

***NEPETA PHYLLOCHLAMYS* P. H. DAVIS
TÜRÜ ÜZERİNE TAKSONOMİK,
FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK
ARAŞTIRMALAR**

**Yüksek Lisans Tezi
Zeynep GÜLCAN
Eskişehir 2023**

**NEPETA PHYLLOCHLAMYS P. H. DAVIS TÜRÜ ÜZERİNE TAKSONOMİK,
FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK ARAŞTIRMALAR**

Zeynep GÜLCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ocak 2023

Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 2202E008 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

ÖZET

NEPETA PHYLLOCHLAMYS P. H. DAVIS TÜRÜ ÜZERİNE TAKSONOMİK, FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK ARAŞTIRMALAR

Zeynep GÜLCAN

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2023

Danışman: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

Tez kapsamında Lamiaceae familyasına ait ve lokal endemik bir tür olan *Nepeta phyllochlamys* P. H. Davis türü ile çalışılmıştır. *N. phyllochlamys* türünün farklı popülasyonlardan örnekleri toplanarak morfolojik ve anatomik özellikleri incelenmiş ve bulguların Türkiye Florası'nda geçen tür betimleriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Ayrıca türün doğal yayılış alanlardaki farklı popülasyonlardaki bireylerin morfolojik ve fitokimyasal özellikleri arasındaki ilişki ortaya konmuş ve moleküler çalışmalar yapılarak genetik varyasyonları, uçucu yağ bileşenleri, ekstrelerin biyolojik etkileri belirlenmiştir. Yapılan antioksidan (DPPH• deneyi), antibakteriyel, antikandidal ve toplam fenol miktar deneyleri sonucunda bitkinin dikkat çekici seviyede aktif olmadığı gözlenmiştir. Ancak verilerin literatüre kazandırılması açısından tez kapsamında yapılan deneyler önem taşımaktadır. Tez çalışmamızda farklı lokalitelerden toplanan türün ana bileşenlerinin karyofillen oksit, β -pinen, linalol, T-kadinol, α -pinen ve 14-nor-kadin-5-en-4-on (izomer A) gibi bileşenlerden oluştuğu görülmüştür. Yapılan DNA dizi analizleri ile *N. phyllochlamys*'in %96 oranında *N. cataria* L. ile benzerlik gösterdiği görülmüştür. Blast analizlerine göre oluşturulan dendrogramda ise *N. heliotropifolia*, *N. cataria* ve *N. grandiflora* türü ile küme oluşturdukları belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Nepeta phyllochlamys*, Biyolojik Aktivite, ITS, Anatomi-Morfoloji, GK/GK-KS.

ABSTRACT

TAXONOMIC, PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL STUDIES ON THE SPECIES OF *NEPETA PHYLLOCHLAMYS* P. H. DAVIS

Zeynep GULCAN

Department of Pharmaceutical Botany

Anadolu University, Institute of Health Sciences, January 2023

Advisor: Prof. Dr. Yavuz Bulent KOSE

In this thesis, *Nepeta phyllochlamys* P.H. Davis species, which belongs to Lamiaceae family and is a locally endemic species, were studied. Specimens of *N. phyllochlamys* were collected from different populations and their morphological and anatomical features were examined it was seen that the findings were compatible with the species descriptions in the Flora of Turkey. In addition, the relationship between the morphological and phytochemical characteristics of individuals in different populations in the natural distribution areas of the species has been revealed and molecular studies have been carried out to determine genetic variations, essential oil components, and biological effects of extracts. As a result of the antioxidant (DPPH• test), antibacterial, anticandidal, and total phenol amount tests, it was determined that the plant was not active remarkably. However, the experiments carried out within this thesis are important in terms of bringing the data to the literature. In our thesis study, it was observed that the main components of the species collected from different localities consisted of components such as caryophyllene oxide, β -pinene, linalool, T-cadinol, α -pinene and 14-nor-cadin-5-en-4-one (isomer A). DNA sequence analyzes showed that *N. phyllochlamys* was 96% similar to *cataria*. In the dendrogram created according to blast analysis, it was determined that they formed clusters with *N. heliotropifolia*, *N. cataria* and *N. grandiflora* species.

Keywords: *Nepeta phyllochlamys*, Biological Activity, ITS, Anatomy-Morphology, GC/GC-MS.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım boyunca bana her konuda yardımcı olan; bilgi birikimi, tecrübe, zaman ve ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE'ye,

Antimikrobiyal deneylerimde bilgi ve tecrübelerini paylaşan ve öğreten, yardım ve önerilerini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Gökalp İŞCAN'a,

Bana her konuda yardımcı olan, tüm bilgilerini ve zamanını paylaşan, sıkıntılarımı hemen çözen canım hocam Öğr. Gör. Dr. Nagehan SALTAN'a

Tez bitkimim fitokimyasal içeriğinin aydınlatılmasında yardımcı olan ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU'na,

Tez dönemi boyunca önerileriyle katkı sağlayan, problemlerime çözüm olan değerli hocam Doç. Dr. İlham ERÖZ POYRAZ'a,

Laboratuvarda her konuda yardım eden, sorularıma sıklımadan yanıt veren değerli arkadaşım Araş. Gör. Burak TEMİZ'e,

Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde Taramalı Elektron Mikroskop analizlerinde yardımını esirgemeyen sayın Arzu İŞCAN'a,

Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB)-2210 Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı ile bilim yolunda adım atan genç insanları, kültürel ve bilimsel anlamda destekleyen ve yüksek lisans eğitimim süresince maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a,

Her zaman yanımda olan, bana destek veren, beni mutlu eden canım aileme
en içten teşekkürlerimi sunarım...

09/01/2023

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.

Zeynep GÜLCAN

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	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	xi
GÖRSELLER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
1.1. Genel Bilgiler.....	2
1.1.1. Lamiaceae Familyası.....	2
1.1.2. <i>Nepeta</i> L. Cins Özellikleri.....	3
1.1.3. <i>Nepeta phyllochlamys</i> P. H. Davis Tür Özellikleri.....	6
2. KAYNAK BİLGİSİ.....	8
2.1. <i>Nepeta</i> Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	8
3. MATERYAL VE METOT.....	16
3.1. Bitkisel Materyal.....	16
3.2. Morfolojik İncelemeler.....	17
3.3. Mikromorfolojik Çalışmalar.....	17
3.4. Anatomik İncelemeler.....	17

3.5. Moleküler Çalışmalar.....	18
3.6. Uçucu Yağ Eldesi.....	19
3.7. Ekstrelerin Elde Edilmesi.....	20
3.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	21
3.8.1. Antioksidan Aktivitenin İncelenmesi.....	21
3.8.1.1. DPPH• Serbest Radikalini Süpürücü Etkinin İncelenmesi.....	21
3.8.1.2. Toplam Fenol Miktar Tayini (Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ile).....	22
3.8.2. Antimikrobiyal Aktivitenin İncelenmesi.....	23
3.8.2.1. Antibakteriyel Aktivite Testi.....	23
3.8.2.2. Antikandidal Aktivite Testi.....	23
4. BULGULAR.....	24
4.1. Morfolojik Bulgular.....	24
4.2. Mikromorfolojik Bulgular.....	31
4.3. Anatomik Bulgular.....	34
4.3.1. Kök.....	34
4.3.2. Gövde.....	35
4.3.3. Yaprak.....	38
4.3.4. Petiyol.....	42
4.4. Moleküler Bulgular.....	43
4.5. Fitokimyasal Bulgular	45
4.6. Ekstrelerin Özellikleri ve Verimleri.....	50
4.7. Biyolojik Aktivite Sonuçları.....	50

4.7.1. Antioksidan Aktivite Bulguları.....	50
4.7.1.1. Serbest Radikal Süpürücü Etki (DPPH• testi) Değerleri.....	50
4.7.1.2. Toplam Fenol Miktar Tayini Sonuçları.....	52
4.8. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	53
4.8.1. Antibakteriyel Aktivite Sonucu.....	53
4.8.2. Antikandidal Aktivite Sonucu.....	55
5. TARTIŞMA.....	56
5.1. Morfolojik Bulgular ve Tartışma.....	56
5.2. Mikromorfolojik Bulgular ve Tartışma.....	56
5.3. Anatomik Bulgular ve Tartışma.....	57
5.4. Moleküler Bulgular ve Tartışma.....	58
5.5. Fitokimyasal Bulgular ve Tartışma.....	58
5.6. Biyolojik Aktivite Sonuçları ve Tartışma.....	60
5.6.1. Antioksidan Aktivite Bulguları ve Tartışma.....	60
5.6.1.1. Serbest Radikal Süpürücü Etki (DPPH• testi) Değerleri ve Tartışma.....	60
5.6.1.2. Toplam Fenol Miktar Tayini Sonuçları ve Tartışma.....	61
5.7. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları ve Tartışma.....	61
5.7.1. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları ve Tartışma.....	61
5.7.2. Antikandidal Aktivite Sonuçları ve Tartışma.....	62
SONUÇ.....	63
KAYNAKÇA.....	66
ÖZGEÇMİŞ	

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1. Türkiye’de Yetişen Endemik <i>Nepeta</i> Türleri (http-3).....	6
Tablo 1.2. <i>N. phyllocllamys</i> Taksonomik Hiyerarşi (http-8).....	7
Tablo 3.1. <i>Nepeta phyllocllamys</i> P. H. Davis Lokasyon Bilgileri.....	16
Tablo 3.2. Kullanılan Forward (F) ve Reverse (R) Primer Dizileri.....	18
Tablo 3.3. PCR Deney Aşamaları.....	18
Tablo 4.1. Farklı Lokalitelerden Toplanan <i>N. phyllocllamys</i> Örneklerinin Morfolojik Karakterlerinin Karşılaştırılması.....	25
Tablo 4.2. <i>N. phyllocllamys</i> ’den Elde Edilen Dizilerin Gen Bankası’ndaki En Yakın Temsilcileri ve Benzerlik Oranları.....	45
Tablo 4.3. Antalya-Kemer Lokalitesi Uçucu yağ bileşenleri.....	46
Tablo 4.4. Antalya- Kumluca Lokalitesi Uçucu yağ bileşenleri.....	47
Tablo 4.5. Muğla- Datça Lokalitesi Uçucu yağ bileşenleri.....	49
Tablo 4.6. Ekstre Verimleri.....	50
Tablo 4.7. Ekstrelerin İçerdiği Gallik Aside Eşdeğer Toplam Fenol Miktarları....	52
Tablo 4.8. Ekstrelerin Antibakteriyel Etki Sonuçları (µg/MI).....	53
Tablo 4.9. Ekstrelerin Antikandidal Etki Sonuçları (µg/MI).....	55
Tablo 5.1. Farklı Lokalitelerden Toplanan <i>N. phyllocllamys</i> Örneklerinin ve Flora’da Belirtilen Morfolojik Karakterlerin Karşılaştırılması.....	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. <i>N. phyllochlamys</i> 'in Türkiye'deki Yayılışı: C3 Bölgesi, Antalya İli (Http-9).....	8
Şekil 4.1. Taksonların ITS Baz Dizilimlerine Göre Oluşturulan Filogenetik Ağaç (Dendrogram)	44
Şekil 4.2. Ekstrelerin DPPH• Süpürücü Etkisi.....	51
Şekil 4.3. Ekstrelerin DPPH• Deney Plağı.....	51
Şekil 4.4. Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi.....	52
Şekil 4.5. Toplam Fenol Miktar Deney Sonucu.....	53
Şekil 4.6. Ekstrelerin Antibakteriyel Etki Plakları.....	54
Şekil 4.7. <i>C. krusei</i> ATCC 6258 Plağı.....	55

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 3.1. <i>Nepeta phyllochlamys</i> P. H. Davis.....	16
Görsel 3.2. Trinoküler (Olympus BX51T) Işık Mikroskobu.....	17
Görsel 3.3. Clevenger Apareyi Ve Uçucu Yağ Eldesi.....	20
Görsel 3.4. Çalkalayıcı (Orbital) Ve Rotavapor (Heidolph).....	21
Görsel 3.5. DPPH• Serbest Radikali ve İndirgenme Tepkimesi (Http-11).....	21
Görsel 3.6. Serbest Radikal Süpürücü Etki 517 Nm’de Spektrofotometrik Olarak Tayin Edilir.....	22
Görsel 4.1. <i>N. phyllochlamys</i> Genel Görünüş.....	26
Görsel 4.2. <i>N. phyllochlamys</i> Bitki Kısımları.....	26
Görsel 4.3. <i>Nepeta phyllochlamys</i> ESSE Herbaryum Örnekleri.....	27
Görsel 4.4. <i>Nepeta phyllochlamys</i> ISTE Herbaryum Örnekleri.....	28
Görsel 4.5. <i>Nepeta phyllochlamys</i> ANK Herbaryum Örnekleri (sağ görseldeki izotip örneği).....	28
Görsel 4.6. <i>Nepeta isaurica</i> GAZI herbaryum örnekleri.....	29
Görsel 4.7. <i>N. phyllochlamys</i> Nutletlerin Stereo Mikroskopta Görünümü.....	29
Görsel 4.8. <i>N. phyllochlamys</i> Yapraklarının Stereo Mikroskopta Görünümü.....	30
Görsel 4.9. Kaliks ve Korolla.....	30
Görsel 4.10. Kaliks ve İçinde Bulunan Nutletler.....	30
Görsel 4.11. <i>N. phyllochlamys</i> Korolla SEM Fotoğrafları.....	31
Görsel 4.12. <i>N. phyllochlamys</i> Stamenlerin SEM Fotoğrafları.....	31
Görsel 4.13. Stamen Anteri ve Polenlerin Çıkışı.....	32
Görsel 4.14. Polen (19.0 µm en- 39.6 µm boy).....	32

Görsel 4.15. Polen Yüzey Ornamentasyonu.....	32
Görsel 4.16. Kaliks Dış Yüzey.....	32
Görsel 4.17. Kaliks İç Yüzey.....	33
Görsel 4.18. Kaliks Tüy Yapısı.....	33
Görsel 4.19. Nutletler.....	33
Görsel 4.20. Yaprak Yüzeyi Ve Tüylene Yapısı.....	33
Görsel 4.21. <i>N. phyllochlamys</i> Kök Enine Kesiti X4.....	34
Görsel 4.22. <i>N. phyllochlamys</i> Kök Anatmisi X10, Pe: Peridermis, Sfl: Sekonder Floem, Sk:Sklerenkima, Ks: Ksilem, Ö: Öz Bölgesi.....	35
Görsel 4.23. <i>N. phyllochlamys</i> Gövde Enine Kesiti X4.....	36
Görsel 4.24. <i>N. phyllochlamys</i> Gövde Anatmisi X4, En: Endodermis, Sk: Sklerenkima, Fl: Floem, Ks: Ksilem, Ö: Öz Bölgesi.....	37
Görsel 4.25. <i>N. phyllochlamys</i> Gövde Anatomisi X10; Ku: Kütikula, E: Epidermis, Ko: Kollenkima, En: Endodermis, Sk: Sklerenkima, Fl: Floem, Ks: Ksilem, Ö: Öz, T: Trikom.....	37
Görsel 4.26. <i>N. phyllochlamys</i> Gövde Anatomisi X10; Ku: Kütikula, E: Epidermis, Ko: Kollenkima, En: Endodermis, Sk: Sklerenkima, Fl: Floem, Ks: Ksilem, Ö: Öz Bölgesi.....	38
Görsel 4.27. <i>N. phyllochlamys</i> Gövde Anatomisi X20; Fl: Floem, Ks: Ksilem, Ö: Öz Bölgesi.....	38
Görsel 4.28. <i>N. phyllochlamys</i> Yaprak Enine Kesiti X10.....	39
Görsel 4.29. <i>Nepeta phyllochlamys</i> Yaprak Anatomisi X20 ; Ku: Kutikula, Üe: Üst Epidermis, Ae: Alt Epidermis, Ko: Kollenkima, Pp: Palizat Parankiması, Sp: Sünger Parankiması, Pa: Parankima, Fl: Floem, Ks: Ksilem, Öt: Örtü Tüyü.....	40
Görsel 4.30. <i>Nepeta phyllochlamys</i> Yaprak Anatomisi X20 (Kloralhidratlı); Sp: Sünger Parankiması, Pp: Palizat Parankiması, Öt: Örtü Tüyleleri.....	40

Görsel 4.31. <i>N. phyllochlamys</i> Yaprak Anatomisi X20 (Kloralhidratlı); Sp: Sünger Parankiması, Pp: Palizat Parankiması, Öt: Örtü Tüyleri, St : Salgı Tüyü.....	41
Görsel 4.32. St: Labiatae Tipi Salgı Tüyü, Öt: Örtü Tüyü, S: Stoma (Diasitik Stoma); X40.....	41
Görsel 4.33. S: Lamiaceae Tipi Diasitik Stoma Stoma; X40. Yaprak Üst ve Alt Yüzünden Yüzeysel Kesit.....	42
Görsel 4.34. <i>N. phyllochlamys</i> Petiyol Enine Kesiti X10.....	42
Görsel 4.35. <i>N. phyllochlamys</i> Petiyol Anatomisi X10; Ko: Kollenkima, Ks: Ksilem, Fl: Floem, Sk: Sklerenima, Pa: Parankima, E: Epidermis.....	43

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ae	: Alt Epidermis
Amp	: Ampisilin- Na.
Amp-B	: Amfoterisin B
ANK	: Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariumu
APG4	: Angiosperm Phylogeny Group
ATCC	: American Type Culture Collection
Blast	: Basic Local Alignment Search Tool
D	: Diğerleri
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil
e	: Epidermis
en	: Endodermis
ESSE	: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariumu
FCR	: Folin-Ciocalteu Reaktifi
Fl	: Floem
GAZI	: Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariumu
GK-KS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
IC ₅₀	: % 50 Oranında İnhibe Eden Madde Konsantrasyonu
ISTE	: İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariumu
ITS	: Internal Transcribed Spacers
Keto	: Ketokonazol.
Klr	: Kloramfenikol
ko	: Kollenkima
ks	: Ksilem
ku	: Kütikula
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MT	: Monoterpen Hidrokarbonlar

NA	: <i>N. phyllochlamys</i> %70'lik Etil Alkol Ekstresi
NEA	: <i>N. phyllochlamys</i> Etil Asetat Ekstresi,
NH	: <i>N. phyllochlamys n</i> -Hekzan Ekstresi,
OMT	: Oksijenli Monoterpenler
OST	: Oksijenli Seskiterpenler
ö	: Öz Bölgesi
öt	: Örtü Tüyü
pa	: Parankima
PCR	: Polymerase Chain Reaction/ Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pe	: Peridermis
pp	: Palizat Parankiması
Rpm	: Revolutions per Minute/ Dakikadaki Devir Sayısı
s	: Stoma
Sem	: Taramalı Elektron Mikroskobu
sfl	: Sekonder Floem
sk	: Sklerenkima
sp	: Sünger Parankiması
st	: Salgı Tüyü
ST	: Seskiterpen Hidrokarbonlar
Subsp.	: Subspecies (Alt Tür)
t	: Trikom
üe	: Üst Epidermis

1.GİRİŞ ve AMAÇ

On günde bir yeni bir bitkinin keşfedildiği Türkiye’imizde, bitki floramız oldukça zengindir. 3 fitocoğrafik bölgede olması ve farklı iklimlere sahip olmasıyla özel habitatların ve dolayısıyla çeşitli bitkilerin bulunmasına olanak sağlamaktadır (Güner vd., 2012).

Ülkemizde tanımlanmış olan 11.707 (13 kibritotu, 73 eğrelti, 42 açık tohumlu, 11.579 kapalı tohumlu) bitki türü vardır (Güner vd., 2012), bunların 3754 tanesi endemiktir (http-1). Bu yüksek endemizm düzeyi, Türkiye’de bu türlerin yeterince korunması, tehlike altına girmemesi veya yok olmaması konusunda daha da büyük bir sorumluluk yüklemektedir.

Bitkiler açısından Türkiye Dünya’nın zengin ülkelerinden birisidir. Bu durum ülkemizin farklı iklim tiplerinin yanında, jeolojik durumu, coğrafik konumu, farklı topoğrafik özelliklere ve toprak çeşitlerine sahip olması ve Anadolu’nun üç farklı bitki coğrafyasının çakıştığı yerde olmasından kaynaklanır (Davis, 1975).

Tıbbi bitkiler binlerce yıldır çeşitli hastalıkların tedavisinde geleneksel olarak ve günümüzde modern fitoterapide kullanılmaktadır. Özellikle son yıllarda bitkisel ekstrelerin, dünyada doğal tedavilere yönelik artan talep nedeniyle daha popüler hale geldiği gözlenmektedir. Tıbbi bitkilerin etkilerinin araştırılması, hangi hastalıklara iyi geldiği ve etkiden sorumlu olan bileşiğin ne olduğu gibi araştırmaların yapılması Eczacılığın çalışma alanlarındanıdır. Aktif bulunan bitkilerin ve bileşenlerinin ilaç adayı olabilme potansiyeli ile araştırmalar oldukça önem kazanmıştır.

Türkiye’de günümüzde doğal olarak yetişen 12.000’den fazla bitki taksonu olup, bunların yaklaşık 3/1’lik kısmı endemik taksonlardan oluşmaktadır. Yaklaşık 500 tür içeren Lamiaceae (Labiatae) familyasının ise yarısı endemiktir (Güner vd., 2012).

Lamiaceae familyasına ait *Nepeta* cinsi dünya çapında yaklaşık 300 türe sahiptir (http-2). Türkiye’de ise *Nepeta* cinsine ait 19’u endemik olmak üzere toplamda 50 takson vardır (http-3).

Bu çalışmanın amacı endemik *Nepeta phyllochlamys* P. H. Davis türünün morfolojik, anatomik özelliklerini, farklı popülasyonlardaki bireyler arası anatomik, fizyolojik, fitokimyasal farklılıkları gözlemlemek ve genetik varyasyonları belirlemektir.

Bu çalışmayla türün uçucu yağ bileşenleri, ekstre ve uçucu yağların biyolojik etkileri belirlenmiştir. Ayrıca türün filogenetik ilişkileri ise dizi analizleriyle açığa çıkarılmıştır.

Yapılan bu tezde türün hem lokal endemik olması hem de *N. phyllochlamys* üzerinde daha önce yapılan araştırma sayısının çok az olması ve antifungal etkisinin belirlenmesi, genetik varyasyon üzerine yapılmış çalışma bulunmaması nedeniyle bilimsel açıdan özgünlüğe sahip olacaktır. Lokal endemik olan *N. phyllochlamys* türü üzerinde *M. tuberculosis* Ra, Rv izolatlarına karşı aktivitesi (Askun vd., 2017) dışında antibakteriyel, antifungal gibi antimikrobiyal çalışmalarına rastlanmamıştır. *N. phyllochlamys* türüne ait moleküler çalışmalar da bulunmamaktadır. Proje kapsamında moleküler çalışmalar yapılarak farklı popülasyonlardaki genetik varyasyonların, ekstre ve uçucu yağların biyolojik etkilerinin belirlenmesi, literatüre kazandırılması açısından önem arz etmektedir.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyası

Lamiaceae familyası Lamiales ordosu içerisinde yer alır. Lamiales ordosu tek veya çok yıllık otlar, çalılar, sarılıcı ve ağaçlardır. İridoidler, alkaloidler ve aromatik maddeler bakımından oldukça zengindir (Yıldız ve Aktoklu, 2010, s. 306). Lamiaceae familyası, dünyada yaklaşık 269 cins ve 8135 tür içermektedir (http-4). İnsanlık için faydalı uçucu yağlar, aromatik ve şifalı bitkiler bakımından oldukça zengin bir familyadır. Ülkemizde 46 cinsi barındıran Lamiaceae familyası 592 tür, 193 alttür ve 42 varyete ile Türkiye'nin familya büyüklük sıralamasında üçüncüdür. Endemizm oranı oldukça yüksektir, 844 taksondan 326'sı endemik bitkidir (http-5). Ayrıca Türkiye florası, dünyadaki Lamiaceae bitkilerinin yaklaşık %10'unu barındırır. Takson sayısına bakıldığında en büyük beş cins sırasıyla *Stachys* (118 takson), *Salvia* (107 takson), *Sideritis* (54 takson), *Phlomis* (53 takson) ve *Teucrium*'dur (49 takson) (Celep ve Dirmenci, 2017). Son verilere göre 50 takson sayısı ile *Nepeta* 5. sırada yer almaktadır (http-6). Tıbbi ve aromatik bitkiler bakımından zengin olan bu familya Türkiye'nin güney kesimlerinde, Akdeniz bölgesinin dağlık yerlerinde oldukça yaygındır. Dünyada'da Akdeniz ve subtropik bölgelerde yaygın olarak bulunmaktadır. Ekonomik ve tıbbi yönden önemleri yüksektir. Aroma verici, baharat, çay tüketimi ve geleneksel ilaç olarak kullanılmalarının yanı sıra, süs bitkisi olarak veya parfümeride de kullanımları vardır

(Davis, 1975). Lamiaceae familyasının üyeleri, birçok hastalığın tedavisinde hem halk tarafından hem de tıpta kullanılmaktadır. Kalp, damar rahatsızlıkları, kas iskelet rahatsızlıkları, kadın hastalıklarının yanında; göz ve ağız problemlerinde de kullanımları oldukça yaygındır (Çatak ve Atalay, 2022).

Lamiaceae familyası otsu veya çalimsı formda, salgı tüyü taşıyan, uçucu yağ içeren bitkilere sahiptir. Familyanın ayırt edici özellikleri 4 köşeli gövdeye sahip olması, Labiatae (Lamiaceae) tipi salgı tüyleri (sapı tek, başı 8 hücreli) taşınması, büyük çoğunluğunun uçucu yağ içermesi, yapraklarının dekussat dizilişli olması ve çiçeklerin her nodusta vertisillastrum dizilişli, zigomorf ve bilabiata olmasıdır. Yaprakları çoğu zaman basit veya bazen parçalıdır. Çiçekler hermafrodittir, kaliks 5 loblu kalıcı bazen bilabiata; korolla bilabiata üst dudak bazen eksiktir. Çiçekler zigomorf, çoğunlukla iki eşeyli ve iki dudaklıdır. *Ajuga* L. ve *Teucrium* L. gibi cinslerde üst dudak körelmiştir. *Ziziphora* L., *Mentha* L. ve *Nepeta* L. gibi cinslerde ise türlerin çoğunun erkek organları körelmiştir ve çiçekler dişi olarak fonksiyon görürler. Stamenler 4 tanedir ve genellikle didinam şeklindedir, bazen 2 stamen bulunur (*Salvia*, *Lycopus*, *Dorystoechas*, *Ziziphora*, *Rosmarinus*). Ginekeum 2 karpelden meydana gelmiştir, 4 gözlü ve üst durumludur. Her gözünde 1 ovül bulunmaktadır ve stilus ginobaziktir. Meyveleri 4 nukstan meydana gelen sizokarp tipi meyvedir (Tanker, 2014, s. 290; Yıldız ve Aktoklu, 2010, s. 307).

Lamiaceae familyası farklı botanikçiler tarafından birçok altfamilyaya ayrılmıştır.

Genetik olarak sınıflandırma yapan APG-4 (Angiosperm Phylogeny Group) sistemi ile günümüzde familya 12 altfamilyaya (*Prostantheroideae*, *Callicarpoideae*, *Viticoideae*, *Symphorematoideae*, *Nepetoideae*, *Tectonoideae*, *Premnoideae*, *Ajugoideae*, *Peronematoideae*, *Scutellarioideae*, *Cymarioideae*, *Lamioideae*) ayrılmıştır. *Nepeta* cinsi, *Mentheae* oymağında ve *Nepetoideae* alt familyasında yer almaktadır (http-7).

1.1.2. *Nepeta* L. cins özellikleri

Nepeta türlerinin (Lamiaceae) halk arasında sinir yatıştırıcı ve antispazmodik etkilerinden dolayı uykusuzluk, öksürük, stres, bağırsak rahatsızlıkları gibi durumlarda kullanımları vardır (Yılmaz, 2011).

Nepeta cinsi Dünya’da son kayıtlara göre 386 taksona (323 kabul edilmiş tür) sahiptir (http-2). *Nepeta* cinsi; Avrupa, Kuzey ve Orta Amerika, Çin, Hindistan, Kuzey Afrika, Güneybatı Asya ve Suudi Arabistan olmak üzere geniş bir bölgede yetişmektedir.

Nepeta türleri çoğunlukla 1000-3000 m yükseltilerinde yetişirler bu yüzden İran, Afganistan, Türkiye ve kuzey Rusya'da daha yoğun olarak yayılış göstermiştir (Dirmenci, 2003).

Türkiye Florası'na (Davis, 1982) göre Türkiye'de 33 tür *Nepeta* bulunmakta iken son zamanlarda ilave olan yeni türlerle (*N. trautvetteri*, *N. janthinostegia*, *N. leptantha*, *N. roopiana*, *N. argolica*, *N. humilis*) günümüzde tür sayısı 39'a yükselmiştir (http-3). Takson sayısı 19'u endemik olmak üzere 50'ye ulaşmıştır. Endemik *Nepeta* türleri Tablo 1.1'de verilmiştir. Türkiye'deki yayılış alanlarının başlıcaları Batı, Doğu ve Güney Anadolu bölgeleridir. *Nepeta* türleri İran ve Afganistan'da genellikle perikarptan, nutletlerin şekil, boyut ve yüzeyinden ayırt edilebilirken; Türkiye'de bunlar belirgin olmadığı için resmi olmayan, çiçek durumu ve rengi baz alınarak 3 grup oluşturulmuş ve bu gruplara göre bir sınıflandırma yapılmıştır (Davis, 1982). Aşağıda Davis'in Türkiye florası kitabında yaptığı sınıflandırma verilmiştir:

Grup A: Çiçeklerin rengi beyaz, pembe veya sarı, genellikle leylak renginde ve benekli. Kaliks tüpü kavisli veya düz, ağız kısmı eğik veya kavisli. Brakteoelleri kalikslerden daha kısa veya uzun. Bitki erkek organı steril veya hermafrodit. Nutletleri sadece uçta veya tamamen tüberküllü. Genellikle İç ve Batı Anadolu'da yetişen Akdeniz veya Avrupa-Sibirya elementleridir (Tür 1-14).

Grup A Türleri: *N. italica* L., *N. cadmea* Boiss., *N. sulfuriflora* P.H. Davis, *N. flavida* Hub.-Mor, *N. pilinix* P.H. Davis, *N. conferta* Hedge & Lamond, *N. cataria* L., *N. nuda* L., *N. phyllochlamys* P.H. Davis, *N. isaurica* Boiss. & Heldr. apud Bentham, *N. viscida* Boiss., *N. caesarea* Boiss., *N. crinita* Montbret & Aucher ex Bentham, *N. sorgerae* Hedge & Lamond.

Grup B: Çiçeklerin rengi leylak veya koyu menekşe. Kaliks tüpü kıvrık ve ağız kısmı kısmen eğik. Brakteoeller kalikslerden kısa. Bitki hermafrodit veya erkek organ steril. Nutletler düz veya tüberküllü. Genellikle Doğu ve Güney Anadolu'da yetişen Akdeniz veya İran- Turan elementleridir (Tür 15-30).

Grup B Türleri: *N. racemosa* Lam., *N. transcaucasica* Grossh., *N. betonicifolia* C.A. Meyer, *N. stenantha* Kotschy & Boiss. ex Boiss., *N. trachonitica* Post, *N. supina* Steven, *N. cilicia* Boiss. apud Bentham, *N. concolor* Boiss. & Heldr. apud Bentham, *N. glomerata* Montbret & Aucher ex Bentham, *N. aristata* Boiss. & Kotschy ex Boiss, *N. lamiifolia*

Willd., *N. fissa* C.A. Meyer, *N. obtusirena* Boiss. & Kotschy ex Hedge, *N. macrosiphon* Boiss., *N. baytopii* Hedge & Lamond, *N. meyeri* Bentham.

Grup C (Seksiyon *Oxynepea* Bentham): Çiçeklerin rengi beyaz, leylak veya mor. Kaliks tüpü ve ağız kısmı düz. Brakteoller kaliksten daha kısa veya uzun. Bitkiler hermafrodit veya çok eşeyli. Nutletleri küresel ve tüberküllü. Doğu ve İç Anadolu'da yetişen İran-Turan elementleridir (Tür 31-33).

Grup C Türleri: *N. congesta* Fisch. & Mey., *N. stricta* (Banks & Sol.) Hedge & Lamond, *N. heliotropifolia* Lam.

Nepeta türleri terpenoidler ve flavonoidler bakımından zengin bir kimyasal içeriğe sahiptir. Kimyasal bileşenleri arasında nepetalakton, diterpen, triterpen, seskiterpen, iridoid gibi bileşenler yer alır (Dirmenci, 2003; Sharma vd., 2021). Birkaç *Nepeta* türünün kedileri cezbedici özelliklerinin olduğu bilinmektedir. Cinsin kedileri cezbedici etkisinin nepetalakton ve izomerlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Başer vd., 2000). Farmakolojik ve biyolojik etkiler genellikle, özellikle *Nepeta* türlerinde bulunan nepetalaktonlara atfedilmektedir. Nepetalaktonlar, doğada farklı izomerik formlarda bulunabilen iridoid monoterpenoidlerdir. *Trans*- ve *cis*-izomerler bazı böcekler için çok toksiktir ve *Nepeta*'nın birçok türünün kedileri cezbedici ve sivrisinek kovucu özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Türkiye'de yetişen *Nepeta* türlerinden izole edilen başlıca bileşikler 4 α ,7 α ,7 β -nepetalakton, 4 α ,7 α ,7 α -nepetalakton, karyofillen oksit ve 1,8-sineol, linalol'dür (Başer vd., 2000; İşcan vd., 2011).

Nepeta türleri genellikle bronkodilatör, diüretik ve spazmolitik olarak kullanılmaktadır. Mide rahatsızlıkları, göz şikayetleri, solunum rahatsızlıkları, astım, soğuk algınlığı, öksürük gibi çeşitli rahatsızlıklarda da yaygın olarak kullanılmaktadır. *Nepeta* cinsinin türleri, antiinflamatuvar, antinosiseptif, antialzheimer, antikanser ve sitotoksik, antioksidan, immünomodülatör, antimikrobiyal, antifungal, böcek öldürücü gibi birçok biyolojik ve farmakolojik aktivitelere sahiptir. (Sharma vd., 2021) Bazı toplumlar *Nepeta* türlerini zührevi hastalıklar, afrodisyak, baş ağrıları, sırt ağrıları, romatizmal ağrılar, güneş yanığı, idrar söktürücü, yara iyileştirici ajanlar gibi tıbbi amaçlarla birlikte öncelikle lezzet için kullanmayı öğrenmişlerdir (Koyuncu vd., 2010; Mükemre vd., 2015; Gomes vd., 2020). Ancak Türkiye'de *Nepeta*'ların kullanımı çok yaygın değildir. Baharat olarak veya karın ağrısı için kullanımları vardır (Dirmenci, 2003).

Tablo 1.1. Türkiye’de yetişen endemik *Nepeta* türleri (http-3)

Bitki (latince)	Türkçesi
<i>N. argolica subsp. tumeniana</i>	Gülnesi
<i>N. baytopii</i>	Beynesi
<i>N. cadmea</i>	Honaz Pisikotu
<i>N. caesarea</i>	Arıotu
<i>N. concolor</i>	Geyikpisiği
<i>N. conferta</i>	Sarıcapisik
<i>N. congesta subsp. congesta</i>	Bozkır Pisiği
<i>N. crinita</i>	Pisikkuyruğu
<i>N. isaurica</i>	Kırk Pisikotu
<i>N. leptantha</i>	Berit Kedinanesi
<i>N. nuda subsp. glandulifera</i>	Yağlıküncü
<i>N. nuda subsp. lydiae</i>	Babaküncü
<i>N. obtusirena</i>	Kumpisiği
<i>N. phylloclamys</i>	Kaya Pisikotu
<i>N. pilinix</i>	Toros Pisikotu
<i>N. sorgerae</i>	Nemrut Pisiği
<i>N. sulfuriflora</i>	Sarı Pisikotu
<i>N. trichocalyx</i>	Dişlek Pisikotu
<i>N. viscida</i>	Yağlı Pisikotu

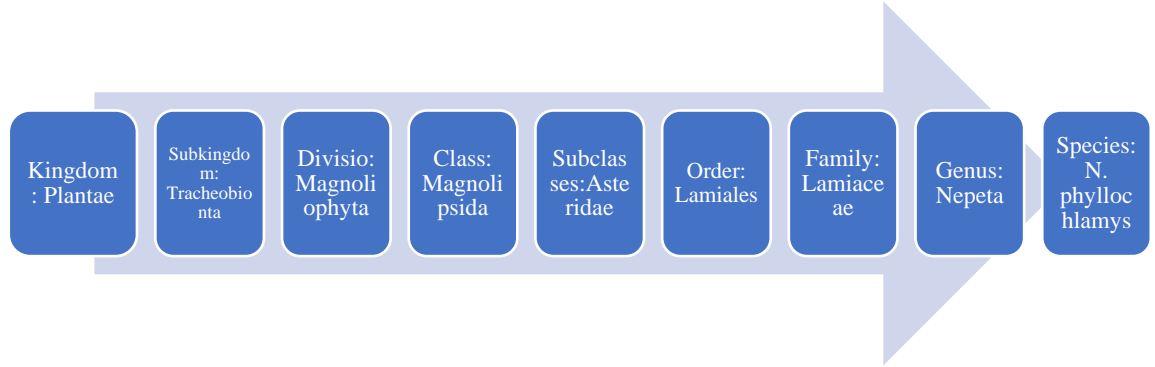
1.1.3. *Nepeta phylloclamys* P. H. Davis (Kaya pisikotu) tür özellikleri

Halk arasında kaya pisikotu olarak bilinen *N. phylloclamys* P. H. Davis, Akdeniz elementi olan, sadece Antalya ve çevresinde yetişen lokal endemik bir bitkidir (Şekil 1.1.).

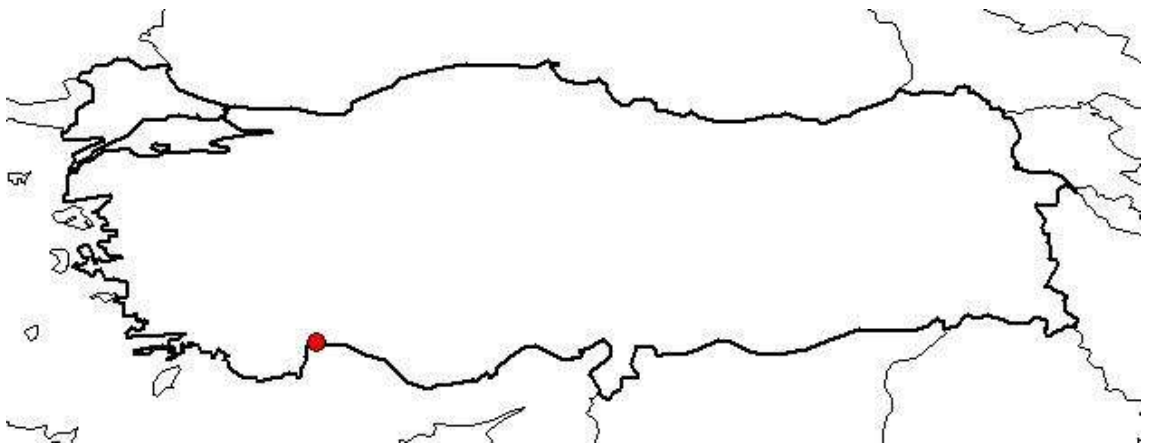
N. phylloclamys çok yıllık bir bitkidir. Gövdesi uçlarda kalkık ve tüylüdür. (5-)15-25 cm boylarında bir bitkidir. Yaprakları üçgenimsidir, grimsi beyaz keçemsi tüylere sahiptir. Petiyoller 2-12 mm aralığındadır. İnfloresans; dallanmamış, kısa, simöz ± vertisillatlarda yoğunlaşmış, kısa pedunkulludur. Brakteler yaprak benzeri, saplı ve tomentoz tüylüdür. Kaliks tüpü, yaklaşık 6.5 mm boylarındadır. Korollanın üst dudağı açık sarı, alt dudağı ise pembemsi-beyaz renklidir, yaklaşık 10 mm boyundadır. Nutlet oblong şeklindedir. Haziran, Ağustos aylarında çiçek açar ve yükseltisi çok olan (60-2900 m) kayalık yamaçlarda yetişir (Davis, 1982). Olimpos-Beydağları Milli Parkına özgü bir türdür. IUCN Kırmızı Kategori Listeleri’ne (Red List Categories) göre vulnerable (duyarlı) kategorisinde yer almaktadır (Göktürk, 2017).

Türkiye’de *Nepeta*’ların kullanımı çok yaygın değildir. Baharat olarak veya karın ağrısı için kullanımları vardır (Dirmenci, 2003). Türün taksonomik hiyerarşisi Tablo 1.2’de gösterilmiştir.

Tablo 1.2. *N. phyllochlamys* Taksonomik Hiyerarşisi (<http-8>)



Tür, *Nepeta isaurica* Boiss. & Heldr. ex Benth. ile oldukça benzemektedir. Braktelelerinden ayırt edilirler. *N. phyllochlamys*’de brakteleler yaprağa benzer ve en dıştaki brakteoller spatulat yapısındadır; *N. isaurica*’nın ise brakte ve brakteolleri linear veya linear-lanseolattır. *N. isaurica*’nın daha fazla ve daha uzun örtü tüylerine sahip olması iki türün birbirinden ayırt edilmesine yardımcı olur. Anatomik olarak karşılaştırıldığında *N. isaurica*’da sklerenkima 2-3 sıralı iken *N. phyllochlamys*’te ise 1-2 sıralıdır. Mezofil tabakası her iki türde de bifasiyal olup palizat ve sünger sıraları farklılık göstermektedir. *N. phyllochlamys*’de sünger parankiması sırasının daha fazla olduğu görülmüştür (Özcan vd., 2012).



Şekil 1.1. *N. phyllochlamys*’in Türkiye’deki yayılışı: C3 bölgesi, Antalya ili (<http-9>)

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. *Nepeta* Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Başer ve diğerlerinin 2000 yılında yaptığı çalışmada, Türkiye’de yetişen 22 *Nepeta* türünün uçucu yağı incelenmiştir. Uçucu yağların GK-KS analizlerinin sonuçları, dört *Nepeta* türünün ana bileşen olarak 4 α -7 α -7 α -nepetalakton içerdiğini göstermiştir. 4 α -7 α -7 β -Nepetalakton, *N. racemosa*'daki ana bileşendi. Yedi *Nepeta* türü, uçucu yağlarında ana bileşen olarak karyofillen oksit içeriyordu. 1,8-sineol/linalol, altı türün uçucu yağlarındaki ana bileşenlerdi. β -pinen, α -terpineol, germakren-D ve spathulenol sırasıyla *N. phyllochlamys*, *N. viscida*, *N. sorgerae* ve *N. trachonitica*'dan elde edilen uçucu yağların ana bileşenleriydi. Antalya Kemer’den toplanan ve endemik tür olan *N. phyllochlamys*'in toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın ana bileşeni β - pinen (%16.3) olarak bulunmuştur ancak yapılan bitki tayini sonucu bitkinin başka tür olduğu ortaya çıkmıştır (Baser vd., 2000).

Nostro ve diğerlerinin 2001 yılında yaptığı çalışmada, *N. cataria* türünün dietil eter ekstraktlarının mantarlara ve Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada minimum inhibitör konsantrasyonlarının koagülaz, DNase, termonükleaz, lipaz üretimi ve *in vitro* yapışma ve enzimler üzerindeki etkisini değerlendirerek, bazıları metisiline dirençli 44 *Staphylococcus aureus* suşu ve *S. aureus* 6538P (ATCC) üzerinde *N. cataria* ekstraktlarının aktivitesini incelemek amaçlanmıştır. DNase, termonükleaz ve lipaz, 1/2 ve 1/4 MİK (Minimum inhibitör konsantrasyonu)'e eşit konsantrasyonlarla inhibe edilmiştir. *N. cataria* ekstresinin *S. aureus* MRSA ve MSSA suşlarının enzimatik aktivitelerini eşit şekilde inhibe ettiği görülmüştür. ATCC suşunda ve test suşlarının çoğunda DNase, termonükleaz ve lipazın toplam inhibisyonu varken her iki seyreltme ile de koagülaz aktivitesinde azalma olmamıştır (Nostro vd., 2001).

Yunanistan'ın endemik bitkisi olan *N. sibthorpii* Bentham'ın toprak üstü kısımları üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmaların sonuçları bildirilmektedir. *N. sibthorpii* metanol özütünün radikal süpürücü aktivitesi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) yöntemiyle test edilmiştir. Ayrıca, sıçandaki karragenan kaynaklı pençe ödeminde *N. sibthorpii* metanol özütü (50 mg/kg, os), ursolik asit ve polifenol fraksiyonunun (50 mg/kg metanol özütüne karşılık gelen doz, os) antiinflamatuvar aktivitesi incelenmiştir. Bu

deneysel modelde, pençe ödeminde önemli bir inhibisyon gözlemlenmiştir. Metanol ekstralarının antiinflamatuvar etkisinden ursolik asit ana sorumlu olarak kabul edilse de etkinin, serbest radikal süpürme aktivitesi ile ilişkili olabileceği ve metanol ekstralarının tüm bileşenlerinin sinerjik etkisine bağlı olduğu varsayılmıştır (Miceli vd., 2005).

Kaya ve Dirmenci'nin 2007 yılında yaptığı çalışmada, Türkiye *Nepeta* türlerinin 39 taksonunun nutlet morfolojisi hem stereoskopik hem de taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. Yüzey süslemelerine göre düz, kısmen pürüzsüz ve oymalı olmak üzere 3 ana tip ve dalgalı-sırtlı, gözenekli, ağsı, çıkıntılı, papil, verrukat ve yumrulu olmak üzere 7 alt tip tanımlanmış ve resimlenmiştir. Dış nutlet karakterlerinin, özellikle yüzey dokusunun, gelecekte karmaşık *Nepeta* cinsinin türlerinin sınıflandırılmasına yardımcı olabileceği düşünülmüştür. Çalışmada *N. phylochlamys* türünün belirgin duvarlara sahip büyük yuvarlak poligonal hücrelerden oluşan ve retikulat (ağsı) ornamentasyon gösteren bir nutlete sahip olduğu gözlemlenmiştir (Kaya ve Dirmenci, 2008).

Adıgüzel ve diğerlerinin 2009 yılında yaptığı çalışmada, *N. cataria*'dan elde edilen uçucu yağ ve metanol ekstresinin ve uçucu yağ bileşiminin in vitro antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Uçucu yağı, 12.50 ila 250 µl/ml arasında değişen Minimum İnhibitör Konsantrasyonları (MIC) değerleri ile on bir bakteriye ve on iki mantar ve bir maya *C. albicans*'a karşı aktivite sergilemiş; metanol ekstresi ise daha zayıf aktivite göstermiştir. Antioksidan aktivite için yapılan DPPH• analizinde, ekstre hafif antioksidan aktivite gösterirken, uçucu yağ inaktif kalmıştır. Ekstrenin zayıf antioksidatif doğası, 22.6 +/- 2.07 µg/ml veya %2.26'da gallik asit eşdeğeri olarak tahmin edilen düşük fenolik içeriğine bağlanmıştır (Adıgüzel vd., 2009).

Yıldızıtugay ve diğerleri 2010 yılında, Anamur Antik Kenti ve çevresinin (Mersin) florasını belirlemek amacıyla araştırma yapmıştır. Araştırma alanı grid sistemine göre C4 karesindedir. 2006-2008 yılları arasında alandan 350 takson, 260 cins ve 74 familyaya ait beş yüz on bitki örneği toplanmış ve teşhis edilmiştir. Yapılan çalışmada endemik tür olan *N. phyllochlamys* Anamur Antik Kenti'nden toplanmıştır. Toplanan tür IUCN Kırmızı Kategori Listelerine (Red List Categories) göre Duyarlı (VU=Vulnerable) olarak sınıflanır ve bu nedenle neslinin doğada tükenme riskinin yüksek olduğu kabul edilir (Yıldızıtugay vd., 2010).

2011 yılında Roh ve Jung tarafından yapılan çalışmanın amacı, *in vitro* lipaz inhibisyon aktivitesi üzerinde 400 doğal üründen ham anti-obezite ilaçlarını taramaktır. İncelenen doğal ürünler arasında, 31 ekstre, 2,4-dinitrofenilbütirat bir substrat ile spektrofotometri kullanarak domuz pankreas lipazına (triacilgliserollipaz, EC3.1.1.3) karşı önemli ölçüde inhibisyon aktivitesi göstermiştir. Ayrıca, 3T3-L1 hücrelerinde lipid inhibisyonları açısından 31 doğal ürün araştırılmıştır. Bunlar arasında en umut verici olanı, 3T3-L1 adipositlerinde trigliserit birikiminin inhibisyonunu gösteren ve anti-obezite aktivitesi gösteren *N. japonica* Maximowicz ekstresi olmuştur (Roh ve Jung, 2012).

N. cataria L. popüler tıpta çeşitli gastrointestinal bozuklukların tedavisi için yaygın olarak kullanılmaktadır. *Nepeta cataria*'nın kurutulmuş toprak üstü kısımlarından %10 ve %15 (a/h) oranında hazırlanan infüzyonlara kurutma prosedürleri uygulanmıştır. Dondurarak kurutulmuş ekstreler (FDE'ler) ve spreyle kurutulmuş ekstreler (SDE'ler) elde edilmiştir. FDE'ler, 10 ve 0.31 mg/ml'de değerlendirilen üç suşta *H. pylori*'ye karşı aktif bulunmuştur. SDE'ler hiçbir konsantrasyonda *H. pylori*'ye karşı aktif olmadığı gözlenmiştir. İnfüzyon, SDE ve FDE profilleri benzer bir kimyasal bileşim göstermiştir. 10 ve 0.31 mg/ml'de %10 ve %15 (a/h)lik hazırlanan *N. cataria* dondurularak kurutulan ekstreleri (FDE'leri), diğer *Nepeta* türlerinin çeşitli raporlarına göre değerlendirilen *H. pylori* suşlarına karşı aktif bulunmuştur. *N. camphorata* ve *N. argolica*'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağlar, *H. pylori*'ye karşı önemli antibakteriyel aktivite sergilemiştir ve *N. septemcrenata*'nın nepetalakton bileşiği, gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı önemli antibakteriyel aktivite göstermiştir. Öte yandan, spreyle kurutulan ekstreleri (SDE'ler) bu tahlilde kullanılan herhangi bir konsantrasyonda *H. pylori*'ye karşı aktif olmadığı gözlenmiştir (Arcea vd., 2012).

Manzoor ve diğerleri 2012 yılında, Hindistan'da bulunan Keşmir Vadi'sinden toplanan *N. raphanorhiza* türü ile bir çalışma yapmışlardır. Türün toprak üstü kısımlarının uçucu yağ bileşimi ilk kez rapor edilmiştir. Uçucu yağın analizi Kapiler Gaz Kromatografi Alev İyonlaşmalı Dedektör (GK-AID) ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GK-KS) ile yapılmıştır. Elde edilen uçucu yağın toplamının %97,5'ini oluşturan 16 bileşen tanımlanmıştır ve seskiterpen hidrokarbonlar %65,3'lük bir paya sahiptir ve bunu, toplam yağ bileşiminin %19,5'ini oluşturan monoterpen hidrokarbonlar izlemiştir. Ana bileşenler (*Z*)- β -farnesen (%49.2), δ -3-karen (%12.3), α -bisabolen (%9.4) ve germakren-D-4-ol (%5.8) olarak tespit edilmiştir (Manzoor vd., 2012).

Mahnaz ve diğerlerinin yaptığı çalışmada, *N. menthoides*'in uçucu yağı ve metanol ekstralarının ana sıtma vektörü olan *Anopheles stephensi*'ye karşı larvisidal aktivitesini araştırmak amaçlanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre bitkinin metanolik ekstresi, uçucu yağdan daha fazla larvasit aktivite sergilemiştir. Bu, yeni doğal larva öldürücü bileşiklerin araştırılması için faydalı olabilir. Mahnaz ve diğerleri, *N. menthoides* ekstresinin ve uçucu yağının ana bileşikleri olarak Nepetalakton izomerleri ve 1,8-sineolün larvisidal aktivite ile ilgili etkili bileşikler olarak belirtilmesi gerektiği şeklinde fikir beyan etmişlerdir. Ayrıca ekstredeki nepetalakton ve 1,8-sineol miktarının uçucu yağdakinden daha fazla olduğu görülmüştür (Mahnaz vd., 2012).

N. phyllochlamys'a ait ilk anatomik çalışma 2012 yılında Taner Özcan, Özal Güner ve Tuncay Dirmenci tarafından yapılan çalışmadır, başka çalışmaya rastlanmamıştır. *N. phyllochlamys* P.H. Davis ve *N. isaurica* Boiss & Heldr. ex Benth.'in karşılaştırılmalı anatomisine yer verilmiştir. Çalışmada bulunan en önemli fark örtü tüylerinin uzunluklarıdır. *N. phyllochlamys*'te 4-5 hücreli uzun örtü tüyleri ve Labiatae tipi kapitat tüylerin fazla olduğu görülmüştür. Mezofil tabaka iki türde de bifasiyal olduğu ancak sünger parankiması sırasının *N. phyllochlamys*'te daha fazla olduğu görülmüştür (Özcan vd., 2012).

N. baytopii, *N. cataria* ve *N. fissa*'nın kurutulmuş toprak üstü kısımlarının kimyasal bileşimi, uçucu yağı GK ve GK-KS ile analiz edilmiştir. *N. baytopii*, *N. cataria* ve *N. fissa*'da sırasıyla 46, 47 ve 49 bileşik tanımlanmıştır ve uçucu yağın %90.2-92.5'ini oluşturmuştur. Toplamda 59 bileşik tanımlanmıştır. Yağların verimi sırasıyla 0,40, 0,50 ve 0,45 mL/100 g'dır. *N. baytopii*'de 1,8-sineol (%23,2), nepetalakton (%12,8); *N. cataria*'da nepetalakton (%27,5), 1,8-sineol (%10,8) ve germakren-D (%9,2); *N. fissa*'da 1,8-sineol (%24,3), nepetalakton (%17,6) ana bileşenler olarak tanımlanmıştır (Kılıç vd., 2013).

Shakeri ve diğerlerinin 2014 yılında yaptığı çalışmada *N. ucrainica* L. subsp. *kopetdaghensis*'in toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi, antibakteriyel aktivitesi ve sitotoksitesisi araştırılmıştır. Uçucu yağın %98.7'sini temsil eden 60 bileşik karakterize edilmiştir. Yağda seskiterpen hidrokarbonlar baskın ve ana bileşenler germakren-D (%53.0), bisiklogermakren (%6.4), β -borbonen (%4.3), β -elemen (%3.3), spatulenol (%3.2), kübenol (%2.8), *trans*-karyofillen (%2.8), germakren-A (%2.1) ve δ -kadinen (%2.0) olarak gözlenmiştir. Uçucu yağın antibakteriyel aktivitesi, dilüsyon

serisi yöntemi kullanılarak 6 bakteri suşuna karşı araştırılmıştır. Uçucu yağ, özellikle *Staphylococcus aureus* olmak üzere Gram pozitif bakterilere karşı iyi bir aktivite göstermiştir ancak Gram negatif bakteriler uçucu yağa karşı direnç göstermiştir. Ayrıca, uçucu yağın insan yumurtalık kanseri A2780 hücre dizisi ve insan meme adenokarsinomu MCF-7 hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkileri, 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-bifenil tetrazolyum bromür [MTT] analizi kullanılarak incelenmiştir. Uçucu yağın; hem A2780 hem de MCF-7 hücreleri için 50 g/mL'den düşük IC₅₀ değerleriyle, test edilen hücre hatlarına karşı sitotoksik olduğu bulunmuştur (Shakeri vd., 2014).

Bellahsene ve diğerleri, *N. nepetella* subsp. *amethystina*'nın hidrodistilasyon yoluyla elde edilen ve GK, GK-KS, ¹H ve ¹³C- NMR ile analiz edilen uçucu yağ ve hidrosol ekstresini, disk difüzyon yöntemi ve on üç patojenik mikroorganizmaya karşı MİK'ler kullanılarak antimikrobiyal aktiviteleri açısından değerlendirmiştir. *Candida albicans* suşları, en büyük inhibisyon bölgelerine (>30mm) ve daha düşük MİK değerlerine (<%1.25) sahip olan *N. amethystina* uçucu yağ ve hidrosol ekstresine karşı en duyarlı mikroorganizmalar olduğu gözlenmiştir. Difüzyon yöntemiyle gerçekleştirilen küf önleyici aktivite, *N. amethystina* uçucu yağının *Aspergillus flavus* ve *Cladosporium herbarium*'a karşı çok ilginç bir aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Bellahsene vd., 2015).

Emami ve diğerlerinin 2016 yılında yaptığı çalışmada, *N. satureioides* Boiss. ekstresinin metanol (MeOH), *n*-hekzan ve diklorometan (CH₂Cl₂) fraksiyonlarının B16F10 melanom hücre hattında melanin sentezi ve oksidatif stres üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. MeOH ve CH₂Cl₂ fraksiyonları tarafından melanin sentezi miktarı ve MeOH fraksiyonu tarafından mantar tirozinaz aktivitesi B16F10 hücrelerinde azaldığı gözlenmiştir. Bu, *N. satureioides*'in melanin üretimi üzerindeki etkisine ilişkin ilk rapordur. *N. satureioides*'in ayrıca antioksidan aktivite ifade ettiği bulunmuştur. Sonuçlar, *N. satureioides*'in melanin üretimini azaltma yeteneğinin, tirozinaz aktivitesini veya hücrel ROS'un tükenmesini düzenleyen sinyal yolu üzerindeki inhibitör etkisine atfedilebileceğini ileri sürmüştür. *N. satureioides*'in B16F10 hücreleri üzerindeki melanogenezi önleyici ve antioksidan etkileri, bu bitkinin kozmetik endüstrisinde cilt pigmentini ve cilt yaşlanmasını azaltmada yeni bir farmasötik ajan olarak kullanılabilirliği hakkında bilgi vermektedir (Emami vd., 2016).

Yapılan bir diğer çalışmada *Nepeta*'nın sekiz taksonu (*N. nuda* subsp. *nuda*, *N. viscida*, *N. phyllochlamys*, *N. stricta* var. *stricta*, *N. lamiifolia*, *N. cadmea*, *N. cilicica*, *N. nuda* subsp. *lydiae*) 2000 ve 2014 yılları arasında farklı lokalitelerden toplanmıştır. *Nepeta* metanol ve etanol ekstrelerinin *M. tuberculosis* Ra, Rv ve hastalardan alınan iki izolata karşı aktivitesi Microplate Presto Blue Assay (MPBA) kullanılarak test edilmiştir. Mirsetin, *N. phyllochlamys* etil asetatlı ekstresi için başlıca fenolik iken; Naringenin, *N. stricta* var. *stricta* metanol ekstresinde yüksek miktarda bulunmuştur ve luteolin, *N. lamiifolia* metanol ekstresi ve *N. cilicica* etil asetatlı ekstrelerinde yüksek miktarda bulunmuştur. Etil asetat ekstrelerinin altısı, metanol ekstrelerinden 4' tüm *Mycobacterium* suşlarında etkili olmuştur. Yapılan bu çalışmanın, *Nepeta* türlerinin dört *M. tuberculosis* suşuna karşı mikobakterisidal aktivitesinin ilk raporu olduğu belirtilmiştir (Askun vd., 2017).

2018 yılında Jagdeep Singh ve Amarjit Singh Dhaliwal; biyolojik tabanlı gümüş nanopartikülleri, *N. leucophylla*'nın toksik olmayan, evre dostu ve yeni kök ekstresini kullanarak sentezlemişlerdir. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antioksidan potansiyeli 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) testi kullanılarak değerlendirilmiştir ve önemli ölçüde antioksidan potansiyel gösterdiği gözlemlenmiştir (Singh ve Dhaliwal, 2018).

Kaska ve diğerleri 2019 yılında, *N. italica* L. subsp. *cadmea* (Boiss.) A. L. Budantsev ve *Teucrium sandrasicum* O. Schwarz, Lamiaceae familyasına ait ve Türkiye'de endemik olan 2 türün ekstrelerinin biyolojik aktivitelerini (antioksidan ve toksisite) ve fenolik içeriğini araştırmak ve ayrıca mineral elementlerini belirlemek için çalışmalar yapmışlardır. Yapılan çalışmalara göre, *N. italica* subsp. *cadmea*'nın hidroetanolik ekstresi, incelenen ekstreler arasında en yüksek miktarda antioksidan aktivite (β -karoten, ~%93) göstermiştir. Tüm ekstreler şelatlama ve indirgeme aktiviteleri sergilemiştir. *N. cadmea* ve *T. sandrasicum* ekstrelerinin radikal süpürücü aktiviteleri arasında istatistiksel farklılıklar görülmüştür. Fosfomolibden testi ile değerlendirilen ekstrelerinin toplam antioksidan kapasitesi 61.54-143.97 $\mu\text{g}/\text{mg}$ aralığında olup bu bitkilerin mineral elementlere sahip olduğu görülmüştür. Bu tür araştırmalar, çeşitli Lamiaceae bitkilerinden potansiyel doğal antioksidanlar hakkında daha fazla bilgi edinmek için önemlidir (Kaska vd., 2019).

2020 yılında yapılan bir çalışmada *N. curviflora* Boiss uçucu yağının; *in vitro* antioksidan, domuz pankreas lipazı, α -glukozidaz ve α -amilaz inhibitör aktivitelerinin fitokimyasal bileşiminin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi araştırılmıştır. *N. curviflora* uçucu yağının %100'ünü temsil eden 20 bileşik tanımlanmıştır. *N. curviflora* uçucu yağından, en bol bulunan bileşikler; 1,6-dimetil spiro[4.5]dekan (%27.51), karyofillen oksit (%20.08) ve β -karyofillen (%18.28) olarak tanımlanmıştır. Karyofillen oksit ve karyofillen yüksek konsantrasyonlarının, uçucu yağın antioksidanına önemli ölçüde katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Elde edilen uçucu yağ, pozitif kontrol orlistat ve akarboz ile karşılaştırıldığında, α -glukosidaz, α -amilaz ve domuz pankreas lipaz inhibitör aktiviteleri sergilemiştir. *N. curviflora* uçucu yağının sitotoksik olmayan konsantrasyonları, 24 saatlik tedaviden sonra rahim ağzı kanseri hücrelerinin göç potansiyelini önemli ölçüde engellemiş ve yağ konsantrasyonunun ve tedavi süresinin rahim ağzı kanseri hücresi canlılığı üzerindeki engelleyici etkiyi arttırdığını ortaya koymuştur (Jaradat vd., 2020).

N. cataria'nın çiçekli ve yapraklı dallarından buhar distilasyonu ile elde kedi nanesi uçucu yağının sakinleştirici, idrar arttırıcı, spazm çözücü, ferahlatıcı ve kas gevşetici etkisi bulunmaktadır. Midedeki şişkinlik ve gaz sorunlarının hafifletilmesi için bir yemek kaşığı taşıyıcı yağ içine 1-2 damla uçucu yağ eklenir, bu seyreltilmiş haliyle karın bölgesine dairesel hareketlerle uygulanır. Soğuk hava difüzörüne 3-5 damla uçucu yağ damlatılarak ferahlatıcı, sakinleştirici, terletici, idrar arttırıcı özelliklerinden faydalanılır (Demirezer vd., 2021).

İki endemik *Nepeta* türü, *N. nuda* subsp. *glandulifera* ve *N. cadmea*'nın uçucu yağlarının kimyasal bileşimi, antioksidan aktivitesi ve çeşitli enzim inhibisyonları ilk kez araştırılmıştır. *N. nuda* subsp. *glandulifera* uçucu yağının ana bileşikleri geijerene (%61.02) ve neointermedeol (%6.07) idi. Aksine, *N. cadmea*'nın uçucu yağı 4 α ,7 α ,7 β -nepetalaktonun %70.94'ünü içeriyordu. *N. nuda* subsp. *glandulifera* uçucu yağı, hem indirgeyici metal iyonlarına hem de radikallere karşı *N. cadmea* yağından daha iyi aktivite göstermiştir. Ayrıca, her iki yağ da asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraza karşı nispeten zayıf ama yine de fark edilebilir aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir; alfa-glukozidaza karşı zayıf aktivite, ancak alfa-amilaza karşı oldukça yüksek aktivite göstermiştir. Öte yandan, her iki uçucu yağ da tirozinaza karşı önemli aktivite göstermiştir (Sarikurkcü vd., 2018).

2016'da Akaberi ve diğerlerinin yaptığı çalışmada, *N. sintenisii* Bornm. bitkisinden izole edilen *n*-hekzan, MeOH, CH₂Cl₂, *n*-BuOH, EtOAc ve H₂O ekstralarının B16 melanom hücrelerinde anti-melanogenez etkileri araştırılmıştır. Melanogenez inhibisyonu üzerindeki bitki aktivitelerini değerlendirmek için sitotoksosite, mantar tirozinaz inhibisyonu, hücresel tirozinaz inhibisyonu, melanin içeriği, reaktif oksijen türlerinin miktarı ve western blot gibi çeşitli testler yapılmıştır. Tüm *N. sintenisii* ekstraları, hem tirozinaz aktivitesini hem de hücresel melanin içeriğini önemli ölçüde azaltabilir. Reaktif oksijen türleri de hücrenin *n*-BuOH ve EtOAc ekstraları ile sitotoksosite olmadan muamele edilmesinin ardından önemli ölçüde azalmıştır. Bitki, mikroftalmi ile ilişkili transkripsiyon faktörü proteinlerinin miktarını önemli ölçüde azaltmıştır. Toplu olarak, *N. sintenisii*, sitotoksik etkisi olmaksızın B16 melanom hücrelerinde melanin sentezini ve tirozinaz aktivitesini inhibe ettiği gözlenmiştir (Akaberi vd., 2018).

Bitkinin yapraklarından 100-500mg/ml arasında değişen farklı konsantrasyonlarda sulu *N. cataria* (AENC) ekstresi, seçilen beş bakteriye (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Bacillus subtilis*) ve iki mantar (*Aspergillus flavus* ve *Candida albicans*) suşuna karşı disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal taramaya tabi tutulmuştur. Ekstrelerin, test edilen tüm bakteri ve mantar organizmalarının büyümesini engellediği bulunmuştur. Ekstre, seçilen mikrobiyal suşlar arasında *S. aureus*, *B. subtilis*'e karşı maksimum inhibitör etki gösterirken, *A. flavus*'a karşı hafif inhibitör etki gözlenmiştir (Bandh vd., 2011).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitkisel Materyal

N. phyllocllamys türü Antalya ve Datça lokalitelerinden 3 farklı lokasyondan toplanmıştır. Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE tarafından “Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Davis, 1982)” cilt 7'den yararlanılarak teşhis edilmiştir. Toplanan bitki örnekleri herbaryum örneği haline getirilmiştir ve Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda (ESSE 15855, 15856, 15857) saklanmaktadır. Türün bölgedeki fotoğrafları Görsel 3.1. de sunulmuştur.



Görsel 3.1. *Nepeta phyllochlamys* P. H. Davis

N. phyllochlamys P. H. Davis türünün toplandığı 3 farklı lokasyon bilgileri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. *N. phyllochlamys* P. H. Davis lokasyon bilgileri

Örnek No	Lokasyon	GPS Kaydı	Toplanma Tarihi
1	Kemer-Antalya 1420m	36°29’53’’ K 30°24’3’’ D	06.06.2022
2	Kumluca- Antalya 1420m	36°31’22’’ K 30°21’49’’ D	06.06.2022
3	Datça-Muğla radar yolu 790m	36°43’17’’ K 27°34’18’’ D	08.06.2022

3.2. Morfolojik İncelemeler

3 farklı lokaliteden toplanan tür örnekleri tamamen kurutulduktan sonra 20’şer örnek seçilmiştir. Seçilen bu örneklerin bitki boy ölçümleri cetvel ile; yaprak eni-boyu, petiyol, kaliks eni-boyu, korolla eni-boyu ve nutlet eni-boyu milimetrik kağıt ile binoküler stereo mikroskop (Nikon SMZ645) altında yapılmıştır. Türkiye Florasının 7. cildinden (Davis, 1982) yararlanılarak morfolojik karakterlerin karşılaştırılması yapılmıştır.

3.3. Mikromorfolojik çalışmalar

Türün polen, yaprak, kaliks, korolla, tüylenme yapısı ve nutletlerinin mikromorfolojik yüzey özellikleri Anadolu Üniversitesi BİBAM’da (Bitki İlaç ve

Bilimsel Araştırmalar Merkezi) bulunan taramalı elektron mikroskobunda (SEM- Hitachi TM3030 Plus Tabletop Microscope) incelenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

Bitki kısımları çift taraflı yapışkan karbon banta (stap) yapıştırılmış ve yüzey ornemantasyonları belirlenmiştir.

3.4. Anatomik incelemeler

Anatomik incelemeler için tür, %70 lik etil alkolde muhafaza edilmiştir. Türün yaprak, petiyol, gövde ve kök kısımlarından jilet yardımı ile enine veya boyuna kesitler alınıp kloralhidrat ile saydamlaştırılmıştır. Gövde kısmı floroglusin ve %25lik HCL reaktifleri ile boyanmıştır. Kesitler, trinokuler mikroskop (Olympus BX51T) (Görsel 3.2.) ile 4x, 10x ve 20x'lik objektiflerde ölçeklendirilip fotoğraflanmıştır.



Görsel 3.2. Trinoküler (Olympus BX51T) ışık mikroskobu

3.5. Moleküler çalışmalar

1. Bitki DNA izolasyonu için EurX GeneMATRIX Plant & Fungi DNA izolasyon kiti (Polonya) kullanılmıştır.

2. DNA izolasyonundan sonra elde edilen DNA'ların miktar ve saflığını kontrol etmek için Thermo Scientific Nanodrop 2000 (USA) cihazında spektrofotometrik ölçüm gerçekleştirilmiştir.

3. PCR (Polymerase Chain Reaction- Polimeraz Zincir Reaksiyonu) çalışmasında universal primer olarak ITS1–ITS4 ve ITS2–ITS5 primerleriyle, tür tayini için hedeflenen

gen bölgeleri çoğaltılmıştır. Kullanılan primer dizileri ve PCR koşulları aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.2. Kullanılan forward (F) ve reverse (R) primer dizileri

ITS1	5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'
ITS4	5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'

Tablo 3.3. PCR deney aşamaları

Bileşen	Stok Kons.	Reak. Kon.
PCR Buffer	10X	1X
MgCl ₂	25mM	1,5 mM
dNTP mix	20 mM	0,2 mM
F. Primer	10 µM	0,3 µM
R. Primer	10 µM	0,3 µM
Taq DNA Polymerase	5U/ µl	2 U
DNA template	3 µl	
PCR grade su ile 35 µl'ye tamamlanır.		

95°C 5 dakika – Başlangıç denatürasyonu

- 30 döngü
 - 45 saniye 95°C - denatürasyon
 - 45 saniye 57°C - bağlanma
 - 60 saniye 72°C - uzama
- 72°C 5 dakika – son uzatma
- Sıcaklık 4°C' ye düşürülüp PCR tamamlanmıştır.

PCR (kyratec thermocycler) ile elde edilen amplifikasyon sonuçları 1x TAE tampon ile hazırlanan %1.5 agaroz jelde 100 volt akımda 90 dakika elektroforezde yürütülüp etidyum bromür boyası kullanılarak UV ışığında görüntüsü alınmıştır.

Yaklaşık 700 bazlık bölgeyi çoğaltmak için tek aşamalı PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonunuz Solis Biodyne (Estonya) FIREPol® DNA Polymerase Taq polimeraz

enzimiyle gerçekleştirilmiştir. Örnekleriniz için PCR sonrasında agaroz jelde tek bant elde edilerek, PCR işleminin başarılı olduğu gözlemlenmiştir.

4. PCR ürünü saflaştırma aşamasında, elde edilen tek bant örnekler için MAGBIO"HighPrep™ PCR Clean-up System" (AC-60005) saflaştırma kiti kullanılıp, kitin prosedürlerine uyarak saflaştırılmıştır.

5. Sanger Dizileme örneklerimiz için, Macrogen Hollanda laboratuvarında, ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Dizileme Kiti kullanılmıştır (Applied Biosystems, Foster City, CA.)

ITS1 ve ITS4 primerleriyle elde edilen okumalar, bir konsensus dizi oluşturmak amacıyla kontig haline getirilmiştir. Bu işlemin gerçekleştirilmesinde BioEdit yazılımı içinde CAP contig assembly algoritması kullanılmıştır.

Sekans analizleri için BM Labosis firmasından hizmet alımı yapılmış ve dizileri <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> adresinden faydalanılarak Blast programı ile yakın akrabaları olan türler bulunmuştur (http-10).

3.6. Uçucu Yağ Eldesi

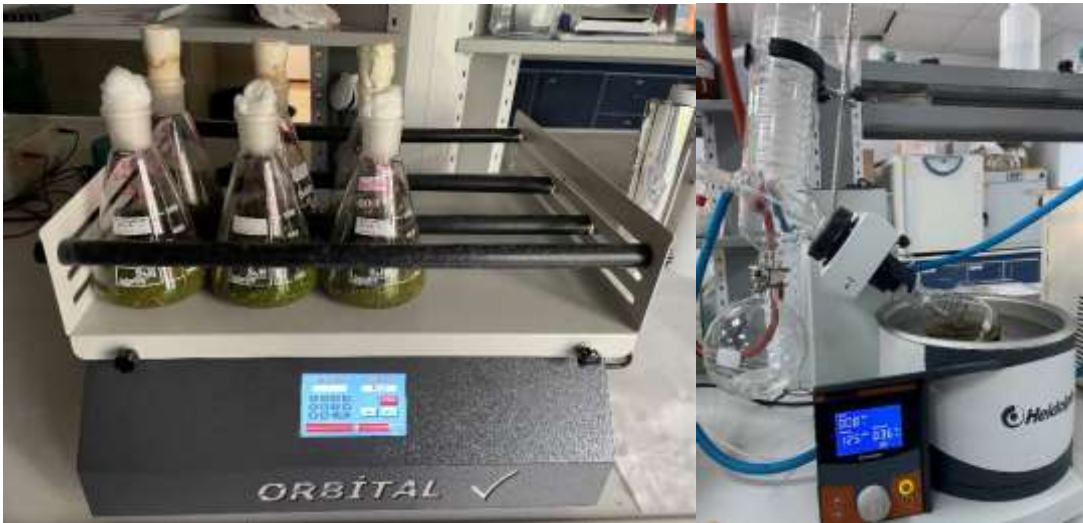
Uçucu yağ , bitkinin gölgede kurutulmuş toprak üstü kısımlarından (herba) elde edilmiştir. Uygun boyutlara getirilen materyalden 60 g tartılmış, balon jöjeye konulmuş, üzerine 10 katı kadar distile su ilave edildikten sonra Clevenger apareyinde 3 saat boyunca su distilasyonu işlemine tabi tutulmuştur (Görsel 3.3.). Elde edilen uçucu yağın miktarı çok az olduğundan ortamdan hekzan yardımıyla alınmıştır. Uçucu yağ, amber cam vialerle aktararak buzdolabında +4°C'de saklanmıştır.



Görsel 3.3. Clevenger aparatı ve uçucu yağ eldesi

3.7. Ekstrelerin Elde Edilmesi

Türün *n*-hekzan, etil asetat ve %70'lik etil alkollü, olmak üzere 3 ekstresi hazırlanmıştır. Bitkinin toprak üstü kısımları bağ makası yardımıyla küçük parçalar haline getirilmiştir. Örnekten 18'er gram tartım alınarak 200 mL çözücü eklenmiştir. Örnekler oda sıcaklığında 150 rpm'de 48 saat çalkalayıcıda (Orbital) maserasyona bırakılmıştır (Görsel 3.4.). Maseratlar süzgeç kağıdından süzildükten sonra çözücülerini rotavapor ile düşük basınç altında uzaklaştırılmıştır. %70'lik etil alkollü ekstre ise 20 °C'de dondurulmak üzere liyofilizatörde bekletilmiştir. Çözücülerinden arındırılan ekstratlar kullanılmaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.



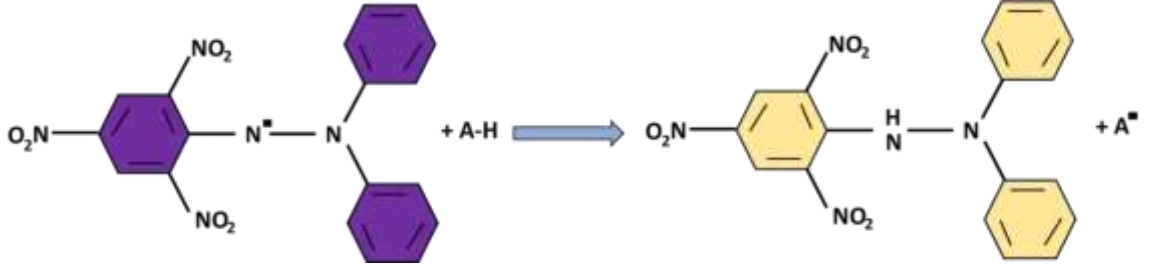
Görsel 3.4. Çalkalayıcı (Orbital) ve Rotavapor (Heidolph)

3.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.8.1. Antioksidan aktivitenin incelenmesi

3.8.1.1. DPPH• serbest radikalini süpürücü etkinin incelenmesi

DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) süpürücü etki deneyi elektron transferiyle gerçekleşen bir antioksidan testidir. DPPH• kararlı serbest radikaldir ve 1 Hidrojen atomunu veren bileşiklerle tepkimeye girer (Görsel 3.5.). Mor renklidir, tepkime sonucu indirgenmesi ile sarı renge dönüşür. Araştırılacak materyale DPPH•'ı eklendikten 30 dakika sonra serbest radikal süpürücü etki 517nm'de spektrofotometrik (Görsel 3.6.) olarak tayin edilir. Reaksiyon karışımının absorbanısındaki büyük bir azalma, bileşiğin önemli serbest radikal süpürme aktivitesini göstermektedir (Krishnaiah vd., 2011).



Görsel 3.5. DPPH• serbest radikali ve indirgenme tepkimesi ([http-11](http://11))

DPPH•'ın son konsantrasyonu $80 \mu\text{g.mL}^{-1}$ olacak şekilde DPPH• stok çözeltisi hazırlanmıştır. 96 kuyucuklu plakalar kullanılmıştır. İlk satıra 200'er μL ekstreler ve diğer satırlara ise 100'er μL metanol (MeOH) eklenmiştir. Çok kanallı pipet aracılığıyla, sütunda yukarıdan aşağıya doğru seri seyreltme yapılmıştır. Her kuyucuğa DPPH• çözeltisi 100 μL eklenmiştir. 96 kuyucuklu plaka, 30 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. Pozitif kontrol olarak gallik asit, negatif kontrol olarak çözücü (MeOH) kullanılmıştır. Plaka, 517 nm UV absorbansta spektrofotometrede okunmuştur. Gen5 Data Analysis programı (BioTek) kullanılmıştır ve sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde (n=8) ifade edilmiştir. Deneyin 3 tekrarı yapılmıştır.

% inhibisyon yüzdesi aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır (Kumarasamy vd., 2007).

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left[\frac{\text{ABS}_{\text{kontrol}} - \text{ABS}_{\text{örnek}}}{\text{ABS}_{\text{kontrol}}} \right] \times 100$$

ABS: Absorbsiyon

IC₅₀ değerleri Nonlineer regresyon eğrileri yardımıyla (Sigma Plot 13. version, SPSS Inc., Chicago, IL) belirlenmiştir.



Görsel 3.6. Serbest radikal süpürücü etki 517 nm'de spektrofotometrik olarak tayin edilir

3.8.1.2. Toplam Fenol Miktar Tayini (Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ile)

Ekstrelerin toplam fenol miktarı Gallik asite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılarak belirlenmiştir. Ekstrelerden metanol ile 20 mg/mL konsantrasyonunda çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan numunelerden mikropalak kuyucuklarına 20'er µL konulmuştur, sırasıyla üzerlerine 1560 µL distile su ve 100 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiştir. 3-5 dk bekletildikten sonra 300 µl %20'lik Na₂CO₃ çözeltisi eklenmiştir ve 2 saat oda sıcaklığında, karanlık ortamda tepkimenin sonuçlanması beklenmiştir. Bekleme sonrası otomatik pipetör yardımıyla derin kuyucuktaki karışımdan 300 µL 96-kuyucuklu mikropalağa aktarılıp 760 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Deneyler 3×3 tekrar üzerinden yapılmıştır ve toplam fenolik madde tayini gallik asit kalibrasyon eğrisi üzerinden karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Gallik asit kalibrasyon eğrisi, gallik asitin 1-0.03 (1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.06, 0.03) mg/mL farklı konsantrasyon aralıklarında çözeltileri hazırlanıp, 760 nm'de absorbans değerlerinin kaydedilmesiyle oluşturulmuştur. Ekstrelerdeki toplam fenol miktarı, kalibrasyon eğrisi denklemi kullanarak g ekstrede mg gallik asite eşdeğer olarak (mgGAE/g ekstre) hesaplanmıştır (Singleton vd., 1999; Kosar vd., 2008).

3.8.2. Antimikrobiyal Aktivitenin İncelenmesi

Bu çalışmada *N. phyllochlamys*'in toprak üstü kısımlarından elde edilen *n*-hekzan, etil asetat ve %70'lik etil alkol ekstralarının antibakteriyel ve antifungal etkileri araştırılmıştır. Antikandidal etkinin ve MİK (Minimum inhibitör konsantrasyon) değerinin belirlenmesinde CLSI (eski ismiyle NCCLS) M27-A2 sıvı mikro dilüsyon ve antibakteriyel etkinin belirlenmesinde ise CLSI (NCCLS) M7-A7 protokolü kullanılmıştır. Standart antifungaller ve ekstralar steril DMSO (Dimetil sülfoksit, Carlo Erba®) içinde çözülerek kullanılmıştır. Antibakteriyel testlerde pozitif kontrol olarak Ampisilin (Sigma aldrich®) ve Kloramfenikol (Sigma aldrich®), antikandidal testlerde ise Amfoterisin-B (Sigma aldrich®) ve Ketokonazol (Thermo scientific®) kullanılmıştır.

3.8.2.1. Antibakteriyel Aktivite Testi

Ekstrelerin minimum inhibitör ve bakterisidal (MİK ve MBK) konsantrasyonları standart protokoller (CLSI M7-A7) kullanılarak belirlenmiştir. Kullanılan suşlar ve suş numaraları; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853, *Serratia marcescens* NRRL B-2544, *Klebsiella pneumoniae* NCTC 9633'dür.

3.8.2.2. Antikandidal Aktivite Testi

Ekstrelerin minimum inhibitör ve bakterisidal, (MİK ve MBK) konsantrasyonları standart protokoller (CLSI M27-A2) kullanılarak belirlenmiştir. Kullanılan suşlar ve suş numaraları; *Candida utilis* NRRL Y-900, *C. albicans* ATCC 90028, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. krusei* ATCC 6258'dir.

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik Bulgular

N. phyllochlamys (Görsel 4.1); çok yıllık, çok sayıda gövdeye sahip, dekumbent bir bitkidir. Bitki boyu 11-28 cm aralığında değişmektedir. Salgı tüysüz yoğun tomentoz veya villoz tüylere sahip steril sürgün sayısı oldukça fazladır. Yaprakları triangular-ovate, 4.5-12 x 3-11 mm, grimsi beyaz renklidir. Yoğun sıkıştırılmış kadifemsi (velutinus, velutinous) ve yünlü (tomentose) tüylerle kaplıdır. Lamina şekli deltoid, lamina kenarı krenat ve tabanı asimetrik veya truncat olarak gözlenmiştir. (Görsel 4.8). Petiyol (yaprak sapı) 0.3-15 mm aralıklarında değiştiği gözlenmiştir. İnfloresans (çiçek durumu); dallanmamış, kısa, simözdür, çiçeklerin dizilişi vertisillastrumdur, kısa pedisele sahiptir. Brakteleri yaprağa benzer; yünlü (tomentos), petiyollüdür. Brakteelleri lineardır; kalikse eşit veya kaliksten daha kısadır. Kaliks tüpsüdür, c. 4-10 mm boy aralığında hafif kavisli, ağız kısmı hemen hemen eğik, salgısız kılımsı ince (villous) tüyler, çok kısa glandüler papilla ve sapsız salgı bezlerine sahiptir. Kaliks dişleri dar, lanseolat, akut, düzenli ve tüpün 1/3'ü kadardır. Korolla rengi pembemsi ve sarı renklidir. Korolla boyu 7-12 mm aralığında, korolla tüpü dar, kavislidir. Boğazda aniden genişler. Kaliks dişleri içinde kalmaktadır (Görsel 4.9 ve 4.10). Nutletler oblong, 1-1.5 boy 1.5-2.5 mm aralığında enine sahiptir ve tüm yüzeyi tüberküllüdür (Görsel 4.7). Çiçeklenme dönemi Haziran-Ağustos aylarıdır. Kayalıklarda yetişir. 60-2900 m yüksekliğinde yetişir. Doğu Akdeniz elementidir, endemik bir türdür ve Güney Batı Anadolu'da yayılış gösterir.

Antalya'ya özgü endemik bir bitkidir. Çalışmamızda türe Datça lokalitesinde de rastlanmıştır ve örnek toplanmıştır. Morfolojik ölçümler 20 birey üzerinden yapılmıştır. Datça'da bulunduğu ortamda düşük popülasyon yoğunluğuna sahip olduğu için bitkiye zarar vermemek amaçlı az sayıda örnek toplanmıştır. Datça lokalitesinden 5-6 birey üzerinden morfolojik ölçümler alınmıştır. *N. phyllochlamys* türünün 3 farklı lokaliteden toplanan örneklerinin morfolojik bulguları Tablo 4.1'de verilmiştir.

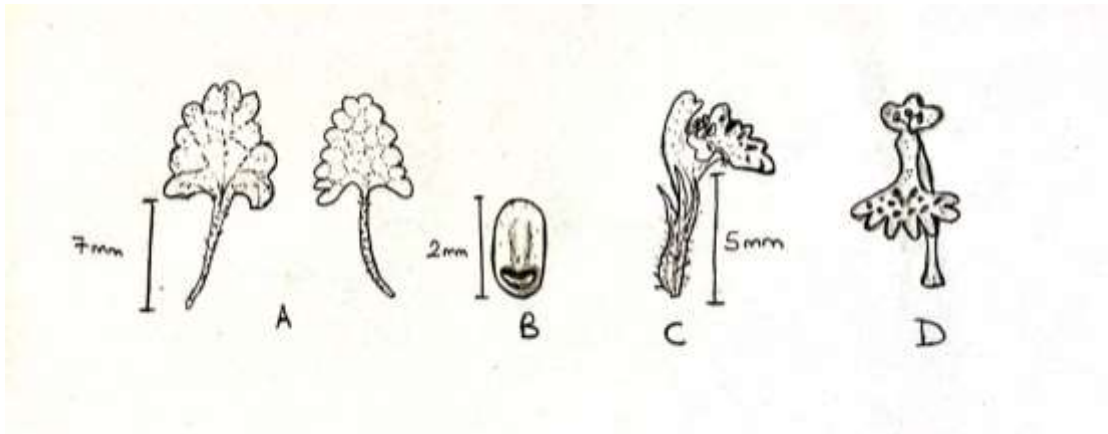
Tablo 4.1. Farklı lokalitelerden toplanan *N. phyllochlamys* örneklerinin morfolojik karakterlerinin karşılaştırılması

Morfolojik Karakterler	<i>N. phyllochlamys</i> 1. Lokalite Antalya- Kemer	<i>N. phyllochlamys</i> 2. Lokalite Antalya- Kumluca	<i>N. phyllochlamys</i> 3. Lokalite Muğla- Datça
Bitki Boyu	15-28 cm	11-28 cm	15-17 cm
Yaprak boyu	4.5-11 mm	5.5-9.5 mm	6.5-12 mm
Yaprak eni	4-11 mm	3-9 mm	4.5-10 mm
Yaprak sapı (Petiöl)	3.5-15 mm	2.5-9 mm	0.3-10 mm
Kaliks boyu	6-10 mm	4-7 mm	6-10 mm
Kaliks eni	1-3 mm	1-2.5 mm	2-3 mm
Korolla boyu	7-12 mm	7-13 mm	7-12 mm
Korolla eni	0.5-2 mm	0.5-2 mm	0.5-2 mm
Nutlet en-boy	En: 1-1.5 mm Boy:2-2.5 mm	En: 1-1.5 mm Boy:1.5-2 mm	En: 1-1.5 mm Boy:2-2.5 mm

İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariyumu (ISTE), Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariyumu (ANK), Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariyumu (GAZI) ziyaret edilmiş olup *N. phyllochlamys* ve braktelerinin farklılığından ayırt edilen yakın akraba olan *N. isaurica* bitki örnekleri incelenmiştir. Bitkinin herbariyum örneklerine ait fotoğraflar Görsel 4.3. ile Görsel 4.6 aralığında verilmiştir.



G3rsel 4.1. *N. phyllochlamys* genel g3r3n3iç



G3rsel 4.2. *N. phyllochlamys* bitki kısımları

A: Yaprak B: Nutlet C: Kaliks-korolla D: Korolla



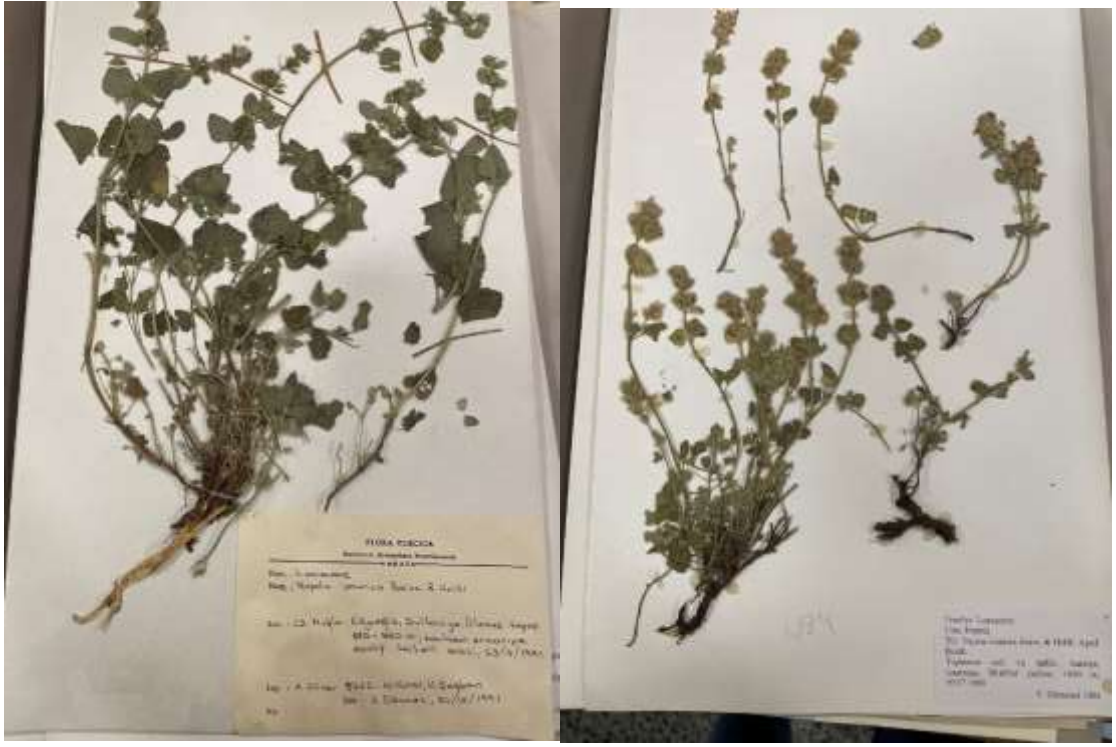
Görsel 4.3. *N. phyllochlamys* ESSE herbarium örnekleri



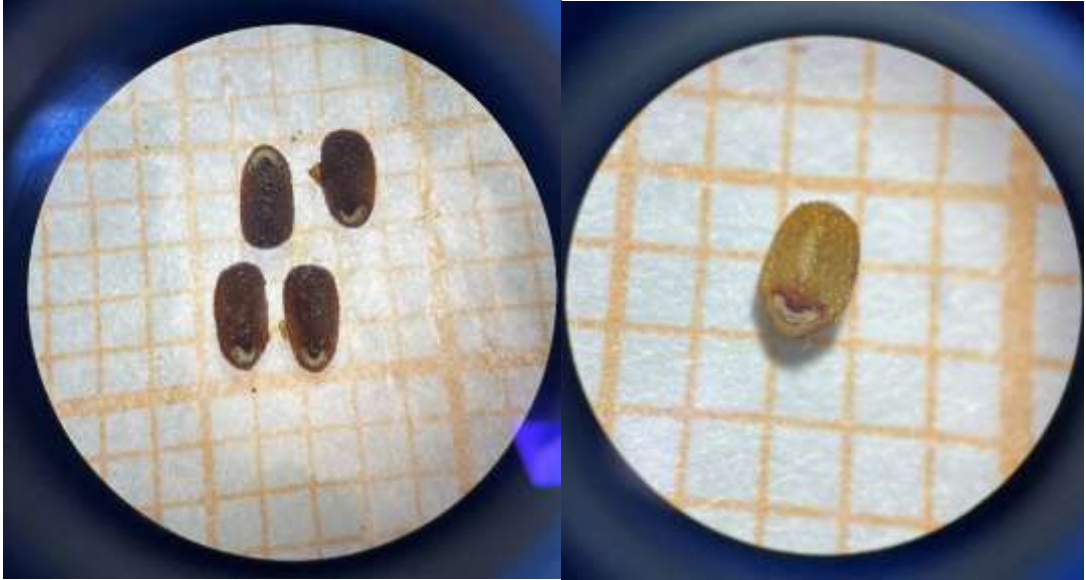
Görsel 4.4. *N. phyllochlamys* ISTE herbarium örnekleri



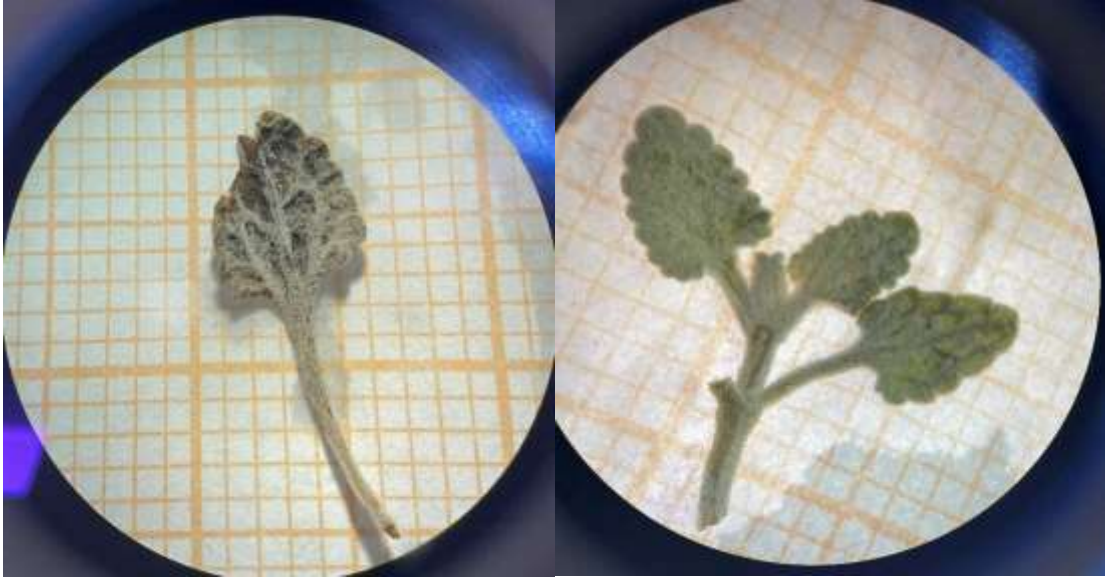
Görsel 4.5. *N. phyllochlamys* ANK herbarium örnekleri (sağ görseldeki izotip örneği)



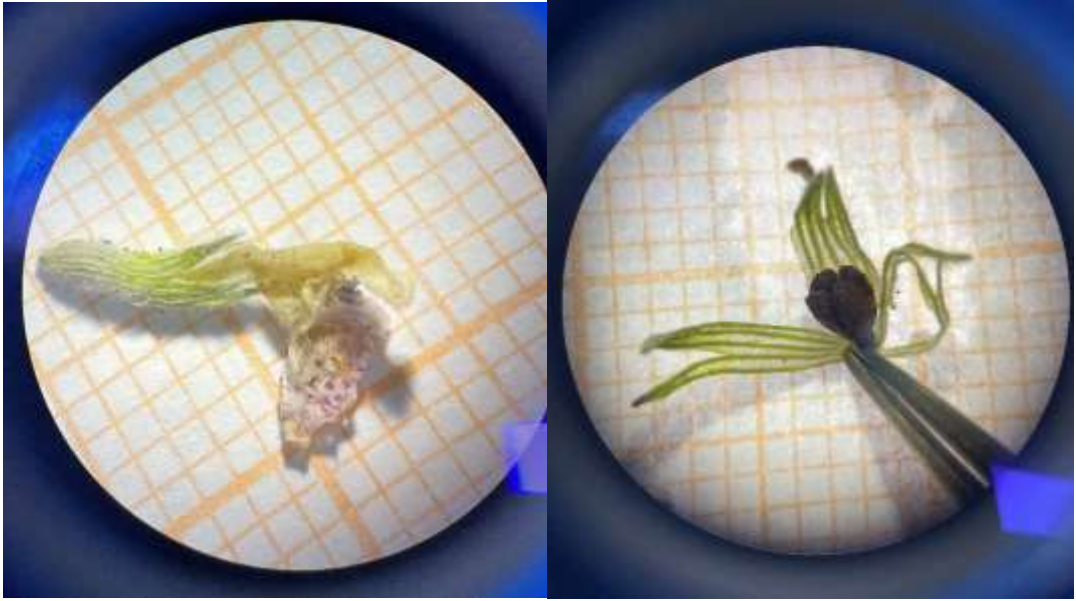
Görsel 4.6. *N. isaurica* GAZI herbarium örnekleri



Görsel 4.7. *N. phyllochlamys* nutletlerin stereo mikroskopta görünümü



Görsel 4.8. *N. phyllochlamys* yapraklarının stereo mikroskopta görünümü

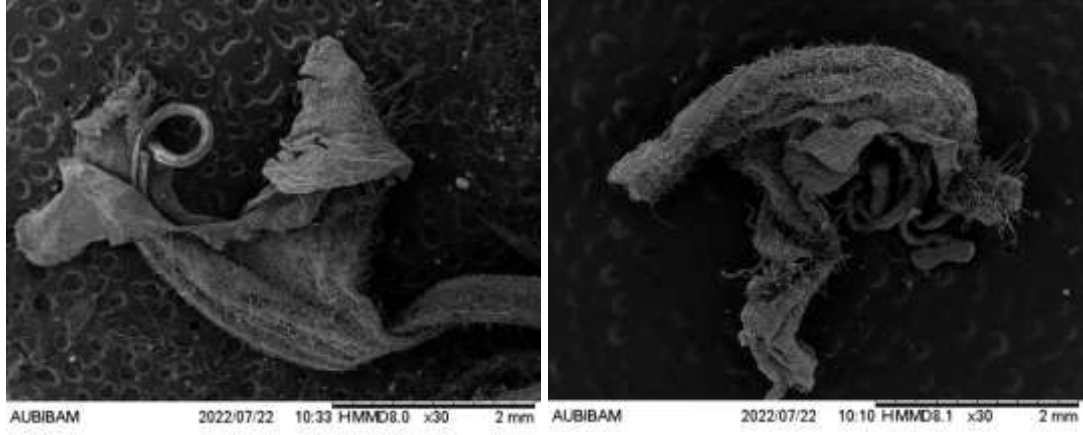


Görsel 4.9. Kaliks ve Korolla

Görsel 4.10. Kaliks ve içinde bulunan nutletler

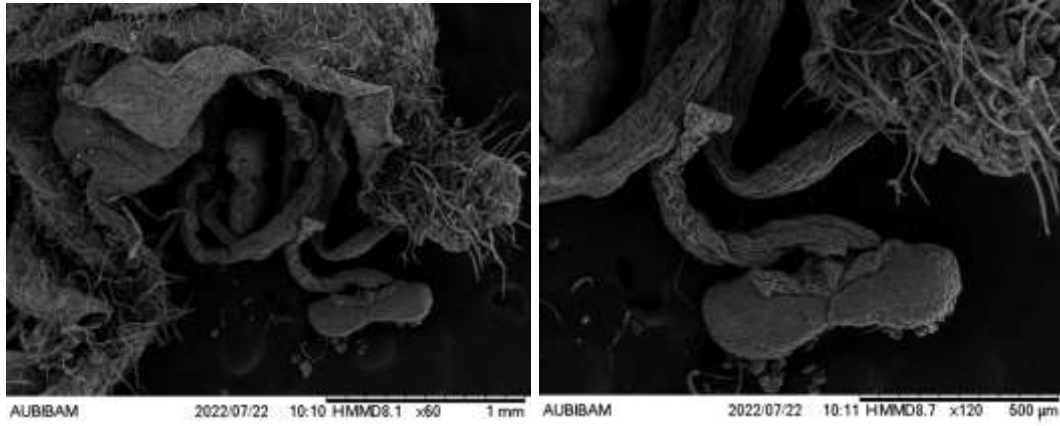
4.2. Mikromorfolojik bulgular

Korolla boyu yaklaşık 10 mm civarlarındadır, korolla tüpü dar, kavislidir. Boğazda aniden genişler. Kaliks dişleri içinde kalmaktadır (Görsel 4.11.)



Görsel 4.11. *N. phyllochlamys* korolla SEM fotoğrafları

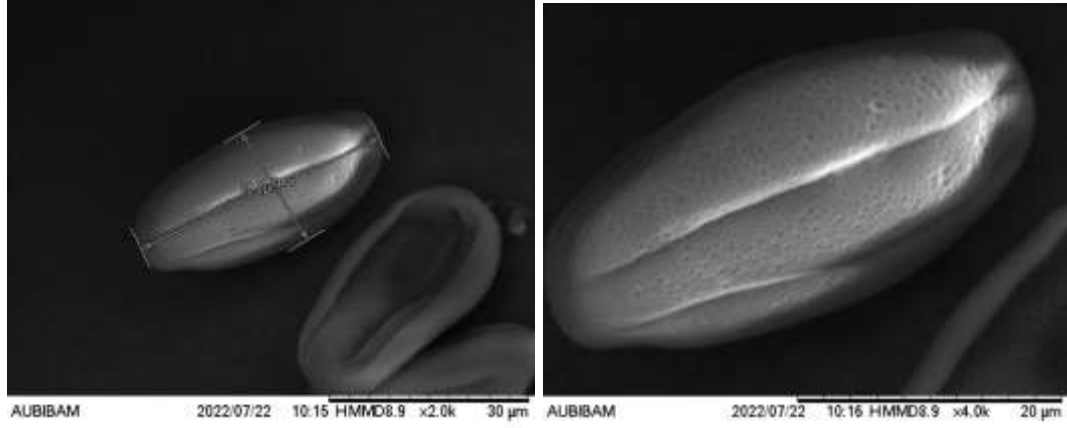
Stamenler 4 adet, 2'si kısa 2'si uzun (didinam) şeklindedir (Görsel 4.12.)



Görsel 4.12. *N. phyllochlamys* stamenlerin SEM fotoğrafları

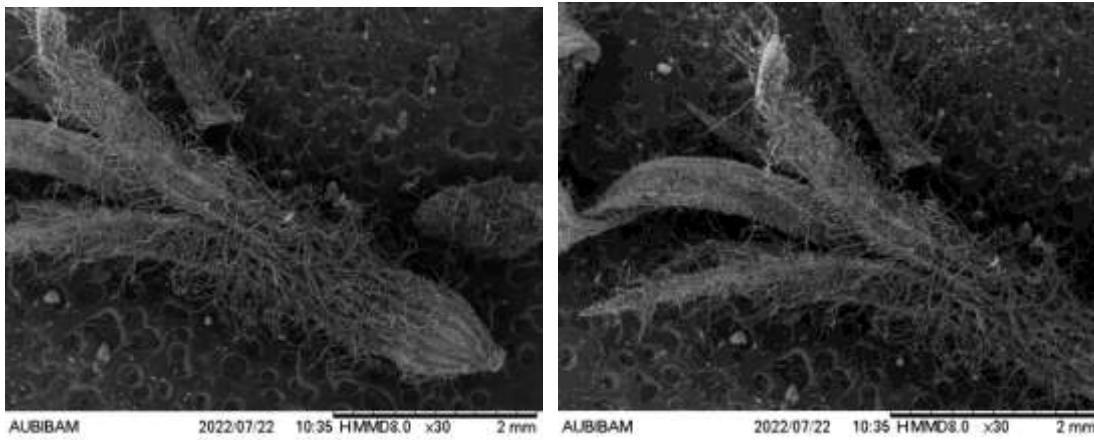


Görsel 4.13. *Stamen anteri ve polenlerin çıkışı*



Görsel 4.14. *Polen (19.0 µm en- 39.6 µm boy)* **Görsel 4.15.** *Polen yüzey ornamentasyonu*

Kaliks tüpsüdür, c. 6,5 mm boyunda hafif kavisli, ağız kısmı hemen hemen eğik, salgısız kılımsı ince (villous) tüyler, çok kısa glandüler papilla ve sapsız salgı bezlerine sahiptir. Kaliks dişleri dar, lanseolat, akut, düzenli ve tübün 1/3'ü kadardır (Görsel 4.16.)



Görsel 4.16. *Kaliks dış yüzey*

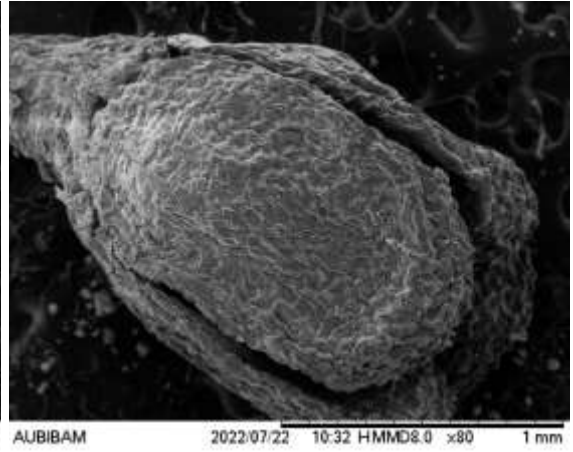
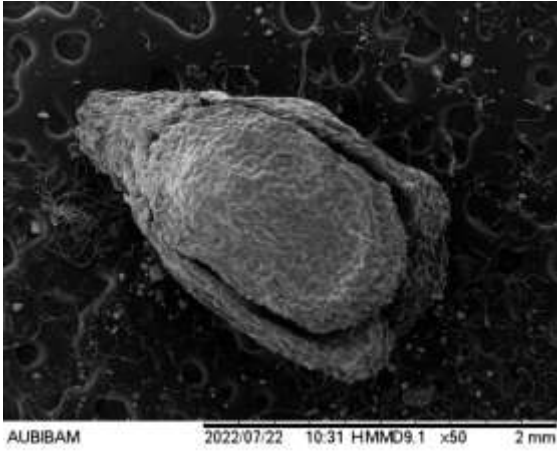


Görsel 4.17. *Kaliks iç yüzey*



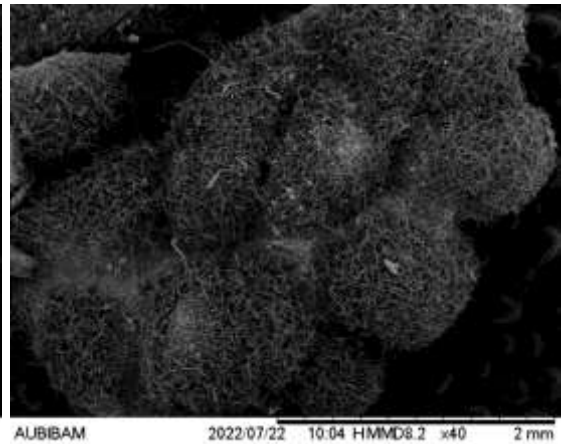
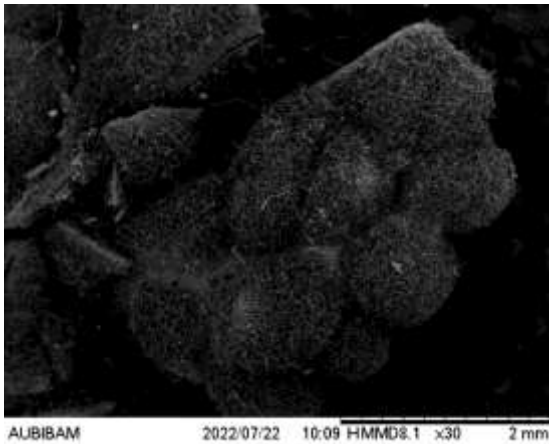
Görsel 4.18. *Kaliks tüy yapısı*

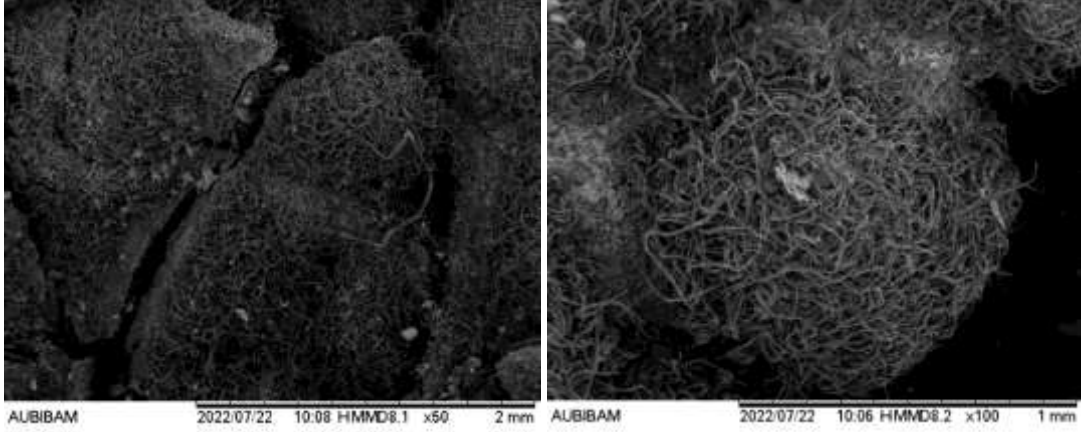
Nutletler oblong, 1-1.5 boy 1.5-2.5 mm aralığında ene sahiptir ve tüm yüzeyi tüberküllüdür.



Görsel 4.19. *Nutletler*

Yaprak yüzeyi loplu, grimsi beyaz renkli, yoğun sıkıştırılmış kadifemsi (velutinus, velutinous) ve yünlü (tomentose) tüylerle kaplıdır.





Görsel 4.20. *Yaprak yüzeyi ve tüylenme yapısı*

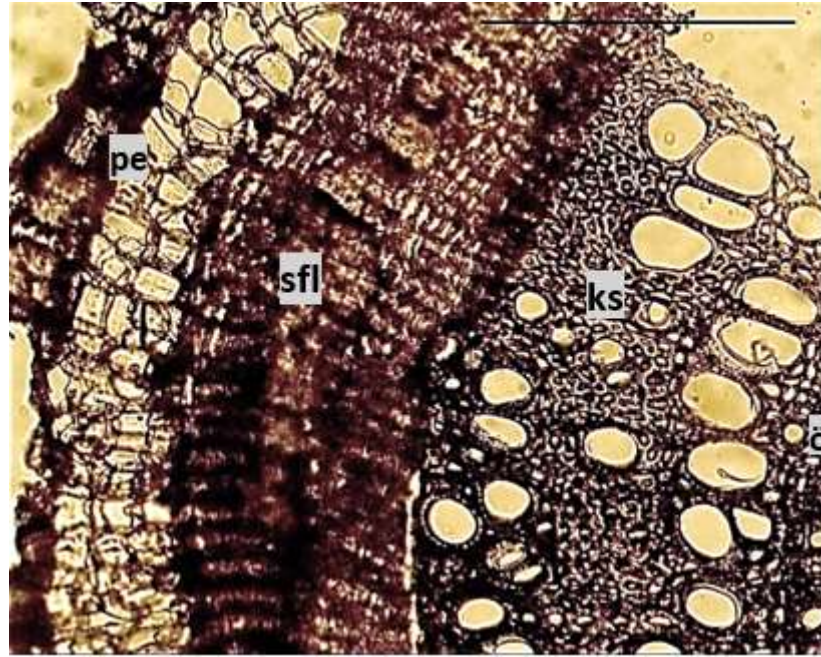
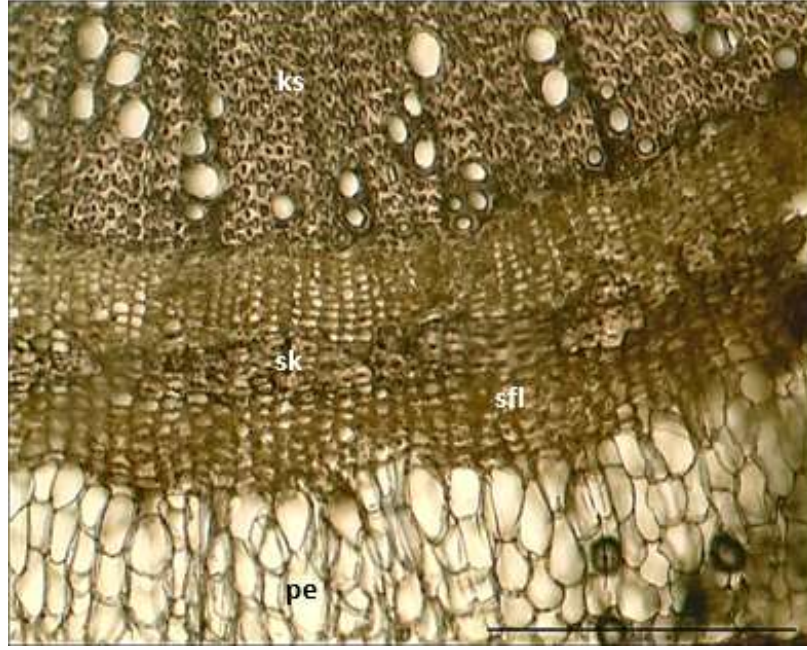
4.3. Anatomik Bulgular

4.3.1. Kök

Bitki çok yıllıktır bu yüzden en dışta parçalanmış mantar doku olan peridermis bulunur. Peridermis; parçalanan epidermisin yerine geçen ikincil bir koruyucu dokudur. Peridermisin altında korteks tabakası bulunur. Korteks tabakası 4-5 sıralı büyük, oval, ince çeperli hücrelerden oluşmuştur. Korteksin altında iletim demetleri olan ksilem ve floem bulunur. İki iletim demeti arasında kambiyum tabakası bulunur ve bitkinin enine büyümesini sağlar. En içte öz tabakası bulunur. Öz bölgesi ksilem elemanlarını içerir, trake ve trakeidler bulunmaktadır (Görsel 4.22).



Görsel 4.21. *N. phyllochlamys kök enine kesiti x4*



Görsel 4.22. *N. phyllochlamys* kök anatomisi x10, pe: peridermis, sfl: sekonder floem, sk: sklerenkima, ks: ksilem, ö: öz bölgesi.

4.3.2. Gövde

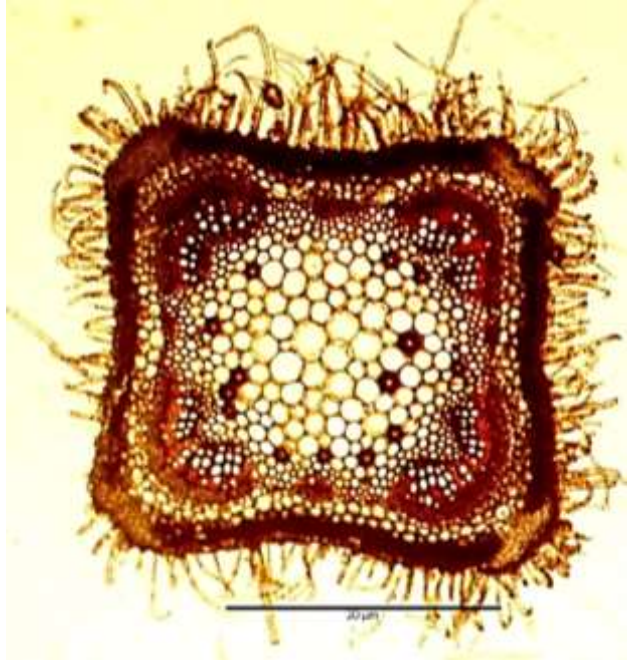
Gövdenin tipik Lamiaceae gövde özelliklerini taşıdığı gözlemlenmiştir, dört köşeli gövdeye sahiptir. En dışta kütikula tabakası yer almaktadır. Gövdede çok hücreli örtü ve çok veya tek hücreli salgı tüyleri bulunmaktadır. Epiderma tek sıralıdır ve izodiyametrik (eşit çaplara sahip) hücrelerden oluşmuştur (Görsel 4.23).

Gövdenin köşelerinde düzensiz çepere sahip hücrelerden oluşan köşe kollenkimaları bulunmaktadır. Köşe kollenkimaların altında ise 2-3 sıradan oluşan

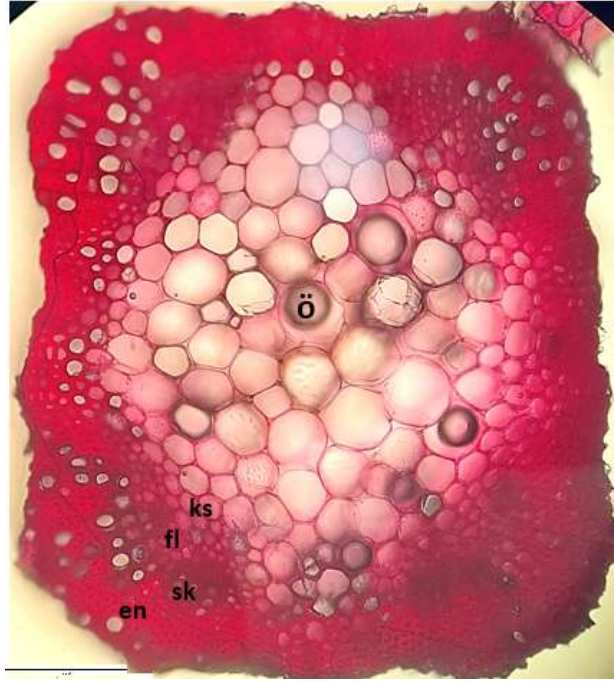
korteks parankiması yer alır. Korteks parankimasının altında 1-2 sıralı endodermis bulunmaktadır (Görsel 4.25).

Endodermisin altında köşelerde 3-5 sıralı, orta kısımlarda 1-2 sıralı olarak yer alan sklerenkima bulunur. Periskl; merkezi silindirin ilk tabakasını oluşturur, parankimatik hücreler de barındırmasına rağmen sklerenkimatik hücrelerden oluşmuştur (Görsel 4.25).

Sklerenkimanın altında 2-3 sıralı floem yapısı yapısı vardır ve düzensiz çeperli hücrelerden oluşmuştur. Floemin altında 2-3 sıralı ksilem tabakası bulunur. Ksilemde trakeidler çokgen şekilli, trakeler yuvarlak veya oval şekillidirler. En iç kısımda öz bölgesi bulunmaktadır. Öz bölgesi yuvarlak veya çokgen, ince çeperli parankima hücrelerinden oluşmuştur (Görsel 4.25).



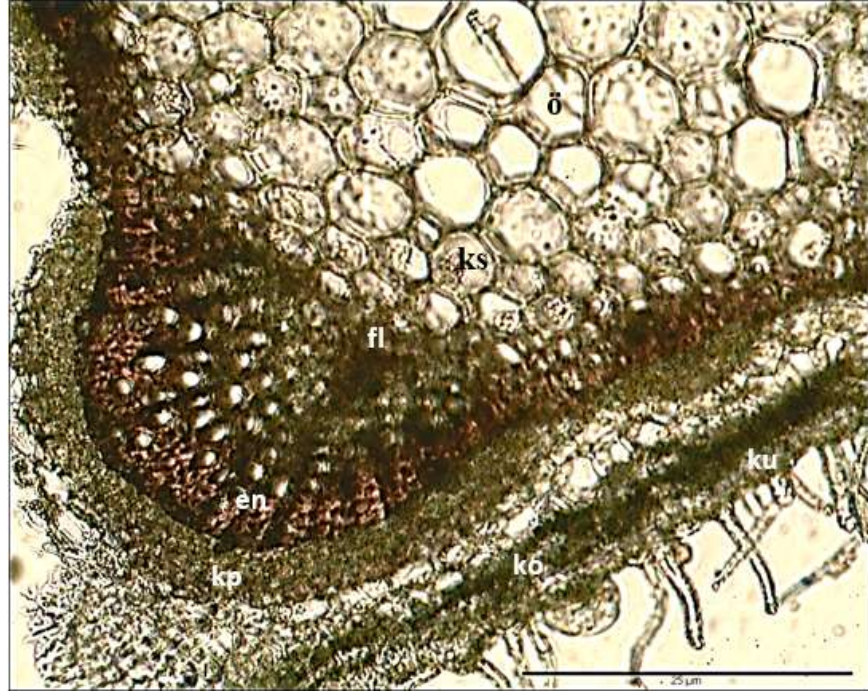
Görsel 4.23. *N. phyllochlamys* gövde enine kesiti x4



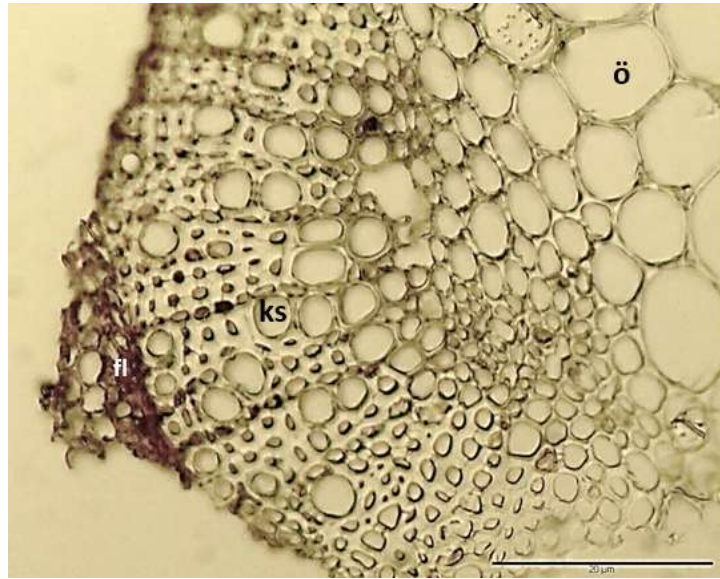
Görsel 4.24. *N. phyllochlamys* gövde anatomisi x4, en: endodermis, sk: sklerenkima, fl: floem, ks: ksilem, ö: öz bölgesi.



Görsel 4.25. *N. phyllochlamys* gövde anatomisi x10; ku: kütikula, e: epidermis, ko: kollenkima, en: endodermis, sk: sklerenkima, fl: floem, ks: ksilem, ö: öz, t: trikom.



Görsel 4.26. *N. phyllochlamys* gövde anatomisi x10; ku: kütikula, e: epidermis, ko: kollenkima, en: endodermis, sk: sklerenkima, fl: floem, ks: ksilem, ö: öz bölgesi.



Görsel 4.27. *N. phyllochlamys* gövde anatomisi x20; fl: floem, ks: ksilem, ö: öz bölgesi.

4.3.3. Yaprak

Alt ve üst epidermis kare, oval veya dikdörtgen şekilli hücrelerden meydana gelmiştir ve üzerleri ince bir kütikula tabakası ile çevrilidir. Epidermis tek sıralıdır. Epidermisin farklılaşmasıyla tüyler oluşmuştur (Görsel 4.29). Tek veya çok hücreli örtü ve salgı tüyleri bulunmaktadır. Labiatae tipi başı sekiz hücreli salgı tüyleri içerir. Örtü tüyleri genellikle çok hücrelidir. Yaprığın tüm yüzeylerinde tüyler oldukça fazla sayıda oldukları görülmüştür (Görsel 4.32).

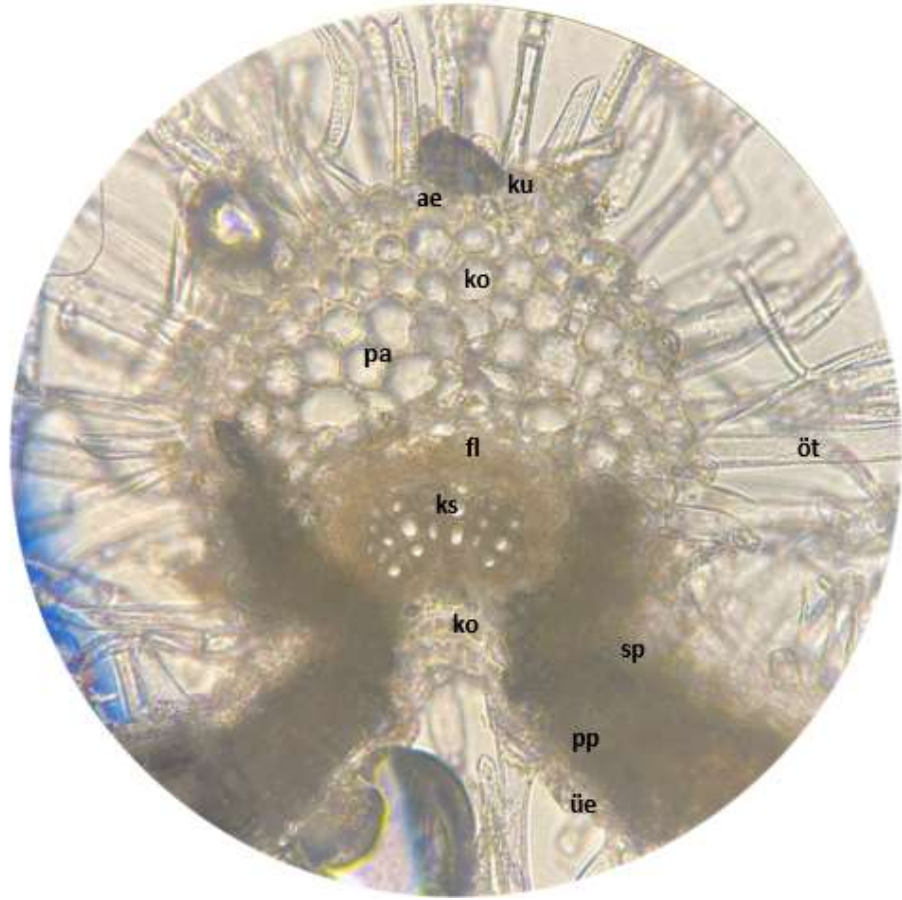
Yaprakta palizat ve sünger parankimasından oluşan mezofil tabakası bulunmaktadır. Yaprak bifasiyal tiptedir. 1-2 sıra sünger parankimasına, 1 sıra palizat parankimasına rastlanmıştır. Palizat parankiması silindirik şekilli sıkı dizilmiş hücrelerden oluşmuştur, sünger parankiması, daha gevşek dizilmiş ve hava boşlukları içeren şekli daha az düzenli olan hücrelerden oluşmuştur (Görsel 4.30 ve 4.31).

Ksilem üst epidermise doğru iç kısımda bulunurken, floem daha dış kısımda alt epidermise bakan kısımda bulunmaktadır. İletim demetleri açık kollateraldir (Görsel 4.29).

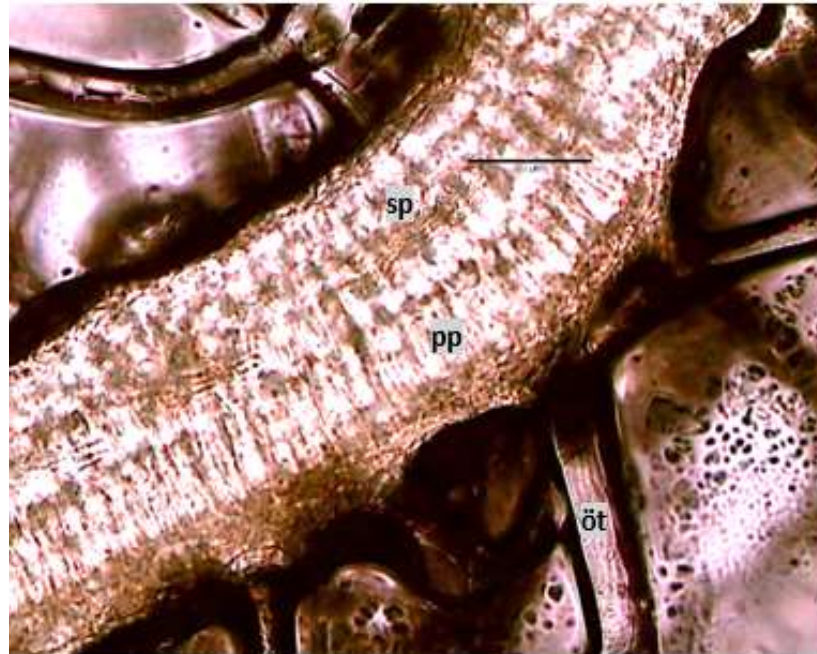
Stomalar yaprağın her iki yüzünde bulunmaktadır. Amfistomatik yapaktır. Stomaların çeperleri komşu hücrelerin çeperlerine diktir. Diasitik stoma gözlenmiştir (Görsel 4.33).



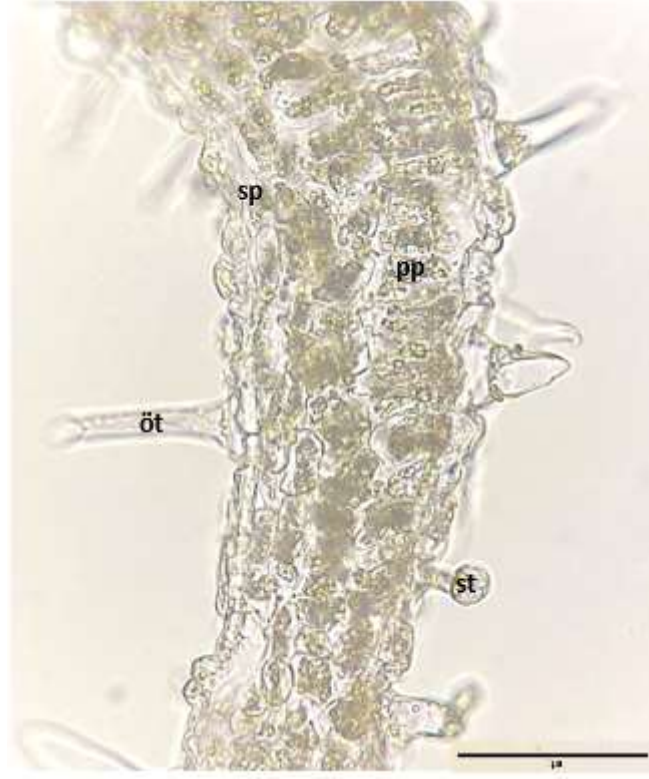
Görsel 4.28. *N. phyllochlamys* yaprak enine kesiti x10



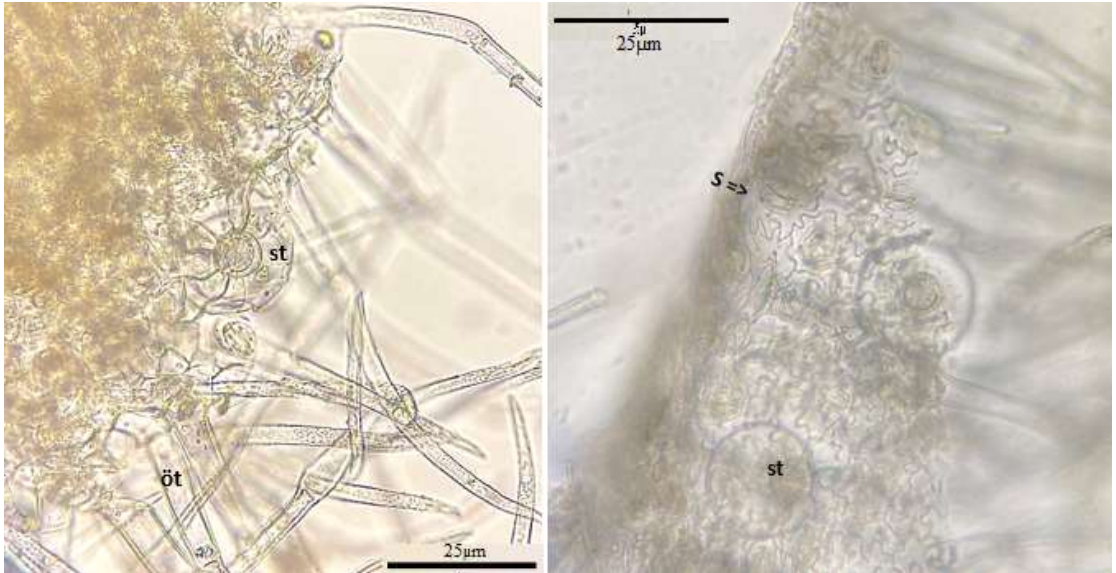
Görsel 4.29. *N. phyllochlamys* yaprak anatomisi x20; ku: kutikula, üe: üst epidermis, ae: alt epidermis, ko: kollenkima, pp: palizat parankiması, sp: sünger parankiması, pa: parankima, fl: floem, ks: ksilem, ört: örtü tüyü



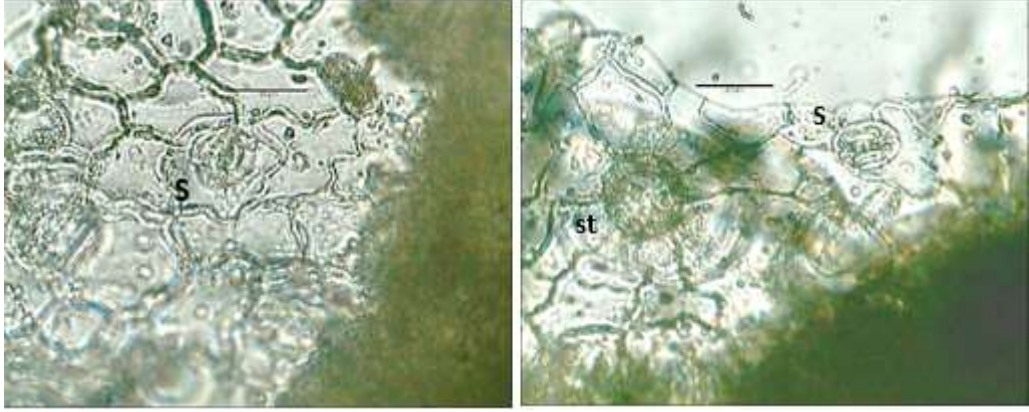
Görsel 4.30. *N. phyllochlamys* yaprak anatomisi x20 (Kloralhidratlı); sp: sünger parankiması, pp: palizat parankiması, ört: örtü tüyleri.



Görsel 4.31. *N. phyllochlamys* yaprak anatomisi x20 (Kloralhidratlı); sp: sünger parankimasi, pp: palizat parankimasi, öt: örtü tüyleri, st: salgı tüyü.



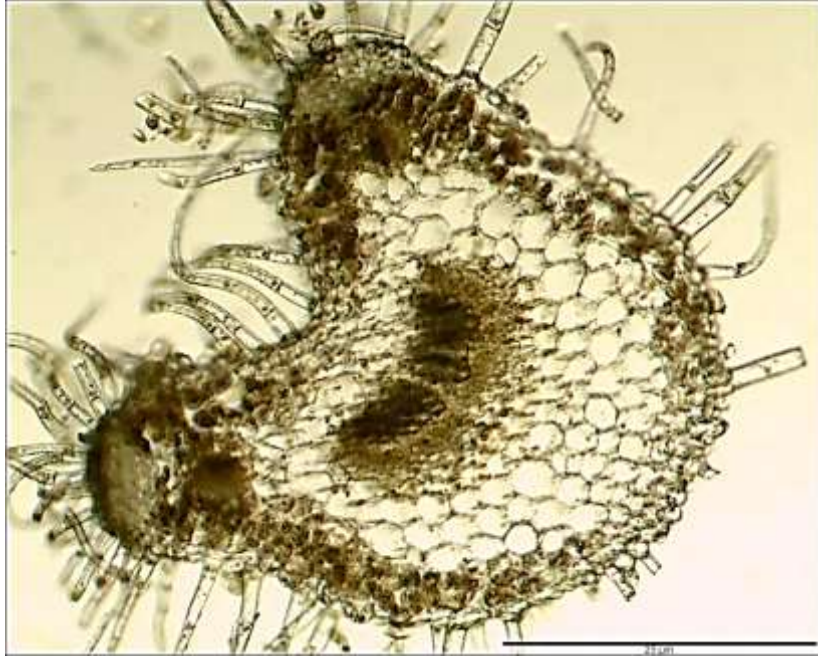
Görsel 4.32. st: Labiatae tipi salgı tüyü, öt: örtü tüyü, s: stoma (diasitik stoma); x40.



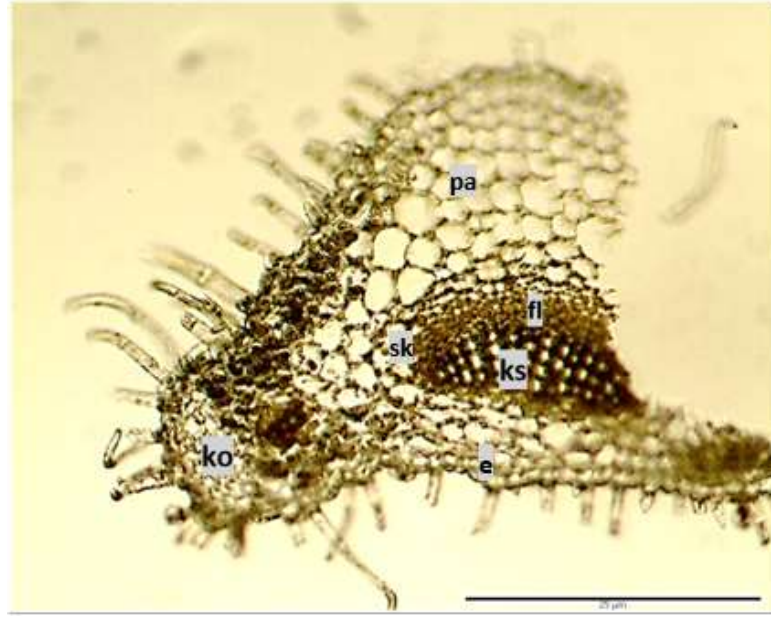
Görsel 4.33. s: *Lamiaceae* tipi diasitik stoma stoma; x40. Yaprak üst ve alt yüzünden yüzeysel kesit

4.3.4. Petiyol

Üst parankimatik hürelerin şekilleri düzensiz, eliptik veya dikdörtgen olarak gözlenmiştir. Alt parankimatik hücreler düzensiz, eliptik veya daireseldir. Epidermis hücreleri ise dikdörtgenimsi veya daireseldir (Görsel 4.35). Petiyol anahattı u şeklindedir (Görsel 4.34).



Görsel 4.34. *N. phyllochlamys* petiyol enine kesiti x10



Görsel 4.35. *N. phyllochlamys* petiyol anatomisi x10; ko: kollenkima, ks: ksilem, fl: floem, sk: sklerenima, pa: parankima, e: epidermis.

4.4. Moleküler Bulgular

Sekans analizleri için BM Labosis firmasından hizmet alımı yapılmış ve dizileri <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> (http-10) adresinden faydalanılarak Blast programı ile yakın akrabaları olan türler bulunmuştur (Tablo 4.2) ve filogenetik ilişkileri belirlenerek ağaç dendrogramı oluşturulmuştur (Şekil 4.1.).

DNA dizi analizi sonuçlarına göre *N. phyllochlamys* P. H. DAVIS'in %96 oranında *N. cataria* L. ile benzerlik gösterdiği görülmüştür. Blast analizlerine göre oluşturulan dendrogramda ise *N. heliotropifolia*, *N. cataria* ve *N. grandiflora* türü ile küme oluşturdukları belirlenmiştir (Şekil 4.1).

Np – trnL-F-trnI-R: *Nepeta cataria*

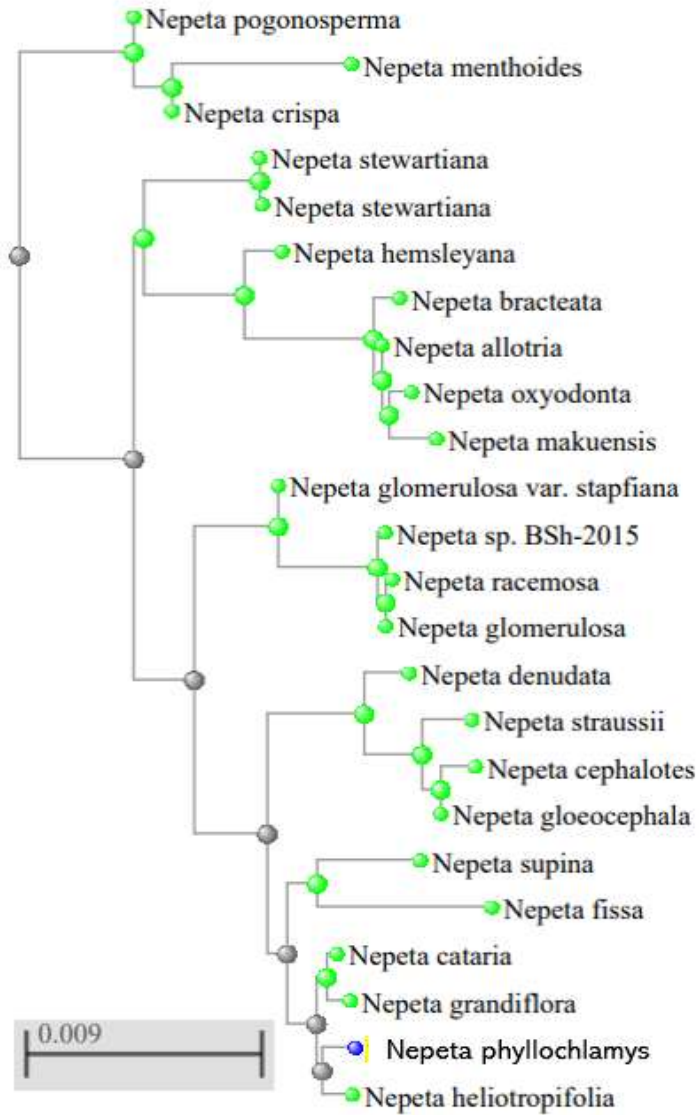
```

CTGCTCTACCAGCTGAGCTATCCCGACCATTTC CAATGTAGCATCCCACCCC
CATTTTATTAGATGACTGGAGTCGATGTCAATTAAAGGGACACGGGGGATT
ACAAAGTTTTCTCCAAGTCCTGTAATTTCAATGCTATTCATTCATATCGGCAT
TCCTTGCTTCATTTCAATTTGTAATGTGTATTCTATATCACATGTGATAAGAGA
AAGTACTTTATAACCAAATAACGTTTGTCAAAGAATCAGAAGGATAAGGGAA
TTTCGAACCGCTAACGAAAAAGGGCGATAGGGTAACTATTTTAGGGGTCAA
ATAGGCTTTTTGGGGATAGAGGGACTTGAACCCTCACGATTTTTAAAGTCGA
CGGATTTTCCTATTACTATAAATTTCAATGTTGCCGGTATTGACATGTAGCAT

```

GTAGAATGGGACTCTATCTTTATTCTCGTCGGATTAATCAGTTATTTAAAAG
ATCTATCGGACTATGGAGTGAATGAGTTGATGAATATTCGATTTTTTCTTCA
ACGTGAAATAAATTCACACCTATTTTTCCATTTTTTCATTTTCATATTA
AAGGGGATTCGGGCCAACATTAATCATTATTATAATCATTGATATAGTATTC
AATAGATGCGTTTATCCTTTCTAAAGTTTCCACGGAAAGATTCCTCTACCGG
CGCAGTCAACTCCATTTGTTAGAACAGCTTCCATTGAGTCTCTGCACCTATC
CTTTGCTTTGAGAAAACAGGATTTGGCTCAGGATTGCCATTTTTTTAATTC
CAGGGTTTCTCTGAATTTGAAAGTTATCACTTAGTAAGTTTCCATACCAAGG
CTCAATCCAATT AAGTCCGTAGCGTCTACCGATTTTC

Benzerlik Oranı: %96



Şekil 4.1. Taksonların ITS baz dizilimlerine göre oluşturulan filogenetik ağaç (dendrogram)

Tablo 4.2. *N. phyllochlamys* 'den elde edilen dizilerin Gen Bankası 'ndaki en yakın temsilcileri ve benzerlik oranları

Gen Bankasındaki Benzer Türler (yakın temsilcileri)	Benzerlik Oranı %	Dizi Benzeşme Oranı	Gen Bankası Numarası
<i>Nepeta cataria</i>	99.64	835/838 (%99)	DQ667487.1
<i>Nepeta racemosa</i>	98.21	821/836 (%98)	AJ505432.1
<i>Nepeta heliotropifolia</i>	98.32	819/833 (%98)	KX641665.1
<i>Nepeta straussii</i>	98.31	813/827 (%98)	AJ505433.1
<i>Nepeta hemsleyana</i>	96.67	842/871 (%97)	MW387500.1
<i>Nepeta supina</i>	98.99	783/791 (%99)	GU381479.1
<i>Nepeta grandiflora</i>	98.37	784/797 (%98)	AY506621.1
<i>Nepeta stewartiana</i>	95.77	837/874 (%96)	NC_057283.1
<i>Nepeta glomerulosa</i>	98.96	759/767 (%99)	LC316167.1
<i>Nepeta denudate</i>	98.83	759/768 (%99)	LC316169.1
<i>Nepeta cephalotes</i>	98.83	758/767 (%99)	LC316172.1
<i>Nepeta gloeocephala</i>	98.70	759/769 (%99)	LC316170.1
<i>Nepeta bracteata</i>	95.60	803/840 (%96)	KX641663.1
<i>Nepeta menthoides</i>	95.23	799/839 (%95)	AJ505431.1
<i>Nepeta fissa</i>	97.53	750/769 (%98)	LC316171.1
<i>Nepeta pogonosperma</i>	95.83	736/768 (%96)	LC316164.1
<i>Nepeta crispa</i>	95.70	735/768 (%96)	LC316161.1
<i>Nepeta allotria</i>	95.70	735/768 (%96)	LC316151.1
<i>Nepeta oxyodonta</i>	95.57	734/768 (%96)	LC316152.1
<i>Nepeta makuensis</i>	95.44	733/768 (%95)	LC316158.1

4.5. Fitokimyasal Bulgular

Üç lokaliteden toplanan bitkilerin toprak üstü kısımlarının hidrodistilasyon işlemi sonucunda keskin kokulu, hafif sarı renkli uçucu yağ elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağların miktarları çok az olduğu için hekzanla alınmıştır, bu yüzden yüzde verim hesaplanamamıştır. Elde edilen uçucu yağın bileşenleri gaz kromatografi yöntemi (GK/GK-KS) ile belirlenmiş ve Antalya- Kemer'e ait veriler Tablo 4.3'de, Antalya-Kumluca'ya ait veriler Tablo 4.4'de, Muğla- Datça'ya ait veriler Tablo 4.5'de gösterilmiştir. Antalya- Kemer'e ait verilerde ana bileşenler sırasıyla karyofillen oksit (%18.2), β -pinen (%15.6) ve linalol (%11.0) olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3). Antalya-Kumluca bölgesinde ana bileşenler sırasıyla β -pinen (%23.3), karyofillen oksit (%10.5)

ve linalol (%7.4)'dür (Tablo 4.4). Muğla- Datça'ya ait verilerde ise ana bileşenlerin T-kadinol (%14.9), α -pinen (%6.8), 14-nor-kadin-5-en-4-on (izomer A) (%6.8) olduğu görülmüştür (Tablo 4.5).

Tablo 4.3. Antalya-Kemer lokalitesi uçucu yağ bileşenleri

RRI	Bileşenler	<i>Nepeta</i> E1265C6 %	IM
1032	α -Pinen	3.1	t _R , MS
1035	α -Tuyen	0.9	MS
1076	Kamfen	0.1	t _R , MS
1118	β-Pinen	15.6	t _R , MS
1132	Sabinen	4.0	t _R , MS
1174	Mirsen	0.2	t _R , MS
1188	α -Terpinen	0.1	t _R , MS
1213	1,8-Sineol	6.4	t _R , MS
1246	(Z)- β -Osimen	0.3	t _R , MS
1255	γ -Terpinen	0.3	t _R , MS
1266	(E)- β -Osimen	1.4	t _R , MS
1267	3-Oktanon	0.1	t _R , MS
1280	<i>p</i> -Simen	1.5	t _R , MS
1290	Terpinolen	0.1	t _R , MS
1450	<i>trans</i> -Linalol oksit (<i>Furanoid</i>)	tr	MS
1452	1-Octen-3-ol	tr	t _R , MS
1478	<i>cis</i> -Linalol oksit(<i>Furanoid</i>)	tr	MS
1523	Krizanthenon	tr	MS
1544	α -Gurjunen	tr	MS
1553	Linalol	11.0	t _R , MS
1586	Pinokarvon	1.3	MS
1601	Nopinone	1.0	MS
1612	β -Karyofillen	10.0	t _R , MS
1641	Tuy-3-en-10-al	1.6	MS
1648	Mirtenal	1.4	MS
1670	<i>trans</i> -Pinokarveol	5.2	t _R , MS
1686	Lavandulol	1.6	t _R , MS
1690	<i>trans</i> -Verbenol	2.6	MS
1706	α -Terpineol	1.1	t _R , MS
1726	Verbenon	0.3	t _R , MS
1755	Bisiklogermakren	tr	t _R , MS
1804	Mirtenol	2.0	MS
1953	Palustrol	tr	MS
2008	Karyofillen oksit	18.2	t _R , MS
2050	(E)-Nerolidol	0.8	t _R , MS
2057	Ledol	0.6	MS
2071	Humulen epoksit-II	0.7	MS
2096	Elemol	2.2	MS
2113	Kumin alkol	tr	t _R , MS
2144	Spatulenol	0.9	t _R , MS
2185	γ -Ödesmol	tr	MS
2250	α - Ödesmol	0.4	MS
2257	β - Ödesmol	0.6	MS
2324	Karyofilladienol II	tr	MS
2389	Karyofillenol I	tr	MS
2392	Karyofillenol II	1.3	MS

Tablo 4.3. (Devam) Antalya-Kemer lokalitesi uçucu yağ bileşenleri

	Gruplandırılmış bileşikler (%)		
	Monoterpen hidrokarbonlar	27.6	
	Oksijenli monoterpenler	34.5	
	Seskiterpen hidrokarbonlar	10	
	Oksijenli seskiterpenler	25.7	
	Diğerleri	1.1	
	Total %	98.9	

Tablo 4.4. Antalya-Kumluca lokalitesi uçucu yağ bileşenleri

RRI	Bileşenler	<i>Nepeta</i> E1265C6 %	IM
1032	α -Pinen	1.5	t _R , MS
1035	α -Tuyen	0.8	MS
1076	Kamfen	0.2	t _R , MS
1118	β-Pinen	23.3	t _R , MS
1132	Sabinen	4.9	t _R , MS
1174	Mirsen	0.3	t _R , MS
1188	α -Terpinen	0.2	t _R , MS
1203	Limonen	0.4	t _R , MS
1213	1,8-Sineol	3.6	t _R , MS
1246	(Z)- β -Osimen	0.6	t _R , MS
1255	γ -Terpinen	0.3	t _R , MS
1266	(E)- β -Osimen	2.4	t _R , MS
1267	3-Oktanon	0.1	t _R , MS
1280	<i>p</i> -Simen	0.9	t _R , MS
1290	Terpinolen	0.1	t _R , MS
1409	Rosefuran	0.1	MS
1450	<i>trans</i> -Linalol oksit (<i>Furanoid.</i>)	0.3	MS
1452	1-Octen-3-ol	0.1	t _R , MS
1457	β -Tuyon	0.4	MS
1474	<i>trans</i> -Sabinen hidrat	0.7	t _R , MS
1478	<i>cis</i> -Linalol oksit(<i>Furanoid</i>)	0.3	MS
1553	Linalol	7.4	t _R , MS
1556	<i>cis</i> -Sabinen hidrat	0.3	t _R , MS
1571	<i>cis</i> -dihidro- α -terpineol	0.1	MS
1586	Pinokarvon	2.9	MS
1601	Nopinone	1.3	MS
1611	Terpinen-4-ol	1.2	t _R , MS
1612	β -Karyofillen	4.4	t _R , MS
1648	Mirtenal	3.7	MS
1651	Sabinaketon	0.2	MS
1670	<i>trans</i> -Pinokarveol	4.7	t _R , MS
1686	Lavandulol	0.6	t _R , MS
1690	<i>trans</i> -Verbenol	1.1	MS
1706	α -Terpineol	0.7	t _R , MS
1726	Verbenon	0.1	t _R , MS
1726	Germakren-D	0.3	MS
1755	Bisiklogermakren	0.1	t _R , MS
1802	Kumin aldehit	0.3	t _R , MS
1804	Mirtenol	3.0	MS

Tablo 4.4. (Devam) Antalya-Kumluca lokalitesi uçucu yağ bileşenleri

1845	<i>trans</i> -Karveol	0.2	t _R , MS
1864	<i>p</i> -Simen-8-ol	0.2	t _R , MS
2001	İzokaryofillen oksit	1.0	MS
2008	Karyofillen oksit	10.5	t _R , MS
2050	(<i>E</i>)-Nerolidol	0.6	t _R , MS
2057	Ledol	0.5	MS
2058	<i>p</i> -Mentha-1,4-dien-7-ol	0.4	MS
2071	Humulen epoksit-II	0.5	MS
2096	Elemol	3.1	MS
2113	Kumin alkol	0.3	t _R , MS
2144	Spatulenol	1.0	t _R , MS
2185	γ -Ödesmol	1.0	MS
2250	α - Ödesmol	0.4	MS
2257	β - Ödesmol	0.5	MS
2324	Karyofilladienol II	0.7	MS
	Gruplandırılmış bileşikler (%)		
	Monoterpen hidrokarbonlar	39.5	
	Oksijenli monoterpenler	32.1	
	Seskiterpen hidrokarbonlar	4.8	
	Oksijenli seskiterpenler	19.8	
	Diğerleri	2.2	
	Total %	98.4	

Tablo 4.5. Muğla- Datça lokalitesi uçucu yağ bileşenleri

RRI	Bileşenler	Nepeta E1267B1 %	IM
1032	α-Pinen	6.8	t _R , MS
1035	α -Tuyen	0.4	MS
1076	Kamfen	0.1	t _R , MS
1118	β -Pinen	3.6	t _R , MS
1132	Sabinene	3.5	t _R , MS
1138	Tuya-2,4 (10)-dien	0.2	MS
1174	Mirsen	0.3	t _R , MS
1188	α -Terpinen	0.2	t _R , MS
1203	Limonen	0.5	t _R , MS
1213	1,8-Sineol	2.4	t _R , MS
1246	(<i>Z</i>)- β -Osimen	0.2	t _R , MS
1255	γ -Terpinen	0.5	t _R , MS
1266	(<i>E</i>)- β -Osimen	0.9	t _R , MS
1267	3-Oktanon	0.2	t _R , MS
1280	<i>p</i> -Simen	1.3	t _R , MS
1290	Terpinolen	0.1	t _R , MS
1409	Rosefuran	tr	MS
1450	<i>trans</i> -Linalol oksit (<i>Furanoid</i>)	0.7	MS
1452	<i>p</i> -Simen	tr	MS
1457	β -Tuyon	tr	MS
1465	Ökarvon	tr	MS

Tablo 4.5. (Devam) *Muğla- Datça lokalitesi uçucu yağ bileşenleri*

1474	<i>trans</i> -Sabinen hidrat	0.3	t _R , MS
1478	<i>cis</i> -Linalol oksit (<i>Furanoid</i>)	0.4	MS
1535	Pinokamfon	0.4	MS
1553	Linalol	4.1	t _R , MS
1556	<i>cis</i> -Sabinen hidrat	0.2	t _R , MS
1571	<i>trans-p</i> -Menth-2-en-1-ol	tr	MS
1586	Pinokarvon	0.8	MS
1601	Nopinon	0.4	MS
1611	Terpinen-4-ol	1.1	t _R , MS
1612	β-Karyofillen	tr	t _R , MS
1648	Mirtenal	0.9	MS
1651	Sabinaketon	0.3	MS
1668	<i>cis</i> -Verbenol	0.7	MS
1670	<i>trans</i> -Pinokarveol	1.6	t _R , MS
1686	Lavandulol	0.6	t _R , MS
1690	<i>trans</i> -Verbenol	3.9	MS
1706	α-Terpineol	0.4	t _R , MS
1725	Verbenone	0.5	t _R , MS
1726	Germakren D	tr	MS
1747	<i>p</i> -Mentha-1,5-dien-8-ol	0.8	MS
1755	Bisiklogermakren	0.3	t _R , MS
1773	δ-Kadinen	0.2	t _R , MS
1776	γ-Kadinen	5.0	MS
1802	Kumin aldehit	0.2	t _R , MS
1804	Mirtenol	0.8	MS
1807	α-Kadinen	tr	MS
1845	<i>trans</i> -Karveol	1.0	t _R , MS
1871	<i>trans</i> -Kalamenen	0.5	MS
1941	α-Kalakoren	tr	MS
2008	Karyofillen oksit	2.4	t _R , MS
2050	(<i>E</i>)-Nerolidol	0.3	t _R , MS
2057	Ledol	2.6	MS
2058	<i>p</i> -Mentha-1,4-dien-7-ol	0.2	MS
2069	GermakrenD-4β-ol	0.5	MS
2080	Kübenol	1.8	MS
2089	6-Metil-5 (3-metil fenil)-2-heptanon	1.6	MS
2144	Spatulenol	2.2	t _R , MS
2187	T-Kadinol	14.9	MS
2255	Kadalen	1.6	MS
2264	4,7-dimetil-1-tetralon	0.9	MS
2320	14-Nor-kadin-5-en-4-on (izomer A)	6.8	MS
2349	Kadina-4, 10 (15)-dien-3-on	5.6	MS
2411	4-İzopropil-6-metil-1-tetralon	0.7	MS
	Gruplandırılmış bileşikler (%)		
	Monoterpen hidrokarbonlar	18.6	
	Oksijenli monoterpenler	21.8	
	Seskiterpen hidrokarbonlar	8.1	
	Oksijenli seskiterpenler	31.4	
	Diğerleri	9.5	
	Total %	89.4	

RRI: *n*-alkanlara karşı hesaplanan bağıl alıkonma endeksleri

%: FID kromatogramlarından hesaplanan

tr: İz miktar (<0.1 %).

Tanımlama yöntemi: tR, HP Innowax kolonunda orijinal bileşiklerin alıkonma sürelerine dayalı tanımlama; MS, kütle spektrumlarının şirket içi Baser Library of Essential Oil Constituents, Adams, MassFinder ve Wiley kütüphanelerinkilerle bilgisayar eşleştirilmesi ve literatür verileriyle karşılaştırılması temelinde tanımlanmıştır.

4.6. Ekstrelerin Özellikleri ve Verimleri

Kurutulup, uygun boyuta getirilen bitkinin toprak üstü kısımları; *n*-hekzan, etil asetat ve %70'lik etil alkol ile 48 saat boyunca çalkalayıcıda masere edilmiştir. Elde edilen ekstrelerin verimi kuru bitki materyali üzerinden (g ekstre /100 g bitki) hesaplanmıştır. Ekstre verimleri bilgileri aşağıdaki Tablo 4.4'de gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Ekstre verimleri

Ekstre Türü	Kodu	Ekstre Miktarı, g	Verim, %
<i>n</i> -hekzan ekstresi	ZG1D	1 g	5.5
Etil asetat ekstresi	ZG1D1	1 g	5.5
%70'lik Etil alkol ekstresi	ZG1D2	1.9 g	10.56

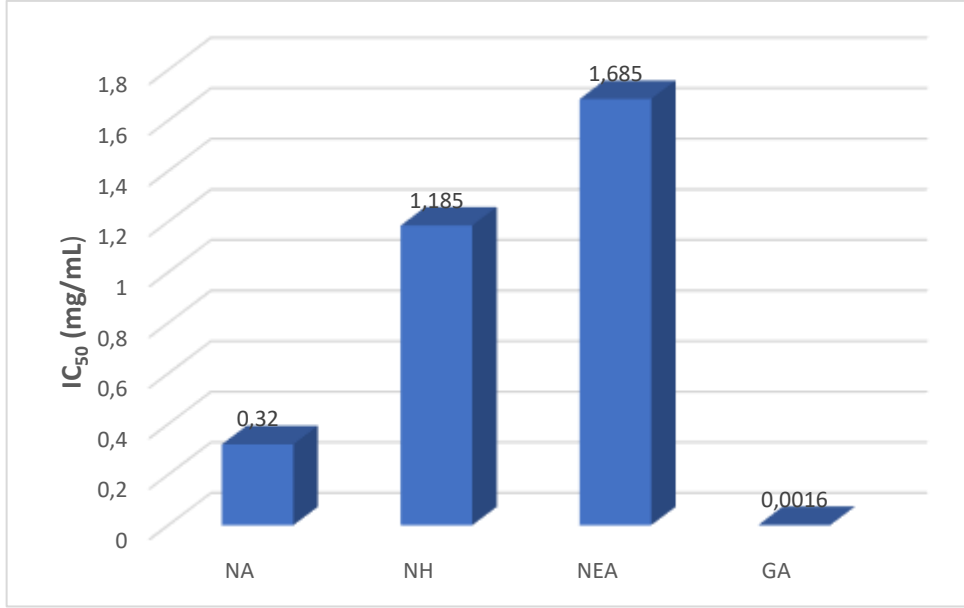
4.7. Biyolojik Aktivite Sonuçları

4.7.1. Antioksidan aktivite bulguları

4.7.1.1. Serbest radikal süpürücü etki (DPPH• testi) değerleri

N. phyllochlamys P. H. Davis toprak üstü kısımlarından elde edilen *n*-hekzan, etil asetat ve %70'lik etil alkollü ekstrelerinin DPPH• serbest radikalini süpürme etkileri spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Standart madde olarak gallik asit kullanılmıştır. Ekstrelerin inhibisyon değerleri kullanılarak SigmaPlot programında IC₅₀ değerleri bulunmuştur. Sonuçlar mg/mL cinsinden değerlendirilmiştir (Şekil 4.2).

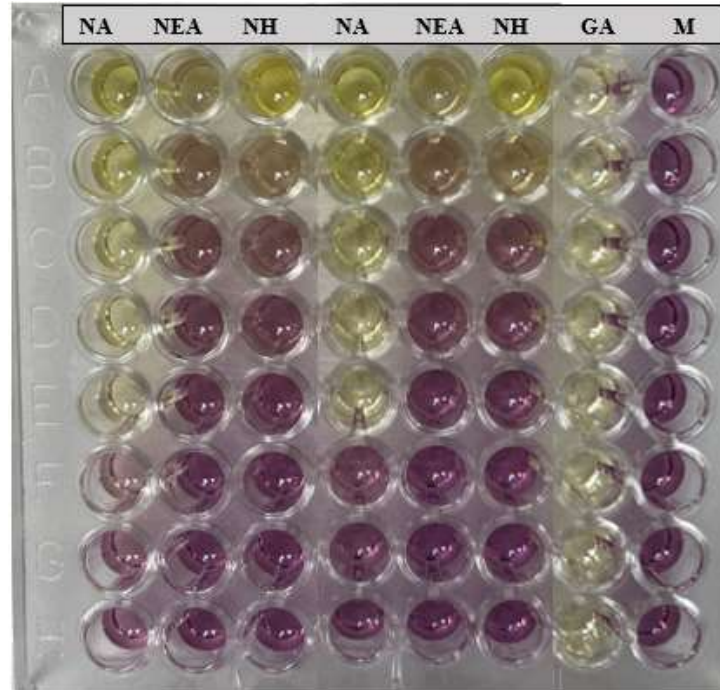
N. phyllochlamys'in %70 etil alkollü ekstresi, diğer ekstrele göre daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir (IC₅₀: 0.32±0.025 mg/ml). Bununla birlikte, *N. phyllochlamys*'in tüm ekstreleri, standart gallik asitten daha zayıf antioksidan aktivite göstermiştir.



Şekil 4.2. Ekstrelerin DPPH• süpürücü etkisi

NA: *N. phyllochlamys* %70'lik etil alkol ekstresi, **NEA:** *N. phyllochlamys* etil asetat ekstresi, **NH:** *N. phyllochlamys* hekzan ekstresi, **GA:** Gallik asit.

mg GAE/g ekstre: Gallik asit olarak ifade edilen toplam fenoller, ekstrenin gramı (kuru ağırlık) başına miligram gallik aside eşittir.

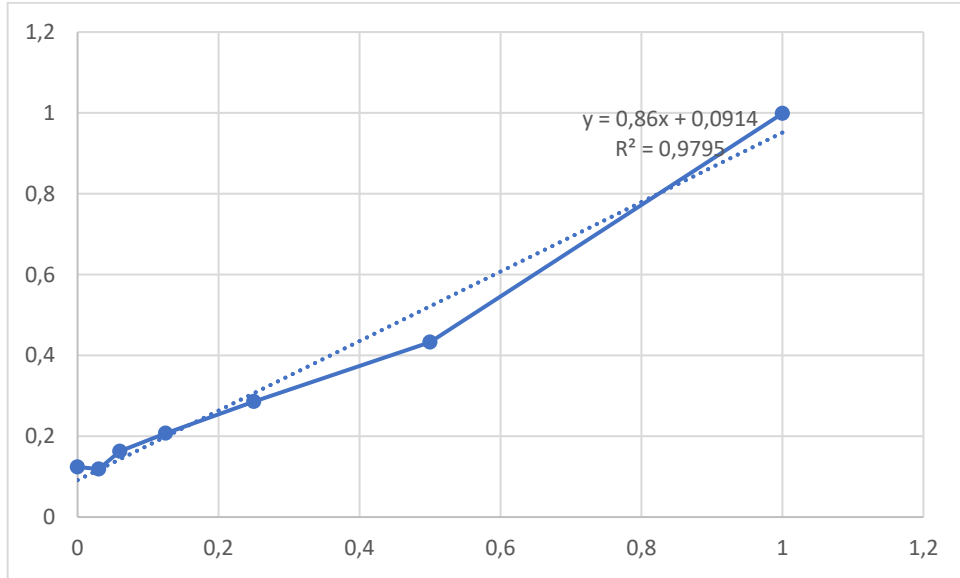


Şekil 4.3. Ekstrelerin DPPH• deney plağı

NA: *N. phyllochlamys* %70'lik etil alkol ekstresi, **NEA:** *N. phyllochlamys* etil asetat ekstresi, **NH:** *N. phyllochlamys* hekzan ekstresi, **GA:** Gallik asit, **M:** Metanol

4.7.1.2. Toplam Fenol Miktar Tayini Sonuçları

Ekstrelerin toplam fenol miktarı Gallik asite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılarak belirlenmiştir. Deneyler 3×3 tekrar üzerinden yapılmıştır ve toplam fenolik madde tayini gallik asit kalibrasyon eğrisi üzerinden karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Ekstrelerdeki toplam fenol miktarı, kalibrasyon eğrisi denklemi (şekil 4.4.) kullanarak g ekstrede mg gallik asite eşdeğer olarak (mgGAE/g ekstre) hesaplanmıştır. Çıkan sonuçlara bakıldığında, 3 farklı çözücü ile elde edilen ekstrelerde en yüksek toplam fenol miktarının etil alkollü ekstrede (88.8±0.04 mg GAE/g ekstre) olduğu görülmüştür. En düşük toplam fenol içeriği ise etil asetatlı (29.4±0.02 mg GAE/g ekstre) ekstrede tespit edilmiştir (Tablo 4.5).

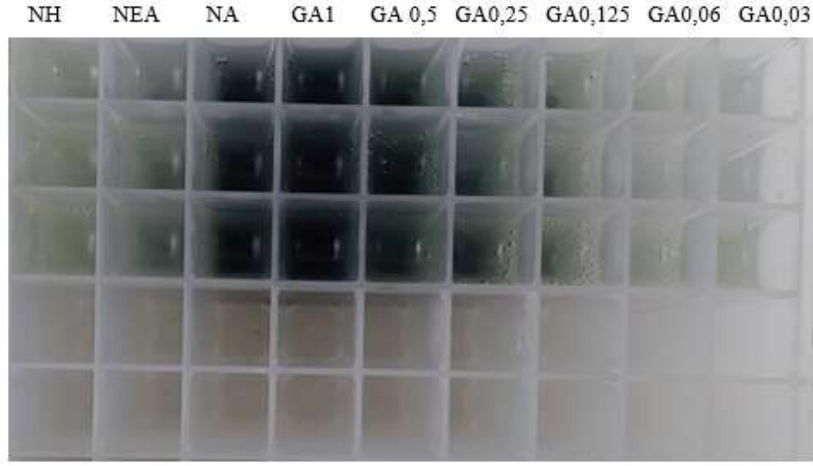


Şekil 4.4. Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi

Tablo 4.7. Ekstrelerin içerdiği gallik aside eşdeğer toplam fenol miktarları

Ekstre	GAE
n-hekzan (NH)	41.6±0.04
Etil asetat (NEA)	29.4±0.02
%70'lik etil alkol (NA)	88.8±0.04

GAE: mg GAE/g ekstre Gallik asite eşdeğer fenol miktarı



Şekil 4.5. Toplam fenol miktar deney sonucu

4.8. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

4.8.1. Antibakteriyel Aktivite Sonucu

Ekstreler, dört bakteri türüne karşı değerlendirilmiştir. 8000-62,5 µg/mL aralığında dilüe edilen ekstreler, yapılan deney sonucunda 2000-8000 µg/mL MİK aralığında etkiler göstermiştir. Etil alkollü ekstresi *S. aureus* ve *S. marcescens*'e karşı denenen en yüksek dozda da etki göstermemiştir. Minimum bakterisidal etki, tüm ekstrelerde 8000 µg/mL'nin üzerindedir (Tablo 4.6).

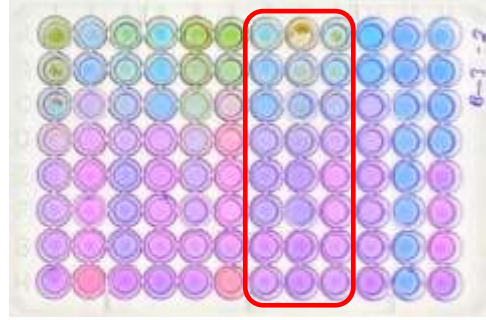
Tablo 4.8. Ekstrelerin antibakteriyel etki sonuçları (µg/mL)

Bakteri	N-H	N-EtOAc	N-EtOH	KLR	AMP
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2000	2000	>8000	4	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	4000	2000	4000	8	>64
<i>Serratia marcescens</i> NRRL B-2544	4000	4000	>8000	4	>64
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9633	4000	4000	8000	2	>16

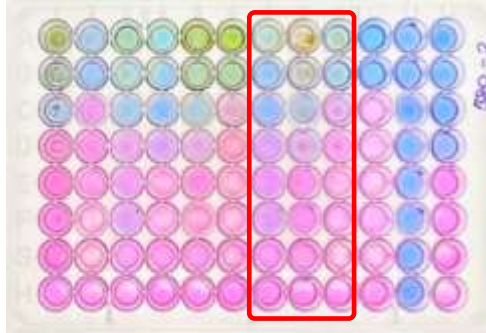
N-H: *N. phyllochlamys* heksan ekstresi, **N-EtOAc:** Etil asetat ekstresi, **N-EtOH:** %70'lik etil alkol ekstresi, **KLR:** Kloramfenikol, **AMP:** Ampisilin- Na.



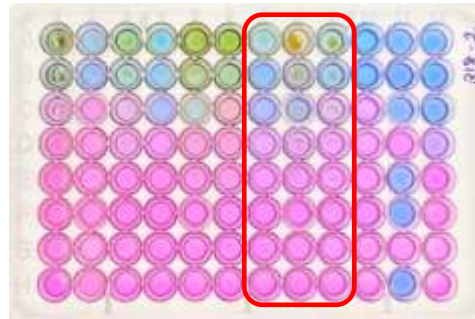
B2: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 plağı



B3: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 plağı



B80: *Klebsiella pneumoniae* NCTC 9633 plağı



B18: *Serratia marcescens* NRRL B-2544 plağı

Şekil 4.6. Ekstrelerin Antibakteriyel Etki Plakları

4.8.2. Antikandidal Aktivite Sonucu

Ekstreler, beş *Candida* referans suşuna karşı değerlendirilmiştir. En düşük MİK değeri ile (125 µg/mL) en yüksek antikandidal etki *C. tropicalis*'e (ATCC 750) karşı *n*-hekzan ekstresinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.9. Ekstrelerin antikandidal etki sonuçları (µg/mL)

<i>CANDIDA</i>	N-H	N-EtOAc	N-EtOH	AMP-B	Keto
<i>C. utilis</i> NRRL Y-900	500	500	1000	1	0,5
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	2000	2000	4000	1	0,5
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	125	500	250	2	0,25
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	2000	2000	4000	2	0,125
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	4000	4000	4000	1	1

N-H: *N. phyllochlamys* *n*-hekzan ekstresi, **N-EtOAc:** Etil asetat ekstresi, **N-EtOH:** %70'lik etil alkol ekstresi, **AMP-B:** Amfoterisin B, **Keto:** Ketokonazol



Şekil 4.7. *C. krusei* ATCC 6258 Plağı

A: *N. phyllochlamys* *n*-hekzan ekstresi, **B:** Etil asetat ekstresi, **C:** %70'lik etil alkol ekstresi, **D:** DMSO, **E:** Amfoterisin- B, **F:** Ketokonazol

5. TARTIŞMA

5.1. Morfolojik Bulgular ve Tartışma

3 farklı lokaliteden toplanan *N. phyllochlamys* türüne ait morfolojik bulguların Türkiye Florası'nda geçen tür betimleriyle uyumlu olduğu görülmüştür (Davis, 1982). Ölçümler ve Türkiye Florasında belirtilen ölçüler Tablo 5.1'de verilmiştir. Dirmenci'nin yaptığı revizyon çalışması dışında *N. phyllochlamys*'e ait çalışmaya rastlanmamıştır (Dirmenci, 2003). Bizim çalışmamız *N. phyllochlamys* türüyle yapılmış ilk morfolojik çalışma niteliğini taşımaktadır.

Tablo 5.1. Farklı lokalitelerden toplanan *N. phyllochlamys* örneklerinin ve Flora'da belirtilen morfolojik karakterlerin karşılaştırılması

Morfolojik Karakterler	<i>N. phyllochlamys</i> 1. Lokalite Antalya- Kemer	<i>N. phyllochlamys</i> 2. Lokalite Antalya- Kumluca	<i>N. phyllochlamys</i> 3. Lokalite Muğla- Datça	Davis 1982 Türkiye Florası tür özellikleri
Bitki Boyu	15-28 cm	11-28 cm	15-17 cm	(5-)15-25 cm
Yaprak boyu	4.5-11 mm	5.5-9.5 mm	6.5-12 mm	7- 14 mm
Yaprak eni	4-11 mm	3-9 mm	4.5-10 mm	5-12 mm
Petiyol	3.5-15 mm	2.5-9 mm	0.3-10 mm	2-12 mm
Kaliks boyu	6-10 mm	4-7 mm	6-10 mm	6.5 mm
Kaliks eni	1-3 mm	1-2.5 mm	2-3 mm	-
Korolla boyu	7-12 mm	7-13 mm	7-12 mm	10 mm (9)
Korolla eni	0.5-2 mm	0.5-2 mm	0.5-2 mm	-
Nutlet en-boy	En: 1-1.5 mm Boy:2-2.5 mm	En: 1-1.5 mm Boy:1.5-2 mm	En: 1-1.5 mm Boy:2-2.5 mm	En: 1.8 mm Boy: 1 mm

5.2. Mikromorfolojik Bulgular ve Tartışma

Türün polen, yaprak, kaliks, korolla, tüylenme yapısı ve nutletlerinin mikromorfolojik yüzey özellikleri ortaya konmuştur. *Nepeta* nutletleri tüysüz, nadiren tepede tüylü, siyah, siyahımsı-kahverengi veya kahverengi, dikdörtgen ile \pm yuvarlak üçgen şeklinde ve areolü iki loblu veya düzdür. *Nepeta* türlerindeki nutletler genellikle U veya V şeklinde areollere sahiptir. Kaya ve Dirmenci'nin 2007 yılında yaptığı çalışmada, Türkiye *Nepeta* türlerinin 39 taksonunun nutlet morfolojisi hem stereoskopik hem de

taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. SEM kullanılarak yapılan gözlemler sonucunda 3 temel mikromorfolojik nutlet tipi ayırt edilmiştir: pürüzsüz, kısmen pürüzsüz veya oymalı. Çalışmada *N. phyllochlamys* P. H. Davis türünün nutletlerin belirgin duvarlara sahip büyük yuvarlak poligonal hücrelerden oluşan ve retikulat (ağsı) ornamentasyon gösterdiği; nutletlerin boyutlarının 1.8-2.2-1-1.2 mm ve oblong şekilli, siyahımsı kahverengi renkli olduğu bildirilmiştir. Tepeye doğru kısmen pürüzsüz, ağsı bir yüzeye sahip olan *N. betonicifolia* (sect. *Stenostegiae*) ve *N. phyllochlamys* (sect. *Pycnonepeta*) dışında, diğer türlerin çoğunda nutlet yüzeylerinin oyuklu (verrukat ve yumrulu) olduğu gözlemlenmiştir (Kaya ve Dirmenci, 2008). Bizim bulduğumuz bulgularla (Nutletler oblong, 1-1.5 boy 1.5-2.5 mm aralığında enine sahiptir ve tüm yüzeyi tüberküllüdür) örtüştüğü görülmüştür. Kaya ve Dirmenci'nin nutlet yüzey mikromorfoloji çalışması dışında *N. phyllochlamys* ile yapılan mikromorfolojik çalışmaya rastlanmamıştır (Kaya ve Dirmenci, 2008).

Nutletlerin dış karakterlerinin (renk, boyut, şekil ve areol) Türkiye Florası ve yapılan çalışmalara göre taksonomik değere sahip olduğu görülmüştür (Kaya ve Dirmenci, 2008). Bu yüzden bitkinin kısımlarının yapısının aydınlatılması taksonomik sınıflandırmalar açısından önemlidir.

5.3. Anatomik Bulgular ve Tartışma

Türün anatomik bulgularının Metcalfe and Chalk'ta belirtilen Lamiaceae familyasına ve *Nepeta* cinsine ait anatomik bulgularla genel olarak uyum sağladığı görülmüştür. *Nepeta* cinslerinde tüylerin farklılıklarına göre ayrılan sınıflandırmada *N. phyllochlamys*'e ait tüy özellikleri belirlenmiştir (Metcalfe ve Chalk, 1950). Türe ait belirtilen; dallanmış veya püsküllü çok hücreli örtü tüyleri ve başı 2, 4 veya 8 hücreli, sapı kısa salgı tüylerin türümüzde de bulunmasıyla bulguların örtüştüğü gözlemlenmiştir.

N. phyllochlamys'a ait ilk anatomik çalışma 2012 yılında Taner Özcan, Özal Güner ve Tuncay Dirmenci tarafından yapılan çalışmadır, başka çalışmaya rastlanmamıştır. *N. phyllochlamys* P.H. Davis ve *N. isaurica* Boiss & Heldr. apud Bentham'ın karşılaştırılmalı anatomisine yer verilmiştir. Çalışmada bulunan en önemli fark örtü tüylerinin uzunluklarıdır. *N. phyllochlamys*'te 4-5 hücreli uzun örtü tüyleri ve Labiatae tipi kapitat tüylerin fazla olduğu görülmüştür. Yaprığın iki türde de bifasiyal olduğu ancak sünger parankiması sırasının *N. phyllochlamys*'te daha fazla olduğu

görülmüştür (Özcan vd., 2012). Bizim çalışmamızda da 4-5 hücreli uzun örtü tüylerinin ve Labiatae tipi kapitat tüylerin oldukça fazla olduğu görülmüştür.

5.4. Moleküler Bulgular ve Tartışma

DNA dizi analizleri son zamanlarda taksonomide sıkça kullanılmaktadır. Son geliştirilen APG4 (Angiosperm Phylogeny Group) sistemi buna örnektir ([http-7](http://7)). ITS bölgesi de çok çalışılan bölgelerden olmuştur. Türler her zaman fiziksel, kimyasal özelliklerinden ayırt edilemeyebilirler, böylelikle moleküler yöntemler devreye girer (Saltan, 2021). Bu nedenle çalışmamızda moleküler araştırmaya yer verilmiştir. DNA sekans analizi ile *N. phyllochlamys* türünün yakın akraba türleri ITS1–ITS4 gen bölgelerinin dizi analizleriyle belirlenmiştir. DNA dizi analizi sonuçlarına göre *N. phyllochlamys* türünün %96 oranında *N. cataria* L. ile benzerlik gösterdiği görülmüştür. Blast analizlerine göre oluşturulan dendrogramda ise dendrogramda ise *N. heliotropifolia*, *N. cataria* ve *N. grandiflora* türü ile küme oluşturdukları belirlenmiştir (Şekil 4.1). *N. phyllochlamys* türünün moleküler özellikleri ile ilgili literatürde çalışmaya rastlanmaması nedeniyle bulgular oldukça önemlidir.

5.5. Fitokimyasal Bulgular ve Tartışma

Üç lokaliteden toplanan bitkilerin toprak üstü kısımlarının hidrodistilasyon işlemi sonucunda elde edilen uçucu yağların bileşenleri gaz kromatografi yöntemi ile belirlenmiştir.

Antalya- Kemer'e ait verilerde ana bileşenler sırasıyla karyofillen oksit (%18.2), β -pinen (%15.6) ve linalol (%11.0) olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3). Antalya- Kumluca bölgesinde ana bileşenler sırasıyla β -pinen (%23.3), karyofillen oksit (%10.5) ve linalol (%7.4)'dür (Tablo 4.4). Muğla- Datça'ya ait verilerde ise ana bileşenlerin T-kadinol (%14.9), α -pinen (%6.8), 14-nor-kadin-5-en-4-on (izomer A) (%6.8) olduğu görülmüştür (Tablo 4.5).

Lokalitelere göre bitkinin kimyasal içeriğinin değiştiği gözlenmiştir. Bulunduğu yer, bakı, yükselti farklılıklarından dolayı bitki çevresine uyumlu adaptasyon geliştirir ve böylelikle barındırdığı kimyasal içerik de farklılaşır.

N. phyllochlamys türünün içeriğinde bolca bulunan birkaç bileşene yer verecek olursak ilki;

Pinenler; iğne yapraklı ağaçlar (çam), biberiye, lavanta, ökaliptus ve terebentin gibi uçucu yağlarda bulunabilir. Pinenlerin iki aktif yapısal izomeri vardır: α - ve β -pinen. Bitkilerde, pinenler mantar öldürücü etkiye sahiptirler ve yüzyıllardır tat ve koku üretmek için kullanılırlar. Doğal bir insektisit olarak kullanımları vardır ve çeşitli biyolojik aktiviteler pinenlerle ilişkilidir. Negatif enantiyomerler, enfeksiyöz bronşit virüsüne (IBV) karşı antiviral etkiler gösterdiği görülmüştür (Rivas da Silva vd., 2012).

Kemer ve Kumluca lokalitelerinin bileşenlerinde bolca bulunan karyofillen oksit, bir seskiterpenoid oksittir. Toksik değildir ancak böcek kovucu ve mantar önleyici (antifungal) özelliği vardır. Bitkinin kendisini savunmada kullandığı önemli bir bileşendir. Ayrıca karyofillen oksit, uyuşturucu koklayan köpeklerin esrarı tanınmasını sağlayan sorumlu bileşendir (Russo ve Marcu, 2017).

Linalol birçok aromatik bitkide bulunan monoterpen bir bileşiktir. Lezzet ve koku endüstrisinde oldukça kullanılır. Linalol ve linalol bakımından zengin uçucu yağların antimikrobiyal, antienflamatuar, antikanser, antioksidan özellikler gibi çeşitli biyolojik aktiviteler sergiledikleri bilinmektedir ve çeşitli in vivo çalışmalar ile linalolün merkezi sinir sistemi üzerindeki çeşitli etkilerini doğrulanmıştır. Linalol bitki tozlaşmasında da rol oynar. Böcek öldürücü (insektisidal) etkisi de vardır (Kamatou ve Viljoen, 2008).

T-kadinol, seskiterpen alkoldür (Kocakulak, 2007).

Nepeta cinsinin fitokimyasal içeriğine ait bir derlemede *Nepeta* türlerinin ana bileşen olarak genellikle nepetalakton türevlerini içerdiği görülmüştür. ($4\alpha\beta,7\alpha,7\alpha\alpha$ -nepetalakton; $4\alpha\alpha,7\alpha,7\alpha\alpha$ -nepetalakton; $4\alpha\alpha,7\beta,7\alpha\alpha$ -nepetalakton; $4\alpha\alpha,7\beta,7\alpha\beta$ -nepetalakton; $4\alpha\beta,7\alpha,7\alpha\beta$ -nepetalakton). Yoğun olarak bulunan diğer bileşikler arasında 1,8-sineol; α veya β -karyofillen; β -karyofillen oksit; α -pinen; β -pinen vardır (Bhat vd., 2018).

Tez çalışmamızda farklı lokalitelerden toplanan türün ana bileşenlerinin karyofillen oksit, β -pinen ve linalol, T-kadinol, α -pinen ve 14-nor-kadin-5-en-4-on (izomer A) gibi bileşenlerden oluştuğu görülmüştür. Yoğun olarak bulunan bileşiklerle örtüşmektedir ancak nepelaktonlu bileşiğe rastlanmamıştır. Elde edilen *N. phyllochlamys* uçucu yağlarının; oksijenli monoterpenler, monoterpen hidrokarbonlar ve oksijenli seskiterpenler bakımından oldukça zengin olduğu görülmüştür.

2000 yılında Başer ve diğerleri Antalya Kemer'den toplanan ve endemik tür olan *Nepeta phyllochlamys*'in toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın ana bileşeni β- pinen (%16.3) olarak bulunmuştur ancak yapılan bitki tayini sonucu bitkinin başka tür olduğu ortaya çıkmıştır. (Baser vd., 2000). Bu nedenle çalışmamız bu tür için ilk fitokimyasal çalışma olma niteliği taşımaktadır.

5.6. Biyolojik Aktivite Sonuçları ve Tartışma

5.6.1. Antioksidan aktivite bulguları ve Tartışma

5.6.1.1. Serbest radikal süpürücü etki (DPPH• testi) değerleri ve Tartışma

N. phyllochlamys'in %70 etil alkollü ekstresi, diğer ekstrelelere göre daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir (IC₅₀: 0.32±0.025 mg/ml). Bununla birlikte, *N. phyllochlamys*'in tüm ekstreleri, standart gallik asitten daha zayıf antioksidan aktivite göstermiştir. Bu tez çalışması ile *N. phyllochlamys* türünün serbest radikal süpürücü etki deneyi DPPH• testi ile ilk defa yapılmıştır.

2016 yılında yapılan bir doktora tezinde *N. nuda* subsp. *lydiae* bitkisinden elde edilen etil alkol ve su ekstrelerinin antioksidan aktivitesi DPPH• süpürücü etki deneyi ile belirlenmiştir. Etil alkol ekstresi için 52.3 µg/mL ve su ekstresi için 30.7 µg/mL IC₅₀ değerleri bulunmuştur (Aras, 2016).

Nasirkandi ve diğerleri, DPPH• süpürücü etki deneyi sonucu *N. fissa*'nın metanolik ekstresinin IC₅₀ değerini 197.85 mg/mL olarak bulmuşlardır. Sonuçlar, *N. fissa*'nın metanol ekstresinin önemli antioksidan potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. (Nasirkandi vd., 2019).

Teber ve Bursal'ın tarafından *N. nuda* subsp. *albiflora*'nın antioksidan potansiyeli ve toplam fenol içeriği çalışılmıştır. Sonuçlar, *N. nuda* subsp. *albiflora*'nın hem toplam fenolik hem de toplam flavonoid içeriğinin yüksek miktarda olduğunu göstermiştir. DPPH• radikal süpürücü etki sonuçları ise su ekstresi için 113±42 µg/mL, etanol ekstresi için 54.4±6.7 µg/mL'dir. Etanol ekstresinin su ekstresinden daha etkili serbest radikal süpürücü aktivitesi olduğu görülmüştür (Teber ve Bursal, 2020).

Bu üç çalışma ile karşılaştırma yapacak olursak *N. phyllochlamys*'in, diğer türlere göre oldukça düşük aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

5.6.1.2. Toplam Fenol Miktar Tayini Sonuçları ve Tartışma

Ekstrelerdeki toplam fenol miktarı, kalibrasyon eğrisi denklemi (şekil 4.4.) kullanılarak g ekstrede mg gallik asite eşdeğer olarak (mgGAE/g ekstre) hesaplanmıştır. Çıkan sonuçlara bakıldığında, 3 farklı çözücü ile elde edilen ekstrelerde en yüksek toplam fenol miktarının etil alkollü ekstrede (88.8 ± 0.04 mg GAE/g ekstre) olduğu görülmüştür. En düşük toplam fenol içeriği ise etil asetatlı (29.4 ± 0.02 mg GAE/g ekstre) ekstrede tespit edilmiştir.

Antioksidan değerleri büyükten küçüğe sırasıyla Etil alkol > *n*-hekzan > Etil asetatlı ekstreler şeklindedir. Toplam fenol miktarı bakımından da bu sıra aynıdır. Antioksidan aktivitenin fenolik bileşiklerle alakalı olduğu yapılan deneylerle desteklenmiştir. Bu tez çalışması ile *N. phyllochlamys* türünün toplam fenol miktar tayini ilk defa yapılmıştır.

Nasirkandi ve diğerleri, *N. fissa*'nın antioksidan aktivitesini ve fenolik bileşik karakterizasyonunu incelemişlerdir. DPPH• süpürücü etki deneyi sonucu *N. fissa*'nın metanolik ekstresinin IC₅₀ değerini 197.85 mg/mL olarak bulmuşlardır. Toplam fenolik içerik ise 43,07 mgGAE/g ekstre olarak bulunmuştur. Araştırmacılar; antioksidan aktivite fenolik bileşiklerle ilişkilendirmişlerdir (Nasirkandi vd., 2019).

Sarıkürkçü ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada; *N. cadmea* ve *N. nuda* subsp. *glandulifera*'nın metanolik ekstrelerinin toplam fenol miktarları belirlenmiştir. *N. nuda* subsp. *glandulifera*'nın *N. cadmea*'dan daha yüksek miktarda fenolik madde içerdiği görülmüştür. *N. nuda* subsp. *glandulifera*'daki fenolik miktar 86.30 mg GAE/g ekstre iken, *N. cadmea* içindeki miktar 55.17 mg GAE/g ekstre olarak bulunmuştur (Sarıkürkçü vd., 2019). Bizim çalışmamızdaki etil alkol ekstresi ile Sarıkürkçü ve diğerlerinin yaptığı çalışmadaki metanol ekstresi ile yakın toplam fenol miktarı içerdiği gözlenmiştir.

5.7. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları ve Tartışma

5.7.1. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları ve Tartışma

Ekstreler, dört bakteri türüne karşı değerlendirilmiştir. 62,5-8000 µg/mL aralığında dilüe edilen ekstreler, yapılan deney sonucunda 2000-8000 µg/mL MİK aralığında etkiler göstermiştir. Etil alkol ekstresi *S. aureus* ve *S. marcescens*'e karşı

denenen en yüksek dozda da etki göstermemiştir. Minimum bakterisidal etki, tüm ekstrelerde 8000 µg/mL'nin üzerindedir (Tablo 4.6).

Nadeem ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada; *N. cataria*'nın toprak üstü kısımlarından metanol, etanol, su, aseton, hekzan çözücülerini ile ekstreler elde edilmiştir. Bu ekstreler üzerinde 5 gram negatif, 5 gram pozitif bakteri ile disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile antibakteriyal aktivite deneyleri yapılmıştır. *N. cataria*'nın etanol, metanol ve su ekstreleri, 250-1.000 µg/ml konsantrasyonlarında test edilen tüm bakterilerde maksimum yüzde inhibisyon gösterirken; aseton ve hekzan ekstreleri standart maddeler ile karşılaştırıldığında test edilen tüm bakteri izolatlarını önemli ölçüde inhibe etmediği görülmüştür (Nadeem vd., 2022). Bizim çalışmamızda ise dört bakteri türüne karşı 2000-8000 µg/mL MİK aralığında etkiler gözlenmiştir. *N. phyllochlamys* ekstrelerinin düşük aktiviteli olduğu görülmüştür.

5.7.2. Antikandidal Aktivite Sonuçları ve Tartışma

Ekstreler, beş *Candida* referans suşuna karşı değerlendirilmiştir. En düşük MİK değeri ile (125 µg/mL) en yüksek antikandidal etki *C. tropicalis*'e (ATCC 750) karşı *n*-hekzan ekstresinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.7).

Standart antikandidal maddelerle karşılaştırıldığında ekstrelerin, kullanılan *Candida*'lara karşı zayıf inhibitör etkileri olduğu belirlenmiştir.

Adıgüzel ve diğerlerinin yaptığı çalışmada, *N. cataria*'dan elde edilen uçucu yağ ve metanol ekstresinin antimikrobiyal aktivitesine bakılmıştır. Uçucu yağ, 12.50 ila 250 µl/ml arasında değişen Minimum İnhibitör Konsantrasyonları (MIC) değerleri ile on bir bakteriye ve on iki mantar ve bir maya *C. albicans*'a karşı aktivite sergilemiştir; metanol ekstresi ise daha zayıf aktivite göstermiştir (Adıgüzel vd., 2009). Çalışmamızda *C. albicans*'a karşı MİK değerleri hekzan ve etil asetat için 2000 µl/ml iken etil alkol için 4000 µl/ml olarak bulunmuştur. MİK değerlerinin; Adıgüzel ve diğerlerinin yaptığı çalışma ile karşılaştırdığımızda oldukça fazla olduğu görülmüştür, *N. phyllochlamys* düşük aktivite göstermiştir, ancak çalışmamız *N. phyllochlamys*'e ait ilk antikandidal etki deneyi niteliği taşımaktadır.

6. SONUÇ

Tez kapsamında Antalya ve çevresinde yetişen endemik *N. phyllochlamys* P. H. Davis türünün morfolojik, anatomik, biyolojik, fitokimyasal ve dizi analizleriyle filogenetik özellikleri belirlenmiştir.

3 farklı lokaliteden toplanan *N. phyllochlamys* türüne ait morfolojik bulguların Türkiye Florası'nda geçen tür betimleriyle uyumlu olduğu görülmüştür (Davis, 1982). Ölçümler ve Türkiye Florasında belirtilen ölçüler Tablo 5.1'de verilmiştir.

Türün polen, yaprak, kaliks, korolla, tüylenme yapısı ve nutletlerinin mikromorfolojik yüzey özellikleri ortaya konmuştur. *Nepeta* nutletleri tüysüz, nadiren tepede tüylü, siyah, siyahımsı-kahverengi veya kahverengi, dikdörtgen ile \pm yuvarlak üçgen şeklinde ve areolü iki loblu veya düzdür. *Nepeta* türlerindeki nutletlerin genellikle U veya V şeklinde areollere sahip olduğu belirlenmiştir.

Türün anatomik bulgularının Metcalfe and Chalk'ta belirtilen Lamiaceae familyasına ve *Nepeta* cinsine ait anatomik bulgularla genel olarak uyum sağladığı görülmüştür (Metcalfe ve Chalk, 1950). Türe ait belirtilen; dallanmış veya püsküllü çok hücreli örtü tüyleri ve başı 2, 4 veya 8 hücreli, sapı kısa salgı tüylerinin türümüzde de bulunmasıyla bulguların örtüştüğü gözlemlenmiştir. *N. phyllochlamys*'te 4-5 hücreli uzun örtü tüyleri ve Labiatae tipi tüylerin fazla olduğu görülmüştür.

Üç lokaliteden toplanan bitkilerin toprak üstü kısımlarının hidrodistilasyon işlemi sonucunda elde edilen uçucu yağların bileşenleri gaz kromatografi yöntemi ile belirlenmiştir. Tez çalışmamızda farklı lokalitelerden toplanan türün ana bileşenlerinin karyofillen oksit, β -pinen ve linalol, T-kadinol, α -pinen ve 14-nor-kadin-5-en-4-on (izomer A) gibi bileşenlerden oluştuğu görülmüştür. Lokalitelere göre bitkinin kimyasal içeriğinin değiştiği gözlenmiştir. Bulunduğu yer, bakı, yükselti farklılıklarından dolayı bitki çevresine uyumlu adaptasyon geliştirir ve böylelikle barındırdığı kimyasal içerik de farklılaşır.

Yapılan DNA dizi analizleri ile *N. phyllochlamys* P. H. DAVIS'in %96 oranında *N. cataria* L. ile benzerlik gösterdiği görülmüştür. Blast analizlerine göre oluşturulan dendrogramda ise *N. heliotropifolia*, *N. cataria* ve *N. grandiflora* türü ile küme oluşturdukları belirlenmiştir.

***N. phyllochlamys* P. H. Davis türü üzerinde yapılan çalışmalar şunlardır:**

1) Tuncay Dirmenci 2003 yılında yaptığı doktora tezinde Türkiye’de yetişen *Nepeta* L. türleri üzerinde taksonomik araştırmalar yapmıştır. Tezinde *N. phyllochlamys*’e ait Türkiye Florası’nda (Davis, 1982) da belirtilen özelliklere yer verilmiştir.

2000 yılında Başer ve diğerleri Antalya Kemer’den toplanan ve endemik tür olan *N. phyllochlamys*’in toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın ana bileşeni β - Pinen (%16.3) olarak bulunmuştur ancak yapılan bitki tayini sonucu bitkinin başka tür olduğu ortaya çıkmıştır. (Baser vd., 2000). Bu nedenle çalışmamız ilk fitokimyasal çalışma niteliği taşımaktadır.

2) *Nepeta*’nın sekiz taksonun (*N. nuda* subsp. *nuda*, *N. viscida*, *N. phyllochlamys*, *N. stricta* var. *stricta*, *N. lamiifolia*, *N. cadmea*, *N. cilicica*, *N. nuda* subsp. *lydiae*) metanol ve etanol ekstralarının *M. tuberculosis* Ra, Rv ve hastalardan alınan iki izolata karşı aktivitesi Microplate Presto Blue Assay (MPBA) kullanılarak test edilmiştir. Myricetin, *N. phyllochlamys* etil asetatlı ekstresi için başlıca fenolik olarak bulunmuştur. Etil asetat ekstralarının altısı, metanol ekstralarından 4’ü tüm *Mycobacterium* suşlarında etkili olmuştur. Yapılan bu çalışmanın, *Nepeta* türlerinin dört *M. tuberculosis* suşuna karşı mikobakterisidal aktivitesinin ilk raporu olduğu belirtilmiştir (Askun vd., 2017).

3) Kaya ve Dirmenci’nin 2007 yılında yaptığı çalışmada, Türkiye *Nepeta* türlerinin 39 taksonunun nutlet morfolojisi hem stereoskopik hem de taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. SEM kullanılarak yapılan gözlemler sonucunda 3 temel mikromorfolojik nutlet tipi ayırt edilmiştir: pürüzsüz, kısmen pürüzsüz veya oymalı. Çalışmada *N. phyllochlamys* P. H. Davis türünün nutletlerin belirgin duvarlara sahip büyük yuvarlak poligonal hücrelerden oluşan ve retikulat (ağsı) ornamentasyon gösterdiği; nutletlerin boyutlarının 1.8-2.2-1-1.2 mm ve oblong şekilli, siyahımsı kahverengi renkli olduğu bildirilmiştir. Tepeye doğru kısmen pürüzsüz, ağsı bir yüzeye sahip olan *N. betonicifolia* (sect. *Stenostegiae*) ve *N. phyllochlamys* (sect. *Pycnonepeta*) dışında, diğer türlerin çoğunda nutlet yüzeylerinin oyuklu (verrukat ve yumrulu) olduğu gözlemlenmiştir (Kaya ve Dirmenci, 2008).

4) *N. phyllochlamys*’a ait ilk anatomik çalışma 2012 yılında Taner Özcan, Özal Güner ve Tuncay Dirmenci tarafından yapılan çalışmadır, başka çalışmaya rastlanmamıştır. *N. phyllochlamys* P.H. Davis ve *N. isaurica* Boiss & Heldr. apud Bentham’ın karşılaştırılmalı anatomisine yer verilmiştir. Çalışmada bulunan en önemli

fark örtü tüylerinin uzunluklarıdır. *N. phyllochlamys*'te 4-5 hücreli uzun örtü tüyleri ve Labiatae tipi kapitat tüylerin fazla olduğu görülmüştür. Yaprığın iki türde de bifasiyal olduğu ancak sünger parankiması sırasının *N. phyllochlamys*'te daha fazla olduğu görülmüştür (Özcan vd., 2012).

Yapılan bu tezde, türün hem lokal endemik olması hem de *N. phyllochlamys* P. H. Davis üzerinde daha önce yapılan araştırma sayısının çok az olması ve morfolojik, mikromorfolojik, moleküler, fitokimyasal, antikandidal, antioksidan analizlerinin ilk olması nedeniyle bilimsel açıdan özgünlüğe sahiptir. Proje kapsamında moleküler çalışmalar yapılarak farklı popülasyonlardaki genetik varyasyonlarının belirlenmesi, ekstre ve uçucu yağların biyolojik etkilerinin belirlenmesi, literatüre kazandırılması açısından önem arz etmektedir.

Yapılan antioksidan (DPPH• deneyi), antibakteriyel, antikandidal ve toplam fenol miktar deneyleri sonucunda bitkinin yeterli derecede aktif olmadığı; diğer *Nepeta* türleriyle yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında değerlerinin düşük kaldığı gözlenmiştir. Ancak verilerin literatüre kazandırılması açısından tez kapsamında yapılan deneyler önem taşımaktadır.

KAYNAKÇA

- Adıgüzel A., Özer H., Sokmen M., Güllüce M., Sokmen A., Kılıç H., Sahin F., Baris O. (2009). Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanol Extract of *Nepeta cataria*, Polish Journal of Microbiology, 58(1), 69-76.
- Akaberi, M., Emami, S. A., Vatani, M., Tayarani-Najaran, Z. (2018). Evaluation of Antioxidant and Anti-Melanogenic Activity of Different Extracts of Aerial Parts of *N. Sintenisi* in Murine Melanoma B16F10 Cells. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 17(1), 225-235.
- Aras, A. (2016). Türkiye’de Yetişen Endemik (*Nepeta nuda* subsp. *lydiae*) Bitkisine Ait Farklı Ekstrelerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi ve Fenolik Bileşik İçeriklerinin Lc-Ms/Ms ile Analizi. Doktora Tezi. Diyarbakır: Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Arcea, S., Vega, A., Mattanab, C., Acosta, G., Ortega, C., Llabot, J., Gomez, M. R. (2012). In vitro activity of dried extracts of *Nepeta cataria* against *Helicobacter pylori* strains. Pharmacology Online, 1, 67-74.
- Askun, T., Tumen, G., Celikboyun, P. (2017). Chemical constituent and anti-mycobacterial activity of eight *Nepeta* species against *Mycobacterium tuberculosis*. Natural Volatiles and Essential Oils, 4 (2), 113.
- Bandh, S. A., Kamili, A. N., Ganai, B. A., Lone, B. A., Saleem, S. (2011). Evaluation of antimicrobial activity of aqueous extracts of *Nepeta cataria*. Journal of Pharmacy Research, 4(9), 3141-3142.
- Baser, K. H. C., Kirimer, N., Kurkcuoglu, M., Demirci, B. (2000). Essential Oils of *Nepeta* Species Growing In Turkey. Chemistry of Natural Compounds, 36 (4), 356-359.
- Bellahsene, C., Bendahou, M., Khadir, A., Zenati, A., Benbelaid, F., Aissaoui, N., Muselli, A., Costa, J. (2015). Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil and hydrosol extract of *Nepeta nepetella* subsp. *amethystina* (Poir.) Briq. from Algeria. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 5(9), 021-025.
- Bhat, A. H., Alia, A., Kumar, B., Mubashir, S. (2018). Phytochemical Constituents of Genus *Nepeta*. Research & Reviews: Journal of Chemistry, 7(2), 31-37.

- Celep, F. ve Dirmenci, T. (2017). Systematic and Biogeographic overview of Lamiaceae in Turkey. *Nat. Volatiles & Essent. Oils*, 4(4), 14-27.
- Çatak, E. ve Atalay, A. (2022). Lamiaceae (Labiatae) (Ballıbabagiller) Familyası'nın Ekomomik ve Tıbbi Değerleri. *Euroasia Journal of Mathematics, Engineering, Natural & Medical Sciences*, 9(20), 150-157.
- Davis, P. (1975). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. (5). Edinburgh Univ, Pres: Edinburgh.
- Davis, P. (1982). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. (7). Edinburgh Univ, Pres: Edinburgh.
- Demirezer, Ö. Ersöz, T. Saraçoğlu, İ. Şener, B. Köroğlu, A. Yalçın, F. N. (2021). A'dan Z'ye Tıbbi Yağlar ve Aromatik Sular (1.Baskı). İstanbul: Hayykitap. syf 145-145.
- Dirmenci, T. (2003). Türkiye'de Yetişen *Nepeta* L. (Lamiaceae) Türleri Üzerinde Taksonomik Araştırmalar. Doktora Tezi. Balıkesir: Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Emami, S. A., Yazdian-Robati, R., Sadeghi, M., Baharara, J., Amini, E., Salek, F., Tayarani-Najaran, Z. (2016). Inhibitory effects of different fractions of *Nepeta satuireioides* on melanin synthesis through reducing oxidative stress. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 12(2), 160-167.
- Gomes, E.N., Allen, K.A., Zorde, M., Wu, Q., & Simon, J.E. (2020). Ethnobotany, Chemistry, and Pharmacology of African *Nepeta* Species. In *ACS Symposium Series* (pp. 219–236). American Chemical Society.
- Göktürk, S. (2017). Phaselis Antik Kenti Florası III Flora of the Ancient City of Phaselis III. *Disiplinlerarası Akdeniz Araştırmaları Dergisi*, 3, 187-224.
- Güner, A., Aslan S., Ekim, T. (edlr) (2012). Türkiye bitkileri listesi:(Damarlı bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayınları, İstanbul.
- İşcan, G., Köse, Y. B., Demirci, F., Baser, H. C. (2011). Anticandidal Activity of the Essential Oil of *Nepeta transcaucasica* Grossh. *Chemistry & Biodiversity*, 8, 2144-2148.

- Jaradat, N., Al-Maharik, N., Abdallah, S., Shawahna, S., Mousa, A., Qtishat, A. (2020). *Nepeta curviflora* essential oil: Phytochemical composition, antioxidant, anti-proliferative and anti-migratory efficacy against cervical cancer cells, and α -glucosidase, α -amylase and porcine pancreatic lipase inhibitory activities. *Industrial Crops and Products*, 158, 1-11.
- Kamatou, G. P. P., Viljoen, A. M. (2008). Linalool – A Review of a Biologically Active Compound of Commercial Importance, *Natural Product Communications*, 7(3), 183-1192.
- Kaska, A., Çiçek, M., Mammadov, R. (2019). Biological activities, phenolic constituents and mineral element analysis of two endemic medicinal plants from Turkey: *Nepeta italica* subsp. *cadmea* and *Teucrium sandrasicum*. *South African Journal of Botany*, 124, 63-70.
- Kaya, A. ve Dirmenci, T. (2008). Nutlet Surface Micromorphology of the Genus *Nepeta* L. (Lamiaceae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 32 (2), 103-112.
- Kılıç, Ö., Behçet, L., Bağcı, E. (2013). Essential Oil Compounds of Three *Nepeta* L. Taxa from Turkey and Their Chemotaxonomy. *Asian Journal of Chemistry*, 25(14), 8181-8183.
- Kocakulak, E. (2007). *Juniperus drupacea* Lab. Uçucu Yağı Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Kosar, M., Göger, F., Can Baser, K.H. (2008). In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia virgata* Jacq. from Turkey. *J. Agric. Food Chem.*, 56 (7), 2369-2374.
- Koyuncu, O., Yaylaci, O., Öztürk, D., Potoglu Erkara, I., Savaroglu, F., Akcoskun, O., & Ardic, M. (2010). Risk categories and ethnobotanical features of the Lamiaceae taxa growing naturally in Osmaneli (Bilecik/Turkey) and environs. *Biological Diversity and Conservation*, 3(3), 31–45.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, 89(3), 217-233.

- Kumarasamy, Y., Byres, M., Cox, P.J., Jaspars, M., Nahar, L., Sarker, S.D. (2007). Screening seeds of some Scottish plants for free radical scavenging activity. *Phytother. Res.*, 21 (7), 615-621.
- Mahnaz, K., Alireza, F., Hassan, V., Mahdi, S., Reza, A. M., Abbas, H. (2012). Larvicidal activity of essential oil and methanol extract of *Nepeta menthoides* against malaria vector *Anopheles stephensi*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(12), 962-965.
- Manzoor, A. R., Hassan, T., Dar, A. D., Shawl, A. S., Qurishi, M. A., Ganai, B. A. (2012). Essential Oil Composition of *Nepeta raphanorhiza* Benth growing in Kashmir valley. *Records of Natural Products*, 6 (1), 67-70.
- Metcalf, C. R., Chalk, L. (1950). *Anatomy of the Dicotyledons Leaves, Stem, and Wood In Relation To Taxonomy with Notes on Economic Uses*, Oxford at the Clarendon Press. London.
- Miceli, N., Taviano, M.F., Giuffrida D., Trovato, A., Tzakou, O., Galati E.M. (2005). Anti-inflammatory activity of extract and fractions from *Nepeta sibthorpii* Benth. *Journal of Ethnopharmacology*, 97, 261-266.
- Mükemre, M., Behçet, L., & Çakılcıoğlu, U. (2015). Ethnobotanical study on medicinal plants in villages of Çatak (Van-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 166, 361–374.
- Nadeem A., Shahzad, H., Ahmed, B., Muntean, T., Waseem, M., Tabassum, A. (2022). Phytochemical profiling of antimicrobial and potential antioxidant plant: *Nepeta cataria*. *Frontiers in Plant article*, 01-18.
- Nasirkandi A. M., Alirezalu A., Bahadori S. (2019). Phenolic compounds and antioxidant activity of *Nepeta fissa* - first report from Iran. *Natural Product Research*, 35(22), 4596-4599.
- Nostro, A., Cannatelli, M. A., Crisafi, G., Alonzo, V. (2001). The effect of *Nepeta cataria* extract on adherence and enzyme production of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 18, 583–585.

- Rivas da Silva, A. C., Lopes P. M., Barros de Azevedo, M. M., Costa, D. C. M., Alviano, C. S., Alviano, D. S. (2012). Biological Activities of α -pinene and β -pinene Enantiomers, *Molecules*, 17, 6305-6316.
- Roh, C. ve Jung, U. (2012). *Nepeta japonica* Maximowicz extract from natural products inhibits lipid accumulation. *The Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(10), 2195-2199.
- Russo, E. B., Marcu, J. (2017). Chapter Three - Cannabis Pharmacology: The Usual Suspects and a Few Promising Leads. *Advances in Pharmacology*, 80, 67-134.
- Saltan, N. (2021). Türkiye’de Yetişen Leonurus L. Türleri Üzerine Farmasötik Botanik Yönden Araştırmalar. Doktora Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Sarıkürkçü, C., Ceylan, O., Targan, S., Zeljkovic, S. C. (2018). Chemical composition and biological activities of the essential oils of two endemic *Nepeta* species. *Industrial Crops and Products*, 125, 5-8.
- Sarıkürkçü, C., Eksici, M., Karanfil, A., Tpe, B. (2019). Phenolic profile, enzyme inhibitory and antioxidant activities of two endemic *Nepeta* species: *Nepeta nuda* subsp. *glandulifera* and *N. cadmea*, *South African Journal of Botany*, 120, 298-301.
- Shakeri, A., Khakdanb, F., Soheili, V., Sahebkar, A., Rassamf, G., Asili, J. (2014). Chemical composition, antibacterial activity, and cytotoxicity of essential oil from *Nepeta ucrainica* L. spp. *Kopetdagensis*. *Industrial Crops and Products*, 58, 315-321.
- Sharma, A., & Cannoo, D.S. (2013). Phytochemical composition of essential oils isolated from different species of genus *Nepeta* of Labiatae family: a review. *Pharmacophore*, 4(6), 181– 211.
- Singh, J., Singh Dhaliwal, A. (2018). Novel Green Synthesis and Characterization of the Antioxidant Activity of Silver Nanoparticles Prepared from *Nepeta leucophylla* Root Extract, *Analytical Letters*, 52(2), 213-230.

- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol*, 299, 152-178.
- Özcan, T., Güner, Ö., Dirmenci, T. (2012). Endemik *Nepeta phyllochlamys* ve *N. isaurica* (Lamiaceae) Türlerinin Morfolojik, Anatomik ve Ekolojik Açından Karşılaştırılması. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, PB-031, İzmir: Ege Üniversitesi.
- Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M. (2014). *Farmasötik Botanik*. (4). Ankara Üniversitesi: Eczacılık Fakültesi Yayınları.
- Teber, İ., Bursal E. (2020). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Nepeta nuda* subsp. *albiflora*. *International Letters of Natural Sciences*, 79, 1-8.
- Yılmaz, A. (2011). *Nepeta Sorgerae* ve *Nepeta Obtusicrena* Bitkilerinin Antioksidan Ve Anti-Alzheimer Bileşenlerinin İzolasyonu ve Yapılarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yıldız, B. ve Aktoklu, E. (2010). *Bitki Sistematığı İlk Karasal Bitkilerden Bir Çeneklilere*. Ankara: Palme Yayıncılık.
- Yıldıztuğay, E., Küçüköyük, M. (2010). The flora of Anamur Antique City and its surroundings (Mersin/Turkey). *Biological Diversity and Conservation*, 3(3), 46-63.

İNTERNET KAYNAKLARI

http-1: <https://www.bizimbitkiler.org.tr/v2/liste.php> (Erişim tarihi: 21.11.2022)

http-2:

http://www.worldfloraonline.org/search?query=nepeta&view=&limit=24&start=0&sort=&facet=taxon.taxonomic_status_s%3aAccepted&facet=taxon.family_ss%3aLamiaceae (Erişim tarihi: 21.11.2022)

http-3:

<https://www.bizimbitkiler.org.tr/v2/filtre.php?familiya=Lamiaceae&cins=Nepeta&taxon=&taxonKriter=0&epitetType=0&epitet=&epitetKriter=0&authorType=0&author=&authorKriter=0&sayfa=1&trkAdi=&trkKriter=0> (Erişim tarihi: 21.11.2022)

http-4:

http://www.worldfloraonline.org/search?query=lamiaceae&view=&limit=24&start=0&sort=&facet=taxon.taxonomic_status_s%3aAccepted&facet=taxon.family_ss%3aLamiaceae (Erişim tarihi: 21.11.2022)

http-5:

<https://www.bizimbitkiler.org.tr/v2/filtre.php?family=Lamiaceae&taxon=&taxonKriter=0&epitetType=0&epitet=&epitetKriter=0&authorType=0&author=&authorKriter=0&endemik=evet&sayfa=1&trkAdi=&trkKriter=0> (Erişim tarihi: 21.11.2022)

http-6:

<https://www.bizimbitkiler.org.tr/v2/filtre.php?family=Lamiaceae&cins=Nepeta&taxon=&taxonKriter=0&epitetType=0&epitet=&epitetKriter=0&authorType=0&author=&authorKriter=0&sayfa=1&trkAdi=&trkKriter=0> (Erişim tarihi: 21.11.2022)

http-7: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> (Erişim tarihi: 21.11.2022)

http-8: http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7820 (Erişim tarihi: 21.11.2022)

http-9: http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7820 (Erişim tarihi: 21.11.2022)

http-10:

https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome (Erişim tarihi: 21.11.2022)

http-11: <https://wainvam-e.com/services/measuring-the-antioxidant-efficacy-of-your-ingredients-and-products/dpph-test/> (Erişim tarihi: 21.11.2022)