

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*LİNARİA CORİFOLİA* DESF. ÜZERİNDE  
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Dr. Ecz. Melike UTLU

Farmakognozi Programı

DOKTORA TEZİ

ANKARA

2024



T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*LİNARİA CORİFOLİA* DESF. ÜZERİNDE  
FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR

Dr. Ecz. Melike UTLU

Farmakognozi Programı  
DOKTORA TEZİ

Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Dilek ERCİL

ANKARA

2024

**ONAY SAYFASI*****Linaria corifolia* Desf. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar****Ecz. Melike UTLU****Danışman: Doç. Dr. Dilek ERCİL****İkinci Danışman: -**

Bu tez çalışması 16.08.2024 tarihinde jürimiz tarafından “Farmakognozik Doktora Programı” nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı: Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN**

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

**Üye: Prof. Dr. Esra AKKOL**

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

**Üye: Doç. Dr. Nadire ÖZENVER**

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

**Üye: Prof. Dr. Ayşe Mine GENÇLER ÖZKAN**

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

**Üye: Prof. Dr. Fatma Sezer ŞENOL DENİZ**

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

**12 Eylül 2024***Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN***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.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>...

11/09/2024

(İmza)

Ecz. Melike UTLU

“*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*”

(1) *Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.*

(2) *Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internette paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.*

(3) *Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir.*

\* *Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.*

## 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, Doç. Dr. Dilek ERCİL danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığımı beyan ederim.

Dr. Ecz. Melike UTLU

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, çalışmamı titizlikle yöneten değerli hocam Doç. Dr. Dilek ERCİL'e,

Çalışmalarım için uygun ortam ve desteği sağlayan önceki Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN'a, şu anda görevini yürüten Sayın Prof. Dr. Ayşe UZ'a,

Katkı ve önerileriyle çalışmalarına destek olan tez izleme komitemde bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. İclal SARAÇOĞLU, Prof. Dr. Esra AKKOL ve Doç. Dr. Nadire ÖZENVER'e, tez savunma jürimde bulunan değerli hocalarıma,

İzolasyon çalışmalarım sonucu elde ettiğim bileşiklerin NMR analizlerini ve kütle spektroskopisi analizlerini gerçekleştiren Prof. Dr. Hakan GÖKER (Ankara Üniversitesi)'e,

Bileşiklerimin IR analizlerinin yapılmasına olanak sağlayan Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Nesrin GÖKHAN KELEKÇİ'ye, analizlerimi yapan Uzm. Ecz. Ahmet AVCI'ya,

YÖK 100/2000 Doktora bursu ile doktora eğitimimi destekleyen Yükseköğretim Kurulu'na, Hızlı Destek Projesiyle tez çalışmalarımı destekleyen Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi'ne (Proje No: THD- 2021-19442),

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, her zaman ilgi ve yardımlarını gördüğüm, Anabilim Dalımızda görev yapmış ve yapmakta olan değerli hocalarıma,

Tez bitkimin bulunmasında ve teşhisinde yardımcı olan Farmasötik Botanik Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma,

Tez çalışmalarımın her aşamasında desteklerini gördüğüm, hep yanımda olduklarını bildiğim arkadaşlarım Dr. Öğr. Üyesi Nuriye Hilal TAŞTEKİN, Ecz. Hilal ERDEM, Ecz. Seren GÜNDOĞDU'ya ve tüm çalışma arkadaşlarıma,

Hayatımın her anında olduğu gibi, bu süreçte de beni destekleyen aileme, bugünlere gelmemi sağlayan canım anneme, hayatımı güzelleştirip, anlamlandıran canım yeğenlerime en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Dr. Ecz. Melike UTLU

## ÖZET

**Utlu, M., *Linaria corifolia* Desf. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Doktora Programı Tezi, Ankara 2024.** Plantaginaceae familyasının bir üyesi olan *Linaria* Mill. cinsi ülkemizde yaygın şekilde bulunmaktadır. Dünya üzerinde yaklaşık 200 türü, Türkiye’de 21 *Linaria* (Nevruzotu) türü bulunmakta ve bunlardan da 12’si endemik olarak yer almaktadır. Halk arasında hemoroit, vasküler hastalıklar ve yaralarda kullanılan *Linaria* türlerinin antioksidan, anti-enflamatuvar, analjezik, anti-asetilkolinesteraz, antitümör başta olmak üzere pek çok önemli aktiviteleri bulunmaktadır. Tez çalışmamız kapsamında endemik *Linaria corifolia* Desf. bitkisinden hazırlanan *n*-butanol ve etil asetat alt ekstralarının fitokimyasal içeriği araştırılmış, 8 bileşik izole edilmiştir. Bileşiklerden 7 tanesinin yapısı spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. Elde edilen antirinozit, 6- $\beta$ -hidroksiantirrit, katalpol ve okubin bileşikleri *n*-butanol alt ekstresinden izole edilmiştir. Etil asetat alt ekstresinden prunasin, linariin, akteozit ve iridoit glikoziti yapısında olduğunu düşündüğümüz bir madde elde edilmiştir. *Linaria* türlerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmalarından yola çıkılarak, bitkinin *in vitro* kolinesteraz inhibitör, antioksidan ve anti-enflamatuvar aktiviteleri araştırılmış, toplam fenolik bileşik ve flavonoit miktar tayinleri yapılmıştır. Kolinesteraz inhibitör aktivitenin belirlenmesinde Ellman yöntemi, antioksidan aktivitede DPPH, ABTS radikal süpürücü etki tayini ve CUPRAC yöntemleri ve anti-enflamatuvar etki için Siklooksijenaz-2 (COX-2) enzim inhibisyonu testi kullanılmıştır. Ekstre, alt ekstralar ve saf maddelerin bütirilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri, asetilkolinesteraz inhibitör aktivitelerine göre düşük bulunmuştur. Etil asetat alt ekstresi ve linariin bileşiğinin asetilkolinesteraz inhibitör etkisi daha yüksek belirlenmiştir. Toplam fenolik bileşik miktarıyla orantılı olarak etil asetat alt ekstresinin antioksidan aktiviteleri yüksek çıkmıştır. *n*-Butanol alt ekstresinin toplam flavonoit miktarı ekstre ve diğer alt ekstralara göre yüksek bulunmuştur. Ekstre ve alt ekstraların anti-enflamatuvar aktiviteleri oldukça düşük gözlenmiştir. Tez çalışmamız sonucu elde edilen bileşiklerin tümü *L. corifolia* bitkisinden ilk kez izole edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Linaria corifolia* Desf., izolasyon, *in vitro* kolinesteraz inhibitör aktivite, antioksidan aktivite, anti-enflamatuvar aktivite.

**Destekleyen Kuruluşlar:** Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi (Proje Numarası: THD-2021-19442).

**ABSTRACT**

**Utlü, M., Pharmacognosy Studies on *Linaria corifolia*, Hacettepe University, Graduate School of Health Sciences Pharmacognosy Program Doctor of Philosophy Thesis, Ankara 2024.** *Linaria* Mill. genus that is a member of the Plantaginaceae family is widely found in our country. There are approximately 200 species of *Linaria* in the world, 21 in Turkey, and 12 of them are endemic. *Linaria* species, traditionally used for hemorrhoids, vascular diseases, and wounds, have antioxidant, anti-inflammatory, analgesic, anti-acetylcholinesterase, and antitumor activities. Within the scope of our thesis study, the phytochemical content of the endemic *Linaria corifolia* Desf. plant was investigated and 8 compounds were isolated. The structures of 7 of the compounds were elucidated using spectroscopic methods. The antirrhinose, 6- $\beta$ -Hydroxyantirrhinose, catalpol, and aucubine compounds were isolated from *n*-butanol sub-extract. Prunasin, linariin, acteoside, and a substance that we think has the structure of iridoid glycoside were obtained from ethyl acetate sub-extract. Based on the biological activity studies conducted on *Linaria* species, the plant's *in vitro* cholinesterase inhibitor, antioxidant, and anti-inflammatory activities were investigated, and total phenolic compound and flavonoid contents were determined. Ellman's method was used to assess cholinesterase inhibitor activity, DPPH, ABTS radical scavenging effect determination, and CUPRAC methods were used to determine antioxidant activity, and the COX-2 inhibitor screening test was used to determine the anti-inflammatory effect. Butyrylcholinesterase inhibitory activities of extract, sub extracts and pure substances were lower than their acetylcholinesterase inhibitory activities. The acetylcholinesterase inhibitory effect of ethyl acetate sub-extract and linariin compound was higher. Antioxidant activities of ethyl acetate sub-extract were high in proportion to the total content of phenolic compounds. The total flavonoid content of the *n*-butanol sub-extract was higher than other extracts. The anti-inflammatory activities of the extract and sub-extracts were found to be quite low. All of the compounds obtained from our thesis study were isolated from the *L. corifolia* plant for the first time.

**KeyWords:** *Linaria corifolia* Desf., isolation, *in vitro* cholinesterase inhibitor activity, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

**Supporting Organizations:** This study was supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit (Project No: THD-2021-19442)

**İÇİNDEKİLER**

<b>ONAY SAYFASI</b>	iii
<b>YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI</b>	iv
<b>ETİK BEYAN SAYFASI</b>	v
<b>TEŞEKKÜR</b>	vi
<b>ÖZET</b>	vii
<b>ABSTRACT</b>	viii
<b>İÇİNDEKİLER</b>	ix
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>	xi
<b>ŞEKİLLER</b>	xiv
<b>TABLolar</b>	xviii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	4
2.1. Botanik Bilgiler	4
2.1.1. Plantaginaceae Familyası	4
2.1.2. <i>Linaria</i> cinsi	4
2.1.3. <i>Linaria corifolia</i> Desf	8
2.1.4. Yayılış ve Habitat	12
2.2. <i>Linaria</i> Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	13
2.2.1. <i>Linaria</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	13
2.2.2. <i>Linaria</i> Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Etkileri	53
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	66
3.1. Fitokimyasal Çalışmalar	66

3.1.1. Bitkisel Materyal	66
3.1.2. Kromatografik Yöntemler	66
3.1.3. Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları	70
3.1.4. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini	79
3.1.5. Toplam Flavonoit İçerik Miktar Tayini	80
3.2. Biyolojik Etki Çalışmaları	81
3.2.1. Serbest Radikal Süpürücü (Antioksidan) Aktivite Tayini	81
3.2.2. Kolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayini	84
3.2.3. Anti-enflamatuvar Aktivite Tayini	86
3.3. Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler, Alet ve Cihazlar	94
3.3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	94
3.3.2. Kullanılan Alet ve Gereçler	96
<b>4. BULGULAR</b>	98
4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular	98
4.1.1. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri	100
4.1.2. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini Bulguları	166
4.1.3. Toplam Flavonoit İçerik Miktar Tayini Bulguları	167
4.2. Biyolojik Etki Çalışmalarına Ait Bulgular	168
4.2.1. Serbest Radikal Süpürücü (Antioksidan) Aktivite Tayini Bulguları	169
4.2.2. Kolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayini Bulguları	174
4.2.3. Anti-enflamatuvar Aktivite Tayini Bulguları	178
<b>5. TARTIŞMA</b>	180
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	198
<b>7.KAYNAKLAR</b>	200
<b>8. EKLER</b>	208
<b>EK1 Turnitin Ekran Görüntüsü</b>	
<b>EK2 Dijital Makbuz</b>	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	210

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>AA</b>	Asorbik asit
<b>ABTS</b>	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
<b>Ac</b>	Asetil
<b>AChE</b>	Asetilkolinesteraz
<b>APT</b>	Attached Proton Test
<b>ATCI</b>	Asetiltiyokoliniyodür
<b>BChE</b>	Bütirilkolinesteraz
<b>BTCl</b>	Bütiriltiyokoliniyodür
<b>CD<sub>3</sub>OD</b>	Dötero metanol
<b>CH<sub>3</sub></b>	Metil
<b>CH<sub>3</sub>Cl</b>	Kloroform
<b><sup>13</sup>C NMR</b>	<sup>13</sup> C-Nükleer Manyetik Rezonans
<b>COSY</b>	Korelasyonlu Spektroskopi
<b>CUPRAC</b>	Bakır Redükleyici Antioksidan Kapasite
<b>d</b>	Dublet
<b>dd</b>	Dublet dublet
<b>DEPT</b>	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
<b>DMSO</b>	Dimetilsülfoksit
<b>DPPH</b>	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
<b>Et</b>	Etil
<b>EtOAc</b>	Etil asetat
<b><i>E/Z</i>-Cin</b>	Trans/Cis-Sinamoil
<b>ESI-MS</b>	Elektron Sprey İyonizasyon Kütle Spektrometrisi
<b>FeCl<sub>2</sub></b>	Demir (II) klorür
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Demir (III) klorür



<b>Fr</b>	Fraksiyon
<b>FT-IR</b>	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi
<b>g</b>	Gram
<b>GAE</b>	Gallik asit
<b>Glu</b>	Glukoz
<b>GluA</b>	Glukoronik asit
<b><sup>1</sup>H NMR</b>	<sup>1</sup> H-Nükleer Manyetik Rezonans
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Su
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Sülfürik asit
<b>HMBC</b>	Heteronükleer Çoklu Bağ Korelasyonu
<b>HMQC</b>	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
<b>HPLC</b>	High Performance Liquid Chromatography
<b>HSQC</b>	Heteronuclear Single Quantum Coherence
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IC<sub>50</sub></b>	Yarı Maksimum İnhibitör Konsantrasyonu
<b>IL-6</b>	İnterlökin-6
<b>IR</b>	Kızılötesi
<b>İTK</b>	İnce Tabaka Kromatografisi
<b><i>J</i></b>	Kenetlenme sabiti
<b>KK</b>	Kolon kromatografisi
<b>M</b>	Molar
<b>m</b>	multiplet
<b>m/z</b>	Kütle/yük
<b>Me</b>	Metil
<b>MeOH</b>	Metanol
<b>mg</b>	Miligram

<b>MHz</b>	Megahertz
<b>MIC</b>	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
<b>mL</b>	Mililitre
<b>µg</b>	Mikrogram
<b>µL</b>	Mikrolitre
<b>µM</b>	Mikromolar
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Sodyum karbonat
<b>nm</b>	Nanometre
<b>NMR</b>	Nükleer Manyetik Rezonans
<b>OBK</b>	Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi
<b>OCH<sub>3</sub></b>	Metoksil
<b>OH</b>	Hidroksil
<b>PBS</b>	Fosfat Tamponlu Salin
<b>ppm</b>	Parts per million (Milyonda bir kısım)
<b>p</b>	para
<b>Rut</b>	Rutinozit
<b>s</b>	Singlet
<b>t</b>	Triplet
<b>TE</b>	Troloks Ekvivalanı
<b>TEAC</b>	Troloks Ekvivalanı Antioksidan Kapasite
<b>UV</b>	Ultraviolet
<b>VSK</b>	Vakumlu Sıvı Kromatografisi

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. <i>Linaria corifolia</i> Desf-I	9
2.2. <i>Linaria corifolia</i> Desf-II	10
2.3. <i>Linaria corifolia</i> Desf-III	10
2.4. <i>Linaria corifolia</i> Desf-IV	11
2.5. <i>L. corifolia</i> 'nın yayılışı	12
3.1. <i>L. corifolia</i> n-BuOH alt ekstresi izolasyon şeması (RP KK: Ters Faz Kolon Kromatografisi)	76
3.2. <i>L. corifolia</i> etil asetat alt ekstresi izolasyon şeması-I	77
3.3. <i>L. corifolia</i> etil asetat alt ekstresi izolasyon şeması-II	78
4.1. Antirrinozit'in (LCB1) <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (CD <sub>3</sub> OD; <sup>1</sup> H: 400,18 MHz)	103
4.2. Antirrinozit'in (LCB1) <sup>13</sup> C NMR Spektrumu (CD <sub>3</sub> OD; <sup>13</sup> C: 100,62 MHz)	104
4.3. Antirrinozit'in (LCB1) DEPT Spektrumları (CD <sub>3</sub> OD; <sup>13</sup> C: 100,62 MHz)	105
4.4. Antirrinozit'in (LCB1) 2D <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu (COSY)	106
4.5. Antirrinozit'in (LCB1) 2D <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu (HMQC)	107
4.6. Antirrinozit'in (LCB1) 2D <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC)	108
4.7. 6-β-hidroksiantirrit'in (LCB2) <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (CD <sub>3</sub> OD; <sup>1</sup> H: 400,18 MHz)	112
4.8. 6-β-hidroksiantirrit'in (LCB2) <sup>13</sup> C NMR Spektrumu (CD <sub>3</sub> OD; <sup>13</sup> C: 100,62 MHz)	113
4.9. 6-β-hidroksiantirrit'in (LCB2) DEPT Spektrumları	114

(CD<sub>3</sub>OD; <sup>13</sup>C:100,62 MHz)

- 4.10.** 6-β-hidroksiantirrit'in (**LCB2**) 2D <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu (COSY) 115
- 4.11.** 6-β-hidroksiantirrit'in (**LCB2**) 2D <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu (HMQC) 116
- 4.12.** 6-β-hidroksiantirrit'in (**LCB2**) 2D <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC) 117
- 4.13.** Katalpol'ün (**LCB3**) <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (CD<sub>3</sub>OD; <sup>1</sup>H: 400,18 MHz) 121
- 4.14.** Katalpol'ün (**LCB3**) <sup>13</sup>C NMR Spektrumu (CD<sub>3</sub>OD; <sup>13</sup>C: 100,62 MHz) 122
- 4.15.** Katalpol'ün (**LCB3**) DEPT Spektrumları (CD<sub>3</sub>OD; <sup>13</sup>C: 100,62 MHz) 123
- 4.16.** Katalpol'ün (**LCB3**) 2D <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu (COSY) 124
- 4.17.** Katalpol'ün (**LCB3**) 2D <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu (HSQC) 125
- 4.18.** Katalpol'ün (**LCB3**) 2D <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC) 126
- 4.19.** Okubin (**LCB4a**) bileşiğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu 130  
(CD<sub>3</sub>OD; <sup>1</sup>H: 400,18 MHz)
- 4.20.** Okubin'in (**LCB4a**) <sup>13</sup>C NMR Spektrumu (CD<sub>3</sub>OD; <sup>13</sup>C: 100,62 MHz) 131
- 4.21.** Okubin'in (**LCB4a**) DEPT Spektrumları (CD<sub>3</sub>OD; <sup>13</sup>C: 100,62 MHz) 132
- 4.22.** Okubin'in (**LCB4a**) 2D <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu (COSY) 133
- 4.23.** Okubin'in (**LCB4a**) 2D <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu (HMQC) 134
- 4.24.** Okubin'in (**LCB4a**) 2D <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-Heteronükleer 135

Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC)	
<b>4.25.</b> Prunasin ( <b>LCE1</b> ) bileşiminin $^1\text{H}$ NMR Spektrumu ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; $^1\text{H}$ : 400,18 MHz)	139
<b>4.26.</b> Prunasin'in ( <b>LCE1</b> ) $^{13}\text{C}$ NMR Spektrumu ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; $^{13}\text{C}$ :100,62 MHz)	140
<b>4.27.</b> Prunasin'in ( <b>LCE1</b> ) DEPT Spektrumları ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; $^{13}\text{C}$ :100,62 MHz)	141
<b>4.28.</b> Prunasin'in ( <b>LCE1</b> ) 2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu (COSY)	142
<b>4.29.</b> Prunasin'in ( <b>LCE1</b> ) 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu (HMQC)	143
<b>4.30.</b> Prunasin'in ( <b>LCE1</b> ) 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC)	144
<b>4.31.</b> Linariin ( <b>LCE2</b> ) bileşiminin $^1\text{H}$ NMR Spektrumu (DMSO; $^1\text{H}$ :400, 18 MHz)	148
<b>4.32.</b> Linariin'in ( <b>LCE2</b> ) $^{13}\text{C}$ NMR Spektrumu (DMSO; $^{13}\text{C}$ : 100,62 MHz)	149
<b>4.33.</b> Linariin'in ( <b>LCE2</b> ) APT Spektrumu (DMSO; $^{13}\text{C}$ : 100,62 MHz)	150
<b>4.34.</b> Linariin'in ( <b>LCE2</b> ) 2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu (COSY)	151
<b>4.35.</b> Linariin'in ( <b>LCE2</b> ) 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu-I (HSQC)	152
<b>4.35.</b> Linariin'in ( <b>LCE2</b> ) 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu-II (HSQC)	153
<b>4.36.</b> Linariin'in ( <b>LCE2</b> ) 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC)	154
<b>4.37.</b> Akteozit ( <b>LCE3</b> ) bileşiminin $^1\text{H}$ NMR Spektrumu	159

(CD <sub>3</sub> OD; <sup>1</sup> H: 500,13 MHz)	
<b>4.38.</b> Akteozit'in ( <b>LCE3</b> ) <sup>13</sup> C NMR Spektrumu (CD <sub>3</sub> OD; <sup>13</sup> C: 125,76 MHz)	160
<b>4.39.</b> Akteozit'in ( <b>LCE3</b> ) 2D <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu -I (COSY)	161
<b>4.39.</b> Akteozit'in ( <b>LCE3</b> ) 2D <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu -II (COSY)	162
<b>4.40</b> Akteozit'in ( <b>LCE3</b> ) 2D <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu-I (HSQC)	163
<b>4.40</b> Akteozit'in ( <b>LCE3</b> ) 2D <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu-II (HSQC)	164
<b>4.41.</b> Akteozit'in ( <b>LCE3</b> ) 2D <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu-I (HMBC)	165
<b>4.41.</b> Akteozit'in ( <b>LCE3</b> ) 2D <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C-Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu-II (HMBC)	166
<b>4.42.</b> Gallik asit standart kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi	167
<b>4.43.</b> Kersetin standart kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi	168
<b>4.44.</b> Ekstre, alt ekstrelerin ve AA'nın DPPH radikali süpürücü aktivitesi	171
<b>4.45.</b> Fizostigmin salisilat'ın % asetilkolinesteraz inhibisyonu değerleri	176
<b>4.46.</b> Fizostigmin salisilat'ın % bütirilkolinesteraz inhibisyonu değerleri	178
<b>4.47.</b> <i>L. corifolia</i> 'dan izole edilen iridoitler	185
<b>4.48.</b> <i>L. corifolia</i> etil asetat alt ekstresinden izole edilen bileşikler	188

## TABLOLAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.1. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan kinazolin grubu alkaloidler-I	14
2.2. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan kinazolin grubu alkaloidler-II	15
2.3. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan diğer alkaloidler	15
2.4. <i>Linaria</i> türlerinde yaygın bulunan flavon glikozitleri-I	16
2.5. <i>Linaria</i> türlerinde yaygın bulunan flavon ve flavon glikozitleri -II	17
2.6. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan flavonol ve flavonol glikozitleri-I	19
2.7. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan flavonon glikozitleri	20
2.8. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan flavonoller	20
2.9. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan auronlar	21
2.10. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan fenolik asit türevleri	22
2.11. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan fenilpropanoit glikozitleri-I	25
2.12. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan fenilpropanoit glikozitleri-II	25
2.13. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-I	26
2.14. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-II	29
2.15. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-III	30
2.16. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-IV	31
2.17. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-V	32
2.18. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan monoterprenik yapıdaki bileşikler	37
2.19. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan neo-klerodan tip diterpenler	38
2.20. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan diğer diterpenler	42
2.21. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan triterpenik yapıdaki bileşikler	45
2.22. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan steroid yapıdaki bileşikler	47

2.23. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan hidrokarbonlar	51
2.24. <i>Linaria</i> türlerinde bulunan iyonol türevi bileşikler	52
4.1. Elde Edilen Bileşiklerin Rf değerleri	99
4.2. Antirrinosit ( <b>LCB1</b> ) bileşiğinin <sup>13</sup> C ve <sup>1</sup> H NMR spektroskopik değerleri (CD <sub>3</sub> OD; <sup>13</sup> C: 100,62 MHz, <sup>1</sup> H: 400,18 MHz); önemli HMBC korelasyonları	102
4.3. 6-β-hidroksiantirrit ( <b>LCB2</b> ) bileşiğinin <sup>13</sup> C ve <sup>1</sup> H NMR spektroskopik değerleri (CD <sub>3</sub> OD; <sup>13</sup> C: 100,62 MHz, <sup>1</sup> H: 400,18 MHz); önemli HMBC korelasyonları	111
4.4. Katalpol ( <b>LCB3</b> ) bileşiğinin <sup>13</sup> C ve <sup>1</sup> H NMR spektroskopik değerleri (CD <sub>3</sub> OD; <sup>13</sup> C: 100,62 MHz, <sup>1</sup> H: 400,18 MHz); önemli HMBC korelasyonları	120
4.5. Okubin ( <b>LCB4a</b> ) bileşiğinin <sup>13</sup> C ve <sup>1</sup> H NMR spektroskopik değerleri (CD <sub>3</sub> OD; <sup>13</sup> C: 100,62 MHz, <sup>1</sup> H: 400,18 MHz); önemli HMBC korelasyonları	129
4.6. Prunasin ( <b>LCE1</b> ) bileşiğinin <sup>13</sup> C ve <sup>1</sup> H NMR spektroskopik değerleri (CD <sub>3</sub> OD; <sup>13</sup> C: 100,62 MHz, <sup>1</sup> H: 400,18 MHz); önemli HMBC korelasyonları	138
4.7. Linariin ( <b>LCE2</b> ) bileşiğinin <sup>13</sup> C ve <sup>1</sup> H NMR spektroskopik değerleri (DMSO; <sup>13</sup> C: 100,62 MHz, <sup>1</sup> H: 400,18 MHz); önemli HMBC korelasyonları	147
4.8. Akteozit ( <b>LCE3</b> ) bileşiğinin <sup>13</sup> C ve <sup>1</sup> H NMR spektroskopik değerleri (CD <sub>3</sub> OD; <sup>13</sup> C: 125,76 MHz, <sup>1</sup> H: 500,13 MHz); önemli HMBC korelasyonları	157
4.9. Ekstre ve alt ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarları	167
4.10. Ekstre ve alt ekstrelerin toplam flavonoit miktarları	168
4.11. Ekstre, alt ekstrelerin ve AA'nın DPPH radikali % inhibisyon değerleri	170
4.12. Lc kloroform, etil asetat, <i>n</i> -butanol alt ekstrelerinin ve AA'nın IC <sub>50</sub> değerleri	171
4.13. Ekstre ve alt ekstrelerin % ABTS radikali inhibisyon değerleri	172
4.14. Troloks'un 20-100 µg/mL konsantrasyonlarındaki % ABTS radikali inhibisyon değerleri	172



<b>4.15.</b> Lc kloroform, etil asetat alt ekstreleri ve Troloks'un IC <sub>50</sub> değerleri	172
<b>4.16.</b> Ekstre ve alt ekstrelerin TEAC değerleri-I	172
<b>4.17.</b> Ekstre ve alt ekstrelerin % Cu (II) iyonu indirgeme kapasitesi	173
<b>4.18.</b> Troloks'un % Cu (II) iyonu indirgeme kapasitesi	174
<b>4.19.</b> Ekstre, alt ekstrelerin ve Troloks'un IC <sub>50</sub> değerleri	174
<b>4.20.</b> Ekstre ve alt ekstrelerin TEAC değerleri-II	174
<b>4.21.</b> Ekstre ve alt ekstrelerin % asetilkolinesteraz inhibisyonu değerleri	175
<b>4.22.</b> Fizostigmin salisilat'ın % asetilkolinesteraz inhibisyonu değerleri	175
<b>4.23.</b> Saf bileşiklerin % asetilkolinesteraz inhibisyonu değerleri	176
<b>4.24.</b> Ekstre ve alt ekstrelerin % bütirilkolinesteraz inhibisyonu değerleri	177
<b>4.25.</b> Fizostigmin salisilat'ın % bütirilkolinesteraz inhibisyonu değerleri	177
<b>4.26.</b> Saf bileşiklerin % bütirilkolinesteraz inhibisyonu değerleri	178
<b>4.27.</b> Ekstre, alt ekstreler ve indometazin COX-2 % inhibisyon değerleri	179
<b>5.1.</b> Alt ekstreler ve standart bileşiğin % kolinesteraz inhibitör etkileri	193
<b>5.2.</b> Saf bileşiklerin % kolinesteraz inhibitör etkileri	193

## 1.GİRİŞ

Dünya üzerinde yaklaşık 200 tür içeren *Linaria* Mill. cinsi, Kuzey Yarımküre’de, özellikle Akdeniz havzası ve Doğu Asya’da yayılış gösterir. Daha önce Scrophulariaceae familyasında bulunan *Linaria* cinsinin familyası, filogenetik çalışmalar sonucu Plantaginaceae olarak değiştirilmiştir (1-3). Türkiye’de 21 *Linaria* (Nevruzotu) türü bulunmakta ve bunlardan da 12’si endemik tür (taksonlarla birlikte) (*L. chalepensis* var. *brevicalyx* P.H.Davis, *L. confertiflora* Benth., *L. corifolia* Desf., *L. dumanii* A.Duran & Y.Menemen, *L. genistifolia* subsp. *artvinensis* P.H.Davis, *L. genistifolia* subsp. *confertiflora* (Boiss.) P.H.Davis, *L. genistifolia* subsp. *polyclada* (Fenzl) P.H.Davis, *L. genistifolia* subsp. *praealta* (Boiss.) P.H.Davis, *L. iconia* Boiss. & Heldr., *L. kurdica* subsp. *eriocalyx* (Boiss.) P.H.Davis, *L. sintenisii* P.H.Davis, *L. turcica* S.Makbul & Hamzaoğlu) olarak yer almaktadır (4-6).

Çeşitli *Linaria* türleri geleneksel olarak tonik, anti-skorbutik, laksatif, antidiyabetik, diüretik olarak ve yaralarda, damar hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. *L. reflexa*’nın Kuzey Afrika’da geleneksel olarak deri hastalıklarının tedavisinde, *L. vulgaris*’in Çin halk tıbbında, baş ağrısında, sarılıkta ve antitussif, astıma karşı, Avrupa’da ise antibakteriyel ve fungusidal etkisinden dolayı karaciğer ve böbrek hastalıklarında, tonsilite kullanıldığı bildirilmiştir (7-9). Türkiye’de ise bazı *Linaria* türleri, diüretik, laksatif olarak ve hemoroitte, yaraların tedavisinde kullanılmaktadır (1, 5).

*Linaria* cinsi üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalarda bitkilerin, alkaloidler, fenolik bileşikler, flavonoidler, fenilpropanoidler, terpenoidler (monoterpen, diterpen ve triterpenler) içerdikleri görülmüştür. *Linaria* türleri üzerinde yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda antitümör, antiasetikolinesteraz, antiinflamatuvar ve analjezik, antioksidan, antibakteriyel, sitotoksik, genotoksik, antidiyabetik ve diüretik aktivitelere sahip oldukları bildirilmiştir (1).

*L. corifolia* Türkiye’de bulunan endemik *Linaria* türlerinden biridir. Tür için literatür taraması yapıldığında, etil asetat ekstresinden 6,3'-dimetoksiapigenin-7-O-[(ramnozil)-(1-2)-6''-asetil glukozit] izole edildiği,

etanol, etil asetat ve diklorometan ekstralarında HPLC analiziyle gallik asit, kersetin, kateşin varlığının tespit edildiği ve *in vitro* antioksidan, antimikrobiyal, DNA süpürücü etkilerinin değerlendirildiği görülmüştür (10). Başka çalışmada ise bitkinin morfolojik, anatomik özellikleri, antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır (11). *Linaria* türlerinin kimyasal içerikleri ve biyolojik aktiviteleri göz önüne alındığında, ülkemiz için endemik bir tür olan *L. corifolia*'nın da biyolojik olarak aktif bileşiklere sahip olabileceği düşünülmüştür. Tez çalışmamız kapsamında üzerinde sınırlı sayıda çalışma bulunan *L. corifolia* bitkisinin fitokimyasal içeriği ve *in vitro* kolinesteraz, antioksidan ve anti-enflamatuvar etkileri araştırılıp, biyoaktif yeni moleküllerin bulunması hedeflenmiştir. Bitkinin *n*-butanol ve etil asetat alt ekstralarından çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak izolasyon çalışmaları yürütülmüş, spektroskopik yöntemlerle yapı tayinleri yapılmıştır.

Alzheimer hastalığı, yaşa bağlı artan ve daha çok yaşlılarda görülen bir hastalıktır. Gelecek yıllarda da yaşlı nüfusun artışına da bağlı olarak hastalığın görülme sıklığının artması beklenmektedir. Alzheimer hastalığı, genellikle beyindeki kolinerjik sistemin hasar görmesi sonucu oluşur. Alzheimer hastalarında asetilkolinesterazın aşırı artışı, amiloid beta proteinin amiloid plak şeklinde birikimi, hücrede fosforile tau (p-tau) proteinlerinin birikimi, enflamasyon oluşumu, hücrenin apoptoza sürüklenmesi görülmektedir. Asetilkolin hem merkezi sinir sisteminde hem de periferik sinir sisteminde görev yapan nörotransmitter bir moleküldür. İki sinir hücresi arasındaki sinaps adı verilen boşlukta, sinirsel uyarının bir nörondan diğerine geçmesini sağlar. Asetilkolinesteraz ise, asetilkolini inaktive eden bir enzimdir. Asetilkolinesterazın aşırı artışı ile sinaptik aralıktaki asetilkolin inaktive olur. Sinirsel uyarının bir nörondan diğerine geçmesi sağlanamaz. Bu nedenle tedavide asetilkolinin hidrolizine engel olmak için asetilkolinesteraz inhibitörleri (örneğin: rivastigmin, galantamin, donepezil, fizostigmin) kullanılmaktadır (12-15). Tedavi semptomatik olup, tedavide kullanılan sentetik ilaçların hepatotoksisite, gastrointestinal yan etkileri, kısa biyoyararlanım süresi gibi dezavantajları bulunmaktadır (16). Dolayısıyla

hastalığın tedavisinde yan etkileri daha az doğal bileşiklerin geliştirilmesi önemli olacaktır. Merkezi ve periferik sinir sistemi hücreleri arasında uyarıların taşınmasında kolinerjik sistem görevlidir. Kolinesterazlar asetilkolinin kolin ve asetik asite hidrolizinden sorumlu enzim ailesidir. Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütilkolinesteraz (BChE) olmak üzere 2 çeşit enzimden oluşmaktadır. AChE periferik ve merkezi dokularda, BChE ise esas olarak karaciğerde bulunmaktadır (17). Tez çalışmamızda *in vitro* Ellman's yöntemiyle kolinesteraz inhibitör aktivite ölçülmüş, AChE ve BChE inhibitör aktivite tayin edilmiştir.

Oksidatif stres hücre ve dokulardaki reaktif oksijen türlerinin üretimi ve birikmesi ile vücuttan uzaklaştırılması arasındaki dengesizlik sonucu oluşur. Reaktif oksijen türevleri normal oksijen metabolizmasının ürünleri olarak üretilir, çevresel stres etkenleri ve ksenobiyotikler ROS üretimini büyük ölçüde artırır (18). Oksidatif stres arttığında, nükleik asit, protein, karbonhidrat ve yağ asitlerinin yıkımı gerçekleşir. Bunun sonucunda da, hücre membran bütünlüğünün bozulması, apoptozis ya da amiloit oluşur (19). Enflamasyon stres, yaralanma, enfeksiyon gibi durumlara karşı oluşturulan kompleks hücresel ve moleküler cevaptır. Enflamasyon durumunda araşidonik asitten prostaglandinler oluşur. Prostaglandinler, mikroglia hücrelerinden sitokinlerin salgılanmasını artırır, nörodejeneratif hastalıkların oluşmasına yol açar. Asetilkolin ise sitokinlerin salınımını azaltır, beyindeki toksinlere karşı enflamatuvar cevabı düzenler. Dolayısıyla Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda, oksidatif stres, enflamasyon ve asetilkolinesteraz aktiviteleri birbirlerini etkilemektedir (13, 14, 19-21). Bu etkileşimden dolayı, *L. corifolia* bitkisinin *in vitro* antioksidan ve anti-enflamatuvar aktiviteleri de araştırılmıştır. Elde edilen ekstraktların DPPH, ABTS Radikallerini Süpürücü etkileri, CUPRAC Yöntemiyle antioksidan etkileri, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid miktarları belirlenmiştir. Anti-enflamatuvar aktivite tayininde PGF<sub>2α</sub> mediyatörünün miktar tayinine dayanan COX-2 İnhibitör Etki Tarama Testi Kiti kullanılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Botanik Bilgiler

#### 2.1.1. Plantaginaceae Familyası

Otsu veya kısa boylu çalimsı. Yapraklar basit, dallanmamış, genellikle tabanda rozet, bazen karşılıklı, demetimsi ya da alternan. Çiçekler brakteli ve ana eksene sapsız olarak bağlı durumda, (2-) 4 parçalı, hipogin, çoğunlukla hermafrodit. Sepaller meyvede devamlı kalıcı. Korollada petaller birleşik, zarımsı. Stamenler korolla tüpü üzerine tutunmuş; filamentler korolla boyunu uzun olarak aşmış. Ovaryum 1-4 gözlü; placentasyon eksensel ya da tabansal. Ovüller 1 veya daha fazla sayıda. Meyve çoğunlukla enine bir daire boyunca yarılan kapsül, ya da açılmayan aken. Tohumlar endospermalı, embriyo düz (22).

#### 2.1.2. *Linaria* Miller Cinsi

Tek veya çok yıllık otsu bitkiler. Yapraklar basit, sapsız, tam kenarlı, 1-5(-7) adet paralelden yarı kampilodroma kadar olan damarlar orta damarın tabanından çıkarlar. Çiçekler brakteli bir rasemde. Kaliks derin 5 parçalı. Korolla; sarı, menekşe, beyaz, vb. renklerde, uzayarak tabanda yer alan mahmuza dönüşen tüp/damak haricinde tüysüz, üst dudak 2 loblu, alt dudak 3 loblu, korolla boğazını neredeyse kapatan tümsekli bir damak ile. Stamenler içeride 4 tane ve didinam. Kapsül küremsiden geniş dikdörtgenimsiye (oblonga kadar) değişen şekillerde, lokuluslar eşittir; kapsül üst yarısında çok sayıda dikey yarıklarla açılır. Tohumlar köşeli ve hafif pürüzlü ya da tablamsı (diskoit) kanatlı (4).

Davis'e göre *Linaria* tür tayin anahtarı aşağıdaki gibidir (4):

1. Bitki tek yıllık; yapraklar genelde çevresel dizilişli, en azından varsa verimsiz sürgünlerde, çiçekler beyaz, menekşe renginde veya eğer sarıysa korolla 5 mm'den kısa

2. Çiçekler beyaz; (turuncu damak dışında); tohumlar tablamsı (diskoit) kanatlı

3. Çiçekli gövdenin yaprakları genişleyen eliptik; mahmuz korolladan kısa, kaliks lobları küt, kapsülle aynı boyda veya değil.

### **8.triphylla**

3. Çiçekli gövdenin yaprakları linear veya değil; mahmuz korolladan uzun, kaliks lobları genellikle sivri ve kapsülden uzun

### **9.chalepensis**

2. Çiçekler menekşe rengi, leylak rengi (damak dışında) ya da sarı; tohumlar çeşitli

4. Mahmuz 0.5-3 mm; korolla sarı veya mavimsi mor; tohumlar tablamsı (diskoit), düz, kanatlı.

5. Korolla sarı, 3- 4.5 mm; mahmuz 2-3 mm

### **18.simplex**

5. Korolla mavimsi mor, 1.5-4 mm; mahmuz 1 mm ye kadar

### **19.micrantha**

4. Mahmuz 8-16 mm, korolla menekşe rengi veya mavimsi mor; tohumlar saçaklı bir kanatı olan, diskoit

6. Tohumlar derin saçaklı kanatlı olan tablamsı (diskoit); mahmuz 8-10 mm; verimsiz yapraklı sürgünler genellikle var

### **20.pelisseriana**

6. Tohumlar köşeli; kanatsız, mahmuz 10-16 mm; verimsiz yapraklı sürgünler yok

7. Korolla 6-9 mm, mahmuz 11-16 mm; yapraklar 1-2 mm genişliğinde; kaliks loblarında zarımsı kenarlar yok

### **10.armeniaca**

7. Korolla 10-12 mm; mahmuz 10-12 mm; yapraklar 2-5 mm genişliğinde; kaliks lobları zarımsı kenarlı (yabancı bitki)

### **11.bipartita**

1. Bitki çok yıllık, çok gövdeli; genellikle çevresel dizilmiş yaprakları olan tabanda çıkan verimsiz sürgünler yok; çiçekler sarı, menekşe renginde, nadiren beyaz veya açık lila

8.Yapraklar çevresel dizilişli; şeritsiden (linear) ters mızraksıya (oblanseolat) kadar; çiçekler beyaz veya açık lila (yabancı bitki)

### **7.repens**

8. Yapraklar karşılıklı çapraz (alternat), şeritsiden (linear) ovale kadar (ovat); çiçekler sarı, menekşe rengi veya lila

9. Çiçekler lila ya da menekşe rengi (viole); yapraklar şeritsi (linear), tohumlar köşeli, kanatsız

10. Korollanın üst dudağı derin 2 parçalı, parçalılar mızraksı (lanseolat); mahmuz 2-2.5 mm

### **5.corifolia**

10. Korollanın üst dudağı kısa 2 parçalı, parçalar ovalden (ovat) yarı obtüs'e kadar; mahmuz 7-9 mm

### **6.iconia**

9. Çiçekler sarı (üzerinde bazen kırmızımsı veya menekşe damarlı); yapraklar şeritsiden (linear) ovale (ovat) kadara; tohumlar çeşitli

11. Kaliks belirgin tüylü; tohumlar düz, tablamsı (diskoit), kanatlı

12. Kaliks lobları membransı kenarlı (marjinat)

13. Kaliks lobları 2-4 mm, oval (ovat), dikdörtgenimsi (oblong) veya mızraksı (lanseolat), kütten sivriye kadar, kısa havlı, kısa sık yumuşak tüylü, ince uzun yumuşak tüylü veya kısa silli, korolla 8-13 mm, mahmuz 5-10 mm

### **12.kurdica**

13. Kaliks lobları 4-6 mm, ovalden (ovat) mızraksıya (lanseolat) kadar sivri, kısa ince yumuşak tüylü veya değil; korolla 12-14 mm, mahmuz 7-10 mm

### **13.sintenisii**

12. Kaliks loblarında membransı kenar bulunmaz (inmarjinat)

14. Korolla 18-24 mm, mahmuz 10-13 mm; kaliks lobları 7-8 mm, küt, kısa guddeli, ince uzun yumuşak tüylü

### **14.pyramidata**

14. Korolla 12-19 mm, mahmuzu 7-10 mm; kaliks lobları 4-6 mm; sivri veya yarı küt, guddeli ya da guddesiz tüylü

15. Rasem her gövdenin tepesinde, brakteler oval (ovat); kaliks lobları oval (ovat)-dikdörtgenimsi (oblong); yarı küt; guddeli ince uzun yumuşak tüylü; korolla 14-19 mm

### **15.confertiflora**

15. Rasemler genellikle birleşik raşem durumunda, brakteler şeritsi (linear) – mızraksı (lanseolat); kaliks lobları oval (ovat)- mızraksı (lanseolat), sivri, kısa, guddesiz ince yumuşak tüylü, korolla 12-14 mm

### **13.sintenisii**

11. Kaliks tüysüz; tohumlar köşeli ya da tablamsı (diskoit) ve kanatlı

16. Tohumlar köşeli, kanatsız veya çok dar kanatlı

17. Kaliks lobları en azından alt yarısında soluk yarı membransı kenarlı; yapraklar şeritsi (linear) –ipliksi, korolla 7-9 mm

18. Mahmuz 4-5 mm; korollanın üst dudağı viola damarlı; gövde sürünücü rizomlardan çıkar

### **4.antilibanotica**

18. Mahmuz 2-2.5 mm, korolladan çok daha kısa; korollanın üst dudağı damarsız, rizom sürünücü değil

### **5.corifolia**

17. Kaliks loblarında mebransı kenar bulunmaz (inmarjinat), yapraklar şeritsiden (linear) ovale (ovat), korolla (6)8-35 mm



19. Korolla 25-35 mm, mahmuz 16-20 mm, kaliks lobları 11-15 mm, brakteler belirgin, genellikle geriye doğru kıvrık

### **3.grandiflora**

19. Korolla (6-)8-14 mm, mahmuz (3-)5-9(-10) mm, kaliks lobları 2.5-6 mm, brakteler daha dar, genelde geriye kıvrık değil

20. Kaliks lobları ovalden (ovat) şeritsi (linear-lanseolat) mızraksıya kadar, 2.5-5×1-1.7 mm, tabanda dairemsi; brakteler mızraksı (lanseolat)

### **1.genistifolia**

20. Kaliks lobları genişleyen oval (ovat), 5-6×3-4 mm, tabanda kalp şeklinde (kordat); brakteler oval (ovat)

### **2.dalmatica**

16. Tohumlar düz, tablamsı (diskoit), genişleyen kanatlı

21. Kaliks lobları membransı kenarlı

### **12.kurdica**

21. Kaliks loblarında membransı kenar yok (inmarjinat)

22. Korolla 15-20 mm, mahmuz 9-14 mm, tohum diskleri kabarcıklı, kumcul değil

### **16.vulgaris**

22. Korolla 7-8 mm, mahmuz 4-6 mm, tohum diskleri düz, kumcul

### **17.odora**

#### **2.1.3. *Linaria corifolia* Desf.**

Dik duruşlu, çok yıllık, 20-40 cm veya daha uzun boyda, ince, yukarıda gevşek dallanmış. Yapraklar ipliksi, 1-3 cm x 0,5-1 mm, kıvrımlı kenarlı. Brakteler lineer-lanseolat, pedisellere ±1-4 mm eşit uzunlukta. Kaliks lobları, oval (ovat)- dikdörtgenimsiden (oblong) mızrağa kadar şekilde, 1,5-2,5 mm, sivri, tüsüz, dar beyaz kenarlı. Korolla soluk leylak rengine, 7-9

mm, üst dudak derin; düz konik, 2-2,5 mm. Kapsül 2-2,5 mm, kaliksten biraz daha uzundur. Tohumlar açılı, buruşuk, 1 mm. Çiçeklenme zamanı Mayıs-Ağustos ayları.

Habitat: Bozkır, kayalık, genellikle kireçli yamaçlar (nadiren *Pinus brutia* veya *P. sylvestris* ile birlikte), çamurlu, nadas alanları ve diğer habitatlarda (nadiren kumullar), 1-2200m yükseklikte yetişir (23).



**Şekil 2.1.** *Linaria corifolia* Desf.-I





Şekil 2.2. *Linaria corifolia* Desf.-II



Şekil 2.3. *Linaria corifolia* Desf.-III

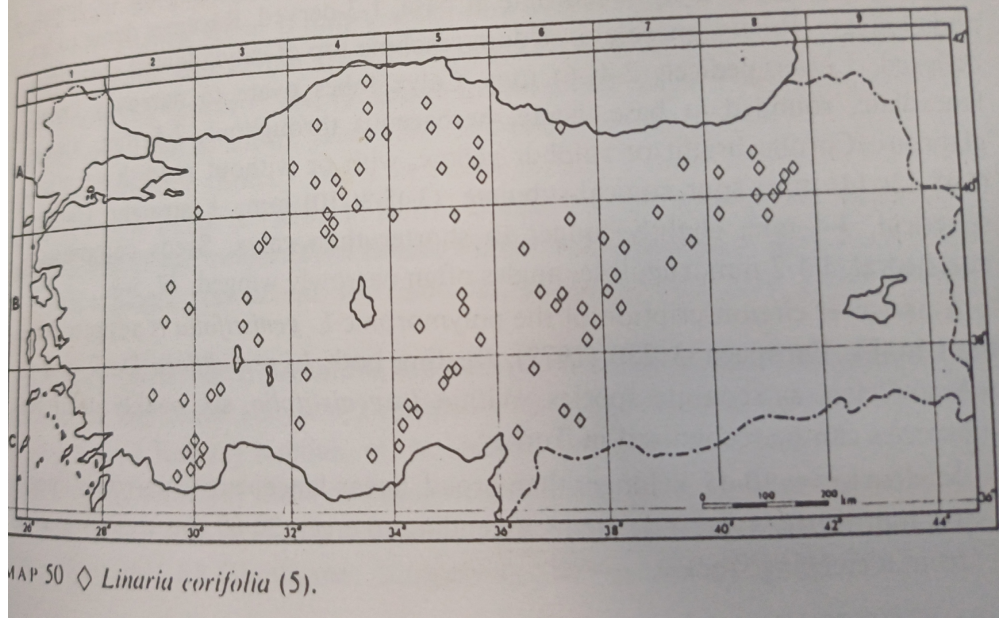




**Şekil 2.4.** *Linaria corifolia* Desf.-IV



### 2.1.4. Yayılış ve Habitat



Şekil 2.5. *L. corifolia*'nın yayılışı

Anadolu'da yaygın bulunur. **A3** Bilecik: Bilecik İstasyonu güneyi, 3. km, 400 m, *D.* 42089. **A4** Ankara: Kızılcahamam, *T. Baytop* (ISTE 13392). **A5** Çorum: Çorum'dan Merzifon'a giderken 8.km, 800 m, *Coode & Jones* 1852. **A6** Trabzon: Ünye'nin doğusu, 10.km, *Jardine* 412. **A7** Gümüşhane: Gümüşhane yukarısı, 365 m, *Krause*. **A8** Erzurum: Tortum Gölü, 1250 m, *Stainton* 6118. **B2** Uşak: Uşak'tan Sivashlı'ya giderken, 900 m, *Coode & Jones* 2422. **B3** Afyon: Emirdağ'ın güneyi, 3.km, 1000 m, *Coode & Jones* 2301. **B4** Ankara: Ankara'nın güneydoğusu, nr Çakal Barla, 1200 m, *Rix* 690. **B4** Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Beytepe Yerleşkesi, *Pinus nigra* ormanaltı, 02.07.2018 (HUEF 18001!). **B4** Ankara: Elmadağ İlçesi, Tatlıca, dağlık arazi, 04.06.2021, (HUEF 21022!). **B5** Kayseri: Kısge'nin yukarısı, Bakır Dağı, 1400 m, *D.* 19288. **B6** Sivas: Şarkışla, 1300 m, *Stainton* 8457. **B7** Malatya: Malatya'nın güney doğusu, *Alava* 6858. **B8** Erzurum: Hınıs'ten Erzurum'a giderken, 1650 m, *D.* 46449. **B10** Ağrı: Iğdır'dan Doğubayazıt'a giderken, *T. Baytop* (ISTE 4842). **C2** Antalya: Elmalı Dağı,

1250 m, *Sorger* 67-21-113. **C3** Burdur: Burdur'dan Isparta'ya giderken 8.km, *Dudley* (D. 35857). **C4** İçel: Mut'un doğusu 18.km, 1100 m, *Sorger* 71-17-31. **C5** Niğde: Ala Dağı, 2190 m, *Parry* 159. **C6** Maraş: Binboğa Dağı, 2100 m, *D.* 19933.\*

Fitocoğrafik Bölge: İran-Turan Elementi, endemik.

\* "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" Cilt 6'dan alınmıştır (23).

## **2.2. *Linaria* Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar**

*Linaria* türleri üzerinde günümüze kadar yapılan çalışmalar fitokimyasal çalışmalar ve *Linaria* türlerinin kullanılışları ve biyolojik etkileri olmak üzere 2 başlık altında verilmiştir.

### **2.2.1. *Linaria* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar**

*Linaria* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu elde edilen bileşikler, çalışılan madde gruplarına göre;

1. Alkaloitler
2. Polifenoller
  - Flavonoit Glikozitleri
  - Fenolik asit ve Türevleri
  - Fenilpropanoit Glikozitleri
3. Terpenler
  - Monoterpenler
    - İridoit Glikozitleri
    - Monoterpen Yapıdaki Diğer Bileşikler
  - Diterpenler
  - Triterpenler
  - Steroitler
4. Hidrokarbonlar
5. İyonol Türevi Bileşikler

olmak üzere 5 ana başlık altında toplanmış, sonuçlar tablolar şeklinde sunulmuştur. Tablolar oluşturulurken aynı kimyasal gruba sahip bileşikler

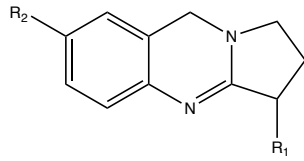
için ortak bir formül kullanılmıştır. Ortak formüle uymayan bileşikler ise diğer bileşikler başlığı altında sırayla verilmiştir.

Bileşiklerin verilmesinde genellikle, *Linaria* cinsi hakkında 2015 yılında Cheriet ve ark. (1) tarafından yayınlanan derlemeden yararlanılmıştır. 2015 ve sonrası güncel literatür de taranmış, güncel çalışmalar bulunması halinde kaynak olarak eklenmiştir.

İridoit glikozitleri, diterpenler ve flavonoidlerin *Linaria* türlerinde yaygın olarak bulunduğu gözlenmiştir.

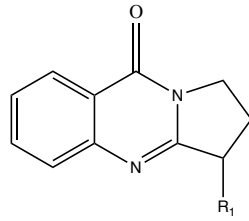
### 2.2.1.1. Alkaloitler

#### Kinazolin grubu alkaloitler



**Tablo 2.1. *Linaria* türlerinde bulunan kinazolin grubu alkaloitler-I**

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Bitki	Kaynak
<b>Vasisin (peganin)</b>	OH	H	<i>L. popovii</i>	(1)
			<i>L. vulgaris</i>	
			<i>L. genistifolia</i>	
			<i>L. purpurea</i>	
			<i>L. ventricosa</i>	
			<i>L. dalmatica</i>	
			<i>L. transiliensis</i>	
			<i>L. vulgariformis</i>	
			<i>L. alpina</i>	
			<i>L. anticaria</i>	
			<i>L. avenaria</i>	
			<i>L. pseudolaxiflora</i>	
<i>L. repens</i>				
<i>L. triornithophora</i>				
<b>7-hidroksi peganin</b>	OH	OH	<i>L. vulgaris</i>	



**Tablo 2.2. *Linaria* türlerinde bulunan kinazolin grubu alkaloitler-II**

Bileşik	R <sub>1</sub>	Bitki	Kaynak
Vasisinon	OH	<i>L. macroura</i> <i>L. kurdica</i>	(1)

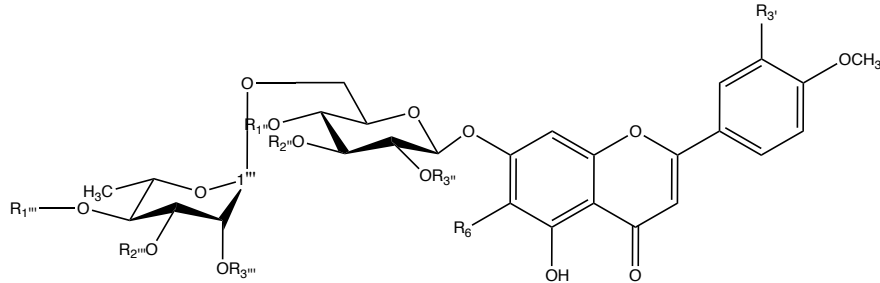
**Tablo 2.3. *Linaria* türlerinde bulunan diğer alkaloitler**

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Linarik asit		<i>L. vulgaris</i>	(1)
Kolin		<i>L. vulgaris</i>	
Linavulin		<i>L. vulgaris</i>	



## 2.2.1.2. Polifenoller

### 2.2.1.2.1. Flavonoit Glikozitleri

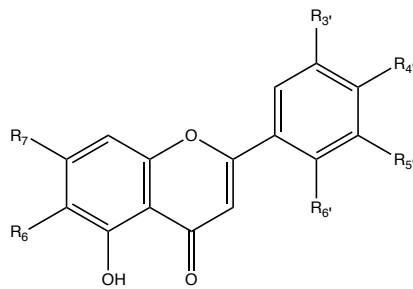


**Tablo 2.4. *Linaria* türlerinde yaygın bulunan flavon glikozitleri-I**

Bileşik	R <sub>1''</sub>	R <sub>2''</sub>	R <sub>3''</sub>	R <sub>1'''</sub>	R <sub>2'''</sub>	R <sub>3'''</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>3'</sub>	Bitki	Kaynak
<b>Pektolinarin</b>	H	H	H	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	<i>L. vulgaris</i>	(1)
									<i>L. vulgariformis</i>	
									<i>L. popovii</i>	
									<i>L. japonica</i>	
									<i>L. kurdica</i>	
									<i>L. haelava</i>	
									<i>L. simplex</i>	
									<i>L. genistifolia</i>	
									<i>L. dalmatica</i>	
<b>Linarin</b>	H	H	H	Ac	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	<i>L. vulgaris</i>	(1, 26)
									<i>L. japonica</i>	(1)
									<i>L. aucheri</i>	(1)
									<i>L. reflexa</i>	(1, 7)
									<i>L. kurdica</i>	(1)
									<i>L. aegyptiaca</i>	(27)
<b>İzolinarin A</b>	H	H	H	H	H	Ac	OCH <sub>3</sub>	H	<i>L. reflexa</i>	(1)
									<i>L. japonica</i>	(7, 28)
<b>İzolinarin B</b>	H	H	H	H	Ac	H	OCH <sub>3</sub>	H	<i>L. japonica</i>	(1)
									<i>L. reflexa</i>	(1, 7)
<b>İzolinarin D</b>	H	H	H	Ac	Ac	H	OCH <sub>3</sub>	H	<i>L. japonica</i>	
									<i>L. reflexa</i>	
<b>İzolinarin E</b>	H	H	H	Ac	H	Ac	OCH <sub>3</sub>	H	<i>L. japonica</i>	(7)
									<i>L. reflexa</i>	

**Tablo 2.4. *Linaria* türlerinde yaygın bulunan flavon glikozitleri-I (devam)**

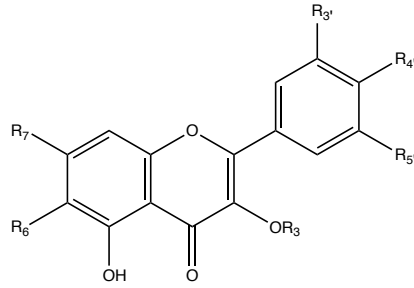
<b>Linarin</b>	H	H	H	H	H	H	H	H	<i>L. vulgaris</i>	
									<i>L. japonica</i>	(1)
									<i>L. haelava</i>	
									<i>L. kurdica</i>	
								<i>L.reflexa</i>	(28)	
<b>Diosmin</b>	H	H	H	H	H	H	H	OH	<i>L. macroura</i>	
									<i>L. haelava</i>	(1)

**Tablo 2.5. *Linaria* türlerinde yaygın bulunan flavon ve flavon glikozitleri -II**

Bileşik	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>3'</sub>	R <sub>4'</sub>	R <sub>5'</sub>	R <sub>6'</sub>	Bitki	Kaynak
<b>Akasetin</b>	H	OH	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. aeruginea</i> <i>L. kurdica</i> <i>L. macroura</i> <i>L. vulgaris</i>	
<b>Akasetin 7-O-β-D-Glukopiranozit</b>	H	β-D-Glu	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. kurdica</i>	(1)
<b>Apigenin</b>	H	OH	H	OH	H	H	<i>L. macroura</i> <i>L. canadensis</i> <i>L. reflexa</i> <i>L. vulgaris</i>	(29)
<b>Apigenin-7-O-β-D-glukoz</b>	H	β-D-Glu	H	OH	H	H	<i>L. macroura</i>	(1)

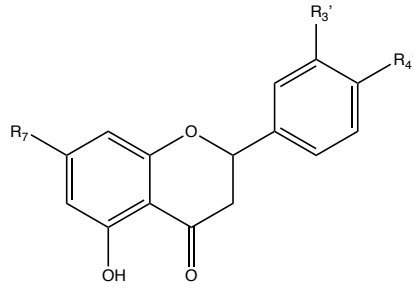
**Tablo 2.5. *Linaria* türlerinde yaygın bulunan flavon ve flavon glikozitleri -II (devam-I)**

<b>Diosmetin</b>	H	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. macroura</i> <i>L. vulgaris</i> <i>L. canadensis</i> <i>L. tingitana</i>	(1) (30)
<b>Diosmetin-7-O-β-D-glukoz</b>	H	β-D-Glu	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. macroura</i>	(1)
<b>Luteolin</b>	H	OH	H	OH	OH	H	<i>L. macroura</i> <i>L. vulgaris</i> <i>L. canadensis</i> <i>L. reflexa</i> <i>L. japonica</i> <i>L. tingitana</i>	(28) (31) (33)
<b>Luteolin-7-O-β-D-glukoz</b>	H	β-D-Glu	H	OH	OH	H	<i>L. macroura</i> <i>L. canadensis</i> <i>L. reflexa</i>	(1) (28)
<b>Luteolin-7-O-glukuronit</b>	H	OGluA	H	OH	OH	H	<i>L. canadensis</i>	(1)
<b>Luteolin -3', 4'-dimetil eter</b>	H	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	<i>L. tingitana</i>	(30)
<b>Linarozit</b>	OCH <sub>3</sub>	O-Glu	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. kurdica</i> <i>L. sessilis</i>	
<b>Genkvanin</b>	H	OCH <sub>3</sub>	H	OH	H	H	<i>L. canadensis</i>	(1)
<b>Genkvanin-4'-O-rutinozit</b>	H	OCH <sub>3</sub>	H	O-Rut	H	H	<i>L. canadensis</i>	
<b>Pektolarigenin</b>	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. vulgaris</i> <i>L. reflexa</i> <i>L. scariosa</i> <i>L. ramosissima</i>	(24) (23)
<b>Ladanein</b>	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. aegyptiaca</i>	(1)
<b>Skutellarein-4'-metileter</b>	OH	OH	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. aeruginea</i>	(1)
<b>Skutellarein-4'-metoksi-7-O-rutinozit</b>	OH	O-Rut	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. reflexa</i>	(28)
<b>Skutellarein-7-O-rutinozit</b>	OH	O-Rut	H	H	H	H	<i>L. reflexa</i>	
<b>Hispidulin</b>	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OH	H	H	<i>L. vulgaris</i>	(1)
<b>Hispidulin-7-O-rutinozit</b>	OCH <sub>3</sub>	O-Rut	H	OH	H	H	<i>L. reflexa</i>	(28)
<b>Krisin</b>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	H	<i>L. vulgaris</i> <i>L. reflexa</i> <i>L. tingitana</i>	(1) (28) (33)
<b>Hipoletin</b>	OH	OH	OH	OH	H	H	<i>L. tingitana</i>	
<b>Hipoletin-4'-metileter</b>	OH	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. tingitana</i>	(30)
<b>Salvigenin</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. reflexa</i>	(28)



**Tablo 2.6. *Linaria* türlerinde bulunan flavonol ve flavonol glikozitleri-I**

Bileşik	R <sub>3</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>3'</sub>	R <sub>4'</sub>	R <sub>5'</sub>	Bitki	Kaynak
<b>Kersetin</b>	H	H	OH	OH	OH	H	<i>L. vulgaris</i>	(1)
							<i>L. macroura</i>	
							<i>L. corifolia</i>	
							<i>L. reflexa</i>	
							<i>L. tingitana</i>	(33)
<b>Kersetin-7-O-rutinozit</b>	H	H	ORut	H	OH	OH	<i>L. canadensis</i>	(1)
<b>Mirsetin</b>	H	H	OH	OH	OH	OH	<i>L. macroura</i>	
<b>Rutin</b>	Rut	H	OH	OH	OH	H	<i>L. reflexa</i>	(28)
							<i>L. tingitana</i>	(33)

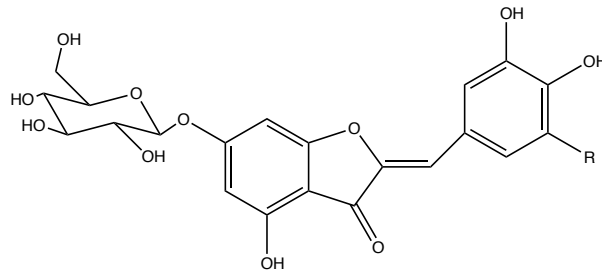


**Tablo 2.7. *Linaria* türlerinde bulunan flavanon glikozitleri**

Bileşik	R <sub>7</sub>	R <sub>3'</sub>	R <sub>4'</sub>	Bitki	Kaynak
Hesperidin	ORut	OH	OCH <sub>3</sub>	<i>L. vulgaris</i>	(1, 29)
Naringenin	OH	H	OH	<i>L. vulgaris</i>	(29)

**Tablo 2.8. *Linaria* türlerinde bulunan flavonoller**

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
<b>3,5- Di-O metilkemferol</b>		<i>L. dalmatica</i>	(1)
<b>3,7- Di-O- metilkemferol</b>		<i>L. dalmatica</i>	



**Tablo 2.9. *Linaria* türlerinde bulunan auronlar**

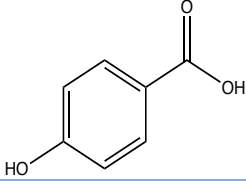
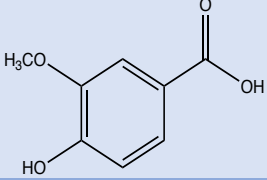
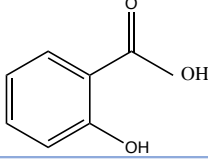
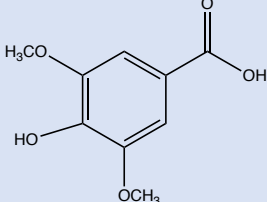
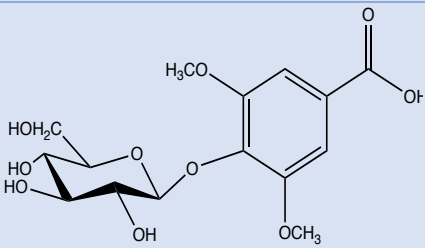
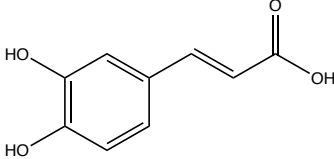
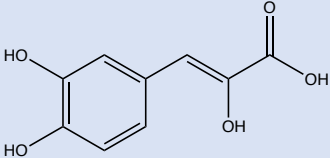
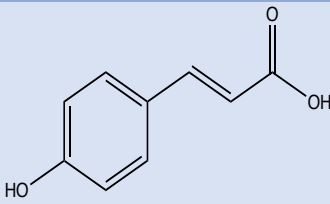
Bileşik	R	Bitki	Kaynak
Auresin	H	<i>L. maroccana</i>	(1)
Braktetin-6-glukozit	OH	<i>L. maroccana</i>	

#### 2.2.1.2.2. Fenolik asit ve türevleri

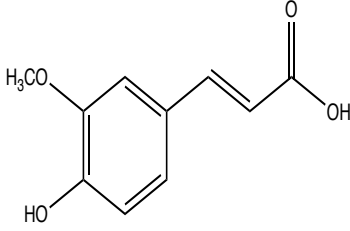
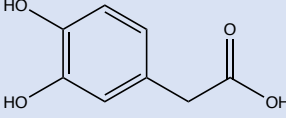
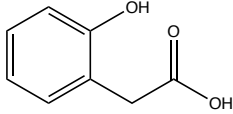
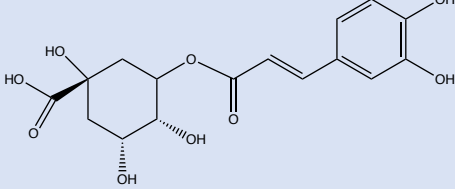
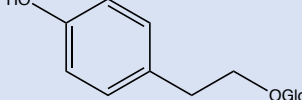
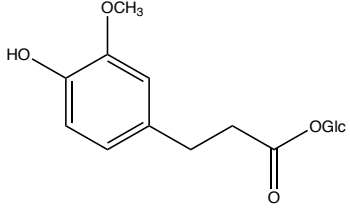
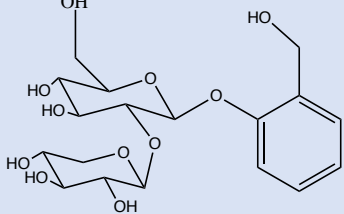
**Tablo 2.10. *Linaria* türlerinde bulunan fenolik asit türevleri**

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Siringin		<i>L. vulgaris</i> <i>L. japonica</i>	(1)
Şikimik asit		<i>L. vulgaris</i>	
		<i>L. alpina</i>	(32)
		<i>L. purpurea</i>	(33)
Protokateşik asit		<i>L. vulgaris</i>	(1)
Gallik asit		<i>L. vulgaris</i>	
		<i>L. corifolia</i>	(10)
		<i>L. reflexa</i>	(28)
		<i>L. tingitana</i>	(34)

Tablo 2.10. *Linaria* türlerinde bulunan fenolik asit türevleri (devam-I)

<b>p-hidroksi benzoik asit</b>		<i>L. vulgaris</i>	(1)
<b>Vanilik asit</b>		<i>L. vulgaris</i>	(28)
		<i>L. reflexa</i>	(33)
		<i>L. tingitana</i>	(33)
<b>Salisilik asit</b>		<i>L. vulgaris</i>	(1)
<b>Siringik asit</b>		<i>L. reflexa</i>	(28)
		<i>L. tingitana</i>	(33)
<b>Glukosiringik asit</b>		<i>L. vulgaris</i>	(1)
<b>Kafeik asit</b>		<i>L. macroura</i>	(28)
		<i>L. reflexa</i>	(33)
		<i>L. tingitana</i>	(33)
<b>Hidroksikafeik asit</b>		<i>L. reflexa</i>	(28)
		<i>L. tingitana</i>	(34)
<b>p-kumarik asit</b>		<i>L. vulgaris</i>	(1)
		<i>L. reflexa</i>	(28)
		<i>L. tingitana</i>	(34)

Tablo 2.10. *Linaria* türlerinde bulunan fenolik asit türevleri (devam-II)

Ferulik asit		<i>L. vulgaris</i> (1)
		<i>L. reflexa</i> (28)
		<i>L. tingitana</i> (33)
Homoprotokateşik asit		<i>L. vulgaris</i> (1)
<i>O</i> -hidroksifenil asetik asit		<i>L. vulgaris</i> (1)
Klorojenik asit		<i>L. macroura</i> (1)
		<i>L. tingitana</i> (34)
Salitrozit		<i>L. japonica</i> (1)
$\beta$ -D-glukopiranoz-1-ferulat		<i>L. japonica</i> (1)
Benzil alkol $\beta$ -D-(2'- <i>O</i> - $\beta$ -ksilopiranozil)-glukopiranoz		<i>L. vulgaris</i> (1)

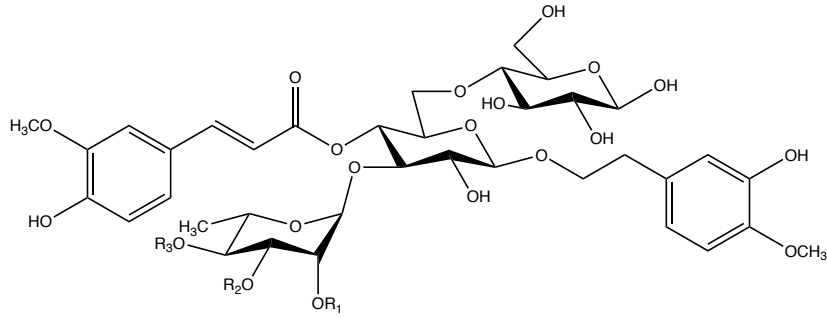


Tablo 2.10. *Linaria* türlerinde bulunan fenolik asit türevleri (devam-III)

<b>Benzil alkol</b> <b>O-β-D-</b> <b>glukopiranozi</b> <b>t</b>		<i>L.</i> <i>vulgaris</i>
<b>Benzil alkol</b> <b>O-β-D-</b> <b>primverozit</b>		<i>L.</i> <i>vulgaris</i>
<b>3,5-dimetil-4-</b> <b>hidroksi</b> <b>benzaldehit</b>		<i>L.</i> <i>vulgaris</i>
<b>2,4-ditert</b> <b>bütül fenol</b>		<i>L.</i> <i>vulgaris</i>
<b>Liriodendrin</b>		<i>L.</i> <i>vulgaris</i>

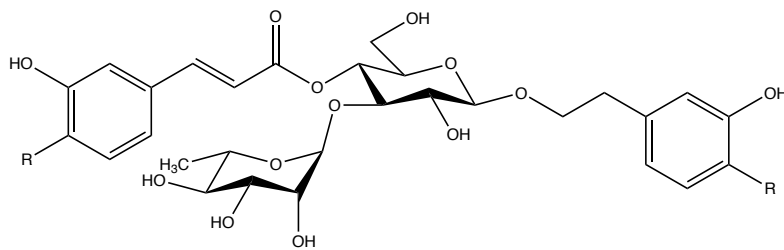
(1)

### 2.2.1.2.3. Fenilpropanoit Glikozitleri



Tablo 2.11. *Linaria* türlerinde bulunan fenilpropanoit glikozitleri-I

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Bitki	Kaynak
Glukopiranozil martinozit	H	H	H	<i>L. japonica</i>	(1)
Uranozit A	Ac	H	H	<i>L. japonica</i>	
Uranozit B	H	Ac	H	<i>L. japonica</i>	
Uranozit C	H	H	Ac	<i>L. japonica</i>	



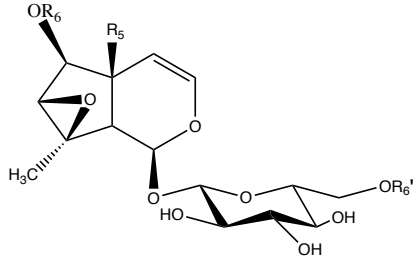
Tablo 2.12. *Linaria* türlerinde bulunan fenilpropanoit glikozitleri-II

Bileşik	R	Bitki	Kaynak
Martinozit	OCH <sub>3</sub>	<i>L. japonica</i>	(1)
Akteozit	OH	<i>L. haelava</i>	

### 2.2.1.3. Terpenoitler

#### 2.2.1.3.1. Monotepenler

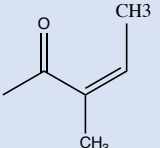
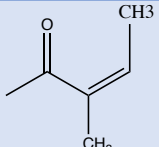
##### 2.2.1.3.1.1. İridoit Glikozitleri



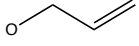
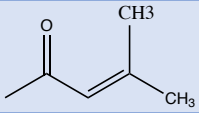
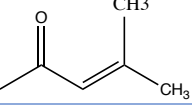
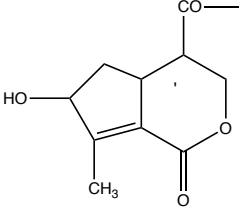
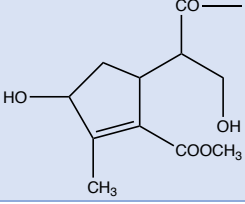
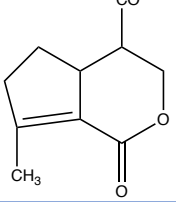
**Tablo 2.13. *Linaria* türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-I**

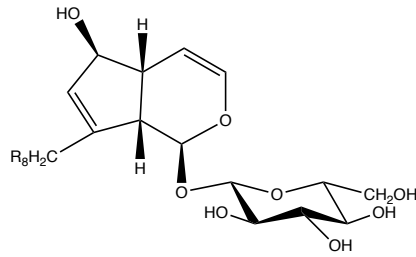
Bileşik	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>6'</sub>	Bitki	Kaynak	
Antirrinozit	OH	H	H	<i>L. vulgaris</i>	(1, 35)	
				<i>L. japonica</i>		
				<i>L. clementi</i>		
				<i>L. haelava</i>		
				<i>L. genistifolia</i>		
				<i>L. pelisseriana</i>		(1)
				<i>L. simplex</i>		
				<i>L. dalmatica</i>		
<i>L. cymbalaria</i>						

Tablo 2.13. *Linaria* türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-I (devam-I)

				<i>L. arcusangeli</i>	
				<i>L. flava</i>	
				<i>L. purpurea</i>	
				<i>L. capraria</i>	
				<i>L. aucheri</i>	
				<i>L. reflexa</i>	(1)
				<i>L. multicaulis</i>	
				<i>L. heterophylla</i>	
				<i>L. aegyptiaca</i>	
				<i>L. kurdica</i>	
				<i>L. flava</i> subsp. <i>sardoa</i>	(36)
<b>5-deoksiantir- rinozit</b>	H	H	H	<i>L. flava</i>	
				<i>L. arcusangeli</i>	
<b>6-O-anjeloil antirinozit</b>	OH		H	<i>L. heterophylla</i>	
				<i>L. multicaulis</i>	(1)
<b>6'-O-anjeloil antirinozit</b>	OH	H		<i>L. capraria</i>	
<b>6'-O-asetil antirinozit</b>	OH	H	Ac	<i>L. flava</i>	(35)
<b>6-O-cis-p- kumaroil antirinozit</b>	OH	cis- <i>p</i> - kumaroil	H	<i>L. vulgaris</i>	
<b>6-O-trans- p-kumaroil antirinozit</b>	OH	trans- <i>p</i> - kumaroil	H	<i>L. vulgaris</i>	
<b>5-O- glukozil antirinozit</b>	O- Glu	H	H	<i>L. haelava</i>	
				<i>L. vulgaris</i>	
				<i>L.</i> <i>genistifolia</i>	(1)
				<i>L. simplex</i>	
				<i>L. dalmatica</i>	
				<i>L. pelisseriana</i>	
				<i>L. flava</i>	
				<i>L. arcusangeli</i>	
				<i>L. purpurea</i>	

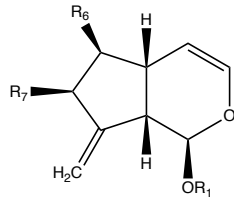
Tablo 2.13. *Linaria* türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-I (devam-II)

<b>5-O- alloilantir- rinozit</b>		H	H	<i>L. vulgaris</i> <i>L. genistifolia</i> <i>L. dalmatica</i> <i>L. pelisseriana</i> <i>L. kurdica</i>	
<b>6-O- senesioil antirrinozit</b>	OH		H	<i>L. clementi</i>	
<b>6'-O- senesioil antirrinozit</b>	OH	H		<i>L. capraria</i>	
<b>Genistifolin</b>	H	Ac	H	<i>L. genistifolia</i>	(1)
<b>İridolarin A</b>	H		H	<i>L. japonica</i>	
<b>İridolarin B</b>	H		H	<i>L. japonica</i>	
<b>İridolarin C</b>	H		H	<i>L. japonica</i> <i>L. buritica</i>	(37)
<b>Prokumbit</b>	OH	H	H	<i>L. vulgaris</i>	(1)



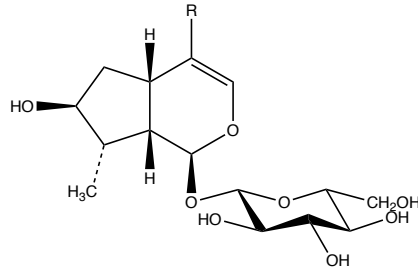
**Tablo 2.14. *Linaria* türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-II**

Bileşik	R <sub>8</sub>	Bitki	Kaynak
<b>Okubin</b>	OH	<i>L. vulgaris</i>	(1)
		<i>L. macroura</i>	
		<i>L. alpina</i>	(32)
<b>Linarit (10- deoksiokubin)</b>	H	<i>L. muralis</i>	(1)
		<i>L. japonica</i>	
		<i>L. flava</i>	
		<i>L. arcusangeli</i>	
<b>10-O-β- glukozil-okubin</b>	OGlu	<i>L. vulgaris</i>	(1)
		<i>L. purpurea</i>	



**Tablo 2.15. *Linaria* türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-III**

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	Bitki	Kaynak
<b>Antirrit</b>	H	H	OH	<i>L. japonica</i>	(1)
				<i>L. clementi</i>	
				<i>L. simplex</i>	
				<i>L. flava</i>	
				<i>L. arcusangeli</i>	
				<i>L. purpurea</i>	
				<i>L. reflexa</i>	
				<i>L. vulgaris</i>	
				<i>L. multicaulis</i>	
				<i>L. kurdica</i>	
<b>6-β-Hidroksi antirrit</b>	H	OH	OH	<i>L. genistifolia</i>	
				<i>L. japonica</i>	
				<i>L. purpurea</i>	
				<i>L. vulgaris</i>	
<b>Linariolozit</b>	Glu	OH	H	<i>L. japonica</i>	



**Tablo 2.16. *Linaria* türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-IV**

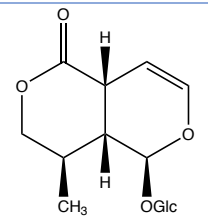
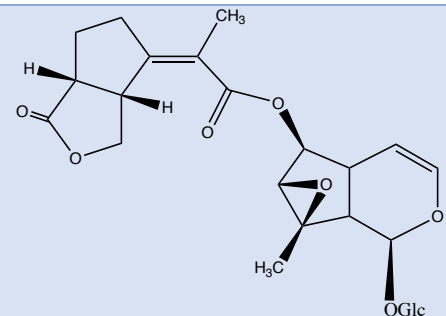
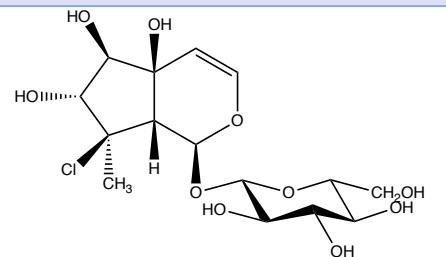
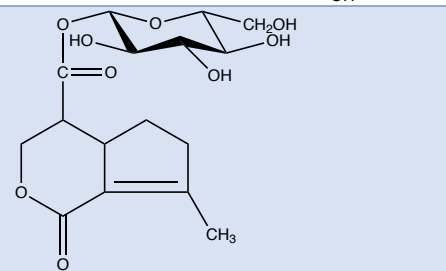
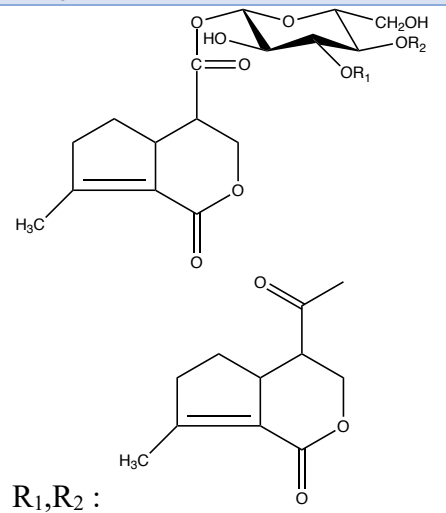
Bileşik	R	Bitki	Kaynak
<b>8-Epiloganik asit</b>	COOH	<i>L. cymbalaria</i>	(1)
<b>7β-Hidroksi-8-epiiridodial glukozit</b>	CH <sub>3</sub>	<i>L. cymbalaria</i>	

**Tablo 2.17. *Linaria* türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-V**

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
<b>Linariozit</b>		<i>L. japonica</i>	(1)
		<i>L. arcusangeli</i>	
		<i>L. flava subsp. sardoa</i>	(36)
		<i>L. dalmatica</i>	
		<i>L. simplex</i>	(1)
		<i>L. pelisseriana</i>	
		<i>L. genistifolia</i>	(1)
		<i>L. vulgaris</i>	
		<i>L. arcusangeli</i>	(33)
		<i>L. aegyptiaca</i>	
		<i>L. purpurea</i>	(25)
		<i>L. ramosissima / L. somalensis</i>	

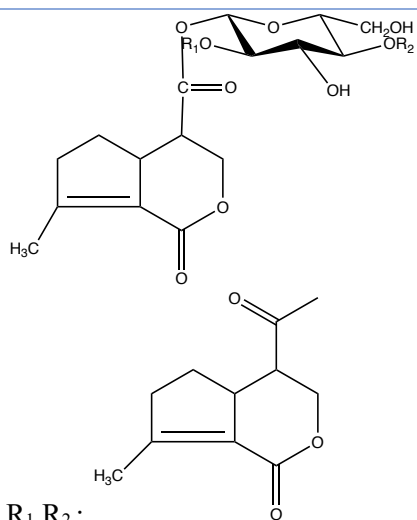


Tablo 2.17. *Linaria* türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-V (devam-I)

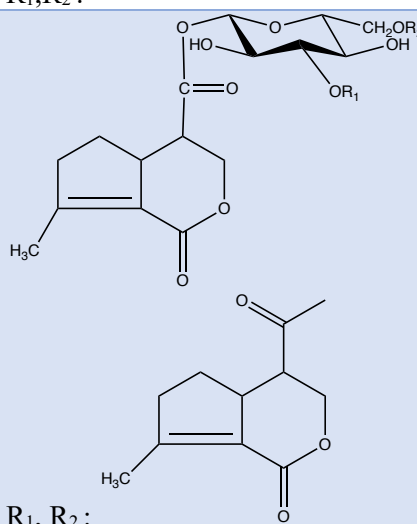
<b>Seko-linarozit</b>		<i>L. japonica</i>
<b>Arkusanjelozit</b>		<i>L. arcusangeli</i>
<b>Arkusanjelozit II</b>		<i>L. arcusangeli</i> (35)
<b>İridolarozit A</b>		<i>L. flava subsp. sardoa</i> (36)
<b>İridolarozit B</b>		<i>L. japonica</i> (1)
R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> :		

Tablo 2.17. *Linaria* türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-V (devam-II)

## İridolinarozit C

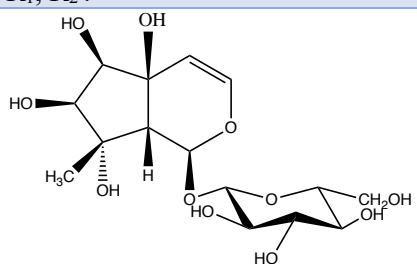


## İridolinarozit D

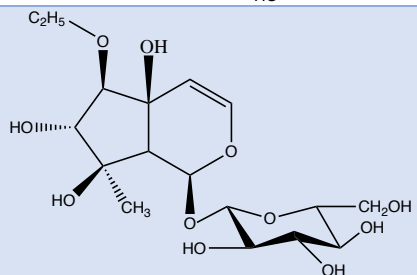


(1)

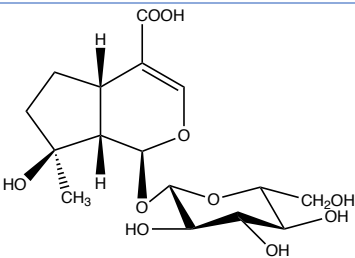
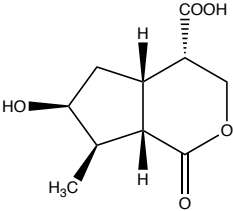
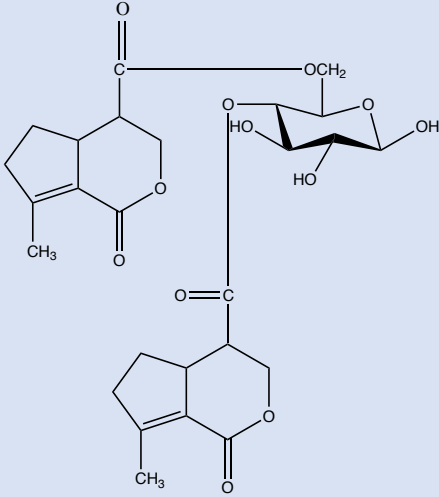
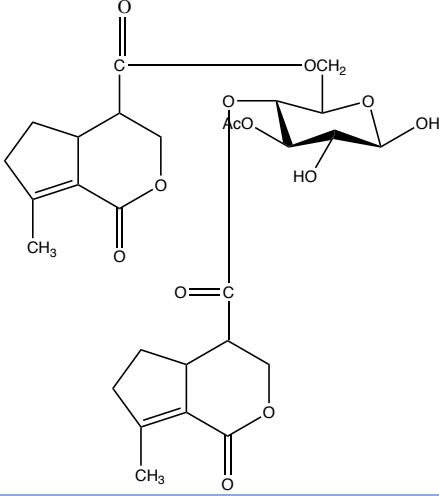
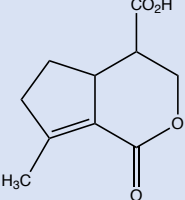
## 8-Epi muraliozit



## Genistifoliozit

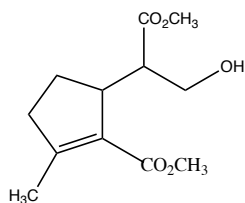


Tablo 2.17. *Linaria* türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-V (devam-III)

Musaenosidik asit		<i>L. aegyptiaca</i> (1)
		<i>L. ramosissima/</i> <i>L. somalensis</i> (25)
4-Karboksi-boonein		<i>L. vulgaris</i>
4,6-Di-(7-deoksiiridolaktönil-D-glukopiranoz		<i>L. canadensis</i>
		(1)
3-Asetil-4,6-di-(7-deoksiiridolaktönil-D-glukopiranoz		<i>L. canadensis</i>
7-Deoksiiridolaktönik asit		<i>L. japonica</i> <i>L. buriatica</i> (37)

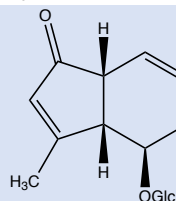
Tablo 2.17. *Linaria* türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-V (devam-IV)

**7-Deoksiiridolaktolik asit-dimetil esteri**



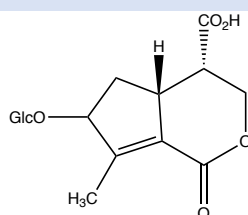
*L. japonica*

**5-Deoxyteuhircoside**



*L. japonica*

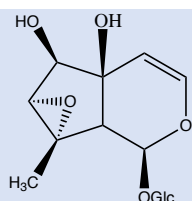
**Purpureozit**



*L. purpurea*

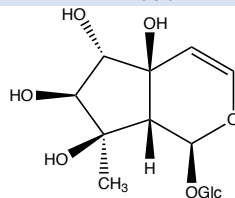
(1)

**7,8-*epi*-Antirrinozit**



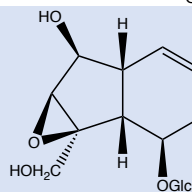
*L. dalmatica*

**7 $\alpha$ -Hidroksiharpagit**



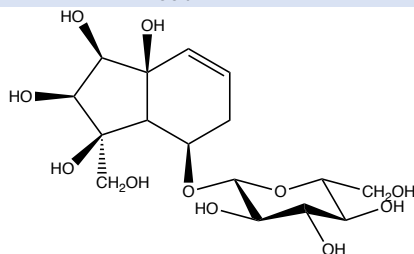
*L. heterophylla*

**Katalpol**



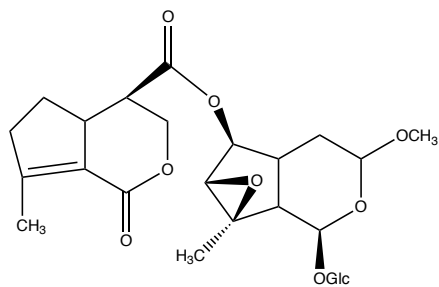
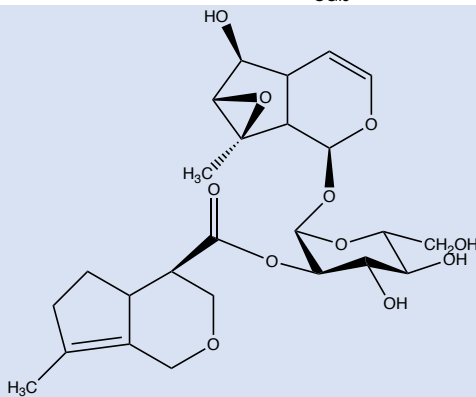
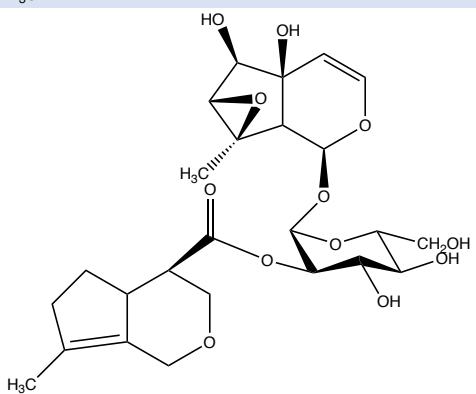
*L. macroura*

**Makfadienozit**

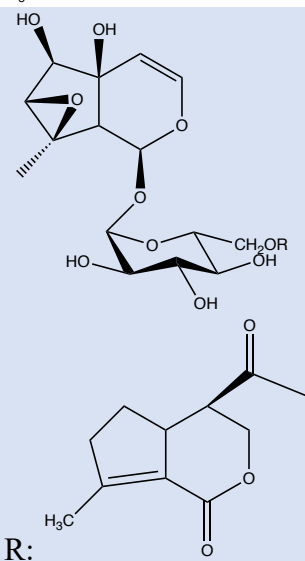


*L. arcusangeli*

(35)

Tablo 2.17. *Linaria* türlerinde bulunan iridoit glikozitleri-V (devam-V)**Linaburiozit****A***L.*  
*buriatica***Linaburiozit****B***L.*  
*buriatica***Linaburiozit****C***L.*  
*buriatica*

(37)

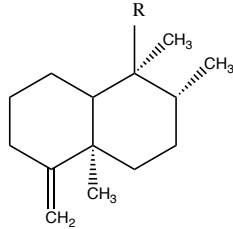
**Linaburiozit****D***L.*  
*buriatica*

## 2.2.3.1.3.2. Monoterpen Yapıdaki Diğer Bileşikler

Tablo 2.18. *Linaria* türlerinde bulunan monoterpenik yapıdaki bileşikler

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
8-O-Glukozil-metoksi-6,7-dihidrofolia mentol		<i>L. capraria</i>	(1)
6,7-Dihidro foliamentolik asit diglukozit		<i>L. japonica</i>	
2,6-Dimetil oktan-1,8-diol diglukozit		<i>L. japonica</i>	
10-Hidroksigeraniol diglukozit		<i>L. japonica</i>	

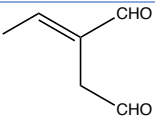
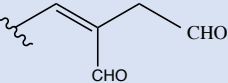
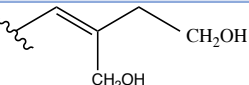
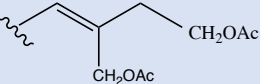
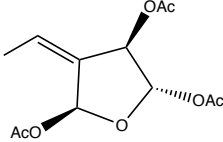
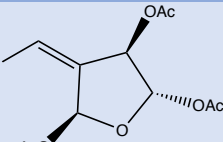
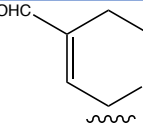
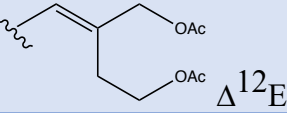
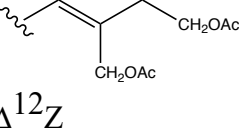
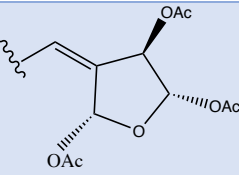
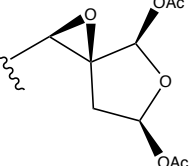
## 2.2.1.3.2. Diterpenik Yapıdaki Bileşikler

Tablo 2.19. *Linaria* türlerinde bulunan neo-klerodan tip diterpenler

Bileşik	R	Bitki	Kaynak
(12R) 18-nor-12,15,16-Triasetoksi-neo-kleroda-4(18),13E-dien		<i>L. saxatilis</i> var. <i>glutinosa</i>	
15,16-Diasetoksi-15,16-epoksi-neo-kleroda-4(18),11E-dien-13ξ-ol		<i>L. saxatilis</i> var. <i>glutinosa</i>	
15α,16β-Diasetoksi-15,16-epoksi-neo-kleroda-4(18),12Z-dien-14β-ol		<i>L. saxatilis</i> var. <i>glutinosa</i>	(1)
İzolarididiol diasetat		<i>L. saxatilis</i>	
15,16-diasetoksi-15,16-epoksi-ent-cleroda-4(18),12Z-dien		<i>L. saxatilis</i>	

Tablo 2.19. *Linaria* türlerinde bulunan neo-klerodan tip diterpenler

(devam-I)

<b><i>E</i>-İzolinaridial</b>		<i>L. saxatilis</i> var. <i>glutinosa</i>	
<b><i>Z</i>-İzolinaridial</b>		<i>L. saxatilis</i>	
<b>İzolinaridiol</b>		<i>L. saxatilis</i>	
<b>İzolinaridiol diasetat</b>		<i>L. saxatilis</i>	(1)
<b>14,15,16-triasetoksi-15,16-epoksi-ent-kleroda-4(18),12<i>E</i>-dien</b>		<i>L. saxatilis</i> var. <i>glutinosa</i>	
<b>14, 15, 16-Triasetoksi-15, 16-epoksi-ent-kleroda-3,12<i>Z</i>-dien</b>		<i>L. saxatilis</i> var. <i>glutinosa</i>	
<b>15-asetoksi-11,15-epoksi-ent-kleroda-4(18),12-dien-16-al</b>		<i>L. saxatilis</i>	(1)
<b>15, 16-Diasetoksi-ent-kleroda-3,12<i>E</i>-dien</b>		<i>L. saxatilis</i> var. <i>glutinosa</i>	
<b>15, 16-Diasetoksi-ent-kleroda-3,12<i>Z</i>-dien</b>		<i>L. saxatilis</i> var. <i>glutinosa</i>	
<b>14, 15, 16-Triasetoksi-15, 16-epoksi-ent-kleroda-3,12<i>Z</i>-dien</b>		<i>L. saxatilis</i>	(1)
<b>15, 16-Diasetoksi-12, 13-15,16-diepoksi-ent-klerod-3-en</b>		<i>L. saxatilis</i> var. <i>glutinosa</i>	



Tablo 2.19. *Linaria* türlerinde bulunan neo-klerodan tip diterpenler (devam-II)

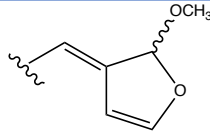
15,16-Diasetoksi- 12,13-15,16- diepoksi- 14- hidroksi-neo- klerod-3-en		<i>L. saxatilis</i> var. <i>glutinosa</i>
Bis-klerodan		<i>L. saxatilis</i>
İzolinaritriol		<i>L. saxatilis</i>
İzolinaritriol triasetat		<i>L. saxatilis</i>
15,16-Diasetat izolinaritriol		<i>L. saxatilis</i>
12,15-Diasetat izolinaritriol		<i>L. saxatilis</i>
12,16-Diasetat izolinaritriol		<i>L. saxatilis</i>
16-Okso-ent- kleroda-4(18),12- dien-15,11-lakton		<i>L. saxatilis</i>

(1)

Tablo 2.19. *Linaria* türlerinde bulunan neo-klerodan tip diterpenler

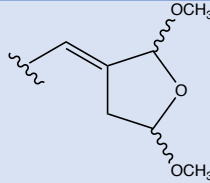
(devam-III)

15,16-Epoksi-16-metoksi-ent-kleroda-4(18), 12Z,14-trien



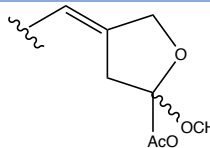
*L. saxatilis*

15,16-Epoksi-15,16-dimetoksi-ent-kleroda-4(18),12Z-dien



*L. saxatilis*

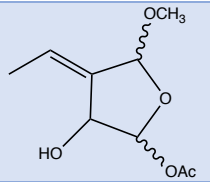
15-Asetoksi-15,16-epoksi-15-metoksi-ent-kleroda-4(18),12Z-dien



*L. saxatilis*

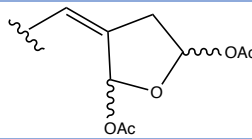
(1)

15-Asetoksi-15,16-epoksi-16-metoksi-ent-kleroda-4(18),12E-dien-14-ol



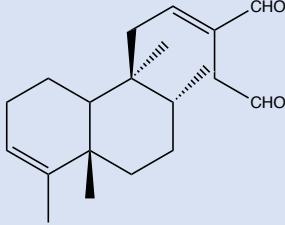
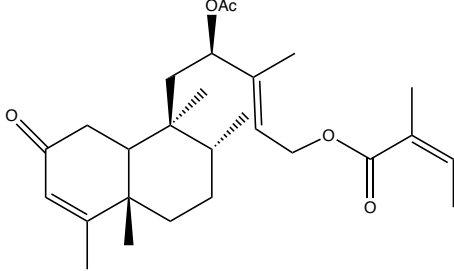
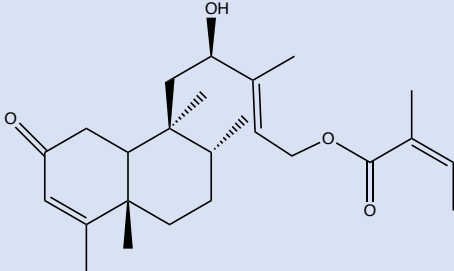
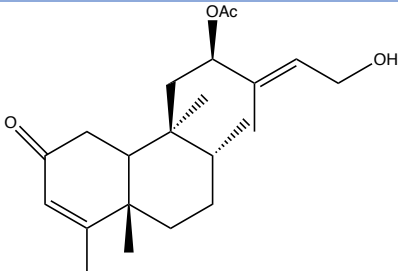
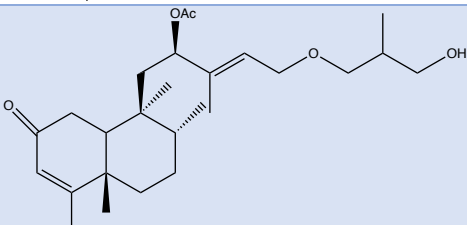
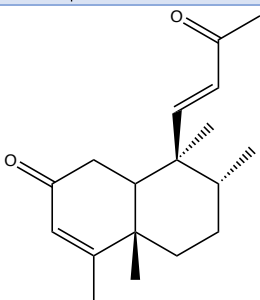
*L. saxatilis*

15,16-Diasetoksi-15,16-epoksi-neo-kleroda-3,12Z-dien

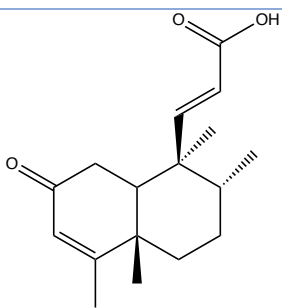
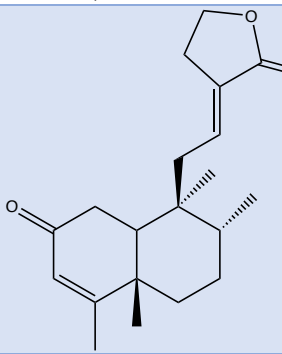
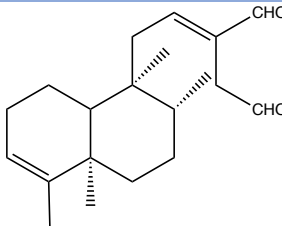
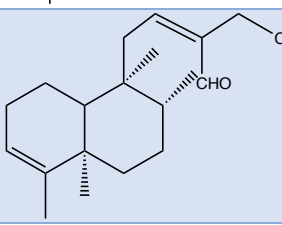
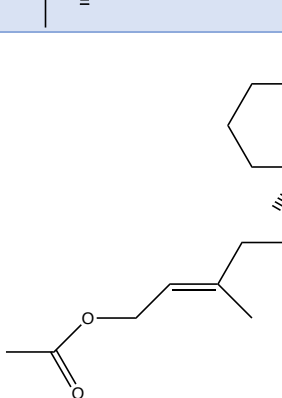


*L. saxatilis*  
var.  
*glutinosa*

Tablo 2.20. *Linaria* türlerinde bulunan diğer diterpenler

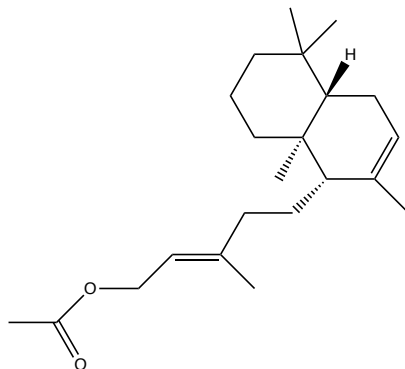
Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Dialdehit linaridial		<i>L. japonica</i>	
Linarienon		<i>L. japonica</i>	(1)
Deasetil- linarienon		<i>L. japonica</i>	(38)
Linarenon A		<i>L. japonica</i>	
Linarenon B		<i>L. japonica</i>	(37)
Linarenon C		<i>L. japonica</i>	

Tablo 2.20. *Linaria* türlerinde bulunan diğer diterpenler (devam-I)

<b>Linarenon D</b>		<i>L. japonica</i>	
<b>Linarenon E</b>		<i>L. japonica</i>	(37)
<b>ent- Kleroda- 3,12E- dien- 15,16-dial</b>		<i>L. saxatilis var. glutinosa</i>	
<b>ent- Kleroda- 3,12Z- dien- 15,16-dial</b>		<i>L. saxatilis var. glutinosa</i>	(1)
<b>Labda- 8,13E- dien-15-il asetat</b>		<i>L. saxatilis var. glutinosa</i>	

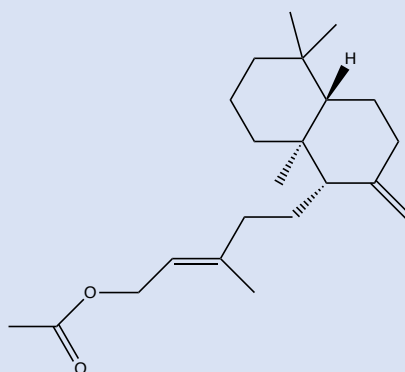
Tablo 2.20. *Linaria* türlerinde bulunan diğer diterpenler (devam-II)

**Labda-7,13E-  
dien-15-il asetat**



*L. saxatilis*  
var.  
*glutinosa*

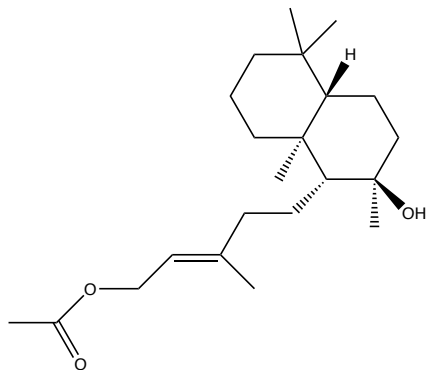
**Labda-8(17),13E-  
dien-15-ol asetat**



*L. saxatilis*  
var.  
*glutinosa*

(1)

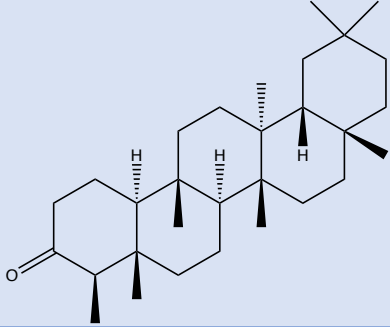
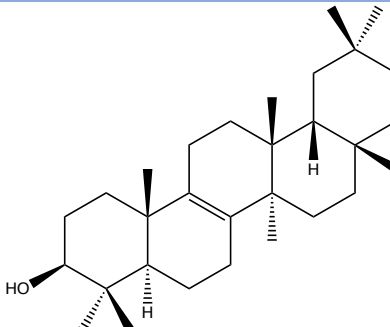
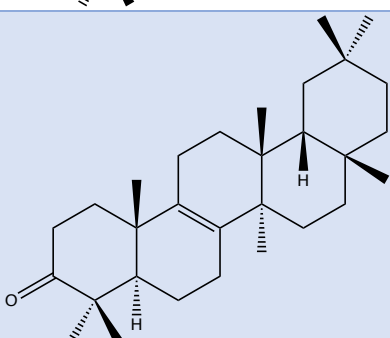
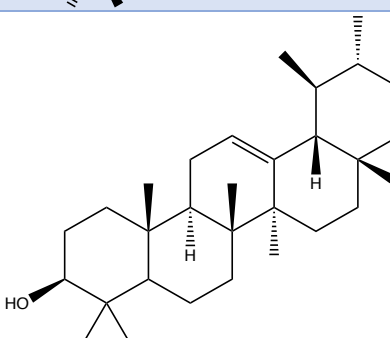
**Labda-13E-en-  
8,15-diol 15-  
monoasetat**



*L. saxatilis*  
var.  
*glutinosa*

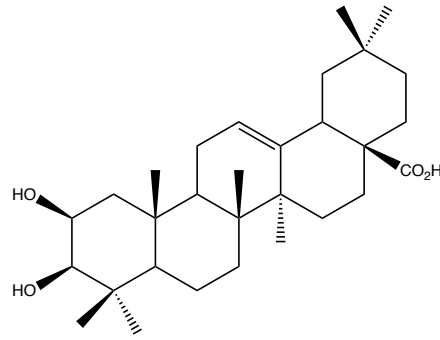
### 2.2.1.3.3. Triterpenik Yapıdaki Bileşikler

Tablo 2.21. *Linaria* türlerinde bulunan triterpenik yapıdaki bileşikler

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Friedelin		<i>L. saxatilis</i> var. <i>saxatilis</i>	(1)
İzomultiflorenol		<i>L. vulgaris</i>	
İzomultiflorenon		<i>L. vulgaris</i>	
Ursolik asit		<i>L. vulgaris</i>	
		<i>L. alpina</i>	

Tablo 2.21. *Linaria* türlerinde bulunan triterpenik yapıdaki bileşikler (devam-I)

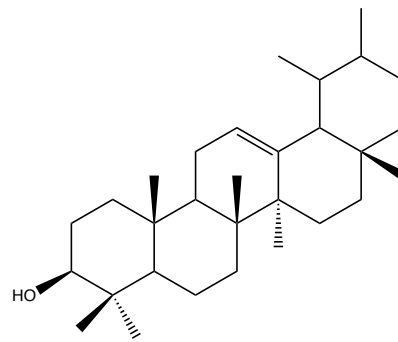
**Maslinik asit**



*L. vulgaris* (1)

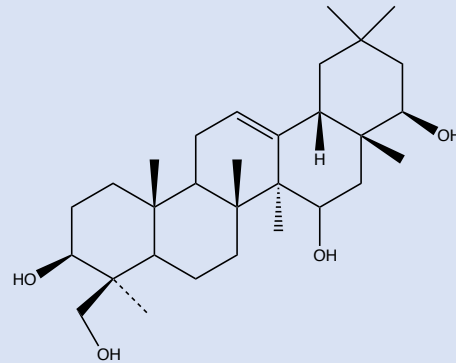
*L. alpina* (32)

**$\alpha$ -Amirin**



*L. vulgaris*

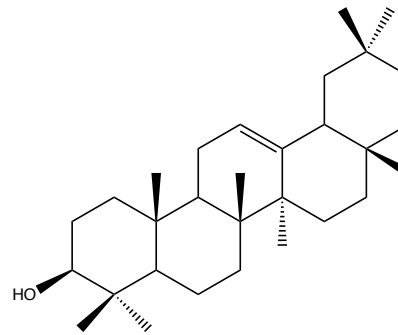
**Soyasapogenol B**



*L. vulgaris*

(1)

**$\beta$ -Amirin**

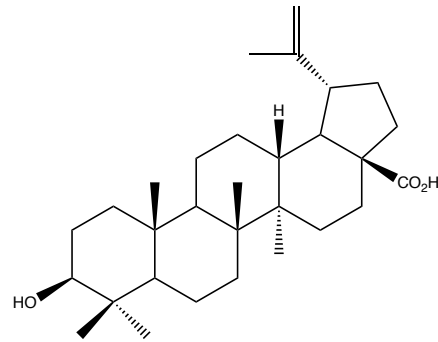


*L. aucheri*

*L. tingitana* (30)

**Tablo 2.21. *Linaria* türlerinde bulunan triterpenik yapıdaki bileşikler (devam-II)**

**Betulik asit**



*L. vulgaris* (1)

#### 2.2.1.3.4. Steroit Yapıdaki Bileşikler

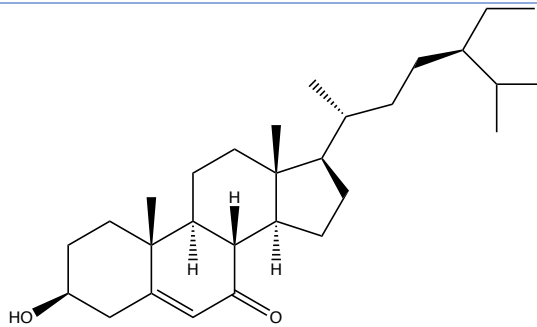
**Tablo 2.22. *Linaria* türlerinde bulunan steroit yapıdaki bileşikler**

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
<b>β-Sitosterol</b>		<i>L. dalmatica</i>	(1)
		<i>L. vulgaris</i>	
		<i>L. multicaulis</i>	(30)
		<i>L. tingitana</i>	
<b>Daukosterol</b>		<i>L. vulgaris</i>	(1)
		<i>L. reflexa</i>	
		<i>L. tingitana</i>	(30)
<b>Stigmasterol</b>		<i>L. dalmatica</i>	(1)
		<i>L. multicaulis</i>	
		<i>L. tingitana</i>	(30)



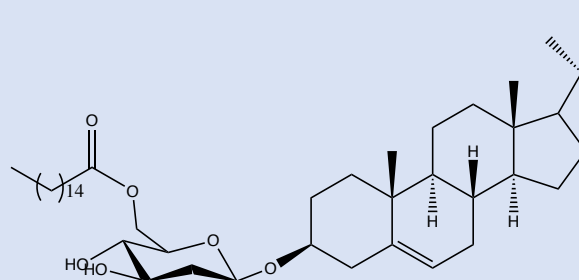
Tablo 2.22. *Linaria* türlerinde bulunan steroit yapıdaki bileşikler (devam-I)

3 $\beta$ -  
Hidroksistigma  
-5-en-7-on



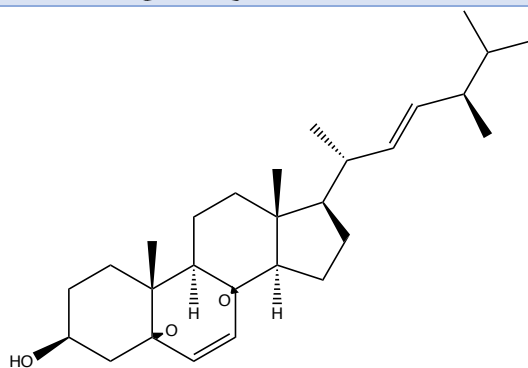
*L.*  
*vulgaris*

Daukosterol  
palmitat



*L.*  
*vulgaris*

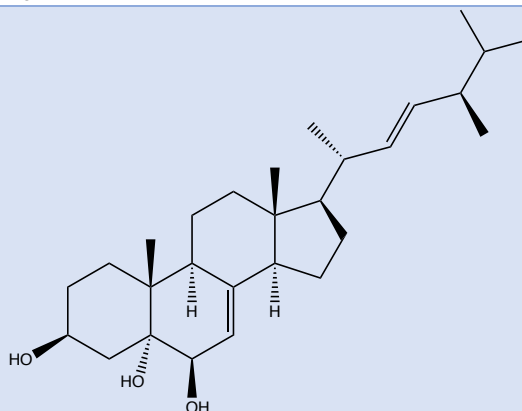
5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidiok-  
siergosta-6,22-  
dien-3 $\beta$ -ol



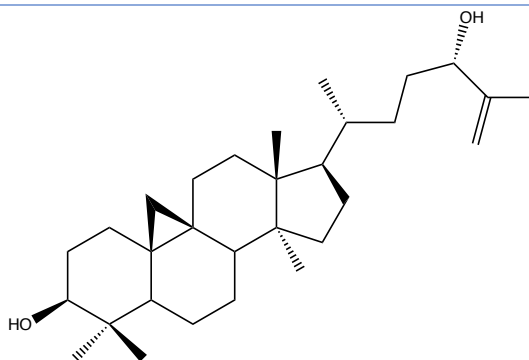
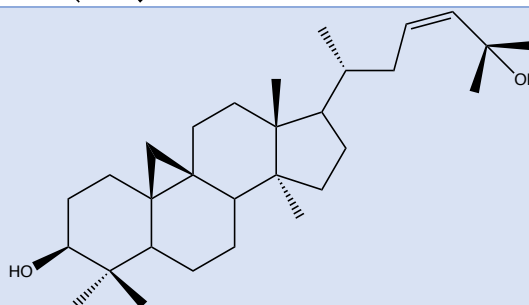
*L.*  
*vulgaris*

(1)

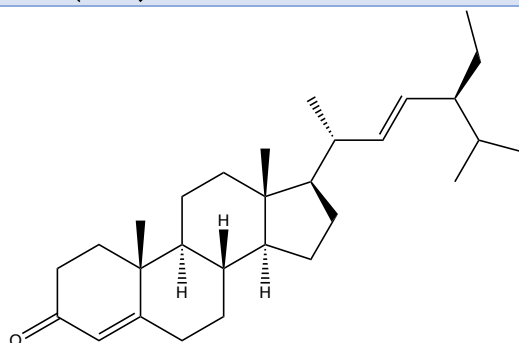
Ergosta-7,22-  
dien-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -  
triol



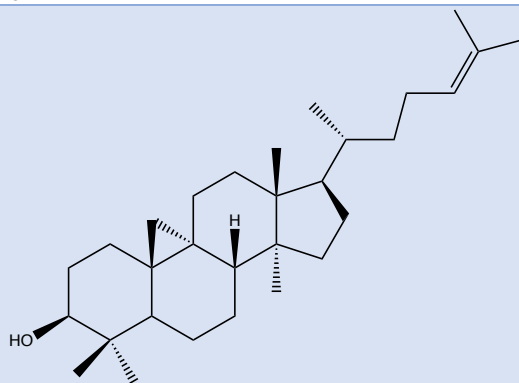
*L.*  
*vulgaris*

Tablo 2.22. *Linaria* türlerinde bulunan steroid yapıdaki bileşikler (devam-II)Sikloart-25-en-3 $\beta$ -  
, 24 $\epsilon$ -diol*L. vulgaris*Sikloart-23-en-3 $\beta$ ,  
25-diol*L. vulgaris*

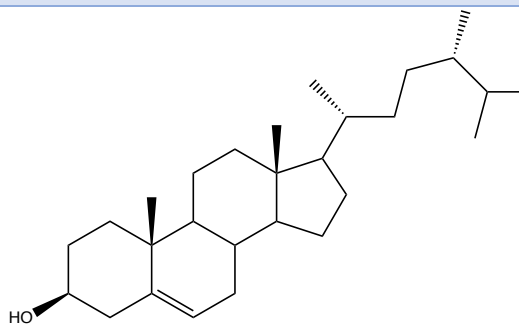
Stigmastadienon

*L. vulgaris*

(1)

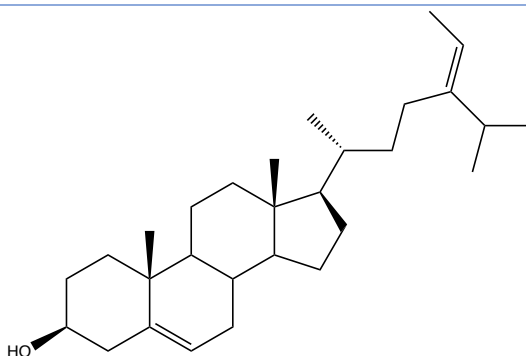
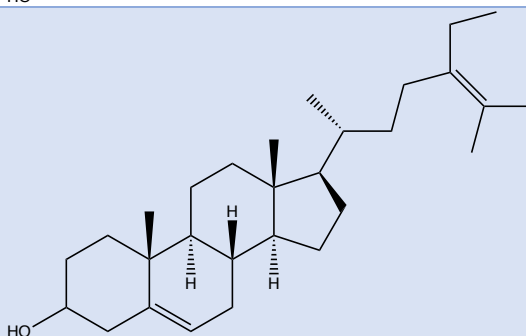
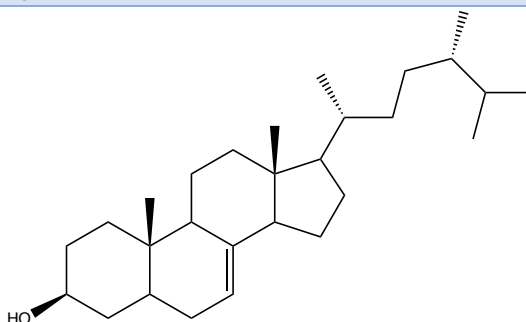
9,19-Siklolanost-  
24-en-3-ol*L. multicaulis*  
subsp.  
*multicaulis*

Kampesterol

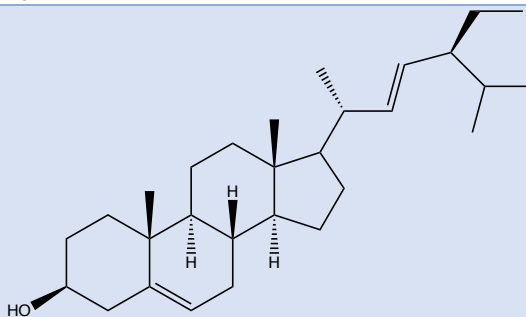
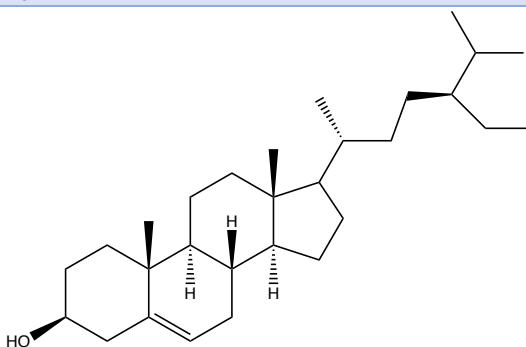
*L. multicaulis*  
subsp.  
*multicaulis*

Tablo 2.22. *Linaria* türlerinde bulunan steroit yapıdaki bileşikler (devam-III)

Fukosterol

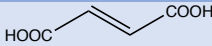
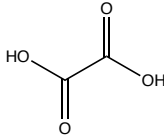
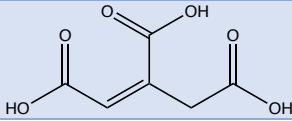
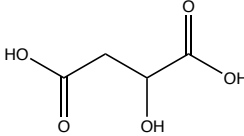
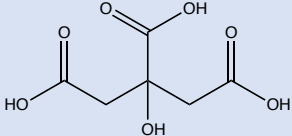
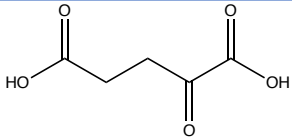
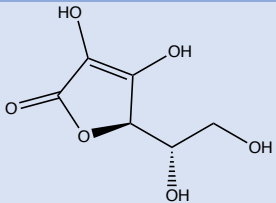
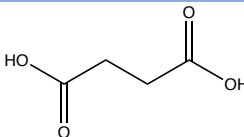
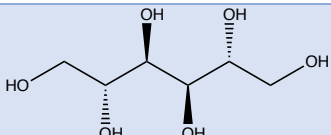
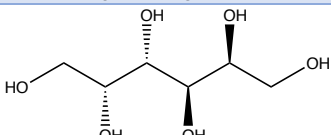
*L.*  
*multicaulis*  
subsp.  
*multicaulis*Stigmasta-5,24-  
dien-3-ol*L.*  
*multicaulis*  
subsp.  
*multicaulis*Ergost-7-en-3 $\beta$ -ol*L. aucheri*

(1)

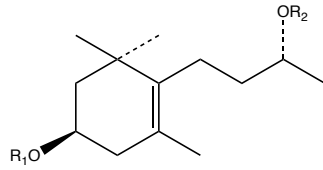
Stigmasta-5,22 $E$ -  
dien-3 $\beta$ -ol*L. aucheri*Stigmast-5-en, 24 $S$ -  
3 $\beta$ -ol*L. aucheri*

## 2.2.1.4. Hidrokarbonlar

Tablo 2.23. *Linaria* türlerinde bulunan hidrokarbonlar

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Fumarik asit		<i>L. vulgaris</i>	(1)
Okzalik asit		<i>L. vulgaris</i>	
Akonitik asit		<i>L. vulgaris</i>	
Malik asit		<i>L. vulgaris</i>	
Sitrik asit		<i>L. vulgaris</i>	
Ketoglutarik asit		<i>L. vulgaris</i>	
Askorbik asit		<i>L. vulgaris</i>	
Süksinik asit		<i>L. vulgaris</i>	
Mannitol		<i>L. reflexa</i>	
Galaktitol		<i>L. vulgaris</i>	

### 2.2.1.5. İyonol Türevi Bileşikler (Megastigman Türevi Bileşikler)



**Tablo 2.24. *Linaria* türlerinde bulunan iyonol türevi bileşikler**

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Bitki	Kaynak
<b>Linarionozit A</b>	Glu	H	<i>L. japonica</i>	(1)
<b>Linarionozit B</b>	H	Glu	<i>L. japonica</i>	
<b>Linarionozit C</b>	Glu	Glu	<i>L. japonica</i>	

### 2.2.2. *Linaria* Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Etkileri

*Linaria* türlerinin kullanılışları ve biyolojik etkilerinin verilmesinde genellikle, *Linaria* cinsi hakkında 2015 yılında Cheriet ve ark. (1) tarafından yayınlanan derlemeden yararlanılmıştır. 2015 ve sonrası güncel literatür taranmış, güncel çalışma sonuçları eklenmiştir.

Çeşitli *Linaria* türlerinin geleneksel olarak, diüretik, laksatif, tonik, antiskorbütik olarak ve yaralarda, diyabette, hemoroit gibi vasküler hastalıkların tedavisinde kullanılışları bulunmaktadır (36, 39, 40).

*L. vulgaris*'in taze ya da kurutulmuş çiçekleri dahilen sindirim sistemi ve üriner sistem hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Haricen ise bitkiden hemoroit, yara ve deri döküntüsünde yararlanılmaktadır. Ayrıca anti-enflamatuvar etkisi, astım ve öksürük tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (1, 41). Kuzeydoğu Bosna Hersek'te dahilen kulak hastalıkları ve yüksek ateşte, haricen hemoroitte (42), Orta, Güney ve Batı Bosna Hersek'te çiçeklerinden hazırlanan çaydan dahili olarak kabızlık tedavisinde yararlanılmaktadır (43). *L. japonica*'nın, diüretik, pürgatif ve laksatif olarak kullanılışı bulunmaktadır (1, 44). *L. cymbalaria* diüretik, tonik ve antiskorbütik etkileri nedeniyle, *L. reflexa* ise Kuzey Afrika'da deri hastalıklarında kullanılmaktadır (1).

### 2.2.2.1. Anti-enflamatuvar ve Analjezik Etki

*L. aucheri* toprak üstü etil asetat, %20 sulu-metanol ekstreleri ve izole edilen antirrinozit bileşiği, farelerde yapılan 12-*O*-tetradekanoil-13-asetat ile indüklenen kulak ödemi testinde konsantrasyona bağlı inhibitör aktivite göstermiştir. *L. aucheri* %20 sulu-metanol ekstresi ve antirrinozit bileşiği *p*-benzokinon ile indüklenen kıvrınma testinde antinosisepatif etkili bulunmuştur (5).

*L. saxatilis* var. *glutinosa*'dan elde edilen neo-klerodan diterpenlerin (*E*-izolinaridial ve metilketon türevi) konsantrasyona bağlı insan sinoviyal PLA<sub>2</sub> (fosfolipaz A<sub>2</sub>) enzimine karşı inhibitör etkisi görülmüştür. Ayrıca 5-Lipoksijenaz aktivitesini ve A23187 ile indüklenen nötrofil lökotrien B<sub>4</sub> biyosentezini azaltıcı etkiye sahip oldukları belirlenmiştir (1).

*L. reflexa* *n*-butanol ekstresi, 200 mg/kg konsantrasyonunda, sıçanlarda karragenle indüklenen pençe ödemi önemli ölçüde (%63,90) azaltmıştır (28).

*L. tingitana* *n*-butanol ekstresinin *in vitro*, doza bağlı nitrit üretimini inhibe edici etkili olduğu, 200 mg/kg konsantrasyonunda, sıçanlarda karragenle indüklenen pençe ödemi, 4 saat sonra %61,71 azalttığı bulunmuştur (45).

*L. buriatica*'dan izole edilen iridoit glikozitleri (Linaburiozit A ve İridolinarin C) 100 µM konsantrasyonunda LPS (lipopolisakkarit) ile indüklenen mikrogial hücrelerinde IL-1β (interlökin-1β) üretimini önemli ölçüde azaltmıştır (37).

*L. scariosa* metanol ekstresi 500 µg/ml konsantrasyonunda, *in vitro* yumurta albümin denaturasyonu testinde %40,98 inhibitör aktivite göstermiştir (46).

*L. vulgaris* ekstreleri ve bitkiden izole edilen *p*-kumarik asit, linarin, linariin, akasetin ve linariozit bileşiklerinin antienflamatuvar etkili oldukları bildirilmiştir (1).

*Cymbalaria muralis* P. Gaertn., B. Mey. & Scherb. (sinonim: *L. cymbalaria* (L.) Mill.) toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresi, 200 mg/kg konsantrasyonunda farelerde ksilen ile indüklenen kulak ödemi %76 oranında azaltmıştır (47).

#### 2.2.2.2. Antimikrobiyal Etki

*L. corifolia* etanol ekstresi Gram-pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir, özellikle *Staphylococcus epidermidis* ve *S. aureus* bakterilerine karşı ekstre daha etkili bulunmuş, Gram-negatif bakterilere karşı bir aktivite gözlenmemiştir. Ekstrenin *Mycobacterium smegmatis*' e karşı da yüksek etkisi bulunmuştur (11).

*L. corifolia* yaprak, çiçek ve kök etanol ekstrelerinin özellikle *Kluyveromyces fragilis*' e karşı etkili olduğu belirlenmiştir (11).

Bir başka çalışmada *L. corifolia* toprak üstü kısımları kullanılarak hazırlanan etanol, etil asetat, diklorometan, aseton ve *n*-hekzan ekstrelerinin, toprak altı kısımlarından hazırlanan etanol, etil asetat, *n*-hekzan ekstrelerinin ve bitki uçucu yağının antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Toprak üstü etanol ekstresinin, *Bacillus cereus*' a (Gram-pozitif bakteri) ve *Candida albicans*' a karşı antimikrobiyal etkisi bulunmuştur. Toprak altı *n*-hekzan ekstresinin, *S. aureus* hariç tüm mikroorganizmalara (*B. cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *C. albicans*) karşı antimikrobiyal etkisi belirlenmiştir. Tüm mikroorganizmalara karşı bitki uçucu yağı etkili bulunmuştur [*E. coli* (MIC değeri:125 µg/mL), *P. aeruginosa* (MIC değeri: 175 µg/mL), *S. aureus* (MIC değeri: 500 µg/mL), *B. cereus* (MIC değeri: 750 µg/mL, *C. albicans* (MIC değeri: 500 µg/mL)]. Gram-pozitif bakterilerin, Gram-negatif bakterilerden daha dirençli olduğu gözlenmiştir (10).



İran'da *L. pyramidata* toprak üstü kısımlarının halk arasında antimikrobiyal olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bitki toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin kloroform fraksiyonunun *Plasmodium falciparum* 3D7 ve *P. falciparum* K1 suşlarına karşı antiplazmodiyal etkisinin incelendiği çalışmada, etki görülmemiştir (48).

*L. ventricosa* uçucu yağının antimikrobiyal etkisinin incelendiği çalışmada, tüm mikroorganizmalara (*Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*) karşı orta derecede inhibisyon görülmüştür. En yüksek etki *C. albicans* (IZ = 24 mm, MIC = 4,87 mg/mL, MMC = 9,75 mg/mL) ve *C. glabrata*'a (IZ = 22 mm, MIC = MMC = 4,87 mg/ mL) karşı bulunmuştur. Gram-negatif bakterilerin daha dirençli (MIC = MMC = 39 mg/mL) olduğu belirlenmiştir (49).

*Kickxia aegyptiaca* (sinonim: *L. micromerioides* ve *L. aegyptiaca*) uçucu yağı, Gram-negatif bakterilerle karşılaştırıldığında, Gram-pozitif bakterilere karşı daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir. En yüksek aktivite *E. coli* ve *B. cereus* bakterilerine karşı bildirilmiştir (MIC: 0,031 mg/mL) (50).

*Kickxia ramosissima* (sinonim: *L. ramosissima*, *L. somalensis*) n-hekzan fraksiyonunun antibakteriyel (*S. aureus* (IC<sub>50</sub>: 8,0 µg/mL)) ve antifungal (*Microsporum canis* (IC<sub>50</sub>: 24,4 µg/mL)) aktivitesi gözlenmiştir. Bitkiden elde edilen pektolinarigenin *S. aureus*'a karşı etkili (IC<sub>50</sub>: 49,8 µM) bulunmuştur. Bileşik, *Plasmodium falciparum* K1 (IC<sub>50</sub>: 41,8 µM) ve *Trypanosoma cruzi* (IC<sub>50</sub>: 32,0 µM)'a karşı zayıf antiprotozoal aktivite göstermiştir (25).

*L. tinginata* etil asetat ve kloroform ekstrelerinin antimikrobiyal etkilerinin incelendiği çalışmada, etil asetat ekstresi *E. coli*'ye (gram pozitif) karşı etki gösterirken, kloroform ekstresi *Bacillus* sp.'e karşı etkili bulunmuştur. Her iki ekstrede de antifungal etki görülmemiştir (51).

*L. scariosa* etil asetat ekstresinin disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel etkisinin değerlendirildiği çalışmada, *Morganella morganii*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *Proteus vulgaris* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı orta derecede inhibitör etki gözlenmiştir (24).

*L. purpurea*'dan izole edilen antirrinozit bileşiği 1,3 mM, 2,6 mM, 13 mM ve 26 mM konsantrasyonlarında inkübasyondan 7 gün sonra *Aspergillus flavus* gelişimini etkilememiştir. Ancak konsantrasyona bağlı *A. flavus*'da aflatoksin B1 üretimini inhibe etmiştir (1,3 mM konsantrasyonunda, %20; 2,6 mM konsantrasyonunda, %40; 13 mM konsantrasyonunda, %80; 26 mM konsantrasyonunda, %95) (33).

*L. japonica*' dan izole edilen klerodan tip diterpenlerin *Leishmania major*'e karşı antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği çalışmada, Linarenon A (IC<sub>50</sub>: 56,7 µM), linarienon (IC<sub>50</sub>: 50,3 µM) ve deasetil-linarienon (IC<sub>50</sub>: 52,7 µM) bileşiklerinin aktif oldukları bildirilmiştir (38).

*Cymbalaria muralis* P. Gaertn., B. Mey. & Scherb. (sinonim: *L. cymbalaria* (L.) Mill.) toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresi orta derecede antimikrobiyal etkili bulunmuştur (*S. aureus*'a karşı 13 mm inhibisyon zonu, *E. coli*'ye karşı 7 mm inhibisyon zonu, *F. oxysporum*'a karşı 13 mm inhibisyon zonu, *P. aruginosa*'a karşı 0 mm inhibisyon zonu) (47).

### 2.2.2.3. Serbest Radikal Süpürücü (Antioksidan) Etki

*L. vulgaris* infüzyonu konsantrasyona bağlı DPPH serbest radikallerini azaltmıştır (IC<sub>50</sub>: 353,85 µg/mL). İnfüzyon konsantrasyona bağlı NO radikali süpürücü aktivite göstermiştir (IC<sub>25</sub>: 68,95 µg/mL). Reaktif oksijen radikallerine (süperoksit, hidroksil radikalleri) karşı da etki görülmüş, güçlü antioksidan etkinin infüzyonun içerdiği flavonoidlerden ileri geldiği düşünülmüştür (41).

*L. scariosa* diklorometan, etil asetat, butanol fraksiyonlarının DPPH, ABTS Radikallerine karşı ve CUPRAC Yöntemiyle antioksidan etkilerinin incelendiği çalışmada, etil asetat fraksiyonunun CUPRAC Yönteminde (A<sub>50</sub>: 21,58 ± 0,77 µg/mL) ve ABTS (IC<sub>50</sub>: 22,28 ± 0,54 µg/mL) radikale karşı en yüksek etki gösterdiği bulunmuştur. DPPH Radikale karşı, diğer fraksiyonlara göre, etil asetat fraksiyonunda daha güçlü etki görülmüştür (IC<sub>50</sub>: 71,64 ± 1,13 µg/mL) (24).

*L. corifolia* toprak üstü kısımlarının diklorometan, etil asetat ve etanol ekstrelerinin DPPH ve Süperoksit Radikallerini Süpürücü etkilerinin araştırıldığı çalışmada, etanol ekstresinin diğer ekstrele göre daha etkili olduğu gözlenmiştir (10).

*L. reflexa* ultrasonik destekli ekstraksiyonla elde edilen (IC<sub>50</sub>: 214,22 ± 4,69 µg/mL) ve hidroalkolik ekstreleri (IC<sub>50</sub>: 856 ± 20,04 µg/mL) konsantrasyona bağlı DPPH Radikalini süpürücü aktivite göstermiştir (7).

*Kickxia aegyptiaca* uçucu yağının 20 mg/mL konsantrasyonunda DPPH (%39,85) ve ABTS (% 33,16) Radikallerini süpürücü etkili olduğu bulunmuştur (50).

*L. scariosa* metanol ekstresi, FTC (Demir tiyosiyanat) testinde, %41,63 ± 0,92 inhibisyon göstermiştir. Ekstrenin, total antioksidan kapasite (0,0047 ± 0,002) ve FRAP (Demir azaltıcı antioksidan güç) testinde

( $0,023 \pm 0,001 \mu\text{g EAA/mg}$  (mg ekstre başına düşen  $\mu\text{g}$  askorbik asit ekivalanı) orta derecede etkisi belirlenmiştir (46).

*L. tinginata* etil asetat ( $\text{IC}_{50}$ :  $82,40 \pm 16 \mu\text{g/mL}$ ) ve kloroform ekstreleri ( $\text{IC}_{50}$ :  $255,40 \pm 8,55 \mu\text{g/mL}$ ) DPPH Radikali Süpürücü etkili bulunmuştur (51). Başka bir çalışmada ise *L. tingitana* *n*-butanol ekstresi farklı antioksidan aktivite testlerinde etkili görülmüştür. Ekstrenin DPPH Radikal Süpürücü,  $\text{Fe}^{+3}$  /ferrosiyandır kompleksi indirgeyici güç, demir şelasyon aktivite tayininde  $\text{IC}_{50}$  değerleri sırasıyla 122,26, 19,39, 113,13  $\mu\text{g/mL}$  olarak hesaplanmıştır.  $\beta$ -karoten inhibisyon testinde ekstrenin 100  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonunda %59,36 inhibisyon tespit edilmiştir (34).

*Cymbalaria muralis* P. Gaertn., B. Mey. & Scherb. (sinonim: *L. cymbalaria* (L.) Mill.) toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresi DPPH radikallerine karşı ( $\text{IC}_{50}$ :  $63,05 \pm 2,64 \mu\text{g/mL}$ ),  $\beta$ -karoten testinde (%  $23 \pm 1$  inhibisyon) ve radikal azaltma testinde ( $\text{EC}_{50}$ :  $24,14 \pm 0,26 \mu\text{g/mL}$ ) antioksidan aktivite göstermiştir (47).

#### 2.2.2.4. Sitotoksik Etki

*L. pyramidata* toprak üstü parçalarının, insan meme karsinoma hücreleri (MCF7) ve *Madin-Darby* böbrek hücrelerine (MDBK) karşı sitotoksik aktivitesinin incelendiği çalışmada, aktivite gözlenmemiştir ( $\text{IC}_{50}$ :  $>50 \mu\text{g/mL}$ ) (48).

*L. reflexa*'dan izole edilen pektolinarin, pektolinarinin hidrolizi ile elde edilen pektolinarigenin bileşikleri ve pektolinarigenin dialkilaminoalkil sentetik türevlerinin sitotoksik aktiviteleri, *in vitro* 7 kanser hücresi hattında (renal adenokarsinoma ACHN, amelanotik melanoma C32, kolorektal adenokarsinoma Caco-2, büyük hücreli akciğer karsinoma COR-L23, malignant melanoma A375, akciğer karsinoma A549 ve hepatoselüler karsinoma Huh-7D12) incelenmiştir. Pektolinarigenin, Caco-2 ( $\text{IC}_{50}$ :  $5,3 \pm 1,8 \mu\text{M}$ ), A549 ( $\text{IC}_{50}$ :  $5,6 \pm 0,9 \mu\text{M}$ ) ve A375 ( $\text{IC}_{50}$ :  $8,2 \pm 1,3 \mu\text{M}$ ) hücre

hatlarında sitotoksik aktivite göstermiştir. Pektolinarigeninin sentetik türevlerinden, 7-*O*-dimetilamino-propoksi türevi bileşik, COR-L23 ve A549 hücre hatlarına karşı en aktif bileşik olarak bulunmuştur [COR-L23 (IC<sub>50</sub>: 7,2 ± 2,2 µM); A549 (IC<sub>50</sub>: 7,4 ± 1,4 µM)]. Test edilen bileşiklerden hiçbirinde deri fibroblast 142BR hücre hattının çoğalmasına karşı selektif aktivite görülmemiştir (52).

*L. reflexa*'dan izole edilen flavonoidler ve türevlerinin antiproliferatif aktiviteleri *in vitro* Sulforhodamin B Testi ile büyük hücreli akciğer karsinoma COR-L23, hepatoselüler karsinoma HepG-2, renal adenokarsinoma ACHN, amelanotik melanoma C32, kolorektal adenokarsinoma Caco-2 ve insan fetal akciğer MRC-5 hücre hatlarına karşı araştırılmıştır. En yüksek sitotoksik aktivite pektolinarin bileşiğinde, COR-L23 (IC<sub>50</sub>: 5,03 ± 2,3 µM), Caco-2 (IC<sub>50</sub>: 6,18 ± 2,2 µM) ve C32 (IC<sub>50</sub>: 7,17 ± 3,2 µM) hücre hatlarına karşı görülmüştür. İzole edilen flavonoidlerden pektolinarinin monoasetil türevlerinden linariin, izolinariin A ve izolinariin B bileşiklerinde de pektolinarin benzeri yüksek aktivite gözlenmiştir. Tüm hidroksil gruplarının asetillenmesinin sitotoksik aktiviteyi azalttığı belirlenmiştir. İzole edilen antirrit ve antirrinozit iridoit bileşiklerinde aktivite görülmemiştir (53).

*L. saxatilis* var. *glutinosa*'dan elde edilen neo-klerodan diterpenleri ve yarısentetik türevlerinin *in vitro* P-388 kemirgen lösemisi, A-549 insan akciğer karsinoma, HT-29 insan kolon karsinoma ve Mel-28 malign insan melanoma hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Tüm bileşiklerde sitotoksik aktivite görülmüştür (IC<sub>50</sub>: 0,2-50 µM). Farklı kanser hücre çeşitlerine karşı düşük seçicilik gözlenmiştir. Yan zincirde tetrahidrofuran halkası taşıyan bileşikler daha aktif ve seçici (seçicilik indeksi >40 µg/mL) bulunmuştur (40).

*L. buriatica*' dan izole edilen linaburiozit A, iridolinarin C, 7-deoksiiridolaktonik asit iridoitlerinin, linaburiozit C, iridolinarin C ve 7-deoksiiridolaktonik asitin metil ester türevlerinin insan kanser hücre hatlarına

(MCF7 ve A549) karşı antiproliferatif etkilerinin değerlendirildiği çalışmada sitotoksik etki görülmemiştir ( $IC_{50} > 100 \mu M$ ) (37).

*L. japonica*'dan izole edilen diterpenlerin insan akciğer kanser hücre hatlarına (A549) karşı sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir. Klerodan tip diterpen yapısındaki linarenon C ( $IC_{50}$ : 51,2  $\mu M$ ), linarenon E ( $IC_{50}$ : 86,5  $\mu M$ ) ve linarienon ( $IC_{50}$ : 79,0  $\mu M$ ) bileşikleri A549 hücrelerine karşı etkili bulunmuştur (38).

*Kickxia aegyptiaca* diklorometan ekstresinin ve izole edilen flavonoid bileşiklerinin antiproliferatif etkileri insan meme (MCF-7) ve kolon (HCT-116) kanseri hücre hatlarına karşı araştırılmıştır. Pektolinarigenin MCF-7 hücrelerine karşı yüksek sitotoksik aktivite (%91,1 inhibisyon) göstermiştir. İzolinarinin (%68,2 inhibisyon), izopektolinarin (%57,5 inhibisyon), ladenin (%65,8 inhibisyon) ve pektolinarin (%58,8 inhibisyon) bileşiklerinin ise karşı orta derecede etkili oldukları bildirilmiştir (27).

Pektolinarin bileşiği çeşitli mesane kanseri hücre hatlarında *in vitro* antikanser etkili bulunmuştur. Bileşiğin en yüksek etkisi 5637 hücre hattına ( $IC_{50}$ : 5,72  $\pm$  0,39) karşı görülmüştür. Bileşiğin *in vivo* gemsitabin ile sinerjik sitotoksik etkisi de belirlenmiştir (54).

#### 2.2.2.5. Anti-asetilkolinesteraz Etki

*L. reflexa* ekstreleri, konsantrasyona bağlı olarak AChE enzimini inhibe etmiştir. En yüksek aktivite etil asetat ekstresinde görülmüştür ( $IC_{50}$ : 185,6  $\pm$  1,2  $\mu g/mL$ ). Bu ekstreten izole edilen liniarin ( $IC_{50}$ : 0,30  $\pm$  0,05  $\mu M$ ), izoliniarin A ( $IC_{50}$ : 0,27  $\pm$  0,02  $\mu M$ ) ve izoliniarin B ( $IC_{50}$ : 0,28  $\pm$  0,03  $\mu M$ ) flavonoidleri yüksek aktivite göstermiştir. Flavonoid yapısında bulunan ramnoglikoz varlığının, asetilkolinesteraz inhibitör aktivitede önemli rol oynayabileceği düşünülmüştür. Etil asetat ekstresinden sonra, *n*-hekzan ( $IC_{50}$ : 220,7  $\pm$  1,8  $\mu g/mL$ ) ekstresinin metanol ekstresine ( $IC_{50}$ : 241,0  $\pm$  1,6  $\mu g/mL$ ) göre daha etkili olduğu belirlenmiştir (55).

*L. scariosa* diklorometan, etil asetat ve butanol ekstralarının AChE ve BChE enzim inhibitör etkilerinin araştırıldığı çalışmada galantamin standart olarak kullanılmıştır. Butanol ekstresinin asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesi diğer ekstrele göre daha yüksek bulunmuştur (IC<sub>50</sub>: 75,47 ± 3,5 µg/mL; Galantamin: IC<sub>50</sub>: 6,27 ± 1,15 µg/mL). Butanol ekstresi pektolarinin içerdiği için yüksek aktivite gösterdiği düşünülmüştür. Diklorometan ekstresinde ise daha yüksek bütirikolinesteraz inhibitör etki görülmüştür (IC<sub>50</sub>: 96,02 ± 0,69 µg/mL; Galantamin: IC<sub>50</sub>: 34,75 ± 1,99 µg/mL). Ekstrenin α-linolenik ve palmitik asit gibi yağ asitleri taşıdığı için, yüksek inhibitör etkili olabileceği yorumlanmıştır (24).

#### 2.2.2.6. Anti-Diyabetik Etki

*L. kurdica*'dan izole edilen antirrit, antirrinozit, 5-O-β-allozilantirrinozit iridoitleri, linariin ve linarin flavonoidlerinin *in vitro* α-glukozidaz inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır. İridoit bileşikler konsantrasyona bağlı inhibitör aktivite göstermiştir. Antirrit en yüksek aktiviteli bileşik olarak belirlenmiştir (IC<sub>50</sub>: 0,14 ± 0,02 mg/mL). Antirrit bileşikten sonra 5-O-β-allozilantirrinozit (IC<sub>50</sub>: 0,19 ± 0,02 mg/mL) ve antirrinozit (IC<sub>50</sub>: 0,19 ± 0,03 mg/mL) yüksek aktivite göstermiştir (Akarboz IC<sub>50</sub>: 0,39 ± 0,015 mg/mL). Flavonoid bileşiklerinin aktivitesi iridoit bileşiklerine göre daha düşük bulunmuştur (56).

*L. reflexa* ultrasonik destekli ekstraksiyonla elde edilen ve hidroalkolik ekstraları alloxan ile indüklenen diyabetik sıçanlarda (doz: 300 mg/kg/ günde 2 kez, 2 hafta boyunca) kan şekerini önemli ölçüde düşürmüştür. Ultrasonik destekli ekstrenin aktivitesi (%72,09) daha yüksek belirlenmiştir (Glibenklamid %63,29) (7).

*Kickxia ramosissima* 'dan izole edilen iridoit, flavonoid bileşikler ve fenolik bileşikin *in vitro* α-glukozidaz inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiştir. İridoit bileşikler düşük aktivite göstermiştir, en yüksek aktivite linariozit bileşiginde (%29 inhibisyon) görülmüştür. Flavonoid bileşikler ise iridoitlerle karşılaştırıldığında yüksek aktivite göstermiştir.

Pektolinarigenin bileşğinde en yüksek aktivite ( $IC_{50}$ : 0,23 mM), pektolinarin bileşğinde orta derecede aktivite (%48 inhibisyon) bulunmuştur. 4-hidroksi-benzoik asit metil ester bileşğinde ise %47 inhibisyon görülmüştür. *K. ramosissima*'nın diyabette geleneksel kullanımının esas olarak pektolinarigenin bileşiğinin etkisinden kaynaklandığı düşünülmüştür (25).

Farklı zamanlarda (Nisan, Haziran aylarında) toplanan *L. aegyptiaca* toprak üstü parçalarının hekzan, diklorometan, aseton ve metanol ekstralarının *in vitro*  $\alpha$ -glukozidaz ve  $\alpha$ -amilaz inhibitör etkileri araştırılmıştır. Tüm ekstralar her iki enzime karşı inhibitör aktivite göstermiştir, Haziran ayında toplanan bitkinin aseton ekstresi ise en yüksek  $\alpha$ -amilaz inhibitör aktivite ( $IC_{50}$ : 95,03  $\mu$ g/mL) göstermiştir (57).

*L. ramosissima*'nın halk arasında diyabet tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir. Streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanlara 21 gün boyunca bitkinin %70 metanol ekstresi uygulanmıştır. 21 gün sonunda 200 mg/kg konsantrasyonunda %27,3, 400 mg/kg konsantrasyonunda %34,9 kan şekeri düşürücü etki görülmüştür (Glibenklamid 10 mg/kg konsantrasyonunda % 37,6). Pankreas histopatoloji sonuçlarına göre ekstrenin kan şekerini düşürücü etkisi doğrulanmıştır (58).

#### 2.2.2.7. Diğer Etkiler

*L. vulgaris* ekstraları ve bitkiden izole edilen *p*-kumarik asit, linarin, linariin, akasetin ve linariozit bileşiklerinin antialerjik etkili oldukları bildirilmiştir (1).

*L. vulgaris*'in UV-B radyasyonuna karşı koruyucu etkisi bulunmuştur, bitkinin içerdiği flavonoidlerin bu etkiyi destekleyen bileşikler olduğu belirlenmiştir (59).

*L. vulgaris*'ten izole edilen linarinik asit ve sentetik türevlerinin *in vivo* alerji önleyici etkileri değerlendirilmiştir. Tavuk yumurtası beyazı



lizozomu (HEL) enjekte edilen farelerde kan akışının azalmasına göre etki belirlenmiştir. Linarinik asit 10 ve 20 mg/kg konsantrasyonunda, sentetik türevleri 50 µmol/kg konsantrasyonunda oral olarak uygulanmıştır. Linarinik asit (yaklaşık %70), brom, ester ve amit türevleri kan akışının azalmasını önemli miktarda inhibe etmiştir (60).

*L. vulgaris*'in içerdiği flavonoidlerin *in vitro* lipit birikimini inhibe ettiği bildirilmiştir. Pektolinarin, izolinarin A ve B flavonoidleri bakımından zengin bitkinin %70 etanol fraksiyonunun, batı tipi diyetle indüklenen hiperlipidemi ve karaciğer yağlanmasına karşı *in vivo* koruyucu etkisi bulunmuştur. Flavonoidlerin lipit düşürücü etkilerinin A halkasında bulunan metoksil grubundan kaynaklandığı düşünülmüştür (61).

*L. ramosissima* halk arasında diüretik olarak kullanılmaktadır. *L. ramosissima* yaprakları, 450 mg/kg konsantrasyonunda sıçanlara uygulandığında, idrar hacmini önemli ölçüde artırmamış, üriner elektrolit atılımını ise önemli ölçüde azaltmıştır (62).

*L. genistifolia* toprak üstü kısımlarından hazırlanan sulu ekstrenin, genotoksik ve mutajenik etkileri *Allium cepa* kök meristematik hücreleri ve Bakteriyel Ters Mutasyon Testi kullanılarak araştırılmıştır. Ekstre genotoksik etkili bulunmuş, mutajenik etki ise görülmemiştir (63).

*L. saxatilis*'den izole edilen neo-klerodan diterpenoidlerin ve bazı yarısentetik türevlerinin antifeedant etkileri araştırılmıştır. Bileşiklerin antifeedant etkileri konsantrasyona bağlı bulunmuştur. Yapıda bulunan dekalin ve 4,18-epoksi/diol ünitelerinin aktivitede önemli rol oynadığı düşünülmüştür (64).

*L. scariosa* metanol ekstresinin *in vitro* hemostatik etkisi, rekalsifikasyon zamanının ölçülmesiyle değerlendirilmiştir. Ekstrenin hemostaz indükleyici etkisi nedeniyle konsantrasyona bağlı kan pıhtılaşma süresini kısalttığı belirlenmiştir (46).

*L. scariosa* metanol ekstresinin *in vitro* fotoprotektif aktivitesi, güneş koruma faktörünün (SPF) hesaplanmasıyla belirlenmiştir. Ekstrenin güneş koruma faktörü  $38,46 \pm 0,22$  olarak hesaplanmıştır (46).

*L. reflexa* petrol eteri, kloroform, etil asetat ve *n*-butanol ekstralarının *in vitro* hemostatik etkileri koagülasyon zamanının ölçülmesiyle araştırılmıştır. *n*-Butanol ekstresi 10 mg/mL (koagülasyon zamanı: 60 saniye) ve 20 mg/mL (koagülasyon zamanı: 45 saniye) konsantrasyonlarında en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Ekstrenin yüksek oranda içerdiği flavonoit glikozitlerine bağlı olarak aktif olabileceği düşünülmüştür (28).

*L. tingitana* *n*-butanol ekstresinin *in vivo* karaciğer koruyucu etkisi valproik asit uygulanan sıçanlarda araştırılmıştır. Ekstre 14 gün boyunca 200 mg/kg konsantrasyonunda oral olarak verilmiş, valproik asit ise 400 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Ekstrenin valproik asitle indüklenen hepatotoksisiteye karşı, GSH (% 76,59), GSH bağımlı enzimlerin (GPX; %59,39, GR; %47,92, % 51,17) ve karaciğer biyokimyasal parametrelerinin (ALT, AST, ALP, LDH, TB) düzeyini azalttığı belirlenmiştir (65).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Fitokimyasal Çalışmalar

##### 3.1.1. Bitkisel Materyal

*Linaria corifolia* Desf. bitkisi, 2020, 2021 yılları, Haziran ayında, Ankara ili, Elmadağ ilçesi, Tatlıca dağlık alandan toplanmıştır. Bitkinin tür tayini, Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Dilek Ercil ve Farmasötik Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Zekiye Ceren Arıtuluk Aydın tarafından yapılmıştır. Toplanan bitkisel materyale ait herbaryum örneği, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda saklanmaktadır (HUEF 21022).

Bitkinin açık havada ve gölgede kurutulmuş toprak üstü kısımları üzerinden fitokimyasal çalışmalar yürütülmüştür.

##### 3.1.2. Kromatografik Yöntemler

Çalışmalarımızda, bitkinin toprak üstü kısımları kullanılarak, %20 sulu-metanol ekstresi elde edilmiştir. Bu ekstre sırasıyla etil asetat ve *n*-butanol ile sıvı-sıvı fraksiyonlama işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen alt ekstreler ayrı ayrı ön fraksiyonlanmıştır. Bu fraksiyonlarda bulunan maddelerin izolasyon işlemlerinde, dolgu materyali olarak normal faz silika jel, Sefadeks ve ters faz silika jelin kullanıldığı kromatografik yöntemlerden yararlanılmıştır. Ön fraksiyonlama işlemlerinde fraksiyonlar 10-20 mL olarak toplanmıştır. Saflaştırma aşamasında ise fraksiyon hacimleri 5-10 mL' ye düşürülmüştür. Fraksiyonların takibi, farklı solvan sistemleri kullanılarak ince tabaka kromatografisiyle (İTK) yapılmıştır.

### 3.1.2.1. Silika jel Kolon Kromatografisi (Silika jel KK)

Çalışmalarımız sırasında, alt ekstrelerin ön fraksiyonlanması amacıyla silikajel kolon kromatografisi kullanılmıştır.

**Dolgu Materyali:** Silika jel (Kiesegel 60, 70-230 mesh, 0,063-0,2 mm, Merck 7734)

**Solvan Sistemleri:** CHCl<sub>3</sub>: MeOH (90:10, 85:15, 82,5:17,5, 50:50)

**Kolonun Hazırlanması:** Tatbik edilecek madde miktarına göre miktarı hesaplanan silika jel, elüsyona başlanacak solvan sistemi ile süspande edilmiştir. Bu karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan cam kolona aktarılmıştır. Dolgu materyalinin yerleşmesi için, yeterli miktarda solvan sistemi kolondan geçirilmiştir. Adsorbanın üzerinde birkaç mm solvan kalınca, numune tatbik edilmiştir.

#### Numune Tatbiki

**a) Yaş (Çözücü Yardımı ile) Tatbik:** Numune, elüsyona başlanacak solvan sisteminin uygun miktarında çözülmüştür. Pastör pipeti kullanılarak kolona tatbik edilmiştir. Kolonun musluğu açılıp çözeltinin tamamının adsorbana geçişi sağlanmıştır. Yüzeyin bozulmasını önlemek için, tatbikten sonra silika jelin üzerine pamuk yerleştirilmiştir. Solvan sistemi ilave edilerek elüsyona başlanmıştır.

**b) Kuru Tatbik:** Numune, 1-2 mL çok iyi çözüldüğü bir solvanın içinde çözülmüştür. Kolondaki adsorban ve tatbik edilecek numune miktarları da göz önünde tutularak, yeterli miktarda adsorban ile karıştırılmıştır. Adsorbanın çözeltiyi tamamen adsorbe etmesi ve oda sıcaklığında tam olarak kuruması sağlanmıştır. Kuru toz halde bulunan karışım üzerinde birkaç cm solvan bırakılan kolona aktarılmıştır. Adsorban yüzeyinin bozulmasını

engellemek amacıyla karışım üzerine pamuk yerleştirilmiştir. Uygun miktarda solvan sistemi ilave edilerek elüsyona başlanmıştır.

### **3.1.2.2. Sefadeks Kolon Kromatografisi (Jel Filtrasyon) (Sefadeks KK)**

İridoit glikozitlerini, flavonoitleri diğer bileşiklerden ayırabilmek amacıyla Sefadeks kolon kromatografisinden (jel filtrasyon) yararlanılmıştır.

**Dolgu Materyali:** Sephadex LH-20

**Kolon:** Cam kolon (3 cm x 42,5 cm)

**Solvan Sistemleri:** MeOH

**Kolonun Hazırlanması:** 70 g Sephadex LH-20 yeterli miktarda MeOH ile karıştırılıp kısa bir süre şişmeye bırakılmıştır. Karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan cam kolona aktarılıp, adsorban tamamen yerleşinceye kadar kolondan MeOH geçişi sağlanmıştır.

**Numune Tatbiki:** Uygun miktarda MeOH içinde çözülen numune bir pastör pipeti yardımıyla üzerinde birkaç mm solvan bırakılan kolona tatbik edilmiştir. Yüzeyin bozulmasını önlemek amacıyla pamuk yerleştirilmiştir. MeOH ilavesiyle elüsyona başlanmıştır.

### **3.2.3.3. Vakumlu Sıvı Kromatografisi (VSK)**

Sefadeks kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlardaki polariteleri birbirine çok yakın olan maddelerin ayrımında; vakumlu sıvı kromatografisi (VSK) yöntemi kullanılmıştır.

**Dolgu Materyali:** LiChroprep C<sub>18</sub> (23-40 µm, Merck)

**Kolon:** Cam kolon (2,5 cm x 50 cm)

**Solvan Sistemleri:** MeOH-H<sub>2</sub>O (%10-100 MeOH)

**Kolonun Hazırlanması:** Uygun miktarda adsorban metanol ile karıştırılıp, alt ucu pamuk yardımı ile kapatılmış cam kolona aktarılmıştır. Kolon; ilk olarak yeterli miktarda su, sonra da elüsyona başlanacak solvan sistemi geçirilerek şartlandırılmıştır.

**Numune Tatbiki:** Numune, 1-2 mL elüsyona başlanacak solvan sisteminde çözülüp, bir pastör pipeti yardımıyla kolona tatbik edilmiştir. Kolonun alt ucu vakum erleninin kapak mantarının içinden geçirilmiş ve mantar kapatılarak kolonun erlene tam olarak oturtulması sağlanmıştır. Vakum açılarak numune adsorbana absorbe edilmiştir. Daha sonra kolonun üst tarafına pamuk yerleştirilmiş ve kolona solvan sistemi ilave edilmiştir. Vakum erleni içerisine fraksiyon toplamak için tüp yerleştirilmiştir. Vakum açılarak elüsyona başlanmıştır.

### 3.2.3.4. İTK

Kromatografi çalışmalarına başlamadan planlama aşamalarında, toplanan fraksiyonların izlenmesi sırasında, saflaştırma aşamalarında çalışılan örneklerin birbirleri ile karşılaştırılması amacıyla kullanılmıştır. Alüminyum tabanlı plaka üzerine kaplanmış normal ve ters fazlı silika jel plaklardan yararlanılmıştır.

**Adsorban:** Silika jel (Alüminyum tabanlı hazır plak, Kiesegel 60 F<sub>254</sub>, 0,20 mm, Merck, Art.5554), (Alüminyum tabanlı hazır plak, RP<sub>18</sub> F<sub>254</sub>, Merck)

**Solvan Sistemleri:** CHCl<sub>3</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O (61:32:7, 80:20:2)

EtOAc:MeOH:H<sub>2</sub>O (100:16,5:13,5), MeOH:H<sub>2</sub>O (90:10, 70:30, 50:50, 30:70, 10:90)

**Numune Tatbiki:** Numuneler, pastör pipeti yardımı ile plağın alt ucunun 1 cm yukarısında olacak şekilde tatbik edilmiştir.

**Sürüklenme Mesafesi:** 7-10 cm

**Lekelerin Belirlenmesi:**

- 1) UV 254 ve 366 nm'de (Camag UV Lambası) gözlenen floresanstan yararlanılmıştır.
- 2) Revelatör olarak vanilin derişik sülfirik asitteki %1'lik çözeltisi püskürtülmüş, 105-110 °C'de 1-2 dakika ısıtma işlemi uygulanmıştır.

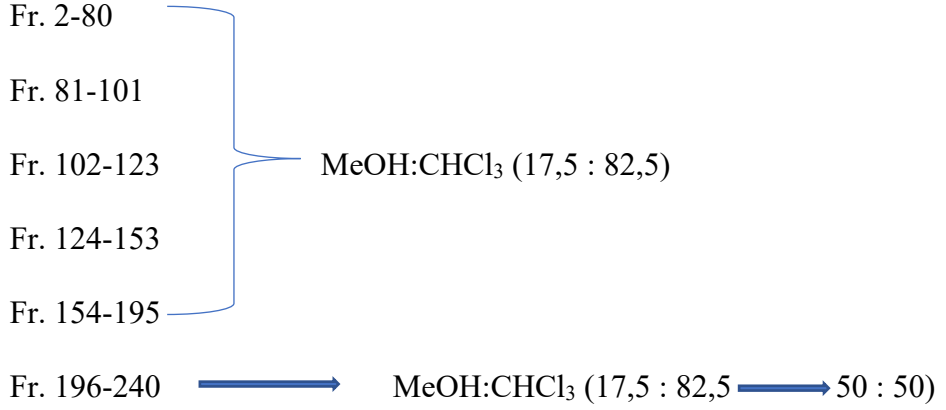
**3.1.3. Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları**

**Ekstraksiyon**

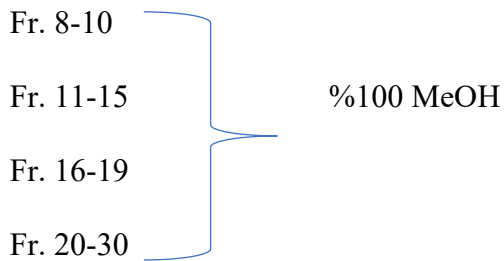
*L. corifolia* bitkisinin açık havada ve gölgede kurutulan toprak üstü kısımları (899,22 g) toz edilip %20 sulu-metanol ile bir gece maserasyona bırakılmıştır. Ertesi gün 40°C'de, ekstre edilmiş, ekstraksiyon işlemi 4 kez tekrarlanmıştır. Ekstreler birleştirilmiş ve rotavaporda kuruluğa kadar uçurulduktan sonra liyofilize edilmiştir. Liyofilize sulu metanol ekstresi 75,77 g tartılmış, verim %8,43 olarak hesaplanmıştır. 74,70 g liyofilize *L. corifolia* ekstresi klorofil ve lipit gibi maddelerin uzaklaştırılması için petrol eteri ile ekstre edilmiştir (9x350 mL). Toplanan petrol eteri fazlarından petrol eteri rotavaporla uçurulmuş, 1,13 g petrol eteri alt ekstresi elde edilmiştir. Petrol eteri partisionundan kalan sulu faz sırası ile kloroform, etil asetat ve *n*-butanol ile fraksiyonlanmıştır. Petrol eteri partisionundan kalan sulu faz, kloroform ile fraksiyonlanmış (4x150mL), 523,6 mg kloroform alt ekstresi elde edilmiştir. Bu ekstraksiyondan kalan sulu faz etil asetat ile fraksiyonlanmış (17x150mL), 4,07 g (liyofilize) etil asetat alt ekstresi elde edilmiştir. Bu ekstraksiyondan kalan sulu faz *n*-butanol ile fraksiyonlanmış (15x100 mL), 13,32 g (liyofilize) *n*-butanol alt ekstresi elde edilmiştir. Etil asetat ve *n*-butanol alt ekstreleri üzerinden izolasyon işlemleri yürütülmüştür.

## İzolasyon Çalışmaları

*L. corifolia* *n*-butanol alt ekstresi ön fraksiyonlama amacıyla Silika jel ile hazırlanmış kolona tatbik edilmiştir. Elüsyona %10 MeOH-CHCl<sub>3</sub> ile başlanmış, sırasıyla %17,5 ve %50 oranlarıyla devam edilmiştir. Elüsyon sonucunda aşağıdaki fraksiyonlar elde edilmiştir.

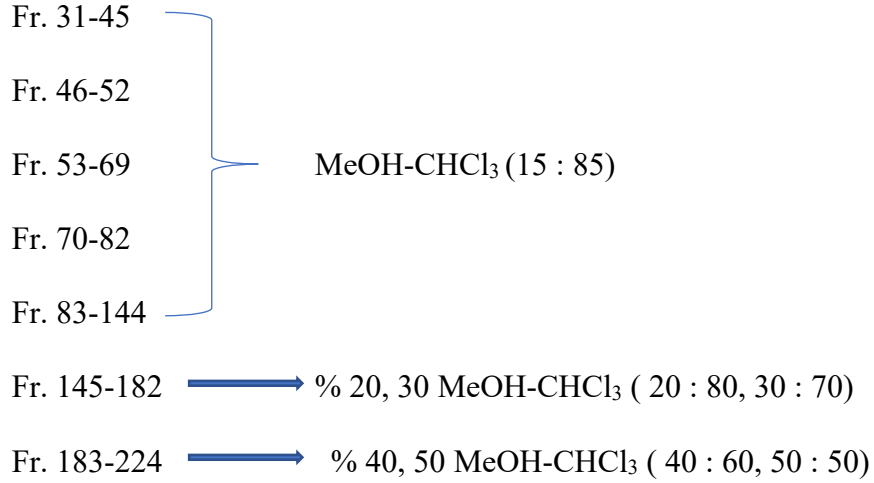


*L. corifolia* etil asetat alt ekstresi ön fraksiyonlama amacıyla Silika jel ile hazırlanmış kolona tatbik edilmiştir. Fraksiyonlar toplanmaya devam edilirken, kolon kırılmış, esas olarak alınması hedeflenen fenilpropanoit ve iridoit glikozitlerini içeren kısım elde edilememiştir. Bunun üzerine aktivite için ayrılan alt ekstre, Sefadeks ile hazırlanmış kolona tatbik edilmiştir. Elüsyon %100 MeOH ile yapılmıştır. Elüsyon sonucunda aşağıdaki fraksiyonlar elde edilmiştir.





*L. corifolia* etil asetat alt ekstresinin çok sayıda madde içermesi ve elde edilen madde miktarlarının düşük olması nedeniyle, yeniden hazırlanan etil asetat alt ekstresi ön fraksiyonlama amacıyla silika jel ile hazırlanmış kolona tatbik edilmiştir. Elüsyona %10 MeOH-CHCl<sub>3</sub> ile başlanmış, sırasıyla %15, %20, %30, %40 ve %50 MeOH-CHCl<sub>3</sub> solvan sistemleriyle devam edilmiştir. Elüsyon sonucunda aşağıdaki fraksiyonlar elde edilmiştir.



*L. corifolia*'nın silika jel ve Sefadeks kolon fraksiyonları üzerinden yürütülen izolasyon çalışmaları sonucunda *n*-butanol alt ekstresinden elde edilen LCB kodu verilen LCB1, LCB2, LCB3, LCB4; etil asetat alt ekstresinden elde edilen LCE kodu verilen LCE1, LCE2, LCE3 ve LCE4 olmak üzere toplam 8 bileşik izole edilmiştir.

### ***L. corifolia*'dan İzole Edilen Bileşikler**

**LCB1:** Silika jel kolon kromatografisi (KK)'nden elde edilen Fr. 81-101 Sefadeks KK'na tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan fraksiyonlardan Fr. 8, MeOH-H<sub>2</sub>O (10:90, 20:80) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona uygulanmıştır. Elde edilen 19-24 numaralı fraksiyon, **LCB1** (24,8 mg) bileşiği olarak kaydedilmiştir.

Silika jel KK'dan elde edilen Fr. 81-101 Sefadeks KK'na tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan fraksiyonlardan Fr. 9, MeOH-H<sub>2</sub>O (10:90, 20:80) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona uygulanmıştır. Elde edilen 21-24 numaralı fraksiyon, **LCB1** (12,5 mg) bileşiği olarak kaydedilmiştir.

Silika jel KK'dan elde edilen Fr. 102-123 Sefadeks KK'na tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan fraksiyonlardan Fr. 7-8, MeOH-H<sub>2</sub>O (10:90) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona uygulanmıştır. Elde edilen 18-21 numaralı fraksiyon, **LCB1** (15,1 mg) bileşiği olarak kaydedilmiştir.

Silika jel KK'dan elde edilen Fr. 124-153 Sefadeks KK'na tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan fraksiyonlardan Fr. 7-8, MeOH-H<sub>2</sub>O (10:90, 20:80) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona uygulanmıştır. Elde edilen 23-26 numaralı fraksiyon, **LCB1** (6,8 mg) bileşiği olarak kaydedilmiştir.

Silika jel KK'dan elde edilen Fr. 154-195 Sefadeks KK'na tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan fraksiyonlardan Fr. 7-8, MeOH-H<sub>2</sub>O (10:90, 20:80, 30:70) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona uygulanmıştır. Elde edilen 27-30 numaralı fraksiyon, **LCB1** (4,2 mg) bileşiği olarak kaydedilmiştir.

**LCB2:** Silika jel KK'dan elde edilen Fr. 102-123 Sefadeks KK'na tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan fraksiyonlardan Fr. 7-8, MeOH-H<sub>2</sub>O (10:90) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona uygulanmıştır. Elde edilen 13 ve 14 numaralı fraksiyonlar, **LCB2** (8,3 mg) bileşiği olarak kaydedilmiştir.

**LCB3:** Silika jel KK'dan elde edilen Fr. 124-153 Sefadeks KK'na tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan fraksiyonlardan Fr. 7-8, MeOH-H<sub>2</sub>O (10:90, 20:80) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona

uygulanmıştır. Elde edilen 10-11 numaralı fraksiyon, **LCB3** (17,6 mg) bileşiği olarak kaydedilmiştir.

Silika jel KK'dan elde edilen Fr. 154-195 Sefadeks KK'na tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan fraksiyonlardan Fr. 7-8, MeOH-H<sub>2</sub>O (10:90, 20:80, 30:70) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona uygulanmıştır. Elde edilen 12-15 numaralı fraksiyon, **LCB3** (6,8 mg) bileşiği olarak kaydedilmiştir.

**LCB4:** Silika jel KK'dan elde edilen Fr. 124-153 Sefadeks KK'na tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan fraksiyonlardan Fr. 7-8 MeOH-H<sub>2</sub>O (10:90, 20:80) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona uygulanmıştır. Elde edilen 18-20 numaralı fraksiyon, **LCB4** (6,6 mg) bileşiği olarak kaydedilmiştir.

*n*-Butanol alt ekstresinden elde edilen fraksiyonlar ve saf bileşikler Şekil 3.1'de verilmiştir.

**LCE1:** Sefadeks KK'dan elde edilen Fr. 8-10 MeOH-H<sub>2</sub>O (5:95, 10:90, 15:85, 25:75, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan 92-102 numaralı fraksiyon, **LCE1** (12 mg) bileşiği olarak kaydedilmiştir.

**LCE2:** Sefadeks KK'dan elde edilen Fr. 8-10 MeOH-H<sub>2</sub>O (5:95, 10:90, 15:85, 25:75, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan 190-194 numaralı fraksiyon, **LCE2** (2 mg) bileşiği olarak kaydedilmiştir.

Sefadeks KK'dan elde edilen Fr. 11-15 MeOH-H<sub>2</sub>O (30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan 67-68 numaralı fraksiyon, **LCE2** (28,9 mg) bileşiği olarak kaydedilmiştir.

Silika jel KK'dan elde edilen Fr. 46-52 EtOAc:MeOH:H<sub>2</sub>O (100:16,5:13) solvan sistemi kullanılarak silika jel kolona tatbik edilmiştir.

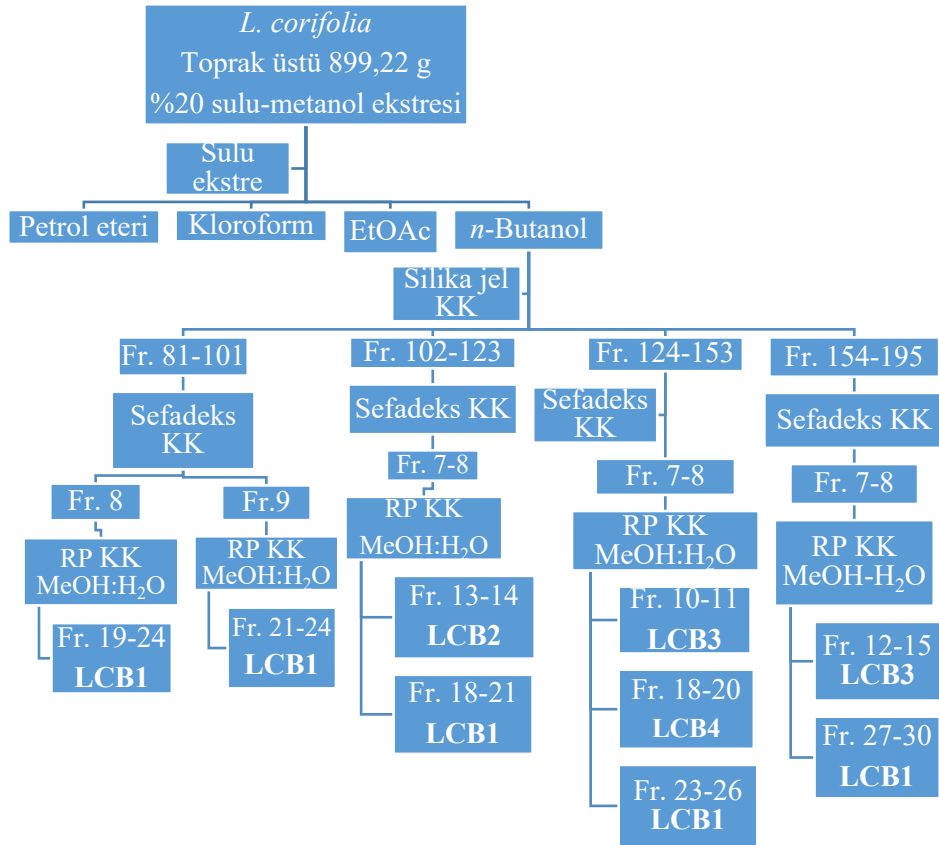
Bu kolondan toplanan 16-26 numaralı fraksiyon, **LCE2** (7,2 mg) bileşigi olarak kaydedilmiştir.

**LCE3:** Sefadeks KK'dan elde edilen Fr. 11-15 MeOH-H<sub>2</sub>O (30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan 33-34 numaralı fraksiyon, **LCE3** (4,3 mg) bileşigi olarak kaydedilmiştir.

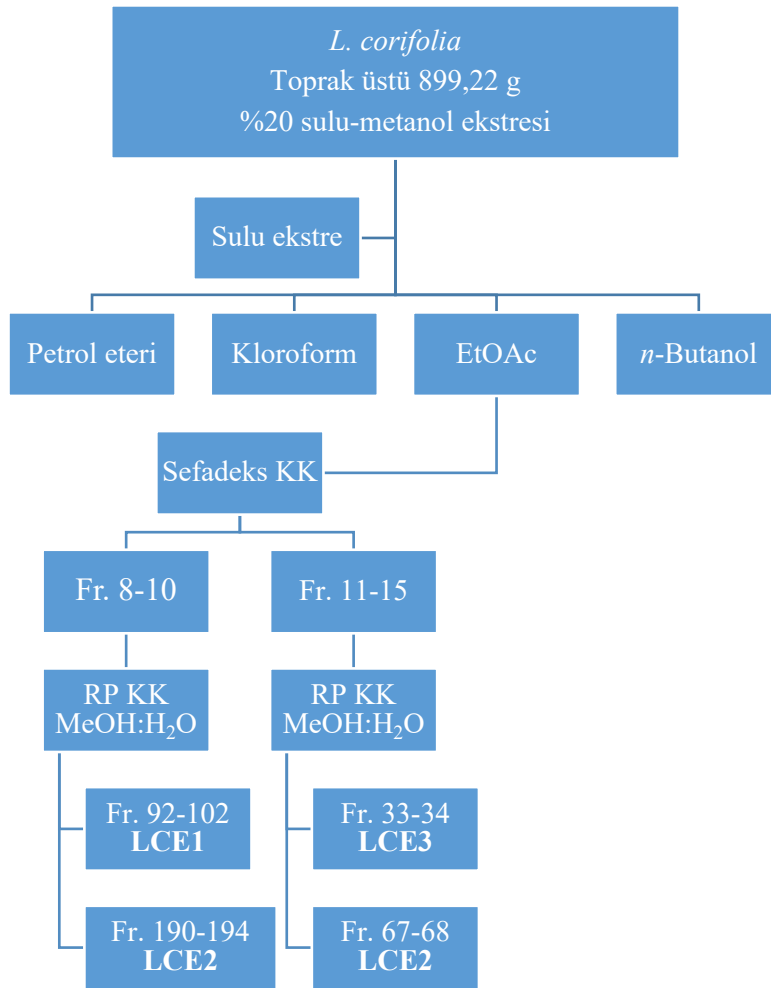
**LCE4:** Silika jel KK'dan elde edilen Fr. 83-144 Sefadeks KK'na tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan fraksiyonlardan Fr. 5-7 MeOH-H<sub>2</sub>O (10:90, 20:80, 25:75, 30:70, 35:65, 40:60, 50:50) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona uygulanmıştır. Elde edilen 14-16 numaralı fraksiyon, **LCE4** (3 mg) bileşigi olarak kaydedilmiştir.

Silika jel KK'dan elde edilen Fr. 83-144 Sefadeks KK'na tatbik edilmiştir. Bu kolondan toplanan fraksiyonlardan Fr. 8-25 MeOH-H<sub>2</sub>O (10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50) solvan sistemi kullanılarak ters faz silika jel kolona uygulanmıştır. Elde edilen 15-18 numaralı fraksiyon, **LCE4** (1,1 mg) bileşigi olarak kaydedilmiştir.

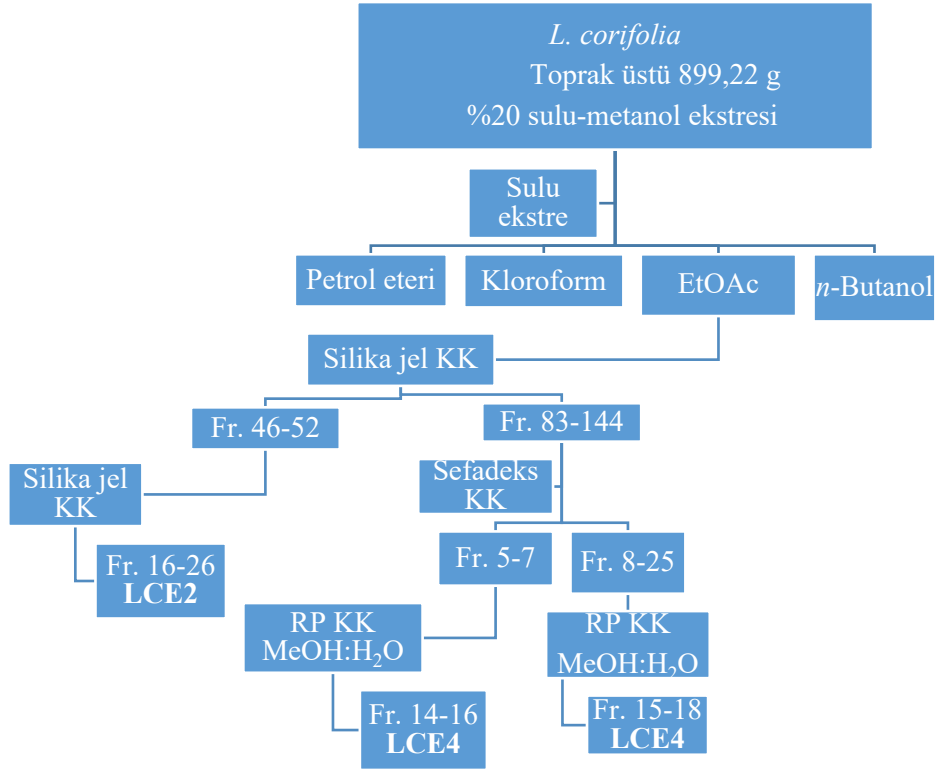
Etil asetat alt ekstresinden elde edilen fraksiyonlar ve saf bileşikler Şekil 3.2. ve Şekil 3.3.'de verilmiştir.



**Şekil 3.1.** *L. corifolia* *n*-BuOH alt ekstresi izolasyon şeması (RP KK: Ters Faz Kolon Kromatografisi)



**Şekil 3.2.** *L. corifolia* etil asetat alt ekstresi izolasyon şeması I



**Şekil 3.3.** *L. corifolia* etil asetat alt ekstresi izolasyon şeması II

### 3.1.4. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini

#### Folin – Ciocalteu Yöntemi

*Linaria* türleri, flavonoid glikozitleri, fenolik asitler, fenilpropanoit glikozitleri gibi fenolik bileşikler içermektedir.

*L. corifolia* ekstralarının toplam fenolik madde içeriğinin araştırılması için Folin-Ciocalteu Yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde standart olarak genellikle gallik asit kullanılır, sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak kuru bitki ekstresinin 1 gramında bulunan toplam fenolik bileşik miktarının mg cinsinden hesaplanmasıyla mg GAE / g olarak verilmektedir (66, 67).

Fenolik bileşik miktar tayininde gallik asit standart olarak kullanılmıştır. Gallik asitin 25, 50, 100, 200, 400 mg/L konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır. *L. corifolia* %20 sulu metanol (Lc %20 sulu-metanol) ekstresi, petrol eteri (Lc petrol eteri), kloroform (Lc kloroform), etil asetat (Lc etil asetat) ve *n*-butanol (Lc *n*-butanol) alt ekstralarının 1 mg/mL konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden 400 µg/mL konsantrasyonda çözeltiler hazırlanarak, toplam fenolik içerik belirlenmiştir. Gallik asit ve numunelerden 10'ar µL kuyucuklara mikropipet vasıtasıyla aktarıldıktan sonra, 150 µL Folin-Ciocalteu (fosfomolibdat + fosfotungstat) reaktifi (1:4 folin: su) ve 3 dk. sonra 50 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2:3 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: su) çözeltisi ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 2 saat inkübasyonun ardından 725 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır.

Gallik asidin farklı konsantrasyonlarına karşı absorbans değerlerini içeren gallik asit standart eğrisi çizilmiştir. Doğru denklemden yararlanılarak toplam fenolik bileşik miktarı bulunmuştur.



### 3.1.5. Toplam Flavonoit İçerik Miktar Tayini

*L. corifolia* ekstrelerinin toplam flavonoit miktar tayini, *Mishra* ve arkadaşları tarafından belirtilen metoda göre bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir (68).

Çalışmamızda kersetin standart olarak kullanılmış, kersetinin 10, 50, 100 ve 200 mg/L konsantrasyonlarda zelteleri hazırlanmıştır. *L. corifolia* %20 sulu metanol (Lc %20 sulu-metanol) ekstresi, petrol eteri (Lc petrol eteri), kloroform (Lc kloroform), etil asetat (Lc etil asetat) ve *n*-butanol (Lc *n*-butanol) alt ekstrelerinin 1 mg/mL konsantrasyonda stok zelteleri hazırlanmıştır. Bu stok zeltelerden 200 µg/mL konsantrasyonda zelteler hazırlanarak, toplam flavonoit miktarı belirlenmiştir. Kersetin ve numunelerden 240'ar µL kuyucuklara mikropipet vasıtasıyla aktarıldıktan sonra, 40 µL %5 NaNO<sub>2</sub> eklenmiştir, karışım 25 °C'de 6 dk inkübe edilmiştir. Daha sonra 40 µL %10 AlCl<sub>3</sub>, 400 µL 1 M NaOH ve 280 µL %30 etanol ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 15 dk inkübasyonun ardından 510 nm'de absorbans ölümü yapılmıştır.

Kersetinin farklı konsantrasyonlarına karşı absorbans değerlerini içeren kersetin standart eğrisi çizilmiştir. Doğru denkleminde yararlanılarak toplam flavonoit miktarı bulunmuştur. Sonuçlar kersetin eşdeğeri olarak (mg kersetin/g) olarak verilmiştir [Kuru bitki ekstresinin 1 gramında bulunan toplam flavonoit miktarınının mg cinsinden hesaplanmasıyla mg kersetin / g olarak ifade edilmektedir.]

## 3.2. Biyolojik Etki Çalışmaları

### 3.2.1. Serbest Radikal Süpürücü (Antioksidan) Aktivite Tayini

*L. corifolia* ekstrelerinin DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), ABTS [2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)] radikallerini süpürücü aktiviteleri ve CUPRAC (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite) yöntemi ile antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır.

Deneylerin sonunda, konsantrasyona karşı % radikal süpürücü etkinlik grafikleri çizilmiştir. IC<sub>50</sub> değerleri, eğrilerin doğrusal regresyon denkleminde göre hesaplanmıştır.

#### 3.2.1.1. DPPH Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini

DPPH radikali süpürücü etkinlik, DPPH radikalinin mor renkli metanol çözeltisinin antioksidanlar varlığında renksiz ya da hafif sarıya dönüşen renk değişiminin spektroskopik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır. *L. corifolia* %20 sulu metanol (Lc %20 sulu-metanol) ekstresi, petrol eteri (Lc petrol eteri), kloroform (Lc kloroform), etil asetat (Lc etil asetat) ve *n*-butanol (Lc *n*-butanol) alt ekstrelerinin 1 mg/mL konsantrasyonunda stok çözeltileri hazırlanmıştır. Stok çözeltilerden 50, 100, 200 ve 400 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanarak DPPH radikalini süpürücü aktiviteleri araştırılmıştır. Standart bileşik olarak askorbik asit (AA) kullanılmıştır. Ekstreler ve standart bileşiğin farklı konsantrasyonlarda hazırlanan metanollü çözeltilerinden 200'er µL alınarak, üzerine 50'şer µL 1 mM DPPH ilave edilerek çalkalanmıştır. 30 dakika karanlıkta bekletildikten sonra 517 nm'de absorbansları ölçülmüştür.

Radikal süpürücü etkinlik, sadece DPPH ve metanol içeren çözeltinin [kör] absorbansının, numuneleri içeren çözeltilerin absorbanslarıyla karşılaştırılması sonucu belirlenmiştir (69, 70).

### 3.2.1.2. ABTS Radikalini Süpürücü Etki Tayini

ABTS radikalini süpürücü etki, ABTS ile potasyum persülfat arasındaki reaksiyon sonucu oluşan mavi/yeşil renkli ABTS<sup>+</sup> radikallerinin giderilmesi esasına dayanan spektroskopik bir yöntemdir. Önceden oluşan radikal katyona antioksidanların eklenmesi, antioksidan aktiviteye, antioksidanın konsantrasyonuna ve reaksiyonun süresine bağlı olarak ABTS<sup>+</sup> radikallerini belirli bir ölçüde ve zaman sürecinde azaltmaktadır (71).

ABTS<sup>+</sup> radikali 7mM ABTS ve 2,45 mM potasyum persülfatın oda sıcaklığında karanlık ortamda 12-16 saat boyunca inkübe edilmesiyle oluşur. ABTS çözeltisinin absorbansı 734 nm'de ölçüm yapılarak  $0,700 \pm 0,020$  olacak şekilde %90'lık etanol ile ayarlanır. 20 µL ekstreler ve standardın %90'lık etanol ile hazırlanan farklı konsantrasyonlarına ait çözeltileri üzerine 160 µL ABTS<sup>+</sup> çözeltisi (absorbans= $0,700 \pm 0,020$ ) ilave edilip karıştırılır. Karışım oda sıcaklığında 6 dakika inkübe edilir. 734 nm'de absorbans ölçülür (71, 72).

*L. corifolia* %20 sulu metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat ve *n*-butanol alt ekstrelerinin 1 mg/mL konsantrasyonunda stok çözeltileri ve bu stok çözeltilerden hareketle 100, 200, 400 ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Standart bileşik olarak Troloks'un 5-100 µg/mL çözeltileri kullanılmıştır.

Sonuçlar Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) olarak verilmiştir [TEAC değeri 1 g ekstrede yer alan Troloks'a eşdeğer antioksidan özellik gösteren bileşiklerin mg cinsinden miktarı olarak ifade edilir (mg TE/g ekstre)]. Ayrıca, sadece ABTS<sup>+</sup> ve %90'lık etanol içeren çözeltinin absorbansının, numuneleri içeren çözeltilerin absorbanslarıyla karşılaştırılması sonucu % ABTS Radikal Süpürücü Etkinlik değerleri hesaplanmıştır.

### 3.2.1.3. CUPRAC (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite) Yöntemi

Antioksidan çözeltinin, bakır(II) klorür çözeltisi, neokuproin alkollü çözeltisi ve amonyum asetat (pH 7) çözeltisi ile karıştırılması ve ardından 450 nm'de absorbansın ölçülmesine (30-60 dk) dayanan spektroskopik bir yöntemdir (73).

50 µL CuCl<sub>2</sub> çözeltisi üzerine, 50 µL neokuproin ve 50 µL amonyum asetat (pH 7) çözeltisi ilave edilir. Bu karışım üzerine 25 µL ekstreler ve standardın farklı konsantrasyonlarına ait çözeltileri ve 25 µL distile su eklenir. Karışım oda sıcaklığında karanlıkta 30 dk inkübe edilir. 450 nm'de absorbans ölçülür (72).

*L. corifolia* %20 sulu metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat ve *n*-butanol alt ekstrelerinin 1 mg/mL konsantrasyonunda stok çözeltileri ve bu stok çözeltilerden hareketle 25, 50, 100 ve 200 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Standart bileşik olarak Troloks'un 2,5-25 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltileri kullanılmıştır.

Sonuçlar Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) olarak verilmiştir [TEAC değeri 1 g ekstrede yer alan Troloks'a eşdeğer antioksidan özellik gösteren bileşiklerin mg cinsinden miktarı olarak ifade edilir (mg TE/g ekstre)]. Ayrıca, numune içermeyen çözeltinin [kör] absorbansının, numuneleri içeren çözeltilerin absorbanslarıyla karşılaştırılması sonucu % Cu (II) İyonun İndirgenme değerleri hesaplanmıştır.

### 3.2.2. Kolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayini

Kolinesteraz inhibitör aktivite tayininde Ellman's yöntemi kullanılmıştır. Ellman's yöntemi, asetiltiyokolinin (ATCH) enzimatik hidrolizi sonucu oluşan tiyokolinin, 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit

(DTNB) ile sarı renkli ürün (2-nitro-5-tiyobenzoik asit) oluşturması esasına dayanmaktadır. Substrat hidroliz edildikçe 412 nm'de absorbands artışı kaydedilmektedir (74, 75).

### 3.2.2.1. Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayini

Enzim kaynağı olarak asetilkolinesteraz (AChE) (from *Electrophorus electricus* (electric eel)), substrat olarak asetiltiyokoliniyodür (ATCI), DTNB ise renklendirici madde olarak kullanılır. Kuyucuklara 0,05 M fosfat tamponu (her bir kuyucuk için 75 µL), 0,5 U/mL AChE (her bir kuyucuk için 20 µL) ve 10 mM DTNB (her bir kuyucuk için 10 µL) karışımı eklenir, bu karışım üzerine 10 µL ekstre ve standardın farklı konsantrasyonlarına ait çözeltileri eklenip, 15 dk inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası 0,05 M fosfat tamponu (her bir kuyucuk için 75 µL) ve 14 mM ATCI (her bir kuyucuk için 10 µL) karışımı çok kanallı pipetle eklenir ve 412 nm'de absorbands ölçülür (12, 16).

*L. corifolia* %20 sulu metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat ve *n*-butanol alt ekstrelerinin 1 mg/mL konsantrasyonda stok çözeltileri ve bu stok çözeltilerden hareketle 50, 100, 200 ve 400 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Standart bileşik olarak fizostigmin salisilat 1, 2, 2,5 ve 5 µg/mL konsantrasyonlarında kullanılmıştır. Elde edilen saf bileşiklerden yeterli miktarda bulunan, *n*-butanol alt ekstrelerinden izole edilen antiririnozit, 6-β-hidroksiantirrit, katalpol ve etil asetat alt ekstrelerinden izole edilen linariin bileşiğinin asetilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri de araştırılmıştır. Saf bileşiklerin 20, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında çözeltileri aktivite tayininde kullanılmıştır.

% İnhibisyon değerleri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır. % İnhibisyon değerlerinden hareketle, konsantrasyona karşı % İnhibitör aktivite grafikleri çizilmiştir. IC<sub>50</sub> değerleri, eğrilerin logaritmik regresyon denklemine göre hesaplanmıştır.

% İnhibitör aktivite:  $\frac{\text{Absorbans kontrol} - \text{Absorbans numune}}{\text{Absorbans kontrol}} \times 100$

Absorbans kontrol

Kontrol çözeltisi: Numune/referans yerine çözücü içeren çözelti

### 3.2.2.2. Bütirilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayini

Enzim kaynağı olarak bütirilkolinesteraz (BChE) (from equine serum), substrat olarak bütiriltiyokolinoyodür (BTCI), DTNB ise renklendirici madde olarak kullanılır. Kuyucuklara 0,05 M fosfat tamponu (her bir kuyucuk için 75 µL), 60 U/mL BChE (her bir kuyucuk için 20 µL) ve 10 mM DTNB (her bir kuyucuk için 10 µL) karışımı eklenir, bu karışım üzerine 10 µL ekstreler ve standardın farklı konsantrasyonlarına ait çözeltileri eklenip, 15 dk inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası 0,05 M fosfat tamponu (her bir kuyucuk için 75 µL) ve 14 mM BTCI (her bir kuyucuk için 10 µL) karışımı çok kanallı pipetle eklenir ve 412 nm'de absorbans ölçülür (12, 16).

*L. corifolia* %20 sulu metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat ve *n*-butanol alt ekstrelerinin 1 mg/mL konsantrasyonunda stok çözeltileri ve bu stok çözeltilerden hareketle 50, 100, 200 ve 400 µg/mL konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlanmıştır. Standart bileşik olarak fizostigmin salisilat 1, 2, 2,5, 5, 10, 20 ve 40 µg/mL konsantrasyonlarında kullanılmıştır. Elde edilen saf bileşiklerden yeterli miktarda bulunan, *n*-butanol alt ekstresinden izole edilen antiririnozit, 6-β-hidroksiantirrit, katalpol ve etil asetat alt ekstresinden izole edilen linariin bileşiğinin bütirilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri de araştırılmıştır. Saf bileşiklerin 20, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltileri aktivite tayininde kullanılmıştır.

% İnhibisyon değerleri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır. % İnhibisyon değerlerinden hareketle, konsantrasyona karşı % İnhibitör aktivite grafikleri çizilmiştir. IC<sub>50</sub> değerleri, eğrilerin logaritmik regresyon denkleminde hesaplanmıştır.

% İnhibitör aktivite:  $\frac{\text{Absorbans kontrol} - \text{Absorbans numune}}{\text{Absorbans kontrol}} \times 100$

Kontrol çözeltisi: Numune/referans yerine çözücü içeren çözelti

### 3.2.3. Anti-enflamatuvar Aktivite Tayini

Anti-enflamatuvar aktivite  $\text{PGF}_{2\alpha}$  mediyatörünün miktar tayinine dayanan COX-2 inhibitör etki tarama testi kiti ile değerlendirilmiştir.

### COX-2 İnhibitör Etki Tarama Testi Kiti-Deney Prosedürü

$\text{PGF}_{2\alpha}$  miktar tayini için hazırlanan deney prosedüründe kit(Cayman, 701080) tarafından sağlanan materyaller kullanılmıştır:

- PG Tarama ELISA Antiserum
- PG Tarama AChE İzleyici
- PG Tarama ELISA Standardı
- Konsantre ELISA Tamponu (10X)
- Konsantre Yıkama Tamponu (400X)
- Polisorbat 20
- Fare Anti-Tavşan IgG Kaplı Plate
- 96 Kuyucuk Kaplayıcı Tabaka
- Ellman Reaktifi
- Reaksiyon Tamponu (10X)
- COX-2
- Heme
- Araşidonik Asit (substrat)
- Potasyum Hidroksit
- Hidroklorik Asit
- Kalay Klorür

## **COX Reaksiyon Prosedürü**

### **COX Reaktiflerinin Hazırlanması**

#### **1. Reaksiyon Tamponu (10X)**

5 mL Reaksiyon Tamponu, 45 mL Ultrasaf su ile seyreltilmiştir. Hazırlanan bu tampon (0,1 M Tris-HCl, pH 8,0, 5 mM EDTA ve 2 mM fenol içerir) COX reaksiyonlarında ve Heme dilüsyonunda kullanılmıştır.

#### **2. COX-2 (human rekombinant)**

80 µL enzim, 320 µL dilüe Reaksiyon Tamponu ile seyreltilmiştir.

#### **3. Heme**

40 µL Heme 960 µL dilüe Reaksiyon Tamponu ile seyreltilmiştir.

#### **4. Araşidonik Asit (Substrat)**

50 µL substrat üzerine 50 µL Potasyum Hidroksit eklenip, vorteks ile karıştırılmış, karışım üzerine 4,9 mL Ultrasaf su eklenmiştir.

#### **5. Potasyum Hidroksit**

0,1 M Potasyum Hidroksit kullanıma hazır olacak şekilde sağlanmıştır.

#### **6. Hidroklorik Asit**

0,1 M Hidroklorik Asit kullanıma hazır olacak şekilde sağlanmıştır.

#### **7. Kalay Klorür**

Kristal Kalay klorüre, 5 mL Hidroklorik asit eklenip, vorteks ile karıştırılmış, doymuş kalay klorür çözeltisi elde edilmiştir.



### **COX Reaksiyonlarının Gerçekleştirilmesi**

**1. Arka plan tüpleri:** Ependorf tüpe 20 µL seyreltilmiş COX-2 aktarılıp ve tüp üç dakika kaynar suda bekletilmiştir (İnaktif COX-2). İki reaktif tüpüne 160 µL reaksiyon tamponu, 10 µL Heme ve 10 µL inaktif COX-2 eklenmiştir.

**2. COX-2 %100 Başlangıç Aktivite tüpleri:** 2 reaksiyon tüpüne 160 µL reaksiyon tamponu, 10 µL Heme ve 10 µL COX-2 eklenmiştir.

**3. COX-2 İnhibitör tüpleri:** 6 reaksiyon tüpüne 160 µL reaksiyon tamponu, 10 µL Heme ve 10 µL COX-2 eklenmiştir.

**4. COX-2 İnhibitör tüplerine** 10 µL inhibitör ve 10 µL inhibitör çözücüsü eklenmiştir.

**5. Tüpler** 37° C'de, 10 dk inkübe edilmiştir.

**6. Tüm reaksiyon tüplerine** 10 µL Araşidonik asit eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Hızlıca karıştırılıp, 37° C'de, 2 dk inkübe edilmiştir.

**7. Enzim katalizini durdurmak için** her bir reaksiyon tüpüne 30 µL doymuş Kalay klorür çözeltisi eklenmiştir. Tüpler su banyosundan çıkarılıp, vortekslenmiştir. Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilmiştir.

### **ELISA Prosedürü**

#### **ELISA Tamponu Hazırlanması**

Konsantre ELISA Tamponu 90 mL Ultrasaf su ile dilüe edilmiştir.

#### **Yıkama Tamponu Hazırlanması**

Konsantre Yıkama Tamponu toplam hacim 2 litre olacak şekilde Ultrasaf su ile dilüe edilmiş, 1 mL Polisorbat 20 eklenmiştir.

## **Deneye Spesifik Reaktiflerin Hazırlanması**

### **Prostaglandin Tarama Standardı**

Liyofilize PG Tarama Standardı 1 mL ELISA Tamponunda çözülmüştür (10ng/mL).

ELISA'da kullanılacak standardı hazırlamak için 8 temiz test tüpü 1 ile 8 arasında numaralandırılmıştır. 800 µL ELISA tamponu tüp 1'e ve 500 µL ELISA tamponu 2-8 tüplerine aktarılmıştır. Toplu standardın 200 µL'si (10 ng/mL) tüp 1'e aktarılıp iyice karıştırılmıştır. Tüp 1'den 500 µL alarak ve tüp 2'ye aktarılmış ve iyice karıştırılmıştır. Sonra, tüp 2'den 500 µL alınmış ve tüp 3'e aktarılıp iyice karıştırılmıştır. 4-8 numaralı tüpler için bu işlem tekrarlanmıştır.

### **Prostaglandin Tarama AChE İzleyici**

100 dtn PG Tarama İzleyici 6 mL ELISA Tamponu ile sulandırılmıştır.

### **Prostaglandin Tarama ELISA Antiserum**

100 dtn PG Tarama ELISA Antiserum 6 mL ELISA Tamponu ile sulandırılmıştır.

### **COX-2 Reaksiyon Dilüsyonları**

#### **Arka plan Örnekleri**

BC etiketli temiz bir test tüpüne 990 µL ELISA tamponu eklenip üzerine 10 µL arka plan COX-2 eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır.

#### **COX %100 Başlangıç Aktivite Örnekleri**

Örnek başına üç temiz test tüpü IA1'den IA3'e kadar numaralandırılmıştır. IA1 tüpüne 990 µL ELISA tampon çözeltisi, 10 µL COX-2 %100 başlangıç aktivite numunesi eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Tüp IA2'ye 950 µL

ELISA tamponu çözeltisi konulup, 50 µL tüp IA1'den alınarak IA2'ye eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Tüp IA3'e 500 µL ELISA tamponu çözeltisi konulmuş ve tüp IA2'den tüp IA3'e 500 µL eklenip iyice karıştırılmıştır.

### **COX İnhibitör Örnekleri**

Örnek başına üç temiz test tüp C1 ile C3 olarak numaralandırılmıştır. 990 µL ELISA tamponu çözeltisi tüp C1'e konulup, 10 µL örnek eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Tüp C2'ye 950 µL ELISA tampon çözeltisi konulmuş, 50 µL tüp C1'den alınarak tüp C2'ye eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Tüp C3'e 500 µL ELISA tamponu çözeltisi konulmuş ve 500 µL tüp C2'den tüp C3'e eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır.

### **Plak Dizaynı**

Plak dizaynı en az iki kör (Blk), iki spesifik olmayan bağlanma kuyucuğu (NSB), iki maksimum bağlanma kuyucuğu (B<sub>0</sub>), bir toplam aktivite kuyucuğu (TA) ve 2 tekrarlı olarak sekiz standart kuyucuğu içerecek şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **ELISA'nın Gerçekleştirilmesi**

#### **Reaktiflerin Eklenmesi**

##### **1. ELISA Tamponu**

NSB kuyucuklarına 100 µL ELISA Tamponu, B<sub>0</sub> kuyucuklarına 50 µL ELISA Tamponu eklenmiştir.

##### **2. Prostaglandin Tarama ELISA Standardı**

En düşük standart kuyucuklarının (S8) ikisine de 8 numaralı tüpten 50 µL eklenmiştir. Sonraki iki standart kuyucuğun (S7) her birine tüp 7'den 50 µL eklenmiştir. Tüm standartlar eşitleninceye kadar bu işleme devam edilmiştir.

### **3. Arka plan Örnekleri (Test Tüpü BC)**

Her kuyucuğa 50 µL örnek eklenmiş, her örnek 2 tekrarlı olacak şekilde denenmiştir.

### **4. COX %100 Başlangıç Aktivite Örnekleri (Test Tüpleri IA2 ve IA3)**

Her kuyucuğa 50 µL örnek eklenmiştir. Her numune 2 tekrarlı olacak şekilde 2 dilüsyonda denenmiştir.

### **5. COX İnhibitör Örnekleri (Test Tüpleri C2 ve C3)**

Her kuyucuğa 50 µL örnek eklenmiştir. Her numune 2 tekrarlı olacak şekilde 2 dilüsyonda denenmiştir.

### **6. Prostaglandin Tarama AChE İzleyici**

TA ve Blk kuyucukları hariç her bir kuyucuğa 50 µL PG Tarama AChE İzleyici eklenmiştir.

### **7. Prostaglandin Tarama ELISA Antiserum**

TA, NSB ve Blk kuyucukları hariç her bir kuyucuğa 50 µL PG Tarama ELISA Antiserum eklenmiştir.

### **Plağın İnkübasyonu**

Plak, plastik film ile kaplanmış ve oda sıcaklığında 18 saat orbital karıştırıcıda inkübe edilmiştir.

### **Plağın Gelişimi**

1. 100 dtn Ellman's Reaktifi 20 mL Ultrasaf su ile sulandırılmıştır.
2. Kuyucuklar boşaltılmış, 5 defa Yıkama Tamponu ile durulanmıştır.
3. Her bir kuyucuğa 200 µL Ellman's Reaktifi eklenmiştir.

4. TA kuyucuklarına 5  $\mu$ L izleyici eklenmiştir.

5. Plak plastik film ile kaplanmıştır. Plağın karanlıkta oluşmasını sağlamak için, orbital çalkalayıcı kullanılarak optimum gelişme elde edilmiştir. Bu deneme 60-90 dakika sürmüştür.

### **Plağın Okunması**

Plak 412 nm'de mikroplak okuyucuda okunmuştur.

### **Analiz**

Veriler, 4 parametrelili bir lojistik veya log-logit eğrisi kullanılarak logaritma (log) konsantrasyonuna karşı % B/B<sub>0</sub> olarak çizilmiştir.

### **Hesaplamalar**

#### **Verilerin Hazırlanması**

1. NSB kuyucuklarındaki absorbansların ortalaması alınmıştır.
2. B<sub>0</sub> kuyucuklarındaki absorbansların ortalaması alınmıştır.
3. NSB ortalaması B<sub>0</sub> ortalamasından çıkarılmıştır (Hesaplanan bu değer, düzeltilmiş B<sub>0</sub> ya da düzeltilmiş maksimum bağlanma değerini vermektedir).
4. Ortalama NSB absorbansı S1 absorbansından çıkartılmış ve düzeltilmiş B<sub>0</sub>'a bölünerek, kalan kuyucuklar için % B/B<sub>0</sub> hesaplanmıştır. % B/B<sub>0</sub> elde etmek için 100 ile çarpılmış, S2-S8 ve tüm örnek kuyucukları için tekrarlanmıştır.

### **Standart Eğri Çizme**

Lineer (y) ve log (x) eksenlerini kullanarak PG konsantrasyonuna karşı S1-S8 standartları için % B/B<sub>0</sub> çizilmiş ve 4 parametrelili lojistik uyum gerçekleştirilmiştir.

### Örnek Konsantrasyonu Belirleme

1. Her örnek için %B/B<sub>0</sub> değerleri hesaplanmıştır.
2. Standart eğride % B/B<sub>0</sub> değeri belirlenip, x ekseninde karşılık gelen değerleri bulunarak her bir numunenin konsantrasyonu belirlenmiştir. COX örnekleri uygun dilüsyon faktörüyle çarpılmıştır (BC = 100; IA2 ve C2 = 2000; IA3 ve C3 = 4000).
3. Arka plan değerleri (BC) %100 Başlangıç Aktivite ve COX-2 inhibitör örneklerinden çıkarılmıştır.
4. Her inhibitör numunesi %100 başlangıç aktivite numunesinden çıkartılmış, daha sonra %100 başlangıç aktivite numunesine bölünmüş ve yüzde inhibisyon değerini elde etmek için 100 ile çarpılmıştır.
5. İnhibitör konsantrasyonu ile inhibisyon yüzdesi grafiğinden IC<sub>50</sub> değeri hesaplanmıştır.

### 3.3. Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler, Alet ve Cihazlar

#### 3.3.1. Kimyasal Maddeler

<b>ABTS</b>	<b>Sigma</b>
<b>Alüminyum klorür</b>	<b>Sigma</b>
<b>Amonyum asetat</b>	<b>Merck</b>
<b>Askorbik asit</b>	<b>Sigma</b>
<b>Asetilkolinesteraz</b>	<b>Sigma</b>
<b>Asetiltiyokolinyodür</b>	<b>Sigma</b>
<b>Bakır (II) klorür dihidrat</b>	<b>Sigma</b>
<b>Bütirilkolinesteraz</b>	<b>Sigma</b>
<b>Bütiriltiyokolinyodür</b>	<b>Sigma</b>
<b>DPPH</b>	<b>Sigma</b>
<b>DTNB</b>	<b>Sigma</b>
<b>Fizostigmin salisilat</b>	<b>EP</b>
<b>Folin-Ciocalteus Phenol Reagent</b>	<b>Sigma</b>

<b>Gallik asit</b>	<b>Sigma</b>
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	<b>Merck</b>
<b>Kersetin</b>	<b>BLDpharm</b>
<b>İndometazin</b>	<b>Sigma</b>
<b>Neokuproin</b>	<b>Sigma</b>
<b>Potasyum Persülfat</b>	<b>Sigma</b>
<b>Sodyum fosfat dibazik</b>	<b>Sigma</b>
<b>Sodyum fosfat monobazik</b>	<b>Sigma</b>
<b>Sodyum hidroksit</b>	<b>Sigma</b>
<b>Sodyum nitrit</b>	<b>Tekkim</b>
<b>Troloks</b>	<b>Sigma</b>
<b>Vanilin</b>	<b>Merck</b>
<b>CHCl<sub>3</sub>, DMSO, EtOAc, EtOH, MeOH, <i>n</i>-hekzan, <i>n</i>-BuOH, <i>t</i>-BuOH</b>	<b>Carlo Erba/ İsolab/Merck</b>



**3.3.2.Aletler ve Cihazlar****Çalkalamalı su banyosu****Major Science****Çeker Ocak****Tez-San****Diyafram Pompa****Herkules 200/10/24 Air  
Compressor****Etüv****Elektro Mag M 5040****IR Spektrofotometresi****IR Perkin Elmer FT-IR system****İTK plak ısıtıcı****Camag TLC Plate Heater III****Kütle Spektrometresi****Waters Corporation Milford,  
MA (USA)****Kromatografi tankı****Camag****Liyofilizatör****Christ Alpha 1-2 LDplus****Mikroplaka okuyucu****BIO-TEK, µQuant****NMR Spektrometresi (1D, 2D)****Bruker-Avance Neo 500****Otomatik pipetler 0,5 µl, 10 µl,  
20 µl, 200 µl, 1000 µl****Brand, İsolab, Thermo  
Scientific, Microlit, Nichipet  
EX**

<b>pH metre</b>	<b>KNMaster pH-100</b>
<b>Ultrasaf Su cihazı</b>	<b>Mili-Q Direct-Q 3 UV</b>
<b>Ultrasonik Banyo</b>	<b>Transsonic 570</b>
<b>UV Spektrofotometresi</b>	<b>BIO-TEK, <math>\mu</math>Quant</b>
<b>UV lamba</b>	<b>Camag</b>
<b>Derin dondurucu</b>	<b>(-20 °C) Arçelik</b>
<b>Hassas Terazı</b>	<b>Sartorius CP224S</b>
	<b>Denver Instrument SI-234</b>
<b>Rotavapor</b>	<b>Büchi R-200, R-210</b>
	<b>Vacuum Pump V-700</b>
	<b>Recirculating Chiller F-105</b>
	<b>Heating Bath B- 490, B-491</b>

## 4. BULGULAR

Tez çalışmamızın bulguları, ‘‘Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular’’ ve ‘‘Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular’’ olmak üzere 2 başlık altında değerlendirilip açıklanmıştır.

*L. corifolia* bitkisinin %20 sulu metanol ekstresinden partiyonla elde edilen etil asetat ve *n*- butanol fraksiyonlarına farklı kromatografik yöntemler uygulanmıştır. Bu yöntemler sonucu izole edilen saf bileşiklerin yapı tayinleri, bitkinin %20 sulu-metanol ekstresi ve alt ekstralarının toplam fenolik bileşik ve flavonoid miktar tayini sonuçları ‘‘Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular’’ bölümünde, antioksidan, kolinesteraz inhibitör, anti-enflamatuvar etki, ise ‘‘Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular’’ bölümünde verilmiştir.

### 4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

*L. corifolia* bitkisinin toprak üstü kısımlarının %20 sulu metanol ekstresinden partiyonla elde edilen etil asetat ve *n*- butanol fraksiyonları üzerinde yürütülen fitokimyasal çalışmalar sonucunda 8 bileşik izole edilmiştir. Saf bileşiklerden *n*- butanol fraksiyonundan elde edilenlere **LCB**, etil asetat fraksiyonundan elde edilenlere **LCE** kodu verilmiş, izole edilen bileşiklerin yapıları 1D-, 2D-NMR (COSY, HSQC/HMQC, HMBC), kütle spektroskopisi yöntemleri kullanılarak ve literatür verileriyle karşılaştırılarak aydınlatılmıştır. Sonuçlara göre **LCB1**'in antirrinozit, **LCB2**'nin 6- $\beta$ -hidroksiantirrit, **LCB3**'ün katalpol, **LCB4**'ün okubin ve 6- $\beta$ -hidroksiantirrit karışımı, **LCE1**'in prunasin, **LCE2**'nin linariin, **LCE3**'ün akteozit olduğu belirlenmiştir. **LCE4**'ün iridoit yapısında olduğu düşünülmektedir, bileşiğin yapı tayini çalışmaları devam etmektedir.

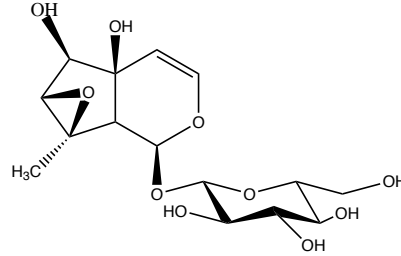
*Linaria* türlerinde yaygın bulunan fenolik bileşikler nedeniyle *L. corifolia* ekstre ve alt ekstralarının toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid miktar tayinleri yapılmıştır.

**Elde Edilen Bileşiklerin Rf Değerleri****Tablo 4.1.** Elde Edilen Bileşiklerin Rf değerleri

<b>Bileşik</b>	<b>Rf</b>
LCB1	0,43
LCB2	0,33
LCB3	0,35
LCB4	0,38
LCE1	0,55
LCE2	0,65
LCE3	0,36

**Solvan sistemi:** 61:32:7(CHCl<sub>3</sub>: MeOH: H<sub>2</sub>O)

#### 4.1.1. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri



#### ANTİRRİNOZİT [LCB1]

$C_{15}H_{22}O_{10}$  (Molekül Ağırlığı:362)

UV $\lambda_{maks}$ (MeOH) nm	243
IR $\nu_{maks}$ (KBr) $cm^{-1}$	3351 (OH), 2887 (CH <sub>3</sub> ), 1655 (C=C)
LC-MS ES+	363
<sup>1</sup> H NMR	Tablo 4.2 Şekil 4.1
<sup>13</sup> C	Tablo 4.2 Şekil 4.2
DEPT	Tablo 4.2 Şekil 4.3
COSY	Şekil 4.4
HMQC	Şekil 4.5
HMBC	Tablo 4.2 Şekil 4.6

**LCB1** bileşiği beyaz, amorf bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde, vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaktifli püskürtüldüğünde kırmızı/turuncu renk, plak 105-110°C'de ısıtıldıktan sonra kahverengi renk, plak ısıtıldıktan sonra UV 366 nm'de incelendiğinde ise mavi floresans görülmüştür. UV spektrumunda 243 nm'de absorpsiyon bandı, IR spektrumunda hidroksil (3351  $cm^{-1}$ ), olefinik çifte bağa ait (1655  $cm^{-1}$ ) absorpsiyon bantları gözlenmiştir.

$^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  spektrumlarında (Tablo 4.2, Şekil 4.1 ve 4.2)  $\delta_{\text{H}}$  4,68 ppm (d,  $J=7,8$  Hz, H-1'),  $\delta_{\text{C}}$  99,71 ppm olarak gözlenen sinyallerin anomerik proton ve karbona ait olduğu düşünülmüştür. Diğer oz sinyalleri ile birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin monoglikozidik yapıda olduğu, anomerik protonun kenetlenme sabitinden ( $J=7,8$  Hz) bağ konfigürasyonun  $\beta$  olduğu anlaşılmıştır. 3,19-3,91 ppm arasında gözlenen proton sinyalleri ve 63,05-78,35 ppm arasında gözlenen 5 karbon rezonansı bileşiğin bir heksoz taşıdığını doğrulamaktadır. COSY (Şekil 4.4) ve HMQC (Şekil 4.5) spektrumlarının birlikte değerlendirilmesiyle uzun  $\beta$ -glukoz olduğu tespit edilmiştir.

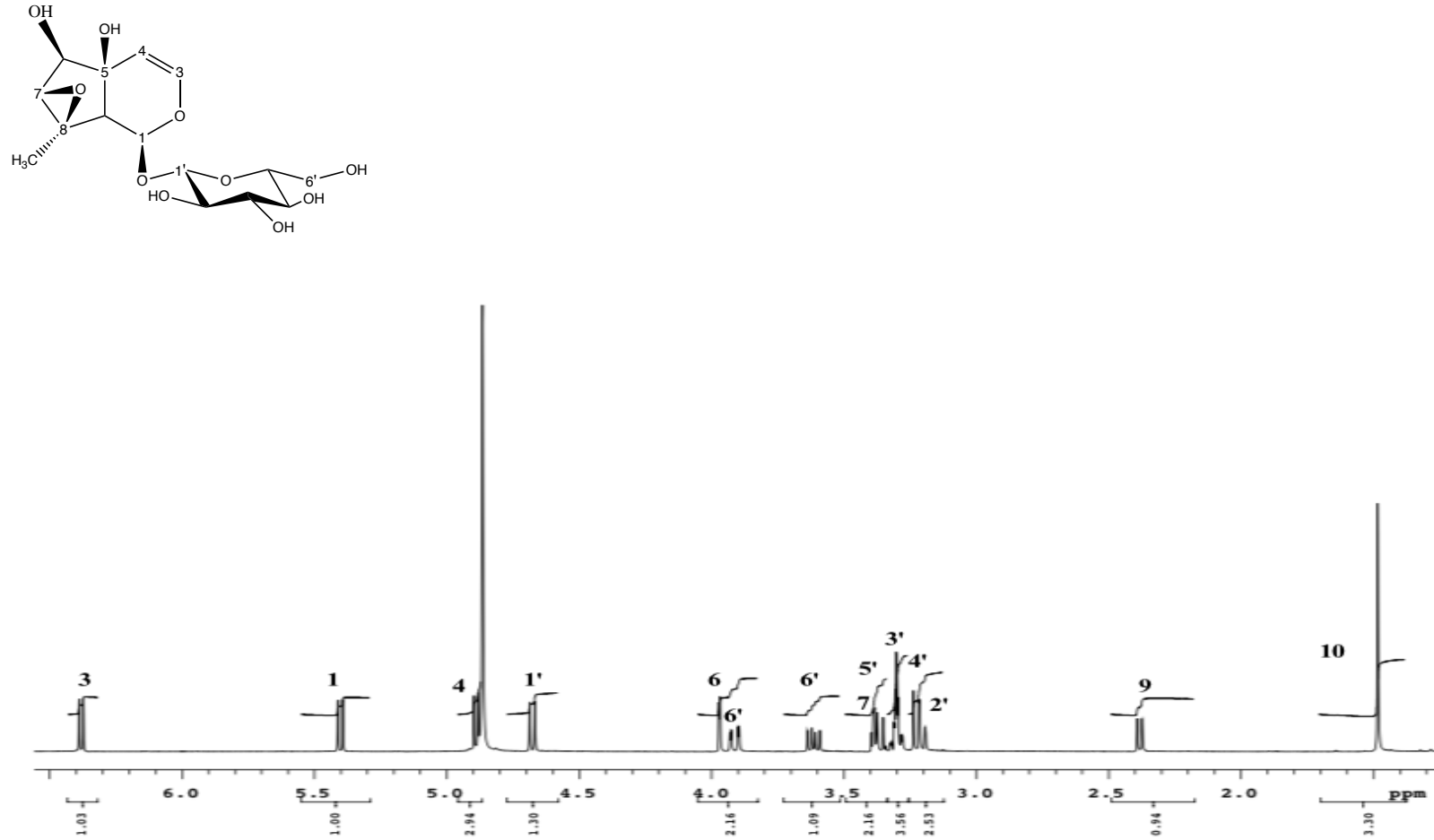
$^{13}\text{C}$  ve DEPT spektrumları (Tablo 4.2, Şekil 4.2 ve 4.3) değerlendirildiğinde 2 katerner (C), 11 metin (CH), 1 metilen ( $\text{CH}_2$ ) ve 1 metil ( $\text{CH}_3$ ) karbonu olmak üzere 15 karbon rezonansı görülmektedir. 15 karbon rezonansından, glukozu ait 6 sinyal çıkarıldığında aglikonun 9 karbonlu siklopentan-piran iridoit iskeletine sahip olduğu bulunmuştur.  $^1\text{H}$  NMR spektrumu (Tablo 4.2, Şekil 4.1) incelendiğinde, H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  6,38 d,  $J = 6,3$  Hz) ve H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  4,89 d,  $J = 6,2$  Hz) süstitüe olmamış enol eter sistemini gösterirken, piran halkasında olefinik H-4 protonuna ait rezonansın dublet olarak gözlenmesi ve H-5 sinyalinin görülmemesi C-5' in süstitüe olduğunu göstermektedir. HMBC (Tablo 4.2, Şekil 4.6) spektrumunda  $\delta_{\text{H}}$  1,48 ile  $\delta_{\text{C}}$  66,30 (C-7), 64,20 (C-8) ve 53,23 (C-9) karbonlarının korelasyon gösterdiği görülmüştür. COSY spektrumunda (Şekil 4.4) metil protonlarının ( $\delta_{\text{H}}$  1,48, s) hiçbir proton ile etkileşim göstermemesi nedeniyle C-8'e bağlı olduğu düşünülmüştür.  $^1\text{H}$  spektrumunda H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3,97, d,  $J=1,8$  Hz), H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  3,39, m,  $J= 12,8/1,6$  Hz) düşük alana kaymış olmaları C-6'da hidroksil varlığını doğrulamıştır. Yapıda bulunan 2 katerner karbonun C-5 ve C-8 olduğuna, C-7 ile C-8 arasında epoksit bulunduğuna karar verilmiştir.

NMR, LC-MS spektrumları ve literatür verileriyle karşılaştırıldığında; **LCB1** bileşiğinin yapısı, antirrinozit olarak aydınlatılmıştır (39).

**Tablo 4.2.** Antirrinozit (LCB1) bileşiminin  $^{13}\text{C}$  ve  $^1\text{H}$  NMR spektroskopik değerleri ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ : 100,62 MHz,  $^1\text{H}$ : 400,18 MHz); önemli HMBC korelasyonları

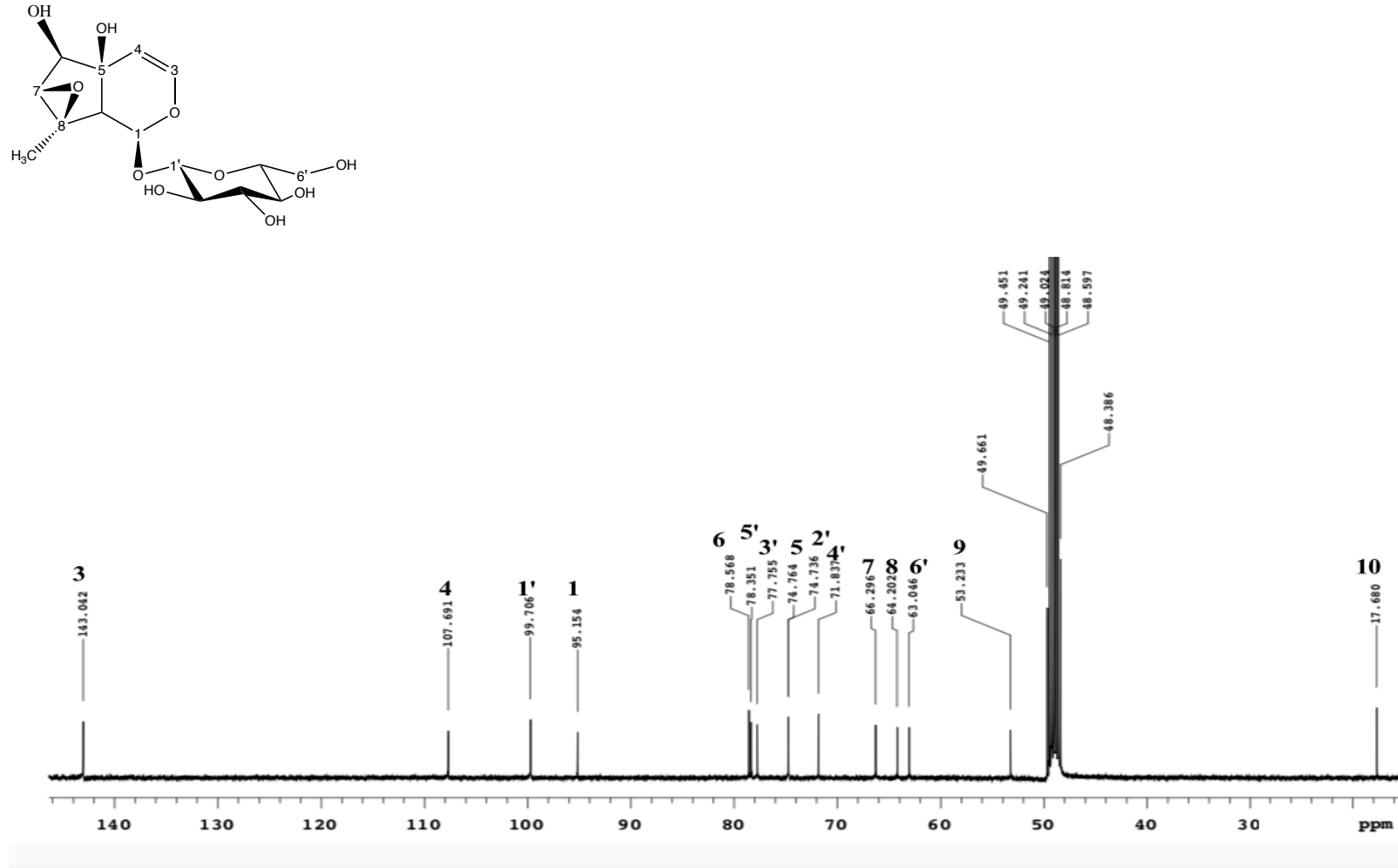
C/H Atom	DEPT	$\delta_{\text{H}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$ ppm	HMBC (H $\rightarrow$ C)
<b>Aglikon</b>				
1	CH	5,40 (d, $J=7,3$ Hz)	95,16	C-1', C-3
3	CH	6,38 (d, $J=6,3$ Hz)	143,04	C-1, C-4, C-5
4	CH	4,89 (d, $J=6,2$ Hz)	107,69	C-3, C-9
5	C	-	74,76	
6	CH	3,97 (d, $J=1,8$ Hz)	78,57	C-4
7	CH	3,39 (m, $J=12,8/1,6$ Hz)	66,30	C-5, C-6
8	C	-	64,20	
9	CH	2,38 (d, $J=7,3$ Hz)	53,23	C-1, C-5, C-7, C-8
10	$\text{CH}_3$	1,48 (s)	17,68	C-7, C-8, C-9
<b>Glukoz</b>				
		$\delta_{\text{H}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$ ppm	
1'	CH	4,68 (d, $J=7,8$ Hz)	99,71	C-1
2'	CH	3,19 (m)*	74,74	C-3'
3'	CH	3,35 (m)*	77,76	C-5'
4'	CH	3,22 (m, $J=1,2$ Hz)	71,84	C-3', C-5'
5'	CH	3,29 (m, $J=6,4/2,0$ Hz)	78,35	
6'	$\text{CH}_2$	3,61 (dd, $J=11,9/6,7$ Hz) 3,91 (dd, $J=11,9/2,1$ Hz)	63,05	C-5'

\*: Sinyal örtüşmesi nedeniyle  $J$  değerleri hesaplanamamıştır.

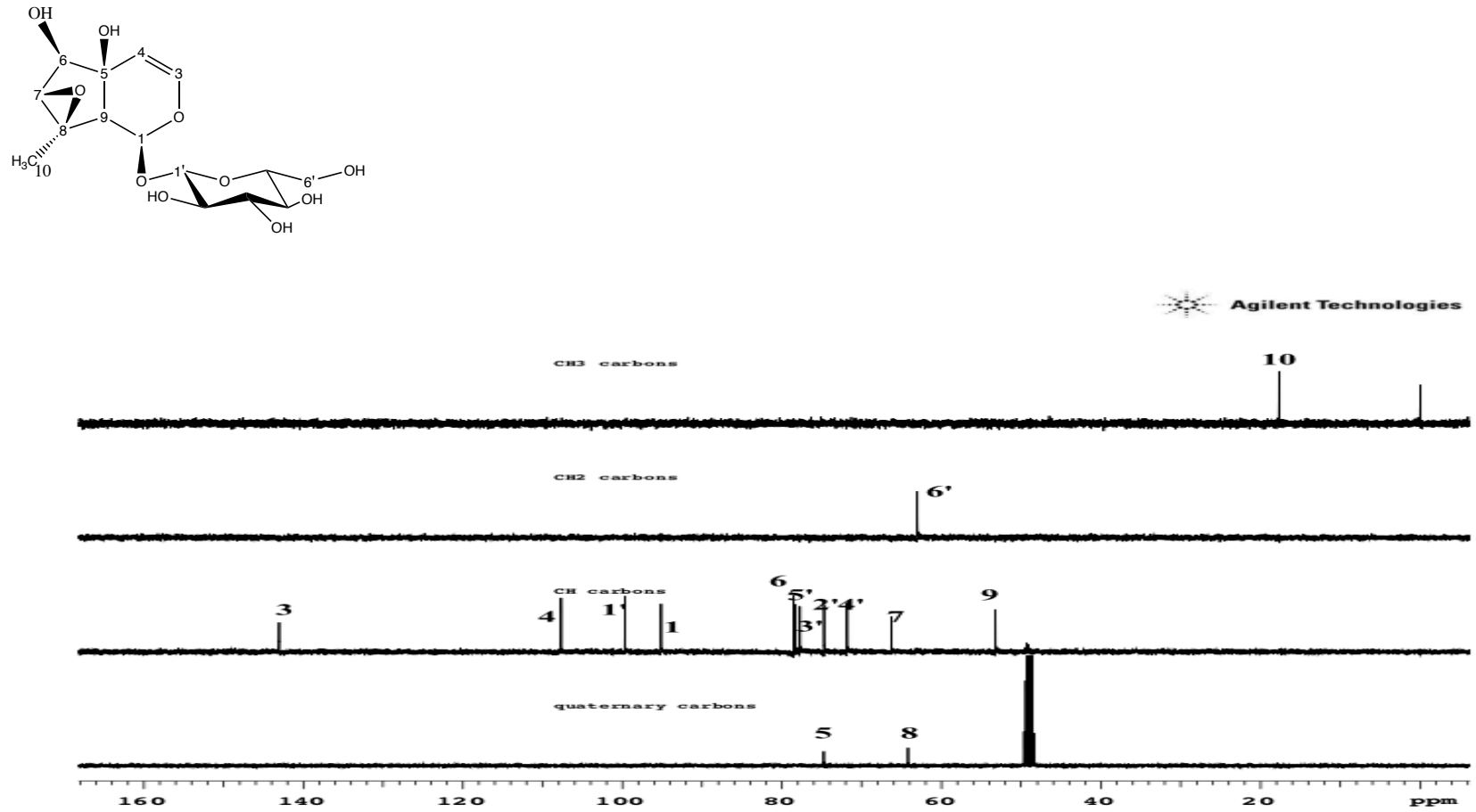


Şekil 4.1. Antirrinozit'in (LCB1) <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (CD<sub>3</sub>OD; <sup>1</sup>H: 400,18 MHz)

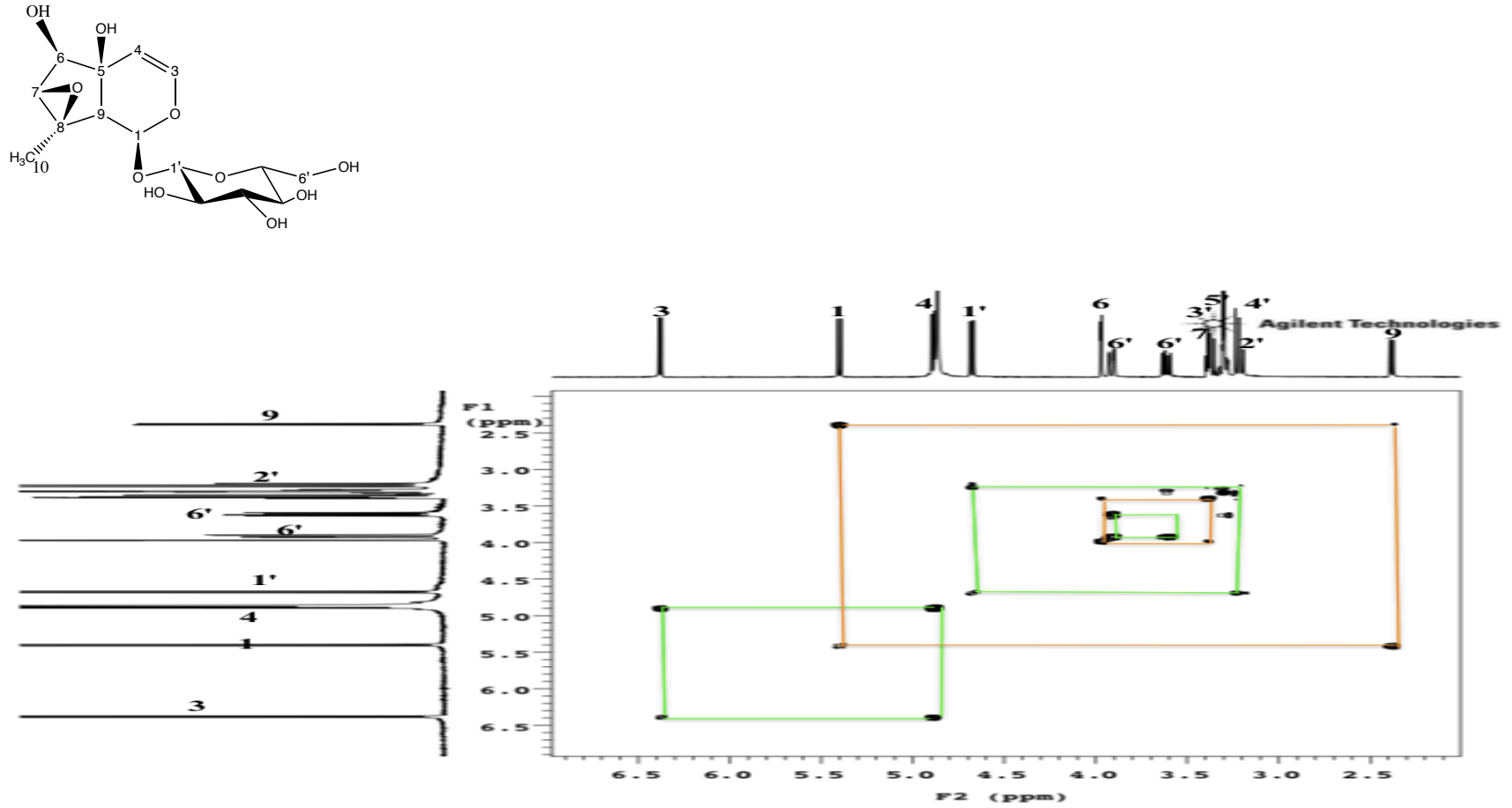




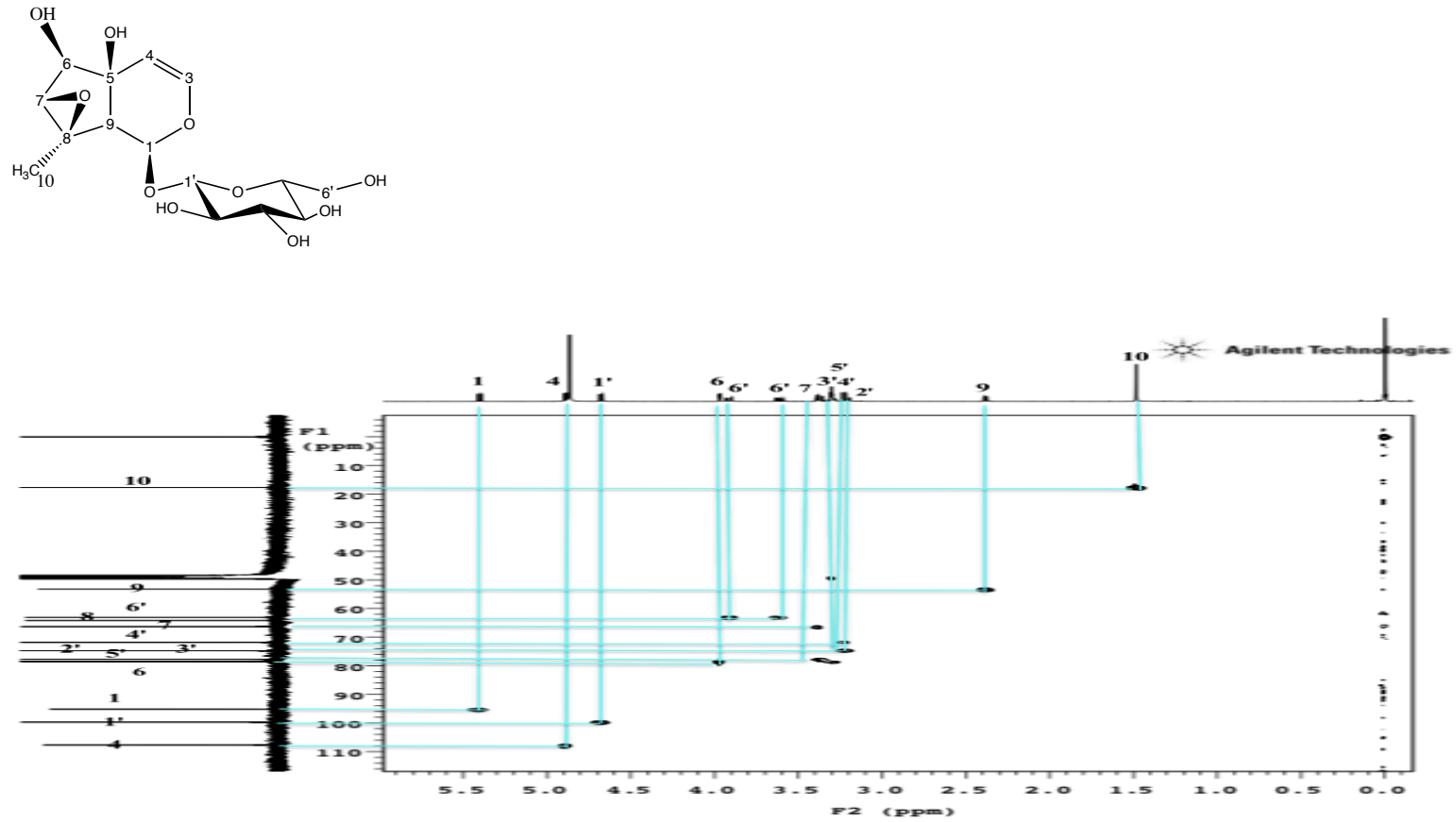
Şekil 4.2. Antirrinose'in (LCB1)  $^{13}\text{C}$  NMR Spektrumu ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ : 100,62 MHz)



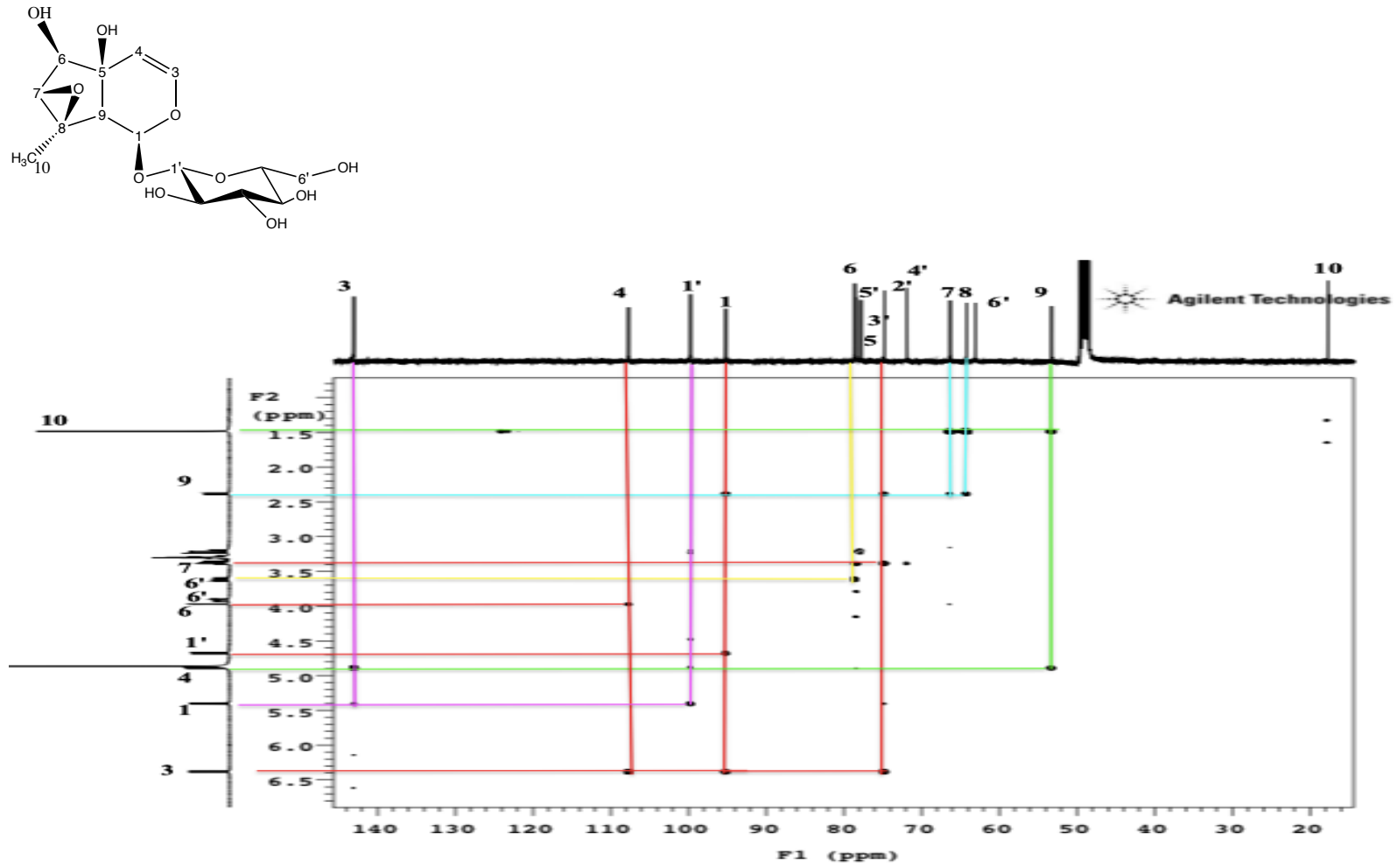
Şekil 4.3. Antirrinozit'in (LCB1) DEPT Spektrumları (CD<sub>3</sub>OD; <sup>13</sup>C: 100,62 MHz)



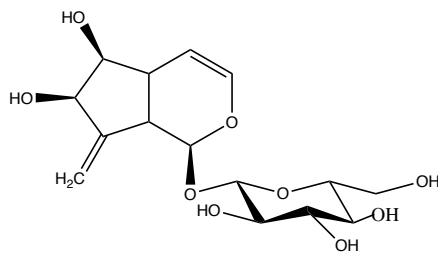
Şekil 4.4. Antirrinosit'in (LCB1) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu (COSY)



Şekil 4.5. Antirrinozit'in (LCB1) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu (HMQC)



Şekil 4.6. Antirrinozit'in (LCB1) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC)



**6-β-HİDROKSİANTİRRİT [LCB2]**  
**C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub> (Molekül Ağırlığı:344)**

UV $\lambda_{\text{maks}}$ (MeOH) nm	243
IR $\nu_{\text{maks}}$ (KBr) $\text{cm}^{-1}$	3338 (OH), 1655 (C=C)
<sup>1</sup> H NMR	Tablo 4.3 Şekil 4.7
<sup>13</sup> C	Tablo 4.3 Şekil 4.8
DEPT	Tablo 4.3 Şekil 4.9
COSY	Şekil 4.10
HMQC	Şekil 4.11
HMBC	Tablo 4.3 Şekil 4.12

**LCB2** bileşiği beyaz, amorf bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde, vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaktifi püskürtülüp, plak ısıtıldıktan sonra kahverengi renk görülmüştür. UV spektrumunda 243 nm'de absorpsiyon bandı, IR spektrumunda hidroksil (3338  $\text{cm}^{-1}$ ), olefinik çifte bağa ait (1655  $\text{cm}^{-1}$ ) absorpsiyon bantları gözlenmiştir.

<sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C spektrumlarında (Tablo 4.3, Şekil 4.7 ve 4.8)  $\delta_{\text{H}}$  4,63 ppm (d,  $J=7,9$  Hz, H-1'),  $\delta_{\text{C}}$  99,45 ppm olarak gözlenen sinyallerin anomerik proton ve karbona ait olduğu düşünülmüştür. Diğer oz sinyalleri ile birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin monoglikozidik yapıda olduğu, anomerik protonun kenetlenme sabitinden ( $J=7,9$  Hz) bağ konfigürasyonun  $\beta$  olduğu

anlaşılmıştır. 3,22-3,90 ppm arasında gözlenen proton sinyalleri ve 62,83-78,30 ppm arasında gözlenen 5 karbon rezonansı bileşiğin bir heksoz taşıdığını doğrulamaktadır. COSY (Şekil 4.10) ve HMQC (Şekil 4.11) spektrumlarının birlikte değerlendirilmesiyle uzun  $\beta$ -glukoz olduğu tespit edilmiştir.

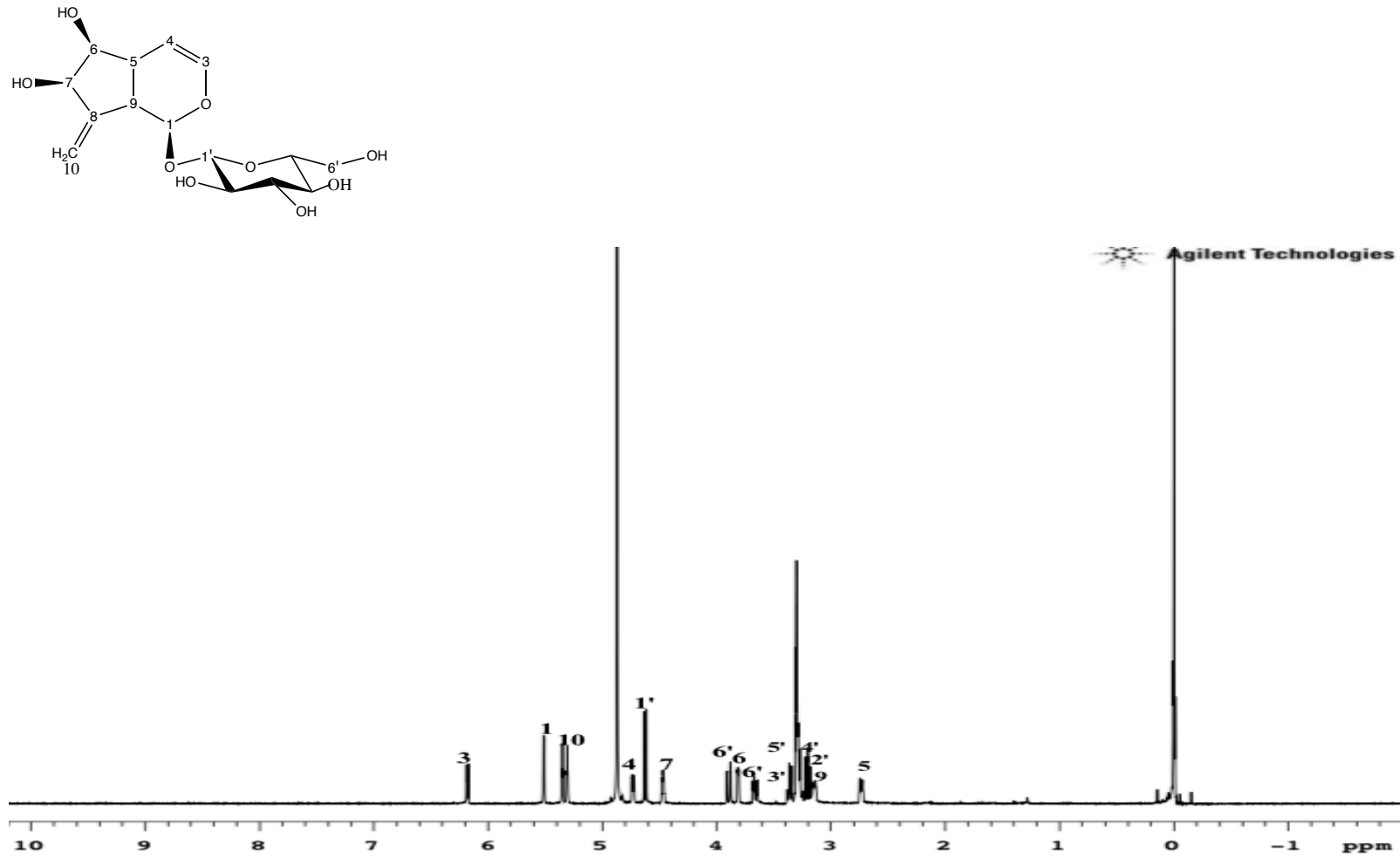
$^{13}\text{C}$  ve DEPT spektrumları (Tablo 4.3, Şekil 4.8 ve 4.9) değerlendirildiğinde 1 katerner (C), 12 metin (CH) ve 2 metilen ( $\text{CH}_2$ ) karbonu olmak üzere 15 karbon rezonansı görülmüştür. 15 karbon rezonansından glukoza ait 6 sinyal çıkarıldığında aglikonun 9 karbonlu siklopentan-piran iridoit iskeletine sahip olduğu bulunmuştur.  $^1\text{H}$  NMR spektrumu (Tablo 4.3, Şekil 4.7) incelendiğinde, H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  6,18 dd,  $J = 6,0/1,6$  Hz) ve H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  4,73 dd,  $J = 6,0/1,6$  Hz) sübtitüe olmamış enol eter sistemini gösterirken, H-5 sinyalinin görülmesi C-5' in sübtitüe olmadığını göstermektedir.  $^1\text{H}$  spektrumunda (Tablo 4.3, Şekil 4.7), H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3,81, d,  $J=4,7/2,4$  Hz), H-7'nin ( $\delta_{\text{H}}$  4,47, dd,  $J=4,3/1,9$  Hz) düşük alana kaymış olmaları C-6 ve C-7'de hidroksil varlığını doğrulamıştır. HMBC spektrumunda (Tablo 4.3, Şekil 4.12) metilen grubu protonlarının, C-7 ve C-9 ile etkileşmesi, COSY spektrumunda (Şekil 4.10) 9 numaralı protonun ( $\delta_{\text{H}}$  3,16) 1 ( $\delta_{\text{H}}$  5,51, d,  $J=2,6$  Hz), ve 5 ( $\delta_{\text{H}}$  2,74, dd,  $J=8/2,5$ Hz) numaralı protonlarla etkileşimlerinin görülmesi nedeniyle, metilen grubunun katerner C-8'den bağlı olduğuna karar verilmiştir.

NMR spektrumları ve literatür verileriyle karşılaştırıldığında; **LCB2** bileşiğinin yapısı, **6- $\beta$ -hidroksiantirrit** olarak aydınlatılmıştır (76).

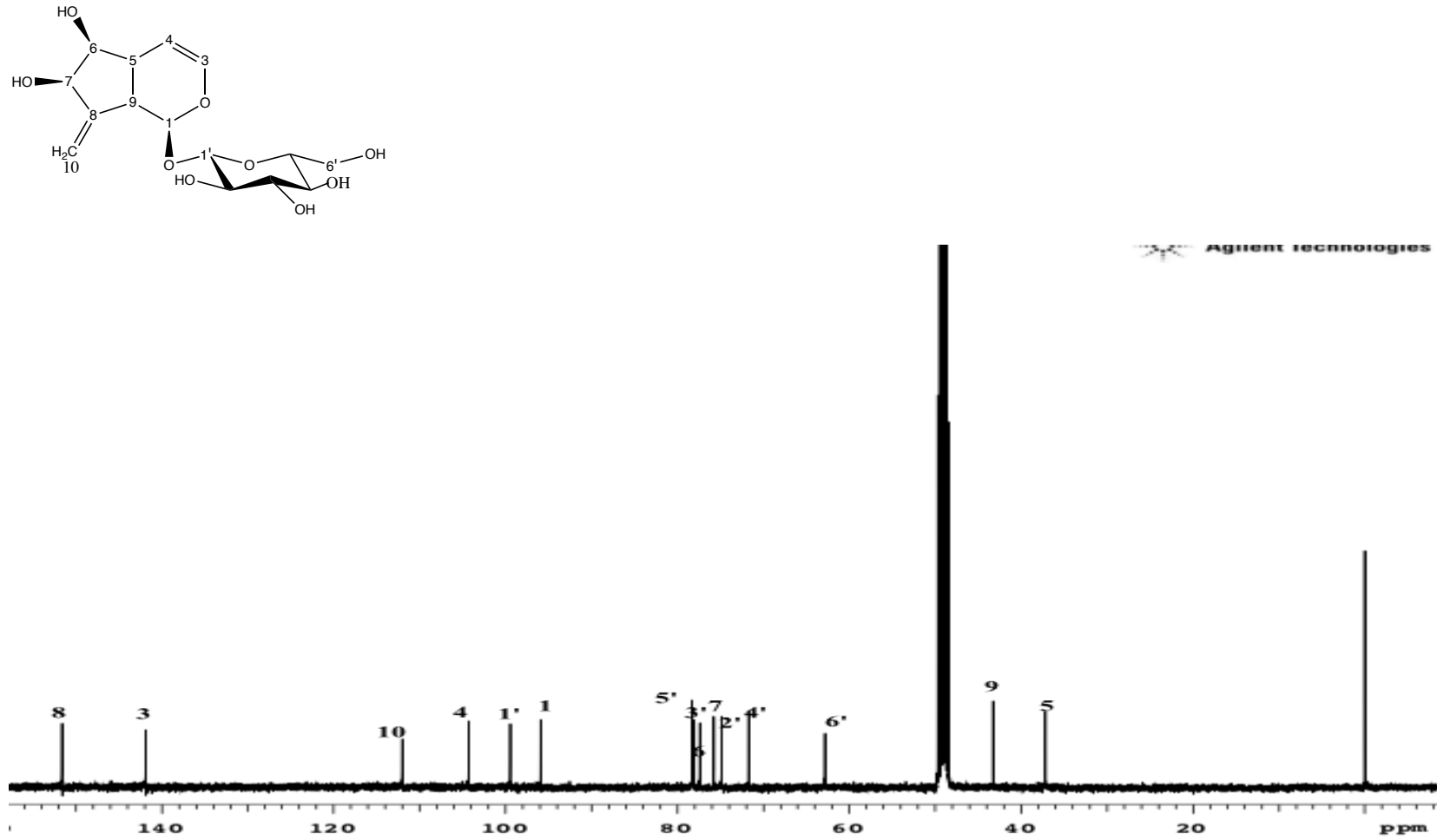
**Tablo 4.3.** 6- $\beta$ -hidroksiantirrit (**LCB2**) bileşığının  $^{13}\text{C}$  ve  $^1\text{H}$  NMR spektroskopik değerleri ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ : 100,62 MHz,  $^1\text{H}$ : 400,18 MHz); önemli HMBC korelasyonları

C/H Atom	DEPT	$\delta_{\text{H}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$ ppm	HMBC (H $\rightarrow$ C)
Aglikon				
1	CH	5,51 (d, $J=2,6\text{Hz}$ )	95,92	C-1', C-3, C-5
3	CH	6,18 (dd, $J=6,0/1,6\text{ Hz}$ )	141,88	C-4, C-5
4	CH	4,73 (dd, $J=6,0/1,6\text{ Hz}$ )	104,29	C-3, C-9
5	CH	2,74 (dd, $J=8,0/2,5\text{ Hz}$ )	37,18	C-4, C-6
6	CH	3,81 (d, $J=4,7/2,4\text{ Hz}$ )	77,39	C-4, C-8
7	CH	4,47 (dd, $J=4,3/1,9\text{ Hz}$ )	75,77	
8		-	151,61	
9	CH	3,16 (m, $J=8,0\text{ Hz}$ )	43,26	
10	$\text{CH}_2$	5,31 (dd, $J=4,4/2,0\text{ Hz}$ ) 5,35 (dd, $J=4,8/2,4\text{ Hz}$ )	112,01	C-9
Oz/Numara		$\delta_{\text{H}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$ ppm	
1'	CH	4,63 (d, $J=7,9\text{ Hz}$ )	99,45	C-1, C-3'
2'	CH	3,22 (m, $J=8,0\text{ Hz}$ )	74,85	C-1', C-3'
3'	CH	3,35 (m, $J=9,2\text{ Hz}$ )	78,07	
4'	CH	3,28 (m, $J=6,0/2,0\text{ Hz}$ )	71,71	
5'	CH	3,31 (m, $J=3,6/2,0\text{ Hz}$ )	78,30	C-4'
6'	$\text{CH}_2$	3,67 (m, $J=11,6/6,0\text{ Hz}$ ) 3,90 (dd, $J=12,0/2,0\text{ Hz}$ ) 12/6 Hz)	62,83	C-5'

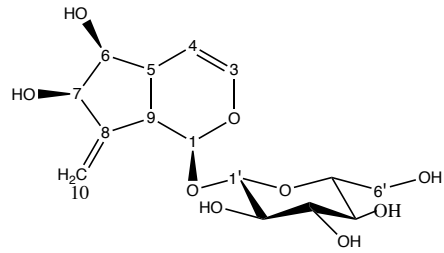




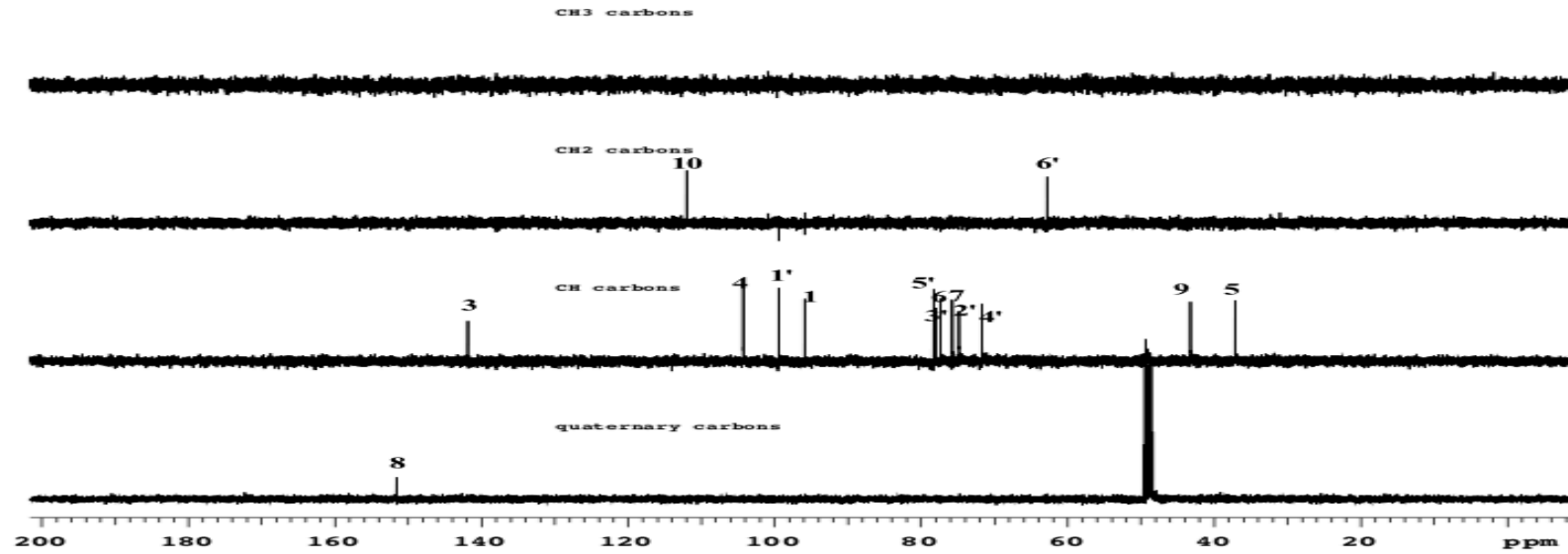
Şekil 4.7. 6-β-hidroksiantirrit'in (LCB2) <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (CD<sub>3</sub>OD; <sup>1</sup>H: 400,18 MHz)



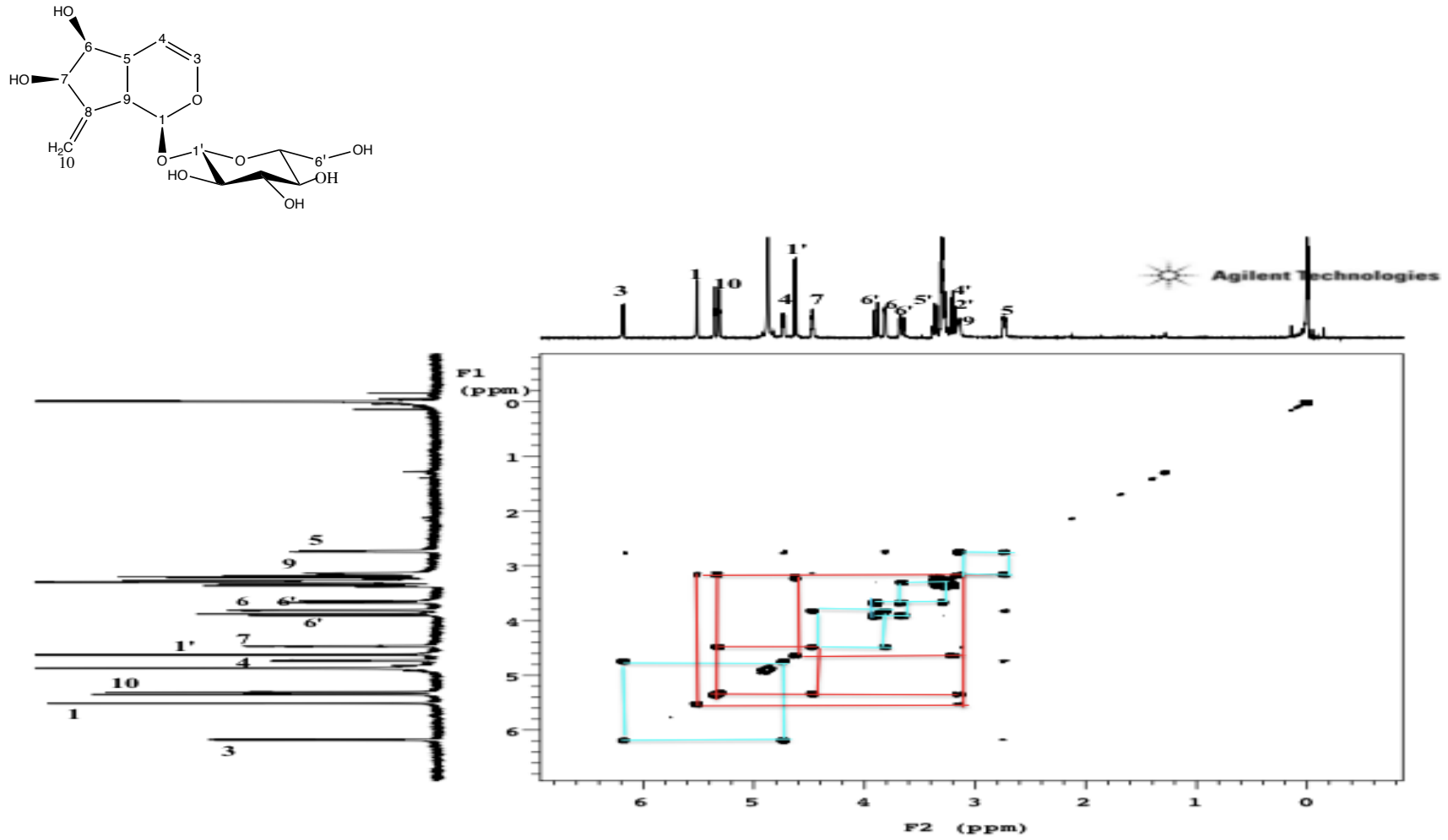
Şekil 4.8. 6-β-hidroksiantirrit'in (LCB2) <sup>13</sup>C NMR Spektrumu (CD<sub>3</sub>OD; <sup>13</sup>C: 100,62 MHz)



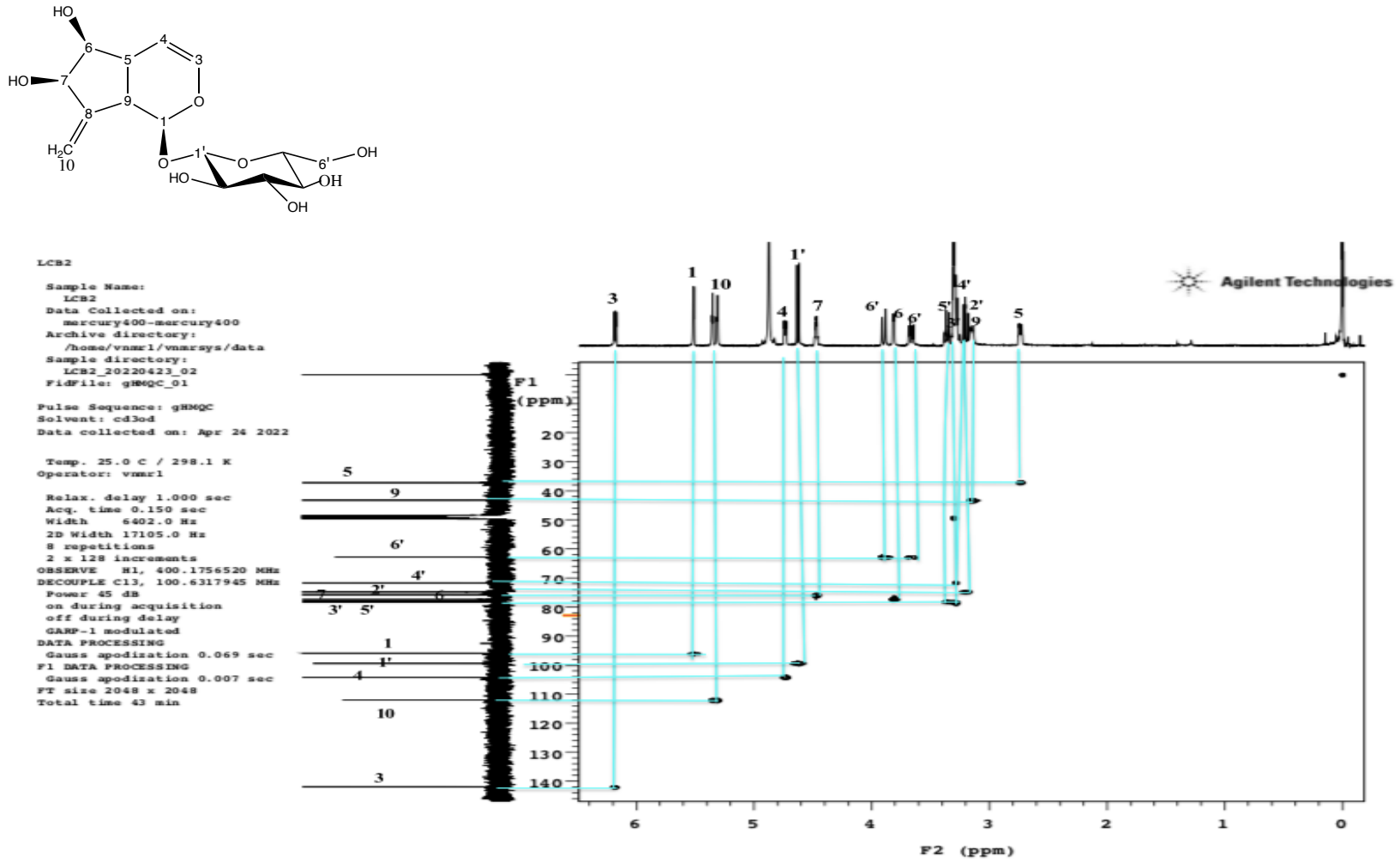
Agilent Technologies



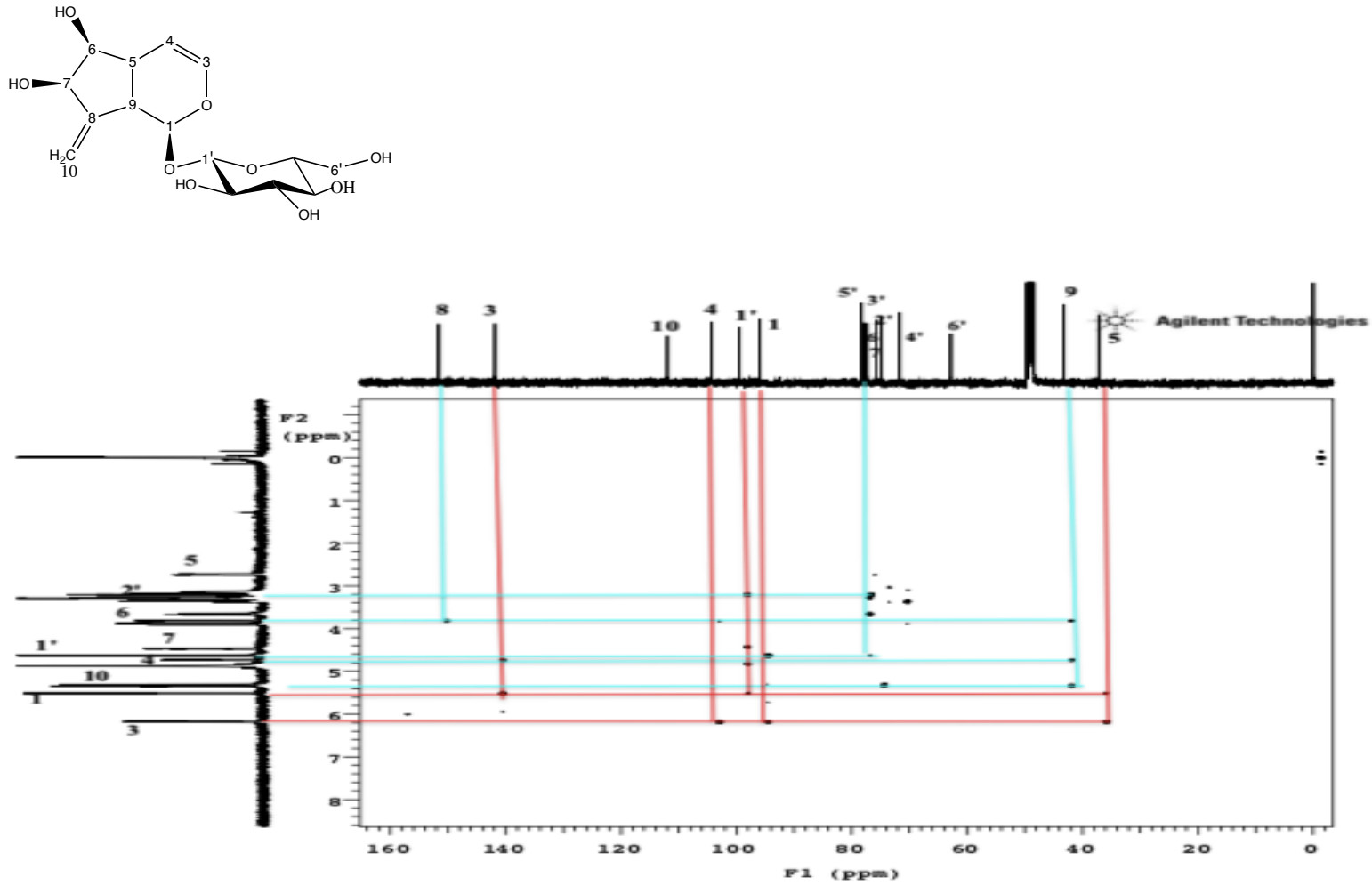
Şekil 4.9. 6-β-hidroksiantirit'in (LCB2) DEPT Spektrumları (CD<sub>3</sub>OD; <sup>13</sup>C: 100,62 MHz)



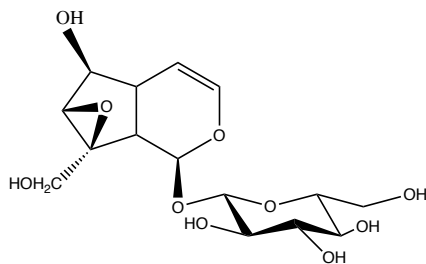
Şekil 4.10. 6-β-hidroksiantirrit'in (LCB2) 2D <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu (COSY)



Şekil 4.11. 6-β-hidroksiantirrit'in (LCB2) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu (HMQC)



Şekil 4.12. 6-β-hidroksiantirrit'in (LCB2) 2D <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC)



### KATALPOL [LCB3]

$C_{15}H_{22}O_{10}$  (Molekül Ağırlığı:362)

UV $\lambda_{maks}$ (MeOH) nm	245
IR $\nu_{maks}$ (KBr) $cm^{-1}$	3312(OH), 1662(C=C)
LC-MS $[M+Na]^+$	386
$^1H$ NMR	Tablo 4.4 Şekil 4.13
$^{13}C$	Tablo 4.4 Şekil 4.14
DEPT	Tablo 4.4 Şekil 4.15
COSY	Şekil 4.16
HMQC	Şekil 4.17
HMBC	Tablo 4.4 Şekil 4.18

**LCB3** bileşiği beyaz, amorf bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde, vanilin/ $H_2SO_4$  reaktifi püskürtüldüğünde mor, plak  $105-110^\circ C$ 'de ısıtıldıktan sonra siyah-kahverengi renk görülmüştür. UV spektrumunda  $245\text{ nm}$ 'de absorpsiyon bandı, IR spektrumunda hidroksil ( $3312\text{ cm}^{-1}$ ), olefinik çifte bağa ait ( $1662\text{ cm}^{-1}$ ) absorpsiyon bantları gözlenmiştir.

$^1H$  ve  $^{13}C$  spektrumlarında (Tablo 4.4, Şekil 4.13 ve 4.14)  $\delta_H$  4,76 ppm (d,  $J=8\text{ Hz}$ , H-1'),  $\delta_C$  99,71 ppm (C-1') olarak gözlenen sinyallerin anomerik proton ve karbona ait olduğu düşünülmüştür. Diğer oz sinyalleri ile birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin monoglikozidik yapıda olduğu, anomerik

protonun kenetlenme sabitinden ( $J=8$  Hz) bağ konfigürasyonun  $\beta$  olduğu anlaşılmıştır. 3,25-3,91 ppm arasında gözlenen proton sinyalleri ve 62,96-78,66 ppm arasında gözlenen 5 karbon rezonansı bileşiğin bir heksoz taşıdığını doğrulamaktadır. COSY ve HSQC spektrumlarının (Şekil 4.16 ve 4.17) birlikte değerlendirilmesiyle uzun  $\beta$ -glukoz olduğu tespit edilmiştir.

$^{13}\text{C}$  ve DEPT spektrumları (Tablo 4.4, Şekil 4.14 ve 4.15) değerlendirildiğinde 1 katerner (C), 12 metin (CH), 2 metilen (CH<sub>2</sub>) karbonu olmak üzere 15 karbon rezonansı görülmüştür. 15 karbon rezonansından glukozu ait 6 sinyal çıkarıldığında aglikonun 9 karbonlu siklopentan-piran iskeletine sahip olduğu bulunmuştur. HMBC spektrumunda (Tablo 4.4, Şekil 4.18) anomerik protonun ( $\delta_{\text{H}}$  4,76 ppm) 95,27 ppm'de karbon sinyali ile gösterdiği korelasyondan,  $\delta_{\text{H}}$  5,03 ( $J=9,6$  Hz),  $\delta_{\text{C}}$  95,27'de gözlenen sinyallerin 1 numaralı proton ve karbone ait olduğu düşünülmüştür. COSY spektrumunda (Şekil 4.16)  $\delta_{\text{H}}$  2,52'de görülen (1H, dd,  $J = 9,7/7,6$  Hz, H-9) proton ile  $\delta_{\text{H}}$  2,26'daki (1H, m, H-5) metin protonu korelasyon göstermektedir.  $^1\text{H}$  NMR spektrumu (Tablo 4.4, Şekil 4.12) incelendiğinde, H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  6,34 dd,  $J = 6,0/1,9$ Hz) ve H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  5,07 m,  $J = 6,4$  Hz) süstitüe olmamış enol eter sistemini gösterirken, H-5 sinyalinin görülmesi C-5' in süstitüe olmadığını göstermektedir. COSY spektrumunda (Şekil 4.16) H-5 protonu ( $\delta_{\text{H}}$  2,26, m) H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  5,07) ve H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3,89) protonları arasında korelasyon görülmektedir.  $^1\text{H}$  spektrumunda H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3,89, m), H-7'nin ( $\delta_{\text{H}}$  3,43 d,  $J=1,2$  Hz) düşük alana kaymış olmaları C-6'da hidroksil varlığını doğrulamıştır. 3,78 (1H,  $J=13,2$  Hz) ve 4,13 ppm'de (1H,  $J=13,1$  Hz) görülen sinyaller hidroksimetilen grubunun varlığını göstermektedir. C-8  $\delta_{\text{C}}$  66,21'de katerner olarak gözlenmiş, H-10'nun ( $\delta_{\text{H}}$  3,78 d,  $J= 13,2$  Hz; 4,13 d,  $J= 13,1$  Hz) HMBC spektrumunda (Tablo 4.4, Şekil 4.18) C-8, C-9 ile korelasyon göstermesi nedeniyle, hidroksimetilen grubunun katerner karbone bağlı olduğu düşünülmüştür.

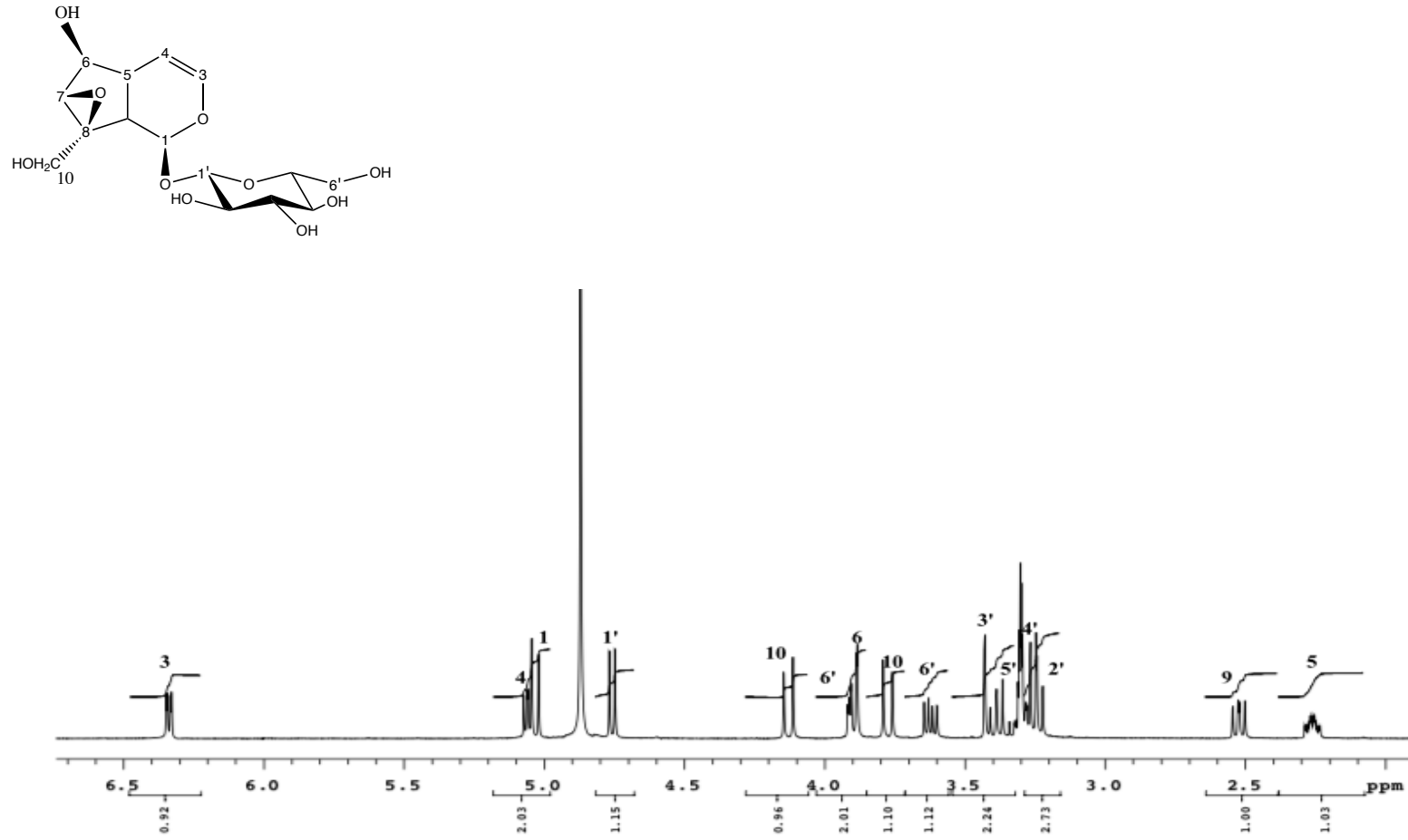
NMR, LC-MS spektrumları, birlikte değerlendirildiğinde ve literatür verisiyle karşılaştırıldığında; **LCB3** bileşiğinin yapısı, katalpol olarak aydınlatılmıştır (77, 78).



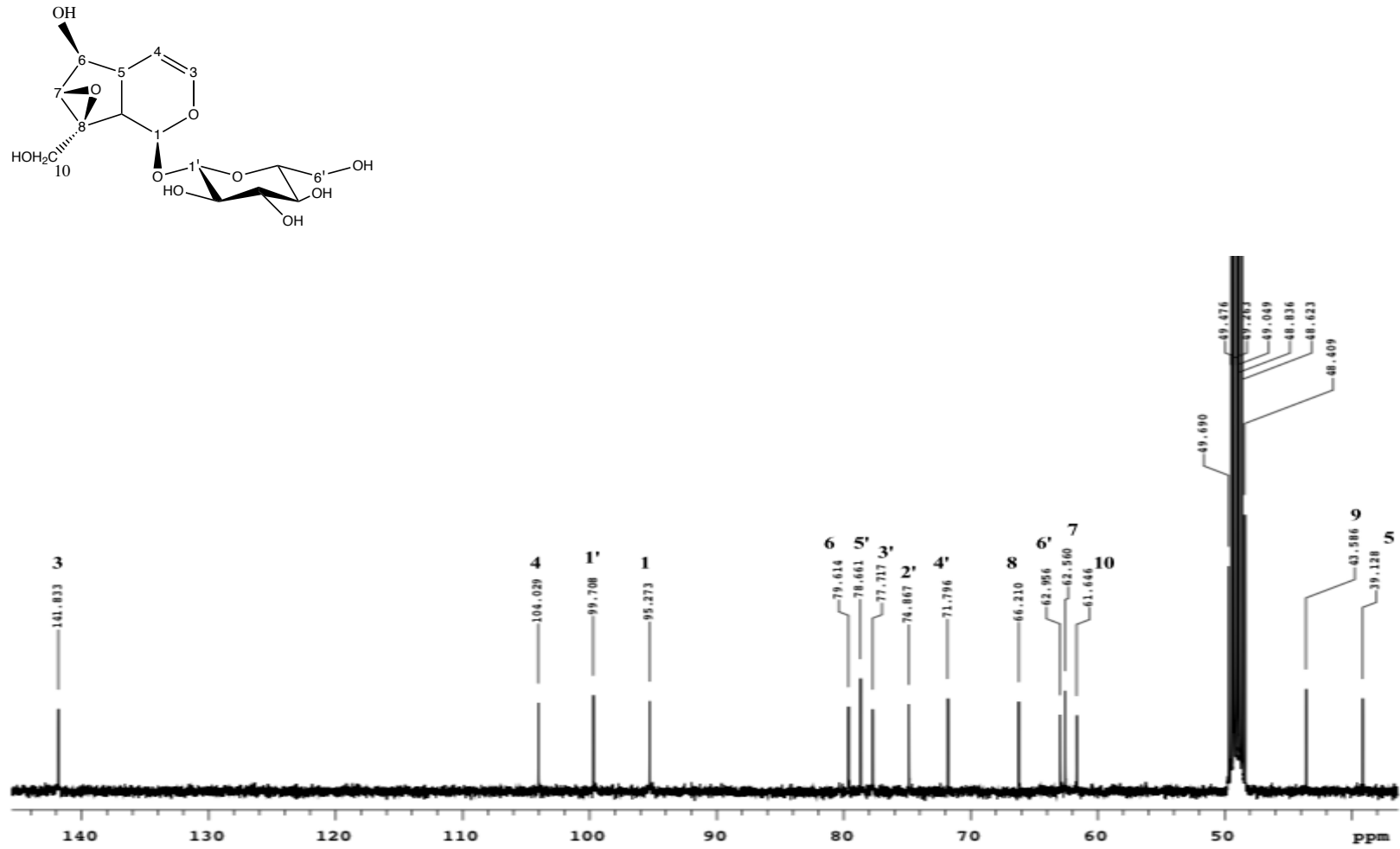
**Tablo 4.4.** Katalpol (LCB3) bileşiminin  $^{13}\text{C}$  ve  $^1\text{H}$  NMR spektroskopik değerleri ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ : 100,62 MHz,  $^1\text{H}$ :400,18 MHz); önemli HMBC korelasyonları

C/H Atom	DEPT	$\delta_{\text{H}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$ ppm	HMBC (H→C)
Aglikon				
1	CH	5,03 (d, $J=9,6$ Hz)	95,27	C-1', C-3, C-9
3	CH	6,34 (dd, $J=6,0/1,9$ Hz)	141,83	C-1, C-4, C-5
4	CH	5,07 (m, $J=4,4$ Hz)	104,03	C-3, C-9
5	CH	2,26 (m, $J=7,8/4,5/1,9$ Hz)	39,13	
6	CH	3,89 (m, $J=1,6$ Hz)	79,61	C-4
7	CH	3,43 (d, $J=1,2$ Hz)	62,56	C-5, C-6
8		-	66,21	
9	CH	2,52 (dd, $J=9,7/7,6$ Hz)	43,59	C-1, C-6, C-8, C-10
10	$\text{CH}_2$	3,78 (d, $J=13,2$ Hz) 4,13 (d, $J=13,2$ Hz)	61,65	C-8, C-9
Oz/Numara		$\delta_{\text{H}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$ ppm	
1'	CH	4,76 (d, $J=7,8$ Hz)	99,71	C-1
2'	CH	3,25 (m, $J=8,0/1,6$ Hz)	74,87	C-1'
3'	CH	3,38 (m)*	77,72	C-2', C-4'
4'	CH	3,28 (m)*	71,80	C-3'
5'	CH	3,30 (m, $J=3,2/1,6$ Hz)	78,66	
6'	$\text{CH}_2$	3,62 (dd, $J=11,9/6,3$ Hz) 3,91 (m, $J=2,0$ Hz)	62,96	C-5'

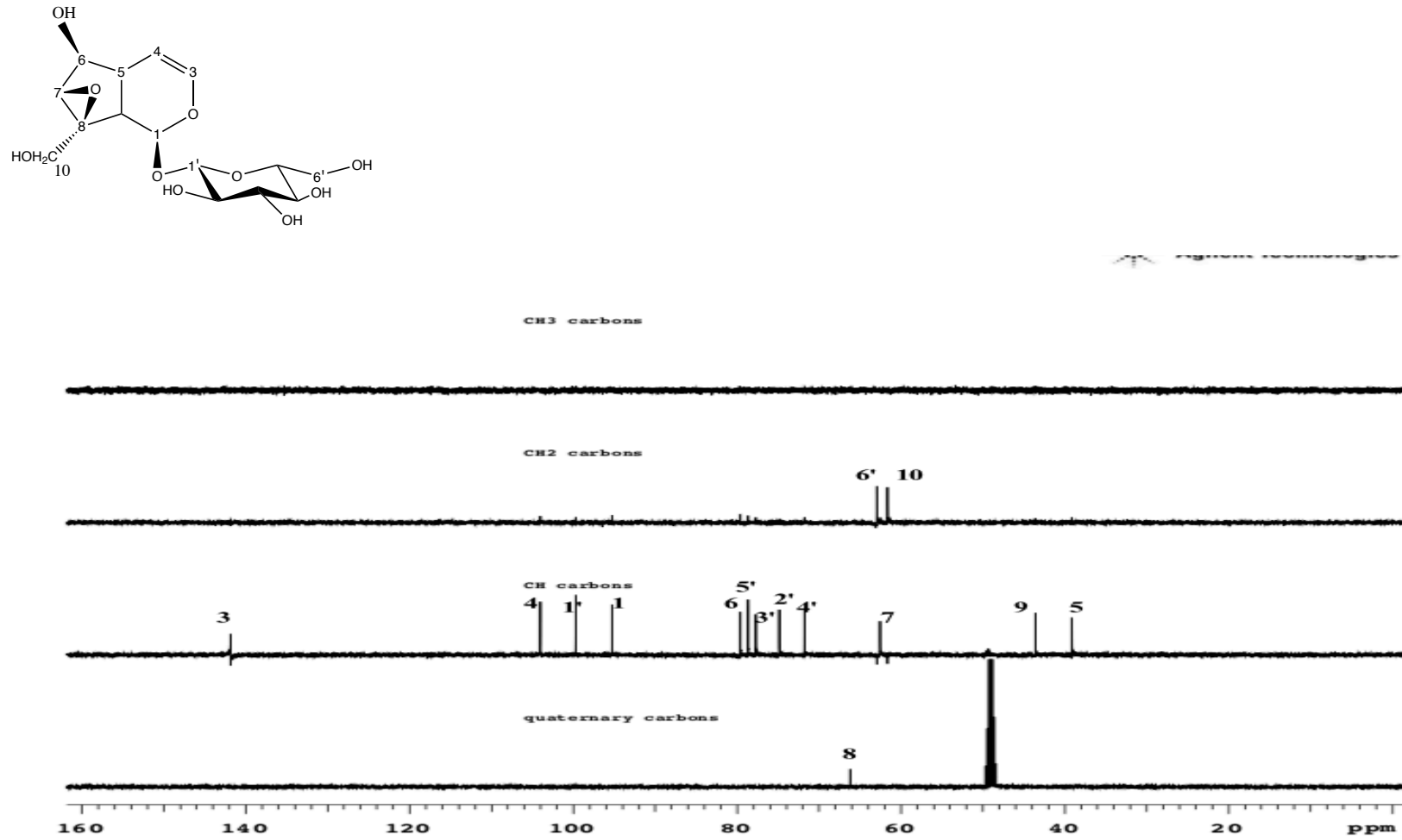
\*: Sinyal örtüşmesi nedeniyle  $J$  değerleri hesaplanamamıştır.



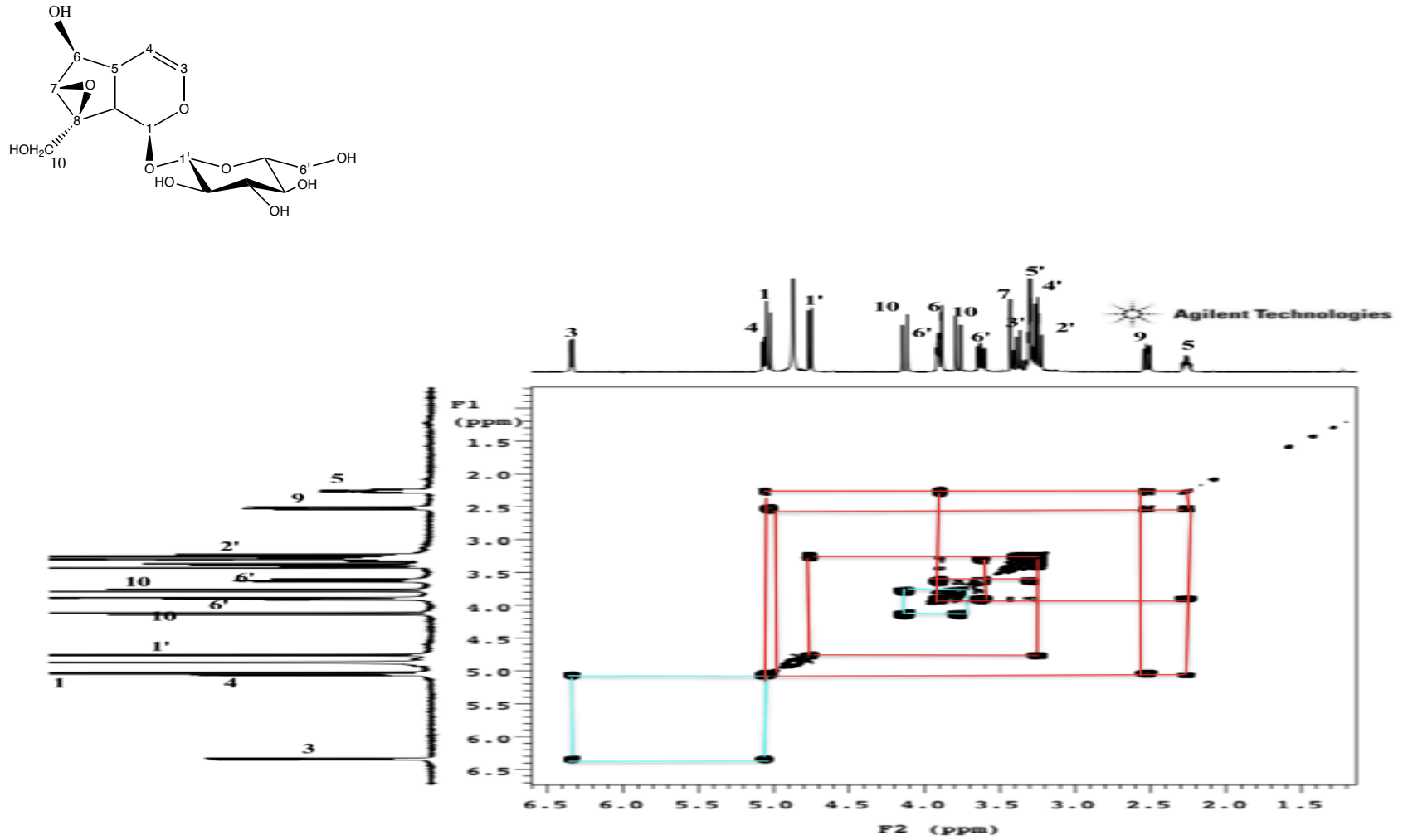
Şekil 4.13. Katalpol'ün (LCB3)  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^1\text{H}$ : 400,18 MHz)



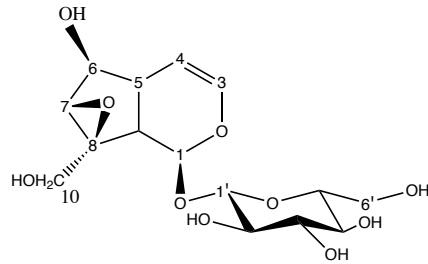
Şekil 4.14. Katalpol'ün (LCB3)  $^{13}\text{C}$  NMR Spektrumu ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ : 100,62 MHz)



Şekil 4.15. Katalpol'ün (LCB3) DEPT Spektrumları (CD<sub>3</sub>OD; <sup>13</sup>C: 100,62 MHz)



Şekil 4.16. Katalpol'ün (LCB3) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu (COSY)



LCB3

Sample Name:  
LCB3  
Data Collected on:  
mercury400-mercury400  
Archive directory:  
/home/vnmr1/vnmr5/data  
Sample directory:  
LCB3\_20220331\_01  
Fidfile: gHSQC\_01

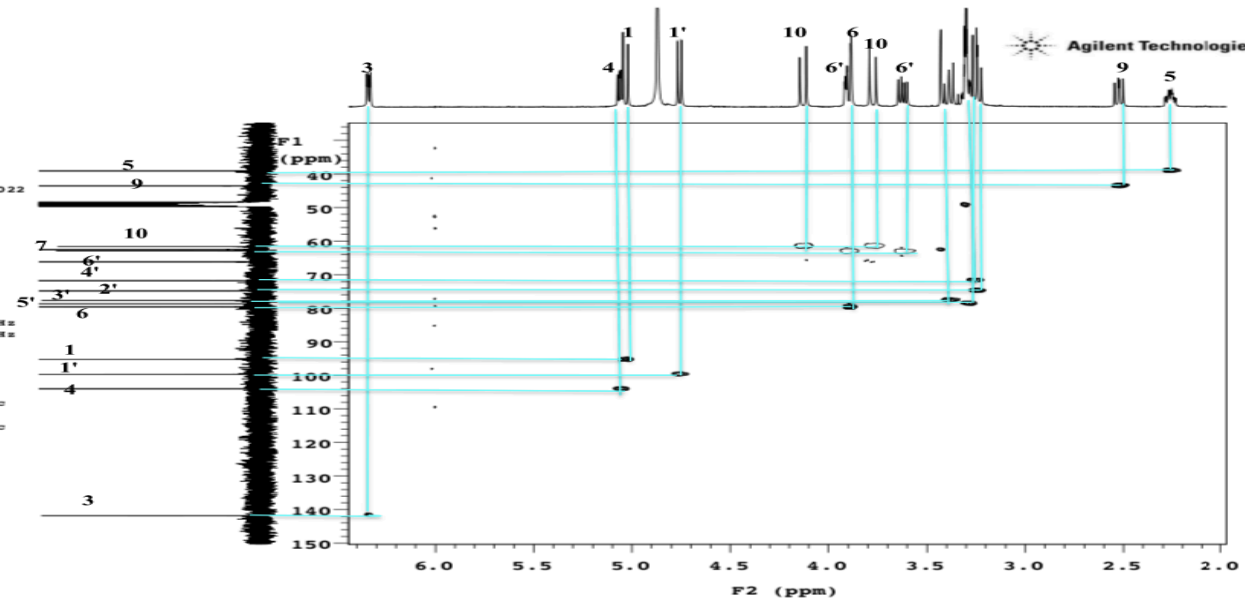
Pulse Sequence: gHSQC  
Solvent: cd3od  
Data collected on: Mar 31 2022

Temp. 22.0 C / 295.1 K  
Operator: vnmr1

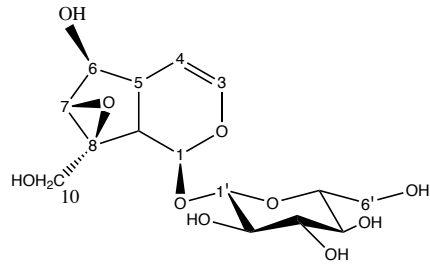
Relax. delay 1.000 sec  
Acq. time 0:150 sec  
Width 6402.0 Hz  
2D Width 17105.0 Hz  
4 repetitions  
2 x 128 increments

OBSERVE H1, 400.1756513 MHz  
DECOUPLE C13, 100.6317945 MHz  
Power 45 dB  
on during acquisition  
off during delay  
GARP-1 modulated

DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.069 sec  
F1 DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.007 sec  
F2 size 2048 x 2048  
Total time 23 min



Şekil 4.17. Katalpol'ün (LCB3) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu (HSQC)



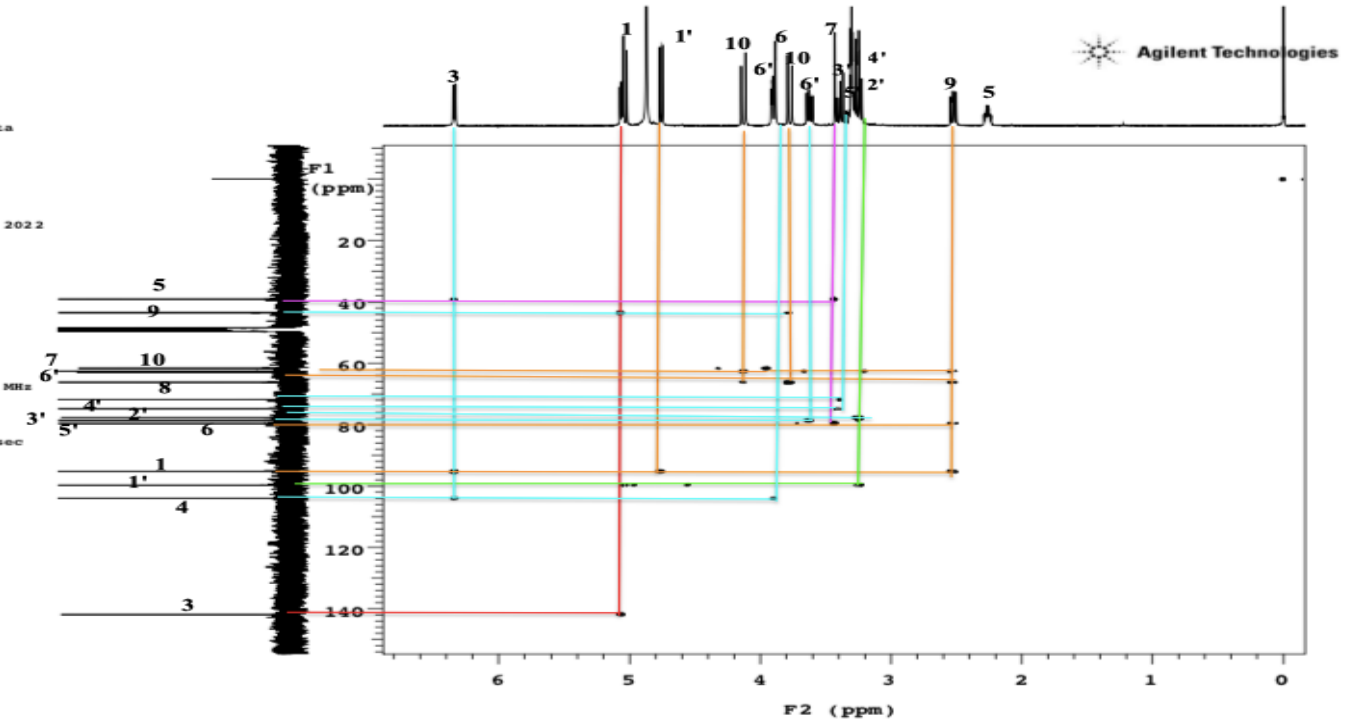
LCB3

Sample Name:  
LCB3  
Data Collected on:  
mercury400-mercury400  
Archive directory:  
/home/vnmr1/vnmrsys/data  
Sample directory:  
LCB3\_20220331\_01  
FidFile: gHMBC\_01

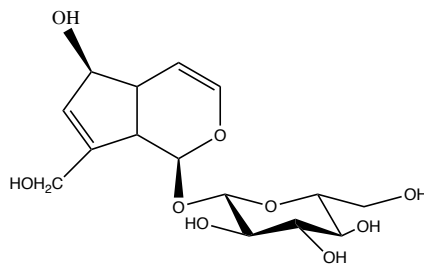
Pulse Sequence: gHMBC  
Solvent: cd3od  
Data collected on: Mar 31 2022

Temp. 22.0 C / 295.1 K  
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec  
Acq. time 0.150 sec  
Width 6402.0 Hz  
2D Width 24147.3 Hz  
4 repetitions  
2 x 200 increments  
OBSERVE H1, 400.1756501 MHz  
DATA PROCESSING  
Sq. sine bell 0.075 sec  
F1 DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.008 sec  
FT size 2048 x 2048  
Total time 37 min



Şekil 4.18. Katalpol'ün (LCB3) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC)



### OKUBİN [LCB4a]

**C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub> (Molekül Ağırlığı: 346)**

UV $\lambda_{\text{maks}}$ (MeOH) nm	253
IR $\nu_{\text{maks}}$ (KBr) cm <sup>-1</sup>	3325(OH), 1655 (C=C)
LC-MS ES-	345
[M+Na]	369
<sup>1</sup> H NMR	Tablo 4.5 Şekil 4.19
<sup>13</sup> C	Tablo 4.5 Şekil 4.20
DEPT	Tablo 4.5 Şekil 4.21
COSY	Şekil 4.22
HMQC	Şekil 4.23
HMBC	Tablo 4.5 Şekil 4.24

LCB4 bileşiği beyaz, amorf bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde, vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaktifi püskürtüldüğünde açık kahverengi, plak ısıtıldıktan sonra koyu kahverengi renk görülmüştür. NMR spektrumları değerlendirildiğinde LCB4 kodlu bileşiğin, 2 farklı maddenin 1:0,5 oranında bir karışımı olduğu anlaşılmıştır. Major bileşiğe [LCB4a], minör bileşiğe [LCB4b] kodu verilmiştir. UV spektrumunda 253 nm'de absorpsiyon bandı, IR spektrumunda hidroksil (3325 cm<sup>-1</sup>), olefinik çifte bağa ait (1655 cm<sup>-1</sup>) absorpsiyon bantları gözlenmiştir.



LCB4a bileşiğinin,  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  spektrumlarında (Tablo 4.5, Şekil 4.19 ve 4.20)  $\delta_{\text{H}}$  4,66 ppm (d,  $J=8$  Hz, H-1'),  $\delta_{\text{C}}$  99,95 ppm olarak gözlenen sinyallerin anomerik proton ve karbona ait olduğu düşünülmüştür. Diğer oz sinyalleri ile birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin monoglikozidik yapıda olduğu, anomerik protonun kenetlenme sabitinden ( $J=8$  Hz) bağ konfigürasyonun  $\beta$  olduğu anlaşılmıştır. 3,22-3,86 ppm arasında gözlenen proton sinyalleri ve 62,71-78,33 ppm arasında gözlenen 5 karbon rezonansı bileşiğin bir heksoz taşıdığını doğrulamaktadır. COSY ve HMQC spektrumlarının (Şekil 4.22 ve 4.23) birlikte değerlendirilmesiyle uzun  $\beta$ -glukoz olduğu tespit edilmiştir.

$^{13}\text{C}$  ve DEPT spektrumları (Tablo 4.5, Şekil 4.20 ve 4.21) birlikte değerlendirildiğinde, 1 katerner (C), 12 metin (CH) ve 2 metilen ( $\text{CH}_2$ ) karbonu olmak üzere 15 karbon rezonansı görülmüştür. 15 karbon rezonansından glukoza ait 6 sinyal çıkarıldığında aglikonun 9 karbonlu siklopentan-piran iskeletine sahip olduğu bulunmuştur. HMBC spektrumunda (Tablo 4.5 ve Şekil 4.24) H-1' protonunun,  $\delta_{\text{C}}$  97,76 ppm (C-1) ile korelasyonu  $\beta$ -glukoz ünitesinin C-1 pozisyonundan bağlı olduğunu göstermektedir.  $\delta_{\text{H}}$  4,94 ppm (d,  $J=7,1$  Hz),  $\delta_{\text{C}}$  97,76 ppm'de gözlenen sinyallerin 1 numaralı proton ve karbona ait olduğu düşünülmüştür. COSY spektrumunda (Şekil 4.22), H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  4,94) protonu  $\delta_{\text{H}}$  2,88'deki (1H, t,  $J = 7,4$  Hz, H-9) metin protonuyla, H-9 protonu ise  $\delta_{\text{H}}$  2,64'deki (1H, m, H-5) metin protonuyla korelasyon göstermektedir.  $^1\text{H}$  NMR spektrumu incelendiğinde, H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  6,30 dd,  $J = 6,1/1,9\text{Hz}$ ) ve H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  5,08 m) süstitüe olmamış enol eter sistemini gösterirken, H-5 sinyalinin görülmesi C-5' in süstitüe olmadığını doğrulamaktadır. COSY spektrumunda (Şekil 4.22) H-5 protonu ( $\delta_{\text{H}}$  2,64, m) H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  5,08 m) ve H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  4,43 m) protonları arasında korelasyon görülmektedir. H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  4,43) protonunun H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  5,76  $J=1,7$  Hz) etkileşimi, H-9'un triplet şeklinde gözlenmesi nedeniyle C-8'in katerner olduğu, C-7 ile C-8 arasında çifte bağ olduğu düşünülmüştür. H-10'nun ( $\delta_{\text{H}}$  4,16 d,  $J= 15,5/2$  Hz; 4,34 d,  $J= 15,3/1,9$  Hz) HMBC spektrumunda (Tablo

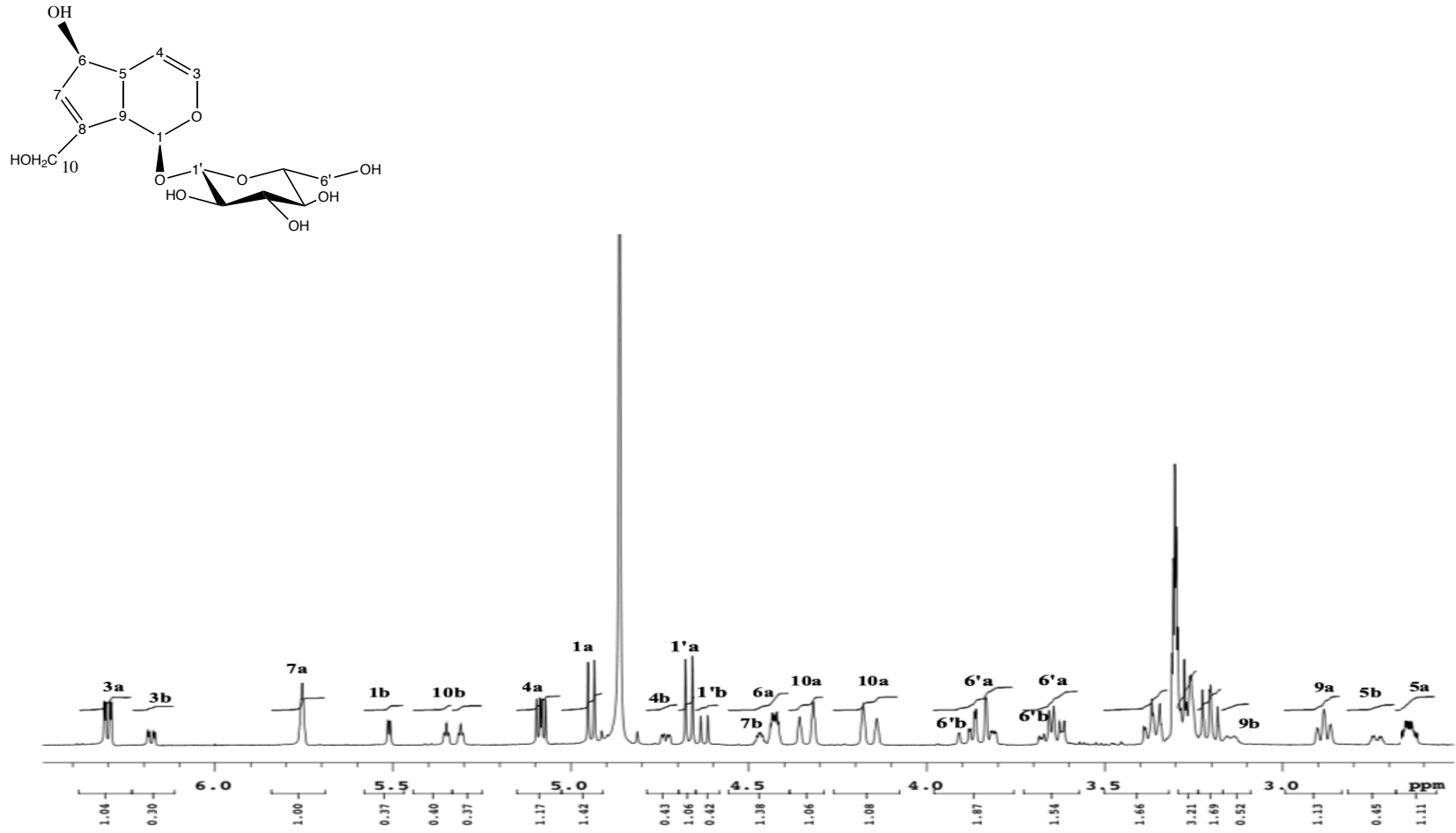
4.5, Şekil 4.24) C-7, C-8 ile korelasyon göstermesi, hidroksimetilen grubunun katerner karbona bağlı olduğunu göstermektedir.

NMR, LC-MS spektrumları ve literatür verileriyle karşılaştırıldığında; **LCB4a** bileşiğinin yapısı, okubin olarak aydınlatılmıştır (79, 80). Minör bileşiğin [LCB4b] ise daha önce izole edilen 6- $\beta$ -hidroksiantirrit olduğu anlaşılmıştır.

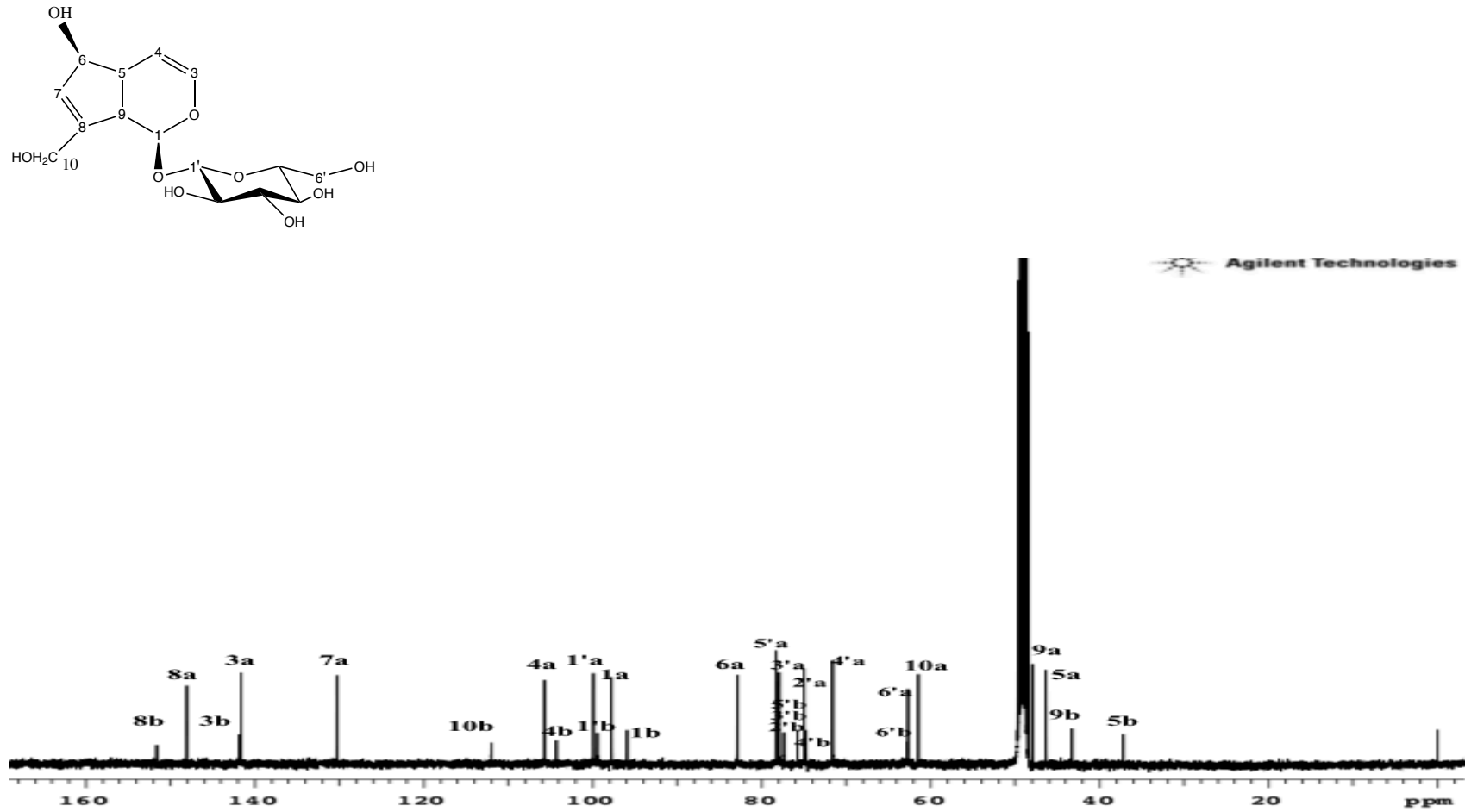
**Tablo 4.5.** Okubin (**LCB4a**) bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  ve  $^1\text{H}$  NMR spektroskopik değerleri ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ : 100,62 MHz,  $^1\text{H}$ : 400,18 MHz); önemli HMBC korelasyonları

C/H Atom	DEPT	$\delta_{\text{H}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$ ppm	HMBC (H $\rightarrow$ C)
Aglikon				
1a	CH	4,94 (d, $J=7,1$ Hz)	97,76	C-1'a, C-3a
3a	CH	6,30 (dd, $J=6,1/1,9$ Hz)	141,64	C-1a, C-4a, C-5a
4a	CH	5,08 (m, $J=6,4/4,0$ Hz)	105,74	C-3a, C-5a, C-9a
5a	CH	2,64 (m, $J=7,6/5,7/3,9/2,0$ Hz)	46,35	
6a	CH	4,43 (m, $J=3,6/2,0$ Hz)	82,90	C-8a
7a	CH	5,76 (m, $J=1,7$ Hz)	130,28	C-5a, C-6a, C-9a
8a		-	148,07	
9a	CH	2,88 (t, $J=8,8/3,6$ Hz)	47,97	C-1a, C-7a, C-8a
10a	CH <sub>2</sub>	4,16 (d, $J=15,5/2,0$ Hz) 4,34 (d, $J=15,3/1,9$ Hz)	61,47	C-7a, C-8a
Oz/Numara		$\delta_{\text{H}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$ ppm	
1'a	CH	4,66 (d, $J=8,0$ Hz)	99,95	C-1a
2'a	CH	3,22 (m, $J=8,0$ Hz)	74,96	C-1'a, C-3'a
3'a	CH	3,36 (m, $J=9,2/7,6/1,6$ )	77,94	C-5'a
4'a	CH	3,26 (m, $J=4,0/1,2$ Hz)	71,6	C-5'a
5'a	CH	3,26-3,28 (m)*	78,33	C-4'a
6'a	CH <sub>2</sub>	3,62-3,64 (d, $J=6,8/1,6$ Hz) 3,86 (d, $J=1,2$ Hz)	62,71	C-5'a

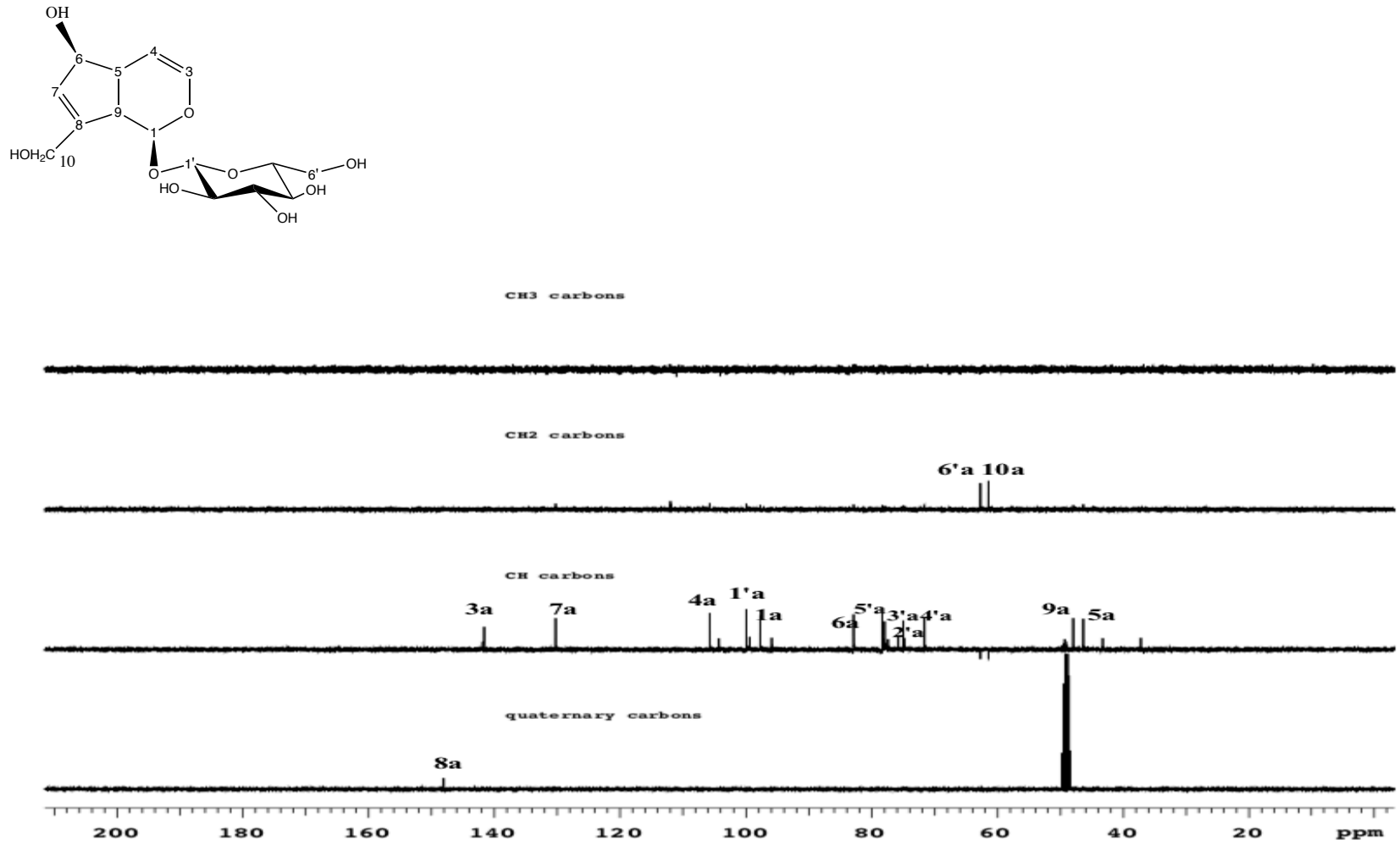
\*: Sinyal örtüşmesi nedeniyle  $J$  değerleri hesaplanamamıştır.



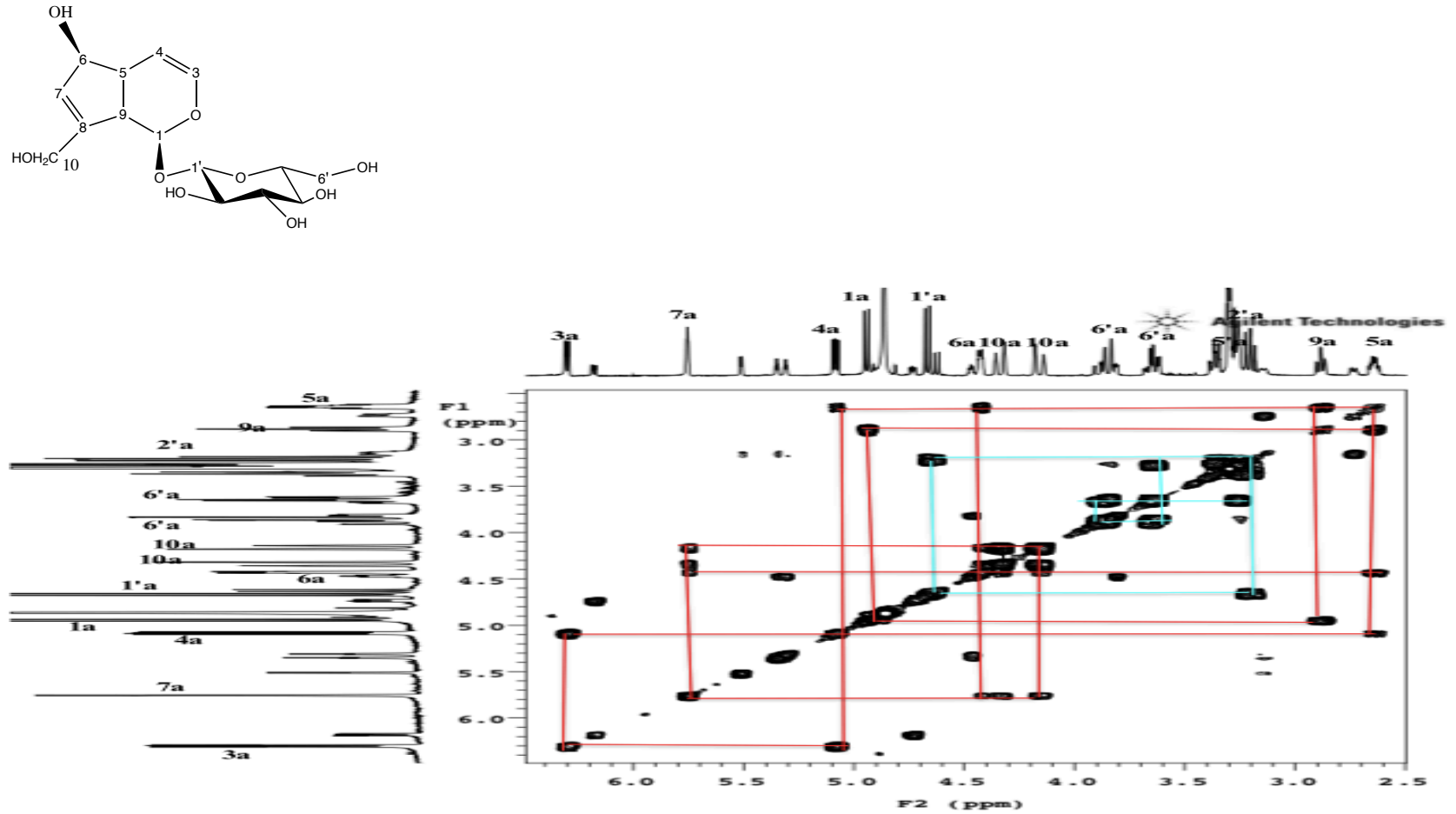
Şekil 4.19. Okubin (LCB4a) bileşiğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (CD<sub>3</sub>OD; <sup>1</sup>H:400,18 MHz)



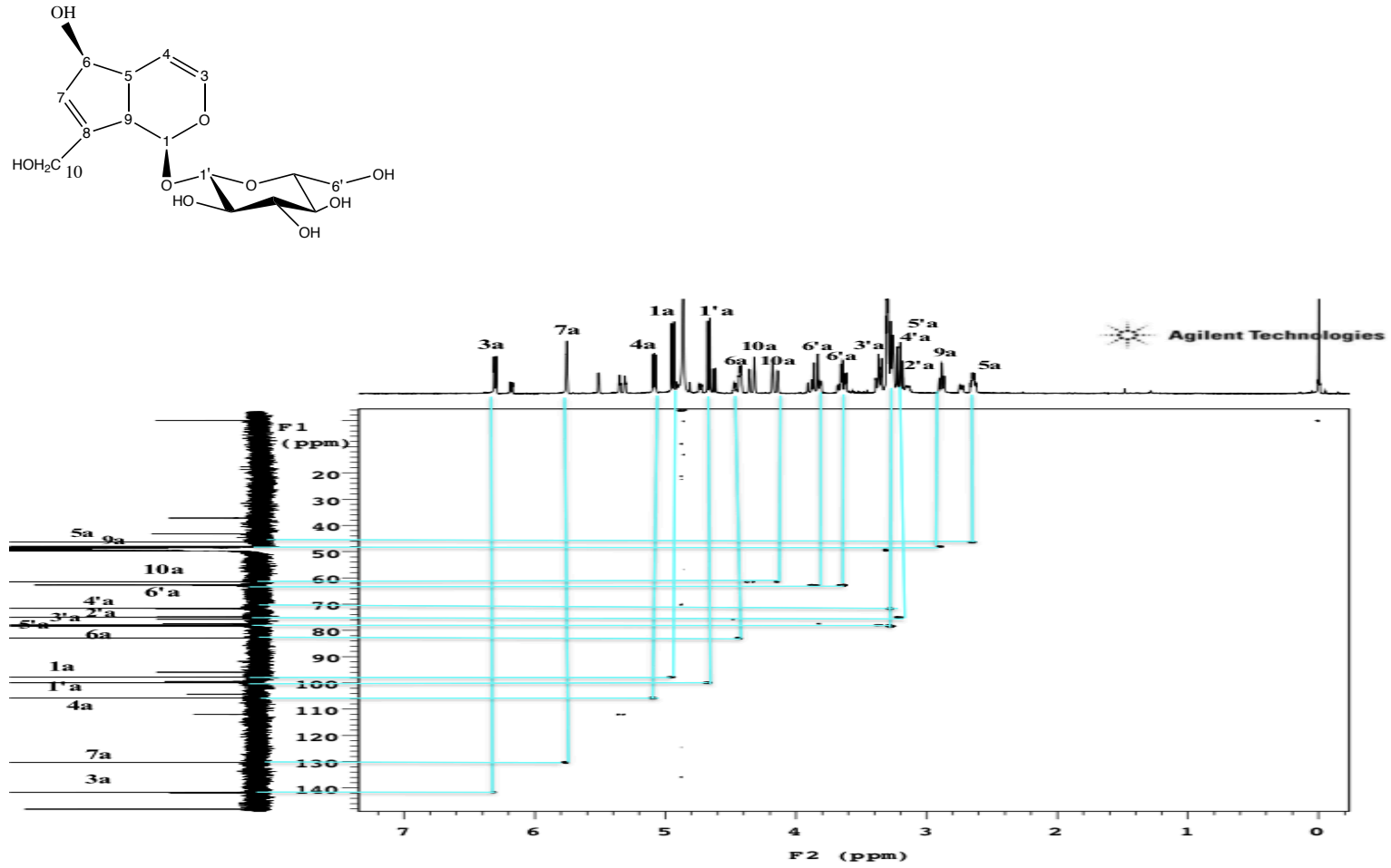
Şekil 4.20. Okubin'in (LCB4a)  $^{13}\text{C}$  NMR Spektrumu ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ :100,62 MHz)



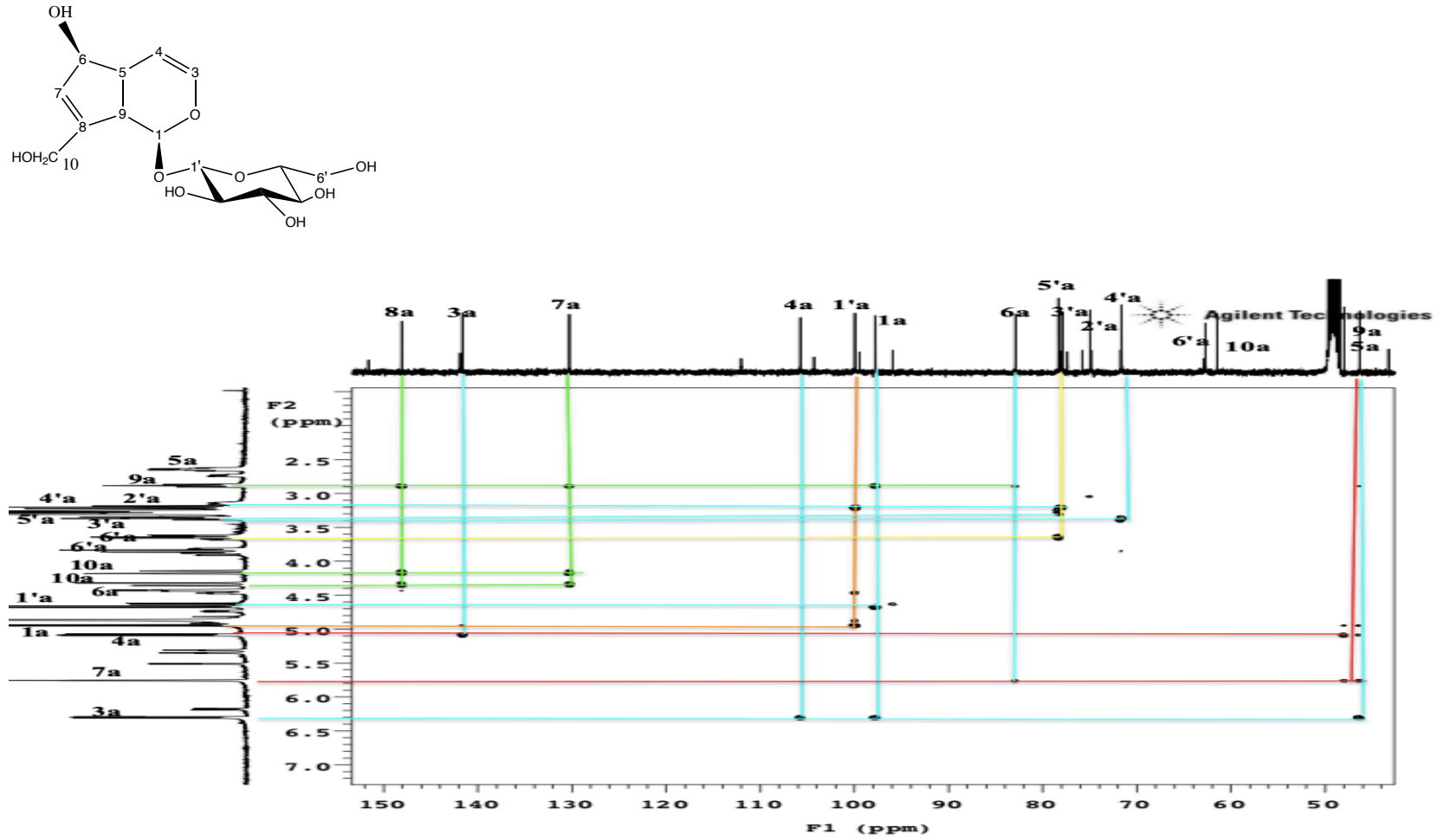
Şekil 4.21. Okubin'in (LCB4a) DEPT Spektrumları ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ :100,62 MHz)



Şekil 4.22. Okubin'in (LCB4a) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu (COSY)

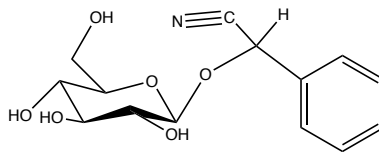


Şekil 4.23. Okubin'in (LCB4a) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu (HMQC)



Şekil 4.24. Okubin'in (LCB4a) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC)





### PRUNASİN [LCE1]

**C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>6</sub> (Molekül Ağırlığı:295)**

UV $\lambda_{\text{maks}}$ (EtOH) nm	243, 260
IR $\nu_{\text{maks}}$ (KBr) $\text{cm}^{-1}$	2157 (C≡N), 1680(C=C), 1270 (C-O)
LC-MS ES-	294
[M+Na]	318
<sup>1</sup> H NMR	Tablo 4.6 Şekil 4.25
<sup>13</sup> C	Tablo 4.6 Şekil 4.26
DEPT	Tablo 4.6 Şekil 4.27
COSY	Şekil 4.28
HMQC	Şekil 4.29
HMBC	Tablo 4.6 Şekil 4.30

**LCE1** bileşiği sarı-turuncu, viskoz bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde vanilin /H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaktifi püskürtülüp, plak 105-110°C'de ısıtıldıktan sonra mavi/mor renk görülmüştür. UV spektrumunda 243 ve 260 nm'de absorpsiyon bantları, IR spektrumunda siyanür grubuna ait (2157  $\text{cm}^{-1}$ ), olefinik çifte bağa ait (1680  $\text{cm}^{-1}$ ), eter grubuna ait (1270  $\text{cm}^{-1}$ ) absorpsiyon bantları gözlenmiştir.

<sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C spektrumlarında (Tablo 4.6, Şekil 4.25 ve 4.26)  $\delta_{\text{H}}$  4,23 ppm (d,  $J=6,8$  Hz, H-1'),  $\delta_{\text{C}}$  101,96 ppm olarak gözlenen sinyallerin anomerik proton ve karbona ait olduğu düşünülmüştür. Diğer oz sinyalleri ile birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin monoglikozidik yapıda olduğu, anomerik protonun kenetlenme sabitinden ( $J=6,8$  Hz) bağ konfigürasyonun  $\beta$  olduğu anlaşılmıştır. 3,22-3,91 ppm arasında gözlenen proton sinyalleri ve 62,82-

78,40 ppm arasında gözlenen 5 karbon rezonansı bileşiğin bir heksoz taşıdığını doğrulamaktadır. COSY ve HMQC (Şekil 4.28 ve 4.29) spektrumlarının birlikte değerlendirilmesiyle uzun  $\beta$ -glukoz olduğu tespit edilmiştir.

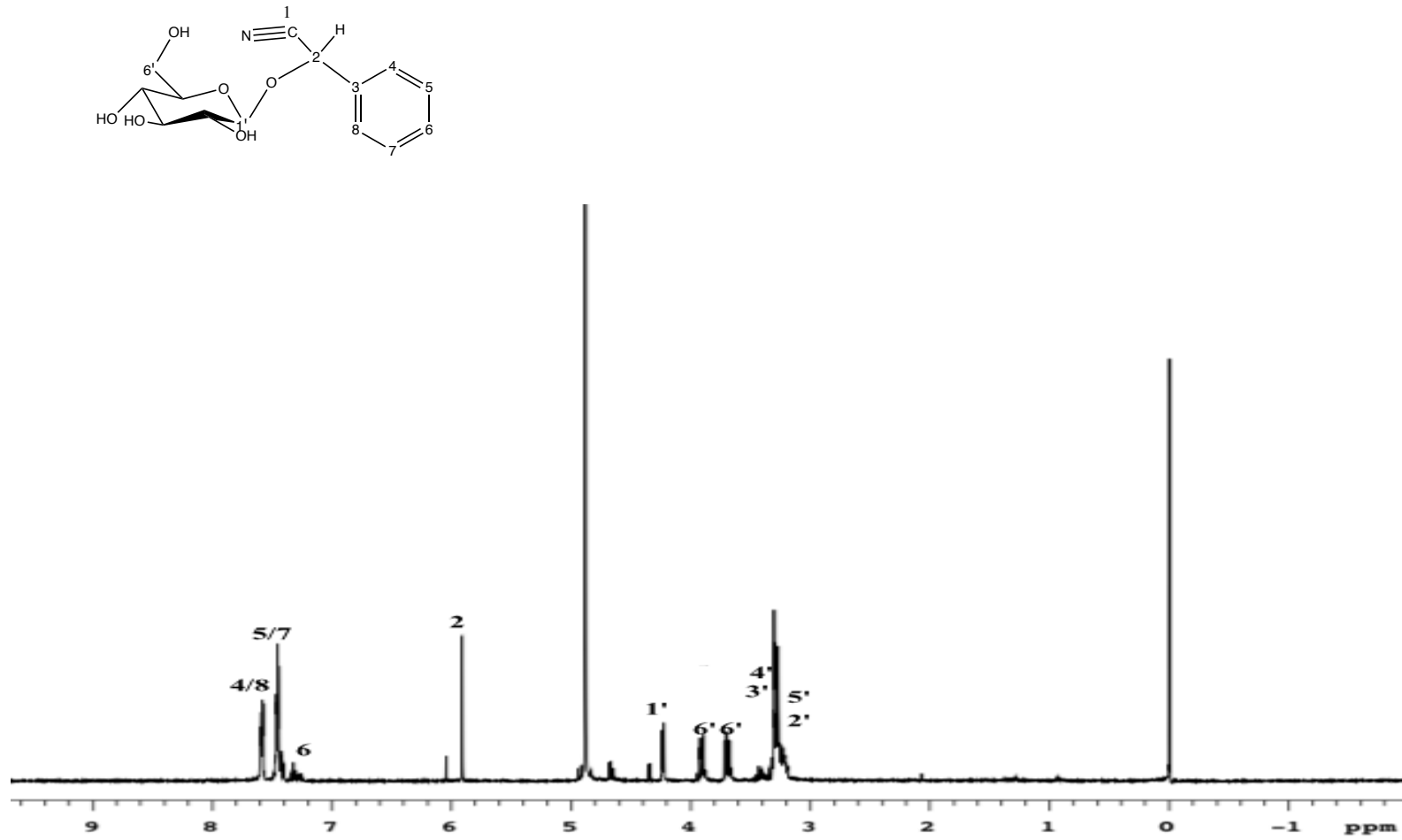
$^{13}\text{C}$  ve DEPT spektrumları (Tablo 4.6, Şekil 4.26 ve 4.27) değerlendirildiğinde 2 katerner (C), 11 metin (CH), 1 metilen ( $\text{CH}_2$ ) karbonu olmak üzere 14 karbon rezonansı görülmüştür.  $^1\text{H}$  spektrumunda (Tablo 4.5, Şekil 4.24) görülen  $\delta_{\text{H}}$  7,58 (dd,  $J= 7,6/3,6$ , 2H),  $\delta_{\text{H}}$  7,45 ppm (m, 2H) pikler ve  $^{13}\text{C}$  spektrumunda görülen  $\delta_{\text{C}}$  130,19 (2C),  $\delta_{\text{C}}$  131,06 ppm (2C) pikler nedeniyle bileşiğin monosübstitüe benzen iskeleti taşıdığı düşünülmüştür. Bileşiğin LC -MS spektrumunda görülen ES- (294),  $[\text{M}+\text{Na}]$  (318) pikleri,  $^{13}\text{C}$  ve DEPT spektrumları (Tablo 4.6, Şekil 4.26 ve 4.27) değerlendirildiğinde yapıda bulunan katerner karbona bağlı azot atomu olabileceği akla gelmektedir. HMBC spektrumunda (Tablo 4.6, Şekil 4.30)  $\delta_{\text{H}}$  5,91 (s, H-2) ile  $\delta_{\text{C}}$  119,47 (C-1) ve  $\delta_{\text{C}}$  134,90 (C-3) karbonlarının korelasyonu görülmüştür. HMBC spektrumunda (Tablo 4.6, Şekil 4.30)  $\delta_{\text{H}}$  7,58 (dd,  $J= 7,6/3,6$  Hz, H-4/8) protonları ve  $\delta_{\text{H}}$  7,32 protonunun,  $\delta_{\text{C}}$  131,06 (C-5/7) karbonlarının korelasyonu,  $\delta_{\text{H}}$  4,23 (d,  $J= 6, 8$  Hz, H-1') protonuyla  $\delta_{\text{C}}$  68,39 (C-2) karbonunun korelasyonu görülmüştür.

NMR, LC-MS spektrumları birlikte değerlendirildiğinde ve literatür verileriyle karşılaştırıldığında; **LCE1** bileşiğinin yapısı, prunasin olarak aydınlatılmıştır (81, 82).

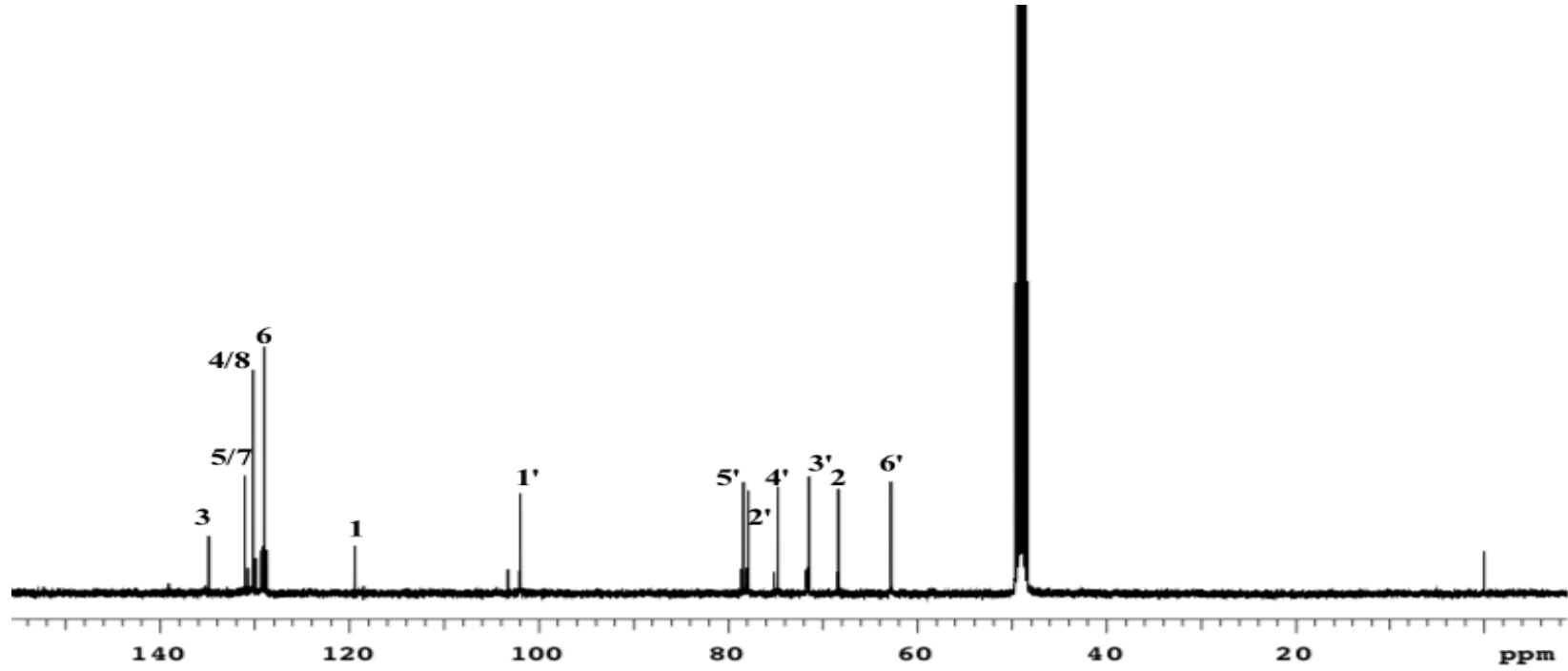
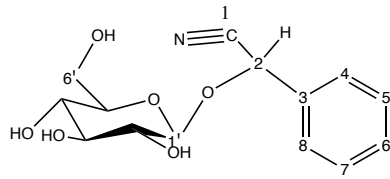
**Tablo 4.6.** Prunasin (LCE1) bileşiminin  $^{13}\text{C}$  ve  $^1\text{H}$  NMR spektroskopik değerleri ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ : 100,62 MHz,  $^1\text{H}$ : 400,18 MHz); önemli HMBC korelasyonları

C/H Atom	DEPT	$\delta_{\text{H}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$ ppm	HMBC (H→C)
Aglikon				
1		-	119,47	
2	CH	5,91 (s)	68,39	C-1, C-3
3		-	134,90	
4	CH	7,58 (dd, $J=7,6/3,6$ Hz)	130,19	C-5/7
5	CH	7,45 (m, $J=2,0$ Hz)	131,06	
6	CH	7,32 (m, $J=8,8/1,6$ Hz)	129,04	C-5/7
7	CH	7,45 (m, $J=2,0$ Hz)	131,06	
8	CH	7,58 (dd, $J=7,6/3,6$ Hz)	130,19	C-5/7
Glukoz/Numara				
		$\delta_{\text{H}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$ ppm	
1'	CH	4,23 (d, $J=6,8$ Hz)	101,96	C-2
2'	CH	3,26 (m)*	77,87	
3'	CH	3,28-3,30 (m)*	71,50	
4'	CH	3,38-3,40 (m)*	74,77	
5'	CH	3,22 (m)*	78,40	
6'	CH <sub>2</sub>	3,72-3,74 (m)* 3,91 (d, $J= 12,0/2,0$ Hz)	62,82	C-5'

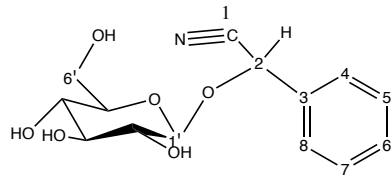
\*: Sinyal örtüşmesi nedeniyle  $J$  değerleri hesaplanamamıştır.



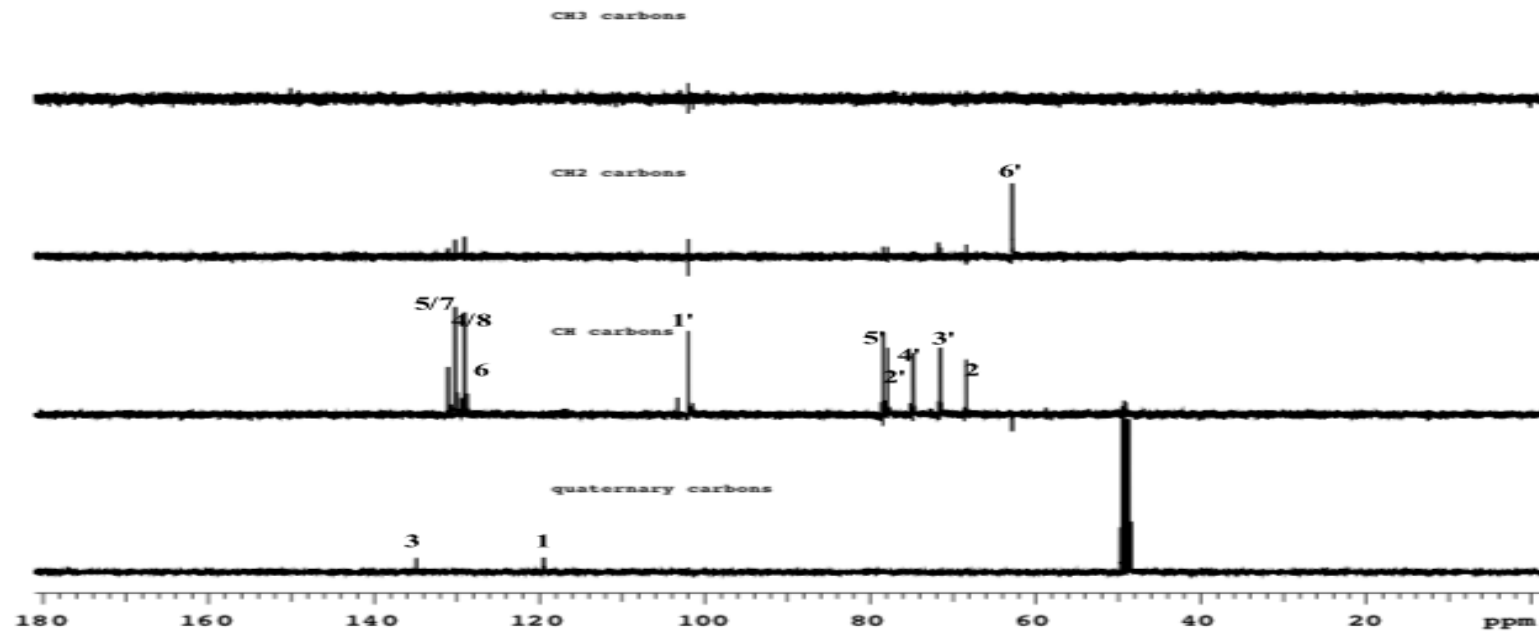
Şekil 4.25. Prunasin (LCE1) bileşiğinin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (CD<sub>3</sub>OD; <sup>1</sup>H: 400,18 MHz)



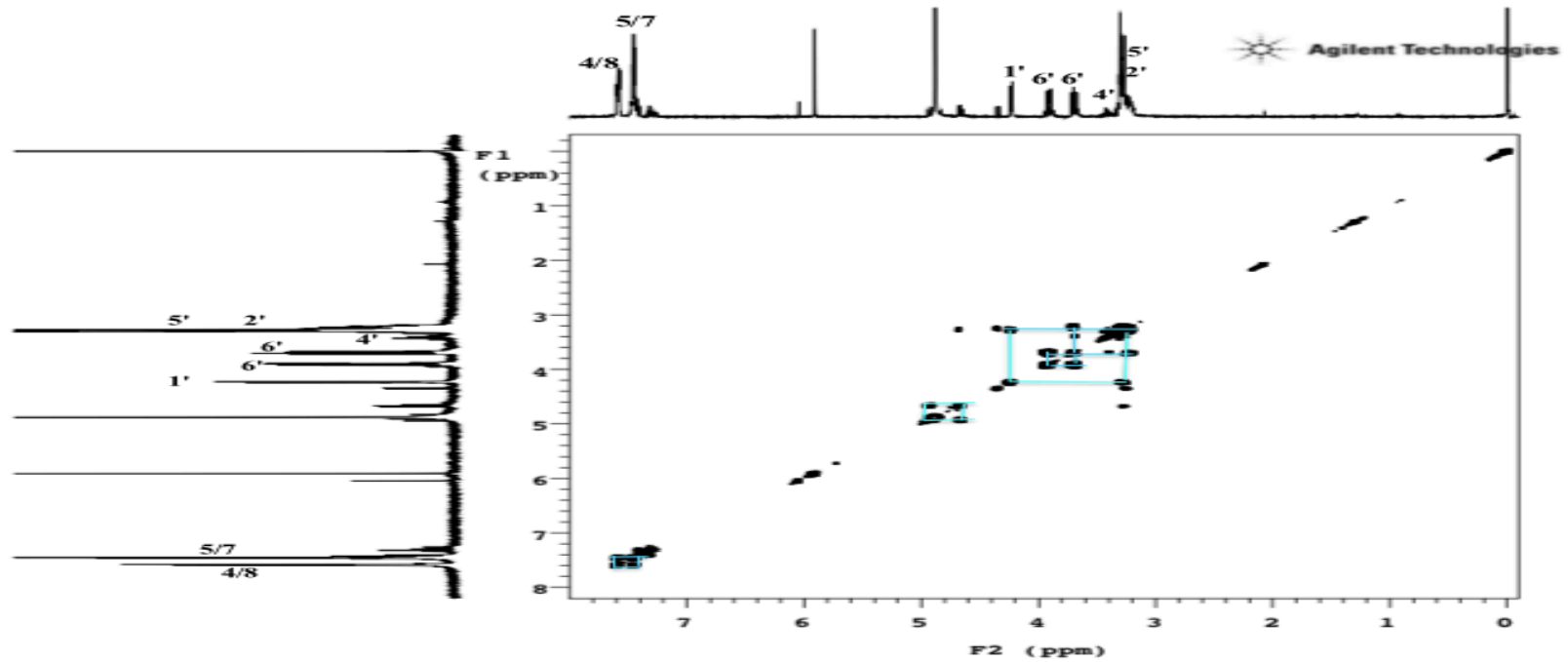
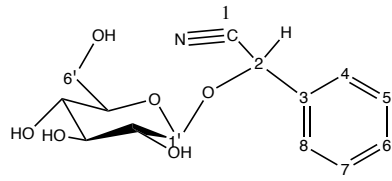
Şekil 4.26. Prunasin'in (LCE1)  $^{13}\text{C}$  NMR Spektrumu ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ :100,62 MHz)



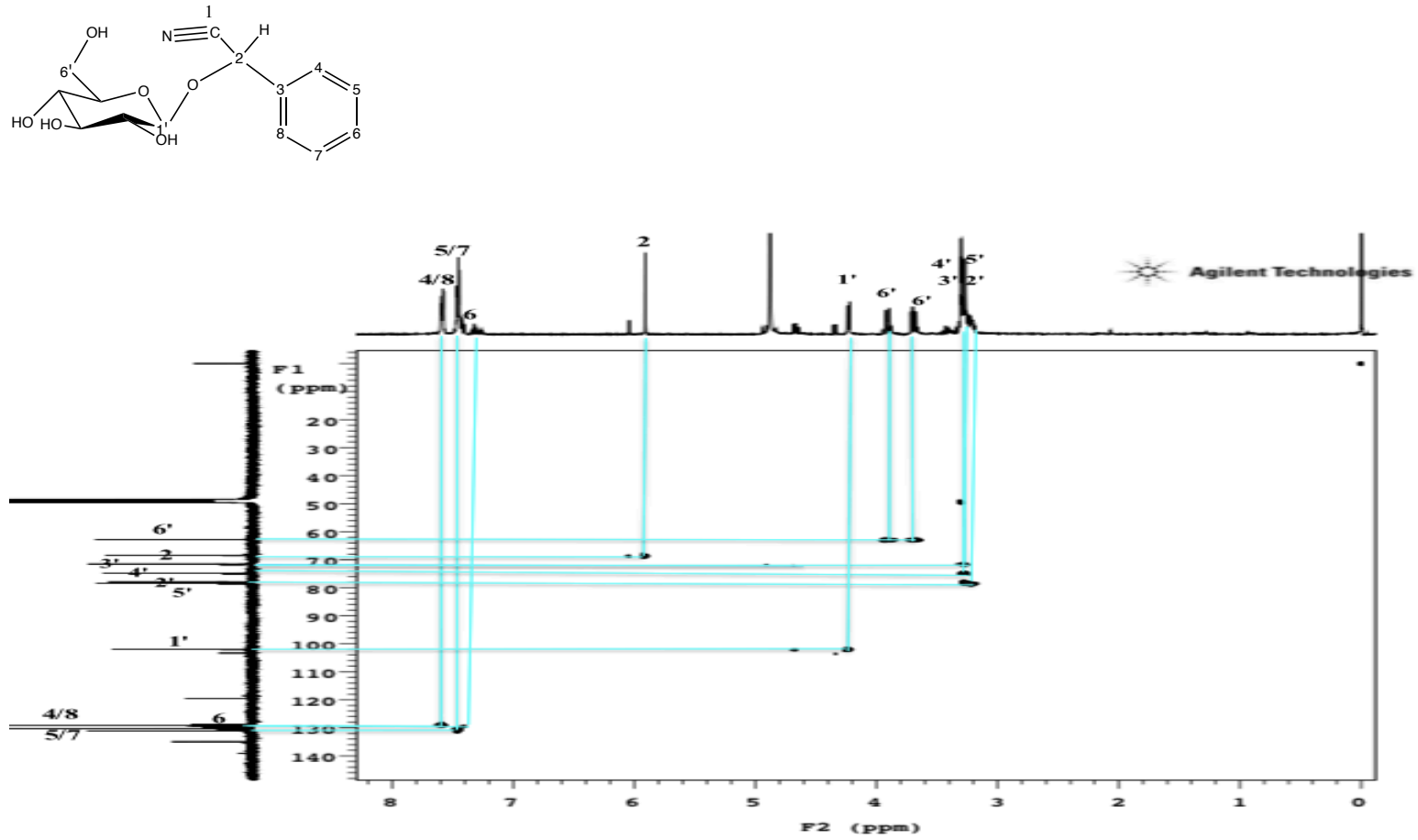
Agilent Technologies



Şekil 4.27. Prunasin'in (LCE1) DEPT Spektrumları (CD<sub>3</sub>OD; <sup>13</sup>C:100,62 MHz)

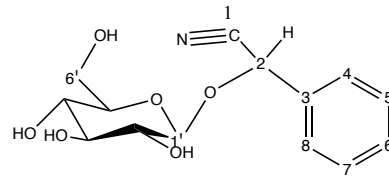


Şekil 4.28. Prunasin'in (LCE1) 2D <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu (COSY)

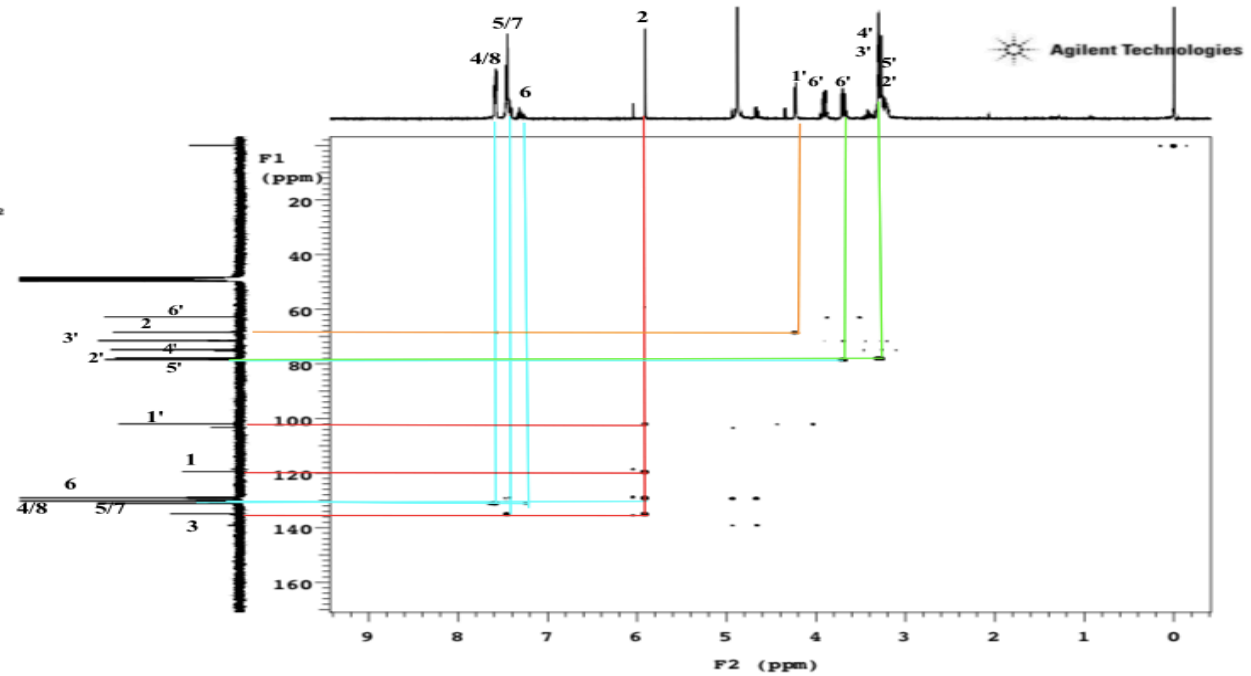


Şekil 4.29. Prunasin'in (LCE1) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu (HMQC)

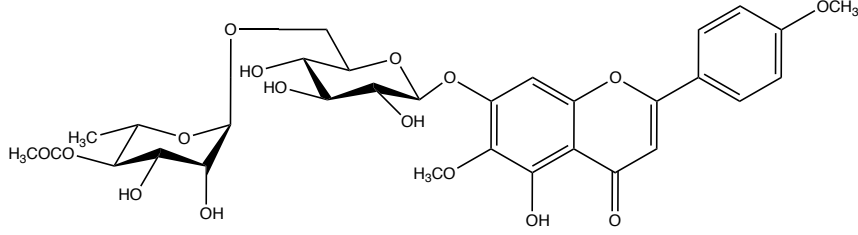




lcE1  
 Sample Name:  
 lcE1  
 Data Collected on:  
 mercury400-mercury400  
 Archive directory:  
 /home/vnmr1/vnmrSYS/data  
 Sample directory:  
 lcE1\_20220525\_01  
 Fidfile: gHMBC\_01  
 Pulse Sequence: gHMBC  
 Solvent: cd3od  
 Data collected on: May 25 2022  
 Temp. 25.0 C / 298.1 K  
 Operator: vnmr1  
 Relax. delay 1.000 sec  
 Acq. time 0.150 sec  
 Width 6402.0 Hz  
 2D Width 19622.3 Hz  
 8 repetitions  
 2 x 200 increments  
 OBSERVE H1, 400.1756492 MHz  
 DATA PROCESSING  
 Sq. size 8x11 0.075 sec  
 F1 DATA PROCESSING  
 Gauss apodization 0.009 sec  
 FT size 2048 x 2048  
 Total time 1 hr, 11 min



Şekil 4.30. Prunasin'in (LCE1) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC)



### LİNARİNİN [LCE2]

**C<sub>31</sub>H<sub>36</sub>O<sub>16</sub> (Molekül Ağırlığı: 664)**

UV $\lambda_{\text{maks}}$ (MeOH) nm	352
IR $\nu_{\text{maks}}$ (KBr) $\text{cm}^{-1}$	3380 (OH), 2937(CH <sub>3</sub> ) 1725(C=O), 1655 (C=C), 833 (p-disübstitüe benzen)
LC-MS [M+Na] <sup>+</sup>	688
<sup>1</sup> H NMR	Tablo 4.7 Şekil 4.31
<sup>13</sup> C	Tablo 4.7 Şekil 4.32
APT	Tablo 4.7 Şekil 4.33
COSY	Şekil 4.34
HSQC	Şekil 4.35
HMBC	Tablo 4.7 Şekil 4.36

LCE2 bileşiği sarı, amorf bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde, vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaktifi püskürtülüp, plak 105-110°C’de ısıtıldıktan sonra sarı renk görülmüştür. UV spektrumunda flavon yapısına karakteristik 352 nm’de absorpsiyon bandı, IR spektrumunda hidroksil grubuna ait (3380  $\text{cm}^{-1}$ ), metil grubuna ait (2937  $\text{cm}^{-1}$ ), olefinik çifte bağ grubuna ait (1655  $\text{cm}^{-1}$ ), p- disübstitüe benzen grubuna ait (2937  $\text{cm}^{-1}$ ) absorpsiyon bantları gözlenmiştir.

$^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumlarında (Tablo 4.7, Şekil 4.31 ve Şekil 4.32),  $\delta_{\text{H}}$  5,14 (m,  $J=6,8$  Hz, H-1'') ve  $\delta_{\text{C}}$  100,10 (C-1'') ile  $\delta_{\text{H}}$  4,58 (d,  $J=1,6$  Hz, H-1''') ve  $\delta_{\text{C}}$  99,87 (C-1''')'de görülen pikler nedeniyle bileşiğin 2 oz taşıdığı, bu ozlardan birinin glukoz, diğerinin ramnoz olabileceği düşünülmüştür.  $\delta_{\text{H}}$  0,83 (d,  $J=6,3$  Hz, 3H) ve  $\delta_{\text{C}}$  17,14 (C-6''',  $\text{CH}_3$ ) görülen metil sinyalleri, ikinci ozun ramnoz olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Glukozun kenetlenme sabitinden ( $J=6,8$  Hz) bağ konfigürasyonunun  $\beta$  olduğu, ramnozun kenetlenme sabitinden ( $J=1,6$  Hz) bağ konfigürasyonunun  $\alpha$  olduğu anlaşılmaktadır. COSY ve HSQC spektrumları (Şekil 4.34 ve 4.35) birlikte değerlendirildiğinde ozların  $\beta$ -glukoz ve  $\alpha$ -ramnoz olduğu tespit edilmiştir.

$^{13}\text{C}$  ve APT spektrumları (Tablo 4.7, Şekil 4.33 ve 4.33) birlikte değerlendirildiğinde 10 katerner (C), 16 metin (CH), 1 metilen ( $\text{CH}_2$ ) ve 4 metil ( $\text{CH}_3$ ) olmak üzere 31 karbon rezonansı görülmüştür.  $^1\text{H}$  spektrumunda (Tablo 4.6, Şekil 4.31) görülen  $\delta_{\text{H}}$  7,12 (d,  $J=9,2$  Hz, H-3'/5'),  $\delta_{\text{H}}$  8,04 (d,  $J=8,8$  Hz, H-2'/6'),  $\delta_{\text{H}}$  6,90 (s, H-3) ve  $\delta_{\text{H}}$  6,96 ppm (s, H-8) pikler nedeniyle bileşiğin p-disüstitüe flavonoit iskeleti taşıdığı düşünülmüştür.  $\delta_{\text{H}}$  3,75 (d,  $J=4$  Hz, 3H) ve  $\delta_{\text{H}}$  3,83 (s, 3H) 'de görülen piklerin sırasıyla 6 ve 4' numaralı karbonlara bağlı metil gruplarına ait olduğu belirlenmiştir. HMBC spektrumunda (Tablo 4.7, Şekil 4.36)  $\delta_{\text{H}}$  3,75 (6-O $\text{CH}_3$ ) ile  $\delta_{\text{C}}$  152,17 (C-5) ve  $\delta_{\text{H}}$  3,83 (4'-O $\text{CH}_3$ ) ile  $\delta_{\text{C}}$  162,40 (C-4') arasında korelasyon görülmüştür.  $\delta_{\text{H}}$  3,55 (m),  $\delta_{\text{C}}$  65,73'de (C-6'') görülen pikin glukozun 6 numaralı proton ve karbonuna ait olduğu düşünülmüş, HMBC spektrumunda (Tablo 4.7, Şekil 4.36)  $\delta_{\text{H}}$  4,58 (d,  $J=1,6$  Hz, 1''') ile,  $\delta_{\text{C}}$  65,73 (C-6'') ve  $\delta_{\text{C}}$  70,21 (C-2''') karbonlarının korelasyonu görülmüş, ramnozun glukozla 6'' konumundan bağlandığı anlaşılmıştır. HMBC spektrumunda (Tablo 4.7, Şekil 4.36)  $\delta_{\text{H}}$  1,94 (s, 3H) ile  $\delta_{\text{C}}$  169,93 (C-4'''-OCO $\text{CH}_3$ /ramnozun 4''' konumuna süstitüe olmuş asetil grubu karbonu) ve  $\delta_{\text{C}}$  20,76 (C-4'''-OCO $\text{CH}_3$ /ramnozun 4''' konumuna süstitüe olmuş asetil grubunun metil karbonu) karbonları arasında korelasyon görülmüştür. HMBC spektrumunda (Tablo 4.7, Şekil 4.36)  $\delta_{\text{H}}$  6,90

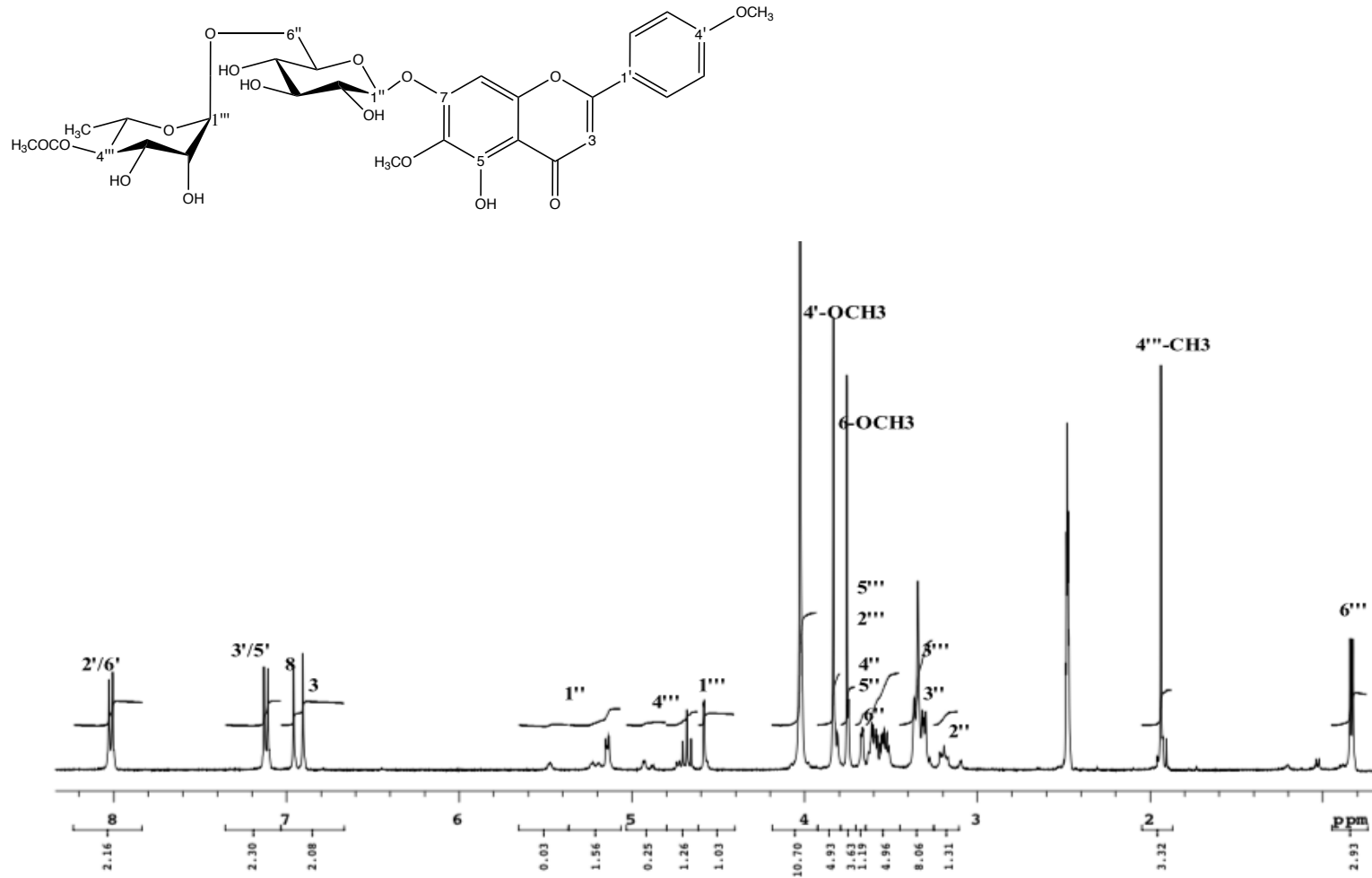
(s, H-3) ile  $\delta_C$  105,81 (C-2) ve  $\delta_C$  122,71 (C-1') karbonları arasında korelasyon görülmektedir.

NMR, LC-MS spektrumları birlikte değerlendirildiğinde ve literatür verileriyle karşılaştırıldığında; **LCE2** bileşiğinin yapısı, linariin olarak aydınlatılmıştır (83).

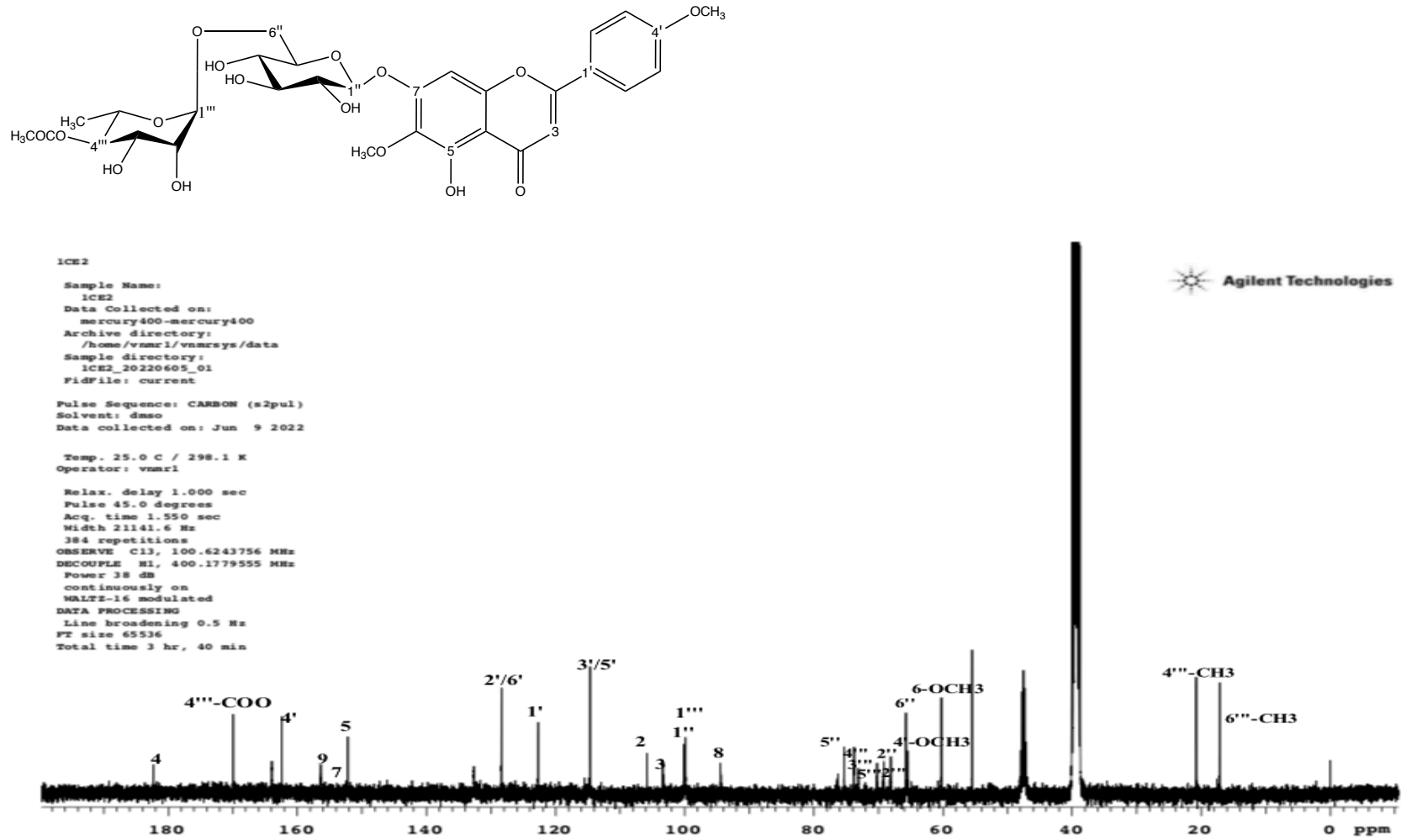
**Tablo 4.7.** Linariin (**LCE2**) bileşiğinin  $^{13}C$  ve  $^1H$  NMR spektroskopik değerleri (DMSO;  $^{13}C$ : 100,62 MHz,  $^1H$ :400,18 MHz); önemli HMBC korelasyonları

C/H Atom	APT	$\delta_H$ ppm	$\delta_C$ ppm	HMBC (H→C)
Aglikon				
2		-	105,81	
3	CH	6,90 (s)	103,39	C-1', C-2
4		-	182,26	
5		-	152,17	
6		-	132,67	
7		-	152,23	
8	CH	6,96 (s)	94,49	C-5, C-7, C-9
9		-	156,38	
10		-	105,83	
1'		-	122,71	
2'/6'	CH	8,02 (d, $J=8,8$ Hz)	128,37	C-4', C- 6'/2'
3'/5'	CH	7,12 (d, $J=9,2$ Hz)	114,67	C-1', C-5'/C-3'
4'		-	162,40	
6-OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	3,75 (d, $J=4$ Hz, 3H)	60,25	C-5
4'-OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	3,83 (s, 3H)	65,49	C-4'
-OCOCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	1,94 (s)	20,76	C-4'''-COO, C-4'''-CH <sub>3</sub>
-OCOCH <sub>3</sub>		-	169,93	
Glukoz/Numara		$\delta_H$ ppm	$\delta_C$ ppm	
1''	CH	5,14 (m, $J=6,8$ Hz)	100,10	
2''	CH	3,20 (m, $J=9,2$ Hz))	69,13	C-3''
3''	CH	3,28-3,34*	76,27	
4''	CH	3,49-3,70*	68,08	C-5''
5''	CH	3,49-3,70*	75,32	
6''	CH <sub>2</sub>	3,55*	65,73	
Ramnoz /Numara		$\delta_H$ ppm	$\delta_C$ ppm	
1'''	CH	4,58 (d, $J=1,6$ Hz)	99,87	C-2''' , C-6'''
2'''	CH	3,49-3,70*	70,21	C-3'''
3'''	CH	3,28-3,34*	73,10	C-4'''
4'''	CH	4,69-4,76*	73,76	C-2'''
5'''	CH	3,49-3,70*	64,83	
6'''	CH <sub>3</sub>	0,83 (d, $J=6,3$ Hz)	17,14	C-4''' , C-5'''

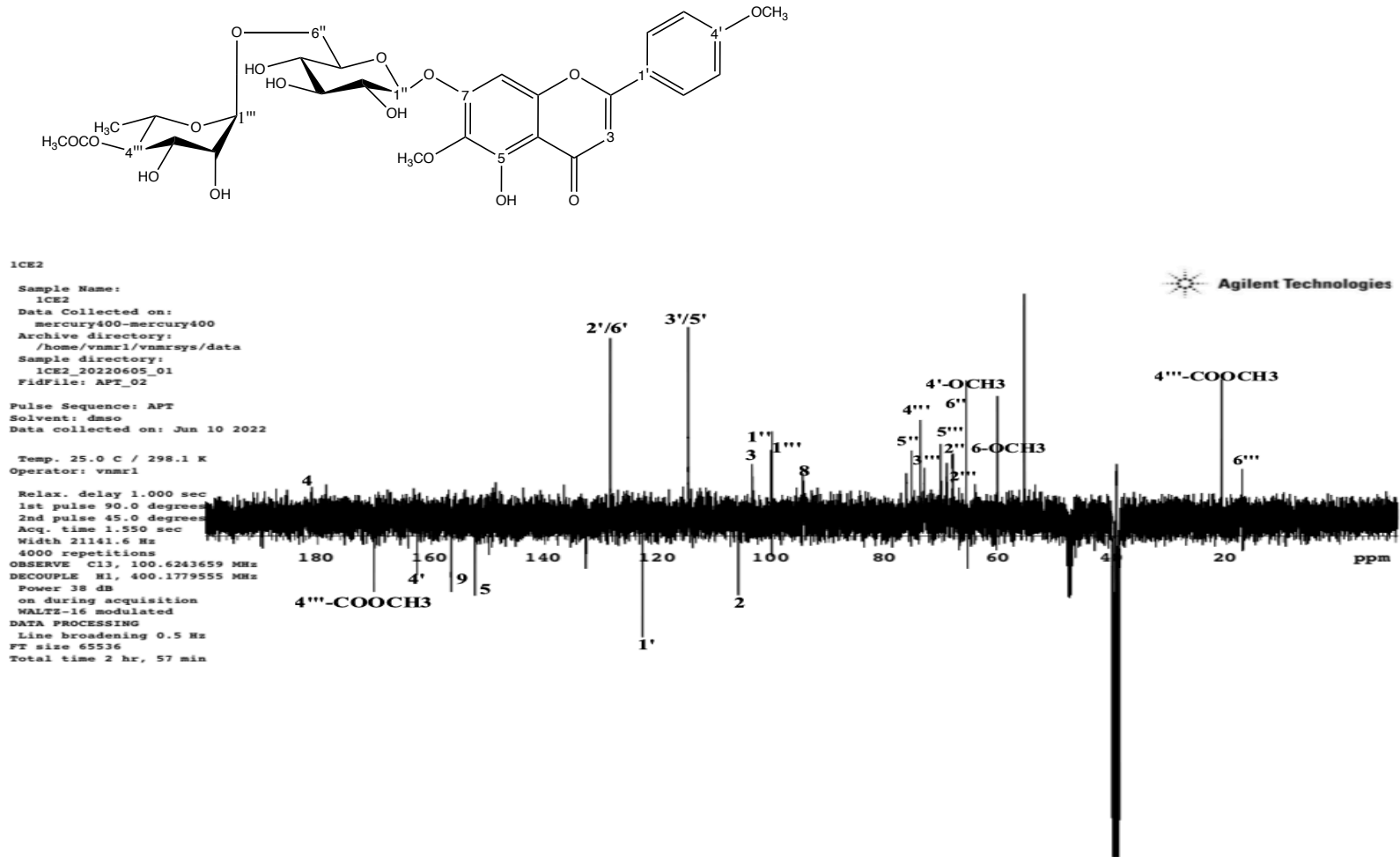
\*: Sinyal örtüşmesi nedeniyle  $J$  değerleri hesaplanamamıştır.



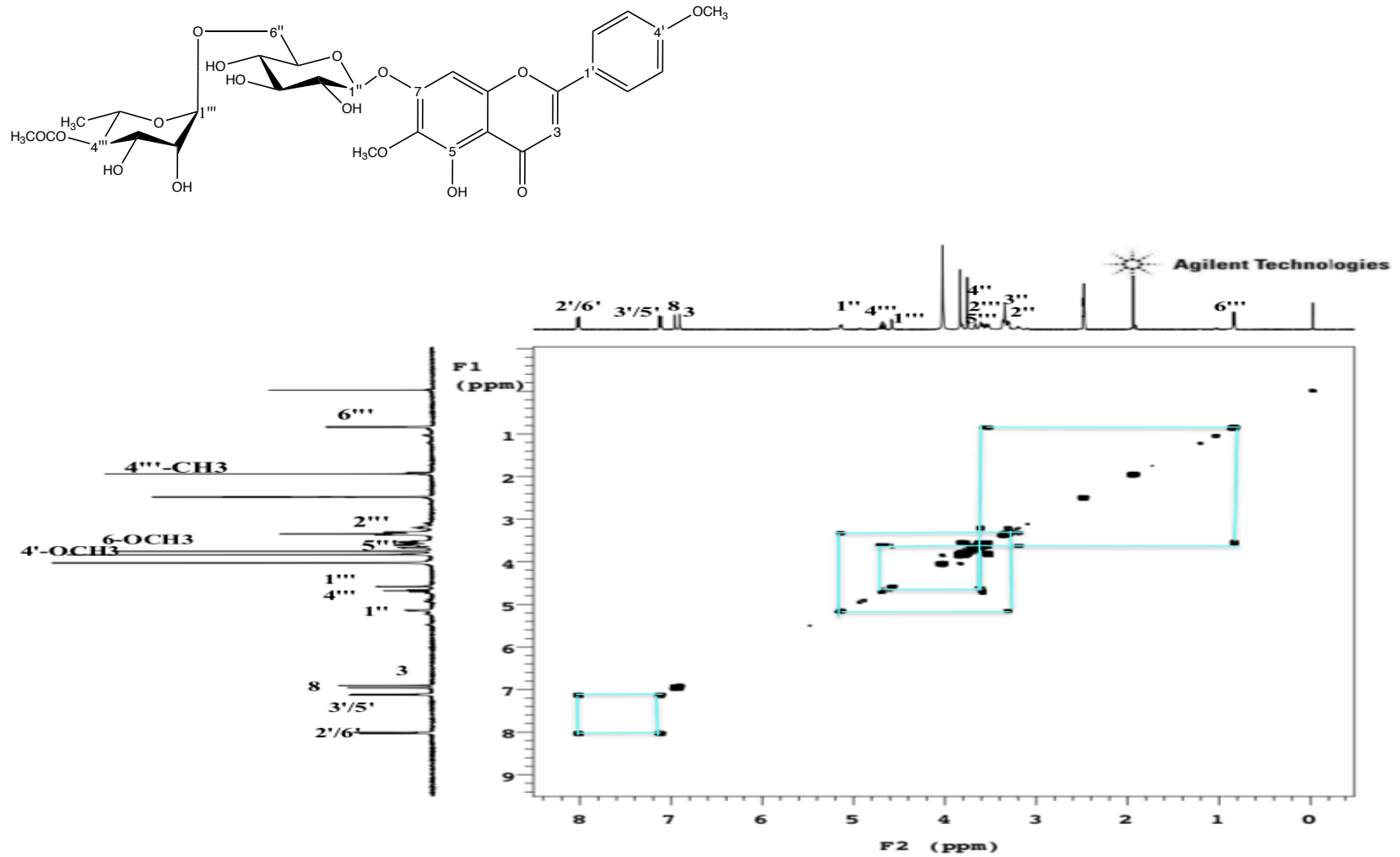
Şekil 4.31. Lincosamin (LCE2) bileşiminin <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (DMSO; <sup>1</sup>H: 400,18 MHz)



Şekil 4.32. Lincosamin'in (LCE2)  $^{13}\text{C}$  NMR Spektrumu (DMSO;  $^{13}\text{C}$ : 100,62 MHz)

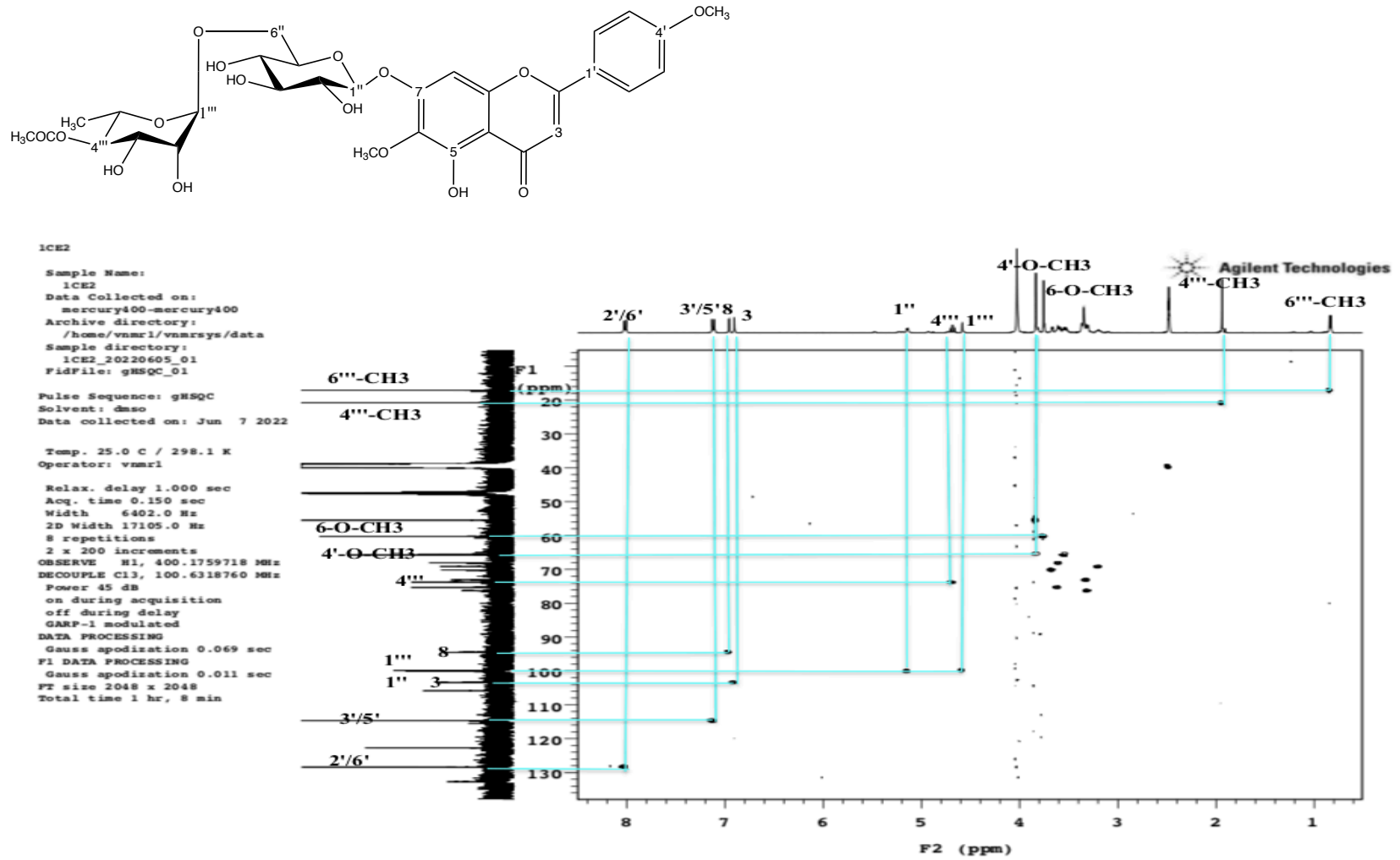


Şekil 4.33. Linariin'in (LCE2) APT Spektrumu (DMSO;  $^{13}\text{C}$ : 100,62 MHz)

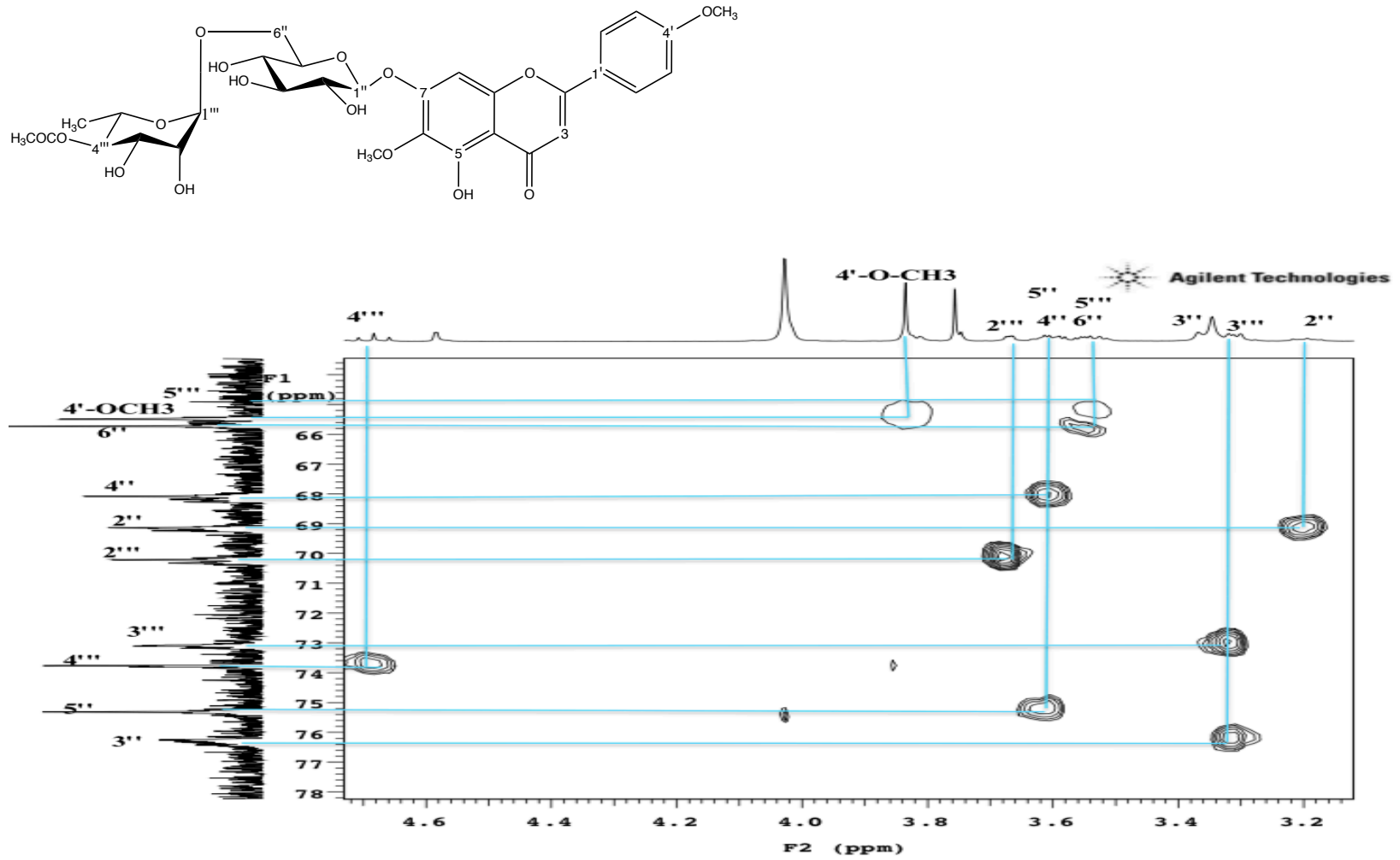


Şekil 4.34. Linariin'in (LCE2) 2D <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu (COSY)

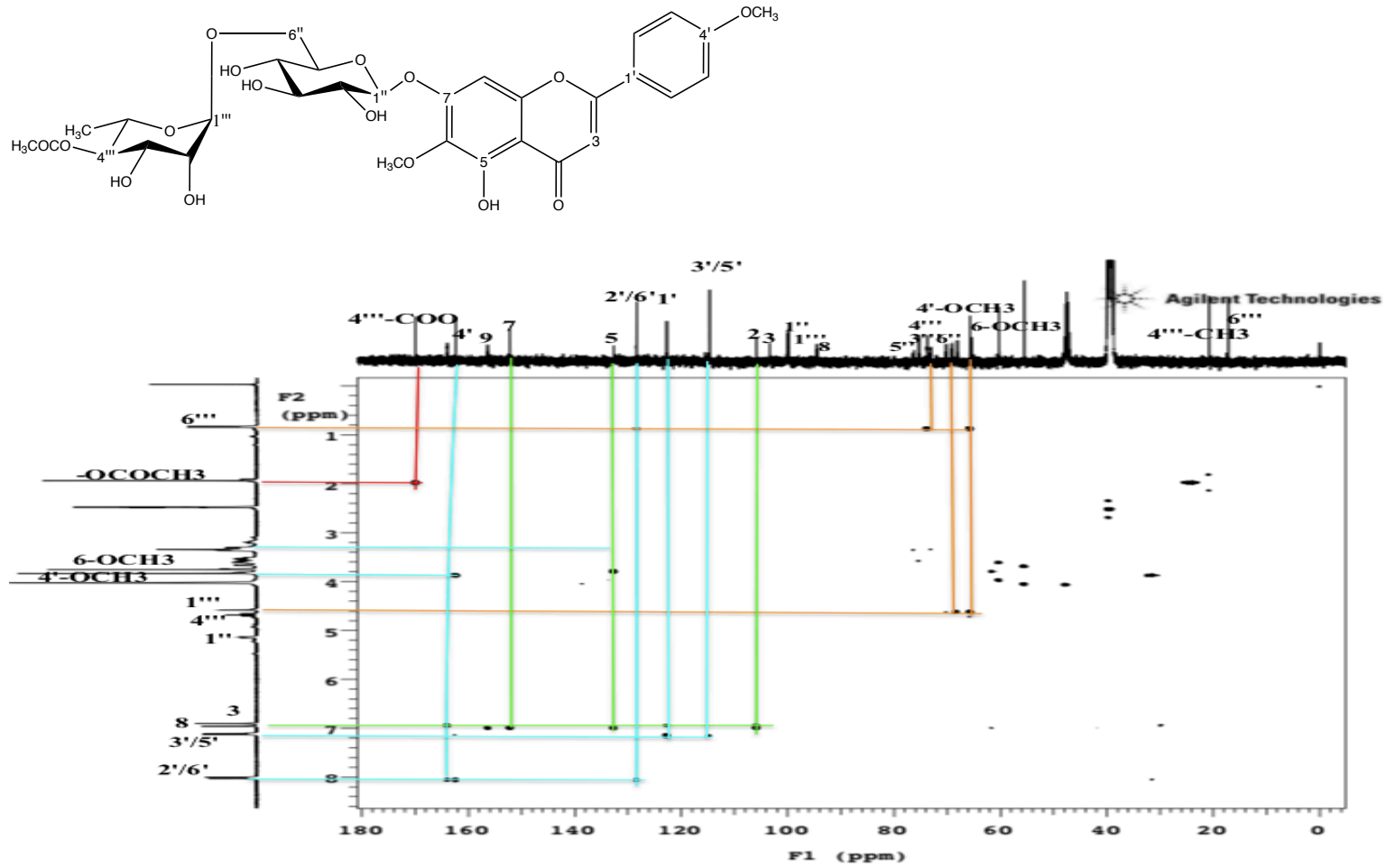




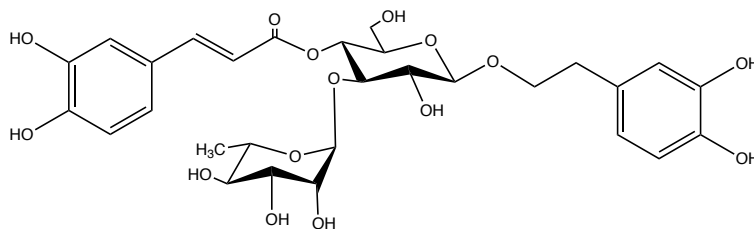
Şekil 4.35. Linariin'in (LCE2) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu-I (HSQC)



Şekil 4.35. Linarin'in (LCE2) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu-II (HSQC)



Şekil 4.36. Linariin'in (LCE2) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC)



### AKTEOZİT (VERBASKOZİT) [LCE3]

$C_{29}H_{36}O_{15}$  (Molekül Ağırlığı: 624)

UV $\lambda_{maks}$ (MeOH) nm	331
IR $\nu_{maks}$ (KBr) $cm^{-1}$	3348 (OH), 1694 (C=O), 1602 (C=C)
LC-MS ES-	623
$[M+Na]^+$	648
$^1H$ NMR	Tablo 4.8 Şekil 4.37
$^{13}C$	Tablo 4.8 Şekil 4.38
COSY	Şekil 4.39
HSQC	Şekil 4.40
HMBC	Tablo 4.8 Şekil 4.41

LCE3 bileşiği kırmızı/turuncu renkte, amorf bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde, vanilin/ $H_2SO_4$  reaktifi püskürtülüp, plak 105-110°C'de ısıtıldıktan sonra sarı/turuncu renk, plak ısıtıldıktan sonra UV 366 nm'de incelendiğinde sarı floresans görülmüştür. UV spektrumunda kafeik asit grubuna bağlı olarak 331 nm'de absorpsiyon bandı, IR spektrumunda hidroksil grubuna ait ( $3348\text{ cm}^{-1}$ ), karbonil grubuna ait ( $1694\text{ cm}^{-1}$ ), olefinik çifte bağ grubuna ait ( $1602\text{ cm}^{-1}$ ) absorpsiyon bantları gözlenmiştir.

$^1H$  ve  $^{13}C$  NMR spektrumlarında (Tablo 4.8, Şekil 4.37 ve 4.38)  $\delta_H$  4,40 (d,  $J=7,9$  Hz, H-1') ve  $\delta_C$  104,01 (C-1') ile  $\delta_H$  5,21 (d,  $J=1,8$  Hz, H-1'') ve  $\delta_C$  102,83 (C-1'')'de görülen pikler nedeniyle bileşiğin 2 oz taşıdığı, bu ozlardan birinin glukoz diğerinin ramnoz olabileceği düşünülmüştür.  $\delta_H$  1,11

(d,  $J=6,2$  Hz, 3H) ve  $\delta_C$  18,25 (C-6", CH<sub>3</sub>) görülen metil sinyalleri, ikinci uzun ramnoz, olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Glukozun kenetlenme sabitinden ( $J=7,9$  Hz) bağ konfigürasyonunun  $\beta$  olduğu, ramnozun kenetlenme sabitinden ( $J=1,8$  Hz) bağ konfigürasyonunun  $\alpha$  olduğu anlaşılmaktadır. COSY ve HSQC spektrumları (Şekil 4.38 ve 4.39) birlikte değerlendirildiğinde ozların  $\beta$ -glukoz ve  $\alpha$ -ramnoz olduğu tespit edilmiştir.

<sup>13</sup>C NMR spektrumunda (Tablo 4.8, Şekil 4.38) 29 C rezonansı görülmüştür. <sup>1</sup>H NMR spektrumunda (Tablo 4.8, Şekil 4.37)  $\delta_H$  7,07-6,80 ve 6,71-6,59 bölgesinde 2 ABX sistemi şeklinde toplam 6 aromatik proton sinyali ile  $\delta_H$  6,29 (d,  $J=15,9$  Hz) ve  $\delta_H$  7,61 (d,  $J=15,9$  Hz)'de AB sistem şeklinde 2 proton sinyali gözlenmiştir. <sup>13</sup>C NMR spektrumunda (Tablo 4.8, Şekil 4.38) olefinik karbonlar  $\delta_C$  114,48 ve 147,81 ppm'de gözlenmiştir. ABX sistemi şeklinde gözlenen proton sinyalleri kafeik asit ve 3,4-dihidroksifeniletıl alkol gruplarının varlığını düşündürmektedir. Olefinik protonların kenetlenme sabiti değerlerinden ( $J = 15,9$  Hz) aromatik asitin trans-kafeik asit olduğu bulunmuştur.

<sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR spektrumlarında (Tablo 4.8, Şekil 4.37 ve 4.38),  $\delta_H$  4,98-4,91 (m),  $\delta_C$  70,22 (C-4') olarak gözlenen sinyaller glukozun H-4' ve C-4' konumlarına aittir. Glukozun H-4' sinyalinin ( $\delta_H$  4,98-4,91) yaklaşık 1 ppm düşük alana kayması kafeik asit grubunun C-4' konumundan esterleşmiş olduğunu göstermektedir. COSY ve HSQC spektrumları (Şekil 4.39 ve 4.40) birlikte değerlendirildiğinde, glikozidasyonun 3. karbon üzerindeki hidroksil grubundan olduğu anlaşılmaktadır. Bu karbon rezonansının ( $\delta_C$  81,43) yaklaşık 4-5 ppm düşük alanda gözlenmesi, ramnoz molekülünün C-3' üzerinden bağlı olduğunu göstermektedir. HMBC spektrumunda (Tablo 4.8, Şekil 4.41)  $\delta_H$  4,40 (d,  $J= 7,9$  Hz, H-1') ile  $\delta_C$  72,15 (CH<sub>2</sub>, C- $\alpha$ ) ve  $\delta_H$  5,21 (d,  $J=1.8$  Hz, H-1") ile  $\delta_C$  81,43 (C-3') arasındaki korelasyonlar glukoz ve ramnozun bağlantı yerlerini doğrulamaktadır.

NMR, LC-MS spektrumları birlikte değerlendirildiğinde ve literatür verileriyle karşılaştırıldığında; LCE3 bileşiğinin yapısı, **akteozit (verbaskozit)** olarak aydınlatılmıştır (84, 85).

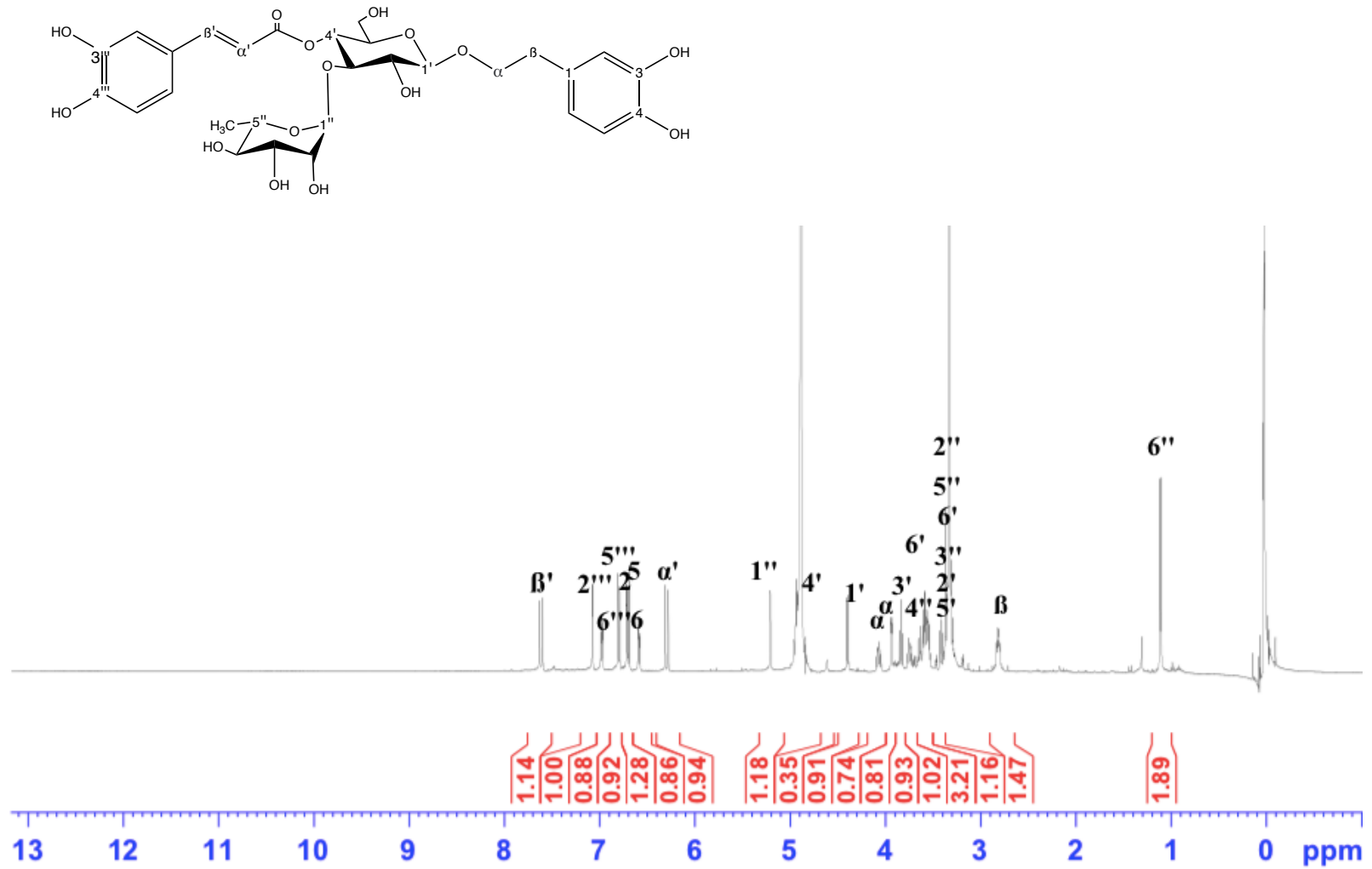
**Tablo 4.8.** Akteozit (LCE3) bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  ve  $^1\text{H}$  NMR spektroskopi değerleri ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ : 125,76 MHz,  $^1\text{H}$ : 500,13 MHz); önemli HMBC korelasyonları

C/H Atom		$\delta_{\text{H}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$ ppm	HMBC (H→C)
<b>Aglikon</b>				
1		-	131,24	
2	CH	6,71 (d, $J=2,0$ Hz) (6,65-6,73)	116,89	C-4, C-6
3		-	145,94	
4		-	144,49	
5	CH	6,69 (d, $J=8,1$ Hz)	116,29	C-2, C-4
6	CH	6,59 (dd, $J=8,1/2,1$ Hz)	121,04	C-1, C-4
$\alpha$	$\text{CH}_2$	3,94 (dd, $J=3,3/1,8$ Hz) 4,07 (m, $J=9,7/8,2/6,7$ Hz)	72,15	C-1, C-1'
$\beta$	$\text{CH}_2$	2,82 (m, $J=8,8/2,8$ Hz)	36,07	C-1, C- $\alpha$
<b>Kafeik Asit/Numara</b>				
1''		-	127,45	
2''	CH	7,07 (d, $J=2,1$ Hz)	114,99	C- $\beta'$ , C-3''', C-4''', C-6'''
3''		-	146,65	
4''		-	149,61	
5''	CH	6,80 (d, $J=8,2$ Hz)	116,08	C-1'''
6''	CH	6,98 (dd, $J=8,2/2,1$ Hz)	123,30	C- $\alpha'$ , C- $\beta'$ , C-3''', C-4'''
$\alpha'$	CH	6,29 (d, $J=15,9$ Hz)	114,48	C-1'''
$\beta'$	CH	7,61 (d, $J=15,9$ Hz)	147,81	C- $\alpha'$ , C-2, -COO
-COO		-	168,07	
<b>Glukoz/Numara</b>				
1'	CH	4,40 (d, $J=7,9$ Hz)	104,01	C- $\alpha$
2'	CH	3,40 (m)* (3,35-3,45)	76,01	C-1'', C-3'
3'	CH	3,83 (t, $J=9,2$ Hz)	81,43	C-1'', C-4'
4'	CH	4,91-4,98*	70,22	C-3', C-5'
5'	CH	3,35-3,45*	73,58	

**CE3)** bileşiğinin  $^{13}\text{C}$  ve  $^1\text{H}$  NMR spektroskopi değerleri ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ : 125,76 MHz,  $^1\text{H}$ : 500,13 MHz); önemli HMBC korelasyonları (devam-I)

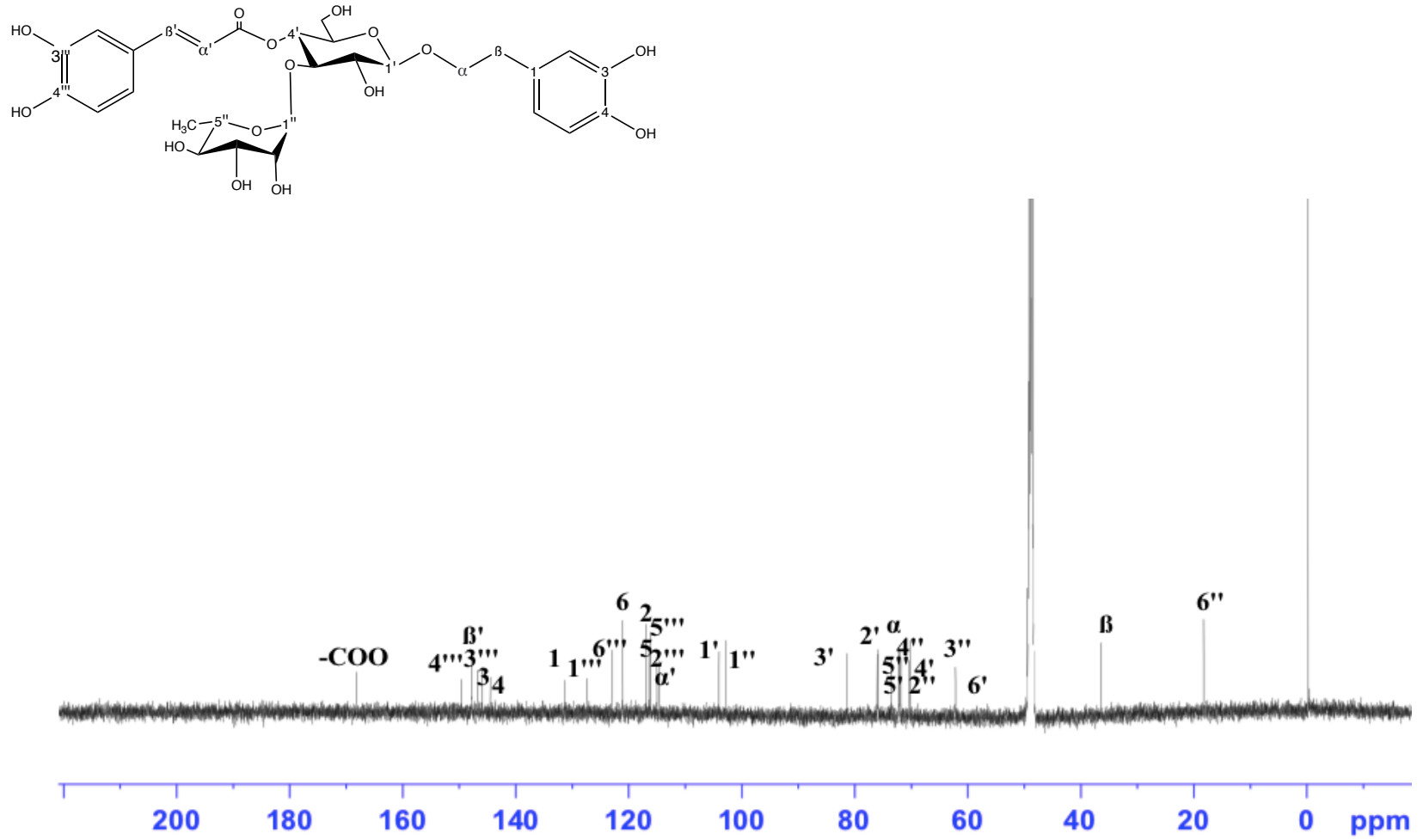
6'	CH <sub>2</sub>	3,51-3,64* 3,61-3,72*	62,16	C-5'
Ramnoz /Numara		$\delta_H$ ppm	$\delta_C$ ppm	
1''	CH	5,21 (d, $J=1,8$ Hz)	102,83	C-3', C-2'', C-3''
2''	CH	3,51-3,64*	70,07	
3''	CH	3,51-3,64*	71,84	C-1''
4''	CH	3,70-3,79*	72,06	C-1''
5''	CH	3,51-3,64*	75,85	C-4''
6''	CH <sub>3</sub>	1,11 (d, $J=6,2$ Hz)	18,25	C-4''

\*: Sinyal örtüşmesi nedeniyle  $J$  değerleri hesaplanamamıştır.

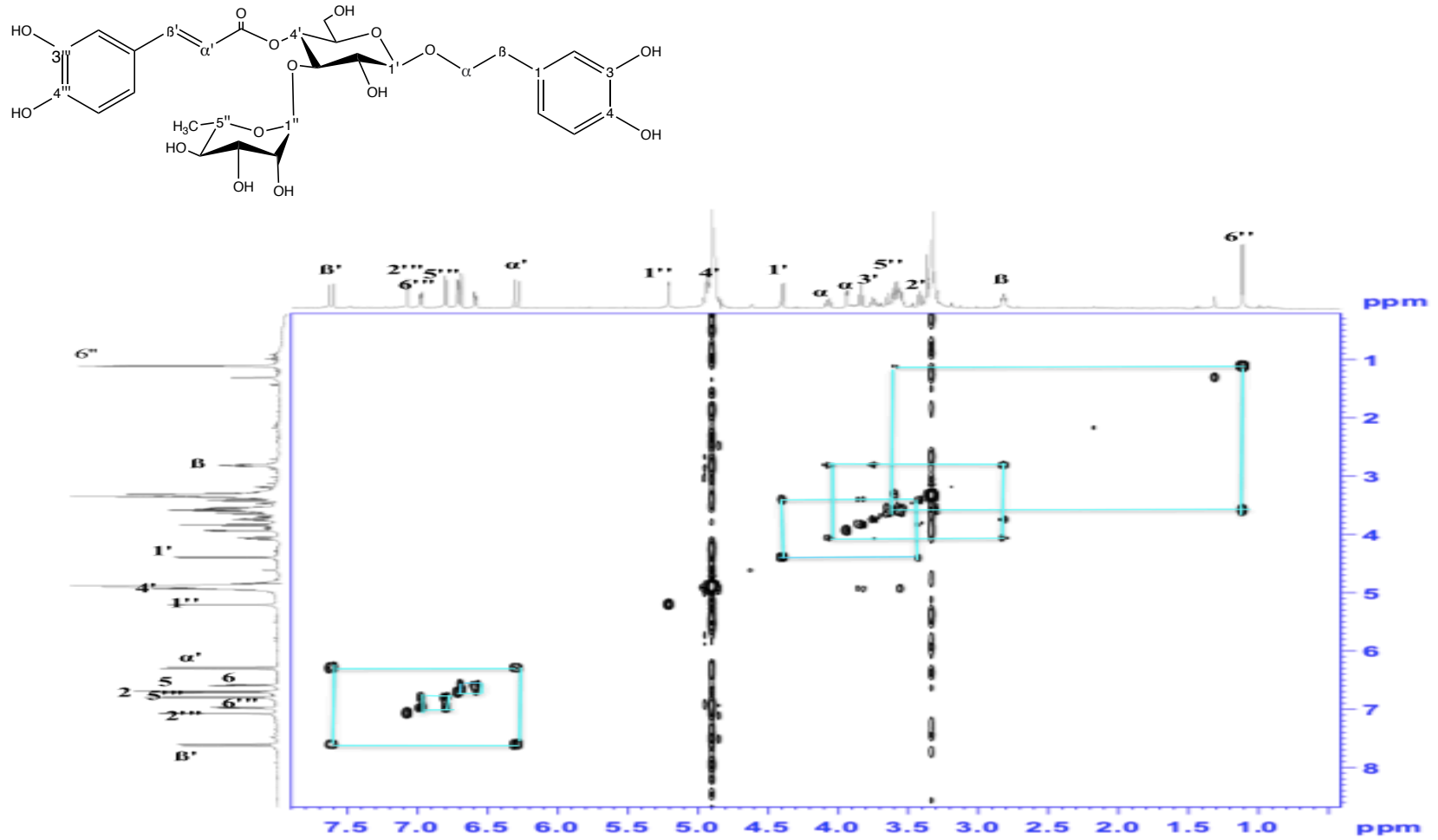


Şekil 4.37 Akteozit (LCE3) bileşiğinin  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^1\text{H}$ : 500,13 MHz)

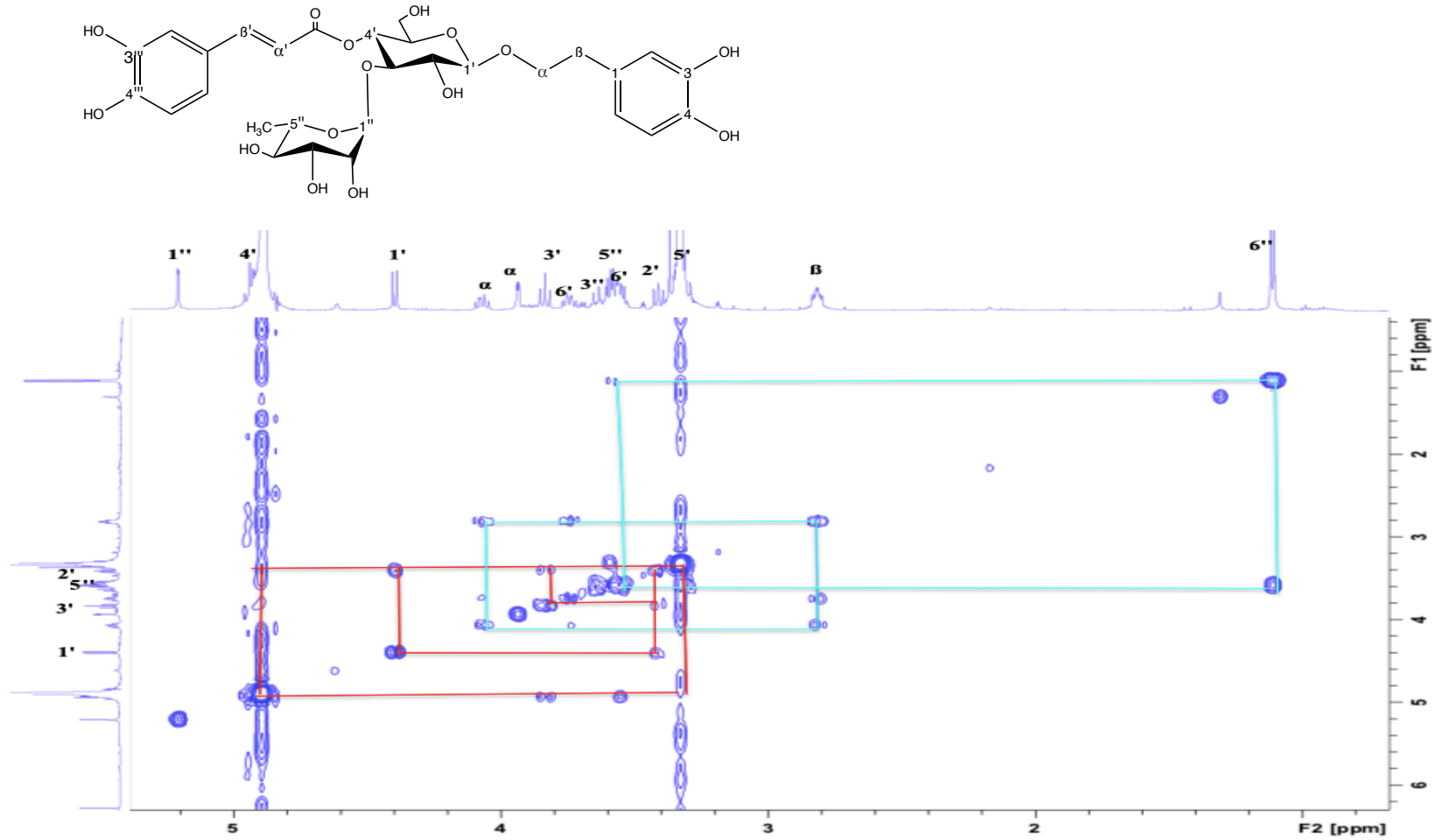




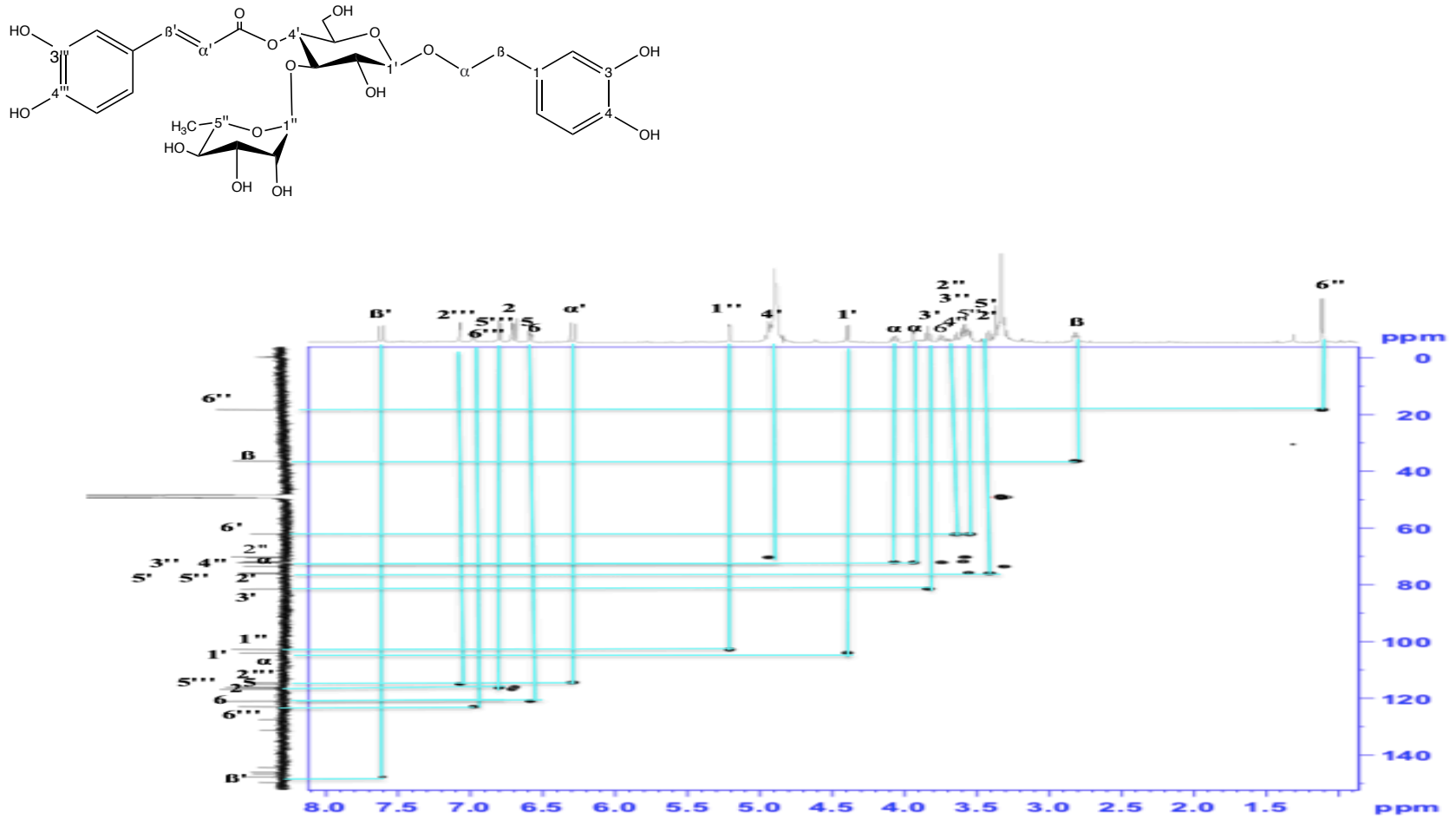
Şekil 4.38. Akteozit'in (LCE3)  $^{13}\text{C}$  NMR Spektrumu ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ;  $^{13}\text{C}$ : 125,76 MHz)



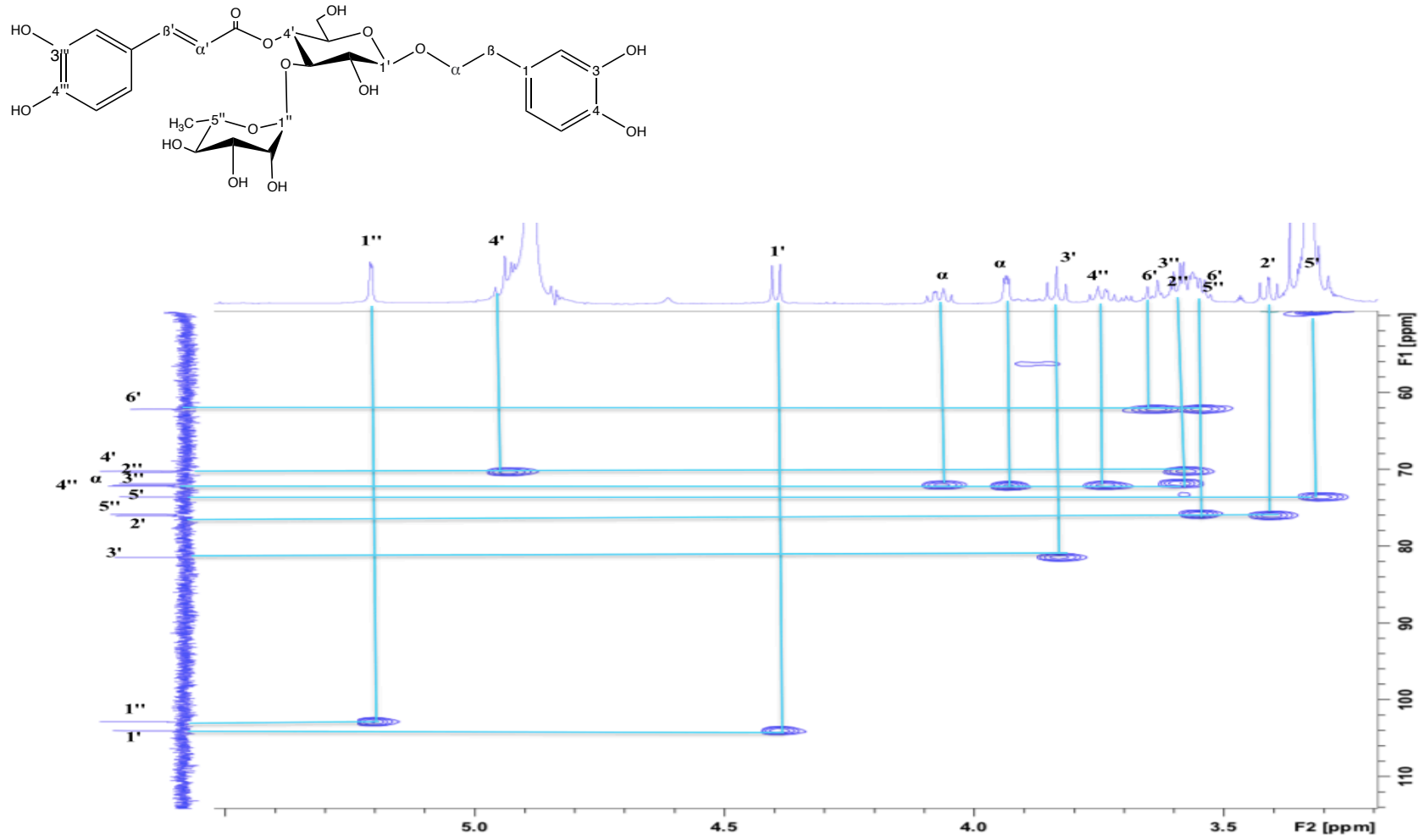
**Şekil 4.39.** Akteozit'in (LCE3) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu -I (COSY)



**Şekil 4.39.** Akteozit'in (LCE3) 2D <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-Homonükleer Korelasyonlu NMR Spektrumu -II (COSY)

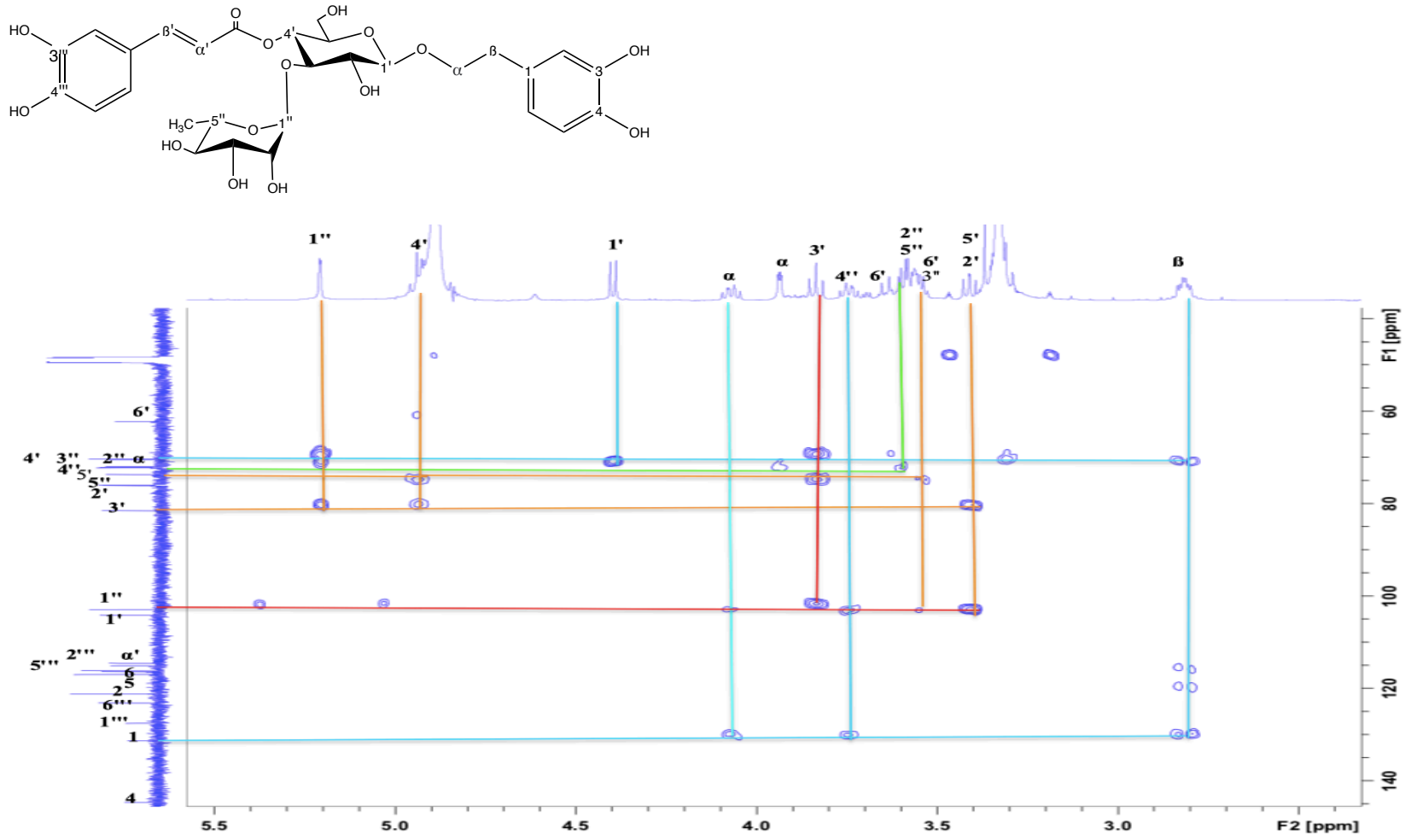


Şekil 4.40 Akteozit'in (LCE3) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu-I (HSQC)



Şekil 4.40 Akteozit'in (LCE3) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu-II (HSQC)





Şekil 4.41 Akteozit'in (LCE3) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -Heteronükleer Korelasyonlu (uzak mesafe) NMR Spektrumu-II (HMBC)

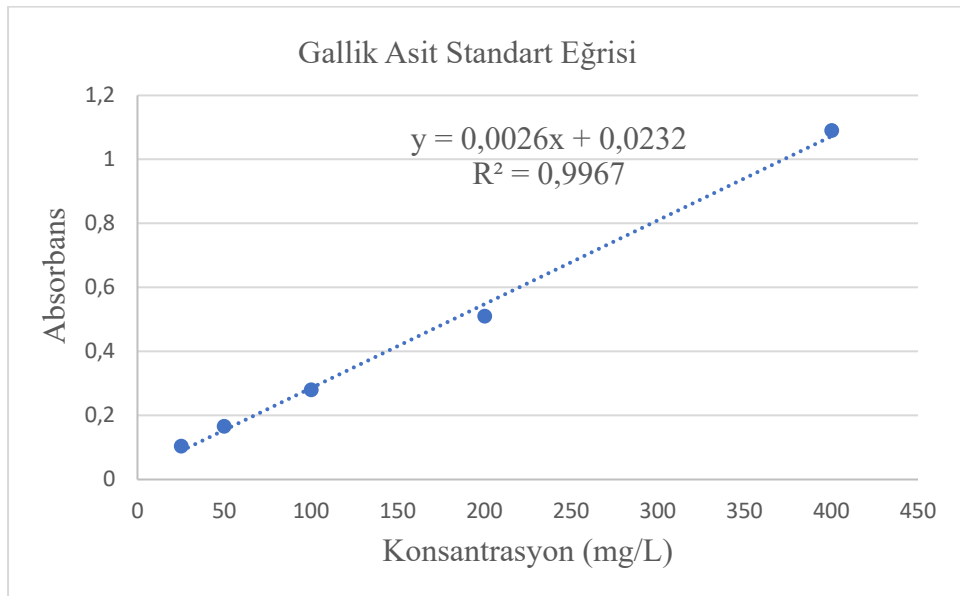
#### 4.1.2. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini Bulguları

Lc %20 sulu-metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat ve *n*-butanol alt ekstralarının toplam fenolik bileşik miktar tayini 400 µg/mL konsantrasyonda yapılmıştır. Standart bileşik olarak gallik asit 25, 50, 100, 200 ve 400 mg/L konsantrasyonlarda kullanılmıştır.

Fenolik bileşik miktar tayini, gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar kuru bitki ekstresinin 1 gramında bulunan toplam fenolik bileşik miktarının mg cinsinden hesaplanmasıyla mg GAE/g olarak verilmiştir. Lc etil asetat alt ekstresinin fenolik bileşik miktarı ekstre ve diğer alt ekstralara göre yüksek bulunmuştur.

**Tablo 4.9.** Ekstre ve alt ekstralarının toplam fenolik bileşik miktarları

Örnekler	GAE mg/g
Lc %20 sulu-metanol	71,06
Lc petrol eteri	51,83
Lc kloroform	69,62
Lc etil asetat	<b>106,15</b>
Lc <i>n</i> -butanol	60



**Şekil 4.42.** Gallik asit standart kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemini



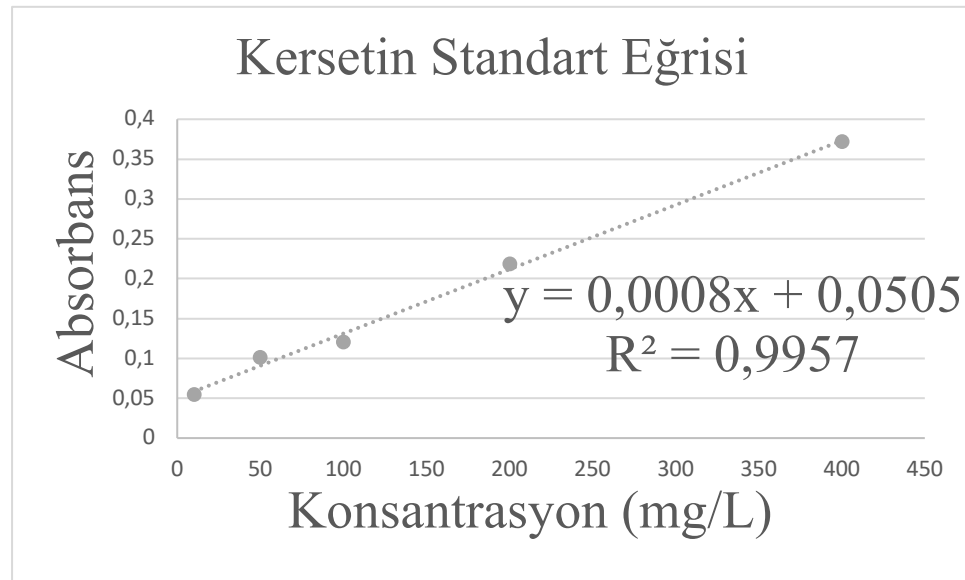
#### 4.1.3. Toplam Flavonoit Miktar Tayini Bulguları

Lc %20 sulu-metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat ve *n*-butanol alt ekstrlerinin toplam flavonoit miktar tayini 200 µg/mL konsantrasyonda yapılmıştır. Standart bileşik olarak kersetin 10, 50, 100, ve 200 mg/L konsantrasyonlarda kullanılmıştır.

Sonuçlar kersetin eşdeğeri olarak (mg kersetin/g) olarak verilmiştir. Lc *n*-butanol alt ekstresinin toplam flavonoit miktarı ekstre ve diğer alt ekstrlere göre yüksek bulunmuştur.

**Tablo 4.10.** Ekstre ve alt ekstrlerinin toplam flavonoit miktarları

Örnekler	mg kersetin/g
Lc %20 sulu-metanol	2,65
Lc petrol eteri	30,79
Lc kloroform	22,81
Lc etil asetat	17,42
Lc <i>n</i> -butanol	47,29



**Şekil 4.43.** Kersetin standart kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi

## 4.2. Biyolojik Etki Çalışmalarına Ait Bulgular

Biyolojik aktivite çalışmaları kapsamında *Linaria* türlerinin kimyasal içerikleri, etki ve kullanılışları göz önüne alınarak, *L. corifolia* %20 sulu-metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat ve *n*-butanol alt ekstralarının *in vitro* kolinesteraz inhibitör, antioksidan ve anti-enflamatuvar aktiviteleri araştırılmıştır. *n*-Butanol alt ekstresinden izole edilen antiririnozit, 6- $\beta$ -hidroksiantirrit, katalpol ve etil asetat alt ekstresinden izole edilen linariin bileşiğinin kolinesteraz inhibitör aktiviteleri de tayin edilmiştir.

Tüm biyolojik etki çalışmaları, deneysel hataları en aza indirmek ve istatistiksel hesaplamalar yapmak amacıyla aynı anda en az üç kuyucuk olacak şekilde, en az üç tekrarlı olarak yürütülmüştür. İstatistiksel hesaplamalar kapsamında  $\pm$  standart sapma, ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) Testi hesaplamaları gerekli yerlerde uygulanmıştır.

### 4.2.1. Serbest Radikal Süpürücü (Antioksidan) Aktivite Tayini Bulguları

#### 4.2.1.1. DPPH Radikalini Süpürücü Etkinlik Tayini Bulguları

*L. corifolia* %20 sulu metanol ekstresi (Lc %20 sulu-metanol), petrol eteri (Lc petrol eteri), kloroform (Lc kloroform), etil asetat (Lc etil asetat) ve *n*-butanol (Lc *n*-butanol) alt ekstralarının DPPH radikalini süpürücü etkinlik tayinleri, 50, 100, 200 ve 400  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarında yapılmıştır. Standart bileşik olarak AA kullanılmıştır.

Lc etil asetat alt ekstresinin aktivitesi diğer alt ekstralara göre yüksek bulunmuş, 400  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda askorbik asitle karşılaştırılabilecek düzeyde yüksek aktivite (%83,28  $\pm$  2,18) görülmüştür. Lc *n*-butanol ve Lc kloroform alt ekstralarının aktiviteleri de etil asetat alt ekstresinden sonra diğer örneklere göre daha yüksek bulunmuştur. % İnhibisyon değerleri ANOVA Testi ile karşılaştırıldığında;  $p < 0,05$  (0,005) olarak hesaplanmıştır.

**Tablo 4.11.** Ekstre, alt ekstrelerin ve AA'nın DPPH radikali % inhibisyon değerleri

Örnekler	% İnhibisyon			
	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL
<b>Lc %20 sulu-metanol</b>	5,18 ± 1,82	7,66 ± 0,56	10,94 ± 0,40	19,16 ± 1,65
<b>Lc petrol eteri</b>	4,97 ± 0,54	6,98 ± 1,28	12,37 ± 0,002	20,97± 1,12
<b>Lc kloroform</b>	11,08 ±0,44	21,15 ±1,41	33,79 ± 1,30	55,49± 1,43
<b>Lc etil asetat</b>	18,88 ±0,93	31,24 ±1,05	50,94 ± 0,27	<b>83,28 ± 2,18</b>
<b>Lc n-butanol</b>	12,00 ±0,62	20,47 ±0,09	33,66 ± 1,60	61,19 ± 3,24
<b>AA</b>	93,18 ±0,23	93,54 ±0,02	92,72 ± 0,33	93,61 ± 0,03

**Şekil 4.44.** Ekstre, alt ekstrelerin ve AA'nın DPPH radikali süpürücü aktivitesi

**Tablo 4.12.** Lc kloroform, etil asetat, n-butanol alt ekstrelerinin ve AA'nın IC<sub>50</sub> değerleri

Örnekler	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
<b>Lc kloroform</b>	361,62 ± 14,23
<b>Lc etil asetat</b>	217,75 ±12,82
<b>Lc n-butanol</b>	306,58 ± 23,38
<b>AA</b>	16,19 ± 2,62

#### 4.2.1.2. ABTS Radikali Süpürücü Etkinlik Tayini Bulguları

Lc %20 sulu-metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat ve *n*-butanol alt ekstralarının ABTS radikali süpürücü etkinlik tayinleri, 100, 200, 400 ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda yapılmıştır. Standart bileşik olarak troloks kullanılmıştır.

Örneklerin % inhisyon değerleri ANOVA Testi ile karşılaştırıldığında  $p < 0,05$  (0,0002) olarak bulunmuştur, ancak troloks ile karşılaştırıldığında aktiviteleri çok düşük bulunmuştur.

**Tablo 4.13.** Ekstre ve alt ekstraların % ABTS radikali inhibisyon değerleri

Örnekler	% İnhibisyon			
	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
<b>Lc %20 sulu-metanol</b>	5,24 ± 2,29	7,06 ± 0,70	13,42 ± 1,47	22,65 ± 0,83
<b>Lc petrol eteri</b>	5,16 ± 1,38	7,99 ± 0,73	15,83 ± 0,77	27,91 ± 1,54
<b>Lc kloroform</b>	8,09 ± 0,40	17,66 ± 0,34	32,85 ± 1,10	<b>56,90 ± 2,82</b>
<b>Lc etil asetat</b>	9,01 ± 0,62	15,09 ± 0,24	31,15 ± 5,55	54,66 ± 1,57
<b>Lc <i>n</i>-butanol</b>	5,54 ± 1,53	9,88 ± 0,42	19,11 ± 0,87	36,57 ± 0,22

**Tablo 4.14.** Troloks'un 20-100 µg/mL konsantrasyonlarındaki % ABTS radikali inhibisyon değerleri

%İnhibisyon				
	20 µg/mL	40 µg/mL	80 µg/mL	100 µg/mL
<b>Troloks</b>	13,12 ± 0,81	30,68 ± 3,25	59,98 ± 0,92	76,74 ± 1,41

**Tablo 4.15.** Lc kloroform, etil asetat alt ekstreleri ve Troloks'un IC<sub>50</sub> değerleri

Örnekler	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
<b>Lc kloroform</b>	702,12 ± 16,90
<b>Lc etil asetat</b>	737,39 ± 9,16
<b>Troloks</b>	66,21 ± 1,98

**Tablo 4.16.** Ekstre ve alt ekstrelerin TEAC değerleri-I

Örnekler	TEAC (mg TE/ g ekstre)
<b>Lc %20 sulu-metanol</b>	45,57
<b>Lc petrol eteri</b>	55,94
<b>Lc kloroform</b>	114,44
<b>Lc etil asetat</b>	<b>114,66</b>
<b>Lc n-butanol</b>	69,68

#### 4.2.1.3. CUPRAC (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite) Yöntemi Bulguları

Lc %20 sulu-metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat ve n-butanol alt ekstrelerinin Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite

tainileri, 50, 100, 200 ve 400 µg/mL konsantrasyonlarında yapılmıştır. Standart bileşik olarak troloks kullanılmıştır.

Lc etil asetat alt ekstresi ekstre ve diğer alt ekstrelerle karşılaştırıldığında daha etkili bulunmuş, ancak troloks ile karşılaştırıldığında aktivitesi düşük bulunmuştur. % İnhiyasyon değerleri ANOVA Testi ile karşılaştırıldığında  $p < 0,05$  (0,02) olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.17.** Ekstre ve alt ekstrelerin % Cu (II) iyonu indirgeme kapasitesi

Örnekler	%Cu (II) iyonu indirgeme kapasitesi			
	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL
Lc %20 sulu-metanol	4,62 ± 2,82	15,99 ± 0,12	32,09 ± 4,28	49,38 ± 0,39
Lc petrol eteri	12,15 ± 5,31	23,02 ± 0,45	39,99 ± 0,20	58,37 ± 3,35
Lc kloroform	23,04 ± 2,10	41,85 ± 0,16	54,81 ± 0,73	69,52 ± 1,08
Lc etil asetat	31,64 ± 1,60	51,93 ± 0,02	68,94 ± 0,62	<b>81,32 ± 0,11</b>
Lc n-butanol	16,33 ± 1,61	33,55 ± 1,36	51,89 ± 0,74	68,93 ± 0,22

**Tablo 4.18.** Troloks'un % Cu (II) iyonu indirgeme kapasitesi

Konsantrasyon (µg/mL)	% İndirgeme kapasitesi
2,5	9,06 ± 4,50
5	19,64 ± 0,51
10	38,81 ± 1,79
20	55,14 ± 0,59
25	58,51 ± 0,04
50	71,64 ± 1,64

**Tablo 4.19.** Ekstre, alt ekstrelerin ve Troloks'un IC<sub>50</sub> değerleri

Örnekler	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
<b>Lc %20 sulu-metanol</b>	400,01 ± 0,73
<b>Lc petrol eteri</b>	246,96 ± 1,76
<b>Lc kloroform</b>	167,18 ± 2,29
<b>Lc etil asetat</b>	115,13 ± 1,36
<b>Lc <i>n</i>-butanol</b>	191,28 ± 2,82
<b>Troloks</b>	17,32 ± 0,02

**Tablo 4.20.** Ekstre ve alt ekstrelerin TEAC değerleri-II

Örnekler	TEAC (mg TE / g ekstre)
<b>Lc %20 sulu-metanol</b>	42,21
<b>Lc petrol eteri</b>	51,98
<b>Lc kloroform</b>	110,78
<b>Lc etil asetat</b>	<b>202,50</b>
<b>Lc <i>n</i>-butanol</b>	99,71

#### 4.2.2. Kolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayini Bulguları

##### 4.2.2.1 Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Bulguları

Lc %20 sulu-metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat, *n*-butanol alt ekstrlerinin asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayinleri 50, 100, 200 ve 400 µg/mL konsantrasyonlarında yapılmıştır. Standart bileşik olarak fizostigmin salisilat 1, 2, 2,5, 5, 10 ve 25 µg/mL konsantrasyonlarında kullanılmıştır. Lc *n*-butanol alt ekstresinde ekstre ve diğer alt ekstrelere göre konsantrasyona bağlı % inhibisyon değerlerinde artış görülmekle birlikte, 200 µg/mL konsantrasyonunda etil asetat alt ekstresi yüksek etkili bulunmuştur. Fizostigmin salisilat ile karşılaştırıldığında tüm örneklerde düşük aktivite belirlenmiştir. % İnhisyon değerleri ANOVA Testi ile karşılaştırıldığında  $p < 0,05$  (0,006) olarak hesaplanmıştır.

*n*-Butanol alt ekstresinden izole edilen antiririnozit, 6-β-hidroksiantirrit, katalpol ve etil asetat alt ekstresinden izole edilen linariin bileşiğinin asetilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri de araştırılmıştır. Saf bileşikler 20, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Fizostigmin salisilatın IC<sub>50</sub> değeri 1,17 ± 0,18 olarak hesaplanmıştır. En yüksek aktivite linariin bileşiğinde görülmüştür, ancak 6-β-Hidroksiantirrit

bileşğinde konsantrasyona bağlı % inhibisyon değerlerinde artış gözlenmiştir.

**Tablo 4.21.** Ekstre ve alt ekstrelerin % asetilkolinesteraz inhibisyonu değerleri

Örnekler	% İnhibisyon			
	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL
Lc %20 sulu-metanol	32,83 ± 2,46	24,94 ± 2,34	15,71 ± 3,38	18,00 ± 1,24
Lc petrol eteri	8,55 ± 1,45	15,95 ± 3,58	15,51 ± 5,40	19,81 ± 1,69
Lc kloroform	20,68 ± 0,47	19,81 ± 1,69	24,12 ± 2,02	37,16 ± 5,61
Lc etil asetat	6,35 ± 1,26	20,72 ± 1,58	33,91 ± 0,05	25,97 ± 1,17
Lc n-butanol	2,71 ± 0,72	10,21 ± 0,29	11,22 ± 1,13	17,19 ± 1,39

**Tablo 4.22.** Fizostigmin salisilat'ın % asetilkolinesteraz inhibisyonu değerleri

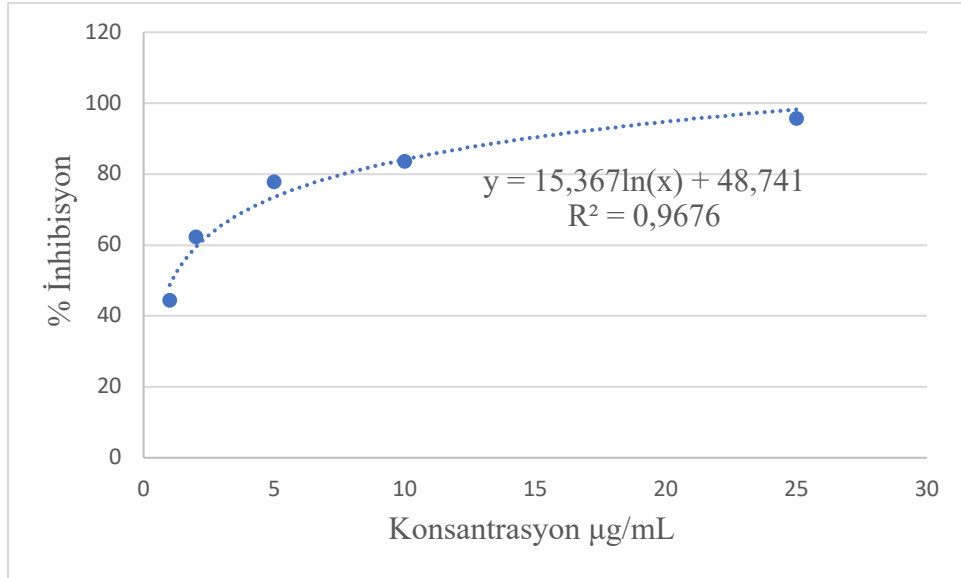
Konsantrasyon (µg/mL)	% İnhibisyon
1	44,47 ± 0,37
2	62,27 ± 2,16
2,5	68,59 ± 1,51
5	77,80 ± 0,91
10	83,60 ± 0,78
25	95,80 ± 0,14

**Tablo 4.23.** Saf bileşiklerin % asetilkolinesteraz inhibisyonu değerleri

Bileşik	% İnhibisyon			
	20 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
Antirrinozit	28,67 ± 1,13	14,69 ± 2,33	33,28 ± 1,78	13,52 ± 1,45
6-β-Hidroksiantirrit	9,20 ± 0,86	16,71 ± 3,87	18,52 ± 0,49	20,76 ± 1,08
Katalpol	25,33 ± 0,46	33,87 ± 1,94	28,72 ± 4,39	26,49 ± 8,62
Linariin	55,08 ± 0,81	*	57,70 ± 0,13	40,98 ± 9,68

(\*: negatif değer bulunmuştur.)





Şekil 4.45. Fizostigmin salisilat'ın % asetilkolinesteraz inhibisyonu değerleri

#### 4.2.2.2. Bütirilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Bulguları

Lc %20 sulu-metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat, *n*-butanol alt ekstralarının bütirilkolinesteraz inhibitör aktivite tayinleri 50, 100, 200 ve 400 µg/mL konsantrasyonlarda yapılmıştır. Standart bileşik olarak fizostigmin salisilat 2, 2,5, 5, 10, 20 ve 40 µg/mL konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Kloroform alt ekstresinin bütirilkolinesteraz inhibitör etkisi konsantrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Fizostigmin salisilat ile karşılaştırıldığında tüm örneklerde düşük aktivite görülmüştür. % İnhisyon değerleri ANOVA Testi ile karşılaştırıldığında  $p < 0,05$  (0,004) olarak bulunmuştur.

*n*-Butanol alt ekstresinden izole edilen antiririnozit, 6-β-hidroksiantirrit, katalpol ve etil asetat ekstresinden izole edilen linariin bileşiğinin bütirilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri de araştırılmıştır. Saf bileşikler 20, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Fizostigmin salisilatın IC<sub>50</sub> değeri  $9,13 \pm 0,06$  µg/mL olarak hesaplanmıştır. Saf bileşiklerin % inhibisyon değerleri karşılaştırıldığında linariin bileşiği daha etkili bulunmuş, ancak standartla karşılaştırıldığında tüm bileşiklerin

aktivitesi çok düşük gözlenmiştir. Bileşiklerin % inhisyon değerleri ANOVA Testi ile karşılaştırıldığında  $p < 0,05$  (0,007) olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.24.** Ekstre ve alt ekstrelerin % bütirilkolinesteraz inhibisyonu değerleri

Örnekler	% İnhibisyon			
	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL
Lc %20 sulu-metanol	3,34 ± 1,19	3,87 ± 0,34	10,52 ± 2,19	13,41 ± 2,97
Lc petrol eteri	17,13 ± 4,53	12,71 ± 0,15	13,76 ± 0,99	13,50 ± 0,17
Lc kloroform	10,72 ± 1,04	13,64 ± 2,94	18,24 ± 2,69	28,38 ± 1,87
Lc etil asetat	3,80 ± 1,56	7,10 ± 1,69	11,73 ± 0,90	13,20 ± 0,98
Lc n-butanol	8,29 ± 2,38	8,34 ± 2,10	11,54 ± 3,33	14,70 ± 0,10

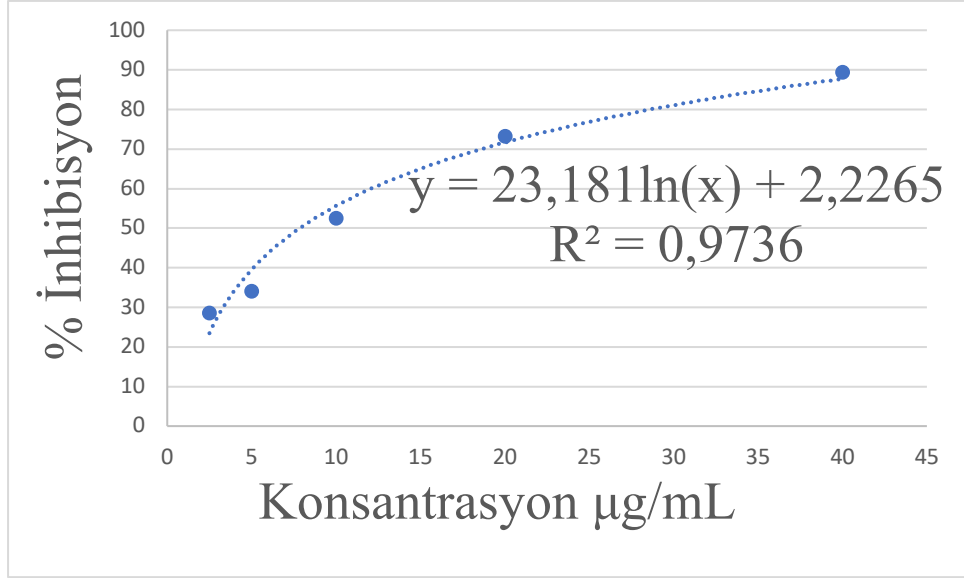
**Tablo 4.25.** Fizostigmin salisilat'ın %bütirilkolinesteraz inhibisyonu değerleri

Konsantrasyon (µg/mL)	% İnhibisyon
2	16,12 ± 0,54
2,5	28,62 ± 0,25
5	34,14 ± 1,01
10	52,58 ± 0,47
20	73,30 ± 0,34
40	89,38 ± 0,14

**Tablo 4.26.** Saf bileşiklerin % bütirilkolinesteraz inhibisyonu değerleri

Bileşik	% İnhibisyon			
	20 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
Antirrinozit	5,33 ± 0,69	3,13 ± 0,25	8,62 ± 4,29	4,14 ± 0,94
6-β-Hidroksiantirrit	3,99 ± 0,79	3,15 ± 1,59	8,44 ± 4,04	*
Katalpol	3,60 ± 1,04	3,96 ± 1,05	10,58±0,76	6,12 ± 0,71
Linariin	11,47 ± 2,15	8,72 ± 2,16	10,46±1,78	9,52 ± 0,14

(\*: negatif değer bulunmuştur.)



Şekil 4.46. Fizostigmin salisilat'ın % bütirikolinesteraz inhibisyonu değerleri

#### 4.2.3. Anti-enflamatuvar Aktivite Tayini Sonuçları

Lc %20 sulu-metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat, *n*-butanol alt ekstreleri ve standart olarak indometazin anti-enflamatuvar aktivite tayinleri COX-2 İnhibitör Tarama Testi Kit protokolüne göre yapılmıştır. Tüm örneklerin indometazinle (50 µg/mL konsantrasyonda %72,26 ± 3,85 inhibisyon, 100 µg/mL konsantrasyonda %75,84 ± 2,27 inhibisyon) karşılaştırıldığında düşük inhibisyon değerine sahip oldukları görülmüş ve IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanamamıştır.

**Tablo 4.27.** Ekstre, alt ekstreler ve indometazinin COX-2 % inhibisyon değerleri

Örnekler	%İnhibisyon		
	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
<b>Lc %20 sulu-metanol</b>	-	2,85 ± 1,40	8,45 ± 1,66
<b>Lc petrol eteri</b>	-	14,87 ± 0,04	20,31 ± 1,96
<b>Lc kloroform</b>	-	36,59 ± 0,29	5,91 ± 0,20
<b>Lc etil asetat</b>	-	2,79 ± 0,19	*
<b>Lc n-butanol</b>	-	2,81 ± 1,87	23,77 ± 4,68
<b>İndometazin</b>	72,26 ± 3,85	75,84 ± 2,27	-

(\*: negatif değer bulunmuştur. -: ilgili konsantrasyonda örnek denenmemiştir.)

## 5.TARTIŞMA

Dünya genelinde yaklaşık 200 tür içeren *Linaria* Mill. cinsi, Kuzey Yarımküre'de, özellikle Akdeniz havzası ve Doğu Asya'da yayılış göstermektedir. Daha önce Scrophulariaceae familyasında yer alan *Linaria* cinsi, filogenetik çalışmalar sonucu günümüzde Plantaginaceae familyasına dahil edilmiştir (1-3). Türkiye'de 21 *Linaria* (Nevruzotu) türü bulunmakta ve bunlardan da 12'si endemik tür olarak karşımıza çıkmaktadır (4-6).

Çeşitli *Linaria* türlerinin geleneksel olarak tonik, antiskorbütik, laksatif, antidiyabetik, diüretik olarak ve yaralarda, hemoroit ve vasküler hastalıkların tedavisinde kullanımları bulunmaktadır. Geleneksel olarak *L. reflexa*'nın Kuzey Afrika'da deri hastalıklarında, *L. vulgaris*'in Çin'de, baş ağrısında, sarılıkta, antitussif, astıma karşı, Avrupa'da ise antibakteriyel ve fungisidal etkisinden dolayı karaciğer ve böbrek hastalıklarında, tonsillite kullanıldığı görülmektedir (7-9). Türkiye'de ise bazı *Linaria* türlerinin, diüretik, laksatif olarak ve hemoroitte, yaraların tedavisinde kullanılışları bildirilmiştir (1, 5).

*Linaria* cinsi bitkilerin, alkaloidler, flavonoidler, fenilpropanoidler gibi fenolik bileşikler, terpenoidler (monoterpen, diterpen ve triterpenler) içerdikleri bilinmektedir. *Linaria* türlerinin antitümör, anti-asetilkolinesteraz, anti-enflamatuvar ve analjezik, antioksidan, antibakteriyel, sitotoksik, genotoksik, antidiyabetik ve diüretik aktivitelere sahip oldukları aktivite çalışmalarıyla gösterilmiştir (1).

*L. corifolia* Türkiye'de bulunan endemik *Linaria* türlerinden biridir. Tür üzerinde ayrıntılı fitokimyasal ve biyolojik etki çalışmaları bulunmamaktadır. Literatür taraması yapıldığında, bitkinin etil asetat ekstresinden 6,3'-dimetoksiapigenin-7-O-[(ramnozil)-(1-2)-6''-asetil glukozit] izole edildiği, etanol, etil asetat ve diklorometan ekstralarında HPLC analiziyle gallik asit, kersetin, kateşin varlığının ve *in vitro* antioksidan, antimikrobiyal, DNA süpürücü etkilerinin araştırıldığı görülmüştür (10). Başka çalışmada ise bitkinin morfolojik, anatomik özellikleri, antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır (11). *Linaria* türlerinin alkaloidler, fenolik bileşikler, terpenler gibi çeşitli kimyasal bileşikler içermesi, bu bileşiklere bağlı olarak

antioksidan, anti-enflamatuvar, anti-asetilkolinesteraz, antidiyabetik, antitömör, analjezik gibi etkileri bulunduğundan, ülkemiz için endemik bir tür olan *L. corifolia*'nın da biyolojik olarak aktif bileşiklere sahip olabileceği düşünülmüştür. Tez çalışmamız kapsamında *L. corifolia* toprak üstü kısımları üzerinden izolasyon çalışmaları ve *in vitro* antikolinesteraz, antioksidan ve anti-enflamatuvar aktivite tayini deneyleri yapıp, biyolojik aktif yeni moleküllerin bulunması hedeflenmiştir.

Çalışmalarımızda bitkinin açık havada ve gölgede kurutulan toprak üstü parçaları kullanılmıştır. Toz edilmiş bitkinin %20 sulu-metanol ekstresi sırasıyla petrol eteri, kloroform etil asetat ve *n*-butanol ile ekstre edilmiştir. Elde edilen etil asetat ve *n*-butanol alt ekstreleri üzerinden izolasyon işlemleri yürütülmüştür. Bu fraksiyonlarda bulunan maddelerin ayırım ve saflaştırılması için, dolgu materyali olarak normal faz silika jel, Sefadex ve ters faz silika jelin kullanıldığı kromatografik yöntemlerden yararlanılmıştır.

İzolasyon çalışmaları sonucu 8 bileşik elde edilmiştir, bileşiklerin tümü *L. corifolia* bitkisinden ilk defa izole edilmiştir. Bileşiklerin yapıları UV, IR, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR, DEPT/APT, HSQC/HMQC ve HMBC spektroskopisi yöntemleri kullanılarak tayin edilmiştir. *n*-Butanol alt ekstresinden izole edilen **LCB1**, **LCB2**, **LCB3** ve **LCB4** kodlu bileşiklerin yapıları sırasıyla antirrinozit, 6-β-hidroksiantirrit, katalpol, okubin ve 6-β-hidroksiantirrit karışımı olarak aydınlatılmıştır. Etil asetat alt ekstresinden izole edilen **LCE1**, **LCE2** ve **LCE3** kodlu bileşiklerin yapısı sırasıyla prunasin, linariin ve akteozit olarak belirlenmiştir. **LCE4** kodlu bileşiğin iridoit yapısı taşıdığı düşünülmektedir.

*Linaria* türlerinde bulunan terpenlerin çoğunu iridoitler oluşturmaktadır. İridoitler ve glikozit türevleri Plantaginaceae familyası için kemotaksonomik marker bileşiklerdir, siklopentano-piran iskeletine sahiptirler. Antirrinozit, 6-açıl-antirrinozit, 5-deoksiantirrinozit türevleri *Linaria* türlerinde yaygın bulunan bulunan iridoitlerdir (1, 86).

Çalışmalarımız sonucu *n*-butanol alt ekstresinden **LCB1**, **LCB2**, **LCB3**, **LCB4** kodlu 4 iridoit elde edilmiştir. Elde edilen iridoitler 1 numaralı konumlarından glukoz bağlanmış, iridoit glikoziti yapısındadır.

**LCB1** bileşiği beyaz, amorf bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde, vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaktifi püskürtüldüğünde kırmızı/turuncu renk, plak ısıtıldıktan sonra kahverengi renk görülmüştür. IR spektrumunda hidroksil (3351 cm<sup>-1</sup>), olefinik çifte bağa ait (1655 cm<sup>-1</sup>) absorpsiyon bantları gözlenmiştir. Anomerik proton ve karbon sinyalleri sırasıyla  $\delta_H$  4,68 ppm,  $\delta_C$  99,71 ppm'de görülmüş,  $J=7,8$  Hz değerinden bağ konfigürasyonunun  $\beta$  olduğu anlaşılmıştır. <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C (Tablo 4.2, Şekil 4.1 ve 4.2), COSY (Şekil 4.4) ve HMQC (Şekil 4.5) spektrumları birlikte yorumlandığında uzun  $\beta$ -glukoz olduğu belirlenmiştir. <sup>13</sup>C ve DEPT spektrumlarında (Tablo 4.2, Şekil 4.2 ve 4.3) görülen 15 karbon rezonansından glukozu ait sinyaller çıkarıldığında aglikonun siklopentan-piran iskeletine sahip olduğu görülmektedir. H-3 ( $\delta_H$  6,38 d,  $J = 6,3$  Hz) ve H-4 ( $\delta_H$  4,89 d,  $J = 6,2$  Hz) şeklinde görülen sinyaller süstitüe olmamış enol eter sistemini göstermekte, 1,48 ppm'de görülen sinyaller yapıda metil grubu bulunduğunu, HMBC (Şekil 4.6) etkileşimleri metil grubunun 8 numaralı katerner karbona bağlı olduğunu işaret etmektedir. Yapıda bulunan katerner karbonların 5 ve 8 numaralı karbonlar olduğu, 6 ve 7 numaralı protonların düşük alana kayması sebebiyle 6 numaralı karbona OH grubu bağlı olduğu, 7 ile 8 numaralı karbonlar arasında epoksit grubu bulunduğu anlaşılmaktadır. LCB1 bileşiğinin yapısı antirrinozit olarak aydınlatılmıştır. Antirrinozit *Linaria* türlerinde yaygın bulunmaktadır. *L. vulgaris*, *L. japonica*, *L. clementi*, *L. haelava*, *L. simplex* (Tablo 2.13) gibi 20 farklı türden izole edilmiştir (1). Çalışmamızla *L. corifolia*'dan ilk kez elde edilmiştir.

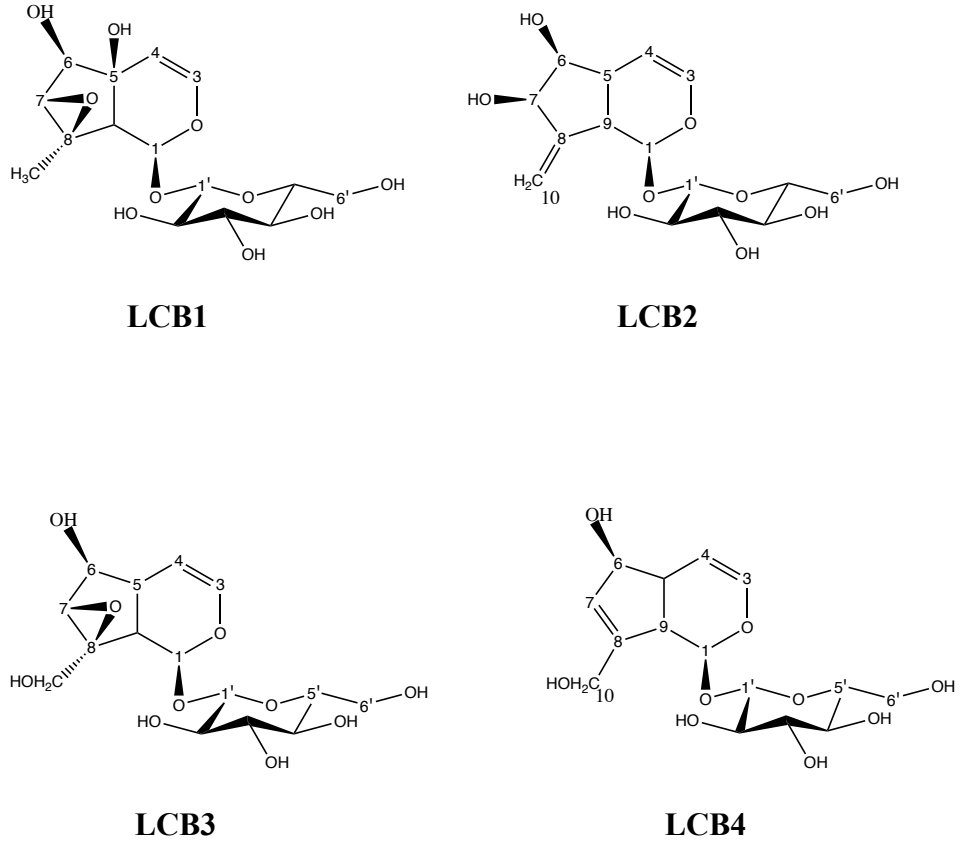
**LCB2** bileşiği beyaz, amorf bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde, vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaktifi püskürtülüp, plak ısıtıldıktan sonra kahverengi renk görülmüştür. IR spektrumunda hidroksil (3338 cm<sup>-1</sup>),

olefinik çifte bağa ait ( $1655\text{ cm}^{-1}$ ) absorpsiyon bantları gözlenmiştir. HMBC spektrumundan (Tablo 4.3, Şekil 4.12) aglikonun 1 numaralı konumundan anomerik protonun bağlı olduğu görülmektedir. Antirinozit bileşiğinde olduğu gibi oz  $\beta$ -glukoz yapısındadır. Antirinozit bileşiğinden farklı olarak H-10 sinyali, 5,31(dd,  $J=4,4/2\text{ Hz}$ ), 5,35 (dd,  $J=4,8/2,4\text{ Hz}$ ) metilen sinyalleri olarak görülmektedir.  $^1\text{H}$  spektrumunda (Tablo 4.3, Şekil 4.7), H-7'nin ( $\delta_{\text{H}}$  4,47, dd,  $J=4,3/1,9\text{ Hz}$ ) daha düşük alana kaymış olması C-7'de hidroksil varlığını, HMBC spektrumunda (Şekil 4.12) metilen grubu protonlarının, C-7 ve C-9 ile etkileşmesi, COSY spektrumunda 9 numaralı protonun 1 ve 5 numaralı protonlarla korelasyonu, metilen grubunun katerner C-8'den bağlı olduğunu göstermektedir. Bileşiğin yapısı 6- $\beta$ -hidroksiantirrit olarak belirlenmiştir. 6- $\beta$ -hidroksiantirrit *Linaria* türleri için nadir görülen iridoit glikozitidir, *L. genistifolia*, *L. japonica*, *L. purpurea* ve *L. vulgaris* türlerinde bulunduğu bildirilmiştir. Çalışmamızla *L. corifolia*'dan ilk defa izole edilmiştir.

**LCB3** bileşiği beyaz, amorf bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde, vanilin/ $\text{H}_2\text{SO}_4$  reaktifi püskürtüldüğünde mor, plak  $105\text{-}110^\circ\text{C}$ 'de ısıtıldıktan sonra siyah-kahverengi renk görülmüştür. IR spektrumunda hidroksil ( $3312\text{ cm}^{-1}$ ), olefinik çifte bağa ait ( $1662\text{ cm}^{-1}$ ) absorpsiyon bantları gözlenmiştir. İzole edilen diğer iridoitler gibi yapıda  $\beta$ -glukoz bulunmaktadır. 3,78 (1H,  $J=13,2\text{ Hz}$ ) ve 4,13 ppm'de (1H,  $J=13,1\text{ Hz}$ ) görülen sinyaller hidroksimetilen grubunun varlığını göstermektedir. H-10'nun HMBC spektrumunda (Tablo 4.4 ve Şekil 4.18) C-8, C-9 ile korelasyon göstermesi, nedeniyle, hidroksimetilen grubunun 8 numaralı katerner karbona bağlı olduğu düşünülmüştür. Bileşiğin yapısı katalpol olarak belirlenmiştir. Katalpol daha önce sadece *L. macroura* bitkisinden izole edilmiştir (1). Çalışmamızla *L. corifolia* bitkisinde de bulunduğu gösterilmiştir.



**LCB4** bileşiği beyaz, amorf bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde, vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaktifi püskürtüldüğünde açık kahverengi, plak ısıtıldıktan sonra koyu kahverengi renk görülmüştür. NMR spektrumları değerlendirildiğinde LCB4 kodlu bileşiğin, 2 farklı maddenin 1:0,5 oranında bir karışımı olduğu anlaşılmıştır. Major bileşiğe [LCB4a], minör bileşiğe [LCB4b] kodu verilmiştir. IR spektrumunda hidroksil (3325 cm<sup>-1</sup>), olefinik çifte bağa ait (1655 cm<sup>-1</sup>) absorpsiyon bantları gözlenmiştir. LCB4a bileşiğinin, 1 numaralı karbonuna β-glukoz bağlıdır. Diğer elde edilen iridoit bileşiklerinden farklı olarak yapıda 7 ve 8 numaralı karbonlar arası çifte bağ bulunmaktadır. COSY spektrumunda (Şekil 4.22) H-5 protonu (δ<sub>H</sub> 2,64, m) H-4 (δ<sub>H</sub> 5,08 m) ve H-6 (δ<sub>H</sub> 4,43 m) protonları ile korelasyon göstermektedir. H-6 (δ<sub>H</sub> 4,43) protonunun H-7 (δ<sub>H</sub> 5,76 *J*=1,7 Hz) etkileşimi, H-9'un triplet şeklinde gözlenmesi C-8'in katerner, C-7 ile C-8 arasında çifte bağ olduğuna işaret etmektedir. Hidrosimetilen grubu protonlarının (δ<sub>H</sub> 4,16 d, *J*= 15,5/2 Hz; 4,34 d, *J*= 15,3/1,9 Hz) HMBC spektrumunda (Tablo 4.5, Şekil 4.24) C-7, C-8 ile korelasyon göstermesi sebebiyle bu protonların katerner 8 numaralı karbona bağlı olduğu anlaşılmaktadır. Spektroskopik veriler ve literatür verileri göz önüne alındığında **LCB4a** bileşiğinin yapısı, okubin olarak aydınlatılmıştır. Minör bileşiğin [LCB4b] ise daha önce izole edilen 6-β-hidroksiantirrit olduğu anlaşılmıştır. Okubin bileşiği de *Linaria* türleri için nadir bulunan iridoit glikozitidir, literatür tarandığında *L. macroua*, *L. vulgaris*, *L. alpina*'da bulunduğu görülmektedir (1, 32). Çalışmamızla *L. corifolia*'dan ilk defa izole edilmiştir.



**Şekil 4.47.** *L. corifolia*'dan izole edilen iridoitler

Etil asetat alt ekstresinin izolasyon çalışmaları sonucu 1 siyanoglikozit, 2 fenolik bileşik ve iridoit yapısında olduğunu düşündüğümüz 1 terpenik bileşik elde edilmiştir. Bileşiklerin yapısı prunasin (**LCE1**), linariin (**LCE2**), akteozit (**LCE3**) olarak aydınlatılmış, **LCE4** kodlu bileşiğin iridoit glikoziti yapısı taşıdığı düşünülmekte, yapı tayini çalışmalarımız devam etmektedir.

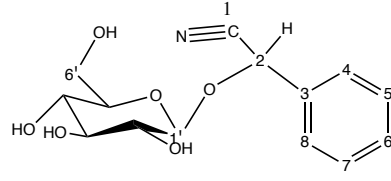
**LCE1** bileşiği sarı-turuncu, viskoz bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde vanilin /H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaktifi püskürtülüp, plak 105-110°C'de ısıtıldıktan sonra mavi/mor renk görülmüştür. IR spektrumunda siyanür grubuna ait (2157 cm<sup>-1</sup>), olefinik çifte bağa ait (1680 cm<sup>-1</sup>), eter grubuna ait (1270 cm<sup>-1</sup>) absorpsiyon bantları gözlenmiştir. <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C spektrumlarında (Tablo 4.6, Şekil 4.25 ve 4.26) anomerik proton ve karbon sırasıyla δ<sub>H</sub> 4,23 ppm (d, *J*=6,8 Hz, H-1'), δ<sub>C</sub> 101,96 ppm'de görülmüştür. Diğer oz sinyalleri ile birlikte

değerlendirildiğinde bileşiğin monoglikozidik yapıda olduğu,  $\beta$ -glukoz olduğu taşıdığı belirlenmiştir.  $^1\text{H}$  spektrumunda (Tablo 4.6, Şekil 4.24) görülen  $\delta_{\text{H}}$  7,58 (dd,  $J=7,6/3,6$ , 2H),  $\delta_{\text{H}}$  7,45 ppm (m, 2H) pikler ve  $^{13}\text{C}$  spektrumunda görülen  $\delta_{\text{C}}$  130,19 (2C),  $\delta_{\text{C}}$  131,06 ppm (2C) pikler bileşiğin monosüstitüe benzen iskeleti taşıdığına işaret etmektedir. Bileşiğin LC-MS spektrumundan molekül ağırlığının tek olduğu anlaşılmış,  $^{13}\text{C}$  ve DEPT spektrumları (Tablo 4.6, Şekil 4.26 ve 4.27) değerlendirildiğinde yapıda bulunan katerner karbona bağlı azot atomu olabileceği öngörülmüştür. HMBC spektrumunda (Tablo 4.6, Şekil 4.30)  $\delta_{\text{H}}$  5,91 (s, H-2) ile  $\delta_{\text{C}}$  119,47 (C-1) ve  $\delta_{\text{C}}$  134,90 (C-3) karbonlarının korelasyonu,  $\delta_{\text{H}}$  4,23 (d,  $J=6$ , 8Hz, H-1') protonuyla  $\delta_{\text{C}}$  68,39 (C-2) karbonunun korelasyonundan bağlantı yerleri belirlenmiştir. Bileşiğin yapısı prunasin olarak aydınlatılmıştır. Genellikle *Prunus* cinsi bitkilerden elde edilen siyanoglikozit yapısındaki prunasin bileşiği (87), daha önce *Linaria* türlerinden izole edilmemiştir. Çalışmamızla ilk defa *L. corifolia*'da bulunduğu belirlenmiştir.

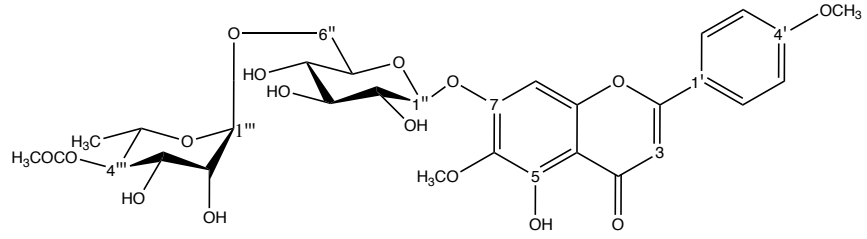
**LCE2** bileşiği sarı, amorf bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde, vanilin/ $\text{H}_2\text{SO}_4$  reaktifi püskürtülüp, plak 105-110°C'de ısıtıldıktan sonra sarı renk görülmüştür. IR spektrumunda hidroksil grubuna ait (3380  $\text{cm}^{-1}$ ), metil grubuna ait (2937  $\text{cm}^{-1}$ ), olefinik çifte bağ grubuna ait (1655  $\text{cm}^{-1}$ ), p- disüstitüe benzen grubuna ait (2937  $\text{cm}^{-1}$ ) absorpsiyon bantları gözlenmiştir.  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumlarında (Tablo 4.7, Şekil 4.31 ve Şekil 4.32),  $\delta_{\text{H}}$  5,14 (m,  $J=6,8$  Hz, H-1'') ve  $\delta_{\text{C}}$  100,10 (C-1'') ile  $\delta_{\text{H}}$  4,58 (d,  $J=1,6$  Hz, H-1''') ve  $\delta_{\text{C}}$  99,87 (C-1''')'de görülen pikler bileşiğin 2 oz içerdiğine işaret etmektedir. COSY ve HSQC spektrumları (Şekil 4.34 ve 4.35) birlikte değerlendirildiğinde ozların  $\beta$ -glukoz ve  $\alpha$ -ramnoz olduğu anlaşılmıştır.  $^1\text{H}$  spektrumunda  $\delta_{\text{H}}$  7,12 (d,  $J=9,2$  Hz, H-3'/5'),  $\delta_{\text{H}}$  8,04 (d,  $J=8,8$  Hz, H-2'/6'),  $\delta_{\text{H}}$  6,90 (s, H-3) ve  $\delta_{\text{H}}$  6,96 ppm (s, H-8) şeklinde görülen pikler, p-disüstitüe flavonoit iskeleti için karakteristiktir. HMBC spektrumunda (Tablo 4.7, Şekil 4.36)  $\delta_{\text{H}}$  4,58 (d,  $J=1,6$  Hz, 1''') ile,  $\delta_{\text{C}}$  65,73 (C-6'') ve  $\delta_{\text{C}}$  70,21 (C-2''') karbonlarının korelasyonu,  $\delta_{\text{H}}$  6,90 (s, H-3) ile  $\delta_{\text{C}}$  105,81 (C-2) ve  $\delta_{\text{C}}$  (122,71

C-1') karbonlarının korelasyonu bağlantı noktalarını belirlememizi sağlayan önemli etkileşimlerdir. Bileşiğin yapısı linariin olarak belirlenmiştir Flavon glikozitleri *Linaria* cinsinde yaygın şekilde bulunmaktadır. Linariin bileşiğinin *L. vulgaris*, *L. japonica*, *L. aucheri*, *L. reflexa*, *L. kurdica* ve *L. aegyptiaca* bitkilerinde bulunduğu bildirilmiştir (1, 27). *L. corifolia* bitkisinin linariin içerdiği çalışmamızla bulunmuştur.

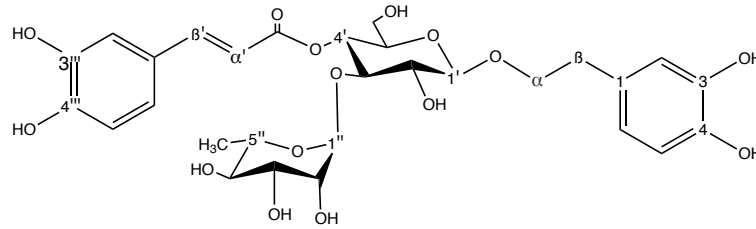
**LCE3** bileşiği kırmızı/turuncu renkte, amorf bir katı olarak elde edilmiştir. İTK analizinde, vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaktifi püskürtülüp, plak 105-110°C'de ısıtıldıktan sonra sarı/turuncu renk görülmüştür. IR spektrumunda hidroksil grubuna ait (3348 cm<sup>-1</sup>), karbonil grubuna ait (1694 cm<sup>-1</sup>), olefinik çifte bağ grubuna ait (1602 cm<sup>-1</sup>) absorpsiyon bantları gözlenmiştir. Plak ısıtıldıktan sonra UV 366 nm'de incelendiğinde sarı floresans görülmüştür. <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR spektrumlarında (Tablo 4.8, Şekil 4.37 ve 4.38) δ<sub>H</sub> 4,40 (d, *J*=7,9 Hz, H-1') ve δ<sub>C</sub> 104,01 (C-1') ile δ<sub>H</sub> 5,21 (d, *J*=1,8 Hz, H-1'') ve δ<sub>C</sub> 102,83 (C-1'')'de görülen pikler, β-glukoz ve α-ramnoza aittir. <sup>1</sup>H NMR spektrumunda (Tablo 4.8, Şekil 4.37) δ<sub>H</sub> 7,07-6,80 ve 6,71-6,59 bölgesinde 2 ABX sistemi şeklinde toplam 6 aromatik proton sinyali ile δ<sub>H</sub> 6,29 (d, *J*=15,9 Hz) ve δ<sub>H</sub> 7,61 (d, *J*=15,9 Hz)'de AB sistem şeklinde 2 proton sinyali görülmüştür. ABX ve AB sistemleri bileşiğin fenilpropanoit yapısı taşıdığını düşündürmektedir. Glukozun H-4' sinyalinin (δ<sub>H</sub> 4,98-4,91) yaklaşık 1 ppm düşük alana kayması kafeik asit grubunun C-4' konumundan esterleşmiş olduğuna işaret etmektedir. HMBC spektrumunda (Tablo 4.7, Şekil 4.41) δ<sub>H</sub> 4,40 (d, *J*= 7,9 Hz, H-1') ile δ<sub>C</sub> 72,15 (CH<sub>2</sub>, C-α) ve δ<sub>H</sub> 5,21 (d, *J*=1.8 Hz, H-1'') ile δ<sub>C</sub> 81,43 (C-3') arasındaki korelasyonlarla glukoz ve ramnozun bağlantı yerlerini doğrulanmıştır. LCE3 bileşiğinin yapısı, **akteozit (verbaskozit)** olarak aydınlatılmıştır. *Linaria* cinsi bitkilerde fenilpropanoit glikozitleri oldukça az bulunmaktadır. Glukopiranozil martinozit, Uranozit A, B ve C bileşikleri *L. japonica*'da bulunan fenilpropanoit glikozitleridir. Akteozit daha önce *L. haelava*'dan elde edilmiştir. Çalışmamızla ilk kez *L. corifolia*'dan izole edilmiştir.



LCE1



LCE2



LCE3

**Şekil 4.48.** *L. corifolia* etil asetat alt ekstresinden izole edilen bileşikler

İzolasyon çalışmalarımız sonucu *Linaria* cinsi bitkilerde çok sık rastlanan iridoit glikozitleri, fenolik bileşikler elde edilmiştir (1). Elde edilen iridoit glikozitlerinden antirrinozit bileşiği pek çok *Linaria* türünde olduğu gibi, *L. corifolia* bitkisinde de bulunmaktadır. Antirrit pek çok *Linaria* türünde görüldüğü halde, 6- $\beta$ -hidroksiantirriti az sayıda *Linaria* türü taşımaktadır. (1). 2 farklı *Linaria* türü (*L. macroura*, *L. vulgaris*) okubin içermektedir. Katalpol Plantaginaceae familyası için kemotaksonomik açıdan önemli olmasına rağmen *Linaria* cinsinde nadir görülmektedir (1, 88).

Çalışmamızla 6- $\beta$ -hidroksiantirrit, katalpol ve okubin iridoit glikozitlerinin bulunduğu *Linaria* türleri arasına *L. corifolia* da eklenmiştir.

*Linaria* cinsi bitkilerde fenolik bileşiklerden flavonoitler, flavonoit bileşikleri içerisinde de flavon-*O*-glikozitleri yaygın şekilde bulunmaktadır (1). Çalışmalarımız sonucunda *L. corifolia* bitkisinin flavon-*O*-glikoziti yapısı taşıyan linariin, fenilpropanoit yapısı taşıyan akteozit, *Linaria* türlerinden daha önce elde edildiği bildirilmeyen prunasin bileşikleri içerdiği bulunmuştur.

Alzheimer hastalığı, yaşlanmanın ve nöron kaybının neden olduğu, hafıza kaybına yol açan nörodejeneratif rahatsızlıktır. Senil plaklar ve amiloit-beta peptit birikimi Alzheimer hastalarındaki nöropatolojik belirtilerdendir. Bu nöropatolojik belirteçlerin artışı, laminin, apolipoprotein E ve AChE fonksiyon bozukluğuna bağlıdır. Senil plakların bir bileşeni olan AChE amiloit oluşumunu artırmaktadır. Alzheimer hastalarında AChE enzim seviyesinde artış görülmektedir, dolayısıyla tedavide AChE inhibisyonu önem kazanmaktadır. Günümüzde Alzheimer hastalığının tedavisinde sentetik kolinesteraz inhibitörleri kullanılmaktadır. Donepezil, rivastigmin, galantamin, memantin FDA onaylı ilaçlardır, bu ilaçlarla semptomatik tedavi uygulanıp, hastalığın ilerlemesi önlenememektedir. Tedavide kullanılan ilaçların mide bulantısı, kusma, ishal, baş dönmesi, yorgunluk, kas spazmları gibi yan etkileri bulunmaktadır. Bu nedenle hastalığın tedavisinde daha az yan etkileri olan, beyin fonksiyonlarını artıran doğal bileşikler dikkat çekmektedir. Huperzin A, galantamin, fizostigmin ve rivastigmin AChE inhibitör etkili doğal bileşiklerdendir. Alzheimer tedavisinde kurkumin, resveratrol, huperzin, vareniklin, sikloastragenol gibi fitokimyasallar da kullanılmaktadır (89).

Alzheimer gelişiminde enflamasyon, oksidatif stres, kolinerjik yollar gibi çeşitli faktörler rol almaktadır. Alkaloidler, flavonoitler, steroller, terpenler ve glikozitleri AChE inhibitör etkili doğal bileşiklerdir (89). *Linaria* türlerinin antioksidan, anti-enflamatuvar, antikolinesteraz aktiviteleri bulunmaktadır. Ayrıca fenolik bileşikler ve terpenik bileşikler

içerdikleri bilinmektedir. İzolasyon çalışmalarımız sonucu *L. corifolia* bitkisinden iridoit glikozitleri ve fenolik bileşikler elde edildiğinden; biyolojik aktivite çalışmaları kapsamında da antioksidan, antikolinesteraz ve anti-enflamatuvar aktivite çalışmaları yapılmıştır.

*L. corifolia* toprak üstü kısımlarından hazırlanan, %20 sulu-metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat ve *n*-butanol alt ekstralarının DPPH, ABTS radikal süpürücü aktiviteleri ve CUPRAC yöntemi ile antioksidan etkileri belirlenmiştir. *Linaria* türlerinin fenolik içerikleri ve antioksidan aktivite çalışmalarıyla paralel olarak ekstraların toplam fenolik ve flavonoit içerikleri de tespit edilmiştir.

DPPH radikal süpürücü etki tayini sonucu *L. corifolia* etil asetat alt ekstresi diğer örneklere göre yüksek etkili (IC<sub>50</sub>: 217,75 ±12,82 µg/mL) bulunmuştur. Etil asetat alt ekstresinden sonra *n*-butanol alt ekstresinde orta derecede etki (IC<sub>50</sub>: 306,58 ± 23,38 µg/mL) görülmüştür. Daha önce yapılmış çalışmalarda *L. scariosa* (IC<sub>50</sub>: 71,64 ± 1,13 µg/mL) ve *L. tinginata* (IC<sub>50</sub>: 82,40 ± 16 µg/mL) etil asetat alt ekstralarının de DPPH radikale karşı daha etkili olduğu görülmüştür (24, 51). Her iki bitkinin aktivitesine bakıldığında *L. corifolia* daha az etkilidir. *L. corifolia* toprak üstü kısımlarının etanol, etil asetat, diklorometan ekstralarının DPPH radikal süpürücü etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada etanol ekstresi en yüksek aktiviteyi (400 µg/mL konsantrasyonda; %60-70) göstermiştir. Aynı çalışmada etanol ekstresi en yüksek toplam fenolik (72,39 GAE mg/g) ve flavonoit (71,94 mg kersetin/g) içeriğine sahip ekstre olarak bulunmuştur (10). Çalışmamızda en yüksek toplam fenolik içerik etil asetat alt ekstresinde (106,15 GAE mg/g), en yüksek toplam flavonoit içerik ise *n*-butanol alt ekstresinde (47,29 mg kersetin/g) belirlenmiştir.

ABTS radikali % inhibisyon değerleri karşılaştırıldığında etil asetat alt ekstresi (IC<sub>50</sub>:737,39 ± 9,16 µg/mL) kloroform alt ekstresi (IC<sub>50</sub>: 702,12 ± 16,90 µg/mL) dışında diğer örneklere göre daha yüksek aktivite göstermiştir. Troloks (IC<sub>50</sub>:66,21 ± 1,98 µg/mL) ile karşılaştırıldığında ise aktivitesi çok

düşük bulunmuştur. *L. scariosa* ekstrelerinin ABTS radikaline karşı antioksidan etkilerinin incelendiği çalışmada, etil asetat alt ekstresinin ( $IC_{50}$ :  $22,28 \pm 0,54 \mu\text{g/mL}$ ) en yüksek etki gösterdiği belirlenmiştir (24). Çalışmamızda benzer olarak etil asetat alt ekstresinde daha yüksek aktivite görülmekle birlikte, aktivitenin *L. scariosa* bitkisi ile karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu görülmüştür.

CUPRAC yönteminde de etil asetat alt ekstresi ( $IC_{50}$ :  $115,13 \pm 1,36 \mu\text{g/mL}$ ) ekstre ve diğer alt ekstrele göre daha etkili bulunmuştur. *L. scariosa* ekstrelerinin CUPRAC yöntemiyle antioksidan etkilerinin incelendiği başka çalışmada, etil asetat alt ekstresinin ( $A_{50}$ :  $21,58 \pm 0,77 \mu\text{g/mL}$ ) en yüksek etki gösterdiği görülmüştür (24).

Tüm antioksidan aktivite bulgularına göre etil asetat alt ekstresi fenolik ve flavonoit içeriğine bağlı olarak diğer örneklerle göre yüksek etkisiyle ön plana çıkmaktadır. Örneklerin Cu (II) iyonlarını indirgeme güçlerinin, DPPH ve ABTS radikallerini süpürücü etkilerine göre daha yüksek olduğu görülmektedir.

İzole edilen saf bileşiklerden katalpolün DPPH, ABTS radikal süpürücü etkileri ve CUPRAC yöntemi ile antioksidan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, ABTS radikallerine karşı etki görülmezken, CUPRAC yönteminde daha yüksek etki ( $IC_{50}$ :  $290 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ ), DPPH radikallerine karşı orta derecede etki ( $IC_{50}$ :  $490 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$ ) kaydedilmiştir (90). Katalpolün *in vitro* antioksidan etkisinin araştırıldığı başka çalışmada, bileşiğin serbest radikal üretimini baskılayarak ve antioksidan kapasiteyi artırarak astrosit hücrelerinde koruyucu etkilerinin bulunduğu bildirilmiştir (91). Ayrıca fare beyin hücrelerinde rotenon ile indüklenen oksidatif strese karşı koruyucu etkisi bulunmuştur (92).

Okubin bileşiğinin *in vitro* DPPH, hidroksil radikallerini süpürücü etkisi, *in vivo* diyabetik sıçanlarda lipit peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir (93, 94).



Akteozit bileşiğinin *in vitro* DPPH radikalini süpürücü etkisi ( $IC_{50}$ :  $3,05 \pm 0,09$ ) bulunmaktadır (95). Fenolik bileşiklerin antioksidan, anti-enflamatuvar, nöroprotektif aktiviteleri çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (96, 97).

Örneklerin *in vitro* asetilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri değerlendirildiğinde, *n*-butanol alt ekstresinde konsantrasyon artışına bağlı olarak % inhibisyon değerlerinde artış görülmekle birlikte, 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyonda etil asetat alt ekstresi en yüksek % inhibisyon değerine sahip alt ekstre olarak bulunmuştur. *n*-Butanol alt ekstresinden izole edilen 6- $\beta$ -hidroksiantirrit bileşiğinde konsantrasyona bağlı % inhibisyon değerlerinde artış, etil asetat alt ekstresinden izole edilen linariin bileşiği ise 20, 50 ve 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyonlarda (sırasıyla  $\%55,08 \pm 0,81$ ,  $57,70 \pm 0,13$ ,  $40,98 \pm 9,68$ ) en aktif bileşik olarak belirlenmiştir. İridoit bileşiklerinde 25 ve 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyonlarda katalpol bileşiği (sırasıyla  $\%33,87 \pm 1,94$ ,  $26,49 \pm 8,62$ ) diğer iridoitlere göre daha etkili görülmüştür.

Kloroform alt ekstresinin bütirikolinesteraz inhibitör etkisi konsantrasyon artışına bağlı olarak artmıştır, diğer örneklerle göre asetilkolinesteraz inhibitör etkisinden farklı olarak 100, 200 ve 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyonlarda daha yüksek aktivite görülmüştür. Linariin bileşiği 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $\%11,47 \pm 2,15$ ), 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $\%8,72 \pm 2,16$ ) ve 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyonlarda ( $\%9,52 \pm 0,14$ ) daha aktif bulunmuştur.

**Tablo 5.1.** Alt ekstreler ve standart bileşiğin % kolinesteraz inhibitör etkileri

	% Asetilkolinesteraz İnhibitör Etki	% Bütirikolinesteraz İnhibitör Etki
<b>Lc kloroform (200 µg/mL)</b>	24,12 ± 2,02	18,24 ± 2,69
<b>Lc etil asetat (200 µg/mL)</b>	33,91 ± 0,05	11,73 ± 0,90
<b>Lc <i>n</i>-butanol (200 µg/mL)</b>	11,22 ± 1,13	11,54 ± 3,33
<b>Fizostigmin salisilat (10 µg/mL)</b>	83,60 ± 0,78	52,58 ± 0,47

**Tablo 5.2.** Saf bileşiklerin % kolinesteraz inhibitör etkileri

	%Asetilkolinesteraz İnhibitör Etki	% Bütirikolinesteraz İnhibitör Etki
<b>LCB1 (50 µg/mL)</b>	33,28 ± 1,78	8,62 ± 4,29
<b>LCB2 (50 µg/mL)</b>	18,52 ± 0,49	8,44 ± 4,04
<b>LCB3 (50 µg/mL)</b>	28,72 ± 4,39	10,58 ± 0,76
<b>LCE2 (50 µg/mL)</b>	57,70 ± 0,13	10,46 ± 1,78

*L. reflexa* metanol, etil asetat ve *n*-hekzan ekstreleri ve etil asetat ekstresinden izole edilen flavonoitlerin asetilkolinesteraz inhibitör etkilerinin araştırıldığı çalışmada, etil asetat ekstresi (IC<sub>50</sub>: 185,6 µg/mL) en aktif ekstre

olarak bulunmuştur. İzole edilen linariin, izolinariin A ve B bileşiklerinde yüksek etki belirlenmiş, linariin ( $IC_{50}$ :  $0,30 \pm 0,05 \mu M$ ) bileşiğinde daha düşük etki görülmüştür (55). Çalışmamızda benzer olarak linariin bileşiği diğer elde edilen bileşiklere göre daha aktif görülmesine rağmen  $IC_{50}$  değeri hesaplanamamıştır.

*L. scariosa* butanol alt ekstresinin asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesi ( $IC_{50}$ :  $75,47 \pm 3,5 \mu g/mL$ ) diklorometan ve etil asetat alt ekstrilerine göre daha yüksek bulunmuştur. Butanol alt ekstresi pektolarin bileşiği içerdiğinden dolayı yüksek aktiviteli olabileceği düşünülmüştür. Diklorometan alt ekstresinde ise daha yüksek bütirilkolinesteraz inhibitör etki görülmüştür ( $IC_{50}$ :  $96,02 \pm 0,69 \mu g/mL$ ). Ekstrenin yüksek bütirilkolinesteraz inhibitör etkisinden taşıdığı  $\alpha$ -linolenik ve palmitik asit gibi yağ asitleri sorumlu tutulmuştur (24).

Çalışmamızda etil asetat alt ekstresinin yüksek asetilkolinesteraz inhibitör etkisinin ( $200 \mu g/mL$  konsantrasyonda) içerdiği fenolik bileşikler ve izole edilen linariin bileşiğiyle birlikte bulunan diğer flavonoidlere bağlı olabileceği düşünülmektedir. Kloroform alt ekstresi ise  $50 \mu g/mL$  konsantrasyonu dışında tüm konsantrasyonlarda diğer örneklerle göre daha yüksek bütirilkolinesteraz inhibisyon değerlerine sahiptir. Bu yüksek aktivite ekstrenin taşıdığı apolar lipofilik bileşiklere bağlanabilir (24, 55).

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF)'ün *in vivo* nöroprotektif etkisi bulunmaktadır ve BDNF miktarının Alzheimer hastalarında azaldığı bilinmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda katalpolün AChE inhibitör etkisinin bulunmadığı, hayvan modellerinde ise azalmış M reseptör (beyin muskarinik asetilkolin reseptör), BDNF reseptör yoğunluğunu artırarak, kolinerjik dejenerasyonu azaltarak hafıza ve öğrenmeyi artırabileceği gösterilmiştir. Nörodejeneratif hasar oluşturulmuş dişi farelerde katalpolün etkisinin incelendiği çalışmada, katalpol 5, 15 ve 45 mg/kg konsantrasyonlarda 3 ay boyunca uygulanmıştır. Katalpolün güçlü bir biçimde BDNF ekspresiyonunu, hafıza ve öğrenme yeteneğini artırdığı gözlenmiştir (98). *In vitro*, *in vivo* çalışmalarda antioksidan, anti-

enflamatuvar, antiapoptotik etkileri bulunan katalpol bileşiğinin nöroprotektif etkisi ile Alzheimer hastalığında etkili olabileceği düşünülmektedir (99).

*Verbascum mucranatum* Lam. sulu ekstresi, ekstreden elde edilen fraksiyonlar ve diğer bileşiklerle birlikte izole edilen katalpol, okubin, akteozit bileşiklerinin AChE ve BChE inhibitör etkilerinin incelendiği çalışmada, akteozit bileşiğinin orta derecede AChE inhibitör etkisi bulunmuş, katalpol ve okubin bileşikleri ise etkili bulunmamıştır (100).

Asetilkolinesteraz inhibitör etki tayini çalışmalarımız sonucu linariin bileşiği 20, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda (sırasıyla %55,08 ± 0,81, 57,70 ± 0,13, 40,98 ± 9,68) en aktif bileşik olarak belirlenmiştir. İridoit bileşikleri içinde 25 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda katalpol bileşiği (sırasıyla %33,87 ± 1,94; 26,49 ± 8,62) diğer iridoitlere göre daha etkili bulunmuştur. Linariin bileşiği 20 µg/mL (%11,47 ± 2,15), 25 µg/mL (%8,72 ± 2,16) ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda (%9,52 ± 0,14) daha yüksek BChE inhibitör etkilidir.

Kolinesteraz inhibitör etki sonuçlarımıza göre ekstre, alt ekstreler ve saf bileşiklerin bütirilkolinesteraz inhibitör aktivitelerinin, asetilkolinesteraz inhibitör aktivitelerine göre genel olarak düşük olduğu görülmektedir. BChE aktivitesi Alzheimer hastalarında artması nedeniyle hem AChE hem de BChE inhibitörleri, AChE'ye karşı seçici olan bileşiklere göre daha etkili olabilir. Flavon ve izoflavon yapısındaki flavonoitler yüksek kolinesteraz inhibitör etkilidir. Flavonoit yapısında bulunan 2-3 numaralı karbonlar arasındaki çifte bağ, 3 numaralı konumda sübstitüsyonun bulunmaması kolinesteraz inhibitör aktiviteyi artırırken, B halkasında hidroksil gruplarının sayısının artması BChE inhibitör aktiviteyi artırmaktadır (101).

COX-2 inhibitör tarama testinde %20 sulu-metanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat, *n*-butanol alt ekstrelerinin inhibisyon değerleri düşük bulunmuş, IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanamamıştır.

*L. aucheri* toprak üstü etil asetat (%30,5), %20 sulu-metanol ekstreleri (%47,3) ve *L. aucheri*' den izole edilen antirrinozit bileşiği (%36,6), farelerde yapılan 12-*O*-tetradekanoil-13-asetat [TPA] ile indüklenen kulak ödemi testinde konsantrasyona bağlı inhibitör aktivite göstermiştir. Aynı bitkiden izole edilen linariin bileşiğinin karragen, PGE<sub>2</sub> ile indüklenen pençe ödemi ve TPA ile indüklenen kulak ödemi modellerinde anti-enflamatuvar etkisi gözlenmemiştir (5). *Kerria japonica*'dan izole edilen linariin, 50 mg/kg konsantrasyonda farelerde karragenin ile indüklenen pençe ödemi % 25,5 azaltmıştır (102). *L. reflexa* *n*-butanol ekstresinin, 200 mg/kg konsantrasyonda, sıçanlarda karragenle indüklenen pençe ödemi %63,90 azalttığı bulunmuştur (28). Başka bir çalışmada ise *L. vulgaris* ekstreleri ve bitkiden izole edilen *p*-kumarik asit, linarin, linariin, akasetin ve linariozit bileşiklerinin anti-enflamatuvar etkili oldukları bildirilmiştir (1). *L. tingitana* *n*-butanol ekstresinin sıçanlarda karragenle indüklenen pençe ödemi, 4 saat sonra %61,71 azalttığı bulunmuştur (45). *L. cymbalaria* etanol ekstresi, 200 mg/kg konsantrasyonunda farelerde ksilen ile indüklenen kulak ödemi %76 ± 1 azaltmıştır (47).

*In vitro* çalışmalarda ise, *L. saxatilis* var. *glutinosa*'dan elde edilen neo-klerodan diterpenler, *L. buriatica*'dan izole edilen iridoit glikozitleri (Linaburiazit A ve İridolinarin C), *L. tingitana* *n*-butanol ekstresi ve *L. scariosa* metanol ekstresinin anti-enflamatuvar etkileri gösterilmiştir (1, 31, 39, 40).

*Verbascum lasianthum* çiçeklerinden izole edilen katalpol ve okubin bileşiklerinin *in vivo* anti-enflamatuvar etkileri farelerde karragenle indüklenen pençe ödemi testi ile araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 19,6 mg/kg konsantrasyonda uygulanan katalpol bileşiğinde orta derecede etki (%10,5-11,5), 125,1 mg/kg konsantrasyonda uygulanan okubin bileşiğinde ise daha yüksek etki (%25-33,3 inhibisyon) görülmüştür. İridoit bileşiklerinde 7 ve 8 numaralı karbonlar arasında çifte bağ, yapıda epoksi grubunun bulunması anti-enflamatuvar aktiviteyi artırmaktadır (103).

Çeşitli çalışmalarda katalpol ve okubin bileşiklerinin *in vitro* ve *in vivo* anti-enflamatuvar etkilerinin bulunduğu bildirilmiştir (93, 104).

*Verbascum mucranatum* çiçeklerinden izole edilen akteozit (verbaskozit) bileşiğinin *in vivo* anti-enflamatuvar etkisinin farelerde karragenle indüklenen pençe ödemi testi ile değerlendirildiği çalışmada, bileşik 200 mg/kg konsantrasyonda uygulandığında, %19 –26,9 inhibisyon göstermiştir (105). Akteozit bileşiğinin *in vitro* ve *in vivo* anti-enflamatuvar aktivitesi biyolojik aktivite çalışmalarıyla gösterilmiştir (106-108).

İzolasyon ve aktivite çalışmalarımız sonucu üzerinde sınırlı sayıda çalışma bulunan *L. corifolia* bitkisinin kimyasal içeriği, *in vitro* antioksidan ve kolinesteraz inhibitör aktiviteleri belirlenmiştir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmamız kapsamında kimyasal içeriği ve aktiviteleriyle ilgili az sayıda çalışma bulunan endemik *L. corifolia* bitkisinin kimyasal içeriği ve çeşitli aktiviteleri araştırılmıştır. İzolasyon çalışmalarımız sonucu diğer *Linaria* türlerinde bulunan, *L. corifolia*'dan da elde etmeyi amaçladığımız iridoit glikozitleri, fenolik bileşikler izole edilmiştir. *n*-Butanol ve etil asetat fraksiyonlarına uyguladığımız kromatografik yöntemler sonucu 8 bileşik elde edilmiştir. *n*-Butanol fraksiyonundan elde edilen **LCB1**, **LCB2**, **LCB3** ve **LCB4** kodlu bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemlerle sırasıyla antirrinozit, 6- $\beta$ -hidroksiantirrit, katalpol ve okubin olarak belirlenmiştir. Etil asetat fraksiyonundan izole edilen **LCE1**, **LCE2**, **LCE3** kodlu bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemlerle sırasıyla prunasin, linariin ve akteozit olarak aydınlatılmıştır, **LCE4** kodlu bileşiğin iridoit yapısında olduğu düşünülmekte, yapı tayini çalışmalarımız devam etmektedir. İzole edilen bileşiklerin tümü *L. corifolia* bitkisinden ilk defa elde edilmiştir.

*Linaria* türlerinin aktivite sonuçlarından hareketle, *L. corifolia* ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri, DPPH, ABTS radikal süpürücü etki ve CUPRAC yöntemine göre araştırılmıştır. Etil asetat alt ekstresinin yüksek fenolik ve flavonoit içeriğine bağlı olarak daha aktif olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızla bitkinin ilk kez kolinesteraz inhibitör etkisi değerlendirilmiştir. Genel olarak bütirikolinesteraz aktivite, asetilkolinesteraz aktiviteye göre düşük bulunmuş, örneklerin etkisinin fizostigmin salisilata göre oldukça düşük olduğu görülmüştür. Saf bileşikler arasında linariin bileşiği yüksek anti-asetilkolinesteraz aktivitesiyle öne çıkmaktadır.

Tez çalışmamız sonucu *L. corifolia* bitkisinden terpenik, siyanogenetik glikozit, fenolik yapıya sahip farklı bileşikler elde edilmiştir. Bitkinin *in vitro* antioksidan, antikolinesteraz aktiviteleri çalışılmıştır. İzolasyon çalışmaları sonucu elde edilen ve yapı tayinleri yapılan bileşiklerin tümü *L. corifolia* bitkisi için yeni bileşiklerdir. Bitki üzerinde farklı antioksidan aktivite tayinleri gerçekleştirilmiş, ilk kez kolinesteraz inhibitör aktivite çalışmaları yürütülmüştür. İzolasyon ve aktivite çalışmaları

sonuçlarımızla literatüre katkıda bulunulmuştur. İlerleyen çalışmalarımızda yapı tayinini gerçekleştiremediğimiz saf maddenin, yapısının aydınlatılması planlanmaktadır. Halk arasında farklı *Linaria* türlerinin antidiyabetik, yara iyi edici gibi kullanımları da bulunmaktadır. *L. corifolia* ekstreleri ve saf maddelerinin bu aktiviteler yönünden araştırılabileceği düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

1. Cheriet T, Mancini I, Seghiri R, Benayache F, Benayache S. Chemical constituents and biological activities of the genus *Linaria* (Scrophulariaceae). *Nat Prod Res.* 2015;29(17):1589-613.
2. Albach DC, Meudt HM, Oxelman B. Piecing together the "new" Plantaginaceae. *Am J Bot.* 2005;92(2):297-315.
3. Yousefi N, Zarre S, Heubl G. Molecular phylogeny of the mainly Mediterranean genera *Chaenorhinum*, *Kickxia* and *Nanorrhinum* (Plantaginaceae, tribe Antirrhineae), with focus on taxa in the Flora Iranica region. *Nord J Bot.* 2016;34(4):455-63.
4. Davis PH. *Linaria* Miller. Davis PH. (Ed.). *Flora of Turkey And the East Aegean Islands.* Edinburgh: Edinburg University Press; 1978.
5. Akkol EK, Ercil D. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of some *Linaria* species from Turkey. *Pharmaceutical Biology.* 2009;47(3):188-94.
6. *Linaria* türleri [İnternet]. 2012 [3.10.23]. <https://www.bizimbitkiler.org.tr/list.html>
7. Cheriet T, Hanfer M, Boudjelal A, Baali N, Mancini I, Seghiri R, et al. Glycosyl flavonoid profile, *in vivo* antidiabetic and *in vitro* antioxidant properties of *Linaria reflexa* Desf. *Nat Prod Res.* 2017;31(17):2042-8.
8. Ma C, Higashi N, Ishiguro K, Zhao Y, Zhang LK, Zhao CW, et al. Allergy-preventive effects of linarinic acid and its tetrahydropyrrolo[2,1-b]quinazoline derivatives isolated from. *J Nat Med-Tokyo.* 2018;72(2):582-7.
9. Mashcenko N KP, Gurev A, Marchenko A, Bassarello C, Piacente S, Pizza C. Glycosides From *Linaria vulgaris* Miil. *Chemistry Journal of Moldova.* 2008;3(2):98-100.
10. Gul M, Ozturk Cali I, Cansaran A, Idil O, Kulu I, Celikoglu U, et al. Evaluation of phytochemical content, antioxidant, antimicrobial activity and DNA cleavage effect of endemic *Linaria corifolia* Desf. (Plantaginaceae). *Cogent Chemistry.* 2017;3(1):1-14.
11. Gonuz A, Dulger B, Kargioglu M. The morphological, anatomical properties and antimicrobial activity of endemic *Linaria corifolia* Desf. (Scrophulariaceae) in Turkey. *Pak J Biol Sci.* 2005;8:220-26.
12. Amir Rawa MS, Hassan Z, Murugaiyah V, Nogawa T, Wahab HA. Anti-cholinesterase potential of diverse botanical families from Malaysia: Evaluation of crude extracts and fractions from liquid-liquid extraction and acid-base fractionation. *J Ethnopharmacol.* 2019;245:1-17.
13. Zaluski D, Kuzniewski R. In Vitro Anti-AChE, Anti-BuChE, and antioxidant activity of 12 extracts of *Eleutherococcus* species. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:1-7.
14. Azizi G, Mirshafiey A. The potential role of proinflammatory and antiinflammatory cytokines in Alzheimer disease pathogenesis. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2012;34(6):881-95.

15. Koçancı FG, Aslım B. Structure and functions of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase inhibitory activity of plants. *Manas Journal of Agriculture and Life Science*. 6(1):19-35.
16. Aissani F, Grara N, Bensouici C, Bousbia A, Ayed H, Idris MHM, et al. Algerian *Sonchus oleraceus* L.: A comparison of different extraction solvent on phytochemical composition, antioxidant properties and anti-cholinesterase activity. *Advances in Traditional Medicine*. 2021;22(2):383-94.
17. Colovic MB, Krstic DZ, Lazarevic-Pasti TD, Bondzic AM, Vasic VM. Acetylcholinesterase inhibitors: Pharmacology and toxicology. *Curr Neuropharmacol*. 2013;11(3):315-35.
18. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative stress: Harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;2017:1-13.
19. Osunsanmi FO, Zharare GE, Mosa RA, Ikhile MI, Shode F, Opoku AR. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-acetylcholinesterase activity of betulinic acid and 3 $\beta$ -acetoxybetulinic acid from 'Revolution Gold'. *Trop J Pharm Res*. 2019;18(2):303-9.
20. He BS, Xu FX, Xiao F, Yan TX, Wu B, Bi KS, et al. Neuroprotective effects of nootkatone from *Fructus* against amyloid- $\beta$ -induced cognitive impairment. *Metab Brain Dis*. 2018;33(1):251-9.
21. Lee YJ, Han SB, Nam SY, Oh KW, Hong JT. Inflammation and Alzheimer's disease. *Arch Pharm Res*. 2010;33(10):1539-56.
22. Davis PH. *Plantaginaceae*. Davis PH (Ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press; 1982.
23. Davis PH. *Linaria corifolia* Desf. Davis PH (Ed.). *Flora of Turkey and East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press; 1978.
24. Ahmed-Chaouch M, Cheriet T, Beretta G, Sarri D, Bensouici C, Ouelbani R, et al. Chemical composition, *in vitro* antioxidant, anticholinesterase and antibacterial activities of *Linaria scariosa* Desf. *Nat Prod Res*. 2019:1-5.
25. Amin A, Tuenter E, Foubert K, Iqbal J, Cos P, Maes L, et al. *In vitro* and *in silico* antidiabetic and antimicrobial evaluation of constituents from *Kickxia ramosissima* (*Nanorrhinum ramosissimum*). *Front Pharmacol*. 2017;8:232.
26. Botalova A, Bombela T, Zubov P, Segal M, Korkotian E. The flavonoid acetylpectolarin counteracts the effects of low ethanol on spontaneous network activity in hippocampal cultures. *J Ethnopharmacol*. 2019;229:22-8.
27. Farid MM, Marzouk MM, El-Shabrawy M, Salem MA, Mounier MM, Hussein SR. Isoscutellarein 8, 4'-Dimethyl ether glycosides as cytotoxic agents and chemotaxonomic markers in *Kickxia aegyptiaca*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019;22:1-6.
28. Cheriet T, Hanfer M, Mancini I, Benelhadj S, Laouas NE, Ameddah S, et al. Anti-inflammatory and hemostatic effects of *Linaria reflexa* Desf. *Nat Prod Res*. 2019;35(16):1-6.

29. Sedlarevic A, Morina F, Tosevski I, Gasic U, Natic M, Jovic J, et al. Comparative analysis of phenolic profiles of ovipositional fluid of (Mecinini, Curculionidae) and its host plant (Plantaginaceae). *Arthropod-Plant Inte.* 2016;10(4):311-22.
30. Cheriet T, Baatouche S, Sarri D, Chalard P, Seghiri R, Mekkiou R, et al. Secondary metabolites from *Linaria tingitana*. *Chem Nat Compd.* 2015;51(6):1202-3.
31. Widyowati R, Sugimoto S, Yamano Y, Otsuka H, Matsunami K. New Isolinarins C, D and E, flavonoid glycosides from *Linaria japonica*. *Chem Pharm Bull.* 2016;64:517-21.
32. Venditti A, Serafini M, Nicoletti M, Bianco A. Terpenoids of *Linaria alpina* (L.) Mill. from Dolomites, Italy. *Nat Prod Res.* 2015;29(21):2041-4.
33. Frezza C, Venditti A, Marcucci E, Parroni A, Reverberi M, Serafini M, et al. Phytochemical analysis of *Linaria purpurea* (L.) Mill. and inhibitory activity on the production of aflatoxin B1 (AFB1) in *Aspergillus flavus* Link. of one of its metabolites, antirrhinoside. *Industrial Crops and Products.* 2019;139:1-6.
34. Hanfer M, Cheriet T, Menad A, Seghiri R, Ameddah S. HPLC profile and *in vitro* antioxidant properties of the *n*-butanol extract of *Linaria tingitana* Boiss. and Reut. *J Chem Pharm Res.* 2019;11(3):50-8.
35. Bianco A, Guiso M, Martino M., Nicoletti M., Serafini M., Tomassini L. ve ark. Iridoids from endemic Sardinian *Linaria* species. *Phytochemistry.* 1995;42(1):89-91.
36. Bianco A, Guiso M, Martino M., Nicoletti M., Serafini M., Tomassini L. ve ark. Iridoids from endemic Sardinian *Linaria* species. *Phytochemistry.* 1995;42(1):89-91.
37. Niwa K, Yi R, Tanaka N, Kitaguchi S, Tsuji D, Kim SY, et al. Linaburiosides A-D, acylated iridoid glucosides from *Linaria buriatica*. *Phytochemistry.* 2020;171:1-7.
38. Widyowati R, Sugimoto S, Yamano Y, Sukardiman, Otsuka H, Matsunami K. New cis-ent-clerodanes from *Linaria japonica*. *Phytochem Lett.* 2015;14:56-62.
39. Ercil D, Sakar MK. Chemical constituents of *Linaria aucheri*. *Turk J Chem.* 2004;28:133-9.
40. Gordaliza M, Corral JMM, Castro MA, Feliciano A. Neo-clerodane diterpenoids from roots of *Linaria saxatilis* var. *saxatilis*. *Phytochemistry.* 40(4):1307-9.
41. Vrchovska V, Spilkova J, Valentao P, Sousa C, Andrade PB, Seabra RM. Assessing the antioxidative properties and chemical composition of *Linaria vulgaris* infusion. *Nat Prod Res.* 2008;22(9):735-46.
42. Saric-Kundalic B, Dobes C, Klatt-Asselmeyer V, Saukel J. Ethnobotanical survey of traditionally used plants in human therapy of east, north and north-east Bosnia and Herzegovina. *J Ethnopharmacol.* 2011;133(3):1051-76.
43. Saric-Kundalic B, Dobes C, Klatt-Asselmeyer V, Saukel J. Ethnobotanical study on medicinal use of wild and cultivated plants in middle, south and west Bosnia and Herzegovina. *J Ethnopharmacol.* 2010;131(1):33-55.
44. Otsuka H. Iridolinarins A, B, and C: Iridoid esters of an iridoid glucoside from *Linaria japonica*. *Journal of Natural Products.* 57(3):357-62.

45. Hanfer M, Cheriet T, Ameddah S, Mancini I, Seghiri R, Menad A, et al. Iridoids and anti-inflammatory properties of *n*-butanol extract of *Linaria tingitana* Boiss. & Reut. *Nat Prod Res.* 2017;31(17):2008-15.
46. Mouffouk C, Mouffouk S, Oulmi K, Mouffouk S, Haba H. *In vitro* photoprotective, hemostatic, anti-inflammatory and antioxidant activities of the species *Linaria scariosa* Desf. *S Afr J Bot.* 2020;130:383-8.
47. Cheriet T, Kherbache A, Mancini I, Seghiri R. Chemical composition and biological activities of the Algerian *Cymbalaria muralis* aerial parts. *Nat Prod Res.* 2024:1-5.
48. Esmacili S, Naghibi F, Mosaddegh M, Sahranavard S, Ghafari S, Abdullah NR. Screening of antiplasmodial properties among some traditionally used Iranian plants. *J Ethnopharmacol.* 2009;121(3):400-4.
49. Nafis A, Saad FE, Khalloufi FE, Kasrati A, Abbad A, Mezrioui N, et al. New insight into antimicrobial activities of *Linaria ventricosa* essential oil and its synergetic effect with conventional antibiotics. *Arch Microbiol.* 2021;203(7):4361-6.
50. Abd-ElGawad AM, El-Amier YA, Bonanomi G, Gendy A, Elgorban AM, Alamery SF, et al. Chemical Composition of *Kickxia aegyptiaca* Essential Oil and Its Potential Antioxidant and Antimicrobial Activities. *Plants (Basel).* 2022;11(5):1-13.
51. Hanfer M, Cheriet T, Youcef-Ali M, Ameddah S, Menad A, Chaouche NK ve ark. Phytochemical screening, *in vitro* antimicrobial and antioxidant properties of *Linaria tingitana* Boiss. & Reut. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2016;38(2):135-40.
52. Bonesi M, Tundis R, Deguin B, Loizzo MR, Menichini F, Tillequin F, et al. *In vitro* biological evaluation of novel 7-O-dialkylaminoalkyl cytotoxic pectolinarigenin derivatives against a panel of human cancer cell lines. *Bioorg Med Chem Lett.* 2008;18(20):5431-4.
53. Tundis R, Deguin B, Loizzo MR, Bonesi M, Statti GA, Tillequin F, et al. Potential antitumor agents: flavones and their derivatives from *Linaria reflexa* Desf. *Bioorg Med Chem Lett.* 2005;15(21):4757-60.
54. Deng Z, Shen D, Yu M, Zhou F, Shan D, Fang Y, et al. Pectolinarigenin inhibits bladder urothelial carcinoma cell proliferation by regulating DNA damage/autophagy pathways. *Cell Death Discov.* 2023;9(1):214.
55. Loizzo MR, Tundis R, Menichini F, Bonesi M, Statti GA, Deguin B ve ark. Acetyl-cholinesterase inhibition by extracts and isolated flavones from *Linaria reflexa* Desf. (Scrophulariaceae). *Nat Prod Commun.* 2007;2(7):759-63.
56. Aydoğdu I, Zihnioğlu F, Karayıldırım T, Gülcemal D, Alankuş-Çalışkan Ö, Bedir E.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory constituents of *Linaria kurdica* subsp. eriocalyx. *Nat Prod Commun.* 2010;5(6):841-44.
57. Bekhaoua A, Khacheba I, Boussoussa H, Yousfi M.  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory effect and antioxidant activity of aerial Part from *Linaria aegyptiaca* L. *Curr Enzym Inhib.* 2019;15(1):6.
58. Patel BI, Sachdeva P. Anti-diabetic activity of *Linaria ramosissima* (Wall) Janch in streptozotocin induced diabetic rats *Int J Pharm Pharm Sci.* 2014;6(7):166-71.

59. Mogildea ED, Mitoi ME, Bită-Nicolae C, Murariu D. Urban Flora Riches: Unraveling metabolic variation along altitudinal gradients in two spontaneous plant species. *Plants (Basel)*. 2024;13(5).
60. Ma C, Higashi N, Ishiguro K, Zhao Y, Zhang L, Zhao C, et al. Allergy-preventive effects of linarinic acid and its tetrahydropyrrolo[2,1-b]quinazoline derivatives isolated from *Linaria vulgaris*. *J Nat Med*. 2018;72(2):582-7.
61. Cheriet T, Ben-Bachir B, Thamri O, Seghiri R, Mancini I. Isolation and biological properties of the natural flavonoids pectolinarin and pectolinarigenin-A Review. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(7):1-32.
62. Pandya PN, Aghera HB, Ashok BK, Acharya R. Diuretic activity of *Linaria ramosissima* (wall.) Janch. leaves in albino rats. *Ayu*. 2012;33(4):576-8.
63. Liman R, Gökçe UG, Akyıl D, Eren Y, Konuk M. Evaluation of genotoxic and mutagenic effects of aqueous extract from aerial parts of *Linaria genistifolia* subsp. *genistifolia*. *Rev Bras Farmacogn*. 2012;22(3):541-8.
64. González-Coloma A GrC, Miguel del Corral JM, Gordaliza M, Luz de la Puente M, Feliciano AS. Structure- and species-dependent insecticidal effects of neoclerodane diterpenes. *J Agric Food Chem*. 2000;48:3677-81.
65. Hanfer M, Cheriet T, Menad A, Seghiri R, Benayache S, Benayache F, et al. Modulation of liver glutathione-dependent enzymes and steatosis by *Linaria tingitana* in sodium valproate-treated rats. *J Herbs, Spices Med Plants*. 2018;24(2):173-84.
66. Dominguez M, Nieto A, Marin J.C., Keck A-S, Jeffery E, Cespedes C.L. Antioxidant activities of extracts from *Barkleyanthus salicifolius* (Asteraceae) and *Penstemon gentianoides* (Scrophulariaceae). *J Agric Food Chem*. 2005;53:5889-95.
67. Freitas Fernandes NA, Nave Canelo LI, dos Santos Mata RdC, Malheiros Dinis de Mendonça DI, Mendonça AJGd. In Vitro Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Root Extracts from *Phragmanthera glaucocarpa* (Peyr.) Balle. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products. 2018;13(4).
68. Anh NV, Luyen L, Thom V, Huong LT, Huong DL. Inhibitory effect on human platelet aggregation, antioxidant activity, and phytochemicals of *Canna warszewiczii* (A. Dietr) Nb. tanaka. *Pharmacognosy Research*. 2020;12(1).
69. Jensen SR GC, Harput US, Saracoglu I. Chlorinated Iridoid Glucosides from *Veronica longifolia* and Their Antioxidant Activity. *Journal of Natural Products*. 2010;73(9):1593-96.
70. Odekina PA, Agbo MO, Omeje EO. Antimicrobial and antioxidant activities of novel marine bacteria (*Bacillus* 2011SOCCUF3) isolated from marine sponge (*Spongia officinalis*). *Pharmaceutical Sciences*. 2020;26(1):82-7.
71. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999;26:1231-37.
72. Arıtuluk ZC, Tatlı Çankaya I, Gençler-Özkan AM. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of some *Tanacetum* L. (Asteraceae) Taxa Growing in Turkey. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;41:17-25

73. Apak R GK, Özyürek M, Karademir SE. Novel 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 Agric Food Chem.* 2004;52:7970-81.
74. Komersová A KK, Čegan A. New findings about Ellman's method to determine cholinesterase activity. *Z Naturforsch.* 2007;62:150-54.
75. Dingova D, Leroy J, Check A, Garaj V, Krejci E, Hrabovska A. Optimal detection of cholinesterase activity in biological samples: modifications to the standard Ellman's assay. *Anal Biochem.* 2014;462:67-75.
76. Handjieva NV, Ilieva E, Spassov SL, Popov SS. Iridoid glycosides from *Linaria* species. *Tetrahedron.* 1993;49(41):9261-66.
77. Arslanian RL, Anderson T, Stermitz FR. Iridoid glucosides of *Penstemon ambiguus*. *J Nat Prod.* 1990;53(6):1485-89.
78. Tatlı II, Akdemir Z, Bedir E, Khan IA. 6-O- $\alpha$ -L-Rhamnopyranosylcatalpol derivative iridoids from *Verbascum cilicicum*. *Turk J Chem.* 2003;27:765-72.
79. Chaudhuri RK, Salama O, Sticher O. Iridoid and aryl glucosides from *Globularia nudicaulis* and *Globularia nana*. *Helv Chim Acta.* 1981;64(7):2401-4.
80. Chu HB, Tan N, Zhang YM. Chemical constituents from *Pedicularis rex* C. B. Clarke. *Z Naturforsch* 2007;62b:1465-70.
81. Seigler DS, Pauli G, Nahrstedt A, Leen R. Cyanogenic allosides and glucosides from *Passiflora edulis* and *Carica papaya*. *Phytochemistry.* 2002;60:873-82.
82. Song MC, Yang HJ, Jeong TS, Kim KT, Baek NI. Heterocyclic compounds from *Chrysanthemum coronarium* L. and their inhibitory activity on hACAT-1, hACAT-2, and LDL-oxidation. *Arch Pharm Res.* 2008;31(5):573-8.
83. Otsuka H. Isolation of isolinariins A and B, new flavonoid glycosides from *Linaria japonica*. *J Nat Prod.* 1992;55(9):1252-5.
84. Genc Y, Harput US, Saracoglu I. Active compounds isolated from *Plantago subulata* L. via wound healing and antiinflammatory activity guided studies. *J Ethnopharmacol.* 2019;241:1-9.
85. Geng F, Yang L, Chou G, Wang Z. Bioguided isolation of angiotensin-converting enzyme inhibitors from the seeds of *Plantago asiatica* L. *Phytother Res.* 2010;24(7):1088-94.
86. Dinda B, Debnath S, Harigaya Y. Naturally occurring iridoids. A Review, Part 1. *Chem Pharm Bull.* 2007;55(2):159-222.
87. Kumarasamy Y, Cox PJ, Jaspars M, Nahar L, Sarker SD. Cyanogenic glycosids from *Prunus spinosa* (Rosaceae). *Biochem Syst Ecol.* 2003;31(9):1063-5.
88. Zhang Z, Dai Y, Xiao Y, Liu Q. Protective effects of catalpol on cardio-cerebrovascular diseases: A comprehensive review. *J Pharm Anal.* 2023;13(10):1089-101.

89. Gajendra K, Pratap GK, Poornima DV, Shantaram M, Ranjita G. Natural acetylcholinesterase inhibitors: A multi-targeted therapeutic potential in Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem Rep.* 2024;11:1-16.
90. Gokmen A, Kusz N, Karaca N, Demirci F, Hohmann J, Kirmizibekmez H. Secondary metabolites from *Verbascum bugulifolium* Lam. and their bioactivities. *Nat Prod Res.* 2021;35(23):5294-8.
91. Li Y, Bao Y, Jiang B, Wang Z, Liu Y, Zhang C, et al. Catalpol protects primary cultured astrocytes from *in vitro* ischemia-induced damage. *Int J Dev Neurosci.* 2008;26(3-4):309-17.
92. Mao YR, Jiang L, Duan YL, An LJ, Jiang B. Efficacy of catalpol as protectant against oxidative stress and mitochondrial dysfunction on rotenone-induced toxicity in mice brain. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2007;23(3):314-8.
93. Zeng X, Guo F, Ouyang D. A review of the pharmacology and toxicology of aucubin. *Fitoterapia.* 2020;140:1-11.
94. Xue HY, Jin L, Jin LJ, Li XY, Zhang P, Ma YS, et al. Aucubin prevents loss of hippocampal neurons and regulates antioxidative activity in diabetic encephalopathy rats. *Phytother Res.* 2009;23(7):980-6.
95. Shahat AA, Nazif NM, Abousetta LM, Ibrahim NA, Cos P, Van Miert S, et al. Phytochemical investigation and antioxidant activity of *Duranta repens*. *Phytother Res.* 2005;19(12):1071-3.
96. Oluwole O, Fernando WB, Lumanlan J, Ademuyiwa O, Jayasena V. Role of phenolic acid, tannins, stilbenes, lignans and flavonoids in human health – a review. *Int J Food Sci Technol.* 2022;57(10):6326-35.
97. Varela-Lopez A, Bullon P, Giampieri F, Quiles JL. Non-nutrient, naturally occurring phenolic compounds with antioxidant activity for the prevention and treatment of periodontal diseases. *Antioxidants (Basel).* 2015;4(3):447-81.
98. Xia Z, Zhang R, Wu P, Xia Z, Hu Y. Memory defect induced by beta-amyloid plus glutamate receptor agonist is alleviated by catalpol and donepezil through different mechanisms. *Brain Res.* 2012;1441:27-37.
99. Chen H, Deng C, Meng Z, Meng S. Effects of catalpol on Alzheimer's Disease and its mechanisms. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2022;2022:1-12.
100. Kahraman C, Tatlı I, Orhan IE, Akdemir ZS. Cholinesterase inhibitory and antioxidant properties of *Verbascum mucronatum* Lam. and its secondary metabolites. *Z Naturforsch C J Biosci.* 2010;65(11-12):667-74.
101. Pinho BR, Ferreres F, Valentao P, Andrade PB. Nature as a source of metabolites with cholinesterase-inhibitory activity: an approach to Alzheimer's disease treatment. *J Pharm Pharmacol.* 2013;65(12):1681-700.
102. Wu J, Feng JQ, Zhao WM. A new lignan and anti-inflammatory flavonoids from *Kerria japonica*. *J Asian Nat Prod Res.* 2008;10(5-6):435-8.
103. Kupeli E, Tatlı I, Akdemir ZS, Yesilada E. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory and antinociceptive glycoterpenoids from the flowers of *Verbascum lasianthum* Boiss. ex Benth. *J Ethnopharmacol.* 2007;110(3):444-50.

104. Liu J, Liu S, Yu M, Li J, Xie Z, Gao B, et al. Anti-inflammatory effect and mechanism of catalpol in various inflammatory diseases. *Drug Dev Res.* 2023;84(7):1376-94.
105. Akdemir Z, Kahraman C, Tatli, II, Kupeli Akkol E, Suntar I, Keles H. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory, antinociceptive and wound healer glycosides from the flowers of *Verbascum mucronatum* Lam. *J Ethnopharmacol.* 2011;136(3):436-43.
106. Küpeli E, Şahin FP, Yeşilada E, Çalış İ, Ezer N. *In vivo* anti-inflammatory and antinociceptive activity evaluation of phenolic compounds from *Sideritis stricta*. *Z Naturforsch C J Biosci.* 2007;62(7-8):519-25.
107. Lee JY, Woo ER, Kang KW. Inhibition of lipopolysaccharide-inducible nitric oxide synthase expression by acteoside through blocking of AP-1 activation. *J Ethnopharmacol.* 2005;97(3):561-6.
108. Kim KH, Kim S, Jung MY, Ham IH, Whang WK. Anti-inflammatory phenylpropanoid glycosides from *Clerodendron trichotomum* leaves. *Arch Pharm Res.* 2009;32(1):7-13.



## 8. EKLER

## EK1 Turnitin Ekran Görüntüsü

Linaria corifolia Desf. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar		Tez Adı: Linaria corifolia Desf. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar	
ORJİNALLIK RAPORU		Öğrenci Adı: Melike UTLU	
Sayfa sayısı: 231			
% <b>28</b>	% <b>26</b>	% <b>11</b>	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
BİRİNCİL KAYNAKLAR			
1	<a href="http://acikbilim.yok.gov.tr">acikbilim.yok.gov.tr</a> İnternet Kaynağı		% <b>9</b>
2	<a href="http://openaccess.hacettepe.edu.tr">openaccess.hacettepe.edu.tr</a> İnternet Kaynağı		% <b>4</b>
3	<a href="http://nek.istanbul.edu.tr:4444">nek.istanbul.edu.tr:4444</a> İnternet Kaynağı		% <b>3</b>
4	<a href="http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı		% <b>3</b>
5	<a href="http://openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı		% <b>1</b>
6	<a href="http://link.springer.com">link.springer.com</a> İnternet Kaynağı		<% <b>1</b>
7	<a href="http://bu.umc.edu.dz">bu.umc.edu.dz</a> İnternet Kaynağı		<% <b>1</b>
8	Bharat Singh, Ram Avtar Sharma. "Secondary Metabolites of Medicinal Plants", Wiley, 2020 Yayın		<% <b>1</b>
9	<a href="http://www.nadidem.net">www.nadidem.net</a> İnternet Kaynağı		<% <b>1</b>

**EK2 Dijital Makbuz****Dijital Makbuz**

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen:	Melike Utlü
Ödev başlığı:	Quick Submit
Gönderi Başlığı:	Linaria corifolia Desf. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar
Dosya adı:	ria_corifolia_U_zerinde_Farmakognozik_Aras_t_rmalar_09.09....
Dosya boyutu:	27.94M
Sayfa sayısı:	231
Kelime sayısı:	34,943
Karakter sayısı:	195,946
Gönderim Tarihi:	11-Eyl-2024 02:42ÖS (UTC+0300)
Gönderim Numarası:	2450940009



## 9. ÖZGEÇMİŞ