



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



***ROSMARINUS OFFICINALIS* L. BİTKİSİNİN FİTOTERAPİ AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Gözde SEMERSATAN

Farmakognozi Anabilim Dalı Adı

İzmir
2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

ROSMARINUS OFFICINALIS L. BİTKİSİNİN
FİTOTERAPİ AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Gözde SEMERSATAN

Danışman
Doç.Dr.Buket Bozkurt

Farmakognozi Anabilim Dalı
Fitoterapi Tezli Yüksek Lisans Programı

İzmir
2019

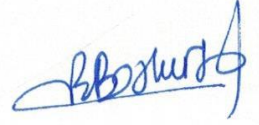
Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)

(İmza)

BAŞKAN : Doç. Dr. Buket BOZKURT

(DANIŞMAN)



ÜYE : Prof. Dr. G. İrem KAYA



Üye : Doç. Dr. M. Zeki HAZNEDAROĞLU



Yüksek lisans tezinin kabul edildiği tarih :20.06.2019.....



Önsöz

Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden mezun olurken bir yanım okulda devam edebilmeyi, araştırmalar yapmayı istiyordu. Özellikle fakülte hayatım boyunca ilgi alanlarımdan olan fitoterapi, aromaterapi gibi bir dal üzerinden devam etmek beni çok mutlu edecekti. Ailemin de desteğiyle yüksek lisans yapmaya karar verdim. Danışmanımın bana olan ilgisi, genç ve dinamik oluğu beni her zaman enerjik kıldı. Derslerimi başarıyla ilk senede tamamladım. Daha sonra danışmanım Doç.Dr.Buket Bozkurt ile birlikte uzun uzun düşünüp fikir yürüterek biberiye bitkisini fitoterapötik açıdan değerlendirmeye karar verdik. Akşehir-İzmir arası gel-gitler yaparak deneylerimi bitirdim. Zor zamanlarım da oldu. Bu süreçte evlendim ve şuan bir çocuğum var. Hamilelik sürecimde bir süre gelemeyip okulumu dondurmam gerekti. İzmire gidemediğim dönemlerde evde makale çevirilerimi ve araştırmalarımı yaptım. Yılmadım, bitirmem gerektiğine hep inandım. Danışmanımın bana her aşamada olan desteği ve güveniyle bugün bu aşamaya geldik. Umuyorum ki ileride doktora da yaparım ve kendimi daha fazla geliştirebilirim.

Akşehir,13.06.2019

Gözde SEMERSATAN

Özet

***Rosmarinus officinalis* L. Bitkisinin Fitoterapi Açısından Değerlendirilmesi**

Rosmarinus officinalis L. bitkisi Lamiaceae familyasına ait çalı formunda çok yıllık bir bitkidir. Geleneksel olarak; konstipasyonda, safra sorunlarında ve diüretik olarak kullanılır. *Rosmarinus officinalis*'in bilimsel olarak kanıtlanan antioksidan, antikanserojen, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antidiyabetik, antiülser ve antidepresan etkileri mevcuttur.

Bu çalışmada, aktarlardan (RO2, RO3) ve eczaneden (RO4, RO5) dört numune temin edilmiş, Çiçekliköy-İzmir'den (RO1) bir doğal numune alınmıştır. Örneklerin tümü Avrupa Farmakopesi'ne göre incelenmiştir.

Kurutmada kayıp, toplam kül ve HCl'de çözünmeyen kül hesaplanmıştır. İnce Tabaka Kromatografisi, rosmarinik asit ve kafeik asit standartlarıyla yapılmıştır. Toplam hidroksisinnamik asit türevlerinin spektrofotometrik tayini yapılmıştır.

Genel olarak çalışılan bütün örneklerin farmakopede yer alan standartlara uygun olduğu tespit edilmiştir. RO4 kodlu örnek en yüksek kurutmada kayıp, total kül ve HCl'de çözünmeyen kül yüzdesine sahiptir. İnce tabaka kromatografisinde şahit olarak kullanılan kafeik asit ve rosmarinik asit, test edilen bütün örneklerde de tespit edilmiştir. Total hidroksisinnamik asit türevlerinin rosmarinik asit üzerinden hesaplanan spektrofotometrik miktar tayini denemeleri sonucu doğadan topladığımız RO1 kodlu örneğin en yüksek içeriğe sahip olduğu bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Biberiye; *Rosmarinus officinalis*; Lamiaceae; Fitoterapi

Abstract

Evaluation of *Rosmarinus officinalis* L. Plant for Phytotherapy

Rosmarinus officinalis L. is a perennial plant in the form of shrubs belonging to the Lamiaceae. Traditionally used in constipation, biliary problems and diuretic. *Rosmarinus officinalis* have been scientifically proven to possess antioxidant, anticancer, antiinflammatory, antimicrobial, antidiabetic, antiulser and antidepressant effects.

In this study, four samples were supplied from herbal shops (RO2, RO3) and pharmacy (RO4, RO5), one natural sample was collected from Ciceklikoy-Izmir (RO1). All of the samples were examined according to the European Pharmacopoeia.

Loss on drying, total ash and ash insoluble in HCl were calculated. Thin Layer Chromatography was performed with rosmarinic acid and caffeic acid standards. The spectrophotometric determination of total hydroxycinnamic acid derivatives has been performed.

Generally, all samples have been found to be suitable with the standards of the pharmacopoeia. The sample of the code RO4 has the highest persantage lose in drying, total ash and insoluble ash in HCl percentage. The caffeic acid and rosmarinic acid used as the evidence of thin-layer chromatography have also been identified in all tested samples. Total hydroxycinnamic acid derivatives have been found to have the highest content of the code RO1 sample collected from nature as a result of the spectrophotometric quantitation calculated from rosmarinic acid.

Key Words: Rosemary; *Rosmarinus officinalis*; Lamiaceae; Phytotherapy

İçindekiler

Önsöz.....	III
Özet.....	IV
Abstract.....	V
İçindekiler	VI
Tablolar Dizini.....	IX
Şekiller Dizini	X
Kısaltma Listesi	XI
Giriş	1
1.1.Araştırmanın Problemi.....	2
1.1.1.Kimyasal Yapısı	3
1.1.2. <i>R. officinalis</i> 'in Farmakolojik Etkileri ve Kullanımı	3
1.1.2.1.Antioksidan Aktivite	3
1.1.2.2.Antikanserojen, Antiülserojenik Etki.....	4
1.1.2.3.Demans Üzerine Etkisi.....	5
1.1.2.4.Metabolik Sendrom.....	5
1.1.2.5.Antianksiyete, Antidepresan Etki	6
1.1.2.6.Antimikrobiyal, Antifungal ve Antibakteriyel Etki	6
1.1.2.7.Diğer Etkileri.....	6
1.2.Araştırmanın Sorusu	8
1.3.Araştırmanın Hipotezleri	8
1.4.Araştırmanın Varsayımları.....	8
1.5.Araştırmanın Sınırlılıkları	9
1.6.Araştırmanın Amacı	9
Genel Bilgiler	10
2.1.Botanik Bilgiler	10

2.1.1.Lamiaceae familyasının genel özellikleri.....	10
2.1.2. <i>Rosmarinus L.</i>	11
2.2. Kimyasal Bileşimi.....	11
2.3. Biyolojik Özellikleri	11
Gereç ve Yöntemler.....	13
3.1.Gereçler	13
3.2.Yöntem	14
3.2.1.Farmakope Analizleri.....	14
İTK Analizi	16
Deneyler	18
4.1.Kurutmada Kayıp Miktar Tayini.....	18
4.2.Total Kül Miktar Tayini.....	18
4.3.Sülfat Külü Miktar Tayini	18
4.4.Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini	19
4.6. İTK Analizi	20
Bulgular.....	21
5.1.Farmakope Analizleri	21
5.1.1.Kurutmada Kayıp Miktar Tayini.....	21
5.1.2.Total Kül Miktar Tayini	22
5.1.3.Sülfat Külü Miktar Tayini	23
5.1.4.Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı	24
5.1.5.Total Hidroksisinnamik Asit Türevlerinin Spektrofotometrik Miktar Tayini	25
5.2.İTK Analizi	27
Tartışma	29
Sonuç ve Öneriler	31
Kaynaklar	32

Teşekkür	40
Özgeçmiş	41



Tablolar Dizini

Tablo1. <i>R. officinalis</i> L. taksonomisi	10
Tablo2. Çalışma materyallerinin ticari adları, üretici/ithalatçı firmaları ve farmasötik formları.....	13
Tablo3. <i>R. officinalis</i> L. bitkisinden hazırlanan örnekler üzerinde yapılan kurutmada kayıp miktar tayini sonuçları.....	22
Tablo4. <i>R. officinalis</i> L. bitkisinden hazırlanan örnekler üzerinde yapılan total kül miktar tayini sonuçları.....	23
Tablo5. <i>R. officinalis</i> L. bitkisinden hazırlanan örnekler üzerinde yapılan sülfat külü miktar tayini sonuçları.....	24
Tablo6. <i>R. officinalis</i> L. bitkisinden hazırlanan örnekler üzerinde yapılan hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini sonuçları.....	25
Tablo7. Spektrofotometrik tayin sonuçları.....	27
Tablo8. Örneklerin metanol ekstrelerinin İTK analizleri.....	28

Şekiller Dizini

Resim1. <i>R. officinalis</i> L.	14
Resim2. Numunelerimizin İTK plağının UV altındaki rosmarinik asit ve kafeik asit görüntüsü.....	28



Kısaltma Listesi

ABD	:	Amerika Birleşik Devletleri
AChE	:	Asetilkolinesteraz
BuChE	:	Butirilkolinesteraz
CCI	:	Kronik Konstriktif Hasar
DPPH	:	2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
HCl	:	Hidroklorik Asit
HCT116	:	İnsan Kolon Kanseri Hücreleri
İTK(TLC)	:	İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer Chromatography)
LC/ESI-MS/MS	:	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
mRNA	:	Mesajcı Ribonükleik Asit
MTT Yöntemi:	:	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-İl)-2,5-Difeniltetrazolium Bromid: Bu yöntemde MTT formazana indirgenir, bu esnada oluşan renk kolorimetrik olarak ölçülür. Oluşan formazan miktarı canlı hücre sayısını verir.
NaOH	:	Sodyum Hidroksit
Nm	:	Nanometre
Nrf2	:	Nükleer Faktör Eritroit-2 (The Nuclear Factor Erythroid 2)
RE	:	<i>Rosmarinus</i> Ekstresi
UV	:	Ultraviyole

Giriş

Ülkemizde kuşdili, biberiye, hasalban, akpüren gibi isimlerle tanınan ve Lamiaceae familyasına dahil olan *Rosmarinus officinalis* L. (*R. officinalis*) Akdeniz kökenli uzun yıllardır kültür formunda yetiştirilen bir bitkidir. Biberiye bitkisi 1 m civarında, çalı görünümünde, yapraklarını dökmeyen, eflatunumsu-açık mavi renkte çiçeklere sahip, her daim yeşil çok yıllık bir bitkidir (Baytop, 1999).

“*Rosmarinus*” latince kökenli bir isimdir ve denizin çiği anlamına gelir. Deniz kenarlarını çok sevmesinden ve o bölgelerde daha çok yetişmesinden dolayı bu isim verilmiştir (Sönmez, 2008).

Akdeniz kökenli bir bitki olan biberiyenin kültürü en çok Fransa, İspanya, Portekiz, İtalya, Yunanistan gibi Akdenize komşu Avrupa ülkelerinde, balkanlarda, ABD ve Meksika’da yapılmaktadır (Sönmez, 2008). Dünyada, Avrupa ve Afrika’nın Akdeniz’e komşu ülkelerinde, Türkiye’de batı ve güney sahillerinde bulunmaktadır (Aysel, 2008).

Türkiye’de oldukça sık olarak Çanakkale, Mersin, Adana, Tarsus, Hatay illerinde yetiştirilmekte, bilhassa Mersin ve Adana civarlarında makilik alanlarda yayılış göstermektedir (Malayoğlu, 2010).

Uluslararası Bitki Birliği tarafından biberiye 2001 yılında yılın bitkisi ilan edilmiştir. Tarihte, ilk olarak Romalılar tarafından İngiltere’ye götürülmüştür ve bugün hala İngilizler ve İtalyanlar tarafından çok sevimli baharat olarak sık sık kullanılmaktadırlar. Eskiden Yunanistan ve Roma’da biberiyenin hafızayı güçlendirdiğine inanılır, hafıza ve doğruluk bitkisi olarak bilinirmiş. Hipokrat, Galen ve Dioscorides karaciğer problemlerinde reçete etmişlerdir. Biberiye bitkisi, rönesans döneminde eczacılık alanında en çok kullanılan bitkilerden biriydi (Habtemariam, 2016). Biberiye Hindistan’da çok da popüler değilken Avrupalılar tarafından oraya götürülmüştür ve bahçe bitkisi olarak hoş kokusundan dolayı kullanmışlardır (Begum, Sandhya, Vinod, Reddy ve Banji, 2013).

Türkiye’de halk arasında yapraklar dahilen tonik, kabızlık durumunda, aperitif, koleretik ve diüretik olarak, haricen ise iltihaplı cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Uçucu yağ elde etmede ve baharat olarak kullanılmaktadır (Baytop,

1999). Biberiye bitkisinin dallarından hazırlanan infüzyonu, şeker hastalığında, kurutulmuş yaprakçıkları zeytinyağında bekletilip, süzülerek ve saç diplerine masaj yapılarak saç dökülmesinde kullanılır. İskemik kalp hastalığında bitkinin yapraklarının da bulunduğu karışımdan hazırlanan infüzyon çay olarak kullanılmaktadır. Bitkinin herbasından hazırlanan infüzyonun sakinleştirici olarak kullanıldığı da kayıtlıdır (Sarıkan, 2007).

Geleneksel olarak, biberiyenin topraküstü kısımları oral olarak antiinflamatuvar, baş ağrısında, karın ağrısında, antispazmodik, eklem ağrılarında, gut hastalığında, mide ağrılarında, safra üzerinde, diüretik, analjezik, antiromatizmal, antidepresan olarak veyara iyileşmesinde (lapası halinde) kullanılmaktadır (González-Trujano, Peña, Martínez, Moreno, Guevara-Fefer, Deciga-Campos ve López-Muñoz, 2007).

Biberiye bitkisinden %1-2.5 arasında uçucu yağ elde edilmektedir. Bu uçucu yağda temel olarak %20-25 arasında ökaliptol, %15-25 arasında α -pinen, %10-25 kamfor ve çeşitli oranlarda borneol, izobutil asetat, kamfen, limonen, linalol, 3-oktanon, terpineol, verbenol, apigenin, diosmetin, diosmin flavonoidleri, rosmarinik asit ve diğer fenolik asitler, diterpenler, ursolik asit, oleanolik asit ve türevlerini içermektedir (Khare, 2008).

R. officinalis yapraklarının antioksidan özelliklerinden dolayı en yüksek antioksidan aktiviteli baharatlardan biri olarak kabul edilmektedir. Baharat olarak kullanılmasının yanı sıra, güçlü antibakteriyel ve antimutajenik özelliklerinden dolayı tıbbi amaçlı olarak değerlendirilebilmektedir (Wang, Wu, Zu ve Fu, 2008).

Bu araştırmanın amacı biberiyenin kimyasal bileşimi ve tıbbi olarak kullanımıyla alakalı mevcut literatür bilgilerini incelemek, ülkemizde eczanelerde, aktarlarda ve doğadan toplanan örnek üzerinde çeşitli deneyler yaparak bu örneklerin Avrupa Farmakopesi'nde bulunan *R. officinalis* monografına uygunluğunu araştırmak, sonuçları karşılaştırmalı olarak irdelemektir.

1.1.Araştırmanın Problemi

Ülkemizde ve Akdeniz havzasında oldukça geniş bir yayılıma sahip olan *R. officinalis*; halk arasında infüzyonu şeker hastalığında, kalp rahatsızlıklarında, tonik olarak, kabızlık durumunda, aperitif, kolagog ve idrar artırıcı olarak, haricen ise bazı

cilt hastalıklarının tedavisinde ve saç problemlerinde kullanılmaktadır (Sarıkan, 2007, Baytop, 1999).

Biberiye bitkisinin kimyasal bileşimi ve farmakolojik özellikleri şu şekilde özetlenebilir.

1.1.1.Kimyasal Yapısı

Uçucu yağın bileşiminde ökaliptol, kafur, borneol, linalol, terpinol, pinen, dimetilfenol, bornilasetat, kamfen, limonen, verbenon (Celiktaş ve ark.,2007; Gachkar ve ark.,2007; Kabuche ve ark.,2005; Panizzi ve ark.,1993; Pintore ve ark.,2002) bulunmaktadır.

Bitkide ayrıca fenolik yapıda diterpenik maddeler (Bracco ve ark., 1981; Cantrell ve ark.,2005; Cuvelier ve ark., 1996; del Bano ve ark.,2003; Fraga ve ark.,1985; Houlihan ve ark.,1984;1985; Mahmoud ve ark., 2005; Nakatani ve Inatani, 1981;1983;1984; Oluwatuyi ve ark.,2004; Perez-Fons ve ark,2006; Yanishlieva ve ark.,2006), kafeik asit türevleri, rosmarinik asit (Cuvelier ve ark.,1996; del Bano ve ark.,2003; Perez-Fons ve ark,2006; Yanishlieva ve ark.,2006), triterpen yapıda maddeler (Abe ve ark.,2002; Altinier ve ark.,2007; Ganeva ve ark.,1993; Huang ve ark.,1994; Mahmoud ve ark.,2005), flavonoidler, (Cuvelier ve ark.,1996;del Bano ve ark.,2003; del Bano ve ark.,2004; Okamura ve ark.,1994; Perez-Fons ve ark,2006; Tomas-Barberan ve ark.,1986), karotenoidler (Munne-Bosch ve ark., 1999; Torre ve ark.,2001) mevcuttur.

Yapılan bir çalışmada *R. officinalis* yapraklarının doymamış yağ asitleri açısından da zengin olduğu sonucuna varılmıştır. Ana bileşenlerinin linolenik, linoleik ve palmitik asit olduğu tespit edilmiştir (Dallali, Llovera, Eras Joli, Houcine ve Canela-Garayoa, 2016).

1.1.2.*R. officinalis*'in Farmakolojik Etkileri ve Kullanımı

1.1.2.1.Antioksidan Aktivite

Biberiye uçucu yağı “2,2-difenil-1-pikrilhidrazil” (DPPH) yöntemiyle belirlenen serbest radikal yok edici aktivitesinin yanında hepatoprotektif aktiviteye de sahiptir (Rašković, Milanović, Pavlović, Čebović, Vukmirović ve Mikov, 2014). Bir çalışmada biberiye hidrodistilasyonundan kalan kısmın da antioksidan ve doğal bir

koruyucu olduğu gösterilmiştir (Santana-Méridas, Polissiou, Izquierdo-Melero, Astraka, Tarantilis, Herraiz-Peñalver ve Sánchez-Vioque, 2014). Biberiyede bulunan fenolik bileşenler yanında, uçucu bileşiklerinde antioksidan aktiviteye katkı sağladığı literatürde yer almaktadır (Hussain, Anwar, Chatha, Jabbar, Mahboob ve Nigam, 2010).

1.1.2.2. Antikanserojen, Antiülserojenik Etki

Biberiye ekstresinin ana bileşenleri, sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (LC/ESI-MS/MS) ile tanımlanmıştır ve kanser hücrelerinin çoğalması üzerine ham ekstrelerin veya saf bileşenlerin etkisi MTT ve Trypan mavisi deneyleri ile test edilmiştir. Bu çalışmada, bitkinin % 65'lik (v/v) hidroalkolik ekstresinin özellikle sitotoksik ajanlara yüksek direnç gösteren insan melanoma A375 hücre hattının çoğalmasını, doz ve zamana bağımlı bir şekilde etkili olarak azaltabildiği saptanmıştır (Cattaneo, Cicconi, Mignogna, Giorgi, Mattei, Graziani ve Marra, 2015).

Biberiye ekstresi ve karnosik asit, kolon kanseri hücrelerinde apoptozu arttırmış ve canlılığı azaltmıştır. Biberiye ekstresi ve karnosik asit, faredeki kolon hücrelerinde Nrf2'nin ekspresyonunu önemli ölçüde arttırarak düzenlemiş ve HCT116 heterograft tümör oluşumunu inhibe etmiştir (Yan, Li, Petiwala, Householter ve Johnson, 2015).

Dört tip kanser hücresi üzerinde (akciğer kanseri, kolon kanseri, meme kanseri ve rahim ağzı kanseri) biberiye ekstresiyle yapılan çalışmada biberiyenin akciğer kanseri üzerinde en yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır (Alanazi, 2016).

Biberiye üzerinde aktivite yönlendirmeli fraksiyonlandırma ve sulu metanol ekstresinin n-hekzan fraksiyonunun kromatografik ayrımıyla (RP C18 ve Sephadex LH-20 kullanılarak) üç bileşik izole edilmiştir. Bir abietan diterpenoidi sageon, bir diterpenoid (-)-barbatusol ve bir monoterpen (+)-verbenon tanımlanmıştır. Bu bileşiklerden sageon SNU-1 hücrelerine karşı sitotoksikite göstermiştir. Az toksik bir sisplatin dozu ile birlikte kullanılan sageon SNU-1 hücrelerinde apoptoz indüksiyonu üzerinde sinerjistik etki gösterdiği saptanmıştır. Kombine tedavinin hücre canlılığını azaltmada ve apoptozu indüklemeye monoterapiye göre anlamlı derecede daha etkili olduğu belirlenmiştir (Shrestha, Song, Kim, Lee ve Cho, 2016).

%70 lik alkol ile midesi stimüle edilen erkek sıçanlarda *R. officinalis*'in etanoldeki ekstresinin antiülserojenik etki potansiyeli araştırılmış, test edilen ekstrenin antioksidan, antienflamatuvar ve vazodilatatör olmak üzere üç farklı mekanizma ile etanolün neden olduğu gastrik ülserasyonların önlediği görülmüştür (Amaral, de Carvalho, Barcelos, Dobrachinski, de Lima Portella, da Silva ve Athayde, 2013).

1.1.2.3.Demans Üzerine Etkisi

Bir çalışmada, *R. officinalis* bitki ekstresinin (RE) asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BuChE) aktivitesi ile bağlantılı sıçanların davranışsal ve kognitif yanıtları ve bunların hipokampus ve frontal kortekste mRNA ekspresyon seviyelerine etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma, RE'nin sıçanlarda uzun süreli hafıza gelişimine yol açtığını göstermektedir, bu kısmen sıçan beynindeki AChE aktivitesinin inhibisyonu ile açıklanabilir (Ozarowski, Mikolajczak, Bogacz, Gryszczynska, Kujawska, Jodynis-Liebert ve Bartkowiak-Wieczorek, 2013).

Son yıllarda biberiye diterpenlerinin, çeşitli faktörlerin indüklediği nöronal hücre ölümünü inhibe ettiği klinik çalışmalarda gösterilmiştir (Habtemariam, 2016).

1.1.2.4.Metabolik Sendrom

Metabolik sendrom, şeker ve kalp hastalıkları riskini yükselten hiperglisemi, dislipidemi, inflamasyon, abdominal obezite, koagülopati ve hipertansiyon gibi karmaşık bir şekilde var olan kardiyometabolik risk faktörlerinin birleşimi olarak tanımlanabilmektedir. RE'nin doza bağımlı olarak, yüksek yağ içeren bir diyetin neden olduğu kilo alımını sınırlandırabileceğini ve obezite ile ilişkili metabolik bozukluklara karşı koruyabileceğini göstermektedir (Sedighi, 2014).

Biberiyenin içerdiği bir fenolik komponent olan karnosolün obezite tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir (Cui, Kim, Seo, Kim, Kim, Lee, S, ve Lee, H. S. (2012). Biberiye yaprağı ekstresi ile yapılan tedavide, biberiyenin indüklediği pankreas lipaz aktivitesinin inhibisyonu nedeniyle vücut ağırlığında azalma ve yağ oranında düşüş gerçekleşmiştir (Harach, Aprikian, Monnard, Moulin, Membrez, Béolor ve Darimont, 2010).

Biberiye ekstresinin bir fenolik bileşeni olan karnosoldan (Cui ve ark., 2012) kaynaklı olabileceği düşünülen dikkat çekici bir antidiyabetik etkisi vardır.

1.1.2.5. Antianksiyete, Antidepresan Etki

Bu çalışmada *R. officinalis*'in sulu alkollü ekstresinin farelerdeki anksiyete üzerindeki etkileri araştırılmış, 400 mg/kg dozun diazepam benzeri bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (Noori Ahmad Abadi, Mortazavi, Kalani, Marzouni, Kooti ve Ali-Akbari, 2016). *R. officinalis*'in saplarından ve yapraklarından elde edilen uçucu yağın, potansiyel psikostimülan aktiviteye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Alnamer, Alaoui, Boudida, Benjouad, Cherrah, 2012).

Ferlemi ve arkadaşları (2015) biberiye infüzyonunun, yetişkin erkek farelere oral olarak uygulanmasını takiben farelerde anksiyeteyi azalttığını ortaya koymuşlardır. İnsanlarda aynı etki, biberiye ve lavanta uçucu yağ kesecikleri kullanırken ortaya çıkan anksiyete ölçüm testindeki düşük skordan, kişisel ifadelerden ve nabız sayılarından kanıtlanmıştır (McCaffrey, Thomas ve Kinzelman, 2009).

1.1.2.6. Antimikrobiyal, Antifungal ve Antibakteriyel Etki

Biberiyeden hareketle elde edilen uçucu yağın antibakteriyel, antifungal, antioksidan etkileri bulunmaktadır (Lemos, Lemos, Pacheco, Endringer ve Scherer, 2015).

R. officinalis bir çalışmada mantar oluşumunu inhibe etmiş ve hiplerde değişikliklere neden olmuştur (Endo, Costa, Nakamura, Nakamura ve Dias Filho, 2015).

Biberiye uçucu yağının tek başına ve antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Candida strains* suşlarına karşı etkinlikleri test edilmiştir (Barreto, Silva Filho, Lima, Coutinho, Morais-Braga, Tavares ve Oliveira, 2014).

1.1.2.7. Diğer Etkileri

Yapılan bir çalışmada gingivitis (diş eti enfeksiyonu) tedavisinde *Zingiber officinalis*, *R. officinalis* ve *Calendula officinalis*'in sulu alkollü ekstrelerini (%5 v/w) içeren bir gargara ile klorheksidinli ve plasebo gargaranın etkileri karşılaştırılmıştır. 60 hastadan rastgele seçilen 20 kişiye bitkisel gargara, 20 kişiye klorheksidinli gargara, kalan 20 kişiye de plasebo gargara verilerek dişetleri ve plaklar 7. ve 14. günde değerlendirilmiştir. Bitkisel ve klorheksidinli gargara kullananlarda birbirinden farksız ve önemli oranda iyileşme görülürken plasebo gargara kullananlarda ise bir değişiklik gözlenmemiştir ve bitkisel içerikli olanın

güvenli olduğu, herhangi bir yan etkiye sebep olmadığı gözlemlenmiştir (Mahyari, S., Mahyari, B., Emami, Malaekheh-Nikouei, Jahanbakhsh, Sahebkar ve Mohammadpour, 2016).

Geleneksel tedavide de dismenore, romatizmal ve abdominal ağrı gibi birçok rahatsızlıkta kullanılan biberiyenin bir çalışmada, sıçanlarda nöropatik ağrı modelinde alkol ekstresinin anti-allodinik ve anti-hiperaljezik etkileri belirlenmiştir. Sıçanlara 14 gün boyunca biberiyenin toprak üstü kısımlarının (100, 200 ve 400 mg/kg) alkollü ekstresi verildiğinde bütün biberiye dozlarında nöropatik davranış değişikliklerinin azaldığı ve 400 mg/kg dozda apoptotik, inflamatuvar ve glial belirteçlerinin miktarının anlamlı derecede azaldığı görülmüştür (Ghasemzadeh, Amin, Mehri, Mirnajafi-Zadeh ve Hosseinzadeh, 2016).

Biberiye uçucu yağı, İran'da geleneksel tedavide bir çok amaç için (analjezik, antiakne, antiinflamatuvar) topikal olarak kullanılmıştır. Yapılan bir çalışmada topikal jel olarak kullanılan sodyum diklofenak içine ilave edilen biberiye uçucu yağının transdermal emilime olan etkisi incelenmiştir. Bunun için farklı konsantrasyonlarda (%0,1, %0,5 ve %1) uçucu yağ içeren jellerin anti-nosiseptif etkisi fareler üzerinde değerlendirilmiştir. %0.5 uçucu yağ içeren topikal jelin 25,30 ve 35 dakika sonra, %1 oranda uçucu yağ içeren topikal jelin ise 15 dakika sonra daha fazla analjezik etki göstermeye başladığı gözlenmiştir (Akbari, Saeedi, Farzin, Morteza-Semnani ve Esmaili, 2015).

Ülkemizin biyolojik bir zenginliği olan *R.officinalis*'in gerek geleneksel tababette yüzyıllar boyu devam eden kullanımı, gerek *in vivo* ve *in vitro* deneylerle ispatlanmış farmakolojik etkileri bulunmasına rağmen ülkemiz ekonomisine yeterli katkı sağladığını söylemek mümkün değildir. Bitkiden hazırlanan droglar tezimizin de çalışma materyalini oluşturan örneklerde görüldüğü gibi eczanelerde satılan bir kaç örnekle sınırlı olup, bitkiden hazırlanan başta uçucu yağ olmak üzere diğer ürünlerin ve saf etkili maddelerin piyasada bulunuşu kısıtlıdır. Bu araştırmanın problemi yukarıda sayılan bilgiler ışığında ülkemizde piyasada ve aktarlarda bulunan biberiye bitki örneklerinin ve doğadan topladığımız örneğin Avrupa Farmakopesi standartlarına uygunluğunu test ederek, sahip olduğumuz zengin floranın çeşitliliğine ve fitoterapide kullanımının artması gerektiğine dikkat çekmektir.

1.2.Araştırmanın Sorusu

R. officinalis ülkemizde özellikle kıyı kesimlerinde geniş yayılış göstermektedir. Farklı kaynaklardan temin edilen bitki örneklerinin kalite kontrol ve miktar tayini açısından ne gibi farklılıklar göstereceği bu araştırmanın ana sorusunu oluşturmaktadır. Bu amaçla Çiçekliköy-İzmir civarından doğal bir örnek, iki farklı lokasyondan aktar örneği (Akşehir ve İzmir) ve eczanelerde iki farklı firmaya ait ürün seçilmiştir.

1.3.Araştırmanın Hipotezleri

Bu araştırmada *R. officinalis* örneklerinin “kurutmada kayıp, total kül, sülfat külü ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayinleri”, rosmarinik asit ve kafeik asit referans alınarak ince tabaka kromatografisi ile analizi ve spektrofotometrik olarak total hidroksisinnamik asit türevlerinin miktar tayini yapılarak elimizdeki örneklerin Avrupa Farmakopesi’ne göre uygun olup olmadığı test edilmiştir. Çalışma materyali olarak seçtiğimiz beş farklı örneğin birbirinden az ya da çok farklı sonuçlar göstereceği, Avrupa Farmakopesi standartlarına uygunluğu açısından değişiklik sergileyeceği öngörülmektedir.

1.4.Araştırmanın Varsayımları

Biberiye bitkisinin farmakolojik olarak kanıtlanmış birçok etkisi literatürde mevcuttur. Bunlardan bazıları çeşitli mekanizmalarla antioksidan etki (Hussain, Anwar, Chatha, Jabbar, Mahboob ve Nigam, 2010), birçok kanser hücre hattına karşı sitotoksik aktivite (Cattaneo, Cicconi, Mignogna, Giorgi, Mattei, Graziani ve Marra,2015), Alzheimer Hastalığı gibi nörodejeneratif rahatsızlıklarda sinaptik kavşaklarda azalmış nörotransmitterlerin düzeyini artırmakla alakalı olarak antikolinesteraz etki (Ozarowski,Mikolajczak, Bogacz, Grysczynska, Kujawska, Jodynis-Liebert ve Bartkowiak-Wieczorek, 2013), halk arasında şeker hastalığında kullanımıyla paralel antidiyabetik etki (Cui ve ark., 2012), özellikle uçucu yağ bileşimiyle ilişkilendirilebilecek antimikrobiyal, antifungal ve antibakteriyel etki (Lemos, Lemos, Pacheco, Endringer ve Scherer, 2015) bunlardan sadece birkaçıdır. Fitoterapi açısından büyük öneme sahip, ülkemizde de kolayca ve oldukça geniş bir alanda yayılış gösterebilen biberiyenin farklı kaynaklardan elde edilecek bitki örneklerinin kalite kontrol ve miktar tayini sonuçlarının birbirinden farklılık

göstereceği varsayılarak, sonuçların karşılaştırmalı olarak verilmesi hedeflenmektedir.

1.5.Araştırmanın Sınırlılıkları

Araştırma bütçesi ve mevcut olanaklar dahilinde Avrupa Farmakopesi'nde yer alan en önemli denemeler seçilmiş, çalışma materyali olarak da farklılık göstereceğini öngördüğümüz beş farklı örnek seçilebilmiştir. Farklı lokasyonlardan yapılacak arazi çalışmaları sonucu toplanabilecek fazla sayıda örnekle daha kapsamlı çalışmalar ileride planlanabilir.

1.6.Araştırmanın Amacı

R. officinalis bitkisinin mevcut kullanışı ve literatürde yer alan çalışmaları incelemek, bitki örneklerinin (Çiçekliköy-İzmir civarından doğal bir örnek, iki farklı lokasyondan aktar örneğive eczanelerde iki farklı firmaya ait ürünler) Avrupa Farmakopesi standartlarına uygunluğunu kalite kontrol ve miktar tayini denemeleri yaparak, sonuçları karşılaştırmalı olarak irdelemek, bitkinin fitoterapide kullanımına dikkat çekmek bu araştırmanın amacıdır.

Genel Bilgiler

2.1.Botanik Bilgiler

Taksonomi

Tablo1.*R. officinalis* L. taksonomisi (Master data/monograph... 2007)

• Üst alem	Plantae
• Alem	Viridiplantae
• Alt alem	Streptophyta
• Üst şube	Embryophyta
• Şube	Tracheophyta
• Alt Şube	Spermatophytina
• Sınıf	Magnoliopsida
• Takım	Lamiales
• Aile	Lamiaceae
• Cins	<i>Rosmarinus</i> L.
• Tür	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.

2.1.1.Lamiaceae familyasının genel özellikleri

Otsu bitkiler ya da çalılar, genellikle glandüler ve aromatik; gövdeler 4 köşeli veya değil. Yapraklar stipulasız, basit, bazen pinnat, her zaman karşılıklı. Çiçek durumu basit olarak braktelerin veya yaprakların üstündeki koltuklardan meydana gelmekte ve genellikle vertisillatlar oluşturacak şekilde; spika, kapitulum, rasemoz veya simoz durumunda. Çiçekler ginodioik bitkilerde hermafrodit veya erkek organ körelmiş. Brakteler yapraklardan açıkça farklı ya da onlara benzer; brakteoller var ya da yok. Kaliks genellikle üstte 3, altta 2 dişli bölüm olmak üzere 5 loblu, nadiren loblar veya dişler 1 ve 1 veya 1 ve 4, veya kaliks aktinomorfik; 5-20 damarlı. Korolla gamopetal, zigomorfik ve bilabiat, genellikle belirsiz 2 loblu üst dudak (kukuleta veya miğfer), falkat, dik veya konkav, ve 3 loblu alt dudak (labellum); nadiren üst dudak küçülmüş ve alt dudak 5 loblu, veya 1 üst ve 4 alt loblu veya korolla aktinomorfik. Stamenler korollaya bitişik, 4 veya 2 verimsiz stanem, üst çift genellikle alt çiftten kısa; anter tekaları 2 veya 1 hücreli, paralel veya birbirinden ayrı, nadiren uzamış bağlarla ayrılmış. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli ve 4 ovüllü, 4 loblu. Stilus ginobazik,

nadiren değil, üstte kısaca bifid. Meyve 4 nuksa ayrılan bir şizokarp. Müsilajlı yapılar ıslatılınca şişer (Mill, 1982).

2.1.2. *Rosmarinus L.*

Yapraklarını dökmeyen, sık dallara sahip yüksekçe bir çalıdır. Dalları tırmanıcı ya da dik, 50-100 cm civarındadır. Yapraklar 10-25, 1-2(-4)mm derimsi, dar, linear, kenarları alta doğru kıvrık, üst yüzeyi koyu yeşil, yumuşak ve uzun tüylü, alt yüzeyi açık renkli, sık yumuşak tüylüdür. Çiçeklerin sapları sık tüylü, beyaz yıldız şeklinde. Kaliks 3-4,5 mm, ikiye bölünmüş halde, meyve sık beyaz renkte tüylü, zamanla damarlı ve az çok tüysüz hale gelir. Korollası açık mavi, 8-12 mm, iki dudaklı, stamenler 2 tane, meyvesi kahverengidir (Mill, 1982).

Kayıtlı Olduğu Farmakope ve Monograflar

Avrupa Farmakopesi

Fransız Farmakopesi

İngiliz Bitki Farmakopesi

ESCOP Monografları

Komisyon E Monografları

2.2. Kimyasal Bileşimi

Bitkide fenolik diterpenler (Bracco ve ark., 1981), rosmarinik asit (Cuvelier ve ark.,1996), triterpenler (Abe ve ark.,2002), flavonoidler (Cuvelier ve ark.,1996), karotenoidler ve α - tokoferol (Munne-Bosch ve ark., 1999; Torre ve ark.,2001) ,uçucu yağın bileşiminde ökaliptol, kafur, borneol, α -terpinol, α -pinen, linalol, dimetilfenol, bornilasetat, limonen, verbenon, kamfen, (Celiktaş ve ark.,2007; Gachkar ve ark.,2007; Kabuche ve ark.,2005; Panizzi ve ark.,1993; Pintore ve ark.,2002) bulunmaktadır.

2.3. Biyolojik Özellikleri

Biberiyede bulunan fenolik bileşenler ve uçucu yağ antioksidan aktiviteye sahiptir (Hussain, Anwar, Chatha, Jabbar, Mahboob ve Nigam, 2010). Çeşitli mekanizmalarla birçok kanser hücre hattına karşı hücre büyümesini durdurucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (Cattaneo, Cicconi, Mignogna, Giorgi, Mattei, Graziani ve

Marra,2015). Bitkinin etanol ekstresinin gastrik ülserasyonları önlediği görülmüştür (Amaral, de Carvalho, Barcelos, Dobrachinski, de Lima Portella, da Silva ve Athayde, 2013). Bitkiden hazırlanan ekstreler antikolinesteraz aktivite göstermiştir (Ozarowski, Mikolajczak, Bogacz, Gryszczynska, Kujawska, Jodynis-Liebert ve Bartkowiak-Wieczorek, 2013). Özellikle sahip olduğu diterpen yapıda bileşikler nöronal hücre ölümünü inhibe etmektedir (Habtemariam, 2016). Obeziteyle alakalı metabolik bozukluklara karşı etkilidir (Sedighi, 2014). Bitkinin yapraklarından hazırlanan ekstre pankreas lipaz aktivitesini inhibe eder ve yağ oranında düşüş sağlar (Harach, Aprikian, Monnard, Moulin, Membrez, Béolor ve Darimont, 2010). Bitkinin sulu alkollü ekstresi farelerde anksiyolitik etki göstermiştir (Noori Ahmad Abadi, Mortazavi, Kalani, Marzouni, Kooti ve Ali-Akbari, 2016). Ayrıca uçucu yağının potansiyel psikostimülan etkisi mevcuttur (Alnamer, Alaoui, Boudida, Benjouad, Cherrah, 2012). Uçucu yağı antimikrobiyal, serbest radikal süpürücü ve insektisit aktivitelere sahiptir (Lemos, Lemos, Pacheco, Endringer ve Scherer, 2015). İçermiş olduğu fenolik bileşenlerin antidiyabetik etkisi vardır (Cui ve ark., 2012).

Gereç ve Yöntemler

3.1.Gereçler

Deneysel çalışmalarımızda materyal olarak eczanede mevcut biberiye örnekleri, aktarlardan alınan bitki örnekleri ve doğadan toplanan örnek kullanılmıştır. 12.05.2016 tarihinde Çiçekliköy, İzmir'den topladığımız örnek, “Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı” Herbaryumu’nda 1549 numara ile kayıtlıdır. Kullanılan örneklerle ilgili bilgiler Tablo2’de yer almaktadır.

Tablo2.Çalışma materyallerinin ticari adları, üretici/ithalatçı firmaları ve farmasötik formları

Preparat adı	ÖRNEK NO
Doğadan toplanan (Çiçekliköy-İzmir)	RO1
Akşehir aktar	RO2
İzmir aktar	RO3
Eczaneden temin edilen (Günvit)	RO4
Eczaneden temin edilen (Fitomed)	RO5

Resim1.*R. officinalis* L.



3.2.Yöntem

RO1, RO2, RO3, RO4 ve RO5 örneklerinin Avrupa Farmakopesi referans alınarak; total hidroksisinnamik asit ve rosmarinik asit yüzdeleri analiz edilmiştir, metanol ekstraları hazırlanıp ince tabaka kromatografisi (İTK) ile analizleri, “*kurutmada kayıp, total kül, sülfat külü, hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayinleri*” yapılmıştır.

3.2.1.Farmakope Analizleri

Kurutmada Kayıp Miktar Tayini

Önceden sabit ağırlığa getirilmiş camdan yapılmış tartım kabına 1 g civarında drog tam olacak şekilde tartılarak konur. 105°C’lik etüvde 1 saat bekletilir. Etüvden çıkartılarak desikatörde belirli bir süre soğuması için bekletildikten sonra tartılır. Bu işlemlere “*son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg’dan fazla olmayacak şekilde*” sabit vezne gelinceye kadar devam edilerek, droğun yüzde kurutmada kayıp miktarı hesaplanır.

Total Kül Miktar Tayini

600±25°C’lik “*Heraeus markalı*” fırında önceden 1 saat yakılmasını takiben soğuması beklenip, sabit ağırlığa getirilen porselen kröze içerisinde 1 g civarında drog

tam olarak tartılarak konur. Öncelikle 100-105°C'lik etüvde kurutulur (1 saat). Daha sonra 600±25°C'lik fırında 1 saat yakılır. Fırından çıkartılarak desikatörde soğuması için bekletildikten sonra tartılır. Bu işlemlere külü içeren krözenin ağırlığında “*son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde*” sabit vezne gelinceye kadar devam edilerek, droğun içerdiği total kül miktarı yüzde olarak hesaplanır.

Sülfat Külü Miktar Tayini

600±25°C'lik “*Heraeus markalı*” fırında önceden 1 saat yakılmasını takiben soğutularak sabit ağırlığa getirilen krözelere 1 g civarında drog tam olarak tartılarak konur. Droğun üzerine damla damla olacak şekilde 2 ml %10'luk sülfürik asit çözeltisi ilave edilir. Öncelikle su banyosunda çözücüsü uçana kadar bekletildikten sonra ardından tablalı ısıtıcıda duman çıkışı gözlenmeyene kadar yakılır. Daha sonra aynı fırında 1 saat bekletilerek yakılır. Fırından çıkartılarak desikatöre alınır, soğutulur. Daha sonra üzerine sülfürik asit (%10) eklenir, benzer şekilde ısıtılıp, yakılır. Soğumasının ardından % 15.8'lik amonyum karbonat çözeltisi üzerlerine eklenir. Yanma, soğuma ve tartım işlemleri, sülfat külü içeren kröze sabit ağırlığa gelinceye kadar tekrar edilir. Droğun yüzde sülfat külü miktarı hesaplaması yapılır.

Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini

600±25°C'lik “*Heraeus marka*” yakma fırını önceden 1 saat yakılıp soğutularak sabit ağırlığa getirilen porselen kröze içerisine 1 g civarında drog tam olarak tartılıp konur. Öncelikle 100-105°C'lik etüvde bekletilir (1 saat). Daha sonra 600±25°C'lik fırında 1 saat boyunca yanma işlemine tabi tutulur. Fırından çıkartılarak desikatörde bir miktar soğuması için bekletildikten sonra tartılır. Bu işlemlere “*son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde*” sabit vezne ulaşana dek devam edilir. Daha sonra krozede kalan bakiye üzerine, distile su ve HCl konulur. Krozenin ağzı saat camıyla kapatılır ve tablalı ısıtıcı üzerinde ısıtılıp kaynaması sağlanır. Soğuduktan sonra kül bırakmayan süzgeç kağıdı (5891 Black ribbon) kullanılarak süzülür. Süzüntü nötr oluncaya kadar sıcak distile suyla süzgeç kağıdı yıkanır. Üzerinde kalan bakiyeyle birlikte süzgeç kağıdı tekrar krozenin içerisine konur ve son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar yakma işlemine devam edilir. Böylece droğun % miktar olarak hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı tespit edilmiş olur.

Total Hidroksisinnamik Asit Türevlerinin Spektrofotometrik Tayini

Stok çözeltisi: 0.200 g toz droğa 80 ml alkol (% 50 v/v'lik) eklenip geri çeviren soğutucu kullanılarak, kaynayan su banyosunda 30 dk bekletip soğutulup süzülür, 10 ml alkolle (% 50 v/v'lik) durulanır, süzülür ve alkolle (% 50 v/v'lik) 100 ml'ye seyreltilir.

Test çözeltisi: 1 ml stok çözeltisinden alınır 2 ml 0.5 M hidroklorik asit, 10 g sodyum nitrat çözdürülmüş 2 ml çözelti, 100 ml suyun içinde 10 g sodyum molibdat ve 2 ml seyreltik sodyum hidroksit solüsyonu karışımını suyla 10 ml'ye seyrelterek hazırlarız.

Karşılaştırma çözeltisi: 1 ml stok çözeltisi suyla 10 ml'ye seyrelterek hazırlarız. Test çözeltisinin 505 nm'deki absorbansı ölçülür.

Total hidroksisinnamik asit türevlerinin %'si ve rosmarinik asit %'si hesaplanırken aşağıdaki formül kullanılır.

$$\frac{A * 2.5}{m}$$

A: Test çözeltisinin 505 nm'deki absorbansı

m: İncelenen droğun g cinsinden kütlesi

İTK Analizi

Avrupa Farmakopesine göre rosmarinik asit ve kafeik asit maddeleri şahit olarak kullanılarak İTK yöntemi ile test yapılmıştır.

Test çözeltisi: 1 g toz edilmiş örnek 10 ml metanol R (% 96) ilave edilerek 30 dk boyunca arada çalkalanarak bekletilmiş ve süzgeç kağıdıyla süzölmüştür. Elde edilen bakiye test çözeltisi olarak kullanılmıştır.

Referans çözeltisi: 10 ml metanol R içerisine 1 mg kafeik asit R ve 5 mg rosmarinik asit R eklenerek oluşturulmuş çözeltiyi referans çözeltisi olarak kullanırız.

Plak: TLC Silika jel plak

Hareketli faz: Susuz formik asit R, aseton R, metilen klorid R (8.5:25:85 V/V/V)

Uygulama: 10 ml test solüsyonu ve 20 ml referans solüsyonu kullanarak uygulama yapılır.

Kurutma: Havada

Tespit: Plak havada kurutulduktan sonra 365 nm ultraviyole ışıktaki sürüklenme mesafesi olan 8 cm yüksekliğindeki sürüklenmeler incelenmiştir.



Deneyler

4.1.Kurutmada Kayıp Miktar Tayini

Tartım kapları 100–105°C’lik etüvde 2 saat bekletilerek desikatörde sabit vezne gelmesi için soğutuldu. Darası alınan cam kaplara toz edilmiş RO1, RO2, RO3, RO4 ve RO5 her birinden üçer örnek olacak şekilde yaklaşık 1 g tartıldı. 100–105 °C etüvde 1 saat kurutulması sonucu desikatöre alınarak sabit vezne getirilerek tekrar hassas terazide tartım alındı. Bu işlemlere “*son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg’den fazla olmayacak şekilde*” sabit vezne gelene kadar devam edildi, droğun yüzde kurutmada kayıp miktarı hesaplamaları yapıldı. Tartım değerlerinin ortalamaları alınarak yüzde değerleri hesaplandı. Monografta yer alan; 1g toz edilmiş droğun 100–105°C etüvde 2 saat kurutulması sonucu en fazla %10 kayıp şartına uygunluğu değerlendirildi.

4.2.Total Kül Miktar Tayini

600±25°C’lik “*Heraeus marka*” yakma fırınında önceden 1 saat yakıldı, ardından soğutuldu ve sabit vezne getirilen porselen kröze içerisine 1 g civarında drog tam olarak tartılarak kondu. Önce 100-105°C’lik etüvde 60 dakika bekletildi. Daha sonra 600±25°C’lik yakma fırınında 60 dakika yakıldı. Desikatörde 30 dk soğuması için bekletildikten sonra tartıldı. Yakma, soğutma ve tartım aşamalarının hepsi “*son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg’den fazla olmayacak şekilde*” sabit vezne gelinceye kadar devam edilerek droğun total kül miktarı yüzde olarak hesaplanmış oldu.

4.3.Sülfat Külü Miktar Tayini

600±25°C’lik “*Heraeus marka*” yakma fırınında önceden 1 saat yakılıp soğutulularak sabit ağırlığa getirilen porselen kröze içerisine 1 g civarında drog tam olarak tartılarak kondu. Droğun üzerine seyreltik sülfürik asit çözeltisi yavaş yavaş ilave edildi. Su banyosu üzerinde tamamen kuruyana kadar bekletildikten sonra ısıtıcıda duman çıkışı sona erene kadar yakıldı. Bir sonraki aşamada yakma fırınında 60 dakika yakılmaya bırakıldı, ardından desikatörde 30 dakika soğuması için bekletildi. Drog içeren krözeye birkaç damla seyreltik sülfürik asit tekrar eklendi, ısıtıldıktan sonra yakıldı. Desikatörde 30 dk soğutulmasının ardından, birkaç damla amonyum karbonat çözeltisi ilave edildi. Drog içeren kröze sabit vezne gelinceye kadar 60 dakika süreyle yakma fırınında yanmaya bırakıldı ve desikatörde 30 dk

soğutulmasını takiben tartıldı. Hesaplamalar sonucunda droğun içerdiği sülfat külü miktarı yüzde değer olarak hesaplandı.

4.4.Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini

600±25°C'lik "Heraeus marka" yakma fırınında önceden 1 saat yakılıp soğutularak değişmeyen ağırlığa getirilen porselen kröze içerisine droglar (1 g) tam olarak tartılarak kondu. 100-105°C'lik etüvde 60 dakika süreyle tutuldu. Daha sonra 600±25°C'lik yakma fırınında 60 dakika boyunca yanmaya bırakıldı. Desikatörde 30 dk soğuması için bekletildikten sonra tartıldı. Bu işlemlere "son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde" sabit vezne gelinceye kadar devam edildi. Daha sonra drog içeren krözenin içine distile su ve derişik HCl konuldu. Krözenin ağzı saat camıyla kapatıldı ve 10 dk plak ısıtıcı üzerinde ısıtıldı. Soğuduktan sonra kantitatif özellikli süzgeç kağıdından (5891 Black ribbon) süzülerek süzüntünün nötr olması için sıcak distile suyla süzgeç kağıdı yıkandı. Üzerinde kalan bakiyesiyle birlikte süzgeç kağıdı tekrar krözenin içerisine yerleştirildi. "Son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde" sabit vezne gelinceye kadar yakma işlemine devam edildi. Böylece droğun % olarak hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı hesaplandı.

4.5. Total Hidroksisinnamik Asit Türevlerinin Spektrofotometrik Tayini

0.2'şer g toz drog tartılarak alkol (% 50 v/v'lik) eklenip geri çeviren soğutucu kullanılarak, kaynama derecesindeki su banyosunda 30 dk bekletip soğutulup süzüldü, alkolle (% 50 v/v'lik) 100 ml'ye seyreltildi.

Test çözeltisini hazırlamak için 1 ml stok çözeltisi, 2 ml 0.5 M hidroklorik asit, 10 g sodyum nitrat çözdürülmüş 2 ml çözelti, 100 ml suyun içinde 10 g sodyum molibdat ve 2 ml seyreltik sodyum hidroksit solüsyonu karışımını suyla 10 ml'ye seyreltildi. Her bir örnek için 3 paralel olacak şekilde işlemler ayrı ayrı yapıldı. 1 ml stok çözeltisi distile suyla 10 ml'ye seyreltildi. Test çözeltisinin 505 nm'deki absorbansı ölçüldü. Total hidroksisinnamik asit türevlerinin %'si yukarıda belirtilen formüle göre hesaplandı.

4.6. İTK Analizi

1'er g toz edilmiş örnekler 10 ml metanol eklenip 30 dk boyunca arada çalkalanarak bekletilip, süzgeç kağıdıyla süzülerek test çözeltileri hazırlandı. 10 ml metanolde, 1 mg kafeik asit ve 5 mg rosmarinik asit eklenip karışımın çözülmesi sağlanarak referans çözeltisi hazırlandı. 10'ar ml test solüsyonu ve 20 ml referans solüsyonu, mobil faz olarak susuz formik asit, aseton, metilen klorid (8.5:25:85 V/V/V) kullanılarak silika gel plağa uygulama yapıldı. Plağın havada kurumasını takiben, 365 nm dalga boyundaki ultraviyole ışık altında incelendi ve fotoğraflandı.



Bulgular

5.1.Farmakope Analizleri

5.1.1.Kurutmada Kayıp Miktar Tayini

RO1, RO2, RO3, RO4 ve RO5 örnekleri üzerinde her birinden 3 paralel olacak şekilde kurutmada kayıp miktar tayini çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir ve 105°C etüvde 2 saat kurutulması sonucu en fazla % 10 kayıp şartına uygunluğu değerlendirilmiştir.

Sabit vezin dara=A

Drog miktarı=X

Son tartım=C₂

C₂-A=Y

X-Y=Kurutmada kayıp

$$\% \text{Kurutmada kayıp} = \frac{(X - Y) \times 100}{X}$$

Tablo3.R. officinalis L. bitkisinden hazırlanan örnekler üzerinde yapılan kurutmada kayıp miktar tayini sonuçları

Drog	Drog miktarı (g)	Total Kurutmada Kayıp Miktarı (%)
RO1	1,0006	7,0857
RO1	1,0006	7,1157
RO1	1,0004	7,1429
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı=7,1148		
RO2	1,0003	7,3730
RO2	1,0005	7,2764
RO2	1,0006	7,1457
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı=7,2650		
RO3	1,0001	6,0994
RO3	1,0003	6,3081
RO3	1,0005	6,2069
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı=6,2048		
RO4	1,0001	7,7958
RO4	1,0003	7,5677
RO4	1,0005	7,5045
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı=7,6227		
RO5	1,0005	6,9953
RO5	1,0001	7,0493
RO5	1,0004	7,1571
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı=7,0672		

5.1.2.Total Kül Miktar Tayini

RO1, RO2, RO3, RO4 ve RO5 örnekleri üzerinde her birinden 3 paralel olacak şekilde total kül miktar tayini çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

$$\%kül = \frac{\text{yakıldıktan sonra kroze ve kül ağırlığı}}{\text{yakılmadan önce ürünsüz kroze darası}} \times 100$$

alınan ürünün ağırlığı

Tablo4.R. officinalis L. bitkisinden hazırlanan örnekler üzerinde yapılan total kül miktar tayini sonuçları

Drog	Drog miktarı (g)	Total kül miktarı(%)
RO1	1,0006	7,3808
RO1	1,0001	7,1205
RO1	1,0006	7,2556
Ortalama % Total Kül Miktarı=7,8650		
RO2	1,0001	6,1394
RO2	1,0006	6,0263
RO2	1,0002	5,9788
Ortalama % Total Kül Miktarı=6,0482		
RO3	1,0001	3,95
RO3	1,0001	4,24
RO3	1,0003	4,14
Ortalama % Total Kül Miktarı=4,11		
RO4	1,0007	8,3416
RO4	1,0006	8,5148
RO4	1,0000	8,4
Ortalama % Total Kül Miktarı=8,4188		
RO5	1,0007	7,9644
RO5	1,0004	7,8269
RO5	1,0008	7,8038
Ortalama % Total Kül Miktarı=7,2523		

5.1.3.Sülfat Külü Miktar Tayini

RO1, RO2, RO3, RO4 ve RO5 örnekleri üzerinde her birinden üçer paralel olacak şekilde sülfat külü miktar tayini çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

$$\%kül = \frac{\text{yakıldıktan sonra kroze ve kül ağırlığı}}{\text{yakılmadan önce ürünsüz kroze darası}} \times 100$$

alınan ürünün ağırlığı

Tablo5.R. officinalis L. bitkisinden hazırlanan örnekler üzerinde yapılan sülfat külü miktar tayini sonuçları

Drog	Drog Miktarı	Total Sülfat Külü Miktarı(%)
RO1	1,0000	10,13
RO1	1,0000	10
RO1	1,0002	9,978
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı=10,036		
RO2	1,0002	9,82
RO2	1,0001	9,28
RO2	1,0005	9,32
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı=9,4733		
RO3	1,0003	9,45
RO3	1,0002	9,38
RO3	1,0004	9,77
Ortalama %Sülfat Külü Miktarı=9,53		
RO4	1,0001	10,09
RO4	1,0000	10,15
RO4	1,0003	9,95
Ortalama %Sülfat Külü Miktarı=10,06		
RO5	1,0004	10,25
RO5	1,0005	10,06
RO5	1,0006	10,18
Ortalama %Sülfat Külü Miktarı=10,16		

5.1.4.Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı

RO1, RO2, RO3, RO4 ve RO5 örnekleri üzerinde her birinden 3 paralel olacak şekilde hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

M_2 = Hidroklorik asitte çözünmeyen kül+kroze ağırlığı

M_1 =krozenin ağırlığı

m=alınan örneğin miktarı

$$\% \text{ çözünmeyen kül} = \frac{M_2 - M_1}{m} \times 100$$

Tablo6.R. *officinalis* L. bitkisinden hazırlanan örnekler üzerinde yapılan hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini sonuçları

Drog	Drog Miktarı	Total Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı (%)
RO1	1,0003	7,5696
RO1	1,0004	7,7658
RO1	1,0001	7,6895
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı =7,6750		
RO2	1,0000	7,2529
RO2	1,0002	7,1516
RO2	1,0004	7,2659
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı =7,2235		
RO3	1,0003	7,1258
RO3	1,0002	7,2578
RO3	1,0004	7,1325
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı =7,1720		
RO4	1,0007	7,9844
RO4	1,0004	7,8369
RO4	1,0008	7,8038
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı =7,8750		
RO5	1,0004	7,6875
RO5	1,0005	7,8854
RO5	1,0006	7,7852
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı =7,7860		

5.1.5.Total Hidroksisinnamik Asit Türevlerinin Spektrofotometrik Miktar Tayini

Stok solüsyonunu hazırlamak için 5 adet örneğimizden 0.200'er gram toz drog tartıp 80 ml alkol (%50 v/v'lik) eklenerek reflüks kondanseri altında kaynayan su banyosunda 30 dk bekletilip soğutulup süzülür, 10 ml alkolle (%50 v/v'lik)

durulanıp, süzülerek alkolle (%50 v/v'lik) 100 ml'ye seyreltildi. Test solüsyonunu hazırlamak için; 1'er ml stok çözeltilerinden alınıp 2 ml 0,5 M hidroklorik asit, 10 g sodyum nitrat çözdürülmüş 2 ml çözelti, 100 ml suyun içinde 10 g sodyum molibdat ve 2 ml seyreltik sodyum hidroksit solüsyonu karışımını suyla 10 ml'ye seyrelterek, test solüsyonları hazırlandı. Karşılaştırma çözeltileri de 1'er ml stok çözeltilerinden alınıp suyla 10 ml'ye seyrelterek hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerden 20 mikrolitre miktarında 12 şer örnek alarak 96 kutucuklu mikroplağa konulup 505 nm'de bu örneklerin absorbans değerleri okunmuştur. Bulunan absorbans değerlerinden yola çıkarak, her bir örnek için hidroksisinnamik asit türevi miktarları hesaplanmıştır.

Test çözeltisinin 505 nm'deki absorbansı ölçülerek, total hidroksisinnamik asit türevlerinin %'si ve rosmarinik asit %'si aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\frac{A \times 2,5}{m}$$

A: Test çözeltisinin 505 nm'deki absorbansı

m: İncelenen droğun g cinsinden kütlesi

Buradan çıkan ölçümlerin sonucunda, hidroksisinnamik asit türevlerinin %'si hesaplandı. Kurutulmuş drog en az %3 hidroksisinnamik asit türevi içermelidir, bu rosmarinik asit (C₁₈H₁₆O₈; MA340) miktarını belirler. Avrupa Farmakopesi'ne göre hazırlanan test solüsyonlarının 505 nm'deki absorbansları ölçülerek total hidroksisinnamik türevi hesaplandı, şekiller aşağıda verilmiştir.

8,5 g NaOH-100 ml su (Dilüe)

Molar Hesabı

250 ml için 0,250×0,5=0,125 mol

1 mol HCl 36,5 gram ise 0,125 mol HCl 4,56 gramdır.

100gram 37gram HCl ise 4.56 gram HCl 12.32 gramdır

$$d=1,19d=\frac{m}{v} \quad 1,19=\frac{12,32}{v} \quad v=10,35\text{ml'dir.}$$

250 ml'ye distile su ile tamamlanır.

Spektrofotometre için gerekli test çözeltileri:

- %50 v/v alkol
- 0,5M HCl
- Sodyum Nitrit/Molibdat Çöz
- Dilüe NaOH

2 g sodyum nitrit ve 2 g sodyum molibdat tartılıp distile su ile 20 ml'ye tamamlandı parafilm ile ağzı kapatıldı.

Tablo7.Spektrofotometrik tayin sonuçları

Örnek	1	2	3	Sonuçlar
RO1	0,522	0,529	0,524	6,5625
RO2	0,460	0,476	0,477	5,8875
RO3	0,265	0,267	0,272	3,34
RO4	0,474	0,476	0,477	5,9458
RO5	0,493	0,516	0,542	4,4083

Hesaplar:

$$\frac{A \times 2,5}{m}$$

A: Test çözeltisinin 505 nm'deki absorbansı

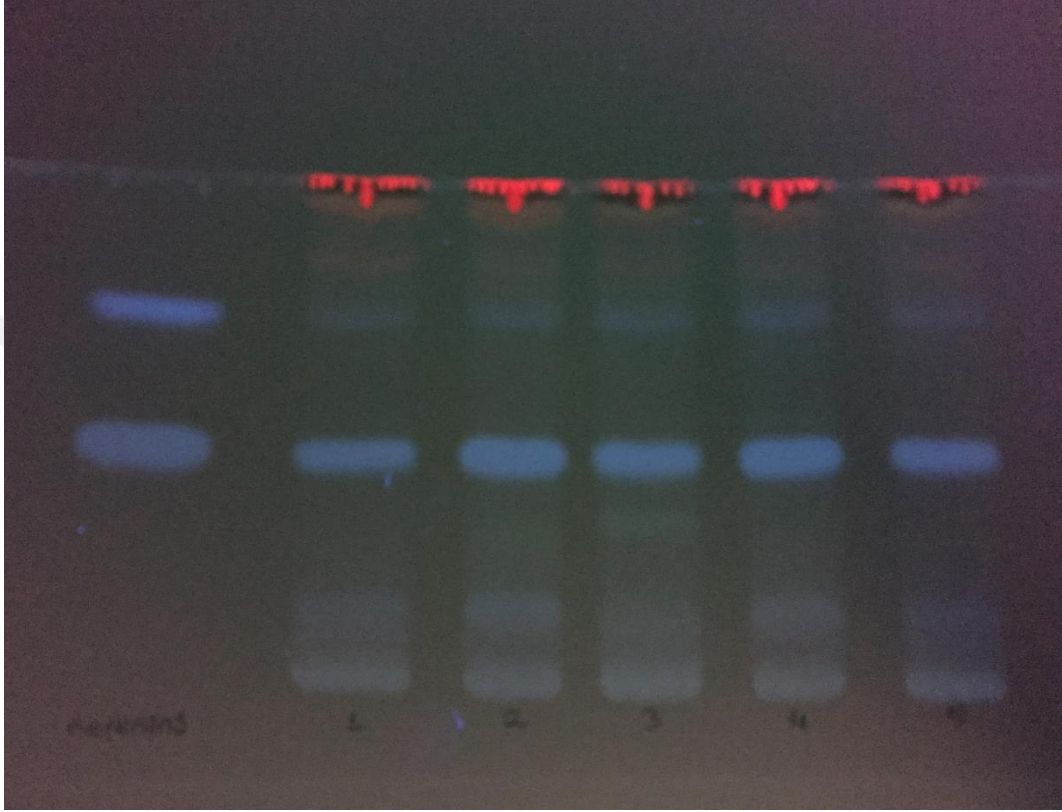
m: İncelenen droğun g cinsinden kütlesi

Çıkan sonuçlara göre hepsi %3'ün üzerinde olduğundan Avrupa Farmakopesi değerlerini karşılamaktadır.

5.2.İTK Analizi

Numunelerin metanol çözeltilerinin İTK analizleri, Avrupa Farmakopesi 7.6'da verilen "Rosemary Leaf" (Rosmarini Folium) monografi esas alınarak yapılmıştır. Kafeik asit ve rosmarinik asit ekleyerek oluşturduğumuz referans çözeltimizle örneklerimizin içeriklerinin yansımalarını aşağıda plak üzerindeki sürüklenmelerine göre yorumlanmıştır. İnce tabaka kromatografisinde şahit olarak kullanılan kafeik asit ve rosmarinik asit, test edilen bütün örneklerde tespit edilmiştir.

Resim2.Numunelerimizin İTK plağının UV altındaki rosmarinik asit ve kafeik asit görüntüsü



Tablo8.Örneklerin metanol ekstralarının İTK analizleri

Plak Üst Kısmı	
Kafeik asit: açık mavi floresan alanı	Pembe floresan alanı
Rosmarinik asit: açık mavi floresan alanı	Düşük yoğunluklu mavi floresan alanı
	Yoğun açık mavi floresan alanı
REFERANS ÇÖZELTİSİ	TEST ÇÖZELTİSİ

Tartışma

Ülkemizde kuşdili, biberiye, hasalban, akpüren gibi isimlerle bilinen *Rosmarinus officinalis* bitkisi baharat ve süs bitkisi olarak kullanımının yanı sıra fitoterapide haricen aromaterapide hipotonik dolaşım bozukluğuna karşı kullanılan değerli bir bitkidir. Biberiyenin sindirim sistemi stimulanı, safra salgısını artırıcı ve idrar attırıcı etkileri vardır ve ilaveten yaraları iyi edici olarak da kullanıldığı bilinmektedir (Kırpık, 2005). Saç dökülmesini önlemek için uçucu yağı haricen friksiyon şeklinde uygulandığında oldukça yüksek oranda yeni saç gelişimi gözlenmiştir (Khare, 2008).

Bitkinin tamamının dekoksasyonu, infüzyonu, çeşitli ekstreleri ve uçucu yağı sindirim bozukluklarında (gaz giderici ve gastrointestinal uyarıcı olarak), solunum hastalıklarında (balgam söktürücü ve antiseptik olarak), kalp şikayetlerinde (kalp güçlendirici, arteriyel uyarıcı), inflamasyonlarda, baş dönmesinde (Peter, 2006) ve hafızayı kuvvetlendirmek için kullanılmıştır (Adsersen, Gauguin, Gudiksen ve Jäger, 2006).

Ülkemizde başta Ege ve Akdeniz sahil kesimi olmak üzere bir çok bölgede daha çok kültür formunda yetiştirilmektedir. Bu çalışmada Çiçekliköy-İzmir civarından toplanan, Akşehir'de bir aktardan, İzmir'de bir aktardan, eczaneden temin edilen iki markanın örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Bunlara sırasıyla RO1, RO2, RO3, RO4 ve RO5 kodları verilmiştir. Aynı bölgede yer alan aktarların tedarik kaynaklarının aynı ya da yakın lokasyonlar olacağı düşünülerek farklı olarak İç Anadolu bölgesinden bir aktardan da örnek temin edilmiştir.

Tüm örneklerin kurutmada kayıp miktar tayini sonuçları incelediğinde, farmakopeye göre en fazla %10 kayıp şartına uygunluğu tespit edilmiştir.

Numunelerde bulunan total kül miktarları RO1 %7,252, RO2 %6.05, RO3 %4.11, RO4 %8,42 ve RO5 %7.87 olarak bulunmuştur. Avrupa Farmakopesi'ne göre total kül miktarı %9'u geçmemelidir. Bu bilgiye göre tüm örneklerin standartlara uygun olduğu tespit edilmekle birlikte RO3 kodlu örneğin en düşük total kül miktarına sahip olduğu görülmüştür.

Numunelerde bulunan sülfat külü yüzdeleri RO1 %10,04, RO2 %9,47 , RO3 %9,53 , RO4 %10,06 ve RO5 %10,16 ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı yüzdelerini RO1 %7,68, RO2 %7,22, RO3 %7,88, RO4 %7,17 ve RO5 %7,79 olarak

bulunmuştur. Sülfat külü ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı açısından sırasıyla RO5 ve RO3 en yüksek orana sahip olmakla birlikte sonuçlar arasında bariz farklar gözlenmemiştir.

İTK analizlerinin sonuçlarında da; tüm örneklerin metanoldeki ekstralarının İTK analizleri, Avrupa Farmakopesi 7.6 'da verilen "Rosemary Leaf" (Rosmarini Folium) monografını esas alınarak değerlendirme yapılmıştır. İnce tabaka kromatografisinde şahit olarak kullanılan kafeik asit ve rosmarinik asit test edilen bütün örneklerde izlenmiştir.

Biberiye üzerinde yapılan literatür tarama çalışmalarımızda bitkinin fenolik bileşenlerinin başta antioksidan aktivite olmak üzere birçok biyolojik aktiviteden sorumlu olduğu görülmüştür. Karnosik asit, karnosol, rosmarinik asit (Babovic, Djilas, Jadrinin, Vajs, Ivanovic, Petrovic ve Zizovic, 2010; Peng, C. H., Su, Chyau, Sung, Ho, Peng, C. C. ve Peng, R. Y., 2007), luteolin (Sasaki, El Omri, Kondo, Han ve Isoda, 2013), betulinik asit (Kontogianni ve ark., 2013) bunlardan birkaçıdır.

İTK ile teşhis denemesi yanında numunelerin rosmarinik asit üzerinden total hidroksisinnamik asit türevlerinin miktar tayini spektrofotometrik olarak yapılmıştır. Bütün örneklerin miktar tayini sonucu %3'ten fazla olduğu için farmakope standartlarını karşıladığı tespit edilmiştir. En yüksek oran ise doğadan (Çiçekliköy-İzmir) topladığımız bitki örneğinde kaydedilmiştir (%6,5625).

Sonuç ve Öneriler

R. officinalis fitoterapide oldukça geniş kullanıma sahip, üzerinde yeterli bilimsel çalışma yapılmış değerli bir bitkidir. Bu çalışmada ülkemizin biyolojik bir zenginliği olan biberiye bitkisinin çeşitli kaynaklardan sağlanan örnekleri Avrupa Farmakopesi'ne göre test edilmiş, elde edilen sonuçlar karşılaştırılmalı olarak verilmiştir. Kültür formuna özellikle Akdeniz iklimine sahip kıyı kesimlerinde sıkça rastladığımız bitkiden hazırlanan preparatlar ise piyasada sınırlı sayıda yer bulmaktadır. Elde ettiğimiz kalite kontrol ve miktar tayini sonuçları da göz önüne alındığında, kaynağı belli ve farmakope-monograflara uygun olarak hazırlanmış drogdan hazırlanacak preparatların yanında, bitkiden elde edilebilecek saf etken maddelerin sağlık alanında çeşitli alanlarda kullanımını ve ülkemiz ekonomisine katkı sağlama potansiyelinin yüksek olduğuna dikkat çekilmiştir.

Kaynaklar

- Abe, F., Yamauchi, T., Nagao, T., Kinjo, J., Okabe, H., Higo, H., ve Akahane, H. (2002). Ursolic acid as a trypanocidal constituent in rosemary. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25 (11), 1485-1487.
- Adersen, A., Gauguin, B., Gudiksen, L., ve Jäger, A. K. (2006). Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 104 (3), 418-422.
- Akbari, J., Saeedi, M., Farzin, D., Morteza-Semnani, K., ve Esmaili, Z. (2015). Transdermal absorption enhancing effect of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* on percutaneous absorption of Na diclofenac from topical gel. *Pharmaceutical Biology*, 53 (10), 1442-1447.
- Alanazi, A. M. (2016). The cytotoxicity effect of rosemary and myrrh extracts on cancer cell lines (Doctoral dissertation, Tennessee State University).
- Alnamer, R., Alaoui, K., Boudida, E., Benjouad, A., ve Cherrah, Y. (2012). Psychostimulant activity of *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Journal of Natural Products*, 5, 83-92.
- Altinier, G., Sosa, S., Aquino, R. P., Mencherini, T., Loggia, R. D., ve Tubaro, A. (2007). Characterization of topical antiinflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (5), 1718-1723.
- Amaral, G. P., de Carvalho, N. R., Barcelos, R. P., Dobrachinski, F., de Lima Portella, R., da Silva, M. H., ... ve Athayde, M. L. (2013). Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 48-55.
- Aysel, M. B. (2008). Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve kekik (*Origanum onites* L.) bitkilerindeki antioksidan aktivite potansiyellerinin araştırılması. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Barreto, H. M., Silva Filho, E. C., Lima, E. D. O., Coutinho, H. D., Morais-Braga, M. F., Tavares, C. C., ... ve Oliveira, R. W. G. (2014). Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 59, 290-294.
- Baytop, T. (1999). *Türkiye'de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün*. Nobel Tıp Kitapları.
- Begum, A., Sandhya, S., Vinod, K. R., Reddy, S., ve Banji, D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 12 (1), 61-74.
- Bracco, U., Löliker, J., ve Viret, J. L. (1981). Production and use of natural antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58 (6), 686-690.
- Cantrell, C. L., Richheimer, S. L., Nicholas, G. M., Schmidt, B. K., ve Bailey, D. T. (2005). s eco-Hinokiol, a new abietane diterpenoid from *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Natural Products*, 68 (1), 98-100.
- Cattaneo, L., Cicconi, R., Mignogna, G., Giorgi, A., Mattei, M., Graziani, G., ... ve Marra, M. (2015). Anti-proliferative effect of *Rosmarinus officinalis* L. extract on human melanoma A375 cells. *Plos One*, 10 (7), e0132439.
- Celiktas, O. Y., Kocabas, E. H., Bedir, E., Sukan, F. V., Ozek, T., ve Baser, K. H. C. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100 (2), 553-559.
- Cui, L., Kim, M. O., Seo, J. H., Kim, I. S., Kim, N. Y., Lee, S. H., ... ve Lee, H. S. (2012). Abietane diterpenoids of *Rosmarinus officinalis* and their diacylglycerol acyltransferase-inhibitory activity. *Food Chemistry*, 132 (4), 1775-1780.
- Cuvelier, M. E., Richard, H., ve Berset, C. (1996). Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73 (5), 645-652.

- Dallali, S., Llovera, M., Eras Joli, J., Houcine, S., ve Canela-Garayoa, R. (2016). Rapid gas chromatographic determination of free fatty acids in Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaves. *Analytical Letters*, 49 (4), 467-476.
- del Baño, M. J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., del Río, J. A., Ortuño, A., ... ve Gerard, D. (2003). Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (15), 4247-4253.
- del Baño, M. J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., Marín, M. P., Del Río, J. A., ... ve Ibarra, I. (2004). Flavonoid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Postulation of a biosynthetic pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (16), 4987-4992.
- Endo, E. H., Costa, G. M., Nakamura, T. U., Nakamura, C. V., ve Dias Filho, B. P. (2015). Antidermatophytic activity of hydroalcoholic extracts from *Rosmarinus officinalis* and *Tetradenia riparia*. *Journal de Mycologie Medicale*, 25 (4), 274-279.
- Ferlemi, A. V., Katsikoudi, A., Kontogianni, V. G., Kellici, T. F., Iatrou, G., Lamari, F. N., ... ve Margaritý, M. (2015). Rosemary tea consumption results to anxiolytic-and anti-depressant-like behavior of adult male mice and inhibits all cerebral area and liver cholinesterase activity; phytochemical investigation and in silico studies. *Chemico-Biological Interactions*, 237, 47-57.
- Fraga, B. M., González, A. G., Herrera, J. R., Luis, J. G., Perales, A., ve Ravelo, A. G. (1985). A revised structure for the diterpenerosmanol. *Phytochemistry*, 24 (8), 1853-1854.
- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., ve Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102 (3), 898-904.

- Ganeva, Y., Tsankova, E., Simova, S., Apostolova, B., ve Zaharieva, E. (1993). Rofficerone: a new triterpenoid from *Rosmarinus officinalis*. *Planta Medica*, 59 (03), 276-277.
- Ghasemzadeh, M. R., Amin, B., Mehri, S., Mirnajafi-Zadeh, S. J., ve Hosseinzadeh, H. (2016). Effect of alcoholic extract of aerial parts of *Rosmarinus officinalis* L. on pain, inflammation and apoptosis induced by chronic constriction injury (CCI) model of neuropathic pain in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 194, 117-130.
- González-Trujano, M. E., Peña, E. I., Martínez, A. L., Moreno, J., Guevara-Fefer, P., Deciga-Campos, M., ve López-Muñoz, F. J. (2007). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 111 (3), 476-482.
- Habtemariam, S. (2016). The therapeutic potential of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) diterpenes for Alzheimer's disease. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-15.
- Harach, T., Aprikian, O., Monnard, I., Moulin, J., Membrez, M., Béolor, J. C., ... ve Darimont, C. (2010). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract limits weight gain and liver steatosis in mice fed a high-fat diet. *Planta Medica*, 76 (06), 566-571.
- Houlihan, C. M., Ho, C. T., ve Chang, S. S. (1984). Elucidation of the chemical structure of a novel antioxidant, rosmaridiphenol, isolated from rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61 (6), 1036-1039.
- Huang, M. T., Ho, C. T., Wang, Z. Y., Ferraro, T., Lou, Y. R., Stauber, K., ... ve Conney, A. H. (1994). Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid. *Cancer Research*, 54, 701-708.
- Hussain, A. I., Anwar, F., Chatha, S. A. S., Jabbar, A., Mahboob, S., ve Nigam, P. S. (2010). *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41 (4), 1070-1078.

- Kabouche, Z., Boutaghane, N., Laggoune, S., Kabouche, A., Ait-Kaki, Z., ve Benlabeled, K. (2005). Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *International Journal of Aromatherapy*, 15 (3), 129-133.
- Khare, C. P. (2008). *Indian medicinal plants: an illustrated dictionary*. Springer Science & Business Media.
- Kırpık, M. (2005). Çukurova bölgesi kıraç ve taban arazi koşullarında yetiştirilen biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) çeşitlerinin verim ve kalitesi üzerine araştırmalar. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Lemos, M. F., Lemos, M. F., Pacheco, H. P., Endringer, D. C., ve Scherer, R. (2015). Seasonality modifies rosemary's composition and biological activity. *Industrial Crops and Products*, 70, 41-47.
- Mahmoud, A. A., Al-Shihry, S. S., ve Son, B. W. (2005). Diterpenoid quinones from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Phytochemistry*, 66 (14), 1685-1690.
- Mahyari, S., Mahyari, B., Emami, S. A., Malaekheh-Nikouei, B., Jahanbakhsh, S. P., Sahebkar, A., ve Mohammadpour, A. H. (2016). Evaluation of the efficacy of a polyherbal mouthwash containing *Zingiber officinale*, *Rosmarinus officinalis* and *Calendula officinalis* extracts in patients with gingivitis: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Complementary therapies in clinical practice*, 22, 93-98.
- Malayoğlu, H. B. (2010). Biberiye'nin (*Rosmarinus officinalis* L.) antioksidan etkisi. *Hayvansal Üretim*, 51 (2). 59-61
- Master data/monograph. *Rosmarinus officinalis* (Rosemary). (2007).
- McCaffrey, R., Thomas, D. J., ve Kinzelman, A. O. (2009). The effects of lavender and rosemary essential oils on test-taking anxiety among graduate nursing students. *Holistic Nursing Practice*, 23 (2), 88-93.
- Mill, R.R. (1982). *Rosmarinus* L.in: *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Davis, P.H. ed.). Edinburg: Edinburg University Press.

- Munné-Bosch, S., Schwarz, K., ve Alegre, L. (1999). Response of abietane diterpenes to stress in *Rosmarinus officinalis* L.: new insights into the function of diterpenes in plants. *Free Radical Research*, 31 (sup1), 107-112.
- Nakatani, N., ve Inatani, R. (1981). Structure of rosmanol, a new antioxidant from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Agricultural and Biological Chemistry*, 45 (10), 2385-2386.
- Noori Ahmad Abadi, M., Mortazavi, M., Kalani, N., Marzouni, H. Z., Kooti, W., ve Ali-Akbari, S. (2016). Effect of hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. leaf on anxiety in mice. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 21 (4), NP85-NP90.
- Okamura, N., Haraguchi, H., Hashimoto, K., ve Yagi, A. (1994). Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry*, 37 (5), 1463-1466.
- Oluwatuyi, M., Kaatz, G. W., ve Gibbons, S. (2004). Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. *Phytochemistry*, 65 (24), 3249-3254.
- Ozarowski, M., Mikolajczak, P. L., Bogacz, A., Gryszczynska, A., Kujawska, M., Jodynys-Liebert, J., ... ve Bartkowiak-Wieczorek, J. (2013). *Rosmarinus officinalis* L. leaf extract improves memory impairment and affects acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in rat brain. *Fitoterapia*, 91, 261-271.
- Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P. L., ve Morelli, I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 39 (3), 167-170.
- Pérez-Fons, L., Aranda, F. J., Guillén, J., Villalaín, J., ve Micol, V. (2006). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) diterpenes affect lipid polymorphism and fluidity in phospholipid membranes. *Archives of Biochemistry And Biophysics*, 453 (2), 224-236.
- Peter, K. V. (Ed.). (2006). *Handbook of herbs and spices*. Cambridge, England: Woodhead Publishing.

- Pintore, G., Usai, M., Bradesi, P., Juliano, C., Boatto, G., Tomi, F., ... ve Casanova, J. (2002). Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, 17 (1), 15-19.
- Rašković, A., Milanović, I., Pavlović, N., Čebović, T., Vukmirović, S., ve Mikov, M. (2014). Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14 (1), 225.
- Santana-Méridas, O., Polissiou, M., Izquierdo-Melero, M. E., Astraka, K., Tarantilis, P. A., Herraiz-Peñalver, D., ve Sánchez-Vioque, R. (2014). Polyphenol composition, antioxidant and bioplaguicide activities of the solid residue from hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 59, 125-134.
- Sarikan, I. (2007). Kazdağları yöresinin geleneksel ilaçlarının saptanması. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Sedighi, R. (2014). Carnosic acid enriched rosemary extract prevents obesity and metabolic syndrome in high-fat diet-fed mice (Doctoral dissertation, North Carolina Agricultural and Technical State University).
- Shrestha, S., Song, Y. W., Kim, H., Lee, D. S., ve Cho, S. K. (2016). Sageone, a diterpene from *Rosmarinus officinalis*, synergizes with cisplatin cytotoxicity in SNU-1 human gastric cancer cells. *Phytomedicine*, 23 (13), 1671-1679.
- Sönmez C, 2008. Farklı kökenli biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) populasyonlarının bazı agronomik ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Tomas-Barberan, F. A., López-Gómez, C., Villar, A., ve Tomas-Lorente, F. (1986). Inhibition of lens aldose reductase by Labiatae flavonoids. *Planta Medica*, 52 (03), 239-240.

- Torre, J., Lorenzo, M. P., Martinez-Alcazar, M. P., ve Barbas, C. (2001). Simple high-performance liquid chromatography method for α -tocopherol measurement in *Rosmarinus officinalis* leaves: New data on α -tocopherol content. *Journal of Chromatography A*, 919 (2), 305-311.
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y. G., ve Fu, Y. J. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*, 108 (3), 1019-1022.
- Yan, M., Li, G., Petiwala, S. M., Householter, E., ve Johnson, J. J. (2015). Standardized rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract induces Nrf2/sestrin-2 pathway in colon cancer cells. *Journal of Functional Foods*, 13, 137-147.
- Yanishlieva, N. V., Marinova, E., ve Pokorný, J. (2006). Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108 (9), 776-793.

Teşekkür

Bu tez çalışmamda *R. Officinalis* L. bitkisinin fitoterapi açısından değerlendirilmesi konusunda çeşitli makalelerden araştırmalar yaptım ve aktarlardan, eczaneden ve doğadan toplanan biberiye örnekleriyle yaptığım deneylerle çeşitli sonuçlara ulaştım.

Bu tez T.C.Ege Üniversitesi BAP Koordinasyon birimi tarafından (Proje No: 16-ECZ-004) desteklenmiştir.

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleriyle bana yol gösterici ve destek olan danışman hocam sayın Doç.Dr.Buket Bozkurt'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca maddi ve manevi bana destek olan sevgili eşime, oğluma ve aileme sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen, beni evinde günlerce misafir eden değerli arkadaşım Alev Taşcıoğlu'na teşekkürü bir borç bilirim.

Akşehir, 07.06.2019

Gözde SEMERSATAN

Özgeçmiş

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Semersatan, Gözde

Uyuluğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 06/10/1991, Konya/Akşehir

Medeni hali : Evli

Telefon : 0(554) 279 70 99

e-posta : gzdsmrstn@gmail.com

Eğitim Derecesi Okul/Program Mezuniyet yılı

Yüksek Lisans: Ege Üniversitesi/Fitoterapi Programı-Devam ediyor

Lisans: Ege Üniversitesi/Eczacılık Fakültesi 2009-2014

İş Deneyimi, Yıl Çalıştığı Yer Görev

2015, devam ediyor Gözdem Eczanesi-Eczacı

Yabancı dil

İngilizce

Yayımlar

-