TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYARBAKIR ve BATMAN'DA TOPLANAN *Teucrium multicaule* BİTKİSİNİN KİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

Irmak TANAMAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet BOĞA

DİYARBAKIR- 2022



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYARBAKIR ve BATMAN'DA TOPLANAN *Teucrium multicaule* BİTKİSİNİN KİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

Irmak TANAMAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet BOĞA

DİYARBAKIR- 2022

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Irmak TANAMAN 'nın hazırladığı "Diyarbakır ve Batman' da Toplanan Teucrium multicaule Bitkisinin Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi" başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Doç. Dr. Mehmet BOĞA D.Ü. Eczacılık Fak. Analitik Kimya AD

Jüri Üyeleri		İmza
Jüri Başkanı	Doç. Dr. Elif VARHAN ORAL	_____
Üye	Doç. Dr. Mehmet BOĞA	_____
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Ercan ÇINAR	_____

Tarih: 05/01/2022

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …./…/…. tarih ve …. sayılı kararıyla onaylanmıştır.

…../…../……

Prof. Dr. Mahmut BALKAN

Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

05/01/2022

Irmak TANAMAN

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında, bilgi ve tecrübesiyle her daim yanımda olan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet BOĞA'ya,

Tez çalışmasındaki bitkilerin toplanmasında destek olan ve teşhisini yapan İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Doç. Dr. Yeter YEŞİL'e,

GC-MS analizleri için Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Gökhan ZENGİN'e,

Tez çalışmasının laboratuvar aşamasındaki yardımları için Ecz. Muhammed TUNEĞ'e ve kadim dostum Goncagül SUVARİ'ye,

En çok da emeklerinden dolayı canım anneme ve babama ve kardeşlerime,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından ECZACILIK.19.004 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Irmak TANAMAN

İÇİNDEKİLER

BEYAN ..... **i**

TEŞEKKÜR ..... **ii**

İÇİNDEKİLER ..... **iii**

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ ..... **vi**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **viii**

RESİMLER LİSTESİ ..... **ix**

TABLOLAR LİSTESİ ..... **x**

1. ÖZETLER **1**

1.1. Özet 1

1.2. Abstract 3

2. GİRİŞ ve AMAÇ **5**

3. GENEL BİLGİLER **8**

3.1. Botanik Bilgiler 8

3.1.1. Lamiaceae familyası 8

3.1.2. *Teucrium* cinsi 9

3.1.3. *Teucrium multicaule* 9

3.2. *Teucrium* Türlerinin Kullanılışı 11

3.3. *Teucrium* Türlerinin Kimyasal Çalışmaları 12

3.4. *Teucrium* Türlerinin Biyolojik Aktivite Çalışmaları 15

3.5. Sekonder Metabolitler 17

3.5.1. Terpenler 18

3.5.2. Fenolik ve flavonoid bileşikler 20

3.6. Serbest Radikaller 23

3.7. Antioksidan Sistem 24

3.7.1. Antioksidanların sınıflandırılması 25

3.8. Alzheimer Hastalığı 26
3.8.1. Alzheimer hastalığında kolinesteraz inhibitörlerinin mekanizması 27

4. GEREÇ VE YÖNTEM 29
4.1. Bitkisel Materyaller 29
4.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler 29
4.3. Ekstrelerin Hazırlanışı 29
4.4. Uçucu Yağ Eldesi 29
4.5. Toplam Fenol ve Flavonoid İçeriklerinin Belirlenmesi 29
4.5.1. Toplam fenolik içerikleri 30
4.5.2. Toplam flavonoid içerikleri 31
4.6. Antioksidan Tayin Yöntemleri 33
4.6.1. DPPH aktivite yöntemi 33
4.6.2. ABTS aktivite yöntemi 34
4.6.3. Metal kelat aktivitesi 34
4.6.4. CUPRAC yöntemi 35
4.7. Antikolinesteraz Aktivite Metodu 35
4.7.1. Ellman metodu 35
4.8. İstatistik Hesaplamalar 36
4.9. Kromatografik Yöntemler 37
4.9.1. Gaz kromatografisi-Kütle spektroskopisi (GC-MS) şartları 37
4.9.2. Sıvı kromatografisi-Kütle spektroskopisi (LC-HRMS) şartları 37

5. BULGULAR 38
5.1. Toplam Fenolik ve Flavonoid Miktarları 38
5.2. Diyarbakır ve Batman'dan Toplanan *T. multicaule* Ekstrelerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları 39
5.2.1. DPPH aktivite sonuçları 39
5.2.2. ABTS aktivite sonuçları 40
5.2.3. Metal kelat aktivite sonuçları 41
5.2.4. CUPRAC aktivite sonuçları 41
5.3. Diyarbakır ve Batman'dan Toplanan *T. multicaule* Ekstrelerinin Antialzheimer Aktivite Sonuçları 42

5.4. Diyarbakır ve Batman'dan Toplanan *T. multicaule* Ekstrelerinin Kimyasal İçerikleri 43
5.4.1. GC-MS ile analizi 43
5.4.1. Diyarbakır ve Batman'dan Toplanan *T. multicaule* bitkilerinin LC-HRMS ile analizi 46

6. TARTIŞMA 60

7. SONUÇ 67

8. KAYNAKLAR 69

9. ÖZGEÇMİŞ 80

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

Aβ	: Amiloid beta
ABTS	: 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat)
Ach	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
AH	: Alzheimer hastalığı
APP	: Amiloit prekürsör protein
BChE	: Butirilkolinesteraz
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksi toluen
CAT	: Katalaz
ChAT	: Asetilkolin transferaz
CUPRAC	: Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5-Ditiyobis (2-nitro benzoikasit)
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GC	: Gaz kromatografisi
GC-MS	: Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi
GRd	: Glutatyon redüktaz
GSH	: Glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
HCOR	: Aldehitler
HNO_2	: Nitröz asit
HOBr	: Hipobromöz asit
HOCl	: Hipokloröz asit
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
HUVEC	: İnsan umblikal ven endotel hücreleri
I/R	: İskemik-reperfüzyon
İSTE	: İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
LC-HRMS	

: Sıvı kromatografi- yüksek rezolüsyonlu kütle spektrometresi

NADPH : Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz

$NO^{\bullet}$: Nitrik oksit

$NO_2^{\bullet}$: Nitrojen dioksit

NO^{+} : Nitrosil katyon

N_2O_3 : Dinitrojen trioksit

N_2O_4 : Dinitrojen tetraoksit

NO_2^{+} : Nitronyum katyon

$^1O_2$: Singlet oksijen

$O_2^{-\bullet}$: Süperoksit anyon

$O_2^{\bullet}$: Oksijen radikali

$OH^{\bullet}$: Hidroksil radikali

O_3 : Ozon

ONOOH : Peroksinitrit

RNT : Reaktif azot türleri

$RO^{\bullet}$: Alkoksi radikali

$ROO^{\bullet}$: Peroksi radikali

ROT : Reaktif oksijen türleri

ROOH : Organik peroksitler

SOD : Süperoksit dismutaz

TMDTÜ : *T. multicaule* Diyarbakır Toprak Üstü

TMDK : *T. multicaule* Diyarbakır Kök

TMBTÜ : *T. multicaule* Batman Toprak Üstü

TMBK : *T. multicaule* Batman Kök

TOC : α –Tokoferol

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: *T. multicaule* bitkisinin Türkiye'de yetiştiği yerler 11
Şekil 2: Sekonder metabolitlerin oluşumu 18
Şekil 3: İzopren molekülü 18
Şekil 4: Fenolik asitlerin kimyasal gruplarına ait örnekler 21
Şekil 5: Flavonoid iskeletleri..... 22
Şekil 6: Pirokatekol ölçü eğrisi 31
Şekil 7: Kersetinin ölçü eğrisi 32
Şekil 8: Diyarbakır'dan toplanan *T. multicaule* uçucu yağ GC-MS kromatogramı... 44
Şekil 9: Batman'dan toplanan *T. multicaule* uçucu yağ GC-MS kromatogramı 45
Şekil 10: TMDTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-1 49
Şekil 11: TMDTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-2 50
Şekil 12: TMDTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-3 51
Şekil 13: TMDK ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-1..... 52
Şekil 14: TMDK ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-2..... 53
Şekil 15: TMBTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-1 54
Şekil 16: TMBTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-2 55
Şekil 17: TMBTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-3 56
Şekil 18: TMBTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-4 57
Şekil 19: TMBK ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-1..... 58
Şekil 20: TMBTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-2 59

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: *T. multicaule*.....10

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: LC-HRMS çalışma şartları 37
Tablo 2: Ekstrelerin verimleri, toplam fenolik ve flavonoid miktarları 38
Tablo 3: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* ekstrelerinin DPPH aktiviteleri 39
Tablo 4: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* ekstrelerinin ABTS aktiviteleri 40
Tablo 5: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* ekstrelerinin metal kelat aktivitesi 41
Tablo 6: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* ekstrelerinin CUPRAC aktiviteleri 41
Tablo 7: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* ekstrelerinin antikolinesteraz aktivite sonuçları 42
Tablo 8: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* uçucu yağlarının analiz sonucu 43
Tablo 9: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* uçucu yağlarının sınıflandırılması ve karışımdaki % miktarları 45
Tablo 10: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin LC-HRMS analiz sonucu 46

1. ÖZETLER

1.1. Özet

Diyarbakır ve Batman' da Toplanan *Teucrium multicaule* Bitkisinin Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Irmak TANAMAN
Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet BOĞA
Anabilim Dalı: Analitik Kimya Anabilim Dalı

Amaç: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin kök ve toprak üstü kısımlarının etanol ekstrelerinin toplam fenolik ve toplam flavonoid miktar, antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri araştırıldı. Bitkilerin kimyasal içeriklerinin sıvı ve gaz kramotografisiyle belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: *T. multicaule* bitkilerinin etanol ekstrelerinin toplam fenolik ve flavonoid miktarları, 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest ve 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat) (ABTS) katyon radikali giderimi, metal kelat ve Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi (CUPRAC) yöntemleri ile antioksidan ve Ellman metoduyla antikolinesteraz aktiviteleri belirlendi. Fenolik ve uçucu yağ içerikleri sırasıyla sıvı kromatografi-yüksek rezolüsyonlu kütle spektrometresi (LC-HRMS) ile gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) cihazları ile analizi edildi.

Bulgular: En yüksek toplam fenolik ve flavonoid miktarının Diyarbakır'dan toplanan *T. multicaule* bitkisinin kök (TMDK) ekstresinde olduğu, DPPH serbest ve ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri en yüksek olarak bulundu. CUPRAC yöntemine göre en yüksek aktiviteyi Batman' da toplanan *T. multicaule* kök (TMBK) ekstresi gösterdi. Metal kelat aktiviteleri saptanmadı. Ekstrelerin asetilkolinesteraz (AChE) enzim inhibisyonu aktivitesinin olmadığı, bunun aksine bütün ekstrelerin orta-zayıf derecede butirilkolinesteraz (BChE) enzimini inhibe ettiği tespit edildi. GC-MS analiz sonucuna göre Diyarbakır'dan toplanan *T. multicaule* bitkisinin major bileşenleri germakren D, β-karyofilen ve 1-okten-3-ol iken, Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkisinin ise germakren D, β-karyofilen ve bisiklogermakren olduğu tespit edildi.

Bitkilerin LC-HRMS analizde en çok bulunan bileşiklerin verbaskozit, (-)-epigallokateşingallat, hederagenin ve hiperozit olduğu belirlendi.

Sonuç: Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresinin yüksek antioksidan potansiyelinin fenolik ve flavonoid içeriğinin yüksek olmasından kaynaklandığı söylenebilir. *T. multicaule* bitkisinin LC-HRMS ve GC-MS cihazları ile kimyasal içerikleri, antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri ilk kez çalışıldı.

Anahtar kelimeler: *Teucrium multicaule*, antioxidant, antialzheimer, GC-MS, LC-HRMS

1.2. Abstract

Investigation of *Teucrium multicaule* Collected from Diyarbakır and Batman in Terms of Chemical and Biological Activity

Student's Surname and Name: TANAMAN Irmak

Adviser of Thesis: Assoc. Prof. Dr. Mehmet BOĞA

Department: Analytical Chemistry

Aim: Determination of total phenolic and total flavonoid amount, antioxidant and anticholinesterase activities of root and aerial parts of ethanol extracts of *T. multicaule* collected from Diyarbakır and Batman will be performed. It was aimed to determine the chemical contents of plants with LC-HRMS and GC-MS devices.

Material and Method: Total phenolic and flavonoid amounts of ethanol extracts of *T. multicaule*, antioxidant activities by 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free and 2,2′-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) cation radical scavenging, metal chelating and CUPric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC) methods and anticholinesterase activities by Ellman method were determined. Phenolic and essential oil compounds were determined by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (LC-HRMS) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis.

Results: The highest total phenolic and flavonoid content was found in the root (TMDK) extract of *T. multicaule* plant collected from Diyarbakır, and it was determined that the same extract had the highest DPPH free and ABTS cation radical scavenging activities. *T. multicaule* root (TMBK) extract collected from Batman showed the highest activity according to the CUPRAC method. It was determined that they did not have metal chelating activities. The extracts did not have Acetylcholinesterase (AChE) enzyme inhibition activity, on the contrary, all the extracts showed moderate to weak activities Butyrylcholinesterase (BChE) enzyme inhibition. According to the GC-MS analysis results, the major components of the *T. multicaule* plant collected from Diyarbakır are germacrene D, β-caryophyllene and 1-octen-3-ol, while the *T. multicaule* plant collected from Batman are germacrene D, β-caryophyllene and bicyclogermacrene. When the results of the LC-HRMS analysis of

the plants are examined, the most common compounds are verbascoside, (-)-epigallocatechingallate, hederagenin and hyperoside compounds.

Conclusion: It can be said that the high antioxidant potential of *T. multicaule* root extract collected in Diyarbakır is due to its high phenolic and flavonoid content. Chemical contents with LC-HRMS and GC-MS devices, antioxidant and anticholinesterase activities of *T. multicaule* plant were studied for the first time.

Keywords: *Teucrium multicaule*, Antioxidant, Antialzheimer, GC-MS, LC-HRMS

2. GİRİŞ VE AMAÇ

Tıbbi bitkiler, iyileştirici amaçlar için yaygın şekilde kullanılmaktadır. Son yıllarda, dünya nüfusunun %80' inin birinci basamak sağlık ihtiyaçları için bitkisel tıbbi ürünler ve takviyelerin kullanımına güvendiği bir büyüme eğilimi olmuştur. Bitkisel tıbbi ürünlerin kullanımına yönelik artan bu talep ve ilgi, yeni ilaç keşiflerini teşvik etmiştir. Birçok yeni ilacın aktif bileşeni, ilaç keşfine ve geliştirilmesine yardımcı olmada son derece önemli olduğu kanıtlanmış tıbbi bitkilerden elde edilir. Bu nedenle, gelecekte daha güvenli ve etkili ilaç adaylarını belirlemek için bitkiler üzerinde aktif olarak çalışmaların yapılması gerekmektedir (1).

Geleneksel tıpta, birçok farmakolojik aktivite bitkilerin antioksidan özelliklerine atfedilmiştir (2). Lamiaceae familyası, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip uçucu yağların üretiminde en önemli familyalardan biridir. Biyolojik ve tıbbi uygulamaları olan kekik, nane, fesleğen, adaçayı, biberiye, melisa gibi çeşitli bitkileri bünyesinde barındırmaktadır (3).

Antioksidanlar, serbest radikallere karşı koyabilir ve oksidanları nötralize edebilir. Genel olarak endojen antioksidan sistem, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik antioksidanlardan; ürat, askorbat, glutatyon ve flavonoidler gibi hidrofilik antioksidanlardan; tokoferol, karotenoid ve ubiquinol gibi lipofilik radikal antioksidanlardan oluşur. Antioksidanlar, enzimler ve küçük moleküller gibi endojen olarak sentezlenmelerinin yanı sıra fenolikler, flavonoidler, fenolik asitler, karotenoidler, vitaminler ve mineraller gibi ekzojen diyet kaynaklarına göre de sınıflandırılabilir (4).

Yaşlanma ve çeşitli nörolojik bozukluklarda, oksidatif stres regülatör bir unsur olarak düşünülmektedir. Oksidanların fazlalığı, antioksidanların azalmasına ve bu da organizmalarda oksidasyon-redüksiyon dengesizliğine neden olur. Antioksidan sistemin yetersizliği, yüksek seviyelerde reaktif türlerin (oksijen, hidroksil vb.) üretimi ile oksidatif strese neden olur (5).

Sebzeler, meyveler ve içecekler gibi birçok doğal diyet kaynağında bulunan flavonoidler gibi antioksidanlar, kalp hastalıklarına bağlı ölüm riskini azaltmaya yardımcı olabilir. Ayrıca, epidemiyolojik çalışmalar ve meta-analizler, bitki

polifenollerinin uzun süreli tüketiminin kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, osteoporoz ve nörodejeneratif hastalıklar gibi bir dizi hastalığa karşı koruyabileceğini göstermiştir (6).

İnsan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin bildirilmesi nedeniyle bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA) gibi sentetik fenolik antioksidanların gıda katkı maddesi olarak kullanılması konusunda endişeler bulunmaktadır. Bu nedenle, bu sentetiklerin yerine doğal içerikli antioksidanların kullanımı önerilmiştir (7).

Alzheimer hastalığı (AH) en yaygın demans türüdür ve tipik olarak ilerleyici bir epizodik bellek ve bilişsel işlev kaybıyla kendini gösterir ve ardından genellikle ilgisizlik, saldırganlık ve depresyon gibi davranış bozukluklarının eşlik ettiği dil ve görsel-uzamsal beceri eksikliklerine neden olur. Nöronal sitoplazmada çözünmeyen β-amiloid peptit (Aβ) hücre dışı plaklarının ve hiperfosforile tau proteini içeren nörofibriler yumakların varlığı, hastaların beyinlerinde dikkate değer patofizyolojik nedenlerdendir. AH geliştirme riskinin yaklaşık %70'i genetiğe bağlanabilir. Ancak serebrovasküler hastalıklar, diyabet, hipertansiyon, obezite ve dislipidemi gibi edinsel faktörler AH gelişme riskini arttırmaktadır (8).

Şimdilerde AH'li hastalar için sadece iki sınıf farmakolojik tedavi mevcuttur. Kolinesteraz inhibitörleri olan donepezil, rivastigmin ve galantamin, hafif, orta veya şiddetli AH demansı ve ayrıca Parkinson hastalığı demansı olan hastalar için önerilen tedavidir. Hem N-metil-D-aspartat reseptör antagonisti hem de dopamin agonisti olan memantin, orta-şiddetli AH'li hastalarda kullanım için onaylanmıştır (9).

Bu yüksek lisans tezi kapsamında, Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin kök ve toprak üstü etanol ekstrelerinin toplam fenolik ve flavonoid miktarları, antioksidan aktiviteleri DPPH serbest ve ABTS katyon radikali giderimi, metal kelat aktivitesi ve CUPRAC yöntemleri ile, antialzheimer aktiviteleri asetilkolineteraz ve bütirilkolineteraz enzim inhibisyonu ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Fenolik ve uçucu yağ bileşenleri sırasıyla LC-HRMS ve GC-MS cihazları ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

T. multicaule bitkisinin LC-HRMS ile kimyasal içerikleri, antioksidan aktivite ve antikolinesteraz aktiviteleri ilk kez bu tez ile çalışılmış olacak.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Botanik Bilgiler

3.1.1. Lamiaceae familyası

Lamiaceae veya Labiatae familyası pek çok değerli şifalı bitki içerir. Bu familyada 236 cins ve 6900 ile 7200 arasında tür bulunmaktadır. En bol bulunan cinsler *Salvia* (900 tür), Scutellaria (360 tür), Stachys (300 tür), Plectranthus (300 tür), Hyptis (280 tür), Teucrium (250 tür), Vitex (250 tür), Thymus (220 tür) ve Nepeta'dır (200 tür) (10).

Lamiaceae türleri genellikle glandüler tüylerin bulunduğu dört açılı veya dörtgen gövdelere sahiptir. Kökleri genellikle dallı musluk köklüdür. Çiçekleri tipik olarak hipojiniktir ve beş birleşik taç yaprak ve çanak yaprağı ile bilateralsimetriktir. Yapraklar basit ve karşılıklı olarak düzenlenmiştir, her bir çift bir öncekine dik açıda veya kıvrımlıdır. Meyveler, dört adet kuru tek tohumlu nutletlidir. Tohumlar endospermik değildir. Lamiaceae'nin çevreye adaptasyonu oldukça çeşitlidir. Türler ağırlıklı olarak yazın yağışlı bölgelerde yayılış gösterirken, kışın yağışlı bölgelerde de görülür. Türler genellikle kuru, kayalık, ormanlık veya otlak olan habitatlarda, orman kenarları boyunca bulunabilir. Lamiaceae türlerinin çeşitliliği esas olarak Akdeniz bölgelerinde yoğunlaşmıştır ve bunların küçük bir kısmı Avustralya, Güneybatı Asya ve Güney Amerika'da bulunmaktadır (1).

Lamiaceae familyası, biyolojik ve tıbbi uygulamaları olan çok çeşitli bitkileri içeren önemli bir bitkisel familyadır (1). Uçucu bileşiklerin yüksek içeriğinin Lamiaceae türlerinde birçok tıbbi özelliğe katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Tarihsel olarak, Lamiaceae bitkilerinin yorgunluk, halsizlik, depresyon, hafıza geliştirme, dolaşımın iyileştirilmesi, kırılgan kan damarlarının güçlendirilmesi, cilt alerjileri ve astım gibi bir dizi durumu hafifletmede etkili olduğu bildirilmiştir (11). Hindistan'ın Doğu Himalaya bölgesinde, belirli hastalıkları tedavi etmek için geleneksel olarak birkaç Lamiaceae türü kullanılmıştır. Örneğin, *Clerodendrum serratum*'un yaprakları, göz rahatsızlıkları için geleneksel bir çare olarak kullanılmıştır. Ayrıca *Elsholtzia blanda*'nın yaprakları kaşıntıyı gidermek için kullanılır. *Perilla frutescens* tohumunun ateş ve baş ağrısına karşı da etkili olduğu iddia edilmektedir (12).

Türkiye %33'ü endemik olmak üzere yaklaşık 11.000 türden oluşan zengin bir floraya sahiptir. Ayrıca zengin florasının yanı sıra çok çeşitli habitatlara da ev sahipliği yapmaktadır. Türkiye florasının zenginliği farklı iklim kuşaklarının bulunmasından kaynaklanmaktadır (13). Türkiye'de Lamiaceae familyası 46 cins ve 782 taksondan oluşmaktadır, bunlardan 346'sı (yaklaşık %44) endemiktir. *Stachys* (118 takson), *Salvia* (107 takson), *Sideritis* (54 takson), *Phlomis* (53 takson) ve *Teucrium* (49 takson) en büyük 5 cinstir (14).

3.1.2. *Teucrium* cinsi

Teucrium cinsi, çoğunlukla güneşli habitatlarda yaşayan çok yıllık, gür veya otsu bitkilerle temsil edilen Lamiaceae familyasının büyük ve polimorfik bir cinsidir. *Teucrium* cinsi tür sıralamasında binden fazla bilimsel bitki adını içerir. Bunlardan 415'i türler, alt türler, çeşitler, formlar ve melezler dahil olmak üzere kaliks şekli, çiçeklenme yapısı ve polen morfolojisi açısından on bölüme ayrılmıştır. Bunlar; Teucropsis Benth., Teucrium Benth., Chamaedrys (Mill.) Schreb., Polium (Mill.) Schreb., Isotriodon Boiss., Pycnobotrys Benth., Scorodonia (Hill) Schreb., Stachyobotrys Benth., Scordium (Mill.) Benth. ve Spinularia Boiss'dir. *Teucrium* türleri ılıman iklim bölgelerinde, özellikle Akdeniz havzasında ve Orta Asya'da yetişir. *Teucrium* türü, Avrupa'nın güney, güneybatı ve güneydoğu bölgelerinde bulunabildiğinden, kıta cinsin farklılaşmasının ana merkezi olarak kabul edilir (15).

Pycnobotrys ve Teucriopsis seksiyonları Türkiye'de mevcut değildir. *Teucrium* cinsinin 18'i endemik toplam 49 taksonu (36 tür) Türkiye'de doğal olarak bulunmaktadır (16). Türkiye'de en çok Polium Bentham seksiyonundan *Teucrium polium*, *Teucrium multicaule* Montbret Et Aucher Ex Benthamtürleri geniş bir coğrafik yayılıma sahiplerdir (17).

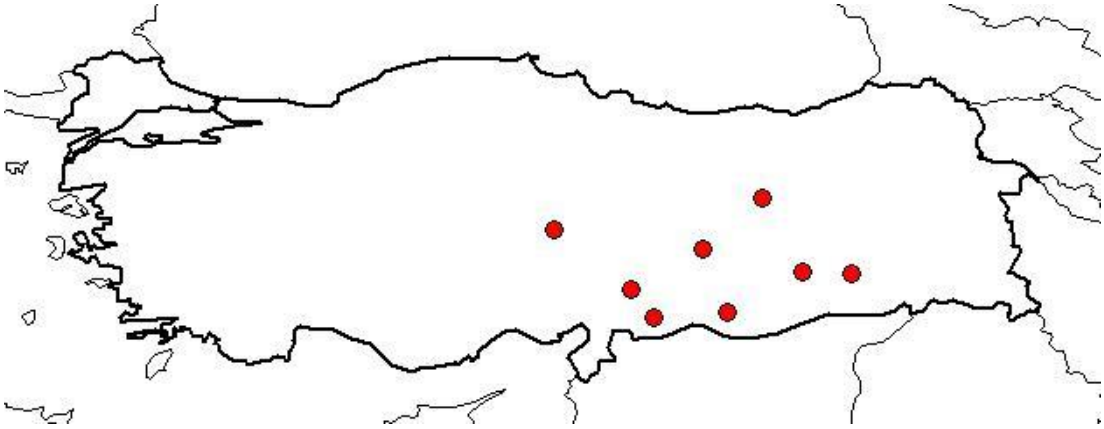
3.1.3. *Teucrium multicaule*

Teucrium multicaule, step alanlar, çalılıkların olduğu yerler, tarla kenarları, boş araziler ve yol kenarlarında doğal olarak bulunur. Anadolu Diyagoneli boyunca Anadolu'nun merkezi kısımlarında en çok yayılış gösterir. Çiçeklenme dönemi Nisan-Temmuz aylarıdır (18).



Resim 1: *T. multicaule* (Orijinal; Ergani/Diyarbakır, 2018)

T. multicaule Türkiye florasında alttür veya varyetelere ayrılmadan verilmiştir. Literatür taramasında bilinen üç varyetesi olduğu, yapılan incelemelerde üçününde ülkemizde bulunduğu görülmektedir. *T. multicaule* var. *genuinum* Briq. ve var. *grandiflorum* Briq., Briquet'in Annu. Conserv. Jard. Bot. Geneve kitabında bitki boyu kaliks ve kaliks dişi büyüklüğü, korolla büyüklüğü ve tüylenmelerinden ayırt edilmektedir. Ancak bu sayılan özelliklerin ayırımda pek yeterli olamayacağı gibi yetişme ortamına göre de kolayca değişebileceği bilinmektedir. Bunun yanında var. *planifolium* daha sonradan alttür olarak kabul edilen bir isimdir ve Post (1833-1896)'un Flora of Syria, Palestine and Sinai kitabında geçmektedir (18).



Şekil 1: *T. multicaule* bitkisinin Türkiye'de yetiştiği yerler

(http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7432, Erişim tarihi: 10 Kasım 2021)

3.2. *Teucrium* Türlerinin Kullanılışı

Teucrium türleri 2000 yılı aşkın bir süredir şifalı otlar olarak kullanılmaktadır ve birçoğu şu anda geleneksel tıpta da kullanılmaktadır. Bu türlerin tıbbi özelliklerinin ilk kaydı, M.Ö.10. yüzyılda Yunan mitolojisine kadar uzanır. *Teucrium* adı, bu bitkileri şifalı amaçlar için ilk kullanan Salamis kralı Telamon'un oğlu Teucer'den türetilmiştir (19).

Teucrium türleri Türkiye'de geleneksel olarak karın ağrısı, soğuk algınlığı, ateş düşürücü, karminatif, antispazmodik, diüretik, antihelmintik, antiseptik, antiromatizmal ve antidiyabetik olarak kullanılmaktadır (20, 21).

T. polium, büyük ölçüde geleneksel olarak İran tıbbında kullanılmaktadır. Çayı karın ağrısı, hazımsızlık, soğuk algınlığı, ürogenital hastalıklar, romatizma gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. *T. polium*'un toprak üstü kısımlarının sulu ekstresi, özellikle Güney İran'da birçok tip-2 diyabet hastası tarafından antidiyabetik bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bu bitkinin antimutajenik, sitotoksik, antioksidan, antimikrobiyal, antihipertansif, antihiperlipidemik, antiinflamatuar, antispazmodik ve analjezik özellikleri bildirilmiştir (22).

T. polium, Türk geleneksel tıbbında da büyük ölçüde kullanılmıştır. Bayramiç bölgesinde (Çanakale, Türkiye), Mayasıl otu olarak bilinen *T. polium*'un toprak üstü kısımlarının infüzyonu hemoroid ve egzamaya karşı kullanılırken Silopi'de (Şırnak, Türkiye) yemeklerde baharat olarak kullanılmaktadır (15).

T. africanum, Güney Afrika'da tonik, yılan ısırıkları ve şarbon, hemoroid, boğaz ağrısı, mide rahatsızlıkları, göz iltihapları, soğuk algınlığı ve ateşe karşı kullanılmaktadır (23).

T. chamaedrys, Türkiye'de hemoroid, soğuk algınlığı, karın ağrısı ve böbrek taşlarına karşı kullanılmaktadır (24). Yaygın bir tür olan *T. chamaedrys* kilo kontrolü için kullanılmaktadır. Avrupa ülkelerinde sıklıkla kullanılan bu tür için toksisite çalışmaları yapıldığında furano neoklerodan diterpen içeriğinin hepatotoksisiteye sebep olduğu bildirilmiş ve bu nedenle *T. chamaedrys* içeren preparatlar yasaklanmıştır (25).

T. scordium, İran tıbbında tonik, öksürük kesici, tüberküloz, sarılık, hemoroid tedavisi için kullanılmaktadır (15).

T. orientale, Lübnan'da halk tıbbında deri yaralanmaları ve ateşe karşı kullanılmaktadır (26).

T. montanum, Bosna Hersek'te karaciğer ve mide rahatsızlıklarında geleneksel olarak kullanılmakatadır (27).

3.3. *Teucrium* Türlerinin Kimyasal Çalışmaları

Hayta ve ark. tarafından Elazığ bölgesinden toplanmış *T. polium* subsp. *polium* ve *T. multicaule* türlerinin kurutulmuş toprak üstü kısımlarının uçucu yağları hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilerek GC ve GC-MS ile kimyasal bileşimi belirlenmiştir. İki *Teucrium* türünün uçucu yağları incelenmiş ve toplamda seksen bileşen tanımlanmıştır. *T. polium* L. subsp. *polium*'da β-pinen (%10,2) ve germakren D (%10,1) yüksek oranda bulunmuştur. *T. multicaule*'de ise yüksek oranda karyofilen oksit (%31,1), mirtenol (%3,8), α-kadinol (%3,6), δ-kadinen (%3,2), hekzadekanoik asit (%3,2), timol (%13,2), terpineol (%10,6) ve spathulenol (%7,6) bulunmuştur (28).

Erzincan bölgesinden toplanan *T. multicaule* bitkisinin kurutulmuş toprak üstü kısımlarının uçucu yağları hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilerek GC ve GC-MS ile kimyasal bileşimi Polat ve ark. tarafından belirlenmiştir. Ana bileşenler germakren D (%13,2), karyofilen oksit (%10,9), spathulenol (%6,6), β-karyofilen (%5,6) ve (6Z,10Z)-pseudofitol (%4,1) olarak belirlenmiştir. Ayrıca mirtenol (%3,8), α-kadinol (%3,6), δ-kadinen (%3,2) ve hekzadekanoik asit (%3,2) bulunduğu gözlemlenmiştir (29).

Kosova ve Kuzey Makedonya bölgesindeki Sharri Dağlarından toplanan *T. chamaedrys*'in toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi Avni ve ark. tarafından GC-MS ve GC-FID kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda uçucu yağlarda elli bileşik tespit edilmiş olup uçucu yağların ana bileşenleri seskiterpenler (%49,3), yağ asitleri ve türevleri (%23,9), hidrokarbonlar ve bunların oksijenli türevleridir (%11,3). Temel bileşenler seskiterpenlerden germakren D (%24,1), E-karyofilen (%3,96), β-burbonen (%2,47) veizo-longifolen (%2,2); oksijenli seskiterpenlerden karyofillen oksit (%2,09); yağ asitlerinden heksadekanoik asit (%12,09) ve linoleik asittir (%6,03) (30).

Milošević-Djordjević ve ark. tarafından Sırbistan bölgesinden toplanan *T. polium* ve *T. scordium* bitkilerinin toprak üstü kısımları kullanılarak yapılan HPLC analizinde, bitkilerin gallik asit, vanilik asit, kaffeik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit ve sinapinik asit gibi fenolik asitler ile kateşin, rutin, mirisetin, luteolin, kuersetin ve apigenin gibi flavonoidler içerdiği gösterilmiştir. *T. polium* fenolik asit içeriğini gallik asit, vanillik asit, kafeik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit oluştururken; *T. scordium* bitkisinin içeriğini ise vanilik asit, p-kumarik asit, sinapinik asit oluşturmuştur. Flavonoidler açısından incelendiğinde ise *T. polium*'da kateşin, rutin, mirsetin, luteolin, kersetin veapigenin, *T. scordium*'da da kateşin ve rutin içeriği tespit edilmiştir (31).

İtalya'da toplanan *T. chamaedrys* L.'nin fitokimyasal analizini Frezzave ark. klasik kolon kromatografisi, NMR ve MS gibi spektroskopik teknikleri kullanarak yapmışlardır. Analiz sonucunda bitkinin flavonoid, iridoit ve feniletanoid glikozitleri içerdiğini gözlemlemiş olup bunlar sırasıyla cirsiliol, harpagid, 8-O-asetil-harpagid, verbaskozit, forsitozit b vesamiozittir (32).

Nur-El-Alam ve ark. Suudi Arabistan'dan toplanan *T. yemense* bitkisinin toprak üstü kısımlarını kullanarak fatimanol A, B, C, D, E ve fatimanon gibi neoklerodan diterpenlerin varlığını saptamıştır (33).

Yazgın tarafından *T. chamaedrys, T. multicaule, T. polium* ve *T. parviflorum* türlerinin uçucu yağları elde edilerek GC ve GC-MS ile kimyasal bileşimi belirlenmiştir. Bu türlerin ana bileşenleri *T. polium*'da β-pinen (%18,3-10,2), α-pinen (%15,8-8,9), germakren D (%6,7-10,1) ve β-karyofillen (%4,8-8,2), *T. parviflorum*'da

α-fellendren (%25,3), metil ögenol (%25,1), germakren D (%19,0) ve bisiklogermakren (%4,8), *T. chamaedrys* bitkisinde germakren D (%32,1), β-karyofilen (%14,2), α-kadinen (%13,1) ve bisiklogermakren (%6,7) ve *T. multicaule*'de karyofilen oksit (%32,1), timol (%14,2), α-terpineol (%11,7) ve spathulenol (%8,6) olarak belirlenmiştir (17).

2021 yılında Aydoğan ve ark. tarafından Muğla-Köyceğiz'den toplanan *T. sandrasicum O. Schwarz* bitkisinin toprak üstü kısımları ve kökleri kullanılarak 1D-, 2D NMR, HR-TOF-MS ve IR gibi cihazlarla spektroskopik analiz çalışması yaplmıştır. Köklerde iridoitlerden 8-O-asetil harpagit, harpagit ve teuhircoside, flavanonlardan hesperidin, asetofenonlardan androsin ve feniletanoidlerden salidrosit, leonosit E, izoakteosit, leonosit B, sideritisid A ve izolavandulifoliosit bileşikleri izole edilmiştir. *T. sandrasicum*'un toprak üstü kısımlarından ise teusandrin A ile birlikte izoteusandrin B, teusandrin H, teusandrin I ve teusandrin J olmak üzere dört yeni neoklerodan diterpenoid izole edilmiştir (34).

Özek ve ark. tarafından *T. orientale* türünün var. *orientale,* var. *puberulens* ve var. *glabrescens* varyetelerinin GC-FID ve GC/MS analizi ile uçucu yağ içerikleri incelenmiştir. Bu uçucu yağlarda en fazla seskiterpenlerin olduğu tespit edilmiştir. Analiz sonucunda sırasıyla %22,6, %8,5 ve %6,3 oranlarında β-karyofilen ve %7,9, %12,8, ve %13,1 oranlarında heksadekanoik asit içerdiği tespit edilmiştir. *T. orientale* var. *orientale* ve var. *puberulens* bitkilerinin ana bileşenlerinin germakren D (%24,6 ve %33,4) ve bisiklogermakren (%6,7 ve %8,5) bileşikleri olduğu, ayrıca *T. orientale* var. *glabrescens* türünde yüksek oranda β-kubeben (%26,9) ve α-kubeben (%9,0) ve α-kopaen (%7,2) bileşikleri olduğu belirlenmiştir (35).

Benali ve ark. yapmış oldukları çalışmada, Kuzey Fas bölgesinden toplanan *T. polium* subsp. *polium* bitkisinin uçucu yağlarını GC-MS ile analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda α-pinen (%6,76), β-pinen (%19,82), limonen (%5,71), germacrene D (%18,33) ve α-kadinol (%6,83) ana bileşenler olarak gözlemlemişlerdir (36).

İtalya'nın kıyı şeridi ve dağlık bölgesinden toplanan iki ayrı *T. capitatum* türünün kimyasal bileşimi Maccionia ve ark. tarafından değerlendirildiğinde, kıyı şeridinde yetişen türünde limonen, α-pinen ve (E)-nerolidolün baskın olduğu ve dağlık alanda

yetişen türünde de limonen, α-pinen, α-trans-bergamoten ve humulenepoksit II'nin baskın olduğunu tespit etmişlerdir (37).

3.4. *Teucrium* Türlerinin Biyolojik Aktivite Çalışmaları

T. leucocladum, antik çağlardan beri Filistin'de en çok kullanılan geleneksel şifalı bitkilerden olup hiperglisemi ve barsak spazmlarının tedavisinde kullanılanılmıştır. Birçok araştırma, *Teucrium* bitki türlerinin terpenoidler, flavonoidler ve iridoidler gibi çeşitli biyoaktif bileşikler içerdiğini göstermiştir. Basssalat ve ark. *T. leucocladum* bitkisinin hidrofilik ekstratlarını streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanlarda kullanarak antihiperglisemik, antihiperlipidemik ve antioksidan potansiyelinin etkilerini ilk kez araştırmışlardır. Bu çalışma, *T. leucocladum'*un deneysel olarak diyabetik sıçanlarda antihiperglisemik ve antihiperlipidemik etkiler gösterdiğini ve ayrıca antioksidan savunma sistemini arttırdığını ve lipid peroksidasyon sürecini azalttığını göstermiştir (38).

Anjiyogenez kanser gibi çok sayıda patofizyolojik olayda önemli bir rol oynar. Antifibrotik bir ilaç olarak tranilast, anjiyogenez inhibisyonu yoluyla tümöral aktiviteleri baskılar. Sheikhbahaei ve ark. tranilast ve *T. polium*'un, insan umblikal ven endotel hücrelerindeki (HUVEC) canlılık ve apoptotik gen ekspresyonundaki kombine etkilerini araştırmışlardır. Sonuçta, *T. polium*'un HUVEC'lerin in vitro anjiyojenik modelinde tranilastın antianjiyogenik etkisini sinerjistik olarak arttırdığı tespit edilmiştir (39).

İskemik kalp hastalığı, miyokardiyal reperfüzyon ile tedavi edilmektedir. İskemik-reperfüzyon (I/R) hasarı miyokarda apoptozu hızlandıran faktörlerden biridir. Mahmoudabady ve ark. tarafından *T. polium* hidroalkolik özütünün, I/R ile indüklenen sıçan kalbindeki apoptoz üzerindeki etkisi araştırıldığında; *T. polium'*un reperfüze miyokarddaki kalp fonksiyonunu iyileştirdiği ve ayrıca kardiyoproteksiyona neden olan apoptotik yolları engellediği gözlenmiştir (40).

2013 yılında Sharma ve ark. *T. polium* bitkisi ile in vitro yapılan çalışmada, radyasyona bağlı olarak lenfositlerde oluşan kromozom hasarı üzerinde koruyucu etkisi olduğu saptanmıştır (41).

Teucrium uçucu yağlarının gıda koruyucu olarak kullanılma ve hastane bakterilerinin büyümesini önleme potansiyeline sahip olduğunu göstermek amacıyla Djabou ve ark. tarafından 2012 yılında yapılan çalışmada, *Teucrium* uçucu yağlarının gıda kaynaklı patojenlerden *Campylobacter jejuni* ve *Listeria innocua* ile enfeksiyöz bakterilerden *Staphylococcus aureus, S. epidermidis, Enterobacter aerogenes* vahşi tip (CIP 60.86) ve çoklu ilaca dirençli *E. aerogenese* (EAEP289) karşı antibakteriyel aktiviteleri ilk kez bildirilmiştir (42).

Maccionia ve ark. tarafından 2020 yılında iki ayrı *T. capitatum* türüyle yapılan çalışmada kıyı şeridinde yetişen türün daha iyi bir antifungal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu türün, MIC değerinin çok altındaki konsantrasyonda *Candida albicans*'ın germ tüpü oluşumunu inhibe etmede oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir (37).

Guesmi ve ark. kolon kanserinde *T. alopecurus'*un uçucu yağlarının apoptoza ve tümör oluşumunun baskılanması üzerine etkisini araştırmıştır. Araştırma sonucunda; *T. alopecurus'*un kanser hücrelerinin büyümesini baskıladığı ve kanser hücrelerinin apoptozunu indükleyerek antikanser aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir (43).

*T. trifidum'*un antioksidan ve antimikrobiyal kapasitesini belirlemek amacıyla Mazhangara ve ark.'nın yapmış oldukları çalışma sonucunda *T. trifidum'*un yüksek oranda antioksidan etki göstediği ve patajonik bakterilere karşı da geniş spektrumlu antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (44).

T. polium ve *T. scordium* metanol ekstrelerinin insan periferik kan lenfositleri üzerindeki genotoksik etkisini incelenmiş olup, araştırma sonucunda *T. polium'*un antimutajenik etki, *T. scordium'*un ise proapoptotik etki göstediği tespit edilmiştir (31).

Amraei ve ark. tarafından *T. polium* bitkisinin hidroalkolik özütleri kullanılarak hiperkolesterolemik sıçanlarla yapılan çalışmada, *T. polium'*un polifenolik bileşik içeriğinin hipolipidemik ve antienflamatuar etki göstediği gösterilmiştir (45).

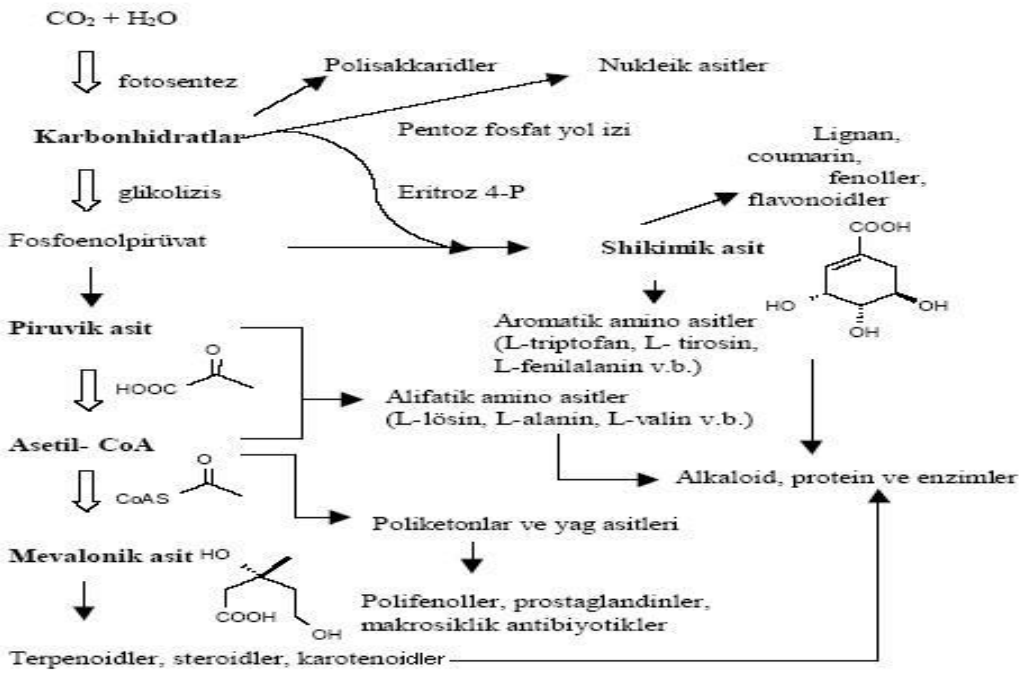
Özel ve ark. endometrioziste *T. chamaedrys* bitki özütlerinin terapötik etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, *T. chamaedrys'*in özütlerinin endometriozis tedavisinde faydalı olabileceği tespit edilmiştir (46).

3.5. Sekonder Metabolitler

Bitkilerin besleyici ve tıbbi özellikleri, çok sayıda metabolitin varlığından kaynaklanmaktadır. Bu metabolitler primer ve sekonder olmak üzere iki tiptir. Primer metabolitlerden farklı olarak sekonder metabolitler, bitkinin büyüme, gelişme ve üreme gibi hayati süreçlerinde doğrudan yer almayan, ancak bitkilerin olası herhangi bir zarardan korunması için bitkilerin savunma mekanizmalarının ana bileşenleri olan büyük bir fitokimyasallar grubudur (47).

Sekonder metabolitler, patojenik saldırılara ve çevresel strese karşı kademeli olarak üretilerek bitkilerin savunma sisteminin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Çeşitli genetik, ontojenik, morfogenetik ve çevresel faktörler sekonder metabolitlerin biyosentezini ve birikimini etkiler. Sentezlendikleri yola göre terpenoidler, fenolikler ve alkoloidler olmak üzere üç ana grupta sınıflandırılabilirler (48, 49).

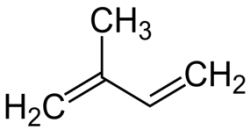
Bitkiler, çok çeşitli sekonder metabolitlerin biyosentezini sağlamaktadır. Sekonder metabolitler, tıbbi bitkilerden elde edilen ilaçların yanı sıra birçok ticari farmasötik ilacın temelini oluşturmaktadır. Tıbbi bitkilerdeki farklı kimyasal bileşenler, ilaç ve gıda endüstrileri aracılığıyla insan sağlığını iyileştirebilecek biyolojik aktivitelere sahip olmakla birlikte, parfüm, zirai, kimya, kozmetik endüstrilerinde de önemli bir değeri temsil etmektedir. Sekonder metabolitlerin biyosentezi, glikoliz veya şikimik asit yolları gibi temel yollardan başlar, daha sonra büyük ölçüde hücre tipine, gelişim aşamasına ve çevresel durumlara bağlı olarak çeşitlenir (50).



Şekil 2: Sekonder metabolitlerin oluşumu (51)

3.5.1. Terpenler

Genel olarak terpenler doğada terpenoid formunda bulunmaktadır. Terpenoidler, terpenlerin oksijenli türevleridirler (52). Terpenoidler veya izoprenoidler olarak da adlandırılan terpenler, en geniş sekonder metabolit grubunu oluşturur. Terpenler mevalonik asit biyosentetik yolundan türer. İzopren birimleri (C_5H_8), terpenin temel bileşeni olarak tanımlanmıştır (53).



Şekil 3: İzopren molekülü

Terpenler, kendilerini oluşturan karbon sayılarına göre sınıflandırılırlar. 2 izopren molekülünden oluşan 10 karbonlular monoterpen, 3 izopren molekülünden oluşan 15 karbonlular seskiterpen, 4 izopren molekülünden oluşan 20 karbonlular diterpen, 6 izopren molekülünden oluşan 30 karbonlular triterpen, 8 izopren molekülünden oluşan 40 karbonlular tetraterpen ve 40 karbondan daha fazla karbon sayısına sahip olanlar da politerpenler olarak adlandırılır (54).

Yüksek yapılı bitkilerin farklı bölümlerinde farklı terpen türleri biyosentezlenir. Monoterpenler ve diterpenler plastidlerde sentezlenirken, seskiterpenler ve triterpenler sitozolde sentezlenir. Bazı seskiterpenler ve diterpenler mitokondride de sentezlenir. Terpen alt gruplarının moleküler ağırlıkları ve yapıları, uçuculuk gibi fiziksel özelliklerini belirler ve bu durum farklı organizmalar arasındaki etkileşimlere aracılık etme biçimlerini etkiler (55).

Terpenler, bitkilerin ürettiği uçucu moleküllerin büyük bir bölümünü oluşturur. Tüm monoterpenler oldukça uçucudur. Seskiterpenlerin çoğu uçucudur, bazıları da yarı uçucudur. Diterpenler (C20), sesterterpenler (C25), triterpenler (C30) ve diğer daha büyük terpenler (>C30) yüksek moleküler ağırlıklara sahiptir ve daha ağır olduklarından uçucu değillerdir (55).

Teucrium türleriyle yapılan literatür çalışmaları incelendiğinde uçucu yağlarda genellikle β-pinen, α-pinen, β-karyofilen, germakren D, karyofilen oksit, mirtenol ve bisiklogermakren major bileşikler olarak bulunmuştur. Uçucu yağlarda en fazla seskiterpenlerin olduğu tespit edilmiştir (17, 28-31, 35, 36).

Literatürde terpenler, antiinflamatuar, antiviral, antidiyabetik, antitümöral ve antibakteriyel aktiviteleri olan önemli farmasötik ajanlar olarak kullanılmıştır. Özellikle terpenler, antibiyotiklere çoklu direnç geliştiren suşlara karşı umut verici bir şekilde antibakteriyel etki göstererek veya sinerjik etkileriyle antimikrobiyaller için güçlendirici etki göstererek antibiyotik direncine karşı mücadelede önemli bir rol oynamıştır. Doğal kaynaktan düşük verimleri nedeniyle biyolojik özellikleri iyileştirilmiş yarı sentetik ve sentetik türevleri geliştirilmiştir (56).

Aromatik bitkilerin uçucu yağlarında bulunan monoterpenler bitkiye kendine özgü kokularını veren yaplardır. Bu durum aromaterapide son derece önemlidir. Uçucu yağlardan elde edilen monoterpenler timol, timin ve karvakrolgibi biyolojik aktivite açısından önemli olup antimikrobiyal ve antioksidan aktivite göstermiştir (57).

Terpenoidler antimikrobiyal etkileri temelde hücre zarının bütünlüğünü bozarak gösterir. Hücre zarının bütünlüğünü kaybetmesiyle, hemostazın bozulması, sitoplazma içeriğinin dışarıya sızması ve nihayetinde hücre ölümü gerçekleşir (52).

Avrupa'da yaygın kullanımı bulunan *T. chamaedrys*'in neoklerodan diterpenoid içeriğinin yüksek oranda hepatotoksisiteye sebep olması nedeniyle Fransa'da yasaklanmıştır (58).

3.5.2. Fenolik ve flavonoid bileşikler

Polifenoller aromatik halkalara bir veya birden fazla hidroksil gurubunun bağlanmasıyla oluşmuş en karmaşık sekonder metabolit sınıflarından biridir (53). Yapısal iskeletlerine göre, bu bileşikler genel olarak fenolik, fenilasetik ve hidroksisinnamik asitler, asetofenonlar, kumarinler, naftokinonlar, ksantonlar, stilbenler ve flavonoidler olarak ayrılır (59).

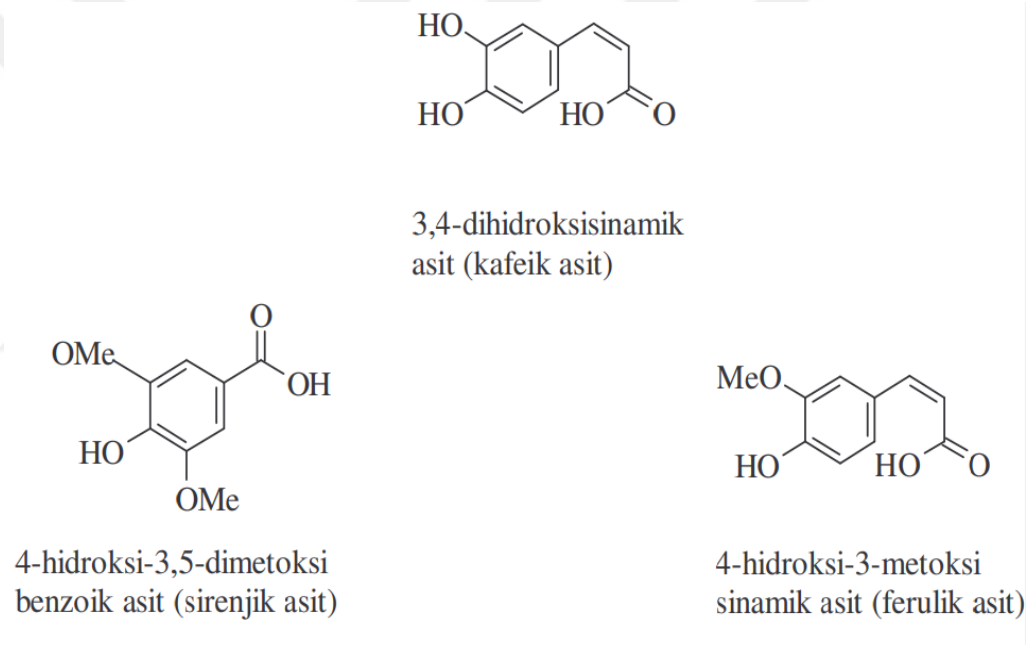
Fenoliklerin doğada dağılımı yaygındır ve bitkilerde temel metabolik ve fizyolojik süreçte yer alırlar. Fenolikler, tohum çimlenmesi, hücre bölünmesi ve fotosentetik pigmentlerin sentezi dahil olmak üzere bitkilerde büyüme ve gelişme ile ilgili farklı fizyolojik süreçleri etkiler. Fenolik bileşikler, biyoremediasyon, allelokimyasal, bitki büyümesi, gıdalarda antioksidan olarak katkı maddesi gibi çeşitli uygulamalar için kullanılmaktadır. Bitkilerde fenoliklerin oluşumu, genellikle stres altındaki bitkilerin tutarlı bir özelliğidir ve bu durum stresle başa çıkmak için bir savunma mekanizmasını temsil eder. Bitki fenolikleri, optimal olmayan koşullar altında bitkilerin toleransını ve adaptasyonunu geliştirmek için çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir rol oynar. Özellikle, stres koşulları altında bitki performansını iyileştirebilen antioksidan özelliklere sahip çok sayıda sekonder metabolit bu gruba aittir (60).

Fenolikler, bitkilerde daha basit aromatik halkalardan ligninler gibi daha karmaşık halkalara kadar değişen en büyük sekonder metabolit grubu olarak bilinmektedir. Fenilalanin kaynaklı bu bileşikler bu nedenle fenilpropanoidler olarak da adlandırılır. Polifenoller, çok sayıda fenol yapısal biriminin varlığı ile karakterize edilir. Fenoller, fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler ve kendine özgü özelliklere sahip lignanlar gibi birkaç gruba ayrılır. Bitki fenolikleri, şikimat/fenilpropanoid yolu aracılığıyla biyogenetik olarak sentezlenirken, mevalonat yoluyla da terpenoidler üretilir. Fenolik bileşiklerin biyosentezi sırasında eritroz 4-fosfat, fosfoenolpiruvat ile birleşerek fenilalanin oluşturur. Daha sonra fenilalanin amonyak liyaz, fenilalanin'in trans-sinnamik aside dönüşümünü katalize eder. Flavonoidler, kumarinler, hidrolize olabilen

tanenler, monolignoller, lignanlar ve ligninler gibi birkaç başka fenolik bileşik, fenilpropanoid yolu olarak bilinen bu yoldan oluşur (60).

3.5.2.1. Fenoller ve fenolik asitler

Hidroksisinnamik asitler ve hidroksibenzoik asitler ile bunların türevleri fenolik asitler sınıfında olup, hidroksisinnamik asitler bitkisel gıdalarda daha yaygın bulunmaktadır (54). Fenilalanin ve tirozinden oluşurlar vetemel iskeletleri C_6C_3'tür. En yaygın ve en iyi bilinen hidroksisinnamik asitler, sinamik asit, o-kumarik asit, p-kumarik asit, kafeik asit, ferulikasit ve sinapik asittir. Bunlar, kanser ve ateroskleroz gibi çok sayıda hastalık üzerinde pozitif etkisi olan potansiyel antioksidanlardır (59). Şekil 4'te fenolik asit türevlerinin kimyasal yapılarına ait bazı örnekler gösterilmiştir.

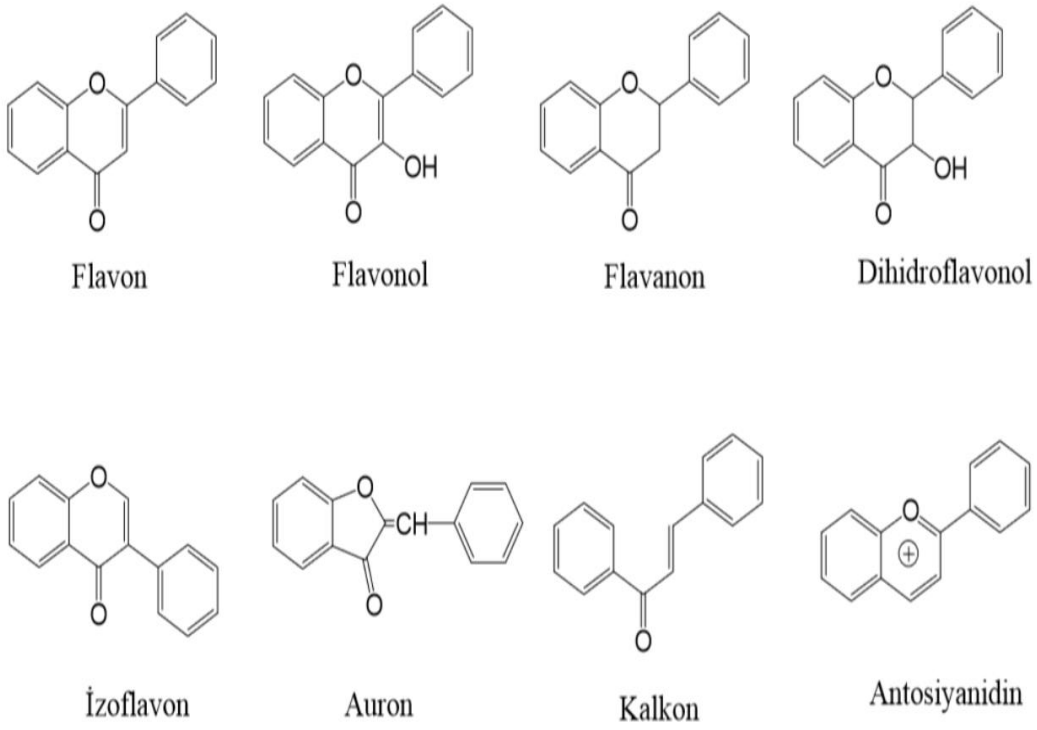


Şekil 4: Fenolik asitlerin kimyasal gruplarına ait örnekler (61)

Hidroksisinnamik asitler, çoklu biyolojik aktivitelere sahip bir polifenolik bileşik sınıfıdır. Invitro ve in vivo testler, hidroksisinnamik asitlerin önemli bir antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuar, antidiyabetik ve hatta antineoplastik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, hidroksisinnamik asitler nöroprotektif ve kardiyoprotektiftir ve ayrıca osteoporozun önlenmesinde önemli bir rol oynar. Bazı Avrupa ülkelerinde fenolik asitlerin kaynakları ile ilgili yürütülen araştırmalarda, hidroksisinnamik asitlerin ana besin kaynağının kahve olduğu (toplam alımın %55,3-80,7'si), ardından meyve, sebze ve kuruyemişlerin olduğu bulunmuştur (62).

3.5.2.2. Flavonoidler

Tüm flavonoidler, heterosiklik bir piran halkası ile bağlanan iki aromatik halkadan (A ve B) oluşan 15 karbonlu bir fenilpropanoid zincirli (C6-C3-C6 sistemi) temel flavan iskeletine sahiptir. Kimyasal yapılarına ve oksidasyon derecelerine göre flavonoidler 6 ana gruba ayrılabilir: izoflavonoidler, flavanonlar, flavanoller, flavonoller, flavonlar ve antosiyanidinler (63). Şekil 5'te bazıflavonoidlerin kimyasal yapıları gösterilmiştir.



Şekil 5: Flavonoid iskeletleri

Flavonoidler, bitkilerde renk, tat ve farmakolojik aktivitelerinden sorumlu biyoaktif sekonder metabolitler olarak sentezlenen polifenolik bileşiklerdir. Ana flavonoid kaynakları meyve ve sebzelerdir ve ayrıca kakao ürünlerinde (kakao tozu, çikolata), siyah ve yeşil çay ve kırmızı şarapta bol miktarda bulunurlar. Meyveler arasında çilek, erik, kiraz ve elma flavonoidler açısından en zenginken, tropikal meyveler flavonoidler açısından fakirdir. Sebzelerden en yüksek flavonoid seviyeleri bakla, zeytin, soğan, ıspanak ve arpacıkta bulunur. Flavonoidler, bitkileri olumsuz çevre koşullarından koruyan güçlü antioksidanlardır, bu nedenle birçok akut ve kronik

hastalıkta olası yararlı etkilerini değerlendirmek için çok sayıda epidemiyolojik ve deneysel çalışmada kullanılmıştır. In vitro ve in vivo çalışmalar, flavonoidlerin antiinflamatuar, immünomodülatör ve güçlü antikanser aktiviteleri gösterebileceğini bildirmiştir (64).

3.6. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron içeren kimyasal yapılardır ve farklı şekillerde sentezlenebilen, insanlar için zararlı kabul edilen, oldukça reaktif, kararsız moleküllerdir. Serbest radikaller biyolojik moleküller, insan doku ve organları ile kolayca etkileşime girerler. Biyolojik moleküller ve serbest radikaller arasındaki etkileşim, hastalık gelişimi veya hastalık semptomlarının şiddetlenmesine neden olmaktadır (65, 66).

Serbest radikaller, hücreler ve insan vücudu için tehlikeli moleküllerdir. Bu moleküllerin fazlalığı doku hasarına ve hastalık gelişimine veya kötüleşmesine neden olmaktadır. Serbest radikallerin vücutta serbest difüzyonu, hücre biyomolekülleri ile reaktiviteye sebep olur. İlk yaklaşımda, serbest radikal oluşumunun aerobik metabolizma ile sınırlı olduğu, ancak aslında geçiş metalleri, organeller ve diğer enzimlerin de serbest radikalleri sentezleyebildiği tespit edilmiştir. Ksenobiyotikler, endüstriyel sentetik bileşiklerin alımı ve yaşam tarzı gibi faktörler serbest radikal sentezlenmesine neden olur (66).

Serbest radikaller genellikle bağımsız var olma yeteneğine sahip reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türlerinden (RNT) oluşmaktadır. ROT ve RNT genel olarak radikaller ve radikal olmayanlar diye iki gruba ayrılırlar. Radikal guruba süperoksit ($O_2^{-\bullet}$), oksijen ($O_2^{\bullet}$), hidroksil ($OH^{\bullet}$), alkoksi ($RO^{\bullet}$), peroksil ($ROO^{\bullet}$), nitrik oksit ($NO^{\bullet}$) ve nitrojen dioksit ($NO_2^{\bullet}$) radikalleri örnektir. Radikal olmayan türler arasında hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloröz asit (HOCl), hipobromöz asit (HOBr), ozon (O_3), singlet oksijen ($^1O_2$), nitröz asit (HNO_2), nitrosil katyon (NO^+), nitroksil anyon (NO^-), dinitrojen trioksit (N_2O_3), dinitrojen tetraoksit (N_2O_4), nitronyum katyon (NO_2^+), organik peroksitler (ROOH), aldehitler (HCOR) ve peroksinitrit (ONOOH) bulunur. Radikal türler, yüksek elektrofilik eşleşmemiş bir elektronun varlığından dolayı yüksek oranda reaktiftir. Bu serbest radikaller, diğer reaktif moleküllere bir

elektron vererek veya onlardan bir elektron alarak oksidan veya indirgeyici görevi görürler (67).

Biyolojik sistemlerde en yaygın bulunan radikal ROT, süperoksit ($O_2^{-\bullet}$), hidroksil radikali ($HO^{\bullet}$) iken hipokloröz asit (HOCl), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve ozon (O_3) radikal olmayan türlerdir. ROT, çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlarda üretilir. ROT üretimi, mitokondride (Kompleks I ve III) ve ayrıca sitozolde NADPH oksidazlar, lipoksijenazlar, ksantinoksidaz ve sitokrom P450'nin etkisi ile meydana gelir. Düşük veya orta düzeyde, serbest radikallerin hücresel sinyalleşmede hem fizyolojik hem de patofizyolojik rolü vardır. Aşırı ROT üretimi, birçok hastalığın patobiyolojisine etkide bulunur. ROT seviyesi, süperoksit dismutaz, katalaz, peroksiredoksinler, tioredoksin, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktazın aracılık ettiği antioksidan süreçler tarafından düzenlenir (68).

ROT'lar hücre içi proteinlere, lipidlere ve nükleik asitlere zarar verdikleri için hücreye zararlı reaktif parçacıklar olarak kabul edilmektedir. Aşırı üretilen ROT, vücutta oksidatif hasara neden olarak, enflamatuar hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, organ yetmezliği ve kanser oluşumuna yol açar (69).

İnsan vücudundaki en büyük organ olan cilt, egzoz dumanları, ultraviyole ışınları, gıda, ksenobiyotikler, ilaçlar ve kozmetikler gibi ROT üretimini teşvik eden hava kirleticilerine maruz kalır. ROT, cilt yaşlanmasını ve iltihaplanmayı şiddetlendirir, ancak aynı zamanda epidermal keratinosit proliferasyonu gibi insan vücudundaki homeostazın düzenleyicileri olarak da işlev görürler (70).

3.7. Antioksidan Sistem

Antioksidanlar, serbest radikalleri temizleyip oksidatif stresi azaltarak, okside olabilen maddelerin oksidasyonunu geciktirebilen, inhibe edebilen veya önleyebilen bileşikler olarak tanımlanır (71). Metabolizmada doğal olarak oluşan oksidanlara ek olarak dış etkenlerle maruz kalınan oksidanların artmasıyla antioksidan koruma sınırlı kalmaktadır. Oksidatif stres, ROT ve diğer oksidanların üretimindeki artışın antioksidan kapasiteyi aşması olarak tanımlanır (70).

Antioksidanlar oksidasyonu farklı mekanizmalarla önlemektedir. Bunlar;

1. Serbest radikalik zincir reaksiyonlarını durdurarak

a. Elektron vererek

AO—H + LOO• → LOOH + AO•

LOO• + LH → LOOH + L•

L• + O_2→ LOO•

b. Elektron alarak

A• + L• → AL

2. Metalleri şelatlayarak

3. Singlet oksijeni gidererek (72).

3.7.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar, diğer kimyasalların oksidasyonunu geciktirerek veya önleyerek etki eder. Antioksidanların biyolojideki rolü üzerine yapılan ilk çalışmalar, doymamış yağların sertleşmesini önlemede kullanımlarına dayanmaktadır. Bununla birlikte, canlı organizmalar için antioksidanların rolünün anlaşılmasına yol açan kilometre taşı A, C ve E vitaminlerinin tanımlanması ve E vitamininin lipid peroksidasyonunu önleme mekanizmasının anlaşılmasıdır. Antioksidanlar genellikle enzimatik ve enzimatik olmayan olarak sınıflandırılır. Bunların arasında, farklı hareket tarzları ve yerleri ve farklı nihai etkileri olan çeşitli bileşikler vardır. Bu çeşitlilik, her birinin vücuttaki bireysel rolünü belirler. Süperoksit dismutaz enzimleri (SOD'ler), glutatyon redüktaz (GRd), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) gibi etkileşime giren antioksidan enzimlerin en yüksek antioksidan savunma etkinliğini göstermektedirler (73).

Endojen antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan yolları içerir. Birincil antioksidan enzimler SOD, CAT ve GSH-Px'dir. $O_2^{-\bullet}$, SOD tarafından H_2O_2'ye dönüştürülür, bu da CAT tarafından su ve oksijene ayrışır ve hidroksil radikallerinin üretimini engeller. Ek olarak, GSH-Px, indirgenmiş glutatyonun (GSH) glutatyon disülfide oksidasyonu ve daha sonra glutatyon redüktaz tarafından GSH'ye indirgenmesiyle peroksitleri ve hidroksil radikallerini toksik olmayan formlara

dönüştürür. Diğer antioksidan enzimler glutatyon-S-transferaz ve glukoz-6-fosfat dehidrojenazdır (4, 74).

Enzimatik olmayan antioksidanlar, ROT ve RNT ile etkileşime giren ve serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandıran moleküllerdir. Kanda bilirubin, α-tokoferol (E vitamini) ve β-karoten bulunurken, plazmada albümin ve ürik asit antioksidan kapasitenin %85'ini oluşturur (4, 74).

Eksojen antioksidanlar olarak süperoksit ($O_2^{-\bullet}$) ve hidroksili ($OH^{\bullet}$) temizleyen askorbik asit (C vitamini), hücre zarlarının lipid peroksidasyonuna karşı rol oynayan α-tokoferol ve stilben türevleri (resveratrol, fenolik asitler ve flavonoidler), yağ lesitinaları, selenyum, çinko ve asetilsistein gibi ilaçlar sayılabilir (4, 74).

3.8. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı (AH), Dünya Sağlık Örgütü tarafından küresel bir sağlık sorunu olarak tanınan ve demansın en yaygın nedeni olan nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın mekanizmasının tam olarak anlaşılamaması ve nöropatolojik sürecin karmaşıklığı hastalığın teşhisini zorlaştırmaktadır. AH dünyada 35 milyondan fazla insanı etkilediği ve 2050 yılına kadar etkilenen insan sayısının üç katına çıkacağı tahmin edilimektedir. Hastalığın görülme sıklığı Çin, Batı Pasifik, Batı Avrupa ve ABD'de yüksektir (75).

AH ağırlıklı olarak ileri yaşlarda ortaya çıkan bir hastalıktır, pek çok hasta 65 yaşından sonra belirti gösterir. Erken tanı koymak için gerekli bilgi ve yöntemler henüz mevcut olmadığından hastalığın patolojik hakaretlerinin ne zaman başladığını kesin olarak söylemek zordur. En yaygın görülen sporadik AH'dır ve hastaların yaklaşık %5-15'i ailesel AH gösterir. Ayrıca, 40-65 yaşları arasında ortaya çıkan erken başlangıçlı AH dönemi ile AH'nin 65 yaşından sonra geç bir formu olan ve geç başlangıçlı AH olarak da adlandırılan dönem için de bir ayrım yapılmaktadır (75).

Patolojik olarak AH, beyin korteksinde beta amiloid plaklarının oluşmasına ve nörofibriler yumaklarda fosforile tau proteininin birikmesine bağlıdır. Hem genetik hem de genetik olmayan risk faktörleri AH'ye neden olabilir. Yaşlanma en önemli risk faktörüdür. Diğer nedenler arasında serebrovasküler hastalık, artan kan basıncı, tip 2 diyabette insülin direncinin artması, vücut ağırlığı, metabolik sendrom, sigara

kullanımı, travmatik beyin hasarı, plazma lipid seviyeleri, diyet, entelektüel aktivite ve azalmış fiziksel aktivite sayılabilir. AH'nin genetik bileşenine odaklanan araştırmalar, anne ve babadan gelen apolipoprotein E4 (ApoE4) genine sahip bireylerin hastalığa yakalanma olasılığının daha yüksek olduğunu göstermiştir. Erken başlangıçlı AH'ye genellikle amiloid öncü proteini (APP) veya presenilini (PSEN 1 ve PSEN 2) kodlayan genlerdeki genetik varyantlar neden olmaktadır, ancak geç başlangıçlı AH'nin bu genlerdeki mutasyonlardan kaynaklandığı bilinmemektedir (76).

AH, hafıza, dil, bilişsel kayıplar ve problem çözmede beceri kaybı, davranış değişiklikleri ve nihayetinde ölümle kendini gösteren kronik bir hastalıktır. Birincil belirtiler hafıza kaybı ve yürütücü işlev bozukluğudur. AH'de tüm bellek türleri eşit şekilde etkilenmez; epizodik, semantik ve çalışma belleği ciddi şekilde bozulur, ancak prosedürel bellek gibi uzun süreli bellek bozulmadan kalma eğilimindedir. Hastalar genellikle semptomların başlamasından 3-10 yıl sonra pnömoni veya kan pıhtılaşması gibi hareketsizlikten kaynaklanan komplikasyonlar nedeniyle ölürler (77).

3.8.1. Alzheimer hastalığında kolinesteraz inhibitörlerinin mekanizması

Asetilkolin (ACh), noradrenalin, dopamin, gamma amino bütirik asit, serotonin ve glutamat gibi farklı nörotransmitter sistemlerinin dengesi beyin fonksiyonu için gereklidir. Kolinerjik sistem, erişkin başlangıçlı bilişsel bozukluğa neden olan tek nörotransmitter sistem olmasa da AH dahil erişkin başlangıçlı demanslarda meydana gelen öğrenme ve hafıza bozukluğunun patofizyolojisinde rol oynar. 1970'lerin başlarından bu yana Alzheimer hastalarında bazal ön beyin kolinerjik nöronlarının erken kaybı gözlemlenmiş ve bu kolinerjik hipotezin gelişmesini sağlamıştır. Bu hipotez, AH'daki serebral korteks ve hipokampus gibi beynin bilişsel fonksiyonlarıyla ilgili alanlarında biyosentetik enzim asetilkolin transferazın (ChAT) azalmasının nörokimyasal olarak gösterilmesiyle desteklenmiştir (78).

AH patofizyolojisinin en eski teorisi olan kolinerjik hipotez, kolinerjik nöronların kaybını ve ACh azalmasını tanımlar. Metabolize edici enzim asetilkolinesteraz (AChE), ACh seviyelerini yükselterek gelişmiş bir bilişsel performansa yol açar (79).

Kolinerjik nörotransmisyonun güçlendirilmesi, hafif ve orta evre AH'nin bilişsel ve davranışsal semptomlarının tedavisinde ana yaklaşımı oluşturmaktadır. Bu terapötik strateji doğrultusunda hipokampal ACh salınımını arttırmak için linopirdin ve ksanomelin gibi muskarinik ACh reseptör agonistleri ile fizostigmin ve takrin gibi AChE inhibitörleri kullanılmıştır. ACh, beyinde AChE ve butirilkolinesteraz (BuChE) tarafından hidrolitik olarak parçalanır (Marucci ve ark. 2021). AChE seviyesi AH'nın ilerlemesi ile azaldığından, AChE inhibisyonu sadece hastalığın erken evrelerinde etkili görünmektedir. Öte yandan, daha az spesifik BChE seviyeleri değişmeden kalır veya AH'nın ilerlemesiyle artar. BChE, ACh'yi hidrolize edebilir ve böylece AChE aktivitesinin azalmasını telafi edebilir (79).

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) rivastigmin, donepezil, takrin ve galantamin etken maddeli kolinesteraz inhibitörlerinin AH'da kullanılmasını onaylamıştır (80). Takrin hem AChE hem de BChE'yi inhibe eden bir ajandır. Takrin ile tedavi edilen hastalara ilacın neden olduğu hepatotoksisite nedeniyle kan takibi gerekir. Takrinin kısa yarılanma ömrü ve yüksek dozda olumsuz yan etkileri nedeniyle uzun süreli terapötik aktiviteyi sürdürmek için çoklu doz rejimleri gereklidir. Belirtilen yan etkiler ve karaciğer toksisitesi nedeniyle takrin kullanımdan geri çekilmiştir (81).

Kolinesteraz inhibitörleri ve N-metil-D-aspartat reseptörü antagonisti gibi AH tedavisinde kullanılan mevcut ilaçlar, demans semptomlarını yalnızca sınırlı bir süre için inhibe edebilir, ancak hastalığın ilerlemesini durduramaz veya tersine çeviremez. Amiloid hipotezi temelinde, birçok küresel ilaç şirketi klinik çalışmalar yürütmesine karşın başarılı olamamıştır. Bu nedenle, amiloid hipotezi tamamen uygulanabilir olmayabilir. Amiloid beta ve AH'nin diğer faktörlerinin hastalığa katkısının derinlemesine ve kapsamlı bir şekilde anlaşılması yeni farmakoterapiler geliştirmek için çok önemlidir (82).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Bitkisel Materyaller

T. multicaule bitkisi Doç. Dr. Mehmet BOĞA ve yüksek lisans öğrencileri Irmak TANAMAN ile Goncagül SUVARİ tarafından Diyarbakır-Ergani'den Elazığ-Maden'e giderken 3. km yol kenarında 23 Nisan 2018 tarihinde toplandı. Doç. Dr. Yeter YEŞİL tarafından teşhisi yapıldı (ISTE No: 115655).

T. multicaule bitkisi Doç. Dr. Yeter YEŞİL tarafından Batman-Hasankeyf Üç Yol Köyü karşısında bahçe ve kayalık alan sınırından 26 Mayıs 2018' de toplandı ve teşhis edildi (ISTE No: 115745).

4.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

Kimyasal maddeler ve tüm çözücüler analitik ve LC-MS saflıktadır.

4.3. Ekstrelerin Hazırlanışı

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toprak üstü ve kök kısımları gölgede kurutulup toz haline getirildi. Sonra oda sıcaklığında etanol ile masere edildi (24 saat x 3). Döner buharlaştırıcıda (Rotaevaporator Heidolph, Almanya) çözücüsü buharlaştırıldıktan sonra ekstre kuru halde elde edildi. Ekstrelerin yüzde verim hesabı aşağıdaki eşitliğe göre belirlendi.

Yüzde verim (g/g) = (Ekstre miktarı / Kuru bitki miktarı) x 100

4.4. Uçucu Yağ Eldesi

100 gram toprak üstü kısmı balonda 500 ml su ile 4 saat kaynatıldı. Clevenger apareyi ile uçucu yağları elde edildi. Petrol eteri ile birlikte sulu fazdan ayrıldı. Na_2SO_4 ile kurutularak +4 °C'de analizleri yapılıncaya kadar bekletildi.

4.5. Toplam Fenol ve Flavonoid İçeriklerinin Belirlenmesi

Tüm ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi.

4.5.1. Toplam fenolik içerikleri

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toprak üstü ve kök kısımlarının toplam fenolik içerikleri pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi (83). Pirokatekolün ölçü eğrisi için metot aşağıda şematize edilmiştir.

0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 µL 100 ppm pirokatekol

+

Su ile hacimleri 184 µL'ye tamamlandı

+

4 µL Folin-Ciocalteu Reaktifi

+

%2'lik 12 µL Na_2CO_3

2 Saat inkübasyondan sonra 760 nm'de absorbansları okundu.

Ekstrelerin toplam fenolik içerik metodu aşağıda şematize edilmiştir.

4 µL 1000 ppm ekstre (üçer paralel olarak çalışıldı)

+

Hacimleri su ile 184 µL'ye tamamlandı

+

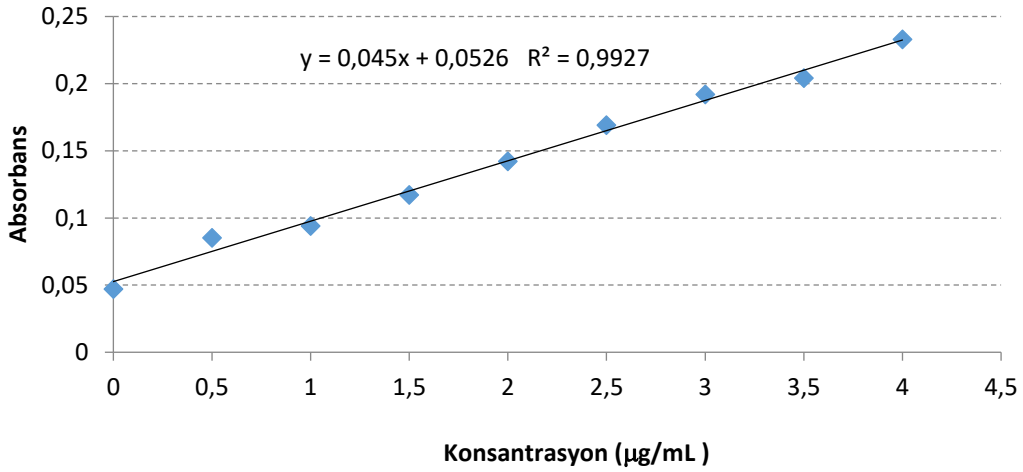
4 µL Folin-Ciocalteu Reaktifi

+

12 µL %2'lik Na_2CO_3

2 Saat inkübasyondan sonra absorbansları 760 nm'de okundu.

Şekil 6'da standart pirokatekol grafiğinden bulunan Absorbans = 0,045x + 0,0526 (R^2 = 0,9927) eşitliğinden yararlanarak toplam fenolik içerikler hesaplandı.



Şekil 6: Pirokatekol ölçü eğrisi

4.5.2. Toplam flavonoid içerikleri

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* toprak üstü ve kök kısımları kersetine eşdeğer olarak toplam flavonoid içerikleri belirlendi (84). Kersetin ölçü eğrisi için metot aşağıda şematize edilmiştir.

0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 µL 1000 ppm kersetin

+

%80'lik etanol ile hacimleri 192µL'ye tamamlandı

+

4 µL 1M potasyum asetat

+ 1 dakika sonra

4 µL %10'luk alüminyum nitrat

40 Dakika inkübasyondan sonra absorbansları 415 nm'de okundu.

Ekstrelerin toplam flavonoid içerik metodu aşağıda şematize edilmiştir.

4 µL 1000 ppm ekstre (üçer paralel olarak çalışıldı)

+

%80 etanol ile hacimleri 192 µL'ye tamamlandı

+

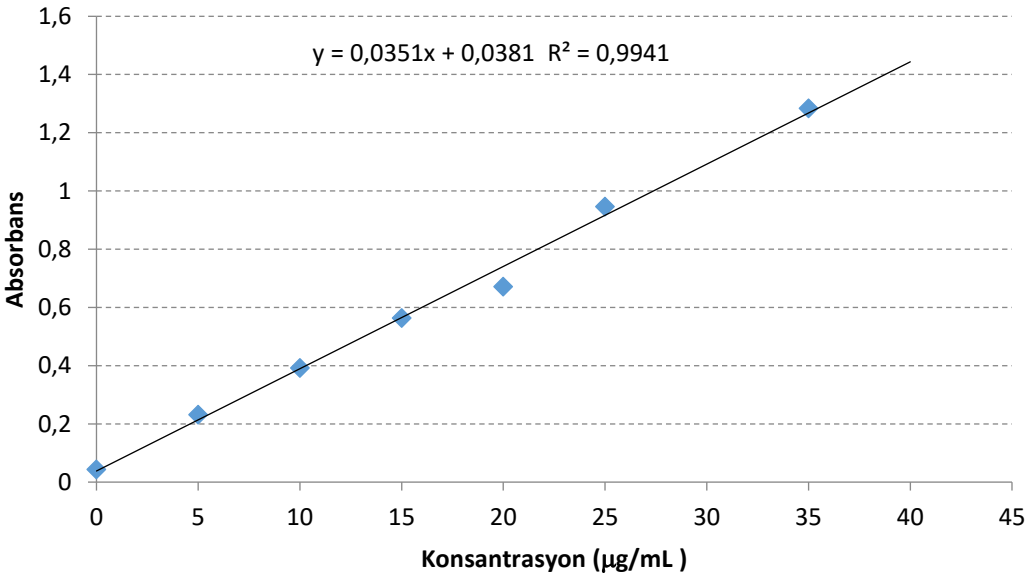
4 µL 1M potasyum asetat

+ 1 dakika sonra

4 µL %10'luk alüminyum nitrat

40 Dakika inkübasyondan sonra absorbansları 415 nm'de okundu.

Şekil 7'de standart kersetin grafiğinden bulunan Absorbans= 0,0351x + 0,0381 (R^2: 0,9941) eşitliğine göre toplam flavonoid içerikler hesaplandı.



Şekil 7: Kersetinin ölçü eğrisi

4.6. Antioksidan Tayin Yöntemleri

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toprak üstü ve kök etanol ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri DPPH serbest ve ABTS katyon radikali giderimi, metal kelat aktivitesi ve CUPRAC aktivitesi yöntemleri ile belirlendi. Tüm absorbans öçlümleri Ultraviyole Spektrofometre (UV-Vis), (PG Instruments T80+ UV/VIS Spectrometer, İngiltere) ve Eliza (BioTek EON Microplate Reader, Amerika Birleşik Devletleri) cihazları ile yapıldı.

CUPRAC hariç diğer antioksidan aktivite yöntemlerinde % inhibisyon sonuçları % İnhibisyon= ($A_{kontrol} - A_{örnek}$) / $A_{kontrol}$ x 100 formülüne göre belirlendi. 4 farklı kosantrasyondaki % inhibisyon sonuçlarına göre IC_{50} değerleri hesaplandı.

4.6.1. DPPH aktivite yöntemi

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali ile serbest radikal giderme aktiviteleri belirlendi (85). Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toprak üstü ve kök kısımlarının 1000 μg/mL konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlandı. BHT, BHA ve α-Toc standart olarak kullanıldı.

Ekstrelerin DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri metodu aşağıda şematize edilmiştir.

2, 5, 10 ve 20 μL stok çözelti (üçer paralel olarak çalışıldı)

+

Hacimleri etanol ile 40 μL'ye tamamlandı

+

160 μL 0,1 mM DPPH eklendi

30 dakika oda sıcaklığında (karanlıkta) inkübasyondan sonra absorbansları 517 nm'de okundu.

4.6.2. ABTS aktivite yöntemi

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) ile katyon radikali giderme aktiviteleri belirlendi (86). Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toprak üstü ve kök kısımlarının 1000 μg/mL konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlandı. BHT, BHA ve α-Toc standart olarak kullanıldı.

Ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi metodu aşağıda şematize edilmiştir.

2, 5, 10 ve 20 μL stok çözelti (üçer paralel olarak çalışıldı)

+

Etanol ile hacimleri 40 μL'ye tamamlandı

+

160 μL 7 mM ABTS

6 Dakika karanlıkta inkübasyondan sonra absorbansları 734 nm'de okundu.

4.6.3. Metal kelat aktivitesi

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin metal kelat aktiviteleri Fe(II)-Ferrozin yöntemine göre belirlendi (87). Standart olarak kersetin ile EDTA kullanıldı.

Ekstrelerin metal kelat aktivite metodu aşağıda şematize edilmiştir.

2, 5, 10 ve 20 μL stok çözelti (üçer paralel olarak çalışıldı)

+

Distile su ile hacimleri 188 μL'ye tamamlandı

+

4 μL 2 mM Fe(II)

+

8 μL 5mM ferrozin

10 dakika inkübasyondan sonra absorbansları 562 nm'de okundu.

Absorbanslar kersetin ile EDTA standartlarına göre değerlendirildi.

4.6.4. CUPRAC yöntemi

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin CUPRAC aktivitesi antioksidanlarla renkli Cu(I)-Nc kelata dönüşen Cu(II)-Neokuproin (Nc) kompleksinin kullanımına dayanılarak belirlendi (88). BHT, BHA ve α-Toc standart olarak kullanıldı.

Ekstrelerin CUPRAC yöntemi metodu aşağıda şematize edilmiştir

2,5µL, 6,25µL, 12,5µL, 25µL stok çözeltisi (üçer paralel olarak çalışıldı)

+

Distile su ile hacimleri 67 µL'ye tamamlandı

+

61 µL 0,01 M $CuCl_2$

+

61 µL 0,1 M NH_4CH_3COO

+

61 µL 0,1 M Neokuproin

1 saat inkübasyondan sonra 450 nm'de absorbansları okundu.

4.7. Antikolinesteraz Aktivite Metodu

4.7.1. Ellman metodu

AChE hidrolizi sonucu asetilkolinden açığa çıkan tiyokolinin 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyonuyla oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun absorbans ölçümüne dayanan bu metod hızlı bir kolorimetrik yöntemdir (89).

4.7.1.1. AChE ve BChE aktivite testi

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin AChE/BChE aktivitesi için Ellman metodu kullanıldı (89). 4000 ppm konsantrasyonlarda Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* ekstrelerinin 4000 ppm stok

çözeltilerinin hazırlanmasının ardından, üçer paralel çalışma yapıldı. Standart olarak galantamin kullanıldı.

150 µL 100 mM sodyum fosfat tamponu (pH=8)

+

10 µL örnek (4000 µg/mL) veya kontrol

+

20 µL enzim AChE/BChE

15 dk. 25ºC' de inkübasyon



10 µL5 mM DTNB

+

10 µL 7,1 mM asetiltiyokolin iyodür (0,79 mM bütiriltiyokolin iyodür)



10 dk. 25ºC' de inkübasyon 412 nm' de okunur.

4.8. İstatistik Hesaplamalar

Biyolojik aktivite sonuçları üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verildi. Sonuçlar Student's t-testine göre %95 güven sınırları içinde bulundu. Anlamlılık sınırı için $p<0,05$ kabul edildi. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regresyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesiyle yapıldı.

4.9. Kromatografik Yöntemler

4.9.1. Gaz kromatografisi-Kütle spektroskopisi (GC-MS) şartları

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin uçucu yağlarının bileşenleri GC-FID ve GC-MS cihazları ile Zengin ve arkadaşlarının 2016 yılı yayınındaki aynı cihaz ve çalışma koşullarında analiz edildi (90).

4.9.2. Sıvı kromatografisi-Kütle spektroskopisi (LC-HRMS) şartları

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* ekstrelerinin LC-HRMS analizleri, LC-HRMS Thermo Q Exactive marka LC-HRMS cihazı ile Bezmialem Vakıf Üniversitesi İlaç Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Tablo 1: LC-HRMS çalışma şartları

Mobil Faz A: %1 Formik Asit- %0,1 Amonyum format – H_2O		
Mobil Faz B: %1 Formik Asit- %0,1 Amonyum format – MeOH		
Kolon:3 μm Fortis C18 – 150 x 3,0 mm		
Gradiyent zamanı	**Akış hızı (ml/dk)**	**%B**
0,00	0,35	50
1,00	0,35	50
3,00	0,35	100
6,00	0,35	100
7,00	0,35	50
10,00	0,35	50

5. BULGULAR

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toprak üstü ve kök etanol ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri DPPH serbest ve ABTS katyon radikali giderimi, metal kelat aktivitesi ve CUPRAC aktivitesi yöntemleri ile belirlendi. Tüm ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi ve antialzheimer aktivitesi Ellman yöntemi ile belirlendi.

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin uçucu yağlarının içerikleri, ekstrelerin antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri ve fenolik bileşik içerikleri ilk defa çalışıldı.

5.1. Toplam Fenolik ve Flavonoid Miktarları

Tüm ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi. Tablo 2'de de görüldüğü üzere; Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* kök (TMDK ve TMBK) ekstrelerinin toplam fenolik içeriklerinin toplam flavonoid içeriklerinden daha yüksek, toprak üstü (TMDTÜ ve TMBTÜ) ekstrelerininise toplam flavonoid miktarlarının toplam fenolik miktarlardan daha yüksek olduğu ve en yüksek toplam fenolik ve flavonoid miktarının Diyarbakır'dan toplanan *T. multicaule* bitkisinin kök (TMDK) ekstresinde olduğu tespit edildi.

Tablo 2: Ekstrelerin verimleri, toplam fenolik ve flavonoid miktarları

Ekstreler	% Verim	Toplam Fenol (µg pirokatekole eşdeğer)/mg Ekstre[a]	Toplam Flavonoid (µg kersetine eşdeğer)/mg Ekstre[b]
TMDTÜ	9,09	8,22±0,57	27,64±1,01
TMDK	0,52	37,67±0,79	36,89±1,03
TMBTÜ	4,83	21,56±0,20	29,77±0,10
TMBK	0,76	34,33±0,79	26,45±1,18

TMDTÜ: *T. multicaule* Diyarbakır Toprak Üstü, TMDK: *T. multicaule* Diyarbakır Kök, TMBTÜ: *T. multicaule* Batman Toprak Üstü, TMBK: *T. multicaule* Batman Kök

a: $y=0,045x + 0,0526$ $R^2=0,9927$

b: $y=0,0351x + 0,0381$ $R^2=0,9941$

5.2. Diyarbakır ve Batman'dan Toplanan *T. multicaule* Ekstrelerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları

5.2.1. DPPH aktivite sonuçları

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin Tablo 3'te görüleceği üzere en yüksek DPPH aktivitesini *T. multicaule* kök ekstresinin (IC_{50}= 41,74±0,13µg/mL) gösterdiği belirlendi. Hem Diyarbakır hem de Batman'da toplanan *T. multicaule* kök ekstrelerinin toprak üstü ekstrelerinden daha yüksek DPPH serbest radikal giderim aktivitesi gösterdiği belirlendi. En düşük aktiviteyi Diyarbakır'da toplanan bitkinin toprak üstü ekstresinin (IC_{50}= 176,53±0,10 µg/mL) gösterdiği belirlendi. Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresi standart olarak kullanılan BHT'den daha yüksek aktivite göstermiştir. Tüm bu sonuçlar Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleriyle uyumludur. En yüksek toplam fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olan Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresinin en iyi aktivite, en düşük toplam fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olan Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* toprak üstü ekstresinin ise en az aktivite gösterdiği belirlendi.

Tablo 3: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* ekstrelerinin DPPH aktiviteleri

Ekstreler	IC_{50} değerleri (µg/mL)
TMDTÜ	176,53±0,10
TMDK	41,74±0,13
TMBTÜ	79,98±0,94
TMBK	54,09±1,06
BHA	7,88±0,20
BHT	58,86±0,50
α-TOC	16,30±0,79

TMDTÜ: *T. multicaule* Diyarbakır Toprak Üstü, TMDK: *T. multicaule* Diyarbakır Kök, TMBTÜ: *T. multicaule* Batman Toprak Üstü, TMBK: *T. multicaule* Batman Kök, BHA: Bütillenmiş hidroksianisol, BHT: Bütillenmiş hidroksi toluene, α –TOC: α –Tokoferol

5.2.2. ABTS aktivite sonuçları

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin Tablo 4'te görüleceği üzere; Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresinin bu yöntemde de en yüksek aktivite (IC_{50}= 16,61±1,15 μg/mL) gösterdiği belirlendi. Hem Diyarbakır hem de Batman'da toplanan *T. multicaule* kök ekstrelerinin toprak üstü ekstrelerinden daha yüksek ABTS katyon radikal giderim aktivitesi gösterdiği belirlendi. En düşük aktiviteyi Diyarbakır'da toplanan bitkinin toprak üstü ekstresinin (IC_{50}= 41,83±1,80 μg/mL) gösterdiği belirlendi. Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* kök ekstreleri standart olarak kullanılan BHA' dan daha yüksek aktivite göstermiştir. Tüm bu sonuçlar Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleriyle uyumludur. En yüksek toplam fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olan Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresinin en iyi aktivite, en düşük toplam fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olan Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* toprak üstü ekstresinin en az aktivite gösterdiği belirlendi.

Tablo 4: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* ekstrelerinin ABTS aktiviteleri

Ekstreler	IC_{50} değerleri (μg/mL)
TMDTÜ	41,83±1,80
TMDK	16,61±1,15
TMBTÜ	25,72±0,28
TMBK	17,34±0,14
BHA	17,59±0,10
BHT	13,25±0,27
α-TOC	9,74±0,42

TMDTÜ: *T. multicaule* Diyarbakır Toprak Üstü, TMDK: *T. multicaule* Diyarbakır Kök, TMBTÜ: *T. multicaule* Batman Toprak Üstü, TMBK: *T. multicaule* Batman Kök, BHA: Bütillenmiş hidroksianisol, BHT: Bütillenmiş hidroksi toluene, α –TOC: α –Tokoferol

5.2.3. Metal kelat aktivite sonuçları

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* etanol ekstrelerinin Tablo 5'te görüleceği üzere; hiçbir ekstre metal kelat aktivitesi göstermedi.

Tablo 5: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* ekstrelerinin metal kelat aktivitesi

Ekstreler	IC_{50} değerleri (µg/mL)
TMDTÜ	>1000
TMDK	>1000
TMBTÜ	>1000
TMBK	>1000
EDTA	26,82±0,10

TMDTÜ: *T. multicaule* Diyarbakır Toprak Üstü, TMDK: *T. multicaule* Diyarbakır Kök, TMBTÜ: *T. multicaule* Batman Toprak Üstü, TMBK: *T. multicaule* Batman Kök**,** EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

5.2.4. CUPRAC aktivite sonuçları

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* etanol ekstrelerinin Tablo 6'da görüleceği üzere; Batman'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresinin bu yöntemde en yüksek aktivite ($A_{0,5}$= 20,29±0,04 µg/mL) gösterdiği belirlendi. Hem Diyarbakır hem de Batman'da toplanan *T. multicaule* kök ekstrelerinin toprak üstü ekstrelerinden daha yüksek CUPRAC aktivitesi gösterdiği belirlendi. En düşük aktiviteyi Diyarbakır'da toplanan bitkinin toprak üstü ekstresinin ($A_{0,5}$= 90,91±0,03 µg/mL) gösterdiği belirlendi. Tüm bu sonuçlar Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleriyle genel olarak uyumludur.

Tablo 6: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* ekstrelerinin CUPRAC aktiviteleri

Ekstreler	$A_{0,5}$ değerleri (µg/mL)
TMDTÜ	90,91±0,03
TMDK	22,33±0,01
TMBTÜ	48,14±0,02
TMBK	20,29±0,04

BHA	0,63±0,02
BHT	2,02±0,01
α-TOC	13,38±0,07

TMDTÜ: *T. multicaule* Diyarbakır Toprak Üstü, TMDK: *T. multicaule* Diyarbakır Kök, TMBTÜ: *T. multicaule* Batman Toprak Üstü, TMBK: *T. multicaule* Batman Kök, BHA: Bütillenmiş hidroksianisol, BHT: Bütillenmiş hidroksi toluene, α –TOC: α –Tokoferol

5.3. Diyarbakır ve Batman'dan Toplanan *T. multicaule* Ekstrelerinin Antialzheimer Aktivite Sonuçları

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin etanol ekstreleri Tablo 7'de görüldüğü gibi asetilkolinesteraz enzim inhibisyonu aktivitesi göstermediği, bunun aksine bütün ekstreler orta-zayıf derecede bütirilkolinesteraz enzimini inhibe ettiği tespit edildi. En yüksek bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesini Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresinin (%İnhibisyon= 61,96±1,72) gösterdiği belirlendi. Hem Diyarbakır hem de Batman'da toplanan *T. multicaule* kök ekstrelerinin toprak üstü ekstrelerinden daha yüksek bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlendi.

Tablo 7: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* ekstrelerinin antikolinesteraz aktivite sonuçları

Ekstreler	AChE (% İnhibisyon)	BChE (% İnhibisyon)
TMDTÜ	AD	22,09±0,60
TMDK	AD	61,96±1,72
TMBTÜ	AD	22,79±0,69
TMBK	AD	31,95±0,80
Galantamin[a]	80,04±0,23	88,65±0,99

TMDTÜ: *T. multicaule* Diyarbakır Toprak Üstü, TMDK: *T. multicaule* Diyarbakır Kök, TMBTÜ: *T. multicaule* Batman Toprak Üstü, TMBK: *T. multicaule* Batman Kök

[a]: Standart bileşik

AD: Aktif değil

5.4. Diyarbakır ve Batman'dan Toplanan *T. multicaule* Ekstrelerinin Kimyasal İçerikleri

5.4.1. GC-MS ile analizi

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin uçucu yağ analizleri GC-MS cihazı ile yapıldı ve içerikler Tablo 8'de gösterilmiştir.

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* uçucu yağlarının bileşimleri sırasıyla %99,8 ve %98,8 oranında aydınlatıldı. Diyarbakır'dan toplanan *T. multicaule* bitkisinde toplam 18 bileşen tespit edilmiş olup major bileşenleri germakren D (%45,4), β-karyofilen (%15,4), 1-okten-3-ol (%12,1) ve bisiklogermakren (%9,5) bileşikleridir. Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkisinde toplam 13 bileşen tespit edilmiş olup major bileşenleri germakren D (%54,7), β-karyofilen (%19,2) ve bisiklogermakren (%11,3) olduğu tespit edildi.

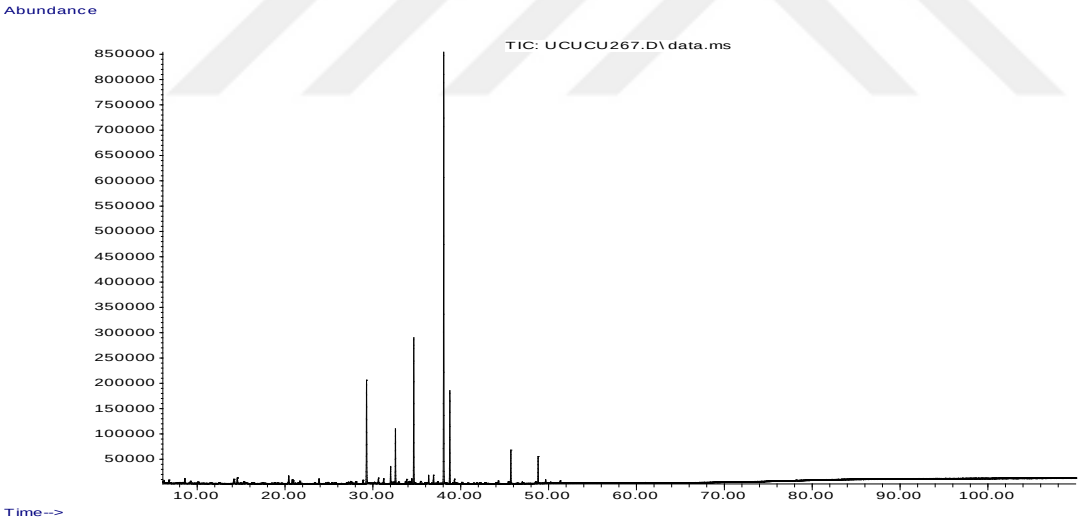
Tablo 8: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* uçucu yağlarının analiz sonucu

No	Bileşenler	RRI[a]	*T. multicaule* Diyarbakır (%)	*T. multicaule* Batman (%)
1	2-Metil-2-pentanol	1095	0,6	0,7
2	(E)-2-Hegzenal	1226	0,8	-
3	2-Pentilfuran	1234	0,4	-
4	*(Z)*-β-Osimen	1237	0,2	-
5	*(E)*-β-Osimen	1255	0,2	-
6	1-Okten-3-ol	1450	**12,1**	2,6
7	(E,E)-2,4-Heptadienal	1504	0,5	-
8	β-Bourbonen	1531	1,6	0,9
9	Linalool	1548	5,5	3,5
10	*trans*-α-Bergamotene	1577	-	0,4
11	β-Karyofilen	1614	**15,4**	**19,2**
12	*(Z)*-β-Farnesen	1670	0,6	0,1
13	α-Humulen	1689	0,8	1,0

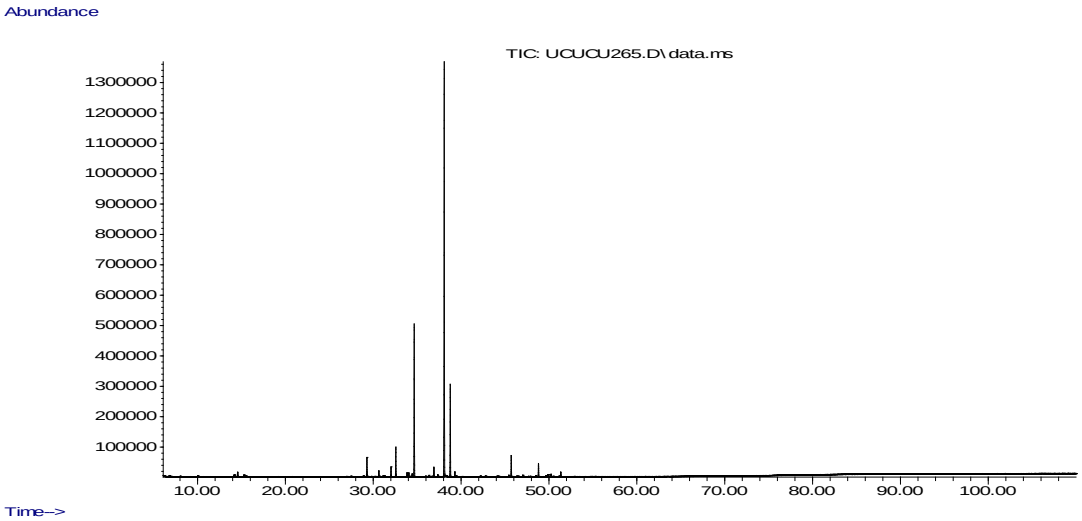
14	Germakren D	1729	**45,4**	**54,7**
15	Bisiklogermakren	1754	**9,5**	**11,3**
16	δ-Kadinen	1773	0,3	0,3
17	Karyofilen oksid	2017	3,2	2,6
18	Hegzahidro farnesilaseton	2134	0,2	-
19	Spatulenol	2147	2,5	1,5
Toplam Tanımlanan (%)			99,8	98,8

[a] Relatif Retention İndeks

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* uçucu yağlarının GC-MS kromatogramı sırasıyla Şekil 8'de ve Şekil 9'da gösterilmiştir.



Şekil 8: Diyarbakır'dan toplanan *T. multicaule* uçucu yağ GC-MS kromatogramı



Şekil 9: Batman'dan toplanan *T. multicaule* uçucu yağ GC-MS kromatogramı

Uçucu yağlarda bulunan bileşik sınıfları yüzde bileşenleri değerleri Tablo 9'da verilmiştir. Bileşikler monoterpenler, seskiterpenler, alkoller ve aldehitler şeklinde sınıflandırılmıştır. 19 bileşiğin 14 tanesi terpen türü bileşikler olup seskiterpenler Diyarbakır ve Batman' da toplanan *T. multicaule* bitkilerinde sırasıyla %79,5 ve %92 oranlarıyla miktarı en fazla olan gruptur. 7 tane bileşik her iki bitkide ortak olmayıp miktarları çok azdır (en fazla %0,8 oranındadır).

Tablo 9: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* uçucu yağlarının sınıflandırılması ve karışımdaki % miktarları

Bileşik sınıfı	***T. multicaule* Diyarbakır**		***T. multicaule* Batman**	
	%Miktar	**Bileşik sayısı**	**%Miktar**	**Bileşik sayısı**
Monoterpenler	6,3	4	3,5	1
Seskiterpenler	79,5	10	92	10
Alkoller	12,7	2	3,3	2
Aldehitler	1,3	2	-	-
Toplam	99,8	18	98,8	13

5.4.1. Diyarbakır ve Batman'dan Toplanan *T. multicaule* bitkilerinin LC-HRMS ile analizi

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin fenolik içerikleri LC-HRMS ile tespit edilmiş olup Tablo10'da gösterilmiştir. Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* bitkisinin toprak üstü ekstresinde toplamda 24 bileşik tespit edilmiştir. Bunlardan (+)-trans taksifolin ve 3-O-metil kuersetin bileşikleri Batman'da toplanan bitkinin toprak üstü ekstresinde bulunmamaktadır. Batman'da toplanan *T. multicaule* bitkisinin toprak üstü ekstresinde ise toplamda 26 bileşik tespit edilmiş olup izosakuranetin, asasetin, nepetin ve rosmarinik asit bileşikleri Diyarbakır'dan toplanan bitkinin toprak üstü ekstresinde bulunmamıştır. Bu farklılıkların miktarları oldukça düşüktür. Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* bitkisinin kök ekstresinde toplamda 15 bileşik tespit edilmiştir. Bunlardan kuillaik asit, rutin ve nepetin bileşikleri Batman'da toplanan bitkinin kök ekstresinde bulunmamaktadır. Batman'da toplanan *T. multicaule* bitkisinin toprak üstü ekstresinde ise toplamda 13 bileşik tespit edilmiş olup (-)-epigallocatechin bileşiği Diyarbakır'dan toplanan bitkinin toprak üstü ekstresinde bulunmamıştır. Bu farklılıklardan Diyarbakır'da toplanan türde bulunan kuillaikaist miktarı oldukça fazla olup en belirgin farklılık olarak göze çarpmaktadır.

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. Multicaule* bitkilerinin LC-HRMS analiz sonucu incelendiğinde toprak üstü ekstrelerinde en çok bulunan bileşikler sırasıyla verbaskozit (3383±121,79ve 3872±139,39 μg/g ekstre) ve (-)-epigallokateşingallat (2166±58,48 ve 1791±48,36 μg/g ekstre) bileşikleridir. Üçüncü olarak en çok bulunan bileşik Diyarbakır'da toplanan tür için hiperozit (1275±38,25μg/g ekstre), Batman'da toplanan tür için hederagenin (1540±141,68μg/g ekstre) bileşikleridir.

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin LC-HRMS analiz sonucu incelendiğinde kök ekstrelerinde en çok bulunan bileşikler sırasıyla (-)-epigallokateşingallat (3981±107,49 ve 2310±62,37 μg/g ekstre), verbaskozit (3961±142,60 ve 1982±71,35 μg/g ekstre). Üçüncü olarak en çok bulunan bileşik Diyarbakır'da toplanan tür için kuillaik asit (3109±93,27μg/g ekstre), Batman'da toplanan tür için hederagenin (939±86,39 μg/g ekstre) bileşikleridir.

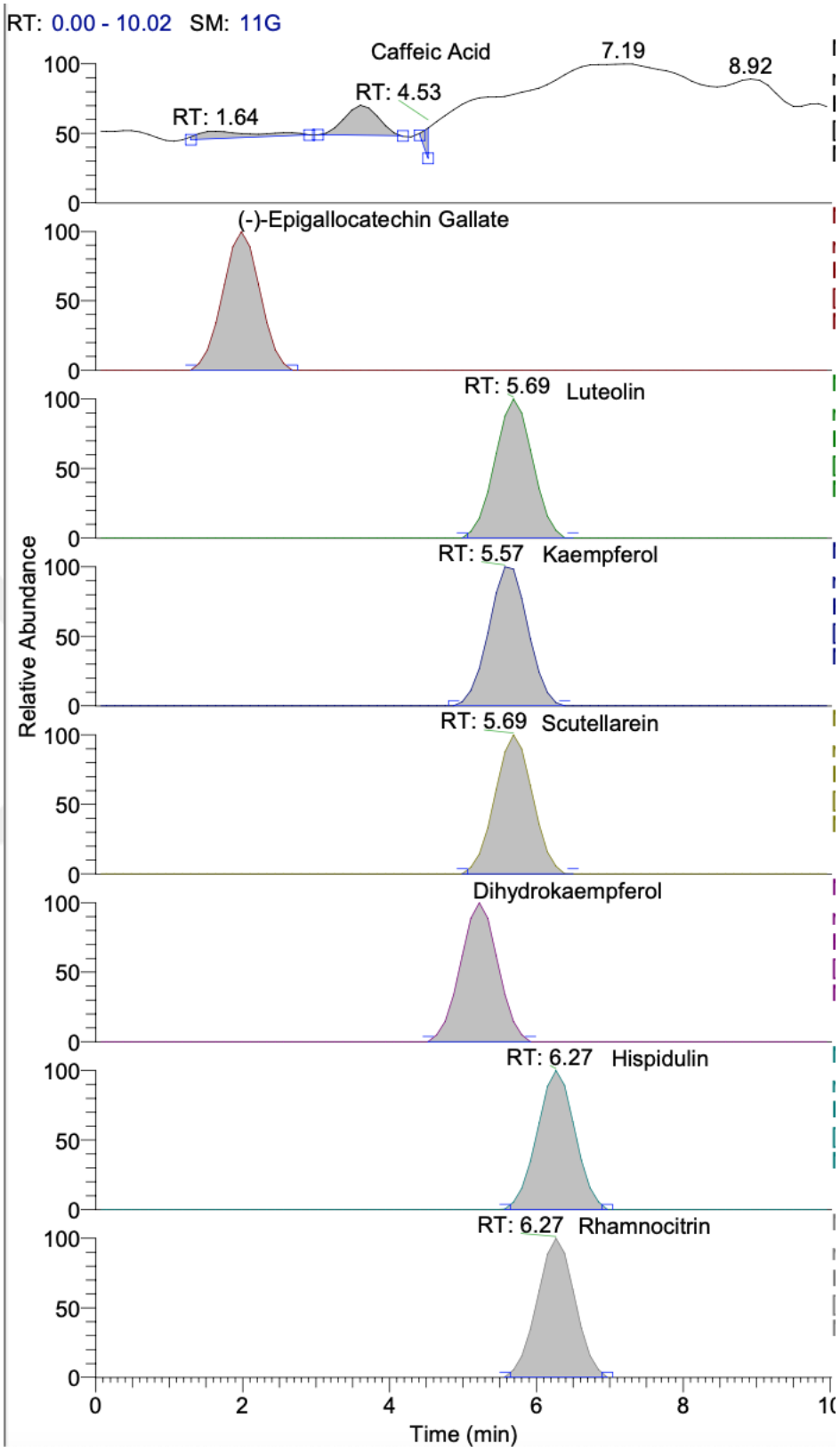
Tablo 10: Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin LC-HRMS analiz sonucu

MaddeAdı	**TMDTÜ** µg/g Ekstre	**TMDK** µg/g Ekstre	**TMBTÜ** µg/g Ekstre	**TMBK** µg/g Ekstre
Fumarik asit	TE	TE	TE	TE
Herniarin	212±1,91	173±1,56	173±1,56	152±1,37
Kafeik asit	148±3,55	145±3,48	125±3,00	152±3,65
Krizin	TE	TE	TE	TE
Apigenin	TE	TE	TE	TE
Emodin	TE	TE	TE	TE
Naringenin	94±3,95	69±2,90	88±3,70	69±2,90
Isosakuranetin	TE	TE	205±2,46	TE
Asasetin	TE	TE	250±3,75	TE
Luteolin	87±1,65	58±1,10	68±1,29	57±1,08
Kaempferol	101±0,91	TE	94±0,85	TE
Skutellarein	79±1,11	49±0,69	59±0,83	48±0,67
Dihidrokaempferol	126±4,79	TE	40±1,52	TE
(-)-Epikateşin	TE	TE	TE	TE
(+)-Kateşin	TE	TE	TE	TE
Hispidulin	960±16,32	155±2,64	1258±21,37	52±0,88
Rhamnositrin	947±30,30	73±2,34	1231±39,39	70±2,24
(+)-Trans taksifolin	189±5,52	TE	TE	TE
Kersetin	120±1,56	TE	114±1,48	TE
(-)-Epigallokateşin	TE	TE	TE	151±4,68
3-O-Metil Kersetin	438±13,14	TE	TE	TE
Nepetin	TE	4±0,11	12±0,34	TE
Penduletin	680±10,88	217±3,47	833±13,33	178±2,85
Eupatilin	677±9,48	195±2,73	836±11,70	154±2,16
RozmarinikAsit	TE	TE	65±2,86	TE
Apigenin 7-glukozit	TE	TE	TE	TE
Kaempferol-3-O-glukozit	93±3,91	TE	65±2,73	TE
Orientin	82±3,12	TE	52±1,98	TE

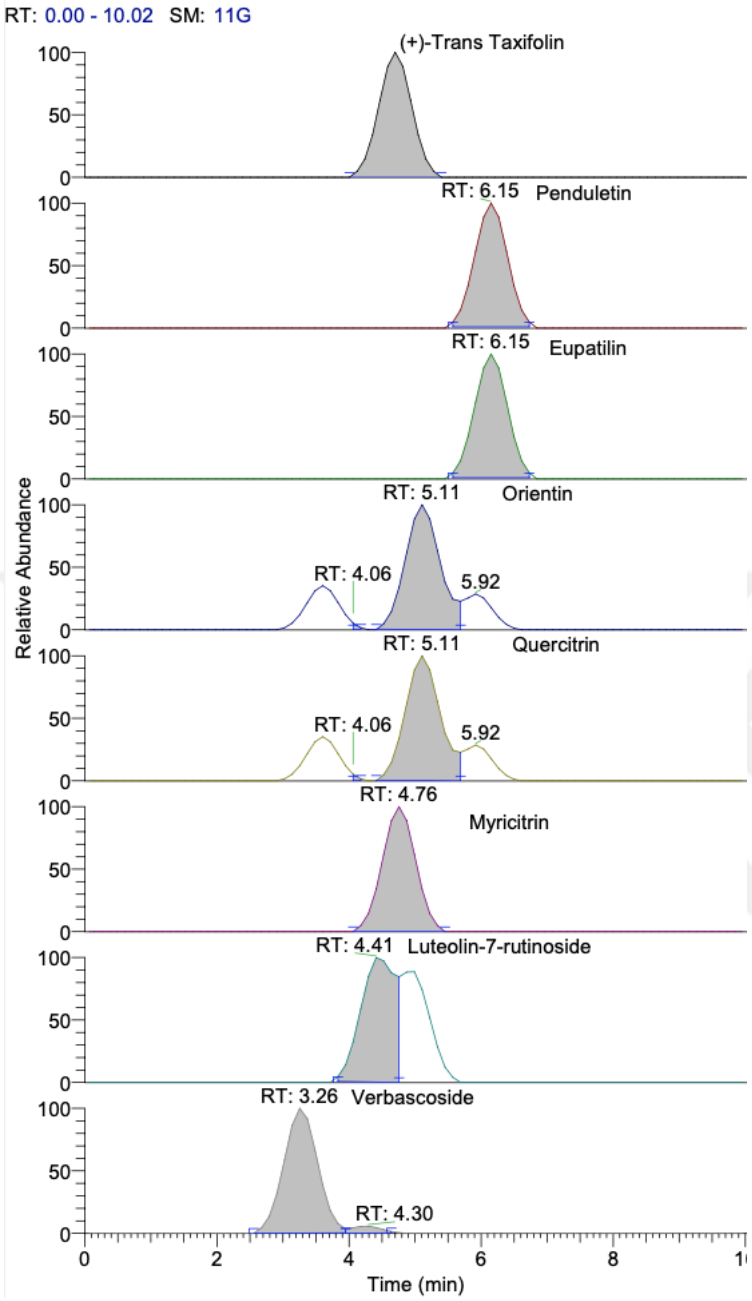
Kersitrin	82±3,94	TE	52±2,50	TE
(-)-Epigallokateşingallat	**2166±58,48**	**3981±107,49**	**1791±48,36**	**2310±62,37**
Myricitrin	1232±38,19	TE	192±5,95	TE
Hiperozid	**1275±38,25**	TE	223±6,60	TE
Hederagenin	1016±93,47	2118±194,86	**1540±141,68**	**939±86,39**
Nepetin-7-glukozit	TE	TE	TE	TE
Kuillaik asit	TE	**3109±93,27**	TE	TE
Naringin	TE	TE	TE	TE
Luteolin-7-rutinozit	162±2,27	TE	115±1,61	TE
Hesperidin	TE	TE	TE	TE
Rutin	872±39,24	80±3,60	590±26,55	TE
Verbaskozid	**3383±121,79**	**3961±142,60**	**3872±139,39**	**1982±71,35**

TMDTÜ: *T. multicaule* Diyarbakır Toprak Üstü, TMDK: *T. multicaule* Diyarbakır Kök, TMBTÜ: *T. multicaule* Batman Toprak Üstü, TMBK: *T. multicaule* Batman Kök TE: Tespit edilemedi

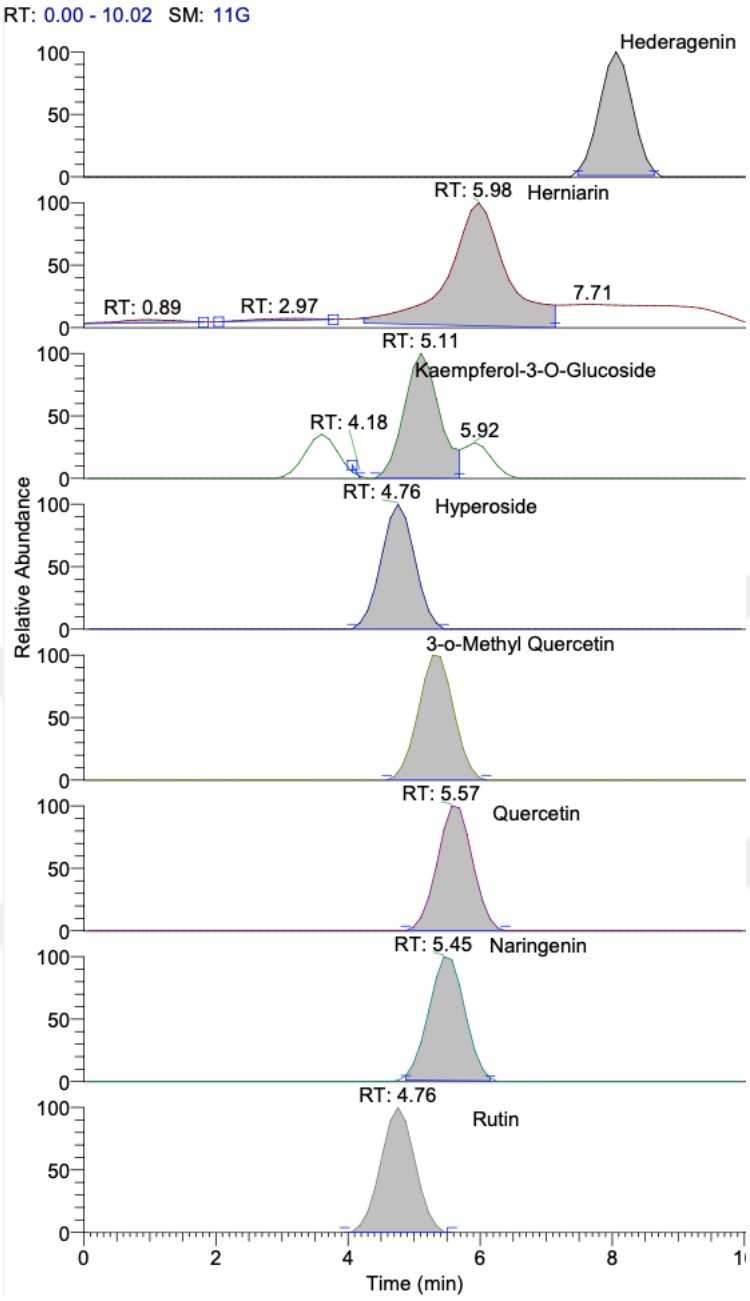
Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin fenolik bileşen içeriklerinin LC-HRMS kromatogramları Şekil 10-20'de gösterilmiştir.



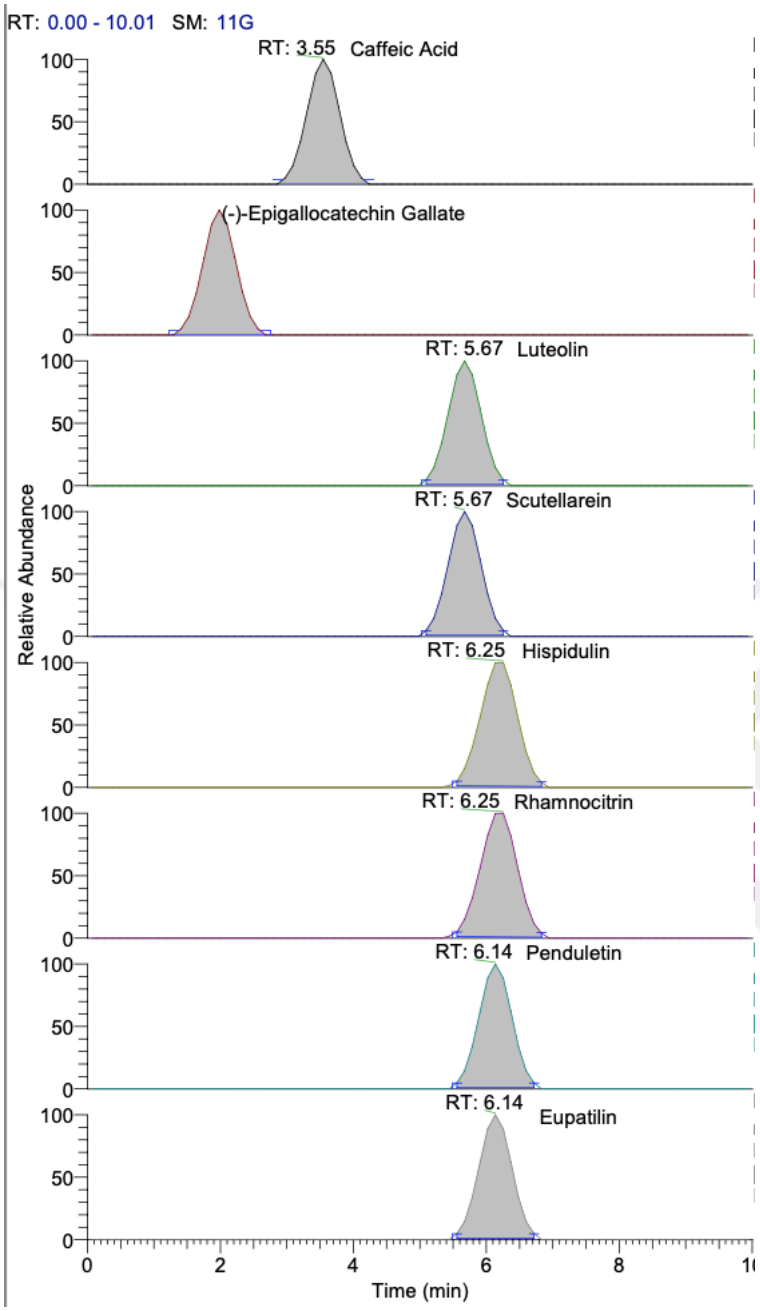
Şekil 10: TMDTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-1



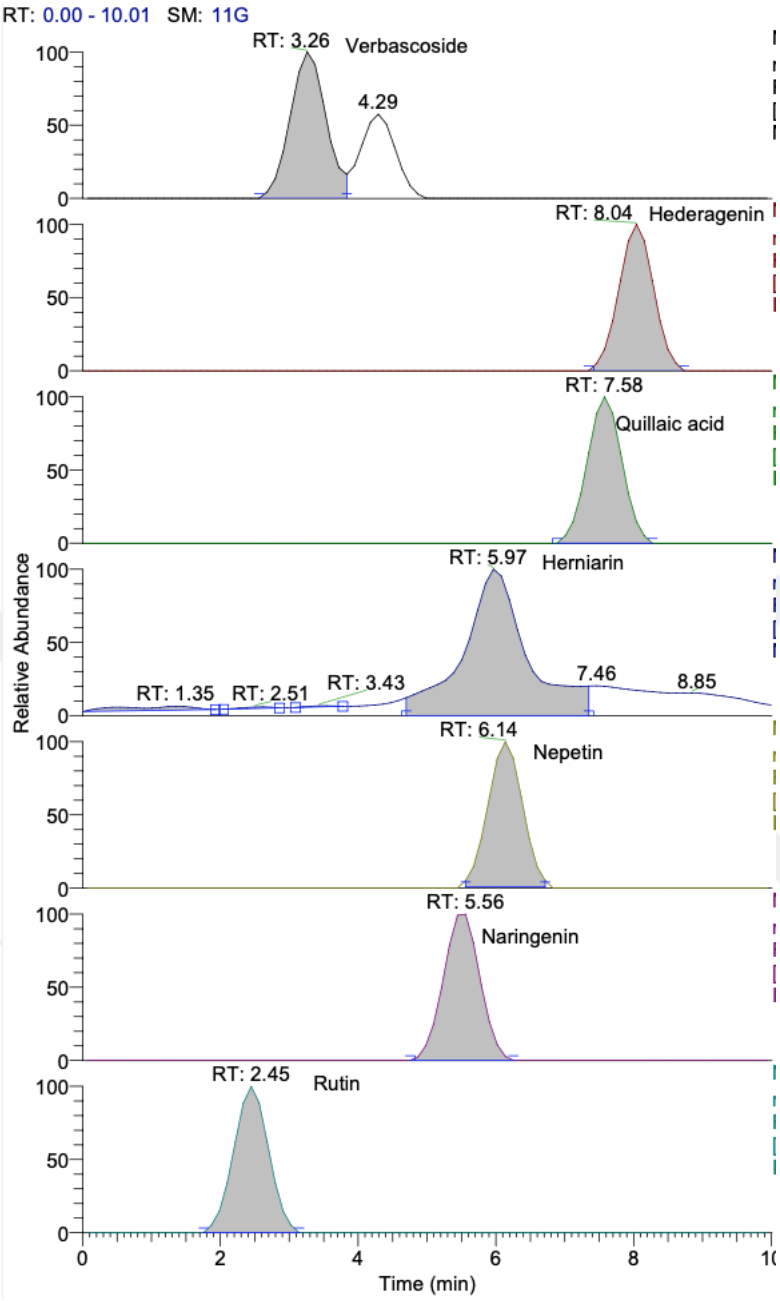
Şekil 11: TMDTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-2



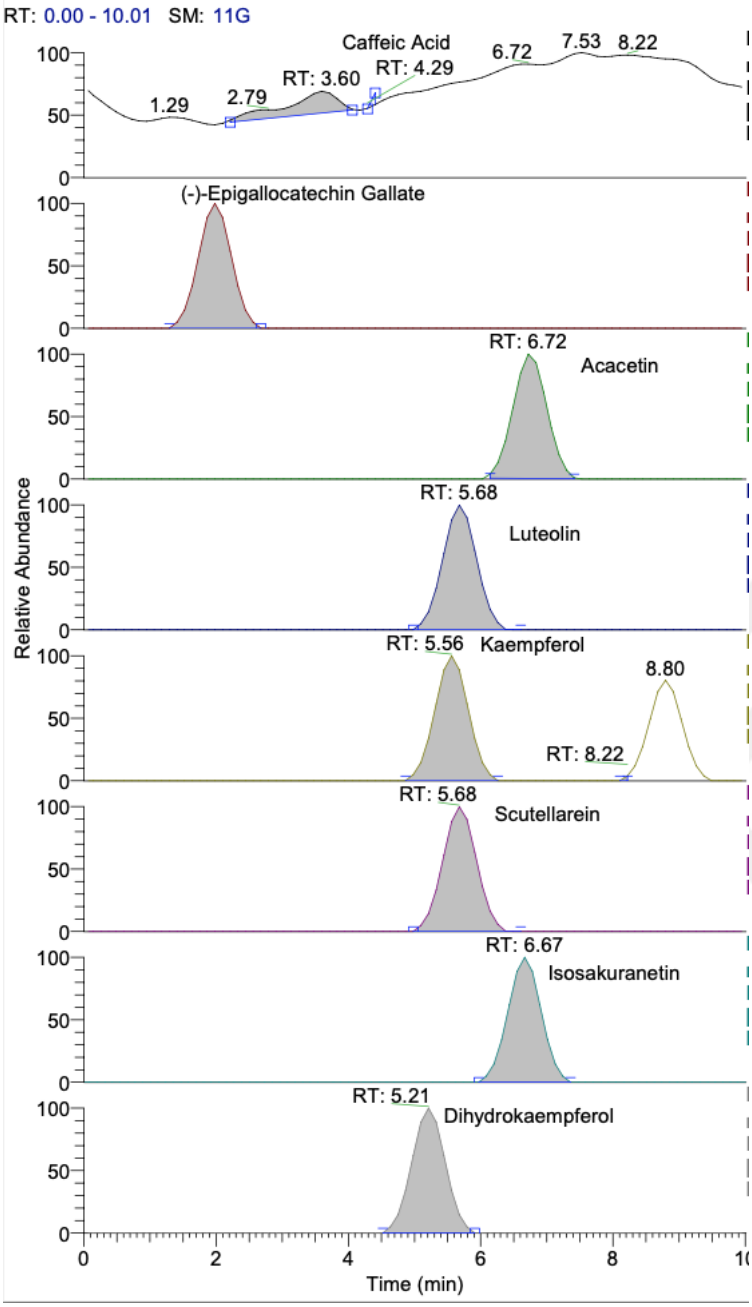
Şekil 12: TMDTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-3



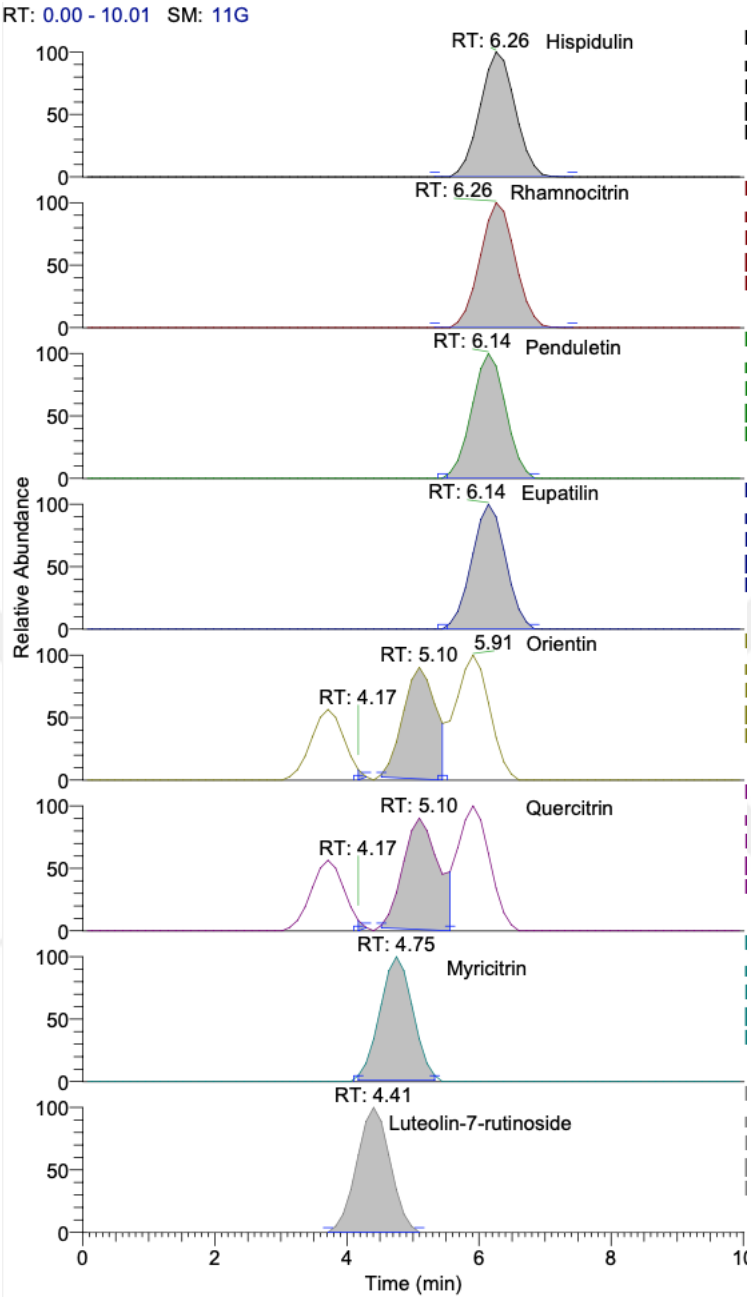
Şekil 13: TMDK ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-1



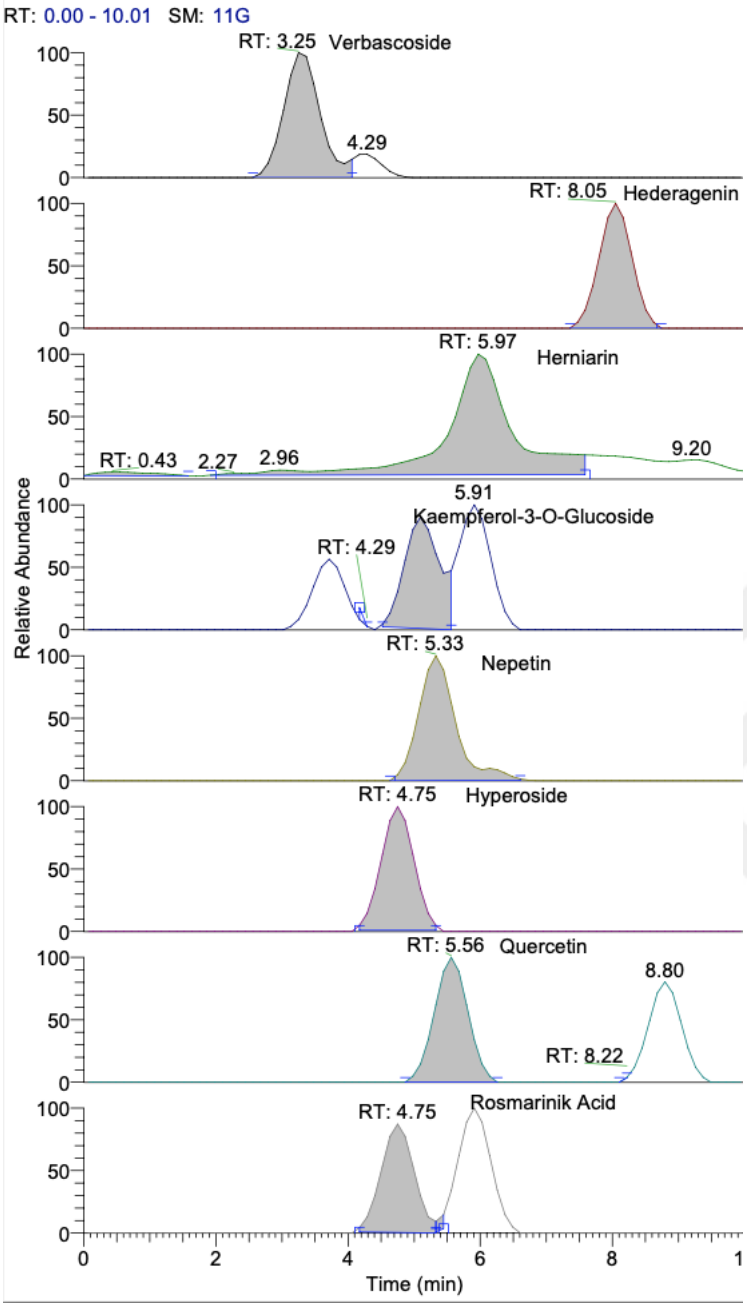
Şekil 14: TMDK ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-2



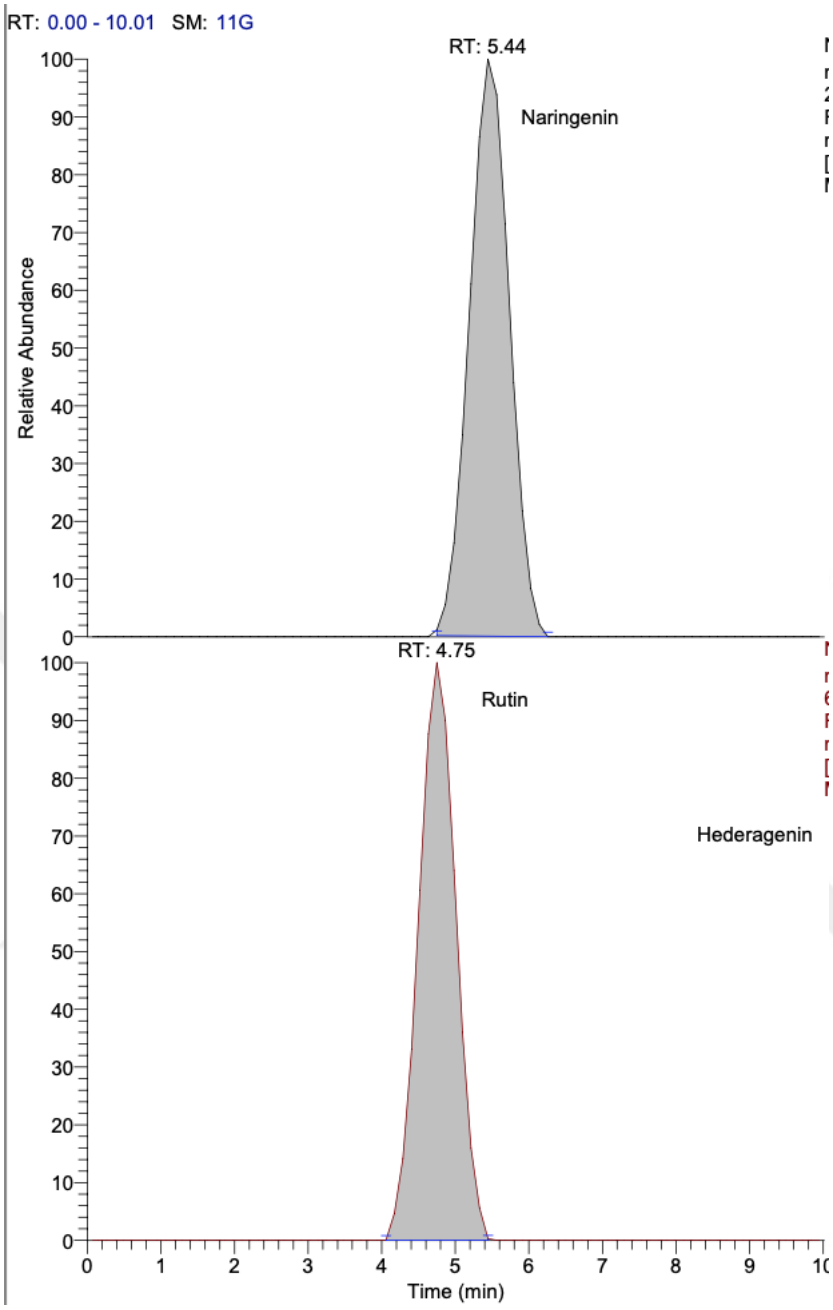
Şekil 15: TMBTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-1



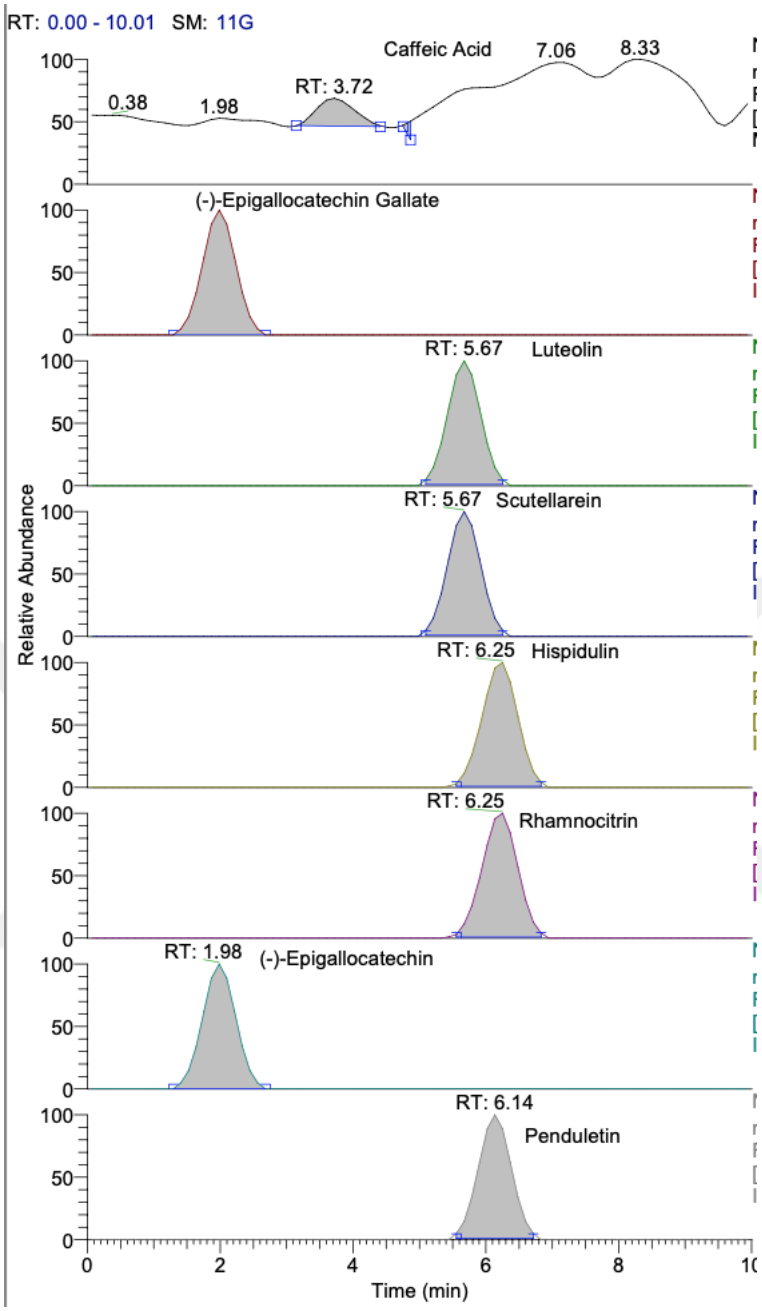
Şekil 16: TMBTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-2



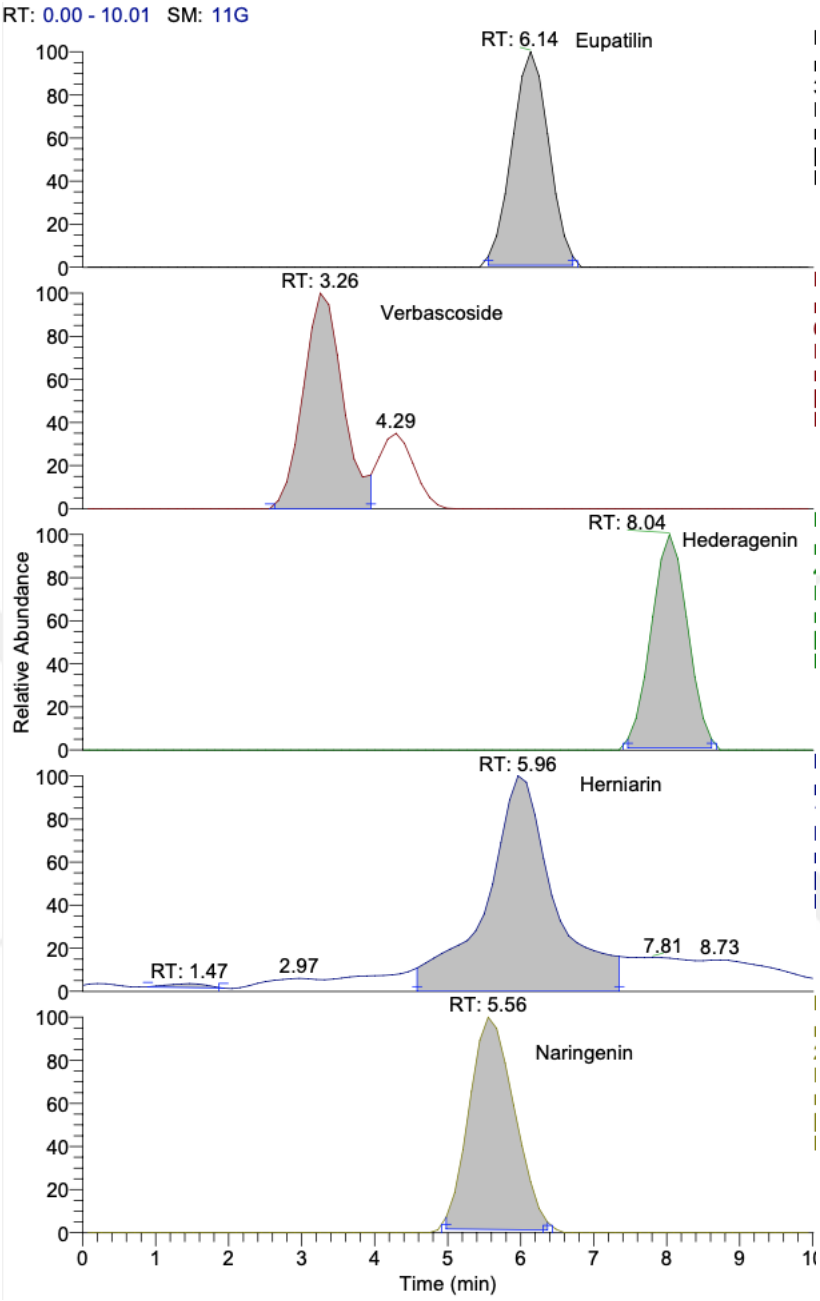
Şekil 17: TMBTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-3



Şekil 18: TMBTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-4



Şekil 19: TMBK ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-1



Şekil 20: TMBTÜ ekstresinin LC-HRMS kromatogramı-2

6. TARTIŞMA

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toprak üstü ve kök etanol ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri DPPH serbest ve ABTS katyon radikali giderimi, metal kelat aktivitesi ve CUPRAC aktivitesi yöntemleri ile belirlendi. Toplam fenolik ve flavonoid miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi ve antialzheimer aktivitesi Ellman yöntemi ile belirlendi. Bitkilerin uçucu yağ ve fenolik içerikleri sırasıyla GC-MS ve LC-HRMS cihazları ile ilk defa çalışıldı.

Ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi. Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* kök (TMDK ve TMBK) ekstrelerinin toplam fenolik (37,67±0,79 ve 34,33±0,79 µg piroktekol/mg ekstre) içeriklerinin toplam flavonoid içeriklerinden daha yüksek (36,89±1,03 ve 26,45±1,18 µg kersetin/mg ekstre), toprak üstü (TMDTÜ ve TMBTÜ) ekstrelerinin ise toplam flavonoid (27,64±1,01 ve 29,77±0,10 µg kersetin/mg ekstre) miktarlarının toplam fenolik (8,22±0,57 ve 21,56±0,20 µg piroktekol/mg ekstre) miktarlardan daha yüksek olduğu ve en yüksek toplam fenolik ve flavonoid miktarının Diyarbakır'dan toplanan *T. multicaule* bitkisinin kök (TMDK) ekstresinde olduğu tespit edildi.

Chabane ve ark.' nın yapmış olduğu çalışmada bizim sonuçlarımıza ters bir şekilde *T. polium* bitkisinin toprak üstü metanol ekstresinin toplam fenolik içeriği (86,63±0,03 mg gallik asit/g ekstre) toplam flavonoid içeriğinden (24,43±0,01 mg kersetin/g ekstre) daha yüksek bulunmuştur (91). El Atki ve ark. tarafından *T. polium* bitkisinin toprak üstü metanol ekstresiyle yapılmış olan çalışma sonucunda toplam fenolik içeriğinin (109,26 mg gallik asit/g ekstre) toplam flavonoid içeriğinden (102,99 ± 2,35 mg rutin/g ekstre) fazla olduğu gözlemlenmiştir (92). Bendjabeur ve ark. yapmış olduğu çalışmada *T. polium*'un çiçeklenme dönemindeki toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinin toplam fenolik içeriğini (108,60 ± 1,62 mg gallik asit/g ekstre); toplam flavonid içeriği ise (25,33 ± 0,29 mg kesretin/g ekstre) olarak bulmuştur. *T. polium* bitkilerinin toprak üstü kısımlarının toplam fenolik içerikleri toplam flavanoid içeriklerinden fazla olduğu belirlenmiştir (93). Kaska ve ark. *T. sandrasicum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının etanol ekstresiyle yapmış olduğu

çalışmada toplam fenolik içerik (107,94±0,59 mg gallik asit/g ekstre), toplam flavonoid içeriğinden (51,61±0,56 mg kersetin/g ekstre) yüksek bulmuşlardır (94). Suvari'nin *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinin etanol ekstreleriyle yapmış olduğu çalışma sonucu bizim çalışmamıza benzer şekilde *T. polium* kök ekstresi toplam fenolik içeriği (49,89±1,36 µg piroktekol/mg ekstre) toplam flavonoid içeriğinden (43,54±1,85 kersetin/mg ekstre) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerininin toprak üsütü ekstrelerininin toplam flavonoid miktarlarının (41,17±1,42 ve 35,94±0,82 kersetin/mg ekstre) toplam fenolik miktarlarından (17,11±0.00 ve 27,67±0,36 µg piroktekol/mg ekstre) fazla olduğu bulunmuştur (95).

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin hazırlanan etanol ekstreleri incelendiğinde *T. multicaule* kök ekstresinin en yüksek DPPH serbest radikal giderim aktivite (IC_{50}= 41,74±0,13µg/mL) gösterdiği belirlendi. Hem Diyarbakır hem de Batman'da toplanan *T. multicaule* kök ekstrelerinin toprak üstü ekstrelerinden daha yüksek DPPH serbest radikal giderim aktivitesi gösterdiği ve en düşük aktiviteyi Diyarbakır'da toplanan bitkinin toprak üstü ekstresinin (IC_{50}= 176,53±0,10 µg/mL) gösterdiği belirlendi. Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresinin standart olarak kullanılan BHT'den (IC_{50}= 58,86±0,50µg/mL) daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Tüm bu sonuçlar Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleriyle uyumludur. En yüksek toplam fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olan Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresinin en iyi aktivite, en düşük toplam fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olan Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* topraküstü ekstresinin en az aktivite gösterdiği belirlendi.

Kaska ve ark. *T. sandrasicum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinin DPPH serbest radikal giderim değeri (IC_{50}= 122,60±1,35 µg/mL) Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* bitkinsinin toprak üstü etanol ekstresinin (IC_{50}= 176,53±0,10 µg/mL) değeriyle benzer ve standart olarak kullanılan BHT'den daha düşük aktivite göstermiştir (94). Suvari'nin *T. parviflorum* ve *T. polium* etanol ekstreleriyle yapmış olduğu DPPH aktivite sonuçları bizim çalışmamızla benzerlik göstererek *T. polium* kök ekstresinin (IC_{50}= 33,72±0,05 µg/mL) değeri en yüksek aktivite gösterdiği, *T.*

parviflorum (IC_{50}= 133,49±1,64 μg/mL) toprak üstü ekstresinin düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir (95). El Atki ve ark.'nın *T. polium* ve *T. aurum* bitkilerinin toprak üstü metanol ve etanol ekstreleriyle yapmış olduğu DPPH serbest radikal giderim aktivite sonuçları metanol ekstresi için sırasıyla (IC_{50}=0,40±0,03 mg/mL ve 0,49±0,009 mg/mL), etanol için sırasıyla (0,41±0,031 mg/mL ve 0,53±0,035 mg/mL) dir. Metanol ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi etanol ekstresinden daha fazladır ve çalışmamıza benzer şekilde toprak üstü ekstrelerin standart olarak kullanılan BHT'den daha düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir (92). Bendjabeur ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. polium*'un çiçeklenme dönemindeki toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (IC_{50}=47,45±0,29 μg/mL), incelendiğinde bizim çalışmamızdaki Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* toprak üstü ekstresinin (IC_{50}= 176,53±0,10 μg/mL ve 79,98±0,94 μg/mL) değerlerinden farklıdır (93).

En yüksek ABTS katyon radikal giderim aktivitesini Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* kök etanol ekstresinin (IC_{50}= 16,61±1,15 μg/mL) gösterdiği, en düşük aktiviteyi de Diyarbakır'da toplanan bitkinin toprak üstü ekstresinin (IC_{50}= 41,83±1,80 μg/mL) gösterdiği belirlendi. Hem Diyarbakır hem de Batman'dan toplanan *T. multicaule* kök ekstrelerinin toprak üstü ekstrelerinin daha yüksek ABTS katyon radikal giderim aktivitesi gösterdiği gözlemlendi. Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* kök ekstrelerinin standart olarak kullanılan BHA'dan (IC_{50}= 17,59±0,10μg/mL) daha yüksek aktivite gösterdikleri belirlendi. Tüm bu sonuçlar Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleriyle uyumludur. En yüksek toplam fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olan Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresinin en iyi aktivite, en düşük toplam fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olan Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* toprak üstü ekstresinin en az aktivite gösterdiği belirlendi. Suvari'nin *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinin etanol ekstresiyle yapmış olduğu çalışmada ABTS katyon radikal giderim aktivitesi sonuçları bizim çalışmamızla benzerlik göstererek *T. polium* kök ekstresinin (IC_{50}= 15,01±0,10 μg/mL) değeri en yüksek aktivite gösterdiği, *T. parviflorum* (IC_{50}= 24,54±0,45 μg/mL) toprak üstü ekstresinin düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir (95). Bendjabeur ve ark. yapmış olduğu ABTS

katyon radikal giderim aktivitesi çalışmasında, *T. polium*'un çiçeklenme dönemindeki toprak üstü kısımlarının etanol ekstrelerinin sonucu (IC_{50}=16,36 ± 0,54 μg/mL) incelendiğinde bizim çalışmamızda Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* toprak üstü ekstresinin (IC_{50}= 41,83±1,80 μg/mL ve 25,72±0,28 μg/mL) değerlerinden farklıdır (93). Mazhangara ve ark. *T. trifidum* bitkisinin etanol ekstresiyle yapmış olduğu ABTS katyon radikal giderim aktivitesi (IC_{50}=0,067 mg/mL) standart olarak kullanılan BHT'den ve bizim çalışmamıza göre daha düşük aktivite göstermiştir (44).

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* etanol ekstreleri hiçbir ekstre metal kelat aktivitesi göstermedi. Kaska ve ark. yapmış olduğu çalışmada *T. sandrasicum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının etanol ekstraktlarının metal şelatlama kabiliyeti demir-ferrozin kompleksi ölçülerek belirlendi ve etanol ekstraktının (%55,85±4,22) metal kelat aktivitesi sergilediği gösterildi. Bu çalışmada standart olarak EDTA kullanılmıştır (94). Suvari'nin yapmış olduğu çalışmada *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinin etanol ekstreleri metal kelat aktivitesi göstermemiş olup bizim çalışmamızla benzerdir (95).

Batman'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresinin CUPRAC yöntemine göre en yüksek aktivite ($A_{0,5}$: 20,29±0,04 μg/mL) gösterdiği ve en düşük aktiviteyi Diyarbakır'da toplanan bitkinin toprak üstü ekstresinin ($A_{0,5}$: 90,91±0,03 μg/mL) gösterdiği belirlendi. Hem Diyarbakır hem de Batman'da toplanan *T. multicaule* kök ekstrelerinin toprak üstü ekstrelerinden daha yüksek CUPRAC aktivitesi gösterdiği belirlendi. Tüm bu sonuçlar Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleriyle genel olarak uyumludur. Suvari'nin *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinin etanol ekstresiyle yaptığı CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivite çalışma sonuçlarına göre *T. polium* kök ekstresinin ($A_{0,5}$: 16,82±0,02 μg/mL) en yüksek aktivite gösterdiği, *T. parviflorum* ($A_{0,5}$: 56,75±0,02 μg/mL) toprak üstü ekstresinin düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Kök ekstrelerinin toprak üstü ekstrelerinden daha yüksek CUPRAC aktivitesi gösterdiği belirlenmiş olup bizim çalışma sonucumuzla benzerlik göstemektedir (95). Bendjabeur ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. polium*'un çiçeklenme dönemindeki toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinin CUPRAC aktivitesi sonucu ($A_{0,5}$: 13,59 ± 0,87 μg/mL) incelendiğinde bizim çalışmamıza göre

toprak üstü kısımlarının daha yüksek ve standart olarak kullanılan BHT' den daha düşük CUPRAC aktivitesi gösterdiği gözlemlenmiştir (93).

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ikincil metabolitlerdir. Bu bileşikler, antioksidan aktiviteleri ve serbest radikalleri temizleme yetenekleri nedeniyle önemlidir (93). Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin kök ekstrelerinin yüksek antioksidan ve antiradikal aktivitesi köklerdeki toplam fenolik miktarın yüksek olmasıyla ilgili olabileceği sonucuna varıldı.

AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyonuna dayanarak *T. multicaule* bitkilerinden hazırlanan etanol ekstrelerine bakıldığında hiçbir ekstrenin AChE enzim inhibisyonu aktivitesinin olmadığı, bunun aksine bütün ekstrelerin orta-zayıf derecede BChE enzimini inhibe ettiği tespit edildi. En yüksek bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesini Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresinin (%İnhibisyon= 61,96±1,72) gösterdiği ancak bu değerinde standart olarak kullanılan galantaminden (%İnhibisyon= %88,65±0,99) daha az olduğu belirlendi. Hem Diyarbakır hem de Batman'da toplanan *T. multicaule* kök ekstrelerinin toprak üstü ekstrelerinden daha yüksek bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlendi. Bendjabeur ve ark. *T. polium*'un etanol ekstresini kullanarak yapmış olduğu çalışmada AChE ve BChE enzim inhibisyonu aktivitelerinin olmadığı belirlenmiş. Bu çalışma ekstrelerin AChE enzim inhibisyonu aktivitesinin olmaması açısından bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir (93). Golfakhrabadi ve ark. yapmış olduğu çalışmada *T. hyrcanicum* metanol ekstraktının AChE inhibe edici aktivitesi, IC_{50}=2,12 mg/mL olarak bulunmuş ve bu değer oldukça düşük bir değerdir (96). Suvari' nin yapmış olduğu çalışma bizim çalışmamızla benzerlik göstererek *T. parviflorum* ve *T. polium* bitkilerinin etanol ekstreleri AChE enzim inhibisyonu aktivitesi göstermemiş olup, BChE enzim inhibisyonu aktivitesi gösterdiği ancak standart olarak kullanılan galantaminden daha az olduğu belirlenmiştir (95).

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin uçucu yağlarının analizi GC-MS cihazı ile yapıldı. Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* uçucu yağları sırasıyla %99,8 ve %98,8 oranında aydınlatıldı. Diyarbakır'dan toplanan *T. multicaule* bitkisinde toplam 18 bileşen tespit edilmiş olup major bileşenleri germakren D (%45,4), β-karyofilen (%15,4), 1-okten-3-ol (%12,1) ve bisiklogermakren (%9,5) bileşikleridir. Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkisinde

toplam 13 bileşen tespit edilmiş olup major bileşenleri germakren D (%54,7), β-karyofilen (%19,2) ve bisiklogermakren (%11,3) olduğu tespit edildi. Hayta ve ark. *T. multicaule* bitkisinin uçucu yağlarını GC-MS cihazı ile analiz etmişler bileşimleri %82,4 oranında aydınlatmışlar. Major bileşen olarak karyofilen oksit (%31,1), α-terpineol (%10,7), spathulenol (%7,6) olarak bulunmuştur (28). 2010 yılında Yazgın tarafından yapılan çalşmada *T. multicaule* karyofillen oksit (%32,1), timol (%14,2), α-terpineol (%11,7), spathulenol (%8,6) major bileşiktir (17). Polat ve ark. Erzincan'da *T. multicaule* ile yapmış olduğu çalışma sonucunda germacrene D (%13,2), caryophyllene oxide (%10,9), spathulenol (%6,6), β -caryophyllene (%5,6) yüksek oranda bulmuşlar (29). Bizim çalışmamızla uyumlu olarak yapılan çalışmalar seskiterpenlerin ana bileşik olarak bulunduğunu göstermiştir.

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin LC-HRMS analiz sonucu incelendiğinde toprak üstü ekstrelerinde en çok bulunan bileşikler sırasıyla verbaskozit (3383±121,79ve 3872±139,39 μg/g ekstre) ve (-)-epigallokateşingallat (2166±58,48 ve 1791±48,36 μg/g ekstre) bileşikleridir. Üçüncü olarak en çok bulunan bileşik Diyarbakırda toplanan tür için hiperozit (1275±38,25μg/g ekstre), Batman'da toplanan tür için hederagenin (1540±141,68μg/g ekstre) bileşikleridir.

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin LC-HRMS analiz sonucu incelendiğinde kök ekstrelerinde en çok bulunan bileşikler sırasıyla (-)-epigallokateşingallat (3981±107,49 ve 2310±62,37 μg/g ekstre), verbaskozit (3961±142,60 ve 1982±71,35 μg/g ekstre). Üçüncü olarak en çok bulunan bileşik Diyarbakırda toplanan tür için kuillaik asit (3109±93,27μg/g ekstre), Batman'da toplanan tür için hederagenin (939±86,39 μg/g ekstre) bileşikleridir. Suvari'nin *T. polium* kök ekstresiyle yapmış olduğu LC-MS/MS analiz sonucuna göre de (-)-epigallokateşingallat ve verbaskozit en çok bulunan bileşik olarak tespit edilmiş olup *T. multicaule* bitkilerinin kök ekstrelerinin analiz sonucuyla benzerlik göstermektedir. *T. parviflorum* bitkisinin toprak üstü ekstreleriyle yapılan çalışma sonucunda hesperidin, (-)-epigallokateşingallat ve verbaskozit en çok bulunan bileşik iken *T. polium* toprak üstü ekstresinde naringenin, apigenin-7-glukozit ve (-)-epigallokateşingallat en çok bulunan bileşiklerdir. *T. multicaule* bitkilerinin toprak üstü kısımlarıyla yapılan çalışma sonuçlarına göre en çok bulunan bileşik miktarlarının

sıralamasında farklılık olmasına karşın (-)-epigallokateşingallat yüksek oranda bulunan bileşiklerdendir (95).

Milošević-Djordjević ve ark. tarafından Sırbistan bölgesinden toplanan *T. polium* ve *T. scordium* bitkilerinin toprak üstü kısımlarının metanol ekstresiyle yapılan HPLC analizinde *T.polium* fenolik asit içeriğini en çok klorojenik asit (90,00±0,24082 μg/g ekstre), p-kumarik asit (30,00±0,6 μg/g ekstre), gallikasit (8,1±0,2 μg/g ekstre) oluştururken; *T. scordium* bitkisinin içeriğini ise vanilik asit (501,1±0,6 μg/g ekstre), p-kumarik asit (111,5±0,1μg/g ekstre), sinapinik asit (26,9± 0,2 μg/g ekstre) oluşturmuştur (31). Kaska ve ark. *T. sandrasicum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının etanol ekstrelerinin HPLC analizi sonucu kafeik asit (22727,28±5,06 μg/g ekstre), rutin (3392,28±1,06 μg/g ekstre), kuersetin (2893,08±0,02 μg/g ekstre) en yüksek oranda bulunan üç bileşik olmakla birlikte bizim çalışmamızdan farklıdır (94).

7. SONUÇ

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin toprak üstü ve kök etanol ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri DPPH serbest ve ABTS katyon radikali giderimi, metal kelat aktivitesi ve CUPRAC aktivitesi yöntemleri ile belirlendi. Ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi ve antialzheimer aktivitesi Ellman yöntemi ile belirlendi. Bitkilerin uçucu yağ ve fenolik içerikleri sırasıyla GC-MS ve LC-HRMS cihazları ile ilk defa çalışıldı. En yüksek toplam fenolik ve flavonoid miktarının Diyarbakır'dan toplanan *T. multicaule* bitkisinin kök (TMDK) ekstresinde olduğu tespit edildi.

DPPH aktivitesi en yüksek TMDK ekstresi olup en düşük aktiviteyi TMDTÜ ekstresinin gösterdiği belirlendi. Ayrıca TMDK ekstresinin BHT'den daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edildi. ABTS aktivite yöntemine göre en yüksek aktiviteyi TMDK ekstresi göstermiş ve ekstrenin standart olarak kullanılan BHA' dan daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin hiçbiri metal kelat aktivitesi göstermedi. TMBK ekstresinin CUPRAC yöntemine göre en yüksek aktivite gösterdiği ve en düşük aktiviteyi TMDTÜ ekstresinin gösterdiği belirlendi. En yüksek bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesini TMDK ekstresinin gösterdiği ancak ekstrelerin hiçbirinin asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi göstermediği belirlendi.

Uçucu yağlarının analizi GC-MS cihazı ile yapıldı. Diyarbakır'dan toplanan *T. multicaule* bitkisinde yüksek oranda bulunan bileşenler germakren D (%45,4), β-karyofilen (%15,4) ve 1-okten-3-ol (%12,1), Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkisinde yüksek oranda bulunan bileşenler ise germakren D (%54,7), β-karyofilen (%19,2) ve bisiklogermakren (%11,3) olarak tespit edildi.

Diyarbakır ve Batman'dan toplanan *T. multicaule* bitkilerinin LC-HRMS analiz sonucu incelendiğinde toprak üstü ekstrelerinde en çok bulunan bileşikler sırasıyla verbaskozit (3383±121,79 ve 3872±139,39 μg/g ekstre) ve (-)-epigallokateşingallat (2166±58.48 ve 1791±48.36 μg/g ekstre) olduğu, kök ekstreleri için en çok bulunan

bileşikler sırasıyla (-)-epigallokateşingallat (3981±107.49 ve 2310±62,37 μg/g ekstre), verbaskozit (3961±142,60 ve 1982±71,35 μg/g ekstre) olduğu tespit edildi.

Diyarbakır'da toplanan *T. multicaule* kök ekstresinin yüksek antioksidan potansiyelinin fenolik ve flavonoid içeriğinin yüksek olmasından kaynaklandığı sonucuna varıldı.

8. KAYNAKLAR

1. Sim LY, Abd Rani NZ, Husain K. Lamiaceae: An Insight on Their Anti-allergic Potential and Its Mechanisms of Action. Front Pharmacol. 2019; 10: 677.

2. Jaradat NA, Ayesh OI, Anderson C. Ethnopharmacological Survey about Medicinal Plants Utilized by Herbalists and Traditional Practitioner Healers for Treatments of Diarrhea in the West Bank/Palestine. J Ethnopharmacol. 2016; 182: 57-66.

3. Uritu CM, Mihai CT, Stanciu GD, Dodi G, Alexa-Stratulat T, Luca A, Leon-Constantin MM, Stefanescu R, Bild V, Melnic S, Tamba BI. Medicinal Plants of The Family Lamiaceae in Pain Therapy: A Review. Pain Res Manag. 2018; 2018: 7801543.

4. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. Cell Physiol Biochem. 2017; 44(2): 532-553.

5. Singh A, Kukreti R, Saso L, Kukreti S. Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. Molecules. 2019; 24(8): 1583.

6. Kan Yeung AW, Tzvetkov NT, El-Tawil OS, Bungău SG, Abdel-Daim MM, Atanasov AG. Antioxidants: Scientific Literature Landscape Analysis. Oxid Med Cell Longev. 2019; 2019: 8278454.

7. Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson DG, Lightfoot DA. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds From Plant Extracts. Plants (Basel). 2017; 6(4): 42.

8. Silva MVF, Loures CMG, Alves LCV, de Souza LC, Borges KBG, Carvalho MDG. Alzheimer's Disease: Risk Factors and Potentially Protective Measures. J Biomed Sci. 2019; 26: 33.

9. Weller J, Budson A. Current Understanding of Alzheimer's Disease Diagnosis and Treatment. F1000Res. 2018; 7: F1000 Faculty Rev-1161.

10. Karpiński TM. Essential Oils of Lamiaceae Family Plants as Antifungals. Biomolecules. 2020; 10(1): 103.

11. Raja RR. Medicinally Potential Plants of Labiatae (Lamiaceae) Family: An Overview. J Med Plant Res. 2012; 6: 203–213.

12. Kala CP. Ethnomedicinal Botany of the Apatani in the Eastern Himalayan Region of India. J Ethnobiol Ethnomed. 2005; 1: 11.

13. Karakaya S, Polat A, Aksakal Ö, Sümbüllü YZ, İncekara Ü. Ethnobotanical Study of Medicinal Plants in Aziziye District (Erzurum, Turkey). Turk J Pharm Sci. 2020; 17(2): 211–220.

14. Celep F, Dirmenci T. Systematic and Biogeographic Overview of Lamiaceae in Turkey. Nat Volatiles & Essent Oils. 2017; 4: 14-27.

15. Candela RG, Rosselli S, Bruno M, Fontana G. A Review of the Phytochemistry, Traditional Uses and Biological Activities of The Essential Oils of Genus *Teucrium*. Planta Med. 2021; 87(06): 432-479.

16. Ecevit Genç G, Özcan T, Dirmenci T. Leaf Indumentum in Some Turkish Species of *Teucrium* (Lamiaceae). Istanbul J Pharm. 2018; 48(1): 6-11.

17. Yazgın A. Bazı *Teucrium* L. (Lamiaceae) Türlerinin Kemotaksonomik Yönden Araştırılması. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2010, Elazığ (Danışman: Doç. Dr. Eyüp BAĞCI).

18. Özcan T. *Teucrium* L. (Lamiaceae) Cinsinin Revizyonu. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2015, Balıkesir (Danışman: Doç. Dr. Tuncay DİRMENCİ)

19. Charters ML. California Plant Names: Latin and Greek Meanings and Derivations. A Dictionary of Botanical and Biographical Etymology. http://www.calflora.net/botanicalnames/botanicalnames.html. Erişim tarihi: 10 Kasım 2021.

20. Küçükbay FZ, Yıldız, Kuyumcu E, Gunal S. Chemical Composition and Antimicrobial Activities of The Essential Oils of *Teucrium orientale* var.

orientale and *Teucrium orientale* var. *puberulens*. Chem Nat Compd. 2011; 47: 547-913.

21. Tunçtürk R, Tunçtürk M, Eryiğit T. Van Florasında Yayılış Gösteren *Teucrium* Cinsine Ait Bazı Türlerin Kimyasal İçerikleri. KSU J Agric Nat. 2019; 22(1): 138-142.

22. Bahramikia S, Yazdanparast R. Phytochemistry and Medicinal Properties of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae). Phytother Res. 2012; 26: 1581-1593.

23. Ruiters AK, Tilney PM, Van Vuuren SF, Viljoen AM, Kamatou GPP, Van Wyk BE. The Anatomy, Ethnobotany, Antimicrobial Activity and Essential Oil Composition of Southern African Species of *Teucrium* (Lamiaceae). S Afr J Bot. 2016; 102: 175-185.

24. Erbay MŞ, Sarı A. Plants Used in Traditional Treatment Against Hemorrhoids in Turkey. Marmara Pharm J. 2018; 22: 110-132.

25. Kaya A, Demirci B, Dinç M, Doğu S, Baser HC. Compositions of the Essential Oils of *Teucrium cavernarum* and *Teucrium paederotoides*, Two Endemic Species from Turkey. J Essent Oil Bear Pl. 2013; 16: 588-594.

26. Safaa B, Chalak L, Dalleh H, Arnold N. Ethnopharmacological Survey of Medicinal Plants Used in Traditional Medicine by The Communities of Mount Hermon, Lebanon. J Ethnopharmacol. 2015; 173: 139-156.

27. Redžić SS. The Ecological Aspect of Ethnobotany and Ethnopharmacology of Population in Bosnia and Herzegovina. Coll Antropol. 2007; 31: 869-890

28. Hayta S, Yazgin A, Bagci E. Constituents of The Volatile Oils of Two *Teucrium* Species from Turkey. Bitlis Eren Univ J Sci Technol. 2017; 7: 140-144

29. Polat T, Özer H, Öztürk E, Çakir A, Kandemir A, Demir Y. Chemical Composition of the Essential Oil of *Teucrium multicaule* Montbret et Aucher ex Bentham from Turkey. J Essent Oil Res. 2010; 22: 443-445.

30. Avni H, Behxhet M, Lirie H, Ani B, Genista M, Cassandra LQ, Dashnor N. Phytochemical Study of Eight Medicinal Plants Of The Lamiaceae Family Traditionally Used as Tea in the Sharri Mountains Region of the Balkans. Sci World J. 2020; 2020: 4182064.

31. Milošević-Djordjević O, RadovićJakovljević M, Marković A, Stanković M, Ćirić A, Marinković D, Grujičić D. Polyphenolic Contents of *Teucrium polium* L. and *Teucrium scordium* L. Associated with Their Protective Effects Against MMC-induced Chromosomal Damage in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes. Turk J Biol. 2018; 42(2): 152-162.

32. Frezza C, Venditti A, Matrone G, Serafini I, Foddai S, Bianco A, Serafini M. Iridoid Glycosides and Polyphenolic Compounds from *Teucrium chamaedrys*. Nat Prod Res. 2018; 32(13):1583-1589.

33. Nur-E-Alam M, Yousaf M, Ahmed S, Al-Sheddi ES, Parveen I, Fazakerley DM, Bari A, Ghabbour HA, Threadgill MD, Whatley KCL, Hoffmann KF, Al-Rehaily AJ. Neoclerodane Diterpenoids from Reehal Fatima, *Teucrium yemense*. J Nat Prod. 2017; 80(6): 1900-1908.

34. Aydoğan F, Anouar E.H, Aygün M, Yusufoğlu H, Karaalp C, Bedir E, An Unprecedented Diterpene with Three New Neo Clerodanes From *Teucrium sandrasicum* O. Schwarz. J Mol Struct. 2021; 1231: 129919.

35. Özek G, Özek T, Dinç M, Doğu S, Başer KHC. Chemical Diversity of Volatiles of *Teucrium orientale* L. var. *orientale*, var. *puberulens*, and var. *glabrescens* Determined by Simultaneous GC-FID and GC/MS Techniques. Chem Biodivers. 2012; 9: 1144-1154.

36. Benali T, Habbadi K, Bouyahya A, Khabbach A, Marmouzi I, Aanniz T, Chtibi H, Mrabti HN, Achbani EH, Hammani K. Phytochemical Analysis and Study of Antioxidant, Anticandidal and Antibacterial Activities of *Teucrium polium* subsp. *polium* and *Micromeria graeca* (Lamiaceae) Essential Oils from Northern Morocco. Evid Based Complement Alternat Med. 2021: 6641720.

37. Maccioni A, Falconieri D, Porcedda S, Piras A, Gonçalves MJ, Alves-Silva JM, Salgueiro L, Maxia A. Antifungal Activity and Chemical Composition of

the Essential Oil from The Aerial Parts of Two New *Teucrium capitatum* L. chemotypes from Sardinia Island, Italy. Nat Prod Res. 2021: 35(24); 6007-6013.

38. Bassalat N, Taş S, Jaradat N. *Teucrium leucocladum*: An Effective Tool for The Treatment of Hyperglycemia, Hyperlipidemia, and Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Evid Based Complement Alternat Med. 2020: 2020; 3272103.

39. Sheikhbahaei F, Khazaei M, Noureddin Nematollahi-Mahani SN. *Teucrium polium* Extract Enhances The Anti-Angiogenesis Affect of Tranilast on Human Umbilical Vein Endothelial Cells. Adv Pharm Bull. 2018; 8(1): 131-139.

40. Mahmoudabady M, Talebian F.S, Zabihi NA, Rezaee SA, Niazmand S. *Teucrium polium* L. Improved Heart Function and Inhibited Myocardial Apoptosis in Isolated Rat Heart Following Ischemia-Reperfusion Injury. J Pharmacopuncture. 2018; 21(3): 159-167.

41. Sharma NK. Modulation of Radiation-Induced and Mitomycin C-Induced Chromosome Damage by Apigenin in Human Lymphocytes In Vitro. J Radiat Res. 2013; 54: 789-797.

42. Djabou N, Lorenzi V, Guinoiseau E, Andreani S, Giuliani MC, Desjobert JM, Bolla JM, Costa J, Berti L, Luciani A, Muselli A. Phytochemical Composition of Corsican *Teucrium* Essential Oils and Antibacterial Activity Against Foodborne or Toxi-Infectious Pathogens. Food Control. 2013; 30: 354-363.

43. Guesmi F, Tyagi AK, Prasad S, Landoulsi A. Terpenes from Essential Oils and Hydrolate of *Teucrium alopecurus* Triggered Apoptotic Events Dependent on Caspases Activation and PARP Cleavage in Human Colon Cancer Cells Through Decreased Protein Expressions. Oncotarget. 2018; 9(64): 32305-32320.

44. Mazhangara IR, Idamokoro EM, Chivandi E, Afolayanb AJ. Phytochemical Screening and In Vitro Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of *Teucrium trifidum* Crude Extracts. Heliyon. 2020; 6(9): e04395.

45. Amraei M, Ghorbani A, Seifinejad Y, Mousavi SF, Mohamadpour M, Shirzadpour E. The Effect of Hydroalcoholic Extract of *Teucrium polium* L. on The Inflammatory Markers and Lipid Profile in Hypercholesterolemic Rat. J Inflamm Res. 2018; 11: 265-272.

46. Özel Ş, Süntar İ, Gökay NE, Türkmenoğlu TT, Demirel MA, The Effectiveness of *Teucrium chamaedrys* L. Extracts on Endometriotic Implant Regression in Rat Endometriosis Model. Vet Res Forum. 2020; 11(4): 305-309.

47. Gupta OP, Karkute SG, Banerjee S, Meena NL, Dahuja A. Contemporary Understanding of mRNA-based Regulation of Secondary Metabolites Biosynthesis in Plants. Front Plant Sci. 2017; 8: 374.

48. Yang L, Wen KS, Ruan X, Zhao YX, Wei F, Wang Q. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. Molecules. 2018; 23(4): 762.

49. Seca AML, Pinto DCGA. Plant Secondary Metabolites as Anticancer Aents: Successes in Clinical Trials and Therapeutic Application. Int J Mol Sci. 2018; 19(1): 263.

50. Li Y, Kong D, Fu Y, Sussman MR, Wu H. The Effect of Developmental and Environmental Factors on Secondary Metabolites in Medicinal Plants. Plant Physiol Biochem. 2020; 148: 80-89.

51. Oskay D, Oskay M. Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoteknolojik Önemi. Ecol Life Sci. 2009; 4 (2): 31-41.

52. Aygül A. Terpenler ve Fenolikler Grubundan Doğal Kaynaklı Bazı Bileşiklerin *Proteus mirabilis* Üzerine Antibakteriyel ve Anti-Virülans Etkinliklerinin Araştırılması. Tübitak Projesi (Proje No: 216S357), 2018, İzmir (Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Şafak ERMERTCAN)

53. Chiocchio I, Mandrone M, Tomasi P, Marincich L, Poli F. Plant Secondary Metabolites: An Opportunity for Circular Economy. Molecules. 2021; 26(2): 495.

54. Koca N. Ekzojen Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin ve Fenilalaninin Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) Bitkisinde Sekonder Metabolitlere ve Fenilalanin Amonyum Liyaz (Pal) Enzim Aktivitesine Etkisi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, 2013, Kahramanmaraş (Danışman: Prof. Dr. Şengül KARAMAN)

55. Huang AC, Osbourn A. Plant Terpenes That Mediate Below-Ground Interactions: Prospects for Bioengineering Terpenoids for Plant Protection. Pest Manag Sci. 2019; 75(9): 2368-2377.

56. Cappiello F, Loffredo MR, Del Plato C, Cammarone S, Casciaro B, Quaglio D, Mangoni ML, Botta B, Ghirga F. The Revaluation of Plant-Derived Terpenes to Fight Antibiotic-Resistant Infections. Antibiotics (Basel). 2020; 9(6): 325.

57. Salehi B, Mishra AP, Shukla I, Sharifi-Rad M, Contreras MDM, Segura-Carretero A, Sharifi-Rad J. Thymol, Thyme, and Other Plant Sources: Health and Potential Uses. Phytother Res. 2018; 32: 1688-1706.

58. Piozzi F, Bruno M, Ciriminna R, Fazio C, Vassallo N, Arnold NA, de la Torre MC, Rodriguez B. Putative Hepatotoxic Neoclerodane Diterpenoids from *Teucrium* Species. Planta Med. 1997; 63(5): 483-4.

59. Miklavčič Višnjevec A, Schwarzkopf M. Phenolic Compounds in Poorly Represented Mediterranean Plants in Istria: Health Impacts and Food Authentication. Molecules. 2020; 25(16): 3645.

60. Sharma A, Shahzad B, Rehman A, Bhardwaj R, Landi M, Zheng B. Response of Phenylpropanoid Pathway and The Role of Polyphenols in Plants Under Abiotic Stres. Molecules. 2019; 24(13): 2452.

61. Turan E. Sarı Ulak Tarsus Zeytini ve Siyah Çaydan Elde Edilen Fenolik Ekstraktların Antioksidan Etkilerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2005, Adana (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Türkan KEÇELİ).

62. Bounegru AV, Apetrei C. Laccase and Tyrosinase Biosensors Used in The Determination of Hydroxycinnamic Acids. Int J Mol Sci. 2021; 22(9): 4811.

63. Durazzo A, Lucarini M, Souto EB, Cicala C, Caiazzo E, Izzo AA, Novellino E, Santini A. Polyphenols: A Concise Overview on The Chemistry, Occurrence, and Human Health. Phytother Res. 2019; 33: 2221-2243.

64. Kopustinskiene DM, Jakstas V, Savickas A, Bernatoniene J. Flavonoids as Anticancer Agents. Nutrients. 2020; 12(2): 457.

65. Di Meo S, Venditti P. Evolution of The Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. Oxid Med Cell Longev. 2020; 2020: 9829176.

66. Oliveira THB, Gusmão NB, Silva LAOD, Coelho LCBB. Free Radicals and Actinobacteria as A Misexplored Goldmine of Antioxidant Compounds. An Acad Bras Cienc 2021; 93(3): 20201925.

67. Gupta N, Verma K, Nalla S, Kulshreshtha A, Lall R, Prasad S. Free Radicals as A Double-Edged Sword: The Cancer Preventive and Therapeutic Roles of Curcumin. Molecules. 2020; 25(22): 5390.

68. Meng S, Chanda P, Thandavarayan RA, Cooke JP. Transflammation: How Innate Immune Activation and Free Radicals Drive Nuclear Reprogramming. Antioxid Redox Signal. 2018; 29(2): 205-218.

69. Yang S, Lian G. ROS and Diseases: Role in Metabolism and Energy Supply. Mol Cell Biochem. 2020; 467(1-2): 1-12.

70. Nakai K, Tsuruta D. What Are Reactive Oxygen Species, Free Radicals, and Oxidative Stress in Skin Diseases? Int J Mol Sci. 2021; 22(19): 10799.

71. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. Molecules. 2010; 15(10): 7313–7352.

72. Şen M. Üvez Meyvalarının Antioksidan Aktivitesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2011, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ).

73. Flieger J, Flieger W, Baj J, Maciejewski R. Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness For The Synthesis of Nanoparticles. Materials (Basel). 2021; 14(15): 4135.

74. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P. Oxidative Stress, Aging, and Diseases. Clin Interv Aging. 2018; 13: 757-772.

75. Rabbito A, Dulewicz M, Kulczyńska-Przybik A, Mroczko B. Biochemical Markers in Alzheimer's Disease. Int J Mol Sci. 2020; 21(6): 1989.

76. Agarwal M, Khan S. Plasma Lipids as Biomarkers for Alzheimer's Disease: A Systematic Review. Cureus. 2020; 12(12): e12008.

77. Sheppard O, Coleman M. Alzheimer's Disease: Etiology, Neuropathology and Pathogenesis. In: Huang X, ed. Alzheimer's Disease: Drug Discovery. Brisbane: Exon Publications; 2020, p:1-22.

78. Marucci G, Buccioni M, Ben DD, Lambertucci C, Volpini R, Amenta F. Efficacy of Acetylcholinesterase Inhibitors in Alzheimer's Disease. Neuropharmacology. 2021; 190: 108352.

79. Scheiner M, Dolles D, Gunesch S, Hoffmann M, Nabissi M, Marinelli O, Naldi M, Bartolini M, Petralla S, Poeta E, Monti B, Falkeis C, Vieth M, Hübner H, Gmeiner P, Maitra R, Maurice T, Decker M. Dual-Acting Cholinesterase-Human Cannabinoid Receptor 2 Ligands Show Pronounced Neuroprotection In Vitro and Overadditive and Disease-Modifying Neuroprotective Effects In Vivo. J Med Chem. 2019; 62(20): 9078-9102.

80. Raina P, Santaguida P, Ismaila A, Patterson C, Cowan D, Levine M. Effectiveness of Cholinesterase Inhibitors and Memantine for Treating Dementia: Evidence Review for A Clinical Practice Guideline. Ann Intern Med. 2008; 148(5): 379-397.

81. Sharma K. Cholinesterase Inhibitors as Alzheimer's Therapeutics. Mol Med Rep. 2019; 20(2): 1479-1487.

82. Huang LK, Chao SP, Hu CJ. Clinical Trials of New Drugs for Alzheimer Disease. J Biomed Sci. 2020; 27: 18.

83. Slinkard K, Singleton VL. Total Phenol Analyses: Automation and Comparison with Manual Methods. Am J Enol Vitic. 1977; 28: 49-55.

84. Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattueno MA. Comparison of The Free Radicals Cavenging Activity of Propolis from Several Regions of Argentina. J Ethnopharmacol. 2000; 71: 109-114.

85. Blois MS. Antioxidant Determinations by The Use of A Stable Free Radical. Nature. 1958; 181: 1199-1200.

86. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. Free Radic Biol Med. 1999; 26: 1231-1237.

87. Kolak U, Öztürk M, Özgökçe F, Ulubelen A. Norditerpene Alkaloids from *Delphinium linearilobum* and Antioxidant Activity. Phytochem. 2006; 67: 2170-2175.

88. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. Novel Total Antioxidant Capacity İndex for Diet Arypoly Phenols and Vitamin C and E, Using Their Cupricion Reducing Capability in The Presence Of Neocuproine: CUPRAC Method. Agric Food Chem. 2004; 52: 7970-7981.

89. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. Biochem Pharmacol. 1961; 7: 88-95.

90. Zengin G, Sarıkürkçü C, Aktümsek A, Ceylan R. Antioxidant Potential and Inhibition of Key Enzymes Linked to Alzheimer's Diseases and Diabetes Mellitus by Monoterpene–Rich Essential Oil From *Sideritis galatica* Bornm. Endemic to Turkey. Rec Nat Prod. 2016; 75: 42-50.

91. Chabanea S, Boudjelalb A, Kellerc M, Doubakhb S, Potteratc O. *Teucrium polium* Wound Healing Potential, Toxicity and Polyphenolic. S Afr J Bot. 2021; 137: 228-235.

92. El Atki Y, Aouam I, El kamari F, Taroq A, Lyoussi B, Abdellaoui A. Antioxidant Activity of Two Wild *Teucrium* Species from Morocco. IJPSR. 2019; 10(6): 2723-2729.

93. Bendjabeur S, Benchabane O, Bensouici C, Hazzit M, Baaliouamer A, Bitam A. Antioxidant and Anticholinesterase Activity of Essential Oils and Ethanol Extracts of *Thymus algeriensis* and *Teucrium polium* from Algeria. J Food Meas Charact. 2018; 12: 2278-2288.

94. Kaska A, Mammadov R. Antioxidant Properties, Proximate Analysis, Phenolic Compounds, Anthelmintic and Cytotoxic Screening of *Teucrium sandrasicum*; An Endemic Plant for Turkey. Ital J Food Sci. 2019; 31: 332-346.

95. Suvari G. *Teucrium parviflorum* ve *Teucrium polium* Bitkilerin Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2019, Diyarbakır (Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet BOĞA).

96. Golfakhrabadi F, Yousefbeyk F, Mirnezami T, Laghaei P, Hajimahmoodi M, Khanavi M. Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Activity of *Teucrium hyrcanicum*. Pharmacog Res. 2015; 7; 15-19.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Irmak	**Soyadı**	TANAMAN
Doğum Yeri		**Doğum Tarihi**	
Uyruğu		**Tel**	
E-posta			

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Lisans		
Lise		

İŞ DENEYİMİ

Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**

Yabancı Dil SınavNotu								
ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**

Doküman Görüntüleyici

Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme kondu: 10-Oca-2022 12:53 +03
NUMARA: 1739499770
Kelime Sayısı: 15316
Gönderildi: 1

Diyarbakır ve Batman' da Toplanan Teucrium mu... Irmak Tanaman tarafından

Benzerlik Endeksi	Kaynağa göre Benzerlik	
%16	Internet Sources:	%15
	Yayınlar:	%2
	Öğrenci Ödevleri:	%5

alıntıları çıkar bibliyografyayı dahil et 5 kelime > çıkarılan eşleşmeler mod: raporu hızlı görüntüle (klasik)
Change mode yazdır yenile İndir

7% match (04-Ara-2021 tarihli internet)
http://acikerisim.dicle.edu.tr

1% match (10-Eki-2021 tarihli internet)
http://acikerisim.dicle.edu.tr

1% match (21-Eki-2021 tarihli internet)
https://www.akademikbilgisistemi.com/akademisyen/doc-dr-eyup-bagci/

<1% match (04-Ara-2021 tarihli internet)
http://acikerisim.dicle.edu.tr

<1% match (03-Ara-2021 tarihli internet)
http://acikerisim.dicle.edu.tr

<1% match (03-Ara-2021 tarihli internet)
http://acikerisim.dicle.edu.tr

<1% match (04-Ara-2021 tarihli internet)
http://acikerisim.dicle.edu.tr

<1% match (04-Ara-2021 tarihli internet)
http://acikerisim.dicle.edu.tr

<1% match (04-Ara-2021 tarihli internet)
http://acikerisim.dicle.edu.tr

<1% match (22-Kas-2021 tarihli internet)
https://9lib.net/document/9yn4elzv-teucrium-longicaulis-longicaulis-bi-tki-leri-nden-yaglarin-anali-zi-anti-mi-krobi-yal-akti-vi-teleri.html

<1% match (21-Kas-2021 tarihli internet)
https://9lib.net/document/6qmdx49q-hplc-antioksidan-aktivite-y%C3%B6nteminin-geli%C5%9Ftirilmesi-do%C4%9Fal-%C3%BCr%C3%BCnlere-uygulanmas%C4%B1.html

<1% match (23-Nis-2021 tarihli internet)
http://acikerisim.dicle.edu.tr:8080

<1% match (23-Nis-2021 tarihli internet)
http://acikerisim.dicle.edu.tr:8080

<1% match (23-Nis-2021 tarihli internet)
http://acikerisim.dicle.edu.tr:8080

<1% match (14-May-2015 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Balıkesir Üniversitesi on 2015-05-14

<1% match (04-Tem-2019 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Batman University on 2019-07-04

<1% match (27-Ağu-2019 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Batman University on 2019-08-27

<1% match (09-Oca-2022 tarihli internet)
https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/html/10.1055/a-1293-5768?id=&lang=en

<1% match (18-Ağu-2021 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Gazi University on 2021-08-18

<1% match (29-Ağu-2016 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Mugla University on 2016-08-29

<1% match (02-Tem-2018 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Mugla University on 2018-07-02

<1% match (28-Şub-2020 tarihli internet)
https://dergipark.org.tr/tr/pub/nveo/issue/38934/454948

<1% match (23-Ara-2020 tarihli internet)
https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/1172059

<1% match (21-Kas-2020 tarihli internet)
https://dergipark.org.tr/tr/pub/dubited/issue/35735/356986?publisher=duzce

<1% match (16-May-2020 tarihli internet)