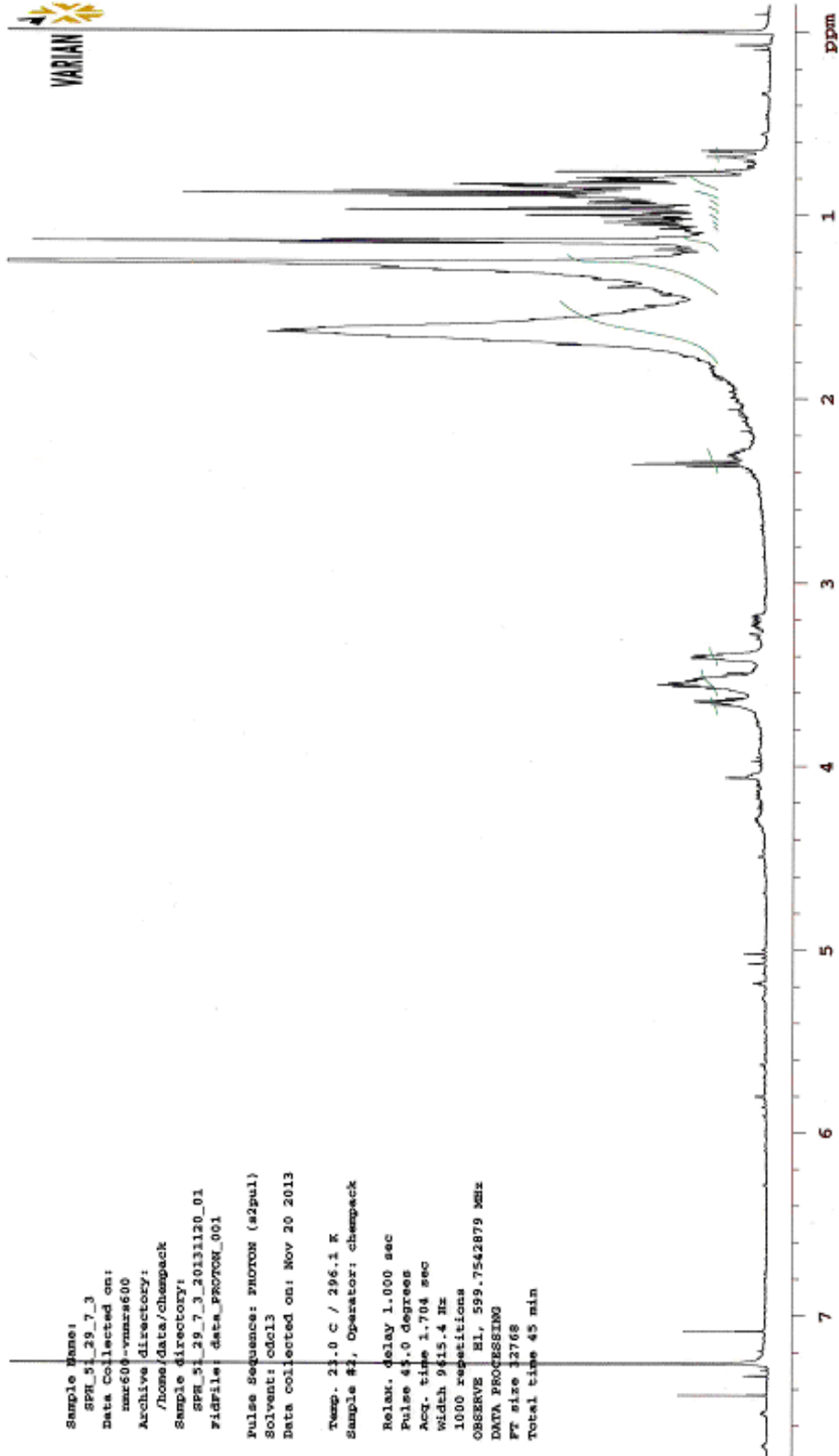
Steroid yapısına sahip olan stigmasterol bileşiğinden *S. phrygia* bitkisinin tüm ekstrelerinden toplamda 81.4 mg, *S. pisidica* bitkisinin hekzan ekstresinden 16.4 mg, *S. brevibracteata* bitkisinin hekzan ve aseton ekstrelerinden toplam 10.4 mg izole edilmiştir. Bileşiğin spektral verileri ve literatür değerleri karşılaştırıldığında yapısının Stigmasterol olduğu belirlenmiştir [124,125,126].

**Tablo 3.36:** Stigmasterol bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR verileri (ppm).

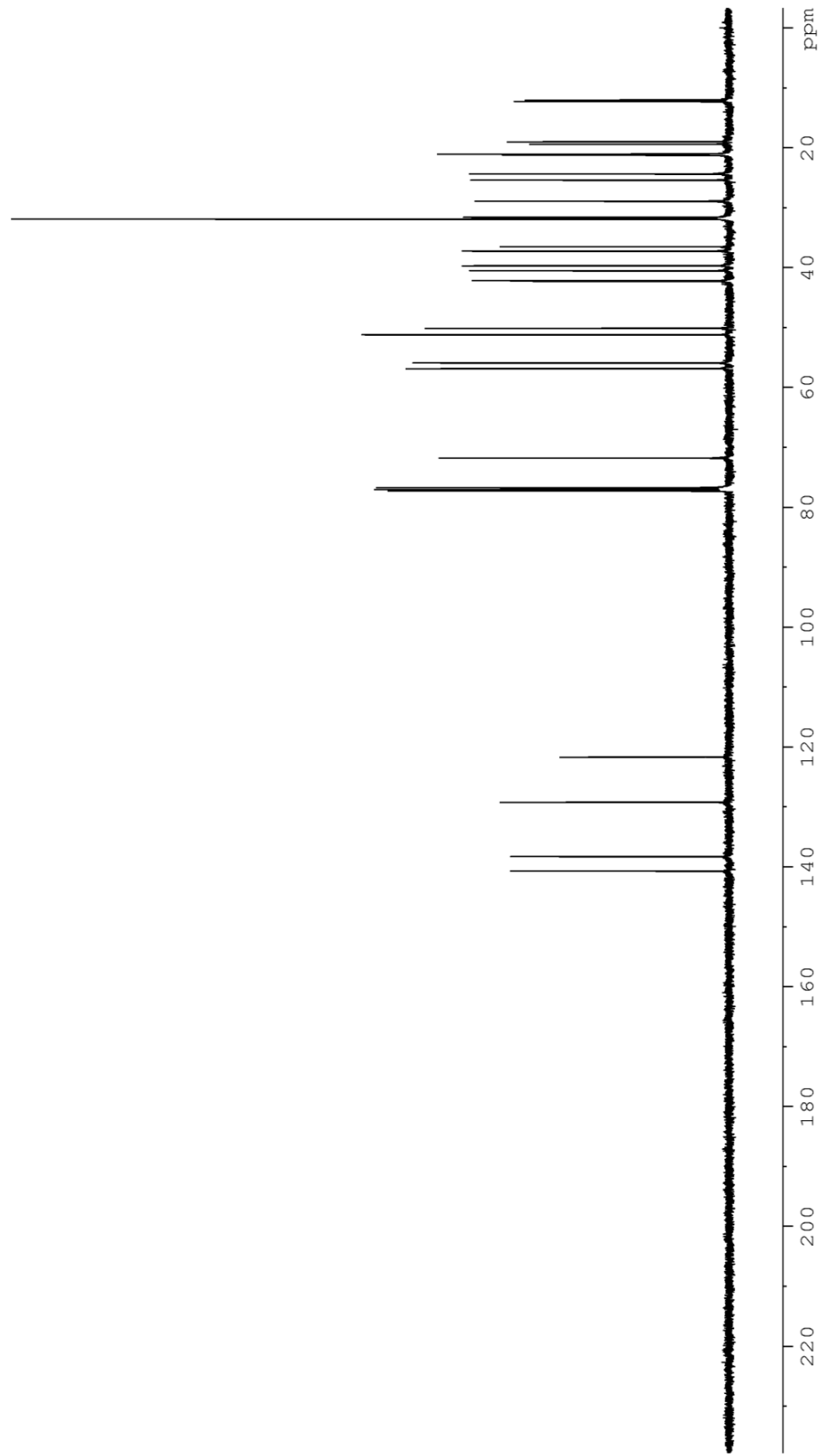
H-3	H-6	H-18	H-19	H-21	H-22	H-23	H-26	H-27	H-29
3.54 (m)	5.36	0.70 (s)	1.01 (s)	1.05 (d,j:7.5)	5.02 (dd)	5.21 (dd)	0.795 (d,j:6.5)	0.746 (d, j: 6.5)	0.804 (t,j:7.5).

**Tablo 3.37:** Stigmasterol bileşiğinin <sup>13</sup>C-NMR verileri (ppm).

C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10
36.3	32.3	72.1	41.9	141.1	121.7	31.9	31.9	53.2	36.5
C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20
21.1	39.7	41.3	53.9	24.4	28.4	56.1	11	21.2	40.5
C-21	C-22	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28	C-29	
21.0	137.0	129.3	51.2	31.9	21.2	18.76	25.4	11.97	



Şekil 3.47: Stigmasterol bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu.



**Şekil 3.48:** Stigmasterol bileşiğinin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu.

### 3.4 Biyolojik Aktivite Analiz Sonuçları

#### 3.4.1 Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

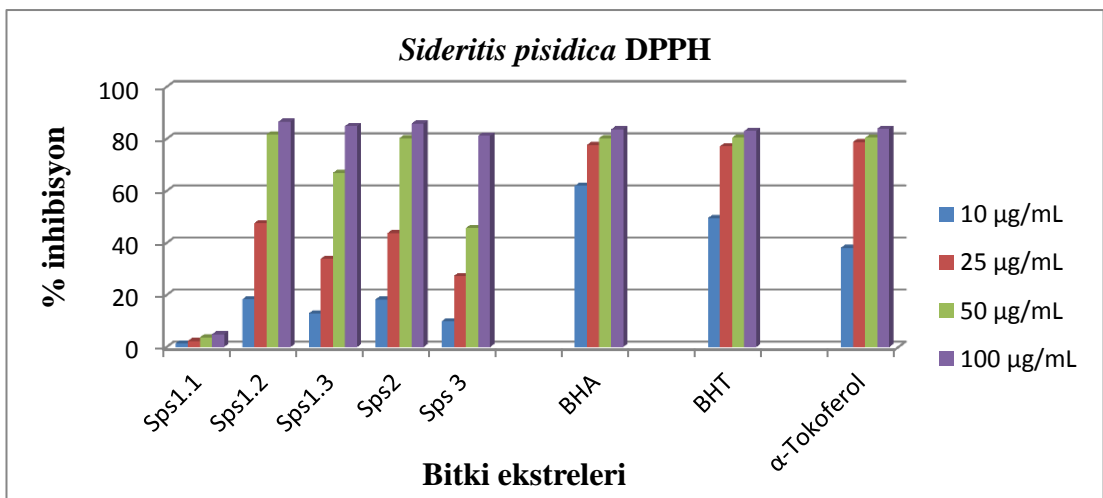
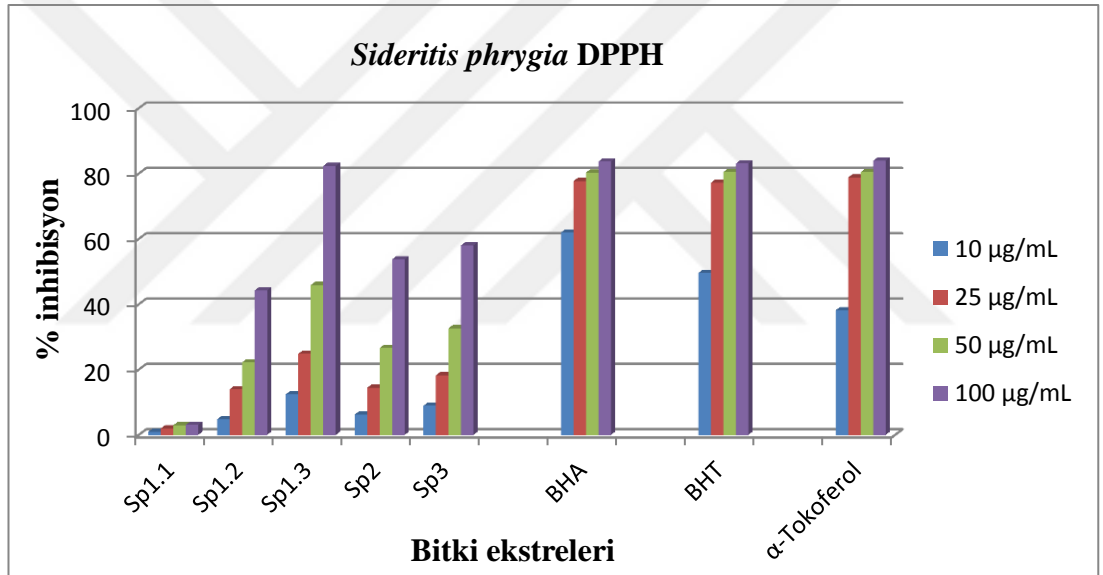
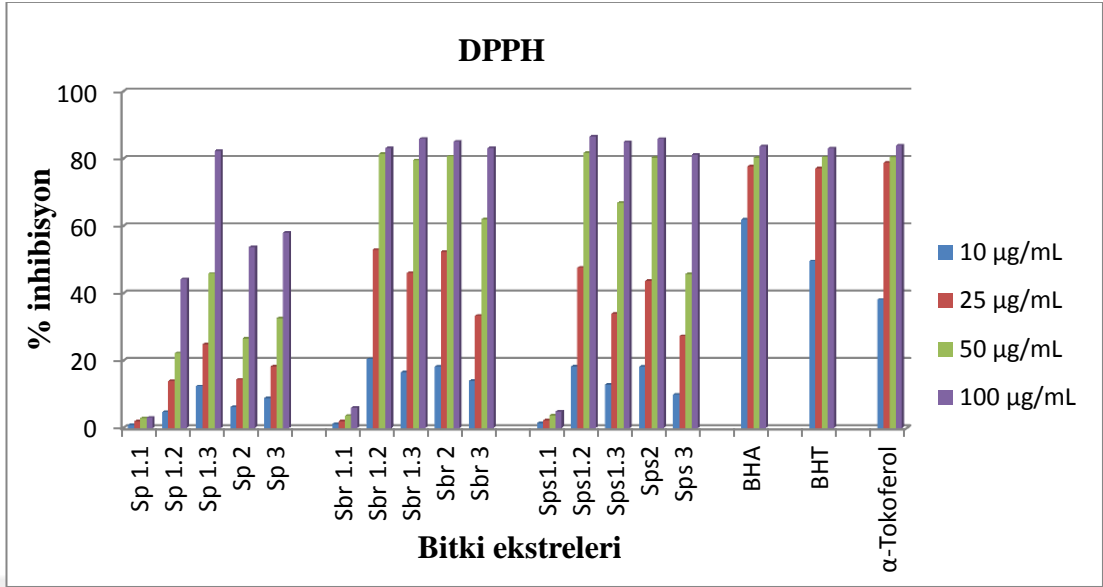
##### 3.4.1.1 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

Çalışılan üç bitkinin (*Sideritis phrygia*, *S. pisidica*, *S. brevibracteata*) her birinden elde edilen beş ekstre için DPPH serbest radikali giderim aktivitesi dört farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 100 µg/mL) tayin edildi. Standart olarak BHT (Bütildihidroksitoluen), BHA (Bütildihidroksianisol) ve α-tokoferol (Vitamin E) kullanıldı.

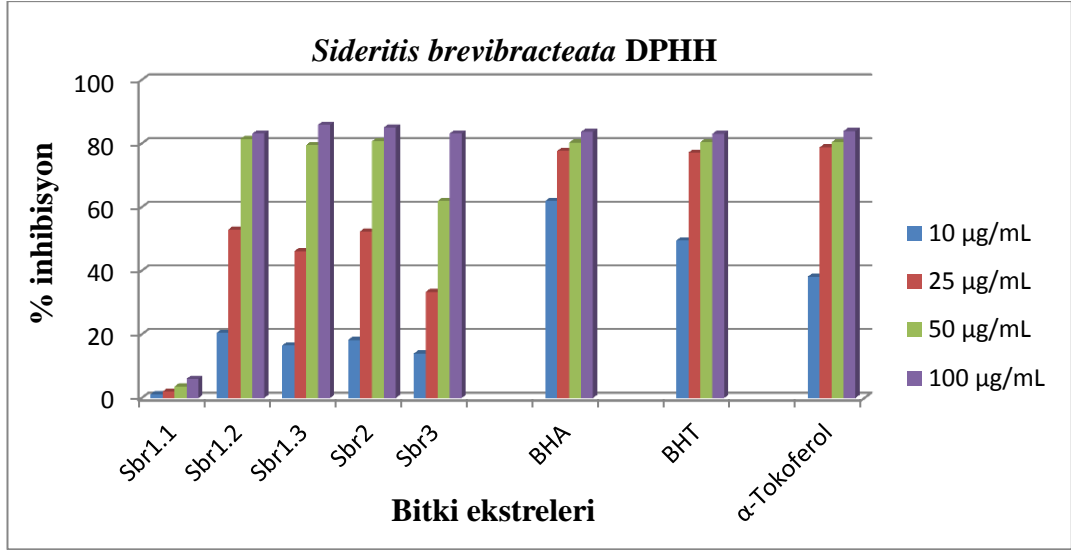
Ekstrelerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi % inhibisyon olarak tablo 3.38’ de verilmiştir. Yönteme göre sonuçlar analiz edildiğinde % inhibisyon değerleri *S. brevibracteata* ve *S. pisidica* için oldukça iyidir. Özellikle 100 µg/mL derişim değerleri için aktivite değerleri oldukça yüksektir.

**Tablo 3.38:** DPPH yöntemiyle elde edilen antioksidan aktivite sonuçları.

Ekstreler	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
<b>Sp 1.1</b>	0,93±0,08	1,98±0,63	2,96±0,06	3,06±0,01
<b>Sp 1.2</b>	4,76±0,16	13,93±0,56	22,20±0,57	44,20±0,71
<b>Sp 1.3</b>	12,43±0,82	24,83±0,43	45,87±0,21	82,35±0,94
<b>Sp 2</b>	6,22±0,79	14,42±0,86	26,60±0,82	53,75±0,27
<b>Sp 3</b>	8,92±0,23	18,25±0,60	32,63±0,63	58,00±0,32
<b>Sps 1.1</b>	1,44±0,18	2,31±0,78	3,72±0,64	4,89±0,26
<b>Sps 1.2</b>	18,31±0,41	47,62±0,89	81,72±0,48	86,64±0,23
<b>Sps 1.3</b>	12,92±0,77	33,94±0,97	66,95±0,13	84,96±0,14
<b>Sps 2</b>	18,23±0,55	43,75±0,94	80,29±0,14	85,90±0,26
<b>Sps 3</b>	9,92±0,15	27,32±0,82	45,76±0,83	81,19±0,47
<b>Sbr 1.1</b>	1,22±0,64	2,03±0,41	3,63±0,43	6,04±0,63
<b>Sbr 1.2</b>	20,46±0,93	52,97±0,48	81,46±0,22	83,12±0,38
<b>Sbr 1.3</b>	16,53±0,57	46,10±0,58	79,56±0,57	85,92±0,17
<b>Sbr 2</b>	18,23±0,65	52,37±1,00	80,71±0,50	85,06±0,07
<b>Sbr 3</b>	13,98±0,61	33,35±0,19	61,97±0,73	83,16±0,22
<b>STANDART</b>				
<b>BHA</b>	61,95±0,58	77,68±0,70	80,29±0,38	83,66±0,30
<b>BHT</b>	49,57±0,63	77,16±0,83	80,45±0,60	83,05±0,24
<b>α-Tokoferol</b>	38,15±0,32	78,81±0,53	80,43±0,16	83,92±0,23



**Şekil 3.49:** Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi Sonuçları (% İnhibisyon).



**Şekil 3.49 (devam):** Ekstrelerin DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi Sonuçları (% İnhibisyon).

### 3.4.1.2 Lipid Peroksidasyon İnhibisyonu ( $\beta$ -Karoten / Linoleik Asit)Yöntemi Sonuçları

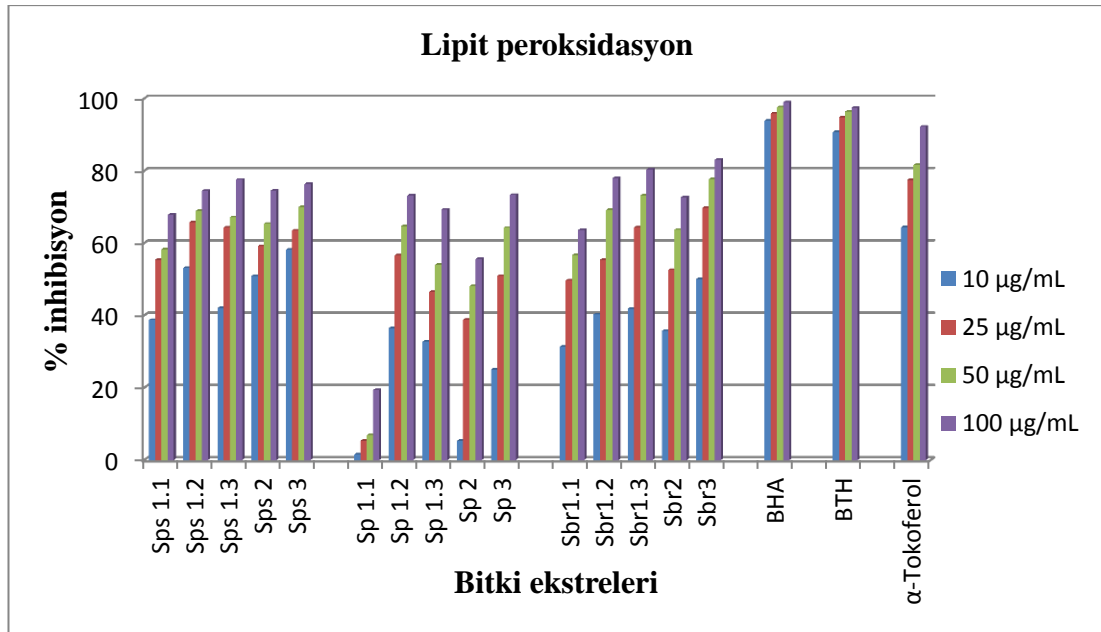
Bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin toplam antioksidan aktiviteleri  $\beta$ -karoten renk açılım yöntemine göre dört farklı konsantrasyonda (10, 25, 50, 100  $\mu\text{g/mL}$ ) yapıldı. Aktivite karşılaştırmalarında standart olarak BHT, (Bütildihidroksitoluen), BHA (Bütildihidroksianisol) ve  $\alpha$ -tokoferol (Vitamin E) kullanıldı. Sonuçlar Tablo 3.39' de verilmiştir.

$\beta$ -karoten-linoleik asit aktivitesi değerleri ekstrelerin % inhibisyon aktivite değerleri olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar analiz edildiğinde *S. brevibracteata* bitkisi en yüksek aktiviteye sahip türdür. Tüm derişimler de özellikle her iki yöntemle de hazırlanmış metanol ekstresinin (SBr 1.3 ve SBr 3) aktivitesi oldukça iyidir. *S. pisidica* ve *S. brevibracteata* için 100  $\mu\text{g/mL}$  derişim değeri için % inhibisyon değerleri oldukça iyidir.

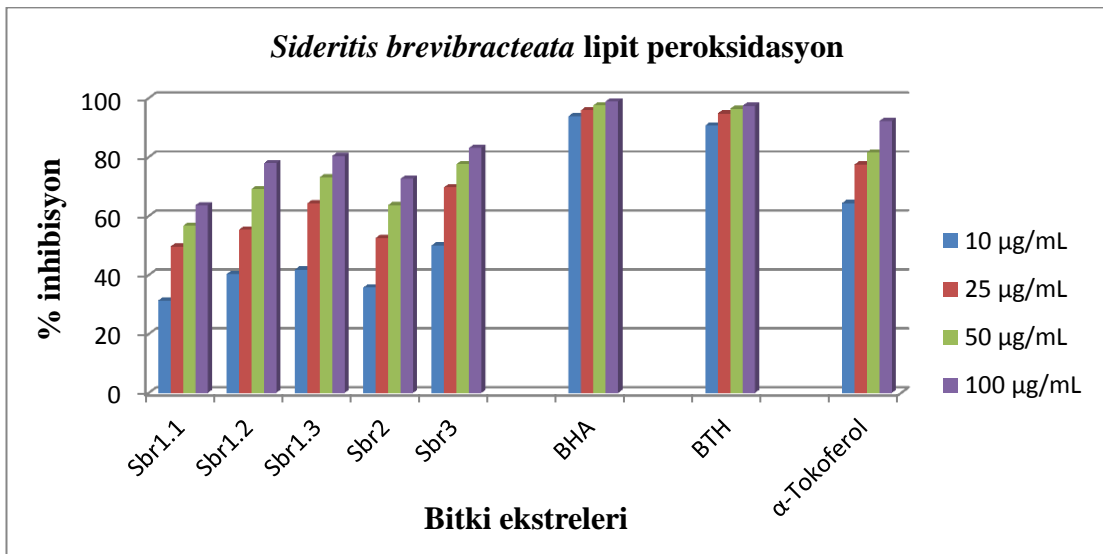
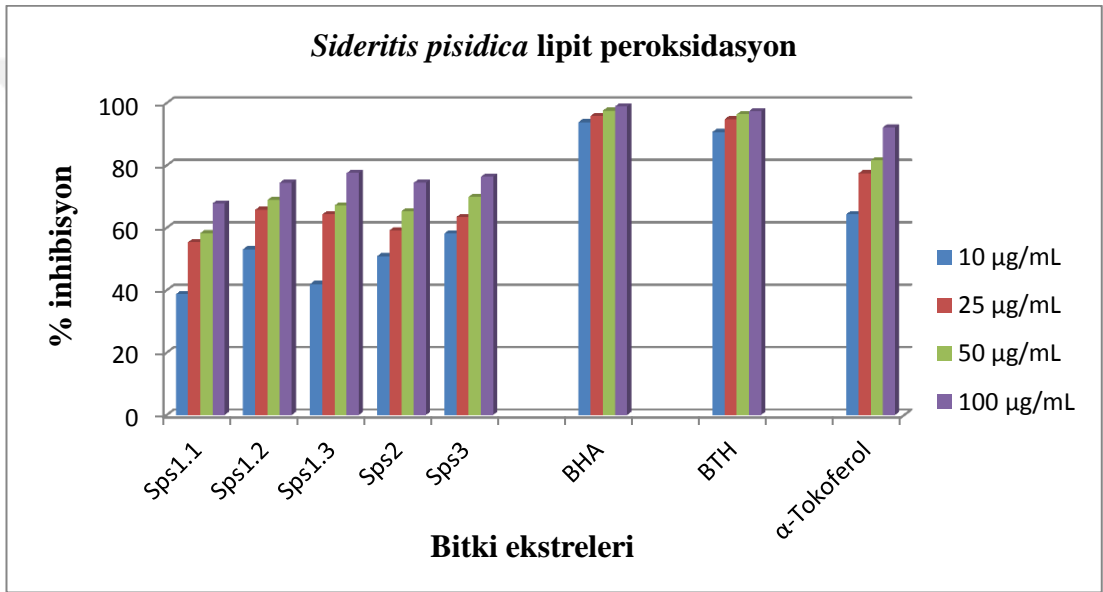
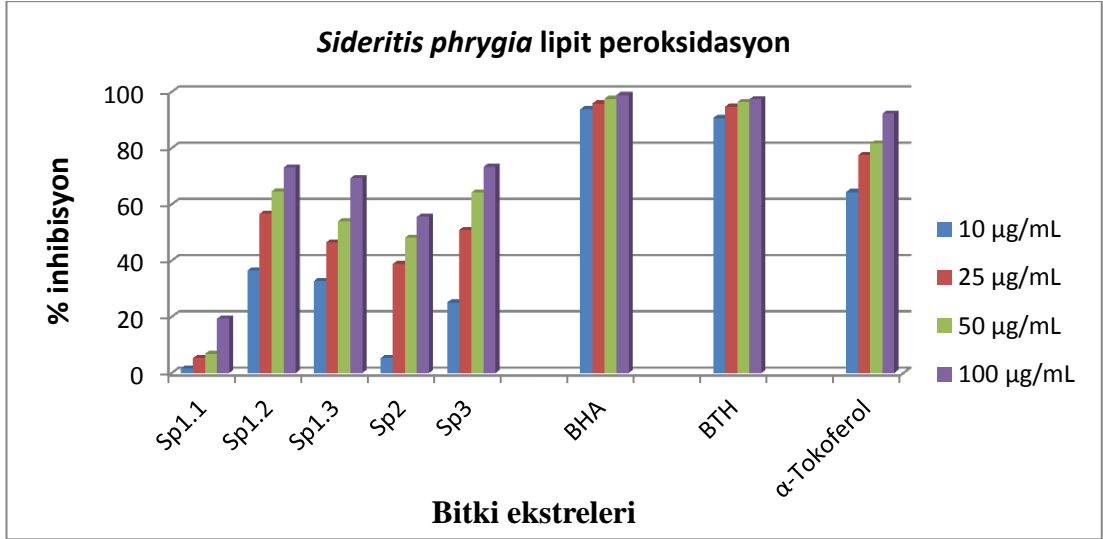


**Tablo 3.39:** Lipit peroksidasyon ( $\beta$ -Karoten/ linoleik asit) yöntemi ile antioksidan aktivite % inhibisyon sonuçları.

Ekstreler	10 $\mu\text{g/mL}$	25 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$
<b>Sp 1.1</b>	1,53 $\pm$ 0,38	5,28 $\pm$ 0,38	6,84 $\pm$ 0,48	19,34 $\pm$ 0,81
<b>Sp 1.2</b>	36,42 $\pm$ 0,57	56,60 $\pm$ 0,38	64,65 $\pm$ 0,58	73,13 $\pm$ 0,73
<b>Sp 1.3</b>	32,78 $\pm$ 0,24	46,48 $\pm$ 0,95	54,04 $\pm$ 0,31	69,26 $\pm$ 0,35
<b>Sp 2</b>	5,30 $\pm$ 0,88	38,78 $\pm$ 0,33	48,07 $\pm$ 0,36	55,57 $\pm$ 0,38
<b>Sp 3</b>	25,05 $\pm$ 0,67	50,92 $\pm$ 0,61	64,24 $\pm$ 0,94	73,32 $\pm$ 0,55
<b>Sps 1.1</b>	38,73 $\pm$ 0,18	55,38 $\pm$ 0,07	58,30 $\pm$ 0,89	67,80 $\pm$ 0,82
<b>Sps 1.2</b>	53,11 $\pm$ 0,77	65,77 $\pm$ 0,57	68,90 $\pm$ 0,69	74,43 $\pm$ 0,11
<b>Sps 1.3</b>	41,98 $\pm$ 0,44	64,28 $\pm$ 0,86	67,15 $\pm$ 0,29	77,55 $\pm$ 0,39
<b>Sps 2</b>	50,91 $\pm$ 0,21	59,18 $\pm$ 0,59	65,34 $\pm$ 0,52	74,44 $\pm$ 0,73
<b>Sps 3</b>	58,16 $\pm$ 0,44	63,47 $\pm$ 0,77	69,93 $\pm$ 0,49	76,35 $\pm$ 0,27
<b>Sbr1.1</b>	31,32 $\pm$ 0,96	49,65 $\pm$ 0,36	56,64 $\pm$ 0,69	63,63 $\pm$ 0,35
<b>Sbr 1.2</b>	40,28 $\pm$ 0,86	55,33 $\pm$ 0,59	69,12 $\pm$ 0,34	77,92 $\pm$ 0,69
<b>Sbr 1.3</b>	41,83 $\pm$ 0,82	64,31 $\pm$ 0,77	73,15 $\pm$ 0,30	80,36 $\pm$ 0,10
<b>Sbr 2</b>	35,74 $\pm$ 0,26	52,57 $\pm$ 0,40	63,70 $\pm$ 0,89	72,63 $\pm$ 0,27
<b>Sbr 3</b>	50,04 $\pm$ 0,54	69,76 $\pm$ 0,53	77,63 $\pm$ 0,65	83,08 $\pm$ 0,20
<b>STANDART</b>				
<b>BHA</b>	93,84 $\pm$ 0,38	95,86 $\pm$ 0,33	97,54 $\pm$ 0,11	98,90 $\pm$ 0,69
<b>BTH</b>	90,70 $\pm$ 0,37	94,78 $\pm$ 0,31	96,38 $\pm$ 0,32	97,37 $\pm$ 0,16
<b><math>\alpha</math>-Tokoferol</b>	64,38 $\pm$ 0,29	77,47 $\pm$ 0,91	81,60 $\pm$ 0,25	92,21 $\pm$ 0,13



**Şekil 3.50:** Lipit peroksidasyon ( $\beta$ -Karoten / Linoleik asit) yöntemi antioksidan aktivite sonuçları (% inhibisyon).



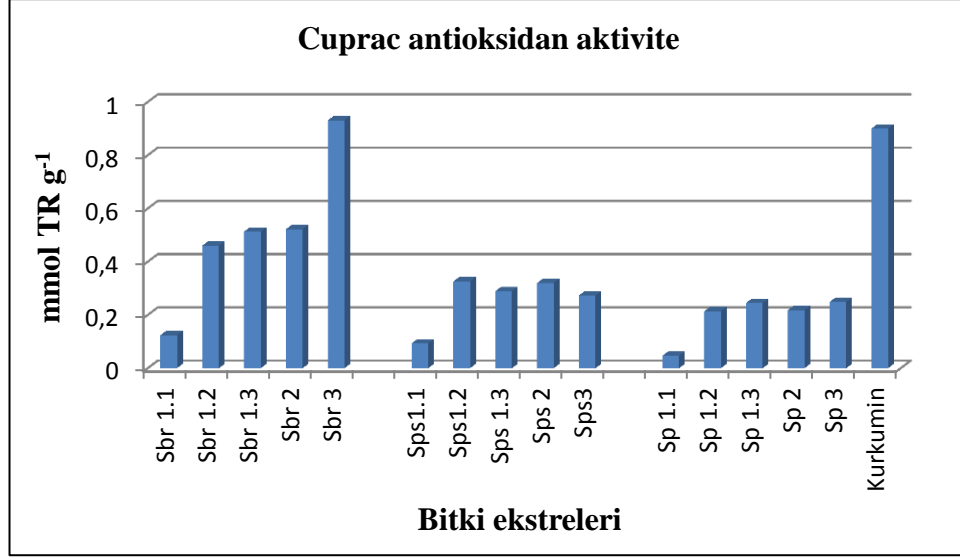
**Şekil 3.50 (devam):** Lipit peroksidasyon ( $\beta$ -Karoten / Linoleik asit) yöntemi antioksidan aktivite sonuçları (% inhibisyon).

### 3.4.1.3 CUPRAC Yöntemi

*Sideritis phrygia*, *S. pisidica* ve *S. brevibracteata* bitkilerinden elde edilen ekstratlar için antioksidan indirgen kapasitesi CUPRAC (Cu (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite) yöntemi ile tayin edildi. Standart olarak kurkumin kullanıldı (0,9 mmol TR g<sup>-1</sup>). Sonuçlara bakıldığında *S. brevibracteata* bitkisinin tüm ekstratlarından iyi sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle bitkinin metanol ekstresinin (SBr 3) aktivitesi kullanılan standart (kirkumin) aktivitesinden fazla gözlenmiştir. (0,931±0,071 mmol TR g<sup>-1</sup>)

**Tablo 3.40:** CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivite test sonuçları (mmol TR g<sup>-1</sup>).

Ekstreler	TEAC <sub>CUPRAC</sub>
Sp 1.1	0,047±0,022
Sp 1.2	0,214±0,058
Sp 1.3	0,245±0,052
Sp 2	0,218±0,053
Sp 3	0,249±0,062
Sps 1.1	0,093±0,006
Sps 1.2	0,326±0,064
Sps 1.3	0,289±0,057
Sps 2	0,32±0,069
Sps 3	0,273±0,056
Sbr 1.1	0,124±0,02
Sbr 1.2	0,46±0,056
Sbr 1.3	0,513±0,025
Sbr 2	0,522±0,034
Sbr 3	0,931±0,071
<i>Kurkumin</i>	<i>0,9</i>



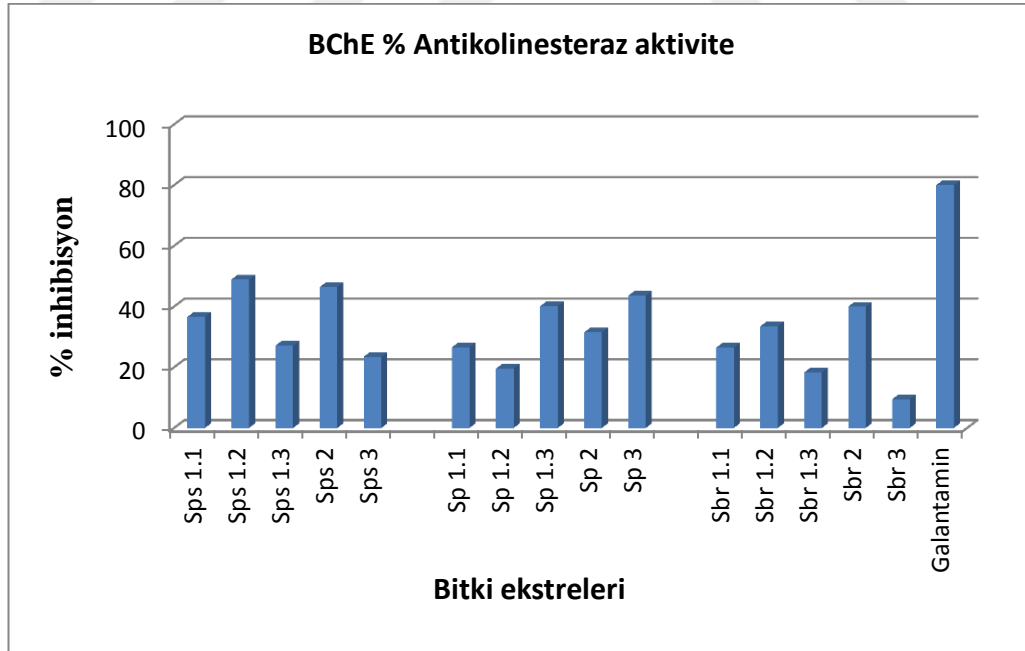
**Şekil 3.51:** CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivite sonuçları.

### 3.4.2 Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

Bitkilerin aseton ve metanol ekstralarının asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkinesteraz (BChE) % inhibisyon değerleri 200 µg/mL derişimde ölçülmüş ve standart olarak galantamin bileşigi kullanılmıştır. BChE ve AChE % İnhibisyon değerleri Tablo 3.41' de verilmiştir. AChE için çalışılan ekstralarda anlamlı bir sonuç elde edilemezken BChE için oldukça düşük değerler elde edilmiştir. Çalışılan türler nispeten yakın zayıf aktiviteye sahiptir.

**Tablo 3.41:** Ekstrelerin Antikolinesteraz AChE ve BChE aktivite sonuçları (% İnhibisyon).

	<b>AChE (200µg/mL)</b>	<b>BChE (200µg/mL)</b>
<b>Sp 1.1</b>	-	26,60±1,05
<b>Sp 1.2</b>	-	19,59±1,37
<b>Sp 1.3</b>	-	40,12±1,24
<b>Sp 2</b>	-	31,53±1,11
<b>Sp 3</b>	-	43,59±0,49
<b>Sps 1.1</b>	-	36,60±1,16
<b>Sps 1.2</b>	-	48,93±1,48
<b>Sps 1.3</b>	-	27,16±0,92
<b>Sps 2</b>	-	46,42±1,45
<b>Sps 3</b>	-	23,46±1,12
<b>Sbr 1.1</b>	-	26,49±1,09
<b>Sbr 1.2</b>	-	33,46±1,01
<b>Sbr 1.3</b>	-	18,32±0,43
<b>Sbr 2</b>	-	40,00±0,40
<b>Sbr 3</b>	-	09,49±0,89
<b>Galantamin</b>	<b>79,30±0,23</b>	<b>80,02±0,38</b>



**Şekil 3.52:** Ekstrelerin BChE % inhibisyon sonuçları.

### 3.4.3 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Çalışılan bitkilerin ekstreleri (Sbr 1.1; Sbr 1.2; Sbr 1.3; Sbr 2; Sbr 3; Sps1.1; Sps 1.2; Sps 1.3; Sps 2; Sps 3; Sp 1.1; Sp 1.2; Sp 1.3; Sp 2; Sp 3) antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için *Escherichia coli* DSMZ1103, *Staphylococcus aureus* DSMZ1104, *Candida albicans* DSMZ1386, *Mycobacterium smegmatis* ATCC14468 kullanılmış olup, *C. albicans*'a karşı SBr 1.2 ve SBr 2 ekstreleri aktif bulunurken (7,7 mm), standart olarak ketokonazol (36 mm) kullanılmıştır. *S. aureus*'a karşı Sp 1.1 aktif bulunmuştur ( 8 mm) standart olarak oksasilin (34 mm) kullanılmıştır. Diğer ekstrelerde herhangi bir antimikrobiyal aktivite saptanmamıştır.

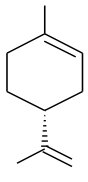
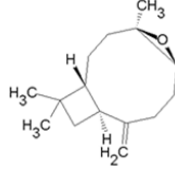
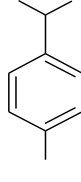
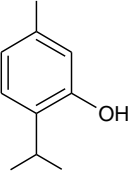
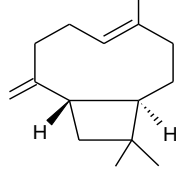
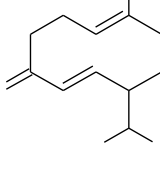
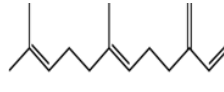
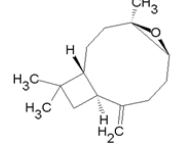
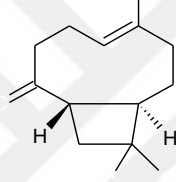
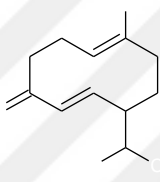
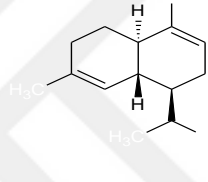
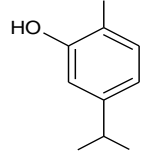


#### 4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada Türkiye için endemik olan üç *Sideritis* türü, *Sideritis pisidica* *Sideritis pisidica* Boiss. Et Heldr., *S. phrygia* Bornm., *S. brevibracteata* P.H. Davis fitokimyasal açıdan incelenmiştir.

İlk olarak çiçeklenme döneminde toplanan ve gölgede kurutulan bitkilerin herbirinden 100 g alınarak, klevenger aparatı ile uçucu yağları elde edildi. Elde edilen uçucu yağlar GC-MS ile analiz edildi. Bitkilerin uçucu yağ anabilesenleri ve yapıları Şekil 4.1' de verilmiştir. *S. phrygia* bitkisinin monoterpen bakımından (%39.3), *S. pisidica* ve *S. brevibracteata* bitkilerinin seskiterpen bakımından (sırasıyla oranlar %71, %74.6) zengin bitkiler olduğu belirlenmiştir.

Literatür incelendiğinde bitkilerin uçucu yağları ile ilgili çalışmalar mevcuttur [83,134-136].

<i>Sideritis phrygia</i>				
	<b>Limonen (%10.6)</b>	<b>Karyofilen oksit (%10.4)</b>	<b>Simen (%10.1)</b>	<b>Timol (%7.3)</b>
<i>S. pisidica</i>				
	<b>Karyofilen (%31.8)</b>	<b>Germakren-D (%10.7)</b>	<b>β-farnesen (%10)</b>	<b>Karyofilen oksit (%7.6)</b>
<i>S. brevibracteata</i>				
	<b>Karyofilen (%43.3)</b>	<b>Germakren-D (%10.6)</b>	<b>α-kadinen (%10.3)</b>	<b>Karvakrol (%5.3)</b>

**Şekil 4.1:** Bitkilerin uçucu yağ ana bileşenleri.

Çiçeklenme döneminde toplanan bitkiler gölgede kurutulduktan sonra öğütülüp toz haline getirilmiş, ardından önce hekzan, sonra aseton ve metanol ile ekstraları hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstralar kuruluğa kadar yoğunlaştırılarak ham ekstralar elde edilmiştir. Elde edilen ham ekstre miktarları Tablo 4.1’ de verilmiştir.

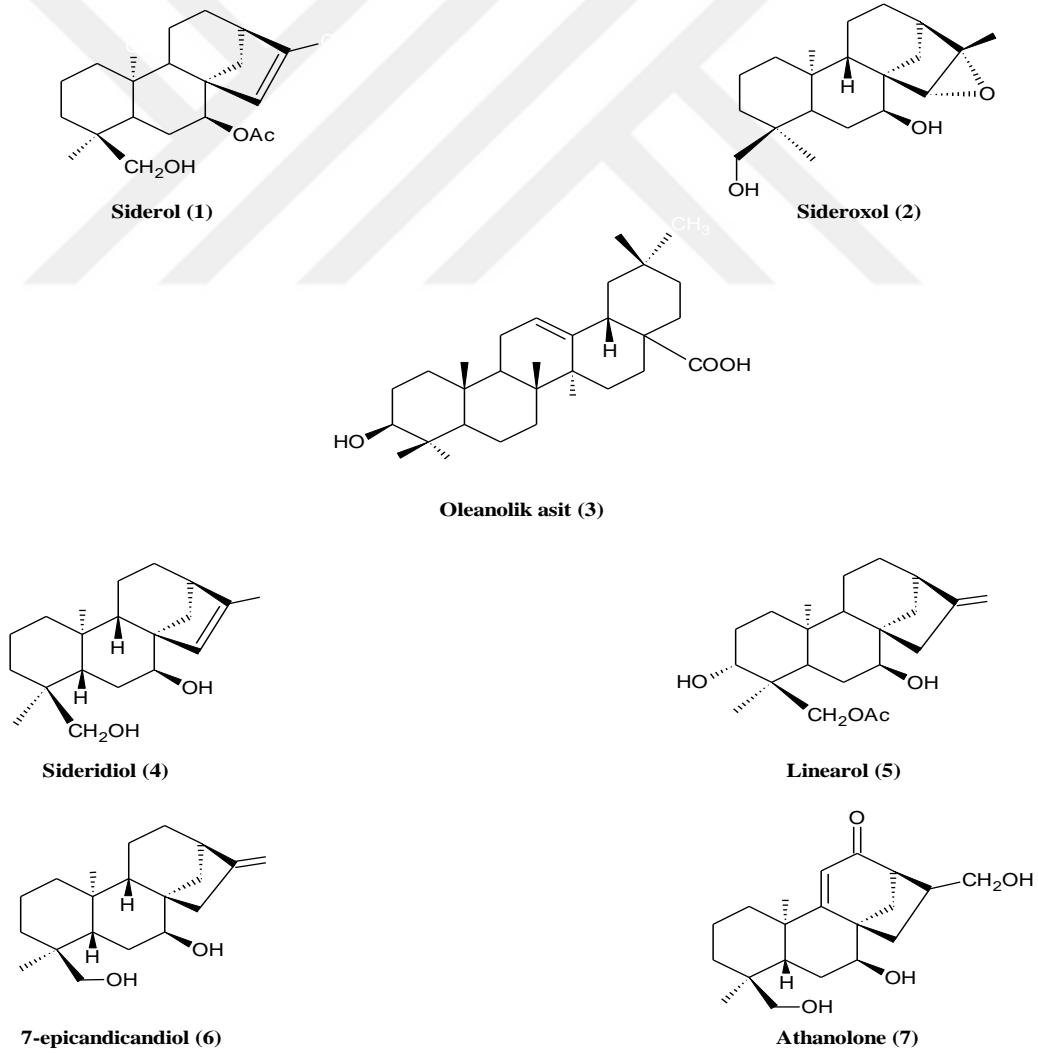
**Tablo 4.1:** Bitkilerden hazırlanan ekstre miktarları.

Tür Adı	Kurutulmuş ve öğütülmüş bitki miktarı	Hekzan ekstresi (g)	Aseton ekstresi (g)	Metanol ekstresi (g)
<i>S. phrygia</i>	1.5 kg	18.32	52	96.6
<i>S. pisidica</i>	2 kg	20	60	98.2
<i>S. brevibracteata</i>	600 g	5.8	17	35.6



Ham ekstreler, miktarlarına göre seçilen kolon kullanılarak kolon kromatografisi yardımıyla fraksiyonlara ayrılmıştır. Bu fraksiyonlar hazır silika kaplı alümina plaklar yardımıyla kontrol edilmiş, benzer fraksiyonlar birleştirilerek madde miktarına göre tekrar kolon ya da preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle saflaştırılmıştır. İzole edilen saf maddelerin yapılar IR, NMR ( $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ ) ve EI ( Electron Impact) kütle spektroskopisi yardımıyla aydınlatılmıştır. Çalışılan üç bitki için de yapılan literatür çalışmasında, bitkilerin terpen bileşikleriyle ilgili bir çalışmaya raslanmamıştır.

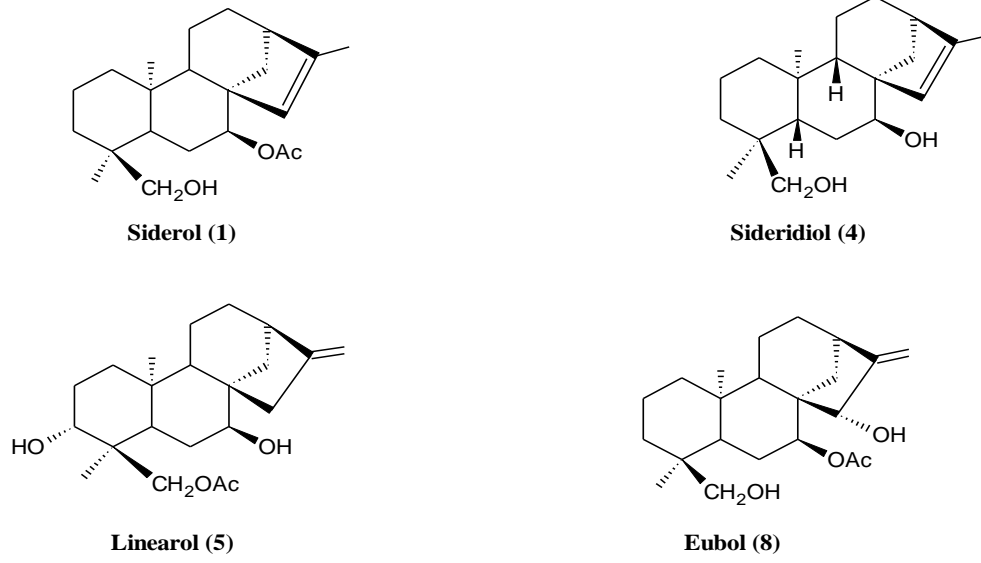
Çalışmaya ilk olarak *Sideritis phrygia* bitkisi ile başlanmıştır. Bitkinin toprak üstü kısmından hazırlanan hekzan, aseton ve metanol ekstrelerinden bilinen 7 terpen bileşiği izole edilmiş olup yapıları Şekil 4.2' de verilmiştir.



**Şekil 4.2:** *Sideritis phrygia* bitkisinden izole edilen bileşikler.

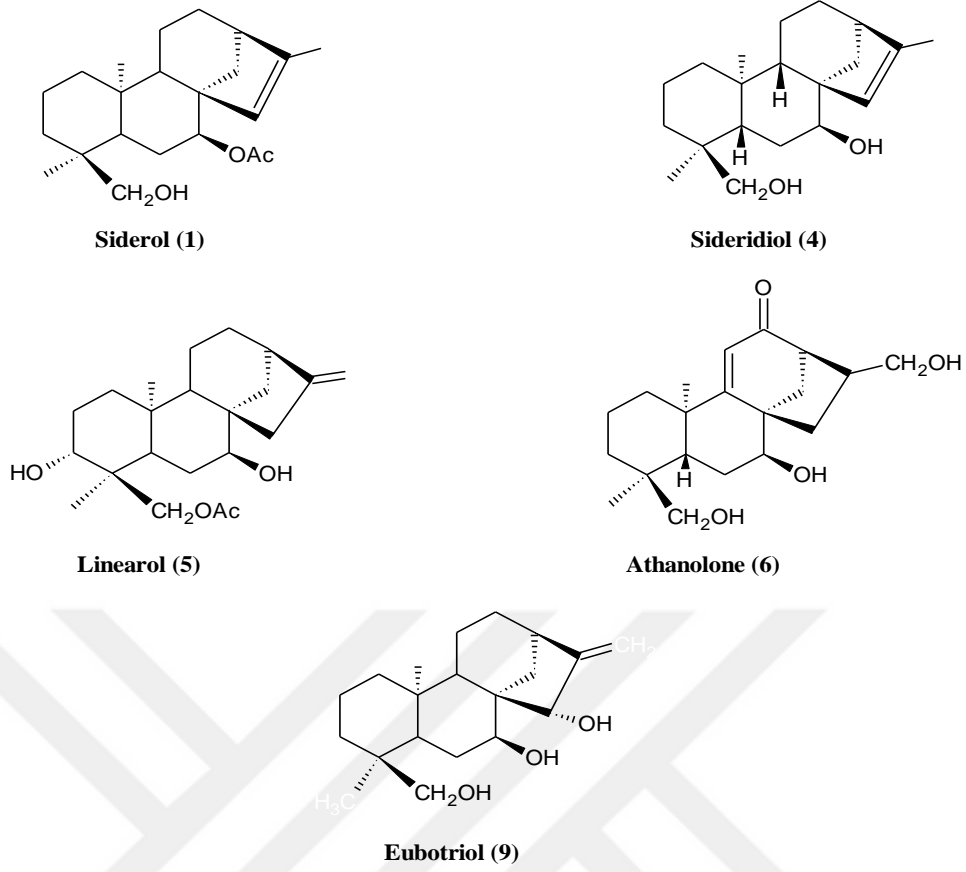
Bu bileşikler den altı tanesi *ent*-kauren iskeletonite sahip diterpen olup ikisi D halkasında endosiklik çift bağına sahiptirken ikisi ekzosiklik çift bağına sahiptir. Yapılardan dört tanesi 18 nolu karbondaki -OH grubu taşıırken, bir tanesi -OAc grubu taşımaktadır. 7 nolu karbondaki yapılarından beş tanesi -OH grubu taşıırken, -OAc grubunu bir bileşik taşımaktadır. Elde edilen bileşiklerden ikisi triterpen yapısındadır. Oleanolik asit kuvvetli sitotoksik aktiviteye sahip triterpendir [128]. 0.93-1.30 ppm arasında çıkan metilprotonları singletler şeklindedir. Tüm metillerin singletler halinde izlenmesi bileşiğin oleanan iskeletonite sahip olduğuna işaret etmiştir. 3.41 ppm deki dublet dublet hidroksile komşu alfa protonu, 5.5 ppm deki triplet ise bir olefinik protonu (vinilik protonu) işaret etmektedir. Ayrıca 3.3 ppm de izlenen dd pikini ise H-18 protonuna ait olduğu ve hatta bu sinyalin bu kadar aşağı alanda izlenmesinin nedeni ise C-17' ye bağlı asit grubundan (COOH) ileri geldiği düşünüldü. Stigmasterol bileşiğinin çift bağına bulunduğu H-6 olefinik proton sinyali 5.36 ppm' de gözlemlendi. Bu çift bağına yanısıra yapıda ikinci bir çift bağına varlığı 5.02, (dd) ve 5.21, (dd) izlenen sinyaller ile anlaşılmıştır.

Çalışılan ikinci tür olan *Sideritis pisdica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan hekzan, aseton ve metanol ekstraktlarından, üçü *S. phrygia* bitkisinden de izole edilen toplamda dört bileşik izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapıları Şekil 4.3' de verilmiştir. İzole edilen eubol bileşiği çalışılan bitkiler arasında sadece bu bitkiden elde edilmiş *ent*-kauren iskeletonite diterpendir. Bileşik D halkasında ekzosiklik çift bağına sahiptir. Bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR' ında metil sinyalleri 0.68 ve 1.07 ppm' de singletler halinde gözlemlendi. 2.82 ve 3.23 ppm'de izlenen dubletler 18a ve 18b protonları olarak belirlendi. 4.97 ppm' de izlenen triplet asetilene komşu H-7 protonuna işaret etti.



**Şekil 4.3:** *Sideritis pisidica* bitkisinden izole edilen terpen bileşikleri.

Çalışılan üçüncü bitki olan *Sideritis brevibracteata*'nın hekzan, aseton ve metanol ekstrelerinden, çalışılan diğer iki bitkilerdende izole edilen beş terpen bileşiği ve diğer bitkilerden izole edilmeyen Eubotriol *ent*-kauren diterpen bileşiği izole edilmiştir. Bileşiklerin yapıları Şekil 4.4' te verilmiştir. Elde edilen bileşiklerin beşi *ent*-kauren iskeletine sahiptir. Bunlardan ikisi D halkasında endosiklik çift bağa sahipken, ikisi ekzosiklik çift bağa sahiptir.



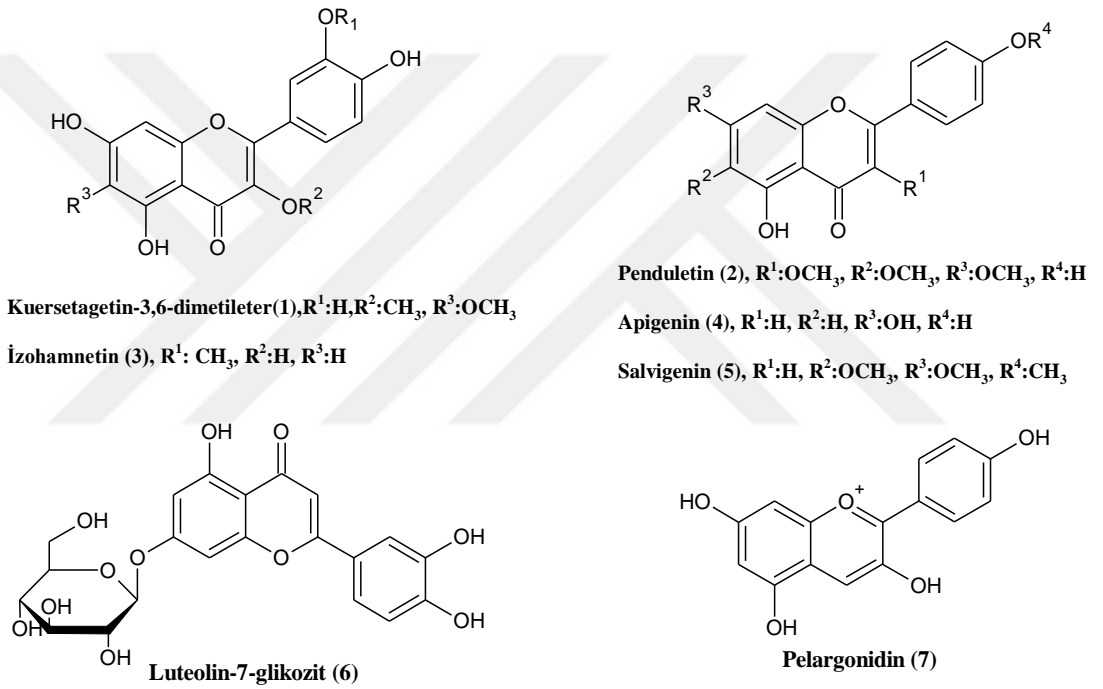
**Şekil 4.4:** *Sideritis brevibracteata* bitkisinden izole edilen terpen bileşikleri.

LC-MS/MS analizi için; bitkilerin toprak üstü kısımları gölgede kurutulduktan sonra toz haline getirildi. Öğütülen bitkilerden 100 gram alınarak önce hekzan içerisinde konulmuş, 15 gün masere edildikten sonra süzülüp kuru ekstre elde edilene kadar çözücüsü buharlaştırılmıştır. Kalan bitki asetona koyularak maserasyona devam edilmiş, 15 gün sonra aynı işlemler tekrarlanmıştır. Aseton ekstresinden kalan bitki son olarak metanolla muamele edilmiş ve kuru ekstre elde edilene kadar çözücüsü buharlaştırılmıştır. Ekstrelerin kodları hekzan için 1.1, aseton için 1.2, metanol için 1.3 olarak verilmiştir. Ayrıca hazırlanan iki adet 100 gramlık bitki doğrudan aseton ve doğrudan metanole konularak 2 ve 3 numaralı ekstreler elde edilmiş ve elde edilen ekstre miktarları ve verimleri Tablo 3.5' te verilmiştir. Ekstrelerin sekonder bileşiklerinin belirlenmesi için LC-MS/MS cihazı ile analizleri yapılmıştır.

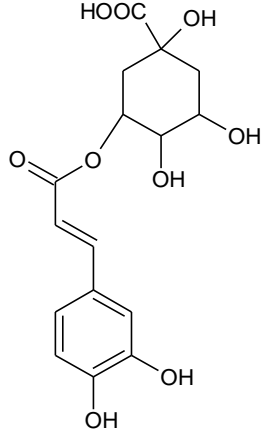
*Sideritis phrygia* bitkisinden 22 sekonder bileşik tanımlanmıştır. Tanımlanan bileşikler Tablo 3.6' da verilmiştir. 14 fenolik bileşik tanımlanmış bunlardan yedisi

flavonoid yapında, yedisi fenolik asit yapısında bileşiklerdir. Tanımlanan fenoid bileşiklerin yapıların Şekil 4.5' de, fenolik asitlerin yapıları Şekil 4.6' da verilmiştir. Apigenin ve pelargonidin çalışılan bitkiler arasında sadece *Sideritis phrygia* bitkisinden tanımlanabilmiştir. Bitkinin doğrudan alınan aseton ekstresinin flavonoidler bakımından en zengin, doğrudan alınan metanol ekstresi ise fenolik asitler bakımından en zengin ekstraktlar olduğu görülmüştür.

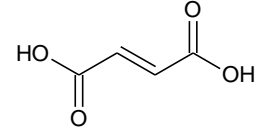
Bitkinin literatür çalışmalarına bakıldığında, fenolik bileşikleri bakımından daha önceden incelendiği görülmüştür [137].



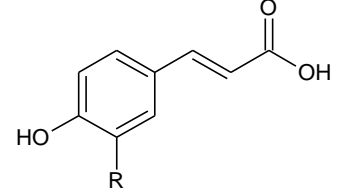
**Şekil 4.5:** *Sideritis phrygia* bitkisinde bulunan flavonoid yapıları.



**Klorojenik asit (8)**



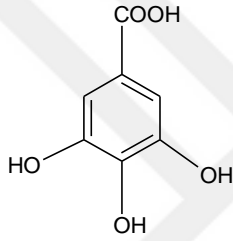
**Fumarik asit (9)**



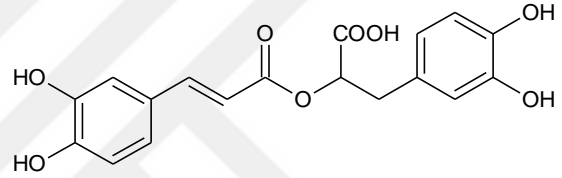
**p-kumarik asit (10), R:H**

**t-ferulik asit (11), R: OCH<sub>3</sub>**

**Kafeik asit (14), R: OH**



**Gallik asit (12)**

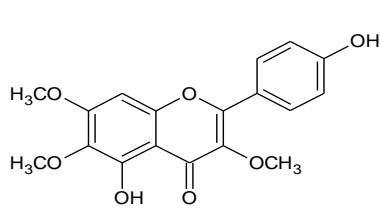


**Rosmarinik asit (13)**

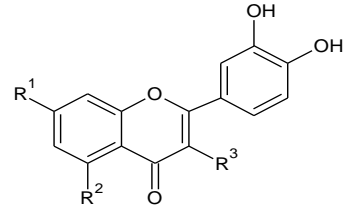
**Şekil 4.6: Sideritis phrygia bitkisinde bulunan fenolik asit yapıları.**

*Sideritis pisidica* bitkisinden 20 farklı sekonder bileşik tanımlanmıştır. Bunlardan siderol, linearol, eubotriol ve ursolik asit terpen yapısındadır. Penduletin, kuersitrin, kuersetagetin-3,6-dimetileter, luteolin-5-o-glikozit, kuersetin, rutin, luteolin-7-o-glikozit flavonoid (Şekil 4.7), klorojenik asit, fumarik asit, şiringik asit, t-ferulik asit, kafeik asit, salisilik asit, ellagik asit fenolik asit yapısındadır (Şekil 4.8). Rutin ve ellagik asit çalışılan bitkiler arasında sadece *Sideritis pisidica* bitkisinden tanımlanabilen fenolik bileşiklerdir.

Literatürde bitkinin etanol ve su ekstralarının fenolik bileşiklerinin çalışması mevcuttur [138].

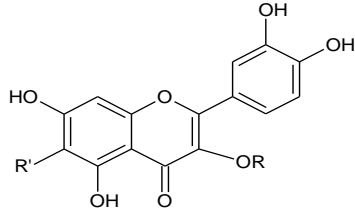


**Penduletin (2)**



**Luteolin-7-glikozit (6) R<sup>1</sup>: Glikoz, R<sup>2</sup>:OH, R<sup>3</sup>:H**

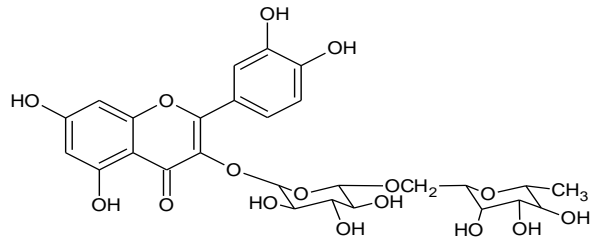
**Luteolin -5-glikozit (16) R<sup>1</sup>: OH, R<sup>2</sup>: Glikoz, R<sup>3</sup>:H**



**Kuersitrin (15), R: rhamnopyranose, R':H**

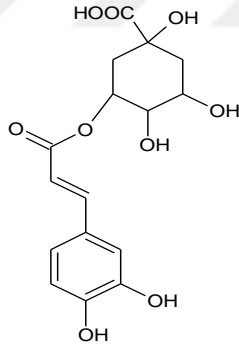
**Kuersetin (17), R: H, R':H**

**Kuersetin-3,6-dimetil eter (1), R: CH<sub>3</sub>, R':OCH<sub>3</sub>**

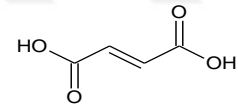


**Rutin (18)**

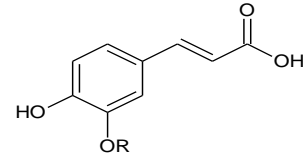
**Şekil 4.7: Sideritis pisdica bitkisinde bulunan flavonoid yapıları.**



**Klorojenik asit (8)**

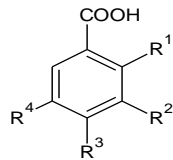


**Fumarik asit (9)**



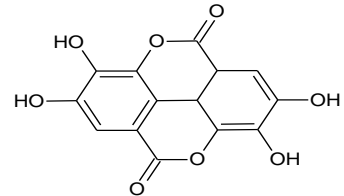
**t-ferulik asit (11), R:CH<sub>3</sub>**

**Kafeik asit (14), R:H**



**Şiringik asit (19) R<sup>1</sup>: H, R<sup>2</sup>: OCH<sub>3</sub>, R<sup>3</sup>:OH, R<sup>4</sup>: OCH<sub>3</sub>**

**Salisilik asit (20) R<sup>1</sup>: OH, R<sup>2</sup>:H, R<sup>3</sup>:H, R<sup>4</sup>:H**



**Ellagik asit (21)**

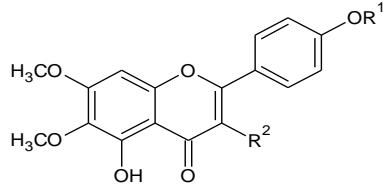
**Şekil 4.8: Sideritis pisdica bitkisinde bulunan fenolik asit yapıları.**

*Sideritis brevibracteata* bitkisinin LC-MS/MS analizi sonucunda 27 sekonder bileşik tanımlanmıştır. Bunlardan 10 tanesi flavonoid yapısında (penduletin, kuersetagetin-3,6-dimetileter, kuersitrin, izokuersetin, izorhamnetin, kamferol, luteolin-5-glikozit, luteolin-7-glikozit, salvigenin, pelargonidin klorit) (Şekil 4.9) 10 tanesi fenolik asit yapısında olan (klorojenik asit, fumarik asit, *t*-ferulik asit, kafeik asit, *p*-OH benzoik asit, rosmarinik asit, gallik asit, salisilik asit, şiringik asit, *p*-kumarik asit) (Şekil 4.10) fenolik bileşiklerdir. Kamferol ve pelargonidin klorit ve *p*-OH benzoik asit çalışılan bitkiler arasında sadece *Sideritis brevibracteata* bitkisinden tanımlanabilen fenolik bileşiklerdir.

Bitki için literatür çalışması yapılmış ve fenolik bileşikleri için yapılan çalışmalar olduğu görülmüştür. Güvenç ve arkadaşları tarafından *Sideritis brevibracteata* bitkisinin kloroform, AcOEt, n-BuOH ekstraktlarından yedi fenolik bileşik izole edilmiş ve bu bileşiklerin anti-inflammatory, antinociceptive ve antioxidant aktiviteleri incelenmiştir [139]. Başka bir çalışmada ise bitkinin bütanol ekstresinden 4 fenolik bileşik izole edilmiştir [140]. Diğer bir çalışmada ise *Sideritis brevibracteata* bitkisinden elde edilen fenolik bileşiklerin Glutasyon Redüktaz enzimi üzerine aktiviteleri incelenmiştir [141].

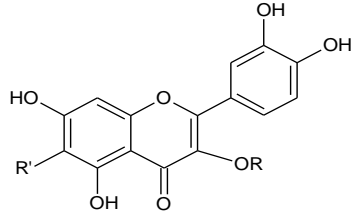
Çalışılan bitkiler arasında *S. brevibracteata*'nın fenolik bileşikler bakımından en zengin bitki olduğu görülmektedir. Bunun bitkinin antioksidan aktivitesinin diğer çalışılan bitkilere oranla yüksek olmasının sebebi olduğu düşünülmüştür.





Penduletin (2), R<sup>1</sup>:H, R<sup>2</sup>:OCH<sub>3</sub>,

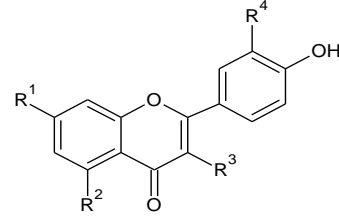
Salvigenin (5), R<sup>1</sup>:CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup>:H



Kueritrin (15), R: rhamnopyranose, R<sup>1</sup>:H

Kuersetin (17), R: H, R<sup>1</sup>:H

Kuersetin-3,6-dimetil eter (1), R: CH<sub>3</sub>, R<sup>1</sup>:OCH<sub>3</sub>

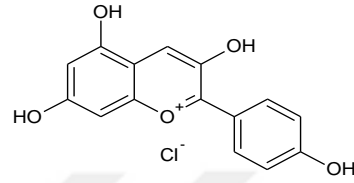


Luteolin-7-glikozit (6) R<sup>1</sup>: Glikoz, R<sup>2</sup>:OH, R<sup>3</sup>:H, R<sup>4</sup>:OH

Luteolin -5-glikozit (16) R<sup>1</sup>: OH, R<sup>2</sup>: Glikoz, R<sup>3</sup>:H, R<sup>4</sup>:OH

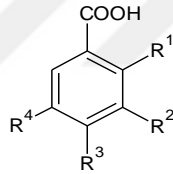
İsorhamnetin (3), R<sup>1</sup>:OH, R<sup>2</sup>:OH, R<sup>3</sup>:OH, R<sup>4</sup>:OCH<sub>3</sub>

Kamferol (22), R<sup>1</sup>:OH, R<sup>2</sup>:OH, R<sup>3</sup>:OH, R<sup>4</sup>:H



Pelargonidin klorit (23)

Şekil 4.9: *Sideritis brevibracteata* bitkisinde bulunan flavonoid yapıları.

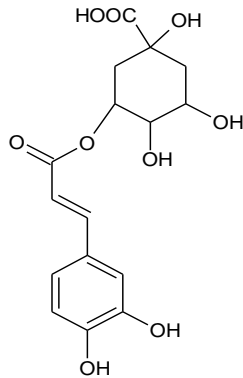


Şiringik asit (19) R<sup>1</sup>: H, R<sup>2</sup>: OCH<sub>3</sub>, R<sup>3</sup>:OH, R<sup>4</sup>: OCH<sub>3</sub>

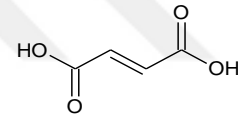
Salisilik asit (20) R<sup>1</sup>: OH, R<sup>2</sup>:H, R<sup>3</sup>:H, R<sup>4</sup>:H

Gallik asit (12) R<sup>1</sup>:H, R<sup>2</sup>:OH, R<sup>3</sup>:OH, R<sup>4</sup>:OH

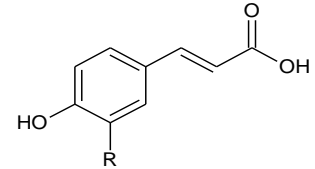
*p*-hidroksi benzoik asit (24): R<sup>1</sup>:H, R<sup>2</sup>:H, R<sup>3</sup>:OH, R<sup>4</sup>:H



Klorojenik asit (8)



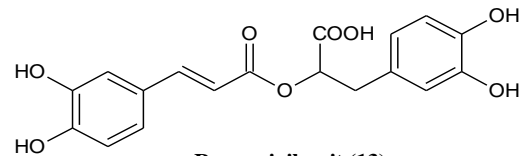
Fumarik asit (9)



*t*-ferulik asit (11), R:OCH<sub>3</sub>

Kafeik asit (14), R:OH

*p*-kumarik asit (10), R:H



Rosmarinik asit (13)

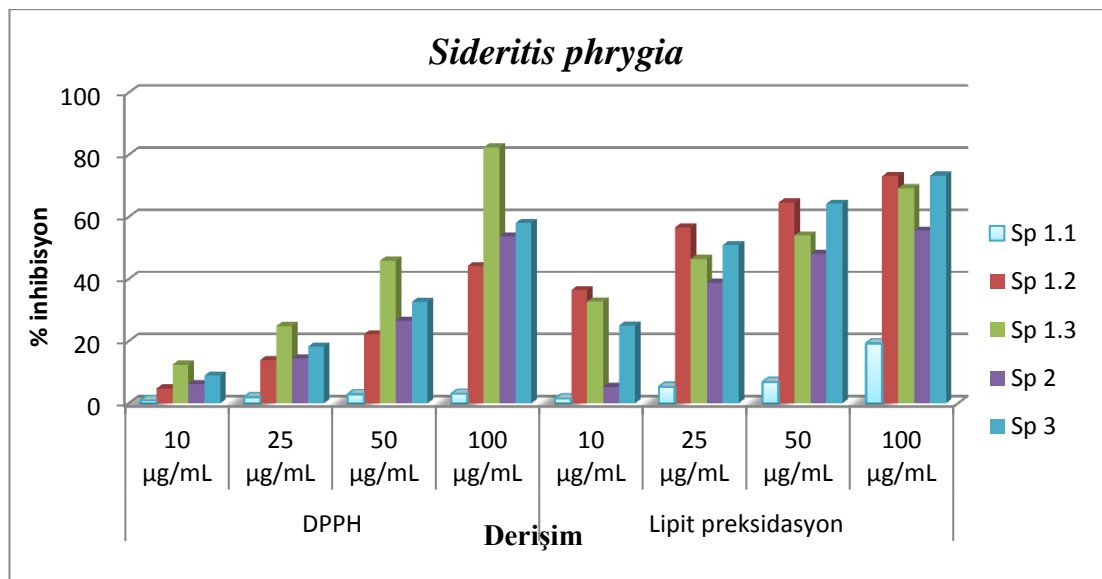
Şekil 4.10: *Sideritis brevibracteata* bitkisinde bulunan fenolik asit yapıları.

Bitkilerin (*Sideritis phrygia*, *S. pisidica*, *S. brevibracteata*) toprak üstü kısımlarından hazırlanan hekzan, aseton ve metanol ekstreleri dört farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 100 µg/ml), DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi, Lipid Peroksidasyon İnhibisyonu ve Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri incelenmiştir.

*Sideritis phrygia*'nın antioksidan aktivite sonuçları Tablo 4.2' de verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında, metanol ekstreleri her üç yöntemde de diğer ekstrelerden daha iyi sonuçlar vermiştir. Özellikle bitkinin metanol ekstresinin 100 µg/mL derişimindeki inhibisyon değerleri oldukça yüksektir (Şekil 4.11).

**Tablo 4.2:** *Sideritis phrygia* bitkisinin antioksidan aktivite sonuçları.

Ekstreler	DPPH (%inhibisyon)				Lipit peroksidasyon (%inhibisyon)				CUPRAC (mmol TR g <sup>-1</sup> )
	Konsantrasyon				Konsantrasyon				
	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	
Sp 1.1	0,93±0,08	1,98±0,63	2,96±0,06	3,06±0,01	1,53±0,38	5,28±0,38	6,84±0,48	19,34±0,81	0,047±0,022
Sp 1.2	4,76±0,16	13,93±0,56	22,20±0,57	44,20±0,71	36,42±0,57	56,60±0,38	64,65±0,58	73,13±0,73	0,214±0,058
Sp 1.3	12,43±0,82	24,83±0,43	45,87±0,21	82,35±0,94	32,78±0,24	46,48±0,95	54,04±0,31	69,26±0,35	0,245±0,052
Sp 2	6,22±0,79	14,42±0,86	26,60±0,82	53,75±0,27	5,30±0,88	38,78±0,33	48,07±0,36	55,57±0,38	0,218±0,053
Sp 3	8,92±0,23	18,25±0,60	32,63±0,63	58,00±0,32	25,05±0,67	50,92±0,61	64,24±0,94	73,32±0,55	0,249±0,062

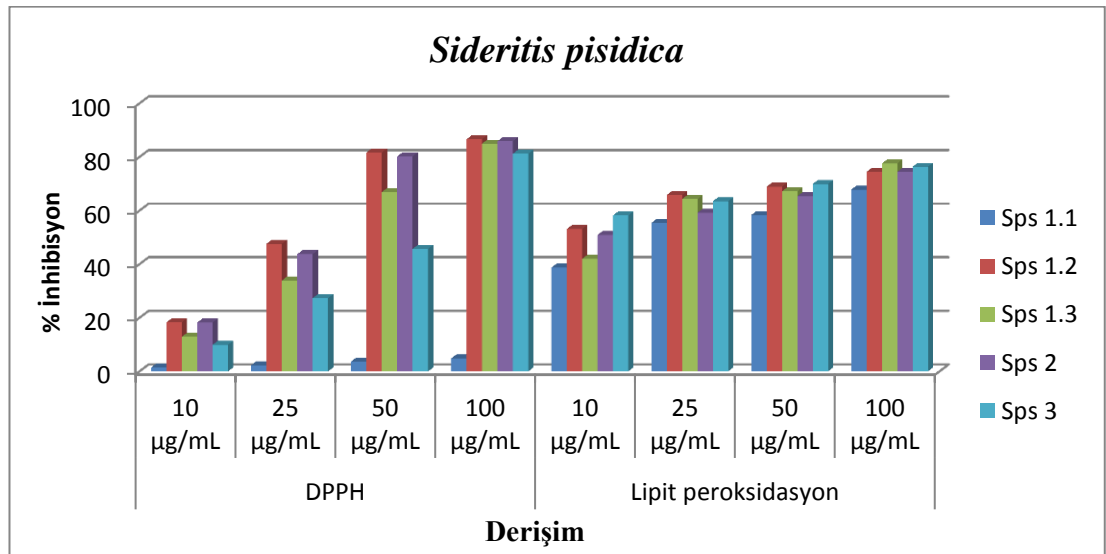


**Şekil 4.11:** *Sideritis phrygia* iki farklı yöntem ile antioksidan % inhibisyon sonuçları.

*Sideritis pisdica* bitkisinin üç yöntemle (DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi, Lipid Peroksidasyon İnhibisyonu ve Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC)) elde edilen antioksidan aktivite sonuçları Tablo 4.3’ de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde bitkinin aseton ve metanol ekstralarının hekzan ekstresine göre yüksek sonuçlar verdiği görüldü. 10 ve 25 µg/mL derişimlerinde hazırlanan bitki örneklerinin, lipit peroksidasyon yöntemiyle elde edilen sonuçları DPPH yöntemi ile elde edilen % inhibisyon değerlerine göre oldukça yüksektir (Şekil 4.12). Buda lipit peroksidasyon yönteminin, DDPH yöntemine kıyasla derişime çok bağılı olmadığını göstermektedir.

**Tablo 4.3:** *Sideritis pisdica* bitkisinin antioksidan aktivite sonuçları.

Ekstreler	DPPH (%inhibisyon)				Lipit peroksidasyon (%inhibisyon)				CUPRAC (mmol TR g-1)
	Konsantrasyon				Konsantrasyon				
	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	
Sps 1.1	1,44±0,18	2,31±0,78	3,72±0,64	4,89±0,26	38,73±0,18	55,38±0,07	58,30±0,89	67,80±0,82	0,093±0,006
Sps 1.2	18,31±0,41	47,62±0,89	81,72±0,48	86,64±0,23	53,11±0,77	65,77±0,57	68,90±0,69	74,43±0,11	0,326±0,064
Sps 1.3	12,92±0,77	33,94±0,97	66,95±0,13	84,96±0,14	41,98±0,44	64,28±0,86	67,15±0,29	77,55±0,39	0,289±0,057
Sps 2	18,23±0,55	43,75±0,94	80,29±0,14	85,90±0,26	50,91±0,21	59,18±0,59	65,34±0,52	74,44±0,73	0,32±0,069
Sps 3	9,92±0,15	27,32±0,82	45,76±0,83	81,19±0,47	58,16±0,44	63,47±0,77	69,93±0,49	76,35±0,27	0,273±0,056

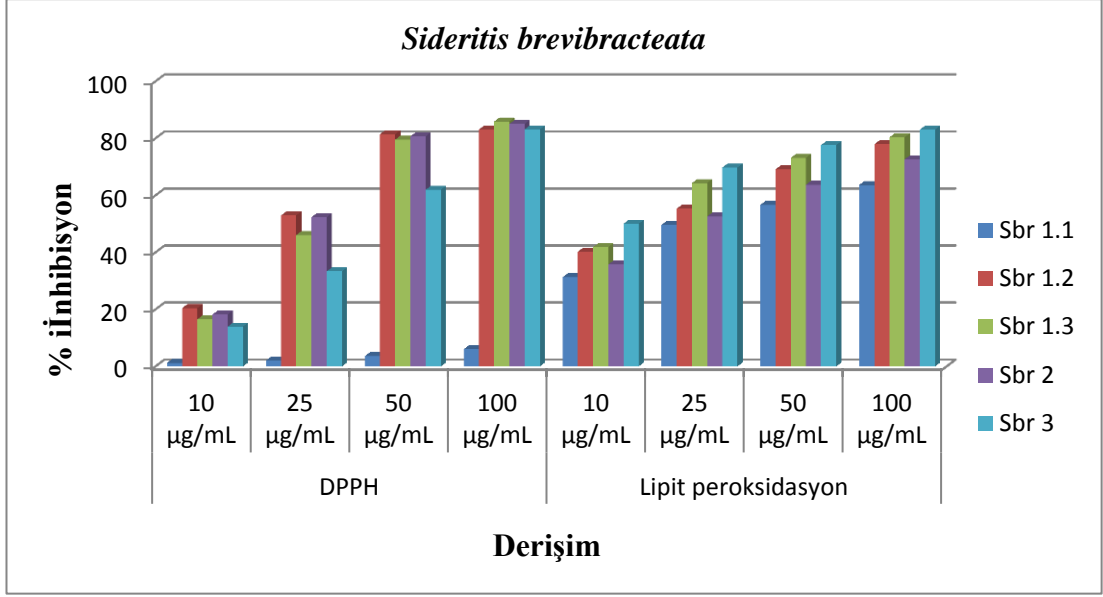


**Şekil 4.12:** *Sideritis pisdica* iki farklı yöntem ile antioksidan % inhibisyon sonuçları.

*Sideritis brevibracteata*' nın antioksidan aktivite sonuçları Tablo 4.4' de verilmiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında bitkinin aseton ve metanol ekstralarının birbirine yakın ve yüksek sonuçlar verdiği görüldü. Özellikle aseton ve metanol ekstralarının 100 µg/mL derişimdeki DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yöntemi % inhibisyon değerleri, kullanılan standartların inhibisyon değerinden (Şekil 3.40) daha yüksek çıkmıştır. Bitkinin hekzan ekstresi farklı derişimleri çok düşük DPPH serbest radikal giderim aktivitesi göstermişlerdir. Buna karşın total antioksidan aktivite ölçümüne dayanan lipid peroksidasyon inhibisyon testindeki değerler yüksektir. CUPRAC yöntemi ile elde edilen sonuçlarda metanol ekstresi, kullanılan standarttan (kurkumin: 0,931±0,071 mmol TR g<sup>-1</sup>) daha yüksek sonuç vermiştir (Tablo 3.42). *Sideritis brevibracteata*' nın standartlara en yakın sonuçlar veren bitki olarak tespit edilmiştir.

**Tablo 4.4:** *Sideritis brevibracteata* bitkisinin antioksidan aktivite sonuçları.

Ekstr eler	DPPH (%inhibisyon)				Lipit peroksidasyon (%inhibisyon)				CUPRAC (mmol TR g <sup>-1</sup> )
	Konsantrasyon				Konsantrasyon				
	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	
<b>Sbr 1.1</b>	1,22±0, 64	2,03±0, 41	3,63±0, 43	6,04±0, 63	31,32± 0,96	49,65± 0,36	56,64± 0,69	63,63± 0,35	0,124±0 ,02
<b>Sbr 1.2</b>	20,46± 0,93	52,97± 0,48	81,46± 0,22	83,12± 0,38	40,28± 0,86	55,33± 0,59	69,12± 0,34	77,92± 0,69	0,46±0, 056
<b>Sbr 1.3</b>	16,53± 0,57	46,10± 0,58	79,56± 0,57	85,92± 0,17	41,83± 0,82	64,31± 0,77	73,15± 0,30	80,36± 0,10	0,513±0 ,025
<b>Sbr 2</b>	18,23± 0,65	52,37± 1,00	80,71± 0,50	85,06± 0,07	35,74± 0,26	52,57± 0,40	63,70± 0,89	72,63± 0,27	0,522±0 ,034
<b>Sbr 3</b>	13,98± 0,61	33,35± 0,19	61,97± 0,73	83,16± 0,22	50,04± 0,54	69,76± 0,53	77,63± 0,65	83,08± 0,20	0,931±0 ,071



**Şekil 4.13:** *Sideritis brevibracteata* iki farklı yöntem ile antioksidan % inhibisyon sonuçları.

Bitkilerin 200 µg/mL derişimde hazırlanan örneklerinin AChE ve BChE inhibisyonuna bakıldığında, AChE için anlamlı sonuçlar elde edilmezken, BChE için oldukça düşük sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 3.43).

Bitkilerle ilgili literatür incelendiğinde bitkilerin çeşitli aktivite çalışmalarının yapıldığı belirlenmiştir [137,139-144].

Sonuç olarak Türkiye için endemik olan ve halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde çay olarak tüketilen üç *Sideritis L.* türü; *Sideritis pisidica* Boiss. Et Heldr., *S. phrygia* Bornm., *S. brevibracteata* P.H. Davis, fitokimyasal bileşenleri ve aktiviteleri bakımından incelenmiş ve sonuçlar dünyadaki bitki kimyacılarının kullanımına sunulmuştur.

## 5. KAYNAKLAR

- [1] Harley, R. M., S. Atkins, A. L., Budansteve, P. D., Cantino, B. J., Conn, R. Grayer, M. M., Harley, et al “The families and genera of vascular plants, Flowering plants, dicotyledons. In K. Kubitzki [ed.]”, *Springer Verlag*, Berlin, Germany.6, 167–275, (2004).
- [2] Gonzalez Burgos, E., Carretero M.E. and Gomez-Serranillos M.P., “*Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities-A review”, *Journal of Ethnopharmacology*, 135, 209–225, (2011).
- [3] Huber-Morath, H., *Sideritis* L., Flora of Turkey and East Aegean Islands, Davis,
- [4] Davis, P.H., Mill, R.R. and Tan, K., “Flora of Turkey and the East Aegean Islands”, *University Press*, Edinburgh, 10, 178-179, (1988).
- [5] Duman, H., Güner A., Özhatay, N., Ekim, E., Baser, K.H.C. (eds.), “*Sideritis* L. Flora of Turkey and East Aegean Islands (Supplement II)” *University Press*, Edinburgh, 11, 5-201, (2000).
- [6] Yordanova and M., Apostolova, I. “Estimation of the status of representative populations of *Sideritis scardica* Griseb. in the Rhodopi Mts” *PhytologiaBalcanica*, 6(1), 43–57, (2000).
- [7] Ezer, N., Sezik, E., Erol, K. Ve Özdemir, M., “Bazı *Sideritis* Türlerinin Antispazmodik Etkileri”, Ed. K. H. C. Başer, IX. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 371, (1991).

- [8] Kaya, A., “Türkiyede Yetişen Acinos Miller Türleri Üzerinde Morfolojik Anatomik ve Kimyasal Araştırmalar”, Doktora Tezi, *Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir, (1997).
- [9] Ayaz, A., “*Sideritis hololeuca* Boiss.&Heldr. apud Bentham ve *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *Violascens* Ekstraktlarının Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Konya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, (2008).
- [10] Özer, Z., “*Sideritis* L. (Lamiaceae) Türlerinden İzole Edilen Siderol Bileşiği Üzerine Deneysel ve Hesapsal Çalışmalar”, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2010).
- [11] Kirimer, N., T.N., Tümen, G., Duman, H. and Başer, K.H.C., “Composition of the essential oils of four endemic *Sideritis* species from Turkey” *Flavour and Fragrance Journal*, 14, 421-425, (1999).
- [12] Bondi, M.L., B.M. Piozzi, F. and Başer K.H.C., “Simmonds M.S.J., Diversity and antifeedant activity of diterpens from Turkish species of *Sideritis*”, *Biochem. Syst. Ecol.*, 28 (4), 299-303, (2000).
- [13] Öztürk, Y., A.S. Öztürk, N. and Başer, K.H.C., “Effects of extracts from certain *Sideritis* species on swimming performance in Mice” *Phytother. Res.*, 10 (1), 70-73, (1996).
- [14] Aydın, S., Ö.Y. Beis, R. and Başer, K.H.C., “Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* essential oils for analgesic activity” *Phytother. Res.*, 10 (4), 342-344, (1996).
- [15] Tunalier, Z., Kosar, M., Ozturk, N., Baser, K.H.C., Duman, H. and Kirimer, N., “Antioxidant properties and phenolic composition of *Sideritis* species”, *Chem. Nat. Comp.*, 40 (3), 206-210, (2004).

- [16] Ezer, N., U.G., Güneş, I. and Erol K., “Antibacterial activity of some *Sideritis* species”, *Fitoterapia*, 6, 549-551, (1994).
- [17] Ezer, N., V.R., Canigueral, S. and Adzet, T., “Essential oil composition of four Turkish species of *Sideritis*”. *Phytochemistry*, 41, 203-205, (1996).
- [18] Kirimer, N., Tabanca, N., Ozek, T., Baser, K.H.C., Tumen, G. and Duman, H., “Composition of essential oils from five endemic *Sideritis* species”, *Journal of Essential Oil Research*, 4, 221-225, (2003).
- [19] Başer, H.C., Vural, M., Tümen, G., Akyalçın, H. and Satıl, F., “Two new records for Flora of Turkey”, *Turkish J. Botany*, 19 (4), 489-490, (1995).
- [20] Özcan, M., C.J.C., Akgül, A., “Essential oil composition of Turkish mountain tea (*Sideritis* ssp.)”, *Food Chem.*, 75 (4), 459-463, (2001).
- [21] Başer K.H.C. and Tümen G., “Essential oil of *Sideritis scardica* Griseb. subsp. *Scardica*” *J. Essent. Oil. Res.*, 9 (2), 205-207, (1997).
- [22] Tabanca, N., K.N., Başer, K.H.C., “The composition of essential oils from two varieties of *Sideritis erythrantha* var. *erythrantha* and var. *Cedretorum*” *Turk J. Chem.*, 25 (2), 201-208, (2001).
- [23] Kirimer, N., D.B., Duman, H., Başer, K.H.C., *Chem. Nat. Comp.*, 40 (1), 19-23, (2004).
- [24] Kirimer, N., T.N., Ozek, T., Tümen, G., Başer, K.H.C., “Essential oils of annual *Sideritis* species growing in Turkey”, *Pharmaceutical Biology*, 38 (2), 106-111, (2000).
- [25] Kirimer, N., O.T., Tanrıverdi, H., Koca, F., Kaya, A., Başer, K.H.C., *J. Essent Oil Res.*, 4, 583, (1992).



[26] Akaya, A., Tümen, G., Başer, K.H.B. and Satıl F. (Eds. K.H.C.Başer ve N.Kırimer), 14. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Eskişehir, (2002).

[27] Yeşilada, E. and Ezer, N., *Int. J. Crude Drug Res.*, 27, 38-40, (1989).

[28] Ceylan, A., *Tıbbi Bitkiler II (Uçucu Yağ İçerenler)*, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi, Bornova-İzmir, 1, 481, (1987).

[29] Skocbusic, M., Bezic, N. and Dunkic, V., “Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis.growing in Croatia”, *Food Chemistry*, 96, 20, (2006).

[30] Burt, S., “Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review”, *International Journal Of Food Microbiology*, 94, 223, (2004).

[31] Baytop, T., *Farmakognozi ders kitabı*, 1, İstanbul Üniversitesi Yayını No:1810, Baha matbaası, 155, (1972).

[32] Özyurt, M.S., *Ekonomik Botanik*, Erciyes Üniversitesi Yayınları No: 47, Kayseri, 13, (1992).

[33] Dorman, H.J.D. and Deans, S.G., “Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils”, *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308, (2000).

[34] Zeybek, U. and Zeybek, N., *Farmasötik Botanik Kapalı Tohumlu Bitkiler (Angiospermae) Sistematığı ve Önemli Maddeleri*, 3 (Değiştirilmiş 3. baskı) Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi, Bornova-İzmir, 378, (2002).

[35] Bağcı, E. and Baser, K.H.C., “Study of essential oils of *Thymus haussknechtii* Velen and *Thymus kotschyanus* Boiss. et Holen var. *kotschyanus* (Lamiaceae) taxa from the eastern Anatolian region in Turkey”, *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 199, (2005).

[36] Tanker, M., Tanker, N., *Farmakognozi*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayını No:65, Ankara, 269, (1990).

[37] Baydar, H., *Tıbbi, Aromatik ve Keyf bitkileri Bilimi ve Teknolojisi*, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, SDÜ basımevi, 51, 77, (2005).

[38] Özatlı, N.S., “Bitlis Yöresinde Yetisen Endemik *Thymus fedtschenkoi* Ronniger var. *handeli* (Ronniger) Jalas Üzerinde Morfolojik, Anatomik ve Korolojik Çalışmalar”, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, Balıkesir, (1999).

[39] Erdik, E., *Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler*, Gazi Kitabevi, Ankara, 701.

[40] Erdik, E., Obalı, M., Yüksekışık, N., Öktemer, A., Pekel, T. Ve İhsanoğlu, E., *Denel Organik Kimya*, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, No:145, 93.

[41] Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Duboirdeau., “the chemistry of wine and stabilization and treatments” *Handbook of Enology*, John Wiley and Sons Ltd., England, 2, (2000).

[42] Harborne, J.B., “Biochemistry of Phenolic Compounds”, *Academic Press*, London, (1964).

[43] Yücel, U. ve Ötles, S., “Şarabın bileşimi ve beslenmedeki önemi” *Dünya Gıda*, 6 (5), 79-82, (2001).

[44] Nizamlıoğlu, M.N. ve Nas, S., “Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler Yapıları ve Önemleri”, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1 (5), 20-35. (2010).

[45] Herman, K., *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, Springer, Wien. (1978).

- [46] Harborne, J.B. and Baxter, H., “The handbook of natural flavonoids”, *The handbook of natural flavonoids*, , WileyVCH, Weinheim, 2, (1999).
- [47] Fahrnan, B. Volkova, N.,. *Nutrition*, 18, 268, (2002)
- [48] Cardenas, M., Marder, M., Blank, V.C. and Roguin, L.P., *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14, 2966, (2006).
- [49] Trovato, A. and Monforte, M.T., “In vitro anti-mycotic activity of some medicinal plants containing flavonoids” *Bollettino chimico farmaceutico*, 139, 5, 225-227, (2000).
- [50] Smith, D. A. and Banks, S. W., “Plant Flavonoids in Biology and Medicine : Biochemical, Pharmacological and Structure Activity Relationship”, 113-124, (1986).
- [51] Baydar, H. “Tıbbi, Aromatik ve Keyif Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi”, *SDÜ Yayınları*, 51, 348, (2007).
- [52] Ryzsnyak, S. and Szent-Greorgy, A, *Nature*, 138, 27, (1936).
- [53] Karakaya, S. ve El, S.N., *Flavonoidler ve sağlık. Beslenme ve Diyet Dergisi* 26 (2), 54-60, (1997).
- [54] Cemeroğlu, A.P. ve Cemeroğlu, B.S., “Sağlık açısından gıda fenolikleri”, *Gıda Teknolojisi*, 3(9),52-55, (1998).
- [55] Schobinger, U., “Meyve ve Sebze Suyu Üretim Teknolojisi”, Çeviren J. Acar, Eugen Ulmer GmbH and Co. Stuttgart. Germany, (1988).
- [56] Hertog, M.G.L., “Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands”. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 2379-2383, (1993).

[57] Sönmez, U., “*Salvia napifolia* Jacq. Bitkisinden elde edilen yeni diterpenoit bileşiklerinin yapı araştırılması”, Doktora tezi, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, (1995).

[58] Gören, A.,C., “Bazı *Sideritis* (*Sideritis argyrea*, *Sideritis dichotoma*, *Sideritis trojana*) Türlerinin Diterpenik Bileşenlerinin İzolasyonu ve Yapılarının Tayini”, Doktora Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2002).

[59] Topçu,G., Gören, A.C., Kiliç, T., Yıldız, Y.K., ve Tümen, G., “Diterpenes from *Sideritis argyrea*”, *Fitoterapia* 72, 1-4, (2001).

[60] Karahan, A., “*Sideritis Gülendami* H.Duman & F.A. Karavelioğlu Bitkisinin Diterpen Bileşiklerinin İzolasyonu ve Yapılarının Tayini”, Yüksek Lisans Tezi *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir (2007).

[61] Çöl, Ç., “*Sideritis tmolea* P. H. Davis Bitkisinin Diterpen Bileşiklerinin İzolasyonu ve Yapılarının Tayini”, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, (2007).

[62] The Free Encyclopedia, <http://en.wikipedia.org/wiki/Terpene> , (2006).

[63] Finar, J.L., D.Sc., Ph.D., ARIÇ, “Spectroskopi and The Chemistry of Natural Products” *Organic Chemistry*, Longman, Fifth Edition, 2 (8), 354-385,440-441,451,459. (1975).

[64] Robbers, J.E., Speedie, M.K., Tyler, V.E. and Ed. Balado, “Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology D., Williams & Wilkins, USA, 81-107, (1996).

[65] Sakar, M.K. ve Tanker, M., “Fitokimyasal Analizler”, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Yay No:67, 181, (1991).

- [66] Akcos, Y., Ezer, N., Calis, I., Demirdamar, R. and Tel, B. C., “Polyphenolic Compounds of *Sideritis lycia* and their anti-inflammatory activity”, *Pharmaceutical Biology*, 37 (2), 118-122, (1999).
- [67] Solomons, G., Fryhle, C., Organik Kimya, (Çev: G. Okay, Y. Yıldır), 7.basımdan Çeviri, İstanbul, 1152-1155, (2002).
- [68] Çarıkçı, S., “*Sideritis condensata* Boiss. & Heldr Bitkisinin Fitokimyasal Analizi”, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir (2005).
- [69] Dişli, A., Yildirir, Y. and Yasar, A., “Galaticat a New Labdane from *Sideritis galatica*”, *J.Fac. of Pharmacy*, 31, 83-85, (2002).
- [70] Ertaş, A., “Endemik iki *Sideritis* türü *S. arguta* ve *S. Congesta*’nın Diterpenik Bileşiklerinin İzolasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul (2005).
- [71] Ulubelen, A. and Topcu. G. “Chemical and Biological Investigations of *Salvia* species growing in Turkey”, *In Studies in Natural Products Chemistry*; Atta-ur-Rahman, Ed., , Elsevier Press, 20, 659-718, New York, (1998).
- [72] Ulubelen, A., Topçu, G. and Kolak, U., “Chemical and Biological Evaluation of Genus *Teucrium*” Bioactive Natural Products (part D) in *Studies in Natural Product Chemistry* , *Elsevier Science*, 23, 591-648, (2000).
- [73] Kılıç, T., “*Sideritis Lycia* ve *Sideritis Leptoclada* Türlerinin Diterpen Bileşiklerinin İzolasyonu ve Karakterizasyonu”, Doktora Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Ana Bilim Dalı, Balıkesir, (2002).
- [74] Moon, J.K. and Shibamoto, T., “Antioxidant Assays for Plant and Food Components”, *J. Agric. Food Chem*, 57, 1655–1666, (2009).

[75] Ayhan, B., “*Sideritis libanotica linearis* bitkisinin sekonder metabolitlerinin saflastırılması, karakterizasyonu ve bazı biyolojik aktivitelerinin incelenmesi”, yüksek Lisans Tezi, *Gazi Osman Paşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Tokat, (2008).

[76] Keskin, H. and Erkmen G., *Besin Kimyası*, Güryay Matbaacılık, Beşinci Basım, İstanbul, (1987).

[77] Konukoğlu, D., *Biyokimya*, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, (2000).

[78] Allen, P., “Soft-Tissue Accumulation Of Lead In The Blue Tilapia, *Oreochromis Aureus* (Steindachner), and The Modifying Effects Of Cadmium And Mercury”, Department Of Zoology, *National University Of Singapore*, 50 (3),193-208, (1995).

[79] Chaudiere, J. ve Ferrari-iliou, R., “Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms”, *Food Chem. Toxicol*, 37(9-10), 949-62, (1999).

[80] Halliwell, B., “How To Characterize An Antioxidant: An Update”, *Biochemistry Society Symposium*, 61,73-101, (1995).

[81] Huang D., Ou, B. ve Prior, R.L., “The chemistry behind antioxidant capacity assays”, *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 53, 4303- 4310, (2005).

[82] MacDonald-Wicks, L.K., Wood, L.G. and Garg, M.L., “Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review”, *J. Sci. Food Agric.*, 86, 2046–2056, (2006).

[83] Kutlular, Ö., “Bazı Adaçayı Ve Kekik Türlerinin Uçucu Yağlarının Süper Isıtılmış Su ile Ekstraksiyonları Ve GC-MS ile Karakterizasyonları”, Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli, (2007).

[84] Benzie, IF., “An automated, specific, spectrophotometric method for measuring ascorbic acid in plasma (EFTSA)”, *Clin Biochem.*,; 29, 111-6, (1996).

- [85] Prior, R.L., Wu, X. and Schaich, K., “Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements”, *J Agr Food Chem.*; 53, 4290-302, (2005).
- [86] Akalın, H.Ü., Altındaş, H., Karaman, Y., Demirtaş, D. ve İmamoğlu, N., “Alzheimer hastalarının lenfositlerinde rna ifadenmesinin araştırılması” Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (*E.Ü. Journal of Health Sciences*), 13 (1), 43-47, (2004).
- [87] Mot, C.A., Dumitrescu, S.R. and Sarbu, C., “Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles FT-IR and UV-VIS spectroscopic data”, *Journal of Food Composite and Analysis*, 24, 516-522, (2011).
- [88] Wettasinghe, M. and Shahidi, F., “Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinalis* L.) seeds”, *Food Chemistry*, 67, 399-414, (1999).
- [89] Mohs, R.C., Doody, R.S., Morris, J.C., et al, for the “312” Study Group., “A 1-year, placebo-controlled preservation of function survival study of donepezil in AD patients, *Neurology*, 57 (3), 481–488, (2001).
- [90] Raskind, M.A., Peskind, E.R., Truyen, L., et al., “The cognitive benefits of galantamine are sustained for at least 36 months: A long-term extension trial”, *Arch Neurol.*, 61, 252–256, (2004).
- [91] Giacobini, E., “Long-term stabilizing effect of cholinesterase inhibitors in the therapy of Alzheimer’s disease”, *J Neural Transm Suppl.*, 62, 181–187, (2002).
- [92] Rees, T.M. and Brimijoin, S., “The role of acetylcholinesterase in the pathogenesis of Alzheimer’s disease”, *Drugs Today (Barc)*. 39, 75–83, (2003).

- [93] Şahin, H.A., “Asetilkolin, Kolinesterazlar ve Alzheimer Hastalığı”, *Demans Dergisi*;2, 69-73, (2002).
- [94] Hartman, R. E., “Actions of Bioactive Phytochemicals in Cell Function and Alzheimer’s Disease Pathology”, *Taylor & Francis Group, LLC*, chapter 16, (2010).
- [95] Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. and Featherston, R.M., “A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity”, *Biochem. Pharmacol.*, 7, 88-95, (1961).
- [96] Karaman, P., “Bazı Aromatik Bitki Türlerinin Antimikrobiyal, Antioksidan Ve DNA Koruyucu Aktivitelerinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Sivas, (2011).
- [97] Ellison, S.L.R., Rosslein, M., and Williams, A., *EURACHEM/CITAC Guide, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, vol 2, (2000).
- [98] Bursal, E., Köksal, E., Gülçin, İ., Bilsel, G. and Gören, A.C., “Antioxidant activity and polyphenol content of cherry stem (*Cerasus avium* L.) determined by LC–MS/MS” *Food Research International*, 51 (1), 66-74, (2013).
- [99] Gören, A.C., Bilsel, G. and Bilsel, M., “Rapid and simultaneous determination of 25-OH-vitamin D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> in human serum by LC/MS/MS: Validation and uncertainty assesment”, *Journal of Chemical Metrology*, 1 (1), 1-10 (2007).
- [100] Gören, A.C., Çıkrıkçı, S., Çergel, M. and Bilsel, G., “Rapid quantitation of curcumin in turmeric via NMR and LC–tandem mass spectrometry” *Food Chemistry* 113 (4), 1239-1242, (2009).
- [101] Blois, M.S, “Antioxidant determinations by the use of a stable free radical”, *Nature*, 181, 1199-1200, (1958).



- [102] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S.E. "Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay", *Microchimica Acta.*, 160, 413-419, (2008).
- [103] Özyürek, M., Bener, M, Güçlü, K., Dönmez, A.A., Selçuk, S.S., Pırıldar, S., Meriçli, A.H. and Apak, R. "Evaluation of Antioxidant Activity of Crataegus Species Collected from Different Regions of Turkey", *Records Natural Products*, 6, 263-277, (2012).
- [104] Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S.E., Bektaşoğlu, B., Berker, K.I. and Özyurt, D., "Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay", *Molecules*, 12, 1496-1547, (2007).
- [105] Miller, H.E., "A simplified method for the evaluation of antioxidants", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, , 45, 91-98, (1971).
- [106] Andrews, J.M., "BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 4)", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56, 60-76, (2005).
- [107] Türker, H., Yıldırım, B.A., Karakaş, P.F. and Köylüoğlu, H., "Antibacterial Activities of Extracts from Some Turkish Endemic Plants on Common Fish Pathogens", *Turkish Journal of Biology*, 33, 73-78, (2009).
- [108] Kocaçalışkan, İ., Talan, İ. and Terzi, İ., "Antimicrobial Activity Catechol and Pyrogallol as Allelochemicals", *Z.Naturforsch.*, 61,639-642, (2006).
- [109] Gobley, N.T., "Recherches Sur Le Principe Odorant De La Vanille", *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 34, 401-405, (1858).

- [110] Yalçın, B., “Isırgan Otundaki (*Urtica Dioica*) Bazı Fenolik Bileşiklerin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir, (2011).
- [111] Igarashi, K. and Ohmuma M., “Effects of isorhamnetin, rhamnetin, and quercetin on the concentrations of cholesterol and lipoperoxide in the serum and liver and on the blood and liver antioxidative enzyme activities of rats.”, *Biosci Biotechnol Biochem*, 59, 595-601, (1995).
- [112] Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F. and Brouillard, R., “Analysis and biological activities of anthocyanins”, *Phytochem.* 64, 923-933, (2003).
- [113] Galvano, F., Fauci, L.L., Lazzarino, G., Fogliano, V., Ritieni, A., Ciappellano, S., Battistini, N.C., Tavazzi, B. and Galvano, G. “Cyanidins: metabolism and biological properties”, *J. Nutr. Biochem*, 15, 2-11, (2004).
- [114] Chen, J.H. and Ho, C., “Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45,2374-2378, (1997).
- [115] Gülçin, İ., “Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). Toxicology”, 217, 213–220, (2006).
- [116] Seçkin, T., *İşlevsel bitki kimyası*, Ankara: Nobel, (2014).
- [117] Wang, X., Wang, J. and Yang N., “Chemiluminescent determination of chlorogenic acid in fruits”, *Food Chemistry*, 102, 422–426, (2007).
- [118] Chapman and Hall CRC Chemical Dictionaries on CD ROM, Natural Products inc. Berdy, *Bioactive Nat Prod. And Derep Databases*, (2003).
- [119] Tsuda, T., Ohshima, K., Kawakishi, S. and Osawa, T. “Antioxidative pigments isolated from the seeds of *Phaseolus vulgaris* L.” *J. Agric. Food Chem.* 4, 248-251, (1994).

[120] Lv, P., Li, H., Xue, J., Shi, L. and Zhu, H. “Synthesis and biological evaluation of novel luteolin derivatives as antibacterial agents”, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44, 908-914, (2009).

[121] Akış, T., “Piyasada Çay Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Belirlenmesi ve Fenolik Yapılarının İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, (2010).

[122] Harborne, J. B., Plant phenolics. In: Secondary Plant Products. (E. A. Bell, B. V. Charlwood ed.), *Springer-Verlag*, Berlin, 329-402, (1980).

[123] Köseadağ, A., “*Sideritis stricta* Boiss & Heldr Bitkinin Fitokimyasal Analizi” Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2005).

[124] Hatipoğlu, S., “*Salvia Adenophylla* ve *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca* Bitkilerindeki Sekonder Metabolitlerin Aktivite Odaklı İzolasyonu ve Yarı Sentetik Türevlerinin Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul, (2010).

[125] Arnold, C.O. and Charles D. B., “The Isolation of Stigmasterol and  $\beta$ -Sitosterol from the Common Bean, *Phaseolus vulgaris*”, *J. Am. Chem. Soc.*, 66 (3), 489-491, (1944).

[126] Venkata, S.P.C. and Indra, P., “Isolation of Stigmasterol and  $\beta$ -Sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*” Chaturvedula and Prakash, *International Current Pharmaceutical Journal*, 1(9), 239-242, (2012).

[127] Güvenalp, Z., Kılıc, N., Kazaz, C., Kaya, Y. and Demirezer, L.O., “Chemical Constituents of *Galium tortumense*”, *Turk J Chem*, 30, 515-523, (2006).

- [128] Çarıkçı, S., “Bazı *Sideritis* (*Sideritis niveotomentosa*, *Sideritis hololeuca*, *Sideritis brevidens*) Türlerinin Diterpenik Bileşenlerinin İzolasyonu ve Yapılarının Tayini”, Doktora Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir (2010).
- [129] Şahin, F.P., Ezer, N. and Çalış, İ., “Three acylated flavon glycosides from *Sideritis öztürki*”, *Phytochemistry*, 65, 2095-2099, (2004).
- [130] Venturella, P. and Bellino, A., “Eubotriol and Eubol, New Diterpenes from *Sideritis euboica*”, *Experientia*, 33 (10), 1270-1271, (1977).
- [131] Kılıç, T., Yıldız, Y.K., Topcu, G., Goren, A.C., Ay, M., Bodige, S.G. and Watson, W.H., “X-ray analysis of sideroxol from *Sideritis leptoclada*”, *J. Chem. Cryst.*, 35, 647-650, (2005).
- [132] Topçu, G., Gören, A.C., Kılıç, T., Yıldız, Y.K. and Tümen, G., “Diterpenes from *Sideritis sipylea* and *S. dichotoma*”, *Turkish Journal of Chemistry*, 26, (2002).
- [133] Topçu, G., Barla, A., Gören, A.C., Bilsel, G., Bilsel, M, Tümen, G., “Analysis of the essential oil composition of *Sideritis albiflora* using direct thermal desorption and headspace GC-MS techniques”, *Turk. J. Chem.*, 29, 525-529, (2005).
- [134] Kirimer, N., Baser, K.H.C., Demirci, B. and Duman H., “essential oils of *Sideritis* species of Turkey belonging to section empedoclia”, *Chem. Nat. Comp.*, 40(1), 19-23, (2004).
- [135] Kirimer N., Tabanca, N., Ozek, T., Baser, K.H.C., Tumen, G. and Prir.Soedin K., “Composition of essential oils from two endemic *Sideritis* species of Turkey”, *Chem. Nat. Comp.*, 35, 61-64 (1999).
- [136] Özkan, G., Krüger, H., Schulz, H. and Özcan, M., “Essential oil composition of three *Sideritis* species used as herbal teas in Turkey”, 8 (2), 173-177, (2005).

- [137] Tekeli, Y., “Antioxidant activities and phenolic compounds of two endemic taxa of Labiatae *Sideritis*” *Revista De Chimie*, 63, 5, 465-469, (2012).
- [138] Gulcan, O., “Comparison of antioxidant phenolics of ethanolic extracts and aqueous infusions from *Sideritis* species’ *Asian Journal of Chemistry*, 21 (2), 1024-1028, (2009).
- [139] Guvenc A., Okada Y., Kupeli Akkol E., Duman H, Okuyama T. and Calis I. “Investigations of anti-inflammatory, antinociceptive, antioxidant and aldose reductase inhibitory activities of phenolic compounds from *Sideritis brevibracteata*”, *Food Chemistry*, 118, 686–692, (2010).
- [140] Patel D. K., Kumar R., Sairam, K. and Hemalatha, S. “Pharmacologically tested aldose reductase inhibitors isolated from plant sources-A concise report” *Chinese Journal of Natural Medicines*, 10 (5), 388-340, (2012).
- [141] Tandogan, B., Guvenc, A., Calış, I. and Ulusu, N. N., “*In vitro* effects of compounds isolated from *Sideritis brevibracteata* on bovine kidney cortex glutathione reductase” *Acta Biochimica Polonica*, 58 (4), 471–475, (2011).
- [142] Guvenc, A., Houghton, P.J., Duman, H., Coskun, M. and Sahin, P., “Antioxidant activity studies on selected *Sideritis* species native to Turkey’, *Pharmaceutical Biology*, 43 (2), 173–177, (2005).
- [143] Orhan, I.E., Baki, E., Şenol, S. and Yılmaz, G., “Sage-called plant species sold in Turkey and their antioxidant activities” *J. Serb. Chem. Soc.* 75 (11), 1491-1501, (2010).
- [144] Dulger, B., Gonuz, A. and Bican, T., “Antimicrobial studies on three endemic species of *Sideritis* from Turkey” *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 47 (2), 153-156, (2005).