

**İKİ FARKLI COĞRAFYADA YETİŞEN *SCABIOSA PSEUDOGRAMINIFOLIA* HUB.-
MOR. BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN
ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Kübra ÖĞÜT

Eskişehir 2022

**İKİ FARKLI COĞRAFYADA YETİŞEN *SCABIOSA PSEUDOGRAMINIFOLIA* HUB.-
MOR. BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN
ARAŞTIRILMASI**

Kübra ÖĞÜT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Temel ÖZEK

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ocak 2022

Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 2103S009 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Kübra ÖĞÜT' ün “İki Farklı Coğrafyada yetişen *Scabiosa pseudograminifolia* Hub.-Mor. Bitkisinin Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Açısından Araştırılması” başlıklı tezi 17/01/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı):	Prof. Dr. Temel ÖZEK	
Üye:	Prof. Dr. Ayşegül KÖROĞLU	
Üye:	Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK	

Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ
Enstitü Müdürü

ÖZET

İKİ FARKLI COĞRAFYADA YETİŞEN *SCABIOSA PSEUDOGRAMINIFOLIA* HUB.-MOR. BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN ARAŞTIRILMASI

Kübra ÖĞÜT

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2022

Danışman: Prof. Dr. Temel ÖZEK

Bu çalışmada, yurdumuzda, iki farklı lokasyonda yetişen Caprifoliaceae familyasına ait endemik, *Scabiosa pseudograminifolia* Hub.-Mor. bitkisinin fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, bitkilerin uçucu yağları (SP_{UY}-1 ve SP_{UY}-2), *n*-hekzanlı, metanollü ve sulu ekstraları (SP_H-1, SP_M-1, SP_W-1, SP_H-2, SP_M-2, SP_W-2) ile metillenmiş sabit yağ asitleri elde edilmiştir. SP_{UY}-1, SP_{UY}-2 ve yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonları GC-FID/MS ile incelenmiştir. SP_{UY}-1 için major uçucu bileşik hekzadekanoik asit (%30.2) ve SP_{UY}-2 için major uçucu bileşik dodekanoik asit (%11) tespit edilmiştir.

SP-1 yapraklarından MSD-SPME ile elde edilen uçucu bileşenlerin kompozisyonunda (Z)-hekzenal (%34) ve 6-metil-1-oktanol (%4.3) tespit edilmiştir. Aynı teknik ile SP-2 yaprak uçucu bileşenlerin kompozisyonunda ise alloaromadendren (%24.9), naftalen (%9.4) tespit edilmiştir. SP-1 çiçeklerinden MSD-SPME ile elde edilen uçucu bileşenlerin kompozisyonunda (Z)-3-hekzenal (%29.1), hekzanol (%7.7) tespit edilirken SP-2 çiçekleri uçucu bileşen profilinde ise naftalen (%14.1), 4-vinilpiridin (%7.6) tespit edilmiştir.

SP-1 yaprak sabit yağ asitleri kompozisyonunda nonadekanoik (%21.9) ve hekzadekanoik (%20.8), SP-2 yaprak sabit yağ asitleri kompozisyonunda nonadekanoik (%44.9) ve hekzadekanoik (%20.1) asitler tespit edilmiştir. Benzer şekilde, SP-1 çiçek sabit yağ asitleri olarak nonadekanoik (%21.6) ve hekzadekanoik (%18.3) asitler bulunurken, SP-1 çiçeklerindeki sabit yağ asitleri olarak ise hekzadekanoik (%41.3) ve nonadekanoik (%14.5) asitler tespit edilmiştir.

Uçucu yağ ve ekstraların antioksidan aktiviteleri TEAC (Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite), DPPH (difenil pikrilhidrazil), β -Karoten soldurma ve ORAC (oksijen radikal absorbans kapasitesi) analizleriyle tayin edilmiştir. Ekstrelerin içerdikleri toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları sırasıyla Folin-Ciocalteu ve AlCl₃ reaktifleri kullanılarak spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir. Ekstrelerin antidiyabetik potansiyeli α -amilaz enzimini inhibe etme etkisi ile değerlendirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Scabiosa pseudograminifolia*, *Scabiosa hololeuca*, Caprifoliaceae, Uçucu yağ, Ekstre, Aktivite.

ABSTRACT

PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITY INVESTIGATION OF *SCABIOSA PSEUDOGRAMINIFOLIA* HUB. MOR. GROWING IN TWO DIFFERENT GEOGRAPHIES

Kübra ÖĞÜT

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, January 2022

Supervisor: Prof. Dr. Temel ÖZEK

In this study, comprehensive phytochemical and biological activity investigation on Caprifoliaceae family endemic species *Scabiosa pseudograminifolia* Hub.-Mor. growing in two different locations in our country have been carried out. For this purpose, essential oils (SP_{UY}-1, SP_{UY}-2), n-hexane, methanol and water extracts (SP_H-1, SP_M-1, SP_W-1, SP_H-2, SP_M-2, SP_W-2), and fatty acids were obtained from the plant materials. The chemical compositions of SP_{UY}-1, SP_{UY}-2 and fatty acids were investigated by GC-FID/MS technique. Hexadecanoic acid (30.2%) in SP_{UY}-1 and dodecanoic acid (11%) in SP_{UY}-2 were determined as major volatile compounds.

In the composition of volatile components obtained from SP-1 leaves with MSD-SPME, (Z)-hexenal (34%) and 6-methyl-1-octanol were detected. With the same technique, alloaromadendrene (24.9%) and naphthalene (9.4%) were detected in the composition of SP-2 leaf volatile components. (Z)-3-hexenal (29.1%) and hexanol (7.7%) were determined in the composition of volatile components obtained from SP-1 flowers by MSD-SPME while naphthalene (14.1%) and 4-vinylpyridine (7.6%) were detected in SP-2 flowers.

Nonadecanoic (21.9%) and hexadecanoic (20.8%) acids in SP-1, alloaromadendrene (24.9%) and naphthalene (9.4%) in SP-2 were found as the leaf fatty acids. In a similar way, nonadecanoic (21.6%) and hexadecanoic (18.3%) acids were found as the flower fatty acids in SP-1, hexadecanoic (41.3%) and nonadecanoic (14.3%) acids were found in SP-2.

Antioxidant activities evaluated by TEAC, DPPH, β -Carotene bleaching, ORAC tests. The total phenolic and the total flavonoid contents in the extracts were determined spectrophotometrically with the Folin-Ciocalteu and AlCl₃ reagents, respectively. The antidiabetic potential of the extracts was evaluated by the effect of inhibiting the α -amylase enzyme.

Keywords: *Scabiosa pseudograminifolia*, *Scabiosa hololeuca*, Caprifoliaceae, Essential oil, Extract, Activity.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimi boyunca hem ders hem tez döneminde bana danışmanlık yapan, bilgilerini sabır ve güler yüzle aktaran danışman hocam Prof. Dr. Temel ÖZEK'e

Çalışmalarımız boyunca teknik ve bilimsel bilgilerini hiç tereddüt etmeden bizlerle paylaşan, her zaman samimi yaklaşımıyla bizleri motive edip gelişmemizde ve öğrenmemizde büyük emekleri olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Gülmira ÖZEK'e,

Sivas bölgesindeki bitkinin toplanması ve teşhisini gerçekleştiren Doç. Dr. Mehmet TEKİN'e, Eskişehir bölgesinde toplanan bitkinin teşhisini gerçekleştiren Öğr. Gör. Dr. Koray YAYLACI'ya,

YBSK analizleri için Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK'e,

Laboratuvar çalışmalarımızda her zaman ihtiyaç duyduğumuz, tecrübelerini ve bilgisini esirgemeyen hem ablamız hem de hocamız olan Dr. Hülya Tuba KIYAN'a,

Yüksek lisans eğitimini aldığım Prof. Dr. Temel ÖZEK'e ve tüm Farmakognozi Anabilim Dalı üyelerine,

Tez dönemi boyunca benimle tecrübe ve bilgilerini cömertçe paylaşan, her zaman yardıma koşan arkadaşlarım Kevser AYÇİÇEK, Tuğbanur TÜYSÜZ ve Deniz KARA'ya,

Bugünlere gelmemde en büyük desteği olan Ailem'e

Tez çalışmalarım süresince deneysel çalışmalarda imkânlarını kullandığım Farmakognozi Anabilim Dalı'na ve AÜBİBAM'a ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Kübra ÖĞÜT

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İKİ FARKLI COĞRAFYADA YETİŞEN <i>SCABIOSA PSEUDOGRAMINIFOLIA</i> HUB.-MOR. BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN ARAŞTIRILMASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR ..	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	4
2.1. Caprifoliaceae Familyası Morfolojik Özellikleri.....	4
2.1.1. <i>Scabiosa</i> cinsinin morfolojik özellikleri	4
2.1.2. <i>Scabiosa pseudograminifolia</i> Hub.-Mor. morfolojik özellikleri	4
2.2. <i>Scabiosa</i> Türlerine Ait Etnobotanik Çalışmalar	5
2.3. <i>Scabiosa</i> Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri	6
2.4. <i>Scabiosa</i> Türleri Üzerine Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar.....	8
2.3.1. <i>Scabiosa</i> türlerinin uçucu bileşikleri	13
2.4 Antioksidan Aktivite Çalışmalarının Önemi	14
2.4.1. Serbest radikaller.....	14
2.4.2. Antioksidanların önemi	15
2.4.3. Antioksidan aktivite tayinleri	16
2.4.3.1. Hidrojen atomu transferine dayanan yöntemler.....	16
2.4.3.2. Elektron transferine dayanan yöntemler	16
2.4.3.1.1. Oksijen radikali absorplama kapasitesi (ORAC).....	16
2.4.3.2.2. β -Karoten soldurma testi	17
2.4.3.2.3. DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürücü etki	18

2.4.3.2.4. <i>TEAC (Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite)</i>	18
2.4.3.2.5. <i>FCR ile toplam fenolik madde miktar tayini</i>	19
2.4.3.2.6. <i>Toplam flavonoit miktar tayini</i>	19
2.5. Antidiyabetik Araştırmaların Önemi.....	20
2.5.1. <i>α-Amilaz enzim inhibitörleri</i>	21
2.5.1.1. <i>α-Amilaz inhibisyon testi</i>	21
3. MATERYAL VE METOT.....	22
3.1. Bitkisel Materyal	22
3.2. Kimyasal Maddeler	22
3.3. Kullanılan Aletler ve Cihazlar	23
3.4. Uçucu Yağ Eldesi	25
3.5. Sabit Yağ Asitlerinin Eldesi	25
3.6. Ekstrelerin Elde Edilmesi.....	26
3.7. Uçucu Bileşiklerin Ekstraksiyonu	27
3.8. Gaz Kromatografik Analizi.....	28
3.9. Uçucu Bileşiklerin Teşhisi	29
3.10. Toplam Fenol Miktar Tayini	29
3.11. Toplam Flavonoid Miktar Tayini	30
3.12. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	31
3.12.1. Antioksidan aktivitenin incelenmesi	31
3.12.1.1. <i>DPPH' serbest radikalini süpürücü etkinin incelenmesi</i>	31
3.12.1.2. <i>Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasitenin incelenmesi</i>	32
3.12.1.3. <i>β-Karoten soldurma metodu</i>	33
3.12.1.4. <i>Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) testi</i>	34
3.12.2. Antidiyabetik aktivite testi	35
3.12.2.1. <i>α-Amilaz inhibisyon testi</i>	35
3.13. YBSK-DAD ile Fenolik Asitlerin Miktar Tayini.....	36
4. BULGULAR.....	38
4.1. Uçucu Yağların Özellikleri.....	38
4.1.1. Uçucu yağların verimleri.....	38
4.2. Ekstrelerin Özellikleri	38
4.2.1. Ekstrelerin verimi	40
4.3. Fitokimyasal Araştırmaların Sonuçları	40

4.3.1. Uçucu yağların kimyasal kompozisyonu	40
4.3.2. MSD-SPME analiz sonuçları	45
4.3.3. Sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu	56
4.4. Ekstrelerin Toplam Fenol Miktarları	61
4.5. Ekstrelerin Toplam Flavonoid Miktarları.....	63
4.6. Biyolojik Aktivite Sonuçları.....	64
4.6.1. Antioksidan aktivite bulguları.....	64
4.6.1.1. <i>Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerleri</i>	64
4.6.1.2. <i>Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi) değerleri</i>	66
4.6.1.3. <i>β-Karoten soldurma etkisi</i>	67
4.6.1.4. <i>Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) değerleri</i>	68
4.6.2. Antidiyabetik aktivite bulguları	70
4.6.2.1. <i>α-Amilaz inhibisyon verileri</i>	70
4.7. YBSK-DAD ile Fenolik Asit Miktar Tayini.....	72
5. TARTIŞMA.....	74
5.1. Uçucu Yağ Profili	74
5.2. Ekstrelerin Verimi	74
5.3. Çiçek ve Yaprak Uçucu Bileşen Profili (MSD-SPME Sonuçları).....	76
5.4. Sabit Yağ Profili	77
5.5. Toplam Fenol Miktar Tayini.....	77
5.6. Toplam Flavonoit Miktarı Tayini.....	78
5.7. Biyolojik Aktivite Araştırmaları.....	79
5.7.1. Antioksidan aktivite potansiyeli	79
5.7.1.1. <i>Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerleri</i>	79
5.7.1.2. <i>Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi) değerleri</i>	80
5.7.1.3. <i>β-Karoten soldurma etkisi</i>	81
5.7.1.4. <i>Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) değerleri</i>	82
5.8. Antidiyabetik Potansiyel.....	83
5.9. YBSK-DAD ile Fenolik Asit Miktar Tayini.....	83
6. SONUÇ	84
KAYNAKÇA.....	88
ÖZGEÇMİŞ	96

TABLÖLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. <i>Scabiosa</i> türleriyle ilgili Türkiye’de yapılan etnobotanik çalışmalar .	5
Tablo 2.2. <i>Scabiosa</i> türleriyle ilgili Dünyada yapılan etnobotanik çalışmalar ...	5
Tablo 2.3. <i>Scabiosa</i> türleriyle ilgili yapılan aktivite çalışmaları	6
Tablo 2.4. <i>Scabiosa</i> türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler	8
Tablo 2.5. <i>Scabiosa</i> türlerinde tespit edilen uçucu bileşikler	13
Tablo 3.1. Kimyasal maddeler ve kaynakları	21
Tablo 3.2. Kullanılan alet ve cihazlar.....	24
Tablo 4.1. Uçucu yağ verimleri	38
Tablo 4.2. SP-1 bitkisinin ekstre verimleri	40
Tablo 4.3. SP-2 bitkisinin ekstre verimleri	40
Tablo 4.4. SP-1 yapraklarından elde edilen uçucu yağın kompozisyonu	41
Tablo 4.5. SP-2 yapraklarından elde edilen uçucu yağın kompozisyonu	42
Tablo 4.6. SP-1 yapraklarından MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu	45
Tablo 4.7. SP-2 yapraklarından MSD-SPME ile elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu	48
Tablo 4.8. SP-1 çiçeklerinden MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu	51
Tablo 4.9. SP-2 çiçeklerinden MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu	53
Tablo 4.10. SP-1 yapraklarından elde edilen sabit yağın yağ asitleri kompozisyonu	57
Tablo 4.11. SP-2 yapraklarından elde edilen sabit yağın yağ asitleri kompozisyonu	58
Tablo 4.12. SP-1 çiçeklerinden elde edilen sabit yağın yağ asitleri kompozisyonu	59
Tablo 4.13. SP-2 çiçeklerinden elde edilen sabit yağın yağ asitleri kompozisyonu	60
Tablo 4.14. SP-1 ekstrelerine ait toplam fenol miktarları	62

Tablo 4.15. SP-2 ekstrlerine ait toplam fenol miktarları	62
Tablo 4.16. SP-1 ekstrlerine ait toplam flavonoid miktarları	63
Tablo 4.17. SP-2 ekstrlerine ait toplam flavonoid miktarları	64
Tablo 4.18. SP-1 uçucu yağ ve ekstrlerinin TEAC değerleri	65
Tablo 4.19. SP-2 uçucu yağ ve ekstrlerinin TEAC değerleri	66
Tablo 4.20. SP-1 uçucu yağ ve ekstrlerinin DPPH testinde IC ₅₀ değerleri	66
Tablo 4.21. SP-2 uçucu yağ ve ekstrlerinin DPPH testinde IC ₅₀ değerleri	67
Tablo 4.22. SP-1 ve SP-2 kodlu bitkilerin ekstre ve uçucu yağlarının β -karoten soldurma testinde IC ₅₀ değerleri	68
Tablo 4.23. SP-1 uçucu yağ, ekstrlerinin Troloks'a eşdeğer ORAC değerleri ...	69
Tablo 4.24. SP-2 uçucu yağ, ekstrlerinin Troloks'a eşdeğer ORAC değerleri ...	70
Tablo 4.25. SP-1 uçucu yağ ve ekstrlerinin α -amilaz enzimi üzerinde gösterdikleri % inhibisyon değerleri	71
Tablo 4.26. SP-2 uçucu yağ ve ekstrlerinin α -amilaz enzimi üzerinde gösterdikleri % inhibisyon değerleri	71
Tablo 4.27. Çalışılan ekstrlerin ters-faz YBSK ile tespit edilen fenolik asit miktarları	72

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.	ORAC yöntemiyle antioksidanın koruyucu etkisinin, floresans bozunma eğrisinin altındaki integre edilmiş net alandan hesaplanması	17
Şekil 2.2.	DPPH'nin yapısı ve bir antioksidan tarafından indirgenmesi.....	18
Şekil 2.3.	2,2'-Azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS)'nin persülfatla oksidasyonu.....	19
Şekil 2.4.	Flavonoidlerin klasik antioksidan kapasitelerini belirlemede önemli olan özellikleri.....	20
Şekil 3.1.	SP-2 kodlu bitkinin genel görünüşü	22
Şekil 3.2.	Toplam lipitleri içeren ekstrenin katı faz kartuşundan geçirme işlemi..	26
Şekil 3.3.	Ekstrelerin karıştırıcıda maserayona bırakılması.....	26
Şekil 3.4.	Ekstrelerdeki çözücülerin rotavaporla uzaklaştırılması.....	27
Şekil 3.5.	Su ekstresinin liyofilizatörde kurutulması.....	27
Şekil 3.6.	Ekstraksiyon için kullanılan MSD-SPME düzeneği.....	28
Şekil 3.7.	GC-MS ve GC-FID sistemi.....	29
Şekil 3.8.	Flavonoit ve $AlCl_3$ reaktifi arasında gerçekleşen tepkime	30
Şekil 3.9.	Serbest radikal DPPH ve antioksidan arasındaki tepkime	31
Şekil 3.10.	ABTS katyon radikalının eldesi.....	33
Şekil 4.1.	Clevenger apareyinde uçucu yağın elde edilmesi.....	38
Şekil 4.2.	SP-1 kodlu bitkinin sırasıyla hekzan, metanol ve su ekstraktları	39
Şekil 4.3.	SP-2 kodlu bitkinin sırasıyla hekzan, metanol ve su ekstraktları	39
Şekil 4.4.	SP-1 yapraklarından elde edilen uçucu yağın kromatogramı	40
Şekil 4.5.	SP-2 yapraklarından elde edilen uçucu yağın kromatogramı	41
Şekil 4.6.	SP-1 yapraklarından MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kromatogramı	45
Şekil 4.7.	SP-2 yapraklarından MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kromatogramı	47
Şekil 4.8.	SP-1 çiçeklerinden MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kromatogramı	51

Şekil 4.9.	SP-2 çiçeklerinden MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kromatogramı	53
Şekil 4.10.	SP-1 yaprak kısımlarından elde edilen sabit yağın yağ asitleri metil esterleri kromatogramı	57
Şekil 4.11.	SP-2 yaprak kısımlarından elde edilen sabit yağın yağ asitleri metil esterleri kromatogramı	58
Şekil 4.12.	SP-1 çiçeklerinden elde edilen sabit yağın yağ asitleri metil esterleri kromatogramı	59
Şekil 4.13.	SP-2 çiçeklerinden elde edilen sabit yağın yağ asitleri metil esterleri kromatogramı	60
Şekil 4.14.	SP-1 ekstrelerinin toplam fenol miktar tayini sonucunda meydana gelen renk değişimi	61
Şekil. 4.15.	Gallik asit kalibrasyon eğrisi	62
Şekil 4.16.	SP-2 ekstrelerinin toplam fenol miktar tayini sonucunda meydana gelen renk değişimi	62
Şekil. 4.17.	Kersetin kalibrasyon eğrisi	63
Şekil 4.18.	SP-2 ekstrelerinin toplam flavonoid miktar tayini sonucunda meydana gelen renk değişimi	64
Şekil 4.19.	SP-1 uçucu yağ ve ekstrelerinin etkisi ile ABTS reaktifinin renk değişimi	64
Şekil 4.20.	Troloks kalibrasyon eğrisi ve eğri denklemi	65
Şekil 4.21.	SP-2 uçucu yağ ve ekstrelerinin etkisi ile ABTS reaktifinin renk değişimi	65
Şekil 4.22.	SP-1 kodlu bitkinin sırasıyla metanol ve su ekstrelerinin IC ₅₀ değerleri	66
Şekil 4.23.	SP-2 kodlu bitkinin sırasıyla hekzan, metanol ve su ekstrelerinin IC ₅₀ değerleri	67
Şekil 4.24.	Sırasıyla SP-1 ve SP-2'in uçucu yağ ve ekstrelerinin β -karoten rengindeki değişimi	68
Şekil 4.25.	SP-1 uçucu yağ, ekstrelerinin ve Troloks'un fluoresein'in floresans solmasını geciktirmesi	69
Şekil 4.26.	SP-2 uçucu yağ, ekstrelerinin ve Troloks'un fluoresein'in floresans solmasını geciktirmesi	70

Şekil 4.27.	SP-1 uçucu yağ ve ekstralarının α -amilaz enzimi üzerindeki etkiler .	71
Şekil 4.28.	SP-2 uçucu yağ ve ekstralarının α -amilaz enzimi üzerindeki etkileri	71
Şekil 4.29.	Fenolik asit standartlarının YBSK kromatogramı	72
Şekil 4.30.	Su Ekstresi (SP-1) YBSK kromatogramı	73
Şekil 5.1.	Ekstrelerin verimlerine ait grafik	75
Şekil 5.2.	SP-1 ve SP-2 ekstralarının gallik asite eşdeğer toplam fenol miktarları	78
Şekil 5.3.	SP-1 ve SP-2 ekstralarının toplam flavonoit miktar tayini	79
Şekil 5.4.	İki bitkiye ait uçucu yağ ve ekstralarının Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite değerleri.....	80
Şekil 5.5.	SP-1 ve SP-2 kodlu bitkilere ait uçucu yağ ve ekstralarının DPPH serbest radikali süpürücü etkileri (IC ₅₀ değerleri))	81
Şekil 5.6.	SP-1 ve SP-2' ye ait uçucu yağ ve ekstralarının Troloks'a eşdeğer ORAC değerleri	82

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

a/a	: Ağırlık/Ağırlık
AAPH	: 2,2'-Azobis(2-metilpropinamidin) dihidroklorür
Abs	: Absorbans
ABTS	: 2,2'-Azino-bis (3-etilbenztiyazoline-6-sulfonik asit)
AUC	: Eğrinin Altındaki Alan
BF ₃	: Boron Triflorüre
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
dk	: Dakika
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikril hidrazil radikali
EP	: Avrupa Farmakopesi
FA	: Ferulik Asit
FCR	: Folin-Ciocalteu Reaktifi
FDA	: Food and Drug Administration
FRAP	: Demir iyonu indirgeme antioksidan parametresi
GAE	: Gallik Asit'e Eşdeğer Miktar
GC-FID	: Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Detektörü
GC/MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
IC ₅₀	: %50 İnhibisyon gösteren konsantrasyon
% İn	: Yüzde İnhibisyon
IOU	: İnhibe edilmiş oksijen harcama
KA	: Kafeik Asit
KLA	: Klorojenik Asit
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
MSD-SPME	: Mikro Buhar Distiasyonu – Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu
o-KU	: <i>orto</i> -Kumarik Asit
ORAC	: Oksijen Radikali Absorblama Kapasitesi
Ort.	: Ortalama değer
p-KU	: <i>para</i> -Kumarik Asit

PEG	: Polietilen Glikol
Ph. Eur.	: Avrupa Farmakopesi
pro-KA	: Protokatesik Asit
RE	: Rutin'e Eşdeğer Miktar
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RRI	: Relatif Tutunma İndisi
RRI [#]	: Bileşiğin metil/etil türevinin bağlı tutunma indisi
RTI	: Relatif Tutunma İndisi
SP-1	: Sivas bölgesine ait bitkinin kodu
SP _H -1	: Sivas bölgesindeki bitkiye ait hekzan ekstresi kodu
SP _M -1	: Sivas bölgesindeki bitkiye ait metanol ekstresi kodu
SP _{UY} -1	: Sivas bölgesindeki bitkiye ait uçucu yağ kodu
SP _W -1	: Sivas bölgesindeki bitkiye ait su ekstresi kodu
SP-2	: Eskişehir bölgesine ait bitkinin kodu
SP _H -2	: Eskişehir bölgesindeki bitkiye ait hekzan ekstresi kodu
SP _M -2	: Eskişehir bölgesindeki bitkiye ait metanol ekstresi kodu
SP _{UY} -2	: Eskişehir bölgesindeki bitkiye ait uçucu yağ kodu
SP _W -2	: Eskişehir bölgesindeki bitkiye ait su ekstresi kodu
S.S.	: Standart Sapma
TEAC, TEAK	: Troloks'a Eşdeğer Antioksidan Kapasite
TRAP	: Toplam Radikal Yakalama Parametresi
U	: Ünite
v/v	: Hacim/hacim
YBSK	: Yüksek Başarımlı Sıvı Kromatografisi

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Scabiosa cinsi Caprifoliaceae familyasının Dipsacaceae alt familyasında yer alır [1, 2]. Caprifoliaceae familyası çoğunlukla Akdeniz Bölgesi'nde ve Yakın Doğu'da yaygın bir yayılım göstermekle birlikte; Kuzey Avrupa'dan-Doğu Asya'ya, Orta Afrika'dan-Güney Afrika'ya kadar farklı bölgelere yayılım gösteren bir familyadır [3].

Türkiye'nin neredeyse her bölgesinde bulunan familya cinslerinden biri olan *Scabiosa* 'cinsinin ülkemizde 34 türü bulunmaktadır [4]. Cins ismini; bulaşıcı parazitik cilt enfeksiyonlarına sebep olan kaşıntı akarı veya uyuz böceği olarak bilinen *Sarcoptes scabiei* L. Latince ismi “scabiosus veya scabies” kelimesinden almıştır. Tedavisinde uyuzotu türlerinin kullanılması sebebiyle *Scabiosa* isminin verildiği sanılmaktadır [5]. *Scabiosa* cinsi üyeleri yurdumuzda genellikle “uyuzotu” olarak bilinmesine karşın, son zamanlarda “yazı süpürgesi, gıcıkotu, kavurotu, puk, zivan, çimen uyuzotu” isimleri de kullanılmaktadır [6, 7].

Dünyada ve ülkemizde *Scabiosa* cinsi türleri üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde: *S. rotata* Bieb. bitkisinin köklerinde druz kristallerine ve yaprak kutikulasında noktacıklı tüylere rastlanılmıştır [8, 9]. Cilt ve üst solunum yolu enfeksiyonlarına bağlı hastalıkların tedavisinde kullanılan *S. atropurpurea* L. bitkisinde örtü tüyleri ve druz kristallerine rastlanmıştır [10]. Ülkemizde endemik *S. pseudograminifolia* bitkisi üzerine yapılmış incelemelerde yaprak, gövde ve kök anatomisinde yoğun olarak mezofil tabakasında bulunan druz kristalleri görülmüştür. Taksona ait gövde kesintinde 8-10 sıralı klorenkimatik hücreler dikkat çekici olmuştur ve taksona ait stoma tipi anizositik olarak belirlenmiştir [11].

Ülkemizde *Scabiosa* cinsine ait birkaç türün, geleneksel tıpta birçok rahatsızlığın tedavisi için kullanıldığı bildirilmiştir. *S. atropurpurea*, idrar söktürücü olarak, *S. succisa* L. bronşit, bronşiyal pnömoni, grip ve astım tedavisinde kullanılmıştır. Ayrıca bu cinse ait bitkiler bazı dermatozları (*Herpes* saçkıran ve uyuz) ve ülserleri tedavi etmek için haricen olarak tavsiye edilmiştir [12]. Fenolik içeriklerine de bağlı olarak antidiyabetik, hepatoprotektif, analjezik, antiinflamatuvar, antioksidan, antimikrobiyal ve anti-parazitik aktiviteye sahip olup bunların faydalı özellikleri doğrulanmıştır [13, 14]. Birkaç *Scabiosa* türüne ait fitokimyasal çalışmalarda bu cins bitkilere ait olan; triterpenlerin, triterpen glikozitlerinin, triterpen saponinlerin, iridoidlerin, monoterpenoid glukoidin, alkaloidlerin ve flavonoidlerin varlığı açıkça gösterilmiştir [14].

Scabiosa cinsi, dünyada 80 türle temsil edilmektedir, bunların 43'ü Avrupa'da, diğerleri Afrika ve Asya'dadır [15]. Bazı *Scabiosa* türleri, gıda endüstrisi, eczacılık ve kozmetikte yaygın olarak kullanılmaktadır [16]. Literatürde yer alan *Scabiosa* türleri genel olarak akciğer, ürogenital ve kutanöz hastalıklarını tedavi etmek için geleneksel tıpta kullanılmıştır [12]. *Scabiosa atropurpurea* 'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen çay idrar söktürücü olarak kullanılır. *S. succisa* haricen bronşit, bronşiyal pnömoni, influenza ve astım vakalarında endikedir ve bazı dermatozlarda ve ülserlerde önerilmektedir. *S. comosa* Fisch. ex Roem. et Schult ve *S. tschiliensis* Grunning'ın çiçek durumları, karaciğer hastalıkları için bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır. Genel olarak *Scabiosa* türleri flavonoidler, kumarinler, iridoidler, saponinler ve terpenler içerir [17]. Kaynak taraması sonucunda *S. pseudograminifolia* bitkisi üzerine yayınlanmış herhangi bir fitokimyasal ve enzim inhibisyonu ile ilgili çalışmaya rastlanılmamıştır. Dolayısıyla bitkinin kimyasal kompozisyonunun aydınlatılması ve biyolojik aktivitesinin detaylı olarak incelenmesi önem taşımaktadır.

Tez kapsamında *S. pseudograminifolia* bitkisinin toprak üstü kısmından uçucu yağ ve farklı polaritede ekstraktları elde edilerek fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmaları gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda, bitkiden hidrodistilasyonla uçucu yağ ve mikro ekstraksiyonla sabit yağ asitleri ekstre edilip, metil esterleri elde edilecek ve kimyasal kompozisyonları incelenmiştir. Ayrıca, bitkiden farklı polaritede çözücüler ile ekstraktlar elde edilip, kimyasal kompozisyonları incelenmiştir. *S. pseudograminifolia* bitkisinin genel fitokimyasal profilini belirleme çalışmalarında çeşitli kromatografik ve spektroskopik tekniklerden faydalanılmıştır. Uçucu yağ ve ekstraktların biyolojik aktiviteleri farklı sistem ve substratlara karşı test edilmiştir. Bu amaçla *S. pseudograminifolia* bitkisinin uçucu yağı ile hekzanlı, metanollü ve sulu ekstraktları DPPH serbest radikali süpürme etkisi, Troloksa eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAC), oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) açısından spektrofotometrik olarak ölçülerek tespit edilecektir.

Tez kapsamında;

- *Scabiosa pseudograminifolia* bitkisinden elde edilen uçucu bileşenlerin ve farklı polariteli ekstraktların kimyasal kompozisyonlarını aydınlatmak,
- *S. pseudograminifolia* bitkisinden elde edilen ekstre ve uçucu yağların biyolojik aktivitesini belirlemek.
- *S. pseudograminifolia* bitkisi toprak üstü kısımlarından (yaprak ve dallardan) uçucu yağın elde edilmesi,

- *S. pseudograminifolia* bitkisi yaprak ve çiçeklerinden sabit yağ asitlerin elde edilmesi,
- *S. pseudograminifolia* bitkisi toprak üstü kısımlarından farklı polaritelerde ekstrelerin elde edilmesi,
- Uçucu yağ ve sabit yağ asitlerin kompozisyonlarının GC-FID ve GC/MS teknikleri ile belirlenmesi,
- Ekstrelerin kompozisyonlarının YBSK tekniği ile belirlenmesi.
- Ekstrelerin toplam flavonoid ve toplam fenol miktarlarının tespit edilmesi,
- Ekstrelerin ve uçucu yağın DPPH, TEAC, ORAC yöntemleri ile antioksidan özelliklerinin belirlenmesi,
- Ekstre ve uçucu yağın α -amilaz enzimini inhibe etme özelliklerini değerlendirilmesi gerçekleştirilmiştir.

Yapılan literatür taraması sonucunda *S. pseudograminifolia* üzerine fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışması olduğu tespit edilmemiştir.

Birçok hastalığın tedavisi için bitkisel kaynaklı ya da yarı sentetik ürün arayışlarının hızlandığı günümüzde, yakın türlerinin kimyasal ve biyolojik aktivite özellikleri değerlendirildiğinde potansiyel bir kaynak olarak görülebilecek *S. pseudograminifolia* bitkisinin fitokimyasal profili ve *in-vitro* antioksidan, anti- α -amilaz etkileri bu tez kapsamında belirlenecektir. Tüm bu çalışmalar bilim dünyasındaki *S. pseudograminifolia* bitkisi hakkındaki eksikliğin bu açıdan tamamlanmasına katkı sağlayacaktır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Caprifoliaceae Familyası Morfolojik Özellikleri

Hanımeli familyası olarak da bilinen Caprifoliaceae, tropikal bölgeler ve Güney Afrika haricinde Doğu Kuzey Amerika ve Doğu Asya'da çeşitlilik gösteren, yaklaşık 42 cins ve yaklaşık 860 türden oluşan çift çenekli, kapalı tohumlu bitkilerdir. Bitkiler nadiren otsu, genellikle çalı ve sarmaşık formundadır. Yapraklar genellikle zıttır. Çiçek durumları tirsoid, aksiller veya terminaldir. Stamenleri, 4 veya 5'li didinam stamendir. Ovaryum alt durumludur. Karpelleri 2 ila 8 arasındadır. Ovüller, lokül başına çok sayıdadır. Tohumlarda endosperm çok sayıdadır [18].

Scabiosa cinsi önceden Dipsacaceae familyasına aitken bilimsel çalışmalar sonucunda Caprifoliaceae familyası kapsamına dahil edilip incelenmektedir. Ülkemizde *Scabiosa* cinsi verilere göre 34 takson içermektedir [4].

2.1.1. *Scabiosa* cinsinin morfolojik özellikleri

Scabiosa L. cinsi, Akdeniz Havzası, Asya ve Güney Afrika'da yayılış gösteren çeşitli türlere sahip, taksonomik olarak karmaşık büyük bir cins olarak kabul edilir [19, 20].

Türler nadiren otsu, sarılıcı ve odunsu çalı formundadır; çiçek durumu kimoza, çiçekler genellikle aktinomorf ve güzel kokulu, beyazdan mora kadar değişen renklerde; sepaller bileşik ve küçük 4-5 adet; petaller huni veya tüp şekilli 4-5 adet; stamenler petallere bitişik, 4-5 adet; ovaryum 3-5 karpelli, plesantalanma eksensel, alt durumlu; stillus uzun; meyva bakka veya drupa, çok tohumludur Yapraklar basit ve stipulsuz, opposittir [21].

2.1.2. *Scabiosa pseudograminifolia* Hub.-Mor. morfolojik özellikleri

S. pseudograminifolia Hub.-Mor taksonu üzerine yapılmış anatomik incelemelerde kök, gövde ve yaprak anatomilerinde druz kristallerine rastlanmış ve druz kristali yoğunluğunun mezofil tabakasında olduğu görülmüştür. Taksona ait gövde kesintinde 8-10 sıralı klorenkimatik hücreler ve taksona ait stoma tipi anizositik olduğu görülmüştür. *S. pseudograminifolia*'nın polen tipi triporat, polen şekli subprolat, polar görünüşü prolat- sferoidal ve ornemantasyonu ekinat-mikroekinat olarak bulunmuştur. *S. pseudograminifolia*'nın palinolojik özellikleri; P 88.88 µm, E 68.89 µm, P/E değeri 1.29,

polen şekli subprolate, apertür triporat, por şekli prolat-sferodial, ornamentasyonunu ekinat-mikroekinat olarak belirlenmiştir [5].

S. pseudograminifolia türlerinde korteks tabakasında 8-10 sıralı klorankimatik hücrelerin bulunduğu ve korteks tabakasının eni boylarından büyük parankimatik hücrelerden meydana geldiği rapor edilmiştir [2, 5].

2.2. *Scabiosa* Türlerine Ait Etnobotanik Çalışmalar

Scabiosa türleri geniş yelpazede aktivitelere sahip olduğu hem halk arasındaki kullanım şekillerinden hem bilimsel olarak kanıtlanmış olan çalışmalardan ortaya çıkmıştır. Rapor edilen etnobotanik araştırmalar sonucunda *Scabiosa* türlerinin halk arasındaki kullanım bilgileri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Tablo 2.1. *Scabiosa* türleriyle ilgili Türkiye’de yapılan etnobotanik çalışmalar

<i>Scabiosa</i> Türü	Halk arasındaki adı	Kullanılan kısım	Kullanım şekli	Kullanım amacı	Kaynak
<i>S. atropurpurea</i>	Kederli dul	Topraküstü kısımlar	-	Diüretik	[22]
<i>S. columbaria</i> L.	Yabani uyuzotu	Yaprak ve Kök	-	Cilt enfeksiyonları	[23]
<i>S. lucida</i> Vill	Kanatlı yuzuotu	-	-	-	[5]
<i>S. sicula</i> L.	Ada uyuzotu	-	-	-	[7]

Tablo 2.1’den görüldüğü gibi halk arasında Türkiye’ de *Scabiosa* türleri çoğunlukla toprak üstü, yaprak ve kökleri tedavi amaçlı kullanılmıştır.

Tablo 2.2. *Scabiosa* türleriyle ilgili Dünyada yapılan etnobotanik çalışmalar

<i>Scabiosa</i> Türü	Halk arasındaki adı	Kullanılan kısım	Kullanım Şekli	Ülke	Kullanım amacı	Kaynak
<i>S. arvensis</i>	Sarı uyuzotu	-	-	Cezayir	Diyare, İnflamasyon, Cilt problemleri	[7, 24]
<i>S. atropurpurea</i>	-	Toprak üstü	-	Katalonya, Fransa	Akne, Kızamık	[25, 26]
<i>S. columbaria</i>	İbheka, igwalaza	Kök	-	Kök	Zührevi yaralar	[27]
<i>S. comosa</i>	-	Toprak üstü	Dekoksiyon	İspanya	Difteri	[24]

Tablo 2.2. (Devam) *Scabiosa* türleriyle ilgili Dünyada yapılan etnobotanik çalışmalar

<i>Scabiosa</i> Türü	Halk arasındaki adı	Kullanılan kısım	Kullanım Şekli	Ülke	Kullanım amacı	Kaynak
<i>S. stellata</i> L.	Yıldızlı uyuz	Çiçek ve Yaprak	-	Fas	Topuk çatlağı	[28]
<i>S. succisa</i>	-	Yaprak	Dekoksasyon	Rusya	Ülser	[29]
<i>S. tschiliensis</i>	Meng Gu Shan Luo Bo	Çiçek	-	İç Moğolistan	Baş ağrısı, Öksürük, Ateş, Sarılık	[7]

Tablo 2.2’de görüldüğü gibi Dünyada halk arasında *Scabiosa* türlerinin çoğunlukla toprak üstü kısımları tıbbi amaçlı kullanılmıştır.

2.3. *Scabiosa* Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri

Scabiosa türlerinin kullanım şekillerinden bilimsel olarak kanıtlanmış olan çalışmalardan Tablo 2.3’te belirtilmiştir.

Tablo 2.3. *Scabiosa* türleriyle ilgili yapılan biyolojik aktivite çalışmaları

Biyolojik Aktivite	<i>Scabiosa</i> Türü	Çalışılan Kısım	Kullanım Şekli	Kaynak
Antioksidan Aktivite	<i>S. arenaria</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (Aseton, su, metanol)	[30]
	<i>S. atropurpurea</i>	Kök	Ekstre (Etanol, etilasetat, kloroform, diklorometan, dietilasetat)	[31]
	<i>S. columbaria</i>	Yapraklar	Ekstre (Metanol)	[23]
	<i>S. comosa</i>	-	Ekstre (Etanol)	[32]
	<i>S. prolifera</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (Etanol)	[14]
	<i>S. sicula</i>	Bütün bitki	Ekstre (Metanol)	[33]
	<i>S. stellata</i>	Bütün bitki	Ekstre (Etanol)	[24]
	<i>S. tschilliensis</i>	-	Ekstre (Etanol)	[34]
Antimikrobiyal Aktivite	<i>S. arenaria</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (Aseton, su, metanol)	[23]
	<i>S. atropurpurea</i>	Kök	Ekstre (Etanol, etilasetat, kloroform, diklorometan, dietilasetat)	[31]
	<i>S. columbaria</i>	Kök ve Yaprak	Ekstre (Kloroform/ metanol, su)	[35]
	<i>S. hymettia</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (Kloroform, metanol)	[36]
	<i>S. stellata</i>	Bütün bitki	Ekstre (Etanol)	[24]
	<i>S. olivieri</i>	Bütün bitki	Ekstre (Etanol)	[37]

Tablo 2.3. (Devam) *Scabiosa* türleriyle ilgili yapılan biyolojik aktivite çalışmaları

Biyolojik Aktivite	Scabiosa Türü	Çalışılan Kısım	Kullanım Şekli	Kaynak
Tirozinaz Aktivite	<i>S. columbaria</i>	Yapraklar	Ekstre (Metanol)	[22]
α -Glukozidaz İnhibitör Aktivite	<i>S. stellata</i>	Bütün bitki	Ekstre (Etanol)	[24]
	<i>S. sicula</i>	Bütün bitki	Ekstre (Metanol)	[33]
Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite	<i>S. arenaria</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (Hidrometanol; MeOH-H ₂ O 80:20 (h/h))	[38]
Antifungal Aktivite	<i>S. arenaria</i>	Topraküstü kısımlar	Hidrodistilasyon	[15]
	<i>S. atropurpurea</i>	Kök	Ekstre (Etanol, etilasetat, kloroform, diklorometan, dietilasetat) ve Hidrodistilasyon	[31]
	<i>S. hymettia</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (Metanol, kloroform)	[36]
	<i>S. columbaria</i>	Kök ve Yaprak	Ekstre (Kloroform/ Metanol, su)	[27]
	<i>S. stellata</i>	Bütün bitki	Ekstre (Etanol)	[24]
	<i>S. olivieri</i>	Bütün bitki	Ekstre (Etanol)	[37]
	<i>S. olivieri</i>	Bütün bitki	Ekstre (Etanol)	[37]
Antiparazitik Aktivite	<i>S. columbaria</i>	Kök ve Yaprak	Ekstre (Kloroform/ Metanol, su)	[27]
Allelopatik Aktivite	<i>S. atropurpurea</i>	Kök	Ekstre (Etanol, etilasetat, kloroform, diklorometan, dietilasetat) ve Hidrodistilasyon	[31]
Analjezik Aktivite	<i>S. rotata</i>	Bütün bitki	Ekstre (Su, etanol)	[39]
Antiinflamatuvar Aktivite	<i>S. rotata</i>	Bütün bitki	Ekstre (Su, etanol)	[39]
	<i>S. olivieri</i>	Bütün bitki	Ekstre (Etanol)	[37]
	<i>S. stellata</i>	Bütün bitki	Ekstre (Etanol)	[40]
	<i>S. tschiliensis</i>	Bütün bitki	Ekstre (Metanol)	[41]
Antiartritik Aktivite	<i>S. stellata</i>	Bütün bitki	Ekstre (Petrol eteri, Etilasetat, Butanol)	[40]
Antimelanojenik Aktivite	<i>S. columbaria</i>	Yaprak	Ekstre (Metanol)	[23]
Antilipaz Aktivite	<i>S. tschiliensis</i>	Bütün bitki	Ekstre (Metanol)	[7]
Antikanser Aktivite	<i>S. atropurpurea</i>	Yaprak	Ekstre (Metanol)	[42]
Sitotoksik Aktivite	<i>S. isetensis</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (CO ₂)	[43]
	<i>S. ochroleuca</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (CO ₂)	[43]
	<i>S. stellata</i>	Bütün bitki	Ekstre (Etanol)	[24]
	<i>S. prolifera</i>	Topraküstü kısımları	Ekstre	[14]

Tablo 2.3. (Devam) *Scabiosa* türleriyle ilgili yapılan biyolojik aktivite çalışmaları

Biyolojik Aktivite	Scabiosa Türü	Çalışılan Kısım	Kullanım Şekli	Kaynak
Anti-HBs Aktivite	<i>S. comosa</i>	-	Ekstre	[32]
	<i>S. tschilliensis</i>	-	Ekstre	[32]
Antifibrotik Aktivite	<i>S. comosa</i>	Çiçek	Ekstre	[34]
Hepatoprotektif Aktivite	<i>S. atropurpurea</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (Etanol, Hekzan, Kloroform, Etil asetat, Bütanol)	[25]
Antiradikal Aktivite	<i>S. isetensis</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (CO ₂)	[43]
	<i>S. ochroleuca</i>	Topraküstü kısımlar	Ekstre (CO ₂)	[43]

Yapılan literatür taraması sonucunda *Scabiosa* türlerinin çiçek, topraküstü, kök kısımlarından faydalandığı görülmektedir. Bitkilerden elde edilen farklı polariteli ekstraler üzerinde çeşitli biyolojik aktivite testleri yapılmıştır. *Scabiosa* türlerinden edinen ekstraler genellikle antioksidan ve antimikrobiyal olarak potansiyel bulunmuştur.

2.4. *Scabiosa* Türleri Üzerine Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Scabiosa türleri üzerinde sekonder metabolitleri aydınlatmak için pek çok fitokimyasal çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar sonucunda tespit edilen bazı sekonder metabolitler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo 2.4).

Tablo 2.4. *Scabiosa* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler

Bileşik	Tür	Kaynak
İRİDOİD		
Loganin	<i>S. atropurpurea</i>	[44]
	<i>S. columbaria</i>	[35]
	<i>S. japonica</i>	[45]
	<i>S. hymettia</i>	[36]
	<i>S. lucida</i>	[46]
	<i>S. stellata</i>	[24]
	<i>S. variifolia</i>	[47]
Loganik asit	<i>S. atropurpurea</i>	[44]
	<i>S. columbaria</i>	[35]
	<i>S. variifolia</i>	[47]
	<i>S. hymettia</i>	[36]
	<i>S. stellata</i>	[24]
	<i>S. variifolia</i>	[47]
Loganik asit glikozit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]

Tablo 2.4. (Devam) *Scabiosa* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler

Bileşik	Tür	Kaynak
Loganik asit galaktoz	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
7 - Deoksiloganin	<i>S. lucida</i>	[46]
7- α -moronisit	<i>S. lucida</i>	[46]
7- β -moronisit	<i>S. lucida</i>	[46]
Östomorozit	<i>S. stellata</i>	[24]
Sverozit	<i>S. atropurpurea</i>	[44]
	<i>S. columbaria</i>	[35]
	<i>S. japonica</i>	[45]
	<i>S. lucida</i>	[46]
	<i>S. variifolia</i>	[47]
	<i>S. stellata</i>	[24]
Svertisin	<i>S. atropurpurea</i>	[48]
	<i>S. olgae</i>	[48]
Svertiamarin	<i>S. atropurpurea</i>	[44]
	<i>S. columbaria</i>	[35]
	<i>S. hymettia</i>	[36]
	<i>S. variifolia</i>	[47]
Svertiajaponin	<i>S. stellata</i>	[24]
Sekologanol	<i>S. lucida</i>	[46]
Kantleyosid	<i>S. atropurpurea</i>	[42, 44]
	<i>S. columbaria</i>	[35]
	<i>S. japonica</i>	[45]
	<i>S. variifolia</i>	[47]
TRİTERPENLER		
Oleanolik asit	<i>S. bipinnata</i>	[49]
	<i>S. caucasica</i>	[50]
	<i>S. georgica</i>	[51]
	<i>S. micrantha</i>	[52]
	<i>S. oliveri</i>	[52]
	<i>S. ochroleuca</i>	[52]
	<i>S. semipapposa</i>	[53]
	<i>S. soongorica</i>	[1]
	<i>S. stellata</i>	[54]
	<i>S. tschiliensis</i>	[7]
β -sitosterol	<i>S. soongorica</i>	[1]
	<i>S. prolifera</i>	[14]
	<i>S. rotata</i>	[48]
	<i>S. stellata</i>	[24]
Ursolik asit	<i>S. prolifera</i>	[14]
	<i>S. semipapposa</i>	[55]
	<i>S. sicala</i>	[33]
	<i>S. stellata</i>	[24]
Ursolik asit 3-O- β -D-arabinopiranozit	<i>S. prolifera</i>	[14]
Korosolik asit	<i>S. prolifera</i>	[14]
SAPONİNLER		
Skabrizit A-D	<i>S. rotata</i>	[8]
Skabiosaponin	<i>S. tschilliensis</i>	[7]
	<i>S. semipapposa</i>	[53]
Hokerozit A-B	<i>S. tschilliensis</i>	[7]

Tablo 2.4. (Devam) *Scabiosa* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler

Bileşik	Tür	Kaynak
Soongorozit	<i>S. soongorica</i>	[56]
Scabiostellatoside	<i>S. stellata</i>	[57]
	<i>S. stellata</i>	[24]
Semipapposide	<i>S. semipapposa</i>	[55]
Scabioside	<i>S. sicula</i>	[33]
FENOLİK ASİTLER		
Kafeik asit	<i>S. caucasica</i>	[48]
	<i>S. comosa</i>	[58]
	<i>S. sicula</i>	[33]
	<i>S. stellata</i>	[24]
Klorojenik asit	<i>S. atropurpurea</i>	[25]
	<i>S. bipinnata</i>	[49]
	<i>S. caucasica</i>	[48]
	<i>S. comosa</i>	[58]
	<i>S. lucida</i>	[46]
	<i>S. olgae</i>	[59]
	<i>S. stellata</i>	[60]
	<i>S. succissa</i>	[29]
	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
Vanilin	<i>S. hymettia</i>	[36]
Vanilik asit	<i>S. hymettia</i>	[36]
KUMARİNLER		
Eriythrocentaurine	<i>S. hymettia</i>	[36]
5-hidroksilmetil-izokroman-1-one	<i>S. hymettia</i>	[36]
Skopoletin	<i>S. hymettia</i>	[36]
Angenomaline	<i>S. soongorica</i>	[56]
Bergapten	<i>S. comosa</i>	[61]
Umbelliprenine	<i>S. comosa</i>	[61]
FLAVONLAR		
Apigenin	<i>S. caucasica</i>	[50]
	<i>S. comosa</i>	[32]
	<i>S. ochroleuca</i>	[43]
	<i>S. tenuis</i>	[62]
	<i>S. prolifera</i>	[14]
	<i>S. stellata</i>	[60]
	<i>S. succissa</i>	[29]
	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
Apigenin-4'-glikozit	<i>S. comosa</i>	[32]
	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
Apigenin-6-C-glikozit	<i>S. sicula</i>	[33]
	<i>S. succissa</i>	[29]
	<i>S. arenaria</i>	[17]
Apigenin 7-O-glukozit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
	<i>S. comosa</i>	[32]
	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
Astragallin	<i>S. hymettia</i>	[36]

Tablo 2.4. (Devam) *Scabiosa* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler

Bileşik	Tür	Kaynak
1,4-Di-O-kafeoilkinik asit	<i>S. arenaria</i>	[17]
Luteolin	<i>S. atropurpurea</i>	[31, 42]
	<i>S. argentea</i>	[62]
	<i>S. comosa</i>	[32]
	<i>S. georgica</i>	[51]
	<i>S. ochroleuca</i>	[43]
	<i>S. stellata</i>	[60]
	<i>S. succissa</i>	[29]
	<i>S. tenuis</i>	[62]
Luteolin-7-O-glukozit	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
	<i>S. arenaria</i>	[17]
	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
	<i>S. comosa</i>	[32]
	<i>S. sicula</i>	[33]
Luteolin asetilglukozit	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
Luteolin 6-C-glikozit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
	<i>S. sicula</i>	[33]
	<i>S. stellata</i>	[60]
Luteolin 3'-glikozit	<i>S. succissa</i>	[29]
Luteolin 4'-glikozit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
Luteolin 7-O-β-D-glukozit (Snaroside)	<i>S. comosa</i>	[32]
	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
	<i>S. argentea</i>	[62]
	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
	<i>S. bipinnata</i>	[63]
	<i>S. caucasica</i>	[50]
	<i>S. georgica</i>	[51]
	<i>S. ochroleuca</i>	[63]
Luteolin 7-O-β-D-glukopiranozit	<i>S. olgae</i>	[59]
	<i>S. tenuis</i>	[62]
	<i>S. bipinnata</i>	[48]
	<i>S. caucasica</i>	[48]
	<i>S. lucida</i>	[46]
Luteolin 4'-O-β-D-glukopiranozit	<i>S. ochroleuca</i>	[48]
	<i>S. prolifera</i>	
Luteolin 7-O-β-D-gentiobiosid	<i>S. lucida</i>	[46]
Luteolin 7-rutinosit	<i>S. tenuis</i>	[62]
	<i>S. argentea</i>	[62]
Luteolin pentosil-glukozit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
Luteolin 7,3-diglikozit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
Luteolin 7,3'-diglikozit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
Hiperin	<i>S. stellata</i>	[57]
İzoorientin	<i>S. argentea</i>	[62]
	<i>S. lucida</i>	[46]
	<i>S. prolifera</i>	[14]
	<i>S. stellata</i>	[57, 60]
Viteksin	<i>S. tenuis</i>	[62]

Tablo 2.4. (Devam) *Scabiosa* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler

Bileşik	Tür	Kaynak
İzoviteksin	<i>S. tenuis</i>	[62]
Lucenin	<i>S. stellata</i>	[60]
FLAVONOL		
Kersetin	<i>S. argentea</i>	[62]
	<i>S. comosa</i>	[32]
	<i>S. ochroleuca</i>	[43]
	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
Kersetin diglikozit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
Kersetin 3,4'-diglikozit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
İzokersetin	<i>S. atropurpurea</i>	[31]
Kersetin-3-glikozit	<i>S. comosa</i>	[32]
	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
Kersetin 3-O- β -L-arabofuranozit 7-O- β -D-glukopiranozit	<i>S. bipinnata</i>	[48]
Kersetin 7-O- β -D-glukopiranozit	<i>S. bipinnata</i>	[48]
Kersetin-3-rutinosit	<i>S. comosa</i>	[32]
	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
Kersetin-3-O-galaktoz	<i>S. argentea</i>	[62]
Kersetin-3-O-arabinoz	<i>S. argentea</i>	[62]
3-O- kaffeoilkinik asit	<i>S. stellata</i>	[60]
4-O- kaffeoilkinik asit	<i>S. sicula</i>	[33]
	<i>S. stellata</i>	[60]
5-O- kaffeoilkinik asit	<i>S. stellata</i>	[60]
3,4-kaffeoilkinik asit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
	<i>S. comosa</i>	[32]
	<i>S. lucida</i>	[46]
	<i>S. sicula</i>	[33]
	<i>S. stellata</i>	[60]
	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
3,5-kaffeoilkinik asit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
	<i>S. comosa</i>	[32]
	<i>S. lucida</i>	[46]
	<i>S. sicula</i>	[33]
	<i>S. stellata</i>	[24]
	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
4,5-kaffeoilkinik asit	<i>S. comosa</i>	[32]
	<i>S. stellata</i>	[24]
	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
p-Kumaroilkinik	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
Hiperozid (Kersetin-3-O-glukozit)	<i>S. atropurpurea</i>	[31]
	<i>S. georgica</i>	[51]
	<i>S. stellata</i>	[60]
Kersimetrin	<i>S. atropurpurea</i>	[31]
	<i>S. bipinnata</i>	[63]
	<i>S. caucasica</i>	[50]
	<i>S. georgica</i>	[51]
	<i>S. ochroleuca</i>	[63]
Kemferol	<i>S. ochroleuca</i>	[43]

Tablo 2.4. (Devam) *Scabiosa* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu tespit edilen sekonder metabolitler

Bileşik	Tür	Kaynak
Kemferol 3-O-rutinozid	<i>S. sicula</i>	[33]
	<i>S. stellata</i>	[60]
	<i>S. comosa</i>	[32]
Kinik asit	<i>S. stellata</i>	[64]
	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
	<i>S. comosa</i>	[32]
ρ -Kumarik asit	<i>S. tschilliensis</i>	[32]
ρ -Kumarik asit 3-glikozit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
Diosmetin 7-O-glukozit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
Diosmetin 7-O- β -glukozit	<i>S. argentea</i>	[62]
Diosmetin-7-rutinosid	<i>S. ochroleuca</i>	[63]
Diosmetin pentosil-glukozit	<i>S. atropurpurea</i>	[42]
	<i>S. stellata</i>	[60]
Ferrulik asit türevleri	<i>S. atropurpurea</i>	[42]

Yapılan literatür taraması sonucunda *Scabiosa* türlerine ait fitokimyasal çalışmalarda, iridoit, triterpen, saponin, flavonol, flavon, fenolik asit, kumarinlere ait bileşikler tespit edilmiştir.

2.3.1. *Scabiosa* türlerinin uçucu bileşikleri

Scabiosa türleri üzerinde uçucu yağ kompozisyonunu aydınlatmak için yapılan pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar sonucunda tespit edilen uçucu bileşikler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo 2.5).

Tablo 2.5. *Scabiosa* türlerinde tespit edilen uçucu bileşikler

Madde	<i>Scabiosa</i> Türü (Bileşiğin %)	Kaynak
	<i>S. arenaria</i> (3.48)	[15]
	<i>S. atropurpurea</i> (8.1)	[31]
1,8-Sineol	<i>S. flavida</i> (0.5)	[65]
	<i>S. isetensis</i> (29.1)	[43]
	<i>S. ochroleuca</i> (14.9)	[43]
	<i>S. arenaria</i> (34.39)	[15]
α - Tuyon	<i>S. isetensis</i> (9.8)	[43]
	<i>S. ochroleuca</i> (4.8)	[43]
	<i>S. arenaria</i> (15.29)	[15]
β - Tuyon	<i>S. isetensis</i> (5.0)	[43]
	<i>S. ochroleuca</i> (2.5)	[43]
Rosifoliol	<i>S. flavida</i> (15.3)	[65]
(<i>E</i>)-Karyofillen	<i>S. flavida</i> (10.7)	[65]
Karyofillen alkol	<i>S. flavida</i> (1.5)	[65]
Karyofillen oksit	<i>S. flavida</i> (2.0)	[65]
Guayol	<i>S. flavida</i> (3.5)	[65]

Tablo 2.5. (Devam) *Scabiosa* türlerinde tespit edilen uçucu bileşikler

Madde	<i>Scabiosa</i> Türü (% Bileşik)	Kaynak
Kampesterol	<i>S. isetensis</i> (1.8)	[43]
	<i>S. ochroleuca</i> (5.0)	[43]
n-Hekzadekanoik asit (Palmitik asit)	<i>S. ochroleuca</i> (5.6)	[43]
1-epi- α -Kadinol	<i>S. flavida</i> (3.7)	[65]
β -Ödesmol	<i>S. flavida</i> (2.7)	[65]
α -Ödesmol	<i>S. flavida</i> (1.0)	[65]
α -Kadinol	<i>S. flavida</i> (1.1)	[65]
Kafur	<i>S. arenaria</i> (17.48)	[15]
	<i>S. isetensis</i> (0.4)	[43]
α -Santonin	<i>S. isetensis</i> (10.6)	[43]
	<i>S. ochroleuca</i> (21.8)	[43]
α -Pinen	<i>S. flavida</i> (3)	[65]
α -Terpineol	<i>S. flavida</i> (2.7)	[65]
o-Simen	<i>S. isetensis</i> (1.6)	[43]
	<i>S. ochroleuca</i> (1)	[43]
α -Kopaen	<i>S. flavida</i> (3.7)	[65]
Sabinen	<i>S. arenaria</i> (3.46)	[15]
γ -Kadinen	<i>S. flavida</i> (1.6)	[65]
δ -Kadinen	<i>S. flavida</i> (2.4)	[65]
Germakren D	<i>S. arenaria</i> (1.22)	[15]
α -Humulen	<i>S. flavida</i> (7.9)	[65]
Tetradeken	<i>S. atropurpurea</i> (24.1)	[31]
(<i>E</i>)- β -iyonon	<i>S. atropurpurea</i> (20.7)	[31]
Dihidroaktinidiolid	<i>S. atropurpurea</i> (26.1)	[31]
Trikozan	<i>S. flavida</i> (15.5)	[65]

2.4 Antioksidan Aktivite Çalışmalarının Önemi

2.4.1. Serbest radikaller

Son yörüngesinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran atom veya moleküller serbest radikaller olarak adlandırılmaktadır. Serbest radikaller eşlenmemiş elektron bulundurdıkları için kararlı yapıda değildir ve diğer maddelerle reaksiyona girerek kararlı hale geçme yönünde eğilimleri bulunmaktadır [66]. Dolayısıyla stabil olmadıkları için ve diğer moleküllerden elektron yakalamaya çalışırlar [67]. Kararlı halde bulunup, eşlenmemiş elektronu mevcut olmayan ve diğer maddeler ile radikallerden daha zayıf bir şekilde reaksiyona giren moleküller ise nonradikallerdir [68].

Serbest radikaller oksijen veya nitrojen kaynaklı olabilir. Reaktif oksijen türlerine süperoksit, hidroksil, peroksil, lipid peroksil-, ve alkoksil radikalleri; Reaktif nitrojen türlerini ise nitrik oksit ve nitrojen dioksit örnek verilebilir. Reaktif oksijen türleri ve Reaktif nitrojen türevleri radikal olmayan reaktif türlere kolay bir şekilde dönüşebilmektedir. Genellikle oksidanlar olarak isimlendirilen nitrik asit (HNO₂), singlet oksijen (¹O₂), hidrojen peroksit (H₂O₂), dinitrojen trioksit (N₂O₃), ozon (O₃), hipokloröz

asit (HOCl), nitrik asit (HNO₂), peroksinitrit ve lipid peroksit (LOOH) ise serbest radikaller arasında yer almazlar. Bu oksidanlar patolojik ve fizyolojik durumlar altında canlılar tarafından üretilir ve canlı organizmada kolaylıkla serbest radikal reaksiyonlarına yol açabilmektedir [66].

Serbest radikaller, vücudun normal metabolik olayları sonucunda sürekli olarak üretilmektedirler ancak üretim hızları bazı yangısal veya diğer hastalık şartlarında artar. İnsan ve hayvan vücudunda serbest radikallerinin sayısının artmasına bağlı olarak ortaya çıkan; hücre hasarları, mide-bağırsak hastalıkları, infertiliteye, kardiyovasküler hastalıklar, solunum ve boşaltım sisteminde bozukluklara kadar çok sayıda hastalığa sebep olabilmektedirler. Serbest radikallerin düzeyi ile ilişkili olan bu hastalıkların önüne geçmek için oksidan maddelerin antioksidanlarla dengede olmasını sağlamak hedeflenmelidir [69].

2.4.2. Antioksidanların önemi

Serbest radikaller aerobik metabolizma esnasında hayvan ve bitkilerde üretilerek memeli ve bitkilerde lipid peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı ile hücrelerin ölmesine neden olmaktadır. Birçok rahatsızlığı beraberinde getirdiği gibi yaşlanma da, serbest radikallerin fazla birikiminden veya hücrenin tamir yeteneğini bozmasından kaynaklanmaktadır.

Serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek, bu maddelerin meydana getirdiği hasarları engelleme ve atılımını sağlamak üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” veya “antioksidanlar” adı verilir [66]. Antioksidanlar, radikallerle çok hızlı bir şekilde tepkimeye girerek peroksidasyonun ilerlemesini engelleyen maddelerdir [70]. Antioksidanların rolleri, serbest radikallerin toksik etkilerine karşı hücreleri korumak, fazlasını etkisizleştirmek ve hastalıkları önlemede yardımcı olmaktır [71].

İnsanda bulunan antioksidanlar ya vücut tarafından doğal olarak üretilirler ya da dışarıdan ilave olarak alınırlar [72]. Bu kapsamda, endojen ve eksojen olmak üzere iki grup altında incelenir. Endojen kaynaklı antioksidanlar ise nonenzimatik ve enzimatik antioksidanlar olarak iki alt grupta sınıflandırılır [73]. Enzimatik savunma hattını oluşturan enzimsel antioksidanlar; Glutasyon peroksidaz (GPx) Glutasyon redüktaz (GR), Süperoksit dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) dır [74, 75]. Koenzim Q10, α -lipoik asit, transferrin, ürik asit, melatonin, glutasyon, bilirubin, albümin, selenyum ve

seruloplazmin enzimsel olmayan antioksidanlar hattını oluştururlar. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar ve vitamin eksojen antioksidanlar olmak üzere eksojen kaynaklı antioksidanlar iki grupta incelenir. Dışarıdan alınan vitamin kaynaklı antioksidanlar; Vitamin A, B9, C, E'dir [70, 76].

2.4.3. Antioksidan aktivite tayinleri

Antioksidan aktivite tayinleri hidrojen atomu transferine dayanan yöntemler ve elektron transferi olmak üzere iki grup altında incelenir.

2.4.3.1. Hidrojen atomu transferine dayanan yöntemler

1. Oksijen radikali absorplama kapasitesi (ORAC),
2. Toplam radikal yakalama gücü (TRAP),
3. İnhibe edilmiş oksijen harcama (IOU),
4. Krosin soldurma yöntemi,
5. Linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme yöntemi,
6. LDL oksidasyonunu inhibe etme yöntemi; antioksidan aktivite tayinlerinden hidrojen atomu transferine dayanan yöntemler arasında yer almaktadır.

2.4.3.2. Elektron transferine dayanan yöntemler

1. Bakır (II) indirgeme kapasitesi,
2. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalini süpürme etkisi,
3. TEAC (troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite),
4. FCR ile toplam fenolik madde miktar tayini
5. FRAP (demir iyonu indirgeme antioksidan parametresi); antioksidan aktivite tayinlerinden elektron transferine dayanan yöntemler arasında yer almaktadır [77].

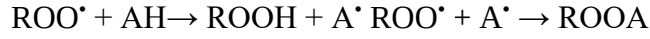
2.4.3.1.1. Oksijen radikali absorplama kapasitesi (ORAC)

ORAC testi, çeşitli vitaminlerin, fitokimyasalların ve diğerk organik ve inorganik bileşiklerin antioksidan aktivitesini ölçmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir [78]. ORAC yöntemi, flöresan özellikte molekülün, peroksil radikalleriyle girdiğı tepkime sonucunda flöresan özelliğinin oksidatif bozunmasını ölçme esasına dayanmaktadır.

Bu yöntemde peroksil radikali flöresans özellik gösteren bir molekülle flöresans özelliği bulunmayan bir ürün oluşturma amacıyla tepkime verir.

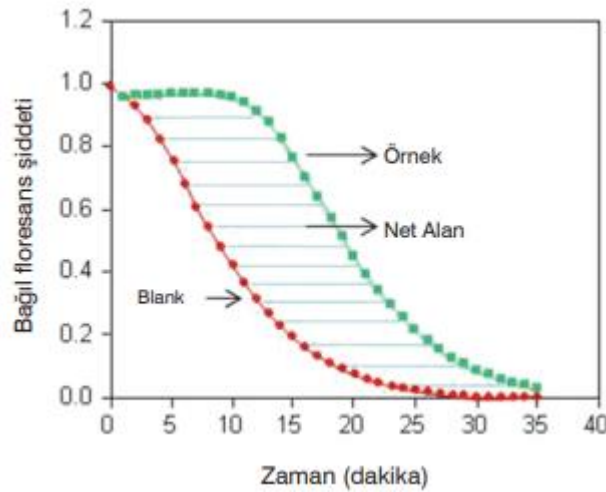


$ROO^* + \text{prob} \rightarrow ROOH + \text{okside olmuş prob}$ (Reaksiyon sonunda flöresansta azalma gözlenmiştir.)



AH: H donör

Antioksidanın koruyucu etkisi, flöresans bozunma eğrisinin altındaki integrale edilmiş net alanının hesaplanmasıyla bulunur (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. ORAC yöntemiyle antioksidanın koruyucu etkisinin, floresans bozunma eğrisinin altındaki integrale edilmiş net alandan hesaplanması.

ORAC testi, güvenilirlik, yüksek hassasiyet, zincir kırıcı antioksidanların antioksidan aktivitelerini ölçme yeteneği gibi avantaja [78, 80]; reaksiyon sıcaklığı duyarlı tepkimeler içerdiğinden plaka boyunca sıcaklık kontrolünün denetlenmesi önemlidir [81].

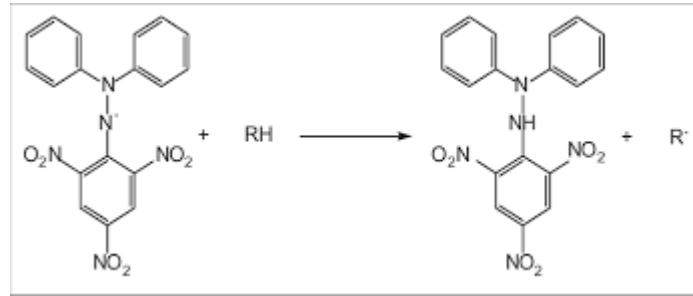
2.4.3.2.2. β -Karoten soldurma testi

β -Karoten soldurma testi, linoleik asitin ısı etkisi ile oksitlenerek peroksit türevleri oluşturmaları ve bu türevlerin β -karoten'in rengini ağartması prensibine göre gerçekleşen hidrojen transferine dayalı bir yöntemdir. Analiz sırasında β -karoten'in sulu ortamda dağılımının daha iyi sağlanması için Tween 20, linoleik asit ve emülgatör görevi görür.

Çözeltiye antioksidan ajanın ilavesiyle β -karoten'in renk solmasında gecikme yaşanır ve renkteki farklılık spektrofotometrik olarak ölçülerek, ajanın antioksidan kapasitesinin tayini yapılır [82].

2.4.3.2.3. DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürücü etki

DPPH[•] radikali, kararlı organik azot radikalidir. Rengi koyu menekşedir. Bu metot DPPH radikalinin antioksidanlar tarafından bir redoks reaksiyonuna bağlı olarak süpürülmesi temeline dayanır [83] (Şekil 2.2).

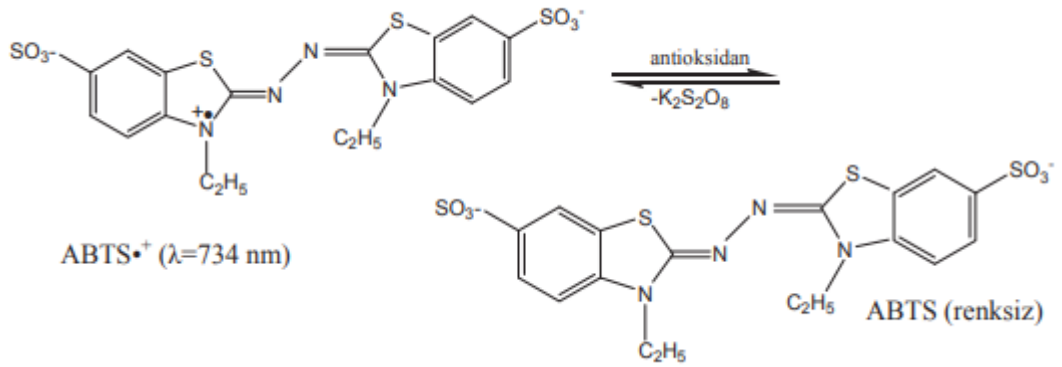


Şekil 2.2. DPPH'nin yapısı ve bir antioksidan tarafından indirgenmesi

Tepkime sonunda antioksidanların serbest radikal süpürücü etkileri 517 nm'de spektrofotometrik olarak tayin edilir [83].

2.4.3.2.4. TEAC (Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite)

Re ve arkadaşlarının geliştirdiği TEAC metodu, ilk kez Miller ve Rice-Evans tarafından 1993 yılında kayıtlara geçmiştir [79, 84]. Bu metotla, 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS)'in persülfatla oksidasyonu, ABTS^{•+} radikali meydana gelir (Şekil 2.3).

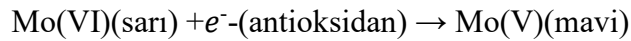


Şekil 2.3. 2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) 'nin persülfatla oksidasyonu

ABTS•+ radikal çözeltisine antioksidan ajan ilave edilmesiyle ABTS•+ indirgenir. ABTS•+ radikali, toplam radikal süpürme kapasitesini tayin etmede kullanılır. Absorbans değerlerinde meydana gelen değişiklikler ise 734 nm'de spektrofotometrik olarak tayin edilir [85].

2.4.3.2.5. FCR ile toplam fenolik madde miktar tayini

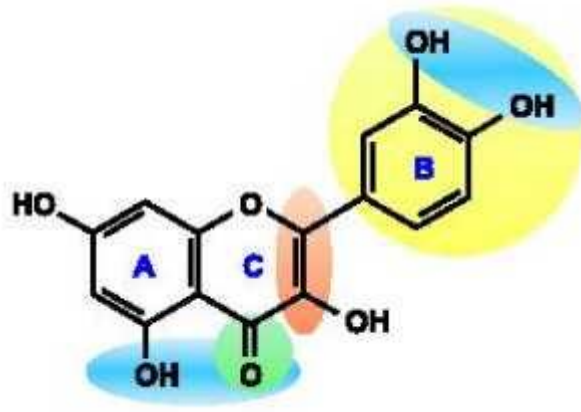
Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile numunelerin bazik ortamda indirgeme kapasitesinin ölçülmesi esasına dayanır (Sodyum karbonat çözeltisi, Ph:10). Kimyasal tepkimenin aktif merkezi Mo(VI) dir. Deney sırasında gerçekleşen reaksiyon aşağıdaki gibidir:



Reaksiyon sonucunda oluşan mavi renkli kompleks 760 nm'de spektrofotometrik olarak tayin edilir. Çoğunlukla standart olarak gallik asit tercih edilir ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak (mg/L) değerlendirilir [81, 86].

2.4.3.2.6. Toplam flavonoit miktar tayini

Numunelerdeki toplam flavonoit miktarının belirlenmesi, bileşiklerin AlCl_3 reaktifi ile tepkimesinden meydana gelen renkli kompleks bileşenlerin absorbans değerlerinin tayin edilmesi esasına dayanmaktadır [87] (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Flavonoidlerin klasik antioksidan kapasitelerini belirlemede önemli olan özellikleri

Tayinde flavonoidler $AlCl_3$ reaktifi aracılığıyla yeşil veya sarı renkli kompleksler oluştururlar. Reaksiyon sonucunda numunelerde bulunan toplam flavonoid miktarı karışımın absorbanans değerleri 415 nm’de spektrofotometrik olarak tayin edilerek rutine/kerasetin eşdeğer olarak hesaplaması yapılır [87].

2.5. Antidiyabetik Araştırmaların Önemi

Diabetes mellitus, insülin hormon salımının (sekresyonunun) ve insülin etkisinin yetersizliği sonucu yağ, protein ve karbonhidrat metabolizmasında bozukluğa neden olan kronik bir metabolizma hastalığıdır [88]. Hastalıkta temel problem, glisemik kontrolün dengesizleşmesidir. Kandaki glukoz düzeyinin yüksek olması sonucu; serebral, miyokardiyal ve periferik damar hastalıkları makrovasküler komplikasyonlar ile nöropati, nefropati ve retinopati gibi mikrovasküler komplikasyonlara sebep olmaktadır [89]. Diyabet; popülasyonun artışına, yaşlı nüfusun artmasına, hareketsiz yaşam şeklinin benimsenmesiyle prevalans oranı artan, doğru tedavi gerçekleşmediğinde ise mortalite ve morbidite hızında artışa sebep olan bir hastalıktır. Uygun tedavi ve doğru zamanda teşhis ile hasta bireylerin hayat kalitesi artırılabilir, mevcut şikâyetlerin önüne geçilebilir, hatta bazı bireylerin erken teşhis ile hastalığa yakalanması önlenir. Bu amaçlar göz önünde bulundurulduğunda antidiyabetik çalışmaların günümüzdeki önemi daha da iyi kavranmaktadır [90].

2.5.1. α -Amilaz enzim inhibitörleri

Tip 2 diyabetin tedavisinde farklı yöntemler mevcuttur, bu yöntemlerden biri α -amilaz enziminin inhibisyonudur.

α -Amilaz, glikozidik bağlantıların hidrolizini katalizleyen; bitkiler, mikroorganizmalar ve hayvan salgılarında yaygın olarak bulunan enzimlerden biridir. İnsan diyetinin ana bileşenlerinden birini karbonhidratlar, karbonhidratların önemli kısmını ise nişasta oluşturmaktadır. α -Amilaz, nişasta moleküllerinin iç kısımlarındaki α - (1→4) glukozid bağlarını hidroliz ederek, nişastayı bir disakkarit olan maltoza parçalayan enzimdir [91-93].

α -Amilaz enzim inhibitörleri, karbonhidratların parçalanmasını yavaşlatarak, glukoz emilim hızının yavaşlamasına sebep olurlar. Böylelikle kandaki glukoz düzeyi azaltılmış olmaktadır. Akarboz, pankreatik α -amilaz için iyi inhibitör olup tip 2 diyabetin tedavisinde kullanılan bir bileşiktir [94].

2.5.1.1. α -Amilaz inhibisyon testi

Diabetes mellitus tedavisinde kullanılan α -amilaz enzim inhibitörleri *in-vitro* ortamda tepkime gerçekleştirebilmektedir. Tepkime için α -amilaz enziminin yanı sıra nişasta çözeltisi ve potasyum iyodür (KI) kullanılmaktadır. Nişasta α -amilaz enzimi tarafından oligomerlere kadar hidroliz edilmektedir. Hidroliz sonucunu değerlendirme amacıyla indikatör olarak iyot ilave edildiğinde iyodun renginde değişiklik gözlenmez. Ortama α -amilaz enzim inhibitörü ilavesiyle nişastanın parçalanmasının önüne geçilir; oluşan kompleksin rengindeki değişiklik 630 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülerek α -amilaz enzim inhibisyonu analiz edilir [95].

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Bitkisel Materyal

Çalışmalarda kullanılan SP-1 kodlu bitki Sivas, Kangal-Gürün yol ayrımı, 05/07/2014 tarihinde toplanmıştır. Bitkinin tayini Doç. Dr. Mehmet Tekin (Trakya Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik AbD) tarafından yapılmış olup (Kod: 1621) Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda kayıtlıdır.

SP-2 kodlu bitki Eskişehir-Kütahya yolu 790 m 17/06/2021 tarihinde toplanmıştır. Bitki teşhisi Dr. Ömer Koray Yaylacı (Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik AbD) tarafından yapılmış olup (Kod:15843) Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda kayıtlıdır (Şekil 3.1).

Toplanan her iki bitki örneği de gölgede serin bir ortamda kurutulmuştur.



Şekil 3.1. SP-2 kodlu bitkinin genel görünüşü

3.2. Kimyasal Maddeler

Proje kapsamında gerçekleştirilen fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmalarında kullanılan kimyasal madde ve çözücüler Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kimyasal maddeler ve kaynakları

Kimyasal Madde	Kimyasal Formül/Kısaltma	Kaynak
2,2’-Azino-bis (3 etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit	ABTS ⁺ •	Sigma-Aldrich, Almanya
2,2,-Azobis (2-metilpropinamidin) dihidroklorür	AAPH	Sigma-Ald., Fransa

Tablo 3.1. (Devam) *Kimyasal maddeler ve kaynakları*

Kimyasal Madde	Kimyasal Formül/Kısaltma	Kaynak
Akarboz	C ₂₅ H ₄₃ NO ₁₈	Sigma-Aldrich, Almanya
α -Amilaz (porcine pankreatik)		
Alüminyum klorür	AlCl ₃	Merck, Almanya
Asetik asit	CH ₃ COOH	Sigma-Aldrich, Almanya
Asetonitril	ACN	Sigma-Aldrich, İngiltere
β -Karoten	C ₄₀ H ₅₆	Fluka, ABD
Borontriflorür	BF ₃	Merck, Almanya
Bütillenmiş hidroksi anisol	BHA	Sigma-Ald., Almanya
Bütillenmiş hidroksi toluen	BHT	Sigma-Aldrich, Almanya
Çözünür nişasta	(C ₆ H ₁₂ O ₆) _n	Sigma-Aldrich, İngiltere
Dietil eter	C ₄ H ₁₀ O	J.T. Baker, Hollanda
Difenil Pikril Hidrazil	DPPH	Sigma-Aldrich, ABD
Dimetil sülfoksit	DMSO	Sigma-Ald., ABD
Disodyum fosfat	Na ₂ HPO ₄	Sigma-Ald., Fransa
Etanol	C ₂ H ₅ OH	Sigma-Aldrich, Almanya
Formik asit	HCOOH	Sigma-Aldrich, Almanya
Folin-Ciocalteu reaktifi	FCR	Sigma-Aldrich, İsviçre
Gallik asit	GA	Sigma-Aldrich, Çin
Hidroklorik asit	HCl	Sigma-Ald., Almanya
<i>n</i> -Hekzan	C ₆ H ₁₄	Merck, Almanya
İzopropil alkol	IPA	Sigma-Ald., Almanya
İyot	I	Sigma-Ald., Almanya
Kalsiyum klorür	CaCl ₂	Fluka, Almanya
Kersetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	Sigma- Ald., Almanya
Kloroform	CHCl ₃	Sigma-Ald., Fransa
Linoleik asit	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	Sigma-Ald., ABD
Metanol	CH ₃ OH	Merck GmbH (Darmstadt, Almanya)
Nişasta	(C ₆ H ₁₀ O ₅) _n	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD)
Potasyum hidroksit	KOH	Sigma-Ald., Almanya
Potasyum iyodür	KI	Sigma-Ald., Almanya
Potasyum persülfat	K ₂ S ₂ O ₈	Sigma-Ald., Almanya
Rozmarinik asit	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	Sigma-Ald., Fransa
Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Sigma-Ald., Fransa
Susuz sodyum sülfat	Na ₂ SO ₄	Sigma-Ald., Almanya
Sodyum dihidrojen fosfat	NaH ₂ PO ₄	Sigma-Ald., Fransa
Sodyum hidroksit	NaOH	Merck, Almanya
Sodyum karbonat	Na ₂ CO ₃	Merck, Almanya
Sodyum klorür	NaCl	Riedel de Haen, Almanya
Troloks	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	Sigma-Ald., Almanya
Tip 1 ultra saf su	-	Direct-Q® Water Purification System (Germany)
Tween-20	C ₅₈ H ₁₁₄ O ₂₆	Merck, Almanya

3.3. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

Proje kapsamında yapılan deneysel çalışmalarda kullanılan alet ve cihaz bilgileri Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. *Kullanılan alet ve cihazlar*

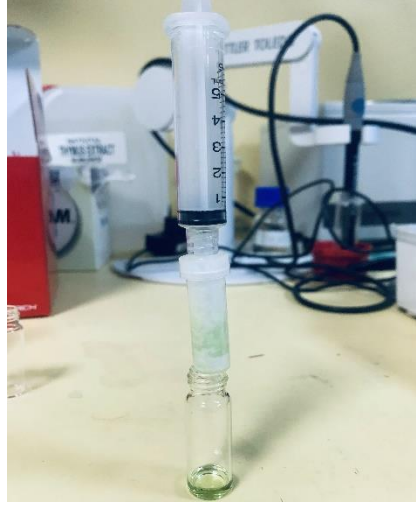
Cihaz	Cihaz Bilgileri
Bio-II-A/G Güvenlik Kabini	Telstar
Buzdolabı (-20 ve +4)	Bosch
Clevenger	EP'ne uygun
Çeker ocak	
ELISA mikropalak okuyucusu	Biotek Powerwave XS
Etüv	WTB Binder
GC/FID	Agilent 6890N SEM Ltd, İstanbul, Türkiye
GC/MSD sistemi	Agilent 5975 (USA; SEM Ltd., İstanbul, Türkiye
Hassas Terazı	Metler Toledo, NewClassic MS
96-kuyucuklu eliza plakları	Iso Lab, Katalog no: 122.01.096
LC MS/MS sistemi	Q Trap instrument, negatif iyon modda çalışan donanımlı ESI kaynağı, Absciex 3200 Q trap MS/MS dedektör
Manyetik karıştırıcı	IKO KS260
Mekanik Çalkalayıcı	GFL
Mikro-plak okuyucu	Biotek Powerwave XS
Otomatik pipetör	8-12 kanallı Eppendorf Research plus
Otoklavlanabilir Mikropipetler	0,5-10 µL/2-20 µL/20-100 µL/100-1000 µL, Iso Lab
pH Metre	WTW series, InoLab, pH720
Rotavapor sistemi	Heidolph Instrument, Laborota 4010-Digital
Santrifüj	Eppendorf, 5804
Spektrofotometre	UV-PharmaSpec 1700, Shimadzu
Ultrasonik su banyosu	Elma, S100H
UV-Vis Spektrometresi	Shimadzu, UV-PharmaSpec 1700
Liyofilizatör	Labconco FreeZone 2.5 Litre Tezgahüstü Dondurularak Kurutma Sistemi
SPME holder	Supelco, USA
SPME fiber	65 µm, "blue-tip", Polidimetilsiloksan / Divinilbenzen
Vorteks	Heidolph

3.4. Uçucu Yağ Eldesi

Kurutulmuş bitkisel materyal sap-yaprak, çiçek ve kök olarak 3 kısma ayrıldıktan ve uygun boyutlara getirildikten sonra yaprak ve dalları, Avrupa Farmakopesine uygun olarak Clevenger apareyinde 3 saat boyunca su distilasyonuna tabi tutulup uçucu yağı elde edilmiştir (Ph. Eur., 2005). Uçucu yağın verimi hesaplanarak, yağ örneği amber cam vialle aktararak buzdolabında +4°C’de saklanmıştır.

3.5. Sabit Yağ Asitlerinin Eldesi

Sabit yağ asitleri ekstraksiyonu kurutulmuş bitkinin çiçeklerinden gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Fatty Acid Extraction Kit kullanılmıştır [96]. Deneyde iki bitkinin öğütülmüş çiçek ve yapraklarından ayrı ayrı, 0.2 g tartılıp kitin içinde bulunan 3 mL çözücü içinde homojenize edilmiştir (15.000 rpm, 5 dk). Süre sonunda faz ayrımı için 1 dk bekletildikten sonra organik faz pasteur pipet ile alınmıştır. Ekstrenin üzerine kitin içinde bulunan 0.5 mL tampon çözücü eklenmiştir. Karışım vortex ile 1 dk karıştırılmıştır. Faz ayrımı gerçekleştikten sonra organik faz kısmı alınarak kitin içinde bulunan kartuş katı fazından geçirilmiştir (Şekil 3.2). Bu işlem sonunda elde edilen ekstre toplam lipidleri içermektedir. Ekstrenin içinde bulunan sabit yağ asitlerinin analizi için trans esterifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, elde edilen ekstre 200 µL’lik sıvı alınarak azot gazı altında kurutulmuş ve üzerine 1 mL Boron Triflorür (BF₃) reaktifi ve 0,3 mL *n*-hekzan eklenerek geri çeviren soğutucu altında 95°C’de 1 saat ısıtılmıştır. Süre sonunda, karışımın üzerine 1 mL saf su ve 1 mL *n*-hekzan eklenmiştir. Karışım vortex ile karıştırılmış, 1 dk bekletilmiş ve faz ayrımı gerçekleştikten sonra organik faz alınmıştır. Elde edilen ekstre yağ asitlerinin metil esterlerinin karışımıdır. Gaz kromatografik analizi öncesinde, karışım azot gazı altında yoğunlaştırılmıştır. Elde edilen sabit yağ asiti metil esterleri amber vial içinde +4°C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2. Toplam lipitleri içeren ekstrenin katı faz kartuşundan geçirme işlemi

3.6. Ekstrelerin Elde Edilmesi

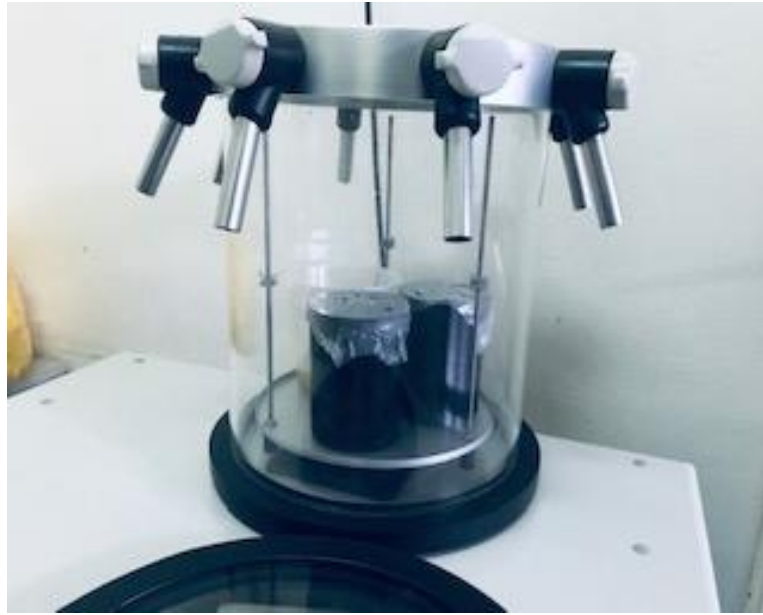
İki bitkisel materyalden farklı polaritedeki çözücüler ile üç ayrı ekstre hazırlanmıştır. Bu amaçla, kurumuş bitkinin toprak üstü kısımları (15.0 g, odunlaşmış sapları hariç) uygun boyuta getirildikten sonra cam balonda 48 saat $\times 2$ sırayla *n*-hekzan, metanol ve su ile çalkalayıcıda masere edilmiştir (Şekil 3.3). 48 saatin sonunda ekstreler pileli filtre kağıdından süzülerek taze çözücü eklenmiştir. Süre sonunda 2. ve 4. gün elde edilen ekstreler birleştirilmiş ve organik çözücüler rotavaporda düşük basınç altında uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.4). Sulu ekstreler liyofilizasyon yöntemiyle kurutulmuştur (Şekil 3.5). Ekstrelerin verimleri kuru baz üzerinden hesaplanmıştır. Elde edilen tüm ekstreler amber vial içinde $+4^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.3. Ekstrelerin karıştırıcıda maserayona bırakılması



Şekil 3.4. Ekstrelerdeki çözücülerin rotavaporla uzaklaştırılması



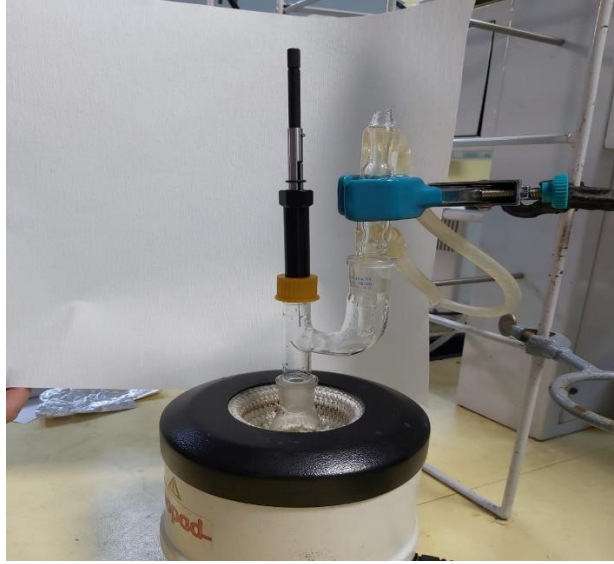
Şekil 3.5. Su ekstresinin liyofilizatörde kurutulması

3.7. Uçucu Bileşiklerin Ekstraksiyonu

MSD-SPME Tekniği (Mikro Buhar Distiasyonu – Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu)

Türlerin yaprak ve çiçeklerine ait uçucu bileşenler, MSD-SPME tekniği ile ekstre edilmiştir. Bu amaçla 0.5 g yaprak ve çiçekleri ayrı ayrı cam balona konulmuştur, üzerine 3 mL su eklenerek MSD-SPME tekniği uygulanmıştır. Uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu

için 65µm “mavi” fiber ucu (adsorban: polidimetilsiloksan-divinilbenzen) kullanıldı. Ekstraksiyon süresi 3 dakika olarak uygulanmıştır. Ekstraksiyon için kullanılan MSD-SPME düzeneği Şekil 3.6.'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Ekstraksiyon için kullanılan MSD-SPME düzeneği

3.8. Gaz Kromatografik Analizi

Elde edilen uçucu yağın ve sabit yağ metil esterlerin kimyasal kompozisyonları, gaz kromatografisi tekniğiyle incelenmiştir. Bu teknikte uçucu yağ çözeltisi *n*-hekzan içinde (%10, v/v) hazırlanmıştır. Sabit yağ asitlerinin metil esterlerinin çözeltisi analiz öncesi *n*-hekzan ile seyreltilerek analiz için hazırlanmıştır.

Uçucu yağın ve sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonları GC-FID ve GC/MS teknikleriyle aydınlatılmıştır (Şekil 3.7). Her iki analiz için de HP-Innowax FSC kolonu (60 m × 0.25 µm, 0.25 µm film kalınlığı, Agilent, Walt & Jennings Scientific, Wilmington, DE, USA) ve taşıyıcı gaz olarak helyum gazı kullanılmıştır. Fırın 60°C’de 10 dakika kaldıktan sonra 220°C’ye dakikada 4°C ile çıkıp, 220°C’de 10 dakika kalıp, 240°C’ye dakikada 1°C ile çıkmak üzere programlanmıştır. Split oranı 40:1 olarak seçilmiştir. Alev iyonlaşma detektörü ve enjektör 250°C’de tutulmuştur. Kütle spektrumu 70 eV, kütle menzili 35-450 *m/z* seçilmiştir [97].

3.9. Uçucu Bileşiklerin Teşhisi

Maddelerin tanımlanmasında tutunma zamanları ve kütle spektrumları standartlara ve literatür bilgilerine paralel olarak değerlendirilmiştir. Wiley GC/MS Library (Wiley, New York, NY, USA) (<http-3>), MassFinder software 4.0 (Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg) [98], Adams Library [99] ve Başer Library of Essential Oil Constituents [100] kaynak olarak kullanılmıştır. Madde miktarların belirlenmesinde alev iyonlaşma dedektöründen (FID) elde edilen piklerin yüzde alanları kullanılmıştır.



Şekil 3.7. GC-MS ve GC-FID sistemi

3.10. Toplam Fenol Miktar Tayini

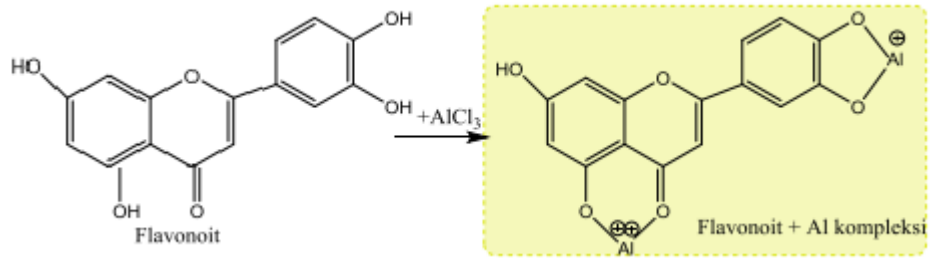
Türlerden elde edilen ekstrelerin toplam fenolik miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanarak spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir. Deneyde, 96-kuyucuklu mikroplağa 20 μ L numune çözeltisi (1 mg/mL, %10 DMSO'lu metanol) üzerine, 1.56 mL saf su ve 300 μ L Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. 300 μ L %20'lik Na_2CO_3 çözeltisi ilave edilip, 2 saat 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda otomatik pipetör kullanarak derin kuyucuktaki karışımdan 300 μ L 96-kuyucuklu mikroplağa aktarılıp 760 nm'de absorbans ölçümleri alınmıştır. Deneyde gallik asit kalibrasyon eğrisi farklı konsantrasyondaki çözeltileri kullanarak (1; 0.8; 0.6; 0.4; 0.2; 0.1 mg/mL) elde edilmiştir. Sonuçlar 3×3 tekrar üzerinden değerlendirilmiştir [86, 101]. Kalibrasyon eğrisi denklemi kullanarak ekstrelerdeki toplam fenol miktarı, g ekstrede mg gallik asite eşdeğer olarak (mgGAE/g ekstre) hesaplanmıştır.

Reaktiflerin Hazırlanması:

- 1) Gallik asit çözeltisi: 1 mg/mL gallik asit çözeltisi metanolde hazırlanarak 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 mg/mL oranlarında seyreltilmiştir.
- 2) Sodyum karbonat çözeltisi: 20 g sodyum karbonat (Na_2CO_3) tartılarak 100 mL suda çözülmüştür.

3.11. Toplam Flavonoid Miktar Tayini

Ekstrelerdeki toplam flavonoid miktarı rutin ve kersetine eşdeğer miktarları üzerinden AlCl_3 reaktifi kullanılarak tayin edilmiştir. 96-kuyucuklu mikroyuğa 80 μL numune (1 mg/mL, %10 DMSO'lu metanollü uçucu yağ/ekstre/standart flavonoid) üzerine sırasıyla 80 μL AlCl_3 çözeltisi ve 1,84 mL absöü etanol eklenmiştir. Kör deneyde 80 μL numune üzerine AlCl_3 yerine 10 μL asetik asit (%15) ve 1,84 mL absöü etanol ilave edilmiştir. Plaklar karanlıkta 25°C'de 40 dk inkübe edilmiştir. Daha sonra kuyucuktaki karışımdan 300 μL alınarak 96-kuyucuklu mikroyuğlara aktarılıp plak okuyucuda absorbans değerlerinin 415 nm'de okuması yapılmıştır. Standart flavonoid olarak kullanılan rutin ve kersetin için kalibrasyon eğrisi çizilerek denklem ve R_2 değerleri elde edilmiştir. Deney 3×3 tekrar yapılarak sonuçlar hem rutine hem kersetine eşdeğer olarak hesaplanmıştır [102]. Deneyde yer alan tepkime mekanizması Şekil 3.8'de gösterilmiştir [103].



Şekil 3.8. Flavonoit ve AlCl_3 reaktifi arasında gerçekleşen tepkime

Reaktiflerin Hazırlanması:

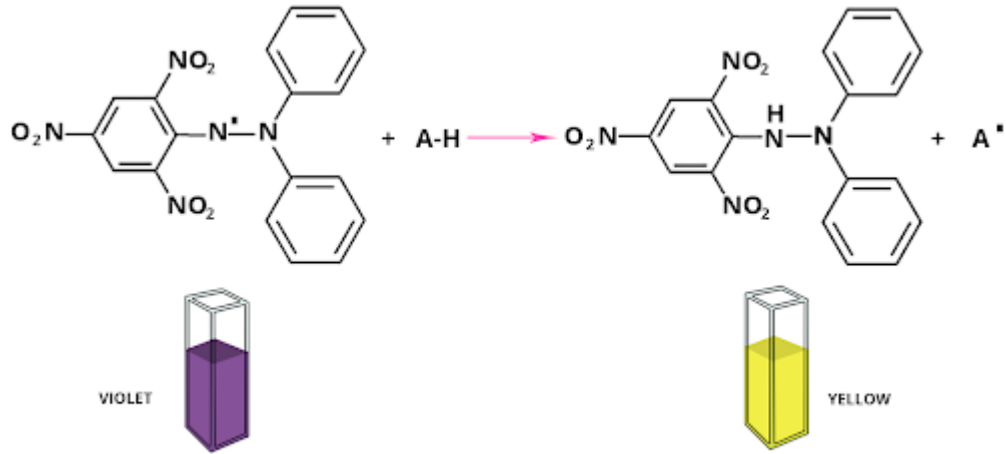
- 1) Alüminyum klorür çözeltisi: 2 g madde tartılıp 100 mL suda çözülmüştür.
- 2) Asetik asit çözeltisi: 15 mL asetik asit üzerine distile su eklenerek 100 mL'ye tamamlanmıştır (%15 v/v).
- 3) Kersetin çözeltisi: Kersetin 1 mg/mL konsantrasyonda metanolde hazırlanarak 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 mg/mL konsantrasyonlarına seyreltilmiştir.

3.12. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.12.1. Antioksidan aktivitenin incelenmesi

3.12.1.1. DPPH• serbest radikalini süpürücü etkinin incelenmesi

İlk kez 1958’de Blois tarafından antioksidan aktivite değerlendirmesi için kullanılan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) serbest radikali süpürücü etki deneyi; zamanla çalışma diğer araştırmacıların da katkılarıyla deneyin protokolünde modifikasyonlar yapılarak günümüzde uygulanan şekline dönüşmüştür. Elektron transferine dayalı olan antioksidan aktivite testidir. DPPH•, bir hidrojen atomu verebilen bileşiklerle reaksiyona giren kararlı bir serbest radikaldir. Bu method antioksidan maddenin etkisi ile DPPH• serbest radikalının DPPH molekülüne indirgenmesine dayanmaktadır. Antioksidanın serbest radikal süpürücü aktivitesi 517 nm’de absorpsiyon değişimine göre değerlendirilmektedir [104]. Yöntemde yer alan tepkime şematik olarak Şekil 3.9’da gösterilmiştir.



Şekil 3.9. Serbest radikal DPPH• ve antioksidan arasındaki tepkime

Uçucu yağ ve ekstre numunelerinin %10 DMSO’lu metanol içinde çözeltileri hazırlanmıştır (10 mg/mL, 5 mg/mL, 1 mg/mL). Deneyde, 96-kuyucuklu plak kuyusuna 100 µL numune (uçucu yağ/ekstre/standart antioksidan) 8-kanallı pipetör (Eppendorf Plus) kullanılarak aktarılmıştır. Üzerine 100 µL DPPH (0.08 mg/mL) çözeltisi ilave edilmiştir. Deneyde dilüsyon tekniği uygulanmıştır. Standart antioksidan olarak gallik asit çözeltisi kullanılmıştır. Karışım yarım saat karanlıkta inkübe edilmiştir. Süre sonunda mikropalak okuyucuda 517 nm’de absorbans değerleri ölçülerek numunelerin serbest

radikal süpürücü etkileri tayin edilmiştir. Sonuçlar 3×3 tekrar üzerinden hesaplanmıştır. Numunelerin serbest radikal süpürme etkisi inhibisyon yüzdesi olarak aşağıdaki denkleme (3.1) göre hesaplanmıştır.

$$\%Inh = \frac{Abs_{kontrol} - Abs_{numune}}{Abs_{kontrol}} * 100 \quad (3.1)$$

% İnhibisyon değerleri %50'nin üzerinde olan numuneler için IC₅₀ değerleri *SigmaPlot* programında hesaplanmış ve sonuçlar mg/mL cinsinden belirlenmiştir.

Reaktiflerin Hazırlanması:

- 1) DPPH çözeltisi: 2 mg 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) tartılıp 25 mL metanolde çözülüp karanlık ortamda muhafaza edilmiştir.
- 2) Gallik asit çözeltisi: 0.1 mg/mL olarak metanolde hazırlanmıştır.

3.12.1.2. Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasitenin incelenmesi

Ekstrelerin ve uçucu yağların Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite değerlendirilmesinde Re vd., 1999'da bildirdiği method kullanılmıştır [105]. Deney öncesi ABTS reaktifi taze olarak hazırlanmıştır. Bu amaçla ABTS ve potasyum persülfat sulu ortamda, oda sıcaklığında, karanlıkta 16 saat boyunca bekletilmiştir. Süre sonunda aktif hale gelen ABTS^{•+} aliquotu absolü etanol ile seyreltilmiştir. Standart antioksidan olarak Troloks (3; 2; 1; 0.5; 0.25; 0.1 mg/mL) kullanılmıştır. Uçucu yağ (5 mg/mL) ve ekstre numuneleri (10 mg/mL) %10 DMSO'lu metanol içerisinde hazırlanmıştır. Kontrol olarak ise numunelerin çözücüsü olan %10 DMSO'lu metanol kullanılmıştır.

Deneyde 96-derin kuyucuklu plak kullanılmıştır. Plakın kuyucuklarına 10 µL numune (uçucu yağ/ ekstre/ Troloks) çözeltisi ve üzerine 90 µL ABTS çözeltisi ilave edilip 30 dk oda sıcaklığında karanlık ortamda inkübe edilmiştir. Süre sonunda, 12-kanallı otomatik pipetör (Eppendorf) ile alınan 300 µL numune 96-kuyucuklu mikroyukla aktararak ve absorbans değerleri 734 nm'de ölçülmüştür.

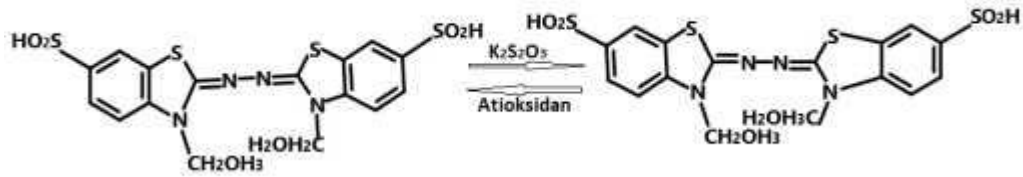
Troloks için kalibrasyon eğrisi çizilerek linear doğru denklemi elde edilmiştir. Bu denklem kullanılarak numunelerin 30 dk sonunda gösterdiği Troloksa eşdeğer antioksidan kapasiteleri hesaplanmıştır. İnhibisyon yüzde değerleri aşağıdaki denkleme (3.2) göre hesaplanmıştır:

$$\%Inh. = \left[\frac{Abs_{kontrol} - Abs_{numune}}{Abs_{kontrol}} \right] * 100 \quad (3.2)$$

Burada, $Abs_{kontrol}$ ve Abs_{numune} kontrol ve numunelerin 734 nm’de ölçülen absorbands değerleridir.

Reaktiflerin Hazırlanması:

- 1) ABTS reaktifi: 36 g (7 mM) ABTS ve 6.6 g (2.5 mM) potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) tartılarak 10 mL ultra saf suda çözülmüştür. Reaktifin aktif hale gelmesi için 16 saat boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Potasyum persulfat ($K_2S_2O_8$) etkisi ile ABTS oksitlenmiş ve aktif $ABTS^{++}$ serbest radikal katyonu oluşmuştur (Şekil 3.10). Süre sonunda bu stok çözeltiden 1 mL alınarak spektrofotometrede absorbandsı 0.700-0.800 arasına gelene kadar absolü etanol ile seyreltilmiştir.



Şekil 3.10. ABTS katyon radikalinin eldesi

- 2) Troloks çözeltisi: Standart antioksidan olarak Troloks çözeltileri (3.0; 2.0; 1.0; 0.5; 0.25; 0.125 mM) absolü etanolde hazırlanmıştır.

3.12.1.3. β -Karoten soldurma metodu

Bu yöntemde linoleik asidin oksidasyonundan doğan konjuge dien hidroperoksitler β -karoteni oksitleyerek renginin açılmasına neden olur. Ancak, reaksiyonun içine antioksidan etkili bileşenler girdiğinde peroksidasyon olayı inhibe edilerek β -karotenin renginin solması önlenir. Bundan dolayı uçucu yağlar (5 mg/mL) ve ekstrelerin (10 mg/mL) toplam antioksidan aktivitesi lipit peroksidasyonunu inhibe etme etkisinin tespiti amacıyla β -karoten soldurma yöntemi kullanılmıştır [101, 106]. Deneyde, 96-kuyucuklu plak kuyusuna 60 μ L numune (ekstre/uçucu yağ/BHA) otomatik pipetör (Eppendorf) kullanılarak konulmuştur. Deneyde numune çözeltisi için dilüsyon tekniği kullanılmıştır. Tüm karışımların üzerine 250 μ L emülsiyon çözeltisi eklenmiştir. Emülsiyon çözeltisi kullanılmadan önce iyice çalkalanmıştır. Mikroplak okuyucu 50°C’de 0. dakikadan

başlamak üzere 1 saat 45 dk boyunca her 15 dakikada bir 492 nm dalga boyunda ölçüm olacak şekilde programlama yapılmıştır. Sonuçlar aşağıda verilen denkleme (3.3) göre hesaplanmıştır [82].

$$\%AA = \left[1 - \frac{(Abs_0 \text{ numune} - Abs_{105} \text{ numune})}{(Abs_0 \text{ kontrol} - Abs_{105} \text{ kontrol})} \right] \times 100 \quad (3.3)$$

Burada, $Abs_0 \text{ numune}$ ve $Abs_{105} \text{ numune}$ 0. ve 105. dakikada numune için ölçülen absorbans değerleridir. $Abs_0 \text{ kontrol}$ ve $Abs_{105} \text{ kontrol}$ 0. ve 105. dakikada kontrol için ölçülen absorbans değerleridir.

Reaktiflerin Hazırlanması:

- 1) β -Karoten Çözeltisi: 1 mg β -karoten tartılıp 1 mL kloroformda çözülmüştür (1 mg/mL). Karışım amber renkli cam şişede hazırlanıp ve çözelti ışıktan korunmuştur.
- 2) Emülsiyon Çözeltisi: 200 mg Tween 20 ve 25 μ L linoleik asit cam kabın içinde karıştırılmıştır. Üzerine önceden hazırlanmış β -karoten çözeltisi (1 mL) eklenerek çözeltiler birleştirilmiştir. Cam kap alüminyum folyoyla sarılmış ve kloroform azot gazı altında uzaklaştırılmıştır. Bakiye üzerine 50 mL distile su eklenip iyice çalkalanmıştır.
- 3) BHA Çözeltisi: 0.2 mg BHA tartılıp 1 mL suda çözülmüştür (0.2 mg/mL).

3.12.1.4. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) testi

İki bitkiden elde edilen ekstreler (0-1 mg/mL) ve uçucu yağların (0-1 mg/mL) oksijen radikali süpürme etkisi ORAC yöntemiyle incelenmiştir. AAPH tarafından üretilen peroksil radikallerinin temizlenmesi prensibine dayanan bir metotla tayin edilmiştir [107]. Flöresan özelliğini söndürmesi prensibine göre flöresan prob olarak fluoresein, serbest radikal üreticisi olarak 2,2,-azobis(2-metilpropinamidin) dihidroklorür (AAPH) ve standart olarak Troloks kullanılmıştır.

96-kuyucuklu plakalara 25 μ L numune (uçucu yağ/ ekstre/ troloks) ve 150 μ L 4 nM fluorosein konulup 30 dakika boyunca 37°C ve ışıksız ortamda inkübe edilmiştir. Süre sonunda 25 μ L 225 mM AAPH radikali ilave edilip plakalardaki çözelti 10 saniye boyunca çalkalanmıştır. Daha sonra numuneler 180 dakika boyunca 485 nm dalga boyunda uyarılıp 535 nm dalga boyunda yayılım yapacak şekilde plak okuyucu spektrofotometreye bırakılarak dakika başı ölçümler kaydedilmiştir. Deneyde beş farklı

konsantrasyonda hazırlanan troloks çözeltisi kullanılmıştır (50; 25; 12.5; 6.25; 0 μ M). Sonuçlar troloksa eşdeğer olarak eğri altında kalan alan hesabı yapılarak hesaplanmıştır.

Reaktiflerin hazırlanışı:

- 1) $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ tamponu: 10.82 g Disodyum hidrojen fosfat ve 3.33 g sodyum dihidrojen fosfat tartılıp 800 mL ultra saf suda çözünmüştür. HCl ve NaOH çözeltileriyle pH 7.4 olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra çözelti saf su ilavesi ile 1 L' ye tamamlanmıştır. (0.075 M, pH:7.4)
- 2) AAPH radikali: 203.4 mg 2,2'-Azobis (2-amidinopropan) dihidroklorür tartılıp 333 mL fosfat tamponunda çözölmüştür. (225 mM)
- 3) Fluoresein: 15 mg fluoresein tartılıp 10 mL tampon çözeltisinde çözünerek stok çözeltisi hazırlanmıştır. Stok çözelti 4°C' de muhafaza edilmiştir. Stok çözeltiden alınan 50 μ L fluoresein 49.95 mL tampon ile 1000 kat seyreltilmiştir (4 nM). Stok çözeltiden seyreltilerek hazırlanan çözelti günlük taze olarak kullanılmıştır.
- 4) Numune çözeltisi: Numune çözeltileri %10 DMSO içeren tampon çözeltide aşağıdaki gibi hazırlanmıştır: Ekstreler 10 mg/mL, uçucu yağlar 5 mg/mL, Troloks çözeltisi 200; 100; 50; 25; 12.5; 6.25; 0 μ M' dır.

3.12.2. Antidiyabetik aktivite testi

3.12.2.1. α -Amilaz inhibisyon testi

Türlerin uçucu yağları ve ekstrelerinin α -amilaz enzim inhibisyonunun (antidiyabetik etki) incelenmesi için Caraway-Somogyi iyodür/potasyum iyodür (I/KI) yöntemi kullanılmıştır [108]. Deneyde, 96-kuyucuklu plak kuyusuna 50 μ L numune (ekstre/ uçucu yağ/ akarboz) otomatik pipetör (Eppendorf) kullanılarak konulmuştur. Deneyde dilüsyon tekniği kullanılmıştır. 96-kuyucuklu plak kuyusuna 50 μ L enzim çözeltisi eklenmiştir. Her numune için ayrıca blank olarak kullanılacak kuyusuna 50 μ L tampon çözeltisi eklenmiştir. Karışım, ışısız ortamda 37°C'de 10 dk süre ile inkübe edilmiştir. Süre sonunda tüm karışımların üzerine 50 uL nişasta çözeltisi eklenmiştir. Karışım, ışısız ortamda 37°C'de 10 dk süre ile inkübe edilmiştir. Süre sonunda tüm karışımların üzerine sırasıyla 25 μ L HCl çözeltisi ve 100 μ L I_2 / KI reaktifi eklenmiştir. Absorbans değeri plak okuyucuda 630 nm'de ölçölmüştür.

Deney 3×3 tekrar yapılmıştır ve ortalama, standart sapmaları hesaplanmıştır. α -Amilaz aktivitesinin yüzde inhibisyonu (% Inh.) aşağıdaki denkleme (3.4) göre hesaplanmıştır:

$$\%Inh = \left[\frac{(Abs_{kontrol} - Abs_{kontrolblank}) - (Abs_{numune} - Abs_{numuneblank})}{Abs_{kontrol} - Abs_{kontrolblank}} \right] * 100 \quad (3.4)$$

Burada, $Abs_{kontrol}$: kontrol kuyucuktaki absorbans değeri, $Abs_{kontrolblank}$: kontrol blank kuyucuğun absorbans değeri, Abs_{numune} : numunenin bulunduğu kuyucuktaki absorbans değeri, $Abs_{numuneblank}$: numunenin blank kuyucuktaki absorbans değeri.

Reaktiflerin Hazırlanması:

- 1) Substrat (Nişasta Çözeltisi): 20 mg nişasta tartılıp 40 mL distile suda çözünmüştür. Karışım 10 dk boyunca, 100 °C’de ısıtıcı plakada kaynatılmıştır. Hazırlanmış çözelti oda sıcaklığına gelene kadar soğutulmuştur.
- 2) Tampon Çözeltisi: 0.185 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ ve 0.150 g $Na_2H_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 80 mL distile suda çözünmüştür. Sodyum hidroksit ve potasyum hidroksit ile pH’ı 6.9 olarak ayarlanmıştır. Bu amaçla pH metre kullanılmıştır. Hazırlanmış tamponun üzerine 35 mg NaCl 20 mL distile suda çözünerek ilave edilmiştir.
- 3) Enzim Çözeltisi (α -Amilaz): 1.23 mg α -amilaz enzimi tartılmış ve daha önce hazırlanmış olan tampon çözeltisi (pH: 6.9) ile 20 mL’ye tamamlanmıştır.
- 4) Akarboz Çözeltisi: 0.001 g akarboz tartılıp 1 mL distile suda çözünmüştür (1mg/mL).
- 5) İyot Çözeltisi (Belirteç reaktif): 0.5 g I ve 1.5 g KI tartılarak amber renkli cam kavanozda 50 mL distile su ile karıştırılmıştır. Çözünmenin tam olması için 30 dk otomatik karıştırıcıda karıştırılmıştır.
- 6) Hidroklorik asit Çözeltisi: 12.5 mL distile su behere aktarılmış ve üzerine çeker ocak altında 4.1 mL derişik HCl damla damla eklenmiştir. Karışım balon jojeye aktarılıp distile su ile 50 mL’ye tamamlanmıştır.

3.13. YBSK-DAD ile Fenolik Asitlerin Miktar Tayini

Öztürk ve arkadaşlarının çalışmasında belirtilen koşullarda ters faz analitik kolon ve gradient elüsyon kullanılarak ayrılan fenolik bileşiklerin YBSK-DAD sisteminde, tutunma zamanları ve UV spektrumları kontrol edilerek çalışılan ekstrelerin fenolik asitleri teşhis edilmiş, miktar tayinleri yapılmıştır [109].

Analiz şartları;

Cihaz:	Shimadzu 20 AVP (Shimadzu, Kyoto, Japan)
İşlemci:	Class VP Chromatography Manager Software (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Pompa:	Shimadzu LC20AT (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Kolon:	INERTSIL ODS3-C18 kolon (100 mm, 4.6 mm i.d., 3 µm partikül çapı) (GL SciencesInc.)
Degazer:	DGU-20A5 (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Enjektör:	SIL 20A (Shimadzu, Japan)
Dedektör:	SPD-M 20A (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Akış hızı:	1.0 mL/dk
Enjeksiyon hacmi:	10 µL
Gradient sistem:	Hareketli Faz A: Metanol: su: formik asit (10:88:2, h/h/h) Hareketli Faz B: Metanol: su: formik asit (90:8:2, h/h/h)

4. BULGULAR

4.1. Uçucu Yağların Özellikleri

İki bitkininde toprak üstü kısımlarının hidrodistilasyon işlemi sonucunda keskin kokulu, renksiz uçucu yağ elde edilmiştir (Şekil 4.1). Elde edilen uçucu yağlar amber renkli cam kaba konularak +4°C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 4.1. Clevenger apareyinde uçucu yağın elde edilmesi

4.1.1. Uçucu yağların verimleri

Kuru bitkisel materyallerden distilasyon sonucunda uçucu yağ elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağ verimleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Uçucu yağ verimleri

% Verim (a/a)	
1. Bitki (SP _{UY} -1)	0.01963
2. Bitki (SP _{UY} -2)	0,008592

4.2. Ekstrelerin Özellikleri

Kurutulmuş iki bitkisel materyalin, topraküstü kısımları uygun boyuta getirilerek farklı polaritelerdeki çözücülerle ardışık sıra ile masere edildikten sonra, elde edilen ekstre fraksiyonları dönen buharlaştırıcı ve liyofilizatörde kurutulup Eppendorf tüplerinde muhafaza edilmiştir.

1. Bitkinin Hekzanlı ekstre fraksiyonu (SP_H-1) keskin kokulu ve sarı-yeşil renktedir, sulu ekstresi (SP_W-1) sarı- bej renkte tüysü yapıda elde edilmiştir. Metanollü ekstre fraksiyonu (SP_M-1) ise yapışkan karakterli ve koyu yeşil renklidir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *SP-1 kodlu bitkinin sırasıyla hekzan, metanol ve su ekstreleri*

2. Bitkinin Hekzanlı ekstre fraksiyonu (SP_H-2) keskin kokulu ve sarı-turuncu renktedir, sulu ekstre fraksiyonu (SP_W-2) kahverengi-bej renkte elde edilmiştir. Metanollü ekstre fraksiyonu (SP_M-2) ise yapışkan karakterli ve koyu yeşil renklidir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *SP-2 kodlu bitkinin sırasıyla hekzan, metanol ve su ekstreleri*

Numuneler $+4^{\circ}C$ 'de fitokimyasal ve biyolojik aktivite deneyleri öncesi muhafaza edilmiştir.

4.2.1. Ekstrelerin verimi

Kurutup, uygun boyuta getirilen bitkinin toprak üstü kısımlarını önce *n*-hekzan sonra metanol ve daha sonra da su ile her biri 48 saat süren maserasyondan elde edilen ekstre fraksiyonlarının verimi kuru bitki baz üzerinden % (a/a) hesaplanmıştır. Ekstre verimleri bilgileri aşağıdaki Tablo 4.2 ve Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.2. SP-1 bitkisinin ekstre verimleri

Ekstre Türü	Kodu	Ekstre Miktarı, g	Verim, %
Hekzanlı ekstre	SP _{H-1}	0.1515	0.43
Metanollü ekstre	SP _{M-1}	4.7334	13.44
Sulu ekstre	SP _{W-1}	3.057	8.68

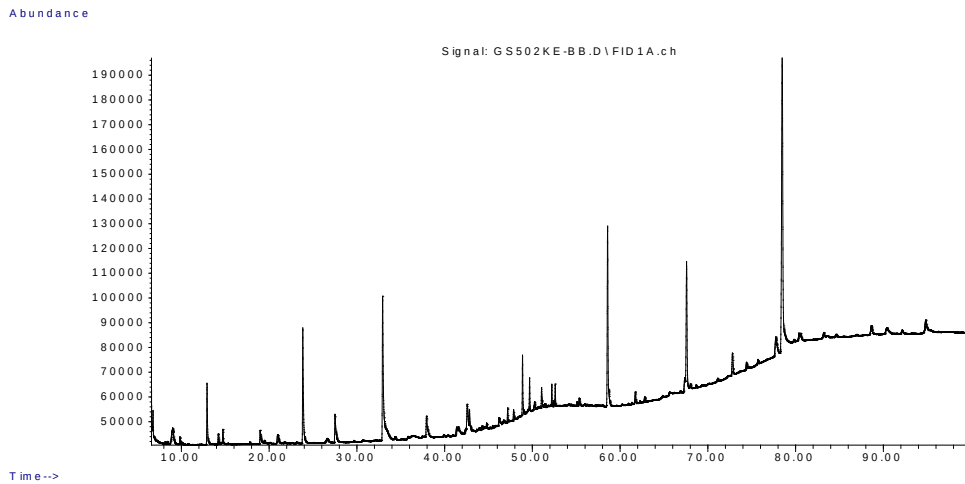
Tablo 4.3. SP-2 bitkisinin ekstre verimleri

Ekstre türü	Kodu	Ekstre miktarı, g	Verim %
Hekzanlı ekstre	SP _{H-2}	0.1602	0.45
Metanollü ekstre	SP _{M-2}	4.3289	12.29
Sulu ekstre	SP _{W-2}	4.6699	13.26

4.3. Fitokimyasal Araştırmaların Sonuçları

4.3.1. Uçucu yağların kimyasal kompozisyonu

İki bitki örneğinin de uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu gaz kromatografisi tekniği ile tayin edilip; bileşenlerin kalitatif analizi için GK/KS, kantitatif analizi için GK-AİD sonuçları kullanılmıştır. (Şekil 4.4-5, Tablo 4.4-5)

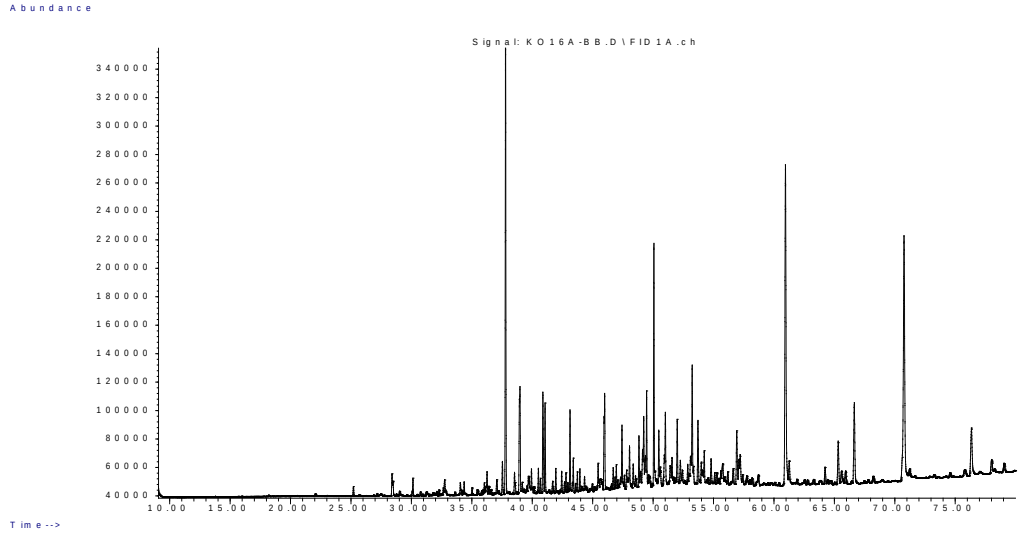


Şekil 4.4. SP-1 yapraklarından elde edilen uçucu yağın kromatogramı

Tablo 4.4. SP-1 yapraklarından elde edilen uçucu yağın kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
915	2-Vinil furan	0.3
1040	Fenol	0.7
1052	2-Metil pentadienal	0.8
1191	(Z)-3-Hekzenal	1.2
1256	İzokumen	8.0
1504	Linalol	15.6
1656	α -Terpineol	2.5
1816	Geraniol	2.3
1824	2,2,4-Trimetil-3-karboksiizopropil-izobutil pentanoat	0.9
2065	Hekzahidrofarnesil aseton	3.0
2094	Nonanoik asit (=Pelargonik asit); (9:0)	1.5
2150	Karvakrol	1.3
2451	Dodekanoik asit (=Laurik asit); (12:0)	10.9
2620	Tetradekanoik asit (=Miristik asit); (14:0)	9.1
2720	Pentadekanoik asit (=Pentadesilik asit); (15:0)	1.6
2877	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit); (16:0)	30.2

RRI: Polar kolondaki bağıl tutunma indisi



Şekil 4.5. SP-2 yapraklarından elde edilen uçucu yağın kromatogramı

Tablo 4.5. SP-2 yapraklarından elde edilen uçucu yağın kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1307	İzokumen	0.2
1360	Hakzanol	e
1398	<i>Furan izomeri</i>	0.5
1403	(Z)-3-Hekzen-1-ol	0.3
1409	Nonanal	0.1
1430	Tetrahidro linalol	0.1
1435	Dimetil tetradekan	0.3
1450	1-Okten-3-ol	0.1
1467	1,5,5-Trimetil-9-oksa-bisiklo[4.3.0]non-2-en [#]	0.1
1471	(E, Z)-2,4-Heptadienal	0.1
1496	2-Etil hekzanol	0.1
1499	Dekanal	0.2
1500	Pentadekan	0.1
1502	(E, E)-2,4-Heptadienal	0.1
1506	α -Kubeben	0.1
1508	α -Kopaen	0.1
1512	Dihidroedulan II	0.2
1514	β -Burbonen	0.1
1541	Benzaldehit	0.3
1546	β -Kubeben	0.1
1559	Oktanol	0.2
1579	2-tert-Butil sikloheksanol [#]	0.1
1595	Kalaren	0.1
1600	Hekzadekan	0.1
1608	(E, Z)-2,6-Nonadienal	0.1
1609	İzobornil asetat	0.1
1614	2-Undekanon	0.1
1615	β -Kopaen	0.2
1618	β -Karyofillen	0.4
1626	4-Vinilanilin [#]	0.1
1632	Aromadendren	0.1
1648	β -Siklositral	0.4
1654	Mentol	0.1
1660	Nonanol	0.7
1672	Alloaromadendren seskiterpen	9.1
1695	α -Humulen	0.4
1702	10-Metil-2-undekanon	0.2

Tablo 4.5. (Devam) *SP-2 yapraklarından elde edilen uçucu yağın kompozisyonu*

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1710	γ -Muurolen	1.6
1719	α -Terpineol	1.8
1722	Leden	0.2
1726	Dodekanal	0.1
1734	Zonaren	0.1
1738	Germakren D	0.3
1741	Valensen	0.2
1747	α -Muurolen	0.3
1752	Nordasina-9,11-dien	0.2
1766	Dekanol	0.5
1770	(E)-2-Undekenal	0.3
1777	δ -Kadinen	1.2
1780	Naftalen	1.3
1785	γ -Kadinen	1.7
1810	α -Kadinen	0.4
1829	(E,Z)-2,4-Dekadienal	0.4
1841	β -Damaskon	0.2
1855	(E)- β -Damaskenon	0.3
1858	Geraniol	0.2
1864	Kalamenen	1.5
1870	Unkekanol	0.1
1872	(E)-Geranil aseton	0.6
1878	6-Metil- γ -iyonon	0.2
1884	3-Hidroksi-2,4,4-trimetilpentil-2-metil propanoat [#]	0.3
1889	2,2,4-Trimetil-3-karboksiisopropil izobutil pentanoat [#]	0.4
1898	2,2-Dimetil-1-(2-hidroksi-1-metiletil) propil-2-metil propanoa	0.2
1931	β -Kalokoren	0.1
1950	α -Kalokoren	0.3
1964	(E)- β -İyonon	1.1
1970	Dodekanol	1.7
2025	İzokaryofillen oksit	1.1
2039	Pentadekanal	0.3
2042	1-(4- <i>tert</i> -Butilfenil) propan-2-on [#]	0.1
2046	Salvial-4(14)-en-1-on	0.7
2055	Ledol	0.5
2082	Humulen epoksit II	0.9

Tablo 4.5. (Devam) *SP-2 yapraklarından elde edilen uçucu yağın kompozisyonu*

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
2090	1,10- <i>di-epi</i> -Kubenol	0.3
2096	1- <i>epi</i> -Kubenol	0.3
2099	Junenol	1.3
2100	Heneikosan	0.4
2110	Dibutil maleat [#]	1.5
2113	Viridiflorol	0.1
2130	Hekzahidro farnesil aseton	4.1
2134	Amil salisilat	0.1
2144	Spatulenol	0.9
2147	(Z)-3-Hekzen-1-ol benzoat	0.3
2170	Nonanoik asit (=Pelargonik asit); (9:0)	0.6
2175	6- <i>epi</i> -Kubenol	1.4
2182	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	0.3
2191	T-Kadinol	0.5
2210	T-Murolol	1.4
2221	Torreyol	0.6
2240	Hekzil salisilat	0.3
2265	α -Kadinol	2.2
2269	Dekanoik asit (=Kaprik asit); (10:0)	1.5
2282	4,7-Dimetil-1-tetralon	0.2
2300	Trikosan	0.6
2319	2-Etilhekzil salisilat	0.3
2339	14-Nor-kadin-5-en-4-on isomeri	0.6
2351	Galaksolit I	0.4
2373	Hekzadekanol	1.5
2379	Ödesma-4(15),7-dien-1- β -ol	0.6
2382	Hekzil sinamik aldehit	0.9
2412	14-Nor-kadin-5-en-4-on isomeri	0.3
2428	4-İzopropil-6-metil-1-tetralon	0.4
2451	Dodekanoik asit (=Laurik asit); (12:0)	11.0
2500	Pentakosan	0.8
2580	Oktadekanol	1.4
2589	Tridekanoik asit (=Tridesilik asit); (13:0)	0.6
2611	Fitol	2.8
2640	2-Benziliden-1-heptanol [#]	0.3
2694	Tetradekanoik asit (=Miristik asit); (14:0)	10.6

Tablo 4.5. (Devam) SP-2 yapraklarından elde edilen uçucu yağın kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
2798	Pentadekanoik asit (=Pentadesilik asit); (15:0)	2.1
2837	14-Pentadekanolit	0.5

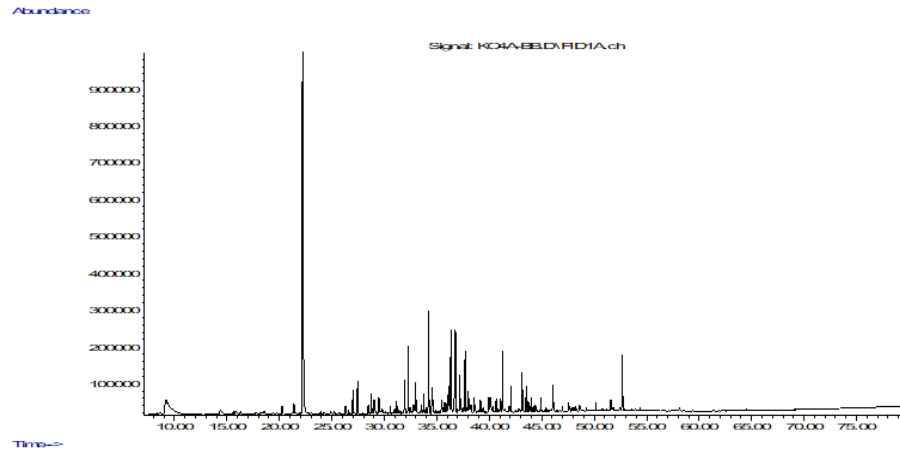
RRI: Relatif tutunma indisi

e: < % 0,1

#: Kütle spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır.

4.3.2. MSD-SPME analiz sonuçları

İki bitkinin uçucu bileşen kompozisyonu kombine MSD-SPME yöntemi ile analiz edilmiştir. Bu amaçla iki bitkinin yaprak ve çiçekleri ayrı ayrı analize tabi tutulmuştur (Şekil 4.6-9 ve Tablo 4.6-9).



Şekil 4.6. SP-1 yapraklarından MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kromatogramı

Tablo 4.6. SP-1 yapraklarından MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1047	(E)-2-Butenal	0.8
1087	Hekzanal	0.5
1202	Limonen	0.7
1212	1,8-Sineol	0.1
1223	Amil furan	0.1
1225	(Z)-3-Hekzenal	34.0
1260	(E)- β -osimen	0.2
1285	p-Simen	0.2
1295	Terpinolen	0.2
1306	Oktanal	0.2
1332	Allil kaproat	0.6

Tablo 4.6. (Devam) *SP-1* yapraklarından *MSD-SPME* yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1344	6-Metil-5-hepten-2-on	1.3
1360	Hekzanol	1.7
1400	Tetradekan	0.4
1403	(<i>Z</i>)-3-Hekzen-1-ol	0.9
1409	Nonanal	1.1
1413	4,8-Dimetil-1,3,7-nonatrien	1.3
1443	(<i>E</i>)-2-Oktenal	0.4
1450	1-Okten-3-ol	0.1
1454	<i>trans</i> -Linalol oksit (Furanoit)	0.2
1471	(<i>E,Z</i>)-2,4-Heptadienal	1.9
1496	2-Etil hekzanol	3.2
1502	(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	1.5
1514	β -Burbonen	0.4
1520	(<i>E,Z</i>)-3,5-Oktadien-2-on	0.9
1528	Kafur	0.3
1541	Benzaldehit	1.8
1553	Linalol	3.1
1559	Oktanöl	1.3
1568	(<i>E,E</i>)-3,5-Oktadien-2-on	0.5
1600	Hekzadekan	0.5
1612	Furfuril alkol	1.1
1619	4-Metil-(2 <i>E</i>)-undeken [#]	3.6
1630	6-Metil-1-oktanöl	4.3
1632	β -Siklositral	1.7
1660	Nonanol	2.9
1662	Safranal	0.8
1663	Fenilasetaldehit	0.5
1702	Metil kavikol	0.7
1719	α -Terpineol	0.7
1743	2-(1-Siklopenten-1-il)furan [#]	0.7
1748	Metoksi fenil oksim [#]	1.0
1770	Karvon	0.2
1775	Etil benzaldehit	0.3
1790	Naftalen	0.6
1796	Oktenil siklopenten [#]	2.8

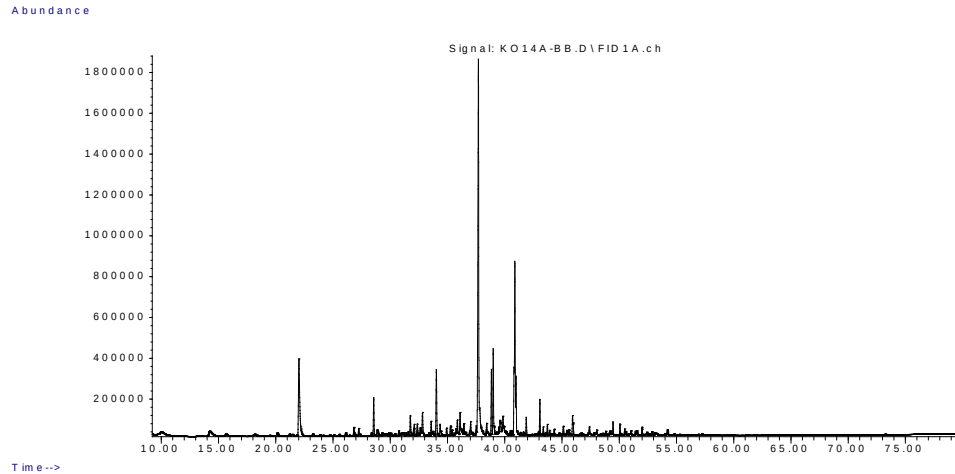
Tablo 4.6. (Devam) SP-1 yapraklarından MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1807	Metil asetofenon [§]	0.4
1815	Kuminaldehit	1.2
1842	(E)-Anetol	2.5
1860	(E)-Geranil aseton	1.2
1876	2-Naftalenol	0.3
1878	1-İzobutil 4-izopropil 3-izopropil-2,2-dimetil suksinat	0.6
1886	2-Metil naftalen	0.1
1894	Benzil alkol	0.4
1964	(E)- β -İyonon	1.6
1995	Benzotiazol	0.3
2023	<i>trans</i> - β -İyonon-5,6-epoksit	0.5
2025	Metil öjenol	0.2
2036	İzopropil miristat	0.1
2037	Pentil oktil benzen	0.1
2041	Fenil eter	0.2
2065	Anisaldehit	0.2
2066	Lilial	0.2
2130	Hekzahidro farnesil aseton	0.4
2144	(Z)-3-Hekzen-1-ol benzoat	0.1
2182	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	0.6
2202	Timol	0.2
2243	Karvakrol	3.0

RRI: Relativ tutunma indisi

#: Spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır

§: Doğru izomeri tanımlanamamıştır



Şekil 4.7. SP-2 yapraklarından MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kromatogramı

Tablo 4.7. SP-2 yapraklarından MSD-SPME ile elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1060	(E)-2-Butenal	1.5
1093	Hekzanal	0.4
1152	2,3-Dimetil-3-izopropil-siklopenten	0.2
1202	Limonen	0.3
1211	İzoamil alkol	0.2
1225	(Z)-3-Hekzenal	0.2
1228	Amil furan	0.1
1234	(E)-2-Hekzenal	8.2
1265	3-Oktanon	0.2
1282	cis-3-Hekzenil format	0.1
1295	Terpinolen	0.1
1297	2-Oktanon	0.1
1298	trans-2-(2-Pentenil) furan	0.1
1299	2,2,6-Trimetilsikloheksanon	0.3
1300	Tridekan	e
1331	(E)-2-Heptenal	0.1
1344	6-Metil-5-hepten-2-on	0.6
1348	2-Butoksi etanol	0.1
1363	Hekzanol	0.5
1370	1-Trideken	0.1
1400	Tetradekan	0.2
1403	(Z)-3-Hekzen-1-ol	2.1
1407	2-Nonanon	0.1
1409	Nonanal	0.5
1410	(E)-2-Hekzen-1-ol	0.1
1416	Etil oktanoat	e
1430	Tetrahidro linalol	0.1
1435	Dimetil tetradekan	0.1
1443	(E)-2-Oktenal	0.2
1450	1-Okten-3-ol	0.3
1454	trans-Linalol oksit (Furanoit)	0.1
1463	Heptanol	0.2
1467	1,5,5-Trimetil-9-oksa-bisiklo[4.3.0]non-2-en [#]	0.3
1471	(E,Z)-2,4-Heptadienal	1.1
1475	2,6-Dimetil-7-okten-2-ol	0.1
1492	α -Ylangen	0.3

Tablo 4.7. (Devam) *SP-2 yapraklarından MSD-SPME ile elde edilen uçucu bileşenlerin kompozisyonu*

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1496	2-Etil hekzanol	0.5
1499	Dekanal	0.5
1502	(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	1.2
1506	α -Kubeben	0.2
1508	α -Kopaen	0.7
1514	β -Burbonen	0.2
1520	(<i>E,Z</i>)-3,5-oktadien-2-on	0.7
1538	Etil nonanoat	0.2
1540	α -Gurjunen	0.2
1541	Benzaldehit	4.1
1559	Oktanol	0.5
1588	β -Ylangen	0.7
1600	Hekzadekan	0.2
1608	(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	0.2
1615	β -Kopaen	0.6
1618	β -Karyofillen	1.2
1619	1-Hekzadeken	0.2
1648	β -Siklositral	0.7
1660	Nonanol	0.6
1672	Alloaromadendren	24.9
1675	Fenil asetaldehit	2.4
1695	α -Humulen	0.7
1710	γ -Muurolen	3.2
1719	α -Terpineol	4.1
1722	Leden	0.4
1734	Zonaren	0.3
1738	Germakren D	0.6
1747	α -Muurolen	0.5
1750	Metoksi fenil oksim [#]	0.2
1766	Dekanol	0.3
1777	δ -Kadinen	2.6
1780	Naftalen	9.4
1785	γ -Kadinen	2.8
1800	Oktadekan	0.2
1803	Kubenen	0.1
1810	α -Kadinen	0.8

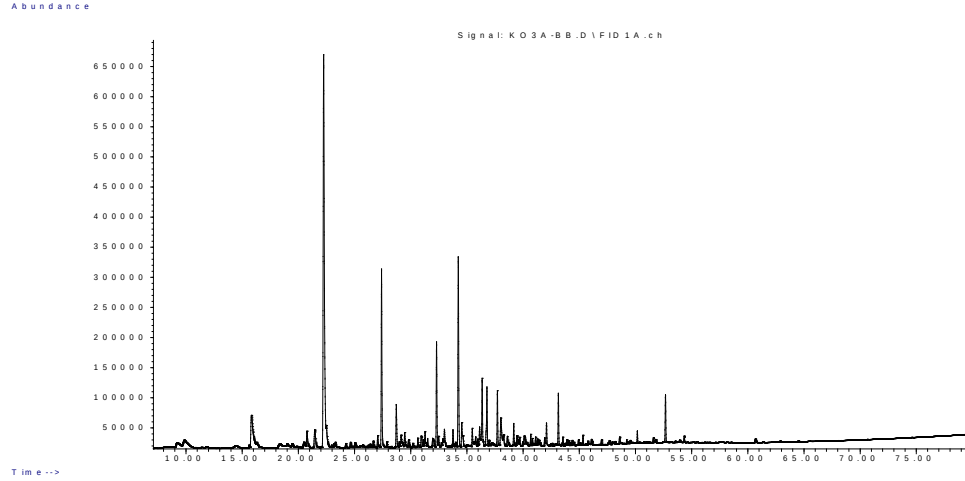
Tablo 4.7. (Devam) *SP-2 yapraklarından MSD-SPME ile elde edilen uçucu bileşenlerin kompozisyonu*

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1858	Geraniol	0.1
1864	Kalamenen	1.7
1872	(E)-Geranil aseton	0.4
1878	6-Metil- γ -iyonon	0.2
1884	3-Hidroksi-2,4,4-trimetilpentil-2-metil propanoat [#]	0.5
1889	2,2,4-Trimetil-3-karboksiisopropil izobutil pentanoat [#]	0.2
1898	2,2-Dimetil-1-(2-hidroksi-1-metiletil) propil-2-metil propanoat [#]	0.3
1931	β -Kalokoren	0.1
1937	Feniletil alkol	0.5
1950	α -Kalokoren	0.2
1964	(E)- β -İyonon	0.9
1970	Dodekanol	0.5
2000	(E)-5,6-Epoksi- β -iyonon	0.4
2039	Pentadekanal	0.2
2046	Salvial-4(14)-en-1-on	0.4
2062	İzoamil salisilat	0.1
2071	4a β ,7 α ,7a β -Nepetalakton	0.2
2099	Junenol	0.2
2111	(Z)-2-Butenedioik asit, bis(2-metilpropil) ester [#]	0.6
2130	Hekzahidrofarnesil aseton	0.5
2144	Spatulenol	0.3
2147	(Z)-3-Hekzen-1-ol benzoat	0.2
2160	Tetradekanol	0.2
2182	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	0.2
2185	Öjenol	0.2
2202	Metoksinaftalen	0.4
2235	Karvakrol	0.2
2240	Hekzil salisilat	0.1
2300	Trikosan	0.1
2292	α -Kadinol	0.1
2295	Kadalen	e
2299	Sebasik asit, di(2-hekzil) ester [#]	0.3

RRI: Relativ tutunma indisi

e: < % 0,1

#: Kütle spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır



Şekil 4.8. SP-1 çiçeklerinden MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kromatogramı

Tablo 4.8. SP-1 çiçeklerinden MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1047	(E)-2-Butenal	0.5
1087	Hekzanal	4.4
1187	Heptanal	0.6
1202	Limonen	1.2
1211	İzoamil alkol	1.5
1225	(Z)-3-Hekzenal	29.1
1230	(E)-2-Hekzenal	1.5
1251	γ -Terpinen	0.1
1260	(E)- β -Osimen	0.2
1263	Pentanol	0.2
1282	<i>p</i> -Simen	0.3
1295	Terpinolen	0.3
1306	Oktanal	0.3
1319	4-Nonanon	0.2
1331	(E)-2-Heptenal	0.3
1344	6-Metil-5-hepten-2-on	0.6
1363	Hekzanol	7.7
1377	(E)-3-Hekzen-1-ol	0.2
1403	(Z)-3-Hekzen-1-ol	2.0
1407	2-Nonanon	0.1
1408	3-Etil piridin	0.1
1409	Nonanal	0.6
1410	(E)-2-Hekzen-1-ol	0.7
1412	3-Okten-2-on	0.4
1427	Dimetil tetradekan	0.1
1443	(E)-2-Oktenal	0.4
1450	1-Okten-3-ol	0.4
1454	<i>trans</i> -Linalol oksit (Furanoit)	0.3

Tablo 4.8. (Devam) *SP-1* çiçeklerinden *MSD-SPME* yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1463	Heptanol	0.2
1471	(<i>E,Z</i>)-2,4-Heptadienal	0.4
1476	Furfural	0.3
1496	2-Etil hekzanol	4.3
1499	Dekanal	0.3
1502	(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	0.8
1520	(<i>E,Z</i>)-3,5-Oktadien-2-on	0.8
1528	Kafur	0.2
1541	Benzaldehit	3.9
1553	Linalol	5.0
1559	Oktanol	1.1
1568	(<i>E,E</i>)-3,5-Oktadien-2-on	0.6
1589	(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	0.3
1594	(<i>E,E</i>)-2,6-Nonadienal	0.6
1619	4-Metil-(2 <i>E</i>)-undeken	2.5
1630	6-Metil-1-oktanol	2.5
1641	1-Etil-1H-pirrol-2-karbaldehit [#]	0.2
1660	Nonanol	2.1
1663	Fenilasetaldehit	2.1
1678	Asetofenon	0.7
1702	Metil kavikol	0.5
1719	α -Terpineol	0.9
1726	Dodekanal	0.5
1748	Metoksi fenil oksim [#]	0.8
1770	Karvon	0.4
1775	Etil benzaldehit	0.3
1790	Naftalen	0.4
1797	(<i>E</i>)-Sinnamaldehit	0.2
1807	Metil asetofenon [§]	0.4
1815	Kuminaldehit	0.9
1842	(<i>E</i>)-Anetol	2.0
1860	(<i>E</i>)-Geranil aseton	0.3
1872	2,2,4-Trimetil pentan-1,3-diol diizobutirat [#]	0.2
1894	Benzil alkol	0.2
1941	Feniletıl alkol	0.4
1964	(<i>E</i>)- β -İyonon	0.2
1995	Benzotiazol	0.2
2022	Fenol	0.1
2025	Metil öjenol	0.1
2065	Anisaldehit	0.2
2066	Lilial	0.1
2130	Hekzahidro farnesil aseton	0.4

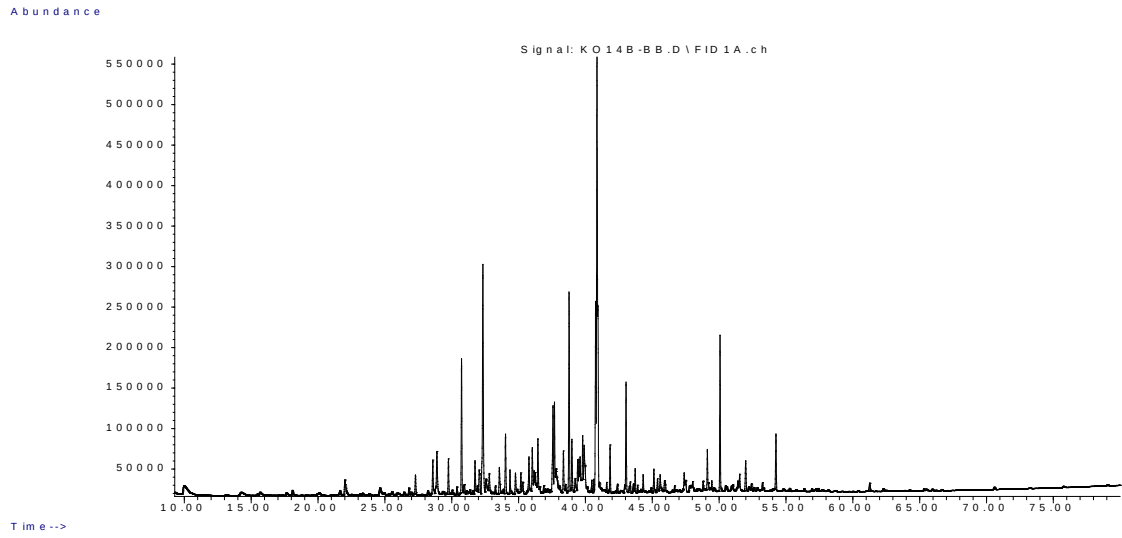
Tablo 4.8. (Devam) SP-1 çiçeklerinden MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
2182	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	0.2
2202	Timol	0.2
2243	Karvakrol	1.9

RRI: Relativ tutunma indisi

§: Spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır

&: Doğru izomeri tanımlanamamıştır



Şekil 4.9. SP-2 çiçeklerinden MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kromatogramı

Tablo 4.9. SP-2 çiçeklerinden MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1060	(E)-2-Butenal	0.3
1093	Hakzanal	0.2
1152	2,3-Dimetil-3-izopropil-siklopenten	0.2
1225	Amil furan	0.2
1234	(E)-2-Hekzenal	0.8
1288	Oktanal	0.5
1298	trans-2-(2-Pentenil) furan	0.1
1331	(E)-2-Heptenal	0.1
1344	6-Metil-5-hepten-2-on	0.3
1348	2-Butoksi etanol	0.1
1363	Hekzanol	0.6
1400	Tetradekan	0.1

Tablo 4.9. (Devam) *SP-2* çiçeklerinden *MSD-SPME* yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1403	(<i>Z</i>)-3-Hekzen-1-ol	1.1
1407	2-Nonanon	0.1
1409	Nonanal	0.2
1410	β -Lutidin	1.7
1411	(<i>E</i>)-2-Hekzen-1-ol	0.1
1430	Tetrahidro linalol	0.1
1435	Dimetil tetradekan	1.0
1443	(<i>E</i>)-2-Oktenal	0.2
1450	1-Okten-3-ol	3.6
1506	α -Kubeben	0.2
1463	Heptanol	0.2
1469	(2 <i>E</i>)-3,5,5-Trimetil-2-hekzen	0.5
1471	(<i>E,Z</i>)-2,4-Heptadienal	1.1
1492	α -Ylangen	0.3
1496	2-Etil hekzanol	0.4
1499	Dekanal	0.9
1502	(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	0.8
1508	α -Kopaen	0.7
1511	4-Vinilpiridin	7.6
1514	β -Burbonen	0.2
1520	(<i>E,Z</i>)-3,5-oktadien-2-on	0.7
1538	Etil nonanoat	0.2
1540	β -Kubeben	0.1
1541	Benzaldehit	1.8
1553	3-Etil-4-metilpiridin	0.6
1559	Oktanol	0.6
1571	2- <i>tert</i> -Butil siklohekzanol [#]	0.1
1588	β -Ylangen	0.5
1592	(<i>E,E</i>)-3,5-oktadien-2-on	0.2
1600	Hekzadekan	0.2
1615	β -Kopaen	1.0
1618	β -Karyofillen	1.2
1625	2-Okten-1-ol	0.3
1628	Aromadendren	0.1
1631	5-Etenil-2-metil piridin [#]	1.4

Tablo 4.9. (Devam) SP-2 çiçeklerinden MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1646	Tuyopsen	0.2
1648	β -Siklositral	0.1
1660	Nonanol	0.6
1672	Alloaromadendren	2.0
1673	(Z)- β -Farnesen	1.8
1675	Fenil asetaldehit	0.4
1695	α -Humulen	1.1
1702	2-Dodekanon	0.2
1710	γ -Muurolen	5.6
1719	α -Terpineol	1.8
1725	Borneol	0.2
1727	Dodekanal	0.3
1734	Zonaren	0.8
1738	Germakren D	0.7
1741	Valensen	0.6
1747	α -Muurolen	1.2
1750	Metoksi fenil oksim [#]	1.7
1766	Dekanol	0.4
1770	Sitronellol	0.3
1777	δ -Kadinen	4.9
1780	Naftalen	14.1
1785	γ -Kadinen	3.6
1803	Kubenen	0.3
1810	α -Kadinen	1.3
1824	(E,E)-2,4-Dekadienal	0.3
1858	Geraniol	0.2
1864	Kalamenen	3.0
1873	(Z)-Sinnamaldehit	0.2
1872	(E)-Geranil aseton	0.3
1878	6-Metil- γ -iyonon	0.4
1884	3-Hidroksi-2,4,4-trimetilpentil-2-metil propanoat [#]	0.6
1889	2,2,4-Trimetil-3-karboksiisopropil izobutil pentanoat [#]	0.2
1898	2,2-Dimetil-1-(2-hidroksi-1-metiletil) propil-2-metil propanoat [#]	0.4
1931	β -Kalokoren	0.1

Tablo 4.9. (Devam) *SP-2* çiçeklerinden *MSD-SPME* yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonu

RRI	Bileşik	Bağıl yüzde (%)
1937	Feniletıl alkol	0.8
1950	α -Kalokoren	0.4
1964	(<i>E</i>)- β -İyonon	0.3
1970	Dodekanol	0.2
2030	1-Siklopropil-3,4-dimetiloksiöjenol [#]	0.5
2039	Pentadekanal	0.1
2046	Salvial-4(14)-en-1-on	0.2
2082	Humulen epoksit II	0.4
2099	Junenol	0.2
2100	Heneikosan	0.9
2106	Dibutil maleat [#]	0.2
2109	3-Metil-2-(3,7,11-trimetildodesil) furan	0.1
2130	Hekzahidrofarnesil aseton	3.8
2144	Spatulenol	0.1
2147	(<i>Z</i>)-3-Hekzen-1-ol benzoat	0.1
2160	Tetradekanol	0.2
2182	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	0.3
2185	Öjenol	0.5
2202	Metoksinaftalen	1.0
2265	α -Kadinol	0.2
2300	Trikosan	1.7
2392	Hekzil sinnamik aldehit	0.1
2500	Pentakosan	0.3

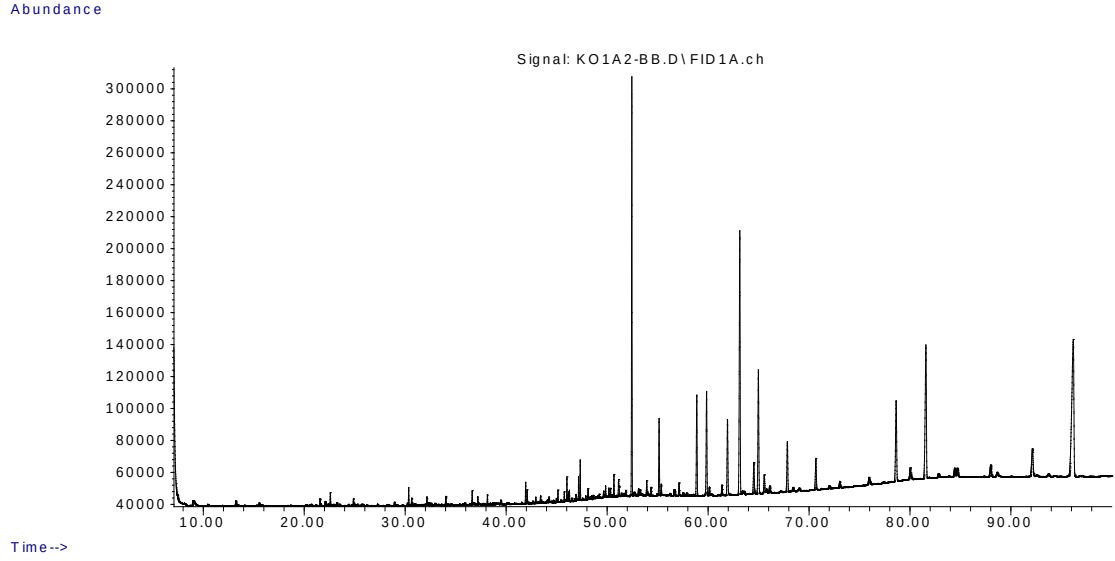
RRI: Relativ tutunma indisi

e: < % 0,1

#: Kütle spektrum benzerliğinden tanımlanmıştır

4.3.3. Sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu

İki bitkinin sırasıyla yaprak ve çiçeklerinden, Yağ Asiti Ekstraksiyon Kiti kullanılarak elde edilen metillenmiş sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu GC/MS ve GC-FID teknikleriyle aydınlatılmıştır (Şekil 4.10-13). Yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu Tablo 4.10-13.'te gösterilmiştir. Sıralama HP-Innowax kapiler kolondan çıkış zamanı dikkate alınarak belirtilmiştir.



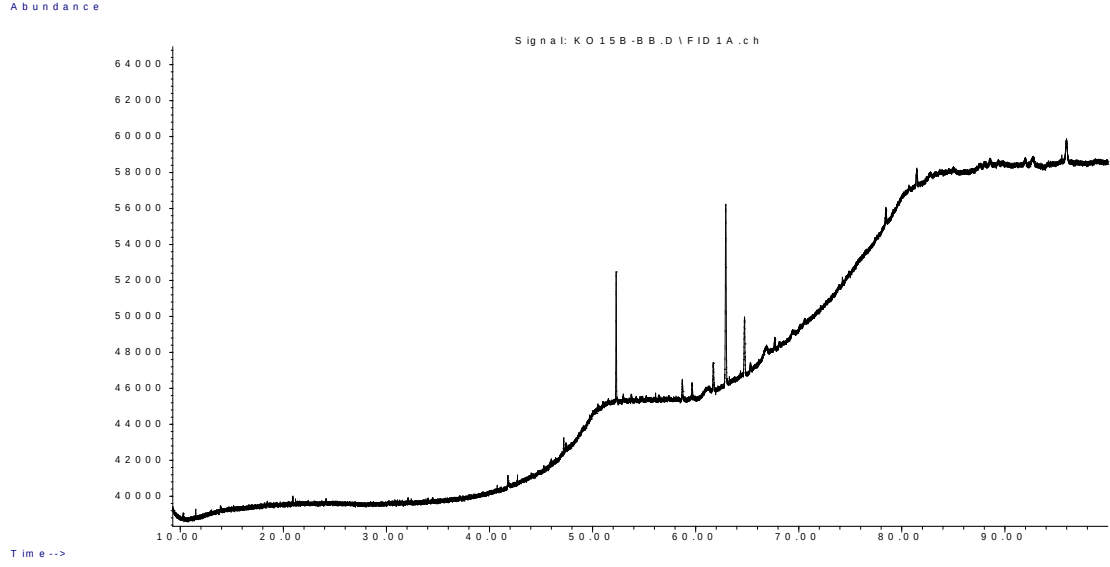
Şekil 4.10. SP-1 yaprak kısımlarından elde edilen sabit yağın yağ asitleri metil esterleri kromatogramı

Tablo 4.10. SP-1 yapraklarından elde edilen sabit yağın yağ asitleri kompozisyonu

RRI#	Bileşik*	Bağıl yüzde (%)
1815	Dodekanoik asit (= Laurik asit); (12:0)	0.9
1980	Tanımlanamayan (MA:278)	0.4
2012	Tanımlanamayan (MA:278)	1.0
2016	Tetradekanoik asit (=Miristik asit); (14:0)	1.9
2125	Pentadekanoik asit (=Pentadesilik asit); (15:0)	0.5
2158	Nonanedioik asit (=Azelik asit); (9:0)	1.0
2226	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit); (16:0)	20.8
2330	Heptadekanoik asit (=Margarik asit); (17:0)	0,6
2432	Octadekanoik asit (=Stearik asit); (18:0)	7.1
2455	(Z)-9-Octadekanoik asit (=Oleik asit); (18:1); ω -9	7.8
2460	(E)-9-Octadekanoik asit (=Elaidik asit); (18:1); ω -9	0.6
2509	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=Linoleik asit); (18:2); ω -6	5.8
2561	Nonadekanoik asit (=Nonadesilik asit); (19:0)	21.9
2580	(Z,Z,Z)- 9,12,15-Oktadekatrienoik asit (=α-Linolenik asit); (18:3); ω -3	10.3
2642	Eikosanoik asit (=Araşidik asit); (20:0)	4.4
2740	Heneikosanoik asit (=Heneikosilik asit); (21:0)	0.6
2843	Dokosanoik asit (=Behanik asit); (22:0)	8.3
2868	(Z)-13-Dokosenoik asit (=Erusik asit); (22:1); ω -9	1.2
2945	Trikosanoik asit (=Trikosilik asit); (23:0)	0.8
3050	Tetrakosanoik asit (=Lignoserik asit); (24:0)	3.9

RRI# : Bileşiğin metil/etil türevinin bağıl tutunma indisi

* Türevlenmemiş formdaki yağ asiti



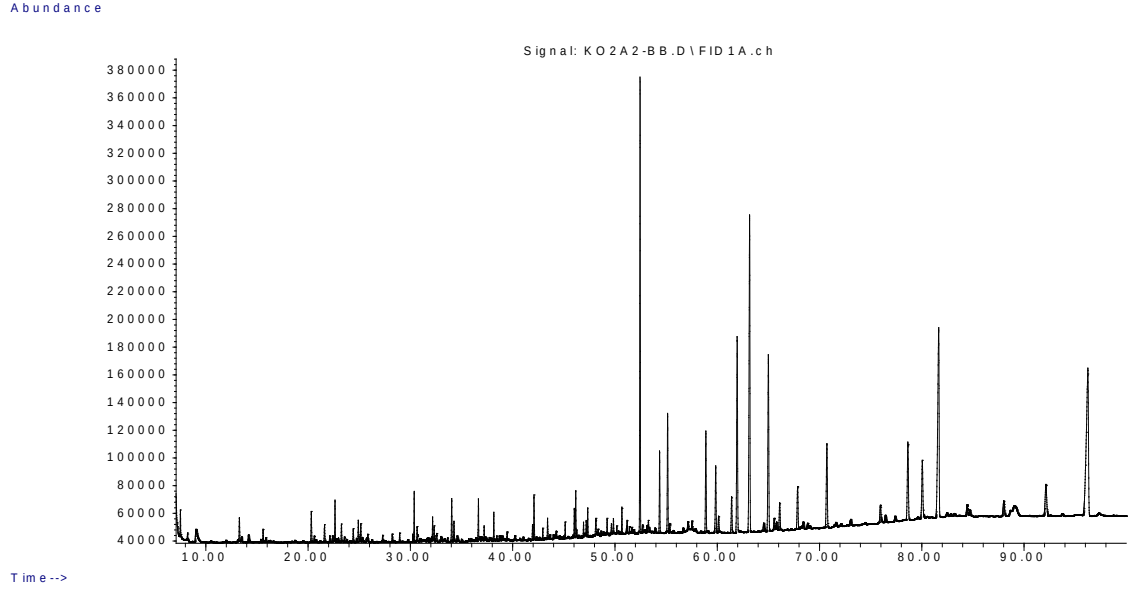
Şekil 4.11. SP-2 yaprak kısımlarından elde edilen sabit yağın yağ asitleri metil esterleri kromatogramı

Tablo 4.11. SP-2 yapraklarından elde edilen sabit yağın yağ asitleri kompozisyonu

RRI#	Bileşik*	Bağıl yüzde (%)
2016	Tetradekanoik asit (=Miristik asit); (14:0)	1.8
2226	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit); (16:0)	20.1
2432	Oktadekanoik asit (=Stearik asit); (18:0)	4.7
2455	(Z)-9-Oktadekenoik asit (=Oleik asit); (18:1); ω -9	3.2
2509	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=Linoleik asit); (18:2); ω -6	6.7
2560	(Z,Z,Z)-9,12,15-Oktadekatrienoik asit (=α-Linolenik asit); (18:3); ω -3	15.6
2561	Nonadekanoik asit (=Nonadesilik asit); (19:0)	44.9
2642	Eikosanoik asit (=Araşidik asit); (20:0)	3.0

RRI#: Bileşiğin metil/etil türevinin bağıl tutunma indisi

* Türevlenmemiş formdaki yağ asiti



Şekil 4.12. SP-1 çiçeklerinden elde edilen sabit yağın yağ asitleri metil esterleri kromatogramı

Tablo 4.12. SP-1 çiçeklerinden elde edilen sabit yağın yağ asitleri kompozisyonu

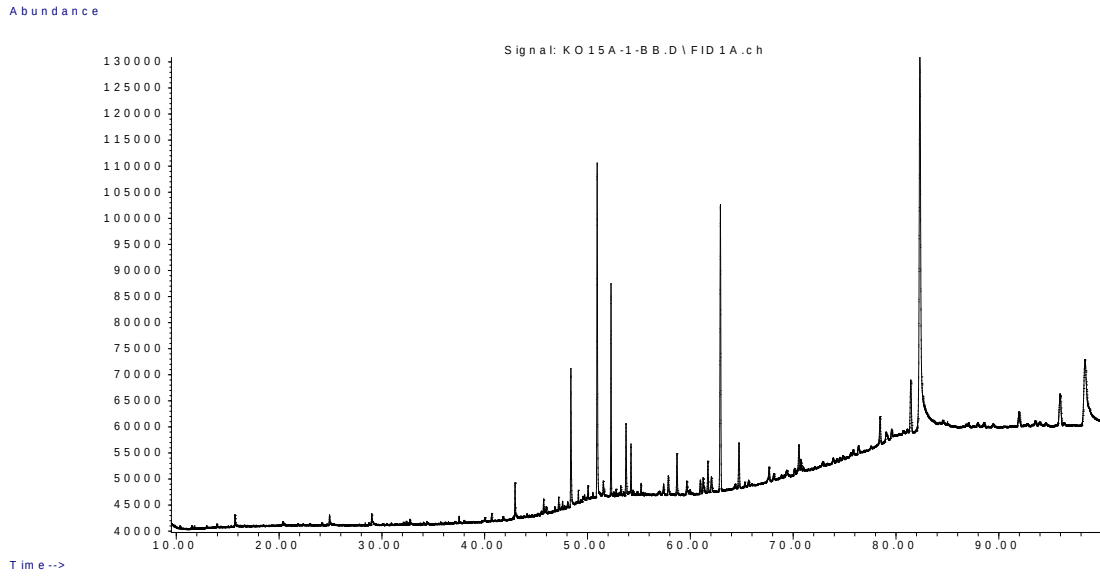
RRI#	Bileşik*	Bağıl yüzde (%)
1402	Oktanoik asit (=Kaprilik asit); (8:0)	0.3
1505	Nonanoik asit (=Pelargonik asit); (9:0)	0.3
1815	Dodekanoik asit (=Laurik asit); (12:0)	0.5
1980	Tanımlanamayan (MA:278)	0.2
2012	Tanımlanamayan (MA:278)	0.5
2016	Tetradekanoik asit (=Miristik asit); (14:0)	1.0
2051	Oktanedioik asit (=Suberik asit); (8:0)	0.4
2125	Pentadekanoik asit (=Pentadesilik asit); (15:0)	0.5
2158	Nonanedioik asit (=Azelik asit); (9:0)	1.0
2226	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit); (16:0)	18.3
2248	(Z)-9-Hexadecenoic acid (=Palmitoleic acid); (16:1); ω -7	0.4
2330	Heptadekanoik asit (=Margarik asit); (17:0)	0.4
2432	Octadekanoik asit (=Stearik asit); (18:0)	5.6
2455	(Z)-9-Octadekenoik asit (=Oleik asit); (18:1); ω -9	4.0
2460	(E)-9-Octadekenoik asit (=Elaidik asit); (18:1); ω -9	0.9
2509	(Z,Z)-9,12-Octadekadienoik asit (=Linoleik asit); (18:2); ω -6	12.4
2563	Nonadekanoik asit (=Nonadesilik asit); (19:0)	21.6
2583	(Z,Z,Z)-9,12,15-Octadekatrienoik asit (=α-Linolenik asit); (18:3); ω -3	12.2
2642	Eikosanoik asit (=Araşidik asit); (20:0)	3.1
2740	Heneikosanoik asit (=Heneikosilik asit); (21:0)	0.6

Tablo 4.12. (Devam) SP-1 çiçeklerinden elde edilen sabit yağın yağ asitleri kompozisyonu

RRI#	Bileşik*	Bağıl yüzde (%)
2843	Dokosanoik asit (=Behanik asit); (22:0)	6.5
2868	(Z)-13-Dokosenoik asit (=Erusik asit); (22:1); ω -9	5.0
2945	Trikosanoik asit (=Trikosilik asit); (23:0)	0.5
3050	Tetrakosanoik asit (=Lignoserik asit); (24:0)	3.7

RRI#: Bileşiğin metil/etil türevinin bağıl tutunma indisi

* Türevlenmemiş formdaki yağ asiti

**Şekil 4.13.** SP-2 çiçeklerinden elde edilen sabit yağın yağ asitleri metil esterleri kromatogramı**Tablo 4.13.** SP-2 çiçeklerinden elde edilen sabit yağın yağ asitleri kompozisyonu

RRI#	Bileşik*	Bağıl yüzde (%)
1194	Hekzanoik asit (=Kaproik asit); (6:0)	1.2
1296	Heptanoik asit (=Enantik asit); (7:0)	0.5
1396	Oktanoik asit (=Kaprilik asit); (8:0)	5.3
1536	Nonanoik asit (=Pelargonik asit); (9:0)	13.5
1602	Dekanoik asit (=Kaprik asit); (10:0)	3.1
1810	Dodekanoik asit (=Laurik asit); (12:0)	0.7
2016	Tetradekanoik asit (=Miristik asit); (14:0)	0.4
2226	Hekzadekanoik asit (=Palmitik asit); (16:0)	41.3
2330	Heptadekanoik asit (=Margarik asit); (17:0)	0.4
2432	Oktadekanoik asit (=Stearik asit); (18:0)	1.8

Tablo 4.13. (Devam) SP-2 çiçeklerinden elde edilen sabit yağın yağ asitleri kompozisyonu

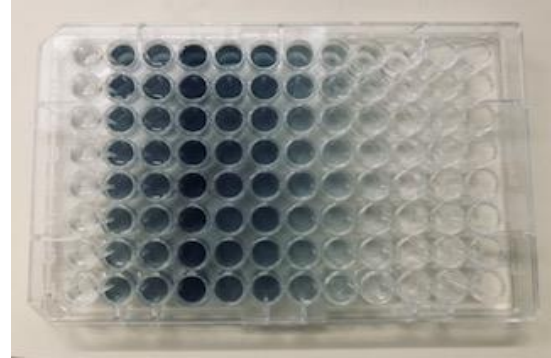
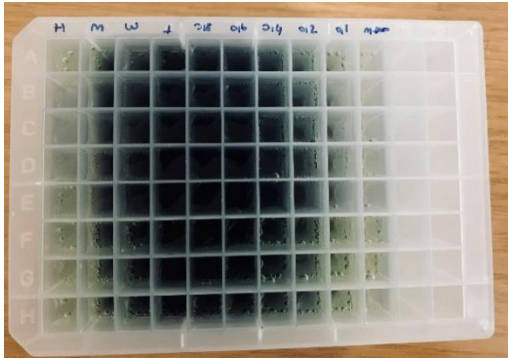
RRI#	Bileşik*	Bağıl yüzde (%)
2455	(Z)-9-Oktadekanoik asit (=Oleik asit); (18:1); ω -9	0.5
2509	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (=Linoleik asit); (18:2); ω -6	1.6
2560	(Z,Z,Z)- 9,12,15-Oktadekatrienoik asit (=□-Linolenik asit); (18:3); ω -3	2.5
2561	Nonadekanoik asit (=Nonadesilik asit); (19:0)	14.5
2642	Eikosanoik asit (=Araşidik asit); (20:0)	0.7
2843	Dokosanoik asit (=Behanik asit); (22:0)	2.0
3050	Tetrakosanoik asit (=Lignoserik asit); (24:0)	1.4

RRI#: Bileşiğin metil/etil türevinin bağıl tutunma indisi

* Türevlenmemiş formdaki yağ asiti

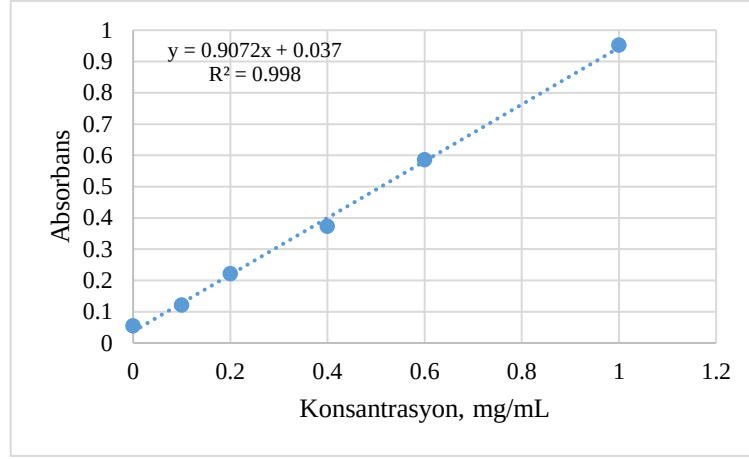
4.4. Ekstrelerin Toplam Fenol Miktarları

İki bitkinin toprak üstü kısımlarının hekzan, metanol ve sulu ekstrelerinden toplam fenol miktarı Folin-Ciocalteu reaktifiyle spektrofotometrik metod ile tayin edilmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. SP-1 ekstrelerinin toplam fenol miktar tayini sonucunda meydana gelen renk değişimi

Şekil 4.15'te yer alan kalibrasyon eğrisi gallik asit çözeltisi kullanılarak elde edilmiştir. Gallik asite eşdeğer olarak hesaplanan sonuçlar Tablo 4.14'te yer almaktadır.

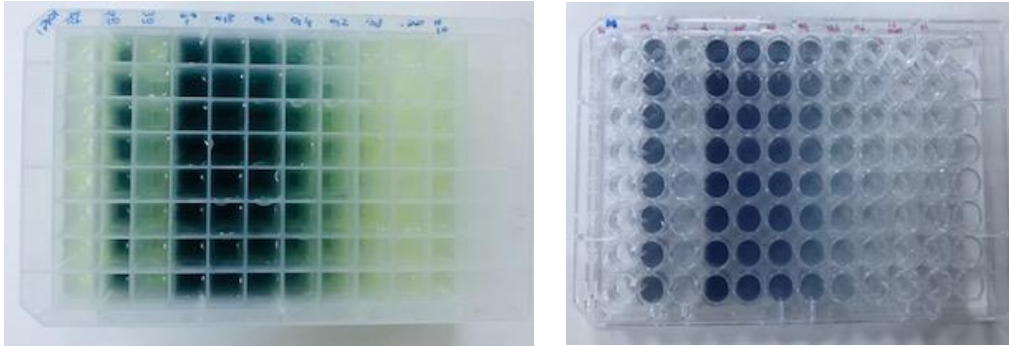


Şekil. 4.15. Gallik asit kalibrasyon eğrisi

Tablo 4.14. SP-1 ekstrelerine ait toplam fenol miktarları

Ekstre Türü	Kodu	Toplam Fenol Miktarı (Ort.±S.S., mgGAE/gekstre)
Hekzanlı ekstre	SP _H -1	0.11 ±0.06
Metanollü ekstre	SP _M -1	0.5 ±0.01
Sulu ekstre	SP _W -1	0.52 ±0.01

*GAE: mg/g Gallik asite eşdeğer olan fenol miktarı



Şekil 4.16. SP-2 ekstrelerinin toplam fenol miktar tayini sonucunda meydana gelen renk değişimi

Tablo 4.15. SP-2 ekstrelerine ait toplam fenol miktarları

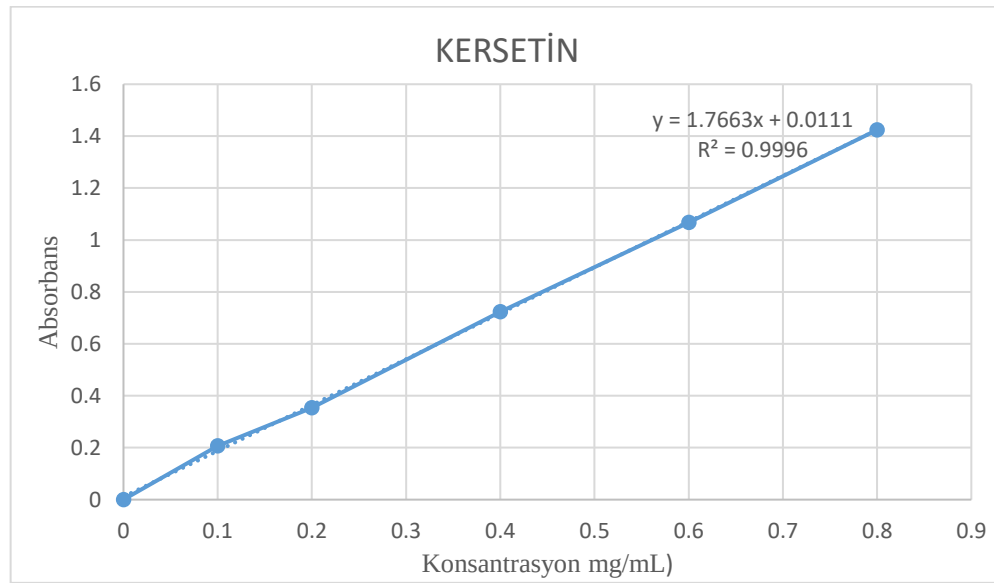
Ekstre Türü	Kodu	Toplam Fenol Miktarı (Ort.±S.S., mgGAE/gekstre)
Hekzanlı ekstre	SP _H -1	0.057± 0.003
Metanollü ekstre	SP _M -1	0.585± 0.015
Sulu ekstre	SP _W -1	0.122± 0.004

*GAE: mg/g Gallik asite eşdeğer olan fenol miktarı.

4.5. Ekstrelerin Toplam Flavonoid Miktarları

İki bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen hekzan, metanol ve sulu ekstrelerinden toplam flavonoid miktarları $AlCl_3$ ile oluşturduğu kompleksin renginin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile tespit edilmiştir.

Kersetin kalibrasyon eğrisi Şekil 4.17’de verilmiştir. Ekstrelerdeki (SP-1) toplam flavonoid miktarları kersetine eşdeğer olarak elde edilen kalibrasyon eğrisindeki denkleme göre hesaplanmıştır (Tablo 4.16).



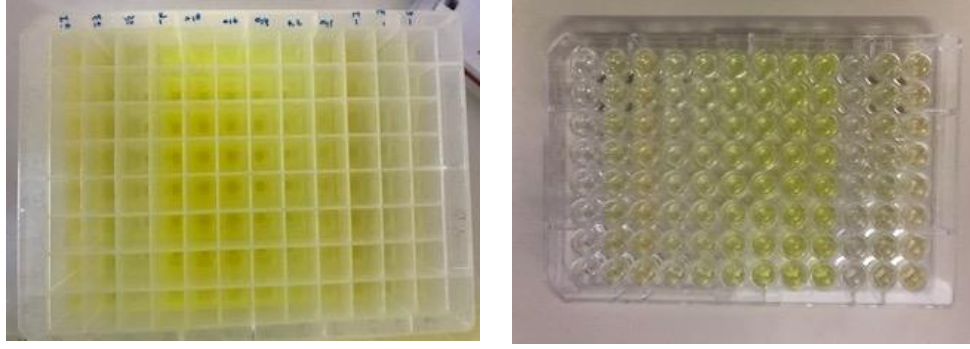
Şekil 4.17. Kersetin kalibrasyon eğrisi

Tablo 4.16. SP-1 ekstrelerine ait toplam flavonoid miktarları

Ekstre Türü	Kodu	Toplam Flavonoid Miktarı (Ort.±S.S., KE _{mg/gekstre})
Hekzanlı ekstre	SP _H -1	İnaktif
Metanollü ekstre	SP _M -1	0.067 ±0.008
Sulu ekstre	SP _W -1	0.081 ±0.009

*KE: mg/g Kersetine eşdeğer flavonoid miktarı

Ekstrelerdeki (SP-2) toplam flavonoid miktarları (Şekil 4.18) kersetine eşdeğer olarak elde edilen kalibrasyon eğrisindeki denkleme göre hesaplanmıştır (Tablo 4.17).



Şekil 4.18. SP-2 ekstrlerinin toplam flavonoid miktar tayini sonucunda meydana gelen renk değişimi

Tablo 4.17. SP-2 ekstrlerine ait toplam flavonoid miktarları

Ekstre Türü	Kodu	Toplam Flavonoid Miktarı (Ort.±S.S., KEmg/gekstre)
Hekzanlı ekstre	SP _H -1	İnaktif
Metanollü ekstre	SP _M -1	0.093± 0.0066
Sulu ekstre	SP _W -1	0.011±0.0007

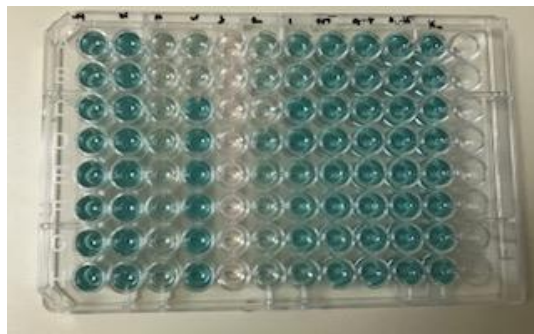
*KE: mg/g Kersetine eşdeğer flavonoit miktarı

4.6. Biyolojik Aktivite Sonuçları

4.6.1. Antioksidan aktivite bulguları

4.6.1.1. Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerleri

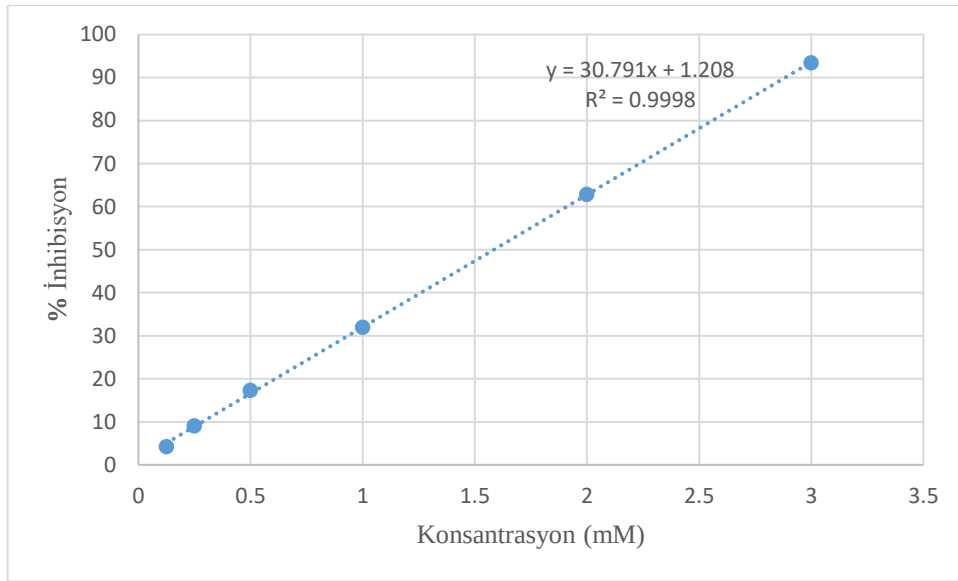
İki farklı lokasyondan toplanan bitkinin toprak üstü kısımlarına ait hekzan, metanol, su ekstrlerinin ve uçucu yağların antioksidan etkisi serbest ABTS radikalini süpürme etkisine göre spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Ekstre ve uçucu yağların antioksidan etkileri Troloks'un (standart madde) ABTS radikalini süpürme etkisi ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir ve meydana gelen renk değişimi Şekil 4.19'de gösterilmiştir.



Şekil 4.19. SP-1 uçucu yağ ve ekstrlerinin etkisi ile ABTS reaktifinin renk değişimi

Değerlendirme sonucunda elde edilen absorbans verileri ile numunelerin % inhibisyonları denkleme göre hesaplaması yapılmıştır. Troloks'un konsantrasyonlarına karşı gelen absorbans değerleri ile kalibrasyon eğrisi çizilerek eğri denkleminde ulaşılmıştır. Değerlendirilen ekstre ve uçucu yağların % inhibisyonları, eğri denkleminde yerine yazılarak TEAC değerleri hesaplanmıştır (Şekil 4.20-21).

Ekstre ve uçucu yağların TEAC değerleri Tablo 4.18 ve 4.19'da gösterilmiştir.



Şekil 4.20. Troloks kalibrasyon eğrisi ve eğri denklemini

Tablo 4.18. SP-1 uçucu yağ ve ekstrelerinin TEAC değerleri

Ekstre Türü	Kodu	TEAC (mM)
Uçucu yağ	SP _{UY} -1	2.39 ±2.15
Hekzanlı ekstre	SP _H -1	0.26 ±0.14
Metanollü ekstre	SP _M -1	2.21 ±0.20
Sulu ekstre	SP _W -1	2.33 ±0.23



Şekil 4.21. SP-2 uçucu yağ ve ekstrelerinin etkisi ile ABTS reaktifinin renk değişimi

Tablo 4.19. SP-2 uçucu yağ ve ekstralarının TEAC değerleri

Ekstre Türü	Kodu	TEAC (mM)
Uçucu yağ	SP _{UY} -1	0.15±0.018
Hekzanlı ekstre	SP _H -1	0.51±0.039
Metanollü ekstre	SP _M -1	2.51±0.11
Sulu ekstre	SP _W -1	0.87±0.06

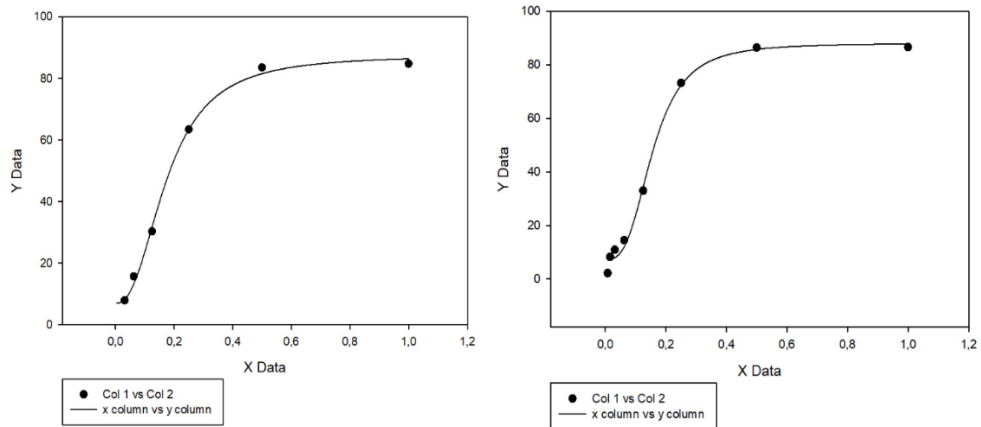
4.6.1.2. Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi) değerleri

Farklı lokasyondan toplanan iki bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen hekzan, metanol, sulu ekstraları ve uçucu yağların DPPH serbest radikalini süpürme etkileri spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Standart madde olarak gallik asit uygulanmıştır, ekstraların ve uçucu yağların inhibisyon değerleri kullanılarak SigmaPlot programında IC₅₀ değerleri bulunmuştur. Sonuçlar mg/mL cinsinden değerlendirilmiştir (Tablo 4.20-21 ve Şekil 4.22-23).

Tablo 4.20. SP-1 uçucu yağ ve ekstralarının DPPH testinde IC₅₀ değerleri

Ekstre Türü	Kodu	IC ₅₀ , mg/mL GA (Ort.±S.S.)
Uçucu yağ	SP _{UY} -1	İnaktif
Hekzanlı ekstre	SP _H -1	28.781±1.866 (10 mg/mL)
Metanollü ekstre	SP _M -1	0.19 ±0.03 (IC ₅₀)
Sulu ekstre	SP _W -1	0.16±0.04 (IC ₅₀)

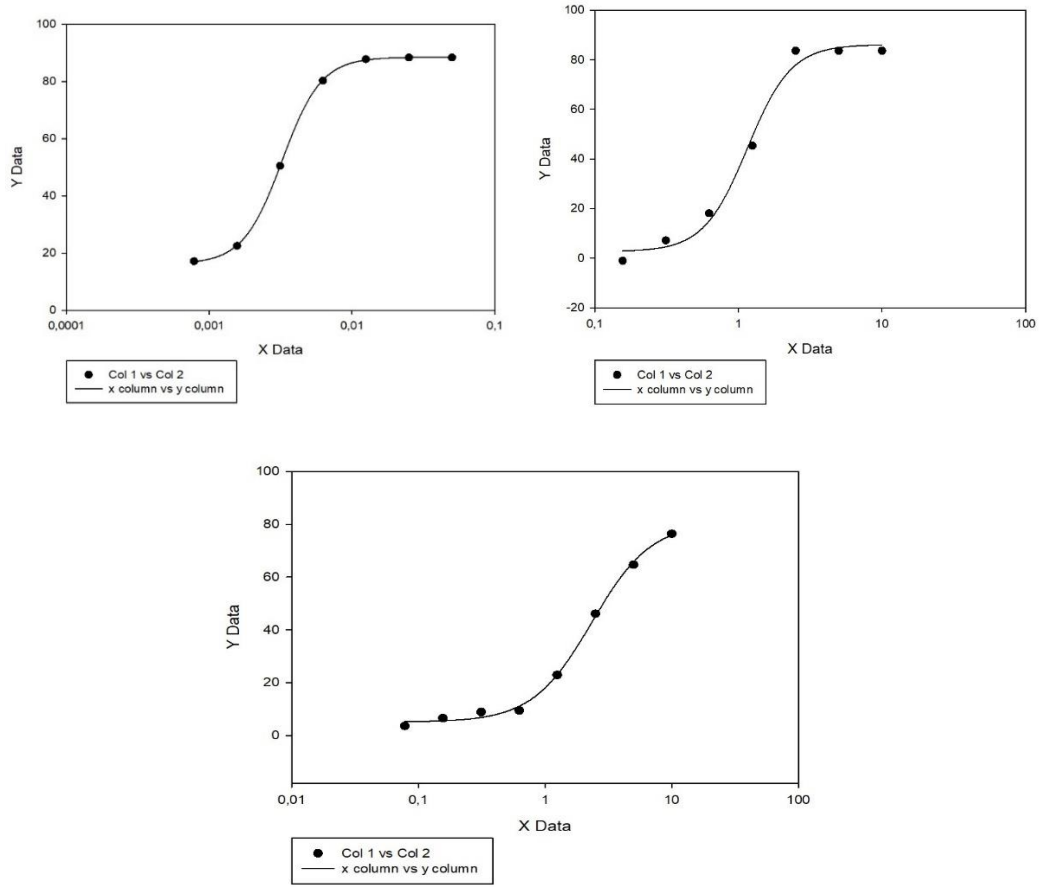
GA: Gallik asit standart inhibitörü; Ort.: Ortalama değer; S.S.: Standart sapma

**Şekil 4.22.** SP-1 kodlu bitkinin sırasıyla metanol ve su ekstralarının IC₅₀ değerleri

Tablo 4.21. SP-2 uçucu yağ ve ekstralarının DPPH testinde IC₅₀ değerleri

Ekstre Türü	Kodu	IC ₅₀ , mg/mL GA (Ort.±S.S.)
Uçucu yağ	SP _{UY} -2	İnaktif
Hekzanlı ekstre	SP _H -2	2.2814±0.0576 (IC ₅₀)
Metanollü ekstre	SP _M -2	0.2376±0.0095 (IC ₅₀)
Sulu ekstre	SP _W -2	1.2176±0.053498 (IC ₅₀)

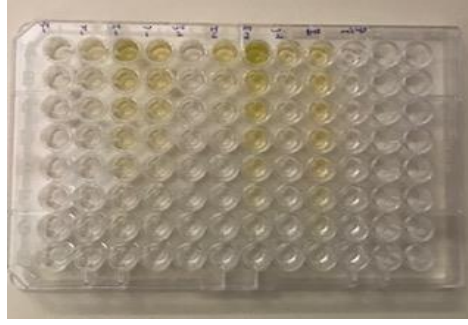
GA: Gallik asit standart inhibitörü; Ort.: Ortalama değer; S.S.: Standart sapma



Şekil 4.23. SP-2 kodlu bitkinin sırasıyla gallik asit, su ve hekzan ekstralarının IC₅₀ değerleri

4.6.1.3. β -Karoten soldurma etkisi

SP-1 ve SP-2 kodlu bitkilere ait ekstre ve uçucu yağlarının β -karoten /linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme derecesi β -karoten'in renginin solma durumuna dikkate alınarak analiz gerçekleştirilmiştir. BHA, standart madde olarak kullanılmıştır, SigmaPlot programı aracılığıyla ekstre ve uçucu yağların inhibisyon değerleriyle IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Deney sonucunda β -karoten'in rengindeki gözlemlenen değişim Şekil 4.24.'te verilmiştir.



Şekil 4.24. Sırasıyla SP-1 ve SP-2'in uçucu yağ ve ekstralarının β -karoten rengindeki değişimi

Ekstre ve uçucu yağların % inhibisyon değerlerinin hesaplanmasının ardında %50'den fazla inhibisyon etkisindeki numuneler için mikrodilüsyon yönteminden faydalanarak lipit peroksidasyonu yarıya indiren numunelerin konsantrasyonları analiz edilmiştir.

Daha sonra SigmaPlot programı aracılığıyla IC_{50} değerleri bulunmuştur (Tablo 4.22).

Tablo 4.22. SP-1 ve SP-2 kodlu bitkilerin ekstre ve uçucu yağlarının β -karoten soldurma testinde IC_{50} değerleri

Ekstre Türü	Kodu	IC_{50} , mg/mL
Uçucu yağ	SP _{UY} -1	İnaktif
Uçucu yağ	SP _{UY} -2	İnaktif
Hekzanlı ekstre	SP _H -1	İnaktif
Hekzanlı ekstre	SP _H -2	İnaktif
Metanollü ekstre	SP _M -1	0.7335
Metanollü ekstre	SP _M -2	1.3±0.02
Sulu ekstre	SP _W -1	1.4±0.16
Sulu ekstre	SP _W -2	İnaktif
BHA	BHA	0.011±0.0005

IC_{50} : %50 inhibisyon gösteren konsantrasyon;

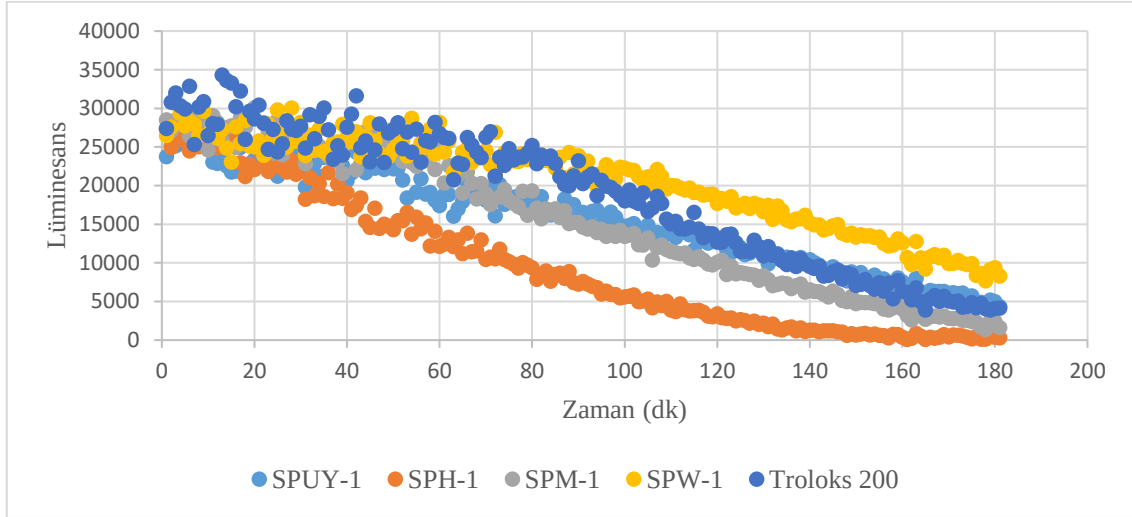
%İnh.: Ekstreler için 10 mg/mL de görülen % inhibisyon değeri;

Uçucu yağlar için 5 mg/mL de görülen % inhibisyon değeri.

4.6.1.4. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) değerleri

SP-1 ve SP-2 ekstralarının ve uçucu yağlarının ORAC değeri fluoresein rengindeki solma derecesi dikkate alınarak hesaplanmıştır. Türlerin uçucu yağları ve ekstralarının fluoreseinin lüminesans değerlerinin zamana karşı değişimi Şekil 4.25. ve Şekil 4.26'da verilmiştir.

Troloks, standart madde olarak kullanılıp, ekstre ve uçucu yağların antioksidan kapasiteleri Troloks'a eşdeğer olarak bulunmuştur. Ekstre ve uçucu yağların Troloks'a eşdeğer ORAC değerleri Tablo 4.23 ve Tablo 4.24.'de görsel olarak sunulmuştur

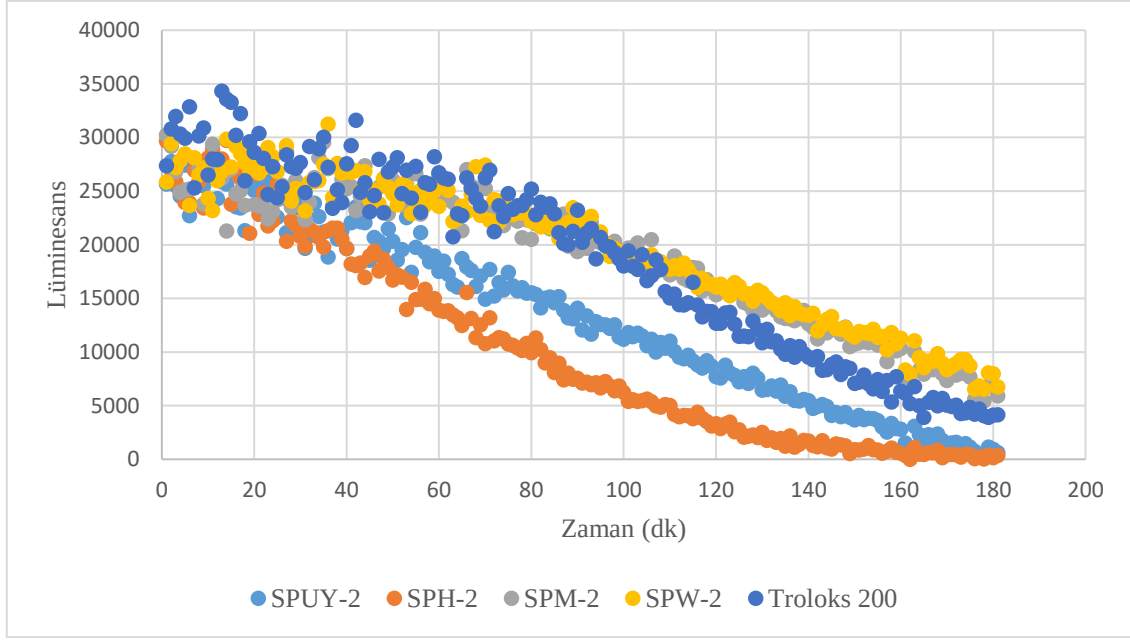


Şekil 4.25. SP-1 uçucu yağ, ekstrelerinin ve Trolox'un fluoresein'in floresans solmasını geciktirmesi

Tablo 4.23. SP-1 uçucu yağ, ekstrelerinin Trolox'a eşdeğer ORAC değerleri*

Ekstre Türü	Kodu	ORAC, TEuM
Uçucu yağ	SP _{UY} -1	32.61±6.78
Hekzanlı ekstre	SP _H -1	İnaktif
Metanollü ekstre	SP _M -1	133.99±13.98
Sulu ekstre	SP _W -1	248.43±25.44

- Uçucu yağ ve ekstreler 0.1 mg/mL'lidir



Şekil 4.26. SP-2 uçucu yağ, ekstrelerinin ve Troloks'un fluoresein'in floresans solmasını geciktirmesi

Tablo 4.24. SP-2 uçucu yağ, ekstrelerinin Troloks'a eşdeğer ORAC değerleri*

Ekstre Türü	Kodu	ORAC, TEuM
Uçucu yağ	SP _{UY} -2	İnaktif
Hekzanlı ekstre	SP _H -2	İnaktif
Metanollü ekstre	SP _M -2	217.60±21.84
Sulu ekstre	SP _W -2	238.98±20.4

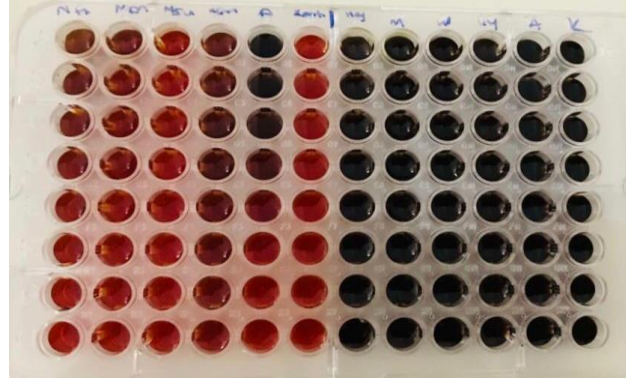
* Uçucu yağ ve ekstreler 0.1 mg/mL'lidir

4.6.2. Antidiyabetik aktivite bulguları

4.6.2.1. α -Amilaz inhibisyon verileri

SP-1 ve SP-2 kodlu bitkilerin ekstre ve uçucu yağların α -amilaz enzimini inhibe etme kapasitesi, α -amilaz enziminin nişastayı hidroliz etmesine göre değerlendirilmiştir. Reaksiyon sonucunu analiz etmek için kromojenik ajan olarak I₂+KI reaktifi kullanılmıştır. Standart antidiyabetik etkili madde olarak akarboz uygulanmıştır.

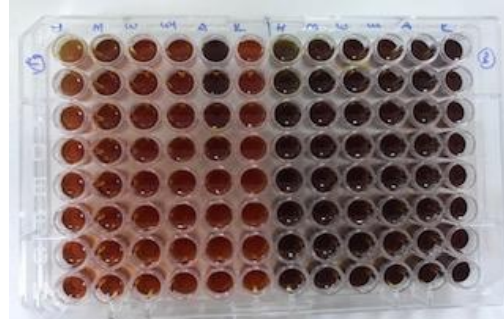
Uçucu yağ ve ekstrelerin α -amilaz enzim inhibisyon değerleri Tablo 4.25 ve Tablo 4.26' te verilmiştir. Deney sonucunda görülen görülen renk değişimleri Şekil 4.27'te ve Şekil 4.28'de gösterilmiştir.



Şekil 4.27. SP-1 uçucu yağ ve ekstralarının α -amilaz enzimi üzerindeki etkileri

Tablo 4.25. SP-1 uçucu yağ ve ekstralarının α -amilaz enzimi üzerinde gösterdikleri % inhibisyon değerleri

Ekstre Türü	Kodu	İnh*., %
Uçucu yağ	SP _{UY} -1	33.592 (0.313 mg/mL)
Hekzanlı ekstre	SP _H -1	4.150857 (0.078125 mg/mL)
Metanollü ekstre	SP _M -1	9.266 (0.625 mg/mL)
Sulu ekstre	SP _W -1	İnaktif



Şekil 4.28. SP-2 uçucu yağ ve ekstralarının α -amilaz enzimi üzerindeki etkileri

Tablo 4.26. SP-2 uçucu yağ ve ekstralarının α -amilaz enzimi üzerinde gösterdikleri % inhibisyon değerleri

Ekstre Türü	Kodu	İnh*., %
Uçucu yağ	SP _{UY} -2	20.72148 (5 mg/mL)
Hekzanlı ekstre	SP _H -2	13.25301 (0.078125 mg/mL)
Metanollü ekstre	SP _M -2	20.01555 (0.625 mg/mL)
Sulu ekstre	SP _W -2	10.73326 (0.625 mg/mL)

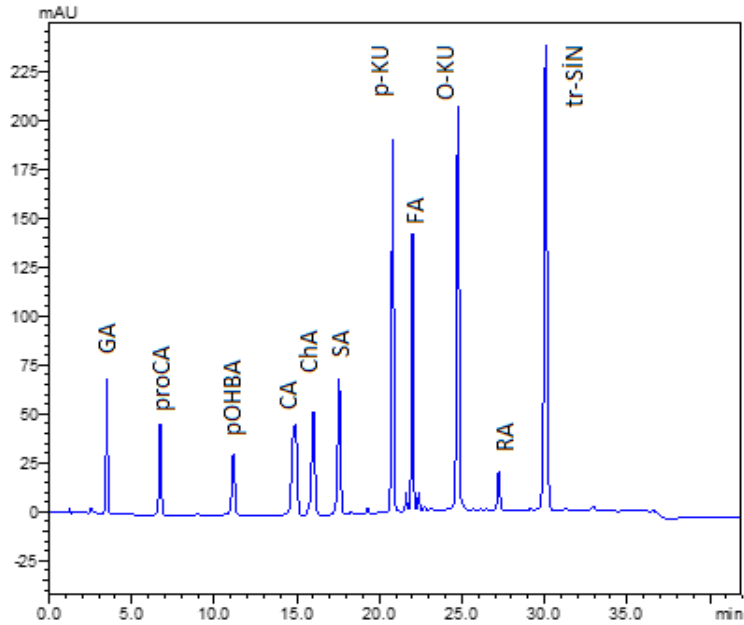
4.7. YBSK-DAD ile Fenolik Asit Miktar Tayini

Shimadzu LC 20A Yüksek Başarımlı Sıvı Kromatografisi (YBSK) Cihazı kullanılarak analizi gerçekleştirilen SP-1 ve SP-2 ekstralarında bulunan fenolik asitlerin (gallik (GA), protokateşik (proto-KA), kafeik (KA), klorojenik (KLA), *p*-kumarik (*p*-KU), ferulik (FA), *o*-kumarik (*o*-KU) asitler) ayırımı C₁₈ kolonda deneysel kısımda belirtildiği koşullarda gerçekleştirilmiş (Şekil 4.29-30), sonuçlar Tablo 4.27 ve Tablo 4.28.'de verilmiştir.

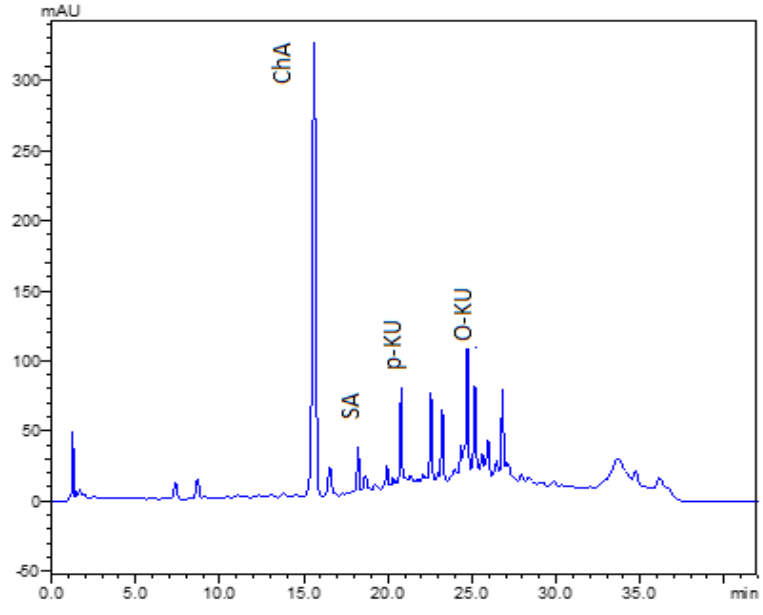
Tablo 4.27. Çalışılan ekstraların ters-faz YBSK ile tespit edilen fenolik asit miktarları

Fenolik asit miktarları (µg/g bitki)								
Ektreler	proKA	p-OHBA	KA	KLA	SA	p-KU	FA	o-KU
SP _M -1	0.11	0.12	0.05	4.06	0.07	0.44	0.30	0.53
SP _W -1	0.22	0.79	0.25	5.26	0.21	0.89	0.48	0.65
SP _M -2		0.73	0.99	0.52	0.74	0.47	0.27	1.03
SP _W -2		0.44	0.19	0.52	0.22	0.56	0.95	0.97

pro-KA: Protokateşik Asit, KA: Kafeik Asit, KLA: Klorojenik Asit, *p*-KU: *para*-Kumarik Asit, FA: Ferulik Asit; *o*-KU: *orto*-Kumarik Asit).



Şekil 4.29. Fenolik asit standartlarının YBSK kromatogramı



Şekil 4.30. Su Ekstresi (SP-) YBSKkromatogramı

5. TARTIŞMA

5.1. Uçucu Yağ Profili

Bu çalışmada, ülkemizde doğal olarak yetişen *Scabiosa pseudograminifolia* bitkisi, farklı iki lokaliteden toplanmış ve ilk defa bu çalışmada fitokimyasal ve biyolojik etkileri açısından değerlendirilmiştir. SP-1 ve SP-2 kodu ile tanımlanan bitkilerin yapraklarından hidrodistilasyon işlemi sonucunda elde edilen uçucu yağın verimi sırasıyla SP-1 %0.01963 ve SP-2 %0.009592 olarak saptanmıştır.

SP-1 kodlu bitkinin uçucu yağında yağın %89.9'una karşılık gelen farklı 16 bileşik tanımlanmıştır. Ana bileşenler olarak hekzadekanoik asit (%30.2), linalol (%15.6), dodekanoik asit (%10.9), tetradekanoik asit (%9.1), izokumen (%8), α -terpineol (%2.59) belirlenmiştir.

SP-2 kodlu bitkinin uçucu yağında ise yağın %90.1'ine karşılık gelen 111 farklı bileşik tanımlanmıştır. Ana bileşikler olarak dodekanoik asit (%11), tetradekanoik asit (%10.6), alloaromadendren (%9.1), hekzahidro farnesil aseton (%4.1), α -kadinol (%2.2), pentadekanoik asit (%2.1), α -terpineol (%1.8) olarak tanımlanmıştır.

Literatürde *Scabiosa* türlerine ait uçucu yağ çalışmaları incelendiğinde; *Scabiosa flavida* yapraklarından clevenger apareyiyle %0.03 (a/a) hidrodistilasyonla uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağda %69.6 oranında seskiterpenler, %7.3 oranında monoterpenler %17.3 oranında terpenik olmayan bileşenlerin bulunduğu belirlenmiştir. Ana bileşenleri trikozan (%15.5), rosifoliol (%15.3), (*E*)-karyofillen (%10.7) ve a-humulen (%7.9)' dir [65]. *S. arenaria* 'nın meyvelerinden elde edilen uçucu yağından 61 bileşik tanımlanmıştır. Bu bileşiklerin %89.29 monoterpen, %5.9 seskiterpen oluşturmaktadır. Elde edilen uçucu yağın ana bileşikleri olarak α -tujon(%34.39), kafur(%17.48), β -tujon (%15.29), kamfen (%3.62), 1,8-sineol (%3.48), sabinen (%3.46) olarak analiz edilmiştir [110].

Literatür çalışmalarında *S. pseudograminifolia* bitkisine ait uçucu yağ profili çalışması bulunmamaktadır. Dolayısı ile gerçekleştirilen bu çalışma bilim dünyası için ilk olması açısından önemlidir.

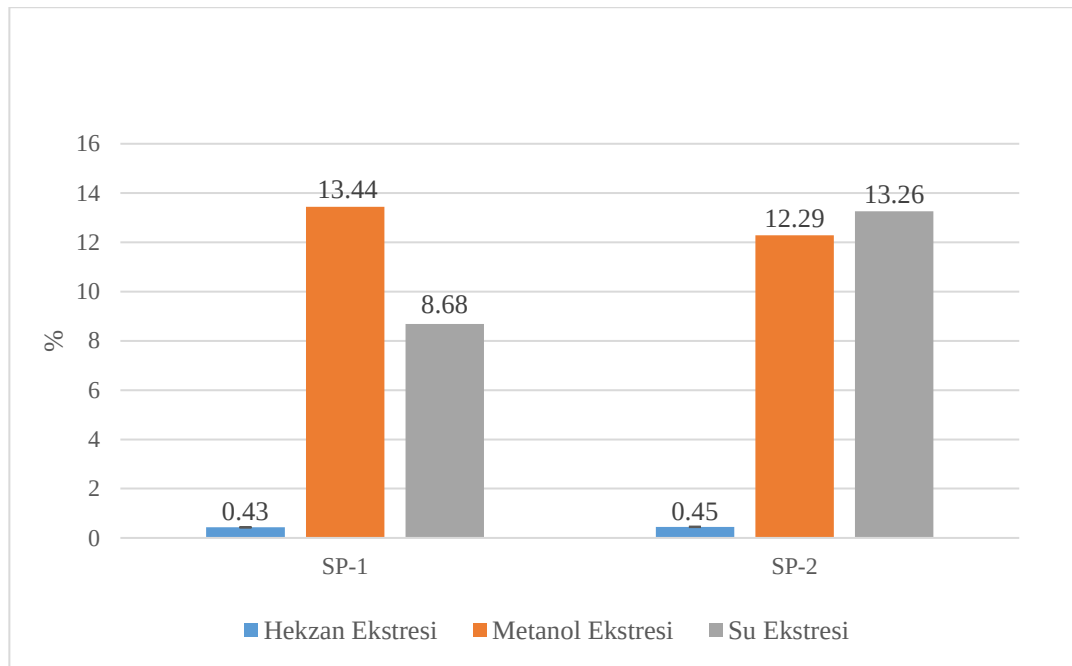
5.2. Ekstrelerin Verimi

SP-1 ve SP-2 kodlu bitkilerin yapraklarından araştırma kapsamında sırasıyla hekzan, metanol ve su olmak üzere üç farklı ekstre elde edilmiştir. Verimlerine

bakıldığında SP-1 kodlu bitkide metanollü (%13.44), SP-2 kodlu bitkide ise sulu (%13.26) ekstrenin verimi en yüksek olarak saptanmıştır.

1. Bitkinin hekzanlı ekstresi (SP_H-1) keskin kokulu ve sarı-yeşil renktedir; 2. Bitkinin hekzanlı ekstresi (SP_H -2) keskin kokulu ve sarı-turuncu renktedir. 1. Bitkinin sulu ekstresi (SP_W-1) sarı- bej renkte tüysü yapıda; 2. Bitkinin sulu ekstresi (SP_W-2) kahverengi-bej renkte elde edilmiştir. İki bitkiye ait metanollü ekstreler birbirine benzer şekilde koyu yeşil renktedir.

Ekstrelerin verimlerine ait grafik Şekil 5.1' de yer almaktadır.



Şekil 5.1. Ekstrelerin verimlerine ait grafik

Literatürde *Scabiosa* türlerine ait aseton, su, metanol, etanol, etilasetat, kloroform, diklorometan, dietilasetat, hekzan, butanol ekstreleri ile yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Araştırma kapsamında elde edilen verim bilgileri kaynak bilgileri ile karşılaştırıldığında, bitkinin yetiştirme ortamı kullanılan çözücü ve çalışılan türün farklı olması sebebiyle ortaya çıktığı düşünülen farklılıklar gözlemlenmiştir. *Scabiosa* yaprak verimlerine ait literatür çalışmaları incelendiğinde; *Scabiosa arenaria* yapraklarının aseton ekstresi % 2.92, su ekstresi %8.8, etil asetat ekstresi %1.52, butanol ekstresi %2.88 verimle elde edilmiştir [31, 38]. *S. atropurpurea* yapraklarında metanol ekstresi %28 verimle edilmiştir [43]. *S. columbaria* ve *Scabiosa lucida* yapraklarından metanol ekstresi sırasıyla %4.54, %1.35 verimle elde edilmiştir [24, 47]. *Scabiosa sicula* bitkisinin

yapraklarından %0.11 verimle hekzan, %0.54 verimle diklorometan, %1.55 verimle metanol ekstresi elde edilmiştir [28]. *Scabiosa stellata* L. bitkisinin toprak üstü ve köklerinden %6.07 verimle butanol, %1.30 verimle etilasetat, %0.20 verimle petrol eteri ekstres elde edilmiştir [41]. *S. tschiliensis* kurutulmuş bütün bitki halinden %1.58 verimle metanol, %0.17 verimle hekzan, %0.14 verimle etilasetat, %0.56 verimle butanol ekstresi elde edilmiştir [7].

Literatürler incelendiğinde çalışılan tür olan *Scabiosa pseudograminifolia* bitkisinin ekstre verimi oranları diğer *Scabiosa* türlerine ait ekstre verim oranlarıyla karşılaştırıldığı zaman değerlerin yakın olduğu görülmüştür.

5.3. Çiçek ve Yaprak Uçucu Bileşen Profili (MSD-SPME Sonuçları)

Proje kapsamında *S. pseudograminifolia* bitkisinin çiçek ve yapraklarından MSD-SPME tekniği ile uçucu bileşenlerinin profili ilk kez araştırılmıştır.

1. Bitkinin (SP-1) yapraklarından MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonunda 68 bileşik tanımlanmıştır. Ana bileşikler olarak; (Z)-3-hekzenal (%34), 6-metil-1-oktanol (%4.3), 4-metil-(2E)-undeken (%3.6), 2-etil hekzanol (%3.2), linalol (%3.1), karvakrol (%3), nonanol (%2.9) tespit edilmiştir. 2. Bitkinin (SP-2) yapraklarından ise MSD-SPME ile elde edilen uçucu bileşenlerin kompozisyonunda 104 bileşik tanımlanmıştır. Ana bileşikler olarak alloaromadendren (%24.9), naftalen (%9.4), (E)-2-hekzenal (%8.2), benzaldehit (%4.1), α -terpineol (%4.1), γ -muurolen (%3.2) ve γ -kadinen (%2.8) tespit edilmiştir.

1. Bitkinin (SP-1) çiçeklerinden MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonunda 73 bileşik tanımlanmıştır. Ana bileşik olarak; (Z)-3-hekzenal (%29.1), hekzanol (%7.7), linalol (%5), hekzenal (%4.4), 2-etil hekzanol (%4.3), benzaldehit (%3.9) ve (E)-2-hekzenal (%1.5) tanımlanmıştır. 2. Bitkinin (SP-2) çiçeklerinden MSD-SPME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kompozisyonunda ise 104 bileşik tanımlanmıştır. Ana bileşik olarak; naftalen (%14.1) 4-vinilpiridin (%7.61), γ -muurolen (%5.6), δ -kadinen (%4.9), heksahidrofarnesil aseton (%3.8) γ -kadinen (%3.6), 1-okten-3-ol (%3.6) ve kalamenen (%3.0) olarak bulunmuştur.

Scabiosa türleriyle ilgili daha önce yapılmış MSD-SPME çalışması literatürde bulunmamaktadır. Dolayısı ile bitki üzerinde yürütülmüş olan bu çalışma bilim dünyası için yeni veriler sunması açısından önemlidir.

5.4. Sabit Yağ Profili

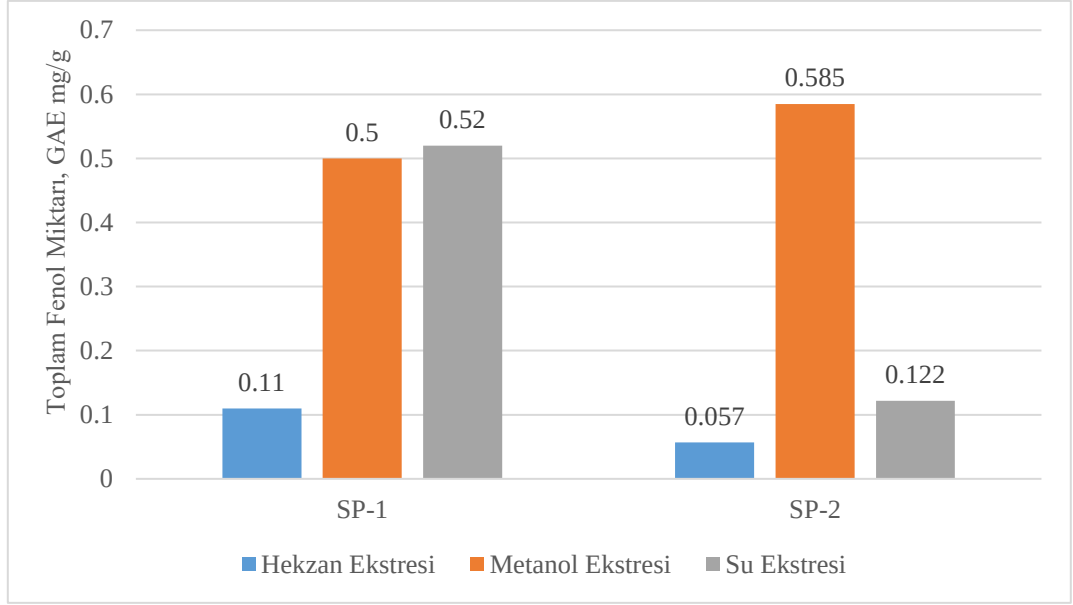
Proje kapsamında *S. pseudograminifolia* bitkisinin çiçek ve yaprak sabit yağ profili ilk kez araştırılmıştır.

1. Bitkinin (SP-1) yapraklarından elde edilen sabit yağın yağ asitleri profilinde 20 bileşik bulunmuştur. Ana bileşikler olarak, nonadekanoik asit (%21.9), hekzadekanoik asit (%20.8), (Z,Z,Z)- 9,12,15-oktadekatrienoik asit (%10.3), dokosanoik asit (%8.3), (Z)-9-Octadekenoik asit (%7.8), Octadekanoik asit (%7.1), (Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (%5.8) ve Eikosanoik asit (%4.4) tespit edilmiştir. 2. Bitkinin (SP-2) yapraklarından elde edilen sabit yağın yağ asitleri profilinde 8 bileşik bulunmuştur. Yağdaki ana bileşikler olarak nonadekanoik asit (%44.9), hekzadekanoik asit (%20.1), (Z,Z,Z)- 9,12,15-Oktadekatrienoik asit (%15.6) ve (Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit (%6.7) tespit edilmiştir.

1. Bitkinin (SP-1) çiçeklerinden elde edilen sabit yağda 24 yağ asidi bulunmuştur. Bu yağdaki ana bileşikler, nonadekanoik asit (%21.6), hekzadekanoik asit (%18.3), (Z,Z)-9,12-oktadekadienoik asit (%12.4), (Z,Z,Z)- 9,12,15-oktadekatrienoik asit (%12.2) ve octadekanoik asit (%5.6) tir. 2. Bitkinin (SP-2) çiçeklerinden elde edilen sabit yağın yağ asitleri profilinde 17 bileşik tespit edilmiştir. Hekzadekanoik asit (% 41.3), nonadekanoik asit (%14.5), nonanoik asit (%13.5) ve oktanoik asit (%5.3) yağdaki ana bileşiklerdir.

5.5. Toplam Fenol Miktar Tayini

SP-1 ve SP-2 ekstrelerinin toplam fenol miktarı tayini için Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılmıştır. İki ayrı lokaliteden toplanan bitkiye ait ekstrelerin meydana getirdiği kompleksin rengi spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Gallik asit, standart madde olarak uygulanmıştır. Analiz sonuçları gallik asite eşdeğer olarak bulunmuştur (Şekil 5.2).



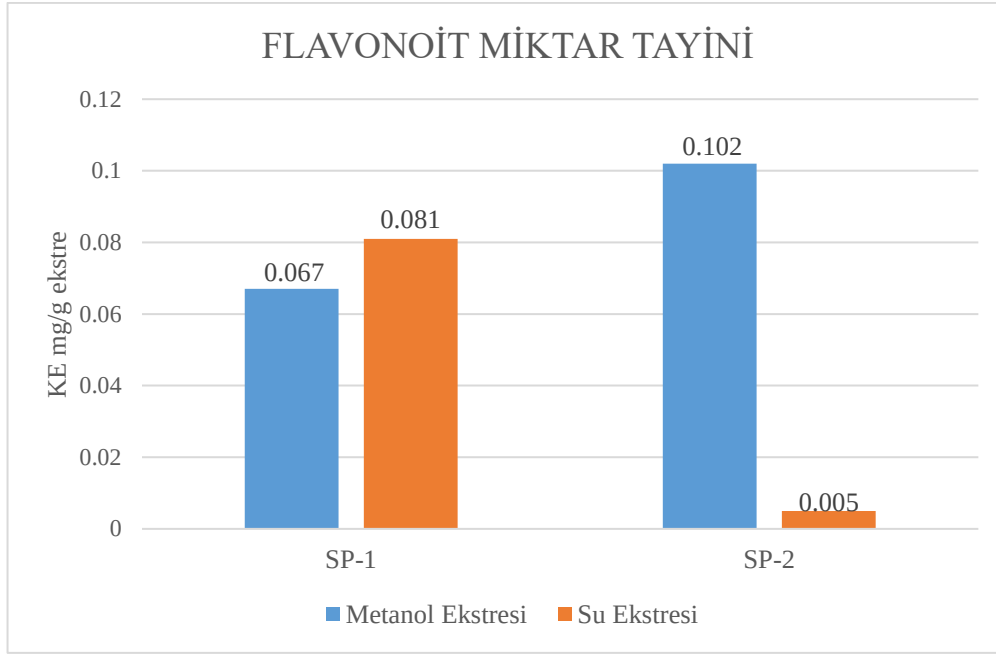
Şekil 5.2. SP-1 ve SP-2 ekstrelerinin gallik asite eşdeğer toplam fenol miktarları

Analiz sonuçlarına göre toplam fenol miktarı SP-1 kodlu bitkide en fazla sulu ekstrede, SP-2 kodlu bitkide metanollü ekstrede tespit edilmiştir.

Literatürde *Scabiosa* türlerine ait çalışmalar incelendiğinde; *Scabiosa arenaria*' ya ait aseton, etanol, su ekstrelerinde fenol miktarı sırasıyla 138.36, 99.87, 35.72 mg kateşin/g ekstre olarak bulunmuştur. En yüksek fenol miktarının asetonlu ekstrede olduğu görülmüştür [31]. *Scabiosa arenaria*' ya ait başka bir çalışmada en yüksek fenol miktarının meyveler için etilasetat ve *n*-butanol fraksiyonlarında en fazla olduğu gözlenmiştir [17]. Aynı bitki için başka bir çalışmada en yüksek fenol miktarının *n*-butanol fraksiyonunda bunu ise etilasetat fraksiyonu takip etmiştir [38]. *S. atropurpurea* L. köklerinde yapılan çalışmada en yüksek fenol miktarı etanol ekstresinde bulunmuştur, bunu etilasetat, kloroform, diklorometan ekstresi takip etmiştir [32].

5.6. Toplam Flavonoit Miktarı Tayini

SP-1 ve SP-2 ekstrelerinin toplam flavonoit miktarı tayinini gerçekleştirmek amacıyla $AlCl_3$ reaktifi kullanılmıştır. Ekstrelerin meydana getirdiği kompleksin rengi spektrofotometrik olarak hesaplanmıştır. Kersetin, standart madde olarak uygulanmıştır. Sonuçlar kersetine eşdeğer olarak ölçülmüştür (Şekil 5.3).



Şekil 5.3. SP-1 ve SP-2 ekstralarının toplam flavonoit miktar tayini

En yüksek flavonoit miktarının SP-1 kodlu bitkide sulu ekstrede bulunduğu, SP-2 kodlu bitkide ise metanollü bitkide bulunduğu tespit edilmiştir. Her iki bitkininde hekzanlı ekstresi inaktiftir (Şekil 5.3).

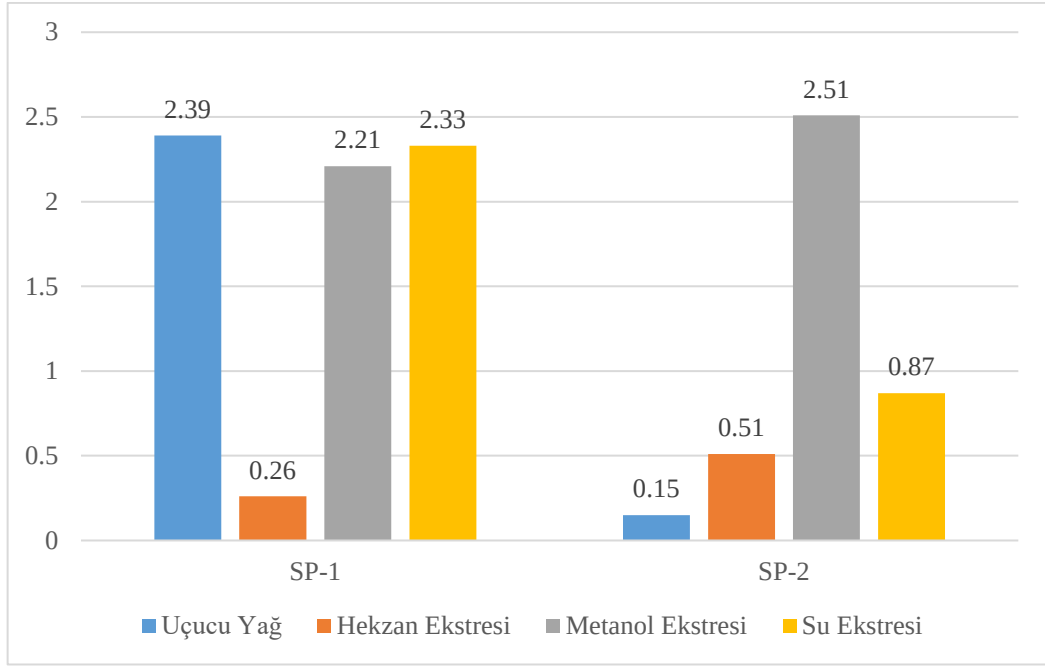
5.7. Biyolojik Aktivite Araştırmaları

5.7.1. Antioksidan aktivite potansiyeli

5.7.1.1. Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerleri

SP-1 kodlu bitkiye ait uçucu yağ ve ekstralarının ABTS serbest radikalini süpürme etkisi Troloks'a eşdeğer ölçülmüştür.

SP-1 kodlu Sivas bölgesinden toplanan bitkide hekzanlı ekstre bu test sonucunda dikkate değer bir etki göstermemiştir. En yüksek aktivite uçucu yağda gözlenmiştir. SP-2 kodlu Eskişehir bölgesinde toplanan bitkide en yüksek aktivite metanol ekstresinde gözlenirken, uçucu yağda en düşük aktivite gözlenmiştir (Şekil 5.4).



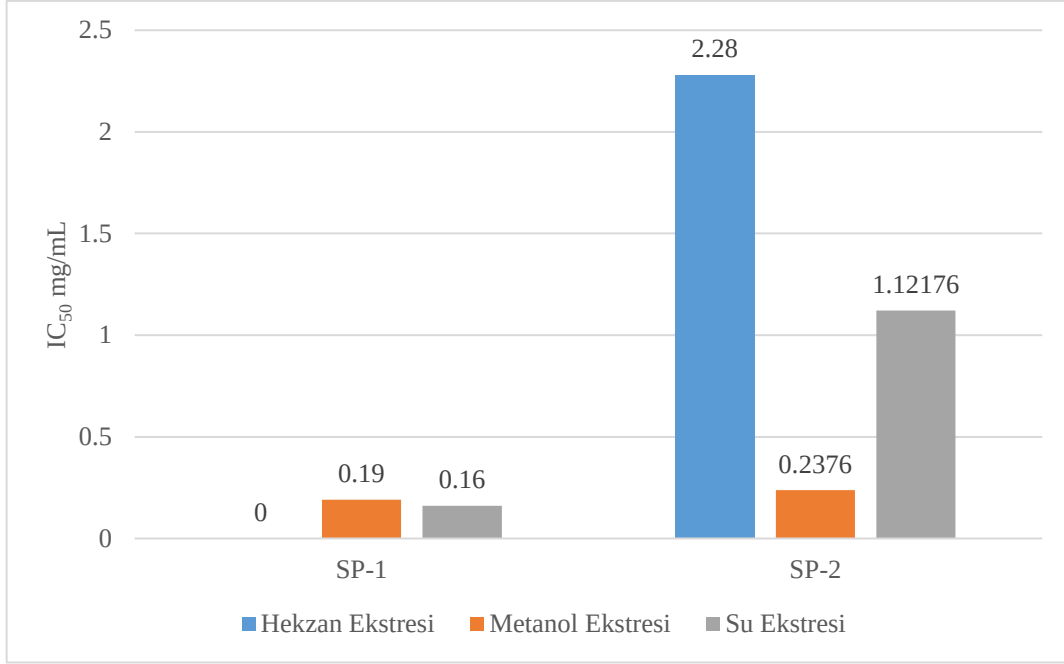
Şekil 5.4. İki bitkiye ait uçucu yağ ve ekstreleri Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite değerleri

Literatürde *Scabiosa* türlerine ait çalışmalar incelendiğinde; *S. arenaria*'ya ait çalışmalarda en yüksek aktivitenin *n*- butanol fraksiyonunda olduğu gözlemlenmiştir [38]. *Scabiosa comosa* Fisch. ex Roem. et Schult ve *S. tschilliensis* Grunning üzerinde yapılan bir çalışmada %70'lik etanol ekstresinde IC₅₀ değerleri sırasıyla 199.7, 223.5 µg/mL olarak bulunmuştur. Çalışmaya göre *S. tschilliensis* Grunning *Scabiosa comosa* Fisch. ex Roem. et Schult'dan daha yüksek radikal süpürücü etki göstermiştir [32].

5.7.1.2. Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi) değerleri

SP-1 ve SP-2'e ait uçucu yağ ve ekstrelerinin DPPH serbest radikalini etkileri spektrofotometrik yöntemle hesaplanmıştır. Standart antioksidan madde olarak gallik asit kullanılarak uçucu yağ ve ekstrelerin yüzde inhibisyon değerleri kıyaslanmıştır.

İnhibisyon değerleri %50'den fazla olan numunelerin IC₅₀ değerleri, SigmaPlot programını aracılığıyla ölçülmüştür. Analiz sonunda SP-1 kodlu bitkiye ait hekzanlı ekstrenin ve uçucu yağın %50'den düşük bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. En yüksek serbest radikal süpürme etkinin metanollü ekstre olduğu; SP-2 kodlu bitkiye ait uçucu yağın %50'den düşük bir aktivite gösterdiği en yüksek aktivite ise hekzanlı ekstrede gözlemlenilmiştir (Şekil 5.5).



Şekil 5.5. SP-1 ve SP-2 kodlu bitkilere ait uçucu yağ ve ekstrelerinin DPPH serbest radikali süpürücü etkileri (IC₅₀ değerleri)

Kaynaklarda *Scabiosa* türlerine ait çalışmalar incelendiğinde; *S. atropurpurea*'ya ait DPPH testi çalışmasında, etanol ekstresinin (IC₅₀, 0.1383±0.0789 mg/mL) en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu, bunu etil asetat ekstresinin (IC₅₀, 0.4806 ±0.0487 mg/mL) takip ettiği, kloroform (IC₅₀, 2.0951±0.3750 mg/mL) ve diklorometan (IC₅₀, 2,6985±0.4296 mg/mL) ekstresinin zayıf etki gösterdiği gözlenmiştir [31]. *Scabiosa comosa* Fisch. ex Roem. et Schult ve *S. tschilliensis* Grunning üzerine yapılan bir çalışmada %70'lik etanol ekstresinde IC₅₀ değerleri sırasıyla 272.8, 333.1 mg/mL olarak bulunmuştur. Çalışmaya göre *S. tschilliensis*, *Scabiosa comosa*'dan daha yüksek radikal temizleme gücü göstermiştir [32]. *Scabiosa stellata* bitkisinin %70 metanol ekstresiyle yapılan bir çalışmada serbest radikal süpürücü etki değerlerinin IC₅₀, 86.0 ± 1.8 (µg/mL) olarak bulunmuştur [24].

5.7.1.3. *β*-Karoten soldurma etkisi

SP-1 ve SP-2 kodlu bitkilere ait ekstre ve uçucu yağların lipit peroksidasyonunu inhibe etme etkisini belirlemek için *β*-karoten'in solmasını önleme kapasitesi dikkate alınarak ölçümler yapılmıştır. Standart antioksidan madde olan BHA kullanılmıştır. BHA ile karşılaştırılarak Uçucu yağ ve ekstrelerin yüzde inhibisyon değerleri bulunmuştur

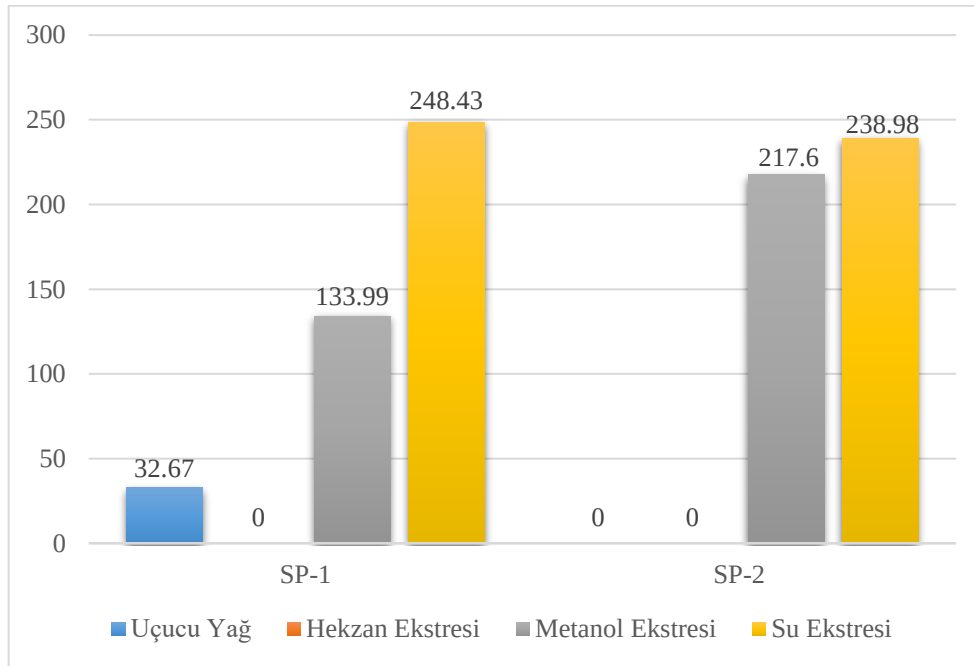
Uçucu yağ ve ekstrelerin IC₅₀ değerleri SigmaPlot programında hesaplanmıştır.

β -Karoten soldurma testinde SP-1 kodlu bitkide en yüksek aktivite metanol, SP-2 kodlu bitkide ise en yüksek aktivite su ekstresinde bulunmuştur.

Literatürde *Scabiosa* türlerine ait çalışmalar incelendiğinde; *S. arenaria*'ya ait çalışmalarda kök ekstresinin yüksek aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. En yüksek aktiviteyi sırasıyla *n*- butanol fraksiyonu (%99±0.9), su fraksiyonu (%56.28±0.1), kuru ekstre (%53.14±0.35) olarak belirlenmiştir (38).

5.7.1.4. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) değerleri

SP-1 ve SP-2'ye ait numunelerin oksijen radikali absorbans kapasitesi peroksit radikallerinin fluoresein'in flöresan özelliğini söndürmesi ilkesine göre analiz edilmiştir. Standart madde olarak troloks ile karşılaştırılıp; uçucu yağ ve ekstrelerin antioksidan kapasiteleri bulunmuştur (Şekil 5.6).



Şekil 5.6. SP-1 ve SP-2'ye ait uçucu yağ ve ekstrelerinin Troloks'a eşdeğer ORAC değerleri

Literatürde *Scabiosa* türlerine ait antioksidan çalışmalar incelendiğinde; *S. arenaria* 'ya ait ekstrelerin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal süpürücü ve eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (TEAC) testi yapılarak antioksidan kapasiteleri değerlendirilmiştir. Etanol ekstresinin katyon radikali ABTS⁺ya karşı yüksek bir aktivite göstermiştir [30].

5.8. Antidiyabetik Potansiyel

SP-1 ve SP-2 numunelerinin antidiyabetik potansiyeli in vitro ortamda α -amilaz enzimi inhibe etme etkisine dikkate alınarak incelenmiştir. Deneyde nişasta substrat, iyot belirteç olarak kullanılmıştır. Analizi gerçekleştirilen uçucu yağ ve ekstrelerin α -amilaz enzimi inhibe etme etkisi göz önüne alınarak iyot rengindeki değişimin incelenmesiyle analiz gerçekleştirilmiştir. Ölçümler spektrofotometrik olarak 630 nm dalga boyunda yapılmıştır. Standart inhibitör olarak akarboz kullanılarak inhibisyon etkisinin değerlendirilmesi yapılmıştır. Analizi gerçekleştirilen numunelerin α -amilazı inhibe edemediği gözlenmiştir.

Kaynaklarda *Scabiosa* türlerine ait çalışmalar incelendiğinde *S. atropurpurea* L.'nin etanolik, hekzan, kloroform, etil asetat ve butanol ekstrelerinin (200 mg/kg) *in vivo* olarak, yetişkin erkek albino sıçanlarda oral yolla günlük 150 mg/kg metformine karşı ilginç bir anti-hiperglisemik aktivite sağladığı gösterilmiştir [25]. *Scabiosa arenaria* bitkisinin α -glukosidaz enzimini inhibe etme etkisine dair bir çalışmada en yüksek değer çiçeklerde etilasetat fraksiyonuna ait (IC_{50} 0.221 $\pm$ 0.014), meyvelerde *n*-butanol fraksiyonuna ait (IC_{50} 0.28 $\pm$ 0.04) kök ve yapraklarda *n*-butanol fraksiyonu (IC_{50} 0.454 $\pm$ 0.02), köklerde olarak *n*-butanol fraksiyonu (IC_{50} 0.492 $\pm$ 0.03) bulunmuştur [111]. *S. sicula* 'nın metanol ekstresi pozitif kontrol olarak akarbozun (IC_{50} 90 μ g/mL) kullanımıyla, α -glukozidaz aktivitesi (IC_{50} 49 μ g/mL) güçlü bir inhibitör etkisi olduğu gözlemlenmiştir [33].

5.9. YBSK-DAD ile Fenolik Asit Miktar Tayini

Doğal antioksidanların en önemli grubu olarak bitkilerin renklenmelerinden sorumlu ve her molekülde birden fazla fenol grubu içeren polifenollerdir. Antioksidan özellikleri göz önüne alındığında insan sağlığı için önemli olan fenollerin kanser riskini, oksidatif stressi, kardiyovasküler hastalıkları azalttığına dair çalışmalar mevcuttur. Fenolik asitler ve proantosiyantinler başta olmak üzere flavonoidler, en yaygın bitkisel fenolik antioksidanlar arasında yer almaktadır [112].

SP-1 kodlu bitkinin metanol ve su ekstresinde yüksek miktarda klorojenik asit; SP-2 kodlu bitkinin metanol ve su ekstresinde yüksek miktarda *orto*-kumarik asit bulunmuştur.

6. SONUÇ

- Proje kapsamında Sivas ve Eskişehir civarında yetişen *Scabiosa pseudograminifolia* bitkisi üzerinde kapsamlı biyolojik aktivite ve fitokimyasal araştırmalar gerçekleştirilmiştir.
- Sivas civarında yetişen bitkiye ait hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağın ana bileşiklerini hekzadekanoik asit (%30.2), linalol (%15.6) ve dodekanoik asit (%10.9); Eskişehir civarında yetişen bitkiye ait hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağın ana bileşenlerini ise dodekanoik asit (%11), tetradekanoik asit (%10.6), alloaromadendren (%9.1) ve hekzahidro farnesil aseton (%4.1) oluşturmuştur.
- Sivas civarında yetişen bitkinin yapraklarından MSD-SPME yöntemi ile analiz edilen uçucu bileşenlerin ana kompozisyonunda (Z)-3-hekzenal (%34.0), 2-etil hekzanol (%3.2), 6-metil-1-oktanol (%4.3), 4-metil-(2E) undeken[#] (%3.6) ve linalol (%3.1); Eskişehir civarında yetişen bitkinin yapraklarından MSD-SPME yöntemi ile analiz edilen uçucu bileşenlerin ana kompozisyonunda ise alloaromadendren (%24.9), naftalen (%9.4), (E)-2-hekzenal (%8.2), benzaldehit (%4.1), α -terpineol (%4.1), γ -muurolen (%3.2) ve γ -kadinen (%2.8) bulunmuştur.
- Sivas civarında yetişen bitkinin çiçeklerinden MSD-SPME yöntemi ile analizinde ana uçucu bileşenler (Z)-3-hekzenal (%29.1), hekzanol (%7.7), linalol (%5) ve hekzenal (%4.4) iken, Eskişehir civarında yetişen bitkinin yapraklarında ise ana bileşenler naftalen (%14.1) 4-vinilpiridin (%7.61), γ -muurolen (%5.6), δ -kadinen (%4.9) ve hekzahidrofarnesil aseton (%3.8) olmuştur.
- Sivas civarında yetişen bitkinin yapraklarından elde edilen sabit yağda major yağ asitleri nonadekanoik asit (%21.9), hekzadekanoik asit (%20.8) ve (Z,Z,Z)- 9,12,15-oktadekatrienoik asit (%10.3) olarak bulunurken, Eskişehir civarında yetişen bitkinin yapraklarından elde edilen sabit yağdaki ana bileşikler ise nonadekanoik asit (%44.9), hekzadekanoik asit (%20.1), (Z,Z,Z)- 9,12,15-Oktadekatrienoik asit (%15.6) ve (Z,Z)- 9,12-Oktadekadienoik asit (%6.7) olmuştur.
- Sivas civarında yetişen bitkinin çiçeklerinden elde edilen sabit yağın yağ asitlerinden major olarak, nonadekanoik asit (%21.6), hekzadekanoik asit (%18.3), (Z,Z)-9,12-oktadekadienoik asit (%12.4), (Z,Z,Z)- 9,12,15-oktadekatrienoik asit (%12.2); Eskişehirden toplanan bitkideki major yağ asitleri olarak hekzadekanoik asit (%41.3), nonadekanoik asit (%14.5), nonanoik asit (%13.5) ve oktanoik asit (%5.3) analiz edilmiştir.

- Sivas civarından toplanan bitkide metanol (%13.44), Eskişehir civarında toplanan bitkide ise su (%13.26) ekstresinin verimi en yüksek olarak saptanmıştır.
- Sivas'tan toplanan bitkide en fazla fenol miktarı sulu ekstrede bulunurken, Eskişehir'de toplanan bitkide metanol ekstresinde bulunmuştur.
- Sivas'tan toplanan bitkide en fazla fenol, flavonoit miktarı sulu ekstrede; Eskişehir'de toplanan bitkide ise metanol ekstresinde hesaplanmıştır.
- Sivas civarından toplanan bitkide hekzanlı ekstre troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerinin analizi sonucunda dikkate değer bir etki göstermemiştir. En yüksek aktivite uçucu yağda gözlenmiştir. Eskişehir bölgesinde toplanan bitkideki en yüksek aktivite metanol ekstresinde gözlenirken, uçucu yağda en düşük aktivite gözlenilmiştir.
- Sivas civarından toplanan bitkide DPPH analizi sonunda hekzanlı ekstrenin ve uçucu yağın %50'den düşük bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. En yüksek serbest radikal süpürme etkinin metanollü ekstrede olduğu bulunmuştur.
- β -Karoten soldurma testinde Sivas civarında toplanan bitkide en yüksek aktivite metanol ekstresinde bulunurken, Eskişehir civarında toplanan bitkide en yüksek aktivite su ekstresinden tespit edilmiştir.
- ORAC testinde Sivas ve Eskişehir bölgelerinde toplanan bitkilerde en yüksek aktivite sulu ekstrelerde gözlenmiştir. Sivas bölgesinde toplanan bitkide hekzanlı ekstrede, Eskişehir bölgesinde toplanan bitkide uçucu yağ ve hekzan ekstresinde aktivite gözlenmemiştir.
- İki bölgeden de toplanan bitkinin α -amilaz enzimi inhibe etme gücü yetersizdir.
- Sivas civarından toplanan bitkinin YBSK-DAD ile fenolik asit miktar tayininde metanol ve su ekstrelerinde yüksek miktarda klorojenik asit, Eskişehir civarında toplanan bitkinin metanol ve su ekstrelerinde yüksek miktarda *orto*-kumarik asit bulunmuştur.

Temmuz 2021’de Jale Çelik tarafından tamamlanan doktora tezi *Scabiosa* L. cinsi üzerine taksonomik revizyon sonuçlarına göre kendi çalışmamız için seçmiş olduğumuz *Scabiosa pseudograminifolia* Hub.-Mor. türü, *S. hololeuca* türünün alttürü olarak bildirilmiştir.

Çelik’in yaptığı çalışmadaki tayin anahtarında;

1- Çok yıllık bitkiler

13- Otsu veya tabanda odunsu otsu bitkiler

14- Bitki yastıkçık formunda 10 cm’ye kadar uzar; kaliks kılı yok

9. *solymica*

14- Bitki yastık formunda değil 10 cm’den uzun; kaliks kılı mevcut

15- Kenar çiçekler 8-15 mm uzunluğunda; kaliks sapı 0.5 mm’ye kadar veya 0.5-1.5 mm kadar

16- Bütün yapraklar şeritsi; damarlar koranaya eşit veya kısa; kaliks sapı 0.5-1.5 mm

6. *hololeuca*

****Canlı çiçekler beyazımsı subsp.**

hololeuca

****Canlı çiçekler pembeden maviye kadar değişen subsp.**

pseudograminifolia

olarak verilmiştir [113].

Geçmiş yıllarda Eskişehir ve çevresinde yapılan flora çalışmalarında toprak yapısı jips ve marn olan bölgelerde *S. pseudograminifolia* (SP-1) türü birçok farklı lokaliteden bildirilmiştir [114-116]. Flora of Turkey and the Eagean Islands adlı eserde *S. pseudograminifolia* ile çok yakın akraba olarak bildirilen *S. hololeuca* Bornm. (SP-2) türü de Eskişehir’de doğal yayılış göstermektedir. Yapılan arazi çalışmaları sonucu *S. hololeuca* türünün morfolojik olarak Flora of Turkey’de belirtilen tanımlama özelliklerine benzemediği tespit edilmiştir. Örnek belirtildiği gibi sarı çiçekli değil beyaz-kirli beyaz çiçekli ve tayin anahtarında belirtildiği gibi çiçek renginin haricinde çiçek durumunun ışınsal olup olmamasına göre sınıflandırılmıştır. Ancak örnek incelendiğinde çiçek durumlarının farklı olmadığı sadece çiçek renginin farklı olduğu görülmüştür.

Çelik çalışmasının sonucunda; “Türkiye Florası’nda endemik olan *S. hololeuca* (beyazımsı krem) ve *S. pseudograminifolia* (mavimsi-pembe) taksonları çiçek renkleri ve kapitula çapları ile birbirinden ayrılmaktadır [117]. Bu tez çalışması kapsamında toplanan

ve incelenen örneklerin değerlendirilmesi ile bu iki taksonun yayılış alanları ve sınırları belirlenmiştir. Eskişehir'in batısı ve Kütahya civarında yetişen örneklerin *S. hololeuca* olduğu anlaşılırken; Eskişehir'in doğusundan Ankara ve Sivas'a uzanan örneklerin *S. pseudograminifolia* olduğu anlaşılmıştır. Bu tez çalışmasında incelenen örneklerde bu iki taksonun çiçek ve meyve kapitula çaplarının birbirine oldukça yakın olduğu anlaşılmış ve iki taksonu birbirinden ayırmada yalnızca çiçek renklerinin ayırt edici olduğu saptanmıştır. Bu nedenle sistematikte öncelik ilkesi gereğince *S. pseudograminifolia* taksonu, *S. hololeuca* taksonu altında alttür yapılmıştır" şeklinde bildirmiştir.

Eskişehir'deki *Scabiosa* popülasyonları incelenirken beyaz (kirli beyaz) örneklerin *S. hololeuca* olarak bildirildiği ancak morfolojik olarak *S. pseudograminifolia* ile bir farkının olmadığı tek belirgin farkın çiçek renklerinin olduğunu tespit ettik. Bu durumun Çelik'in taksonomik revizyon çalışması ile desteklendiğini gördük. Aslında *S. hololeuca* ile *S. pseudograminifolia*'nın aynı türe ait bireyler olabileceğini biz de öngörmüştük. Ancak, analiz sonuçlarımıza göre bu iki örneğin farklı kimyasal içeriklere sahip olduğunu tespit etmiş olduk. Bu durum Çelik'in çalışmasında elde ettiği sistematik sonucu desteklemektedir. Çalışmada, örnekler aynı türe ait iki alttüre ayrılarak öncelik ilkesine göre önce tespit edilen *S. hololeuca* türü altında birleştirilmiştir.

KAYNAKÇA

- [1] Akimaliev, A. (1977). β -Sitosterol and oleanolic acid from *Scabiosa soongorica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 13(5), 596-596.
- [2] Akyol, Y., Kocabaş, O., Kayacan, E., Minareci, E. and Özdemir, C. (2016). *Scabiosa hispidula* Boiss.(Caprifoliaceae) Türüne Ait Anatomik Bir Çalışma. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(1), 10-15.
- [3] Heywood, V.H., Moore, D., Richardson, I. and Stearn, W.T., *Flowering plants of the world*. Vol. 336. 1978: Oxford university press Oxford.
- [4] **http-1:** http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=hizli_ara. (Erişim Tarihi: 21.12.2021)
- [5] Aksoy, A., Çelîk, J., Bozkurt, M. and Uysal, T. Türkiye Florası İçin Yeni Bir Tür Kaydı: *Scabiosa lucida* Vill. (Caprifoliaceae). *Bağbahçe Bilim Dergisi*, 7(3), 49-57.
- [6] Menemen, Y. (2019). Türkçe Bilimsel Bitki Adları Yönergesi'nde Değişiklik ve İlâve Öneriler. *Bağbahçe Bilim Dergisi*, 6(1), 1-3.
- [7] Zheng, Q., Koike, K., Han, L.-K., Okuda, H. and Nikaido, T. (2004). New Biologically Active Triterpenoid Saponins from *Scabiosa t schiliensis*. *Journal of Natural Products*, 67(4), 604-613.
- [8] Baykal, T., Panayir, T., Tasdemir, D., Sticher, O. and Çalis, I. (1998). Triterpene saponins from *Scabiosa rotata*. *Phytochemistry*, 48(5), 867-873.
- [9] Panayır, T. (1996). *Scabiosa rotata* Bieb.(Dipsacaceae) Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar: in Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Gazi Üniversitesi.
- [10] Yeşil, Y. and Erarslan, Z.B. (2018). The anatomical properties of *Scabiosa atropurpurea* L.(Caprifoliaceae). *İstanbul Journal of Pharmacy*, 48(1), 1-5.
- [11] Girişken, H. (2020). Türkiye'de Yayılış Gösteren *Scabiosa columbaria* L. Taksonlarının Morfolojik, Anatomik ve Palinolojik Özelliklerinin Araştırılması: in *Biology*. Akdeniz University. p. 4.
- [12] Besbes Hlila, M., Mosbah, H., Majouli, K., Ben Nejma, A., Ben Jannet, H., Mastouri, M., Aouni, M. and Selmi, B. (2016). Antimicrobial activity of *Scabiosa arenaria* Forssk. extracts and pure compounds using bioguided fractionation. *Chemistry & Biodiversity*, 13(10), 1262-1272.
- [13] Berhardt, L.V. and Berhardt, L.V., *Advances in medicine and biology*. Vol. 15. 2012: Nova Science New York.
- [14] Al-Qudah, M.A., Ootom, N.K., Al-Jaber, H.I., Saleh, A.M., Abu Zarga, M.H., Afifi, F.U. and Abu Orabi, S.T. (2017). New flavonol glycoside from *Scabiosa prolifera* L. aerial parts with in vitro antioxidant and cytotoxic activities. *Natural Product Research*, 31(24), 2865-2874.
- [15] Besbes, M., Omri, A., Cheraif, I., Daami, M., Jannet, H.B., Mastouri, M., Aouni, M. and Selmi, B. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Scabiosa arenaria* Forssk. growing wild in Tunisia. *Chemistry & Biodiversity*, 9(4), 829-839.
- [16] Besbes Hlila, M., Omri, A., Ben Jannet, H., Lamari, A., Aouni, M. and Selmi, B. (2013). Phenolic composition, antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities of the Tunisian *Scabiosa arenaria*. *Pharmaceutical Biology*, 51(5), 525-532.
- [17] Hlila, M.B., Mosbah, H., Zanina, N., Ben Nejma, A., Ben Jannet, H., Aouni, M. and Selmi, B. (2016). Characterisation of phenolic antioxidants in *Scabiosa*

- arenaria* flowers by LC–ESI-MS/MS and NMR. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 68(7), 932-940.
- [18] Xu, Z. and Chang, L., *Caprifoliaceae*, in *Identification and Control of Common Weeds: Volume 3*. 2017, Springer. p. 405-416.
 - [19] Carlson, S.E., Linder, H.P. and Donoghue, M.J. (2012). The historical biogeography of *Scabiosa* (Dipsacaceae): implications for Old World plant disjunctions. *Journal of Biogeography*, 39(6), 1086-1100.
 - [20] Mostafa, E.-N. and Siahkola, N. (2016). Palynological study of some Iranian species of *Scabiosa* L.(Caprifoliaceae). *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*, 23(2), 215-222.
 - [21] Güner, A. and Aslan, S., *Türkiye bitkileri listesi:(damarlı bitkiler)*. 2012: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları.
 - [22] Bonet, M.À. and Valles, J. (2007). Ethnobotany of Montseny biosphere reserve (Catalonia, Iberian Peninsula): plants used in veterinary medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 110(1), 130-147.
 - [23] Otang-Mbeng, W. and Sagbo, I.J. (2020). Anti-Melanogenesis, antioxidant and anti-Tyrosinase activities of *Scabiosa columbaria* L. *Processes*, 8(2), 236.
 - [24] Lehbili, M., Magid, A.A., Hubert, J., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Renault, J.-H., Nuzillard, J.-M., Morjani, H., Abedini, A. and Gangloff, S.C. (2018). Two new bis-iridoids isolated from *Scabiosa stellata* and their antibacterial, antioxidant, anti-tyrosinase and cytotoxic activities. *Fitoterapia*, 125, 41-48.
 - [25] Elhawary, S., Eltantawy, M., Sleem, A., Abdallah, H. and Mohamed, N. (2011). Investigation of phenolic content and biological activities of *Scabiosa atropurpurea* L. *World Applied Sciences Journal*, 15(3), 311-317.
 - [26] Bonet, M.À., Parada, M., Selga, A. and Valles, J. (1999). Studies on pharmaceutical ethnobotany in the regions of L'Alt Emporda and Les Guilleries (Catalonia, Iberian Peninsula). *Journal of Ethnopharmacology*, 68(1-3), 145-168.
 - [27] Van Vuuren, S. and Naidoo, D. (2010). An antimicrobial investigation of plants used traditionally in southern Africa to treat sexually transmitted infections. *Journal of Ethnopharmacology*, 130(3), 552-558.
 - [28] Bammi, J. and Douira, A. (2002). Les plantes médicinales dans la forêt de l'achach (plateau central, Maroc).
 - [29] Efremencko, L., Malyutina, A., Pisarev, D., Scorbach, V., Shestopalova, N., Kasakova, V. and Fadeeva, D. (2019). Phytochemical Studies and Standardization of *Scabiosa succisa* L. *1st International Symposium Innovations in Life Sciences (ISILS 2019)*. Atlantis Press.
 - [30] Hafsa, M.B., Besbes, M., Mahjoub, M.A. and Mighri, Z. Antimicrobial, antioxidant activities and total phenolic content of the acetonic, ethanolic and aqueous extracts of *Scabiosa arenaria* (Forsk). *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products*, (2009) 59-68.
 - [31] Hrichi, S., Chaabane-Banaoues, R., Bayar, S., Flamini, G., Oulad El Majdoub, Y., Mangraviti, D., Mondello, L., El Mzoughi, R., Babba, H. and Mighri, Z. (2020). Botanical and Genetic Identification Followed by Investigation of Chemical Composition and Biological Activities on the *Scabiosa atropurpurea* L. Stem from Tunisian Flora. *Molecules*, 25(21), 5032.
 - [32] Ma, J.N., Bolraa, S., Ji, M., He, Q.Q. and Ma, C.M. (2016). Quantification and antioxidant and anti-HCV activities of the constituents from the inflorescences of *Scabiosa comosa* and *S. tschilliensis*. *Nat Prod Res*, 30(5), 590-594.

- [33] Kılınç, H., Masullo, M., D'Urso, G., Karayildirim, T., Alankus, O. and Piacente, S. (2020). Phytochemical investigation of *Scabiosa sicula* guided by a preliminary HPLC-ESIMSⁿ profiling. *Phytochemistry*, 174, 112350.
- [34] Ma, Y., Yuan, H., Jin, R., Bao, X., Wang, H., Su, X., Mu, M.G.S.L., Liang, J., Zhang, J. and Wu, X. (2018). Flavonoid-rich *Scabiosa comosa* inflorescence extract attenuates CCl₄-induced hepatic fibrosis by modulating TGF- β -induced Smad3 phosphorylation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 426-433.
- [35] Horn, M.M., Drewes, S.E., Brown, N.J., Munro, O.Q., Meyer, J.M. and Mathekga, A.D. (2001). Transformation of naturally-occurring 1, 9-trans-9, 5-cis sweroside to all trans sweroside during acetylation of sweroside aglycone. *Phytochemistry*, 57(1), 51-56.
- [36] Christopoulou, C., Graikou, K. and Chinou, I. (2008). Chemosystematic value of chemical constituents from *Scabiosa hymettia* (Dipsacaceae). *Chemistry & biodiversity*, 5(2), 318-323.
- [37] Alipoor Birgani, A., Sartipnia, N., Hamdi, S.M.M., Naghzadeh, M. and Arasteh, J. (2019). Antimicrobial Activity of *Scabiosa olivieri* Extract and Its Effect on TNF- α and IL-1 Expression in Human Peripheral Blood Cells (PBMCs). *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 9(4), 1749-1757.
- [38] Hlila, M.B., Mosbah, H., Mssada, K., Jannet, H.B., Aouni, M. and Selmi, B. (2015). Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of roots extracts from the Tunisian *Scabiosa arenaria* Forssk. *Industrial Crops and Products*, 67, 62-69.
- [39] Kupeli, E., Orhan, I. and Yesilada, E. (2007). Evaluation of some plants used in Turkish folk medicine for their anti-inflammatory and antinociceptive activities. *Pharmaceutical biology*, 45(7), 547-555.
- [40] Mouffouk, C., Hambaba, L., Haba, H., Mouffouk, S., Bensouici, C., Hachemi, M. and Khadraoui, H. (2018). Acute toxicity and in vivo anti-inflammatory effects and in vitro antioxidant and anti-arthritic potential of *Scabiosa stellata*. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 18(4), 335-348.
- [41] Wang, J., Liu, K., Xu, D., Wang, Q., Bi, K., Song, Y., Li, J. and Zhang, L. (2013). Rapid micropropagation system in vitro and antioxidant activity of *Scabiosa tschiliensis* Grunning. *Plant growth regulation*, 69(3), 305-310.
- [42] Ben Toumia, I., Sobeh, M., Ponassi, M., Banelli, B., Dameriha, A., Wink, M., Chekir Ghedira, L. and Rosano, C. (2020). A Methanol Extract of *Scabiosa atropurpurea* Enhances Doxorubicin Cytotoxicity against Resistant Colorectal Cancer Cells In Vitro. *Molecules*, 25(22), 5265.
- [43] Zhunusova, M., Suleimen, E., Iskakova, Z.B., Ishmuratova, M.Y. and Abdullabekova, R. (2017). Constituent Composition and Biological Activity of CO₂-Extracts of *Scabiosa isetensis* and *S. ochroleuca*. *Chemistry of natural compounds*, 53(4), 775-777.
- [44] Polat, E., Alankus-Caliskan, Ö., Karayildirim, T. and Bedir, E. (2010). Iridoids from *Scabiosa atropurpurea* L. subsp. *maritima* Arc.(L.). *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(2), 253-255.
- [45] Endo, T., Sasaki, H. and Taguchi, H. (1976). Studies on the constituents of *Scabiosa japonica* Miq (author's transl). *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 96(2), 246-248.
- [46] Corradi, E., De Mieri, M., Gafner, F., Hamburger, M. and Potterat, O. (2016). A new secoiridoid glucoside, and a metabolite profile of *Scabiosa lucida*. *Natural product communications*, 11(7), 1934578X1601100705.

- [47] Papalexandrou, A., Magiatis, P., Perdetzoglou, D., Skaltsounis, A.-L., Chinou, I. and Harvala, C. (2003). Iridoids from *Scabiosa variifolia* (Dipsacaceae) growing in Greece. *Biochemical systematics and ecology*, 1(31), 91-93.
- [48] Panayır, T. (1996). *Scabiosa rotata* Bib. bitkisi üzerine farmakognozik araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Gazi Üniversitesi.
- [49] Kuril'chenko, V., Zemtsova, G. and Bandyukova, V.Y. (1971). A chemical study of *Scabiosa bipinnata*. *Chemistry of Natural Compounds*, 7(4), 519-519.
- [50] Garaev, E., Movsumov, I. and Isaev, M. (2008). Flavonoids and oleanolic acid from *Scabiosa caucasica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 44(4), 520-521.
- [51] Movsumov, I., Yusifova, J., Suleymanov, T. and Garaev, E. (2020). Chemical Constituents of *Scabiosa georgica* Growing in Azerbaijan. *Chemistry of Natural Compounds*, 56, 564-565.
- [52] Akimaliev, A., Pal'yants, N.S., Alimbaeva, P. and Abubakirov, N. (1979). Triterpene glycosides of *Scabiosa soongorica*. IV. Partial synthesis of songoroside A and of bisglycosides of oleanolic acid. *Chemistry of Natural Compounds*
- [53] Bendamene, S., Boutaghane, N., Bellik, Y., Sayagh, C., Magid, A.A., Harakat, D., Kabouche, Z. and Voutquenne-Nazabadioko, L. (2020). Semipapposides AM, triterpenoid bidesmosides saponins from the roots of *Scabiosa semipapposa*. *Phytochemistry*, 180, 4.
- [54] Pinto, D.C., Rahmouni, N., Beghidja, N. and Silva, A. (2018). *Scabiosa* genus: A rich source of bioactive metabolites. *Medicines*, 5(4), 110.
- [55] Bendamene, S., Boutaghane, N., Bellik, Y., Sayagh, C., Magid, A.A., Harakat, D., Kabouche, Z. and Voutquenne-Nazabadioko, L. (2020). Semipapposides AM, triterpenoid bidesmosides saponins from the roots of *Scabiosa semipapposa*. *Phytochemistry*, 180, 112526.
- [56] Akimaliev, A., Alimbaeva, P., Mzhel'skaya, L. and Abubakirov, N. (1976). Triterpene glycosides of *Scabiosa soongorica* III. The structure of songorosides M and O. *Chemistry of Natural Compounds*, 12(4), 419-421.
- [57] Lehbili, M., Magid, A.A., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Morjani, H., Harakat, D. and Kabouche, Z. (2018). Triterpenoid saponins from *Scabiosa stellata* collected in North-eastern Algeria. *Phytochemistry*, 150, 40-49.
- [58] Rezanova, O. and Naidakova, T. (1974). Chemical composition of *Scabiosa comosa* Fisch. ex Roe m. et Schult. *Rastitel'nye resursy*, 379-382.
- [59] Zemtsova, G., Bandyukova, V. and Dzhumyrko, S. (1972). Flavones and phenolic acids of *Scabiosa olgae*. *Chemistry of natural compounds*.
- [60] Rahmouni, N., Pinto, D.C., Beghidja, N., Benayache, S. and Silva, A. (2018). *Scabiosa stellata* L. phenolic content clarifies its antioxidant activity. *Molecules*, 23(6), 1285.
- [61] Dargaeva, T. and Brutko, L. (1976). Coumarins of the epigeal part of *Scabiosa comosa*. *Chemistry of Natural Compounds*, 12(3), 337-337.
- [62] Perdetzoglou, D. (1994). Pharmacognostic, chemotaxonomic and morphological studies on the genus *Scabiosa* L. sl in Crete. *University of Athens, Ph. D. Thesis*.
- [63] Zemtsova, G. and Bandyukova, V. (1968). Quercimeritrin and luteolin 7-glucoside in some species of Dipsacaceae. *Chemistry of Natural Compounds*, 4(4), 211-211.
- [64] Rahmouni, N., Pinto, D.C., Santos, S.A., Beghidja, N. and Silva, A.M. (2018). Lipophilic composition of *Scabiosa stellata* L.: An underexploited plant from Batna (Algeria). *Chemical Papers*, 72(3), 753-762.
- [65] Javidnia, K., Miri, R. and Javidnia, A. (2006). Constituents of the essential oil of *Scabiosa flavida* from Iran. *Chemistry of natural compounds*, 42(5), 529-530.

- [66] Karabulut, H. and Gülay, M.Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 4(1), 51-53.
- [67] Cadenas, E. and Sies, H. (1985). Oxidative stress: excited oxygen species and enzyme activity. *Advances in enzyme regulation*, 23, 217-237.
- [68] Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J. and Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and cellular biochemistry*, 266(1), 37-56.
- [69] Altınar, A., Atalay, H. and Bilal, T. (2018). Serbest radikaller ve stres ile ilişkisi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(1), 51-55.
- [70] Dündar, Y., Anlaşılması, A.R.H.M.S. and Radikaller, F.Ö.A. (1999). Antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*, 2(2), 134-142.
- [71] Pham-Huy, L.A., He, H. and Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.
- [72] Shinde, A., Ganu, J. and Naik, P. (2012). Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: a review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), 63.
- [73] Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. and De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International journal of pharmaceutical sciences review and research*, 3(1), 91-100.
- [74] Sen, S. and Chakraborty, R., *The role of antioxidants in human health*, in *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy*. 2011, ACS Publications. p. 1-37.
- [75] Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- [76] Aydemir, B. and SARI, E.K. (2009). Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 2(2), 56-60.
- [77] Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- [78] Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A. and Prior, R.L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(16), 4437-4444.
- [79] Niki, E. (1990). [3] Free radical initiators as source of water-or lipid-soluble peroxy radicals. *Methods in enzymology*, 186, 100-108.
- [80] Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A. and Deemer, E.K. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11), 3122-3128.
- [81] Büyüktuncel, E. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17, 93-101.
- [82] Kassim, N.K., Lim, P.C., Ismail, A. and Awang, K. (2019). Isolation of antioxidative compounds from *Micromelum minutum* guided by preparative thin layer chromatography-2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (PTLC-DPPH) bioautography method. *Food chemistry*, 272, 185-191.
- [83] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E. and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

- [84] Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A. and Deemer, E.K. (2002). Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated β -cyclodextrin as the solubility enhancer. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 1815-1821.
- [85] Re, R., et al., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 1999. 26(9): p. 1231-1237.
- [86] Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178.
- [87] Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M. and Chern, J.-C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- [88] Sayın, K. (2011). Oral antidiyabetik ilaç kullanım hataları ve etkileyen faktörlerin incelenmesi. DEÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- [89] Gündoğdu, A. (2020). *Diyabetes Mellitus* ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Klavuz. *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMED)*, 6.
- [90] Obezite, B.B.S.K.İ. Diyabet Klinik Rehberi. *Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Yayın*, (1070).
- [91] Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H. and Poutanen, K. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International journal of molecular sciences*, 11(4), 1365-1402.
- [92] Payan, F. (2004). Structural basis for the inhibition of mammalian and insect α -amylases by plant protein inhibitors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1696(2), 171-180.
- [93] Williamson, G. (2013). Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. *Molecular nutrition & food research*, 57(1), 48-57.
- [94] Karabaş, T. (2016). Bazı Brassicaceae Sebzelerinin Sindirim Enzimleri Üzerinde *In vitro* İnhibitör Etkilerinin Araştırılması: in Kimya Anabilim Dalı. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. p. 17,18.
- [95] Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A. and Ceylan, R. (2014). *Sideritis galatica* Bornm.: a source of multifunctional agents for the management of oxidative damage, Alzheimer's's and diabetes mellitus. *journal of functional foods*, 11, 538-547.
- [96] Möller, R., Nürnberg, G., Albrecht, E., Ruth, W., Brockmann, G.A. and Dannenberger, D. (2019). A Method for Analyzing Fatty Acids in Cattle Hair, with Special Emphasis on Lauric Acid and Myristic Acid. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(11), 1900143.
- [97] Özek, G., Özek, T., Işcan, G., Başer, K., Hamzaoglu, E. and Duran, A. (2007). Comparison of hydrodistillation and microdistillation methods for the analysis of fruit volatiles of *Prangos pabularia* Lindl., and evaluation of its antimicrobial activity. *South African Journal of Botany*, 73(4), 563-569.
- [98] König, W., Hochmuth, D. and Joulain, D. (2001). Terpenoids and related constituents of essential oils, library of massfinder 2.1. *Institute of Organic Chemistry, Hamburg*.
- [99] Adams, R.P., *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. Vol. 456. 2007: Allured publishing corporation Carol Stream, IL.

- [100] Berger, R.G., *Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability*. 2007: Springer Science & Business Media.
- [101] Koşar, M., Göger, F. and Can Başer, K.H. (2008). In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia virgata* Jacq. from Turkey. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(7), 2369-2374.
- [102] Koşar, M., Göger, F. and Başer, K.H.C. (2011). In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia halophila* Hedge from Turkey. *Food chemistry*, 129(2), 374-379.
- [103] Miliauskas, G., Venskutonis, P. and Van Beek, T. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231-237.
- [104] Krishnaiah, D., Sarbatly, R. and Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, 89(3), 217-233.
- [105] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- [106] Marco, G.J. (1968). A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 45(9), 594-598.
- [107] Dudonne, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M. and Mérillon, J.-M. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(5), 1768-1774.
- [108] Yang, X.-W., Huang, M.-Z., Jin, Y.-S., Sun, L.-N., Song, Y. and Chen, H.-S. (2012). Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia*, 83(7), 1169-1175.
- [109] Öztürk, N., Tuncel, M. and Tuncel, N. (2007). Determination of phenolic acids by a modified HPLC: Its application to various plant materials. *Journal of liquid chromatography & related technologies*, 30(4), 587-596.
- [110] Besbes, M., Omri, A., Cheraif, I., Daami, M., Jannet, H.B., Mastouri, M., Aouni, M. and Selmi, B. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Scabiosa arenaria* Forssk: growing wild in Tunisia. *Chem Biodivers*, 9(4), 829-839.
- [111] Hlila, M.B., Mosbah, H., Majouli, K., Msaada, K., Jannet, H.B., Aouni, M. and Selmi, B. (2015). α -Glucosidase inhibition by Tunisian *Scabiosa arenaria* Forssk. extracts. *International journal of biological macromolecules*, 77, 383-389.
- [112] Kolaç, T., Gürbüz, P. and Yetiş, G. (2017). Doğal ürünlerin fenolik içeriği ve antioksidan özellikleri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, 5(1), 26-42.
- [113] Çelik, J. (2021). Türkiye'de yayılış gösteren *Scabiosa* L. *sensu lato* (Caprifoliaceae) cinsinin taksonomik revizyonu / Taxonomic revision of the genus *Scabiosa* L. *sensu lato* distributed in Turkey, Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Akdeniz Üniversitesi, p 292.
- [114] Ocak, A. and Tokur, S. (2000). The Flora of Gölümbe Dagi (Bilecik-Turkey) Atila OCAK, Süleyman TOKUR. *Turkish Journal of Botany*, 24(2), 121-142.
- [115] Yaylacı, Ö.K., Koyuncu, O., Öztürk, D. and Tokur, S. (2009). *Bellevalia clusiana* Griseb.(Hyacinthaceae)'nin Sitotaksonomik Özellikleri. *Cankaya University Journal of Law*, 12(2), 193-199.

- [116] Öztürk, D. (2016). Eskişehir’deki Jipsli ve Marnlı Toprakların Flora ve Vejetasyonu: in Department of Biology. Osmangazi University. p. 68,86,126.
- [117] Davis, P.H. (1970). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3.*