

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

Liquidambar orientalis'in YAPRAKLARINDAN TENTÜR
ELDESİ VE ÜREAZ İNHİBİSYON AKTİVİTESİNİN
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYGÜL AKIN EKMEKCIOĞLU

OCAK 2025
MUĞLA

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

Liquidambar orientalis'in YAPRAKLARINDAN TENTÜR
ELDESİ VE ÜREAZ İNHİBİSYON AKTİVİTESİNİN
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYGÜL AKIN EKMEKCİOĞLU

OCAK 2025
MUĞLA

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

AYGÜL AKIN EKMEKCİOĞLU tarafından hazırlanan ***Liquidambar orientalis***'in **Yapraklarından Tentür Eldesi Ve Üreaz İnhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi** başlıklı tezinin, 17/01/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK (**Jüri Başkanı**)
Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ali ÖZLER (**Danışman**)
Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Dr. Öğr. Üyesi Bihter ŞAHİN (**Üye**)
Kimya Anabilim Dalı,
Bandırma Onyedli Eylül Üniversitesi, Balıkesir

İmza:

ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Mehmet UĞURLU
Kimya Ana Bilim Dalı Başkanı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ali ÖZLER
Danışman, Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Doç. Dr. Yusuf SİCAK
İkinci Danışman, Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Savunma Tarihi: 17/01/2025

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

AYGÜL AKIN EKMEKCİOĞLU

17/01/2025

İMZA

ÖZET

***Liquidambar orientalis*'in YAPRAKLARINDAN TENTÜR ELDESİ VE ÜREAZ İNHİBİSYON AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Aygül AKIN EKMEKCİOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ali ÖZLER

İkinci (Ortak) Danışman: Doç. Dr. Yusuf SICAK

Ocak 2025, 61 sayfa

Peptik ülser hastalığının yanı sıra mide veya duodenumda enfeksiyona neden olabilen *Helicobacter pylori* bakterisi ayrıca mide astarını iltihaplandırabilir ve tahriş edebilir. Tedavi mümkün olmayan *H. pylori* enfeksiyonları nadiren de olsa mide kanserine yol açabilir.

Bu tez çalışmasında, Muğla'ya özgü olan *Liquidambar orientalis* Mill.'in yapraklarından çeşitli oranlarda bitki:çözücü ve farklı EtOH konsrasyonlarda tentür hazırlanmıştır. Elde edilen tentürlerin kimyasal içeriği HPLC ile tespit edilmiştir. Sığla tentürlerinin üreaz inhibisyon potansiyellerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. **LOF** ve **LOD** kodlu tentürlerde pirokatekol, kateşin ve epikateşin olmak üzere 3 fenolik maddenin tamamında bulunduğu tespit edildi. **LOD.1.3.45** tentürün üreazı testin pozitif standardı olan tiyoüreden 2 kat daha iyi inhibe ettiği tespit edildi.

L. orientalis Mill.'in LOD kodlu tentürlerin ileriye dönük *H. pylori* enfeksiyonundan korunmada ilaç sanayisinde alternatif bir ilaç formu olabileceği ve ülke ekonomisine katma değer sağlama potansiyeli umut vaad etmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Liquidambar orientalis* Mill., tentür, anti-üreaz, HPLC-DAD

ABSTRACT
DETERMINATION OF UREASE INHIBITION ACTIVITY OF TINCTURE
OF *Liquidambar orientalis* LEAVES

Aygül AKIN EKMEKCİOĞLU

Master of Science (M.Sc.)
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry
Supervisor: Assist Dr. Mehmet Ali ÖZLER
Co-supervisor: Assoc. Dr. Yusuf SİCAK
January 2025, 61 pages

In addition to peptic ulcer disease, the bacterium *Helicobacter pylori*, which can cause infection in the stomach or duodenum, can also inflame and irritate the stomach lining. Untreatable *H. pylori* infections can rarely lead to stomach cancer.

In this thesis study, tinctures were prepared from the leaves of *Liquidambar orientalis* Mill., which is specific to Muğla, in various plant:solvent ratios and different ethanol concentrations, fresh and dry. The chemical content of the obtained tinctures was determined by HPLC. It was aimed to reveal urease inhibition potentials.

It was found that all 3 phenolic substances, namely pyrocatechol, catechin and epicatechin, were present in **LOF** and **LOD** coded tinctures.

It was found that **LOD.1.3.45** tincture inhibited urease 2 times better than thiourea, which was the positive standard of the test.

The results of this thesis study are promising in that tinctures prepared from dry leaves of *L. orientalis* Mill. may be an alternative drug form for the pharmaceutical industry in the removal against *H. pylori* infection, and have the potential to add value to the country's economy.

Keywords: *Liquidambar orientalis* Mill., tincture, anti-urease, HPLC-DAD



Aileme

ÖNSÖZ

Tez konumun oluşmasında ve çalışmasının her aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen, deneyimlerini benimle paylaşan kıymetli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ali ÖZLER'e teşekkürlerimi sunarım. Lisansüstü eğitimim boyunca samimiyetini, uzmanlığını, vaktini esirgemeyen değerli bölüm hocalarıma,

Tez konusunun belirlenmesinde, araştırma, çalışmalar ve laboratuvar analizleri esnasında yardım ve desteklerini esirgemedi tüm bilgi birikimi ve güler yüzleri ile her daim yanımda olan Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK ve tez konumu belirleyen ve takibini yapan ikinci danışmanım Doç. Dr. Yusuf SİCAK'a, laboratuvar çalışmalarındaki itinalı yardımları için Cansel ÇAKIR, Dilaycan ÇAM'a ve laboratuvardaki tüm çalışma arkadaşlarıma,

Tez çalışmamdaki sığla yapraklarının teminini sağlayan ve özenle bana yardım eden Köyceğiz Meslek Yüksekokulu çalışanlarına,

Hayatım boyunca maddi, manevi fedakârlıklar yaparak beni yetiştiren, bugünlere getiren ve özgürce okuyalım diye çok zor bir kararı bizim için alarak her şeyini bırakıp Türkiye'ye göç eden annem Ümmügül AKIN'a ve babam Arif AKIN'a; hayatıma sunduğu katkılardan dolayı eşim Selahattin'e, bana istersem her şeyin en iyisini yapabileceğimi söyleyen ve beni buna inandırarak yüksek lisans çalışmama yeniden başlamamı sağlayan kızkardeşim Bahriye CANBEK'e ve hayatta en ilham aldığım üç insana; kızlarım Hilal Ada ve Ayça ile oğlum Mustafa Ege'ye şükranlarımı sunarım.

Aygün AKIN EKMEKCİOĞLU

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ÇİZELGLER DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç ve Kapsam	1
1.2. Kaynak Özetleri	2
1.2.1. <i>Liquidambar orientalis</i> Mill.....	2
1.2.1.1. Botanik bilgiler	2
1.2.1.2. <i>L. orientalis</i> Mill.'in kimyasal içeriği	3
1.2.1.3. <i>L. orientalis</i> Mill.'in tıbbi amaçlı kullanımı.....	4
1.3. Tentürler.....	6
1.3.1. Tentür	6
1.3.2. Tentürlerin tarihçesi	6
1.3.3. Tentürlerin kullanım amacı	9
1.3.4. Tentürlerin avantajları.....	9
1.3.5. Tentür hazırlama	10
1.3.5.1. Tentürlerin hammaddesi	10
1.3.5.2. Tentür hazırlama tekniği.....	10
1.3.5.3. Tentür hazırlamada kullanılan çözücüler	11
1.3.5.4. Tentür hazırlanmasında kullanılan bitki:çözücü oranı.....	12
1.3.5.5. Tentür ekstraksiyon süresi	12
1.3.6. Tentürlerin kalite testleri	13
1.3.7. Üreaz inhibisyon	13
1.3.7.1. Üreaz inhibitörleri	14
1.3.7.2. Bitki özlerinin üreaz üzerine odaklanan çalışmalar	15
1.4. Fenolik Bileşenler	17
2. MALZEME VE YÖNTEM	19
2.1. <i>L. orientalis</i> Mill.'in Temini	19
2.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler	20
2.3. Aletler ve Diğer Gereçler	20
2.4. Tentürlerin Elde Edilmesi	21
2.5. Tentürlerin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizleri 21	

2.6.	Biyoaktivitelere Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	22
2.6.1.	Üreaz inhibisyon aktivite yönteminde kullanılan çözeltiler.....	22
2.6.2.	Üreaz inhibisyon aktivite testi.....	23
2.7.	İstatistiksel Analiz.....	23
3.	BULGULAR VE İRDELEME	24
3.1.	Tentürlerin Miktarı ile Verimleri	24
3.2.	Tentürlerin HPLC Analizi Sonuçları	25
3.2.1.	Taze <i>L. orientalis</i> Mill. yapraklarından elde edilen tentürlerin HPLC analiz sonuçları	25
3.2.2.	Kuru <i>L. orientalis</i> Mill. yapraklarından elde edilen tentürlerin HPLC analiz sonuçları	39
3.3.	<i>L. orientalis</i> Mill. Tentürlerin Üreaz İnhibisyon Aktivite Sonuçları	53
4.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	55
5.	KAYNAKLAR	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. <i>L. orientalis</i> Mill. tentürlerin kodları	19
Çizelge 2.2. Tez çalışmasında kullanılan kimyasallar ve markaları	20
Çizelge 2.3 HPLC cihazı analiz şartları	22
Çizelge 2.4 Taranan fenolik bileşik standartlarının kalibrasyon verileri	22
Çizelge 3.1. <i>L. orientalis</i> Mill. tentürlerinin % verimleri	24
Çizelge 3.2. Taze <i>L. orientalis</i> Mill. yapraklarından elde edilen HPLC analiz sonuçları (mg/g)	26
Çizelge 3.3. Kuru <i>L. orientalis</i> Mill. yapraklarından elde edilen tentürlerin HPLC analiz sonuçları (mg/g).....	40
Çizelge 3.6. Tentürlerin üreaz inhibisyon aktiviteleri sonuçları ^a	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Bazı üreaz inhibitörleri	15
Şekil 3.1. LOF.1.3.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı.....	27
Şekil 3.2. LOF.1.3.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı.....	28
Şekil 3.3. LOF.1.3.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı.....	29
Şekil 3.4. LOF.1.4.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı.....	30
Şekil 3.5. LOF.1.4.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı.....	31
Şekil 3.6. LOF.1.4.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı.....	32
Şekil 3.7. LOF.1.5.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı.....	33
Şekil 3.8. LOF.1.5.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı.....	34
Şekil 3.9. LOF.1.5.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı.....	35
Şekil 3.10. LOF.1.6.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı.....	36
Şekil 3.11. LOF.1.6.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı.....	37
Şekil 3.12. LOF.1.6.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı.....	38
Şekil 3.13. LOD.1.3.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı	41
Şekil 3.14. LOD.1.3.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı	42
Şekil 3.15. LOD.1.3.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı	43
Şekil 3.16. LOD.1.4.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı	44
Şekil 3.17. LOD.1.4.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı	45
Şekil 3.18. LOD.1.4.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı	46
Şekil 3.19. LOD.1.5.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı	47
Şekil 3.20. LOD.1.5.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı	48
Şekil 3.21. LOD.1.5.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı	49
Şekil 3.22. LOD.1.6.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı	50
Şekil 3.23. LOD.1.6.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı	51
Şekil 3.24. LOD.1.6.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı	52

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DAD	:	Diode Array Dedektör
dk	:	Dakika
EtOH	:	Etanol
HPLC	:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC ₅₀	:	Yarı maksimal inhibitör konsantrasyonu
LOD	:	Kuru <i>Liquidambar orientalis</i> Mill. yaprakları
LOF	:	Taze <i>Liquidambar orientalis</i> Mill. yaprakları
M	:	Molar
µg	:	Mikrogram
µL	:	Mikrolitre
nm	:	nanometre
pH	:	Power of hydrogen
RI	:	Alıkonma alanı
Rt	:	Alıkonma zamanı
°C	:	Santigrad
<i>t</i>	:	Eser miktarda %0,001
UV	:	Ultra viyole

1. GİRİŞ

1.1. Amaç ve Kapsam

İnsan varlığı doğal olmayan beslenme ürünleri, sigara, alkol, yanlış beslenme, stress, kalıtsal hastalıklar, zararlı kimyasallara maruz kalma, enfeksiyonlar, çeşitli nedenlerden ötürü bir çok sağlık sorunu yaşamaktadır. Artan nüfusa binaen hastalığa etmen olan nedenlerin tamamen ortadan kalkması mümkün görünmemektedir. Bunun yanı sıra yeni yeni ortaya çıkan hastalıkların dahi ülkedeki her bireyi etkileyebilmekte ve insanları direkt öldürebilmektedir. Buradaki en önemli kıstas, insan hayatını tehdit eden hastalıkların nedeni her yönüyle aydınlatılamamış olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca hastalıklarla mücadele için geliştirilen ilaçların belli bir süre zarfında hasta bireylerde etkin doz miktarı artış göstermekte birlikte ilacı tedavideki seyri azalmaktadır. Tedavi kullanılan bir çok ilacın yan etkilerinden dolayı kullanım sınırlılığının yanı sıra diğer yandan mutasyona bağlı yeni hastalık ortaya çıkması ile birlikte ilaç etken madde üretiminin her geçen gün önemli açıklamaktadır. Hastalıkların tedavi edilmesinde çeşitli arayış içerisinde yoğun çalışmalar yapılması ile bir çok ajan geliştirilmiştir. Zahmetli ve kıymetli uğraşlar sonucunda çeşitli bitkisel ve hayvansal gibi doğal ürünlerin yanı sıra sentetik ilaçların varlığı çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Şifalanmak için ilk zamanlar çeşitli bitkileri, alkol, bal ile etkileştirerek hazırlanan müstahzar, ofisinal ve galenik drogların yanı sıra panzehir olarak da bilinen tiryak karışımlarının yerini teknolojiye gelişmeler ile birlikte modern tıp ile birlikte kullanımı daha kolay ve pratik olan sentetik ilaçlara bırakmıştır. Sentetik ve doğal kaynaklı olmak üzere elde edilen ilaçlardan sentetik ürünlere nazaran, doğal kaynaklı ilaçlar vücuda alındıktan sonra adsorpsiyon, dağılım, metabolit, emilimi ve toksitesi etkisi oldukça iyidir. Bunun yanı sıra modern tıpta klinik tedavide kullanılan ilaçların yan etki sorunu ve özellikle antibiyotiklere karşı gelişen direnç ile tedaviden istenilen düzeyde biyoyararlanım sağlanamamaktadır. Bu bilgi doğrultusunda ilaç etken maddelerinin araştırılmasında doğal kaynaklara yönelimin bir hayli fazla olduğu göze çarpmaktadır.

İlk olarak, şunu net olarak biliyoruz ki özellikle kronik rahatsızlığı olan bireyler ilaçları düzenli olarak kullanacakları için tedavide kullanılan ilaçlar belli süre sonunda vücutta bağışıklık kazanacağından bu ilaçların muadili olan yeni ajanların kullanımına gereksinim söz konusudur. Bu bilgi bize ilaç endüstrisine sürekli ilaç ajanının geliştirilmesi yönü bize bu sektöre hizmet eden bilim insanlarının bu alanın ne kadar dinamik bir alan olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda bizde bu alana katkı sağlamak,

Akabinde üreaz inhibitörü olarak kullanılan mevcut sentetik ilaçların vücutta bıraktığı metabolit atığının tahribat nedeniyle tedavide kullanım sınırlılığı ve bu tahribatın giderilmesi için de ek ilaç kullanımı söz konusudur. Doğal ürünlerden hazırlanan ilaçların böyle bir yan etki kısmının bulunmamasından dolayı tez materyalinde doğal bir ürüne yönelim tercih edilmiştir.

Bu tez çalışmasında üreaz ile ilgili etken maddenin yetersizliği nedeniyle ve *Helicobacter pylori* üzerinde potansiyel arz etmesinin yanı sıra Liquidambar'ın ülkemize endemik olan *Liquidambar orientalis* Mill. türünün yapraklarından kadim uygulama olarak da kabul edilen tentürler üç farklı etanol konsantrasyonlarında ve farklı bitki:çözücü oranlarında hazırlandı. Elde edilen tentürlerin kimyasal içeriği HPLC-DAD tekniğiyle belirlendi. Kimyasal içeriği belirlenen tentürlerin üreaz inhibisyon aktiviteleri ile de gerçekleştirildi.

1.2. Kaynak Özetleri

1.2.1. *Liquidambar orientalis* Mill.

1.2.1.1. Botanik bilgiler

Adı amberi sail olan, ancak günümüzde günlük veya sığla ağacı olarak adlandırılan *Liquidambar orientalis* Mill., Hamamelidaceae familyasının Bucklandioideae alt familyasının, Liquidambar cinsinin ülkemizde yayılış gösteren türüdür. Ancak son yıllarda yapılmış sistematik çalışmalarda bu cins, Altingia ve Semi Liquidambar cinsleri ile birlikte Altingiaceae familyasının altında kabul edilmeye başlanmıştır. *Liquidambar*, Latince ve Arapça sözcüklerinin birleştirilmesinden oluşmuş güzel

kokulu sıvı anlamına gelen birleşik bir kelimedir. Dünyada yaygın olarak 5 türü bulunan *Liquidambar*,

1. *Liquidambar orientalis* Mill. (Türkiye'nin güneybatısı, Rodos ve Kıbrıs),
2. *Liquidambar styraciflua* (Kuzey Amerika' nın doğusu ve Atlas Okyanusu'na yakın yerler),
3. *Liquidambar macrophylla* Oerst. (Kuzey Amerika' nın orta kesimleri),
4. *Liquidambar adentata* Merr. (Çin' in doğusu),
5. *Liquidambar formosana* veya *Liquidambar acalycina* (Güney, Güneybatı ve Orta Çin ve Tayvan), 'da bulunmaktadır (Teker, 2013).

Yayılışı sadece Türkiye' ye özgü bir tür olan *L. orientalis* Mill. Muğla iline bağlı Köyceğiz, Ula, Marmaris, Fethiye, yörelerinde; Denizli iline bağlı Günlük Çayı, Gerenis Çayı, Gölcük Köyü çevrelerinde; Antalya' da Aksu Vadisi çevresinde ve Isparta iline bağlı Sütçüler' de yetişmekte olan endemik bir türdür.

Yayıldığı alanların özellikleri incelendiğinde, deniz seviyesinin 300-400 metre yüksekliğinde bulunan taban suları bakımından zengin yerler olduğu görülmektedir. Sığla ağacı yetiştirme şartlarına bağlı olarak 15-25 metre boylara ulaşabilen, yapraklarını döken 200-300 yıl yaşayabilen bir ağaçtır. Sığla ağacının yaprakları her ne kadar çınar yapraklarına benzetilse de yaprakları çınardan daha açık renkli; meyvesi de çınara kıyasla daha küçük, daha az tüylü ve daha sivridir (M Alan, 2009).

1.2.1.2. *L. orientalis* Mill.'in kimyasal içeriği

Diğer ismi "Günlük ağacı" olan Anadolu sığla ağacı (*Liquidambar orientalis* Mill.), ülkemizin Muğla'nın ilçelerinde yetişen önemli endemik bitkilerden birisidir. Anadolu sığla ağacının yapraklarından elde edilen uçucu yağın bazı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkileri bilinmektedir. Bu endemik türün yapraklarından su buharı distilasyonu yöntemiyle elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi GC-MS ile analiz edildiğinde, *L. orientalis* Mill. esansiyel yağının ana bileşenlerinin terpinen-4-ol (%39,53), α -terpineol (%16,21), sabinene (%11,12), α -pinen (%8,05), veridiflorol (%6,37) ve *p*-simen (%2,11) olduğu görülmüştür (Sıcak vd. 2018).

Sığla ağacının özelliklerinden biri de içerdiği fenolik bileşiklerden dolayı fonksiyonel gıda olarak kullanılmasıdır. Sığla yapraklarında, protokatekuik asit, (-)-epikateşin ve

gallik asit gibi fenolikler mevcuttur (Saraç ve Şen, 2014). Etanol ekstraktı ile elde edilen diğer fenolik bileşikler ve bunların konsantrasyonları Tablo 1.'de bulunabilir. Bu doğal fenolik bileşiklerin kullanımıyla aromatik kokuya sahip yeni antioksidan gıda ürünlerinin üretilmesi etkili olabilir.

Tablo 1. *L. orientalis* Var. yapraklarındaki fenolikler

Fenolik bileşik	Konsantrasyonlar (mg/g ekstrakt)
Gallik asit	3,258 ± 0,035
Protokatekuik asit	12,232 ± 0,118
(+)-Kateşin	1,622 ± 0,007
Klorojenik asit	0,429 ± 0,017
Kafeik asit	1,265 ± 0,027
(-)-Epikateşin	7,954 ± 0,493
<i>p</i> -Kumarik asit	0,295 ± 0,003
Ferulik asit	0,811 ± 0,031
Kuersetin	0,17 ± 0,005
Kaempferol	0,031 ± 0,0003

Sıgla yağından elde edilen esansiyel yağın antioksidan kapasitesinin yanı sıra 66 kimyasal içeriği tespit etmişlerdir. Mentol, 17*b*-dihidroksi-5*b*-androstan-3-on ile oktil alkol asetat ana bileşen olarak belirlenmiştir. (Topal vd., 2008).

Lingbeck vd., 2015, sıgla yağının sinamik asit içerdiğinden bu ağacın elde edilen yağın yanı sıra ağacın yapraklarında antimikrobiyal özelliği söz konusudur. Antibakteriyel özellik sağlayan sıgla yaprak yağında terpinen-4-ol, α -terpineol, α -pinen ve sabinen bileşenlerdir.

Liquidambar türlerinin, özellikle de *L. styraciflua*'nın yapraklarında, kabuğunda ve genç tohumlarında şikimik asit bulunur. Bu nedenle *Liquidambar* türleri, H1N1 virüsünü etkili bir şekilde inhibe etmesi açısından değerli kaynaklardır (Lingbeck vd., 2015).

1.2.1.3. *L. orientalis* Mill. 'in tıbbi amaçlı kullanımı

L. orientalis Mill. uçucu yağının en yüksek MIC değerini *Pseudomonas aureginosa*'ya karşı sergilerken, en düşük MIC değeri ile *Candida parapsilosis*'e karşı sergilemiştir. Ayrıca *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *C. albicans* olarak

mikroorganizmalarına karşıda test edilerek MIC değerleri elde edilmiştir. Nihayetinde *L. orientalis* Mill. uçucu yağının kimyasal içeriğinden dolayı potansiyel doğal bir antimikrobiyal ajan olduğu düşünülmektedir (Sıcak vd. 2018). *B. cereus* olmak üzere diğer bakteriler (*B. subtilis*, *C. xerosis*, *E. aerogenes*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *M. luteus*, *M. smegmatis*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* ve *S. aureus*) antibakteriyel özelliğe açığa çıkarılmıştır (Sağdıç vd., 2005).

Bu bitkinin tıbbi ve kozmetik özellikleri uzun zamandır bilinmekte olup, çoğunlukla Türkiye'nin güneybatı kesiminde kullanılmaktadır. Sığla reçinesi, fiksator (sabitleyici) olarak sabun ve parfümeride kullanımı söz konusudur.

Bitkisel drog preparatı olarak tentürler, fitoterapi, eczacılık ve tıpta binlerce yıllık bir kullanım alanına sahiptir. Gerek deneye ve ispata dayalı bir etkiye, gerekse geleneksel olarak yüzyıllardır süregelen bir etkiye sahip tentürlerin günümüzde de terapötik olarak yaygın kullanımı mevcuttur (Demirci, 2020).

Sığla yağı ve balsamının *in vitro* deneylerle antibakteriyel (Sağdıç vd., 2005) ve antioksidan (Topal vd., 2008) etkinliği belirlenmiştir. Bu özelliklerinin yanı sıra günümüzde yeni araştırmalar *L. orientalis* Mill. yağının yüksek antibakteriyel ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (Gan vd., 2010). Bayazit, sığla yağının iyileşen felç parametreleri üzerinde önemli etkisi olduğunu, yüksek konsantrasyonda sığla yağının fibrin kan pıhtılarının parçalanmasını kolaylaştırıcı etkisi olduğunu ve sistolik ve diyastolik basıncı azalttığını göstermiştir (Bayazit, 2009).

L. orientalis Mill. reçinesinin uçucu yağları *Bursaphelenchus xylophilus*'a karşı nematosis aktiviteye sergilemektedir. Bu ekstraktın ana bileşenlerinin hidrosinnamil alkol (%41) ve *trans*-sinnamil alkol (%45) olduğu belirlenmiştir (Kim vd., 2008).

Sığla yağının insektisit için LC₅₀ değeri 194,93 ppm *Aedes aegypti* sivri sineklerinden koruyuculuğu saptanmıştır (Imam vd., 2013).

1.3. Tentürler

1.3.1. Tentür

Taze veya kuru bitkilerdeki etkili maddelerin, çözücü içerisinde belirli bir süre karanlık bir yerde bekletilmesi süretiyle elde edilen sıvı preparatlara tentür (tinctura, teinture) denir (Gonçalves ve Gaivão, 2023). Tentürler, bir nevi bitkilerin konsantre sıvı özleridir.

Birkaç farklı isim ile tanımlanmış olan tentürler, günümüzde bitkilerden ilaç arasında en etkili form bu olup, kadim bir yöntemdir. Tentürler, hidro-alkolik çözeltiler veya bu çözeltilerden belki de daha etkini olarak tanımlanabilirler (Wilbert, 1914).

Tentürler, bitkisel ilaçların biyoaktif bileşenlerinin açığa çıkarılması için muhtemelen tüm sıvı preparatlarının en kararlı, en güvenilir, en etkili ve en kabul edilebilir yöntemi temsil etmeleri nedeniyle, uzun yıllar boyunca galenik eczacılıkta lider bir yere sahiptir (Wilbert, 1914).

1.3.2. Tentürlerin tarihçesi

Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi'nin 8.'si on yıllık bir revizyonunun yayınlanmasına kadar, farklı ülkelerin farmakope revizyon komiteleri tarafından tentürlerin ilaç gücünde veya diğer tıbbi maddelerin bileşiminde herhangi bir düzeyde tekdüzelik sağlamak için hiçbir zaman koordineli bir girişimde bulunulmamıştı. Galenik eczacılığın iyileştirilmesiyle ilgilenen kişiler tarafından yarım yüzyıl veya daha uzun bir süre boyunca devam eden ajitasyon, sonunda yaygın olarak kullanılan güçlü ilaçların tentürlerinde belirgin bir düzeyde tekdüzeliğin geliştirilmesiyle sonuçlandı. İngiliz Farmakopesi'nin yayınlanmasıyla, bu preparatlar uygar dünyanın her ülkesinde pratik olarak tekdüze oldu 1865'te Almanya'nın Brunswick kentinde düzenlenen ilk Uluslararası Eczacılık Kongresinde, 1864'te güçlü ilaçların farmasötik preparatlarının gücünde daha fazla tekdüzelik sağlamak için bir tür anlaşma sağlamanın uygulanabilirliğini tartışmaya başlayan Fransız ve Alman eczacıların teşvikiyle toplandı. Aynı sorun, az çok değiştirilmiş bir biçimde, sonraki Uluslararası Kongreler'deki tartışmaların temeliydi ve 1881'de Londra'da düzenlenen Beşinci Kongre'de, Peter Squire, farklı ülkelerin farmakopelerinde yer alan farmasötik

preparatların gücünün eşitlenmesi için kesin ve makul bir öneri özetledi. Farmakopelerde yer alan tentürlerin tedavi edici gücüne dair çok belirgin farklılıkların olduğunu ve bunların tek tip hale getirilmesinin gerektiğini öngöröldü. Ne yazık ki, 1901'e kadar, farklı ölkelerin sağık eksperlerinin büyük bir çoğunluğu tarafından kabul edilebilir bir eylem planı fikri bulunmadı. 1902'de düzenlenen Bröksel Konferansı'nda ve 1906'da Bröksel'de çeşitli ilgili temsilciler tarafından imzalanan uluslararası antlaşma ile yürürlöğe girdi (Wilbert, 1914).

Ne yazık ki, Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi'mizin gözden geçirenleri, Bröksel Konferansı Protokolö'nde yer alan tentürlerle bağlantılı olarak yapılan belki de en önemli öneriden yararlanmayı başaramadılar; alkol kullanma önerisi %45 veya %50 alkol yerine yaklaşık %70 önerildi (Wilbert, 1914).

1903'te American Journal of Pharmacy'de (s. 2027) bildirilen Bröksel Konferansı Protokolö'nde yer alan önerilerin benimsenmesinin uygulanabilirliğı üzerine bir dizi deneyi bildiren bir makalede, daha yüksek güçteki alkolün kullanılmasının arzu edilirliliğine dikkat çekildi ve uluslararası standart alkol oranının diğeri avantajları arasında:

- Kullanılan adetin, güçlü ilaçların tüm ekstraktif tentürleri için güç bakımından tekdüze olması.
- %70'lik alkolün ilacın tüm aktif özelliklerini kolayca çıkarması, buna karşın elde edilen preparatın toplam ekstrakt içeriğinin belirgin şekilde daha düşük olması.
- Alkol içeriğindeki artışla preparatın saklama özelliklerinin büyük ölçüde iyileştirileceğı.
- Elde edilen preparatların görünüm olarak zarif olması ve oldukça kalıcı olma vaadi.

Yaklaşık %70'lik alkolün, daha seyreltilmiş veya daha konsantre alkol ve su karışımlarından çok daha etkili bir antiseptik ve koruyucu olarak kabul edildiğıne ve %70'lik alkolün tek başına bu özelliğinin, U. S. P. Revizyon Komitesi tarafından, şu anda genel olarak reçete edilen seyreltilmiş alkol yerine rutin bir oranın kabul edilmesi için dikkatli bir şekilde değeriendirilmesini gerekmektedir (Wilbert, 1914).

%70 alkolle yapılan tentürlerin hem rengi hem de kokusu o zamanlar olduğu gibi şimdi de ilacın karakteristik özelliğidir. Bu özellikle yaprak ilaçlarının tentürleri için geçerlidir, çünkü bunlar hala orijinal yeşil renklerini korurken, %50 alkolle yapılan preparatlar, koyu ve kahverengi hale gelmiştir (Wilbert, 1914).

Digitalis için geçerli olan şey, belladonna, hyoscyamus, nux vomica, colchicum ve diğer güçlü ilaçlar için %70 alkolle yapılan tentürler, seyreltilmiş alkolle yapılan preparatlardan daha iyi saklama niteliklerini tekdüze bir şekilde göstermiştir ve bu geç tarihte, Gözden Geçirme Komitesi tarafından verilen herhangi bir kararı geri almak pratik olmasa da, yeterli sayıda eczacının konuyla ilgilenerek, %70 alkolle uluslararası standartta bir tentür serisi hazırlaması ve bunları farmakopi talimatlarına göre yapılan preparatlarla karşılaştırıldığında on yıl boyunca saklaması ve bunları bir sonraki revizyon için zamanında raporlaması umulmaktadır (Wilbert, 1914).

Bitkisel ilaçların aktif prensiplerini çıkarmak ve korumak için daha güçlü bir alkolün daha iyi olacağı yönündeki önerisini desteklemek için, bitkilerin aktif prensiplerini çıkarmak için güçlü alkol menstrüasyonu ve seyreltmeler için daha zayıf bir alkol kullanan Homeopatik Farmakope uygulamalar mevcuttur. Güçlü alkolün bitkisel ilaçların güçlü tentürlerini korumak için en etkili olduğunu, güçlülerin seyreltilmesinin veya "ana tentürlerin" daha zayıf güçte bir alkolle yapıldığını kanıtlamıştır. "Güçlü alkol", ABD'ye göre %95'liktir anlamına gelir. "Dağıtım alkolü" ise yaklaşık %88 mutlak alkoldür ve özel preparatlar için daha zayıf alkoller kullanılır. Taze bitki materyallerinden tentür hazırlanırken, bitkinin normal nem miktarı/oranı menstruumun bir parçası olduğu hesaba katılmalıdır (Wilbert, 1914).

Tartılmış miktarda ilaç dikkatlice kurutulur, gerekirse sonraki aşamada toz haline getirilir ve içerdiği bitki nemi miktarı daha sonra alınan taze ilacın ağırlığı ile kurutulmuş ürünün ağırlığı arasındaki farkla belirlenir.

Homeopatik Farmakope'nin talimatlarının, 700 kısım alkol ve 300 kısım sudan oluşan bir oran kullanılmaktadır. Su, ekstraksiyon için kullanılır. Yaprakların %20 nem içerdiğini varsayılırsa, o zaman aconite tentürü yapmak için: Alkol-700 kısım, su-100 kısım, bitki nemi-200 kısım, 1000 kısım oranları kullanılır. Son ürünün tam %10 tentür olması için daha fazla adetin gerekeceği anlaşılmalıdır. Elbette kurutulmuş bir ilaç durumunda, su oranı çok fazla değildir ve genellikle göz ardı edilir, ancak belirli bir

yüzdeyi aştığı durumlar hariç, bunun yaklaşık %5'tir, ancak taze ilaçların tentürleri için nem her zaman hesaplanır (Wilbert, 1914).

1.3.3. Tentürlerin kullanım amacı

Tentür şifalı bitkilerden yararlanmak için alternatif ve bir o kadar da etkili bir yöntem sunar. Tentürleri homeopati, fitoterapi, bach çiçek terapisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Homeopatide başlangıç (baz) tentürü olarak ve başlangıç tentüründen yola çıkılarak yüzlerce defa seyreltilir. Tentürler, homeopatide, "İlacın alkol karışımındaki çözeltisi" olarak 1640'larda kaydedilmiştir.

Fitoterapide bitkilerinin hastalık üzerindeki etkinliğini artırmak amacıyla tentürlerden yaygın bir şekilde yararlanılmaktadır (Olech ve ark., 2012). Fitoterapide bitkilerden toz formda yararlanım çok yaygın bir uygulama olsa da tentür şeklinde kullanımı avantajdır. Tentürler, toz formdaki kullanıma nazaran daha az işlem içermekte ve kimyasal spektrumu çok daha net yansıtmaktadır. Aynı zamanda çözelti formdaki tentür, pek çok kimyasal işleme maruz kalmış toz forma göre etken maddelerinin çözünür formda olması nedeniyle çok daha iyi bir biyoyararlılık sergilemektedir. Tentür kullanımının özellikle tedavi yelpazesi bakımından daha esnek ve kolay bir kullanım sunması, özellikle çocuk hastalar tarafındandahi tüketiminin mümkün ve kolay olması tentür şeklinde sunulan ürünleri avantajlı kılmaktadır (Bone, 2003).

1.3.4. Tentürlerin avantajları

- ✓ Tıbbi çaylara oranlara etkileri daha fazladır (Wilbert, 1914).
- ✓ Çok konsantre olduklarından dikkatli ve idareli bir şekilde uygulanmalıdırlar.
- ✓ Tentürlerle biraz uzun bir yol kat eder, bu nedenle damlalık tarafından alınırlar, genellikle ılık su, çay veya meyve suyunda seyreltilirler.
- ✓ Tentürler, diğer bitkisel droglara nazaran daha uzun raf ömrüne sahiptir. Tentürlerin raf ömrünün uzun olmasının en temel nedeni çözücüden mutevellittir. Alkolle hazırlanan tentürler, uygun nitelikte hazırlanırsa raf ömrü uzayabilir. Sirkesi ile hazırlanan tentürler, uygun nitelikte hazırlanırsa raf ömrü yaklaşık 180 gündür. Gliserin ile hazırlanan tentürler 1-2 yıldır. Bilindiği üzere

alkoller iyi bir koruyucu özelliğinden dolayı uzun raf ömrüne sahiptirler. Ticari tentürlerin çoğu alkol bazlı olduğundan tentürlerin raf ömrü, tıbbi çaylardan çok daha uzundur (Singh Khalsa, 2009).

- ✓ Tentürler vücuda alındıktan sonra hızlı reaksiyon verdiklerinden oldukça etkilidirler ve tüketimi kolay olup tıbbi özelliğini kolay kolay kaybetmezler. Tadları kötü olabilirler (Singh Khalsa, 2009).
- ✓ Ticari tentürlerin çoğu etanol ile yapıldığından bitkilerdeki aktif bileşenlerin çoğunu ekstrakbe edebilir. Alkoller, lipidlerin de ekstraksiyonunu sağlar. Alkol yüzdesini ayarlamak, seçici çıkarmayı manipüle eder (Singh Khalsa, 2009).
- ✓ Tentürlerin etkisi, birim dozdan daha etkindir. Az dozda en çok etki sağlanır. Bunu da etanolün etken maddeleri hızı ve yoğun bir biçimde ekstrakte etmesinden kaynaklanır.

1.3.5. Tentür hazırlama

Tentürlemede ekstraksiyon ve süzme olarak iki temel işlem kullanılır. Tentür hazırlarken kullanılacak materyal, teknik, çözücü, bitki:çözücü oranı ve süre biyoaktif maddenin optimum düzeyde olup aktivite sergilemesi büyük önem arz etmektedir (Wilbert, 1914).

1.3.5.1. Tentürlerin hammaddesi

Tentür kuru bir bitkiden hazırlanacak ise, bitki en uygun şartlarda ve tam olarak kurutulmuş olmalıdır. Bakteri ve küf riski açısından bu kurutmanın tam yapılmış olması önemlidir. Tentür, kuru bitkiden hazırlanacaksa bitki tam olarak kurutulduktan sonra toz haline getirilir, taze bitkiden hazırlanacaksa ise bitkiler küçük parçalara bölünür (Wilbert, 1914).

1.3.5.2. Tentür hazırlama tekniği

Tentürler, genellikle bitkisel drogu ekstre edebilecek uygun konsantrasyonda çözücü ile maserasyonla veya perkolasyonla hazırlanır veya bitkisel drogun yumuşak veya kuru ekstresini (direkt tentür hazırlanırken kullanılan solvent kullanılmış olmalı)

uygun konstrasyondaki etanolde çözerek hazırlanır (European Pharmacopeia 9.0) (Wilbert, 1914).

Tentürleme de kullanılan ekstraksiyon teknikleri ise maserasyon ve perkolasyondur. Ölçüm gerektirmeyen maserasyon yönteminde halk yöntemi kullanılabilir. Ancak maddeler ölçülmediği için sonuç tentürün gücü açısından yanıltıcıdır. Tentürün gücü, belirli bir çözelti miktarında konsantre edilmiş bitkilerin miktarını ifade eder. Perkolasyon işleminde ise kurutulmuş ve toz haline getirilmiş bitkinin bir kolonundan yavaşça bir çözücünün geçirilmesine izin verilerek bir bitkinin çözünebilir bileşenlerinin çıkarılması yöntemidir; bu çözücü, perkolatör olarak bilinen benzersiz bir ekipman türünde bulunur (Green, 2002).

Standardize tentürler haricinde, yumuşak veya kuru ekstrelerden elde edilen tentürler direkt ekstraksiyon yapılarak üretilen tentürler içerisindeki bulunan maddeler haricinde başka bir madde içeremezler. Ancak tentürü elde etmek için kullanılan yumuşak ekstreler stabilitesini koruması için stabilizatör, antioksidan veya antimikrobiyal koruyucular içeriyorsa tentürde de olması istisnai durum olarak kabul edilebilir (Wilbert, 1914).

Tentürler solventlerin içeriğinin gerekliliklerini karşılamaları için ayarlanabilirler. Tentürler eğer gerekli ise filtre edilebilirler. Tentürler genellikle berraktırlar. Bekletildiklerinde biraz tortu oluşabilir (Wilbert, 1914).

1.3.5.3. Tentür hazırlamada kullanılan çözücüler

Tentür hazırlamak için çözücü olarak belli oranlarda hazırlanmış saf su-etanol karışımı, sirke, kanyak, şarap veya gliserin gibi organik çözücüler kullanılır (Wilbert, 1914).

Tentür, etanol tedarik zincirinin ve tentür üretim prosesinin detaylı bilgisi ile uygunluk güvencesi verilmediği sürece izopropil alkol içermesine karşı test edilir. Maksimum %0.05 (h/h) içermesi gereklidir (Apers ve ark., 2003).

Biyoaktif maddelerin fraksiyonlandırılması alkol uygun bir sağlamayabilir. Alkoller, özellikle uçucu yağlar gibi bazı bileşenlere zarar verebilir. Ayrıca alkoller, karbonhidratlardan, polisakkaritlerin çökmesine neden olabilir (Singh Khalsa, 2009).

Alkol dokunan veya çocukların alkol tüketmemesi için, alkol yerine gliserin kullanılır. Bu yöntemle hazırlanan tentürlere, gliserat olarak bilinir. Gliseratların raf ömrü, tentürlere nazaran daha kısadır.

1.3.5.4. Tentür hazırlanmasında kullanılan bitki:çözücü oranı

Tentür hazırlanmasında kullanılan bitki:çözücü oranı için bitkinin ağırlığı (g) ve kullanılacak çözücünün hacmi (mL) ölçülerek belirli bir tentür elde etmek için ağırlık-hacim (w/v) yöntemi kullanılmaktadır (Green, 2002). En yaygın tentürler genellikle, kuru bitki preparatları için 1:5 veya 1:10; taze bitki preparatları için 1:2 oranlarında hazırlanmaktadır. Tentür hazırlama uzmanlık gerektiren bir alan olduğunu unutmamak kaydı ile her ne kadar yazılı bir çok kaynakta belli oranlarda hazırlanması gerektiğine dair talimatlar bulunsa da bitkinin etken madde miktarının optimum olacağı bitki:çözücü oranı değişeceğinden farklı alkol konsantrasyonlarında (%20-90 etil alkol), farklı bitki:çözücü (1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10 gibi) oranları kullanılarak tentürler hazırlanmaktadır. Üretilen tentürün alkol oranı imalatçılar tarafından genellikle % 20-60 düzeyinde tutulmasına rağmen bazı ekstrakte edilen tentürlerde bu alkol oranının % 95 düzeyine çıktığı da bilinmektedir (Öztekin ve ark., 1998).

1.3.5.5. Tentür ekstraksiyon süresi

Zeytin ağacı yaprağı tentürünün ağırlık-hacim yöntemi kullanılarak hazırlanması, yapraklardan faydalı bileşiklerin çıkarılmasında etkili olduğu kanıtlanmıştır. %20 tentür konsantrasyonunun kullanılması, zeytin ağacı yapraklarında bulunan aktif bileşenlerin yeterli bir şekilde çıkarılmasını sağlamıştır. Ağırlık-hacim yöntemi, uygun bir oranın sağlanması için yaprakların ve alkolün doğru bir şekilde ölçülmesini içerir. Bu yöntem, basitliği ve tekrarlanabilirliği nedeniyle bitkisel tentür preparatlarında yaygın olarak kullanılmıştır (Gonçalves ve Gaivão, 2023). İki haftalık süre boyunca çalkalama işlemi, zeytin ağacı yapraklarından biyoaktif bileşiklerin optimum şekilde çıkarılmasını sağlamıştır. Çalkalama, bileşiklerin alkole salınmasını kolaylaştırmış ve konsantre bir tentür elde edilmiştir (Gonçalves ve Gaivão, 2023). Her ne kadar bu çalışmada ekstraksiyon süresinin iki haftalık bir süre olduğu anlaşılmakta ise her bitkinin optimum etken maddenin çözücüye ekstraktesi aynı olmayabilir. Tentür

alışmaları uzmanlık gerektiren bir alan olduğundan bir çok kaynakta süre ile ilgili gerektiğine dair belirli bazı talimatlar bulunsa da bitkinin etken madde miktarının optimum olacağı ekstraksiyon süre için gün be gün takip eden bir seri bitki:çözücü oranı olan tentürler hazırlanarak optimum ekstraksiyon süre çalışması yapılmalıdır.

1.3.6. Tentürlerin kalite testleri

Avrupa Farmakopesi'ne (Ph. Eur, 2019) göre kalite testleri;

- Bağıl Yoğunluk: Yasal mevzuatları olan ülkelerde tentür uygun görülmüş seviyelerde olmalıdır.
- Etanol: Etanol içeriği uygun görülen sınırlar dahilinde olmalıdır.
- Metanol: Elzem olmadıkça maksimum %0.05 (v/v) MeOH ihtiva edebilir.
- Kuru bakiye: Yasal mevzuatları olan ülkelerde tentür uygun görülmüş limitler dahilinde olmalıdır.
- Depolama şartları: Güneş ışınlarına maruz kalmayacak şekilde muhafaza edilmelidir.
- Etiketleme şartları: %v/v olarak EtOH içermelidir.

1.3.7. Üreaz inhibisyon

Azot döngüsü için önemli bir enzim olan reaz (EC 3.5.1.5), bitkilerde, mantarlarda ve bakterilerde bulunmaktadır. Ürenin, reaz varlığında hidroliz ile, amonyağa (NH_3) ve karbondioksite dönüşmektedir (Krajewska, 2009; Follmer, 2010; Maroney, 2014). Bitkilerde keşfedilmesinden bu yana (Takeuchi, 1909), *Canavalia ensiformis* reazı kapsamlı bir şekilde araştırılan ve kristalleştirilen ilk enzim olarak Biyokimya biliminde bir dönüm noktası haline gelmiştir (Sumner, 1926). Bir reazın ilk üç boyutlu yapısı, Jabri ve çalışma arkadaşları tarafından 1995 yılında *Klebsiella aerogenes*'ten reazla gerçekleştirilen Kristalografi çalışmalarıyla tam olarak bildirilmiştir (Jabri ve ark., 1995). Daha sonra, *Bacillus pasteurii* (Benini ve ark., 1999), *Helicobacter pylori* (Ha ve ark., 2001) ve en son olarak *C. ensiformis*'ten (Balasubramanian ve Ponnuraj, 2010) reazlar için başka yapılar açıklanmıştır. Birden

fazla kökene sahip üreazlar arasındaki amino asit dizisinin büyük benzerliği (Sirko ve Brodzik, 2000), bu enzim için ortak bir ataya işaret etmektedir.

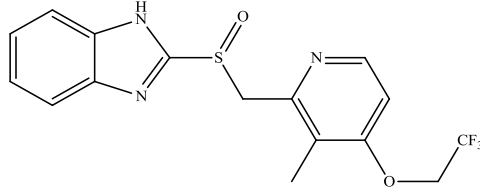
Hekzamerik veya dodekamerik'in birleşmesi ile kaynaşabilen üreazlar, 1, 2 veya 3 alt birimden oluşan temel bir trimerik diziyi paylaşır. Her aktif bölge, 3,5 - 3,7 Å'de birbirinden ayrı iki Ni^{2+} iyonu içerir ve bir lizin karbamat kalıntısının oksijen atomları ve bir hidroksit iyonu ile köprülenir (Maroney, 2014; Boer ve ark., 2014). Ni^{2+} 'nin protein yapısına dahil edilmesi, üreaz-spesifik yardımcı proteinler tarafından desteklenir (Sirko ve Brodzik, 2000).

NH_3 birikimiyle ortam pH'nın artması, muazzam tıbbi öneme sahip bir üreaz özelliğidir (Maroney, 2014). Üreolitik bakterilerin neden olduğu idrar ve/veya gastrointestinal enfeksiyonlar, insanlarda ve hayvanlarda böbrek taşı oluşumu, piyelonefrit, hepatik ensefalopati ve nihayetinde hepatik koma gibi sağlık komplikasyonlarına neden olabilir (Maroney, 2014; Boer ve ark., 2014). Bu nedenle, midede, pH 2 gibi asidik bir ortamda hayatta kalabilen gram (-) bakteriler olan *H. pylori* ile ilişkilidir (Maroney, 2014; Algood ve Cover, 2006). Oluşan NH_3 , ortam pH'nı artırır ve bu da *H. pylori*'nin hayatta kalması için dostça bir ortam yaratır (Sachs ve ark., 2005; Stingl ve ark., 2002).

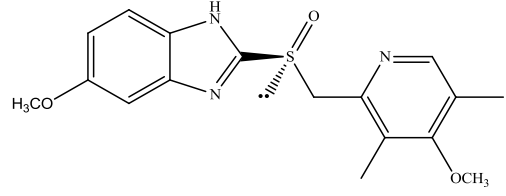
H. pylori eradikasyonu için önerilen birinci basamak tedavi, bir proton pompası hücre inhibitörü olan omeprazol ile kombinasyonundan oluşan amoksisilin ve klaritromisin antibiyotikleridir. Ancak, *H. pylori*'nin bu antibiyotiklere (özellikle klaritromisine) karşı direncinin artması, bu tedaviyi son yıllarda cazip olmayan bir seçenek haline getirdi (Follmer, 2010; Graham ve Fischbach, 2010; Megraud, 2012). Gerçekten de, *H. pylori* enfeksiyonu ile mücadele etmek için, bir proton pompası hücre inhibitörü ile birleştirilmiş bizmut tuzlarının kullanımı veya diğer antibiyotik sınıflarının (örn. florokinolonlar, aminopenisilinler, tetrasiklinler, vb.) kombinasyonunu içeren başka tedavi stratejileri ortaya çıkmıştır (Follmer, 2010; Megraud, 2012; Malfertheiner ve ark., 2007).

1.3.7.1. Üreaz inhibitörleri

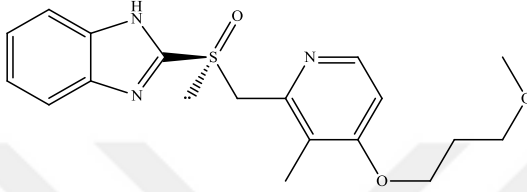
Şekil 1.1. de bazı üreaz inhibitörlerinin yapısı verilmiştir.



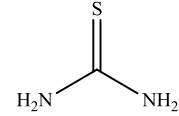
Lansoprazol



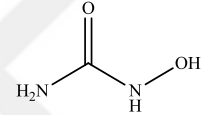
Omeprazol



Rabeprazol



Tiyoüre



Hidroksiüre

Şekil 1.1 Bazı üreaz inhibitörleri

1.3.7.2. Bitki özlerinin üreaz üzerine odaklanan çalışmalar

Üre hidrolizini katalize eden üreazlar, canlı organizmaların sağlığı ve yaşam kalitesi üzerindeki etkileri nedeniyle önemli ilgi görmüştür. Üreaz aktivitesinin devam etmesi özellikle insan, hayvan ve bitki hücrelerinde bazı hastalıkların oluşumuna ve patojen enfeksiyonlarına neden olabilir (Cowan, 1999; Paulo ve ark., 2011; Toyang ve Verpoorte, 2013). Bu bağlamda, doğanın farklı organizmalardan gelen üreazların üreolitik aktivitesini azaltan çeşitli iskeleler taşıyan doğal ürünlerin zengin bir kaynağı olduğu kanıtlanmıştır.

Birkaç bitki özütüyle yürütülen çalışmalar, *H. pylori* suşlarının büyümesinin kontrolü için yararlı olabilecek üreaz inhibitörlerinin tanımlanmasına olanak sağlamıştır (Matsubara ve ark., 2003; Li ve ark., 2005; Biglar ve ark., 2012; Amin ve ark., 2013).

Genellikle tatlandırıcı olarak kullanılan sarımsak (*Allium sativum*), allicin seviyeleri nedeniyle antimikrobiyal ve anti-üreaz gıdası olarak kabul edilir (Juszkiewicz ve ark., 2004; Cavallito ve Bailey, 1944; Ankri ve Mirelman, 2004).

A. sativum, *Allium cepa*, *Allium porrum*, *Brassica oleraceae* var. *capitata* ve *Brassica oleraceae* var. *gemmifera* bitki özütlerinin yüksek TS içeriğine bağlı olarak, üreazın üreolitik aktivitesinin de inhibisyonun o kadar iyi olduğu belirlenmiştir. en iyi inhibitör etkiyi *A. sativum* suyunun olduğu ve bunu *Brassica oleraceae* var. *gemmifer* takip ettiği izlenmiştir. Lahana suyu hariç, tüm özütlerin 95 °C'de ısıtıldıktan sonra etkisini kaybettiği belirtilmiştir (Olech ve ark., 2014). Bu nedenle, çiğ sarımsak, soğan, lahana ve Brüksel lahanası tüketilmesini önerilmekte ve böylece üreaz inhibitör özellikleri korunabilir ve *H. pylori* enfeksiyonunun tedavisinde hala işe yarayabilir (Olech ve ark., 2014). *In vitro* anti-*H. pylori* aktivitesinin *Allium ascalonicum*'un metanol yaprak özütlerinin (50 mg/mL), bu özütün üreaz aktivitesini azaltma yeteneğinden kaynaklandığı bulundu (Adeniyi ve Anyiam, 2004).

Ülserlerin tedavisinde bitkilerin geleneksel kullanımının bilimsel temelini araştırmak için *Artemisia scoparia*'nın sürgün özütleriyle bir *in vitro* çalışma yürütülmüştür (Khan ve ark., 2014).

Yüzden fazla geleneksel İran bitkisel ilacıyla yapılan bir araştırmada, 37 özütün 10 mg/mL'de kullanıldığında üreaz aktivitesini en az %70 oranında engellediğini ortaya koydu. *Areca catechu*, *Capsicum annuum*, *Citrus aurantifolia*, *Hibiscus gossypifolius*, *Hypericum perforatum*, *Nymphaea alba*, *Papaver rhoeas*, *Perlagonium graveolens*, *Pistacia vera*, *Punica granatum*, *Quercus infectoria*, *Rheum ribes*, *Rosa centifolia*, *Sambucus ebulus* ve *Veratrum album* metanol (%50) özleri kullanılarak %100'e yakın üreaz inhibisyonu elde edildi (Nabati ve ark., 2012). Üreaz aktivitesinin inhibisyonu, *Camelia sinensis* (IC₅₀ = 35 µg/mL), *C. aurantifolia* (IC₅₀ = 28 µg/mL), *Nasturtium officinale* (IC₅₀ = 18 µg/mL), *P. granatum* (IC₅₀ = 30 µg/mL) ve *Matricaria recutita*'nın (IC₅₀ = 37 µg/mL) metanolik (%50) özütlerinde gözlemlenmiştir (Biglar ve ark., 2012). Farklı oranlarda fenolik bileşen içeriğine ait ticari olarak satılan yeşil çayın metanol (%50) özütü, *H. pylori* üreazına karşı 13 µM'lik bir IC₅₀ sergilendiği bildirilmiştir (Matsubara ve ark., 2003). *H. pylori* ile mücadele eden Moğol çöl faresi hayvanları tarafından 6 hafta boyunca 500–2000 ppm aralığında yeşil çay özütü içeren

içme suyunun tüketilmesi hem gastriti hem de bakteriyel enfeksiyon yaygınlığını baskıladı (Matsubara ve ark., 2003).

Glycyrrhiza glabra kökünün etil asetat özütünün (2,5 mg/mL), *C. ensiformis* üreazını %72 oranında inhibe ederken, metanol özütü üreaz aktivitesini %64 oranında olumsuz etkilediği açıklanmıştır (Lateef ve ark., 2012).

Geleneksel Pakistan otu *Fagonia arabica*'nın tam bitki aseton özlerinin, *H. pylori*'ye karşı metronidazolden (referans ilaç) daha etkili olduğu bildirilmiştir (Amin ve ark., 2013).

Origanum vulgare ve *Vaccinium macrocarpon* tozlarının sulu özütünün içerdiği fenolik içeriğinde bağlı olarak, *H. pylori*'nin büyümesini ve üreazı inhibe etmede çok etkin olduğu bulunmuştur (Lin ve ark., 2005). *Eucalyptus grandis* gövde kabuğunun %50 metanol özütü, *H. pylori*'nin klinik izole suşlarının (UCH97001, UCH97009 ve UCH98026) aktivitesini konsantrasyona bağlı bir şekilde inhibe ettiği vurgulanmıştır (Adeniyi ve ark., 2009). *E. grandis* özütlerinin anti-*H. pylori* etkisini, başka yerlerde yayınlanmış diğer çalışmalara (Adeniyi ve ark., 2009) dayanarak tanenlerin ve triterpen saponinlerin varlığına bağladılar. *P. emodi* filizlerinin etanol ham özütleri (12,5 µg/mL), *C. ensiformis* ve *B. pasteurii* üreazlarını %70'in üzerinde inhibe etti (Khan ve ark., 2005).

Farklı miktarlarda resveratrol içeriğine ait iki ticari kırmızı şarabın *H. pylori* 26695, 1692/05 ve 553A/02 suşlarının üreazlarını inhibe ettiği bildirilmiştir (Paulo ve ark., 2011).

1.4. Fenolik Bileşenler

Sekonder bir metabolitlerin bir kısmını oluşturan fenolik bileşikler, bitkilerde pentoz fosfat, şikimat ve fenilpropanoid yollarının türevleridir. Fenolik bileşikler, bitki fizyolojisinin büyüme, yapı, savunma, pigmentasyon, lignifikasyon vb çeşitli önemli işlevler rolleri üstlenmektedir. Polifenoller ise, bitkilerde çeşitli önemli yapısal çeşitliliğe sahip çok sayıda kimyasal bileşiğin biyosentezinden sorumlu olduğundan oldukça dallanmış fenil propanoid yolu ile sentezlenmektedir (Huang ve diğerleri, 2005). Polifenoller, flavonoidler, kateşinler, epigallokateşin-3-gallat (EGCG),

flavononlar, izoflavonlar, flavanoller, dalbergin, antosiyaninler, proantosiyandinler, antosiyanidinler, fenolik asitler, fenolik alkoller, polifenolik amidler (avenantramit, kapsaisinoid), stilbenler, flavonoidler, kalkonlar, lignanlar ve resveratrol, rozmarik asit, gingerol, ellajik asit, sekoizolarisiresinol, metaresinol, valoneik asit dilakton, lignanlar, kurkumin ve hidrolize edilebilir tanenler (gallik asit, ellajik asit, rosmarinik asit) gibi diğer flavonoid olmayan maddeler gibi türevler olabilir. Bu sınıfların her birinin içinde, temel kimyasal iskelet etrafındaki farklılıklar esasen oksidasyon, hidroksilasyon, metilasyon, glikozilasyon ve diğer moleküllerle olası bağlantıların derecesiyle ilgilidir (Munin ve Levy, 2010). Gıda kaynaklı patojenlere karşı güçlü antimikrobiyal etkinlik sergileyen bitki fenolikleri ve terpenoidler yaygın olarak kullanıldığından gıda endüstrisinde yeni koruyucular olarak uygulanabileceğini bildirmiştir (Fontana ve ark. (2002). Fenolik bileşikler, antialerjenik, anti-arterojenik, anti-inflamatuar, antimikrobiyal, antioksidan, anti-trombotik, kardiyoprotektif ve vazodilatör etkiler gibi geniş bir yelpazede fizyolojik özellikler sergiler (Arts ve diğerleri, 2005; Graf ve diğerleri, 2005).

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. *L. orientalis* Mill.'in Temini

Çalışma materyalimizi oluşturan *L. orientalis* Mill. yaprakları Muğla'nın Köyceğiz ilçesi Sığıla Ormanlarından toplandı. Tez çalışmasında hazırlanan *L. orientalis* Mill. tentürlerin kodları Çizelge 2.1'de verilmektedir.

Çizelge 2.1. *L. orientalis* Mill. tentürlerin kodları

Bitki	Kullanım Şekli	Bitki: Çözücü Oranı	Alkol Oranı (%)	Analiz Kodu
<i>L. orientalis</i> Mill. (LO)	Taze (LOF)	1:3	45	LOF.1.3.45
		1:3	65	LOF.1.3.65
		1:3	90	LOF.1.3.90
		1:4	45	LOF.1.4.45
		1:4	65	LOF.1.4.65
		1:4	90	LOF.1.4.90
		1:5	45	LOF.1.5.45
		1:5	65	LOF.1.5.65
		1:5	90	LOF.1.5.90
		1:6	45	LOF.1.6.45
		1:6	65	LOF.1.6.65
		1:6	90	LOF.1.6.90
		1:3	45	LOD.1.3.45
		1:3	65	LOD.1.3.65
		1:3	90	LOD.1.3.90
		1:4	45	LOD.1.4.45
		1:4	65	LOD.1.4.65
		1:4	90	LOD.1.4.90
	Kuru (LOD)	1:5	45	LOD.1.5.45
		1:5	65	LOD.1.5.65
		1:5	90	LOD.1.5.90
		1:6	45	LOD.1.6.45
		1:6	65	LOD.1.6.65
		1:6	90	LOD.1.6.90

2.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

Tüm kimyasal ve çözücüler HPLC derece saflıkta olup tez kapsamında sığla tentür eldelerinde, kimyasal içerik analizlerinde ve biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılan kimyasallar Çizelge 2.2.'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Tez çalışmasında kullanılan kimyasallar ve markaları

Kimyasal	Marka
Metanol	Merck (Sternheim, Almanya)
Etanol	
Fenol	
NaOCl	
Üre	
Na ₂ [Fe(CN) ₅ NO].2H ₂ O	Merck (Darmstadt, Almanya)
NaOH	
Amonyum asetat	
Sodyum bihidrojenfosfatdihidrat	
Sodyum dihidrojenfosfatdihidrat	
Üreaz	Sigma–Aldrich GmbH, Sternheim, Almanya

2.3. Aletler ve Diğer Gereçler

- Döner buharlaştırıcı (Heidolph Laborata 4000 Efficient Rotary Evaporator)
- Otomatik pipetler (2-20 µL, 10-100 µL, 20-200 µL, 100-1000 µL ve 1-5 mL)
Eppendorf, Almanya
- He tüpleri (GC grade)
- Hassas Terazî (Sartorius CPA225D)
- Ultrasonik banyo (Çalışkan Lab-ULT4030)
- HLPC (Shimadzu model Prominence-i LC-2030C 3D Plus, Shimadzu Cooperation, Japonya)
- Etüv (Binder ED115, Tuttinger-Almanya)

- Cam vialler, spatül, dereceli silindirler, filtre kâğıdı
- Elisa Reader (BioTek, Sinergy H1 microplate reader)
- Liyafilizatör
- Bome
- Saf Su Cihazı (Adrona Crystal EX)

2.4. Tentürlerin Elde Edilmesi

Köyceğiz'in sığla ormanlarından toplanan sığla yaprakları laboratuvar ortamına getirilerek ikiye ayrıldı. İkiye ayrılan sığla yaprakları bitki kurutma makinesinde 40 °C'de kurutuldu. 50 g taze ve kuru sığla yapraklarının tentürü % 45, % 65 ve % 90 etanol konsantrasyonlarındaki 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 ve 1:7 (bitki:solvent, w:v) oranlarında hazırlandı. Hazırlanma süresi sonuna kadar, tentürler ısı ve ışık almayan ve serin bir ortamda, 14 gün bekletilir ve günde birkaç kez çalkalandı. Süre sonunda süzüldü. Tentürlerin çözücülerinden etil alkol rotary evaporatörde uçurulurken, saf su liyofilizatörden uzaklaştırıldı. Elde edilen ham ürün koyu renkli bir şişede, ısı ve ışıktan uzak bir ortamda, buzdolabında muhafaza edildi (Tanrıkulu, 2020). Tentürlerin verimi :

$$\%verim = \frac{\text{kuru tentür miktarı (gram)}}{\text{sığla yaprak miktarı (gram)}} \times 100 \quad \text{formülüne göre hesaplandı.}$$

2.5. Tentürlerin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizleri

Maserasyon tekniği ile elde edilen ekstratların kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile belirlendi. Taze ve kuru sığla yapraklarından elde edilen tentürlerin kimyasal içerik analizi Çizelge 2.3'te verilen HPLC şartları kullanılarak, HPLC analizi gerçekleştirildi. Taranan fenolik bileşik standartlarının kalibrasyon verileri ise Çizelge 2.4'de verilmektedir.

Çizelge 2.3 HPLC cihazı analiz şartları

Kolon	C ₁₈ kolon (4 µm, 150 mm x 4,0 mm.i.d)
Mobil Faz A	%0,1' lik CH ₃ COOH içeren H ₂ O
Mobil Faz B	MeOH
Kolon Fırın Sıcaklığı	35°C
Dedektör	SPD-M20A DAD Dedektör
Dedektör Dalga Boyu	254 nm
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Analiz Süresi /Akış Hızı	77.5 dk / 1,0 mL/dk

Çizelge 2.4 Taranan fenolik bileşik standartlarının kalibrasyon verileri

Bileşiğin Adı	Alınma Zamanı	Kalibrasyon Denklemi
Gallic acid	15,226	y = 45540x - 84708
Theobromine	25,976	y = 3942,7x + 81451
Theophylline	29,546	y = 36694x + 68674
Catechin	30,100	y = 2611,2x + 74392
Cynarin	43,943	y = 42559x - 2E+06
Rutin	47,616	y = 47899x + 56096
Ellagic acid	50,128	y = 235073x - 7E+06
Kaemferol	62,210	y = 92669x + 58328
Pyrocatechol	24,601	y = 3772,8x + 23692
Epicatechin	35,556	y = 2097,6x + 7998,2

2.6. Biyoaktivitelerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

2.6.1. Üreaz inhibisyon aktivite yönteminde kullanılan çözeltiler

0,01 M pH= 8.2 Fosfat tamponunun hazırlanması: 0,1560 g Na₂PO₄.2H₂O deiyonize su yardımıyla toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı. 0,1780 g NaHPO₄.2H₂O'dan deiyonize su yardımıyla toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı. 96 mL Na₂PO₄.2H₂O ile 4 mL NaHPO₄.2H₂O'dan alındı ve pH kontrolüyle son hacim 200 mL'ye seyreltilti.

%1'lik Fenol reaktifinin hazırlanması: 0,8 g fenol'ündeiyonize su yardımıyla 10 mL'deki çözeltisi hazırlandı.

% 0,005'lik sodyumnitropurisit reaktifinin hazırlanması: 5 mg Na₂[Fe(CN)₅NO]. 2H₂O distile su yardımıyla toplam hacim 10 mL'ye tamamlandı. Reaktif için 5 birim fenol ile 4 birim sodyumnitropurisit çözeltisi hazırlandı.

Alkali reaktifin hazırlanması:

%0.5 NaOH reaktifin hazırlanması: 0,285 g NaOH distile su yardımıyla toplam hacim 10 mL'ye tamamlandı.

%0.1'lik NaOCl reaktifin hazırlanması: 0,47 mL NaOCl distile su yardımıyla toplam hacim 10 mL'ye tamamlandı.

Alkali reaktifinin hazırlanması için 1 birim % 0,5'lik NaOH ve 1 birim % 0,1'lik NaOCl çözeltilerinden alınıp karıştırılarak hazırlandı.

100 mM üre (substrat) çözeltisinin hazırlanması: 0,2553 g üre bir miktar pH=8.2 fosfat tamponu ile çözüldükten sonra distile su yardımıyla toplam hacim 25 mL'ye tamamlandı.

2.6.2. Üreaz inhibisyon aktivite testi

24 tentürün üreaz inhibisyon aktivitesi, indofenol metodunun reaksiyonu sonucu oluşan amonyanın spektroskopik olarak ölçülmesiyle belirlendi (Weatherburn, 1967). Kontrol olarak etanol:distile su (1/1: v/v) kullanıldı. 10 µL farklı konsantrasyonlardaki stok tentür çözeltilerine 25 µL 0.01 M pH=8.2 fosfat tamponunda hazırlanan üreaz enzimi ile 50 µL 0.01 M pH=8.2 fosfat tamponundaki üre (substrat olarak) çözeltisi ilave edilip 25°C'de 15 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 45 µL fenol reaktifi ile 70 µL alkali reaktifi eklenir eklenmez 30 dk sonra 630 nm dalga boyunda spektrofotometrede tentürlerin kinetik absorbans ölçümleri yapıldı.

2.7. İstatistiksel Analiz

Aktivite tetlerinin sonuçları, 3 paralel yapılarak gerçekleştirildi ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak değerlendirildi. Sonuçlar *Student-t* testine göre %95 güven sınırları belirlendi. İstatistiksel olarak anlamlı veriler, $p \leq 0,05$ olarak kabul edildi. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regresyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesiyle yapıldı.

3. BULGULAR VE İRDELEME

3.1. Tentürlerin Miktarı ile Verimleri

Taze ve kuru *L. orientalis* Mill. yapraklarından elde edilen tentürlerin % verimleri Çizelge 3.1’de verildi. Genel olarak % 65’lik EtOH konsantrasyonlarında hazırlanan tentürlerin verimleri daha fazla olduğu belirlendi.

Çizelge 3.1. *L. orientalis* Mill. tentürlerinin % verimleri

Bitki	Kullanım Şekli (Kod)	Analiz Kodu	% Verim
<i>L. orientalis</i> Mill. (LO)	Taze (LOF)	LOF.1.3.45	4,75
		LOF.1.3.65	6,23
		LOF.1.3.90	5,67
		LOF.1.4.45	6,44
		LOF.1.4.65	6,50
		LOF.1.4.90	5,27
		LOF.1.5.45	8,00
		LOF.1.5.65	10,18
		LOF.1.5.90	7,45
		LOF.1.6.45	9,16
		LOF.1.6.65	19,44
		LOF.1.6.90	9,00
	Kuru (LOD)	LOD.1.3.45	2,77
		LOD.1.3.65	3,88
		LOD.1.3.90	4,07
		LOD.1.4.45	2,19
		LOD.1.4.65	10,30
		LOD.1.4.90	5,94
		LOD.1.5.45	9,22
		LOD.1.5.65	14,27
		LOD.1.5.90	8,97
		LOD.1.6.45	19,98
		LOD.1.6.65	9,61
		LOD.1.6.90	7,38

3.2. Tentürlerin HPLC Analizi Sonuçları

L. orientalis Mill.'in taze (**LOF**) ve kuru (**LOD**) yapraklarından farklı miktar ve farklı alkol yüzdeleri ile elde edilen tentürlerin kimyasal içeriği Yöntem 2.7.'de belirtilen şartlarda HPLC analizleri yapılmıştır. **LOF** ve **LOD** kodlu tentürlerin kimyasal içeriği HPLC-DAD kromatogramında bileşiklerin alıkonma zamanları (Rt) ve UV spektrumları kullanılarak aydınlatıldı. Tentürlerde tespit edilen maddelerin miktarları pik alanları kullanılarak validasyonda her bir madde için elde edilen grafik yardımıyla hesaplandı. Çeşitli standartlar kullanılarak tanımlanan maddelerin sonuçları Çizelge 3.4 ve Çizelge 3.5'te verildi.

3.2.1. Taze *L. orientalis* Mill. yapraklarından elde edilen tentürlerin HPLC analiz sonuçları

Farklı bitki:çözücü ve farklı alkol konsantrasyonlar hazırlanan taze *L. orientalis* Mill. yapraklarının **LOF** kodlu tentürlerin HPLC kromatogramları Şekil 3.1- Şekil 3.12'de, HPLC analiz sonuçları Çizelge 3.2'de verilmektedir.

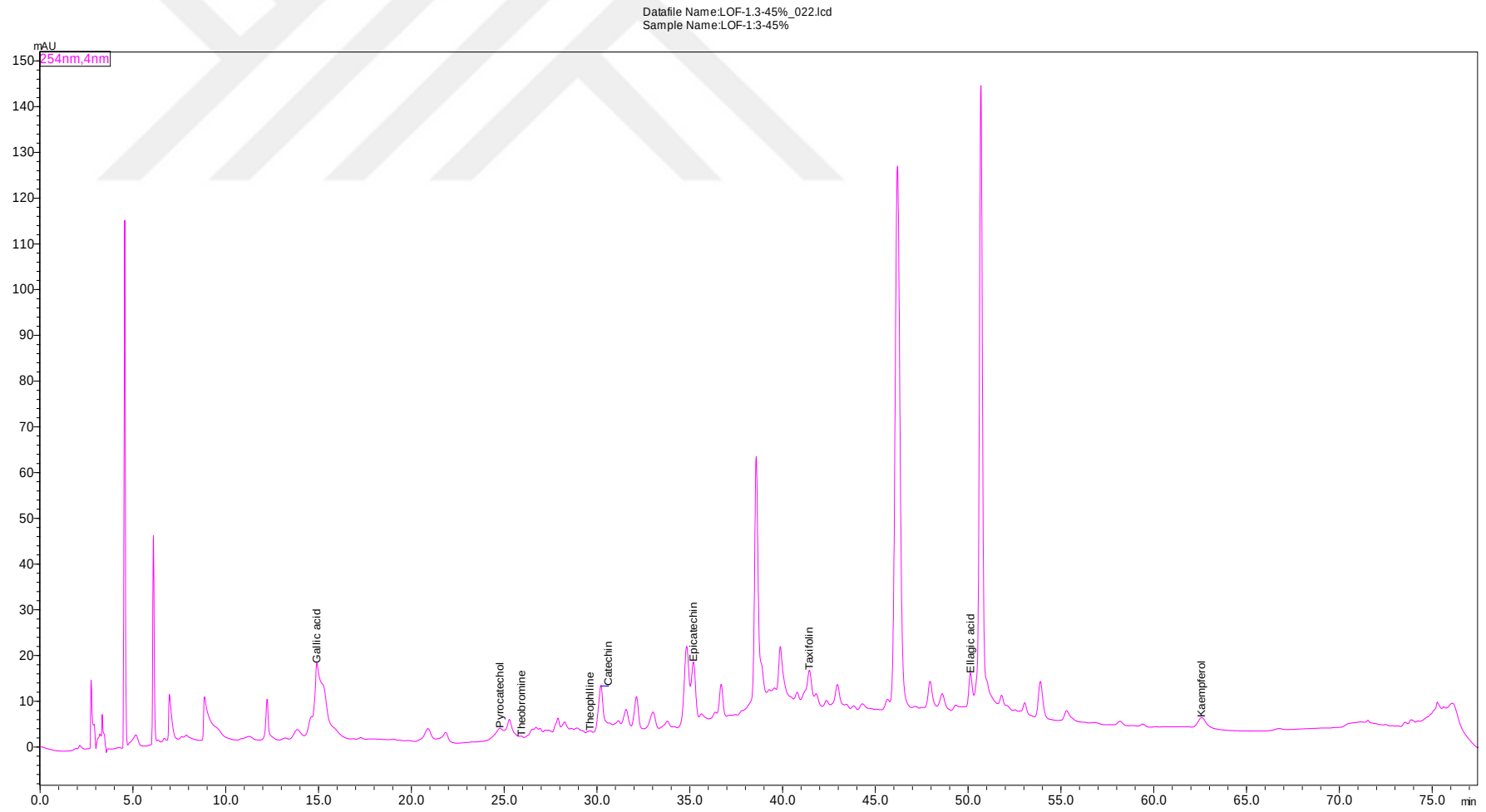
Tentürlerin HPLC analiz sonuçlarına göre, taze *L. orientalis* Mill. yapraklarından hazırlanan tentürlerin % 65 ve % 90 alkol oranlarında pirokatekol, kateşin ve epikateşin majör bileşen olarak bulundu. Tentürlerin alkol miktarı arttıkça pirokatekol miktarında artış olduğu belirlenirken, % 65 'lik tentürlerde kateşin ve epikateşin miktarının maksimum miktarda olduğu bulundu. Gallik asitin maksimum bulunduğu tentürün **LOF.1.5.45** (2,36 mg/g); Pirokatekolün maksimum bulunduğu tentürün **LOF.1.6.90** (18,04 mg/g); Theobromine'nin maksimum bulunduğu tentürün **LOF.1.6.90** (2,69 mg/g); Theophylline'nin maksimum bulunduğu tentürün **LOF.1.6.65** (3,00 mg/g); Kateşin'nin maksimum bulunduğu tentürün **LOF.1.6.65** (40,11 mg/g); Epikateşin'nin maksimum bulunduğu tentürün **LOF.1.5.65** (44,45 mg/g); Taxifolin'nin maksimum bulunduğu tentürün **LOF.1.5.65** (7,46 mg/g); Elagic acid'in maksimum bulunduğu tentürün **LOF.1.6.65** (4,44 mg/g) ve Kamferol'ün maksimum bulunduğu tentürün **LOF.1.5.65** (0,12 mg/g) olduğunu bulundu.

Sonuç olarak; **LOF** kodlu tentürlerde pirokatekol, kateşin, epikateşin, taxifolin, elagic acid ve kaemferol olmak üzere 6 fenolik maddenin tamamında bulunduğu tespit edildi.

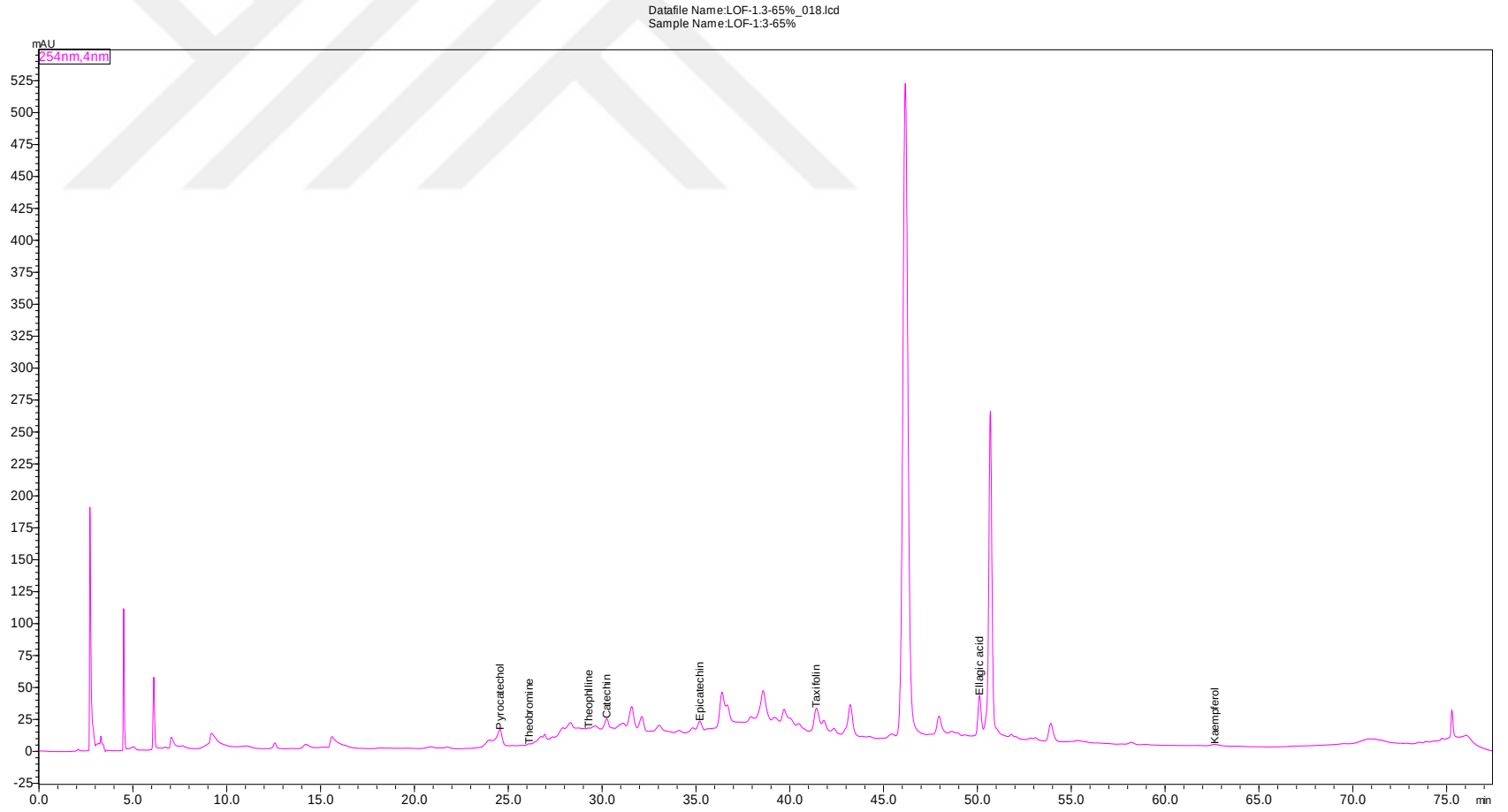
Çizelge 3.2. Taze *L. orientalis* Mill. yapraklarından elde edilen HPLC analiz sonuçları (mg/g)

Bileşen	RT	LOF.1.3.45	LOF.1.3.65	LOF.1.3.90	LOF.1.4.45	LOF.1.4.65	LOF.1.4.90	LOF.1.5.45	LOF.1.5.65	LOF.1.5.90	LOF.1.6.45	LOF.1.6.65	LOF.1.6.90
Gallik asit	15,22	2,07	-	-	2,20	-	-	2,36	-	-	1,47	-	-
Pirokatekol	24,65	1,82	9,33	13,29	1,90	11,38	14,09	1,19	9,41	11,27	0,54	11,25	18,04
Theobromine	25,96	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	2,69
Theophlline	29,44	t	0,49	0,33	t	0,80	0,52	t	0,77	0,27	t	3,00	0,36
Kateşin	30,27	6,36	28,52	20,75	6,12	27,51	22,19	5,86	18,88	17,79	4,17	40,11	21,33
Epikateşin	35,27	13,56	25,06	11,88	2,64	26,49	12,01	2,62	30,22	9,13	17,00	44,45	15,73
Taxifolin	41,2	1,16	3,09	2,89	1,03	4,01	2,70	1,38	7,46	2,48	1,16	5,60	2,13
Elagik asit	50,00	3,78	3,89	3,92	3,72	4,17	3,97	3,79	4,06	4,02	3,74	4,44	4,37
Kaemferol	62,48	0,02	t	t	0,05	t	t	0,08	0,12	t	0,05	t	t
Toplam		28,77	70,38	53,06	17,66	74,36	55,48	17,28	70,92	44,96	28,13	104,85	64,65

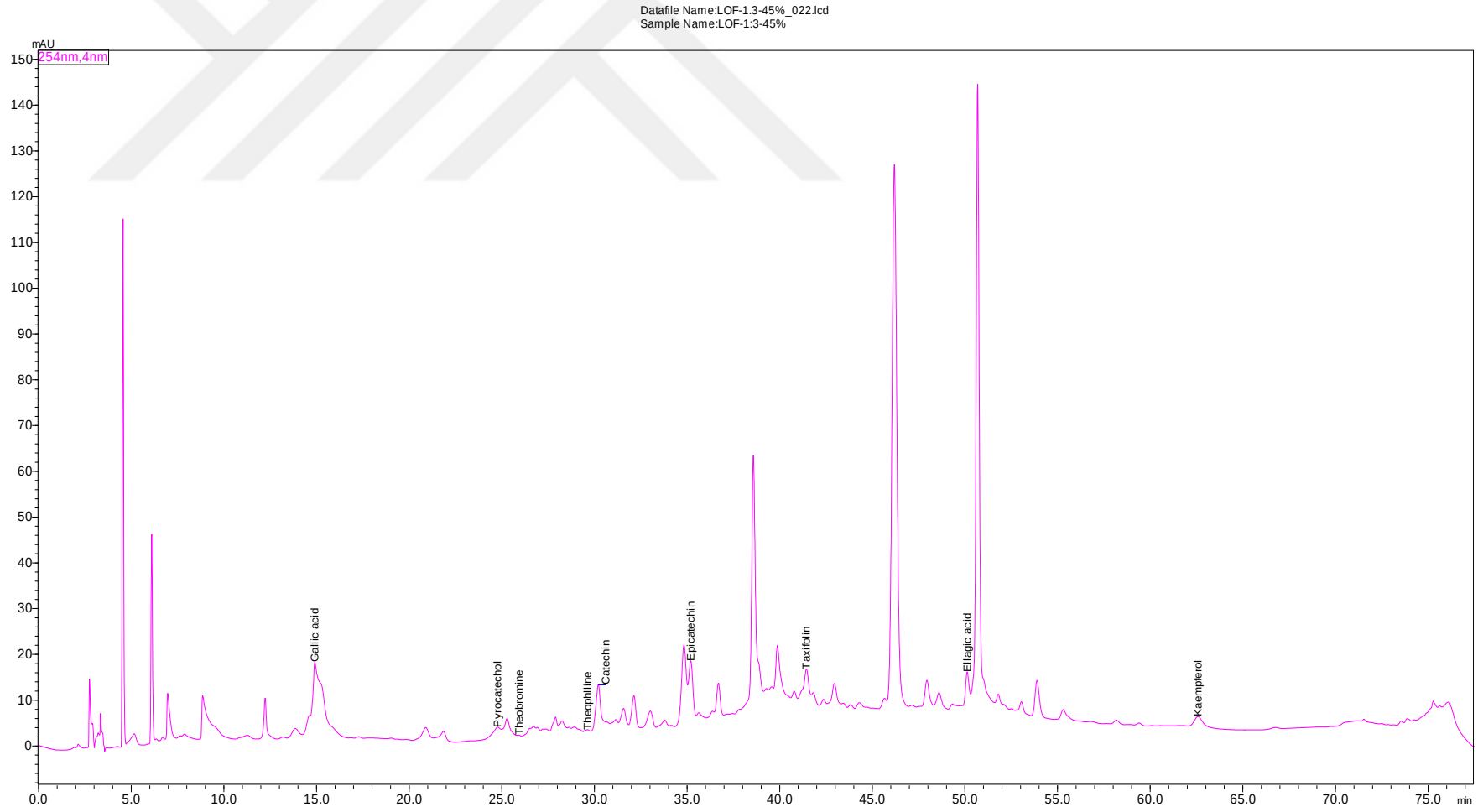
^{tr}: eser miktarda.



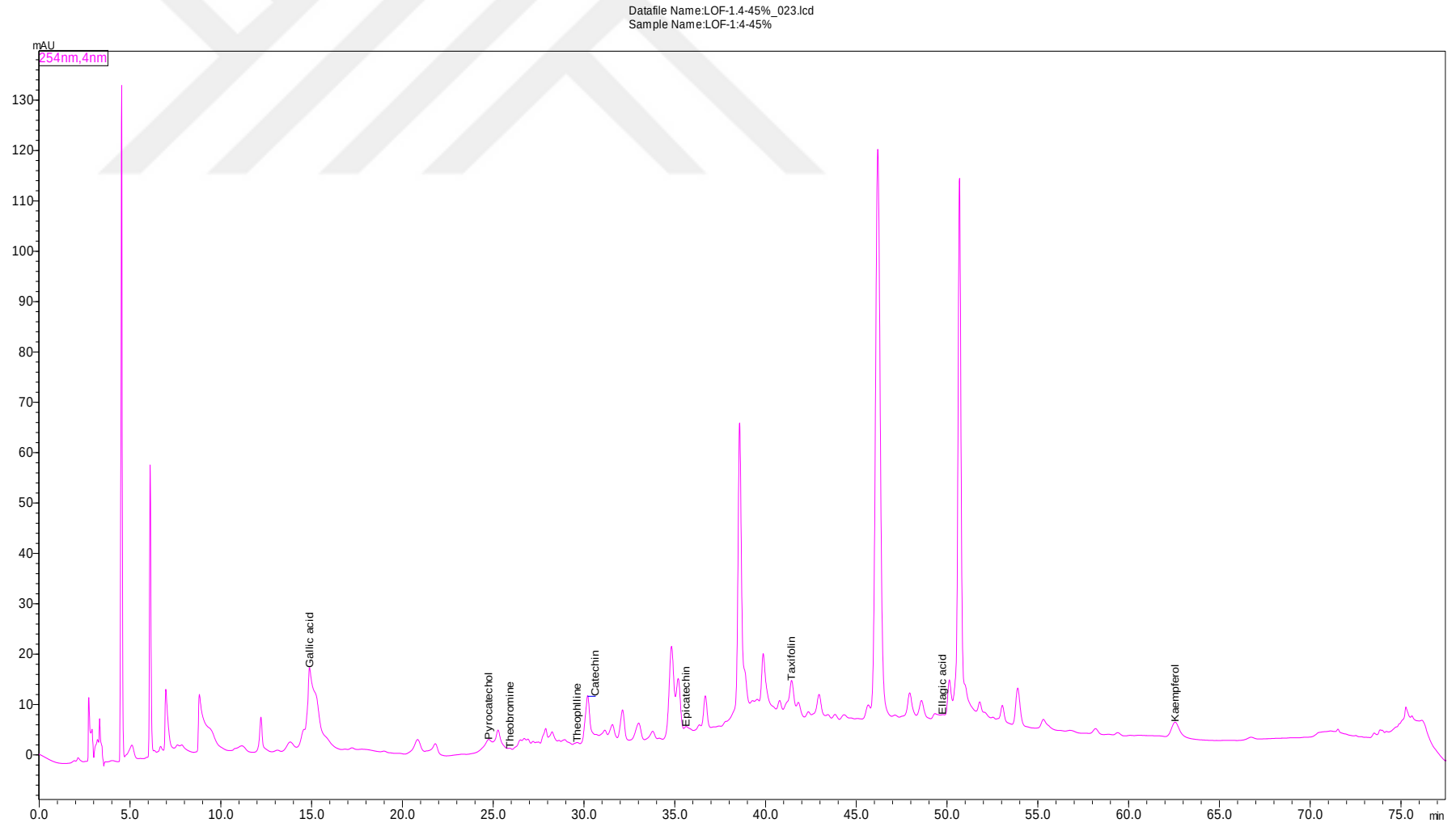
Şekil 3.1. LOF.1.3.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



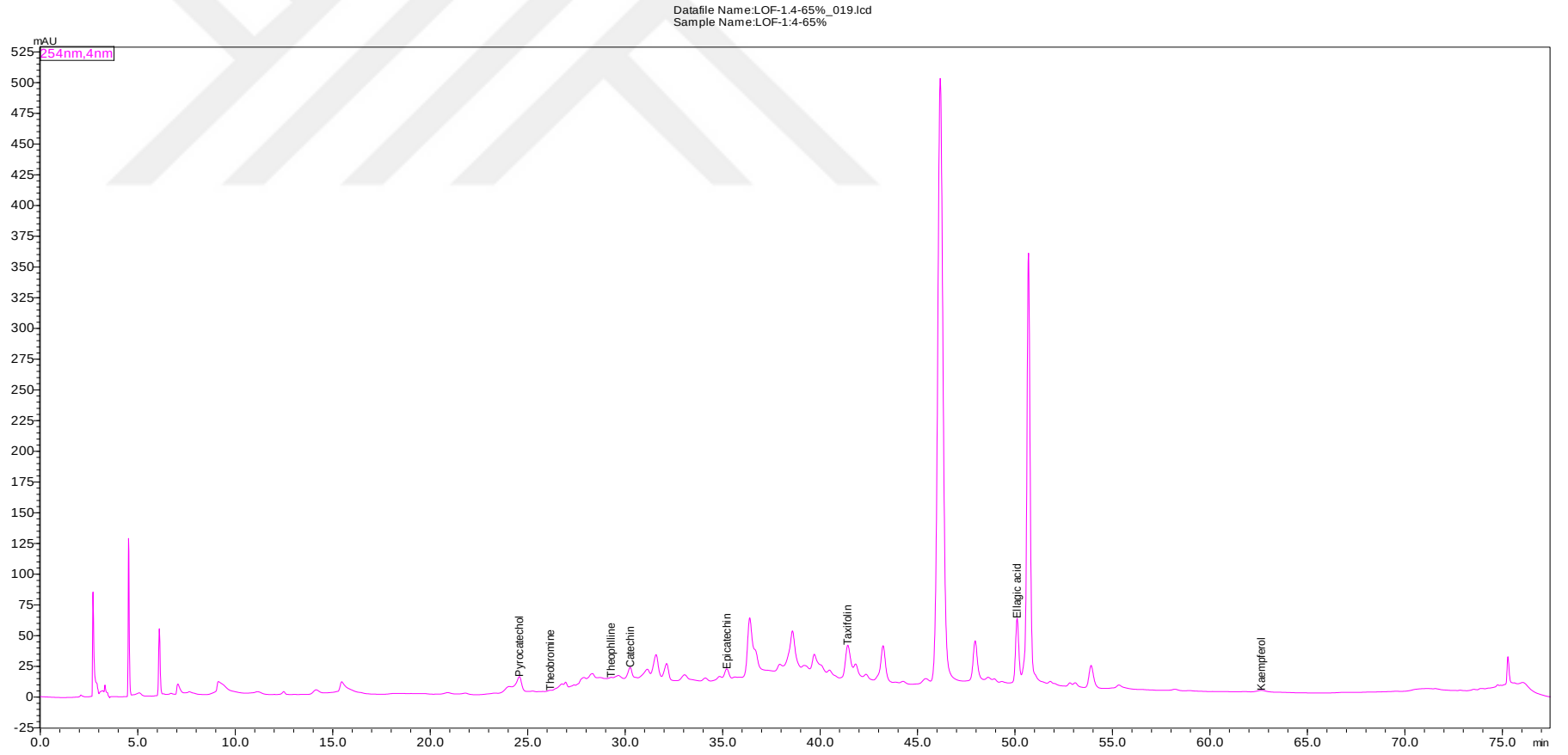
Şekil 3.2. LOF.1.3.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



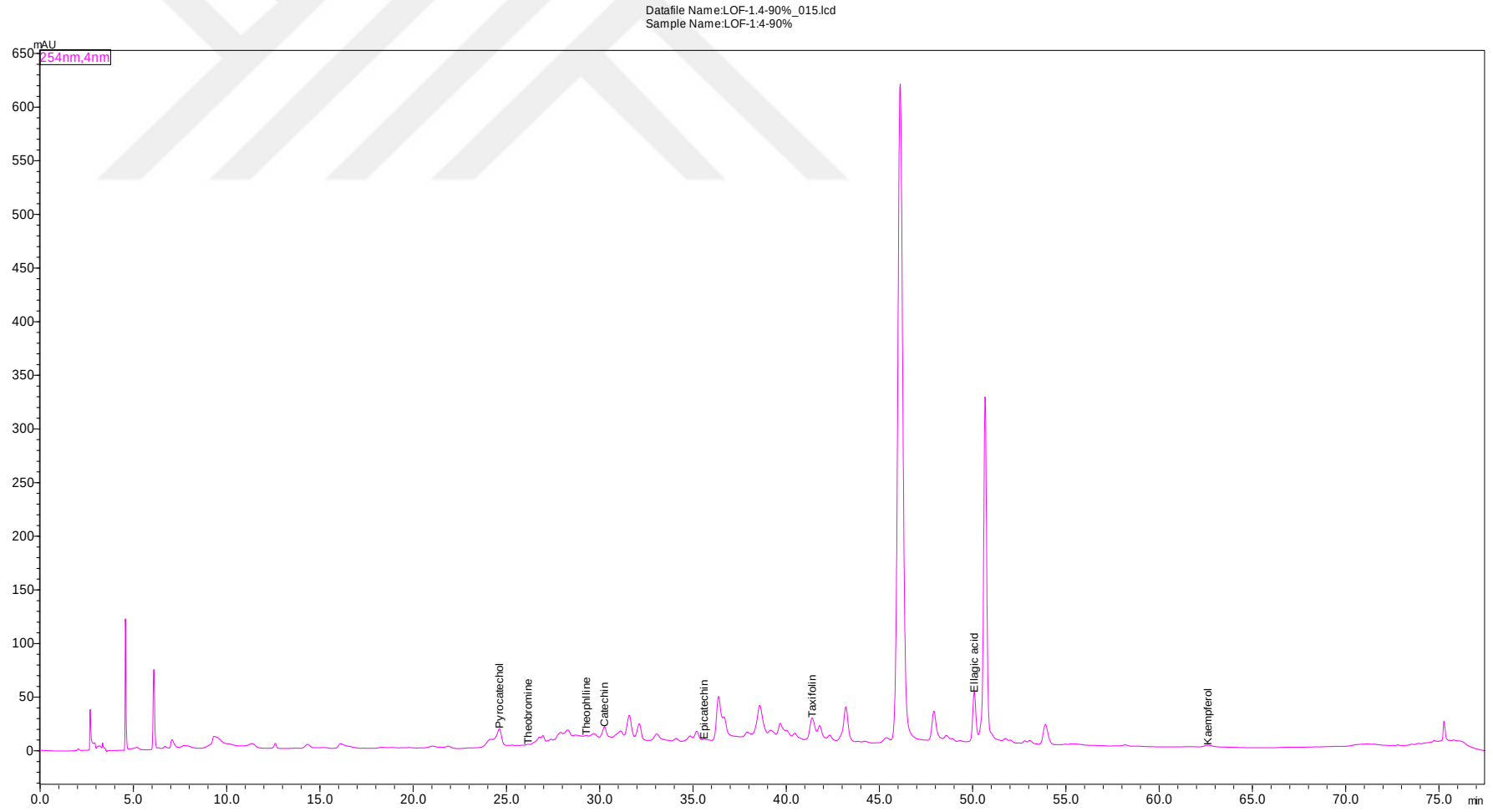
Şekil 3.3. LOF.1.3.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



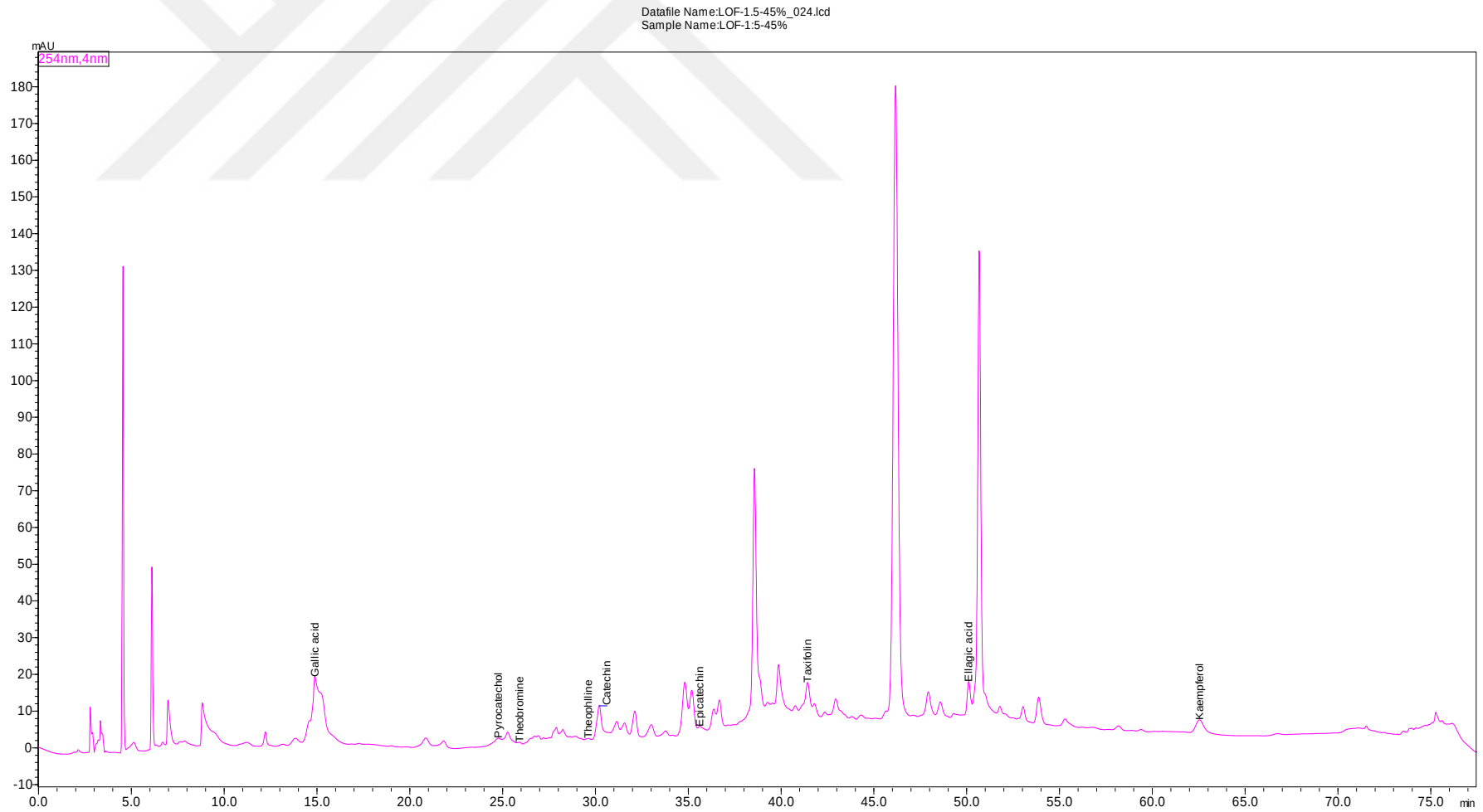
Şekil 3.4. LOF.1.4.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



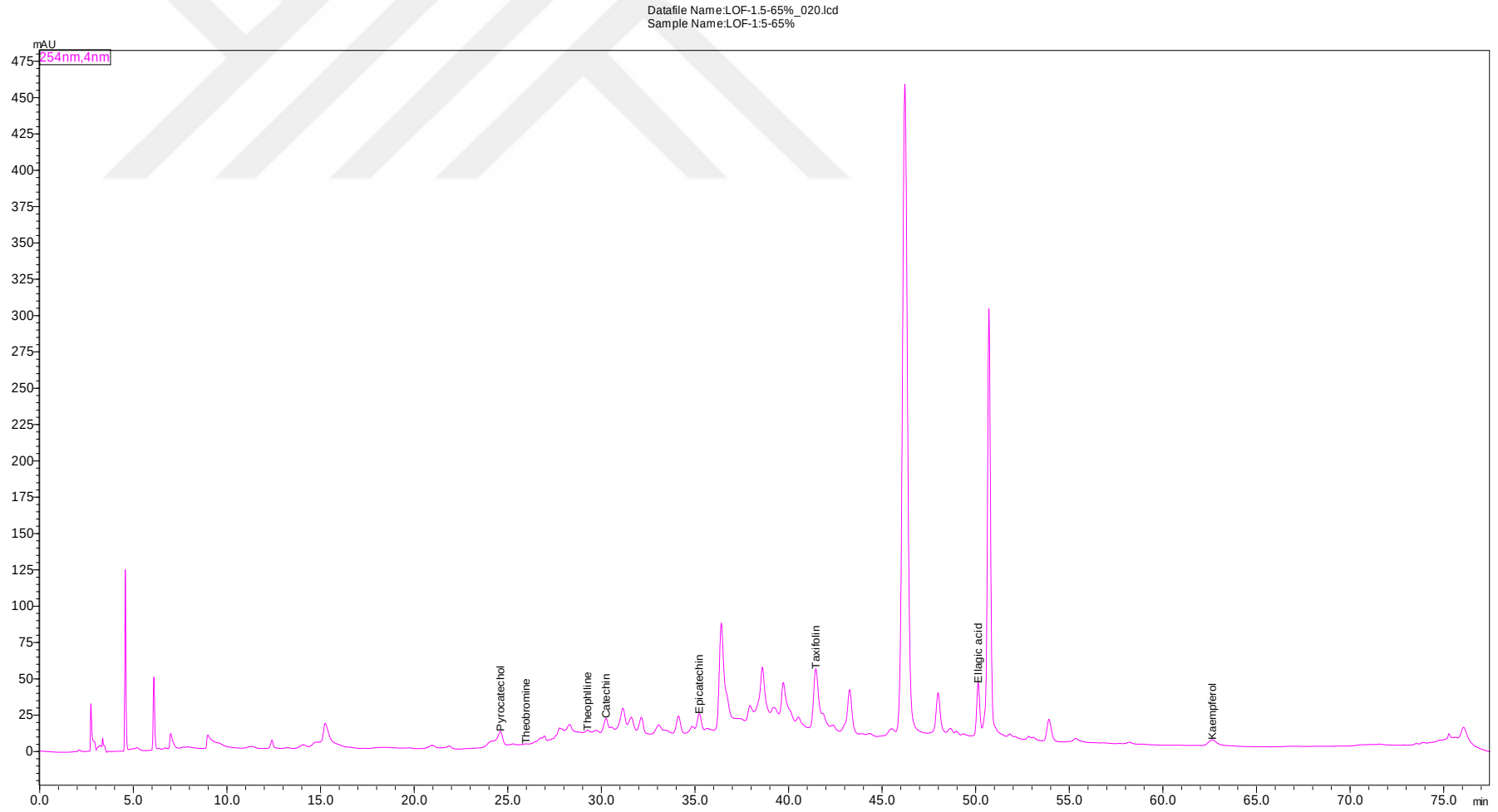
Şekil 3.5. LOF.1.4.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



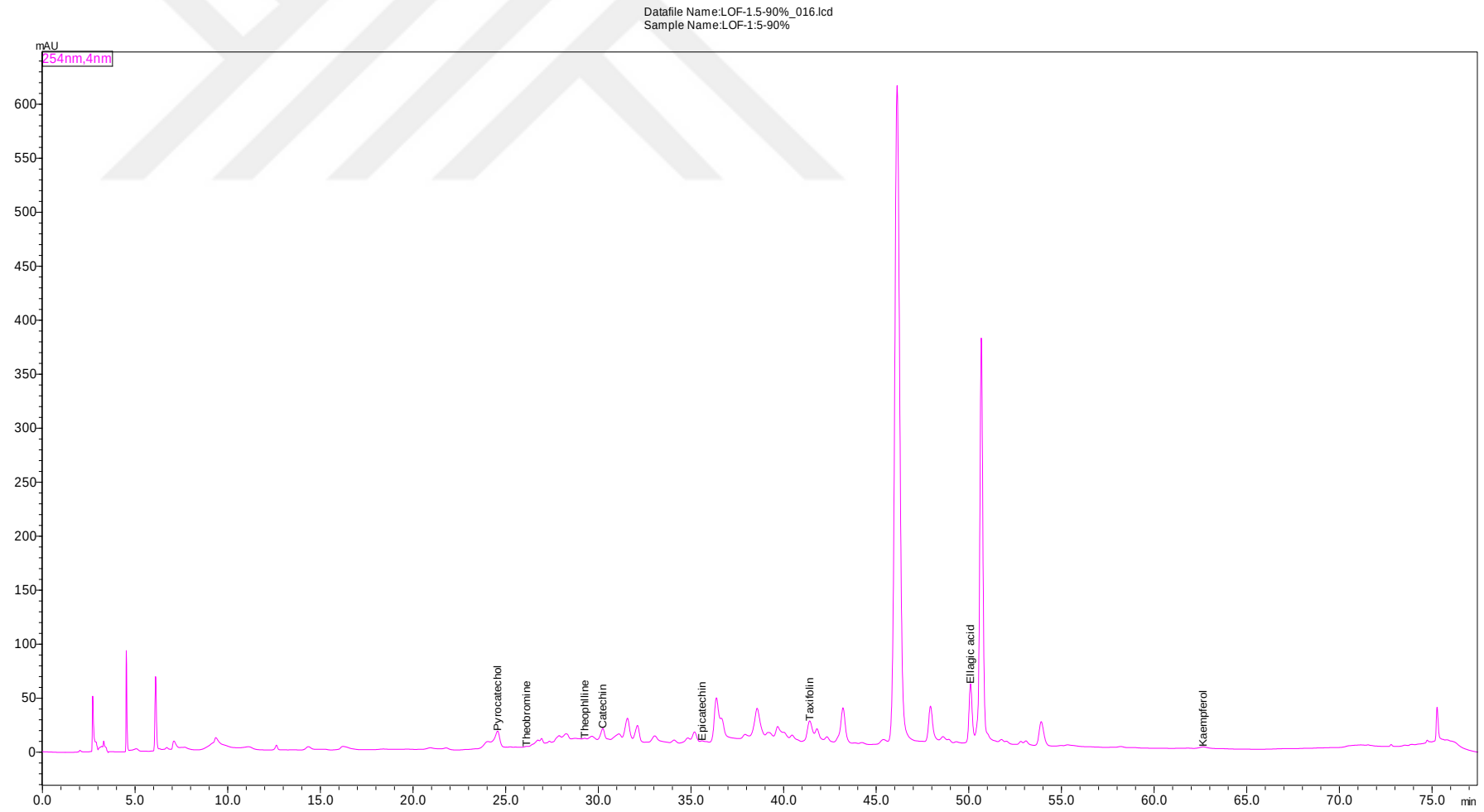
Şekil 3.6. LOF.1.4.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



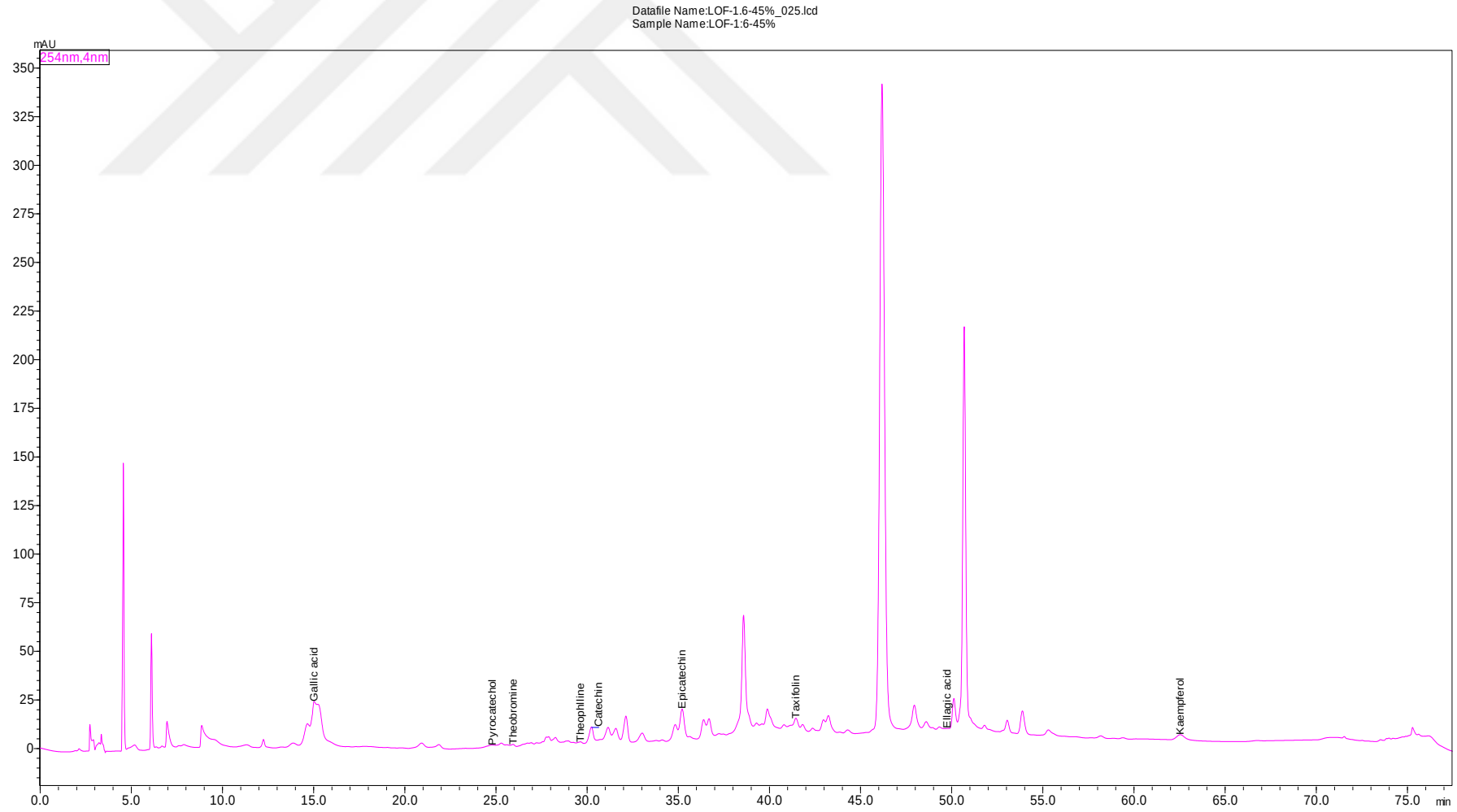
Şekil 3.7. LOF.1.5.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



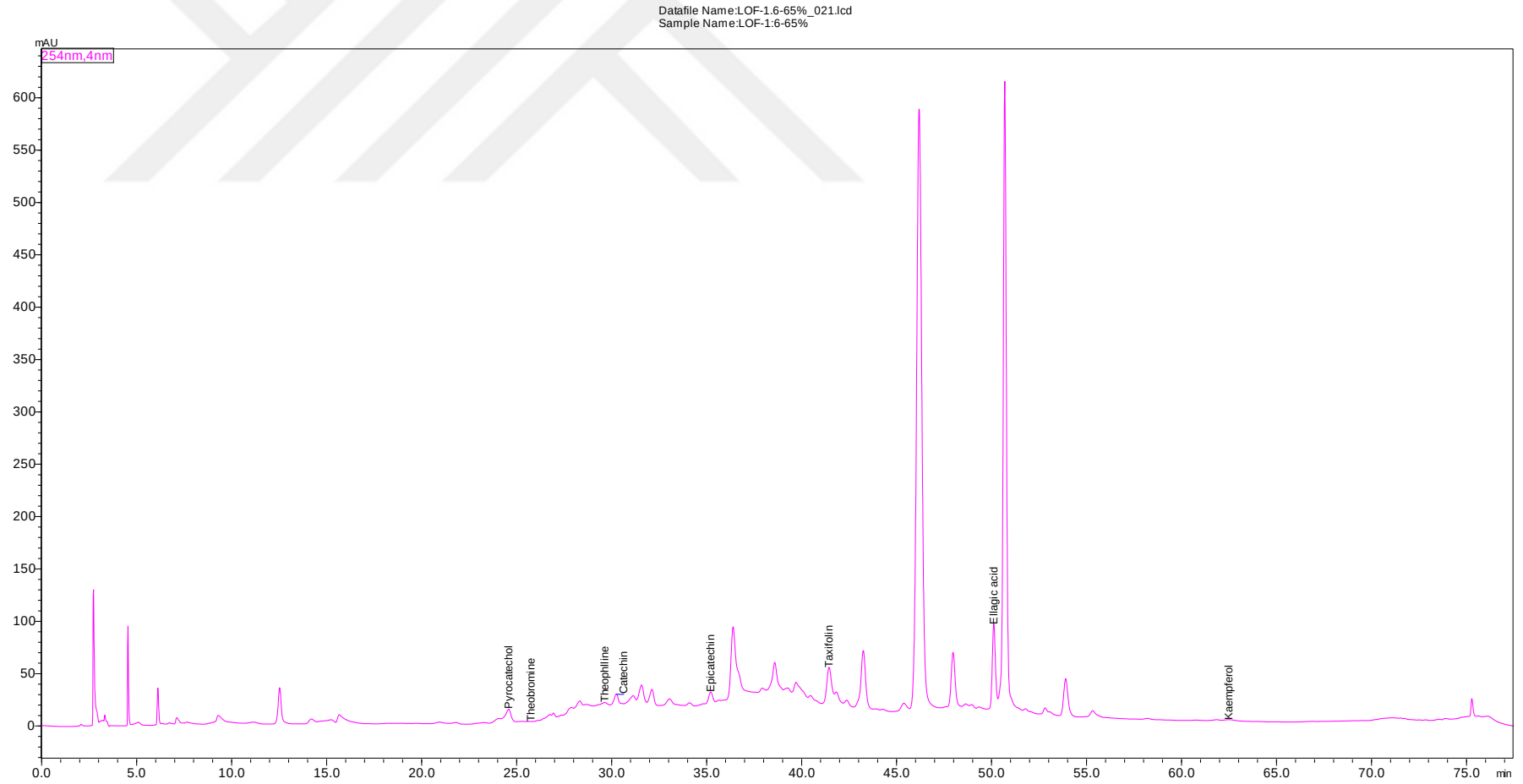
Şekil 3.8. LOF.1.5.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



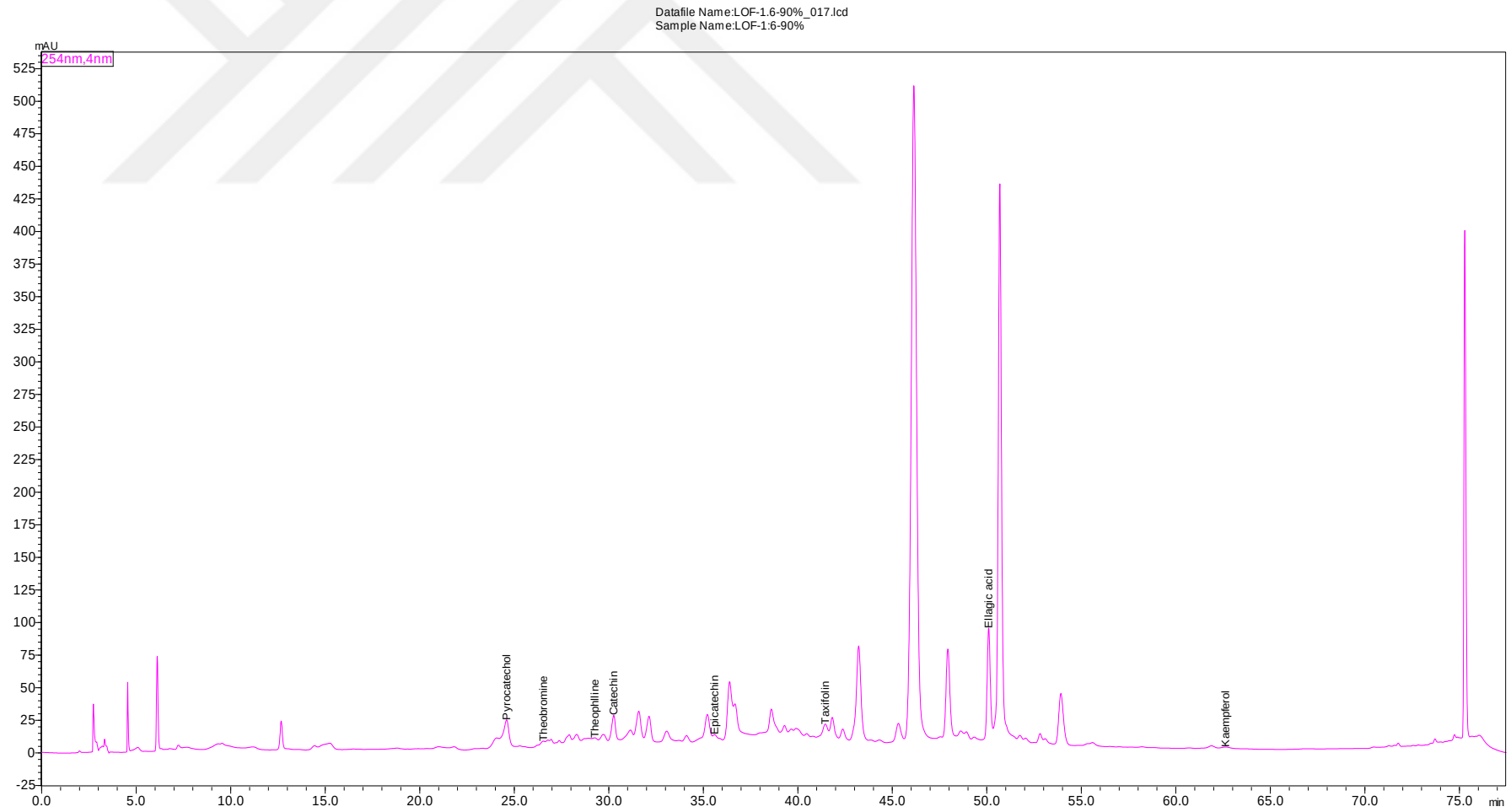
Şekil 3.9. LOF.1.5.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



Şekil 3.10. LOF.1.6.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



Şekil 3.11. LOF.1.6.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



Şekil 3.12. LOF.1.6.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı

3.2.2. Kuru *L. orientalis* Mill. yapraklarından elde edilen tentürlerin HPLC analiz sonuçları

Farklı bitki:çözücü oranları ve farklı alkol konsantrasyon hazırlanan kuru *L. orientalis* Mill. yapraklarının **LOD** kodlu tentürlerin HPLC kromatogramları Şekil 3.13-Şekil 3.24’de, HPLC analiz sonuçları Çizelge 3.3’te verilmektedir.

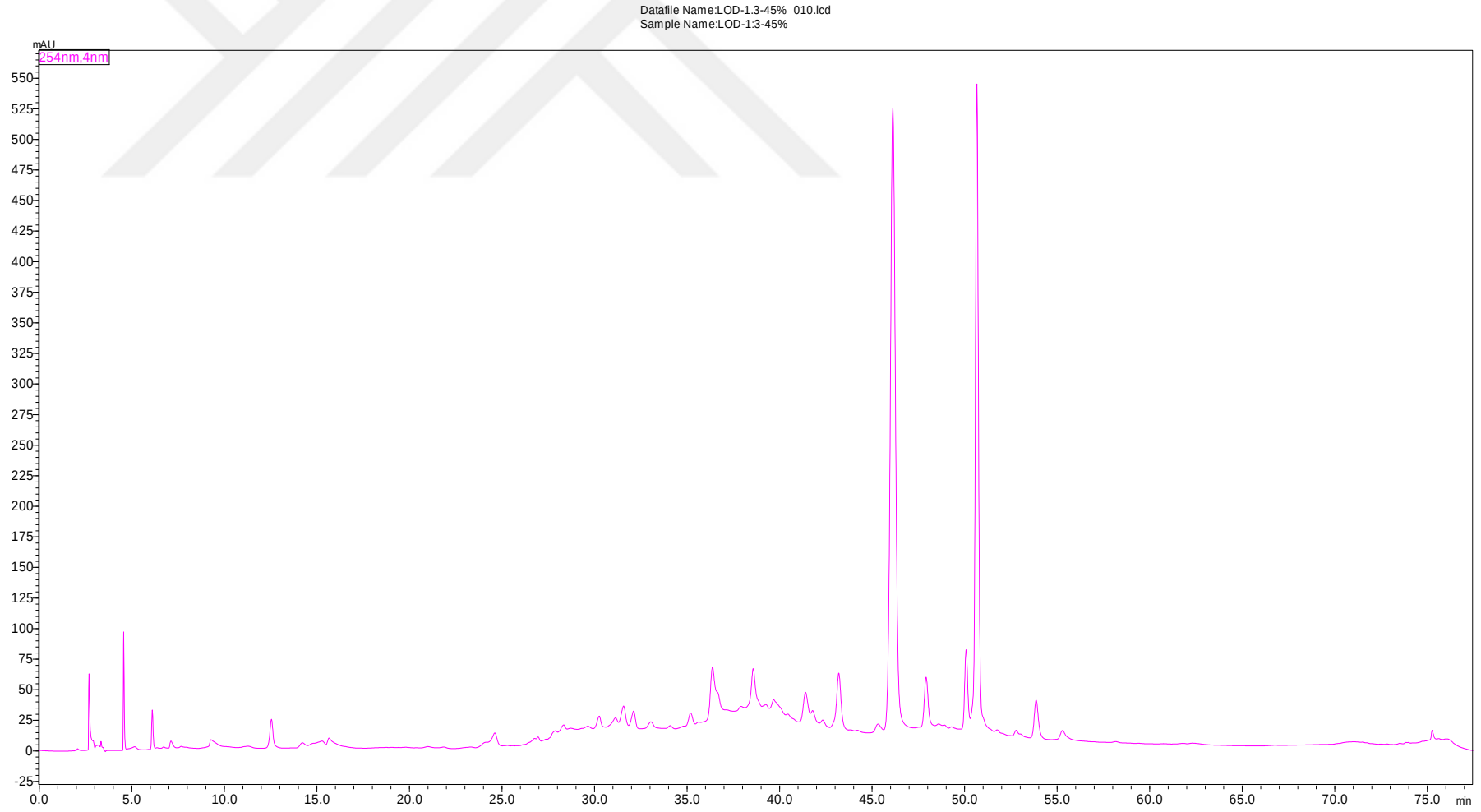
Tentürlerin HPLC analiz sonuçlarına göre, taze *L. orientalis* Mill. yapraklarından hazırlanan tentürlerde olduğu gibi kuru *L. orientalis* Mill. yapraklarından hazırlanan tentürlerde de % 65 ve % 90 alkol oranlarında pirokatekol, kateşin ve epikateşin majör bileşen olarak bulundu. % 65 ‘lik tentürlerde kateşin ve epikateşin miktarının maksimum miktarda olduğu bulundu. Gallik asitin maksimum bulunduğu tentürün **LOD.1.5.45** (2,20 mg/g); Pirokatekolün maksimum bulunduğu tentürün **LOD.1.4.90** (22,36 mg/g); Theobromine’nin maksimum bulunduğu tentürün **LOD.1.4.90** (3,43 mg/g); Kateşin’nin maksimum bulunduğu tentürün **LOD.1.3.65** (38,04 mg/g); Epikateşin’nin maksimum bulunduğu tentürün **LOD.1.3.65** (26,16 mg/g); Rutin’nin maksimum bulunduğu tentürün **LOD.1.3.65** (3,66 mg/g) ve Elagic acid’in maksimum bulunduğu tentürün **LOD.1.3.65** (4,54 mg/g) olduğunu bulundu.

Sonuç olarak; **LOD** kodlu tentürlerde gallik asit, pirokatekol, kateşin, epikateşin, rutin ve elagic acid olmak üzere 6 fenolik maddenin tamamında bulunduğu tespit edildi.

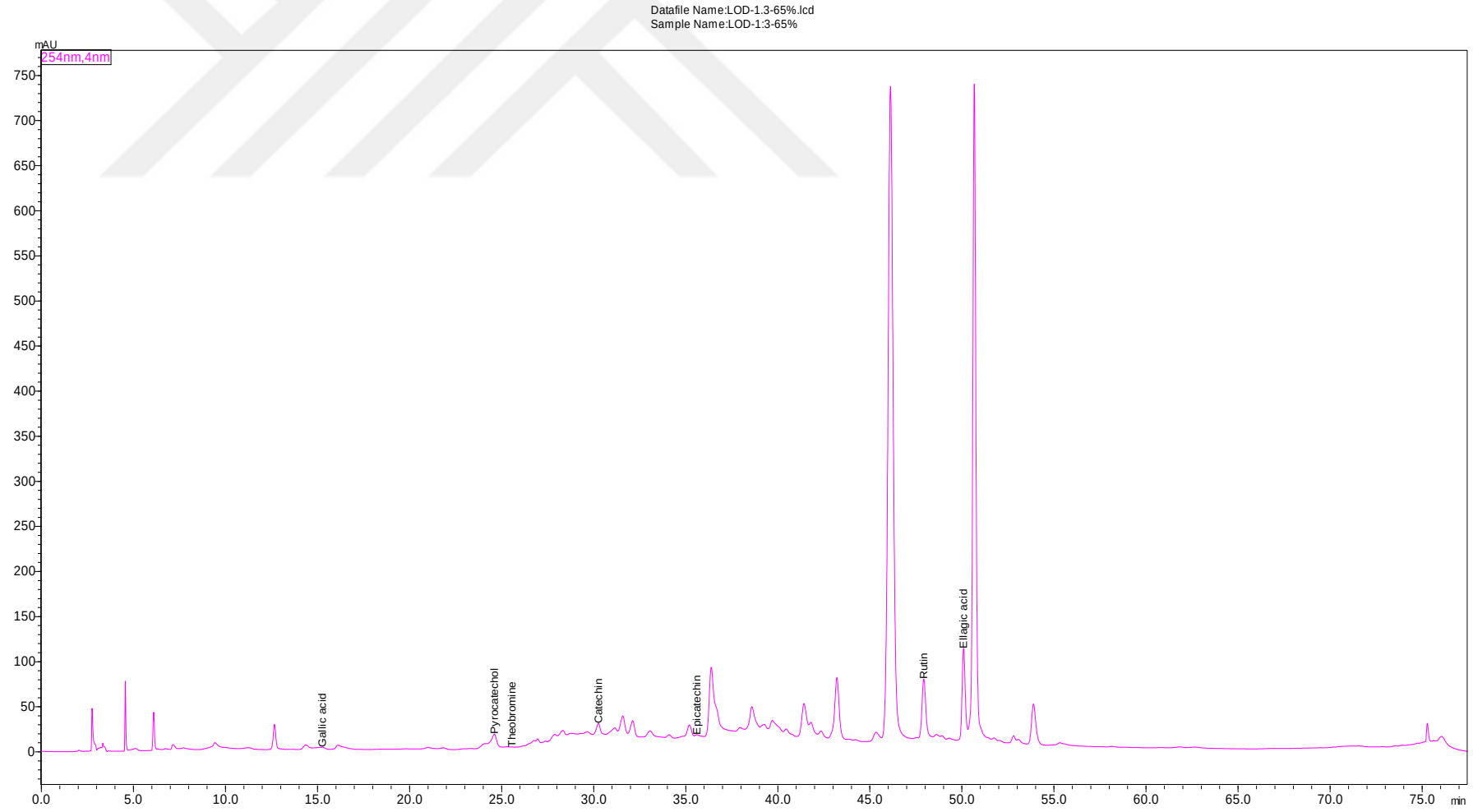
Çizelge 3.3. Kuru *L. orientalis* Mill. yapraklarından elde edilen tentürlerin HPLC analiz sonuçları (mg/g)

Bileşen	RT	LOD.1.3.45	LOD.1.3.65	LOD.1.3.90	LOD.1.4.45	LOD.1.4.65	LOD.1.4.90	LOD.1.5.45	LOD.1.5.65	LOD.1.5.90	LOD.1.6.45	LOD.1.6.65	LOD.1.6.90
Gallik asit	15,22	2,07	0,49	0,43	2,00	0,52	0,72	2,20	0,32	0,49	1,36	1,90	0,25
Pirokatekol	24,65	1,82	13,77	18,60	10,27	11,35	22,36	10,13	2,86	18,59	7,19	7,26	13,56
Theobromine	25,96	t	t	t	0,90	t	3,43	1,12	t	t	0,33	0,39	0,34
Kateşin	30,27	6,36	38,04	25,85	16,24	33,98	25,89	23,86	1,35	25,96	15,16	9,68	24,17
Epikateşin	35,27	13,56	26,16	16,37	18,98	25,93	16,87	20,86	1,25	15,44	7,33	0,08	13,16
Rutin	47,52	0,12	3,66	3,00	0,51	3,21	1,76	0,50	0,63	3,37	0,97	1,64	0,62
Elagik asit	50,00	3,78	4,54	4,39	3,90	4,46	4,37	3,90	3,90	4,49	4,11	4,05	3,90
Toplam		27,71	86,66	68,64	52,80	79,45	75,40	62,57	10,31	68,34	36,45	25,00	56,00

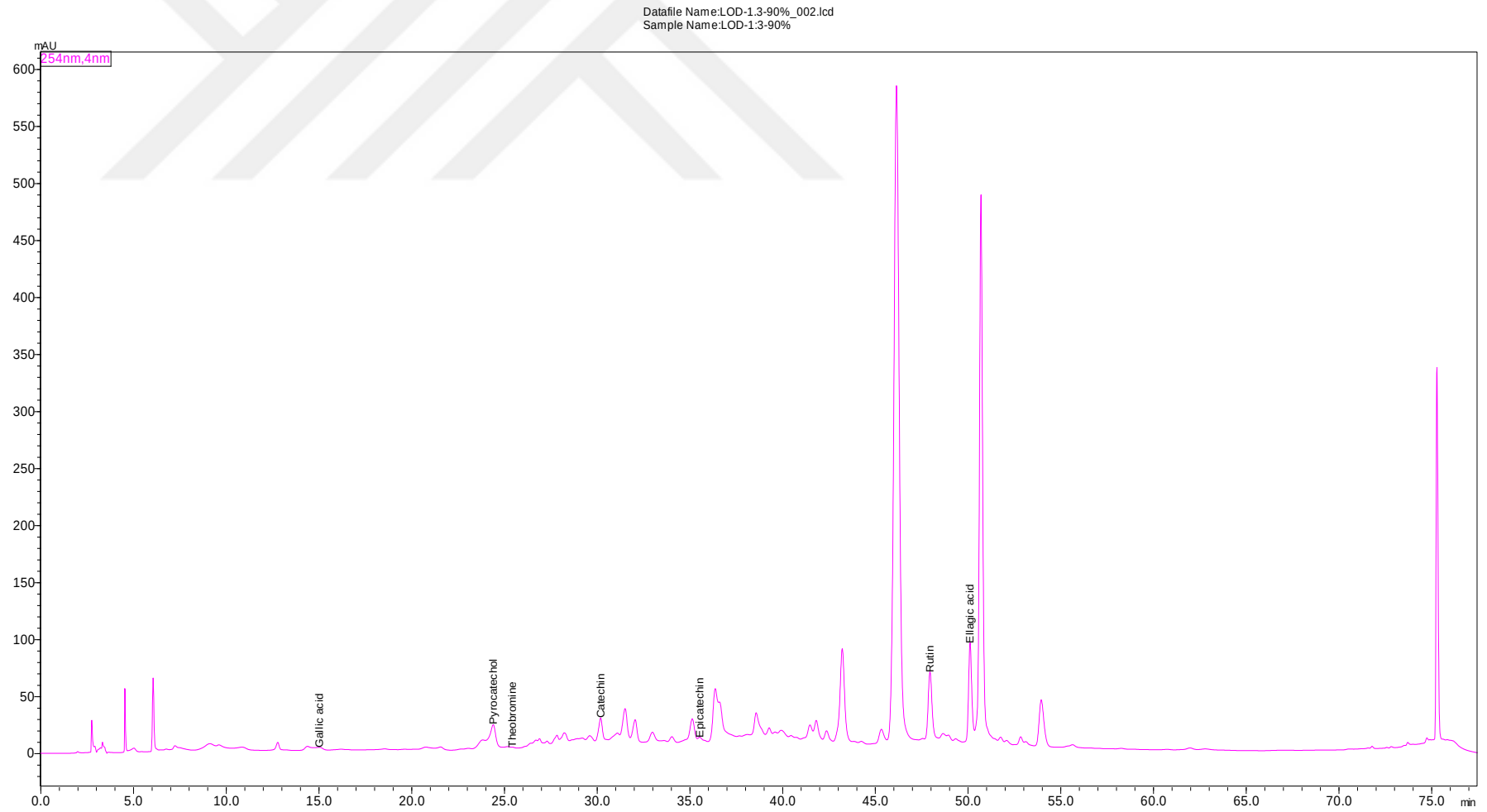
^{tr}: eser miktarda.



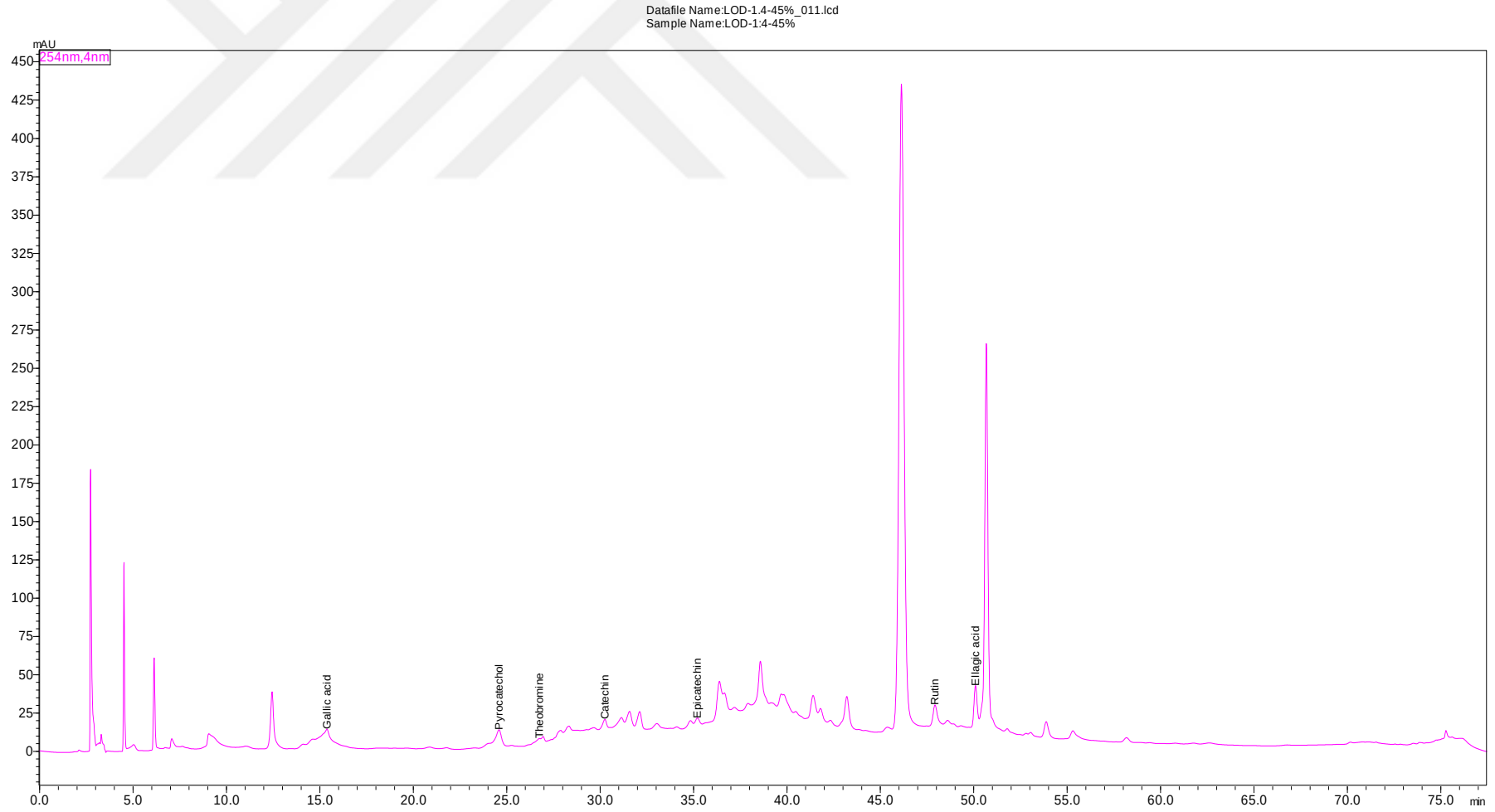
Şekil 3.13. LOD.1.3.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



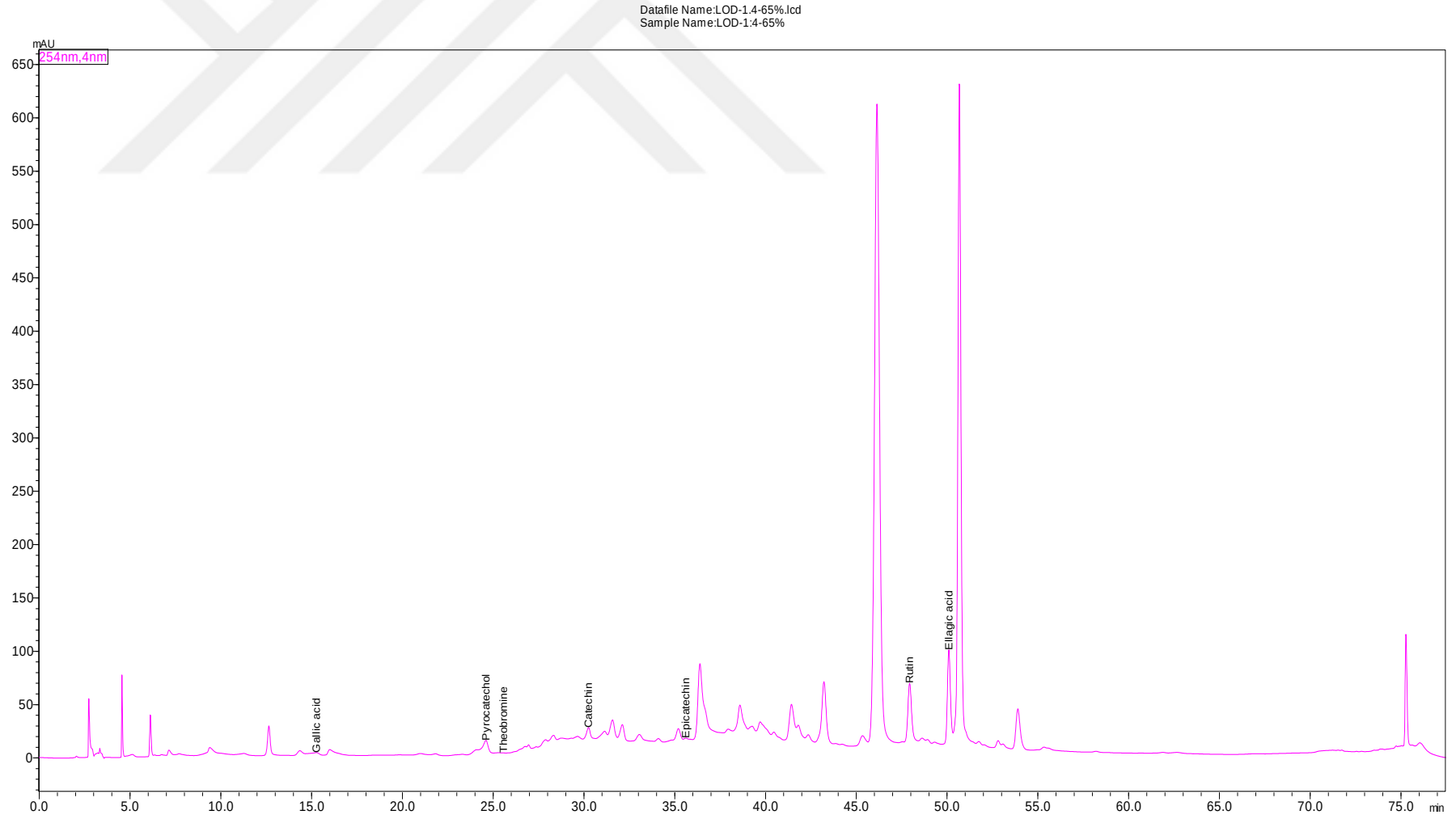
Şekil 3.14. LOD.1.3.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



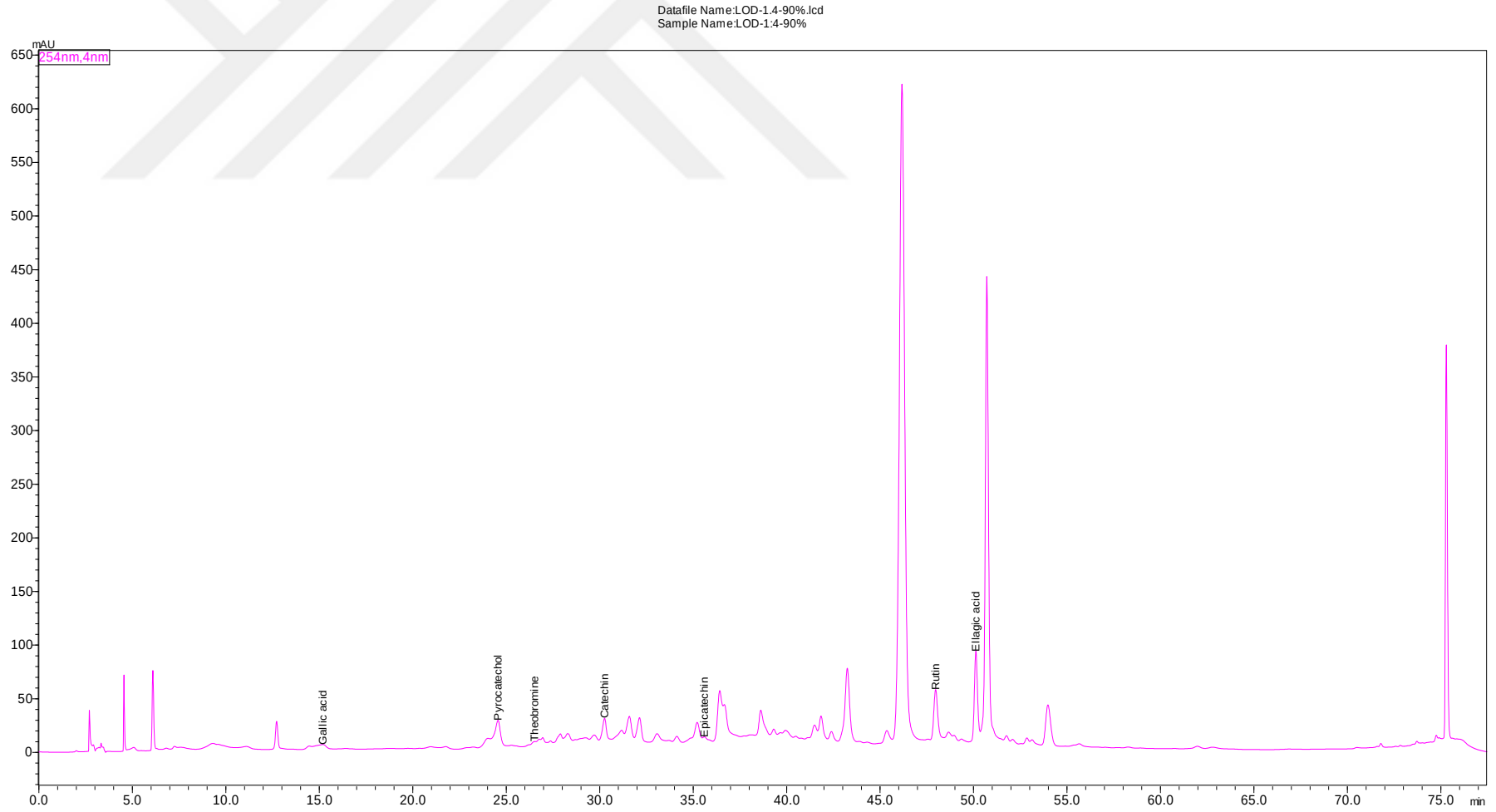
Şekil 3.15. LOD.1.3.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



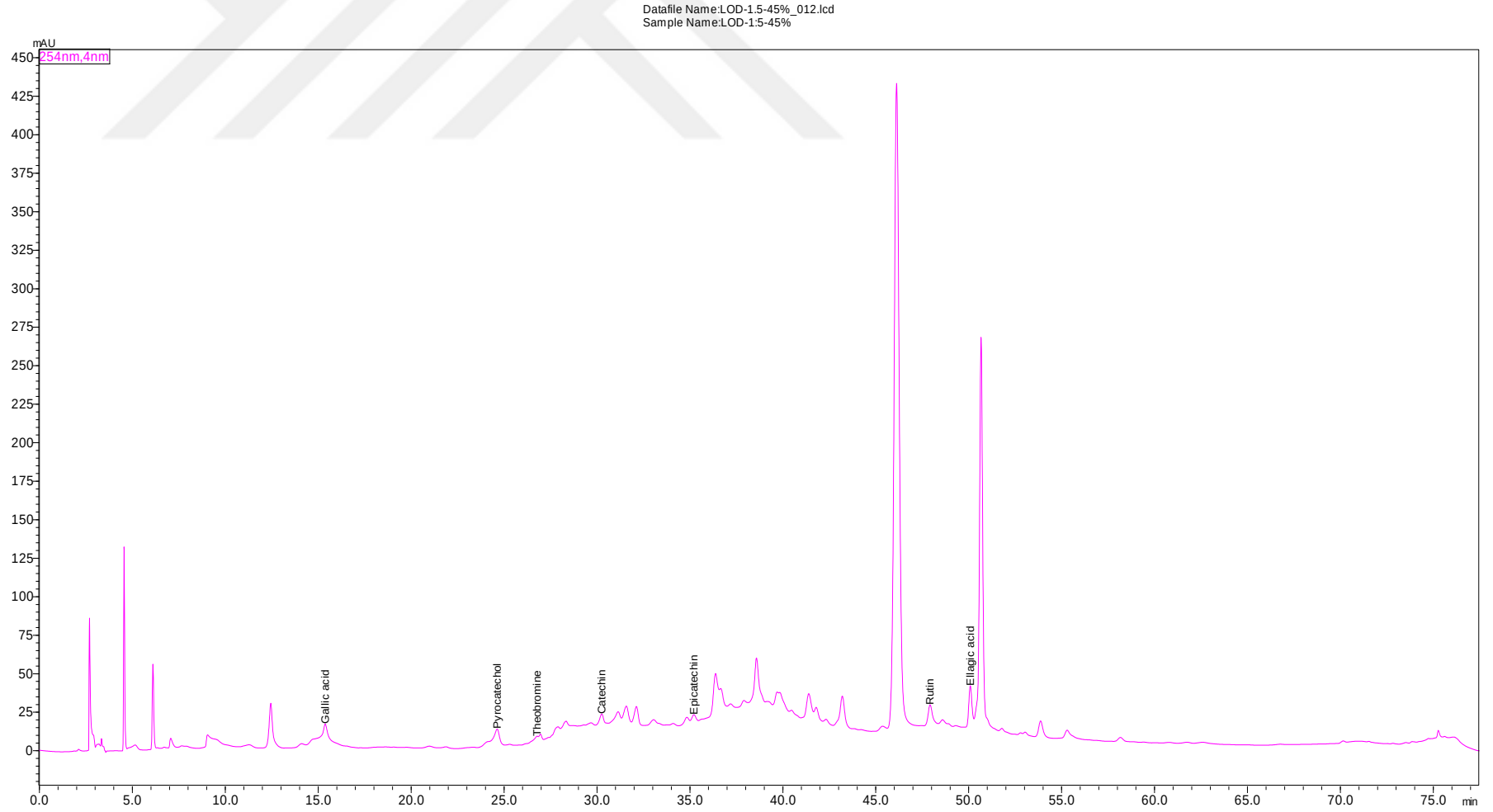
Şekil 3.16. LOD.1.4.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



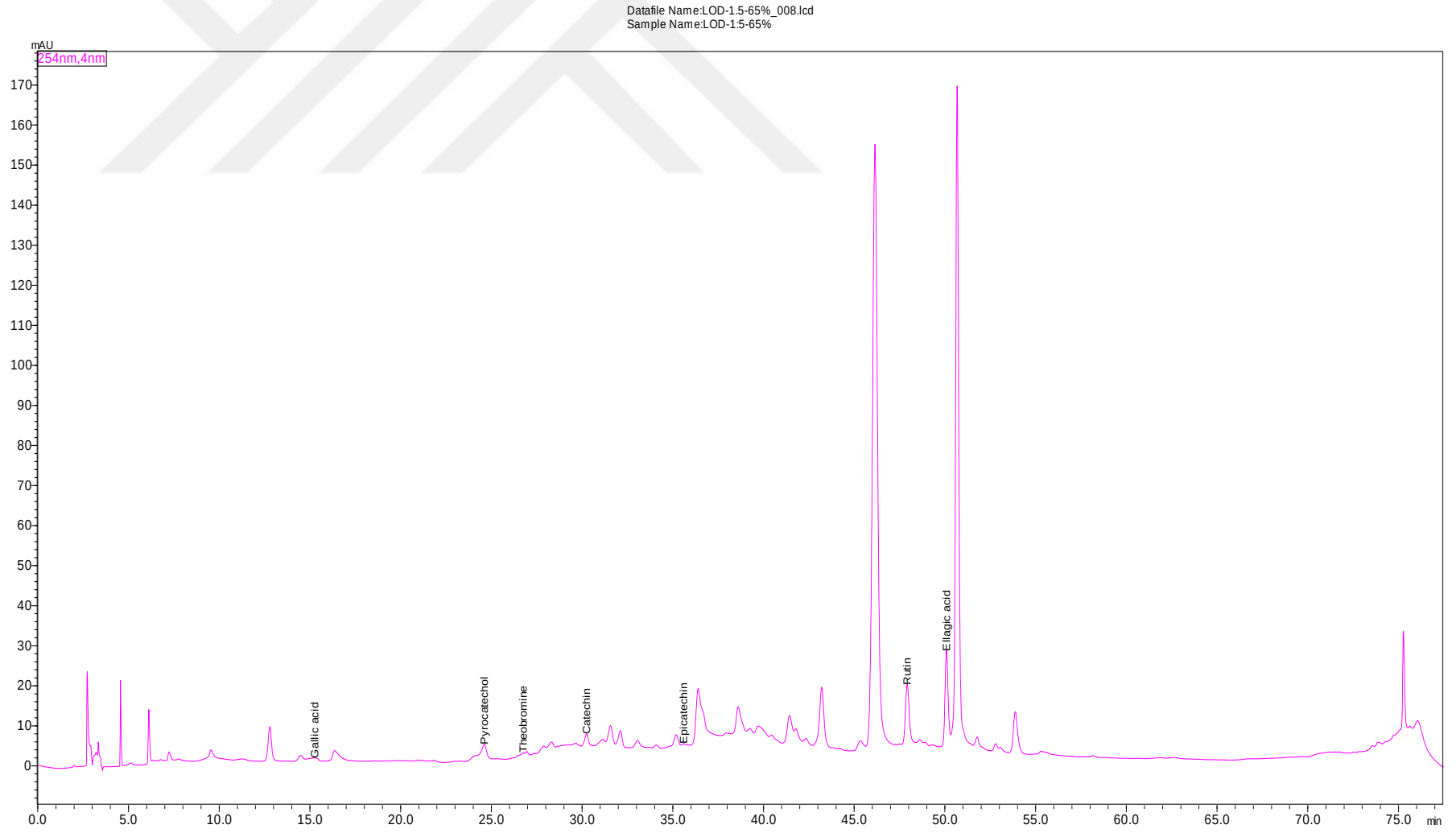
Şekil 3.17. LOD.1.4.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



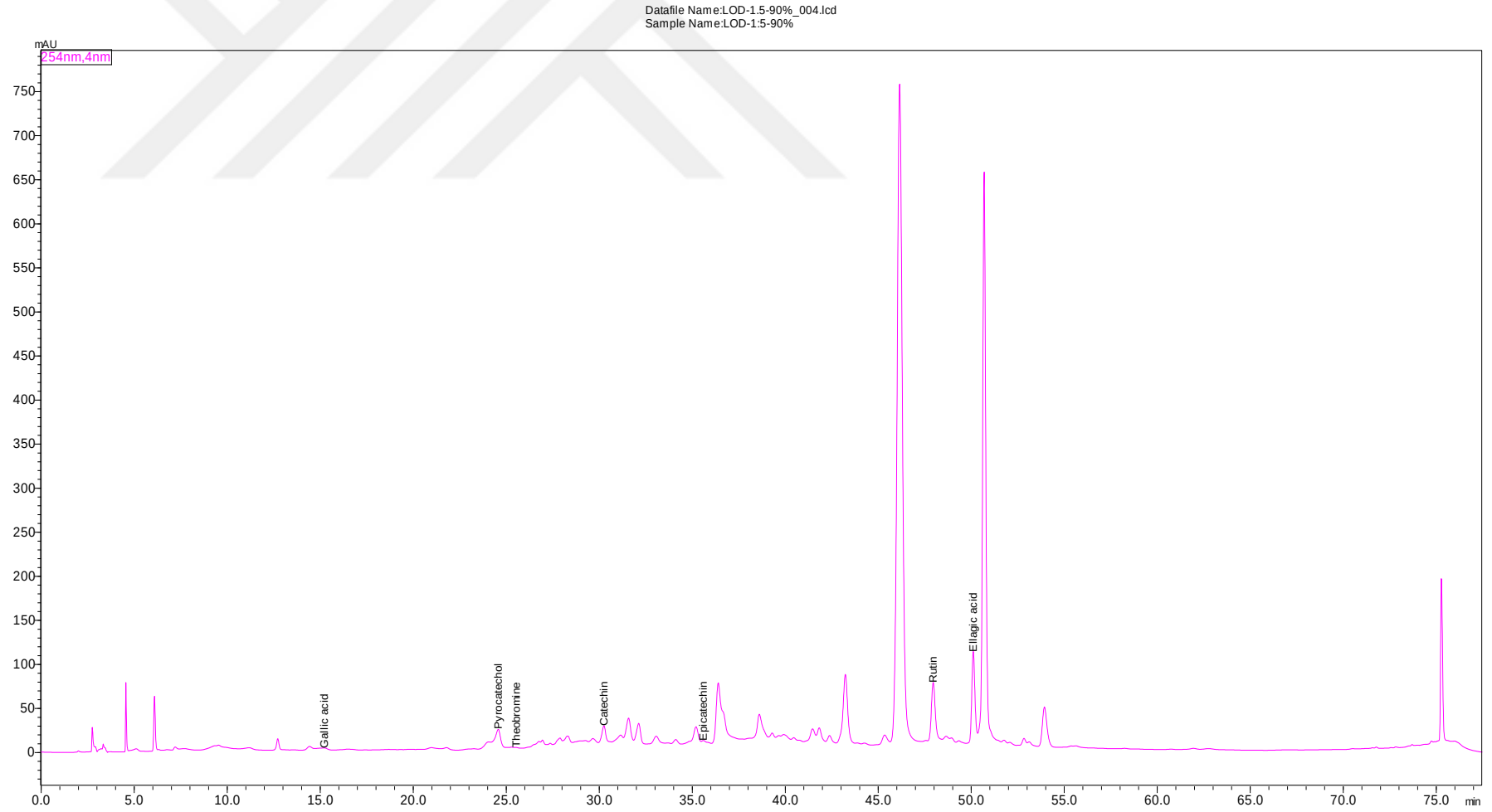
Şekil 3.18. LOD.1.4.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



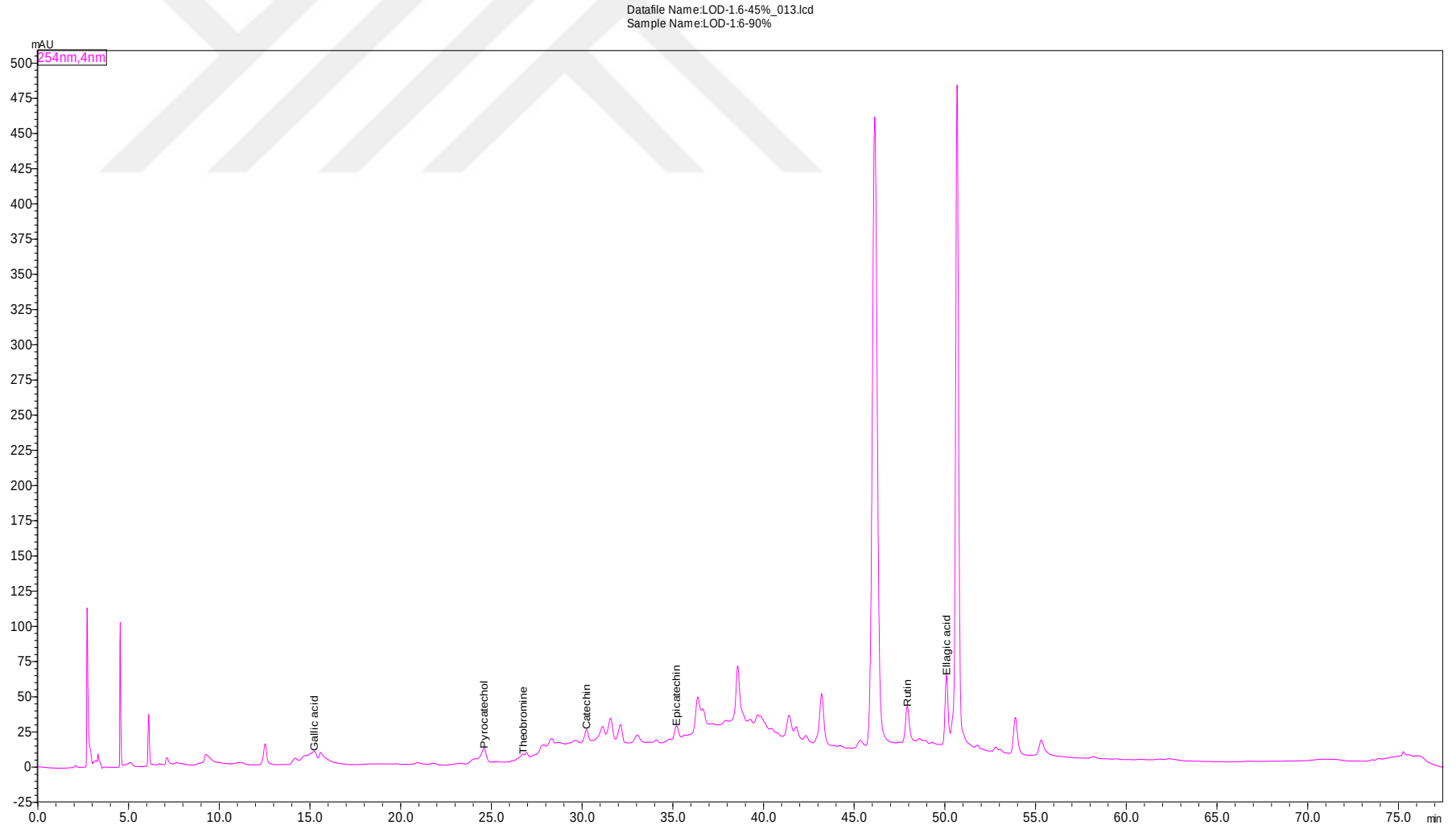
Şekil 3.19. LOD.1.5.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



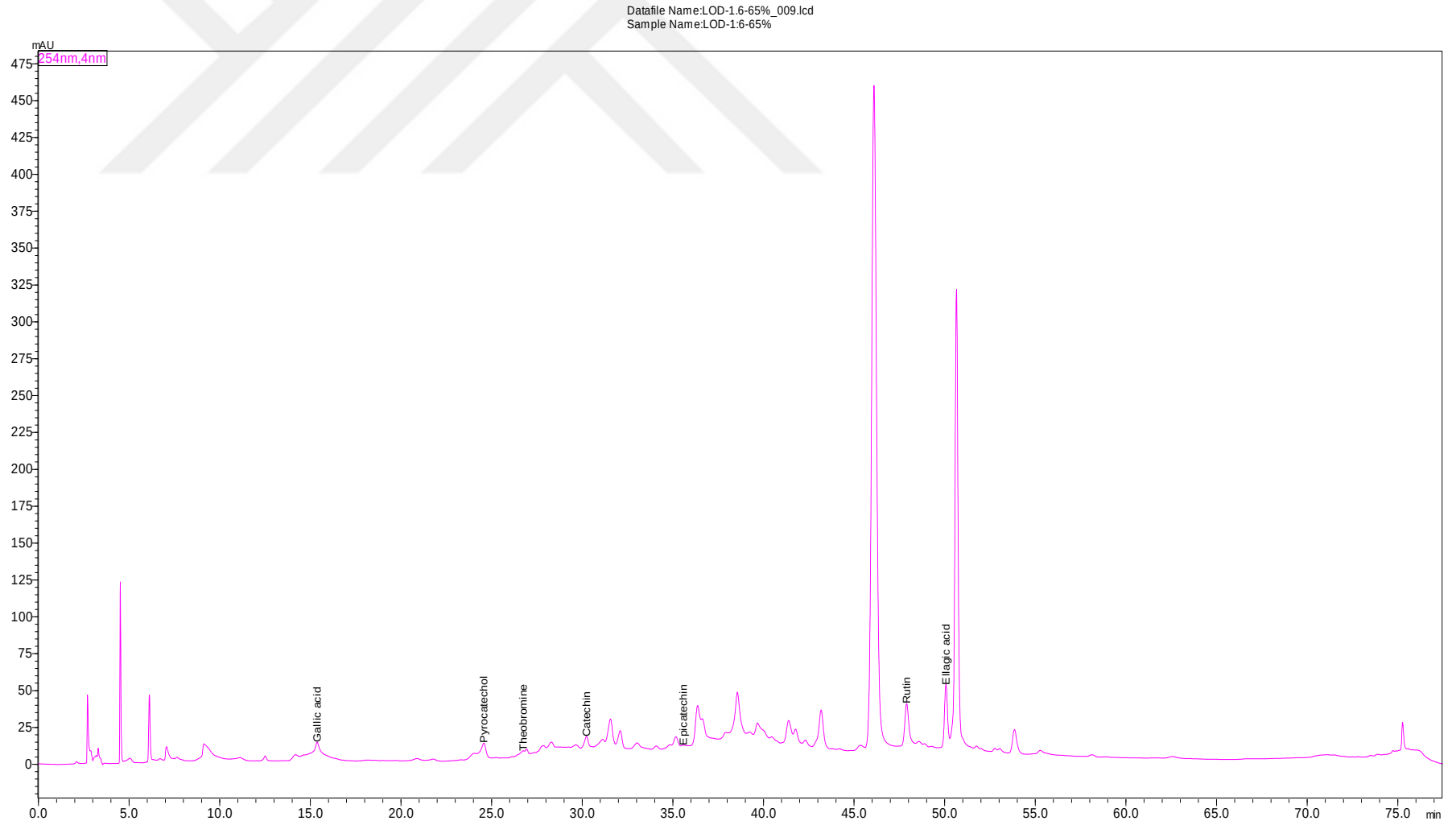
Şekil 3.20. LOD.1.5.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



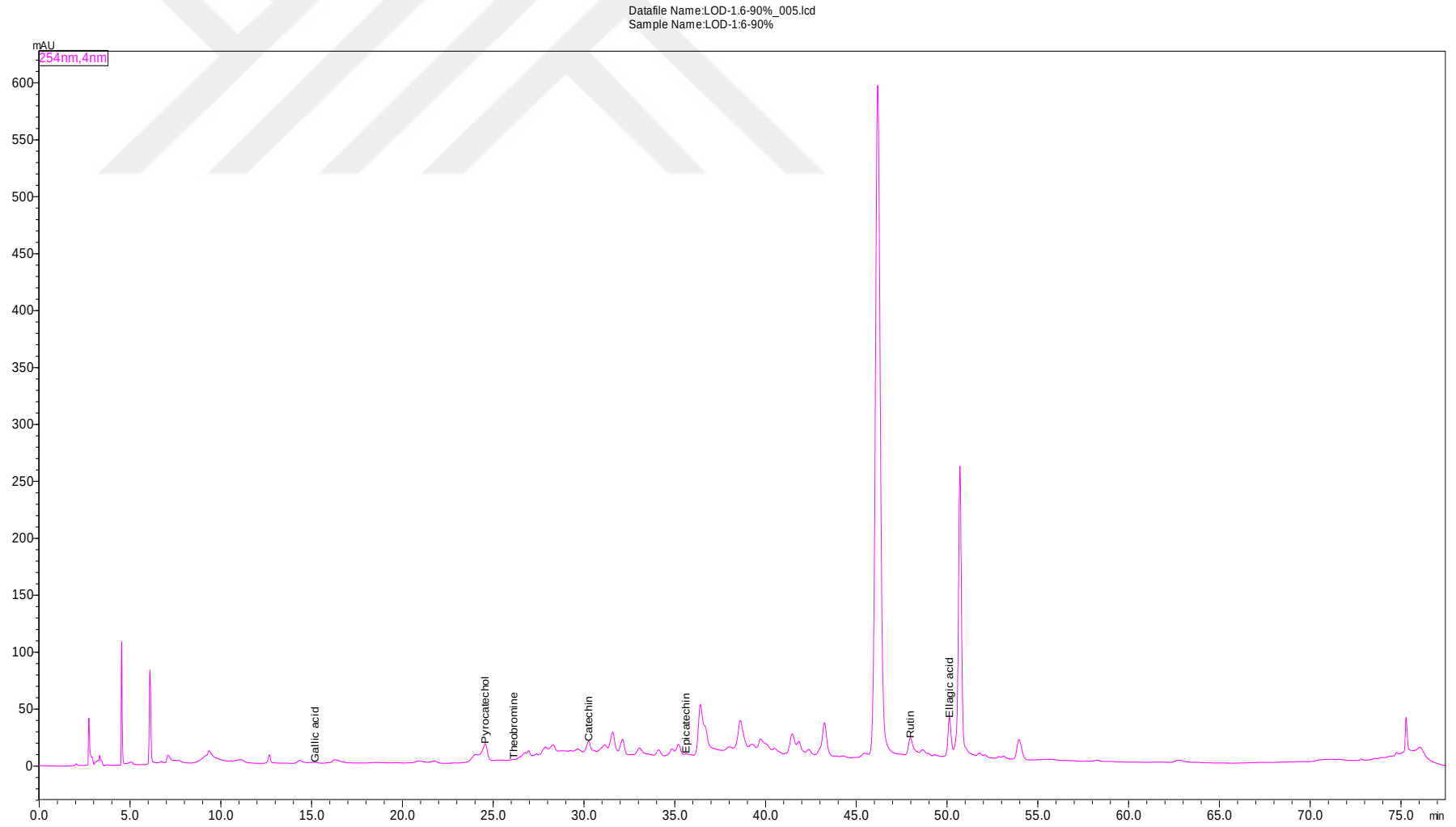
Şekil 3.21. LOD.1.5.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



Şekil 3.22. LOD.1.6.45 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



Şekil 3.23. LOD.1.6.65 kodlu tentürün HPLC kromatogramı



Şekil 3.24. LOD.1.6.90 kodlu tentürün HPLC kromatogramı

3.3. *L. orientalis* Mill. Tentürlerin Üreaz İnhibisyon Aktivite Sonuçları

L. orientalis Mill. yapraklarından elde edilen tentürlerin üreaz inhibisyon aktivitesi test edilmiştir. *L. orientalis* Mill. tentürlerinin üreaz inhibisyon aktivite sonuçları Çizelge 3.6'da IC₅₀ (µg/mL) olarak verilmektedir.

Çizelge 3.4. Tentürlerin üreaz inhibisyon aktiviteleri sonuçları^a

Numune	Üreaz inhibisyon aktivitesi (50-25-12,5-6,25 ppm) (IC ₅₀ µg/mL)
LOF.1.3.45	18,31±0,78
LOF.1.3.65	22,45±0,56
LOF.1.3.90	24,09±0,41
LOF.1.4.45	20,19±0,65
LOF.1.4.65	24,17±0,31
LOF.1.4.90	28,03±0,55
LOF.1.5.45	25,40±0,80
LOF.1.5.65	27,73±0,61
LOF.1.5.90	29,44±0,32
LOF.1.6.45	30,45±0,94
LOF.1.6.65	33,72±0,57
LOF.1.6.90	37,51±0,44
LOD.1.3.45	10,25±0,16
LOD.1.3.65	12,06±0,47
LOD.1.3.90	14,18±0,63
LOD.1.4.45	12,22±0,28
LOD.1.4.65	13,71±0,21
LOD.1.4.90	15,34±0,33
LOD.1.5.45	14,03±0,69
LOD.1.5.65	17,45±0,60
LOD.1.5.90	19,05±0,72
LOD.1.6.45	16,14±0,42
LOD.1.6.65	18,13±0,25
LOD.1.6.90	20,01±0,94
Tiyoüre ^b	21,76±0,44

^aÜç paralel deneyin sonuçları olup sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

^bKarşılaştırma için kullanılan standart

Genel olarak kuru *L. orientalis* Mill. yapraklarından elde edilen tentürlerin (**LOD** kodlu) üreaz inhibisyon aktivitesinin, taze *L. orientalis* Mill. yapraklarından elde edilen tentürlerin (**LOF** kodlu) aktivitesinden daha iyi olduğu saptandı. Üreaz inhibisyon aktivite sonuçlarına göre, **LOD** kodlu tentürlerin IC₅₀ değerinin 25 µg/mL'nin altında olduğu ve testin pozitif standadı olan tiyoüreden daha aktif olduğu belirlendi. En aktif tentürlerin en düşük miktarda çözücü kullanılan **LOD.1.3** kodlu

tentürler olduğu bulundu. $10,25 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$; $12,06 \pm 0,47 \mu\text{g/mL}$; $12,22 \pm 0,28 \mu\text{g/mL}$; $13,71 \pm 0,21 \mu\text{g/mL}$; $14,03 \pm 0,69 \mu\text{g/mL}$; $14,18 \pm 0,63 \mu\text{g/mL}$ ve $15,34 \pm 0,33 \mu\text{g/mL}$ IC_{50} değeri ile sırasıyla, **LOD.1.3.45**; **LOD.1.3.65**; **LOD.1.4.45**; **LOD.1.4.65**; **LOD.1.5.45**; **LOD.1.3.90** ve **LOD.1.4.90** tentürleri üreazı en iyi inhibe eden tentürler olduğu bulundu.



4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Doğal ürünlerin tedavide kullanıma yönelik etken madde arayışında istenilen etkiyi verebilmesi ve ürün validasyonunun sağlanabilmesi için bitkinin etkin madde içeriğinin doğru oranda ve miktarda standart olması çok büyük önem teşkil etmektedir.

İdeal bir preparatta, modern botanik tıbbın yanı sıra klinik uygulamalardaki en yanlış yorumlanan kısım dozaj endişesi olabilir. Geleneksel tıp sistemlerinde, belirli bir bitkinin belirli preparatlarda etkili olduğu keşfedilmiş "İdeal" form ve preparat, bitkiden bitkiye ve kişiden kişiye değişir. Uygun preparat, aktif bileşnin çözünürlüğü ve ilacı alıcının onu pratik olarak nasıl tüketebildiğine bağlıdır. Günümüz pazarında, bir çok tıbbi bitki sağlık bakanlıklarınca onaylı pek çok preparatta bulunabilir, ancak bu her preparatta aktif bileşenlerin aynı miktarda etken madde içereceği anlamına gelmez.

Bir preparattan maksimum düzeyde istenen etki genellikle bitkiden en aktif bileşeni elde etmenin yolu olarak bilinir. Fakat bazen, uygun preparat elde etmede bitkiyi güvenli bir şekilde kullanmak tek yol olabilir.

Bir preparattan optimum düzeyde yararlanma da stabilite, standardizasyon gibi göz önünde bulundurulması gereken bir çok husus vardır. Bir parametre için uygun olan diğer husus için uygun olmayabilir. Birçok durumda ideal olan, bitkiyi taze ve bütün olarak kullanmaktır. Bazı aktif bileşenler sudan çok alkolde çözünür. İşleme kolaylık sağlar, bitkiyi korur ve tutarlı bir tedarik sağlar. Bazı bitkiler taze kullanıldığında içerdiği nemden dolayı çabuk bozulabilir bu yüzden güvenliliği sınırlı olabilir veya etkili değildir. İşleme bazen daha iyi bir lezzet ve uyum sağlar. Çoğu durumda, bir bitki her işlendiğinde veya pişirildiğinde bir miktar aktif bileşen kaybolur. Dolayısıyla yeni geliştirilen preparatlarda standart üretim yapabilmek adına her türlü parametreler göz önüne alınmalıdır. Bu yüzden metot geliştirilirken bitkilerin taze ve kuru formları uygun hazırlama uygulamaları ve seçimi ile biyoetkinliğini optimum seviyeye çıkarmayı hedefler.

Bu tez çalışmasında Muğla'da doğal olarak yayılış gösteren ve ülkemize endemik bir tür olan *L. orientalis* Mill.'in taze ve kuru yapraklarından farklı bitki:çözücü miktralarında (1:3, 1:4, 1:5 ve 1:6) ve farklı alkol konsantrasyonlarında (% 45, % 65 ve % 90) toplamda 24 adet tentür hazırlandı. Elde edilen her bir tentürün fenolik

bileşen içeriği HPLC-DAD ile belirlendi. Fenolik bileşen içeriği tespit edilen 24 adet tentürün üreaz inhibisyon aktiviteleri belirlendi. Elde edilen HPLC kromatogramlarından **LOF** ve **LOD** kodlu tentürlerde pirokatekol, kateşin ve epikateşin olmak üzere üç fenolik maddenin tamamında bulunduğu saptandı. HPLC kromatogramlarında tespit edilemeyen yüksek miktarda majör bir bileşen olduğu gözlemlendi.

L. orientalis Mill.'in taze ve kuru yapraklarından farklı bitki:çözücü miktralarında (1:3, 1:4, 1:5 ve 1:6) ve farklı alkol konsantrasyonlarında (% 45, % 65 ve % 90) toplamda 24 adet tentürün biyoetkinliğinde **LOD.1.3.45** tentürün üreazı testin pozitif standardı olan tiyoüreden 2 kat daha iyi inhibe ettiği tespit edildi.

Tentürdeki aktif bileşenlerin daha yüksek konsantrasyonunun, daha güçlü ve etkili bir bitkisel özüt formu sunması bekleniyor. *L. orientalis* Mill.'in kuru yapraklarından hazırlanan tentürlerin ileriye dönük *Helicobacter pylori* enfeksiyonundan korunmada ilaç sanayisine alternatif bir ilaç formu olabileceği ve ülke ekonomisine katma değer sağlaması açısından potansiyel etmesi açısından umut vaad etmektedir.

5. KAYNAKLAR

- Abad-García, B., Garmón-Lobato, S., Berrueta, L.A., Gallo, B. ve Vicente, F. (2012). On line characterization of 58 phenolic compounds in Citrus fruit juices from Spanish cultivars by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection coupled to electrospray ionization triple quadrupole mass spectrometry, *Talanta*, 99: 213-224.
- Adeniyi, B.A. ve Anyiam, F.M. (2004). *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* potential of methanol extract of *Allium ascalonicum* Linn. (Liliaceae) leaf: susceptibility and effect on urease activity, *Phytother Res*, 18(5): 358-361.
- Adeniyi, B.A., Onwubuche, B.C., Anyiam, F.M., Ekundayo, O. ve Mahady G.B. (2009). Anti-*Helicobacter pylori* activities of *Eucalyptus grandis*: effects on susceptibility, urease activity and cell surface hydrophobicity, *Pharm Biol*, 47(1): 13-17.
- Aggarwal, S., Agarwal, S. ve Jalhan, S. (2013). Essential oils as novel human skin penetration enhancer for trans dermal drug delivery: a review, *Int J Pharm Bio Sci*, 4: 857-868.
- Algood, H.M.S. ve Cover, T.L. (2006). *Helicobacter pylori* persistence. An overview of interactions between *H. pylori* and host immune defenses, *Clin Microbiol Rev*, 19(4): 597-613.
- Amin, M., Anwar, F., Naz, F., Mehmood, T. ve Saari, N. (2013). Anti-*Helicobacter pylori* and urease inhibition activities of some traditional medicinal plants, *Molecules*, 18(2): 2135-2149.
- Ankri, S. ve Mirelman, D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic, *Microbes Infect*, 1(2): 125-129.
- Apers, S., Van Meenen, E., Pieters, L. ve Vlietinck, A. (2003). Quality control of liquid herbal drug preparations: ethanol content and test on methanol and 2-propanol, *J Pharm Biomed Anal*, 33(4): 529-537.
- Arts, I.C.W. ve Hollman, P.C.H. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies, *Am J Clin Nutr*, 81: 317-25.
- Aydınöz, M. ve Bulut, S. (2014). Egenin Gizli Kalmış Şifa İksiri: Sığla, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 14: 1-6.
- Balasubramanian, A. ve Ponnuraj, K. (2010). Crystal structure of the first plant urease from jack bean: 83 years of journey from its first crystal to molecular structure, *J Mol Biol*, 400: 274-283.
- Benini, S., Rypniewski, W.R., Wilson, K.S., Miletto, S., Ciurli, S. ve Mangani, S. (1999). A new proposal for urease mechanism based on the crystal structures of the native and inhibited enzyme from *Bacillus pasteurii*: why urea hydrolysis

costs two nickels, *Structure*, 7(2): 205-216.

- Biglar, M., Soltani, K., Nabati, F., Bazl, R., Mojab, F. ve Amanlou, M. (2012). A preliminary investigation of the jack-bean urease inhibition by randomly selected traditionally used herbal medicine, *Iran J Pharm Res*, 11(3): 831.
- Boer, J.L., Mulrooney, S.B. ve Hausinger, R.P. (2014). Nickel-dependent metalloenzymes, *Arch Biochem Biophys*, 544:142–52.
- Bone, K. (2003) *A clinical guide to blending liquid herbs. Herbal Formulations for the individual patients*, 1st Press, Churchill Livingstone, Elsevier, Missouri, 544.
- Cavallito, C.J. ve Bailey, J.H. (1944). Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action, *J Am Chem Soc*, 66(11): 1950-1951.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents, *Clin Microbiol Rev*, 12(4): 564-582.
- Köse, Y.B., İşcan, G. ve Demirci, F. (2020) *Fitoterapide Kullanılan Bitkisel Droglarda Kalite* Başaran AA, editör. Fitoterapi. 1. Baskı. Ankara, Türkiye Klinikleri, 13-17.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. ve Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem Pharmacol Behavior*, 7: 88-95.
- European Pharmacopeia 9.0
- Follmer, C. (2010). Ureases as a target for the treatment of gastric and urinary infections, *J Clin Pathol*, 63: 424-30.
- Fontana, L., Meyer, T.E., Klein, S. ve Holloszy, J.O. (2004). Long-term calorie restriction is highly effective in reducing the risk for atherosclerosis in humans, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101: 6659-6663.
- Gonçalves, S. ve Gaivão I. (2023). Beneficial properties of olive tree leaves concerning personal care ingredients: Herbal tincture, *Our Dermatology Online*, 355-360.
- Graf, B.A., Milbury, P.E. ve Blumberg, J.B. (2005). Flavonols, flavonones, flavanones and human health: Epidemiological evidence, *J Med Food*, 8: 281- 290.
- Graham, D.Y. ve Fischbach, L. (2010). *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance, *Gut*, 59: 1143-1153.
- Green J. (2000) *The Herbal Medicine-Maker's Handbook*, First Edition, Crossing Press, 384.
- Ha, N.C., Oh, S.T., Sung, J.Y., Cha, K.A., Lee, M.H. ve Oh, B.H. (2001). Supramolecular assembly and acid resistance of *Helicobacter pylori* urease, *Nat Struct Biol*, 8(6): 505-519.

- Haung, D., Ou, B. ve Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays, *J Agric Food Chem*, 53: 1841-1856.
- Jabri, E., Carr, M.B., Hausinger, R.P. ve Karplus, P.A. (1995). The crystal structure of urease from *Klebsiella aerogenes*, *Science*, 268: 998-1004.
- Juszkiewicz, A., Zaborska, A., aptas', A. ve Olech, Z. (2004). A study of the inhibition of jack bean urease by garlic extract, *Food Chem*, 85(4): 553-558.
- Khan, M.A., Khan, H., Tariq, S.A. ve Pervez, S. (2014). Urease inhibitory activity of aerial parts of *Artemisia scoparia*: exploration in an *in vitro* study. *Ulcers*, 184736: 5.
- Krajewska, B. ve Ureases, I. (2009). Functional, catalytic and kinetic properties: a review, *J Mol Catal B Enzym*, 59(1): 9-21.
- Lateef, M., Iqbal, L., Fatima, N., Siddiqui, K., Afza, N., Zia-ul-Haq, M. ve Ahmad, M. (2012). Evaluation of antioxidant and urease inhibition activities of roots of *Glycyrrhiza glabra*, *Pak J Pharm Sci*, 25(1): 99-102.
- Lin, Y.T., Kwon, Y.I., Labbe, R.G. ve Shetty, K. (2005). Inhibition of *Helicobacter pylori* and associated urease by oregano and cranberry phytochemical synergies, *Appl Environ Microbiol*, 71(12): 8558-8564.
- Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C., Bazzoli, F., El-Omar, E., Graham, D., Hunt, R., Rokkas, T., Vakil, N. ve Kuipers, E.J. (2007). Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III consensus report, *Gut*, 56: 772-781.
- Maroney, M.J. ve Ciurli, S. (2014). Nonredox nickel enzymes, *Chem Rev*, 114: 4206-4228.
- Matsubara, S., Shibata, H., Ishikawa, F., Yokokura, T., Takahashi, M., Sugimura, T. ve Wakabayashi, K. (2003). Suppression of *Helicobacter pylori* induced gastritis by green tea extract in *Mongolian gerbils*, *Biochem Biophys Res Commun*, 310(3): 715-719.
- Me'graud, F. (2012). The challenge of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics: the comeback of bismuth-based quadruple therapy, *Therap Adv Gastroenterol*, 5(2): 103-109.
- Munin A and Edwards-Lévy F (2011). Encapsulation of natural polyphenolic compounds; A Review. *Pharmaceutics*, 3: 793-829.
- Nabati, F., Mojab, F., Habibi-Rezaei, M., Bagherzadeh, K., Amanlou, M. ve Yousefi, B. (2012). Large scale screening of commonly used Iranian traditional medicinal plants against urease activity, *DARU J Pharm Sci*, 20(1): 72.
- Olech, M., Nowak, R., Los, R. Rzymowska, J., Malm, A. ve Chrusciel, K. (2012). Biological activity and composition of teas and tinctures prepared from *Rosarugosa thunb*, *Open Life Science*, 7(1): 172-182.

- Olech, Z., Zaborska, W. ve Kot, M. (2014). Jack bean urease inhibition by crude juices of *Allium* and *Brassica* plants. Determination of thiosulfinates, *Food Chem*, 145: 154-160.
- Öztekin S., Soysal Y. (1998) Extraction Methods in Medicinal and Aromatic Plants. *Tarımsal Mekanizasyon, 18. Ulusal Kongresi*, 17-18 Eylül 1988, Tekirdağ, 731-745.
- Paulo, L., Oleastro, M., Gallardo, E., Queiroz, J.A. ve Domingues, F. (2011). Anti-*Helicobacter pylori* and urease inhibitory activities of resveratrol and red wine, *Food Res Int*, 44(4): 964-969.
- Sachs, G., Weeks, D.L., Wen, Y., Marcus, E.A. ve Scott, D.R. (2005). Acid acclimation by *Helicobacter pylori*, *Physiology*, 20: 429-438.
- Singh Khalsa K.P. (2009). Preparing botanical medicines, *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 7(3-4): 267-277.
- Sirko, A. ve Brodzik, R. (2000). Plant ureases: roles and regulation, *Acta Biochim Pol*, 47: 1189-1195.
- Stingl, K., Altendorf, K. ve Bakker, E.P. (2002). Acid survival of *Helicobacter pylori*: how does urease activity trigger cytoplasmic pH homeostasis?, *Trends Microbiol*, 10(2): 70-74.
- Sumner, J.B. (1926). The isolation and crystallization of the enzyme urease, *J Biol Chem*, 69: 435-441.
- Takeuchi. T. (1909). On the occurrence of urease in higher plants, *J Coll Agric Tokyo Imp Univ*, 1: 1-14.
- Tanrikulu, N. (2010) Tıbbi Bitkileri Doğru Kullanma Kılavuzu, Pratik Yöntemlerle Doğal Bitkiler. Hayy Kitap, İstanbul, türkiye, 318.
- Teker, N. (2013) *Sığla ağacı (Liquidambar orientalis Mill.) yağının bileşiminin belirlenmesi, karakterizasyonu ve bazı bileşenlerinden kokulu türevlerin sentezlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Edirne, 91s.
- Tekerciler, N. ve Kolancılar, H. (2020). Sığla yağının sinamik asit ve alkollerinden elde edilen türevler. 8(3): 285-294.
- Topal, Ü., Sasaki, M., Goto, M. ve Otles, S. (2008). Chemical compositions and antioxidant properties of essential oils from nine species of Turkish plants obtained by supercritical carbon dioxide extraction and steam distillation, *Int J Food Sci Nutr*, 59(7-8): 619-634.
- Toyang, N.J. ve Verpoorte, R. (2013). A review of the medicinal potentials of plants of the genus *Vernonia* (Asteraceae), *J Ethnopharmacol*, 146(3): 681-723.
- Weatherburn, M.W. (1967). Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia, *Analy Chem*, 39: 971-974.

Wilbert, M.I. (1914). Official and other tinctures, *J Am Pharm Assoc*, 3(12): 1660-1664.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : A***l A**n E*****U
Uyruk : T*****e
Doğum Yeri ve Tarihi : K*****i – 1*/0*/1**0
Telefon : 0 5**28****0
e-posta : ayg*****glu@gma**l.com

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Keşan Yusuf Çapraz Lisesi, Edirne	1998
Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Kimya Bölümü, Muğla	2002
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Kimya ABD, Muğla	2024

Yabancı Dil

İngilizce	Başlangıç	Orta	İleri
Okuma/Anlama			✓
Yazma			✓
Konuşma		✓	

İş Deneyimi

Yıl	İş Yeri
2004-2006	Özalp Tur. Tic. Ltd. Şti. Özel Okul İşletmesi
2007-2008	Ortaca Oluşum Özel Eğitim Hiz. İnş. Takır. Taş. Bil. Tic.
2010-2012	Bilgehan Özel Eğitim Turizm İnş. Taş. Tar. San. Tic. Ltd. Şti.
2012-2017	Özel Özalp Eğitim Hizmetleri Bilg. Tic. Ltd. Şti.
2017-Devam ediyor	Özel Elektrosfer Eğitim Hizmetleri Ticaret Anonim Şirketi

Uluslararası Bildiriler

1-Aygül Akın Ekmekcioğlu, Dilaycan Çam, Yusuf Sıcak, Mehmet Öztürk, *Liquidambar orientalis* Leaf Tincture: Exploring of Urease Inhibition Activity and Determination of Chemical Components by HPLC-DAD. 3rd Food Chemistry Congress, Antalya, Sözlü Sunum (OP:34), 2024, sayfa 38.