

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE'DE YETİŞEN BAZI *LATHYRUS*
TAKSONLARI ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK
ARAŞTIRMALAR**

Hajar HEYDARI

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. H. Gülçin SALTAN İŞCAN**

ANKARA

2015

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “TÜRKİYE'DE YETİŞEN BAZI *LATHYRUS* TAKSONLARI ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Hajar HEYDARI

Tarih:

İmza:

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakognozi Anabilim Dalında
Hajar HEYDARI tarafından hazırlanan
“TÜRKİYE'DE YETİŞEN BAZI *LATHYRUS* TAKSONLARI ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR” adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / OY
ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 4.12.2015

Prof. Dr. Gülçin SALTAN İŞCAN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Maksut COŞKUN
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Tayfun ERSÖZ
Hacettepe Üniversitesi

Prof. Dr. İrem TATLI ÇANKAYA
Hacettepe Üniversitesi

Doç. Dr. Özlem BAHADIR ACIKARA
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. K. Zafer KARAER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Şekiller	xiii
Çizelgeler	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Lathyrus</i> Türlerinin Yayılışı	2
1.2. Dünyada <i>Lathyrus</i> cinsi	2
1.3. Türkiye’de Yetişen <i>Lathyrus</i> Türleri	3
1.4. Türkiye’de <i>Lathyrus</i> Türlerinin Kültürü ve Kullanımı	5
1.5. Latirizm	5
1.6. <i>Lathyrus</i> Türlerinin Tür Tayin Anahtarı	7
1.7. Fabaceae Familyasının Genel Özellikleri	7
1.7.1. Caesalpinoideae (Syn: Caesalpiniaceae)	8
1.7.2. Mimosoideae (Syn : Mimosaceae)	9
1.7.3. Papilionoideae (Syn: Papilionaceae, Fabaceae)	9
1.8. <i>Lathyrus</i> L.	9
1.9. <i>Lathyrus</i> Türlerinin Dış Görünüşü	10
1.10. <i>Lathyrus</i> Cinsinde Tür Tayin Anahtarı	12
1.11. Çalışmada Kullanılan Bitki Materyalin Botanik Özellikleri	14
1.11.1. <i>Lathyrus armenus</i>	14
1.11.2. <i>Lathyrus aureus</i>	14
1.11.3. <i>Lathyrus cilicicus</i>	15
1.11.4. <i>Lathyrus laxiflorus</i>	15
1.11.5. <i>Lathyrus pratensis</i>	16
1.12. <i>Lathyrus</i> Türlerinden İzole Edilen Kimyasal Bileşikler	18
1.12.1. Fenolik Bileşikler	18
1.12.2. Azotlu Bileşikler	19
1.12.3. Yağ Asitleri	21
1.12.4. Terpenik Bileşikler	21
1.12.5. Diğer bileşikler	22
1.13. <i>Lathyrus</i> Türlerinin Biyoaktivitesi	31
1.13.1.1. Fitokimyasal Çalışmalar	34
1.13.1.2. Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi (Folin-Ciocalteu Total Fenol)	34
1.13.1.3. Toplam Flavonoit İçeriğinin Belirlenmesi	34
1.13.1.4. 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi	34
1.13.1.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	35
1.13.1.5.1. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite	35
1.13.1.5.2. Dilüsyon testleri	35
1.13.1.5.3. Tüp dilüsyon	36

1.13.1.6. Antienflamatuvar Aktivite	36
2. GEREÇ VE YÖNTEM	38
2.1. Bitkisel Gereç	36
2.2. Yöntem	45
2.2.1. Mikroskopik Analiz	45
2.2.2. Fitokimyasal Çalışmalar	46
2.2.2.1. Ekstraksiyon	46
2.2.2.2. Metanol Ekstresinin Fraksiyonlandırılması	46
2.2.3. Kromatografik Yöntemler	48
2.2.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi	48
2.2.3.2. Kolon Kromatografisi	48
2.2.3.2.1. Kolonun Hazırlanması	48
2.2.3.2.2. Ekstrenin Kolona Uygulanması	48
2.2.3.2.3. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi	49
2.2.3.2.4. Preparatif YBSK	50
2.2.3.3. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini	50
2.2.3.3.1. NMR Spektrometrisi	51
2.2.3.3.2. LC/MS Spektrometrisi	51
2.2.4. Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi (Folin-Ciocalteu)	51
2.2.4.1. Gallik asit kalibrasyonu	51
2.2.4.2. Toplam Flavonoit İçeriğinin Belirlenmesi	52
2.2.5. Antioksidan Aktivite Tayini	54
2.2.6. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite	54
2.2.7. Antienflamatuvar Aktivite	55
2.2.7.1. Eritrosit süspansiyon hazırlaması	55
2.2.7.2. Sıcaklıkla indüklenen hemoliz	55
3. BULGULAR	57
3.1. Toz Drog Çalışmaları ile İlgili Bulgular	57
3.2. Mikroskopik Analiz	57
3.2.1. <i>L. aureus</i>	57
3.2.2. <i>L. armenus</i>	59
3.2.3. <i>L. cilicicus</i>	60
3.2.4. <i>L. laxiflorus</i>	62
3.2.5. <i>L. pratensis</i>	62
3.3. Fitokimyasal Çalışmalar	64
3.3.1. <i>Lathyrus</i> Ekstrelerinin Bulguları	64
3.3.2. Metanol Ekstresinin Fraksiyonlandırılması	64
3.3.3. Kolon Kromatografisi Bulguları	65
3.3.3.1. Etil asetatlı Fraksiyonun Kolon Kromatografisi	65
3.3.3.2. Sulu Fraksiyonun Kolon Kromatografisi	66
3.4. Yapı Tayini Bulguları	68
3.4.1. L1 Bileşiğinin Yapı Tayini	68
3.4.2. LM2, LM4, LM5, LM6 Bileşiklerin Yapı Tayini	78
3.4.3. İzole Edilen Ozların HMBC Etkileşimi	118
3.5. Fitokimyasal Çalışmaları	120
3.5.1. Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi (Folin-Ciocalteu)	120

3.5.2. Toplam Flavonoit İçeriğinin Belirlenmesi	120
3.5.3. Antioksidan Aktivite alışmaları	121
3.5.4. Antibakteriyel Aktivite alışmaları	122
3.5.5. Antienflamatuvar Aktivite alıřmalar	125
4. TARTIşMA	125
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	132
ÖZET	133
SUMMARY	134
KAYNAKLAR	135
ZGEMİř	142

ÖNSÖZ

Bitki türleri bakımından Türkiye dünyanın en zengin ülkelerinden biridir. Türkiye’de endemik tür sayısı oldukça fazladır. Tüm Avrupa Kıtası’nda yaklaşık 12.000 bitki türü yer alırken; Türkiye’de 12.000’den fazla bitki türü bulunmaktadır. İklim, toprak özellikleri, yer şekilleri bu çeşitliliğe neden olan faktörlerdendir. Bitkilerde farklı biyolojik etkilere sahip bileşenlerin bulunması günümüzde bitkiler üzerinde çalışmaların yoğunlaşmasına yol açmıştır. Bitkilerin gıda olarak, hastalıkların tedavisi veya hastalıklardan korunmak amacıyla kullanılması insanlık tarihi ile başlar. Farmakognozinin esas amacı halk arasında kullanılan bitkilerin araştırılması ve etkili bileşiklerinin tanımlanmasıdır.

Tez konusu olarak seçtiğimiz *Lathyrus* türleri çoğunlukla hayvan yemi, toprak için yeşil gübre bitkisi, süs bitkisi ve kısmen de insan besini olarak kullanılan ekonomik önem taşıyan bir bitki bir türüdür. *Lathyrus* Türkiye’de 3500 hektar alanında ekilmekte ve 3500 ton üretilmektedir. Bu üretimin önemli bir miktarı Uşak ilinde (2729 hektar) gerçekleştirilmektedir. *Lathyrus* türleri halk arasında mürdümük (eskiden ismi “Nazende” diye bilinirdi) olarak tanımlanmaktadır.

Bu tezin hazırlanmasında Ankara Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı ve danışman hocam Prof. Dr. Gülçin SALTAN İŞCAN’a teşekkür ediyorum.

Bu çalışmanın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Doç. Dr. Özlem BAHADIR ACIKARA’a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Ankara Üniversitesi Farmasötik Botanik Anabilim dalından Dr. Gülsen KENDİR’e tüm yardımları ve arkadaşlığı için sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Cumhuriyet Üniversitesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalından Yrd. Doç. Mehmet TEKİN’e teşekkür ediyorum.

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Tülay ÇOBAN ve Sezen YILMAZ’a teşekkür ediyorum.

Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalından Yrd. Doç. Dr. Müjde ERYILMAZ’a teşekkür ediyorum.

Ankara Üniversitesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalından arkadaşlarıma Songül KARAKAYA teşekkür ediyorum.

Ankara Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı ailesine teşekkür ediyorum.

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarına Prof. Dr. Hakan GÖKER'e teşekkür ederim.

Ve bu tezi Annem, Babam, Kardeşlerime

Düşünen ve düşündürmeye sevk edebilen insanlara armağan ediyorum.....

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	: ALFA
ANN	: Nitril Amino Asetonitril
AEF	: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
APCI	: Atmospheric Pressure Chemical Ionization
β	: Beta
BAPN	: β -Amino Propio Nitril
BOAA	: β -N-Oksalil Amino-L-Alanin
BMAA	: β -N-Metil Amino-L-Alanin
COSY	: Correlation Spectroscopy
COX	: Cyclooxygenase
DAB	: 2,4-Diamino Bütirik Asit
DABA	: L-2,4-Diamino Bütirik Asit
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DPPH	: 2,2-Difenil-1,2-Pikril hidrazil
EIMS	: Electron Impact Mass Spectrometry
FAB	: Fast Atom Bombardment
FDNB	: 1-Fluoro-2,4-Dinitro Benzen
GC	: Gas Chromatography
HCl	: Hidroklorik Asit
HMBC	: Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	: Heteronuclear Multiple Quantum Chorence
H ₂ O	: Su
HRBC	: Human Red Blood Cell
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
H ₂ SO ₄	: Sülfürik Asit
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
MAAN	: Metilen Amino Asetonitril
Mg	: Miligram
MÖ	:Milattan Önce

MS	: Mass Spectrometry
NF _κ B	: Nuclear Factor Kappa B Cells
NSAID	: Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance
NOESY	: Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
ODAP	: 3-(-N-oksasil)-1-2,3-Diamino Propionik Asit
PAGE	: Poliakrilamit Jel Elektroforezi
PGIP	: Polygalacturonase İnhibitor
Ppm	: Parts per million
RP-18	: Reverse Phase C18
Si gel 60	: Silikajel 60
TOCSY	: Total Correlation Spectroscopy
μ	: Mikron
UV	: Ultraviyole
YBSK	: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	<i>Lathyrus</i> türlerinin kıtalara göre dağılımı	2
Şekil 1.2.	Tez konusu olarak çalışılan türlerin Türkiye'de dağılım modeli	17
Şekil 1.3.	<i>Lathyrus</i> türlerinden izole edilmiş kimyasal bileşiklerin yapıları	28
Şekil 2.1.	<i>Lathyrus armenus</i> (Boiss &Huet) Sirj (Endemik)	40
Şekil 2.2.	<i>Lathyrus aureus</i> (Stev.) Brandza	41
Şekil 2.3.	<i>Lathyrus cilicicus</i> Hayek &Siehe (Endemic)	42
Şekil 2.4.	<i>Lathyrus laxiflorus</i> subsp. <i>laxiflorus</i> (Desf.) O. Kuntze	43
Şekil 2.5.	<i>Lathyrus pratensis</i> L.	44
Şekil 2.6.	<i>Lathyrus</i> türlerinin genel görünüşü (Foto: M. Tekin)	45
Şekil 2.7.	Ekstraksiyon şeması	47
Şekil 2.8.	Gallik asit kalibrasyon grafiği	52
Şekil 2.9.	Kersetin kalibrasyon grafiği	53
Şekil 3.1.	<i>L. aureus</i> 'a ait salgı tüyü	58
Şekil 3.2.	<i>L. aureus</i> 'a ait stoma hücreleri	58
Şekil 3.3.	<i>L. aureus</i> 'a ait örtü tüyü	58
Şekil 3.4.	<i>L. aureus</i> 'a ait epiderma hücreleri	58
Şekil 3.5.	<i>L. aureus</i> 'a ait epiderma hücreleri	58
Şekil 3.6.	<i>L. aureus</i> 'a ait polen	58
Şekil 3.7.	<i>L. armenus</i> 'a ait stoma hücreleri	59
Şekil 3.8.	<i>L. armenus</i> 'a ait kutikula	59
Şekil 3.9.	<i>L. armenus</i> 'a ait epiderma	59
Şekil 3.10.	<i>L. armenus</i> 'a ait sklerenkima	60
Şekil 3.11.	<i>L. cilicicus</i> 'a ait sklerenkima	60
Şekil 3.12.	<i>L. cilicicus</i> 'a ait stoma hücreleri	60
Şekil 3.13.	<i>L. cilicicus</i> 'a ait epiderma	61
Şekil 3.14.	<i>L. cilicicus</i> 'a ait polen	61
Şekil 3.15.	<i>L. cilicicus</i> 'a örtü tüyü	61
Şekil 3.16.	<i>L. laxiflorus</i> 'a ait stoma hücreleri	62
Şekil 3.17.	<i>L. laxiflorus</i> 'a ait kaliks epidermis	62

Şekil 3.18.	<i>L. laxiflorus</i> 'a ait sklerenkima hücreleri	62
Şekil 3.19.	<i>L. pratensis</i> 'a ait stoma hücreleri	63
Şekil 3.20.	<i>L. pratensis</i> 'a ait polen	63
Şekil 3.21.	<i>L. pratensis</i> 'a ait sklerenkima	63
Şekil 3.22.	<i>L.armenus</i> toprak üstü etil asetatlı fraksiyonundan elde edilen bileşiğin şeması	65
Şekil 3.23.	<i>L.armenus</i> toprak üstü sulu fraksiyonundan elde edilen bileşiğin şeması	67
Şekil 3.24.	L1 bileşiğinin izolasyon şeması	68
Şekil 3.25.	L1 bileşiğinin EI MS spektrumu	70
Şekil 3.26.	L1 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	71
Şekil 3.27.	L1 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	72
Şekil 3.28.	L1 bileşiğinin COSY spektrumu	73
Şekil 3.29.	L1 bileşiğinin HMBC spektrumu	74
Şekil 3.30.	LM2, LM4, LM5, LM6 bileşiklerin izolasyon şeması	77
Şekil 3.31.	L2 bileşiğinin EI MS spektrumu	79
Şekil 3.32.	L2 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	80
Şekil 3.33.	L2 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	81
Şekil 3.34.	L2 bileşiğinin TOCSY spektrumu	82
Şekil 3.35.	L2 bileşiğinin COSY spektrumu	83
Şekil 3.36.	L2 bileşiğinin HSQC spektrumu	84
Şekil 3.37.	L2 bileşiğinin HMBC spektrumu	85
Şekil 3.38.	L4 bileşiğinin EI MS spektrumu	90
Şekil 3.39.	L4 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	91
Şekil 3.40.	L4 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	92
Şekil 3.41.	L4 bileşiğinin COSY spektrumu	93
Şekil 3.42.	L4 bileşiğinin TOCSY spektrumu	94
Şekil 3.43.	L4 bileşiğinin HMBC spektrumu	95
Şekil 3.44.	L4 bileşiğinin HSQC spektrumu	96
Şekil 3.45.	L5 bileşiğinin EI MS spektrumu	101
Şekil 3.46.	L5 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	102
Şekil 3.47.	L5 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	103

Şekil 3.48.	L5 bileşiğinin HSQC spektrumu	104
Şekil 3.49.	L5 bileşiğinin HMBC spektrumu	105
Şekil 3.50.	L5 bileşiğinin COSY spektrumu	106
Şekil 3.51.	L5 bileşiğinin TOCSY spektrumu	107
Şekil 3.52.	L6 bileşiğinin EI MS spektrumu	111
Şekil 3.53.	L6 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	112
Şekil 3.54.	L6 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	113
Şekil 3.55.	L6 bileşiğinin TOCSY spektrumu	114
Şekil 3.56.	L6 bileşiğinin COSY spektrumu	115
Şekil 3.57.	L6 bileşiğinin HMBC spektrumu	116
Şekil 3.58.	İzole edilen bileşiklerin HMBC etkileşimleri	119
Şekil 3.59.	<i>Lathyrus</i> türlerinin antioksidan aktiviteleri	121
Şekil 3.60.	Asetilsalisilik asit'in antienflamatuvar aktivitesi	127
Şekil 3.61.	Asetilsalisilik asit'in antienflamatuvar aktivitesi	127
Şekil 3.62.	<i>Lathyrus</i> türlerinin antienflamatuvar aktiviteleri	127

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	<i>Lathyrus</i> cinsinin kullanılan türleri (Dogan, 1982)	4
Çizelge 1.2.	<i>Lathyrus</i> türlerinin seksiyonları (Kenicerve ark., 2005)	12
Çizelge 1.3.	<i>Lathyrus</i> türlerinden izole edilmiş kimyasal bileşikler	23
Çizelge 1.4.	<i>Lathyrus</i> türlerinin farklı biyolojik aktiviteleri	33
Çizelge 2.1.	Kolon kromatografisi için kullanılan çözücü sistemleri	49
Çizelge 2.2.	Kolon kromatografisi için kullanılan çözücü sistemleri	49
Çizelge 2.3.	YBSK elüsyon şartları	50
Çizelge 2.4.	Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında kullanılan gallik asit konsantrasyonları ve ortalama absorbands değerleri	52
Çizelge 2.5.	Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında kullanılan kersetin konsantrasyonları ve ortalama absorbands değerleri.	53
Çizelge 3.1.	Çalışılan türlerin organoleptik özellikleri	57
Çizelge 3.2.	<i>Lathyrus</i> türlerinden elde edilen ekstrelerin % verimleri	64
Çizelge 3.3.	<i>L. armenus</i> türünden elde edilen fraksiyonların miktarı	64
Çizelge 3.4.	L1 bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C NMR bulguları	75
Çizelge 3.5.	LM-2 bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C NMR bulguları	86
Çizelge 3.6.	LM-4 bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C NMR bulguları	97
Çizelge 3.7.	LM-5 bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C NMR bulguları	108
Çizelge 3.8.	LM-6 bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C NMR bulguları	117
Çizelge 3.9.	İzole edilen bileşiklerin kimyasal formülleri	120
Çizelge 3.10.	<i>Lathyrus</i> türlerinin toplam fenolik içeriği	120
Çizelge 3.11.	<i>Lathyrus</i> türlerinin toplam flavonoit içeriği	120
Çizelge 3.12.	<i>Lathyrus</i> türlerinin DPPH yöntemi ile elde edilen IC ₅₀ değerleri	122
Çizelge 3.13.	<i>Lathyrus</i> türlerinin MİK değerleri	124
Çizelge 3.14.	Asetilsalisilik asit'in antienflamatuvar aktivite değerleri	125
Çizelge 3.15.	Aspirin'nin antienflamatuvar aktivite değerleri	125
Çizelge 3.16.	<i>Lathyrus</i> türlerinin antienflamatuvar aktiviteleri	127

1. GİRİŞ

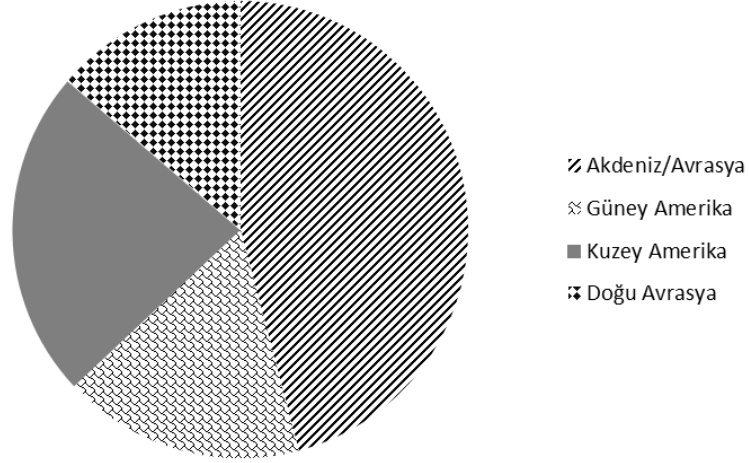
Lathyrus türleri insan ve hayvan beslenmesinde, besin olarak önemli bir yere sahiptir. *Lathyrus sativus* L. kültürü ilk defa M.Ö. 6000'li yıllarda Balkanlar'da yapılmıştır. Bu tür kuraklığa dayanıklı bir bitkidir, ancak yıllık yağışın yüksek olduğu veya su altında kalan alanlarda da yetişebilmektedir. *L. sativus* çok farklı toprak ve iklim koşullarında rahatlıkla yetişebilmesi ve bu koşullarda gübreleme ve pestisit uygulamasına ihtiyaç duymadan ve ekonomik düzeyde verim elde edilebilmesi nedeniyle tarım da önemli bir yere sahiptir. Ayrıca, bazı *Lathyrus* türleri biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı gösterdiği dayanıklılık nedeniyle baklagillerin genetik ıslahında da önemli bir kaynak olarak kullanılmaktadır. Bu bitkinin bazı türlerinin tohumları nohut, bezelye ve bakla gibi tane baklagillerin yetişemediği kuraklık dönemlerde insanların en önemli protein ve karbonhidrat kaynağı olarak kullanılmıştır. Bitkinin genel olarak amino asit içeriği diğer baklagillerle benzer fakat lizin içeriği diğer baklagillerden daha yüksek; metiyonin, sistein ve triptofan içeriği ise daha düşüktür. Protein oranı tohumlarında % 25.60-35.90, bitkinin yeşil kısımlarında ise % 17.00 - 22.27 arasında değişmektedir (Haimanot ve ark., 1990)

Diğer önemli türlerden *L. cicera* L., Yunanistan, İran, Irak, Ürdün, Suriye ve İspanya'da; *L. ochrus* L. ise Kıbrıs ve Yunanistan'da yaygındır. *L. cicera* gıda ve yem, *L. ochrus* ise genellikle hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. *L. cicera*'nın tohumlarında % 21.70–27.60, *L. ochrus*'un tohumlarında ise % 20.90 oranında protein bulunmaktadır. *L. ochrus* kolay yetişebilme ve kuraklığa dayanma gücü ile yem bitkisi ve özellikle yeşil gübre bitkisi olarak değerli bir türdür. Dünyada en fazla tarımı yapılan *L. sativus*, *L. orchus* ve *L. cicera* yetiştirme süreleri ve verim yüzdeleri farklı olmaktadır (Abreu ve ark., 1998; Hanbury ve Hughes., 2003).

Bu üç tür dışında dünyada *L. tingitanus* L., *L. latifolius* L., *L. sylvestris*, *L. clymenum* yem amaçlı yetiştirilmektedir. Ayrıca *L. odoratus* L. süs bitkisi olarak kullanılmaktadır (Van der Maesen ve Somaatmadja, 1989).

1.1. *Lathyrus* Türlerinin Yayılışı

Lathyrus türleri hem kuzey hem güney yarımkürede dağılım göstermektedir. Dağılım modeli grafik olarak Şekil 1.1'de açıklanmaktadır (Kenicer ve ark., 2005; Kenicer, 2008).



Şekil 1.1. *Lathyrus* türlerinin kıtalara göre dağılımı

1.2. *Lathyrus* Cinsinin Dağılımı

Lathyrus türleri hayvan yemi, gıda, süs ve toprak stabilizatörü olarak kullanılmakta olup ve ekonomik değeri fazla olan bir bitkidir.

L. odoratus, *L. latifolius*, *L. grandiflorus* (Benth.) J.M. Porter & L.A. Johnson, *L. rotundifolius* Willd., *L. undulatus* Boiss., *L. aureus* (Stev.) Brandza, *L. vernus* (L.) Bernh süs bitkisi olarak ve *L. ochrus*, *L. tingitanus*, *L. sativus* gıda ve yem olarak kullanılmaktadır (Kenicer ve ark., 2005). *L. japonicus* Willd. tohumları 1555 yılında kıtlık döneminde İngiltere'de besin olarak tüketilmiştir. Kuzey Avrupa'da *L. tuberosus* L. kökü yiyecek olarak kullanılmaktadır. *L. sativus* türü dokularında yüksek miktarda kurşun depolayabilme özelliğine sahiptir ve yeni rizofiltrasyon sistemi geliştirilmesinde kullanılabileceği düşünülmektedir. *L. hirsutus* L. Amerika

Birleşik Devletleri'nde, *L. ochrus* ise Akdeniz bölgesinde hayvan yemi olarak kullanılmaktadır, bitkinin hasat sonrası kalan kısımları toprak üstünü kapatır ve toprağın gelişmesini sağlar. Güney Avrupa'da *L. cicera*, *L. aphaca* ve *L. ochrus* kuraklığa dayanıklı olmaları nedeniyle yem ya da süs amaçlı olarak yetiştirilmektedir (Van der Maesen ve Samaatmadia, 1989; Mathur ve ark., 1999).

Lathyrus cinsi, dünya üzerinde yaklaşık 160 türe sahiptir ve bunlardan 140'ı Kuzey Yarımkürenin ılıman bölgesinde yetişmektedir. En fazla tür sayısı Akdeniz bölgesi ve İran-Turan bölgesinin batı kısmında yer almaktadır. Kuzey ve Güney Amerika'nın ılıman bölgeleri tür zenginliği açısından önem taşımaktadır. Birkaç tropikal tür ise doğu Afrika'nın dağlık alanlarında yetişmektedir (Kenicer, 2008).

Hindistan'da M.Ö. 3500-4000 ve Batı Asya'da M.Ö. 3200-3800 yıllarında *Lathyrus* cinsinin kullanımına dair bilgiler elde edilmiştir (Saraswat, 1980). *Lathyrus* türlerinin Kanarya Adaları, Almanya, Rusya, Batı Asya, Çin, Orta Doğu (Irak, İran, Suriye, Filistin, Lübnan, Afganistan) ve Kuzey Afrika'da (Etiyopya, Mısır, Cezayir, Libya, Fas) yaygın, Avrupa (Fransa, İspanya, İtalya, Portekiz ve Kıbrıs) ve Güney Amerika'da ise seyrek olarak tarımı yapılmaktadır. *Lathyrus* türleri dünya genelinde yeşil ot ve kuru ot olarak hayvan beslenmesinde, toprak nitrifikasyonunda, sebze olarak ise insan beslenmesinde kullanılmak üzere yetiştirilmektedir. *Lathyrus* türlerinin beslenmede kullanım şekli ülkelere ve yörelere göre değişmektedir; genellikle kuru taneleri çorba olarak ve öğütülerek belirli oranlarda buğday ununa katılarak ekmek yapımında kullanılmaktadır; taze yaprakları, olgunlaşmamış meyveleri ve tohumları ise salata, sebze yemeği ve çerez olarak değerlendirilmektedir (Kislev, 1989).

1.3. Türkiye'de Yetişen *Lathyrus* Türleri

Türkiye'de ilk kez Boissier (1872) *Lathyrus* türleri üzerinde araştırma yapmıştır. Boissier, Linnean'nin sınıflandırdığı *Lathyrus* ve *Orobus* seksiyonlarını iki farklı cins olarak kabul etmiştir ve *Lathyrus* cinsini; *Orobastrum*, *Eulathyrus*,

Cicerula, *Aphaca*, *Nissolia* ve *Clymenum* olmak üzere 6 seksiyon da sınıflandırmıştır. Davis (1970), Türkiye Florasında Türkiye’de bulunan 58 türü, *Orobus*, *Platystylis*, *Orobastrum*, *Pratensis*, *Orobon*, *Lathyrus*, *Cicercula*, *Aphaca*, *Nissolia*, ve *Clymenum* olarak 10 seksiyonda sınıflandırmıştır.

Doğan ve ark. (1982), sayısal olarak yapılan taksonomik çalışmalar sonucunda, Türkiye’de yetişen *Lathyrus* cinslerini 9 seksiyonda sınıflandırmıştır. Bu seksiyonlarda bulunan türler iki alt cins olarak gruplandırılmıştır; *Lathyrus* ve *Orobus*. Bu alt cinslerde bulunan 58 türden 54’ü Türkiye florasında bulunmaktadır. Günümüzde *Lathyrus* cinsi 10 seksiyon ve 62 tür ile temsil edilmektedir, bunlardan 22 türü ise Türkiye endemiği olarak yer almaktadır.

Lathyrus türleri Türkiye’nin Doğu ve Güneydoğu Bölgesi’nde yayılış göstermektedirler. Türkiye’de sınırlı alanlarda ise sadece mürdümük (*L. sativus*) ve nohut mürdümüğü (*L. cicera*)’nün tarımı yapılmaktadır.

Çizelge 1.1. *Lathyrus* Cinsinin Kullanılan Türleri (Dogan, 1982)

Tür	Kullanım	Kullanım durumu	Lokasyon
<i>L. annuus</i>	Yem, bakliyat	Nadir	Avrupa, Kuzey Afrika
<i>L. aphaca</i>	Yem	Nadir	Hindistan
<i>L. blepharicarpus</i>	Bakliyat	Geçmişte	Yakın doğu
<i>L. cicera</i>	Yem, bakliyat	Nadir	Güney Avrupa, Kuzey Afrika
<i>L. clymenum</i>	Bakliyat	Nadir	Yunanistan
<i>L. gorgoni</i>	Yem	Geçmişte	Orta doğu
<i>L. hirsutus</i>	Yem	Yaygın	A.B.D
<i>L. latifolius</i>	Süs	Yaygın	Avrupa
<i>L. ochrus</i>	Yem, Süs	Nadir	Yunanistan, Orta doğu
<i>L. odoratus</i>	Süs	Yaygın	Yaygın
<i>L. pratensis</i>	Yem	Nadir	Güney Avrupa, Kuzey Afrika
<i>L. rotundifolius</i>	Süs	Yaygın	Yaygın
<i>L. sativus</i>	Yem, bakliyat	Yaygın	Yaygın
<i>L. sylvestris</i>	Yem	Nadir	Güney Avrupa, Kuzey Afrika
<i>L. tingitanus</i>	Yem	Nadir	Kuzey Afrika
<i>L. tuberosus</i>	Yem	Nadir	Doğu Asya

1.4. Türkiye’de *Lathyrus* Türlerinin Kültürü ve Kullanımı

Lathyrus Türkiye’de 3500 hektar alanında ekilmekte ve 3500 ton üretilmektedir. Bu üretimin önemli bir miktarı Uşak ilinde (2729 hektar) gerçekleştirilmektedir. Türler genelde yem bitkisi olarak yetiştirilmekle birlikte, tohumları bazen insan beslenmesinde de kullanılmaktadır. Ayrıca tüylü mürdümük (*L. hirsutus*)’ün 1970’den önce Batı ve İç Anadolu bölgelerinde tarımının yapıldığı ve kokulu mürdümük (*L. odoratus*)’ün Anadolu’da süs bitkisi olarak yetiştirildiği bilinmektedir.

Karadeniz Bölgesinde *Lathyrus* tarımı 1980’li yıllara kadar Batı Karadeniz (Zonguldak- Beycuma)’de yapılmış ve bu yörede *Lathyrus* hem hayvan yemi, hem de baklagil olarak değerlendirilmiştir. Yörede *Lathyrus* tohumları, kuru fasulye ve nohuta benzer şekilde pişirilerek tüketilmiştir (Önal ve Ayan, 2007).

1.5. Latirizm

Latirizm, *Lathyrus* türlerinin aşırı tüketilmesiyle ortaya çıkan nöromotor bir hastalıktır. Kolajen yapısındaki çapraz bağların oluşmasında rol oynayan liziloksidaz enziminin inhibisyonuna bağlı olarak gelişir ve hasarlı kolajen sentezi ile karakterizedir (Şentürk ve ark., 2002). Geviş getiren hayvanlar ve monogastrik türler bu hastalıktan etkilenebilir. Bazı literatürlerde monogastrik türlerin daha fazla etkilendiği belirtilmektedir. Hastalıktan sorumlu olan başlıca bileşikler 20. yüzyılın ikinci yarısında tespit edilmiştir.

Osteolatirizm ve nörolatirizm olmak üzere iki tip latirizm tespit edilmiştir. Osteolatirizm iskelet deformasyonları ile karakterize olmakta, *L. odoratus*, *L. hirsutus*, *L. pusillus* ve *L. roseus* gibi türlerin tüketimiyle ortaya çıkan bir hastalıktır. Osteolatirizma neden olan ve *Lathyrus* türlerinde bulunan bileşiğin β -amino propionitril (BAPN) olduğu, nitril amino asetonitril (AAN) ve metilen amino asetonitril (MAAN)’in de hastalığın gelişmesinde rol oynadığı açıklanmıştır.

Nörolatirizm, *Lathyrus* türleri ve bazı *Vicia* türlerinin aşırı tüketimi sonrası görülen belirtileri tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Bacakların arkasında kas sertliği veya felç gibi belirtiler ile tanımlanmaktadır. Genellikle arka bacak kaslarda ağırlı spazmlarla başlar, ardından değişik derecelerde felçlere ve bacağın kaybına neden olabilir. Felç nadiren geri dönüşümlüdür.

Lathyrus cinsinde nörolatirizme neden olan bileşikler iki gruba ayrılmaktadır:

1. L-2,4-diaminobütirik asit (DABA), *L. sylvestris* ve *L. latifolius* gibi türlerde bulunmaktadır. *L. cicera* ve *L. sativus* gibi türlerde bulunmamaktadır.
2. Protein olmayan amino asit; 3-(-N-oksalil)-1-2,3-diamino propionik asit (ODAP); β -N-oksalil amino-L-alanin veya (BOAA) olarak da ifade edilir, *L. sativus*, *L. cicera*, *L. ochrus* ve *L. clymenum* gibi türlerde bulunmaktadır.

Latirizm genellikle nörolatirizm ve ODAP'dan kaynaklanan hastalığı ifade etmek için kullanılır. Az gelişmiş toplumlarda kıtlık zamanlarında birincil besin kaynağı olarak *L. sativus* kullanımının yıkıcı sonuçlara yol açtığı görülmüştür. Latirizm dünyada *L. sativus* yetiştirilen bölgelerine özgüdür. Bu bölgeler; Hindistan, Bangladeş, Etiyopya ve Nepal'dir. Ancak 20. yüzyılda Afganistan'da da hastalığın görüldüğü rapor edilmiştir. 1997 yılında Etiyopya'da 2000 kişi latirizm hastalığına yakalanmıştır.

Haşlama ve diğer pişirme yöntemleri ODAP miktarını, bazı durumlarda % 90'a kadar, düşürebilir (Spencer ve ark., 1986; Yan ve ark., 2006; Fikre ve ark., 2008).

Kesin bir tedavisi olmamakla birlikte zengin bir diyet ve yüksek dozda Vitamin B kompleks desteği; tedaviye yardımcı olabilir.

1.6. *Lathyrus* Türlerinin Sistematikteki Yeri

Lathyrus sp.'nin sistematığı

Alem: Phytæ

Bölüm: Spermatophyta

Alt bölüm: Angiospermae

Sınıf: Dicotyledonae

Alt sınıf: Dialypetale

Takım: Fabales

Familya: Fabaceae

Alt familya: *Papilionoideae*

Cins: *Lathyrus* L.

1.7. Fabaceae Familyasının Genel Özellikleri

Legume ismi Latince "toplamak" anlamına gelen LEGERE kelimesinden türetilmiştir. Dünyada çiçekli bitkiler (Angiospermae) arasında Fabaceae familyası; Asteraceae ve Orchidaceae familyasından sonra üçüncü büyük familyadır ayrıca Poaceae familyasından sonra, zirai açıdan önem taşıyan ikinci bitki familyasıdır. Bu familya da yer alan bazı taksonların gıda, yem, süs, yakıt ve tıbbi amaçlı kullanılırken, bazıları da toprağı azot açısından zenginleştirmek maksadıyla kullanılmaktadır (Çıldır, 2011).

Odonlu veya otsu bitkilerdir. Yaprakları alternan dizilişli, pinnat, digitat, trifoliat veya basit olup, genellikle stipulalıdır. Çiçekler aktinomorf veya zigomorf, hipogin veya bazen perigin, genellikle hermafrodittir. Çiçekler tek ya da rasemoz, spika ve umbella şeklinde bulunmaktadır. Sepaller (4-) 5, tek kalan sepal daima önde

(brakte tarafında) yer almaktadır. Petaller (1-) 5, tomurcuk içinde valvat veya imbrikat dizilişlidir, serbest veya nadiren kısmi olarak birleşiktir. Stamenler 4 ya da daha fazla, genellikle 10, ya hepsi tüp şeklinde birleşik (monodelf), veya üstte ki stamen serbest (diadelf), veya hepsi serbesttir. Karpel 1, nadiren birkaç tanedir, üst durumlu, plasentalanma parietaldir. Meyva legümen veya bazen lomentum şeklindedir. Tohum bir veya daha fazla sayıdadır (Davis, 1970).

Fabaceae familyası Antartika kıtası dışında, kozmopolit olarak tüm kıtalarda geniş yayılım göstermektedir. Familya da yer alan bazı türler ise bazı ülkeler için endemiktir. *Caesalpinioideae* ve *Mimosoideae* alt familyaları tropikal ve ılıman bölgelerde baskındır. Dünya’da bu familyanın yaklaşık 720 cins ve 1800’den fazla türü yetişmektedir (Lewis ve ark., 2005). Fabaceae Türkiye’de 71 cins ve 1013 tür (400 endemik tür) ile temsil edilmektedir.

Genel olarak Fabaceae familyası üç alt familya’ya ayrılmaktadır:

1.7.1. Caesalpinioideae (Syn: Caesalpinaceae)

Bu alt familya; tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişmekte olup, yaklaşık 180 cins ve 2500-3000 kadar türe sahiptir. Çoğunlukla odunsu türler içermektedir. Yapraklar imparipennat, bazen bipennat ya da basittir. Çiçekler (petalsız olanlar hariç) zigomorftur. Petaller tomurcuk içerisinde imbrikat (kiremit dizilişli) dizilişte, yükselici, üst kısımdakiler çoğunlukla kendilerine komşu olan yan petaller tarafından örtülü şekilde bulunurlar. Petal nadiren bulunmaz. Stamenler serbest, 5-10 tanedir. Tohumların yan çizgisi bulunmaz, nadiren kapalı bir çizgi yer alır. Kökçük genellikle diktir.

1.7.2. Mimosoideae (Syn : Mimosaceae)

Bu alt familyadaki bitkilerin çoğu çalı veya ağaçtır. Tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişen 56 cins ve 500-3000 türe sahiptir. Yapraklar bipennat ya da fillodiktir (genişleyerek yaprak şeklini almış herhangi bir organ). Çiçekler aktinomorf ve petaller tomurcuk içinde birbiriyle kenetlenmiş şekilde bulunur. Tohumların yan çizgileri U- şeklindedir. Kökçük diktir.

1.7.3. Papilionoideae (Syn: Papilionaceae, Fabaceae)

Papilionoideae en çok yayılış gösteren ve tür açısından en zengin alt familyadır. Tropikal bölgelerde yetişen 400-500 cins ve 10.000'den fazla tür içermektedir. *Papilionoideae* alt familyası ekonomik olarak diğer alt familyalara göre daha çok önem taşımaktadır. *Papilionoideae*'nin birçok türü, küresel azot döngüsünde önemli bir rol oynamaktadır; tüm türler, kök-nodülü ve simbiyotik bakteriler nedeniyle atmosferik azotu düzenleme özelliğine sahiplerdir.

Otsu ve odunsu bitkiler içermektedir. Yaprakları paripennat, imparipennat, digitat, trifoliat ya da unifoliat, nadiren fillodiktir. Bu alt familyanın çiçekleri zigomorf ve kelebek şeklindedir. Çiçekler de kaliks gamosepal ve 5 lobludur. Korollanın 5 petalinden ikisi birleşik, üçü serbesttir. Üstte bulunan petal; veksillum, iki yandaki petaller; ala (kanatçık) ve altta birleşmiş petaller ise karina (kayıkçık) olarak adlandırılır. Stamen sayısı 10 bazı cinslerde monadelf ve bazılarının da ise diadelftir. Tohumlar genellikle yan çizgisiz, kökçük bazen içeri doğru kıvrıktır (Davis, 1970; Polhill ve Raven, 1981; Heywood, 1993).

1.8. *Lathyrus* L. Türlerin Morfolojik Özellikleri

Günümüzde bilinen *Lathyrus* cinsinin bazı türleri ilk kez Carl Linnaeus'nin "Species Plantarum" isimli kitabında (1753) *Orobus* L. cinsi olarak tanımlanmıştır.

Lathyrus kelimesi Yunan filozofu Theophrastus'tan (λα-θυρίς (la-thyris)) gelmektedir. "Thyris" güçlü, kuvvetli, "la" ise küçük demektir (Kenicer, 2008).

1.9. *Lathyrus* Türlerinin Dış Görünüşü

Otsu, tek veya çok yıllık bitkilerdir. Çok yıllık türlerde kökler, rizom veya yumru şeklinde kalınlaşmıştır. Gövdenin yanları kanatlı veya kanatsızdır, dört köşeli ve nadiren yuvarlaktır.

Yapraklar paripinnat veya subdigitattır. Yaprak eksenleri arista, mukro veya bir sülükle sonlanır. 1-8 çift (genellikle 1-2 çift) yaprakçık içerir, bazen yaprakçiksizdir. Paralel veya tüysü-paralel damarlanır. Stipuller genellikle yapraksı yarı-okbaşı veya okbaşı şeklindedir.

Çiçekler tek veya çok çiçekli salkım şeklinde, çiçek sapı yapraklardan uzun, bazen bulunmaz veya çok kısadır. Çiçekler protoandriktir (çiçeğin erkek organı dişi organından daha erken olgunlaşması).

Kaliks tüpsü veya çansıdır, kaliksin dişleri genellikle eşittir veya alt dişler üst dişlerden birazcık uzundur.

Korollaya farklı renklerde rastlanmaktadır. Bayrakçık geniş, kısa ve tırnaklıdır, bazen üzerinde kabarcık bulunur, kanatçıklar oraksı-dikdörtgensidir, kayıkçık kıvrık ve küttür. Kanatçıklar serbesttir nadiren kayıkçığın sırt kısmına yapışıktır.

Andrekeum diadelftir, staminal tüpün uç kısmı trunkat, ipliksi filamentler bulunmakta ve benzer anterlere sahiptir. Stamen tek ve staminal tüpe yapışıktır. Stamenler almalı olarak biri uzun biri kısa dizilmişlerdir, en kısa stamen tek ve uzun stamen ortadadır.

Şeritsi veya spatülsü stilus içerir, dorsalden basık, taban kısmında kıvrılmış veya kıvrılmamıştır, Polenlerin tutulması için eksene doğru (adaksial) uç kısmın yakınında tüsü bir fırça bulunur. Stigma uçta ve bölünmemiştir.

Meyve (legumen) yanlardan basık, şeritsi veya dikdörtgensidir, nadiren stipitattır. Bazı türlerde meyve yüzeyi boyuna damarlı ve sırt kısmı 2 kanatlıdır. Meyve yüzeyi tüsüz veya kabarcıklı tüylü, bir veya çok tohumludur.

Tohumlar yuvarlak, silindirik veya basık ve köşeli, yüzeyleri kabarcıklı, noktacıklı veya düzgündür (Şahinoğlu, 2011).

1.10. *Lathyrus* Cinsinde Tür Tayin Anahtarı

Lathyrus türleri *Vicia* türlerine benzerlik gösterir ve bazı karakteristik özellikleriyle bu türlerden ayrılabilir (Davis, 1970).

Araştırmacıların çoğu *Lathyrus* cinsini 12 veya 13 seksiyonda sınıflandırmaktadırlar. İlk kez Linnaean *Lathyrus* cinsini iki seksiyonda sınıflandırmıştır.

Çizelge 1.2. *Lathyrus* Türlerinin Seksiyonları (Kenicer ve ark., 2005)

Godron (1848)	Boissier (1872)	Czefranova (1971)	Kupicha (1983)	Asmussen ve Liston (1998)	Kenicer (2004)
			<i>Notolathyrus</i>		<i>Notolathyrus</i>
	<i>Orobus</i>	<i>Lathyrobis</i>	<i>Orobus</i>	<i>Orobus</i>	<i>Orobus</i>
<i>Orobus</i>	<i>Orobastrum</i>	<i>Orobus</i>	<i>Lathyrostylis</i>	<i>Lathyrostylis</i>	<i>Lathyrostylis</i>
		<i>Pratensis Orobus</i> <i>Eurytrichon</i>	<i>Pratensis</i>	<i>Pratensis</i>	<i>Pratensis</i>
<i>Aphaca</i>	<i>Aphaca</i>	<i>AphacaOrobus</i>	<i>Aphaca</i>	<i>Aphaca</i>	<i>Aphaca</i>
<i>Orobus</i>	<i>Orobastrum</i>	<i>Neurolobus</i>	<i>Neurolobus</i>	<i>Neurolobus</i>	<i>Neurolobus</i>
		<i>Orobon</i>	<i>Orobon</i>		
<i>Eulathyrus</i>	<i>Eulathyrus</i>	<i>Lathyrus</i>	<i>Lathyrus</i>	<i>Lathyrus</i>	<i>Lathyrus</i>
<i>Cicercula</i>	<i>Cicercula</i>	<i>Cicercula</i>			
<i>Orobus</i>	<i>Orobastrum</i>	<i>Orobastrum</i>	<i>Orobastrum</i> <i>Linearicarpus</i>	<i>Orobastrum</i> <i>L.sphaericus</i> <i>L.angulatus</i>	<i>L.sphaericus</i> <i>L.angulatus</i>
			<i>Viciopsis</i>		
<i>Nissolia</i>	<i>Nissolia</i>	<i>Nissolia</i>	<i>Nissolia</i>	<i>Nissolia</i>	<i>Nissolia</i>
<i>Clymenum</i>	<i>Clymenum</i>	<i>Clymenum</i>	<i>Clymenum</i>	<i>Clymenum</i> <i>L. gloeospermus</i>	<i>Clymenum</i>

Sistematik anahtar (Kupicha, 1983)

1. Bazı yapraklar filodik, tek yıllık 2
+yaprakların fillodik değil, tek veya çok yıllık..... 3
2. Tüm yapraklar fillodik,tendrill içermez ve paralel damarlanmış, stigma tek,
meyveler kanatsızSect. 11. *Nissolia*
+alt yapraklar fillodik, üst yapraklar tendril ve yaprakçıklı, fillodik yapraklar
pinnat şeklinde damarlanmış, çift stigma, meyveler kanatlısect.7. *Clymenum*
3. Stipula hastat(genç yapraklarda) 4
+stipullar semi- sagitat 7
- 4.yapraklar yaprakciksiz, tohumlanma dışındasect.6. *Aphaca*
+tüm yapraklar yaprakcıklı 5
- 5.yapraklar iki-çok çift pinnat damarlı yaprakcıklısect. 1. *Orobon* p.p
+yapraklar bir çift, yaprakçıklar paralel damarlı 6

6.yaprakların her iki yüzeyinde stoma bulunur, paralel damarlı.....	sect.5. <i>Pratensis</i>
+ yaprakların tek yüzeyinde stoma bulunur, damarlanma paralel değil	
.....	sect.3. <i>Notolathyrus</i>
7.stilus buruk, veksillum 8
+ stilus buruk değil10
8.tendrilsiz, çok yıllık 9
+ tendrilli ya tendrilsiz, tek yıllık	sect.4. <i>Lathyrus</i> p.p
9.yapraklar bir çift, stomalar yaprağın alt yüzeyinde bulunur, yapraklar geniş, ovat pinnat damarlı	sect. 3. <i>Orobon</i>
+ yapraklar 1-7 çift, üst yüzeyde stoma bulunur, yapraklar lanseolat, paralel damarlı.....	sect. 2. <i>Lathyrstylis</i> p.p
10.tek yıllık11
+ çok yıllık 15
11.yapraklar bir çift.....	.12
+ yapraklar bir- çok yapraklı 13
12.legumen çok saplı.....	sect. 8. <i>Orobastrum</i>
+ legumen sapsız 14
13.yapraklar pinnat damarlı	sect. 9. <i>Viciopsis</i>
+ yapraklar paralel damarlı	sect. 10. <i>Linearicarpus</i>
14.gövdeler kanatlı, yaprakların alt yüzeyinde stoma bulunur	sect. 4. <i>Lathyrus</i> p.p.
+ gövdeler kanatsız, yaprakların üst yüzeyinde stoma bulunur	sect.10
.....	<i>Linearicarpus</i>
15.yapraklar bir çift.....	.16
+ yapraklar bir-çok çift yapraklı17
16.gövde skapus, çiçekler 1mm den kısa	sect. 12 <i>Neurolobus</i> .
+ gövdeler hiç-az skapus, çiçekler 1.5 mm den uzun, Güney Amerika bitkilerisect. 13. <i>Notolathyrus</i> p.p.
17. Legumen tomentoz, Güney Amerika bitkileri Sect. 13. <i>Notolathyrus</i> p.p.
+ legumen tüysüz, Kuzey Amerika ve Eurasia bitkileri.....	.18
18. Yaprakların alt yüzeyinde stoma bulunur, paralel damarlanma, yaprak rahisleri tendrilsiz, gövde kanatsız.....	. Sect. 2. <i>Lathyrstylis</i>

+ yaprakların her üst yüzeyinde stoma bulunur, pennat damarlı, yaprak rahisleri tendrili ya tendrilsiz, yapraklar paralel damarlanırsa gövde skapus, skapus içermezsect. 1. *Orobus* p.p.

1.11. Tez Konusu Olarak Seçilen *Lathyrus* Türlerinin Botanik Özellikleri

Bu araştırmada 5 *Lathyrus* türü çalışılmıştır:

1.11.1. *Lathyrus armenus* (Boiss &Huet) Sirj

Gövdeleri dik, ince ama sert, tüysüz çok yıllık bitkidir. Gövdeler kanatsız, köşeli, 30-50 cm, taban kısmı hemen hemen sürünücü olan bir bitkidir. Orta yapraklar subdigitat, aristattır; 2 çift yaprakçığa sahiptir, bu yaprakçıklar linear-lanseolat-linear, 50-80 × 3-6 mm mm, 5 paralel damarlıdır. Stipula lanseolat-subulat, 1,5-4 mm olan petiyollerden daha uzundur. Üst yapraklar daha kısadır. Pedunküller sağlam, 2-11 mm, çoğunlukla yapraklardan daha kısa, sıkı dizilmiş 4-11 çiçeklidirler. Çiçekler mavimsi- mor, 14-16 mm. Kaliks 5-7 mm; dişlere eşitsiz değildir, en alttaki lanseolat, tüpün 1/2 - 3/4'ü uzunluğundadır. Stilus linear, üstte hemen hemen genişlemiştir, 4 × 0,5 mm. Legümen meyve (olgunlaşmamış) linear, 50 × 4 mm, tüysüz. Çiçeklenme 6-7. aylarda olur. Bataklıklar, çayırlarda ve su kanallarında (1270-2800 m) yetişmektedir.

1.11.2. *Lathyrus aureus* (Stev.) Brandza

Sağlam, dik, seyrek olarak pubescent çok yıllık bir bitkidir. Gövdeler 50-80 cm ve kanatsızdır. Yapraklar pinnat, aristat; yaprakçıklar 3-5 çifttir, ovat, akut-akuminat, 50-100 × 18-50 mm uzunluğundadır. Pinnat damarlı yaprakların alt yüzeyinde kahverengimsi nokta şeklinde salgı tüyleri bulunmaktadır. Stipuller ovat-lanseolat, yarı segitat, alt yapraklar gövdeden daha geniştir. Pedunküller yaprakların yaklaşık yarısı uzunluğundadır. Rasem (8-)12-25-çiçekli, çiçekler zencefil-turuncu

renginde, 16-20 mm uzunluğundadır. Kaliks 8-12 mm, kambura benzer bir çıkıntı taşır, pubescent – hemen hemen tüsüzdür, dişler eşit değildir, en küçük diş tüpün bir veya bir buçuk katıdır, üstteki çift daha kısadır. Korolla kanatları genellikle karinadan biraz daha uzundur, petalin aya kısmı suborbikular ve tırnak kısmından daha kısadır. Legümen meyve lineer, 50-70 × 7-8 mm dir. Genç bitkide nokta şeklinde salgı tüyleri mevcuttur. Tohumlar 6-12 mm ve düzdür. Çiçeklenme 5-7. aylarda oluyor. Ormanlarda ve çalılıklarda (15-2000 m) yetişmektedir.

1.11.3. *Lathyrus cilicicus* Hayek & Siehe

Uzun, dik, tüsüz çok yıllık bir bitkidir. Gövde kanatsız, en az 70 cm uzunluğundadır. Alt yapraklar 1 çift yaprakçık taşır. Orta yapraklar subdigitat, aristattır; bu yaprakçıklar 2 çift, linear- daralmış lanseolat-linear, 80-150 × 3-9 mm, 5 tane paralel damarlıdır. Stipulalar lanseolat-subulat, petiyol 4-8(10) mm den daha uzundur. Pedunküller uzun, 25-28 cm, gevşek olarak dizilmiştir. 5-13 çiçekli, rasem 16 cm ve pediseller 6-10 mm dir. Çiçekler daha geniş, 25-30 mm, mor renktedir. Kaliks 8-9 mm, dişler hemen hemen eşit, geniş, en alttakiler ovat- akuminat, tüpün 2/3'ü uzunluğundadır. Stilus obovat- spatül şeklinde, 7 × 3 mm uzunluğundadır. Legümen meyve görünmemiştir. Çiçeklenme 5. ayda olur. Uçurumlarda ve tarlalarda (600-1300 m) yetişmektedir.

1.11.4. *Lathyrus laxiflorus* subsp. *laxiflorus* (Desf.) O. Kuntze

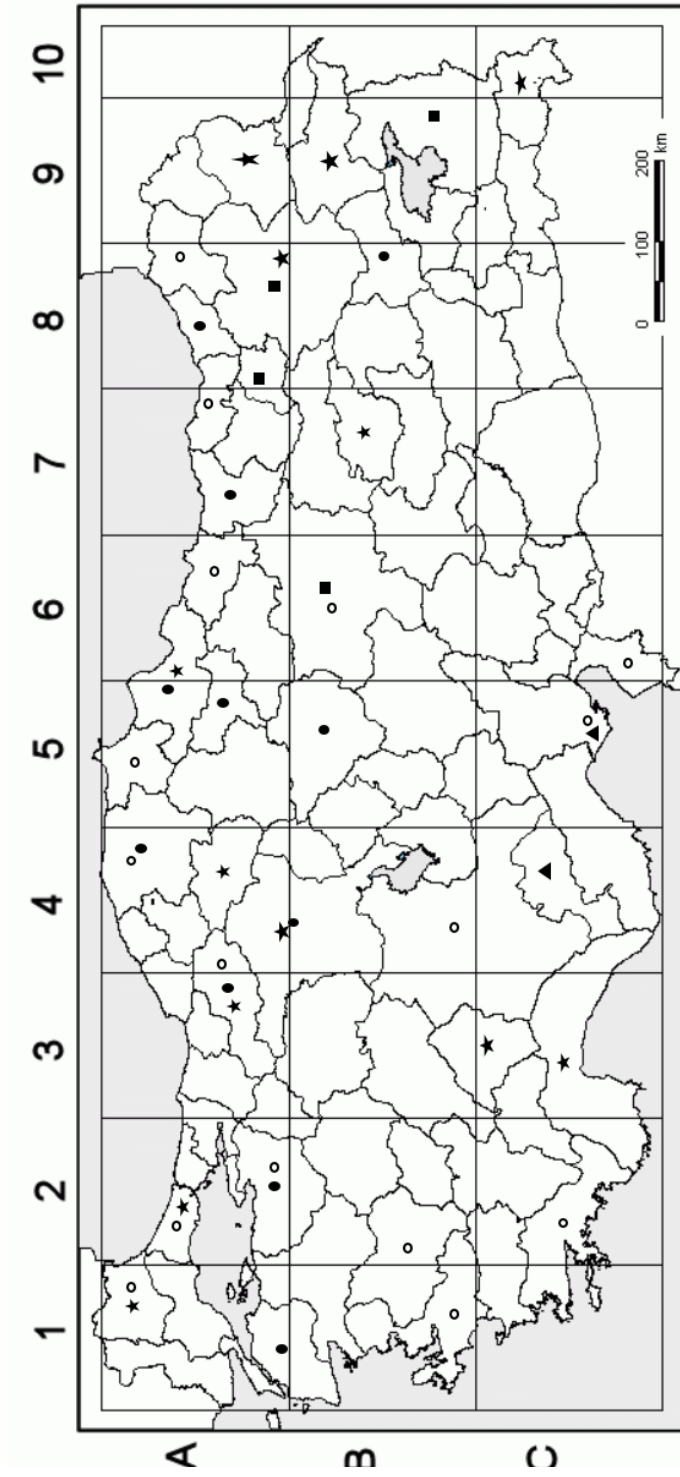
Çok yıllık, yaygın piloz-tüsüz. Gövde köşeli, dallanmış, 15-40 cm, yükselici veya yatık şekilde yayılım gösteren bir bitkidir. Yapraklar kısa aristat (kılçıklı) ya da bazen basit sülüklü bir yapıyla sonlanır. Yaprakçıklar 1 çift, ovat, genişçe eliptik veya lanseolat, akut veya akuminat, 10-40 × 4-18 mm, paralel damarlıdır. Stipüller ovat-akuminat veya bazen ovat-lanseolattır; stipüller yaprakçıklar kadar ve bazen daha geniş olabilir, eşit olmayan sagittattır (oksu). Pedunküller hemen hemen (2-)3-6 çiçekli, yapraklardan daha uzundur. Kaliks 8-13 mm, dişler daralmış lanseolat

şeklinde, tüpten 2-3 kat daha uzundur. Korolla eflâton veya menekşe renginde, 15-20 mm, karına beyazımsıdır. Legümen meyve geniş linear, 30-45 × 4-5 mm, nokta şeklinde salgı tüyler içermekte olup piloz veya nadiren tüysüzdür.

subsp. *laxiflorus*: yaprakçıklar ovat-geniş eliptik, genişliği uzunluğunun üç katından daha az, genişliği yaklaşık stipulalar kadardır. Yapraklar kısa aristat, legümen daima tüylüdür. Ormanlarda ve çalılıklarda (1900 m) yetişmektedir (Davis, 1970).

1.11.5. *Lathyrus pratensis* L.

Çok yıllık, tırmanıcı bir bitkidir. Gövde ana kökten çıkar ve sürünücüdür. 20-60 cm uzunluğunda, tüylü veya tüysüzdür. Yapraklar kıvrımlı, yaprakçıklar bir çift, 10-40 × 1.5-10 mm, daralan eliptik-lanseolat ve damarlar paraleldir. Stipuller ovat-lanseolat, yaprakçıklara göre genellikle daha geniş olup, eşit olmayan sagitat (oksu) şeklindedir. Pedünküller 3-10 çiçekli, yapraklarından daha uzundur. Kaliks 6-9 mm, dişleri eşit değil. Korolla parlak sarı ve 10-16 mm. Legümen meyve linear - oblong, 20-30 × 5-6 mm, tüsüz ya da bazen pubesentir. Tohumlar 4-8(-10) tane ve düzdür. Çiçeklenme 6 ve 7. aylarda gerçekleşmektedir. Çayırılıkta, dere kenarlarında ve çalılıklarda (2300 m) yetişmektedir.



- *Latiphyrus aureus*: Bolu, Kastamonu, Amasya, Ankara, Bursa, Çanakkale, Giresun, Muş, Rize, Samsun, Yozgat
- *Latiphyrus armenus*: Erzurum, Sivas, Van, Bayburt
- ▲ *Latiphyrus cilicicus*: İçel, Karaman
- ★ *Latiphyrus pratensis*: Bolu, İstanbul, Kars, Hakkari, Çankırı, Ağrı, Ankara, Antalya, Erzurum, Isparta, Kırklareli, Samsun, Tunceli
- *Latiphyrus laxiflorus*: Bolu, İstanbul, Kastamonu, Artvin, Bursa, Hatay, İçel, İzmir, Kırklareli, Konya, Manisa, Muğla, Ordu, Sinop, Sivas, Trabzon

Şekil 1.2. Tez konusu olarak çalışılan türlerin Türkiye'de dağılım modeli

1.12. *Lathyrus* Türlerinden İzole Edilen Kimyasal Bileşikler

Lathyrus türleri üzerinde bugüne kadar yapılan fitokimyasal çalışmaların sonucunda izole edilen ve yapıları aydınlatılan bileşikler gruplandırılarak verilmiştir

1.12.1. Fenolik Bileşikler

Lathyrus türlerin polifenol içeriği ve bu bileşiklerin izolasyonu sadece yaygın ve bilinen türler üzerinde yapılmıştır. *L. sativus* türünün tohumlarının % 0.1-5 (a/a) polifenol içerdiği belirlenmiştir. Farklı lokalitelerden toplanan *L. sativus*'dan 39-999 mg/kg polifenol izole edilmiştir, bu fenolik bileşikler genelde tanen olarak depolanmaktadır (Tamburino ve ark., 2012 b). Shahidi ve arkadaşları tarafından (2001) *L. maritimus*'tan (+) kateşin ve (-) epikateşin izole etmiştir (Shahidi ve ark., 2001). *L. maritimus* türünün metanol, % 70 aseton ve % 1 HCl ekstresinden kondanse tanenler elde edilmiştir. Taze yeşil tohum ve kabuklarının (7.19 ve 9.13 g/100 g), olgun tohumlar ve kabuklarının (11.7 ve 2.05 g/100 g) daha az miktarda tanen taşıdıkları saptanmıştır (Chavan ve ark., 2001 b). *L. pratensis* yapraklarından 8 flavonoit glikozidi izole edilmiştir (Reynauld ve ark., 1981). Bir başka çalışmada, 38 *Lathyrus* türünden 36'sında kemferol ve kersetin bulunmuştur. 4 türde kemferol 3-soforozit-7-glukozit tespit edilmiştir. Ayrıca kemferol 3-robinobiozit, 3-soforozit ve 3-latirozit-7-ramnozid majör bileşikler olarak saptanmıştır. Bu çalışmaya göre *L. pratensis* türü flavon, flavonol ve bunlara ek olarak proantosiyanidinler içerdiği için diğer türlerden farklı kimyasal içeriğine sahiptir. İzoflavonlar *L. montanus* türünde bulunmuştur, ancak başka türlerde izoflavon yapısı bulunmamıştır. *L. sativus* tohumlarının (174.91±8.39/100 g) fenolik bileşikler içerdiği ortaya konmuştur (Ranabahu ve Harborne, 1993). *L. maritimus* türünde fenolik asit miktarı, serbest olarak (178 mg/100 g) veya ester yapısında olarak (75 mg/100 g) belirlenmiştir. Rafinoz, stakioz ve verbaskoz gibi şekerlere bağlı olarak ise sırasıyla, % 0.33, % 1.37 ve % 0.73 oranında bulunmuştur. Bitkinin dal ve saplarının % 0.52-% 1.45 oranında tanen elde edilmiştir (Chavan ve ark., 2003). *L. annuus* % 2.17 oranında, *L. cicera* ise %6.33 oranında tanen içermektedir (Koçak ve ark., 2011). Fenolik bileşik

miktarı *L. setifolius*'da 3.8 mg/g, *L. sphaericus*'ta ise 29.2 mg/g olarak bulunmuştur. Genel olarak doğadan toplanan *Lathyrus* türlerinin fenolik madde miktarının kültür formlarına göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Tohum büyüklüğü ve fenolik bileşik miktarının ters orantılı olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni ise küçük tohumlarda kabuk kalınlığının daha fazla olmasıdır. *L. annuus* en yüksek oranda fenolik bileşik miktarına sahip olup; en fazla antioksidan aktivite gösteren türdür (Pastor-Cavada ve ark., 2009).

1.12.2. Azotlu Bileşikler

Lathyrus türlerinde en çok çalışma N-oxalil-2,3-diaminopropiyonik asit (β -ODAP) miktar tayini üzerinde yapılmıştır. Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda *L. sativus* ve *L. latifolius*'tan protein yapısında olmayan amino asitler (β -ODAP) (Bell ve ark., 1996; Wang ve ark., 2000; Fikre ve ark., 2008); β -(2-aminopirimidin-4-il) alanin (Brown, 1996), BMAA (β -N-metil amino-L-alanin) ve DAB (2,4-diamino bütirik asit) izole edilmiştir (Krüger ve ark., 2010). *L. clymenum* ve *L. annuus* türlerinden de alkali ekstraksiyon ile proteinler izole edilip, β -ODAP miktarı tayin edilmiştir. Bu çalışmada protein izolasyonu için jel filtrasyon ve elektroforez gibi yöntemlerden yararlanılmıştır. İzole edilen proteinlerin kimyasal bileşimleri, fonksiyonel özellikleri ve protein karakterizasyonu incelenmiştir. Bu türlerde en çok bulunan protein globülin olarak saptanmıştır. Bunlara ek olarak, bu türlerde sindirilebilir özelliğe sahip protein, amino asit miktarının yüksek olması nedeniyle önem kazanmaktadır. Bu iki tür yüksek miktarda protein içermesi nedeniyle, proteince zengin diyet programlarında kullanılabilir (Pastor-Cavada ve ark., 2010).

Lathyrus türlerinde kükürtlü amino asitler de bulunmaktadır. *L. sativus* β -ODAP miktarı tohum ekstresinden 1-fluoro-2,4-dinitro benzen (FDNB) ile muamele edilip ve ters faz YBSK ile ölçülmüştür (Wang ve ark., 2000).

Chavan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda (2001 a), *L. maritimus* L. tohum, kotiledon ve gövdelerinde bulunan proteinleri poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) yöntemi ile tayin edilmiş; globulin miktarını tohumlarda % 57, kotiledonlarda % 62 ve gövdede % 24 olarak bulunmuştur. Kükürt ihtiva eden amino asit miktarı ise albüminin iki katı olarak bulunmuştur (Chavan ve ark., 2001 a). Amino-4-karboksi pirimidin, lathirin sentetaz olarak bilinmektedir, bu protein *L. tingitanus* türünde bulunmuştur. Bu bileşik kromatografi ve elektroforez yöntemleri ile izole edilip, UV spektroskopisi ve FAB mass spektroskopisi ile yapısı tayin edilmiştir (Brown, 1996). *L. maritimus* yaprakları ve tohumlarında tripsin önleyici protein (417 TIU/g), protein olmayan azotlu bileşikler ve β -N-oxalilamino -L-alanin (BOAA) izole edilmiştir (Chavan ve ark., 2003). *L. latifolius* tohumlarında, LC/MS-MS kullanılarak nörotoksin ve protein olmayan amino asit miktarı, β -N-metilamino- L-alanin (BMAA) ve 2,4-diaminobutirik asit (DAB) ölçülmüştür ve *L. latifolius* tohumlarının 4.21 mg/g DAB içerdiği saptanmıştır (Krüger ve ark., 2010). *L. sativus* tohumları yüksek miktarda protein (25.6 ± 0.20 g/100 g), amino asit (7.92 g/100 g) ve β -ODAP (16.2 ± 0.5 g/100g) taşımaktadır (Tamburino ve ark., 2012 c). Poligalakturonaz inhibitörü proteinler (PGIPs) ekstraselüler, hücre zarına bağlı ve lösince zengin olan proteinlerdir. *L. sativus* tohumlarından bitkinin savunma sisteminde önemli rolü olan yeni bir poligalakturonaz inhibitörü protein (LsPGIP) izole edilmiştir. Bu protein *Aspergillus niger* ve *Rhizopus nigricans* mikroorganizmalarla meydana gelen enfeksiyonu inhibe etmiştir (Tamburino ve ark., 2012 a).

Türkiye'de, yapılan çalışmalarda ise *L. tukhtensis*, *L. cilicicus*, *L. saxatilis*, *L. annuus*, *L. hierosolymitanus*, *L. gorgoni* var. *gorgoni*, *L. lycicus*, *L. odoratus*, *L. aphaca* var. *pseudo phaca*, *L. sphaericus*, *L. aureus* ve *L. cicera* türlerinin protein ve ODAP içerikleri araştırılmıştır (Emre, 2009; Emre ve ark., 2010 b; Karadeniz ve ark., 2010). Ayrıca *Lathyrus tukhtensis*, *L. cilicicus*, *L. saxatilis*, *L. annuus*, *L. hierosolymitanus*, *L. gorgoni* var. *gorgoni*, *L. lycicus* ve *L. odoratus* türlerin tohumlarında bulunan proteinler elektroforez ile tayin edilmiştir. *L. lycicus*'un 79.906 μ g/ml oranda en yüksek, *L. cilicicus*'un ise 65.860 μ g/ml oranda en düşük protein içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir (Emre ve ark., 2010 b). *L. annuus*

(%26.1), *L. cicera* (% 23.1) türlerinin protein içerdiği belirlenmiştir (Kocak ve ark., 2011).

1.12.3. Yağ Asitleri

L. sativus tohumlarında linoleik ve linolenik asit (1.67 ± 0.18 g/100 g) doymamış yağ asitleri bulunmaktadır (Tamburinove ark., 2012 b). Gaz kromatografisi ile olgun *Lathyrus* tohumlarından elde edilen yağ asitleri tayin edilmiş ve tohumların palmitik asit ve stearik asit içerdiği saptanmıştır. Doymamış yağ asidi, olarak ise oleik asit, linoleik asit ve α -linolenik asit bulunmuştur. Oleik asit *L. boissieri* (% 34,1) ve *L. inconspicuus* (% 24,5) türlerinde diğer türlerden daha fazla bulunmuştur. *L. clymenum* (% 66,7) ve *L. ochrus* (% 73,6) türlerinde yüksek miktarda doymamış yağ asitleri bulunmaktadır (Emre ve ark., 2010 a). *L. annuus* türü miristik asit, palmitik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit, linolenik asit, araşidik asit içermektedir. Toplam doymuş yağ asitleri miktarı % 24.68, doymamış yağ asitleri oranı ise % 75.45'tir. *L. cicera* türü miristik asit, palmitik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit, linolenik asit, araşidik asit, gadoleik asit, behenik asit, lignoserik asit içermektedir ve toplam doymuş yağ asitleri miktarı % 24.92, doymamış yağ asitleri oranı ise % 74.02 dir (Koçak ve ark., 2011). *L. boissieri* sirj. ve *L. laxiflorus subsp. laxiflorus* yağ asidi bileşenlerinin analizi ve karşılaştırılması yapılmıştır. Yağ asidi bileşenlerinin gaz kromatografik analizi sonucunda miristik (C14: 0), palmitik (C16: 0), stearik (C18: 0), oleik (C18: 1), linoleik (C18: 2), linolenik (C18: 3), arasidik (C20: 0) ve behenik (C22: 0) asitler tespit edilmiştir. Ayrıca, bu bitkilerin doymuş yağ asitlerini doymamış yağ asitlerine oranla daha fazla ihtiva ettiği açıklanmıştır (Emre ve ark., 2010 a).

1.12.4. Terpenik Bileşikler:

Triterpen glikozit yapısında iki bileşik, *L. ratan* ve *L. aphaca* tohumlarından izole edilmiştir. Bu bileşikler saponozit yapısında 3-O- $[\beta$ -D-glukuronopiranozil-

(1 → 4)- α -L-arabinopiranozil-(1 → 2)- α -L-arabinopiranozil]-olean-11,13(18)-dien-28-oik asit (% 77.8) ve ikinci 3-O- $\{\beta$ -D-ksilopiranozil-(1 → 2)- β -D-glikopiranozil-(1 → 4)- β -D-glukopiranozil-(1 → 2)- β -D-ksilopiranozil}-2,16 α -dihidroksi-4-hidroksi metil urs-12-en-28-oik asit (% 53.9) olup *Colletotrichum dematium*'a karşı antifungal etki göstermektedir (Khan, 2011). *L. rotundifolius* türünden su distilasyonu ile uçucu yağ elde edilmiştir. GC ve GC-MS sonuçlarına göre %98.1 oranında bileşikler tanımlanmıştır. Yağ, timol (% 41.3), 8-sedren-13-ol asetat (% 40.9) ve *p*-simen-8-ol (% 5.3) taşımaktadır (Tajbakhsh ve ark., 2008). *L. odoratus*'un uçu yağı fazla miktarda (E)- β -osimen ve linalol içermektedir (Porter ve ark., 1999). *L. ochrus* L. uçucu yağında da fitol (49.39 ± 0.44 %), hegzadekanoik asit (20.64 ± 0.89) ve pentakosan (4.20 ± 0.09 %) içermektedir (Polatoğlu ve ark., 2015). *L. vernus*'un çiçek, yaprak ve dallardan elde edilen uçucu yağının ana bileşikleri, sırası ile, palmitik asit (% 34,2-35,3) ve 1-okten-3-ol (% 49.8) olarak tespit edilmiştir (Iskender ve ark., 2009).

1.12.5. Diğer bileşikler:

L. sativus askorbik asit (13.50 ± 0.30 mg/100 g), glutatyon (15.90 ± 0.10 mg/100 g) ve fitik asit (206.70 ± 8.30 μ g/100 g) içermektedir (Tamburinove ark., 2012). *L. maritimus*'un gövdeleri % 36.85- 37.13 lif ve kotiledonları % 2.83, 2.99- 3.08 lif taşımaktadır. Fitik asit ise kotiledonlarda daha fazla miktarda bulunmaktadır (Chavan ve ark., 2001 b). *L. sativus*'un etanol ekstresinden alkaloid, tanen, steroid, zambak, askorbik asit ve glikozitler izole edilmiştir (Islam, 2012). *L. maritimus* çeşitli fosforlu bileşikler (88 mg/100g), oligosakkaritler (rafinoz %33, stakioz %1.73 ve verbaskoz % 0.73), fitik asit (42 mg/100g) taşımaktadır (Chavan ve ark., 2003).

Çizelge 1.3. *Lathyrus* türlerinden izole edilmiş kimyasal bileşikler

Tür	Kullanılan kısım	Bileşik	Kaynak
<i>L. latifolius</i>	Yaprak, gövde, tohum	DAB, β -ODAB, γ -ODAP, HS and OHS, BMAA, Kersetin, kafeik asit, ferulik asit	(Bell ve ark., 1996; Krüger ve ark., 2010, Pecket, 1959)
<i>L. cicera</i>	Tohum, yaprak	ODAP, yağ asit, kersetin, kemferol	(Mullan ve ark., 2009, Hanbury ve ark., 2000; Pecket, 1958.)
<i>L. sativus</i>	Tohum, herba	β -ODAP, homoarginin, asparagin, arginin, aspartik asit, glutamik asit, β -N-oksalil amino-L-alanin (BOAA), β -N-metil amino-L-alanin (BMAA), oksalik asit, diamin oksidaz, yağ asidi, kersetin, kemferol	(Rao, 1978; Moges ve ark., 1994; Zhao ve ark., 1999; Wang ve ark., 2000; Grela ve ark., 2001; Krüger ve ark., 2010; Piergiorgio ve ark., 2011; Basaran ve ark., 2013), (Pecket, 1959; Rao ve ark., 1964; Hanbury ve ark., 2000; Yan ve ark., 2004; Calinescu ve ark., 2010; Mahler-Slasky ve Kislev, 2010)
<i>L. cicera</i>	Yaprak, tohum	ODAP, α,γ -diaminobütirik asit, α,β -diamino-propiyonik asit (DAP)	(Mullan ve ark., 2009; Karadeniz ve ark., 2010)
<i>L. tingitanus</i> L.	Tohum	2-amino-4-karboksi pirimidine, latirin, 2-amino pirimidin-4-ilalanine, L-homoargenin, γ -hidroksi homoargenin, kersetin, kemferol, kafeik asit, ferulik asit	(Bell, 1964; Brown, 1996, Pecket, 1959)
<i>L. cyanus</i>	Tohum	Latirin, 2-amino pirimidin-4-ilalanine, L-homoargenin, γ -hidroksi homoargenin	(Bell, 1963)
<i>L. aphaca</i>	Tohum, yaprak	Latirin, 2-amino pirimidin-4-ilalanin, L-homoargenin, γ -hidroksi homoargenin, Kersetin, kafeik asit, ferulik asit	(Bell, 1963, Pecket, 1959)
<i>L. sphaericus</i>	Tohum	Latirin, 2-amino pirimidin-4-ilalanin, L-homoargenin, γ -hidroksi homoargenin	(Bell, 1963)

Çizelge 1.3. Deveam. *Lathyrus* türlerinden izole edilmiş kimyasal bileşikler

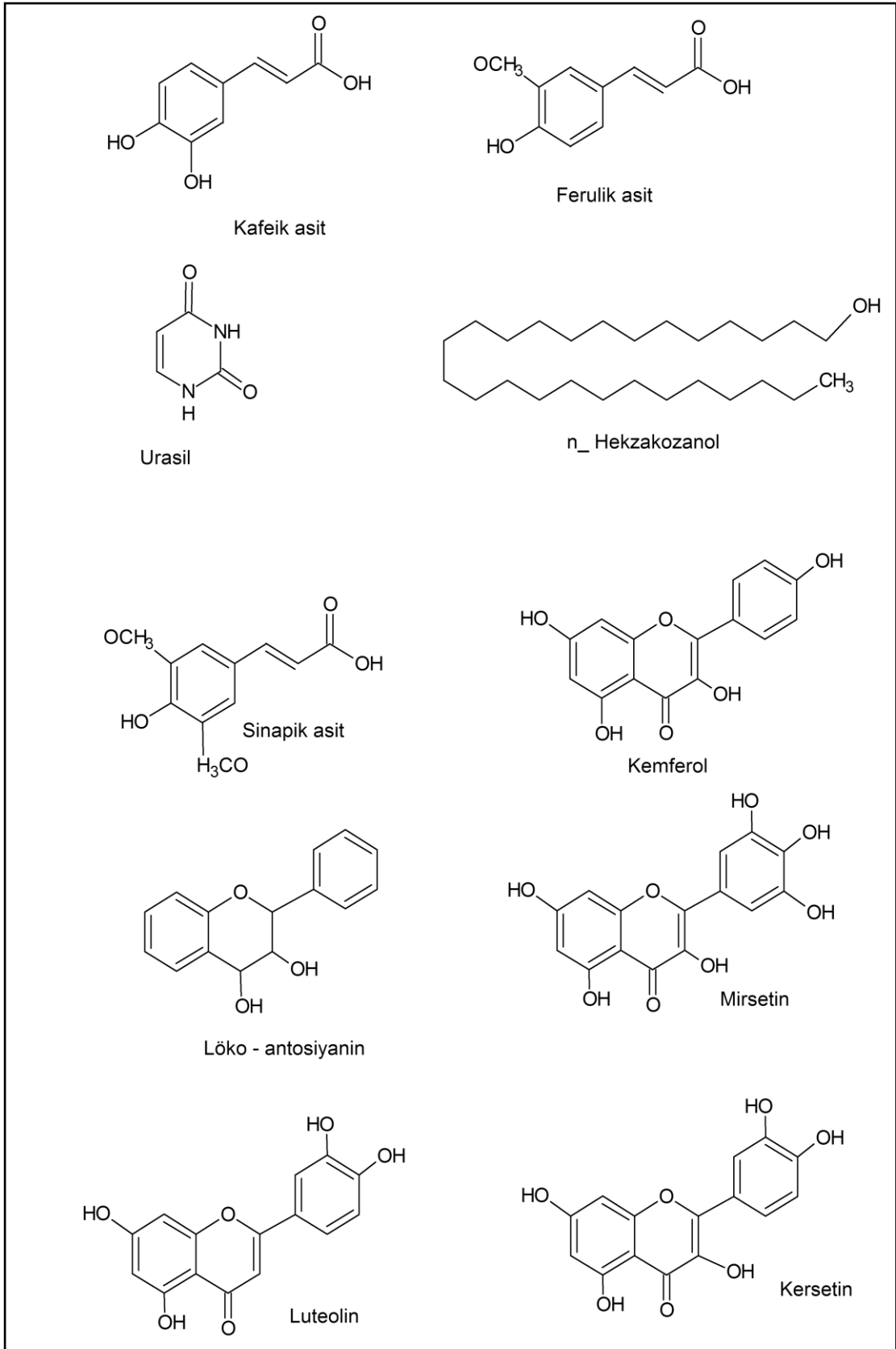
<i>L. ochrus</i>	Tohum	Lektin	(Rougé ve Sausa-Lavada, 1984)
<i>L. clymenum</i>	Tohum, yaprak	α,γ -diaminobütirik asit, β -ODAP, kersetin, kemferol	(Chavan ve ark., 2001 a, Pecket, 1959)
<i>L. sylvestris</i> L.	Herba	2,4-diaminobütirik asit	(Shen ve ark., 1989)
<i>L. spaericus</i>	Tohum	Lektin	(Richardson ve ark., 1987)
<i>L. annuus</i> L.	Yaprak, tohum	β -ODAP, kersetin, kemferol, kafeik asit, ferulik asit	(Pecket, 1959, Pastor-Cavadave ark., 2010)
<i>L. hirsutus</i> L.	Yaprak	Kersetin, kemferol, kafeik asit, ferulik asit	(Pecket, 1959)
<i>L. odoratus</i> L.	Yaprak	Kersetin, kemferol, kafeik asit, ferulik asit, siyanidin-3- glikosit, siyanidin 3,5 gliko-galaktozit, malvidin 3,5 diglikozit ve delfinidin 3,5 diglikozit	(Pecket, 1959; Mohamed, 2008)
<i>L. rotundifolius</i> Willd	Yaprak	Kersetin, kemferol, kafeik asit, ferulik asit	(Pecket, 1959)
<i>L. tuberosus</i> L.	Yaprak	Kersetin, kemferol, kafeik asit, ferulik asit	(Pecket, 1959)
<i>L. grandiflorus</i> Sibth. et Sm.	Yaprak	Kersetin, kemferol, ferulik asit	(Pecket, 1959)

Çizelge 1.3. Deveam. *Lathyrus* türlerinden izole edilmiş kimyasal bileşikler

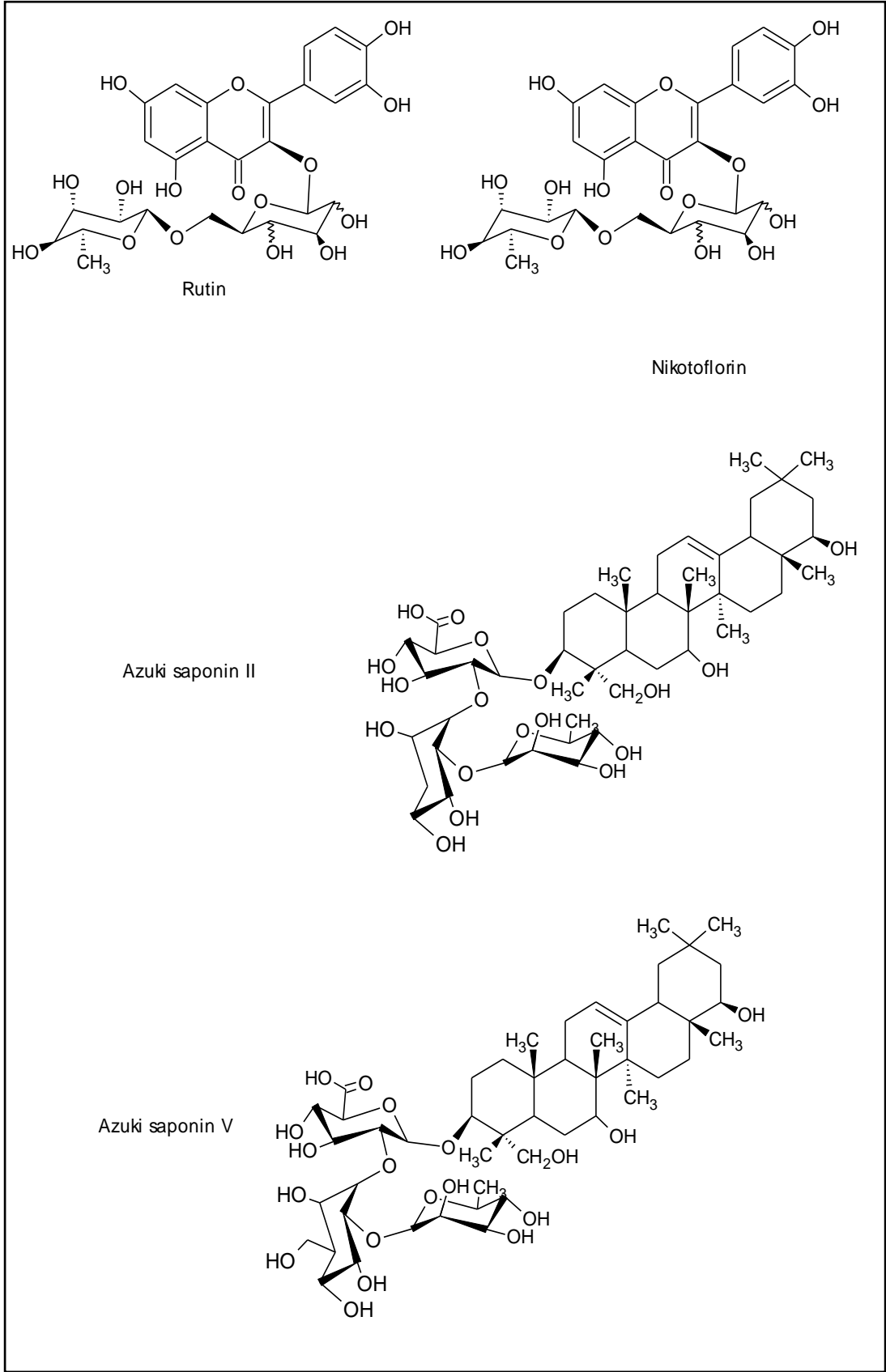
<i>L. angulatus</i> L.	Yaprak	Kersetin, kemferol, Kafeik asit, ferulik asit	(Pecket, 1959)
<i>L. palustris</i> L.	Yaprak	Kersetin, kemferol, kafeik asit, löko kntosiyenin	(Pecket, 1959)
<i>L. setifolius</i> L.	Yaprak	Kersetin, kemferol	(Pecket, 1959)
<i>L. pisiformis</i> L.	Yaprak	Kemferol, ferulik asit	(Pecket, 1959)
<i>L. sphaericus</i> Retz.	Yaprak	Kemferol, ferulik asit	(Pecket, 1959)
<i>L. sylvestris</i> L.	Yaprak	Kersetin, kafeik asit, ferulik asit	(Pecket, 1959)
<i>L. montanus</i> (L.) Bernh.	Yaprak	Kersetin, kemferol, ferulik asit	(Pecket, 1959)
<i>L. nissolia</i> L.	Yaprak	Kemferol, ferulik asit	(Pecket, 1959)
<i>L. luteus</i> Munby	Yaprak	Kemferol, kafeik asit, ferulik asit	(Pecket, 1959)
<i>L. articulatus</i> L.	Yaprak	Kersetin, kemferol, ferulik asit	(Pecket, 1959)
<i>L. ochrus</i> DC.	Yaprak	Kersetin, kemferol	(Pecket, 1959)

Çizelge 1.3. Deveam. *Lathyrus* türlerinden izole edilmiş kimyasal bileşikler

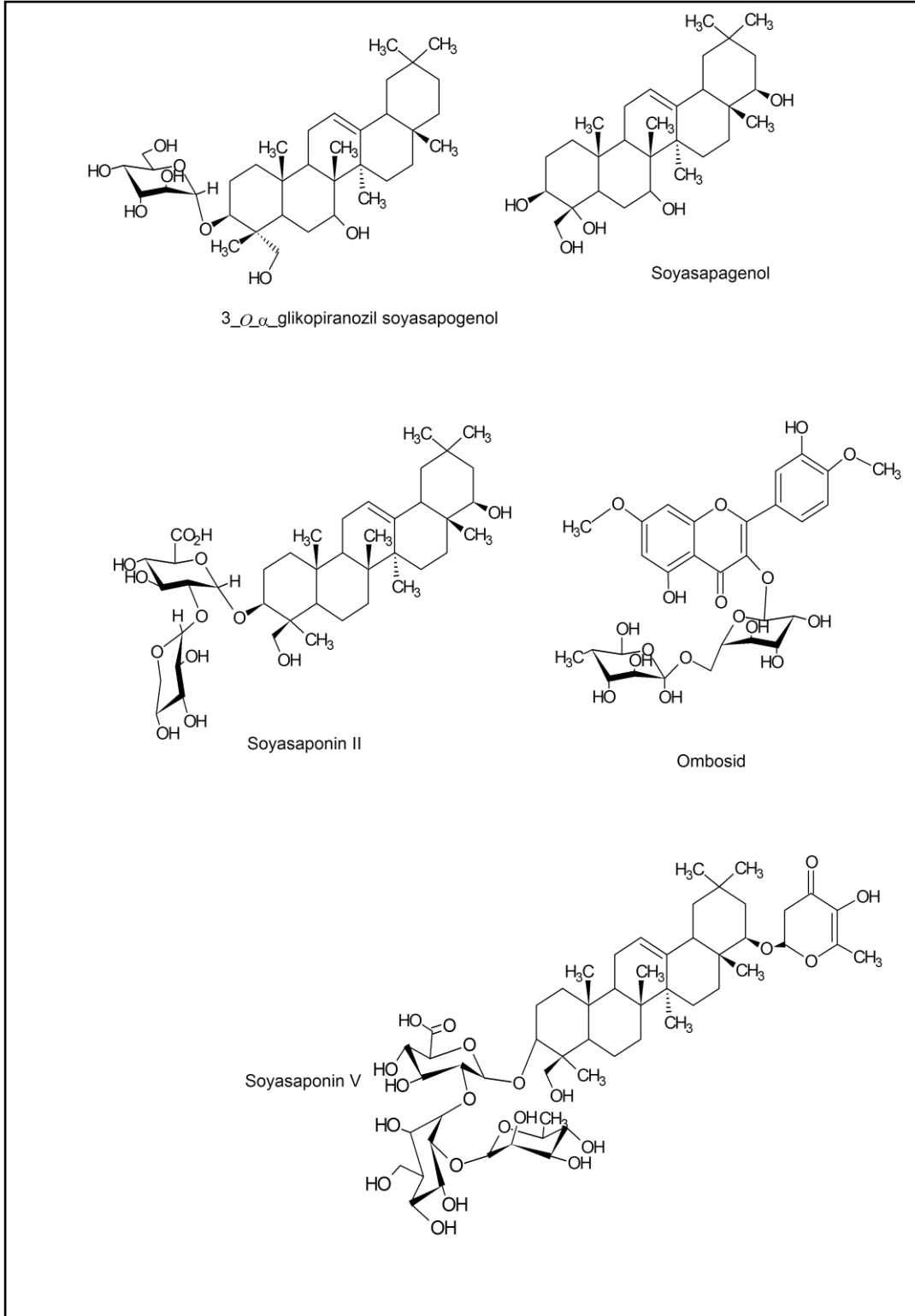
<i>L. pratensis</i>	Herba	Luteolin, luteolin 4'- <i>O</i> -8-D-glukopiranosid, (kersetin 3- <i>O</i> - β -D- glukopiranozit), (kersetin 3- <i>O</i> -rutinosid), kersetin, kemferol, kafeik asit, kersetin 3-diglukozit, mirisetin 3-arabinozit, mirisetin 3-diglukozit, kersetin 3- arabinosit, kersetin 3-glukozit, kemferol 3- glukozit	(Pecket, 1959; Reynauld ve ark., 1981; Ikramov ve ark., 1990)
<i>L. davidii</i>	Tüm bitki	<i>n</i> -heksakosanol, astragalin, izo kersetin, nikotiflorin, rutin, 3- <i>O</i> - β -D-glükopiranosil soyasapogenol β metil ester, urasil, 4- <i>O</i> - β -D- glükopiranosil sinapik asit metil ester, Soyasaponin IV metil ester, azukisaponin II metil ester, ombuoside, soyasaponin II Metil ester, azukisaponin V metil ester	(Park ve ark., 2008)
<i>L. japonicus</i>	Yaprak	Kersetin, kemferol, azukisaponins II ve V, soyasapagenol	(Kang ve ark., 1998; Ohtsuki ve ark., 2013)
<i>L. maritimus</i> L.	Tohum	Fenolikler, tanninler, oligosakkaritler, kersetin, kafeik asit, ferulik asit	(Pecket, 1959; Chavan ve ark., 1999; Chavan ve ark., 2013)
<i>L. davidii</i>	Tüm bitki	<i>n</i> -heksakosanol, astragalin, izo kersetin, nikotiflorin, rutin, 3- <i>O</i> - β -D-glükopiranosil soyasapogenol β metil ester, urasil, 4- <i>O</i> - β -D- glükopiranosil sinapik asit metil ester, Soyasaponin IV Metil Ester, Azukisaponin II metil ester, ombuoside, soyasaponin II Metil ester, azukisaponin V metil ester	(Park ve ark., 2008)
<i>L. japonicus</i>	Yaprak	Kersetin, kemferol, Azukisaponins II ve V, Soyasapagenol	(Kang ve ark., 1998; Ohtsuki ve ark., 2013)
<i>L. vemus</i> Bernh.	Yaprak	Kemferol, ferulik asit	(Pecket, 1959)
<i>L. niger</i> (L.) Bernh.	Yaprak	Kemferol	(Pecket, 1959)



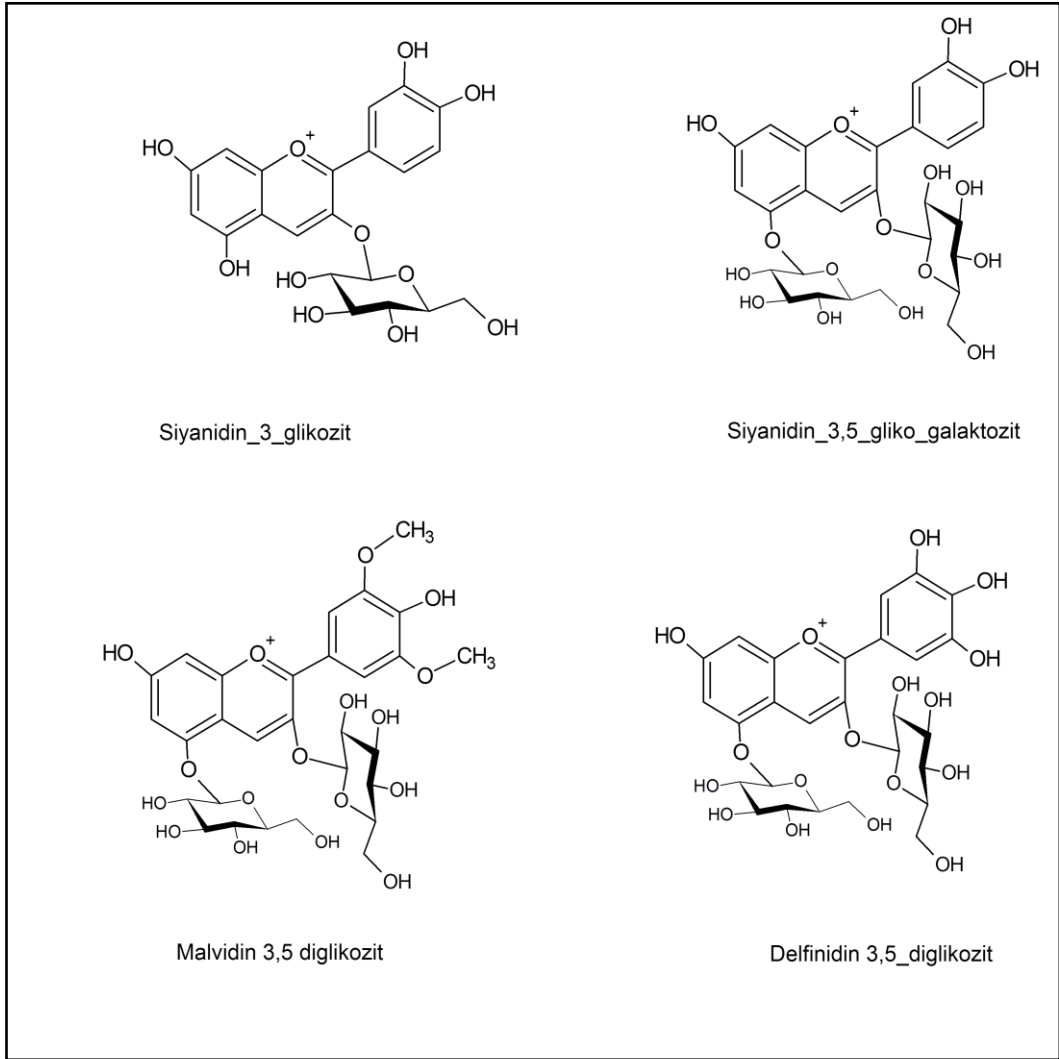
Şekil 1.3. *Lathyrus* türlerinden izole edilmiş bazı bileşiklerin kimyasal yapıları



Şekil 1.3. *Lathyrus* türlerinden izole edilmiş bazı bileşiklerin kimyasal yapıları



Şekil 1.3.Devam. *Lathyrus* türlerinden izole edilmiş bazı bileşiklerin kimyasal yapıları



Şekil 1.3. Devam. *Lathyrus* türlerinden izole edilmiş bazı bileşiklerin kimyasal yapıları

1.13. *Lathyrus* Türlerinin Biyoaktivitesi

Son yıllarda polifenollerin antioksidan etkileri üzerinde çalışmalar çoğalmıştır ve hastalık önleme özellikleri odak noktası haline gelmiştir. 4.000 'den fazla farklı polifenolik bileşik bulunmaktadır.

Flavonoitler, antioksidan özelliklerini gösterebilmek için, serbest radikallerle reaksiyona girerek onları etkisiz hale getirirler. Flavonoitlerin etki mekanizmalarını şu şekilde açıklanmaktadır:

- a) Süperoksit radikalini (O_2^{\bullet}), hidroksil radikalini (OH^{\bullet}) ve oksijeni (O_2) temizler.
- b) Peroksil radikalini (ROO^{\bullet}) ve alkoksil radikalini (RO^{\bullet}) yakalar, lipid peroksil (LOO^{\bullet}) zincirini kırar.
- c) Siklooksigenaz ve lipooksigenaz enzimlerini inhibe eder.
- d) Demir ve bakır gibi geçiş metallerini şelatlar.
- e) Enzim fonksiyonlarına bağımlı kalsiyum modülasyonu ile hücrel regülasyonda önemli bir rol oynayan küçük bir asidik protein olan kalmodülünü inhibe eder.
- f) Protein kinaz enzimini inhibe eder.
- g) Laktat transportunu engeller.

Flavonoitlerin serbest radikal yakalama ve antioksidan özellikleri yapılarında bulunan üç fonksiyonel gruptan ileri gelmektedir:

- a) B halkasındaki o-dihidroksi (kateşol) grubu (radikal hedef yeri).
- b) C halkasındaki 4-okso grubu ile 2-3 çift bağı (elektron delokalizasyonu için gereklidir.)
- c) 3 ve 5 hidroksil grupları (en çok radikal yakalama ve metal şelatlama için gereklidir.)

Flavonoitlerin antioksidan etkileri yanında diğer önemli biyolojik etkileri olduğu da bilinmektedir:

- 1) Antitümör
- 2) Antiviral
- 3) Antitrombotik
- 4) Antienflamatvar
- 5) Antiallerjik
- 6) Aterosklerozis ve kronik kalp hastalıklarından koruyucu etkisi
- 7) Vazodilatasyon etkisi
- 8) Hücrel immüitenin sitümülasyon etkisi (Kahraman ve ark., 2003; Çapanoğlu Güven ve ark., 2010).

Yapılan çalışmalara göre *Lathyrus* türleri farklı biyolojik aktiviteler göstermektedir.

Çizelge 1.4. *Lathyrus* türlerinin farklı biyolojik aktiviteleri

Tür	Bitkinin kullanılan kısmı	Biyoaktivite	Kaynak
<i>L. binatus</i>	Herba	Antioksidan Aktivite	(Godevac ve ark., 2008)
<i>L. ratan</i>	Tohum	Antibakteriyel Aktivite	(Khan, 2011)
<i>L. aphaca</i>	Tohum	Antibakteriyel ve Antioksidan Aktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009;Khan, 2011)
<i>L. sativus</i>	Tohum	Antioksidan, Antibakteriyel ve Sitotoksiste Aktivite	(Akhtar ve ark., 1997;Chavan ve ark., 1999;Grelave ark., 2001;Kusama-Eguchi ve ark., 2004;Mishra ve ark., 2009;Pastor-Cavadave ark., 2009)
<i>L. maritimus L.</i>	Kabuk, tohum	Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivite	(Chavan ve ark., 1999;Shahidive ark., 2001)
<i>L. odoratus L.</i>	Tohum, petal	Antibakteriyel Aktivite	(Akhtarve ark., 1997;Bhardwaj, 2012)
<i>L. pratensis</i>	Bitkinin tüm kısmı	Antifungal Aktivite, Antioksidan Aktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009;Arabi ve Sardari, 2010)
<i>L. hirsutus</i>	Tohum	Antioksidan Aktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009)
<i>L. filiformis</i>	Tohum	Antioksidan Aktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009)
<i>L. cicera</i>	Tohum	Antioksidan Aktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009)
<i>L. angulatus</i>	Tohum	Antioksidan Aktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009)
<i>L. sphaericus</i>	Tohum	Antioksidan Aktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009)
<i>L. annuus</i>	Tohum, herba	Antioksidan ve Sitotoksiste Aktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009; Khalighi- Sigaroodi ve ark., 2012)
<i>L. clymenum</i>	Tohum	AntioksidanAktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009)
<i>L. ochrus</i>	Tohum	Antioksidan Aktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009)
<i>L. latifolius</i>	Tohum	Antioksidan Aktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009)
<i>L. setifolius</i>	Tohum	AntioksidanAktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009)
<i>L. tingitanus</i>	Tohum	Antioksidan Aktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009)
<i>L. amphicarpos</i>	Tohum	Antioksidan Aktivite	(Pastor-Cavadave ark., 2009)
<i>L. sativus var. stenophyllus</i>	Herba	Sitotoksiste Aktivite	(Khalighi-Sigaroodive ark., 2012)
<i>L. karsianus</i>	Herba	Antibakteriyel Aktivite	(Özkan ve ark., 2014)
<i>L.laxiflorus</i>	Herba	Antioksidan Aktivite	(Spanou ve ark., 2007; Spanou ve ark., 2010)

1.13.1.1. Fitokimyasal Çalışmaları

1.13.1.2. Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi (Folin-Ciocalteu Total Fenol)

Bitkilerde fenolik madde miktarlarının analizi fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu çözeltisinde bulunan fosfotungstik ve fosfomolibdik asitlerin kompleks polimerik iyonları ile oksidasyonu sonucunda oluşan mavi renkli molibden-tungsten kompleksinin konsantrasyonunun 750 nm dalga boyunda ölçülmesi ilkesine dayanan spektrofotometrik bir yöntemdir. Ancak, bu yöntemle elde edilen verilerle bitkilerin antioksidan aktivitesi ile ilgili yorumlama yapılabilmesi mümkün olmaktadır. Ekstrelerin içerdikleri toplam fenoller gallik asite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak hesaplanmaktadır (Slinkard ve Singletan, 1977).

1.13.1.3. Toplam Flavonoit İçeriğinin Belirlenmesi

Alüminyum klorür kolorimetrik metodu ile belirlenmiştir. Metodun prensibi, $AlCl_3$ 'ün flavonlar ve flavonollerin C-4 keto grubu ve C-3 veya C-5 hidroksil grupları ile asitte kararlı kompleksler oluşturması esasına dayanmaktadır. Buna ek olarak, $AlCl_3$, flavonoitlerin A- veya B- halkalarının orto-dihidroksil grupları ile kompleks oluşturur. Standart olarak kersetin kullanılmaktadır.

1.13.1.4. 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) stabil organik nitrojen radikalidir. 517 nm'de maksimum absorbansa sahiptir. Molekülde bir serbest elektronun yer değiştirmesi menekşe renginin oluşmasına neden olur. DPPH solüsyonu hidrojen atomu verebilen madde (antioksidan) ile karıştırıldığı zaman koyu menekşe rengin kaybı ile indirgenmiş form oluşur. Antioksidan (A-H) tarafından DPPH serbest radikale proton transferi reaksiyonu 517 nm'de absorbansın azalmasına neden olur.

Bu süreç görünür alanda spektrofotometre ile absorbans sabitlenene kadar takip edilir. DPPH-H indirgenmiş formdur. "A" ise ilk adımda oluşturulan serbest radikaldir. Bu yöntem bitkiler ve gıdalardan elde edilen ekstraler ya da bileşiklerdeki serbest radikal söndürücü aktiviteyi belirlemek için araştırmacılar tarafından yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Teknik olarak basit ve hızlı bir yöntemdir. Fakat uygulamasını sınırlandıran bazı dezavantajlara sahiptir. Uzun ömürlü nitrojen radikali olan DPPH, lipid peroksidasyonu ile ilişkili olan hayli reaktif ve kısa ömürlü peroksil radikallerine benzerlik göstermez. Peroksil radikalleri ile hızla reaksiyona giren birçok antioksidan DPPH ile yavaş reaksiyona girebilir, hatta hiç reaksiyona girmeyebilir (Gordon, 2001; Albayrak ve ark., 2010).

1.13.1.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

1.13.1.5.1. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, antimikrobiyal bir ajanın belli bir bakteri türüne karşı *in-vitro* etkinliğini saptamak amacıyla uygulanan testlerdir. Klinikte antimikrobiyal tedavinin, duyarlılık testlerinin sonuçlarına göre belirlenmesi esastır. Ancak bazı durumlarda etiyolojik ajanın üremesi ve duyarlılığının belirlenmesi beklenmeden ampirik tedavi protokolleri uygulanabilir. Ampirik tedavi protokollerini belirlemede belli bir bölge veya hastane de önceden belirlenmiş duyarlılık sonuçları göz önüne alınmaktadır.

1.13.1.5.2. Dilüsyon testleri

Dilüsyon testleri, bir antimikrobiyal ajanın bir mikroorganizmanın üremesini inhibe etmek veya öldürmek için gerekli olan minimum konsantrasyonunu belirlemek için uygulanır. Dilüsyon testleri "tüp dilüsyon" ve "agar dilüsyon" olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır.

1.13.1.5.3. Tüp dilüsyon

Tüp dilüsyon "makro" ve "mikro" olmak üzere iki şekilde uygulanabilir. Her iki yöntemin de prensibi aynıdır. Makrodilüsyonda test tüpleri, mikrodilüsyonda ise "U" ya da "V" tabanlı "mikroplate"ler kullanılır.

Test edilecek olan ekstreler önce uygun çözücüler içinde hazırlanır ve takiben bu sıvı besiyerinde iki kat azalan dilüsyonları yapılır. Mikroorganizmanın standart birinokülumu (1×10^6 CFU/ml) hazırlanıp, antimikrobiyal ajanın çeşitli dilüsyonlarını içeren her bir tüpe eşit miktarlarda eklenir. Ayrıca antibiyotik içermeyen, üremenin göstergesi olan kontrol tüpüne de eklenir. Bakteri inoküle edilmemiş, sadece besiyeri konmuş bir tüp veya çukur da besiyeri kontrolü olarak hazırlanır. Besiyerleri 35°C'de bir gecelik inkübasyondan sonra bakteri üremesini gösteren bulanıklık yönünden incelenir. Bakterinin üremesini önleyen, gözle görünür bir bulanıklığın olmadığı en düşük ilaç konsantrasyonu, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirilir (Wayne ve ark., 2009).

1.13.1.6. Antienflamatuvar Aktivite

Enflamasyon; canlı dokuların hasarlara karşı sistemik ve lokal bir patofizyolojik tepkisidir. Enflamasyon plazma ve kan hücrelerinin akümülyasyonuna neden olur. Vücudun enfeksiyonlara, toksik kimyasallara ve alerjenlere karşı bir savunma mekanizması olmasına rağmen hasara uğrayan bölgede enflamasyon birçok hastalığa neden olabilir. Antienflamatuvar tedavisinde non-steroidal (steroid-olmayan) veya kortikosteroid ilaçlar kullanılmaktadır.

Araştırmalara göre aspirin, diklofenak, ketorolak, naproksen ve ya nimesulit gibi antienflamatuvar ilaçlar mide ve bağırsak kanamasını arttırma riski taşımaktadır.

Antienflamatuvar tedavisinde kullanılan bir çok ilaç, prostaglandin ve tromboksan sentezine neden olan siklooksijenaz (COX), COX-1 ve COX-2

lizozomal enzimi inhibe ederek ve ya lizozomal membranı stabilize ederek etki göstermektedir.

Dünyada birçok insan geleneksel tıp ve bitkisel ilaçları kullanılmaktadır. Enflamasyon tedavisinde de antienflamatuvar ilaçlara ek olarak bazı tıbbi bitkiler de kullanılmaktadır.

Aktif oksijen grupları; hidroksil radikali, süperoksit anyonu ve peroksinitrit radikallerinin enflamasyon sürecinde etkili olduğu ispatlanmıştır. Bu aktif oksijen grupları hücrenin biyo moleküllerde (proteinler, nükleik asitler, karbonhidratlar ve lipitler) hasarın artmasına neden olup ve bu da enflamasyonun artmasına neden olur. Bu nedenle antioksidant aktivitesi olan bileşiklerin, antienflamatuvar potansiyeli taşımaktadır. Ancak yeni antienflamatuvar ilaçların gelişmesinde ve üretiminde daha çok etkili ve daha az toksik olması söz konusudur. Tıbbi bitkiler antienflamatuvar etkili bileşikler için potansiyel kaynaklar olarak düşünülmektedir.

Bitki ekstraları lizozomal membranı stabilize ederek antienflamatuvar etkiye neden olmaktadır. Bu etki hipotonisiteyi inhibe ederek, eritrosit membranın parçalanmasını engeller ve antienflamatuvar etkiye neden olur. Eritrosit membran lizozomal membranın analogudur ve bu bitki ekstraları lizozomal membranın stabilize edilmesi anlamına gelmektedir. Bazı antienflamatuvar ilaçlar (NSAID) ozmotik basıncı azaltarak, hücrenin elektrolitlerinin kaybetmesine neden olmaktadır. Bitki ekstraları bu işlemi önleyerek etkilerini göstermektedir (Shirwaikar ve ark., 2011; Singh ve ark., 2012; Gadamsetty ve ark., 2013; Nagaharika ve Rasheed, 2013).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Bitkisel Materyal

Bu çalışmada *L. armenus*, *L. aureus*, *L. cilicicus*, *L. laxiflorus* subsp. *laxiflorus* ve *L. pratensis* türlerinin kurutulmuş toprak üstü kısımları kullanıldı. Herbaryum için seçilen örnekler preslenip kurutulduktan sonra teşhis edilerek (Yrd. Doç. Mehmet Tekin) Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu ve Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumuna kaldırıldı.

L. armenus (Boiss & Huet) Sirj (Endemik)

Toplanan kısım	Toprak üstü
Toplandığı lokalite	B6: Sivas, Cumhuriyet Üniversitesi kampüs girişi, tarla kenarı
Rakım	1261 m, 39° 42' 36,8" N 37° 00' 44,8" E
Herbaryum No.	M.Tekin 1278 & AEF 26680
Toplama tarihi	26.06.2012

L. aureus (Stev.) Brandza

Toplanan kısım	Toprak üstü
Toplandığı lokalite	B6: Sivas, Yıldızeli ilçesi, Güneykaya beldesi, Demirözü Köyü göleti yakını
Rakım	1565 m, 40° 11' 36,7" N, 36° 51' 37,4" E
Herbaryum No.	M.Tekin 1277 & AEF 26684
Toplama tarihi	25.06.2012

L. cilicicus Hayek & Siehe (Endemik)

Toplanan kısım	Toprak üstü
Toplandığı lokalite	C4: Karaman: Ermenek-Mut yolu, 10-20. kilometreleri arası, yol kenarı
Rakım	981 m, 36 ⁰ 36' 36,8" N, 32 ⁰ 58' 54,4" E
Herbaryum No.	M.Tekin 1210 & AEF 26681
Toplama tarihi	22.05.2012

Lathrus laxiflorus subsp. *laxiflorus* (Desf.) O. Kuntze

Toplanan kısım	Toprak üstü
Toplandığı lokalite	B6: Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi kampüs girişi, tarla kenarı
Rakım	1261m, 39 ⁰ 42' 36,8" N, 37 ⁰ 00' 44,8" E
Herbaryum No.	M.Tekin 1274 & AEF 26682
Toplama tarihi	26.06.2012

Lathyrus pratensis L.

Toplanan kısım	Toprak üstü
Toplandığı lokalite	B6: Sivas: Yıldızeli ilçesi, Güneykaya beldesi, Demiröz köyü göleti yakını
Rakım	1565 m, 40 ⁰ 11' 36,7" N, 36 ⁰ 51' 37,4" E
Herbaryum No.	M.Tekin 1273 & AEF 26683
Toplama tarihi	23.06.2012

Toplanan *Lathyrus* türlerine ait herbaryum örneklerinin resimleri Şekil 2.1-5'de verilmiştir.



Şekil 2.1. *Lathyrus armenus* (Boiss & Huet) Sirj (Endemik)



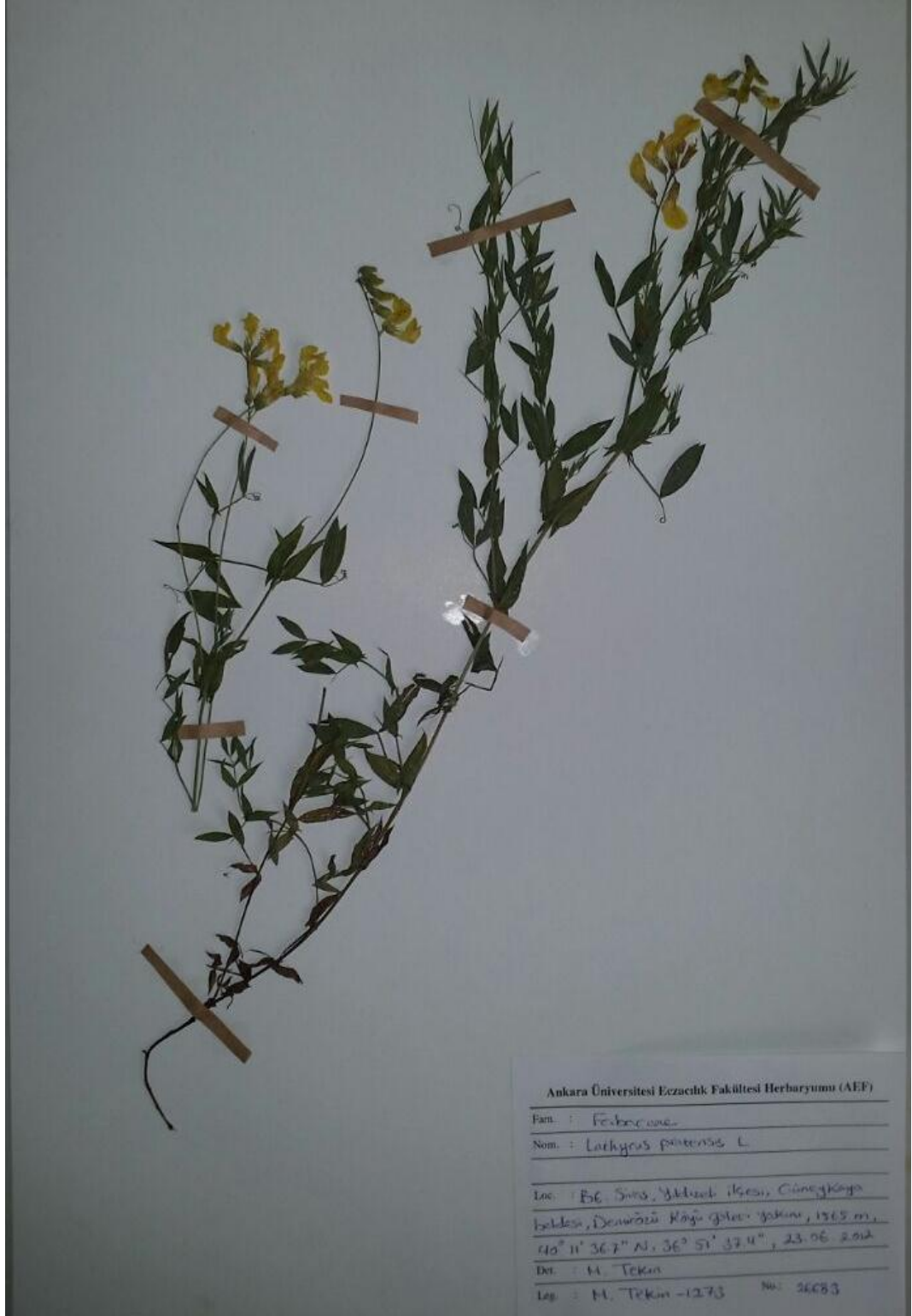
Şekil 2.2. *Lathyrus aureus* (Stev.) Brandza



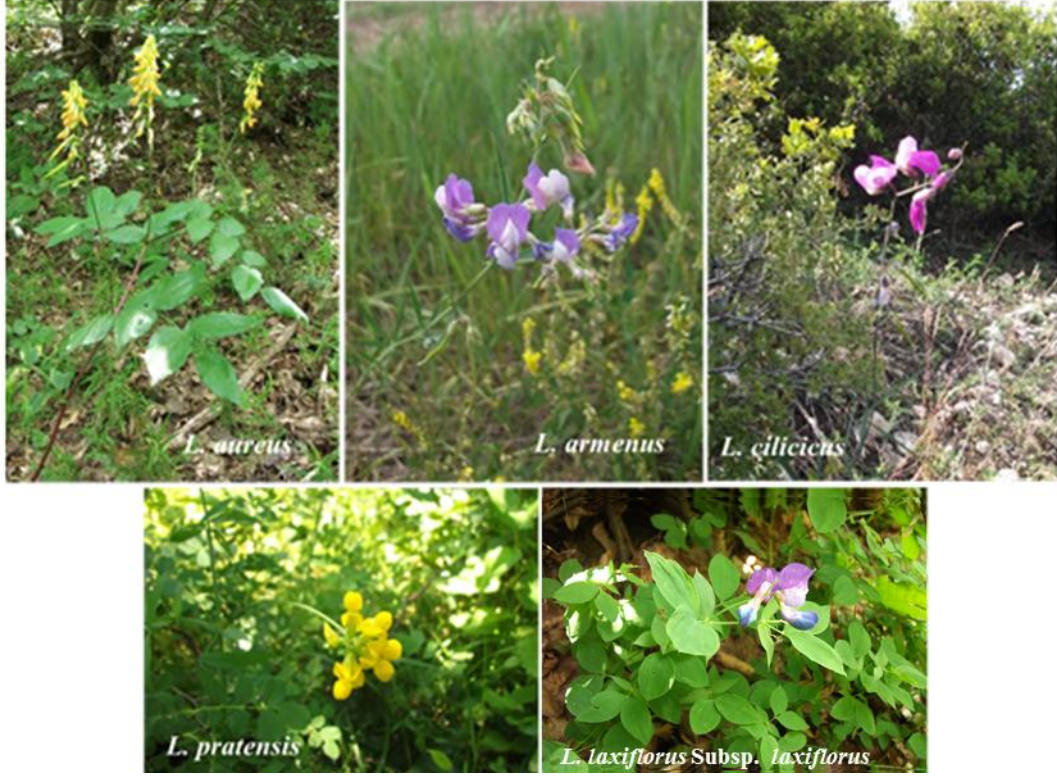
Şekil 2.3. *Lathyrus cilicicus* Hayek & Siehe (Endemik)



Şekil 2.4. *Lathyrus laxiflorus* subsp. *laxiflorus* (Desf.) O. Kuntze



Şekil 2.5. *Lathyrus pratensis* L.



Şekil 2.6. *Lathyrus* türlerinin genel görünüşü (Foto: M. Tekin).

2.2. Yöntem

2.2.1. Mikroskopik Analiz

Çalışılan *Lathyrus* türlerinin mikroskopik analizi için, temiz bir lam üzerine bir damla Sartur reaktifi konuldu. Temiz bir pens veya toplu iğne yardımıyla toz droğun ince kısımlarından uygun miktarda alınıp damla içerisine dağıtıldı. Lamelin bir kenarı damlaya temas ettirilerek lamel, lam üzerine yaklaştırıldı ve 45°'lik açı kaldığı zaman birden bırakıldı. Lam ile lamel arası tamamen reaktifle kaplı olmalıdır. Sartur reaktifi etkisi için sıcak uygulandı. Bunun için preparat küçük bir alev üzerinde ısıtıldı. Bu şekilde hazırlanmış olan preparat mikroskop tablasına yerleştirildi.

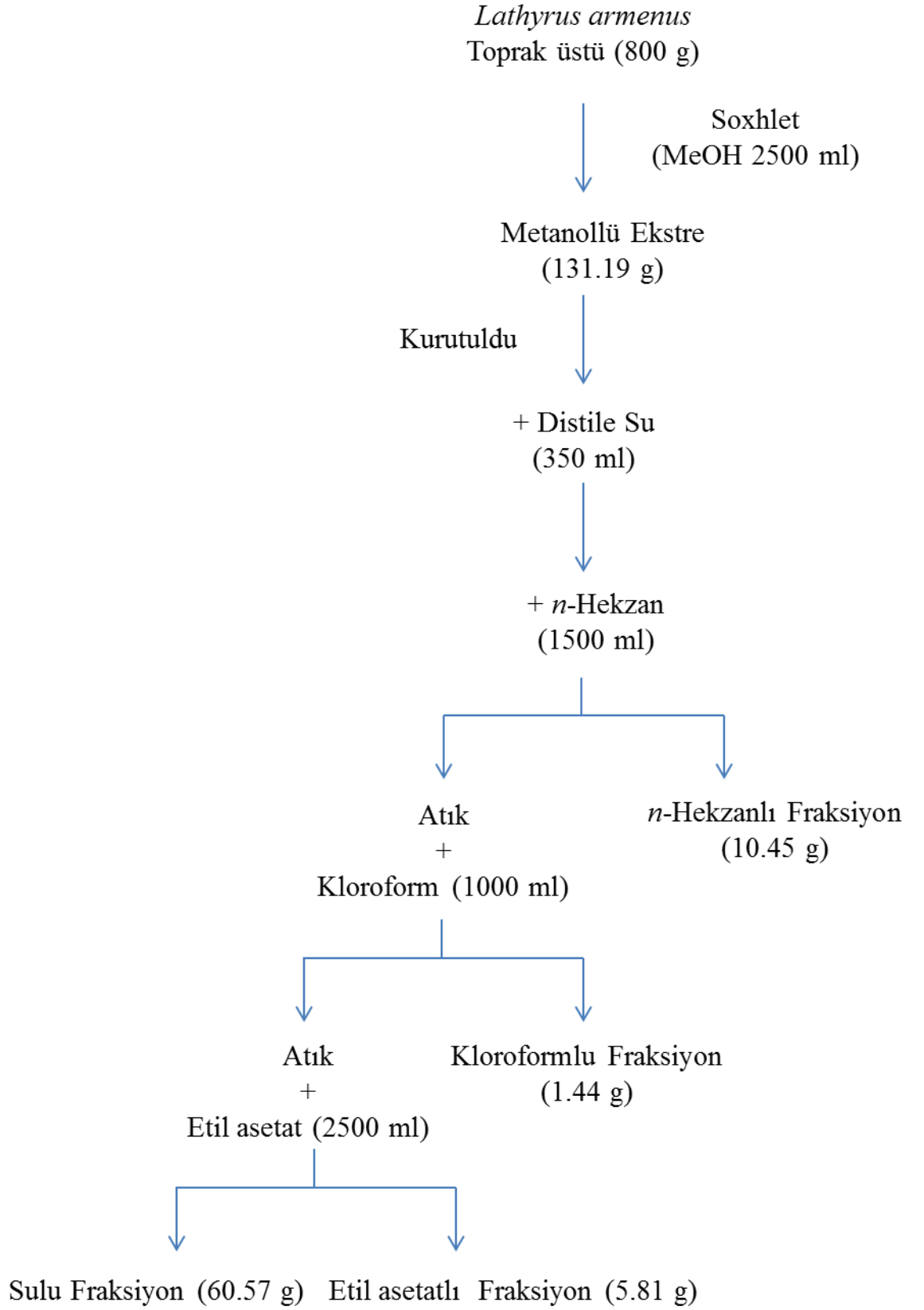
2.2.2. Fitokimyasal çalışmalar

2.2.2.1. Ekstraksiyon

Çalışma materyali olarak seçilmiş olan *Lathyrus armenus* bitkisinin toprak üstü kısımları (800 g) Soxhlet apareyi kullanılarak 20 saat yeterli miktarda MeOH ile ekstre edildi. Elde edilen metanollü ekstre pileli süzgeç kağıdından süzöldükten sonra alçak basınçta yoğunlaştırarak kurutuldu.

2.2.2.2. Metanol Ekstresinin Fraksiyonlandırılması

L. armenus toprak üstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstre tamamen kurutulduktan sonra etkili bileşikleri izole etmek amacıyla ilk olarak sıvı sıvı fraksiyonlamaya tabi tutuldu. Bu amaçla 131.19 g kuru metanollü ekstre 350 ml suda süspanse edildi ve ayırma hunisine alınarak üzerine sırayla *n*-hekzan (1500 ml), kloroform (1000 ml) ve etilasetat (2500 ml) eklendi ve ekstre edildi. Bu işlem sonucunda kalan sulu ekstre ile birlikte toplam 4 fraksiyon elde edildi. Elde edilen *n*-hekzan, kloroform ve etilasetat ekstereleri alçak basınçta yoğunlaştırarak, sulu ekstre ise liyofilize edilerek kurutuldu ve tartıldı. *L. armenus* toprak üstü ekstresinin sıvı sıvı ekstraksiyon ile fraksiyonlandırması işlemine ait şema Şekil 2,7’de verilmiştir.



Şekil 2.7. Ekstraksiyon şeması

2.2.3. Kromatografik Yöntemler

2.2.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi

L. armenus toprak üstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstre İTK ile aşağıda belirtilen çözücü sistemleri kullanılarak incelendi.

Adsorban : Silika jel 60 F₂₅₄S (Merck, 1. 05554 20x20) hazır kaplı plak

Çözücü Sistemi 1 : Etilasetat- Glasiyel asetik asit- Formik Asit-Su (100-11-11-26)

Çözücü Sistemi 2 : Kloroform- Metanol- Su (64-50-10)

Çözücü Sistemi 3 : Etilasetat- Metanol- Su (100-13.5-10)

Revelatör : Vanilin-H₂SO₄ reaktifi

2.2.3.2. Kolon Kromatografisi

2.2.3.2.1. Kolonun Hazırlanması

Etil asetatlı ekstre için adsorban olarak Silika jel 60 (70-230 mesh, 0.063-0.200 mm, Merck 1.07734.1000 ASTM) kullanıldı. 120 g silika jel tartılarak 4 cm çapında ve 100 cm boyundaki cam kolona etilasetat ile karıştırıldıktan sonra hiç hava kabarcığı kalmayacak şekilde dolduruldu ve daha sonra ayrımı yapılacak etilasetat ekstre uygulanarak izolasyon işlemine başlandı. Sulu ekstre için ise 800 g silika jel 60 (70-230 mesh, 0.063-0.200 mm, Merck 1.07734.1000 ASTM) ve 8 cm çapında ve 150 cm boyundaki cam kolon kullanıldı.

2.2.3.2.2. Ekstrenin Kolona Uygulanması

Etilasetatlı ve sulu ekstreler kolonlara ayrı ayrı kuru tatbik metoduyla uygulandı. Bu amaçla ekstreler (etilasetat 5 g ve sulu ekstre 50 g) kapsülde uygun

çözücüde tamamen çözüldü ve ağırlığı kadar silika jel 60 ile karıştırıldı. Kuruması için çeker ocak altına bırakıldı. Tamamen kurutulduktan sonra silika jele emdirilmiş ekstre kolona tatbik edildi. Ekstrenin üst kısmına bir miktar daha silika jel ilave edilerek ekstrenin havalanması engellendi. Elüsyon işlemiyle etilasetat ve sulu ekstreler fraksiyonlandırılmaya başlandı. Etil asetatlı ekstrede 60 fraksiyon ve sulu ekstre için 200 fraksiyon toplandı.

Çizelge 2.1. Kolon kromatografisi için çözücü sistemi (Etil asetat fraksiyonu)

Sistem No (Etilasetatlı Fraksiyonun Kolon)	Çözücü sistemi (50 ml)
1	Etilasetat- MeOH-H ₂ O (100-13.5-10)
2	Etilasetat- MeOH (50-50)
3	MeOH

Çizelge 2.2. Kolon kromatografisi için çözücü sistemi (Su fraksiyonu)

Sistem No (Sulu Fraksiyonun Kolonu)	Çözücü sistemi (100 ml)
1	Etilasetat- MeOH- H ₂ O (100-13.5-10)
2	Etilasetat- MeOH- H ₂ O (50-13.5-10)
3	CHCl ₃ - MeOH- H ₂ O (55-45-5)
4	CHCl ₃ - MeOH- H ₂ O (20-75-5)
5	CHCl ₃ - MeOH- H ₂ O (20-85-5)
6	CHCl ₃ - MeOH- H ₂ O (20-100-5)

Ön temizleme işleminden sonra fraksiyonların içerdiği bileşikler saflaştırmak amacıyla preparatif İTK, YBSK ve kristallendirme yöntemlerinden yararlanıldı.

2.2.3.2.3. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Etil asetat fraksiyonu için yapılan kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlarda (Fr.7) bulunan bileşikler saflaştırmak amacıyla preparatif ince tabaka kromatografisinden yararlanıldı. Silika jel 60 RP-F_{254s} (Merck 1.05744, 20×20, 0.5 mm) kaplanmış hazır plaklar üzerinde MeOH-H₂O (5-5) çözücü sistemi kullanılarak temizleme işlemi gerçekleştirildi.

Süzme işlemi Silika jeli geçirmeyecek çapta porlara sahip süzgeç kağıdından yapıldı. Süzüntüler rotavaporda yoğunlaştırılarak, İTK ve YBSK ile saflıkları kontrol edildi.

2.2.3.2.4. Preparatif YBSK

Kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlarda bulunan bileşikleri saflaştırmak amacıyla diğer bir kromatografik yöntem olarak preparatif yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanıldı. Analiz için Agilent 1200 Series YBSK ve kolon (ACE 5, C18 250×4.6 mm) olarak semi preparatif kolon olarak (ACE 10, 250×10 mm) kullanıldı. Hareketli faz olarak asetonitril ve su kullanıldı ve gradyan usul ile elüsyon yapıldı. Elde edilen fraksiyonlar rotavaporda yoğunlaştırılarak, YBSK ile saflıklarını kontrol edildi.

Çizelge 2.3. YBSK elüsyon şartları

Zaman (dk)	Asetonitril	Su	Akış Hızı
0	10	90	4 ml/dk
20	56.5	43.5	4 ml/dk
20.01	100	0	4 ml/dk
25	100	0	4 ml/dk

2.2.3.3. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini

Preparatif ince tabaka kromatografisi ve preparatif YBSK yardımıyla birbirinden ayrılan bileşiklerin yapısı aşağıda belirtilen spektroskopik yöntemlerle tayin edildi.

2.2.3.3.1. NMR Spektrometrisi

Bileşiklerin dötoro metanol (CD_3OD) ve DMSO içinde hazırlanan çözeltilerinin 1H -NMR ve ^{13}C -NMR, HMBC, HMQC, COSY, TOCSY spektrumları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde bulunan Varian Mercury 400 MHz, NMR Spektrometre cihazı kullanılarak alındı.

2.2.3.3.2. LC/MS Spektrometrisi

İzole edilen bileşiklerin kütle spektrumları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde bulunan Waters Alliance yüksek basınç sıvı kromatografisine bağlı Waters Micromass ZQ Kütle Spektrometresi ESI(+) yöntemiyle alındı.

2.2.4. Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi (Folin-Ciocalteu)

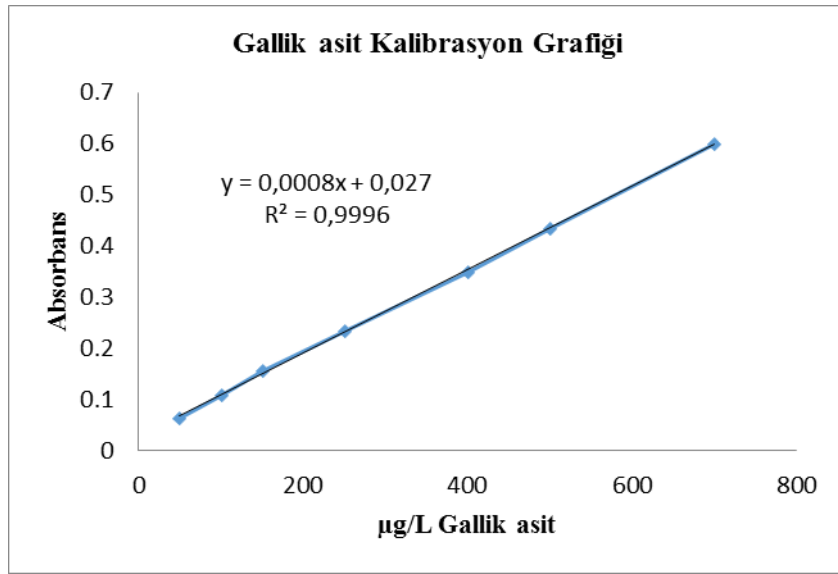
Folin Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik madde miktarı tespit edildi. Bu amaç için önce gallik asit kalibrasyon eğrisi çizildi. Bu yöntemle göre 20 µL, 20 mg/10mL konsantrasyonda ki örnek, gallik asit veya kör üzerine, 1.58 ml deiyonize su ve 100 µl Folin Ciocalteu reaktifi ilave edilip iyice karıştırıldı. Karışım üzerine 300 µl % 2 sodyum karbonat ilave edilip 30 dakika 40 °C bekletildi. Karışımın absorbansı 765 nm'de köre karşı ölçüldü. Her konsantrasyon için 4 tekrar yapıldı. Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart ölçü eğrisine göre örneklerdeki fenolik madde miktarı gallik aside eşdeğer olarak hesaplandı (Ainsworth and Gillespie 2007).

2.2.4.1. Gallik asit kalibrasyonu

0,02 g gallik asit (Riedel de Haen) balon jodede ultrasonik banyoda 10 ml etanol içinde çözülerek, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı (stok çözelti). Stok çözeltilerden değişik dilüsyonlar hazırlanarak Folin-Ciocalteu yöntemi uygulandı. Her bir dilüsyon için dört tekrar yapıldı. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında kullanılan gallik asit dilüsyonları ve elde edilen ortalama absorbans değerleri aşağı çizelgede verilmektedir. Gallik asit konsantrasyonuna karşı ortalama absorbans değerlerinin grafiğe geçirilmesi ile kalibrasyon grafiği elde edildi.

Çizelge 2.4. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında kullanılan gallik asit konsantrasyonları ve ortalama absorbens değerleri.

Konsantrasyon (µg/L)	Ortalama absorbens değeri
50	0,064
100	0,109
150	0,156
250	0,234
400	0,349
500	0,435
700	0,600



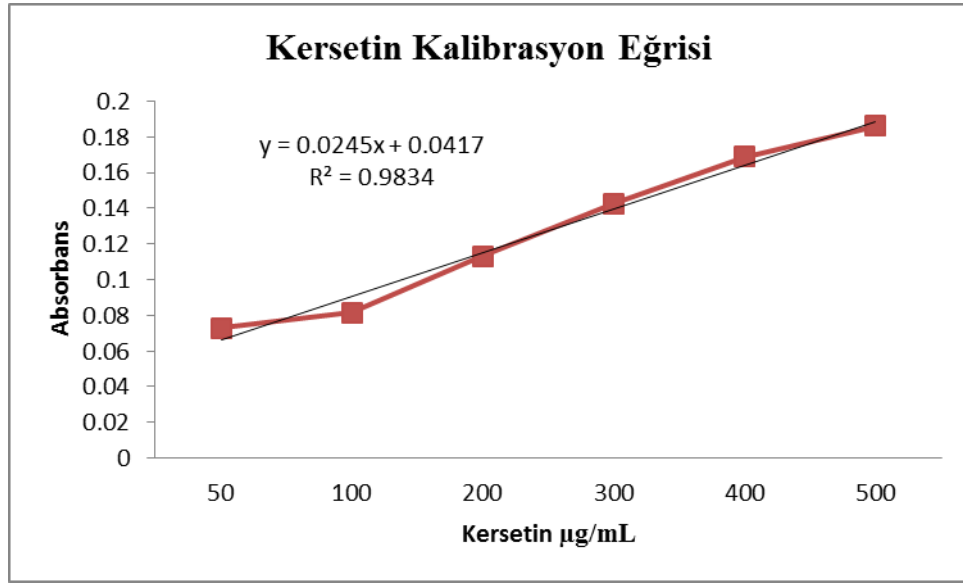
Şekil 2.8. Gallik asit kalibrasyon grafiği

2.2.4.2. Toplam Flavonoit İçeriğinin Belirlenmesi

Toplam flavonoit analizi spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Bu analiz için standart kersetin çözeltisinin 5 farklı konsantrasyonu ile bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir ($R^2 = 0,9834$). Sonuçlar elde edilen eğrinin regresyon eşitliğinden yararlanılarak hesaplanmış ve µg kersetin eşdeğeri (QE) olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 2.5. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında kullanılan Kersetin konsantrasyonları ve ortalama absorbans değerleri.

Konsantrasyon ($\mu\text{g/L}$)	Ortalama absorbans değeri
50	0,073
100	0,081
200	0,113
300	0,142
400	0,169
500	0,186



Şekil 2.9. Kersetin kalibrasyon grafiği

Bu yöntemle göre 250 μL , 50 mg/10 mL konsantrasyondaki örnek üzerine, 1250 mL distile su ve 75 μL %5 NaNO_2 ilave edilip iyice karıştırıldı. Karışım üzerine 150 μL %10 AlCl_3 ilave edilip vorteks ile karıştırıldı. Karışımın üzerine 500 μL NaOH (1M) ilave edildi ve 5 dakika beklendi, 3 mL su ile tamamlandı. 20 dakika bekletildi ve absorbansı 510 nm’de ölçüldü. Her konsantrasyon için 3 tekrar yapıldı. Kersetin kullanılarak hazırlanan standart ölçü eğrisine göre örneklerdeki flavonoit miktarı kersetine eşdeğer olarak hesaplandı.

2.2.5. Antioksidan Aktivite Tayini

Bitki örneklerinin metanol ekstreleri ile metanol ekstrelesinin fraksiyonlaması sonucunda elde edilen hekzan, etil asetat, kloroform ve sulu ekstrelerin antioksidan aktiviteleri, DPPH yöntemiyle *in vitro* olarak incelendi.

Kantitatif DPPH testi için Huang ve arkadaşları tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Bu yöntem, pembe renkli stabil bir bileşik olan DPPH radikalinin yok edilmesi sonucu, renkte meydana gelen azalmanın spektrofotometrik (517 nm) olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Huang ve ark., 2005) .

$$\% \text{ İnhibisyon} = (\text{Abs}_{\text{DPPH}} - \text{Abs}_{\text{örnek}}) / \text{Abs}_{\text{DPPH}} \times 100$$

Her bir ekstre için inhibisyon yüzdesi hesaplandı ve konsantrasyon değerlerine karşı, lineer regresyon analizi kullanarak IC₅₀ değerleri hesaplandı. Pozitif kontrol olarak butillenmiş hidroksi toluen (BHT) 0,022 mg/ml ile 3,34×10⁻⁴ mg/ml aralığında değişen 6 konsantrasyon denemiştir.

2.2.6. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite

Antibakteriyel ve antifungal aktivite çalışmaları, bitki örneklerinin toprak üsütü kısımları kullanarak metanollü ekstreleri ve fraksiyonlama sonucunda elde edilen hekzan, kloroform, etil asetat ve sulu ekstreleri üzerinde yürütülmüştür.

Çalışmada Gram pozitif bakteriler: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Bacillus subtilis* ATCC 6633; Gram negatif bakteriler: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 test bakterileri olarak kullanırken; antifungal aktivite tayini için ise *Candida albicans* ATCC 10231 mayası kullanıldı.

Ekstre ve fraksiyonların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK), tüp dilüsyon tekniği kullanarak belirlendi. Örneklerin 1.000-0,0625 mg/ml aralığındaki iki katlı sulandırmaları Müller Hinton Broth besiyeri içinde hazırlandı. Sadece Müller Hinton Broth içeren bir seri tüp kontrol olarak kullanıldı. Tüm tüpler eşit miktarda mikroorganizma ile inoküle edildikten sonra, bakteriler için 37 ± 1 °C'de 18-24 saat, maya için ise 48 saat inkübasyon bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda üremenin görülmediği en son tüp MİK değeri olarak kaydedildi.

2.2.7. Antienflamatuvar Aktivite

2.2.7.1. Eritrosit süspansiyon hazırlaması

Kan örnekleri, son 2 hafta içinde antienflamatuvar ilacı almamış sağlıklı gönüllülerden alınmıştır. Kan örnekleri 3000 rpm de 15 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant (plazma ve lökositler) ayrıldı ve kalan kanın kırmızı hücreleri (eritrosit) salin (%0.85 a/h NaCl) ile yıkandı. Yıkama işlemi 3 kere tekrar edildi. Elde edilen eritrosit üzerine %10 (h/h) salin eklendi.

2.2.7.2. Sıcaklıkla indüklenen hemoliz

Sıcaklıkla kan hücrelerinin membranları patlatma yöntemi olarak tanımlanmaktadır. Kontrol, standart ve örnekler için çözelti hazırlandı.

Kontrol için; 1 ml salin ya distile su + 1 ml eritrosit süspansiyonu

Standart; 1 ml Aspirin® (Bayer, Sweden) (0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.5 mg/ml) ve asetilsalisilik asit (Sigma-Aldrich, USA) (0.2, 0.25, 0.5 mg/ml) + 1 ml eritrosit süspansiyonu

Örnek; 1ml bitki ekstresi (0.4 mg/ml) + 1 ml eritrosit süspansiyonu

Hazırlanan reaksiyon karışımlarının olduğu tüm tüpler 56 °C de 30 dakika inkübe edildi; 30 dakika sonunda soğutuldu ve 2500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi; süpernatantın absorbansı spektrofotometrede 560 nm'de ölçüldü. Standart, kontrol ve örnekler için % hemoliz ve % koruma hesaplandı.

$$\% \text{ Hemoliz} = \left(\frac{\text{Optik Dansite Test Örneği}}{\text{Optik Dansite Kontrol}} \right) \times 100$$

$$\% \text{ Koruma} = 100 - \% \text{ Hemoliz}$$

3. BULGULAR

3.1. Toz Drog Çalışmaları ile İlgili Bulgular

Çalışılan türlerin organoleptik özellikleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışılan türlerin organoleptik özellikleri

Türler	Renk	Koku	Tat	Görünüm
<i>L. aureus</i>	Koyu yeşil	Karakteristik koku yok	Karakteristik tadı yok	İrili, ufaklı heterojen
<i>L. pratensis</i>	Haki yeşil	Karakteristik koku yok	Hafif acımsı	İrili, ufaklı heterojen
<i>L. laxiflorus</i> subsp. <i>laxiflorus</i>	Koyu yeşil	Karakteristik koku yok	Karakteristik tadı yok	İrili, ufaklı heterojen
<i>L. cilicicus</i>	Sarımsı yeşil	Karakteristik koku yok	Karakteristik tadı yok	İrili, ufaklı heterojen
<i>L. armenus</i>	Açık yeşil	Karakteristik koku yok	Karakteristik tadı yok	İrili, ufaklı heterojen

3.2. Mikroskopik Analiz

Lathyrus türlerinden hazırlanan preparatların ışık mikroskopunda çekilmiş fotoğrafları ve açıklamaları Şekil 3.1-21 gibidir.

3.2.1. *L. aureus*

a- Salgı tüyleri başı çok sapı tek ve nadir olarak bulunmaktadır.

b- Stoma hücreleri anomositik tipte olup; stoma komşu hücre sayısı 3-4 arasında değişmekte olup, dalgalı yapıya sahiptir.

c- Örtü tüyleri uzun, tek hücreli ve nadir olarak bulunmaktadır;

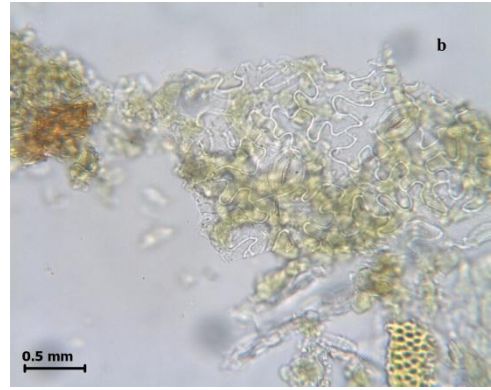
d- Epiderma hücrelerinde basit billur

e- Basit billurlar sklerenkima etrafında dizi halinde

f- Polenler monokolpat



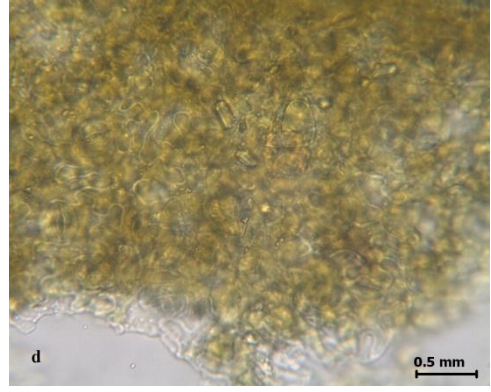
Şekil 3.1. *L. aureus*'a ait salgı tüyü



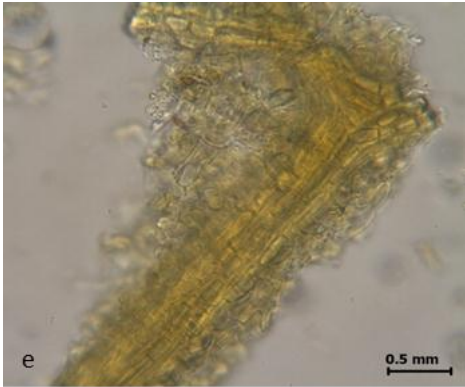
Şekil 3.2. *L. aureus*'a ait stoma hücreleri



Şekil 3.3. *L. aureus*'a ait örtü tüyü



Şekil 3.4. *L. aureus*'a ait epiderma



Şekil 3.5. *L. aureus*'a ait epiderma



Şekil 3.6. *L. aureus*'a ait polen

3.2.2. *L. armenus*

İki tip stoma hücresi bulunmaktadır:

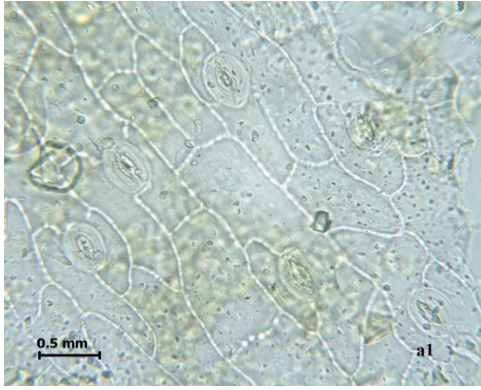
a1-Anisositik tipte stoma hücreleri, stoma komşu hücreleri düz yapıya sahiptir.

a2- Anamostik tipte stoma hücreleri, stoma komşu hücreleri ise dalgalıdır.

b- Kutikulası noktacıklı, tek hücreli ve kısa örtü tüylü

c- Epiderma hücrelerinde basit billur ve idioblasta rastlanmıştır.

d- Basit billurlar sklerenkima demetlerinde basit billur dizilerine rastlanmaktadır.

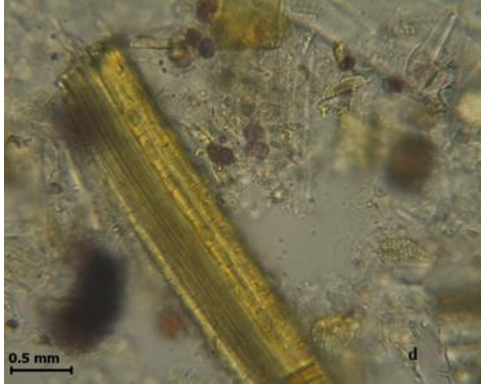


Şekil 3.7. *L. armenus* 'a ait stoma hücreleri



Şekil 3.8. *L. armenus* 'a ait kutikula

Şekil 3.9. *L. armenus* 'a ait epiderma



Şekil 3.10. *L. armenus*'a ait sklerenkima

3.2.3. *L. cilicicus*

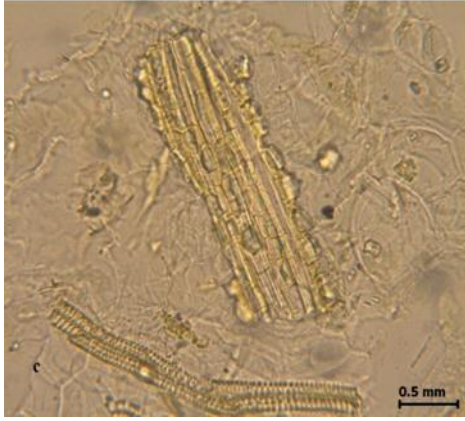
- a- Sklerenkima demetlerinde basit billurlar dizileri gözlenmektedir.
- b- Stoma hücreleri anisositik tipte olup; stoma komşu hücreleri düz yapıya sahiptir.
- c- Epiderma hücreleri ve sklerenkima demetlerinde basit billurlar bulunmaktadır.
- d- Polenler trikolpat
- e- Örtü tüyleri kısa, tek hücreli ve nadir olarak bulunmaktadır.



Şekil 3.11. *L. cilicicus*'a ait sklerenkima



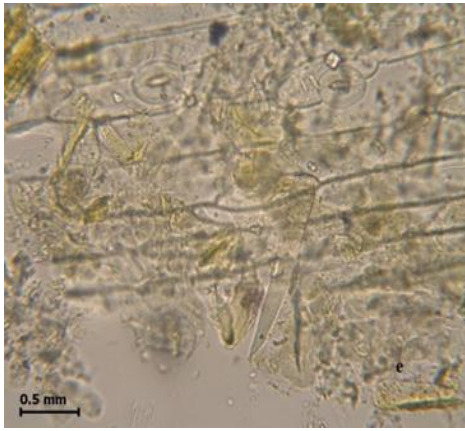
Şekil 3.12. *L. cilicicus*'a ait stoma hücreler



Şekil 3.13. *L. cilicicus*'a ait epiderma



Şekil 3.14. *L. cilicicus*'a ait polen



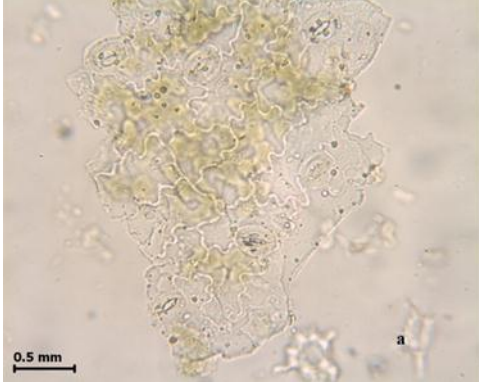
Şekil 3.15. *L. cilicicus*'a ait örtü tüyü

3.2.4. *L. laxiflorus* subsp. *laxiflorus*

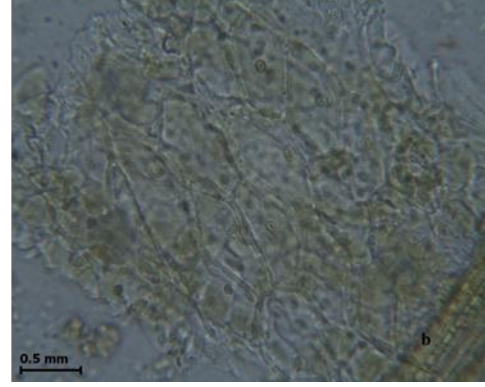
a- Stoma hücreleri anomositik tipte olup; stoma komşu hücre sayısı 3-4 arasında değişmekte ve dalgalı yapıya sahiptir.

b- Kaliks epidermasına rastlanmaktadır.

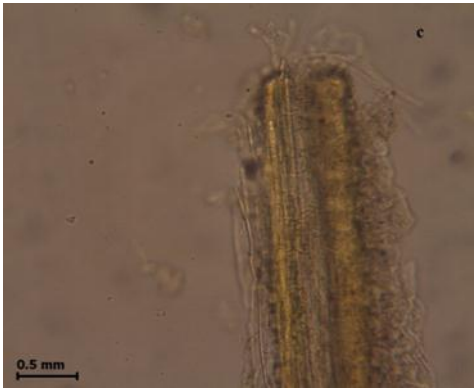
c- Sklerenkima demetlerinde basit billurlar dizilerine rastlanılmaktadır.



Şekil 3.16. *L. laxiflorus*'a ait stoma hücreleri



Şekil 3.17. *L. laxiflorus*'a ait kaliks epidermsi



Şekil 3.18. *L. laxiflorus*'a ait sklerenkima hücreleri

3.2.5. *L. pratensis*

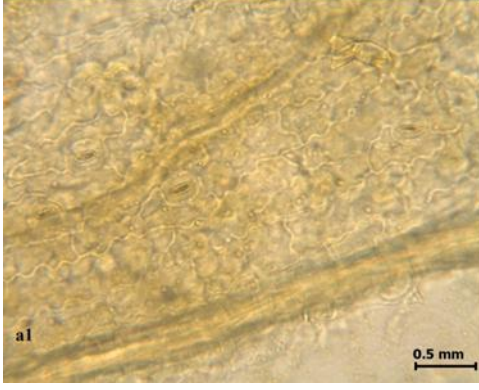
İki tip stoma hücresi bulunmaktadır:

a1- Anisositik stoma hücreler, stoma komşu hücreleri düzdür.

a2- Parasitik stoma hücreleri, stoma komşu hücreleri dalgalıdır.

b- Polenler monokolpattır.

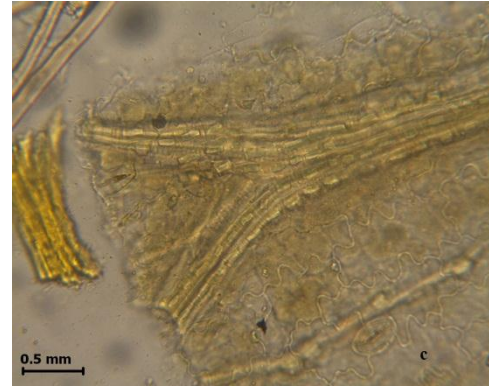
c-Basit billurlar sklerenkima etrafında dizi halindedir.



Şekil 3.19. *L. pratensis*'a ait stoma hücreleri



Şekil 3.20. *L. pratensis*'a ait polen



Şekil 3.21. *L. pratensis*'a ait sklerenkima

3.3. Fitokimyasal Çalışmalar

3.3.1. *Lathyrus* Ekstrelerinin Bulguları

Lathyrus türlerinin toprak üstü kısmını değerlendirmek için, metanol ile hazırlanan ekstrelerin miktarları ve yüzdesi (kuru bitki g / ekstre g) verimleri Çizelge 3.2'de verilmistir.

Çizelge 3.2. *Lathyrus* türlerinden elde edilen ekstrelerin % verimleri

Türler	MeOH	<i>n</i> -Hekzan	CHCl ₃	EtOAC	Su
<i>L. aureus</i>	%45.655	%58.2585	%1.5911	%0.8770	%32.45
<i>L. armenus</i>	%18.205	%30.248	%1.209	%0.321	%47.35
<i>L. cilicicus</i>	%20.726	%20.45	%2.557	%5.6414	%64.21
<i>L. laxiflorus</i>	%25.288	%37.8761	%1.491	%0.502	%55.97
<i>L. pratensis</i>	%24.200	%33.9951	%1.612	%0.3971	%65.46

3.3.2. Metanol Ekstresinin Fraksiyonlandırılması

Lathyrus armenus bitkisinin toprak üstü kısmından (800 g) metanol ile ekstre elde edildi. Metanollü ekstreden elde edilen *n*-hekzan, kloroform, etilasetat ve sulu fraksiyonların miktarları Çizelge 3.3.'de verilmistir.

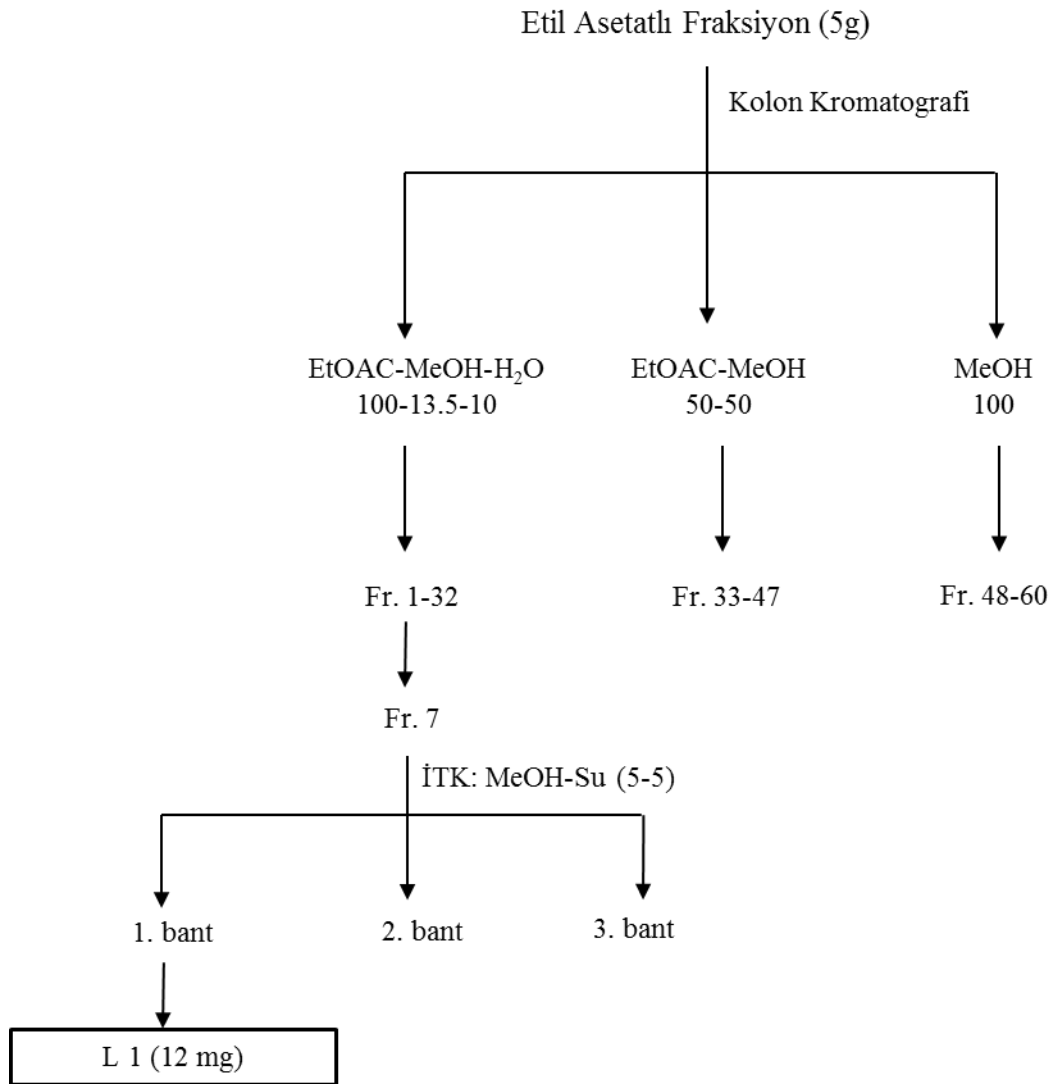
Çizelge 3.3. *L.armenus* türünden elde edilen fraksiyonların miktarı

	MeOH	<i>n</i> -Hekzan	CHCl ₃	EtOAC	Su
<i>L. armenus</i>	156.185 g	47.238 g	1.440 g	5.810 g	97.129 g

3.3.3. Kolon Kromatografisi Bulguları

3.3.3.1. Etil Asetatlı Fraksiyonun Kolon Kromatografisi

L. armenus toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstreden elde edilen etil asetatlı fraksiyonunun kolon kromatografisinde elde edilen fraksiyonlar ve elüsyon için kullanılan çözümlerin oranları Şekil 3,32’de verildi.

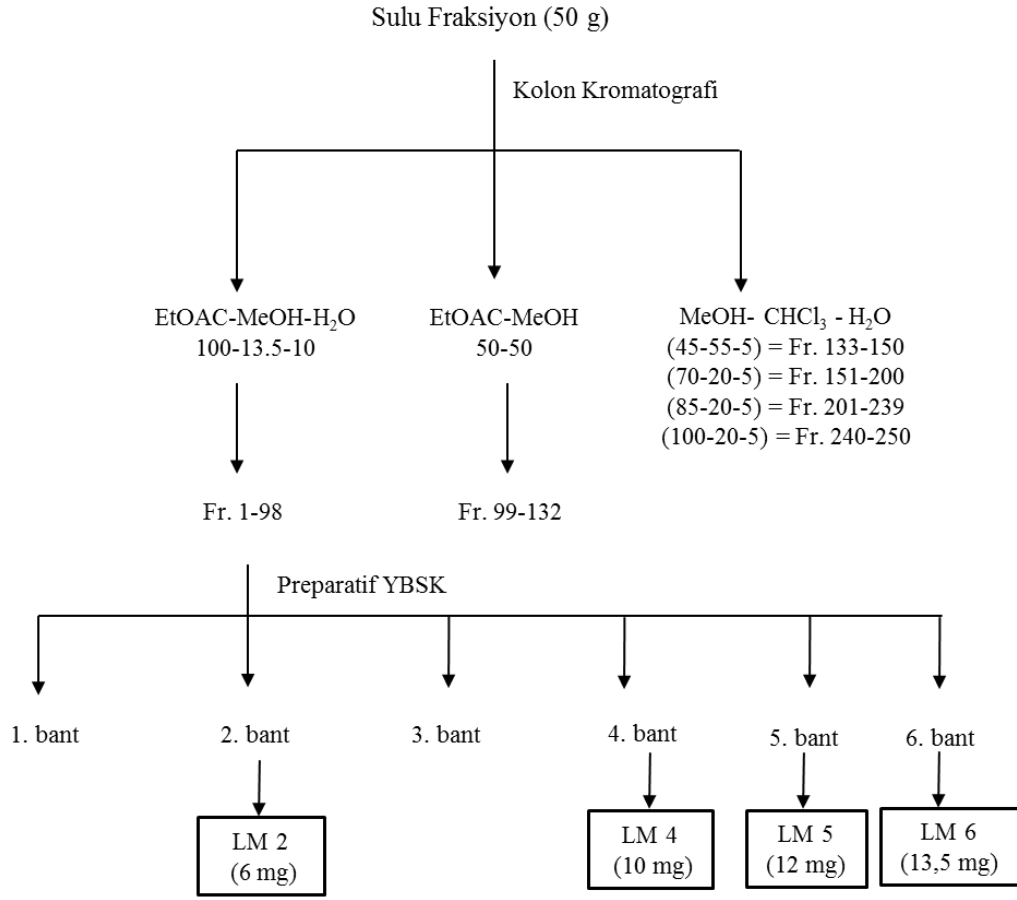


Şekil 3.22. *L.armenus* toprak üstü etil asetatlı fraksiyonundan elde edilen bileşiğin şeması

Etil asetat-metanol-su (100-13.5-10) çözücü sistemiyle 32 fraksiyon elde edildi; 7. fraksiyondan yapılan İTK çalışmaları ile bu fraksiyonun birden fazla bileşik içerdiği belirlendi. L1 bileşiği preparatif ince tabaka kromatografisi ile elde edildi. Adsorban olarak silika jel 60 RP-18 ters fazlı hazır plaklar (Merck) ve çözücü sistemi olarak da MeOH-H₂O (7-3) solvan sistemi kullanıldı. 3 bant halinde ayrıldı. L1 bileşiğini taşımakta olan bant vanilin-H₂SO₄ reaktifi ile belirlendikten sonra kazınarak elde edildi. Daha sonra kloroform kullanılarak temizleme işlemi yapıldı.

3.3.3.2. Sulu Fraksiyonun Kolon Kromatografisi

L. armenus toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstreden elde edilen sulu fraksiyonunun kolon kromatografisi sonunda elde edilen fraksiyonlar ve elüsyon için kullanılan çözümlerin oranları Şekil 3.23 'de verildi.

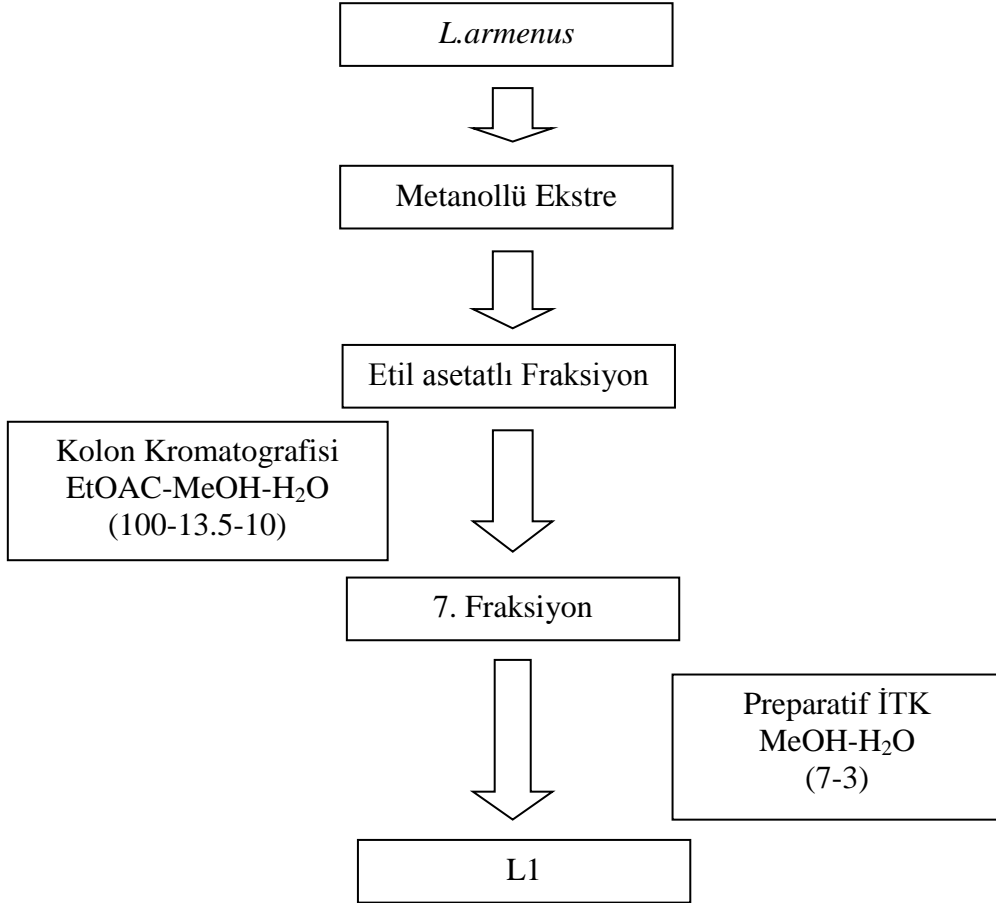


Şekil 3.23. *L. armenus* toprak üstü sulu fraksiyonundan elde edilen bileşiklerin şeması

EtOAC-MeOH-H₂O (100-13.5-10) çözücü sistemiyle 98 fraksiyon elde edildi; yapılan İTK çalışmaları ile benzer fraksiyonlar birleşti ve tekrar İTK yapıldı. 50-64. fraksiyondan İTK çalışmaları ile birden fazla bileşik bulunduğu belirlendi. LM 2, LM 4, LM 5, LM 6 bileşikleri preparatif yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile elde edildi. Kolon olarak ACE 10, C18 25×10 mm ve çözücü sistemi olarak ACN-H₂O kullanıldı ve 6. pik elde edildi. Çözücü sistemi Çizelge 2,3’de verilmiştir. Kolon sıcaklığı 40 °C ayrımlar yapıldı.

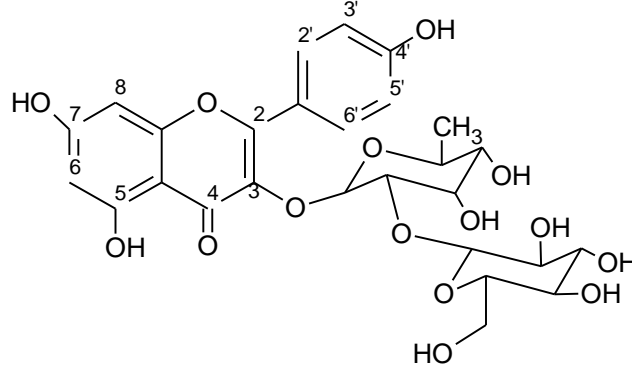
3.4. Yapı Tayini Bulguları

3.4.1. L1 Bilesiğinin Yapı Tayini



Şekil 3.24. L1 bilesiğinin izolasyon şeması

Kemferol-3-O- α -L-[β -D-glukopiranozil(1 \rightarrow 2) ramnopiranozit



Molekül Ağırlığı: 595.32 [M+H]⁺

Molekül Formülü: C₂₇H₃₀O₁₅

Özelliği: Sarı amorf toz

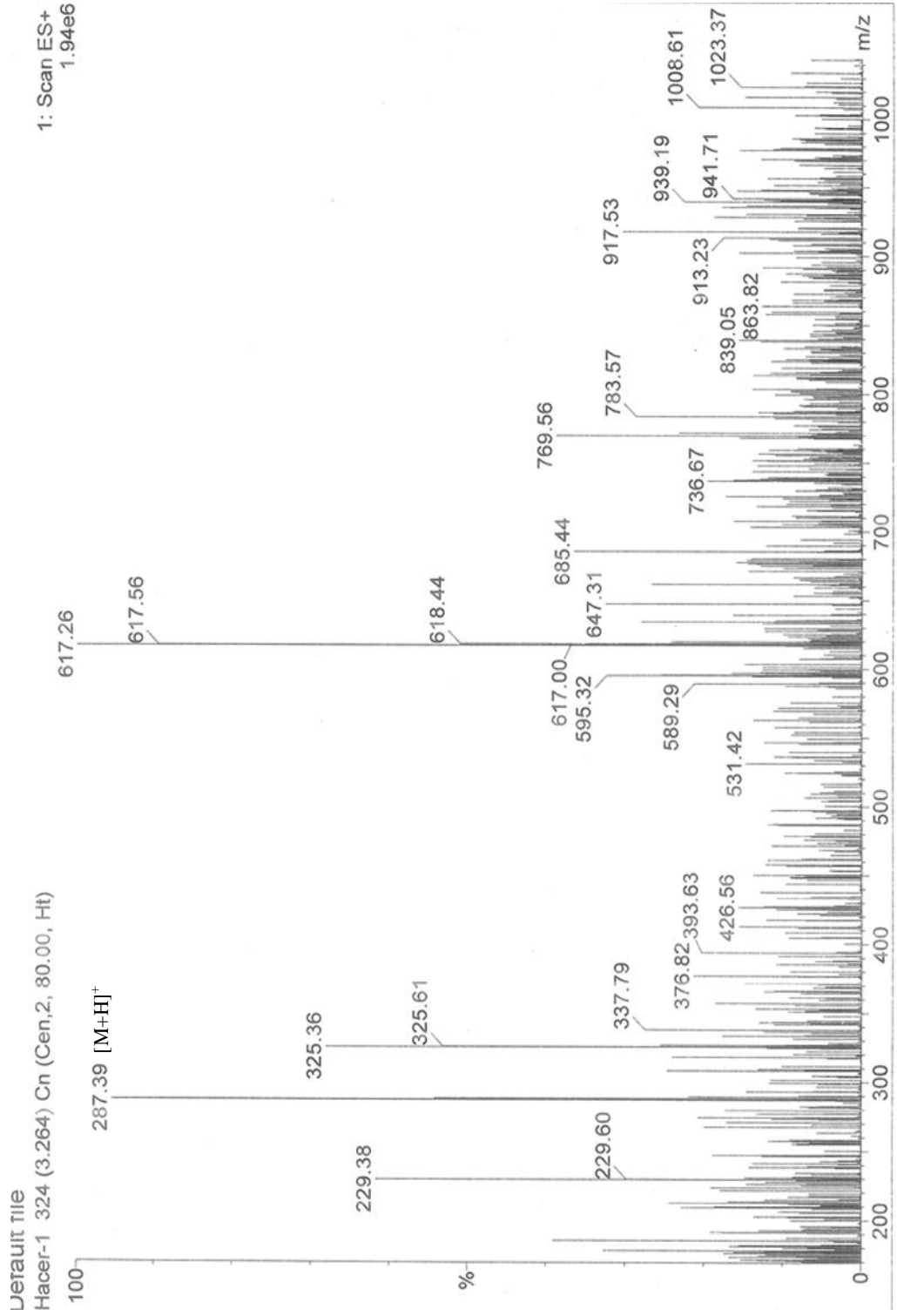
EI-MS: DMSO-d₆ (solvan), 400 MHz (Şekil 3.25)

¹H-NMR: DMSO-d₆ (solvan), 400 MHz (Şekil 3.26)

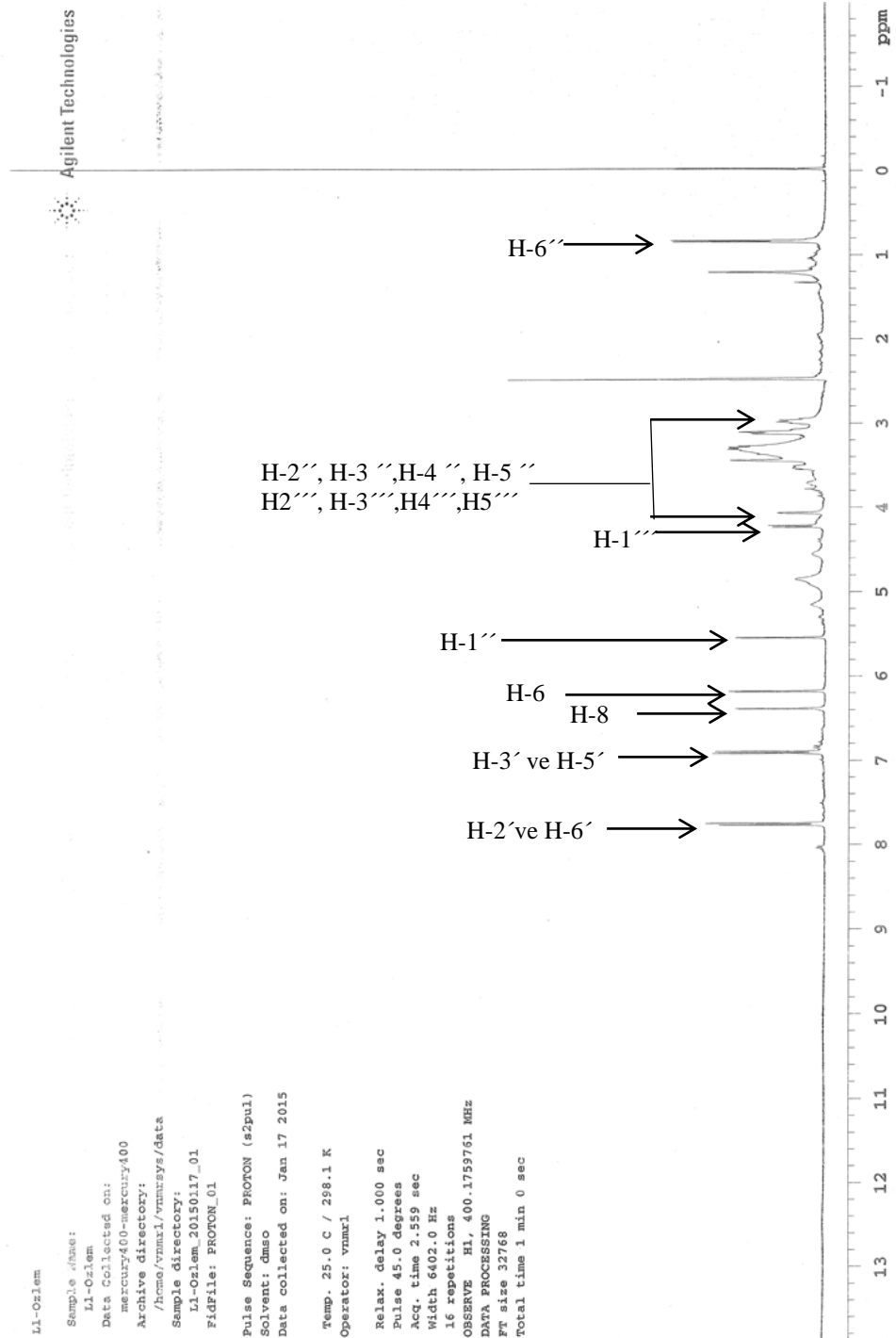
¹³C-NMR: DMSO-d₆ (solvan), 400 MHz (Şekil 3.27)

COSY: DMSO-d₆ (solvan), 400 MHz (Şekil 3.28)

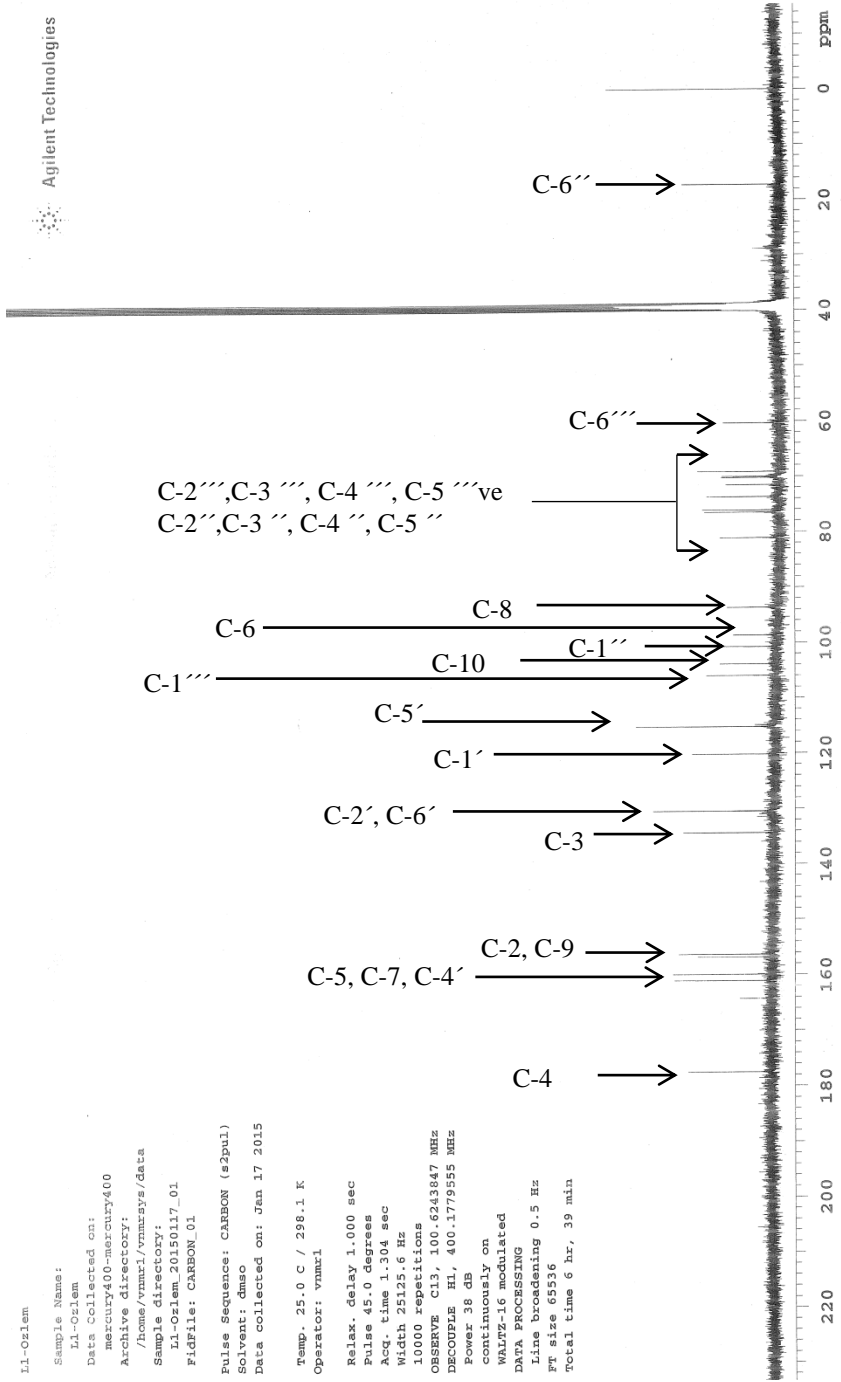
HMBC: DMSO-d₆ (solvan), 400 MHz (Şekil 3.29)



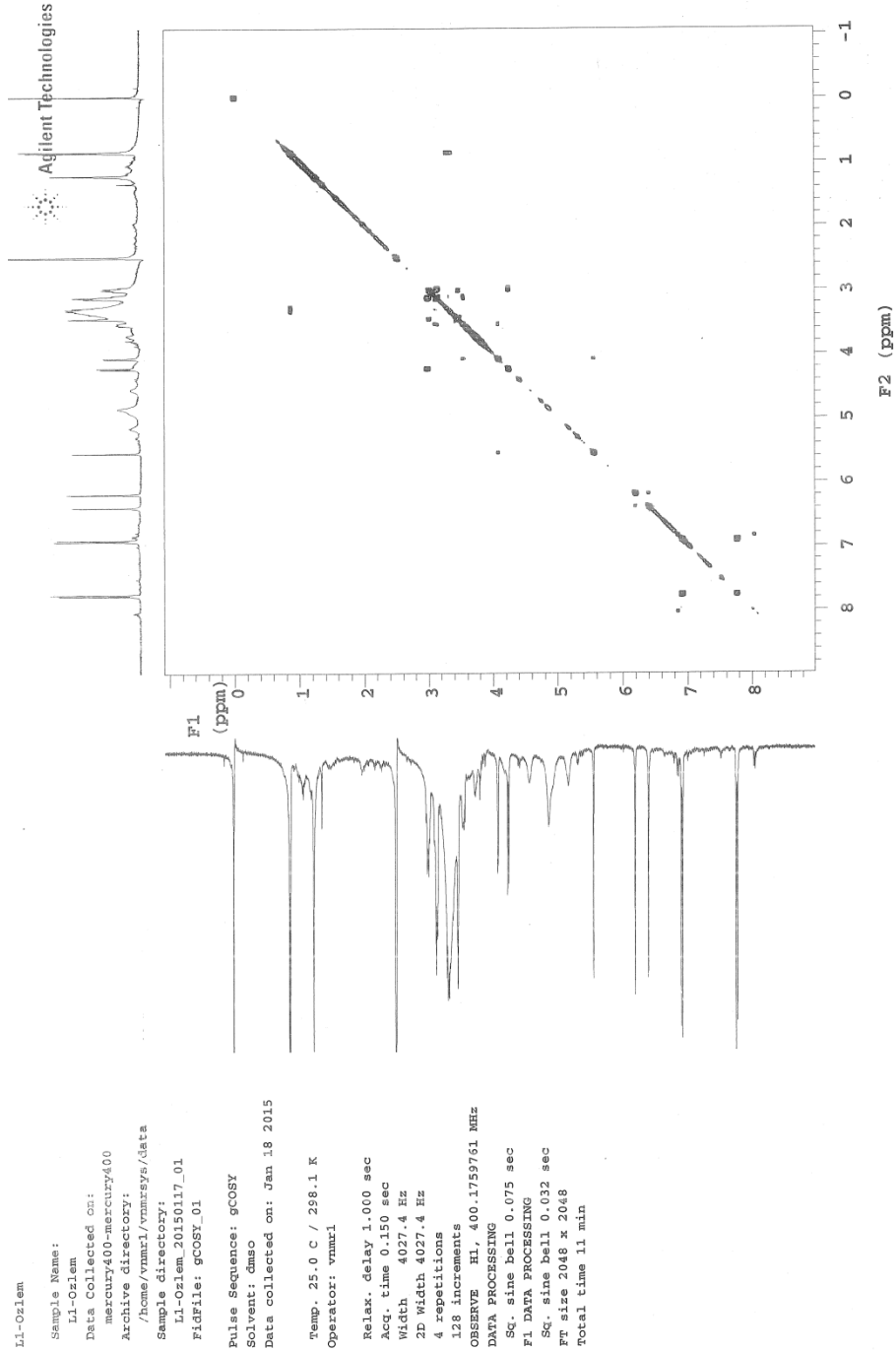
Şekil 3.25. L1 bileşiğın EI MS spektrumu (Solvan: DMSO-d6)



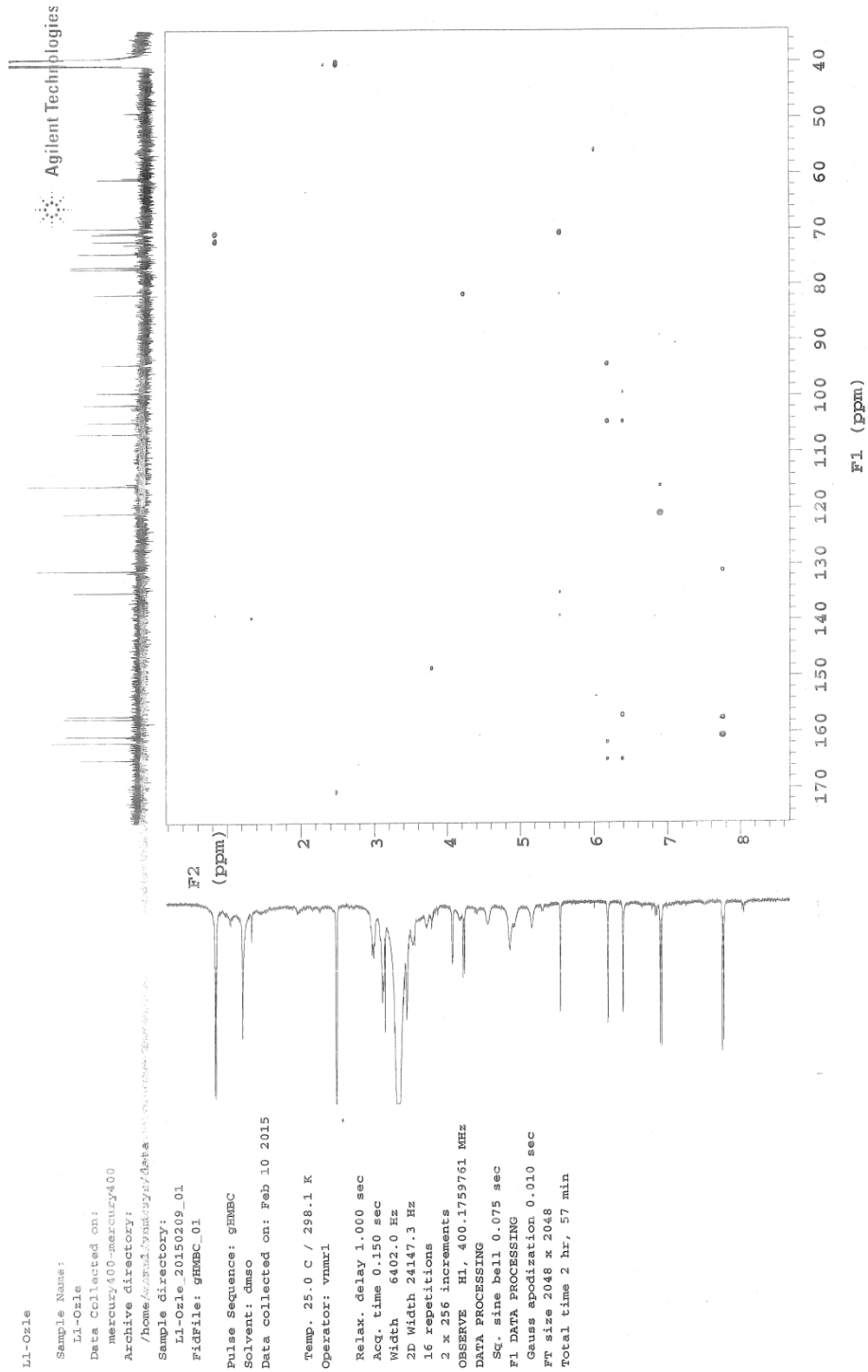
Şekil 3.26. L1 bileşiğın 1H-NMR spektrumu (Solvan: DMSO-d6, 400 MHz)



Şekil 3.27. L1 bileşiğin ¹³C-NMR spektrumu (Solvan: DMSO-d6, 400 MHz)



Şekil 3.28. L1 bileşiğın COSY spektrumu (Solvan: DMSO-d6, 400 MHz)



Şekil 3.29. L1 bileşiğın HMBC spektrumu (Solvan: DMSO-d6, 400 MHz)

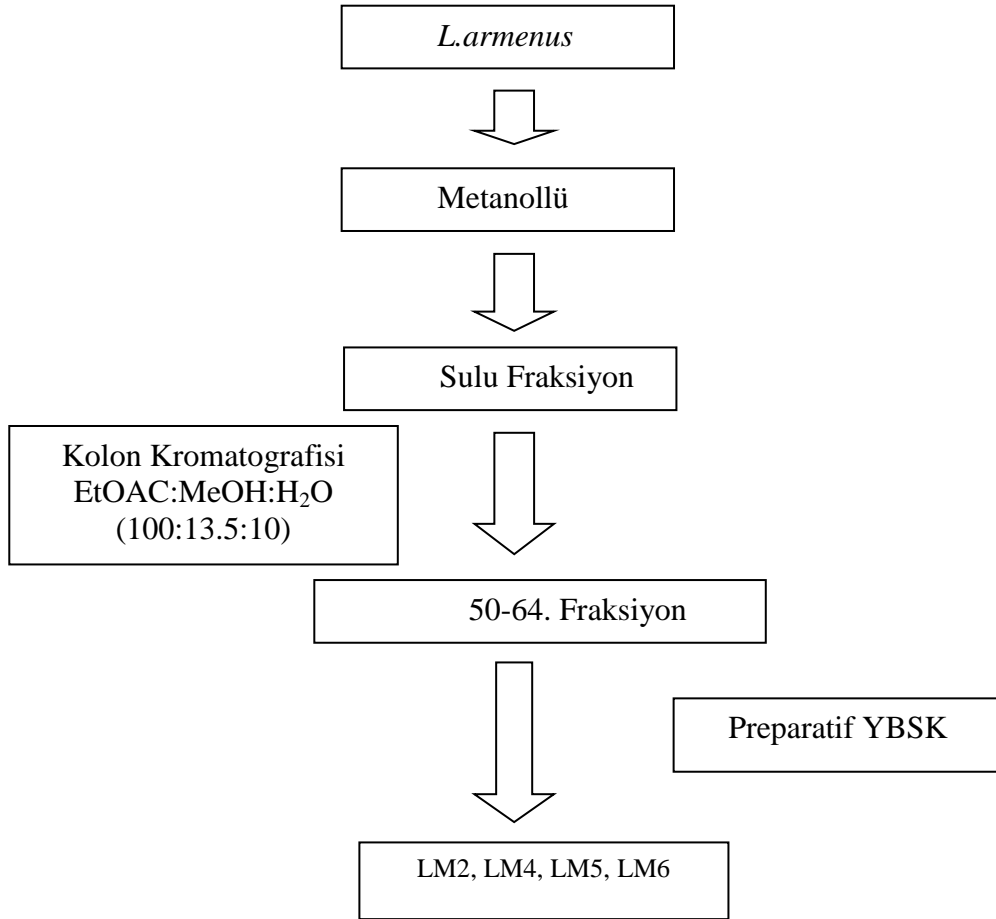
Çizelge 3.4. L1 bileşiğinin ¹H ve ¹³C NMR bulguları (Solvan: DMSO-d₆, 400 MHz)

δ H(ppm) ~ J(Hz)	Proton	Karbon	δ (ppm)
Aglikon			
-	-	-	-
-	-	C-2	156.87
-	-	C-3	134.38
-	-	C-4	177.55
-	-	C-5	161.15
6.20 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)	H-6	C-6	98.69
-	-	C-7	164.35
6.37 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)	H-8	C-8	93.66
-	-	C-9	156.39
-	-	C-10	103.90
-	H-1'	C-1'	120.25
7.76 (2H, d, <i>J</i> =8.8 Hz)	H-2'	C-2'	130.48
6.94 (2H, d, <i>J</i> =8.8 Hz)	H-3'	C-3'	115.30
-	H-4'	C-4'	160.00
6.94 (2H, d, <i>J</i> =8.8 Hz)	H-5'	C-5'	115.30
7.76 (2H, d, <i>J</i> =8.8 Hz)	H-6'	C-6'	130.48
Ramnoz			
5.71 (1H, d, <i>J</i> =1.6 Hz)	H-1''	C-1''	100.78
3.20-4.28	H-2''	C-2''	81.13
	H-3''	C-3''	69.17
	H-4''	C-4''	71.56
	H-5''	C-5''	70.25
	H-6''	C-6''	17.27
0.93 (3H, d, <i>J</i> = 6.4 Hz)			
Glukoz			
4.41 (1H, d, <i>J</i> =7.6 Hz)	H-1'''	C-1'''	106.04
3.20-4.28	H-2'''	C-2'''	73.75
	H-3'''	C-3'''	76.15
	H-4'''	C-4'''	70.05
	H-5'''	C-5'''	76.54
	H-6'''	C-6'''	60.37

Elde edilen maddenin amorf sarı renkli olması, İTK'da silikajel 60 F₂₅₄ plaklarında gün ışığında sarı ve UV 254 nm'de koyu mor ve UV 366 nm'de koyu sarı renk gözlenmesi L1 kodlu bileşiğin bir flavonoit olabileceği düşündürmüştür. L1 bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (Şekil 3.26) incelendiğinde δ 6.20 (1H, d, $J=2.0$ Hz) ve δ 6.37 (1H, d, $J=2.0$ Hz) ppm'lerde gözlenen sinyaller birbirine göre meta pozisyonda yer alan iki protonu (H-6) ve (H-8) işaret etmektedir. δ 7.76 (2H, d, $J=8.8$ Hz) ve δ 6.94 (2H, d, $J=8.8$ Hz) ppm'lerde gözlenen sinyaller ise simetrik disüstitüe benzen halkasını işaret etmektedir. COSY spektrumu (Şekil 3.28) incelendiğinde bu iki protonun komşu olduğu görülmüştür. Bu veriler kemferol tipi flavonoit halkasının varlığını işaret etmektedir. ¹³C-NMR spektrumunda (Şekil 3.27) δ 179.66 ppm'de gözlenen kuaterner karbon atomuna ait sinyal karbonil grubunun varlığını (C-4) işaret etmektedir ki, kemferol halkasının varlığı doğrulamaktadır. ¹H-NMR spektrumunda δ 5.71 (1H, d, $J= 1.6$ Hz) ppm'de gözlenen dublet α pozisyondan bağlı, δ 4.41 (1H, d, $J= 7.6$ Hz) ppm'de gözlenen dublet ise β konfigürasyonunda bağlı iki farklı oza ait anomerik protonu işaret etmektedir. ¹H-NMR spektrumunda δ 0.93 ($J=6.4$ Hz, 3H) ppm'de gözlenen dublet ve ¹³C-NMR spektrumunda δ 17.27 ppm'de gözlenen karbon atomuna ait sinyal metil grubunun varlığını göstermektedir ve bu veriler ozlardan birinin ramnoz olduğunu işaret etmektedir. ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları incelendiğinde ramnozun varlığı, diğer ozun ise glukoz olduğu tespit edilmiştir. HMBC (Şekil 3.29) spektrumuna bakıldığında ramnoza ait δ 5.71 ppm'de (H-1'') gözlenen dublet (1H, $J= 1.6$ Hz) ile δ 134.38 ppm'de (C-3) gözlenen karbon atomu sinyali arasındaki etkileşim ramnozun halkaya C-3 bağlı olduğunu ve konumundan bağlandığını göstermektedir. HMBC spektrumu ramnoz anomerik proton atomuna ait sinyalin ayrıca δ 69.17 (C-3'), δ 70.25 (C-5'') ve δ 81.13 (C-2'') ppm'deki karbon atomu sinyalleri ile etkileşmekte olduğunu, δ 0.93 ($J=6.4$ Hz, 3H) ppm'de gözlenen ramnoz metiline ait sinyalin ise δ 70.25 (C-5'') ve δ 71.56 (C-4'') karbon atomu sinyalleri ile etkileştiğini göstermektedir. δ 4.41 (1H, d, $J= 7.6$ Hz) (H-1''') ppm'deki glukoz anomerik protonuna ait sinyalin HMBC spektrumunda ise δ 81.13 ppm'deki (C-2'') karbon atomu ile etkileşmesi glukozun ramnoza C-2 konumundan bağlandığını işaret etmektedir. Kütle spektrumu incelendiğinde gözlenen 287.14 [M+H]⁺ iyon piki bileşiğin kemferol aglikonu taşıdığı; 595.65 [M+H]⁺ iyon piki kemferol + ramnoz +

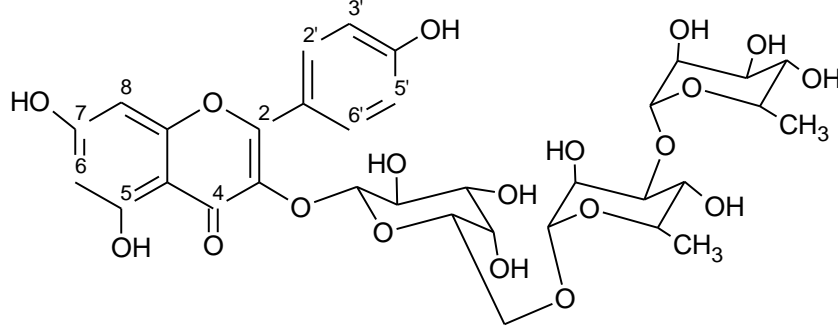
glukoz varlığını doğrulamaktadır. Tüm bu veriler L1 kodlu bileşiğin **kemferol -3-O- α -L-[β -D-glukopiranozil(1 \rightarrow 2) ramnopiranozit** olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bileşik ozların bağlanma sırası nedeniyle az rastlanan bir sekonder metabolittir. Literatür verilerine göre aynı bileşiğin daha önce *Ginkgo biloba* ve *Hymenophyllum crispatum* bitkilerinden de izole edildiğini rapor edilmiştir. Elde edilen bulgular literatür verileri ile kıyaslanmış ve L1 kodlu bileşiğin yapısı doğrulanmıştır (Markham ve ark., 1992; Mishra ve ark., 2009).

3.4.2. LM2, LM4, LM5, LM6 Bileşiklerin Yapı Tayini



Şekil 3.30. LM2, LM4, LM5, LM6 Bileşiklerin İzolasyon Şeması

Kemferol-3-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 3)- α -L-ramnopiranozil--(1 \rightarrow 6)- β -D-galaktopiranozit (Kemferol-3-O-ramninozit)



Molekül Ağırlığı: 741.13 [M+H]⁺

Molekül Formülü : C₃₃H₄₀O₁₉

Özelliği: Sarı amorf toz

EI-MS: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.31)

¹H-NMR: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.32)

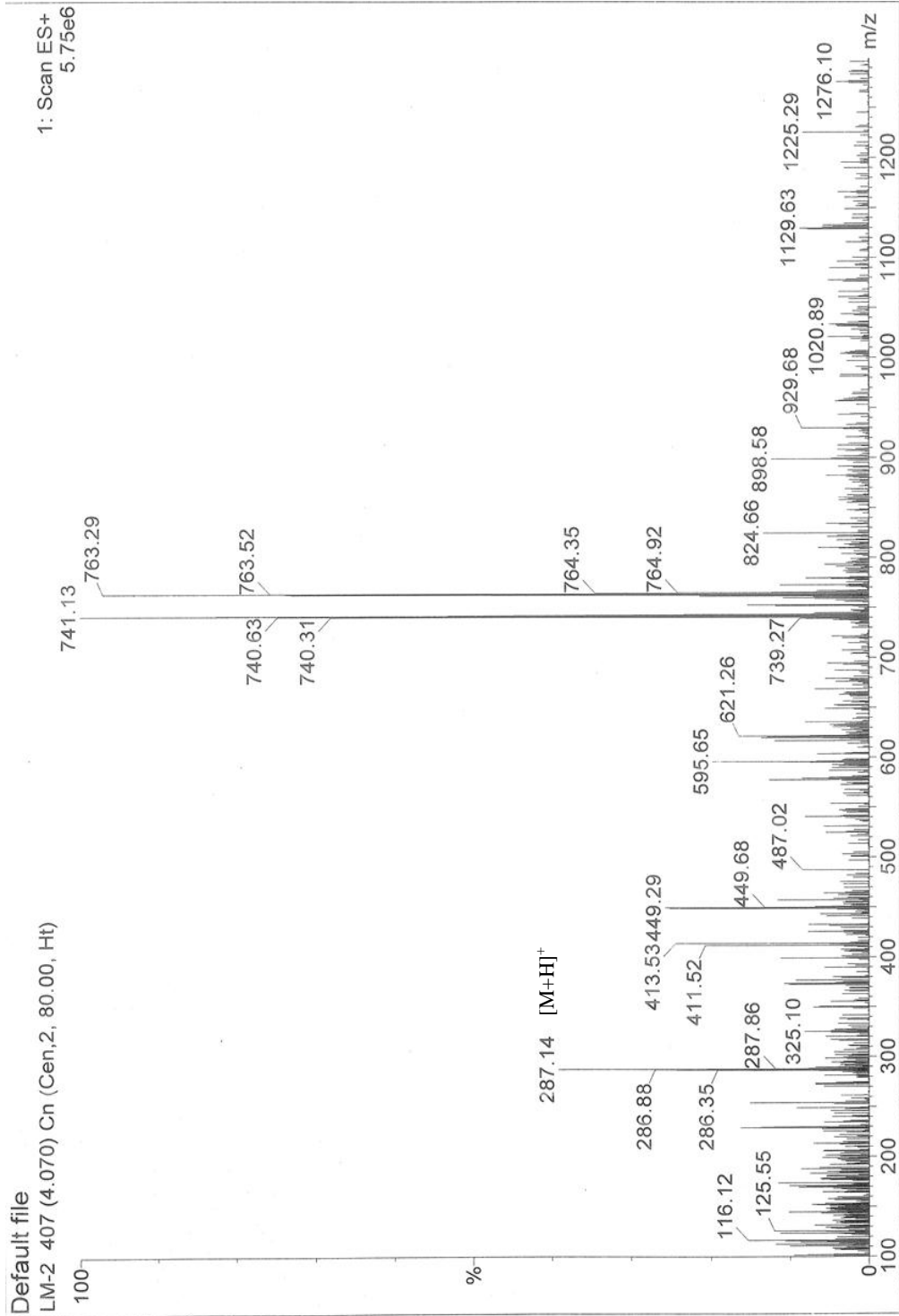
¹³C-NMR: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.33)

TOCSY: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.34)

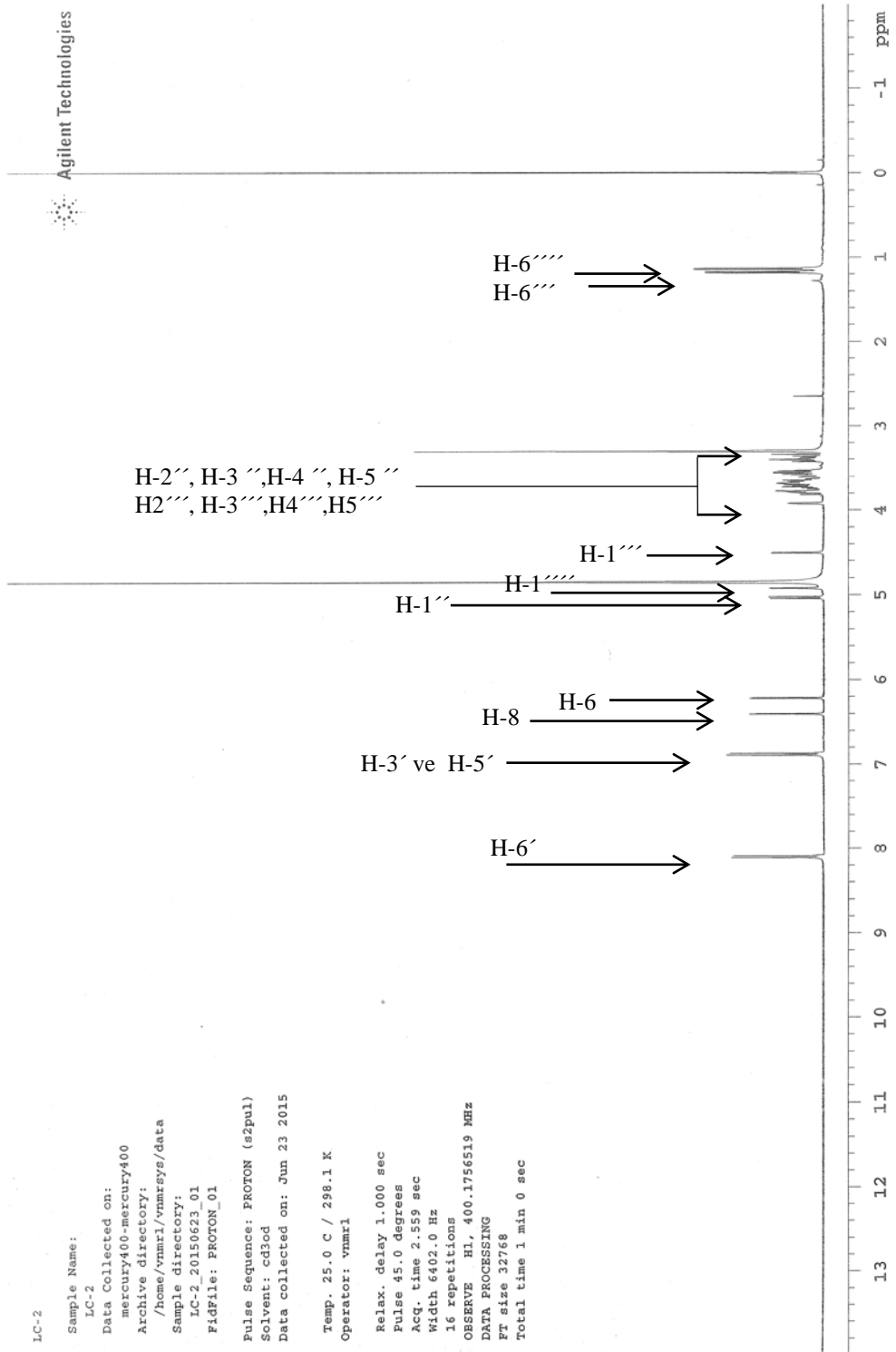
COSY: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.35)

HSQC: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.36)

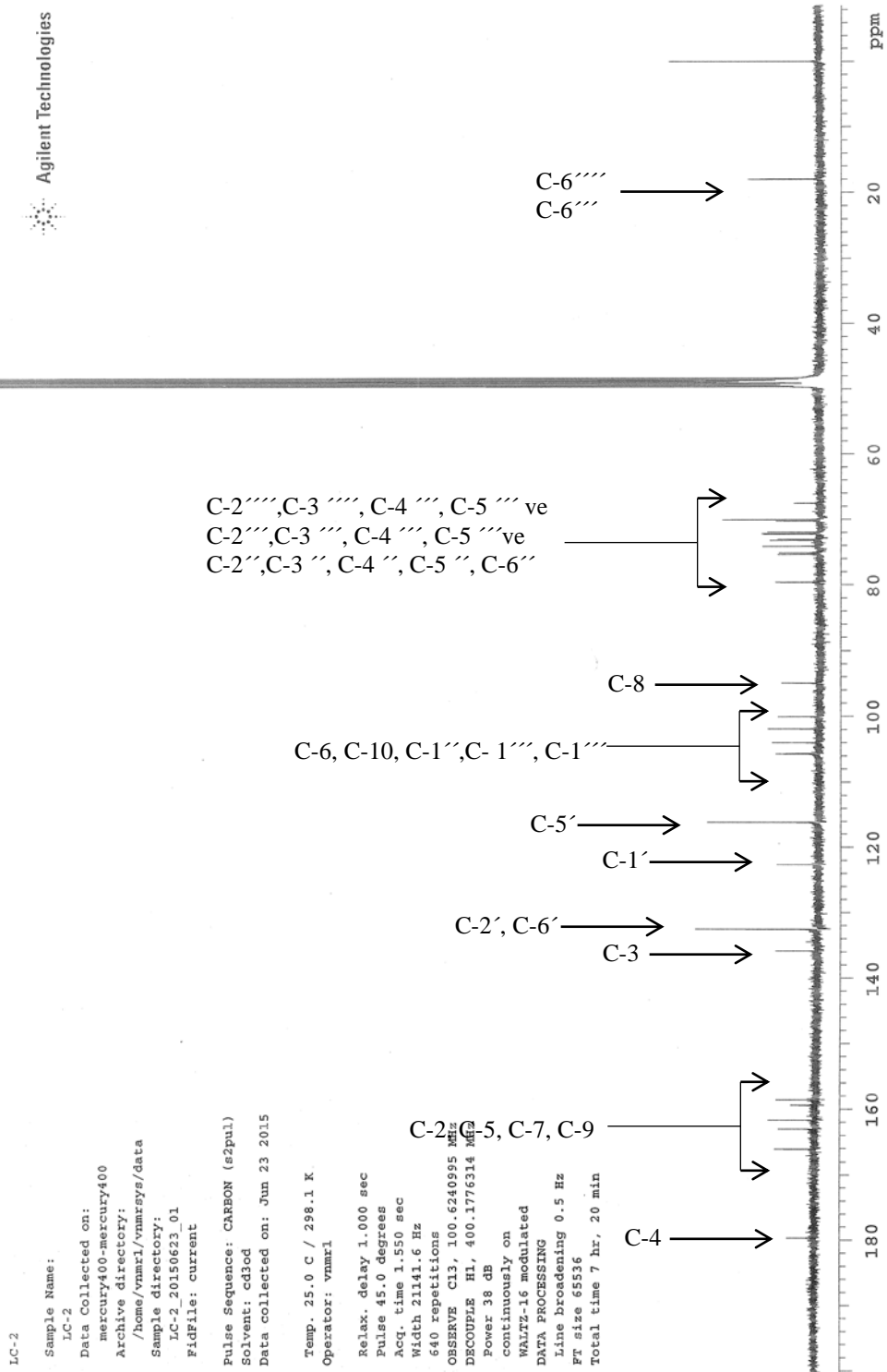
HMBC: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.37)



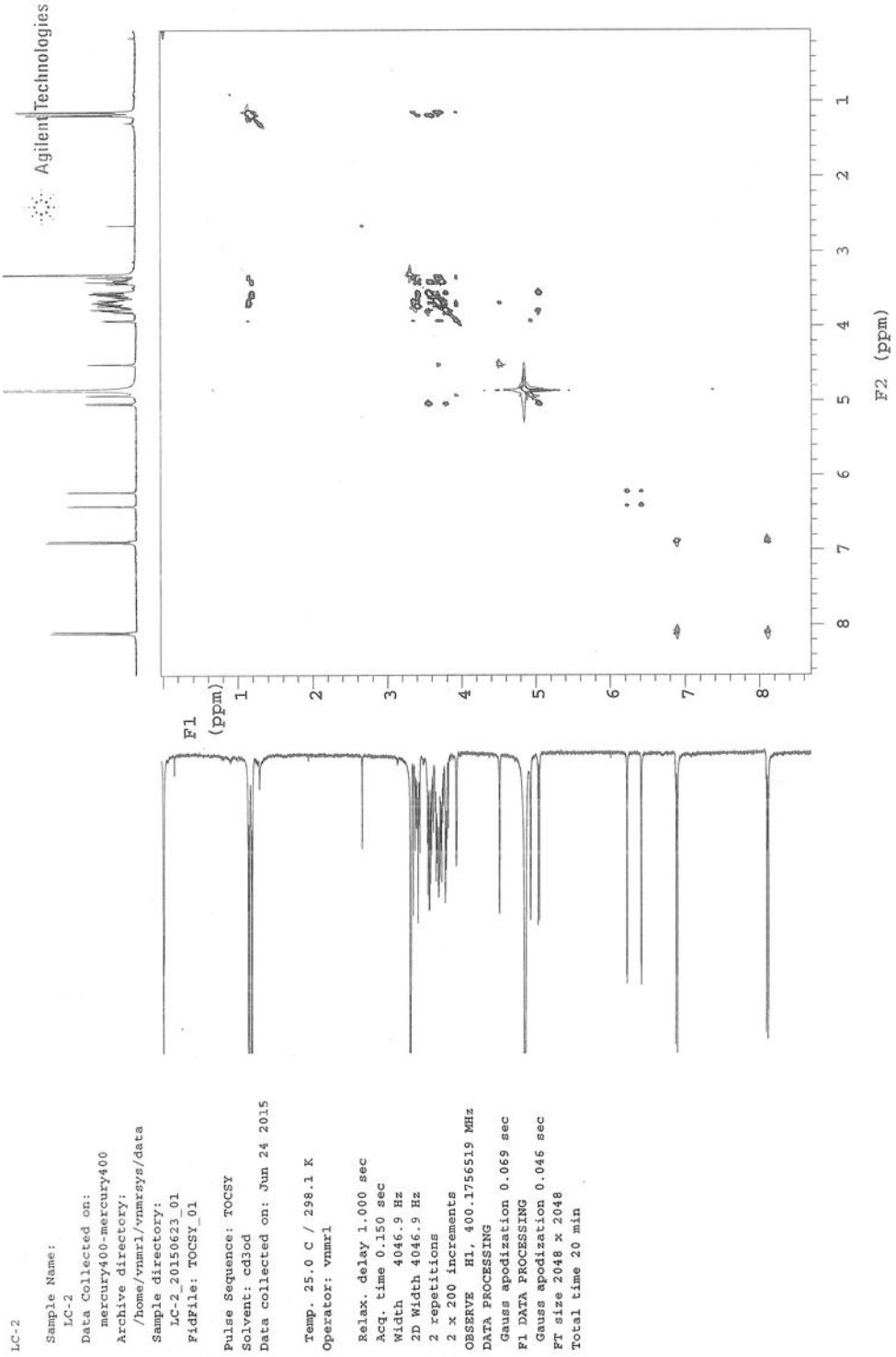
Şekil 3.31. LM 2 bileşiğın EI MS spektrumu (Solvan: CD₃OD)



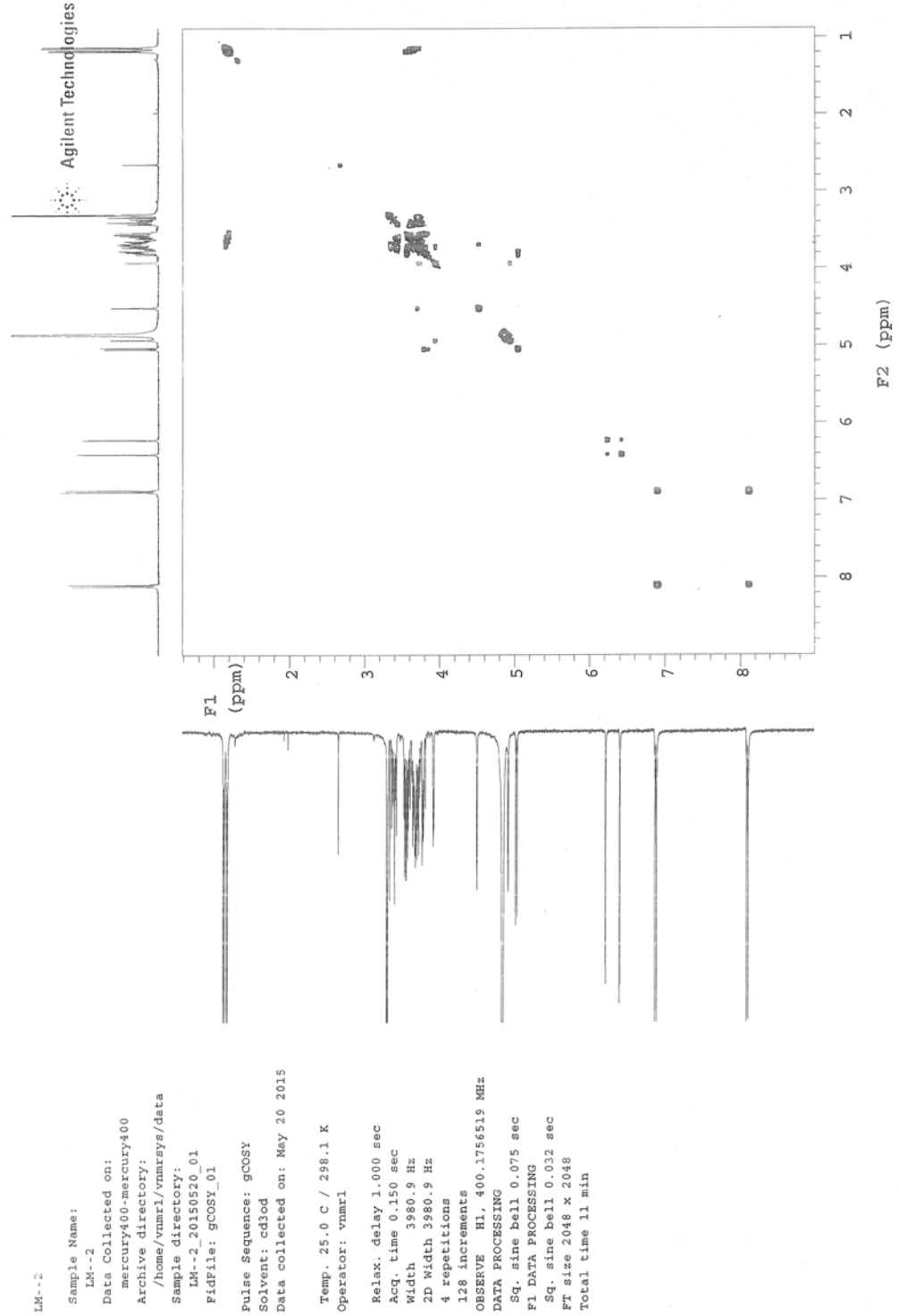
Şekil 3.32. LM 2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (Solvan: CD_3OD , 400 MHz)



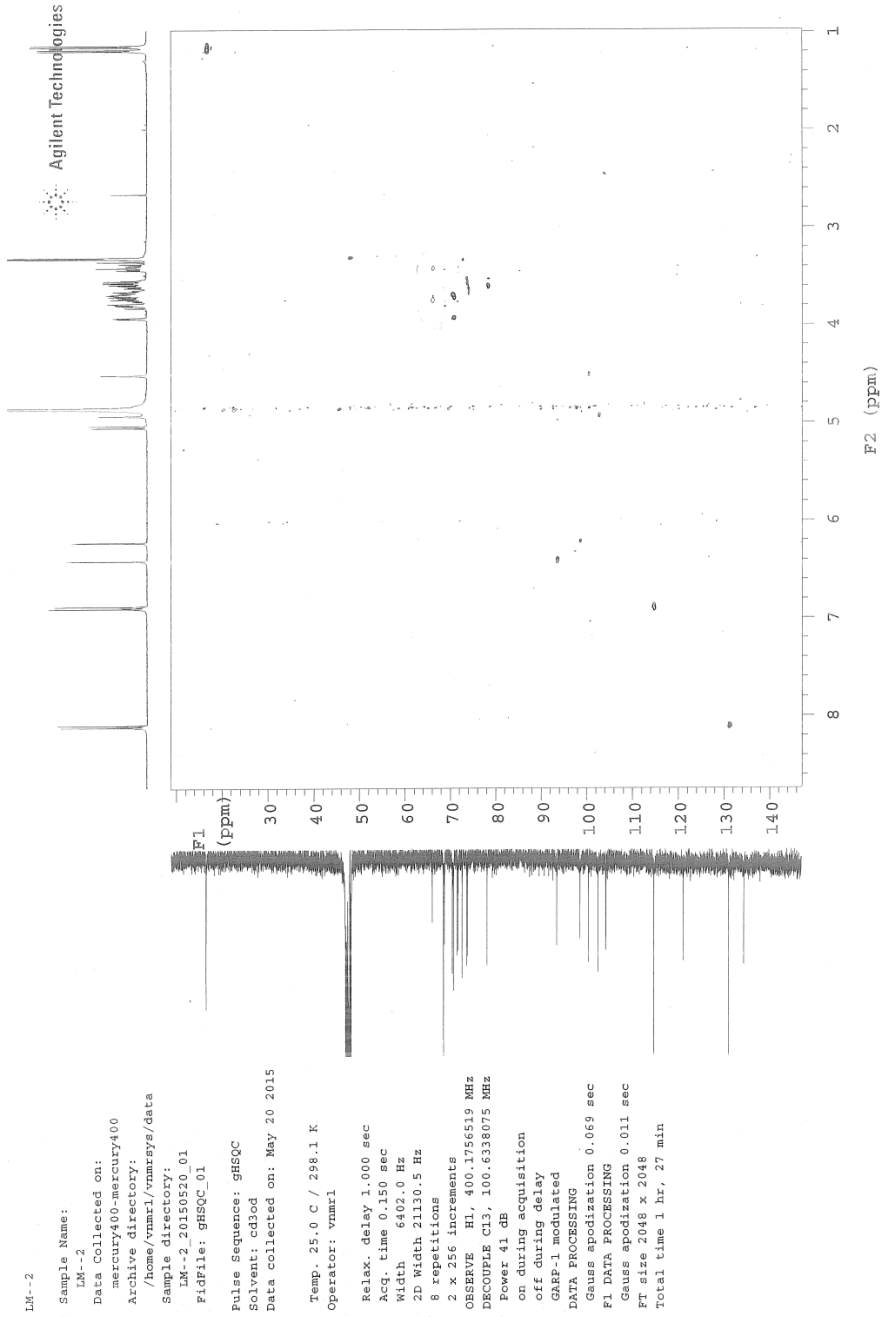
Şekil 3.33. LM 2 bileşigin ¹³C-NMR spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



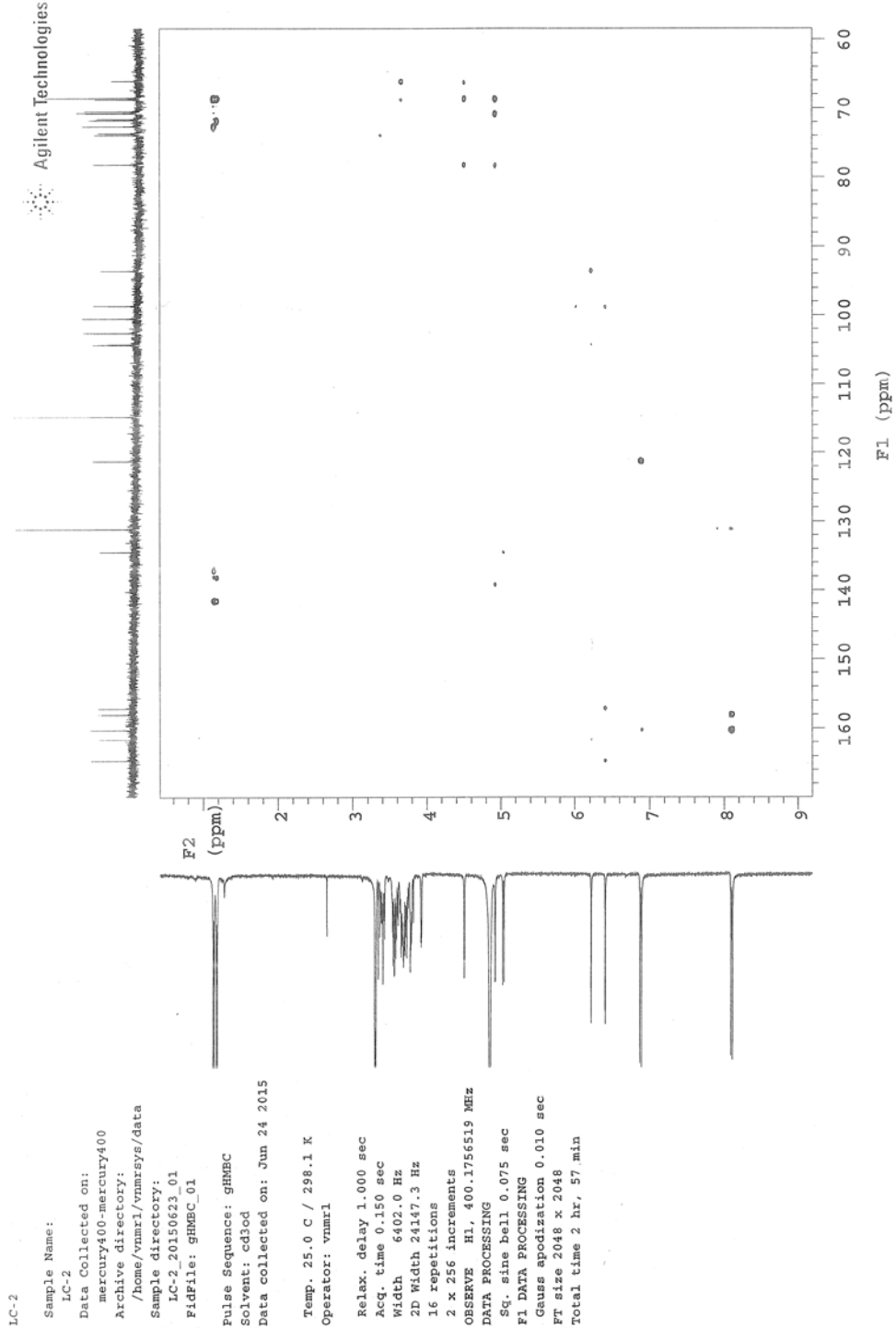
Şekil 3.34 . LM 2 bileşiğın TOCSY spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



Şekil 3.35 . LM 2 bileşiğın COSY spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



Şekil 3.36 . LM 2 bileşiğın HSQC spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



Şekil 3.37 . LM 2 bileşiminin HMBC spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)

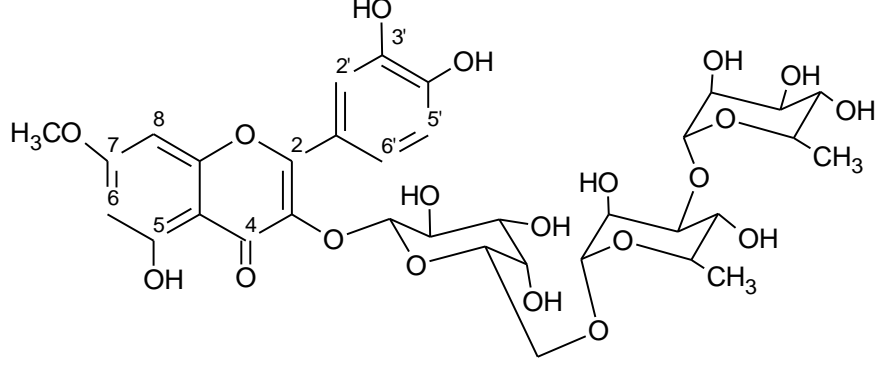
Çizelge 3.5. LM-2 bileşiğinin ¹H ve ¹³C NMR bulguları (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)

δH(ppm) ~ J(Hz)	Proton	Karbon	δ (ppm)
Aglikon			
-	-	-	-
-	-	C-2	158.59
-	-	C-3	135.86
-	-	C-4	179.66
-	-	C-5	163.06
6.21 (1H, d, J=2.0 Hz)	H-6	C-6	100.07
-	-	C-7	166.12
6.40 (1H, d, J=2.0 Hz)	H-8	C-8	94.99
-	-	C-9	159.45
-	-	C-10	105.74
-	H-1'	C-1'	122.65
8.09 (2H, d, J=8.8 Hz)	H-2'	C-2'	132.54
6.88 (2H, d, J=8.8 Hz)	H-3'	C-3'	116.18
-	H-4'	C-4'	161.69
6.88 (2H, d, J=8.8 Hz)	H-5'	C-5'	116.18
8.09 (2H, d, J=8.8 Hz)	H-6'	C-6'	132.54
Galaktoz			
5.03 (1H, d, J=7.6 Hz)	H-1''	C-1''	105.67
3.75 (1H, m)	H-2''	C-2''	73.05
3.54 (1H, m)	H-3''	C-3''	75.12
3.81 (1H, m)	H-4''	C-4''	70.24
3.64 (1H, brs)	H-5''	C-5''	75.35
3.42, 3.74 (1H, m)	H-6''	C-6''	67.53
Ramnoz 1			
4.50 (1H, d, J=1.2 Hz)	H-1'''	C-1'''	101.93
3.68 (1H, m)	H-2'''	C-2'''	71.94
3.59 (1H, m)	H-3'''	C-3'''	79.62
3.4 (1H, m)	H-4'''	C-4'''	73.22
3.69, 3.54 (1H, m)	H-5'''	C-5'''	70.03
1.18 (3H, d, J= 5.6 Hz)	H-6'''	C-6'''	17.99
Ramnoz 2			
4.92 (1H, d, J=2.0 Hz)	H-1''''	C-1''''	104.02
3.92 (1H, m)	H-2''''	C-2''''	72.17
3.71 (1H, m)	H-3''''	C-3''''	72.23
3.32 (1H, m)	H-4''''	C-4''''	74.11
3.69, 3.54 (1H, m)	H-5''''	C-5''''	70.03
1.14 (3H, d, J= 6.0 Hz)	H-6''''	C-6''''	18.02

Elde edilen maddenin amorf sarı renkli olması, İTK'da silikajel 60 F₂₅₄ plaklarında gün ışığında sarı ve UV 254 nm'de koyu mor ve UV 366 nm'de koyu sarı renk gözlenmesi LM2 kodlu bileşiğin bir flavonoit olabileceği düşünülmüştür. LM2 kodlu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (Şekil 3.32) incelendiğinde δ 6.21 (1H, d, $J=2.0$ Hz) ve δ 6.40 (1H, d, $J=2.0$ Hz) ppm'lerde (H-6) ve (H-8) gözlenen sinyaller birbirine göre meta pozisyonda yer alan iki protonu işaret etmektedir. δ 8.09 (2H, d, $J=8.8$ Hz) ve δ 6.88 (2H, d, $J=8.8$ Hz) ppm'lerde gözlenen sinyaller ise simetrik disüstitüe benzen halkasını işaret etmektedir. COSY spektrumu (Şekil 3.35) incelendiğinde bu iki protonun komşu olduğu görülmektedir. ¹³C-NMR spektrumunda (Şekil 3.33) δ 179.66 ppm'de gözlenen kuarterner karbon atomuna ait sinyal karbonil grubunun varlığını (C-4) işaret etmektedir ki bu veriler kemferol tipi flavonoit halkasının varlığını işaret etmektedir. ¹H-NMR spektrumunda δ 5.03 (1H, d, $J=7.6$ Hz) ppm'de gözlenen dublet β konfigürasyonunda, δ 4.93 (1H, d, $J=2.0$ Hz) ve δ 4.50 (1H, d, $J=1.2$ Hz) ppm'lerde gözlenen dubletler ise α konfigürasyonunda iki farklı oza ait anomerik protonlarını işaret etmektedir. ¹H-NMR spektrumunda δ 1.14 ($J=6.0$ Hz, 3H) ve δ 1.18 ($J=5.6$ Hz, 3H) ppm'lerde gözlenen iki dublet ve ¹³C-NMR spektrumunda δ 17.99 ppm'de ve δ 18.02 ppm'de gözlenen karbon atomuna ait sinyaller iki metil grubunun varlığını göstermektedir. Bu veriler ozlardan iki tanesinin ramnoz olduğunu işaret etmektedir. Kütle spektrumu incelendiğinde gözlenen 287.14 [M+H]⁺ iyon piki bileşiğin kemferol aglikonu taşıdığını doğrularken, 449.53 [M+H]⁺ iyon piki kemferol + hekzoz; 595.65 [M+H]⁺ iyon piki kemferol + hektoz + ramnoz ve 741.13 [M+H]⁺ moleküler iyon piki ise kemferol + hektoz + ramnoz + ramnoz varlığını göstermektedir. Kütle spektrumunda gözlenen hekzoz literatür verileri (Özipek ve ark., 1994) ile karşılaştırıldığında galaktoz olduğu düşünülmüştür. Oz zincirinin halkaya bağlanma noktası HMBC spektrumunda (Şekil 3.37) δ 5.03 ppm'de gözlenen dublet (1H, $J=7.6$ Hz) ile δ 135.86 ppm'de (C-3) gözlenen karbon atomu sinyali arasındaki etkileşimden belirlenmiştir. Oz zincirinin bağlanma sıraları kütle spektrumu verileri yanında HMBC spektrumunun incelenmesiyle, iki ramnoz ünitesinin birbirlerine ve galaktoza bağlanma noktaları ise HMBC, COSY ve TOCSY spektrumlarının incelenmesiyle tespit edilmiştir. δ 4.50 (1H, d, $J=1.2$ Hz) (H-1'') ppm'deki anomerik protona ait sinyalin HMBC spektrumunda δ 67.53 (C-6'') ppm'deki

karbon atomu ile etkileşmesi ilk ramnoz galaktoza C-6'' konumundan bağlandığını işaret etmektedir. HMBC spektrumunda δ 4.50 (1H, d, $J= 1.2$ Hz) (H-1''') ve δ 4.93 (1H, d, $J= 2.0$ Hz) (H-1''') ppm'lerde gözlenen proton sinyalleri δ 79.62 (C-3''') ve δ 70.03 (C-5'''/ C-5''') karbon atomu sinyalleri ile etkileşmesi ve δ 1.14 ($J=6.0$ Hz, 3H) ve δ 1.18 ($J=5.6$ Hz, 3H) proton sinyalleri ise sırasıyla δ 70.03 (C-5'''/ C-5''') ve δ 74.11 (C-4''') ile δ 70.03 (C-5'''/ C-5''') ve δ 73.23 (C-4''') karbon atomu sinyalleri ile etkileşmesi terminal ramnoz ünitesinin ilk ramnoz halkasına C-3 konumundan bağlandığını ortaya çıkarmaktadır. Bu veriler COSY ve TOCSY spektrumları ile ayrıca literatür bulguları ile doğrulanmıştır. Oz zincirine ait veriler literatür verileri ile de kıyaslanmıştır (Özipek ve ark., 1994). Tüm bulgulara dayanarak LM2 kodlu bileşik **kemferol-3-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 3)- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galaktopiranozit** olarak tespit edilmiştir

7-metoksi-kerasetol-3-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 3)- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galaktopiranozit (Ramnetin ramninozit)



Molekül Ağırlığı: 770.71 [M+H]⁺

Molekül Formülü: C₃₄H₄₂O₂₀

Özelliği: Sarı amorf toz

EI-MS: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.38)

¹H-NMR: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.39)

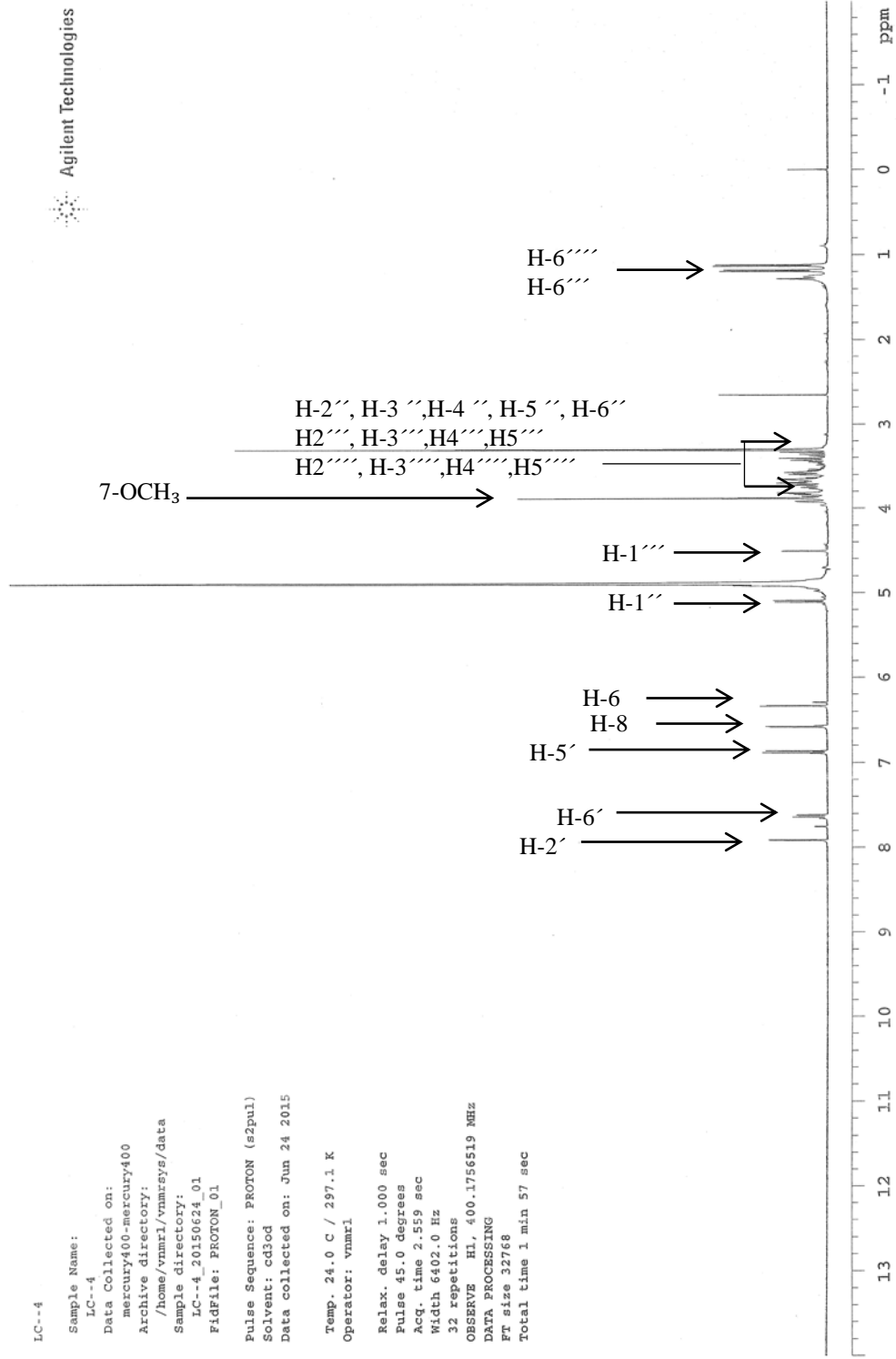
¹³C-NMR: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.40)

COSY: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.41)

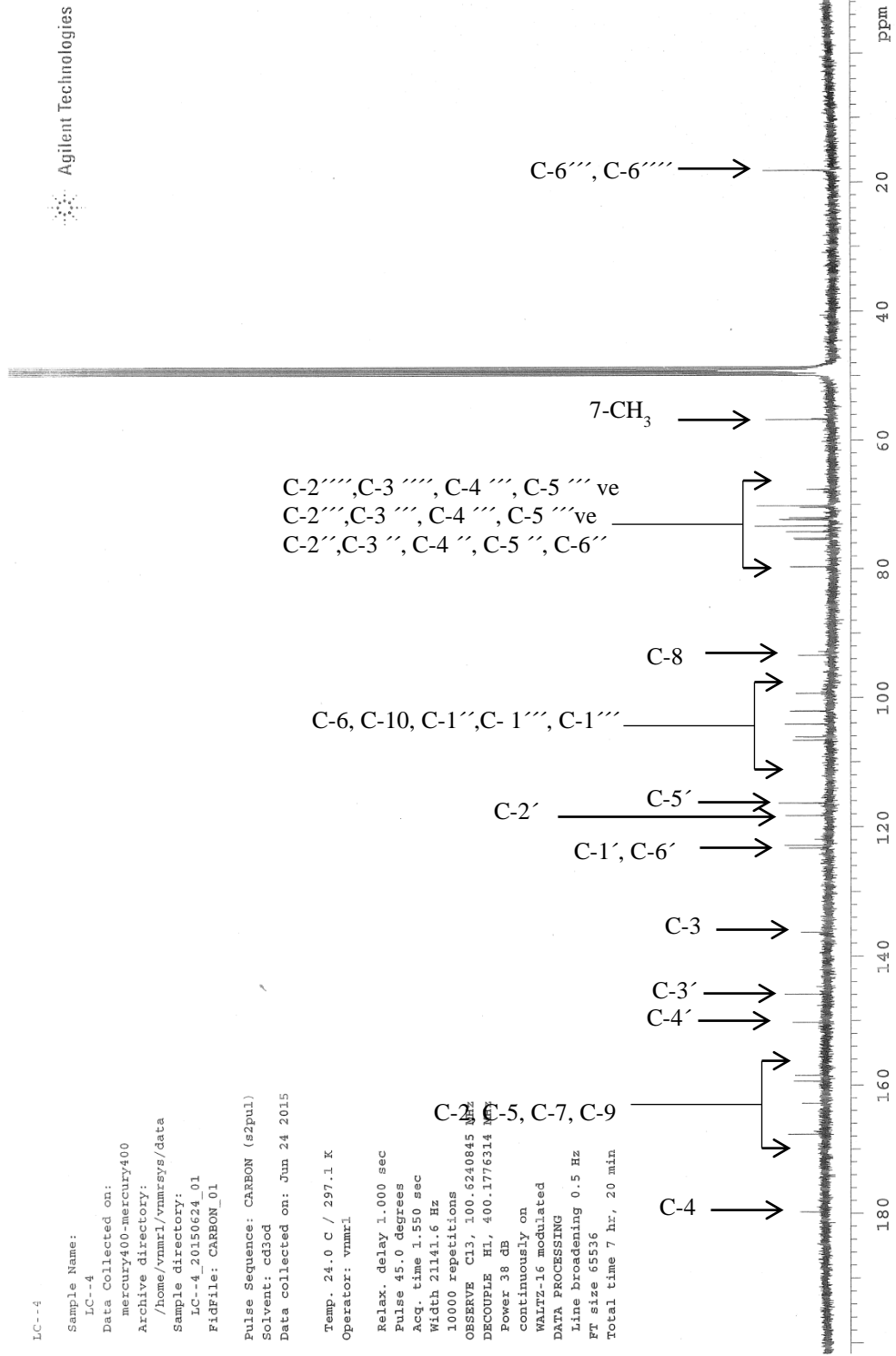
TOCSY: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.42)

HMBC: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.43)

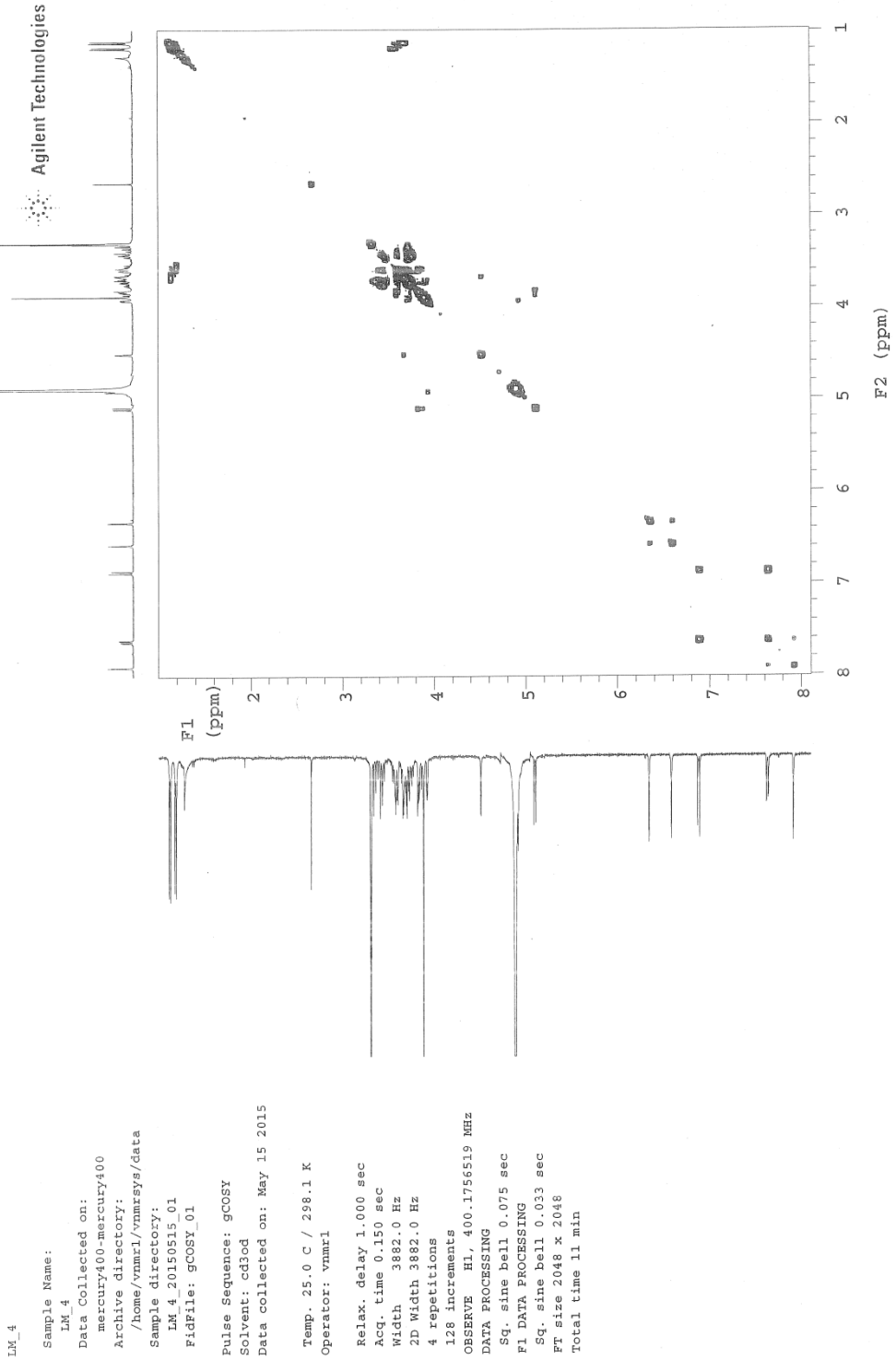
HSQC: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.44)



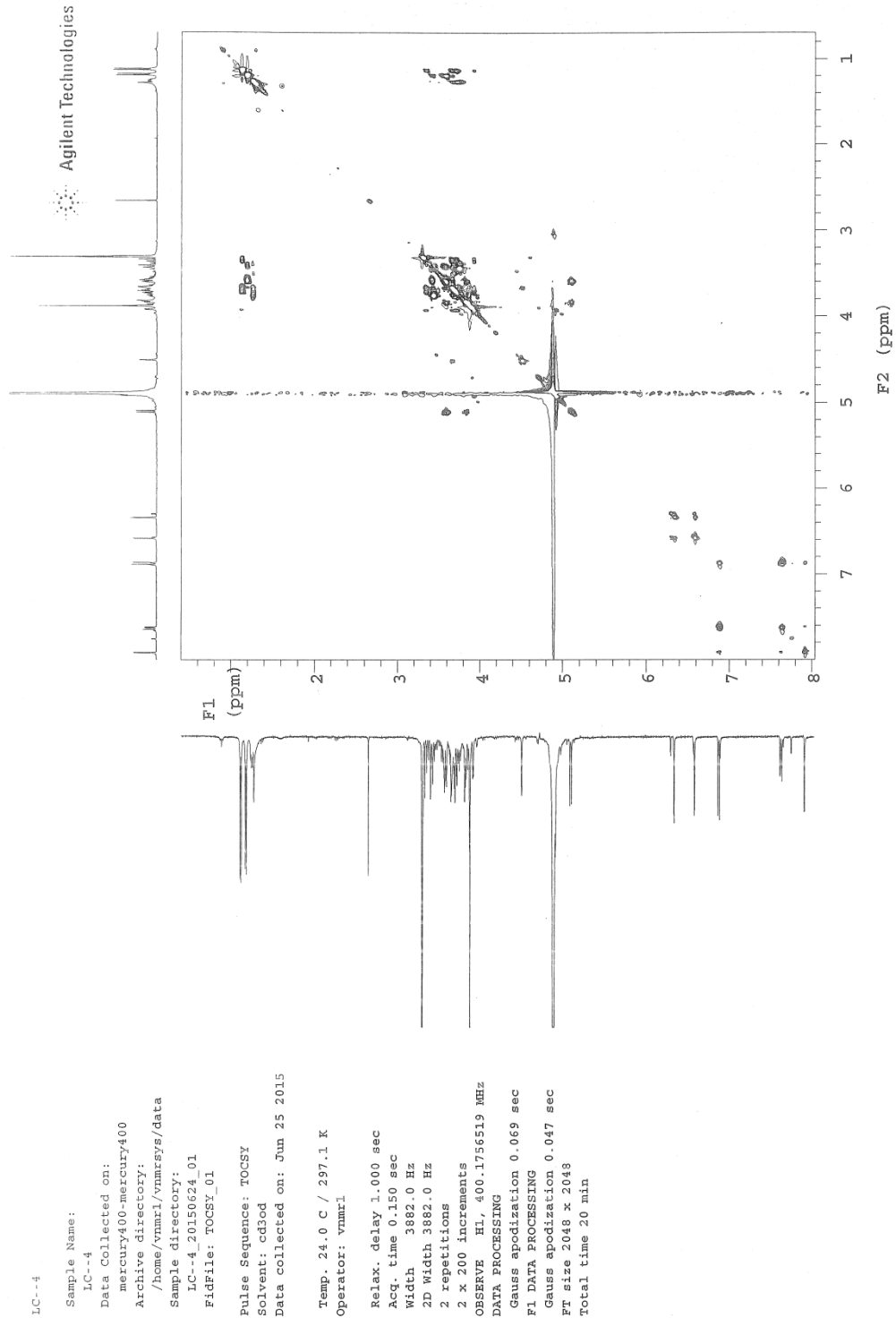
Şekil 3.39 . LM 4 bileşiğin ¹³H-NMR spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



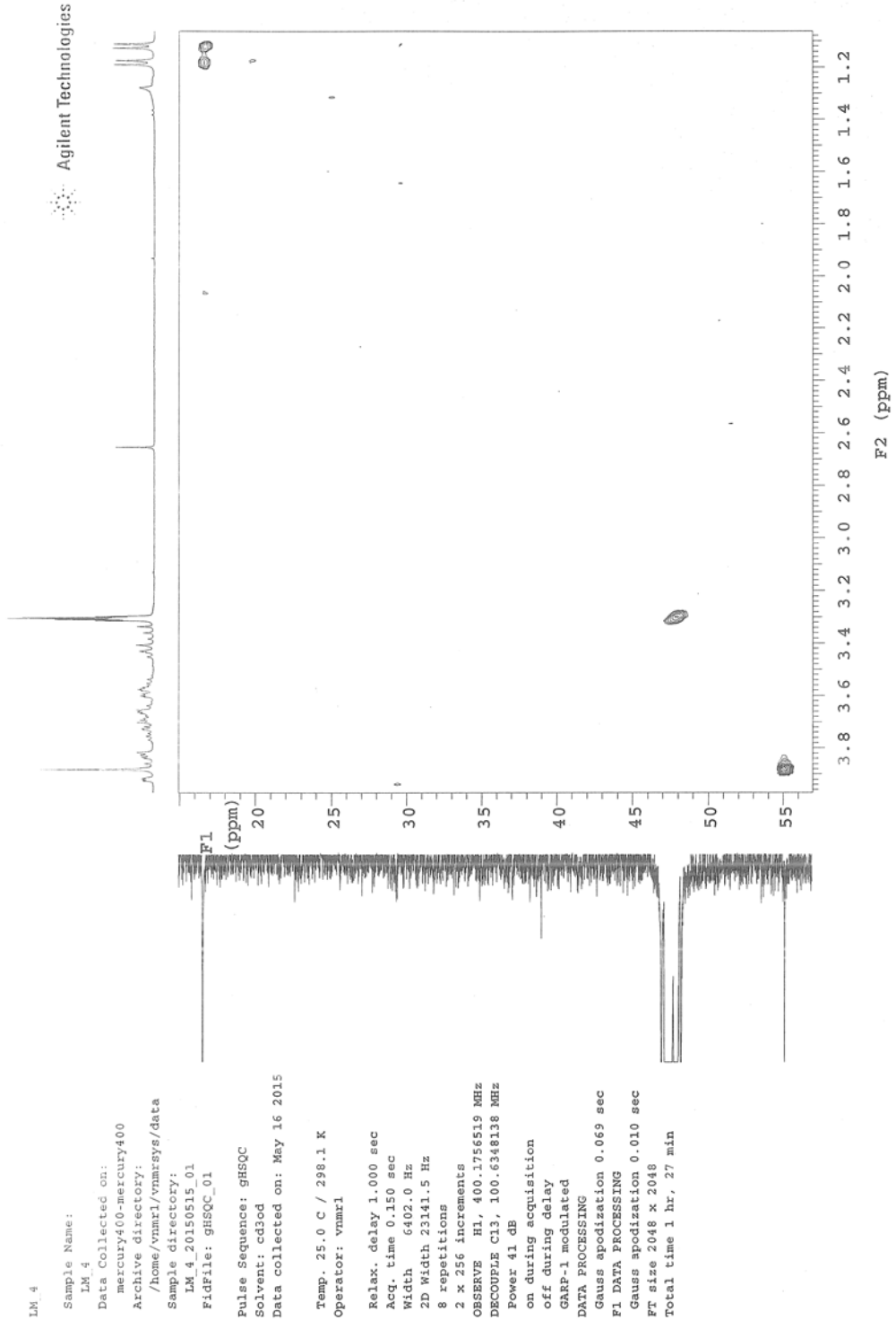
Şekil 3.40 . LM 4 bileşiğın ¹³C-NMR spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



Şekil 3.41. LM 4 bileşiğın COSY spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



Şekil 3.42 . LM 4 bileşiğın TOCSY spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



Şekil 3.44. LM 4 bileşiğın HSQC spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)

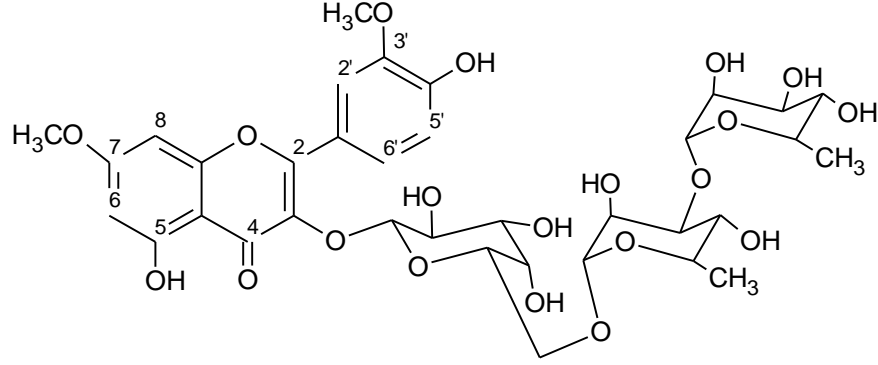
Çizelge 3.6. LM-4 bileşiğinin ¹H ve ¹³C NMR bulguları (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)

δ H(ppm) ~ J(Hz)	Proton	Karbon	δ (ppm)
Aglikon			
-	-	-	-
-	-	C-2	159.44
-	-	C-3	136.29
-	-	C-4	179.77
-	-	C-5	162.86
6.33 (1H, d, J=2.0 Hz)	H-6	C-6	99.37
-	-	C-7	167.66
6.58 (1H, d, J=2.0 Hz)	H-8	C-8	93.46
-	-	C-9	158.53
-	-	C-10	106.62
-	H-1'	C-1'	122.85
7.91 (1H, d, J=2.0 Hz)	H-2'	C-2'	118.28
-	H-3'	C-3'	145.96
-	H-4'	C-4'	150.35
6.87 (1H, d, J=8.4 Hz)	H-5'	C-5'	116.35
7.62 (1H, dd, J=8.0, 2.0 Hz)	H-6'	C-6'	123.29
3.88, s	7-OCH ₃	7-OCH ₃	56.74
Galaktoz			
5.09 (1H, d, J=8.0 Hz)	H-1''	C-1''	106.13
3.41, 3.83 (1H, m)	H-2''	C-2''	73.36
3.58 (1H, m)	H-3''	C-3''	75.25
3.81 (1H, m)	H-4''	C-4''	70.44
3.68 (1H, m)	H-5''	C-5''	75.46
3.42; 3.74 (1H, m)	H-6''	C-6''	67.66
Ramnoz 1			
4.50 (1H, d, J=1.6 Hz)	H-1'''	C-1'''	102.10
3.66 (1H, m)	H-2'''	C-2'''	72.05
3.58 (1H, m)	H-3'''	C-3'''	79.70
3.41, 3.83 (1H, m)	H-4'''	C-4'''	73.36
3.55, 3.66 (1H, m)	H-5'''	C-5'''	70.18
1.18 (3H, d, J= 6.4 Hz)	H-6'''	C-6'''	18.14
Ramnoz 2			
4.91 (1H, d, J=1.6 Hz)	H-1''''	C-1''''	104.14
3.92 (1H, m)	H-2''''	C-2''''	72.30
3.72 (1H, m)	H-3''''	C-3''''	72.36
3.32 (1H, m)	H-4''''	C-4''''	74.24
3.55, 3.66 (1H, m)	H-5''''	C-5''''	70.18
1.12 (3H, d, J= 6.4 Hz)	H-6''''	C-6''''	18.18

Elde edilen maddenin amorf sarı renkli olması, İTK'da silikajel 60 F₂₅₄ plaklarında gün ışığında sarı ve UV 254 nm'de koyu mor ve UV 366 nm'de koyu sarı renk gözlenmesi LM4 kodlu bileşiğin bir flavonoit olabileceği düşünülmüştür. LM4 kodlu bileşiğin ¹H-NMR spektrumunda (Şekil 3.39) 6.33 (1H, d, *J*=2.0 Hz) ve 6.58 (1H, d, *J*=2.0 Hz) ppm'lerde gözlenen sinyaller sırasıyla H-6 ve H-8 konumlarını; 7.91 (1H, d, *J*=2.0 Hz), 6.87 (1H, d, *J*=8.4 Hz) ve 7.62 (1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz) ppm'lerde gözlenen sinyaller ise sırayla H-2', H-5' ve H-6' konumlarını işaret etmektedir. ¹³C-NMR spektrumunda (Şekil 3.40) δ 179.77 ppm'de gözlenen kuaterner karbon atomuna ait sinyal karbonil grubunun varlığını (C-4) işaret etmektedir. Bu veriler LM4 kodlu bileşiğin kersetol türevi olduğunu ortaya koymaktadır. ¹³C-NMR spektrumunda gözlenen δ 56.74 ppm'de görülen karbon atomuna ait sinyal ve ¹H-NMR spektrumunda gözlenen 3.88 (3H, s) ppm'deki singlet bir metoksil grubunun varlığını işaret etmektedir. HMBC spektrumu incelendiğinde 3.88 (3H, s) ppm'de gözlenen singletin δ 167.66 ppm'de gözlenen C atomu sinyali ile etkileşimi metoksil grubunun C-7 konumundan bağlandığını göstermektedir. Bu bilgiler 7 metoksi kersetol halkasını (ramnetin) işaret etmektedir. ¹H-NMR spektrumunda anomerik protona ait olan δ 5.09 (*J*= 8 Hz, 1H); 4.91 (*J*= 1.6 Hz, 1H) ve 4.50 (*J*= 1.6 Hz, 1H) ppm'lerde gözlenen dubletler ile ¹³C NMR spektrumunda δ 102.10, δ 104.14 ve δ 106.13 ppm'lerde gözlenen karbon atomlarına ait sinyaller üç farklı ozun varlığını düşündürmektedir. ¹H-NMR ve ¹³C-NMR verilerine bakıldığında δ 1.12 (*J*=6.4 Hz, 3H) ve δ 1.18 (*J*=6.4 Hz, 3H) ppm'lerde gözlenen iki dublet ve ¹³C-NMR spektrumunda δ 18.14 ppm'de ve δ 18.18 ppm'de gözlenen karbon atomuna ait sinyaller iki metil grubunun varlığını göstermektedir ve bu veriler ozlardan iki tanesinin ramnoz olduğunu işaret etmektedir. HMBC spektrumunun incelenmesiyle δ 5.09 ppm'de gözlenen dublet (1H, *J*= 8 Hz) proton sinyali ile δ 136.29 ppm'de (C-3) gözlenen karbon atomu sinyali arasındaki etkileşim oz zincirin halkaya C-3 konumundan bağlı olduğunu göstermektedir. Oz zincirlerinin bağlanma sıraları kütle spektrumu verileri yanında HMBC, COSY ve TOCSY spektrumlarının incelenmesiyle, iki ramnoz ünitesinin birbirlerine ve hekzoza bağlanma noktaları tespit edilmiştir. Oz zincirine ait ¹H-NMR ve ¹³C-NMR verileri LM2 bileşiğin verileri ile karşılaştırdığımızda aynı olduğu görülmüştür, bu veriler literatürdeki bulgularla da doğrulanmıştır (Özipek ve ark., 1994). δ 4.50 (1H, d, *J*=

1.6 Hz) ppm'deki anomerik protona ait sinyalin HMBC spektrumu incelendiğinde δ 67.66 ppm'deki karbon atomu ile etkileşmesi ramnozun galaktoza C-6'' konumundan bağlandığını işaret etmektedir. HMBC spektrumunda δ 4.50 (1H, d, $J=1.6$ Hz) ve δ 4.91 (1H, d, $J=1.6$ Hz) ppm'lerde gözlenen proton sinyalleri δ 79.70 ve δ 70.18 karbon atomu sinyalleri ile etkileşmektedir. δ 1.12 ($J=6.4$ Hz, 3H) ve δ 1.18 ($J=6.4$ Hz, 3H) proton sinyalleri ise sırasıyla δ 70.18 ve δ 74.24 ile δ 70.18 ve δ 73.36 ppm'lerdeki karbon atomu sinyalleri ile etkileşmektedir. Bu veriler ile COSY ve TOCSY spektrumları da incelendiğinde terminal ramnoz ünitesinin ilk ramnoz halkasına LM2 bileşiğinde olduğu gibi C-3 konumundan bağlandığı tespit edilmiştir. Oz zincirine ait $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ verileri LM2 bileşiğin verileri ile karşılaştırdığımızda aynı olduğu görülmüştür, bu veriler literatürdeki bulgularla da doğrulanmıştır Kütle spektrumu incelendiğinde gözlenen 317.37 $[\text{M}+\text{H}]^+$ iyon piki bileşiğin 7 metoksi kersetol (ramnetin) aglikonu taşıdığını, 625.36 $[\text{M}+\text{H}]^+$ iyon piki 7 metoksi kersetol + galaktoz + ramnoz ve 770.71 $[\text{M}+\text{H}]^+$ moleküler iyon piki ise 7 metoksi kersetol + galaktoz + ramnoz + ramnoz varlığını doğrulamaktadır. Tüm bu veriler ışığında LM4 kodlu bileşik **7 metoksi-kersetol-3-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 3)- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galaktopiranozit (ramnetin ramninozit; xanthorhamnin B)** olarak tespit edilmiştir. Bulgular literatür verileri ile doğrulanmıştır (Agrawal, 1989; Özipek ve ark., 1994).

7-metoksi-kemferol-3-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 3)- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galaktopiranozit (Ramnositrin ramninozit)



Molekül Ağırlığı : 755.35 [M+H]⁺

Molekül Formülü : C₃₄H₄₂O₂₀

Özelliği: Sarı amorf toz

EI-MS: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.45)

¹H-NMR: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.46)

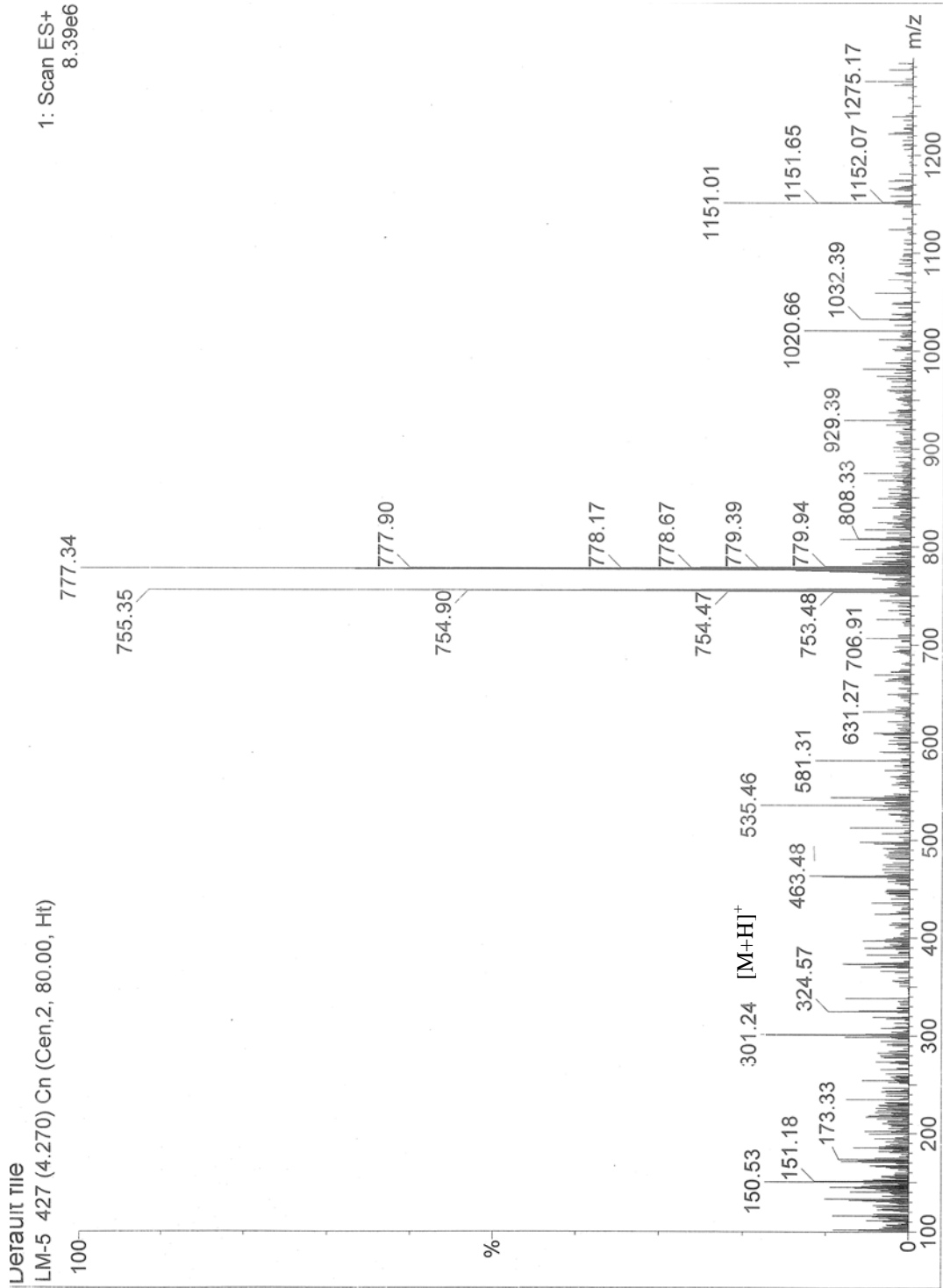
¹³C-NMR: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.47)

COSY: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.48)

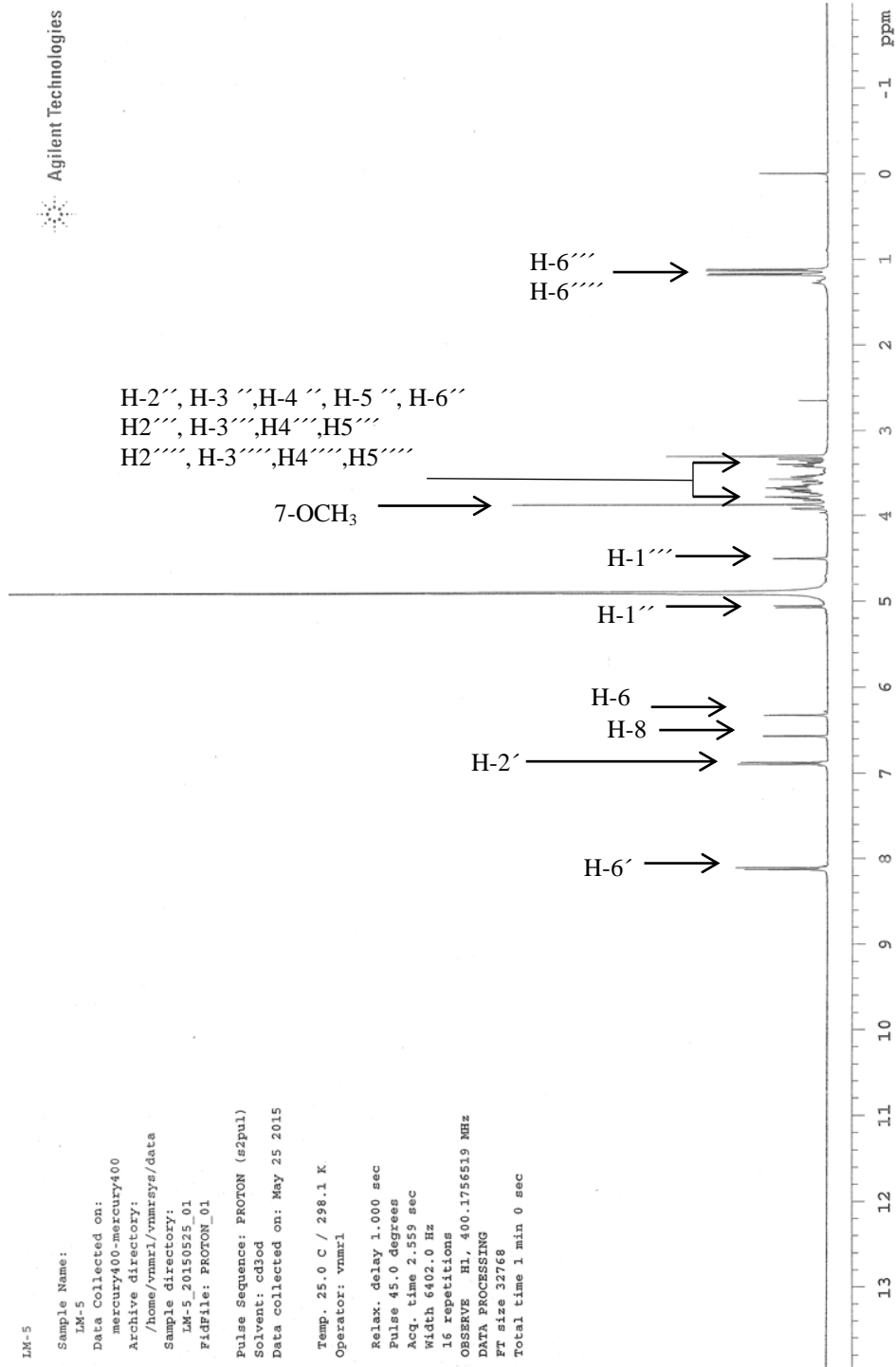
HSQC: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.49)

HMBC: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.50)

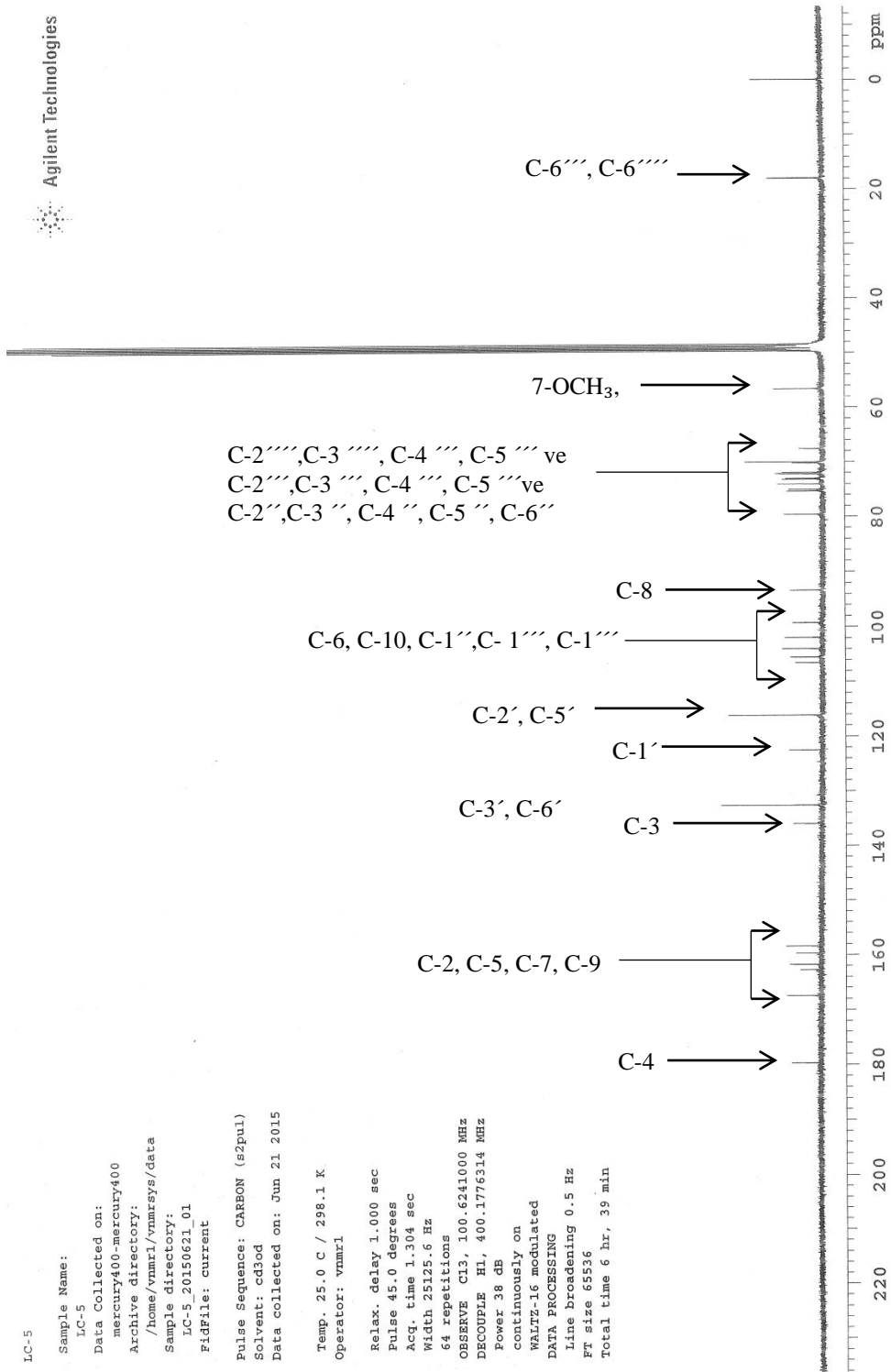
TOCSY: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.51)



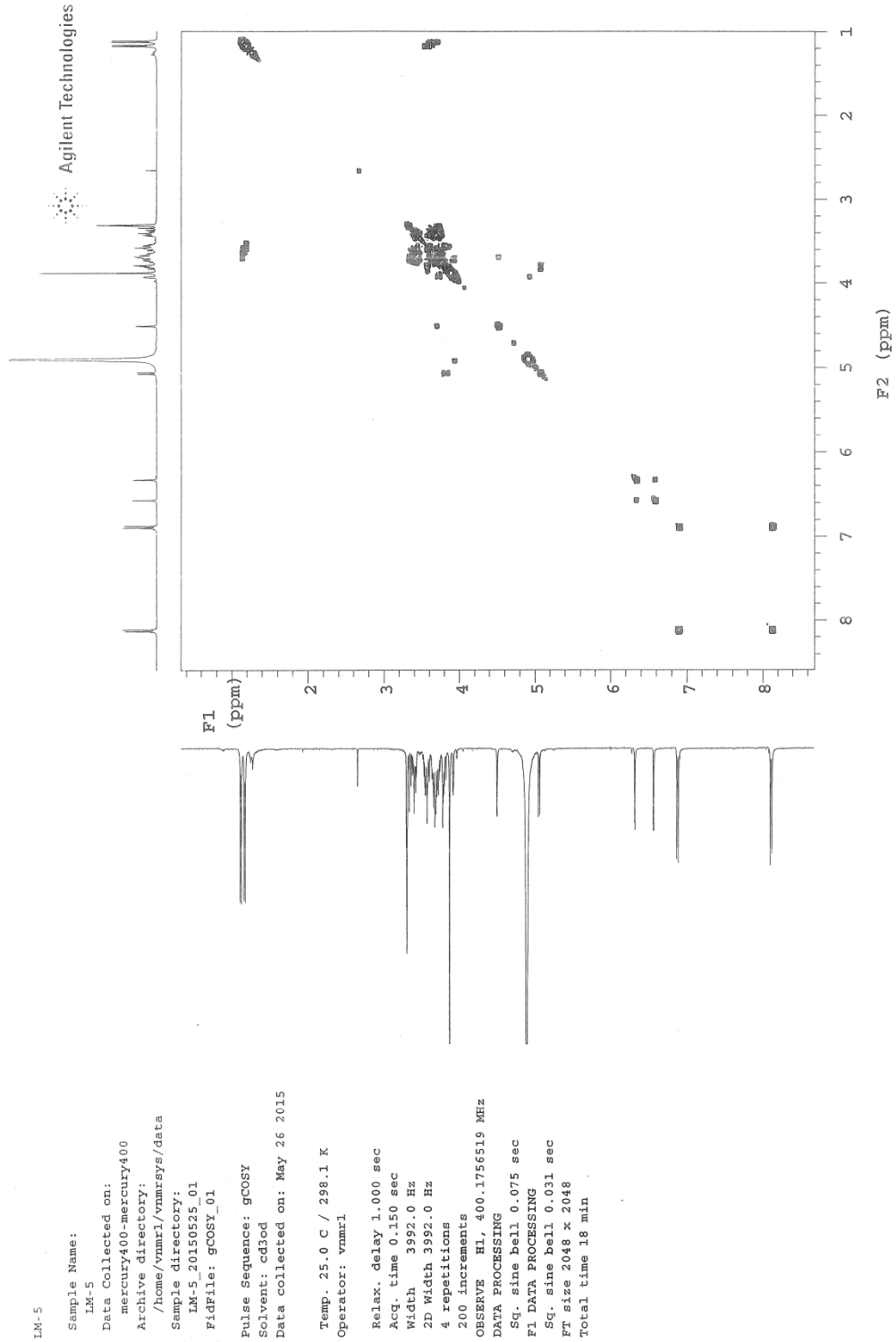
Şekil 3.45. LM 5 bileşiğın EI MS spektrumu (Solvan: CD₃OD)



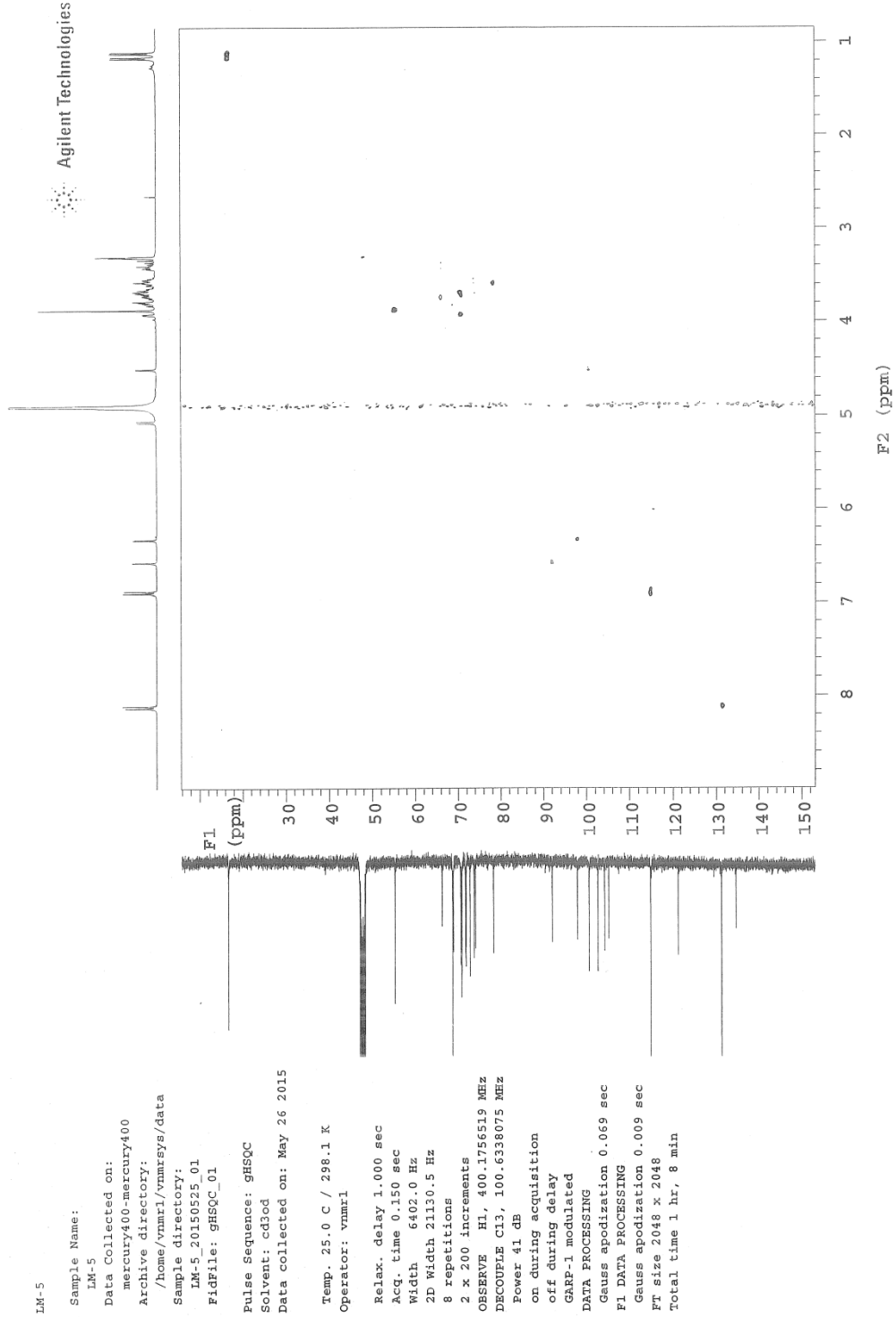
Şekil 3.46. LM 5 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



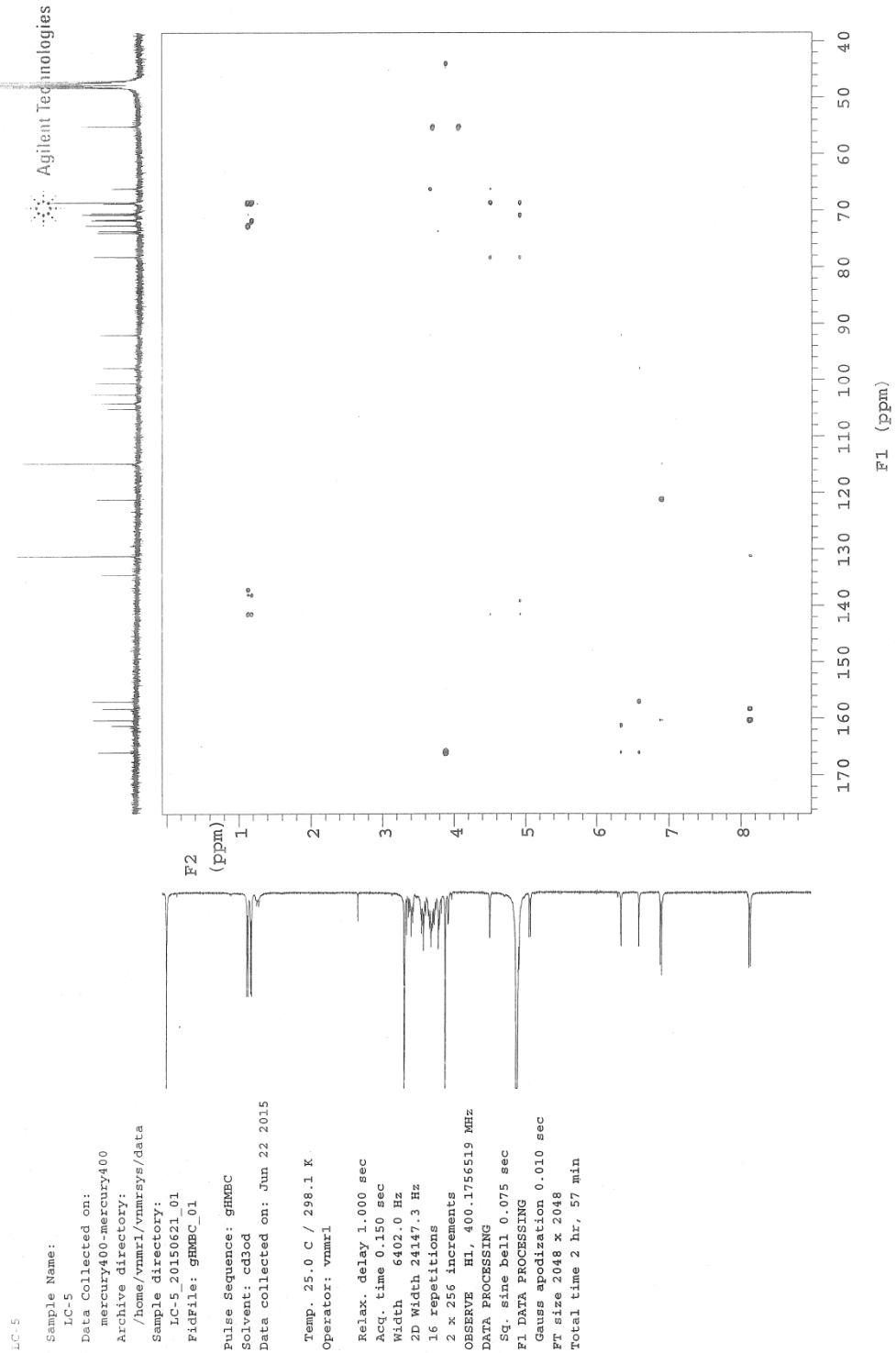
Şekil 3.47. LM 5 bileşiğın ¹³C-NMR spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



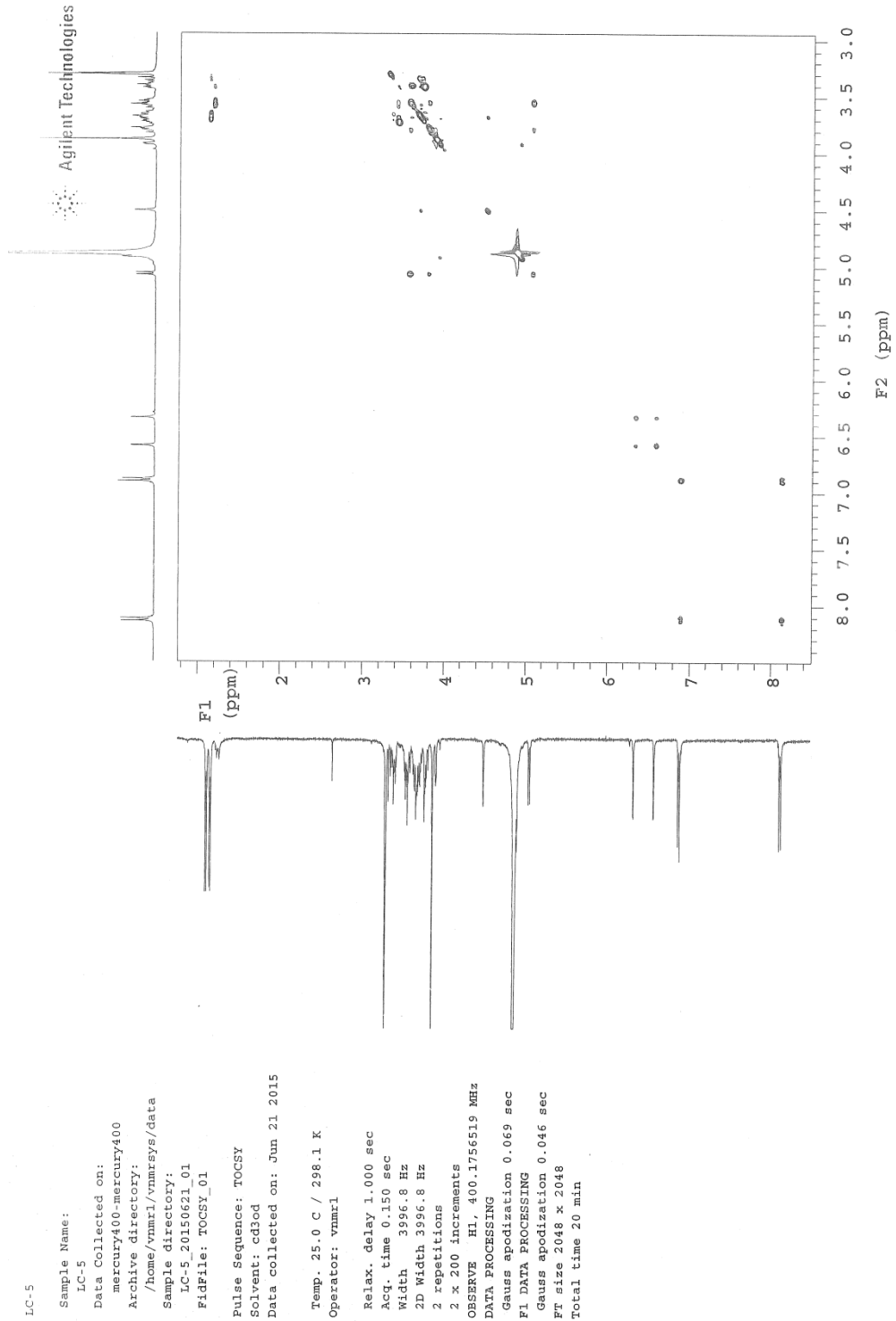
Şekil 3.48. LM 5 bileşiğin COSY spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



Şekil 3.49. LM 5 bileşiğın HSQC spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



Şekil 3.50. LM 5 bileşiğın HMBC spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



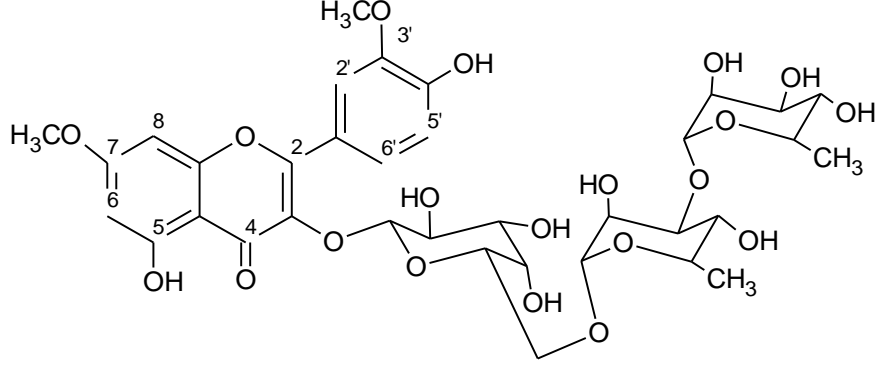
Şekil 3.51. LM 5 bileşiğin TOCSY spektrumu (Solvan: CD₃OD 400 MHz)

Çizelge 3.7. LM5 bileşiğinin ¹H ve ¹³C- NMR bulguları (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)

δ H(ppm) ~ J(Hz)	Proton	Karbon	δ (ppm)
Aglikon			
-	-	-	-
-	-	C-2	159.73
-	-	C-3	135.99
-	-	C-4	179.74
-	-	C-5	162.74
6.32 (1H, d, <i>J</i> =2.4 Hz)	H-6	C-6	99.26
-	-	C-7	167.46
6.56 (1H, d, <i>J</i> =2.4 Hz)	H-8	C-8	93.35
-	-	C-9	158.46
-	-	C-10	106.53
-	H-1'	C-1'	122.56
8.11 (1H, dd, <i>J</i> =8.8 Hz)	H-2'	C-2'	116.20
6.88 (1H, d, <i>J</i> =8.8 Hz)	H-3'	C-3'	132.61
-	H-4'	C-4'	161.77
8.11 (1H, dd, <i>J</i> =8.8 Hz)	H-5'	C-5'	116.20
6.88 (1H, d, <i>J</i> =8.8 Hz)	H-6'	C-6'	132.61
3.87, s	7-OCH ₃	7-OCH ₃	56.59
Galaktoz			
5.06 (1H, d, <i>J</i> =8.0 Hz)	H-1''	C-1''	105.53
3.79 (1H, m)	H-2''	C-2''	73.047
3.54 (1H, m)	H-3''	C-3''	75.07
3.81 (1H, m)	H-4''	C-4''	70.24
3.69 (1H, m)	H-5''	C-5''	75.39
3.41, 3.72 (1H, m)	H-6''	C-6''	67.60
Ramnoz 1			
4.50 (1H, d, <i>J</i> =1.6 Hz)	H-1'''	C-1'''	101.96
3.68 (1H, m)	H-2'''	C-2'''	71.93
3.58 (1H, m)	H-3'''	C-3'''	79.60
3.41 (1H, m)	H-4'''	C-4'''	73.19
3.54, 3.69 (1H, m)	H-5'''	C-5'''	70.03
1.17 (3H, d, <i>J</i> = 6.0 Hz)	H-6'''	C-6'''	17.99
Ramnoz 2			
4.89 (1H, brs)	H-1''''	C-1''''	104.00
3.92 (1H, m)	H-2''''	C-2''''	72.15
3.72 (1H, m)	H-3''''	C-3''''	72.22
3.37 (1H, m)	H-4''''	C-4''''	74.09
3.54, 3.69 (1H, m)	H-5''''	C-5''''	70.03
1.12 (3H, d, <i>J</i> = 6.4 Hz)	H-6''''	C-6''''	18.03

Elde edilen maddenin amorf sarı renkli olması, İTK'da silikajel 60 F₂₅₄ plaklarında gün ışığında sarı ve UV 254 nm'de koyu mor ve UV 366 nm'de koyu sarı renk gözlenmesi LM5 kodlu bileşiğin bir flavonoit olabileceği düşünülmüştür. LM5 kodlu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (Şekil 3.46) incelendiğinde δ 6.21 (1H, d, J=2.0 Hz) ve δ 6.40 (1H, d, J=2.0 Hz) ppm'lerde (H-6) ve (H-8) gözlenen sinyaller birbirine göre meta pozisyonda yer alan iki protonu işaret etmektedir. δ 8.09 (2H, d, J=8.8 Hz) ve δ 6.88 (2H, d, J=8.8 Hz) ppm'lerde gözlenen sinyaller ise simetrik disüstitüe benzen halkasını işaret etmektedir. ¹³C-NMR spektrumunda (Şekil 3.47) δ 179.66 ppm'de gözlenen kuarterner karbon atomuna ait sinyal karbonil grubunun varlığını (C-4) işaret etmektedir ki bu veriler kemferol tipi flavonoit halkasının varlığını işaret etmektedir. ¹³C-NMR spektrumunda gözlenen δ 56.59 karbon atomuna ait sinyal ve ¹H-NMR spektrumunda gözlenen 3.87 (3H, s) ppm'deki singlet göze çarpmaktadır. Bu veriler aromatik halkaya bağlı bir metoksil grubunun varlığını işaret etmektedir. HMBC spektrumu incelendiğinde 3.87 (3H, s) ppm'de gözlenen singletin δ 167.46 ppm'de gözlenen C atomu sinyali ile etkileşimi metoksil grubunun C-7 konumundan bağlandığını göstermektedir. Bu bilgiler 7 metoksi kemferol halkasını (ramnositrin) işaret etmektedir. Veriler literatür verileri ile de kıyaslanmıştır (Harput ve ark., 2004). ¹H-NMR spektrumunda δ 5.06 (1H, d, J=8.0 Hz), δ 4.50 (H-1'''), 4.89 (H-1''''')'da görülen anomerik protonlara ait sinyaller ile ¹³C-NMR spektrumunda δ 105.53, δ 101.96 ve δ 104.00 ppm'lerde görülen anomerik karbon atomlarına ait sinyaller üç farklı oz varlığını işaret etmektedir. Oz zincirine ait ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMBC, HSQC, COSY ve TOCSY spektrumları da incelendiğinde LM2 ve LM4 bileşikleri ile oz zincirinin benzerlik gösterdiği görülmüştür. Kütle spektrumu incelendiğinde 301.24 [M+H]⁺ iyon piki 7 metoksi kemferol halkasının varlığını doğrularken, 463.48 [M+H]⁺ iyon piki 7 metoksi kemferol + hekzoz; 755.35 [M+H]⁺ moleküler iyon piki ise 7-metoksi kemferol + galaktoz + ramnoz + ramnoz varlığını doğrulamaktadır. LM5 bileşiğinin yapısı **7-metoksi-kemferol--3-O-α-L-ramnopiranozil-(1→3)-α-L-ramnopiranozil-(1→6)-β-D-galaktopiranozit (ramnositrin ramninozit)** olarak tespit edilmiştir. Tüm veriler literatür bulguları ile doğrulanmıştır (Özipek ve ark., 1994).

3',7-dimetoksi-kersetol-3-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 3)- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galaktopiranozit (Ramnazin ramninozit)



Molekül Ağırlığı : 785.40 [M+H]⁺

Molekül Formülü : C₃₅H₄₄O₂₀

Özelliği: Sarı amorf toz

EI-MS: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.52)

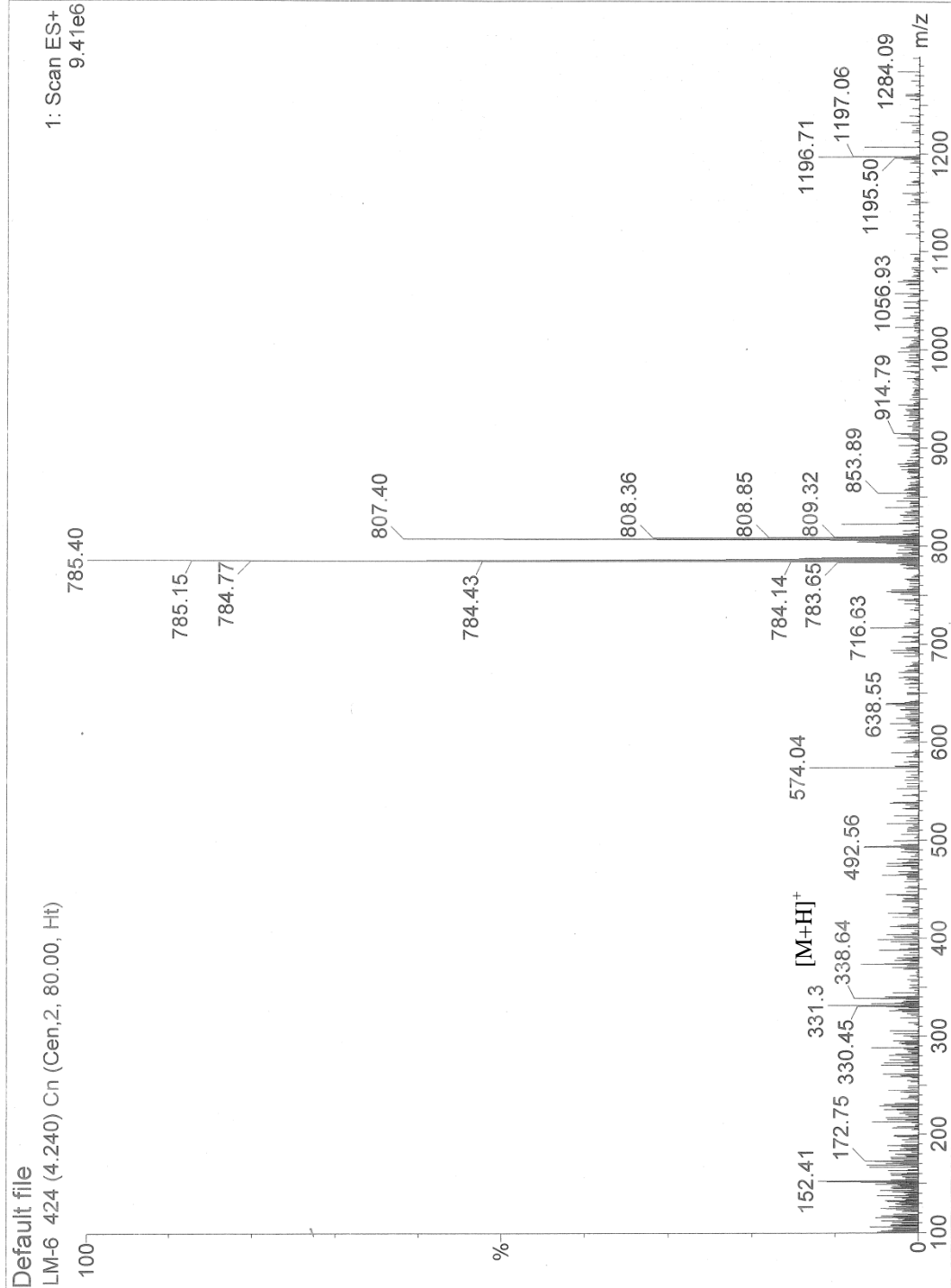
¹H-NMR: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.53)

¹³C-NMR: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.54)

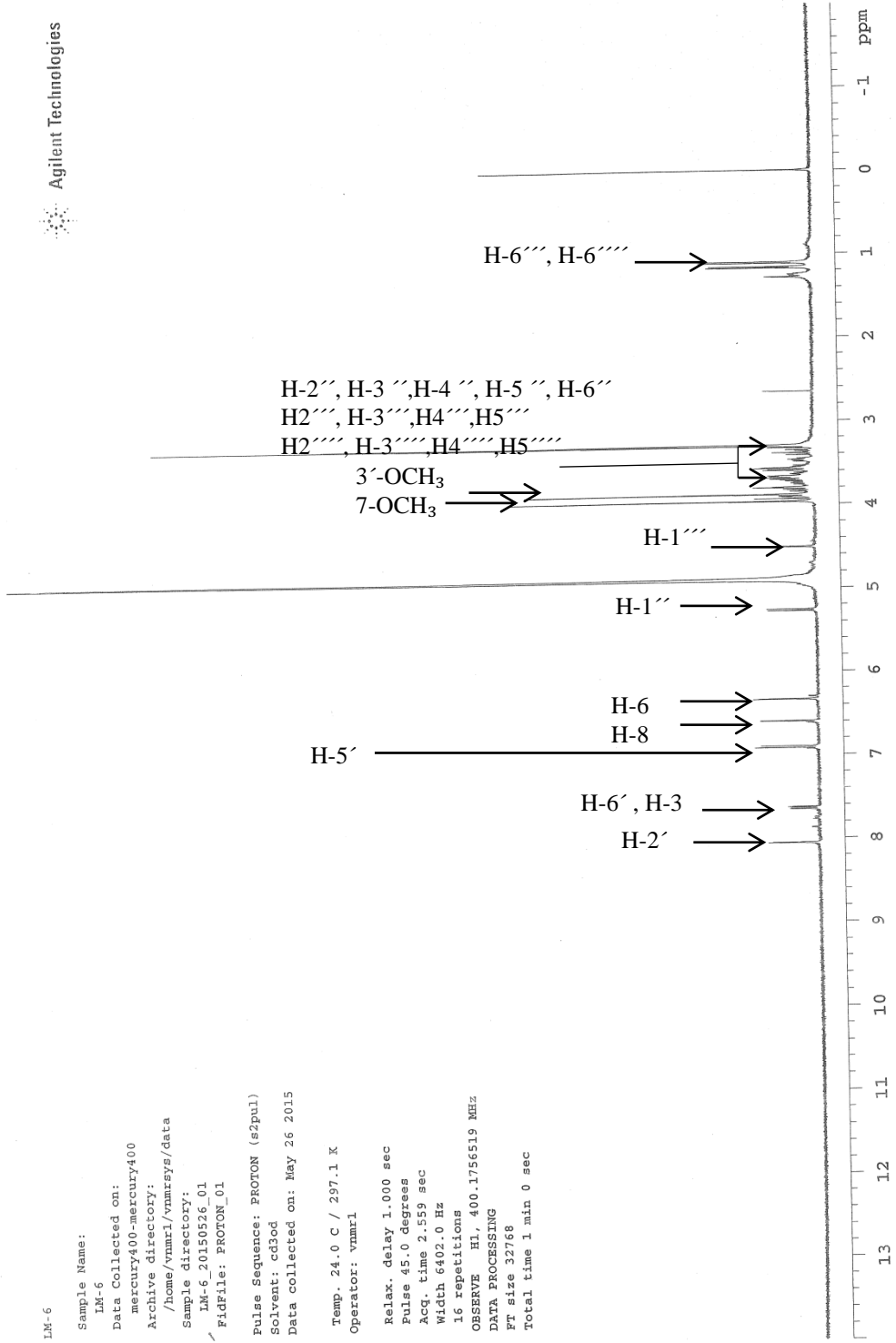
TOCSY: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.55)

COSY: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.56)

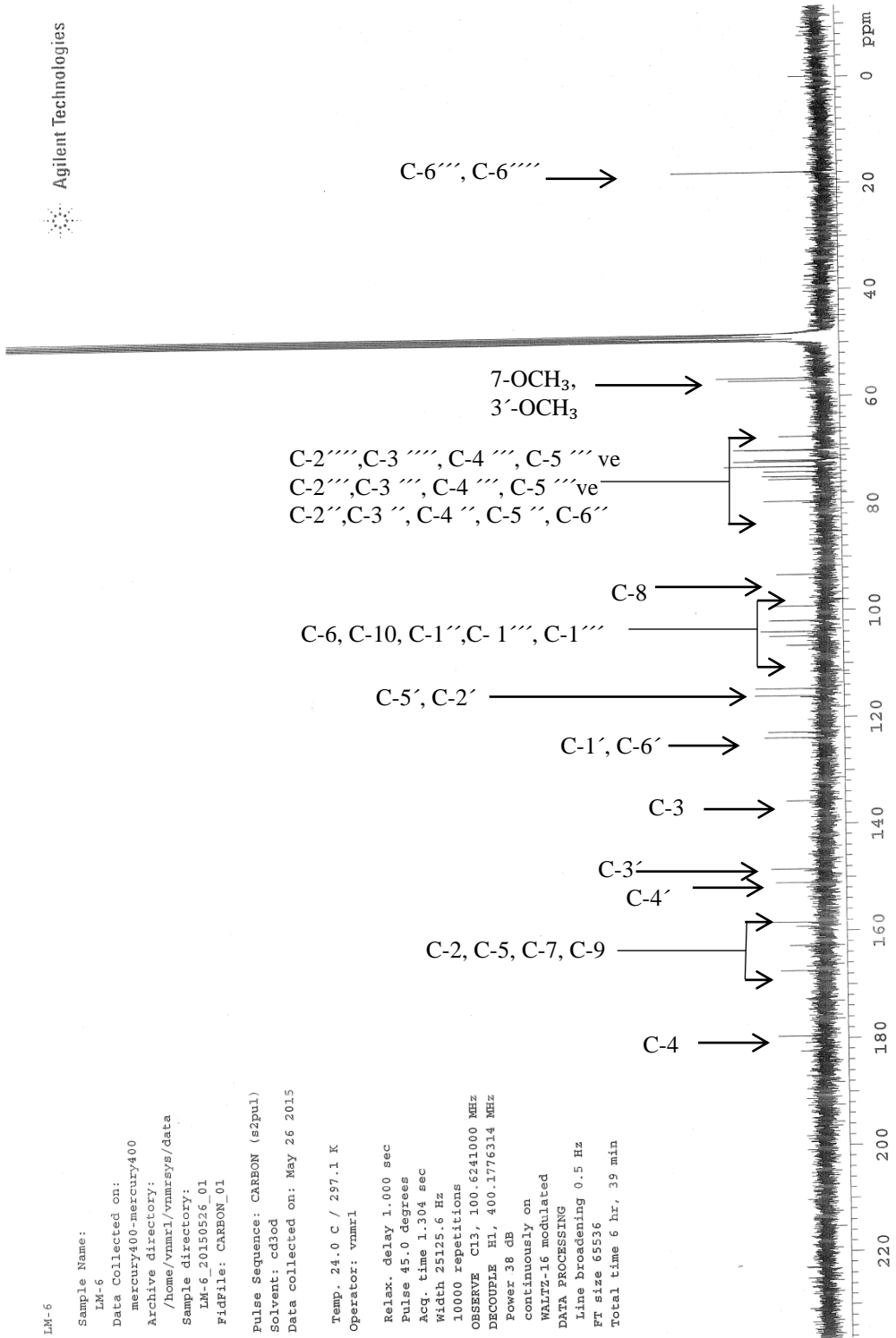
HMBC: CD₃OD (solvan), 400 MHz (Şekil 3.57)



Şekil 3.52. LM 6 bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumu (Solvan: CD_3OD)



Şekil 3.53. LM 6 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



LM-6

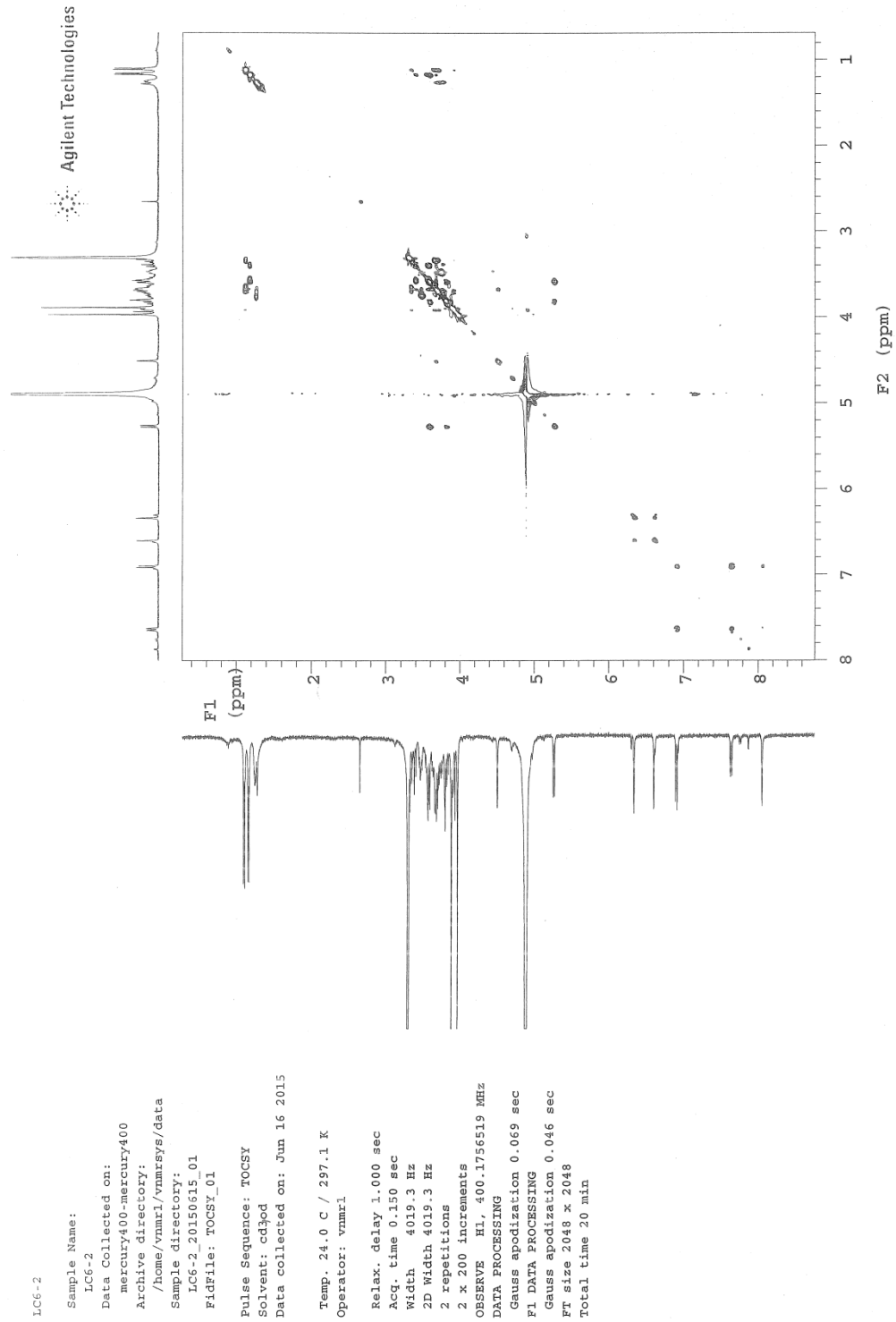
Sample Name: LM-6
 Data Collected on: mercury400-mercury400
 Archive directory: /home/vnmr1/vnmrSYS/data
 Sample directory: LM-6_20150526_01
 FIDFile: CARBON_01

Pulse Sequence: CARBON (szpul)
 Solvent: cd3od
 Data collected on: May 26 2015

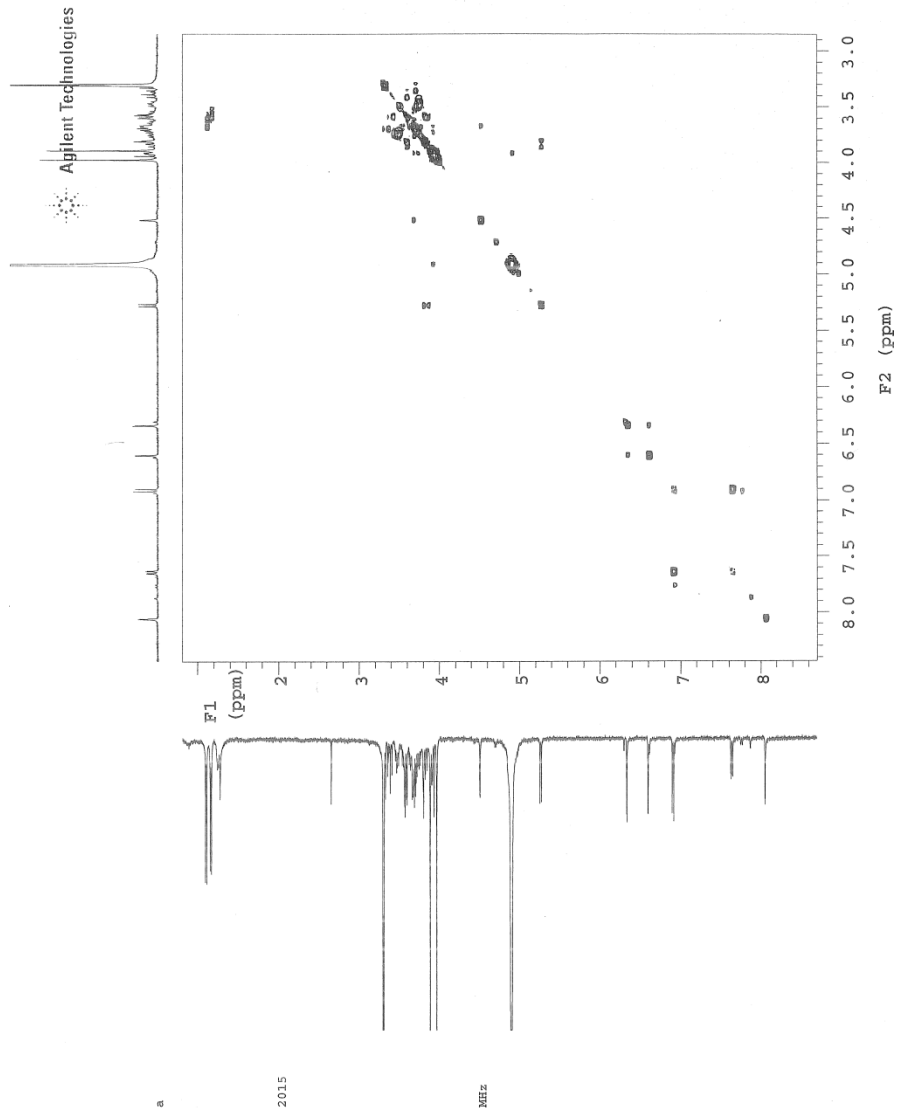
Temp. 24.0 C / 297.1 K
 Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 1.304 sec
 Width 25125.6 Hz
 10000 repetitions
 OBSERVE C13, 100.6241000 MHz
 DECOUPLE H1, 400.1776314 MHz
 Power 38 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 0.5 Hz
 FT size 65536
 Total time 6 hr, 39 min

Şekil 3.54. LM 6 bileşiğın ¹³C-NMR spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)

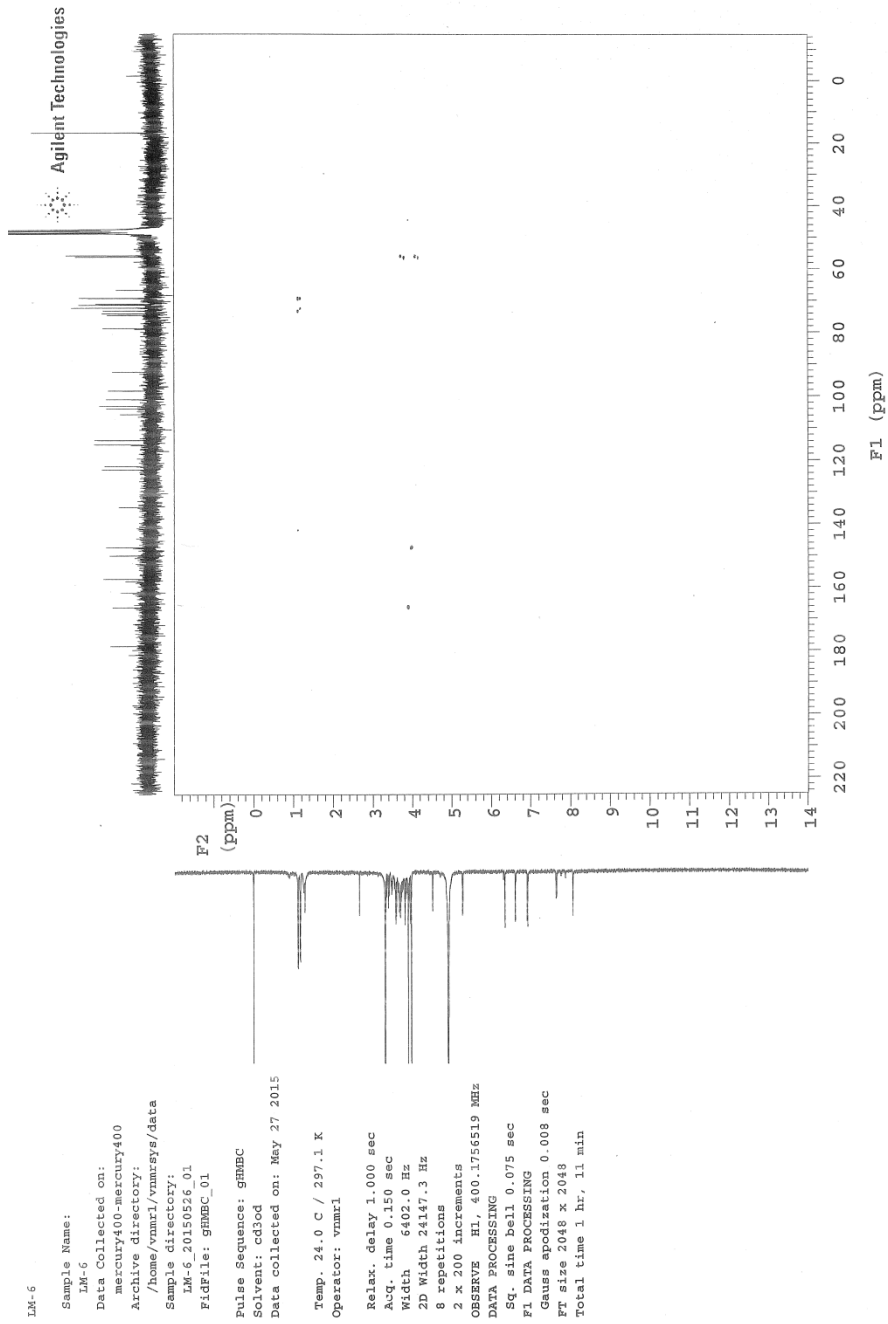


Şekil 3.55. LM 6 bileşiğın TOCSY spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)



Şekil 3.54. LM 6 bileşiğinin COSY spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)

LM-6
 Sample Name: LM-6
 Data Collected: mercury400-m
 Archive direct: /home/vnmr1/
 Sample directo: LM-6_2015052
 Fidfile: gCOSY
 Pulse Sequence: cd3od
 Solvent: cd3od
 Data collected: 2015
 Temp: 24.0 C /
 Operator: vnmr1
 Relax: delay 1
 Acq. time 0.15
 Width 3951.
 2D Width 3951.
 4 repetitions
 200 increments
 OBSERVE H1, 4
 DATA PROCESSING
 SQ: sine bell
 F1 DATA PROCESS
 SQ: sine bell
 FT size 2048 x
 Total time 18 m



Şekil 3.57. LM 6 bileşiğın HMBC spektrumu (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)

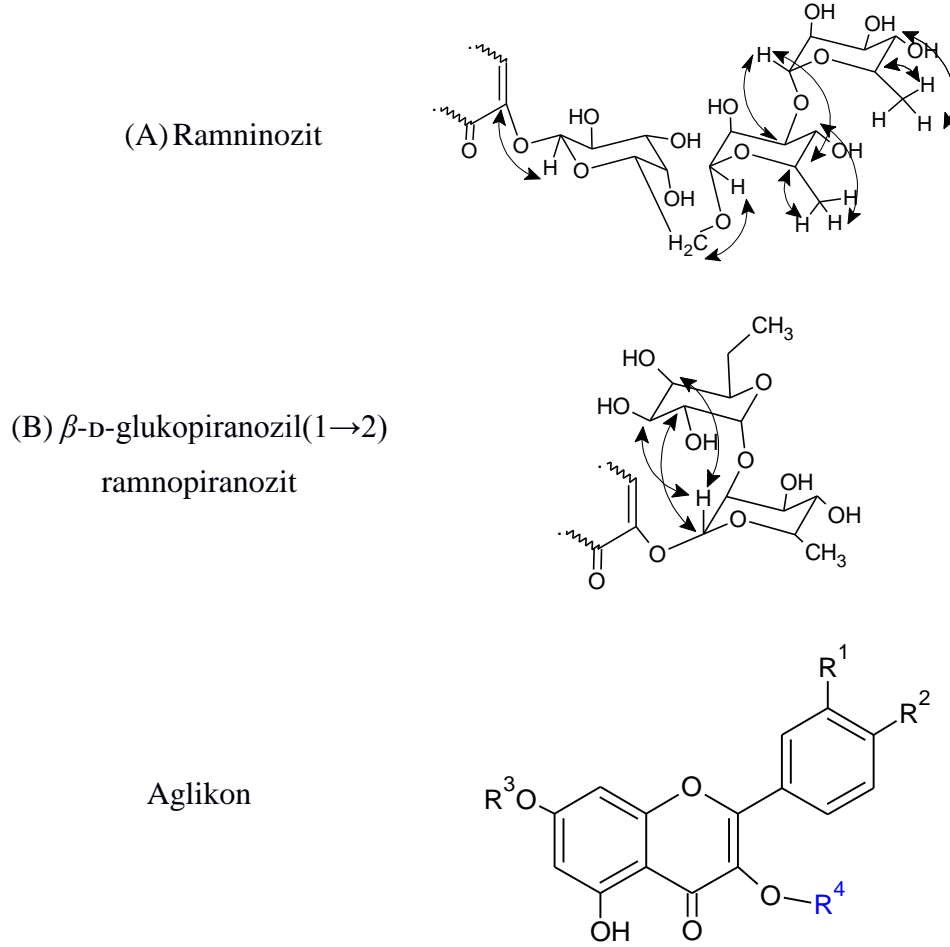
Çizelge 3.8. LM 6 bileşiğinin ¹H ve ¹³C NMR bulguları (Solvan: CD₃OD, 400 MHz)

δ H(ppm) ~ J(Hz)	Proton	Karbon	δ (ppm)
Aglikon			
-	-	-	-
-	-	C-2	159.21
-	-	C-3	135.72
-	-	C-4	179.63
-	-	C-5	162.79
6.33 (1H, d, J=2.4 Hz)	H-6	C-6	99.24
-	-	C-7	167.66
6.59 (1H, d, J=2.0 Hz)	H-8	C-8	93.30
-	-	C-9	158.43
-	-	C-10	106.61
-	H-1'	C-1'	122.89
8.05 (1H, d, J=2.0 Hz)	H-2'	C-2'	114.72
-	H-3'	C-3'	148.47
-	H-4'	C-4'	151.05
6.90 (1H, d, J=8.8 Hz)	H-5'	C-5'	116.06
7.63 (1H, dd, J=8.4, 2.0 Hz)	H-6'	C-6'	123.90
3.90, s	7-OCH ₃	7-OCH ₃	56.58
3.96, s	3'-OCH ₃	3'-OCH ₃	57.03
Galaktoz			
5.26 (1H, d, J=7.6 Hz)	H-1''	C-1''	104.84
3.41- 3.92	H-2''	C-2''	73.16
	H-3''	C-3''	75.05
	H-4''	C-4''	70.12
	H-5''	C-5''	75.51
	H-6''	C-6''	67.53
Ramnoz 1			
4.50 (1H, d, J=1.2 Hz)	H-1'''	C-1'''	102.10
3.41- 3.92	H-2'''	C-2'''	71.93
	H-3'''	C-3'''	79.60
	H-4'''	C-4'''	73.16
	H-5'''	C-5'''	70.02
	H-6'''	C-6'''	17.99
1.16 (3H, d, J= 6.0 Hz)			
Ramnoz 2			
4.9 (s, 1H)	H-1''''	C-1''''	104.14
3.41- 3.92	H-2''''	C-2''''	72.15
	H-3''''	C-3''''	72.22
	H-4''''	C-4''''	74.06
	H-5''''	C-5''''	70.02
	H-6''''	C-6''''	17.99
1.10 (3H, d, J= 6.4 Hz)			

Elde edilen maddenin amorf sarı renkli olması, İTK'da silikajel 60 F₂₅₄ plaklarında gün ışığında sarı ve UV 254 nm'de koyu mor ve UV 366 nm'de koyu sarı renk gözlenmesi LM6 kodlu bileşiğin bir flavonoit olabileceği düşünülmüştür. LM-6 kodlu bileşiğin ¹H-NMR spektrumunda (Şekil 3.53) 6.33 (1H, d, J=2.4 Hz) ve 6.59 (1H, d, J=2.0 Hz) ppm'lerde gözlenen sinyaller sırasıyla H-6 ve H-8 konumlarını; 8.05 (1H, d, J=2.0 Hz), 6.90 (1H, d, J=8.8 Hz) ve 7.63 (1H, dd, J=8.4, 2.0 Hz) ppm'lerde gözlenen sinyaller ise H-2', H-5' ve H-6' konumlarını işaret etmektedir. ¹³C-NMR spektrumunda (Şekil 3.54) δ 179.63 ppm'de gözlenen kuaterner karbon atomuna ait sinyal karbonil grubunun varlığını (C-4) işaret etmektedir. Bu veriler LM6 kodlu bileşiğin kersetol türevi olduğunu işaret etmektedir. ¹³C-NMR spektrumunda δ 56.58 ve δ 57.03 ppm'lerde görülen karbon atomlarına ait sinyaller ve ¹H-NMR spektrumunda δ 3.90 (3H, s) ve δ 3.96 (3H, s) ppm'de gözlenen singletler aromatik halkaya bağlı metoksil gruplarının varlığını işaret etmektedir. HMBC spektrumu incelendiğinde 3.90 (3H, s) ppm'de gözlenen singletin δ 167.44 ppm'de gözlenen C atomu sinyali ile 3.96 (3H, s) ppm'de gözlenen singletin ise δ 148.47 ppm'de gözlenen C atomu sinyali ile etkileşimi metoksil gruplarının sırasıyla C-7 ve C-3' konumlarından bağlandığını göstermektedir. Bu bilgiler 3',7 dimetoksi kersetol halkasını (ramnazin) işaret etmektedir. ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları incelendiğinde LM6 bileşiğinin LM2, LM4 ve LM5 bileşiklerinde olduğu gibi üç oz; hekzoz, ramnoz, ramnoz tespit edilmiş ve ozlara ait anomerik proton atomlarının sinyalleri δ 5.26 (J= 7.6 Hz, 1H); δ 4.90 ve δ 4.50 (J= 1.2 Hz, 1H) ppm'lerde; anomerik karbon atomlarının sinyalleri δ 101.94, δ 104.14 ve δ 104.84 ppm'lerde gözlenmiştir. Oz zincine ait ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMBC, HSQC, COSY ve TOCSY spektrumları incelendiğinde LM2 bileşiğin verileri ile benzer olduğu görülmüştür, bu veriler literatür verileri ile doğrulanmıştır (Özipek ve ark., 1994). Kütle spektrumu incelendiğinde gözlenen 331.37 [M+H]⁺ iyon piki LM6 bileşiğinin 3', 7 dimetoksi kersetol (ramnazin) aglikonu taşıdığını, 785.40 [M+H]⁺ moleküler iyon piki ise 3', 7 dimetoksi kersetol + galaktoz + ramnoz + ramnoz varlığını doğrulamaktadır. Tüm bu veriler ışığında LM6 kodlu bileşiğin yapısı **3',7-dimetoksi-keresetol-3-O-α-L-ramnopiranozil-(1→3)-α-L-ramnopiranozil-(1→6)-β-D-galaktopiranozit (ramnazin ramninozit)** olarak tespit edilmiştir. Tüm veriler literatür bulgular ile doğrulanmaktadır (Özipek ve ark. 1994).

3.4.3. İzole Edilen Bileşiklere Bağlı Olan Ozların HMBC Etkileşimi

L. armenus toprak üstü kısmından izolasyon sonucunda beş bileşik elde edildi, HMBC sonuçlarına göre bu bileşikler 2 farklı oz zinciri; Ramninozit (α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 3)- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 6)- β -D-galaktopiranozit) ve β -D-glukopiranozil(1 \rightarrow 2) ramnopiranozit taşımaktadır.



Şekil 3.58. İzole edilen bileşiklerin HMBC etkileşimi

Çizelge 3.9. İzole edilen bileşikler

Bileşik	L1	LM2	LM4	LM5	LM6
R ¹	H	H	OH	H	OCH ₃
R ²	OH	OH	OH	OH	OH
R ³	H	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃
R ⁴	B	A	A	A	A

3.5. Fitokimyasal Çalışmaları

3.5.1. Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi (Folin-Ciocalteu)

Çalışma konusu olan *Lathyrus* türlerinin toprak üstü kısmından elde edilen metanolü ekstraların toplam fenolik içerikleri Çizelge 3.10’da verilmiştir.

Çizelge 3.10. Toplam fenolik içeriği

Türler	μg gallik asit/mg ekstre \pm SH
<i>L. armenus</i>	150,63 \pm 8,48
<i>L. aureus</i>	452,19 \pm 6,88
<i>L. cilicicus</i>	179,69 \pm 4,93
<i>L. laxiflorus</i> subsp. <i>laxiflorus</i>	397,00 \pm 10,96
<i>L. pratensis</i>	390,94 \pm 7,39

3.5.2. Toplam Flavonoit İçeriğinin Belirlenmesi

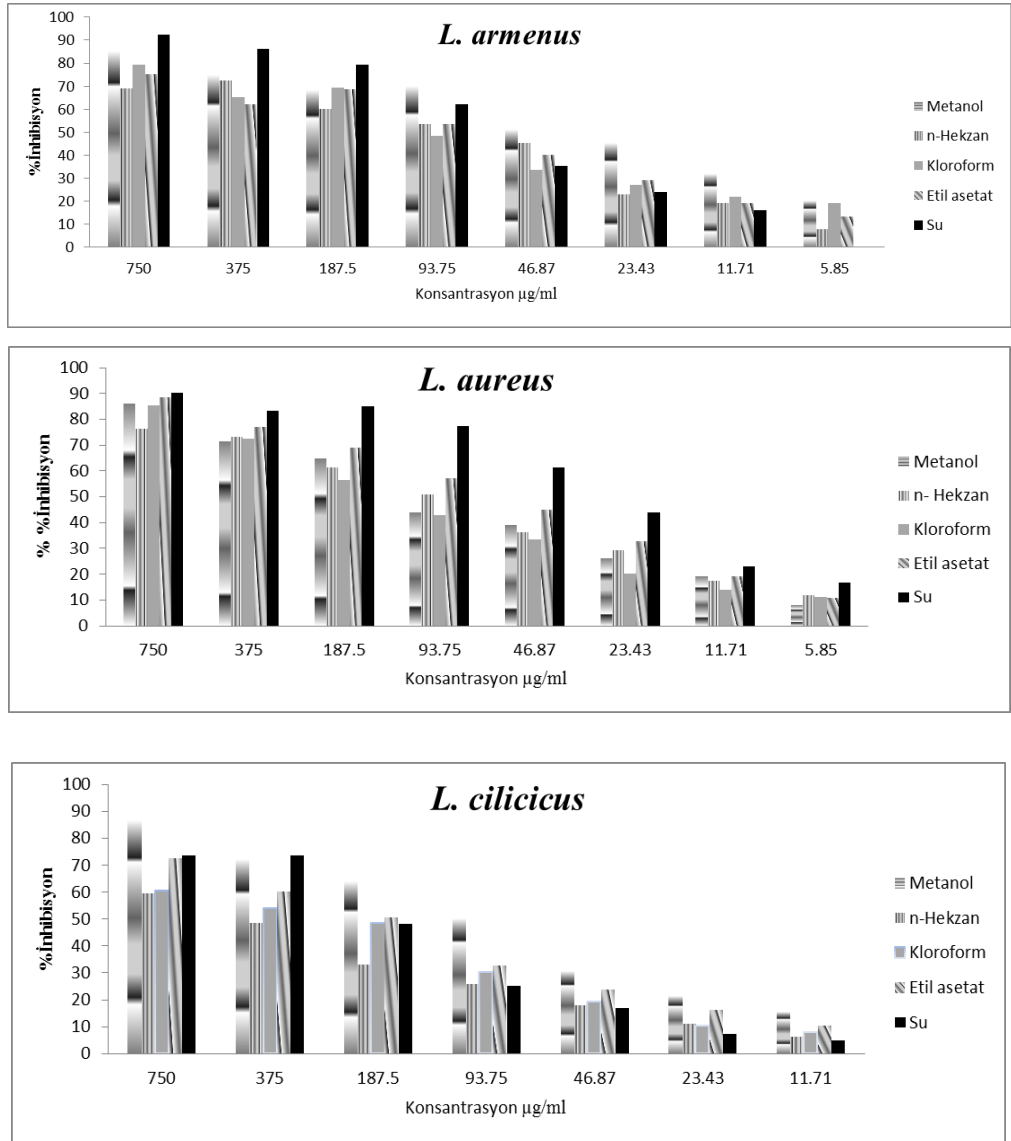
Çalışma konusu olan *Lathyrus* türlerinin toprak üstü kısmından elde edilen metanolü ekstraların toplam flavonoit içeriği Çizelge 3.11’de verilmiştir.

Çizelge 3.11. *Lathyrus* türlerinin toplam flavonoit içeriği

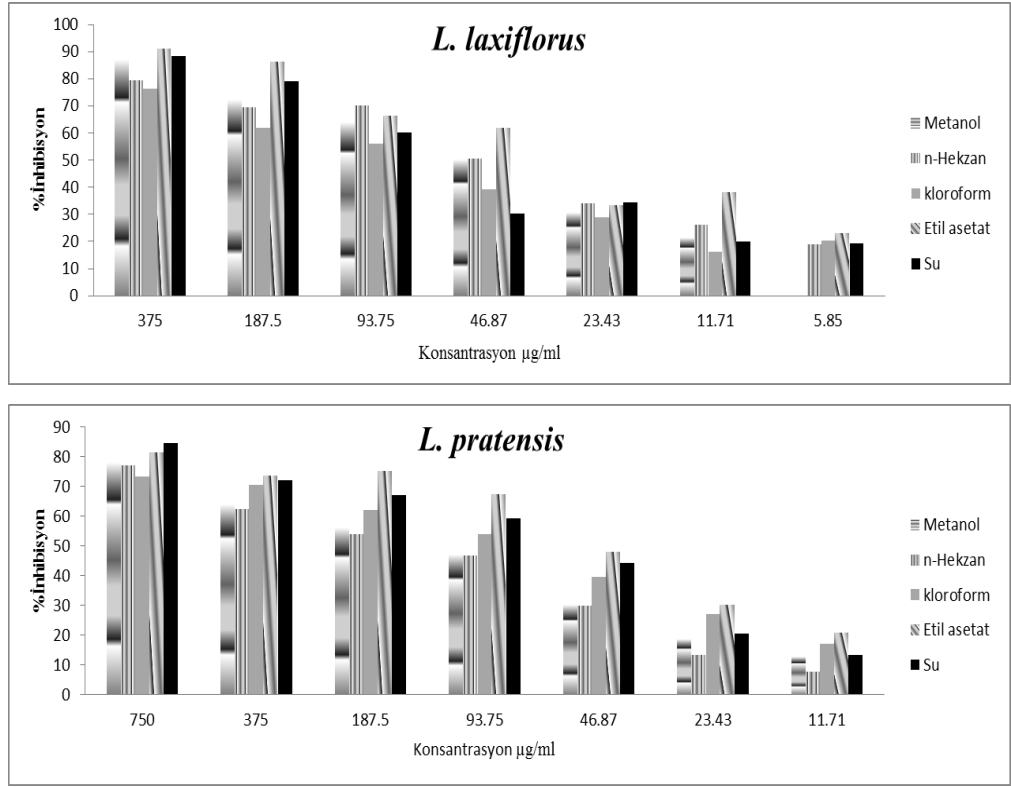
Türler	μg kersetin/mg ekstre \pm SH
<i>L. armenus</i>	55,583 \pm 0,751
<i>L. aureus</i>	90,8611 \pm 0,837
<i>L. cilicicus</i>	36,19 \pm 1,319
<i>L. laxiflorus</i> subsp. <i>laxiflorus</i>	105,431 \pm 2,379
<i>L. pratensis</i>	105,31 \pm 2,683

3.5.3. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Lathyrus türlerinden hazırlanan metanollü ekstratlar ve bu ekstratlerden sıvı-sıvı partitasyon ile elde edilen fraksiyonların (*n*-hekzan, kloroform, etilasetat ve su) MİK yöntemi ile antibakteriyel aktiviteleri değerlendirildi. Tüm fraksiyonlar ve BHT (bütillenmiş hidroksitoluen) için antioksidan aktivite testleri yapıldı. Sonuçlar Şekil 3.59 verilmiştir. Elde edilen sonuçların IC₅₀ değerleri hesaplandı, IC₅₀ değerler Çizelge 3.12’da verilmiştir.



Şekil 3.59. *Lathyrus* türlerinin antioksidan verileri



Şekil 3.59. Devam. *Lathyrus* türlerinin antioksidan verileri

Çizelge 3.12. *Lathyrus* türlerinin DPPH yöntemi ile elde edilen IC₅₀ değerleri

Türler	IC ₅₀ (µg/mL)				
	MeOH	n-Hekzan	CHCl ₃	EtOAC	Su
<i>L. armenus</i>	0,041	0,050	0,050	0,047	0,041
<i>L. aureus</i>	0,043	0,050	0,051	0,048	0,035
<i>L. cilicicus</i>	0,047	0,057	0,055	0,053	0,050
<i>L. laxiflorus subsp. laxiflorus</i>	0,038	0,470	0,049	0,041	0,040
<i>L. pratensis</i>	0,044	0,052	0,050	0,045	0,042
BHT	0,027				

3.5.4. Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları

Lathyrus türlerinden hazırlanan metanollü ekstratlar ve bu ekstratlerden sıvı-sıvı partitasyon ile elde edilen fraksiyonların (*n*-hekzan, kloroform, etilasetat ve su) MİK yöntemi ile antibakteriyel aktiviteleri değerlendirildi. Sulu fraksiyonlar suda

(4mg/ml), metanollü fraksiyonlar %75 (h/h) ve diğer fraksiyonlar %10 (h/h) DMSO da çözüldü. Tüm fraksiyonlar *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 10231 suşlarına karşı MİK değerleri belirlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 3.13’de verilmiştir.

Çizelge 3.13. *Lathyrus* türlerinin MİK değerleri

Fraksiyonlar		Mikroorganizma (mg/ml)				
		<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
<i>L. armenus</i>	Kloroform	-	-	-	-	0.5
	Hekzan	-	-	-	-	1
	Su	-	-	-	-	-
	Etil asetat	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	Metanol	-	-	-	-	1
<i>L. aureus</i>	Kloroform	-	-	-	-	0.5
	Hekzan	-	-	-	-	1
	Su	-	1	-	-	-
	Etil asetat	1	0.5	0.5	0.5	0.5
	Metanol	-	-	-	-	1
<i>L. cilicicus</i>	Kloroform	-	-	-	1	0.5
	Hekzan	-	-	-	-	-
	Su	-	-	-	-	-
	Etil asetat	1	0.5	0.5	0.5	0.5
	Metanol	-	-	-	-	1
<i>L. laxiflorus</i>	Kloroform	-	-	-	-	0.5
	Hekzan	-	-	-	-	1
	Su	-	1	-	-	-
	Etil asetat	1	0.5	0.5	0.5	0.25
	Metanol	-	-	-	-	1
<i>L. pratensis</i>	Kloroform	-	-	-	1	0.5
	Hekzan	-	-	-	-	-
	Su	-	1	-	-	-
	Etil asetat	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	Metanol	-	-	-	-	1

(-) Aktivite göstermedi
Değerler mg/ml

3.5.5. Antienflamatuvar Aktivite Çalışmalar

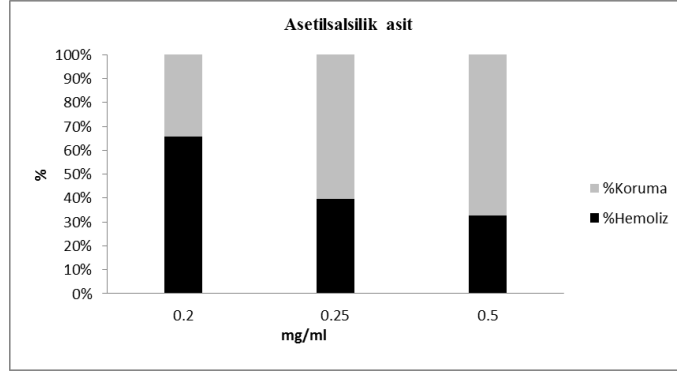
Lathyrus türlerinden hazırlanan metanollü ekstreler ve bu ekstrelerden sıvı-sıvı partitasyon ile elde edilen fraksiyonların (*n*-hekzan, kloroform, etilasetat ve su) HRBC yöntemi ile antienflamatuvar aktiviteleri değerlendirildi. Tüm fraksiyonlar, asetilsalisilik asit ve aspirin için antienflamatuvar aktivite testleri yapıldı; sonuçlar Çizelge 3.14, 3.15, 3.16 ve Şekil 3.39 ve 3.40, 3.41’de verilmiştir.

Çizelge 3.14. Asetilsalisilik asit ’in antienflamatuvar aktivite değerleri

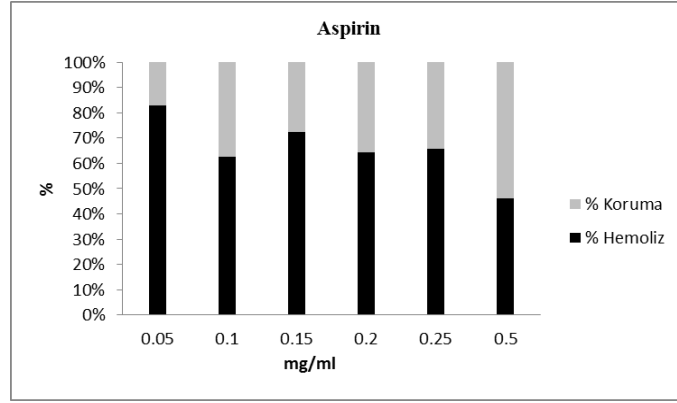
Asetilsalisilik asit	0.2 mg/ml	0.25 mg/ml	0.5 mg/ml
Absorbans (ortalama)	0.302333	0.182667	0.151
Standart Sapma	0.002082	0.005033	0.016462
%Hemoliz	65.58206797	39.62400578	32.75488069
%Koruma	34.41793203	60.37599422	67.24511931

Çizelge 3.15. Aspirin’ nin antienflamatuvar aktivite değerleri

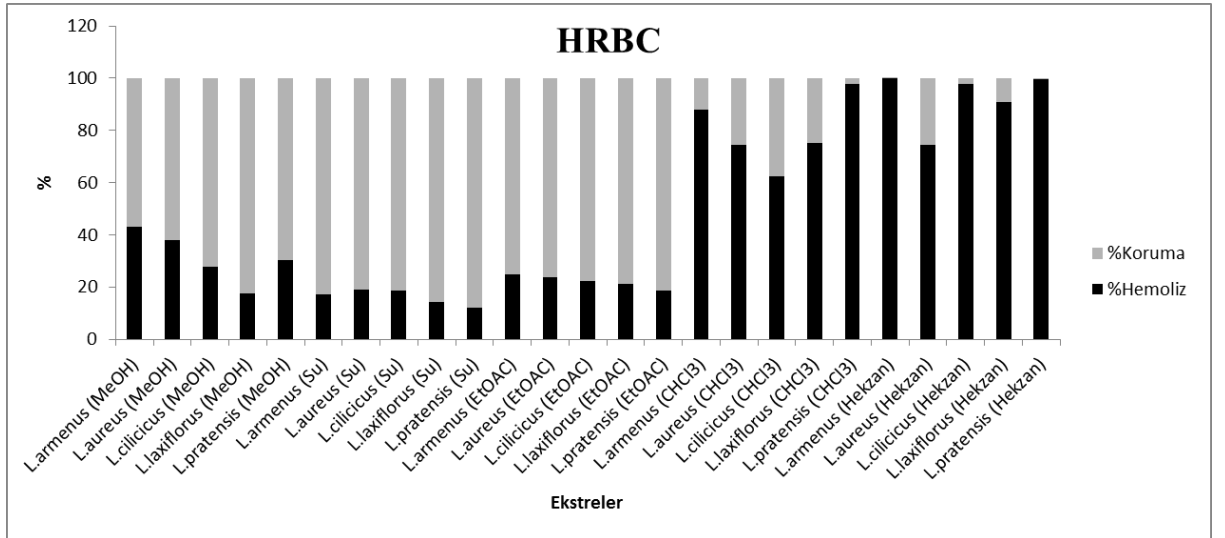
Aspirin	0.05 mg/ml	0.1 mg/ml	0.15 mg/ml	0.2 mg/ml	0.25 mg/ml	0.5 mg/ml
Absorbans (ortalama)	0.382667	0.289	0.334333	0.296	0.303	0.213
Standart Sapma	0.012055	0.016	0.020257	0.011358	0.029547	0.006245
%Hemoliz	83.00795	62.6898	72.5235	64.20824	65.72668	46.2039
%Koruma	16.99205	37.3102	27.4765	35.79176	34.27332	53.7961



Şekil 3.64. Asetilsalisilik asit'in antienflamatuvar aktivitesi



Şekil 3.61. Aspirin'nin antienflamatuvar aktivitesi



Şekil 3.66. Lathyrus türlerinin antienflamatuvar aktiviteleri

Çizelge 3.16. *Lathyrus* türlerinin antienflamatuvar aktivitelesi

Ekstre		HRBC		
		%Hemoliz	%Koruma	Absorbans±Standart Sapma
<i>L. armenus</i>	Kloroform	87.85249	12.14751	0.405±0.004583
	Hekzan	99.85539	0.144613	0.460333±0.005686
	Su	17.20897	82.79103	0.079333± 0.006506
	Etil asetat	24.65654	75.34346	0.113667±0.004726
	Metanol	43.23933	56.76067	0.199333±0.001528
<i>L. aureus</i>	Kloroform	74.47578	25.52422	0.343333±0.017673
	Hekzan	86.8402	13.1598	0.400333±0.002517
	Su	19.16124	80.83876	0.088333±0.002887
	Etil asetat	23.86117	76.13883	0.11±0.009165
	Metanol	38.03326	61.96674	0.175333±0.005033
<i>L. cilicicus</i>	Kloroform	62.40058	37.59942	0.287667±0.003215
	Hekzan	97.90311	2.096891	0.451333±0.02203
	Su	18.7274	81.2726	0.086333±0.004163
	Etil asetat	22.41504	77.58496	0.103333±0.005132
	Metanol	27.62111	72.37889	0.127333±0.003215
<i>L. laxiflorus</i> subsp. <i>laxiflorus</i>	Kloroform	75.05423	24.94577	0.346±0.003464
	Hekzan	91.03398	8.966016	0.419667±0.003512
	Su	14.09978	85.90022	0.065±0.004359
	Etil asetat	21.25813	78.74187	0.098±0.006
	Metanol	17.64281	82.35719	0.081333±0.003512
<i>L. pratensis</i>	Kloroform	97.68619	2.313811	0.450333±0.014224
	Hekzan	99.78308	0.21692	0.46± 0.001
	Su	12.0752	87.9248	0.055667±0.004509
	Etil asetat	18.7274	81.2726	0.086333±0.004163
	Metanol	30.22415	69.77585	0.139333±0.003055

TARTIŞMA

Fabaceae familyasında yer alan *Lathyrus* L. cinsi dünya da 187 tür veya alt tür temsil edilmektedir. Avrasya/Akdeniz, Doğu Asya, Kuzey ve Güney Amerika da geniş yayılış göstermektedir. Türkiye’de doğal olarak 58 *Lathyrus* türü yetişmektedir, bu türlerden 18 türünün endemik olduğu tespit edilmiştir (Davis, 1970). Türkiye’de *Lathyrus* cinsi halk arasında “mürdümük” olarak tanınmaktadır. Çalışma konusu olan *Lathyrus armenus* (Boiss & Huet) Sirj, "çüşne"; *Lathyrus aureus* (Steven) D.Brandza, "koro mürdümüğü"; *Lathyrus cilicicus* Hayek & Siehe; "şah mürdümük" ; *Lathyrus laxiflorus* subsp. *laxiflorus* (Desf.) O.Kuntze, "deli burçak"; *Lathyrus pratensis*, "yılan gürülü" olarak isimlendirilmektedir (Güner, 2014)

Çalışma materyallerimiz olan *Lathyrus laxiflorus* subsp. *laxiflorus*, *L. pratensis*, *L.aureus* üzerindeki çalışmalar oldukça azdır. *L. cilicicus*, *L. armenus* türleri endemik türler olup üzerinde hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Türkiye’de yetişen bu türlerden elde edilen verilerin orjinallik açısından önem arz ettiği açıktır.

Mikroskobik analizlerden elde edilen verilerin literatür bulguları ile uyumlu olduğu açıklanmıştır (Metcalf ve Chalk, 1965).

Bu tez kapsamında; Türkiye’nin Sivas ilinden toplanan 5 *Lathyrus* türünün toprak üstü kısımlarının metanollü ekstraları hazırlanıp ve bu ekstralardan sıvı-sıvı ekstraksiyonuyla; n-hekzan, kloroform, etilasetat ve su fraksiyonları elde edilmiştir.

Lathyrus türlerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstraların total fenolik madde miktarları Folin-Cioacaltea yöntemi ile tayin edilmiştir. En yüksek total fenolik maddeyi *L. aureus* ($452,19 \pm 6,88 \text{ mg}_{\text{gallik asit/g ekstre}}$) ihtiva etmektedir.

Lathyrus türlerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstrelerin total flavonoit miktarı ise $AlCl_3$ yöntemi ile tayin edilmiştir. En yüksek değerler *L. laxiflorus* ve *L. pratensis* türlerinde gözlenmiştir.

Lathyrus türlerinin toprak üstü kısımlarından su, metanol, etil asetat, kloroform ve n-hekzan ile elde edilen ekstreler DPPH yöntemiyle antioksidan aktivite açısından incelenmiştir. Elde edilen veriler, BHT standart bileşiğinden elde edilen verilerle kıyaslanarak değerlendirilmiştir. Antioksidan test sonuçlarına bakıldığında, sulu ve metanollü ekstrelerin en yüksek % inhibisyon değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Hekzanlı ekstreler de IC_{50} değerleri ise daha düşük değerler olarak göze çarpmaktadır. En yüksek % inhibisyon ve en düşük IC_{50} değerleri *L. aureus* sulu ve metanollü ekstresinde belirlenmiştir. n-hekzanlı ve kloroformlu ekstreler her 5 türde de düşük aktivite göstermektedir. Literatürlerde *L. pratensis* türünün tohumlarından elde edilen metanollü ekstrenin antioksidan aktivitesi $IC_{50} = 0.0033$ olarak hesaplanmıştır (Pastor-Cavada ve ark. 2009).

Çalışma konumuz olan beş *Lathyrus* türünün sulu, metanollü, etil asetatlı, kloroformlu ve hekzanlı ekstrelerinin *in-vitro* antienflamatuvar aktivitesi HRBC yöntemiyle ölçülmüştür. Bitki ekstreleri lizozomal membranı stabilize ederek antienflamatuvar etkiye neden olmaktadır. Aktif oksijen grupları enflamasyona neden olduğu için antioksidan aktivitesi yüksek olan eksterelerde antienflamatuvar etkinin de yüksek olması beklenmektedir. Bu çalışmada standart olarak ticari aspirin ve asetilsalisilik asit kullanıldı, elde edilen sonuçları incelediğimizde su, etil asetat ve metanol fraksiyonlarında aspirin ve asetilsalisilik asite göre daha yüksek koruma yüzdesi elde edilmiştir.

Flavonoitler enflamasyonda etkili olan mediatörleri, eikosanoidler, sitokinler, adhezyon ve C-reaktif protein gibi moleküllerin sentezi ve aktivasyonunu inhibe ederek etki göstermektedir. Ayrıca flavonoitler NF-kB gibi transkripsiyon faktörleri, aktive edici proteinleri de inhibe ederek ve nükleer faktör- ϵ 2 aktif ederek antienflamatuvar etki göstermektedir (Serafini ve ark., 2010)

Elde edilen sonuçlara göre antioksidan aktivite ve antiinflamatuvar aktivite sonuçların doğrulamaktadır. Su, etil asetat ve metanol fraksiyonları yüksek antioksidan aktivite göstermektedir. HRBC yönemi ile elde edilen antiinflamatuvar aktivite sonuçları ise su, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının diğer fraksiyonlara göre daha aktif olduğu açıklamaktadır.

Lathyrus türlerinin toprak üstü kısımlarından su, metanol, etil asetat, kloroform ve n-hekzan ile elde edilen ekstraların *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 10231 suşlarına karşı antibakteriyel aktiviteleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre etil asetatlı fraksiyonlar her beş türde de; çalışma konusu olan Gram negatif, Gram pozitif ve maya türlerine karşı etkili olmaktadır. *L. cilicicus* ve *L. armenus* türlerin sulu fraksiyonları sadece *Bacillus subtilis* karşı aktivite göstermiştir; metanollü ekstralar *Candida albicans*'a karşı aktif olup; *L. aureus*, *L. armenus* ve *L. laxiflorus*'un hekzanlı fraksiyonları ise *Candida albicans*'a karşı aktivite göstermektedir. Kloroformlu fraksiyonlar *Candida albicans*'a karşı etkili olup ancak *L. cilicicus* ve *L. pratensis*'in kloroformlu fraksiyonları; *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkin olduğu gösterilmiştir. Literatürlerde *L. pratensis*, *Candida albicans*'a karşı 1mg/ml dozda antifungal aktivite göstermiştir (Arabi ve Serdari and Al Fadel, 2010).

Fenolik bileşikler bakteriyel hücre membranı etkileyerek anti bakteriyel etki göstermektedir. Fenolik bileşikler membranın geçirgenliğini bozarak hücrede bulunan serbest bileşenlerin miktarının artmasına neden olur. Bunlara ek olarak hücrelerin besin almasını, elektron transferini ve enzimlerin aktivitesini engelleyerek etki göstermektedir. Bu nedenle, fenolik bileşikler farklı mekanizmalarla üreme inhibisyonuna yol açmaktadır (Al Laham ve ark., 2014)

Lathyrus türlerinin etil asetat fraksiyonları orta polar bileşikler ve aglikonları içermektedir; bu nedenle diğer fraksiyonlara göre daha etkili olduğu düşünülmektedir.

İzolasyon çalışmaları sonucunda; *L. armenus* toprak üstü kısmı metanollü ekstresi ve metanollü ekstresinin etil asetat fraksiyonundan kemferol-3-*O*- glukozil (1-2) ramnozit bileşiği izole edilmiştir. Literatür verileri bu bileşiğin daha önce *Ginkgo biloba* ve *Hymenophyllum crispatum* bitkilerinden de izole edildiğini göstermektedir (Markham ve ark., 1992; Mishra ve ark., 2009).

Sıvı-sıvı ekstraksiyondan elde edilen sulu fraksiyonun kolon kromatografisi ve semi preparatif YBSK'ya uygulaması sonucundan elde edilen fraksiyonlardan ramnazin ramninozit, ramnetin ramninozit, ramnositrin ramninozit ve kemferol-3-*O*-ramninozit bileşikleri izole edilmiştir. Bu bileşiklerin daha önce *Rhamnus* türlerinden izole edildiğini rapor edilmiştir.

Kemferol-3-*O*-ramninozit, ramnazin ramninozit, ramnetin ramninozit, ramnositrin ramninozit ise daha önce *Rhamnus petiolari*, *Rhamus leptophylla* ve *Rhamnus disperma* bitkisinden izole edilmiştir (Marzouk ve ark., 1999; Özipek ve ark. 1994). Bu bileşikler ilk defa bu çalışma ile *Lathyrus* türlerinden izole edilmiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Lathyrus türleri dünyanın ve aynı zaman da Türkiye'nin birçok bölgesinde doğal olarak yetişmektedir. *Lathyrus* türleri hayvan beslenmesinin yanı sıra gıda olarak da kullanılma nedeniyle ekonomik öneme sahiptir. Bu sebeple, *Lathyrus* türleri üzerinde yapılan araştırmalar Türkiye'de olduğu kadar dünyada da önem taşımaktadır.

Daha önce çalışılmamış olan *L. armenus* türünün fitokimyasının incelenmesi sonucunda, bitkinin fenolik bileşikleri içerdiği gösterilmiştir.

Lathyrus türlerinin üzerinde gerçekleştirilen antioksidan ve antiinflamatuvar biyoaktivite çalışmaları sonucunda kayda değer veriler elde edilmiştir ve bu sonuçlara dayanarak *Lathyrus* türlerinin enflamasyon tedavisinde etkili olabileceği açıklanmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara dayanarak *Lathyrus* türlerinde bulunan diğer sekonder metabolitlerin de izolasyonunun gerçekleştirilmesi; ayrıca bu metabolitlerin antioksidan ve antiinflamatuvar aktivitelerinin ve aynı zamanda etki mekanizmalarının açıklanması önerilmektedir.

ÖZET

Bu çalışmanın amacı *Lathyrus* L. cinsine ait beş türün toprak üstü kısımlarını fitokimyasal açıdan araştırmak, ve antioksidan, antibakterial ve antienflamatuvar aktivitelerini araştırmaktır. Araştırma konusu olarak seçilen türlerden iki tür; *Lathyrus armenus* ve *Lathyrus cilicicus* Türkiye endemiğidir. Bu çalışmada doğal olarak yetişen *L. armenus* türünün toprak üstü kısmından kemferol-3-*O*- glikozil (1-2) ramnozit, kemferol-3-*O* ramninozit, ramnazin ramninozit, ramnetin ramninozit ve ramnositrin ramninozit bileşikleri, etil asetatlı ve sulu fraksiyonlardan çeşitli kromatografik yöntemlerle izole edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. Bitkilerin metanollü ekstralarının total fenol ve total flavonoit miktarı sırasıyla, Folin-Ciocalteu ve AlCl₃ yöntemleri kullanılarak saptanmıştır. Ekstrelerdeki total fenol miktarlarının 150.63-452.19 µg/mg arasında, total flavonoit miktarlarının ise 36.19-105.43 µg/mg arasında değiştiği gözlenmiştir. En yüksek total fenolik madde miktarı *L. aureus*, en yüksek total flavonoit miktarı ise *L. laxiflorus*'da gözlenmiştir. Bu türlerin *n*-hekzan, kloroform, etilasetat, metanol ve sulu ekstresinin radikal süpürücü aktiviteleri DPPH yöntemi ile ölçülmüştür; En güçlü radikal süpürücü aktivite gösteren *L. aureus* türünün sulu fraksiyonunun da saptanmıştır. Bu türlerin *n*-hekzan, kloroform, etilasetat, metanol ve sulu ekstralarının iki Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*), ve iki Gram negatif bakteri (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) ve bir maya (*Candida albicans*) türüne karşı dilüsyon yöntemi ile *in vitro* antibakteriyel etkisi araştırılmıştır, en yüksek antibakteriyel aktivite etil asetatlı fraksiyonunun da gözlenmiştir. Çalışılan bitkilerin *n*-hekzan, kloroform, etilasetat, metanol ve sulu ekstralarının HRBC yöntemi ile antienflamatuvar aktivitesi de incelenmiştir, en yüksek aktivite etil asetat ve sulu ekstralarda gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Lathyrus*, Flavonoit, Antioksidan, Antienflamatuvar

SUMMARY

The aim of this study was phytochemically investigation of aerial part of five *Lathyrus* L. species which belong to the Leguminosae family, and to evaluate their antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities. *L. armenus* and *L. cilicicus* are endemic to Turkey. Isolation of secondary metabolites, kaempferol-3-*O*-glucosyl (1-2) ramoside, kaempferol-3-*O*-ramnoside, rhamnocitrin rhamninoside, rhamnetin rhamninoside ve rhamnasine rhamninoside from *L. armenus* was performed by means of various chromatographic methods. The structure of the obtained compound were elucidated using spectroscopic methods. The total phenolic and total flavonoid content of the methanolic extracts of five species were determined using Folin-Ciocalteu and AlCl₃ methods, respectively. Total phenolic content of the extracts was ranged 150.63-452.19 µg/mg and the total flavonoid content was ranged 36.19-105.43 µg/mg. Methanolic extract of *L. aureus* had the highest phenolic content and methanolic extract of *L. laxiflorus* exhibited the highest flavonoid content. The n-hexane, chloroform, ethyl acetate, methanolic and water extract of five *Lathyrus* species were also investigated for their radical scavenging activity by DPPH methods. Water extract of *L. aureus* was showed the strongest activity. The n-hexane, chloroform, ethyl acetate, methanolic and water extract of five *Lathyrus* species were assayed for *in vitro* antibacterial activity against two Gram positive (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*), two Gram negative bacteria (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) and one fungus (*Candida albicans*), using the dilution methods. The highest antibacterial activity was produced by ethyl acetate fractions. The n-hexane, chloroform, ethyl acetate, methanolic and water extract of five *Lathyrus* species were investigated for anti-inflammatory activity by HRBC method. The highest activity was produced by ethyl acetate and aqueous fractions.

Keywords: *Lathyrus*, Flavonoids, Antioxidant, Anti-inflammatory

KAYNAKLAR

- ABREU J F and BRUNO-SOARES A M (1998). Chemical composition, organic matter digestibility and gas production of nine legume grains. *Animal Feed Science and Technology* **70**(1): 49-57.
- AGRAWAL (1989). *Studies in Organic Chemistry Amsterdam*, Elsevier Science Publishers
- AÏNSWORTH E A and GILLESPIE K.M (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature protocols*, **2**(4), pp.875-877.
- AKHTAR M A, RAHBER-BHATTI M and ASLAM M (1997). Antibacterial activity of plant diffusate against *Xanthomonas campestris* pv. *citri*. *International journal of pest management* **43**(2): 149-153.
- AL LAHAM S A and AL FADEL F M (2014). Antibacterial activity of various plants extracts against antibiotic-resistant *Aeromonas hydrophila*. *Jundishapur journal of microbiology* **7**(7).
- ALBAYRAK S, AKSOY A, SAGDIC O and HAMZAOGLU E (2010). Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food chemistry* **119**(1): 114-122.
- ARABI Z and SARDARI S (2010). An investigation into the antifungal property of Fabaceae using bioinformatics tools. *Avicenna journal of medical biotechnology* **2**(2): 93.
- BASARAN U, ASCIO O, MUTH, ACAR Z and AYANI (2013). Some quality traits and neurotoxin β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid (β -ODAP) contents of *Lathyrus* sp. cultivated in Turkey. *African Journal of Biotechnology* **10**(20): 4072-4080.
- BELL E (1964). The isolation of γ -hydroxyhomoarginine, as its lactone, from seeds of *Lathyrus tingitanus*, its biosynthesis and distribution. *Biochemical Journal* **91**(2): 358.
- BELL E (1963). A New Amino-acid, gamma-Hydroxyhomoarginine, in *Lathyrus*. *Nature* **199**: 70-71.
- BELL E A, PERERA K C, NUNN P B, SIMMONDS M S and BLANEY W M (1996). Non-protein amino acids of *Lathyrus latifolius* as feeding deterrents and phagostimulants in *Spodoptera littoralis*. *Phytochemistry* **43**(5): 1003-1007.
- BHARDWAJ S (2012). Antibacterial Potential Of Some Petal Extracts Against *Pectobacterium carotovorum* sub sp. *carotovorum*. *Potato Journal* **38**(2).
- BOISSIER E (1872). *Orobus and Lathyrus in Flora Orientalis* 2: 599-622. Geneva & Bassel
- BROWN E G (1996). 2-Amino-4-carboxypyrimidine in seeds of *Lathyrus tingitanus*. *Phytochemistry* **42**(1): 61-62.
- CALINESCU C, FEDERICO R, MONDOVI B and MATEESCU M A (2010). Zymographic assay of plant diamine oxidase on entrapped peroxidase polyacrylamide gel electrophoresis. A study of stability to proteolysis. *Analytical and bioanalytical chemistry* **396**(3): 1281-1290.
- ÇAPANOĞLU GÜVEN E, TOYDEMİR OTKUN G and BOYACIOĞLU D (2010). Flavonoidlerin biyoyararlılığını etkileyen faktörler. *İstanbul Teknik Üniversitesi, Gıda* **35**(5): 387-394.

- ÇILDIR H (2011). Morphology, Anatomy and Systematics of The Genus *Lathyrus* L. (Leguminosae) In Central Anatolia, Turkey. Ph.D Thesis, pp: 1-5.
- CHAVAN U and AMAROWICZ R (2013). Effect of various solvent systems on extraction of phenolics, tannins and sugars from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). *International Food Research Journal* **20**(3): 1139-1144.
- CHAVAN U, MCKENZIE D, AMAROWICZ R and SHAHIDI F (2003). Phytochemical components of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). *Food chemistry* **81**(1): 61-71.
- CHAVAN U, MCKENZIE D and SHAHIDI F (2001) a. Functional properties of protein isolates from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). *Food chemistry* **74**(2): 177-187.
- CHAVAN U, SHAHIDI F and NACZK M (2001) b. Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. *Food chemistry* **75**(4): 509-512.
- CHAVAN U D, AMAROWICZ R and SHAHIDI F (1999). Antioxidant activity of phenolic fractions of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). *Journal of Food Lipids* **6**(1): 1-11.
- DAVIS P H (1970). Flora of Turkey and the east Aegean islands, Edinburgh University Press.
- DOĞAN M (1982). Taxonomic Studies on Turkish Gramineae, PhD Thesis, pp 1-405. Edinburg University.
- EMRE I (2009). Electrophoretic analysis of some *Lathyrus* L. species based on seed storage proteins. *Genetic resources and crop evolution* **56**(1): 31-38.
- EMRE I, ŞAHİN A, YILMAZ Ö and GENÇ H (2010) a. Compositions of seed fatty acids in some *Lathyrus* taxa from Turkey. *Acta Botanica Gallica* **157**(2): 241-246.
- EMRE I, TURGUT-BALIK D, GENÇ H and ŞAHİN A (2010) b. Total seed storage protein patterns of some *Lathyrus* species growing in turkey using SDS-PAGE. *Pak. J. Bot* **42**(5): 3157-3163.
- FIKRE A, KORBU L, KUO Y-H and LAMBEIN F (2008). The contents of the neuro-excitatory amino acid β -ODAP (β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid), and other free and protein amino acids in the seeds of different genotypes of grass pea (*Lathyrus sativus* L.). *Food chemistry* **110**(2): 422-427.
- GADAMSETTY G, MARU S and SARADA N (2013). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant *Mimusops elengi* L. *J Pharm Sci Res* **5**: 125-130.
- GODEVAC D, ZDUNIĆ G, ŠAVIKIN K, VAJS V and MENKOVIĆ N (2008). Antioxidant activity of nine Fabaceae species growing in Serbia and Montenegro. *Fitoterapia* **79**(3): 185-187.
- GORDON M H (2001). Measuring antioxidant activity. *Antioxidant in food: Practical applications Woodhead Publishing Ltd, Cambridge*: 71-84.
- GRELA E, STUDZINSKI T and MATRAS J (2001). Antinutritional factors in seeds of *Lathyrus sativus* cultivated in Poland. *Lathyrus Lathyrism Newsletter* **2**(2): 101-104.
- GÜNER A (2014). Türkiye Bitkileri Listesi Damarlı Bitkiler. **1**: 196.
- HAIMANOT R T, KIDANE Y, WUHIB E, KALISSA A, ALEMU T, ZEİN Z A and SPENCER P S (1990). Lathyrism in rural northwestern Ethiopia: a highly prevalent neurotoxic disorder. *International journal of epidemiology* **19**(3): 664-672.

- HANBURY C and HUGHES B (2003). *Lathyrus cicera* as quality feed for laying hens. *Lathyrus Lathyrism Newsletter* **3**: 44-46.
- HANBURY C, WHITE C, MULLAN B and SIDDIQUE K (2000). A review of the potential of *Lathyrus sativus* L. and *L. cicera* L. grain for use as animal feed. *Animal Feed Science and Technology* **87**(1): 1-27.
- HARPUT ŞÜ, SARACOGLU I, OGIHARA Y (2004). Methoxyflavonoids from *Pinaropappus roseus*. *Turk J Chem* **28**: 761 – 766.
- HEYWOOD V H (1993). Flowering plants of the world, BT Batsford Ltd.
- HUANG D-J, HSIEN-JUNG C, CHUN-DER L and YAW-HUEI L (2005). Antioxidant and antiproliferative activities of water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk) constituents. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* **46**.
- IKRAMOV M, MAVASHEVA F, BATIROV É K and MALIKOV V (1990). Flavonoids of *Lathyrus pratensis*. *Chemistry of Natural Compounds* **26**(2): 225-226.
- ISKENDER N Y, YAYLIN, YASAR A and ÇOSKUNÇELEBI K (2009). Volatile constituents of the flower, leaf and stem of *Lathyrus vernus* (L.) grown in Turkey. *Asian Journal of Chemistry* **21**(8): 6290-6294.
- ISLAM R (2012). Phytochemical evaluation of leaves of *Lathyrus sativus* Linn. LAP Lambert Academic Publishing pp: 56.
- KAHRAMAN A, ERKASAP N, KÖKEN T, SERTESER M, AKTEPE F and ERKASAP S (2003). The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. *Toxicology* **183**(1): 133-142.
- KANG S S, AHN B T, KİM J S and BAE K (1998). *Lathyrus* saponin, a new trisaccharide glycoside from *Lathyrus japonicus*. *Journal of natural products* **61**(2): 299-300.
- KARADENİZ A, ERDOĞAN N, GENÇ H and EMRE İ (2010). ODAP levels in some *Lathyrus* species distributed on Burdur-Isparta provinces in Turkey. *Genetic resources and crop evolution* **57**(8): 1121-1126.
- KENICER G (2008). An introduction to the genus *Lathyrus* L. *Curtis's Botanical Magazine* **25**(4): 286-295.
- KENICER G J, KAJITA T, PENNINGTON R T and MURATA J (2005). Systematics and biogeography of *Lathyrus* (Leguminosae) based on internal transcribed spacer and cpDNA sequence data. *American Journal of Botany* **92**(7): 1199-1209.
- KHALIGHI-SIGAROODI F, AHVAZI M, HADJIAKHOONDI A, TAGHIZADEH M, YAZDANI D, KHALIGHI-SIGAROODI S AND BİDEL S (2012). Cytotoxicity and antioxidant activity of 23 plant species of Leguminosae family. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR* **11**(1): 295.
- KHAN N A (2011). Two antifungal active triterpenoid saponins from the seeds of *Lathyrus* plants. *Natural product research* **25**(18): 1687-1694.
- KİSLEV M E (1989). Origins of the cultivation of *Lathyrus sativus* and *L. cicera* (fabaceae). *Economic Botany* **43**(2): 262-270.

- KOÇAK A, KÖKTEN K, BAĞCI E, AKÇURA M, HAYTA Ş, BAKOĞLU A and KILIÇ Ö (2011). Chemical analyses of the seeds of some forage legumes from Turkey: a chemotaxonomic approach.
- KRÜGER T, MÖNCH B, OPPENHÄUSER S and LUCKAS B (2010). LC–MS/MS determination of the isomeric neurotoxins BMAA (β -N-methylamino-L-alanine) and DAB (2, 4-diaminobutyric acid) in cyanobacteria and seeds of *Cycas revoluta* and *Lathyrus latifolius*. *Toxicon* **55**(2): 547-557.
- KUPICHA F (1983). infrageneric structure of *Lathyrus*. *Notes-Royal Botanic Garden Edinburgh*.
- KUSAMA-EGUCHI K, KUSAMA T, SUDA A, MASUKO T, YAMAMOTO M, IKEGAMI F, IGARASHI K, KUO Y-H, LAMBEIN F and WATANABE K (2004). Partial Involvement of Group I Metabotropic Glutamate Receptors in the Neurotoxicity of 3-N-Oxalyl-L-2, 3-diaminopropanoic Acid (L-. BETA.-ODAP). *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **27**(7): 1052-1058.
- LEWIS G, SCHRIRE B, MACKINDER B, LOCK M (2005). Legumes of the World. Royal Botanic Gardens, Kew. 577 pp.
- MAHLER-SLASKY Y and KISLEV M E (2010). *Lathyrus* consumption in late bronze and iron age sites in Israel: an Aegean affinity. *Journal of Archaeological Science* **37**(10): 2477-2485.
- MARKHAM K R, GEIGER H and JAGGY H (1992). Kaempferol-3-O-glucosyl (1–2) rhamnoside from *Ginkgo biloba* and a reappraisal of other gluco (1–2, 1–3 and 1–4) rhamnoside structures. *Phytochemistry* **31**(3): 1009-1011.
- MARZOUK MS, EL-TOUMY SAA, MERFORT I, NAWWAR MAM (1999). Polyphenolic metabolites of *Rhamnus disperma*. *Phytochemistry* **52**(5): 943–946.
- MATHUR P, RAO V R and ARORA R (1999). *Lathyrus* Genetic Resources Network, Bioversity International.
- METCALFE C R, CHALK, L. (1965). Anatomy of The Dicotyledons. *Oxford*, Clarendon Press.
- MISHRA G, SHUKLA R, HASAN M, KHANNA S K and DAS M (2009). Potentiation of neurotoxicity of *Lathyrus sativus* by manganese: Alterations in blood–brain barrier permeability. *Toxicology mechanisms and methods* **19**(4): 318-326.
- MISHRA R and VERMA D (2009). Kaempferol-3-O- α -L-glucosyl (1→ 2) rhamnoside from *Hymenophyllum crispatum*. *Nature and Sci* **7**(6): 82-85.
- MOGES G, SOLOMON T and JOHANSSON G (1994). Glutamate Oxidase-Catalyzed Oxidation of β -N-Oxalyl-L- α , β -N-Diaminopropionic Acid (β -ODAP), a Neurotoxin in the Seeds of *Lathyrus Sativus*. *Analytical letters* **27**(12): 2207-2221.
- MOHAMED S (2008). Chemical and biological evaluation of *Lathyrus odoratus* L. flowers. *Planta Medica* **74**(09): PB11.
- MULLAN B, PLUSKE J, TREZONA M, HARRIS D, ALLEN J, SIDDIQUE K, HANBURY C, VAN BARNEVELD R and KIM J (2009). Chemical composition and standardised ileal digestible amino acid contents of *Lathyrus (Lathyrus cicera)* as an ingredient in pig diets. *Animal Feed Science and Technology* **150**(1): 139-143.
- NAGAHARIKA Y and RASHEED S (2013). Anti-inflammatory activity of leaves of *Jatropha gossypifolia* L. by HRBC membrane stabilization method. *Journal of Acute Disease* **2**(2): 156-158.

- OHTSUKI T, MURAI Y, IWASHINA T and SETOGUCHI H (2013). Geographical differentiation inferred from flavonoid content between coastal and freshwater populations of the coastal plant *Lathyrus japonicus* (Fabaceae). *Biochemical systematics and ecology* **51**: 243-250.
- ÖNAL U B Z A Ö and AYAN A H M I (2007). Mürdümük (*Lathyrus* sp.) Türlerinin Önemi, Tarımda Kullanım Olanları ve Zararlı Madde İçerikleri. *J. of Fac. of Agric., OMU* **22**(1): 139-148.
- ÖZİPEK M, ÇALIŞ İ, ERTAN M and RÜEDİ P (1994). Rhamnetin 3-p-coumaroylrhamnoside from *Rhamnus petiolaris*. *Phytochemistry* **37**(1): 249-253.
- ÖZKAN O A M, ERDAĞ D, BAĞCIGİL AF and AYDIN H (2014). In-Vitro Comparison Of The Antibacterial Activity Of Extracts From Endemic Plants Species. *International Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine* **4**(5): 1608-1614.
- PARK S Y, LEE S Y and KANG S S (2008). Articles: Chemical Constituents of *Lathyrus davidii*. *Natural Product Sciences* **14**(4): 281-288.
- PASTOR-CAVADA E, JUAN R, PASTOR J E, ALAIZ M and VÍOQUE J (2009). Antioxidant activity of seed polyphenols in fifteen wild *Lathyrus* species from South Spain. *LWT-Food Science and Technology* **42**(3): 705-709.
- PASTOR-CAVADA E, JUAN R, PASTOR J E, ALAIZ M and VÍOQUE J (2010). Protein isolates from two Mediterranean legumes: *Lathyrus clymenum* and *Lathyrus annuus*. Chemical composition, functional properties and protein characterisation. *Food chemistry* **122**(3): 533-538.
- PECKET R (1959). The constituents of leaf extracts in the genus *Lathyrus* and their bearing on taxonomy. *New Phytologist* **58**(2): 182-187.
- PIERGIOVANNI A R, LUPO F and ZACCARDELLI M (2011). Environmental effect on yield, composition and technological seed traits of some Italian ecotypes of grass pea (*Lathyrus sativus* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture* **91**(1): 122-129.
- POLATOĞLU K, ARSAL S, DEMİRCİ B and CAN BAŞER K H (2015). DPPH Scavenging, PRAP Activities and Essential Oil Composition of Edible *Lathyrus ochrus* L.(Cyprus Vetch, Luvana) from Cyprus. *Journal of oleo science* **64**(3): 309-314.
- POLHILL R M and RAVEN P H (1981). Advances in legume systematics. Parts 1 and 2. *Advances in legume systematics. Parts 1 and 2*.
- PORTER A E, GRIFFITHS D W, ROBERTSON G W and SEXTON R (1999). Floral volatiles of the sweet pea *Lathyrus odoratus*. *Phytochemistry* **51**(2): 211-214.
- RANABAHU P and HARBORNE J B (1993). The flavonoids of the genus *Lathyrus* and a comparison of flavonoid patterns within the tribe Viciae. *Biochemical systematics and ecology* **21**(6): 715-722.
- RAO S (1978). A sensitive and specific colorimetric method for the determination of α , β -diaminopropionic acid and the *Lathyrus sativus* neurotoxin. *Analytical Biochemistry* **86**(2): 386-395.
- RAO S, ADIGA P and SARMA P (1964). The Isolation and Characterization of β -N-Oxalyl-L- α , β -Diaminopropionic Acid: A Neurotoxin from the Seeds of *Lathyrus sativus**. *Biochemistry* **3**(3): 432-436.
- REYNAULD J, ISMAILI A and JAY M (1981). Flavonoid glycosides of *Lathyrus pratensisleguminosae*. *Phytochemistry* **20**(8): 2052-2053.

- RICHARDSON M, YARWOOD A and ROUGÉ P (1987). The amino acid sequence of an atypical single-chain lectin from seeds of *Lathyrus sphaericus* (Retz). *FEBS letters* **216**(1): 145-150.
- ROUGÉ P and SOUSA-CAVADA B (1984). Isolation and partial characterization of two isolectins from *Lathyrus ochrus* (L.) DC. seeds. *Plant science letters* **37**(1): 21-27.
- SARASWAT K (1980). The ancient remains of the crop plants at Atranjikhera (c. 2000-1500 BC). *Journal of the Indian Botanical Society* **59**(4): 306-319.
- ŞENTÜRK N, KELEŞ G Ç, KAYMAZ F, YILDIZ L, AÇIKGÖZ G and TURANLI A Y (2002). Deneysel latirizm modelinde doksisisiklinin kollagen yapısı üzerine olan etkilerinin morfolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi. *TURKDERM* **4**(36): 248-252.
- ŞAHINOĞLU S (2011). *Lathyrus* Cinsinin Cicercula Seksiyonundan Bazı Türlerin Tohum Kabuğu Yapısı. Yüksek Lisans Tezi, 18-20 pp.
- SERAFIINI M, PELUSO I and RAGUZZINIA (2010). Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proceedings of the Nutrition Society* **69**(03): 273-278.
- SHAHIDI F, CHAVAN U, NACZK M and AMAROWICZ R (2001). Nutrient distribution and phenolic antioxidants in air-classified fractions of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). *Journal of agricultural and food chemistry* **49**(2): 926-933.
- SHEN L, FOSTER J G and ORCUTT D M (1989). Composition and distribution of free amino acids in flatpea (*Lathyrus sylvestris* L.) as influenced by water deficit and plant age. *Journal of experimental botany*: 71-79.
- SHIRWAIKAR A, DEVI S and SIJU E (2011). Anti-Inflammatory activity of *Thespesia populnea* fruits by Membrane Stabilization. *Int J Pharm Tech Res* **4**: 2060-2063.
- SINGH R, PATIL S, PAL G and AHMAD M (2012). Evaluation of in vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Ajuga bracteosa* Wall ex Benth. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* **2**: S404-S407.
- SLINKARD K and SINGLETON V L (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture* **28**(1): 49-55.
- SPANOU C, STAGOS D, ALIGIANNIS N and KOURETAS D (2010). Influence of potent antioxidant leguminosae family plant extracts on growth and antioxidant defense system of Hep2 cancer cell line. *Journal of medicinal food* **13**(1): 149-155.
- SPANOU C, STAGOS D, TOUSIAS L, ANGELIS A, ALIGIANNIS N, SKALTSOUNIS A-L and KOURETAS D (2007). Assessment of antioxidant activity of extracts from unique Greek varieties of Leguminosae plants using in vitro assays. *Anticancer research* **27**(5A): 3403-3410.
- SPENCER P, LUDOLPH A, DWIVEDI M, ROY D, HUGON J and SCHAUMBURG H (1986). Lathyrism: evidence for role of the neuroexcitatory aminoacid BOAA. *The Lancet* **328**(8515): 1066-1067.
- TAJBAKHSH M, KHALILZADEH M A and DABIRI H A (2008). Volatile constituents of *Lathyrus rotundifolius* Willd. and *Trifolium mazanderanicum* Rech. F. Two Papilionaceae herbs growing wild in Iran. *Journal of Essential Oil Research* **20**(2): 119-121.
- TAMBURINO R, CHAMBERY A, PARENTE A and DI MARO A (2012) a. A novel polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP) from *Lathyrus sativus* L. seeds. *Protein and peptide letters* **19**(8): 820-825.

- TAMBURINO R, GUIDA V, PACIFICO S, ROCCO M, ZARELLI A, PARENTE A and DÌ MARO A (2012) b. Nutritional values and radical scavenging capacities of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) seeds in Valle Agricola district, Italy.
- TAMBURINO R, SEVERINO V, SANDOMENICO A, RUVO M, PARENTE A, CHAMBERY A and DÌ MARO A (2012) c. De novo sequencing and characterization of a novel Bowman-Birk inhibitor from *Lathyrus sativus* L. seeds by electrospray mass spectrometry. *Molecular BioSystems* **8**(12): 3232-3241.
- VAN DER MAESEN L J G and SOMAATMADJA S (1989). Plant resources of South-East Asia: pulses, Pudoc.
- WANG F, CHEN X, CHEN Q, QIN X and LI Z (2000). Determination of neurotoxin 3-N-oxalyl-2, 3-diaminopropionic acid and non-protein amino acids in *Lathyrus sativus* by precolumn derivatization with 1-fluoro-2, 4-dinitrobenzene. *Journal of Chromatography A* **883**(1): 113-118.
- WAYNE PA (2009) Clinical and laboratory standards institute. Implementation Guide of POCT for Health Care Providers, pp: 1-37.
- YAN Z-Y, SPENCER P S, LIZ-X, LIANG Y-M, WANG Y-F, WANG C-Y and LI F-M (2006). *Lathyrus sativus* (grass pea) and its neurotoxin ODAP. *Phytochemistry* **67**(2): 107-121.
- YAN Z-Y, XING G-M and LI Z-X (2004). Quantitative determination of oxalic acid using victoria blue B based on a catalytic kinetic spectrophotometric method. *Microchimica Acta* **144**(1-3): 199-205.
- ZHAO L, CHEN X, HU Z, LI Q, CHEN Q and LI Z (1999). Analysis of β -N-oxalyl-l- α , β -diaminopropionic acid and homoarginine in *Lathyrus sativus* by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A* **857**(1): 295-302.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Hajar

Soyadı: HEYDARI

Doğum yeri ve tarihi: İran

Uyruğu: İranlı

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: Halide Edip Adivar Kız Öğrenci Yurdu, Ankara, Çankaya. 00905467917042

II- Eğitimi

Yüksek Lisans: Fitokimya, Shahid Beheshti Üniversitesi, İRAN (20

Lisans: Kimya, Orumiyeh Üniversitesi, İRAN.

Diller: Farsça, Türkçe, İngilizce

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınlar

Heydari H, Saltan G, Acıkara Ö B, Yılmaz S, Çoban T, Tekin M. Antioxidant Activity of five *Lathyrus* L. Species Growing In Turkey. Turkish Journal of pharmaceutical Science, In Press.

Hydari H, Rafati H, Ali Ahmadi A, Nadjafi F. Antibacterial Activity of Essential Oils Derived from Herbal Medicines Against Common Bacterial Pathogens in Rhinosinusitis. Phytomedicine, Elsevier;2010.

Hadian J, Akramian M, **Heydari H**. Composition and in vitro antibacterial activity of essential oils from four *Satureja* species. Natural Product Research,2010.

Hokmollahi F, Rafati H, Riahi H, Hakimi M, Aliahmadi A, **Heydari H**, Haghirosadat F, Azimzade M, Mosazade S. Collection and Identification of a Medicinal Mushroom, *Phellinus Conchatus* in Iran and Investigation of the

Antibacterial Activity of Total Methanol Extract and Fractional Extracts. Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences.2011.

Posters

Antibacterial properties of Iranian traditional herbal plants. The 12th International Congress Phytopharm 2008, 2-4 July 2008, Saint-Petersburg, Russia.

Isolation and identification of kaempferol-3-o-glucosyl (1-2) rhamnoside from *Lathyrus armenus* L. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-11).