

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*LAVANDULA STOECHAS L. SUBSP. STOECHAS ÜZERİNDE*  
**BİYOLOJİK AKTİVİTE REHBERLİ ÇALIŞMALAR**

**Ecz. Sümeyye AYHAN**

**Farmakognozi Programı**  
**DOKTORA TEZİ**

**ANKARA**  
**2023**



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

***LAVANDULA STOECHAS L. SUBSP. STOECHAS ÜZERİNDE  
BİYOLOJİK AKTİVİTE REHBERLİ ÇALIŞMALAR***

**Ecz. Sümeyye AYHAN**

**Farmakognozi Programı  
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Ayşe UZ**

**ANKARA  
2023**

**ONAY SAYFASI**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* Üzerinde Biyolojik Aktivite Rehberli Çalışmalar**

**Ecz. Sümeyye Ayhan**

**Danışman: Prof. Dr. Ayşe Uz**

**Bu tez çalışması 16/01/2023 tarihinde jürimiz tarafından “Farmakognozi Doktora Programı” nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.**

**Jüri Başkanı:** *Prof. Dr. L. Ömür Demirezer*  
*(Hacettepe Üniversitesi)*

**Üye:** *Prof. Dr. Alev Önder*  
*(Ankara Üniversitesi)*

**Üye:** *Prof. Dr. Zühal Güvenalp*  
*(Atatürk Üniversitesi)*

**Üye:** *Prof. Dr. Funda Nuray Yalçın*  
*(Hacettepe Üniversitesi)*

**Üye:** *Prof. Dr. Didem Şöhretoğlu*  
*(Hacettepe Üniversitesi)*

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

*Prof. Dr. Müge YEMİŞCİ ÖZKAN*

**Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin 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 6 ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

03/02/2023

Sümeyye AYHAN

<sup>1</sup>“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 **danışmanın** 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 **danışmanın** 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 **danışmanın** 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 zgn olduğunu, Prof. Dr. Ayşe UZ danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığımı beyan ederim.

Sümeyye AYHAN

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, gerek laboratuvar çalışmalarında, gerek diğer aşamalarda olağanüstü desteği ve anlayışı ile hep yanımda olan, beraber çalışma şansı ve onuruna eriştiğim çok değerli danışman hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ayşe Uz'a,

BDNF çalışmalarının gerçekleştirilmesi ve Anabilim Dalı Başkanlığı süresince gösterdiği ilgi ve desteği için Prof. Dr. Funda Nuray Yalçın'a, çalışmalarına olanak sağlayan önceki Anabilim Dalı Başkanlarımızdan Prof. Dr. Ahmet Başaran'a, doktora eğitimime katkı sağlayan Anabilim Dalımızdaki öğretim üyelerine ve tüm Hacettepe Üniversitesi Farmakognozi ve Farmasötik Botanik ailesine,

Tez izleme komitemde yer alan değerli hocalarım Prof. Dr. L. Ömür Demirezer, Prof. Dr. Tayfun Ersöz ve Prof. Dr. Alev Önder ile tez savunma sınavımda yer alan jüri üyelerine,

İzole ettiğim maddelerin NMR analizlerinin yapılmasını sağlayan Prof. Dr. Hasan Yusufoglu'na, kütle analizlerini yapan Prof. Dr. Emirhan Nemutlu'ya, tür tayinini gerçekleştiren Doç. Dr. Golshan Zare'ye ve tez bitkimin botanik özellikleri konusunda yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Z. Ceren Arıtuluk Aydın'a,

Tez çalışmalarımı destekleyen (TDK-2018-17578) Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine,

Arkadaşlık ve motivasyonlarının yanı sıra tez çalışmalarımın özellikle aktivite kısmında destek veren Dr. Ecz. Ömer Bayazeid ve Dr. Öğr. Üyesi Merve Yüzbaşıoğlu Baran'a; doktora eğitimim boyunca kıymetli arkadaşlığıyla bu süreci daha kolay ve yapılabilir kılan Dr. Ecz. Pınar İkiz'e; güler yüzü, heyecanı ve desteği ile yanımda olan Ecz. Seren Gündoğdu'ya; her sorumda bana yardımcı olan ve beni motive eden Dr. Öğr. Üyesi Nadire Özenver ve Dr. Öğr. Üyesi N. Hilal TAŞTEKİN'e,

Akademik gelişimime olanak sağlayan Kurumum TÜBİTAK'a, manevi destek, ilgi ve arkadaşlıkları için çalışma arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca sevgi ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme ve son olarak tarifsiz desteğiyle bana güç veren sevgili eşim İdris Ayhan'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Ayhan, S., *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* Üzerinde Biyolojik Aktivite Rehberli Çalışmalar, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Programı Doktora Tezi, Ankara, 2023.** Tez kapsamında, “karabaş otu” olarak bilinen *L. stoechas* L. subsp. *stoechas*’ın halk arasında diyabet ve santral sinir sistemi rahatsızlıklarında kullanımından yola çıkılarak, etkiden sorumlu olabilecek bileşiklerin tespit edilmesi amacıyla biyoaktivite rehberli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları yürütülmüştür. Bitkinin potansiyel antidiyabetik etkisine yönelik araştırmalar  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonu rehberli çalışmalarla gerçekleştirilmiştir. Ekstre ve ana fraksiyonlarda  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu gözlenmemiştir. Yüksek  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonu gösteren fraksiyondan çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak iki bileşik izole edilmiş, bileşiklerin yapısı spektroskopik yöntemler yardımıyla ursolik asit ve salvianolik asit B olarak aydınlatılmıştır. Ursolik asidin güçlü  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonu etki gösterdiği belirlenmiştir. Bitkinin santral sinir sistemi rahatsızlıkları üzerindeki potansiyel etkisine yönelik araştırmalar, beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) protein düzeyi tayini rehberli çalışmalarla gerçekleştirilmiştir. En yüksek BDNF protein düzeyi artışı gösteren fraksiyon üzerinde yürütülen izolasyon çalışmaları sonucunda dört bileşik izole edilmiş, yapıları luteolin 7-*O*- $\beta$ -D-glukopiranozit, rozmarinik asit, eriodiktiyol, 1-nonadeken olarak aydınlatılmıştır. Aktif fraksiyondan izole edilen ve fraksiyonda varlığı tespit edilen maddeler üzerinde yapılan çalışmalarda en yüksek BDNF protein düzeyi artışı ursolik asit ve eriodiktiyol bileşiklerinde görülmüştür. İzole edilen saf maddelerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı nöronal hücre hasarına karşı nöroprotektif etki gösterdikleri belirlenmiştir. DPPH, SO, NO radikali süpürücü etkinlik, CUPRAC ve FRAP yöntemleri kullanılarak bitkinin güçlü antioksidan etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar *L. stoechas* subsp. *stoechas*’ın halk arasında diyabet ve santral sinir sistemi rahatsızlıklarında kullanımını desteklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Lavandula stoechas*, Lamiaceae,  $\alpha$ -glukozidaz, BDNF, antioksidan etki.

**Destekleyen Kuruluş:** HÜBAB (Lisansüstü Tez Projesi/TDK-2018-17578)



## ABSTRACT

**Ayhan, S., Bioactivity-Guided Studies on *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas*, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences Pharmacognosy Program Doctor of Philosophy Thesis, Ankara, 2023.** *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* known as “karabaş otu” is used for diabetes and central nervous system disorders. This thesis focuses on scientifically validating the traditional usage of *L. stoechas* subsp. *stoechas* in treating diabetes and CNS disorders by using bioactivity-guided fractionation and phytochemical analysis studies in order to determine the compounds behind the biological activity. Investigations on the potential antidiabetic effect of the plant were carried out with  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase enzyme inhibition guided studies. As a result, no inhibition of  $\alpha$ -amylase enzyme was observed in the extracts and main fractions. Two compounds were isolated from the fraction showing high  $\alpha$ -glucosidase enzyme inhibition, using various chromatographic methods and the structures of the compounds were elucidated as ursolic acid and salvianolic acid B by using spectroscopic methods. Ursolic acid possesses strong  $\alpha$ -glucosidase inhibition effect. To investigate the neuroactive potential effect of *L. stoechas* subsp. *stoechas*, the bioactivity-guided fraction was used, and assessing the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) level was used as a biological screening tool to screen for the activity. Phytochemical analysis studies were carried out on the fraction with the highest BDNF protein level increase. As a result, four compounds were isolated and their structures were determined as luteolin 7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside, rosmarinic acid, eriodictyol, 1-nonadecene. The most active compounds that have been isolated/detected from the active fraction are ursolic acid and eriodictyol. In addition, the isolated pure compounds possess neuroprotective effects against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced neuronal cell damage. Furthermore, it was determined that *L. stoechas* has strong antioxidant activity by using DPPH, SO, NO radical scavenging activity, CUPRAC and FRAP methods. In conclusion, our results support the traditional usage of *L. stoechas* subsp. *stoechas* for diabetes and CNS disorders.

**Keywords:** *Lavandula stoechas*, Lamiaceae,  $\alpha$ -glucosidase, BDNF, antioxidant activity.

**Supporting Organizations:** HUBAB (Thesis Support Project/TDK-2018-17578)

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xv
TABLolar	xviii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	4
2.1. Botanik Bilgiler	4
2.1.1. Lamiaceae Familyası	4
2.1.2. <i>Lavandula</i> L. Cinsi	5
2.1.3. <i>Lavandula stoechas</i> L.	6
2.2. <i>Lavandula</i> Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	9
2.2.1. <i>Lavandula</i> Türleri Üzerindeki Fitokimyasal Çalışmalar	9
2.2.2. <i>Lavandula</i> Türlerinin Geleneksel Kullanımı	50
2.2.3. <i>Lavandula</i> Türleri Üzerindeki Biyolojik Etki Çalışmaları	55
2.3. BDNF Hakkında Genel Bilgiler	66
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	69
3.1. Fitokimyasal Çalışmalar	69
3.1.1. Bitkisel Materyal	69
3.1.2. Ekstraksiyon	69

3.1.3. Kromatografik Yöntemler	69
3.1.4. İzolasyon Çalışmaları	74
3.1.5. Toplam Fenol Miktar Tayini	80
3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	81
3.2.1. Antioksidan Kapasite Tayini	81
3.2.2. Enzim İnhibisyon Tayini	84
3.2.3. BDNF Protein Düzeyi ve Nöroprotektif Etki Tayini	85
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler, Aletler ve Cihazlar	90
<b>4. BULGULAR</b>	92
4.1. Fitokimyasal Bulgular	92
4.1.1. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri	92
4.1.2. Toplam Fenol Miktar Tayini	134
4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	136
4.2.1. Antioksidan Kapasite Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular	136
4.2.2. $\alpha$ -Amilaz Enzim İnhibisyonu Çalışmalarına Ait Bulgular	144
4.2.3. $\alpha$ -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Çalışmalarına Ait Bulgular	145
4.2.4. BDNF Protein Düzeyi Çalışmalarına Ait Bulgular	146
4.2.5. Nöroprotektif Etki Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular	150
<b>5. TARTIŞMA</b>	151
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	164
<b>7. KAYNAKLAR</b>	166
<b>8. EKLER</b>	
<b>EK-1:</b> Tez Çalışması Orijinallik Raporu	
<b>EK-2:</b> Dijital Makbuz	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>AA</b>	Askorbik asit
<b>AChE</b>	Asetilkolinesteraz
<b>AMPA</b>	$\alpha$ -Amino-3-Hidroksi-5-Metil-4-İzoksazolpropiyonik Asit
<b>A<math>\beta</math></b>	Amiloid- $\beta$
<b>BACE</b>	Beta-sekretaz enzimi
<b>BChE</b>	Bütirikolinesteraz
<b>BDNF</b>	Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (Brain Derived Neurotrophic Factor)
<b><math>^{13}\text{C}</math> NMR</b>	$^{13}\text{C}$ Nükleer Manyetik Rezonans
<b><math>\text{CD}_3\text{OD}</math></b>	Dötero metanol
<b><math>\text{CDCl}_3</math></b>	Dötero kloroform
<b><math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math></b>	Diklorometan
<b><math>\text{CH}_3\text{OH}</math></b>	Metanol
<b><math>\text{CHCl}_3</math></b>	Kloroform
<b>COSY</b>	Correlated Spectroscopy
<b>COX</b>	Siklooksijenaz
<b>CUPRAC</b>	Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite
<b>d</b>	Dublet
<b>dd</b>	Dublet dublet
<b>DEPT</b>	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
<b>DMEM</b>	Dulbecco's Modified Eagle Medium
<b>DMSO</b>	Dimetil sülfoksit
<b>DNSA</b>	Dinitrosalisilik asit

<b>DPPH</b>	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
<b>ELISA</b>	Enzim Bağlı İmmünosorbent Analizi (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)
<b>ESI-MS</b>	Elektrosprey İyonizasyon Kütle Spektrometrisi
<b>FBS</b>	Fetal Sığır Serumu
<b>Fr.</b>	Fraksiyon
<b>FRAP</b>	Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite
<b>g</b>	Gram
<b>GDNF</b>	Glial Hücre Hattı Türevli Nörotrofik Faktör (Glial Cell Line-Derived Neurotropic Factor)
<b>gs</b>	Geniş singlet
<b><sup>1</sup>H NMR</b>	<sup>1</sup> H Nükleer Manyetik Rezonans
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hidrojen peroksit
<b>HDL</b>	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
<b>HHDP</b>	Hekza Hidroksi Difenol
<b>HMBC</b>	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
<b>HPLC</b>	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
<b>HPTLC</b>	Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi
<b>HSQC</b>	Heteronuclear Single Quantum Correlation
<b>IL1<math>\beta</math></b>	İnterlökin 1 Beta
<b>IR</b>	Kızıl ötesi
<b>iNOS</b>	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
<b>İTK</b>	İnce Tabaka Kromatografisi
<b>LC</b>	Sıvı Kromatografisi
<b>LDL</b>	Düşük Dansiteli Lipoprotein

<b>LPS</b>	Lipopolisakkarit
<b>LSE</b>	<i>L. stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i> 'ın sulu etanol ekstresi
<b>LSS</b>	<i>L. stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i> 'ın <i>n</i> -hekzan ile partisyon sonrası elde edilen su ekstresi
<b>MAPK</b>	Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz
<b>MHz</b>	Megahertz
<b>mL</b>	Mililitre
<b>MS</b>	Kütle Spektrometrisi
<b>MTT</b>	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür
<b>NBT</b>	Nitroblue Tetrazolium
<b>NGF</b>	Sinir Büyüme Faktörü (Nerve Growth Factor)
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartat
<b>NO</b>	Nitrik oksit
<b>NT-3</b>	Nörotrofin-3
<b>NT-4/5</b>	Nörotrofin-4/5
<b>OBSK</b>	Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi
<b>ORAC</b>	Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi
<b>p75<sup>NTR</sup></b>	Nörotrofin reseptör p75
<b>PBS</b>	Phosphate Buffer Saline
<b>PI3K</b>	Fosfotidilinositol-3-kinaz
<b>Prep. İTK</b>	Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi
<b>PLC</b>	Fosfolipaz C
<b>PTZ</b>	Pentilentetrazol
<b>RA</b>	Rozmarinik asit
<b>RIPA</b>	Radyoimmünopresipitasyon

<b>RP</b>	Ters faz
<b>SH-SY5Y</b>	İnsan Nöroblastoma Hücre Hattı
<b>SO</b>	Süperoksit
<b>TEAC</b>	Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite
<b>TMB</b>	3,3',5,5'-tetramethybenzidine
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tümör Nekroz Faktörü Alfa
<b>TPTZ</b>	2,4,6-tripiridil s-triazin
<b>Trk</b>	Tirozin Kinaz
<b>UHPLC</b>	Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
<b>UV</b>	Ultraviyole
<b>VLDL</b>	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
<b>VSK</b>	Vakum Sıvı Kromatografisi

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. <i>Lavandula stoechas</i> subsp. <i>stoechas</i> .	8
3.1. Ekstraksiyon ve ön fraksiyonlama şeması.	77
3.2. $\alpha$ -Glukozidaz enzim inhibisyonu tayini rehberli izolasyon çalışmaları.	78
3.3. BDNF protein düzeyi tayini rehberli izolasyon çalışmaları.	79
4.1. Luteolin 7- <i>O</i> - $\beta$ -D-glukopiranozit'in (LS-D1) $^1\text{H}$ NMR spektrumu.	95
4.2. Luteolin 7- <i>O</i> - $\beta$ -D-glukopiranozit'in (LS-D1) 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) NMR spektrumu (HSQC).	96
4.3. Rozmarinik Asit'in (LS-D2) $^1\text{H}$ NMR spektrumu.	101
4.4. Rozmarinik Asit'in (LS-D2) DEPT-135 ve $^{13}\text{C}$ NMR spektrumları.	102
4.5. Rozmarinik Asit'in (LS-D2) 2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY).	103
4.6. Rozmarinik Asit'in (LS-D2) 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) NMR spektrumu (HSQC).	104
4.7. Rozmarinik Asit'in (LS-D2) 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC).	105
4.8. Eriodiktiyol (LS-D3)'ün $^1\text{H}$ NMR spektrumu.	110
4.9. Eriodiktiyol (LS-D3)'ün DEPT-135 ve $^{13}\text{C}$ NMR spektrumları.	111
4.10. Eriodiktiyol (LS-D3)'ün 2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY).	112
4.11. Eriodiktiyol (LS-D3)'ün 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) NMR spektrumu (HSQC).	113
4.12. Eriodiktiyol (LS-D3)'ün 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC).	114
4.13. 1-Nonadeken (LS-D4)'in $^1\text{H}$ NMR spektrumu.	118
4.14. 1-Nonadeken (LS-D4)'in DEPT ve $^{13}\text{C}$ NMR spektrumları.	119
4.15. 1-Nonadeken (LS-D4)'in 2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY).	120
4.16. 1-Nonadeken (LS-D4)'in 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) NMR spektrumu (HSQC).	121



<b>4.17.</b> 1-Nonadeken (LS-D4)'in 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC).	122
<b>4.18.</b> Ursolik Asit (LS-E1)'in $^1\text{H}$ NMR spektrumu.	126
<b>4.19.</b> Ursolik Asit (LS-E1)'in $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu.	126
<b>4.20.</b> Ursolik Asit (LS-E1)'in 2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY).	127
<b>4.21.</b> Ursolik Asit (LS-E1)'in 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) NMR spektrumu (HSQC).	128
<b>4.22.</b> Ursolik Asit (LS-E1)'in 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC).	129
<b>4.23.</b> Salvianolik Asit B (LS-E2)'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu ve İTK kromatogramı.	133
<b>4.24.</b> Gallik Asit standart eğrisi.	134
<b>4.25.</b> Ekstreler ve rozmarinik asidin DPPH radikali süpürücü etkinlikleri.	137
<b>4.26.</b> Ana fraksiyonlar ve rozmarinik asidin DPPH radikali süpürücü etkinlikleri.	137
<b>4.27.</b> Ekstrelerin SO radikali süpürücü etkinlikleri.	139
<b>4.28.</b> Ana fraksiyonların SO radikali süpürücü etkinlikleri.	139
<b>4.29.</b> Ekstrelerin NO radikali süpürücü etkinlikleri.	141
<b>4.30.</b> Ana fraksiyonların NO radikali süpürücü etkinlikleri.	141
<b>4.31.</b> Troloks standart eğrisi.	142
<b>4.32.</b> Gallik Asit standart eğrisi.	143
<b>4.33.</b> Ekstreler, A, B, C fraksiyonlarının SH-SY5Y hücrelerinin canlılığına etkisi.	146
<b>4.34.</b> D ve E fraksiyonlarının SH-SY5Y hücrelerinin canlılığına etkisi.	146
<b>4.35.</b> Ekstre ve ana fraksiyonların SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri.	148
<b>4.36.</b> Saf maddelerin 12,5 $\mu\text{M}$ konsantrasyonda SH-SY5Y hücrelerinin canlılığına etkisi.	148
<b>4.37.</b> Saf maddelerin 5 $\mu\text{M}$ , desipraminin 1 $\mu\text{M}$ konsantrasyonda SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri.	149

- 4.38.** Saf maddelerin 10  $\mu$ M, desipraminin 1  $\mu$ M konsantrasyonda SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri. 150
- 4.39.** Saf maddelerin SH-SY5Y hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hasarına karşı nöroprotektif etkileri. 150
- 5.1.** Ekstreler ve Fr. E'nin  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonu tayini sonuçları. 152
- 5.2.** Ana fraksiyonların SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri. 156

## TABLOLAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.1. <i>Lavandula</i> türlerinin uçucu yağlarında bulunan major bileşikler.	10
2.2. <i>Lavandula</i> türlerinden izole edilen diğer bazı monoterpen ve seskiterpen yapısındaki bileşikler.	16
2.3. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan diterpen yapısındaki bileşikler-1.	20
2.4. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan diterpen yapısındaki bileşikler-2.	20
2.5. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan triterpen yapısındaki bileşikler-1.	21
2.6. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan triterpen yapısındaki bileşikler-2.	22
2.7. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan triterpen yapısındaki bileşikler-3.	23
2.8. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan triterpen yapısındaki bileşikler-4.	23
2.9. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan steroid yapısındaki bileşikler.	27
2.10. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan flavon yapısındaki bileşikler-1.	28
2.11. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan flavon yapısındaki bileşikler-2.	33
2.12. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan antosiyanidin yapısındaki bileşikler.	35
2.13. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-1.	36
2.14. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-2.	37
2.15. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-3.	40
2.16. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-4.	41
2.17. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan basit fenol yapısındaki bileşikler.	45
2.18. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan kumarin yapısındaki bileşikler-1.	46
2.19. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan kumarin yapısındaki bileşikler-2.	46
2.20. <i>Lavandula</i> türlerinde bulunan benzofuran yapısındaki bileşikler.	47
3.1. Ana fraksiyonlara ilişkin bilgiler.	74
4.1. Luteolin 7-O- $\beta$ -D-glukopiranozit (LS-D1) bileşiğinin NMR spektroskopisi değerleri.	94
4.2. Rozmarinik Asit (LS-D2) bileşiğinin NMR spektroskopisi değerleri.	100
4.3. Eriodiktiyol (LS-D3) bileşiğinin NMR spektroskopisi değerleri.	109
4.4. 1-Nonadeken (LS-D4) bileşiğinin NMR spektroskopisi değerleri.	117
4.5. Ursolik Asit (LS-E1) bileşiğinin NMR spektroskopisi değerleri.	125
4.6. Salvianolik Asit B (LS-E2) bileşiğinin NMR spektroskopisi değerleri.	132
4.7. Ekstre ve ana fraksiyonların toplam fenolik bileşik miktarı.	135

<b>4.8.</b> Ekstre ve ana fraksiyonların DPPH radikali süpürücü etkinlikleri.	136
<b>4.9.</b> Ekstre ve ana fraksiyonların SO radikali süpürücü etkinlikleri.	138
<b>4.10.</b> Ekstre ve ana fraksiyonların NO radikali süpürücü etkinlikleri.	140
<b>4.11.</b> Ekstre ve ana fraksiyonların demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasiteleri.	142
<b>4.12.</b> Ekstre ve ana fraksiyonların bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasiteleri.	143
<b>4.13.</b> $\alpha$ -Amilaz enzim inhibitör aktivite sonuçları.	144
<b>4.14.</b> $\alpha$ -Glukozidaz enzim inhibitör aktivite sonuçları.	145
<b>4.15.</b> Ekstreler ve ana fraksiyonların SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri.	147
<b>4.16.</b> Saf maddelerin SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri.	149
<b>5.1.</b> Fr. E'den izole edilen bileşikler.	153
<b>5.2.</b> Fr. D'den izole edilen bileşikler.	157
<b>5.3.</b> Saf maddelerin 5 ve 10 $\mu$ M konsantrasyonda SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri.	158
<b>5.4.</b> Ekstreler ve ana fraksiyonların toplam fenol içeriği ile radikal süpürücü etkinliklerinin kıyaslanması.	162
<b>5.5.</b> Ekstreler ve ana fraksiyonların toplam fenol içeriği ile FRAP ve CUPRAC yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasitelerinin kıyaslanması.	162

## 1. GİRİŞ

*Lavandula* cinsi Lamiaceae familyasında yer almakta ve 39'dan fazla tür içermektedir. Doğal yetişme alanı Akdeniz havzası olmakla birlikte, Avrupa, Kuzey Afrika, Güneybatı Asya, Arap Yarımadası, Hindistan, Kuzey ve Güney Amerika'da yaygın olarak yetiştirilmektedir (1, 2). Ülkemizde *L. angustifolia* subsp. *angustifolia* (lavanta), *L. pedunculata* subsp. *cariensis* (karan) ve *L. stoechas* subsp. *stoechas* (karabaş) olmak üzere 3 takson ile temsil edilmektedir (3, 4).

*Lavandula* türleri taşıdıkları uçucu yağlar nedeniyle ilaç, gıda, aroma endüstrileri, kozmetik, parfümeri ve aromaterapi sektörleri için önemli ekonomik değere sahip aromatik tıbbi bitkilerdendir. Bu nedenle son yıllarda *Lavandula* türlerinin uçucu yağları üzerinde çok sayıda fitokimyasal ve farmakolojik çalışma yürütülmüştür. Sedatif, antienflamatuar, antioksidan, antimikrobiyal, insektisit aktivitesi gösterilen *Lavandula* uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermekle birlikte, esas olarak oksijenli monoterpenler ve düzensiz monoterpenlerin varlığı ile karakterizedir. Monoterpen ve seskiterpen hidrokarbonlar ile oksijenli seskiterpenler minör bileşenler olarak yer almaktadır. *Lavandula* türlerinin uçucu yağları üzerinde yoğun olarak çalışılmış olmakla birlikte, uçucu olmayan sekonder metabolitleri üzerinde az sayıda çalışma bulunmaktadır (1, 2).

*Lavandula* türlerinin geleneksel tedavide ağrı, iltihap, romatizma, gastrointestinal hastalıklar, diyabet, santral sinir sistemi rahatsızlıkları, uykusuzluk, epilepsi, kanser, enfeksiyon hastalıklarında kullanımı kayıtlıdır (5). Yapılan fitokimyasal çalışmalarda uçucu olmayan major bileşenleri flavonoidler, hidroksisinnamik asit türevleri ve triterpenler olarak bildirilmiştir. Hidroksibenzoik asitler, kumarinler ve benzofuranlar içeriğinde yer alan diğer sekonder metabolitlerdir (1).

Tez kapsamında çalışılan *L. stoechas* subsp. *stoechas* ülkemizde Güney Marmara, Ege ve Akdeniz bölgelerinde doğal olarak yetişmekte olup (4), halk arasında “karabaş otu, karabaş, karahan, kargan” isimleriyle bilinmektedir. Yapılan etnobotanik çalışmalarda başta ağrı, solunum yolu rahatsızlıkları, diyabet, kardiyovasküler

hastalıklar ve nöral-beyin hastalıkları olmak üzere pek çok rahatsızlıkta kullanımı kayıtlanmıştır (6-9).

Tez çalışmamızda *L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın çiçekli toprak üstü kısımlarının halk arasında “diyabet hastalığında, şeker düşürücü” ve “nöral-beyin hastalıkları, sinir bozukluğu, stres durumlarında; hafızayı güçlendirici, sedatif, sinir sistemindeki uyuşuklukları giderici” kullanımlarından yola çıkılarak, diyabet ve santral sinir sistemi rahatsızlıklarında potansiyel etkisine yönelik biyoaktivite rehberli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları yürütülmesi planlanmıştır. Oksidatif stresin diyabet ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik hastalıkların etiolojisinde ve ilerlemesinde önemli rol oynadığı, antioksidanların oksidatif stres hasarına karşı koruyucu özellikleri göz önüne alınarak (10), *L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın antioksidan kapasitesinin araştırılması da tez kapsamına alınmıştır.

*L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın potansiyel antidiyabetik etkisine yönelik fraksiyonlama ve saf madde izolasyonu işlemlerinin  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon tayini çalışmaları rehberliğinde gerçekleştirilmesi planlanmıştır.

Karbonhidratların hidrolizinden sorumlu  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz gibi enzimler inhibe edilerek absorbe edilen glukoz miktarının azaltılması, diyabet tedavisinde postprandiyal hiperglisemiyi azaltmak için uygulanan yaklaşımlardandır (11).  $\alpha$ -amilaz enzimi polisakkaritlerin  $\alpha$ -1,4 glikozidik bağlarını hidroliz eder; nişastayı dekstrin, oligosakkarit, maltotrioz, maltoz gibi daha küçük fragmanlara ayırır (12).  $\alpha$ -glukozidaz enzimi ise disakkaritler ve oligosakkaritlerden indirgeyici olmayan  $\alpha$ -1,4 bağlı glukoz gruplarının hidrolizini katalize eder (13). Bu enzimlerin inhibisyonu yoluyla karbonhidrat sindirimi geciktirilerek glukoz absorpsiyon hızında azalma ve postprandiyal glukoz seviyelerinde düşme sağlanabilmektedir (11, 14). Akarboz, miglitol ve vogliboz diyabet tedavisinde kullanılan  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibitörleridir. Literatürde birçok bitki ekstresi ve fitokimyasal maddenin enzim inhibisyon etkinlikleri gösterilmiştir, diyabet tedavisinde kullanılabilecek daha etkili ve güvenli terapötik yaklaşımların geliştirilebilmesi adına doğal enzim inhibitörü keşfi çalışmaları devam etmektedir (11).

Tez kapsamında *L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın santral sinir sistemi rahatsızlıkları üzerindeki potansiyel etkisine yönelik fraksiyonlama ve saf madde

izolasyonu işlemlerinin ise beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) protein düzeyi çalışmaları rehberliğinde gerçekleştirilmesi planlanmıştır.

Nörotrofin ailesinin bir üyesi olan BDNF, sağlıklı bir nöronal çevrenin oluşumu ve sürdürülmesinde önemli rol oynar (15). Nöronal sağ kalım, farklılaşma ve büyümede görev alır. Öğrenme ve hafıza için gerekli olan nöroplastisite süreçlerine katılır (16-18). BDNF seviyelerinin azalması Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, depresyon gibi birçok nörolojik-psikiyatrik bozukluğun seyri ve gelişimiyle ilişkilendirilmiş, uygulanan tedavilerin ise serum BDNF seviyelerini arttırdığı belirlenmiştir (16, 19-21). BDNF'nin nörolojik ve psikiyatrik bozukluklarda potansiyel terapötik kullanımına dair çalışmalar devam etmekle birlikte, küçük molekül yaklaşımı kullanılarak beyindeki endojen BDNF ekspresyonunun farmakolojik olarak artırılması hedef stratejiler arasında yer almaktadır (22).

BDNF'nin nörolojik ve psikiyatrik hastalıklardaki kilit rolü göz önüne alınarak tez çalışması kapsamında, *L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın santral sinir sistemi rahatsızlıkları üzerindeki potansiyel etkisinin BDNF protein düzeyleri üzerinden araştırılması planlanmıştır. İlave olarak izole edilen saf maddelerin hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) kaynaklı nöronal hücre hasarına karşı olası nöroprotektif özelliklerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

*L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın halk arasında diyabet ve santral sinir sistemi rahatsızlıklarında kullanılmasından hareketle planlanan tez çalışmamızda, bitkinin çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan sulu etanol ekstresi ve ana fraksiyonlar üzerinde aktivite çalışmaları yürütülmüş, etkiden sorumlu olabilecek bileşiklerin tespit edilmesi amacıyla aktivite rehberli fraksiyonlama ve saf madde izolasyonu çalışmaları gerçekleştirilmiştir. İzolasyon, yapı tayini ve aktivite çalışmalarından elde edilen sonuçlar güncel literatür eşliğinde değerlendirilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Botanik Bilgiler

*Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* bitkisinin taksonomik hiyerarşisi aşağıdaki gibidir (23):

**Alem:** Plantae

**Şube:** Magnoliophyta

**Sınıf:** Magnoliopsida

**Takım:** Lamiales

**Familya:** Lamiaceae

**Cins:** *Lavandula*

**Tür:** *Lavandula stoechas* L.

**Alt tür:** *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas*

Bu bölümde bitkinin ait olduğu familya, cins ve tür özelinde botanik bilgileri verilmiştir.

#### 2.1.1. Lamiaceae Familyası

Lamiaceae familyası Türkçe adıyla Ballıbabagiller, 236 cins ve 7000'den fazla tür ile Angiosperm'lerin altıncı en geniş familyasıdır. Dünya genelinde bulunmakla birlikte, tipik büyüme alanı 0-2500 m arasındaki tropikal ve ılıman iklimlerdir (5).

“Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florası” isimli eserde familya özellikleri aşağıdaki şekilde betimlenmiştir (3):

Otsu bitki ya da çalılar, genellikle salgı tüyü taşıyan ve aromatik; gövde 4 köşeli ya da değil. Yapraklar stipulasız, basit, bazen parçalı (pinnat), her zaman karşılıklı. Çiçek durumu temelde braktelerin veya üst yaprakların koltuklarında simoz (salkım) şeklinde ve genellikle vertisillastrum. Vertisillatlar spika, rasem ya da simoz. Çiçekler hermafrodit veya ginodioik bitkilerde erkek çiçek verimsiz (dışı fonksiyonlu). Brakteler yapraklardan bariz şekilde farklı ya da benzediği zaman floral yapraklar şeklinde; brakteoller var ya da yok. Kaliks genellikle üstte 3 altta 2 dişli



kısım olmak üzere 5 loblu, nadiren loblar ya da dişler 1 ve 1 veya 1 ve 4 veya kaliks aktinomorf, 5-20 damarlı. Korolla gamopetal, zigomorfik ve bilabiat, genellikle üst dudak belirsiz 2 loblu (miğfer), falkat, düz ya da konkav, alt dudak 3 loblu, nadiren üst dudak küçülmüş ve alt dudak 5 loblu veya 1 üst ve 4 alt loblu veya korolla aktinomorf. Stamenler korolla ile birlikte gelişmiş, 4 ve didinam, üst çift genellikle alt çiftten daha kısa veya 2 ve genellikle staminodlar mevcut. Anter tekaları 2 veya 1 hücreli, paralel ya da ayrı, nadiren (*Salvia*'daki gibi) uzamış konnektifler ile ayrılmış. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli ve 4 ovüllü, 4 loblu. Stilus ginobazik, nadiren değil, üst kısımda ikiye ayrılmış (bifit). Meyve kuru (çok nadir etli) 4 (nadiren daha az) nutlet, ıslatıldığı zaman müsülajlı ya da değil.

### 2.1.2. *Lavandula* L. Cinsi

*Lavandula* L. cinsi 39'dan fazla tür ve 79 tür içi takson ve hibritten oluşur. Üç alt cins (*Fabricia*, *Sabaudia* ve *Lavandula*) ve sekiz seksiyon (*Lavandula*, *Dentatae*, *Stoechas*, *Pterostoechas*, *Subnuda*, *Chaetostachys*, *Hasikenses*, *Sabaudia*) şeklinde sınıflandırılmıştır. Kuzey Atlantik'ten Orta Doğu'ya kadar Akdeniz havzasında doğal olarak bulunur (1).

“Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florası” isimli eserde cins özellikleri aşağıdaki şekilde yer almaktadır (3):

Stellat örtü tüyleri bulunan aromatik çalı ya da çok yıllık bitkiler. Vertisillatlar pedunkulat spikalarda yerleşik. Brakteler var, ya hepsi fertil ya da üst brakteler verimsiz, çok genişlemiş ve koma (brakte demeti) şeklinde. Brakteoller var ya da yok. Kaliks ovoid-tüpsü, (8-)13(-15) damarlı, kısaca 5 dişli, dişler küçük, hemen hemen eşit, üst kısım çoğu zaman ekli. Korolla 2 dudaklı, üst dudak 2 loblu, alt dudak 3 loblu. Stamenler 4, didinam, korolla tüpünün içinde, yay gibi kıvrık (deklinat). Nutletler tüysüz, pürüzsüz.

Davis'in “Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florası” isimli eserine göre ülkemizde *L. angustifolia* ve *L. stoechas* olmak üzere iki *Lavandula* türü mevcuttur, *L. stoechas*'ın ise subsp. *stoechas* ve subsp. *cariensis* olmak üzere 2 alt türü bulunmaktadır (3). Bununla birlikte “Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)” adlı kitapta *L. stoechas* subsp. *cariensis* alt türü Upson ve arkadaşları tarafından 2004 yılında yapılan çalışma

sonrası *L. pedunculata* subsp. *cariensis* şeklinde 3. ayrı bir tür olarak sınıflandırılmıştır. (4).

Bu doğrultuda ülkemizde bulunan türler için tayin anahtarı revize edilerek aşağıda verilmiştir (3):

1. Çiçek durumu gevşek ve aralıklı; tüm brakteler benzer, fertil, koma yok.....**3. angustifolia subsp. angustifolia**
1. Çiçek durumu sık ve aralıksız; en üst brakteler büyük, verimsiz, renkli koma şeklinde.
  2. Çiçek durumu sapı 5-20 cm, spikadan daha uzun, üst brakteler (7-)13-30 x 2-5 (-6) mm, dar oblong; kaliks uzantıları genellikle undulat ya da loblu.....**2. pedunculata subsp. cariensis**
  2. Çiçek durumu sapı 0.5-2.5 (-2.7) cm, spikadan daha kısa, üst brakteler 7-17 x 3-8 mm, obovat; kaliks uzantıları tam...**1. stoechas subsp. stoechas**

### 2.1.3. *Lavandula stoechas* L.

“Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florası” isimli eserde tür özellikleri aşağıdaki şekilde belirtilmiştir (3):

45 cm veya daha uzun olabilen tüylü, çalı formunda. Üst yapraklar lanseolat, eliptik, dar eliptik, 14-40 x 1-5 mm, hafif geriye kıvrılmış, yaprak koltuklarında ve gövde tabanında çok sayıda daha küçük, dik, geriye kıvrılmış yaprak. Spika saplı, 1.5-4.5 cm, oblong-ovoid, sık ve aralıksız. Fertil brakteler 4-7 x 3-8 mm, rombik-kordat, tüylü. Üst brakteler mor veya beyaz, 7-30 x 2-8 mm, obovat veya dar oblong, koltuklarında çiçek yok. Vertisillatlar 6-10 çiçekli. Kaliks 4-6 mm, 13 damarlı, üst dişler kürek şeklinde veya enine oblong, tek parça ya da hafifçe loblu, ± saptaki ek yapılar 0.5-1 x 1-2 mm. Korolla siyahımsı mor, (4.5-)5-8.5 mm.

*Çiçeklenme zamanı:* Mart – Haziran

*Habitat:* Kızılçam ormanları, maki, garig, kireçtaşı kayalıkları, granit yamaçlar, kumlu yerler, yol kenarları

*Yükseklik:* 0-700 m

*Yayılış (L. stoechas subsp. stoechas):* Kuzeybatı Türkiye, Batı ve Güney Anadolu, Adalar.

**A1(E)** Çanakkale: Helles, *Ingoldby* 95. **A1(A)** Çanakkale: Troas (Truva), *Webb*. **A2(A)** İstanbul: Büyük Ada, *Gilliat-Smith* 1263. Kocaeli: Hereke'den İzmit'e, 30 m, *Davis* 42031. **B1** Balıkesir: Kaz Dağı, Bey ovası yakını, *Sintenis* 1883.666. İzmir: Bayraklı yakını, *Bornm.* 1906:9852b. **C1** Muğla: Datça'dan Marmaris'e 10 km, deniz seviyesi, *Dudley* (D. 35443). **C2** Muğla: Marmaris, 30 m, *Davis* 25245. **Muğla: Fethiye, Çenger Mahallesi, Yürek mevki ormanlık alan içleri, 08.04.2018, S. Ayhan (HUEF 17038!).** **C3** Antalya: Tekirova körfezi Tahtalı dağı güney etekleri deniz seviyesi, *Hub.-Mor.* 10580. **C4** İçel: Anamur'dan Emirşah'a, *E. Sezik* 247. **C5** İçel: Kızkalesi (Erdemli yakını), 40 m, *Siehe* 1895:54. Hatay: Samandağı, Sedir civarı, *E. & G. Sezik* 326. **C6** Hatay: Yayladağ, 700 m, *Davis* 27188b.



**Şekil 2.1.** *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* (Fotoğraf: Dr. Öğr. Üyesi Z. Ceren Arituluk Aydın)

## 2.2. *Lavandula* Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

### 2.2.1. *Lavandula* Türleri Üzerindeki Fitokimyasal Çalışmalar

*Lavandula* türlerine ilişkin literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde farklı yapıda bileşikler taşıdığı görülmektedir. Bu bölümde, *Lavandula* türlerinin taşıdığı bileşikler aşağıda yer alan 6 ana başlık altında sunulmuştur.

- a. Terpenler
- b. Flavonoidler
- c. Fenolik asitler ve basit fenoller
- d. Kumarinler
- e. Benzofuran türevleri
- f. Diğer bileşikler

#### a. Terpenler

##### Uçucu Terpen Bileşikleri

Tüm *Lavandula* türleri ve hibritleri çiçek ve yapraklarının yüzeyindeki salgı bezlerinden uçucu yağ üreten aromatik bitkilerdir. Bununla birlikte esas olarak *L. angustifolia*, *L. latifolia* ve *L. hybrida* (*L. latifolia* x *L. angustifolia*, *L. x intermedia*) türleri uçucu yağlarının ticari üretimi için yetiştirilmektedir (24).

Uçucu yağ genellikle bitkinin çiçekli toprak üstü kısımlarından su veya buhar distilasyonu yoluyla elde edilir (1). *Lavandula* uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu ve kalitesi, genotip, bitkiden izole edildikleri kısım, bitkinin gelişme dönemi, toprak ve iklim koşulları, hasat zamanı, kurutma yöntemleri ve ekstraksiyon teknikleri gibi birçok faktöre bağlıdır (2).

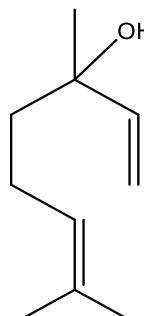
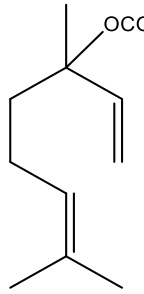
*Lavandula* uçucu yağının kimyasal kompozisyonu, esas olarak oksijenli monoterpenler (linalol, linalil asetat, 1,8-sineol, kafur) ve düzensiz monoterpenlerin (lavandulol, lavandulil asetat) varlığı ile karakterizedir. Monoterpen hidrokarbonlar ( $\alpha$ -,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -osimen), seskiterpen hidrokarbonlar ( $\beta$ -farnesen,  $\beta$ -karyofillen) ve

oksijenli seskiterpenler (karyofillen oksit) *Lavandula* uçucu yağında minör bileşenler olarak yer alırlar (1).

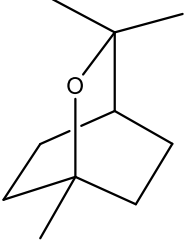
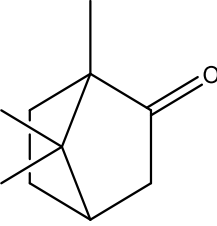
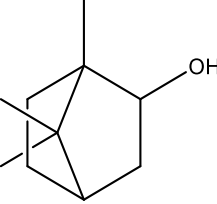
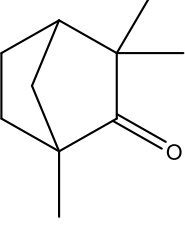
*L. angustifolia*'nın uçucu yağlarının başlıca bileşenleri linalol, linalil asetat, 1,8-sineol, kafur,  $\beta$ -karyofillen, borneol, cis- $\beta$ -osimen,  $\Delta$ -karen, lavandulil asetat,  $\alpha$ -fenkon, kumarin,  $\beta$ -felandren, terpinen-4-ol, epi- $\alpha$ -muurolol,  $\alpha$ -bizabolol, trans- $\beta$ -osimen, prekosen I, 7-metoksikumarin, geranioldür. *L. x intermedia*'nin uçucu yağlarında ana bileşenler olarak linalol, linalil asetat, 1,8-sineol, kafur, borneol, terpinen-4-ol, sabinen,  $\alpha$ -terpineol; *L. latifolia*'da linalol, 1,8-sineol, limonen, kafur, borneol ve  $\alpha$ -terpineol tespit edilmiştir. *L. stoechas*'ın uçucu yağlarının esas bileşenleri ise fenkon, kafur, pulegon, 1,8-sineol, mirtenil asetat, mentol, kubenol,  $\alpha$ -pinen ve mentondur (2).

*Lavandula* türlerinin uçucu yağlarında bulunan major bileşikler Tablo 2.1'de sunulmuştur.

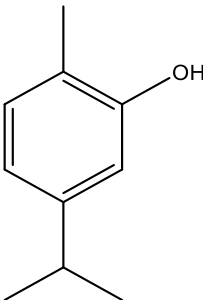
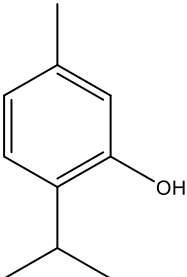
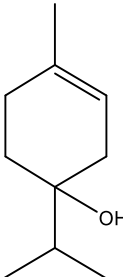
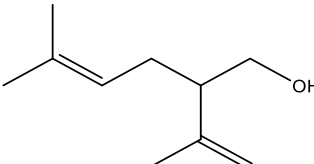
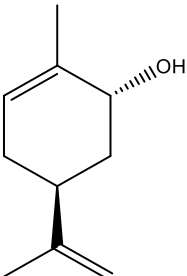
**Tablo 2.1.** *Lavandula* türlerinin uçucu yağlarında bulunan major bileşikler (2).

Oksijenli Monoterpenler		
Linalol		<i>L. angustifolia</i>
		<i>L. coronopifolia</i>
		<i>L. dentata</i>
		<i>L. x intermedia</i>
		<i>L. lanata</i>
		<i>L. latifolia</i>
		<i>L. luisieri</i>
		<i>L. multifida</i>
Linalil asetat		<i>L. angustifolia</i>
		<i>L. dentata</i>
		<i>L. x intermedia</i>
		<i>L. multifida</i>

**Tablo 2.1.** *Lavandula* türlerinin uçucu yağlarında bulunan major bileşikler (2)  
(devam).

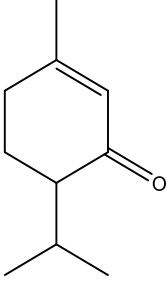
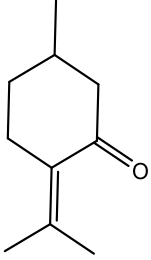
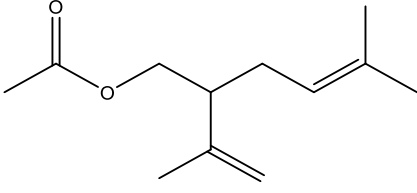
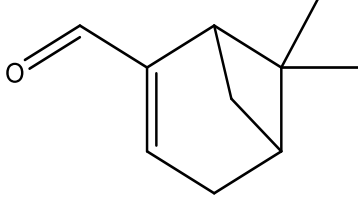
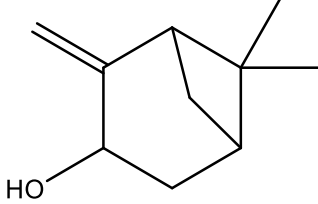
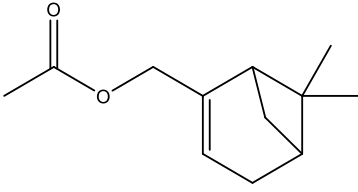
1,8-sineol		<i>L. angustifolia</i>
		<i>L. coronopifolia</i>
		<i>L. dentata</i>
		<i>L. x heterophylla</i>
		<i>L. x intermedia</i>
		<i>L. lanata</i>
		<i>L. latifolia</i>
		<i>L. luisieri</i>
		<i>L. pedunculata</i>
		<i>L. stoechas</i>
		<i>L. viridis</i>
Kafur		<i>L. angustifolia</i>
		<i>L. bipinnata</i>
		<i>L. dentata</i>
		<i>L. x heterophylla</i>
		<i>L. x intermedia</i>
		<i>L. stoechas</i>
Borneol		<i>L. angustifolia</i>
		<i>L. dentata</i>
		<i>L. x intermedia</i>
Fenkon		<i>L. luisieri</i>
		<i>L. pedunculata</i>
		<i>L. stoechas</i>

**Tablo 2.1.** *Lavandula* türlerinin uçucu yağlarında bulunan major bileşikler (2)  
(devam).

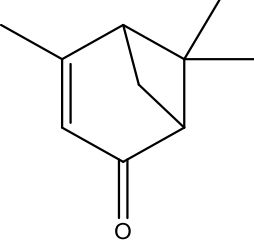
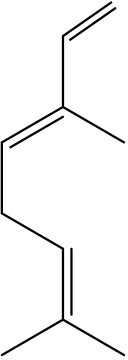
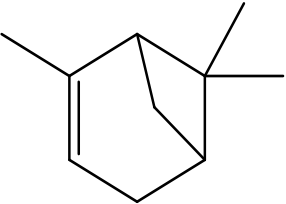
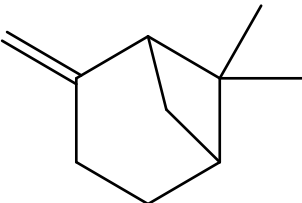
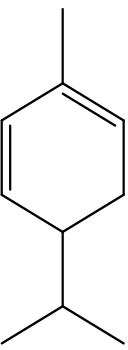
Karvakrol		<i>L. canariensis</i>
		<i>L. coronopifolia</i>
		<i>L. multifida</i>
		<i>L. pinnata</i>
		<i>L. pubescens</i>
Timol		<i>L. gibsonii</i>
		<i>L. pinnata</i>
Terpinen-4-ol		<i>L. angustifolia</i>
		<i>L. x intermedia</i>
Lavandulol		<i>L. lanata</i>
<i>trans</i> -Karveol		<i>L. bipinnata</i>



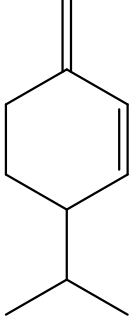
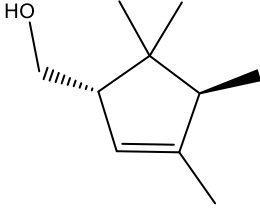
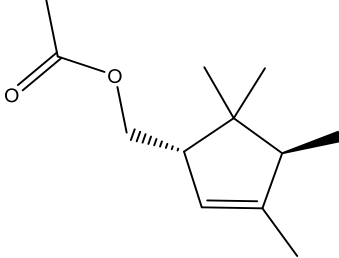
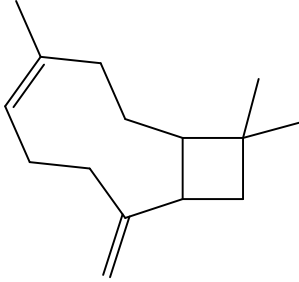
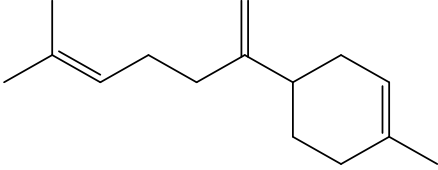
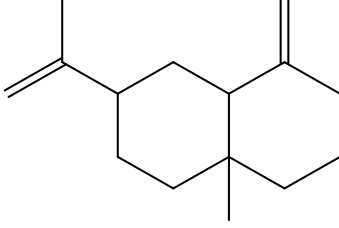
**Tablo 2.1.** *Lavandula* türlerinin uçucu yağlarında bulunan major bileşikler (2) (devam).

Piperiton		<i>L. bipinnata</i>
Pulegon		<i>L. bipinnata</i>
Lavandulil asetat		<i>L. angustifolia</i>
Mirtenal		<i>L. dentata</i>
<i>trans</i> -Pinokarveol		<i>L. dentata</i>
Mirtenil asetat		<i>L. stoechas</i>

**Tablo 2.1.** *Lavandula* türlerinin uçucu yağlarında bulunan major bileşikler (2)  
(devam).

Verbenon		<i>L. viridis</i>
<b>Monoterpen Hidrokarbonlar</b>		
$\beta$ -Osimen		<i>L. angustifolia</i> <hr/> <i>L. multifida</i>
$\alpha$ -Pinen		<i>L. dentata</i> <hr/> <i>L. viridis</i>
$\beta$ -Pinen		<i>L. dentata</i>
$\alpha$ -Fellandren		<i>L. pinnata</i>

**Tablo 2.1.** *Lavandula* türlerinin uçucu yağlarında bulunan major bileşikler (2) (devam).

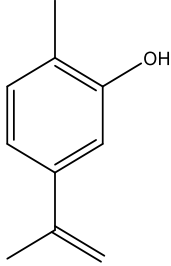
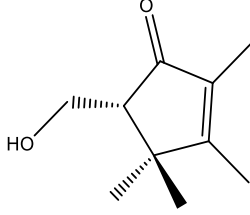
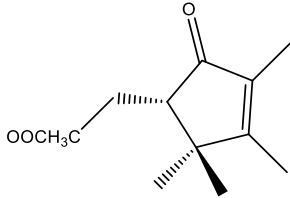
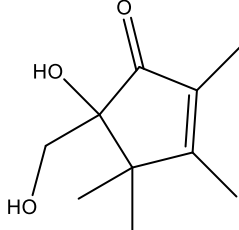
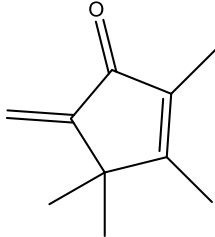
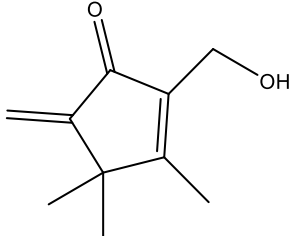
$\beta$ -Fellandren		<i>L. pinnata</i>
<b>Düzensiz Monoterpenler</b>		
<i>trans</i> - $\alpha$ -Nekrodol		<i>L. luisieri</i>
<i>trans</i> - $\alpha$ -Nekrodil asetat		<i>L. luisieri</i>
<b>Seskiterpenler</b>		
$\beta$ -Karyofillen		<i>L. angustifolia</i> <i>L. x intermedia</i> <i>L. pinnata</i>
$\beta$ -Bizabolen		<i>L. canariensis</i> <i>L. multifida</i>
$\beta$ -Selenen		<i>L. luisieri</i>

## Monoterpenler ve Seskiterpenler

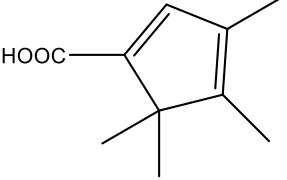
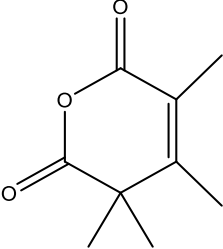
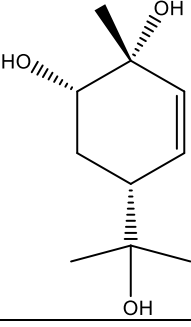
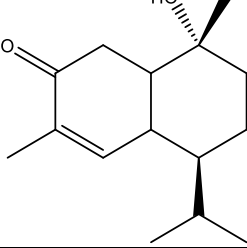
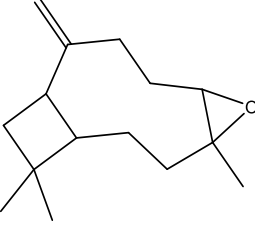
**Tablo 2.2.** *Lavandula* türlerinden izole edilen diğer bazı monoterpen ve seskiterpen yapısındaki bileşikler.

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
3-Hidroksi- $\alpha,\alpha$ ,4-trimetil benzil alkol (8-hidroksi karvakrol)		<i>L. gibsonii</i>	(25, 26)
3-Hidroksi- $\alpha,\alpha$ ,4-trimetil benzil metil eter		<i>L. gibsonii</i>	(25)
8-Etoksi karvakrol		<i>L. gibsonii</i>	(26)
8-Hidroksi timol		<i>L. gibsonii</i>	(26)
8-Etoksi timol		<i>L. gibsonii</i>	(26)

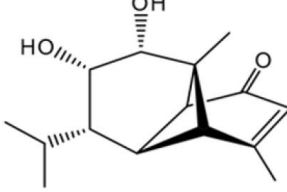
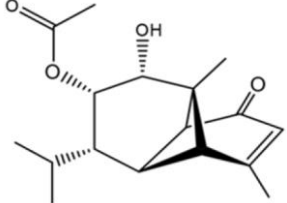
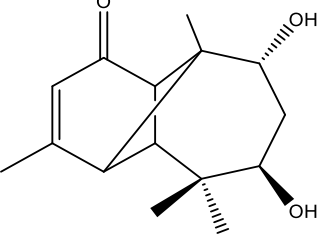
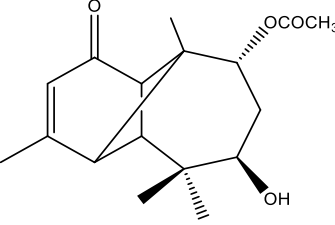
**Tablo 2.2.** *Lavandula* türlerinden izole edilen diğer bazı monoterpen ve seskiterpen yapısındaki bileşikler (devam).

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
3-Hidroksi- $\alpha$ ,4-dimetil stiren		<i>L. gibsonii</i>	(25)
5-(Hidroksimetil)-2,3,4,4-tetrametilsiklopent-2-enon		<i>L. luisieri</i>	(27)
(2,2,3,4-tetrametil-5-okso-5-(hidroksimetil)-2,3,4,4-tetrametilsiklopent-3-en-1-il)metil asetat		<i>L. luisieri</i>	(27)
5-Hidroksi-5-(hidroksimetil)-2,3,4,4-tetrametilsiklopent-2-en-1-on		<i>L. luisieri</i>	(27)
5-Metilen-2,3,4,4-tetrametilsiklopent-2-en-1-on		<i>L. luisieri</i>	(27)
2-(hidroksimetil)-3,4,4-trimetil-5-metilsiklopent-2-en-1-on		<i>L. luisieri</i>	(27)

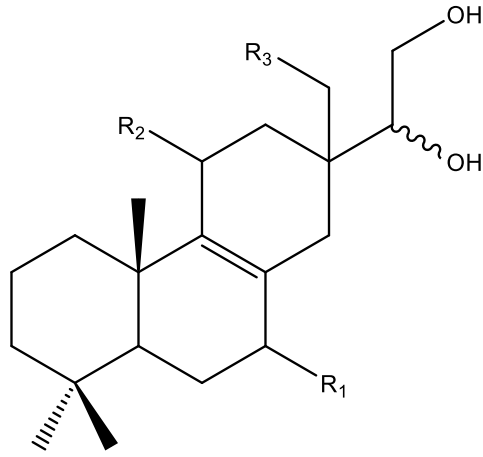
**Tablo 2.2.** *Lavandula* türlerinden izole edilen diğer bazı monoterpen ve seskiterpen yapısındaki bileşikler (devam).

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
3,4,5,5-Tetrametil-1,3-siklopentadien karboksilik asit		<i>L. luisieri</i>	(27)
3,3,4,5-Tetrametil-piran-2,6-dion		<i>L. luisieri</i>	(27)
5-(2-Hidroksipropan-2-il)-2-metilsikloheks-3-en-1,2-diol		<i>L. luisieri</i>	(27)
10-Hidroksi-4(5)-kadinen-3-on		<i>L. luisieri</i>	(27)
Karyofillen oksit		<i>L. latifolia</i>	(28)

**Tablo 2.2.** *Lavandula* türlerinden izole edilen diğer bazı monoterpen ve seskiterpen yapısındaki bileşikler (devam).

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Stoechanones A		<i>L. stoechas</i>	(29)
Stoechanones B		<i>L. stoechas</i>	(29)
Longipin-2-en-7 $\beta$ , 9 $\alpha$ -diol- 1-on		<i>L. stoechas</i>	(30)
Longipin-2-en-7 $\beta$ , 9 $\alpha$ -diol- 1-on 9-monoasetat		<i>L. stoechas</i>	(30)

## Diterpenler



**Tablo 2.3.** *Lavandula* türlerinde bulunan diterpen yapısındaki bileşikler-1.

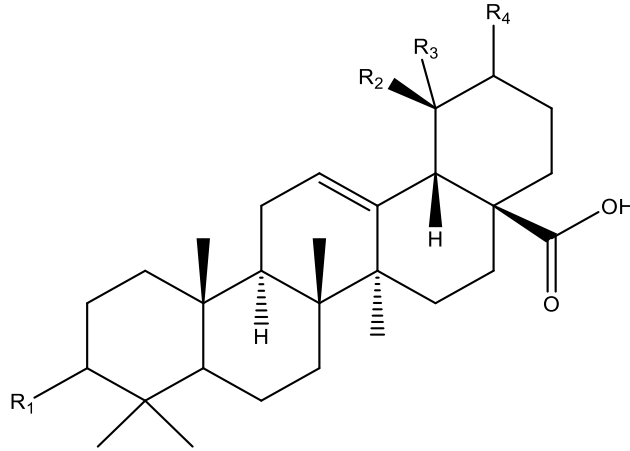
Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Bitki	Kaynak
Glutinosin	H	H	H	<i>L. multifida</i>	(31)
15,16,17-Trihidroksipimar-8(9)-en	H	H	OH	<i>L. multifida</i>	(31)
15S,16-Dihidroksi-7-oksopimar-8(9)-en	O=	H	H	<i>L. multifida</i>	(31)
15,16,17-Trihidroksi-7-oksopimar-8(9)-en	O=	H	OH	<i>L. multifida</i>	(31)
15,16-Dihidroksi-7,11-dioksopimar-8(9)-en	O=	O=	H	<i>L. multifida</i>	(31)

**Tablo 2.4.** *Lavandula* türlerinde bulunan diterpen yapısındaki bileşikler-2.

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Trans-fitol		<i>L. latifolia</i>	(28)

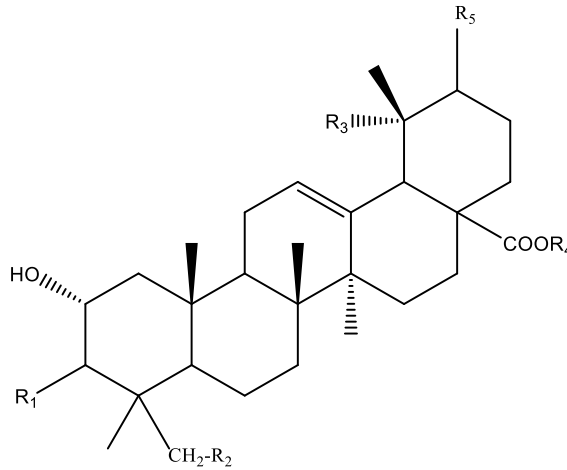


## Triterpenler



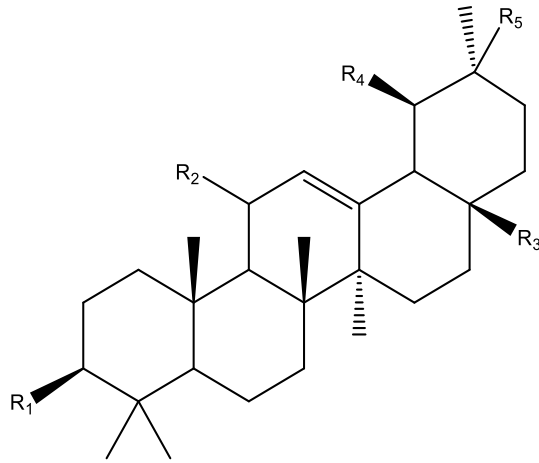
**Tablo 2.5.** *Lavandula* türlerinde bulunan triterpen yapısındaki bileşikler-1.

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Bitki	Kaynak
Ursolik asit (3 $\beta$ -hidroksi-12-ursen-28-oik asit)	$\beta$ -OH	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(24, 32-34)
					<i>L. canariensis</i>	(35)
					<i>L. coronopifolia</i>	(36, 37)
					<i>L. dentata</i>	(24, 38)
					<i>L. latifolia</i>	(24)
					<i>L. luisieri</i>	(27)
					<i>L. multifida</i>	(39)
					<i>L. pedunculata</i>	(24)
3-Epiursolik asit	$\alpha$ -OH	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(24)
Pomilik asit (3,19-dihidroksi-12-ursen-28-oik asit, bentamik asit)	$\beta$ -OH	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>	<i>L. coronopifolia</i>	(36, 37)
3-Okso-12-ursen-28-oik asit	O=	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(32)
Oleanolik asit	$\beta$ -OH	H	H	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(24, 32)
					<i>L. canariensis</i>	(35)
					<i>L. coronopifolia</i>	(36, 37)
					<i>L. dentata</i>	(38)
					<i>L. latifolia</i>	(24)
					<i>L. multifida</i>	(39)
Oleanolik asit 3 $\beta$ -asetat	CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub>	H	H	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	<i>L. stoechas</i>	(40)
Mikromerik asit (3 $\beta$ -hidroksiurs-12, 20(30)-dien-28-oik asit)	$\beta$ -OH	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> =	<i>L. pedunculata</i>	(24)
					<i>L. stoechas</i>	(38)
3-Formilursolik asit	HCOO	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(32)



**Tablo 2.6.** *Lavandula* türlerinde bulunan triterpen yapısındaki bileşikler-2.

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	Bitki	Kaynak
2 $\alpha$ -Hidroksiursolik asit (korosolik asit)	$\beta$ -OH	H	H	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. canariensis</i>	(35)
2 $\alpha$ -Hidroksioleanolik asit (maslinik asit)	$\beta$ -OH	H	H	H	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	<i>L. coronopifolia</i>	(37)
						<i>L. multifida</i>	(39)
Tormentik asit	$\beta$ -OH	H	OH	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. coronopifolia</i>	(37)
						<i>L. dentata</i>	(38)
						<i>L. luisieri</i>	(27)
						<i>L. stoechas</i>	(38)
23-Hidroksitormentik asit	$\beta$ -OH	OH	OH	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. canariensis</i>	(35)
Miriantik asit	$\alpha$ -OH	OH	OH	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. coronopifolia</i>	(37)
Nigaichigaside F1	$\beta$ -OH	OH	OH	Glu	CH <sub>3</sub>	<i>L. coronopifolia</i>	(37)



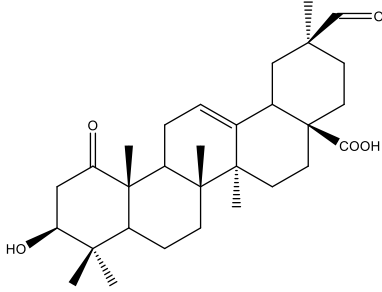
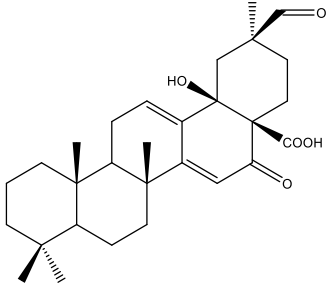
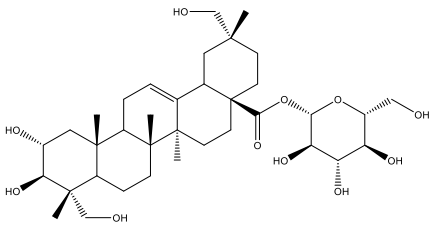
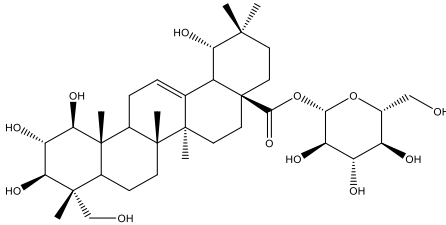
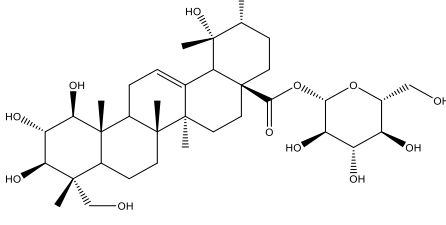
**Tablo 2.7.** *Lavandula* türlerinde bulunan triterpen yapısındaki bileşikler-3.

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	Bitki	Kaynak
$\alpha$ -Amirin	OH	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	<i>L. canariensis</i>	(35)
						<i>L. pedunculata</i>	(24)
						<i>L. stoechas</i>	(40)
Uvaol	OH	H	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>	H	<i>L. pedunculata</i>	(24)
$\beta$ -Amirin	OH	H	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. canariensis</i>	(35)
						<i>L. pedunculata</i>	(24)
11-Okso $\beta$ -amirin	OH	O=	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. stoechas</i>	(40)
$\beta$ -Amirin asetat	CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. stoechas</i>	(40)

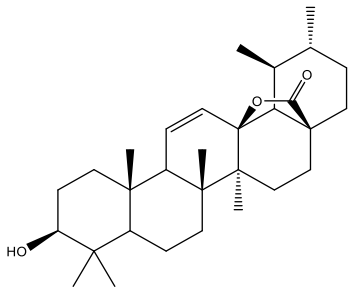
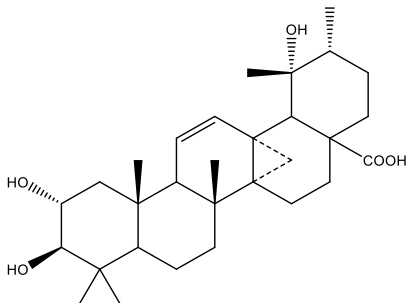
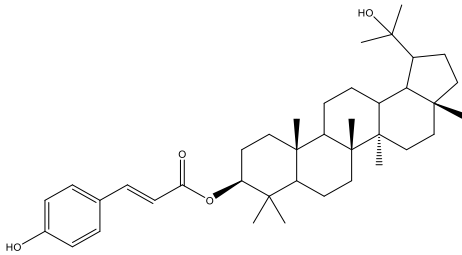
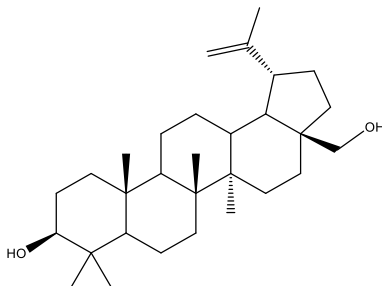
**Tablo 2.8.** *Lavandula* türlerinde bulunan triterpen yapısındaki bileşikler-4.

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
3 $\beta$ , 24-Dihidroksiolean-12-en		<i>L. stoechas</i>	(40)

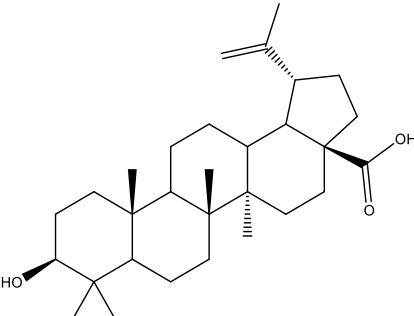
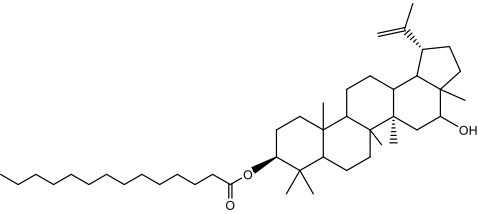
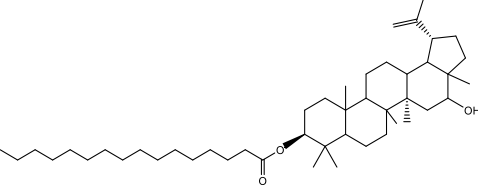
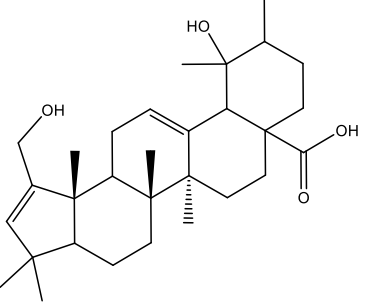
**Tablo 2.8.** *Lavandula* türlerinde bulunan triterpen yapısındaki bileşikler-4 (devam).

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
3 $\beta$ -Hidroksi-1-okso-olean-12-en-30-al-28-oik asit		<i>L. stoechas</i>	(40)
18-Hidroksi-27-norolean-12,14-dien-30-al-28-oik asit		<i>L. stoechas</i>	(40)
Quadranside III		<i>L. dentata</i>	(38)
1 $\beta$ ,2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,19 $\alpha$ ,23 - Pentahidroksi-olean-12-en-28-oik asit 28-O- $\beta$ -D-glukopiranozit		<i>L. coronopifolia</i>	(36, 37)
1 $\beta$ ,2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,19 $\alpha$ ,23 - Pentahidroksi-urs-12-en-28-oik asit 28-O- $\beta$ -D-glukopiranozit		<i>L. coronopifolia</i>	(36, 37)

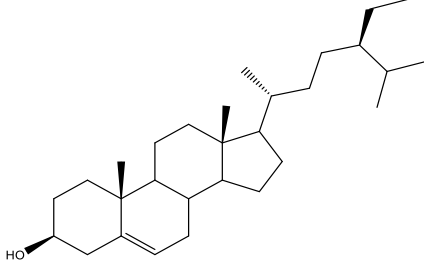
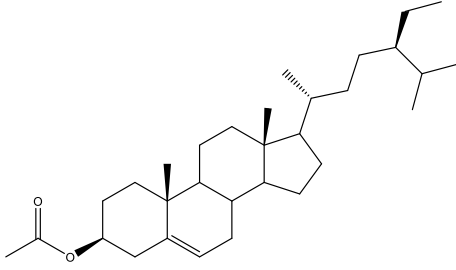
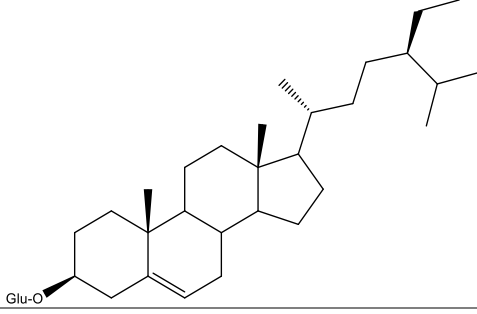
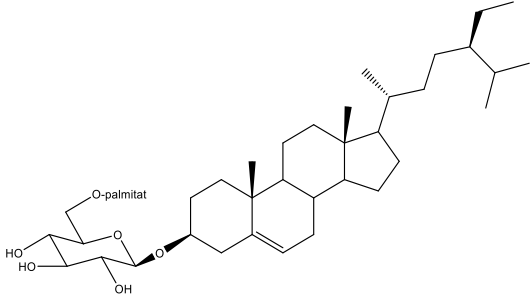
**Tablo 2.8.** *Lavandula* türlerinde bulunan triterpen yapısındaki bileşikler-4 (devam).

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Ursolik asit lakton		<i>L. angustifolia</i>	(32)
Euscaphic asit D		<i>L. gibsonii</i>	(26)
Monoginol A cis/trans kumaril ester		<i>L. stoechas</i>	(40)
Betulin (Lup-20(29)-en-3 $\beta$ ,28-diol)		<i>L. angustifolia</i> <hr/> <i>L. stoechas</i>	(32) <hr/> (40)

**Tablo 2.8.** *Lavandula* türlerinde bulunan triterpen yapısındaki bileşikler-4 (devam).

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Betulinik asit (3 $\beta$ -hidroksi- lup-20(29)-en- 28-oik asit)		<i>L. angustifolia</i>	(32)
		<i>L. dentata</i>	(38)
		<i>L. stoechas</i>	(38, 40)
16 $\beta$ - hidroksilupeol- 3- <i>O</i> -miristat		<i>L. stoechas</i>	(40)
16 $\beta$ - hidroksilupeol- 3- <i>O</i> -palmitat		<i>L. stoechas</i>	(40)
Hiptadienik asit		<i>L. coronopifolia</i>	(37)

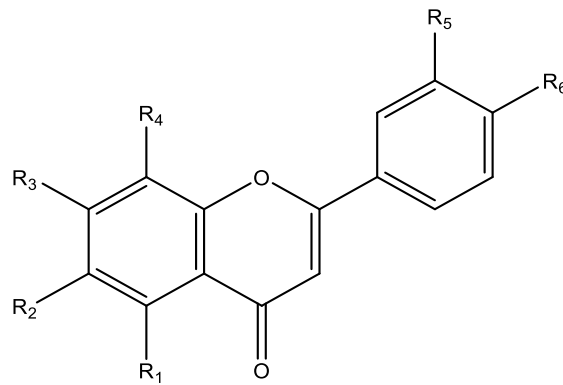
**Tablo 2.9.** *Lavandula* türlerinde bulunan steroid yapısındaki bileşikler.

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
$\beta$ -Sitosterol		<i>L. angustifolia</i>	(34)
		<i>L. gibsonii</i>	(41)
		<i>L. stoechas</i>	(40)
$\beta$ -Sitosterol asetat		<i>L. stoechas</i>	(40)
Sitosteril-3 $\beta$ -D-glukozit (Daukosterol)		<i>L. angustifolia</i>	(34)
		<i>L. canariensis</i>	(35)
$\beta$ -Sitosteril-3-O- $\beta$ -D-glukopiranozil-6'-O-palmitat		<i>L. gibsonii</i>	(26)

## b. Flavonoitler

*Lavandula* türlerinde flavon, flavonol, flavanon ve antosiyanidin yapısında bileşiklerin bulunduğu literatürde kayıtlıdır. Flavon türevleri en çok bulunan bileşikler olup fenolik bileşiklerin %50'sinden fazlasını oluşturmaktadır (1). *Lavandula* türlerinde 3 ana grup flavon gözlenmektedir. *Lavandula*, *Dentata* ve *Stoechas* seksiyonları flavon 7-glikozitleri, *Pterostoechas*, *Subnuda* ve *Chaetostachys* seksiyonları 8-hidroksi flavon 7- ve 8-glikozitleri, *Sabaudia* seksiyonu ise flavon 7-glikozitleri ve 8-hidroksi flavon 7-glikozitlerinin birikimi ile karakterizedir (42).

### Flavonlar



**Tablo 2.10.** *Lavandula* türlerinde bulunan flavon yapısındaki bileşikler-1.

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	Bitki	Kaynak
Apigenin	OH	H	OH	H	H	OH	<i>L. angustifolia</i>	(42-45)
							<i>L. dentata</i>	(24, 38, 42)
							<i>L. x intermedia</i>	(46)
							<i>L. lanata</i>	(42)
							<i>L. latifolia</i>	(42)
							<i>L. minutolii</i>	(42)
							<i>L. multifida</i>	(47)
							<i>L. stoechas</i>	(38, 42)
<i>L. viridis</i>	(42)							
Luteolin	OH	H	OH	H	OH	OH	<i>L. angustifolia</i>	(44)
							<i>L. dentata</i>	(24, 38, 42)
							<i>L. stoechas</i>	(24, 38, 42)
Krizoeriol	OH	H	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OH	<i>L. angustifolia</i>	(48)



**Tablo 2.10.** *Lavandula* türlerinde bulunan flavon yapısındaki bileşikler-1 (devam).

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	Bitki	Kaynak
Salvigenin (Skutellarein 6,7,4'- -trimetil eter)	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	<i>L. aristibracteata</i>	(42)
							<i>L. bipinnata</i>	(42)
							<i>L. gibsonii</i>	(41)
							<i>L. minutolii</i>	(42)
							<i>L. stoechas</i>	(42)
							<i>L. viridis</i>	(42)
Genkwanin (Apigenin 7-metil eter)	OH	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	OH	<i>L. angustifolia</i>	(42)
							<i>L. dentata</i>	(24, 38, 42, 49)
							<i>L. lanata</i>	(42)
							<i>L. latifolia</i>	(42)
							<i>L. stoechas</i>	(38, 42, 49)
							<i>L. viridis</i>	(42)
7,4'- dimetilapigenin	OH	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	<i>L. gibsonii</i>	(26)
Ksantomikrol (5,4'- dihidroksi- 6,7,8- trimetoksiflavon)	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OH	<i>L. mairei</i>	(42)
							<i>L. minutolii</i>	(42)
							<i>L. pubescens</i>	(50)
Luteolin 7,3'- dimetil eter	OH	H	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OH	<i>L. dentata</i>	(38)
							<i>L. stoechas</i>	(38)
Apigenin 7- <i>O</i> - glukozit	OH	H	O-Glu	H	H	OH	<i>L. angustifolia</i>	(42, 44, 51)
							<i>L. atriplicifolia</i>	(42)
							<i>L. dentata</i>	(24, 38, 42, 49)
							<i>L. lanata</i>	(42)
							<i>L. latifolia</i>	(42)
							<i>L. multifida</i>	(47)
							<i>L. stoechas</i>	(24, 38, 42, 49, 52)
<i>L. viridis</i>	(42)							
Viteksin (Apigenin 8-C-glukozit)	OH	H	OH	Glu	H	OH	<i>L. dentata</i>	(24, 42)
							<i>L. multifida</i>	(47)
							<i>L. stoechas</i>	(42)
							<i>L. viridis</i>	(42)
Vicenin-2	OH	Glu	OH	Glu	H	OH	<i>L. dentata</i>	(24, 42)
Apigenin 7- <i>O</i> - glukuronit	OH	H	O- GluA	H	H	OH	<i>L. angustifolia</i>	(42)
							<i>L. atriplicifolia</i>	(42)
							<i>L. dentata</i>	(38, 42)
							<i>L. lanata</i>	(42)
							<i>L. latifolia</i>	(42)
							<i>L. stoechas</i>	(38, 42)
<i>L. viridis</i>	(42)							

**Tablo 2.10.** *Lavandula* türlerinde bulunan flavon yapısındaki bileşikler-1 (devam).

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	Bitki	Kaynak
Luteolin 7- <i>O</i> -glukozit	OH	H	O-Glu	H	OH	OH	<i>L. angustifolia</i>	(42, 51, 53)
							<i>L. antineae</i>	(42)
							<i>L. atriplicifolia</i>	(42)
							<i>L. bipinnata</i>	(42)
							<i>L. buchii</i>	(42)
							<i>L. canariensis</i>	(42)
							<i>L. coronopifolia</i>	(50)
							<i>L. dentata</i>	(24, 38, 42, 49)
							<i>L. dhofarensis</i>	(42)
							<i>L. erythrae</i>	(42)
							<i>L. x intermedia</i>	(53)
							<i>L. lanata</i>	(42)
							<i>L. latifolia</i>	(42, 53)
							<i>L. mairei</i>	(42)
							<i>L. maroccana</i>	(42)
							<i>L. multifida</i>	(42)
							<i>L. nimmoi</i>	(42)
							<i>L. pinnata</i>	(42)
							<i>L. pubescens</i>	(50)
<i>L. rotundifolia</i>	(42)							
<i>L. stoechas</i>	(24, 38, 42, 49, 52)							
<i>L. tenuisecta</i>	(42)							
<i>L. viridis</i>	(42)							
6-OH-luteolin 7- <i>O</i> -glukozit	OH	OH	O-Glu	H	OH	OH	<i>L. dentata</i>	(42)
Luteolin 7-rutinozit	OH	H	O-Glu-Ram	H	OH	OH	<i>L. dentata</i>	(24, 42)
							<i>L. stoechas</i>	(24)
Luteolin 7- <i>O</i> -glukuronit	OH	H	O-GluA	H	OH	OH	<i>L. angustifolia</i>	(42)
							<i>L. atriplicifolia</i>	(42)
							<i>L. bipinnata</i>	(42)
							<i>L. canariensis</i>	(42)
							<i>L. coronopifolia</i>	(50)
							<i>L. dentata</i>	(38, 42, 49)
							<i>L. erythrae</i>	(42)
							<i>L. dhofarensis</i>	(42)
							<i>L. lanata</i>	(42)
							<i>L. latifolia</i>	(42)
							<i>L. mairei</i>	(42)
							<i>L. maroccana</i>	(42)
							<i>L. multifida</i>	(42, 47)
							<i>L. rotundifolia</i>	(42)
							<i>L. stoechas</i>	(38, 42, 49)
<i>L. viridis</i>	(42)							

**Tablo 2.10.** *Lavandula* türlerinde bulunan flavon yapısındaki bileşikler-1 (devam).

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	Bitki	Kaynak
Luteolin 7,4'-di- <i>O</i> -glukuronit	OH	H	O-GluA	H	OH	O-GluA	<i>L. angustifolia</i>	(42)
							<i>L. dentata</i>	(38, 49)
							<i>L. lanata</i>	(42)
							<i>L. latifolia</i>	(42)
							<i>L. stoechas</i>	(38, 49)
Luteolin 7- <i>O</i> -glukozit 4'- <i>O</i> -glukuronit	OH	H	O-Glu	H	OH	O-GluA	<i>L. angustifolia</i>	(42)
							<i>L. lanata</i>	(42)
							<i>L. latifolia</i>	(42)
Hipolaetin 7- <i>O</i> -glukozit	OH	H	O-Glu	OH	OH	OH	<i>L. antineae</i>	(42)
							<i>L. aristibracteata</i>	(42)
							<i>L. atriplicifolia</i>	(42)
							<i>L. bipinnata</i>	(42)
							<i>L. buchii</i>	(42)
							<i>L. canariensis</i>	(42)
							<i>L. coronopifolia</i>	(50)
							<i>L. dhofarensis</i>	(42)
							<i>L. erythraeae</i>	(42)
							<i>L. mairei</i>	(42)
							<i>L. maroccana</i>	(42)
							<i>L. minutolii</i>	(42)
							<i>L. multifida</i>	(42, 47)
							<i>L. nimmoi</i>	(42)
							<i>L. pinnata</i>	(42)
<i>L. pubescens</i>	(50)							
<i>L. rotundifolia</i>	(42)							
<i>L. subnuda</i>	(42)							
<i>L. tenuisecta</i>	(42)							

**Tablo 2.10.** *Lavandula* türlerinde bulunan flavon yapısındaki bileşikler-1 (devam).

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	Bitki	Kaynak							
Hipolaetin 8- <i>O</i> -glukuronit	OH	H	OH	O-GluA	OH	OH	<i>L. antineae</i>	(42)							
							<i>L. aristibracteata</i>	(42)							
							<i>L. bipinnata</i>	(42)							
							<i>L. buchii</i>	(42)							
							<i>L. canariensis</i>	(42)							
							<i>L. coronopifolia</i>	(50)							
							<i>L. dentata</i>	(38)							
							<i>L. dhofarensis</i>	(42)							
							<i>L. maroccana</i>	(42)							
							<i>L. minutolii</i>	(42)							
							<i>L. multifida</i>	(42)							
							<i>L. nimmoi</i>	(42)							
							<i>L. pinnata</i>	(42)							
							<i>L. pubescens</i>	(50)							
Hipolaetin 4'-metil eter 8- <i>O</i> -glukuronit	OH	H	OH	O-GluA	OH	OCH <sub>3</sub>	<i>L. aristibracteata</i>	(42)							
							<i>L. bipinnata</i>	(42)							
							<i>L. coronopifolia</i>	(50)							
							<i>L. dhofarensis</i>	(42)							
							<i>L. maroccana</i>	(42)							
							<i>L. pubescens</i>	(50)							
							<i>L. rotundifolia</i>	(42)							
							<i>L. subnuda</i>	(42)							
							Skutellarein 7- <i>O</i> -glukozit	OH	OH	O-Glu	H	H	OH	<i>L. dentata</i>	(42)
														<i>L. multifida</i>	(47)
							İzoskutellarein 7- <i>O</i> -glukozit	OH	H	O-Glu	OH	H	OH	<i>L. aristibracteata</i>	(42)
														<i>L. atriplicifolia</i>	(42)
														<i>L. bipinnata</i>	(42)
														<i>L. canariensis</i>	(42)
<i>L. mairei</i>	(42)														
<i>L. maroccana</i>	(42)														
<i>L. minutolii</i>	(42)														
<i>L. multifida</i>	(42, 47)														
<i>L. rotundifolia</i>	(42)														
<i>L. subnuda</i>	(42)														
İzoskutellarein 8- <i>O</i> -glukozit	OH	H	OH	O-Glu	H	OH	<i>L. multifida</i>	(47)							

**Tablo 2.10.** *Lavandula* türlerinde bulunan flavon yapısındaki bileşikler-1 (devam).

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	Bitki	Kaynak
İzoskutellarein 8- <i>O</i> -glukuronit	OH	H	OH	O-GluA	H	OH	<i>L. aristibracteata</i>	(42)
							<i>L. bipinnata</i>	(42)
							<i>L. canariensis</i>	(42)
							<i>L. coronopifolia</i>	(50)
							<i>L. dentata</i>	(38, 49)
							<i>L. maroccana</i>	(42)
							<i>L. minutolii</i>	(42)
							<i>L. multifida</i>	(42)
							<i>L. pubescens</i>	(50)
							<i>L. rotundifolia</i>	(42)
<i>L. stoechas</i>	(38)							
<i>L. subnuda</i>	(42)							
Krizoeriol 7- <i>O</i> -glukozit	OH	H	O-Glu	H	OCH <sub>3</sub>	OH	<i>L. angustifolia</i>	(42)
							<i>L. lanata</i>	(42)
							<i>L. latifolia</i>	(42)
							<i>L. multifida</i>	(47)
							<i>L. mairei</i>	(42)
							<i>L. stoechas</i>	(42)
							<i>L. viridis</i>	(42)

**Tablo 2.11.** *Lavandula* türlerinde bulunan flavon yapısındaki bileşikler-2.

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
5,3',4'-Triasetil-luteolin-7- <i>O</i> -glukozit 2''-(4'''-oksa 1'''-asetil 2''',5'''' sikloheksadien) 2''-propenoik ester		<i>L. stoechas</i>	(52)

Lavandinin (*L. x intermedia*) buhar distilasyonu sonrasında kalan materyalin metanol ile maserasyonu sonucu elde edilen ekstre üzerinde yürütülen LC/MS/MS çalışmasında ekstre içeriğinde apigenin-*O*-heksozit, krizoeriol-*O*-heksozit, krizoeriol-*O*-glukuronit, luteolin-*O*-heksozit izomerleri ve luteolin-*O*-glukuronit izomerleri bulunduğu belirlenmiştir (46).

*L. stoechas* ve *L. dentata*'nın toprak üstü kısımlarının sulu metanol ile basınçlı sıvı ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstrelerin HPLC–MS ile analizi sonucunda her

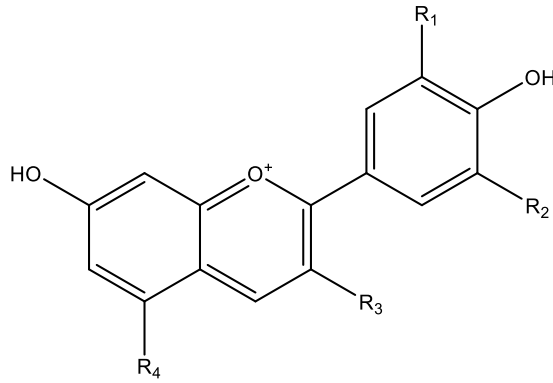
iki ekstrede de apigenin C-heksozit izomerleri, apigenin di-C-heksozit, apigenin glukuronit heksozit ve hipolaetin di-glukuronit bileşiklerinin mevcut olduğu tanımlanmıştır. Bununla birlikte, apigenin di-C-heksozidin farklı 2 izomeri ve luteolin glukuronit heksozidin izomerleri yalnızca *L. dentata*'da tespit edilmiştir. Bu çalışmada apigenin-6,8-di-C-glukozit (vicenin-2) ve apigenin 8-C glukozidin (viteksin) daha önce literatürde bildirilmemiş izomerlerinin de tespit edildiği kayıtlanmıştır (38).

### **Flavonol ve Flavanonlar**

Spiridon ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *L. angustifolia* yaprak ve çiçek ekstresinin HPLC ile analizi sonucunda kemferol malonil glukozit ve kemferol-3-kumaril glukozitin varlığı belirlenmiştir (33). Lavandinin buhar distilasyonu sonrasında kalan materyalin metanol ile maserasyonu sonucu elde edilen ekstre üzerinde yürütülen LC/MS/MS çalışmasında ise ekstre içeriğinde kersetin-3-O-glukozit ve bir flavanon olan eriodiktiyol-O-heksozit tespit edilmiştir (46). *L. angustifolia* ve *L. stoechas* üzerinde yürütülen HPLC çalışmalarında eriodiktiyol bileşiği (54, 55) ve *L. officinalis* sulu metanol ekstresinin UPLC-MS/MS ile analizinde naringenin ve rutin varlığı saptanmıştır. (45)

### **Antosiyanidinler**

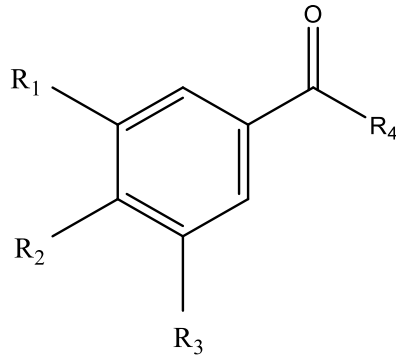
Lavanta çiçeklerinin yoğun mavi-mor renginden sorumlu olmasına rağmen, literatürde *Lavandula* cinsinde antosiyanin bileşiklerinin yapısal çeşitliliğine dair oldukça az çalışma rapor edilmiştir (1). Rengin mor-menekşe veya menekşe olduğu petallerde, beklendiği gibi ana pigmentler delphinidin ve malvidin kaynaklıdır. Bu pigmentler yaygın olarak malonik asit, kumarik asit veya her iki asitle açillenmiş durumdadır (1, 24).



**Tablo 2.12.** *Lavandula* türlerinde bulunan antosiyanidin yapısındaki bileşikler.

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Bitki	Kaynak
Delfinidin	OH	OH	OH	OH	<i>L. angustifolia</i>	(48)
Malvidin	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	<i>L. angustifolia</i>	(48)
Delfinidin 3-(6''-p-kumarilglukozit)-5-glukozit	OH	OH	O-(6'-p-kumaril)-Glu	O-Glu	<i>L. stoechas</i>	(24)
Delfinidin 3-(6''-p-kumarilglukozit)-5-(6'''-malonilglukozit)	OH	OH	O-(6'-p-kumaril)-Glu	O-(6''-malonil)-Glu	<i>L. stoechas</i>	(24)
Delfinidin 3-(6''-p-kumarilglukozit)-5-(4''',6'''-dimalonilglukozit)	OH	OH	O-(6'-p-kumaril)-Glu	O-(4'', 6''-dimalonil)-Glu	<i>L. dentata</i>	(24)
Malvidin 3-(6''-p-kumarilglukozit)-5-glukozit	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	O-(6'-p-kumaril)-Glu	O-Glu	<i>L. dentata</i>	(24)
Malvidin 3-(6''-p-kumarilglukozit)-5-(6'''-malonilglukozit)	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	O-(6'-p-kumaril)-Glu	O-(6''-malonil)-Glu	<i>L. dentata</i> <i>L. stoechas</i>	(24) (24)
Malvidin 3-(6''-p-kumarilglukozit)-5-dimalonilglukozit	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	O-(6'-p-kumaril)-Glu	O-dimalonil-Glu	<i>L. stoechas</i>	(24)
Siyanidin 3-(6''-p-kumarilglukozit)-5-(6'''-malonilglukozit)	OH	H	O-(6'-p-kumaril)-Glu	O-(6''-malonil)-Glu	<i>L. stoechas</i>	(24)

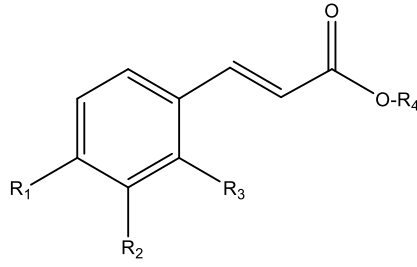
### c. Fenolik Asitler ve Basit Fenoller



**Tablo 2.13.** *Lavandula* türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-1.

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Bitki	Kaynak
4-Hidroksibenzoik asit	H	OH	H	OH	<i>L. angustifolia</i>	(43)
Protokateşik asit (3,4-dihidroksibenzoik asit)	OH	OH	H	OH	<i>L. angustifolia</i>	(43, 45)
					<i>L. dentata</i>	(38)
					<i>L. x intermedia</i>	(46)
					<i>L. stoechas</i>	(38)
Gallik asit	OH	OH	OH	OH	<i>L. angustifolia</i>	(45)
Vanilik asit	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OH	<i>L. angustifolia</i>	(45)
					<i>L. dentata</i>	(38)
					<i>L. stoechas</i>	(38)
Siringik asit	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	<i>L. angustifolia</i>	(45)
3,4-Dihidroksibenzaldehit	OH	OH	H	H	<i>L. angustifolia</i>	(43)
4-(1-hidroksi-1-metiletıl) benzoik asit	H	$\begin{array}{c} \text{C}-(\text{CH}_3)_2 \\   \\ \text{OH} \end{array}$	H	OH	<i>L. angustifolia</i>	(56)
4-Hidroksibenzoik asit	H	O-(6-O-sulfo)Glu	H	OH	<i>L. dentata</i>	(38)
4-(6-O-sulfo)glukozit					<i>L. stoechas</i>	(38)
3-(3,4-dimetoksi-5-metilfenil)-3-oksopropil asetat	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OCOCH <sub>3</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(57)
3-Hidroksi-1-(3,4-dimetoksi-5-metilfenil)propan-1-on	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OH	<i>L. angustifolia</i>	(57)

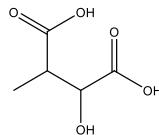
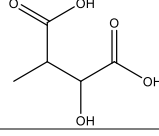
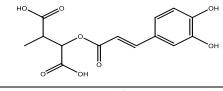
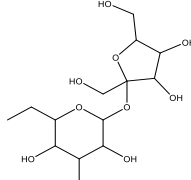
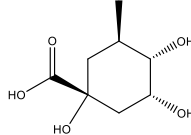
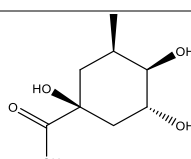
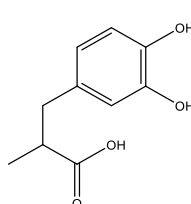




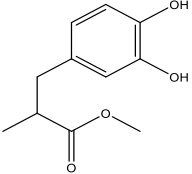
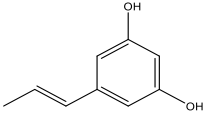
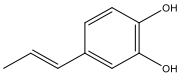
**Tablo 2.14.** *Lavandula* türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-2.

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Bitki	Kaynak
<i>o</i> -Kumarik asit (2-hidroksisinnamik asit)	H	H	OH	H	<i>L. angustifolia</i>	(43, 44)
					<i>L. stoechas</i>	(58)
<i>p</i> -Kumarik asit (4-hidroksisinnamik asit)	OH	H	H	H	<i>L. angustifolia</i>	(43, 45, 59, 60)
Metil <i>p</i> -kumarat	OH	H	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. stoechas</i>	(29)
Trans/cis-melilotozit	H	H	O-Glu	H	<i>L. angustifolia</i>	(59)
2- <i>O</i> -glukozil 4-metoksi kumarik asit	OCH <sub>3</sub>	H	O-Glu	H	<i>L. angustifolia</i>	(44)
					<i>L. angustifolia</i>	(33, 34, 43, 45, 60)
Kafeik asit	OH	OH	H	H	<i>L. x intermedia</i>	(46)
					<i>L. latifolia</i>	(53)
					<i>L. stoechas</i>	(58)
					<i>L. angustifolia</i>	(43)
Metil kafeat	OH	OH	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. dentata</i>	(38, 49)
					<i>L. stoechas</i>	(29, 38, 49)
Ferulik asit	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. angustifolia</i>	(33, 45)
					<i>L. stoechas</i>	(58)
Ferulik asit-4- <i>O</i> -glukozit	O-Glu	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. angustifolia</i>	(33, 57, 61)
2-( $\beta$ -D-glukoziloksi)-trans/cis-sinnamik asit bütül ester	H	H	O-Glu	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(59)
<i>trans</i> -2- $\beta$ -D-glukoziloksi-4-metoksi sinnamik asit	OCH <sub>3</sub>	H	O-Glu	H	<i>L. angustifolia</i>	(59)

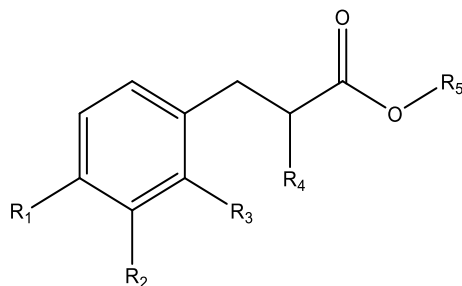
**Tablo 2.14.** *Lavandula* türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-2 (devam).

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Bitki	Kaynak
Kafeoil tartarik asit (kaftarik asit)	OH	OH	H		<i>L. dentata</i>	(38)
					<i>L. stoechas</i>	(38)
Feruloil tartarik asit (fertarik asit)	OH	OCH <sub>3</sub>	H		<i>L. stoechas</i>	(38)
Dikafeoil tartarik asit (kikorik asit)	OH	OH	H		<i>L. stoechas</i>	(38)
6-Kafeoilsükroz	OH	OH	H		<i>L. dentata</i>	(38)
					<i>L. stoechas</i>	(38)
Klorojenik asit (3- <i>O</i> -Kafeoilkinik asit)	OH	OH	H		<i>L. angustifolia</i>	(33, 60)
					<i>L. dentata</i>	(38)
					<i>L. x intermedia</i>	(46)
					<i>L. lanata</i>	(24)
					<i>L. minutolii</i>	(24)
					<i>L. multifida</i>	(24)
Neoklorojenik asit (5- <i>O</i> -Kafeoilkinik asit)	OH	OH	H		<i>L. angustifolia</i>	(53)
					<i>L. x intermedia</i>	(53)
					<i>L. latifolia</i>	(53)
Rozmarinik asit	OH	OH	H		<i>L. angustifolia</i>	(33, 44, 56, 59)
					<i>L. canariensis</i>	(24)
					<i>L. dentata</i>	(38, 49)
					<i>L. x intermedia</i>	(46)
					<i>L. lanata</i>	(24)
					<i>L. latifolia</i>	(53)
					<i>L. luisieri</i>	(27)
					<i>L. pedunculata</i>	(24)
<i>L. pinnata</i>	(24)					
<i>L. stoechas</i>	(24, 38, 49)					

**Tablo 2.14.** *Lavandula* türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-2 (devam).

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Bitki	Kaynak
Metil rozmarinat					<i>L. angustifolia</i>	(59)
					<i>L. dentata</i>	(38)
					<i>L. stoechas</i>	(38)
Nepetoidin A	OH	OH	H		<i>L. x allardii</i>	(62)
					<i>L. angustifolia</i>	
					<i>L. aristibracteata</i>	
					<i>L. bipinnata</i>	
					<i>L. buchii</i>	
					<i>L. canariensis</i>	
					<i>L. coronopifolia</i>	
					<i>L. dentata</i>	
					<i>L. dhofarensis</i>	
					<i>L. lanata</i>	
					<i>L. latifolia</i>	
					<i>L. luisieri</i>	
					<i>L. mairei</i>	
					<i>L. maroccana</i>	
					<i>L. minutolii</i>	
					<i>L. multifida</i>	
					<i>L. pinnata</i>	
<i>L. pubescens</i>						
<i>L. rotundifolia</i>						
<i>L. tenuisecta</i>						
<i>L. viridis</i>						
Nepetoidin B	OH	OH	H		<i>L. x allardii</i>	(62)
					<i>L. angustifolia</i>	
					<i>L. aristibracteata</i>	
					<i>L. bipinnata</i>	
					<i>L. buchii</i>	
					<i>L. canariensis</i>	
					<i>L. coronopifolia</i>	
					<i>L. dentata</i>	
					<i>L. dhofarensis</i>	
					<i>L. lanata</i>	
					<i>L. latifolia</i>	
					<i>L. luisieri</i>	
					<i>L. mairei</i>	
					<i>L. maroccana</i>	
					<i>L. minutolii</i>	
					<i>L. multifida</i>	
					<i>L. pinnata</i>	
<i>L. pubescens</i>						
<i>L. rotundifolia</i>						
<i>L. tenuisecta</i>						
<i>L. viridis</i>						

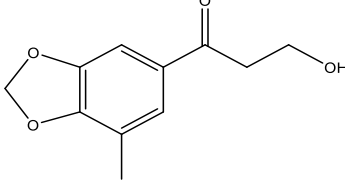
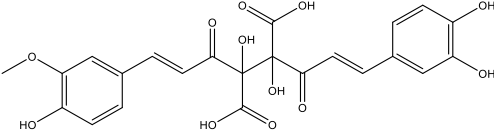
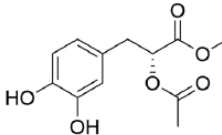
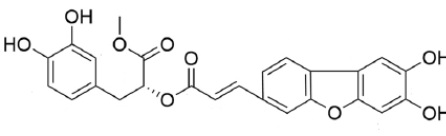
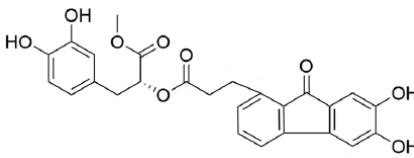
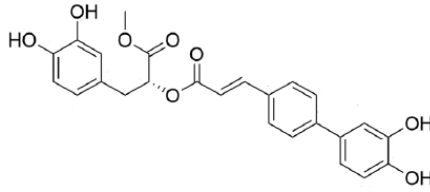
Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Bitki	Kaynak
<i>Trans/cis</i> -4- <i>O</i> -metil kafeik asit oktanol ester	OCH <sub>3</sub>	OH	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH <sub>3</sub>	<i>L. stoechas</i>	(40)



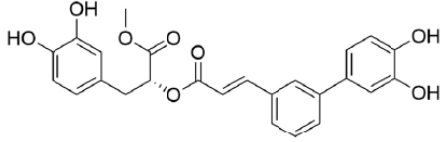
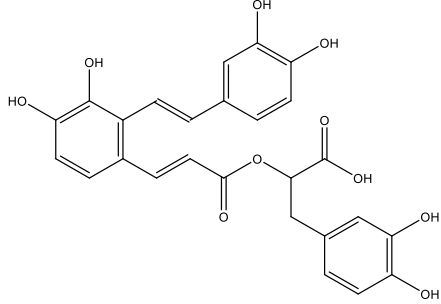
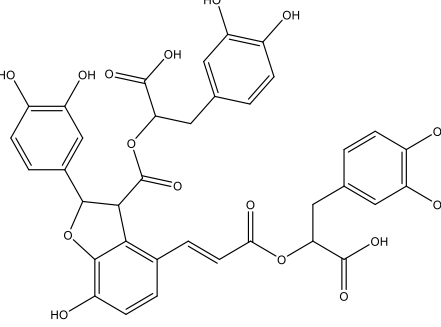
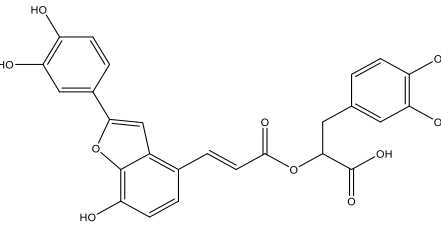
**Tablo 2.15.** *Lavandula* türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-3.

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	Bitki	Kaynak
Dihidrokafeik asit	OH	OH	H	H	H	<i>L. dentata</i>	(38)
						<i>L. stoechas</i>	(38)
3-(2-metoksifenil) propionik asit	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>L. angustifolia</i>	(43)
$\beta$ -(4-hidroksifenil)laktik asit	OH	H	H	OH	H	<i>L. angustifolia</i>	(43)
3-(3,4-dihidroksifenil)-2-hidroksi-propanoik asit (3,4-dihidroksifenillaktik asit)	OH	OH	H	OH	OH	<i>L. dentata</i>	(38, 49)
						<i>L. stoechas</i>	(38, 49)
Metil-2-hidroksi-3-(4-hidroksifenil)propanoat	OH	H	H	OH	CH <sub>3</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(43)
Metil 3-(3,4-dihidroksifenil)propanoat	OH	OH	H	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(56)
Metil 2-hidroksi-3-(3,4-dihidroksifenil)propanoat	OH	OH	H	OH	CH <sub>3</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(43)
Metil-3-(2-hidroksi-4-metoksifenil)propanoat	OCH <sub>3</sub>	H	OH	H	CH <sub>3</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(43)
2- <i>O</i> - $\beta$ -D- glukoziloksi-4-metoksi benzen propanoik asit	OCH <sub>3</sub>	H	O-Glu	H	H	<i>L. angustifolia</i>	(59)
Dikotomozit E	O-Glu	OCH <sub>3</sub>	H	H	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(34)

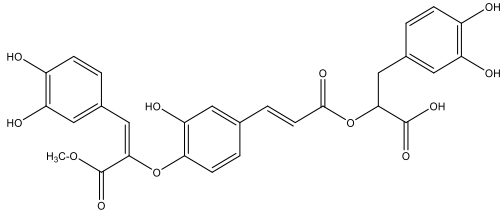
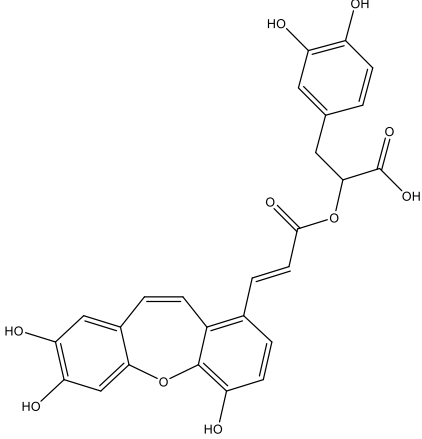
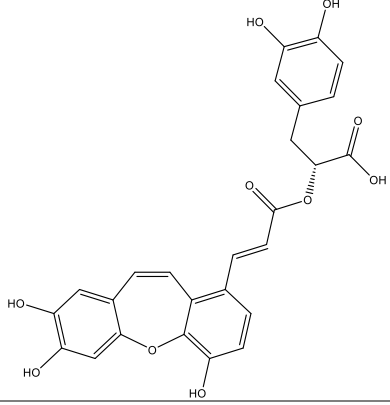
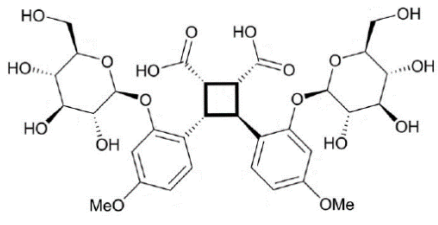
**Tablo 2.16.** *Lavandula* türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-4.

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
3-hidroksi-1-(4-metilbenzo[d][1,3]dioxol-6-il) propan-1-on		<i>L. angustifolia</i>	(57)
Kafeoil feruloil tartarik asit		<i>L. stoechas</i>	(38)
Lavandunat		<i>L. angustifolia</i>	(56)
Lavandufurandiol		<i>L. angustifolia</i>	(56)
Lavandufluoren		<i>L. angustifolia</i>	(56)
Lavandudifenil A		<i>L. angustifolia</i>	(56)

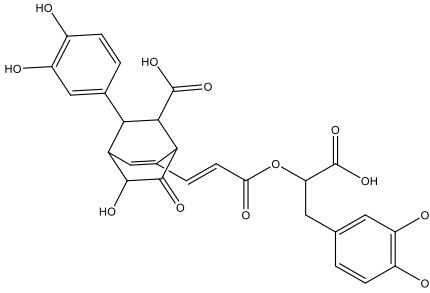
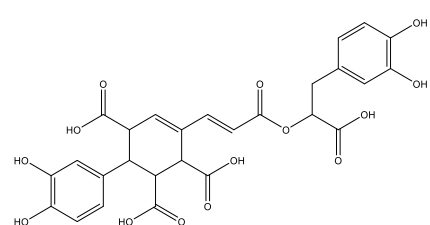
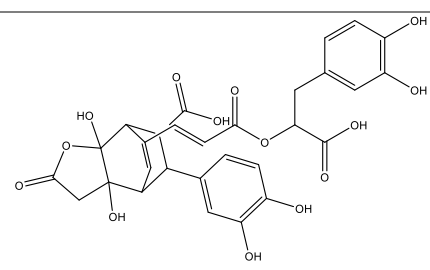
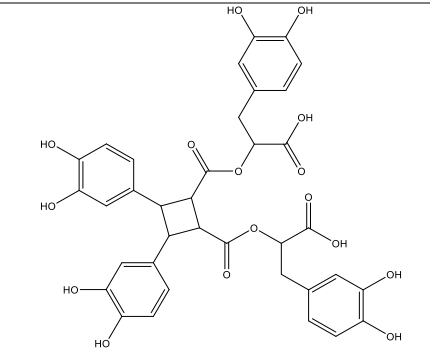
**Tablo 2.16.** *Lavandula* türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-4 (devam).

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Lavandudifenil B		<i>L. angustifolia</i>	(56)
Salvianolik asit A		<i>L. dentata</i> <i>L. stoechas</i>	(38) (38)
Salvianolik asit B (Litospermik asit B)		<i>L. stoechas</i>	(38, 49)
Salvianolik asit C		<i>L. dentata</i> <i>L. stoechas</i>	(38) (38)

**Tablo 2.16.** *Lavandula* türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-4 (devam).

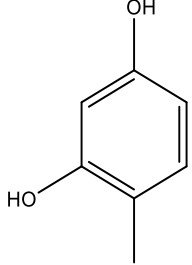
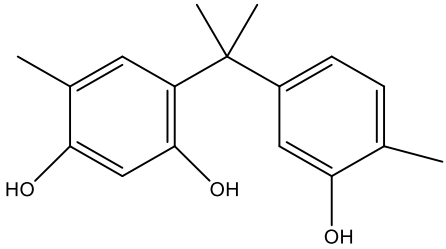
Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Metil melitrat/litospermat		<i>L. stoechas</i>	(38)
İzosalvianolik asit A		<i>L. stoechas</i>	(38)
İzosalvianolik asit C		<i>L. angustifolia</i>	(56)
4,4'dimetoksi-2,2'di-O-β-D-glukopiranozil-truksinat		<i>L. angustifolia</i>	(59)

**Tablo 2.16.** *Lavandula* türlerinde bulunan fenolik asit yapısındaki bileşikler-4 (devam).

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Yunnaneik asit D		<i>L. dentata</i>	(38)
		<i>L. stoechas</i>	(38)
Yunnaneik asit E		<i>L. dentata</i>	(38)
		<i>L. stoechas</i>	(38)
Yunnaneik asit F		<i>L. dentata</i>	(38, 49)
		<i>L. stoechas</i>	(38, 49)
Sagerinik asit		<i>L. dentata</i>	(38)
		<i>L. stoechas</i>	(38)



**Tablo 2.17.** *Lavandula* türlerinde bulunan basit fenol yapısındaki bileşikler.

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
4-metil rezorsinol		<i>L. gibsonii</i>	(26)
[2-(2,4-dihidroksi-5-metilfenil)-2-(3'-hidroksi-4'-metilfenil)]propan		<i>L. gibsonii</i>	(26)

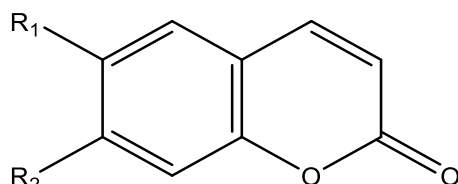
Lavandinin buhar distilasyonu sonrasında kalan materyalin metanol ile maserasyonu sonucu elde edilen ekstre üzerinde yürütülen LC/MS/MS çalışmasında ekstre içeriğinde kumarik, ferulik, kafeik asit-*O*-glukozit izomerleri, trihidroksisinnamik asit *O*-glukozit ile rozmarinik asit metil esterinin bulunduğu belirlenmiştir (46).

*L. stoechas* ve *L. dentata*'nın toprak üstü kısımlarının sulu metanol ile hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstrelerin HPLC-MS ile analizi her iki ekstrede de kumarik asit heksozit ve hidroksi hidrosinamik asit glukozidin varlığını göstermiştir (49). Başka bir çalışmada *L. stoechas* ve *L. dentata*'nın toprak üstü kısımlarının sulu metanol ile basınçlı sıvı ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstrelerin HPLC-MS analizi sonucunda her iki ekstrede de hidroksibenzoik asit, dihidroksibenzoik asit di-pentozit, vanilik asit sülfokinovozit, 3-(3,4-dihidroksifenil)-2 hidroksipropanoik asit heksozit, kafeik asit türevleri, ferulik asit türevi, kafeoil heksozit, kafeoil heksozit türevi, kumarik asit heksozit, hidroksi hidrosinamik asit glukozit, rozmarinik asit heksozit ve salvianolik asit C izomerinin mevcut olduğu tanımlanmıştır. Bununla birlikte, kumarik asit pentozit heksozit, ferulik asit heksozit, yunnaneik asit E izomeri ve bir kafeik asit türevi yalnızca *L. dentata*'da;

metil dihidroksibenzoik asit türevi, bir kafeoil heksozit ve hidroksibenzoik asit izomeri yalnızca *L. stoechas*'da tespit edilmiştir (38).

*L. angustifolia* yaprak ve çiçek ekstresinin HPLC ile analizi sonucunda, kafeoil glikoz, feruloil kinik asit ve dikaffeoil kinik asidin varlığı belirlenmiştir (33).

#### d. Kumarinler



**Tablo 2.18.** *Lavandula* türlerinde bulunan kumarin yapısındaki bileşikler-1.

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Bitki	Kaynak
Kumarin	H	H	<i>L. angustifolia</i>	(43, 44, 48)
			<i>L. dentata</i>	(24)
			<i>L. gibsonii</i>	(26)
			<i>L. x intermedia</i>	(53)
			<i>L. latifolia</i>	(24, 28)
Umbelliferon (7-hidroksikumarin)	H	OH	<i>L. dentata</i>	(24)
Eskuletin (6,7-dihidroksikumarin)	OH	OH	<i>L. dentata</i>	(38)
			<i>L. stoechas</i>	(38)
Herniarin (7-metoksikumarin)	H	OCH <sub>3</sub>	<i>L. angustifolia</i>	(43, 44, 48, 63)
			<i>L. dentata</i>	(24)
			<i>L. latifolia</i>	(24, 28)

**Tablo 2.19.** *Lavandula* türlerinde bulunan kumarin yapısındaki bileşikler-2.

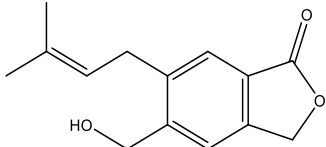
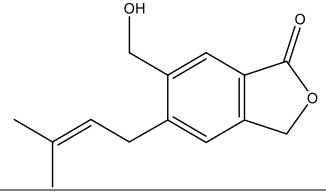
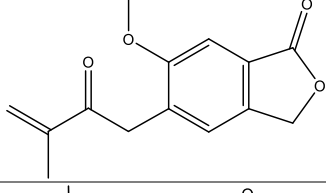
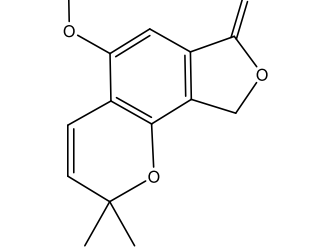
Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Lavandupiron A		<i>L. angustifolia</i>	(56)
Lavandupiron B		<i>L. angustifolia</i>	(56)

### e. Benzofuran Türevleri

**Tablo 2.20.** *Lavandula* türlerinde bulunan benzofuran yapısındaki bileşikler.

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
Ebenfuran IV		<i>L. angustifolia</i>	(64)
İteafurantal B		<i>L. angustifolia</i>	(64)
2-(2'-metoksi-4'-hidroksi)- aril-3-metil-6-hidroksi- benzofuran		<i>L. angustifolia</i>	(64)
4-(5-(2-Hidroksietil)-7- metoksi-3-metilbenzofuran- 2-il)fenol		<i>L. angustifolia</i>	(64)
2-(6-Metoksi-2-(4- metoksifenil)-3- metilbenzofuran-5-il) etanol		<i>L. angustifolia</i>	(64)
2-(7-Metoksi-2-(4- metoksifenil)- 3metilbenzofuran-5-il) etanol		<i>L. angustifolia</i>	(64)
3-hidroksi-1-(6-metoksi- 1,3-dihidroizobenzofuran- 5-il) propan-1-on		<i>L. angustifolia</i>	(65)
5-metoksi-6-(2- oksopropil)izobenzofuran- 1(3H)-on		<i>L. angustifolia</i>	(65)

**Tablo 2.21.** *Lavandula* türlerinde bulunan benzofuran yapısındaki bileşikler (devam).

Bileşik	Formül	Bitki	Kaynak
5-hidroksimetil-6-prenil-izobenzofuran-1(3H)-on		<i>L. angustifolia</i>	(65)
Lavandulakton A		<i>L. angustifolia</i>	(65)
Lavandulakton B		<i>L. angustifolia</i>	(65)
Lavandulakton C		<i>L. angustifolia</i>	(65)

### f. Diğer Bileşikler

*L. stoechas* ve *L. dentata*'nın toprak üstü kısımlarının sulu metanol ile basınçlı sıvı ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstratlarının HPLC–MS analizi sonucunda lignan yapısında bir bileşik olan izolarisiresinol heksozit, bir disakkarit, üç organik asit (sitrik ve izositrik asit, glukonik veya galaktonik asit), üç adet jasmonik asit türevi ve trihidroksi oktadekadienoik asit tespit edilmiştir (1, 38). *L. angustifolia* yaprak ve çiçek ekstratlarının HPLC ile analizi sonucunda bir gallotanen olan Galloil-HHDP-glukoz tespit edilmiştir (33). 2-N-fenilaminonaftalin azotlu bileşiği de Papanov ve arkadaşları tarafından *L. vera*'dan izole edilmiştir (1, 63).

*L. angustifolia*'nın çiçeklerinin metanol ve sulu metanol maseratlarının HPLC ile analizi sonucunda her iki maseratta da gallik asit ve elajik asidin varlığı gösterilmiştir (60).

*L. gibsonii*'nin aseton ekstresinden yağ asidi ve esteri yapısında 3-asetoksi-16-metilheptadekanoik asit ve metil 3-asetoksi-16-metilheptadekanoat izole edilmiştir (41).

Wu ve arkadaşları tarafından *L. angustifolia*'nın %95 etanollü ekstresi üzerinde yapılan çalışmalarda 5'- $\beta$ -D-glukopiranoziloksijasmonik asit, 5'- $\beta$ -D-glukopiranoziloksijasmonik bütül ester ve süksinik asit izole edilmiştir (34).

### 2.2.2. *Lavandula* Türlerinin Geleneksel Kullanımı

“Lavender” teriminin, Latince suyla yıkamak, banyo yapmak anlamında kullanılan 'lavare' fiilinden geldiği düşünülmektedir. Romalılar banyolarında parfüm olarak lavanta dahil olmak üzere pek çok bitkiyi kullanmışlardır. Daha az kabul gören başka bir açıklama da Latince canlı veya mavimsi anlamına gelen 'livere' kelimesiyle ilişkilendirilmesidir.

Lavanta antik çağlardan bu yana tıbbi bir bitki olarak kullanılmıştır ve muhtemelen Stoechades adalarında (şimdi Hyeres olarak bilinen) yetişen *L. stoechas* ilk kez Dioscorides tarafından bahsedilmiştir. Dioscorides bitkinin laksatif ve canlandırıcı özellikleri olduğunu belirtmiş ve göğüs şikayetleri için çay benzeri bir hazırlama şekliyle kullanılmasını tavsiye etmiştir. Lavanta, Galen tarafından zehir ve ısırıklar için panzehirler listesine eklenmiştir. Şarap içindeki lavantanın yılan ısırıkları, karın ağrıları, karaciğer, böbrek ve safra rahatsızlıkları, sarılık ve ödem için kullanıldığı kayıtlıdır. Ayrıca yas dönemlerinde ve menstrüasyonu düzenlemek için de kullanılmıştır (66).

Sakarya ilinde yürütülen çalışmada *L. stoechas*'ın toprak üstü kısımlarının analjezik, balgam söktürücü, idrar söktürücü amaçlarla ve baş ağrısı, sinir bozukluğu, uykusuzluk, hipertansiyon ve iltihaplı yaralarda infüzyonunun çay olarak kullanıldığı bildirilmiş, yağı ise böcek kovucu olarak rapor edilmiştir (8).

Ülkemizde Ege ve Güney Marmara bölgelerinde bulunan illerimizde yürütülen bir etnobotanik çalışmada *L. stoechas*'ın çiçek, çiçek ve yaprakları, toprak üstü kısımlarının basur, baş ağrısı, sinüzit, mide ağrıları, mafsal ağrıları, kalp rahatsızlığı, kalp damar tıkanıklığı, damar sertliği, solunum yolu rahatsızlıkları, soğuk algınlığı, bronşit, öksürük, nefes darlığı, beyin-kalp rahatsızlığı, kanser, uykusuzluk, sara şikayetlerinde, ağrı kesici, tansiyon düşürücü, kolesterol düşürücü, damar açıcı, kalbi kuvvetlendirici, mikrop öldürücü, balgam sökücü, solunum yollarını açıcı, şeker düşürücü, sinir sistemindeki uyuşuklukları giderici, hafızayı güçlendirici gibi birçok kullanımı bildirilmiştir (6). Aynı yazarlar tarafından yayınlanan diğer bir çalışmada, bitkinin halk arasında kullanım amaçlarında stres giderici etki ve kadınlarda mantar hastalıklarına karşı kullanımı da yer almaktadır. Aynı çalışmada *L. officinalis*'in

yaprak ve çiçeklerinin kaynatılmasıyla elde edilen suyun cilt bakımında kullanıldığı da belirtilmiştir (67).

İzmir’de halk arasında *L. angustifolia* Mill.’nin kurutulmuş çiçeklerinin infüzyonunun hazımsızlık, uykusuzluk, stres tedavisinde ve karminatif, diüretik amaçlı kullanıldığı; *L. stoechas* yapraklarının infüzyonunun ise kanser tedavisinde, ekspektoran olarak farenjit tedavisinde, üriner sistem hastalıklarında antiseptik ve analjezik amaçlı, kan dolaşımı bozuklukları, kardiyak yetersizlikte, vazodilatör olarak kullanıldığı raporlanmıştır (68).

Bilecik’te yara iyileştirme amacıyla *L. stoechas* L. subsp. *cariensis* çiçekleri infüzyonunun dahilen çay olarak tüketildiği kayıtlanmıştır (69).

Muğla’nın Marmaris ilçesinde *L. stoechas*’ın topraküstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın haricen ağrılarda kullanıldığı rapor edilmiştir. Çiçek kısmının infüzyon olarak kardiyovasküler hastalıklarda; topraküstü kısmının infüzyon ve dekoksyonu halinde karın ağrısı, öksürük, şeker hastalığı, prostatit, ağrı, yüksek kolesterol, soğuk algınlığı, uykusuzluk, bronşit ve astımda kullanıldığı bildirilmiştir. Bitkinin aromatik suyunun yüksek kolesterol, hipertansiyon, jinekolojik hastalıklarda kullanımı ile balgam söktürücü amaçla kullanımı da belirlenmiştir (7).

Çanakkale ili Bayramiç ilçesinde de yöre halkı tarafından *L. stoechas*’ın toprak üstü kısımları infüzyonunun benzer şekilde kalp hastalıkları, karın ağrısı, soğuk algınlığı, nefes darlığı şikayetlerinde ve bağışıklık uyarıcı amaçla kullanıldığı belirtilmiştir (70).

Ülkemizde halk arasında *L. stoechas* L. subsp. *stoechas*’ın yukarıda belirtilenlerden farklı olarak ürolojik hastalıklar, böbrek taşı, ülser, nöral hastalıklar, baş dönmesi, sigara bırakma, adet düzensizliği, emboli, obezite, romatizma, kas-iskelet hastalığında ve sedatif, dijestif, karminatif, kepek önleyici amaçla kullanımı olduğu belirlenmiştir (7, 9, 71-73).

Yunanistan’ın Girit adasında *L. stoechas*’ın uçucu yağı ve yapraklarının infüzyonunun spazmolitik amaçlı, diyabet, menstrüel ağrılar, böbrek taşı, çıban, kulak iltihabı ve hipertansiyon tedavisinde kullanımı ile kuru bitki materyalinin böcek kovucu olarak kullanımı bildirilmiştir (74).

Portekiz’de *L. stoechas* subsp. *luisieri*’nin çiçeklerinin infüzyonunun oral yolla mide ekşimesi, deniz tutması, kan dolaşımını düzenlemede ve sedatif amaçlı; toprak üstü kısımları infüzyonunun haricen deri hastalıklarında ve nazal dekonjestan amaçlı kullanımı bildirilmiştir (75). *L. angustifolia* ve *L. pedunculata*’nın çiçekli toprak üstü kısımları ve çiçeklerinin infüzyonunun oral yolla anksiyete, uykusuzluk, anoreksiya, bronşit, öksürük tedavisinde, *L. angustifolia* ayrıca sinir bozukluğu, romatizma ve kalp rahatsızlıklarında kullanımı kayıtlıdır (76).

Sardunya adasında halk arasında *L. stoechas* yapraklarının infüzyon yoluyla astım, baş ağrısı, çarpıntı için kullanıldığı raporlanmıştır (77).

Bosna Hersek’te *L. angustifolia* Mill. ve *L. stoechas* L.’in çiçek, toprak üstü kısımları ve tüm bitkinin haricen kepek tedavisinde kullanıldığı kayıtlıdır (78).

İspanya’da *L. pedunculata*’nın çiçek durumunun infüzyon ya da kaynamış suyla hazırlanan ekstrelerinin oral/inhalasyon yoluyla soğuk algınlığına karşı kullanıldığı, yine infüzyonunun oral alım ile disfoniye, gargara ile diş ağrısına karşı kullanımı belirlenmiştir. Dallarının dekoksasyonun haricen ayak yaralanmalarında, yakılması yoluyla duman oluşturularak haricen soğuktan el ve ayaklarda oluşan kızarıklığa karşı kullanımı bildirilmiştir (79). İspanya’da yapılan bir diğer etnobotanik çalışmada *L. lanata*’nın dijestif rahatsızlıklar, tenezimli diyare, dolaşım bozuklukları, soğuk algınlığı, ağrı, baş ağrısı, yara tedavisinde; *L. latifolia*’nın ağrı tedavisinde ve afrodisyak amaçlı; *L. stoechas*’ın diyabet, dijestif rahatsızlıklar, ülser, öksürük, böbrek taşı, hiperkolesterolemi, soğuk algınlığı, dolaşım bozuklukları, romatizma ve yara tedavisinde kullanımı bildirilmiştir (80).

İtalya’nın kuzeybatısındaki Ligurya Alpleri’nde yürütülen çalışmada *L. angustifolia* Mill.’nin çiçek durumlarının dekoksasyonunun gargara yoluyla astımda, buhar distilatının soğuk algınlığında, yağının masaj yoluyla kas ağrılarında, alkollü maseratının alına uygulanarak baş ağrısında kullanıldığı kayıtlıdır (81). İtalya’da yürütülen diğer bir çalışmada, *Lavandula* türlerinin çiçeklerinin su içerisinde yara temizlemede, alkollü maseratının bit tedavisinde, kuru formunun çocukların uykusuna yardımcı olmak için yatak kenarlarına yerleştirilerek kullanıldığı belirlenmiştir (82). İtalya’nın Cava de’ Tirreni bölgesinde yürütülen bir etnobotanik çalışmada, *L. angustifolia* Mill.’nin çiçeklerinden hazırlanan dekoksasyonun gastrointestinal ve



üriner hastalıklara karşı, infüzyonunun *Papaver rhoeas* petalleriyle birlikte sedatif amaçlı kullanımı raporlanmıştır. Çiçekli dallarının ise her derde deva olarak bilinen, birçok bitkinin karışımından oluşan 'ricotto'nun içeriğinde yer aldığı belirtilmiştir (83). İtalya ve Malta'da *L. angustifolia* Mill.'nin sedatif, kolagog, antispazmodik, antidiyareik, karminatif, böcek kovucu, antiseptik, antiromatizmal ve öksürüğe karşı etnobotanik kullanımı kayıtlıdır (84).

Sırbistan'da *L. angustifolia* Mill.'nin çiçek ve dallarının uykusuzluğa karşı ve sedatif kullanımı kayıtlıdır (85).

Fas'ın Meknes şehrinde yürütülen çalışmada *L. angustifolia* Mill.'nin çocuklarda ağrı ve intestinal kolik tedavisinde ve sakinleştirici özellikleri nedeniyle sıklıkla kullanıldığı belirlenmiştir (86). Fas'da yürütülen diğer çalışmalarda halk arasında *L. dentata*'nın yaprak, çiçek, tüm bitki kısımlarının dekoksion, infüzyon ya da toz şeklinde dijestif amaçlı, soğuk algınlığı, üreme sistemi (afrodizyak, fertilité, menstrüel problemler), nörolojik ve ürolojik rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığı, *L. stoechas*'ın yaprak ve tüm bitki kısımlarının ise dekoksion, infüzyon ya da toz şeklinde dijestif amaçlı, kolesterol ve diyabet tedavisinde kullanıldığı belirlenmiştir (87, 88). Diğer bir çalışmada Fas'ta bu üç *Lavandula* türünün (*L. maroccana*, *L. dentata*, *L. stoechas*) halk arasında diyabet tedavisinde kullanıldığı raporlanmıştır (89). Fas'ta *L. coronopifolia*'nın çiçeklerinin infüzyonunun oral yolla antiseptik, diüretik, sedatif, ısıtıcı amaçlı ve romatizma tedavisinde; toprak üstü kısımlarının dekoksionunun vajina uygulanarak uterus inflamasyonunda, menstrüel ağrılarda ve vajinal antiseptik olarak; toprak üstü kısımlarının dekoksionu/toz halinin haricen mikrobiyal enfeksiyonlarda; toprak üstü kısımlarının dekoksionunun oral yolla mide rahatsızlıklarında, hepatitte ve çocuklarda diyarede, çayının ise soğuk algınlığı, göğüs ağrısı, kolik, mide ekşimesinde ve spazmolitik amaçlı kullanımı bildirilmiştir. Aynı makalede endemik bir tür olan *L. mairei* Humbert'nin toprak üstü kısımlarının dekoksion/infüzyonunun oral yolla diyabet, regl ağrısı, kolik, hepatit, gastrointestinal hastalıklar, akciğer rahatsızlıkları, mide rahatsızlıkları, mikrobiyal enfeksiyon, baş ağrısı, ateş tedavisinde; çiçeklerinden yapılan çayın ise şişkinlik, sistit, öksürük, astımda etnobotanik kullanımı raporlanmıştır. Diğer endemik bir tür olan *L. maroccana*'nın ise toprak üstü kısımlarının dekoksion/infüzyonunun oral yolla baş ağrısı, ateş, diyabet, menstrüel ağrılarda kullanımı ve hipotansif etkisi ile yapraklı

gövdesinin infüzyonunun oral yolla tüketilerek kanser tedavisinde kullanıldığı kayıtlıdır (90, 91)

Cezayir'deki çalışmalarda *L. pubescens* subsp. *antineae* (Maire)'nin toprak üstü kısmı ve yapraklarının diyabet, öksürük, soğuk algınlığı, romatizma tedavisinde; *L. stoechas*'ın yaprak ve çiçeklerinin ise dijestif amaçla, başka bir çalışmada ise depresyonda; *L. latifolia*'nın dijestif rahatsızlıklar, romatizma, astım ve öksürük, akne ve yara tedavisinde ve antihipertansif, hipoglisemik, antiseptik, antispazmodik kullanımı raporlanmıştır (92-94).

Cibuti'de *L. coronopifolia*'nın karın ağrısı, böbrek ağrısı, diyabet, güneş yanığı tedavisinde kullanımı raporlanmıştır (95).

Lübnan'da *L. stoechas*'ın çiçekli kısımlarının infüzyon şeklinde gastrointestinal rahatsızlıklarda, romatizma tedavisinde, antiseptik, spazmolitik ve kardiyotonik amaçlarla kullanıldığı kayıtlıdır (96).

### 2.2.3. *Lavandula* Türleri Üzerindeki Biyolojik Etki Çalışmaları

Literatürde yer alan, *Lavandula* türleri üzerinde yürütülmüş biyolojik etki çalışmaları ilgili başlıklar altında özetlenerek bu bölümde sunulmuştur.

#### Antioksidan Aktivite

Ülkemizde yapılan bir çalışmada Aydın ilinde 15 farklı lokaliteden toplanan *L. stoechas* *L. subsp. cariensis* bitkisinin su ve metanol ekstralarının antioksidan aktivitesi DPPH radikali süpürücü etkinlik ve indirgeyici güç analizleri ile araştırılmıştır. Çalışmada hem su hem metanol ekstresinde en yüksek fenolik madde içeriğine sahip örneğin en iyi antioksidan etkiyi gösterdiği bulunmuş, fenolik madde ve antioksidan aktivite arasında korelasyon olduğu görülmüştür (97).

Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada *L. stoechas* yapraklarından hazırlanan metanol ekstresinin antioksidan aktivitesi  $\beta$ -karoten-linoleat ağartma, DPPH radikal süpürücü etkinlik ve demir iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (FRAP) yöntemleri ile araştırılmıştır. En yüksek aktivite DPPH radikal süpürücü etkinlik testinde gösterilmiş olup, bu test için IC<sub>50</sub> değeri 300  $\mu$ g/mL bulunmuştur. Folin-ciocalteu yöntemiyle ekstrenin toplam fenolik bileşik miktarı 105,5 mg/g gallik asit ekivalan olarak belirlenmiştir. Ekstre üzerinde yürütülen HPLC çalışmasında rozmarinik asit, kafeik asit, kersetin ve rutin ekstredeki ana fenolik bileşenler olarak belirlenmiştir.

*L. stoechas* subsp. *luisieri* ve *L. pedunculata*'nın çiçekli toprak üstü kısımları üzerinde yapılan bir çalışmada, toz edilmiş bitki materyallerinden sırasıyla *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat, metanol ve su ekstraları hazırlanmıştır. Clevenger aparatı ile gerçekleştirilen hidrodistilasyon işlemiyle uçucu yağların eldesi sağlanmıştır. Örnekler arasında toplam fenol miktarı kıyaslandığında beklendiği gibi her iki bitkide de polar fraksiyonlar olan metanol ve su ekstralarında daha yüksek toplam fenol miktarı olduğu belirlenmiştir. Toplam flavonoit içeriğinin ise her iki türde de uçucu yağ hariç olmak üzere örnekler arasında daha homojen bir dağılımda olduğu görülmüştür. *L. stoechas* subsp. *luisieri*'de en yüksek flavonoit içeriği sırasıyla metanol, su ve diklorometan ekstresinde; *L. pedunculata*'da metanol, diklorometan, hekzan ekstresinde bulunmuştur. Bazıları konsantrasyon bağımlı olmak üzere tüm örneklerin DPPH radikali süpürücü etkinlik gösterdiği; uçucu yağlar ve *L. stoechas*

subsp. *luisieri*'nin etil asetat ekstresi hariç diğer tüm örneklerin pozitif kontrol olan BHT'ye benzer ya da daha yüksek oranda lipid peroksidasyonu inhibisyonu gösterdiği belirlenmiştir. Total flavonoid içeriği ile DPPH süpürücü etkinlik arasında ve yüksek fenol ve flavonoid içeriğiyle lipid peroksidasyonu inhibe edici aktivite arasında korelasyon bulunduğu belirtilmiştir. Ayrıca yapılan DNA koruma testinde, tüm örneklerin Fenton reaksiyonunun neden olduğu hasara karşı DNA bütünlüğünü koruyabildiği gösterilmiştir (98).

Tunus'ta, *L. coronopifolia*, *L. multifida* ve *L. stoechas* subsp. *stoechas* bitkilerinin toprak üstü %80 metanol ekstresi ve uçucu yağları üzerinde yürütülen bir çalışmada, diğer ekstrele göre daha yüksek miktarda fenol ve flavonoid içerdiği belirlenen *L. coronopifolia* metanol ekstresinin daha yüksek antioksidan aktivite (DPPH radikali süpürücü etkinlik, Fe<sup>+2</sup> şelatlama kapasitesi, FRAP) gösterdiği belirlenmiştir. Tüm ekstralar önemli ölçüde antioksidan kapasite gösterirken, metanolik ekstraların uçucu yağlardan daha etkili olduğu da tespit edilmiştir (99).

AB-8 makro gözenekli reçineler ile zenginleştirilmiş %53 flavonoid içeriğine sahip *L. angustifolia* ekstresinden izole edilen maddelerin ekstrede daha yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. DPPH radikali süpürücü etkinlik testinde pozitif kontrol olarak kullanılan vitamin C için IC<sub>50</sub> değeri 1,62 µg/mL iken, izole edilen maddeler arasında en yüksek aktiviteyi rozmarinik asit (IC<sub>50</sub> değeri: 7,66 µg/mL) göstermiştir. Sırasıyla luteolin (14,62 µg/mL), apigenin (34,88 µg/mL), luteolin 7-O-β-D-glukozit (64,04 µg/mL), luteolin 7-O-β-D-glukuronit (71,4 µg/mL) ve apigenin 7-O-β-D-glukozit (103,42 µg/mL) takip etmiştir (100).

Biri *L. angustifolia* olmak üzere Lamiaceae familyasından 3 bitki türünün toprak üstü kısımları üzerinde yürütülen antioksidan etki çalışmasında, bitkilerin sulu metanol ekstralarının konsantrasyona bağımlı olarak önemli ölçüde lipid peroksidasyonunu inhibe ettikleri gösterilmiştir. Bu çalışmada bitkilerin ana fitokimyasal bileşenleri olan rozmarinik asit, kafeik asit, luteolin, luteolin 7-O-glukozit, metil karnosolatın ekstralarındaki konsantrasyonu İTK densitometrik yöntem ile belirlenmiştir. Antioksidan aktivite çalışmaları bu maddeler için de yapılmış, her 3 bitkide de en fazla konsantrasyonda bulunan rozmarinik asidin antioksidan etkiden sorumlu bileşik olabileceği, diğer maddelerin ekstralarındaki konsantrasyonunun

anamlı bir etki oluşturmak için çok düşük düzeyde olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Aynı çalışmada ekstrelerin total hidroksisinnamik asit ve total flavonoit içeriği de araştırılmış, antioksidan potens ile total hidroksisinnamik asit içeriği arasında ilişki olduğu bulunmuştur (101).

Blařeković vd. tarafından yapılan bir çalışmada Hırvatistan'da yerli bir lavandin kùltürü olan *L. x intermedia* 'Budrovka' ve *L. angustifolia*'nın çiçek, yaprak ve çiçekli sap kısımlarından %80 etanol ile ayrı ayrı ekstreler hazırlanmış ve ekstreler üzerinde farklı yöntemlerle (DPPH radikal süpürücü aktivite, demir şelatlama aktivitesi, indirgeyici güç, lipid peroksidasyonu inhibisyonu, fosfomolibden yöntemiyle toplam antioksidan kapasite) antioksidan aktivite çalışmaları yürütülmüştür. Her iki takson için de yaprak ekstresi en etkin bulunurken, çiçek ekstresinin yaprak ekstresine yakın, çiçekli sap ekstresinin ise daha düşük etkinlik gösterdiği bulunmuştur. Ekstreler fenolik asit, flavonoit, antosiyanin, prosiyanidin, total tanen ve total polifenol içeriği açısından da incelenmiştir. Tüm ekstrelerde farklı antioksidan yöntemler (antiradikal aktivite, indirgeyici güç ve lipid peroksidasyon inhibisyonu) ile fenolik asit, prosiyanidin, total tanen ve total polifenol içerikleri arasında güçlü bir korelasyon olduğu, dolayısıyla fenolik bileşiklerin bitkilerin antioksidan özelliklerine önemli katkı sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca HPTLC yöntemiyle, test edilen *Lavandula* ekstrelerinde en çok bulunan polifenolik bileşen olduğu gösterilen rozmarinik asit de çalışma kapsamında ekstrelerle birlikte çalışılmış olup, rozmarinik asidin gözlemlenen antioksidan aktiviteye büyük ölçüde katkıda bulunduğu ve antioksidan aktivitenin esas olarak rozmarinik asit varlığından kaynaklandığı ifade edilmiştir (102).

Gallego ve arkadaşları tarafından yürütölen çalışmada da *L. angustifolia*'nın sulu etanolla (%50) hazırlanan yaprak ekstresinin, gövde ve çiçek ekstrelerinden daha yüksek fenolik madde içerdiği ve daha iyi antioksidan aktivite (ORAC, TEAC, FRAP ve DPPH yöntemleri) gösterdiği belirlenmiştir (103).

*L. pedunculata* subsp. *lusitanica*'nın çiçekli toprak üstü kısımlarının su, etanol, sulu etanol (%50) ekstreleri, infüzyon ve uçucu yağı radikal süpürücü etkinlik (TEAC, ORAC) açısından araştırılmış, infüzyonu en güçlü aktiviteyi gösterirken, uçucu yağ en düşük aktiviteyi göstermiştir. Örneklerin Fe<sup>+2</sup> şelatlama kapasitesi de değerlendirilmiş,

en yüksek aktivite konsantrasyona bağımlı olarak su ve sulu etanol ekstresinde görülürken; uçucu yağ etki göstermemiştir. Lipit peroksidasyonu testinde de benzer şekilde uçucu yağ malondialdehit üretimini önlemezken; infüzyon, su ve sulu etanol ekstrelerinin malondialdehit üretimini önlediği görülmüştür. HPLC analiziyle infüzyon ve ekstrelerin profil analizi yapıldığında ana bileşen rozmarinik asit olmak üzere bazılarında farklı miktarlarda hidroksisinnamik asit (3-*O*-kafeoilkinik, 4-*O*-kafeoilkinik, 5-*O*-kafeoilkinik asit, rozmarinik asit) ve flavonların (luteolin ve apigenin) varlığı tanımlanmıştır (104).

*L. viridis*'in çiçekli toprak üstü kısımlarının metanol ekstresi ile yürütülen bir çalışmada oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) ve troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) testleri kullanılarak ekstrenin güçlü antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. HPLC analiziyle ekstre içerisindeki ana bileşenlerin sırasıyla rozmarinik asit ve luteolin-7-*O*-glukozit olduğu, bununla birlikte 5-*O*-kafeoilkinik asit ve izomerleri ile pinocembrinin de ekstre içerisinde bulunduğu gösterilmiştir. Antioksidan etkinin ekstre içerisinde varlığı gösterilen fenolik asit ve flavonoidlerden kaynaklanabileceği yorumu yapılmıştır. Çalışmada ekstrenin fare beyin dokusunda malondialdehit içeriğini azaltarak Fe<sup>+2</sup> ile indüklenen lipid peroksidasyonunu önlediği de gösterilmiştir, yine bu çalışmada belirlenen ekstrenin güçlü Fe<sup>+2</sup> şelatlama ve OH<sup>-</sup> radikali süpürücü etkilerinin Fe<sup>+2</sup> ile indüklenen lipid peroksidasyonu önlemede katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (105).

### **Antidiyabetik Etki**

Ülkemizde *L. stoechas*'ın toprak üstü kısımlarının sulu ekstresi üzerinde yürütülen bir çalışmada, ekstre önce etil asetat, ardından butanol ile fraksiyonlanmış, fraksiyonların *in vitro* insülin direnci ve inflamasyon modellerinde potansiyel iyileştirici etkileri ve etki mekanizmaları araştırılmıştır. Yürütülen biyokimya, mRNA/protein çalışmaları ve tüm genom transkriptom analizlerinden elde edilen sonuçların tamamlayıcı bir şekilde, etil asetat fraksiyonunun insülin direncine karşı aktif olabileceği ve karaciğer glukoneogenezi inhibisyonu ve AKT aktivasyonu yoluyla etki gösterebileceği hipotezini desteklediği raporlanmıştır. Ayrıca, RAW 264.7 hücre hattında LPS ile indüklenen enflamasyonun, etil asetat fraksiyonu tarafından iNOS/NO sinyalleme, IL1 $\beta$  ve COX-2 genlerinin baskılanması yoluyla

inhibe edildiği belirlenmiştir. HPLC-TOF/MS analizi ile etil asetat ekstresi içeriğinin esas olarak kafeik asit, apigenin, luteolin, rozmarinik asit ve metil esteri, 4-hidroksi benzoik asit, vanilik asit, ferulik asit ve salisilik asitten oluştuğu saptanmıştır (106).

*L. stoechas*'ın köklerinden hazırlanan sulu etanol ekstresinin antihiperglisemik etkileri alloxanla indüklenmiş diyabetik farelerde araştırılmış, pozitif kontrol olan pioglitazonla karşılaştırılabilir şekilde açlık kan glukoz seviyesi üzerinde doza bağlı olarak düşürücü etki gösterdiği belirlenmiştir (107). *L. stoechas*'ın topraküstü kısımlarından hidrodistilasyon yoluyla elde edilen uçucu yağın, alloxanla indüklenen diyabet ve oksidatif strese karşı koruyucu etkileri de sıçanlarda yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (108).

*L. angustifolia*'nın diyabetik dislipidemi üzerindeki potansiyel etkilerini araştıran bir çalışmada, metanol ekstresi ile fenolik bileşenlerinden rozmarinik ve gallik asidin hormon duyarlı lipaz ve pankreatik lipaz üzerindeki etkileri *in vitro* olarak incelenmiştir. Ekstrenin pozitif kontrol olan orlistat kadar etkili olmasa da doza bağlı olarak enzim inhisyonu etki gösterdiği, test edilen iki fenolik bileşenin bu aktiviteye katkısı olabileceği düşünülmüştür (109).

*L. coronopifolia*'dan izole edilen pentasiklik triterpen ve türevleri maddeler üzerinde yürütülen çalışmada bileşiklerin güçlü  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibitörü aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir (37).

*L. pedunculata*'nın çiçekli toprak üstü kısımlarının sulu ekstresinin antihiperglisemik etkisi sıçanlarda oral glukoz tolerans testi kullanılarak araştırılmıştır. Ayrıca ekstrenin *in vitro* olarak  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzimleri, *ex vivo* olarak glukozun intestinal absorpsiyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Ekstrenin sindirim enzimleri ve glukoz absorpsiyonu inhibisyonu ile hiperglisemi üzerinde güçlü etki gösterdiği belirlenmiştir. UHPLC analizleri ekstrenin yüksek miktarda rozmarinik asit içerdiğini göstermiştir (110).

### **Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkileri**

*L. stoechas* subsp. *luisieri* uçucu yağının amiloid- $\beta$  (A $\beta$ ) plak oluşumunda anahtar bir enzim olan BACE-1'i inhibe edici etki gösterdiği ve yağın içeriğinde esas olarak nekrodan türevleri olmak üzere oksijenli monoterenlerin yüksek miktarda yer

aldığı belirlenmiştir. Aktivite rehberli fraksiyonlama çalışmaları sonucunda ana inhibitör etkili bileşik monoterprenik bir keton olan 2,3,4,4-tetrametil-5-metilen-siklopent-2-enon olarak gösterilmiştir (111). Hücre kültüründe ve Alzheimer hastalığı modeli oluşturulan farelerde yapılan ileri çalışmalar ile bileşiğin doz bağımlı BACE-1 inhibisyon etki gösterdiği belirlenmiş, ancak uçucu yağın kendisinin bileşikten daha potent olması sonucunda aktivitede farklı bileşiklerin sinerjistik etkisinin muhtemel olduğu çıkarımına ulaşılmıştır (112).

*L. stoechas*'ın hafıza bozukluğunda geleneksel kullanımından yola çıkılarak planlanan bir çalışmada, *L. stoechas*'ın toprak üstü kısımlarının hazırlanan metanol ekstresinin, başka bir çalışmada ise *n*-hekzan ve sulu fraksiyonlarının anti-amnezik etkileri *in vivo* olarak araştırılmıştır. Farelere 7 gün boyunca farklı dozlarda ekstre/fraksiyon ve pozitif kontrol olarak pirasetam uygulanmış, ardından skopolamin ile amnezi indüklenmiştir. Yapılan davranış deneyleri ve biyokimyasal analizler sonucunda metanol ekstresi ve sulu fraksiyonun hafıza gelişiminde pozitif kontrolle karşılaştırılabilir etkinlikte olduğu, kolinerjik yıkımı yavaşlatarak demansı önlediği, oksidatif strese karşı nöronları koruduğu belirlenmiş, elde edilen sonuçların *L. stoechas*'ın bellek bozukluğunda kullanımını destekler nitelikte olduğu şeklinde yorumlanmıştır (113, 114). Sulu fraksiyon üzerinde yürütülen ileri çalışmalarla etkili alt fraksiyon belirlenmiş, *in vivo* çalışmalar ile alt fraksiyonun etkinliği gösterilmiş ve GC-MS analizi ile fraksiyondaki ana 2 bileşenin  $\alpha$ - tokoferol ve fenetilamin olduğu gösterilmiştir (115).

Farelerde pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde *L. stoechas* çiçeklerinin sulu metanol ekstresinin hipnotik etki göstermeksizin, konvülsiyonların şiddetini önemli ölçüde azalttığı ve ortaya çıkma süresini arttırdığı belirlenmiş, ekstrenin sedatif etkili olduğu da gösterilmiştir. İzole tavşan jejunumunda ekstrenin doza bağımlı antispazmodik aktivitesi gözlenmiş,  $K^+$  ile indüklenen kasılmaları inhibe etmesi, verapamile benzer şekilde  $Ca^{+2}$  doz-yanıt eğrisi oluşturması kalsiyum kanal blokajı etki gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır (116). *L. stoechas* ile yapılan başka bir çalışmada çiçek ve yaprakların sulu etanol ekstresi farelerde farklı konvülsiyon modelleri üzerinde denenmiş, yalnızca grand mal epilepsiyi yansıtan elektrokonvülsif şok modelinde yararlı sonuç alınabilmiştir (117).



*L. angustifolia* çiçekleri sulu ekstresinin glutamat kaynaklı nörotoksisiteye karşı doz bağımlı nöroprotektif etki gösterdiği primer hücre kültürü çalışmasında gösterilmiştir (118). *L. angustifolia*'nın toprak üstü kısımlarının metanol ekstresinin su ekstresinden daha iyi olmak üzere orta seviyede AChE inhibisyon aktivite gösterdiği raporlanmıştır (119). Başka bir çalışmada *L. angustifolia* ve *L. pedunculata*'dan hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağların da orta seviyede AChE inhibisyon aktivite gösterdiği belirlenmiştir (76).

Alzheimer hastalığı modeli oluşturulan sıçanlarda *L. angustifolia* sulu ekstresinin uzamsal öğrenme performansı üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada ekstrenin sıçanlardaki uzamsal öğrenme kaybını geri çevirebileceği gösterilmiştir (120). Kafeik asit ve luteolin-7-glukozit içerdiği belirlenen *L. angustifolia* yaprak ve çiçeklerinin sulu ekstresinin doza bağımlı olarak A $\beta$  agregatının oluşumunu engellediği, A $\beta$  fibril oluşumunu büyük ölçüde azalttığı ve DPPH radikali süpürücü etkinlik gösterdiği *in vitro* çalışmalarla belirlenmiştir. Ekstrenin AChE inhibisyon aktivite göstermediği de çalışmada tespit edilmiştir (121).

Skopolamin ile indüklenen demans modelinde *L. angustifolia* ssp. *angustifolia* Mill. ve *L. hybrida* Rev. uçucu yağlarının 7 gün inhalasyon yolu ile uygulanması sonucu sıçanlarda anksiyete benzeri davranış ve depresyonun önemli ölçüde azaldığı; uzamsal bellek performansının iyileştiği gösterilmiştir (122). Diğer bir çalışmada, sıçan beyninde skopolamin indüklü oksidatif strese karşı uçucu yağların gösterdiği nöroprotektif etkide antioksidan ve antiapoptotik aktivitelerin ana mekanizmalar olduğu ortaya konulmuştur (123). Benzer şekilde *L. officinalis*'in toprak üstü kısımlarından hazırlanmış sulu etanol ekstresinin de skopolamin indüklü bellek bozukluğu, anksiyete ve depresyon benzeri davranışları doza bağlı bir şekilde azalttığı belirlenmiştir (124).

Fareler üzerinde PTZ tutuşma modeli kullanılarak yürütülen başka bir çalışmada *L. officinalis* toprak üstü kısımları sulu etanol ekstresinin kronik uygulama sonucunda nöbet şiddetini baskıladığı, beyin nitrik oksit ve malondialdehit seviyelerini azalttığı gösterilmiştir. Yapılan farklı çalışmalar sonucunda *L. officinalis*'in antikonvülsan etkisine glutamat salınımı inhibisyonu, NMDA reseptör ve/veya kalsiyum kanal blokajının aracılık ettiği düşünülmektedir (125).

Geleneksel kullanımından yola çıkılarak farelerde yürütülen bir çalışmada *L. officinalis*'in özellikle metanol ekstresinin sedatif, daha yüksek dozlarda ise hipnotik etkisi gösterilmiştir (126). *L. angustifolia* çiçekleri sulu ekstresinde bulunan antidepresan benzeri bileşenleri belirlemek amacıyla yürütülen başka bir çalışmada ekstre ve 4 fraksiyonun etkinliği farelerde zorunlu yüzme testi ile araştırılmış, yapılan ileri çalışmalar sonucu ekstre içeriğinde yer alan 3-(3,4-dihidroksifenil)laktik asit ve rozmarinik asidin farelerde hareketsizlik süresini azalttığı, bu bileşenlerin aktivitede katkısı olduğu sonucuna ulaşılmıştır (127).

*L. coronopifolia*'nın toprak üstü kısımlarının diklorometan-metanol ekstresinin antiinflamatuar, antioksidan ve AChE inhibisyon aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada ekstrenin gösterdiği başta yüksek siklooksijenaz-2 inhibisyonu etki olmak üzere, AChE üzerindeki inhibitör etki ve orta düzeydeki antioksidan aktivitesi sonucu bitkinin nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde doğal ajan olarak kullanılma potansiyelinin olduğu yorumu yapılmıştır (128).

*L. viridis*'in çiçekli toprak üstü kısımlarının metanol ekstresi ile yürütülen bir çalışmada ekstrenin *in vitro* ve *in vivo* (fare beyin homojenatlarında) asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz (AChE ve BChE) enzim inhibisyon aktivite gösterdiği belirlenmiştir (105).

A172 hücre hattında yapılan bir çalışmada, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) tarafından oluşturulan oksidatif hasara karşı *L. viridis* toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstreler (infüzyon, sulu etanol ve metanol) ve ekstrelerin ana bileşeni olan rozmarinik asidin koruyucu etki gösterdiği, hücre içi reaktif oksijen türlerinin birikimini azalttıkları belirlenmiştir (129). *Lavandula* uçucu yağlarının nöroprotektif etkinlik gösterdiği farklı çalışmalarla gösterilmiş, bu etkinliğin laktat dehidrogenaz, NO salınımı, hücre içi reaktif oksijen türlerinin birikimi ve mitokondriyal membran potansiyeli kaybını azaltması; NMDA ve AMPA reseptörleri üzerindeki aktivitesi aracılığıyla gerçekleştiği hipotezleri öne sürülmüştür (130-132).

### **Antienflamatuar Etki**

*L. stoechas* uçucu yağının lipoksijenaz üzerinde hafif inhibitör etki gösterdiği saptanmış, uçucu yağda daha düşük miktarda yer alan timol, limonen, bornil asetat, p-simen gibi maddelerin daha yüksek miktarda yer alan fenkon, kafur gibi maddelere

göre daha iyi lipoksijenaz inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum uçucu yağın inhibitör etkisinin, yüksek aktivite gösteren bileşen (timol) ve uçucu yağda yüksek miktarda bulunan bileşenlerin (fenkon ve kafur) kombinasyonundan ileri geldiği şeklinde yorumlanmıştır (133). Yürütülen bir *in vitro* çalışmada, *L. stoechas* uçucu yağının hücre canlılığını etkilemeksizin lipopolisakkarit ile uyarılmış makrofajlarda önemli bir inflamatuvar belirteç olan nitrik oksit üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (134). *L. stoechas*'ın toprak üstü kısımlarından hazırlanan sulu etanol, flavonoit, tanen ve müsilaj ekstralarının krem formülasyonlarının topikal antienflamatuvar etkinliği sıçanlarda karragenanla oluşturulan pençe ödemi testi ile araştırılmış, sulu etanol ekstresinin pozitif kontrol diklofenakla kıyaslanabilir düzeyde etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Flavonoit ve müsilaj ekstraları ödemi önemli ölçüde azaltırken, tanen ekstresi etkili bulunmamıştır (135).

*L. angustifolia* yapraklarından elde edilen uçucu yağ, sulu etanol ekstresi ve polifenolik fraksiyonun analjezik etkinliği farelerde formalin ve asetik asit ile indüklenen kıvrınma testi; antienflamatuvar etkinliği ise sıçanlarda karragenanla oluşturulan pençe ödemi testi ile araştırılmıştır. Formalin testi ekstre ve fraksiyonun nispeten yüksek dozlarda orta derecede antinösetif etkiye sahip olduğunu, asetik asit testi polifenolik fraksiyonun doza bağlı olmayan analjezik etkisini göstermiştir. Uçucu yağın ise her iki testte de önemli antinösetif etkiye sahip olduğu görülmüş, bitkinin analjezik etkisinin büyük kısmının uçucu yağdan kaynaklandığı yorumu yapılmıştır. Antienflamatuvar etkinlik için de benzer şekilde uçucu yağ ile daha yüksek etkinlik elde edilmiştir (136). *L. angustifolia* yaprak ve gövdesinden elde edilen uçucu yağın hem topikal hem oral uygulamada antiödemjen ve antienflamatuvar aktiviteye sahip olduğu belirlenmiş, düşük dozlarda bu etkinliği gösterirken yüksek dozlarda iritan etkisinin ortaya çıktığı raporlanmıştır. Antienflamatuvar etki mekanizması olarak kısmen prostanoit, nitrik oksit, proinflatuar sitokinler ve histaminin katılımı önerilmiştir (137). Farelerde *L. officinalis*'in çiçekli kısımlarının etanol ekstresinin intraperitoneal uygulanması sonucu formalin testinin kronik fazında ve sıcak plaka testinde deksametazon ve indometazinle kıyaslanabilir düzeyde analjezik ve antienflamatuvar etkinlik gözlenmiş, etkinin özellikle COX-2 inhibisyonu aracılığıyla gerçekleşebileceği gösterilmiştir (138).

*L. multifida*'nın toprak üstü kısımları su ve etanol ekstralarının topikal antienflamatuar aktivitesi farelerde kroton yağı indüklü kulak ödemi yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Daha aktif olan etanol ekstresi üzerinde yürütülen biyoaktivite rehberli izolasyon çalışması sonucunda başta en yüksek aktiviteyi gösteren ursolik asit olmak üzere bazıları pozitif kontrol olan indometazin ile karşılaştırılabilir etkinlikte oleanan türevi dört triterpenik asit, dört pimarane ve bir izopimarane türevi diterpen, karvakrol ve karvakrol glukoziti elde edilmiştir (39).

### **Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri**

*L. stoechas*'ın toprak üstü kısımlarının sulu metanol ekstresinin kolesterolü yem ile beslenen sıçanlarda lipid profili değerlerini pozitif kontrol atorvastatine benzer şekilde olumlu yönde etkilediği raporlanmıştır (139).

*L. angustifolia*'nın toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin lipaz enzimleri üzerinde inhibitör etkili olduğu belirlenmiştir (109). *L. officinalis*'in hipolipidemik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, bitkinin çiçekli kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinin sıçanlarda gastrik gavaj yoluyla 25 gün uygulanması sonucu serum kolesterolü, trigliserit, LDL ve VLDL düzeylerini düşürdüğü, HDL düzeyini ise yükselttiği gösterilmiştir (140). *L. angustifolia* uçucu yağının iskemik kalp hastalıkları üzerindeki olası etkinliğinin araştırıldığı çalışmada, sıçanlara 14 gün süreyle gastrik gavaj yoluyla uçucu yağ uygulanmış ve ardından miyokard enfarktüsü indüklenmiştir. Uçucu yağın miyokard hasarı, troponin I ve TNF- $\alpha$  düzeylerini önemli ölçüde azalttığı, kalp fonksiyonu ve antioksidan enzim aktivitesini iyileştirdiği belirlenmiş, kardiyoprotektif etkisi ortaya konulmuştur (141).

### **Antimikrobiyal Etki**

*Lavandula* türlerinden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkileri üzerine çok sayıda çalışma literatürde yer almaktadır. Wells ve arkadaşlarının derleme çalışmasında yer verildiği gibi *L. angustifolia* ve *L. hybrida* uçucu yağlarının antimikrobiyal etkileri birçok çalışmada gösterilmiş; *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Listeria innocua* gibi gram pozitif bakteriler üzerinde *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhi* gibi gram negatif bakterilere göre daha etkili oldukları belirlenmiştir. Bu genel eğilime rağmen,

*L. stoechas* uçucu yağının *S. typhimurium* ve *Proteus vulgaris* gram negatif bakterilerine karşı önemli düzeyde antibakteriyel etki gösterdiği de raporlanmıştır. *L. stoechas* uçucu yağının *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *S. epidermidis*, *S. aureus* ve çeşitli *Candida* suşlarına karşı antimikrobiyal etkileri; *L. officinalis* uçucu yağının *C. albicans* ve *Aspergillus niger* türlerine karşı antifungal etkisi gösterilmiştir (142). Diğer *Lavandula* türlerinden farklı olarak nekrodan türevi terpenleri içeren *L. luisieri* uçucu yağının çok sayıda dermatofit ve *Aspergillus* suşuna karşı daha etkili olduğu bildirilmiştir (142, 143). Uçucu yağların *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* gibi bitki patojenik fungusları üzerinde de etkinliği bulunduğu gösterilmiştir (142). *Lavandula* ekstrelerinin gram pozitif, gram negatif mikroorganizmalar, fungaller ve çoklu ilaç direnci gösteren bakterilere karşı antimikrobiyal etkinliğinin araştırıldığı çalışmalar da bulunmaktadır (144-146).

### **Diğer Biyolojik Etkileri**

*Lavandula* uçucu yağlarının topikal uygulamasının yara iyileşmesi üzerindeki etkinliği *in vitro*, *in vivo* hayvan çalışmaları ve klinik araştırmalar ile incelenmiştir (147-151). Daha hızlı yara kontraksiyonu, dokunun yeniden şekillenmesi sürecinde görev alan proteinlerin artan aktivitesi ve artan kollajen ekspresyonu gibi mekanizmalar aracılığıyla terapötik fayda potansiyeli olduğu öne sürülmüş, ancak kanıta dayalı bir tedavi olarak uygulamaya alınmadan önce uçucu yağ içeriğinin kimyasal kompozisyon standardizasyonuna ve güvenlik ile etkinliğini değerlendirmek için daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç olduğu raporlanmıştır (147).

*L. angustifolia*, *L. stoechas*, *L. dentata*, *L. coronopifolia* gibi bazı *Lavandula* türlerinin uçucu yağları ve etanol, kloroform, *n*-hekzan ekstrelerinin farklı hücre hatları üzerinde sitotoksik etkileri olduğu gösterilmiştir (152-155). *L. angustifolia* uçucu yağı ve ekstresi ile deney hayvanları üzerinde yürütülen *in vivo* antikanser çalışmaları da bulunmaktadır (156, 157).

*Lavandula* türlerinin pestisit etkisine dair çalışmalar da bulunmaktadır (158, 159).

### 2.3. BDNF Hakkında Genel Bilgiler

Nörotrofinler nöronal gelişim, fonksiyon, hayatta kalma ve plastisite için gerekli olan polipeptit büyüme faktörleridir (160, 161). Nörotrofik faktörlerin bir alt grubunu oluşturan nörotrofin ailesinin üyeleri, sinir büyüme faktörü (NGF), BDNF, nörotrofin-3 (NT-3) ve nörotrofin-4/5 (NT-4/5)'tir.

Sinir sisteminin sağlığı için esas olan nörotrofinler etkilerini p75<sup>NTR</sup> ve tirozin kinaz reseptör (Trk) aracılığıyla gösterirler. Bu reseptörlere bağlanmaları ile bir proto-onkogen olan RAS, fosfotidilinositol-3-kinaz (PI3K), mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) ve fosfolipaz C (PLC)- $\gamma$  gibi birçok sinyal yolağının aktivasyonu gerçekleşir, nöronal sağ kalım ve nörit büyümesi sağlanır. Nörotrofinler akson büyümesi, sinaptik budama, innervasyonun modellenmesi ile nörotransmitter ve iyon kanalları gibi normal nöronal fonksiyon için kritik öneme sahip proteinlerin ekspresyonu süreçlerini düzenler. Nöronal sağ kalımı modüle ederken, sinaptik işlevi ve sinaptik plastisiteyi kontrol ederler (162).

Nörotrofin seviyelerindeki değişiklikler Alzheimer hastalığı ve Huntington hastalığı gibi nörodejeneratif bozuklukların yanı sıra depresyon ve madde kötüye kullanımı dahil olmak üzere psikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirilmiş, nörotrofinlerin birçok nörodejeneratif ve psikiyatrik bozukluğun patofizyolojisinde rol oynadığı belirlenmiştir. Bu klinik korelasyonlar sonucunda nörotrofinleri kullanan terapötik stratejilerin geliştirilmesi gündeme gelmiştir (160).

Bir nörotrofin olan BDNF, sinaptik plastisitenin, nöronal hayatta kalmanın ve farklılaşmanın ana düzenleyicisi olması nedeniyle nörolojik bozukluklarda kullanılacak ilaç geliştirme çalışmalarında önemli bir moleküler hedef olarak ön plana çıkmıştır (163).

BDNF 1982 yılında keşfedildiğinden bu yana, çok sayıda çalışmaya konu olmuştur. Yetişkin beyinde hemen hemen tüm kortikal alanların yanı sıra çeşitli subkortikal ve omurilik bölgelerinde de yaygın olarak mevcuttur (16). BDNF neokorteks, hipokampus, amigdala ve serebellumda yüksek oranda eksprese edilir. Santral sinir sistemindeki ekspresyonu kalp, böbrek ve testis dahil olmak üzere periferik dokudakinden çok daha yüksektir (17).

Beyinde en çok bulunan büyüme faktörlerinden biri olan BDNF, olgun formu ile TrkB reseptörü üzerinden, protein sentezi, aksonal büyüme, dendritik olgunlaşma, sinaptik plastisite ve nöroproteksiyonu düzenleyen çeşitli hücre içi sinyal yollarının uyarılmasını sağlar. Gelişim sırasında nörit büyümesinin, hücrel farklılaşmanın ve nöronal hayatta kalmanın sürdürülmesinde görev alırken, yetişkin beyinde sinaptik plastisiteyi, nöronal yapı ve işlevi ile hücre sağkalımını destekler.

Beyindeki BDNF sentezi nöronal aktiviteden etkilenir ve sinaptik plastisitede önemli bir role sahiptir. Sinaptik yolların kullanılması veya kullanılmaması, nöronlar arasındaki bağlantıların güçlenmesine/zayıflamasına, akson kollaterallerinde ve dendritlerde sinaps oluşumunun artmasına/azalmasına neden olur. Sinaptik bağlantıların güçlendirilmesinde uzun dönem potansiyalizasyon ana unsurdur. BDNF dendritlerin morfolojisinin yanı sıra sinaptik plastisite ve uzun dönem potansiyalizasyonun düzenlenmesinde rol alır ve bu şekilde öğrenmeyi ve hafızayı etkiler. BDNF yeni anıların oluşturulması ve konsolidasyonunu sağlamada çok önemli bir role sahiptir (16-18).

Merkezi sinir sisteminde sağlıklı bir nöronal çevrenin oluşumu ve sürdürülmesinde önemli rol oynayan BDNF'nin azalmış aktivitesi çok sayıda nörolojik-psikiyatrik bozukluğun seyri ve gelişimiyle ilişkilendirilmiştir (15). Yapılan bir meta analiz sonucunda, Alzheimer hastalığında sağlıklı kontrollere göre özellikle hastalığın geç evrelerinde daha düşük periferik BDNF seviyelerinin olduğu bildirilmiştir (19). Parkinson hastalarının nigrostriatal dopaminerjik nöronlarında, Huntington hastalarının striatum ve serebral korteksinde de BDNF seviyeleri düşük bulunmuştur (16). Nörodejeneratif hastalıkların yanı sıra depresyon, bipolar bozukluk gibi psikiyatrik hastalıklarda da düşük BDNF ekspresyonu ve protein seviyeleri bildirilmiştir (20).

Serotonin geri alım inhibitörleri, trisiklik antidepresanlar ve elektrokonvülsif şok dahil olmak üzere birçok antidepresan tedavinin serum BDNF düzeylerini normaleştirdiği gösterilmiştir. Erken evre Alzheimer hastalarına uygulanan lityum ve donepezil tedavisinin de serum BDNF konsantrasyonunu arttırdığı raporlanmıştır. (16, 21).

BDNF duyusal nöronlar, retinal ganglionlar, spinal motor nöronlar ile bazı kolinerjik, dopaminerjik ve serotonerjik nöronların hayatta kalmasını destekler (18). BDNF'nin *in vitro* çalışmalar ve nörolojik hastalıkların deneysel hayvan modellerinde hücre ölümünü güçlü bir şekilde önlediği, nöronal hayatta kalma ve nöronal işlevi uyardığına dair bulgular mevcuttur. BDNF'nin güçlü sinaptik etkilere (sinaptik iletim, sinaptik plastisite ve sinaptogenezi düzenlemesi) sahip olması, nörodejeneratif bozuklukların ilerlemesi ile yakından ilişkili olan sinaps dejenerasyonu açısından önem taşımaktadır. Bu bulgular BDNF'nin, nöronların ilerleyen yapı ve fonksiyon kaybıyla karakterize nörodejeneratif hastalıklar ve psikiyatrik bozukluklar için önemli terapötik potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. (16, 22).



### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Fitokimyasal Çalışmalar

##### 3.1.1. Bitkisel Materyal

Tez kapsamında çalışılan *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* bitkisi, 8 Nisan 2018 tarihinde Muğla ili, Fethiye ilçesi, Çenger Mahallesi, Yürek mevki ormanlık alan içlerinden toplanmıştır. Tez bitkisine ait herbaryum örnekleri Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na HUEF 17038 numarası ile kaydedilmiştir.

##### 3.1.2. Ekstraksiyon

*L. stoechas* subsp. *stoechas* bitkisinin gölgede kurutularak toz haline getirilmiş toprak üstü kısımları (400 g), 2,5 litre sulu etanol (%70) ile 40°C'de üçer saat üç defa ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstratlar birleştirilmiş ve rotavaporda solvanı uçurularak kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır (79 g, verim %19,75).

Balçık kıvamındaki yaklaşık 66 g ekstre 150 mL su ve 100 mL metanolde çözülmüş, 200 mL *n*-hekzan ile 6 defa sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutularak yağsı bileşikler, klorofil ve diğer pigmentlerinden uzaklaştırılmıştır.

Her iki faza ait solvanlar ayrı ayrı birleştirilmiş ve rotavaporda uçurulmuştur. Su ekstresi 62 g olarak elde edilmiş, 4 g'ı aktivite çalışmaları için ayrılmıştır.

##### 3.1.3. Kromatografik Yöntemler

Hazırlanan ekstrenin fraksiyonlandırılması ve saf madde eldesi çalışmaları sırasında kolon kromatografisi ve preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemleri kullanılmıştır. Toplanan fraksiyonların birbirleri ile karşılaştırılması ve gruplandırılması, standart maddeler ile kıyaslanmasında ince tabaka kromatografisinden (İTK) yararlanılmıştır.

##### Acık Kolon Kromatografisi

##### *Poliamit Kolon Kromatografisi (Poliamit KK)*

Ana ekstrenin ön fraksiyonlama aşamasında kullanılmıştır.

**Dolgu Materyali:** Poliamit (Polyamide 6, Fluka, 50-160 µm)

**Solvan Sistemi:** MeOH (%20) → MeOH (%100)

**Kolonun Hazırlanması ve Numune Tatbiki:** Poliamit yeterli miktarda distile su kullanılarak süspansiyon haline getirilmiş, manyetik karıştırıcı yardımıyla 1 saat karıştırıldıktan sonra, alt ucuna pamuk yerleştirilen cam kolona aktarılmıştır. Adsorbanın yerleşmesini sağlamak için kolondan yeterli miktarda distile su geçirilmiştir. Ekstrenin suda homojen olarak çözünmemesi sebebiyle elüsyona %20 metanol ile başlanmasına karar verilmiş ve kolondan %20 metanol geçirilmiştir. Adsorbanın üzerinde 2-3 mm solvan kalana kadar beklendikten sonra solvan sisteminde çözülmüş numune cam pipet kullanılarak kolona tatbik edilmiştir. Kolon musluğu açılıp, numunenin poliamit adsorbana tamamen geçmesi sağlanmıştır. Adsorbanın yüzeyine pamuk yerleştirilmesinin ardından kolona %20 metanol eklenerek elüsyona başlanmıştır.

**Normal Faz Silikajel Kolon Kromatografisi (SKK)**

İleri fraksiyonlandırma ve saf madde izolasyonu işlemleri için kullanılmıştır.

**Dolgu Materyali:** Silikajel (Kieselgel 60, 0,063-0,2 mm, Merck 7734)

**Solvan Sistemleri:** CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O (95:5:0,5, 90:10:1, 85:15:1,5, 80:20:2, 75:25:2,5, 70:30:3, 60:40:4, 50:50:5); CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (100:0, 97.5:12.5, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 70:30, 75:25, 60:40, 50:50); *n*-hekzan:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (100:0:0, 50:50:0, 0:100:0, 0:99:1, 0:98:2, 0:95:5)

**Kolonun Hazırlanması:** Yeterli miktarda silika jel tartılmış ve elüsyona başlanması planlanan solvan sistemi ile karıştırılarak süspansiyon oluşturulmuştur. Süspansiyon halindeki karışım cam kolona transfer edilmiş, ardından kolondan yeterli miktarda solvan geçirilmiştir.

**Numune Tatbiki:** Numune, elüsyona başlanması planlanan solvan sisteminde çözünüyorsa yağ (çözücü yardımı ile) tatbik, çözünmüyorsa kuru tatbik yöntemi kullanılmıştır.

- Yağ Tatbik: Elüsyona başlanması planlanan solvan sisteminde çözülen numune cam pipet yardımıyla kolona tatbik edilmiştir. Ardından, kolon musluğu açılmış, numunenin adsorbana tamamen geçmesi sağlanmıştır. Adsorbanın yüzeyine

pamuk yerleştirildikten sonra numunenin çözülmesinde kullanılan solvan sistemi kolona eklenmiş ve elüsyon başlatılmıştır.

- Kuru Tatbik: Numune, çözünürlüğünün iyi olduğu az miktarda bir solvanın içerisinde çözülmüştür. Ardından kolonda kullanılacak adsorban miktarı ve tatbik edilecek numune miktarı dikkate alınarak, porselen kapsül içerisinde uygun miktarda silika jelle karıştırılmıştır. Numunenin silika jel tarafından adsorbe edilmesi ve 40-50°C'yi geçmeyen bir ısıtıcıda tamamen kuruması sağlanmıştır. Hazırlanan bu adsorban, daha önce hazırlanan ve üzerinde birkaç cm solvan bırakılan silika jel kolona huni yardımıyla aktarılmıştır. Adsorbanın üzerine pamuk yerleştirilerek uygun solvan sistemiyle elüsyon başlatılmıştır.

#### ***Sefadeks Kolon Kromatografisi (Sefadeks KK)***

İleri fraksiyonlandırma ve saf madde izolasyonu işlemleri için kullanılmıştır.

**Dolgu Materyali:** Sephadex LH-20, Sigma

**Solvan Sistemleri:** MeOH, H<sub>2</sub>O:MeOH

**Kolonun Hazırlanması ve Numune Tatbiki:** Yeterli miktarda sefadeks tartılmış, metanol ile karıştırılıp bir süre beklenerek şişmesi sağlanmıştır. Ardından bu karışım cam kolona transfer edilmiş, kolondan metanol geçirilerek adsorbanın yerleşmesi sağlanmıştır. Numune tatbikinden önce kolon, elüsyona başlanması planlanan solvan sistemiyle şartlanmıştır. Elüsyona başlanması planlanan solvan sistemi içerisinde çözülen numune cam pipet yardımıyla kolona tatbik edilmiştir. Kolon musluğu açılmış, numunenin adsorbana tamamen geçmesi sağlanmıştır. Adsorbanın üzerine pamuk yerleştirilerek uygun solvan sistemiyle elüsyon başlatılmıştır.

#### ***Vakum Sıvı Kromatografisi (VSK)***

İleri fraksiyonlandırma ve saf madde izolasyonu işlemleri için kullanılmıştır.

**Dolgu Materyali:** LiChroprep RP-18, 40-63 µm, Merck

**Solvan Sistemi:** H<sub>2</sub>O:MeOH (%0-100 MeOH)

**Kolonun Hazırlanması ve Numune Tatbiki:** Tartılan ters faz silika jel cam kolona aktarılmış, bir vakum pompası yardımıyla vakum uygulanarak sıkıştırılmıştır.

Kolondan yeterli miktarda metanol geçirilerek adsorbanın yerleşmesi sağlanmıştır. Daha sonra kolondan yeterli miktarda su ve elüsyona başlanacak solvan sistemine göre kademeli olarak su-metanol karışımı geçirilerek kolon şartlanmıştır. Elüsyona başlanması planlanan solvan sisteminin 1-2 mL'si içinde çözülen numune cam pipet kullanılarak kolona tatbik edilmiştir. Hazırlanan kolonun musluk altındaki ucu, nuçe erlenin üzerindeki kauçuk kapaktan geçirilmiş, kapak erlenin ağız kısmına yerleştirilmiştir. Erlene bağlanmış olan vakum pompası yardımıyla vakum uygulanarak, numunenin adsorbana geçmesi sağlanmıştır. Adsorbanın üzerine pamuk yerleştirilerek vakum yardımıyla uygun solvan sistemi kullanılarak elüsyon başlatılmıştır.

### ***Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi (OBSK)***

**Kolon:** Büchi, 2,5 x 45 cm

**Adsorban:** LiChroprep C18 (40-63 µm, Merck)

**Pompa:** Büchi Pump Module C-605

**Enjektör:** Rheodyne (Loop 2 mL)

**Fraksiyon toplayıcı:** Büchi Fraction Collector C-660

**Solvan Sistemi:** H<sub>2</sub>O:MeOH (%0- 100 MeOH)

**Akış Hızı:** 5 mL/dk

**Basınc:** 5 – 15 bar

**Fraksiyon Hacmi:** 20-60 mL

**Kolonun Hazırlanması ve Numune Tatbiki:** Elüsyona başlanılacak solvan sistemi kullanılarak kolon şartlanmıştır. Numune başlangıç solvan sisteminin az miktarı içerisinde çözülmüş, enjektör yardımıyla kolona tatbik edilmiştir.

### **İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)**

Kromatografi çalışmaları öncesinde çalışma planının belirlenmesi, kromatografi çalışmaları yürütülürken fraksiyonların birbirleri ile karşılaştırılması-gruplandırılması, numunelerin standart olarak kullanılan maddelerle kıyaslanmasında ince tabaka kromatografisinden yararlanılmıştır. İTK çalışmalarında normal faz ve ters faz silika jel ile kaplanmış hazır alüminyum plaklar kullanılmıştır.

**Solvan Sistemleri:**  $\text{CHCl}_3$ -MeOH- $\text{H}_2\text{O}$  (61:32:7, 80:20:2, 50:50:5),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH (95:5)

**Numune Tatbiki:** Numuneler, cam pipet yardımı ile plağın alt kenarından 1 cm yukarıya yaklaşık 1 cm aralık bırakılarak nokta ya da çizgi tatbik şeklinde uygulanmıştır. Doygunluğa ulaşmış solvan sisteminin yer aldığı kromatografi tankına yerleştirilen plaklar yaklaşık 10 cm sürüklenmiştir.

**Lekelerin Belirlenmesi:** UV lambada 254 ve 366 nm'de floresans gözlenmiştir. Ardından İTK plağına derişik  $\text{H}_2\text{SO}_4$  içerisinde hazırlanmış %1'lik vanilin çözeltisi püskürtülmüş ve plaka ısıtıcıda  $105^\circ\text{C}$ 'de 1-2 dakika ısıtılarak lekeler tespit edilmiştir.

#### **Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi (Prep. İTK)**

Saf madde izolasyonu çalışmalarında preparatif ince tabaka kromatografisinden yararlanılmıştır. Normal faz silika jel ile kaplanmış hazır cam plaklar kullanılmıştır.

**Solvan Sistemleri:**  $\text{CHCl}_3$ -MeOH- $\text{H}_2\text{O}$  (50:50:5),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH (95:5), *n*-hekzan

**Numune Tatbiki:** Numune iyi çözündüğü solvanın az miktarında çözülmüş, cam pastör pipeti yardımıyla plağın alt kenarından 2 cm yukarıya bant şeklinde tatbik edilmiştir. Doygunluğa ulaşmış solvan sisteminin yer aldığı kromatografi tankına konulan plak oda sıcaklığında sürüklenmiştir.

**Lekelerin Belirlenmesi:** UV lambada 254 ve 366 nm'de floresans gözlenmiştir. Floresans gözlenmiyorsa, diğer kısımları temiz bir kağıt ile kapatılarak, plağın yalnızca kenar kısmına (yaklaşık 1 cm) vanilinin derişik sülfürik asit içindeki %1'lik çözeltisi püskürtülmüş ve plağın bu kısmı plaka ısıtıcıda  $105^\circ\text{C}$ 'de 1-2 dakika ısıtılarak lekeler tespit edilmiştir.

Maddelerin yeri tespit edildikten sonra, saf olarak izole edilmek istenen madde plaktan kazanmış ve bir behere alınmıştır. Silika jelden ayrılması için uygun bir solvan içerisinde bekletilmiş ve daha sonra Whatman filtre kağıdı kullanılarak süzülmüştür. Solvan rotavapor yardımıyla uzaklaştırılmıştır.

### 3.1.4. İzolasyon Çalışmaları

#### Ön Fraksiyonlama

Balçık kıvamındaki sulu ekstre (58 g), önceden su ile şişirilerek hazırlanmış 100 g poliamit içeren kolona tatbik edilmiştir. Elüsyona %20 metanol kullanılarak başlanmıştır ve ardından sırası ile %40, %60, %80 ve %100 metanol kullanılmıştır. Toplanan 19 fraksiyonun içerikleri 61:32:7 ve 80:20:2 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O) solvan sistemlerinde İTK ile kontrol edilmiş; benzer fraksiyonlar birleştirilmiş, içeriğinde belirli bir madde grubu saptanamayan ilk fraksiyon atılmıştır. Sonuç olarak, elde edilen fraksiyonlar benzer bileşikleri içeren 5 grup altında toplanmış ve bu fraksiyonlardaki solvanlar uçurularak fraksiyonlar liyofilize edilmiştir (Tablo 3.1, Şekil 3.1).

Tablo 3.1. Ana fraksiyonlara ilişkin bilgiler.

Fraksiyon Adı	Fraksiyon Numarası	Miktar (g)	Elüe Edildiği Mobil Faz (% Metanol)
Fr. A	2-4	16,25	20
Fr. B	5-9	5,86	40-60
Fr. C	10-12	3,98	80
Fr. D	13-15	2,46	80-100
Fr. E	16-19	3,86	100

#### İzolasyon

Tez çalışması kapsamında Türkiye’de yetişen *L. stoechas* subsp. *stoechas*’ın çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan sulu etanol ekstresi, sulu etanol ekstresinin su ve metanolde çözülerek *n*-hekzan ile partisyonu sonucu elde edilen su ekstresi ve poliamit kolon ön fraksiyonları üzerinde aktivite testleri ( $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonu tayini, BDNF protein düzeyi tayini,) yapılması, aktivite testlerinde yüksek etki gösteren fraksiyonlardan hareketle biyolojik aktivite rehberli izolasyon çalışmaları yürütülmesi ve elde edilen bileşiklerin yapı ve aktivite tayini çalışmalarının yapılması amaçlanmıştır.

Ekstreler ve poliamit kolon ön fraksiyonları üzerinde yürütülen  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonu tayini ve BDNF protein düzeyi çalışmalarında görülen etki sonucunda aktivite rehberli izolasyon çalışmaları yürütülmüştür. Ekstre ve

fraksiyonlar  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyon etki göstermediği için bu aktivite üzerinden bir izolasyon çalışması yapılamamıştır.

- **$\alpha$ -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Tayini Rehberli İzolasyon Çalışmaları**

Ekstreler ve poliamit kolon ön fraksiyonları üzerinde yapılan  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonu tayini çalışmaları sonucunda en yüksek aktivite gösteren fraksiyon olan Fr. E üzerinde izolasyon çalışmaları yürütülmüş ve LS kodu ile adlandırılan 2 bileşik izole edilmiştir (Şekil 3.2).

**Fr. E** (250 mg) silikajel kolona kuru tatbik edilmiş, *n*-hekzan-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (100:0:0→MeOH) sistemi kullanılarak elüe edilmiştir. Bu kolondan elde edilen **Fr. E<sub>3</sub>** (30 mg) silikajel kolona kuru tatbik edilmiş, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (100:0→MeOH) sistemi ile elüsyonu sonrası **LS-E1 (6 mg)** saf olarak elde edilmiştir.

**Fr. E**'nin silikajel kolona kuru tatbik edilmesiyle elde edilen bir diğer fraksiyon olan **Fr. E<sub>13</sub>** (11,4 mg) Sephadex LH-20 kolona uygulanmış ve **LS-E2 (5,8 mg)** elde edilmiştir.

- **BDNF Protein Düzeyi Tayini Rehberli İzolasyon Çalışmaları**

Ekstreler ve poliamit kolon ön fraksiyonları üzerinde yapılan BDNF protein düzeyi tayini çalışmaları sonucunda, en yüksek BDNF artışı elde edilen fraksiyon olan Fr. D üzerinde izolasyon çalışmaları yürütülmüştür. Bu çalışmalar sonucunda LS kodu ile adlandırılan 4 bileşik izole edilmiştir (Şekil 3.3).

**Fr. D** (2,46 g) suda çözülerek ters faz silika jel kolona (VSK) tatbik edilmiş, H<sub>2</sub>O/MeOH (%0-100 MeOH) solvan sistemi kullanılmış ve 12 fraksiyon toplanmıştır. Yapılan İTK kontrolleri sonucu fraksiyonlar toplam 4 ana fraksiyonda birleştirilmiş ve yoğunlaştırılmıştır (**Fr. D<sub>1</sub>**, **Fr. D<sub>2-5</sub>**, **Fr. D<sub>6-8</sub>**, **Fr. D<sub>9-12</sub>**).

**Fr. D<sub>2-5</sub>** (932,8 mg) suda çözülerek OBSK sistemine tatbik edilmiş, H<sub>2</sub>O/MeOH (%0-100 MeOH) solvan sistemi kullanılarak elde edilen **Fr. D<sub>2-5,5</sub>** (215 mg) %10 metanolde çözülerek VSK sistemine uygulanmıştır. Bu kolondan elde edilen **Fr. D<sub>2-5,5,7</sub>** (124 mg) silikajel kolona kuru tatbik edilmiş, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (80:20:2→ MeOH) sistemi kullanılarak elüe edilmiştir. Bu kolondan **Fr. D<sub>2-5,5,7,2</sub>** (14

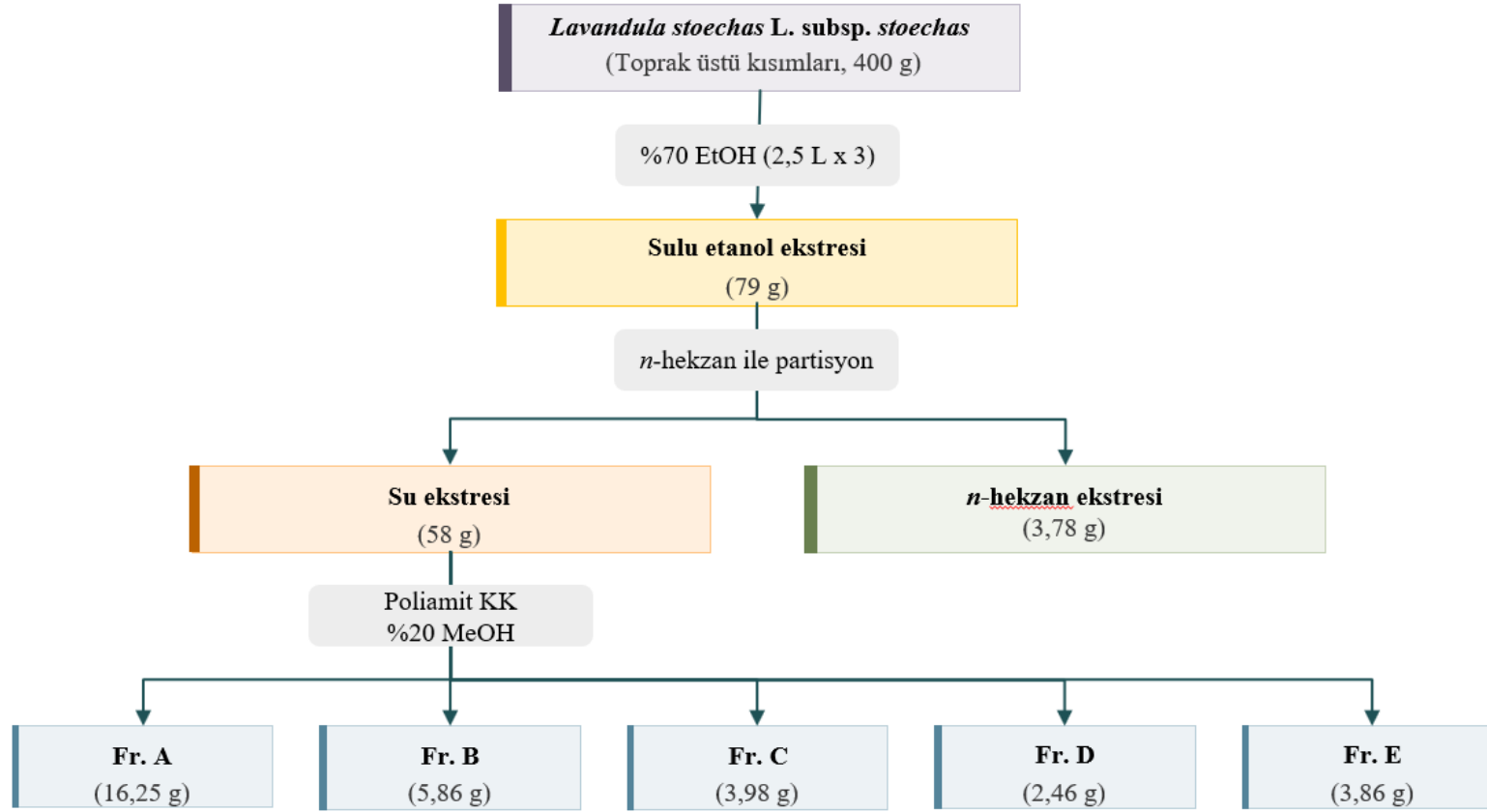
mg) elde edilmiş, bu fraksiyonun ters faz silikajel ince küçük kolona tatbik edilmesiyle **LS-D1 (6,5 mg)** saf olarak izole edilmiştir.

**Fr. D<sub>2-5,5,7</sub>** (124 mg) fraksiyonunun silikajel kolona kuru tatbik edilmesiyle elde edilen bir diğer fraksiyon olan **Fr. D<sub>2-5,5,7,4</sub>** (10,6 mg) Sephadex LH-20 kolona uygulanmış ve **LS-D2 (6,8 mg)** saf olarak elde edilmiştir.

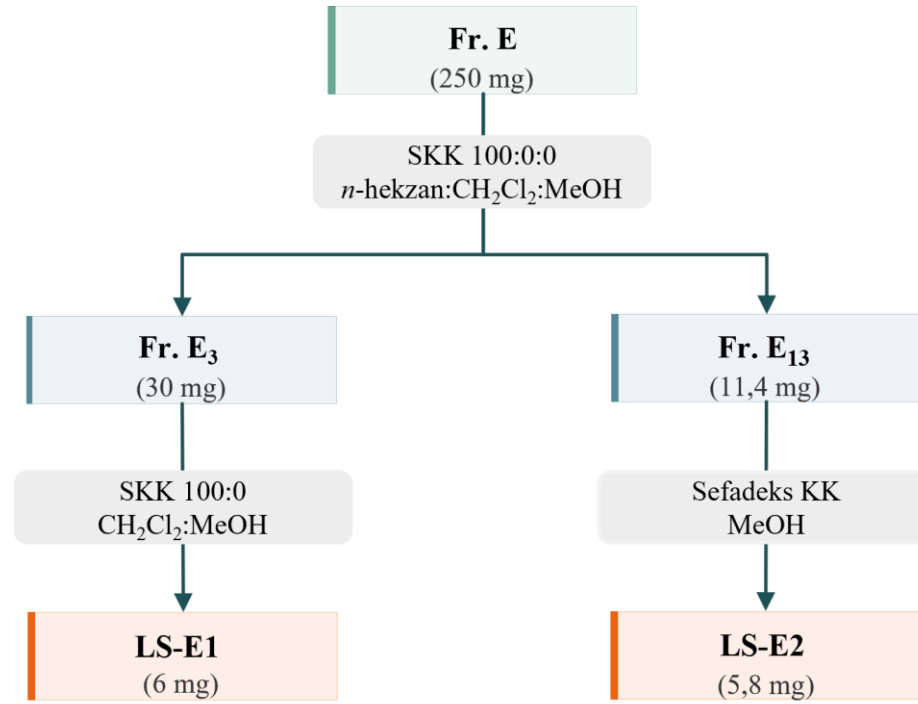
**Fr. D<sub>2-5</sub>**'in suda çözülerek OBSK sisteminde fraksiyonlanması sonucu elde edilen bir diğer fraksiyon olan **Fr. D<sub>2-5,7</sub>** (177 mg) silikajel kolona kuru tatbik edilmiş, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (90:10:1 → MeOH) sistemi ile elüe edilmiştir. Bu kolondan elde edilen **Fr. D<sub>2-5,7,1</sub>** (11,9 mg) Sephadex LH-20 kolona uygulanmış ve **LS-D3 (6,2 mg)** saf olarak elde edilmiştir.

**Fr. D<sub>9-12</sub>** (792,5 mg) diklorometanda çözülerek silikajel kolona tatbik edilmiş, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (100:0 → MeOH) sistemi ile elüe edilmiştir. Bu kolondan elde edilen **Fr. D<sub>9-12,1</sub>** (59,5 mg) silikajel kolona kuru tatbik edilmiş, *n*-hekzan ile hazırlanan kolondan elde edilen **Fr. D<sub>9-12,1,1</sub>** (25 mg) normal faz silika jel ile kaplanmış hazır cam İTK plağına preparatif amaçla tatbik edilmiştir. *n*-hekzan solvan sistemi ile sürüklenen plakta saf olarak görülen madde kazanmış ve **LS-D4 (16,8 mg)** elde edilmiştir.

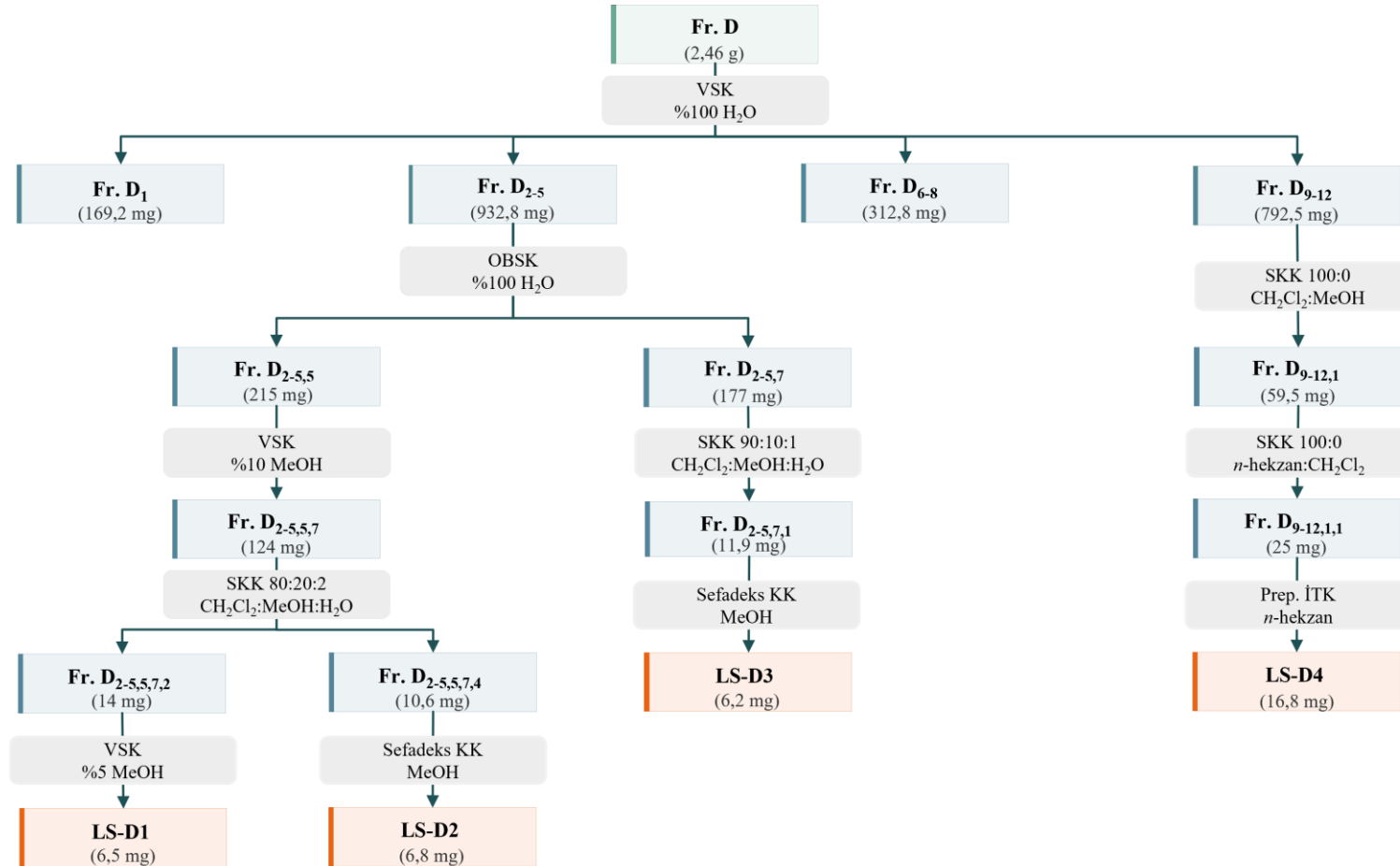




Şekil 3.1. Ekstraksiyon ve ön fraksiyonlama şeması.



Şekil 3.2.  $\alpha$ -Glukozidaz enzim inhibisyonu tayini rehberli izolasyon çalışmaları.



Şekil 3.3. BDNF protein düzeyi tayini rehberli izolasyon çalışmaları.

### 3.1.5. Toplam Fenol Miktar Tayini

Tez kapsamında numunelerin toplam fenol miktar tayini Folin-Ciocalteu yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem ile bitki ve gıdaların toplam fenolik madde içeriği, gallik asit veya kabul gören başka bir fenolik bileşik eşdeğeri olarak belirlenir.

Deneyin esasını fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu reaktifini indirgeyerek mavi renkli kompleks oluşturmaları ve absorbanstaki artışın spektrofotometre ile ölçülmesi oluşturur (164).

Tez çalışmamızda, numunelerin ve gallik asidin farklı konsantrasyonlarda sulu çözeltileri hazırlanmış, bu çözeltilerden 10 µl alınarak 96 kuyucuklu plakalara üç tekrarlı olacak şekilde aktarılmıştır. Üzerlerine seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifinden (1 birim reaktif: 4 birim distile su) 150 µl eklenmiş, 3 dakika bekledikten sonra 50 µl doymuş Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi (2 birim doymuş Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi:3 birim distile su) ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında ışıktan koruyarak 2 saat inkübasyonun ardından 725 nm’de absorbans ölçülmüştür. Gallik asidin absorbans-konsantrasyon grafiğinden elde edilen doğru denkleminde hareketle numunelere ait toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (165).

## 3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

### 3.2.1. Antioksidan Kapasite Tayini

Sulu etanol ekstresi, *n*-hekzan ile partiyon sonrası elde edilen su ekstresi ve poliamit kolon ön fraksiyonları (ana fraksiyonlar) üzerinde aşağıda belirtilen antioksidan kapasite çalışmaları yürütülmüştür.

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikali Süpürücü Etkinlik

Nitrik Oksit (NO) Radikali Süpürücü Etkinlik

Süperoksit (SO) Radikali Süpürücü Etkinlik

Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (FRAP)

Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC)

- **DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikali Süpürücü Etkinlik**

DPPH hidrojen atomu verebilen bileşiklerle tepkimeye girebilen kararlı bir nitrojen radikalidir, yaklaşık 517 nm'de maksimum absorbans verir. Yöntem, DPPH radikalinin antioksidan bileşikler tarafından indirgenmesi sonucu oluşan renk değişiminin spektroskopik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Mor renkli DPPH radikali antioksidanlar tarafından açık sarı renkli hidrazine (DPPH-H) indirgenir, absorbanstaki azalma spektrofotometre ile ölçülür (164, 166).

Tez çalışmamızda, numuneler ve pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asidin farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri metanol ile hazırlanmış, 200'er µl alınarak 96 kuyucuklu plakaların kuyucuklara üç tekrarlı olacak şekilde aktarılmıştır. Üzerlerine 50 µl 1 mM DPPH çözeltisi eklenmiş, 30 dakika ışıktan koruyarak inkübe edildikten sonra 517 nm'de absorbanslar ölçülmüştür (165).

DPPH radikali süpürücü etki aşağıdaki eşitlik aracılığı ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Radikal Süpürücü Aktivite} = [(A_{Kör} - A_{Numune}) / A_{Kör}] \times 100$$

- **Nitrik Oksit (NO) Radikali Süpürücü Etkinlik**

Nitrik oksit (NO) endojen olarak sentezlenen, küçük, kararsız, lipofilik bir gazdır. Farklı fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde önemli role sahip olmakla

birlikte, nörodejenerasyon ve nöroinflamasyon dahil olmak üzere birçok patolojik durumda yüksek miktarda NO üretimi meydana gelmektedir (167).

NO oldukça reaktiftir ve ömrü birkaç saniyedir. Aerobik koşullar altında oksijenle reaksiyona girerek, miktarları Griess reaktifi kullanılarak belirlenebilen nitrat ve nitrit kararlı ürünlerini oluşturur. NO radikali süpürücü etkinlik yönteminin esasını, test numunesi ile reaksiyona girdikten sonra ortamda kalan NO miktarının nitrit konsantrasyonu üzerinden ölçülmesi oluşturur. Bu ölçüm Griess reaktifi ile yapılır. Griess reaktifi içerisinde yer alan sülfanilik asit, nitritle reaksiyona girerek diazonyum iyonunu oluşturur, reaktif içerisinde yer alan N-(1-naftil)etilendiaminle etkileşen bu iyon renkli azo ürününü oluşturur ve absorbansı spektrofotometre ile ölçülür. Deneyde NO kaynağı olarak ise fizyolojik pH'da sulu çözeltide bozunarak NO ürettiği bilinen sodyum nitroprussit kullanılır (164).

Tez çalışmamızda, numunelerin ve pozitif kontrol olarak kullanılan kersetinin farklı konsantrasyonlardaki sulu çözeltileri hazırlanmış, 60 µl alınarak 96 kuyucuklu plakalara üç tekrarlı olacak şekilde aktarılmıştır. Üzerlerine PBS'de çözülmüş olan, 60 µl 10 mM sodyum nitroprussit ilave edilmiş ve oda sıcaklığında, ışık altında 150 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra kuyucuklara 120 µl Griess reaktifi (%1 sülfanilamid, %0,1 naftiletildiamin dihidroklorit, %2,5 fosforik asit, distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır) eklenmiş, 10 dakika inkübasyonun ardından 577 nm'de absorbansları ölçülmüştür (165).

NO radikali süpürücü etki aşağıdaki eşitlik aracılığı ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Radikal Süpürücü Aktivite} = [(A_{Kör} - A_{Numune}) / A_{Kör}] \times 100$$

- **Süperoksit (SO) Radikali Süpürücü Etkinlik**

Süperoksit anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ ) zayıf bir oksitleyici olmakla birlikte oksidatif stresi indükleyen güçlü reaktiflerin ( $H_2O_2$ ,  $OH^{\cdot}$ ,  $^1O_2$ ) prekürsörü olması nedeniyle önemlidir (164). Tez çalışması kapsamında alkalın DMSO yöntemiyle SO radikali süpürücü etkinlik araştırılmıştır. Bu yöntemde SO radikali enzimatik olmayan bir sistemde, hava ile doyurulmuş DMSO'ya sodyum hidroksidin eklenmesiyle oluşur. Meydana gelen SO çözeltide stabildir ve NBT (nitroblue tetrazolium)'yi formazan bileşiğine indirger (168). Yöntemin esası, antioksidan varlığında SO radikalının süpürülmesi sonucu

formazan bileşiğinin oluşumunun engellenmesi ile bu bileşiğin 560 nm'deki absorbansının azalmasına dayanır.

Tez çalışmamızda, 96 kuyucuklu plakalara önce NBT'nin DMSO ile hazırlanmış 1 mg/mL çözeltisinden 10 µl, ardından numunelerin ve pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asidin DMSO ile hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki seyreltik çözeltilerinden 30 µl eklenmiştir. Daha sonra kuyucuklara 100 µl alkali DMSO ilave edilmiş ve 560 nm dalga boyunda absorbans ölçülmüştür (165).

SO radikali süpürücü etki aşağıdaki eşitlik aracılığı ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Radikal Süpürücü Aktivite} = [(A_{Kör} - A_{Numune}) / A_{Kör}] \times 100$$

- **Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (FRAP)**

FRAP yöntemi ferrik 2,4,6-tripiridil-s-triazin kompleksinin  $[Fe^{+3}-(TPTZ)_2]^{+3}$  asidik bir ortamda antioksidan bileşikler tarafından indirgenerek yoğun mavi renkli ferröz kompleksini  $[Fe^{+2}-(TPTZ)_2]^{+2}$  oluşturması ve bu kompleksin 593 nm'de absorbans vermesi esasına dayanır (164).

Tez çalışmamızda, numunelerin ve troloksun farklı konsantrasyonlardaki sulu çözeltileri hazırlanmış, bu çözeltilerden 15 µl alınarak 96 kuyucuklu plakalara 3 tekrarlı olacak şekilde aktarılmıştır. Üzerlerine 285 µl FRAP reaktifi [1 birim: 40 mM HCl içinde çözülmüş 10 mM TPTZ, 1 birim: 20 mM  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ , 10 birim: 300 mM asetat tamponu (pH 3.6)] eklenmiş, plakanın 37°C'de 30 dakikalık inkübasyonunun ardından 593 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır. Troloksun absorbans-konsantrasyon grafiğinden elde edilen doğru denkleminde hareketle numunelere ait sonuçlar troloks eşdeğeri olarak verilmiştir (169).

- **Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC)**

CUPRAC yöntemi Cu(II)-neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) kompleksinin antioksidan bileşikler tarafından indirgenerek 450 nm dalga boyunda maksimum absorbans veren Cu(I)-neokuproin kompleksini oluşturması esasına dayanır.

Tez çalışmamızda, 96 kuyucuklu plakalara 50 µl 10 mM  $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ , 50 µl 7,5 mM neokuproin çözeltisi, 50 µl 1 M amonyum asetat tamponu (pH:7) eklenmiştir. Üzerlerine numunelerin ve gallik asidin farklı konsantrasyonlardaki sulu

çözeltilerinden 25 µl eklenmiş, son olarak kuyucuklara 25 µl su ilave edilmiştir. Karanlıkta 30 dakika inkübasyondan sonra 450 nm’de absorbanslar ölçülmüştür. Gallik asidin absorbans-konsantrasyon grafiğinden elde edilen doğru denkleminde hareketle numunelere ait sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak verilmiştir (170).

### 3.2.2. Enzim İnhibisyon Tayini

Sulu etanol ekstresi, *n*-hekzan ile partisyon sonrası elde edilen su ekstresi ve ana fraksiyonlar üzerinde  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon tayini çalışmaları yürütülmüştür. En yüksek  $\alpha$ -glukozidaz inhibisyon etki gösteren fraksiyondan izole edilen madde ve standart olan temin edilen salvianolik asit B maddesi (aktivite çalışmalarında kullanılabilir saflıkta elde edilemediğinden) üzerinde  $\alpha$ -glukozidaz inhibisyon deneyi yürütülmüştür.

- **$\alpha$ -Amilaz Enzim İnhibisyon Tayini**

$\alpha$ -Amilaz enzim inhibisyon tayini için uygulanan yöntem dinitrosalisilik asit (DNSA) metoduna dayanmaktadır. Bu metot, DNSA'nın indirgeyici şekerler tarafından, 540 nm'de ışığı güçlü bir şekilde absorbe eden koyu turuncu renkli 3-amino-5-nitrosalisilik aside indirgenmesi esasına dayanır. Enzim substratı olarak kullanılan nişastanın  $\alpha$ -amilaz ile parçalanması sonucu oluşan indirgeyici şekerlerin miktarı renk şiddeti ile doğru orantılı iken; numunelerin enzim inhibisyonu aktivitesi ile ters orantılıdır (171-173).

Tez çalışmamızda, numuneler ve pozitif kontrol olarak kullanılan akarbozun farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlanmış, 100'er µl alınarak 24 kuyucuklu plakalara aktarılmıştır. Üzerlerine 20 mM pH 6.9 sodyum fosfat tamponunda hazırlanmış 25 U/mL  $\alpha$ -amilaz enzim solüsyonundan 100 µl eklenmiş, 25°C’de 10 dakika inkübe edilmiştir. Ardından tampon ile hazırlanmış %1’lik nişasta solüsyonundan 100 µl kuyucuklara eklenmiş, 25°C’de 10 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Süre bitiminde 200 µl DNSA reaktifi kuyucuklara eklenmiş, 100°C su banyosunda 5 dakika inkübe edilmiştir. Plakanın oda sıcaklığına gelmesi beklenmiş, ardından örneklerden 50 µl alınarak 96 kuyucuklu plakalara aktarılmıştır. Her kuyucuğa 200 µl distile su eklendikten sonra 540 nm’de absorbanslar ölçülmüştür (174, 175).



$\alpha$ -Amilaz enzim inhibisyonu aktivite aşağıdaki eşitlik aracılığı ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Enzim İnhibisyonu Aktivite} = [(A_{Kör} - A_{Numune})/A_{Kör}] \times 100$$

- **$\alpha$ -Glukozidaz Enzim İnhibisyon Tayini**

$\alpha$ -Glukozidaz enziminin substrat olarak kullanılan *p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranozidi hidroliz ederek, 405 nm’de maksimum absorbans gösteren sarı renkli *p*-nitrofenol bileşimini oluşturması esasına dayanır.

96 kuyucuklu plakalara, önce 0,1 M pH 6.9 potasyum fosfat tamponunda hazırlanmış 1 U/mL  $\alpha$ -glukozidaz enzim solüsyonundan 10  $\mu$ l, ardından aynı tampondan 50  $\mu$ l eklenmiştir. Üzerine numuneler ve pozitif kontrol olarak kullanılan akarbozun farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerinden 20  $\mu$ l eklenerek 37°C’de 5 dakika inkübe edilmiştir. Substrat olarak kullanılan 3 mM *p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranozit çözeltisinden 20  $\mu$ l kuyucuklara aktarılmış, 37°C’de 30 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Süre bitiminde 0,1 M sodyum karbonat çözeltisinden 50  $\mu$ l eklenmesi ile reaksiyon durdurulmuş ve 405 nm’de absorbanslar ölçülmüştür (176).

$\alpha$ -Glukozidaz enzim inhibisyonu aktivite aşağıdaki eşitlik aracılığı ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Enzim İnhibisyonu Aktivite} = [(A_{Kör} - A_{Numune})/A_{Kör}] \times 100$$

### 3.2.3. BDNF Protein Düzeyi ve Nöroprotektif Etki Tayini

Sulu etanol ekstresi, *n*-hekzan ile partiyon sonrası elde edilen su ekstresi ve ana fraksiyonlar üzerinde öncelikle *in vitro* sitotoksik etki tayini çalışmaları, ardından BDNF protein düzeyi tayin çalışmaları yürütülmüştür. BDNF artışı en yüksek olan fraksiyondan madde izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Tez kapsamında izole edilen maddeler ile daha önceki literatürlerde bitkide varlığı saptanan (38, 49) ve standart olarak temin edilen iki major madde (apigenin 7-O-glukuronit, salvianolik asit B) üzerinde SH-SY5Y, insan nöroblastoma hücre hattında, *in vitro* sitotoksik etki, nöroprotektif etki ve BDNF düzeyi tayinleri yürütülmüştür.

- ***In vitro* Sitotoksik Etki Tayini**

Sitotoksik etki tayini için Mosmann tarafından geliştirilen MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür] testi bazı modifikasyonlar yapılarak uygulanmıştır (177, 178). Yöntem, sarı renkli tetrazolyum tuzu MTT'nin canlı hücrelerde dehidrogenaz enzimleri tarafından mor renkli formazan kristallerine indirgenmesi esasına dayanır. Sadece canlı hücreler tarafından gerçekleştirilebilen bu reaksiyon sonucu oluşan renk değişiminin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile hücre canlılığı belirlenir.

Tez kapsamında ekstre, fraksiyon ve saf maddelerin sitotoksik etki tayini çalışmaları SH-SY5Y hücre hattı üzerinde yürütülmüştür. SH-SY5Y hücre hattı için %10 fetal sığır serumu (FBS) ve %1 penisilin-streptomisin çözeltisi içeren DMEM High Glucose (Dulbecco's Modified Eagle Medium) vasatı kullanılmış, 37°C'de %95 nem, %5 CO<sub>2</sub> içeren ortamda inkübasyonu sonucu çoğalan hücrelerden 1x10<sup>5</sup> hücre/mL içeren hücre süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu süspansiyondan 100'er µl alınarak 96 kuyucuk içeren plakalara aktarılmıştır. 24 saatin ardından sonra kuyucuklardaki vasat aspire edilmiş, yerine farklı konsantrasyonlardaki numuneleri içeren vasattan 100'er µl kuyucuklara aktarılmıştır. Her numune için 3 tekrarlı olacak şekilde çalışılmıştır. 48 saat inkübasyon sonunda plakadaki kuyucuklara PBS içerisinde hazırlanmış 5 mg/mL konsantrasyonda MTT solüsyonundan 10'ar µl eklenmiş, plaka dört saat süreyle inkübe edilmiştir. Ardından kuyucuklarda bulunan vasat aspirasyonla uzaklaştırılmış, 100'er µl DMSO kuyucuklara eklenmiştir. Ardından 570 nm'de absorbanslar ölçülmüştür. Hücre canlılığı ( $A_{\text{Numune}} / A_{\text{Kör}}$ ) x 100 formülüyle hesaplanmıştır.

- **Nöroprotektif Etki Tayini**

SH-SY5Y hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrojen peroksit) kaynaklı oluşan hasar literatürde nörotoksisiteyi modellemek için sıklıkla kullanılmaktadır (179). BDNF protein düzeyi tayini çalışmalarına ilave olarak, özellikle izole edilen maddelerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı nöronal hücre hasarına karşı olası nöroprotektif özelliklerini araştırmak amacıyla deney yürütülmüştür.

SH-SY5Y hücre hattından hazırlanan hücre süspansiyonundan (1x10<sup>5</sup> hücre/mL) 100'er µl alınarak plakalara aktarılmış, 37°C'de %95 nem, %5 CO<sub>2</sub>

içeren ortamda 24 saat inkübe edilmiştir. Ardından kuyucuklardaki vasat aspire edilmiş, yerine farklı konsantrasyonlardaki numunelerle muamele edilmiş H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (500 µM) içeren vasattan 100'er µl kuyucuklara aktarılmıştır. 24 saat süren inkübasyon sonrası plakadaki kuyucuklara PBS içerisinde hazırlanmış 5 mg/mL konsantrasyonda MTT solüsyonundan 10'ar µl eklenmiş, devamında MTT deney protokolü uygulanmıştır.

- **BDNF Protein Düzeyi Tayini**

SH-SY5Y hücre hattından hazırlanan hücre süspansiyonundan (1x10<sup>5</sup> hücre/mL) 500'er µl alınarak 24 kuyucuklu plakalara aktarılmış, 37°C'de %95 nem, %5 CO<sub>2</sub> içeren ortamda 24 saat inkübe edilmiştir. 24 saat sonra kuyucuklardaki vasat aspire edilmiş, yerine farklı konsantrasyonlardaki numuneleri içeren vasattan 500'er µl kuyucuklara aktarılmıştır. Pozitif kontrol olarak desipramin (180), negatif kontrol olarak numune içermeyen vasat kullanılmıştır. 48 saat inkübasyon sonrası protein izolasyonu için hücre lizis işlemine geçilmiştir.

Lizis işlemleri buz aküsü üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kuyucuklardaki vasat aspire edilmiş, PBS ile yıkamanın ardından RIPA (Radyoimmünopresipitasyon) lizis tampon sistemi kullanılarak hazırlanan lizis solüsyonundan 200'er µl kuyucuklara aktarılmıştır. Kuyucuklardaki parçalanmış hücreler hücre kazıyıcı yardımıyla toplanarak ayrı ayrı eppendorf tüplere aktarılmıştır. Ardından eppendorf tüpler beş saniye vorteks ile çalkalanmış, 10 dakika buzdolabında (+4°C) bekletilmiştir. Süre sonunda yeniden vorteks ile çalkalama işlemi uygulanmış ve buzdolabında (+4°C) 10 dakika daha bekletilmiştir. Sonrasında tekrar vorteks ile çalkalama yapılmış ve eppendorf tüpler 0°C'de 14000 xg'de 30 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatantlar yeni eppendorf tüplere aktarılmış ve total protein miktar tayini işlemine kadar buzdolabında saklanmıştır.

Örneklerin total protein miktarı süpernatantlar kullanılarak "Pierce™ BCA Protein Assay Kit" mikropłaka prosedürü ile belirlenmiştir. Kitin çalışma esası bikononik asit yöntemine dayalıdır. Kitin içerisinde yer alan 2 mg/mL konsantrasyonda albümin standardından 25–2000 µg/mL konsantrasyon aralığında standart örnekleri hazırlanmıştır. Ardından albümin standartları ve numunelerden 10'ar µl alınarak 96 kuyucuklu plakalara üç tekrarlı olacak şekilde aktarılmıştır. Kitin

içerisinde bulunan A ve B solüsyonunun 50:1 oranda karıştırılması ile hazırlanan çalışma solüsyonundan 200'er µl alınarak kuyucuklara eklenmiştir. 30 saniye mikrolaka çalkalayıcıda bekletildikten sonra, plaka 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda plaka folyoya sarılmış ve oda sıcaklığına gelmesi beklenmiş, ardından 562 nm'de absorbanslar ölçülmüştür. Farklı konsantrasyonlardaki albumin standardının absorbans-konsantrasyon grafiğinden elde edilen doğru denkleminde hareketle örneklerin total protein miktarları hesaplanmıştır. Örneklerin BDNF düzeyini belirlemek için kit uygulamasına geçmeden önce BDNF kitinin çalışma aralığına uygun olacak şekilde örneklerin normalizasyonu ve dilüsyonu gerçekleştirilmiştir.

Örneklerin BDNF düzeyi sandviç ELISA yöntemini içeren "Human BDNF ELISA Kit PicoKine®" ile tespit edilmiştir. Dilüsyonları yapılmış hücre kültürü süpernatantları kullanılarak kit protokolü aşağıdaki şekilde uygulanmıştır:

- BDNF'ye spesifik antikor (yakalama antikor) ile kaplı olan 96 kuyucuklu plakaya farklı konsantrasyonlardaki BDNF standartlarından ve örneklerden 100'er µl eklenmiş, mikrolaka bant ile kapatılarak 37°C'de 90 dakika inkübe edilmiştir.
- Mikrolaka içeriği dökülerek uzaklaştırılmış, kalan sıvıyı kurutmak için mikrolaka havlu kağıt üzerine ters çevrilerek hafifçe vurulmuş, mikrolakanın tamamen kuru kalmamasına dikkat edilmiştir.
- Biotinlenmiş deteksiyon antikoruna çalışma solüsyonundan 100'er µl kuyucuklara eklenmiş, mikrolaka bant ile kapatılarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
- Mikrolaka içeriği dökülerek uzaklaştırılmış, önceki adımda olduğu gibi kurulama işlemi uygulanmıştır. 300'er µl yıkama tamponu kuyucuklara eklenmiş, bir dakika beklenerek yıkama tamponu uzaklaştırılmış, kurulama işlemi yapılmıştır. Yıkama işlemi 3 kez tekrarlanmıştır.
- Avidin-biotin-peroksidaz kompleksi çalışma solüsyonundan 100'er µl kuyucuklara eklenmiş, mikrolaka bant ile kapatılarak 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.
- Mikrolaka içeriği dökülerek uzaklaştırılmış, önceki adımlarda olduğu gibi kurulama işlemi uygulanmıştır. 300'er µl yıkama tamponu kuyucuklara

eklenmiş, bir dakika beklenecek yıkama tamponu uzaklaştırılmış, kurulama işlemi yapılmıştır. Yıkama işlemi 5 kez tekrarlanmıştır.

- Substrat reaktifi (TMB)'nden 90 µl kuyucuklara aktarılmış, mikrolaka bant ile kapatılmış, ışıktan korunarak 37°C'de 25 dakika inkübe edilmiştir.
- Kuyucuklara 100 µl durdurma solüsyonu eklenmiş, sarı renk oluşumu gözlenmiştir. Absorbans 450 nm'de ölçülmüştür.

Farklı konsantrasyonlardaki BDNF standardının absorbans-konsantrasyon grafiğinden elde edilen doğru denkleminde hareketle örneklerin BDNF düzeyleri hesaplanmıştır. Örneklerin BDNF düzeyi negatif kontrole göre (numune içermeyen vasat) “% Artış” olarak verilmiştir (181).

Aktivite deneyleri en az 3 tekrarlı (n=3) şekilde gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analizler için GraphPad Prism 9.0.2 programı kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar Tek Yönlü (One-WAY) Varyans Analizi (ANOVA) ve ardından çoklu karşılaştırmalar için Dunnett testi kullanılarak ölçülmüş, 0,05 veya daha küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir (\* p<0,05; \*\* p<0,001; \*\*\*p<0,0001).

Elde edilen veriler Microsoft Excel 2019 ve GraphPad Prism 9.0.2 programları kullanılarak görselleştirilmiştir.

### 3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler, Aletler ve Cihazlar

**Adsorbanlar:** Kolon kromatografisi çalışmalarında adsorban olarak poliamit (Polyamide 6, Fluka, 50-160 µm), normal faz silikajel (Kieselgel 60, 0,063-0,2 mm, Merck 7734), ters faz silika jel (LiChroprep RP-18, 40-63 µm, Merck) ve sefadeks (Sephadex LH-20, Sigma) dolgu materyalleri kullanılmıştır. İnce tabaka kromatografisi çalışmalarında normal faz silika jel ile kaplanmış hazır alüminyum plaklar (Kieselgel 60 F254, 0,2 mm, Merck 5554) ve ters faz silika jel ile kaplanmış hazır alüminyum plaklar (RP-18, 0,2 mm, Merck 5559) kullanılmıştır. Preparatif ince tabaka kromatografisi çalışmalarında normal faz silika jel ile kaplanmış hazır cam plaklar (Kieselgel 60 F254, Merck 5744) kullanılmıştır.

**Solvanlar:** n-hekzan, diklorometan, etanol, etil asetat, metanol, kloroform, t-butanol, n-butanol, sülfürik asit, formik asit, asetik asit, (Sigma, Merck, Carlo Erba)

**Katı Maddeler, Kitler:** Vanilin (Merck), gallik asit (Sigma-Aldrich), askorbik asit (Sigma-Aldrich), troloks (Acros Organics, Denmark), apigenin-7-O-glukuronit (Sigma-Aldrich), salvianolik asit B (Sigma-Aldrich), MTT (VWR Life Science), Dulbecco's Modified Eagle's Medium- high glucose (DMEM) (Sigma-Aldrich, UK), penisilin/Streptomisin (Wisent, Canada), Fetal Bovine Serum (FBS) (Biowest, USA), Tripsin/EDTA (Wisent, Canada), Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (PBS) (Sigma-Aldrich, UK), hidrojen peroksit 30% (Perhydrol™) for analysis EMSURE ISO (Merck), RIPA Lysis Buffer System (sc-24948A, Santa Cruz Biotechnology), Pierce™ BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific, USA), Human BDNF ELISA Kit PicoKine® (Boster Biological Technology, USA), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (Sigma-Aldrich), sülfanilamit (Sigma-Aldrich, China), sodyum nitroprussit dihidrat (Merck, India), neokuproin (Sigma-Aldrich, China), Folin-Ciocalteu reaktifi (Merck, Germany), 3,5-dinitrosalisilik asit (Sigma-Aldrich, China), 2,4,6-tripiridil-s-triazin (Sigma-Aldrich, Switzerland), potasyum ferrisiyanit (Carlo Erba), N-(1-naftil)etilendiamin dihidroklorit (Sigma-Aldrich), CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (Carlo Erba, France), amonyum asetat (Merck, Germany), nitroblue tetrazolium (Sigma-Aldrich), potasyum fosfat monobazik (Sigma-Aldrich), akarboz (Cayman, USA), p-nitrofenil-α-D-glukopiranozit (Sigma-Aldrich, Switzerland), α-amilaz enzimi (Sigma-Aldrich), α-glukozidaz enzimi (Sigma-Aldrich).

***Aletler ve Cihazlar***

CO<sub>2</sub> inkübatörü: Sanyo MCO-18AIC

Derin dondurucu: Arçelik

Distile su cihazı: Milli-Q Direct-Q 3UV

Etüv: Elektro Mag M 5040

Fraksiyon toplayıcı: Dionex Foxy Jr

Hassas terazi: Denver Instrument-SI-234, Shimadzu AUW220D

İnverted mikroskop: Leica

Kromatografi tankı: CAMAG

Laminar flow kabini: Teknomar-Chemocell LRCX-UV

Liyofilizatör: Christ Alpha 1-2 LDplus

Mikroplaka okuyucu: Bio-Tek, µQuant

Otoklav: Autoclave HS 9041

Otomatik pipetler: Gilson, Eppendorf

pH metre: Mettler Toledo MA235

Plaka ısıtıcı: CAMAG

Rotavapor: Büchi R-200, Büchi R-210

Santrifüj: KuBoTA-3500

Su banyosu: Major Science-SWB 10L-1

Ultrasonik banyo: Transsonic 570

UV lambası: CAMAG

Vakum pompası: Millipore

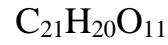
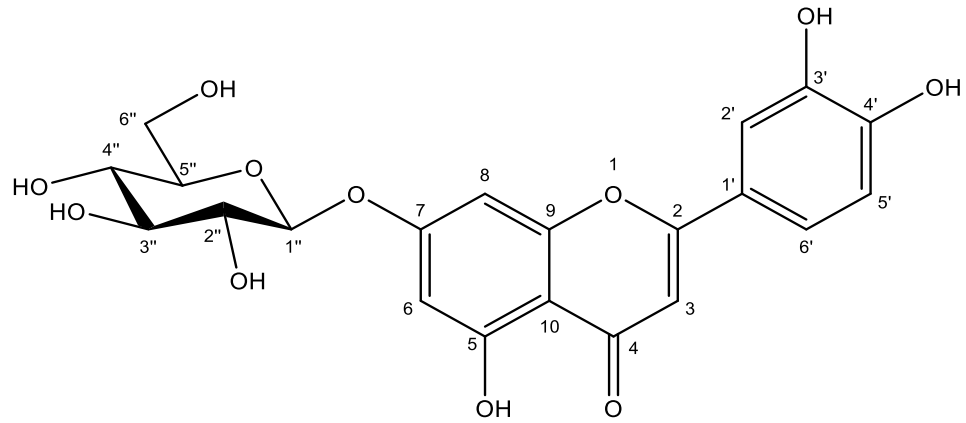
Vorteks: Isolab

## 4. BULGULAR

### 4.1. Fitokimyasal Bulgular

#### 4.1.1. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri

##### LUTEOLİN 7-*O*- $\beta$ -D-GLUKOPİRANOZİT (LS-D1)



Molekül Ağırlığı: 448.38 g/mol

ESI-MS ( <i>m/z</i> )	447 [M-H] <sup>-</sup>
<sup>1</sup> H NMR	Tablo 4.1 Şekil 4.1
HSQC	Şekil 4.2



LS-D1 bileşiği sarı renkli amorf bir toz olarak izole edilmiştir. İTK analizinde vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> püskürtüldükten sonra plağın 105°C'de ısıtılması ile LS-D1 bileşiğinin kromatogramda sarı renk vermesi bileşiğin flavonoit yapıda olabileceğini düşündürmüştür.

ESI kütle spektrumunda m/z 447'de gözlenen [M-H]<sup>-</sup> iyon piki, bileşiğin <sup>1</sup>H NMR ve HSQC spektrumları literatür verileri ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin kapalı formülü C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub> olarak bulunmuştur.

<sup>1</sup>H NMR spektrumunda (Tablo 4.1, şekil 4.1)  $\delta_H$  6,88 (d,  $J=8,3$  Hz, H-5'), 7,37 (gs, H-2') ve 7,39 (H-6') ppm'de görölen flavonoitin B halkasına ait 3 adet proton sinyali;  $\delta_H$  6,47 (gs, H-6) ve 6,76 (gs, H-8) ppm'de geniş singlet şeklinde görölen A halkasındaki 2 adet proton sinyali;  $\delta_H$  6,56 (s, H-3) ppm'de singlet şeklinde gözlenen C halkasında bulunan proton sinyali ile birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin flavon yapısında olduğu belirlenmiştir (182). <sup>1</sup>H NMR ve HSQC spektrumlarında (şekil 4.2)  $\delta_H$  5,05 ve  $\delta_C$  100,06 ppm'de görölen anomerik proton ve karbon sinyalleri ile  $\delta_H$  3,41-3,91 ppm arasında gözlenen diğer oz sinyalleri bileşiğin oz ünitesi taşıdığını göstermiştir.

B halkasında gözlenen H-2', H-5' ve H-6' proton sinyalleri ve A halkasında meta etkileşim olarak geniş singlet şeklinde gözlenen H-6 ve H-8 sinyalleri, HSQC spektrumlarında protonlara karşılık gelen karbon sinyalleri ile birlikte yapının 3',4',5',7-tetrahidroksiflavon şeklinde olduğunu ortaya koymuştur (183). Elde edilen bulgular aglikonun literatürde yer alan luteolin verileri ile uyumlu olduğunu göstermiştir (180, 184, 185). Ancak luteolin ile kıyaslandığında LS-D1 bileşiğinde H-6 ve H-8 proton sinyallerinin daha aşağı alanda gözlenmiş olması luteoline 7. konumdaki hidroksil grubu üzerinden oz ünitesinin bağlandığını düşündürmüştür (186).

Anomerik proton sinyalinin  $\delta_H$  5,05 ppm'de dublet olarak gözlenmesi, kenetlenme sabitinin 6,7 Hz olması; oz ünitesinin hidroksimetil grubuna ait  $\delta_H$  3,72 ve 3,91 ile  $\delta_C$  60,80 ppm'de belirlenen sinyaller;  $\delta_H$  3,41-3,54 ppm arasında gözlenen diğer dört oz proton sinyalleri yapıda  $\beta$  formunda bir glukoz bulunduğunu göstermiştir (183).

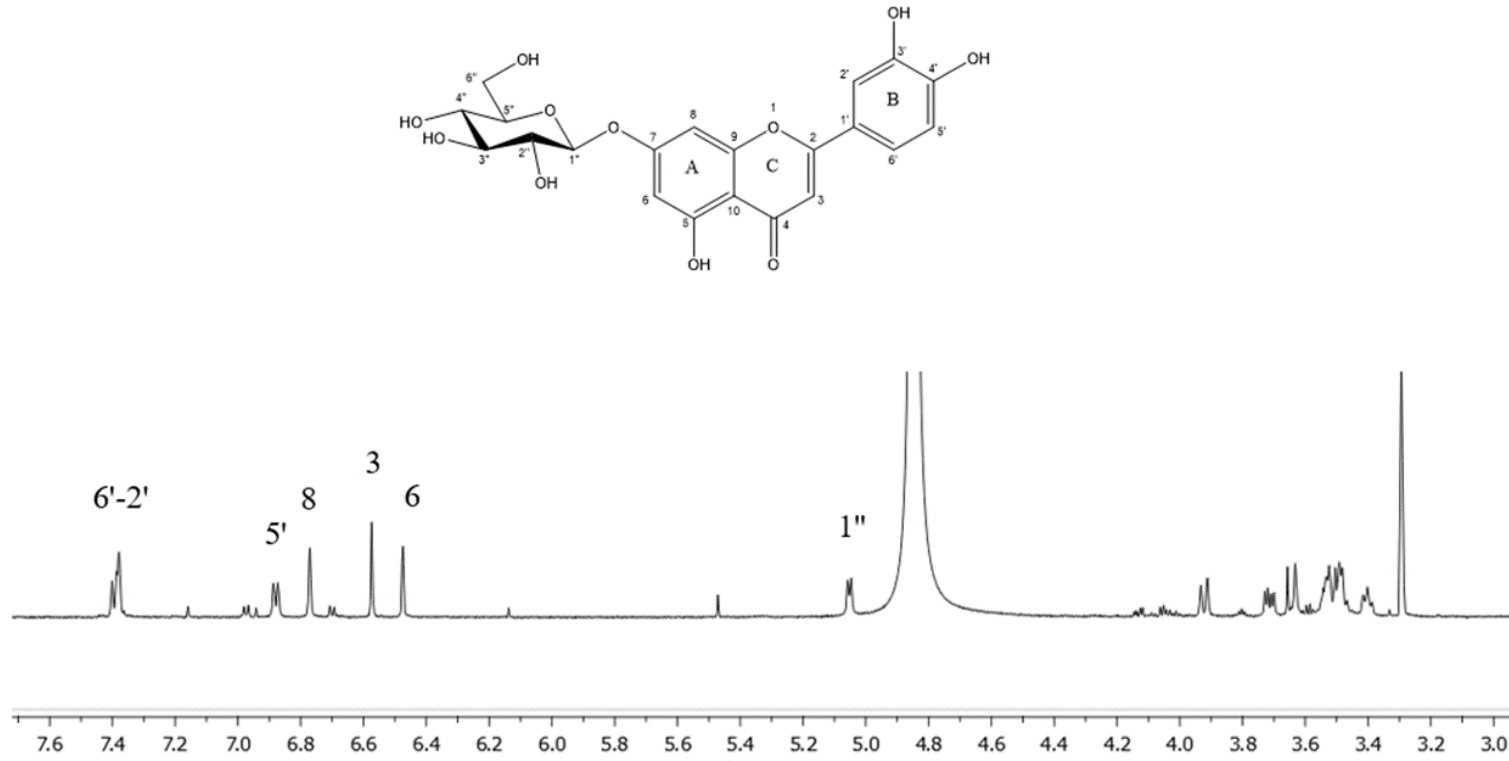
Sonuç olarak  $^1\text{H}$  NMR ve HSQC spektrumları yardımı ile, literatür bulgularından da yararlanılarak (180, 186, 187) ve şahit madde ile İTK analizinde karşılaştırıldığında LS-D1 bileşiğinin yapısı **luteolin 7-*O*- $\beta$ -D-glukopiranozit** olarak aydınlatılmıştır.

**Tablo 4.1.** Luteolin 7-*O*- $\beta$ -D-glukopiranozit (LS-D1) bileşiğinin NMR spektroskopisi değerleri ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $^{13}\text{C}$ : 150 MHz,  $^1\text{H}$ : 600 MHz).

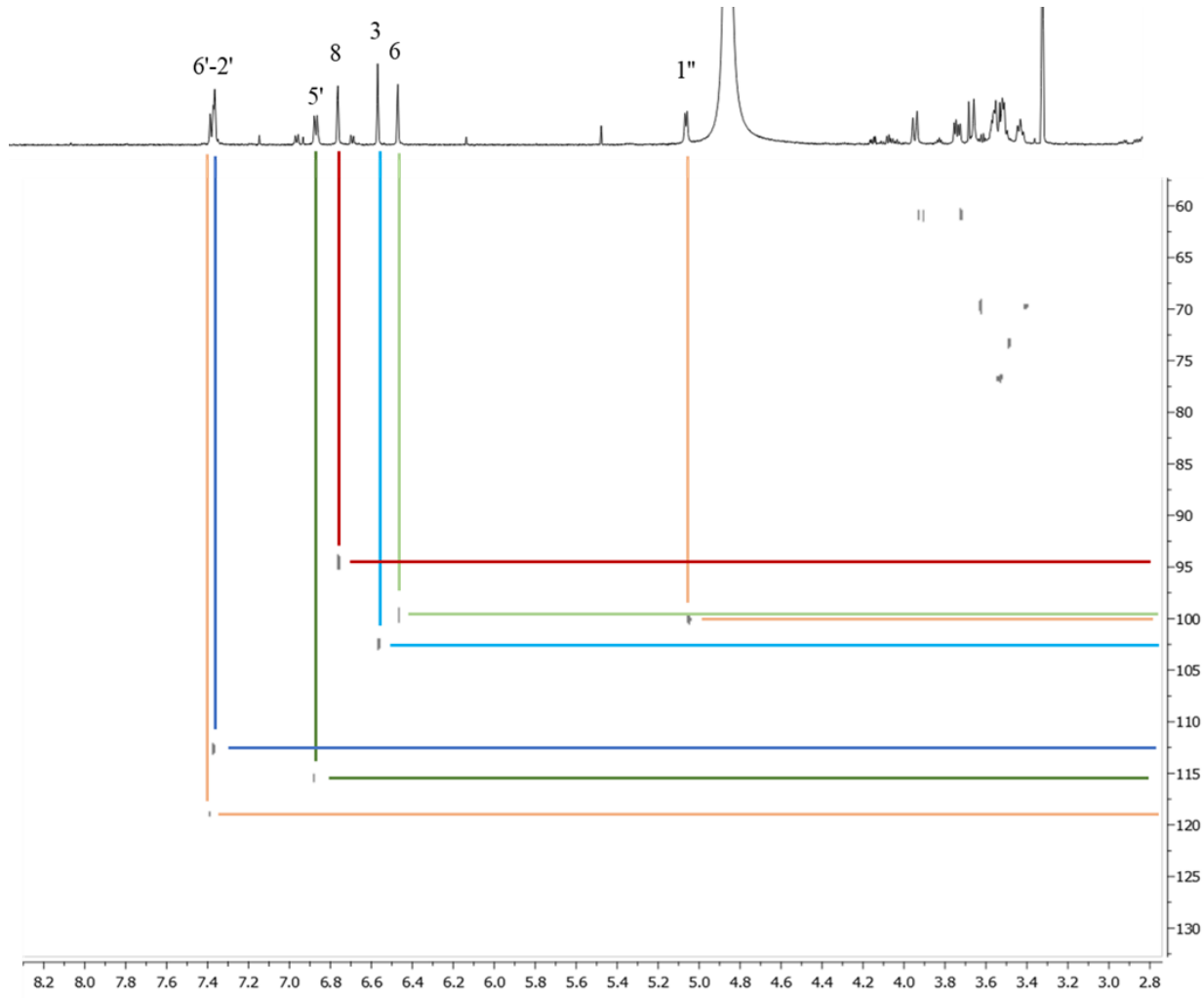
C/H	DEPT	$\delta_{\text{C}}$ (ppm) *	$\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>J</i> (Hz)
Aglikon			
3	CH	102,52	6,56 s
6	CH	99,68	6,47 gs
8	CH	94,55	6,76 gs
2'	CH	112,63	7,37 gs
5'	CH	115,44	6,88 d (8,3)
6'	CH	119,04	7,39 <sup>†</sup>
Glukoz			
1"	CH	100,06	5,05 d (6,7)
2"	CH	73,26	3,49 m
3"	CH	76,55	3,52-3,54 m
4"	CH	69,76	3,41 m
5"	CH	76,75	3,52-3,54 m
6"	CH <sub>2</sub>	60,80	3,72 dd (12,0/5,6) 3,91 gd (12,0)

\* $^{13}\text{C}$  NMR spektrumunda pikler çıkmadığı için katerner karbonlara ait değerler verilememiştir.

<sup>†</sup> Sinyal girişimleri nedeniyle *J* değeri hesaplanamamıştır.

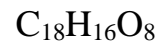
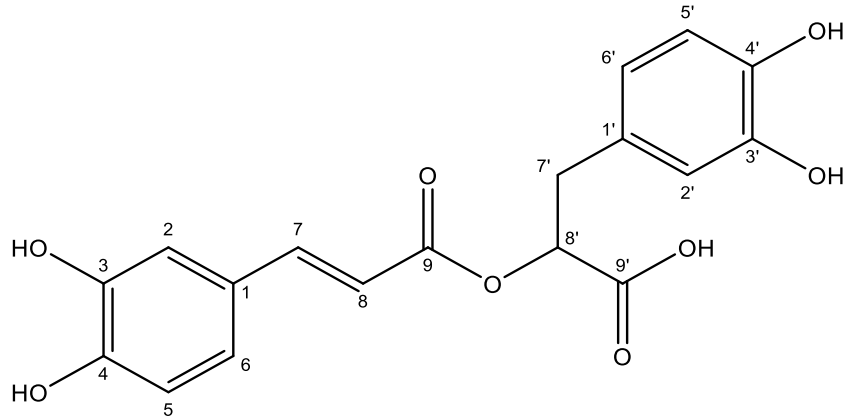


Şekil 4.1. Luteolin 7-O-β-D-glukopiranozit'in (LS-D1) <sup>1</sup>H NMR spektrumu (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz).



Şekil 4.2. Luteolin 7-*O*- $\beta$ -D-glukopiranozit'in (LS-D1) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) NMR spektrumu (HSQC).

## ROZMARİNİK ASİT (LS-D2)



Molekül Ağırlığı: 360.3 g/mol

ESI-MS ( $m/z$ )	359 [M-H] <sup>-</sup>
<sup>1</sup> H NMR	Tablo 4.2 Şekil 4.3
<sup>13</sup> C NMR ve DEPT	Tablo 4.2 Şekil 4.4
COSY	Şekil 4.5
HSQC	Şekil 4.6
HMBC	Şekil 4.7

LS-D2 bileşiği krem renkli amorf bir toz olarak izole edilmiştir. Silikajel plak üzerinde yapılan İTK analizinde revelatör olarak vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> püskürtülmüş, plağın 105°C'de ısıtılması ile LS-D2 bileşiği kromatogramda zamanla solan pembe bir renk vermiştir.

ESI kütle spektrumunda  $m/z$  359'da gözlenen [M-H]<sup>-</sup> iyon piki, bileşiğin <sup>13</sup>C NMR spektrumundaki 18 karbon sinyali, <sup>1</sup>H NMR ve 2D NMR spektrumları ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin kapalı formülü C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub> olarak bulunmuştur.

LS-D2 bileşiğinin <sup>1</sup>H NMR spektrumunda (Tablo 4.2, şekil 4.3) δH 6,52-7,07 ppm arasında yer alan 6 adet proton sinyali (H-2, H-5, H-6, H-2', H-5', H-6') bileşiğin 2 adet 1,3,4-trisüstitüe fenil halkası taşıdığını düşündürmüştür. AB sistem şeklinde 2 olefinik proton sinyali δH 6,22 (d,  $J=15,8$  Hz, H-8) ve 7,41 (d,  $J=15,8$  Hz, H-7) ppm'de görülmüştür. HSQC spektrumundan (şekil 4.6) olefinik protonların karbon sinyallerinin δC 114,67 ve 145,37'da olduğu görülmüştür. Olefinik protonların kenetlenme sabiti değerleri ( $J = 15,8$  Hz), HMBC spektrumunda (şekil 4.7) olefinik protonlar ile uzak mesafe etkileşmeleri gözlenen δC 166,65 ppm'de görülen ester karbon sinyali (C-9), 1,3,4-trisüstitüe fenil halkasının proton sinyalleri ile birlikte değerlendirildiğinde yapıda trans-kafeik asit bulunduğuna işaret etmiştir.

<sup>1</sup>H NMR spektrumunda geniş dublet olarak δH 4,94 ppm'de metin proton sinyali (H-8') ve COSY spektrumu (şekil 4.5) yardımıyla komşuluğunda olduğu saptanan eşdeğer olmayan δH 3,03 (d), 2,81 (m) metilen protonları (H-7') gözlenmiştir. HSQC spektrumundan bu protonların karbon sinyalleri sırasıyla δC 75,33 (C-8') ve 37,27 (C-7') ppm olarak belirlenmiştir. Belirtilen protonların karbon sinyalleri, DEPT spektrumundaki (şekil 4.4) δC 37,27 (C-7') sinyalinin CH<sub>2</sub> grubunu göstermesi, 1,3,4-trisüstitüe fenil halkasının proton sinyalleri, H-2' ve H-6' protonlarının C-7' karbonu ile uzak mesafe etkileşmeleri ile δC 172,92 ppm'de görülen karboksilat anyonu trans-kafeik asitle birlikte yapıda 3,4-dihidroksifenillaktik asit olduğu sonucuna ulaşılmasını sağlamıştır.

LS-D2 bileşiğinin COSY spektrumunda δH 3,03 (H-7'b) ile δH 2,81(H-7'a) arasında; δH 4,94 (H-8') ile δH 3,03 (H-7'b) ve δH 2,81(H-7'a) arasında; δH 7,41 (H-7) ile δH 6,22 (H-8) spin sistemleri saptanmıştır. Bileşiğin HMBC spektrumunda görülen, 8' konumunda yer alan protonun C-9 konumundaki karbon ile uzak mesafe

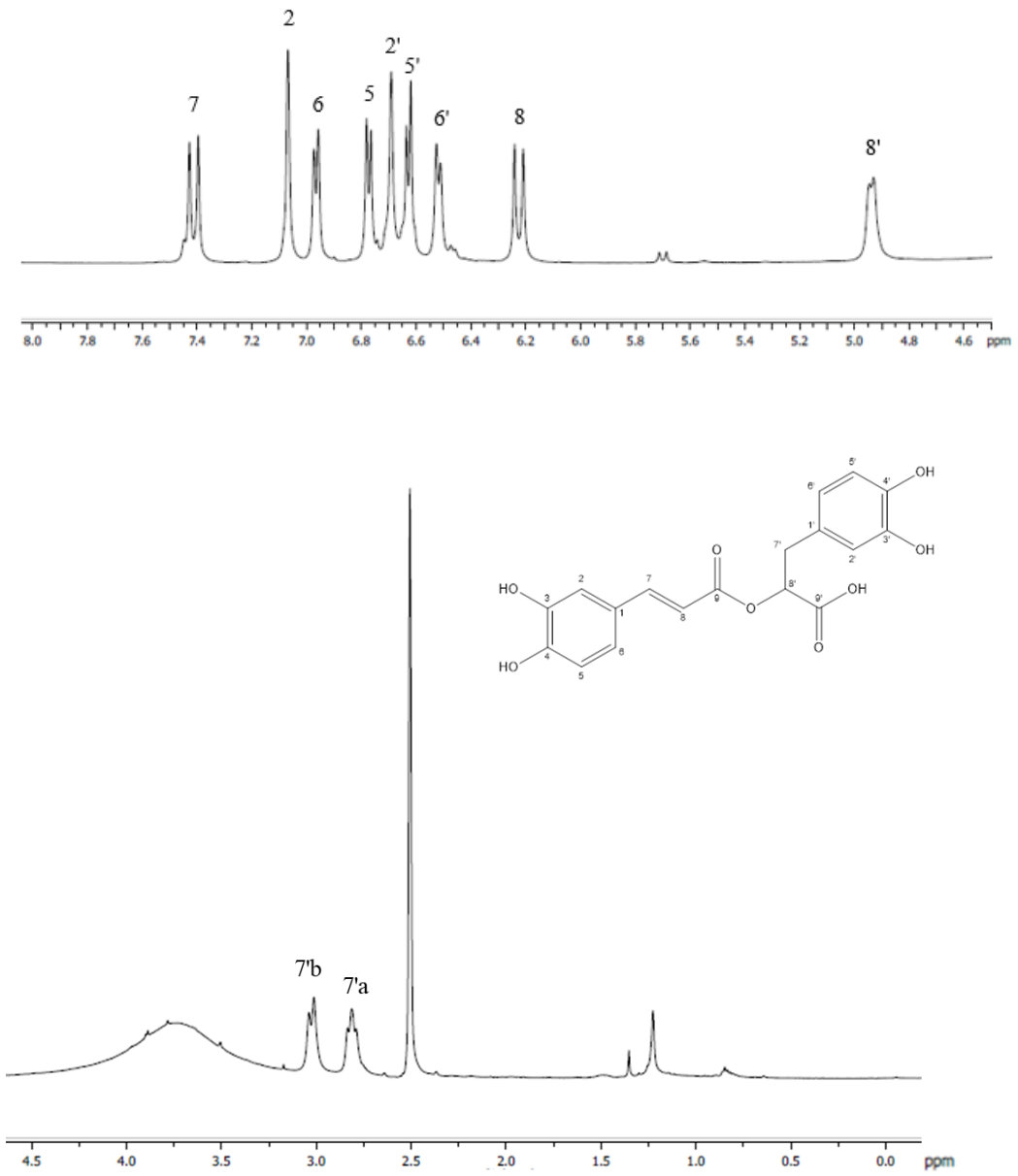
etkileşmesi trans-kafeik asidin 3,4-dihidroksifenillaktik asit ile 8' konumundan bağlandığını doğrulamıştır.

Sonuç olarak LS-D2 bileşiğinin yapısı, 1D ve 2D (COSY, HMQC, HMBC) NMR spektrumları yardımı ile, literatür bulguları ile karşılaştırılmasıyla (188, 189) ve şahit madde ile İTK analizi sonucunda **rozmarinik asit ( $\alpha$ -O-kafeoil-3,4-dihidroksifenillaktik asit)** olarak aydınlatılmıştır.

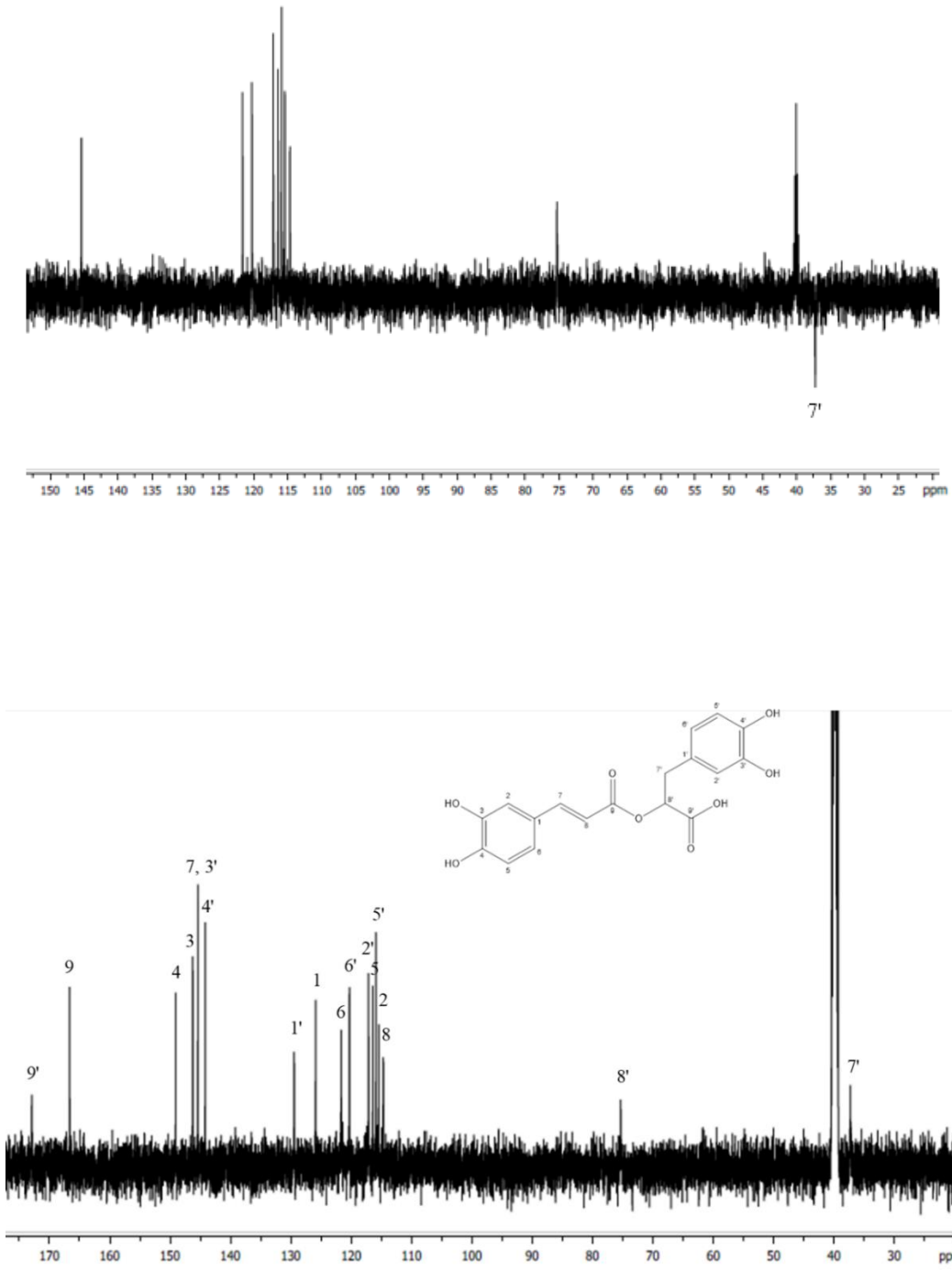
**Tablo 4.2.** Rozmarinik Asit (LS-D2) bileşığının NMR spektroskopisi değerleri (DMSO-*d*<sub>6</sub>, <sup>13</sup>C: 125 MHz <sup>1</sup>H: 500 MHz)

C/H	DEPT	δ <sub>C</sub> (ppm)	δ <sub>H</sub> (ppm), <i>J</i> (Hz)	HMBC (H→C)
1	C	125,88		
2	CH	115,42	7,07 gs	C-4, C-6, C-7
3	C	146,24		
4	C	149,08		
5	CH	116,40	6,77 d (8,0)	C-1, C-2, C-3
6	CH	121,65	6,97 d (8,0)	C-2, C-4, C-7
7	CH	145,37	7,41 d (15,8)	C-2, C-6, C-9
8	CH	114,67	6,22 d (15,8)	C-1, C-9
9	C=O	166,65		
1'	C	129,44		
2'	CH	117,11	6,69 gs	C-4', C-6', C-7'
3'	C	145,37		
4'	C	144,18		
5'	CH	115,89	6,63 d (7,8)	C-1', C-3'
6'	CH	120,28	6,52 d (7,8)	C-2', C-4', C-7'
7'	CH <sub>2</sub>	37,27	3,03 d (12,3) 2,81 t (12,3)	
8'	CH	75,33	4,94 gd (7,5)	C-9
9'	C=O	172,92		

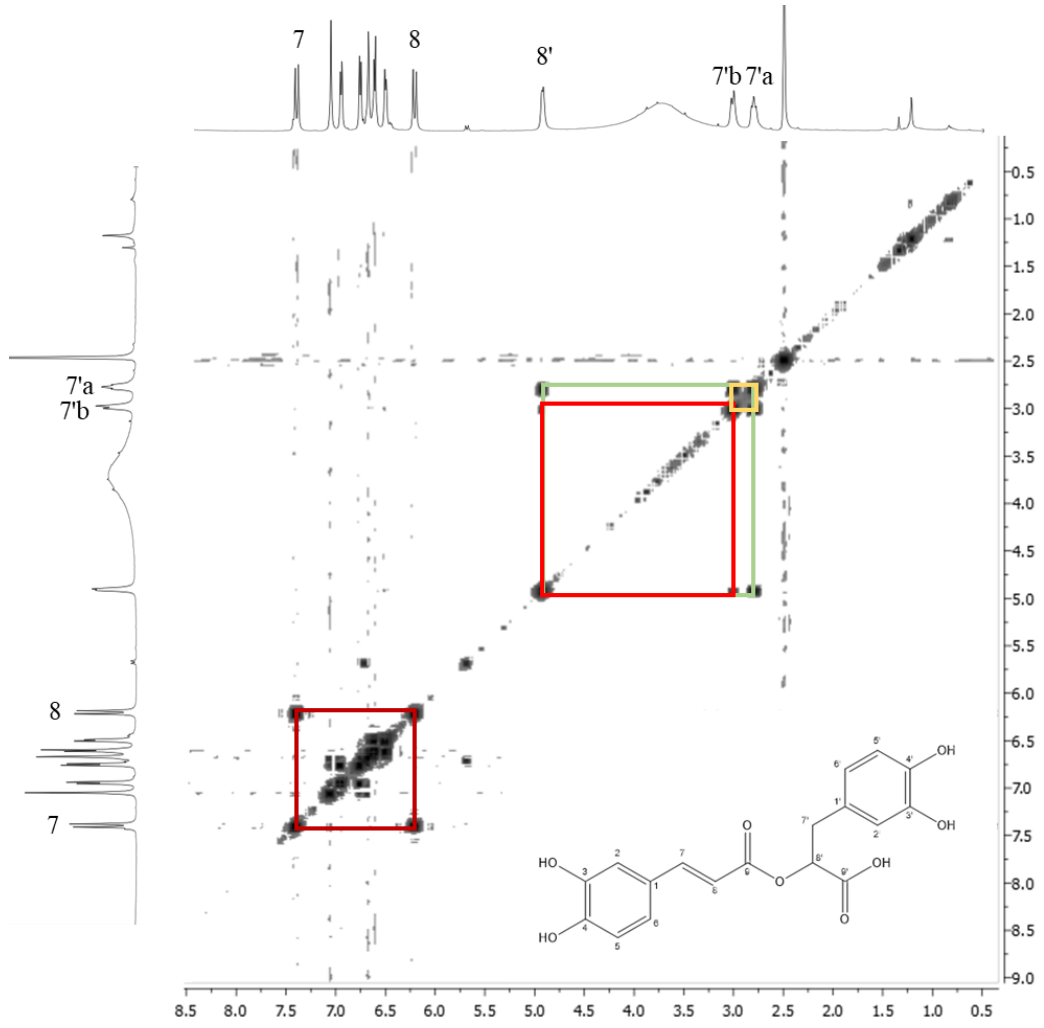




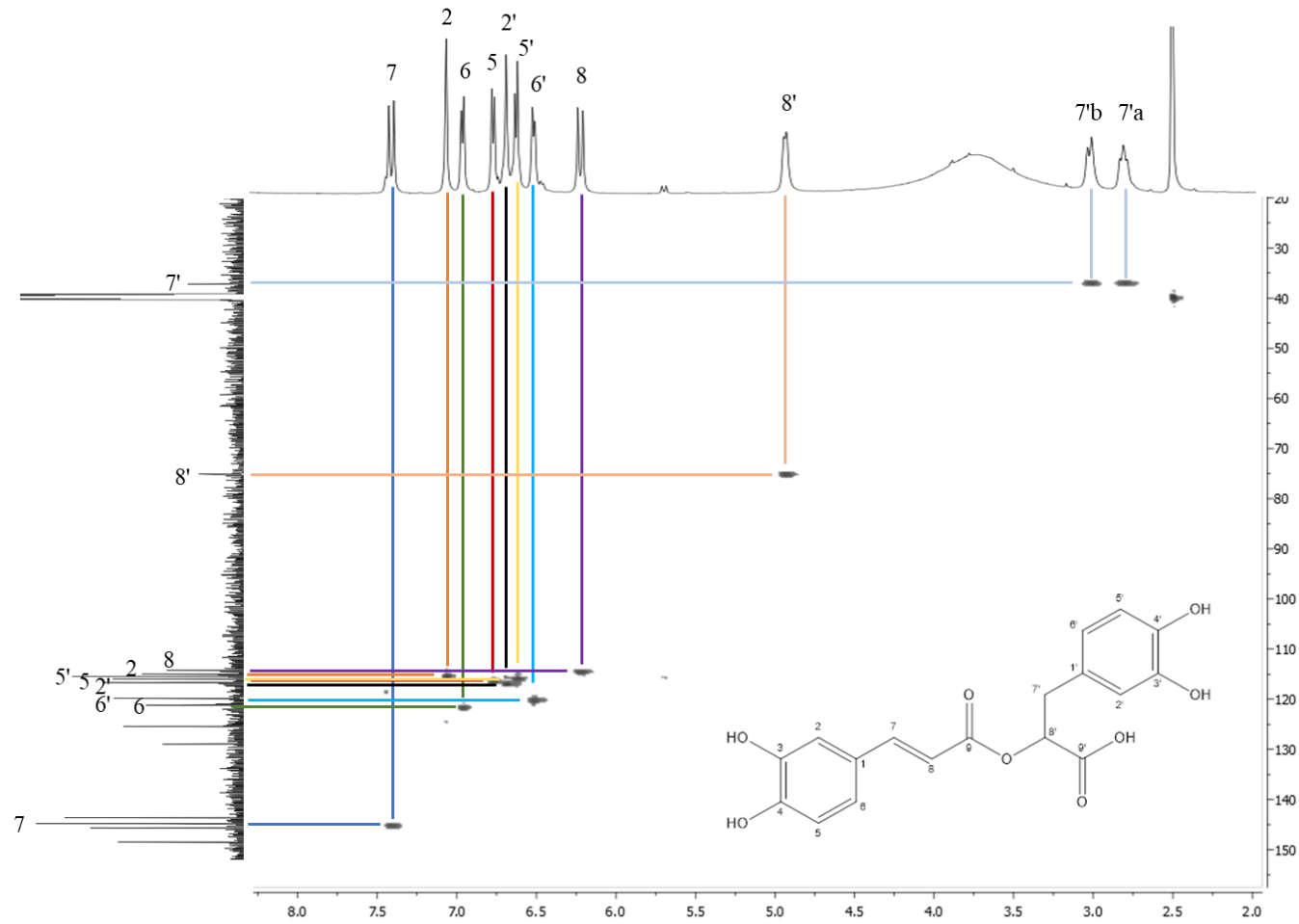
**Şekil 4.3.** Rozmarinik Asit'in (LS-D2)  $^1\text{H}$  NMR spektrumu (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz)



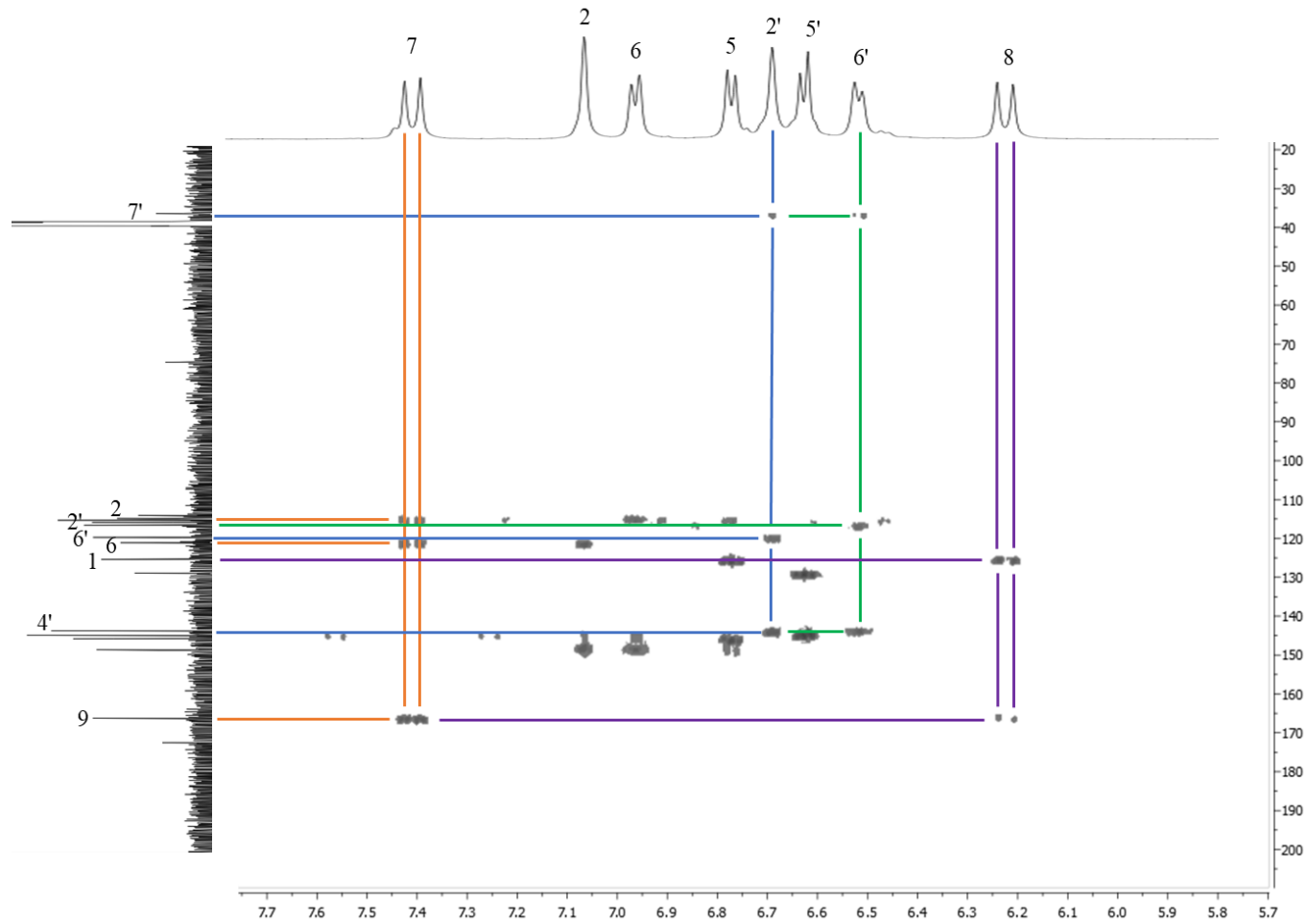
**Şekil 4.4.** Rozmarinik Asit'in (LS-D2) DEPT-135 ve  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumları ( $\text{DMSO-d}_6$ , 125 MHz).



**Şekil 4.5.** Rozmarinik Asit'in (LS-D2) 2D <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY).

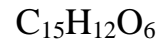
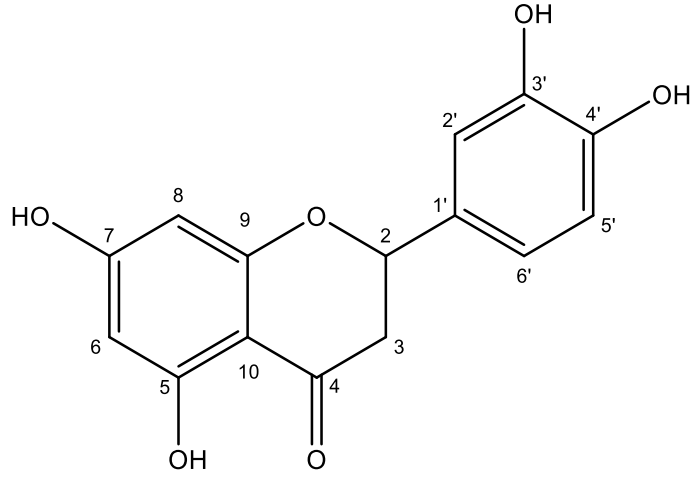


Şekil 4.6. Rozmarinik Asit'in (LS-D2) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) NMR spektrumu (HSQC).



Şekil 4.7. Rozmarinik Asit'in (LS-D2) 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC).

## ERİODİKTİYOL (LS-D3)



Molekül Ağırlığı: 288.26 g/mol

ESI-MS ( $m/z$ )	287 [M-H] <sup>-</sup>
<sup>1</sup> H NMR	Tablo 4.3 Şekil 4.8
<sup>13</sup> C NMR ve DEPT	Tablo 4.3 Şekil 4.9
COSY	Şekil 4.10
HSQC	Şekil 4.11
HMBC	Şekil 4.12

LS-D3 bileşiği amorf bir toz olarak izole edilmiştir. Bileşiğin İTK analizinde revelatör olarak vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> püskürtülmesinin ardından parlak sarı renk, plağın 105°C'de ısıtılmasıyla ise turuncu-kahverengi renk vermesi flavonoit yapıda olabileceğini düşündürmüştür.

ESI kütle spektrumunda *m/z* 287'de gözlenen [M-H]<sup>-</sup> iyon piki, bileşiğin <sup>13</sup>C NMR spektrumundaki 15 karbon sinyali, <sup>1</sup>H NMR ve 2D NMR spektrumları ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin kapalı formülü C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> olarak bulunmuştur.

<sup>1</sup>H NMR spektrumunda (Tablo 4.3, şekil 4.8) δ<sub>H</sub> 6,68 (gs, H-5', H-6') ve 6,81 (gs, H-2') ppm'de görülen flavonoitin B halkası proton sinyalleri; δ<sub>H</sub> 5,77 (d, *J*=2 Hz, H-6) ve 5,79 (d, *J*=2 Hz, H-8) ppm'de görülen A halkası proton sinyalleri; δ<sub>H</sub> 5,17 ppm'de dd (*J*=12,8/3 Hz) olarak görülen metin proton sinyali (H-2) ve COSY spektrumu (şekil 4.10) yardımıyla komşuluğu olduğu saptanan eşdeğer olmayan δ<sub>H</sub> 2,58 (dd, *J*=17,1/3 Hz, H-3<sub>b</sub>) ve 2,96 (dd, *J*=17,1/12,8 Hz, H-3<sub>a</sub>) metilen protonları (H-3) sinyalleri şeklinde gözlenen C halkası proton sinyalleri birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin flavanon iskeleti taşıdığı belirlenmiştir (182). <sup>13</sup>C NMR spektrumunda (Tablo 4.3, şekil 4.9) A ve B halkasının δ<sub>C</sub> 94,79- 167,12 ppm arasında gözlenen 12 karbon sinyali ile <sup>13</sup>C NMR ve DEPT135 spektrumunda (şekil 4.9) C halkasının δ<sub>C</sub> 42,71 ppm'de görülen metilen grubu (C-3), δ<sub>C</sub> 79,06 ppm'de görülen metin sinyali (C-2), δ<sub>C</sub> 196,35 ppm'de yer alan karbonil grubu (C-4) yakın ve uzak proton etkileşimlerini gösteren 2D NMR spektrumları ile birlikte değerlendirildiğinde yapının flavanon olduğu doğrulanmıştır (190).Yakın zamanda Chepkirui ve ark. tarafından yayınlanan makalede (191) <sup>1</sup>H NMR ve <sup>13</sup>C NMR spektrumlarında benzer sinyaller gösteren flavanon ve β-hidroksidihidrokalon yapıları kıyaslandığında, LS-D3 bileşiğinin flavanon değerlerine uygunluk gösterdiği saptanmıştır.

Meta etkileşim gösteren H-6 (δ<sub>H</sub> 5,77 ppm) ve H-8 (δ<sub>H</sub> 5,79 ppm) proton sinyallerinin C halkasında bulunan karbonil grubu (C-4) ile uzak proton etkileşimleri HMBC spektrumunda (şekil 4.12) gözlenmiş olup flavonoitin A halkasında yer aldıkları belirlenmiştir, literatürle uyumlu şekilde flavanon yapısından dolayı karşılık gelen flavona göre daha yüksek alanda sinyal göstermişlerdir (182). Bu protonların diğer uzak mesafe etkileşimleri olan C-5 (δ<sub>C</sub> 164,06 ppm) ve C-7 (δ<sub>C</sub> 167,12 ppm) karbon sinyallerinin düşük alana kaymış olması nedeniyle A halkasının 5,7-disübstitüe

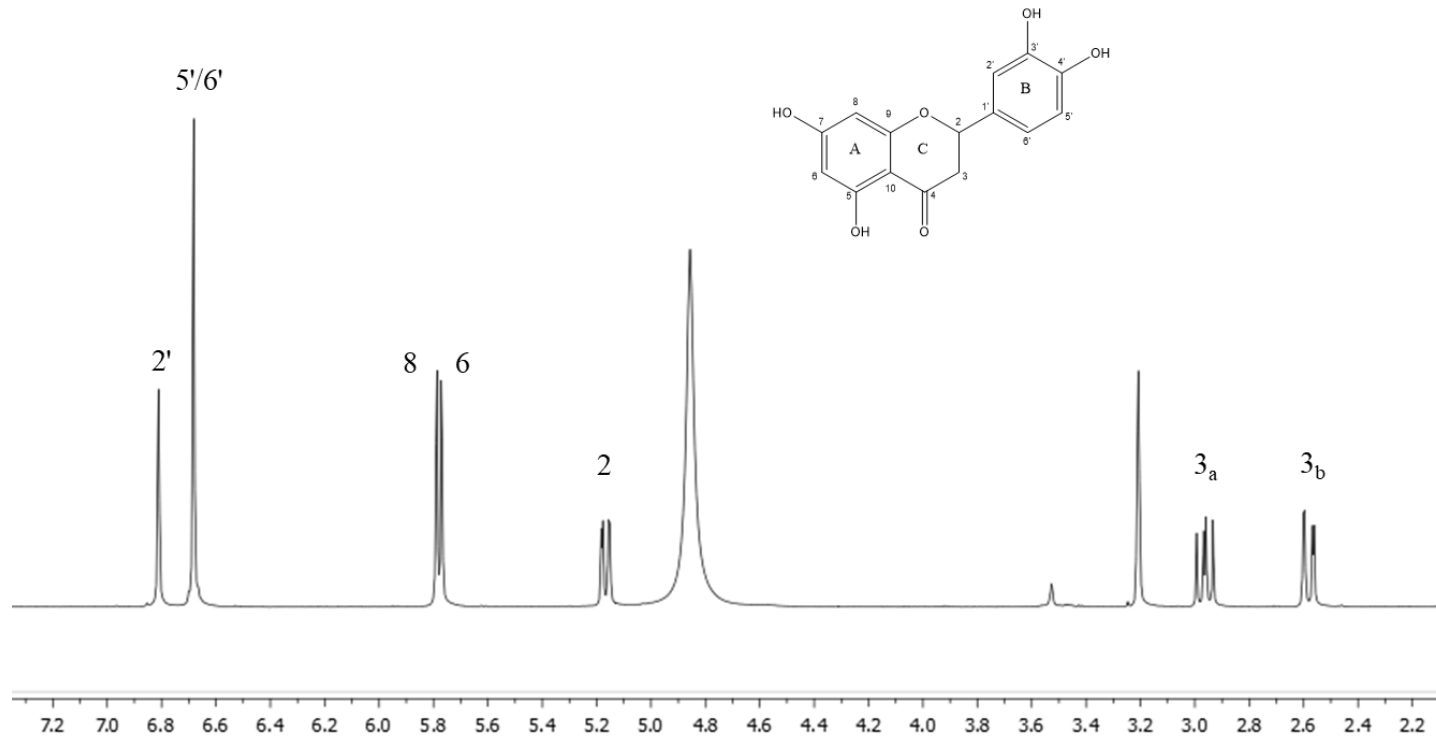
yapıda olduğu düşünülmüştür. <sup>1</sup>H NMR spektrumunda geriye kalan 3 proton sinyali δH 6,81 (gs, H-2') ve 6,68 (gs, H-5'/H-6') ppm'de 2 pik vermiş olup bu durum 3',4'-disübstitüe flavanon literatür verisi ile de uyumludur (182). Bileşiğin HMBC spektrumunda, 2 konumunda yer alan protonun C-1', C-2' ve C-6' konumlarındaki karbonlar ile uzak mesafe etkileşmesi de C halkasının B halkasına 2 numaralı konumdan bağlandığını göstermiştir.

Sonuç olarak B halkasında gözlenen H-2', H-5' ve H-6' proton sinyalleri ve A halkasında meta etkileşim olarak dublet şeklinde gözlenen H-6 ve H-8 sinyalleri, HSQC spektrumlarında (Şekil 4.11) protonlara karşılık gelen karbon sinyalleri ile birlikte yapının 3',4',5,7-tetrahidroksiflavanon şeklinde olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular aglikonun literatürde yer alan eriodiktiyol verileri ile uyumlu olduğunu göstermiş (192-195), LS-D3 bileşiğinin yapısı 1D ve 2D (COSY, HMQC, HMBC) NMR spektrumları yardımı, literatür bulguları ile karşılaştırılması sonucunda **eriodiktiyol** olarak aydınlatılmıştır.

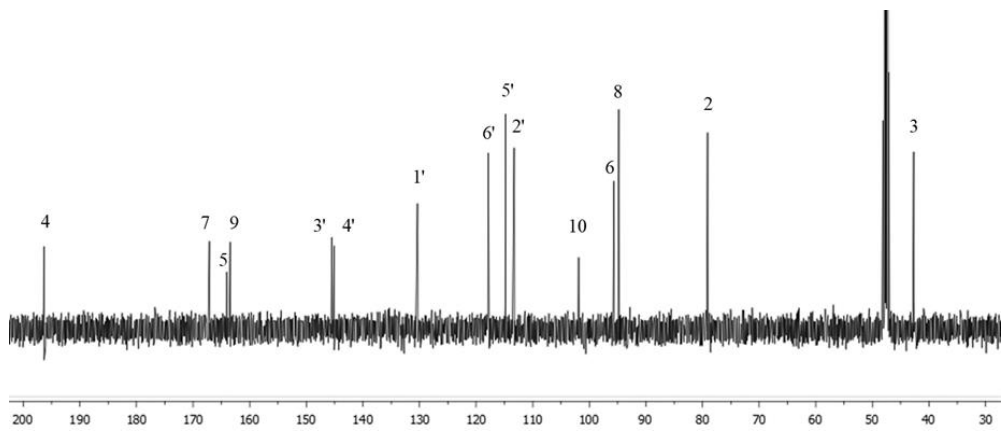
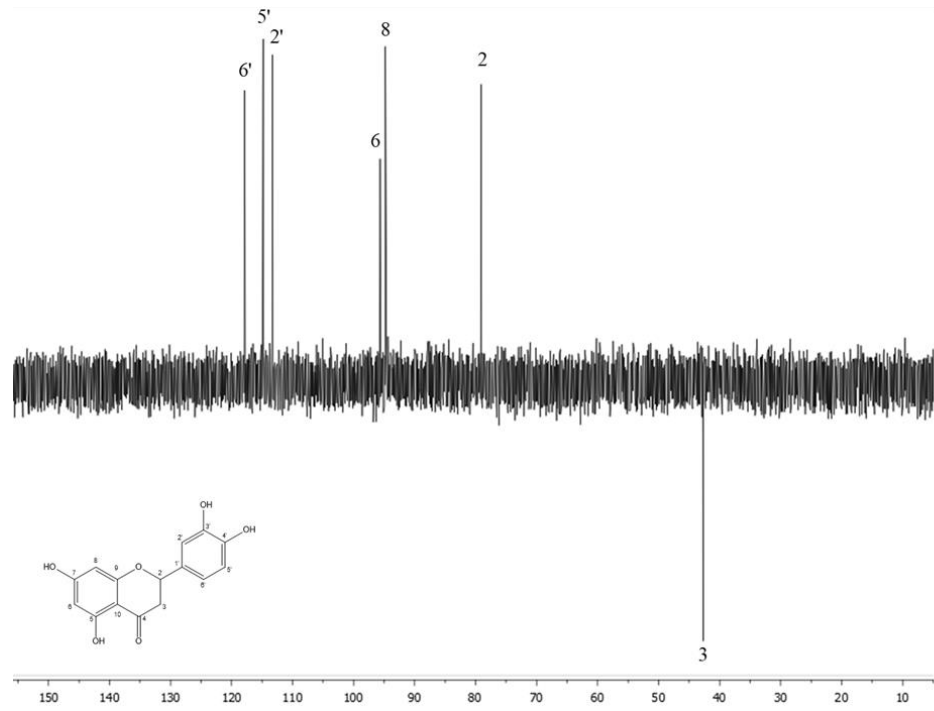


**Tablo 4.3.** Eriodiktiyol (LS-D3) bileşiminin NMR spektroskopisi değerleri (CD<sub>3</sub>OD, <sup>13</sup>C: 125 MHz <sup>1</sup>H: 500 MHz).

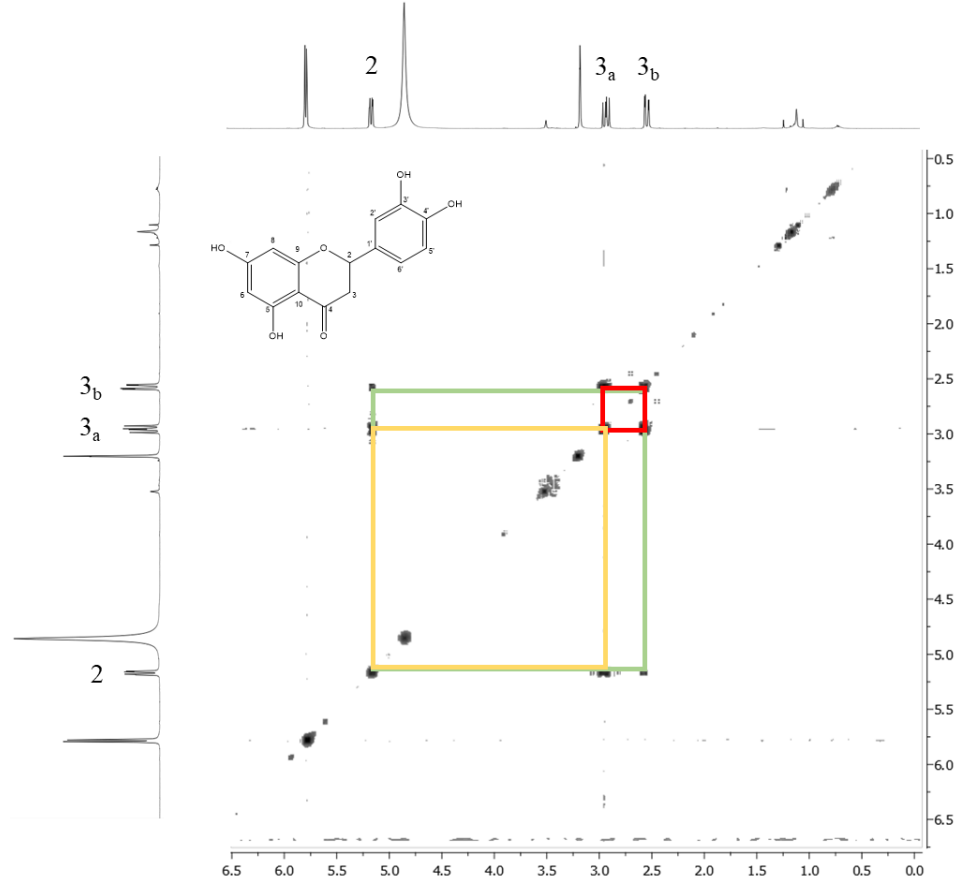
<b>C/H</b>	<b>DEPT</b>	<b>δ<sub>c</sub> (ppm)</b>	<b>δ<sub>H</sub> (ppm), J (Hz)</b>	<b>HMBC (H→C)</b>
2	CH	79,06	5,17 dd (12,8/3,0)	4, 9, 1', 2', 6'
3	CH <sub>2</sub>	42,71	2,58 dd (17,1/3,0) 2,96 dd (17,1/12,8)	4, 10, 1' 2, 4, 1'
4	C	196,35		
5	C	164,06		
6	CH	95,64	5,77 d (2,0)	4, 5, 7, 8, 10
7	C	167,12		
8	CH	94,79	5,79 d (2,0)	4, 6, 7, 9, 10
9	C	163,45		
10	C	101,88		
1'	C	130,35		
2'	CH	113,28	6,81 gs	2, 3', 4', 6'
3'	C	145,48		
4'	C	145,10		
5'	CH	114,81	6,68 gs	1', 3', 4'
6'	CH	117,85	6,68 gs	2, 1', 2', 4'



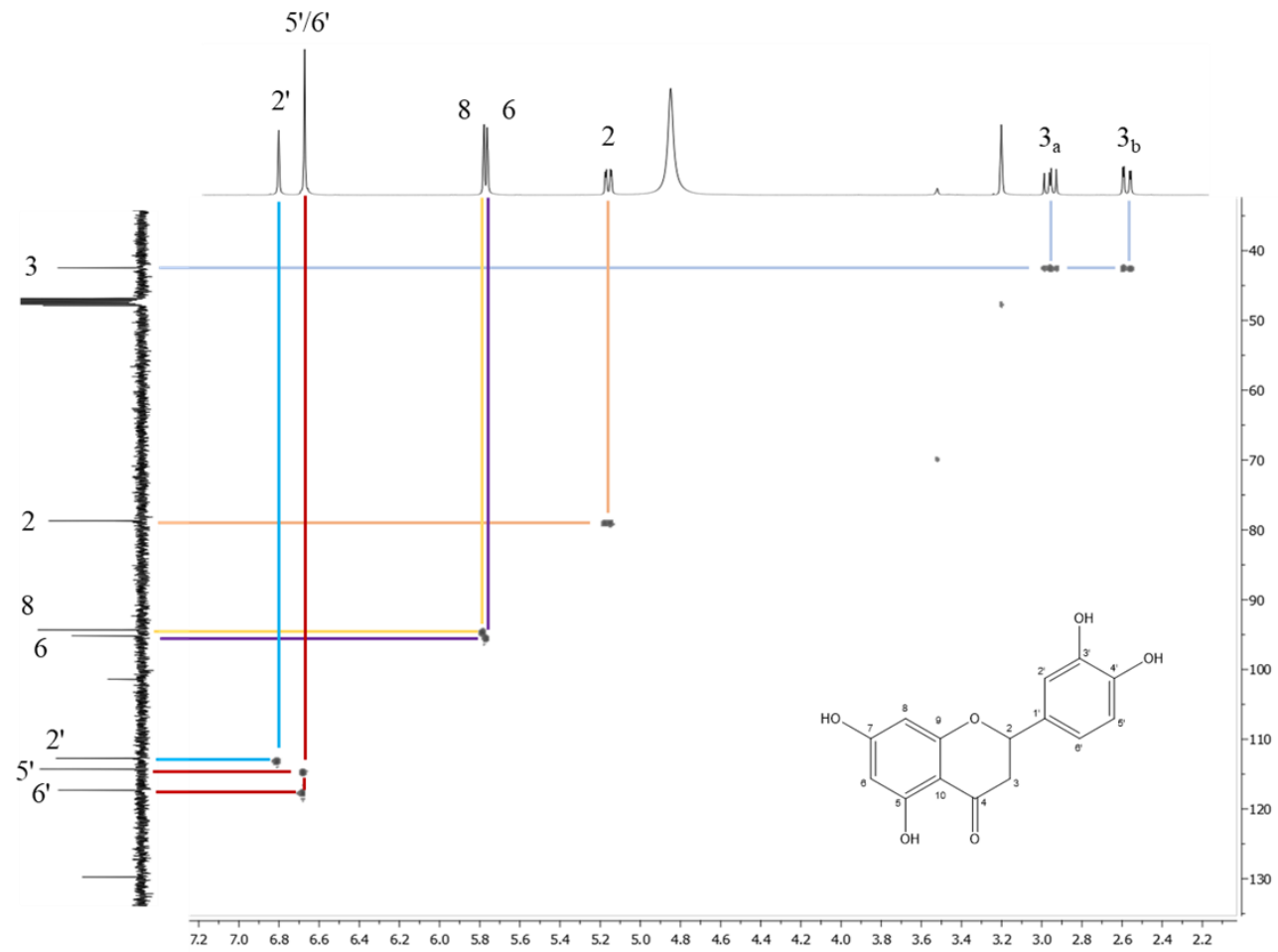
Şekil 4.8. Eriodiktiyol (LS-D3)'ün <sup>1</sup>H NMR spektrumu (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz).



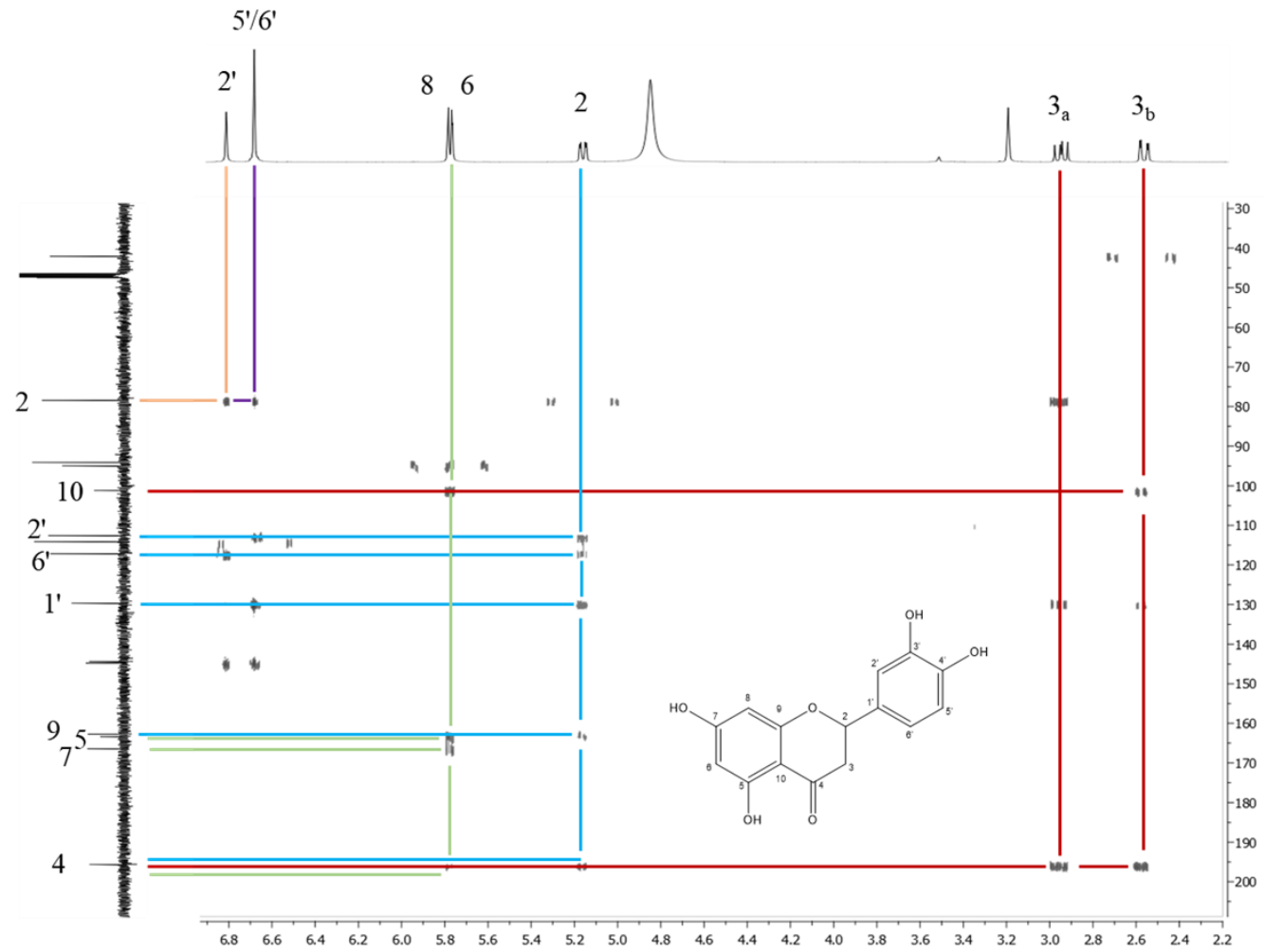
**Şekil 4.9.** Eriodiktiyol (LS-D3)'ün DEPT-135 ve  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumları ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz).



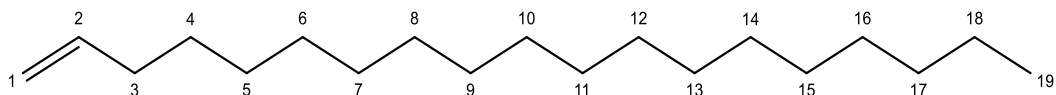
**Şekil 4.10.** Eriodiktiyol (LS-D3)'ün 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY).



Şekil 4.11. Eriodiktinol (LS-D3)'ün 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) NMR spektrumu (HSQC).



Şekil 4.12. Eriodiktiyol (LS-D3)'ün 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC).

**1-NONADEKEN (LS-D4)**

Molekül Ağırlığı: 266.5 g/mol

ESI-MS ( $m/z$ )	265 [M-H] <sup>-</sup>
<sup>1</sup> H NMR	Tablo 4.4 Şekil 4.13
<sup>13</sup> C NMR ve DEPT	Tablo 4.4 Şekil 4.14
COSY	Şekil 4.15
HSQC	Şekil 4.16
HMBC	Şekil 4.17

LS-D4 bileşiği renksiz bir madde olarak izole edilmiştir. Silikajel plak üzerinde yapılan İTK analizinde revelatör olarak vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> püskürtülmüş, plağın 105°C’de ısıtılması ile LS-D4 bileşiği kromatogramda mor renk vermiştir.

ESI kütle spektrumunda *m/z* 265’de gözlenen [M-H]<sup>-</sup> iyon piki, bileşiğin <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR ve 2D NMR spektrumları ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin kapalı formülü C<sub>19</sub>H<sub>38</sub> olarak bulunmuştur.

<sup>1</sup>H NMR spektrumunda (Tablo 4.4, şekil 4.13) yüksek alanda δH 1,24-1,36 ppm aralığında gözlenen 15H değerinde proton sinyali (H4-H18) yapıda bir alifatik hidrokarbon zinciri bulunduğunu düşündürmüştür. HSQC ve DEPT spektrumları (şekil 4.16, şekil 4.14) yardımıyla, protonlara karşılık gelen karbonların δC 22,67-31,90 ppm aralığında sinyal veren metilen karbonları (C4-C18) olduğunun görülmesi yapıyı doğrulamıştır.

<sup>1</sup>H NMR spektrumunda δH 4,91 ve 4,98 ppm’de görülen protonların bağlı olduğu karbon rezonansı HSQC spektrumundan δC 114,03 ppm olarak belirlenmiş, DEPT spektrumundan metilen yapısında olduğu anlaşılmıştır. COSY spektrumu (şekil 4.15) yardımıyla bu protonların komşuluğunda olduğu gözlenen δH 5,80 ppm proton sinyali, karşılık gelen HSQC ve DEPT spektrumları ile değerlendirilmiş, δC 139,26 ppm’de sinyal veren bir metin karbonuna bağlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu veriler birlikte değerlendirildiğinde yapıda çiftte bağ bulunduğu, δC 114,03 ppm’de görülen karbonun (C-1) metilen yapısında olması nedeniyle çiftte bağın terminal konumda olduğu düşünülmüştür.

LS-D4 bileşiğinin COSY spektrumunda δH 5,80 (H-2) ile δH 2,02 (H-3) ve δH 2,02 (H-3) ile δH 1,36 (H-4) arasında spin sistemleri saptanmış, δH 2,02 ppm sinyali 3 numaralı protona, δH 1,36 ppm sinyali 4 numaralı protona atfedilmiştir.

Bileşiğin DEPT spektrumunda görülen tek metil karbonu δC 14,09 ppm’de sinyal vermiştir, HSQC spektrumunda karşılık gelen proton sinyali δH 0,87 ppm’dir. δH 0,87 ppm sinyali diğer terminal uğta bulunan 19 numaralı protona, komşuluğunda olduğu COSY spektrumu ile belirlenen 1,27 ppm sinyali de 18 numaralı protona atfedilmiştir.

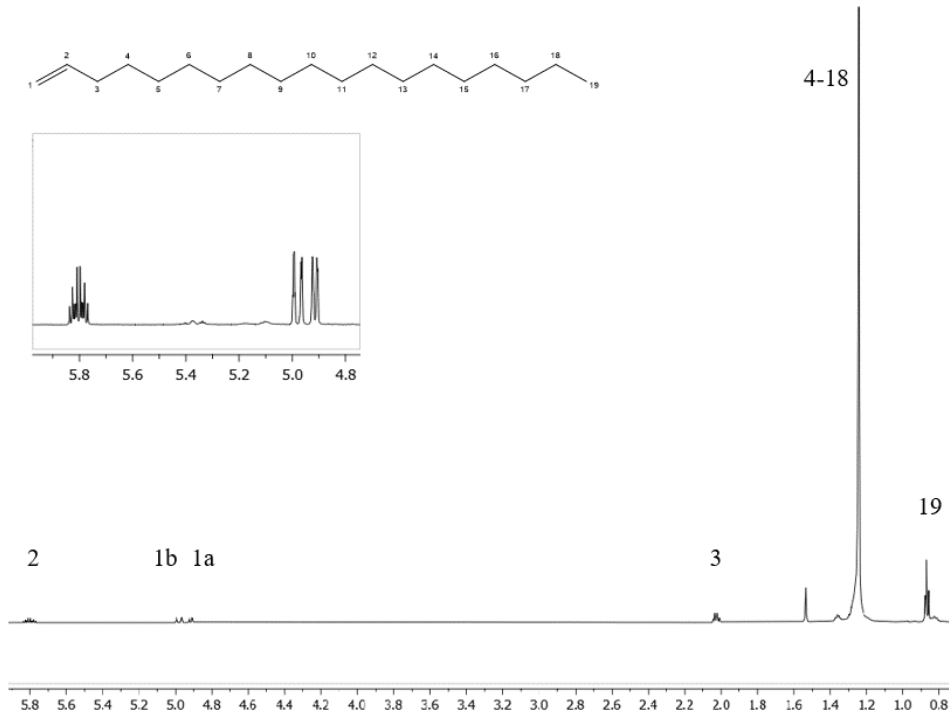


1D ve 2D (COSY, HSQC, HMBC) NMR spektrumları değerlendirildiğinde LS-D4 bileşiğinin doymamış alifatik hidrokarbon yapısında olduğu belirlenmiş, literatür bulguları ile karşılaştırılması (196-198) sonucunda bileşiğin yapısı **1-nonadeken** olarak aydınlatılmıştır.

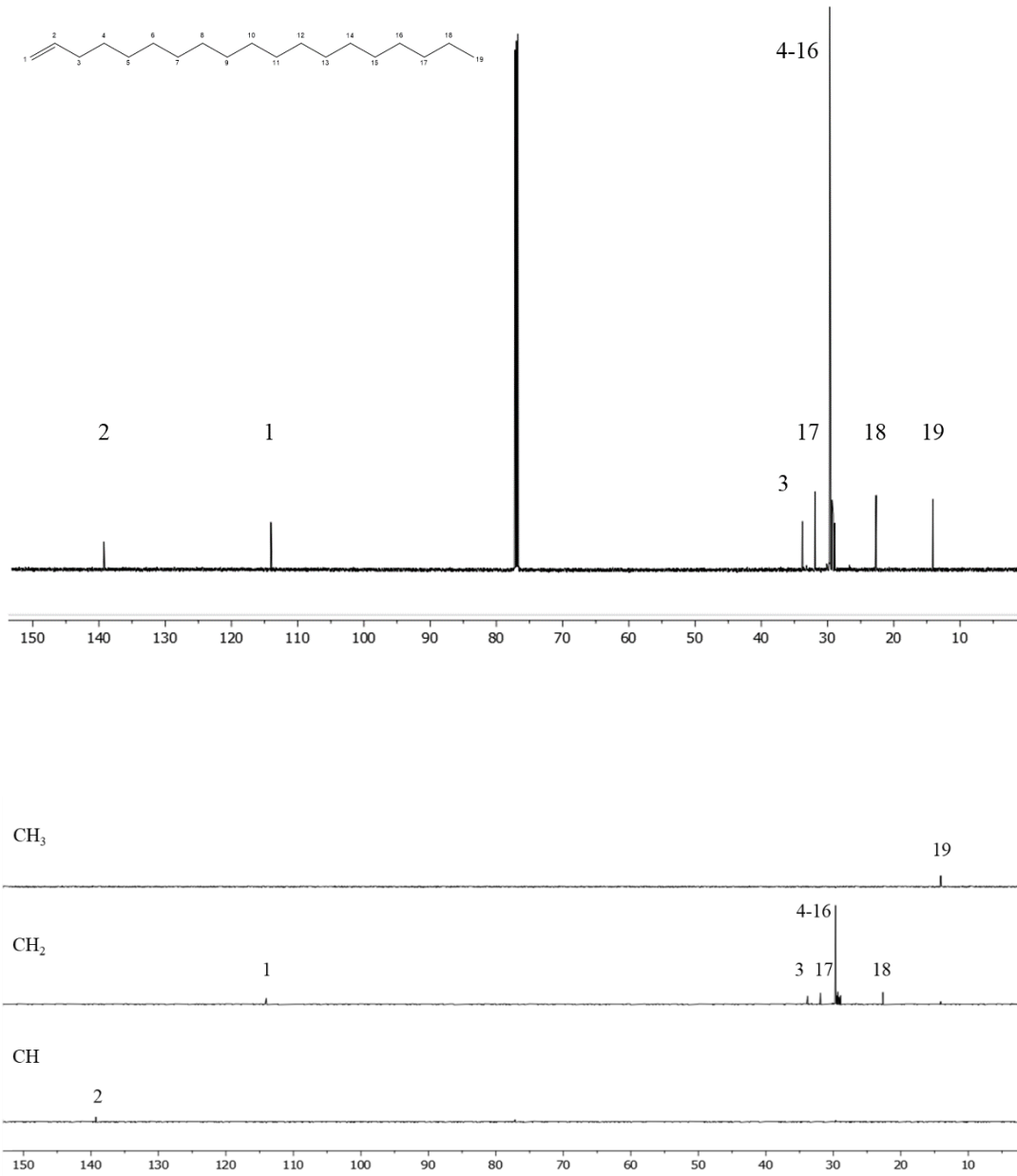
**Tablo 4.4.** 1-Nonadeken (LS-D4) bileşiğinin NMR spektroskopisi değerleri (CDCl<sub>3</sub>, <sup>13</sup>C: 150 MHz, <sup>1</sup>H: 600 MHz).

C/H	DEPT	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm), J (Hz)	HMBC (H→C)
1	CH <sub>2</sub>	114,03	4,91 m	3
			4,98 m	3
2	CH	139,26	5,80 m	3
3	CH <sub>2</sub>	33,80	2,02 m	1, 2, 4
4	CH <sub>2</sub>	28,93	1,36	2, 3
5-16	CH <sub>2</sub>	28,93-29,68	1,24-1,38 <sup>†</sup>	
17	CH <sub>2</sub>	31,90	1,24	
18	CH <sub>2</sub>	22,67	1,27	17, 19
19	CH <sub>3</sub>	14,09	0,87 t	17, 18

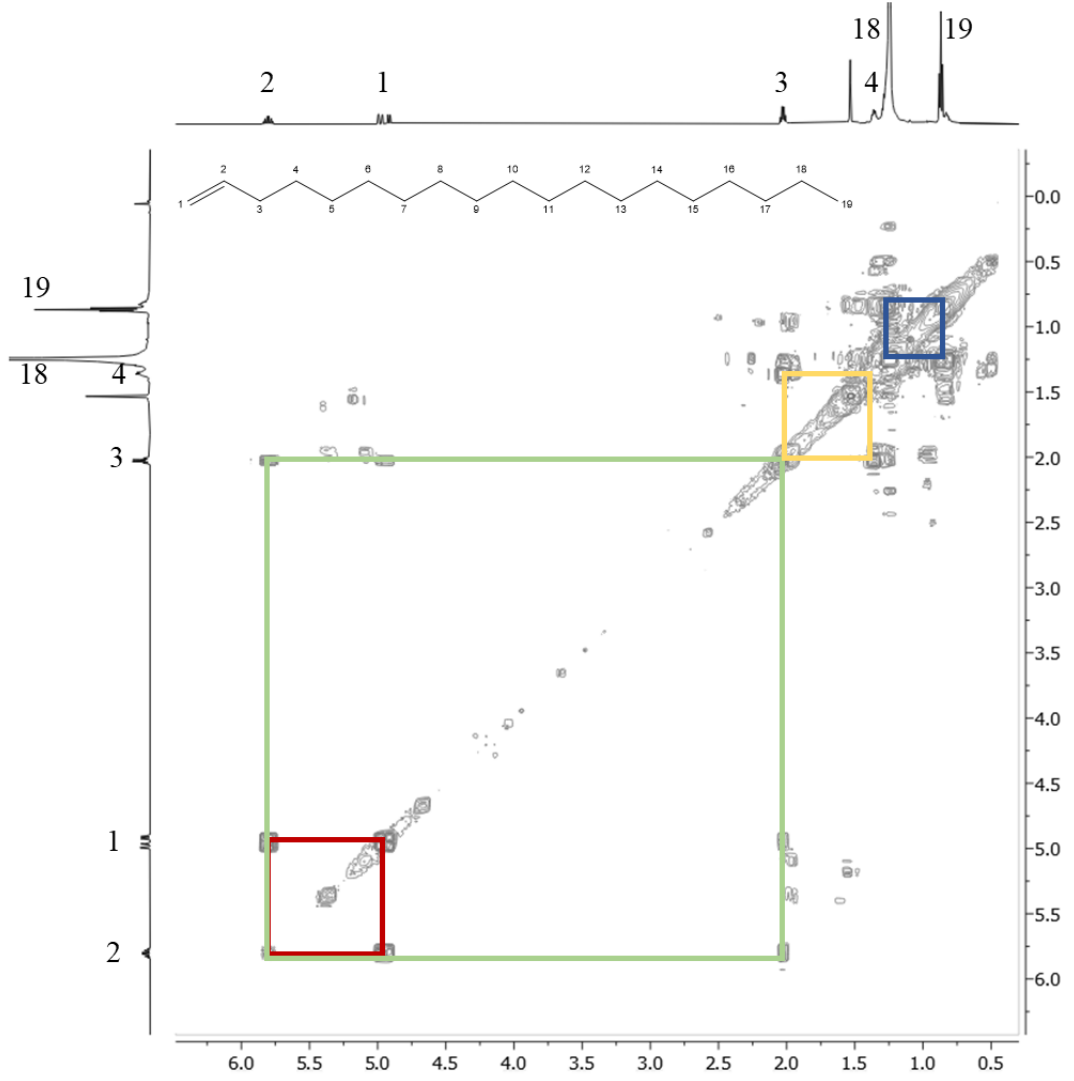
<sup>†</sup>Sinyal girişimleri nedeniyle karbonlara ait değerler belirlenememiştir.



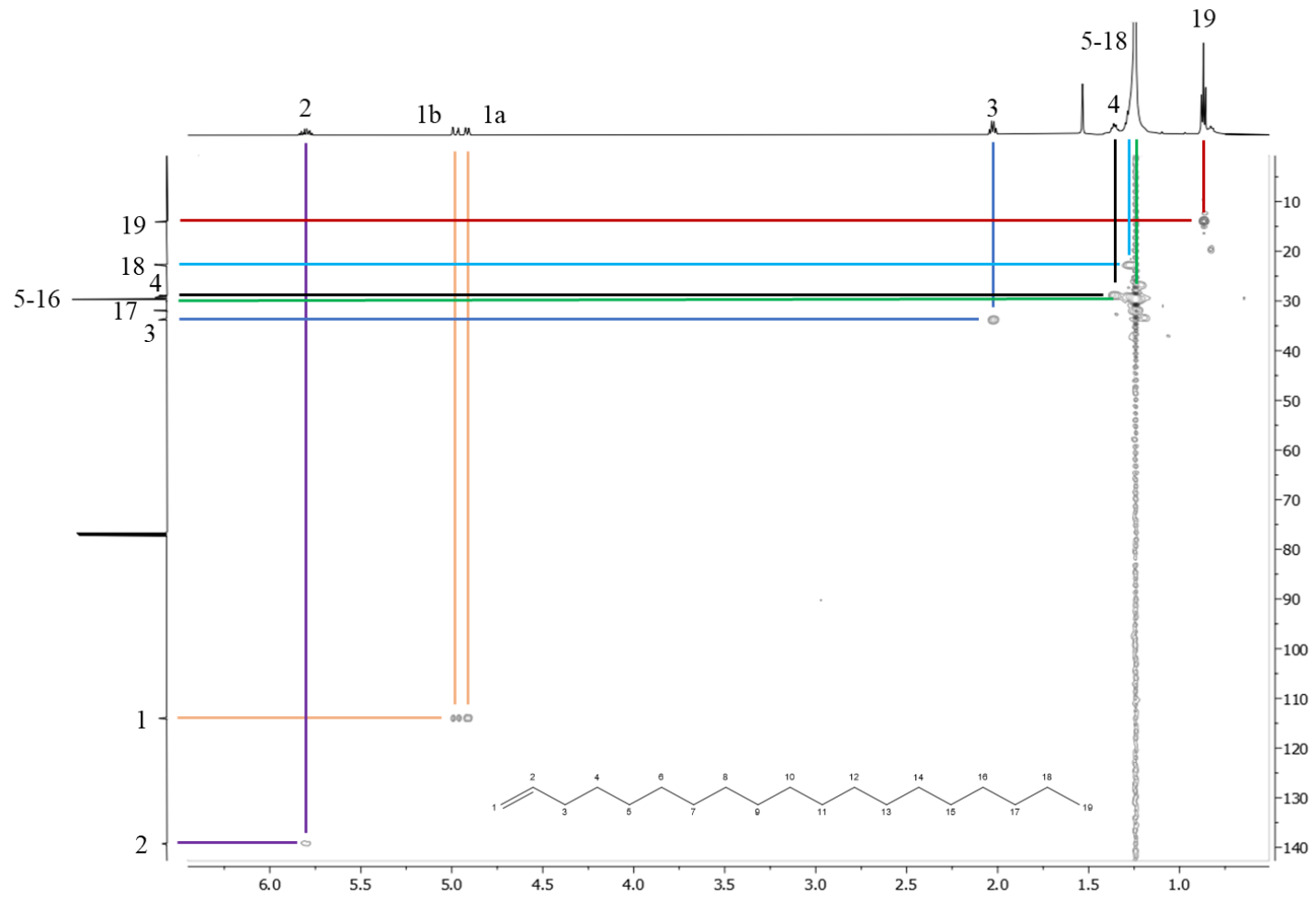
**Şekil 4.13.** 1-Nonadeken (LS-D4)'in  $^1\text{H}$  NMR spektrumu ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz).



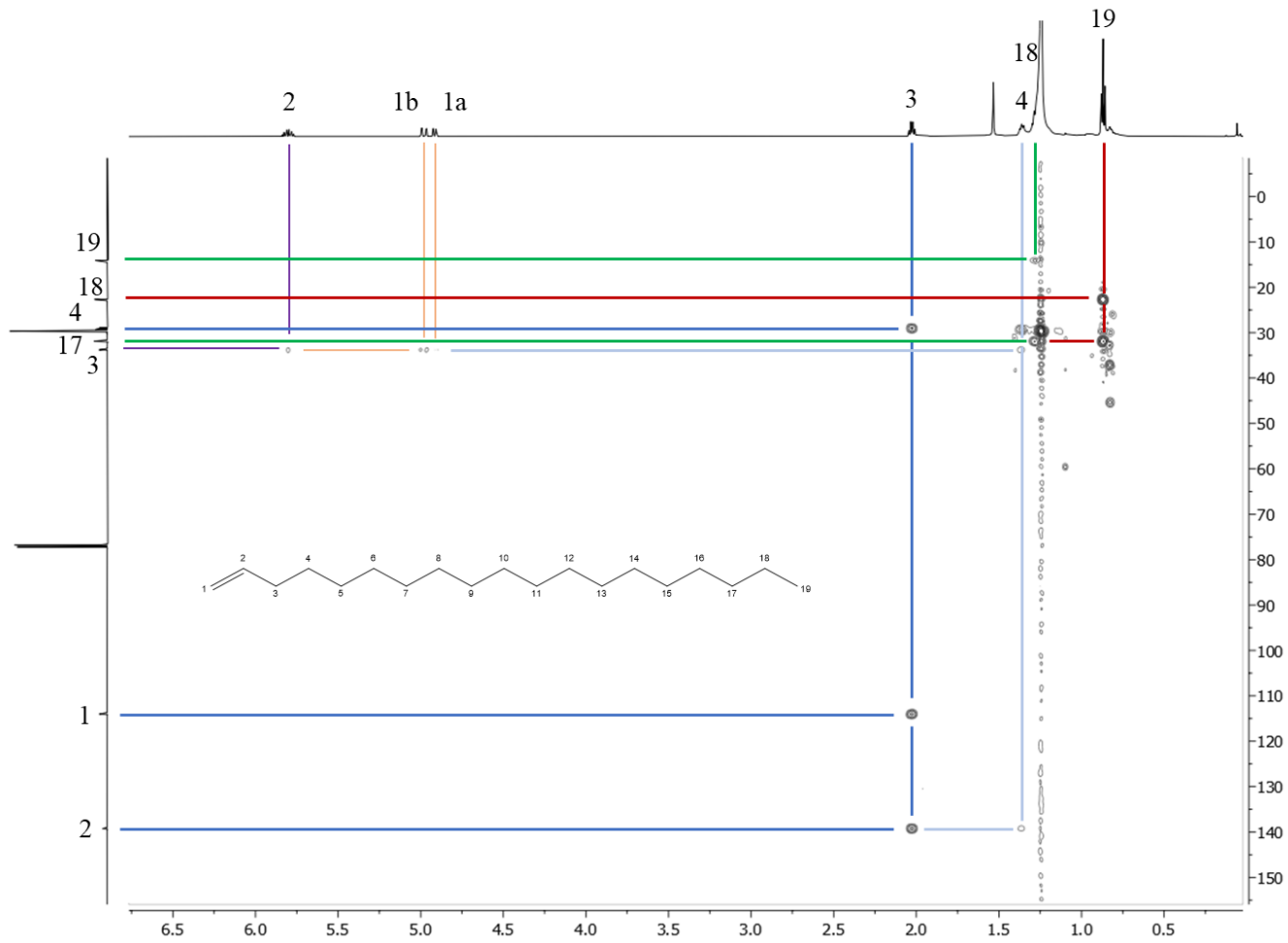
**Şekil 4.14.** 1-Nonadeken (LS-D4)'in DEPT ve  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumları ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz).



Şekil 4.15. 1-Nonadeken (LS-D4)'in 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY).

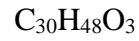
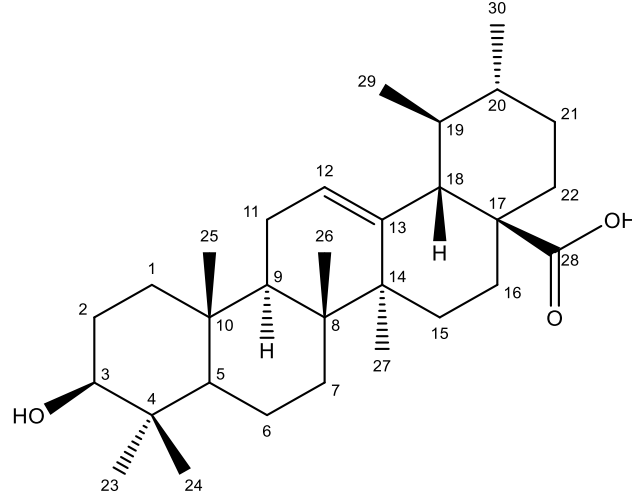


Şekil 4.16. 1-Nonadeken (LS-D4)'in 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) NMR spektrumu (HSQC).



Şekil 4.17. 1-Nonadeken (LS-D4)'in 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC).

## URSOLİK ASİT (LS-E1)



Molekül Ağırlığı: 456.7 g/mol

ESI-MS (m/z)	455 [M-H] <sup>-</sup>
<sup>1</sup> H NMR	Tablo 4.5 Şekil 4.18
<sup>13</sup> C NMR	Tablo 4.5 Şekil 4.19
COSY	Şekil 4.20
HSQC	Şekil 4.21
HMBC	Şekil 4.22

LS-E1 bileşiği beyaz renkli amorf bir toz olarak izole edilmiştir. Silikajel plak üzerinde yapılan İTK analizinde revelatör olarak vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> püskürtülmüş, plağın 105°C’de ısıtılması ile LS-E1 bileşiği kromatogramda terpen yapıda olabileceğine işaret eden pembe-mor renk vermiştir.

ESI kütle spektrumunda  $m/z$  455’de gözlenen [M-H]<sup>-</sup> iyon piki, bileşiğin <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR ve 2D NMR spektrumları ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin kapalı formülü C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub> olarak bulunmuştur. LS-E1 bileşiğinin İTK profili ve <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, 2D NMR spektrumlarında yüksek alanda yoğun olarak görülen sinyal ve spin sistemleri, bileşiğin *Lavandula* türlerinde yaygın olarak görülen triterpen yapısında olabileceğini düşündürmüştür.

<sup>1</sup>H NMR spektrumunda (Tablo 4.5, şekil 4.18) δH 3,17 ppm’de (H-3) görülen proton sinyali hidroksil komşuluğunu, δH 5,24 ppm’de (H-12) görülen proton sinyali olefinik proton varlığını göstermiştir. HSQC spektrumundan (şekil 4.21) olefinik protonun karbon sinyali δC 125,49 ppm olarak belirlenmiştir. <sup>13</sup>C NMR spektrumunda (Tablo 4.5, şekil 4.19) düşük alanda gözlenen diğer sinyal δC 138,25 ppm’dir. <sup>13</sup>C NMR spektrumunda δC 125 ve 138 ppm’de görülen sinyaller ursan tipi triterpenlerde C-12/C-13 çift bağı için karakteristik olup (199, 200), δC 125,49 ppm sinyali 12 numaralı, δC 138,25 ppm sinyali 13 numaralı karbona atfedilmiştir. Ursan yapısını doğrulayan diğer sinyaller δH 2,22 ppm’de görülen 18 numaralı proton ve HSQC spektrumunda karşılık gelen δC 52,81 ppm karbon sinyalidir (199, 201). <sup>1</sup>H NMR spektrumunda δH 0,79-1,13 ppm arasında singlet olarak gözlenen 5 metil sinyali, δH 0,89 (H-29) ve δH 0,96 ppm’de (H-30) dublet olarak gözlenen 2 metil sinyali de ursan iskeletini desteklemiştir. <sup>13</sup>C NMR spektrumunda 179,93 ppm’de görülen karboksil karbonu (C-28) yapıda asit grubu varlığını düşündürmüştür. H-18 protonunun aşağıda alanda gözlenmesi asit grubunun C-17 konumundan bağlandığını göstermiştir.

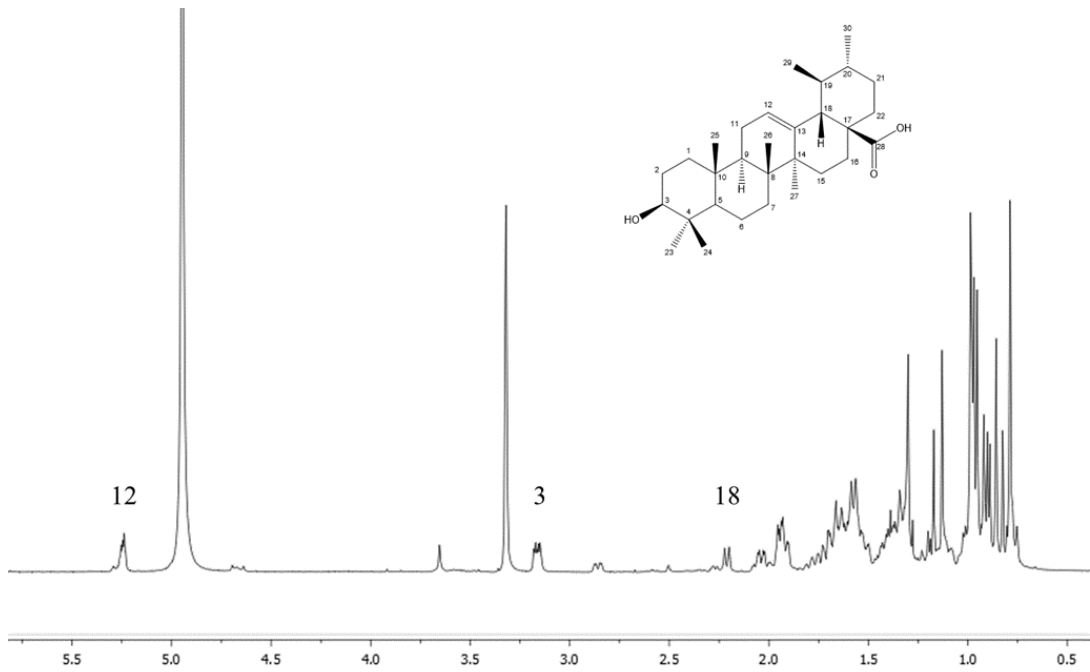
LS-E1 bileşiğinin COSY spektrumunda (şekil 4.20) δH 1,58 (H-2) ile δH 3,17 (H-3); δH 0,77 (H-5) ile δH 1,42 (H-6); δH 1,58 (H-9) ile δH 1,94 (H-11) ve δH 1,94 (H-11) ile δH 5,24 (H-12) arasında spin sistemleri saptanmıştır. Bileşiğin HMBC spektrumu (şekil 4.22) yardımıyla metil gruplarının uzak mesafe etkileşimleri gözlenmiş ve ursan yapısına bağlanma noktaları belirlenmiştir.



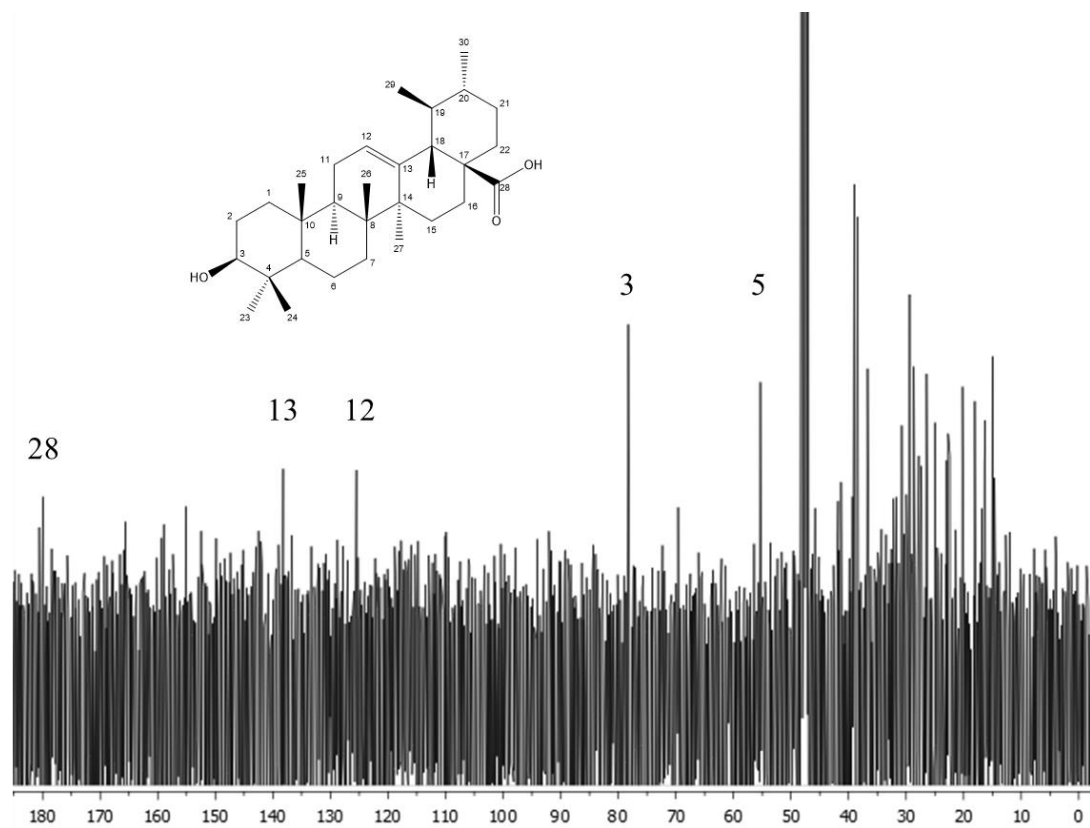
Sonuç olarak LS-E1 bileşiğinin yapısı, 1D ve 2D (COSY, HMQC, HMBC) NMR spektrumları yardımı ve literatür bulguları ile karşılaştırılması (202, 203) sonucunda **ursolik asit** olarak aydınlatılmıştır.

**Tablo 4.5.** Ursolik Asit (LS-E1) bileşiğinin NMR spektroskopisi değerleri (CD<sub>3</sub>OD, <sup>13</sup>C: 125 MHz, <sup>1</sup>H: 500 MHz).

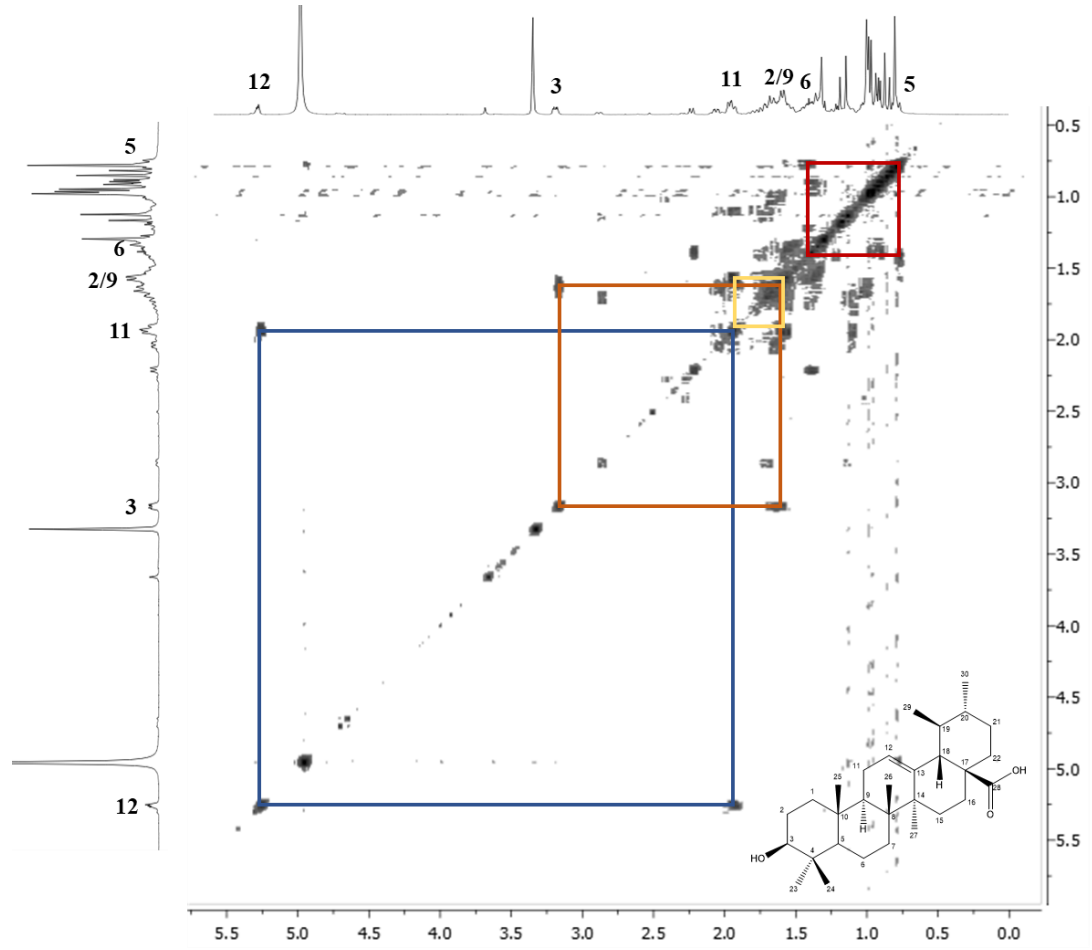
C/H	DEPT	δ <sub>C</sub> (ppm)	δ <sub>H</sub> (ppm), J (Hz)	HMBC (H→C)
1	CH <sub>2</sub>	38,40	1,66; 1,01	
2	CH <sub>2</sub>	26,44	1,58	
3	CH	78,20	3,17 m	
4	C	38,14		
5	CH	55,31	0,77 d	
6	CH <sub>2</sub>	18,06	1,56; 1,42	
7	CH <sub>2</sub>	32,56	1,54; 1,34	
8	C	39,01		
9	CH	47,52	1,58	
10	C	36,68		
11	CH <sub>2</sub>	22,96	1,94	
12	CH	125,49	5,24 m	
13	C	138,25		
14	C	41,82		
15	CH <sub>2</sub>	27,79		
16	CH <sub>2</sub>	24,60		
17	C	46,43		
18	CH	52,81	2,22 d (11,2)	
19	CH	38,96		
20	CH	38,96		
21	CH <sub>2</sub>	30,35		
22	CH <sub>2</sub>	36,75		
23	CH <sub>3</sub>	27,35	0,99	C-3, C-4, C-5, C-24
24	CH <sub>3</sub>	14,62	0,79	C-3, C-4, C-5, C-23
25	CH <sub>3</sub>	14,48	0,97 s	C-1, C-5, C-9, C-10
26	CH <sub>3</sub>	16,26	0,86 s	C-7, C-8, C-9, C-14
27	CH <sub>3</sub>	22,66	1,13 s	C-8, C-13, C-14
28	C	179,93		
29	CH <sub>3</sub>	16,02	0,89 d	C-18, C-19/20
30	CH <sub>3</sub>	22,55	0,96 d	C-17, C-21, C-22



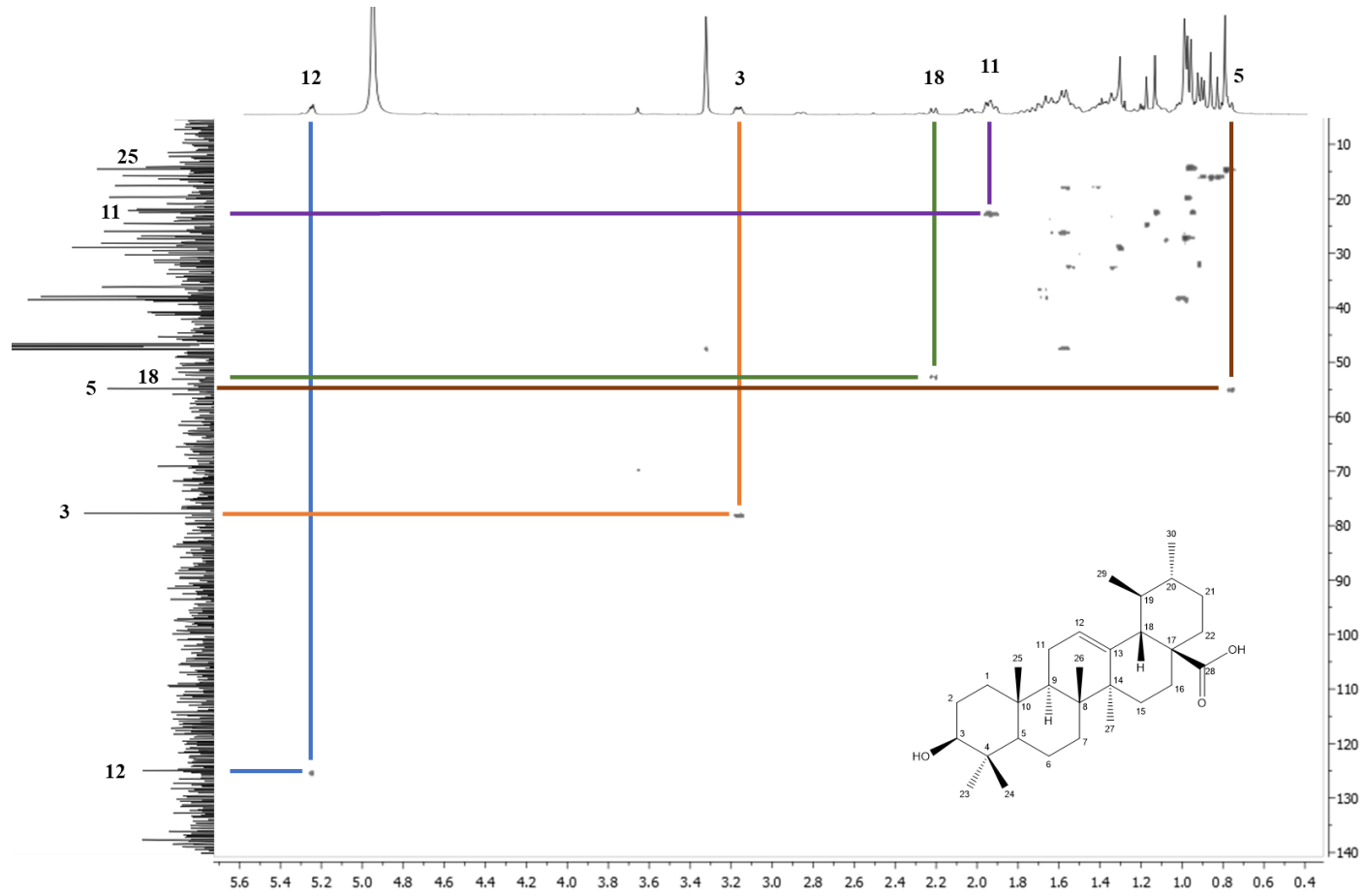
Şekil 4.18. Ursolik Asit (LS-E1)'in  $^1\text{H}$  NMR spektrumu ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz).



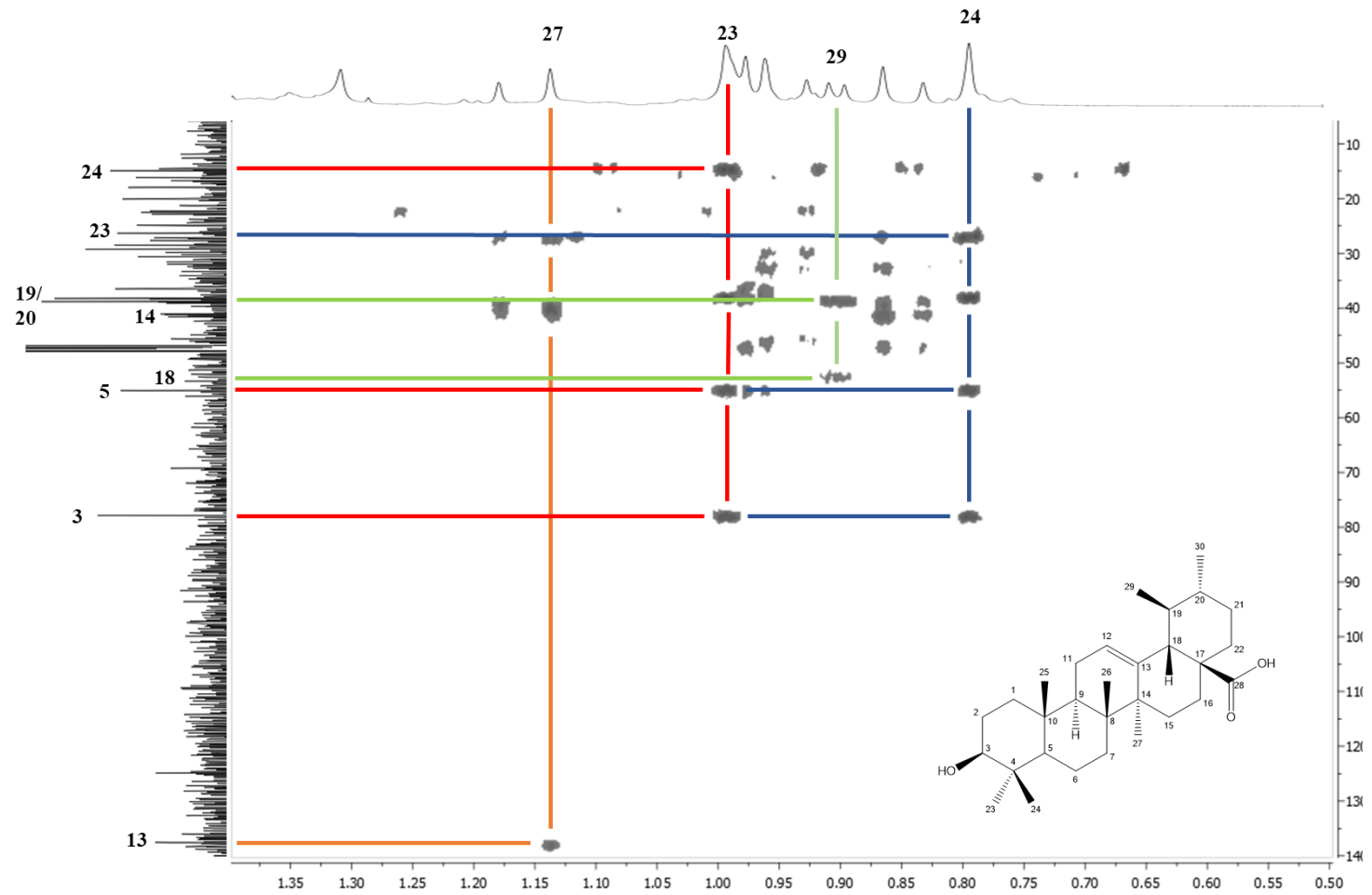
Şekil 4.19. Ursolik Asit (LS-E1)'in  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz).



Şekil 4.20. Ursolik Asit (LS-E1)'in 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY).

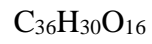
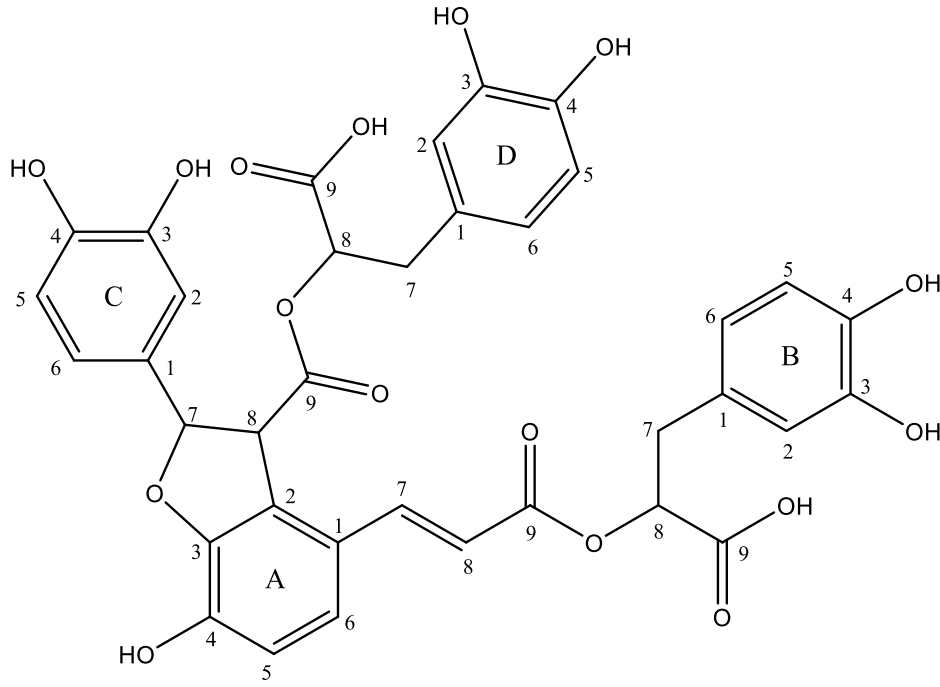


Şekil 4.21. Ursolik Asit (LS-E1)'in 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) NMR spektrumu (HSQC).



Şekil 4.22. Ursolik Asit (LS-E1)'in 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC).

**SALVIANOLİK ASİT B (LS-E2)**



Molekül Ağırlığı: 718.62 g/mol

$^1H$  NMR

Tablo 4.6

Şekil 4.23

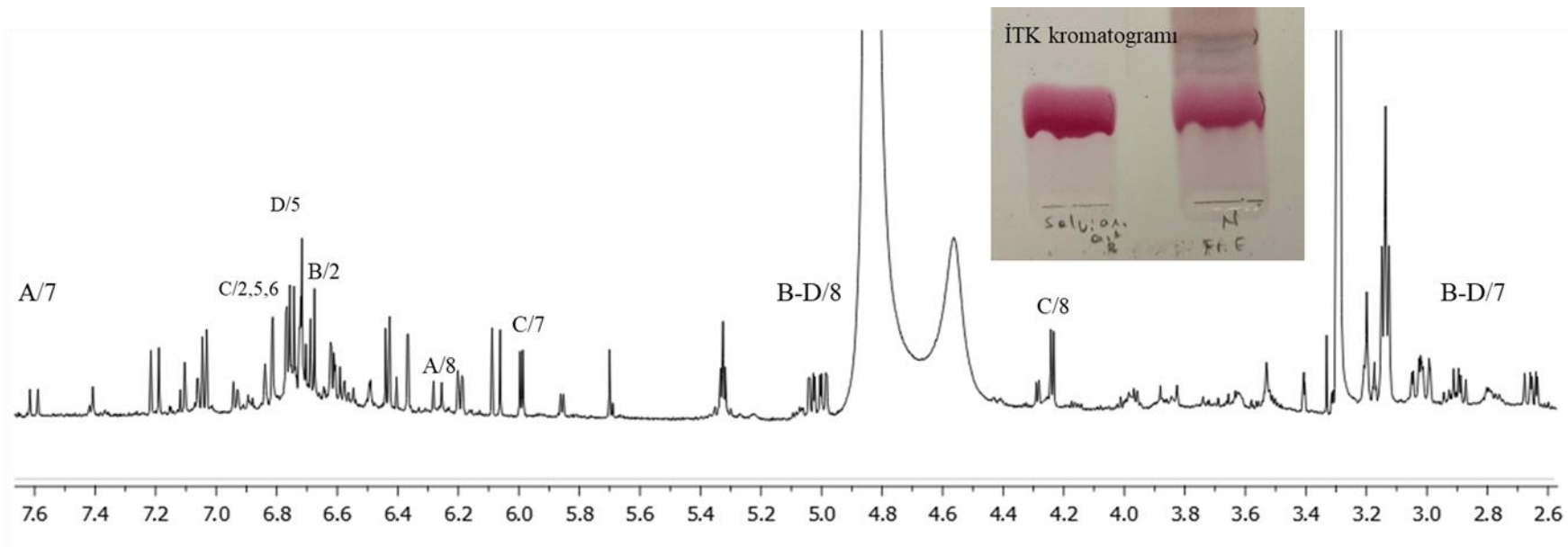
Farklı fraksiyonlarda, farklı adsorbanlar ile yapılan çalışmalarımızda madde miktarının az olması ve çeşitli çözünürlük problemleri nedeniyle LS-E2 bileşiği saf olarak alınamamıştır. *L. stoechas* ekstre içeriğinde yer aldığı farklı HPLC çalışmalarında (38, 49) gösterilmiş olan Salvianolik asit B olabileceği düşünülerek, Salvianolik asit B standart maddesi ile LS-E2 bileşiği İTK'da karşılaştırılmıştır. LS-E2 bileşiğinin silikajel plak üzerinde yapılan İTK analizinde revelatör olarak vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> püskürtülmüş, plağın 105°C'de ısıtılması ile LS-E2 bileşiği kromatogramda zamanla solan pembe bir renk vermiştir.

Saf olarak izole edilemeyen LS-E2 bileşiğinin yoğun olarak bulunduğu alt fraksiyonun <sup>1</sup>H NMR spektrumunda (Tablo 4.6, Şekil 4.23) özellikle A ve B halkasına ait proton sinyallerinin rozmarinik asit proton sinyallerine benzerlik gösterdiği dikkati çekmiştir. A halkasında AB sistem şeklinde δH 6,27 (d, *J*=15,9 Hz, H-8) ve δH 7,60 (d, *J*=15,9 Hz, H-7) ppm'de görülen 2 olefinik proton sinyali; δH 5,03 ve δH 4,99 ppm'de görülen B ve D halkalarının 8. konumundaki metin proton sinyalleri ile sırasıyla komşuluklarında yer alan, eşdeğer olmayan δH 2,89-3,03 (m) ve 2,66-3,00 (m) metilen protonları nedeniyle, LS-E2 bileşiğinin *L. stoechas* ekstre içeriğinde yer aldığı farklı HPLC çalışmalarında (38, 49) gösterilmiş olan Salvianolik asit B olabileceği düşünülmüştür. Salvianolik asit B standart maddesinin LS-E2 bileşiği ile İTK analizinde benzer profil göstermeleri ve LS-E2 bileşiğinin <sup>1</sup>H NMR spektrum değerlerinin salvianolik asit B literatür verileriyle (204) uyumlu olması sonucu LS-E2 bileşiğinin yapısı **Salvianolik asit B (Litospermik asit B)** olarak saptanmıştır.

**Tablo 4.6.** Salvianolik Asit B (LS-E2) bileşiminin NMR spektroskopisi değerleri (CD<sub>3</sub>OD, <sup>13</sup>C: 150 MHz, <sup>1</sup>H: 600 MHz).

	<b>C/H</b>	<b>DEPT</b>	<b>δ<sub>C</sub> (ppm)</b>	<b>δ<sub>H</sub> (ppm), J (Hz)</b>
A	5	CH	120,65	7,03 gs
	7	CH	143,10	7,60 d (15,9)
	8	CH	116,80	6,27 d (15,9)
B	2	CH	115,04	6,67 gs
	6	CH	115,34	6,43
	7	CH <sub>2</sub>	37,32	2,89-3,03 m
	8	CH	76,49	5,03
C	2	CH	112,35	6,82 gs
	5	CH	115,32	6,81 gs
	6	CH	117,14	6,83 t
	7	CH	86,95	5,99 d (5,6)
	8	CH	57,40	4,24 d (5,6)
D	2	CH	114,84	6,72
	5	CH	116,33	6,77 d
	7	CH <sub>2</sub>	37,11	2.66-3,00 m
	8	CH	77,66	4,99



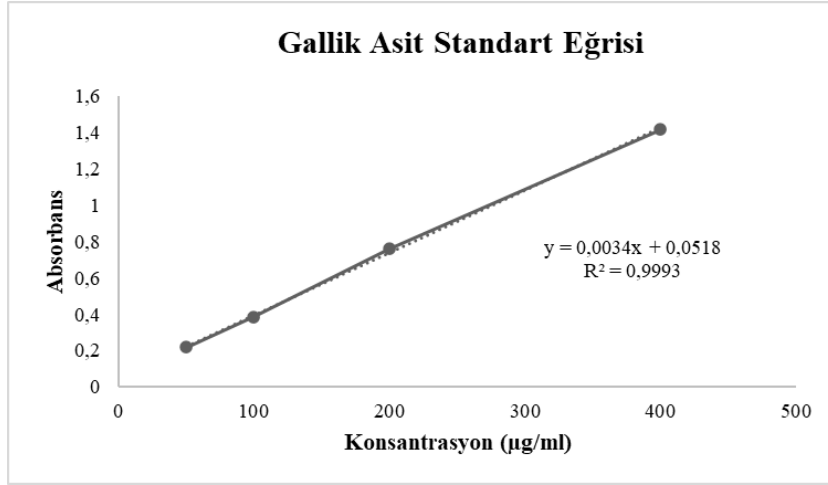


Şekil 4.23. Salvianolik Asit B (LS-E2)'nin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 600 MHz) ve İTK kromatogramı.

#### 4.1.2. Toplam Fenol Miktar Tayini

*L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın sulu etanol ekstresi (LSE), *n*-hekzan ile partasyon sonrası elde edilen su ekstresi (LSS) ve poliamit kolon ön fraksiyonları üzerinde Folin-Ciocalteu yöntemiyle toplam fenol miktar tayini çalışması gerçekleştirilmiştir.

Standart olarak kullanılan gallik asidin 50, 100, 200, 400 µg/mL konsantrasyonları ile çalışılmış, gallik asidin konsantrasyona karşı absorbans grafiğinden elde edilen kalibrasyon denkleminde hareketle ekstre/fraksiyonların toplam fenolik bileşik miktarı gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g numune) şeklinde hesaplanmıştır.



Şekil 4.24. Gallik Asit standart eğrisi.

Ekstre ve ana fraksiyonların toplam fenolik bileşik miktarı Tablo 4.7'de verilmiştir. LSS'nin LSE'ye göre fenol içeriğinin daha yüksek olduğu, poliamit kolon ön fraksiyonlarından Fr. B ve Fr. C'nin de sulu ekstreden daha fazla fenolik bileşen içerdiği belirlenmiştir.

**Tablo 4.7.** Ekstre ve ana fraksiyonların toplam fenolik bileşik miktarı.

<b>Numune</b>	<b>Toplam Fenolik Bileşik Miktarı (mg GAE/g numune)</b>
LSE	190,25±0,03
LSS	210,35±0,02
Fr. A	98,1±0,01
Fr. B	254,37±0,03
Fr. C	227,85±0,01
Fr. D	200,75±0,02
Fr. E	176,24±0,01

## 4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

### 4.2.1. Antioksidan Kapasite Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular

#### DPPH Radikali Süpürücü Etkinlik

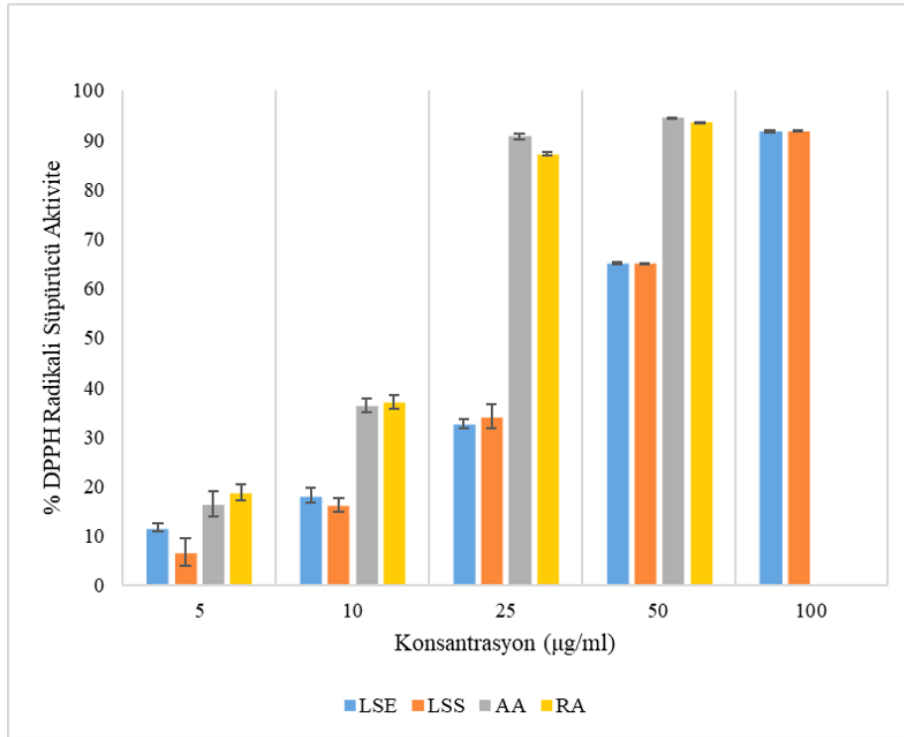
Ekstre, ana fraksiyonlar, bitkide yüksek miktarda bulunan rozmarinik asit ve standart madde olarak kullanılan askorbik asidin DPPH radikali süpürücü etkinliği 5-100 µg/mL konsantrasyon aralığında çalışılmıştır. LSE ve LSS'nin 100 µg/mL konsantrasyonda standart olarak kullanılan askorbik asitle kıyaslanabilir düzeyde DPPH radikali süpürücü etkinlik gösterdiği görülmüştür (Şekil 4.25). Ekstrelerin etkinliği konsantrasyon bağımlıdır ve benzer IC<sub>50</sub> değerine sahip oldukları tespit edilmiştir (Tablo 4.8).

Poliamit kolondan elde edilen fraksiyonlardan ise Fr. B, Fr. C ve Fr. D diğer 2 fraksiyona göre daha iyi DPPH radikali süpürücü etkinlik göstermiştir. Benzer etkinlik gösteren bu fraksiyonlarda yoğun miktarda yer aldığı İTK'da görülen rozmarinik asit için de deney yürütülmüş olup, rozmarinik asidin standart madde olarak kullanılan askorbik aside benzer şekilde yüksek DPPH radikali süpürücü etkinlik gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4.8, Şekil 4.26).

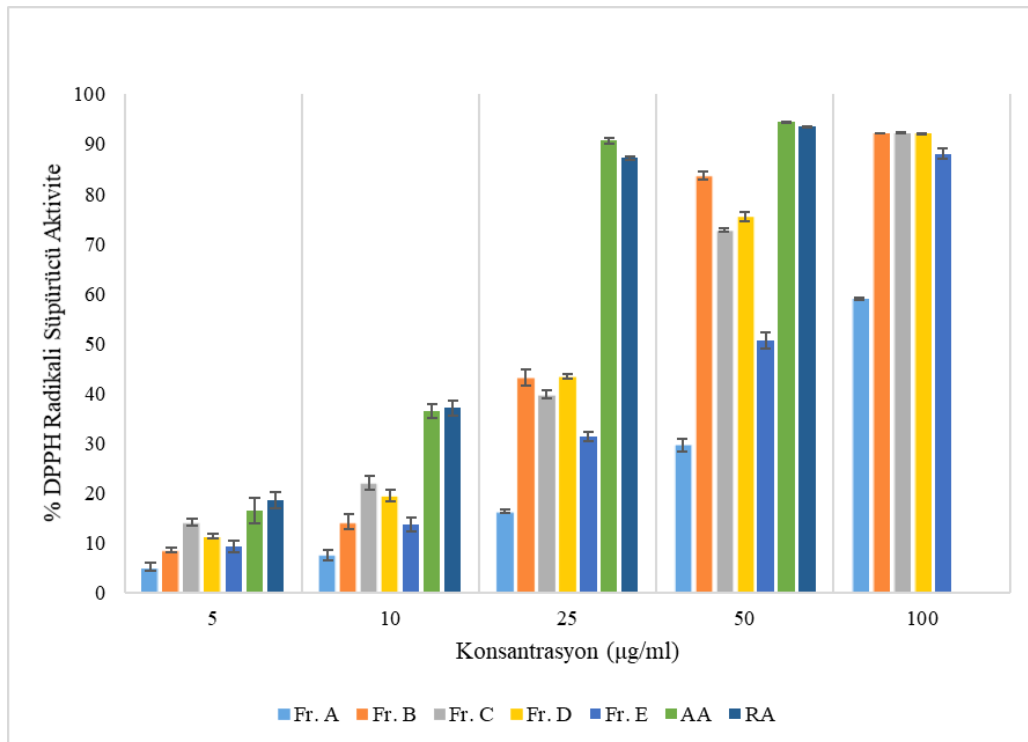
**Tablo 4.8.** Ekstre ve ana fraksiyonların DPPH radikali süpürücü etkinlikleri.

	% DPPH Radikali Süpürücü Etkinlik					IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	5 µg/mL	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	
LSE	11,60±0,81	18,10±1,51	32,72±0,97	65,10±0,18	91,74±0,24	38,34
LSS	6,67±2,73	16,27±1,40	34,15±2,41	65,03±0,18	91,78±0,15	37,83
Fr. A	5,21±0,74	7,60±1,03	16,38±0,44	29,63±1,20	58,94±0,26	84,75
Fr. B	8,60±0,54	14,29±1,41	43,15±1,56	83,66±0,77	92,07	29,23
Fr. C	14,16±0,73	22,08±1,33	39,79±0,81	72,74±0,34	92,22±0,12	32,75
Fr. D	11,33±0,45	19,48±1,16	43,47±0,41	75,41±0,95	92,16±0,03	30,11
Fr. E	9,34±1,16	13,71±1,43	31,40±0,94	50,58±1,66	88,01±1,05	49,25
RA	18,67±1,61	37,06±1,50	87,20±0,35	93,51±0,03		13,87
AA	16,54±2,54	36,43±1,36	90,70±0,63	94,45±0,03		13,75

AA: Askorbik asit, RA: Rozmarinik asit



Şekil 4.25. Ekstreler ve rosmarinik asidin DPPH radikali süpürücü etkinlikleri.



Şekil 4.26. Ana fraksiyonlar ve rosmarinik asidin DPPH radikali süpürücü etkinlikleri.

### SO Radikali Süpürücü Etkinlik

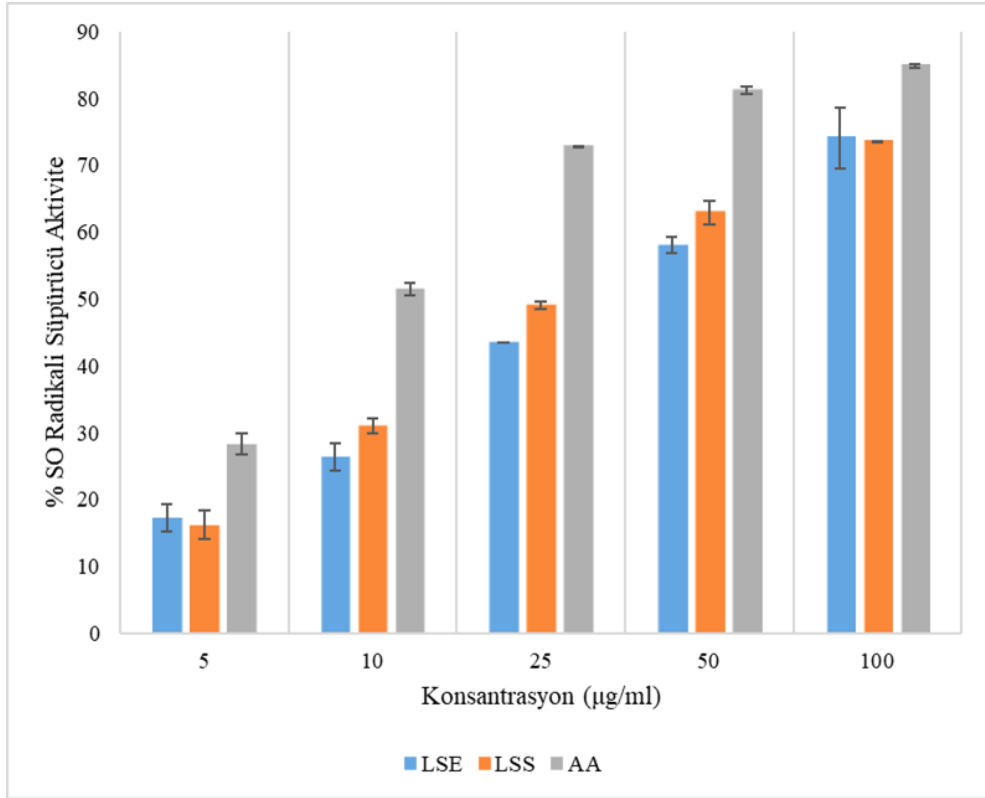
Ekstreler, ana fraksiyonlar ve standart olarak kullanılan askorbik asit üzerinde yürütülen SO radikali süpürücü etkinlik çalışmasında 5-100 µg/mL konsantrasyon aralığında çalışılmıştır. Çalışılan örneklerin tümünün etkinliğinin konsantrasyona bağlı olduğu görülmüştür.

DPPH radikali süpürücü etkinlik testi bulgularına benzer şekilde Fr. B, Fr. C ve Fr. D'nin diğer 2 fraksiyona göre daha iyi radikal süpürücü etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte LSS ise tüm fraksiyonlardan daha yüksek etkinlik göstermiştir (Tablo 4.9, Şekil 4.27, Şekil 4.28).

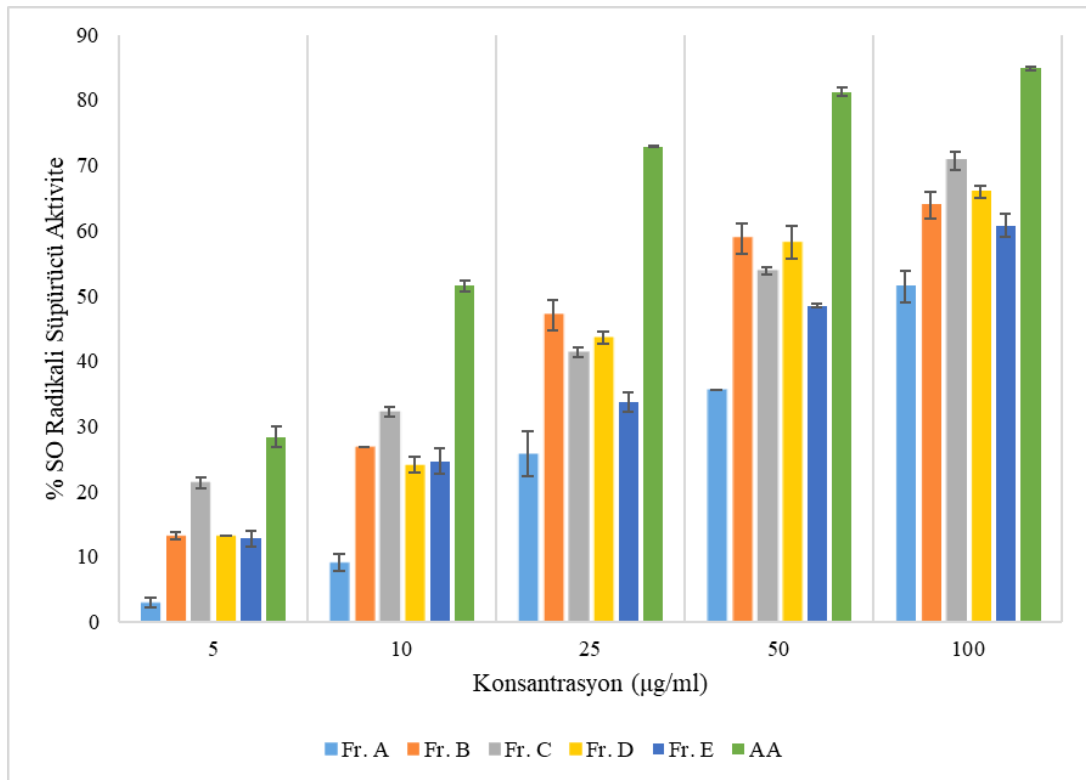
**Tablo 4.9.** Ekstre ve ana fraksiyonların SO radikali süpürücü etkinlikleri.

	%SO Radikali Süpürücü Etkinlik					IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	5 µg/mL	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	
LSE	17,25±2,12	26,37±2,07	43,42	57,99±1,21	74,11±4,53	36,29
LSS	16,18±2,18	31±1,11	49±0,6	62,92±1,79	73,51±0,05	26,79
Fr. A	3±0,73	9,14±1,28	25,71±3,42	35,50	51,38±2,4	95,64
Fr. B	13,23±0,55	26,70	47,03±2,36	58,78±2,36	63,85±2,02	31,32
Fr. C	21,32±0,86	32,17±0,78	41,38±0,73	53,72±0,54	70,68±1,36	42,46
Fr. D	13,24	24,01±1,23	43,62±0,91	58,15±2,51	65,87±0,96	35,98
Fr. E	12,79±1,2	24,63±1,97	33,67±1,49	48,47±0,23	60,76±1,81	56,22
AA	28,30±1,59	51,49±0,89	72,84±0,06	81,20±0,63	84,85±0,32	9,68

AA: Askorbik asit



Şekil 4.27. Ekstrelerin SO radikali süpürücü etkinlikleri.



Şekil 4.28. Ana fraksiyonların SO radikali süpürücü etkinlikleri.

### NO Radikali Süpürücü Etkinlik

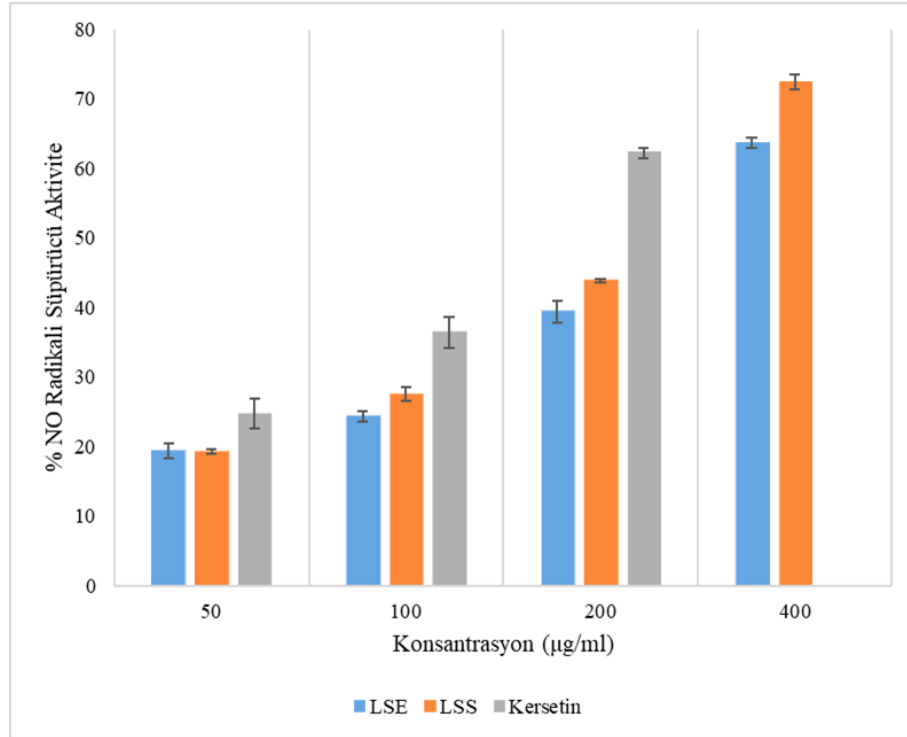
NO radikali süpürücü etkinlik testi ekstreler ve ana fraksiyonlar için 50-400 µg/mL konsantrasyon aralığında, Fr. A için ek olarak 800 µg/mL konsantrasyonda, standart olarak kullanılan kersetin için ise 50-200 µg/mL konsantrasyon aralığında çalışılmıştır. Örneklerin tümü konsantrasyon bağımlı etkinlik göstermiştir.

LSS'nin LSE'den daha yüksek NO radikali süpürücü etkinlik gösterdiği görülmüştür. Diğer radikal süpürücü etkinlik testlerinde olduğu gibi etkili fraksiyonlar Fr. B, Fr. C ve Fr. D iken, en yüksek aktivite Fr. B'de gözlenmiştir (Tablo 4.10, Şekil 4.29, Şekil 4.30).

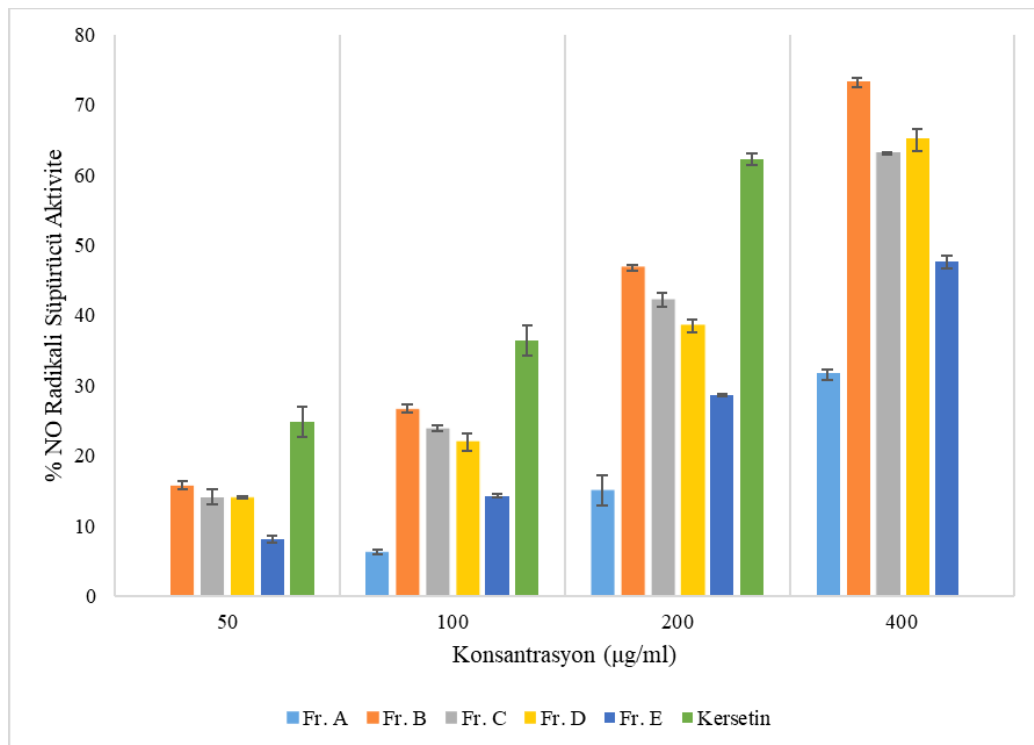
**Tablo 4.10.** Ekstre ve ana fraksiyonların NO radikali süpürücü etkinlikleri.

	%NO Radikali Süpürücü Etkinlik					IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	
LSE	19,42±1,06	24,40±0,75	39,38±1,5	63,60±0,75		287,69
LSS	19,27±0,3	27,54±0,96	43,90±0,23	72,37±1,06		242,86
Fr. A	-	6,21±0,34	14,98±2,15	31,52±0,78	59,40±0,45	665,12
Fr. B	15,73±0,6	26,69±0,6	46,81±0,43	73,09±0,66		224,31
Fr. C	14,10±1,02	23,86±0,44	42,25±0,98	63,07±0,17		274,44
Fr. D	14,01±0,18	21,94±1,25	38,49±0,96	64,95±1,58		286,96
Fr. E	8,05±0,52	14,26±0,23	28,59±0,2	47,57±0,88		>400
Kersetin	24,81±2,15	36,41±2,19	62,22±0,76			152,67





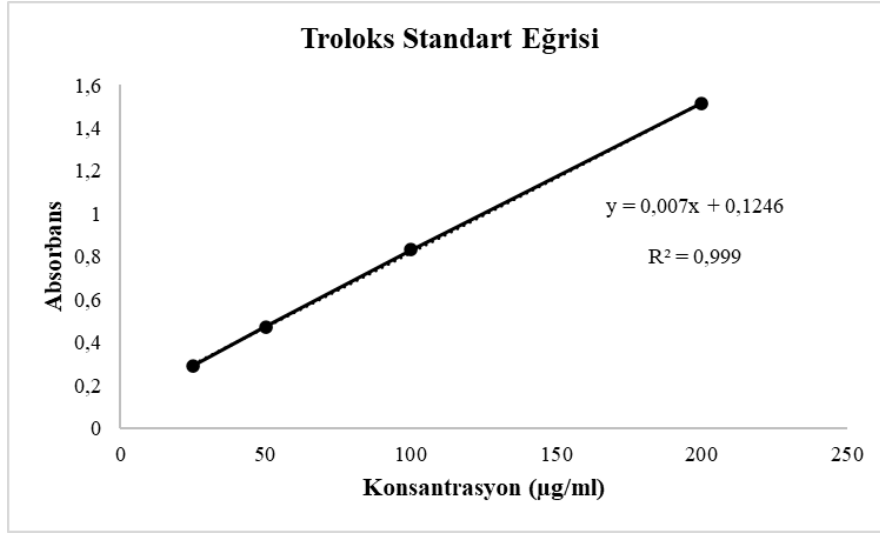
Şekil 4.29. Ekstrelerin NO radikali süpürücü etkinlikleri.



Şekil 4.30. Ana fraksiyonların NO radikali süpürücü etkinlikleri.

### Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (FRAP)

FRAP yönteminde standart olarak kullanılan troloksun 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonları ile çalışılmış, troloksun konsantrasyona karşı absorbans grafiğinden elde edilen kalibrasyon denkleminde hareketle ekstre, fraksiyonlar ve rozmarinik asidin demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi troloks eşdeğeri (mg Troloks/g numune) şeklinde hesaplanmıştır.



Şekil 4.31. Troloks standart eğrisi.

Elde edilen sonuçlar LSS'nin LSE'den, Fr. C'nin de diğer fraksiyonlardan ve ekstrelerden daha yüksek demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasiteye sahip olduğunu göstermiştir.

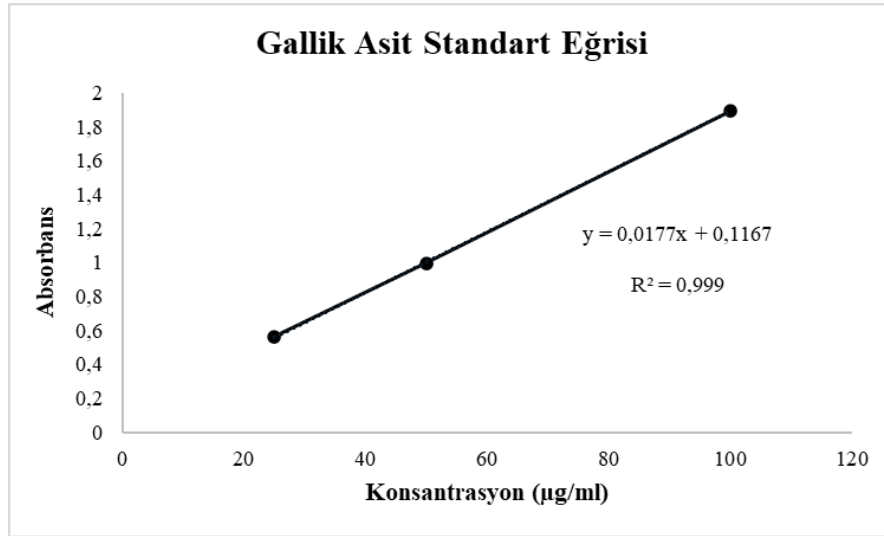
**Tablo 4.11.** Ekstre ve ana fraksiyonların demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasiteleri.

Numune	Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (mg Troloks/g numune)
LSE	506,11±3,43
LSS	619,14±1,43
Fr. A	261,26±0,29
Fr. B	706,40±3,14
Fr. C	871,29±3,57
Fr. D	559,86±0,71
Fr. E	488,11±10,00
RA	1649,34±9,02

RA: Rozmarinik asit

### Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC)

Ekstre ve fraksiyonlar üzerinde yürütülen deneyde standart olarak gallik asidin 25, 50, 100 µg/mL konsantrasyonları ile çalışılmış, gallik asidin konsantrasyona karşı absorbans grafiğinden elde edilen kalibrasyon denkleminde hareketle bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite gallik asit eşdeğeri (mg GA/g numune) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.32. Gallik asit standart eğrisi.

Elde edilen sonuçlar FRAP yöntemine benzer şekilde, LSS'nin LSE'den, Fr. C'nin de diğer fraksiyonlardan ve ekstrelerden daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu şeklindedir.

**Tablo 4.12.** Ekstre ve ana fraksiyonların bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasiteleri.

Numune	Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (mg GA/g numune)
LSE	128,96±4,86
LSS	154,95±1,36
Fr. A	69,93±0,65
Fr. B	176,25±3,11
Fr. C	195,34±1,07
Fr. D	155,33±1,22
Fr. E	132,80±1,47

#### 4.2.2. $\alpha$ -Amilaz Enzim İnhibisyonu Çalışmalarına Ait Bulgular

$\alpha$ -Amilaz enzim inhibisyonu aktivite deneyleri ekstreler için 400, 800, 1600, 2000  $\mu\text{g/mL}$ ; fraksiyonlar için 200, 400, 800, 1000  $\mu\text{g/mL}$ ; pozitif kontrol olan akarboz için 50, 100, 200, 400  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda yürütülmüştür. Çalışılan konsantrasyonlarda ekstre ve fraksiyonlar için %50 enzim inhibisyonu oluşturan konsantrasyona ulaşamamıştır (Tablo 4.13). Fraksiyonların gösterdiği aktivitenin düşük olması nedeniyle  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu aktivite rehberli izolasyon çalışması gerçekleştirilememiştir.

Tablo 4.13.  $\alpha$ -Amilaz enzim inhibitör aktivite sonuçları.

	% $\alpha$ -amilaz Enzim İnhibisyonu Aktivite			
	400 $\mu\text{g/mL}$	800 $\mu\text{g/mL}$	1600 $\mu\text{g/mL}$	2000 $\mu\text{g/mL}$
LSE	-	6,54 $\pm$ 3,38	10,89 $\pm$ 0,71	15,65 $\pm$ 1,65
LSS	16,71 $\pm$ 2,06	19,16 $\pm$ 0,84	30,54 $\pm$ 1,64	33,17 $\pm$ 2,34
	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$	800 $\mu\text{g/mL}$	1000 $\mu\text{g/mL}$
Fr. A	17,49 $\pm$ 0,92	19,75 $\pm$ 0,42	22,34	25,36
Fr. B	16,54 $\pm$ 2,07	23,35 $\pm$ 0,17	24,74 $\pm$ 1,72	23,85
Fr. C	13,53 $\pm$ 0,34	17,15 $\pm$ 1,34	17,74 $\pm$ 0,59	23,46 $\pm$ 1,6
Fr. D	4,6 $\pm$ 3,18	7,11 $\pm$ 2,18	12,05 $\pm$ 1,09	16,9 $\pm$ 0,08
Fr. E	11,63 $\pm$ 2,15	20,5 $\pm$ 1,3	25,86 $\pm$ 1,43	27,92 $\pm$ 1,46
	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$
Akarboz	42,04 $\pm$ 0,52	61,39 $\pm$ 1,34	74,73 $\pm$ 0,33	78,52 $\pm$ 0,65

### 4.2.3. $\alpha$ -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Çalışmalarına Ait Bulgular

$\alpha$ -Glukozidaz enzim inhibisyonu aktivite deneyleri ekstreler için 125, 250, 500, 1000, 2000  $\mu\text{g/mL}$ ; fraksiyonlar için 125, 250, 500, 1000  $\mu\text{g/mL}$ ; pozitif kontrol olan akarboz için 500, 1000, 2500, 5000  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda yürütülmüştür.

Çalışılan konsantrasyonlarda ekstrelerin düşük düzeyde aktivite gösterdiği görülmüştür. İlk 4 ana fraksiyonda aktivite gözlenmezken, yalnızca Fr. E'nin  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon etkisi olduğu tespit edilmiştir. Fr. E üzerinde yürütülen izolasyon çalışmaları sonucunda elde edilen LS-E1 (ursolik asit) ve fraksiyonda varlığı saptanan salvianolik asit B standart maddesi ile yapılan aktivite çalışmasında, ursolik asit  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonu gösterirken, salvianolik asit B'nin etki göstermediği belirlenmiştir.

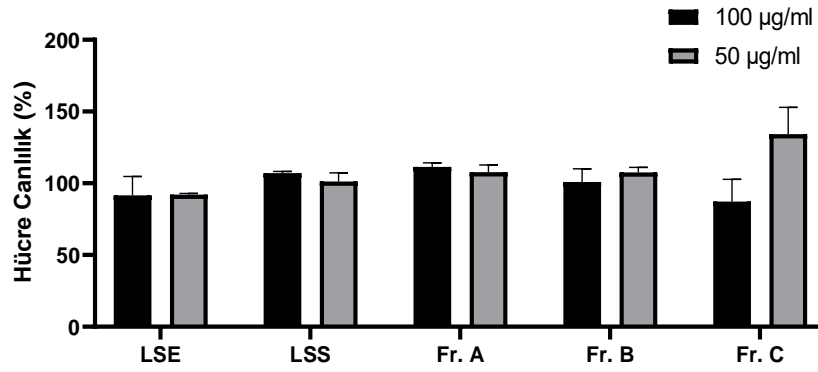
Tablo 4.14.  $\alpha$ -Glukozidaz enzim inhibitör aktivite sonuçları.

	% $\alpha$ -glukozidaz Enzim İnhibisyonu Aktivite				
	125 $\mu\text{g/mL}$	250 $\mu\text{g/mL}$	500 $\mu\text{g/mL}$	1000 $\mu\text{g/mL}$	2000 $\mu\text{g/mL}$
LSE	5,76 $\pm$ 0,26	8,09 $\pm$ 1,81	11,39 $\pm$ 1,59	27,49 $\pm$ 3,02	30,48 $\pm$ 1,08
LSS	4,64 $\pm$ 0,59	7,53 $\pm$ 1,43	14,61 $\pm$ 0,09	21,08 $\pm$ 2,29	27,01 $\pm$ 2,13
	125 $\mu\text{g/mL}$	250 $\mu\text{g/mL}$	500 $\mu\text{g/mL}$	1000 $\mu\text{g/mL}$	
Fr. E	4,32 $\pm$ 2,35	45,71 $\pm$ 2,3	76,62 $\pm$ 0,77	77,32 $\pm$ 1,86	
	45.7 $\mu\text{g/mL}$ (100 $\mu\text{M}$ )	91.4 $\mu\text{g/mL}$ (200 $\mu\text{M}$ )	182,8 $\mu\text{g/mL}$ (400 $\mu\text{M}$ )	365,6 $\mu\text{g/mL}$ (800 $\mu\text{M}$ )	457 $\mu\text{g/mL}$ (1000 $\mu\text{M}$ )
LS-E1 (Ursolik asit)	67,84	84,21 $\pm$ 5,49	84,9 $\pm$ 1,31	86,83 $\pm$ 0,95	89,10 $\pm$ 1,10
	500 $\mu\text{g/mL}$	1000 $\mu\text{g/mL}$	2500 $\mu\text{g/mL}$	5000 $\mu\text{g/mL}$	
Akarboz	5,78 $\pm$ 0,17	9,84 $\pm$ 2,40	34,82 $\pm$ 2,46	52,14 $\pm$ 1,33	

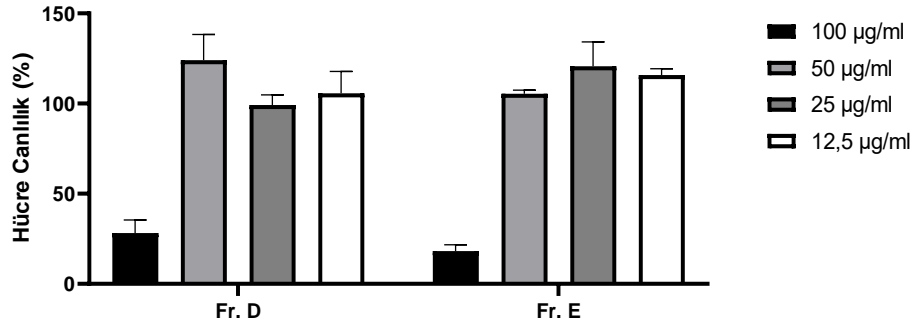
#### 4.2.4. BDNF Protein Düzeyi Çalışmalarına Ait Bulgular

Tez kapsamında, BDNF protein düzeyi üzerinden aktivite rehberli izolasyon çalışmaları planlandığı için biyolojik aktivite çalışmaları öncelikle ekstre ve ana fraksiyonlar için yürütülmüştür.

Bu kapsamda ilk aşamada, ekstre ve ana fraksiyonların çalışmada kullanılacak olan SH-SY5Y hücrelerinin canlılığı üzerine etkileri MTT metodu ile araştırılmıştır. Ekstre ve ana fraksiyonlar için hücre canlılığı çalışmaları 12,5, 25, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  olmak üzere 4 farklı konsantrasyon kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



**Şekil 4.33.** Ekstreler ile A, B ve C fraksiyonlarının SH-SY5Y hücrelerinin canlılığına etkisi.



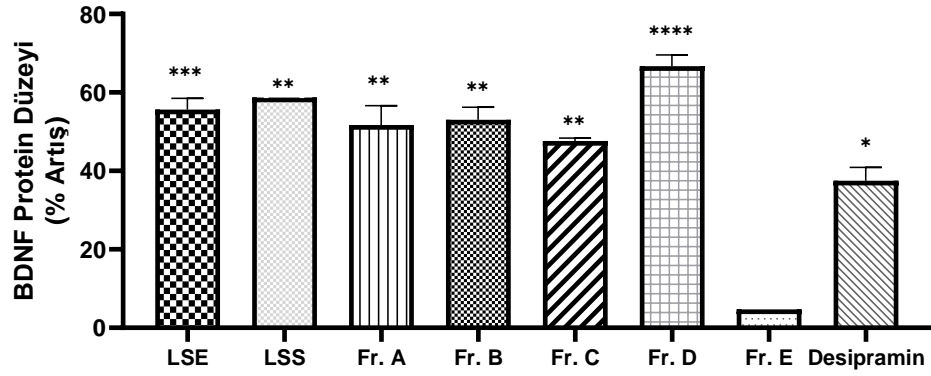
**Şekil 4.34.** D ve E fraksiyonlarının SH-SY5Y hücrelerinin canlılığına etkisi.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ekstreler, Fr. A, B ve C için hücre canlılığını olumsuz etkilemeyen en yüksek ortak konsantrasyon olan 50 µg/mL; Fr. D ve E için 12,5 µg/mL ile BDNF protein düzeyi tayini çalışmaları yürütülmüştür (Şekil 4.33, Şekil 4.34). Ekstre ve ana fraksiyonların SH-SY5Y hücre hattında BDNF protein seviyesine etkileri ELISA yöntemi temelli “Human BDNF ELISA Kit PicoKine®” ile araştırılmıştır. Numunelerin BDNF protein seviyesine etkileri negatif kontrole göre (numune içermeyen vasat) “% Artış” olarak verilmiştir.

Tablo 4.15’te yer aldığı üzere BDNF protein seviyesi üzerinde en yüksek artış Fr. D’de gözlenmiştir.

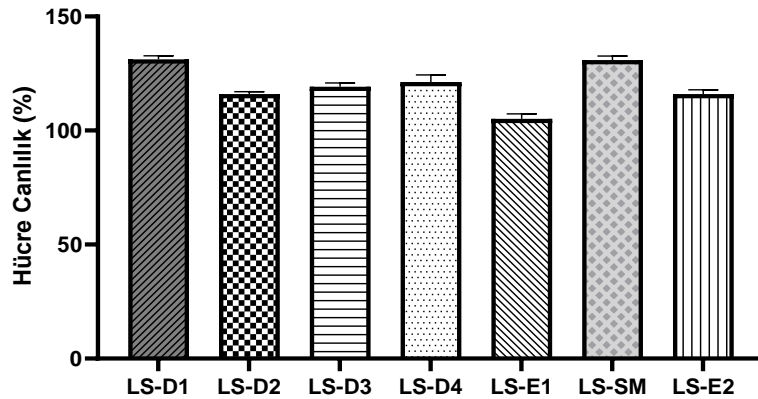
**Tablo 4.15.** Ekstreler ve ana fraksiyonların SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri.

Numune	BDNF Protein Düzeyi (% Artış)
LSE (50 µg/mL)	55,7
LSS (50 µg/mL)	58,7
Fr. A (50 µg/mL)	51,9
Fr. B (50 µg/mL)	53,2
Fr. C (50 µg/mL)	47,7
Fr. D (12,5 µg/mL)	66,8
Fr. E (12,5 µg/mL)	4,7
Desipramin (1 µM)	37,6



**Şekil 4.35.** Ekstre ve ana fraksiyonların SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri (\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ ).

BDNF protein seviyesi üzerinde en yüksek artışı gösteren numune olan Fr. D üzerinden madde izolasyonu çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.35). Önceki bölümlerde belirtildiği gibi bu fraksiyondan LS-D1 (luteolin 7-*O*- $\beta$ -D-glukopiranozit), LS-D2 (rozmarinik asit), LS-D3 (eriodiktiyol) ve LS-D4 (1-nonadeken) bileşikleri izole edilmiştir. Bu maddelere ek olarak, Fr. D'den izole edilmemiş olmakla birlikte fraksiyon içeriğinde varlığı İTK aracılığıyla bilinen LS-E1 (ursolik asit) bileşiği ile standart madde olarak temin edilen apigenin 7-*O*-glukuronit (LS-SM) ve salvianolik asit B (LS-E2) bileşiklerinin de SH-SY5Y hücre hattında BDNF protein seviyesine etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmadan önce, belirtilen maddelerin 12,5, 25, 50  $\mu$ M konsantrasyonda SH-SY5Y hücrelerinin canlılığı üzerine etkileri incelenmiştir.



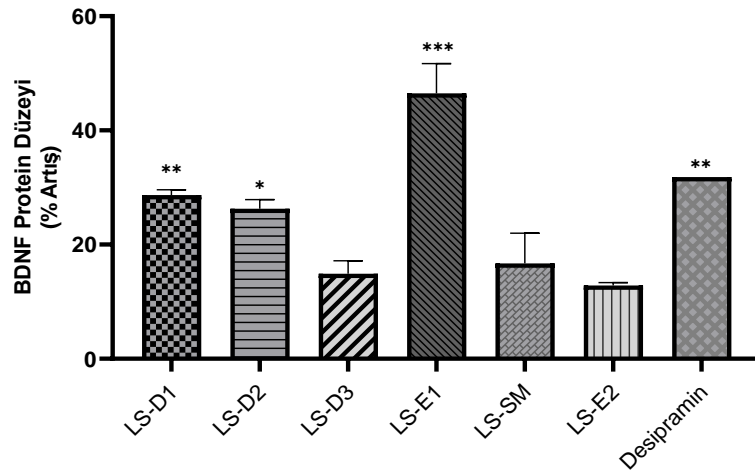
**Şekil 4.36.** Saf maddelerin 12,5  $\mu$ M konsantrasyonda SH-SY5Y hücrelerinin canlılığına etkisi.



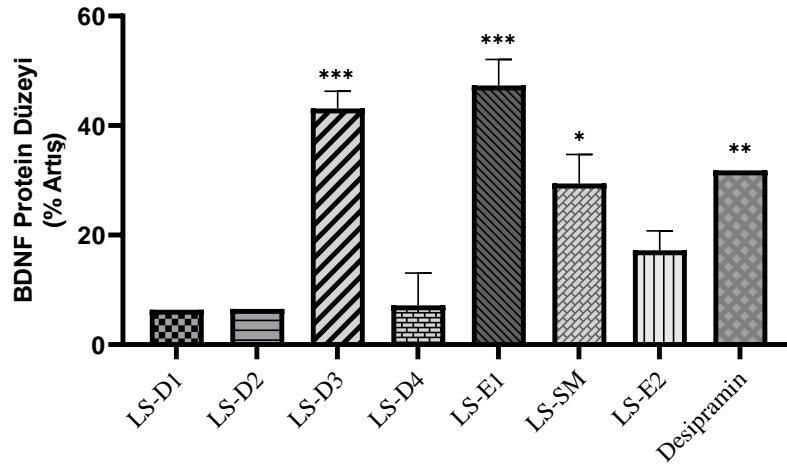
Hücre canlılığını olumsuz etkilemeyen ortak konsantrasyon 12,5  $\mu\text{M}$  konsantrasyon olarak tespit edilmiş (Şekil 4.36) ve BDNF çalışmalarının yürütüleceği konsantrasyonlar 5 ve 10  $\mu\text{M}$  olarak belirlenmiştir. Ekstreler ve fraksiyonlar için yürütülen deney protokolü saf maddeler için uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.16, Şekil 4.37, Şekil 4.38’de verilmiştir.

**Tablo 4.16.** Saf maddelerin SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri.

Numune	Uygulanan Konsantrasyon	BDNF Protein Düzeyi (% Artış)
LS-D1 (Luteolin 7-O- $\beta$ -D-glukopiranozit)	5 $\mu\text{M}$	28,7
	10 $\mu\text{M}$	6,4
LS-D2 (Rozmarinik asit)	5 $\mu\text{M}$	26,3
	10 $\mu\text{M}$	6,5
LS-D3 (Eriodiktiyol)	5 $\mu\text{M}$	14,9
	10 $\mu\text{M}$	<b>43,1</b>
LS-D4 (1-nonadeken)	5 $\mu\text{M}$	-
	10 $\mu\text{M}$	7,2
LS-E1 (Ursolik asit)	5 $\mu\text{M}$	<b>46,5</b>
	10 $\mu\text{M}$	<b>47,3</b>
LS-SM (Apigenin 7-O-glukuronit)	5 $\mu\text{M}$	16,7
	10 $\mu\text{M}$	29,4
LS-E2 (Salvianolik asit B)	5 $\mu\text{M}$	12,8
	10 $\mu\text{M}$	17,2
Desipramin	1 $\mu\text{M}$	31,8



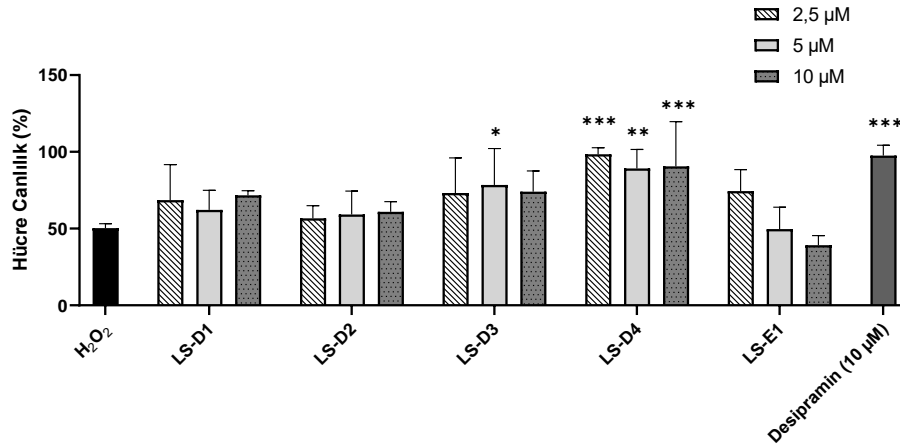
**Şekil 4.37.** Saf maddelerin 5  $\mu\text{M}$ , desipraminin 1  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri (\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ ).



**Şekil 4.38.** Saf maddelerin 10  $\mu$ M, desipraminin 1  $\mu$ M konsantrasyonda SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri (\*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , \*\*\*  $p<0.001$ ).

#### 4.2.5. Nöroprotektif Etki Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular

Tez kapsamında izole edilen saf maddelerin  $H_2O_2$  kaynaklı nöronal hücre hasarına karşı olası nöroprotektif özellikleri 2,5, 5 ve 10  $\mu$ M olmak üzere 3 farklı konsantrasyon kullanılarak araştırılmıştır. LS-D1, LS-D2, LS-D3, LS-D4 ve LS-D5 için nöroprotektif etki tayini sonuçları Şekil 4.39’da verilmiştir.



**Şekil 4.39.** Saf maddelerin SH-SY5Y hücrelerinde  $H_2O_2$  hasarına karşı nöroprotektif etkileri (\*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , \*\*\*  $p<0.001$ ).

## 5. TARTIŞMA

Ülkemizde yetişen üç *Lavandula* taksonundan biri olan *L. stoechas* subsp. *stoechas* halk arasında en yaygın kullanımı olan tıbbi bitkilerdendir (7). *L. stoechas* halk arasında ağrı, solunum yolu hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve nöral-beyin hastalıkları gibi rahatsızlıklarda kullanılmaktadır (4, 6-9).

Tez çalışmamızda bitkinin çiçekli toprak üstü kısımlarının halk arasında diyabet ve santral sinir sistemi hastalıklarında kullanımından yola çıkılarak biyoaktivite rehberli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları yürütülmüştür.

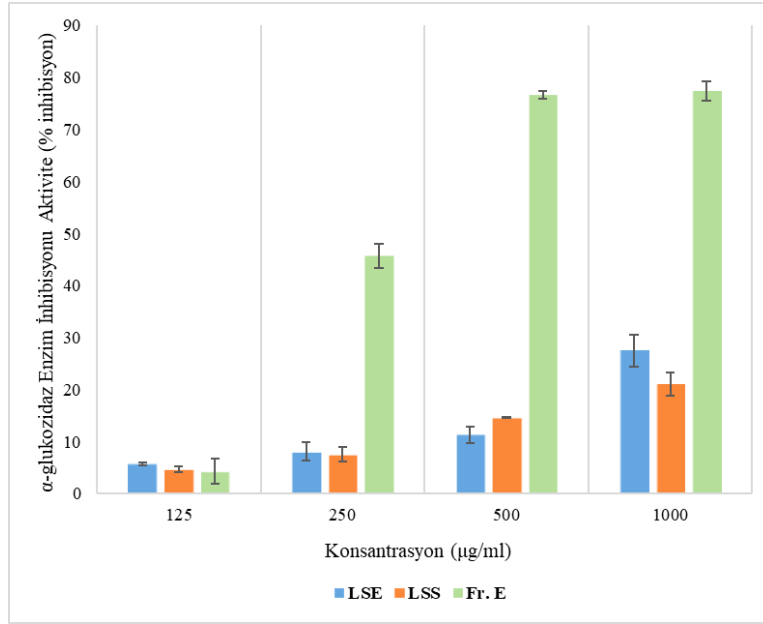
*L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın toprak üstü kısımlarının sulu etanol (%70) ekstresi hazırlanmış, *n*-hekzan ile sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemi sonrası su ekstresi elde edilmiştir. Su ekstresinin ön fraksiyonlama işleminde poliamit kolon kromatografisinden yararlanılmış ve beş ana fraksiyon (Fr. A-E) elde edilmiştir. Ardından ekstreler ve ana fraksiyonlar üzerinde biyolojik aktivite ve izolasyon çalışmalarına başlanmıştır.

Bitkinin potansiyel antidiyabetik etkisine yönelik fraksiyonlama ve saf madde izolasyonu işlemleri  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonu tayini çalışmaları rehberliğinde gerçekleştirilmiştir. Bu enzimler karbonhidratların hidrolizinden sorumlu olup, inhibisyonları sonucunda karbonhidrat sindirimi geciktirilerek glukoz emilim hızında azalma ve diyabet tedavisinde postprandiyal glukoz seviyelerinde düşme sağlanabilmektedir (11, 14).

Çalışmamızda *L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın ekstreler ve ana fraksiyonlarının  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu etkinliği yüksek konsantrasyonları da içerecek şekilde araştırılmış, ancak ekstre ve fraksiyonların  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonunun düşük olduğu görülmüştür. Bu nedenle tez kapsamında  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu tayini rehberli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları gerçekleştirilememiştir.

$\alpha$ -Glukozidaz enzim inhibisyonu tayini çalışmalarında ekstreler için düşük aktivite gözlenmekle birlikte, ana fraksiyonlar için yürütülen çalışmada Fr. E 250  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda %45,7 inhibisyon göstermiş, 500  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda %76,6 inhibisyon tespit edilmiştir (Şekil 5.1). Fr. E'de gözlenen aktivite sonucu

etkiden sorumlu bileşiklere ulaşabilmek amacıyla fraksiyonlama ve izolasyon çalışmalarının bu fraksiyon üzerinden gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.



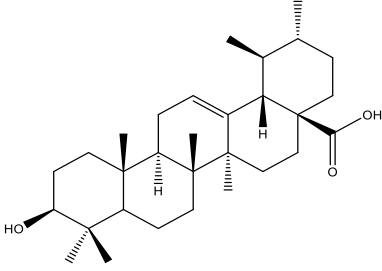
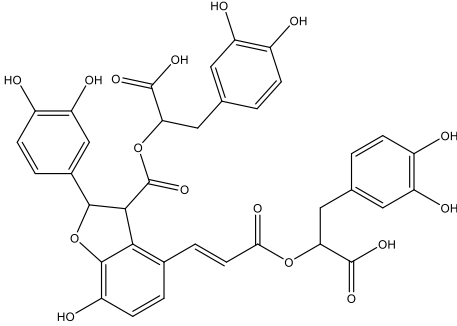
**Şekil 5.1.** Ekstreler ve Fr. E'nin  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonu tayini sonuçları.

Fr. E üzerinde çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak yürütülen çalışmalar sonucu LS kodu verilen 2 bileşik izole edilmiştir (Tablo 5.1). Bu bileşiklerin yapı tayini çalışmaları gerçekleştirilmiş, LS-E1 bileşiğinin yapısı ursolik asit, LS-E2 bileşiğinin yapısı salvianolik asit B olarak aydınlatılmıştır.

Yapılan literatür taramasında, LS-E1 kodu verilen ursolik asidin *L. angustifolia* (32), *L. canariensis* (35), *L. coronopifolia* (37), *L. dentata* (38), *L. latifolia* (24), *L. luisieri* (27), *L. multifida* (39), *L. pedunculata* (24) ve *L. stoechas* (38) türlerinde tespit edildiği görülmüştür.

LS-E2 kodu verilen salvianolik asit B ise literatürde *L. stoechas* üzerinde yürütülen HPLC çalışmalarında (38, 49) bitki içeriğinde tespit edilmiştir.

Tablo 5.1. Fr. E'den izole edilen bileşikler.

İzole Edilen Bileşikler	Formülü
<p><b>LS-E1</b> (Ursolik asit)</p>	
<p><b>LS-E2</b> (Salvianolik asit B)</p>	

Fr. E'den izole edilen iki bileşğin  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon aktiviteleri araştırılmıştır. LS-E2 (salvianolik asit B) bileşğinde aktivite gözlenmezken, LS-E1 (ursolik asit) bileşğinin pozitif kontrol olan akarboza kıyasla yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Literatür bilgileri incelendiğinde, elde ettiğimiz bulguların ursolik asidin  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon aktivitesini bildiren ve salvianolik asit B'nin etkili olmadığını gösteren çalışmalar ile uyumlu olduğu gözlenmiştir (205). *L. coronopifolia*'dan izole edilen pentasiklik triterpenler ve türevleri ile yürütülen ve 2021 yılında yayınlanan bir çalışmada, optimum  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibitörü aktivitesinin ursan iskeleti ile elde edildiği bildirilmiştir (37), söz konusu çalışma bu yönüyle elde ettiğimiz sonuçları desteklemektedir.

*L. stoechas* subsp. *stoechas* üzerinde yürütülen  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon tayini rehberli çalışmalar değerlendirildiğinde, ekstrelerde düşük aktivite gözlenmesine rağmen Fr. E'de ve izole edilen maddede (LS-E1) kuvvetli aktivite tespit edilmesi dikkat çekici bulunmuştur. Bu noktada, aktivite rehberli planlanan çalışmalarda ekstrelerde düşük etki gözlenmiş olsa da ana fraksiyonların aktivite açısından taranmasının faydalı olacağı düşünülmüştür. Fr. E'de aktivite gözlenirken

ekstrelerde düşük aktivite gözlenmesinin sebebinin, Fr. E içeriğinde yer alan daha çok terpenik yapıda bileşiklerin ekstre içeriğinde miktarının düşük olması şeklinde yorumlanmıştır. Fr. E’de bulunan ursolik asidin gösterdiği güçlü inhibisyon etki ile *L. stoechas* subsp. *stoechas*’ın antidiyabetik etkisine katkısının olabileceği düşünülmüştür.

Literatürde *L. stoechas*’ın antihyperglisemik etkilerinin deney hayvanları diyabet modellerinde araştırıldığı çalışmalar bulunmakta olup, bitkinin köklerinden hazırlanan sulu etanol ekstresi ve toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağının kan glukoz seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (107, 108). Bununla birlikte, bir *in vitro* çalışmada *L. stoechas*’ın toprak üstü kısmının sulu ekstresinin fenolik asit ve flavonoidlerce zengin etil asetat fraksiyonunun, karaciğer glukoneogenezi inhibisyonu ve AKT aktivasyonu yoluyla insülin direncine karşı etkili olabileceği raporlanmıştır (106). Tez çalışmamız kapsamında bitkinin daha apolar yapıda bileşiklerini içeren fraksiyonunun (Fr. E)  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon aktivite gösterdiğine dair bulgularımız, *L. stoechas*’ın diyabet tedavisinde kullanılabileceğine dair bilgileri desteklemektedir.

Tez kapsamında *L. stoechas* subsp. *stoechas*’ın santral sinir sistemi rahatsızlıkları üzerindeki potansiyel etkisine yönelik fraksiyonlama ve saf madde izolasyonu işlemleri ise “BDNF protein düzeyi çalışmaları” rehberliğinde gerçekleştirilmiştir.

BDNF nörotrofin ailesinin bir üyesidir. Olgun formu ile TrkB reseptörü üzerinden uyarılan hücre içi sinyal yolları nöronal sağ kalım, morfogenez ve plastisite için kritik öneme sahiptir. BDNF nörotransmitter modülatörü olarak görev yapar, öğrenme ve hafıza için gerekli olan nöroplastisite süreçlerine katılır. Nörogenez, nöronal farklılaşma, sağ kalım, nöroplastisitedeki kilit rolü ve *in vitro/in vivo* deneysel çalışmalar sonucu belirlenen nöroprotektif özelliği, nöronal hayatta kalma, nöronal işlevi uyardığına dair kanıtlar nedeniyle BDNF, nörolojik ve psikiyatrik hastalıklarda potansiyel bir terapötik hedef olarak ön plana çıkmıştır. BDNF'nin azalmış düzeyleri Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, depresyon, bipolar bozukluk gibi çok sayıda nörolojik-psikiyatrik bozukluk ile ilişkilendirilmiş; depresyon ve Alzheimer hastalığında uygulanan tedavilerin serum

BDNF düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir. BDNF düzeyleri ve sinyalizasyonunun sağlıklı durumdaki eski haline getirilmesi için farklı terapötik yaklaşımların geliştirilmesi çalışmaları devam etmektedir (16, 19, 20, 206-208).

Nörodejeneratif hastalıklarda özellikle nörodejenerasyonun başlaması ve ilerlemesini önlemek noktasında, birden fazla tedavi hedefine yönelik yaklaşımla nöroprotektif etki gösteren tıbbi bitkilerin ve fitokimyasalların kullanımı önerilmektedir. Fitokimyasal maddelerin tedavi hedefine yönelik yaklaşımları oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon, nörotrofik faktör eksikliği, apoptoz ve anormal protein birikimi vb. üzerine yapılan çalışmaları içermektedir (209, 210).

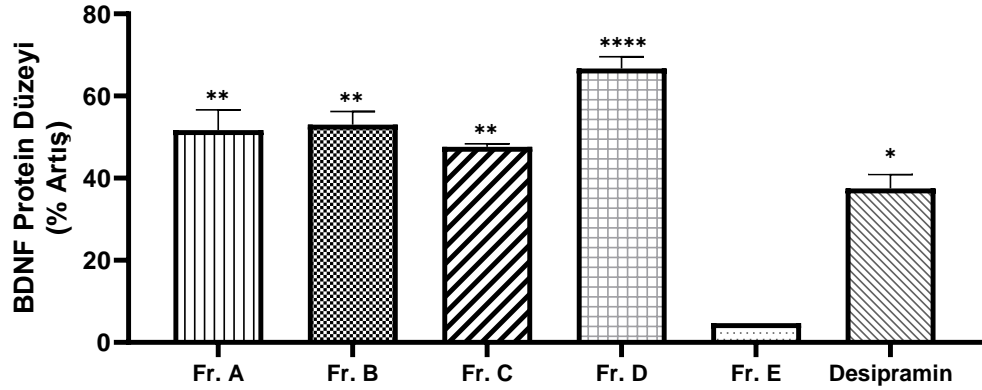
Literatürde birçok bitki ekstresi ve kateşin, klorojenik asit, luteolin, genistein, hiperforin, hiperisin, huperzin A, berberin gibi birçok fitokimyasalın BDNF seviyelerini veya etkilerini arttırdığı gösterilmiştir. Bu etkileri BDNF gen ekspresyonunda yer alan sinyal iletim yollarının tetiklenmesi ve/veya BDNF TrkB reseptörleri üzerinde agonist etki göstermeleri sonucu ortaya çıkabilmektedir (211).

BDNF'nin nörolojik ve psikiyatrik hastalıklarda kilit rol oynaması ve birçok fitokimyasal maddenin BDNF üzerindeki etkisi, tez çalışmamız kapsamında *L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın santral sinir sistemi rahatsızlıkları üzerindeki potansiyel etkisinin BDNF protein düzeyleri üzerinden araştırılmasında etkili olmuştur.

BDNF protein düzeyi tayini rehberli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları kapsamında, öncelikle ekstre ve ana fraksiyonların uygulanacağı konsantrasyonun güvenli olarak belirlenmesi için, SH-SY5Y hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkileri MTT metodu ile araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ekstreler, Fr. A, B ve C için hücre canlılığını olumsuz etkilemeyen en yüksek ortak konsantrasyon 50 µg/mL; Fr. D ve E için 12,5 µg/mL olarak belirlenmiştir. BDNF protein düzeyi tayini çalışmaları bu konsantrasyonlar ile yürütülmüştür.

Ekstreler ve ana fraksiyonların SH-SY5Y hücre hattında BDNF protein seviyesi üzerine etkileri ELISA yöntemi temelli "Human BDNF ELISA Kit PicoKine®" ile araştırılmıştır. Çalışma sonucunda negatif kontrol ile kıyaslandığında Fr. E dışında tüm örneklerin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyini arttırdığı görülmüştür. Ana fraksiyonlar arasında daha düşük konsantrasyonda uygulandığı halde en yüksek BDNF protein düzeyi artışı

(%66,8) Fr. D ile gözlenmiş, bu nedenle fraksiyonlama ve izolasyon çalışmalarına Fr. D ile devam edilmesine karar verilmiştir.

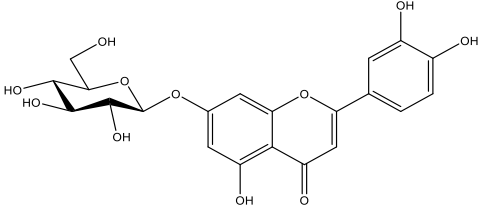
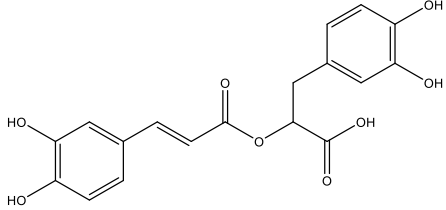
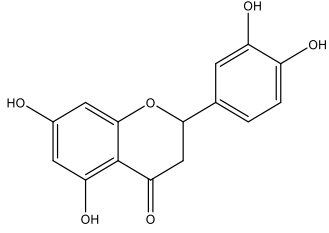
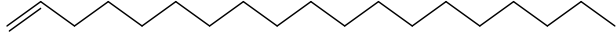


**Şekil 5.2.** Ana fraksiyonların SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri (\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ ).

Aktif bulunan Fr. D üzerinde çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak yürütülen çalışmalar sonucunda LS kodu verilen 4 bileşik izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapıları NMR ve kütle spektrumları, literatür bulguları ve bazı bileşikler için şahit madde ile İTK analizi yardımıyla aydınlatılmış olup, Tablo 5.2’de izole edilen maddeler verilmiştir:



Tablo 5.2. Fr. D'den izole edilen bileşikler.

İzole Edilen Bileşikler	Formülü
<b>LS-D1</b> (Luteolin 7-O-β-D-glukopiranozit)	
<b>LS-D2</b> (Rozmarinik asit)	
<b>LS-D3</b> (Eriodiktiyol)	
<b>LS-D4</b> (1-nonadeken)	

LS-D1 kodu verilen bileşiğin yapısı luteolin 7-O-β-D-glukopiranozit olarak aydınlatılmış olup, Upson ve arkadaşları tarafından yapılan tarama çalışmasında birçok *Lavandula* türünde varlığı gösterilmiştir (42). Daha önce *L. angustifolia* (51) ve *L. stoechas* (52) türlerinden de izole edilmiştir.

LS-D2 bileşiğinin yapısı rozmarinik asit olarak aydınlatılmış, yapılan literatür taramasında *L. angustifolia* (56), *L. canariensis* (24), *L. dentata* (38), *L. lanata* (24), *L. latifolia* (53), *L. luisieri* (27), *L. pedunculata* (24), *L. pinnata* (24) ve *L. stoechas* (38) türlerinde tespit edildiği görülmüştür. *L. angustifolia* (56), *L. luisieri* (27) ve *L. stoechas* (212) türlerinden izolasyonu bildirilmiştir.

LS-D3 bileşiğinin yapısı bir flavanon olan eriodiktiyol olarak çözümlenmiştir. Daha önce *L. angustifolia* (54) ve *L. stoechas* (55) türlerinde eriodiktiyol bileşiği ve *L.*

*pedunculata*'da (213) ise glukuronit türevi tespit edilmiştir. Ancak *Lavandula* türlerinden eriodiktiyol eldesine dair bir izolasyon çalışmasına rastlanmamıştır.

LS-D4 bileşiğinin yapısı 1-nonadeken olarak aydınlatılmıştır. Literatürde *L. pubescens* ekstresi üzerinde yürütülen GC-MS çalışmasında varlığı tespit edilmiştir (214). Tez çalışmamız kapsamında 1-nonadeken *L. stoechas*'ta ilk kez tespit edilmiş ve *Lavandula* türlerinden ilk defa izole edilmiştir.

En yüksek BDNF artışının görüldüğü numune olan Fr. D'den izole edilen dört bileşik için BDNF protein düzeyi tayini çalışmaları yürütülmesi tez kapsamında planlanmıştır. Ayrıca, Fr. D'den izole edilmemiş olmakla birlikte ilgili fraksiyonda yer aldığı İTK ile gözlenen LS-E1, LS-SM ve LS-E2 bileşiklerinin de deneye dahil edilmelerinin uygun olacağına karar verilmiştir. BDNF protein düzeyi tayini çalışması öncesinde saf maddeler için MTT testi yapılmış, uygun konsantrasyonlar 5 ve 10  $\mu\text{M}$  olarak belirlenmiştir. Ardından saf maddelerin bu konsantrasyonlarda SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeylerine etkileri incelenmiş, sonuçlar negatif kontrole göre “% Artış” olarak hesaplanarak Tablo 5.3'de sunulmuştur.

**Tablo 5.3.** Saf maddelerin 5 ve 10  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyine etkileri.

Numune	BDNF Protein Düzeyi (% Artış)	
	5 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{M}$
LS-D1 (Luteolin 7-O- $\beta$ -D-glukopiranozit)	28,7	6,4
LS-D2 (Rozmarinik asit)	26,3	6,5
<b>LS-D3 (Eriodiktiyol)</b>	14,9	<b>43,1</b>
LS-D4 (1-nonadeken)	-	7,2
<b>LS-E1 (Ursolik asit)</b>	<b>46,5</b>	<b>47,3</b>
LS-SM (Apigenin 7-O-glukuronit)	16,7	29,4
LS-E2 (Salvianolik asit B)	12,8	17,2

Negatif kontrol ile kıyaslandığında en yüksek BDNF protein düzeyi artışı 5  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda LS-E1 (ursolik asit), 10  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda LS-D3 (eriodiktiyol) ve LS-E1 (ursolik asit) ile gözlenmiştir. Bununla birlikte, LS-D4 (1-nonadeken) ve

LS-E2 (Salvianolik asit B) dışında tüm bileşiklerin değişen konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde SH-SY5Y hücrelerinde BDNF protein düzeyini arttırdıkları (Şekil 4.37, Şekil 4.38) belirlenmiştir.

Ekstreler ve fraksiyonların sonuçları değerlendirildiğinde; 12,5 µg/mL konsantrasyonda uygulanan Fr. D en yüksek BDNF artışı (%66,8) göstermiş olmakla birlikte, 50 µg/mL konsantrasyonda uygulanan ekstreler ile A, B ve C fraksiyonları da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde BDNF artışı (%47,7-58,7 aralığında) göstermiştir. İçerdiği polar yapıda bileşikler açısından özellikle Fr. C ile benzer İTK profili gösteren ancak terpen yapıda bileşikleri de içermesi yönüyle farklılık gösteren Fr. D'nin daha yüksek etki göstermesi, içeriğinde yer alan fenolik asit, flavonoit ve terpen gibi farklı yapılarıdaki sekonder metabolitlerin sinerjistik etki gösteriyor olabileceğini düşündürmüştür.

Fr. D ile içeriğinde yer alan maddelerin sonuçları değerlendirildiğinde; her ne kadar uygulanan konsantrasyonların aynı olmaması nedeniyle yeterli düzeyde çıkarım yapabilmek mümkün olmasa da Fr. D'den daha düşük konsantrasyonda uygulanmalarına rağmen BDNF düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış gösteren saf maddelerin önemli etki gösterdikleri söylenebilir. Bu doğrultuda tez kapsamında SH-SY5Y hücrelerinde BDNF düzeylerine etkileri araştırılan saf maddelerin literatürde yer alan konuyla ilgili çalışmaları incelediğinde, elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu olan araştırmalara ulaşılmıştır.

Astrositlerin primer kültürü kullanılarak yapılan bir çalışmada luteolinin 1, 3, 10 µM konsantrasyonda BDNF miktarında anlamlı düzeyde artış sağladığı gösterilmiştir (215). 2021 yılında yayınlanan bir çalışmada farelerde LPS indüklü oluşturulan depresyon modelinde 8 gün boyunca 10 mg/kg dozda oral yoldan uygulanan luteolinin, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmasa da antidepresan etki gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmada astrositler tarafından IL-6 üretiminin azaldığı, serum IL-6, TNFα ve kortikosteron düzeylerinin azaldığı, hipotalamusta olgun BDNF, dopamin ve noradrenalin seviyelerini arttığı ve bu şekilde etkinin gözlemlendiği belirtilmiştir. Bu çalışmada depresyon patofizyolojisinde yer alan bir dizi sinyal yolunun luteolin tedavisi ile modüle edildiği, luteolinin gliogenez ve nörogenez süreçlerindeki etkisi vurgulanmıştır (216). Alzheimer hastalığı hayvan modellerinde

luteolin ile yapılan çalışmalarda alınan olumlu sonuçlar da literatürde kayıtlıdır (217-219).

Rozmarinik asidin N2A hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indüklü hasarı antioksidan mekanizmalar ve koruyucu genlerin upregülasyonu aracılığıyla önlediği gösterilmiş, bu çalışmada BDNF gen ekspresyon artışı gözlenen konsantrasyon 25 µM olarak verilmiştir (220). Sıçanlarda kronik öngörülemez stres ile oluşturulan depresyon modelinde, rozmarinik asidin 10 mg/kg dozda 14 gün boyunca uygulanması ile antidepresan benzeri etkinlik gösterdiği, bu etkinin hipokampusta ERK fosforilasyonunun modülasyonu yoluyla BDNF ekspresyonundaki artış ile ilişkili olabileceği belirlenmiştir (221). 20 mg/kg dozda uygulanan rozmarinik asidin iskemik farelerde hafıza bozukluğunu önlemede etkisi gösterilmiş, bu süreçte nöron kaybının baskılanması, sinaptogenezin indüklenmesi ve artmış BDNF düzeylerinin katkısı olduğu belirlenmiştir (222).

Spinal kord yaralanmasında eriodiktiyolün (10 mg/kg ve 20 mg/kg) etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, eriodiktiyolün miyelin kaybını önemli ölçüde azalttığı, dokuda BDNF ve GDNF nörotrofik faktörlerinin düzeyini iyileştirdiği, hücrelerin apoptozunu önlediği gösterilmiştir (223). Eriodiktiyolün çeşitli deney hayvan modellerinde bozulmuş kognitif fonksiyonları iyileştirdiği, antidepresan benzeri etkinlik gösterdiği belirlenmiş olmakla birlikte bu çalışmalarda BDNF düzeylerinin ölçülmediği görülmüştür (224-226).

Mirza ve arkadaşları tarafından 2021 yılında yayınlanan çalışmada, Alzheimer hastalığı modeli oluşturulmuş farelere *Rosmarinus officinalis* etanol ekstresi (100 mg/kg), rozmarinik asit (16 mg/kg) ve ursolik asit (40 mg/kg) oral yoldan 15 gün süreyle uygulanmış, ardından davranış testleri ile immünohistokimyasal ve gen ekspresyonu çalışmaları yürütülmüştür. Çalışma ile rozmarinik asit ve ursolik asidin hafıza bozukluğu ve anksiyeteyi geri çevirmede etkili olduğu, nörojenik ve sinaptik belirteç düzeylerini normale çevirdiği gösterilmiştir (227). Ursolik asidin 1 ve 3 µM konsantrasyonda PC12D hücrelerinde sinir büyüme faktörünün (NGF) aktivitesini arttırarak nörit büyümesini desteklediği belirlenmiştir (228).

Apigeninin deney hayvanlarında oluşturulmuş Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, depresyon gibi farklı modellerde etkinliği nörotrofik sistem de dahil edilerek

araştırılmış, BDNF düzeylerinde yaşanan azalmanın apigenin uygulaması ile geri çevrilmesinin alınan olumlu sonuçlarda etkisi olabileceği tartışılmıştır (229-231).

Salvianolik asit B'nin Alzheimer hastalığı modeli oluşturulmuş farelerde 10 mg/kg dozda 7 gün süreyle uygulanması sonucunda bellek fonksiyonlarındaki bozulmayı anlamlı düzeyde hafiflettiği, düzeyleri artmış olan inflamatuvar belirteçleri azalttığı, azalmış olan BDNF düzeylerini ise arttırdığı gösterilmiştir (232).

Literatürde yer alan bu destekleyici sonuçlar da göz önüne alınarak, tez kapsamında izole edilen saf maddelerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı nöronal hücre hasarına karşı olası nöroprotektif özellikleri incelenmiştir. LS-D1, LS-D2, LS-D3, LS-D4 ve LS-E1 bileşiklerinin uygulanması ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hasarına karşı farklı konsantrasyonlarda koruyucu etki görüldüğü, hücre canlılığının arttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artışı LS-D3 bileşiği 5 µM, LS-D4 bileşiği ise 2,5, 5 ve 10 µM konsantrasyonlarda sağlamıştır (Şekil 4.39). Ön çalışma olarak kabul edilebilecek bu verilerin farklı konsantrasyonlarda ve nöroprotektif süreçte yer alan apoptoz, inflamasyon, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres pek çok etki mekanizması (233) dahil edilerek araştırılmasının önemli olacağı düşünülmüştür.

Tez çalışmamızda, *L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın halk arasında diyabet ve santral sinir sistemi rahatsızlıklarında kullanılmasından hareketle yürütülen aktivite rehberli çalışmaların yanı sıra, bitkinin antioksidan kapasitesinin araştırılmıştır. Bitkinin ekstreleri ve ana fraksiyonlarının toplam fenol içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiş, ardından DPPH, SO, NO radikali süpürücü etkinlik ve CUPRAC ve FRAP yöntemleriyle antioksidan kapasite belirleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Tablo 5.4, Tablo 5.5).

Elde edilen sonuçlara göre, benzer şekilde ekstre ve fraksiyonların DPPH ve SO radikali süpürücü etkinliklerinin yüksek, NO radikali süpürücü etkinliklerinin ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. Su ekstresinin ana ekstreden, Fr. B'nin diğer fraksiyonlardan daha iyi radikal süpürücü etkinlik gösterdiği söylenebilir. Ekstre/fraksiyonların radikal süpürücü etkinliklerinin içerdikleri toplam fenol miktarları ile genel olarak paralellik gösterdiği gözlenmiştir. Bu sonuç, diğer *Lavandula* tür/alt türleriyle yürütülen ve fenolik madde içeriği ile antioksidan aktivite arasında korelasyon olduğunu belirleyen çalışmalar ile uyumludur (97, 102).

**Tablo 5.4.** Ekstreler ve ana fraksiyonların toplam fenol içeriği ile radikal süpürücü etkinliklerinin kıyaslanması.

Numune	Toplam Fenolik Bileşik Miktarı (mg GAE/g numune)	Radikal Süpürücü Etkinlik- IC <sub>50</sub> (µg/mL)		
		DPPH	SO	NO
LSE	190,25±0,03	38,34	36,29	287,69
LSS	210,35±0,02	37,83	<b>26,79</b>	242,86
Fr. A	98,1±0,01	84,75	95,64	665,12
Fr. B	<b>254,37±0,03</b>	<b>29,23</b>	<b>31,32</b>	<b>224,31</b>
Fr. C	<b>227,85±0,01</b>	<b>32,75</b>	42,46	274,44
Fr. D	200,75±0,02	<b>30,11</b>	35,98	286,96
Fr. E	176,24±0,01	49,25	56,22	>400

**Tablo 5.5.** Ekstreler ve ana fraksiyonların toplam fenol içeriği ile FRAP ve CUPRAC yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasitelerinin kıyaslanması.

Numune	Toplam Fenolik Bileşik Miktarı (mg GAE/g numune)	Antioksidan kapasite (mg Troloks/g numune)	
		FRAP	CUPRAC
LSE	190,25±0,03	506,11±3,43	128,96±4,86
LSS	210,35±0,02	619,14±1,43	154,95±1,36
Fr. A	98,1±0,01	261,26±0,29	69,93±0,65
Fr. B	<b>254,37±0,03</b>	<b>706,40±3,14</b>	<b>176,25±3,11</b>
Fr. C	<b>227,85±0,01</b>	<b>871,29±3,57</b>	<b>195,34±1,07</b>
Fr. D	200,75±0,02	559,86±0,71	155,33±1,22
Fr. E	176,24±0,01	488,11±10,00	132,80±1,47

FRAP ve CUPRAC yöntemleriyle gerçekleştirilen antioksidan kapasite çalışmalarında da su ekstresinin ana ekstrelerden daha yüksek etkinlik gösterdiği görülmektedir. Radikal süpürücü etkinlik testlerinde alınan sonuçlara benzer şekilde, fraksiyonlar arasında B, C ve D'nin daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu gözlenmektedir. Ancak farklı olarak, fraksiyonlar arasında Fr. C'nin en iyi antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir. Fr. B ve Fr. C ekstrelerden daha yüksek etkinlik

göstermiştir. Yüksek fenol içeriği antioksidan kapasite ile genel olarak paralellik göstermektedir.

Yürütülen antioksidan kapasite tayini çalışmaları sonucu Fr. B ve Fr. C'nin daha kuvvetli antioksidan özellik gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu bulgu fraksiyonların İTK profili ile birlikte değerlendirildiğinde, her iki fraksiyonda da major bileşik olan ve güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinen (234) rozmarinik asidin, fraksiyonların antioksidan etkisinde önemli rolünün olabileceğini düşündürmüştür. Bu nedenle rozmarinik asit için DPPH radikali süpürücü etkinlik ve FRAP yöntemiyle antioksidan kapasite tayini çalışması gerçekleştirilmiştir. Rozmarinik asidin, pozitif kontrol olan askorbik aside çok benzer şekilde yüksek DPPH radikali süpürücü etkinlik gösterdiği (Tablo 4.8) tespit edilmiş ve FRAP yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasitesinin en iyi etkinliğe sahip Fr. C'nin iki katı olduğu görülmüştür (Tablo 4.11). Elde ettiğimiz bu sonuçlar, farklı *Lavandula* türlerinde yürütülen ve rozmarinik asidin antioksidan aktiviteye büyük ölçüde katkıda bulunduğu, antioksidan aktivitenin esas olarak rozmarinik asit varlığından kaynaklandığı yönündeki çalışmalar ile uyum göstermektedir (101, 102).

Tez çalışmamızda birbirinden bağımsız olarak araştırdığımız  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonu ve BDNF protein düzeyi çalışmaları sonucunda farklı fraksiyonların aktif çıkması, fraksiyonların içeriğinde yer alan farklı madde gruplarının aktivitede farklı rol oynadığını düşündürmüştür.  $\alpha$ -Glukozidaz enzim inhibisyonu aktivite daha apolar yapıda bileşiklerin (terpenlerin) bulunduğu Fr. E'de gözlenirken, BDNF protein düzeyi artışı fenolik bileşiklerin bulunduğu Fr. B ve C ile özellikle fenolik ve terpenik yapıdaki bileşiklerin birlikte yer aldığı Fr. D'de gözlenmiştir. Yüksek antioksidan aktivite gözlenen Fr. B ve Fr. C'nin ise fenolik bileşiklerce zengin olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, tez kapsamında amaçlandığı gibi *L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın halk arasında diyabet ve santral sinir sistemi rahatsızlıklarında kullanımına yönelik yürütülen izolasyon ve aktivite çalışmaları sonucunda etkiden sorumlu olabileceği düşünülen bileşiklere ulaşılmıştır.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez çalışmamızda, *L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın halk arasında kullanımından yola çıkılarak çeşitli biyolojik aktivite çalışmaları ve fitokimyasal çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Bitkinin potansiyel antidiyabetik etkisine yönelik  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon tayini çalışmaları yürütülmüştür. Ekstreler ve ana fraksiyonlarda  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyon etki gözlenmemiş, bu nedenle bu aktivite üzerinden fraksiyonlama ve saf madde izolasyonu yapılamamıştır.  $\alpha$ -Glukozidaz enzim inhibisyon tayini çalışmalarında ise ekstreler düşük aktivite gösterirken, ana fraksiyonlar arasında sadece Fr. E aktif bulunmuştur. Fr. E üzerinde yürütülen çalışmalar sonucu izole edilen bileşiklerden LS-E1 (ursolik asit)  $\alpha$ -glukozidaz enzim üzerinde güçlü inhibisyon etki göstermiştir. Antidiyabetik etkisi farklı çalışmalarla da gösterilmiş olan ursolik asidin olası etki mekanizmalarının daha ileri çalışmalarla ele alınması önemlidir.

Tez bitkisinin halk arasında santral sinir sistemi rahatsızlıklarında kullanımından hareketle potansiyel etkisine yönelik fraksiyonlama ve saf madde izolasyonu işlemleri BDNF protein düzeyi çalışmaları ile gerçekleştirilmiştir. Ekstreler ve ana fraksiyonlar arasında en yüksek BDNF artışı sağlayan örnek olan Fr. D üzerinde izolasyon çalışmaları yapılmıştır. Fr. D'den izole edilen ve Fr. D'den izole edilmemiş olmakla birlikte fraksiyon içeriğinde yer aldığı İTK analizi ile saptanan 7 bileşiğin (luteolin 7-*O*- $\beta$ -D-glukopiranozit, rozmarinik asit, eriodiktiyol, 1-nonadeken, ursolik asit, apigenin 7-*O*-glukuronit, salvianolik asit B) BDNF protein düzeylerine etkisi araştırılmıştır. Genel olarak tüm bileşiklerin BDNF protein düzeyini arttırdığı görülmekle birlikte, en yüksek artış 5  $\mu$ M konsantrasyonda LS-E1 (ursolik asit), 10  $\mu$ M konsantrasyonda LS-D3 (eriodiktiyol) ve LS-E1 (ursolik asit) ile gerçekleşmiştir.

*L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın antioksidan kapasitesinin araştırıldığı çalışmalar bitkinin güçlü antioksidan etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir. Yüksek antioksidan etkinlik gözlenen Fr. B ve Fr. C'nin major bileşik olarak rozmarinik asit içermesi literatürde yer alan çalışmalarla birlikte değerlendirildiğinde, rozmarinik asidin antioksidan aktivitede önemli katkısı olduğu şeklinde yorumlanmıştır.



Nöroprotektif etki tayini çalışmalarında, uygulanan konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde koruyucu etki, LS-D3 (eriodiktyol) ve LS-D4 (1-nonadeken) bileşikleri ile görülmekle birlikte, ön veri olarak kabul edilebilecek bu çalışmaların saf maddelerin farklı konsantrasyonlarda denenmesi ile daha kapsamlı sonuçlar verebileceği düşünülmektedir.

Yapılacak ileri çalışmalarda, tez çalışmamızdaki saf maddelerin daha geniş konsantrasyon aralığında BDNF protein düzeyi ve nöroprotektif etki tayini çalışmaları planlanabilir. BDNF artışının hangi hücre içi sinyal yolları aracılığıyla gerçekleştiği, nöron morfolojisinde değişikliğe yol açıp açmadığı incelenebilir. Nöroprotektif etkide rol oynayan farklı mekanizmalar (apoptoz, inflamasyon, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres gibi) üzerindeki olası etkileri araştırılabilir.

Tez kapsamında elde ettiğimiz sonuçlar *L. stoechas* subsp. *stoechas*'ın halk arasında diyabet ve santral sinir sistemi rahatsızlıklarında kullanımını destekleyen bulgular olmakla birlikte, çok faktörlü etiyolojiye sahip bu hastalıklardaki etkinliğinin değerlendirilebilmesi için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Héral B, Stierlin É, Fernandez X, Michel T. Phytochemicals from the genus *Lavandula*: a review. *Phytochemistry Reviews*. 2020;20(4):751-71.
2. Aprotosoiaie AC, Gille E, Trifan A, Luca VS, Miron A. Essential oils of *Lavandula* genus: a systematic review of their chemistry. *Phytochemistry Reviews*. 2017;16(4):761-99.
3. Davis PH. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press; 1982.
4. Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT. *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. İstanbul: ANG Vakfı, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları; 2012.
5. Frezza C, Venditti A, Serafini M, Bianco A. Phytochemistry, chemotaxonomy, ethnopharmacology, and nutraceuticals of Lamiaceae. *Studies in natural products chemistry*. 2019;62:125-78.
6. Sarı AO, Bilgin O, Bilgiç A, Nedret T, Güvensen A, Şenol SG. Ege ve Güney Marmara bölgelerinde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*. 2010;20(2):1-21.
7. Gurdal B, Kultur S. An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Mugla, Turkey). *J Ethnopharmacol*. 2013;146(1):113-26.
8. Uzun E, Sariyar G, Adsersen A, Karakoc B, Otuk G, Oktayoglu E, et al. Traditional medicine in Sakarya province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species. *J Ethnopharmacol*. 2004;95(2-3):287-96.
9. Sargin SA. Ethnobotanical survey of medicinal plants in Bozyazı district of Mersin, Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;173:105-26.
10. Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Gnanadhas EN, Lakshminarasaiah U, et al. Antioxidants and human diseases. *Clinica chimica acta*. 2014;436:332-47.
11. Kashtoh H, Baek K-H. Recent updates on phytoconstituent alpha-Glucosidase inhibitors: an approach towards the treatment of type two diabetes. *Plants*. 2022;11(20):2722.
12. Peyrot des Gachons C, Breslin PA. Salivary amylase: digestion and metabolic syndrome. *Current diabetes reports*. 2016;16(10):1-7.
13. Ćorković I, Gašo-Sokač D, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M. Dietary polyphenols as natural inhibitors of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Life*. 2022;12(11):1692.
14. Kajaria D, Tripathi J, Tripathi YB, Tiwari S. In-vitro  $\alpha$  amylase and glycosidase inhibitory effect of ethanolic extract of antiasthmatic drug—Shirishadi. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*. 2013;4(4):206.

15. Ibrahim AM, Chauhan L, Bhardwaj A, Sharma A, Fayaz F, Kumar B, et al. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative disorders. *Biomedicines*. 2022;10(5):1143.
16. Nagahara AH, Tuszynski MH. Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders. *Nature reviews Drug discovery*. 2011;10(3):209-19.
17. Benarroch EE. Brain-derived neurotrophic factor: Regulation, effects, and potential clinical relevance. *Neurology*. 2015;84(16):1693-704.
18. Allen SJ, Watson JJ, Shoemark DK, Barua NU, Patel NK. GDNF, NGF and BDNF as therapeutic options for neurodegeneration. *Pharmacology & therapeutics*. 2013;138(2):155-75.
19. Ng TKS, Ho CSH, Tam WWS, Kua EH, Ho RC-M. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in patients with Alzheimer's disease (AD): a systematic review and meta-analysis. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(2):257.
20. Cattaneo A, Cattane N, Begni V, Pariante CM, Riva M. The human BDNF gene: peripheral gene expression and protein levels as biomarkers for psychiatric disorders. *Translational psychiatry*. 2016;6(11):e958-e.
21. Leyhe T, Stransky E, Eschweiler G, Buchkremer G, Laske C. Increase of BDNF serum concentration during donepezil treatment of patients with early Alzheimer's disease. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*. 2008;258(2):124-8.
22. Lu B, Nagappan G, Guan X, Nathan PJ, Wren P. BDNF-based synaptic repair as a disease-modifying strategy for neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neuroscience*. 2013;14(6):401-16.
23. TÜBİVES (Türkiye Bitkileri Veri Servisi) [Internet]. [Erişim Tarihi 29 Ekim 2022]. Erişim adresi: [http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax\\_id=7467](http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7467).
24. Lis-Balchin M. *Lavender: the genus Lavandula*: CRC press; 2002.
25. Patwardhan S, Gupta A. Aromatic monoterpenes from *Lavandula gibsonii*. *Phytochemistry*. 1983;22(9):2080-1.
26. Kulkarni RR, Joshi SP. New 2,2-diphenylpropane and ethoxylated aromatic monoterpenes from *Lavandula gibsonii* (Lamiaceae). *Nat Prod Res*. 2013;27(15):1323-9.
27. Julio LF, Barrero AF, Herrador del Pino MM, Arteaga JF, Burillo J, Andres MF, et al. Phytotoxic and nematocidal components of *Lavandula luisieri*. *J Nat Prod*. 2016;79(2):261-6.
28. Shimizu M, Shogawa H, Matsuzawa T, Yonezawa S, Hayashi T, Arisawa M, et al. Anti-inflammatory constituents of topically applied crude drugs. IV.: constituents and anti-inflammatory effect of Paraguayan crude drug "Alhucema" (*Lavandula latifolia* VILL.). *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 1990;38(8):2283-4.

29. Masi M, Pannacci E, Santoro E, Zermane N, Superchi S, Evidente A. Stoechanones A and B, phytotoxic copaane sesquiterpenoids isolated from *Lavandula stoechas* with potential herbicidal activity against *Amaranthus retroflexus*. *J Nat Prod*. 2020;83(5):1658-65.
30. Ulubelen A, Gören N, Olcay Y. Longipinene derivatives from *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas*. *Phytochemistry*. 1988;27(12):3966-7.
31. Politi M, De Tommasi N, Pescitelli G, Di Bari L, Morelli I, Braca A. Structure and absolute configuration of new diterpenes from *Lavandula multifida*. *Journal of natural products*. 2002;65(11):1742-5.
32. Papanov G, Bozov P, Malakov P. Triterpenoids from *Lavandula spica*. *Phytochemistry*. 1992;31(4):1424-6.
33. Spiridon I, Colceru S, Anghel N, Teaca CA, Bodirlau R, Armatu A. Antioxidant capacity and total phenolic contents of oregano (*Origanum vulgare*), lavender (*Lavandula angustifolia*) and lemon balm (*Melissa officinalis*) from Romania. *Nat Prod Res*. 2011;25(17):1657-61.
34. Wu X, Liu J, Yu Z, Ye Y, Zhou Y. Chemical constituents of *Lavandula angustifolia*. *Acta Chimica Sinica-Chinese Edition*. 2007;65(16):1649.
35. Breton-Funes J, de Atauri IJR. Triterpenes from *Lavandula canariensis*. *Journal of Natural Products*. 1986;49(5):937-.
36. El-Gendi OD, Kusano A, Kusano G. Two new triterpenic glucosidates from *Lavandula coronopifolia* in Egypt. *Natural medicines= 生薬学雑誌*. 2000;54(1):38-41.
37. Elsbaey M, Mwakalukwa R, Shimizu K, Miyamoto T. Pentacyclic triterpenes from *Lavandula coronopifolia*: structure related inhibitory activity on alpha-glucosidase. *Nat Prod Res*. 2021;35(9):1436-44.
38. Contreras MDM, Algieri F, Rodriguez-Nogales A, Galvez J, Segura-Carretero A. Phytochemical profiling of anti-inflammatory *Lavandula* extracts via RP-HPLC-DAD-QTOF-MS and -MS/MS: Assessment of their qualitative and quantitative differences. *Electrophoresis*. 2018;39(9-10):1284-93.
39. Sosa S, Altinier G, Politi M, Braca A, Morelli I, Della Loggia R. Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity. *Phytomedicine*. 2005;12(4):271-7.
40. Topcu G, Ayril M, Aydin A, Gören A, Chai H, Pezzuto J. Triterpenoids of the roots of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Die Pharmazie*. 2001;56(11):892-5.
41. Patwardhan S, Gupta A. An oxygenated branched-chain fatty acid and its methyl ester from *Lavandula gibsonii*. *Phytochemistry*. 1983;22(1):165-6.
42. Upson TM, Grayer RJ, Greenham JR, Williams CA, Al-Ghamdi F, Chen F-H. Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2000;28(10):991-1007.

43. Yadikar N, Bobakulov KM, Eshbakova KA, Aisa HA. Phenolic compounds from *Lavandula angustifolia*. Chemistry of Natural Compounds. 2017;53(3):562-4.
44. Areias F, Valentão P, Andrade P, Moreira M, Amaral J, Seabra R. HPLC/DAD analysis of phenolic compounds from lavender and its application to quality control. 2000.
45. Celik SE, Tufan AN, Bekdeser B, Ozyurek M, Guclu K, Apak R. Identification and determination of phenolics in Lamiaceae species by UPLC-DAD-ESI-MS/MS. J Chromatogr Sci. 2017;55(3):291-300.
46. Torras-Claveria L, Jauregui O, Bastida J, Codina C, Viladomat F. Antioxidant activity and phenolic composition of lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loiseleur) waste. Journal of agricultural and food chemistry. 2007;55(21):8436-43.
47. Panuccio MR, Fazio A, Papalia T, Barreca D. Antioxidant properties and flavonoid profile in leaves of Calabrian *Lavandula multifida* L., an Autochthon Plant of Mediterranean Southern Regions. Chem Biodivers. 2016;13(4):416-21.
48. Banthorpe DV, Bilyard HJ, Watson DG. Pigment formation by callus of *Lavandula angustifolia*. Phytochemistry. 1985;24(11):2677-80.
49. Algieri F, Rodriguez-Nogales A, Vezza T, Garrido-Mesa J, Garrido-Mesa N, Utrilla MP, et al. Anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts of *Lavandula dentata* L. and *Lavandula stoechas* L. J Ethnopharmacol. 2016;190:142-58.
50. El-Garf I, Grayer RJ, Kite GC, Veitch NC. Hypolaetin 8-*O*-glucuronide and related flavonoids from *Lavandula coronopifolia* and *L. pubescens*. Biochemical systematics and ecology. 1999;27(8):843-6.
51. Kurkin V, Lamrini M. Flavonoids of *Lavandula spica* flowers. Chemistry of Natural Compounds. 2007;43(6):702-3.
52. Gabrieli C, Kokkalou E. A new acetylated glucoside of luteolin and two flavone glucosides from *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. Die Pharmazie. 2003;58(6):426-7.
53. Paliy A, Rabotyagov V, Startseva O, Paliy I, Marko N, editors. Phenolic acids and flavonoids in representatives of genus *Lavandula* L. grown in southern Russia. XXX International Horticultural Congress IHC2018: International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, Culinary Herbs and 1287; 2018.
54. Bajkacz S, Baranowska I, Buszewski B, Kowalski B, Ligor M. Determination of flavonoids and phenolic acids in plant materials using SLE-SPE-UHPLC-MS/MS method. Food Analytical Methods. 2018;11(12):3563-75.
55. Ceylan Y, Usta K, Usta A, Maltas E, Yildiz S. Evaluation of antioxidant activity, phytochemicals and ESR analysis of *Lavandula stoechas*. Acta Physica Polonica A. 2015;128(2B):B-483-B-8.

56. Yadikar N, Bobakulov K, Li G, Aisa HA. Seven new phenolic compounds from *Lavandula angustifolia*. *Phytochemistry Letters*. 2018;23:149-54.
57. Tang S, Shi J, Liu C, Jiang R, Zhao W, Liu X, et al. Three new phenylpropanoids from *Lavandula angustifolia* and their bioactivities. *Nat Prod Res*. 2017;31(12):1351-7.
58. Tuncel NB, Yilmaz N. Kaz Dağları'ndan toplanan bazı bitkilerin fenolik asit kompozisyonlarının yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile belirlenmesi. *Akademik Gıda*. 2010;8(3):18-23.
59. Ablikim G, Bobakulov K, Li J, Yadikar N, Aisa HA. Two new glucoside derivatives of truxinic and cinnamic acids from *Lavandula angustifolia* Mill. *Nat Prod Res*. 2021;35(15):2526-34.
60. Stanciu G, Aonofriesei F, Lupsor S, Popescu A, Sirbu R. Study of phenolic compounds and antimicrobial activity of *Lavandula angustifolia* L. flowers macerates. *Revista de Chime*. 2019;70(5):1800-4.
61. Kurkin V, Lamrini M, Klochkov S. Lavandoside from *Lavandula spica* flowers. *Chemistry of Natural Compounds*. 2008;44(2):169-70.
62. Grayer RJ, Eckert MR, Veitch NC, Kite GC, Marin PD, Kokubun T, et al. The chemotaxonomic significance of two bioactive caffeic acid esters, nepetoidins A and B, in the Lamiaceae. *Phytochemistry*. 2003;64(2):519-28.
63. Papanov GY, Gacs-Baitz E, Malakov PY. 2-N-Phenylaminonaphthalene from *Lavandula vera*. *Phytochemistry*. 1985;24(12):3045-6.
64. Tang S, Shi J, Liu C, Zhang F, Xiang N, Liu X, et al. Three new arylbenzofurans from *Lavandula angustifolia* and their bioactivities. *Phytochemistry Letters*. 2017;19:60-3.
65. Zhou M, Xing H-H, Ma H-Y, Zhou L, Yang Y, Li G-P, et al. Three new isobenzofurans from *Lavandula angustifolia* and their bioactivities. *Phytochemistry Letters*. 2017;19:156-9.
66. Castle J, Lis-Balchin M. History of usage of *Lavandula* species. *Lavender: CRC Press*; 2002. p. 49-64.
67. Sari AO, Bilgin O, Bilgiç A, Nedret T, Güvensen A, Gökhan S. Batı Anadolu'da halk ilacı olarak kullanılan Lamiaceae türleri. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*. 16(2):50-67.
68. Ugulu I, Baslar S, Yorek N, Dogan Y. The investigation and quantitative ethnobotanical evaluation of medicinal plants used around İzmir province, Turkey. *Journal of Medicinal plants research*. 2009;3(5):345-67.
69. Ünsal Ç, Vural H, Sariyar G, Özbek B, Ötük G. Traditional medicine in Bilecik province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010;7(2).
70. Bulut G, Tuzlacı E. An ethnobotanical study of medicinal plants in Bayramiç. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 2015;19(3):268-82.
71. Akan H. Kahta (Adıyaman) merkezi ve Narince köyünün etnobotanik açıdan araştırılması. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. 2015;4(2).

72. Polat R, Satil F. Havran ve Burhaniye'de Balıkesir etnobotanik araştırmaları. TÜBA-KED Türkiye Bilimler Akademisi Kültür Envanteri Dergisi. 2010(8):65-100.
73. Polat R, Satıl F. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Edremit Gulf (Balıkesir–Turkey). Journal of Ethnopharmacology. 2012;139(2):626-41.
74. Skoula M, Abidi C, Kokkalou E. Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Crete (Greece). Biochemical Systematics and Ecology. 1996;24(3):255-60.
75. Novais M, Santos I, Mendes S, Pinto-Gomes C. Studies on pharmaceutical ethnobotany in arrabida natural park (Portugal). Journal of ethnopharmacology. 2004;93(2-3):183-95.
76. Ferreira A, Proenca C, Serralheiro ML, Araujo ME. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. J Ethnopharmacol. 2006;108(1):31-7.
77. Loi MC, Maxia L, Maxia A. Ethnobotanical comparison between the villages of Escolca and Lotzorai (Sardinia, Italy). Journal of herbs, spices & medicinal plants. 2005;11(3):67-84.
78. Šarić-Kundalić B, Dobeš C, Klatté-Asselmeyer V, Saukel J. Ethnobotanical study on medicinal use of wild and cultivated plants in middle, south and west Bosnia and Herzegovina. Journal of Ethnopharmacology. 2010;131(1):33-55.
79. González JA, García-Barriuso M, Amich F. Ethnobotanical study of medicinal plants traditionally used in the Arribes del Duero, western Spain. Journal of Ethnopharmacology. 2010;131(2):343-55.
80. Benítez G, González-Tejero M, Molero-Mesa J. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. J Ethnopharmacol. 2010;129(1):87-105.
81. Cornara L, La Rocca A, Terrizzano L, Dente F, Mariotti MG. Ethnobotanical and phytomedicinal knowledge in the North-Western Ligurian Alps. J Ethnopharmacol. 2014;155(1):463-84.
82. Lucchetti L, Zitti S, Taffetani F. Ethnobotanical uses in the Ancona district (Marche region, Central Italy). Journal of ethnobiology and ethnomedicine. 2019;15(1):1-33.
83. Mautone M, De Martino L, De Feo V. Ethnobotanical research in Cava de'Tirreni area, Southern Italy. Journal of ethnobiology and ethnomedicine. 2019;15(1):1-21.
84. Galuzzo F, Attard E, Di Gioia D. Emilia Romagna and Malta: A comparative ethnobotanical study. Ethnobotany Research and Applications. 2021;22:1-15.
85. Janačković P, Gavrilović M, Savić J, Marin PD, Stevanović ZD. Traditional knowledge on plant use from Negotin Krajina (Eastern Serbia): An ethnobotanical study. 2019.

86. Moussaoui F, Alaoui T, Aoudry S. Census ethnobotanical study of some plants used in traditional medicine in the city of Meknes. *American Journal of Plant Sciences*. 2014;5(15):2480.
87. Bouayyadi L, Zidane L. Botanical and medicinal profile of aromatic and medicinal plants: Case of the Gharb region, Morocco. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*. 2020;8(4):269-79.
88. Jamila F, Mostafa E. Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *J Ethnopharmacol*. 2014;154(1):76-87.
89. Barkaoui M, Katiri A, Boubaker H, Msanda F. Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes in Chtouka Ait Baha and Tiznit (Western Anti-Atlas), Morocco. *J Ethnopharmacol*. 2017;198:338-50.
90. Abouri M, El Mousadik A, Msanda F, Boubaker H, Saadi B, Cherifi K. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in the Tata Province, Morocco. *Int J Med Plants Res*. 2012;1(7):99-123.
91. Bourhia M, Abdelaziz Shahat A, Mohammed Almarfadi O, Ali Naser F, Mostafa Abdelmageed W, Ait Haj Said A, et al. Ethnopharmacological survey of herbal remedies used for the treatment of cancer in the Greater Casablanca-Morocco. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2019;2019:1613457.
92. Ramdane F, Mahammed MH, Hadj MDO, Chanai A, Hammoudi R, Hillali N, et al. Ethnobotanical study of some medicinal plants from Hoggar, Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2015;9(30):820-7.
93. Meddour R, Sahar O, Abdoune N, Dermouche M. Quantitative ethnobotanical investigation of medicinal plants used by the local population in the rural municipalities of Haizer and El Asnam, province of Bouira, Northern Algeria. *Mediterr Bot*. 2022;43, e71190,1-20.
94. Ouelbani R, Bensari S, Mouas TN, Khelifi D. Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). *Journal of ethnopharmacology*. 2016;194:196-218.
95. Hassan-Abdallah A, Merito A, Hassan S, Aboubaker D, Djama M, Asfaw Z, et al. Medicinal plants and their uses by the people in the Region of Randa, Djibouti. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;148(2):701-13.
96. Khoury M, Stien D, Eparvier V, Ouaini N, El Beyrouthy M. Report on the medicinal use of eleven Lamiaceae species in Lebanon and rationalization of their antimicrobial potential by examination of the chemical composition and antimicrobial activity of their essential oils. *Evidence-based complementary and alternative medicine*. 2016;1-17.
97. Uygun M, Kilimci N, Kaya SK, Yavaş İ. Investigation of some chemical and biochemical properties of locally grown *Lavandula stoechas cariensis*. *Celal Bayar University Journal of Science*. 2017;13(1):63-9.



98. Baptista R, Madureira AM, Jorge R, Adao R, Duarte A, Duarte N, et al. Antioxidant and antimycotic activities of two native *Lavandula* species from Portugal. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015:570521.
99. Messaoud C, Chograni H, Boussaid M. Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild *Lavandula* L. species. *Nat Prod Res*. 2012;26(21):1976-84.
100. Zhao J, Xu F, Huang H, Ji T, Li C, Tan W, et al. Evaluation on bioactivities of total flavonoids from *Lavandula angustifolia*. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 2015;28(4).
101. Hohmann J, Zupkó I, Rédei D, Csányi M, Falkay G, Máthé I, et al. Protective effects of the aerial parts of *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis* and *Lavandula angustifolia* and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxidation. *Planta medica*. 1999;65(06):576-8.
102. Blazekovic B, Vladimir-Knezevic S, Brantner A, Stefan MB. Evaluation of antioxidant potential of *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. 'Budrovka': a comparative study with *L. angustifolia* Mill. *Molecules*. 2010;15(9):5971-87.
103. Gallego MG, Gordon MH, Segovia FJ, Skowyra M, Almajano MP. Antioxidant properties of three aromatic herbs (rosemary, thyme and lavender) in oil-in-water emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2013;90(10):1559-68.
104. Costa P, Goncalves S, Valentao P, Andrade PB, Almeida C, Nogueira JM, et al. Metabolic profile and biological activities of *Lavandula pedunculata* subsp. *lusitanica* (Chaytor) Franco: studies on the essential oil and polar extracts. *Food Chem*. 2013;141(3):2501-6.
105. Costa P, Goncalves S, Andrade PB, Valentao P, Romano A. Inhibitory effect of *Lavandula viridis* on Fe(2+)-induced lipid peroxidation, antioxidant and anti-cholinesterase properties. *Food Chem*. 2011;126(4):1779-86.
106. Kulabas S, Ipek H, Tufekci A, Arslan S, Demirtas I, Ekren R, et al. Ameliorative potential of *Lavandula stoechas* in metabolic syndrome via multitarget interactions. *Journal of ethnopharmacology*. 2018;223:88-98.
107. Mustafa SB, Akram M, Muhammad Asif H, Qayyum I, Hashmi AM, Munir N, et al. Antihyperglycemic activity of hydroalcoholic extracts of selective medicinal plants *Curcuma longa*, *Lavandula stoechas*, *Aegle marmelos*, and *Glycyrrhiza glabra* and their polyherbal preparation in alloxan-induced diabetic mice. *Dose Response*. 2019;17(2):1559325819852503.
108. Sebai H, Selmi S, Rtibi K, Souli A, Gharbi N, Sakly M. Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Lipids Health Dis*. 2013;12:189.
109. Ala I, Mohammad M, Mohammad H, Khalid T, Talal AR, Sawsan O, et al. A potential role of *Lavandula angustifolia* in the management of diabetic dyslipidemia. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011;5(16):3876-82.

110. Boutahiri S, Bouhrim M, Abidi C, Mechchate H, Alqahtani AS, Noman OM, et al. Antihyperglycemic effect of *Lavandula pedunculata*: in vivo, in vitro and ex vivo approaches. *Pharmaceutics*. 2021;13(12):2019.
111. Videira R, Castanheira P, Grãos M, Salgueiro L, Faro C, Cavaleiro C. A necrodane monoterpenoid from *Lavandula luisieri* essential oil as a cell-permeable inhibitor of BACE-1, the  $\beta$ -secretase in Alzheimer's disease. *Flavour and Fragrance Journal*. 2013;28(6):380-8.
112. Videira R, Castanheira P, Graos M, Resende R, Salgueiro L, Faro C, et al. Dose-dependent inhibition of BACE-1 by the monoterpenoid 2,3,4,4-tetramethyl-5-methylenecyclopent-2-enone in cellular and mouse models of Alzheimer's disease. *J Nat Prod*. 2014;77(6):1275-9.
113. Mushtaq A, Anwar R, Ahmad M. *Lavandula stoechas* L alleviates dementia by preventing oxidative damage of cholinergic neurons in mice brain. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2018;17(8).
114. Mushtaq A, Anwar R, Ahmad M. *Lavandula stoechas* (L) a Very Potent Antioxidant Attenuates Dementia in Scopolamine Induced Memory Deficit Mice. *Front Pharmacol*. 2018;9:1375.
115. Mushtaq A, Anwar R, Gohar UF, Ahmad M, Marc Vlaic RA, Muresan CC, et al. Biomolecular Evaluation of *Lavandula stoechas* L. for Nootropic Activity. *Plants (Basel)*. 2021;10(6).
116. Gilani A, Aziz N, Khan M, Shaheen F, Jabeen Q, Siddiqui B, et al. Ethnopharmacological evaluation of the anticonvulsant, sedative and antispasmodic activities of *Lavandula stoechas* L. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000;71(1-2):161-7.
117. Dökmeci D, İzaldin AK, Karadağ ÇH, Ulugöl A. Türkiye'de yetişen karabaş (*Lavandula stoechas*) bitkisinin farelerde çeşitli konvülsiyon modelleri üzerine etkisi. *Balkan Medical Journal*. 1994(1).
118. Büyükokuroğlu ME, Gepdiremen A, Hacimüftüoğlu A, Oktay M. The effects of aqueous extract of *Lavandula angustifolia* flowers in glutamate-induced neurotoxicity of cerebellar granular cell culture of rat pups. *Journal of Ethnopharmacology*. 2003;84(1):91-4.
119. Adsersen A, Gauguin B, Gudiksen L, Jager AK. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *J Ethnopharmacol*. 2006;104(3):418-22.
120. Kashani MS, Tavirani MR, Talaei SA, Salami M. Aqueous extract of lavender (*Lavandula angustifolia*) improves the spatial performance of a rat model of Alzheimer's disease. *Neurosci Bull*. 2011;27(2):99-106.
121. Soheili M, Salami M. *Lavandula angustifolia* biological characteristics: An in vitro study. *J Cell Physiol*. 2019.
122. Hritcu L, Cioanca O, Hancianu M. Effects of lavender oil inhalation on improving scopolamine-induced spatial memory impairment in laboratory rats. *Phytomedicine*. 2012;19(6):529-34.

123. Hancianu M, Cioanca O, Mihasan M, Hritcu L. Neuroprotective effects of inhaled lavender oil on scopolamine-induced dementia via anti-oxidative activities in rats. *Phytomedicine*. 2013;20(5):446-52.
124. Rahmati B, Kiasalari Z, Roghani M, Khalili M, Ansari F. Antidepressant and anxiolytic activity of *Lavandula officinalis* aerial parts hydroalcoholic extract in scopolamine-treated rats. *Pharm Biol*. 2017;55(1):958-65.
125. Rahmati B, Khalili M, Roghani M, Ahghari P. Anti-epileptogenic and antioxidant effect of *Lavandula officinalis* aerial part extract against pentylenetetrazol-induced kindling in male mice. *J Ethnopharmacol*. 2013;148(1):152-7.
126. Alnamer R, Alaoui K, Bouidida el H, Benjouad A, Cherrah Y. Sedative and hypnotic activities of the methanolic and aqueous extracts of *Lavandula officinalis* from Morocco. *Adv Pharmacol Sci*. 2012;2012:270824.
127. Ueno T, Matsui Y, Masuda H, Nishimura O, Togawa M, Sakuma K, et al. Antidepressant-like effects of 3-(3,4-dihydroxyphenyl)lactic acid isolated from lavender (*Lavandula angustifolia*) flowers in mice. *Food Science and Technology Research*. 2014;20(6):1213-9.
128. Shahat AA, Ibrahim AY, Mohamed TA, Elshamy AI, Alqahtani AS, Saleh IA, et al. In vitro anti-inflammatory and acetylcholinesterase inhibition efficiency of plant extracts from Sinai-Egypt. *Indian Journal of Traditional Knowledge (IJTK)*. 2020;19(3):635-41.
129. Costa P, Sarmiento B, Gonçalves S, Romano A. Protective effects of *Lavandula viridis* L'Hér extracts and rosmarinic acid against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage in A172 human astrocyte cell line. *Industrial Crops and Products*. 2013;50:361-5.
130. Xu P, Wang K, Lu C, Dong L, Gao L, Yan M, et al. Protective effect of lavender oil on scopolamine induced cognitive deficits in mice and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced cytotoxicity in PC12 cells. *J Ethnopharmacol*. 2016;193:408-15.
131. Qneibi M, Jaradat N, Hawash M, Zaid AN, Natsheh A-R, Yousef R, et al. The neuroprotective role of *Origanum syriacum* L. and *Lavandula dentata* L. essential oils through their effects on AMPA receptors. *BioMed research international*. 2019;2019.
132. Lopez V, Nielsen B, Solas M, Ramirez MJ, Jager AK. Exploring pharmacological mechanisms of lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil on central nervous system targets. *Front Pharmacol*. 2017;8:280.
133. Carrasco A, Ortiz-Ruiz V, Martinez-Gutierrez R, Tomas V, Tudela J. *Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. *Industrial Crops and Products*. 2015;73:16-27.
134. Zuzarte M, Gonçalves M, Cavaleiro C, Cruz M, Benzarti A, Marongiu B, et al. Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. *Industrial Crops and Products*. 2013;44:97-103.

135. Yassine EZ, Dalila B, Latifa E, Smahan B, Lebtar S, Sanae A, et al. Phytochemical screening, anti-inflammatory activity and acute toxicity of hydro-ethanolic, flavonoid, tannin and mucilage extracts of *Lavandula stoechas* L. from Morocco. *Int J Pharm Phytochem Res.* 2016;8(1):31-7.
136. Hajhashemi V, Ghannadi A, Sharif B. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. *Journal of Ethnopharmacology.* 2003;89(1):67-71.
137. Cardia GFE, Silva-Filho SE, Silva EL, Uchida NS, Cavalcante HAO, Cassarotti LL, et al. Effect of Lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil on acute inflammatory response. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018;2018:1413940.
138. Husseini Y, Sahraei H, Meftahi GH, Dargahian M, Mohammadi A, Hatef B, et al. Analgesic and anti-inflammatory activities of hydro-alcoholic extract of *Lavandula officinalis* in mice: possible involvement of the cyclooxygenase type 1 and 2 enzymes. *Revista Brasileira de Farmacognosia.* 2016;26:102-8.
139. Ölmez E, Gök Ş, Ayhan S, Var A, Kayalar H, Vural K. Karabaş otu (*Lavandula Stoechas*) ekstresinin, kolesterolle beslenen sıçanlarda, lipid profili, bazı ateroskleroz belirteçleri ve kardiyak iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine olan etkilerinin incelenmesi, Ankara: TÜBİTAK; 2010.
140. Rabiei Z, Rafieian-Kopaei M, Mokhtari S, Shahrani M. Effect of dietary ethanolic extract of *Lavandula officinalis* on serum lipids profile in rats. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR.* 2014;13(4):1295.
141. Sadeghzadeh J, Vakili A, Bandegi AR, Sameni HR, Darabian M. *Lavandula* reduces heart injury via attenuating tumor necrosis factor-alpha and oxidative stress in a rat model of infarct-like myocardial injury. *Cell Journal (Yakhteh).* 2017;19(1):84.
142. Wells R, Truong F, Adal AM, Sarker LS, Mahmoud SS. *Lavandula* essential oils: A current review of applications in medicinal, food, and cosmetic industries of lavender. *Natural Product Communications.* 2018;13(10):1934578X1801301038.
143. Zuzarte M, Goncalves MJ, Cruz MT, Cavaleiro C, Canhoto J, Vaz S, et al. *Lavandula luisieri* essential oil as a source of antifungal drugs. *Food Chem.* 2012;135(3):1505-10.
144. Canlı K, Yetgin A, Benek A, Bozyel ME, Murat Altuner E. In vitro antimicrobial activity screening of ethanol extract of *Lavandula stoechas* and investigation of its biochemical composition. *Advances in Pharmacological Sciences.* 2019;2019.
145. Ali S, Farshid S, Vahid A-H. Phytochemical and antimicrobial activities of *Lavandula officinalis* leaves and stems against some pathogenic microorganisms. *Journal of Medicinal Plants Research.* 2012;6(3):455-60.
146. Ez zoubi Y, Farah A, Zaroual H, El Ouali Lalami A. Antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* phenolic extracts against pathogenic bacteria isolated from a hospital in Morocco. *Vegetos.* 2020;33(4):703-11.

147. Samuelson R, Lobl M, Higgins S, Clarey D, Wysong A. The effects of lavender essential oil on wound healing: A review of the current evidence. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 2020;26(8):680-90.
148. Lordani TVA, de Lara CE, Ferreira FBP, de Souza Terron Monich M, Mesquita da Silva C, Felicetti Lordani CR, et al. Therapeutic effects of medicinal plants on cutaneous wound healing in humans: a systematic review. *Mediators of inflammation*. 2018;2018.
149. Süntar I, Küpeli Akkol E, Tosun A, Keleş H. Comparative pharmacological and phytochemical investigation on the wound-healing effects of the frequently used essential oils. *Journal of Essential Oil Research*. 2013;26(1):41-9.
150. Boukhatem MN, Chader H, Houche A, Oudjida F, Benkebaili F, Hakim Y. Topical emulsion containing *Lavandula stoechas* essential oil as a therapeutic agent for cutaneous wound healing. *J*. 2021;4(3):288-307.
151. Baali F, Boumerfeg S, Boudjelal A, Denaro M, Ginestra G, Baghiani A, et al. Wound-healing activity of Algerian *Lavandula stoechas* and *Mentha pulegium* extracts: From traditional use to scientific validation. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. 2022;156(2):427-39.
152. Ali M, Abul Farah M, Al-Hemaid F, Abou-Tarboush F. In vitro cytotoxicity screening of wild plant extracts from Saudi Arabia on human breast adenocarcinoma cells. *Genet Mol Res*. 2014;13(2):3981-90.
153. Gören AC, Topçu G, Bilsel G, Bilsel M, Aydoğmuş Z, Pezzuto JM. The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2002;57(9-10):797-800.
154. Tayarani-Najaran Z, Amiri A, Karimi G, Emami SA, Asili J, Mousavi SH. Comparative studies of cytotoxic and apoptotic properties of different extracts and the essential oil of *Lavandula angustifolia* on malignant and normal cells. *Nutr Cancer*. 2014;66(3):424-34.
155. Al-Sheddi ES. Cytotoxic Potential of petroleum ether, ethyl acetate, chloroform, and ethanol extracts of *Lavandula coronopifolia* against human breast carcinoma cell line (MDA-MB-321). *Asian Pac J Cancer Prev*. 2019;20(10):2943-9.
156. Zhao Y, Chen R, Wang Y, Qing C, Wang W, Yang Y. In vitro and in vivo efficacy studies of *Lavender angustifolia* essential oil and its active constituents on the proliferation of human prostate cancer. *Integr Cancer Ther*. 2017;16(2):215-26.
157. Aboalhaja NH, Syaj H, Afifi F, Sunoqrot S, Al-Shalabi E, Talib W. Chemical evaluation, in vitro and in vivo anticancer activity of *Lavandula angustifolia* grown in Jordan. *Molecules*. 2022;27(18):5910.

158. Germinara GS, Di Stefano MG, De Acutis L, Pati S, Delfine S, De Cristofaro A, et al. Bioactivities of *Lavandula angustifolia* essential oil against the stored grain pest *Sitophilus granarius*. *Bulletin of Insectology*. 2017;70(1):129-38.
159. Ebadollahi A, Safaralizadeh M, Pourmirza A. Fumigant toxicity of *Lavandula stoechas* L. oil against three insect pests attacking stored products. *Journal of Plant Protection Research*. 2010;50(1).
160. Chao MV, Rajagopal R, Lee FS. Neurotrophin signalling in health and disease. *Clinical science*. 2006;110(2):167-73.
161. Lipsky RH, Marini AM. Brain-derived neurotrophic factor in neuronal survival and behavior-related plasticity. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1122(1):130-43.
162. Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annual review of neuroscience*. 2001;24:677.
163. Zuccato C, Cattaneo E. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neurology*. 2009;5(6):311-22.
164. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*. 2020;94(3):651-715.
165. Genç Y, Yüzbasıoğlu M, Harput ÜS, Kuruüzüm-Uz A. Antioxidant activity and total phenolic content of *Quercus coccifera* L. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;37(1):17.
166. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005;53(10):4290-302.
167. Tewari D, Sah AN, Bawari S, Nabavi SF, Dehpour AR, Shirooie S, et al. Role of Nitric oxide in neurodegeneration: Function, regulation, and inhibition. *Current neuropharmacology*. 2021;19(2):114-26.
168. Kumar RS, Raj Kapoor B, Perumal P. Antioxidant activities of *Indigofera cassioides* Rottl. Ex. DC. using various in vitro assay models. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. 2012;2(4):256-61.
169. Queiroz C, Lopes MLM, Fialho E, Valente-Mesquita VL. Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. *Food Research International*. 2011;44(5):1459-62.
170. Apak R, Güçlü K, 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. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2004;52(26):7970-81.
171. Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*. 1959;31(3):426-8.
172. Khatri D, Chhetri SBB. Reducing sugar, total phenolic content, and antioxidant potential of Nepalese plants. *BioMed Research International*. 2020;1-7.

173. Visvanathan R, Qader M, Jayathilake C, Jayawardana BC, Liyanage R, Sivakanesan R. Critical review on conventional spectroscopic  $\alpha$ -amylase activity detection methods: merits, demerits, and future prospects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2020;100(7):2836-47.
174. Nampoothiri SV, Prathapan A, Cherian OL, Raghu K, Venugopalan V, Sundaresan A. In vitro antioxidant and inhibitory potential of *Terminalia bellerica* and *Emblica officinalis* fruits against LDL oxidation and key enzymes linked to type 2 diabetes. *Food and Chemical Toxicology*. 2011;49(1):125-31.
175. Güvenalp Z, Özbek H, Dursunoğlu B, Yuca H, Gözcü S, Çil YM, et al.  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of the herbs of *Artemisia dracunculus* L. and its active constituents. *Medicinal Chemistry Research*. 2017;26(12):3209-15.
176. Bachhawat J, Shihabudeen M, Thirumurugan K. Screening of fifteen Indian ayurvedic plants for alpha-glucosidase inhibitory activity and enzyme kinetics. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2011;3(4):267-74.
177. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*. 1983;65(1-2):55-63.
178. Bayazeid O, Bedir E, Yalcin FN. Ligand-based virtual screening and molecular docking of two cytotoxic compounds isolated from *Papaver lacerum*. *Phytochemistry Letters*. 2019;30:26-30.
179. Yu J, Ye J, Liu X, Han Y, Wang C. Protective effect of L-carnitine against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced neurotoxicity in neuroblastoma (SH-SY5Y) cells. *Neurological research*. 2011;33(7):708-16.
180. Lin L-C, Pai Y-F, Tsai T-H. Isolation of luteolin and luteolin-7-O-glucoside from *Dendranthema morifolium* Ramat Tzvel and their pharmacokinetics in rats. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2015;63(35):7700-6.
181. Gonulalan E-M, Bayazeid O, Yalcin F-N, Demirezer L-O. The roles of valerianic acid on BDNF expression in the SH-SY5Y cell. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2018;26(7):960-4.
182. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. *The Systematic Identification of Flavonoids*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 1970. Chapter VIII, The Determination and Interpretation of NMR Spectra of Flavonoids; p. 253-273.
183. Markham KR, Geiger H. <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectroscopy of flavonoids and their glycosides in hexadeuterodimethylsulfoxide. Harborne JB, editor. *The Flavonoids: Advances in Research since 1986*. London: Chapman and Hall; 1993.
184. Patora J, Klimek B. Flavonoids from lemon balm (*Melissa officinalis* L., Lamiaceae). *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 2002;59(2):139-44.
185. Wawer I, Zielinska A. <sup>13</sup>C CP/MAS NMR studies of flavonoids. *Magnetic resonance in chemistry*. 2001;39(7):374-80.

186. Kuruüzüm-Uz A, Güvenalp Z, Ströch K, Demirezer LÖ, Zeeck A. Antioxidant potency of flavonoids from *Vitex agnus-castus* L. growing in Turkey. *Fabad J Pharm Sci.* 2008;33:11-6.
187. Lu Y, Foo LY. Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry.* 2000;55(3):263-7.
188. Akdemir Z, Saraçoğlu İ. Caffeic Acid Oligomers from *Calamintha grandiflora*. 2003.
189. Kuruüzüm-Uz A, Güvenalp Z, Kazaz C, Demirezer LÖ. Phenolic compounds from the roots of *Anchusa azurea* var. *azurea*. *Turk J Pharm Sci.* 2013;10(2):177-84.
190. Markham KR, Mohan Chari V. Carbon-13 NMR Spectroscopy of Flavonoids. Harborne JB, Mabry TJ, editors. *The Flavonoids: Advances in Research*. New York: Springer; 1982.
191. Chepkirui C, Bourgard C, Gilissen PJ, Ndakala A, Derese S, Gütlín Y, et al. A new  $\beta$ -hydroxydihydrochalcone from *Tephrosia uniflora*, and the revision of three  $\beta$ -hydroxydihydrochalcones to flavanones. *Fitoterapia.* 2022;158:105166.
192. Elmastas M, Celik SM, Genc N, Aksit H, Erenler R, Gulcin İ. Antioxidant activity of an Anatolian herbal tea—*Origanum minutiflorum*: isolation and characterization of its secondary metabolites. *International journal of food properties.* 2018;21(1):374-84.
193. Pan Y-G, Li Y-X, Yuan M-Q. Isolation, purification and identification of etiolation substrate from fresh-cut Chinese water-chestnut (*Eleocharis tuberosa*). *Food Chemistry.* 2015;186:119-22.
194. Silva SASd, Agra MdF, Tavares JF, da-Cunha EV, Barbosa-Filho JM, Silva MSd. Flavanones from aerial parts of *Cordia globosa* (Jacq.) Kunth, Boraginaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia.* 2010;20:682-5.
195. Encarnacion DR, Nogueiras L, Salinas VH, Anthoni U, Nielsen P, Christophersen C, et al. Isolation of eriodictyol identical with huazhongilexone from *Solanum hindsianum*. *Acta Chemica Scandinavica.* 1999;53(5):375-7.
196. Smaoui S, Mathieu F, Elleuch L, Coppel Y, Merlina G, Karray-Rebai I, et al. Taxonomy, purification and chemical characterization of four bioactive compounds from new *Streptomyces* sp. TN256 strain. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 2012;28(3):793-804.
197. Maetani S, Fukuyama T, Suzuki N, Ishihara D, Ryu I. Efficient iridium-catalyzed decarbonylation reaction of aliphatic carboxylic acids leading to internal or terminal alkenes. *Organometallics.* 2011;30(6):1389-94.
198. Adebisi O, Dolma SK, Verma PK, Singh B, Reddy SE. Volatile, non-volatile composition and insecticidal activity of *Eupatorium adenophorum* Spreng against diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), and aphid, *Aphis craccivora* Koch. *Toxin reviews.* 2019;38(2):143-50.



199. Fourneau C, Hocquemiller R, Cavé A. Triterpenes from *Prunus africana* bark. *Phytochemistry*. 1996;42(5):1387-9.
200. Xu H-X, Zeng F-Q, Wan M, Sim K-Y. Anti-HIV triterpene acids from *Geum japonicum*. *Journal of natural products*. 1996;59(7):643-5.
201. Mahato SB, Kundu AP. <sup>13</sup>C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features. *Phytochemistry*. 1994;37(6):1517-75.
202. Girma B. Isolation of ursolic acid from the leaves of *Ocimum lamiifolium* collected from Addis Ababa Area, Ethiopia. *African Journal of Biotechnology*. 2020;19(2):65-70.
203. Dais P, Plessel R, Williamson K, Hatzakis E. Complete <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR assignment and <sup>31</sup>P NMR determination of pentacyclic triterpenic acids. *Analytical Methods*. 2017;9(6):949-57.
204. Sun Y, Zhu H, Wang J, Liu Z, Bi J. Isolation and purification of salvianolic acid A and salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* by high-speed counter-current chromatography and comparison of their antioxidant activity. *Journal of Chromatography B*. 2009;877(8-9):733-7.
205. Tang H, Zhao D, Xue Z. Exploring the interaction between *Salvia miltiorrhiza* and  $\alpha$ -glucosidase: insights from computational analysis and experimental studies. *RSC advances*. 2018;8(44):24701-10.
206. Numakawa T, Suzuki S, Kumamaru E, Adachi N, Richards M, Kunugi H. BDNF function and intracellular signaling in neurons. *Histology and histopathology*. 2010;25: 237-258.
207. Bathina S, Das UN. Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. *Archives of Medical Science*. 2015;11(6):1164-78.
208. Gao L, Zhang Y, Sterling K, Song W. Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease and its pharmaceutical potential. *Translational Neurodegeneration*. 2022;11(1):1-34.
209. Naoi M, Shamoto-Nagai M, Maruyama W. Neuroprotection of multifunctional phytochemicals as novel therapeutic strategy for neurodegenerative disorders: Antiapoptotic and antiamyloidogenic activities by modulation of cellular signal pathways. *Future Neurology*. 2019;14(1):FNL9.
210. Venkatesan R, Ji E, Kim SY. Phytochemicals that regulate neurodegenerative disease by targeting neurotrophins: a comprehensive review. *BioMed research international*. 2015;1-22.
211. Bawari S, Tewari D, Argüelles S, Sah AN, Nabavi SF, Xu S, et al. Targeting BDNF signaling by natural products: Novel synaptic repair therapeutics for neurodegeneration and behavior disorders. *Pharmacological Research*. 2019;148:104458.
212. Kulabaş S. Karabaş otu (*Lavandula stoechas* L.) özütü ve aktif bileşenlerinin metabolik sendroma karşı potansiyel iyileştirici etkileri ve hedef mekanizmalarının aydınlatılması [Doktora tezi]. Çanakkale: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi; 2018.

213. Lopes CL, Pereira E, Sokovic M, Carvalho AM, Barata AM, Lopes V, et al. Phenolic Composition and Bioactivity of *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav. Samples from Different Geographical Origin. *Molecules*. 2018;23(5).
214. Yagoub AEA, Al-Shammari GM, Al-Harbi LN, Subash-Babu P, Elsayim R, Mohammed MA, et al. Antimicrobial properties of zinc oxide nanoparticles synthesized from *Lavandula pubescens* shoot methanol extract. *Applied Sciences*. 2022;12(22):11613.
215. Xu SL, Bi CW, Choi RC, Zhu KY, Miernisha A, Dong TT, et al. Flavonoids induce the synthesis and secretion of neurotrophic factors in cultured rat astrocytes: a signaling response mediated by estrogen receptor. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;1-10.
216. Achour M, Ferdousi F, Sasaki K, Isoda H. Luteolin modulates neural stem cells fate determination: in vitro study on human neural stem cells, and in vivo study on LPS-induced depression mice model. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2021;9.
217. Wang H, Wang H, Cheng H, Che Z. Ameliorating effect of luteolin on memory impairment in an Alzheimer's disease model. *Molecular medicine reports*. 2016;13(5):4215-20.
218. Sawmiller D, Li S, Shahaduzzaman M, Smith AJ, Obregon D, Giunta B, et al. Luteolin reduces Alzheimer's disease pathologies induced by traumatic brain injury. *International journal of molecular sciences*. 2014;15(1):895-904.
219. Yoo DY, Choi JH, Kim W, Nam SM, Jung HY, Kim JH, et al. Effects of luteolin on spatial memory, cell proliferation, and neuroblast differentiation in the hippocampal dentate gyrus in a scopolamine-induced amnesia model. *Neurological research*. 2013;35(8):813-20.
220. Ghaffari H, Venkataramana M, Ghassam BJ, Nayaka SC, Nataraju A, Geetha N, et al. Rosmarinic acid mediated neuroprotective effects against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced neuronal cell damage in N2A cells. *Life Sciences*. 2014;113(1-2):7-13.
221. Jin X, Liu P, Yang F, Zhang Y-h, Miao D. Rosmarinic acid ameliorates depressive-like behaviors in a rat model of CUS and Up-regulates BDNF levels in the hippocampus and hippocampal-derived astrocytes. *Neurochemical research*. 2013;38(9):1828-37.
222. Fonteles AA, de Souza CM, de Sousa Neves JC, Menezes APF, do Carmo MRS, Fernandes FDP, et al. Rosmarinic acid prevents against memory deficits in ischemic mice. *Behavioural Brain Research* SreeTestContent1. 2016;297:91-103.
223. Li C, Wang C. Eriodictyol corrects functional recovery and myelin loss in SCI rats. *Translational Neuroscience*. 2020;11(1):439-46.
224. He P, Yan S, Zheng J, Gao Y, Zhang S, Liu Z, et al. Eriodictyol attenuates LPS-induced neuroinflammation, amyloidogenesis, and cognitive impairments via the inhibition of NF- $\kappa$ B in male C57BL/6J mice and BV2

- microglial cells. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2018;66(39):10205-14.
225. Zhang L, Liu C, Yuan M. Eriodictyol produces antidepressant-like effects and ameliorates cognitive impairments induced by chronic stress. *Neuroreport*. 2020;31(15):1111-20.
226. Li L, Li W-J, Zheng X-R, Liu Q-L, Du Q, Lai Y-J, et al. Eriodictyol ameliorates cognitive dysfunction in APP/PS1 mice by inhibiting ferroptosis via vitamin D receptor-mediated Nrf2 activation. *Molecular Medicine*. 2022;28(1):1-20.
227. Mirza FJ, Amber S, Hassan D, Ahmed T, Zahid S. Rosmarinic acid and ursolic acid alleviate deficits in cognition, synaptic regulation and adult hippocampal neurogenesis in an A $\beta$ 1-42-induced mouse model of Alzheimer's disease. *Phytomedicine*. 2021;83:153490.
228. Li Y, Ohizumi Y. Search for constituents with neurotrophic factor-potentiating activity from the medicinal plants of Paraguay and Thailand. *Yakugaku Zasshi*. 2004;124(7):417-24.
229. Anusha C, Sumathi T, Joseph LD. Protective role of apigenin on rotenone induced rat model of Parkinson's disease: Suppression of neuroinflammation and oxidative stress mediated apoptosis. *Chemico-biological interactions*. 2017;269:67-79.
230. Weng L, Guo X, Li Y, Yang X, Han Y. Apigenin reverses depression-like behavior induced by chronic corticosterone treatment in mice. *European journal of pharmacology*. 2016;774:50-4.
231. Sharma P, Sharma S, Singh D. Apigenin reverses behavioural impairments and cognitive decline in kindled mice via CREB-BDNF upregulation in the hippocampus. *Nutritional Neuroscience*. 2020;23(2):118-27.
232. Lee YW, Kim DH, Jeon SJ, Park SJ, Kim JM, Jung JM, et al. Neuroprotective effects of salvianolic acid B on an A $\beta$ 25–35 peptide-induced mouse model of Alzheimer's disease. *European journal of pharmacology*. 2013;704(1-3):70-7.
233. Bagli E, Goussia A, Moschos MM, Agnantis N, Kitsos G. Natural compounds and neuroprotection: mechanisms of action and novel delivery systems. *in vivo*. 2016;30(5):535-47.
234. Demirezer LÖ, Gürbüz P, Uğur EPK, Bodur M, Özenver N, UZ A, et al. Molecular docking and ex vivo and in vitro anticholinesterase activity studies of *Salvia* sp. and highlighted rosmarinic acid. *Turkish journal of medical sciences*. 2015;45(5):1141-8.

## 8. EKLER

### EK-1: Tez Çalışması Orijinallik Raporu

**Tez Başlığı:** *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* Üzerinde Biyolojik Aktivite Rehberli Çalışmalar

**Adı Soyadı:** Sümeyye Ayhan

**Toplam Sayfa Sayısı:** 196

#### ORJİNALLİK RAPORU

<b>%8</b>	<b>%7</b>	<b>%2</b>	<b>%3</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<b>acikbilim.yok.gov.tr</b> İnternet Kaynağı	<b>%3</b>
<b>2</b>	<b>Submitted to The Scientific &amp; Technological Research Council of Turkey (TUBITAK)</b> Öğrenci Ödevi	<b>&lt;%1</b>
<b>3</b>	<b>www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>4</b>	<b>openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>5</b>	<b>earsiv.anadolu.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>6</b>	<b>Submitted to Erciyes Üniversitesi</b> Öğrenci Ödevi	<b>&lt;%1</b>
<b>7</b>	<b>abis-files.erciyes.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>8</b>	<b>docplayer.biz.tr</b> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>

**EK-2: Dijital Makbuz****Dijital Makbuz**

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

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Sümeyye Ayhan  
Ödev başlığı: SA\_Doktora Tezi  
Gönderi Başlığı: Lavandula stoechas L. subsp. stoechas Üzerinde Biyolojik Ak...  
Dosya adı: SA\_Doktora\_Tezi.docx  
Dosya boyutu: 9.67M  
Sayfa sayısı: 196  
Kelime sayısı: 20,706  
Karakter sayısı: 146,221  
Gönderim Tarihi: 31-Oca-2023 03:51ÖS (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 2003277669



## 9. ÖZGEÇMİŞ