



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**NEPETA CADMEA BOİSS. ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Selin KALENDER

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Alper GÖKBULUT**

2020- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NEPETA CADMEA BOİSS. ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Selin KALENDER

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Alper GÖKBULUT**

2020- ANKARA

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Nepeta cadmea* Boiss. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Selin Kalender

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakognozi Anabilim Dalında
Selin Kalender tarafından hazırlanan
“*Nepeta cadmea* Boiss. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar” adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS olarak
OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17/01/2020

Prof. Dr. Betül SEVER YILMAZ
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN
Gazi Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Alper GÖKBULUT
Ankara Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof.Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	x
Çizelgeler	xvi
1.GİRİŞ	1
1.1. Lamiaceae Familyasının Botanik Özellikleri	1
1.2. <i>Nepeta</i> Türlerinin Botanik Özellikleri	2
1.2.1. <i>Nepeta cadmea</i> Boiss.'in Botanik Özellikleri	3
1.2.2. Türkiye'de Yetişen <i>Nepeta</i> Türleri	3
1.2.3. <i>Nepeta cadmea</i> Boiss.'in Sistematikteki Yeri	5
1.3. <i>Nepeta</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	6
1.3.1. Uçucu Yağlar	6
1.3.2. Flavonoidler	15
1.3.3. Fenolik Bileşikler	19
1.3.4. Steroitler	22
1.4. <i>Nepeta cadmea</i> Boiss. Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	25
1.5. <i>Nepeta</i> Türlerinin Geleneksel Kullanımı	25
1.6. <i>Nepeta</i> Türleri Üzerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları	26
1.6.1. <i>In vivo</i> ve <i>In vitro</i> Çalışmalar	26
1.6.1.1. Antibakteriyal Etki	27
1.6.1.2. Böcek Öldürücü/Kovucu Aktivite	29
1.6.1.3. Larva Öldürücü Etki	29
1.6.1.4. Sitotoksik Aktivite	29
1.6.1.5. Antimelanogenez Etki	30
1.6.1.6. Antioksidan Aktivite	31
1.6.1.7. Antikonvülzan ve Miyorelaksan Aktivite	31
1.6.1.8. Analjezik ve Antienflamatuar Aktivite	31
1.6.1.9. Kronik Morfin Bağımlılığını Azaltıcı Etki	33
1.6.1.10. Cinsel Davranışlar Üzerinde Etki	33
1.6.1.11. Anti-Aterosklerotik Aktivite	34
1.6.1.12. Vazorelaksan ve Trombosit Agregasyon Aktivitesi	34
1.6.1.13. Enzim İnhibitör Aktivite	34
1.6.2. Klinik Çalışmalar	36
1.6.2.1. Adet Öncesi Sendromları İyileştirici Etki	36
1.6.2.2. Antidepresan Aktivite	36
2. GEREÇ ve YÖNTEM	38
2.1. Bitkisel Materyal	38
2.2. Fitokimyasal Çalışmalar	38

2.2.1. Ekstraksiyon Yöntemi	38
2.2.2. <i>Nepeta cadmea</i> Boiss.'in İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi	38
2.2.3. <i>Nepeta cadmea</i> Boiss.'in Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi	39
2.2.4. <i>Nepeta cadmea</i> Boiss.'deki Bazı Fenolik Bileşiklerin YPSK ile Miktar Tayinleri	40
2.2.4.1. YPSK Analiz Koşulları	40
2.2.4.2. Fenolik Bileşiklerin Eksternal Standart Yöntemi ile Miktar Tayinleri	41
2.2.4.3. Teşhis ve Miktar Tayini Sınır Değerlerinin (LOD ve LOQ) Hesaplanması	43
2.3. Aktivite Testleri	43
2.3.1. Antidiyabetik Potansiyel	43
2.3.1.1. Alfa-Glukozidaz Enzim İnhibitör Aktivite Testi	43
2.3.1.2. Alfa- Amilaz Enzim İnhibitör Aktivite Testi	44
3. BULGULAR	45
3.1. <i>Nepeta cadmea</i> Metanol Ekstresi	45
3.2. <i>N. cadmea</i> 'nın İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) İle İncelenmesi	45
3.3. <i>N.cadmea</i> 'nın Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPI TK) ile İncelenmesi	56
3.4. <i>N. cadmea</i> 'nın YPSK Analizleri	60
3.4.1. Standart Bileşiklerin Doğru Denklemleri	60
3.4.2. Alan Ortalamaları, SD ve % RSD Verileri (LOQ Konsantrasyonu)	62
3.4.3. <i>Nepeta cadmea</i> Boiss. İçin Fenolik Madde Analizlerinde Elde Edilen YPSK Kromatogramları	62
3.5. Aktivite Testleri	64
3.5.1. Alfa Glukozidaz Enzim İnhibitör Aktivite Testi	64
3.5.2. Alfa Amilaz Enzim İnhibitör Aktivite Testi	65
4. TARTIŞMA	66
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	69
ÖZET	71
SUMMARY	72
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	77

ÖNSÖZ

Dünya üzerinde geniş yayılım gösteren *Nepeta* cinsi halk arasında yara iyileştirici, antihelmentik, antiromatizmal, öksürük sedatifi vb. etkilerinden dolayı kullanılmaktadır. Sınırlı sayıda yapılan fitokimyasal analizler ve aktivite testleri ile *Nepeta* cinsi bitkilerinden elde edilen bileşiklerin önemli farmakolojik aktivitelere sahip olduğu görülmüştür. Bununla birlikte *Nepeta cadmea* Boiss. bitkisi ile yapılan fitokimyasal çalışmaların azlığı ve bazı biyolojik etkilere yönelik çalışmanın bulunmaması bizi Türkiye’de doğal olarak yetişen bu bitki üzerinde çalışmaya yöneltmiştir. Bitki üzerinde ekstraksiyon, miktar tayini ve antidiyabetik potansiyeli açısından çalışmalar yapılarak elde edilen yeni verilerle bilim dünyasına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

Tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi, tecrübe ve fedakarlıklarıyla bana büyük destek veren, yaşadığım her türlü sıkıntıda yardımcı olan, yol gösteren tez danışmanım, çok değerli hocam Doç. Dr. Alper GÖKBULUT’a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında Merkez Laboratuvarını kullanmama olanak sağlayan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı’na teşekkür ederim.

Anabilim Dalımızın değerli hocalarına ve Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Enzim aktivite çalışmalarımı yönlendiren Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN’a ve deneylerim esnasında büyük yardımlarını gördüğüm Ecz. Burçin ÖZİPEK ve Araştırma Görevlisi Sultan PEKACAR’a teşekkür ederim

Bitkinin toplanması ve teşhisinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Mehmet ÇİÇEK’ e ve Dr. Bio. Gülderen YILMAZ’ a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında gösterdikleri ilgi ve destekten dolayı aileme teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşım Arş. Gör. Pınar KUL' a teşekkür ederim.

İş arkadaşlarım Uzm. Ecz. Selin İMAMOĞLU ve Yüksek Yazılım Mühendisi Mustafa OTAĞ'a lisansüstü eğitimim boyunca ve tez çalışmalarım sırasında verdikleri destek için teşekkür ederim.



SİMGELER ve KISALTMALAR

ADC	Automatic Development Chamber
AEF	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
ATS	Automatic TLC Sampler
α	Alfa
β	Beta
C NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
DAD	Diode Array Dedector
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EIMS	Electron Impact Mass Spectroscopy
FTIR	Fouirer Transform Infrared Spektrofotometre
GALAEs	Galanthamine Equivalents.
GC	Gas Chromatography
GC/FID	Gas Chromatography/Flame Ionization Dedector
GC/MS	Gas Chromatography/Mass Spectroscopy
γ	Gama
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
HPTLC	High-Performance Thin-Layer Chromatography
¹ H NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
IC ₅₀	Inhibitory Concentration 50%
IR	Infrared
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
LC ₅₀	Lethal Concentration 50%
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantification
mg	Miligram
μ	Mikro
MIC	Minimum Inhibition Concentration

MITF	Microphthalmia- Associated Transcription Factor
MS	Mass Spectrometry
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromit
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PMS	Premenstrüel Sendrom
ppm	Parts Per Million
ρ	Para
rpm	Revolutions per Minute
RSD	Relative Standard Deviation
SD	Standard Deviation
TFA	Trifluoroacetic Acid
TLC	Thin-Layer Chromatography
UHPLC	Ultra High-Performance Liquid Chromatography
UV	Ultraviyole
VSK	Vakum Sıvı Kromatografisi
YPIK	Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi
YPSK	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. <i>Nepeta cadmea</i> Boiss.	3
Şekil 1.2. 1,8-sineol (1), 4 α ,7 α ,7 $\alpha\alpha$ -nepetalakton (2), α -pinen (3), β -pinen (4), α -terpineol (5)	7
Şekil 1.3. Linalil asetat	7
Şekil 1.4. α -spiro [5,6] dodekan	8
Şekil 1.5. 4 $\alpha\alpha$,7 α ,7 $\alpha\beta$ -nepetalakton (1), 4 $\alpha\beta$,7 α ,7 $\alpha\beta$ -nepetalakton (2), timol (3)	8
Şekil 1.6. Elemol	9
Şekil 1.7. <i>trans,cis</i> -nepetalakton (1), <i>cis,trans</i> -nepetakton (2), nepetalaktol (3), <i>trans,trans</i> -nepetalakton (4)	10
Şekil 1.8. (E)- α -bisabolen	11
Şekil 1.9. β -karyofillen	11
Şekil 1.10. α -sital (1), nerol (2), geraniol (3)	12
Şekil 1.11. Nepetanudosid B (1), nepetanudosid C (2), nepetanudosid D (3), velpetin (4)	13
Şekil 1.12. İksorozit (1), nepetanudosit B (2), oleanolik asit (3), ursolik asit (4)	14
Şekil 1.13. β -amirin (1), glutinol (2)	15
Şekil 1.14. Apigenin (1), luteolin (2), apigenin 7- <i>O</i> - β -glukopiranozit (3), luteolin-7- <i>O</i> - β -glukopiranozit (4)	16
Şekil 1.15. Apigenin-7- <i>O</i> -glukuronit (1), apigenin-7- <i>O</i> -glukopiranozit (2)	17
Şekil 1.16. Naringenin (1), kersetin (2), rutin (3)	18
Şekil 1.17. Kafeik Asit (1), rozmarinik Asit (2), klorojenik Asit (3)	19
Şekil 1.18. Ferulik asit (1), akasetin (2)	20
Şekil 1.19. Kinik asit	21
Şekil 1.20. <i>p</i> -kumarik asit	21
Şekil 1.21. Ferulik asidin alkil esterleri (1), rozmarinik asit propil alkol (2), sinalbikol (3)	22
Şekil 1.22. β -sitosterol	23
Şekil 1.23. Stigmasterol glukozit (1), stigmasterol (2), β -sitosterol (3)	24

- Şekil 3.1.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde gün ışığında İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin, 2:Klorojenik Asit, 3:Rozmarinik Asit, 4:Kafeik Asit, 5:Luteolin, 6:Kersetin) 45
- Şekil 3.2.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde UV 254 nm'deki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin, 2:Klorojenik Asit, 3:Rozmarinik Asit, 4:Kafeik Asit, 5:Luteolin, 6:Kersetin) 46
- Şekil 3.3.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde UV 366 nm'deki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin, 2:Klorojenik Asit, 3:Rozmarinik Asit, 4:Kafeik Asit, 5:Luteolin, 6:Kersetin) 46
- Şekil 3.4.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (8,5:1,5:0,1) çözücü sisteminde gün ışığındaki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin, 2:Kersetin, 3:Klorojenik Asit, 4:Rozmarinik Asit, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin) 47
- Şekil 3.5.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (8,5:1,5:0,1) çözücü sisteminde UV 254 nm'deki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin, 2:Kersetin, 3:Klorojenik Asit, 4:Rozmarinik Asit, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin) 47
- Şekil 3.6.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde gün ışığındaki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Kersetin, 2:Klorojenik Asit, 3:Kafeik Asit, 4:Rozmarinik Asit, 5:Luteolin, 6:Apigenin) 48

- Şekil 3.7.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Kersetin, 2:Klorojenik Asit, 3:Kafeik Asit, 4:Rozmarinik Asit, 5:Luteolin, 6:Apigenin) 48
- Şekil 3.8.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde UV 366 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Kersetin, 2:Klorojenik Asit, 3:Kafeik Asit, 4:Rozmarinik Asit, 5:Luteolin, 6:Apigenin) 49
- Şekil 3.9.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Formik Asit: Su: Etil Asetat (1:1:15) çözücü sisteminde gün ışığındaki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin 2:Klorojenik Asit, 3:Rozmarinik Asit, 4:Kafeik Asit, 5:Luteolin, 6:Kersetin) 49
- Şekil 3.10.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Formik Asit: Su: Etil Asetat (1:1:15) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin 2:Klorojenik Asit, 3:Rozmarinik Asit, 4:Kafeik Asit, 5:Luteolin, 6:Kersetin) 50
- Şekil 3.11.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Formik Asit: Su: Etil Asetat (1:1:15) çözücü sisteminde UV 366 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin 2:Klorojenik Asit, 3:Rozmarinik Asit, 4:Kafeik Asit, 5:Luteolin, 6:Kersetin) 50
- Şekil 3.12.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Su: Formik Asit: Asetik Asit (100:27:11:11) çözücü sisteminde gün ışığındaki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin) 51

- Şekil 3.13.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Su: Formik Asit: Asetik Asit(100:27:11:11) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin) 51
- Şekil 3.14.** *N.cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Su: Formik Asit: Asetik Asit (100:27:11:11) çözücü sisteminde UV 366 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin) 52
- Şekil 3.15.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Formik Asit: Su: Etil Metil Keton (5:5:1:3) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin) 52
- Şekil 3.16.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin n-Hekzan: Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (2:5:2,5:0,5) çözücü sisteminde gün ışığındaki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin) 53
- Şekil 3.17.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin n-Hekzan: Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (2:5:2,5:0,5) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin) 53
- Şekil 3.18.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin n-Hekzan: Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (2:5:2,5:0,5) çözücü sisteminde UV 366 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin) 54

- Şekil 3.19.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Metanol: Su (100:16,5:13,5) çözücü sisteminde gün ışığındaki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin) 54
- Şekil 3.20.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Metanol: Su (100:16,5:13,5) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin) 55
- Şekil 3.21.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Metanol: Su (100:16,5:13,5) çözücü sisteminde UV 366 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin) 55
- Şekil 3.22.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Formik Asit: Su (20:2:3) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin 2:Kersetin, 3:Klorojenik Asit, 4:Rozmarinik Asit, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin) 56
- Şekil 3.23.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde gün ışığındaki YPİTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin) 57
- Şekil 3.24.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde UV 254 nm'de YPİTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin) 57

- Şekil 3.25.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde UV 366 nm'de YPİTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin) 58
- Şekil 3.26.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde gün ışığındaki YPİTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin) 58
- Şekil 3.27.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde UV 254 nm'de YPİTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin) 59
- Şekil 3.28.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde UV 366 nm'de YPİTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin) 59
- Şekil 3.29.** *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin YPSK kromatogramı 62
- Şekil 3.30.** Bazı standart bileşiklerin YPSK kromatogramı (sırasıyla klorojenik asit, kafeik asit, rutin, elajik asit, rozmarinik asit, kersetin, luteolin, apigenin) 63
- Şekil 3.31.** Standart rozmarinik asit ve ekstredeki rozmarinik asitin çakıştırılmış UV spektrumları 63
- Şekil 3.32.** Alfa-glukozidaz enzim inhibitör aktivite testinde mikro plak kuyucuklarının görüntüsü 64
- Şekil 3.33.** Alfa-amilaz enzim inhibitör aktivite testinde mikro plak kuyucuklarının görüntüsü 65

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. <i>Nepeta</i> Türlerinin Biyolojik Etkileri	35
Çizelge 2.1. YPSK analizinde gradient elüsyon için kullanılan çözücülerin oranları	41
Çizelge 3.1. Klorojenik asitin kalibrasyon verileri	60
Çizelge 3.2. Klorojenik asitin doğru denklemi, R ² , LOD ve LOQ değerleri	61
Çizelge 3.3. Kafeik asitin kalibrasyon verileri	61
Çizelge 3.4. Kafeik asitin doğru denklemi, R ² , LOD ve LOQ değerleri	61
Çizelge 3.5. Rozmarinik asitin kalibrasyon verileri	61
Çizelge 3.6. Rozmarinik asitin doğru denklemi, R ² , LOD ve LOQ değerleri	62
Çizelge 3.7. LOQ konsantrasyonlarındaki % RSD değerleri	62
Çizelge 3.8. <i>Nepeta cadmea</i> Boiss.'in topraküstü kısımlarının metanollü ekstresindeki fenolik madde % miktarları	63
Çizelge 3.9. <i>Nepeta cadmea</i> Boiss. α -glukozidaz enzim inhibisyonu	64
Çizelge 3.10. <i>Nepeta cadmea</i> Boiss. α -amilaz enzim inhibisyonu	65

1.GİRİŞ

1.1. Lamiaceae Familyasının Botanik Özellikleri

Lamiaceae (Ballıbabagiller) ailesi dünya üzerinde birkaç bölge dışında her yerde yetişmekte olup çift çeneklilerin en gelişmişlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Lamiaceae yaklaşık 236 cins içeren kozmopolit dağılıma sahip çiçekli bitkilerin bir ailesidir ve 6900-7200 tür içerdiği bildirilmiştir. Ailenin en çok tür içeren cinsleri *Salvia*, *Scutellaria*, *Stachys*, *Thymus* ve *Nepeta* 'dır (Tamokou ve ark., 2017). Türkiye'de Lamiaceae ailesi 45 cins, 550 tür ve 730 taksonla temsil edilmektedir. Cins bakımından Poaceae, Asteraceae, Apiaceae, Brassicaceae ve Fabaceae'den sonra 45 cinsle altıncı, tür bakımından Asteraceae ve Fabaceae'den sonra 550 türle üçüncü büyük familyadır. Bunlar içerisinde 245 takson endemik olup ailenin endemizm oranı %44.7'dir (Baser ve ark., 2006; Dönmez ve ark., 2011).

Lamiaceae; bir ya da çok yıllık olup genel olarak güzel kokulu, otsular, nadiren çalılar veya ağaçları kapsayan bir çiçekli bitki familyasıdır. Uçucu yağ, sapı tek, başı 8 hücreli Lamiaceae tipi salgı tüylerindedir. Eskiden Labiatae de denilen Lamiaceae ailesinin belirgin özelliklerinden başlıcaları yapraklar tipik olarak basit ve karşılıklı dizilmiş, gövdeleri ise çoğunlukla dört köşelidir. Çiçekler genellikle kümeler halinde dizilmiş ve iki kanatlı-kanatlar açık- beş loblu çan benzeri birleşik çanak yapraklarla birlikte tüp şeklinde taç yapraklara sahiptir (Tanker ve ark., 2004).

Lamiaceae familyası bitkilerinden çeşitli yöntemlerle elde edilen sekonder metabolitler arasında başlıca uçucu yağ, flavanoitler ve saponozitler yer almaktadır. Familyaya ait bitkilerin biyolojik etkilerinden bazılarına örnek verilecek olursa; *Mentha piperita* (nane), iyi bir boğaz antiseptiğidir ve midede antispazmodik etki gösterir. *Lavandula officinalis* (Lavanta), parfümeri ve kozmetikte kullanılır. *Melissa officinalis* (Oğul otu), stomaşık ve sedatif etkilidir. *Thymus vulgaris* (kekik), mide bağırsak rahatsızlıklarında, kuru öksürükte vs. etkilidir. *Salvia officinalis* (tıbbi

adaçayı), iyi bir solunum yolu antiseptiğidir. *Rosmarinus officinalis* (biberiye), haricen romatizmada kullanılır (Tanker ve ark., 2004).

1.2. *Nepeta* Türlerinin Botanik Özellikleri

Nepeta cinsi adını Antik İtalyan kenti Nephi'den almıştır. Aynı zamanda “Glechoma, Catnip ve Cataria” olarak da bilinir (Süntar ve ark., 2018). Lamiaceae ailesinin en büyük cinslerinden biri olan *Nepeta* cinsi, Nepetoideae ve Mentheae alt ailesine aittir (Celenk ve ark., 2008; Formisano ve ark., 2011; Jamzad ve ark., 2003, Süntar ve ark., 2018).

Nepeta türleri; Güneybatı Asya ve Orta Asya, Güney Avrupa, Afrika, Kuzey Amerika'da yetişmektedir. Türlerin en yaygın ve çeşitli olduğu yer Güneybatı Asya, özellikle İran ve Türkiye, ve Hindikuş Dağları dahil Batı Himalayalardır (Celenk ve ark., 2008; Dirmenci, 2005; Formisano ve ark., 2011; Jamzad ve ark., 2003; Süntar ve ark., 2018). *Nepeta* türleri 4500 metreye kadar yetişebilmekle birlikte genellikle 1000 ila 3000 m'ler arasında doğal olarak bulunmaktadır. Bu nedenle yukarıda belirtilen coğrafi bölgelerdeki ülkelerin jeomorfolojisi uyumlu olduğundan en fazla takson bu bölgelerde görülmektedir (Değirmenci, 2016; Dirmenci, 2003 ve Mammadova ve ark., 2015).

Nepeta cinsi Türkiye'de 39 tür ve 19'u endemik olmak üzere 50 takson ile temsil edilmektedir (Dirmenci, 2012)

Nepeta cinsi çoğunlukla otsu ve çok yıllık olup bu cinsin bitkileri hoş kokulu güzel çiçeklere sahiptir (Celenk ve ark., 2008; Formisano ve ark., 2011; Jamzad ve ark., 2003 ve Süntar ve ark., 2018). *Nepeta* türlerinin morfolojik olarak tanımlanması sıklıkla gerçekleşen melezleşme sebebi ile oldukça zordur. *Nepeta* türleri arasında yaprak şekli ve boyutu değişiklik göstermektedir (Celenk ve ark., 2008 ve Amirmohammadi ve ark., 2019).

1.2.1. *Nepeta cadmea* Boiss.'in Botanik Özellikleri



Şekil 1.1. *Nepeta cadmea* Boiss. (www.turkiyebitkileri.com, Erişim tarihi:12.11.2019)

Çiçeklenme zamanı Haziran-Ağustos ayları arasında olan *Nepeta cadmea* Boiss. Türkiye’de endemik bir bitkidir. Batı, Güney ve Güneybatı Anadolu’da; 200-1900 m arası yükseklikteki kayalık yamaçlarda yetişmektedir. Çok yıllık olan bitkinin gövdesi; 30-120 cm yükseklikte, tek veya çok sayıda, dallanmış veya dallanmamış, özellikle versilatların koltuklarında yoğun olarak papillalıdır. Yaprakları, ovattan ovat oblonga kadar grimsi yeşil renkte ve her iki yüzü yoğun tüylüdür. Kaliks, tüpsü, ağızda meyilli ve kıvrık; korolla, beyaz renkte, dar ancak yukarı doğru genişleyen tüp şeklindedir. Bitkinin tohumları oblong şekilli ve üç yüzeylidir (Dirmenci, 2003).

1.2.2. Türkiye’de Yetişen *Nepeta* Türleri

Türkiye’de yetişen *Nepeta* türleri aşağıdaki gibidir (Dirmenci, 2012):

N. argolica
 N. argolica subsp. *tumeniana*
N. italica
N. cadmea
N. sorgerae
N. sulfuriflora
N. flavida
N. crinita
N. trichocalyx
N. pilinix
N. teucriifolia
N. roopiana
N. conferta
N. janthinostegia
N. trautvetteri
N. cataria
N. nuda.
 N. nuda subsp. *nuda.*
 N. nuda subsp. *albiflora*
 N. nuda subsp. *glandulifera*
 N. nuda subsp. *lydiae*
N. phyllochlamys
N. viscida
N. caesarea
N. transcaucasica
N. betonicifolia
 N. betonicifolia subsp. *betonicifolia*
 N. betonicifolia subsp. *strictifolia*
N. isaurica
N. racemosa
N. stenantha
N. leptantha

N. trachonitica

N. supina

N. cilicia

N. concolor

N. glomerata

N. lamiifolia

N. obtusicrena

N. macrosiphon

N. baytopii

N. meyeri

N. humilis

N. congesta

N. congesta subsp.. *congesta*

N. congesta subsp.. *cryptantha*

N. stricta

N. stricta var. *stricta*

N. stricta var. *curvidens*

N. heliotropifolia

1.2.3. *Nepeta cadmea* Boiss.'in Sistematikteki Yeri

Nepeta cadmea Boiss.'in TUBİVES' e (Türkiye Bitkileri Veri Servisi) göre taksonomik yeri:

Alem : Plantae

Alt Alem : Tracheobionta

Bölüm : Magnoliophyta

Sınıf : Magnoliopsida

Alt Sınıf : Asteridae

Takım : Lamiales

Familya : Lamiaceae

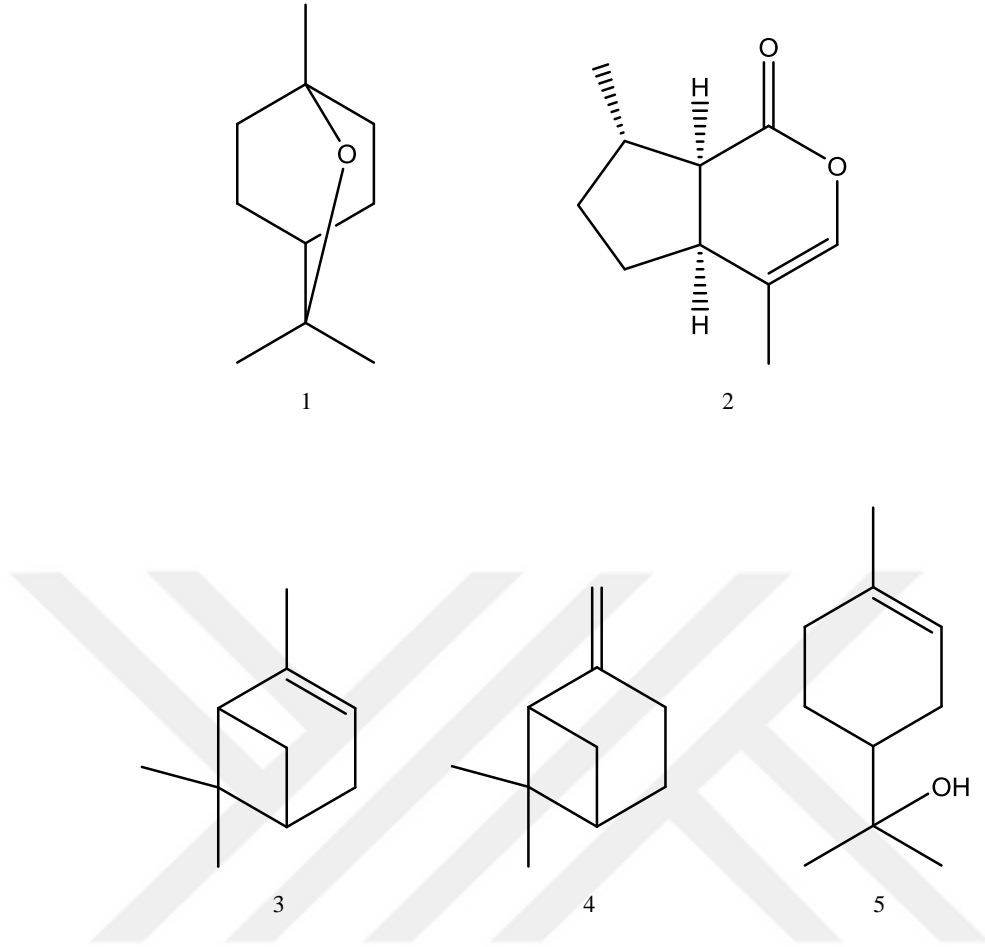
Cins : *Nepeta*
Tür : *Nepeta cadmea* Boiss.

1.3. *Nepeta* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Literatür verilerine göre 88 *Nepeta* türünden 193 bileşiğin elde edildiği bildirilmiştir. *Nepeta* türleri üzerinde yapılan ilk fitokimyasal araştırmalar 1955 yılına kadar uzanmaktadır. O tarihten günümüze kadar *Nepeta* türlerinde saptanan bileşikler: Uçucu yağlar, flavonoidler, fenolik bileşikler ve steroidlerdir. Terpenler ve flavonoidler, *Nepeta* türlerinin ana bileşikleridir (Formisano ve ark. 2011). *Nepeta* türlerine ait sekonder metabolitler çeşitli kromatografik yöntemlerle (Kolon Kromatografisi, İTK, YPSK vb.) elde edilmiştir. Bu bileşiklerin yapıları çeşitli spektroskopik yöntemler (NMR, IR, MS vb.) kullanılarak aydınlatılmıştır.

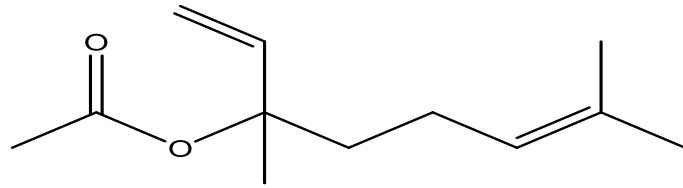
1.3.1. Uçucu Yağlar

İran'da Lalezar Dağı'ndan çiçeklenme zamanı toplanan *N. assurgens* bitkisinin (topraküstü kısım) uçucu yağından GC ve GC-MS kullanılarak 22 bileşik analiz edilmiştir. $4\alpha,7\alpha,7\alpha$ -nepetalakton (%44,6) ana bileşik olmak üzere diğer bileşikler; 1,8-sineol (%21,3), β -pinen (%5,3), α -terpineol (%3,8) ve α -pinen'dir (Şekil 1.2.) (Sharma ve Cannoo, 2013).



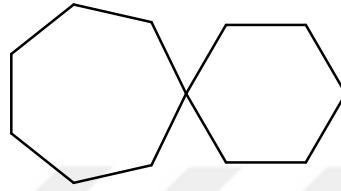
Şekil 1.2. 1,8-sineol (1), 4α,7α,7α-nepetalakton (2), α-pinen (3), β-pinen (4), α-terpineol (5)

Tahran/İran'dan çiçeklenme zamanında toplanan *N. crassifolia* bitkisinin toprak üstü kısımları kurutulup öğütüldükten sonra 6 saat boyunca hidrodistilasyon yöntemi ile uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağ bileşimi GC ve GC-MS analizi ile aydınlatılmış ve 21 bileşik saptanmıştır. Ana bileşik 4α,7α,7α-nepetalakton (%92,6) olup onu linalil asetat bileşiği (%2,6) (Şekil 1.3.) takip etmektedir (Sharma ve Cannoo, 2013).



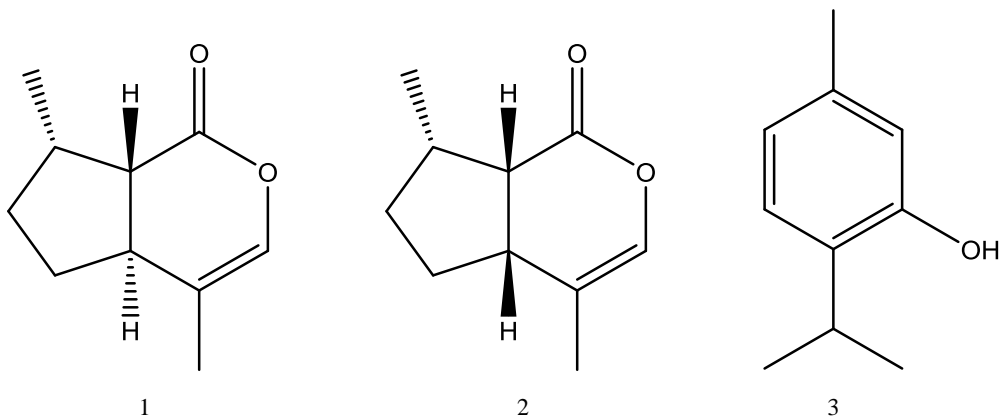
Şekil 1.3. Linalil asetat

İran'dan çiçeklenme zamanında toplanan *N. persica* bitkisinin topraküstü kısımları kurutulup öğütüldükten sonra Clevenger aparatı ile 6 saat boyunca buhar distilasyonu uygulanarak uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağ bileşimi GC ve GC-MS analizleri ile aydınlatılmış 14 bileşik saptanmıştır. Ana bileşik 4 α ,7 α ,7 α -nepetalakton (%80) olup ardından α -spiro[5,6]dodekan bileşiği (%14,2) (Şekil 1.4.) gelmektedir (Sharma ve Cannoo, 2013).



Şekil 1.4. α -spiro [5,6] dodekan

Erzurum'un Olur ilçesinden 800 m yükseklikten toplanan *N. cataria* bitkisinin topraküstü kısımları kurutulup öğütüldükten sonra metanolle ekstre edilmiş, Soxhlet ve Clevenger aparatı kullanılarak uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın içeriği GC/MS ile aydınlatılmış ve 22 bileşik olduğu bulunmuştur. Ana bileşikler; 4 α ,7 α ,7 β -nepetalakton (%70,4), 4 α ,7 α ,7 α -nepetalakton (%6,0), 4 β ,7 α ,7 β -nepetalakton (%2,5), timol (%2,3) dür (Şekil 1.5.) (Sharma ve Cannoo, 2013).

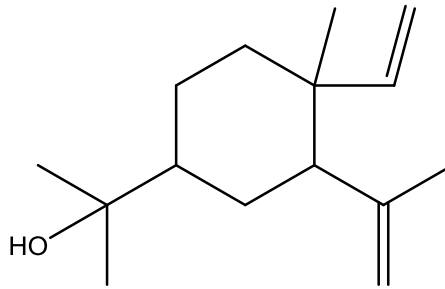


Şekil 1.5. 4 α ,7 α ,7 β -nepetalakton (1), 4 β ,7 α ,7 β -nepetalakton (2), timol (3)

Yunanistan Parnassos Dağı'ndan toplanan *N. parnassica* bitkisinin topraküstü kısımları kurutulup öğütüldükten sonra 3 saat hidrodistilasyon yapılmış ve uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın bileşimi GC-MS ile aydınlatıldığında 55 bileşik bulunmuştur. Ana bileşikler 4 α ,7 α ,7 β -nepetalakton (%22), 1,8-sineol (%21,1) dür (Sharma ve Cannoo, 2013).

Belgrad Sırbistan'dan toplanan *N. rtanjensis* bitkisinin topraküstü kısımları kurutulup öğütüldükten sonra Clevenger aparatı yardımı ile hidrodistilasyon yöntemi kullanılarak uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın bileşimi GC-MS ile aydınlatıldığında ana bileşiğin 4 α ,7 α ,7 β -nepetalakton (%79,89) olduğu görülmüştür (Sharma ve Cannoo, 2013).

Mısır'dan çiçeklenme zamanında toplanan *N. septemcrenata* bitkisinin topraküstü kısımları kurutulup öğütüldükten sonra 3 saat boyunca hidrodistilasyon yöntemi ile uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın bileşimi GC-MS kullanılarak aydınlatılmış ve ana bileşenler 4 α ,7 α ,7 β -nepetalakton (%24,2), 4 α ,7 α ,7 α -nepetalakton (%19,9), 1,8-sineol (%8,5), elemol (%13,8) (Şekil 1.6.) olarak bulunmuştur (Sharma ve Cannoo, 2013).

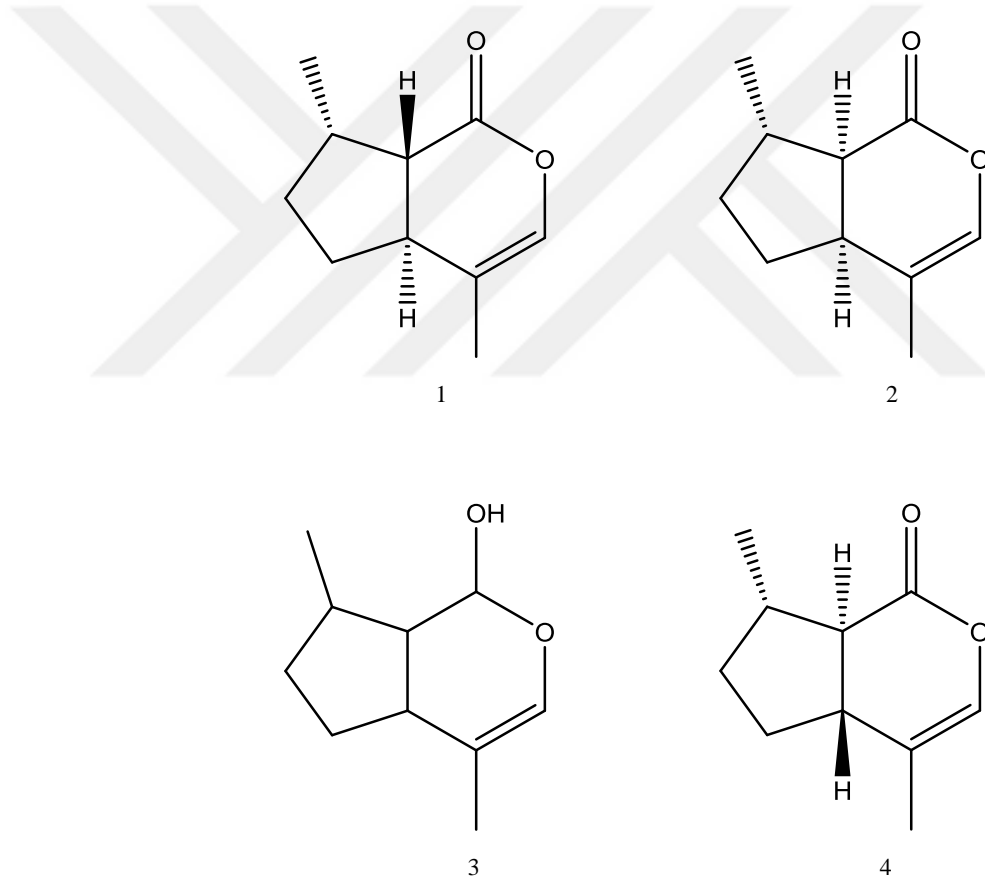


Şekil 1.6. Elemol

İran'dan çiçeklenme zamanında toplanan *N. racemosa* bitkisinin topraküstü kısımları kurutulup öğütüldükten sonra Clevenger aparatı ile 6 saat boyunca hidrodistilasyon yapılmış ve uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın bileşimi GC ve GC-MS ile aydınlatıldığında 22 bileşik bulunmuştur. Ana bileşenlerin 1,8-sineol

(%9), 4 α ,7 α ,7 α -nepetalakton (%24,4), 4 α ,7 α ,7 β -nepetalakton (%25,6) ve 4 β ,7 α ,7 β -nepetalakton (%33,6) olduğu görülmüştür (Sharma ve Cannoo, 2013).

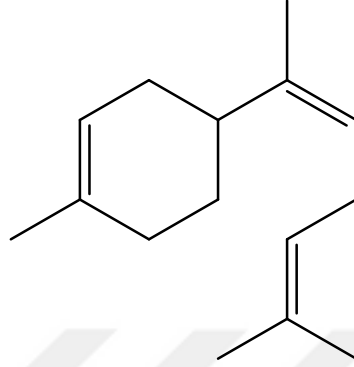
Brezilya'dan toplanan *N. cataria* bitkisinin yaprakları kurutulup öğütüldükten sonra 4 saat boyunca hidrodistilasyona tabi tutularak uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın bileşimi GC-FID, GC-MS ve CNMR kullanılarak aydınlatılmıştır. Uçucu yağın ana bileşenleri *trans*, *trans*-nepetalakton (%50,38), *trans*, *cis*-nepetalakton (%21,74), *cis*, *trans*-nepetalakton (%6,66) ve nepetalaktol (%0,49) (Şekil 1.7.) dür (Sharma ve Cannoo, 2013).



Şekil 1.7. *trans,cis*-nepetalakton (1), *cis,trans*-nepetalakton (2), nepetalaktol (3), *trans,trans*-nepetalakton (4)

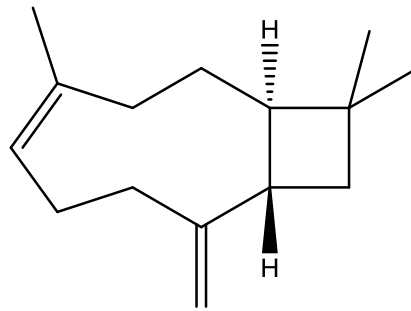
İran'dan toplanan *N. pogonosperma* bitkisinin topraküstü kısımları kurutulup öğütülmüş ve Clevenger aparatı ile hidrodistilasyon yapılarak uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın bileşimi GC-MS kullanılarak analiz edilmiş ve 41 bileşik

bulunmuştur. Ana bileşikler β -pinen (%3,5), linalol (%4,5), terpinen-4-ol (%4,8), (E)- α -bisabolen (%5,4) (Şekil 1.8.), α -terpineol (%5,4), 4 α ,7 α ,7 α -nepetalakton (%14,5) ve 1,8-sineol (%31,2)dür (Sharma ve Cannoo, 2013).



Şekil 1.8. (E)- α -bisabolen

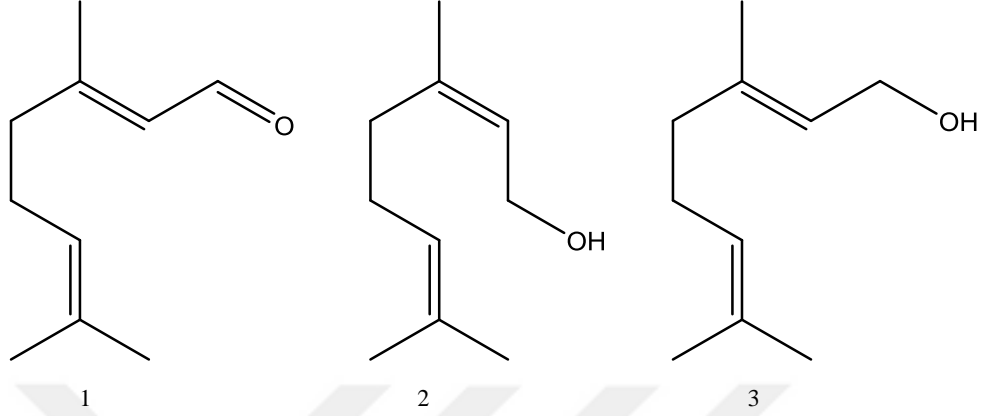
Çiçeklenme zamanında Tahran'dan toplanan *N. fissa* bitkisinin topraküstü kısımları kurutulup öğütülmüş, Clevenger aparatı yardımı ile 4 saat boyunca yapılan hidrodistilasyon işlemi ile uçucu yağ elde edilmiştir. 42 bileşikten ana olanlar; spatulenol (%4,1), bisiklo-germakren (%4,9), α -pinen (%5,8), β -pinen (%6), valensin (%6,6), γ -murolen (%7,9), karyofillen oksit (%12,3) ve β -karyofillen (%17,4) (Şekil 1.9.) dir (Sharma ve Canno, 2013).



Şekil 1.9. β -karyofillen

İran'dan toplanan *N. cataria* bitkisinin genç yapraklarının uçucu yağı (solvent ekstraksiyonu, perkolasyon) GC ve GC-MS ile analiz edilmiş ve 4 bileşiğin yapısı

aydınlatılmıştır: α -sital (51,95), nerol (32,24), β -sitranellol (9,03) ve geraniol (4,31) (Şekil 1.10.) (Sharma ve Cannoo, 2013).



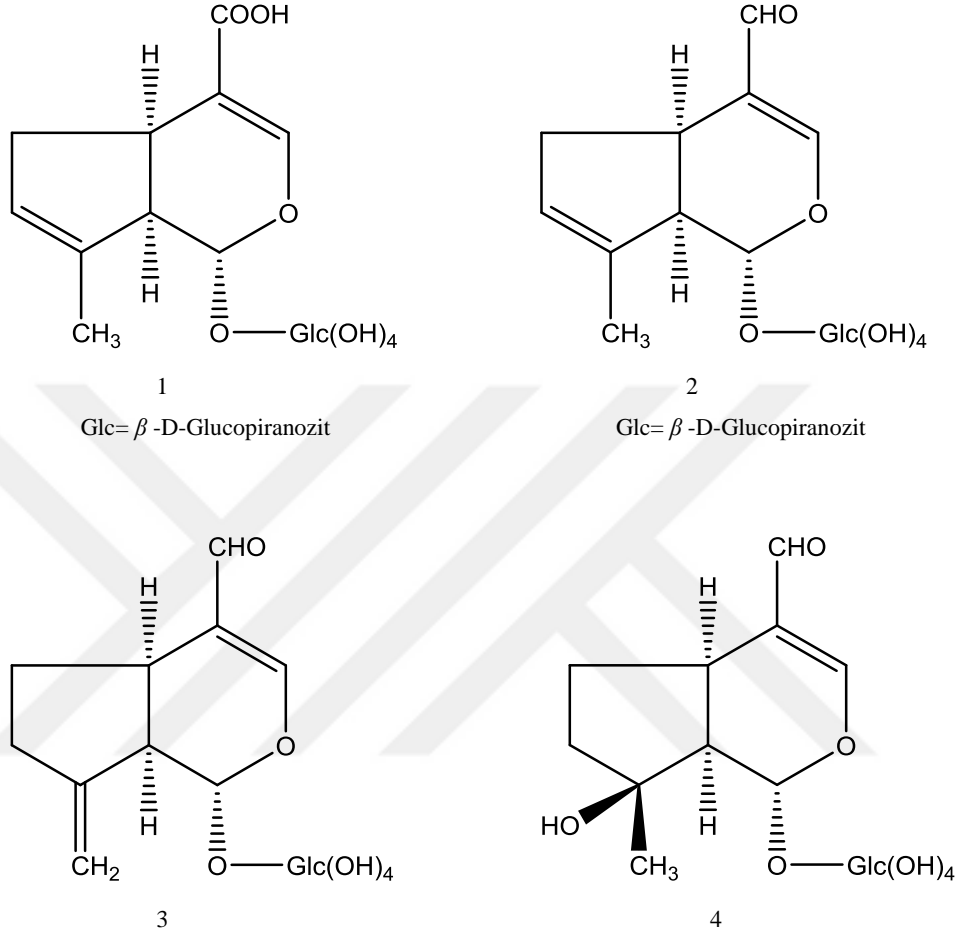
Şekil 1.10. α -sital (1), nerol (2), geraniol (3)

Çiçeklenme zamanında Lübnan'dan toplanan *N. cilicica* bitkisinin kurutulmuş-toz edilmiş topraküstü kısımlarından uçucu yağ elde edilmiş (hidrodistilasyon), uçucu yağın bileşimi GC ve GC/MS kullanılarak aydınlatılmış ve 75 bileşik bulunmuştur. Spatulenol (% 15,1), heksadekanoik asit (% 14) *D*-kadinen (% 5,5) ve α -kopaen (% 4,5) ana bileşiklerdir (Formisano ve ark.,2013).

Almanya'dan toplanan *N. rtanjensis*, *N. sibirica* ve *N. nervosa* bitkilerinin tohumları metanolla ekstre edildikten sonra ters faz YPİTK ile analiz edilmiştir. UV/MS spektrumları incelendiğinde *N. nervosa*'da nepetalakton'a rastlanmamış, *N. rtanjensis*'de *trans,cis*-nepetalakton, *N. sibirica*' da *cis,trans*-nepetalakton stereoizomeri tespit edilmiştir (Nestorović ve ark., 2010).

Doğu Anadolu Bölgesinden toplanan *N. nuda* bitkisinin toprak üstü kısımları 2 kez metanol ile ekstre edilerek 2 hafta boyunca bekletilmiştir. Elde edilen ekstre silikajel kolon kromatografisi ile fraksiyonlarına ayrılmıştır. Her biri toplam 2 litreden CHCl_3 -MeOH farklı oranlarda kolondan geçirilerek fraksiyonlar toplanmış ve IR ve NMR spektrumları ile 4 iridoit glikozitin yapıları aydınlatılmıştır;

Nepetanudosid C, nepetanudosid D, nepetanudosid B ve velpetin (Şekil 1.11.) (Takeda ve ark.,1996).



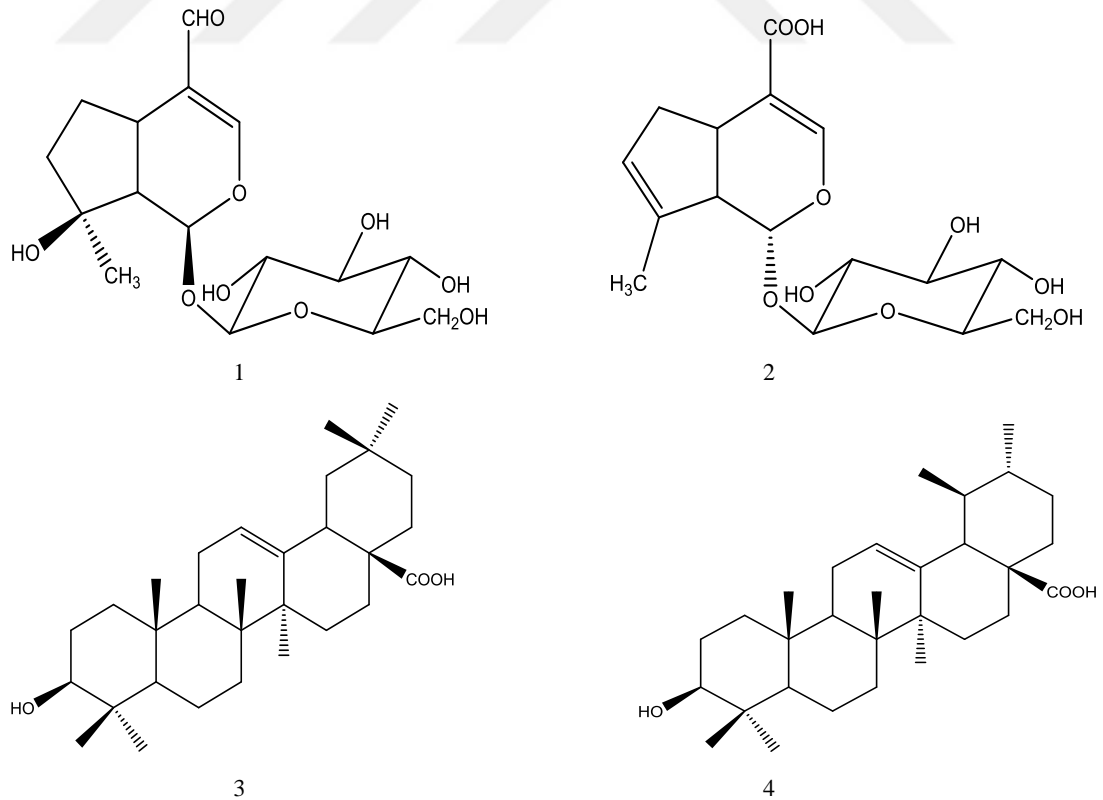
Şekil 1.11. Nepetanudosid B (1), nepetanudosid C (2), nepetanudosid D (3), velpetin (4)

Osmaniye'den toplanan *N. flavida* bitkisinin topraküstü kısımları 3 saat boyunca Clevenger aparatı ile hidrodistilasyona tabi tutulmuştur. Uçucu yağ içeriği GC ve GC/MS kullanılarak aydınlatıldığında uçucu yağ bileşiminin %64'ünü 1,8-sineol ve linalol bileşiklerinin oluşturduğu görülmüştür (Tepe ve ark., 2007).

İran'dan toplanan *N. isphahanica* ve *N. binaludensis* bitkilerinin topraküstü kısımları kurutulup öğütüldükten sonra 4 saat boyunca Clevenger aparatı ile su distilasyonu yapılarak uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın bileşimi GC, GC/MS ve H-NMR spektrumları ile aydınlatılmıştır. 1,8- sineol bileşiği her iki bitkide de

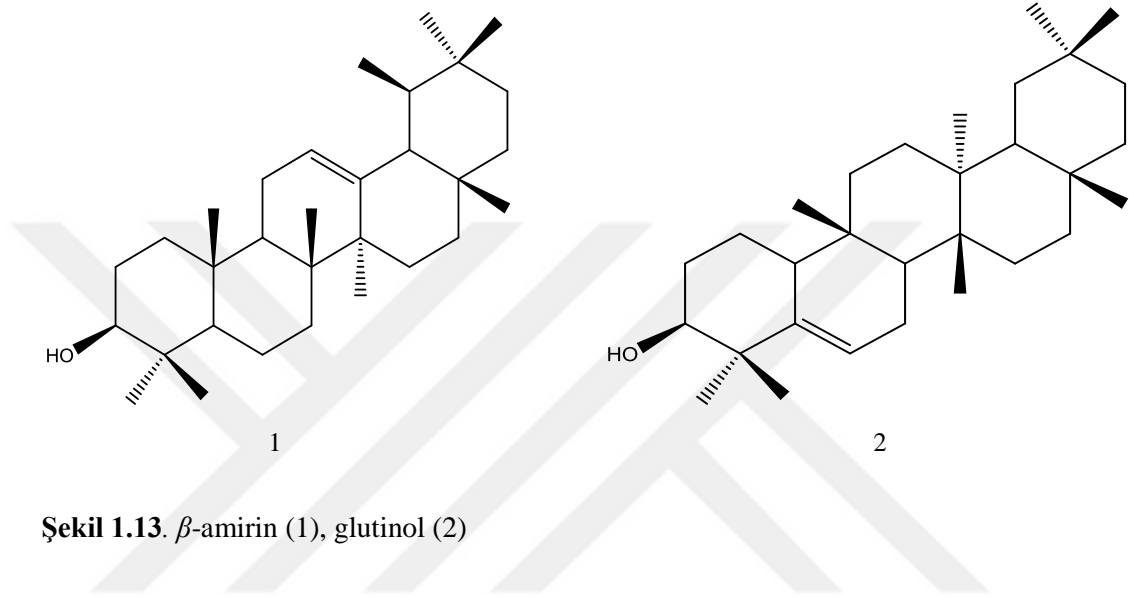
bulunmakla birlikte $4\alpha,7\alpha,7\alpha$ -nepetalakton, $4\beta,7\alpha,7\alpha$ -nepetalakton, linalol, α -terpinol ve β -pinen in *N.binaludensis*'in ana bileşenleri olduğu görülmüştür (Rustaiyan ve Nodji, 1999).

Ankara'dan Afyonkarahisar' a kadar yol boyunca sulak alanlardan toplanan *N. heliotropifolia* bitkisinin topraküstü kısımları toz edilmiştir. Metanolla 3 kez ekstre edilmiş, ekstreden metanol uçurulduktan sonra su ile süspende edilmiştir. Suda çözünen kısım *n*-hekzan, CHCl_3 , EtOAc, *n*-BuOH ile ekstre edilmiştir. Ekstrelerden bilinen 8 bileşik çeşitli kromatografik yöntemlerle (silikajel kolon kromatografisi, vakum kolon kromatografisi, Sephadex LH-20 kolon kromatografisi) elde edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları NMR, UV ve EIMS ile aydınlatılmıştır. *n*-Butanollü ekstrede belirlenen 2 iridoit glikoziti; iksorozit ve nepetanudozit B bileşikleridir (Şekil 1.12). 2 triterpen bileşiği; oleanolik asit ve ursolik asittir (Şekil 1.12). Geri kalan 4 bileşik ilgili sekonder metabolit başlıkları altında verilmektedir (Güvenalp ve ark., 2009).



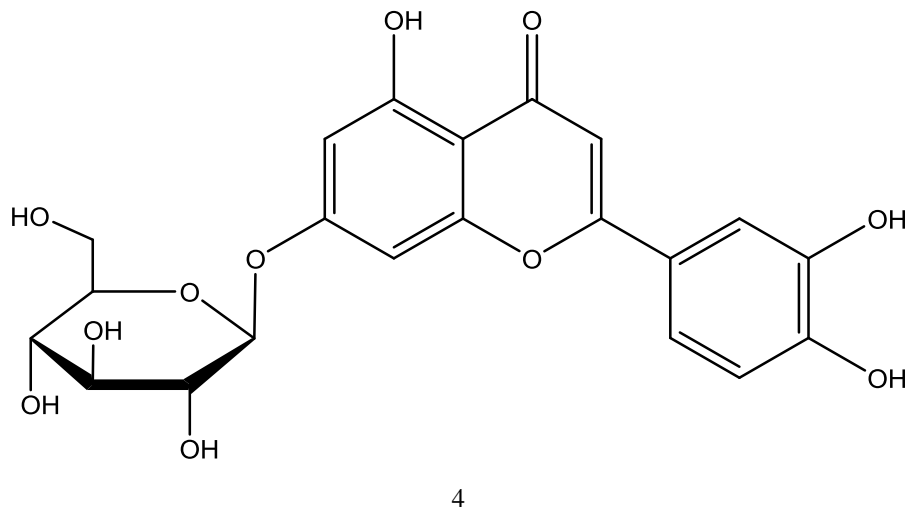
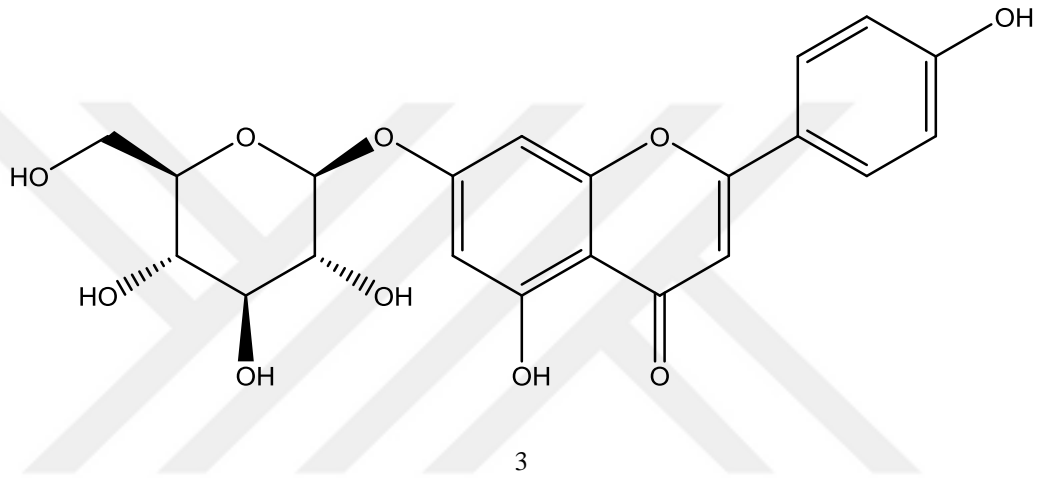
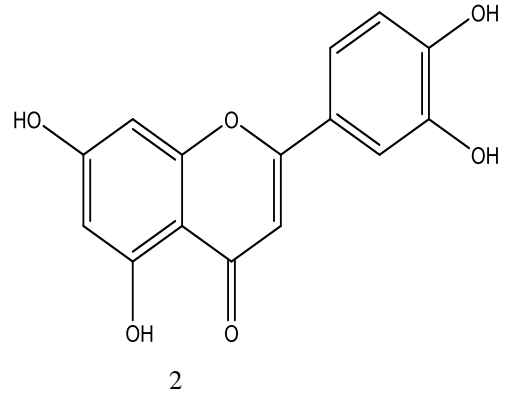
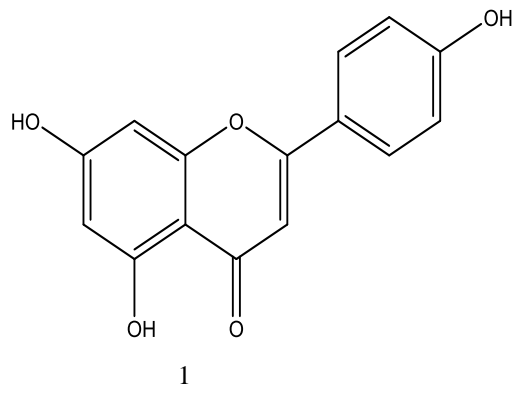
Şekil 1.12. İksorozit (1), nepetanudosit B (2), oleanolik asit (3), ursolik asit (4)

N. juncea bitkisi toplandıktan sonra tüm kısımları kurutulup toz edilmiş ve metanol ile 3 kez ekstre edilmiştir. Ekstre silikajel kolon kromatografisine tabi tutulmuş ve kolondan sırasıyla *n*-hekzan, *n*-hekzan-EtOAc, EtOAc-MeOH, MeOH geçirilerek fraksiyonlar toplanmıştır. Ursolik asit, oleanolik asit, glutinol ve β -amirin bileşikleri elde edilmiştir (Şekil 1.13.) (Jamila ve ark., 2011).



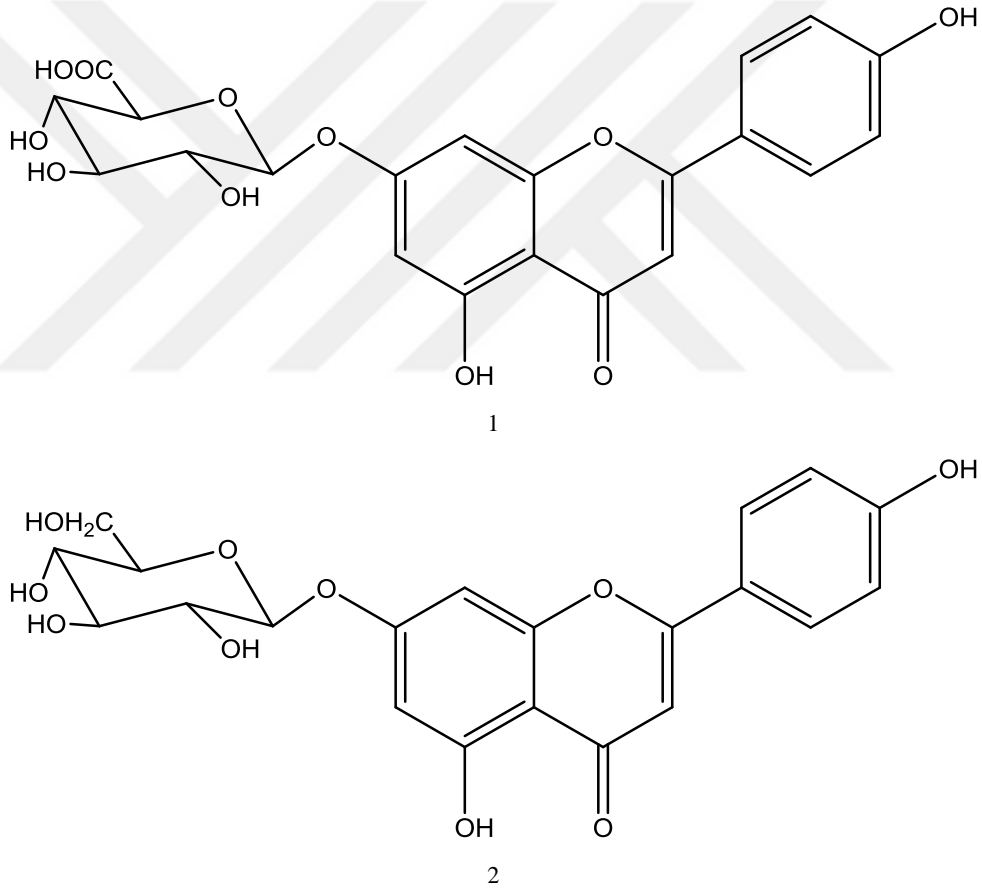
1.3.2. Flavonoitler

N. cataria var. *citriodora* bitkisi 3 saat boyunca %70lik metanolle ekstre edilmiş ve ekstraksiyon 4 kez tekrarlanmıştır. Çözücünün uçurulmasının ardından kalan ekstreye su eklenmiş ve sulu çözelti sırasıyla kloroform ve *n*-butanol ile tekrar ekstre edilmiştir. Solvent uçurulduktan sonra *n*-butanolü ekstrede Diaion HP-20 kolon kromatografisi ile 5 flavonoit elde edilmiştir. Apigenin ve luteolin'in (Şekil 1.14.) yapıları IR, UV ve $^1\text{H-NMR}$ spektrumları değerlendirilerek aydınlatılmıştır. Apigenin 7-*O*- β -glukopiranozit ve luteolin-7-*O*- β -glukopiranozit (Şekil 1.14.) saf olarak elde edilememiş, YPSK ile tanımlanmıştır. Apigenin 7-*O*- β -glukranopiranozit bileşiği yapısı İTK ile tanımlanmıştır (Modnickive ark.,2007).



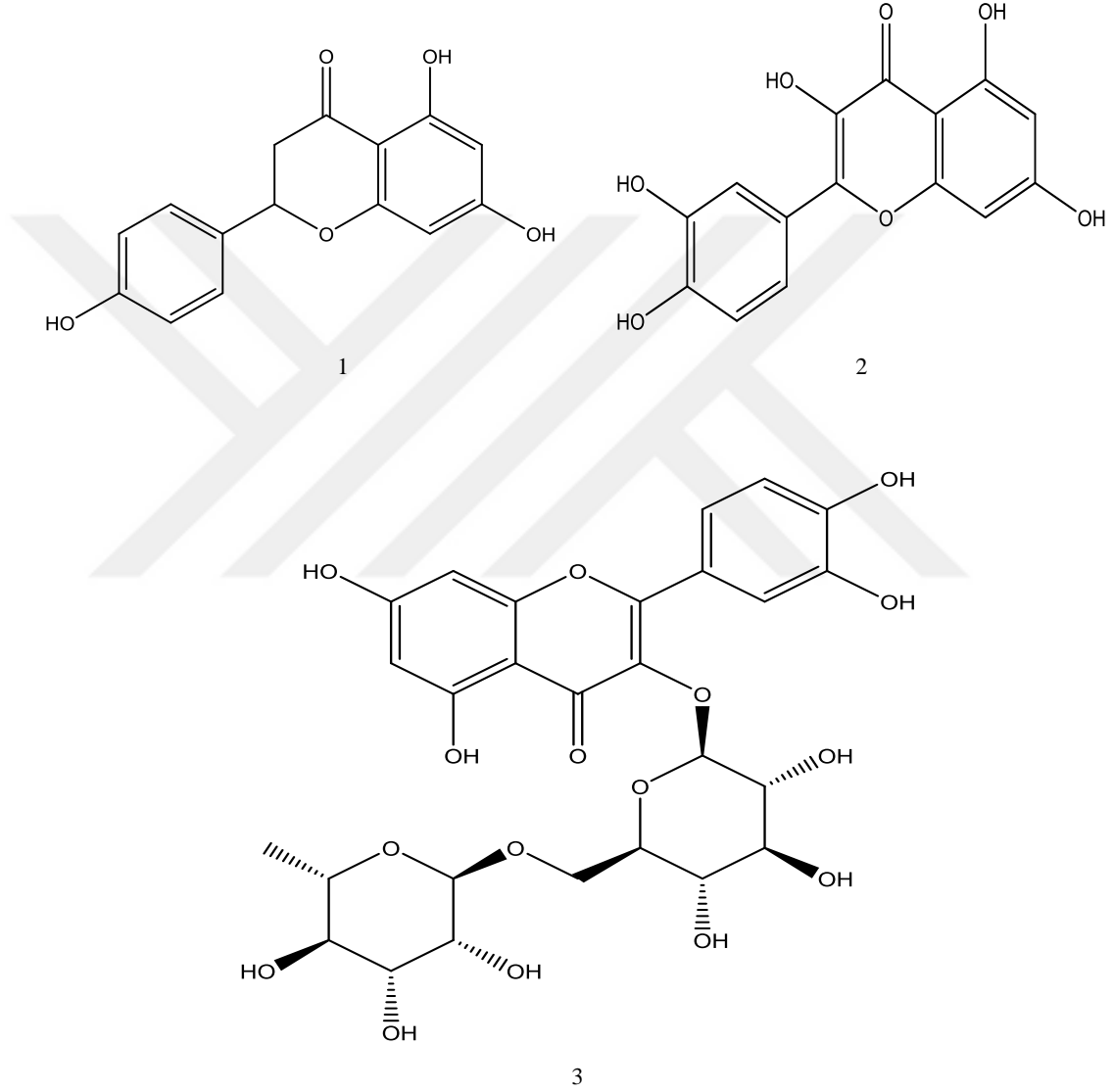
Şekil 1.14. Apigenin (1), luteolin (2), apigenin 7- O - β -glukopiranozit (3), luteolin-7- O - β -glukopiranozit (4)

Ankara'dan Afyonkarahisar' a kadar yol boyunca sulak alanlardan toplanan *N. heliotropifolia* bitkisinin topraküstü kısımları hava ile kurutulup toz edildikten sonra 3 kez metanolla ekstre edilmiştir. Ekstreden metanol uçurulduktan sonra su ile süspande edilmiş ve suda çözünen kısım *n*-hekzan, CHCl₃, EtOAc, *n*-BuOH ile ekstre edilmiştir. Ekstrelerden bilinen 8 bileşik çeşitli kromatografik yöntemlerle (silikajel kolon kromatografisi, vakum kolon kromatografisi, Sephadex LH-20 kolon kromatografisi) elde edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları NMR, UV ve EI-MS ile aydınlatılmıştır (Güvenalp ve ark., 2009). *N*-butanollü ekstreden, apigenin-7-*O*-glukuronit, apigenin-7-*O*-glukopiranozit bileşikler izole edilmiştir (Şekil 1.15.).



Şekil 1.15. Apigenin-7-*O*-glukuronit (1), apigenin-7-*O*-glukopiranozit (2)

İran'dan toplanan 4 *Nepeta* türü olan *N. kotschyi*, *N. menthoides*, *N. crassifolia*, *N. cataria* bitkilerinin tohumları toz edilmiş ve metanollü ekstresi hazırlanmıştır. Ekstre UHPLC/-HESI-MS/MS ile analiz edilmiş ve 5 flavonoitin yapısı aydınlatılmıştır; luteolin, apigenin, rutin, kersetin, naringenin (Şekil 1.16.) (Hadi ve ark.2017).



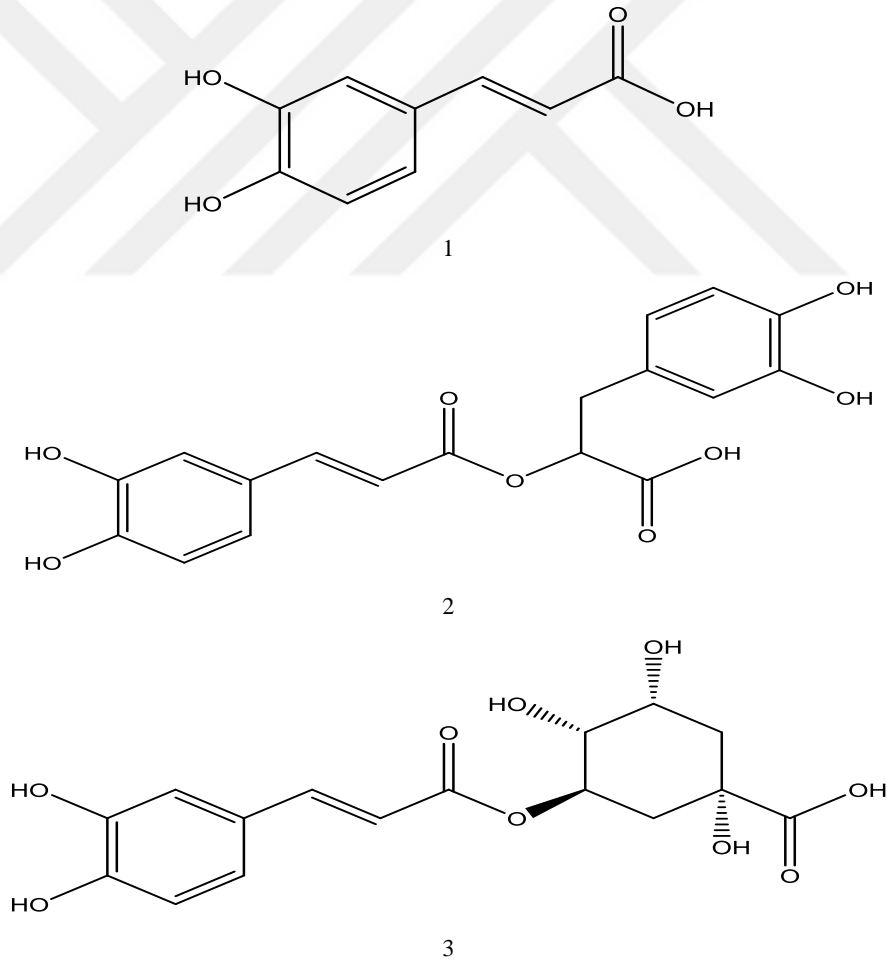
Şekil 1.16. Naringenin (1), kersetin (2), rutin (3)

Yunanistan'dan toplanan *N. sibthorpii* bitkisinin yaprak ve çiçekleri kurutulup toz haline getirilmiş, %95 lik metanolla ekstre edilmiş ve ekstre 4 gün boyunca karanlıkta bekletilmiştir. YPSK analizi ile standartlarla karşılaştırıldığında 3

flavonoit bileşğinin yapısı aydınlatılmıştır; rutin, luteolin, luteolin-7-O-glukozit (Miceli ve ark., 2005).

1.3.3. Fenolik Bileşikler

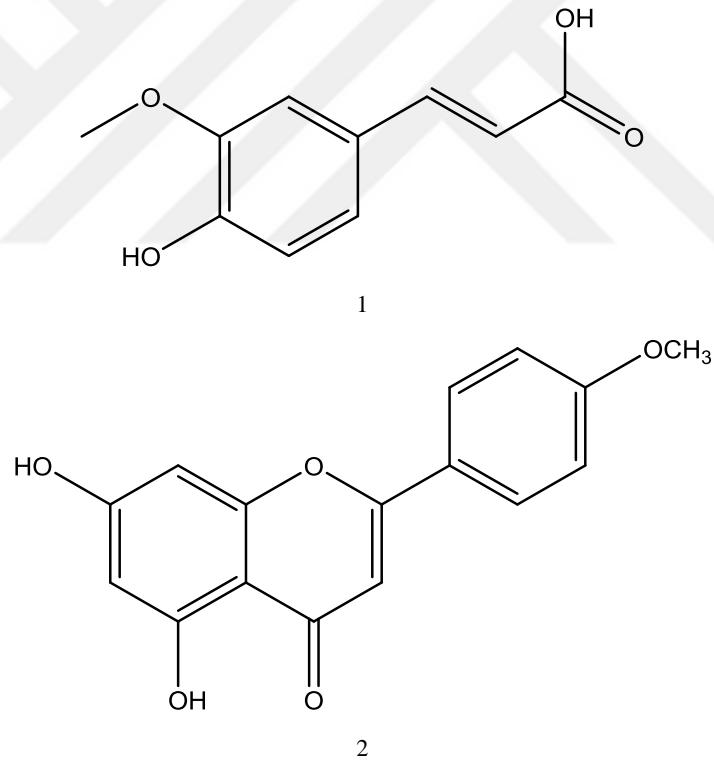
İran'dan toplanan 4 *Nepeta* türünün, *Nepeta kotschyi*, *Nepeta menthoides*, *Nepeta crassifolia*, *Nepeta cataria*, tohumları toz edilmiş ve metanollü ekstresi hazırlanmıştır. Ekstre UHPLC/-HESI-MS/MS ile analiz edilmiş ana bileşik klorojenik asit olmak üzere kafeik ve rosmarinik asit bileşiklerinin varlıkları tespit edilmiştir (Şekil 1.17.) (Hadi ve ark.2017).



Şekil 1.17. Kafeik Asit (1), rosmarinik Asit (2), klorojenik Asit (3)

Yunanistan'dan toplanan *N. sibthorpii* bitkisinin yaprak ve çiçekleri kurutulup toz haline getirilmiş ve %95'lik metanolla ekstre edilmiş, ekstre 4 gün boyunca karanlıkta bekletilmiştir. YPSK ile standartlarla karşılaştırılarak klorojenik asitin varlığı tespit edilmiştir (Miceli ve ark., 2005).

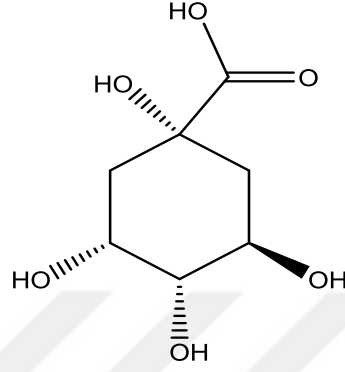
12 *Nepeta* türünün (*N. cataria*, *N. ernesti-mayeri*, *N. faassenii*, *N. grandiflora*, *N. mussinii*, *N. nervosa*, *N. pannonica*, *N. parnassica*, *N. rtanjensis*, *N. sibirica*, *N. sibthorpii*, *N. spicata*) toprak üstü kısımları %96'lık metanol ile ekstre edilmiş ve UHPLC-LTQ/orbitrap/MS analizi ile aydınlatılmıştır. 12 türde de ortak olarak rozmarinik asit, ferulik asit, akasetin, kersetin dimetileter ve kemferol isimli fenolik bileşiklerin bulunduğu tespit edilmiştir (Mišić ve ark., 2015).



Şekil 1.18. Ferulik asit (1), akasetin (2)

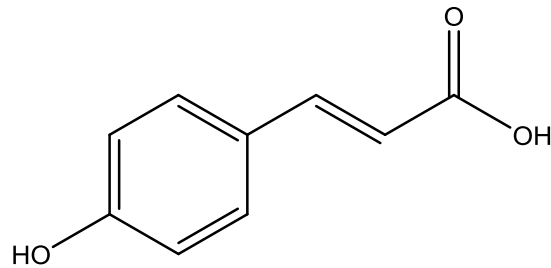
N. cataria bitkisinin metanollü ekstresinden rozmarinik asit preparatif YPSK ile elde edilmiş yapısı FT-IR spektroskopisi ile aydınlatılmıştır (Petenatti ve ark., 2014).

Elazığ Harputtan toplanan *N. trachonitica* bitkisinin toprak üstü kısımları etanolle ekstre edilmiş, fenolik bileşiklerin tayini HPLC-MS/MS ile yapılmış ve 11 fenolik bileşik tespit edilmiştir. Ana bileşikler kinik asit (Şekil 1.19.), klorojenik asit ve rozmarinik asittir (Köksal ve ark., 2017).



Şekil 1.19. Kinik asit

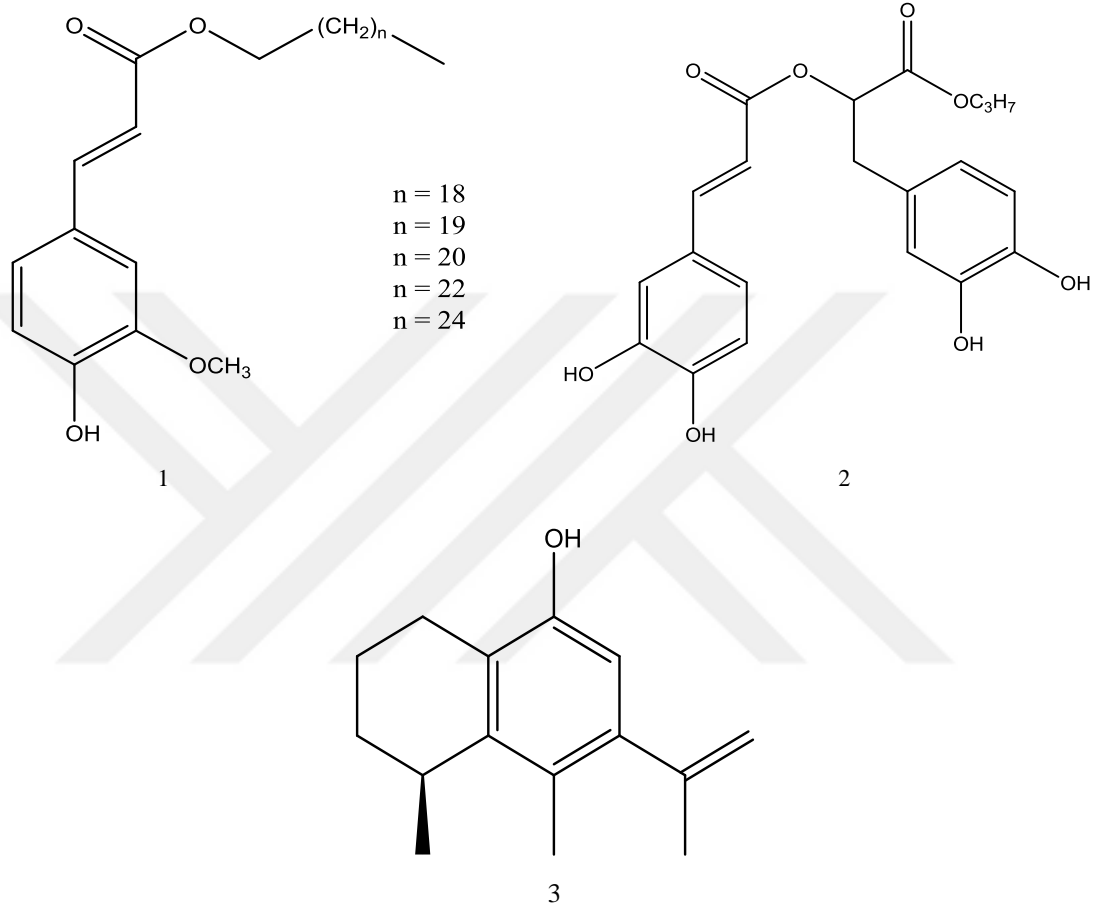
N. cataria bitkisi öncelikle %70 lik metanolle 3 kez ekstre edilmiş ve çözücü uçurulduktan sonra dietileter ile tekrar 3 kez ekstre edilmiştir. Hazır silikajel kaplanmış plak üzerinde İTK yapılmış ve UV ışık altında görüntülenmiştir. Varlıkları tespit edilen bileşikler; kafeik asit, rozmarinik asit, *p*-kumarik asittir (Şekil 1.20.) (Modnickive ark.,2007).



Şekil 1.20. *p*-kumarik asit

N. teydea bitkisinin tohumları Soxhlet apareyi yardımı ile etanolle ekstre edilmiş, çözücüsü uçurulan ekstre *n*-hekzan-EtOAc gradyan çözücü sistemi kullanılarak VLC ile sekiz fraksiyona ayrılmıştır. Bu fraksiyonlar ayrıca bir silikajel

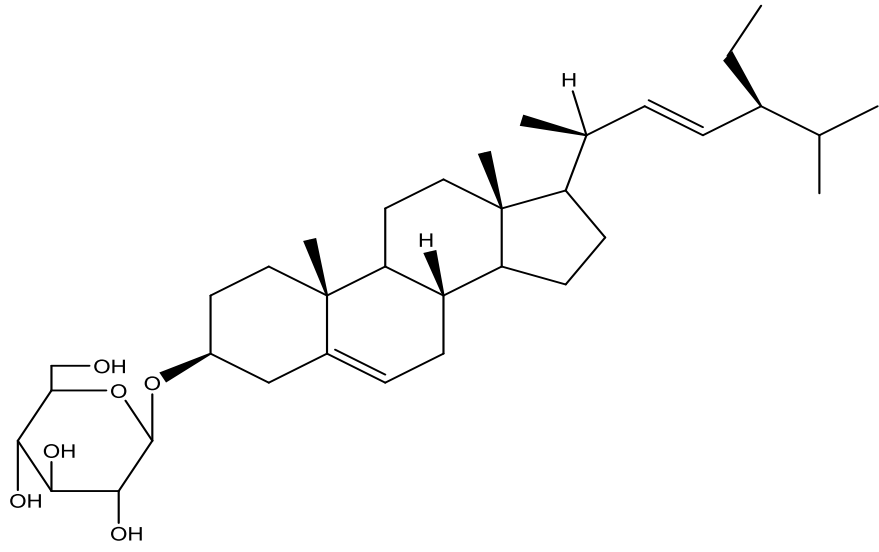
kolon ve/veya YPSK ile fraksiyonlanmıştır Saflaştırılan bileşiklerden bazıları; rozmarinik asit propil ester, sinalbikol, ferulik asidin alkil esterleri'dir (Şekil 1.21.) (Fragave ark., 2017).



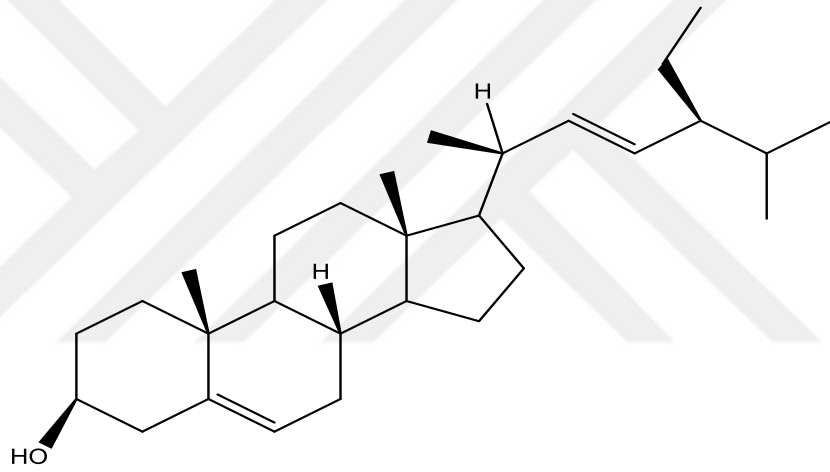
Şekil 1.21. Ferulik asidin alkil esterleri (1), rozmarinik asit propil alkol (2), sinalbikol (3)

1.3.4. Steroitler

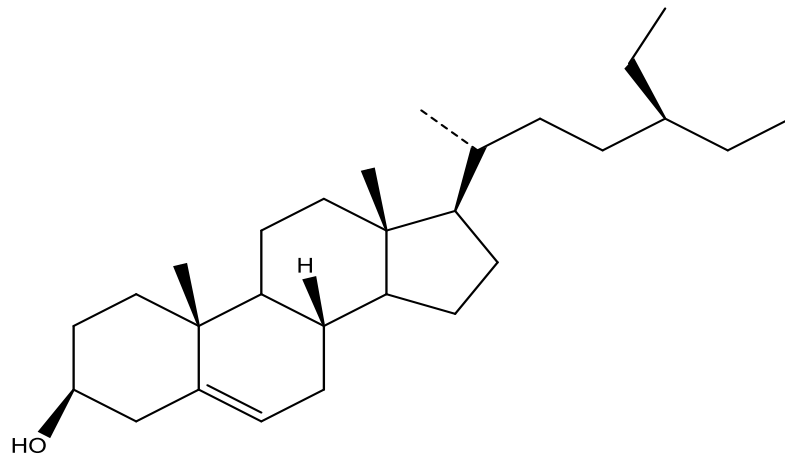
Ankara'dan Afyonkarahisar' a kadar yol boyunca sulak alanlardan toplanan *N. heliotropifolia* bitkisinin topraküstü kısımları kurutulmuş ve toz edilmiştir. Metanolle 3 defa ekstre edilmiştir. Ekstreden metanol uçurulduktan sonra su ile süspande edilmiş ve suda çözünen kısım *n*-hekzan, $CHCl_3$, EtOAc, *n*-BuOH ile ekstre edilmiştir. Ekstrelerden bilinen 8 bileşik çeşitli kromatografik yöntemlerle (silikajel



1



2



3

Şekil 1.23. Stigmasterol glukozit (1), stigmasterol (2), β -sitosterol (3)

1.4. *Nepeta cadmea* Boiss. Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Muğla Köyceğiz'den toplanan *N. cadmea*'nın toprak üstü kısımları kurutulmuş ve toz edilmiştir. Clevenger aparatı ile hidrodistilasyon ile uçucu yağ elde edilmiş ve uçucu yağın içindeki bileşenler GC/MS ile analiz edildiğinde 84 bileşenin yapısı aydınlatılmıştır. Ana bileşenler 4 α ,7 α ,7 α -nepetalakton, 1,8- sineol, β -pinen, α -terpineol ve α -pinendir (Baser ve ark.,1998).

1998 yılında yapılan bir çalışmada *N.cadmea* bitkisinden YPSK ile bilinen bileşiklerle birlikte yeni glikozitler elde edilmiştir; 1,5,9-epideoksiloganik asit glikozil ester ve 1,5,9-epideoksiloganik asit, öjenil-O- β -d-glukozit elde edilmiştir. Bileşiklerin yapıları NMR spektrumları ile aydınlatılmıştır (Takeda ve ark., 1998).

Bir başka çalışmada Tokat'tan toplanan *N. cadmea*'in toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi silikajel kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmış ve iki flavon glikoziti elde edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin (4'-O-metilizoskutellarin-7-O-(β -D-allopiranozil-(1-2)-6"-O-asetil- β -D-glucopiranozit), izoskutellarin-7-O-(β -D-allopiranozil-(1-2)-6"-O-asetil- β -D-glucopiranozit)) yapıları NMR spektroskopisi ile aydınlatılmıştır (Akşit ve ark.,2013).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada *N. cadmea*'in kök, çiçek ve yapraklarının metanollü ekstresi ters faz YPSK ile analiz edilmiş ve bazı fenolik bileşikler (ferulik asit, rutin, kafeik asit vb.) tespit edilmiştir (Kaska ve ark., 2018).

1.5. *Nepeta* Türlerinin Geleneksel Kullanımı

Türkiye'de yapılan etnobotanik araştırmalara göre, *N. italica* bitkisinden hazırlanan infüzyonun tonik olarak ve bronşit tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir. *N. betonicifolia*'nın kansere, öksürüğe, romatizmaya iyi geldiği ve yara iyileştirici

etkisi nedeni ile kullanıldığı bilinmektedir. Sırbistan'da, adet zorluklarını hafifletmek ve yumurtalık kistlerini tedavi etmek için *N. cataria* bitkisinden hazırlanan infüzyon kullanılmaktadır (Süntar ve ark.,2018).

N. lagopsis bitkisinin tüm kısımlarıyla hazırlanan ekstresi ve tütsü olarak yakılması yaraları iyileştirmek için kullanılmaktadır. *N. praetervisa* bitkisinin kurutulmuş kısımlarından hazırlanan dekoksyonu Pakistan'da parazitlere karşı kullanılmaktadır. Öte yandan Çin'de *N. cataria* bitkisi mastit, kızamık, dermatit, dizanteri, kronik rinit, kronik tonsillit ve boğaz ağrısı tedavisi için tıbbi bitki formülasyonlarında bazı bitkilerle birlikte yer almaktadır (Süntar ve ark.,2018).

N. cataria (catnip) Avrupa'da sedatif etkisi ve kan basıncını düzenleyici etkisi dolayısıyla uzun yıllar çay olarak kullanılmıştır (Çelenk, S. ve ark. 2008). Daha yakın zamanlarda, catnip tıbbi preparatlarda antispazmodik, karminatif, terletici, emmenagog ve sinir sistemini hafif yatıştırıcı etkileri dolayısıyla kullanılmaktadır. Türkiye'ye endemik bir tür olan *N. caesarea* Anadolu'nun güney kesimlerinde mide rahatsızlıklarını gidermek için çay olarak kullanılmaktadır. Yunanistan'ın güney kesimlerinde endemik bazı *Nepeta* türlerinin, *N. parnassica* ve *N. troodi* gibi, taze yaprakları diş ağrısını hafifletmek için çiğnenmekte ve romatizmal ağrıların tedavisinde kullanılmaktadır. En çok incelenen türler arasında olan *N. cataria*, Doğu Akdeniz, Güney Asya ve Çin'de yetişmekte ve kediler için çekici bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bu sebeple adına Catnip ya da Catmint de denilmektedir (Formisano ve ark.,2011).

1.6. *Nepeta* Türleri Üzerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları

1.6.1. *In vivo* ve *In vitro* Çalışmalar

Nepeta cinsine ait türlerin farmakolojik özellikleri ve biyolojik aktiviteleri genellikle içerdikleri uçucu yağ ve flavonoidlere bağlı olarak gerçekleşmektedir

(Değirmenci, 2016; Formisano ve ark. 2011; Misic ve ark. 2015; Nestorovicve ark. 2010).

1.6.1.1. Antibakteriyal Etki

Yapılan bir çalışmada, *N. cataria* bitki ekstresinin 44 *Staphylococcus aureus* suşu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bunun için koagülaz, deoksiribonükleaz, termonükleaz ve lipaz enzimleri üretimi ve *in vitro* bağlanma üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Enzimlerin, deoksiribonükleaz, termonükleaz ve lipaz, minimum inhibitör konsantrasyonları (MICs) bulunmuş ve bağlanmanın azaldığı görülmüştür.

Bazı mantar türlerine karşı (*Sclerotium*, *Macrophomina* ve *Fusarium*) *Nepeta* türlerinden elde edilen uçucu yağların değişen derecelerde büyüme inhibe edici etki gösterdikleri görülmüştür. Bir başka çalışmada *N. elliptica* bitkisinden elde edilen (7R)- *trans,trans*- nepetalaktonun 5 bitki patojenik mantarlarına karşı etkili olduğu ortaya konulmuştur. *Helminthosporium maydis*, *Fusarium oxysporum* ve *Rhizoctonia solani*'ye karşı inhibisyon etkisi sırasıyla 115.00, 122.67 ve 153.30 µg/ml (IC₅₀) konsantrasyonlarında bulunmuştur. Bununla birlikte, (7R)- *trans,trans*- nepetalakton *H. maydis* ve *F. oxysporum*'a karşı sırasıyla 182.74 ve 191.68 µg/ml IC₅₀ değerleri ile antifungal aktivite göstermiştir. *Alternaria solani*, *F. oxysporum*, *Curvularia lunata*, *H. maydis* ve *Albugo candida* ya karşı spor çimlenmesini önleyici etkileri için IC₅₀ değerleri sırasıyla 739.67, 571.78, 471.61, 449.35, ve 822.41 µg/ml olarak tespit edilmiştir.

Bir başka çalışmada 3 *Nepeta* türünün, *N. rtanjensis*, *N. sibirica*, ve *N. nervosa*, metanollü ekstrelerinin 8 bakteri ve 8 mantar türüne karşı antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Bu üç bitkinin içerdikleri nepetalakton miktarlarının farklılığı nedeniyle antimikrobiyal aktivitelerinin aynı derecede olmadığı görülmüştür. MIC değerlerinin *N. nervosa* için 50 ila 100 µg/ml arasında, *N. rtanjensis* için 25 ila 75 µg/ml arasında, *N. sibirica* için 25 ila 100 µg/m arasında olduğu görülmüştür. Test

edilen tüm ekstralar önemli antibakteriyel ve güçlü antifungal aktivite gösterse de, *N. rtanjensis* ekstresinin en iyi antimikrobiyal aktiviteyi gösterdiği bulunmuştur.

Geleneksel kullanımlarına ek olarak *Nepeta* türlerinden elde edilen uçucu yağların gıdaları kontamine eden Gram(+) ve Gram(-) bakterilere karşı etkili oldukları bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada *N. leucophylla*, *N. ciliaris*, ve *N. clarkei*'den elde edilen uçucu yağların *H. maydis*, *F. oxysporum*, *A. solani*, *Sclerotonia sclerotiorum*, *R. solani*, *C. lunata*, ve *A. candida*' ya karşı antifungal aktiviteleri incelenmiştir. *N. leucophylla* ve *N. ciliaris*'in uçucu yağlarının IC₅₀ değerleri *H. maydis*'e karşı 43.6 µg/ml ve *F. oxysporum* a karşı 219.2 µg/ml olarak bulunmuştur.

N. sintenisii bitkisinin uçucu yağının antibakteriyel aktivitesini analiz etmek için seri seyreltme yöntemi ile altı bakteri suşuna karşı etkisi incelendiğinde, Gram(+) bakterilere, özellikle *S. aureus*'a karşı önemli bir antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur (Süntarve ark.,2018).

N. trachonitica'nın antimikrobiyal aktivitesi üç farklı Gram (+) (*Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus*) ve dört farklı Gram (-) (*Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) bakteriye karşı değerlendirilmiştir. Ayrıca numunenin üç farklı mantar türüne (*Yarrowia lipolytica*, *Candida albicans* ve *Saccheromyces cereviciae*) karşı etkili olup olmadığı da test edilmiştir. Antibakteriyel etkinin belirlenmesi için için gerekli hesaplar ayrı ayrı yapılmış ve referans antibiyotikler kullanılarak değerlendirilmiştir. *N. trachonitica*'nın etanolik ekstresinin *B. subtilis* ve *E. Coli*'ye karşı güçlü inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bakterilerin duyarlılıkları doza bağımlı olmakla birlikte 90 µl ekstre kullanıldığında *B. megaterium*'a karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. Numune ekstresinin *P. aeroginosa* üzerinde zayıf etki gösterdiği, *K. pneumoniae* üzerindeki etkisi olmadığı bulunmuştur (Köksal ve ark., 2017).

1.6.1.2. Böcek Öldürücü/Kovucu Aktivite

N. cataria'dan elde edilen uçucu yağın böcek öldürücü aktivitesi *Spodoptera littoralis* larvalarına karşı değerlendirilmiş ve uçucu yağın letal dozu (LC₅₀) ≤10.0 ml/m³ olduğu için oldukça toksik olduğu görülmüştür (Süntar ve ark., 2018).

Bir başka araştırmada, *N. cataria* uçucu yağı ve ana iridoit bileşikleri, patojen vektör sivrisinekleri, *Anopheles gambiae* ve *Culex quinquefasciatus*, kahverengi kulak kene *Rhipicephalus appendiculatus*, ve kırmızı kanatlı akar *Dermanyssus gallinae*'ye karşı kovucu etki açısından araştırılmıştır. Uçucu yağdan GC/MS ile elde edilen (4aS,7S,7aR)- ve (4aS,7S,7aS)- nepetalakton bileşiği *A. gambiae* için yüksek kovucu aktivite, *C. quinquefasciatus* için daha düşük kovucu aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir (Süntar ve ark., 2018).

1.6.1.3. Larva Öldürücü Etki

N. menthoides'in toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi ve Clevenger aparatı kullanılarak elde edilen uçucu yağın en önemli sıtma vektörü olan *Anopheles stephensi*'ye karşı larva öldürücü etkisi incelenmiştir Ekstre ve uçucu yağ için sırası ile LC₅₀ değeri 69.5 ve 243.3 ppm LC₉₀ değeri 175.5 ve 419.9 ppm olarak bulunmuştur. Çalışmanın bulguları, metanollü ekstrenin uçucu yağdan daha yüksek etki gösterdiğini ortaya koymaktadır (Süntar ve ark., 2018).

1.6.1.4. Sitotoksik Aktivite

N. sintenisii'den elde edilen uçucu yağın 4 hücre hattında, insan yumurtalık karsinomu (A2780), servikal kanser (Hela), insan kolon adenokarsinomu (LS180), insan göğüs adenokarsinomu (LS180), yapılan *in vitro* sitotoksik aktivite değerlendirme testinde önemli ölçüde antiproliferatif etki gösterdiği bulunmuştur. Servikal kanser hücrelerine ait IC₅₀ değeri 20,37 µg/ml olarak bulunmuştur (Süntar ve ark., 2018).

N. ucrainica'dan elde edilen uçucu yağın insan yumurtalık karsinomu A2780 hücre hattı ve meme (insan) adenokarsinomu MCF-7 hücre hattı üzerinde sitotoksik etkisinin incelenmesi için MTT (3- (4,5- dimetiltiyazol- 2- il)- 2,5- bifenil-tetrazolium-bromid) yöntemi kullanılmıştır. Uçucu yağın IC₅₀ değeri <50 µg/ml dir. (Süntar ve ark., 2018).

Bir başka çalışmada *N. binaloudensis* bitkisinden % 70 etanollü, *n*-hekzanlı ve sulu ekstraktlar hazırlanarak MDA-MB-231 ve MCF-7 dahil olmak üzere meme kanseri hücre hatlarında etkisi incelenmiştir. Hücre hatlarına 10 ila 320 µg/ml konsantrasyonlarda ekstre konsantrasyonları uygulanmıştır. *N. binaloudensis*, malign hücrelerin büyümesini zamana ve doza bağlı bir şekilde inhibe etme kapasitesine sahip bulunmuştur. Diğer ekstraktlara kıyasla *n*-hekzan ekstrenin *N. binaloudensis* ekstraktları arasında daha toksik olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak çalışma, *N. binaloudensis*'in *n*-hekzan ekstresinin, meme kanseri hücre hattında ornitin dekarboksilaz 1 ve adenosin deaminazın gen ekspresyonu üzerinde inhibitör bir etkisi olduğunu göstermiştir (Süntar ve ark., 2018).

1.6.1.5. Antimelanogenez Etki

N. binaloudensis'in farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktları (petrol eteri, diklorometan, etilasetat, metanol) sıçan B16F10 melanoma hücrelerinde melanogenez üzerinde inhibe edici etkiler ortaya koymuştur. Ekstrenin mikrooftalmi ile ilişkili transkripsiyon faktörü (MITF) protein ekspresyon seviyelerini azalttığı görülmüştür. MITF, tirozinaz transkripsiyonunu aktive ederek melanogenez düzenleyen en önemli nükleer transkripsiyon faktörlerinden biridir. Melanosit gelişimi ve hayatta kalmasında önemli bir rol oynar ve tümör oluşumu ve melanomun ilerlemesi ile ilişkilidir (Süntar ve ark., 2018).

1.6.1.6. Antioksidan Aktivite

Yapılan bir çalışmada *N. flavida* ekstresi (hekzan, diklorometan ve metanol) ve uçucu yağının *in vitro* antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Numunelerin antioksidan etkileri β - karoten-lineoleik asit ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) testi ile ölçülmüştür. DPPH analizinde, *N. flavida* uçucu yağının IC₅₀ değeri $42,8 \pm 2,19$ $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiştir. Metanol ekstresinin, IC₅₀ değeri $63,2 \pm 1,75$ $\mu\text{g/ml}$, ekstreler arasında en güçlü aktiviteyi gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca *N. flavida* uçucu yağının β - karoten- lineoleik asit sisteminde lineolik asit oksidasyonuna karşı inhibitör etkisi $\% 86,3 \pm 1,69$ olarak bulunmuştur. Ayrıca *N. sintenisii* uçucu yağının antioksidan etkisini ölçmek için yine DPPH ve demir indirgeyici antioksidan güç deneyi testi kullanılmıştır. DPPH testinde IC₅₀ değeri 7,16 mg/ml, demir indirgeyici antioksidan güç deneyi testinde ise IC₅₀ değeri 0,82 mM Fe²⁺/mg olarak bulunmuştur ve düşük antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Shakeri ve ark., 2016).

1.6.1.7. Antikonvülzan ve Miyorelaksan Aktivite

Yapılan bir çalışmada *N. sibthorpii*'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağı ve metanollü ekstresinin fraksiyonlarının kemirgenler üzerinde nörofarmakolojik etkisi incelenmiştir. *N. sibthorpii* pentilentetrazol kaynaklı konvülsiyonlara karşı koruma sağladığı görülmüştür (Süntar ve ark., 2018).

N. cataria uçucu yağının izole tavşan ince bağırsağında spontan kasılmaları inhibe ettiği bulunmuştur. *N. ruderalis* metanollü ekstresinin tavşan jejunumunda yüksek K⁺ (80 mM) konsantrasyonu ile kendiliğinden oluşan kasılmayı tamamen gevşettiği görülmüştür (Süntar ve ark., 2018).

1.6.1.8. Analjezik ve Antienflamatuar Aktivite

N. cataria, inflamasyonun tedavisi ile ilişkili geleneksel kullanımlara sahip bir

bitkidir. T hücre aracılı inflamasyonun önemli bir düzenleyicisi olan kalsinörinin, *N. cataria* ekstresi tarafından inhibe edildiği bulunmuştur. *N. cataria*'nın taze yapraklarından ekstraksiyon ve fraksiyonlama yöntemleri ile 2 bileşik izole edilmiştir: verbazkozit ve lamusit A. Kalmodülinin varlığına veya yokluğuna bakılmaksızın, iki bileşiğin kalsinörünü inhibe ettiği görülmüştür (Süntar ve ark.,2018).

İki yeni pentasiklik triterpen olan kirmanoik asit ve kurramanoik asit, *N. clarkei* bitkisinin tüm kısımlarından hazırlanan kloroformlu ekstresinden izole edilmiştir. Kirmanoik asit, aspirin ile karşılaştırıldığında analjezik etki gösterdiği ortaya konmuştur. Ayrıca, kirmanoik asitin aspirine göre daha güçlü bir anti-enflamatuar aktivite sergilediği görülmüştür (Hussain ve ark., 2012).

N. atlantica ve *N. tuberosa* bitkilerinin topraküstü kısımlarının kurutulması ile hazırlanan metanollü ekstrelerin iridoit glikozitleri ve terpenler gibi sekonder metabolitler yönünden zengin olduğu bilinmektedir. *In vivo* periferik analjezik aktivite farelerde Koster testine göre değerlendirilmiş; merkezi analjezik aktivite sıçanlarda kuyruk hareketi testi ile değerlendirilmiştir. LD₅₀, *N. atlantica* için 1672 ± 232 mg/kg, *N. tuberosa* için 1,401 ± 97,29 mg/kg olarak ölçülmüştür (Süntar ve ark.,2018).

N. clarkei bitkisinden elde edilen nepetalat B bileşiğinin merkezi sinir sistemini baskılayıcı aktivite uyguladığı görülmüştür. Formalin testleri yapılarak analjezik ve antienflamatuar etkiler gözlemlenmiştir. Nepetalat B konsantrasyonları 0.1, 0.2 ve 0.4 mg/kg olacak şekilde uygulanmış ve sırasıyla ağrı inhibisyonları %68.0, %25.5, ve %75.5 olarak bulunmuştur (Süntar ve ark.,2018).

Başka bir antienflamatuar bileşik, *N. parmirensis*'in (% 98) uçucu yağının ana bileşiği olan 1,8- sineoldür. Siklooksijenaz-1 inhibitör etkisi için IC₅₀ 0.7 µg/ml dir. 1,8-sineol çok çeşitli bitkilerde bulunur ve prostaglandin sentezini inhibe ettiği açıklanmıştır. Antienflamatuar etkinin yanı sıra 1,8- sineol sıçanlarda, Merkezi Sinir

Sisteminde ağrı iletimini modüle ederek antinosiseptif etki gösterdiği bulunmuştur (Süntar ve ark., 2018).

1.6.1.9. Kronik Morfin Bağımlılığını Azaltıcı Etki

N. menthoides etanolik ekstresinin ön tedavide kullanılması kronik morfin bağımlılığının gelişimini azaltmıştır. Çalışmada, kronik morfinle tedavi edilen farelerin *N. menthoides* ekstresi veya metadon veya her ikisinin bir kombinasyonunun kullanılmasının morfin bağımlılığı gelişimini azalttığı gösterilmiştir. Bu etkiye, beyin nitrik oksit ve malondialdehit aşırı üretiminin azalmasının aracılık ettiği düşünülmektedir. *N. menthoides* bitkisinden elde edilen α -terpineol bileşiği nitrik oksit üretimini etkileyerek morfin bağımlılığını önemli ölçüde azaltmıştır. Öte yandan, bu bitkinin bir başka ana bileşiği olan linalol'un, *N*-metil-*D*-aspartat reseptörlerini inhibe ettiği görülmüştür. Bu nedenle, *N. menthoides*'in morfin bağımlılığına karşı umut verici bir aday bitki olabileceği bildirilmiştir (Süntar ve ark., 2018).

1.6.1.10. Cinsel Davranışlar Üzerinde Etki

N. cataria, uzun zamandır Kuzey Amerika kültürünün bir parçası olmuş ve çaylar, infüzyonlar şeklinde günlük yaşamda kullanılmıştır. Yapılan bir çalışma *N. cataria* yapraklarınca zengin yemle güçlü bir şekilde beslenen erkek sıçanlarda, cinsel davranış ve penis ereksiyonu üzerindeki etki değerlendirilmiştir. Cinsel performansın muhtemel motor ve duygusal etkileşimlerini analiz etmek için genel aktivite ve motor koordinasyonu incelenmiştir. *N. cataria* grubundaki erkek sıçanlar, 4 saat boyunca *N. cataria* yaprakları (%10) açısından zengin olan yemle beslenirken, kontrol grubunun sıçanları düzenli yemle beslenmiştir. Cinsel davranış, apomorfine kaynaklı penil ereksiyon ve motor koordinasyon, *N. cataria* beslemesinin 4 saatlik süresinin bitiminden 15 dakika sonra izlenmiştir. Açık alandaki genel etki tedaviden 0, 15, 30 ve 60 dakika sonra değerlendirilmiş ve *N. cataria* tedavisinin erkek

sıçanların penis ereksiyonunu arttırdığı görülmüştür. Penis ereksiyonunu artırması ve cinsel davranışlarını bir dereceye kadar iyileştirmesi dopaminerjik reseptörlere etki etmesinden kaynaklanmaktadır (Süntar ve ark., 2018).

1.6.1.11. Anti-Aterosklerotik Aktivite

Farklı diyet rejimlerinde genç domuzlara verilen *N. hindostana* alkollü ekstresi, serum lipit ve lipoprotein düzeylerini ve ateroskleroz şiddetini azaltmada etkili olmuştur (Formisano ve ark., 2011).

1.6.1.12. Vazorelaksan ve Trombosit Agregasyon Aktivitesi

Yapılan bir çalışmada *N. juncea*'nın metanollü ekstresinin, araşidonik asit kaynaklı trombosit agregasyonunu (IC₅₀ 35 mg/ml) ve trombosit aktive edici faktör (PAF) kaynaklı trombosit agregasyonunu (IC₅₀ 38 mg /ml) doza bağlı bir şekilde inhibe ettiği bulunmuştur (Formisano ve ark., 2011).

1.6.1.13. Enzim İnhibitör Aktivite

Bir çalışmada *N. cadmea* ve *N. nuda subsp. glandulifera* bitkilerinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin α -amilaz, tirozinaz, kolinesterazlar (AChE veya BChE) ve α -glukozidaz enzimlerini inhibe edici etkileri incelenmiştir. *N. cadmea*'nın (1.35 mg GALAEs/g ekstre) AChE inhibitör aktivitesinin *N. nuda subsp. glandulifera*'dan (1.26 mg GALAEs/g ekstre) biraz daha yüksek olduğu bununla birlikte ekstrelerin BChE ve tirozinaz enzimlerine inhibitör aktivite göstermediği bulunmuştur. Alfa-amilaz ve alfa-glukozidaz enzim inhibitör aktiviteleri kıyaslandığında *N. nuda subsp. glandulifera*'nın *N. cadmea*'dan biraz daha yüksek inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur (Sarıkürkçü ve ark., 2019).

N. cataria bitkisinin farklı çözücülerle hazırlanmış ekstralarının *in vitro* olarak alfa-amilaz, alfa-glukozidaz ve alfa-galaktozidaz enzimlerine karşı inhibitör etkileri incelenmiştir. %70 etanollü, petrol eterli ve kloroformlu ekstraların yüksek etil asetat ve etanollü ekstralarının düşük seviyede inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur (Naguip ve ark., 2012).

Çizelge 1.1. *Nepeta* Türlerinin Biyolojik Etkileri

Aktivite	<i>Nepeta</i> sp.
Antimikrobiyal	<i>N. clarkei</i> <i>N. cataria</i> <i>N. nervosa</i> <i>N. elliptica</i> <i>N.rtanjensis</i> <i>N. sibirica</i> <i>N. leucophylla</i> <i>N.ciliaris</i> <i>N.sintensis</i>
Böcek Kovucu ve Öldürücü	<i>N. cataria</i> <i>N. faassenii</i>
Larva Öldürücü	<i>N. menthoides</i>
Sitotoksik	<i>N. sintensisii</i> <i>N. binaloudensis</i> <i>N. ucrainica ssp. Kopetdaghensis</i> <i>N. nuda</i>
Antioksidan	<i>N. flavida</i> <i>N. sintensisii</i>
Antikonvülzan ve Miyorelaksan Etki	<i>N. sibthorpii</i> <i>N. cataria</i> <i>N. ruderalis</i>
Analjezik ve Antienflamatuar Etki	<i>N. cataria</i> <i>N. clarkei</i> <i>N. atlantica</i> <i>N. tuberosa ssp. Reticulate</i> <i>N. parmirensis</i> <i>N. pogonosperma</i>
Kronik Morfin Bağımlılığına Etki	<i>N. menthoides</i>
Cinsel Davranışlar Üzerine Etki	<i>N. cataria</i>
Enzim İnhibitör Aktivite	<i>N. cadmea</i> <i>N. nuda subsp. Glandulifera</i> <i>N. cataria</i>

1.6.2. Klinik Çalışmalar

N. menthoides bitkisinin premenstrüel sendrom (PMS) ve antidepresan aktiviteleri üzerindeki iyileştirici etkilerini değerlendirmek için 2 klinik çalışma yapılmıştır. Bu bitkinin antidepresan etkinin azalmasına ve depresyonun tekrarlanmasında gecikme sağladığı bulunmuştur (Süntar ve ark., 2018).

1.6.2.1. Adet Öncesi Sendromları İyileştirici Etki

Melissa officinalis'in tek başına ve *N. menthoides* ile kombinasyon halinde PMS üzerindeki etkinliğini araştırılmıştır. Çalışma, İran Tebriz Tıp Bilimleri Üniversitesi'nden toplam 93 kız öğrenci üzerinde gerçekleştirilmiştir. PMS semptomlarının varlığı ve ciddiyeti hakkında bilgi vermek için, katılımcılar ard arda iki adet döngüsü için Günlük Sorunların Şiddeti Kaydı anketini doldurmuşlardır. Daha sonra, ikisi kontrol grupları ve biri plasebo grubu olmak üzere her biri 31 denek içeren rastgele üç gruba ayrılmışlardır. Deney gruplarındaki katılımcılara bir *M. officinalis* kapsülü (500 mg) veya *N. menthoides* (250 mg) ve *M. officinalis* (250 mg) kombinasyonu içeren bir kapsül, plasebo grubundaki katılımcılara bir kapsül nişasta tozu (500 mg) verilmiştir. Denekler, ardışık iki adet döngüsünün luteal fazı boyunca günde iki kez kapsül almışlardır. Tedaviden 2 ay sonra PMS semptomlarının *M. officinalis* ve *M. officinalis*-*N. menthoides* gruplarında önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (Süntar ve ark., 2018).

1.6.2.2. Antidepresan Aktivite

N. menthoides bitkisinin sulu ekstresi majör depresyonun tedavisi için değerlendirilmiştir. Nisan-Eylül 2015 tarihleri arasında gerçekleştirilen randomize, çift kör kontrollü çalışmaya psikiyatri kliniğinden alınan, majör depresyon kriterlerine uyan 72 hasta katılmıştır. Hastalar 4 hafta boyunca *N. menthoides* veya sertralin vermek üzere rastgele gruplandırılmıştır. Kontrol grubuyla

karşılaştırıldığında, *N. menthoides* grubundaki Beck Depresyon Envanteri skorlarındaki ortalama değışiklikler anlamlı olarak daha yüksek görölmüştür. Müdahaleden sonraki 2 haftalık takipte *N. menthoides* grubunda daha düşük bir nüks oranı gözlenmiştir. Majör depresyonu olan hastalarda, *N. menthoides* ruh halini kontrol etmede yararlı olabileceği düşünölmektedir (Süntar ve ark., 2018).

Bu çalışmada *N. cadmea* bitkisinden hazırlanacak olan metanollü ekstrenin fenolik içeriğinin kalitatif ve kantitatif olarak ters faz YPSK yöntemi ile analiz edilmesi, İTK ve YPİTK ile bünyesindeki fenolik bileşiklerin görüntüleme (screening) çalışmalarının gerçekleştirilmesi, alfa-glukozidaz ve alfa-amilaz enzim inhibisyon testleri yapılarak antidiyabetik potansiyelinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Bitkisel Materyal

2017 yılının Haziran ayında 868 m yükseklikten, Denizli-Kızılcabölük yolu üzerinden toplanan *Nepeta cadmea* Boiss. bitkisi çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Toplanan bitki örnekleri herbaryum materyali haline getirilerek Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryum'unda (AEF: 28879) kayıt altına alınmıştır. Bitki uygun koşullarda kurutulduktan sonra; topraküstü (tüm) kısımları değirmende toz edilmiş ve elde edilen total ekstre aktivite ve izolasyon çalışmalarında kullanılmıştır.

2.2. Fitokimyasal Çalışmalar

2.2.1. Ekstraksiyon Yöntemi

N. cadmea bitkisinin topraküstü kısımları uygun koşullarda kurutulup toz edilmiş, tam tartılmıştır. Toz edilip tartılan toprak üstü kısımlar metanol ile manyetik karıştırıcıda 600 rpm hızda 4 saat boyunca karıştırılmıştır. Çözücü-numune karışımı süzölmüş ve kalan drog üzerine MeOH ilave edilerek manyetik karıştırıcıda 600 rpm hızda 2 saat boyunca karıştırılmıştır. Birleştirilen süzüntüler rotavaporda (33-36 °C) uçurularak çözücüsünden kurtarılmış ve ekstre elde edilmiştir.

2.2.2. *Nepeta cadmea* Boiss.'in İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi

İTK için; Silikajel 60 F₂₅₄ (Merck, 1.05554 20x20) hazır kaplı plaklar kullanılmıştır. *N. cadmea* bitkisinin topraküstü kısmının metanollü ekstresi yukarıda belirtilen adsorbanla kaplı plaklara tatbik edilmiştir. Ekstre içerisindeki bileşik

gruplarının teşhisi için; plaklar aşağıda belirtilen çözücü sistemlerinde yürütülerek gün ışığında ve UV lamba altında farklı nm'lerde incelenmiştir.

- Çözücü Sistemi 1 : Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1)
Çözücü Sistemi 2 : Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (8,5:1,5,0,1)
Çözücü Sistemi 3 : Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1)
Çözücü Sistemi 4 : Formik Asit: Su: Etil Asetat (1:1:15)
Çözücü Sistemi 5 : Etil Asetat: Su: Formik Asit: Asetik Asit (100:27:11:11)
Çözücü Sistemi 6 : Etil Asetat: Formik Asit: Su: Etil Metil Keton (5:5:1:3)
Çözücü Sistemi 7 : *N*-Hekzan: Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (2:5:2,5:0,5)
Çözücü Sistemi 8 : Etil Asetat: Metanol: Su (100:16,5:13,5)
Çözücü Sistemi 9 : Etil Asetat: Formik Asit: Su (20:2:3)

2.2.3. *Nepeta cadmea* Boiss.'in Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi

YPİTK analizleri için CAMAG Sistemi (ATS4, ADC2, TLC visualizer, dansitometrik dedektör) kullanılmıştır. Numune (*N. cadmea* bitkisinin metanollü ekstresi) ve standartlar (rozmarinik asit, klorojenik asit, apigenin, luteolin, kersein, kafeik asit) 5 µl olarak ATS 4 ile (CAMAG, İsviçre) 8 mm'lik bantlar şeklinde hazır cam plaklara (Merck 20x10 cm, Silikajel 60 F₂₅₄) uygulanmıştır. Sol taraftan ve alt kenardan mesafe sırası ile 15 mm ve 8 mm dir. Plağın tanka yerleştirilmesi ve çözücünün developmanı ADC-2 (CAMAG) tarafından gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak 2 farklı çözücü sistemi kullanılmıştır: Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1), Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1)

ADC 2 ile tank içeriği 20 dakika boyunca doyurulmuş, developman gerçekleştirilmiş ve plak kurutulmuştur. Plakların dokümantasyonu gün ışığı, 254 nm ve 366 nm'de Reprstar 3 (CAMAG, İsviçre) tarafından gerçekleştirilmiştir. Dansitometrik tarama bir TLC Scanner (CAMAG, İsviçre) tarafından

gerçekleştirilmiş ve WinCATS yazılımı kullanılmıştır.

2.2.4. *Nepeta cadmea* Boiss.’ deki Bazı Fenolik Bileşiklerin YPSK ile Miktar Tayinleri

N. cadmea’in toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstre YPSK’ya uygulanarak, ekstrenin içerdiği bileşikler teşhis edilmiştir. Analiz koşulları 2.2.4.1’de verilmiştir.

YPSK analizi için yüksek saflıkta su, metanol ve asetonitril çözücüleri degaze edilerek sisteme uygulanmıştır. Hazırlanan ekstre, enjeksiyondan önce viale aktarılırken 0,45 µm por genişliğine sahip mikro filtrelerden süzülmüştür.

YPSK analizinde; bitkinin topraküstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstre ile standart olarak kullanılan fenolik bileşiklerin retansiyon zamanları ve UV spektrumları kıyaslanarak bitkinin hangi fenolik bileşikleri içerdiği teşhis edilmiştir. Hazırlanan ekstre ile birlikte standart bileşiklerin enjeksiyonu 3’ er defa yapılmıştır.

Fenolik bileşiklerin YPSK ile kalitatif ve kantitatif analizi için; bitkide bulunması muhtemel bazı fenolik bileşikler standart olarak kullanılmıştır. Bu bileşikler; gallik asit, klorojenik asit, kafeik asit, sinapik asit, elajik asit, protokateşik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, rozmarinik asit, rutin, luteolin-7 glukozit, kersetin, luteolin, apigenin ve kemferoldür.

2.2.4.1. YPSK Analiz Koşulları

YPSK sistemi: HP Agilent 1200 (quaternary pompa, autosampler ünitesi)

Kolon: ACE C18 (250 mm, 4,6 mm id; 5 µ)

Dedektör: Photo Diode Array Dedector (DAD)

Akış Hızı: 0.8 ml/dakika

Çözücü Sistemi: TFA (% 0.1)'li H₂O (Çözücü A)

TFA (% 0.1)'li MeOH (Çözücü B)

TFA (% 0.1)'li CH₃CN (Çözücü C)

Enjeksiyon Miktarı: 10 µl

Dalga boyu: 330 nm (Gökbulut ve ark., 2017)

Çizelge 2.1. YPSK analizinde gradient elüsyon için kullanılan çözücülerin oranları

Zaman (dk)	Çözücü A (TFA% 0,1 içeren H ₂ O)	Çözücü B (TFA% 0,1 içeren MeOH)	Çözücü C (TFA % 0,1 içeren CH ₃ CN)
0	80	12	8
8	75	15	10
16	70	18	12
24	65	20	15
32	50	35	15
40	25	60	15
45	80	12	8

2.2.4.2. Fenolik Bileşiklerin Eksternal Standart Yöntemi ile Miktar Tayinleri

Fenolik bileşiklerin belirli konsantrasyonlarda enjeksiyonları sonrası elde edilen alanlar ilgili denklemde yerine konularak konsantrasyon verileri elde edilmiştir. Hesaplanan konsantrasyon verilerinden hareketle, *N. cadmea*'in topraküstü kısımlarının metanollü ekstratlarında analizi yapılan bileşiklerin yüzdeleri hesaplanmıştır.

Klorojenik Asit için Doğru Denkleminin Hesaplanması

0,5 mg/ml konsantrasyonda klorojenik asit (Sigma-C3878) stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bundan hareketle farklı konsantrasyonlarda klorojenik asit çözeltileri

hazırlanıp, 10 µl miktarlarda 3'er defa sisteme enjekte edilmiştir. Cihazdan sağlanan pik alan ortalaması alınarak, konsantrasyonlara (x) karşılık gelen alan ortalama değerleri (y) kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bu şekilde, analizi yapılacak bileşiğin doğru denklemi ve R^2 değeri hesaplanmıştır. Doğru denklemi ($y=mx+n$) kullanılarak ekstrelerdeki klorojenik asit miktarı hesaplanmıştır. Analiz 330 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

Kafeik Asit için Doğru Denkleminin Hesaplanması

0,52 mg/ml konsantrasyonda kafeik asit (Sigma-C0625) stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bundan hareketle farklı konsantrasyonlarda kafeik asit çözeltileri hazırlanıp, 10 µl miktarlarda 3'er defa sisteme enjekte edilmiştir. Cihazdan sağlanan pik alan ortalaması alınarak, konsantrasyonlara (x) karşılık gelen alan ortalama değerleri (y) kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bu şekilde, analizi yapılacak bileşik için doğru denklemi ve R^2 değeri hesaplanmıştır. Doğru denklemi ($y=mx+n$) kullanılarak ekstrelerdeki kafeik asit miktarı hesaplanmıştır. Analiz 330 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

Rozmarinik Asit için Doğru Denkleminin Hesaplanması

1,03 mg/ml konsantrasyonda rozmarinik asit (Sigma-536954) stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bundan hareketle farklı konsantrasyonlarda rozmarinik asit çözeltileri hazırlanıp, 10 µl miktarlarda 3'er defa sisteme enjekte edilmiştir. Cihazdan sağlanan pik alan ortalaması alınarak, konsantrasyonlara (x) karşılık gelen alan ortalama değerleri (y) kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bu şekilde, analizi yapılacak bileşik için doğru denklemi ve R^2 değeri hesaplanmıştır. Doğru denklemi ($y=mx+n$) kullanılarak ekstrelerdeki rozmarinik asit miktarı hesaplanmıştır. Analiz 330 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

2.2.4.3. Teşhis ve Miktar Tayini Sınır Değerlerinin (LOD ve LOQ)

Hesaplanması

Rozmarinik asit, kafeik asit ve klorojenik asit için LOD değerinin hesaplanmasında S/N 3 olarak, LOQ değerinin hesaplanmasında S/N 10 olarak alınmıştır. LOQ konsantrasyonlarında dokuz defa enjeksiyon yapılarak (herbir standart madde için), bu konsantrasyonlara karşılık gelen alanların % RSD verileri de hesaplanmıştır, $\% RSD = (SD/Mean) \times 100$.

2.3. Aktivite Testleri

2.3.1. Antidiyabetik Potansiyel

N. cadmea'in toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstre alfa-glukozidaz enzim inhibitör ve alfa-amilaz enzim inhibitör aktivite testi ile antidiyabetik potansiyeli açısından incelenmiştir.

2.3.1.1. Alfa-Glukozidaz Enzim İnhibitör Aktivite Testi

Bacillus stearothermophilus kaynaklı α -glukozidaz tip 4 enzimi fosfat tamponu (0,5 M, pH: 6,5) içinde çözülmüştür. Enzim ve metanollü ekstre mikro plak kuyucuklarına uygulanmış ve etüvde 37 °C'de 15 dakika inkübe edilmiştir. Bu işlem sonrasında kuyucuklara substrat çözeltisi (20 mM p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (NPG)) eklenmiştir. Karışım etüvde 35 dakika boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir. NPG'nin α -glukozidaz enzimi ile hidrolizine bağlı olarak 405 nm'de emilimdeki artış bir ELİSA mikro plak okuyucu ile ölçülmüştür. Güçlü bir α -glukozidaz enzim inhibitörü olan akarboz pozitif kontrol için kullanılmıştır. İnhibisyon yüzdesi (%), İnhibisyon yüzdesi (%) = $[(A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}}] \times 100$ denklemi ile hesaplanmıştır (Gökbulut ve ark. 2017).

2.3.1.2. Alfa- Amilaz Enzim İnhibitör Aktivite Testi

Domuz pankreasından elde edilen α -amilaz Tip 4, distile suda çözülmüştür. Substart çözeltisi olarak fosfat tamponu (pH: 6,9) kullanılmıştır. Mikro plak üzerine kontrol ve ekstre grupları 3'erli olarak ekilmiştir. Daha sonra enzim çözeltisi ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra ekilen bütün kuyucuklara nişasta substratı eklenmiş ve oda sıcaklığında 3 dakika bekletilmiştir. Daha sonra karışıma DNS renk reaktif çözeltisi (96 mM 3,5-dinitrosalisilik asit, 2 M NaOH içinde 5.31 M sodyum potasyum tartrat) ilave edilmiş ve 85 °C'lik etüvde ısıtılmıştır. 15 dakika sonra kuyucuklara distile su ilave edilerek soğutulmuştur. Karışımların absorbansları 540 nm'de okunmuştur. Pozitif kontrol için akarboz kullanılmıştır. Oluşan maltoza bağlı absorbans şu formüle göre hesaplanmıştır: A_{Kontrol} ya da $A_{\text{Örnek}} = A_{\text{Test}} - A_{\text{Boş}}$. Üretilen maltoz miktarı, maltoz standart kalibrasyon eğrisi ve elde edilen net absorbans kullanılarak hesaplanmıştır. İnhibisyon yüzdesi şu şekilde hesaplanmıştır: $\text{İnhibisyon}\% = \left[\frac{\text{Maltoz}_{\text{Kontrol}} - \text{Maltoz}_{\text{Örnek}}}{\text{Maltoz}_{\text{Kontrol}}} \right] \times 100$. (Gökbulut ve ark. 2017).

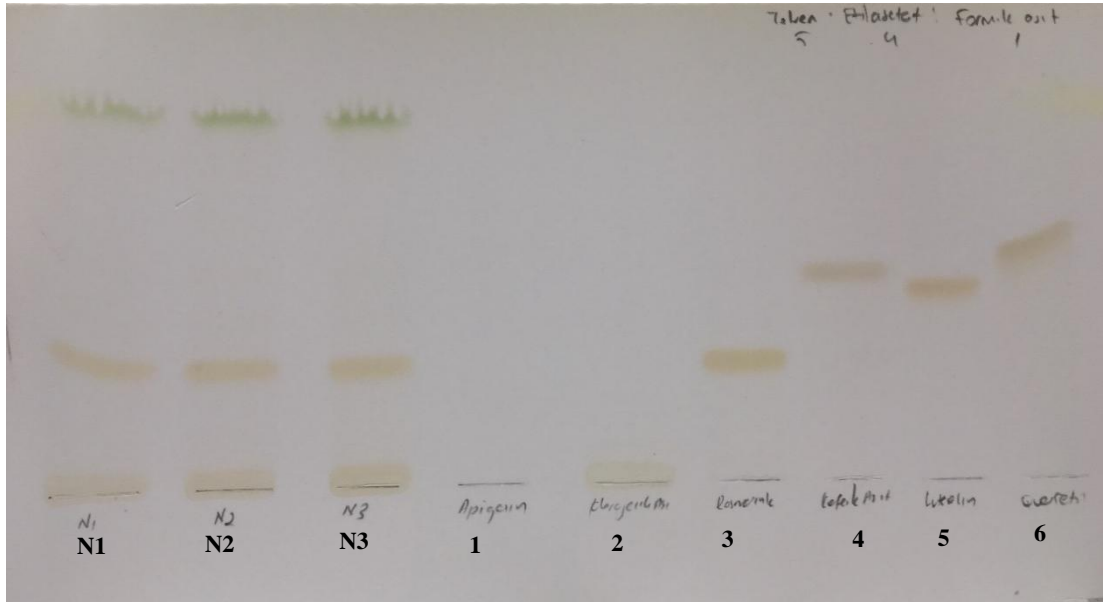
3. BULGULAR

3.1. *Nepeta cadmea* Metanol Ekstresi

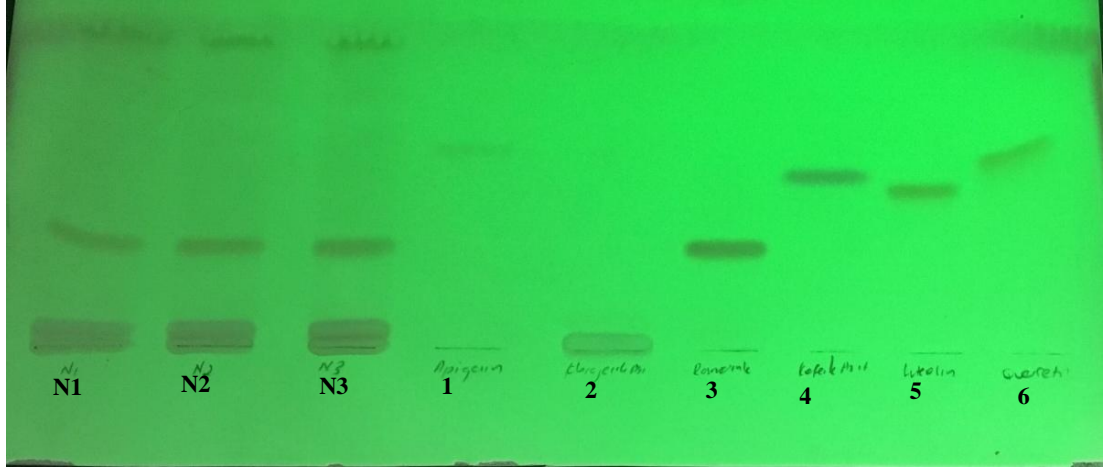
N. cadmea Boiss.'in topraküstü kısımlarından metanol ile hazırlanan ekstre verimi %14,235 (a/a) olarak hesaplanmıştır. Bu ekstre İTK, YPİTK, YPSK analizlerinde ve *in vitro* enzim aktivite deneylerinde kullanılmıştır.

3.2. *N. cadmea*'nin İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) İle İncelenmesi

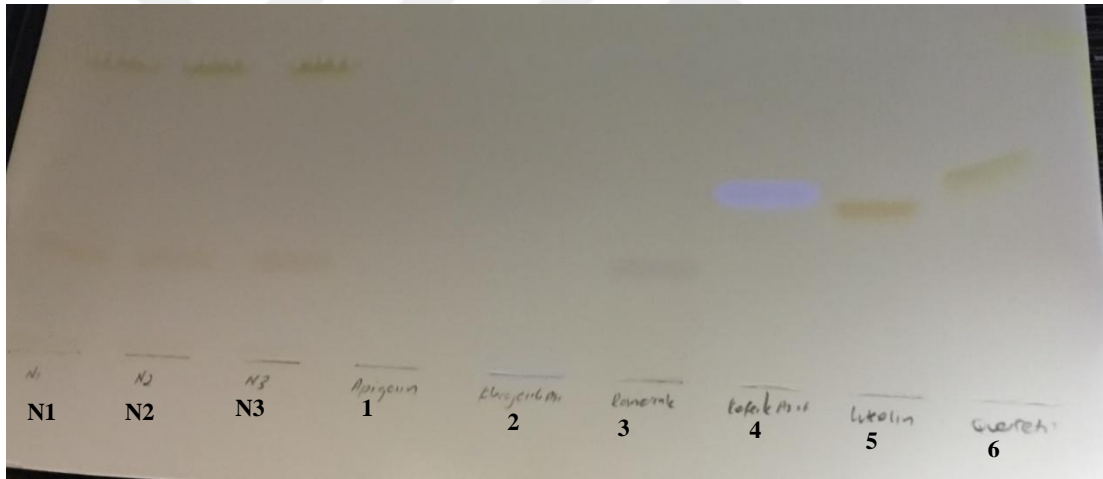
Hazırlanan ekstreten 2,19 mg tartılarak viale alınmış 1 ml metanolde çözülmüştür. Numune ve standartların 2.2.2 bölümünde belirtilen değişik çözücü sistemlerinde İTK uygulamaları yapılmış ve elde edilen kromatogramlar Şekil 3.1-3.22 sunulmuştur.



Şekil 3.1. *N. cadmea*'nin topraküstü kısımlarının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde gün ışığında İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin, 2:Klorojenik Asit, 3:Rozmarinik Asit, 4:Kafeik Asit, 5:Luteolin, 6:Kersetin)



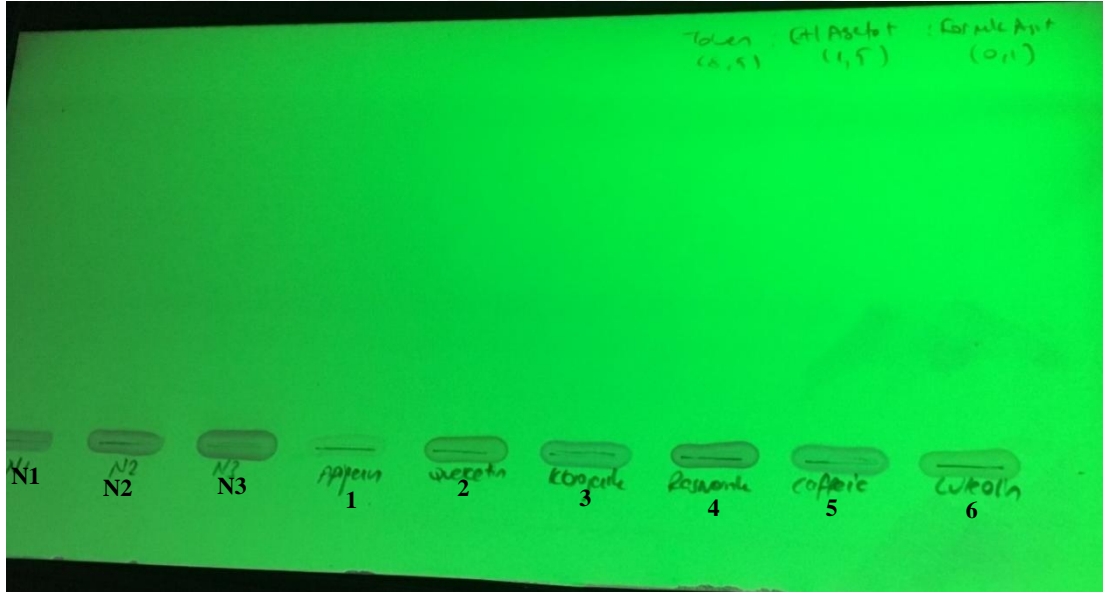
Şekil 3.2. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde UV 254 nm'deki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin, 2:Klorojenik Asit, 3:Rozmarinik Asit, 4:Kafeik Asit, 5:Luteolin, 6:Kersetin)



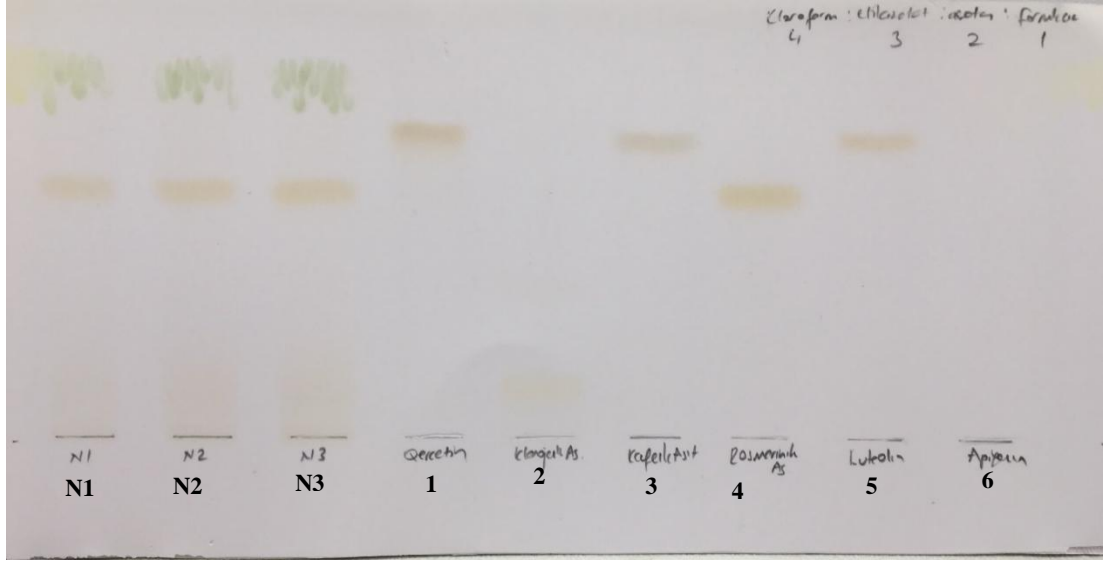
Şekil 3.3. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde UV 366 nm'deki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin, 2:Klorojenik Asit, 3:Rozmarinik Asit, 4:Kafeik Asit, 5:Luteolin, 6:Kersetin)



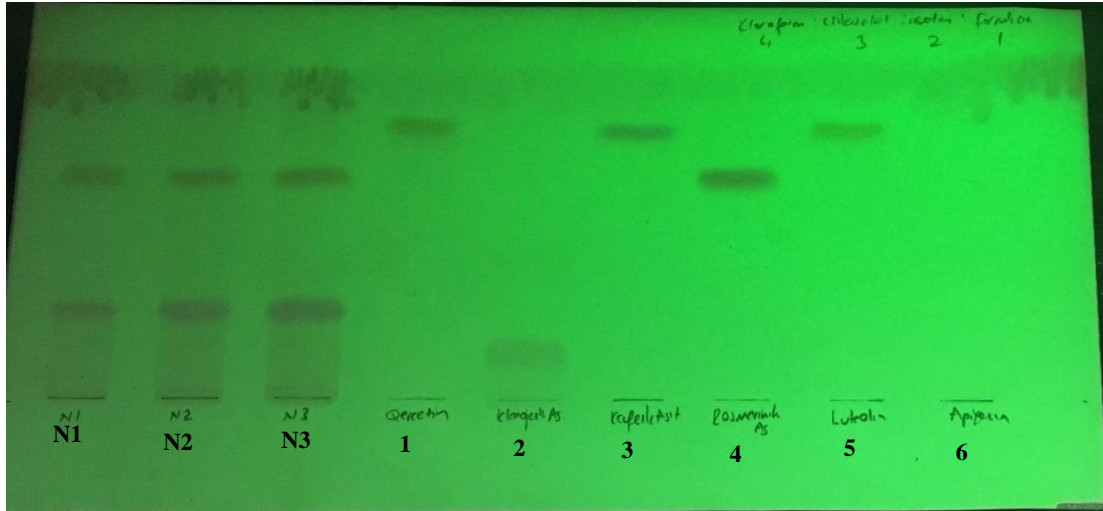
Şekil 3.4. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (8,5:1,5:0,1) çözücü sisteminde gün ışığındaki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin, 2:Kersetin, 3:Klorojenik Asit, 4:Rozmarinik Asit, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin)



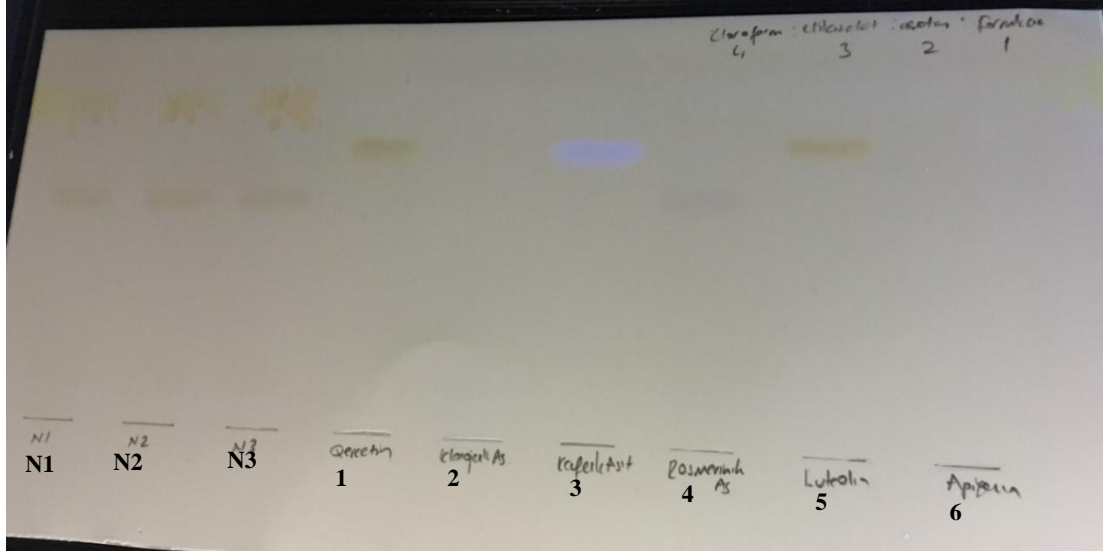
Şekil 3.5. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (8,5:1,5:0,1) çözücü sisteminde UV 254 nm'deki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin, 2:Kersetin, 3:Klorojenik Asit, 4:Rozmarinik Asit, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin)



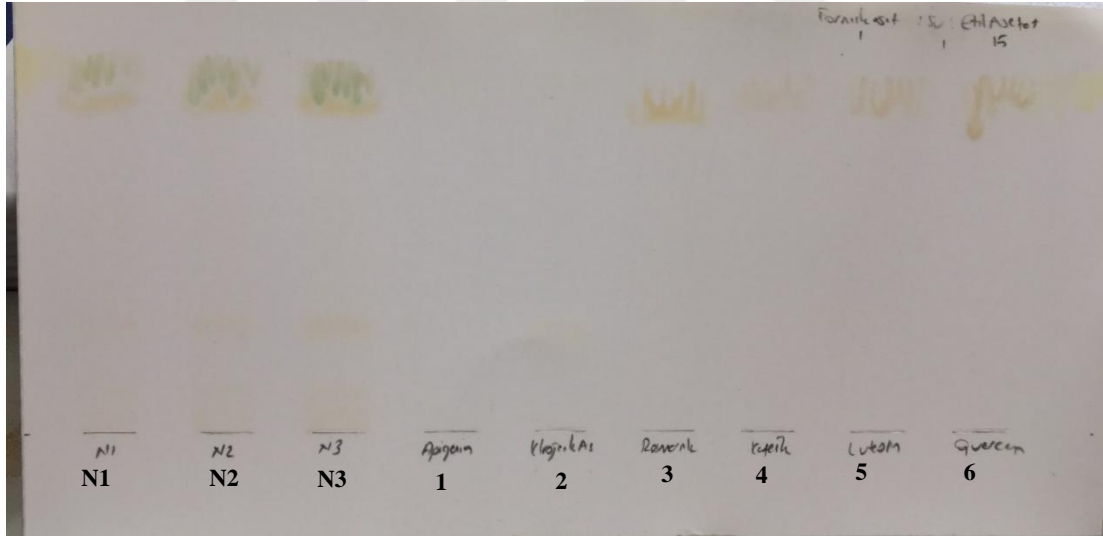
Şekil 3.6. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde gün ışığındaki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Kersetin, 2:Klorojenik Asit, 3:Kafeik Asit, 4:Rozmarinik Asit, 5:Luteolin, 6:Apigenin)



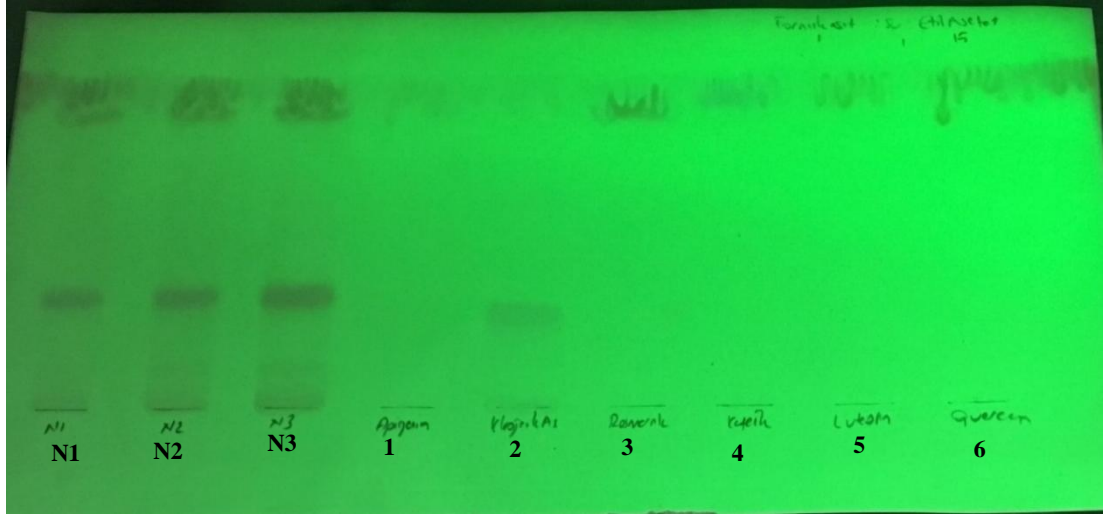
Şekil 3.7. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Kersetin, 2:Klorojenik Asit, 3:Kafeik Asit, 4:Rozmarinik Asit, 5:Luteolin, 6:Apigenin)



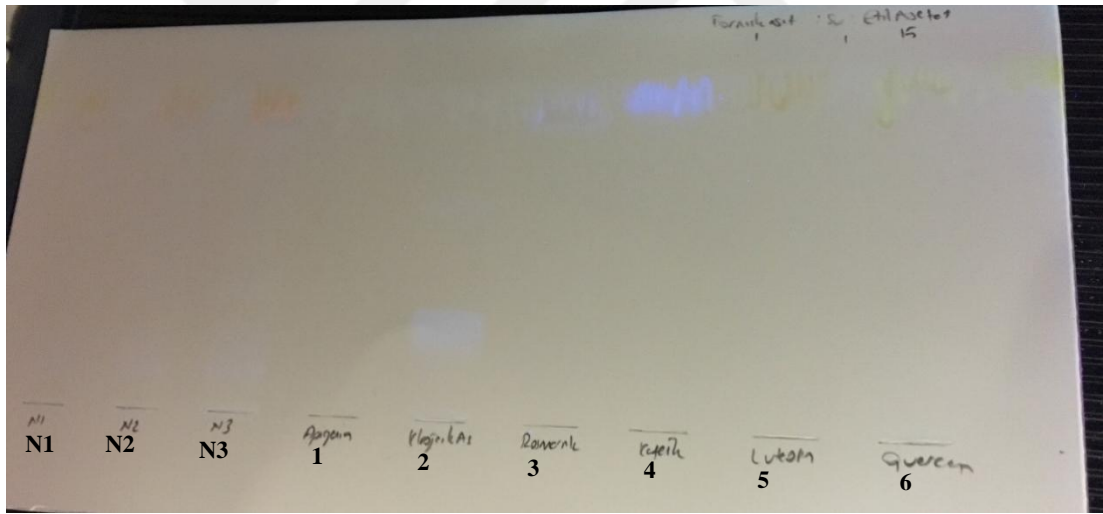
Şekil 3.8. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde UV 366 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Kersetin, 2:Klorojenik Asit, 3:Kafeik Asit, 4:Rozmarinik Asit, 5:Luteolin, 6:Apigenin)



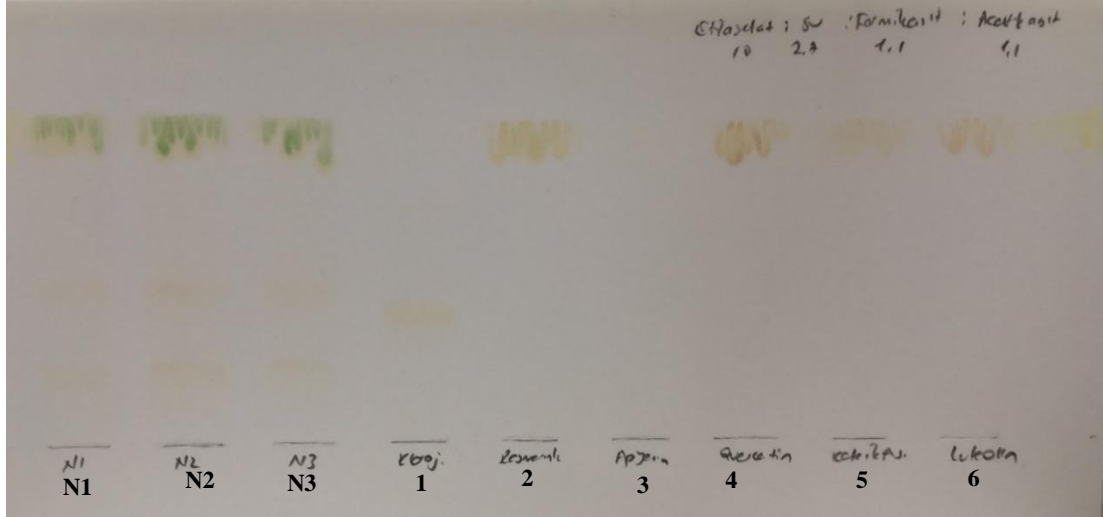
Şekil 3.9. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Formik Asit: Su: Etil Asetat (1:1:15) çözücü sisteminde gün ışığındaki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin 2:Klorojenik Asit, 3:Rozmarinik Asit, 4:Kafeik Asit, 5:Luteolin, 6:Kersetin)



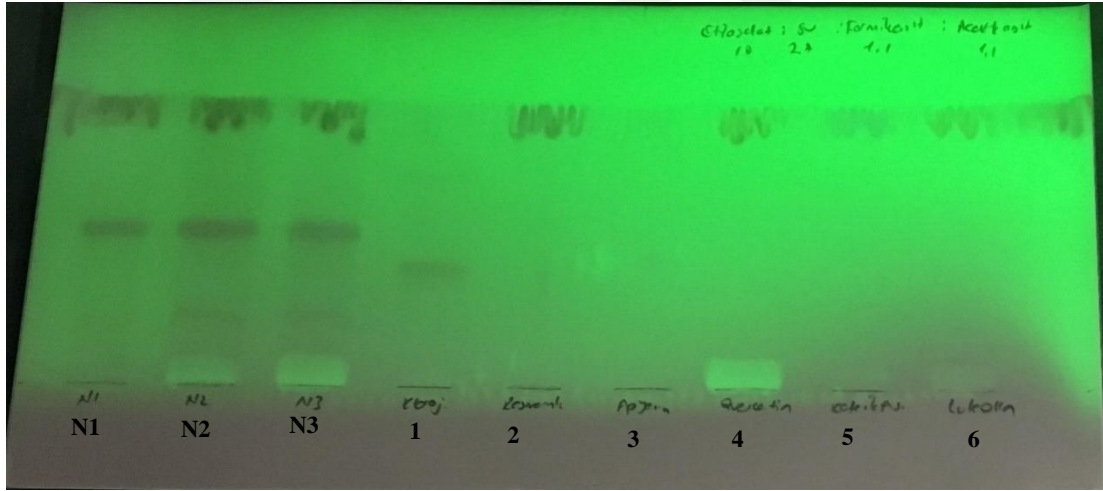
Şekil 3.10. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Formik Asit: Su: Etil Asetat (1:1:15) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin 2:Klorojenik Asit, 3:Rozmarinik Asit, 4:Kafeik Asit, 5:Luteolin, 6:Kersetin)



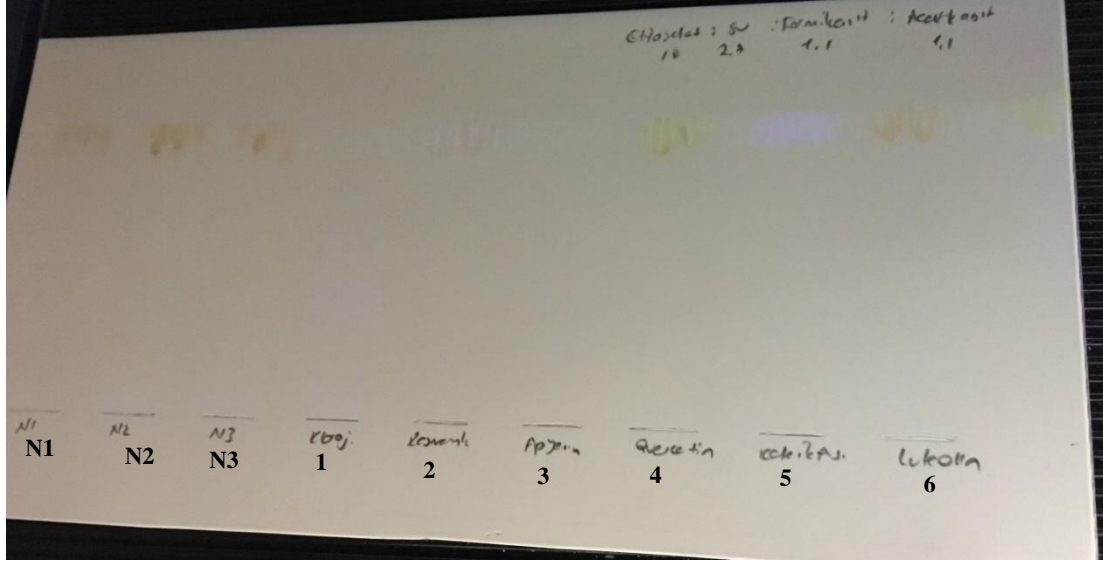
Şekil 3.11. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Formik Asit: Su: Etil Asetat (1:1:15) çözücü sisteminde UV 366 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin 2:Klorojenik Asit, 3:Rozmarinik Asit, 4:Kafeik Asit, 5:Luteolin, 6:Kersetin)



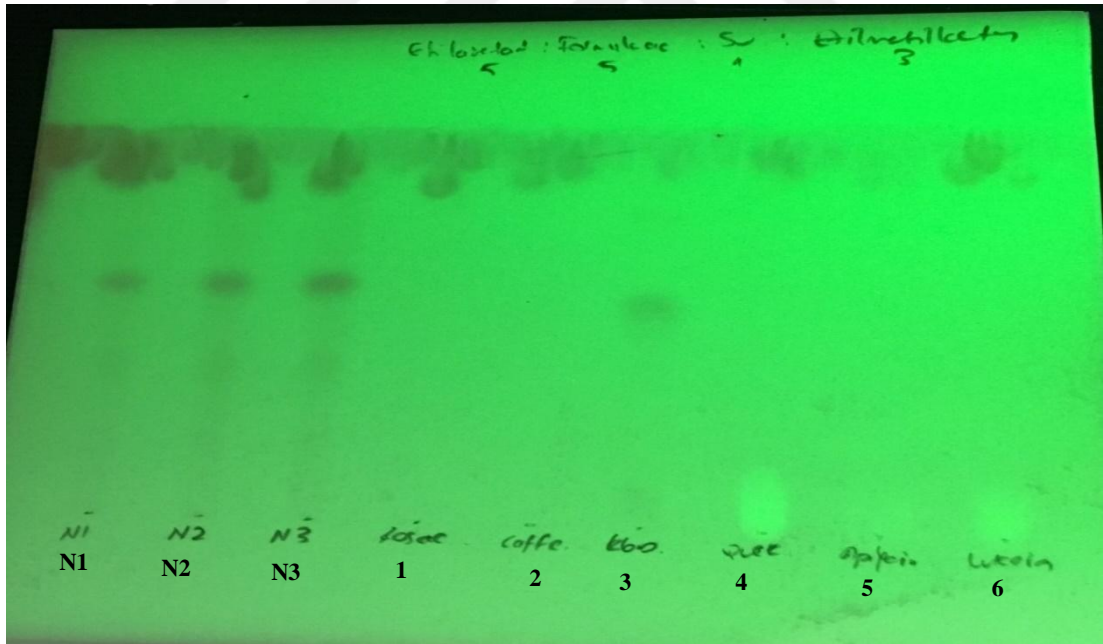
Şekil 3.12. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Su: Formik Asit: Asetik Asit (100:27:11:11) çözücü sisteminde gün ışığındaki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin)



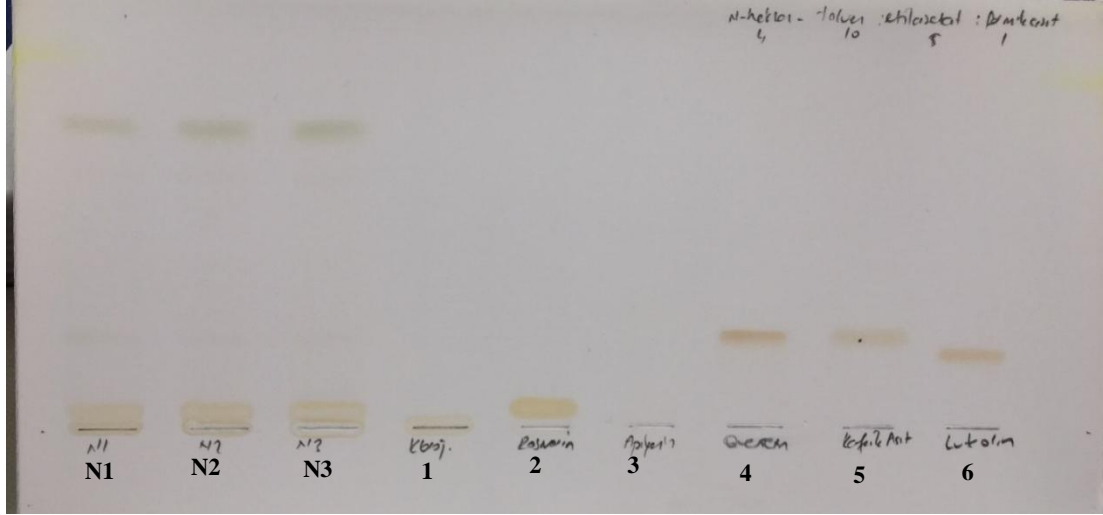
Şekil 3.13. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Su: Formik Asit: Asetik Asit(100:27:11:11) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin)



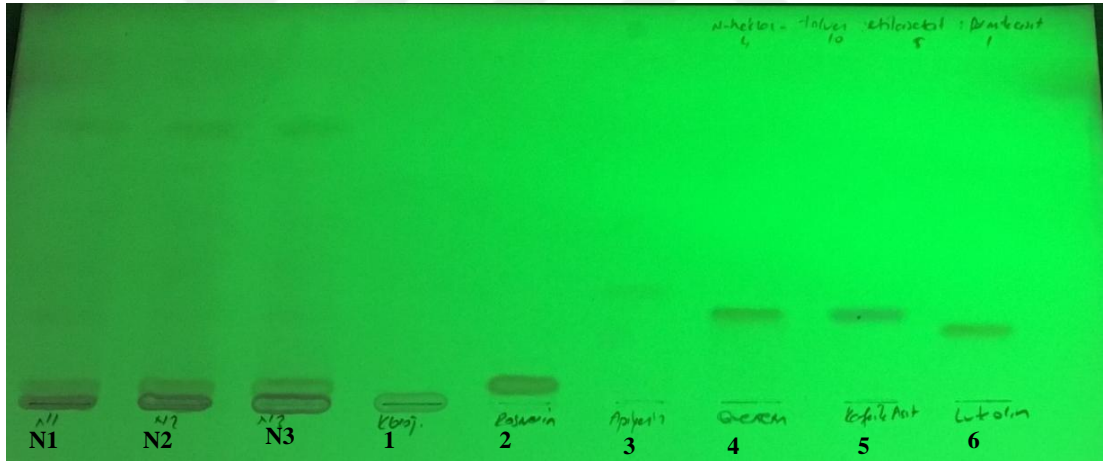
Şekil 3.14. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Su: Formik Asit: Asetik Asit (100:27:11:11) çözücü sisteminde UV 366 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin)



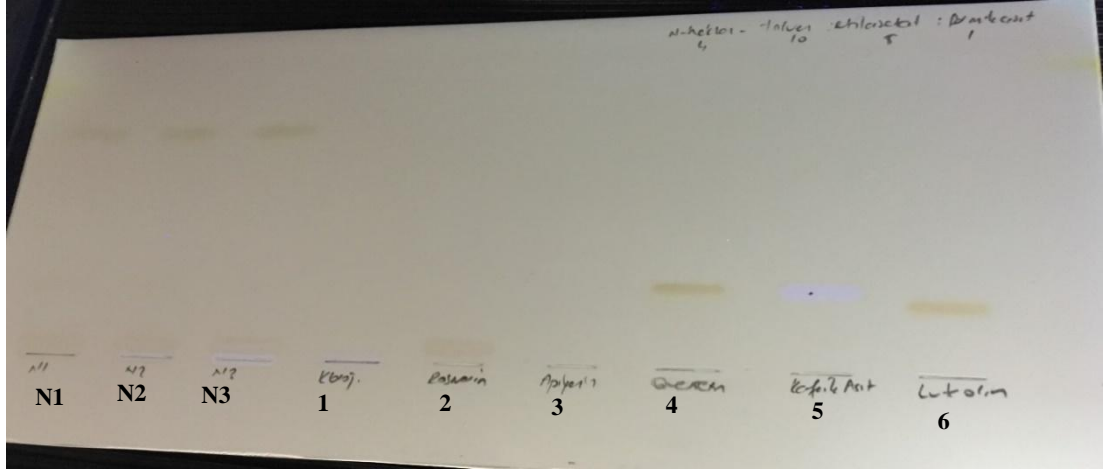
Şekil 3.15. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Formik Asit: Su: Etil Metil Keton (5:5:1:3) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin)



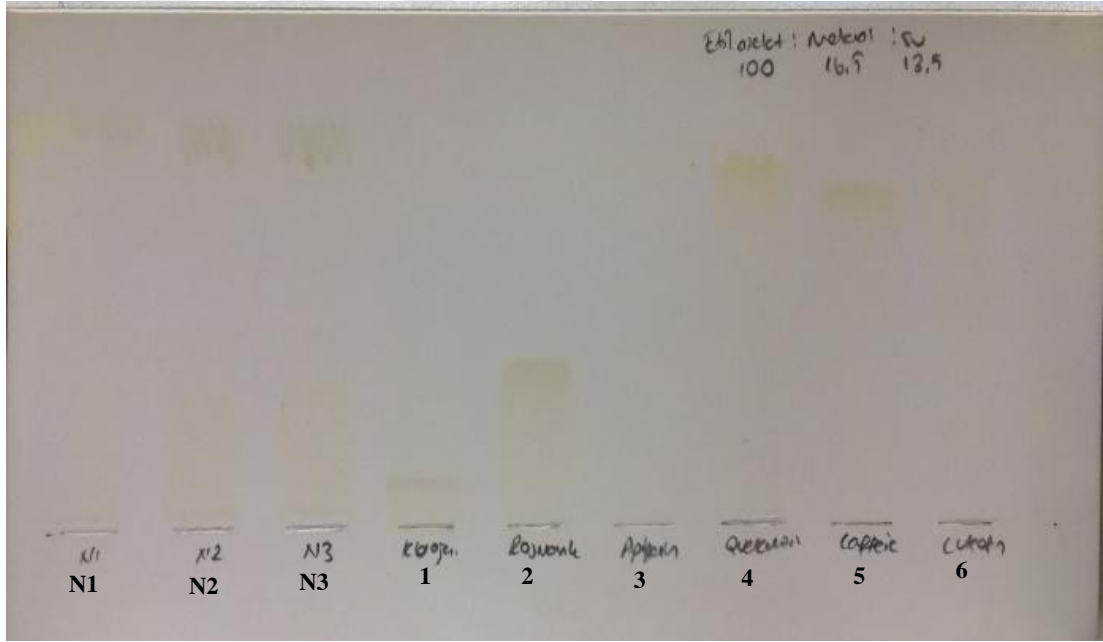
Şekil 3.16. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin *n*-Hekzan: Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (2:5:2,5:0,5) çözücü sisteminde gün ışığındaki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin)



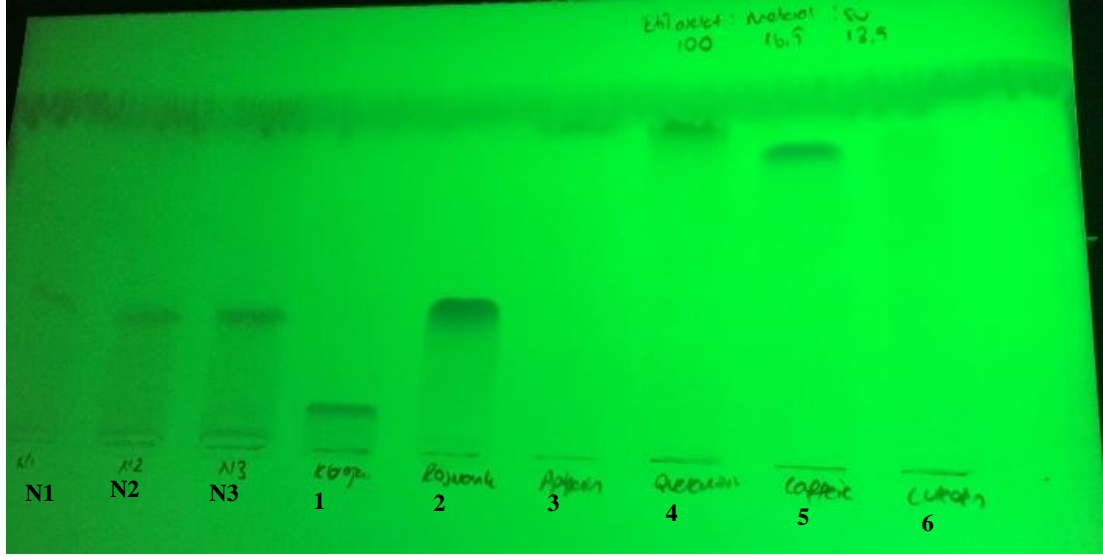
Şekil 3.17. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin *n*-Hekzan: Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (2:5:2,5:0,5) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin)



Şekil 3.18. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin n-Hekzan: Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (2:5:2,5:0,5) çözücü sisteminde UV 366 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin)



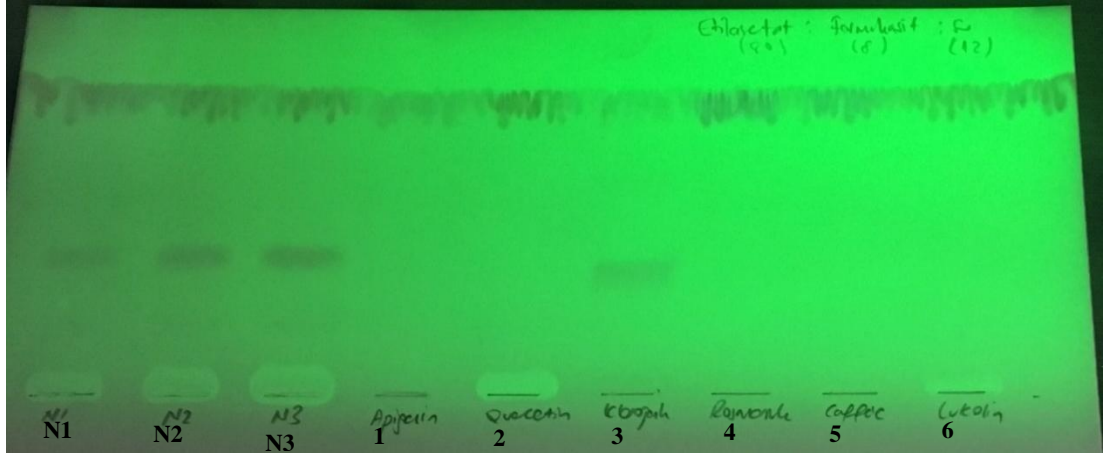
Şekil 3.19. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Metanol: Su (100:16,5:13,5) çözücü sisteminde gün ışığındaki İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin)



Şekil 3.20. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Metanol: Su (100:16,5:13,5) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin)



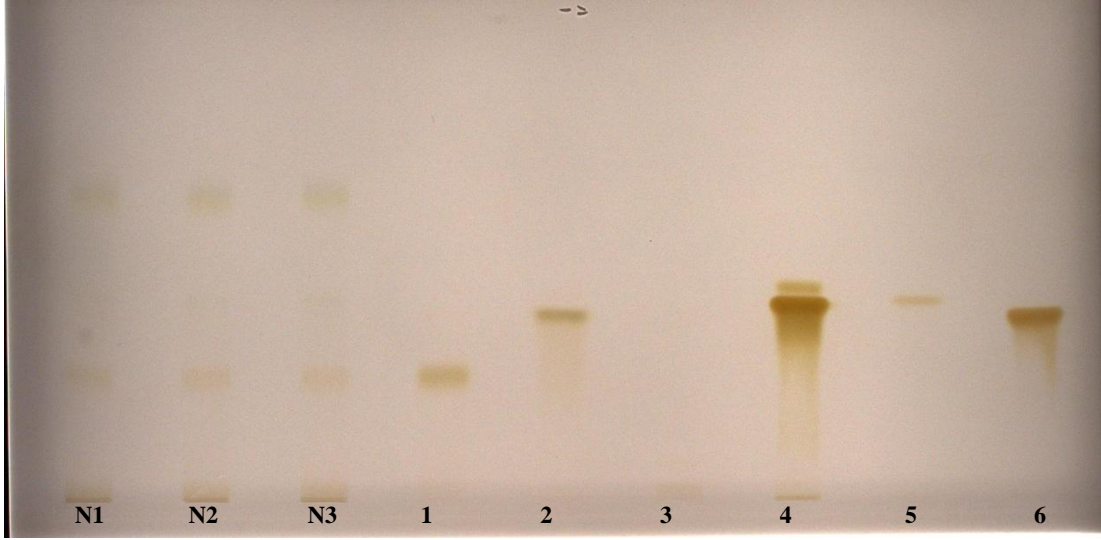
Şekil 3.21. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Metanol: Su (100:16,5:13,5) çözücü sisteminde UV 366 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Klorojenik Asit 2:Rozmarinik Asit, 3:Apigenin, 4:Kersetin, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin)



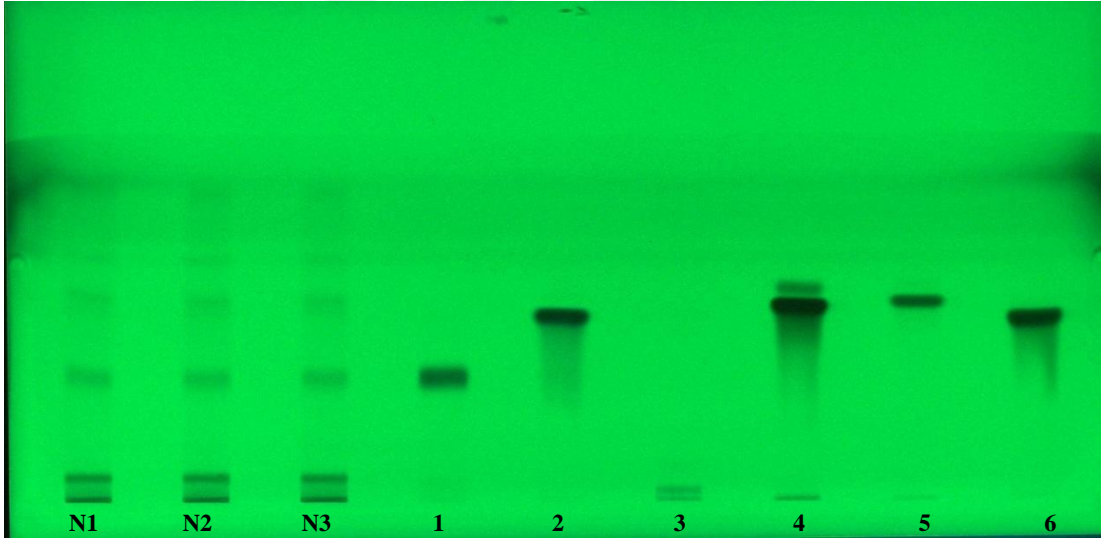
Şekil 3.22. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Etil Asetat: Formik Asit: Su (20:2:3) çözücü sisteminde UV 254 nm'de İTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Apigenin 2:Kersetin, 3:Klorojenik Asit, 4:Rozmarinik Asit, 5:Kafeik Asit, 6:Luteolin)

3.3. *N. cadmea*'nın Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK) ile İncelenmesi

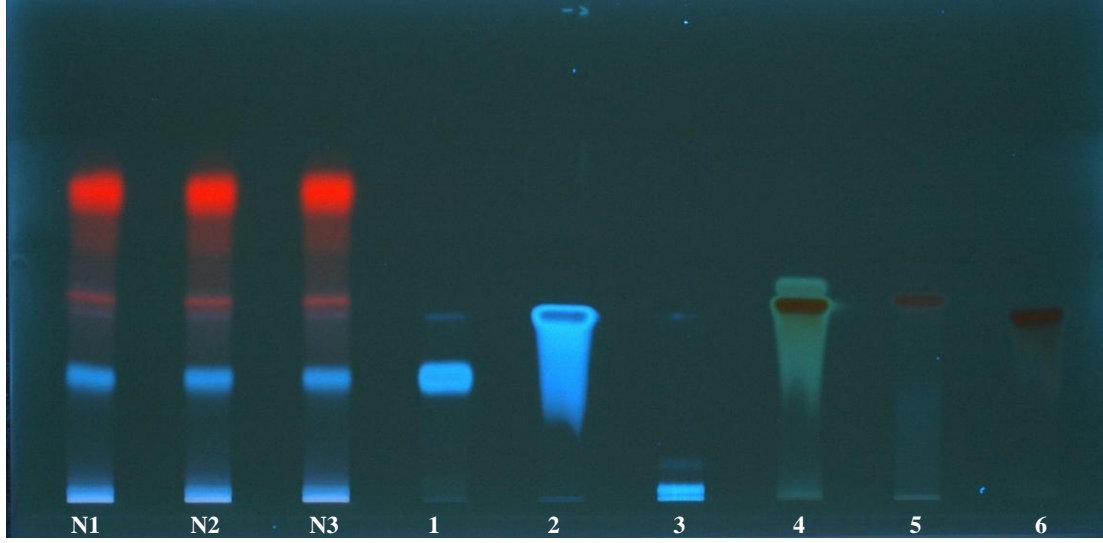
Analiz için ATS4, ADC2, Reprostar 3 ve TLC Tarayıcı 3 ile donatılmış YPİTK sistemi (CAMAG) kullanılmıştır. İnce Tabaka Kromatografisinde denenen çeşitli çözücü sistemleri içerisinde iki tanesi uygun bulunarak YPİTK analizi yapılmıştır: Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1), Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2). Ekstreler 3 kez olmak üzere ve standartlar sırası ile rozmarinik asit, kafeik asit, klorojenik asit, kersetin, apigenin ve luteolin olacak şekilde uygulanmıştır (Şekil 3.23-3.28)



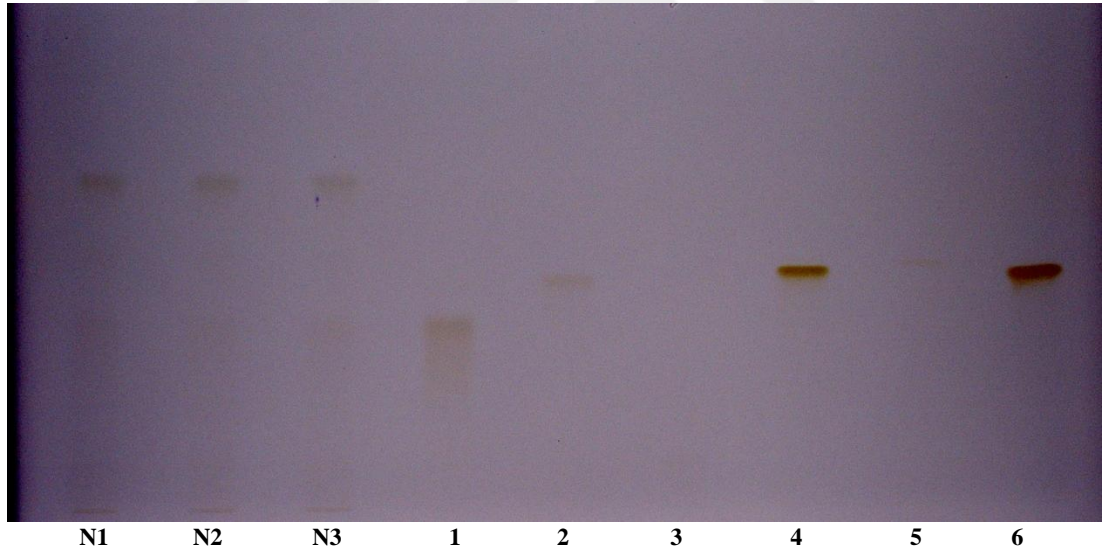
Şekil 3.23. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde gün ışığındaki YPİTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin)



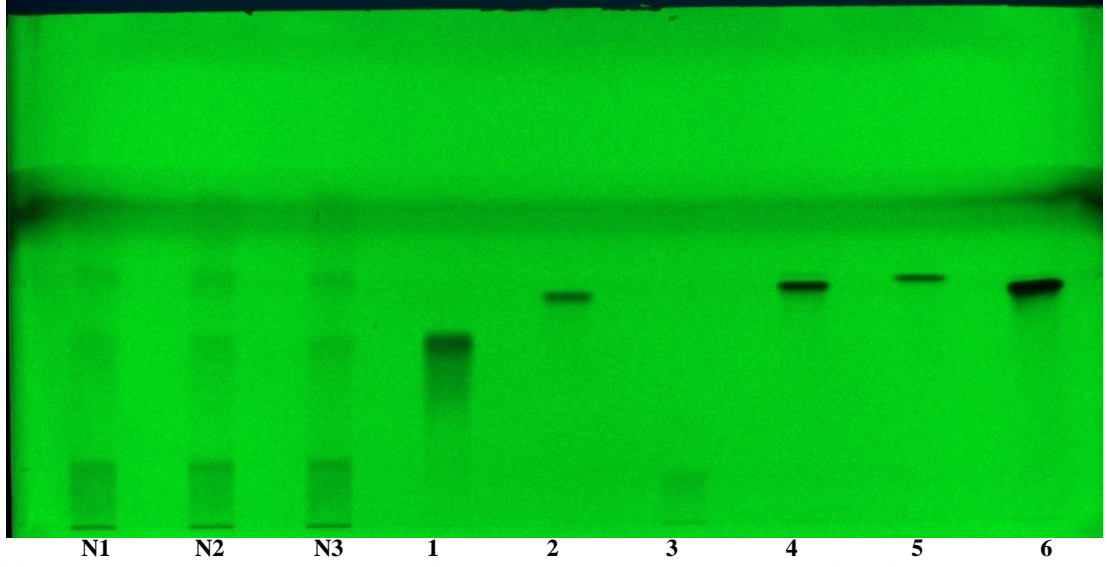
Şekil 3.24. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde UV 254 nm'de YPİTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin)



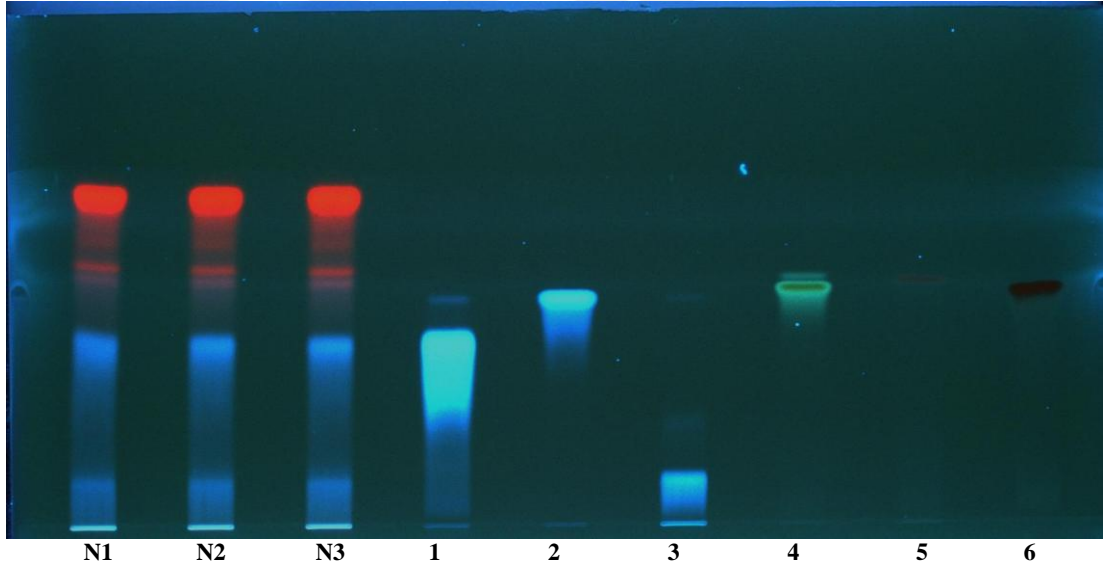
Şekil 3.25. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde UV 366 nm'de YPİTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin)



Şekil 3.26. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde gün ışığındaki YPİTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin)



Şekil 3.27. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde UV 254 nm'de YPİTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin)



Şekil 3.28. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin ve standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde UV 366 nm'de YPİTK kromatogramı (N1, N2, N3:Ekstre, 1:Rozmarinik Asit 2:Kafeik Asit, 3:Klorojenik Asit, 4:Kersetin, 5:Apigenin, 6:Luteolin)

3.4. *N. cadmea*'nın YPSK Analizleri

YPSK ile fenoliklerin analizlerinde genel olarak ters faz YPSK metodu kullanılmaktadır. Bu bağlamda değişik tipte C18 kolonlar üzerinde polar çözücüler olan su, metanol, asetonitrilden oluşan çözücü sistemleri kullanılarak analizler yapılmaktadır. Daha keskin pikler elde etmek amacıyla ortama *o*-fosforik asit, TFA vb. asidik maddeler ilave edilmekte ya da tampon çözeltilerden yararlanılmaktadır. Çalışmamızda *N. cadmea*'nın topraküstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstre ile standart olarak kullanılan ve bitkide bulunması muhtemel olan fenolik bileşikler, YPSK'ne uygulanmıştır. YPSK analizinde; bitki ekstraları ve standart bileşiklerin retansiyon zamanları ve UV spektrumları kıyaslanmış ve bitkinin içerdiği fenolik bileşikler teşhis edilmiştir. Bitki ekstresinde ana olarak saptanan rozmarinik asit, klorojenik asit ve kafeik asitin miktar tayini yapılmıştır.

3.4.1. Standart Bileşiklerin Doğru Denklemleri

Klorojenik asitin doğru denkleminin oluşturulmasında kullanılan değerler Çizelge 3.1' de; doğru denklemi, R^2 , LOD ve LOQ değerleri Çizelge 3.2' de sunulmaktadır.

Çizelge 3.1. Klorojenik asitin kalibrasyon verileri

x (konsantrasyon mg/ml)	y (pik alanı ortalaması, n=3)
0,00037	7,35
0,005	97,67
0,0125	248,59
0,025	557,12
0,05	1146,62
0,25	5446,42
0,5	11064,33

Çizelge 3.2. Klorojenik asitin doğru denklemi, R², LOD ve LOQ değerleri

Bileşik	Doğru Denklemi	R ²	LOD(mg/ml)	LOQ(mg/ml)
Klorojenik Asit	y=22083x-6,4807	0,9999	0,00011212	0,00037 mg/ml

Kafeik asitin doğru denkleminin oluşturulmasında kullanılan değerler Çizelge 3.3' de, doğru denklemi, R², LOD ve LOQ değerleri Çizelge 3.4' de sunulmaktadır.

Çizelge 3.3. Kafeik asitin kalibrasyon verileri

x (konsantrasyon mg/ml)	y (pik alanı ortalaması, n=3)
0,000069	5,13
0,0052	285,36
0,013	707,31
0,026	1413,94
0,052	2955,06
0,26	15330,2
0,52	29370,4

Çizelge 3.4. Kafeik asitin doğru denklemi, R², LOD ve LOQ değerleri

Bileşik	Doğru Denklemi	R ²	LOD(mg/ml)	LOQ(mg/ml)
Kafeik Asit	y=56891x+30,81	0,9996	0,00002091mg/ml	0,000069 mg/ml

Rozmarinik asitin doğru denkleminin oluşturulmasında kullanılan değerler Çizelge 3.5' de, doğru denklemi, R², LOD ve LOQ değerleri Çizelge 3.6' de sunulmaktadır.

Çizelge 3.5. Rozmarinik asitin kalibrasyon verileri

x (konsantrasyon mg/ml)	y (pik alanı ortalaması, n=3)
0,0043	130,79
0,01075	296,03
0,0215	600,18
0,043	1274,26
0,215	6233,4
0,43	12090,2
1,03	29757

Çizelge 3.6. Rozmarinik asitin doğru denklemi, R2, LOD ve LOQ değerleri

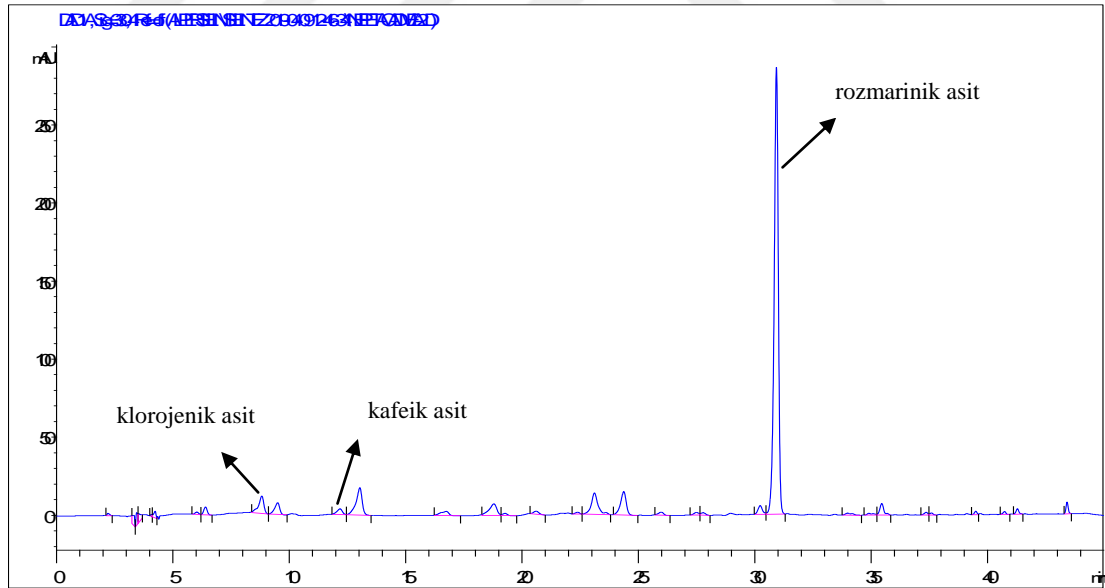
Bileşik	Doğru Denklemi	R2	LOD(mg/ml)	LOQ(mg/ml)
Rozmarinik Asit	$y=28820x-26,234$	0,9999	0,00007273 mg/ml	0,00024 mg/ml

3.4.2. Alan Ortalamaları, SD ve % RSD Verileri (LOQ Konsantrasyonu)

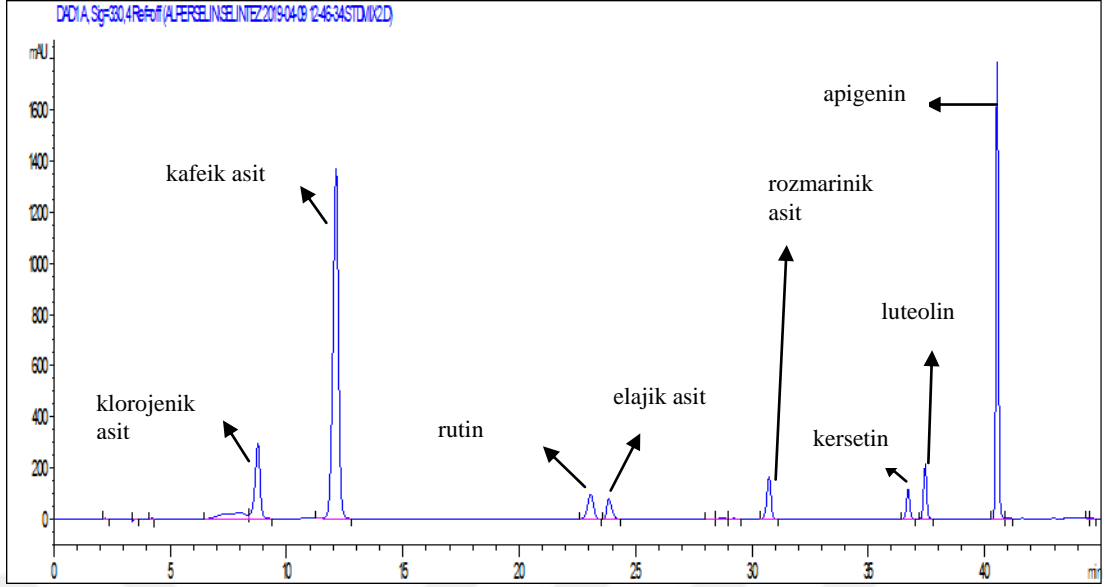
Çizelge 3.7. LOQ konsantrasyonlarındaki % RSD değerleri

	Klorojenik Asit	Kafeik Asit	Rozmarinik Asit
Alan ortalaması, n=9	7,35	5,13	130,79
SD	0,1309	0,0997	0,1572
%RSD	1,7809	1,9409	1,9487

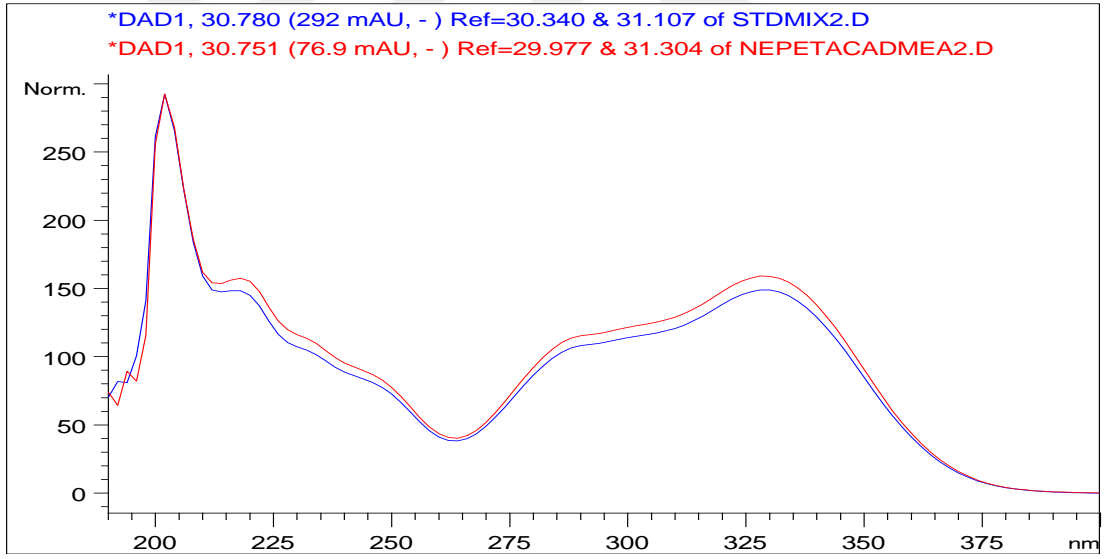
3.4.3. *Nepeta cadmea* Boiss. İçin Fenolik Madde Analizlerinde Elde Edilen YPSK Kromatogramları



Şekil 3.29. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısmının metanollü ekstresinin 330 nm'de YPSK kromatogramı



Şekil 3.30. Bazı standart bileşiklerin 330 nm’de YPSK kromatogramı (sırasıyla klorojenik asit, kafeik asit, rutin, elajik asit, rozmarinik asit, kersetin, luteolin, apigenin)



Şekil 3.31. Standart rozmarinik asit ve ekstredeki rozmarinik asitin karşılaştırılmış UV spektrumları

Çizelge 3.8. *N. cadmea*'nın topraküstü kısımlarının fenolik madde % miktarları

Klorojenik Asit	Kafeik Asit	Rozmarinik Asit
0,0429±0,0012	0,00271±0,0002	0,6290±0,0095

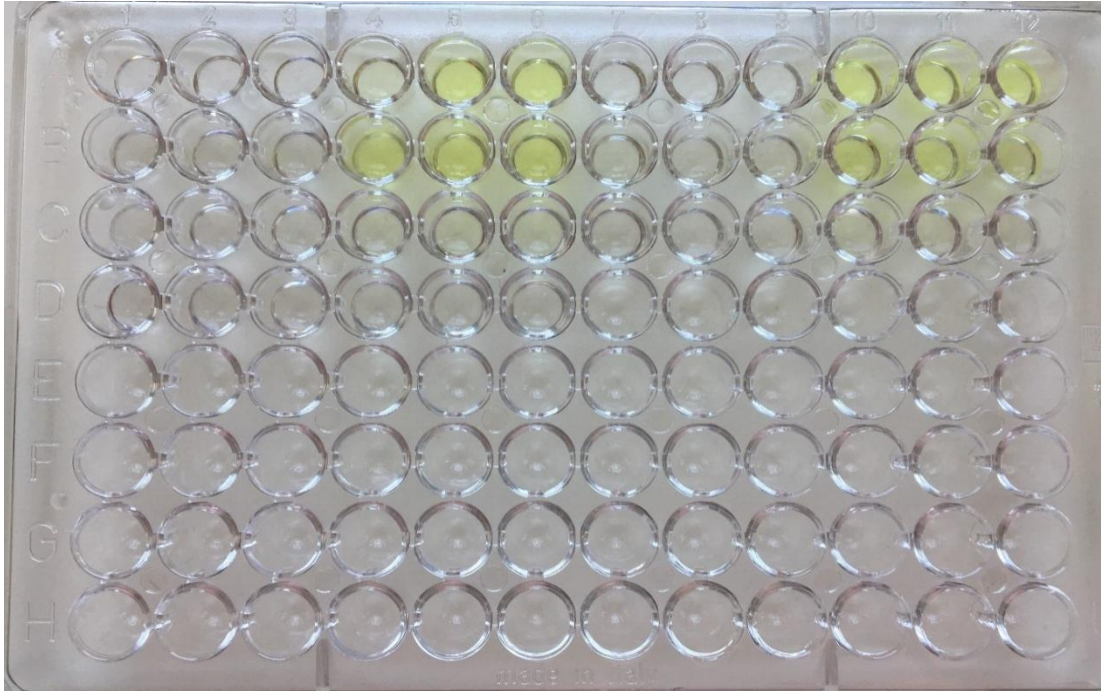
3.5. Aktivite Testleri

3.5.1. Alfa Glukozidaz Enzim İnhibitör Aktivite Testi

N. cadmea'nın toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi 3 farklı konsantrasyonda (0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml) test edilmiş ve aktiviteleri referans ilaç akarboz ile kıyaslanmıştır (Çizelge 3.9). Alfa-glukozidaz enzim inhibitör aktivite testinde mikro plak kuyucuklarının görüntüsü Şekil 3.32' de sunulmuştur. Referans olarak Akarboz kullanılmıştır. Herbir örnek için 3 kez deneyler tekrar edilmiştir.

Çizelge 3.9. *Nepeta cadmea* Boiss. α -glukozidaz enzim inhibisyonu

EKSTRE	%İNHİBİSYON \pm STANDART SAPMA
<i>N. cadmea</i> 2 mg/ml	43,57 \pm 4,32
<i>N. cadmea</i> 1 mg/ml	17,14 \pm 2,18
<i>N. cadmea</i> 0,5 mg/ml	-
Referans	
Akarboz 2 mg/ml	100
Akarboz 1 mg/ml	99,86 \pm 0,24
Akarboz 0,5 mg/ml	100



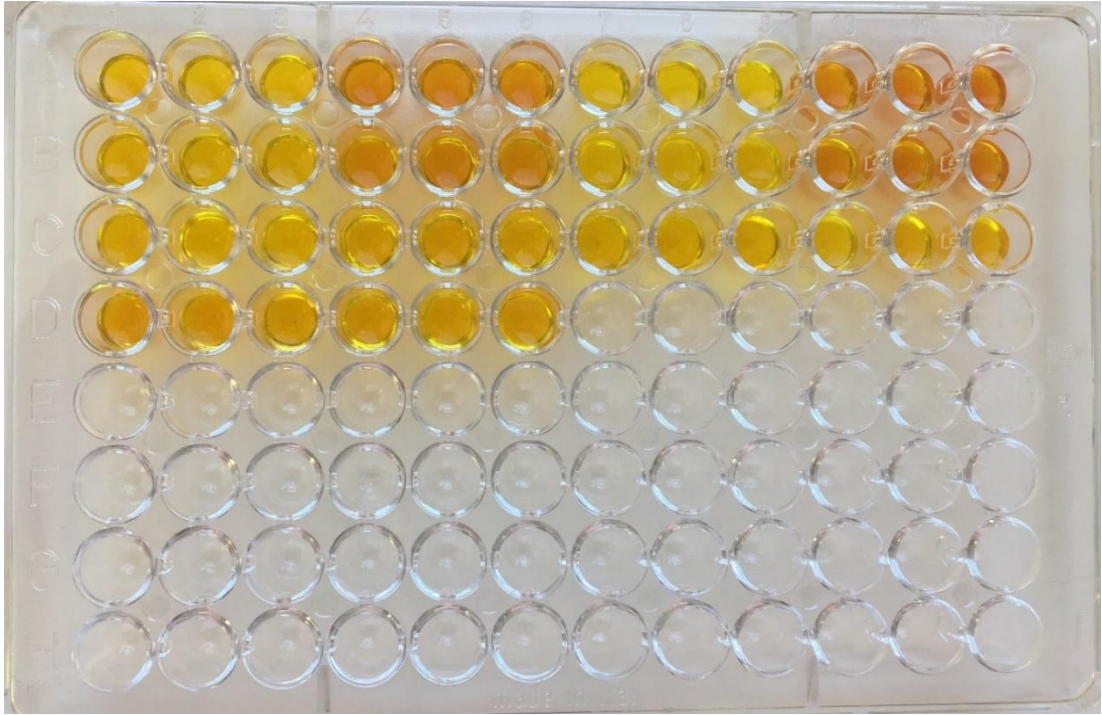
Şekil 3.32. Alfa-glukozidaz enzim inhibitör aktivite testinde mikro plak kuyucuklarının görüntüsü

3.5.2. Alfa Amilaz Enzim İnhibitör Aktivite Testi

Nepeta cadmea Boiss.'in toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi 3 farklı konsantrasyonda (0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml) test edilmiş ve aktiviteleri referans ilaç akarboz ile kıyaslanmıştır (Çizelge 3.10). Referans olarak Akarboz kullanılmıştır. Herbir örnek için 3 kez deneyler tekrar edilmiştir. Alfa-amilaz enzim inhibitör aktivite testinde mikro plak kuyucuklarının görüntüsü Şekil 3.33' de sunulmuştur

Çizelge 3.10. *Nepeta cadmea* Boiss. α -amilaz enzim inhibisyonu

EKSTRE	%İNHİBİSYON \pm STANDART SAPMA
<i>N. cadmea</i> 2 mg/ml	-
<i>N. cadmea</i> 1 mg/ml	36,74 \pm 7,23
<i>N.cadmea</i> 0,5 mg/ml	-
Referans	
Akarboz 2 mg/ml	100
Akarboz 1 mg/ml	78,88 \pm 8,53
Akarboz 0,5 mg/ml	-



Şekil 3.33. Alfa-amilaz enzim inhibitör aktivite testinde mikro plak kuyucuklarının görüntüsü

4. TARTIŞMA

Avrupa, Asya, Kuzey Afrika, Kuzey Amerika ve tropikal iklime sahip yerlerin dağlık b6lgelerinde yetişen *Nepeta* türleri halk arasında yara iyileştirici, antihelmentik, antiromatizmal, öksürük sedatifi vb. etkilerinden dolayı kullanılmaktadır. Türkiye’de 19’u endemik olmak üzere 50 takson ile temsil edilmektedir. *Nepeta* türleri üzerinde çok sayıda çalışma bulunmakta ve çalışmalar genellikle uçucu yağlar üzerinde yoğunlaşmaktadır. Ancak *Nepeta cadmea* türü üzerinde çalışmaların kısıtlı sayıda olması nedeniyle fitokimyasal ve aktivite çalışmalarının artırılması gerekmektedir. Bu çalışmada *N. cadmea* bitkisinden hazırlanacak olan metanollü ekstrenin fenolik içeriğinin kalitatif ve kantitatif olarak ters faz YPSK yöntemi ile analiz edilmesi, İTK ve YPİTK ile bünyesindeki fenolik bileşiklerin görüntüleme (screening) çalışmalarının gerçekleştirilmesi, alfa-glukozidaz ve alfa-amilaz enzim inhibisyon testleri yapılması amaçlanmıştır. Örneğimizin rozmarinik asit başta olmak üzere önemli fenolik asitler ve flavonoidler açısından kalitatif ve kantitatif olarak incelenecek olması çalışmamızın özgünlüğünü ortaya koymaktadır. Bu tür için literatüde YPİTK analiz çalışmasına rastlanmamıştır.

Tez kapsamında Denizli civarından toplanan bitki örneğimizin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi hazırlanmıştır. Bu ekstrede, gallik asit, klorojenik asit, kafeik asit, sinapik asit, elajik asit, protokateşik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, rozmarinik asit, rutin, luteolin-7 glukozit, kersetin, luteolin, apigenin ve kemferol bileşiklerinin kalitatif ve kantitatif analizleri, tarafımızca geliştirilen ters faz YPSK yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda bitkide çok önemli miktarda rozmarinik asit ile birlikte, klorojenik ve kafeik asit varlığı tespit edilmiştir. Miktar tayini sonuçlarına göre bitkide sırasıyla rozmarinik asit, klorojenik asit ve kafeik asit oranları %0,6290±0,0095, %0,0429±0,0012, 0,0027±0,0002 olarak saptanmıştır. Kaska ve ark. tarafından *N. cadmea* üzerinde gerçekleştirilen fitokimyasal analizlerde çok sayıda bileşik incelenmiş, bunlar arasında epikateşin, klorojenik asit ve kafeik asit miktarlarının yüksek olduğu ifade edilmiş, rozmarinik asit varlığından bahsedilmemiştir. Bizim çalışmamızla kıyaslandığında tespit edilen bu bileşiklerin

miktarlarının düşük olduğu söylenebilir. Daha da önemlisi, bu bileşikler bitkide bulunan rozmarinik asit miktarı değerlendirildiğinde minör bileşikler olarak göze çarpmaktadır. Çalışmamız bitkinin topraküstü kısımlarının ana bileşiğinin diğer bileşiklere oranla çok yüksek miktara sahip olan rozmarinik asit olduğunu açıkça ortaya koymaktadır (Kaska ve ark. 2018). Standardizasyon ve kalite analizlerinde, rozmarinik asit analitik marker olarak kullanılabilir ve tarafımızca uygulanan YPSK ve YPİTK yöntemleri değerlendirilebilir.

YPİTK, bitki ekstralarının/ürünlerin analizlerinde çok tercih edilen bir kromatografi yöntemidir. Bu otomatize sistemde, ayırım esnasında oluşabilecek olumsuz parametreler minimum seviyeye inmekte, tekrarlanabilir, sağlam ve kesin sonuçlar/kromatogramlar elde edilebilmektedir. Bu çalışmada, *N. cadmea* topraküstü kısımlarından elde edilen metanol ekstresi önceden İTK analizleri yapılarak belirlenen iki çözücü sistemi kullanılarak YPİTK ile incelenmiştir. Elde edilen kromatogramlarda rozmarinik asit, klorojenik asit ve kafeik asit varlığı tespit edilmiş, ekstrenin parmak izi kromatogramları da sunulmuştur. Bu bitki ve bundan elde edilecek ürünlerin analizlerinde, kalite kontrol çalışmalarında tarafımızca geliştirilen bu yöntem kullanılabilir.

N. cadmea'nın toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi alfa-glukozidaz ve alfa-amilaz enzim inhibitör aktivite testleri ile antidiyabetik potansiyeli incelenmiştir. Literatür verilerine göre *N.cadmea* bitkisinin antioksidan, sitotoksik ve antihelmentik etkileri olduğu yayımlanmıştır (Kaska ve ark., 2018). Ekstrenin antidiyabetik potansiyeli değerlendirildiğinde, alfa-glukozidaz enzimi için % inhibisyon değeri 2 mg/ml konsantrasyonda $43,57 \pm 4,32$, 1 mg/ml konsantrasyonda ise $17,14 \pm 2,18$ olarak; alfa amilaz enzimi için 1 mg/ml konsantrasyonda $36,74 \pm 7,23$ olarak bulunmuştur. Ekstre 0,5 mg/ml konsantrasyonda her iki enzim üzerinde de referans olarak kullanılan Akarboz ile karşılaştırıldığında inhibitör aktivite göstermemiştir. Bitkinin, alfa-glukozidaz inhibitörü etkisi açısından umut verici olduğu ve fitoterapi açısından değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Bitkinin metanollü ekstresinin YPSK ile analizi ve önemli bileşiklerin kalitatif ve kantitatif analizleri, İTK ve YPİTK ile parmakizi kromatogramlarının sunulması, öte yandan alfa glukozidaz ve alfa amilaz enzim inhibisyon testleri ile antidiyabetik potansiyel açısından değerlendirilmesi bilim dünyasına yeni veriler kazandırılması açısından önemlidir.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Literatür verilerine göre, fitokimyasal çalışmaların *Nepeta cadmea* Boiss. dışında bazı *Nepeta* türleri üzerinde yoğunlaştığı saptanmıştır. Ülkemizde de belli türler üzerinde kısıtlı sayıda benzer çalışmalar bulunmaktadır. Ancak ülkemizde ve yurt dışında *N. cadmea* bitkisi üzerine yapılan çalışmaların halen çok kısıtlı olması bizi bu bitki ile çalışmaya yönlendirmiştir.

Tez çalışmamızda öncelikle; *N. cadmea* ve *Nepeta* cinsine dahil olan diğer türlerin taşıdıkları etken maddeler ve gösterdikleri farmakolojik aktivitelerle ilgili kapsamlı literatür taraması yapılmış ve elde edilen veriler özetlenmiştir.

Fitokimyasal çalışmalar kapsamında; Denizli civarından toplanan *N. cadmea*'nın topraküstü kısımlarının metanollü ekstresinin YPSK ile kalitatif ve kantitatif olarak analizi yapılmıştır. Fenolik bileşiklerin bulunup bulunmadığı değerlendirilmiş, bulunduğu tespit edilen bileşiklerin miktar tayini yapılmıştır. YPSK analizi sonucu ekstrede bulunduğu tespit edilen bileşikler; rozmarinik asit, kafeik asit ve klorojenik asittir. İTK ve YPİTK ile ekstre bünyesindeki fenolik bileşiklerin görüntüleme (screening) çalışması gerçekleştirilmiştir.

Antidiyabetik potansiyel alfa-glukozidaz ve alfa-amilaz enzim inhibitör aktivite testleri ile akarboza karşı değerlendirilmiştir. *N. cadmea*'nın toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi hazırlanarak *in vitro* aktivite testleri gerçekleştirilmiştir. % inhibisyon değerleri hesaplanmış ve ekstrenin alfa-glukozidaz inhibitör aktivite yönünden doza bağlı olarak orta seviyede inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır.

N. cadmea üzerinde yapılan veri taramalarında; bu tür ile ilgili yurtiçi ve yurtdışı çalışmaların yetersiz olduğu anlaşılmaktadır. Bitkinin içerdiği sekonder metabolitler nedeniyle gösterdiği; antioksidan, sitotoksik, antidiyabetik,

antihelmentik etkiler araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Halk arasında da kullanılan bu tür üzerinde gerçekleştirilecek araştırmaların devamı önem arz etmektedir. Tez alışmamızda elde edilen veriler ışığında yapılacak ileriki çalışmalar bitkinin hastalıklardan korunma ve tedavi edici özelliklerinin net bir şekilde ortaya konulmasına olanak sağlayacaktır.



ÖZET

***Nepeta cadmea* Boiss. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar**

Bu çalışma kapsamında, Lamiaceae familyasında yer alan ve ülkemizde endemik olan *Nepeta cadmea* Boiss. bitkisi üzerinde farmakognozik açıdan incelemeler yapılması amaçlanmaktadır.

Çalışma materyallerimiz olan *N. cadmea* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrenin, fenolik bileşikler açısından, tarafımızca geliştirilen ters faz YPSK yöntemi ile kalitatif ve kantitatif analizleri gerçekleştirilmiştir. Ekstre içerisinde rozmarinik asit başta olmak üzere klorojenik asit ve kafeik asit varlığı saptanmış ve bu bileşiklerin miktar tayinleri yapılmıştır.

N.cadmea Boiss bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin çeşitli çözücü sistemlerinde İTK analizleri yapılarak, içerdikleri etken madde grupları araştırılmıştır. İTK analizleri doğrultusunda en uygun çözücü sistemleri seçilerek çalışmamızın özgünlüğüne önemli ölçüde katkı sağlayan YPİTK analizleri yapılmıştır. İTK ve YPİTK analiz verilerinin YPSK analiz verileri ile paralel olduğu görülmüştür.

N.cadmea Boiss. bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin antidiyabetik potansiyeli *in vitro* olarak test edilmiştir. Alfa-glukozidaz ve alfa-amilaz enzim inhibitör aktivite testleri ile antidiyabetik potansiyeli tayin edilmiştir. Hesaplanan % inhibisyon değerlerine göre ekstrenin önemli ölçüde antidiyabetik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Antidiyabetik etki, Fenolik bileşikler, *Nepeta cadmea*, YPİTK, YPSK.

SUMMARY

Pharmacognostic Investigation on *Nepeta cadmea* Boiss.

In this study, *Nepeta cadmea* Boiss. which is a endemic plant in our country and member of Lamiaceae, is aimed to investigate in the field of pharmacognosy

Methanol extract of aerial parts of *N.cadmea* Boiss. plant, is examined as qualitative and quantitatively for phenolic compounds, by using reverse phase HPLC method developed by us. In the extract, tremendous amount of rosmarinic acid together with chlorogenic acid and caffeic acid are detected and quantified.

Methanol extract of aerial parts of *N.cadmea* Boiss is analysed by TLC to determine active compound groups. As a result of TLC analysis, optimal solvent systems are determined and HPTLC analysis are carried out, that contributed originality of our study. TLC and HPTLC analysis results are parallel with HPLC results.

Methanol extract of aerial parts of *N.cadmea* Boiss. plant is investigated *in-vitro* for antidiabetic potential. Alpha-glucosidase and alpha-amylase enzyme inhibitor activity tests are used to determine antidiabetic potential. Considering % inhibition values, antidiabetic activity of the extract is thought to be promising.

Keywords: Antidiabetic activity, HPLC, HPTLC, *Nepeta cadmea*, Phenolic compounds.

KAYNAKLAR

- AKSİT, H., DEMİRTAS, I., TUNCAY, M., ELMASTAS, M., & GENÇ, N. (2013). Two flavone derivatives from *Nepeta cadmea*. *Journal of New Results in Science*, **2**(2), 26-30.
- AMİRMOHAMMADİ FZ, AZİZİ M, NEAMATİ SH, MEMARİANİ F, MURPH R. (2019). Nutlet micromorphology of Iranian *Nepeta* (Lamiaceae) species. *Nordic Journal of Botany*, **37**(8), e02441.
- BASER KHC, DEMİRCAKMAK B, ALTINTAS A, DUMAN H (1998). Composition of the Essential Oils of *Nepeta cadmea* Boiss. *Journal of Essential Oil Research*, **10**(3), 327-328.
- BASER KHC, KİRİMER N (2006). Essential oils of Lamiaceae plants of Turkey. In *I International Symposium on the Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation* **723** (pp. 163-172).
- CELENK S, DİRMENCİ T, MALYER H, BİCAKCI A (2008). A palynological study of the genus *Nepeta* L.(Lamiaceae). *Plant systematics and evolution*, **276**(1-2), 105-123.
- DİRMENCİ T (2003). *Nepeta Cadmea* Boiss ile *N. Sulfuriflora* PH Davis Türlerinin Morfolojik Olarak Karşılaştırılması. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **5**(2), 38-46.
- DİRMENCİ T (2005). A new subspecies of *Nepeta* (Lamiaceae) from Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **147**(2), 229-233
- DİRMENCİ T (2012). *Nepeta*. In: Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Edits., Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M ve Babaç M T, Eds.; Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul, Türkiye, 2012; pp. 564-568
- DÖNMEZ M, KARGIOĞLU M, TEMEL M(2011). *Stachyspalustris*L.'in Morfolojik, Anatomik ve Ekolojik Özellikleri (021001) (1-9). *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **11**(2), 1-9
- FORMİSANO C, RİGANO D, SENATORE F (2011). Chemical constituents and biological activities of *Nepeta* species. *Chemistry & Biodiversity*, **8**(10), 1783-1818.
- FORMİSANO C, RİGANO D, ARNOLD NA, PİOZZİ F, SENATORE F(2013). GC and GC-MS analysis of the essential oil of *Nepeta cilicica* Boiss. ex Benth. from Lebanon. *Natural Product Research*, **27**(21), 1975-1981

- FRAGA BM, GONZÁLEZ-COLOMA A, ALEGRE-GÓMEZ S, LÓPEZ-RODRÍGUEZ M, AMADOR LJ, DÍAZ CE (2017). Bioactive constituents from transformed root cultures of *Nepeta teydea*. *Phytochemistry*, **133**, 59-68
- GÖKBULUT A, ORHAN N, ORHAN DD (2017). Phenolic compounds characterization, carbohydrate digestive enzyme inhibitory and antioxidant activities of *Hieracium pannosum* Boiss. *South African Journal of Botany*, **108**, 387-392.
- GÜVENALP Z, ÖZBEK H, KURUÜZÜM-UZ A Y Ş E, KAZAZ C, DEMİREZER LÖ (2009). Secondary metabolites from *Nepeta heliotropifolia*. *Turkish Journal of Chemistry*, **33**(5), 667-675
- HADİ N, SEFİDKON F, SHOJAEİYAN A, ŞİLER B, JAFARİ AA, ANİČIĆ N, MIŠIĆ D (2017). Phenolics' composition in four endemic *Nepeta* species from Iran cultivated under experimental field conditions: The possibility of the exploitation of *Nepeta germplasm*. *Industrial Crops and Products*, **95**, 475-484
- <https://www.turkiyebitkileri.com/tr/foto%C4%9Fraf-galerisi/view-photo/3892/17391.html>
Erişim Tarihi: 12.11.2019
- HUSSAİN J, REHMAN NU, HUSSAİN H, AL-HARRASİ A, ALİ L, RİZVİ TS, AHMAD M (2012). Analgesic, anti-inflammatory, and CNS depressant activities of new constituents of *Nepeta clarkei*. *Fitoterapia*, **83**(3), 593-598.
- JAMİLA N, ULLAH R, ALWAHSH MAA, HAİDER S, WONG KC, ULLAH Z (2011). Secondary metabolites from *Nepeta juncea*. *African Journal of Biotechnology*, **10**(77), 17884-17886
- JAMZAD Z, GRAYER RJ, KİTE GC, SİMMONDS MS, INGROUILLE M, JALİLİ A (2003). Leaf surface flavonoids in Iranian species of *Nepeta* (Lamiaceae) and some related genera. *Biochemical Systematics and Ecology*, **31**(6), 587-600
- KASKA A, DENİZ N, ÇİÇEK M, MAMMADOV R (2018). Evaluation of antioxidant properties, phenolic compounds, anthelmintic, and cytotoxic activities of various extracts isolated from *Nepeta cadmea*: an endemic plant for Turkey. *Journal of Food Science*, **83**(6), 1552-1559..
- KÖKSAL E, TOHMA H, KILIÇ Ö, ALAN Y, ARAS A, GÜLÇİN I, BURSAL E (2017). Assessment of antimicrobial and antioxidant activities of *Nepeta trachonitica*: analysis of its phenolic compounds using HPLC-MS/MS. *Scientia pharmaceutica*, **85**(2), 24
- MAMMADOVA Z, MAMMADOV R (2015). Nahcivan Özerk Cumhuriyeti (Azerbaycan) Arazisinde Yayılış Gösteren *Nepeta* L. Türleri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **14**(2), 1-6

- MÍCELÌ N, TAVIAN MF, GIUFFRÌDA D, TROVATO A, TZAKOU O, GALATÌ EM (2005). Anti-inflammatory activity of extract and fractions from *Nepeta sibthorpii* Bentham. *Journal of Ethnopharmacology*, **97**(2), 261-266
- MIŠIĆ D, ŠILER B, GAŠIĆ U, AVRAMOV S, ŽIVKOVIĆ S, NESTOROVIĆ ŽIVKOVIĆ J, TEŠIĆ Ž (2015). Simultaneous UHPLC/DAD/(+/-) HESI-MS/MS analysis of phenolic acids and nepetalactones in methanol extracts of *Nepeta species*: a possible application in chemotaxonomic studies. *Phytochemical Analysis*, **26**(1), 72-85.
- MODNICKÍ DANIEL, TOKAR MAGDALENA, KLÍMEK BARBARA (2007). Flavonoids and phenolic acids of *Nepeta cataria* L. var. *citriodora* (Becker) Balb.(Lamiaceae). *Acta pol pharm*, **64**(3), 247-252
- NAGUÏB A. M M, EBRAHÌM M E, ALY H F, METAWAA H M, MAHMOUD A H, MAHMOUD E A, & EBRAHÌM F M (2012). Phytochemical screening of *Nepeta cataria* extracts and their *in vitro* inhibitory effects on free radicals and carbohydrate-metabolising enzymes. *Natural Product Research*, **26**(23), 2196-2198.
- NESTOROVIĆ J, MIŠIĆ D, ŠILER B, SOKOVIĆ M, GLAMOČLIJA J, ĆIRIĆ A, GRUBIŠIĆ D(2010). Nepetalactone content in shoot cultures of three endemic *Nepeta* species and the evaluation of their antimicrobial activity. *Fitoterapia*, **81**(6), 621-626
- PETENATTÌ ME, GETTE MA, CAMÍ GE, POPOVICH MC, MARCHEVSKY EJ, DEL VITTO LA, PETENATTÌ EM (2014). Quantitative micrograph, HPLC and FTIR profiles of *Melissa officinalis* and *Nepeta cataria* (Lamiaceae) from Argentina- Micrografía cuantitativa y perfiles de HPLC y FTIR de *Melissa officinalis* y *Nepeta cataria* (Lamiaceae) de Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, **46**(2).
- RUSTAÏYAN A, NADJÌ K (1999). Composition of the essential oils of *Nepeta ispanica* Boiss. and *Nepeta binaludensis* Jamzad from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, **14**(1), 35-37
- SARIKURKCU C, ESKICI M, KARANFİL A, & TEPE B. (2019). Phenolic profile, enzyme inhibitory and antioxidant activities of two endemic *Nepeta* species: *Nepeta nuda* subsp. *glandulifera* and *N. cadmea*. *South African Journal of Botany*, **120**, 298-301.
- SHAKERÌ A, KHAKDAN F, SOHEİLÌ V, SAHEBKAR A, SHADDEL R, and ASİLÌ J (2016). Volatile composition, antimicrobial, cytotoxic and antioxidant evaluation of the essential oil from *Nepeta sintenisii* Bornm. *Industrial Crops and Products*, **84**, 224-229.
- SHARMA A, CANNOO DS (2013). PHYTOCHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OILS ISOLATED FROM DIFFERENT SPECIES OF GENUS *NEPETA* OF LABIATAE FAMILY: A REVIEW. *Pharmacophore*, **4**(6)
- SÜNTAR I, NABAVÌ SM, BARRECA D, FÌSCHER N, EFFERTH T (2018). Pharmacological and chemical features of *Nepeta* L. genus: Its importance as a therapeutic agent. *Phytotherapy Research*, **32**(2), 185-198

TAKEDA Y, YAGİ T, MATSUMOTO T, HONDA G, TABATA M, FUJİTA T, YESİLADA E (1996). Nepetanudosides and iridoid glucosides having novel stereochemistry from *Nepeta nuda* ssp. *albiflora*. *Phytochemistry*, **42**(4), 1085-1088

TAKEDA Y, OOİSO Y, MASUDA T, HONDA G, OTSUKA H, SEZİK E, YESİLADA E (1998). Iridoid and eugenol glycosides from *Nepeta cadmea*. *Phytochemistry*, **49**(3), 787-791.

TAMOKOU JDD, MBAVENG AT, KUETE V (2017). Antimicrobial activities of African medicinal spices and vegetables. In *Medicinal spices and vegetables from Africa* (pp. 207-237). Academic Press

TANKER N, KOYUNCU M, COŞKUN M (2004). Farmasötik Botanik. Ankara:Ankara Üniversitesi Basımevi, p.: 301-307

TEPE B, DAFERERA D, TEPE AS, POLİSSİOU M, SOKMEN A (2007). Antioxidant activity of the essential oil and various extracts of *Nepeta flavida* Hub.-Mor. from Turkey. *Food Chemistry*, **103**(4), 1358-1364

TUBİVES-Türkiye Bitkileri Veri Servisi, Nepeta. Erişim Adresi: [http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=hizli_ara]. Erişim Tarihi: 19.12.2019

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı	Selin
Soyadı	KALENDER
Doğum yeri ve tarihi	Ankara-1993
Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti
Medeni durumu	Bekar
İletişim adresi ve telefonu	Atatürk mahallesi Kader sokak 29/12 Sincan/Ankara-0553 485 38 29

II- Eğitimi

Yüksek Lisans	2017-
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	Farmakognozi
Lisans	2012-2017
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	
Nefise Andıçen Lisesi, Ankara	2007-2011
100.Yıl İlköğretim Okulu, Ankara	1999-2007
Yabancı Dil	İngilizce (Orta Seviye)

III- Ünvanları

2012-Eczacı

IV- Mesleki Deneyimi

Nisan 2018 den beri Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'nda İlaç Takip Sistemi Birimi'nde mevzuat uzmanı olarak çalışmaktayım.

V- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınlar

Arslan, M., Tarhan, N., Kalender, S., & ŞAR, S. (2019). Investigation of factors affecting ethical decision-making process of community pharmacists in professional life. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 23(1).