



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**TÜRKİYE'DE YETİŞEN
BAZI ERYNGIUM L. TÜRLERİ ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

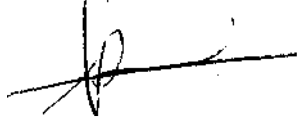
Sinem ASLAN ERDEM

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Murat KARTAL**

2009- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakognozi Doktora Programı
Çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.
Tez savunma tarihi:



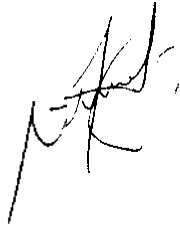
Prof. Dr. Gülçin SALTAN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı



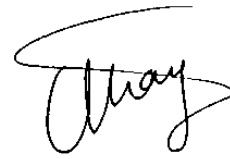
Prof. Dr. Maksut COŞKUN
Ankara Üniversitesi



Prof. Dr. Ömür DEMİREZER
Hacettepe Üniversitesi



Doç. Dr. Murat KARTAL
Ankara Üniversitesi



Doç. Dr. İlkay ORHAN
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller Dizini	x
Çizelgeler Dizini	xiii
Spektrumlar Dizini	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.2. Botanik Bilgiler	3
1.2.1. Sistematikteki Yeri	3
1.2.2. Apiaceae Familyası	3
1.2.3. <i>Eryngium</i> L. Cinsinin Genel Özellikleri	4
1.2.4. <i>Eryngium</i> Türlerinin Yayılışı	5
1.2.4.1. Türkiye’de Yetişen <i>Eryngium</i> Türleri	5
1.2.5. Tez Çalışmasının Kapsamında Bulunan <i>Eryngium</i> Türlerinin Botanik Özellikleri	7
1.2.5.1. <i>Eryngium campestre</i> L.	7
1.2.5.2. <i>Eryngium creticum</i> Lam.	7
1.2.5.3. <i>Eryngium davisii</i> Kit Tan & Yıldız	8
1.2.5.4. <i>Eryngium falcatum</i> Delar.	9
1.2.5.5. <i>Eryngium isauricum</i> Contandr. & Quézel	9
1.2.5.6. <i>Eryngium kotschy</i> Boiss.	10
1.2.5.7. <i>Eryngium maritimum</i> L.	10
1.2.5.8. <i>Eryngium trisectum</i> A. Wörz & H. Duman	11
1.3. <i>Eryngium</i> Türleri Üzerinde Daha Önce Yapılan Çalışmalar	12
1.3.1. Fitokimyasal Çalışmalar	12
1.3.1.1. <i>Eryngium</i> Türlerinden Elde Edilen Saponinler	12
1.3.1.2. <i>Eryngium</i> Türlerinden Elde Edilen Saponin Dışındaki Bileşikler	22
1.3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	27

1.4. Saponinler	33
1.4.1. Saponinlerin Biyosentezi	35
1.4.2. Saponinlerin Bitkiler Aleminde Yayılışı ve Rolü	39
1.4.3. Saponinlerin Analizleri	40
1.4.3.1. Saponinlerin Bitkisel Materyalden İzolasyonu	43
1.4.4. Saponinlerin Biyolojik Aktiviteleri	46
1.5. Amaç	48
2. GEREÇ VE YÖNTEM	49
2.1. Gereç	49
2.1.1. Bitkisel Materyal	49
2.1.2. Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar	51
2.2. Yöntem	52
2.2.1. Fitokimyasal Yöntemler	52
2.2.1.1. Ekstraksiyon	52
2.2.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	52
2.2.1.3. Açık Kolon Kromatografisi	53
2.2.1.4. Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi (MPLC)	54
2.3. İzolasyon Çalışmaları	54
2.4. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	60
2.4.1. Hayvanlar	60
2.4.2. Bitkilerden Analjezik ve Antienflamatuvar Aktivite Tayini için Etanolü ve Sulu Ekstre Hazırlanması	60
2.4.3. Kıvrınma Testi ile Antinositif Aktivite Tayini (Writhing Test)	61
2.4.4. Sıcak Levha Testi ile Antinositif Aktivite Tayini (Hotplate Testi)	61
2.4.5. Karagenin ile Oluşturulan Pençe Ödemi Üzerindeki Antienflamatuvar Aktivite Tayini	62
2.4.6. TPA ile Oluşturulan Fare Kulak Ödemi Üzerindeki Antienflamatuvar Aktivite Tayini	62
2.4.7. Toksisite	62
2.4.8. Verilerin Analizi	63
3. BULGULAR	64
3.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular	64

3.1.1. BİLEŞİK EK-1	67
3.1.2. BİLEŞİK EK-2	76
3.1.3. BİLEŞİK EK-3	83
3.1.4. BİLEŞİK EK-4	92
3.2. Biyolojik Aktivite Deneylerine Ait Bulgular	101
3.2.1. Kıvrınma Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini	102
3.2.2. Karagenin ile Oluşturulan Pençe Ödemi Üzerindeki Antienflamatuvar Aktivite Tayini	106
3.2.3. TPA ile Oluşturulan Fare Kulak Ödemi Üzerindeki Antienflamatuvar Aktivite Tayini	111
3.2.4. <i>Eryngium kotschy</i> TA MeOH Ekstresinin Sıvı-sıvı Ekstraksiyonu ile Elde Edilen Fraksiyonların Antinosiseptif Aktivite Tayini	114
3.2.4.1. <i>Eryngium kotschy</i> TA Ekstrelerinin Kıvrınma Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini	115
3.2.4.2. <i>Eryngium kotschy</i> TA Ekstrelerinin Sıcak Levha Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini	116
3.2.5. n-BuOH Silika Jel Kolon Kromatografisinden Elde Edilen Fraksiyonların Antinosiseptif Aktivite Tayini	117
3.2.5.1. n-BuOH Fraksiyonlarının Kıvrınma Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini	117
3.2.5.2. n-BuOH Fraksiyonların Sıcak Levha Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini	118
3.2.6. EK-4 Bileşiğinin Sıcak Levha Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini	119
4. TARTIŞMA	121
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	128
ÖZET	130
SUMMARY	131
KAYNAKLAR	132
ÖZGEÇMİŞ	139

ÖNSÖZ

Bu çalışmada Türkiye’de yetişen sekiz *Eryngium* türünün toprakaltı ve topraküstü kısımları antienflamatuvar ve antinosiseptif aktiviteleri yönünden test edilmiş; en yüksek aktiviteyi gösteren *Eryngium kotschy* Boiss. bitkisinin toprakaltı kısımlarından hareketle, biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ile aktiviteden sorumlu bileşiklerin izolasyon, yapı aydınlatılması ve biyoaktivite çalışmaları yapılmıştır.

Tez çalışmam sırasında bana her konuda destek olan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Doç. Dr. Murat Kartal’a teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince ilgi ve yardımlarını gördüğüm Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gülçin Saltan’a teşekkür ederim.

Çalışmalarımızın sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi için ihtiyacımız olan her türlü malzemenin sağlanmasında yardımcı olan, fakültemizin tüm imkanlarını kullanabilmemizi sağlayan dekanımız sayın Prof. Dr. Maksut Coşkun’a teşekkürü borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında yol gösterici olan, sorularımı her zaman yanıtlayarak katkı sağlayan Prof. Dr. Semra Kurucu’ya “uzaktan” sağladığı destek için teşekkür ederim. Bilgi birikimini paylaşan, sorularıma cevap vererek beni yönlendiren Prof. Dr. Bilge Şener’e (Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi) teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini benden esirgemeyen hocalarım Prof.Dr. Engin Şarer, Prof.Dr. Belma Konuklugil ve Doç.Dr. Levent Altun’a teşekkür ederim.

Çalışma materyallerinin toplanmasında ve tayin edilmesinde yardımcı olan, sorularıma her zaman içtenlikle ve bıkmadan cevap veren hocam Prof. Dr. Hayri Duman’a (Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü) teşekkür ederim.

I wish to express my gratitude to Prof. Marie-Aleth Lacaille-Dubois, for giving the opportunity to work in her lab as well as for her guidance through my studies and for sharing her deep knowledge. It had been a pleasure for me to work as a member of UMIB (Unité de Molécules d’Intérêt Biologique) in Faculty of Pharmacy, University of Bourgogne, France. I also would like to thank to my friends (colleagues) in UMIB, for their kind friendship and support.

Aktivite çalışmalarını yapmamıza olanak sağlayan Prof. Dr. Alper B. İskit’e; çalışmaların yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardım ve desteğini esirgemeyen, arkadaşlığıyla da her zaman yanımda olan Uzm. Biyolog ve Farmakolog Okan Arıhan’a teşekkür ederim. Biyolojik aktivite çalışmalarımızın bir kısmında yardım ve desteğini gördüğüm Doç. Dr. Esra Küpeli’ye (Gazi Üniv. Ecz. Fak.) teşekkür ederim.

Bitkilerin toplanması sırasında yardım eden Doç.Dr. Yüksel Kan’a (Konya Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi) teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca “patlama noktalarım” olan, bana her koşulda katlanan arkadaşlarım Uzm.Ecz. Alper Gökbulut ve Ecz. Ali Rifat Gülpınar’a teşekkürü borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında desteğini her koşulda sunan Doç.Dr. Betül Sever Yılmaz’a; sorularıma her zaman içtenlikle cevap veren Doç.Dr. Alev Tosun’a teşekkürü borç bilirim. Çalışmalarım boyunca bana destek olan Dr.Ecz. Aslı Can Ağca, Uzm.Ecz. Özlem Bahadır, Uzm.Ecz. Gökçen Kaban ve Ecz. Serkan Özbilgin’e teşekkürü borç bilirim. Çalışmalarım sırasında her zaman yardımcı olan Farmakognozi Anabilim Dalı idari personeline teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında bilgi ve sevgilerini benden esirgemeyen Dr.Ecz. A. Mine Özkan, Dr. Ecz. Ceyda Sibel Erdurak Kılıç ve Uzm. Biyolog Gülderen Yılmaz’a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Desteğini, arkadaşlığını, sevgisini Amerika’dan bile eksiltmeden gösteren arkadaşım Dr.Ecz. Aslı Ceylan Işık’a her zaman yanımda olduğu için teşekkür ederim.

Sıkıntılı zamanlarımdan ışıltılı zamanlara dönüşmesini sağlayan; çalışmalarım sırasında yardımcı olan arkadaşım Dr.Ecz. Esin Sayar’a içten desteği için teşekkür ederim.

Sadece tez çalışmamda değil, tüm yaşamımda yaşantımın son 13 yılında her konuda her zaman yanımda olan can yoldaşım Dr.Gıda Müh. Banu Özden Tuncer’e teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında beni her zaman destekleyen, pozitif enerji veren, her türlü sıkıntıma katlanan eşim Ecz. Volkan Erdem’e ne kadar teşekkür etsem azdır. Tez çalışmalarım sırasında ve tüm yaşamım boyunca her zaman arkamda olan anne ve babama, özverileri, sonsuz destekleri ve “sınırsız kredileri” için teşekkürü borç bilirim. Çalışmalarım sırasında destek ve sevgilerini hiçbir zaman esirgemeyen kardeşlerim Mehmet ve Zeynep’e teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

AcOH	: Asetik asit
AEF	: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
ASA	: Asetilsalisilik asit
n-BuOH	: n-Butanol
C	: Karbon
cm	: Santimetre
CHCl₃	: Kloroform
CH₂Cl₂	: Diklorometan
CoA	: Koenzim A
COSY	: Correlation spectroscopy
DEPT	: Distortionless enhancement by polarization transfer
DMAPP	: Dimetilallil pirofosfat
FAB-MS	: Fast atom bombardment mass spectroscopy
FC	: Folin Ciocalteau Reaktifi
FPP	: Farnesil pirofosfat
g	: gram
GC	: Gas chromatography (Gaz kromatografisi)
GPP	: Geranil pirofosfat
HI	: Hemoliz indeksi
HMG-CoA	: β -hidroksimetil glutaril CoA
HMGR	: β -hidroksimetil glutaril CoA redüktaz
HMBC	: Heteronuclear multiple-bond correlation
HMQC	: Heteronuclear multiple quantum coherence
HPLC	: High performance liquid chromatography
HPTLC	: High performance thin layer chromatography

HR-ESI-MS	: High resolution - electron spray ionisation mass spectrometry
HR-MALDI-MS	: High resolution matrix assisted laser desorption ionisation mass spectrometry
IPP	: İzopentenil pirofosfat
i.p.	: İntraperitonal
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
ml	: Mililitre
µm	: Mikrometre
MeOH	: Metanol
MK	: Mevalonat kinaz
MPLC	: Medium pressure liquid chromatography
MPO	: Miyeloperoksidaz enzimi
NMR	: Nuclear magnetic resonance
NOESY	: Nuclear Overhauser enhancement correlation spectroscopy
ODS	: Oktadesil silan
ROESY	: 2D- nuclear Overhauser enhancement in a rotating frame
SEM	: Ortalama standart hata
TA	: Toprakaltı
TEAC	: Trolox equivalent antioxidant capacity
TOCSY	: Total correlation spectroscopy
TPA	: 12- <i>O</i> -tetradekanoilforbol asetat
TÜ	: Topraküstü
UV	: Ultraviyole
VLC	: Vacuum liquid chromatography

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Eryngium</i> türleri saponinlerinde en sık rastlanan aglikonlar	13
Şekil 1.2. <i>Eryngium giganteum</i> 'dan izole edilen saponin aglikonları	14
Şekil 1.3. <i>Eryngium planum</i> 'dan izole edilen saponin aglikonları	15
Şekil 1.4. Saponin F	18
Şekil 1.5. <i>Eryngium campestre</i> köklerinden izole edilen saponinler	19
Şekil 1.6. <i>Eryngium campestre</i> köklerinden izole edilen diğer saponinler	20
Şekil 1.7. <i>Eryngium yuccifolium</i> 'dan izole edilen saponinler	21
Şekil 1.8. Saponinlerin sapogenin sınıflarına örnekler	34
Şekil 1.9. İzoprenden skualenin biyosentez yoluyla oluşum şeması	37
Şekil 1.10. Skualenden hareketle siklizasyon reaksiyonları sonrası oluşan triterpenik ve steroidal ana yapılar	38
Şekil 3.1. <i>Eryngium kotschy</i> toprakaltı kısımları üzerinde yapılan ekstraksiyon ve açık kolon kromatografisi çalışmaları	65
Şekil 3.2. <i>Eryngium kotschy</i> 'nin toprakaltı kısımlarından yapılan izolasyon çalışmaları	67
Şekil 3.3. EK-1 bileşiğinin HMBC ve COSY korelasyonları	74
Şekil 3.4. EK-2 bileşiğinin HMBC korelasyonları	78
Şekil 3.5. EK-3 bileşiğinin HMBC korelasyonları	85
Şekil 3.6. <i>Eryngium kotschy</i> 'nin toprakaltı kısımlarından yapılan izolasyon çalışmaları	91
Şekil 3.7. EK-4 bileşiğinin HMBC korelasyonları	98

Şekil 3.8. <i>Eryngium</i> türlerinin etanol ekstrelerinin <i>p</i> -benzokinon ile oluşturulan kıvranma refleksi üzerine aktivitesinin sütun grafiği şeklinde gösterimi	104
Şekil 3.9. <i>Eryngium</i> türlerinin sulu ekstrelerinin <i>p</i> -benzokinon ile oluşturulan kıvranma refleksi üzerine aktivitesinin sütun grafiği şeklinde gösterimi	106
Şekil 3.10. <i>Eryngium</i> türlerinin sulu ekstrelerinin karagenin ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçlarının sütun grafiği şeklinde gösterimi	108
Şekil 3.11. <i>Eryngium</i> türlerinin etanollü ekstrelerinin karagenin ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçlarının sütun grafiği şeklinde gösterimi	110
Şekil 3.12. <i>Eryngium</i> türlerinin etanollü ekstrelerinin TPA ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçlarının sütun grafiği şeklinde gösterimi	112
Şekil 3.13. <i>Eryngium</i> türlerinin sulu ekstrelerinin TPA ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçlarının sütun grafiği şeklinde gösterimi	114
Şekil 3.14. <i>Eryngium kotschy</i> TA ekstrelerinin asetik asit ile oluşturulan kıvranma refleksi üzerine aktivitesinin sütun grafiği şeklinde gösterimi	115
Şekil 3.15. <i>Eryngium kotschy</i> ekstrelerinin sıcak levha testindeki antinosiseptif aktivite sonuçlarının sütun grafiği şeklinde gösterimi	116
Şekil 3.16. n-BuOH fraksiyonlarının asetik asit ile oluşturulan kıvranma refleksi üzerine aktivitesinin sütun grafiği şeklinde gösterimi	118
Şekil 3.17. n-BuOH fraksiyonlarının sıcak levha testindeki antinosiseptif aktivite sonuçlarının sütun grafiği şeklinde gösterimi	119
Şekil 3.18. EK-4 bileşiğinin sıcak levha testindeki antinosiseptif aktivite sonucunun sütun grafiği şeklinde gösterimi	120

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	<i>Eryngium</i> türlerinin köklerinin rozmarinik asit ve <i>R</i> -(+)-3'- <i>O</i> - β -D-glikopiranozil rozmarinik asit analiz sonuçları	23
Çizelge 1.2.	<i>Eryngium</i> türlerinden elde edilen uçucu yağların bileşenleri	25
Çizelge 1.3.	Saponinlerin biyolojik aktiviteleri	47
Çizelge 2.1.	Toplanan bitkilerin toplanma yerleri ve herbaryum numaraları	50
Çizelge 2. 2.	<i>Eryngium kotschy</i> kök n-BuOH fraksiyonu açık kolon kromatografisi analiz koşulları	55
Çizelge 2.3.	Fr. 5 MPLC analiz koşulları	55
Çizelge 2.4.	Fr.5J fraksiyonu MPLC analiz koşulları	56
Çizelge 2.5.	Fr. 5J2 ve Fr. 5J2b fraksiyonu MPLC analiz koşulları	57
Çizelge 2.6.	Fr. 5N , Fr. 5N1 ve Fr. 5N1a fraksiyonu MPLC analiz koşulları	58
Çizelge 2.7.	Fr. 7 fraksiyonu MPLC analiz koşulları	59
Çizelge 2.8.	Fr. 7D , Fr. 7E ve Fr. 7F fraksiyonu MPLC analiz koşulları	59
Çizelge 3.1.	EK-1 bileşiğinin ^{13}C (150 MHz), ^1H (600 MHz) NMR ve DEPT spektroskopik değerleri (piridin- <i>d</i> 5)	75
Çizelge 3.2.	EK-2 bileşiğinin ^{13}C (150 MHz), ^1H (600 MHz) NMR ve DEPT spektroskopik değerleri (piridin- <i>d</i> 5).	79
Çizelge 3.3.	EK-3 bileşiğinin ^{13}C (150 MHz), ^1H (600 MHz) NMR ve DEPT spektroskopik değerleri (piridin- <i>d</i> 5).	90
Çizelge 3.4.	EK-4 bileşiğinin ^{13}C (150 MHz), ^1H (600 MHz) NMR ve DEPT spektroskopik değerleri (piridin- <i>d</i> 5)	100
Çizelge 3.5.	<i>Eryngium</i> türlerinden elde edilen sulu ve etanollü ekstraktların % verimleri	101

Çizelge 3.6.	<i>Eryngium</i> türlerinin etanol ekstralarının <i>p</i> -benzokinon ile oluşturulan kıvranma refleksi üzerine aktivitesi	103
Çizelge 3.7.	<i>Eryngium</i> türlerinin sulu ekstralarının <i>p</i> -benzokinon ile oluşturulan kıvranma refleksi üzerine aktivitesi	105
Çizelge 3.8.	<i>Eryngium</i> türlerinin sulu ekstralarının karagenin ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçları	107
Çizelge 3.9.	<i>Eryngium</i> türlerinin etanollü ekstralarının karagenin ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçları	109
Çizelge 3.10.	<i>Eryngium</i> türlerinin etanollü ekstralarının TPA ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçları	111
Çizelge 3.12.	<i>Eryngium</i> türlerinin sulu ekstralarının TPA ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçları	113
Çizelge 3.13.	<i>Eryngium kotschy</i> TA ekstralarının asetik asit ile oluşturulan kıvranma refleksi üzerine aktivitesi	115
Çizelge 3.14.	<i>Eryngium kotschy</i> TA ekstralarının sıcak levha antinosiseptif aktivite sonuçları	116
Çizelge 3.15.	n-BuOH fraksiyonlarının asetik asit ile oluşturulan kıvranma refleksi üzerine aktivitesi	117
Çizelge 3.16.	n-BuOH fraksiyonlarının sıcak levha testindeki antinosiseptifaktivite sonuçları	118
Çizelge 3.17.	EK-4 bileşiğinin sıcak levha testindeki antinosiseptif aktivite sonucu	119

SPEKTRUMLAR DİZİNİ

Spektrum 3.1.	EK-1 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu	69
Spektrum 3.2.	EK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu	70
Spektrum 3.3.	EK-1 bileşiğinin FAB-Kütle spektrumu	71
Spektrum 3.4.	EK-1'in COSY spektrumu	72
Spektrum 3.5.	EK-1 bileşiğinin HSQC spektrumu	73
Spektrum 3.6.	EK-2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu	78
Spektrum 3.7.	EK-2 bileşiğinin HSQC spektrumu	80
Spektrum 3.8.	EK-2 bileşiğinin HMBC spektrumu	81
Spektrum 3.9.	EK-2 bileşiğinin TOCSY spektrumu	82
Spektrum 3.10.	EK-3 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu	84
Spektrum 3.11.	EK-3 bileşiğinin HSQC spektrumu	86
Spektrum 3.12.	EK-3 bileşiğinin HMBC spektrumu	87
Spektrum 3.13.	EK-3 bileşiğinin HMBC spektrumu	88
Spektrum 3.14.	EK-3 bileşiğinin DEPT spektrumu	89
Spektrum 3.15.	EK-4 bileşiğinin FAB-Kütle spektrumu	93
Spektrum 3.16.	EK-4 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu	94
Spektrum 3.17.	EK-4 bileşiğinin NOESY spektrumu	95
Spektrum 3.18.	EK-4 bileşiğinin NOESY spektrumu	96
Spektrum 3.19.	EK-4 bileşiğinin HSQC spektrumu	97
Spektrum 3.20.	EK-4 bileşiğinin HMBC spektrumu	99



Eryngium campestre L.





Eryngium davisii Kit
Tan&Yildiz



Eryngium isauricum
Contandr.&Quezel





***Eryngium falcatum* Delar.**





Eryngium kotschyi Boiss.





Eryngium maritimum L.



Eryngium trisectum
A.Wörz&H.Duman

1. GİRİŞ

Apiaceae familyasının en zengin tür içeriğine sahip olan *Eryngium* L. cinsi, Saniculoideae altfamilyasına aittir; Avrasya, Kuzey Afrika, Kuzey ve Güney Amerika ve Avustralya'da 317 taksonla temsil edilir (Wörz, 1999; Wörz ve Duman, 2004). Bu geniş yayılışın sonucu olarak dünyanın pekçok yerinde geleneksel kullanıma sahiptir. Türkiye'de de halk arasında *Eryngium campestre* L., *Eryngium maritimum* L. ve bunlara yakın diğer türlerin kurutulmuş çiçekli dalları boğadiken, deveelması, devecidiken, göz diken, tengeldiken gibi isimlerle tanınır (Baytop, 1999). Çeşitli türlerinin halk tıbbında binlerce yıldır, birçok hastalığın tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir; kökleri daha çok ödem, sinüzit, üriner enfeksiyonlar, enflamasyon, guatr, yılan veya akrep sokmasına karşı kullanılırken kök ve yaprakları infertiliteye karşı ve topraküstü kısımları da yara iyi edici, öksürük kesici, idrar artırıcı, iştah açıcı, uyarıcı ve afrodizyak olarak kullanılmaktadır (Yeşilada ve ark., 1989; Baytop, 1999; Küpeli ve ark., 2006). *Eryngium campestre*'nin köklerinin sulu ekstresinin ise, Edremit-Balıkesir bölgesinde akrep sokmalarında dahilen kullanıldığı saptanmıştır (Doç. Dr. Murat Kartal'ın kişisel deneyimi)

Eryngium türleri üzerinde yapılan kimyasal çalışmalarda topraküstü kısımlarında saponinler, flavonoidler ve uçucu yağ; toprakaltı kısımlarında ise triterpenik saponinler, monoterpenik glikozitler, fenolik bileşikler (flavonoidler, fenolik asitler), kumarin türevi bileşikler, terpen aldehit esterleri, asetilenler, uçucu yağ ve oligosakkaritler bulunduğu tespit edilmiştir (Erdelmeier ve Sticher, 1985; Erdelmeier ve Sticher, 1986; Hohmann ve ark., 1997; Kartal ve ark., 2005; PDR for Herbal Medicines, 2004).

Ortaçağda Kahire'de; reçetelerin, Materia Medica ve doktor mektuplarının araştırılması ile *Eryngium* türlerinin yaprak, tohum ve köklerinin Genizah halkı tarafından ereksiyon sağlamada ve gaz giderici olarak kullanıldığı belirlenmiştir (Lev ve Amar, 2008). Osmanlı İmparatorluğu zamanında Şam ve çevresinde hemoroit ve seksüel hastalıklara, yaralara ve yanıklara karşı ve ağrı giderici olarak kullanıldığı saptanmıştır (Lev, 2002). Meksika'da bitkilerin antik zamanlardaki kullanılışları

araştırılmış ve geçmişleri 2000 yıl öncesine dayanan iki farklı etnik grubun farmakopelerinde *Eryngium foetidum* L. bitkisinin gastrointestinal rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığı tespit edilmiştir (Leonti, 2003).

Tıbbi bitkilerin, yeni ilaçların bulunmasında önemli potansiyel kaynaklar olduğu günümüzde kullanılan bazı ilaçlar ile kanıtlanmıştır. Bitkilerin biyoaktiviteleri ile ilgili bilgiler, insanların yüzyıllarca bu bitkileri kullanımları sonucu oluşan deneyimlerin birikimi ile ortaya çıkmaktadır. Ancak günümüzde hızla ilerleyen medeniyetleşme ve ormanların da hızla yok edilmeleri, etnofarmakolojik bilgilerin de kaybolmasına neden olmaktadır (Sanz-Biset ve ark., 2009). Bu yüzden etnofarmakolojik çalışmalar günümüzde önem kazanmaktadır ve son zamanlarda etnofarmakolojik çalışmalarda bir artış gözlenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda da *Eryngium* türlerinin geleneksel olarak kullanımı ile ilgili son yıllarda daha fazla bilgiye ulaşmak mümkün olmuştur (Castillo-Juárez ve ark., 2009; Sanz-Biset ve ark., 2009; Andrade-Cetto, 2009; Prasad ve ark., 2009).

1.1. Genel Bilgiler

Tez çalışmamıza ait teorik bilgilerin verildiği bu bölümde; “Botanik Bilgiler” başlığı altında familya, cins ve türlerin morfolojik özellikleri ve yayılışları açıklanmış; “Fitokimyasal Çalışmalar” başlığında *Eryngium* türlerinde bulunan kimyasal bileşikler verilmiş; “Biyolojik Aktivite Çalışmaları” kısmında *Eryngium* türleri üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmaları verilmiştir; bunun yanı sıra *Eryngium* türlerinde bulunan sekonder metabolitlerden, çalışma konumuzu oluşturması nedeniyle saponinler hakkında da bilgi verilmiştir.

1.2. Botanik Bilgiler

1.2.1. Sistematikteki Yeri

Bölüm	: Spermatophyta
Altbölüm	: Angiospermae
Sınıf	: Dicotyledonae
Altsınıf	: Dialypetaleae
Takım	: Umbellales, Apiales, Umbelliflorae
Familya	: Umbelliferae , Apiaceae
Alt familya	: Saniculoideae
Cins	: <i>Eryngium</i> L.

1.2.2. Apiaceae Familyası

Apiaceae familyası yaklaşık 3000 türle temsil edilen çok büyük/geniş bir familyadır. Bu familya tıbbi özellikleri olan ve geleneksel tıpta kullanılan çok sayıda bitki içermektedir. Familyaya özgü biyoaktif sekonder metabolitler olarak uçucu yağlar, polifenoller, fenolik asitler, kumarinler (furano- ve piranokumarinler), saponinler, alkaloidler ve poliasetilenler gösterilebilir (Bogucka-Kocka ve ark., 2008).

Apiaceae familyası bitkileri, tek yıllık veya çok yıllık bitkilerden oluşur; nadiren çalimsı bitkilerdir. Yapraklar alternan dizilişli, nadiren karşılıklı veya sarmal şeklinde olabilir; genellikle stipulasız, basitten çok parçalıya değişen şekillerde olabilir; saplar genellikle geniş ve tabanda gövdeyi sarmış şekildedir/kın şeklindedir. Çiçek durumu genellikle bileşik umbelladır; nadiren basit umbella, başçık veya çok indirgenmiş simoz şeklindedir. Brakte ve brakteoller bulunur veya bulunmaz. Çiçekler epigin; hermafrodit veya tek eşeylidir (nadiren dioiktir). Sepal ya yoktur ya da küçüktür, genellikle düzensizdir. Petaller 5 tane, genellikle uçları içe kıvrık şekilde ikiye çatallanmış; hepsi eşit ebattadır veya dış petaller içtekilerden daha büyüktür. Petallerin rengi beyaz, sarı, sarımsı-yeşil, soluk mavi veya pembe olabilir. Stamenler 5 tanedir. Karpel (1-)2; ovüller sarkık, her lokulusta 1 tane; stilus 2 adet;

genellikle genişlemiş tabanlı. Meyve kuru; olgunlukta açılmayan, silindirik veya geniş bir ara bölge ile birbirinden ayrılmış, (1-)2 karpelden meydana gelmiş, şizokarp. Tüysüz veya tüylü, pullu, kılı veya dikenli; merikarplar genellikle karpofor adı verilen bir sapla birbirine bağlıdır ve her bir merikarpta sırt kısmında 5 adet, kosta adı verilen çıkıntı bulunur; bu çıkıntılar bazen kanatlı veya ibiksi çıkıntılıdır ve valekulum adı verilen girintilerle birbirinden ayrılırlar. Merikarplarda vittae denen reçine kanalları hemen her zaman bulunur (Herrnstadt ve Heyn, 1972).

1.2.3. *Eryngium* L. Cinsinin Genel Özellikleri

Eryngium cinsi, Apiaceae familyasında bulunan tür açısından en zengin cinstir. Ait olduğu Saniculoidae altfamilyasındaki bitkilerin yaklaşık dörtte üçü *Eryngium* cinsine ait türlerden oluşmaktadır (Calviño ve ark, 2008; <http://rbg-web2.rbge.org.uk/URC>; 14.03.2009 erişim tarihi).

Bir, iki veya çok yıllık tüysüz otsu bitkilerdir. Bazı türleri odunlaşarak çalimsı şekil almıştır. Bazı türler yerde yayılmış şekildedir ve sadece birkaç santimetre (cm) uzunluğundadır; diğer türler ise diktir ve boyları 3 metreye (m) kadar ulaşabilir. Yaprak şekli ve damarlanması da çeşitlilik gösterir. Yapraklar uzun saplı veya sapsız olabilir; yaprak şekli tamdan tamamen parçalıya kadar çeşitlilik gösterir; yaprak kenarları da tam, dikenli veya sert tüy şeklinde olabilir. Ana damarlanma belirgindir; pennat, palmat ya da paralel damarlı olabilir. Çiçek durumları genellikle dallanmıştır. Dikenli brakteler tarafından çevrilmiş bir kapitulumda, sapsız çiçekler yoğun bir şekilde toplanmıştır. Brakteoller tam veya üç parçalıdır; uçları batıcıdır; bazı türlerde gösterişli bir şekle sahiptirler. Sepaller belirgin, sert. Petaller, beyazımsı, mavi veya yeşilimsi, sepallerden daha kısadır. Meyve az çok ovoid; merikarpların bir tarafı düz diğer tarafı dışbükeydir; pul veya kabarcık şeklinde çıkıntılar taşır ya da taşımaz. (Davis, 1972; Heywood, 1979; Calviño ve ark, 2008).

Eryngium cinsi kendi içerisinde bu kadar çok morfolojik çeşitlik göstermesine rağmen; kapitulum şeklindeki çiçek durumu ve herbir çiçekte bulunan tek bir brakte ile diğer Apiaceae bitkilerinden kolayca ayrılır (Calviño ve ark, 2008).

1.2.4. *Eryngium* Türlerinin Yayılışı

Eryngium cinsinin evrimsel gelişimine bakıldığında; bilim adamları tarafından Yeni Dünya'da bulunan tüm türlerin Eski Dünya'da yetişen türlerin soyundan geldiği ve cinsin güneybatı Asya kaynaklı olduğu kabul edilmektedir. Ilıman iklimin hakim olduğu tüm kıtalarda yayılış gösterir; ancak türlerin zenginliği kuzey ve güney yarımküre arasında ve kendi içlerinde farklılık gösterir. Her iki yarım kürede de 2 ana çeşitlilik merkezi olduğu tespit edilmiştir; bu merkezler: güney yarımküre için orta-batı Meksika ve orta-doğu Güney Amerika (güney Brezilya, kuzeydoğu Arjantin ve Uruguay); kuzey yarımküre içinse batı Akdeniz ve güneybatı Asya'dır. *Eryngium* türlerinin üçte ikisi Kuzey, Orta ve Güney Amerika'da yayılış gösterir. Yayılış gösterdiği bölgeler İran, Afganistan, Pakistan, Doğu ve Batı Akdeniz bölgeleri, Güney, Doğu ve Orta Avrupa, Orta Avrupa'dan Sibirya'ya kadar olan bölge, Karadeniz bölgesi, Ortadoğu bölgesi, Güney, Batı ve Orta Asya, Güney ve Orta Rusya'dan Orta Asya'ya kadar olan bölgeler, Kafkas bölgesi, Kuzey ve Batı Afrika, Kuzey Amerika olarak özetlenebilir (Davis, 1972; Davis ve ark., 1988; Güner ve ark., 2000; Calviño ve ark, 2008).

1.2.4.1. Türkiye'de Yetişen *Eryngium* Türleri

Eryngium cinsi Türkiye'de 24 tür ve 2 alt tür temsil edilmektedir. Bu türlerin adları aşağıda belirtilmiştir. Endemik türler (*) ile işaretlenmiştir.

1- **Eryngium illex* Davis.

2- **Eryngium thorifolium* Boiss.

3- *Eryngium maritimum* L.

- 4- *Eryngium giganteum* Bieb.
- 5- **Eryngium bornmuelleri* Nab.
- 6- *Eryngium falcatum* Delar.
- 7- *Eryngium planum* L.
- 8- *Eryngium caeruleum* Bieb.
- 9- *Eryngium creticum* Lam.
- 10- **Eryngium bithynicum* Boiss.
- 11- *Eryngium pyramidale* Boiss & Hausskn.
- 12- *Eryngium palmito* Boiss & Heldr.
- 13- *Eryngium wanaturi* Woron.
- 14- *Eryngium bourgatii* Gouan
- 15- *Eryngium thyrsoideum* Boiss.
- 16- *E. glomeratum* Lam.
- 17- *Eryngium billardieri* Delar.
- 18- **Eryngium kotschy* Boiss.
- 19- *Eryngium campestre* L.
 - *Eryngium campestre* var. *campestre*
 - *Eryngium campestre* L. var. *virens* Link
- 20- **Eryngium pseudothoriifolium* Contandr.
- 21- **Eryngium isauricum* Contandr.
- 22- **Eryngium davisii* Kit Tan & Yıldız.
- 23- **Eryngium polycephalum* Hausskn.
- 24- **Eryngium trisectum* A.Wörz&H.Duman

(Davis, 1972; Davis ve ark., 1988; Güner, 2000; Wörz ve Duman, 2004)

1.2.5. Tez Çalışmasının Kapsamında Bulunan *Eryngium* Türlerinin Botanik Özellikleri

1.2.5.1. *Eryngium campestre* L.

Bitki 15 - 60 cm boyunda, dik, çok yıllık, kök ve gövdenin birleştiği yerde lifli, beyaz veya sarımsı yeşil renklidir. Gövde genellikle tek, silindirik, dik, yaklaşık ortadan yaygın dallanmıştır. Taban yaprakları kalıcı, üçgen-ovate, 10-25 x 10-18 cm boyutlarında, derimsi, genellikle yayık bipennatifit primer üç parçadan meydana gelmiş. Loblar ve kanatlı rahis dikenli-dentat (genç yapraklar basitten üç parçaya değişen şekillerde). Gövde yaprakları daha küçük, orta ve üst yapraklar geniş, hafif amplexicaul, taban kenarı dikenli, çiçek durumu yaprakları genellikle üç parçalıdır. Çiçek durumu sarımsı yeşil veya bazen donuk mavimsi yeşil renkli, genişçe yayvan, korimbus panikula şeklinde; kapitula çok sayıda, oval küremsi, çapı 7-13 mm. Brakteler 5-6, linear-lanseolat subulata kadar değişen şekillerde, batıcı, dik, tam kenarlı veya kenarları birbirinden uzak küçük dikenlerle çevrili; kapitulunun 1,5-3 katı uzunlukta. Brakteoller tam kenarlı, sepallerden daha uzundur. Sepaller lanseolat, dikenli bir şekilde bitiyor ve bunlar gri-yeşil petallerin iki katı kadar büyüktür. Merikarp lanseolat, belirgin akut pullarla kaplı. Çiçeklenme 7-9. aylar. Orman açıklıkları, taşlı yamaçlar, bozulmuş stepler, nadasa bırakılmış tarlalar ve kumullarda; deniz seviyesinden 1800 m'ye olan yüksekliklerde yetişir. Batı, orta ve güney Avrupa, orta ve güney Rusya, Kırım, kuzey Afrika, güney batı Asya Afganistan'a kadar olan bölgede doğal olarak yetişmektedir (Davis, 1972; s. 303).

1.2.5.2. *Eryngium creticum* Lam.

İnce, tek yıllık veya iki yıllık bitkilerdir. Gövde, orta kısımdan ya da daha altından dallanmaya başlar, 20-60 cm boyundadır. Dış taban yapraklar çiçeklenme zamanında solar; 2-3 x 2-2,5 cm boyutlarında; akut, diken dişli, üç parçalıdır. Gövde yaprakları sapsızdır; derin palmat parçalar ince dikensi pennatifit loblara ayrılmıştır. Çiçek

durumu donuk mavi-yeşilden ametist rengine kadar değişir; yaygın panikulattır. Kapitulum sayısı 40-(90)'a kadar uzanır; küremsi şekildedir; 5-10 mm çapındadır; 15'ten fazla çiçek içerir. Brakteler 5 adet; linear-subulat şekilde, batıcı, yaygın, kapitulumun 2-4 katı uzunlukta; taban yakınında seyrek küçük dikenciklidir. Brakteollerin hepsi 3 sivri uçludur. Çiçeklenme zamanı 7-8(9). aylardır. Çalımı düzlüklerde, alçak çalı toplulukları arasında, nadasa bırakılmış tarlalarda ve ekilmemiş boş arazilerde, deniz seviyesinden 750 m'ye kadar yüksekliklerde yetişir. Balkanlarda, Kuzey Suriye'de Suriye Çölü'nde, Kuzey Irak'ta, Kuzey Mısır'da, Doğu Akdeniz'de yayılış gösterir (Davis, 1972; s. 298).

1.2.5.3. *Eryngium davisii* Kit Tan & Yıldız

Çok yıllık, tüysüz bir bitkidir. Tabanda siyahımsı kahverengi liflidir. Çiçekli gövdeleri 1-2, 7-20 cm; sadece çiçek durumları dallanmıştır; tabanda 2-3 mm çapında, oluklu, saman sarısı renktedir. Taban ve alt gövde yaprakları kalıcı, saplı, derimsidir; lamina dairemsidir; 1,5-3 cm, 3-5 palmat parçalı; herbir parça üç parçalı veya dişlidir; belirgin damarlı ve dikenlidir. Yaprak sapı (2-)3-4 cm, tam veya dikenli-kanatlıdır. Orta kısımdaki gövde yaprakları benzer şekildedir ama sapları daha kısadır (1-1,5 cm); kanatlıdır ve kenarları dikenlidir. Gövdenin üst kısmındaki yapraklar, 2-4 cm, sapsız, üç parçalı veya dişlidir; lanseolat, uzun akuminattır. Çiçek durumu sık veya seyrek panikula şeklindedir. Kapitulum 1-7 adet, küre şeklinde, 1-2 cm çapındadır. İnvolukrumu oluşturan brakteler sarımsı-yeşil, 7-9 adet hemen hemen eşit, linear-lanseolat şekilde; (2-)3-5 cm, tabanda yaklaşık 3 mm, 5-7 damarlı, kapitulumun 2-3 katı uzunluktadır; soluk yeşil- mavi renklidir. Brakteoller tam, linear, 5-7 mm, çiçeklerle aynı boydadır. Sepaller lanseolat, yaklaşık 3 mm, korolladan uzundur. Kalınlaşmış bir orta damar ve dikenimsi uca sahiptir. Kenarları dar, şeffaftır. Korolla, 1,5-2 mm; mavimsi renktedir. Stilus dışarıya doğru uzamıştır. Meyveler kısa oblong, pulsu çıkıntılarla kaplı; meyvelerin üst yarısındaki tohumlar daha çok sayıda, daha uzun, akut; meyvelerin alt yarısındaki tohumlar daha kısa ve obtustur. Çiçeklenme zamanı 7-9. aylardır; kalkerli ve serpentin stepte, 950-2100 m yüksekliklerde yetişir. Endemik bir türdür (Güner ve ark., 2000).

1.2.5.4. *Eryngium falcatum* Delar.

İnce, çok yıllık bir bitkidir. Gövde 20-70 cm uzunluğunda, genellikle orta kısmın biraz üstünden dallanmaya başlar. Taban yaprakları, çiçeklenme zamanında solar; kordat tabanlı, dar-üçgensel şekildedir. Boyutları genelde 2,5-6 x 1,5-4,5 cm'dir. Derimsi, krenat-kılçıksızdır. Gövde yaprakları neredeyse sapsız, dikenli-kenarlı, oblong-linear, 3-5 parçalıdır. Çiçek durumu donuk mavi-yeşil renkli, rasemozdan dar panikulata değişen şekilde; kapitulum (1)-4-28 adet, yarı-küresel 8-15 mm çapında. Brakteler linear, 5 adettir ve batıcıdır; kapitulumun 2-4 katı uzunluktadır; tabanda geriye doğru kıvrık, ince 2 adet diken taşır. Dış brakteoller üç kısa parçalı; içtekiler tam veya üç kısa parçalıdır. Çiçeklenme zamanı 7-9. aylardır. Taşlı yamaçlar, orman açıklıkları, makiliklerde; deniz seviyesinden 900 m'ye varan yüksekliklerde yetişir. Kuzey Suriye ve Doğu Akdeniz'de yayılış gösterir (Davis, 1972; s.297).

1.2.5.5. *Eryngium isauricum* Contandr. & Quézel

Çok yıllık, tabanda kalın, yoğun liflidir. Gövde kalın, serttir; 90-100 cm boylarında, uzunluğunun 2/3 kısmı çiçeklidir. Taban yaprakları derimsi, kalıcı, 10-20 cm'dir; sapının boyu 5-7 cm'dir; lamina ağ şeklinde damarlı, palmat parmaklıdır; 3-5 lobludur, loblar tamdır. 4-6 x 1,5-3,5 cm boyutlarında, kenarları küçük dikenli dişlidir. Orta ve üst gövde yaprakları, gövdeyi sarar, üçgensel-akut şekildedir; kenarları küçük dikenli dişlidir. Çiçek durumu başak şeklinde olup; 5-6 cm büyüklüğünde ve 50-70 çiçekten oluşmuştur. Her bir yaprak koltuğundan 20-30 dal çıkar ve her dal 1(2-) kapitulum taşır. Kapitulum 12-15 mm çapındadır. Brakteler 5-6 adet, subulattır; dikenlidir; 1-3 cm, en uzun olanları tabanda, 0-4 yan diken taşır. Brakteollerin hepsi tepede 3 sivri uçludur. Kalkerli/kireçli kayalarda, yaklaşık 1300 m yükseklikte yetişir. Endemik bir türdür (Davis ve ark., 1988; s. 145).

1.2.5.6. *Eryngium kotschy* Boiss.

Sert, tabanda lifli, çok yıllık bir bitkidir. Gövde birkaç adet, orta kısmın üstünden belirgin bir şekilde dallanmıştır. Taban yaprakları kalıcıdır, derimsi, donuk mavi-yeşil renkli, yaprak sapı çoğu zaman uca yakın dikenlidir; lamina genişçe, kuneat-orbikulardır. 6-13 cm uzunluğunda ve genişliğindedir. Parçalıdır; derin palmat parçalar birbirinden uzak (3)5-7 adet uzamış derin pennat loblara ayrılmıştır; bütün parçalar linear-lanseolat ve hemen hemen paralel damarlı, batıcı, terminal loblar lateral loblardan daha uzundur. Orta gövde yaprakları benzer şekildedir; farklı olarak kısa, dikenli kenarlı, sarıcı bir sap taşırlar; çiçek durumu yaprakları çoğunlukla 3 parçalıdır. Çiçek durumu ametist renkli, hemen hemen yoğun panikulat şekilde, sert; kapitulum 8-20 adet, basık küre şeklinde, 10-23 mm çapındadır. Brakteeler 6-15 adet, farklı uzunluklarda, geriye doğru kıvrık gibi ve *Eryngium billardieri*'de olduğundan daha geniş ve serttir; dış kısımdakiler 5-7 damarlı ve 1-4 çift seyrek, kalın dişlidir. Brakteoller tam, sepallerden daha uzundur. Merikarplar, ovat şekilli; obtustan akuta değişen pullarla kaplıdır. Çiçeklenme zamanı 7-9. aylardır. Taşlık yamaçlarda ve sedir ormanlarının sınırlarında, 1100-2250 m yüksekliklerde yetişir. Endemik bir bitkidir (Davis, 1972; s. 302).

1.2.5.7. *Eryngium maritimum* L.

Donuk mavi-yeşil renkli, sert, çok yıllık bir bitkidir. Gövde 20-35 cm boyunda, kalın, çizgili ve köşeli, genişçe dallanmıştır. Taban yaprakları kalıcıdır; kalın, derimsi, dairemsidir; diken uçlu, geniş üçgensel dişlidir. Orta ve üst gövde yaprakları da benzer şekildedir ancak neredeyse sapsızdır ve daha küçüktür. Çiçek durumu donuk mavi-yeşil renkli, yaygın-panikulattır. Kapitulum 3-15 adet, ovat, 10-25 mm çapındadır. Brakteeler 5 adet, yapraksı; ovat; geniş, birkaç adet geniş diken uçlu dişlidir; kapitulumun 1-2 katı uzunluktadır. Brakteollerin hepsi 3 sivri uçludur. Çiçeklenme zamanı 6-8. aylardır. Deniz seviyesinde, kumda yetişir. Batı Avrupa, Akdeniz ve Karadeniz'de yayılış gösterir (Davis, 1972; s.302).

1.2.5.8. *Eryngium trisectum* A. Wörz & H. Duman

Çok yıllık, hemikriptofit bir bitkidir. Yeşil renklidir; üst kısımları kırmızıdan leylak rengine doğrudur. 30-90 cm uzunluğunda; 15 mm çapa kadar genişleyen lifli bir ana köke sahiptir. Taban yaprakları uzun, yassı saplıdır; saplar 15 cm boya kadar uzanır; lamina 3-4(-5) parçalı veya iki ek küçük parça taşıyan, derin üç parçalı şekildedir; herbir parça 1-3 mm genişliğindedir; 300 mm'ye kadar boylan bu parçalar, bitkiye Graminae bitkilerine benzer bir görüntü verir; tamdır; dikensi veya batıcı değildir; paralel damarlıdır. Gövde dik, tek veya 2 tane; hafif olukludur; beyazımsı, üst kısımlarda hafif leylak renklidir. Gövde sadece çiçek durumunun başladığı yerden dallanır. Bu dalların tabanında kuru yaprak kınlarının oluşturduğu küme bulunur. Gövde yaprakları paralel damarlı, gövdenin alt kısmında 3 parçalı; taban yapraklarına benzer şekilde, düz, sarı, saplıdır. Gövdenin üst kısmında tam, linear-lanseolat şekilde, sapsız, tabana doğru genişlemiş ve bu taban kenarları küçük dikenlidir. Synflorescence'in alt dallarını taşıyan yapraklar, dalların boyunu aşmayacak şekildedir. Kapitulum 8-15 adet, yarı-küre şeklinde; synflorescence dikasyum veya korimbus şeklinde, yaygındır. Involukrum yaprakları, 10-20(-25) x 3-4 mm; umbellanın 2-3 katı uzunlukta, her bir kapitulumda 5-6 adet, subulat; kenarında bir çift, nadiren daha çok veya 0 diken taşır. Paralel damarlı, batıcı, genellikle ilave şekilde; tabanda uzun dikenlerin oluşturduğu bir halka bulunur. Brakteler tam, linear, genişlemiş bir orta damara ve beyaz, dar kenara sahiptir; batıcıdır, yaklaşık olarak çiçeğin uzunluğundadır. Sepaller ovattan oblonga değişen şekillerde, akuminat, batıcı, bazen mukronat, kenarı beyazdır. Petaller içeri doğru kıvrılmış, uzun bir lob taşır; renkleri beyazdan leylak rengine değişir; uçları 2-tepelidir. Meyveler ovoit, yassı, uzun akuminattan subulata değişen şekillerde çıkıntılı kenarlara ve uca sahiptir. Çiçeklenme zamanı 8. aydır. Serpentin yamaçlarda, 1600-1700 m yükseklikte yetişir. Endemik bir türdür (Wörz ve Duman, 2004).

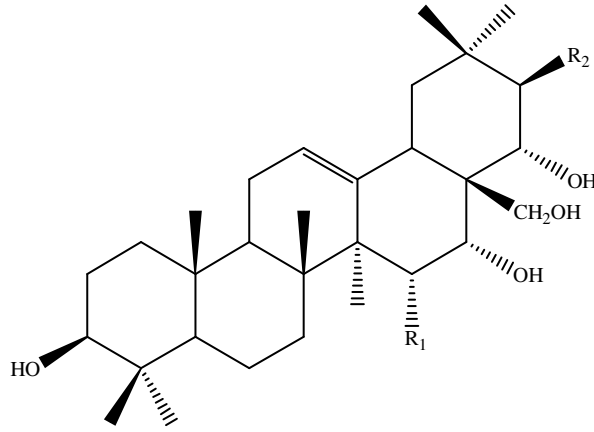
1.3. *Eryngium* Türleri Üzerinde Daha Önce Yapılan Çalışmalar

1.3.1. Fitokimyasal Çalışmalar

Eryngium türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalarda topraküstü kısımlarında saponinler, flavonoidler ve uçucu yağ; toprakaltı kısımlarında ise triterpenik saponinler, monoterpenik glikozitler, fenolik bileşikler (flavonoidler, fenolik asitler), kumarin türevi bileşikler, terpen aldehit esterleri, asetilenler, uçucu yağ ve oligosakkaritler bulunduğu tespit edilmiştir. (Erdelmeier ve Sticher, 1985; Erdelmeier ve Sticher, 1986; Hohmann ve ark., 1997; Kartal ve ark., 2005; PDR for Herbal Medicines, 2004).

1.3.1.1. *Eryngium* Türlerinden Elde Edilen Saponinler

Eryngium türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu, triterpenik yapıda saponin içerdikleri belirlenmiştir. İzole edilen saponinlerin aglikonları başlıca barringtonenol C, A1-barrigenol, R1-barrigenol veya kameliagenin A yapısındadır (Şekil 1.1); bunların yanında eringenol A, eringenol B, betulinik asit, oleanik asit yapısında aglikona sahip saponinler de izole edilmiştir. Glikoziti oluşturan şeker olarak da genellikle glukoz, glukuronik asit, ramnoz, ksiloz, galaktoz, arabinoz taşırlar. Genellikle 21 ve 22. konumlarda ve bazen de 28. konumdan başlıca asetik asit, anjelic asit, dimetilakrilik asit ve tiglik asit; nadiren de izovaleryanik asit, n-bütirik asit ve metil bütirik asit ile ester teşkil ettikleri tespit edilmiştir. Saponinler genellikle monodesmozidiktir; bidesmozidik olanlarda şeker grupları aglikona 3. ve 28. konumlardan bağlanmıştır (Hiller ve ark., 1974; Hiller ve ark., 1978; Kartal ve ark., 2005; Kartal ve ark., 2006; Zhang ve ark., 2008).

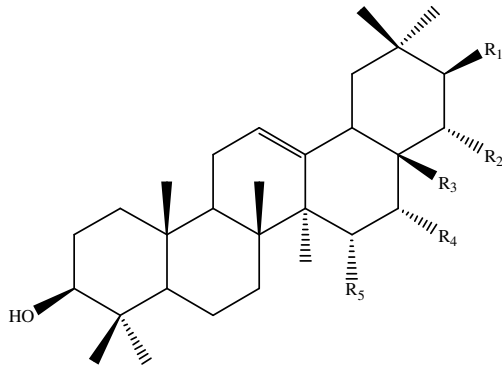


Aglikon	R ₁	R ₂
A1-barrigenol	OH	H
R1-barrigenol	OH	OH
Barringtogenol C	H	OH

Şekil 1.1. *Eryngium* türleri saponinlerinde en sık rastlanan aglikonlar.

Eryngium giganteum bitkisinin yapraklarından hazırlanan metanollü ekstreden hareketle aglikonları Giganteumgenin A, B, C, D, E, G, H, K, M ve N olarak adlandırılan, triterpenik saponinler izole edilmiştir. İzolasyon sonrası saponin hidroliz edilmiş; aglikonların yapı tayinleri yapılmış; başlıca barringtogenol C ve R1-barrigenol yapısında olduğu belirlenmiştir (Şekil 1.1). Şeker olarak L-arabinoz, D-galaktoz, D-glukoz, L-ramnoz, D-ksiloz ve D-glukuronik asit taşıdıkları tespit edilmiştir. Aglikonların ana iskeletleri tam olarak tespit edilmekle beraber, analizlerin yapıldığı dönemde olanakların kısıtlılığı nedeniyle içerdikleri açıl sübstütientlerinin (dimetilakrilik asit, anjelik asit veya tiglik asit - OCOC₄H₇) teşhisi kesin olarak yapılamamıştır (Hiller ve ark., 1975¹).

Eryngium amethystinum L. üzerinde yapılan bir çalışmada, aglikonu barringtogenol C, R1-barrigenol, eringinol A ve A1-barrigenol yapısında olan saponinler izole edilmiştir (Hiller ve ark., 1977).

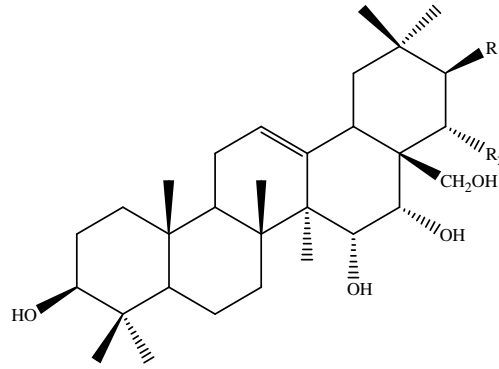
					
Aglikon	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Giganteumgenin A	O-Anjeloil veya O-Tigloil ya da O-Dimetilakriloil	OCOCH ₃	CH ₂ OCOCH ₃	OH	H
Giganteumgenin B	O-Anjeloil veya O-Tigloil ya da O-Dimetilakriloil	OCOCH ₃	CH ₂ OH	OH	H
Giganteumgenin C	H	H	COOH	H	H
Giganteumgenin D	OCOC ₄ H ₇	OCOCH ₃	CH ₂ OH	OH	OCOCH ₃
Giganteumgenin E	O-Anjeloil veya O-Tigloil	OH	CH ₂ OH	OH	H
Giganteumgenin G	O-Anjeloil veya O-Tigloil	OH	CH ₂ OH	OH	OH
Giganteumgenin H	OH	OCOC ₄ H ₇	CH ₂ OH	OH	OH
Giganteumgenin K	OH	OCOC ₄ H ₇	CH ₂ OH	OH	OH
Giganteumgenin M	OH	OH	CH ₂ OH	OH	H
Giganteumgenin N	OH	OH	CH ₂ OH	OH	OH

Hiller ve ark., 1975

Şekil 1.2. *Eryngium giganteum*'dan izole edilen saponin aglikonları

Hiller ve arkadaşları (1973), *Eryngium planum* topraküstü kısımlarından triterpenik yapıda Eringinol A adlı sapogenolü izole etmişlerdir. Bileşiğin yapısının aydınlatılmasında ¹H-NMR ve Kütle spektroskopisinden yararlanmışlardır ve sonuçta bu bileşiğin barringtogenol C aglikonunun metabolizasyon ürünü olduğunu saptamışlardır.

Eryngium planum bitkisinin kökleri ile yapılan bir çalışmada köklerin %80'lik metanol ile ekstresi elde edilmiş ve elde edilen ekstre çeşitli kromatografik uygulamalara tabi tutulduktan sonra triterpenik saponinler izole edilmiştir. Hidroliz edildikten sonra aglikonun yapısı UV spektroskopisi, ^1H NMR spektroskopisi, IR spektroskopisi, kütle spektroskopisi, gaz kromatografisi yöntemleri ile aydınlatılmış, A1-barrigenol, R1-barrigenol yapısında aglikonlar olarak tespit edilmişlerdir (Şekil 1.3). Eryngiumgenin A ve Eryngiumgenin B bileşiklerinin süstitüentleri ve bağlanma konumları aynı olmasına rağmen; iki bileşikte bulunan dimetilakriloil, anjeloil ve tigloil gruplarının oranlarını farklı oranlarda saptadıkları için (anjelik asit, dimetilakrilik asit veya tiglik asit (Eryngiumgenin A için 5:4:1); (Eryngiumgenin B için 5:3:1)) iki ayrı bileşik olarak belirtmişlerdir (Hiller ve ark., 1970).



Aglikon	R ₁	R ₂
Eryngiumgenin A	H	O-Anjeloil veya O-Tigloil ya da Dimetilakriloil
Eryngiumgenin B	H	İzovaleryanil veya İzobutiril ya da n-butiril
Eryngiumgenin C	OH	O-Anjeloil veya O-Tigloil ya da O-Dimetilakriloil
Eryngiumgenin D	OCOCH ₃	O-Anjeloil veya O-Tigloil ya da O-Dimetilakriloil

Hiller ve ark., 1970

Şekil 1.3. *Eryngium planum*'dan izole edilen saponin aglikonları

Eryngium planum bitkisi üzerinde yapılan başka bir araştırmada; yaprak ve kökleri üzerinde izolasyon çalışmaları yapılmıştır. Sonuçta triterpenik saponinler izole edilmiş; hidroliz edildikten sonra sapogeninlerin yapısı kütle spektroskopisi, ^1H NMR spektroskopisi, gaz kromatografisi yöntemleriyle aydınlatılmıştır. Sübstitüentlerin konumları veya hangi asitin bağlandığı kesin olarak saptanmamış; olası konumlar şeklinde belirtilmiştir.

Eryngiumgenin E: Kamelliagenin A yapısında, 16, 21 veya 28. konumlardan ikisinde, asetik asit ve anjelik asit veya tiglik asit ile ester oluşturan bir aglikondur (Hiller ve ark., 1974; Hiller ve ark., 1975²).

Eryngiumgenin F: Barringtogenol C yapısında; 21 β konumunda anjelik asit veya tiglik asit, 22 α konumunda asetik asit ile ester oluşturan bir aglikon olarak tespit edilmiştir.

Eryngiumgenin G: Barringtogenol C yapısında; 21 β konumunda anjelik asit veya tiglik asit, 22 α konumunda asetik asit ile ester oluşturan, diester yapısında bir aglikondur.

Eryngiumgenin H: Barringtogenol C'ye bağlı, 21 β veya 22 α konumunda anjelik asit veya tiglik asit ile ester oluşturan, monoester yapısında bir aglikondur.

Eryngiumgenin J: R1-Barrigenol'a bağlı, 21 β konumunda anjelik asit, tiglik asit, α -metil bütirik asit veya izovaleryanik asit, 22 α konumunda ise asetik asit ile ester oluşturan, diester yapısında bir aglikondur.

Eryngiumgenin K: R₁-Barrigenol'a bağlı, 21 β konumunda anjelik asit veya tiglik asit, 22 α konumunda ise asetik asit ile oluşturan diester yapıda bir aglikondur.

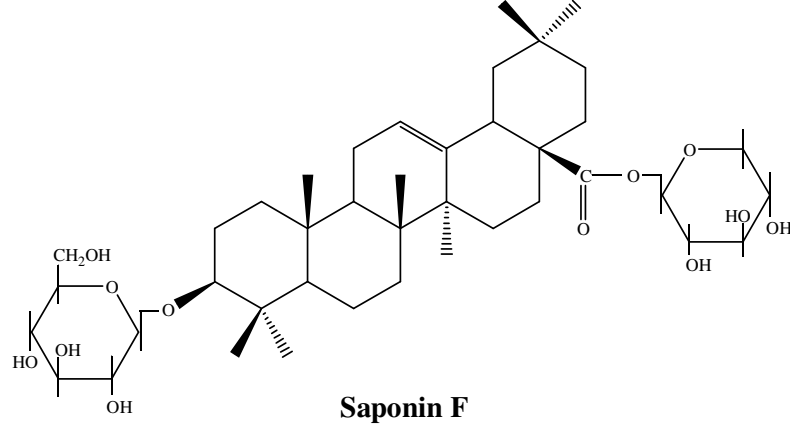
Eryngiumgenin L: R₁-Barrigenol'a bağlı, 21 β veya 22 α konumunda anjelic asit, tiglik asit, α -metil bütirik asit veya izovaleryanik asit ile ester oluşturan, monoester yapısında bir aglikondur (Hiller ve ark., 1974).

Eryngium bromeliifolium Delar. yaprakları üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda, oleanik asit yapısında iki aglikon bulunduğu tespit edilmiştir. Oleanik asit yapısı, bu çalışmadan önce sadece *Eryngium incognitum* Pavl.'dan izole edilmiştir. Oleanik asit türevi saponinlerin izole edildiği ikinci tür *Eryngium bromeliifolium* olarak kayıtlara geçmiştir (Hiller ve ark., 1973).

Eryngium bromeliifolium bitkisinin taze yaprakları üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda betulinik asit-3-O- β -glukozit adlı triterpenik saponin izole edilmiştir (Hiller ve ark., 1976¹).

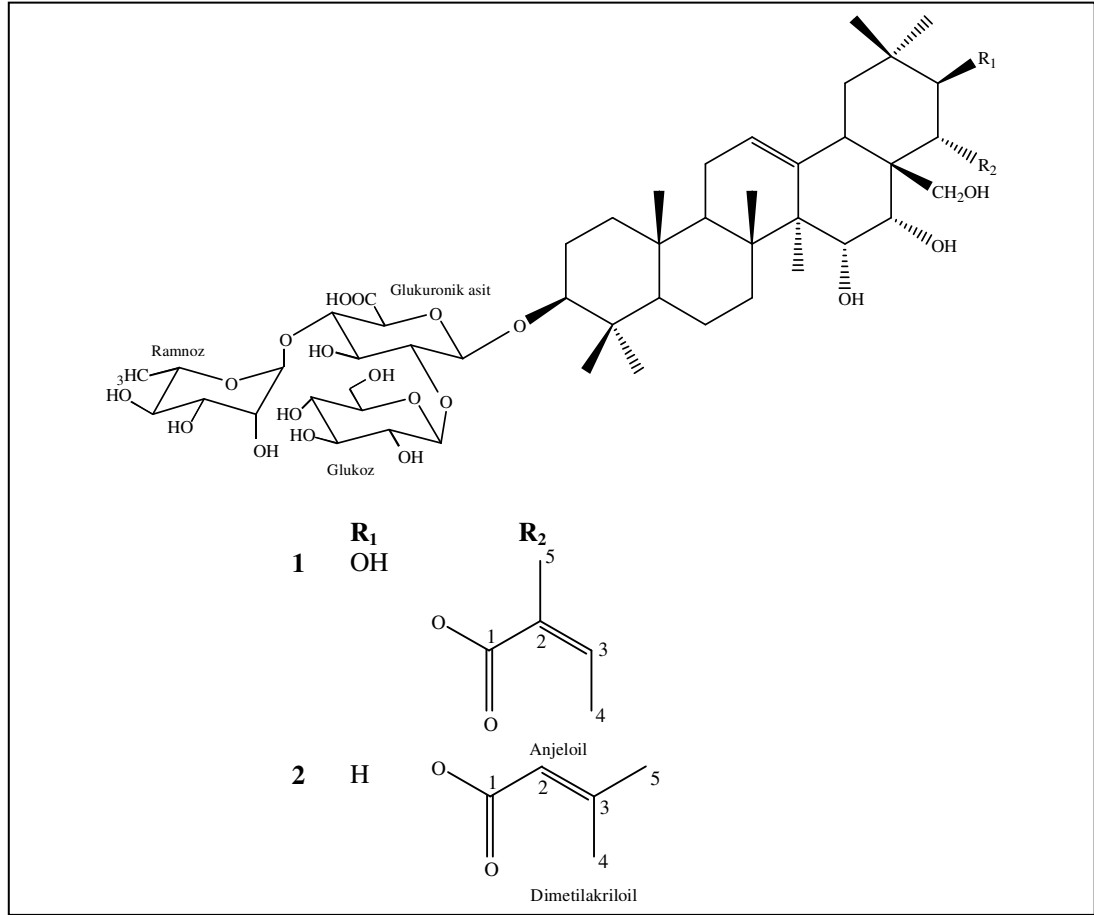
Eryngium maritimum bitkisinin çiçeklenme zamanında toplanıp kurutulmuş topraküstü kısımları saponin komplekslerinin izolasyonu için kullanılmış ve farklı saponinler izole edilmiştir. Genellikle esterleşmiş halde bulundukları; A1.barrigenol ve R₁-barrigenol yapısında aglikon; ester oluşturan asit olarak da anjelic asit ve tiglik asit taşıdıkları tespit edilmiştir (Hiller ve ark., 1976², Abu-Asaker, 2005).

Hiller ve arkadaşlarının (1978) yaptıkları başka bir çalışmada; *Eryngium bromeliifolium* bitkisinin taze yapraklarından Saponin F olarak adlandırılan, kimyasal okunuşu 3-O-D-Glukopiranoziloleanolik asit-28-O-D-ksilopiranozit olan triterpenik saponin izole etmişlerdir.



Şekil 1.4. Saponin F.

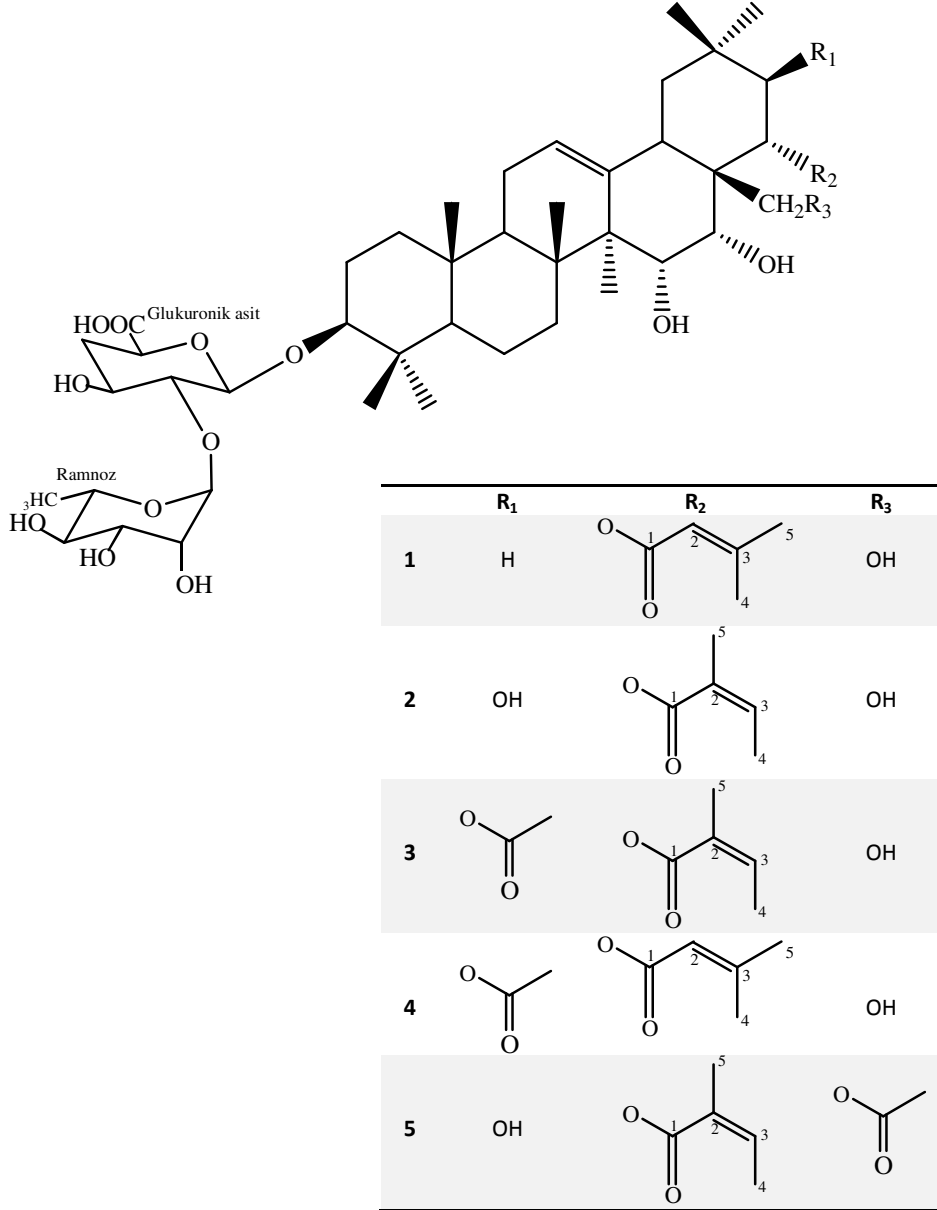
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı’nda Doç. Dr. Murat Kartal’ın yürütücülüğünü üstlendiği Mahmoud Abu Asaker’e ait “*Eryngium campestre* L. var *virens* Link Üzerinde Farmakognozik Çalışmalar” adlı tez çalışmasında 2 yeni triterpenik saponin izole edilmiştir. Bitkinin köklerinden elde edilen metanollü (MeOH) ekstre kuruluğa kadar uçurulduktan sonra H₂O – MeOH (9:1) karışımında çözülmüştür; daha sonra H₂O ile doyurulmuş n-bütanol (n-BuOH) ile ekstre edilmiştir. Elde edilen n-BuOH ekstresi silika jel kolon kromatografisi yöntemi 13 ana fraksiyona ayrılmış; ayrılan bu fraksiyonlardan da ters faz silika jel orta basınçlı sıvı kromatografisi (MPLC) uygulaması ile 3-*O*-β-D-glukopiranozil-(1→2)-[α-L-ramnopiranozil-(1→4)]-β-D-glukurunopiranozil-22-*O*-anjeloil-R1-barrigenol (**1**) ve 3-*O*-β-D-glukopiranozil-(1→2)-[α-L-ramnopiranozil-(1→4)]-β-D-glukurunopiranozil-22-*O*-β,β-dimetilakriloil-A1-barrigenol (**2**) adlı triterpen yapısında bileşiklere ulaşılmıştır. İzole edilen bileşiklerin yapıları başlıca tek boyutlu (1D) [¹H-NMR, ¹³C-NMR,] ve çift boyutlu (2D) [¹H-¹H COSY, TOCSY, NOESY, HSQC VE HMBC] NMR teknikleri olmak üzere kütle spektroskopisi [FAB-MS (negative iyon modu) ve HR-ESI-MS (pozitif iyon modu)] yöntemleri ile aydınlatılmıştır. İzole edilip yapısı tayin edilen bileşiklerin formülleri Şekil 1.5’te gösterilmiştir (Abu-Asaker, 2005; Kartal ve ark., 2005).



Şekil 1.5. *Eryngium campestre* köklerinden izole edilen saponinler

Tez çalışmasının haricinde izolasyon çalışmaları devam ettirilmiş; aynı bitkiden 5 tane daha yeni triterpenik saponin yapısında madde izole edilmiştir. İzolasyon çalışmalarında yine daha önce elde edilen n-BuOH ekstresi kullanılmıştır. Elde edilen 13 ana fraksiyondan hareketle silika jel ve ters faz silika jel MPLC uygulamaları ile 3-*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glukurunopiranozil-22-*O*- β , β -dimetilakriolil-A1-barrigenol (**1**), 3-*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glukurunopiranozil-22-*O*-anjeloil-R1-barrigenol (**2**), 3-*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glukurunopiranozil-21-*O*-asetil-22-*O*-anjeloil-R1-barrigenol (**3**), 3-*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glukurunopiranozil-21-*O*-asetil-22-*O*- β , β -dimetilakriolil-R1-barrigenol (**4**), 3-*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glukurunopiranozil-22-*O*-anjeloil-28-*O*-asetil-R1-barrigenol bileşikleri saf olarak izole edilmiştir (Şekil 1.6). İzole edilen bu 5 bileşiğin yapıları başlıca 1D [^1H NMR, ^{13}C NMR,] ve 2D [^1H - ^1H COSY, TOCSY, NOESY, HSQC VE HMBC] NMR teknikleri olmak üzere kütle

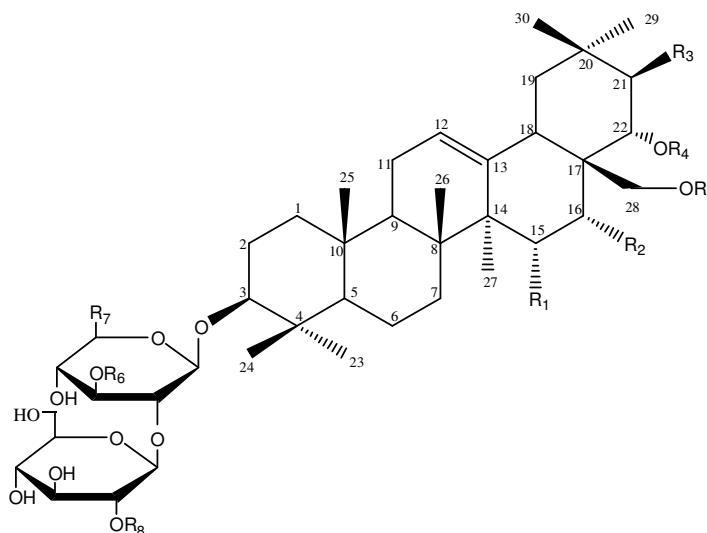
spektroskopisi [FAB-MS (negative iyon modu) ve HR-ESI-MS (pozitif iyon modu)] yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Kartal ve ark., 2006).



Şekil 1.6. *Eryngium campestre* köklerinden izole edilen diğer saponinler

Eryngium yuccifolium Michx. bitkisinin tüm kısımları ile yapılan bir çalışmada bitkinin tüm kısımları toz edilip %95'lik etanol ekstre edildikten sonra kuruluğa kadar uçurulmuş; daha sonra metanol – su (1:1) karışımında süspanse edilip sırasıyla hekzan ve n-BuOH ile ekstre edilmiştir. n-BuOH fraksiyonu önce silika jel kolon kromatografisine uygulanmıştır; daha sonra bu uygulamadan elde edilen alt fraksiyonlar preparatif HPLC, oktadesil-fonksiyonlu silikajel (ODS) kolon

kromatografisi yöntemlerine uygulanmış sonuçta triterpenik saponin yapısında olan eringozit A (1), eringozit B (2), eringozit C (3), eringozit D (4), eringozit E (5), eringozit F (6), eringozit G (7), eringozit H (8), eringozit I (9), eringozit J (10), eringozit K (11), eringozit L (12) bileşikleri yeni bileşikler olarak; bilinen bileşiklerden de 21 β -anjeloiloksi-3 β -[β -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)]-[β -D-ksilopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-glukurunopiranoziloksiolean-12-en-15 α , 16 α , 22 α , 28-tetrol (13) ve sanikulasaponin III (14) izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları 1D [1 H-NMR, 13 C-NMR,] ve 2D [DEPT, COSY, ROESY, HMQC VE HMBC] NMR teknikleri olmak üzere kütle spektroskopisi [HR-ESI-MS (pozitif iyon modu) ve HR-MALDI-MS (pozitif iyon modu)] yöntemleri ile aydınlatılmıştır; yapısı aydınlatılan bileşikler Şekil 1.7’de gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2008).



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
1	H	OH	H	Glukoz	H	H	CH ₂ OH	Glukoz
2	H	OH	H	Glukoz	H	H	CH ₂ OH	Galaktoz
3	H	=O	H	Glukoz	H	H	CH ₂ OH	Glukoz
4	H	OH	H	H	Glukoz	H	CH ₂ OH	Glukoz
5	OH	OH	OH	Anjeloil	H	Ksiloz	COOH	H
6	H	OH	OH	Anjeloil	H	Ksiloz	COOH	H
13	OH	OH	O-Anjeloil	H	H	Ksiloz	COOH	H
7	OH	OH	O-Anjeloil	H	H	Arabinoz	COOH	H
8	OH	OH	H	Anjeloil	H	Ksiloz	COOH	H
9	OH	OH	H	Anjeloil	H	Arabinoz	COOH	H
10	OH	OH	O-Anjeloil	Asetil	H	Ksiloz	COOH	H
14	OH	OH	O-Anjeloil	Asetil	H	Arabinoz	COOH	H
11	H	OH	O-Anjeloil	Asetil	H	Ksiloz	COOH	H
12	H	OH	O-Anjeloil	Asetil	H	Arabinoz	COOH	H

Şekil 1.7. *Eryngium yuccifolium*’dan izole edilen saponinler

1.3.1.2. *Eryngium* Türlerinden Elde Edilen Saponin Dışındaki Bileşikler

Zhang ve arkadaşları (2008); yukarıda açıklandığı gibi izole ettikleri saponinlerin yanısıra elde ettikleri n-BuOH ekstresinin silika jel kolon kromatografisi uygulaması ile yeni bir bileşik olan kemferol-3-*O*-(2-*O*-*trans*-*p*-metoksikumaroil-6-*O*-*trans*-*p*-kumaroil)- β -D-glukopiranozit ve bilinen bir bileşik olan kemferol-3-*O*-(2,6-di-*O*-*trans*-*p*-kumaroil)- β -D-glukopiranozit adlı flavonoitleri izole etmişlerdir. Silika jel kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonlardan hareketle bilinen bir fenolik asit olan kafeik asit izole edilmiştir. Yine fraksiyonların ODS kolona uygulanması ve preparatif yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) uygulamaları sonucunda 3,4-dihidroksifenil kafeat ve (4- β -D-glukopiranoziloksi)-3-hidroksifenil kafeat bileşikleri doğada ilk kez izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları 1D [$^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$,] ve 2D [DEPT, COSY, HMQC VE HMBC] NMR teknikleri olmak üzere kütle spektroskopisi [HR-MALDI-MS (pozitif iyon modu)] yöntemleri ile aydınlatılmıştır.

Le Claire ve arkadaşlarının (2005) yaptığı bir çalışmada *Eryngium alpinum* L.'un kökleri, diklorometan ile yağından kurtarıldıktan sonra % 50'lik etanol ile ekstre edilmiş, elde edilen ekstrenin MPLC'ye uygulanması ile klorojenik asit (1), *R*-(+)-rozmarinik asit (2) ve *R*-(+)-3'-*O*- β -D-glukopiranozil rozmarinik asit (3) izole edilmiştir. Aynı çalışmada farklı yerlerden sağlanan *Eryngium* türlerinin *R*-(+)-rozmarinik asit ve *R*-(+)-3'-*O*- β -D-glukopiranozil rozmarinik içerikleri HPLC ile araştırılmıştır. Sonuçlar çizelge 1. de gösterilmiştir; analizi yapılan türlerin hemen hepsinin *R*-(+)-rozmarinik asit içerdiği gözlenirken; *Eryngium falcatum*, *Eryngium foetidum*, *Eryngium giganteum* ve *Eryngium ilicifolium* bitkilerinin toprakaltı kısımlarında *R*-(+)-3'-*O*- β -D-glukopiranozil rozmarinik asite rastlanmamıştır (Çizelge1.1).

Çizelge1.1. *Eryngium* türlerinin köklerinin Rozmarinik asit ve *R-(+)-3'-O-β-D-glikopiranozil* rozmarinik asit analiz sonuçları

<i>Bitki adı (kaynağı)</i>	<i>Rozmarinik asit</i>	<i>R-(+)-3'-O-β-D-glikopiranozil rozmarinik asit</i>
<i>Eryngium agavifolium</i> (Bot. Garden, Bern)	+	-
<i>Eryngium alpinum</i> (Maran/Arosa)	+	+
<i>Eryngium alpinum</i> (Bot. Garden Porrentruy)	+	+
<i>Eryngium alpinum</i> (La Thomasia)	+	+
<i>Eryngium alpinum</i> (Bergün)	+	+
<i>Eryngium alpinum</i> (Ardon)	+	+
<i>Eryngium alpinum</i> (Agroscope, Bruson)	+	+
<i>Eryngium alpinum</i> (Bot. Garden, Freiburg)	+	+
<i>Eryngium alpinum</i> (La Rambertia)	+	+
<i>Eryngium alpinum</i> (Schynige Platte)	+	+
<i>Eryngium amethystinum</i> (FND, Morocco)	+	+
<i>Eryngium amethystinum</i> (Bot. Garden, Zürich)	+	-
<i>Eryngium bourgatii</i> (Bot. Garden, Bern)	+	+
<i>Eryngium bourgatii</i> (Pyrenees)	+	+
<i>Eryngium campestre</i> (Val d'Aoste)	+	-
<i>Eryngium campestre</i> (Bot. Garden, Zürich)	+	+
<i>Eryngium campestre</i> (Bot. Garden, Bern)	+	+
<i>Eryngium campestre</i> (Rouffach)	+	+
<i>Eryngium campestre</i> (Bot. Garden, Reinach)	-	-
<i>Eryngium campestre</i> (FND, Morocco)	+	+
<i>Eryngium campestre</i> (Bot. Garden, Freiburg)	+	+
<i>Eryngium campestre</i> (Sachsen Anhalt)	-	-
<i>Eryngium falcatum</i> (FND, Morocco)	+	-
<i>Eryngium foetidum</i> (FND, Vietnam)	-	-
<i>Eryngium giganteum</i> (Bot. Garden, Bern)	+	-
<i>Eryngium giganteum</i> (Bot. Garden, Basel)	+	-
<i>Eryngium giganteum</i> (Bot. Garden, Zürich)	+	-
<i>Eryngium ilicifolium</i> (FND, Morocco)	-	-
<i>Eryngium maritimum</i> (FND, Morocco)	+	-
<i>Eryngium maritimum</i> (FND, Germany)	+	+
<i>Eryngium maritimum</i> (Bot. Garden, Freiburg)	+	+
<i>Eryngium yuccifolium</i> (Bot. Garden, Bern)	-	-

Eryngium campestre bitkisinin topraküstü kısımları üzerinde yapılan bir çalışmada; topraküstü kısımlarda hazırlanan metanollü ekstre petrol eteri, etil asetat ve su ile sıvı-sıvı ekstre edildikten sonra ekstreler üzerinde kolon kromatografisi, preparatif İTK gibi kromatografik yöntemler uygulanarak tilirozit, kemferol 3-*O*- β -D-glukozit-7-*O*- α -L-ramnozit, rutin, kemferol, kersetin, izoramnetin, kafeik asit, klorojenik asit ve mannitol yanında; kemferol 3-*O*- β -D-(2'-*Z*-p-kumaroilglukozit) ve *trans* izomeri karışım halinde izole edilmiştir. *cis* izomerinin ilk kez bu bitkiden elde edildiği bildirilmiştir (Hohmann ve ark., 1997).

Eryngium bourgatti bitkisinin toprakaltı ve topraküstü kısımları üzerinde ayrı ayrı yürütülen izolasyon çalışmaları sonucunda her iki kısımdan da 6-pentenil-2-[2-okso-bütün(3)-yliden]-tetrahidropiran adlı asetilenik bileşik ile Apiaceae (Umbellifereae) familyasında yaygın olarak bulunan falkarinon adlı bileşik izole edilmiştir (Drake ve Lam, 1972).

Eryngium campestre kökleri yağından kurtarıldıktan sonra kloroform ile ekstre edilmiş; elde edilen bu ekstre üzerinde yapılan çeşitli kromatografik uygulamalar sonucunda kumarin türevi olan aegelinol, agasyllin, grandi-vittin ve aegelinol benzoat adlı maddeleri izole etmişlerdir (Erdelmeier ve Sticher, 1985).

Eryngium campestre bitkisinin köklerinden elde edilen metanollü ekstreden hareketle yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda 3-(β -D-glukopiranoziloksimetil)-2,4,4-trimetil-2,5-sikloheksadien-1-on ve 3-(β -D-glukopiranoziloksimetil)-2,4,4-trimetil-2-sikloheksen-1-on adlı, sikloheksanon tipi monoterpenik glikozit yapısında iki yeni madde izole edilmiştir (Erdelmeier ve Sticher, 1986).

Eryngium türlerinin uçucu yağları üzerinde yapılan çalışmalar ve uçucu yağların majör bileşenleri çizelge halinde verilmiştir (Çizelge1.2). Türkiye'de yetişen *Eryngium* türleri üzerinde tarafımızca *Eryngium maritimum* bitkisinin topraküstü kısımları ile yapılan çalışma haricinde başka bir çalışmaya rastlanmamıştır (Aslan ve Kartal, 2006).

Çizelge 1.2. *Eryngium* türlerinden elde edilen uçucu yağların bileşenleri.

Bitki Adı	Uçucu yağın elde edildiği kısım	Ana bileşikler	Referans
<i>Eryngium amethystinum</i> L.	Yapraklı dallar	α -pinen (%11,8), 2,3,6-trimetilbenzaldehit (%24,7), germakren D (%31,3)	Flamini ve ark., 2008
	Çiçek durumu	α -pinen (%25,6), 2,3,6-trimetilbenzaldehit (%22,0), germakren D (%14,5)	
	Meyve	α -pinen (%17,0), 2,3,6-trimetilbenzaldehit (%16,9), germakren D (%7,6)	
<i>Eryngium billardieri</i> F. Delaroche	Topraküstü kısımlar	α -muurolen (%42,0), β -gurjunen (%17,0), δ -kadinen (%6,2), valensen (%5,7)	Sefidkon ve ark., 2004
<i>Eryngium bourgatii</i> Gouan	Çiçek durumu	Fillokladen (% 37,6), bisiklogermakren (% 15,1)	Palá-Paúl ve ark., 2005 ¹
	Yaprak + dallar	Fillokladen (%20,4), γ -muurolen (%11,8), (<i>E</i>)-karyofillen (%10,1)	
	Kök	γ -muurolen (%15,4), fillokladen (% 15,0)	
<i>Eryngium bungei</i> Boiss.	Topraküstü kısımlar	Kumin alkol (%55,3), terpinolen (%14,6), karvakrol (%8,9), limonen (%7,5)	Morteza-Semnani, 2005
<i>Eryngium corniculatum</i> Lam.	Çiçek durumu	2,4,6-trimetilbenzaldehit (%50,8), α -pinen (%4,0), kristanetilasetat (% 4,0), 2,4,5-trimetilbenzaldehit (%3,3)	Palá-Paúl ve ark., 2007
	Yaprak + dallar	2,4,6-trimetilbenzaldehit (%50), 2,4,5-trimetilbenzaldehit (%3,8) ve α -pinen (%3,4)	
	Kökler	2,4,6-trimetilbenzaldehit (%29,8), fillokladen izomer (%13,0), (<i>E</i>)-nerolidol (9,4) ve β -ödesmol (%4,1)	
<i>Eryngium expansum</i> F. Muell.	Topraküstü kısımlar	7-epi-selinen (%38,3), <i>cis</i> - β -gayen (%10,8), 2,3,6-trimetilbenzaldehit (%8,0), (<i>E,E</i>)- α -farnesen (%7,3)	Brophy ve ark., 2003
<i>Eryngium foetidum</i> L.	Topraküstü kısımlar	2,3,6-trimetilbenzaldehit (%5,5 ve 23,7), (<i>E</i>)-2-dodekenal (%15,9 ve 37,5), (<i>E</i>)-2-tetradekenal (%18,7 ve 25,3)	Martins ve ark., 2003
	Topraküstü kısımlar	2,4,5-trimetilbenzaldehit (%27,7), (<i>E</i>)-2-dodekenal (%27,5), karotol (%8,8), 3-dodekenal (%5,2)	Cardozo, 2004
<i>Eryngium glaciale</i> Boiss.	Çiçek durumu	Fillokladen izomer (%43,5), (<i>E</i>)-karyofillen (%15,2), valensen (%11,5)	Palá-Paúl ve ark., 2005 ²
	Yaprak + dallar	Fillokladen izomer (%41,3)	
	Kökler	Fillokladen izomer (%49,4), linalol (%19,1)	

Çizelge 1.1. (devamı)

<i>Eryngium maritimum</i> L.	Topraküstü kısımlar	Germakren D (%43,1-42,4), 9-muurolen-15-aldehit (%22,4-16,4)	Palá-Paúl ve ark., 2005 ²
	Kökler	γ -gayen (%40,2), 2,3,4-trimetilbenzaldehit (%24,5), germakren D (%10,6)	
	Topraküstü kısımlar	spatulenol (%18,99), karyofillen oksit (%8,18), α -amorfen (%5,89), 1,5-epoksisalvial-4-(14)-en (%5,15 ve salvial-4-(14)-en1-on (%5,00)	Aslan ve Kartal, 2006
<i>Eryngium pandanifolium</i> Cham. et Schlecht	Yaprak	Bornil asetat (%20,8), β -selinen (%13,8), α -selinen (%11,3), γ -muurolen (%8,0)	Brophy ve ark., 2003
	Meyve	Oktanal (%11,5), β -selinen (%9,2), β -elemen (%4,4)	
<i>Eryngium rostratum</i> Cav.	Gövde	Spatulenol (%20,0), β -bizabolol (%8,6), karyofilen oksit (%8,0)	Brophy ve ark., 2003
	Meyve	γ -terpinen (%4,5), α -muurolen (%3,9)	
<i>Eryngium rosulatum</i> P.W. Michael ined.	Topraküstü kısımlar	β -elemen (%16,0), bisiklogermakren (%12,5), δ -elemen (%7,0), (E)-karyofillen (%5,9)	Palá-Paúl ve ark., 2006
<i>Eryngium vesiculaosum</i> Labill.	Kış yaprakları	β - karyofilen (%20,3), germakren D (%19,2), α -humulen (%8,8)	Brophy ve ark., 2003
<i>Eryngium yuccifolium</i> Michx.	Yaprak	Germakren D (%18,3), terpinolen (%17,8), bisiklogermakren (%8,8), α -pinen (%7,56)	Palá-Paúl ve ark., 2005 ²
	Saplar	Germakren D (%38,4), δ -amorfen (%12,2), bisiklogermakren (%10,1)	
	Kökler	Terpinolen (%25,8), <i>trans</i> -(E)-bergamoten (%18,6), 2,3,6-trimetilbenzaldehit (%13,9)	

1.3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Eryngium maritimum köklerinin antienflamatuvar aktiviteleri karagenin ile oluşturulan pençe ödem testi ve pamuk-pellet granüloma testi ile araştırılmıştır. Uygulamalar intraperitoneal (*i.p.*) yapılmıştır. Öncelikle köklerden, % 30'luk etanolden hareketle hidrofilik (polar) ve kloroformdan hareketle lipofilik (apolar) ekstraler hazırlanmış ve test edilmiştir. Hidrofilik ekstrenin 4 g kuru bitki materyaline denk gelen 1248 mg/kg dozda karagenin ile oluşturulan pençe ödemi testinde anlamlı aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Pamuk-pellet granüloma testinde aktivite saptanmamıştır. Aktivitesi yüksek bulunan hidrofilik ekstre bir ileri düzeye götürülmüş; asidik, alkali ve nötral fraksiyonlarına ayrılarak karagenin ile oluşturulan pençe ödem testi uygulanmıştır. Uygulama sonunda, alkali fraksiyonun aktivitesi yüksek bulunmuştur. Bunun üzerine alkali fraksiyon bir kez daha fraksiyonlarına ayrılmış ve test yeniden uygulanmıştır. Uygulama *i.p.* ve oral yoldan ayrı ayrı yapıp değerlendirilmiştir. Elde edilen fraksiyonlardan zayıf alkali özellikte olan fraksiyon (8 g kuru bitki materyaline denk gelen 93 mg/kg dozda) en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Pamuk-pellet granüloma testinde etkiden sorumlu maddeler kortikosteroidlerdir; bu da *Eryngium maritimum* köklerinin hidrofilik ekstresinde gözlenen etkinin steroidal yapıda olan maddelerle ilgili olmadığını göstermektedir (Lisciani ve ark., 1984).

Yeşilada ve arkadaşlarının (1989) yaptığı bir çalışmada *Eryngium billardieri* bitkisinin tüm kısımlarından elde edilen metanollü (MeOH) ekstrenin (150 mg/kg) asetik asit ile oluşturulan arttırılmış vasküler permeabiliteyi % 44 oranında düşürdüğü saptanmıştır. Bunun üzerine ileri fraksiyonlama aşamalarına geçilerek bitkinin topraküstü ve toprakaltı kısımlarından elde edilen ekstraler, asetik asitle *i.p.* olarak oluşturulan arttırılmış vasküler permeabiliteye ve serotonin, bradikinin ve karagenin ile oluşturulan ödeme karşı test edilmiştir. Topraküstü kısımlar önce petrol eteriyle ekstre edilmiş; artık daha sonra %80'lik metanol ile ekstre edilmiştir. Elde edilen metanollü ekstre yoğunlaştırıldıktan sonra hekzan, kloroform (CHCl₃) ve suya doyurulmuş n-BuOH ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuş elde edilen n-BuOH'lu

ekstre MeOH'de çözölüp çöktürme amacıyla soğuk eterle (Et₂O) muamele edilmiş ve sonrasında santrifüj edilerek çökelek çözeltiden ayrılmıştır. Toprakaltı kısımların ekstraksiyonu da aynı şekilde gerçekleştirilmiştir; tek fark olarak sıvı-sıvı ekstraksiyonda CHCl₃ kullanılmamıştır. Elde edilen ekstratlar test edilmiştir. Asetik asit ile oluşturulan artırılmış vasküler permeabiliteyi en yüksek oranda köklerin çöktürülen n-BuOH ekstresinin inhibe ettiğı saptanmıştır. Bradikinin ile oluşturulan enflamasyon, serotonin ile oluşturulan enflamasyon ve karagenin ile oluşturulan enflamasyon deneylerinde de sadece köklerden elde edilen çöktürölmüş n-BuOH ekstresi anlamlı bir aktivite göstermiştir. Aktif fraksiyon, etken madde içeriğı açısından test edilmiş ve köpürme özelliğı gösterdiği, hemolitik özelliğinin olduğı, Liebermann-Burchard reaksiyonun da pozitif sonuç verdiğı gözlenmiştir. Bunun yanında fraksiyon İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile de analiz edilmiş; antimon-III-klorür ve vanilin/fosforik asit reaktifleri ile lekeler gözlenmiştir. Kan-jelatin yöntemi ile de pozitif reaksiyon vermesi bu fraksiyonun saponin karışımından oluşmuş olabileceğini göstermektedir (Yeşilada ve ark., 1989).

Sáenz ve arkadaşları (1997) Fransız Antilleri ve Panama'da halk arasında kullanılan *Eryngium foetidum* yapraklarından elde edilen dekoksasyonun antienflamatuvar ve analjezik aktivitesini araştırmışlardır. Antienflamatuvar aktivitenin değerlendirilmesinde sıçanlarda karagenin ile oluşturulan pençe ödem testi, 12-*O*-tetradekanoilforbol asetat (TPA) ile oluşturulan fare kulak ödem testi ve miyeloperoksidaz enzim aktivitesi (MPO) testi kullanılmıştır. Karagenin ile oluşturulan pençe ödem testinde ekstre üç farklı dozda (250, 500, 750 mg/kg) oral olarak uygulanmıştır. TPA ile oluşturulan fare kulak ödemi testinde topikal aktivite iki farklı doz kullanılarak (3 ve 5 mg/kulak) değerlendirilmiştir. Analjezik aktivite asetik asit ile oluşturulan abdominal kıvrınma testi (kimyasal stimölasyon) ve sıcak levha testi (termal stimölasyon) olmak üzere iki farklı yöntemle değerlendirilmiştir. Sonuçta karagenin ile oluşturulan pençe ödem testinde 250 mg/kg dozda en yüksek antienflamatuvar aktivite saptanırken doz arttıkça aktivitede azalma olduğı saptanmıştır. Ayrıca gözlenen etkinin anlamlı ama geçici olduğı belirtilmiştir. Topikal enflamasyon modelinde de (TPA ile oluşturulan fare kulak ödemi) hafif antienflamatuvar aktiviteye sahip olduğı gösterilmiştir. Analjezik aktivite ölçümü

asetik asit ile oluşturulan kıvranma testi ve sıcak levha testi (Hot Plate) testleri ile 250, 500 ve 750 mg/kg dozlar kullanılarak yapılmıştır. Sonuçta her iki testle de anlamlı aktivite gözlenmiş; en yüksek aktivitenin 500 mg/kg dozda görüldüğü belirtilmiştir.

García ve arkadaşları (1999) *Eryngium foetidum* bitkisinin topraküstü kısımlarından elde edilen hekzanlı ekstrenin topikal antienflamatuvar aktivitesini araştırmışlardır. Önçalışma olarak *Eryngium foetidum*'un topraküstü kısımlarından hazırlanan hekzanlı ekstre üzerinde izolasyon çalışmaları yapılmış ve α -kolesterol, brassikasterol, kampesterol, stigmasterol, klerosterol, β -sitosterol, Δ_5 -avenasterol, Δ_5 -24-stigmastadienol ve Δ_7 -avenasterolden oluştuğu tespit edilen bir karışım izole edilmiştir. Bu karışımın majör maddesi aynı yöntemlerle stigmasterol (%95) olarak tespit edilmiştir. Fareler üzerinde yapılan çalışmada TPA ile akut ve kronik olarak oluşturulan ödeme karşı gösterdikleri aktivite test edilmiştir. Akut TPA ile oluşturulan fare kulak ödem testinde TPA sağ kulağa 2,5 μ g dozda uygulanmış; sol kulak kontrol olarak bırakılmıştır. Hekzan ekstresinin 1 ve 2 mg/kulak dozda olacak şekilde asetonlu ekstresi; stigmasterolun ise 0,5 mg/kulak dozda olacak şekilde asetonlu çözeltisi uygulanmıştır. Referans ilaç olarak akut yöntemde indometazin, kronik yöntemde ise deksametazon kullanılmıştır. Sonuçta akut enflamasyon modelinde stigmasterol 0,5 mg/kulak dozda % 41 inhibisyon sağlarken, hekzan ekstresi 1 ve 2 mg/kulak dozlarda sırasıyla % 44 ve % 63 inhibisyon sağlamıştır. Kronik enflamasyon modelinde stigmasterol % 40 inhibisyon sağlarken, hekzan ekstresi 1 ve 2 mg/kulak dozlarda sırasıyla % 43 ve %52 inhibisyon sağlamıştır. Stigmasterol anlamlı bir aktivite göstermiştir ancak ekstrede aktiviteden sorumlu tek bir madde olmadığı, ekstre içerisinde bulunan başka bileşiklerin de aktivitede rol aldığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada enflamasyonlu dokuda MPO aktivitesi de test edilmiştir. Akut yöntemde MPO aktivitesi düşürülürken, kronik yöntemde enzimin aktivitesinde anlamlı oranda bir düşüş olmadığı saptanmıştır. Sonuç olarak *Eryngium foetidum*'un topraküstü kısımlarından elde edilen hekzanlı ekstrenin, topikal antienflamatuvar aktiviteye sahip doğal bir kaynak olabileceği belirtilmiştir.

Halofilik bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinin mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirildiği bir çalışmada *Eryngium maritimum* bitkisinin yapraklarının apolar (kloroformlu ekstre) ve polar (metanollü ekstre) ekstreleri üzerinde de çalışılmıştır. Antimikrobiyal aktivitede Gram (+) (*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, *Micrococcus luteus*) ve gram (-) (*Salmonella enteric* subsp. *arizonae*, *Salmonella enteric* subsp. *montevideo*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas marginalis*, *Escherichia coli*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) bakteriler ile maya olarak *Candida albicans* kullanılmıştır. Sonuçta apolar ekstrenin polar ekstreye göre daha yüksek oranda antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Aynı çalışmada, yapraklarının kloroformlu ve metanollü ekstrelerinin total antioksidan kapasiteleri (fosfomolibdenum metodu ile) ve ABTS [2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] serbest radikal süpürücü aktiviteleri test edilmiş ve anlamlı oranda antioksidan aktivitelerinin olduğu tespit edilmiştir. Üç bitkinin aktivitelerinin araştırıldığı bu çalışmada total fenolik madde miktar tayini de “Folin-Ciocalteu (FC)” reaktifi yöntemi ile tayin edilmiştir. Analiz edilen 3 bitki arasında fenolik madde miktarı en düşük bitki *Eryngium maritimum* olarak belirlenmiştir; ancak antioksidan aktivitesi fenolik madde miktarının az olmasına rağmen yüksek bulunmuştur (Meot-Duros ve ark., 2008).

Bogucka-Kocka ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (2008), *Eryngium planum* bitkisinin meyvelerinin etanollü ekstresinin; ML-1—insan akut miyeloblastik lösemi, J-45.01—insan akut T hücre lösemi, EOL—insan eozinofilik lösemi, HL-60—insan (Kafkas) premyelositik lösemi, 1301—insan T hücre lösemi lenfoblast, C-8166—insan T hücre lösemi, U-266B1—insan miyeloma, WICL—insan (Kafkas) normal B hücre, and H-9—insan T hücre dizileri üzerine olan aktivitesi araştırılmıştır. Sonuçta; 1301 ve HL60 hücre dizilerinin canlı kalma oranları sırasıyla %62 ve %55 olarak bulunmuştur, J45 hücre dizilerinde canlı kalma oranı %9; Normal T hücreleri (H9 hücre dizisi) ve normal B hücrelerinde (WICL hücre dizisi) canlılık oranı sırasıyla %20 ve %8 olarak bulunmuştur. *Eryngium planum* bitkisinin meyvelerinin etanollü ekstresi üç hücre dizisinde kuvvetli apoptik aktivite göstermiştir: J45, C1866 ve U266’da sırasıyla % 66-96, % 89 ve %85. Hp ve WICL hücre dizilerinde de benzer

seviyede aktivitesinin olduğu görülmüştür: %82 ve %92. En düşük aktivite HL60 (%49) ve ML-1 (%42) hücre dizilerinde gözlenmiştir.

Eryngium foetidum bitkisinin metanollü ekstresinin anti-*Helicobacter pylori* aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada; bitkinin metanollü ekstresinin *Helicobacter pylori* üzerine anlamlı düzeyde aktivite göstermediği tespit edilmiştir (Ndip ve ark., 2007).

Sardunya/İtalya’da geleneksel olarak kullanılan 11 bitkinin antioksidan araştırmalarının yapıldığı bir çalışmada *Eryngium campestre* bitkisinin köklerinin de antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Çalışmada “Briggs Rauscher (BR)” reaksiyonuna dayalı antioksidan aktivite yöntemi, “Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)” yöntemine dayalı antioksidan aktivite yöntemi ve “2,2-difenil-1,2-pikril hidrazil (DPPH)” yöntemi aile antioksidan aktivite tayin yöntemleri kullanılmıştır. Bitkinin kökleri her üç deneyde de anlamlı oranda antioksidan aktivite göstermiştir. Antioksidan çalışmanın yanında total fenolik madde miktar tayini de FC reaktifi kullanılarak yapılmıştır. Sonuçta düşük antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Dall’Acqua ve ark., 2008).

Ürdün’de yetişen *Eryngium creticum*’un köklerinin sulu ekstresinin akrep zehirine karşı aktivitesi araştırılmıştır. Çalışmada tavşan ve kobaylardan izole edilen trake ve jejunum kullanılmıştır. Hayvanlardan elde edilen trakeal düz kas bantları, 50 ml’lik organ banyosunda akreplerden (*Leiurus quinquestriatus*) elde edilen 3 mg zehir ile muamele edilmiş böylece trakede maksimum kasılma oluşturulmuştur. Bitki ekstresi eklenerek kasılmaya olan aktivitesi incelendiğinde; bitkinin %10’luk sulu çözeltisinden 0,5 ml eklendiğinde kasılmayı %40–50 oranında inhibe ettiği saptanmıştır. Jejunum kısımlarının normal hareketleri akrep zehiri eklenmesiyle şiddetli kasılmaya dönüşmüştür. *Eryngium creticum* yukarıda belirtilen konsantrasyondaki sulu ekstresinin kobay jejunumuna 2 ml eklenmesiyle normal hareketleri tamamen durmuş ve tavşan jejunumuna 2,5 ml eklenmesiyle de bu hareketlerde %65–70 oranında azalma ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar bitkinin halk

arasında akrep sokmasına karşı kullanılışını destekler niteliktedir (Afifi ve ark., 1990).

Bir başka çalışmada yine Ürdün kaynaklı *Eryngium creticum* sulu ekstresi, kobaya akrep (*Leiurus quinquestriatus*) zehiri ile kombine verildiğinde; kobayın hayatta kalma süresini anlamlı şekilde 20 dakikadan 8 saate kadar çıkarttığı saptanmıştır (Afifi ve ark., 1990).

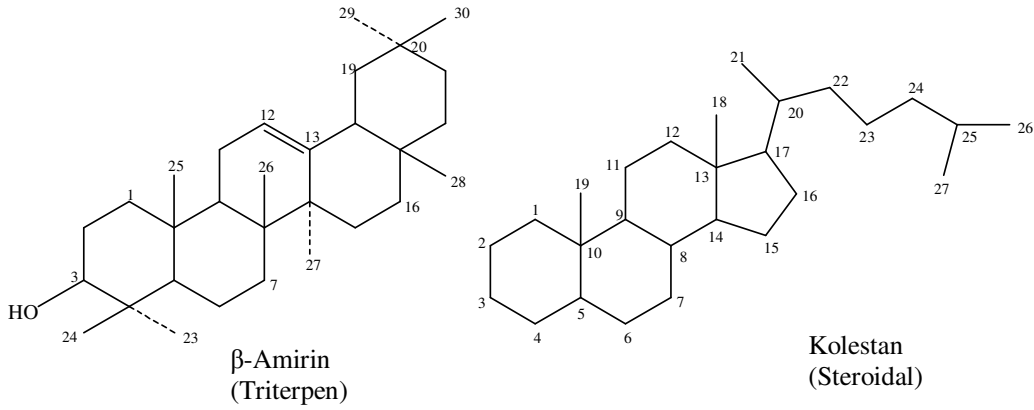
Eryngium creticum bitkisi ile yapılan başka bir çalışmada taze ve kurutulmuş yaprak ve köklerin sulu ve etanollü ekstrelerinin aktiviteleri yılan ve akrep zehirlerine karşı test edilmiştir. Sulu ekstreler, oda sıcaklığında karıştırılarak (soğuk ekstre) ve beş dakika kaynatarak (sıcak ekstre) iki farklı biçimde, %80 etanollü ekstre ise oda sıcaklığında karıştırılarak hazırlanmıştır. Köklerin taze ve kuru ekstrelerinin her iki zehiri %100 inhibe ettiği ve taze yaprak ekstresinin kuru olana göre daha yüksek inhibisyon gösterdiği saptanmıştır. Yaprak ve köklerin etanollü ekstrelerinin zehiri inhibe etmenin yanı sıra, daha yüksek oranda eritrositleri hemoliz ettikleri de belirlenmiştir (Alkofahi ve ark., 1997).

Peru'da geleneksel tıpta anti-malaryal olarak kullanılan bitkilerin aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada *Eryngium foetidum* bitkisinin yaprakları *Plasmodium falciparum* üzerinde *in vitro* test edilmiştir ancak halk arasında anti-malaryal kullanımı olmasına rağmen anlamlı bir aktivite göstermediği saptanmıştır (Roumy ve ark., 2007).

1.4. Saponinler

Saponinler, triterpen veya steroid yapısında bir aglikon ve buna bağlı bir, iki veya üç şeker zinciri taşıyan glikozit yapısında; biyolojik ve farmakolojik olarak çok çeşitli aktivitelere sahip, bitkiler aleminde çok geniş yayılım gösteren; deniz canlılarında da karşımıza çıkan sekonder metabolitlerdir (Lacaille-Dubois ve Wagner, 2000; Oleszek ve Bialy, 2006). Tüm saponinler için geçerli olmamakla beraber; genel olarak yüzey aktif özellik göstermeleri, suda sabun benzeri kalıcı köpük oluşturmaları, hemolitik aktivite göstermeleri, acı bir tada sahip olmaları ve balıklara karşı toksik olmaları ile karakterize edilirler. Suda köpük oluşturmaları nedeniyle, Latince sabun anlamına gelen “sapo” kelimesinden yola çıkılarak “saponin” olarak adlandırılırlar. Saponin içeren bitkiler Doğu ülkelerinde, yüzyıllardır sabun olarak kullanılmışlardır ve bu durum onlara verilen isimlere de yansımıştır: Sabunotu, soapwort (*Saponaria officinalis*), soaproot (*Chlorogalum pomeridianum*), soapbark (*Quillaja saponaria*), soapberry (*Sapindus saponaria*), soapnut (*Sapindus mukurossi*). Sabun olarak kullanılışlarının yanı sıra halk tıbbında yüzyıllardır yaygın kullanılışa sahiptirler. Bunun sonucu olarak da bu bitkilerin bileşimlerinin belirlenmesi ve farmakolojik ve biyolojik aktivitelerinin araştırılmasına yönelik büyük bir ilgi oluşmuştur (Hostettmann ve Marston, 2005; s.:1; Oleszek ve Bialy, 2006; Vincken ve ark., 2007).

Saponinlerin aglikon kısmı genin veya sapogenin olarak adlandırılır ve bu genin kısmının yapısına bağlı olarak saponinler genel olarak triterpenik ve steroidal saponinler olarak 2 sınıfa ayrılır (Oakenfull, 1981; Oleszek, 2002; Oleszek ve Bialy, 2006; Güçlü-Üstündağ ve Mazza, 2007; Vincken ve ark., 2007). Bazı araştırmacılar; saponinlerin sınıflandırılmasına 3. sınıf olarak steroidal alkaloid glikozitlerini de eklemektedir (Hostettmann ve Marston, 2005; s.:2; Kareru ve ark., 2008). Triterpenik sapogeninlere örnek olarak β -amirin iskeleti; steroidal sapogeninlere örnek olarak da kolestan iskeleti gösterilebilir (Şekil 1.7).



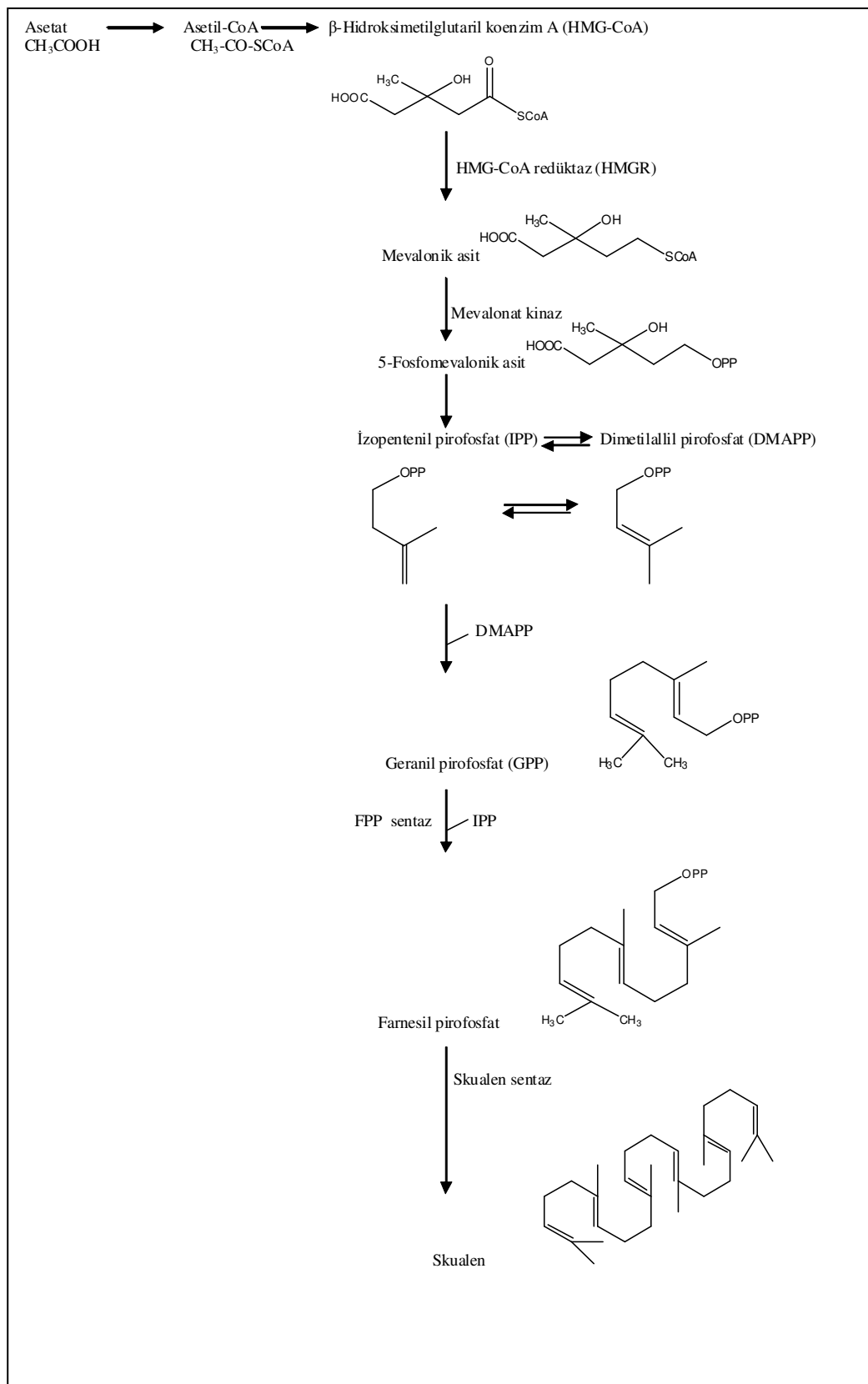
Şekil 1.8. Saponinlerin sapogenin sınıflarına örnekler

Saponinler, bir aglikon ve buna bağlı şeker birimlerinden oluşurlar. Aglikon normalde C—3 konumunda hidroksil taşır; bunun haricinde metal, hidroksimetil, aldehit veya karboksil fonksiyon gruplarını da içerebilir. Aglikona bağlı şeker birimleri aglikona bir, iki veya üç yerden bağlı olabilir. Buna göre saponinler monodesmozidik, bidesmozidik ya da tridesmozidik saponinler olarak adlandırılırlar. Monodesmozidik saponinlerde şeker zinciri aglikona C-3 konumundan bağlanır. Bidesmozidik saponinlerde şeker zincirinin biri genellikle C-3 konumundan eterik bağla bağlanırken diğeri; ya C-28 konumundan ester bağı (açıl glikozit) ile bağlanır veya C-26 konumundan eter bağı ile bağlanır (furostanol saponinleri). Bidesmozidik saponinler kolayca monodesmozidik saponinlere dönüşürler. Tridesmozidik saponinlere doğada çok nadir rastlanır. Saponinlerin şeker kısmı düz veya dallanmış şekilde olabilir. Şeker zincirleri; her ne kadar daha kısa ve dallanmamış olanlarına da rastlansa da; genel olarak 2–5 monosakkarit biriminden meydana gelirler. Monosakkarit olarak genellikle D-glukoz, D-galaktoz, D-glukuronik asit, D-galakturonik asit, L-ramnoz, L-arabinoz, D-ksiloz ve D-fukoz bulunur. Triterpen glikozitlerde uronik asitlere ve amino şekerlere de sıklıkla rastlanır. Glukoz, arabinoz, glukuronik asit ve ksiloz aglikona direk olarak bağlanmış olan şekerlerdir (Hostettmann ve Marston, 2005; s.:3). Deniz canlılarından elde edilen saponinlerde şeker zinciri genellikle 4-6 monosakkarit biriminden meydana gelir ve şeker olarak genellikle glukoz, 3-*O*-metil glukoz, kinovoz ve ksiloza sıklıkla rastlanır; ve bu şeker grupları çoğunlukla sülfat grupları taşımaktadırlar (Minale ve ark., 1996).

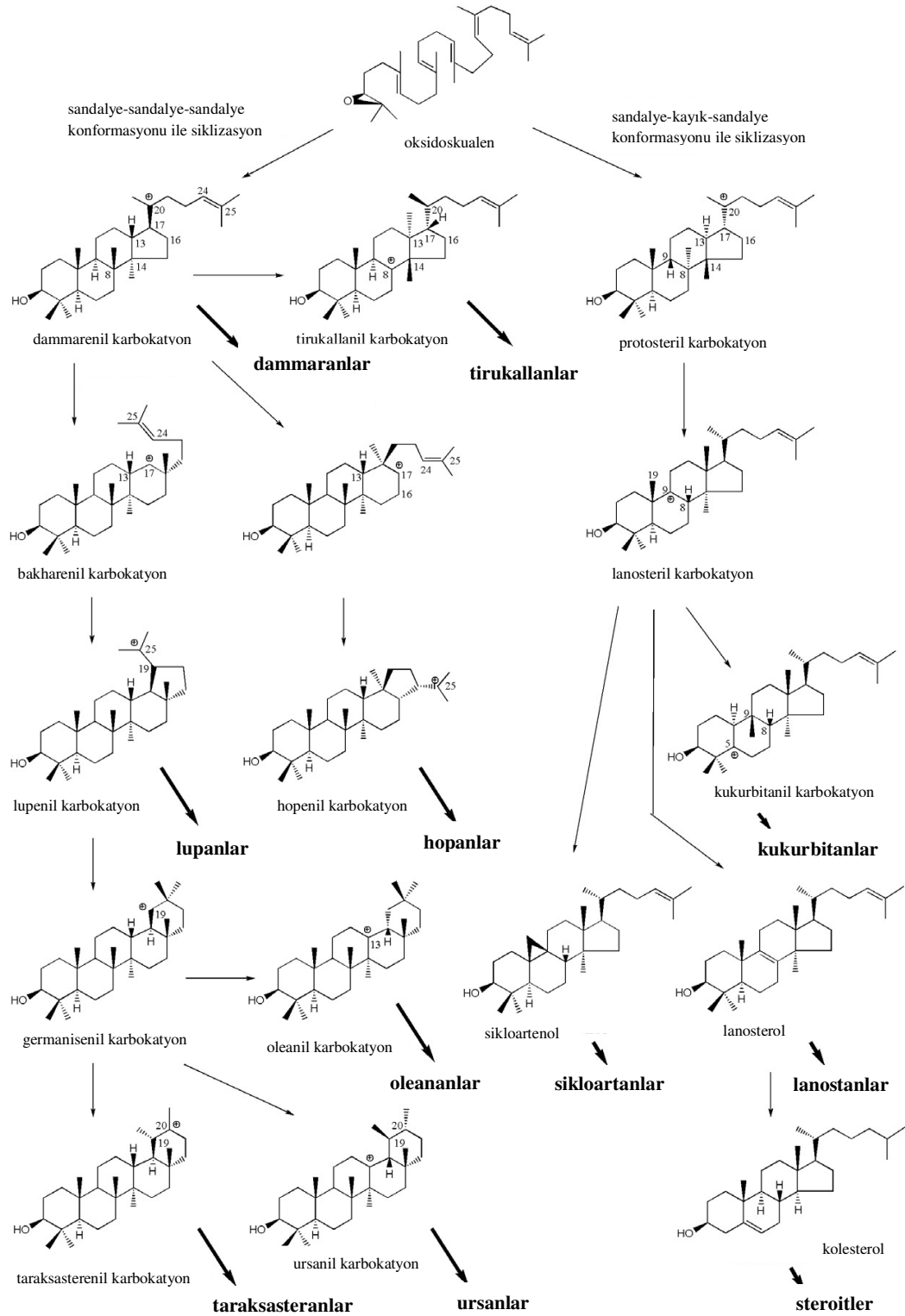
1.4.1. Saponinlerin Biyosentezi

Triterpenik ve steroidal saponinlerin her ikisi de bitkide izopren biyosentez yolağı ile sentezlenirler. İzopren biyosentez yolağı, birçok grup bileşiğın oluşma yolağıdır. Triterpenik ve steroidal saponinlerin prekürsörü olan skualen; bu yolak sonucu meydana gelir. İzoprenden skualenin biyosentez yoluyla oluşum şeması şekil 1.9.'da gösterilmiştir. Skualen biyosentezinde başlangıç maddesi asetik asittir; asetil koenzim A (CoA)'ya dönüşür; bu da β -hidroksimetilglutaril CoA'yı (HMG-CoA) oluşturur. HMG-CoA'nın, HMG-CoA redüktaz enzimi (HMGR) ile redüksiyonu ile mevalonik asit oluşur. Mevalonat kinaz (MK) enzimi ile, mevalonik asit fosforlanır ve 5-pirofosfomevalonik asit meydana gelir. Dekarboksilasyon ve yeniden fosforlanma ile 5 karbonlu (C) izopentenil pirofosfat (IPP) meydana gelir. IPP de izopentenil pirofosfat izomeraz enzimi ile izomeri olan dimetilallil pirofosfata (DMAPP) dönüşür. IPP ve DMAPP, 10 C'lu bir yapı olan geranil pirofosfatı (GPP) oluşturmak üzere; GPP sentaz katalizörlüğünde birleşirler. GPP, bir molekül IPP ile FPP sentaz katalizörlüğünde kafa-kuyruk kondensasyonu ile birleşerek, 15 C'lu farnesil pirofosfatı (FPP) oluşturur. Skualen sentaz katalizörlüğünde iki tane FPP'ın kafa-kafa kondensasyonu sonucunda da steroidal ve triterpenik bileşiklerin prekürsörü olan skualen meydana gelir (Rees ve Goodwin, 1972; Cheeke, 1989; Robbers ve ark., 1996; Holstein ve Hohl, 2004; Hostettmann ve Marston, 2005; s.:4; Vincken ve ark., 2007). Skualen, triterpen biyosentezinde ortak başlangıç maddesi olan oksidoskualene dönüşür. Oksidoskualenden hareketle katyonik ara ürün olarak karbokasyonlar meydana gelir. Bunlar da çeşitli siklaz enzimleri ile siklizasyon reaksiyonuna uğrarlar; reaksiyonu katalize eden enzimlerin farklılığı, farklı iskelet yapısında saponinlerin oluşmasını sağılar. Oksidoskualenin saponinlere siklizasyonu; `sandalye sandalye sandalye` veya `sandalye bot sandalye` konformasyonları olarak iki farklı şekilde olabilir. Buna bağılı olarak da belirtilen ilk konformasyona göre pentasiklik veya tetrasiklik yapıda olan dammaran, tirukallan, lupan, hopan, oleanan, taraksasteran, ursan tipi saponinler oluşurken; ikinci konformasyona göre de sikloartenan, lanostan veya kukurbitan tipi saponinler oluşur. şekil 1.10'da siklizasyon reaksiyonları sonrası oluşan triterpenik ve steroidal ana yapılar

gösterilmiştir (Cheeke, 1989; Holstein ve Hohl, 2004; Hostettmann ve Marston, 2005; s.:4; Vincken ve ark., 2007).



Şekil 1.9. İzoprenden skualenin biyosentez yoluyla oluşum şeması



Vincken ve ark., 2007

Şekil 1.10. Skualenden hareketle siklizasyon reaksiyonları sonrası oluşan triterpenik ve steroidal yapılar

1.4.2. Saponinlerin Bitkiler Aleminde Yayılışı ve Rolü

Saponinler bitkiler aleminde çok geniş yayılım gösterirler. 100'den fazla bitki familyasında ve 500'den fazla cinsten bulundukları belirtilmiştir (Hoagland ve ark., 1996). Bitkilerde bulunan saponin miktarı yetiştiği toprak, bitkinin yaşı, fizyolojik durumu ve yetiştiği coğrafyaya göre çeşitlilik gösterir (Hostettman ve Marston, 2005, s.:18).

Triterpenik saponinlere genellikle dikotil bitkilerde rastlanırken steroidal saponinlere genellikle monokotil bitkiler içeren familyalarda rastlanır. Steroidal saponin içeren monokotil bitkilerin familyalara Agavaceae, Alliaceae, Asparagaceae, Dioscoraceae, Dracaenaceae, Liliaceae ve Taccaceae örnek olarak gösterilebilir. Dikotil bitkilerde de steroidal saponinlere rastlanabilir ama bunlar istisnai durumlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Steroidal saponin taşıyan dikotillere örnek olarak Solanaceae familyası bitkileri, *Aspilia montevidensis* (Asteraceae), *Balanites aegyptiaca* (Balanitaceae), *Trigonella foenum-graecum* (Leguminosae) ve *Tribulus terrestris* (Zygophyllaceae) gösterilebilir (Sparg ve ark., 2004; Wina ve ark., 2005). Triterpenik saponinlere genellikle Fabaceae (Leguminosae), Araliaceae, Caryophyllaceae, Asteraceae, Primulaceae ve Sapindaceae familyalarında rastlanır (Hostettman ve Marston, 2005, s.:20). Başka bir istisnai durum olarak *Avena* cinsi bitkilerinde hem steroidal hem de triterpenik saponinler bulunmuştur (Osbourne, 2003).

Saponinlerde gerek sapogenin kısmındaki fonksiyonlu grupların çeşitliliği gerekse şeker birimlerinin bileşimi ve farklı bağlanma yerleri; saponin yapılarında çok büyük bir doğal çeşitliliğe yol açmaktadır. Hatta tek bir bitki türünün farklı kısımlarında farklı yapılarda saponinlere rastlamak mümkün olabilmektedir (Oleszek ve Bialy, 2006). Saponinlere bitkilerin farklı kısımlarında rastlanır; yapılan çalışmalarda bitkilerin köklerinden, tuberlerinden gövdesinden, kabuklarından, yapraklarından, tohumlarından ve meyvelerinden saponinlerin izole edildiği tespit edilmiştir (Wina ve ark., 2005; Vincken ve ark., 2007). Örneğin; *Calendula officinalis* (Asteraceae) bitkisinin çiçeklerinde saponin oranı %3,57 iken köklede bu oran % 2,55'tir.

Çiçeklerden izole edilen saponinde, oleanolik asite C-3 konumundan glukuronik asit bağlı iken; köklerden izole edilen saponinde aynı konumda glukoz bağlı olduğu tespit edilmiştir. *Panax ginseng* (Araliaceae) bitkisinde de saponinler kök saçaklarında (% 6,1) en yüksek oranda bulunurken daha sonra sırasıyla yapraklar (% 5,2), dallanmış/yan kökler (% 3,5), ana kök (% 1,3), gövde ve yaprak sapında (% 0,77) bulunmuştur (Hostettman ve Marston, 2005, s.:18).

Saponinlere bitkilerde genellikle, fungal ve bakteriyel saldırılara ve böceklerin saldırıp parçalamalarına karşı savunmasız olan dokularda rastlanır. Bu da bitki savunma sisteminde kimyasal bariyer veya koruyucu olarak rol aldığını gösterir. Örneğin avenasin kök uçlarında yüksek miktarda; diğer kısımlarında is daha az oranlarda bulunan bir saponindir ve zoosporik bir fungus olan *Gaeumannomyces graminis*'i kontrol etmede rol aldığı belirlenmiştir. Saponinlerin kök yüzeyi ve kökü çevreleyen bölgedeki toprakta yer alan bakterileri de kontrol ettiği belirlenmiştir (Wina ve ark., 2005).

1.4.3. Saponinlerin Analizleri

Saponinlerin doğal kaynaklarda kalitatif ve kantitatif teşhisleri için farklı yöntemler uygulanmaktadır. Bunlardan bazıları fizyolojik ve biyolojik özelliklerinden yararlanılarak yapılır [hemoliz etkisi, balık öldürücü (pissisidal) aktivite, antifungal aktivite]; günümüzde bu yöntemler yerini gravimetri, spektrofotometri, İTK, gaz kromatografisi (GC) ve özellikle yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) vs. gibi çeşitli yöntemlere bırakmıştır.

Saponinlerin doğal kaynaklarda kalitatif ve kantitatif teşhisleri için hemoliz, balık öldürücü (pissisidal) aktivite, gravimetri, spektrofotometri, İTK, gaz kromatografisi GC, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) vs. gibi çeşitli yöntemler uygulanır. Saponinlerin teşhisinde ilk kullanılan yöntemler ağırlıklı olarak gravimetri veya klasik özellikleri olan köpürme, hemolitik aktivite, balıklar üzerine toksik etki gibi fizyolojik veya biyolojik özelliklerine dayanıyordu. Günümüzde bu yöntemler

kullanılmakla birlikte yerini çoğunlukla spektrofotometrik ve kromatografik (İTK, GC, HPLC vs.) yöntemlere bırakmıştır (Marston ve ark., 2000; Oleszek, 2002; Hostettman ve Marston, 2005, s.:123).

Renk Reaksiyonları

- (1) *Aromatik aldehytler.* Anizaldehit, vanilin ve diğer aromatik aldehytlerin kuvvetli mineral asitler (Ör., sülfürik, fosforik, perklorik asit) içindeki çözeltileri aglikonlar ile renkli ürünler meydana getirir. Reaksiyon dehidrasyon reaksiyonu sonucu oluşan doymamış metilen gruplarının aldehytler ile renkli kondensasyon ürünleri vermesine dayanır.
- (2) *Lieberman-Burchard testi.* Doymamış ve hidroksilli triterpenler ve steroidler asetik asit anhidriti ve sülfürik asit ile kırmızı, mavi veya yeşil renk meydana getirirler. Triterpenik saponinlerde daha çok pembe veya mor renk oluşumu gözlenirken steroidal yapılarda mavi-yeşil renklenme görülür.
- (3) *Seryum (IV) sülfat veya demir (III) tuzları ve sülfürik asit gibi inorganik asitler.* Menekşe-kırmızı renkli çözeltiler meydana getirirler.
- (4) *Asetik asit anhidriti içindeki % 30'luk antimon (III) klorür çözeltisi:* Bu belirteç, hidroksitriterpenler ve hidroksisteroidler ile renk reaksiyonları verir.
- (5) *Nitrobenzen-metanol içindeki antimon (III) klorür.* Steroid glikozitlerin 5,6-dehidro türevlerinin teşhisinde kullanılır; oda sıcaklığında kırmızı renk oluşturlar.
- (6) *Erlich reaktifi.* Furostanol türevi saponinler için spesifiktir; Erlich reaktifi ile kırmızı renk verirler (Hostettman ve Marston, 2005, s.:123).

Hemoliz

Saponinlerin eritrositleri parçalama özelliğinden yararlanılarak bitkilerde, droglarda ve bitki ekstraktlarında saponin tespiti için hemolitik yöntemler geliştirilmiştir. Saponinlerin hemolitik özellikleri genellikle eritrosit membranında bulunan steroller ile etkileşmelerine bağlanmaktadır; bu etkileşme sonucunda membran parçalanır, geçirgenliği artar ve sonuçta hemoglobini açığa çıkar. Analiz yöntemleri de

çoğunlukla; hemoliz sonucu açığa çıkan bu hemoglobinin eritrosit süspansiyonunun supernatant absorbansında meydana getirdiği değişime dayanır. Avrupa Farmakopesi'nde belirtilen yöntemde hemolitik aktivitenin ölçümünde birim olarak hemolitik indeks (HI) kullanılır. 1 gram ham saponin veya bitki materyali tarafından hemoliz edilen % 2'lik (h/h) sığır kanının mililitre cinsinden miktarı HI olarak tanımlanır. Referans olarak genellikle *Gypsophila paniculata* L. bitkisinden elde edilen saponin karışımı (HI = 30 000) veya beyaz Saponin (Merck, HI = 15 000) kullanılır. HI hesaplanırken aşağıdaki eşitlik kullanılır:

$$HI = HI_{std} \times \frac{a}{b}$$

HI_{std} = Standardın HI

a = Hemolizin tam olarak gerçekleştiği en düşük konsantrasyondaki test çözeltisi

b = Hemolizin tam olarak gerçekleştiği en düşük konsantrasyondaki standart Saponin çözeltisi

Hemolitik etki, aglikonda, özellikle D ve E halkalarında polar süstitüentler (karboksil, hidroksil grupları) bulunup bulunmaması ve şeker gruplarının dizilişine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Monodesmozidik saponinler bidesmozidik olanlara göre genellikle daha etkilidir. Aglikonda 16. konumda bulunan –OH süstitüenti de hemolitik aktiviteyi arttırmaktadır (Oleszek, 2002; Sparg ve ark., 2004; Hostettman ve Marston, 2005, s.:125; Chan, 2007).

İnce Tabaka Kromatografisi

İTK ile saponinlerin hem kalitatif hem de kantitatif analizleri yapılabilir. Kantitatif analizler çok fazla kullanılmaz ama saponinlerin İTK ile kalitatif analizleri, her tipteki saponinin araştırılmasında önemlidir. Kolon kromatografisinde elde edilen fraksiyonların analizlerinde yardımcı olan bir yöntemdir. Aynı zamanda izole edilen

bileşiklerin saflığını belirlemede ve teşhisini yapmakta kullanılır. Saponinler, istinalar haricinde UV-254 ve UV-366 nm’de gözlenemezler. Hemolitik olarak aktif olan saponinler, kan reaktifi ile kırmızı bir zeminde beyaz lekeler vererek gözlenirler. Komarowsky reaktifi ile sarıdan pembeye tonlarda renkli lekeler verirler; vanilin-sülfürik asit reaktifi ve anizaldehit-sülfürik asit reaktifi ile mavi, mavi-viyole bazen de kırmızı veya sarı-kahverengi lekeler veririrken, anizaldehit reaktifi ile UV-365 nm’de hafif mavi, viyole ve yeşil renkli floresan renkli lekeler gözlenir. Saponinlerin İTK ile teşhisinde revelatör olarak %50’lik sülfürik asit reaktifi ve Liebermann-Burchard reaktifi de kullanılır (Stahl, 1969; Wagner ve Bladt, 2001; Oleszek, 2002; Hostettman ve Marston, 2005, s.:126).

İTK analizlerinde en sık kullanılan solvan sistemi kloroform-metanol-su (65:35:10)’dur. Bunun dışında, özellikle uronik asit türevi ozlar içeren glikozitler için n-butanol-etanol-amonyak (7:2:5), çok polar karışımlar için n-butanol-asetik asit-su (4:1:5, üst faz) veya kloroform-metanol-asetik asit-su (60:32:12:8) sistemleri kullanılabilir (Hostettman ve Marston, 2005, s.:127).

1.4.3.1. Saponinlerin Bitkisel Materyalden İzolasyonu

Saponinlerin kendilerine has yapıları nedeniyle; izolasyonları, yapılarının aydınlatılması ve analizleri için uzun ve karmaşık tekniklere gerek duyulur. Saponinlerin bitki materyalinden izolasyonlarındaki bir zorluk da bitki dokularında yapısal olarak birbirine çok benzeyen maddelerin bir arada bulunması ve saponinlerin çoğunun kromofor grup içermemesidir. Bu yüzden, uzun yıllar boyunca saponinlerin tam olarak karakterizasyonu; saponin içeriği çok iyi bilinen bitkilerde olsa dahi yapılamamıştır. Ancak son zamanlarda tıbbi bitkilere ilginin yeniden artmasına, analitik yöntemlerde görülen dramatik gelişmeler eklenmesiyle çok sayıda yeni saponinlerin ortaya konduğu yayınlarda belirgin bir artış olmuştur (Francis ve ark., 2002).

Saponinlerin bitkiden ekstraksiyon, izolasyon ve saflaştırılması için izlenebilecek çeşitli yollar vardır. Genel olarak bu işlemler 3 aşamadan meydana gelmektedir.

1. Bitki materyalinin uygun solvan ile ekstraksiyonu.
2. Ekstrenin vakum altında yoğunlaştırılması; takibinde çöktürme, sıvı-sıvı ekstraksiyon veya vakum-sıvı kromatografisi (VLC) yöntemlerinden biri kullanılarak kaba ayırımın yapılması.
3. Çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak [Kolon kromatografisi, orta basınçlı sıvı kromatografisi (MPLC)] saf maddelerin izolasyonu (Calis ve Sticher, 1996).

Ekstraksiyon işlemi bitki materyalinin metanol, etanol veya bunların sulu karışımları gibi polar bir solvanla gerçekleştirilir. Metanol veya sulu metanol ile yapılan ekstraksiyon en etkin ekstraksiyon yöntemi olarak gösterilmiştir. Bitki materyali, ekstraksiyon öncesi veya ekstre elde edildikten sonra yağlı maddelerinden kurtarılabilir (genellikle petrol eteri kullanılır) (Calis ve Sticher, 1996; Hostettman ve Marston, 2005, s.:144).

Ekstre vakum altında yoğunlaştırıldıktan sonra çöktürme, sıvı-sıvı ekstraksiyon veya vakum-sıvı kromatografisi (VLC) yöntemlerinden biri kullanılarak kaba ayırım yapılır. Yoğunlaştırılan ekstre az bir miktar su içerisinde çözüldükten sonra n-BuOH ile sıvı-sıvı ekstraksiyona uygulanırsa saponin içeren fraksiyon elde edilmiş olur. Böylece ileri aşamalarda güçlük oluşturabilecek mono- ve disakkaritlerin eliminasyonu gerçekleştirilir (Calis ve Sticher, 1996; Francis ve ark., 2002; Avunduk, 2006).

Elde edilen ekstre veya fraksiyonlardan hareketle; silika jel ve ters faz silika jel kolon kromatografisi, orta basınçlı sıvı kromatografisi (MPLC) ile polimerik bir destek maddesi üzerinden elüsyon (sefadeks) gibi kromatografik teknikler kullanılarak saf

bileşiklerin izolasyonu gerçekleştirilir. Silika jel kolon kromatografisi uygulamalarında ayırım için en çok kullanılan solvan sistemi kloroform–metanol-su karışımıdır (Hostettman ve Marston, 2005, s.:147). Bu karışım izokratik olarak uygulanabileceği gibi [CHCl_3 -MeOH- H_2O ; 13:7:2, alt faz] (Gaidi ve ark., 2004); gradient olarak da uygulanması mümkündür [CHCl_3 -MeOH- H_2O ; 70:30:3→32:25:5] (Avunduk ve ark., 2008). Orta basınçlı sıvı kromatografisi uygulamalarında; adsorban olarak silika jel ve solvan sistemi olarak CHCl_3 -MeOH- H_2O karışımları veya adsorban olarak ters faz silika jel ve solvan sistemi olarak metanol-su karışımları kullanılır (Hostettman ve Marston, 2005, s.:156-158). Saf bileşiğe ulaşabilmek için genellikle bu yukarda bahsedilen yöntemlerin adsorban veya mobil fazı değiştirilerek birçok kez tekrarlanmaları gerekebilir. Bu aşamalarda saponin varlığı ve kromatografik aşamaların değerlendirilmesi İTK ile yapılır (Francis ve ark., 2002).

Saponinlerin yapılarının tayini aşağıda belirtilen ana sorunlar çözülerek gerçekleştirilir:

- Aglikonun ana yapısının belirlenmesi
- Karbonhidrat kısmını oluşturan monosakkaritlerin teşhisi ve sıralanışının belirlenmesi
- Monosakkarit birimlerinin birbirlerine nasıl bağlandıklarının belirlenmesi
- Her bir monosakkaritin glikozidik bağı oluşturan anomerik konfigürasyonunun belirlenmesi
- Karbonhidrat kısmının aglikondaki konumunun belirlenmesi (Hostettman ve Marston, 2005, s.:175)

Yapı aydınlatma yöntemlerinin kombine halde kullanılması sonuca ulaşmak için izlenmesi gereken en uygun yoldur. Saponinlerin yapı aydınlatma çalışmalarında saponin, hidroliz ile daha küçük fragmanlarına ayrılarak (şeker ve aglikon kısmı birbirinden ayrılarak); her bir fragman spektral yöntemlerle araştırılabilir. Ancak NMR ve kütle spektrometrisinde görülen gelişmeler ile saponinlerin herhangi bir degradesyona uğramadan da yapılarının aydınlatılması mümkün olmuştur. Günümüzde bu iki teknik saponinlerin yapılarının aydınlatılmasında olmazsa olmaz yöntemlerdir. FAB-MS bileşiğin molekül ağırlığı ve bazı durumlarda şeker sıralanışı ve sayısı ile ilgili bilgi verirken; 1D (^1H -NMR ve ^{13}C -NMR) ve 2D-NMR (COSY, HMQC, HMBC, TOCSY, NOESY, ROESY vb.) teknikleri ile aglikonun yapısı, şekerlerin bağ konumları, şekerlerin molekül içi yapılanması, ester asit süstitüsüyonu varsa bunların bağlanma konumları belirlenir (Hostettman ve Marston, 2005, s.:199; 210).

1.4.4. Saponinlerin Biyolojik Aktiviteleri

Doğada geniş bir yayılıma sahip olmaları, fiziksel, kimyasal ve fizyolojik açıdan farklılıklar göstermeleri nedeniyle saponinlerle ilgili çok sayıda biyolojik aktivite araştırmaları yapılmış; yapılarındaki çeşitliliğin biyolojik özelliklerine de yansıdığı görülmüştür. Saponinlerin gösterdiği belirtilen biyolojik aktiviteler, alfabetik sıralamayla Çizelge 1.3.'de verilmiştir. Gösterdikleri geniş aralıktaki biyolojik aktivitelere bağlı olarak, saponin taşıyan droglar fitoterapide, geleneksel halk tıbbında ve kozmetik endüstrisinde çeşitli amaçlarla kullanılmaktadırlar. Pekçok bitkisel drogun ve halk tıbbında kullanılan bitkisel ilaçların ana bileşenlerinin saponinler olduğu düşünülmektedir ve drogların gösterdiği farmakolojik etkilerin de saponinlerden kaynaklandığı belirtilmiştir. Saponinlerin ve polifenollerin Geleneksel Çin Tıbbında kilit rol oynayan etken madde grupları olduğu ve gözlenen biyolojik aktivitelerin çoğundan bu iki gruptaki bileşiklerin sorumlu olduğu belirlenmiştir (Şener ve Türköz, 1986; Sparg ve ark., 2004; Güçlü-Üstündağ ve Mazza, 2007).

Çizelge 1.3. Saponinlerin biyolojik aktiviteleri

Biyolojik Aktivite	Biyolojik Aktivite
Adaptojenik	Antiviral
Adjuvan	Kemopreventif
Analjezik aktivite	Sitotoksik
Antiallerjik	Diüretik
Antiödem	Mineral ve vitaminlerin absorpsiyonu üzerine etki
Antieksudatif	Hayvanların gelişmesi (büyümelerinin azalması) ve üremesi üzerine etki
Antifeedant	Kavrama/Anlama davranışı üzerine etki
Antifungal	Etanol ile oluşturulan hafıza kaybı üzerine etki
Antigenotoksik	Morfin/nikotin ile oluşturulan hiperaktivite üzerine etki
Etanol absorpsiyonu üzerine antihepatotoksik inhibitör etki	Ruminal fermantasyona olan etkileri
Antienflamatuvar	Ekspektoran
Antimikrobiyal	Hemolitik
Antimutajenik	Hepatoprotektif
Antiobezite	Hipokolesterolemik
Antioksidan	Hipoglisemik
Antiparazitik	İmmunostimülan etkiler
Antiflojistik	Bağırsak mukoza hücrelerinin permeabilitesinde artış
Antiprotozoal	Aktif besin transportunun inhibisyonu
Antipsoriatik	Mollusisidal Molluscicidal
Antipiretik	Nöroprotektif
Antispazmodik	Yağ absorpsiyonunda azalma
Antitrombotik (kanın pıhtılaşması üzerine olan etki)	Ruminal amonyak konsantrasyonunda azalma
Antitussif (öksürüğü dindirme veya önleme)	Domuzlarda ölü doğumlarda azalma
Antiülser	Karın şişkinliğide
Östrojenik	Sedatif

Yapı-aktivite ilişkileri göz önünde bulundurulduğunda; saponinlerin yapılarında açıl grupları bulundurmalarının aktivite için önemli bir özellik olduğu belirtilmiştir (Lacaille-Dubois, 2000). Yapılan yapı-aktivite çalışmaları ile 21 ve 22. konumlardan açılasyonunun aktiviteyi arttırdığı; aynı konumdaki süstitüsyonların kaldırılması ile etkinin de ortadan kalktığı saptanmıştır (Chan, 2007).

1.5. Amaç

Yaptığımız literatür araştırmaları sonucunda Türkiye’de yetişen *Eryngium* türlerinden sadece *Eryngium billardieri* üzerinde yapılan bir biyoaktivite çalışmasına rastlanmıştır (Yeşilada ve ark., 1989). Fitokimyasal çalışma olarak da Kartal ve arkadaşlarının *Eryngium campestre* üzerinde yaptıkları izolasyon çalışmaları literatürde yer almaktadır (Kartal ve ark., 2005 ve 2006). Bitkinin Türkiye’de geleneksel kullanılışı göz önünde bulundurulduğunda biyoaktivite çalışmalarının ve fitokimyasal araştırmaların yapılmasının gerekli olduğu düşünülmüştür. Ayrıca bugüne kadar yapılan aktivite çalışmalarında aktivite değerlendirmesi sadece ekstre düzeyinde kalmış, aktiviteden sorumlu bileşik veya bileşiklerin saptanması yapılmamıştır.

Tez çalışmamızda Türkiye’de yetişen bazı *Eryngium* türlerinin antienflamatuvar ve antinosiseptif aktivitelerinin değerlendirilmesi; aktivitesi yüksek bulunan tür / türlerden hareketle biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ile aktiviteden sorumlu madde veya maddelerin saf olarak elde edilmesi; yapılarının aydınlatılması ve biyoaktivite testleri ile aktivitelerinin belirlenmesi planlanmıştır. Çalışmaların, Türkiye’de halk arasında kullanılışı olan *Eryngium campestre* ve *Eryngium maritimum* yanında, endemik olan *Eryngium davisii*, *Eryngium isauricum*, *Eryngium kotschy* Boiss., *Eryngium trisectum* ile yine üzerinde yapılan herhangi bir biyoaktivite veya fitokimyasal çalışmaya rastlanmayan *Eryngium falcatum* türleri üzerinde yapılması amaçlanmıştır. Araştırmalar sonucunda ulaşılan bulgular, incelenen türler üzerinde literatürde veri bulunmaması sebebiyle orjinal bulgu niteliğinde olacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Bitkisel Materyal

Materyal olarak 8 *Eryngium* türü toplanmıştır. Gölgede kurutulup toz edilmişlerdir. Toplanan bitki örnekleri Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda (AEF) ve Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu'nda (GAZİ) saklanmaktadır. Aşağıda verilen tabloda bitkilerin toplanma yerleri, herbaryum numaraları ve toplanma zamanları belirtilmiştir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Toplanan bitkilerin toplanma yerleri ve herbaryum numaraları

Bitki Adı	Toplanma Yeri ve Zamanı, Toplayan kişiler	Herbaryum Numarası
<i>Eryngium campestre</i> L.	Balıkesir, Edremit-Güre, 100 m; 23.08.2003; Murat Kartal	AEF 22964
<i>Eryngium creticum</i> Lam.	Balıkesir, Edremit-Güre, Kavurmacılar köyü, 700 m; 31.08.2003; Murat Kartal	AEF 22967
<i>Eryngium davisii</i> Kit Tan&Yildiz	Konya, Bozkır, Koryalçın-Eğriyol, Serpentine step, 1900-2000 m; 13.08.2003; Hayri Duman	H.Duman 9134
<i>Eryngium falcatum</i> Delar.	Burdur, Bucak, Çamlar altı lokasyonu, 800-850 m; 12.08.2003;	AEF 22970
<i>Eryngium isauricum</i> Contandr.&Quezel	Karaman, Ermenek-Hadim, Güneyyurt-Tepebaşı, 100-1050 m; 13.08.2003; Hayri Duman	H.Duman 9143
<i>Eryngium kotschy</i> Boiss.	Konya, Hadim, Hadim-Beyşehir 3 km, step, 1500 m; 13.08.2003; Hayri Duman	H.Duman 9137
<i>Eryngium kotschy</i> Boiss.	Konya, Hadim, Hadim-Beyşehir 3 km, step, 1500 m; 08.2005; Sinem Aslan, Yüksel Kan	AEF 25381
<i>Eryngium maritimum</i> L.	Balıkesir, Edremit-Altınoluk, deniz kenarı, 23.08.2003; Murat Kartal	AEF 22963
<i>Eryngium trisectum</i> A.Wörz&H.Duman	Konya, Beyşehir, Çamlık, Kızıldağ, serpentine arazi, 1600-1700 m; 12.08.2003; Hayri Duman	H.Duman 9128

2.1.2. Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar

1D (^1H - ve ^{13}C -NMR) ve 2D NMR spektroskopik analizleri (^1H - ^1H COSY, TOCSY, HSQC, HMBC and NOESY) Sun 4 L-X bilgisayar sistemi ile donanımlı Varian INOVA 600 cihazı kullanılarak, 600 MHz frekansta kullanılarak UNITY-600 spektrometresi ile gerçekleştirilmiştir (^1H -NMR için 600 MHz; ^{13}C -NMR için 150 MHz). Metil, metilen ve metin karbonları DEPT metodu ile saptanmıştır. Kimyasal kayma değerleri δ (ppm) olarak verilmiştir. NMR analizlerinde, çözücü olarak piridin- d_5 (δ_{C} 149,3; 135,8; 123,5) kullanılmıştır. FAB-Kütle spektroskopisi (negatif iyon modu; gliserol matriksinde) JEOL SX 102 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İTK analizleri Silika jel 60F₂₅₄ alüminyum ve cam plaklar (Merck 5554 ve Silicycle TLG-R10011B-323) ve HPTLC (Merck 5628) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İzolasyonlar MPLC sistemi kullanılarak [Master Flex L/S Digital Economy Drive pompa ve Gilson Pompa M 305, Büchi kolon (46 x 1,5 ve 46 x 2,5 cm) ve Spectra/Chrom LC kolon (30 X 2,5 cm); adsorban olarak LiChroprep RP-18 (25–40 μm) ve Silika jel 60 (0,063-0,200 mm Merck-1,07734)] gerçekleştirilmiştir. Analizler yürütülürken ara aşamalarda liyofilizatör, rotavapor (Büchi), Vortex karıştırıcı, Hassas terazi, Üstten kefeli terazi, UV lambası (Camag) kullanılmıştır.

Analizlerin gerçekleştirilmesinde kimyasal madde olarak *p*-hidroksibenzaldehit (Acros), vanilin (Merck), metanol, etanol, diklorometan, kloroform, n-butanol, distile su, hekzan, asetik asit, sülfürik asit (Merck, Carlo Erba) kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Fitokimyasal Yöntemler

2.2.1.1. Ekstraksiyon

Eryngium kotschy bitkisinin toprakaltı kısmı toz edilip; 400 gram (g) tartılmıştır. Soxhlet cihazında 2410 ml metanol ile çözücü artık renk almayıncaya kadar ekstraksiyona devam edilmiştir (17 saat). Elde edilen ekstre pilili süzgeç kağıdından süzülüp, rotavaporda yoğunlaştırılmıştır. Sonuçta elde edilen ekstre miktarı 90.68 g'dır. Kuruluğa kadar uçurulan ekstre 300 ml suda çözüldükten sonra sırasıyla hekzan (1100 ml), diklorometan (955 ml) ve suya doyurulmuş *n*-BuOH (2800 ml) ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Sıvı-sıvı ekstraksiyon ile elde edilen fraksiyonlar; en son arta kalan sulu ekstre dahil olmak üzere rotavaporda yoğunlaştırılmış ve tartılmıştır [hekzan ekstresi 2,44 g; CH₂Cl₂ ekstresi 1,3 g; *n*-butanol (suya doyurulmuş) 46,18 g; kalan sulu ekstre 30,32 g].

Ekstraksiyon ve sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemleri, saponinlerin genel ekstraksiyon yöntemlerinden yola çıkılarak gerçekleştirilmiştir (Hostettman ve Marston, 2005; s.: 144).

2.2.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstrelerin değerlendirilmesinde; kolon kromatografisi sonucu elde edilen fraksiyonların izlenmesinde/gözlenmesinde, normal faz silikajel kaplı cam ve alüminyum plaklar kullanılarak İTK yöntemi uygulanmıştır. Elde edilen saf maddelerin saflık kontrollerinde ise normal faz silikajel kaplı HPTLC cam plaklar kullanılmıştır. İTK analizlerinde aşağıda belirtilen solvan sistemleri kullanılmıştır:

Solvan sistemi 1: $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ (60:30:5)

Solvan sistemi 2: $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ (61:32:7)

Solvan sistemi 3: $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ (64:50:10)

Solvan sistemi 4: $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ (65:35:10 / Altfaz)

Solvan sistemi 5: $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O} - \text{Asetik asit (AcOH)}$ (60:32:7:1)

Solvan sistemi 6: $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O} - \text{AcOH}$ (62:34:4:0,5)

Revelatör: Revelatör olarak % 30'luk sülfürik asit, vanilin – sülfürik asit ve Komarowsky reaktifi kullanılmıştır. Her üç revelatör için de plaklar sürüklendikten sonra kurutulmuş; reaktif püskürtüldükten sonra 110°C 'ta yaklaşık 5 dakika ısıtılarak lekeler belirlenmiştir.

% 30'luk H_2SO_4 : H_2SO_4 'ün % 30'luk çözeltisidir. Reaktif püskürtülür ve 110°C 'ta 5-10 dakika ısıtılarak lekeler belirgin hale gelir.

Komarowsky reaktifi: % 2'lik MeOH 'lı 4-hidroksibenzaldehit ile % 50'lik etanollü H_2SO_4 çözeltisinin 5:1 oranındaki karışımından oluşur. Reaktif püskürtülür; 110°C 'ta 5-10 dakika ısıtılır ve lekeler belirgin hale gelir.

Vanilin-sülfürik asit: %1 etanollü vanilin (solusyon I) ve %10 etanollü sülfürik asit (solusyon II); önce solusyon I, hemen ardından solusyon II püskürtülür. 110°C 'ta 5-10 dakika ısıtılır ve lekeler belirgin hale gelir.

2.2.1.2. Açık Kolon Kromatografisi

Açık kolon kromatografisinde adsorban olarak normal faz silikajel 60 (63-200 μm , Merck) kullanılmıştır. Elüe edilecek olan numune kolona Slurry yöntemi ile uygulanmıştır; analizi yapılacak numune üzerine eşit miktarda adsorban ilave edilmiş, homojen olana kadar havanda ezildikten sonra kolona uygulanmıştır.

2.2.1.3. Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi (MPLC)

MPLC’de normal faz silikajel 60 (15-40 µm, Merck) ve ters faz silikajel [LiChrorep RP-18 (25-40 µm, Merck)] kullanılmıştır. Kolon olarak Büchi Borosilikat 3.3 kolon (46 X 2,5cm; 46 X 1,5 cm ve 23 X 1,5 cm) ve Spectra/Chrom LC kolon (30 X 2,5 cm) pompa olarak Büchi C 615, Gilson Pump M 305 ve Master Flex L/S Digital Economy Drive kullanılmıştır.

Açık kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonlar; analjezik aktivite tayininine tabi tutulduktan sonra aktivitesi yüksek olarak belirlenen fraksiyonlardan saf madde elde edebilmek amacıyla izolasyon çalışmalarında MPLC uygulanmıştır. Ekstre elüsyona başlanacak solvan sisteminde çözüldükten sonra pastör pipeti ile kolona uygulanmıştır.

2.3. İzolasyon Çalışmaları

Eryngium kotschy toprakaltı n-BuOH fraksiyonu silika jel açık kolon kromatografisine uygulanmıştır. Elüsyon, gradient sistem uygulanarak gerçekleştirilmiştir (CH₂Cl₂:MeOH:H₂O (80:20:2) → MeOH). Kolon kromatografisi sonucu elde edilen fraksiyonlar İTK ile değerlendirilmiş (solvan sistemi 2 ve 3; vanilin-H₂SO₄ reaktifi), benzer maddeleri içeren fraksiyonlar birleştirilmiştir (Çizelge 2.2). Sonuçta 7 ana fraksiyon (**Fr. 1-7**) elde edilmiştir. **Fr. 1:** 167,1 miligram (mg), **Fr. 2:** 14,4242 g, **Fr. 3:** 191,3 mg, **Fr. 4:** 3,2644 g, **Fr. 5:** 2,7257 g, **Fr. 6:** 17,836 g, **Fr. 7:** 2,9546 g.

Çizelge 2.2. *Eryngium kotschyi* kök n-BuOH fraksiyonu açık kolon kromatografisi analiz koşulları

Adsorban	Silika jel 60
Solvan Sistemi	Diklorometan – Metanol – Su 80 : 20 : 2 Kloroform – Metanol – Su → 70 : 30 : 3 Kloroform – Metanol – Su → 50 : 50 : 5 Metanol
Uygulanan Miktar	42 g
Uygulama Şekli	Ekstre üzerine eşit miktarda adsorban ilave edilmiştir; karışım homojen olana kadar havanda ezildikten sonra hazırlanmış olan ve üzerinde 1-2 ml solvan bulunan kolona ilave edilmiştir. Üzerini kaplayacak şekilde silikajel ilave edildikten sonra solvan sistemi üzerine eklenerek elüsyona başlanmıştır.
Toplama Hacmi	200 ml
Akış hızı	5 ml/d

Analjezik aktivite sonuçlarında aktivitesi yüksek olarak bulunan fraksiyonlardan **Fr. 5**, İTK (solvan sistemi 2; % 30'luk sülfürik asit) ile de değerlendirildiğinde saponin bakımından zengin olduğu görülmüş ve ters faz silikajel MPLC'ye uygulanmıştır (Çizelge 2.3). Toplanan fraksiyonlar İTK ile değerlendirilmiş (solvan sistemi 2; vanilin-H₂SO₄ reaktifi); benzer bileşikler içeren fraksiyonlar birleştirilmiştir. Birleştirilen fraksiyonlar arasından **Fr.5J** (169,1 mg), **Fr.5K** (44 mg), **Fr.5N** (139 mg) saflaştırma amacıyla ileri aşamalarda kullanılmışlardır.

Çizelge 2.3. **Fr. 5** MPLC analiz koşulları

Adsorban	Ters faz silika jel LiChroprep RP-18 (25-40µm, Merck-109303)
Kolon Boyutu	30 x 2,5 cm
Solvan Sistemi	MeOH - H ₂ O (% 30-100)
Uygulanan Miktar	2,7 g
Uygulama Şekli	Ekstre elüsyona başlanacak solvan sisteminde çözüldükten sonra pastör pipeti ile kolona uygulanmıştır.
Toplama Hacmi	10 ml
Akış hızı	4 ml/d

Fr.5J (169,1 mg), normal faz silika jel MPLC ile izokratik solvan sistemi kullanılarak elüe edilmiş (Çizelge 2.4); toplanan fraksiyonlar İTK (solvan sistemi 4 ve 6; Komarowsky reaktifi) ile değerlendirildikten sonra ana fraksiyon içindeki majör maddeleri içeren ve **Fr.5J2** (62 mg) yeniden MPLC'ye uygulanmıştır.

Çizelge 2.4. Fr.5J fraksiyonu MPLC analiz koşulları

Adsorban	Silika jel 15-40 µm
Kolon Boyutu	46 x 1,5
Solvan Sistemi	CHCl ₃ – MeOH – H ₂ O (62 : 34 : 4)
Uygulanan Miktar	169,1 mg
Uygulama Şekli	Ekstre elüsyona başlanacak solvan sisteminde çözüldükten sonra pastör pipeti ile kolona uygulanmıştır.
Toplama Hacmi	2,5 ml
Akış hızı	2,5 ml/dk

Fr. 5J2 (62,0 mg) fraksiyonu normal faz silika jel MPLC ile izokratik solvan sistemi kullanılarak elüe edilmiştir (CHCl₃-MeOH-H₂O, [65:35:10], alt faz). Fraksiyonlar İTK ile değerlendirildikten sonra (solvan sistemi 4; Komarowsky reaktifi) majör bileşik taşıyan **Fr. 5J2b** (12,0 mg) saflaştırma için tekrar MPLC'ye uygulanmıştır (Çizelge 2.5). Elüsyon, ters faz silika jel MPLC sistemi ile gradient sistem (MeOH; % 60-80) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İTK ile değerlendirilen (solvan sistemi 4; Komarowsky reaktifi) fraksiyonlardan **Fr.5 J2b2 [EK-3]** (11,4 mg) kodlu fraksiyon saf olarak elde edilmiştir; maddenin saflığı HPTLC ile kontrol edilmiştir (solvan sistemi 5; Komarowsky reaktifi).

Çizelge 2.5. Fr. 5J2 ve Fr. 5J2b fraksiyonu MPLC analiz koşulları

	Fr. 5J2	Fr. 5J2b
Adsorban	Silika jel 15-40 μm	LiChroprep RP 18 25-40 μm
Kolon Boyutu	46 x 1,5 cm	23 x 1,5 cm
Solvan Sistemi	$\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ (65 : 35 : 10 / Alt faz)	$\text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ (% 60 $\rightarrow$ % 70)
Uygulanan Miktar	62 mg	12 mg
Uygulama Şekli	Ekstre elüsyona başlanacak solvan sisteminde çözüldükten sonra pastör pipeti ile kolona uygulanmıştır.	
Toplama Hacmi	2 ml	2,5 ml
Akış hızı	2 ml/dk	3 ml/dk

Fr. 5N (139 mg) fraksiyonu normal faz silika jel MPLC sistemi elüe edilmiştir. İzokratik solvan sistemi ($\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$; 62:34:4) kullanılmıştır. Toplanan fraksiyonlar İTK (solvan sistemi 6; Komarowsky reaktifi) ile değerlendirildikten sonra 4 fraksiyon altında birleştirilmiştir. Birleştirilen fraksiyonlardan **Fr. 5N1**'in (92,1 mg) major bileşiği içerdiği tespit edilmiş ve MPLC'ye uygulanmıştır (Çizelge 2.6). Elüsyon izokratik solvan sistemi ($\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$; 65:35:10_{altfaz}) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İTK (solvan sistemi 4; Komarowsky reaktifi) ile değerlendirilen fraksiyonlardan major bileşiği taşıyan **Fr. 5N1a** (53,3 mg) fraksiyonu tekrar MPLC'ye uygulanmıştır (Çizelge 2.6). Ters faz silika jel MPLC sistemine uygulanan fraksiyon gradient solvan sistemi [$\text{MeOH-H}_2\text{O}$ (%50-90)] ile elüe edilmiş; toplanan fraksiyonlar İTK (solvan sistemi 4; Komarowsky reaktifi) ile değerlendirilmiş; **Fr. 5N1a1** [**EK-1**] (5,5 mg) ve **Fr. 5N1a2** [**EK-2**] (16,2 mg) fraksiyonlarının saf olduğu tespit edilmiştir. Bileşiklerin saflığı HPTLC ile kontrol edilmiştir (solvan sistemi 5; Komarowsky reaktifi).

Çizelge 2.6. Fr. 5N, Fr. 5N1 ve Fr. 5N1a fraksiyonu MPLC analiz koşulları

	Fr. 5N	Fr. 5N1	Fr. 5N1a
Adsorban	Silika jel 15–40 µm	Silika jel 15-40 µm	LiChroprep RP 18 25-40 µm
Kolon Boyutu	46 x 1,5 cm	46 x 1,5 cm	46 x 1,5 cm
Solvan Sistemi	CHCl ₃ – MeOH – H ₂ O (62 : 34 : 4)	CHCl ₃ – MeOH – H ₂ O (65 : 35 : 10 // alt faz)	MeOH – H ₂ O (% 50 → % 90)
Uygulanan Miktar	139 mg	92,1 mg	53,3 mg
Uygulama Şekli	Ekstre elüsyona başlanacak solvan sisteminde çözüldükten sonra pastör pipeti ile kolona uygulanmıştır.		
Toplama Hacmi	2 ml	2 ml	2,5 ml
Akış hızı	2 ml/dk	2 ml/dk	3 ml/dk

Fr. 7'den 500 mg tartılmış, silika jel MPLC'ye uygulanmıştır. Hareketli faz olarak CHCl₃-MeOH-H₂O; (80:20:2→60:30:7) kullanılmıştır (Çizelge 2.7). İTK (solvan sistemi 4; Komarowsky reaktifi) ile değerlendirilen fraksiyonlardan **Fr. 7D** fraksiyonu (37,8 mg) ters faz MPLC'ye [MeOH-H₂O (%50–80)] uygulanmıştır. Fraksiyonlar İTK ile değerlendirilmiş (solvan sistemi 4; Komarowsky reaktifi); **Fr. 7D6** saf olarak elde edilmiştir. **Fr. 7E**'den 20,1 mg tartılarak ters faz silika jel MPLC'ye uygulanmıştır (MeOH; % 40–70). Sonuçta **Fr. 7E5** kodlu fraksiyonun saf olduğu tespit edilmiştir. **Fr. 7E** (16,6 mg) ve **Fr. 7F** (80,9 mg) fraksiyonları birleştirilerek (**Fr. 7E-F**, 97,5 mg) tekrar ters faz MPLC'ye uygulanmıştır (Çizelge 2.8). Gradient solvan sistemi ile elüe edilen [MeOH-H₂O (%50–80)] fraksiyonlar İTK (solvan sistemi 4; Komarowsky reaktifi) ile değerlendirilmiş; **7EF8** fraksiyonunun saf olduğu tespit edilmiştir. Saf olarak elde edilen bu üç fraksiyonun HPTLC ile birbirleri ile aynı oldukları (**EK-4**) saptanmıştır. (solvan sistemi 5; Komarowsky reaktifi).

Çizelge 2.7. Fr. 7 fraksiyonu MPLC analiz koşulları

Adsorban	Silika jel 15-40 µm
Kolon Boyutu	46 x 2,5 cm
Solvan Sistemi	CHCl ₃ – MeOH – H ₂ O (80:20:2→60:30:7)
Uygulanan Miktar	500 mg
Uygulama Şekli	Ekstre elüsyona başlanacak solvan sisteminde çözüldükten sonra pastör pipeti ile kolona uygulanmıştır.
Toplama Hacmi	3,5 ml
Akış hızı	3,5 ml/dk

Çizelge 2.8. Fr. 7D, Fr. 7E ve Fr. 7F fraksiyonu MPLC analiz koşulları

	Fr. 7D	Fr. 7E	Fr. 7F
Adsorban	LiChroprep RP 18 25–40 µm	LiChroprep RP 18 25–40 µm	LiChroprep RP 18 25–40 µm
Kolon Boyutu	46 x 1,5 cm	23 x 1,5 cm	46 x 1,5 cm
Solvan Sistemi	MeOH – H ₂ O (% 50 → 80)	MeOH – H ₂ O (% 40 → % 70)	MeOH – H ₂ O (% 50 → 80)
Uygulanan Miktar	37,8 mg	20,1 mg	97,5 mg
Uygulama Şekli	Ekstre elüsyona başlanacak solvan sisteminde çözüldükten sonra pastör pipeti ile kolona uygulanmıştır.		
Toplama Hacmi	2 ml	2 ml	2,5 ml
Akış hızı	3 ml/dk	2 ml/dk	3 ml/dk

2.4. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.4.1. Hayvanlar

8 *Eryngium* cinsi üzerine uygulanan analjezik ve antienflamatuvar aktivite deneylerinde Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Hayvan Üretim Laboratuvarlarından temin edilen 20–25 g ağırlığında Swiss-Albino erkek fareler kullanılmıştır. Hayvanlar deneylere başlamadan 2 gün önce test ortamına alınarak adaptasyonları sağlanmıştır. Her deney grubunda 6 hayvan kullanılmıştır.

Eryngium kotschy bitkisinin ekstre ve fraksiyonlarının analjezik aktivite tayininde; Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları biriminden temin edilen, 25–35 gr ağırlığında Swiss-Albino erkek fareler kullanılmıştır. İlaç uygulanan farelere deneylerden sonra ikinci kez ilaç tatbik edilmemiştir ve fareler Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Hayvan Barınağında yaşatılmaya devam edilmiştir. Herbir deney grubunda 6 hayvan kullanılmıştır.

2.4.2. Bitkilerden Analjezik ve Antienflamatuvar Aktivite Tayini için Etanollü ve Sulu Ekstre Hazırlanması

Bitkilerden 10 gram tartılmıştır üzerlerine 200 ml %90'lık etanol ilave edilmiştir; oda sıcaklığında 12 saat masere edilmiş; daha sonra süzülüp üzerlerine tekrar 200 ml etanol ilave edilmiş ve işlem tekrar edilmiştir. Elde edilen ekstreler süzgeç kağıdından süzildükten sonra rotavaporda kuruluğa kadar uçurulmuştur.

Sulu ekstre hazırlamak için üstteki işlem; etanol yerine distile su ilave edilerek aynen uygulanmıştır. Elde edilen ekstreler süzgeç kağıdından süzildükten sonra liyofilize edilmiştir.

2.4.3. Kıvrınma Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini (Writhing test)

8 *Eryngium* cinsinin toprakaltı ve topraküstü kısımlarının antinosiseptif aktivitesinin ölçümünde nosiseptif aktiviteyi oluşturmak için distile su içinde % 2,5'lik *p*-benzokinon kullanılmıştır. *i.p.* enjeksiyonu takip eden 5 dakikadan sonra 15 dakika boyunca kıvrınma refleksi sayılmıştır. Her grupta 6 hayvan kullanılarak istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmaların yapılabilmesi hedeflenmiştir.

Eryngium kotschy bitkisinin ekstre ve fraksiyonlarının antinosiseptif aktivitesinin ölçümünde nosiseptif etkiyi oluşturmak için serum fizyolojik içinde %0,6'lık asetik asit çözeltisi kullanılmıştır. *i.p.* enjeksiyonu takip eden 5. dakikadan sonra 15 dakika boyunca kıvrınma refleksi (writhing) sayılmıştır. Her grupta 6 hayvan kullanılarak istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmaların yapılabilmesi hedeflenmiştir.

2.4.4. Sıcak Levha Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini (Hotplate testi)

Termal ağrı modelinde hotplate testi seçilmiştir ve yüzey sıcaklığı 52°C olarak belirlenmiş bir “hotplate sistemi” kullanılmıştır. Sıcaklığı sabit tutan kontakt termometre ile donanımlı bu sistem sayesinde standart sıcaklıkta bir termal ağrı modeli oluşturulmuştur. Farelerin arka ayaklarını çekme, yalama veya sıçrama davranışı ağrının algılanması olarak değerlendirilerek saniye cinsinden kaydedilmiştir. Tepki süresinin uzaması ağrı algısında azalma ve antinosiseptif aktivitenin varlığına işaret eden bir durum olarak değerlendirilmiştir. Hotplate sistemindeki ölçümler 10'ar dakika arayla 80 dakika boyunca sürdürülmüştür. Farelerde ısının kalıcı bir doku hasarı oluşturmasını engellemek amacıyla cut-off süresi 30 saniye olarak belirlenmiştir. Her grupta 6 hayvan kullanılarak istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmaların yapılabilmesi hedeflenmiştir.

2.4.5. Karagenin ile Oluşturulan Ödem Üzerindeki Antienflamatuvar Aktivite Tayini

Karrageninle oluşturulan inflamasyon modelinde deney; hayvanların sağ ve sol pençelerinin kalınlıkları arasındaki farkın ölçümü ile gerçekleştirilmiştir. Ölçüm kalınlık ölçer kumpas kullanılarak yapılmıştır. Ödem oluşturmak için farelerin sağ arka ayak pençesinin tabanına, taze hazırlanmış serum fizyolojik içinde 0,5 mg / 25µl karragen süspansiyonu enjekte edilmiştir. Kontrol olarak sol arka pençelere de 25 µl serum fizyolojik enjekte edilmiştir. Enjeksiyon sonrasındaki 6 saat süresince her 90 dakikada pençe ödemi/pençe kalınlığı kalınlık ölçer kumpas ile ölçülmüştür. Her grupta 6 hayvan kullanılarak istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmaların yapılabilmesi hedeflenmiştir.

2.4.6. TPA ile Oluşturulan Ödem Üzerindeki Antienflamatuvar Aktivite Tayini

TPA ile oluşturulan inflamasyon modelinde deney; hayvanların kulaklarında ödem oluşturulması ve sağ ve sol kulaklar arasındaki şişme farkının ölçümü ile gerçekleştirilmiştir. Ödem oluşturmak için her bir hayvanın kulağına 20 µl % 70'lik etanol çözeltisi içerisinde çözülmüş 25 µg TPA otomatik pipet ile kulağın ön ve arka yüzeyine uygulanmıştır. Sol kulak kontrol olarak kabul edilmiş; sol kulağa da aynı hacimde % 70'lik etanol çözeltisi uygulanmıştır. 4 saat sonra hayvanlar anestezi ile öldürülmüş; kulaklarından 6 mm'lik disk olacak şekilde parça alınmıştır. Sağ ve sol kulaklardan alınan parçaların ağırlıkları arasındaki fark kulak kalınlığındaki ağırlık olarak belirlenmiştir.

2.4.7. Toksisite

Deneyler süresince ve deneylerden sonraki 1 hafta boyunca hayvanlarda gözlenebilecek ölüm veya diğer komplikasyonlar izlenmiştir.

Antinosiseptif aktivite olarak değerlendirilen gözlemlerin nörotoksik bir aktiviteden veya lokomotor aktivitenin azaldığı bir durumdan kaynaklanma olasılığını ortadan kaldırmak amacıyla “rotarod testi” uygulanmıştır. Dakikada 12 tur dönen bir rotarod çubuğu üzerinde farelerin kalma süreleri ve bu sürelerin deneyler sırasında verilen kimyasal ajanlara bağlı olarak değişimi, lokomotor aktivitenin değerlendirilmesi amacıyla kaydedilmiştir. Farelerin rotarod üzerinde kalma süresinin kısalması lokomotor aktivitenin azalması olarak değerlendirilmiştir.

2.4.8. Verilerin Analizi:

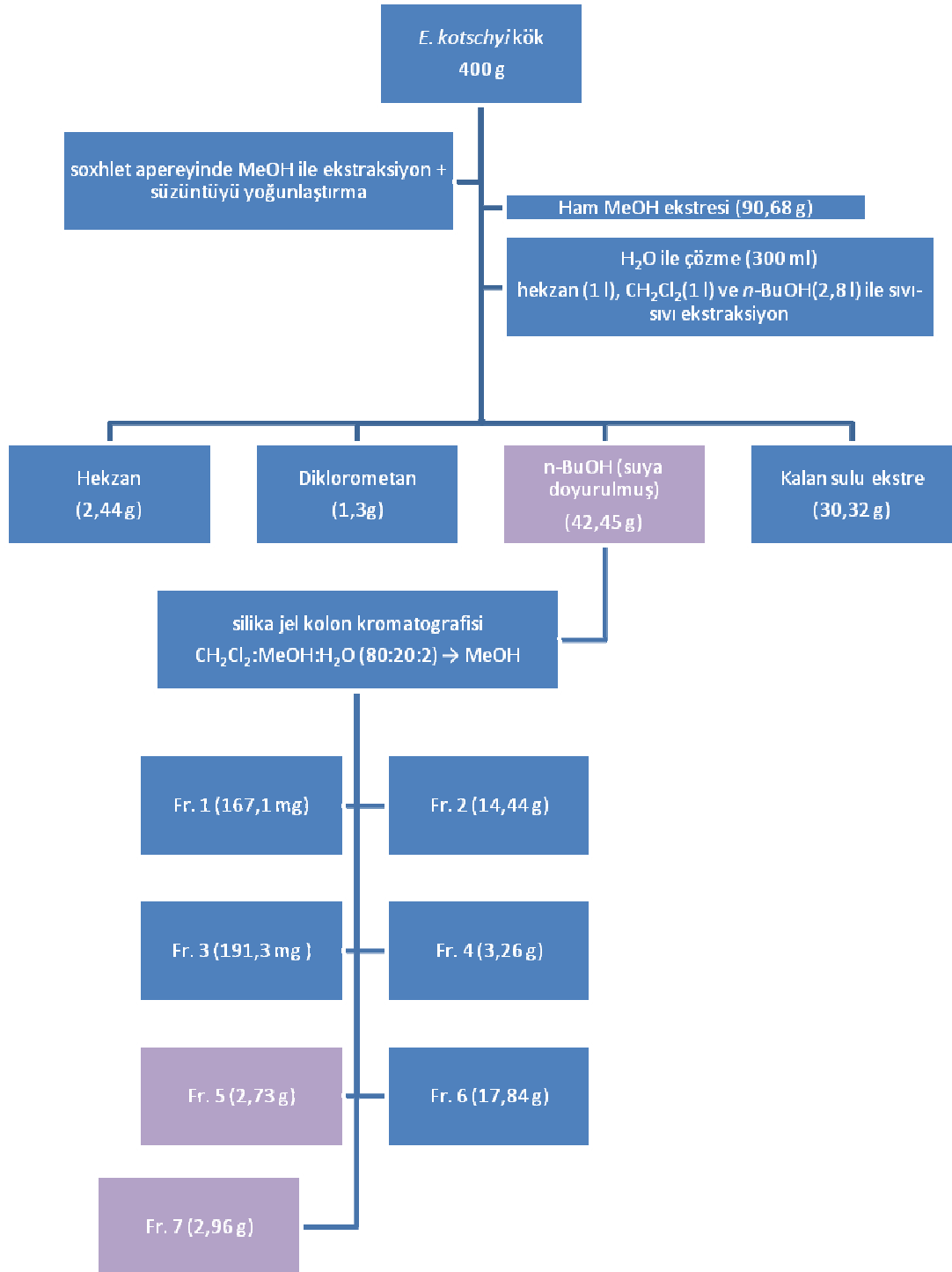
Sonuçlar 6 sayıda deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart hatası olarak ifade edildi. Verilerin istatistiksel analizi için ANOVA ve Students-Newman-Keuls *post-hoc* testleri kullanılmıştır; istatistiksel analiz, $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$ ve $P<0.005$ anlamlılık düzeylerinde değerlendirilmiştir. Deney sonuçlarını gösteren grafikler için “Microsoft Office Excel” programı kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

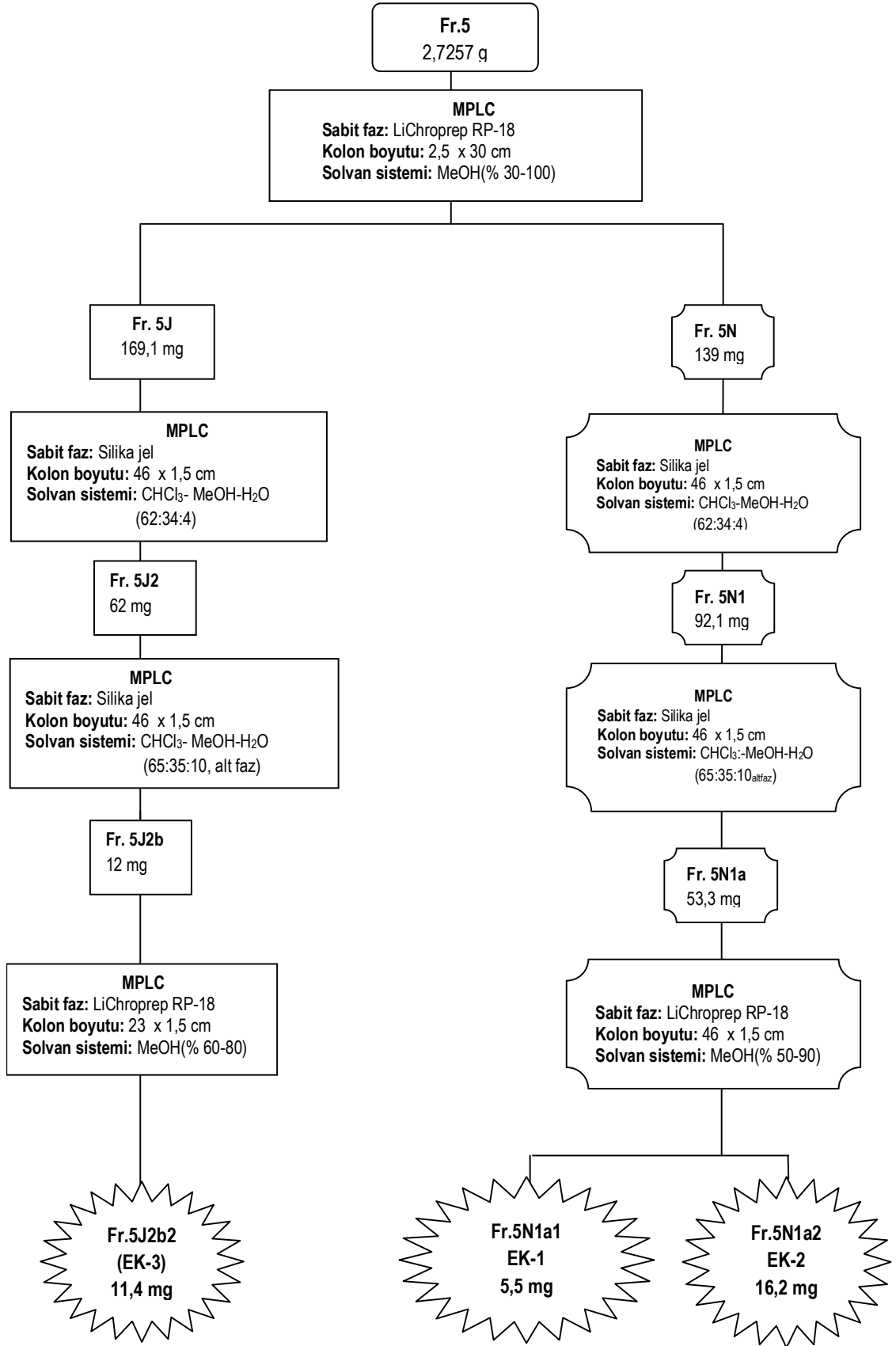
Eryngium kotschy köklerinin metanol ile soxhlet cihazında ekstraksiyonu sonrasında, metanolün vakumda yoğunlaştırılmasıyla elde edilen ekstre hekzan, diklorometan ve n-BuOH (suya doyurulmuş) ile tüketilmiştir. Elde edilen fraksiyonların antinosiseptif aktiviteleri test edilmiş; anlamlı aktivite gösteren n-BuOH ekstresi silika jel kolon kromatografisine uygulanarak fraksiyonlama yapılmıştır (Şekil 3.1).

Elde edilen fraksiyonların (**Fr. 1-7**) antinosiseptif aktiviteleri test edilmiş ve anlamlı aktivite gösteren **Fr. 5**'ten hareketle EK-1, EK-2 ve EK-3 kodu ile belirlenen üç bileşik saf olarak elde edilmiştir (Şekil 3.2).



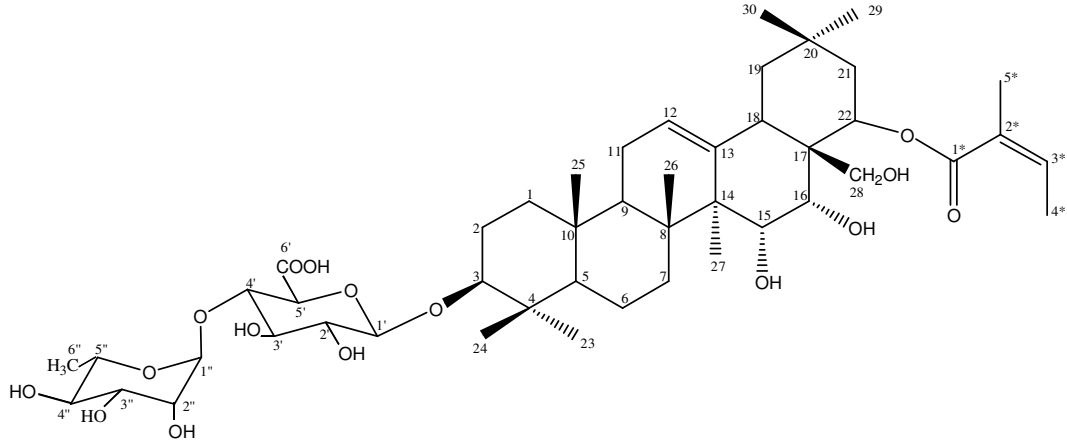
Şekil 3.1. *Eryngium kotschyi* toprakaltı kısımları üzerinde yapılan ekstraksiyon ve açık kolon kromatografisi çalışmaları.

*Biyoaktivite tayini sonucu anlamlı aktivite gösteren fraksiyonlar renkle gösterilmişlerdir.



Şekil 3.2. *Eryngium kotschyi* 'nin toprakaltı kısımlarından yapılan izolasyon çalışmaları.

3.1.1. BİLEŞİK EK-1



$C_{47}H_{74}O_{16}$ (Molekül Ağırlığı = 894)

Negatif İyon FAB-Kütle spektroskopisi m/z : 893 $[M-H]^-$

1H -NMR (Piridin- d_5 , 600 MHz) : Çizelge 3.1, Spektrum 3.1

^{13}C -NMR (Piridin- d_5 , 150 MHz) : Çizelge 3.1, Spektrum 3.2

Bileşik renksiz, amorf, toz halde elde edilmiştir (5,5 mg). Bileşiğin İTK analizinde gün ışığında renksiz; Komarowsky reaktifi püskürtülüp ısıtıldıktan sonra soluk mor renk vermesi saponin olabileceğini düşündürmüştür.

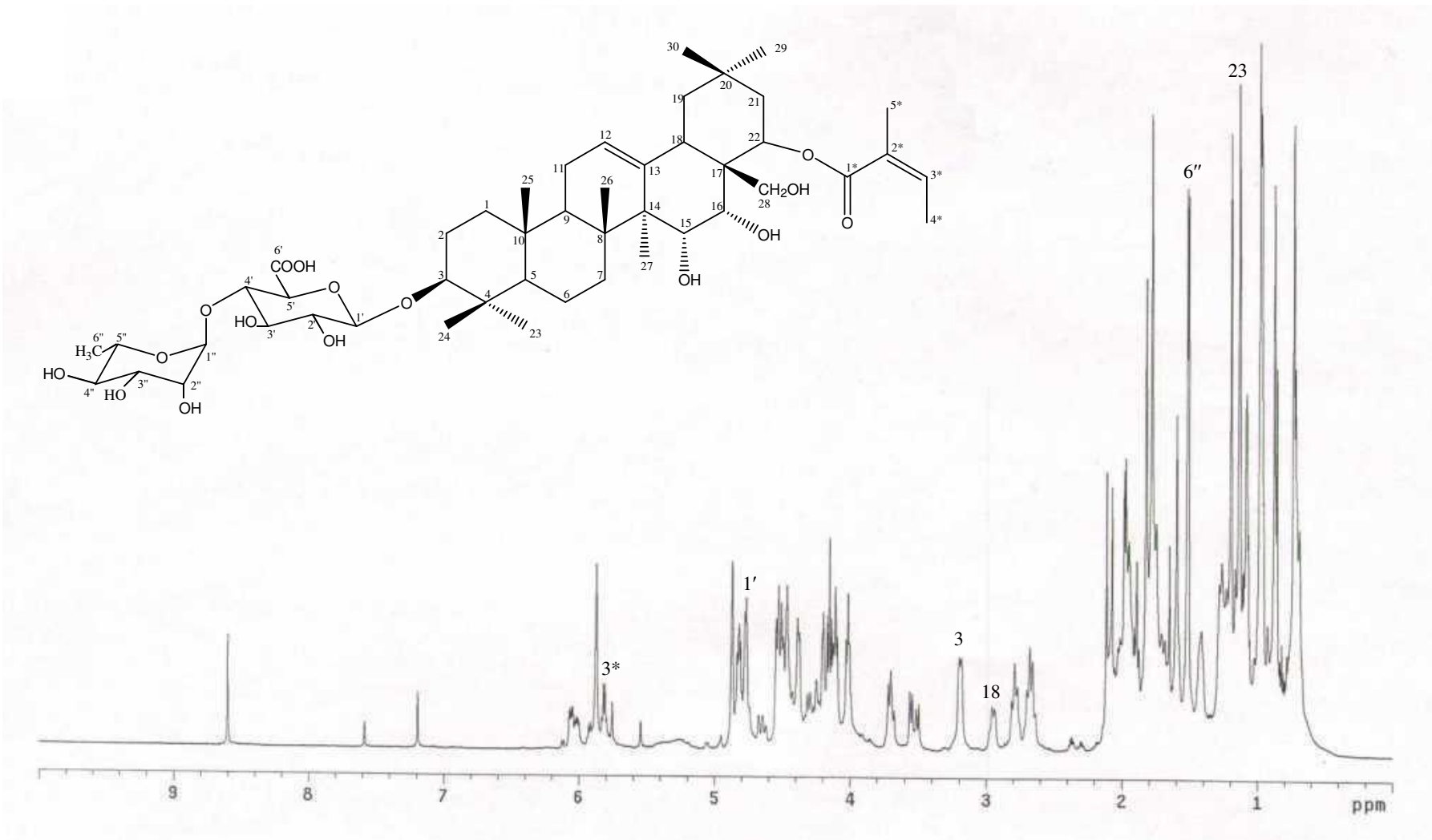
Bileşiğin FAB-Kütle spektroskopisi ile elde edilen spektrumunda (negatif iyon modu) gözlenen moleküler iyon piki m/z 893 $[M-H]^-$, molekül ağırlığının 894

olduğunu göstermektedir. Molekülde gözlenen diğer fragmanlardan m/z 747 [(M-H)-146]⁻, dezoksiheksoz grubu taşıdığını düşündürmüştür (Spektrum 3.3).

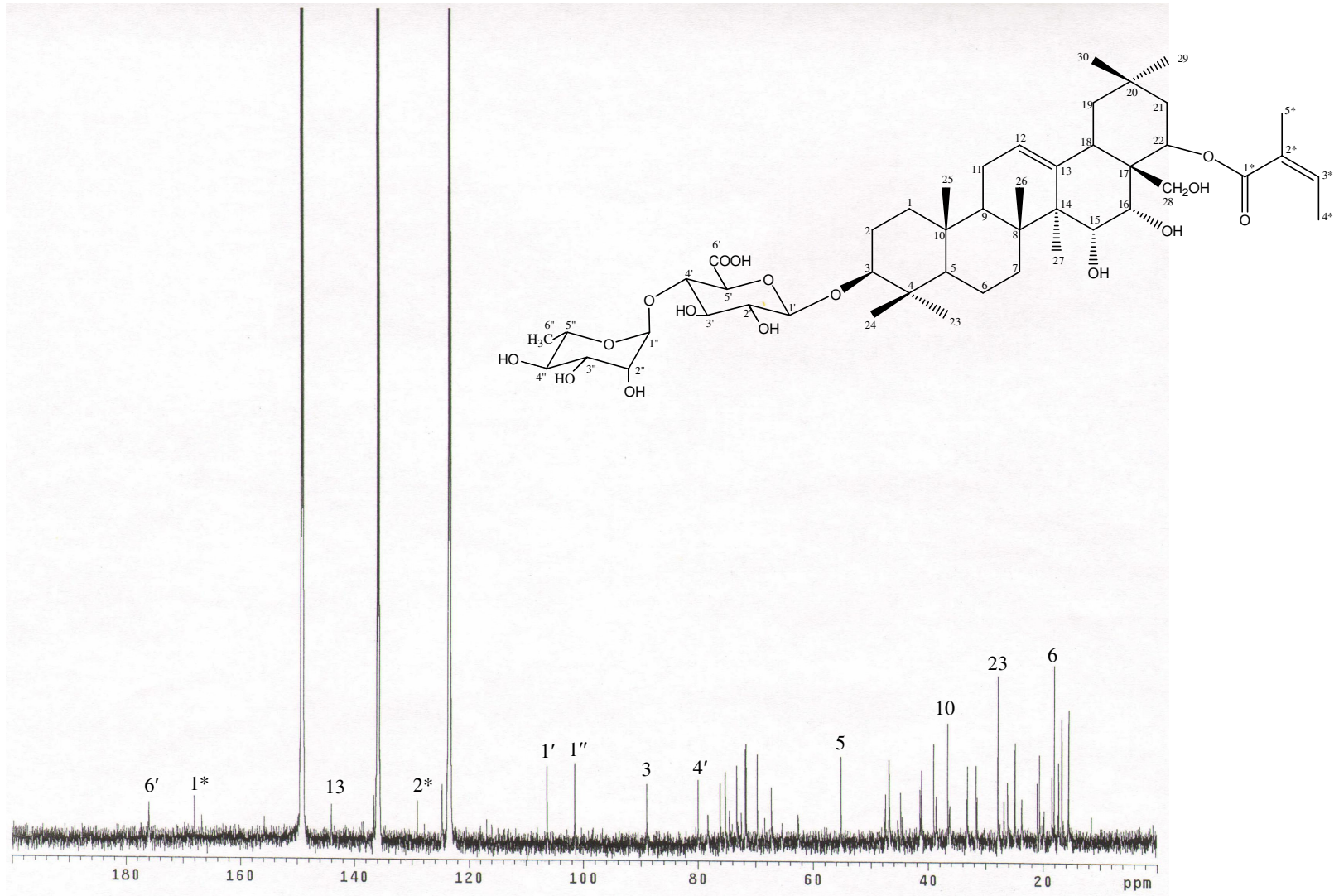
Bileşiğin ¹H NMR spektrumunda (Spektrum 3.1, Çizelge 3.1); δ_H 0,73 (3H, s, H-25), 0,88 (3H, s, H-24), 0,97 (3H, s, H-29), 0,98 (3H, s, H-26), 1,14 (3H, s, H-23), 1,20 (3H, s, H-30), 1,78 (3H, s, H-27)'da yedi metil; δ_H 3,50 ve 3,69 (2H, H-28)'de bir oksimetilen; δ_H 3,19 (1H, H-3), 4,19 (1H, H-15), 4,46 (1H, H-16), 6,00 (C-22)'da dört oksimetin grubu sinyalleri gözlenmiştir. Bu sinyaller bileşiğin A1-barrigenol triterpen iskeletine sahip olduğunu düşündürmüştür.

HMBC spektrumunda δ_H 1,78 (H-27)'de gözlenen sinyal δ_C 67,2 ile korelasyon göstermiştir. δ_C 67,2 sinyali ile HSQC spektrumunda korelasyon gösteren proton δ_H 4,19 olarak tespit edilmiştir. COSY spektrumunda δ_H 4,19 (1H) ve 4,46 (1H) arasında gözlenen çapraz pik (Spektrum 3.4), C-15 ve C-16 konumlarındaki sekonder alkol gruplarının sinyalleri olarak belirlenmiştir.

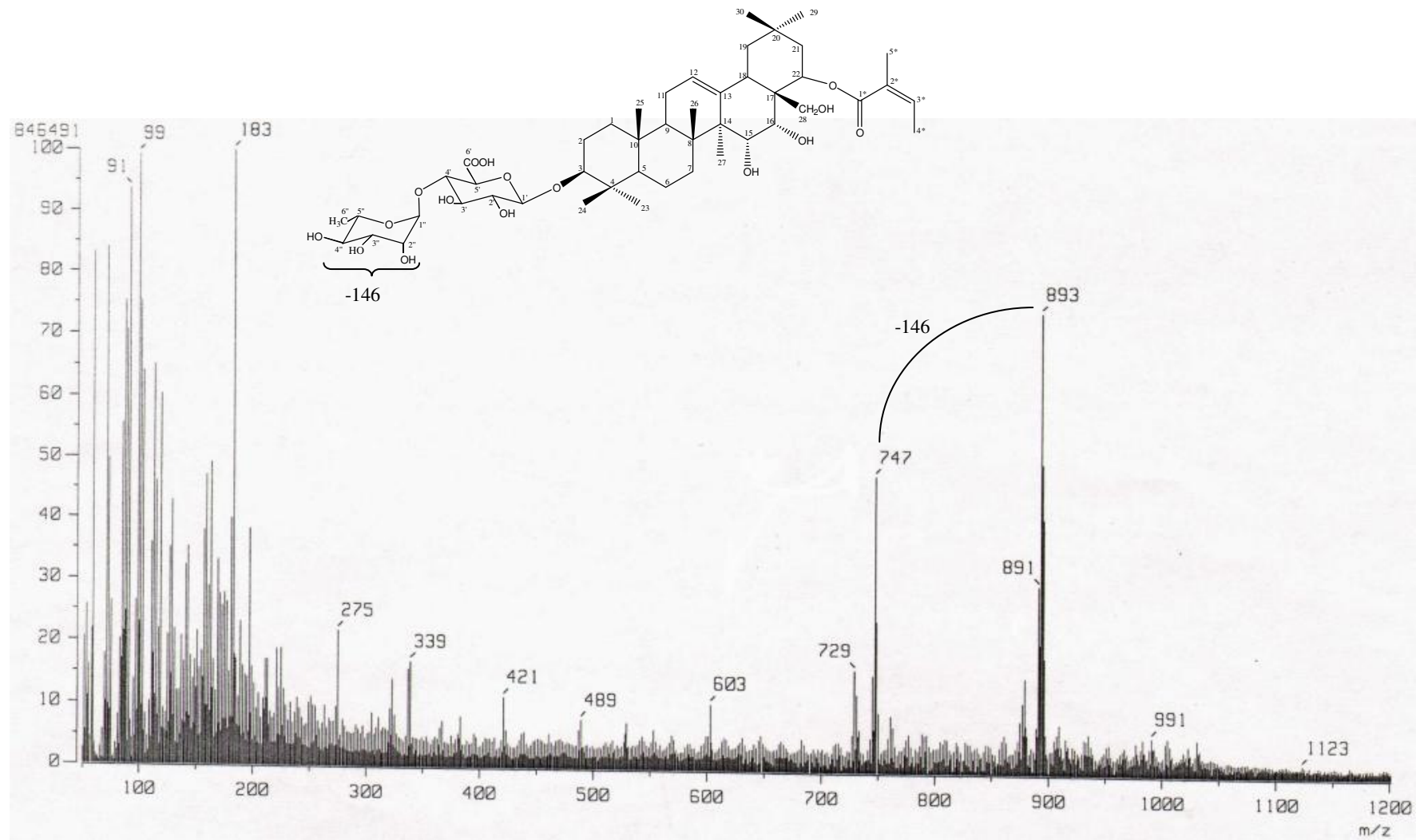
δ_H 0,97 (H-29)'de gözlenen proton sinyali, HMBC spektrumunda δ_C 24,8 (C-30), 31,6 (C-20), 41,1 (C-21), 41,4 (C-18) ve 46,8 (C-19) ile rezonans vermiştir. Aynı spektrumda δ_H 2,64 (H-21)'ün δ_C 71,4 ile korelasyon göstermiştir; HSQC spektrumunda δ_C 71,4 ile δ_H 6,00; δ_C 41,1 (C-21) ile δ_H 1,91 ve 2,64 ile korelasyon göstermiştir; COSY spektrumunda δ_H 6,00 ile δ_H 2,64 ile çapraz pik vermesi 22. konuma atfedilmesini sağlamıştır. 22. konumdaki sinyallerin düşük alanda gözlenmesi bir açılasyon olabileceğini gösterir (Kartal ve ark., 2005). δ_H 1,82 ve 1,96'da gözlenen iki olefinik proton sinyali, δ_H 5,81'de gözlenen bir diğer olefinik proton sinyali ve COSY spektrumunda δ_H 5,81 ile 1,96 arasında gözlenen çapraz pik anjelik asit varlığına işaret etmektedir (Kartal ve ark., 2005).



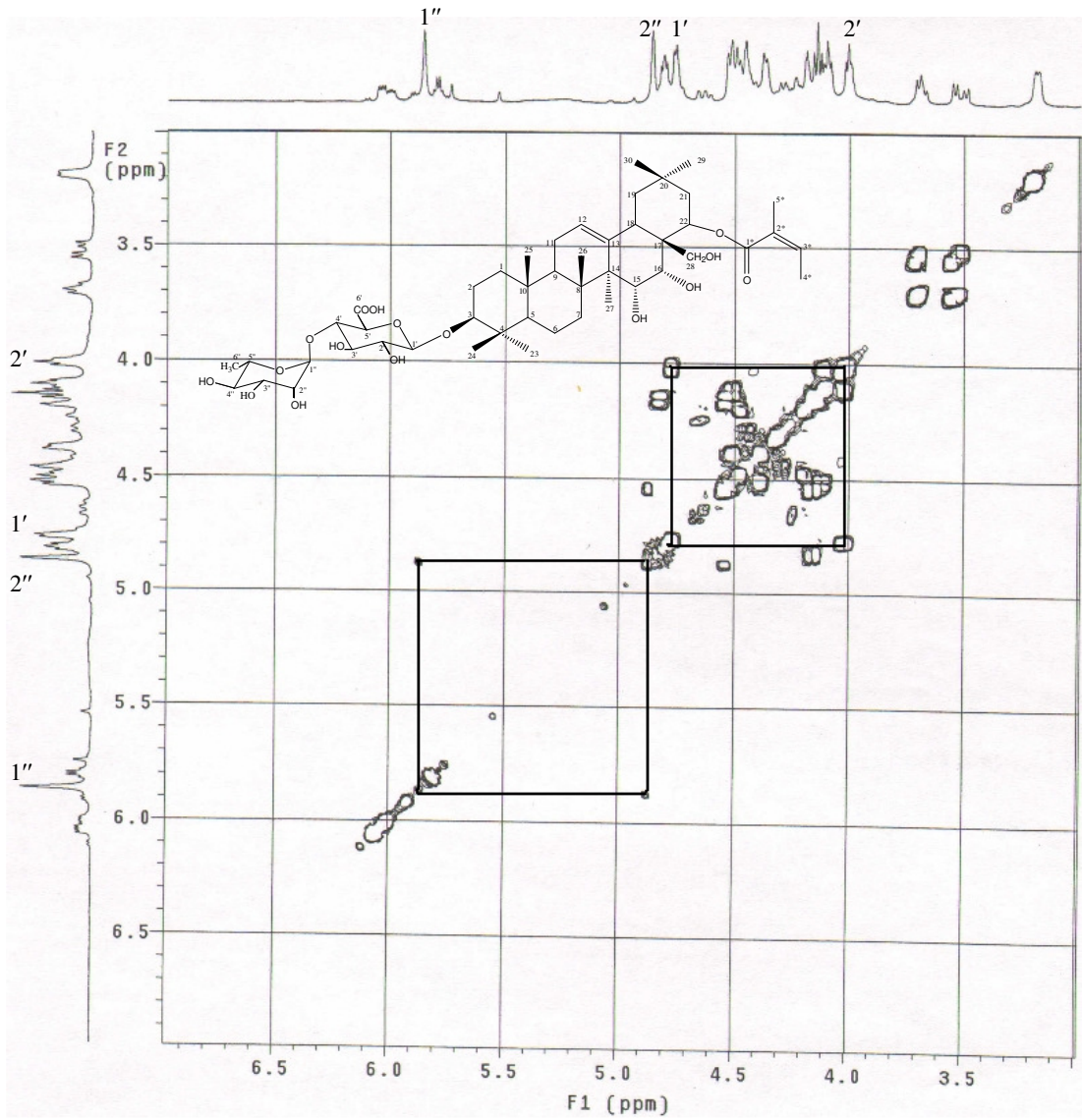
Spektrum 3.1. EK-1 bileşiminin ¹H-NMR spektrumu



Spektrum 3.2. EK-1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



Spektrum 3.3. EK-1 bileşiminin FAB-Kütle spektrumu

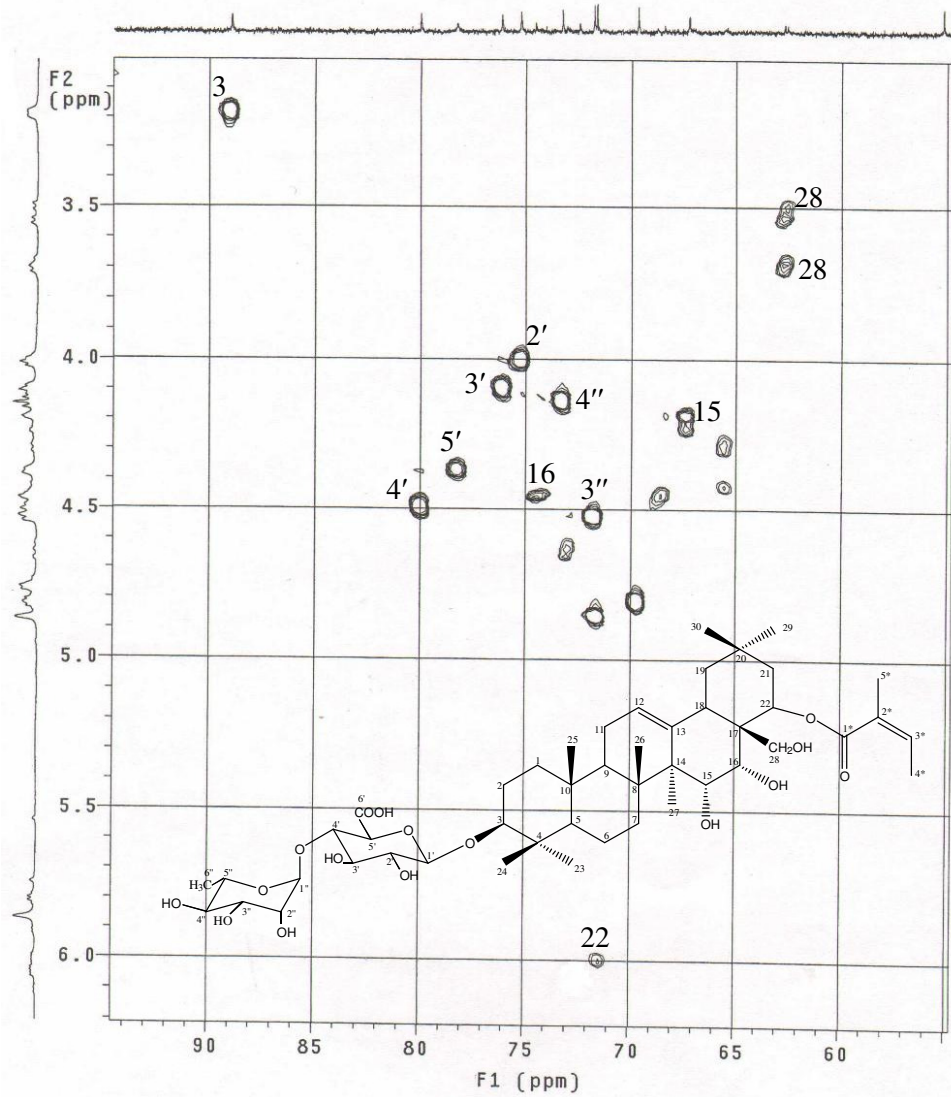


Spektrum 3.4. EK-1'in COSY spektrumu

HMBC spektrumunda δ_H 0,88 (H-24) ile δ_C 27,8 (C-23), 39,0 (C-4), 55,1 (C-5), 88,9 (C-3); δ_H 0,73 (H-25) ile δ_C 36,6 (C-10), 38,6 (C-1), 46,8 (C-9), 55,1 (C-5) arasında belirlenen korelasyonlar ile NOESY spektrumunda gözlenen δ_H 3,19 (H-3) ile 0,72 (H-5) ve 1,14 (H-23); δ_H 0,98 (H-26) ile 4,19 (H-15) çapraz pikler yardımıyla molekülün ana yapısının konfigürasyonu tam olarak belirlenmiş; aglikon A1-barrigenol olarak tespit edilmiştir.

Bileşiğin 1H NMR spektrumunda δ_H 4,77 (1H, d, $J=7,2$ Hz, H-1'), ve 5,87 (1H, geniş s, H-1'') anomerik proton sinyalleri ve bunlara karşılık HSQC spektrumunda belirlenen

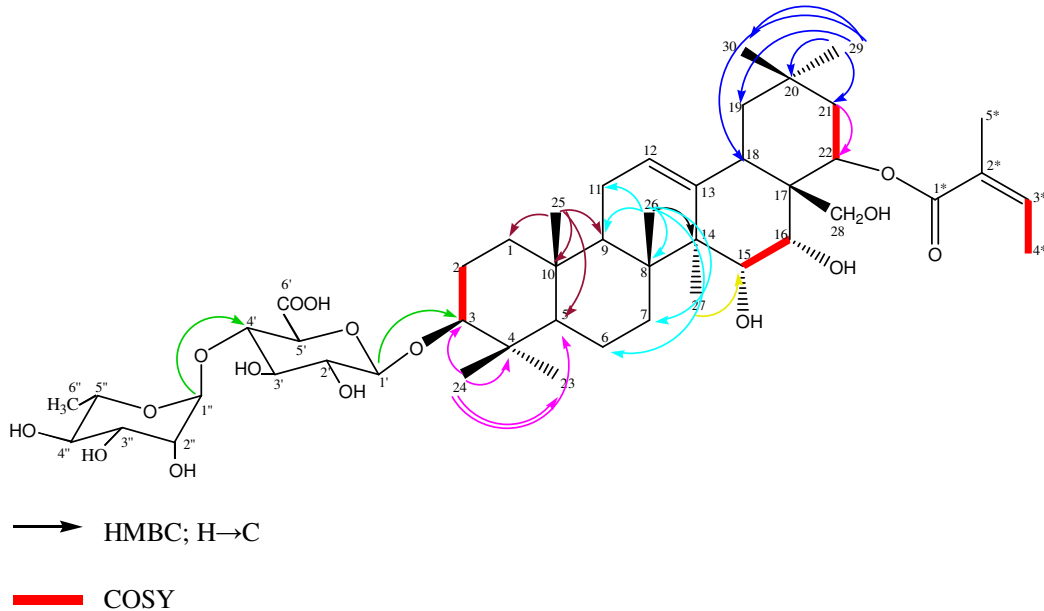
sırasıyla δ_C 106,3 (C-1'), ve 101,5 (C-1'') anomerik karbon sinyalleri, bileşiğin diglikozidik olduğunu göstermiştir. Şeker moleküllerinin diğer protonları; tespit edilen anomerik sinyallerden hareketle COSY, TOCSY, HSQC (Spektrum 3.5) ve HMBC spektrumlarından faydalanılarak tanımlanmıştır. Bu verilerin ışığında molekülün şeker olarak β -glukurunopiranoz ve α -ramnopyranoz taşıdığı belirlenmiştir. Glukuronik asitin anomerik protonunun yüksek bir etkileşme sabitine ($J = 7,2$) sahip olması β -anomerik olduğunu gösterir; ramnozun anomerik protonunun geniş singlet olması da α -konfigürasyonunda olduğuna işaret etmiştir (Kartal ve ark., 2005).



Spektrum 3.5. EK-1 bileşiğinin HSQC spektrumu

Glikozidik bağlanma noktaları ve şekerin aglikona bağlanma noktası HMBC ve NOESY spektrumları yardımıyla tespit edilmiştir. HMBC spektrumunda δ_H 4,77 (H-1') ve δ_C 88,9 (C-3) arasında gözlenen korelasyon ve NOESY spektrumunda δ_H 4,77 (H-1') ile δ_H 3,19 (H-3) arasında gözlenen çapraz pik aglikonun glikozidik bağlanma noktasını göstermiştir. Bu şekerin diğer proton sinyallerine bakıldığında düşük alanda sinyal gözlenmesi sebebiyle C-4' konumundan glikozidasyona uğradığı anlaşılmış, HMBC spektrumunda δ_H 5,87 (H-1'') ve δ_C 80,0 (C-4') arasında gözlenen korelasyonla da bu doğrulanmış; şekerlerin birbirleri ile bağlantısı (1→4) olarak saptanmıştır. Doğada görülme sıklıklarına bağlı olarak glukuronik asitin D, ramnozun L formunda olabileceği sonucuna varılmıştır.

EK-1 bileşiğinin 1H -NMR, ^{13}C -NMR, COSY, HSQC, HMBC, NOESY, TOCSY, DEPT ve FAB-Kütle spektrumundan elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin $C_{47}H_{74}O_{16}$ kapalı formülüne sahip olduğu (molekül ağırlığı = 894) tespit edilmiş; yapısı 3-*O*- α -L-ramnopiranozil-(1→4)- β -D-glukurunopiranozil-22-*O*-anjeloil-A1-barrigenol olarak aydınlatılmıştır.

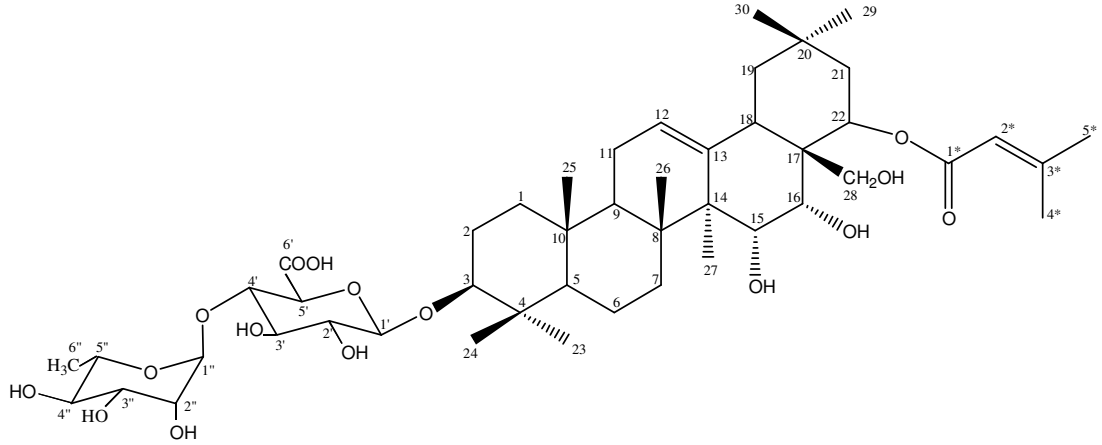


Şekil 3.3. EK-1 bileşiğinin HMBC ve COSY korelasyonları

Çizelge 3.1. EK-1 bileşiğinin ^{13}C (150 MHz), ^1H (600 MHz) NMR ve DEPT spektroskopik değerleri (piridin- d_5).

EK-1							
Aglikon				Şeker/Açıl Grubu			
C/H	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm, J (Hz)	C/H	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm, J (Hz)
1	CH ₂	38,6	0,69 1,28	Glukuronik asit			
2	CH ₂	26,1	1,69 2,07	1'	CH	106,3	4,77 d, (7,2)
3	CH	88,9	3,19 geniş d	2'	CH	75,2	4,02
4	C	39,0	--	3'	CH	76,1	4,11
5	CH	55,1	0,72	4'	CH	80,0	4,51
6	CH ₂	17,2	0,98 1,05	5'	CH	78,3	4,38
7	CH ₂	36,2	1,89 1,99	6'	C	175,9	--
8	C	41,1	--	Ramnoz			
9	CH	46,8	1,60	1''	CH	101,5	5,87 geniş s
10	C	36,6	--	2''	CH	71,6	4,87
11	CH ₂	23,7	1,75 1,82	3''	CH	71,7	4,54
12	CH	124,7	5,54 geniş s	4''	CH	73,2	4,15
13	C	143,9	--	5''	CH	69,7	4,89
14	C	47,4	--	6''	CH ₃	18,0	1,51
15	CH	67,2	4,19	Anjelik asit (C₂₂)			
16	CH	74,1	4,46	1*	C	167,9	--
17	C	44,8	--	2*	C	129,0	--
18	CH	41,4	2,95	3*	CH	136,5	5,81, d, (7,0)
19	CH ₂	46,8	1,26 2,77	4*	CH ₃	15,5	1,96
20	C	31,6	--	5*	CH ₃	20,6	1,82
21	CH ₂	41,1	1,91 2,64				
22	CH	71,4	6,00 m				
23	CH ₃	27,8	1,14				
24	CH ₃	16,7	0,88				
25	CH ₃	15,4	0,73				
26	CH ₃	17,2	0,98				
27	CH ₃	21,0	1,78				
28	CH ₂	62,5	3,50 3,69 d, (11,7)				
29	CH ₃	33,1	0,97				
30	CH ₃	24,8	1,20				

3.1.2. BİLEŞİK EK-2



$C_{47}H_{74}O_{16}$ (Molekül Ağırlığı = 894)

Negatif İyon FAB-Kütle spektroskopisi m/z : 893 $[M-H]^-$

1H -NMR (Piridin- d_5 , 600 MHz) : Çizelge 3.2, Spektrum 3.6

^{13}C -NMR (Piridin- d_5 , 150 MHz) : Çizelge 3.2

Bileşik renksiz, amorf, toz halde elde edilmiştir (16,2 mg). Bileşiğin İTK analizinde günışığında renksiz; Komarowsky reaktifi püskürtülüp ısıtıldıktan sonra soluk mor renk vermesi saponin olabileceğini düşündürmüştür.

Bileşiğin FAB-Kütle spektroskopisi ile elde edilen spektrumda (negatif iyon modu) gözlenen moleküler iyon piki m/z 893 $[M-H]^-$, molekül ağırlığının 894 olduğunu göstermektedir. Molekülde gözlenen diğer fragmanlardan m/z 747 $[(M-H)-146]^-$ fragmanı, dezoksiheksoz grubu taşıdığını düşündürmüştür (Kartal ve ark., 2005).

Bileşiğin 1H -NMR spektrumunda (Çizelge 3.2 ; Spektrum 3.6); δ_H 0,73 (3H, s, H-25), 0,88 (3H, s, H-24), 0,97 (3H, s, H-29), 0,98 (3H, s, H-26), 1,14 (3H, s, H-23),

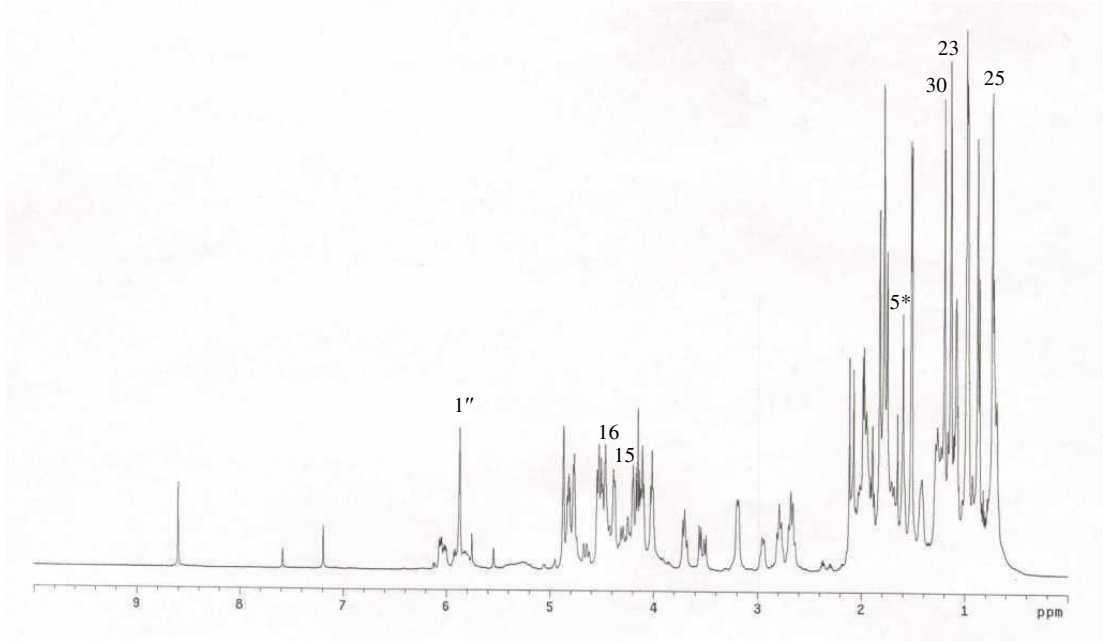
1,20 (3H, s, H-30), 1,75 (3H, s, H-27)'da yedi metil; δ_H 3,50 ve 3,69 (2H, H-28)'de bir oksimetilen; δ_H 3,19 (1H, H-3), 4,20 (1H, H-15), 4,46 (1H, H-16), 6,05 (C-22)'te dört oksimetin grubu sinyalleri gözlenmiştir.

HMBC spektrumunda δ_H 1,75 (H-27)'de gözlenen sinyal δ_C 67,2 ile korelasyon göstermiştir. δ_C 67,2 sinyali ile HSQC spektrumunda korelasyon gösteren proton δ_H 4,20 olarak tespit edilmiştir. COSY spektrumunda δ_H 4,20 (1H) ve 4,46 (1H) arasında gözlenen çapraz pik, bu protonların sırasıyla H-15 ve H-16 konumlarındaki sekonder alkol gruplarının sinyalleri olarak belirlenmiştir. δ_H 4,46 (H-16), HSQC'de δ_C 74,5 ile korelasyon göstermiştir. Hidroksil taşıyan karbonlar genelde 60-80 ppm arasında rezonans verirler (Agrawal ve Jain, 1992); bu bilgi 15 ve 16 konumlarda tayin edilen sinyalleri doğrulamaktadır.

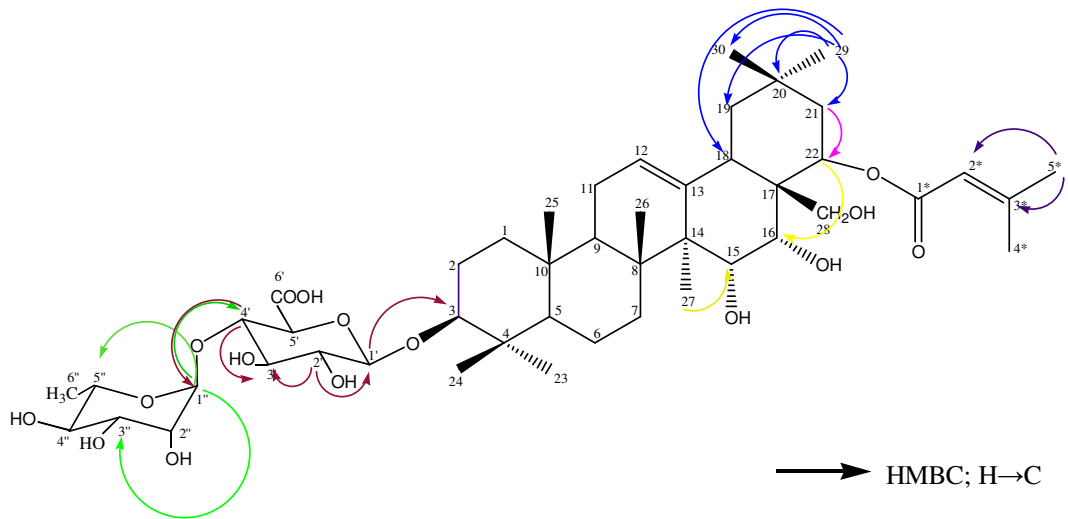
δ_H 0,97 (H-29)'de gözlenen proton sinyali, HMBC spektrumunda δ_C 24,8 (C-30), 31,6 (C-20), 41,1 (C-21), 41,4 (C-18) ve 46,8 (C-19) ile rezonans vermiştir. Aynı spektrumda δ_H 2,64 (H-21) 'ün δ_C 72,4 ile korelasyon göstermesi, bu karbon sinyalinin C-22 konumuna ait olduğunu göstermiştir. HSQC ile H-22 δ_H 6,05 olarak belirlenmiş; bu sinyalin de HMBC spektrumunda δ_C 74,5 (C-16) ile korelasyon göstermesi konumunu doğrulamıştır. H-22 protonu düşük alanda rezonans vermiştir; bu da C-22 konumunda bir açılasyon olabileceğini düşündürmüştür. ^{13}C -NMR spektrumunda gözlenen δ_C 167,9 sinyali karbonil grubu varlığını teyit etmekte; beraberinde görülen δ_C 117,0 ve 155,7 sinyalleri ve HMBC spektrumunda bu karbon sinyalleriyle korelasyon gösteren iki olefinik metil sinyali δ_H 1,60 ve 2,11 yapıda β , β -dimetil akrilik asit bulunduğunu göstermektedir (Kartal ve ark., 2005). Bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları incelendiğinde gözlenen yedi metil sinyali; δ_C 124,7 ve 143,9'da gözlenen tipik karbon sinyalleri ile δ_H 5,54'te gözlenen olefinik proton sinyali molekülün olean-12-en triterpen tipinde olduğunu göstermiştir (Gowri ve ark., 2009).

HMBC spektrumunda δ_H 0,88 (H-24) ile δ_C 27,8 (C-23), 39,0 (C-4), 55,1 (C-5), 88,9 (C-3); δ_H 0,73 (H-25) ile δ_C 36,6 (C-10), 38,6 (C-1), 46,8 (C-9), 55,1 (C-5) arasında belirlenen korelasyonlar ile NOESY spektrumunda gözlenen δ_H 3,19 (H-3)

ile 0,72 (H-5) ve 1,14 (H-23); δ_H 0,98 (H-26) ile 4,20 (H-15) çapraz pikler yardımıyla molekülün ana yapısının konfigürasyonu tam olarak belirlenmiş; aglikon A1-barrigenol olarak tespit edilmiştir.



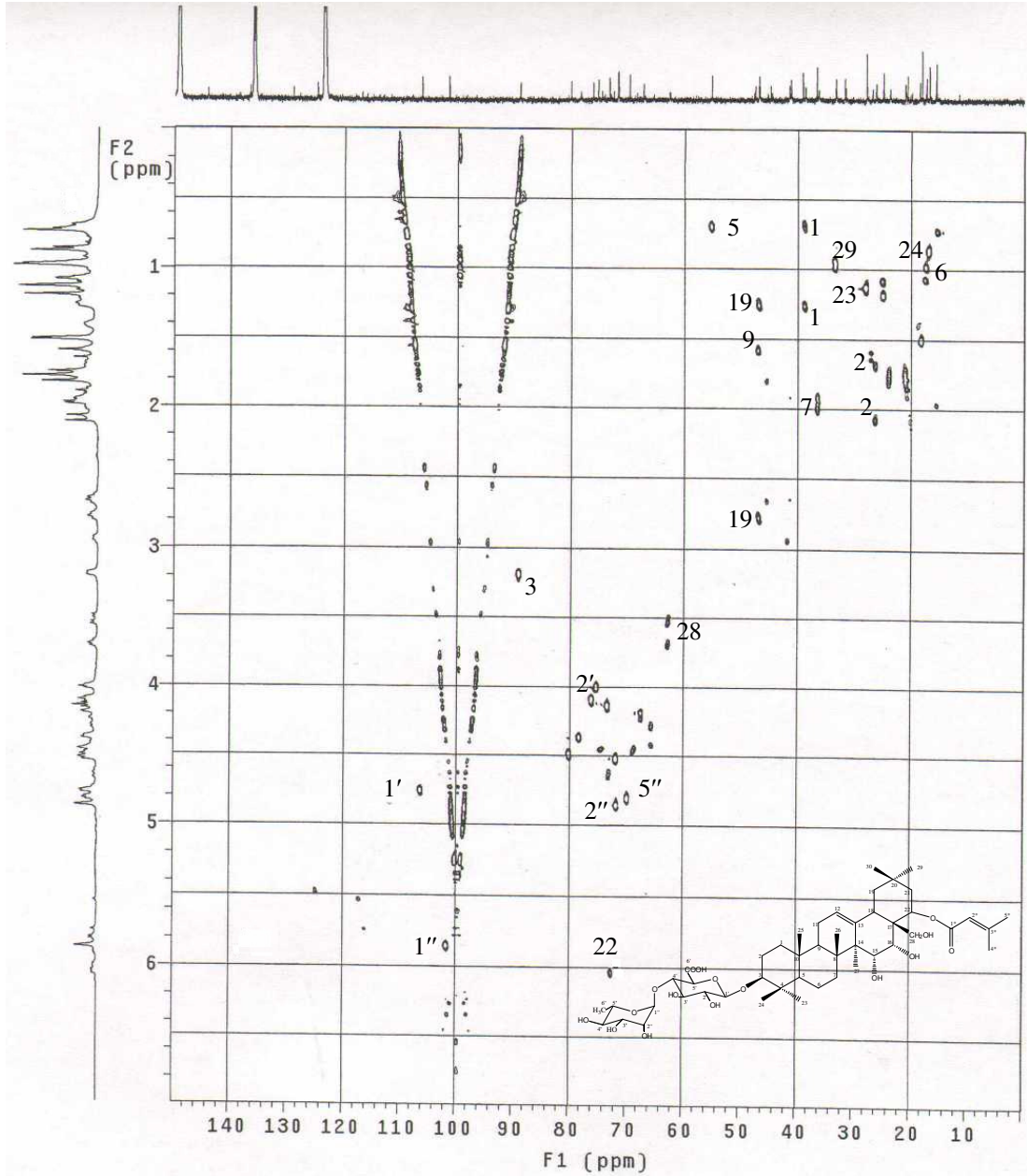
Spektrum 3.6. EK-2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.4. EK-2 bileşiğinin HMBC korelasyonları

Çizelge 3.2. EK-2 bileşiğinin ^{13}C (150 MHz), ^1H (600 MHz) NMR ve DEPT spektroskopik değerleri (piridin- d_5).

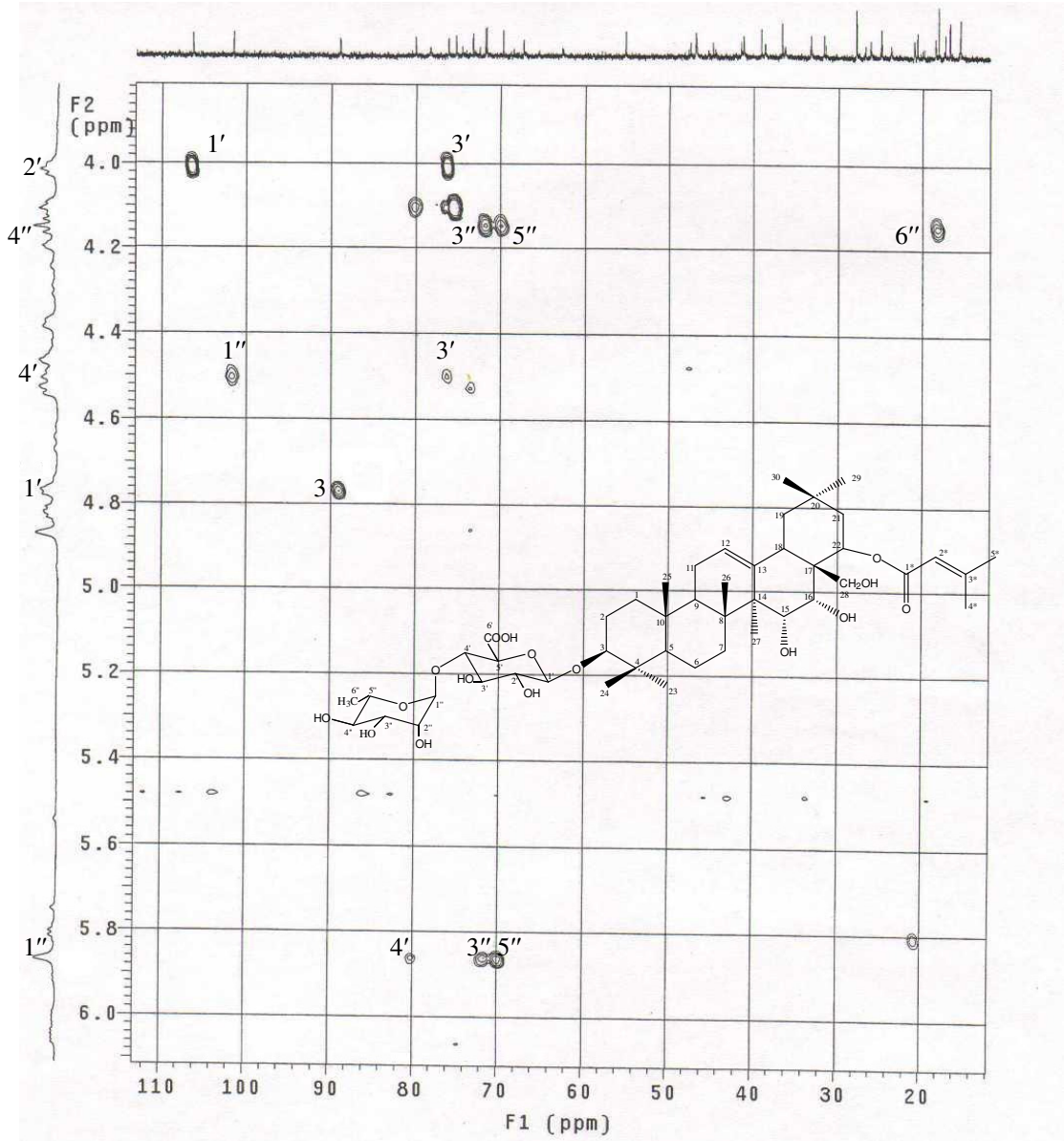
EK-2							
Aglikon				Şeker/Açıl Grubu			
C/H	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm, J (Hz)	C/H	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm J (Hz)
1	CH ₂	38,6	0,69 1,28	Glukuronik asit			
2	CH ₂	26,1	1,69 2,07		1'	CH	106,3 4,77 d, (7,2)
3	CH	88,9	3,19	2'	CH	75,2	4,02
4	C	39,0	--	3'	CH	76,1	4,11
5	CH	55,1	0,72	4'	CH	80,0	4,51
6	CH ₂	17,2	0,98 1,05	5'	CH	78,3	4,38
7	CH ₂	36,2	1,89 1,99	6'	C	175,9	--
8	C	41,1	--	Ramnoz			
9	CH	46,8	1,60		1''	CH	101,5 5,87 geniş s
10	C	36,6	--	2''	CH	71,6	4,87
11	CH ₂	23,7	1,75 1,82	3''	CH	71,7	4,54
12	CH	124,7	5,54,	4''	CH	73,2	4,15
13	C	143,9	--	5''	CH	69,7	4,89
14	C	47,4	--	6''	CH ₃	18,0	1,51
15	CH	67,2	4,20	β,β-dimetilakrilik asit (C ₂₂)			
16	C	74,5	4,46				
17	C	44,8	--	1*	C	167,9	--
18	CH	41,4	2,95	2*	CH	117,0	5,54
19	CH ₂	46,8	1,26 2,77	3*	C	155,7	--
20	C	31,6	--	4*	CH ₃	20,6	1,89
21	CH ₂	41,1	1,91 2,64	5*	CH ₃	26,7	1,60
22	CH	72,4	6,05 m				
23	CH ₃	27,8	1,14				
24	CH ₃	16,7	0,88				
25	CH ₃	15,4	0,73				
26	CH ₃	17,2	0,98				
27	CH ₃	20,9	1,75				
28	CH ₂	62,6	3,55 3,70				
29	CH ₃	33,1	0,97				
30	CH ₃	24,8	1,20				



Spektrum 3.7. EK-2 bileşiğinin HSQC spektrumu

EK-2 bileşiğinin anomerik sinyalleri EK-1 ile karşılaştırıldığında aynı şeker gruplarını taşıdıkları saptanmıştır. Bileşiğin ^1H -NMR spektrumunda δ_{H} 4,77 (1H, d, $J=7,2$ Hz) ve 5,87 (1H, geniş s, H-1'') anomerik proton sinyalleri ve bunlara karşılık HSQC spektrumunda belirlenen sırasıyla δ_{C} 106,3 (C-1'), ve 101,5 (C-1'') anomerik karbon sinyalleri, bileşiğin diglikozidik olduğunu göstermiştir. Şeker moleküllerinin diğer protonları; tespit edilen anomerik sinyallerden hareketle COSY, TOCSY, HSQC ve HMBC spektrumlarından faydalanılarak tanımlanmıştır ve EK-1 ile aynı sıralanışta olduğu saptanmıştır. HMBC spektrumunda δ_{H} 4,77 (H-1') ve δ_{C}

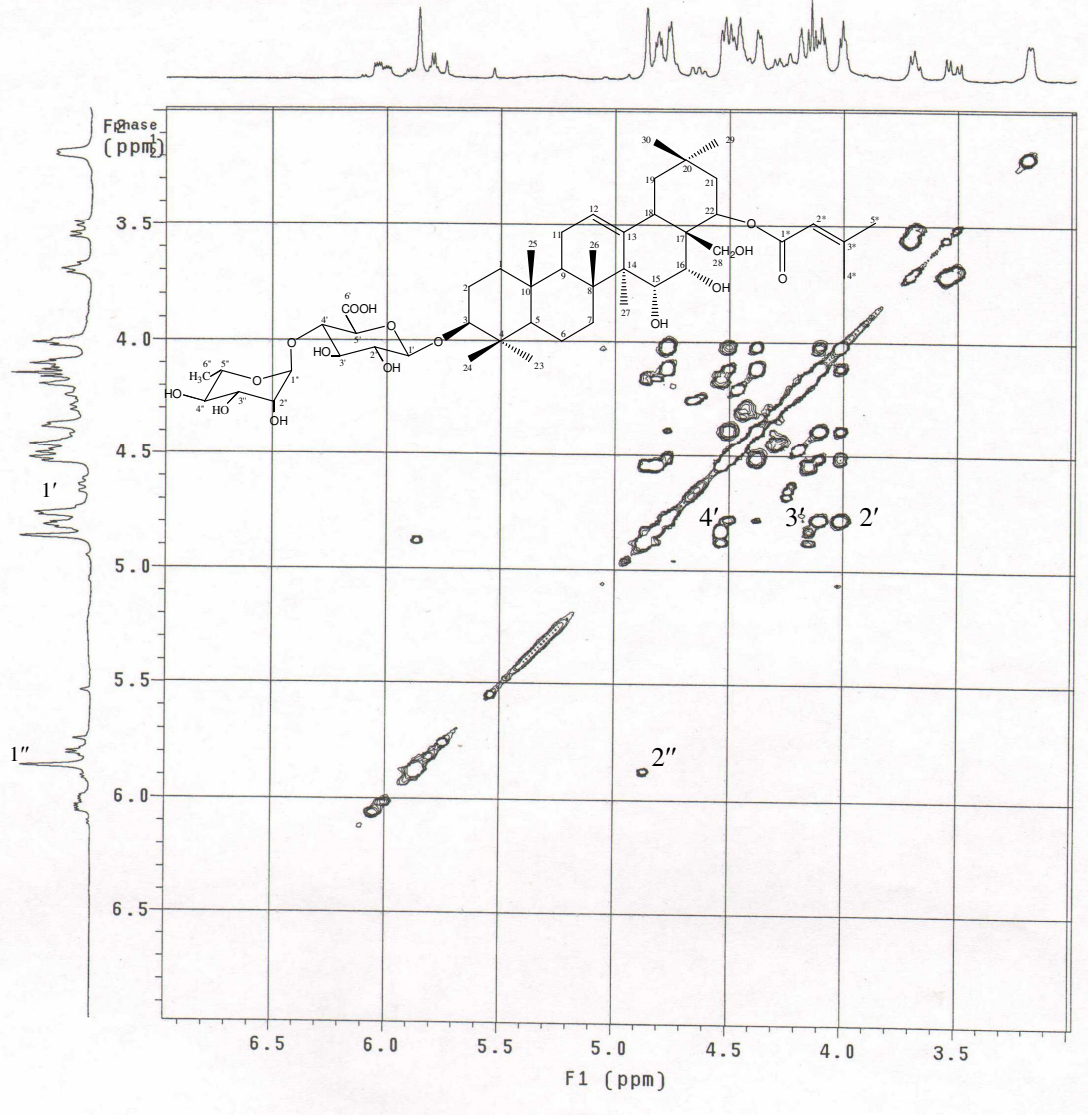
88,9 (C-3) ile δ_H 5,87 (H-1'') ve δ_C 80,0 (C-4') arasında gözlenen korelasyon glikozidik bağlanma noktalarını açıklamıştır (Spektrum 3.8). Bu verilerin ışığında ve EK-1 verileri ile de karşılaştırma yapılarak, şeker molekülleri β -D-glukuronik asit ve α -L-ramnoz olarak belirlenmiştir.



Spektrum 3.8. EK-2 bileşiğinin HMBC spektrumu

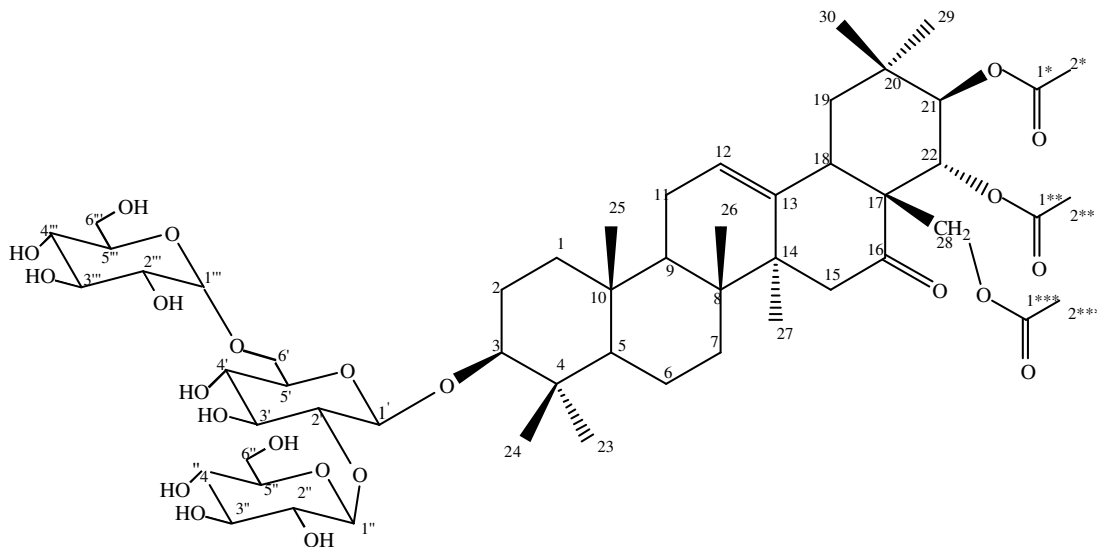
EK-2 bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR, COSY, HSQC, HMBC, NOESY, TOCSY, DEPT ve FAB-Kütle spektrumundan elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin $\text{C}_{47}\text{H}_{74}\text{O}_{16}$ kapalı formülüne sahip olduğu (molekül

ağırlığı = 894) tespit edilmiş; yapısı 3-*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glukurunopiranozil-22-*O*- β , β -dimetilakriloil-A1-barrigenol olarak aydınlatılmıştır.



Spektrum 3.9. EK-2 bileşiğinin TOCSY spektrumu

3.1.3. BİLEŞİK EK-3



$C_{54}H_{84}O_{23}$ (Molekül Ağırlığı = 1100)

Negatif İyon FAB-Kütle spektroskopisi m/z : 1099 $[M-H]^-$

1H -NMR (Piridin- d_5 , 600 MHz) : Çizelge 3.3; Spektrum 3.10

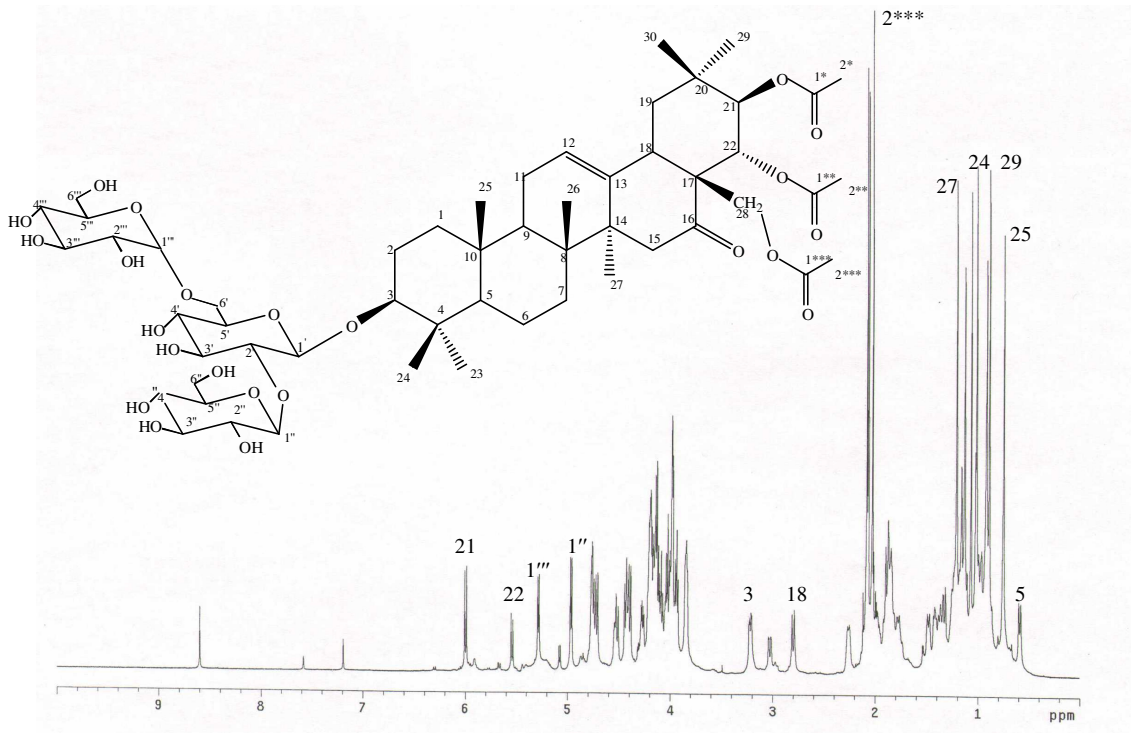
^{13}C -NMR (Piridin- d_5 , 150 MHz) : Çizelge 3.3

Bileşik renksiz, amorf, toz halde elde edilmiştir (11,4 mg). Bileşiğin İTK analizinde günışığında renksiz; Komarowsky reaktifi püskürtülüp ısıtıldıktan sonra fuşya-pembe renk vermesi saponin olabileceğini düşündürmüştür.

Bileşiğin FAB-Kütle spektroskopisi ile elde edilen spektrumda (negatif iyon modu) gözlenen moleküler iyon piki m/z 1099 $[M-H]^-$, molekül ağırlığının 1100 olduğunu göstermektedir. Molekülde gözlenen diğer fragmanlardan m/z 1057 $[(M-H)-42]^-$ Fragmanı asetil grubu taşıdığını düşündürmüştür. m/z 937 $[(M-H)-162]^-$ Fragmanı terminal bir heksoz taşıyabileceğini göstermiştir. m/z 895 $[(M-H)-204]^-$ Fragmanı

molekülden bir asetil ve bir heksoz iyonlarının ayrılmasıyla meydana gelmiş olabilir. Fragmanlar göz önüne alındığında bileşiğin iki adet terminal heksoz içerebileceği düşünülmüştür.

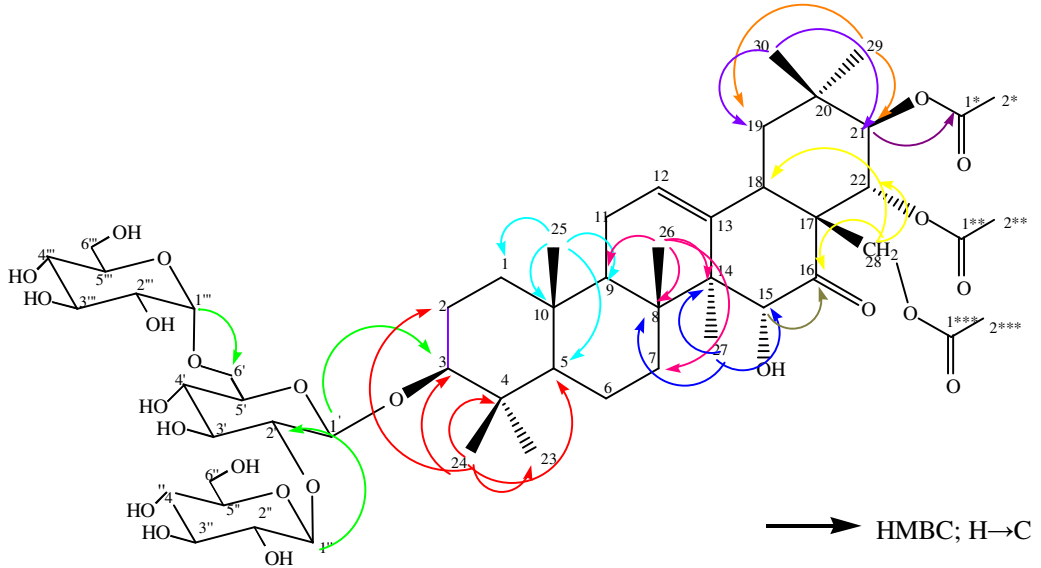
Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Spektrum 3.10, Çizelge 3.3); δ_{H} 0,75 (3H, s, H-25), 0,89 (3H, s, H-29), 0,91 (3H, s, H-26), 1,02 (3H, s, H-24), 1,07 (3H, s, H-30), 1,13 (3H, s, H-23), 1,21 (3H, s, H-27)'da yedi metil; δ_{H} 4,51 ve 4,74 (2H, H-28)'de bir oksimetilen; δ_{H} 3,21 (1H, dd, $J=11,4$; 4,2 Hz, H-3), 5,53 (1H, d, $J=10,48$ H-22), 5,99 (1H, d, $J=10,48$, H-21)'da üç oksimetin ve δ_{H} 5,42 (1H, H-12) bir etilen grubu sinyalleri gözlenmiştir. Bu sinyaller bileşiğin oleanan yapısında olabileceğini düşündürmüştür.



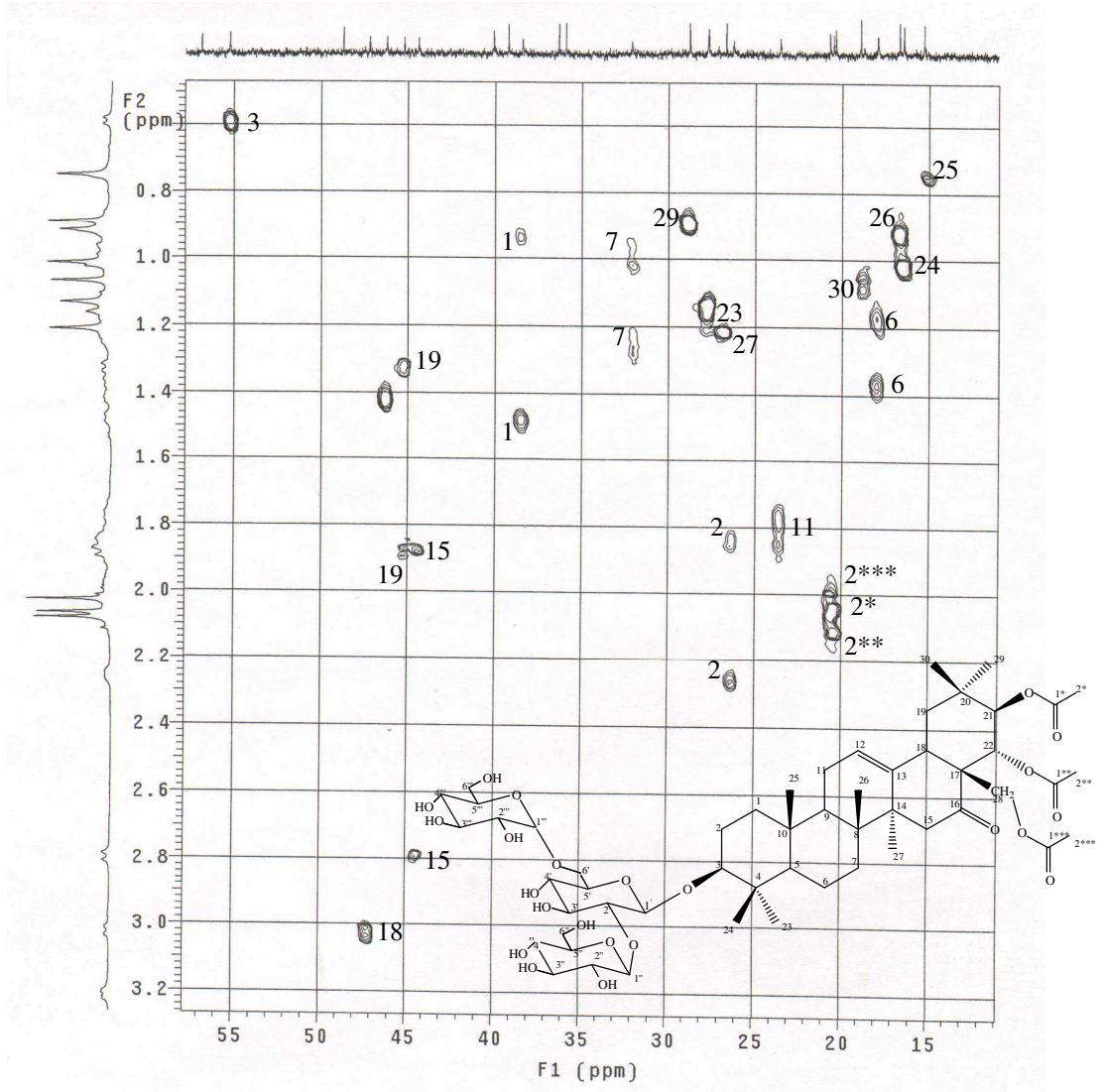
Spektrum 3.10. EK-3 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

HMBC spektrumunda δ_{H} 0,89 (H-29) ve 1,07 (H-30) protonları δ_{C} 45,2 ve 75,8 ile korelasyon göstermiştir. δ_{C} 75,8 karbon sinyaline ait proton sinyali HSQC spektrumundan δ_{H} 5,99 (1H) olarak tespit edilmiştir. COSY spektrumunda δ_{H} 5,99 (1H) ve 5,53 (1H) arasında gözlenen çapraz pik, bu iki sinyalin C-21 ve C-22

konumlarında; δ_C 45,2 sinyalinin de C-19 konumunda bulunduğunu göstermiştir. Ayrıca C-21 ve C-22 konumlarındaki protonların düşük alanda sinyal vermesi; açillenmiş olabileceklerini düşündürmüştür. δ_H 4,51 gözlenen metilenik sinyalin HMBC spektrumunda δ_C 73,1 (C-22) ve 209,2 ile; diğer metilenik sinyal olan δ_H 4,74'ün de δ_C 73,1 (C-22), 47,2 (C-18) ile korelasyon vermesi ve bu sinyallerin 28. konuma ait olduğunu göstermiştir. Ayrıca sinyallerin yine düşük alanda gözlenmesi, bu konumdan bir açilasyon olabileceğini düşündürmüştür. Triterpenik yapı ve ozlara ait sinyaller dışında kalan proton ve karbon rezonansları, yapıda üç adet asetil grubu olabileceğini göstermiştir. ^{13}C -NMR spektrumunda δ_C 170,6'da iki sinyal, 171,2 ve 209,2'de gözlenen sinyaller dört adet karbonil grubuna işaret etmektedir. δ_C 209,2 sinyali HMBC spektrumunda δ_H 1,88 (H-15), 2,79 (H-15) ve 4,51 (H-28) ile korelasyon göstermiştir. Bu yüzden 209,2'da görülen karbon sinyali C-16 konumuna atfedilmiştir. HMBC spektrumunda δ_H 2,03 (3H, s) ile δ_C 170,6; δ_H 2,07 (3H, s) ile δ_C 170,6 ve δ_H 2,08 (3H, s) ve δ_C 171,2 arasında görülen korelasyonlar üç tane asetil grubunun varlığını göstermektedir. δ_H 5,99 (H-21) ile δ_C 170,6 arasında HMBC spektrumunda gözlenen korelasyon asetil gruplarından birinin C-21 konumuna bağlı olduğunu göstermiştir. Diğer iki asetil grubunun da yukarda düşük alanda sinyal verdiği belirtilmiş olan, C-22 ve C-28 konumlarından aglikona bağlı olduğu saptanmıştır (Spektrum 3.12).

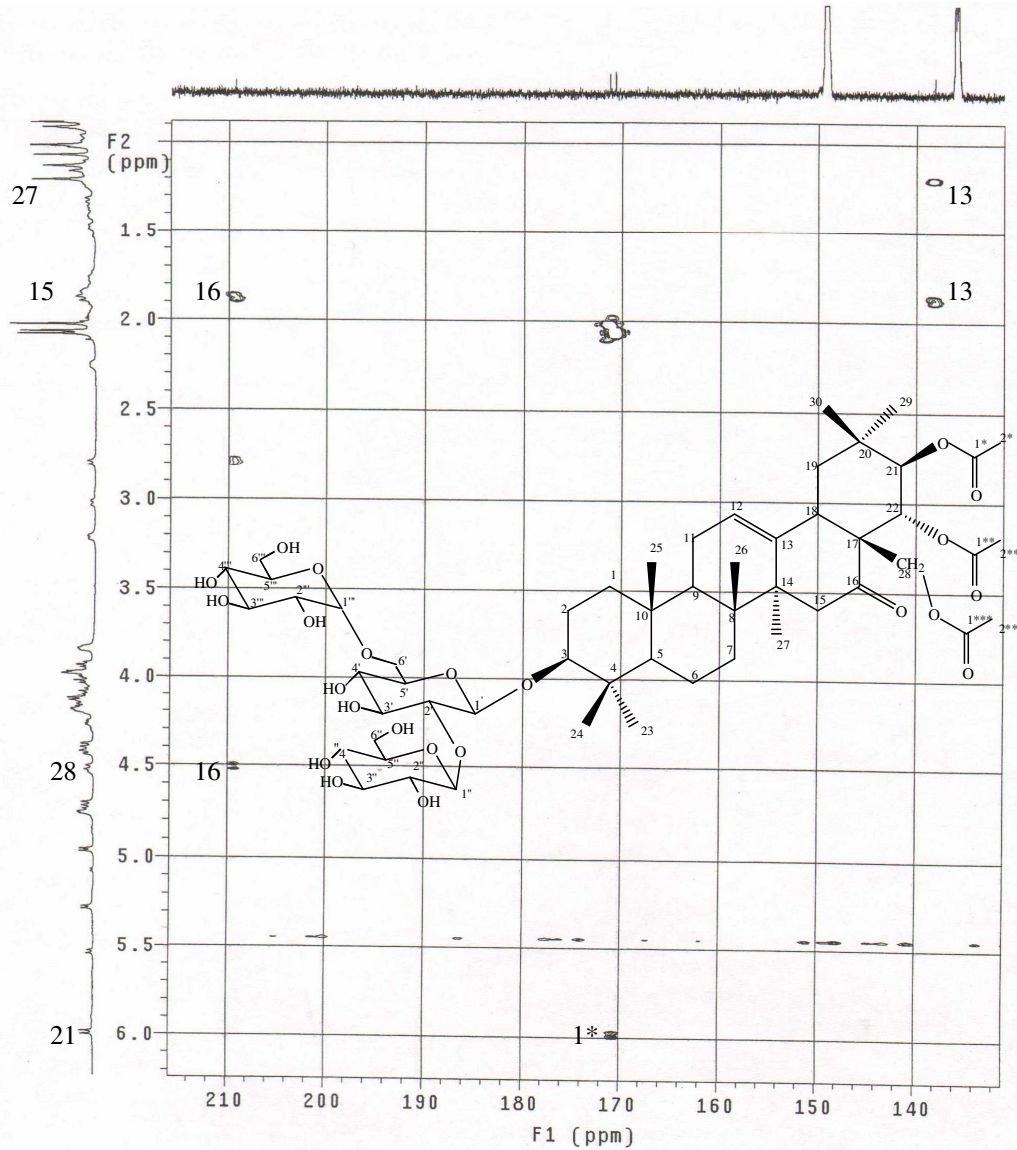


Şekil 3.5. EK-3 bileşiğinin HMBC korelasyonları



Spektrum 3.11. EK-3 bileşiğinin HSQC spektrumu

HMBC spektrumunda δ_H 1,02 (H-24) ile δ_C 26,2 (C-2), 27,7 (C-23), 39,2 (C-4), 55,2 (C-5), 89,1 (C-3); δ_H 0,75 (H-25) ile δ_C 36,3 (C-10), 38,4 (C-1), 46,2 (C-9), 55,2 (C-5); δ_H 0,91 (H-26) ile δ_C 32,1 (C-7), 40,0 (C-8), 46,2 (C-9), 48,7 (C-14) ve δ_H 1,21 (H-27) ile δ_C 40,0 (C-8), 44,4 (C-15), 48,7 (C-14) arasında belirlenen korelasyonlar ile molekülün ana yapısının konfigürasyonu tam olarak belirlenmiştir.

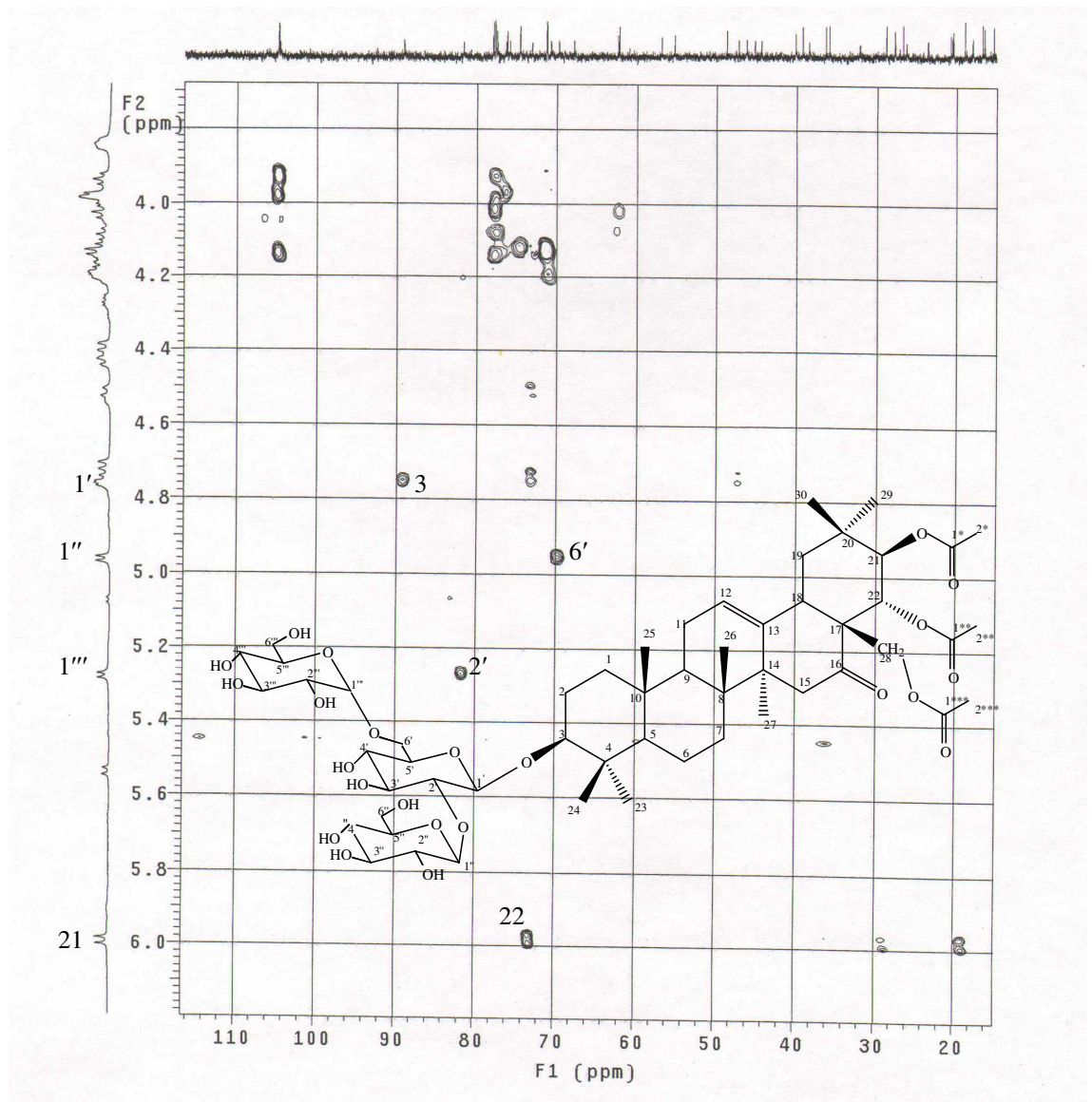


Spektrum 3.12. EK-3 bileşiğinin HMBC spektrumu

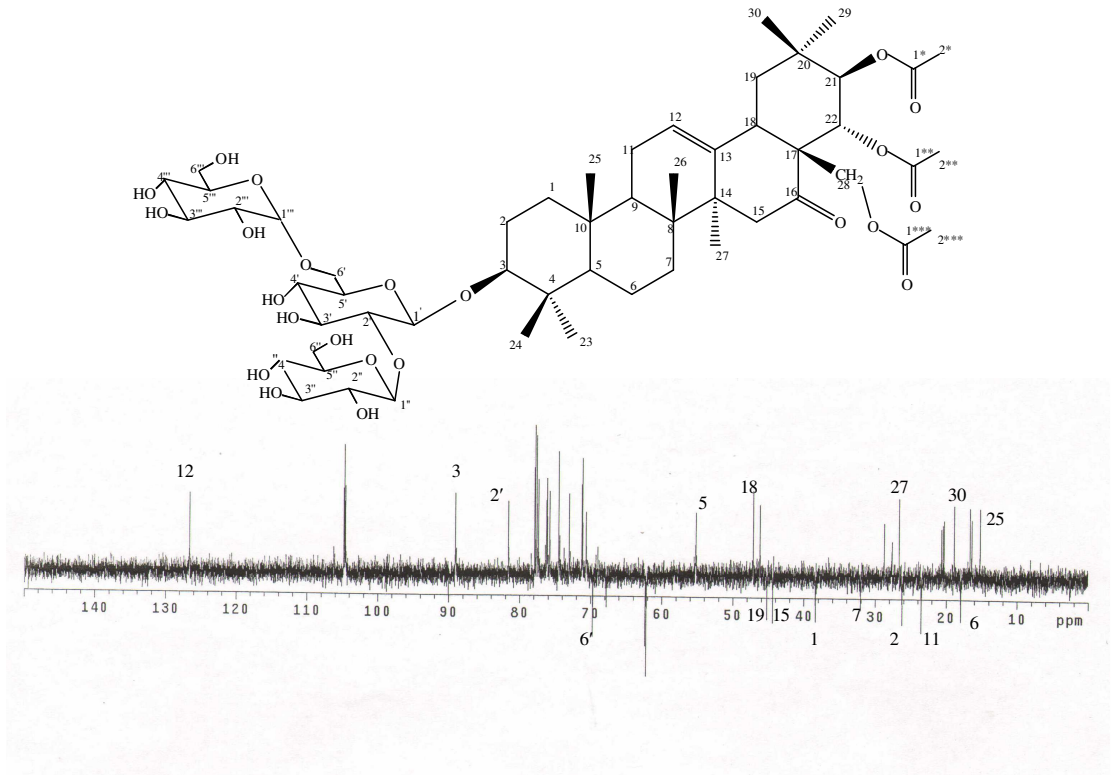
Bileşiğin ^1H -NMR spektrumunda δ_{H} 4,76 (H-1'), 4,96 (1H, d, $J= 7,86$ Hz, H-1''') ve 5,28 (1H, d, $J= 7,62$ Hz, H-1'') anomerik proton sinyalleri ve bunlara karşılık HSQC spektrumunda belirlenen sırasıyla δ_{C} 104,6 (C-1'), 104,7 (C-1''') ve 104,8 (C-1'') anomerik karbon sinyalleri, bileşiğin triglikozidik olduğunu göstermişlerdir. HMBC spektrumunda δ_{H} 4,76 (H-1') ve δ_{C} 89,1 (C-3) arasında gözlenen korelasyon ve NOESY spektrumunda δ_{H} 4,76 (H-1') ile δ_{H} 3,21 (H-3) arasında bulunan çapraz pik aglikonun glikozidik bağlanma noktasını göstermiştir. Bu şekerin karbon rezonansları incelendiğinde δ_{C} 81,6 (C-2') ve 69,7 (C-6') konumlarındaki hidroksil gruplarının glikozidasyona uğradığı belirlenmiştir. Diğer iki uzun bağlanma noktaları

HMBC ile belirlenmiştir. Buna göre; δ_H 4,97 (H-1'') anomerik protonun δ_C 69,7 (C-6') konumundan (1→6), δ_H 5,28 (H'') anomerik protonun δ_C 81,6 (C-2') konumundan (1→2) glikozidasyona uğradığı anlaşılmıştır (Spektrum 3.13).

Şeker moleküllerinin diğer protonları; tespit edilen anomerik sinyallerden hareketle COSY, TOCSY, HSQC ve HMBC spektrumlarından faydalanılarak tanımlanmıştır. Sonuçta şeker zincirinin üç adet β -glukozdan oluştuğu anlaşılmıştır.



Spektrum 3.13. EK-3 bileşiğinin HMBC spektrumu



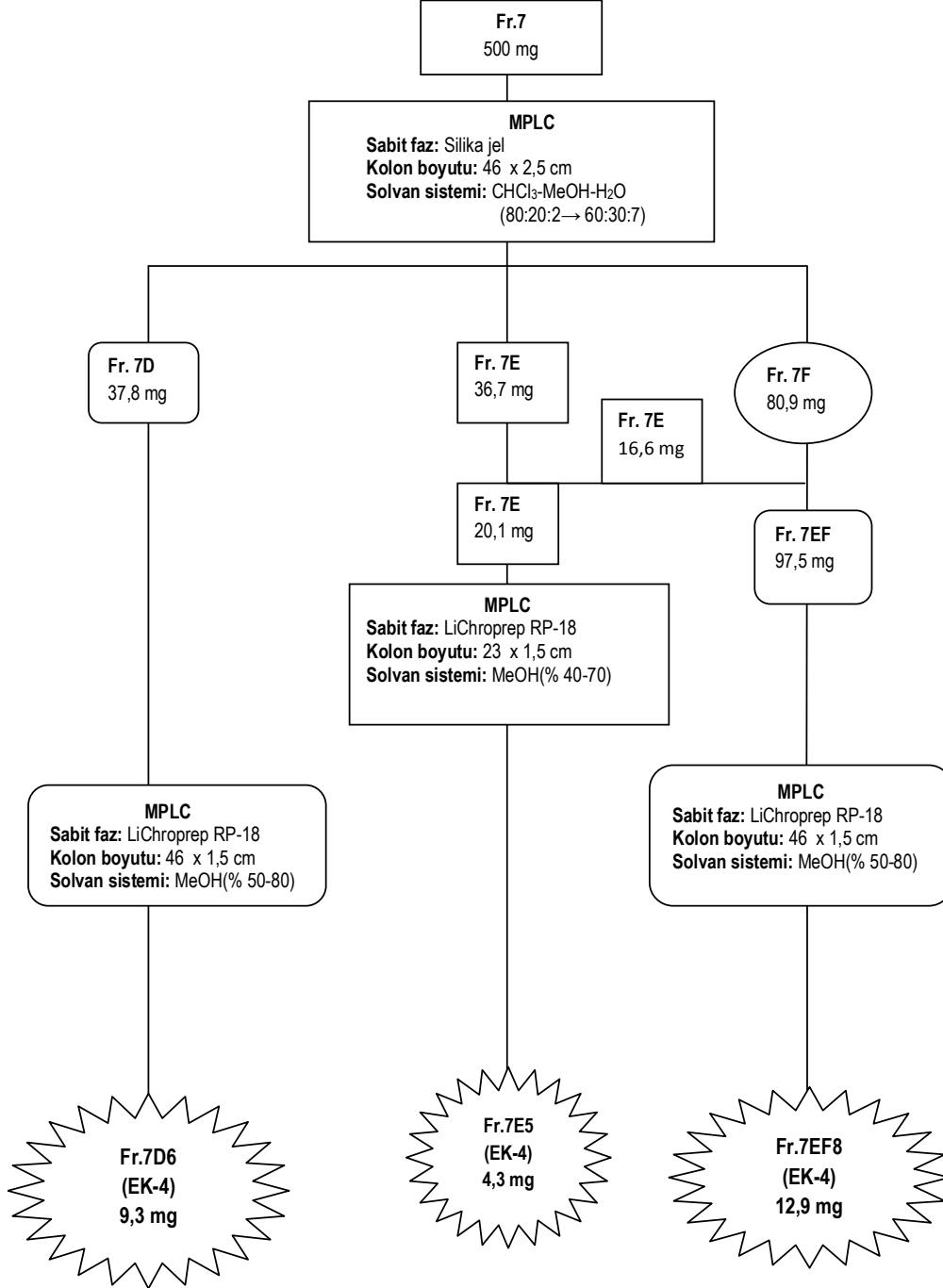
Spektrum 3.14. EK-3 bileşiğinin DEPT spektrumu

EK-3 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, COSY, HSQC, HMBC, NOESY, TOCSY, DEPT ve FAB-Kütle spektroskopilerinden elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin $\text{C}_{54}\text{H}_{84}\text{O}_{23}$ kapalı formülüne sahip olduğu (molekül ağırlığı = 1100) tespit edilmiş; yapısı 3-*O*- β -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-glukopiranozil-21-*O*-asetil-22-*O*-asetil-28-*O*-asetil-3 β , 21 β , 22 α , 28-tetrahidroksiolean-12-en-16-okso olarak aydınlatılmıştır.

Çizelge 3.3. EK-3 bileşiğinin ^{13}C (150 MHz), ^1H (600 MHz) NMR ve DEPT spektroskopik değerleri (piridin- d_5).

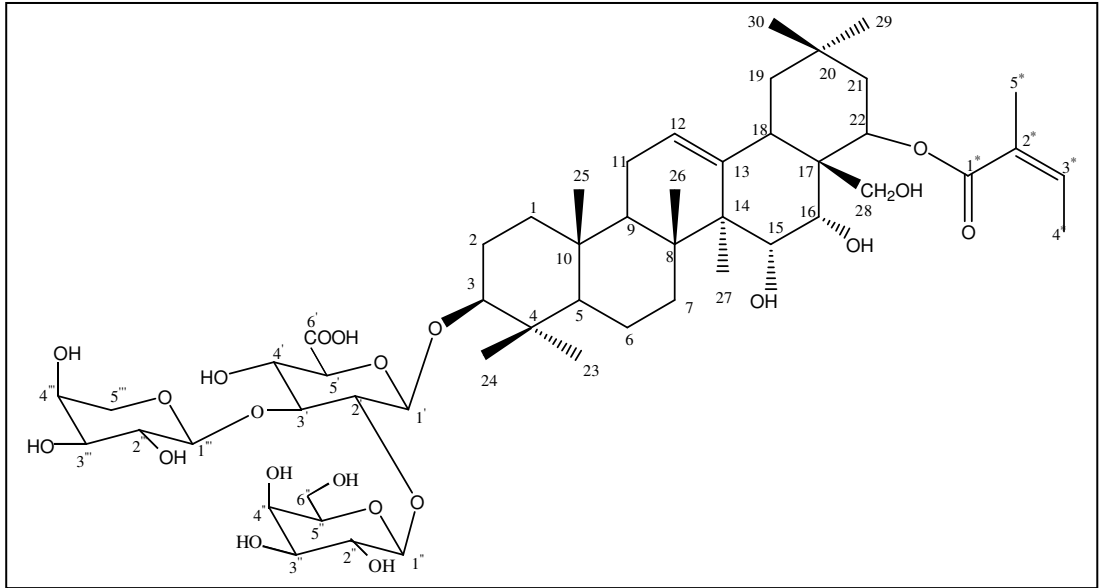
EK-3							
Aglikon				Şeker/Açıl Grubu			
C/H	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm J (Hz)	C/H	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm J (Hz)
1	CH ₂	38,4	0,91 1,47	Glukoz			
2	CH ₂	26,2	1,85 2,27	1'	CH	104,6	4,76
3	CH	89,1	3,21 dd (11,4; 4,2)	2'	CH	81,6	4,14
4	C	39,2	--	3'	CH	77,6	4,19
5	CH	55,2	0,59	4'	CH	71,2	4,04
6	CH ₂	17,9	1,16 1,36	5'	CH	76,3	3,99
7	CH ₂	32,1	1,02 1,25	6'	CH ₂	69,7	4,19 4,79
8	C	40,0	--	Glukoz			
9	CH	46,2	1,42	1''	CH	104,7	4,96 d (7,86)
10	C	36,3	--	2''	CH	76,1	3,94
11	CH ₂	23,5	1,76 1,85	3''	CH	77,6	4,13
12	CH	126,5	5,42	4''	CH	71,3	4,03
13	C	138,0	--	5''	CH	77,8	3,85
14	C	48,7	--	6''	CH ₂	62,3	4,39 4,43
15	CH	44,4	1,88 2,79	Glukoz			
16	C	209,2	--	1'''	CH	104,8	5,28 d (7,62)
17	C	56,8	--	2'''	CH	76,3	3,99
18	CH	47,2	3,04	3'''	CH	77,4	4,12
19	CH ₂	45,2	1,32 1,90	4'''	CH	71,2	4,00
20	C	35,9	--	5'''	CH ₂	77,8	3,84
21	CH ₂	75,8	5,99 d (10,48)	6'''		62,2	4,19 4,26
22	CH	73,1	5,53 d (10,48)	Asetik asit (C₂₁)			
23	CH ₃	27,7	1,13 s	170,6	--		
24	CH ₃	16,4	1,02 s	20,4	2,07 s		
25	CH ₃	15,2	0,75 s	Asetik asit (C₂₂)			
26	CH ₃	16,6	0,91 s	171,2	--		
27	CH ₃	26,6	1,21 s	20,3	2,08 s		
28	CH ₂	67,8	4,51 4,74	Asetik asit (C₂₈)			
29	CH ₃	28,8	0,89 s	170,6			
30	CH ₃	18,9	1,07 s	20,7	2,03 s		

Aktivitesi yüksek bulunan **Fr. 7**'den hareketle de EK-4 kodu ile belirlenen bileşik saf olarak elde edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.6. *Eryngium kotschy* 'nin toprakaltı kısımlarından yapılan izolasyon çalışmaları.

3.1.4. BİLEŞİK EK-4



$C_{52}H_{82}O_{21}$ (Molekül Ağırlığı = 1042)

Negatif İyon FAB-Kütle spektroskopisi m/z : 1041 $[M-H]^-$

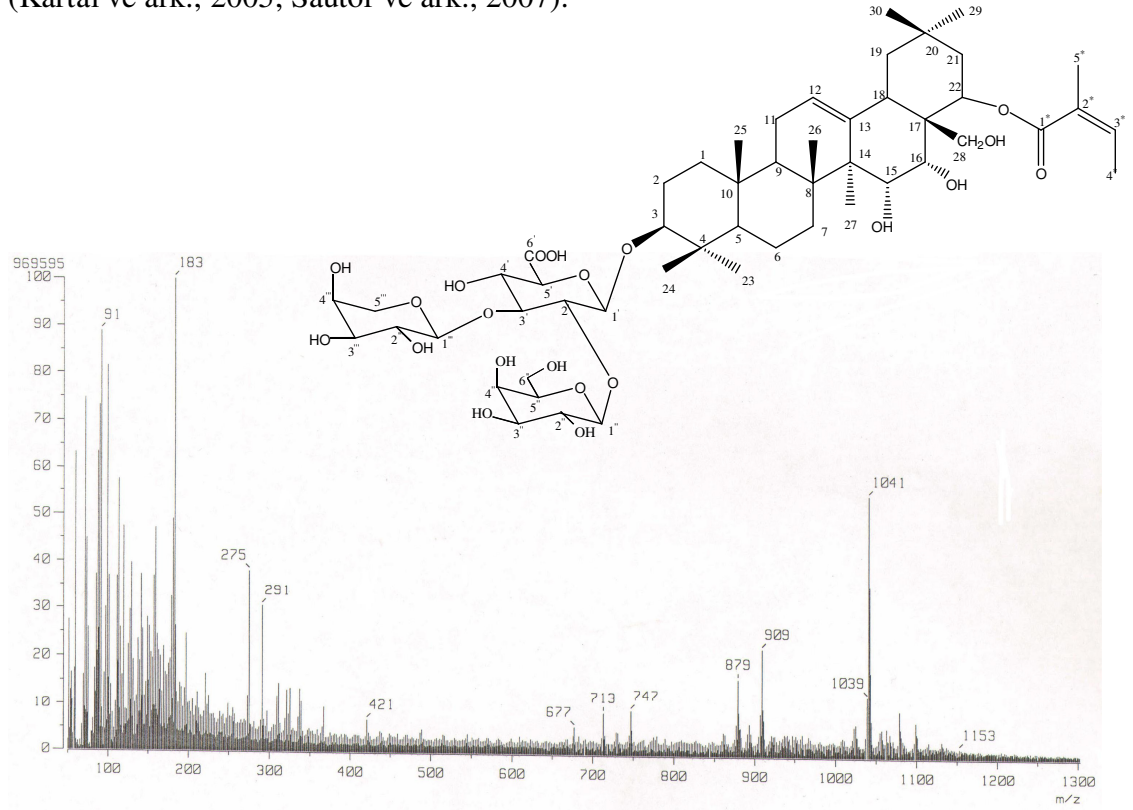
1H -NMR (Piridin- d_5 , 600 MHz) : Çizelge 3.4, Spektrum 3.16

^{13}C -NMR (Piridin- d_5 , 150 MHz) : Çizelge 3.4

Bileşik renksiz, amorf, toz halde elde edilmiştir (26,5 mg). Bileşiğin İTK analizinde günışığında renksiz; Komarowsky reaktifi püskürtülüp ısıtıldıktan sonra mor-gri renk vermesi saponin olabileceğini düşündürmüştür.

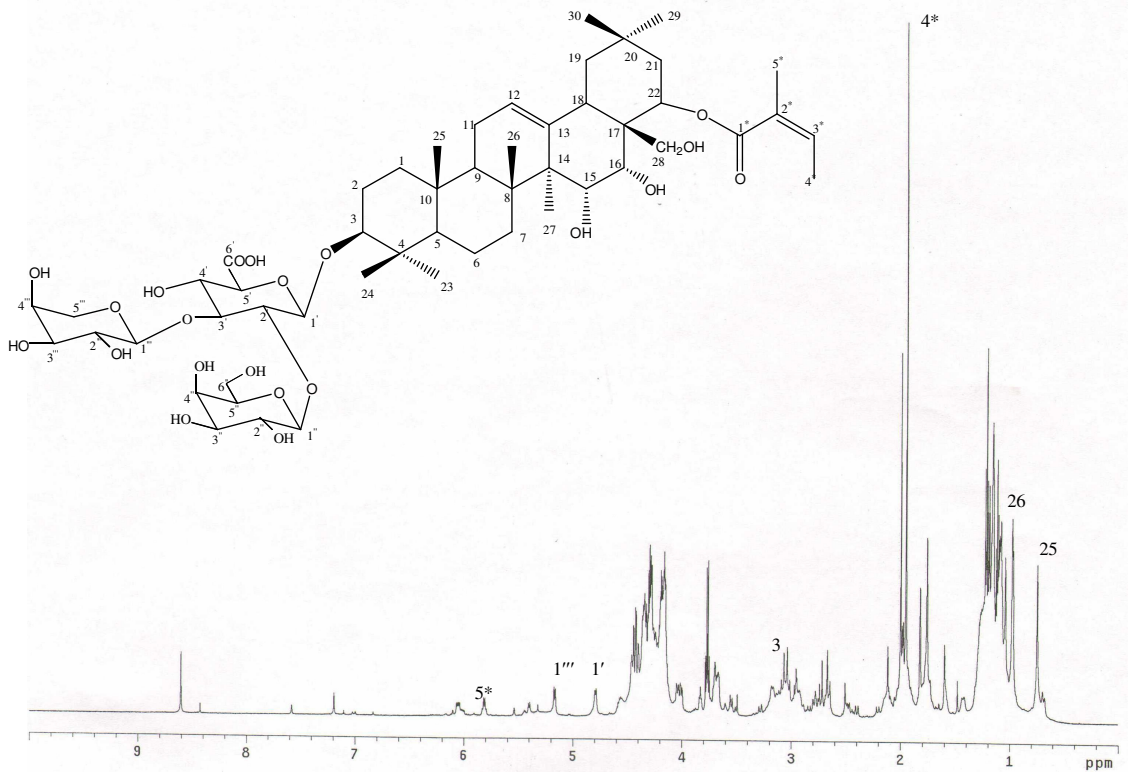
Bileşiğin FAB-Kütle spektroskopisi ile elde edilen spektrumda (negatif iyon modu) gözlenen moleküler iyon piki m/z 1041 $[M-H]^-$, molekül ağırlığının 1042 olduğunu göstermektedir. Molekülde gözlenen diğer fragmantasyonlardan m/z 909 $[(M-H)-132]^-$ ve m/z 879 $[(M-H)-162]^-$, sırasıyla molekülden bir adet terminal pentozil ve bir

adet terminal heksoz gruplarının eliminasyonunu göstermektedir (Spektrum 3.15) (Kartal ve ark., 2005; Sautor ve ark., 2007).



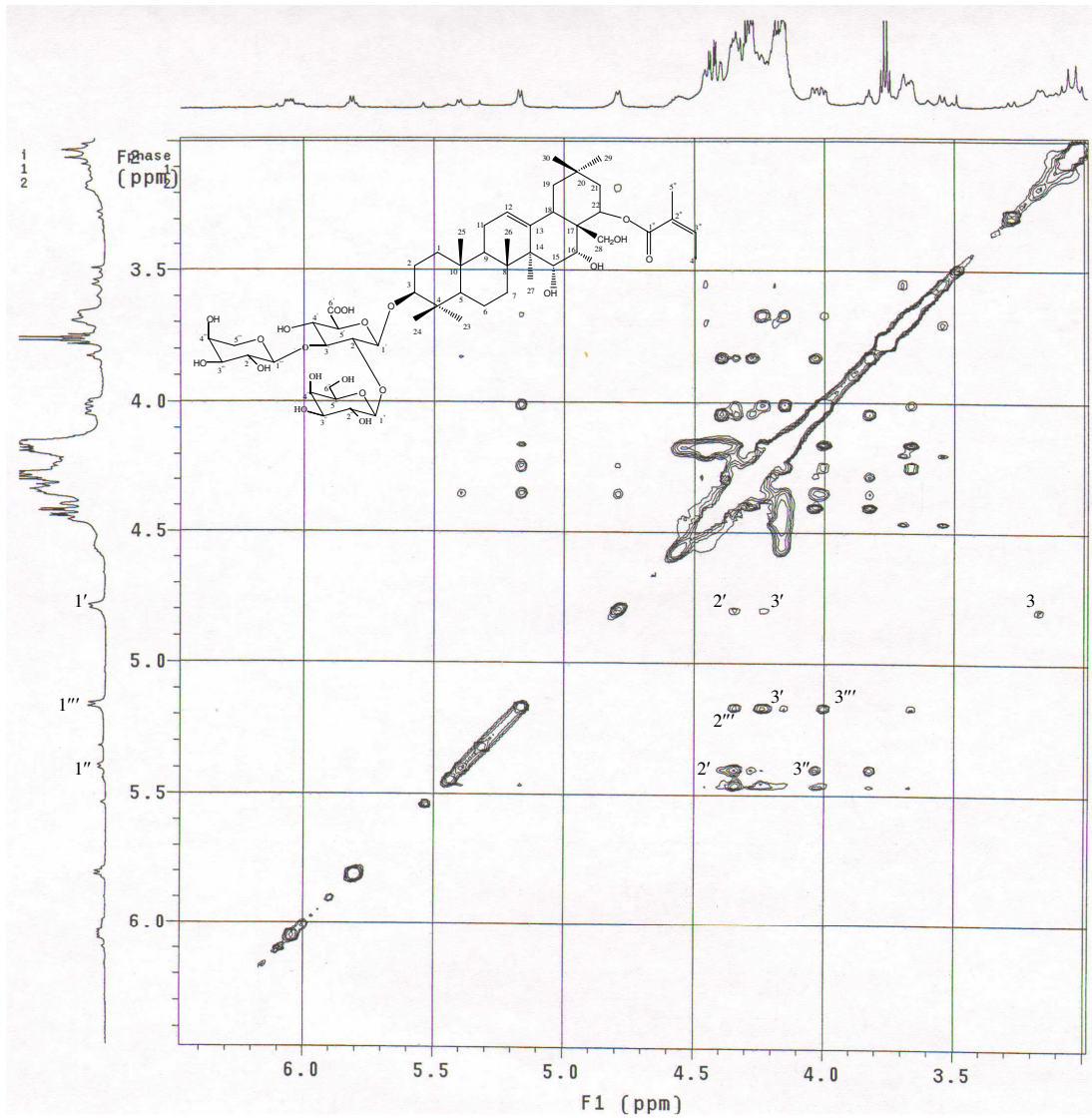
Spektrum 3.15. EK-4 bileşiğinin FAB-Kütle spektrumu

Bileşiğin ^1H -NMR spektrumunda (Çizelge 3.4 ; Spektrum 3.16); δ_{H} 0,74 (3H, s, H-25), 0,97 (3H, s, H-29), 0,98 (3H, s, H-26), 1,04 (3H, s, H-24), 1,16 (3H, s, H-23), 1,19 (3H, s, H-30), 1,76 (3H, s, H-27)'da yedi metil; δ_{H} 3,54 ve 3,68 (2H, H-28)'de bir oksimetilen, δ_{H} 3,17 (1H, H-3), 4,22 (1H, H-15), 4,44 (1H, H-16), 6,04 (1H, H-22)'te dört oksimetin ve δ_{H} 5,46 (1H, H-12) bir etilen grubu sinyalleri gözlenmiştir. Bu sinyaller aglikonun A1-barrigenol iskeletine sahip bir triterpen olduğunu düşündürmüştür.



Spektrum 3.16. EK-4 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu

NOESY spektrumunda, δ_{H} 4,44 (H-16) ile δ_{H} 3,54, 3,70 (H-28) ve 4,22 (H-15) arasında gözlenen çapraz pikler C-15 ve C-16'daki iki sekonder alkol grubunun konumlarını belirleyici sinyallerdir (Spektrum 3.17). Bu durum HMBC spektrumunda, δ_{H} 1,76 (H-27) ile δ_{C} 67,1 (C-15) arasındaki bağıntı ile de doğrulanmıştır.

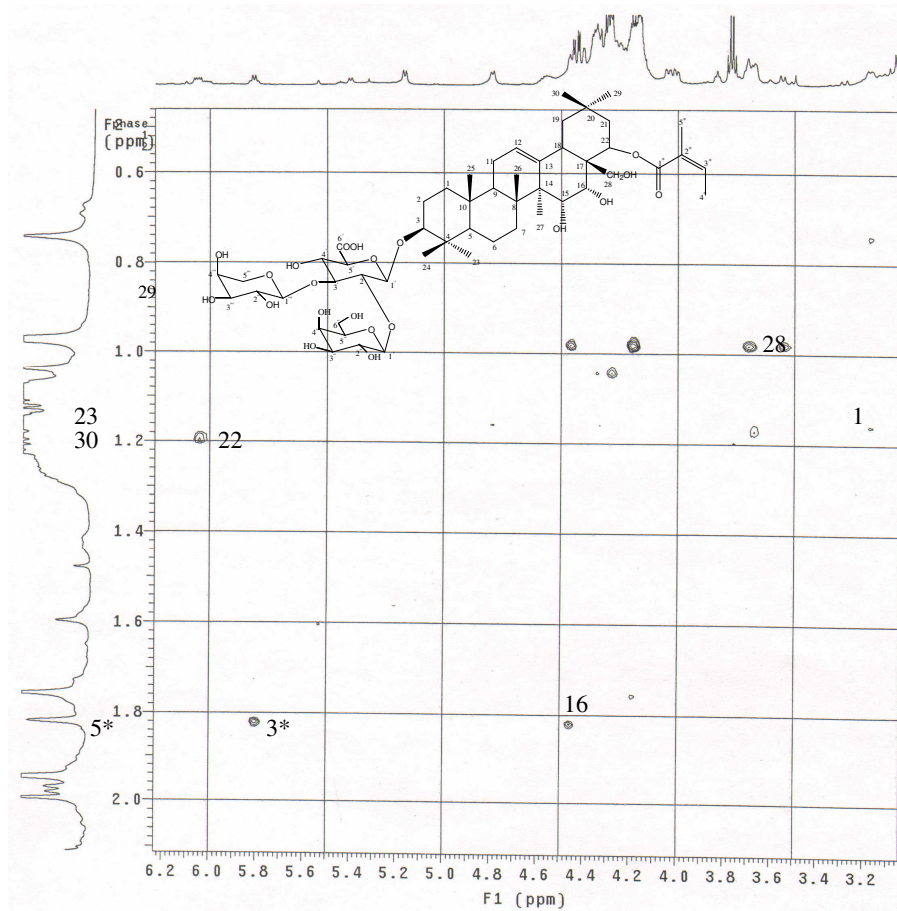


Spektrum 3.17. EK-4 bileşiğinin NOESY spektrumu

HMBC spektrumunda δ_H 0,97 (H-29) ve 1,19 (H-30) protonlarının δ_C 41,2 ve δ_C 46,7 ile korelasyon göstermesi C-21 ve C-19 konumlarında iki metilen grubu olduğunu göstermiştir. COSY spektrumunda δ_H 6,05 (1H, H-22) ve 2,66 (C-21) arasında gözlenen çapraz pik, bu sinyalin C-22 konumunda olduğuna işaret etmektedir. HSQC’de bu sinyale karşılık gelen karbon (δ_C 72,3; C-22) sinyalinin de HMBC spektrumunda δ_H 3,70 (H-28) ile korelasyon vermesi konumu doğrulamaktadır.

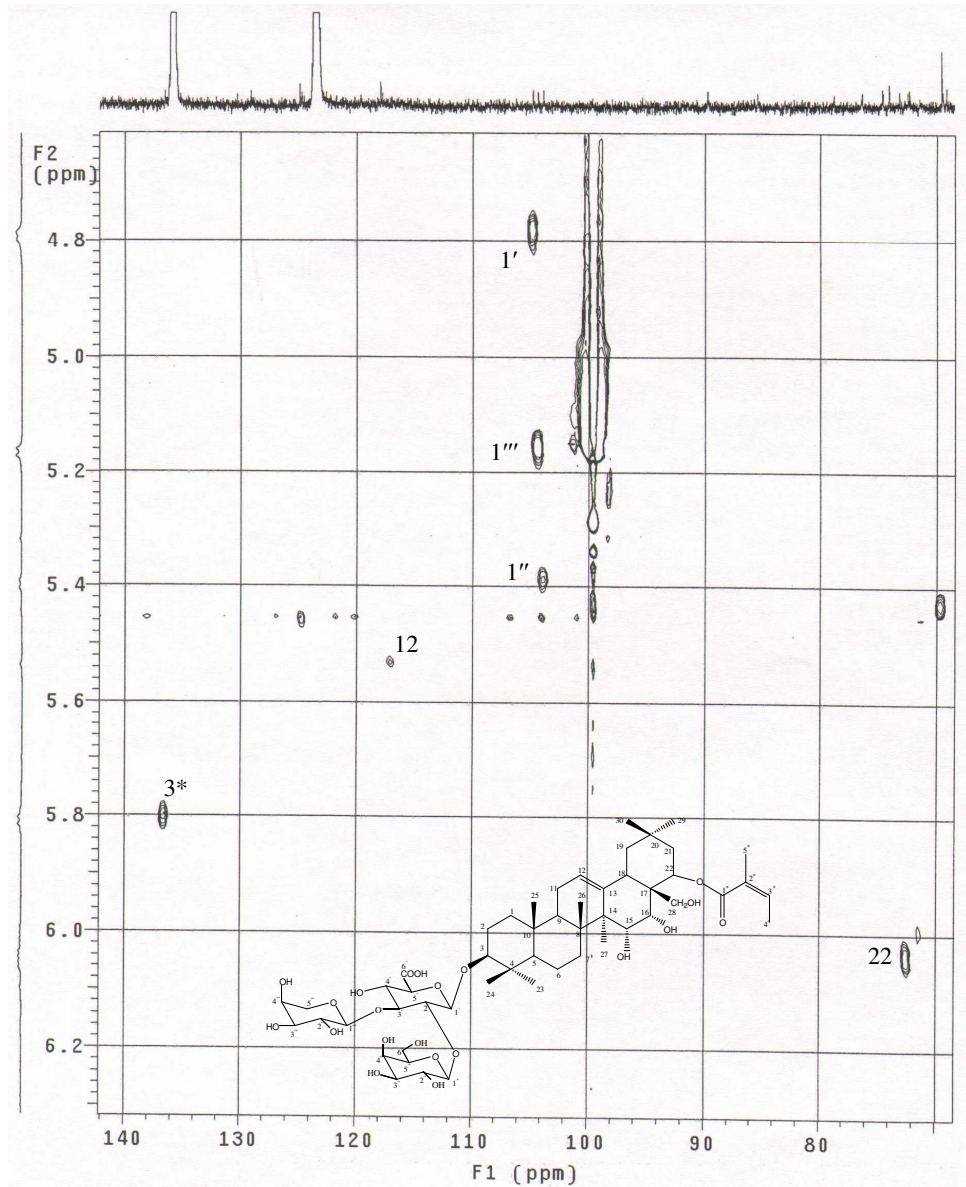
NOESY spektrumunda δ_H 3,17 (H-3) ile 0,74 (H-1) ve 1,16 (H-23) arasında gözlenen çapraz pikler (Spektrum 3.18); HMBC spektrumunda δ_H 0,74 (H-25) ile δ_C 46,8 (H-

9); δ_H 1,04 (H-24) ile δ_C 55,3 (C-5), 89,7 (C-3), 39,2 (C-4), 27,6 (C-23), 26,2 (C-2); δ_H 1,76 (H-27) ile δ_C 145,6 (C-13) arasında gözlenen korelasyonlar ile birlikte tüm veriler göz önünde bulundurulduğunda A1-barrigenol ana yapısının tam olarak konfigürasyonu doğrulanmaktadır (Kartal ve ark., 2005, Kartal ve ark, 2006; Zhang ve ark, 2008). C-22 konumundaki, düşük alanda gözlenen δ_H 6,05 (H-22) sinyalinin, NOESY spektrumunda δ_H 1,19 (H-30) ile verdiği çapraz pik de konumunu doğrulamaktadır (Spektrum 3.18); sinyalin düşük alana kayması, açıldığını düşündürmüştür. Triterpenik yapı ve ozlara ait sinyaller dışında kalan proton ve karbon rezonansları, yapıda bir açılasyon olabileceğini göstermiştir. İki vinilik metil grubu δ_H 1,82 (3H) ve 1,95 (3H)‘ te sinyal vermiştir ve 1,95, COSY spektrumunda δ_H 5,82 (1H) olefinik protonu ile çapraz pik göstermiştir; aynı zamanda her iki proton da HMBC spektrumunda δ_C 129,0 ve 137,0 ile korelasyon göstermiştir. Bu veriler C-22 konumunda anjeloil grubu varlığını göstermektedir (Kartal ve ark., 2005; Zhang ve Li., 2007).



Spektrum 3.18. EK-4 bileşiğinin NOESY spektrumu

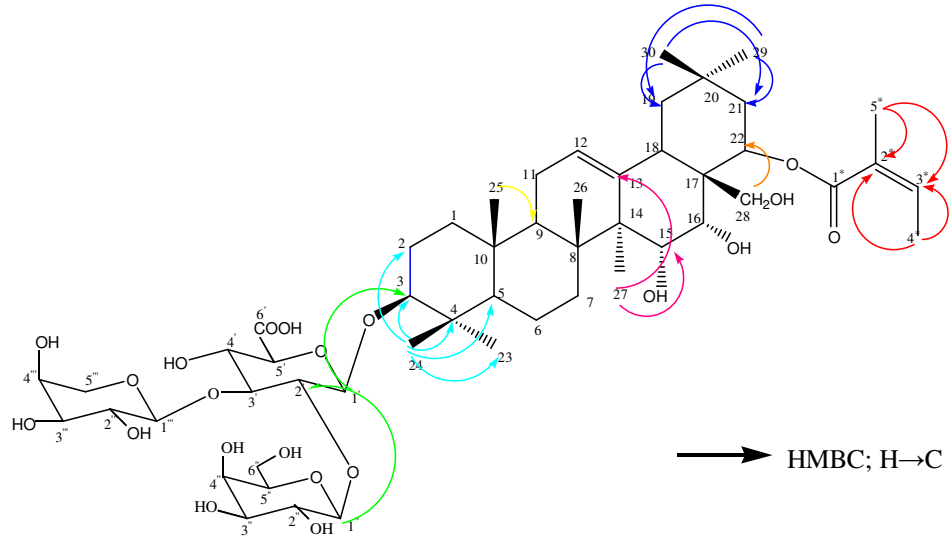
Bileşiğin ^1H NMR spektrumunda δ_{H} 4,79 (1H, d, $J=7,14$ Hz, H-1'), 5,17 (1H, d, $J=7,39$ Hz, H-1''') ve 5,40 (1H, H-1'')'ta gözlenen üç adet anomerik proton sinyali molekülün triglikozidik olduğunu göstermektedir (Spektrum 3.19). HSQC spektrumunda bu sinyallere karşılık sırasıyla δ_{C} 104,7 (C-1'), 104,3 (C-1''') ve 103,8 (C-1'') anomerik karbon sinyalleriyle korelasyon göstermişlerdir. Şeker moleküllerinin diğer protonları; tespit edilen anomerik sinyallerden hareketle COSY, TOCSY, HSQC ve HMBC spektrumlarından faydalanılarak tanımlanmıştır. Bu verilerin ışığında molekülün şeker olarak β -glukuronopiranoz (C'; H'), β -galaktopiranoz (C''; H'') ve α -arabinopiranoz (C'''; H''') taşıdığı tespit edilmiştir.



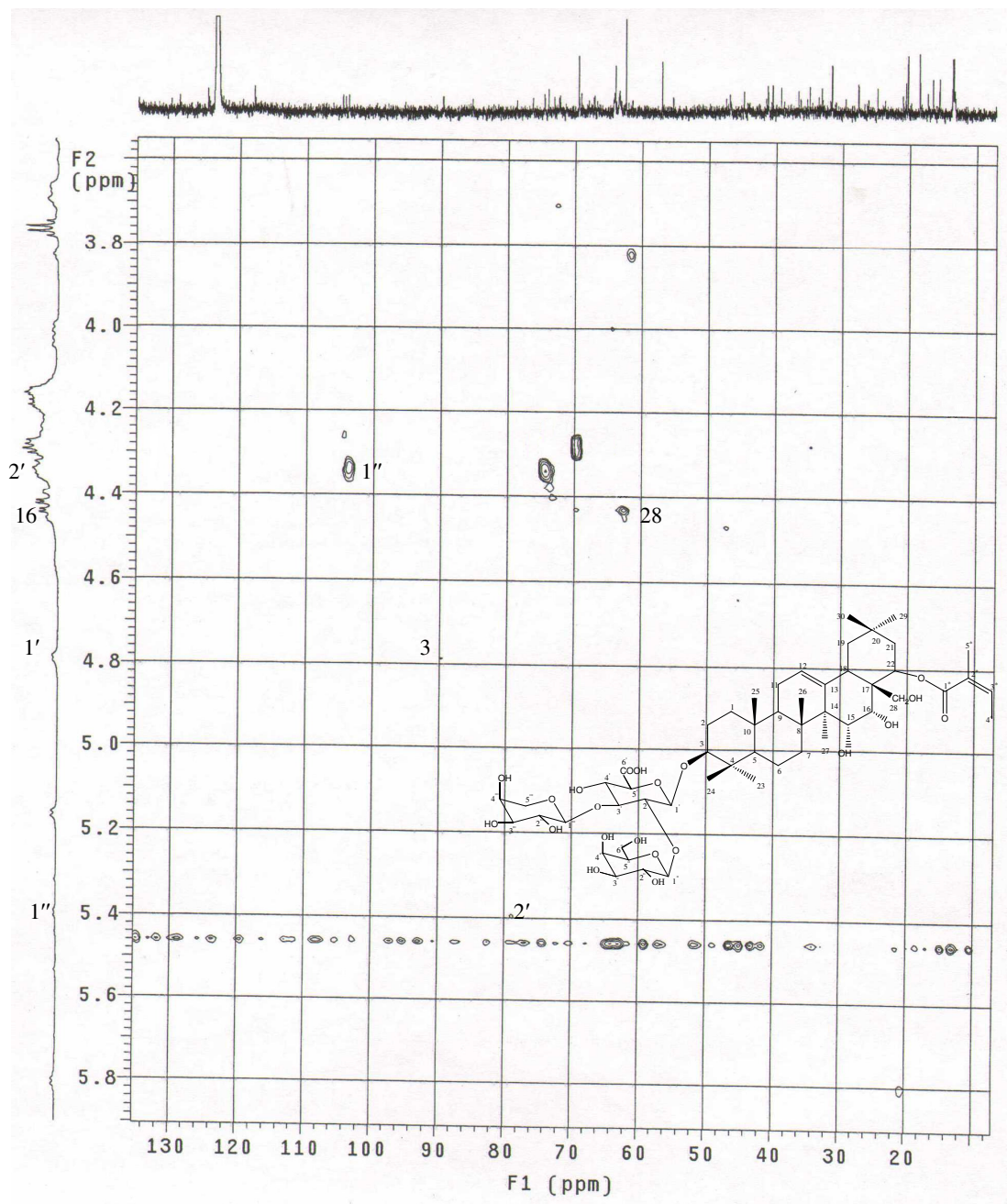
Spektrum 3.19. EK-4 bileşiğinin HSQC spektrumu

HMBC spektrumunda δ_H 4,79 (H-1') ve δ_C 89,7 (C-3) arasında gözlenen korelasyona ek olarak NOESY spektrumunda δ_H 4,79 (H-1') ile δ_H 3,17 (H-3) arasında da bir korelasyon gözlenmiştir. Bu da aglikonun C-3 konumundan glukuronik asit ile glikozidasyona uğradığını göstermektedir. Diğer bir anomerik proton (galaktoz) δ_H 5,40 (H-1''); HMBC spektrumunda δ_C 78,8 (C-2') ile korelasyon vermiştir. NOESY spektrumunda ise δ_H 5,17 (H-1''') ile δ_H 4,22 (H-3') arasında belirlenen korelasyon ile de galaktozun glukuronik asite (1→2) konumundan bağlandığını göstermiştir. Arabinoza ait olan anomerik protonun, δ_H 5,17 (H-1''') NOESY spektrumunda 4,22 (H-3') ile verdiği korelasyon, glukuronik asite (1→3) konumdan bağlandığını göstermiştir. Böylece tüm glikozidik bağlanma noktaları belirlenmiştir. Galaktoz ve arabinoz terminal ozlardır; glukuronik asit ise aglikon ile glikozidik bağı oluşturmuştur. Sonuçlar literatür verileriyle karşılaştırılarak doğrulanmıştır (Kartal ve ark., 2005; Elbandy ve ark., 2007).

EK-4 bileşiğinin 1H ve ^{13}C , 2D NMR (COSY, HSQC, HMBC, NOESY, TOCSY) ve FAB-Kütle spektrumundan elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin $C_{52}H_{82}O_{21}$ kapalı formülüne sahip olduğu (molekül ağırlığı = 1042) tespit edilmiş; yapısı 3-O- β -D-galaktopiranozil-(1→2)-[α -L-arabinopiranozil-(1→3)]- β -D-glukuronopiranozil-22-O-anjeloil-A1-barrigenol olarak aydınlatılmıştır.



Şekil 3.7. EK-4 bileşiğinin HMBC spektrumu



Spektrum 3.20. EK-4 bileşiğinin HMBC spektrumu

Çizelge 3.4. EK-4 bileşiğinin ^{13}C (150 MHz), ^1H (600 MHz) NMR ve DEPT spektroskopik değerleri (piridin- d_5).

Aglikon				Şeker/Asit Grubu			
C/H	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm J (Hz)	C/H	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm J (Hz)
1	CH ₂	38,8	0,74 1,28	Glukuronik Asit			
2	CH ₂	26,2	1,76 2,11	1'	CH	104,7	4,79 d (7,1)
3	CH	89,7	3,17	2'	CH	78,8	4,33
4	C	39,2	--	3'	CH	85,4	4,22
5	CH	55,3	0,68	4'	CH	71,5	4,20
6	CH ₂	18,5	1,19 1,23	5'	CH	78,8	4,34
7	CH ₂	36,3	1,91 1,99	6'	C	170,7	--
8	C	40,6	--	T-Galaktoz			
9	CH	46,8	1,58	1''	CH	103,8	5,40
10	C	36,6	--	2''	CH	72,3	4,32
11	CH ₂	23,7	1,73 1,76	3''	CH	74,6	4,03
12	CH	124,8	5,46 m	4''	CH	69,4	4,40
13	C	145,6	--	5''	CH	76,3	3,82
14	C	47,4	--	6''	CH ₂	62,4	4,27, 4,42
15	CH	67,1	4,22	T-Arabinoz			
16	CH	74,5	4,44	1'''	CH	104,3	5,17 d (7,4)
17	C	44,8	--	2'''	CH	73,1	4,34
18	CH	41,3	2,93	3'''	CH	74,0	3,99
19	CH ₂	46,7	1,24 2,78	4'''	CH	67,1	4,32
20	C	36,3	--	5'''	CH ₂	67,0	3,67, 4,23
21	CH ₂	41,2	1,91 2,66	Anjelik asit			
22	CH	72,3	6,04 m	1	C	166,8	--
23	CH ₃	27,6	1,16 s	2	C	129,0	--
24	CH ₃	16,5	1,04 s	3	CH	137,0	5,82
25	CH ₃	15,5	0,74 s	4	CH ₃	15,5	1,95
26	CH ₃	17,2	0,98 s	5	CH ₃	20,5	1,82
27	CH ₃	21,0	1,76 s				
28	CH ₂	62,4	3,54, 3,70				
29	CH ₃	33,1	0,97 s				
30	CH ₃	24,8	1,19 s				

3.2. Biyolojik Aktivite Deneylerine Ait Bulgular

Sekiz *Eryngium* türünün toprakaltı ve topraküstü kısımlarından hazırlanan sulu ve etanolü ekstrelerin verimleri Çizelge 3.5'te de belirtilmiştir.

Çizelge 3.5. *Eryngium* türlerinden elde edilen sulu ve etanolü ekstrelerin % verimleri.

Bitki Adı	EtOH'lu ekstre (% a/a)	H ₂ O'lu ekstre (% a/a)
<i>Eryngium campestre</i> L.	10.8 (TA)	31.6 (TA)
	5.6 (TÜ)	12.4 (TÜ)
<i>Eryngium creticum</i> Lam.	3.8 (TA)	7.3 (TA)
	5.1 (TÜ)	15.4 (TÜ)
<i>Eryngium davisii</i> Kit Tan&Yildiz	6.6 (TA)	16.9 (TA)
	4.8 (TÜ)	15.4 (TÜ)
<i>Eryngium falcatum</i> Delar.	10.6 (TA)	28.7 (TA)
	5.7 (TÜ)	11.4 (TÜ)
<i>Eryngium isairicum</i> Contandr.&Quezel	5.1 (TA)	9.5 (TA)
	6.6 (TÜ)	16.1 (TÜ)
<i>Eryngium kotschy</i> Boiss.	3.4 (TA)	11.6 (TA)
	5.1 (TÜ)	19.7 (TÜ)
<i>Eryngium maritimum</i> L.	16.1 (TA)	38.3 (TA)
	10.3 (TÜ)	18.3 (TÜ)
<i>Eryngium trisectum</i> A.Wörz&H.Duman	12.6 (TA)	16.2 (TA)
	4.3 (TÜ)	18.5 (TÜ)

(TA: toprakaltı kısımlar, TÜ: topraküstü kısımlar)

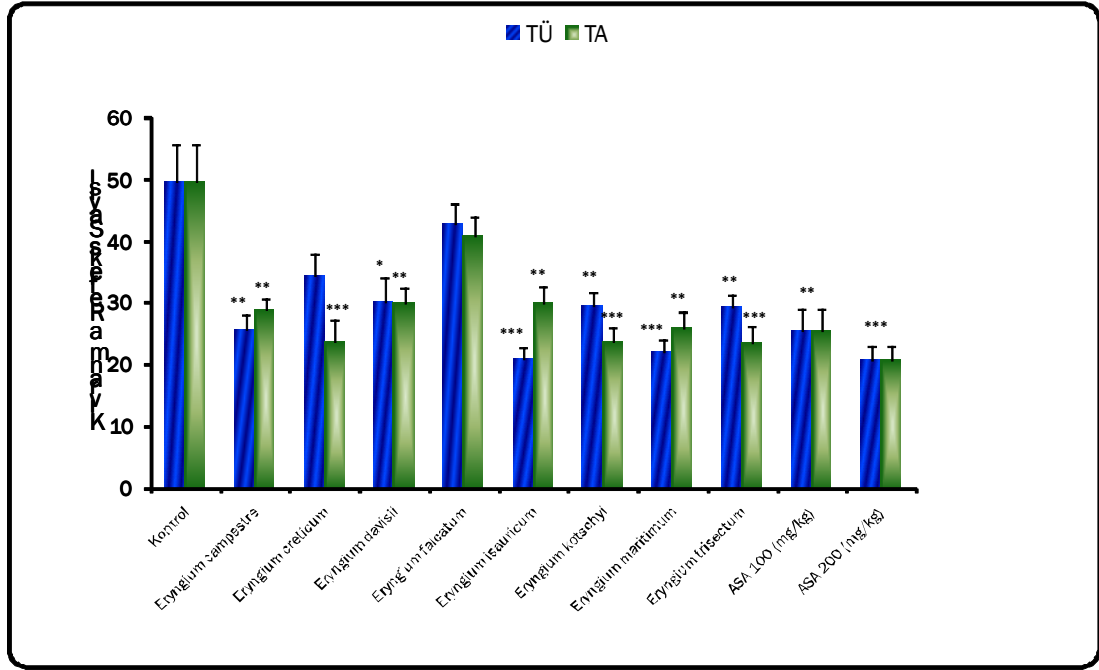
3.2.1. Kıvrınma Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini

Sekiz *Eryngium* türünün toprakaltı ve topraküstü kısımlarının etanol ve sulu ekstraktlarının kıvrınma testi ile antinosiseptif aktivite sonuçları tablo ve sütun grafiği şeklinde gösterilmiştir.

Çizelge 3.6. *Eryngium* türlerinin etanollü ekstralarının *p*-benzokinon ile oluşturulan kıvranma refleksi üzerine etkisi

Materyal	Kullanılan Kısım	Doz (mg/kg)	Kıvranma refleks sayısı $\pm$ SEM	İnhibisyon oranı (%)	Ülserasyon oranı ^a
Kontrol			49.5 $\pm$ 6.1		0/6
<i>Eryngium campestre</i>	TÜ	200	25.5 $\pm$ 2.7	48.5**	0/6
	TA	200	28.7 $\pm$ 1.9	42.0**	0/6
<i>Eryngium creticum</i>	TÜ	200	34.3 $\pm$ 3.7	30.7	0/6
	TA	200	23.6 $\pm$ 3.6	52.3***	0/6
<i>Eryngium davisii</i>	TÜ	200	30.1 $\pm$ 4.0	39.2*	0/6
	TA	200	29.7 $\pm$ 2.6	40.0**	0/6
<i>Eryngium falcatum</i>	TÜ	200	42.7 $\pm$ 3.4	13.7	0/6
	TA	200	40.6 $\pm$ 3.4	17.9	0/6
<i>Eryngium isauricum</i>	TÜ	200	20.8 $\pm$ 2.0	57.9***	2/6
	TA	200	29.8 $\pm$ 2.7	39.8**	0/6
<i>Eryngium kotschy</i>	TÜ	200	29.3 $\pm$ 2.4	40.8**	0/6
	TA	200	23.7 $\pm$ 2.2	52.1***	0/6
<i>Eryngium maritimum</i>	TÜ	200	21.9 $\pm$ 2.1	55.8***	0/6
	TA	200	25.8 $\pm$ 2.7	47.9**	0/6
<i>Eryngium trisectum</i>	TÜ	200	29.1 $\pm$ 2.2	41.2**	1/6
	TA	200	23.3 $\pm$ 2.9	52.9***	0/6
ASA		100	25.3 $\pm$ 3.7	48.9**	4/6
		200	20.7 $\pm$ 2.3	58.2***	5/6

*, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001 kontrole göre anlamlı. TÜ: topraküstü kısımlar; TA: toprakaltı kısımlar; SEM: ortalama standart hata. ^a: hasara uğramış mide sayısı. ASA: Asetilsalisilik asit



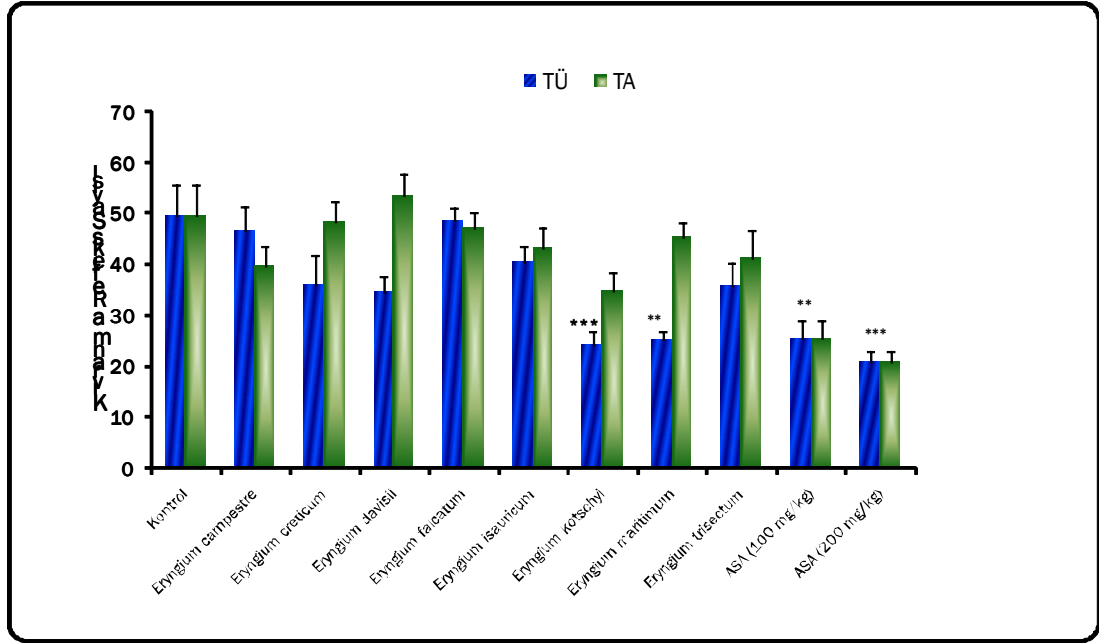
Şekil 3.8. *Eryngium* türlerinin etanollü ekstrelerinin *p*-benzokinon ile oluşturulan kıvrınma refleksi üzerine etkisinin sütun grafiği şeklinde gösterimi. *: $p<0.05$, **: $p<0.01$; ***: $p<0.001$ kontrole göre anlamlı. Tü: topraküstü kısımlar; TA: toprakaltı kısımlar; SEM: ortalama standart hata. ^a: hasara uğramış mide sayısı. ASA: Asetilsalisilik asit

Çizelge 3.7. *Eryngium* türlerinin sulu ekstralarının *p*-benzokinon ile oluşturulan kıvranma refleksi üzerine etkisi

Materyal	Kullanılan Kısım	Doz (mg/kg)	Kıvranma refleks sayısı $\pm$ SEM	Inhibisyon oranı (%)	Ülserasyon oranı ^a
Kontrol			49.5 $\pm$ 6.1		0/6
<i>Eryngium campestre</i>	TÜ	200	46.5 $\pm$ 4.9	6.1	0/6
	TA	200	39.6 $\pm$ 4.0	20.0	0/6
<i>Eryngium creticum</i>	TÜ	200	35.9 $\pm$ 5.9	27.5	1/6
	TA	200	48.3 $\pm$ 4.2	2.4	0/6
<i>Eryngium davisii</i>	TÜ	200	34.5 $\pm$ 3.3	30.3	0/6
	TA	200	53.5 $\pm$ 4.4	-	0/6
<i>Eryngium falcatum</i>	TÜ	200	48.4 $\pm$ 2.9	2.2	0/6
	TA	200	47.1 $\pm$ 3.0	4.8	0/6
<i>Eryngium isairicum</i>	TÜ	200	40.3 $\pm$ 3.4	18.6	1/6
	TA	200	43.2 $\pm$ 4.1	12.7	0/6
<i>Eryngium kotschy</i>	TÜ	200	24.2 $\pm$ 2.6	51.1***	0/6
	TA	200	34.7 $\pm$ 3.8	29.9	0/6
<i>Eryngium maritimum</i>	TÜ	200	25.1 $\pm$ 1.9	49.3**	0/6
	TA	200	45.4 $\pm$ 2.8	8.3	0/6
<i>Eryngium trisetum</i>	TÜ	200	35.7 $\pm$ 4.6	27.9	2/6
	TA	200	41.2 $\pm$ 5.5	16.8	1/6
ASA		100	25.3 $\pm$ 3.7	48.9**	4/6
		200	20.7 $\pm$ 2.3	58.2***	5/6

*: p<0.05, **: p<0.01; ***: p<0.001 kontrole göre anlamlı. TÜ: topraküstü kısımlar; TA: toprakaltı kısımlar;

SEM: ortalama standart hata. ^a: hasara uğramış mide sayısı. ASA: Asetilsalisilik asit



Şekil 3.9. *Eryngium* türlerinin sulu ekstrelerinin *p*-benzokinin ile oluşturulan kıvrınma refleksi üzerine etkisinin sütun grafiği şeklinde gösterimi. *: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$ kontrole göre anlamlı. TÜ: topraküstü kısımlar; TA: toprakaltı kısımlar; SEM: ortalama standart hata. ^a: hasara uğramış mide sayısı. ASA: Asetilsalisilik asit

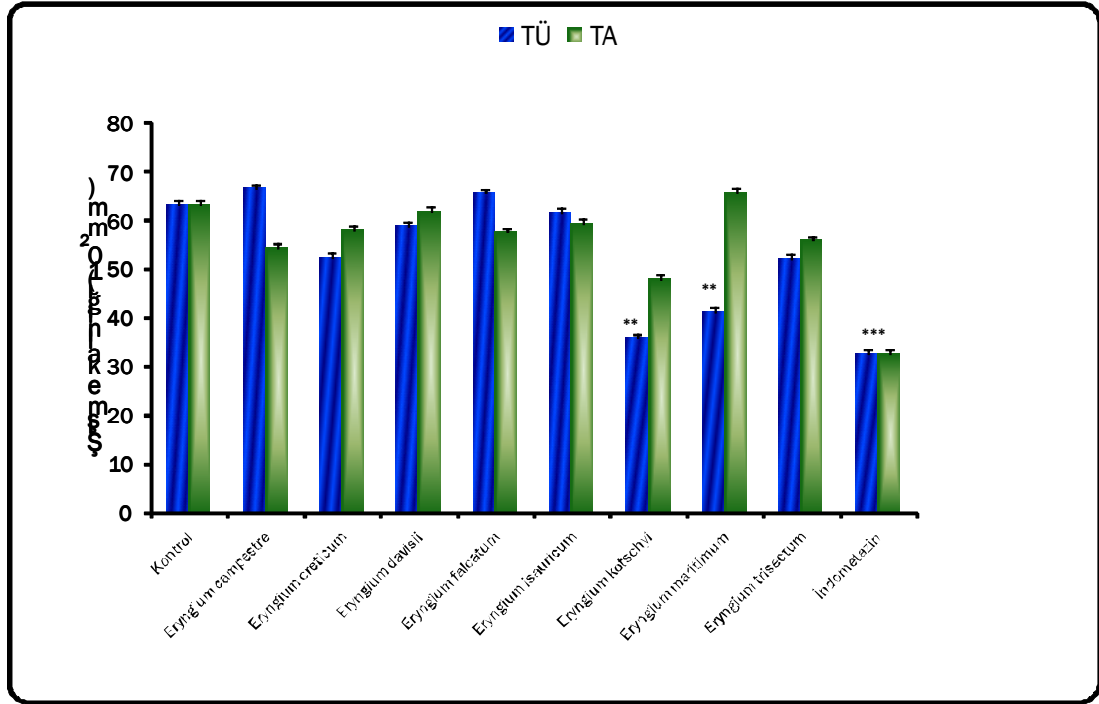
3.2.2. Karagenin ile Oluşturulan Ödem Üzerindeki Antienflamatuvar Aktivite Tayini

Sekiz *Eryngium* türünün toprakaltı ve topraküstü kısımlarının etanol ve sulu ekstrelerinin karagenin ile oluşturulan ödem üzerine antienflamatuvar aktiviteleri tablo ve şekillerle gösterilmiştir.

Çizelge 3.8. *Eryngium* türlerinin sulu ekstralarının karagenin ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçları.

Mateyal	Kullanılan Kısım	Doz mg/kg	Şişme Kalınlığı ($\times 10^{-2}$ mm) $\pm$ SEM (% inhibisyon)			
			90 dk	180 dk	270 dk	360 dk
Kontrol			43.5 $\pm$ 6.0	49.8 $\pm$ 6.4	57.2 $\pm$ 5.9	63.2 $\pm$ 5.8
<i>Eryngium campestre</i>	TÜ	200	51.5 $\pm$ 3.3	56.5 $\pm$ 3.4	61.3 $\pm$ 3.0	66.3 $\pm$ 3.3
	TA	200	40.2 $\pm$ 4.7 (7.6)	44.5 $\pm$ 4.5 (10.6)	50.2 $\pm$ 3.9 (12.2)	54.2 $\pm$ 4.3 (14.2)
<i>Eryngium creticum</i>	TÜ	200	41.3 $\pm$ 4.0 (5.1)	45.2 $\pm$ 4.2 (9.2)	49.5 $\pm$ 4.2 (13.5)	52.3 $\pm$ 3.6 (17.2)
	TA	200	45.7 $\pm$ 3.7	51.3 $\pm$ 3.4	55.0 $\pm$ 3.2 (3.8)	57.8 $\pm$ 4.0 (8.5)
<i>Eryngium davisii</i>	TÜ	200	45.2 $\pm$ 3.9	50.7 $\pm$ 3.8	54.5 $\pm$ 3.9 (4.7)	58.7 $\pm$ 3.8 (7.1)
	TA	200	46.6 $\pm$ 4.8	52.7 $\pm$ 4.6	56.8 $\pm$ 4.7	61.7 $\pm$ 4.2 (2.4)
<i>Eryngium falcatum</i>	TÜ	200	47.3 $\pm$ 5.6	53.9 $\pm$ 5.6	60.9 $\pm$ 6.2	65.5 $\pm$ 5.3
	TA	200	47.0 $\pm$ 3.9	50.8 $\pm$ 3.9	55.2 $\pm$ 3.7 (3.5)	57.5 $\pm$ 4.8 (9.0)
<i>Eryngium isauricum</i>	TÜ	200	46.9 $\pm$ 4.4	51.8 $\pm$ 4.6	57.8 $\pm$ 5.4	61.4 $\pm$ 4.8 (2.8)
	TA	200	45.1 $\pm$ 5.9	52.2 $\pm$ 5.6	56.5 $\pm$ 6.2 (1.2)	59.3 $\pm$ 4.9 (6.2)
<i>Eryngium kotschy</i>	TÜ	200	30.3 $\pm$ 4.1 (30.3)	32.0 $\pm$ 3.9 (35.7)	35.0 $\pm$ 3.6 (38.8)*	35.8 $\pm$ 3.4 (43.4)**
	TA	200	36.1 $\pm$ 5.5 (17.0)	40.9 $\pm$ 5.1 (17.9)	45.3 $\pm$ 5.6 (20.8)	47.9 $\pm$ 4.3 (24.2)
<i>Eryngium maritimum</i>	TÜ	200	35.2 $\pm$ 3.7 (19.1)	37.5 $\pm$ 3.6 (24.7)	38.7 $\pm$ 4.7 (32.3)	41.2 $\pm$ 3.9 (34.8)*
	TA	200	52.5 $\pm$ 6.8	58.9 $\pm$ 6.4	63.0 $\pm$ 5.9	65.7 $\pm$ 5.5
<i>Eryngium trisectum</i>	TÜ	200	40.2 $\pm$ 4.8 (8.0)	43.8 $\pm$ 4.8 (12.0)	48.2 $\pm$ 5.2 (15.7)	52.0 $\pm$ 4.9 (17.7)
	TA	200	42.0 $\pm$ 4.4 (3.4)	46.3 $\pm$ 4.8 (7.0)	50.2 $\pm$ 4.6 (12.2)	55.8 $\pm$ 4.6 (11.7)
İndometazin		10	28.2 $\pm$ 2.5 (35.2)*	28.7 $\pm$ 2.3 (42.4)**	32.0 $\pm$ 2.0 (44.1)***	32.5 $\pm$ 2.2 (48.6)***

*: p<0.05, **: p<0.01; ***: p<0.001 kontrole göre anlamlı. TÜ: topraküstü kısımlar; TA: toprakaltı kısımlar; SEM: ortalama standart hata



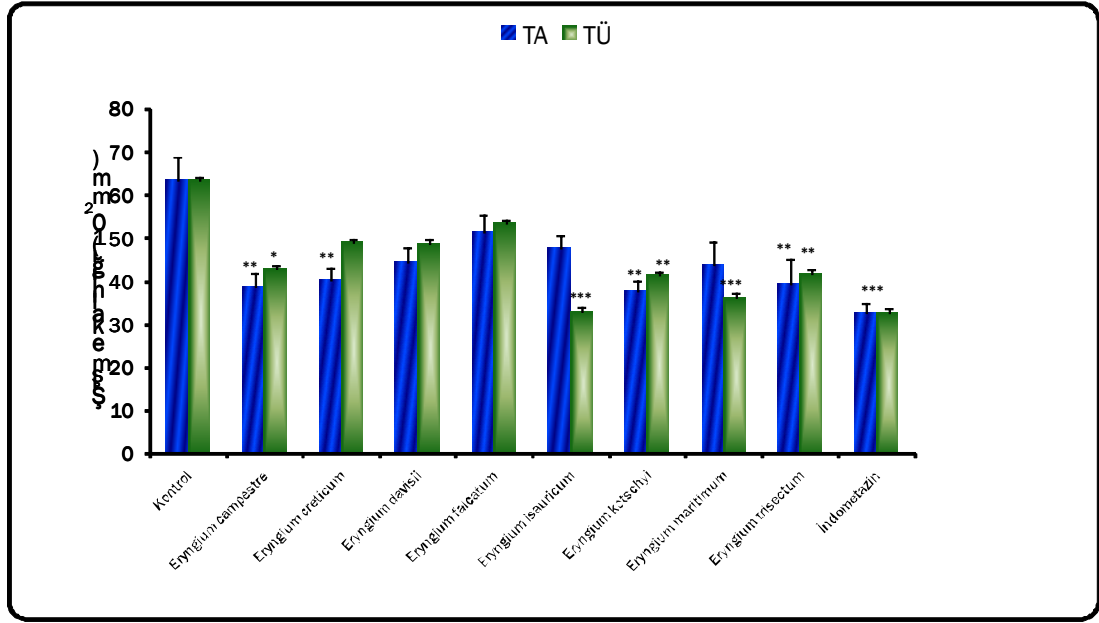
Şekil 3.10. *Eryngium* türlerinin sulu ekstraktlarının karagenin ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçlarının sütun grafiği şeklinde gösterimi. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$ kontrole göre anlamlı. TÜ: topraküstü kısımlar; TA: toprakaltı kısımlar; SEM: ortalama standart hata

Çizelge 3.9. *Eryngium* türlerinin etanolü ekstraktlarının karagenin ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçları

Materyal	Kullanılan Kısım	Doz mg/kg	Şişme Kalınlığı (x10 ⁻² mm) ± SEM (% inhibisyon)			
			90 dk	180 dk	270 dk	360 dk
Kontrol			43.5 ± 6.0	49.8 ± 6.4	57.2 ± 5.9	63.2 ± 5.8
<i>Eryngium campestre</i>	TÜ	200	30.3 ± 2.8 (30.3)	35.7 ± 2.3 (28.3)	40.3 ± 3.2 (29.5)	42.7 ± 3.9 (32.4)*
	TA	200	32.2 ± 4.8 (25.9)	35.0 ± 4.8 (29.7)	36.8 ± 3.8 (35.7)*	38.6 ± 3.3 (38.9)**
<i>Eryngium creticum</i>	TÜ	200	36.6 ± 5.0 (15.9)	40.3 ± 4.7 (19.1)	45.3 ± 4.3 (20.8)	48.8 ± 4.5 (22.8)
	TA	200	31.5 ± 3.2 (27.6)	33.5 ± 3.2 (32.7)	35.8 ± 2.9 (37.4)**	40.2 ± 2.9 (36.4)**
<i>Eryngium davisii</i>	TÜ	200	37.2 ± 4.7 (14.5)	40.8 ± 4.8 (18.1)	44.8 ± 5.2 (21.7)	48.7 ± 4.9 (22.9)
	TA	200	34.4 ± 5.1 (20.9)	36.9 ± 3.5 (25.9)	41.1 ± 4.1 (28.1)	44.2 ± 3.5 (25.4)
<i>Eryngium falcatum</i>	TÜ	200	40.1 ± 3.9 (7.8)	45.6 ± 5.0 (8.4)	51.2 ± 5.1 (10.5)	53.2 ± 4.4 (15.8)
	TA	200	40.7 ± 5.5 (6.4)	45.1 ± 5.6 (9.4)	48.6 ± 5.7 (15.0)	51.3 ± 4.1 (18.8)
<i>Eryngium isauricum</i>	TÜ	200	25.8 ± 3.3 (40.7)*	26.8 ± 3.1 (46.2)*	29.8 ± 2.8 (47.9)**	32.8 ± 2.8 (48.1)***
	TA	200	32.4 ± 4.1 (25.6)	36.3 ± 4.2 (26.7)	41.7 ± 4.0 (27.1)	47.5 ± 3.2 (26.4)
<i>Eryngium kotschy</i>	TÜ	200	36.9 ± 7.4 (15.2)	38.6 ± 7.3 (22.5)	41.5 ± 5.6 (27.4)	41.2 ± 3.1 (34.8)**
	TA	200	28.8 ± 3.1 (33.8)*	32.5 ± 2.3 (34.7)*	36.7 ± 2.5 (35.8)*	37.6 ± 2.6 (40.5)**
<i>Eryngium maritimum</i>	TÜ	200	31.6 ± 4.9 (27.4)	35.0 ± 4.2 (29.7)	35.1 ± 3.9 (38.6)*	36.1 ± 3.3 (42.9)***
	TA	200	35.8 ± 4.3 (17.7)	39.3 ± 4.8 (21.1)	42.0 ± 5.8 (26.6)	43.5 ± 5.7 (31.2)
<i>Eryngium trisetum</i>	TÜ	200	33.4 ± 6.2 (23.2)	38.4 ± 5.6 (22.9)	42.7 ± 5.6 (25.3)	41.6 ± 3.3 (34.2)**
	TA	200	32.4 ± 7.7 (25.9)	35.7 ± 6.2 (28.3)	37.8 ± 3.8 (33.9)*	39.3 ± 5.7 (37.8)**
İndometazin		10	28.2 ± 2.5 (35.2)*	28.7 ± 2.3 (42.4)**	32.0 ± 2.0 (44.1)***	32.5 ± 2.2 (48.6)***

*: p<0.05, **: p<0.01; ***: p<0.001 kontrole göre anlamlı.

TÜ: topaküstü kısımlar; TA: toprakaltı kısımlar; SEM: ortalama standart hata



Şekil 3.11. *Eryngium* türlerinin etanollü ekstraktlarının karagenin ile oluşturulan ödem üzerindeki antiinflamatuvar aktivite sonuçlarının sütun grafiği şeklinde gösterimi. *: $p<0.05$, **: $p<0.01$; ***: $p<0.001$ kontrole göre anlamlı. TÛ: topraküstü kısımlar; TA: toprakaltı kısımlar; SEM: ortalama standart hata

3.2.3. TPA ile Oluşturulan Ödem Üzerindeki Antienflamatuvar Aktivite Tayini

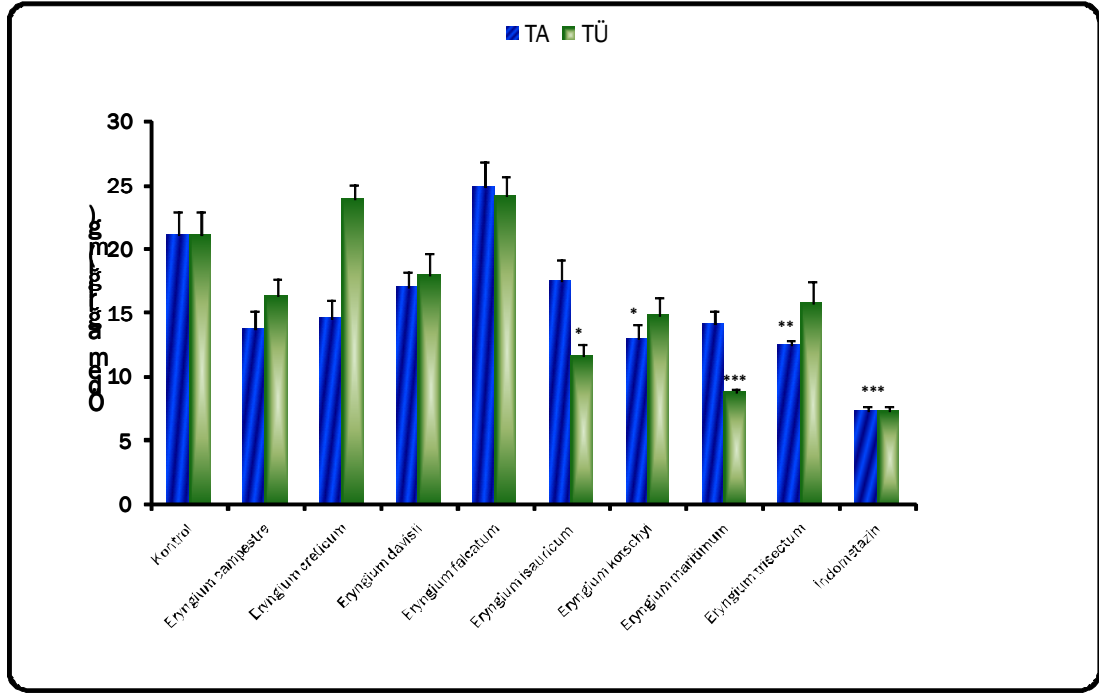
Sekiz *Eryngium* türünün toprakaltı ve topraküstü kısımlarının etanol ve sulu ekstraktlarının antienflamatuvar aktiviteleri tablo ve şekillerle gösterilmiştir.

Çizelge 3.10. *Eryngium* türlerinin etanolü ekstraktlarının TPA ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçları

Materyal	Kullanılan Kısım	Doz (mg/kulak)	Ödem ağırlığı (mg) $\pm$ SEM	% İnhibisyon
Kontrol			21.1 $\pm$ 1.8	
<i>Eryngium campestre</i>	TÜ	0.5	16.3 $\pm$ 1.4	22.7
	TA	0.5	13.7 $\pm$ 1.5	35.1
<i>Eryngium creticum</i>	TÜ	0.5	23.9 $\pm$ 1.2	-
	TA	0.5	14.5 $\pm$ 1.5	31.3
<i>Eryngium davisii</i>	TÜ	0.5	17.9 $\pm$ 1.8	15.2
	TA	0.5	16.9 $\pm$ 1.3	19.9
<i>Eryngium falcatum</i>	TÜ	0.5	24.1 $\pm$ 1.6	-
	TA	0.5	24.8 $\pm$ 2.0	-
<i>Eryngium isauricum</i>	TÜ	0.5	11.6 $\pm$ 0.9	45.0*
	TA	0.5	17.5 $\pm$ 1.7	17.1
<i>Eryngium kotschy</i>	TÜ	0.5	14.7 $\pm$ 1.5	30.3
	TA	0.5	12.9 $\pm$ 1.2	38.9*
<i>Eryngium maritimum</i>	TÜ	0.5	8.7 $\pm$ 0.4	58.8***
	TA	0.5	14.1 $\pm$ 1.1	33.2
<i>Eryngium trisectum</i>	TÜ	0.5	15.7 $\pm$ 1.8	25.6
	TA	0.5	12.4 $\pm$ 0.4	41.2**
İndometazin		1	7.3 $\pm$ 0.4	65.4***

*, p<0.05, **, p<0.01; ***, p<0.001 kontrole göre anlamlı.

TÜ: topraküstü kısımlar; TA: toprakaltı kısımlar; SEM: ortalama standart hata



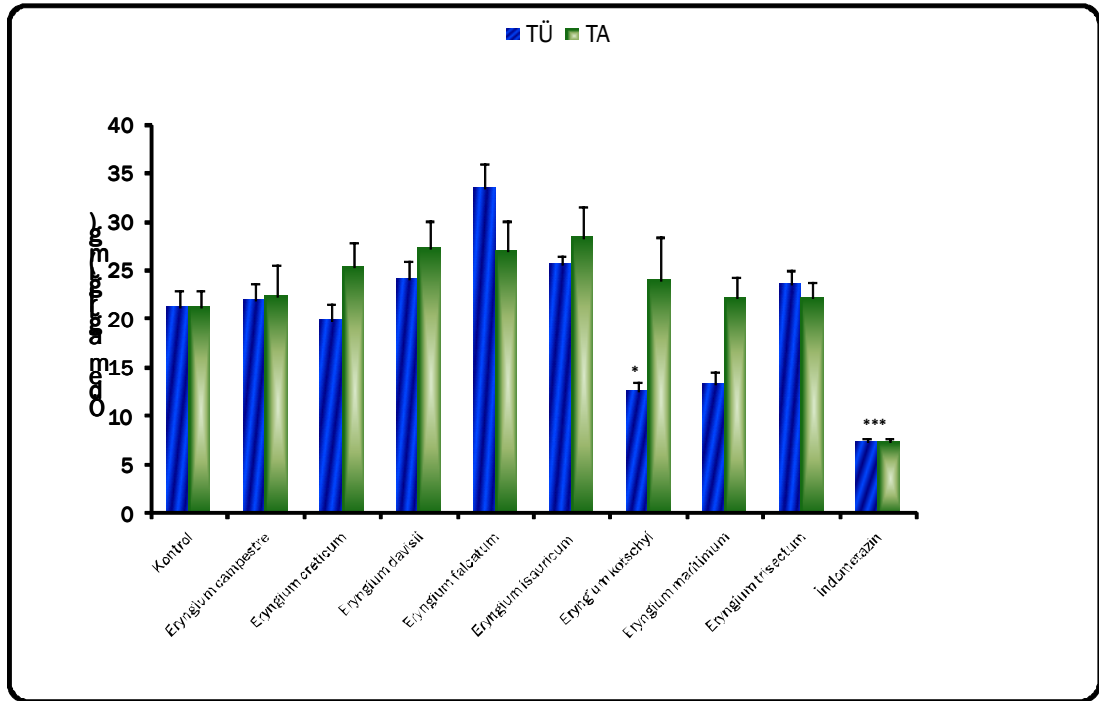
Şekil 3.12. *Eryngium* türlerinin etanollü ekstrelerinin TPA ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçlarının sütun grafiği şeklinde gösterimi. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$ kontrole göre anlamlı. TÛ: topraküstü kısımlar; TA: toprakaltı kısımlar; SEM: ortalama standart hata

Çizelge 3.11. *Eryngium* türlerinin sulu ekstralarının TPA ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçları

Materyal	Kullanılan Kısım	Doz (mg/kulak)	Ödem ağırlığı (mg) $\pm$ SEM	% İnhibisyon
Kontrol			21.1 $\pm$ 1.8	
<i>Eryngium campestre</i>	TÜ	0.5	21.9 $\pm$ 1.7	-
	TA	0.5	22.3 $\pm$ 3.3	-
<i>Eryngium creticum</i>	TÜ	0.5	19.8 $\pm$ 1.7	6.2
	TA	0.5	25.3 $\pm$ 2.5	-
<i>Eryngium davisii</i>	TÜ	0.5	24.0 $\pm$ 1.9	-
	TA	0.5	27.2 $\pm$ 2.8	-
<i>Eryngium falcatum</i>	TÜ	0.5	33.3 $\pm$ 2.6	-
	TA	0.5	26.9 $\pm$ 3.2	-
<i>Eryngium isauricum</i>	TÜ	0.5	25.5 $\pm$ 1.0	-
	TA	0.5	28.3 $\pm$ 3.3	-
<i>Eryngium kotschy</i>	TÜ	0.5	12.5 $\pm$ 1.0	40.8*
	TA	0.5	23.9 $\pm$ 4.5	-
<i>Eryngium maritimum</i>	TÜ	0.5	13.2 $\pm$ 1.4	37.4
	TA	0.5	22.1 $\pm$ 2.2	-
<i>Eryngium trisectum</i>	TÜ	0.5	23.5 $\pm$ 1.5	-
	TA	0.5	22.1 $\pm$ 1.7	-
Indometazin		1	7.3 $\pm$ 0.4	65.4***

*, p<0.05, **, p<0.01; ***, p<0.001 kontrole göre anlamlı.

TÜ: topraküstü kısımlar; TA: toprakaltı kısımlar; SEM: ortalama standart hata



Şekil 3.13. *Eryngium* türlerinin sulu ekstrelerinin TPA ile oluşturulan ödem üzerindeki antienflamatuvar aktivite sonuçlarının sütun grafiği şeklinde gösterimi. *: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$ kontrole göre anlamlı. Tü: topraküstü kısımlar; TA: toprakaltı kısımlar; SEM: ortalama standart hata

3.2.4. *Eryngium kotschy* TA MeOH Ekstresinin Sıvı-sıvı Ekstraksiyonu ile Elde Edilen Fraksiyonların Antinosiseptif Aktivite Tayini

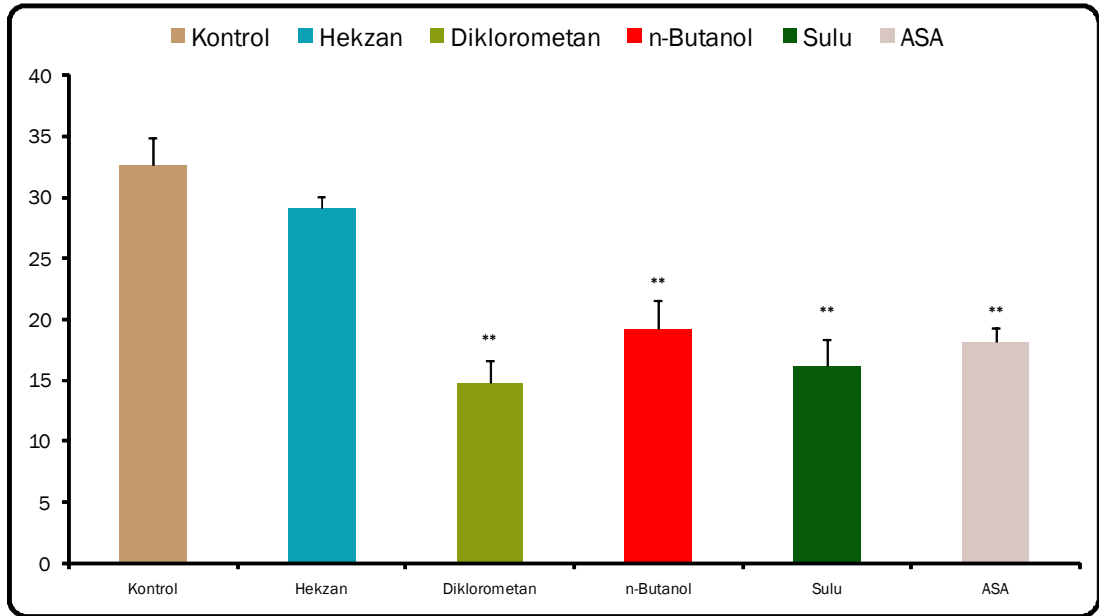
Eryngium kotschy bitkisinin TA kısımlarından elde edilen MeOH'lü ekstre yoğunlaştırıldıktan sonra bir miktar suda çözülüp sırasıyla hekzan, CH_2Cl_2 ve n-BuOH (suya doyurulmuş) ile sıvı-sıvı ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstreler üzerinde, aktif fraksiyonunu/fraksiyonlarını saptamak amacıyla kıvranma testi ve sıcak levha testi ile antinosiseptif aktiviteleri test edilmiştir. Sonuçlar tablo ve sütun grafiği şeklinde gösterilmiştir.

3.2.4.1. *Eryngium kotschy* TA Ekstrelerinin Kıvrınma Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini

Çizelge 3.12. *Eryngium kotschy* TA ekstrelerinin asetik asit ile oluşturulan kıvrınma refleksi üzerine aktivitesi

Materyal	Doz (mg/kg)	Kıvrınma refleks sayısı $\pm$ SEM	Inhibisyon oranı (%)
Kontrol	% 0,6 (h/h)	32,67 $\pm$ 2,23	
Hekzan	200	29,17 $\pm$ 0,87	10,71
Diklorometan	200	14,83 $\pm$ 1,82**	54,61
n-Butanol	200	19,17 $\pm$ 2,41**	41,32
Sulu	200	16,17 $\pm$ 2,21**	50,51
ASA	200	18,17 $\pm$ 1,14**	49,71

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.005$ kontrole göre anlamlı. SEM: ortalama standart hata; kontrol olarak asetik asitin %0,6' h/h'lik çözeltisi kullanılmıştır. ASA: Asetilsalisilik asit



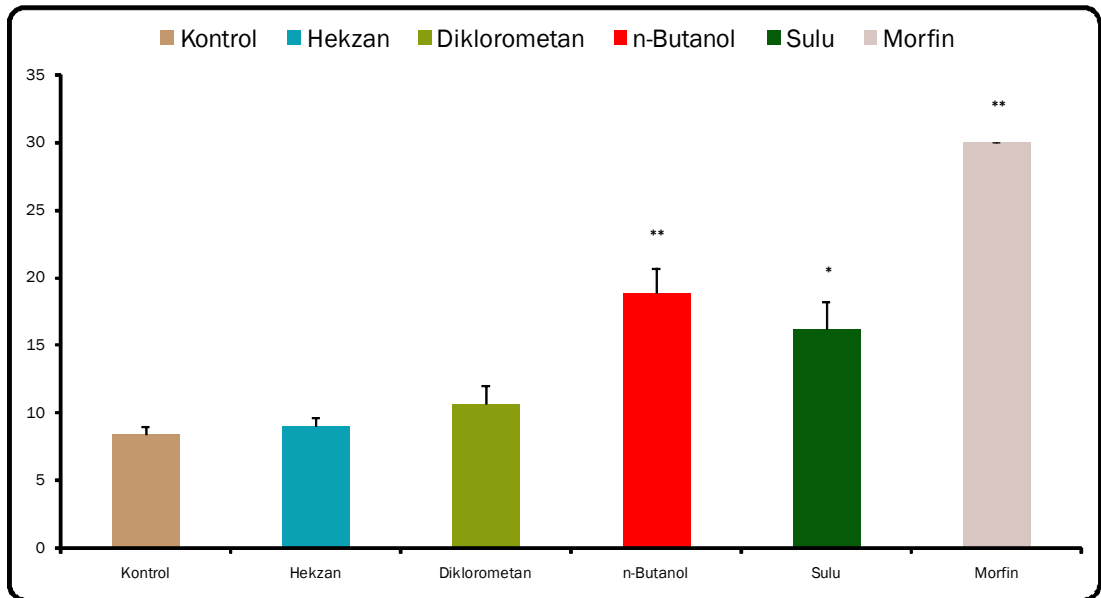
Şekil 3.14. *Eryngium kotschy* TA ekstrelerinin asetik asit ile oluşturulan kıvrınma refleksi üzerine aktivitesinin sütun grafiği şeklinde gösterimi. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.005$ kontrole göre anlamlı. SEM: ortalama standart hata; kontrol olarak asetik asitin %0,6' h/h'lik çözeltisi kullanılmıştır. ASA: Asetilsalisilik asit

3.2.4.2. *Eryngium kotschy* TA Ekstrelerinin Sıcak Levha Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini

Çizelge 3.13. *Eryngium kotschy* TA ekstrelerinin sıcak levha testindeki antinosiseptif aktivite sonuçları

Materyal	Doz (mg/kg)	Ayak çekme süresi (s) $\pm$ SEM
Kontrol	-	8,33 $\pm$ 0,67
Hekzan	200	9,00 $\pm$ 0,63
Diklorometan	200	10,67 $\pm$ 1,31
n-Butanol	200	18,83 $\pm$ 1,81*
Sulu	200	16,17 $\pm$ 2,09
Morfin	10	30 $\pm$ 0**

*: p<0.05, **: p<0.005 kontrole göre anlamlı. SEM: ortalama standart hata



Şekil 3.15. *Eryngium kotschy* ekstrelerinin sıcak levha testindeki antinosiseptif aktivite sonuçlarının sütun grafiği şeklinde gösterimi. *: p<0.05, **: p<0.005 kontrole göre anlamlı. SEM: ortalama standart hata

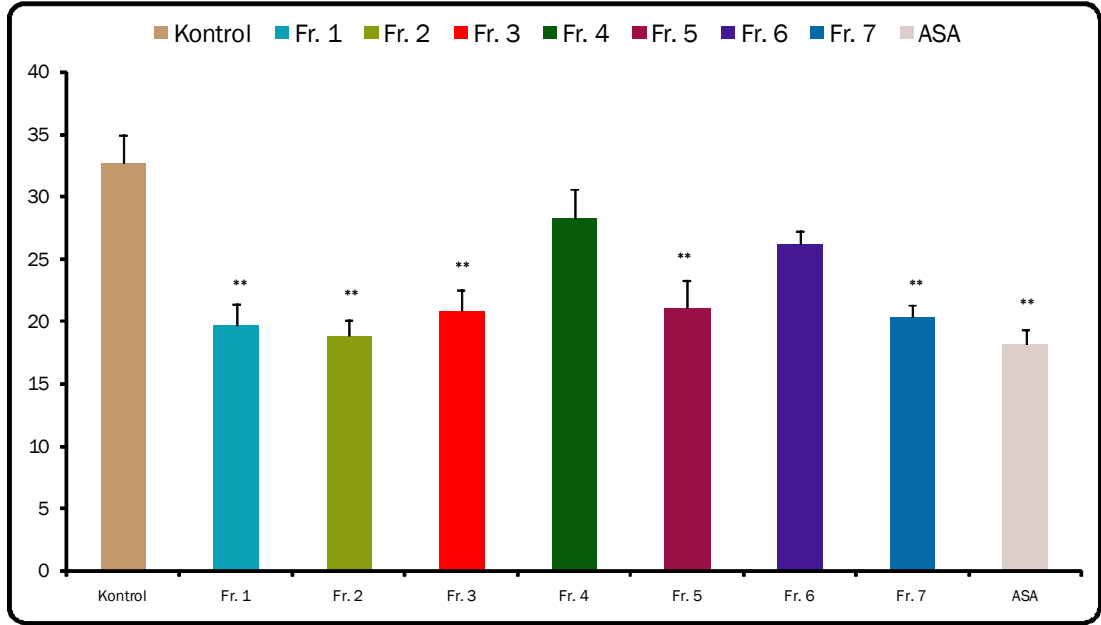
3.2.5. n-BuOH Silika Jel Kolon Kromatografisinden Elde Edilen Fraksiyonlarının Antinosiseptif Aktivite Tayini

3.2.5.1. n-BuOH Fraksiyonlarının Kıvrınma Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini

Çizelge 3.14. n-BuOH fraksiyonlarının asetik asit ile oluşturulan kıvrınma refleksi üzerine aktivitesi

Materyal	Doz (mg/kg)	Kıvrınma refleks sayısı $\pm$ SEM	Inhibisyon oranı (%)
Kontrol	% 0,6	32,67 $\pm$ 2,23	
Fr. 1	200	19,60 $\pm$ 1,75**	40,01
Fr. 2	200	18,83 $\pm$ 1,25**	42,36
Fr. 3	200	20,83 $\pm$ 1,62**	36,24
Fr. 4	200	28,17 $\pm$ 2,41	13,77
Fr. 5	200	21,00 $\pm$ 2,25**	35,72
Fr. 6	200	26,17 $\pm$ 1,08	19,90
Fr. 7	200	20,33 $\pm$ 0,99**	37,77
ASA	200	18,17 $\pm$ 1,14	44,38

*, p<0.05, **, p<0.005 kontrole göre anlamlı. SEM: ortalama standart hata; kontrol olarak asetik asitin %0,6' h/h'lik çözeltisi kullanılmıştır. ASA: Asetilsalisilik asit



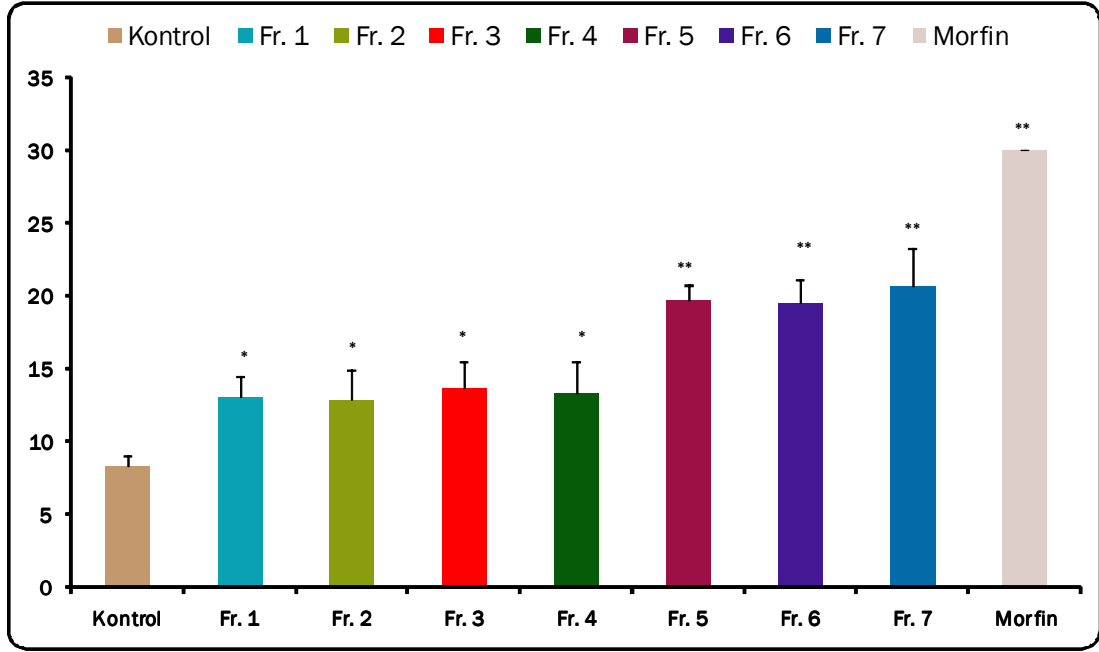
Şekil 3.16. n-BuOH fraksiyonlarının asetik asit ile oluşturulan kıvrınma refleksi üzerine aktivitesinin sütun grafiği şeklinde gösterimi. *: $p<0.05$, **: $p<0.005$ kontrole göre anlamlı. SEM: ortalama standart hata; kontrol olarak asetik asitin %0,6' h/h'lik çözeltisi kullanılmıştır. ASA: Asetilsalisilik asit

3.2.5.2. n-BuOH Fraksiyonlarının Sıcak Levha Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini

Çizelge 3.15. n-BuOH fraksiyonlarının sıcak levha testindeki antinosiseptif aktivite sonuçları

Materyal	Doz (mg/kg)	Ayak çekme süresi (s) $\pm$ SEM
Kontrol	-	8,33 $\pm$ 0,67
Fr. 1	200	13,00 $\pm$ 1,51*
Fr. 2	200	12,83 $\pm$ 2,09*
Fr. 3	200	13,67 $\pm$ 1,78*
Fr. 4	200	13,33 $\pm$ 2,11*
Fr. 5	200	19,67 $\pm$ 1,12**
Fr. 6	200	19,5 $\pm$ 1,65**
Fr. 7	200	20,67 $\pm$ 2,59**
Morfin	10	30 $\pm$ 0**

*, $p<0.05$, **, $p<0.005$ kontrole göre anlamlı. SEM: ortalama standart hata



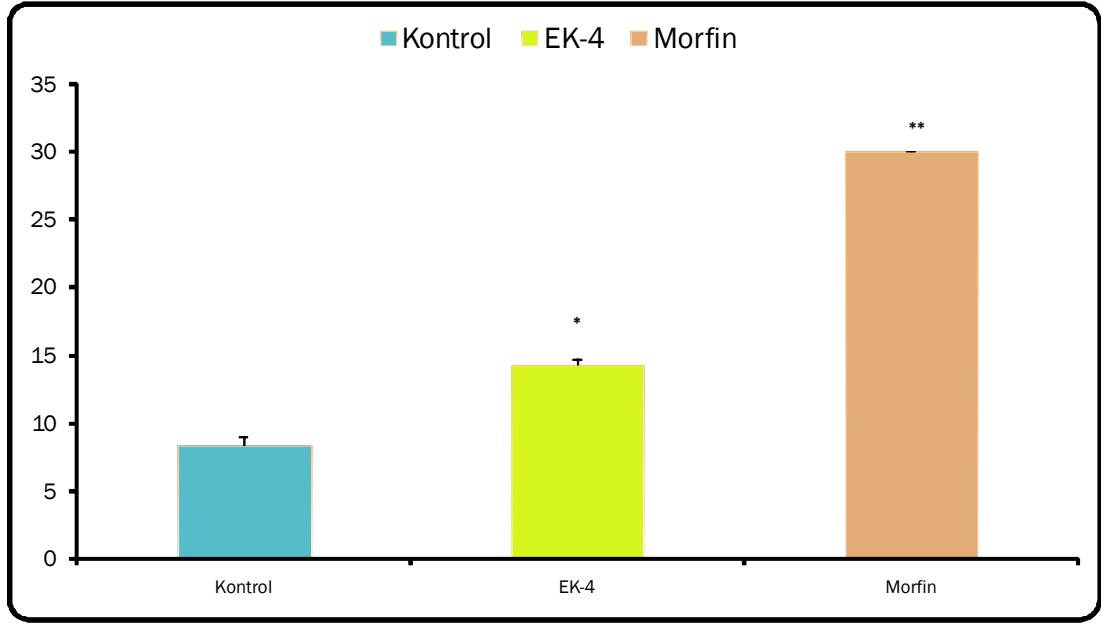
Şekil 3.17. n-BuOH fraksiyonlarının sıcak levha testindeki antinosiseptif aktivite sonuçlarının sütun grafiği şeklinde gösterimi. *: $p<0.05$, **: $p<0.005$ kontrole göre anlamlı. SEM: ortalama standart hata

3.2.6. EK-4 Bileşiğinin Sıcak Levha Testi ile Antinosiseptif Aktivite Tayini

Çizelge 3.16. EK-4 bileşiğinin sıcak levha testindeki antinosiseptif aktivite sonucu

Materyal	Doz (mg/kg)	Ayak çekme süresi (s) ± SEM
Kontrol	-	8,33 ± 0,67
EK-4	200	14,33 ± 0,33*
Morfin	10	30 ± 0**

*, $p<0.05$, **, $p<0.005$ kontrole göre anlamlı. SEM: ortalama standart hata



Şekil 3.18. EK-4 bileşiminin sıcak levha testindeki antinosiseptif aktivite sonucunun sütun grafiği şeklinde gösterimi. *: $p<0.05$, **: $p<0.005$ kontrole göre anlamlı. SEM: ortalama standart hata

4. TARTIŞMA

Eryngium türleri Türkiye’de ve dünyada geleneksel kullanımda yer bulan bitkilerdir. Anadolu’da *Eryngium campestre* bitkisinin topraküstü kısımları ve kökleri öksürük kesici, idrar arttırıcı, iştah açıcı, afrodizyak, akrep sokmasına karşı; *Eryngium billardieri* bitkisinin genç gövdesi kabuğu soyulduktan sonra yiyecek olarak ve yara iyi edici olarak kullanılır (Yeşilada ve ark., 1989; Baytop, 1999). *Eryngium maritimum* Akdeniz ülkelerinde, solunum sistemi hastalıklarında, ödem giderici ve ağrı kesici olarak (Lisciani ve ark., 1984; Gonzáles-Tejero ve ark., 2008); *Eryngium creticum* Ürdün’de halk arasında akrep sokmalarına karşı kullanılır (Afifi ve ark., 1990).

Çalışma konusu olarak seçilen türlerden *Eryngium maritimum* ve *Eryngium campestre*’nin Türkiye’de ve dünyada çeşitli bölgelerde; *Eryngium creticum* Ürdün’de halk arasında kullanılışları olan türlerdendir. Diğer türlerden *Eryngium falcatum* dışında olanlar endemiktir. Bu türlerden *Eryngium davisii*, *Eryngium isauricum*, *Eryngium kotschy* ve *Eryngium trisectum*’dur; yaptığımız literatür araştırmaları sonucunda bu dört tür ve *Eryngium falcatum* ile ilgili herhangi bir fitokimyasal veya biyolojik aktivite çalışmasına rastlanmamıştır. *Eryngium maritimum* ve *Eryngium campestre* Türkiye’de ve dünyada; *Eryngium creticum* ise dünyada halk arasında kullanılışları olan bitkilerdir; bu bitkilerin halk arasındaki kullanılışlarını değerlendirmek ve doğrulamak için, az sayıda biyolojik aktivite çalışmalarına (antienflamatuvar aktivite, analjezik aktivite, akrep ve yılan sokmasına karşı etki çalışmaları) rastlanmıştır (Lisciani ve ark., 1984; Meot-Duros ve ark., 2008; Dall’Acqua ve ark., 2008).

Çalışmamızda Türkiye’de yetişen sekiz *Eryngium* türünün (*Eryngium campestre*, *Eryngium creticum*, *Eryngium davisii*, *Eryngium falcatum*, *Eryngium isauricum*, *Eryngium kotschy*, *Eryngium maritimum*, *Eryngium trisectum*) köklerinin ve topraküstü kısımlarının analjezik ve antienflamatuvar özellikleri araştırılarak aktivitesi en yüksek olan türden hareketle bu etkiyi sağlayan bileşik/bileşiklerin

tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu sayede halk arasındaki kullanılışları da bilimsel olarak doğrulanacaktır. Çeşitli araştırmacılar tarafından günümüze kadar yapılan çalışmalarda, bitkide bulunan triterpenik saponinlerin aktiviteden sorumlu etken madde grubu olduğu tespit edildiği için (Yeşilada ve ark., 1989) çalışmaların triterpenik saponinlerin izolasyonuna yönelik olması da hedeflenmiştir. Çalışmamızda ilk olarak 8 bitkinin toprakaltı ve üstü kısımları ile önçalışma niteliğinde bir tarama yapılmıştır.

Farelerde karagenin ile oluşturulan pençe ödem testinde sekiz türün toprakaltı ve topraküstü kısımlarının sulu ve etanollü ekstraktları kullanılmıştır. Deney sonuçları değerlendirildiğinde 8 türün de toprakaltı ve topraküstü kısımlarının etanollü ekstraktlarının belirgin antienflamatuar aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *Eryngium isauricum* topraküstü kısımlarının etanollü ekstresi en yüksek aktiviteyi (% 48,1 inhibisyon) gösterirken *Eryngium kotschy* topraküstü kısımlarının sulu ekstresi (% 43,4), *Eryngium maritimum* toprakaltı kısımlarının etanollü ekstresi (% 42,9) ve *Eryngium kotschy* toprakaltı kısımlarının etanollü ekstresi (% 40,5) bunu takip etmektedir. Sulu ekstraktlarda en yüksek aktivite *Eryngium kotschy* topraküstü kısımlarında gözlenirken; *Eryngium campestre* topraküstü, *Eryngium falcatum* topraküstü ve *Eryngium maritimum* kök ekstraktlarında antienflamatuar aktiviteye rastlanmamıştır. *Eryngium kotschy* bitkisinin tüm ekstraktlarının anlamlı aktivite göstermesi dikkat çekmektedir.

TPA ile oluşturulan fare kulak ödem testinde *Eryngium maritimum* topraküstü kısımları (% 58,8) inhibisyon oranı en yüksek aktiviteyi göstermiştir; bunu *Eryngium isauricum* topraküstü kısımlarının etanollü ekstresi (% 45,0), *Eryngium trisetum* toprakaltı kısımları etanol ekstresi (% 41,2), *Eryngium kotschy* topraküstü kısımlarının sulu ekstresi (% 40,8) ile *Eryngium kotschy* toprakaltı kısımlarının etanollü ekstresi (% 38,9) takip etmektedir. *Eryngium falcatum*'un hiçbir ekstresinde aktivite gözlenmemiştir. *Eryngium campestre*'nin toprakaltı kısımlarından elde edilen ekstraktlarda, *Eryngium creticum*'un topraküstü kısımlarının sulu ve toprakaltı kısımlarının etanollü ekstresi, *Eryngium davisii*'nin ve *Eryngium isauricum* ve *Eryngium trisetum*'un sulu ekstraktları ile *Eryngium kotschy* ve *Eryngium*

maritimum'un toprakaltı kısımlarının sulu ekstreleri hariç diğer üç ekstrelerinde anlamlı aktivite gözlenmiştir.

Lisciani ve arkadaşlarının (1984) bir çalışmasında *Eryngium maritimum*'un toprakaltı kısımlarından hazırlanan hidrofilik ekstre, 4 g kuru bitki materyaline denk gelen 1248 mg/kg dozda, Wistar ratlar üzerinde karagenin ile oluşturulan pençe ödemi testinde anlamlı düzeyde antienflamatuvar aktivite gösterirken, pamuk pellet granuloma testinde inaktif bulunmuştur. Pamuk pellet granuloma testinde aktiviteden steroidal yapıda bileşikler sorumludur; bu yüzden aktivitenin steroidal yapıda olmayan bileşiklerden ileri gelebileceği belirtilmiştir. Hidrofilik ekstre fraksiyonlanmış ve bu fraksiyonlardan zayıf alkali özellikte olan fraksiyonun (*i.p.* 8 g kuru bitki materyaline denk gelen 93 mg/kg dozda ve oral uygulamada 186 mg/kg dozda) en yüksek aktiviteyi gösterdiği belirlenmiştir (*i.p.* uygulamada %47; oral uygulamada % 35 inhibisyon); *i.p.* uygulamada oral uygulamaya göre daha yüksek aktivite gözlemlendiği de belirtilmiştir. Aktiviteden sorumlu maddeler teşhis edilememiş ancak köklerin içeriğinde bulunan triterpenik saponinlerin veya flavonoidlerin aktiviteden sorumlu olabileceği belirtilmiştir. Çalışmamızda karagenin ile oluşturulan pençe ödemi testi fareler üzerinde denenmiştir; bu yüzden tam bir karşılaştırma yapmak mümkün değildir ancak her iki çalışmada da anlamlı antienflamatuvar aktivite gözlenmiştir. Sonuçlar bu anlamda paralellik göstermektedir.

Bir başka çalışmada, *Eryngium foetidum* yapraklarından elde edilen dekoksilyonun sıçanlarda karagenin ile oluşturulan pençe ödem testinde 250, 500 ve 750 mg/kg dozlarda anlamlı ve doza bağımlı antienflamatuvar aktivite gösterdiği belirlenmiştir. TPA ile oluşturulan fare kulak ödem testinde hafif antienflamatuvar aktivite gözlenmiştir. Çalışmamızda, *Eryngium kotschy* ve *Eryngium maritimum*'un topraküstü kısımlarında anlamlı oranda aktivite gözlenirken diğer ekstrelerde az veya çok aktivite gözlenmiş ya da hiç gözlenmemiştir. Bu çalışmada topikal uygulama ile aktivite değerlendirilirken; çalışmamızda aynı deney oral uygulama ile gerçekleştirilmiştir; uygulama şekli ve doz farklı olduğu için iki çalışma karşılaştırılmamıştır (Sáenz ve ark., 1997).

Yeşilada ve arkadaşları (1989) tarafından yapılan bir çalışmada, *Eryngium billardieri* köklerinin fraksiyonlanması ile elde edilen n-BuOH ekstresinin çöktürülen kısmının serotonin, bradikinin ve karagenin ile oluşturulan pençe ödem testlerinde anlamlı antienflamatuvar aktiviteye sahip olduğunu, bu fraksiyonun saponin karışımından oluştuğunu saptanmıştır. Antienflamatuvar aktivitenin içerdiği saponinlerden kaynaklanabileceği de belirtilmiştir.

Çalışmamızda yapılan biyoaktivite deneyleri bütün olarak değerlendirildiğinde istatistiksel olarak en anlamlı aktivite *Eryngium kotschy* ve *Eryngium maritimum* türlerinde gözlenmiştir. TPA ile oluşturulan ödem testi ile tüm ekstreler aktivite yönünden zayıf özellik göstermişlerdir. Karagenin ile oluşturulan pençe ödem testi sonuçlarına bakıldığında hemen tüm ekstrelerde aktivite gözlenmiştir ancak istatistiksel olarak anlamlı cevaplar birkaç taneyi geçmemiştir.

p-Benzokinon ile oluşturulan kıvrınma testinde bir ekstre hariç diğer tüm ekstreler aktivite göstermişlerdir; istatistiksel açıdan da etanollü ekstrelerin hemen hepsi anlamlı düzeyde aktif bulunmuştur; sulu ekstrelerde ise sadece iki ekstre anlamlı düzeyde aktivite göstermiştir.

Bütün olarak bakıldığında 8 tür arasında aktivitesi en yüksek 2 tür göze çarpmaktadır: *Eryngium kotschy* ve *Eryngium maritimum*; bu iki tür arasında kıyaslama yapılırsa *Eryngium kotschy*'nin sonuçları daha yüksektir; bu yüzden izolasyon çalışmalarında bu türün kullanılmasına karar verilmiştir. *Eryngium* türlerinin majör madde grubu olarak saponin taşıması sebebiyle, *Eryngium kotschy* topraküstü ve toprakaltı kısımları İTK ile değerlendirildiğinde toprakaltı kısımların saponince zengin bulunurken topraküstü kısımlarda çok az saponin olduğu gözlenmiştir. Önceki çalışmalarda biyoaktiviteden, bitkide bulunan saponinlerin sorumlu olabileceği belirtilmiştir (Yeşilada ve ark., 1989; Lisciani ve ark., 1984). Bu sonuçlar ışığında izolasyon çalışmalarına toprakaltı kısımlarla devam edilmesine karar verilmiştir. Bitkinin toprak altı ve topraküstü kısımları kendi arasında değerlendirildiğinde biri hariç tüm deneylerde aktivite gözlenmiştir. Topraküstü kısımların genelde sulu ekstreleri istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar ortaya koyarken;

toprakaltı kısımların ise etanollü ekstreleri istatistiksel olarak anlamlı aktivite göstermiştir. Bu da topraküstü ve toprakaltı kısımlarda aktiviteden sorumlu etken madde gruplarının birbirinden farklı olabileceğini düşündürmektedir.

Eryngium kotschy bitkisinin toprakaltı kısımlarının MeOH ekstresinin sıvı-sıvı ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstrelerin antinosiseptif aktivitesi sıcak levha ve kıvranma testleri ile gerçekleştirilmiştir. Sıcak levha testinde n-BuOH, su, diklorometan ve hekzan ekstrelerinin hepsinin antinosiseptif aktivitelerinin olduğu ve bunlar arasında en etkin ekstrenin n-BuOH ekstresi olduğu ($P<0,05$) saptanmıştır. Kıvranma testinde n-BuOH, su, diklorometan ve hekzan ekstrelerinin hepsinin antinosiseptif aktivitelerinin olduğu ve bunlar arasında en zayıf aktiviteyi hekzan ekstresinin gösterdiği saptanmıştır. n-BuOH, su ve diklorometan ekstreleri ise kontrole göre anlamlı ($P<0,005$) antinosiseptif aktivite göstermişlerdir.

n-BuOH ekstresinin silika jel kolon kromatografisi sonucu elde edilen 7 ayrı fraksiyonun incelemesinde sıcak levha testinde, **Fr. 5**, **Fr. 6** ve **Fr. 7**'nin diğerlerine göre antinosiseptif aktivite açısından daha aktif olduğu, kontrole göre en belirgin farkın **Fr. 7**'de olduğu ($P<0,005$) saptanmıştır. Kıvranma testinde ise **Fr. 4** ve **Fr. 6** dışındakilerin daha yüksek ve birbirlerine oldukça yakın antinosiseptif aktivite gösterdikleri saptanmıştır ($P<0,005$). **Fr. 7**'den elde edilen **EK-4** kodlu bileşiğin antinosiseptif aktivitesi sıcak levha testi ile belirlenmiştir. Bu bileşiğin aktivitesi ana ekstre olan n-BuOH ve **Fr. 7**'ye göre daha düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar ışığında, n-BuOH ekstresinde ve **Fr. 7**'de gözlenen antinosiseptif aktivitenin tek bir maddeden değil, birden fazla maddenin sinerjistik aktivitesinin birleşiminden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Eryngium türlerinin fitokimyasal içeriği ile ilgili yapılan araştırmaların; bitkinin başlıca toprakaltı ve daha sonra topraküstü kısımlarında gerçekleştirilen, triterpenik saponin izolasyonu üzerinde yoğunlaştığı saptanmıştır (Hiller ve ark., 1970; Hiller ve ark., 1974; Hiller ve ark., 1978; Abu-Asaker, 2005; Kartal ve ark., 2006; Zhang ve ark., 2008). Kronolojik açıdan; fitokimyasal çalışmalar daha çok 1970'li yıllarda yapılmıştır; 1980 ve 1990'lı yıllarda saponinler üzerinde fitokimyasal çalışmalara

rastlanmazken; 2005 yılından sonra da birkaç çalışmaya rastlanmıştır. Ayrıca 1970’li yıllarda yapılan araştırmaların çoğunda, saponinlerin yapılarının kompleks olması ve yapı aydınlatılmasında kullanılan metotların yetersiz olması nedeniyle; aglikonların özellikle açıl sübstitüentleri tam olarak belirlenememiş; birbirinin izomeri olan açiller olası sübstitüentler olarak gösterilmiştir.

Triterpenik saponinlerden sonra en fazla uçucu yağları üzerinde yapılan çalışmalara rastlanmıştır; çalışmalar genellikle bir türün birbirinden farklı kısımlarından elde edilen uçucu yağların bileşimlerinin karşılaştırması şeklindedir (Palá-Paúl ve ark., 2007; Flamini ve ark., 2008); sadece topraküstü kısımlarından veya yapraklardan elde edilen uçucu yağların bileşimlerinin saptandığı çalışmalar da bulunmaktadır (Brophy ve ark., 2003; Aslan ve Kartal, 2006).

Eryngium kotschy üzerinde yapmış olduğumuz izolasyon çalışmaları sonucunda triterpenik saponin yapısında dört bileşik izole edilmiştir. Bileşiklerin üçünün (EK-1, EK-2 ve EK-4) A1-barrigenol ana yapısına sahip olduğu saptanmıştır. EK-4 bileşiği ise ana yapı olarak benzemekle birlikte 15. konumda hidroksil taşıması ve 16. konumda keton grubu taşıması ile diğerlerinden ayrılmıştır. Yaptığımız literatür araştırmaları sonucunda Hiller ve arkadaşlarının (1970; 1976²), *Eryngium* türleri üzerinde yaptıkları izolasyon çalışmalarında A1-barrigenol yapısında aglikonlar izole ettikleri saptanmış; ancak yapı tayinleri aglikon düzeyinde kalmış, herhangi bir saponin tayinine rastlanmamıştır. Kartal ve arkadaşları (2006) *Eryngium campestre*’nin köklerinden A1-barrigenol yapısında bileşikler izole etmişlerdir. EK-2 bileşiğinin aglikonu, Kartal ve arkadaşlarının (2006) izole ettiği bileşiklerden biri ile aynıdır; şeker olarak da iki bileşiğin aynı şekerleri taşıdıkları saptanmıştır; ancak şekerlerin birbirlerine bağlanma konumlarının farklı olduğu görülmüştür. EK-2 bileşiğindeki şeker grubu “ α -L-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glukurunopiranozil” iken Kartal ve arkadaşlarının izole ettiği saponinin şeker grubu “ α -L-ramnopiranozil- (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glukurunopiranozil”dir. *Eryngium yuccifolium* bitkisinden A1-barrigenol yapısında ve 22. konumda anjeloil taşıyan eringinozit H ve I olarak adlandırılan saponinler izole edilmiştir. EK-1 ve EK-4 bileşikleri aynı aglikon yapısındadırlar; ancak glikoziti oluşturan şeker gruplarının farklı olması ile bu bileşikler

birbirlerinden ayrılmaktadır. Bileşiklerin yapıları başlıca 1D (^1H -NMR ve ^{13}C -NMR) ve 2D (^1H - ^1H COSY, TOCSY, NOESY, HSQC, HMBC) NMR spektroskopisi ve FAB Kütle spektroskopisi teknikleri ile aydınlatılmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Türkiye’de yetişen sekiz *Eryngium* türünün toprakaltı ve topraküstü kısımlarının antienflamatuvar aktiviteleri karagenin ile oluşturulan pençe ödemi testi ve TPA ile oluşturulan fare kulak ödemi testi; antinosiseptif aktiviteleri fareler üzerinde *p*-benzokinon ile oluşturulan kıvrınma testi ile araştırılmış; sonuçta bütün türlerin az veya çok aktivite gösterdikleri belirlenmiştir.

Aktivite deneylerinde en belirgin aktiviteyi gösterdiği tespit edilen iki türden *Eryngium kotschy*, biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ile izolasyon çalışmalarında kullanılmak üzere seçilmiştir. Sonuçta triterpenik yapıda dört adet saponin izole edilmiştir. İzole edilen bileşikler saflaştırılarak spektroskopik yöntemlerle yapıları belirlenmiştir. 3-*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glukurunopiranozil-22-*O*-anjeloil-A1-barrigenol (EK-1), 3-*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glukurunopiranozil-22-*O*- β , β -dimetilakriloil-A1-barrigenol (EK-2), 3-*O*- β -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-glukopiranozil-21-*O*-asetil-22-*O*-asetil-28-*O*-asetil-3 β , 21 β , 22 α , 28-tetrahidroksiolean-12-en-16-okso (EK-3) ve 3-*O*- β -D-galaktopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-arabinopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -glukurunopiranozil-22-*O*-anjeloil-A1-barrigenol (EK-4) olarak aydınlatılmıştır. Bu bileşikler ilk kez tarafımızca izole edilip adlandırılmıştır.

İzole edilen saf maddelerin biri hariç, miktarları yetersiz olduğundan biyolojik aktivite çalışmaları tamamlanamamıştır. EK-4 kodlu 3-*O*- β -D-galaktopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-arabinopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -glukurunopiranozil-22-*O*-anjeloil-A1-barrigenol bileşiği, deney grubunda 3 hayvan ile çalışarak sıcak levha testi ile aktivitesi test edilmiş; sonuçta orta derecede antinosiseptif aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuç, aktiviteden sorumlu başka bileşikler olduğunu göstermektedir.

Sonuçlar halk arasında kullanılan *Eryngium campestre* ve *Eryngium maritimum* bitkilerinin bu aktivitelerini doğrular niteliktedir.

Bundan sonraki aşamalarda re-izolasyon yapılarak bileşiklerin tekrar izole edilmesi ve aktiviteden sorumlu diğer bileşiklerin araştırılması hedeflenmiştir. Halk arasında kullanılışı olan ve aktivite deneylerinde en belirgin aktiviteyi gösterdiği saptanan diğer tür olan *Eryngium maritimum*'un da biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ile aktiviteden sorumlu bileşikleri tespit edilebilir. Bu tespitler ileride yeni ilaçların geliştirilmesinde ve sentetik ilaç etken maddelerine model oluşturabilecek moleküllerin keşfi için yol gösterici olabilecektir.

ÖZET

Türkiye’de Yetişen Bazı *Eryngium* L. Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar

Eryngium L., Apiaceae familyasının en fazla türe sahip cinsi olup dünyada geniş yayılış gösterir ve halk arasında antienflamatuvar, ödem giderici, ağrı kesici, akrep ve yılan sokmalarına karşı kullanılır. Anadolu’da da benzer kullanılışlara sahiptir. Çalışmamızda *Eryngium campestre* L., *Eryngium creticum* Lam., *Eryngium davisii* Kit Tan&Yildiz, *Eryngium falcatum* Delar., *Eryngium isauricum* Contandr.&Quezel, *Eryngium kotschy* Boiss., *Eryngium maritimum* L. ve *Eryngium trisectum* A.Wörz & H.Duman türlerinin toprakaltı ve topraküstü kısımlarından sulu ve etanollü ekstratlar hazırlanmış; bunların antienflamatuvar aktiviteleri karagenin ile oluşturulan pençe ödemi testi ve TPA ile oluşturulan fare kulak ödemi testi kullanılarak; antinosiseptif aktiviteleri ise fareler üzerinde *p*-benzokinon ile oluşturulan kıvrınma testi kullanılarak araştırılmıştır. *Eryngium kotschy* türü her iki aktivite açısından en yüksek aktivite gösteren tür olarak saptanmıştır. Bitkinin toprakaltı kısımlarından hazırlanan metanollü ekstre hekzan, diklorometan ve *n*-butanol (su ile doyurulmuş) ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulduktan sonra çözücülerini uçurulan ekstratlar üzerinde asetik asit ile oluşturulan kıvrınma testi ve sıcak levha testi antinosiseptif aktivite tayini için uygulanmış; *n*-butanol ekstresinin anlamlı aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. İzolasyon çalışmalarına *n*-butanol fraksiyonu ile devam edilmiş; normal faz silika jel kolon kromatografisi ile ana fraksiyonlarına ayrılmış ve bu fraksiyonların da aktiviteleri test edilmiştir. Yüksek aktivite gösteren fraksiyonlar, çeşitli kromatografik aşamalara (normal faz silika jel MPLC, RP-18 silika jel MPLC) uygulandıktan sonra triterpenik yapıda olan dört bileşik izole edilmiştir. Yapıları başlıca 1D (¹H-NMR ve ¹³C-NMR) ve 2D (¹H-¹H COSY, TOCSY, NOESY, HSQC, HMBC) NMR spektroskopisi ve FAB Kütle spektroskopisi teknikleri ile aydınlatılmıştır. İzole edilen dört bileşik yeni bileşikler olup yapıları 3-*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glukurunopiranozil-22-*O*-anjeloil-A1-barrigenol, 3-*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glukurunopiranozil-22-*O*- β , β -dimetilakriloil-A1-barrigenol, 3-*O*- β -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-glukopiranozil-21-*O*-asetil-22-*O*-asetil-28-*O*-asetil-3 β , 21 β , 22 α , 28-tetrahidroksiolean-12-en-16-okso ve 3-*O*- β -D-galaktopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-arabinopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -glukurunopiranozil-22-*O*-anjeloil-A1-barrigenol olarak tayin edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin miktarları az olduğundan sadece 3-*O*- β -D-galaktopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-arabinopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -glukurunopiranozil-22-*O*-anjeloil-A1-barrigenol’un sıcak levha testi ile antinosiseptif aktivitesi araştırılmış; sonuçta anlamlı ama orta derecede antinosiseptif aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: *Eryngium* , *Apiaceae* (*Umbelliferae*), saponin, antinosiseptif aktivite, antienflamatuvar aktivite, izolasyon.

SUMMARY

Pharmacognostic Studies on some *Eryngium* L. Species Growing in Turkey

The genus *Eryngium* L. is a cosmopolitan and the most species-rich genus of Apiaceae. It is used by local people as antiinflammatory, antioedema and against pain, scorpion and snake bites. It is also used in Anatolia in similar ways. In our study, the ethanolic and water extracts prepared from the aerial and underground parts of eight *Eryngium* species (*Eryngium campestre* L., *Eryngium creticum* Lam., *Eryngium davisii* Kit Tan&Yildiz, *Eryngium falcatum* Delar., *Eryngium isauricum* Contandr.&Quezel, *Eryngium kotschy* Boiss., *Eryngium maritimum* L. and *Eryngium trisectum* A.Wörz & H.Duman) were examined antinociceptive activity using *p*-benzoquinone-induced writhing test and for their anti-inflammatory activity by using carrageenan-induced hind paw oedema and TPA-induced ear oedema tests which were employed on mice. *Eryngium kotschy* was found to exhibit higher activity in both tests. The methanolic extract prepared from this plant's underground parts, was partitioned with hexane, dichloromethane and n-butanol (water saturated) respectively; after evaporating the solvents, the crude extracts were applied to acetic acid induced writhing test and hot plate test in order to evaluate their antinociceptive activity. The n-butanol extract was found to possess significant activity, after which isolation studies continued with this fraction. Main fractionation was carried out using normal phase silica gel column chromatography; obtained subfractions were tested again to establish the active fractions. The fractions which showed high activity were subjected to multiple chromatographic steps (normal phase silica gel MPLC and RP-18 MPLC) in order to isolate four triterpenoid saponins. Their structures were elucidated mainly by 1D (^1H -NMR and ^{13}C -NMR) and 2D (^1H - ^1H COSY, TOCSY, NOESY, HSQC, HMBC) NMR spectroscopy and FAB-Mass spectroscopy. Their structures were determined as 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glucurunopyranosyl-22-*O*-angeloyl-A1-barrigenol; 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glucurunopyranosyl-22-*O*- β , β -dimethylacryloyl-A1-barrigenol; 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-glucopyranosyl-21-*O*-acetyl-22-*O*-acetyl-28-*O*-acetyl-3 β , 21 β , 22 α , 28-tetrahydroxyolean-12-ene-16-oxo and 3-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-glucurunopyranosyl-22-*O*-angeloyl-A1-barrigenol which they were all found to be structurally new. Since amount of the compounds was not sufficient, only 3-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-glucurunopyranosyl-22-*O*-angeloyl-A1-barrigenol was examined for its antinociceptive activity by hot plate test. As a result, it was found to possess a moderate antinociceptive activity.

Key words: *Eryngium*, *Apiaceae* (*Umbellifereae*), saponin, antinociceptive activity, anti-inflammatory activity, isolation.

KAYNAKLAR

ABU-ASAKER, M. (2005). *Eryngium campestre* L. var *virens* Link Üzerinde Farmakognozik Çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

AFIFI, F.U., AL-KHALIL, S., AQEL, M., AL-MUHTESEB, M.H., JAGHABIR, M., SAKET, M., MUHEID, A. (1990). Antagonistic effect of *Eryngium creticum* extract on scorpion venom *in vitro*. *Journal of Ethnopharmacology*. **29**: 43-49.

AGRAWAL, P.K., JAIN, D.C. (1992). ¹³C NMR spectroscopy of oleanane triterpenoids. *Progress in NMR spectroscopy*. **24**: 1-90.

AHMED, J. (2008). Konya İlinde Yetişen *Prangos* Lindl. (Umbellifereae) Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Yönünden Araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, s. 3.

ALKOFAHI, A., SALLAL, A.J., DISI, A.M. (1997). Effect of *Eryngium creticum* on the haemolytic activities of snake and scorpion venoms. *Phytotherapy Research*. **11**: 540-542.

ANDRADE-CETTO, A. (2009). Ethnobotanical study of the medicinal plants from Tlanchinol, Hidalgo, México. *Journal of Ethnopharmacology*. **122**: 163-171.

ASLAN, S., KARTAL, M. (2006). GC-MS analysis of *Eryngium maritimum* L. volatile oil. *Planta Medica*. **72** : 1081.

AVUNDUK, S. (2006). Phytochemical Investigation of *A. flavescens* Roots. Philosophiae Doctor Thesis. Ege University Graduate School of Natural and Applied Sciences.

AVUNDUK, S., MITAINE-OFFER, A.C., ALANKUŞ-ÇALIŞKAN, O., MIYAMOTO, T., ŞENOL, S.G., LACAILLE-DUBOIS, M.A. (2008). Triterpene glycosides from the roots of *Astragalus flavescens*. *Journal of Natural Products*. **71**: 141-145.

BAYTOP, T. (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişten Günümüze. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri, s.: 169.

BOGUCA-KOCKA, A., SMOLARZ, H.D., KOCKI, J. (2008). Apoptic activities of ethanol extracts from some Apiaceae on human leukaemia cell lines. *Fitoterapia*. **79**: 487-497.

BROPHY, J.J., GOLDSACK, R.J., COPELAND, L.M., PALÁ-PAÚL, J. (2003). Essential oil of *Eryngium* species from New South Wales (Australia). *Journal of Essential Oil Research*. **15**: 392-397.

CALIS, I., STICHER, O. (1996). Saponins Used in Traditional and Modern Medicine. Triterpene Saponins from Plants of The Flora of Turkey. Ed. by G.R. Waller and K. Yamasaki. Plenum Press. New York. *Adv. Exp. Med. Biol.* **404**: 485-500.

CALVIÑO, C.I., MARTÍNEZ, S.G., DOWNIE, S.R. (2008). The evolutionary history of *Eryngium* (Apiaceae, Saniculoideae): Rapid radiations, long distance dispersals, and hybridizations. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **46**: 1129-1150.

CASTILLO-JUÁREZ, I., GONZÁLEZA, V., JAIME-AGUILARA, H., MARTÍNEZA, G., LINARESB, E., BYEB, R., ROMEROA, I. (2009). Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*. **122**: 402-405.

CARDOZO, E., RUBIO, M., ROJAS, L.B., USUBILLAGA, A. (2004). Composition of the essential oil from the leaves of *Eryngium foetidum* L. from the Venezuelan Andes. *Journal of Essential Oil Research*. **16**: 33-34.

CHAN, P-K. (2007). Acylation with diangeloyl groups at C21-22 positions in triterpenoid saponins is essential for cytotoxicity towards tumor cells. *Biochemical Pharmacology*. **73**: 341-350.

CHEEKE, P.R. (1989). Toxicants of Plant Origin: Glycosides. Ed. by D. Oakenfull and G.S. Sidhu. CRC Press. ABD. Volume II, p. 117.

DALL'ACQUA, S., CERVELLATI, R., LOI, M.C., INNOCENTI, G. (2008). Evaluation of *in vitro* antioxidant properties of some traditional Sardinian medicinal plants: Investigation of the high antioxidant capacity of *Rubus ulmifolius*. *Food Chemistry*. **106**: 745-749.

DAVIS, P.H. (1972). Flora of Turkey and The East Aegean Islands Vol. 4. Edinburgh: University Press, p. 292-304.

DAVIS, P.H., MILL, R.R., TAN, K. (1988) Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Vol. 10. Edinburgh: University Press, p. 145.

DRAKE, D., LAM, J. (1972). Seseli acetylene from *Eryngium bourgatti*. *Phytochemistry*. **11**: 2651-2652.

ERDELMEIER, C.A.J., STICHER, O. (1985). Coumarin derivatives from *Eryngium campestre*. *Planta medica*. **51**: 407-408.

ERDELMEIER, C.A.J., STICHER, O. (1986). A cyclohexenone and a cyclohexadienone glycoside from *Eryngium campestre*. *Phytochemistry*. **25**: 741-743.

FLAMINI, G., TEBANO, M., CIONI, P.L. (2008). Composition of the essential oils from leafy parts of the shoots, flowers and fruits of *Eryngium amethystinum* from Amiata Mount (Tuscani, Italy). *Food Chemistry*. **107**: 671-674.

FRANCIS, G., KEREM, Z., MAKKAR, H.P.S., BECKER, K. (2002). The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*. **88**: 587-605.

GAIDI, G., MIYAMOTO, T., RAMEZANI, M., LACAILE-DUBOIS, M.A. (2004). Glandulosides A-D, triterpene saponins from *Acanthophyllum glandulosum*. *Journal of Natural Products*. **67**: 1114-1118.

GARCÍA, M.D., SÁENZ, M.T., GÓMEZ, M.A., FERNÁNDEZ, M.A. (1999). Topical antiinflammatory activity of phytosterols isolated from *Eryngium foetidum* on chronic and acute inflammation models. *Phytotherapy Research*. **13**: 78-80.

GONZÁLES-TEJERO, M.R., CASARES-PORCEL, M., SÁNCHEZ-ROJAS, C.P., RAMIRO-GUTIÉRREZ, J.M., MOLERO-MESA, J., PIERONI, A., GIUSTI, M.E., CENSORII, E., de PASQUALE, C., DELLA, A., PARASKEVA-HADIJCHAMBI, D., HADJICHAMBIS, A., HOUMANI, Z., EL-DEMERDASH, M., EL-ZAYAT, M., HMAMOUCHE, M., ELJOHRIG, S. (2008). Medicinal plants in the Mediterranean area: Synthesis of the results of the project Rubia. *Journal of Ethnopharmacology*. **116**: 341-357.

GOWRI, P.M., RADHAKRISHNAN, S.V.S., BASHA, S.J., SARMA, A.V.S., RAO, J.M. (2009). Oleanane-type isomeric triterpenoids from *Barringtonia racemosa*. *Journal of Natural Products*. **72**: 791-795.

GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAĞ, Ö. MAZZA, G. (2007). Saponins: Properties, applications and processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **47**: 231-258.

GÜNER, A., ÖZHATAY, N., EKIM, T., BAŞER. (2000). K.H.C. Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol. 11, Edinburgh: University Press, p. 136-138.

HERRNSTADT I., HEYN C.C. (1972). Flora of the Turkey and the East Aegean Islands. Ed. P.H. Davis. Vol. 4, Edinburgh: University Pres, p. 382-388.

HILLER, K., MACH, B.V., FRANKE, P. (1976²). Über die saponine von *Eryngium maritimum* L. *Pharmazie* **31**: 53.

HILLER, K., NGUYEN, K.Q.C., FRANKE, P. (1978). Isolierung von 3-O-D-glucopyranosyloleanolsäure-28-O-D-xylopyranosid aus *Eryngium bromeliifolium* Delar. *Pharmazie* **33(1)** : 78-80.

HILLER, K., THI, N.V., FRANKE, P. (1973). Über saponine in *Eryngium bromeliifolium* Delar. *Pharmazie* **28**: 546.

HILLER, K., KEIPERT, M., MISSBACH, U., LEHMANN, G. (1975²). Eryngiumgenin E-ein neues estersapogenin. *Pharmazie* **30**: 336.

HILLER, K., KEIPERT, M., PFEIFER, S., KRAFT, R. (1974). Das blattsapogeninspektrum in *Eryngium planum* L. *Pharmazie*. **29**: 54-57.

HILLER, K., NGUYEN, K.Q.C., DÖHNERT, H., FRANKE, P. (1977). Das Saponin-sapogeninspektrum in *Eryngium amethystinum* L. *Pharmazie* **32**:184-185.

HILLER, K., NGUYEN, K.Q.C., FRANKE, P., HINTSCHE, R. (1976¹). Isoerlung von betulinsäure-3-O- β -D-glucosid, einem saponin aus *Eryngium bromeliifolium* Delar. *Pharmazie*. **31**: 891-893.

HILLER, K., THI, N.V., DÖHNERT, H., FRANKE, P. (1975¹). Isolierung Neuer estersapogenine aus *Eryngium giganteum* M.B. *Pharmazie* **30**: 105-109.

HILLER, K., KEIPERT, M., PFEIFER, S., TÖKÉS, L., MADDOX, M.L. (1970). Zur struktur der Eryngiumsapogenine. *Pharmazie*. **25**: 769-774.

HILLER, K., KEIPERT, M., PFEIFER, S., TÖKÉS, L., NELSON, J. (1973). Erynginol A-Ein neues triterpensapogenin. *Pharmazie*. **28**: 409-410.

HOAGLAND, R.E., ZABLOTOWICZ, R.M., REDDY, K.N. (1996). Saponins Used in Food and Agriculture. Studies of The Phytotoxicity of Saponins on Weed and Crop Plants. Ed. by G.R. Waller and K. Yamasaki. Plenum Press. New York. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 405: 57-73.

HOHMANN, J., PÁLL, Z., GÜNTHER, G., MÁTHÉ, I. (1997). Flavonolacyl glycosides of the aerial parts of *Eryngium campestre*. *Planta Medica*. **63**: 96.

HOLSTEIN, S.A., HOHL, R.J. (2004). Isoprenoids: Remarkable diversity of form and function. *Lipids*. **39(4)**: 293-309.

HOSTETTMANN K., MARSTON, A. (2005). Saponins. Great Britain: Cambridge University Press.

KARERU, P.G., KERIKO, J.M., GACHANJA, A.N., KENJI, G.M. (2008). Direct detection of triterpenoid saponins in medicinal plants. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. **5**: 56-60.

KARTAL, M., MITAINE-OFFER, A.-C., ABU-ASAKER, MIYAMOTO, T., CALIS, I., M., WAGNER, H., LACAILLE-DUBOIS, M.-A. (2005). Two new triterpene saponins from *Eryngium campestre*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. **53**: 1318-1320.

KARTAL, M., MITAINE-OFFER, A.-C., PAULULAT, T., ABU-ASAKER, M., WAGNER, H., MIRJOLET, J.-F., GUILBAUD, N., LACAILLE-DUBOIS, M.-A. (2006). Triterpene saponins from *Eryngium campestre*. *Journal of Natural Products*. **69**: 1105-1108.

KÜPELİ, E., KARTAL, M., ASLAN, S., YEŞİLADA, E. (2006). Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species. *Journal of Ethnopharmacology*. **107**: 32-37.

LACAILLE-DUBOIS, M.A., HILDEBERT, W. (2000). Bioactive saponins from plants: An update. In: *Studies in Natural Product Chemistry: Bioactive Natural Products (Part B)*. Ed.: A., ur-Rahman. Amsterdam: Elsevier, Vol 21: p. : 633-688.

LEONTI, M., STICHER, O., HEINRICH, M. (2003). Antiquity of medicinal plant usage in two Macro-Mayan ethnic groups (Mexico). *Journal of Ethnopharmacology*. **88**: 119-124.

LEV, E. (2002). Reconstructed *materia medica* of the Medieval and Ottoman al-Sham. *Journal of Ethnopharmacology*. **80**: 167-179.

LEV, E., AMAR, Z. (2008). "Fossils" of practical medical knowledge from medieval Cairo. *Journal of Ethnopharmacology*. **119**: 24-40.

LISCIANI R., FATTORUSSO E., SURANO V., COZZOLINO S., GIANNATTASIO M., SORRENTINO L. (1984). Anti-inflammatory activity of *Eryngium maritimum* L. rhizome extracts in intact rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **12**: 263-270.

MARSTON, A., WOLFENDER, J.-L., HOSTETTMANN, K. (2000). Analysis and isolation of saponins from plant material. In: *Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal Plants*. Ed.; W. Oleszek and A. Marston. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. p.: 1-12.

MARTINS, A. P., SALGUEIRO, L. R., CUNHA, A. P. DA, VILA, R., CAÑIGUERAL, S., TOMI, F., CASANOVA, J. (2003). Essential oil composition of *Eryngium foetidum* from S. Tomé e Príncipe. *Journal of Essential Oil Research*. **15**: 93-95.

MEOT-DUROS, L., LE FLOCH, G., MAGNÉ, C. (2008). Radical scavenging, antioxidant and antimicrobial activities of halophytic species. *Journal of Ethnopharmacology*. **116**: 258-262.

MINALE, L., IORIZZI, M., PALAGIANO, E., RICCIO, R. (1996). Saponins Used in Traditional and Modern Medicine. Steroid and Terpenoid Oligoglycosides of Marine Origin. Ed. by G.R. Waller and K. Yamasaki. Plenum Press. New York. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 404: 335-356.

MORTEZA-SEMNANI, K. (2005). Essential oil composition of *Eryngium bungei* Boiss. *Journal of Essential Oil Research*. **17**: 485-486.

NDIP, R.N., TARKANG, A.E.M., MBULLAH, S.M., LUMA, H.N., MALONGUE, A., NDIP, L.M., NYONGBELA, K., WIRMUM, C., EFANGE, M.N. (2007). *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of extracts of selected medicinal plants from North West Cameroon. *Journal of Ethnopharmacology*. **114**: 452-457.

OAKENFULL, D. (1981). Saponins in Food. *Food Chemistry*. **6**: 19-40.

OLESZEK, W.A. (2002). Chromatographic determination of plant saponins. *Journal of Chromatography A*. **967**: 147-162.

OLESZEK, W.A., BIALY, Z. (2006). Chromatographic determination of plant saponins-An update (2002-2005). **1112**: 78-91.

OSBOURN, A.E. (2003). Molecules of interest; saponins in cereals. *Phytochemistry*. **62**: 1-4.

PALÁ-PAÚL, J., COPELAND, L.M., BROPHY, J.J., GOLDSACK, R.J. (2006). Essential oil composition of *Eryngium rosulatum* P.W. Michael ined.: A new undescribed species from eastern Australia. *Biochemical Systematics and Ecology*. **34**: 796-801.

PALÁ-PAÚL, J., BROPHY, J.J., PÉREZ-ALONSO, M.J., USANO, J., SORIA, S.C. (2007). Essential oil composition of the different parts of *Eryngium corniculatum* Lam. (Apiaceae) from Spain. *Journal of Chromatography A*. **1175**: 289-293.

PALÁ-PAÚL, J., PÉREZ-ALONSO, M.J., VELASCO-NEGUERUELA, A., VARADÉ, J., VILLA, A.M., SANZ, J., BROPHY, J.J. (2005¹). Essential oil composition of the different parts of *Eryngium bourgatii* Gouan from Spain. *Journal of Chromatography A*. **1074**: 235-239.

PALÁ-PAÚL, J., PÉREZ-ALONSO, M.J., VELASCO-NEGUERUELA, A., VARADÉ, J., VILLA, A.M., SANZ, J., BROPHY, J.J. (2005²). Analysis of the essential oil composition from the different parts of *Eryngium glaciale* Boiss. from Spain. *Journal of Chromatography A*. **1094**: 179-182.

PRASAD, P.R.C., REDDY, C.S., RAZA, S.H., DUTT, C.B.S. (2008). Folklore Medicinal Plants of North Andaman Islands, India. *Fitoterapia*. **79**: 458-464.

REES, H.H., GOODWIN, W. (1972). Biosynthesis. Biosynthesis of Triterpenes, Steroids, and Carotenoids. Ed. By T.A. Geissman. Vol.1. The Chemical Society Burlington House. London. 59.

ROBBERS, J.E., SPEEDIE, M.K., TYLER, V.E. (1996). Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology. Williams&Wilkins. Baltimore. 80-82.

ROUMY, V., GARCIA-PIZANGO, G., GUTIERREZ-CHOQUEVILCA, A.-L., RUIZ, L., JULIAN, V., WINTERTON, P., FABRE, N., MOULIS, C., VALENTIN, A. (2007). Amazonian plants from Peru used by Quechua and Mestizo to treat malaria with evaluation of their activity. *Journal of Ethnopharmacology*. **112**: 482-489.

ROYAL BOTANIC GARDEN EDINBURGH. (2007). Umbellifer Resource Centre. Erişim: [<http://rbg-web2.rbge.org.uk/URC/>]. Erişim tarihi: 14.03.2009

SÁENZ, M.T., FERNÁNDEZ, M.A., GARCÍA, M.D. (1997). Antiinflammatory and analgesic properties from leaves of *Eryngium foetidum* L. (Apiaceae). *Phytotherapy Research*. **11**: 380-383.

SANZ-BISET, J., CAMPOS-de-la-CRUZ, J., EPIQUIEN-RIVERA, M.A., CAÑIGUERAL, S. (2009). A first survey on the medicinal plants of the Chatuza Valley (Peruvian Amazon). *Journal of Ethnopharmacology*. **122**: 333-362.

SAUTOR, M., MIYAMOTO, T., LACAILLE-DUBOIS, M.A. (2007). Steroidal saponins from *Asparagus acutifolius*. *Phytochemistry*. **68**: 2554-2562.

SEFIDKON, F., DABIRI, M., ALAMSHAHI, A. (2004). Chemical composition of the essential oil of *Eryngium billardieri* F. Delaroche from Iran. *Journal of Essential Oil Research*. **16**: 42-44.

STAHL, E. (1969). Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Handbook. Berlin: Springer-Verlag, p.: 880.

ŞENER, B., TÜRKÖZ, S. (1986). Saponozitlerin Eczacılık Yönünden Değerlendirilmesi. *FABAD Farmasötik Bilimler Dergisi*. **11**: 237-249.

VINCKEN, J-P., HENG, L., GROOT, A., GRUPPEN, H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*. **68**: 275-297.

WAGNER, H., BLADT, S. (2001). Plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas. Berlin: Springer.

WINA, E., MUETZEL, S., BECKER, K. (2005). The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **53(21)**: 8093-8105.

WÖRZ, A. (1999). A taxonomic index of the species of *Eryngium* L. (Apiaceae: Saniculoideae) Stuttgarter Beitr. Naturk. Ser. A, Nr. **596**, p.: 1-48.

WÖRZ, A. (2004). On the distribution and relationships of the South-West Asian species of *Eryngium* L. (Apiaceae_Saniculoidae). *Turkish Journal of Botany*. **28**: 85-92.

WÖRZ, A., DUMAN, H. (2004). *Eryngium trisectum* (Apiaceae, Saniculoidae), a new species from Turkey. *Willdenowia*. **34**: 421-425.

YEŞİLADA, E., TANAKA, S., TABATA, M., SEZİK, E. (1989). The antiinflammatory activity of the fractions from *Eryngium billardieri* in mice. *Phytotherapy Research*. **3(1)**: 38-40.

ZHANG, Z., LI, S. (2007). Cytotoxic triterpenoid saponins from the fruits of *Aesculus pavia* L. *Phytochemistry*. **68**: 2075-2086.

ZHANG, Z., LI, S., OWNBY, S., WANG, P., YUAN, W., ZHANG, W., BEASLEY, R.S. (2008). Phenolic compounds and rare polyhydroxylated triterpenoid saponins from *Eryngium yuccifolium*. *Phytochemistry*. **69**: 2070-2080.

ÖZGEÇMİŞ

I- BİREYSEL BİLGİLER

Adı: Sinem
Soyadı: ASLAN ERDEM
Doğum Yeri: Antakya/HATAY
Doğum Tarihi: 23.11.1978
Medeni Hal: Evli
Adres: 208. Sokak No:22/11 Sokullu Ankara
Cep: 0 535 510 16 61
Ev: 0 312 478 71 52

II- EĞİTİM

- Doktora: **Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi , 2003-**
- Master: **Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 2002**
- Lisans: **Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 2000**
- Lise: **Hatay Osman Ökten Anadolu Lisesi, 1995**
- Ortaokul: **Hatay Osman Ökten Anadolu Lisesi, 1992**
- İlkokul: **Mehmet Akif Ersoy İlkokulu, 1988**

III- ÜNVANLARI

Uzman Eczacı; Araştırma Görevlisi

IV- YABANCI DİL

İngilizce

V- MESLEKİ DENEYİMİ

- Ocak 2002'den bu yana Ankara Üniversitesi Fakültesi Farmakognozi A.D. 'nda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.
- Universite de Bourgogne, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Laboratoire de Pharmacognosie, Unité de Molécules d'Intérêt Biologique, UMIB, Dijon, Fransa'da 01.02.2009 – 30.04.2009 tarihleri arasında Erasmus Staj Programı kapsamında, 3 ay süreyle çalışma
- Groningen Research Institute of Pharmacy (GRIP), Groningen University Institute for Drug Exploration (GUIDE), 2003 yılında 1 ay süreyle çalışma

VI- BİLİMSEL İLGİ ALANLARI

Yayınları:

Kan, Yüksel; Orhan, İlkay; Koca, Ufuk; Özçelik, Berrin; Aslan, Sinem; Kartal, Murat; Küsmenoğlu, Şenay. (2009). Fatty acid profile and antimicrobial effect of the seed oils of *Urtica dioica* and *U. pilulifera*. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 6(1): 21-30.

Orhan, İlkay; Özçelik, Berrin; Aslan, Sinem; Kartal, Murat; Karaoglu, Taner; Sener, Bilge; Terzioğlu, Salih; Choudhary, M. Iqbal. (2009). In vitro biological activity screening of *Lycopodium complanatum* L. ssp. *chamaecyparissus* (A. Br.) Doll. *Natural Product Research, Part A: Structure and Synthesis*. 23(6): 514-526.

Aslan, Sinem; Fırat, Mehmet; Konuklugil, Belme. (2007). Essential oil of *Cyclotrichium longiflorum* Leblebici. *Chemistry of Natural Compounds*. 43(6): 724-725.

Kılıç, Ceyda Sibel; Aslan, Sinem; Kartal, Murat; Coşkun, Maksut. (2007). Comparison of the fixed oil of seeds and roots of *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik (Cruciferae). *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 36(1): 1-7.

Orhan, İlkay; Koca, Ufuk; Aslan, Sinem; Kartal, Murat; Küsmenoğlu, Şenay. (2008). Fatty acid analysis of some Turkish apricot seed oils by GC and GC-MS techniques. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 5(1): 29-34.

Mehmood, Sajid; Orhan, İlkay; Ahsan, Zaheer; Aslan, Sinem; Gulfraz, Muhammad. (2008). Fatty acid composition of seed oil of different *Sorghum bicolor* varieties. *Food Chemistry*. 109(4): 855-859.

Orhan, İlkay; Aslan, Sinem; Kartal, Murat; Şener, Bilge; Hüsnü Can Başer, K. (2008). Inhibitory effect of Turkish *Rosmarinus officinalis* L. on acetylcholinesterase and

butyrylcholinesterase enzymes. *Food Chemistry*. 108(2): 663-668.

Orhan, İlkay; Özçelik, Berrin; Aslan, Sinem; Kartal, Murat; Karaoğlu, Taner; Şener, Bilge; Terzioğlu, Salih; Choudhary, M. Iqbal. (2007).Antioxidant and antimicrobial actions of the clubmoss *Lycopodium clavatum* L. *Phytochemistry Reviews*. 6(1): 189-196.

Kan, Yüksel; Kartal, Murat; Özek, Temel; Aslan, Sinem; Başer, K. Hüsnü Can. (2007).Composition of essential oil of *Cuminum cyminum* L. according to harvesting times. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 4(1): 25-29.

Şener, Bilge; Orhan, İlkay; Özçelik, Berrin; Kartal, Murat; Aslan, Sinem; Özbilen, Gamze. (2007). Antimicrobial and antiviral activities of 2 seed oil samples of *Cucurbita pepo* L. and their fatty acid analysis. *Natural Product Communications*. 2(4): 395-398.

Küpeli Esra; Kartal Murat; Aslan Sinem; Yeşilada Erdem. (2006). Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species. *Journal of Ethnopharmacology*. 107(1): 32-7.

Kan, Yüksel; Kartal, Murat; Aslan, Sinem; Yıldırım, Nilüfer. (2006),.Composition of essential oil of fennel fruits cultivated under different conditions. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 35(2): 95-101.

Kan, Yüksel; Uçan, Uçkun Sait; Kartal, Murat; Altun, M. Levent; Aslan, Sinem; Sayar, Esin; Ceyhan, Timurhan. (2006) GC-MS analysis and antibacterial activity of cultivated *Satureja cuneifolia* ten. essential oil. *Turkish Journal of Chemistry*. 30(2): 253-259.

Kan, Yuksel; Kan, Asuman; Ceyhan, Timurhan; Sayar, Esin; Kartal, Murat; Altun, Levent; Aslan, Sinem; Cevheroğlu, Şemsettin. (2005). Atomic absorption spectrometric analysis of *Trigonella foenum-graecum* L. seeds cultivated in Turkey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2(3): 187-191.

Kartal, Murat; Kurucu, Semra; Aslan, Sinem; Özbay, Özge; Ceyhan, Timurhan; Sayar, Esin; Cevheroğlu, Şemsettin. (2003). Comparison of o-3 fatty acids by GC-MS in frequently consumed fish and fish oil preparations on the Turkish market. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*. 28(4): 201-205.

Posterleri:

Aslan Erdem, S., Kartal, M., Mitaine-Offer, A.C., Miyamoto, T. Lacaille-Dubois, M.A. (2009). Two new triterpene saponins from *Eryngium kotschy*. Boiss. 9th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Proceedings and Abstracts. p. 299.

VI- BİLİMSEL ETKİNLİKLERİ

TÜBİTAK- Bilimadamı Yetiştirme Grubu (BAYG),Yurtiçi Yüksek Lisans Bursu, 2000-2002