

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE'DE EKONOMİK ÖNEMİ OLAN BAZI TIBBİ
KÜLTÜR BİTKİLERİ ÜZERİNDE STABİLİTE VE
BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Dr. Ecz. Ekrem Murat GÖNÜLALAN

**Farmakognozi Programı
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2017**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE'DE EKONOMİK ÖNEMİ OLAN BAZI TIBBİ
KÜLTÜR BİTKİLERİ ÜZERİNDE STABİLİTE VE
BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Dr. Ecz. Ekrem Murat GÖNÜLALAN

Farmakognozi Programı

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. L. Ömür DEMİREZER

ANKARA

2017

ONAY SAYFASI

ONAY SAYFASI
Türkiye’de Ekonomik Önemi Olan Bazı Tıbbi Kültür Bitkileri Üzerinde
Stabilite ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları
Uzm. Ecz. Ekrem Murat GÖNÜLALAN

Bu çalışma 14.06.2017 tarihinde, jürimiz tarafından “Farmakognozi Programı”nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Funda N. Yalçın (Hacettepe Üniversitesi)	
Tez Danışmanı:	Prof. Dr. L. Ömür Demirezer (Hacettepe Üniversitesi)	
Üye:	Prof. Dr. Ayşe Uz (Hacettepe Üniversitesi)	
Üye:	Prof. Dr. Ayşegül Köroğlu (Ankara Üniversitesi)	
Üye:	Prof. Dr. Yüksel Kan (Selçuk Üniversitesi)	

ONAY:

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

14 Temmuz 2017

Prof. Dr. Diclehan ORHAN
Enstitü Müdürü



YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.** (Bu seçenikle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)
- Tezimin/Raporumun 14.07.2020 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum. (Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.)
- Tezimin/Raporumun.....tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.
- Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi

14 / 07 / 2017



Dr. Ecz. Ekrem Murat GÖNÜLALAN

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Tez Danışmanının Prof. Dr. L. Ömür DEMİREZER danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.



Dr. Ecz. Ekrem Murat GÖNÜLALAN

TEŞEKKÜR

Sadece bu tez çalışmamda değil tüm çalışma hayatımda desteğini ve sevgisini asla esirgemeyen, bana güvenen ve cesaret veren, danışmanlık ve hocalık kavramlarını bir üst seviyeye taşıyan Prof. Dr. L. Ömür DEMİREZER'e;

Tez çalışmalarına birlikte başladığım, sonra beni hocama emanet eden, baba yarısı Prof. Dr. Tayfun ERSÖZ'e;

Asla geri veremeyeceğim doğum günlerini, bayramlarını, evlilik yıldönümlerini ayrı geçirdiğim, rahatça çalışmam için bana her türlü desteği sağlayan başta eşim Şeyda, kızlarım Nazlı ve Zeynep Ela, annem ve babam olmak üzere tüm aile üyelerime ve dostlarıma;

Önce arkadaşım, sonra öğrencim, sonra da hocam olan, analitik çalışmalarındaki desteğinden dolayı Doç. Dr. Emirhan Nemutlu'ya;

Desteklerinden dolayı başta Çiğdem Kahraman, Osman Tuncay Ağar, Nadire Özenver, Mine Uzun ve Yağmur Diker ile Golshan Zare olmak üzere, Farmakognozi ve Farmasötik Botanik Anabilim Dallar'ının tüm personeline;

Tez çalışmalarımı yaptığım Farmakognozi Anabilim Dalı imkanlarını kullanmama izin veren Anabilim Dalı Başkan'ı Prof. Dr. Funda Nuray Yalçın'a;

Destek ve yardımları için Prof Dr. Ayşe UZ'a;

Tezime maddi destek sağlayan Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne (Proje no: THD-2016-91711001);

Teşekkür ederim.

Dr. Ecz. Ekrem Murat GÖNÜLALAN

ÖZET

Gönülalan, E. M. Türkiye’de Ekonomik Önemi Olan Bazı Tıbbi Kültür Bitkileri Üzerinde Stabilite ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Programı, Doktora tezi, Ankara, 2017. Bu çalışmanın amacı, *Silybum marianum* L., *Achillea millefolium* L., *A. filipendulina* L., *Echinacea purpurea* (L.) Moench, *Mentha piperita* L., *Salvia officinalis* L., *Nigella sativa* L., *N. damascena* L.’nin metanollü ekstrelerinin ve bitmiş ürünlerin kalite kontrollerini HPLC ile gerçekleştirmek, MMP-1, 8 ve 13 inhibitör etki, radikal süpürücü etki (DPPH, NO, ABTS), antioksidan kapasite (FRAP, CUPRAC ve total antioksidan kapasiteleri) ve güneşten koruyucu etki faktörünü (SPF) belirleme deneyleri ile *Achillea millefolium* L., *Achillea filipendulina* L., *Mentha piperita* L., *Salvia officinalis* L.,’ten hazırlanan 4 ekstrenin fitokozmetik etkilerini kanıtlamak; ayrıca GC-MS ile metabolomik analizini gerçekleştirmek ve aktivite ile ilişkisini yorumlamaktır. MMP 1,8,13 inhibitör etki, SPF tayini ve antioksidan potansiyel deneyleri eş zamanlı olarak ilk kez gerçekleştirilmiştir. *Mentha piperita*’nın metanollü ekstresi, SPF hariç tüm testlerde en iyi aktiviteyi göstermiştir. Aynı amaçla kullanılan fakat farklı otoriteler tarafından ruhsatlandırılan bitkisel ilaçlar ve gıda takviyelerinin fitoedeğerlikleri, HPLC kromatografik parmakizi profilleri karşılaştırılarak gerçekleştirilmiştir. Ürünlerin çoğunda kimyasal markörler istenilen düzeyde bulunmamıştır. Metabolomik düzeyleri biyolojik sistemlerin tepkisi olarak düşünülmektedir. *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *M. piperita*, *S. officinalis* benzer metabolik profil göstermişlerdir. Tek metabolit yerine tüm metabolitlerin birlikte değerlendirilmesi, sinerjizm veya antagonizma hakkında bilgi sahibi olmamıza katkı sağlamıştır. Negatif veya pozitif aktiviteye sahip metabolitlerin bulunması için farklı türlerin ve MMP inhibitör aktivitenin tüm metabolomik profilleri karşılaştırılmıştır. Metabolit seviyeleri ve MMP inhibitör aktivite arasında 67’si pozitif yüksek korelasyon ($r > 0.70$) gösterirken, 94 metabolitin negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: HPLC, Kalite kontrol, Metabolomik, MMP inhibitör, SPF, Antioksidan

Destekleyen Kuruluşlar: Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi
(Proje No:THD-2016-91711001)

ABSTRACT

Gönülalan, E. M. Stability and Biological Activity Studies on Some Medicinal Cultivated Plants with Economic Priority in Turkey, Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Pharmacognosy Program, PhD Thesis, Ankara, 2017. The aim of this study is to perform quality control of *Silybum marianum* L., *Achillea millefolium* L., *A. filipendulina* L., *Echinacea purpurea* (L.) Moench, *Mentha piperita* L., *Salvia officinalis* L., *Nigella sativa* L., *N. damascena* L. and their finished products by HPLC, to prove the phytocosmetic effects of 4 extract prepared from *Achillea millefolium* L., *A. filipendulina* L., *Mentha piperita* L., *Salvia officinalis* L., by means of the MMP-1, 8, 13 inhibitory effects, radical scavenging (DPPH, NO, ABTS), antioxidant (FRAP, CUPRAC and total antioxidant) capacities and sun protection factor (SPF) assays, in addition, to perform metabolomics analysis with GC-MS and to interpret the relationship with the activity. MMP 1,8,13 inhibitory effects, SPF determination and antioxidant potential assays were performed simultaneously for the first time. Methanolic extract of *Mentha piperita* showed the best activity in all tests except SPF. Phytoequivalence studies of herbal medicines and food supplements used for the same purpose but licensed by different authorities were performed by comparing HPLC-chromatographic fingerprint profiles. Many of products were found not to carry desired quantity of chemical markers. The levels of metabolites can be considered as the response of biological systems. *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *M. piperita*, *S. officinalis* showed similar metabolic profiles. The evaluation of all metabolites instead of a single metabolite contributed to our knowledge of synergism or antagonism. Therefore, we compared the whole metabolomic profile of different species and MMP inhibitory activity in order to find metabolites that have negative or positive activity. 67 positive correlations were found between metabolite levels and MMP inhibitory activity ($r > 0.70$) however 94 metabolites were found to possess negative correlations.

Keywords: HPLC, Quality control, Metabolomics, MMP inhibitor, SPF, Antioxidant
Supporter Foundations: Hacettepe University Scientific Researches Coordination Unit (Project Nr: THD-2016-91711001).

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xv
TABLolar	xix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Botanik Bilgiler	4
2.1.1. Ranunculaceae Familyası	4
2.1.2. Asteraceae Familyası	7
2.1.3. Lamiaceae Familyası	13
2.2. Türler Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Çalışmalar	18
2.3. Türlerin Kullanılışları	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. Bitkisel Materyal	38
3.2. Kimyasal Malzemeler	39
3.3. Kullanılan Aletler ve Gereçler	40
3.4. Ekstraksiyon	41
3.4.1. Avrupa Farmakopesi'nde Yer Alan Ekstraksiyon Yöntemleri	41
3.4.2. Diğer Ekstraksiyon Yöntemleri	41
3.5. Matriks Metalloproteinaz İnhibitör Aktivite Çalışmaları	42
3.5.1. MMP-1 İnhibitör Aktivite Tayini	42
3.5.2. MMP-8 İnhibitör Aktivite Tayini	43
3.5.3. MMP-13 İnhibitör Aktivite Tayini	44
3.6. Güneşten Koruyucu Faktör Hesaplamaları	45
3.7. Antioksidan Kapasite Tayini	45

3.7.1. DPPH Radikalini Süpürücü Kapasite Tayini	45
3.7.2. Nitrik Oksit Radikalini Süpürücü Kapasite Tayini	46
3.7.3. ABTS Radikalini Süpürücü Kapasite Tayini	47
3.7.4. Total Antioksidan Kapasite Tayini	48
3.7.5. FRAP (Demir Redükleyici Antioksidan Kapasite) tayini	49
3.7.6. CUPRAC (Bakır Redükleyici Antioksidan Kapasite) tayini	50
3.8. Fitokimyasal Çalışmalar	51
3.8.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	51
3.8.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	51
3.8.3. Yöntemlerin Validasyon Çalışmaları	61
3.8.4. Gaz Kromatografisi – Kütle Spektrometresi (GC-MS)	65
4. BULGULAR	67
4.1. Matriks Metalloproteinaz İnhibitör Aktivite Çalışmaları'na Ait Bulgular	67
4.1.1. Matriks Metalloproteinaz-1 (MMP-1) İnhibitör Aktivite Bulguları	67
4.1.2. Matriks Metalloproteinaz-8 (MMP-8) İnhibitör Aktivite Bulguları	67
4.1.3. Matriks Metalloproteinaz-13 (MMP-13) İnhibitör Aktivite Bulguları	68
4.2. Güneşten Koruyucu Faktör Çalışmalarına Ait Bulgular	69
4.3. Antioksidan Kapasite Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular	70
4.3.1. DPPH Radikalini Süpürücü Kapasite	70
4.3.2. ABTS Radikalini Süpürücü Kapasite	71
4.3.3. NO Radikalini Süpürücü Kapasitesi	78
4.3.4. Fosfomolibdat Antioksidan Kapasite Tayini	83
4.3.5. FRAP (Demir redükleyici antioksidan kapasite)	91
4.3.6. CUPRAC (Bakır Redükleyici Antioksidan Kapasite)	92
4.4. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular	93
4.4.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntem Validasyonu	93
4.4.2. Kültür Bitkileri ve Farmasötik Formdaki Ürünler Üzerinde Kalite Kontrol Çalışmaları	100
4.4.3. Gaz Kromatografisi –Kütle Spektrometrisi (GC-MS) Kromatogramları	112
4.4.4. GC-MS Analizi Metabolomiklerin Alıkonma Zamanları ve Pik Alanları	114

4.4.5. GC-MS Temel Bileşenler Analizi (3D)	128
5. TARTIŞMA	129
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	143
7. KAYNAKLAR	145
8. ÖZGEÇMİŞ	152

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABTS	: 2,2'azino-bis (3 etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
As	: Asimetri oranı
AUC	: Eğri altı alan
BSS	: Bağlı standart sapma
cm	: Santimetre
CHCl ₃	: Kloroform
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
dk.	: Dakika
EtOAc	: Etilasetat
FC	: <i>Ferula caspica</i>
g	: Gram
H ₂ O	: Su
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
ICH	: The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
i.ç.	: İç çap
İS	: İç standart
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
k	: Dağılıma katsayısı
k'	: Kapasite faktörü
kg	: Kilogram
L	: Litre
LOD	: Gözlenebilme sınırı
LOQ	: Alt tayin sınırı
m	: Metre
M	: Molar
MA	: Moleküler ağırlık
MeCN	: Asetonitril
MeOH	: Metanol

mg	: Miligram
mL	: Mililitre
μm	: Mikrometre
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
mM	: Milimolar
mm	: Milimetre
MS	: Kütle spektroskopisi
N	: Etkinlik (Teorik tabaka sayısı)
ng	: Nanogram
nL	: Nanolitre
nm	: Nanometre
Na_2CO_3	: Sodyum karbonat
PBS	: Phospat Buffer Solution
PE	: Petrol Eteri
ppm	: Parts per million (Milyonda bir kısım)
p	: Para
p	: İstatiksel anlamlı fark değeri
prep-İTK	: Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi
pH	: Potential/Power of Hydrogen
r	: Korelasyon katsayısı
R^2	: Tanımlayıcılık katsayısı
R_s	: Ayırıcılık
RT	: Retention time (alınma süresi)
SH	: Standart Hata
SS	: Standart Sapma
S. hekzan	: Siklohekzan
Sn	: Saniye
SPF	:Sun Protection Factor
TEAK	: Troloks Ekvalean Antioksidan Kapasite
t_R	: Alınma zamanı

UV	: Ultra-violet (Morötesi)
UV/GB	: Ultraviyole/Görünür Bölge
V	: Volt
V_d	: Dağılım hacmi
α	: Seçicilik

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1.1. <i>Nigella sativa</i> L.	5
1.2. <i>Nigella damascena</i> L.	6
1.3. <i>Achillea millefolium</i> L.	8
1.4. <i>Achillea filipendulina</i> L.	9
1.5. <i>Silybum marianum</i> L.	10
1.6. <i>Echinacea purpurea</i> (L.) Moench	11
1.7. <i>Mentha piperita</i> L.	14
1.8. <i>Salvia officinalis</i> L.	15
3.1. Kapasite faktörü (k') hesaplanması	62
3.2. Pik asimetrisi hesaplanması	62
3.3. LOD ve LOQ hesaplanması	63
4.1. <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. filipendulina</i> , <i>Mentha piperita</i> ve <i>Salvia officinalis</i> metanollü ekstralarının güneşten koruyucu faktörleri	69
4.2. <i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. Filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella sativa</i> , <i>N. Damascena</i> metanollü ekstralarının DPPH radikalini süpürücü kapasiteleri	71
4.3. <i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. Filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella sativa</i> , <i>N. Damascena</i> metanollü ekstralarının ABTS radikalini süpürücü kapasiteleri	77
4.4. <i>Mentha piperita</i> yapraklarının metanollü ekstresinin ve askorbik asitin IC ₅₀ değerleri (µg/mL)	80
4.5. <i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. Filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella sativa</i> , <i>N. Damascena</i> metanollü ekstralarının NO radikalini süpürücü kapasiteleri	83
4.6. <i>Achillea millefolium</i> çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ve askorbik asitin IC ₅₀ değerleri (µg/mL)	85
4.7. <i>Achillea filipendulina</i> çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ve askorbik asitin IC ₅₀ değerleri (µg/mL)	86
4.8. <i>Mentha piperita</i> yapraklarının metanollü ekstresinin ve askorbik asitin IC ₅₀ değerleri (µg/mL)	87
4.9. <i>Salvia officinalis</i> yapraklarının metanollü ekstresinin ve askorbik asitin IC ₅₀ değerleri (µg/mL)	88

4.10.	<i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. Filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella</i> <i>sativa</i> , <i>N. Damascena</i> metanollü ekstrelerinin total antioksidan kapasiteleri	91
4.11.	<i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. Filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella</i> <i>sativa</i> , <i>N. Damascena</i> metanollü ekstrelerinin demir redükleyici antioksidan kapasiteleri (Kersetin ekivalan)	92
4.12.	<i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. Filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella</i> <i>sativa</i> , <i>N. Damascena</i> metanollü ekstrelerinin bakır redükleyici antioksidan kapasiteleri (Gallik asit ekivalan)	93
4.13.	Standartların kalibrasyon eğrilerinin grafikleri	95
4.14.	Geliştirilen yöntemlerin doğrusallık kontrol grafikleri	96
4.15.	<i>Echinacea purpurea</i> Kültür bitkisi HPLC kromatogramı	100
4.16.	Klorojenik asit ve Ekinakozit standart bileşiklerinin HPLC kromatogramı	100
4.17.	Standart bileşikler eklenmiş <i>Echinacea purpurea</i> (L.) Moench kültür bitkisi (Ech-1) HPLC kromatogramı	100
4.18.	<i>Echinacea purpurea</i> içeren ürün (Ech-2) HPLC kromatogramı	101
4.19.	<i>Echinacea purpurea</i> içeren ürün (Ech-3) HPLC kromatogramı	101
4.20.	<i>Echinacea purpurea</i> içeren ürün (Ech-4) HPLC kromatogramı	101
4.21.	<i>Echinacea purpurea</i> içeren ürün (Ech-5) HPLC kromatogramı	101
4.22.	<i>Echinacea purpurea</i> içeren ürün (Ech-6) HPLC kromatogramı	102
4.23.	<i>Echinacea purpurea</i> içeren ürün (Ech-7) HPLC kromatogramı	102
4.24.	<i>Echinacea purpurea</i> içeren tüm ürünler ve kültür bitkisinin karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı	103
4.25.	<i>Echinacea purpurea</i> içeren tarihi geçmiş ürün (Ech-8) HPLC kromatogramı	103
4.26.	<i>Echinacea purpurea</i> içeren odada bekletilmiş ürün (Ech-9) HPLC kromatogramı	103
4.27.	<i>Silybum marianum</i> kültür (Sil-1) HPLC kromatogramı	104
4.28.	Silibinin A ve B standart bileşiklerinin HPLC kromatogramı	104
4.29.	<i>Silybum marianum</i> içeren ürün (Sil-2) HPLC kromatogramı	104
4.30.	<i>Silybum marianum</i> içeren ürün (Sil-3) HPLC kromatogramı	104
4.31.	<i>Silybum marianum</i> içeren ürün (Sil-4) HPLC kromatogramı	105
4.32.	<i>Silybum marianum</i> içeren ürün (Sil-5) HPLC kromatogramı	105

4.33.	<i>Silybum marianum</i> . içeren tüm ürünler ve kültür bitkisinin karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı	106
4.34.	<i>Silybum marianum</i> içeren ürünlerden Silibinin A ve B miktarı düşük olanların karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı	106
4.35.	<i>Silybum marianum</i> . içeren tarihi geçmiş ürün (Sil-6) HPLC kromatogramı	106
4.36.	<i>Silybum marianum</i> . kültür (toplanması üzerinden 6 ay geçmiş) (Sil-7) HPLC kromatogramı	106
4.37.	<i>Silybum marianum</i> kültür (toplamadan 18 ay sonra) (Sil-8) HPLC kromatogramı	107
4.38.	<i>Mentha piperita</i> kültür (Men-1) HPLC kromatogramı	107
4.39.	Rozmarinik asit standart bileşiğinin HPLC kromatogramı	107
4.40.	<i>Mentha piperita</i> içeren ürün (Men-2) HPLC kromatogramı	107
4.41.	<i>Mentha piperita</i> içeren ürün ve kültür bitkisinin karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı	108
4.42.	<i>Mentha piperita</i> kültür (toplanması üzerinden 6 ay geçmiş) (Men-3) HPLC kromatogramı	108
4.43.	<i>Salvia officinalis</i> kültür (Sal-1) HPLC kromatogramı	109
4.44.	Rozmarinik asit standart bileşiğinin HPLC kromatogramı	109
4.45.	<i>Salvia officinalis</i> içeren ürün (Sal-2) HPLC kromatogramı	109
4.46.	<i>Salvia officinalis</i> içeren ürünler ve kültür bitkisinin karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı	110
4.47.	<i>Salvia officinalis</i> kültür (toplanma tarihi üzerinden 6 ay geçmiş) (Sal-3) HPLC kromatogramı	110
4.48.	<i>Achillea millefolium</i> HPLC kromatogramı	110
4.49.	<i>Achillea filipendulina</i> HPLC kromatogramı	110
4.50.	<i>Achillea filipendulina</i> ve <i>A. millefolium</i> kültür bitkilerinin karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı	111
4.51.	<i>Nigella sativa</i> HPLC kromatogramı	111
4.52.	<i>Nigella damascena</i> HPLC kromatogramı	111
4.53.	<i>Nigella damascena</i> . ve <i>N. sativa</i> kültür bitkilerinin karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı	111
4.54.	<i>Silybum marianum</i> GC-MS kromatogramı	112
4.55.	<i>Achillea millefolium</i> GC-MS kromatogramı	112
4.56.	<i>Achillea filipendulina</i> GC-MS kromatogramı	112
4.57.	<i>Echinacea purpurea</i> GC-MS kromatogramı	112
4.58.	<i>Mentha piperita</i> GC-MS kromatogramı	113

4.59.	<i>Salvia officinalis</i> GC-MS kromatogramı	113
4.60.	<i>Nigella sativa</i> GC-MS kromatogramı	113
4.61.	<i>Nigella damascena</i> GC-MS kromatogramı	113
4.62.	<i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. Filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella sativa</i> , <i>N. Damascena</i> metanollü ekstralarının 3D PCA (Temel Bileşenler Analizi)	128
5.1	<i>Achillea millefolium</i> , <i>A. filipendulina</i> , <i>Mentha piperita</i> ve <i>Salvia officinalis</i> 'in metanollü ekstralarının MMP-1 inhibisyon yüzdeleri	129
5.2.	<i>Achillea millefolium</i> , <i>A. filipendulina</i> , <i>Mentha piperita</i> ve <i>Salvia officinalis</i> 'in metanollü ekstralarının MMP-8 inhibisyon yüzdeleri	130
5.3.	<i>Achillea millefolium</i> , <i>A. filipendulina</i> , <i>Mentha piperita</i> ve <i>Salvia officinalis</i> 'in metanollü ekstralarının MMP-13 inhibisyon yüzdeleri	130
5.4.	Hücrelerde sitrik asit döngüsü	132
5.5.	Yağ asitlerinin hücrelerde biyosentezi	132
5.6.	<i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella sativa</i> , <i>N. damascena</i> metanollü ekstralarının PCA (Principal Component Analysis = Temel Bileşenler Analizi)	134
5.7.	MMP1,8,13 inhibitör aktivite için negatif korelasyon gösteren metabolitler	135
5.8.	MMP1,8,13 inhibitör aktivite için pozitif korelasyon gösteren metabolitler	135

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. <i>Silybum marianum</i> 'da bulunan bileşikler	18
2.2. <i>Achillea millefolium</i> 'da bulunan bileşikler	21
2.3. <i>Achillea filipendulina</i> 'da bulunan bileşikler	24
2.4. <i>Echinacea purpurea</i> 'da bulunan bileşikler	26
2.5. <i>Mentha piperita</i> 'da bulunan bileşikler	28
2.6. <i>Salvia officinalis</i> 'te bulunan bileşikler	30
2.7. <i>Nigella sativa</i> 'da bulunan bileşikler	32
2.8. <i>Nigella damascena</i> 'da bulunan bileşikler	34
3.1. Tezde kullanılan alet ve gereçler	40
3.2. Kromatografik yöntemlerde kullanılan solvan sistemleri	52
3.3. <i>Echinaceae purpurea</i> HPLC elüsyon profili	53
3.4. <i>Silybum marianum</i> HPLC elüsyon profili	54
3.5. <i>Mentha piperita</i> HPLC elüsyon profili	55
3.6. <i>Salvia officinalis</i> HPLC elüsyon profili	56
3.7. <i>Achillea millefolium</i> HPLC elüsyon profili	57
3.8. <i>Achillea filipendulina</i> HPLC elüsyon profili	58
3.9. <i>Nigella sativa</i> HPLC elüsyon profili	59
3.10. <i>Nigella damascena</i> HPLC elüsyon profili	60
3.11. Sistem uygunluk test kriterleri	61
3.12. GC-MS için optimize edilen çalışma koşulları	65
4.1. <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. filipendulina</i> , <i>Mentha piperita</i> ve <i>Salvia officinalis</i> 'in metanollü ekstraktlarının MMP-1 enzimini inhibisyon yüzdeleri	67
4.2. <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. filipendulina</i> , <i>Mentha piperita</i> ve <i>Salvia officinalis</i> 'in metanollü ekstraktlarının MMP-8 enzimini inhibisyon yüzdeleri	68
4.3. <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. filipendulina</i> , <i>Mentha piperita</i> ve <i>Salvia officinalis</i> metanollü ekstraktlarının MMP-13 enzimini inhibisyon yüzdeleri	68
4.4. <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. filipendulina</i> , <i>Mentha piperita</i> ve <i>Salvia officinalis</i> metanollü ekstraktlarının güneşten koruyucu faktörleri	69

4.5.	<i>S. marianum</i> , <i>A. millefolium</i> , <i>A. filipendulina</i> , <i>E. purpurea</i> , <i>M. piperita</i> , <i>S. officinalis</i> , <i>N. sativa</i> , <i>N. damascena</i> metanollü ekstralarının DPPH radikalini süpürücü kapasiteleri	70
4.6.	Askorbik asitin DPPH radikalini süpürücü etkisi	71
4.7.	<i>Silybum marianum</i> meyvelerinin metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi	72
4.8.	<i>Silybum marianum</i> çiçekli üst kısımlarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri	72
4.9.	<i>Achillea millefolium</i> çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi	72
4.10.	<i>Achillea millefolium</i> çiçekli üst kısımlarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri	72
4.11.	<i>Achillea filipendulina</i> çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi	73
4.12.	<i>Achillea filipendulina</i> çiçekli üst kısımlarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri	73
4.13.	<i>Echinacea purpurea</i> toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi	73
4.14.	<i>Echinacea purpurea</i> toprak üstü kısımlarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri	74
4.15.	<i>Mentha piperita</i> yapraklarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi	74
4.16.	<i>Mentha piperita</i> yapraklarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri	74
4.17.	<i>Salvia officinalis</i> yapraklarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi	75
4.18.	<i>Salvia officinalis</i> yapraklarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri	75
4.19.	<i>Nigella sativa</i> tohumlarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi	75
4.20.	<i>Nigella sativa</i> tohumlarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri	75
4.21.	<i>Nigella damascena</i> tohumlarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi	76
4.22.	<i>Nigella damascena</i> L. tohumlarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri	76
4.23.	<i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. Filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella sativa</i> , <i>N. Damascena</i> metanollü ekstralarının ABTS radikalini süpürücü kapasiteleri	76
4.24.	Troloksun ABTS radikalini süpürücü kapasitesi	77

4.25.	<i>Silybum marianum</i> meyvelerinin metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi	78
4.26.	<i>Achillea millefolium</i> çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi	78
4.27.	<i>Achillea filipendulina</i> çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi	79
4.28.	<i>Echinacea purpurea</i> toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi	79
4.29.	<i>Mentha piperita</i> yapraklarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi	80
4.30.	Askorbik asitin NO radikalini süpürücü kapasitesi	80
4.31.	<i>Salvia officinalis</i> yapraklarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi	81
4.32.	<i>Nigella sativa</i> tohumlarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi	81
4.33.	<i>Nigella damascena</i> tohumlarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi	82
4.34.	<i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. Filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella sativa</i> , <i>N. Damascena</i> metanollü ekstrelerinin NO radikalini süpürücü kapasiteleri	82
4.35.	Askorbik asitin NO radikalini süpürücü kapasitesi	83
4.36.	<i>Silybum marianum</i> meyvelerinin metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi	84
4.37.	<i>Achillea millefolium</i> çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi	84
4.38.	Askorbik asitin total antioksidan kapasitesi	84
4.39.	<i>Achillea filipendulina</i> çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi	85
4.40.	Askorbik asitin total antioksidan kapasitesi	85
4.41.	<i>Echinacea purpurea</i> toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi	86
4.42.	<i>Mentha piperita</i> yapraklarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi	87
4.43.	Askorbik asitin total antioksidan kapasitesi	87
4.44.	<i>Salvia officinalis</i> yapraklarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi	88
4.45.	<i>Nigella sativa</i> tohumlarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi	89

4.46.	<i>Nigella damascena</i> L. tohumlarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi	89
4.47.	<i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. Filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella sativa</i> , <i>N. Damascena</i> metanollü ekstralarının total antioksidan kapasitesi	90
4.48.	Askorbik asitin total antioksidan kapasitesi	90
4.49.	<i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella sativa</i> , <i>N. damascena</i> metanollü ekstralarının demir redükleyici antioksidan kapasiteleri (Kersetin ekivalan)	91
4.50.	<i>Silybum marianum</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>A. filipendulina</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Nigella sativa</i> , <i>N. damascena</i> metanollü ekstralarının bakır redükleyici antioksidan kapasiteleri (Gallik asit ekivalan)	92
4.51.	Sistem uygunluk parametreleri	94
4.52.	50 µg/mL konsantrasyondaki standartların +4 °C'deki kararlılık çalışmaları sonuçları	94
4.53.	Standartların LOD ve LOQ değerleri	94
4.54.	Standartların kalibrasyon eğrilerine ait veriler	96
4.55.	Standartlar gün içi kesinlik ve doğruluk verileri (n=6)	97
4.56.	Standartların günler arası kesinlik ve doğruluk verileri (n=18)	97
4.57.	Standartların geri kazanım verileri	98
4.58.	Standart ekleme kalibrasyon eğrilerinin eğimi	98
4.59.	Standartların sağlamlık çalışması için belirlenmiş koşullar ve sonuçları	99
4.60.	Standartların sağlamlık çalışması sonucunda elde edilen p değerleri	99
4.61.	<i>Echinacea purpurea</i> kültür bitkisi ve bu bitkiyi içeren ürünlerde bulunan, klorojenik asit üzerinden hesaplanmış kaftarik asit ve kikorik asit toplam miktarları ve Avrupa Farmakope'sine uyumluluğu	102
4.62.	<i>Silybum marianum</i> kültür bitkisi ve bu bitkiyi içeren ürünlerde bulunan, Silibinin A ve Silibinin B toplam miktarları ve Avrupa Farmakope'sine uyumluluğu	105
4.63.	<i>Mentha piperita</i> kültür bitkisi ve bu bitkiyi içeren ürünlerde bulunan, rozmarinik asit miktarları ve Avrupa Farmakope'sine uyumluluğu	108
4.64.	<i>Salvia officinalis</i> kültür bitkisi ve bu bitkiyi içeren ürünlerde bulunan, Rozmarinik asit miktarı	109
4.65.	GC-MS Metabolit alıkonma zamanları	114

- 4.66.** Sitrik asit siklusu ve yağ asitlerinin biyosentezi sırasında oluşan metabolitlerin GC-MS analizinde alıkonma zamanları ve pik alanları

1. GİRİŞ

Tıbbi bitki ekstraları ve tıbbi bitkilerden hazırlanan ürünler tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli hastalıkların tedavisinde ya da kozmetik amaçla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, ürün haline gelmiş olsa dahi, tıbbi bitkilerden elde edilen ekstraların çoğunun biyolojik aktiviteleri ve etki mekanizmaları hakkındaki bilimsel veriler hala yetersizdir. Bu nedenle, tıbbi bitkilerden elde edilen ekstraların biyolojik aktivitelerinin bilimsel temele oturtulması çalışmalarına ilgi her geçen gün artmaktadır.

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküllerdir. Kararlı hale geçebilmek için genellikle en yakın kararlı moleküle saldırarak, onun elektronunu alırlar ve saldırıya uğrayan molekül serbest radikal haline gelir, sonuçta canlı hücre zarar görür. Serbest radikaller nötralize edilmezse vücutta hücre zarı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek, çekirdekteki genetik materyale etki ederek DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek, bağışıklık sistemini çökertmek, yaşlanma sürecini hızlandırmak ve beyindeki sinir hücrelerine zarar vermek gibi ciddi hasarlara neden olabilirler (1). Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve nötralize etme yeteneğine sahip maddelere "antioksidan" adı verilmektedir (2). Antioksidanlar mekanizmalarına göre, primer ve sekonder antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar. Primer antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Bu kategoride yer alan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve katalaz gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok edici özelliktedir. Bu enzimler, serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipitler gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırarak bir hücresel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedirler (1). Sekonder antioksidanlar ise; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir (3).

Pek çok hastalığı tetikleyen serbest radikaller, cilt yaşlanmasının da başlıca nedenlerindedir. Reaktif oksijen türlerinin oluşmasında en önemli faktörlerden biri de güneş ışınlarıdır (4). Güneş ışınları, aynı zamanda matriks metalloproteinaz

enzimlerinin artışına da neden olarak (5, 6) ekstraselüler matrikse zarar verir (6, 7) ve cildin erken yaşlanması gerçekleştirirler.

Bu tezin amaçlarından biri, kozmetikte kullanılışı olan *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis* (8-10) bitkilerinden hazırlanan ekstraların farklı konsantrasyonlarının cilt yaşlanmasını geciktirici etkilerini kanıtlamak üzere MMP-1, MMP-8 ve MMP-13 enzimlerini inhibe edici etkileri, DPPH, ABTS ve NO radikal süpürücü kapasiteleri, FRAP, CUPRAC ve total antioksidan kapasiteleri ile güneşten koruyucu faktörlerinin (Sun Protection Factor-SPF) tayin edilmesidir.

Tıbbi bitki ekstraktları kompleks karışımlar olup pek çok maddeyi bir arada içerirler. Tedavi edici özellikleri, içerdikleri bileşiklerin kümülatif veya sinerjistik etkilerinden ileri gelmektedir. Bitkisel ürünler ülkemizde 2 şekilde belgelendirilirler. Sağlık Bakanlığı'ndan ruhsat alınabilmesi için, tedavi amacıyla kullanılabilme kalite standartlarını sağlamak üzere, analiz edilmesi gerekir. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan izinli olarak piyasaya çıkabilmesi ise beyana dayalıdır, herhangi bir analiz istenmez ve bu gruptaki ürünler endikasyon belirtilmesi yasak olmasına rağmen piyasada endikasyonları nedeniyle satılırlar. Bir bitkisel ürünün etkili olabilmesi için istenen kalite kriterlerine uyması gereklidir. Bitkisel ürünlerde özellikle de gıda takviyelerinde tağşiş veya substitüsyon bitkisel ürün endüstrisinin önemli problemlerindedir. Kalite kontrol çalışmaları ürünlerin etkin, yüksek kaliteli ve güvenli olup olmadığını tespit etmek amacıyla gereklidir.

Endüstride yaygın olarak kullanılan kalite kontrol metodlarından biri bitkisel üründe bulunan kimyasal markör bileşiğin analizidir. Bitkinin yetiştiği bölge, kültür bitkisi olup olmadığı ve üretim yöntemleri, bitkinin kimyasal bileşimini ve klinik aktivitesini etkiler. Bunun dışında, fazla kazanç sağlamak amacıyla kasten tağşiş veya yanlışlıkla substitüsyon, bitkisel ürünlerin kalitesini düşürmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından tanınan ve kabul gören kromatografik parmakizi (fingerprint) analizi, kompleks ve multi komponent matrikse sahip bitkiler ve bitkisel ürünler için avantaj sağlamaktadır (11). Bitkisel ürünlerin kromatografik parmakizi analizi, türlerin doğru teşhisi, bileşiminin doğruluğu, kalite değerlendirmesi, ürün stabilitesinin kontrolünün sağlanması için kapsamlı kalitatif bir yaklaşımdır. "HPLC parmakizi analizi" ekstredeki tüm bileşiklere genel bir bakış sağlar ve bitkisel ürünün

kalitesinin değerlendirilmesinde çok önemlidir. Bundan hareketle, alışmamızda Asteraceae familyası yeleri, *Silybum marianum*, *Achillea millefolium*, *Achillea flipendulina*, *Echinacea purpurea*, Lamiaceae familyasından *Mentha piperita*, *Salvia officinalis* ve Ranunculaceae familyasından *Nigella sativa*, *N. Damascena* kültür bitkileri ve farklı biçimlerde ruhsatlandırılmış bitmiş rnlerin, HPLC parmakizi analizlerinin, kimyasal markör bileşiklerin miktar tayinlerinin ve stabilitelerinin, Avrupa Farmakopesi yöntemleri veya modifikasyonları ile gerçekleştirilmesi ve kullanılacak tüm yöntemlerin validasyon çalışmalarının yapılması planlanmıştır.

Bitkinin farklı hücrelerinde aynı anda anabolizma, katabolizma ve amfibolizma reaksiyonları yürümektedir. İlk oluşan metabolitler primer metabolitlerdir, bunlar canlı hücrenin devamlılığı için gereklidir ve sekonder metabolitler primer metabolitlerden türemektedir. Bir hücre veya canlıdaki metabolizmanın tümü metabolom olarak adlandırılmaktadır ve metabolomun içerdiği metabolomiklerin konsantrasyonu, hücre içi reaksiyonlar her an oluştuğu için sürekli değişim göstermektedir. Metabolomikleri araştırmak için kullanılan analitik tekniklerle, ancak belirli şartlardaki anlık içerik belirlenebilmektedir. Biyobelirteç tespiti, enzim substrat ilişkisi, biyoaktivite çalışmaları, metabolik yolak analizleri gibi pek çok alanda metabolomik çalışmaları son dönemlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Metabolomdaki küçük moleküllü metabolitlerin analizleri, NMR (nükleer manyetik rezonans), GC-MS (gaz kromatografi-kütle spektrofotometri) ve LC-MS (likit kromatografi-kütle spektrofotometri) gibi yüksek hassasiyette analitik teknikler kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Çalışmamızda araştırmaya konu olan bitkilerin GC-MS ile metabolomik profillerinin belirlenmesi ve matriks metalloproteinaz inhibitör etki ile korelasyonlarının yorumlanması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Ranunculaceae Familyası

Otsu, nadiren tırmanıcı odunsu bitkilerdir. Yapraklar almaşık, stipula yok, bazen tabanda karşılıklı ve stipulalı. Çiçekler hermafrodit, ovaryum üst durumlu ve aktinomorf veya zigomorf. Çiçek örtüsü tek yada iki sıralı dizilişlidir, parçalar genellikle serbest, çoğunlukla hepsinin iç halkası nektar taşır. Stamenler genellikle çok sayıda, merkezci, spiral dizilişlidir. Dişi organ, apokarp, nadiren sinkarp, tek karpelli. Meyve aken, folikül veya bakka, tek başlıdır (12).

Nigella sativa L.



Şekil 1.1. *Nigella sativa* L.

Bitki tek yıllık, otsu, 15-30 cm boyunda, dallanmış, az çok tüylü; yapraklar parçalı, parçalar ince, oldukça kısa, oblong-lanseolat; çiçekler 5 parçalı, involukrum yok; sepaller beyazımsı, ovat, kısa tırnaklı; petaller mavimsi, alt dudak ovat, kısa saplı ve küt-akuminat; karpeller tepede birleşmiş ve tuberkül oluşturmuş; stiluslar boyunca sert kapsül oluşturmuş; tohumlar siyah, 3 köşeli. Çiçeklenme zamanı 5-7. aylar (12, 13).

Türkiye ile birlikte, Mısır, Girit adası, Güneybatı Asya da doğal olarak yetişir (12).

Nigella damascena L.



Şekil 1.2. *Nigella damascena* L.

Bitki tek yıllık, otsu; 20-30 cm; gövde dik, basit veya gevşekçe dallanmış; gövdenin alt kısmındaki yapraklar lanseolat, gövdenin üst kısmındaki yapraklar kılsı, sert ve dik; involukrum var; sepaller mavi, geniş ovat, aniden ve belirgin bir şekilde tırnak oluşturur; petaller yuvarlak, alt dudak lobları geniş kuneat; karpeller tepede birleşmiş, düz, şişkin, zarımsı bir kapsül oluşturmuş, boyu stilustan biraz uzun. Çiçeklenme dönemi 5-7 aylar (12).

Türkiye ile birlikte, güney Avrupa, Kuzeybatı Afrika, Kafkasya, Kıbrıs, Batı Suriye, İran'da yabani olarak yetişir (12).

2.1.2. Asteraceae Familyası

Çiçekli bitkilerin en zengin familyasıdır. Tek yıllık, iki yıllık veya çok yıllık otsu, bazen çalimsı nadiren küçük ağaçlar şeklindedir. Farklı tiplerde salgı tüyü ve örtü tüyü bulunur veya tüsüzdür. Latisferli veya latisfersiz dokular bulunur. Yapraklar alternan, bazen karşılıklı; stipulalı ya da stipulasız; basit veya bileşik, yaprak kenarları tam veya dentattır. Çiçek durumu kapitulumdur. Kapitulum, çok sayıda ya da birkaç sapsız çiçekli olup, involukrum tarafından çevrilmiştir. Bazen yalancı baş (kapitulunun ikincil bir baş şeklinde kümeleşmesi) görülür. Kapitulum homogam ya da heterogamdır. Çıplak ya da palealı reseptakulum, kılçıklı veya uzun tüylü olabilir. Çiçekler epigin, dişi, erkek ya da erdişi. Çoğu kez papus bulunur bazen tamamen yoktur. Korolla tüpsü, filiform, dilsiz, nadiren iki dudaklı olup genellikle 3 veya 5 dişli, nadiren indirgenmiştir. Stamenler (4-)5, filamentler korollaya bağlı, anterler stilusu silindir şeklinde sarar, nadiren serbesttir. Ovaryum alt durumlu, tek gözlü, tabanda bir adet anatrop ovüllü, stilus yukarıya doğru ikiye bölünmüş. Meyve aken, düşücü veya kalıcı papuslu; papus sapsız veya gaga benzeri bir uzantının ucundan çıkar (12, 14).

Achillea millefolium L.



Şekil 1.3. *Achillea millefolium* L

Bitki çok yıllık, rizomlu, otsu, 10-100 cm boyunda, yünsü tüylü; gövde ve taban yaprakları homomorfik, yapraklar parçalı, 2-3 pinnatisekt, linear-lanseolat; taban yaprakları 10-20 x 1-4 cm, gövdenin orta kısmındaki yapraklar 2-9 x 0.3-1.5 cm; kapitulum 50-150 adet; korimbus 4-15 cm çapında, pedunküller 1-5 mm; involukrum, oblong-ovoit ve 4-5.5 x 2.5 x 4 mm; involukrum brakteleri, oblong-lanseolat, subakut-akut, kahverengimsi, ince kenarlı, imbrikat dizilişli; çiçekler dilsli, beyaz; 4-6 adet, 1.5-2.5 mm; tüpsü çiçekler 10-20 adet; akenler tüysüz, basık, papus yok. Çiçeklenme dönemi 6-9. aylar (13, 15).

Türkiye ile birlikte, Avrupa'nın batısı, Kafkasya, İran, Siberya, Himalaya' da yabani olarak yetişir (15).

Achillea filipendulina L.



Şekil 1.4. *Achillea filipendulina* L.

Bitki 60-100 cm boyunda; gövde silindirik, obtus-açılı, seyrek yatık tüylü, bazen tüysüz; yapraklar sık, basık tüylü, nokta şeklinde guddeli; taban ve gövdenin alt kısmındaki yapraklar oblong, 10-20 x 3-7 cm, sapsız veya 5 cm ye kadar saplı, loblu veya dentat-serrat, 10-15 çift pinnatipartit, oblong-lanseolat; gövdenin üst kısmındaki yapraklar daha küçük ve seyrek loblu; korimbus 4-10 cm genişliğinde, çiçek sapları 2-8 mm; kapitulum (30-)50-300 veya daha fazla çiçekli; involukrum obovoid-oblong, 3,5-5 x 2,5-3,5 mm; dış brakteler linear-filiformdan linear-lanseolata kadar; akut, iç brakteler lanseolat, subakut-obtus, kenarlar belirgin değil, seyrek tüylü ve nokta şeklinde guddeli; dilsî çiçekler 2-4, altın sarısı, 0,7-1 mm; tüpsü çiçekler 15-30; akenler tüysüz, basık, papus yok. Çiçeklenme zamanı 6-8. aylar (15).Türkiye ile birlikte, Kafkasya, İran, Afganistan, orta Asya bölgelerinde yabani olarak yetişir (15).

Silybum marianum L.



Şekil 1.5. *Silybum marianum* L.

İki yıllık, otsu; (9)30-100 cm boyunda bitki. Gövde kostalı, seyrek villoz tüylü. Yapraklar tüysüz, soluk yeşil, damarlar boyunca beyaz benekli, kenarları kuvvetli dikensi-dentat; taban yapraklar obovat, saplı, 9-26 x 5-12 cm, derin üçgeni loblu; gövde yaprakları basit, ovat lanseolat, kulakçıklı amplexikaul. involukrum 2.5-4 x 2-4 cm; brakteler birbiri üzerine yatık dikensi ovat birden ovat subulat bir uçla biter, dıştaki brakteler dışa kıvrık, içtekiler dik; en içteki brakteler lanseolat, bir ek taşımaz. Akenler siyah çizgiler taşıyan kahverengi, yaklaşık 7x3 mm. Dış papuslar tüylü yaklaşık 15 mm. (16).

Türkiye ile birlikte, Avrupa merkezi ve kuzey batısı, İngiltere, Fransa, İtalya, Akdeniz bölgeleri, güney ve doğu Irak, İran, Afganistanda yabancı olarak yetişir (16).

Echinacea purpurea (L.) Moench



Şekil 1.6. *Echinacea purpurea* (L.) Moench

Bitki çok yıllık, otsu, 60-180 cm boyunda, gövde dik, kalın, dallanmış, az yada çok yumuşak tüylü veya tüysüz; taban yaprakları ovattan ovat-lanseolata kadar, tepesi akut, kenarları keskin ya da yumuşak testere dişli; yaprak sapları 25 cm'ye

kadar, lamina 20 x 15 cm uzunluğunda, tabana doğru daralır, çoğunlukla tabanda kordat şeklinde, dekkurent, 3-5 damarlı; gövde yaprakları alt kısımda saplı, üst kısımda sapsız 7-20 x 1,5-8 cm, iki yüzeyde pürüzlü; brakteler linear-lanseolat, tabana doğru daralan, dış yüzeyi tüylü, kenarları zarımsı; kapitulum 1,5-3 x 5-10 cm; morumsu kırmızı renktedir; brakteoller 9-13 mm uzunluğunda, aristalı, arista uzunluğu brakteollerin yarısına kadar; tüpsü çiçeklerin korollası 4,5-5,5 mm uzunluğunda, loblar 1 mm uzunluğunda; aken 4-4,5 mm. Çiçeklenme dönemi 8-9. aylar (17).

Türkiye'de kültürü yapılan bitki, Amerika Birleşik Devletlerinin orta ve doğu bölgelerinde yabancı olarak yetişir (18).

2.1.3. Lamiaceae Familyası

Genellikle salgı tüyleri taşıyan, aromatik, gövdesi dört köşeli olan veya olmayan, otsu bitki veya çalılardır. Yapraklar karşılıklı, bazen pennat, basit, stipulasız. Çiçek durumu simoz ve genellikle vertisillastrumdur. Vertisillastrumlar baş, rasemoz, simoz ya da spika oluşturabilir. Ginodioik bitkilerde çiçekler hermafrodit veya dişi fonksiyonludur. Brakteler belirgin olarak yapraklardan farklılık gösterir ya da yapraklara benzemektedir. Brakteoller vardır ya da yoktur. Kaliks genellikle üstte 3 altta 2 dişli olarak 5 lobludur veya kaliks aktinomorfudur. Damarlar 5-20. Korolla gamopetal, zigomorf, üst dudak 2 loblu falkat, düz ya da \pm konkav, alt dudak 3 lobludur. Üst dudak nadiren indirgenmiş ve alt dudak 5 lobludur veya 1 üst 4 alt loblu veya korolla aktinomorfudur. Stamenler korollaya birleşik, 4 adet ve didinam veya 2 adet ve genellikle staminotlar bulunur, tekalar 1 veya 2 hücreli, paralel veya birbirinden uzaklaşan şekilde; nadiren uzamış konnektifler ile ayrılır. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli, 4 ovüllü, 4 loblu. Stilus ginobazik, nadiren değil, üstte kısa bifiddir. Meyve 4 nadiren daha az, kuru nadiren taze fındıkçıktan oluşur. Isıtılınca müsilajlı veya değildir (19).

Mentha piperita L.



Şekil 1.7. *Mentha piperita* L.

Bu tür bir kültür bitkisi olup *M. aquatica* L. ile *M. spicata* L. türlerinin melezidir. Tohum vermediği için ancak rizomları ile üretilebilir.

Bitki çok yıllık, otsu 30-90 cm, kuvvetli kokulu, hemen hemen tüysüz, gövde ve dalları genellikle kırmızımsı renkli; yapraklar kenarları dişli, 3-8 cm ovat, yüzeyi buruşuk, saplı, koyu yeşil renkli; çiçek durumu terminal, dalların ucunda, birçoğu bir arada; çiçekler erguvani (13).

İlk kez İngiltere’de tanımlanmıştır. Hibrit bir türdür. Türkiye’de kültürü yapılır (12).

Salvia officinalis L.



Şekil 1.8. *Salvia officinalis* L.

Bitki çok yıllık, otsu veya çalimsı, 50-100 cm boyunda; morumsu mavi çiçekli; yapraklar basit, 3-8 x 1-4 cm, kenarları hafif dişli, her iki yüzü de sık tüylü ve gümüş renkli.

Dağ yamaçlarında yetişmekte ve yaygın olarak kültürü de yapılmakta olan bitkinin çiçeklenme zamanı 6-8. aylardır (13).

Türkiye’de kültürü yapılan bitki, Orta Avrupa ve Balkanların batısında yabani olarak yetişir (13, 19).

İsimlendirme:

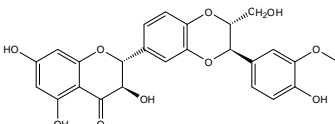
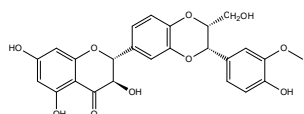
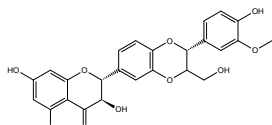
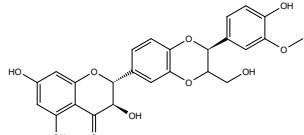
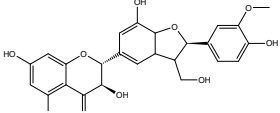
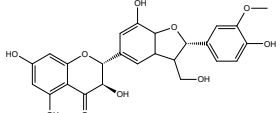
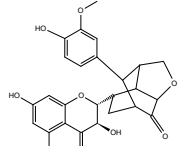
<i>Nigella sativa</i> L.	:Çörekotu, Black cumin (20, 21)
<i>Nigella damascena</i> L.	:Şam çörekotu, Lady-in-a-mist (20, 22)
<i>Achillea millefolium</i> L.	:Civanperçemi, Yarrow (18, 20, 23)
<i>Achillea flipendula</i> L.	:Kovançiçeği, Fern-leaf yarrow (20, 24)
<i>Silybum marianum</i> L.	:Devedikeni, Milk thistle (18, 20, 23)
<i>Echinacea purpurea</i> (L.) Moench	:Purple coneflower (20, 23)
<i>Mentha piperita</i> L.	:Nane, Peppermint (18, 20, 23)
<i>Salvia officinalis</i> L.	:Adaçayı, Sage (18, 20, 23)

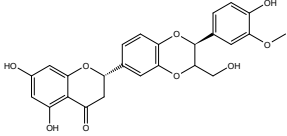
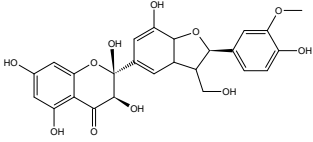
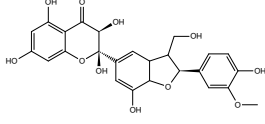
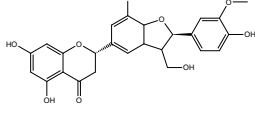
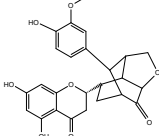
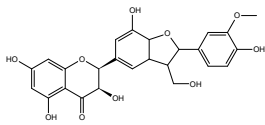
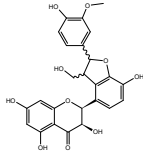
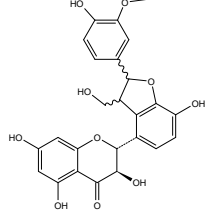
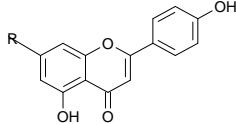
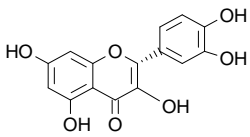
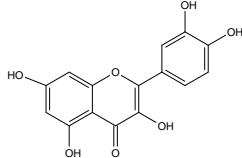
2.2. Türler Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Çalışmalar

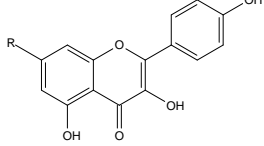
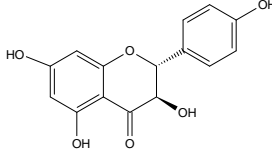
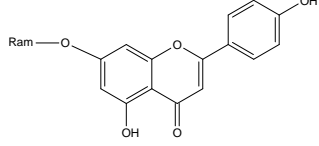
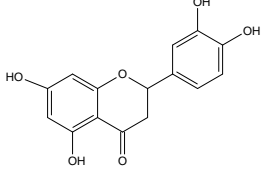
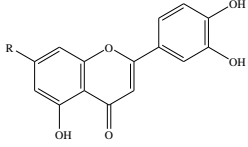
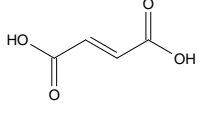
Silybum marianum

Flavonolignan yapısına sahip olan silimarin; silibin, izosilibin, silikristin, silidianin ve dehidrosilibin izomerlerinden oluşmaktadır. Bu şekilde silimarin birden çok flavonolignan izomerinin karışımından oluşmuş kompleks bir yapıdır. Silimarinin ana maddesi olan silibin yaklaşık olarak kompleks yapının % 60'ını oluşturmaktadır.

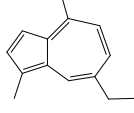
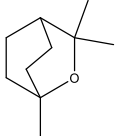
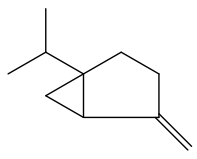
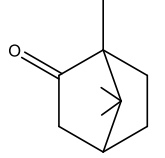
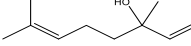
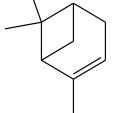
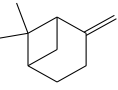
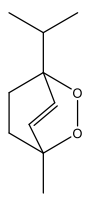
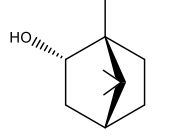
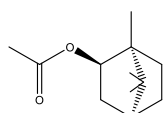
Tablo 2.1. *Silybum marianum*'da bulunan bileşikler

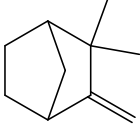
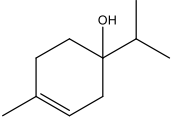
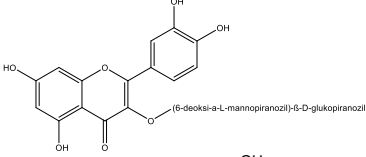
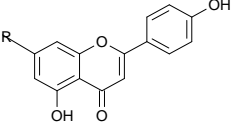
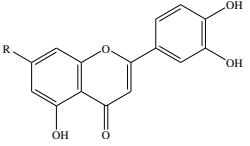
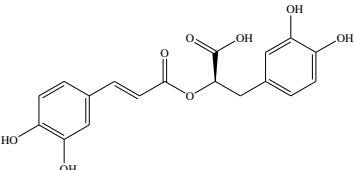
Ana İskelet	Bileşik	Yapı	Kaynak
Flavonolignan	Silibinin A		(18, 25, 26, 27, 28, 29)
Flavonolignan	Silibinin B		(18, 25, 26, 27, 28, 29)
Flavonolignan	İzosilibinin A		(18, 25, 26, 27, 28)
Flavonolignan	İzosilibinin B		(18, 25, 26, 27, 28)
Flavonolignan	Silikristin		(18, 25, 26, 27, 29)
Flavonolignan	İzosilikristin		(25)
Flavonolignan	Silidianin		(18, 25, 26, 27, 29)

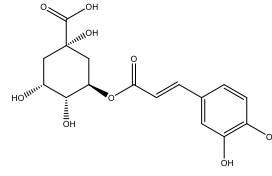
Flavonolignan	Silandrin		(30)
Flavonolignan	2,3-dihidroksisilibinin		(30)
Flavonolignan	2,3-dihidroksisilikristin		(30)
Flavonolignan	3-deoksisilikristin		(30)
Flavonolignan	3-deoksisilidianin		(30)
Flavonolignan	Silihermin		(30)
Flavonolignan	Neosilihermin A		(30)
Flavonolignan	Neosilihermin B		(30)
Flavonoitler	Apigenin ve (-4,7'-di-O-glukozit)		(18)
Flavonoitler	Taksifolin		(18, 25, 30)
	Kersetin		(30)

Flavonoitler	Kemferol (-7-O-glukozit-3-sülfat)		(18)
Flavonoitler	Dihidrokemferol		(30)
Flavonoitler	Naringin		(18)
Flavonoitler	Eriyodiktiyol		(18)
Flavonoitler	Luteolin (-7-O-Glikozit)		(18)
	Fumarik asit		(18)
Diğer bileşikler		Steroller, Sabit yağ, , dihidrokoniferil alkol, proteinler ve müsilaj, Krizoeriyol	(18, 30, 31)

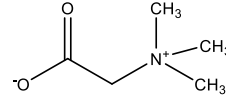
*Achillea millefolium***Tablo 2.2.** *Achillea millefolium*'da bulunan bileşikler

Ana İskelet	Bileşik	Yapı	Kaynak
Terpenik Bileşikler	Kamazulen		(18, 32)
Terpenik Bileşikler	1,8-sineol		(18, 32)
Terpenik Bileşikler	sabinen		(32)
Terpenik Bileşikler	Kafur		(18, 32)
Terpenik Bileşikler	Linalol		(18, 32)
Terpenik Bileşikler	α -pinen		(18, 32)
Terpenik Bileşikler	β - pinen		(18, 32)
Terpenik Bileşikler	Askaridol		(32)
Terpenik Bileşikler	α -borneol		(32)
Terpenik Bileşikler	Bornil asetat		(32)

Terpenik Bileşikler	Kamfen		(32)
Terpenik Bileşikler	Terpinen-4-ol		(32)
Diğer Terpenik Bileşikler		Kamazulen, Karyofillen epoksit, izoartemisyaketon, β -karyofillen, Germakren-D, Spatulenol, Bisabolol, α -amirin asetat, β -sitosterol, vanilik asit, akillin, millefin	(18, 32, 33)
Seskiterpen Laktonlar		Guayenolit, Germakrenolit, Ödesmenolit türevi seskiterpen laktonlar. Akillifolin, dihidropartenolit, dihidroreynosin	(33, 34)
Flavonoitler	Rutin		(35)
	Apigenin-7-O-Glukozit		(36)
	Luteolin (-7-O-Glikozit)		(36)
Diğer flavonoitler		artemitin, 6-hydroxyluteolin, 6,7,3',4'-tetramethyl ether, nepetin, cirsilineol, cirsiliol, salvigenin, hispidulin,	(33)
Fenolik asitler	Rozmarinik asit		(37)
	Klorojenik asit		(36)

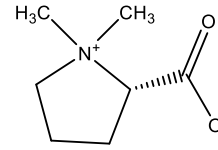
**Betainler**

Betain



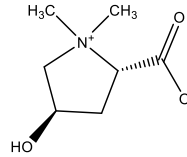
(32)

Stakhidrin



(32)

Akillein



(32)

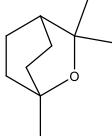
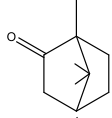
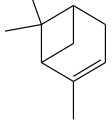
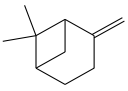
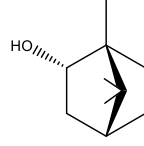
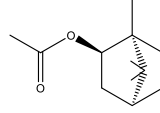
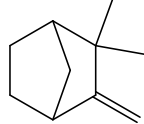
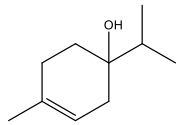
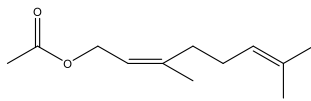
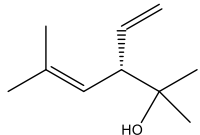
Uçucu Yağ

Azulen bileşikleri

Akillisin

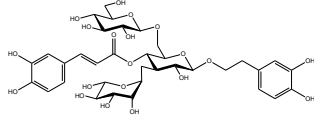
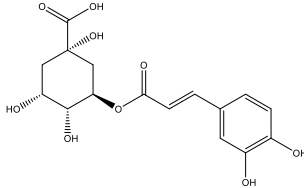
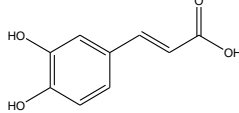
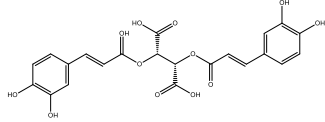
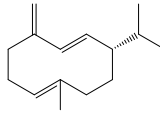
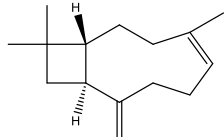
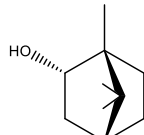
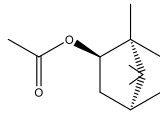
(23, 33)

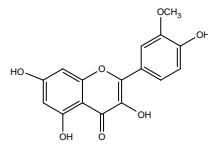
*Achillea filipendulina***Tablo 2.3.** *Achillea filipendulina* 'da bulunan bileşikler

Ana İskelet	Bileşik	Yapı	Kaynak
Terpenik Bileşikler	1,8-sineol		(38, 39)
Terpenik Bileşikler	Kafur		(38, 39)
Terpenik Bileşikler	α -pinen		(38, 39)
Terpenik Bileşikler	β - pinen		(38, 39)
Terpenik Bileşikler	α -borneol		(38, 39)
Terpenik Bileşikler	Bornil asetat		(38, 39)
Terpenik Bileşikler	Kamfen		(38, 39)
Terpenik Bileşikler	Terpinen-4-ol		(38, 39)
Terpenik Bileşikler	Neril-asetat		(38, 39)
Terpenik Bileşikler	Santolina alkol		(38, 39)

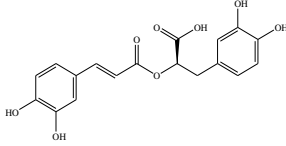
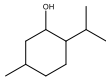
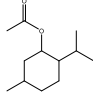
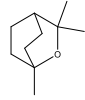
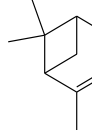
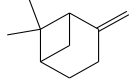
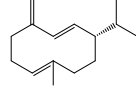
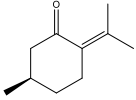
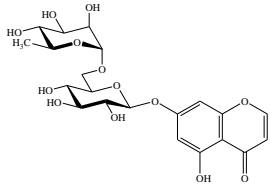
Diğer Terpenik		
Bileşikler	Santolina trien, <i>o</i> -simen, pinokarvon	(38, 39)
Uçucu yağ		(38, 39)

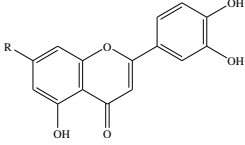
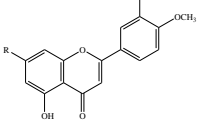
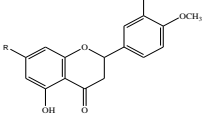
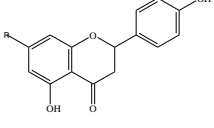
*Echinacea purpurea***Tablo 2.4.** *Echinacea purpurea*'da bulunan bileşikler

Ana İskelet	Bileşik	Yapı	Kaynak
Kafeik asit ve Ferulik asit Türevleri	Ekinakozit		(23)
Fenolik asitler	Klorojenik asit		(23, 40)
Fenolik asitler	Kafeik asit		(23)
Kafeik asit ve Ferulik asit Türevleri	Kikorik asit		(23, 41)
Kafeik asit ve Ferulik asit Türevleri	2-O-feruloil-tartarik asit, 2-O-kafeoil-3-O-kumaroil-tartarik asit, kaftarik asit		(23, 41)
Terpenik Bileşikler	Germakren D		(42)
Terpenik Bileşikler	Karyofillen (ve -epoksit)		(42)
Terpenik Bileşikler	Borneol		(42)
Terpenik Bileşikler	Bornil asetat		(42)

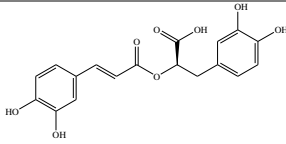
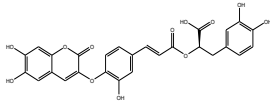
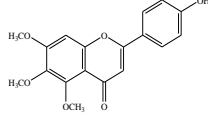
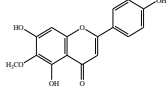
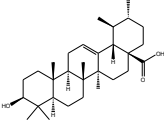
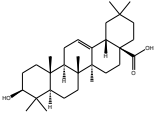


Polisakkaritler	4-O-metilglukuronil arabinoksilanlar, asidik arabinoramno-galaktanlar, ksiloglukan, inülin tip fruktanlar, pektin benzeri fruktanlar	(43, 44, 45, 46)
Pirolizidin Alkaloitleri	tussilagin, izotussilagin	(43)
Alkamitler	undeka-2E,4Z-dien-8,10-dinoik asit izobutilamit, dodeka-2E,4Z-dien-8,10- dinoik asit izobutilamit, dodeca-2E,4E,10E-trien-8-inoic asit izobutilamit, dodeca-2E,4E,8Z-trienoik asit izobutilamit, dodeca-2E,4Z-dien-8,10-dinoic asit 2-metilbutilamit	(47, 48)
Polienler Glikoproteinler		(49)
Flavonoitler	İzoramnetin (ve glikozitleri)	(47, 48)
		
Diğer Flavonoitler	kersetin, kemferol ve glikozitleri	(47, 48)

*Mentha piperita***Tablo 2.5.** *Mentha piperita* 'da bulunan bileşikler

Ana İskelet	Bileşik	Yapı	Kaynak
Fenolik asitler	Rozmarinik asit		(23,50)
Terpenik Bileşikler	Mentol		(18, 51)
Terpenik Bileşikler	Mentil asetat		(18, 51)
Terpenik Bileşikler	1,8-sineol		(51)
Terpenik Bileşikler	α -pinen		(51)
Terpenik Bileşikler	β - pinen		(51)
Terpenik Bileşikler	Germakren - D		(51)
Terpenik Bileşikler	pulegon		(18, 51)
Diğer Terpenik Bileşikler	menton, limonen, mentofuran, izomenton, pulegon, karvon <i>trans</i> -sabinen hidrat		(18, 51)
Flavonoitler	5,7-dihidroksikromon-7-O-rutinoside		(52)

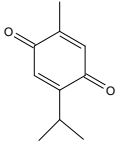
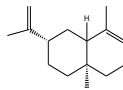
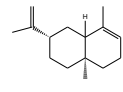
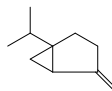
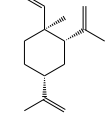
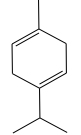
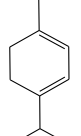
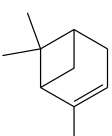
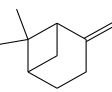
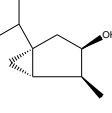
Flavonoitler	Luteolin (-7-O-Glikozit)		(18, 52)
Flavonoitler	Diosmin		(52)
Flavonoitler	Hesperidin		(52)
Flavonoitler	Narirutin		(52)
Diğer flavonoitler	Erisitrin, izorhoifolin, apigenin		(18, 52)

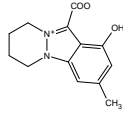
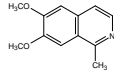
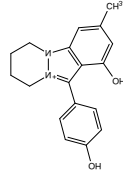
*Salvia officinalis***Tablo 2.6.** *Salvia officinalis*'te bulunan bileşikler

Ana İskelet	Bileşik	Yapı	Kaynak
Fenolik asitler	Rozmarinik asit		(53, 54, 55)
Fenolik asitler	Rozmarinik asit türevleri	Sagerinik asit, Salvisnolik asit	(54)
Kafeik asit türevleri	Sagekumarin		(56)
Flavonoitler	5-metoksisalvigenin		(57)
Flavonoitler	Hispudilin		(58)
Diğer Flavonoitler		7-O-metilapigenin, 6-metoksigenkvanin, luteolin, 6-metoksiluteolin, 6-metoksiluteolin-7-methylether, 6-metoksiluteolin, luteolin-7-metil eter, apigenin	(53, 58)
Diterpenler		Saffisinolit, sageon, karnozik asit, karnozol, 7-metoksirozmanol, galzdozol, rozmanol	(53, 59, 60, 61, 62)
Triterpenler	Ursolik asit		(63)
Triterpenler	Oleanolik asit		(63)
Terpenik Bileşikler	Kafur		(18)
Terpenik Bileşikler	1,8-sineol		(18)

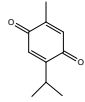

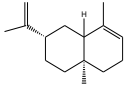
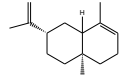
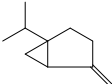
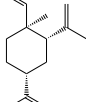
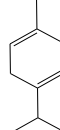
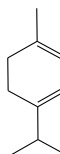
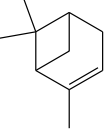
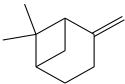
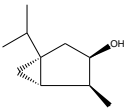
Terpenik Bileşikler	α -tuyon (ve β -tuyon)		(18)
Diğer Bileşikler		Polisakkaritler ve östrojenik bileşikler	(64)

*Nigella sativa***Tablo 2.7.** *Nigella sativa*'da bulunan bileşikler

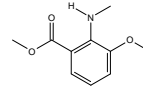
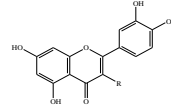
Ana İskelet	Bileşik	Yapı	Kaynak
Terpenik Bileşikler	Timokinon		(65, 66)
Terpenik Bileşikler	β -selinen		(65, 66)
Terpenik Bileşikler	α -selinen		(65, 66)
Terpenik Bileşikler	sabinen		(65, 66)
Terpenik Bileşikler	β -elemen		(65, 66)
Terpenik Bileşikler	γ -Terpinen		(65, 66)
Terpenik Bileşikler	α -Terpinen		(65, 66)
Terpenik Bileşikler	α -pinen		(65, 66)
Terpenik Bileşikler	β - pinen		(65, 66)
Terpenik Bileşikler	Tuyol		(65, 66)
Diğer Terpenik Bileşikler	karvon, p-simen, timol, Tuyon, mirsen, α – terpinen, o-simen Limonen, trans sabinen hidrat, Mirtenol β -burbonen+ β -karyofillen, germakren A, 7-Epi-selinen		(65, 66)

Alkaloitler	Nigellisin		(67)
Alkaloitler	Nigellimin		(68)
Alkaloitler	Nigellidin		(69)
Flavonoitler		Kemferol, Kersitrin	(70)
Sabit yağ		Esansiyel yağ asitleri, fitosteroller, glikolipitler, fosfolipitler	(71, 72)
Doymuş yağ asitleri		Palmitik asit, linoleik asit, oleik asit	(71)
Vitaminler		Tiamin, niasin, askorbik asit, folik asit	(71)
Glikozidal saponinler		Melantin, melantigenin	(71)
Diğer bileşikler		Tanen, reçine,	(71)

*Nigella damascena***Tablo 2.8.** *Nigella damascena*'da bulunan bileşikler

Ana İskelet	Bileşik	Yapı	Kaynak
Terpenik Bileşikler	Timokinon		(73)
Terpenik Bileşikler	Tuyon		(73)
Terpenik Bileşikler	β -selinen		(73)
Terpenik Bileşikler	α -selinen		(73)
Terpenik Bileşikler	sabinen		(73)
Terpenik Bileşikler	β -elemen		(73)
Terpenik Bileşikler	γ -Terpinen		(73)
Terpenik Bileşikler	α -Terpinen		(73)
Terpenik Bileşikler	α -pinen		(73)
Terpenik Bileşikler	β - pinen		(73)
Terpenik Bileşikler	Tuyol		(73)

Diğer Terpenik Bileşikler	Mirsen, o-simen p – simen, Limonen, trans sabinen hidrat, Tuyol, Mirtenol Timol, β -burbonen+ β -karyofillen, germakren A, 7-Epi-selinen	(73)
Flavonoitler	Hiperozit (R: β -D-galaktopiranoziloksi)	(70)
Diğer Flavonoitler	Kemferol, Kersitrin	(70)
Alkaloitler	Damascenin	(74)



2.3. Türlerin Kullanılışları

Silybum marianum

Kronik ve dejeneratif karaciğer rahatsızlıkları ve hazımsızlık şikayetlerinde kullanılır (75, 76, 77, 78).

Achillea millefolium

Antienflamatuvar, spazmolitik, koleretik ve emanogog etkilerinden dolayı; dahili olarak, safra kesesi ve karaciğer rahatsızlıkları ile birlikte gastrointestinal sistem rahatsızlıkları ve menstrüel ağrılarda ve adet söktürücü olarak (32, 35, 79), harici olarak yara iyi edici olarak hemoroit kanamalarında, enflamasyonlu cilt ve mukoza rahatsızlıklarında, terlemeyi önleyici olarak banyo şeklinde ve kadınlarda pelvis bölgesinin ağrılı ve kramplı durumlarında oturma banyosu olarak kullanılır (18, 32, 80).

Achillea filipendulina

Su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağının antibakteriyel etkisi bulunmaktadır (24).

Echinacea purpurea

İmmünostimülan, antienflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antikanser ve sikatrizan etkilerinden dolayı (81) soğuk algınlığında destekleyici tedavi olarak, ağız ve yutak, üriner yollar, üst solunum yolları enfeksiyonlarında, harici olarak enflamasyonlu cilt yanığı ve yaralarında kullanılır (17, 82).

Mentha piperita

Gıda ve koku verici olarak kullanılan bitki ve uçucu yağı halk arasında dahili olarak, soğuk algınlığının semptomatik tedavisinde, mide bulantılarında, gaz söktürücü ve antiseptik olarak kullanılır (13, 82).

Uçucu yağı ayrıca harici olarak soğuk algınlığında rahatlatıcı, gerilim tipi baş ağrılarında, pruritus, romatizmal ağrılarda ve ürtikerde kullanılır (82).

Salvia officinalis

Halk arasında gaz söktürücü ve üst solunum yolları rahatsızlıklarında (stomatit, gingivitis, faranjit) antiseptik olarak kullanılır (13, 82).

Nigella sativa

Dahili olarak, süt artırıcı, iştah açıcı, adet söktürücü (13), gebeliği sonlandırmada, karın ağrılarında ve kulak ağrılarında, harici olarak, soğuk algınlığında göğüse sarılarak kullanılır (83-85).

Nigella damascena

Balgam söktürücü olarak veya yağı parfüm endüstrisinde kullanılır (86).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyal

Silybum marianum, *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Echinacea purpurea*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Nigella sativa*, *N. damascena* kültür bitkileri Konya Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tıbbi Bitkiler Anabilim Dalı'na ait kültür sahasında yetiştirilmiş ve ilgili bölümden satın alma yoluyla temin edilmiştir.

Tezde kullanılan diğer bitki materyalleri ve bitkisel ürünler rastgele olarak yurtiçi ve yurtdışı piyasadan (eczane, aktar, market, bitkisel ürün satan mağazalardan) satın alınmıştır.

Hasat sonrası işlemler

Kültür bitkileri kullanılmadan önce kuru olarak ve sonrasında yıkanarak üzerlerindeki toprak ve diğer tüm yabancı maddeler uzaklaştırılmıştır.

Kısımlara ayırma

Temizlenmiş bitkilerin kullanılacak kısımları belirlenmiş ve buna göre yaprakları, çiçekli üst kısımları, toprak üstü kısımları, meyveleri, tohumları olarak ayrılmıştır. Bu ayırma işleminde bazı bitkilerde Avrupa farmakopesi esas alınmıştır. Buna göre *Silybum marianum*'un meyvaları, *Echinaceae purpurea*'nın çiçekli toprak üstü kısımları, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis*'in yaprakları, *Achillea millefolium*'un çiçekli üst kısımları ayrılmıştır. Diğer bitkilerde drog olarak kullanılan kısımlar ayrılmıştır. Buna göre *Achillea filipendulina*'nın çiçekli üst kısımları, *Nigella sativa* ve *N. damascena*'nın tohumları kullanılmıştır.

Kurutma:

Tüm bitkiler gölgede, nemli olmayan izole bir ortamda sürekli kontrol altında kurutulmuştur.

Toz etme:

Kullanılacak yöntemlerde daha önceden belirlenmiş olan miktarlarda kuru droglar, küçük ölçekli bir değirmende ihtiyaç oldukça gerekli miktarlarda toz edilerek kullanılmıştır. Tezde kullanılan ve piyasadan toplanan değişik formdaki (kapsül, tablet vb..) bitkisel ürünler ise doğrudan kullanılmıştır.

3.2. Kimyasal Malzemeler**Katı maddeler**

2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (Sigma), Sülfanilamid (Sigma), Sodyum Nitroprussid Dihidrat (Sigma), N- (1-Naftil) Etilendiamindihidroklorid (Sigma), Potasyum persülfat (Sigma), 2,2-Azino-bis (3-Etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) (Sigma), 6-Hidroksi-2,5,7,8-Tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Sigma), Askorbik asit (Sigma), Troloks (Sigma), sodyum fosfat (Sigma).

Solvanlar

t-butanol (Carlo Erba), metanol (Merck), etanol (Sigma, Merck), fosforik asit (Merck), Asetonitril (Merck).

Diğer Kimyasallar

MMP-1 enzimi (abcam), MMP-8 enzimi (abcam), MMP-13 enzimi (abcam), MMP substratı (abcam), MMP inhibitörü (abcam), kolorimetrik deney tamponu (abcam).

Revelatörler

Vanilin/H₂SO₄ : Vanilin'in derişik sülfürik aitteki % 1'lik çözeltisi. Püskürtüldükten sonra plak 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılır

3.3. Kullanılan Aletler ve Gereçler

Tablo 3.1. Tezde kullanılan alet ve gereçler

Liyofilizatör	: Virtis Benchtop K
PH-metre	: Hanna pH 211
Rotavapor	: Buchi R-210
Ultrasonik Banyo	: Transsonic 570
UV Lamba	: Camag
UV spektrofotometre ve mikroplaka okuyucu	: BIO-TEK, µQuant (MXQ 200)
Derin dondurucu	: Nuve DF290
Mono distile saf su cihazı	: Gesellschaft Für Labortechnik (GFL) 2004
HPLC sistemi	Dionex HPLC Sistemi
HPLC kolonu	ACE 5 C18 (250mm x 4mm x 6µm)
Hassas terazi	Sartorius TE2141S
Etüv	Elektro Mag M 5040
Çeker ocak	Tez-San
Kompresör	Herkules
pH metre	Cyberscan 510
Kromatografi tankı	Camag (cam küvet, 22x23x8 cm)
Magnetik karıştırıcı	Virtis 145 Mr Ba

3.4. Ekstraksiyon

3.4.1. Avrupa Farmakopesi'nde Yer Alan Ekstraksiyon Yöntemleri:

Ekstraksiyon yöntemi olarak *Echinaecea purpurea* için Avrupa Farmakopesi'nde yer alan özel bir yöntem kullanıldı. Bunun sebebi klorojenik asit üzerinden kikorik asit ve kaftarik asit hesaplamaya yönelik olarak bir formül ve katsayının belirtilmiş olmasıydı. Burada miktar tayini yaparken bu formülü kullanabilmek amacıyla ekstraksiyon yöntemi de birebir aynı olarak gerçekleştirildi. Diğer bitkilerde ise ortak olarak mümkün olan en kolay ve hızlı bir yöntem uygulandı. Buna göre ekstraksiyonlar şu şekilde gerçekleştirildi;

Echinacea purpurea

0,5 g drog toz edilerek drog üzerine 80 mL % 70'lik etanol ilave edildi. Ultrasonik banyoda 15 dakika bekletildikten sonra aynı solvan ile 100 mL ye tamamlandı. Çözünmeyen kısımların çökmesi için dinlenmeye bırakıldı. Daha sonra süzüldü ve süzüntü numune olarak kullanıldı.

3.4.2. Diğer Ekstraksiyon Yöntemleri

Silybum marianum meyvaları, *Achillea millefolium* ve *A. filipendulina* çiçekli üst kısımları, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis* yaprakları, *Nigella sativa* ve *N. damascena* tohumları toz edilmiş drogları ve piyasadan temin edilen değişik formlardaki (kapsül, tablet vb..) ürünler basit olarak 2 g (veya 2 grama denk gelecek şekilde ekstre) tartıldı ve 2 şer kez 25 mL metanol ile geri çeviren soğutucu altında 30 °C sıcaklıkta 30 dakika ekstre edildi. Süzülükten sonra birleştirilen süzüntülerin metanolleri rotavaporda kuruluğa kadar uçurulduktan sonra liyofilize edildi.

3.5. Matriks Metalloproteinaz İnhibitör Aktivite Çalışmaları

Tüm aktivite çalışmalarında kolorimetrik olarak sonuçların güvenilirliği açısından ekstrelerin kullanılan konsantrasyonlarının boş olarak absorbansları ölçülmüş ve hesaplamalarda bu absorbanslar bertaraf edilerek sonuçlar belirlenmiştir.

3.5.1. MMP-1 İnhibitör Aktivite Tayini

Çalışmada uygulanan prosedür satın alınan kolorimetrik deney kiti esas alınarak belirlenmiştir.

Deney kiti içerisinde bulunan; 96'lık mikrolaka, MMP-1 enzimi (30,6 U/ μ L), MMP inhibitörü (1,3 mM NNGH, DMSO içinde), MMP substrat (25 mM, DMSO içinde) kolorimetrik deney tamponu deneyin yapılacağı zamana kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Deney başlamadan hemen önce kit bileşenleri oda ısısında bekletilmiş ve çözünmesi sağlanmıştır. Kit bileşenlerinden MMP-1 enzimi mikrolakada bulunan her bir kuyucukta 20 μ L kullanılmıştır. Prosedür gereği kullanılmadan önce enzim tamponla 1/40 oranında seyreltilmiş ve deneyden hemen önce 37 °C'ye kadar getirilmiştir. Aynı şekilde inhibitör tamponla 1/200, substrat 1/25 (her kuyucuk için 10 μ L) oranında seyreltilerek deney sırasında 37 °C'ye kadar getirilmiştir. Deneyde kullanılacak kit bileşenleri de 96'lık mikrolakada 37 °C'ye getirildikten sonra örnekler kuyucuklara konmaya başlanmıştır. Kör olarak kullanılacak kuyucuğa tampon, kontrol olarak kullanılacak kuyucuğa tampon, enzim, standart olarak kullanılacak kuyucuğa da tampon, enzim, inhibitör eklenmiştir. Test edilecek numuneler farklı konsantrasyonlarda tampon kullanılarak hazırlanmış, kuyucuklara konulmuş ve üzerine enzim ilave edildikten sonra 60 dakika 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda kuyucukların hepsine substrat eklendikten sonra 20 dakika boyunca UV spektrofotometre mikrolak okuyucu kullanılarak 412 nm'de peşpeşe absorbans ölçümleri yapılmıştır. Enzim ve substratın birbiriyle etkileşmesi sonucu ortaya çıkan sarı rengin şiddeti aktivitenin arttığı kuyucuklarda daha az olarak gözlemlenmiştir.

Bu absorbans değerleri kullanılarak yapılan % inhibisyon hesabı için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = ((\text{Abs}_{\text{Skör}} - \text{Abs}_{\text{Numune}}) / \text{Abs}_{\text{Skör}}) \times 100$$

3.5.2. MMP-8 İnhibitör Aktivite Tayini

Çalışmada uygulanan prosedür satın alınan kolorimetrik deney kiti esas alınarak belirlenmiştir.

Deney kiti içerisinde bulunan; 96'lık mikrolaka, MMP-8 enzimi (9,2 U/ μ L), MMP inhibitörü (1,3 mM NNGH, DMSO içinde), MMP substrat (25 mM, DMSO içinde), kolorimetrik deney tamponu deneyin yapılacağı zamana kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Deney başlamadan hemen önce kit bileşenleri oda ısısında bekletilmiş ve çözünmeleri sağlanmıştır. Kit bileşenlerinden MMP-8 enzimi mikrolakada bulunan her bir kuyucukta 20 μ L kullanılmıştır. Prosedür gereği kullanılmadan önce enzim tamponla 1/100 oranında seyreltilmiş ve deneyden hemen önce 37 °C'ye kadar getirilmiştir. Aynı şekilde inhibitör tamponla 1/200, substrat 1/25 (her kuyucuk için 10 μ L) oranında seyreltilerek deney sırasında 37 °C'ye kadar getirilmiştir. Deneyde kullanılacak kit bileşenleri de 96'lık mikrolakada 37 °C'ye getirildikten sonra örnekler kuyucuklara konmaya başlanmıştır. Kör olarak kullanılacak kuyucuğa tampon, kontrol olarak kullanılacak kuyucuğa tampon, enzim, standart olarak kullanılacak kuyucuğa da tampon, enzim, inhibitör eklenmiştir. Test edilecek numuneler farklı konsantrasyonlarda tampon kullanılarak hazırlanmış, kuyucuklara konulmuş ve üzerine enzim ilave edildikten sonra 60 dakika 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda kuyucukların hepsine substrat eklendikten sonra 20 dakika boyunca UV spektrofotometre mikrolak okuyucu kullanılarak 412 nm'de peşpeşe absorbans ölçümleri yapılmıştır. Enzim ve substratın birbiriyle etkileşmesi sonucu ortaya çıkan sarı rengin şiddeti aktivitenin arttığı kuyucuklarda daha az olarak gözlemlenmiştir.

Bu absorbans değerleri kullanılarak yapılan % inhibisyon hesabı için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = ((\text{Abs}_{\text{Skör}} - \text{Abs}_{\text{Numune}}) / \text{Abs}_{\text{Skör}}) \times 100$$

3.5.3. MMP-13 İnhibitör Aktivite Tayini

Çalışmada uygulanan prosedür satın alınan kolorimetrik deney kiti esas alınarak belirlenmiştir.

Deney kiti içerisinde bulunan; 96'lık mikrolaka, MMP-13 enzimi (3,45 U/ μ L), MMP inhibitörü (1,3 mM NNGH, DMSO içinde), MMP substrat (25 mM, DMSO içinde) kolorimetrik deney tamponu deneyin yapılacağı zamana kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Deney başlamadan hemen önce kit bileşenleri oda ısısında bekletilmiş ve çözünmesi sağlanmıştır. Kit bileşenlerinden MMP-13 enzimi mikrolakada bulunan her bir kuyucukta 20 μ L kullanılmıştır. Prosedür gereği kullanılmadan önce enzim tamponla 1/100 oranında seyreltilmiş ve deneyden hemen önce 37 °C'ye kadar getirilmiştir. Aynı şekilde inhibitör tamponla 1/200, substrat 1/25 (her kuyucuk için 10 μ L) oranında seyreltilerek deney sırasında 37 °C'ye kadar getirilmiştir. Deneyde kullanılacak kit bileşenleri de 96'lık mikrolakada 37 °C'ye getirildikten sonra örnekler kuyucuklara konmaya başlanmıştır. Kör olarak kullanılacak kuyucuğa tampon, kontrol olarak kullanılacak kuyucuğa tampon, enzim, standart olarak kullanılacak kuyucuğa da tampon, enzim, inhibitör eklenmiştir. Test edilecek numuneler farklı konsantrasyonlarda tampon kullanılarak hazırlanmış, kuyucuklara konulmuş ve üzerine enzim ilave edildikten sonra 60 dakika 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda kuyucukların hepsine substrat eklendikten sonra 20 dakika boyunca UV spektrofotometre mikrolak okuyucu kullanılarak 412 nm'de peşpeşe absorbans ölçümleri yapılmıştır. Enzim ve substratın birbiriyle etkileşmesi sonucu ortaya çıkan sarı rengin şiddeti aktivitenin arttığı kuyucuklarda daha az olarak gözlemlenmiştir.

Bu absorbans değerleri kullanılarak yapılan % inhibisyon hesabı için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = ((\text{Abs}_{\text{kör}} - \text{Abs}_{\text{numune}}) / \text{Abs}_{\text{kör}}) \times 100$$

3.6. Güneşten Koruyucu Faktör Tayini

Güneşten koruyucu faktör SPF (Sun Protection Factor) bir bileşik ya da ekstrenin güneşin zararlı ışınlarından koruma kapasitesini gösteren bir değerdir. Bu faktörün hesaplanmasında kolorimetrik bir yöntem kullanılmıştır. Tez bitkilerimizden *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Achillea millefolium* ve *A. filipendulina* bitkilerinin metanollü ekstreleri test edilmiştir.

Test edilecek örnekler 200 ve 100 ppm lik konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Bunun için öncelikle 1000 ppm'lik konsantrasyonda ekstreler hazırlanmış ve etanol kullanılarak 200 ve 100 ppm konsantrasyonlara geçiş yapılmıştır. Çalışmada kör olarak sadece etanol kullanılmıştır. Test edilecek örnekler hazırlandıktan sonra absorpsiyon spektrumları 1 cm kuvars hücrelerde ölçülmüştür. Ölçüm işlemi 290 nm den başlayarak 320 nm'ye kadar yapılmış ölçümler 3 kez tekrarlanmıştır.

Tüm ölçme işlemleri tamamlandıktan sonra elde edilen absorbans değerleri Mansur eşitliğinde yerine konarak SPF değerleri hesaplanmıştır (87, 88).

$$SPF_{\text{spektrofotometrik}} = CF \times \sum EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

EE= Eritemal etki spektrumu

I= güneş yoğunluğu spektrumu

CF= doğrulama faktörü

Abs= absorbans

3.7. Antioksidan Kapasite Tayini

3.7.1. DPPH Radikalini Süpürücü Kapasite Tayini

DPPH koyu menekşe renkli, kararlı bir azot radikalidir. Bu radikali süpürerek antioksidan kapasitesi belirlenecek ekstre veya saf bileşiklerin bu radikali indirgemesi sonucu koyu menekşe renginde açılma meydana gelir. Bu çalışmada test edilecek örneklerin indirgeyici kapasitelerinden yola çıkılarak, renk şiddeti üzerinde

oluşturdukları değişim spektrofotometrik olarak tespit edilmiş ve askorbik asitin etkisi ile karşılaştırılmıştır (89-91).

3.4.1 ve 3.4.2’de belirtilen şekilde hazırlanan ekstrelerin, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL metanoldeki konsantrasyonları hazırlanmıştır. Standart olarak kullanılan askorbik asitin 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda metanoldeki çözeltileri hazırlanmıştır. Kör olarak metanol ve DPPH kullanılmıştır.

Standart ve ekstrelerin % DPPH süpürücü kapasiteleri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\text{DPPH süpürücü kapasite (\%)} = \frac{(A_{\text{Skör}} - A_{\text{Snumune}})}{A_{\text{Skör}}} \times 100$$

Bu değerler hesaplandıktan sonra konsantrasyona karşı % radikal süpürücü kapasite grafikleri çizilmiş ve eğilim çizgisi belirlenmiştir. Bu grafik ve eğilim çizgisi formülünden faydalanarak askorbik asit ve ekstrelerin IC₅₀ değerleri hesaplanarak karşılaştırma yapılmıştır.

3.7.2. Nitrik Oksit Radikalini Süpürücü Kapasite Tayini

Deneyde, ortamda bulunan Nitrik oksit radikali ile antioksidan özelliğe sahip bir madde ya da ekstrenin etkileşmesi sonucunda, nitrit oksit konsantrasyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesi esas alınmıştır.

Nitrit oksit radikali oluşturmak için sodyum nitroprussid kullanılmıştır. Sodyum nitroprussid, çalışmada kullanılacak miktar hesaplandıktan sonra buz dolabında muhafaza edilen fosfat tamponu çözeltisi (PBS) ile çözeltisi hazırlanmıştır.

Tayin için gerekli diğer bir bileşen ise Griess reaktifidir. Taze olarak hazırlanmalıdır (92). İçeriğindeki maddeler şunlardır:

Sülfanilamid	: % 1
Naftiletilediamin dihidroklorid	: % 0,1
Fosforik asit	: % 2,5
Distile su ile tamamla	: 100 mL

3.4.1 ve 3.4.2’de belirtilen şekilde hazırlanan ekstrelerin 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonları distile su ile hazırlanmıştır. Standart olarak kullanılan askorbik asit aynı şekilde distile su ile seyreltilerek 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır. Kör olarak distile su, griess reaktifi ve sodyum nitroprussid karışımı kullanılmıştır.

96’lık mikropak içerisindeki kuyucuklara 60 ar µL kör ve hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki ekstre ve standartlar eklenmiş üzerlerine 60 ar µL sodyum nitroprussid çözeltisi eklenmiş ve 150 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra taze hazırlanan griess reaktifinden 120’şer µL kuyucuklara eklenerek 577 nm’de absorbansları ölçülmüştür.

Standart ve ekstrelerin % NO radikalini süpürücü kapasiteleri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\text{NO süpürücü kapasite (\%)} = \frac{(A_{\text{Skör}} - A_{\text{Snumune}})}{A_{\text{Skör}}} \times 100$$

Bu değerler hesaplandıktan sonra konsantrasyona karşı % radikal süpürücü kapasite grafikleri çizilmiş ve eğilim çizgisi belirlenmiştir. Bu grafik ve eğilim çizgisi formülünden faydalanarak askorbik asit ve ekstrelerin IC₅₀ değerleri hesaplanarak karşılaştırma yapılmıştır.

3.7.3. ABTS Radikalini Süpürücü Kapasite Tayini

ABTS (2,2’-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) ile antioksidan bir bileşik ya da ekstre muamele edildiğinde oluşan spektrofotometrik dekolorizasyonun ölçülmesiyle radikal süpürücü kapasite belirlenir. ABTS⁺⁺ radikali oluşturmak için:

ABTS	7mM	2mL distile su
Potasyum persülfat	2,45 mM	2mL distile su

Bu karışım 16 saat karanlıkta bekletilerek ABTS'nin oksidasyonu sağlanmış ve ABTS⁺⁺ radikali oluşturulmuştur. Oluşan radikal 734 nm'de $0,7 \pm 0,05$ absorbans verene kadar etanolle seyreltilmiştir.

3.4.1 ve 3.4.2'de belirtilen şekilde hazırlanan ekstrelerin 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonları etanolle hazırlanmıştır. Standart olarak kullanılan troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) aynı şekilde etanol ile seyreltilerek 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır. Kör olarak etanol ve ABTS⁺⁺ radikali kullanılmıştır.

96'lık mikroplak içerisindeki kuyucuklara 50'şer µL kör, hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki ekstre ve standartlar eklenmiş üzerlerine 130'ar µL ABTS⁺⁺ radikali eklenmiş ve 6 dakika 24 °C'de bekletilmiştir. Daha sonra 734 nm'de absorbansları ölçülmüştür.

Standart ve ekstrelerin % ABTS⁺⁺ radikalini süpürücü kapasiteleri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\text{ABTS}^{++} \text{ süpürücü kapasite (\%)} = \frac{(\text{Abs}_{\text{kör}} - \text{Abs}_{\text{numune}})}{\text{Abs}_{\text{kör}}} \times 100$$

Bu değerler hesaplandıktan sonra konsantrasyona karşı % radikal süpürücü kapasite grafikleri çizilmiş ve eğilim çizgisi belirlenmiştir. Bu grafik ve eğilim çizgisi formülünden faydalanarak ekstrelerin TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) değerleri hesaplanmıştır (93-94).

3.7.4. Total Antioksidan Kapasite Tayini

Fenolik bileşiklerin asit ortamda molibdeni indirgemesi esasına dayanmaktadır (95). Kullanılan fosfomolibdat reaktifinin hazırlanışı şu şekildedir:

0,6 M	H ₂ SO ₄	100 mL
4mM	amonyum molibdat	100 mL
28 mM	sodyum fosfat	100 mL

3.4.1 ve 3.4.2’de belirtilen şekilde hazırlanan ekstrelerin 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonları metanolle hazırlanmıştır. Standart olarak kullanılan askorbik asit aynı şekilde metanol ile seyreltilerek 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır. Kör olarak metanol ve fosfomolibdat reaktifi kullanılmıştır.

24’lü plaka içerisindeki kuyucuklara 100’er µL kör için metanol, hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki ekstre ve standartlar eklenmiş üzerlerine 1’er mL fosfomolibdat reaktifi eklenmiştir. Bu işlemden sonra plaka gümüş folyo ile kaplanmış ve 95 °C’lik su banyosunda 90 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra soğutulmuş ve 765 nm’de absorbansları ölçülmüştür.

Standart ve ekstrelerin % total antioksidan kapasiteleri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\text{Total antioksidan kapasite (\%)} = \frac{(A_{\text{Snumune}} - A_{\text{Skör}})}{A_{\text{Skör}}} \times 100$$

Bu değerler hesaplandıktan sonra konsantrasyona karşı % kapasite grafikleri çizilmiş ve eğilim çizgisi belirlenmiştir. Bu grafik ve eğilim çizgisi formülünden faydalanarak ekstrelerin ve standartın IC₅₀ değerleri hesaplanarak karşılaştırma yapılmıştır.

3.7.5. FRAP (Demir-redükleyici antioksidan kapasite) tayini

3.4’te belirtilen şekilde hazırlanan ekstrelerin farklı konsantrasyonları hazırlanmıştır. Bu konsantrasyonlar 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL olarak seçilmiştir. Bu konsantrasyonlar hazırlanırken seyreltme işlemleri metanol ile gerçekleştirilmiştir. Standart olarak kullanılan kersetinin metanoldeki 2,50 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 40 µg/mL, 80 µg/mL, 125 µg/mL, 160 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL, 1000 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır.

Bu çözeltilerin 1 mL’si üzerine 2,5 mL fosfat tamponu (pH:6.6) ve 2,5 mL potasyum ferrisiyanit (K₃Fe(CN)₆) ilave edilmiş 50 °C’de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Sürenin sonunda 2,5 mL TCA (trikloroasetik asit) ilave edilmiş ve

kuvvetlice çalkalanmıştır. Daha sonra çözeltiliden 2,5 mL alınmış ve üzerine 2,5 mL distile su ve 0,5 mL FeCl₃ (% 0,1 a/h) ilave edilmiştir.

Örneklerin demir-redükleyici antioksidan kapasiteleri 700 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüm yapılarak belirlenmiştir (96-97).

Bu değerler hesaplandıktan sonra konsantrasyona karşı absorbans grafikleri çizilmiş ve eğilim çizgisi belirlenmiştir. Bu grafik ve eğilim çizgisi formülünden faydalanarak ekstrelerin KEAK (Kersetin Ekivalan Antioksidan Kapasite) değerleri hesaplanmıştır.

3.7.6. CUPRAC (Bakır Redükleyici Antioksidan Kapasite) tayini

3.4'te belirtilen şekilde hazırlanan ekstrelerin farklı konsantrasyonları hazırlanmıştır. Bu konsantrasyonlar 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL olarak seçilmiştir. Bu konsantrasyonlar hazırlanırken seyreltme işlemleri metanol ile gerçekleştirilmiştir. Standart olarak kullanılan gallik asit aynı şekilde metanol ile seyreltilerek 2,50 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 40 µg/mL, 80 µg/mL, 125 µg/mL, 160 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL, 1000 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır.

1 mL CuCl₂ çözeltisi, 1mL neokuprin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) ve 1mL amonyum asetat (CH₃COONH₄) tamponu (pH:7) karıştırılmış ve üzerine ekstrelerden veya standarttan 0,5 mL eklenmiştir. 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakılan örneklerin daha sonra 450 nm'de absorbans ölçümleri yapılmıştır (98).

Bu değerler hesaplandıktan sonra konsantrasyona karşı absorbans grafikleri çizilmiş ve eğilim çizgisi belirlenmiştir. Bu grafik ve eğilim çizgisi formülünden faydalanarak ekstrelerin GAEAK (Gallik Asit Ekivalan Antioksidan Kapasite) değerleri hesaplanmıştır.

3.8. Fitokimyasal Çalışmalar

3.8.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Çalışmada standart maddeler ve ekstraların genel profillerinin tayini için İTK yapılmıştır.

Adsorban: Normal faz (Alüminyum hazır plak, Kieselgel 60 F₂₅₄, 0,20 mm, Merck, Art. 5554).

Revelatör: Vanilinün sülfürik asitteki %1'lik çözeltisi

Lekelerin belirlenmesi: UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm lamba.

Isıtma: 105 °C'de 1-2 dakika

Sürüklenme mesafesi: 7-10 cm

3.8.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Tez kapsamındaki tüm HPLC çalışmaları (parmak izi analizleri, miktar tayini ve validasyon çalışmaları) Dionex HPLC sistemi ile yürütülmüştür.

Adsorban : LiChroprep C-18 (40-63 µm, Merck)

Kolon : ACE 5 C18 (250mm x 4mm x 6µm)

Enjektör : Rheodyne

Pompa : Dionex

Akış hızı : , 0,8, 1,2, 1 ml/dk

Basınç : 50-300 bar

Yöntem : *Silybum marianum* Tablo. 3.4.

Achillea millefolium Tablo. 3.7.

Achillea filipendulina Tablo. 3.8.

Echinacea purpurea Tablo. 3.3.

Mentha piperita Tablo. 3.5.

Salvia officinalis Tablo. 3.6.

Nigella sativa Tablo 3.9.

Nigella damascena Tablo 3.10.

Tablo 3.2. Kromatografik yöntemlerde kullanılan solvan sistemleri

Solvan sistemi	Kromatografik Yöntem	Bitki
CHCl ₃ -MeOH-H ₂ O (80:20:2)	İTK, Prep. İTK	<i>Silybum marianum</i> <i>Echinacea purpurea</i> <i>Achillea millefolium</i> <i>A. filipendulina</i> <i>Nigella sativa</i> <i>N. damascena</i> <i>Salvia officinalis</i> <i>Mentha piperita</i>
CHCl ₃ -MeOH-H ₂ O (70:30:3)	İTK	<i>Silybum marianum</i> <i>Echinacea purpurea</i> <i>Achillea millefolium</i> <i>A. filipendulina</i> <i>Nigella sativa</i> <i>N. damascena</i> <i>Salvia officinalis</i> <i>Mentha piperita</i>
EtOAc- MeOH-H ₂ O (100:17:13)	İTK, Prep. İTK	<i>Silybum marianum</i> <i>Echinacea purpurea</i> <i>Salvia officinalis</i> <i>Mentha piperita</i>
H ₂ O(% 0.1 fosforik asit)-Asetonitril	HPLC	<i>Echinacea purpurea</i> <i>Achillea millefolium</i> <i>A. filipendulina</i> <i>Nigella sativa</i> <i>N. damascena</i>
%0,5 fosforik asit içeren % 35 MeOH	HPLC	<i>Silybum marianum</i>
%0,5 fosforik asit içeren % 50 MeOH	HPLC	<i>Silybum marianum</i>
Fosforik asit:asetonitril:su (1:19:80)	HPLC	<i>Salvia officinalis</i> <i>Mentha piperita</i>
Fosforik asit:metanol:asetonitril (1:40:59)	HPLC	<i>Salvia officinalis</i> <i>Mentha piperita</i>

Standartların Kalibrasyonu

Standart olarak seçilen klorojenik asit, ekinakozit, silibinin, rozmarinik asit tartıldıktan sonra metanolde çözülerek 100, 75, 50, 40, 25, 10, 5, 1, 0,5, 0,1 ve 0,05 ppm'lik konsantrasyonda çözeltileri hazırlanmış, her standart kendine ait uygun metotlarla HPLC sisteminde analiz edilmiştir.

Echinacea purpurea

Aşağıdaki tabloda yer alan solvan sistemi ile ayırım gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.3. *Echinaceae purpurea* HPLC elüsyon profili

	A	B
	Fosforik asitli su (pH:2,5)	(Asetonitril)
0 dk.	90	10
13 dk.	88	22
14 dk.	60	40
20 dk.	60	40
25 dk.	20	80
30 dk.	90	10
35 dk.	90	10

Akış Hızı: 1 mL / dk

Enjeksiyon Hacmi: 10 µL

Kolon: ACE 5 C18 (250mm x 4mm x 6µm)

Sıcaklık: 30 °C

Dedektör: UV 330

Hareketli fazın hazırlanması: Fosforik asit eklenmiş çözeltinin pH'sı kolonun yapısını bozmaması için 2,4 e ayarlanmıştır. Solvan sistemleri kullanılmadan önce süzölmüş ve ultrasonik banyoda 20 dakika bekletilmiştir.

Standart maddelerin hazırlanması: Ekinakozit ve klorojenik asit 1mg/1mL olarak hazırlanmış, daha sonra ihtiyaca göre değişik konsantrasyonlara geçiş yapılmıştır.

Ekstrelerin hazırlanması: Ekstreler 3.4.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

Silybum marianum

Aşağıdaki tabloda yer alan solvan sistemi ile ayırım gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.4. *Silybum marianum* HPLC elüsyon profili

	A % 35 metanol + fosforik asit (pH:2,5)	B % 50 metanol + fosforik asit (pH:2,5)
0 dk.	100	0
28 dk.	0	100
35 dk.	0	100
36 dk.	100	0
51 dk.	100	0

Akış Hızı: 0,8 mL / dk

Enjeksiyon Hacmi: 10 µL

Kolon: ACE 5 C18 (250mm x 4mm x 6µm)

Sıcaklık: 30 °C

Dedektör: UV 288

Hareketli fazın hazırlanması: Fosforik asit eklenmiş çözeltinin pH'sı kolonun yapısını bozması için 2,4 e ayarlanmıştır. Solvan sistemleri kullanılmadan önce süzölmüş ve ultrasonik banyoda 20 dakika bekletilmiştir.

Standart maddelerin hazırlanması: Silibinin 1mg/1mL olarak hazırlanmış sonra ihtiyaca göre değişik konsantrasyonlara geçiş yapılmıştır.

Ekstrelerin hazırlanması: Ekstreler 3.4.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

Mentha piperita

Aşağıdaki tabloda yer alan solvan sistemi ile ayırım gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.5. *Mentha piperita* HPLC elüsyon profili

	A asetonitril:su (19:80) +Fosforik asit - pH:2,5	B metanol:asetonitril (40:59) +Fosforik asit - pH:2,5
0 dk.	90	10
13 dk.	88	22
14 dk.	60	40
20 dk.	60	40
25 dk.	20	80
30 dk.	90	10
35 dk.	90	10

Akış Hızı: 1,2 mL / dk

Enjeksiyon Hacmi: 10 µL

Kolon: ACE 5 C18 (250mm x 4mm x 6µm)

Sıcaklık: 30 °C

Dedektör: UV 330

Hareketli fazın hazırlanması: Fosforik asit eklenmiş çözeltinin pH'sı kolonun yapısını bozmaması için 2,4 e ayarlanmıştır. Solvan sistemleri kullanılmadan önce süzölmüş ve ultrasonik banyoda 20 dakika bekletilmiştir.

Standart maddelerin hazırlanması: Rozmarinik asit 1mg / 1mL olarak hazırlanmış sonra ihtiyaca göre değişik konsantrasyonlara geçiş yapılmıştır.

Ekstrelerin hazırlanması: Ekstreler 3.4.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

Salvia officinalis

Aşağıdaki tabloda yer alan solvan sistemi ile ayırım gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.6. *Salvia officinalis* HPLC elüsyon profili

	A asetonitril:su (19:80) +Fosforik asit - pH:2,5	B metanol:asetonitril (40:59) +Fosforik asit - pH:2,5
0 dk.	90	10
13 dk.	88	22
14 dk.	60	40
20 dk.	60	40
25 dk.	20	80
30 dk.	90	10
35 dk.	90	10

Akış Hızı: 1,2 mL / dk

Enjeksiyon Hacmi: 10 µL

Kolon: ACE 5 C18 (250mm x 4mm x 6µm)

Sıcaklık: 30 °C

Dedektör: UV 330

Hareketli fazın hazırlanması: Fosforik asit eklenmiş çözeltinin pH'sı kolonun yapısını bozmaması için 2,4 e ayarlanmıştır. Solvan sistemleri kullanılmadan önce süzölmüş ve ultrasonik banyoda 20 dakika bekletilmiştir.

Standart maddelerin hazırlanması: Rozmarinik asit 1mg / 1mL olarak hazırlanmış sonra ihtiyaca göre değişik konsantrasyonlara geçiş yapılmıştır.

Ekstrelerin hazırlanması: Ekstreler 3.4.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

Achillea millefolium

Aşağıdaki tabloda yer alan solvan sistemi ile ayırım gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.7. *Achillea millefolium* HPLC elüsyon profili

	A (%0,1 Fosforik asitli su)	B (Asetonitril)
0 dk.	90	10
13 dk.	78	22
20 dk.	70	30
30 dk.	60	40
38 dk.	20	80
40 dk.	90	10
45 dk.	90	10

Akış Hızı: 1 mL / dk

Enjeksiyon Hacmi: 10 µL

Kolon: ACE 5 C18 (250mm x 4mm x 6µm)

Sıcaklık: 30 °C

Dedektör: UV 330

Hareketli fazın hazırlanması: Fosforik asit eklenmiş çözeltinin pH'sı kolonun yapısını bozmaması için 2,4 e ayarlanmıştır. Solvan sistemleri kullanılmadan önce süzölmüş ve ultrasonik banyoda 20 dakika bekletilmiştir.

Standart maddelerin hazırlanması: Standart kullanılmadı.

Ekstrelerin hazırlanması: Ekstreler 3.4.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

Achillea filipendulina

Aşağıdaki tabloda yer alan solvan sistemi ile ayırım gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.8. *Achillea filipendulina* HPLC elüsyon profili

	A (%0,1 Fosforik asitli su)	B (Asetonitril)
0 dk.	90	10
13 dk.	78	22
20 dk.	70	30
30 dk.	60	40
38 dk.	20	80
40 dk.	90	10
45 dk.	90	10

Akış Hızı: 1 mL / dk

Enjeksiyon Hacmi: 10 µL

Kolon: ACE 5 C18 (250mm x 4mm x 6µm)

Sıcaklık: 30 °C

Dedektör: UV 330

Hareketli fazın hazırlanması: Fosforik asit eklenmiş çözeltinin pH'sı kolonun yapısını bozmaması için 2,4 e ayarlanmıştır. Solvan sistemleri kullanılmadan önce süzölmüş ve ultrasonik banyoda 20 dakika bekletilmiştir.

Standart maddelerin hazırlanması: Standart kullanılmadı.

Ekstrelerin hazırlanması: Ekstreler 3.4.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

Nigella sativa

Aşağıdaki tabloda yer alan solvan sistemi ile ayırım gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.9. *Nigella sativa* HPLC elüsyon profili

	A (%0,1 Fosforik asitli su)	B (Asetonitril)
0 dk.	90	10
13 dk.	78	22
20 dk.	70	30
30 dk.	60	40
38 dk.	20	80
40 dk.	90	10
45 dk.	90	10

Akış Hızı: 1 mL / dk

Enjeksiyon Hacmi: 10 µL

Kolon: ACE 5 C18 (250mm x 4mm x 6µm)

Sıcaklık: 30 °C

Dedektör: UV 330

Hareketli fazın hazırlanması: Fosforik asit eklenmiş çözeltinin pH'sı kolonun yapısını bozmaması için 2,4 e ayarlanmıştır. Solvan sistemleri kullanılmadan önce süzölmüş ve ultrasonik banyoda 20 dakika bekletilmiştir.

Standart maddelerin hazırlanması: Standart kullanılmadı.

Ekstrelerin hazırlanması: Ekstreler 3.4.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

Nigella damascena

Aşağıdaki tabloda yer alan solvan sistemi ile ayırım gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.10. *Nigella damascena* HPLC elüsyon profili

	A (%0,1 Fosforik asitli su)	B (Asetonitril)
0 dk.	90	10
13 dk.	78	22
20 dk.	70	30
30 dk.	60	40
38 dk.	20	80
40 dk.	90	10
45 dk.	90	10

Akış Hızı: 1 mL / dk

Enjeksiyon Hacmi: 10 µL

Kolon: ACE 5 C18 (250mm x 4mm x 6µm)

Sıcaklık: 30 °C

Dedektör: UV 330

Hareketli fazın hazırlanması: Fosforik asit eklenmiş çözeltinin pH'sı kolonun yapısını bozmaması için 2,4 e ayarlanmıştır. Solvan sistemleri kullanılmadan önce süzölmüş ve ultrasonik banyoda 20 dakika bekletilmiştir.

Standart maddelerin hazırlanması: Standart kullanılmadı.

Ekstrelerin hazırlanması: Ekstreler 3.4.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

3.8.3. Yöntemlerin Validasyon Çalışmaları

Kromatografik yöntem koşulları optimize edildikten sonra yöntemin validasyon çalışmaları ICH'e göre yapılmıştır (99).

Sistem Uygunluk Testi

Sistem uygunluğu, enjeksiyon kesinliği, kapasite faktörü, ayırıcılık, teorik tabaka sayısı ve pik asimetri oranına göre değerlendirilmiştir. Test için aynı standart çözeltinin on tekrarlı enjeksiyonu sonucunda elde edilen veriler kullanılmıştır. Analiz sonunda elde edilen değerler, sınır değerler ile karşılaştırılmıştır (Tablo 3.11).

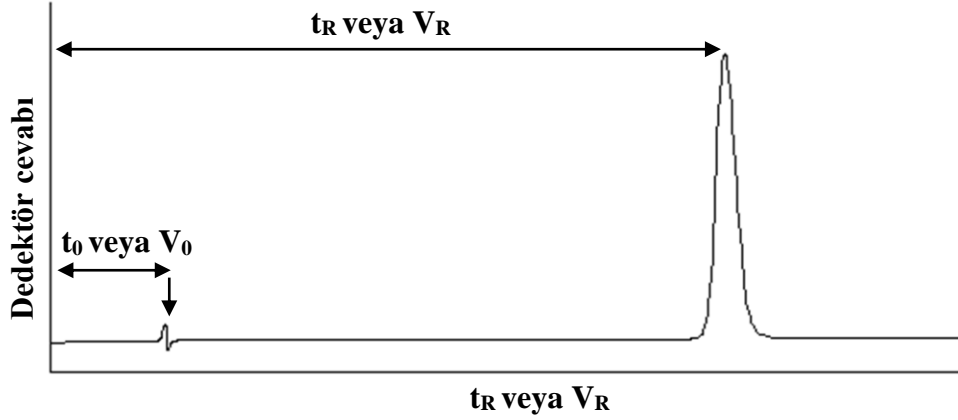
Tablo 3.11. Sistem uygunluk test kriterleri.

Test edilen parametre	Sınır değer
Enjeksiyon kesinliği	$BSS \leq \% 1, n > 5$
Kapasite faktörü (k')	$k' > 2$
Ayırıcılık	$R_s > 1.5$
Asimetri faktörü	≤ 1.5
Teorik tabaka sayısı	$N > 2000$

n: Enjeksiyon sayısı

HPLC çalışmasında enjektörün numuneyi alarak tatbik etmesi ile numunenin dedektör tarafından tespit edildiği ana kadar geçen süreye alıkonma zamanı (t_R) denir. Tatbik edilen standart ya da numune içersinden kolon ile etkileşime girmeyecek olan bileşikler, çok kısa bir alıkonma zamanına sahiptirler ve çok çabuk sinyal verirler. Bu sinyalin süresi ölü hacim V_0 veya t_0 olarak adlandırılır. Bu iki değer ile kapasite faktörü (k') hesaplanır. Her maddenin kendine özgü bir kapasite faktörü vardır (Şekil 3.1).

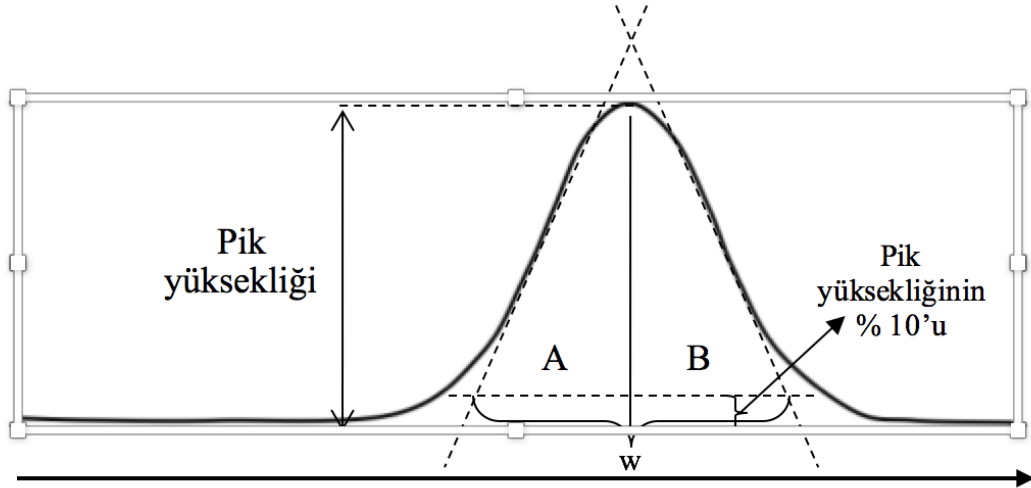
$$k' = (t_R - t_0) / t_0$$



Şekil 3.1. Kapasite faktörü (k') hesaplanması

Kolon etkinliğini gösteren bir parametre olan teorik tabaka sayısı $N = 16 \times (t_R / w)^2$ formülü ile esaplanır

Kolon etkinliği için diğer önemli parametre pik asimetrisidir. Hesaplanması için $As=B/A$ formülü kullanılır (Şekil 3.2).



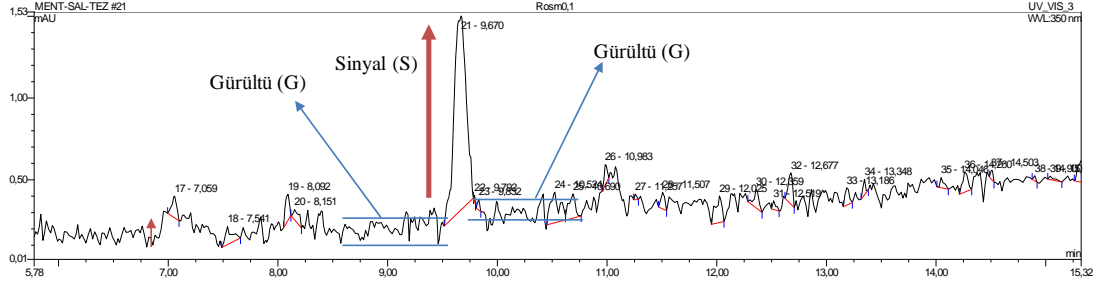
Şekil 3.2. Pik asimetrisi hesaplanması

Kararlılık

Her standart buzdolabında (+4 °C'de) ve oto örnekleyicideki kararlılıklarına göre değerlendirilmiştir. Standartların başlangıçta ve farklı zamanlarda enjekte edildiğinde elde edilen sonuçlar, % bağıl miktarlar hesaplanarak değerlendirilmiştir.

Duyarlılık

Gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ) sinyal/gürültü (S/G) oranının sırasıyla 3 ve 10 olduğu konsantrasyonlar olarak bulunmuştur (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. LOD ve LOQ hesaplanması

Doğrusallık

Kalibrasyon eğrileri en az on ayrı konsantrasyonda standart çözelti eklenerek her bir standart için oluşturulmuştur. Kalibrasyon eğrisi her bir standardın konsantrasyonuna karşı pik alanının grafiğe geçirilmesiyle oluşturulmuştur.

Yöntemlerin doğrusallığı ANOVA testi uygulanarak değerlendirilmiştir. ANOVA testi ile korelasyon katsayısının önemi ve regresyon katsayılarının sıfırdan farklı olup olmadığı değerlendirilmiştir. Ayrıca olması gereken konsantrasyonlara karşı, kalibrasyon verileri kullanılarak bulunan konsantrasyonların grafiğe geçirilerek bir doğru elde edilip edilmemesi ile de yöntem doğrusallığı değerlendirilmiştir.

Kesinlik

Kesinlik çalışmaları için öncelikle cihaz (enjeksiyon) tekrarlanabilirliği çalışması yapılmıştır. Bu amaçla, doğrusal aralık içerisindeki bir konsantrasyon değerinde hazırlanan standart çözeltilerden on enjeksiyon yapılmış ve sistem uygunluk parametreleri değerlendirilmiştir.

Yöntemlerin kesinliği için, gün içi ve günler arası çalışmalar yapılmıştır. Gün içi çalışmalarda, doğrusallık aralığına giren üç farklı konsantrasyon seviyesinde üçer çözelti hazırlanmış ve bu çözeltiler aynı gün içinde analiz edilmiştir. Günler arası

çalışmalar, gün içi çalışmaların aynı şartlarla üç farklı günde tekrarlanması ile yapılmıştır. Kesinlik sonuçları Bağıl Standart Sapma (BSS) değerlerinin hesaplanması ile değerlendirilmiştir.

Doğruluk

Doğruluk, kesinlik çalışmasındaki gibi gün içi ve günler arası çalışmalar yapılarak belirlenmiştir.

Doğruluk, 3 farklı konsantrasyonda (5, 25 ve 50 µg/mL) hazırlanan standartların aynı gün içinde 3 kez ve farklı günlerde 3 kez daha analizi sonucunda olması gereken miktarlar ile elde edilen sonuçların karşılaştırılarak bağıl hata değerlerinin hesaplanması ile değerlendirilmiştir.

Geri Kazanım

Geri kazanım çalışmalarında her bir standart için farklı matrislerden geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

Geri kazanım çalışmaları her bir matris için doğrusallık aralığına giren üç farklı konsantrasyonda gerçekleştirilmiş ve ortalama geri kazanım hesaplanmıştır.

Seçicilik (Özgünlük)

Seçicilik, doğrudan kalibrasyon ve standart ekleme kalibrasyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Her iki kalibrasyon eğrisinden elde edilen eğimler karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Sağlamlık

Sağlamlık çalışmalarında optimum deney koşullarındaki küçük değişikliklerin cevap üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen veriler ANOVA testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.8.4. GC-MS (Gaz Kromatografisi – Kütle Spektrometresi) ile metabolomik analizi

Numune hazırlama

Bitki ekstresi ve standartlar alınarak kuruluğa kadar uçurulur. Üzerine 50 µL 20 mg /mL metoksiamin/piridin eklenir ve 90 dk 30 °C’de inkübe edilir. 80 µL N-metil- N-trimetilsililtrifloroasetamit+%1 trimetilklorosilan eklenerek 30 dk 37 °C’de türevlendirme işlemi gerçekleştirilir. Oda sıcaklığına ulaşıldıktan sonra numuneler GC/MS viallerine aktarılır.

Çalışma Koşulları

GC-MS için optimize edilen çalışma koşulları aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.12. GC-MS için optimize edilen çalışma koşulları

Cihaz	Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra
Kolon	DB5-MS kolon (30 m +10 m ön kolon; 0.25 mm iç çap ve 0.25 µm film kalınlığı)
Fırın sıcaklık programı	60 °C (1 dk), 10 °C/dk ile 325 °C ulaşılır. 10 dk beklenir ve soğutulur.
Analiz süresi	37.5 dk
Enjeksiyon hacmi	1 µL (1:10 bölmeli)
Taşıyıcı gaz	Helyum 1 mL/dk
MSD transfer bölmesi sıcaklığı	290°C
Çözücü delay süresi	5.90 dk
Kütle aralığı	50-650 dalton

Veri analizi

GC-MS analizleri sonucunda elde edilen kompleks kromatogramlar ayrıştırıldıktan sonra piklerin alıkonma zamanları SpectConnect yazılımı kullanılarak

düzeltildi ve verimatrileri oluşturuldu. Metabolitlere ait pikler, alikonma indeksli Fiehn ve Golm Database kütüphaneleri kullanılarak aydınlatılmıştır.

GC-MS temelli metabolomik analizler sonucunda elde edilen veri matrisi SIMCA-P+ programına aktarılarak temel bileşenler analizi (PCA) analizi gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Matriks Metalloproteinaz İnhibitör Aktivite Çalışmaları'na Ait Bulgular

4.1.1. Matriks Metalloproteinaz-1 (MMP-1) İnhibitör Aktivite Bulguları

Achillea millefolium ve *A. filipendulina* çiçekli üst kısımlarının *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis* yapraklarının metanollü ekstrelerinin MMP-1 enzimini inhibe edici etkileri 5 farklı konsantrasyonda (500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL) NNGH ile karşılaştırılarak test edilmiştir.

Tablo 4.1. *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis*'in metanollü ekstrelerinin MMP-1 enzimini inhibisyon yüzdeleri

	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	250 µg/mL	500 µg/mL	1,3µM
<i>Achillea millefolium</i>	67,24	70,32	73,20	77,62	81,27	
<i>A. filipendulina</i>	57,73	63,98	66,95	71,47	78,29	
<i>Mentha piperita</i>	60,04	68,88	72,24	75,31	84,44	
<i>Salvia officinalis</i>	60,13	65,90	70,99	75,79	70,51	
NNGH						90,8

4.1.2. Matriks Metalloproteinaz-8 (MMP-8) İnhibitör Aktivite Bulguları

Achillea millefolium ve *A. Filipendulina* çiçekli üst kısımlarının, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis*'in yapraklarının metanollü ekstrelerinin MMP-8 enzimini inhibe edici etkileri 5 farklı konsantrasyonda (500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL) NNGH ile karşılaştırılarak test edilmiştir.

Tablo 4.2. *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis*'in metanollü ekstrelerinin MMP-8 enzimini inhibisyon yüzdeleri

	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	250 µg/mL	500 µg/mL	1,3µM
<i>Achillea millefolium</i>	71,98	73,34	72,96	74,47	75,30	
<i>A. filipendulina</i>	70,32	71,90	73,19	72,89	62,99	
<i>Mentha piperita</i>	70,62	73,04	76,21	78,25	80,36	
<i>Salvia officinalis</i>	70,85	73,19	77,79	80,51	80,06	
NNGH						93,88

4.1.3. Matriks Metalloproteinaz-13 (MMP-13) İnhibitör Aktivite Bulguları

Achillea millefolium ve *A. filipendulina* çiçekli üst kısımlarının, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis*'in yapraklarının metanollü ekstrelerinin MMP-13 enzimini inhibe edici etkileri 5 farklı konsantrasyonda (500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL) NNGH ile karşılaştırılarak test edilmiştir.

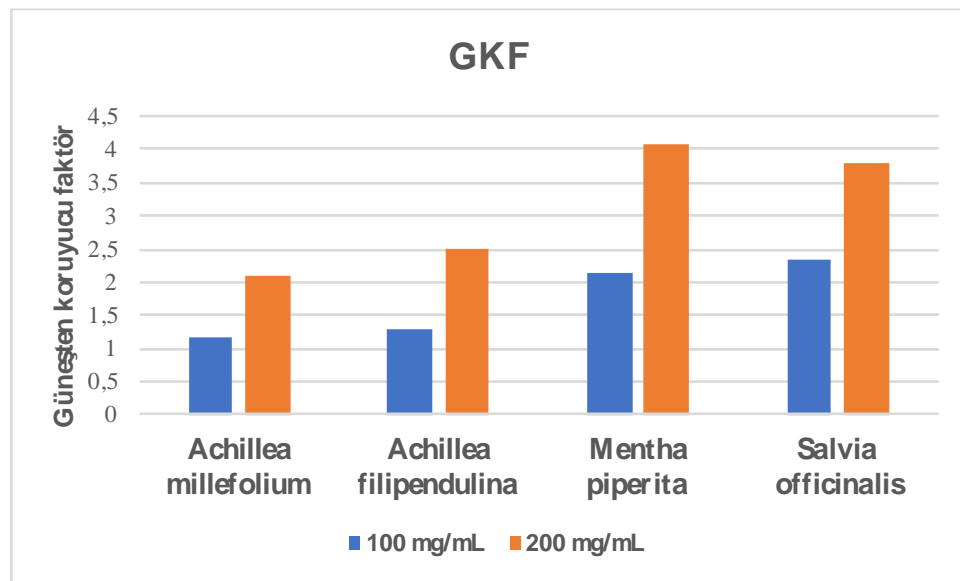
Tablo 4.3. *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis* metanollü ekstrelerinin MMP-13 enzimini inhibisyon yüzdeleri

	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	250 µg/mL	500 µg/mL	1,3µM
<i>Achillea millefolium</i>	80,99	76,39	77,90	83,37	89,20	
<i>A. filipendulina</i>	77,83	76,10	77,32	82,00	84,31	
<i>Mentha piperita</i>	82,72	73,94	90,64	92,73	91,72	
<i>Salvia officinalis</i>	78,83	86,47	85,53	89,27	89,63	
NNGH						91,94

4.2. Güneşten Koruyucu Faktör Çalışmalarına Ait Bulgular

Tablo 4.4. *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis* metanollü ekstrelerinin güneşten koruyucu faktörleri

	100 µg/mL	200 µg/mL
<i>Achillea millefolium</i>	1,16	2,08
<i>A. filipendulina</i>	1,29	2,51
<i>Mentha piperita</i>	2,15	4,08
<i>Salvia officinalis</i>	2,35	3,80



Şekil 4.1. *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis* metanollü ekstrelerinin güneşten koruyucu faktörleri

4.3. Antioksidan Kapasite Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular

4.3.1. DPPH Radikalini Süpürücü Kapasite

S. marianum, *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *E. purpurea*, *M. piperita*, *S. officinalis*, *N. sativa*, *N. damascena* metanollü ekstralarının ve standart olarak kullanılan askorbik asitin DPPH radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrelerin DPPH radikalini süpürücü kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin DPPH radikalini süpürücü kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

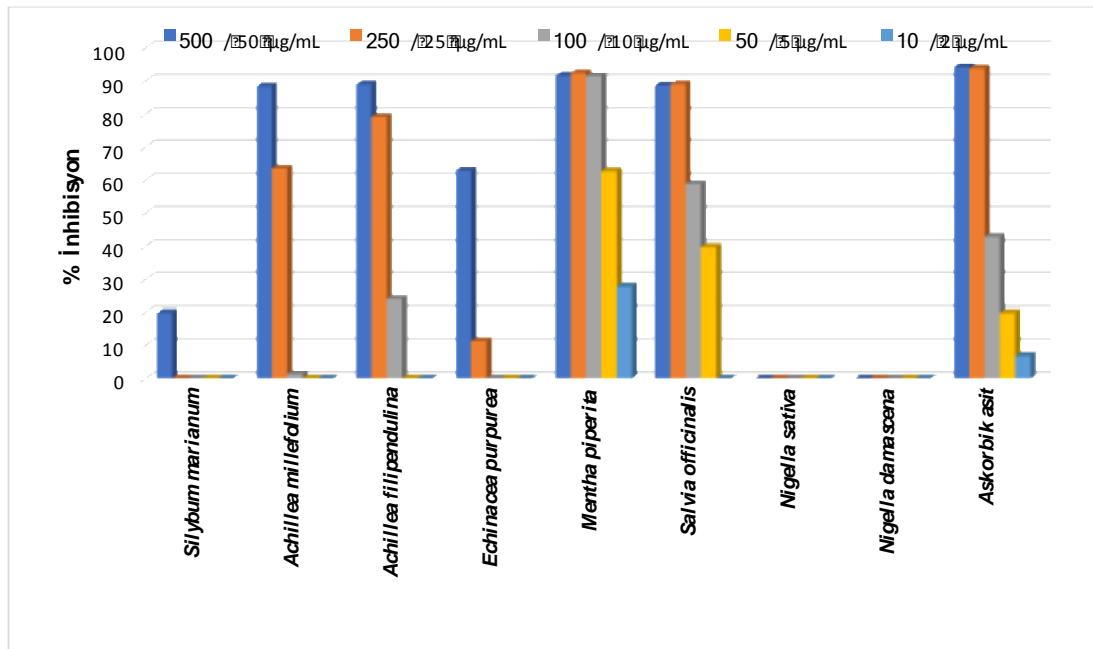
Tüm Ekstrelerin DPPH Radikalini Süpürücü Kapasitesi

Tablo 4.5. *S. marianum*, *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *E. purpurea*, *M. piperita*, *S. officinalis*, *N. sativa*, *N. damascena* metanollü ekstralarının DPPH radikalini süpürücü kapasiteleri

Ekstre	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Silybum marianum</i>	19,81	-	-	-	-
<i>Achillea millefolium</i>	88,35	63,53	1,34	-	-
<i>A. filipendulina</i>	88,98	79,11	24,12	-	-
<i>Echinacea purpurea</i>	62,89	11,32	-	-	-
<i>Mentha piperita</i>	91,58	92,36	91,50	62,71	27,87
<i>Salvia officinalis</i>	88,65	89,05	58,89	39,74	-
<i>Nigella sativa</i>	-	-	-	-	-
<i>N. damascena</i>	-	-	-	-	-
<i>Askorbik asit</i>				94,21	93,77

Tablo 4.6. Askorbik asitin DPPH radikalini süpürücü kapasitesi

Standart	50 µg/mL	25 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2 µg/mL
<i>Askorbik asit</i>	94,21	93,77	42,86	19,74	6,86



Şekil 4.2. *S. marianum*, *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *E. purpurea*, *M. piperita*, *S. officinalis*, *N. sativa*, *N. damascena* metanollü ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü kapasiteleri

4.3.2. ABTS Radikalini Süpürücü Kapasite

Silybum marianum

Silybum marianum meyvelerinin metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan troloksun ABTS radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda troloksun etkisi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.7. *Silybum marianum* meyvelerinin metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Silybum marianum</i> metanol ekstresi	54,59	24,15	7,99	9,01	5,27

Tablo 4.8. *Silybum marianum* çiçekli üst kısımlarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri

	TEAK (mg troloks/g ekstre)
<i>Silybum marianum</i> metanol ekstresi	14,46

Achillea millefolium

Achillea millefolium çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan troloksun ABTS radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda troloksun etkisi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.9. *Achillea millefolium* çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Achillea millefolium</i> metanol ekstresi	85,37	77,38	42,52	29,42	21,60

Tablo 4.10. *Achillea millefolium* çiçekli üst kısımlarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri

	TEAK (mg troloks/g ekstre)
<i>Achillea millefolium</i> metanol ekstresi	65,10

Achillea filipendulina

Achillea filipendulina çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan troloksun ABTS radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda troloksun etkisi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.11. *Achillea filipendulina* çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Achillea filipendulina</i> metanol ekstresi	85,54	84,35	64,29	31,12	20,92

Tablo 4.12. *Achillea filipendulina* çiçekli üst kısımlarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri

	TEAK (mg troloks/g ekstre)
<i>Achillea filipendulina</i> metanol ekstresi	93,20

Echinacea purpurea

Echinacea purpurea toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan troloksun ABTS radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda troloksun etkisi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.13. *Echinacea purpurea* toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Echinacea purpurea</i> metanol ekstresi	83,33	50,17	17,18	11,90	8,67

Tablo 4.14. *Echinacea purpurea* toprak üstü kısımlarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri

	TEAK (mg troloks/g ekstre)
<i>Echinacea purpurea</i> metanol ekstresi	26,62

Mentha piperita

Mentha piperita yapraklarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan troloksun ABTS radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda troloksun etkisi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.15. *Mentha piperita* yapraklarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Mentha piperita</i> metanol ekstresi	85,71	85,37	79,76	73,64	46,26

Tablo 4.16. *Mentha piperita* yapraklarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri

	TEAK (mg troloks/g ekstre)
<i>Mentha piperita</i> metanol ekstresi	243,48

Salvia officinalis

Salvia officinalis yapraklarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan troloksun ABTS radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda troloksun etkisi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.17. *Salvia officinalis* yapraklarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Salvia officinalis</i> metanol ekstresi	85,88	85,88	84,01	75,17	46,26

Tablo 4.18. *Salvia officinalis* yapraklarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri

	TEAK (mg troloks/g ekstre)
<i>Salvia officinalis</i> metanol ekstresi	245,68

Nigella sativa

Nigella sativa tohumlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan troloksun ABTS radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda troloksun etkisi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.19. *Nigella sativa* tohumlarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Nigella sativa</i> metanol ekstresi	26,19	13,10	11,22	11,22	0,00

Tablo 4.20. *Nigella sativa* tohumlarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri

	TEAK (mg troloks/g ekstre)
<i>Nigella sativa</i> metanol ekstresi	7,96

Nigella damascena

Nigella damascena tohumlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan troloksun ABTS radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda troloksun etkisi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.21. *Nigella damascena* tohumlarının metanollü ekstresinin ABTS radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Nigella damascena</i> metanol ekstresi	15,48	5,95	4,93	9,18	12,59

Tablo 4.22. *Nigella damascena* tohumlarının TEAK (mg troloks/g ekstre) değeri

	TEAK (mg troloks/g ekstre)
<i>Nigella damascena</i> metanol ekstresi	5,74

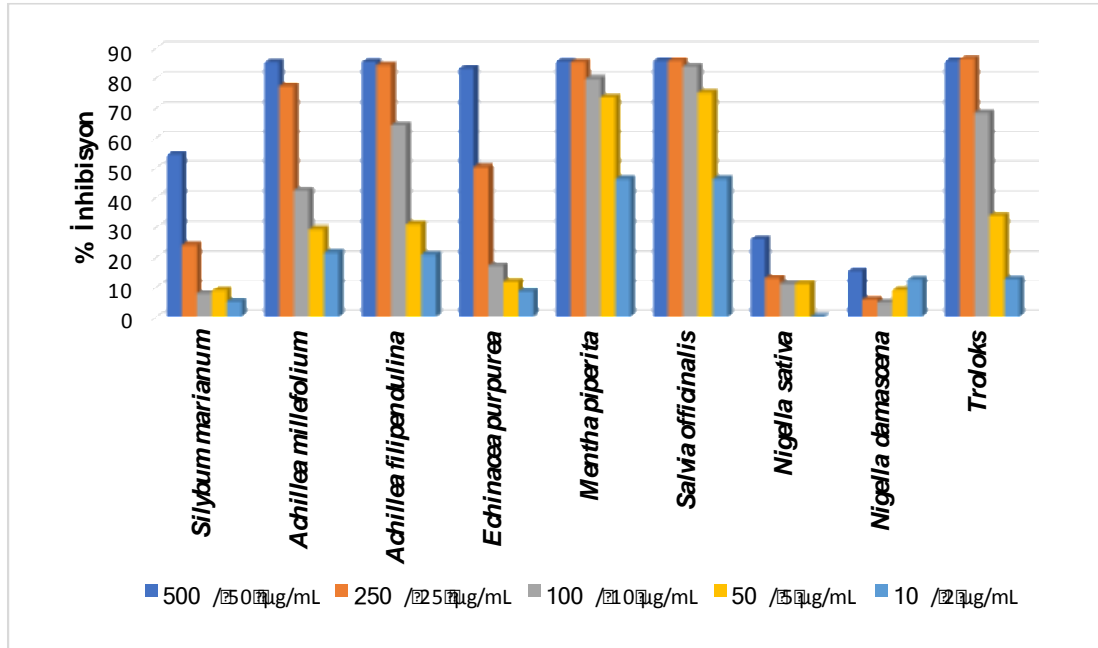
Tüm Ekstrelerin ABTS Radikalini Süpürücü Kapasiteleri

Tablo 4.23. *Silybum marianum*, *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Echinacea purpurea*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Nigella sativa*, *N. damascena* metanollü ekstrelerinin ABTS radikalini süpürücü kapasiteleri

Ekstre	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Silybum marianum</i>	54,59	24,15	7,99	9,01	5,27
<i>Achillea millefolium</i>	85,37	77,38	42,52	29,42	21,60
<i>A. filipendulina</i>	85,54	84,35	64,29	31,12	20,92
<i>Echinacea purpurea</i>	83,33	50,17	17,18	11,90	8,67
<i>Mentha piperita</i>	85,71	85,37	79,76	73,64	46,26
<i>Salvia officinalis</i>	85,88	85,88	84,01	75,17	46,26
<i>Nigella sativa</i>	26,19	13,10	11,22	11,22	0,00
<i>N. damascena</i>	15,48	5,95	4,93	9,18	12,59
<i>Troloks</i>				85,88	86,56

Tablo 4.24. Troloksun ABTS radikalini süpürücü kapasitesi

Standart	50 µg/mL	25 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2 µg/mL
<i>Troloks</i>	85,88	86,56	68,37	34,01	12,76



Şekil 4.3. *Silybum marianum*, *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Echinacea purpurea*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Nigella sativa*, *N. damascena* metanollü ekstrelerinin ABTS radikalini süpürücü kapasiteleri

4.3.3. NO Radikalini Süpürücü Kapasite

Silybum marianum

Silybum marianum meyvelerinin metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin NO radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.25. *Silybum marianum* meyvelerinin metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE / st	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Silybum marianum</i> metanol ekstresi	22,05	19,57	13,35	-	-

Achillea millefolium

Achillea millefolium çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin NO radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.26. *Achillea millefolium* çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Achillea millefolium</i> metanol ekstresi	25,47	24,07	20,19	19,25	15,84

Achillea filipendulina

Achillea filipendulina çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin NO radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.27. *Achillea filipendulina* çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Achillea filipendulina</i> metanol ekstresi	29,81	26,40	22,98	19,88	18,32

Echinacea purpurea

Echinacea purpurea toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin NO radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.28. *Echinacea purpurea* toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Echinacea purpurea</i> metanol ekstresi	29,19	27,33	26,09	22,05	16,46

Mentha piperita

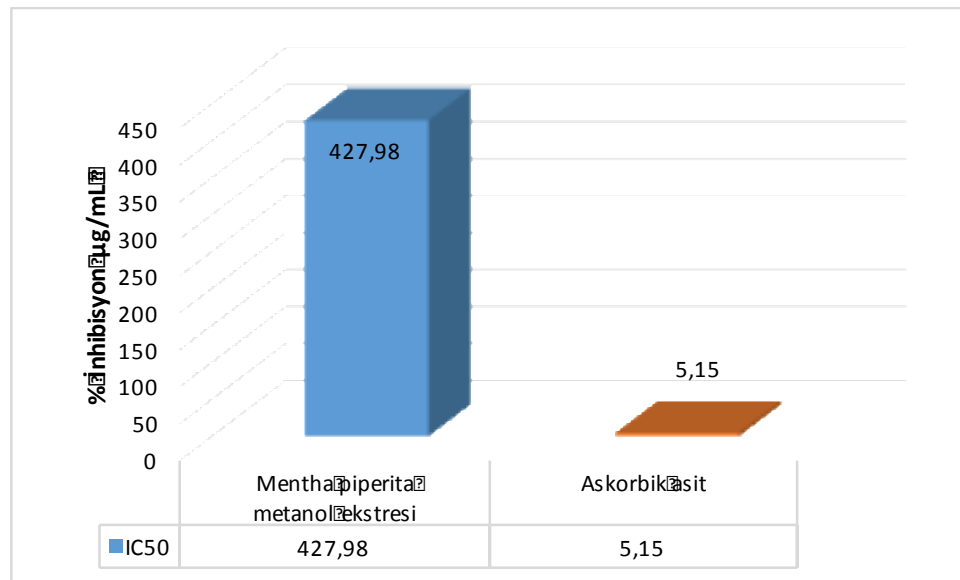
Mentha piperita yapraklarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin NO radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.29. *Mentha piperita* yapraklarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Mentha piperita</i> metanol ekstresi	91,58	36,96	31,99	22,67	22,05

Tablo 4.30. Askorbik asitin NO radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	50 µg/mL	25 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2 µg/mL
Askorbik asit	70,11	59,87	58,87	51,02	47,89



Şekil 4.4. *Mentha piperita* yapraklarının metanollü ekstresinin ve askorbik asitin IC₅₀ değerleri (µg/mL).

Salvia officinalis

Salvia officinalis yapraklarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin NO radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.31. *Salvia officinalis* yapraklarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Salvia officinalis</i> metanol ekstresi	27,02	25,78	25,47	24,53	22,98

Nigella sativa

Nigella sativa tohumlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin NO radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.32. *Nigella sativa* tohumlarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Nigella sativa</i> metanol ekstresi	23,60	22,05	19,57	14,60	0,31

Nigella damascena

Nigella damascena tohumlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin NO radikalini süpürücü kapasitesine ait bulgular aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.33. *Nigella damascena* tohumlarının metanollü ekstresinin NO radikalini süpürücü kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Nigella damascena</i> metanol ekstresi	20,19	19,57	16,46	10,56	-

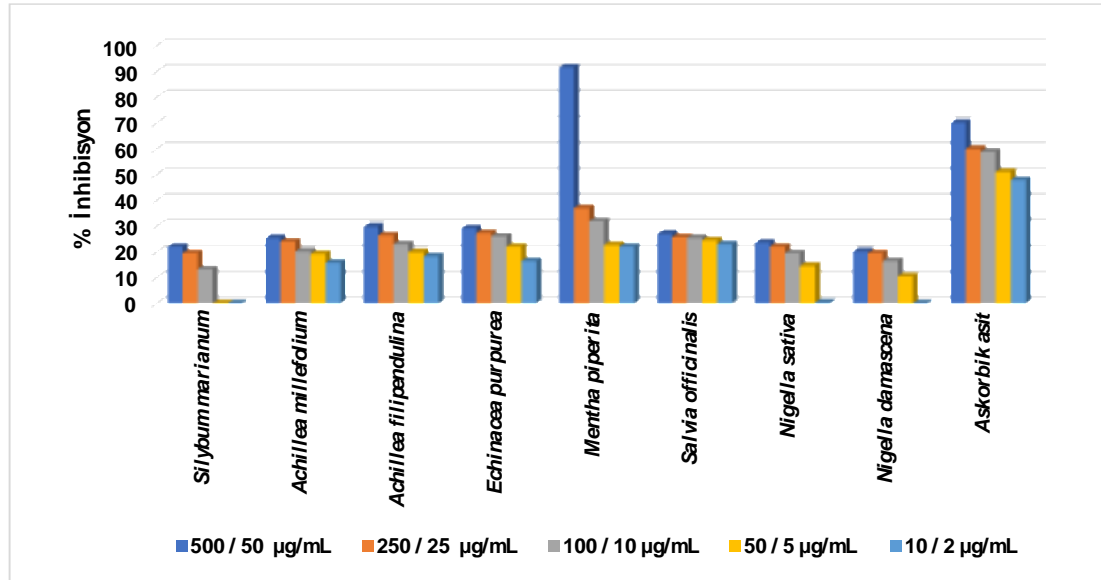
Tüm Ekstrelerin NO Radikalini Süpürücü Kapasitesi

Tablo 4.34. *Silybum marianum*, *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Echinacea purpurea*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Nigella sativa*, *N. damascena* metanollü ekstrelerinin NO radikalini süpürücü kapasiteleri

Ekstre	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Silybum marianum</i>	22,05	19,57	13,35	-	-
<i>Achillea millefolium</i>	25,47	24,07	20,19	19,25	15,84
<i>A. filipendulina</i>	29,81	26,40	22,98	19,88	18,32
<i>Echinacea purpurea</i>	29,19	27,33	26,09	22,05	16,46
<i>Mentha piperita</i>	91,58	36,96	31,99	22,67	22,05
<i>Salvia officinalis</i>	27,02	25,78	25,47	24,53	22,98
<i>Nigella sativa</i>	23,60	22,05	19,57	14,60	0,31
<i>N. damascena</i>	20,19	19,57	16,46	10,56	-
Askorbik asit				70,11	59,87

Tablo 4.35. Askorbik asitin NO radikalini süpürücü kapasitesi

Standart	50 µg/mL	25 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2 µg/mL
<i>Askorbik asit</i>	70,11	59,87	58,87	51,02	47,89



Şekil 4.5. *S. marianum*, *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *E. purpurea*, *M. piperita*, *S. officinalis*, *N. sativa*, *N. damascena* metanollü ekstrelerinin NO radikalini süpürücü kapasiteleri

4.3.4. Fosfomolibdat Antioksidan Kapasite Tayini

Silybum marianum

Silybum marianum meyvelerinin metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin fosfomolibdat yöntemi kullanılarak yapılan total antioksidan kapasite tayinine ait bulgular aşağıdaki tabloda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.36. *Silybum marianum* meyvelerinin metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Silybum marianum</i> metanol ekstresi	-	6,43	-	-	-

Achillea millefolium

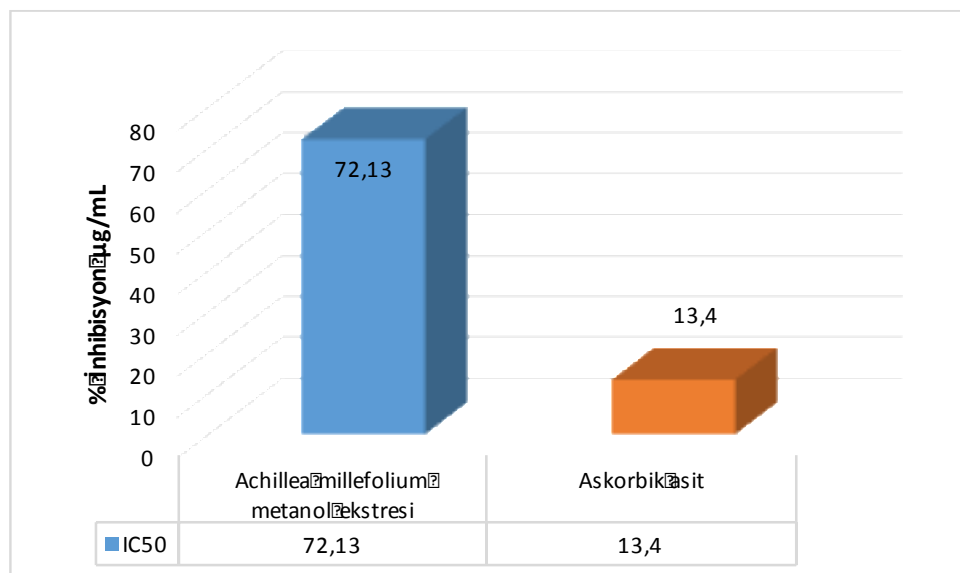
Achillea millefolium çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin fosfomolibdat yöntemi kullanılarak yapılan total antioksidan kapasite tayinine ait bulgular aşağıdaki tabloda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.37. *Achillea millefolium* çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Achillea millefolium</i> metanol ekstresi	-	-	56,10	49,00	33,26

Tablo 4.38. Askorbik asitin total antioksidan kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	50 µg/mL	25 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2 µg/mL
Askorbik asit	95,12	95,12	42,35	28,16	-14,85



Şekil 4.6. *Achillea millefolium* çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ve askorbik asitin IC₅₀ değerleri (µg/mL).

Achillea filipendulina

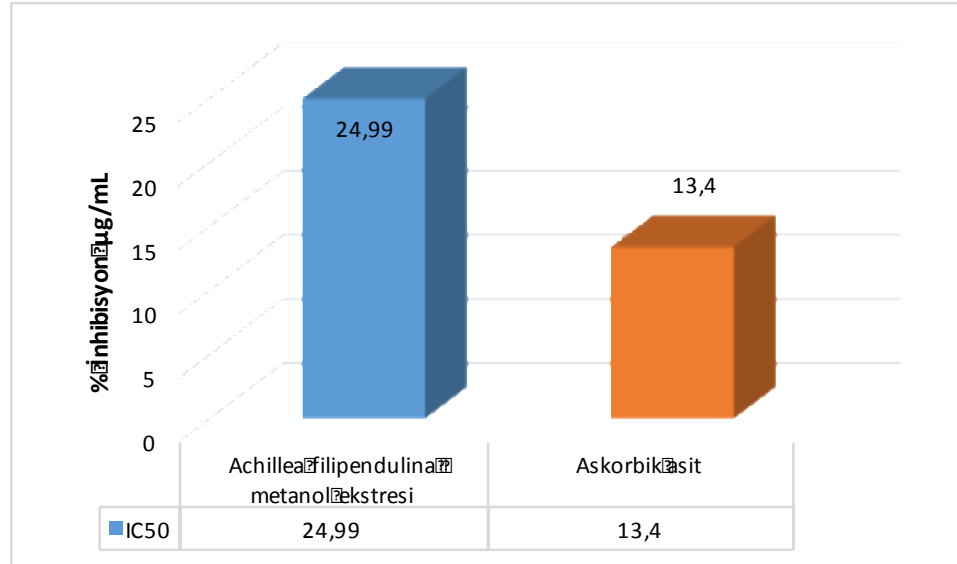
Achillea filipendulina çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin fosfomolibdat yöntemi kullanılarak yapılan total antioksidan kapasite tayinine ait bulgular aşağıdaki tabloda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.39. *Achillea filipendulina* çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Achillea filipendulina</i> metanol ekstresi	119,00	71,17	66,74	55,21	48,11

Tablo 4.40. Askorbik asitin total antioksidan kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	50 µg/mL	25 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2 µg/mL
Askorbik asit	95,12	95,12	42,35	28,16	-14,85



Şekil 4.7. *Achillea filipendulina* çiçekli üst kısımlarının metanollü ekstresinin ve askorbik asitin IC₅₀ değerleri (µg/mL).

Echinacea purpurea

Echinacea purpurea toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin fosfomolibdat yöntemi kullanılarak yapılan total antioksidan kapasite tayinine ait bulgular aşağıdaki tabloda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.41. *Echinacea purpurea* toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Echinacea purpurea</i> metanol ekstresi	-	13,30	-	-	-

Mentha piperita

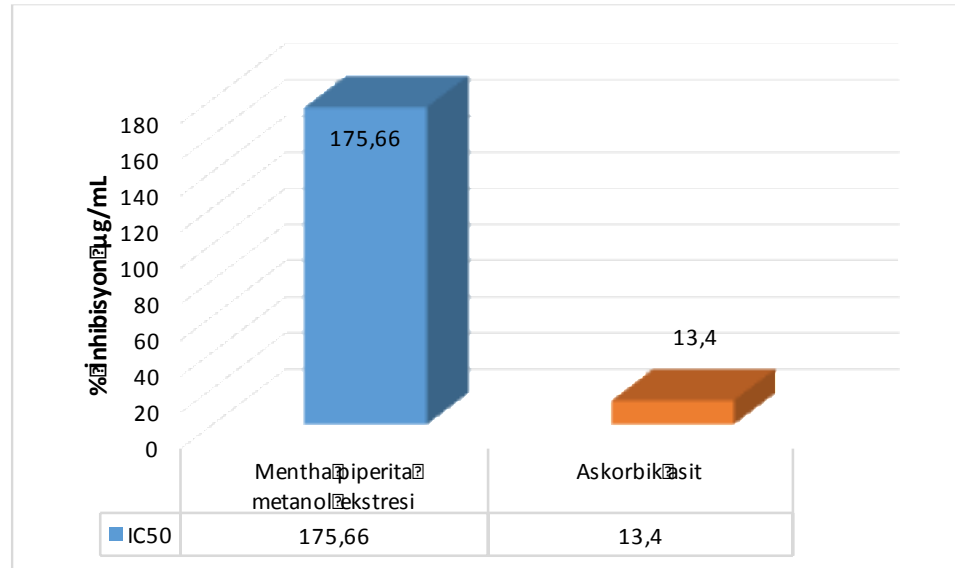
Mentha piperita yapraklarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin fosfomolibdat yöntemi kullanılarak yapılan total antioksidan kapasite tayinine ait bulgular aşağıdaki tabloda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.42. *Mentha piperita* yapraklarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Mentha piperita</i> metanol ekstresi	-	86,25	-	-	-

Tablo 4.43. Askorbik asitin total antioksidan kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	50 µg/mL	25 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2 µg/mL
Askorbik asit	95,12	95,12	42,35	28,16	-



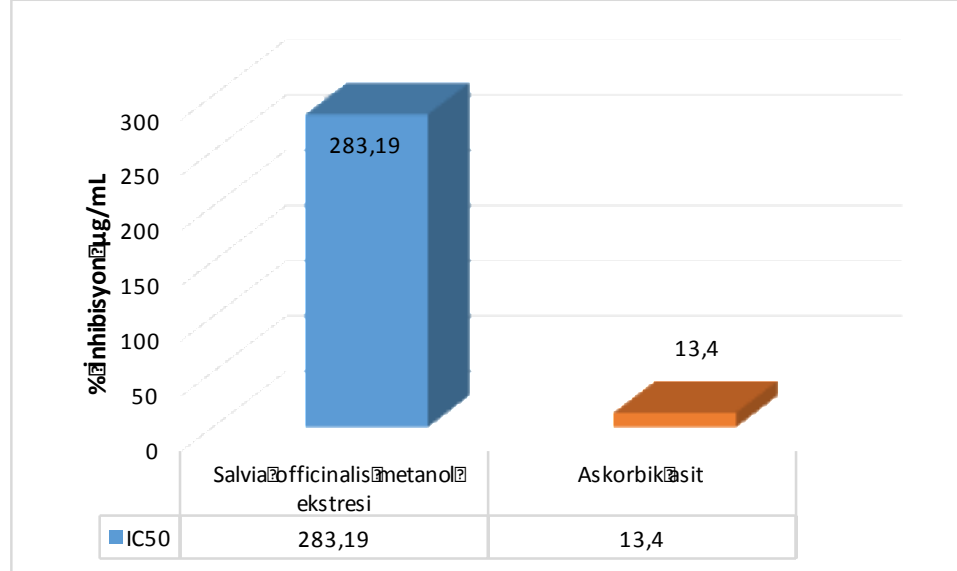
Şekil 4.8. *Mentha piperita* yapraklarının metanollü ekstresinin ve askorbik asitin IC₅₀ değerleri (µg/mL).

Salvia officinalis

Salvia officinalis yapraklarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin fosfomolibdat yöntemi kullanılarak yapılan total antioksidan kapasite tayinine ait bulgular aşağıdaki tabloda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.44. *Salvia officinalis* yapraklarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Salvia officinalis</i> metanol ekstresi	-	29,09	-	-	-



Şekil 4.9. *Salvia officinalis* yapraklarının metanollü ekstresinin ve askorbik asitin IC₅₀ değerleri (µg/mL).

Nigella sativa

Nigella damascena tohumlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin fosfomolibdat yöntemi kullanılarak yapılan total antioksidan kapasite tayinine ait bulgular aşağıdaki tabloda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.45. *Nigella sativa* tohumlarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Nigella sativa</i> metanol ekstresi	12,2	-	-	-	-

Nigella damascena

Nigella damascena tohumlarının metanollü ekstresinin ve standart olarak kullanılan askorbik asitin fosfomolibdat yöntemi kullanılarak yapılan total antioksidan kapasite tayinine ait bulgular aşağıdaki tabloda verilmiştir. Ekstrenin kapasitesi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL konsantrasyonlarda askorbik asitin kapasitesi 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir.

Tablo 4.46. *Nigella damascena* tohumlarının metanollü ekstresinin total antioksidan kapasitesi

EKSTRE	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Nigella damascena</i> metanol ekstresi	-	39,02	24,17	-	7,54

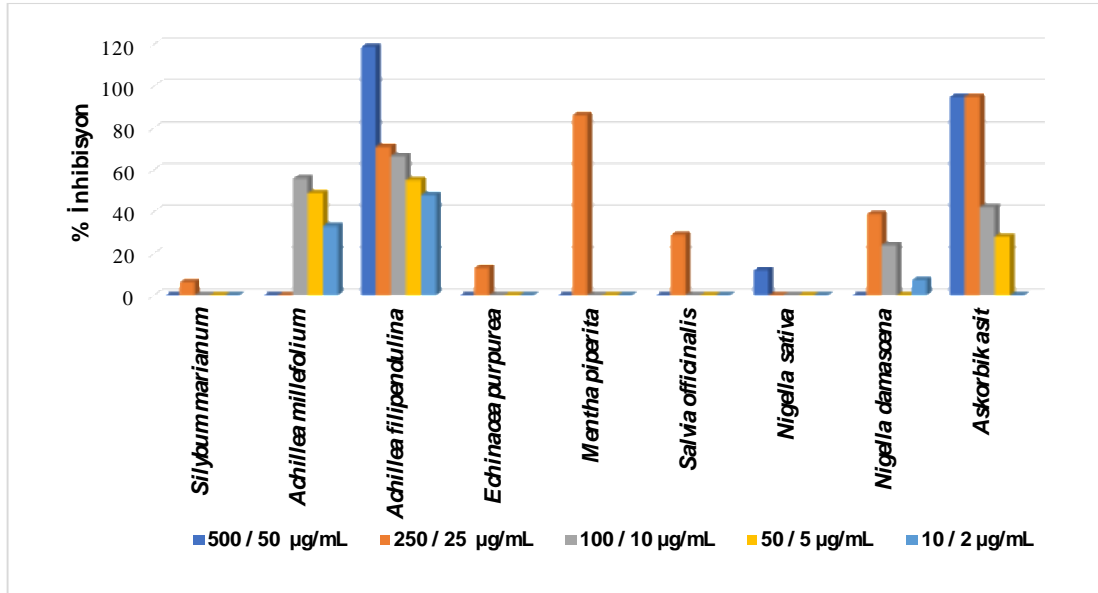
Tüm Ekstrelerin Total Antioksidan Kapasitesi

Tablo 4.47. *S. marianum*, *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *E. purpurea*, *M. piperita*, *S. officinalis*, *N. sativa*, *N. damascena* metanollü ekstrlerinin total antioksidan kapasitesi

Ekstre	% İnhibisyon				
	500 µg/mL	250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL
<i>Silybum marianum</i>	-	6,43	-	-	-
<i>Achillea millefolium</i>	-	-	56,10	49,00	33,26
<i>A. filipendulina</i>	119,00	71,17	66,74	55,21	48,11
<i>Echinacea purpurea</i>	-	13,30	-	-	-
<i>Mentha piperita</i>	-	86,25	-	-	-
<i>Salvia officinalis</i>	-	29,09	-	-	-
<i>Nigella sativa</i>	12,2	-	-	-	-
<i>N. damascena</i>	-	39,02	24,17	-	7,54
Askorbik asit				95,12	95,12

Tablo 4.48. Askorbik asitin total antioksidan kapasitesi

Standart	50 µg/mL	25 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2 µg/mL
Askorbik asit	95,12	95,12	42,35	28,16	-

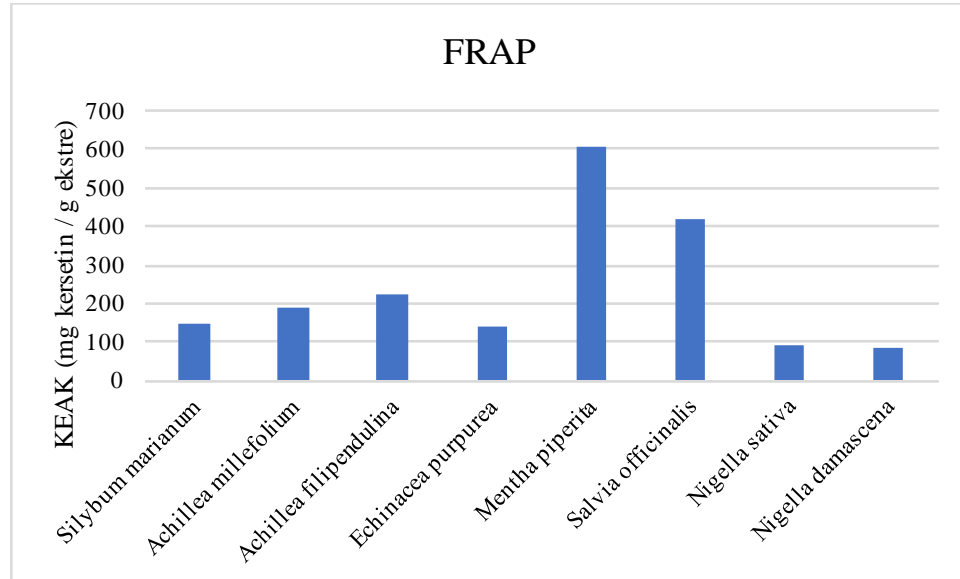


Şekil 4.10. *S. marianum*, *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *E. purpurea*, *M. piperita*, *S. officinalis*, *N. sativa*, *N. damascena* metanollü ekstrlerinin total antioksidan kapasiteleri

4.3.5. FRAP (Demir redükleyici antioksidan kapasite)

Tablo 4.49. *Silybum marianum*, *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Echinacea purpurea*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Nigella sativa*, *N. damascena* metanollü ekstrlerinin demir redükleyici antioksidan kapasiteleri (Kersetin ekivalan)

Ekstre	KEAK (mg kersetin / g ekstre)
<i>Silybum marianum</i>	150,57
<i>Achillea millefolium</i>	188,09
<i>A. filipendulina</i>	223,81
<i>Echinacea purpurea</i>	141,05
<i>Mentha piperita</i>	605,90
<i>Salvia officinalis</i>	417,24
<i>Nigella sativa</i>	92,86
<i>N. damascena</i>	83,33

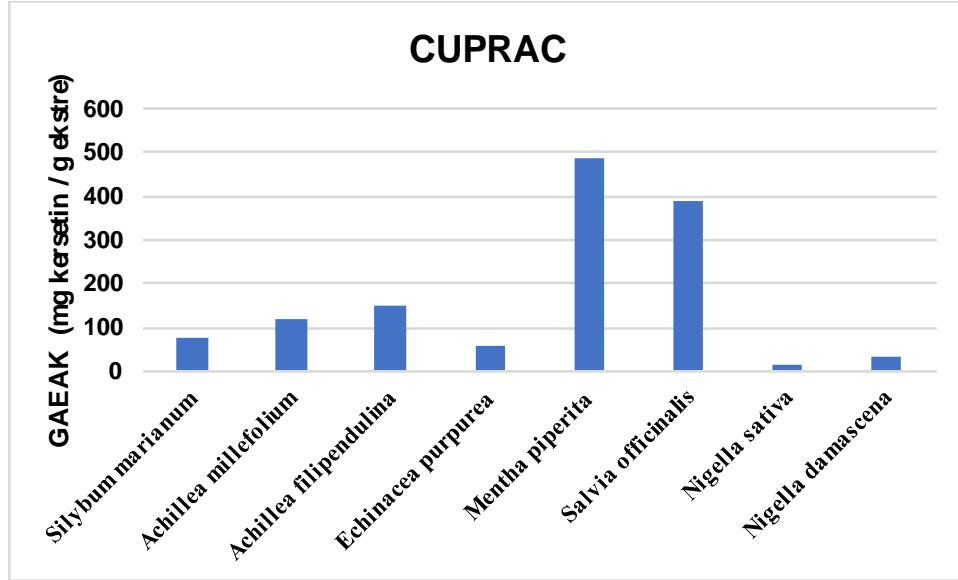


Şekil 4.11. *Silybum marianum*, *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Echinacea purpurea*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Nigella sativa*, *N. damascena* metanollü ekstralarının demir redükleyici antioksidan kapasiteleri (Kersetin ekivalan)

4.3.6. CUPRAC (Bakır Redükleyici Antioksidan Kapasite)

Tablo 4.50. *Silybum marianum*, *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Echinacea purpurea*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Nigella sativa*, *N. damascena* metanollü ekstralarının bakır redükleyici antioksidan kapasiteleri (Gallik asit ekivalan)

Ekstre	GAEAK (mg gallik asit / g ekstre)
<i>Silybum marianum</i>	72,91
<i>Achillea millefolium</i>	118,20
<i>A. filipendulina</i>	150,39
<i>Echinacea purpurea</i>	59,68
<i>Mentha piperita</i>	485,39
<i>Salvia officinalis</i>	389,59
<i>Nigella sativa</i>	13,96
<i>N. damascena</i>	31,46



Şekil 4.12. *Silybum marianum*, *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Echinacea purpurea*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Nigella sativa*, *N. damascena* metanollü ekstralarının bakır redükleyici antioksidan kapasiteleri (Gallik asit ekivalan)

4.4. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

4.4.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntem Validasyonu

Kromatografik yöntem koşulları optimize edildikten sonra yöntemin validasyon çalışmaları ICH'e göre yapılmıştır.

Sistem Uygunluk Çalışması

Sistem uygunluk çalışması, standartların 50 µg/mL standart çözeltisinin on tekrarlı enjeksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Standartlara ait enjeksiyon tekrarlanabilirliği, kapasite faktörü, teorik tabaka sayısı ve pik asimetri oranı Tablo 4.51'de verilmiştir.

Tablo 4.51. Sistem uygunluk parametreleri.

	Klorojenik asit	Ekinakozit	Silibinin A	Silibinin B	Rozmarinik asit
Enjeksiyon tekrarlanabilirliği ^a	1,78	1,94	1,00	1,29	0,87
Kapasite faktörü ^b	1,96 ^c	3,00 ^c	8,26 ^d	8,82 ^d	3,21 ^e
Teorik tabaka sayısı	36213	105342	49360	42674	38751
Pik asimetri oranı (%10)	1,17	1,08	1,08	1,12	1,08

^aAlanların BSS değeri verilmiştir (n=10), ^bÖlü hacim, aynı koşullarda urasil enjeksiyonu yapılarak bulunmuştur: ^cKlorojenik asit ve ekinakozit için $t_0 = 2,8$ dk., ^dSilibinin A ve B $t_0 = 3,5$ dk., ^eRozmarinik asit için $t_0 = 2,4$ dk.,

Kararlılık

Kararlılık çalışmaları +4 °C'deki 50 µg/mL konsantrasyondaki standartların kararlılığına göre değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.52'de verilmiştir.

Tablo 4.52. 50 µg/mL konsantrasyondaki standartların +4 °C'deki kararlılık

çalışmaları sonuçları

	İlk ölçüm	1 ay sonraki ölçüm	Ölçüm farkı (%)
Klorojenik asit	10,82	10,46	3,38
Ekinakozit	5,07	4,77	1,68
Silibinin A	10,83	10,46	3,12
Silibinin B	10,46	10,28	5,86
Rozmarinik asit	30,41	30,15	0,85

Duyarlılık

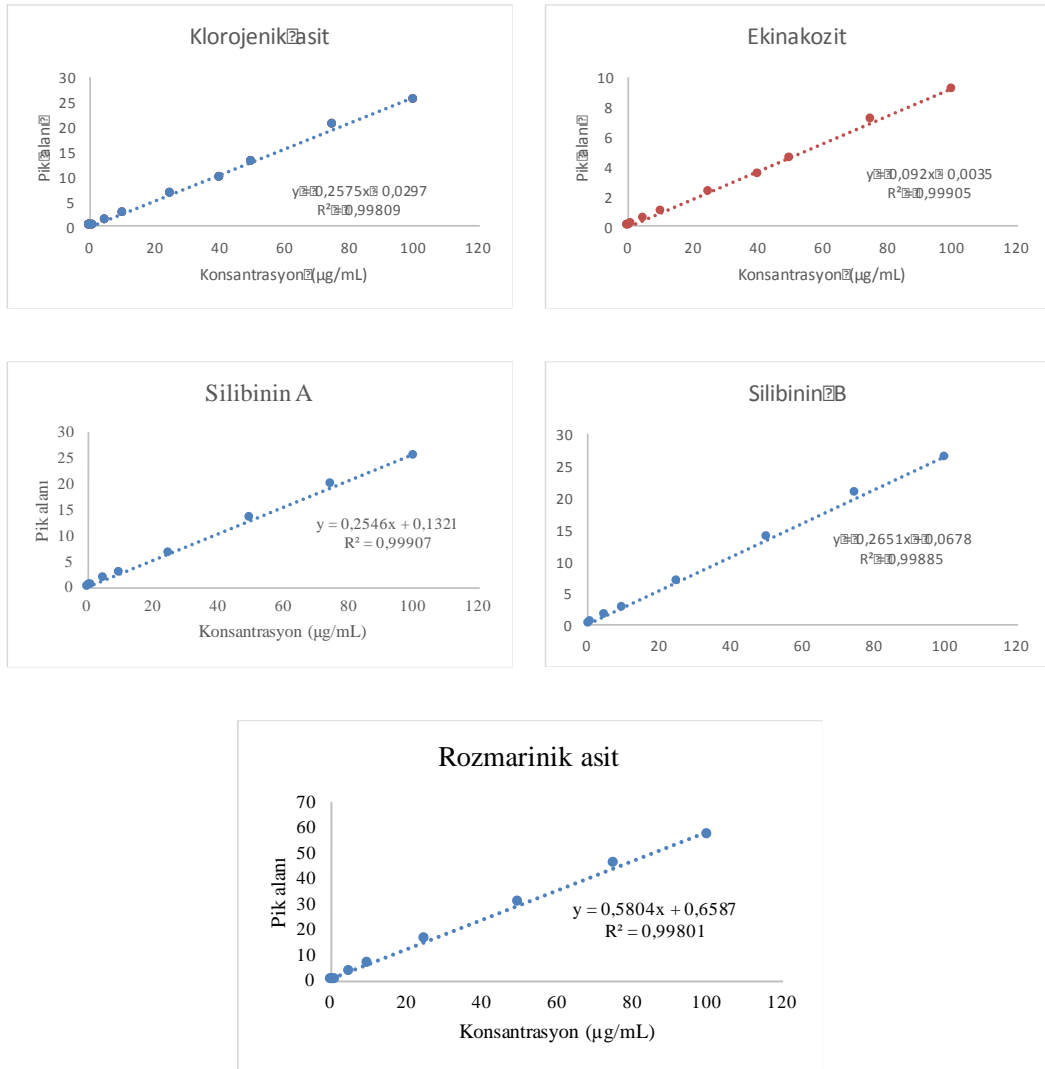
Sinyal/gürültü oranının 3 ve 10 olduğu konsantrasyon değerleri sırasıyla LOD ve LOQ olarak seçilmiş ve sonuçlar Tablo 4.53'de verilmiştir.

Tablo 4.53. Standartların LOD ve LOQ değerleri.

	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)
Klorojenik asit	0,02	0,08
Ekinakozit	0,04	0,12
Silibinin A	0,15	0,50
Silibinin B	0,15	0,50
Rozmarinik asit	0,03	0,10

Doğrusallık

Kalibrasyon eğrileri her bir standart için LOQ, 0.5, 1, 5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında standart çözelti eklenerek oluşturulmuştur (Şekil 4.13.). Kalibrasyon eğrileri her bir standart alan değerinin konsantrasyona karşı grafiğe geçirilmesiyle oluşturulmuştur. Elde edilen kalibrasyon eğrileri ve ANOVA analiz sonuçları Tablo 4.54’te verilmiştir.

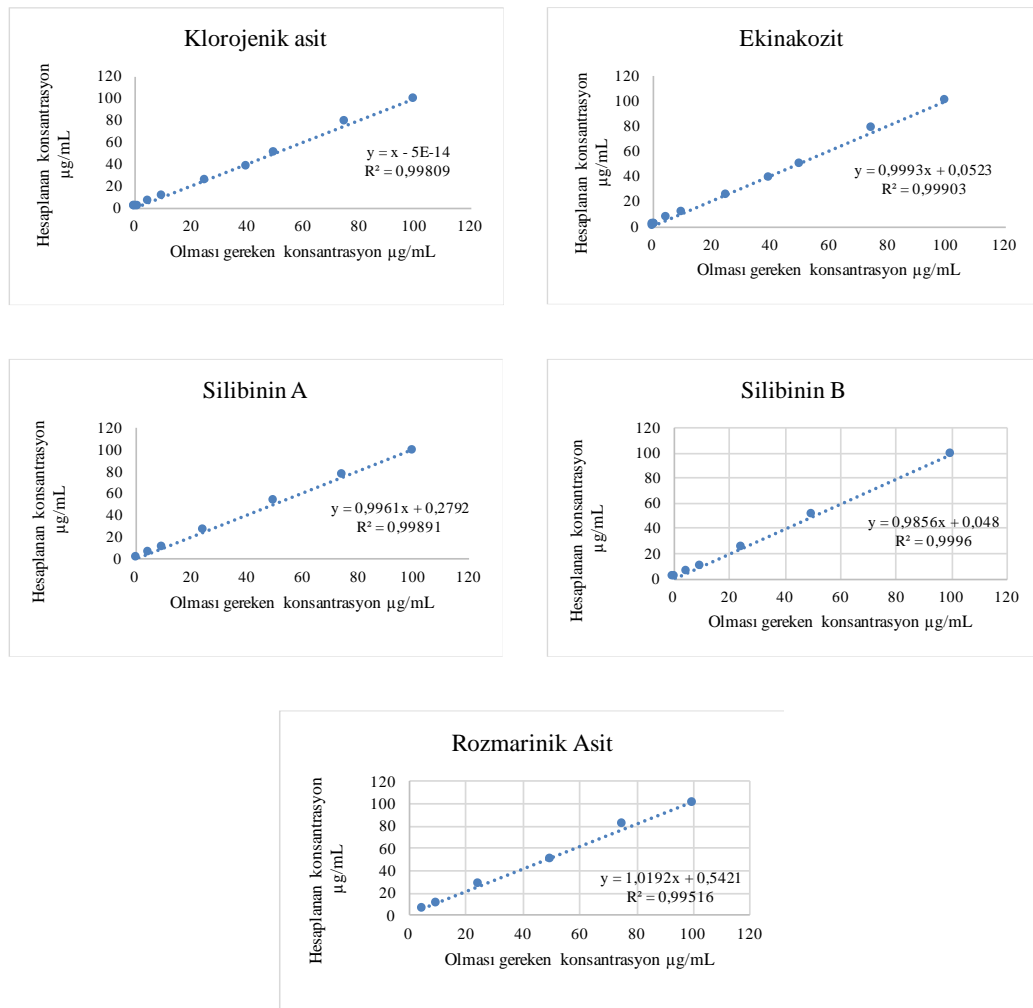


Şekil 4.13. Standartların kalibrasyon eğrilerinin grafikleri

Tablo 4.54. Standartların kalibrasyon eğrilerine ait veriler.

	b	a	R²	p^a
Klorojenik asit	0,2575 (±0,0038)	-0,0297 (±0,1620)	0,9981	0,8585
Ekinakozit	0,0920 (±0,0009)	-0,0035 (±0,0407)	0,9991	0,9333
Silibinin A	0,2546 (±0,0029)	0,2651 (±0,1342)	0,9991	0,3575
Silibinin B	0,17805 (±0,0037)	0,0678 (±0,2651)	0,9989	0,7163
Rozmarinik asit	0,4482 (±0,0098)	0,6587 (±0,5804)	0,9980	0,1851

Kalibrasyon eğrileri LOQ ile 100 µg/mL aralığında oluşturulmuştur. ^a Kesişimin p değeri, eğimin p değeri bütün standartlar için 0.0000<p'dir; ^b Korelasyon katsayısının F değeri. $y = b \times C + a$ (y= alan; C = konsantrasyon; b= eğim; a= kesişim).

**Şekil 4.14.** Geliştirilen yöntemlerin doğrusallık kontrol grafikleri

Keskinlik

Üç farklı konsantrasyon (5, 25 ve 50 µg/mL) aynı günde (gün içi keskinlik) altı farklı seride hazırlanarak analiz edilmiş ve bu işlem üç farklı günde yinelenerek (günler arası keskinlik) analiz edilmiştir. Veriler hazırlanan kalibrasyon eğrilerine göre değerlendirilmiş ve BSS değerleri Tablo 4.55 ve 4.56'da verilmiştir.

Doğruluk

Üç farklı konsantrasyon (5, 25 ve 50 µg/mL) aynı günde (gün içi doğruluk) altı farklı seride hazırlanarak analiz edilmiş ve bu işlem üç farklı günde yinelenerek (günler arası doğruluk) analiz edilmiştir. Veriler hazırlanan kalibrasyon eğrilerine göre değerlendirilmiş ve BH değerleri Tablo 4.55 ve 4.56'da verilmiştir.

Tablo 4.55. Standartlar gün içi keskinlik ve doğruluk verileri (n=6).

	Klorojenik asit	Ekinakozit	Silibinin A	Silibinin B	Rozmarinik asit
5 µg/mL					
Ortalama	4,62	5,64	5,13	5,10	4,99
BSS (%)	1,92	3,06	3,68	3,87	1,98
BH (%)	7,53	-12,85	-2,54	-2,07	0,15
25.00 µg/mL					
Ortalama	25,13	24,77	25,11	23,99	26,91
BSS (%)	1,58	2,54	0,02	3,12	1,49
BH (%)	-0,53	0,92	-0,45	4,05	-7,65
50.00 µg/mL					
Ortalama	50,07	47,19	56,55	46,37	50,11
BSS (%)	1,62	1,82	3,18	0,16	0,69
BH (%)	-0,14	5,63	-13,10	7,27	-0,21

Tablo 4.56. Standartların günler arası keskinlik ve doğruluk verileri (n=18).

	Klorojenik asit	Ekinakozit	Silibinin A	Silibinin B	Rozmarinik asit
5 µg/mL					
Ortalama	6,74	4,02	4,67	6,87	5,28
BSS (%)	4,68	4,07	1,34	4,25	1,48
BH (%)	-34,70	19,57	6,54	-37,46	-5,55
25.00 µg/mL					
Ortalama	25,88	24,93	25,65	23,28	26,62
BSS (%)	2,57	9,12	4,21	4,04	2,23

BH (%)	-3,53	0,30	-2,58	6,87	-6,50
50.00 µg/mL					
Ortalama	47,14	41,02	48,95	44,30	49,32
BSS (%)	1,15	1,00	2,13	1,16	0,79
BH (%)	5,72	17,95	2,10	11,41	1,37

Gerı Kazanım

Gerı kazanım çalışmaları standart ekleme yöntemi ile hesaplanmış ve elde edilen gerı kazanım sonuçları Tablo 4.57’da verilmiştir.

Tablo 4.57. Standartların gerı kazanım verileri

	Klorojenik asit (%)	Ekinakozit	Silibinin A	Silibinin B	Rozmarinik asit
Kapsül	90,65	88,20	84,98	86,91	-
Drog	89,57	92,20	93,43	87,86	83,66
Likit	85,39	94,28	-	-	-

Seçicilik

Yöntemin seçiciliğini gözlemek için standart ekleme yapılarak değerlendirilmiştir. (Tablo 4.58).

Tablo 4.58. Standart ekleme kalibrasyon eğrilerinin eğimi

	Doğrudan Kalibrasyon	Likit	Drog	Kapsül
Klorojenik asit	0,2575 (0,2490 - 0,2660)	0,22487 (0,1882 - 0,2615)	0,1616 (0,1098 - 0,2135)	0,1768 (0,1495 - 0,2040)
Ekinakozit	0,0920 (0,0898 - 0,0941)	0,0642 (0,0214 - 0,1070)	0,0857 (0,0795 - 0,0920)	0,0729 (0,0121 - 0,1337)
Silibinin A	0,2546 (0,2476 - 0,2615)	-	0,2662 (0,2476 - 0,2849)	0,2176 (0,1680 - 0,2672)
Silibinin B	0,2651 (0,2562 - 0,2741)	-	0,3029 (0,2724 - 0,3334)	0,237 (0,1801 - 0,2939)
Rozmarinik asit	0,5804 (0,5573 - 0,6036)	-	0,5912 (0,5298 - 0,6527)	-

* Parantez içindeki veriler %95 güven aralığındaki verilerdir.

Sağlamlık

Yöntemin sağlamlık çalışmaları akış hızı, pH ve dalga boyunda küçük değişiklikler yapılmış ve sonuçlar Tablo 4.59 ve 4.60'da verilmiştir.

Tablo 4.59. Standartların sağlamlık çalışması için belirlenmiş koşullar ve sonuçları.

	Klorojenik asit	Ekinakozit	Silibinin A	Silibinin B	Rozmarinik asit
Optimum koşullar	12,44±0,31	4,644±0,27	9,45±0,14	9,69±0,34	30,15±0,06
Akış hızı + (mL/dk.)	12,13±0,16	4,49±0,05	9,44±0,16	9,43±0,07	29,62±0,29
Akış hızı - (mL/dk.)	12,68±0,08	4,74±0,02	9,46±0,10	9,89±0,03	30,14±0,11
pH (2,55)	12,63±0,11	4,66±0,04	9,48±0,16	10,03±0,30	30,02±0,3
pH(2,45)	12,44±0,11	4,63±0,03	9,67±0,31	9,99±0,28	29,75±0,62
Dalga boyu (nm) +	12,27±0,36	4,45±0,28	9,35±0,21	9,62±0,12	30,18±0,22
Dalga boyu (nm) -	12,17±0,15	4,43±0,28	9,50±0,14	9,46±0,12	30,15±0,29

Tablo 4.60. Standartların sağlamlık çalışması sonucunda elde edilen *p* değerleri*

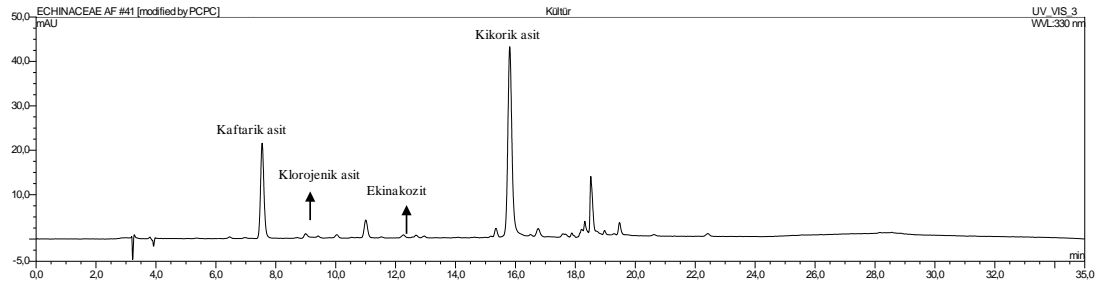
	Klorojenik asit	Ekinakozit	Silibinin A	Silibinin B	Rozmarinik asit
Akış hızı + (mL/dk.)	0,48	0,65	0,97	0,55	0,98
Akış hızı - (mL/dk.)	0,53	0,65	0,97	0,63	0,93
pH (2,55)	0,63	0,65	0,91	0,54	0,71
pH(2,45)	0,99	0,65	0,60	0,57	0,60
Dalga boyu (nm) +	0,48	0,65	0,77	0,89	0,92
Dalga boyu (nm) -	0,54	0,65	0,83	0,61	0,99

* *p* değerleri optimum koşulla karşılaştırılmış t-testi

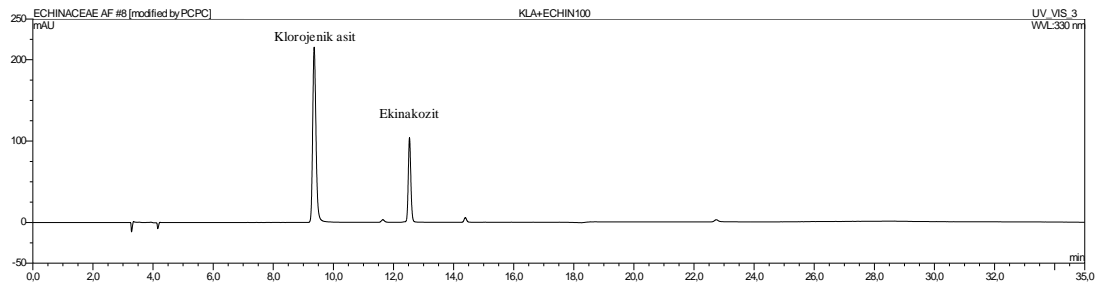
4.4.2. Kültür Bitkileri ve Farmasötik Formdaki Ürünler Üzerinde Kalite Kontrol Çalışmaları

Echinacea purpurea

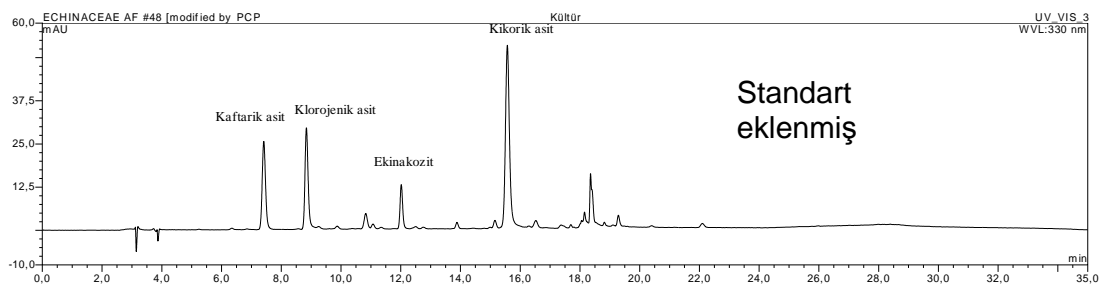
Echinacea purpurea Kültür bitkisi ve farmasötik formdaki ürünlerin HPLC analizleri



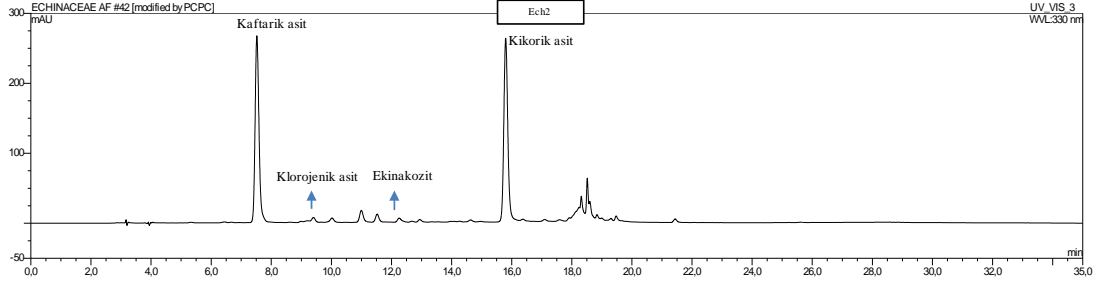
Şekil 4.15. *Echinacea purpurea* Kültür bitkisi HPLC kromatogramı



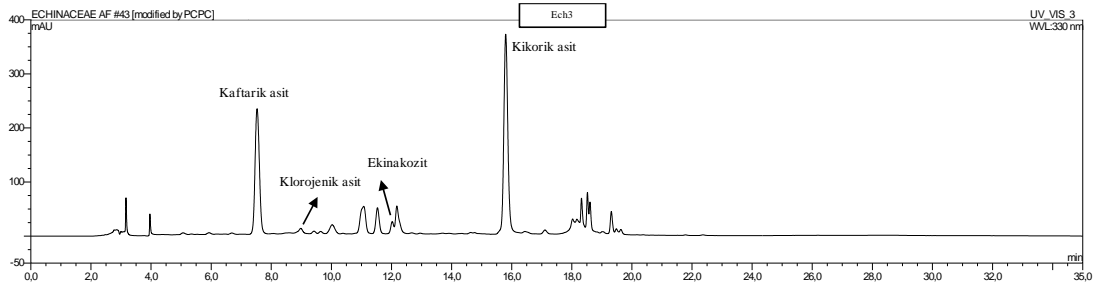
Şekil 4.16. Klorojenik asit ve Ekinakozit standart bileşiklerinin HPLC kromatogramı



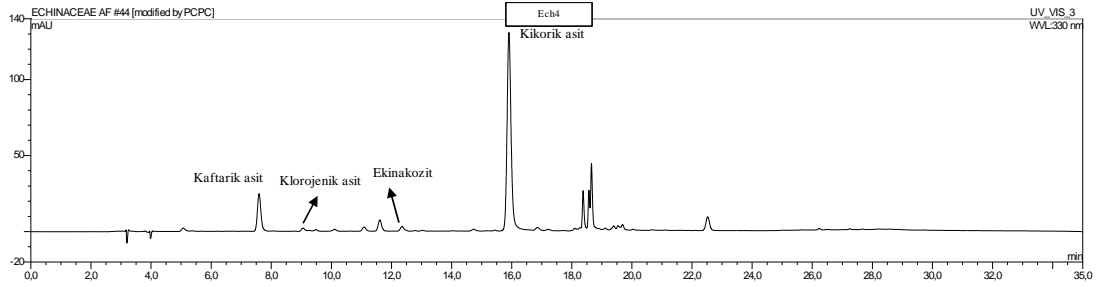
Şekil 4.17. Standart bileşikler eklenmiş *Echinacea purpurea* kültür bitkisi (Ech-1) HPLC kromatogramı



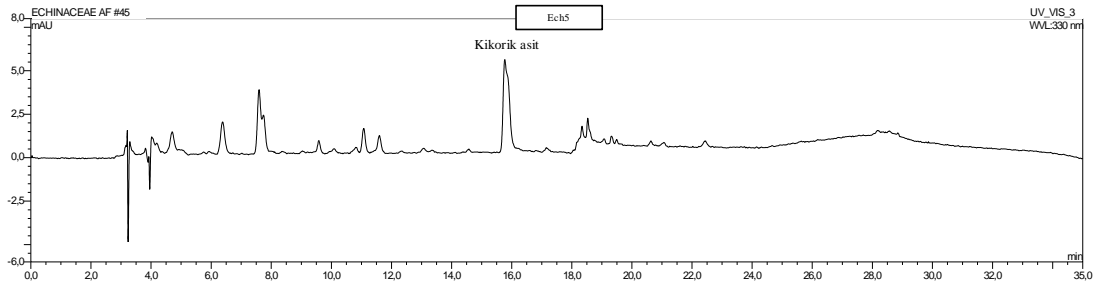
Şekil 4.18. *Echinacea purpurea* içeren ürün (Ech-2) HPLC kromatogramı



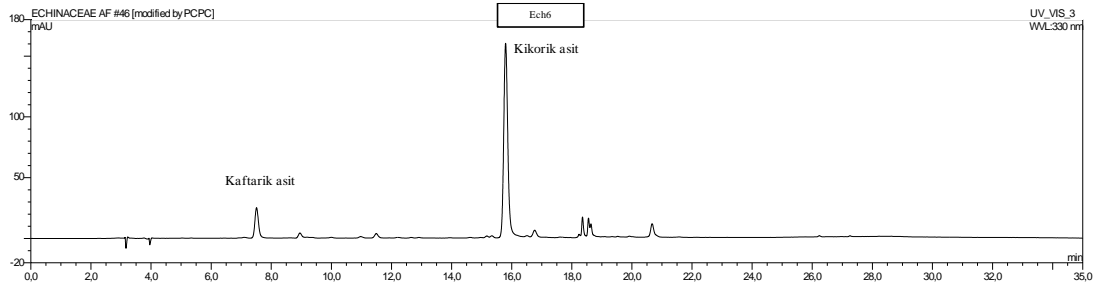
Şekil 4.19. *Echinacea purpurea* içeren ürün (Ech-3) HPLC kromatogramı



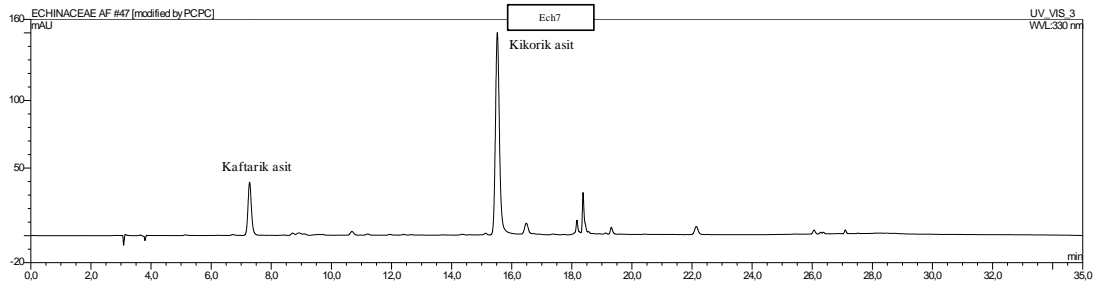
Şekil 4.20. *Echinacea purpurea* içeren ürün (Ech-4) HPLC kromatogramı



Şekil 4.21. *Echinacea purpurea* içeren ürün (Ech-5) HPLC kromatogramı



Şekil 4.22. *Echinacea purpurea* içeren ürün (Ech-6) HPLC kromatogramı



Şekil 4.23. *Echinacea purpurea* içeren ürün (Ech-7) HPLC kromatogramı

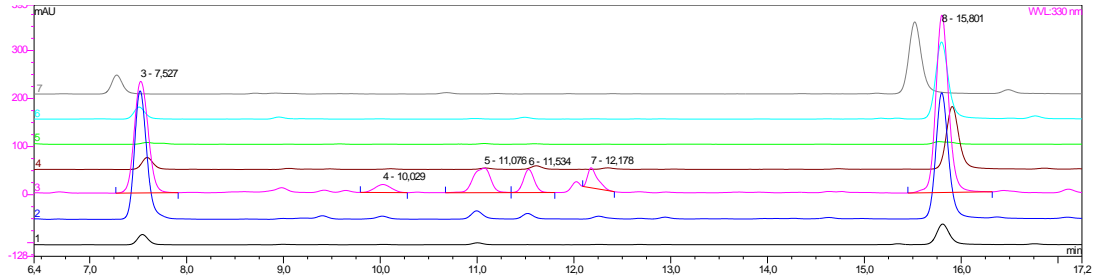
Echinacea purpurea HPLC miktar tayini bulguları

3.4.1 de belirtildiği gibi ekstre edilen toprak üstü kısımlar, Avrupa Farmakopesinde yer alan formüle göre hesaplanmış ve olması gereken miktar ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.61. *Echinacea purpurea* kültür bitkisi ve bu bitkiyi içeren ürünlerde bulunan, klorojenik asit üzerinden hesaplanmış kaftarik asit ve kikorik asit toplam miktarları ve Avrupa Farmakope'sine uyumluluğu

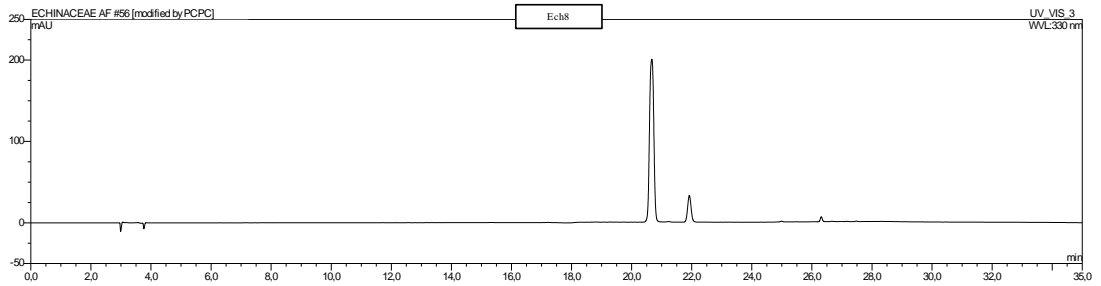
ÜRÜN KODU	KLOROJENİK ASİT ÜZERİNDEN	AVRUPA FARMAKOPESİNE
	HESAPLANAN KAFTARİK ASİT + KİKORİK ASİT MİKTARI (KURU DROG İÇİNDEKİ %)	GÖRE BULUNMASI GEREKEN MİKTAR (% EN AZ)
ECH-1	0,021	0,1
ECH-2	0,203	0,1
ECH-3	0,186	0,1
ECH-4	0,046	0,1
ECH-5	0,010	0,1
ECH-6	0,052	0,1
ECH-7	0,058	0,1
ECH-8	-	0,1
ECH-9	-	0,1

Echinacea purpurea parmak izi (fingerprint) analizi

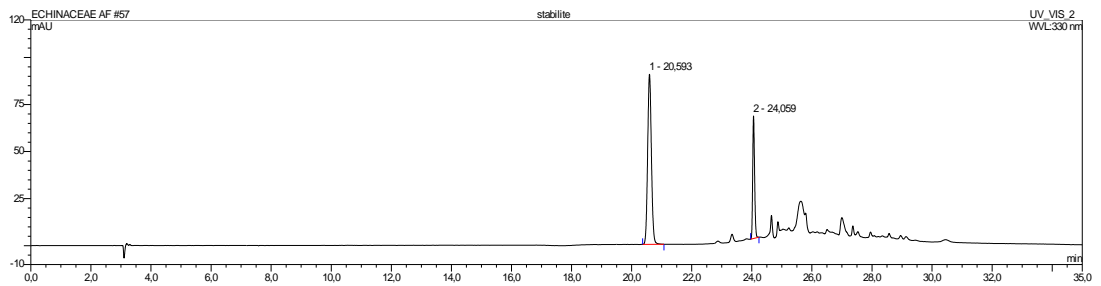


Şekil 4.24. *Echinacea purpurea* içeren tüm ürünler ve kültür bitkisinin karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı

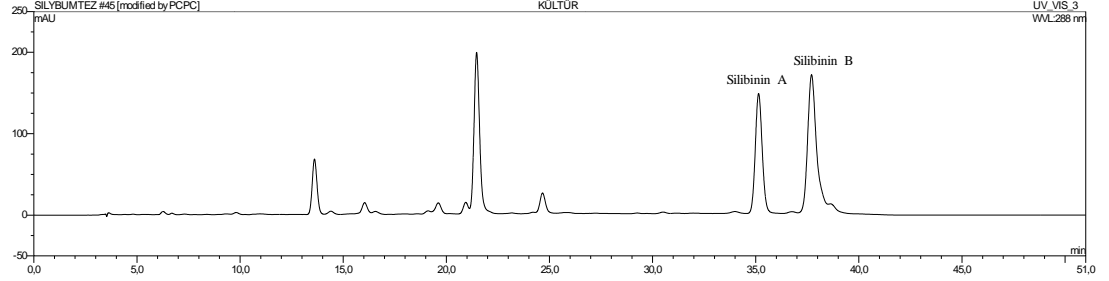
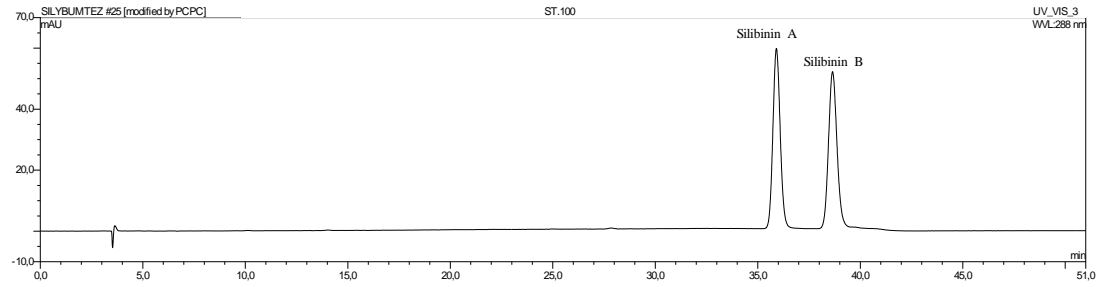
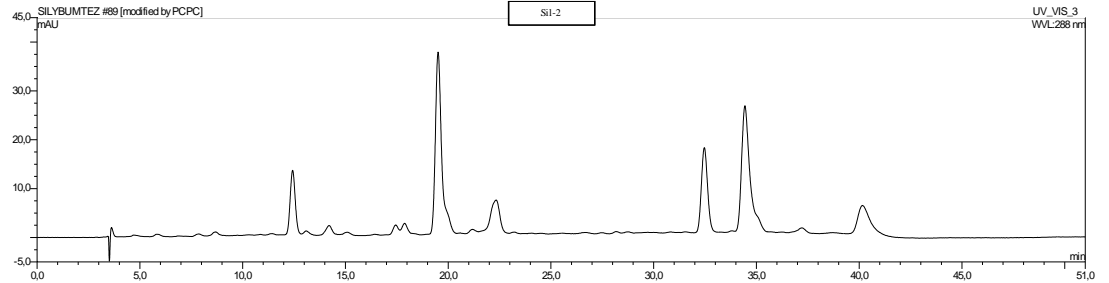
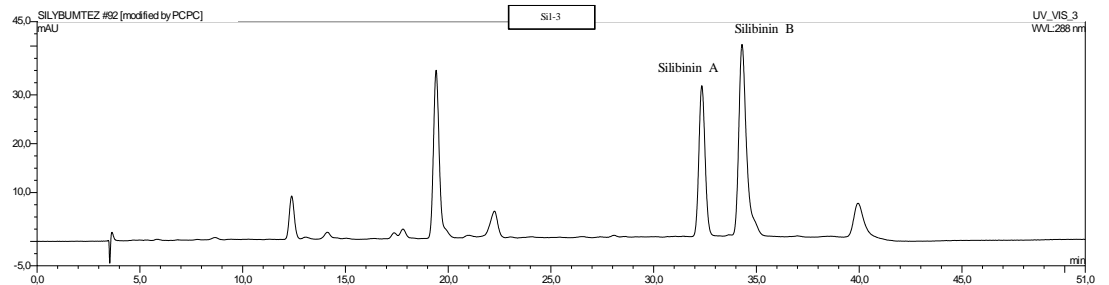
Echinacea purpurea stabilite çalışmaları

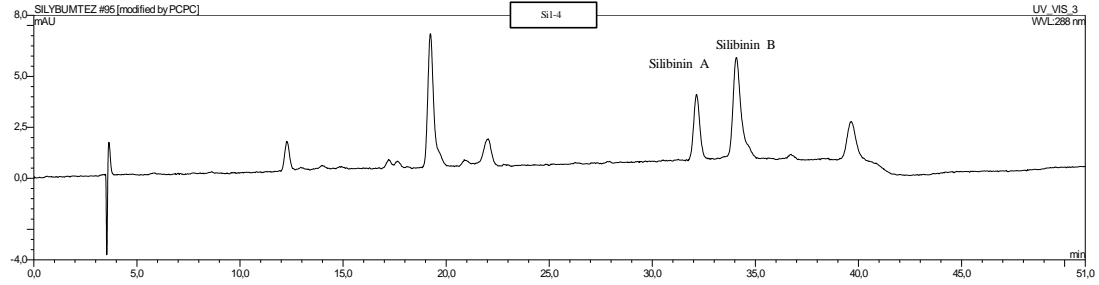


Şekil 4.25. *Echinacea purpurea* içeren tarihi geçmiş ürün (Ech-8) HPLC kromatogramı

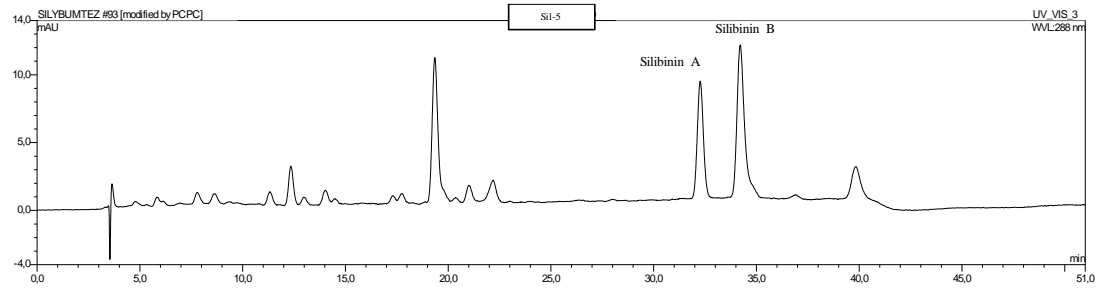


Şekil 4.26. *Echinacea purpurea* içeren odada bekletilmiş ürün (Ech-9) HPLC kromatogramı

*Silybum marianum****Silybum marianum* kültür bitkisi ve farmasötik formdaki ürünlerin HPLC analizleri****Şekil 4.27.** *Silybum marianum* kültür (Sil-1) HPLC kromatogramı**Şekil 4.28.** Silibinin A ve B standart bileşiklerinin HPLC kromatogramı**Şekil 4.29.** *Silybum marianum* içeren ürün (Sil-2) HPLC kromatogramı**Şekil 4.30.** *Silybum marianum* içeren ürün (Sil-3) HPLC kromatogramı



Şekil 4.31. *Silybum marianum* içeren ürün (Sil-4) HPLC kromatogramı



Şekil 4.32. *Silybum marianum* içeren ürün (Sil-5) HPLC kromatogramı

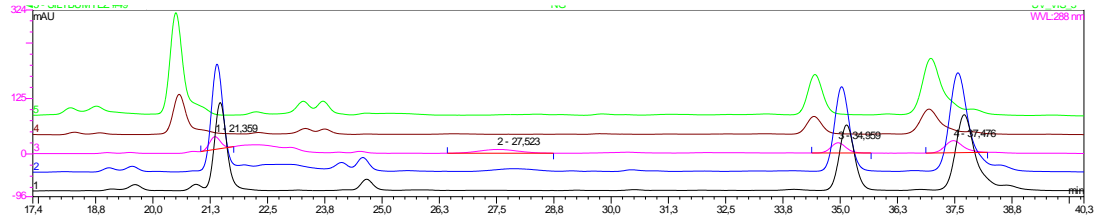
Silybum marianum HPLC miktar tayini bulguları

3.4.2’de belirtilen şekilde ekstre edilen meyvalar içerisindeki Silibinin A ve Silibinin B maddeleri, standart maddelere ait kalibrasyon eğrileri üzerinden hesaplanmış, Avrupa Farmakopesi’ndeki olması gereken miktar ile karşılaştırılmıştır.

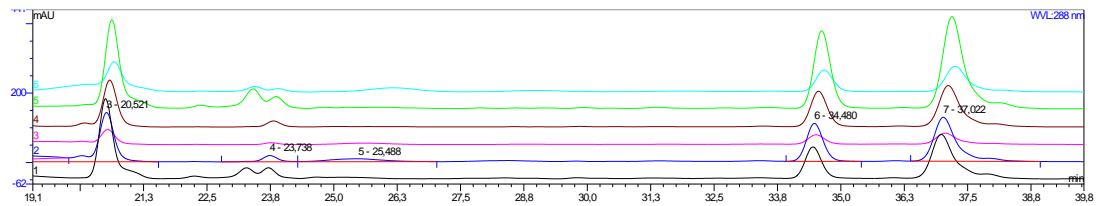
Tablo 4.62. *Silybum marianum* kültür bitkisi ve bu bitkiyi içeren ürünlere bulunan, Silibinin A ve Silibinin B toplam miktarları ve Avrupa Farmakope’sine uyumluluğu

ÜRÜN KODU	SİLİBİNİN A + SİLİBİNİN B MİKTARI (KURU DROG İÇİNDEKİ %)	AVRUPA FARMAKOPESİNE GÖRE BULUNMASI GEREKEN MİKTAR (% en az)
SİL-1 (KÜLTÜR)	2,98	1,5
SİL-2	2,66	1,5
SİL-3	4,2	1,5
SİL-4	0,46	1,5
SİL-5	1,12	1,5
SİL-6	0,7	1,5
SİL-7	0,9	1,5
SİL-8	1,05	1,5

Silybum marianum parmak izi (fingerprint) analizi

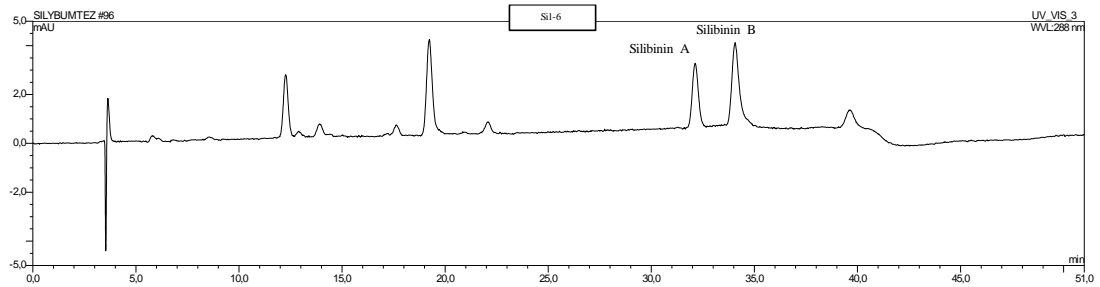


Şekil 4.33. *Silybum marianum* içeren tüm ürünler ve kültür bitkisinin karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı

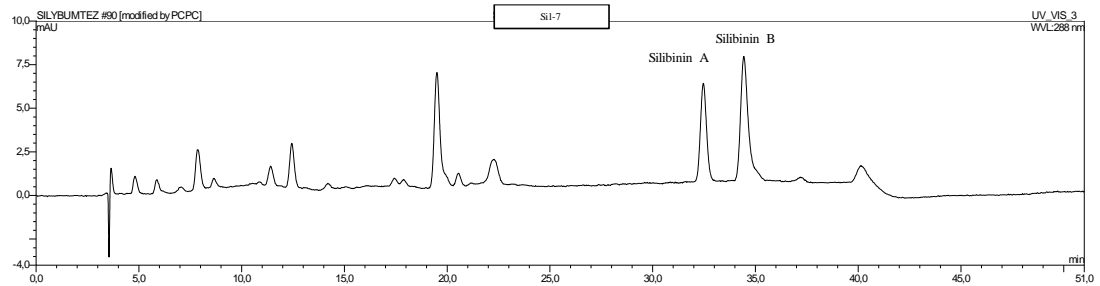


Şekil 4.34. *Silybum marianum* içeren ürünlerden Silibinin A ve B miktarı düşük olanların karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı

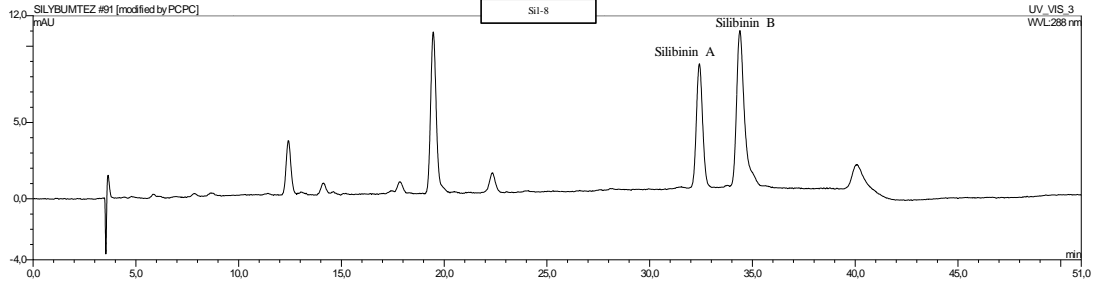
Silybum marianum stabilite çalışmaları



Şekil 4.35. *Silybum marianum* içeren tarihi geçmiş ürün (Sil-6) HPLC kromatogramı



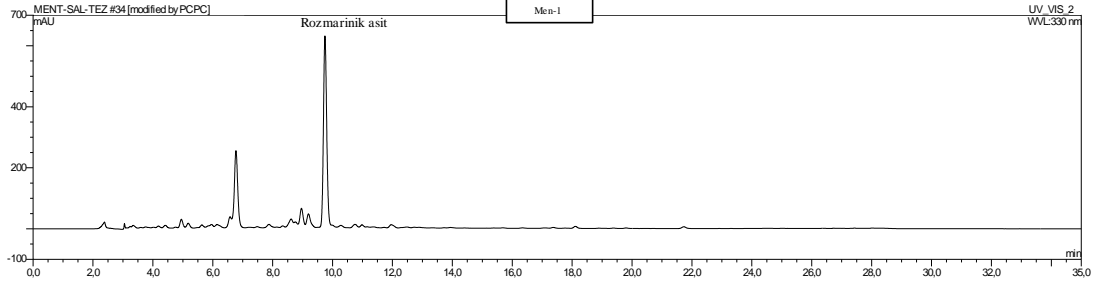
Şekil 4.36. *Silybum marianum* kültür (toplanması üzerinden 6 ay geçmiş) (Sil-7) HPLC kromatogramı



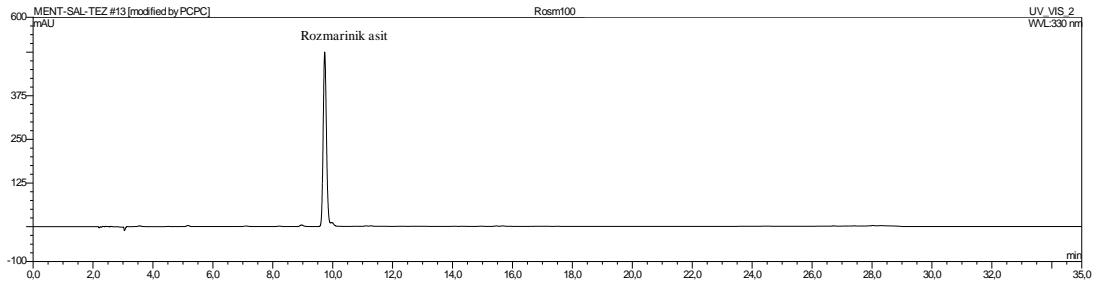
Şekil 4.37. *Silybum marianum* kültür (toplamadan 18 ay sonra) (Sil-8) HPLC kromatogramı

Mentha piperita

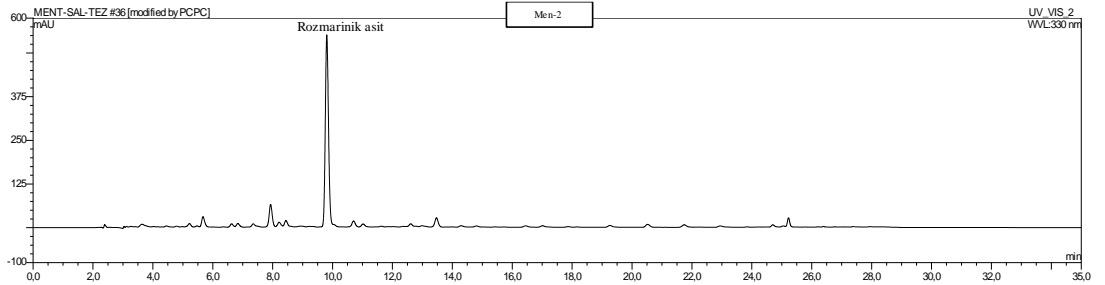
Mentha piperita kültür bitkisi ve farmasötik formdaki ürünlerin HPLC analizleri



Şekil 4.38. *Mentha piperita* kültür (Men-1) HPLC kromatogramı



Şekil 4.39. Rozmarinik asit standart bileşiğinin HPLC kromatogramı



Şekil 4.40. *Mentha piperita* içeren ürün (Men-2) HPLC kromatogramı

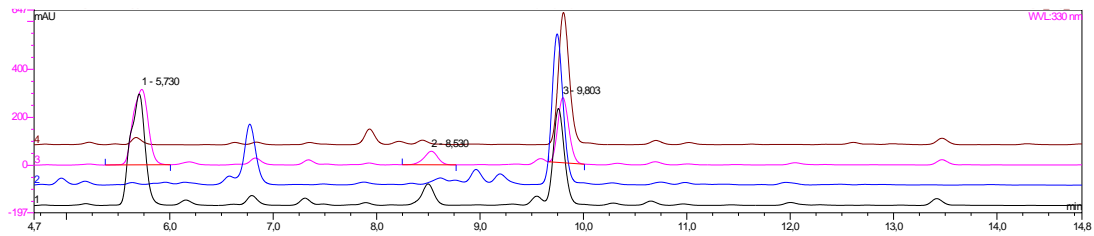
Mentha piperita HPLC miktar tayini bulguları

3.4.2’de belirtilen şekilde ekstre edilen yapraklardaki rozmarinik asit miktarları, standart maddeye ait kalibrasyon eğrileri üzerinden hesaplanmış, Avrupa Farmakopesi’ndeki olması gereken miktar ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.63. *Mentha piperita* kültür bitkisi ve bu bitkiyi içeren ürünlerde bulunan, rozmarinik asit miktarları ve Avrupa Farmakope’sine uyumluluğu.

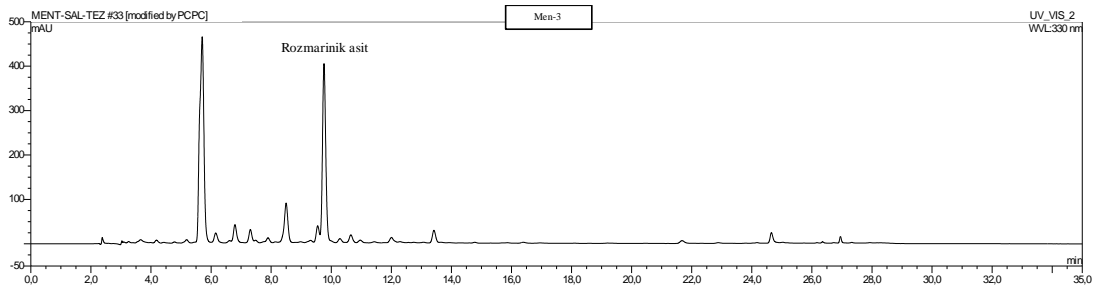
ÜRÜN KODU	ROZMARİNİK ASİT MİKTARI (KURU EKSTRE İÇİNDEKİ %)	AVRUPA FARMAKOPESİNE GÖRE BULUNMASI GEREKEN MİKTAR (% en az)
MEN-1	6,883	0,5
MEN-2	3,709	0,5
MEN-3	2,954	0,5
MEN-4	2,824	0,5

Mentha piperita parmak izi (fingerprint) analizi



Şekil 4.41. *Mentha piperita* içeren ürün ve kültür bitkisinin karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı

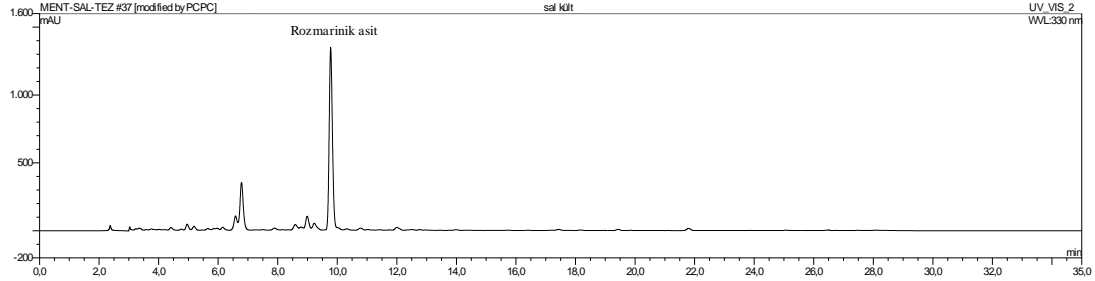
Mentha piperita stabilite çalışmaları



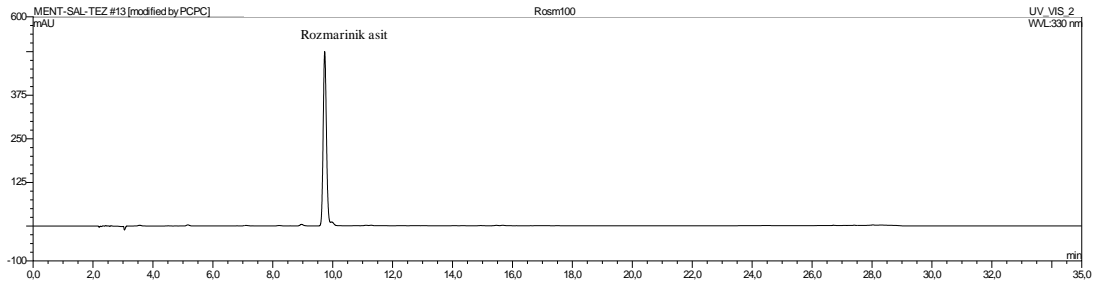
Şekil 4.42. *Mentha piperita* kültür bitkisinden elde edilen drog (toplanması üzerinden 6 ay geçmiş) (Men-3) HPLC kromatogramı

Salvia officinalis

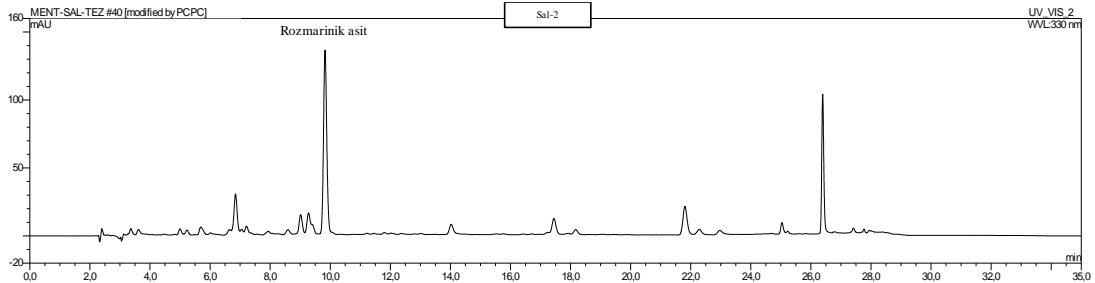
Salvia officinalis kültür bitkisi ve farmasötik formdaki ürünlerin HPLC analizleri



Şekil 4.43. *Salvia officinalis* kültür (Sal-1) HPLC kromatogramı



Şekil 4.44. Rozmarinik asit standart bileşiğinin HPLC kromatogramı



Şekil 4.45. *Salvia officinalis* içeren ürün (Sal-2) HPLC kromatogramı

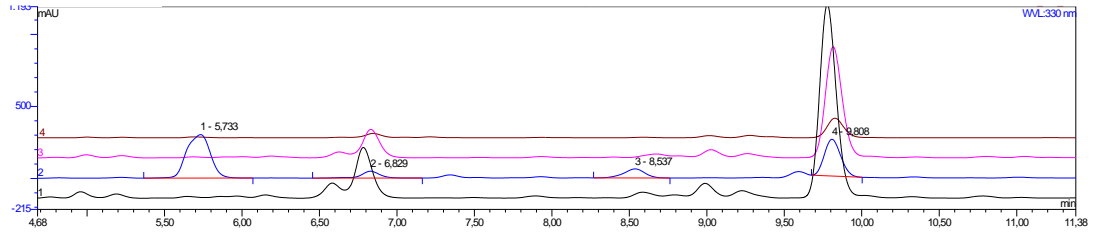
Salvia officinalis HPLC miktar tayini bulguları

3.4.2’de belirtilen şekilde ekstre edilen yapraklardaki rozmarinik asit miktarları, standart maddeye ait kalibrasyon eğrileri üzerinden hesaplanmış, Avrupa Farmakopesi’ndeki olması gereken miktar ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.64 *Salvia officinalis* kültür bitkisi ve bu bitkiyi içeren ürünlerde bulunan, Rozmarinik asit miktarı.

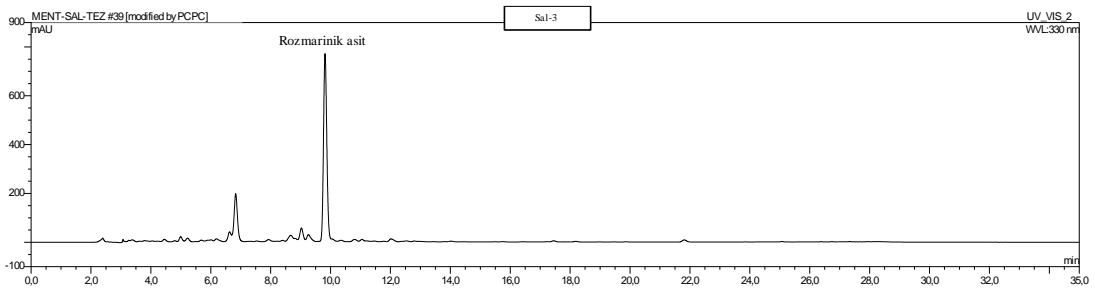
ÜRÜN KODU	ROZMARİNİK ASİT MİKTARI (%)
SAL-1	14,416
SAL-2	1,448
SAL-3	7,959
SAL-4	1,929

Salvia officinalis parmak izi (fingerprint) analizi



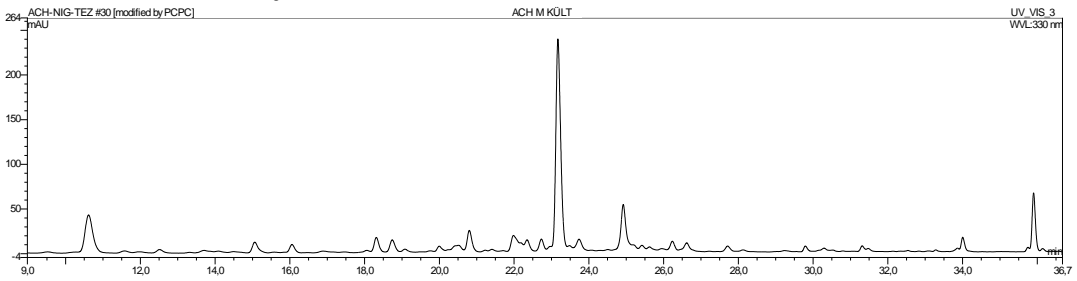
Şekil 4.46. *Salvia officinalis* içeren ürünler ve kültür bitkisinin karşılaştırmalı parmakızı HPLC kromatogramı

Salvia officinalis stabilite çalışmaları



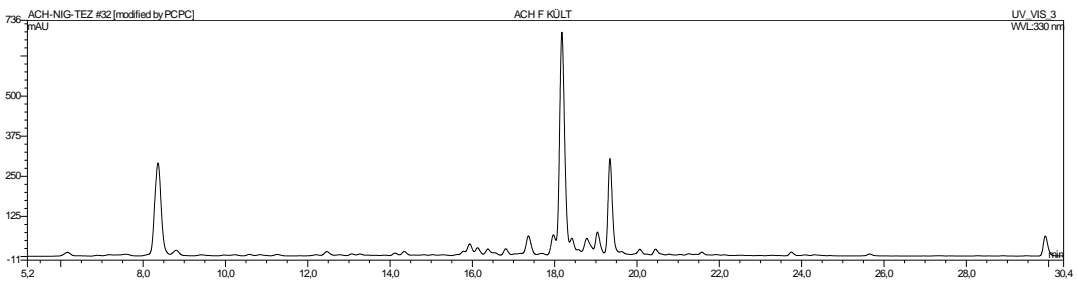
Şekil 4.47. *Salvia officinalis* kültür (toplanma tarihi üzerinden 6 ay geçmiş) (Sal-3) HPLC kromatogramı

Achillea millefolium

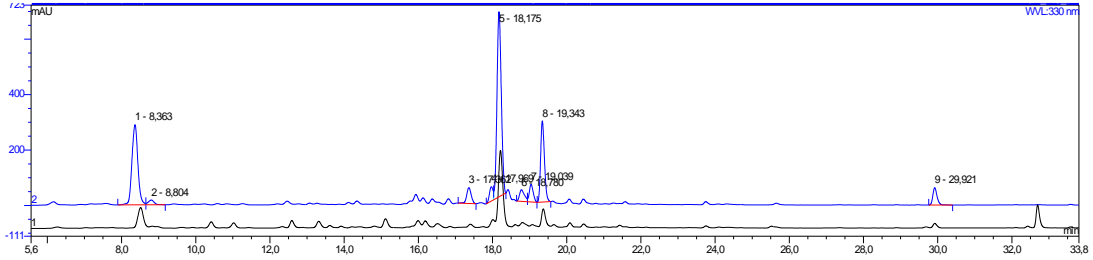


Şekil 4.48. *Achillea millefolium* HPLC kromatogramı

Achillea filipendulina

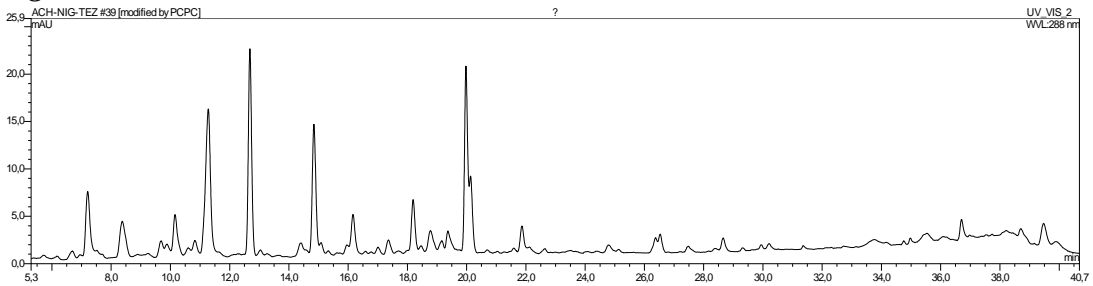


Şekil 4.49. *Achillea filipendulina* HPLC kromatogramı



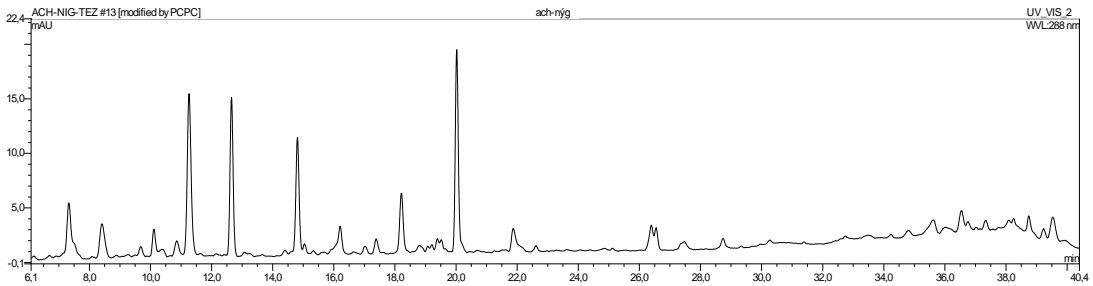
Şekil 4.50. *Achillea filipendulina* ve *A. millefolium* kültür bitkilerinin karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı

Nigella sativa

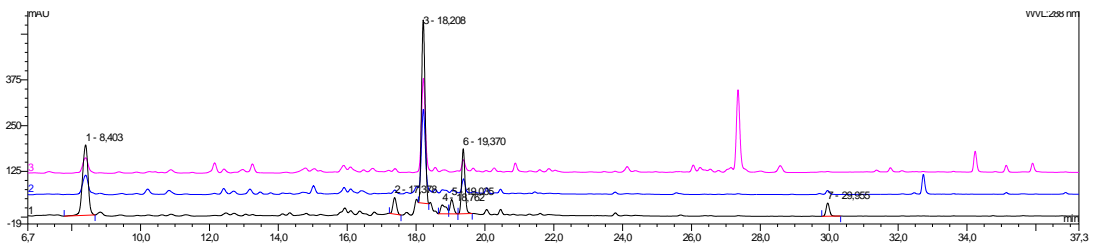


Şekil 4.51. *Nigella sativa* HPLC kromatogramı

Nigella damascena



Şekil 4.52. *Nigella damascena* HPLC kromatogramı

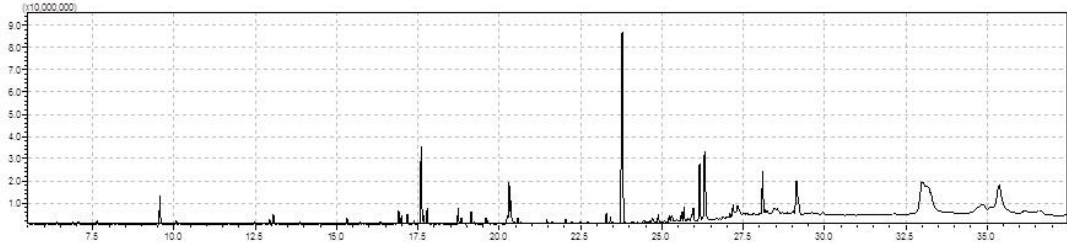


Şekil 4.53. *Nigella damascena* ve *N. sativa* kültür bitkilerinin karşılaştırmalı parmakizi HPLC kromatogramı

4.4.3. Gaz Kromatografisi–Kütle Spektrometrisi (GC-MS)

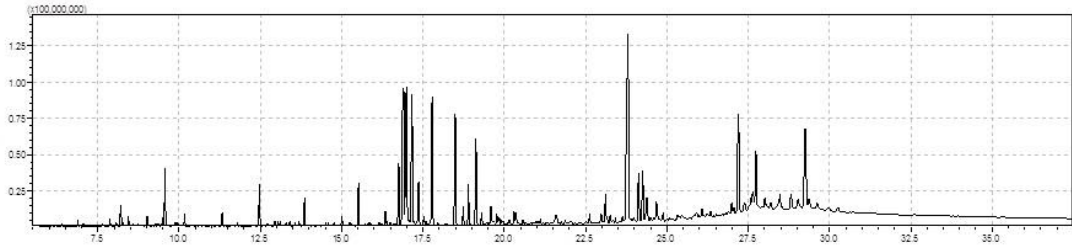
Kromatogramları

Silybum marianum



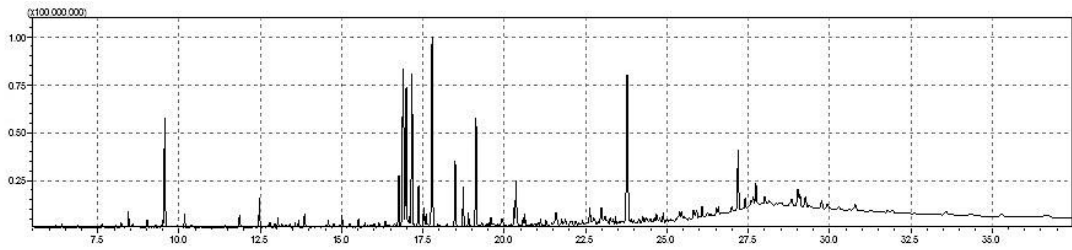
Şekil 4.54. *Silybum marianum* GC-MS kromatogramı

Achillea millefolium



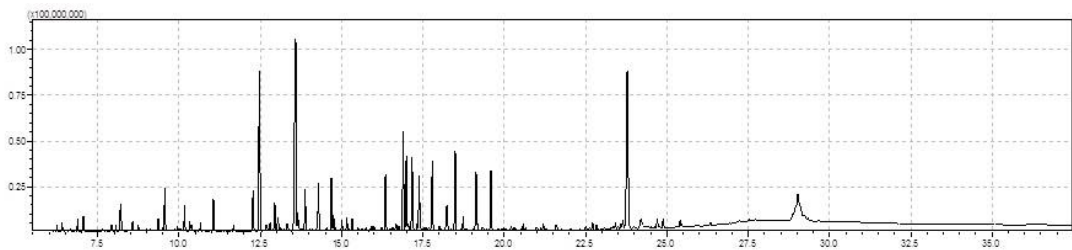
Şekil 4.55. *Achillea millefolium* GC-MS kromatogramı

Achillea filipendulina

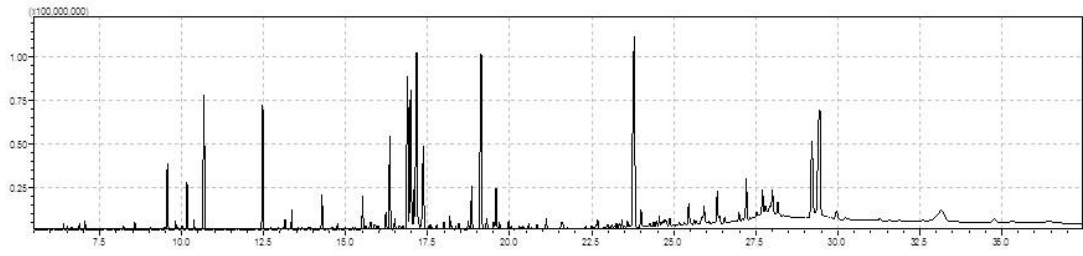
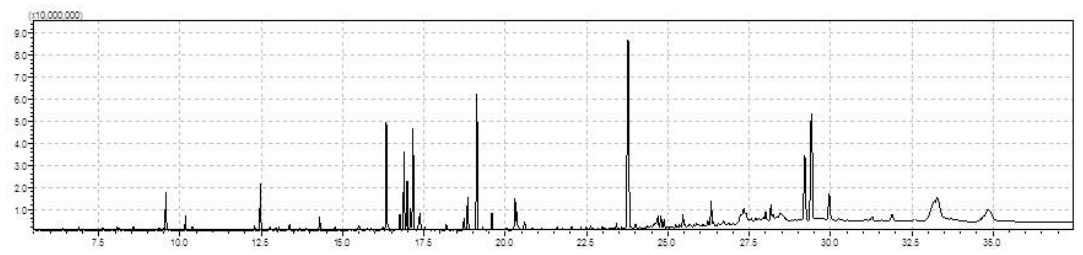
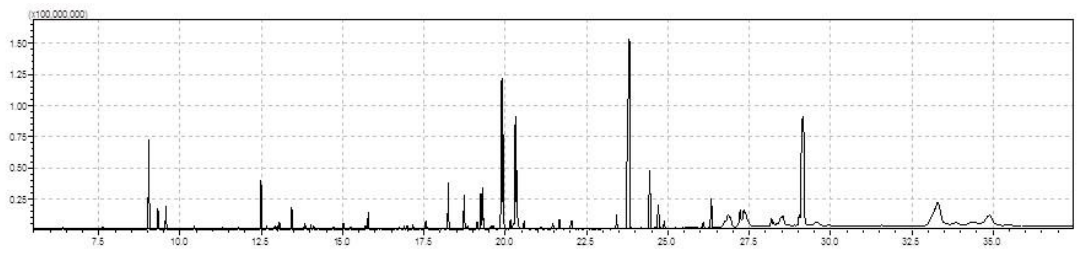
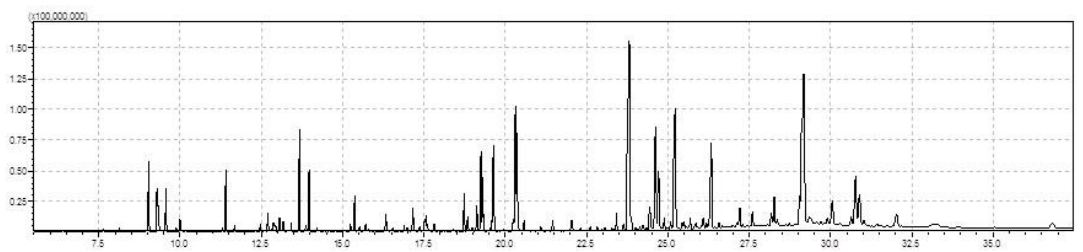


Şekil 4.56. *Achillea filipendulina* GC-MS kromatogramı

Echinacea purpurea



Şekil 4.57. *Echinacea purpurea* GC-MS kromatogramı

Mentha piperitaŞekil 4.58. *Mentha piperita* GC-MS kromatogramı*Salvia officinalis*Şekil 4.59. *Salvia officinalis* GC-MS kromatogramı*Nigella sativa*Şekil 4.60. *Nigella sativa* GC-MS kromatogramı*Nigella damascena*Şekil 4.61. *Nigella damascena* GC-MS kromatogramı

4.4.4. GC-MS Analizi Metabolomiklerin Alınma Zamanları ve Pik Alanları

Tablo 4.65. GC-MS Metabolit alınma zamanları

Metabolomikler	Rt	<i>Achillea millefolium</i>	<i>A. filipendulina</i>	<i>Echinaceae purpurea</i>	<i>Mentha piperita</i>	<i>Nigella damascena</i>	<i>N. sativa</i>	<i>Salvia officinalis</i>	<i>Silybum marianum</i>
O-fosfolamin	15,98	-	-	-	-	1031395	2205794	-	267598
Araşidik asit	22,28	4299848	3402288	1400797	-	5472013	4495432	591157	645441
Pirüvik asit	6,24	98278	289370	16018438	121112	-	-	192659	-
L-(+) laktik asit	6,40	8736114	7905443	23601085	19077389	8955245	9333432	6466047	6682773
2-hidroksibütirik asit	7,41	193920	431286	-	307899	-	-	55067	-
Urasil	10,49	-	-	339948	-	34095	-	-	-
Üre	9,10	2522371	1639515	3695532	-	288693	474533	-	785127
Vanilin	14,47	2026584	844144	-	-	-	-	-	1506729
4-hidroksibenzoik asit	14,25	2199923	3936085	-	-	5906956	3452520	-	384363
Kafeik asit	19,58	26928218	75639043	199193772	128288015	32966602	16653988	46749668	17740322
3-hidroksi-3-metilglutarik asit (dikrotalik asit)	13,90	-	624836	7554473	9000175	-	-	641921	-
D-treitol	12,72	5647069	10329234	20032768	6151599	16583674	2387863	447687	2056059
Maltotrioz	22,17	-	9694322	-	3346136	-	-	682575	-
L-norlösin	8,02	515023	8201008	4890719	5235691	1039210	-	4174847	507886
O-asetilsalisilik asit	12,79	8743862	5013395	-	243354	-	-	-	-
Beta- alanin	11,73	1068115	1183858	2280654	4166867	-	-	1420571	614245
Benzoik asit	9,28	5931436	8925742	768452	939771	273520682	-	102121	11092
D-glukoz	17,16	578611397	793349237	243549659	877027044	115012392	27166035	304470458	29436267
1-hekzadekanol	17,86	855824	-	-	-	-	296481	-	194011
Palatinitol	25,47	11730260	10080497	-	-	28830058	2732704	-	16478676
L- glutamik asit	14,11	-	-	2733021	-	1495215	19560415	-	821411
Rafinoz	33,14	-	-	-	4424375	3818695	-	-	-
N-asetil-D-triptofan	22,22	-	-	1066925	-	-	-	-	5361950
L-mimozin	8,46	61799	-	-	-	-	-	-	-
Melibioz	32,59	-	-	-	338343	-	-	2926877	-
Maleik asit	10,01	-	-	2935697	13709250	-	390535	1760867	-
Tartarik asit	14,29	545741	-	149962170	108115667	2652690	-	36234704	938548
Fumarik asit	10,66	1579260	2453922	25059627	611579878	2228713	505406	2068665	438141
Oleik asit	20,35	110740033	38448193	-	-	433692183	23016275 5	34460684	45677426
Ferulik asit	19,10	-	-	13760116	3676985	-	55930	-	-
D-alloz	17,12	-	4794727	43022647	587382	-	-	-	-
alfa ketoglutarik asit	13,57	12659448	12360990	-	-	-	-	4382570	-
Linoleik asit	20,30	57042071	44481668	-	-	636842283	55554497 0	87219912	98541557
Kemferol	26,88	805760	9584673	-	-	3571521	1318006	-	-
Metil oleat	19,31	-	-	-	-	237825995	165312333	-	-
Tiramin	17,41	-	-	5905746	-	-	-	3174265	-

L-serin	9,36	3592912	9200501	32464784	3785690	7741832	2405981	6737208	1574682
D-mannitol	17,55	57016296	31784618	6141342	7956957	62815412	11947919	6217360	257171706
Fitol	19,93	3232331	3478262	-	-	527650	-	883639	-
Sitronik asit	10,65	451021	211852	7637441	-	-	-	-	69445
Kinik asit	16,76	148446660	251573369	11596779	9831903	2091504	2837265	43232111	3541205
Klorojenik asit	27,19	185422870	576437297	-	-	-	-	-	30400296
Piceatannol	25,63	135371	247732	189855	-	-	-	-	-
Porfin	10,43	1827738	1055392	672003	-	-	-	895105	-
3,4-dihidroksibenzoik asit	16,39	5819833	13240331	1106179	1301337	5550847	-	1594297	740005
p-simen	6,04	-	40003	-	-	254920	5153095	-	-
Gliserol 1-fosfat	15,71	10414598	5198990	2037904	8433523	33516305	19028470	3124903	5532419
Glikolik asit	6,65	2862661	3545999	4588148	8607894	1035859	-	1999472	1039740
Epsilon-kaprolaktam	5,88	-	-	363772	-	-	364415	222580	402545
Hidrokinon	11,38	289999	500175	979996	136136	82603	60631	76230	161654
İtakonik asit	10,55	-	-	-	-	-	-	-	28917
Behenik asit	23,87	2962129	6461771	-	-	-	2961014	-	-
4-hidroksi-3-metoksibenzoik asit	15,80	3440726	4510203	504963	596544	-	-	-	1597150
Şikimik asit	16,23	5747983	10950797	11963333	-	1885470	-	8931307	-
2-hidroksipiridin	6,08	1000158	1604930	1034742	1767824	396525	3772048	1681779	1124972
allo-inositol	17,78	1033727626	737794928	242572439	-	-	-	-	41033038
N-asetil-D-mannozamin	18,98	-	-	2311582	4971670	17530846	-	-	-
[DL-3,4-dihidroksifenil glikol	18,57	-	-	924257	3372228	366902	-	56491	-
Nikotinik asit	9,96	507845	659219	491420	792926	827735	262479	331832	867521
metil-beta-D-galaktopiranozit	16,40	-	-	-	-	-	-	7439563	-
Okzalik asit	7,55	1176321	128438	948944	487630	-	-	-	245805
Palmitik asit	18,73	118901277	70883416	39964284	25938274	174160328	155808385	33360593	41466536
Riboz	14,59	-	-	-	-	-	-	1238542	494027
Metil Palmitat	17,56	-	-	-	-	63183562	44328210	-	-
Metil Stearat	19,54	-	-	-	-	12956551	7077736	-	-
Alanin	7,05	4754745	9836382	44085370	30229631	1828509	1663902	5146139	7968071
Aspartik asit	11,67	763844	-	16131640	-	27289383	4038478	1089399	2353505
Sitrik asit	16,34	19440113	56610564	170616084	338852093	32073143	-	307367152	6933209
L-Treonin	9,88	2649773	12588199	4135538	7186660	15663381	805934	4924804	699093
Dodekametilsikloheksasiloksan	10,06	-	-	408402	491362	-	205365	-	-
Ksilitol	14,99	-	-	-	-	-	-	4369950	-
Fruktoz metoksiamin	16,89	750458767	1132893751	339416747	834829940	25515043	17451847	214353683	34804052
Glukopiranoz	17,95	7264965	9368661	418299	-	6570698	-	-	598436
Galaktonik asit	18,21	6164846	2574022	84732883	43676297	2935983	-	15687716	3096842
Sukroz	23,80	813497667	1603134899	1011934424	1462942189	1780233746	2154017855	1023232862	968265345
Sukroz	24,36	16033141	234708873	-	22685803	-	-	-	-
Galaktinol	26,41	-	-	-	-	-	-	8589242	-
Trihaloz	23,86	-	952297409	-	-	1043126417	996091680	-	-
Etilglukopiranozit	17,45	-	26806135	-	8519896	93538515	-	-	-

Salisilik asit-glukopiranozit	23,25	14068563	24658860	-	11409546	-	-	2536977	-
Galaktinol; alfa-D-Gal-(1,3)-myo-Inositol	26,28	-	-	10463371	111331189	671960859	166719214	68102148	139590618
3-Hidroksiopropanoik asit	7,69	2327964	4198418	2231182	3760006	1448574	-	736516	514561
Malonik asit	8,57	8154632	6702103	25214263	21415983	1027323	949430	9349671	174271
L-Alanin	10,81	-	-	-	1589951	365436	-	480977	412241
Prolin	13,68	10201018	12381069	8184082	-	-	-	-	601999
2,3-Dihidroksibutandioik asit	13,86	-	-	2780632	3551421	-	-	1933351	-
Ksiloz metoksiamin	14,60	19312154	11697182	-	22723162	2910305	2413556	9470153	526152
Fruktoz metoksiamin	16,90	301853924	524417784	-	564618386	-	5152225	-	-
Guloz	21,20	-	-	20159796	-	-	-	-	-
Gliserol	9,57	-	-	-	-	-	-	41115019	-
L-Prolin	9,95	5542062	10042758	10137180	-	-	-	-	-
2-O-Gliserol-beta-D-galaktopiranozit	20,01	17606435	14748305	-	9674087	-	-	-	-
1-Benzilglukopiranozit	21,75	-	-	3045052	-	-	-	-	-
Süksinik asit	10,16	32830218	42536359	66879505	150097768	3132595	-	34127825	1883380
Gliserik asit	10,37	6520990	7304484	18274519	31201491	3808041	-	11572038	676462
Ribonik asit	15,77	1692276	3704458	11732692	42038527	689015	-	7670527	-
1-Benzilglukopiranozit	21,75	5037291	8153821	2060510	3912512	-	-	3020916	-
Guloz	20,49	-	-	20159796	2641675	-	-	15661756	-
Sitramalik asit	12,27	-	-	123518439	2620839	-	-	14791198	-
Malik asit	12,47	87213540	165059908	686985404	424525917	34677053	-	120313684	5303784
Threonik asit	13,34	2247064	4546326	23515674	62885276	6744386	-	14744263	655755
Gliserol	9,56	301115277	190162643	115858527	194504086	168685924	94957321	84313278	57994649
myo-Inositol	19,13	414572115	403532238	187961258	1021913215	129414428	39286452	411028688	34448952
Sukroz	29,20	45496741	595757773	17830499	454790976	1416470652	1272072381	262039340	153426285
Piroglutamik asit	12,94	12826062	19632196	81392876	11163345	29980838	18559775	7131380	12283658
Glukarik asit	18,36	-	-	1748550	-	4055088	-	2972186	-
2-O-Gliserol-beta-D-galactopiranozit	20,03	3512549	-	12012776	4685766	2998959	-	5104925	-
Trehaloz	24,59	8162384	7591982	2755037	33610638	7418709	9527388	4511019	2370649
NA	7,63	9082009	6518819	4713039	5184174	9285281	14918409	7134738	7766935
2,4,6-Tri-tert-butilbenzenetiol	13,18	-	-	790656	743941	-	930439	598843	-
Oktadekanol	19,78	3866176	3336416	3571368	389313	1991196	1993344	750097	796022
Eikozanol	21,53	2782206	2264775	-	-	553504	701048	-	-
Dokoanol	23,16	10970854	13890101	-	-	-	-	-	-
Hekzakozanol	26,08	34408360	40807687	757379	-	-	-	-	-
Triakontanol	28,84	22270589	26080480	956052	-	-	-	-	-
Dotriakontanol	30,72	3680695	5344247	-	-	-	-	-	-
Glisin	10,06	1865359	1138784	5423271	927644	969591	107614	-	9141387
1-Monoheksadekanoilgliserol	23,42	21312282	10837093	16778439	20946986	81266598	66105457	13979332	15790847
1-Monooktadekanoilgliserol	24,88	25948298	62151977	28638999	21405447	50628079	35427121	17394903	20415462
Pentadekanoik asit	17,75	-	-	-	-	-	-	105546	115455
Octadekanoik asit	20,58	21991319	14934378	18219706	18440324	50885126	37799947	19564007	12425864

Hidroksilamin	7,24	-	248015	-	473902	258505	-	481299	-
2-Pirrolidinon	7,74	636545	1033355	959309	-	-	-	177522	726461
Monometilfosfat	8,19	439336	223779	-	2899243	-	-	174027	547374
4-Aminobutirik asit	13,04	26748842	17833119	38823994	2622309	-	-	10114752	15224884
Ksilitol	15,16	33979715	34190415	29435026	9683247	34458964	11968278	2892495	16801900
cis-Akonitik asit	15,58	539660	355685	1205078	1413510	-	-	1247616	-
Galaktitol	17,64	2448043	-	-	-	-	-	-	-
Koniferil alkohol	17,67	-	-	-	-	-	-	-	17447345
4-Hidroksi-3-metoksifenetilen glikol	25,92	14891948	22673992	-	53445877	-	-	-	-
trans-Ferulik asit	19,16	-	-	-	-	297492	387686	390801	-
myo-Inositol-1-fosfat	22,03	-	-	498561	499302	-	-	957938	-
Gentiobioz	25,29	777567	-	-	77013123	-	-	38942068	2774875
gamma-Tokoferol	26,48	-	-	-	-	880593	1118779	-	-
Kemferol	28,42	-	-	-	245181	191772	941332	1994050	1475548
Oktakosanol	27,40	30711201	28946274	2387238	-	4374822	-	-	-
alpha-Tokoferol	27,45	-	533019	-	-	1630769	785191	26607	-
4-trans-Caffeoilkinik asit	27,57	11700386	43025420	-	-	-	-	6646351	-
Kampesterol	28,35	-	-	-	-	29048679	7334031	-	-
beta-Sitosterol	29,04	39660058	30149591	-	-	145266424	59314807	-	9387670
Triakontanolik asit	29,68	476356	6227078	-	-	-	-	-	-
Melezitoz	30,08	6395621	23376911	-	41103169	4123206	8399754	-	-
Ursolik asit	31,91	-	-	1677435	9372604	-	-	19753266	-
Etanolamin	7,85	-	-	-	-	184700	117470	-	-
Galaktosilgliserol	21,11	17733833	16652501	8027840	36366706	-	-	5754298	-
Etanolamin	9,49	13083731	18289660	6359510	7397115	-	680856	6565766	1873533
2,4-Bishidroksibutanolik asit	11,48	-	-	1824915	3052150	-	-	943402	-
2-Hidroksiglutarik asit	13,56	-	-	-	8605317	-	-	-	-
myo-Inositol	19,13	314783483	319259450	163894954	-	-	-	334739471	-
Galaktinol	17,96	-	-	-	-	-	-	-	-
Treitol	22,69	-	2612623	22505537	4767980	-	-	-	5288210
Gliserol	9,81	646295	1776503	1308599	29418179	-	-	-	-
Nonanolik asit	10,83	-	-	-	-	465332	459031	-	162449
Glutarik asit	11,38	6789292	4344973	95599802	2900138	-	-	543232	-
Ksilitol	14,01	1210120	15233128	-	5651695	-	-	3119877	-
Alloz metoksiamin	17,04	2508282	5228568	-	-	-	-	-	2124292
myo-Inositol-2-fosfat	22,04	-	-	-	-	21139580	20073661	-	8358833
5-trans-kafeoilkinik asit	27,73	64005832	249038771	-	-	-	-	-	-
Melibioz	27,22	7246322	38977927	6026050	165429471	86823985	62228554	7912082	2058178
Glutamik asit	13,05	-	-	39291954	-	65716118	30321511	-	25829916
Fenilalanin	13,32	4499528	-	17681720	-	-	-	2086747	1176356
Prolin	8,23	20914513	95443352	104952303	10696057	-	490167	2213807	-
Triptofan	20,25	-	-	-	1248964	17192392	885169	296246	7258468

Tiraozin	17,15	-	-	3333502	-	8013610	460476	1721965	1306625
Valin	8,74	4041693	6653633	15134859	2335461	835774	237992	1461145	1259749
Fosforik asit	9,56	164077299	52255815	54151519	65267968	29794961	22945790	82263085	32508720
Bilinmeyen_001	5,52	-	-	-	-	-	-	244821	-
Bilinmeyen_003	5,53	-	261413	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_005	5,61	29487	35338	-	36538	-	-	-	-
Bilinmeyen_006	5,68	1540045	1143615	1674958	818718	1369779	1317658	1059451	1338373
Bilinmeyen_007	5,70	47544	-	-	38535	-	37498	-	34781
Bilinmeyen_008	5,78	-	-	-	17149	-	-	15596	11594
Bilinmeyen_009	5,80	-	18066	-	-	32776	-	-	-
Bilinmeyen_010	5,86	-	-	-	-	-	134691	141839	118599
Bilinmeyen_013	5,99	403419	431867	-	-	388027	329595	-	-
Bilinmeyen_014	5,99	-	535539	-	-	-	-	374252	-
Bilinmeyen_015	5,99	-	-	775322	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_018	6,16	447177	437970	321331	612769	1549680	449891	892604	673887
Bilinmeyen_019	6,19	7046320	5712571	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_020	6,29	-	45668	-	-	-	39102	-	-
Bilinmeyen_021	6,36	-	127372	103343	125861	408648	114927	163836	101954
Bilinmeyen_022	6,36	221029	-	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_024	6,41	289758	-	-	-	-	336031	-	260493
Bilinmeyen_028	6,42	-	-	17863	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_030	6,48	-	129704	177868	-	603835	-	-	-
Bilinmeyen_031	6,48	128601	321232	119586	-	-	-	94811	-
Bilinmeyen_033	6,50	-	-	-	-	-	-	65093	-
Bilinmeyen_034	6,51	1592069	5274039	761839	9897700	-	-	1071055	-
Bilinmeyen_035	6,53	2477077	2532561	1726480	1465212	2348891	1587227	1787031	1563833
Bilinmeyen_036	6,54	-	-	-	-	662446	-	16474	29940
Bilinmeyen_037	6,59	182013	-	151788	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_038	6,59	182013	-	151788	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_039	6,62	-	-	748208	-	-	-	203929	333320
Bilinmeyen_040	6,62	-	-	386760	-	-	-	108930	-
Bilinmeyen_041	6,63	1405229	2914519	-	-	988025	518434	-	-
Bilinmeyen_042	6,82	-	-	-	-	-	-	248079	-
Bilinmeyen_043	6,82	1188589	1041055	2020170	1393394	1007572	-	-	-
Bilinmeyen_044	6,84	-	-	22031	-	-	122721	-	-
Bilinmeyen_046	6,86	38379	42536	-	34937	70808	-	32382	-
Bilinmeyen_047	6,88	7148554	20012879	31019668	19250527	6414636	398459	8581851	4342604
Bilinmeyen_048	6,97	-	-	-	-	-	-	38301	15984
Bilinmeyen_049	7,05	-	-	69569	12806	-	-	-	-
Bilinmeyen_050	7,06	-	-	-	-	4032315	1277032	2062441	-
Bilinmeyen_053	7,16	-	-	-	-	433949	788830	-	-
Bilinmeyen_055	7,20	120210	64125	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_057	7,26	-	-	162988	-	-	-	-	-

Bilinmeyen_058	7,26	271250	-	-	-	-	114662	-	-
Bilinmeyen_059	7,38	207650	-	-	138052	-	-	40040	-
Bilinmeyen_061	7,48	1000556	477241	128671	275423	683614	223073	493682	-
Bilinmeyen_062	7,51	-	-	-	18361	-	16521	-	13814
Bilinmeyen_063	7,58	-	-	515997	-	-	-	627558	-
Bilinmeyen_064	7,62	49677	56849	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_065	7,65	-	1211173	-	731367	-	-	1206300	1141210
Bilinmeyen_066	7,65	-	1211173	-	731367	-	-	1206300	1141210
Bilinmeyen_067	7,65	-	1211173	-	731367	-	-	1206300	1141210
Bilinmeyen_068	7,65	382223	-	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_069	7,72	-	-	-	-	-	-	-	2255
Bilinmeyen_076	7,79	574589	528071	-	-	-	-	-	158198
Bilinmeyen_077	7,88	-	-	-	94140	-	-	38976	-
Bilinmeyen_079	7,92	627884	915905	18081577	1551838	563637	-	-	-
Bilinmeyen_080	7,97	-	62151	-	87553	-	-	-	-
Bilinmeyen_082	7,98	44286	-	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_083	7,99	2361095	1753617	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_084	8,00	417305	168792	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_085	8,02	-	18320	-	10337	-	-	6401	-
Bilinmeyen_087	8,11	-	-	8132	15848	-	-	16325	-
Bilinmeyen_088	8,13	-	-	-	7448	-	-	-	-
Bilinmeyen_089	8,14	1675026	2291895	1524574	4064623	15810327	2216811	6285167	2010077
Bilinmeyen_090	8,16	-	-	-	37700	-	-	25134	-
Bilinmeyen_091	8,23	-	-	-	18750157	12020218	582703	-	4945653
Bilinmeyen_092	8,32	28230	-	-	12313	18315	-	-	-
Bilinmeyen_093	8,35	-	446246	-	449294	-	-	240214	-
Bilinmeyen_094	8,44	38883423	32065770	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_095	8,44	-	-	2092602	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_096	8,47	-	-	-	-	-	2226089	1039425	384942
Bilinmeyen_100	8,58	-	-	-	-	-	-	24671	-
Bilinmeyen_101	8,67	353442	857799	-	115713	480989	-	36045	152486
Bilinmeyen_102	8,70	-	-	66058	63293	-	-	60805	-
Bilinmeyen_103	8,70	26935	-	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_104	8,76	-	-	-	-	28618	-	-	-
Bilinmeyen_106	8,81	138173	143899	160519	126377	300002	23537	-	99545
Bilinmeyen_107	8,85	-	-	-	-	-	132968	-	-
Bilinmeyen_108	8,87	-	-	2532935	-	-	-	1947522	-
Bilinmeyen_109	8,92	80642	-	-	-	-	103930	-	-
Bilinmeyen_110	8,94	-	-	-	79626	125453	-	-	-
Bilinmeyen_111	8,99	4482040	3220502	3716669	3334926	5225890	1839432	2162468	2187841
Bilinmeyen_112	9,02	19194229	33593996	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_113	9,04	-	-	-	-	326916480	43555347 1	-	-
Bilinmeyen_114	9,05	556697	1091291	-	-	108064	-	-	-

Bilinmeyen_174	11,50	-	-	-	-	255549137	9780175	-	229934
Bilinmeyen_175	11,50	133651	-	-	-	-	-	-	18676
Bilinmeyen_177	11,57	933114	684607	724818	159050	-	219364	498210	463275
Bilinmeyen_178	11,58	-	-	-	-	37189	-	-	-
Bilinmeyen_179	11,64	166635	-	187161	-	-	264472	279557	342989
Bilinmeyen_180	11,70	28568	-	13615	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_181	11,73	-	-	-	-	8448	-	10456	80105
Bilinmeyen_182	11,74	1422315	-	2882146	-	882955	-	398447	218164
Bilinmeyen_183	11,74	-	-	-	-	-	-	-	89463
Bilinmeyen_184	11,80	-	-	-	-	60091	-	28941	-
Bilinmeyen_185	11,82	-	-	-	-	204970	-	-	-
Bilinmeyen_186	11,86	50951323	3245816	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_187	11,90	475626	-	-	48493	356087	67780	84018	114631
Bilinmeyen_190	12,10	-	533997	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_192	12,24	-	-	-	-	1729656	1633121	-	-
Bilinmeyen_193	12,30	4191744	3633673	5740509	2679879	3329272	5768980	3470636	4947031
Bilinmeyen_194	12,38	45683	216846	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_195	12,41	-	-	-	-	13191	-	38672	-
Bilinmeyen_196	12,42	-	-	-	-	-	-	-	26269
Bilinmeyen_197	12,46	-	-	166287355	47443507	-	-	-	-
Bilinmeyen_198	12,46	-	-	166287355	47443507	-	-	-	-
Bilinmeyen_199	12,57	-	-	-	-	-	1096225	-	685125
Bilinmeyen_202	12,62	2802440	1975619	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_203	12,70	-	-	4877700	3220495	-	-	-	788280
Bilinmeyen_204	12,71	-	-	5626490	-	-	-	949689	-
Bilinmeyen_206	12,76	-	-	-	-	409439	-	3723177	-
Bilinmeyen_207	12,80	-	-	24456444	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_211	12,94	-	-	-	-	-	11625	11458	-
Bilinmeyen_212	13,01	1233283	-	1191534	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_213	13,06	549480	-	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_214	13,10	-	1055555	-	-	-	-	139587	-
Bilinmeyen_217	13,22	-	-	-	748927	-	-	572690	218226
Bilinmeyen_218	13,22	-	-	7784701	1083896	-	-	-	-
Bilinmeyen_219	13,29	2119696	9454691	2841136	3189944	1640288	1259238	3417192	-
Bilinmeyen_220	13,32	-	2512436	-	-	-	-	1245926	-
Bilinmeyen_221	13,41	10065011	19811856	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_222	13,43	-	-	-	-	-	10304062 4	-	-
Bilinmeyen_224	13,53	-	-	-	-	56940	144032	-	21577
Bilinmeyen_226	13,56	2209448	2934290	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_228	13,59	-	-	-	966239	-	-	-	-
Bilinmeyen_229	13,65	18964790	6386391	1094482785	7204380	-	-	4848531	-
Bilinmeyen_231	13,68	-	-	20462	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_232	13,70	-	1371629	-	672543	-	-	-	-

Bilinmeyen_233	13,85	21357798	94906229	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_234	13,86	24041069	-	-	-	27297002	-	-	-
Bilinmeyen_235	13,86	15308655	-	116348780	-	24990888	-	-	5083456
Bilinmeyen_238	13,96	3098219	1833224	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_239	13,96	-	-	-	-	296703874	497060	-	-
Bilinmeyen_240	14,02	-	-	4830012	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_241	14,18	-	-	-	475277	-	-	-	-
Bilinmeyen_243	14,25	-	-	-	421877	-	-	147772	-
Bilinmeyen_248	14,56	218661	-	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_249	14,65	2299151	3885483	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_250	14,83	-	-	-	1792448	-	-	-	-
Bilinmeyen_251	14,98	-	-	-	1557419	-	-	1363160	-
Bilinmeyen_254	15,03	4138088	4964871	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_255	15,14	-	-	-	-	-	200555	116241	175836
Bilinmeyen_256	15,19	1986843	3066223	-	2682934	-	-	1940814	-
Bilinmeyen_257	15,19	-	-	-	-	-	-	-	238817
Bilinmeyen_259	15,22	-	-	-	2901986	-	-	1798204	-
Bilinmeyen_260	15,22	3413546	5851845	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_261	15,44	-	-	-	-	-	-	2822466	-
Bilinmeyen_262	15,49	-	-	5377430	12116686	-	-	6809432	-
Bilinmeyen_263	15,51	25017428	160171804	-	105278298	19705888	2947403	10637891	1206506
Bilinmeyen_264	15,59	-	-	-	479262	-	-	141146	-
Bilinmeyen_265	15,68	-	1259590	-	132039	854338	1038521	-	171760
Bilinmeyen_266	15,73	-	-	-	10107730	-	-	157694	-
Bilinmeyen_267	15,73	-	-	-	10107730	-	-	157694	-
Bilinmeyen_268	15,78	-	2458517	-	24786503	-	-	-	2317288
Bilinmeyen_270	15,89	-	-	-	16452628	-	-	3504715	-
Bilinmeyen_271	15,99	11559275	5094703	11066159	12272779	2203419	529468	2570850	-
Bilinmeyen_273	16,06	-	-	-	-	-	-	22901	32496
Bilinmeyen_275	16,11	-	-	-	-	22932	-	51757	-
Bilinmeyen_277	16,15	12763279	11648318	1326427	-	-	-	-	197964
Bilinmeyen_278	16,15	12763279	11648318	1326427	-	-	-	-	197964
Bilinmeyen_279	16,15	-	-	-	-	2007397	-	1310252	-
Bilinmeyen_280	16,15	-	-	-	2065698	-	-	-	-
Bilinmeyen_281	16,26	-	-	-	-	14635238	7054633	966594	1123847
Bilinmeyen_282	16,39	2935343	7618475	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_283	16,49	2686351	-	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_284	16,50	-	11182693	-	35512943	8693982	1632578	2493470	477062
Bilinmeyen_286	16,64	-	-	-	-	-	-	-	187622
Bilinmeyen_287	16,66	-	-	-	8186908	-	-	-	-
Bilinmeyen_288	16,71	2737581	10459070	2580593	2931360	-	-	-	-
Bilinmeyen_289	16,72	1445348	3672529	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_291	16,73	7123363	6471215	-	292885	-	-	-	-

Bilinmeyen_292	16,77	-	-	-	1441414	-	-	1040690	-
Bilinmeyen_293	16,81	-	132711	-	-	-	-	103179	-
Bilinmeyen_294	16,85	3770570	2229965	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_296	16,89	74956965	-	-	-	10418323	-	-	15815895
Bilinmeyen_297	16,89	250986599	329398004	-	240428519	-	-	-	-
Bilinmeyen_298	16,90	156720752	183496023	-	171884300	-	-	-	-
Bilinmeyen_301	16,94	7127692	4915178	-	5430516	-	-	671841	-
Bilinmeyen_302	16,94	-	9006060	-	12543514	-	-	-	-
Bilinmeyen_304	16,98	-	602645053	-	132047848	-	-	-	-
Bilinmeyen_305	17,00	-	-	-	503515	-	-	-	-
Bilinmeyen_306	17,04	3132998	-	4381321	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_307	17,07	440809	-	-	1520470	-	-	1049997	-
Bilinmeyen_308	17,07	1243923	-	32189603	-	-	-	690057	-
Bilinmeyen_310	17,14	-	-	-	20757200	-	-	-	-
Bilinmeyen_311	17,14	-	1747416	-	-	-	-	1396813	-
Bilinmeyen_312	17,15	21850620	93242713	-	94480698	-	-	-	-
Bilinmeyen_313	17,16	-	-	-	383021039	37497493	7451609	-	-
Bilinmeyen_314	17,23	-	-	-	43800915	-	-	-	-
Bilinmeyen_315	17,31	-	-	19001719	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_317	17,36	-	-	-	78300233	-	-	-	-
Bilinmeyen_318	17,37	-	-	-	7184831	-	-	-	-
Bilinmeyen_319	17,37	-	-	-	-	21303186	7858896	-	-
Bilinmeyen_320	17,37	-	-	-	-	-	4957330	-	-
Bilinmeyen_321	17,37	-	-	-	-	-	-	2197218	-
Bilinmeyen_322	17,37	-	-	-	-	-	-	2197218	-
Bilinmeyen_323	17,37	-	-	-	-	-	-	-	6954738
Bilinmeyen_324	17,42	-	-	-	-	67891	54172	-	-
Bilinmeyen_326	17,54	19347938	6327767	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_327	17,59	7597685	9026282	-	3283737	-	-	-	-
Bilinmeyen_328	17,59	7597685	9026282	-	3283737	-	-	-	-
Bilinmeyen_329	17,65	-	-	-	-	-	131822	-	263708
Bilinmeyen_330	17,69	-	-	-	-	-	-	-	317241
Bilinmeyen_331	17,69	-	-	-	3708671	-	-	1331168	-
Bilinmeyen_332	17,70	-	-	-	-	-	154009	371208	-
Bilinmeyen_334	17,72	165875554	138712620	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_335	17,77	-	-	-	12083630	-	-	-	-
Bilinmeyen_336	17,78	380724874	246746537	50262645	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_337	17,78	-	-	-	-	-	-	3837846	-
Bilinmeyen_338	17,79	10323953	-	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_339	17,82	-	-	-	293193	-	3582733	-	2415677
Bilinmeyen_341	17,96	-	-	1510828	943997	-	-	392934	-
Bilinmeyen_342	17,99	-	132786	-	-	-	-	-	658834
Bilinmeyen_343	17,99	31272	-	-	-	-	-	-	-

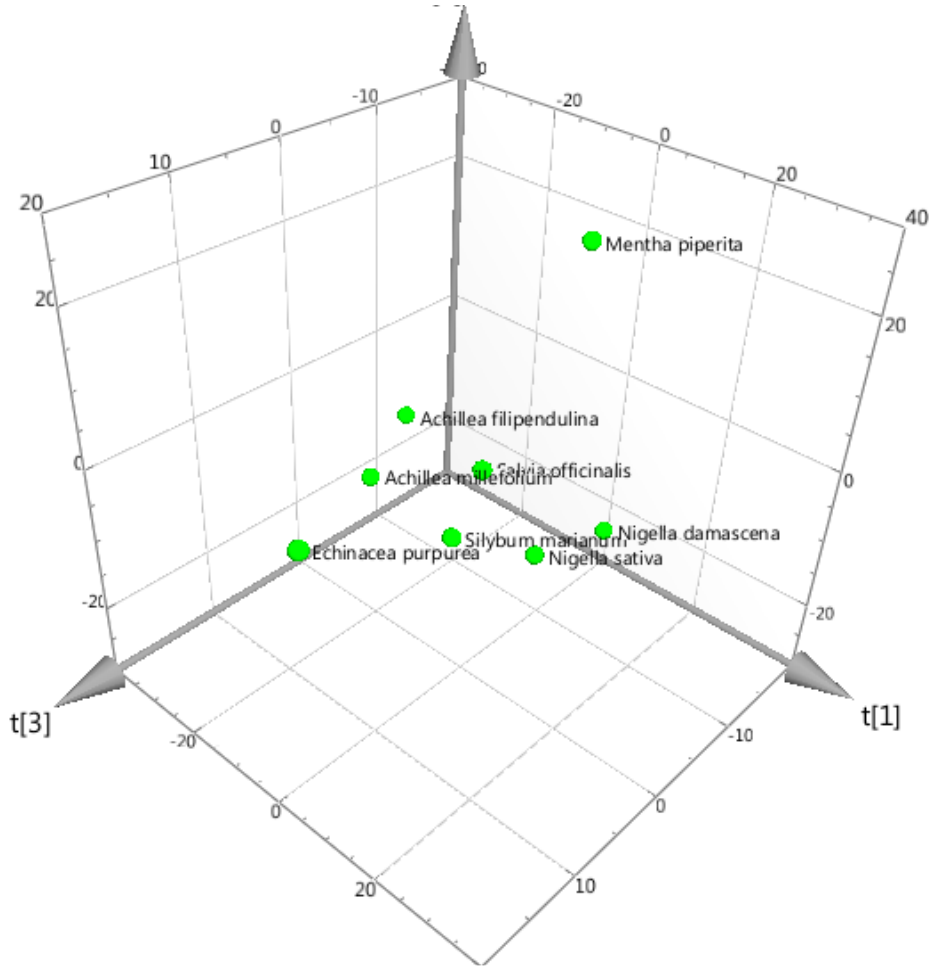
Bilinmeyen_344	18,01	2697505	-	10797468	22557791	1096145	-	4629390	-
Bilinmeyen_347	18,10	-	-	-	-	-	-	205999	-
Bilinmeyen_349	18,24	1859073	703537	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_350	18,24	2992211	1314064	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_352	18,26	3011933	1951877	-	2081949	-	-	-	1390627
Bilinmeyen_353	18,45	-	-	-	23495518	-	-	4405148	-
Bilinmeyen_354	18,50	-	-	-	-	-	-	179152	-
Bilinmeyen_357	18,64	-	-	-	148814	387129	-	460162	100215
Bilinmeyen_362	18,75	-	-	-	-	-	-	78142	-
Bilinmeyen_363	18,75	-	-	451027	-	-	-	387362	-
Bilinmeyen_364	18,76	-	-	-	5170120	-	-	897485	-
Bilinmeyen_365	18,84	-	-	-	-	17545050	-	18747909	4417334
Bilinmeyen_366	18,84	-	-	-	-	-	-	71498995	15880425
Bilinmeyen_367	18,84	539992	-	5994443	147202602	77108024	15389722	95123895	17928499
Bilinmeyen_368	18,87	310996	166795	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_369	18,89	41003309	165092862	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_370	18,98	1721601	1894417	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_371	19,12	94175612	79117853	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_372	19,13	-	-	-	-	-	19533578	98641344	10922368
Bilinmeyen_374	19,22	-	-	-	-	46351	-	-	-
Bilinmeyen_375	19,33	22654361	59958676	6771260	38869893	-	-	7241629	-
Bilinmeyen_378	19,38	-	-	-	178299	-	-	94840	-
Bilinmeyen_379	19,52	-	7991125	2684940	-	-	-	2562635	-
Bilinmeyen_380	19,57	2155191	4188785	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_381	19,58	-	51953043	-	122636807	-	-	20558628	-
Bilinmeyen_382	19,59	-	40822214	-	-	-	-	31935288	-
Bilinmeyen_383	19,63	-	1031697	-	-	-	-	-	153500
Bilinmeyen_384	19,64	-	-	-	-	482694890	14407404	-	-
Bilinmeyen_385	19,83	-	-	1444523	2153778	-	-	-	-
Bilinmeyen_386	19,95	17743964	-	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_387	19,97	-	-	6644900	26458286	-	-	1336629	2853623
Bilinmeyen_388	20,01	-	-	-	-	13463825	-	-	1824760
Bilinmeyen_389	20,05	-	1220892	-	8105828	1854610	3218258	942748	-
Bilinmeyen_390	20,05	-	1220892	-	8105828	1854610	3218258	942748	-
Bilinmeyen_391	20,15	2708530	14689389	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_392	20,24	-	-	-	-	64737664	24144008	-	20601862
Bilinmeyen_393	20,30	-	-	-	-	39084	73364	-	19638
Bilinmeyen_394	20,30	-	-	-	-	5026646	7628152	-	-
Bilinmeyen_395	20,38	-	1679388	2025469	590892	2500504	502985	-	-
Bilinmeyen_396	20,39	10855227	6153759	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_397	20,40	-	-	-	-	-	-	253724	-
Bilinmeyen_398	20,43	12737684	-	-	-	-	-	1540309	-
Bilinmeyen_399	20,43	12737684	-	-	-	-	-	1540309	-

Bilinmeyen_400	20,65	-	5783285	8109152	4282863	-	-	-	-
Bilinmeyen_401	20,69	-	38002	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_402	20,82	-	-	-	-	1671707	-	-	-
Bilinmeyen_403	20,83	3760315	-	-	22838611	-	-	6167825	-
Bilinmeyen_405	20,99	-	-	10705843	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_406	21,09	-	-	-	-	18435168	9098105	-	-
Bilinmeyen_407	21,17	-	1008238	504415	1182900	-	-	-	-
Bilinmeyen_408	21,29	-	5066102	7987375	880378	-	-	-	659170
Bilinmeyen_409	21,34	-	-	478757	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_410	21,45	4964423	7161275	-	-	64258889	33010812	1275563	12527981
Bilinmeyen_412	21,58	-	-	-	22510851	-	-	-	-
Bilinmeyen_413	21,62	-	9759565	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_414	21,62	7404314	13630800	5353252	6022476	-	-	2686453	-
Bilinmeyen_415	21,63	45895304	43793245	17014983	35027434	2623073	-	9243959	-
Bilinmeyen_416	21,67	-	-	614404	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_417	21,87	15576635	8650494	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_419	21,96	-	-	-	237147	-	-	-	-
Bilinmeyen_420	22,04	-	-	-	-	50454634	48586093	5117310	6603793
Bilinmeyen_421	22,08	-	-	-	-	-	-	64586	-
Bilinmeyen_423	22,24	-	-	1856127	-	-	-	-	2261093
Bilinmeyen_424	22,33	-	-	-	-	13286146	634686	-	-
Bilinmeyen_425	22,49	-	4255144	-	-	-	-	-	3016797
Bilinmeyen_426	22,49	-	-	-	7304005	-	-	4466273	-
Bilinmeyen_427	22,49	2341832	-	-	-	3167730	3091787	2595390	1937211
Bilinmeyen_428	22,63	48941032	40801679	6738747	11354450	22317021	3353921	10028502	-
Bilinmeyen_429	22,65	-	-	-	-	43926	28647	-	-
Bilinmeyen_430	22,74	10408645	3761654	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_433	22,98	52429377	39011196	-	10199978	6646986	-	5136680	-
Bilinmeyen_434	23,02	-	-	-	-	-	-	-	2148292
Bilinmeyen_435	23,05	-	-	-	-	-	-	6270015	-
Bilinmeyen_436	23,11	11083456	106488191	-	6917620	-	-	-	-
Bilinmeyen_438	23,15	-	-	-	-	4112373	3112878	-	-
Bilinmeyen_439	23,29	1156924	1001021	-	-	-	-	-	49421
Bilinmeyen_440	23,32	-	-	-	-	18842584	1112624	-	-
Bilinmeyen_441	23,42	9057423	-	4069982	-	-	16952849	-	6766269
Bilinmeyen_443	23,55	199004	-	-	-	-	-	-	89115
Bilinmeyen_444	23,58	-	-	12113713	22025389	-	-	2963610	-
Bilinmeyen_445	23,62	4146729	6763312	981437	437661	-	-	438539	356016
Bilinmeyen_446	23,64	7912688	17897383	21129774	4107367	32284060	-	267913	547742
Bilinmeyen_447	23,70	5594737	3968023	342219	4886339	-	-	886401	-
Bilinmeyen_448	23,76	-	2045275	-	1968047	1920006	2280338	39276	1048893
Bilinmeyen_449	23,76	315168278	-	-	-	178269379	-	102798346	-
Bilinmeyen_450	23,77	-	59978112	-	5765031	-	-	-	-

Bilinmeyen_451	23,78	-	208236403	-	-	446200131	53273685 3	-	-
Bilinmeyen_452	23,80	199070820	258891502	400967070	237060843	378086826	28782079 3	182707562	115507659
Bilinmeyen_453	23,80	-	-	439155792	502446732	-	-	192702595	279744005
Bilinmeyen_454	23,81	-	-	22293084	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_455	23,82	-	577483867	-	-	440396909	47096420 1	-	-
Bilinmeyen_456	23,82	3922535	7782317	-	-	4544147	-	-	-
Bilinmeyen_457	23,82	-	35190866	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_458	23,91	13627766	5710600	-	2286064	-	-	-	-
Bilinmeyen_459	23,99	7341246	11549085	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_462	24,39	-	-	-	14339785	-	-	-	-
Bilinmeyen_464	24,43	-	-	-	-	114657470	30808874 7	-	-
Bilinmeyen_465	24,43	-	-	-	-	148979028	34295093 9	-	-
Bilinmeyen_466	24,44	-	-	-	-	121581843	14306846 1	-	-
Bilinmeyen_469	24,46	196358	189603	108852	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_470	24,48	-	-	155465	-	-	282874	-	-
Bilinmeyen_471	24,49	10869839	-	-	27400298	13112779	-	4006706	-
Bilinmeyen_472	24,68	-	89987572	24923666	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_473	24,69	-	-	-	-	-	12794251 7	-	-
Bilinmeyen_474	24,69	-	-	-	-	-	-	23524800	-
Bilinmeyen_475	24,70	-	-	-	-	325577916	78246410	-	-
Bilinmeyen_476	24,70	-	-	-	-	302169555	11221151 3	-	-
Bilinmeyen_477	24,71	-	-	-	-	136177222	29596276	-	-
Bilinmeyen_479	24,72	-	-	-	-	356065857	-	-	-
Bilinmeyen_480	24,86	-	-	-	9498046	-	-	3039103	-
Bilinmeyen_481	24,87	-	13510483	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_482	24,88	-	-	-	-	16054732	15441705	-	-
Bilinmeyen_483	24,88	21528218	-	-	22208898	-	-	-	13380254
Bilinmeyen_484	25,07	4637094	4839859	-	-	-	-	1292891	-
Bilinmeyen_485	25,27	-	-	-	-	-	-	118028	-
Bilinmeyen_486	25,32	-	-	-	8875330	-	-	-	-
Bilinmeyen_487	25,33	10238932	14168619	3027915	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_488	25,36	-	-	-	-	291035	392254	-	-
Bilinmeyen_490	25,48	-	-	-	-	-	-	-	119377
Bilinmeyen_491	25,62	-	-	-	14339851	-	-	-	-
Bilinmeyen_492	25,78	14684198	2420130	283967	7331043	-	-	-	-
Bilinmeyen_493	25,84	10520629	8392433	-	16219356	-	-	-	-
Bilinmeyen_494	25,88	-	-	-	-	-	-	5305294	-
Bilinmeyen_495	25,98	-	4040268	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_496	26,08	-	-	-	-	30851757	20605123	-	-
Bilinmeyen_497	26,09	-	-	-	-	58580577	25227547	-	-
Bilinmeyen_500	26,26	-	-	-	-	2071699	1069839	-	-
Bilinmeyen_501	26,39	-	-	-	-	-	-	933270	1432041
Bilinmeyen_503	26,52	27215190	9298329	-	-	-	-	-	-

Bilinmeyen_504	26,99	11888909	38146372	-	28305644	7416897	-	-	-
Bilinmeyen_505	27,15	-	-	-	6692879	6692224	2034799	2126194	1366629
Bilinmeyen_506	27,15	-	-	-	1693762	10939457	-	-	-
Bilinmeyen_507	27,17	-	-	-	-	3268480	8847786	-	-
Bilinmeyen_508	27,33	-	-	-	-	-	48450540	25906489	-
Bilinmeyen_509	27,33	-	-	-	-	-	-	11924373	10809086
Bilinmeyen_510	27,52	-	-	-	12479823	-	-	-	-
Bilinmeyen_511	27,63	-	31903812	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_512	27,64	19508579	39158309	-	-	434941	517658	1111341	5061707
Bilinmeyen_513	27,66	14586956	44006256	296616	-	35028	26763	-	-
Bilinmeyen_514	27,70	-	-	-	83334599	-	-	-	-
Bilinmeyen_515	27,91	1447974	6065284	-	11007073	-	-	-	-
Bilinmeyen_516	27,94	27020028	43669031	-	18724902	-	-	-	-
Bilinmeyen_517	27,98	-	-	-	848634	-	205062	231451	420398
Bilinmeyen_518	28,00	-	-	-	92165850	-	-	29193794	-
Bilinmeyen_519	28,16	3056461	-	-	46357565	49863977	7816255	49995020	8057752
Bilinmeyen_520	28,25	-	-	-	-	-	10904105	-	-
Bilinmeyen_521	28,25	-	-	-	-	-	-	7975170	7610743
Bilinmeyen_522	28,37	2024172	7180839	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_523	28,46	-	-	-	-	-	22556662	15810264	-
Bilinmeyen_524	28,47	6523896	61095228	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_525	28,54	6992216	13490831	2331960	-	1874299	-	-	-
Bilinmeyen_526	28,80	16001827	61024341	-	-	-	-	-	-
Bilinmeyen_527	29,19	-	-	-	-	84322544	21538681 7	-	-
Bilinmeyen_528	29,42	-	-	-	2665278	-	-	525078	-
Bilinmeyen_529	29,44	-	-	-	571396963	-	-	234883856	-
Bilinmeyen_530	29,45	-	-	-	13789016	-	-	-	-
Bilinmeyen_531	30,34	-	-	139	-	2538	-	-	-
Bilinmeyen_532	30,52	-	-	-	-	-	1594558	1815373	2351481
Bilinmeyen_533	30,55	25885866	-	-	-	11198877	-	-	-
Bilinmeyen_534	31,57	3417942	1825954	768476	3302547	99212	7360813	1910865	1847648
Bilinmeyen_535	31,77	-	-	-	-	8824	-	-	-
Bilinmeyen_536	33,21	-	-	-	-	-	13979861	-	-
Bilinmeyen_537	33,65	-	7032	-	-	-	-	3971	-
Bilinmeyen_538	35,44	-	-	-	5712	2985	-	-	-
Bilinmeyen_539	35,69	-	15779	-	4143	-	8462	8150	2598

4.4.5. GC-MS Temel Bileşenler Analizi (3D)

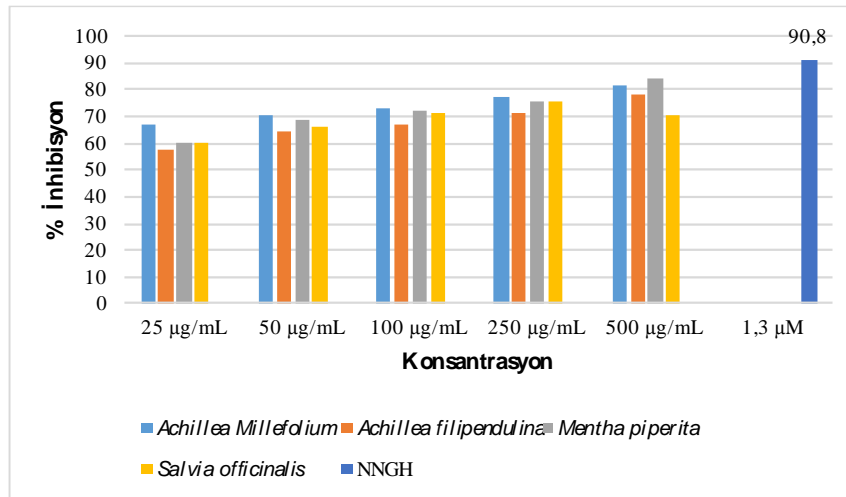


Şekil 4.62. *Silybum marianum*, *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Echinacea purpurea*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Nigella sativa*, *N. damascena* metanollü ekstrlerinin 3D PCA (Temel Bileşenler Analizi)

5. TARTIŞMA

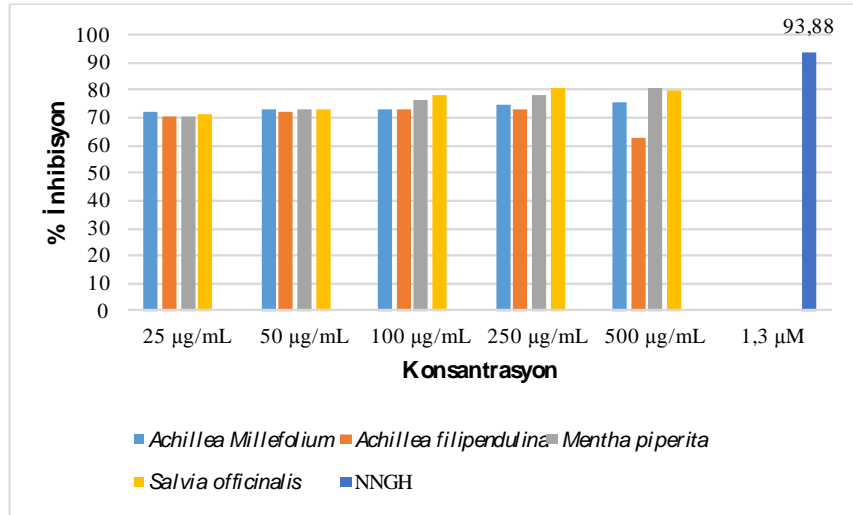
Tıbbi bitkiler insanlığın varoluşundan itibaren tedavi ya da kozmetik amacıyla kullanılmaktadır. Serbest radikaller ve oksidasyon pek çok hastalığın oluşmasında ve cilt yaşlanmasında önemli rol oynamaktadır. Güneş ışınları reaktif oksijen türlerini üretirken (4), aynı zamanda kollajenaz ve elastaz enzimlerinin ait olduğu matriks metalloproteinaz enzimlerinin (MMP-1, 8, 13) artışına da sebep olur (5, 6). Elastaz aktivitesinin artmasıyla birlikte elastik fibrillerin yapısı bozulur, bozulan fibril parçaları kollajenaz ve stromelisin sentezini artırmak suretiyle ekstraselüler matrikse zarar verir (6, 7). Sonuç olarak cilt yaşlanmasında, güneş ışınları ana faktör olarak düşünülmektedir. UV-A ve UV- B ışınları cilt üzerinde negatif etkilerini gösterirken UV-C yeryüzüne ulaşmadan atmosfer tarafından emilir.

Çalışmamızda kozmetik amaçla kullanılışı olan *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis*'in cilt yaşlanmasını geciktirici etkilerini belirlemek üzere metanollü ekstrelerinin MMP-1, MMP-8 ve MMP-13 enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri araştırılmıştır (8-10). *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *M. piperita* ve *S. officinalis*'in metanollü ekstreleri MMP-1 enzimini 500 µg/mL konsantrasyonlarda sırasıyla % 81,27, % 78,29, % **84,44**, % 70,51 oranlarında (Bkz. Tablo 4.1, Şekil 5.1.) inhibe etmiştir.



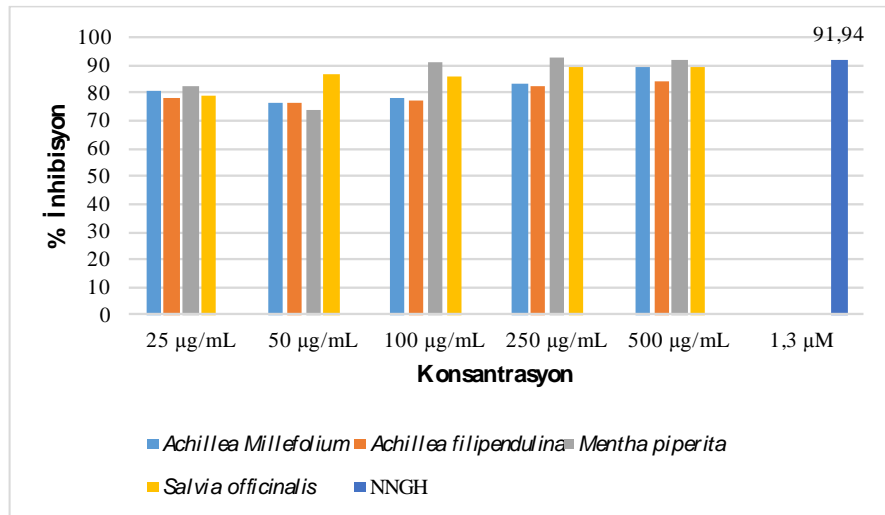
Şekil 5.1. *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis*'in metanollü ekstrelerinin MMP-1 inhibisyon yüzdeleri

MMP-8 enzimini % 75,30, % 62,99, % **80,36**, % 80,06 oranlarında (Bkz. Tablo 4.2, Şekil 5.2.) inhibe etmiştir.



Şekil 5.2. *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis*'in metanollü ekstrelerinin MMP-8 inhibisyon yüzdeleri

MMP-13 enzimini % 89,20, % 84,31, % **91,72**, % 89,63 oranlarında (Bkz. Tablo 4.3, Şekil 5.3) inhibe etmiştir.



Şekil 5.3. *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis*'in metanollü ekstrelerinin MMP-13 inhibisyon yüzdeleri

Mentha piperita yapraklarının metanollü ekstresi, MMP-1, 8 ve 13 enzimlerini % 84,44, % 80,36 ve % 91,72 inhibisyon oranları ile test edilen bitkiler içinde belirgin

ve en yüksek etkiyi göstermiştir. Tüm bitkilerin, MMP-13 enzimini diğer 2 enzime göre daha yüksek oranda inhibe ettiği gözlenmiştir. Bu çalışma ile bitkilerin MMP inhibitör etki deneyleri ilk kez gerçekleştirilmiştir.

Araştırmaya konu olan bitkilerin GC-MS ile metabolomik profilleri belirlenmiş ve matriks metalloproteinaz inhibitör etki ile korelasyonları yorumlanmıştır.

Metabolom, bir hücre veya canlıdaki metabolizmanın tümü olup, metabolomdaki küçük moleküllü metabolitlerin NMR (nükleer manyetik rezonans), GC-MS (gaz kromatografi-kütle spektrofotometri) ve LC-MS (likit kromatografi-kütle spektrofotometri) gibi yüksek hassasiyette analitik teknikler kullanılarak belirlenmesine metabolomik analizi adı verilmektedir. Bitkiler aleminde 200 000 metabolit tespit edilmişken bu sayı insanlarda ancak 3 000 adettir.

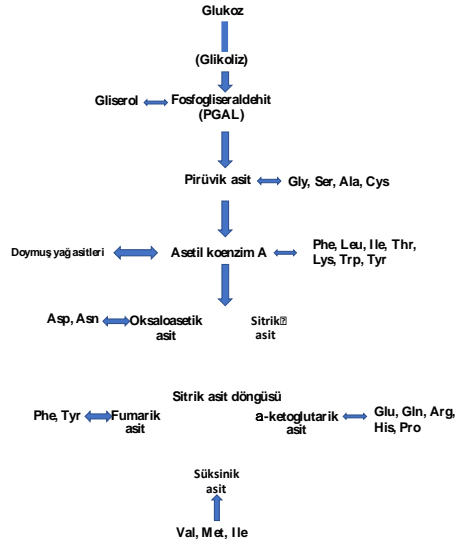
Canlı organizmada reaksiyonların hücrelerde devamlılık göstermesi nedeniyle içerdikleri metabolitlerin konsantrasyonları da sürekli değişmektedir. Metabolomikleri araştırmak için bugün kullanılan analitik teknikler, belirli şartlardaki anlık içeriği belirlemeye yararlar. Bitki metabolomikleri, bitkilerde primer ve sekonder metabolitlerin dizileri ve fonksiyonları nedeniyle özellikle ilginçtir. Metabolomik çalışmaları; biyobelirteç tespitinde, enzim substrat ilişkisini değerlendirmede, biyoaktivite çalışmalarında, metabolik yolak analizlerinde ve daha birçok amaca hizmet eden çalışmalarda son dönemlerde yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

Metabolit profillemeye çalışmaları için kullanılan tekniklerinden elde edilen verinin bilgisayar destekli bir ön işlemden geçirilmesi, çalışma sürecinde harcanacak zaman kaybını, yapılabilecek olası hataları ve var oldukları halde gözden kaçabilecek metabolitlerin tespit edilememesi sorunlarını en aza indirmektedir. Yapılan çalışmalarda onlarca hatta yüzlerce metabolitin ayrılması ve tanımlanmasında yazılım ve veribankası desteği kaçınılmazdır.

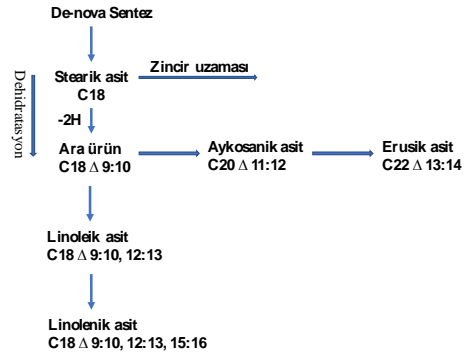
Biyolojik bir numunedeki tüm metabolitleri kapsamlı bir şekilde analiz etmeyi amaçlayan metabolomik çalışmaların, genetik veya çevresel değişiklikleri saptamak için önemli roller oynadığı ortaya konmuştur.

Metabolit seviyeleri, biyolojik sistemlerin tepkisi olarak düşünülmektedir. Çalışmamızda, dönüşümden ve kromatogramların hizalanmasından sonra, 586 kütle

spektral özellikleri tespit edilmiş ve bunların 166'sı tutma indeksi kütüphaneleri kullanılarak açıklanmıştır. Teşhis edilenler, sitrik asit döngüsünde yer alan, amino asit ve yağ asidi metabolizmasına ait olan metabolitlerdir (Şekil 5.4 ve 5.5).



Şekil 5.4. Hücrelerde sitrik asit döngüsü



Şekil 5.5. Yağ asitlerinin biyosentezi

Canlı organizmada maddelerin biyosentezinde, anabolizma (yapım), katabolizma (yıkım) ve bu reaksiyonları birbirine bağlayan amfibolizma önemli rol oynamaktadır. Amfibolizma reaksiyonları genellikle döngüdür ve sitrik asit döngüsü (krebs döngüsü, trikarboksilik asit döngüsü) (Şema. 5.4.) primer metabolitlerden, sekonder metabolitlere geçişte prekürsörleri sağlaması bakımından önemlidir.

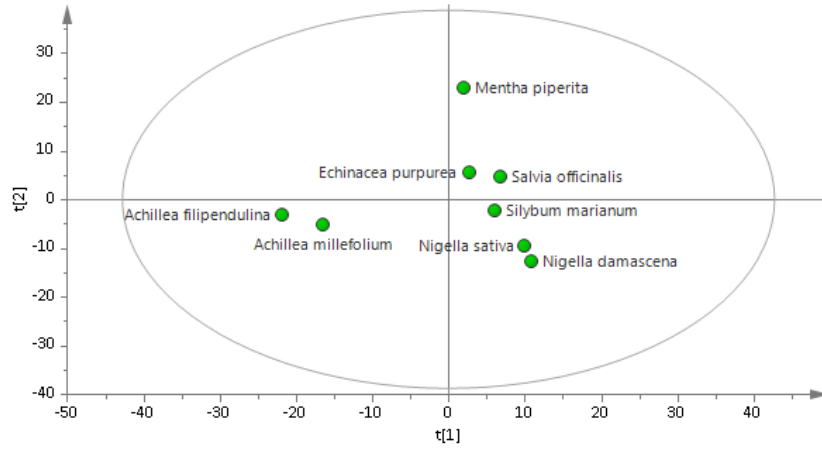
Glukoz, glikoliz ile Asetil CoA ya dönüşür, glukoz dışında amino asitler ile yağ asitleri ve gliserol de Asetil CoA ya dönüşebilen primer metabolitlerdir. Yağ asitlerinin zincir uzamasında ise, de novo sentez önemlidir (Şema 5.5.).

Tablo 4.66 Sitrik asit siklusu ve yağ asitlerinin biyosentezi sırasında oluşan metabolitlerin GC-MS analizinde alıkonma zamanları ve pik alanları

Metabolomikler	Rt	<i>Achillea millefolium</i>	<i>A. filipendulina</i>	<i>Echinaceae purpurea</i>	<i>Mentha piperita</i>	<i>N. damascena</i>	<i>Nigella sativa</i>	<i>Salvia officinalis</i>	<i>Silybum marianum</i>
D-glukoz	17,16	578611397	793349237	243549659	877027044	115012392	27166035	304470458	29436267
Gliserol	9,57	-	-	-	-	-	-	41115019	-
Pirüvik asit	6,24	98278	289370	16018438	121112	-	-	192659	-
Sitrik asit	16,34	19440113	56610564	170616084	338852093	32073143	-	307367152	6933209
alfa ketoglutarik asit	13,57	12659448	12360990	-	-	-	-	4382570	-
Süksinik asit	10,16	32830218	42536359	66879505	150097768	3132595	-	34127825	1883380
Fumarik asit	10,66	1579260	2453922	25059627	611579878	2228713	505406	2068665	438141
Okzalik asit	7,55	1176321	128438	948944	487630	-	-	-	245805
Linoleik asit	20,30	57042071	44481668	-	-	636842283	555544970	87219912	98541557
L-serin	9,36	3592912	9200501	32464784	3785690	7741832	2405981	6737208	1574682
Alanin	7,05	4754745	9836382	44085370	30229631	1828509	1663902	5146139	7968071
Aspartik asit	11,67	763844	-	16131640	-	27289383	4038478	1089399	2353505
L-Treonin	9,88	2649773	12588199	4135538	7186660	15663381	805934	4924804	699093
L-Alanin	10,81	-	-	-	1589951	365436	-	480977	412241
Pirolin	13,68	10201018	12381069	8184082	-	-	-	-	601999
Aykozanol	21,53	2782206	2264775	-	-	553504	701048	-	-
Fenilalanin	13,32	4499528	-	17681720	-	-	-	2086747	1176356
Pirolin	8,23	20914513	95443352	104952303	10696057	-	490167	2213807	-
Triptofan	20,25	-	-	-	1248964	17192392	885169	296246	7258468

Primer metabolitler organizmanın enerji üretimi sırasında oluşan ara ürün veya son ürünlerdir. Bu ürünlerin metabolizmada önemli rolleri vardır, zira bu metabolitler üreme ve büyüme için gereklidirler. Anaerobik metabolizma ürünleri olan etanol, izopropanol, butanol gibi alkoller ve bütirik asit, propiyonik asit, laktik asit gibi asitler ile aerobik metabolizma ürünleri olan sitrik asit, fumarik asit, süksinik asit, malik asit gibi ürünler; amino asitler, asetil-CoA'dan üretilen lipid metabolizması ürünleri olan yağ asitleri, yağlar ve poli- β -hidroksi bütirat gibi maddeler primer metabolit ürünleridir. Sekonder metabolitler, primer meabolizma ürünlerinden sentezlenirler.

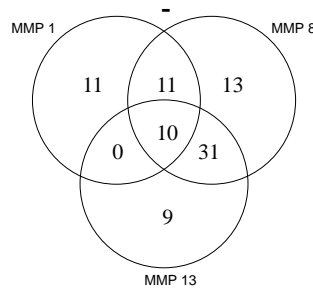
Veri analizi yapılırken veri setinin boyutlarını küçültmek için temel bileşenler analizi (PCA = Principal Component Analysis) gereklidir.



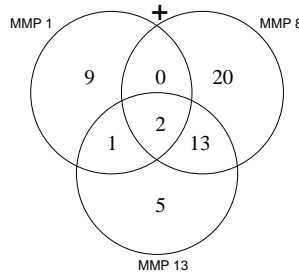
Şekil 5.6. *Silybum marianum*, *Achillea millefolium*, *A. filipendulina*, *Echinacea purpurea*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Nigella sativa*, *N. damascena* metanollü ekstrelerinin PCA (Principal Component Analysis = Temel Bileşenler Analizi)

Bu bağlamda aktivite ile metabolomik profillemenin tamamı arasındaki ilişkileri araştırmak için metabolomik profillemenin tamamı ile MMP inhibitör aktivite arasındaki korelasyon tek değişkenli, çok değişkenli ve korelasyon analizleri ile değerlendirilmiştir. Bitkisel ekstraktların sinerjizm veya antagonizma ile aktivite gösterdikleri dikkate alındığında, tek metabolit yerine tüm metabolitlerin birlikte değerlendirilmesi sinerjizm veya antagonizma hakkında bilgi sahibi olmamıza katkı sağlamıştır.

Bu düşünceden hareketle, negatif pozitif aktiviteye sahip metabolitlerin bulunması için farklı türlerin ve MMP inhibitör aktivitenin tüm metabolomik profilleri karşılaştırılmıştır. Tezimizde, MMP-1, 8, 13 inhibitör aktiviteleri çalışılmış olan bitkiler (*A. millefolium*, *A. filipendulina*, *M. piperita*, *S. officinalis*) benzer metabolomik profili göstermişlerdir. Metabolit seviyeleri ve MMP inhibitör aktivite arasında 50'si pozitif yüksek korelasyon ($r > 0.70$) gösterirken (Şekil 5.7.), 85 metabolitin negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bu metabolomiklerin 10 tanesi ortak olarak MMP-1, 8, 13 aktiviteleri için negatif korelasyon gösterirken, 2 tanesi pozitif korelasyon göstermiştir (Şekil 5.8.).



Şekil 5.7. MMP1,8,13 inhibitör aktivite için negatif korelasyon gösteren metabolitler



Şekil 5.8. MMP1,8,13 inhibitör aktivite için pozitif korelasyon gösteren metabolitler

Tanımlanamayanların ise kütüphanenin sekonder metabolitler bakımından yeterli olmayışı dikkate alındığında sekonder metabolitler olması ihtimalini güçlendirmektedir. GC-MS ile tanımlanamayan sekonder metabolitlerin analizi HPLC ile gerçekleştirilmiştir.

Cilt yaşlanmasında önemli bir etken olan güneş ışınlarına karşı bu bitkilerin koruyucu olup olmadığı bölüm 3.6.'da verilen yöntemle hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde güneşten koruyucu faktörleri (SPF) anlamlı bulunmamıştır.

Güneş ışınları ya da çevre kirliliği ve sigara gibi nedenlerden ötürü serbest radikaller oluşmaktadır. *A. millefolium*, *A. filipendula*, *M. piperita* ve *S. officinalis*'in DPPH radikalini süpürücü etkileri sırasıyla % 88.35, % 88,98, % 91.58, % 88.65, ABTS radikalini süpürücü etkileri sırasıyla % 85.37, % 85,54, % 85,71, % 85,88 olarak bulunmuştur. NO radikalini süpürücü etkileri ve total antioksidan kapasiteleri dikkate değer bulunmamıştır. Demir redükleyici antioksidan kapasitelerine baktığımızda (Kersetin ekivalan antioksidan kapasite) *A. Millefolium* ve *A. filipendulina* düşük bir etki aktivite gösterirken (sırasıyla 188,09 ve 223, 81 mg

kersetin/g ekstre) *M. piperita* ve *S. officinalis*'in daha yüksek aktivite gösterdikleri (sırasıyla 605,90 ve 417,24 mg kersetin/g ekstre) belirlenmiştir. Ekstrelerin bakır redükleyici antioksidan kapasiteleri (Gallik asit ekivalan) hesaplandığında ise tüm ekstrelerde demir redükleyici antioksidan kapasiteye oranla daha düşük aktivite gözlemlenmiş ve yine aynı şekilde *M. piperita* ve *S. Officinalis* ekstrelerinin antioksidan kapasiteleri daha yüksek bulunmuştur. *A. millefolium*, *A. flipendula*, *M. piperita* ve *S. officinalis*'in bakır redükleyici antioksidan kapasiteleri sırasıyla 118,20, 150,39, 485, 39, 389,59.

Tez konusu kapsamında yer alan diğer bitkilerin de güneşten koruyucu faktörleri ve serbest radikal süpürücü etkileri ile antioksidan kapasiteleri test edilmiştir. *Silybum marianum*, *Echinacea purpurea*, *Nigella sativa*, *N. damascena* DPPH radikalini süpürücü etkileri sırasıyla % 19,81, % 62,89, % 0, % -28,24, ABTS radikalini süpürücü etkileri sırasıyla % 54,59, % 83,33, % 26,19, % 15,48 olarak bulunmuştur. NO radikalini süpürücü etkileri ve total antioksidan kapasiteleri ile ilgili anlamlı sonuç elde edilememiştir. *Silybum marianum*, *Echinacea purpurea*, *Nigella sativa*, *N. damascena* metanollü ekstrelerinin demir redükleyici antioksidan kapasiteleri sırasıyla 150,57, 141, 05, 92,86, 83,33 (mg kersetin / g ekstre) bakır redükleyici antioksidan kapasite sonuçları sırasıyla 72,91, 59,68, 13,96, 31,46 (mg gallik asit / g ekstre) olarak hesaplanmıştır.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde bu 4 metanol ekstrelerinin bu konsantrasyonlarında yüksek bir antioksidan kapasiteden bahsetmek mümkün değildir.

Yukarıda da belirtildiği gibi sekonder metabolitlerin analizi HPLC ile gerçekleştirilmiştir.

Tıbbi bitki ekstraktları kompleks karışımlar olup pek çok maddeyi birarada içermektedirler. Tedavi edici özellikleri içerdikleri bileşiklerin kümülatif veya sinerjistik etkilerinden ileri gelmektedir. Bitkisel ürünlerde özellikle de gıda takviyelerinde taşıyıcı veya substitüsyon bitkisel ürün endüstrisinin önemli problemlerindedir. Kalite kontrol çalışmaları ürünlerin etkin, yüksek kaliteli ve güvenli olup olmadığını tespit etmek amacıyla gereklidir. Kromatografik parmakizi (fingerprint) analizi, kompleks ve multi komponent matrikse sahip bitkiler ve bitkisel ürünler için avantaj sağlamaktadır.

Kalite kontrol analizleri İTK ve HPLC ile gerçekleştirilmiştir. Avrupa Farmakopesinde monografi yer alan drogların kromatografik analizleri Farmakopeye göre veya modifiye edilerek yapılmıştır. Diğerlerinde ise literatürlerden destek alınarak yeni yöntem geliştirilmiştir.

Nigella sativa, *N. damascena*, *Achillea millefolium* ve *A. filipendulina* için Avrupa farmakopesinde yöntem bulunmadığı için parmak izi çalışmalarında en uygun sonuçları veren sistemler denenerek ve literatür araştırması yapılarak en uygun metotlar tespit edilmiştir. Avrupa farmakopesinde yer alan *Echinaceae purpurea*, *Silybum marianum*, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis* bitkilerine ait yöntemler titlikle incelenmiş ve kullanılan mobil faz sistemleri aynı şekilde uygulandığında pH 1,5 civarında ölçülmüştür. Bu pH derecesinin yöntemlerde kullanılan kolonların kullanma kılavuzları ile uyumlu olmadığı (pH en düşük 2 olmalı) tespit edilmiştir. Bu durumda tüm yöntemlerde hazırlanan mobil faz sistemlerinde pH açısından modifikasyon gerçekleştirilmiştir. Yapılan tüm çalışmalarda yöntemlerin doğruluğu, güvenilirliği ve tekrarlanabilirliğinin araştırılması açısından yöntem validasyonu tezde kullanılan tüm standartlar için gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar Bölüm 4.4.1’de verilmiştir. Yöntem validasyonu çalışmalarının sonuçları şu şekilde değerlendirilmiştir.

Yöntem Geçerlilik Çalışmaları

HPLC ile yapılan parmak izi ve miktar tayini analizleri için kullanılan yöntemler Avrupa Farmakopesi’nden ilgili bitki monografında verilen yöntemlerden uyumlaştırılmıştır. Uyumlaştırma sürecinde yöntemlerde değişiklikler yapılarak (pH, sıcaklık, harektli faz bileşimi gibi) en uygun koşullar belirlenmiştir. Çünkü Avrupa Farmakopesi’ndeki yöntemler drog matriksi için iken tez çalışmasında birden fazla matrikste analiz edilmiştir. Bu yüzden uyumlaştırılan yöntemlerin geçerlilik çalışmaları, geliştirdiğimiz yöntemlerin güvenilirliği, tekrarlanabilirliği, doğruluğu ve sağlamlığı açısından değerlendirilmiştir. Bu amaçla geliştirilen yöntemlerde sistem uygunluğu, doğrusallığı, kesinliği, doğruluğu, ve sağlamlığı ICH’e göre değerlendirilmiştir.

Sistem uygunluğu

Analiz yöntemi için sistem uygunluğu için standartların aynı vialden (50 µg/mL) 10 tekrarlı enjeksiyonu (n=10) yapılarak değerlendirilmiştir. Enjeksiyon tekrarlanabilirliği için standartların alanlarının BSS'leri hesaplanmış ve BSS<%2 bulunmuştur.

Standartlarla aynı şartlarda yapılan urasil enjeksiyonu ile ölü alıkonma zamanı (t_0) belirlenmiştir. Bu değerler 0,88 mL/dk. için 3,59, 1 mL/dk için 2,87 ve 1,2 mL/dk için 2,409 olarak belirlenmiştir. Bu değerler kullanılarak kapasite faktörleri hesaplanmıştır. Standartlara ait kapasite değerlerinin 1 ile 10 arasında çıkması sistemin uygunluğunu göstermektedir.

Teorik tabaka sayıları (N) kolon etkinliği göstergelerinden birisi olup standart maddelerimiz olan Klorojenik asit, Ekinakozit, Silibinin A, Silibinin B, Rozmarinik asit için sırasıyla 36213, 105342, 49360, 42674 ve 38751 olarak tespit edilmiştir. Bu değerlerin $N > 2000$, olması yöntemin uygun olduğunu göstermektedir.

Kolon etkinliğini gösteren bir diğer parametre olan pik asimetri oranı için bulunan değerler 1,00 – 1,25 aralığında olup kullanılan standartlar olan Klorojenik asit, Ekinakozit, Silibinin A, Silibinin B, Rozmarinik asit için sırasıyla 1,17, 1,08, 1,08, 1,12 ve 1,08 olarak belirlenmiştir.

Bulunan sonuçların belirlenen sınırlar içinde çıkması geliştirilen yöntemlerin sistem uygunluğu açısından uygun olduğunu göstermiştir.

Kararlılık

Bu çalışma bize analizini yaptığımız maddelerin çalışma süresindeki dayanıklılıkları hakkında bilgi vermektedir. Tez çalışmamızda kullandığımız standartlar 50 µg/mL konsantrasyonlarda bir kez analiz edildikten sonra +4 °C'de 1 ay süreyle bekletilmiş ve aynı numune aynı şartlarda tekrar analiz edilerek hesaplanan alanların ölçüm farkları (% olarak) belirlenmiştir. Standartlarımız olan Klorojenik asit, Ekinakozit, Silibinin A, Silibinin B, Rozmarinik asit için bu fark değerleri sırasıyla 3,38, 1,68, 3,12, 5,86, 0,85 olarak bulunmuş ve % 10 değerinin altında olduğu için standartlarımızın +4 °C'de 1 ay süreyle dayanıklılıklarını korudukları belirlenmiştir.

Duyarlılık

Yöntemimizin kullandığımız standartları ayırmakta ne kadar duyarlı olduğunu anlamak için LOD (limit of detection) ve LOQ (Limit of quantification) değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler standartlarımız Klorojenik asit, Ekinakozit, Silibinin A, Silibinin B, Rozmarinik asit için sırasıyla 0,02- 0,08 µg/mL, 0,04-0,12 µg/mL, 0,15-0,5 µg/mL, 0,15-0,5 µg/mL, 0,03-0,1 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bu değerler yöntemimizin standartlarımızı analiz etmede yeterli duyarlılıkta olduğunu göstermiştir.

Doğrusallık

Her bir standart için farklı konsantrasyonlarda (100, 75, 50, 40, 25, 10, 5, 1, 0,5, 0,1, 0,05 µg/mL) hazırlanan çözeltiler içinde buldukları bitki için kullanılan analiz yöntemi ile aynı parametreler kullanılarak aynı gün ve günler arası olmak üzere en az 6 kez (n=6) test edilmiş ve çıkan sonuçlarla kalibrasyon eğrileri çizilmiştir (Şekil 4.13). Bu eğrilerin korelasyon katsayıları (r^2) hesaplanmış ve bütün değerlerin 0,9980 değerinden yüksek olduğu bulunmuştur. Bu değerler kalibrasyon eğrilerimizin doğrusallığını göstermiştir. ANOVA analizleri sonucu bulunan, bütün matris bileşenlerinin kalibrasyon eğrilerindeki eğimlerin sıfırdan farklı, kesişim değerlerinin ise önemsiz (sıfıra eşit) olması korelasyon katsayısı değerlerinin tesadüfi olmadığını göstermiştir.

Ayrıca yöntem doğrusallığını kontrol için hesaplanan konsantrasyona karşı olması gereken konsantrasyon grafikleri (Şekil 4.14) çizilmiş ve bu grafiklere ait kalibrasyon eğri eğimlerinin bire yakın ve korelasyon katsayılarının 0,995'ten büyük çıkması yöntemin doğrusallığını göstermiştir.

Keskinlik ve Doğruluk

Üç farklı konsantrasyon (5, 25 ve 50 µg/mL) aynı günde (gün içi keskinlik ve doğruluk) altı farklı seride hazırlanarak analiz edilmiş ve bu işlem üç farklı günde tekrarlanarak (günler arası keskinlik ve doğruluk) analiz edilmiştir. Veriler hazırlanan kalibrasyon eğrilerine göre değerlendirilmiş ve BSS ve BH değerleri Tablo 4.55 ve 4.56'te verilmiştir. BSS değeri tüm standartlar için % 3,87'nin altında, BH değeri

tüm standartlar için % 7,53'ün altında bulunmuştur. Bu değerler yöntemimizin kesinliğini ve doğruluğunu göstermiştir.

Geri Kazanım

Standart ekleme yöntemi ile hesaplanmış olan geri kazanım çalışmalarının sonuçları Tablo 4.57'da verilmiştir. Kullanılan standartlar 3 farklı matris içerisinde (bitki tozu, kapsül, likit) analiz edilmesi nedeniyle standart ekleme yöntemi için ayrı ayrı bu matrislerin hepsinden bir örnek kullanılmıştır. Analiz çalışmalarının sonucunda kapsül için en düşük geri kazanım % 84,98, en yüksek geri kazanım % 90,65, bitki tozu için en düşük geri kazanım % 83,66, en yüksek geri kazanım % 93,43, likit için en düşük geri kazanım % 85,39, en yüksek geri kazanım % 94,28 olarak hesaplanmıştır. Bu veriler geri kazanım açısından yöntemin doğruluğunu destekler niteliktedir.

Seçicilik

Standart ekleme metodu ile yapılan seçicilik çalışmalarında farklı matrislerden elde edilen kalibrasyon eğrilerinin eğimlerinin aynı olması ve güven aralıklarının çakışması yöntemde girişim olmadığını, seçici olduğunu göstermiştir.

Sağlamlık

Akış hızı, pH ve dalga boyu gibi parametrelerde yapılan küçük değişikliklerin, elde edilen sonuçlar üzerindeki etkisi araştırılmış ve bu sonuçlar Tablo 4.59'da verilmiştir. Elde edilen p değerlerinin (tablo 4.60) $p > 0,05$ olması bu parametrelerde yapılan değişiklikler üzerindeki etkisinin anlamsız bir değer olduğunu ve yöntemimizin sağlamlığını göstermiştir.

Bir bitkisel ürünün ticari olarak değerlendirilebilmesi için stabilitesinin ölçülmüş olması en önemli kalite kontrol kriterlerinden biridir. Böylece ürünün değişime veya farklılaşmaya karşı direnci ölçülmektedir (100).

Çalışılan bitkilerden *Echinaceae purpurea*, *Silybum marianum*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis* üzerinde ön stabilite çalışmaları oda sıcaklığında bekletme yoluyla gerçekleştirilmiştir.

Taze hazırlanmış ekstrelerin kimyasal profilleri, 1 yıl bekletmeden önce ve sonra HPLC yöntemi ile belirlenmiştir. Referans olarak *Echinaceae purpurea* için klorojenik asit ve ekinakozit, *Silybum marianum* için silibinin A ve B, *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis* için rozmarinik asit kullanılmıştır. Referans bileşiklerin ve ekstrelerin HPLC profillerinin belirlenebilmesi için Avrupa Farmakopesi ve modifiye yöntemler (bkz. Bölüm 3.8.2) kullanılmıştır. Öncelikle referans bileşiklerin alıkonma zamanları saptanmıştır (Bkz. Bölüm 4.4.2), sonra ekstreler uygun yöntemle HPLC sistemine uygulanmış ve bir aradayken sergiledikleri ayırım optimize edilmiştir (Bkz. Bölüm 4.4.2) Markör bileşiklerin ekstre içindeki stabilite testleri yapılacak olan ekstrelerdeki miktarlarının tayin edilebilmesi için konsantrasyona karşı (x eksen, µg/ml), pik alanları işaretlenerek (y eksen) kalibrasyon eğrileri çizilmiştir (Bkz. Şekil 4.13.). Önemli validasyon parametrelerinden biri olan kalibrasyon eğrisinin nasıl yapılacağı ISO-11095 te belirtilmiştir (101). Korelasyon katsayıları 0,99'dan büyük bulunmuştur (Bkz. Şekil 4.13. ve 4.14.). Kalibrasyon eğrisi, denklemi ve korelasyon katsayısı her bileşik için belirlendikten sonra 4 bitkiye ait ekstrelerin stabilite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Kimyasal stabilite HPLC yöntemi ile belirlendikten sonra 6 ay - 1 yıl sonrasında fiziksel stabiliteleri de değerlendirilmiş ve fiziksel bir değişiklik ya da ağırlık kaybı olmadığı, herhangi bir mikrobiyolojik kontaminasyona uğramadığı, ancak etkin madde miktarının *Echinacea purpurea* bitkisini içeren (Ech-8 kodlu) tarihi geçmiş üründe standartlara ait pikler tespit edilememiştir. Benzer sonuç Ech-9 kodlu odada bekletilen üründe de gözlemlenmiştir (Bkz.Şekil 4.25. ve Şekil 4.26. ve tablo 4.61.). *Silybum marianum* kültür bitkisi ve onu içeren ürünler üzerinde yapılan stabilite çalışmalarında oda ortamında 6 ay bekleyen (Sil-8 kodlu ürün), 1 yıl bekleyen (Sil-7 kodlu ürün) ve son kullanım tarihi geçmiş ürünlerde (Sil-9 kodlu ürün) bekleme süreleri ile orantılı olarak belirgin şekilde (ilk güne oranla % 50'ye varan) standart maddelerde kayıplar gözlenmiştir (Bkz. Tablo 4.94). Aynı şekilde *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis* bitkilerinin oda ısısında bekletilerek yapılan stabilite çalışmalarında, ilk güne oranla standart maddede % 50'ye yakın kayıplar meydana gelmiştir. Oysa FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) nın yayınladığı kılavuza göre bir ürünün stabilitesini koruduğu, ancak özelliğinin % 95'ini koruması ile anlaşılmaktadır (102).

Kromatografik parmakizi yöntemi (fingerprint yöntemi), bitkisel ilaçlar ve bitkisel ürünlerin kalite kontrol analizinde FDA ve EMA (Avrupa İlaç Ajansı), tarafından kabul edilen yöntemlerdir. Bu yöntemlerle, bitkisel ürünlerin ve bitkisel ilaçların kimyasal bileşiminde yer alan bileşiklerin miktar tayinleri yapılmaktadır (103).

Genel olarak bakıldığında piyasada bulunan ve belli bir etken maddeyi veya ekstreyi belli bir oranda içerdiğini iddia eden ürünlerin pek çoğunun bu çalışma sonucunda bu iddialarından uzak olduğu belirlenmiştir.

Yurt dışından rastgele, bitkisel ürün satan merkezler veya eczanelerden alınan ürünlerin iç piyasada satılan ürünlere göre belirgin derecede yüksek kalitede oldukları net olarak gözlemlenmiştir.

Kültürü yapılan *Echinacea purpurea*'nın Avrupa Farmakopesi'ne göre içermesi gereken referans madde miktarına sahip olmadığı ancak *Silybum marianum* ve *Mentha piperita* kültür bitkilerinin Avrupa Farmakopesi'ne uyumlu şekilde referans madde miktarına sahip olduğu belirlenmiştir.

Bitkilerin veya ürünlerin normal koşullarda oda ısısında raf ömrünü geçecek sürede bekletildikten sonra markör madde miktarlarını ilk günlük oranda koruyamadıkları net olarak ortaya konmuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez sonunda, tez başlığında yer alan " Türkiye’de Ekonomik Önemi Olan Bazı Tıbbi Kültür Bitkileri Üzerinde Stabilite ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları” hedeflerinin hepsi gerçekleştirilmiştir.

Achillea millefolium, *Achillea filipendulina*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis* ten hazırlanan metanollü ekstrelerin farklı konsantrasyonlarının cilt yaşlanmasına neden olan MMP-1, MMP-8 ve MMP-13 enzimlerini inhibe etme oranları, DPPH, NO, ABTS radikal süpürücü kapasiteleri ve FRAP, CUPRAC ve total antioksidan kapasiteleri ve SPF değerleri eş zamanlı olarak ilk kez saptanmıştır.

Metabolom ile MMP-1, 8, 13 inhibitor etki korelasyonu ilk kez değerlendirilmiştir.

Silybum marianum *Echinacea purpurea*, *Nigella sativa* ve *N. Damascena*’dan elde edilen metanollü ekstrelerin farklı konsantrasyonlarının DPPH, NO, ABTS radikal süpürücü kapasiteleri ve FRAP, CUPRAC ve total antioksidan kapasiteleri ilk kez saptanmıştır.

S. marianum *E. purpurea*, *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *M. piperita*, *S. officinalis*, *N. sativa* ve *N. damascena*’nın metabolomik analizleri ilk kez yapılmış, 2D ve 3D veri analizi gerçekleştirilmiştir.

S. marianum, *E. purpurea*, *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *M. piperita*, *S. officinalis*, *N. sativa* ve *N. damascena* kültür bitkileri ve bu bitkileri içeren bitmiş ürünlerin kalite kontrolü HPLC ile ilk kez gerçekleştirilmiştir.

Tez ile ekonomik öneme sahip 8 bitki türünün kalite standartlarına uygun olarak pazara çıkabilmesi için kalite kontrol çalışmalarında yararlanılacak yöntemler oturtulmuş ve bu 8 bitkinin metabolomik analizlerinin ve dördünün matriks metalloproteinaz inhibitör etki ile korelasyonunun yorumlanmasının ilk kez yapılmış olması, çalışmanın bilimsel kalitesini ve bugüne kadar bu bitkilerle yapılan çalışmalardan farklılığını göstermektedir.

Yapılan çalışmalar bu alanda bundan sonra yapılacak çalışmalar için referans teşkil edecektir.

4 bitkinin MMP enzimlerini inhibe edici etkisinin yanında, güneşten koruyucu etkilerinin ve antioksidan özelliklerinin tayin edilmesi, daha sonra yapılacak farklı fitokozmetik formülasyonlara olanak sağlaması ve ürün çeşitliliği sunması açısından önemlidir.

Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, bundan sonra yapılacak olan çalışmalara ışık tutacağı bir gerçektir.

7. KAYNAKLAR

1. Diplock, A. Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59 p., Belgium. 1998.
2. Elliot, JG. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. Food Tech. 1999;53(2): 46-8.
3. Ou B, Huang D, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Deemer EK. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing anti-oxidant power (FRAP) assays: A comparative study. J Agric Food Chem. 2002;50(11): 3122-28.
4. Trautinger, F. (2001) Mechanisms of photodamage of the skin and its functional consequences for skin ageing. Clinical and Experimental Dermatology, 26 (7), 573-77.
5. Chung JH, Hanft VN, Kang S. Aging and photoaging. J Am Acad Dermatol. 2003;49(4):690-7.
6. Jenkins G. Molecular mechanisms of skin ageing. Mech Ageing Dev. 2002;123(7):801-10.
7. Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S, et al. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. Arch Dermatol. 2002;138(11):1462-70.
8. Nair B. Final report on the safety assessment of *Mentha Piperita* (Peppermint) Oil, *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf Extract, *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf, and *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf Water. International Journal of Toxicology. 2001;20(3):61-73.
9. Daniela T. *Salvia officinalis* L. I. Botanic characteristics, composition, use and cultivation. Ceskoslovenska Farmacie. 1993; 42(3):111-16.
10. Giorgi A, Bononi M, Tateo F, Cocucci M. Yarrow (*Achillea millefolium* L.) Growth at Different Altitudes in Central Italian Alps: Biomass Yield, Oil Content and Quality. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants. 2003;47-58.
11. Silva MLS. Comprehensive Analysis of Phytopharmaceutical Formulations—An Emphasis on Two-Dimensional Liquid Chromatography. J Chromatogr Sep Tech 2015;6(2):1-9.
12. Davis PH. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Great Britain. Edinburgh University Press. 1965.
13. Baytop T. Türkiye’de bitkiler ile tedavi (geçmişte ve bugün). 2. Baskı. İstanbul. Nobel Tıp Kitapevleri. 1999.
14. Arabacı T. Türkiye’de Yetişen *Achillea* L. (Asteraceae) Cinsinin Revizyonu [Doktora Tezi]. Malatya: İnönü Üniversitesi; Malatya. 2006.

15. Huber-Morath A. *Achillea* L. Davis PH. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Great Britain. Edinburgh University Press. 1965.
16. Kupicha FK. *Silybum* Adans. Davis PH. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Great Britain. Edinburgh University Press. 1965.
17. WHO Monographs on Selected Plants. Vol. 1. Geneva. 1999.
18. PDR for Herbal Medicines. 3rd Edition. New Jersey:Thomson;2004.
19. Davis PH. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Great Britain. Edinburgh University Press. 1982.
20. Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını; 2012.
21. FFD Monografları, Tedavide kullanılan bitkiler. Demirezer LÖ, Ersöz T, Saraçoğlu İ, Şener B. Ankara: MN Medikal ve Nobel Tıp Kitapevi; 2011.
22. Toma, CC, Olah, NK, Vlase L, Mogosan C, Mocan A. Comparative studies on polyphenolic composition, antioxidant and diuretic effects of *Nigella sativa* L. (Black Cumin) and *N. damascena* L. (Lady-in-a-Mist) Seeds. *Molecules*. 2015; 20:9560-74.
23. European Pharmacopea. 7th. Ed. Strasbourg:2011.
24. Vasinauskienė M, Radušienė J, Zitkaitė I, . Survilienė E. Antibacterial activities of essential oils from aromatic and medicinal plants against growth of phytopathogenic bacteria. *Agronomy Research*. 2006;4:437–40.
25. Kim NC, Graf TN, Sparacino CM, Wani MC, Wall ME. Complete isolation and characterization of silybins and isosilybins from milk thistle (*Silybum marianum*). *Org Biomol Chem*. 2003;1:1684-89.
26. Kvasnicka F, Biba B, Sevcik R, Voldrich M, Kratka J. Analysis of active components of silymarin. *J Chromatogr A*. 2003;990:239-45.
27. Lee JI, Hsu BH, Wu D, Barrett JS. Separation and characterization of silybin, isosilybin, silydianin and silychristin in milk thistle extract by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2006;1116:57-68.
28. Lee DY, Liu Y. Molecular structure and stereochemistry of silybin A, silybin B, isosilybin A, isosilybin B isolated from *Silybum marianum* (milk thistle). *J Nat Prod*. 2003;66:1171-74.
29. Tittel G, Wagner H. High - performance liquid chromatography of silymarin. *J Chromatogr*. 1978;153:227-32.
30. Wagner H, Seligmann O, Seitz M, Abraham D, Sonnenbichler J. Silydianin and silychristin, 2 isomeric silymarins from *Silybum marianum* L Gaertn (Milk Thistle). *Z Naturforsch B*. 1976;31:876-80.
31. Bruneton J. Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal plants, Lavoisier Publishing, Paris, 1995.

32. Wichtl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. A handbook for practise on a Scientific basis. 3rd ed. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers; 2004.
33. Ulubelen A, Öksüz S, Schuster A. A sesquiterpene lactone from *Achillea millefolium subsp. millefolium*. Phytochemistry. 1990;29(12):3948-49.
34. Kubelka W, Kastner U, Glasl S, Saukel J, Jurenitsch J. Chemotaxonomic relevance of sesquiterpenes within the *Achillea millefolium* group. Biochem Syst Ecol. 1999;27:437-44.
35. Benedek B, Kopp B, Melzig MF. *Achillea millefolium* L. s.l. – Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition? J Ethnopharmacol. 2007;113:312-17.
36. Vitalini S, Beretta G, Iriti M, Orsenigo S, Basilico N, Dall'Acqua S, Iorizzi M, FICO G. Phenolic compounds from *Achillea millefolium* L. and their bioactivity. Acta Biochim Pol. 2011;58:203-9.
37. Mekinić IG, Burcul F, Blazević I, Skroza D, Kerum D, Katalinić V. Antioxidative/acetylcholinesterase inhibitory activity of some Asteraceae plants. Nat Prod Commun. 2013;8(4):471-74.
38. Mosayebi M, Amin G, Arzani H, Azarnivand, Maleki M, and Shafaghat A. Effect of habitat on essential oil of *Achillea filipendulina* L. in Iran. Asian J. Plant Sci. 2008; 7(8):779-81.
39. Sadyrbekov DT, Suleimenov E.M, Tikhonova EV, Atazhanova GA, Tkachev AV, Adekenov SM. Chem Nat Compd. 2006; 42: 294-97.
40. Carlo GD, Pacilio M, Capasso R, Carlo RD. Effect on prolactin secretion of *Echinacea purpurea*, *Hypericum perforatum* and *Eleutherococcus senticosus*, Phytomed. 2005; 12:644-47.
41. Soicke H, Al-Hassan G, Görler K. Weitere kaffeesaurederivate aus *Echinacea purpurea* Planta Med. 1988;54:175-6.
42. Bauer R, Remiger P, Wray V, Wagner H. Germacrene alcohol from fresh aerial parts of *Echinacea purpurea* Planta Med. 1988; 54:478-9.
43. Bisset NG. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. Boca Raton FL: CRC Press; 1994.
44. Classen B, Witthohn K, Blaschek W. Characterization of an arabinogalactan-protein isolated from pressed juice of *Echinacea purpurea* by precipitation with the β -glucosyl Yariv reagent. Carbohydr Res. 2000; 327:497-504.
45. Proksch A, Wagner H. Structural analysis of a 4-O-methylglucuronoarabinoxylan with immunostimulating activity from *Echinacea purpurea*. Phytochem. 1987; 26:1989-93.
46. Wack M, Blaschek W. Determination of the structure and degree of polymerisation of fructans from *Echinacea purpurea* roots. Carbohydr Res. 2006; 341:1147-53.
47. Bauer R, Remiger P, Wagner H. Alkamides from the roots of *Echinacea purpurea*. Phytochem. 1988; 27:2339-42.

48. Bohlmann F, Hoffmann H. Further amides from *Echinacea purpurea*. *Phytochem.* 1983; 22:1173-75.
49. Block KI, Mead MN, Immune system effects of *Echinacea*, *Ginseng* and *Astragalus*: A Review. *Integr Cancer Ther.* 2003;2:247.
50. Gudzenko A. Development and validation of a method for the determination of rosmarinic acid in *Mentha piperita* L. using solid-phase extraction and RP-HPLC with photodiode array detection. *J Chem Pharm Res.* 2013; 5: 40-45.
51. Tate S. Peppermint oil: a treatment for postoperative nausea. *J Adv Nursing.* 1997;26:543-49.
52. Inoue T, Sugimoto Y Masuda , H, Kamei C. Antiallergic effect of flavonoid glycosides obtained from *Mentha piperita* L., *Biol Pharm Bull.* 2002;25:256-59.
53. Kavvadias D, Monschein V, Sand P, Rieder P, Schreier P. Constituents of sage (*Salvia officinalis*) with in vitro affinity to human brain benzodiazepine receptor. *Planta Med.* 2003;69:113-17.
54. Lu Y, Foo Y. Rosmarinic acid derivatives from *Salvia officinalis*. *Phytochem.* 1999;51:91-4.
55. Petersen M, Simmonds MSJ. Rosmarinic acid. *Phytochem.* 2003;62:121-25.
56. Lu Y, Foo YL, Wong H. Sagecoumarin, a novel caffeic acid trimer from *Salvia officinalis*. *Phytochem.* 1999;52:1149-52.
57. Brieskorn CH, Kapadia Z. Constituents of *Salvia officinalis* XXIII: 5-methoxysalvigenin in leaves of *Salvia officinalis*. *Planta Med.* 1979;35:376-78.
58. Brieskorn CH, Biechele W. Flavone aus *Salvia officinalis* L *Arch Pharm.* 1971;304:557-61.
59. Djarmati Z, Jankow RM, Djorjevic A, Ribar B, Lazar D, Engel P. Carnosic acid 12-methyl ether- γ -lactone, a ferruginol-type diterpene from *Salvia officinalis* L. *Phytochem.* 1992;31:1307-9.
60. Fraga BM, Gonzalez AG, Herrera JR, Luis JG, Perales A, Ravelo AG. A revised structure of diterpene rosmanol. *Phytochem.* 1985;24:1853-4.
61. Tada M, Hara T, Hara C, Chiba K. A quinone methide from *Salvia officinalis*. *Phytochem.* 1997;45:1475-77.
62. Tada M, Okuno K, Chiba K, Ohnisi E, Yoshii T. Anti-viral diterpenes from *Salvia officinalis*. *Phytochem.* 1994;35:539-41.
63. Baricevic D, Soda S, Loggia RD, Tubaro A, Smonovska B, Krasna A, Zupanic A. Topical anti-inflammatory activity of leaves: The relevance of ursolic acid. *J Ethnopharmacol.* 2001;75:125-32.
64. Capek P, Hibalova V. Water-soluble polysaccharides from possessing immunomodulatory activity. *Phytochem.* 2004;65:1983-92.

65. Ghosheh OA, Houdi AA, Crooks PA. Highperformance liquid chromatography analysis of the pharmacologically active quinines and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.) J Pharmac Biomed Anal. 1999;19:757-62.
66. D'Antuono LF, Moretti A, Lovato AFS. Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *N. damascena*. Ind Crop Prod. 2002;15:59-69.
67. Atta-ur-Rahman MM, Malik S, He CH, Clardy J. Isolation and structure determination of nigellicine, a novel alkaloid from seeds of *Nigella sativa*. Tetrahedron Lett. 1985;26:2759-62.
68. Atta-ur-Rahman MM, Malik S, Zaman K. Nigellimine: a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. J Nat Prod. 1992;55:676-78.
69. Atta-ur-Rahman MM, Malik S, Hasan SS, Chaudhary MI, Ni CZ, Clardy J. Nigellidine: a new indazole alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. Tetrahedron Lett. 1995;36:1993-96.
70. Toma, CC, Olah, NK, Vlase L, Mogosan C, Mocan A. Comparative studies on polyphenolic composition, antioxidant and diuretic effects of *Nigella sativa* L. (Black Cumin) and *N. damascena* L. (Lady-in-a-Mist) Seeds. Molecules. 2015; 20:9560-74.
71. Ramadan MF. Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (*Nigella sativa* L.): An overview. Int J Food Sci Technol. 2007;42:1208-18.
72. Ramadan MF, Moersel JT. Neutral lipid classes of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oils. Eur Food Res Technol. 2002;214:202-6.
73. D'Antuono LF, Moretti A, Lovato AFS. Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *N. damascena*. Ind Crop Prod. 2002;15:59-69.
74. Sajfrtova M, Sovova H, Karban J. Enrichment of *Nigella damascena* extract with volatile compounds using supercritical fluid extraction. J Supercrit Fluid. 2014;94:160-4.
75. Blumenthal M, Busse WR. Commission E Monographs.: Therapeutic Guide to herbal Medicines 1st ed. Austin TX: Lippincott Williams & Wilkins; 1998.
76. DAB 10. Deutsches Arzneibuch, Amtliche Ausgabe, Stuttgart. Deutcher Apotheker Verlag. (1998).
77. Flora K, Hahn M, Rosen H, Benner K. Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease. Am J Gastroenterol. 1998;93:139-43.
78. Giese LA. Milk thistle and the treatment of hepatitis. Gastroenterol Nurs. 2001;24:95-7.
79. Schulz V, Hansel R, Tyler VE. Rational Phytotherapy: A physicians guide to herbal medicine. Berlin: Springer; 2001.

80. Blumenthal M. Herbal Medicines: Expanded Commission E monographs: therapeutic guide to herbal medicines. 1st ed. Austin TX: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.
81. Mat A. *Echinacea* türleri. Başer KHC, Kırimer N. XIV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı; 2002; Eskişehir.
82. ESCOP Monographs. 2nd ed. New York: Thieme; 2003.
83. Honda G, Yeşilada E, Tabata M, Sezik E, Fujita T, Takeda Y, Takaishi Y, Tanaka T. Traditional Medicine in Turkey. VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. J Ethnopharmacol. 1996;53:75-87.
84. Sezik E, Yeşilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional Medicine in Turkey. X. Folk medicine in Central Anatolia. J Ethnopharmacol. 2001;75:95-115.
85. Yeşilada E, Honda G, Sezik E, Tabata M, Fujita T, Tanaka T, Takeda Y, Takaishi Y. Traditional Medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus mountains. J Ethnopharmacol. 1995;46:133-52.
86. Niebuhr AD. Herbs of Greece. London: Herb Society of America; 1970.
87. Fonseca AP, Rafaela N. Determination of sun protection factor by UV-Vis Spectrophotometry. Health care current reviews. 2013;1(1):108.
88. Mansur JS, Breder MNR, Mansur MCA, Azulay RD. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. An Bras Dermatol. 1986;61:121-24.
89. Brandwilliams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free-radical method to evaluate antioxidant activity. Food Sci Technol-Leb. 1995;28(1):25-30.
90. Pesh-Imam M, Recknagel RO. Lipid peroxidation and the concept of antioxygenic potential: critical examination of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. Toxicol Appl Pharmacol. 1977;42(3):455-61.
91. Prior RL, Wu XL, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. J Agr Food Chem. 2005;53(10):4290-302.
92. Vriesman MF, Haenen GRMM, Westerveld GJ, Paquay JBG, Voss HP, Bast A. A method for measuring nitric oxide radical scavenging activity. Scavenging properties of sulfur-containing compounds. Pharm World Sci. 1997;19(6):283-86.
93. Cano A, Hernandez-Ruiz J, Garcia-Canovas F, Acosta M, Arnao MB. An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. Phytochem Analysis. 1998;9(4):196-202.
94. Sanchez-Moreno C. Review: method used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Sci Technol Int (London, UK). 2002;8(3):121-37.

95. Jan S, Khan MR, Rashid U, Bokhari J. Assessment of antioxidant potential, total phenolics and flavonoids of different solvent fractions of *Monotheca buxifolia* fruit. *Osong public health and research perspectives*. 2013;4(5):246-54.
96. Benzia IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*. 1996;239(1):70-6.
97. Oyaizu M. Studies on products of browning reactions-antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*. 1986;44:307-15.
98. Apak R, Guclu K, Ozyurek M, Karademir SE. Noval total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J Agr Food Chem*. 2004;52(26):7970-81.
99. ICH Harmonised Tripartite Guideline, Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Q2(r1) 2005.
100. Connors KA, Amidon GL, Kennon L. *Chemical stability of pharmaceuticals: a Handbook for Pharmacists*: Wiley; 1979. 367.
101. Deak E. Uses of certified reference materials: the ISO Guide 33. *Spec Publ - R Soc Chem.(Use of Matrix Reference Materials in Environmental Analytical Processes)* 1999;238:176-87.
102. Fairweather WR, Lin TY, Kelly R. Regulatory, design, and analysis aspects of complex stability studies. *US Food & Drug Administration. J Pharm Sci*. 1995;84(11):1322-26.
103. Yang L-w, Wu D-h, Tang X, Peng W, Wang X-r, Ma Y, et al. Fingerprint quality control of Tianjihuang by high-performance liquid chromatography–photodiode array detection. *J Chromatogr A*. 2005;1070(1–2):35-42.

8. ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel bilgiler

Adı Soyadı: Ekrem Murat Gönülalan

Doğum yeri ve tarihi: Sivas / 07.06.1973

Uyruğu: T.C.

İletişim Adresi ve telefonu: Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi İlaç ve Zehir Bilgi Birimi Sıhhiye Altındağ /Ankara / 0312 3118940

II. Eğitimi

2011-2017	Doktora	: Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı
1997-2000	Yüksek Lisans	: Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı
1992-1997	Lisans	: Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
1984-1991	Ortaokul/Lise	: Sivas Selçuk Anadolu Lisesi
1980-1984	İlköğretim	: Sivas Halil Rıfat Paşa İlkokulu