

TC
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI
FİTOTERAPİ PROGRAMI

Laurocerasus officinalis Roem. BİTKİSİ ÜZERİNDE YAPILAN
BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Tangül DAMLACI

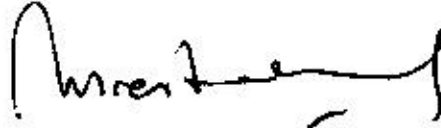
Tez Danışmanı
Prof. Dr. TURHAN BAYKAL

ANKARA
HAZİRAN 2009

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 25/06/2009



Prof. Dr. Turhan BAYKAL
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı



Doç. Dr. Mustafa ASLAN
Gazi Üniversitesi



Prof. Dr. Tayfun ERSÖZ
Hacettepe Üniversitesi

TEŐEKKÖR

Tez konumu belirleyip beni biyolojik aktivite çalışmalarına yönlendiren, çalışmalarım sırasında yardım ve desteği ile beni yüreklendiren değerli hocam Prof. Dr. Turhan BAYKAL' a,

Çalışmalarımı yakından takip eden, değerli fikir ve bilgileri ile beni aydınlatan sayın hocam Prof. Dr. Ekrem SEZİK' e,

Tez çalışmalarım başladığı ilk günden bugüne dek bilimsel ve manevi desteğini esirgemeyen, antidiyabetik aktivite çalışmaları ile ilgili deneyim ve bilgilerini benimle paylaşan değerli hocam Doç. Dr. Mustafa ASLAN' a,

Antidiyabetik aktivite çalışmalarım sırasında yanımda olan, aklıma takılan her soruyu cevaplandırma sabrını gösteren, yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Uzm. Ecz. Nilüfer ORHAN' a,

Bugüne dek her kararımda yanımda olan ve destekleriyle beni yüreklendiren aileme,

Anabilim dalındaki diğer tüm öğretim üyeleri ve arkadaşlarıma benden yardımlarını esirgemedikleri için minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

İçindekiler	I
Şekiller	IV
Tablolar	V
Semboller, Kısaltmalar	VII
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1.Botanik Bilgiler	3
2.1.1.Tarihçesi ve Taksonomisi	3
2.1.2.Rosaceae (Gülgiller) Familyası	4
2.1.3.Prunoideae Alt Familyası	4
2.1.4. <i>Laurocerasus</i> Cins Özellikleri	5
2.1.5. <i>L. officinalis</i> Roem.	5
2.1.6. <i>L. officinalis</i> Türünün Yayılışı	6
2.2.Fitokimyasal Çalışmalar	12
2.2.1.Yapraklar Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	12
2.2.2.Meyve ve Tohumlar Üzerine Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	16
2.2.2.1.Suda Çözünebilen Oz ve Oz Alkolleri	16
2.2.2.2.Fenolik Bileşikler	23
2.2.2.3.Karboksilik Asitler	26
2.2.2.4.Yağ ve Yağ Asitleri	29
2.2.2.5.Diğer Maddeler	34
2.2.3. <i>L. officinalis</i> Meyvelerinden Elde Edilen Pekmez Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	36
2.3.Halk İlacı Olarak Kullanılışı	41
2.4.Biyolojik Aktivite Çalışmaları	42
2.4.1.Antioksidan Aktivite	42
2.4.1.1.Hidrojenperoksit Süpürücü Etkisi	45
2.4.1.2.Süperoksit Radikal Süpürücü Etkisi	46
2.4.1.3. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürücü Etkisi	48
2.4.2.İnsan LDL Kolesterolünü Düşürücü Etkisi	49
2.4.3.Polifenol Oksidaz (PPO) Aktivite	51
2.4.4.Antienflamatuvar ve Analjezik Aktivite	52
2.4.5.Diğer Aktiviteler	53

2.5.Diğer Çalışmalar	54
3.TOKSİSİTESİ	56
4.DIABETES MELLITUS' UN TANIMI	57
4.1.Diyabetin Teşhisi	58
4.1.1.İdrarda Şeker Aranması	58
4.1.2.Açlık Kan Glikoz Düzeyi Tayini	59
4.1.3.Oral Glikoz Tolerans Testi	59
4.2.Bitkilerin Antidiyabetik Aktivitelerinin Araştırılmasında Kullanılan Yöntemler	60
4.2.1.Materyal Ekstraksiyonu	60
4.2.2.Deney Numunelerinin Hazırlanışı	61
4.2.3.Deney Numunelerinin Uygulanması	61
4.2.4.Kan Örneklerinin Toplanması ve Ölçümler	61
4.2.5.Referans İlaçlar	62
4.2.6.Deney Hayvanları	62
4.2.7.Deneysel Diyabetin Oluşturulması	63
4.2.8.Etkinin Tespit edilmesine Yönelik Deneyler	64
4.2.8.1.Akut Etkinin Tespiti	64
4.2.8.1.1.Normoglisemik Hayvanlar Üzerinde Çalışma	64
4.2.8.1.2.Glikoz-Hiperglisemik Hayvanlar Üzerinde Çalışma	65
4.2.8.1.3.Diyabetik Hayvanlar Üzerinde Akut Etkinin Ölçülmesi	65
4.2.8.2.Subakut Etkinin Tespit Edilmesi	65
4.2.8.3.Kronik Etkinin Tespit Edilmesi	66
4.2.9.Etki Şeklinin Açıklanmasına Yönelik Testler	66
5.GEREÇ VE YÖNTEM	67
5.1.Bitkisel Materyal	67
5.2.Kimyasal Madde ve Malzemeler	67
5.3.Ekstraksiyon	68
5.3.1.Tohumlu Meyvelerin Etanollü Ekstresinin Hazırlanması	69
5.3.2.Tohumlu Meyvenin Etanollü Ekstresinin Hazırlanması	69
5.3.3.Tohumun Etanollü Ekstresinin Hazırlanması	69
5.4.Aktivite Deneyleri	70
5.4.1.Normoglisemik Hayvanlarda Aktivite Tayini (NG)	71
5.4.2.Glikoz Hiperglisemik Hayvanlarda Aktivite Tayini [Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT)]	71
5.4.3.Diyabetik Hayvanlarda Aktivite Tayini	72

5.4.4.Streptozotosin İle Deneysel Diyabet Oluşturulması	72
5.5.Akut Antidiyabetik Etkinin Ölçölmesi	73
6.İSTATİKSEL DEĞERLENDİRMELER	73
7.BULGULAR	74
7.1.Diyabetik Hayvanlarda Akut Antidiyabetik Aktivite Bulguları	74
7.2.Normoglisemik Hayvanlarda Akut Hipoglisemik Aktivite Bulguları	75
7.3.Glikoz-Hiperglisemik Hayvanlarda Akut Hipoglisemik Aktivite Bulguları	76
7.4.Halk İlacı Olarak Kullanımı İle İlgili Saha Çalışmaları Bulguları	77
8.TARTIşMA ve SONUÇ	81
9.ÖZET	84
10.SUMMARY	85
11.KAYNAKLAR	86
12.ÖZGEÇMİş	96

Şekiller	Sayfa No
Şekil 1. <i>L. officinalis</i> ' in Türkiye' deki yayılışı	8
Şekil 2. <i>L. officinalis</i> cv Globigemmis çiçekli yaprakları	9
Şekil 3. <i>L. officinalis</i> cv Globigemmis meyveleri	10
Şekil 4. <i>L. officinalis</i> cv Globigemmis meyveleri	11
Şekil 5. Prunasinin emülsin karşısında parçalanması	13
Şekil 6. <i>L. officinalis</i> ' in Globigemmis kültürünün olgunlaşma süresi boyunca meyvelerindeki düşük molekül ağırlıklı karbonhidrat içeriğindeki değişiklikler	18
Şekil 7. <i>L. officinalis</i> meyvelerinin olgunlaşma ve gelişim süresi boyunca polifenol oksidaz aktivitesindeki değişiklikler	52
Şekil 8. Doğançay Köyü	77
Şekil 9. Kaynak kişi 1. Fatma Civelek	78
Şekil 10. Kaynak kişi 2. Nizamettin Satılmış	79
Şekil 11. Kaynak kişi 3. Seyfettin Satılmış	80

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1. Karayemiş meyvelerinin olgunlaşma sırasındaki düşük molekül ağırlıklı karbonhidrat içeriğindeki değişiklikler	17
Tablo 2. <i>L.officinalis</i> ' in kültür ve doğal formlarının meyvelerindeki oz içerikleri	19
Tablo 3. <i>L.officinalis</i> ' in kültür ve doğal formlarının meyvelerindeki oz İçerikleri	20
Tablo 4. <i>L.officinalis</i> ' in iki popülasyonundaki düşük molekül ağırlıklı karbonhidrat içeriği	21
Tablo 5. <i>L. officinalis</i> ' in Oxygemmis kültürünün meyvelerinin işlenme ve olgunlaşma süresi boyunca suda çözünebilir oz içeriğindeki değişiklikler	22
Tablo 6. <i>L.officinalis</i> ve kültür meyvelerindeki fenolik asitlerin % bileşimi	23
Tablo 7. <i>L.officinalis</i> (Oxygemmis) meyvelerinin olgunlaşma süresi boyunca fenolik asit içeriğindeki değişim	25
Tablo 8. <i>L.officinalis</i> kültürleri ve yabani form meyvelerindeki belirlenen karboksilik asitler	28
Tablo 9. <i>L.officinalis</i> kültürleri ve yabani form tohumlarındaki yağ asitlerinin dağılımı	29
Tablo 10. <i>L.officinalis</i> ve kültür meyvelerindeki yağ asidi bileşimi	30
Tablo 11. <i>L. officinalis</i> bitkisinin Globigemmis kültür meyvelerinin yağ asiti bileşimi	31
Tablo 12. <i>L. officinalis</i> tohumlarındaki lipit içeriği ve lipit sınıfları	33
Tablo 13. <i>L. officinalis</i> ' in yağ ekstresindeki fitosterol bileşimi	33
Tablo 14. <i>L. officinalis</i> 'in olgunlaşmış meyvelerinin fiziksel ve kimyasal bileşimi	34
Tablo 15. <i>L. officinalis</i> meyvesindeki önemli mineral konsantrasyonlar	35
Tablo 16. <i>L. officinalis</i> varyeteleri ve pekmezindeki serbest fenolik asit içerikleri	38

Tablo 17. <i>L. officinalis</i> varyeteleri ve pekmezinin bağı fenolik asit içerikleri	39
Tablo 18. <i>L. officinalis</i> varyeteleri ve pekmezindeki oz bileşimi	40
Tablo 19. <i>L. officinalis</i> varyeteleri ve pekmezinin tahmini bileşikleri	41
Tablo 20. <i>L. officinalis</i> ' in sulu ekstresinin ve standartların in vitro DPPH, süperoksit ve hidroksil süpürücü etkisi	43
Tablo 21. <i>L. officinalis</i> meyvesi çeşitleri ve pekmezindeki antioksidan aktivite (ORAC _{FL}), antosiyaninler, karatoneitler ve fenoliklerin değerleri	45
Tablo 22. <i>L. officinalis</i> ' in hidrojen peroksit süpürücü etkisi	46
Tablo 23. <i>L. officinalis</i> ' in süperoksit radikal süpürücü etkisi	47
Tablo 24. <i>L. officinalis</i> ' in DPPH radikal süpürücü etkisi	48
Tablo 25. <i>L. officinalis</i> ' in insan LDL kolesterol düşürücü etkisi	50
Tablo 26. <i>L. officinalis</i> meyvelerinden elde edilen ekstrelerin diyabetik sıçanların kan-glikoz düzeyleri üzerine akut etkisi	74
Tablo 27. <i>L. officinalis</i> meyvelerinden elde edilen ekstrelerin normal sıçanların kan-glikoz düzeyleri üzerine akut etkisi	75
Tablo 28. <i>L. officinalis</i> meyvelerinden elde edilen ekstrelerin glikoz-hiperglisemik sıçanların kan-glikoz düzeyleri üzerine akut etkisi (OGTT testi)	76

Kısaltmalar

RAPD:	Random Amplified Polymorphic DNA (Rastgele Amplifiye Edilen Polimorfik DNA)
DNA:	Deoksiribonükleik asit
ITK:	İnce Tabaka Kromatografisi
GC:	Gaz Kromatografisi
GC-MS:	Gaz Kromatografisi ve Kütle Spektrometresi
DHPPA:	3-(3,4-dihidroksifenil) propiyonik asit
AMPL:	Aseton Mobil Polar Lipid
PL:	Fosfolipitler
TAG:	Tri Asetil Gliserol
NMR:	Nükleer Manyetik Rezonans
EMA:	The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (Avrupa Tıbbi Ürünler Değerlendirme Ajansı)
DPPH:	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
BHT:	Bütilhidroksi Toluen
TA:	Taze Meyve Ağırlığı
KA:	Kuru Meyve Ağırlığı
MRP:	Maillard Reaksiyon Ürünleri
LDL:	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
ORAC:	Oxygen Radical Absorbance Capacity (Serbest Radikalleri Emme Yeteneği)
PPO:	Polifenol Oksidaz
AcNPV:	<i>Autographa californica</i> Nükleer Pohedrozis Virüsü

SEM: Tarayıcı Elektron Mikroskobu

PCDD/Fs: Dibenzo-p-dioksinler ve Dibenzofuranlar

WHO: World Health Organization (Dünya Sağlık Teşkilatı)

OGTT: Oral Glikoz Tolerans Testi

CMC: Karboksi Metil Selüloz

ANOVA: Analysis of Variance (Tek Yönlü Varyans Analizi)

1.GİRİŞ

Laurocerasus officinalis Roem. bitkisinin meyveleri geniş ölçüde Doğu Karadeniz Bölgesi' nde yetiştirmek ve tüketilmektedir¹. Halk arasında şeker hastalığı, mide ülserleri, idrar zorluğu, bronşit, egzama ve hemoroit tedavisinde kullanılmaktadır^{2,3}. Ayrıca Dioscorides' in kitabında sindirim sistemi problemlerine de iyi geldiği belirtilmiştir⁴.

Hem yabani hem de kültür bitkisi şeklinde yetiştirmektedir. Bitkilerin her ikisinin de meyvesinin olgunlaşmamış hali zehirlidir. Fakat olgunlaştığında, hoş acı badem tadından dolayı çeşitli alkollü içeceklerin yapımında kullanılmaktadır³.

Son yıllarda, taze ve kuru meyveler, reçel yapımında, kuru meyve ezmesi olarak veya marmelat olarak tüketilmektedir⁵.

Halk ilacı olarak şeker hastalığında kullanıldığı hakkında kayıtlar olmasına rağmen², bu etkisinin bulunup bulunmadığını aydınlatan herhangi bir araştırmaya literatür çalışmaları sırasında rastlanmamıştır. Bölgede yaptığımız saha çalışmalarında diyabet hastalarının bitki meyvelerini ve tohumlarını tedaviye destek olarak kullandıkları tespit edilmiştir.

Bunun üzerine *L. officinalis* bitkisi ile ilgili bilgi birikimini derlemek, meyve ve tohumlarından hazırlanan ekstraların antidiyabetik etkilerinin incelemek çalışmamızın amacını meydana getirmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

Bu bölümde öncelikle *L. officinalis* bitkisinin botanik özellikleri incelenmiştir.

Daha sonra bitkinin kimyasal bileşimi ve üzerine yapılan çalışmalar, biyolojik aktivite çalışmaları ve kullanılışı hakkında bilgiler verilmiştir.

Son olarak şeker hastalığı (diabetes mellitus) ve antidiyabetik aktivite tayininde kullanılan yöntemler hakkında bilgiler sunulmuştur.

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1.Tarihçesi ve Taksonomisi

Yerel ismi ‘Karayemiş’, ‘Laz Kirazı’, ‘Laz Üzüümü’ ve ‘Taflan’ dır. 16. asır ortalarında İstanbul’ dan Avrupa’ ya götürülmüş olup halen park ve bahçelerde süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Anadolu’ yu gezmiş olan Fransız hekim P. Belon (1518-1564) bu bitkiye *Cerasus trapezuntina* (Trabzon Kirazı) ismini vermiştir².

L. officinalis cinsi Spermatophyta bölümünün Angiospermae altbölümü, Dicotyledonae sınıfı, Rosaceae familyası, Prunoideae alt familyası içerisinde yer almaktadır.

Tübitak Taksonomik Tür Veri Tabanına Göre⁶:

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Altsınıf: Rosidae

Takım: Rosales

Familya: Rosaceae

2.1.2. Rosaceae (Gülgiller) Familyası

Otsu bitkiler, çalı veya ağaçlar, bazıları dikenli, bir kısmı tırmanıcı. Yapraklar alternan, tam veya pennat, stipula yaprak sapının tabanına birleşik, bazen düşücü. Çiçekler erdişi, nadiren tek eşeyli, aktinomorf, perigin veya epigin, hipantiyum genellikle bulunur. Kaliks 4-5 sepalli, serbest. Korolla 4-5 petalli, serbest. Stamenler çok sayıda, bazen 5 veya 10. Ovaryum tek ve 1-5 karpelli veya çok sayıda. Meyve nuks, drupa veya folikül ve çoğunlukla agregat meyve^{7,8}.

Dünyada geniş yayılışlı bir familyadır. Daha çok kuzey ılıman bölgelerde yayılmıştır. 122 cins, 3370 türü tespit edilmiştir. Memleketimizde 35 cins, 250 türü yetişmektedir⁸.

Rosaceae familyası 4 alt familyaya ayrılmaktadır. Bunlar;

- Spiraeoideae
- Rosoideae
- Maloideae
- Amygdaloideae (Prunoideae)⁹

2.1.3. Prunoideae Alt Familyası

Bu alt familyada çiçekler perigin. Ovaryum bir karpelli ve bir tane, çanak şeklinde çukurlaşmış olan reseptakulumun dibinde serbest. Meyve tek çekirdekli drupa. Çiçek eksenleri çanak şeklinde, kaliks çan şeklinde. Stilus terminal. Çiçek formülü $K_5C_5A_\infty G_1$. Yani kaliks 5 parçalı

serbest, korolla 5 parçalı serbest, androkeum sonsuz, ginekeum 1 karpelli⁸.

2.1.4. *Laurocerasus* Cins Özellikleri

Ağaç ve çalı şeklinde. Yaprakları her dem yeşil, çiçekleri dar yapraksız, çiçek salkımı aksial. Sepal ve petal 5 tane. Ovaryum üstte. Stamenler 20 tane ve iki halka şeklinde dizilmiş. Meyveleri koyu mor veya siyah, çekirdekli ve etli⁷.

2.1.5. *Laurocerasus officinalis* Roem.

Sinonimleri *Prunus laurocerasus* (L.), *Padus laurocerasus* (L.) Miller, *Cerasus laurocerasus* (L.) Lois, *Laurocerasus vulgaris* Carr⁷.

Çalı veya 6 m' ye kadar yükselebilen ağaçlar. Yapraklar oblong - eliptik veya oblong - obovat şeklinde ve 20x8 cm ebatlarında, kenarları düz veya dişli, yaprakların üstü koyu yeşil ve parlak, alt kısmı soluk yeşil. Yaprak sapı 15 mm uzunluğunda çiçek durumu başak. Çiçek salkımı yoğun ve genellikle yapraklardan daha kısa. Küçük braktelere sahip. Çiçekleri beyaz, çiçek sapı 8 mm, hipantiyum çanak şeklinde, çiçek petalleri yuvarlakça ve 4 mm. Meyve drupa ve 8 mm çapında (kültür formları 12 mm). Koyu mor veya siyah renkte ve çekirdekli⁷.

2.1.6. *L. officinalis* Türünün Yayılışı

L. officinalis olarak bilinen tür hem doğal olarak hem de kültür formu olarak Doğu Karadeniz Bölgesi' nde oldukça yaygındır¹⁰.

Birçok ülkede kültürü yapılmaktadır¹¹. Gerek morfolojik gerekse meyve tadı ve rengi açısından farklı olduğu görülen üç kültür ve bir de yabani form grubu tespit edilmiştir. Bu kültür formları Oxygemmis, Globigemmis ve Angustifolia' dır^{10,11}. Yabani yani doğal hali genellikle Türkiye' de, özellikle Karadeniz Bölgesi' nde yetişmektedir. Ayrıca Oxygemmis ve Globigemmis kültürleri ilk olarak Türkiye' de kaydedilmiştir¹². Bu grupların morfolojik olarak karşılaştırılması şöyledir:

- *L. officinalis* cv. "Oxygemmis" : Bu kültür formun tomurcukları diğer kültür formların tomurcuklarına göre iri, ucu sivri ve konik şeklinde. Tomurcukların uzunluğu 1-1,5 cm. Yapraklar 5-18 x 5-6 cm ebatlarında ve şeritsi şekilde. Yaprakların dip kısmında genellikle, sayıları 1-5 arasında değişen yağ bezeleri. Meyveler iri ve olgunlaştığında parlak siyah renkte. Meyve tadı acı ve mayhoş¹⁰.

- *L. officinalis* cv. "Globigemmis" : Tomurcukları yuvarlaksı ve uçları küt, 0.5-1 cm büyüklüğünde, yapraklar 5-15 x 5-6 cm ebatlarında. Yaprakların dip kısmında genellikle iki adet yağ bezesi. Bu kültür formun meyveleri Oxygemmis kültür formunun meyvelerine göre daha ince mezokarpılı, sert ve olgunlaştığında siyah renkte. Tadı Oxygemmis kültür formuna göre daha tatlı ve az mayhoş. Bu kültür formun meyveleri yemeklik olarak daha çok tercih edilir ve genç sürgünleri üzerinde lentiseller belirgin¹⁰.

- *L. officinalis* cv. "Angustifolia" : Bu kültür form çok geniş bir dağılım göstermektedir. Bu form yükseldikçe dallanır. Avrupa' da bahçelerde süs bitkisi olarak kullanılmaktadır. Yaprakları ince ve şerit biçiminde. Yaprak yüzeyi parlak, koyu yeşil, yaprak boyu 12 cm ve eni 4 cm genişliğinde. Çiçekler çok sayıda¹⁰.

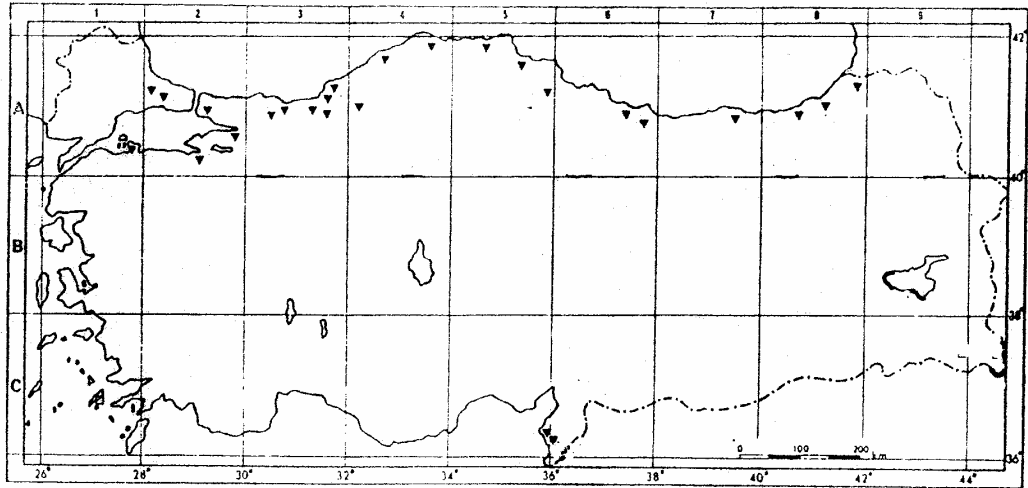
- Yabani form: Yaprakların üst yüzeyi parlak koyu yeşil, alt yüzeyi ise açık yeşil ve 5-16 x 2-7 cm ebatlarında. Meyveleri kültür formlarına göre daha küçük ve ince. Koyu kırmızı - siyah renkte buruk bir tada sahip. Merkezinde yaprak damarı belirgin. Yaprak ayasının çevresinde birkaç tane salgı hücresi bulunmakta. Küçük beyaz çiçek dikine gelişmiş. Uzunca olan çiçek salkımı yaprak sapından yükselmekte. Meyveler drupa biçiminde olup küresel çekirdekler içermekte¹⁰.

Bütün bu morfolojik özellikler gösteriyor ki, Globigemmis ve Oxygemmis' in yaprak şekilleri birbirine ve yabani forma daha yakındır. Tam aksine Angustifolia kültür formunun yaprak şekli diğer iki kültür formundan ve yabani formdan oldukça farklıdır¹⁰.

Sandallı' nın yaptığı çalışmada, RAPD (Rastgele Amplifiye Edilen Polimorfik DNA) analizi ile elde edilen bulgular morfolojik özelliklerle tam bir uyum göstermiştir. Çünkü morfolojik özelliklerden yararlanılarak yapılan ayırım RAPD tekniği ile tam olarak desteklenmiştir. Bu sonuçlardan hareketle, RAPD tekniğinin *Laurocerasus officinalis*' e ait kültür formlarını belirlemede çok uygun bir teknik olduğunu belirtmişlerdir. Bununla beraber geliştirilecek kültürlere özel işaretleyiciler ile yeni kültür formlara ulaşmanın daha kolay olduğunu ve aynı zamanda bu teknik ile hangi kültürlerin daha önce oluştuğuna dair kanıtlar da sağladığını ileri sürmüşlerdir¹⁰.

Ülkemizdeki yayılışı şöyledir: Balıkesir (Erdek), İstanbul (Çilingöz, Alemdağ), Bolu (Yedigöller' den Karadere' ye kadar), Zonguldak, Kastamonu (Azdavay' dan Cide' ye 40km), Samsun (Alaçam), Ordu (Çatalı, Ordu' dan Mesudiye' ye 20km), Trabzon, Rize (Büyük Han), Çoruh, Murgul, Hatay (Musa Dağları, Antakya civarı, Selderen Geçidi ve Amanos Dağları)⁷.

Dünyada yayılışı ise şöyledir: Bulgaristan, Yugoslavya, Batı Kafkasya ve Kuzey İran⁷.



▼ *Laurocerasus officinalis*

Şekil 1: *L. officinalis*' in Türkiye' deki Yayılışı⁷



Şekil 2. *L. officinalis* cv Globigemmis çiçekli yaprakları



Şekil 3. *L. officinalis* cv Globigemmis meyveleri



Şekil 4. *L. officinalis* cv Globigemmis meyveleri

2.2. Fitokimyasal Çalışmalar

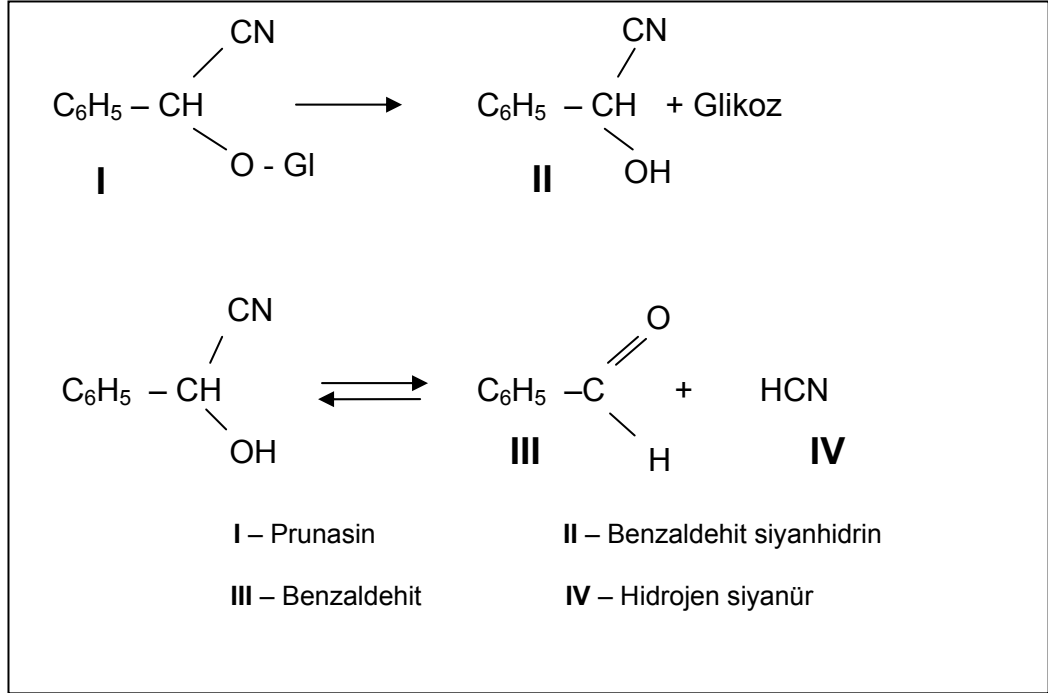
2.2.1. Yapraklar Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

L. officinalis bitkisinin yaprakları üzerine yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucunda yapısında azotlu bileşikler, siyanogenetik bir heterozit olan prunasin, tanen, alfa tokoferol, steroller, ozlar ve nişasta bulunduğu tespit edilmiş¹³⁻²⁰.

Muriel Elaine Robinson yaptığı çalışmasında yapraklarının yüksek oranda tanen içerdiğini ve yapraklarında son derece düşük miktarlarda azot içeren azotlu bileşikler olduğunu bulmuştur. Yapraklardan azotlu bileşikleri ayırma işlemi için kullanılan yöntemler, *L. officinalis* için uygun olmamış çünkü doku maserasyonu sonucu oluşan hidrojen siyanür buharlaşmıştır¹³.

Prunasin [(-) amigdonitril glikozit] siyanogenetik bir heterozittir (taflan yaprağında bulunduğu bilinen prulaurasin tüketme esnasında prunasinin rasemizasyonu ile meydana gelmektedir).

Bu heterozit renksiz, kokusuz ve acı lezzetli bir madde olup su ve etanolda çözünmektedir. Emülsin karşısında aşağıdaki şekilde parçalanmaktadır. Bu glikozit hidroliz ile hidrojen siyanür verir ve zehirlidir.



Şekil 5. Prunasinin emülsin karşısında parçalanması

100 g taze yaprakta yaklaşık olarak 50–210 mg hidrojen siyanür açığa çıkmaktadır¹⁴. *L. officinalis*' in en yüksek siyanür içeriği genç yapraklarda, ortalama 0.36 g olarak bulunmuş, bu miktar da yaş ağırlığın %0.23' üne denk gelmiştir. Bu oran yaprakların gelişimi boyunca, yaş ağırlığın %0.07' sine kadar yavaş yavaş azalmıştır¹³.

Yaprak yapısındaki diğer bir madde olan steroller Tushishvilli ve arkadaşları araştırmışlardır¹⁵. Yaprakların lipit ekstraktlarından serbest steroller, esterleşmiş steroller ve sterol glikozitlerinden parçalar elde etmişlerdir. İTK ile bu steroller belirlenmiştir. Gaz kromatografisi (GC) ile

%0.001-0.02 oranlarında sterol içerdiğini görülmüştür. Serbest steroller, ester ve sterol heterozitlerinden daha yüksek oranda bulunmuştur. Sterollerin içerikleri kalitatif olarak incelenmiş ve β -sitosterol ve aynı zamanda stigmasterol, kolesterol ve tanımlanamayan sterollerden meydana geldiği görülmüştür. Yapraklardaki serbest sterollerde, esterleşmiş sterollerde ve sterol heterozitlerinde sırasıyla, %70.6, %99.8, %22 β -sitosterol; %2.1, %34.1 stigmasterol; %10.1, %35.5 kolesterol ve %7.2, %0.02 ve %8.4 tanımlanamayan steroller olduğu tespit edilmiştir¹⁵.

Ayrıca *L. officinalis* yapraklarının %1.4 verimle elde edilen lipit ekstratında da %0.5 oranında alfa tokoferol olduğunu bulmuşlardır¹⁶.

Halas, *L. officinalis*' in yapraklarındaki nişasta ve oz içeriğinin kuru ağırlıktaki değişimini doğal ortamda ve laboratuvar şartlarında çalışmıştır. Doğal ortamdaki ve kontrollü çalışma şartlarındaki yapraklar, kış sonundan sonbahar başına kadar, yani 11 Mart' tan 6 Mayıs' a kadar, bir hafta ara ile analiz edilmiştir. Dört farklı sıcaklıkta sonuçlar karşılaştırılmıştır. (gündüz / gece) A : -2' den -6°C / -6°C, B: 6°C / -6°C, C: 6°C / 6°C, D: 12°C / -6°C. Bütün bu deney süreci olan 56 gün boyunca doğal ortam koşullarında kuru ağırlıkta net bir artış görülmüştür (246.84 mgdm⁻², %21.7). Sadece bir haftalık bir süreçte negatif bir denge olduğu kaydedilmiştir. Toplam oz içeriği %11.68' den %6.42' ye düşerken nişasta içeriği 0' dan %3.2' ye yükselmiştir. Kontrollü çalışma şartlarındaki kuru maddedeki net artış (A) 6.69, (B) 4.68, (C) 6.88 ve (D) 0.43 mgdm⁻²d⁻¹ olarak bulunmuştur¹⁷.

Yapılan başka bir çalışmada yaprakların kütin tabakasında yüksek oranda ω -hidroksi asitlerin gliserol esterleri olduğu tespit

edilmiştir¹⁸. Epikütiküler tabakada ise dört adet kimyasal bileşik tespit edilmiştir. Bunlar alkanlar, primer alkoller, serbest yağ asitleri ve polar lipidlerdir. Bu bileşiklerin miktarları ekstraksiyon yöntemlerine göre değişiklik göstermektedir¹⁹.

L. officinalis yaprak kütikülası üzerine bazı çalışmalar yapılmıştır. Yaprak kütikülasının yapısı polimer matriks ve kütiküler mumdan oluşmaktadır²⁰. Yaprak dış yüzeyinin sudaki çözünürlüğü yüksek olduğundan kütiküla tabakasının permeabilitesi düşüktür²¹.

Yapılan bir çalışmada yaprak yüzeyleri yüksek sıcaklığa maruz bırakılmış ve yüksek iklim sıcaklığında yaprak yüzeyi 50°C' ye kolaylıkla ulaşmıştır. Fakat normal iklim sıcaklığında yaprak yüzey sıcaklığı geçici olarak 40–50°C arasına ulaşmıştır. Doğada meydana gelen yüksek sıcaklıklar, sınırlı su miktarı ile ilişkilidir. Yaprığın kurummasını engelleyen gözeneklerin kapanmasına neden olmaktadır. Stomalar kapandığında geri kalan terleme yalnızca kütiküler terleme ile olmaktadır. Bu da sıcaklığın kütiküler terlemeye nasıl etki ettiğinin yanıtıdır²⁰. Bazı bilim adamları su geçirgenliği ile organik bileşiklerin geçirgenliği arasında yüksek bir ilişki olduğunu düşünmüşlerdir. Sıcaklık artışıyla da geçirgenliğin arttığını saptamışlardır²².

Bugüne kadar mumsu epikütiküla zarının kimyasal bileşiminin boyutları hakkında bir tayin yapılamamıştır. *L. officinalis* yapraklarının mumsu epikütiküla kristalleri, tarayıcı elektron mikroskobu (SEM: Scanning Electron Microscopy) ile incelenmiştir. Bu incelemelerin mumsu epikütikülanın yapısı hakkında bir fikir verdiği düşünülmüştür²³.

L. officinalis' in kütikula tabakasındaki klorlanmış dibenzo-p-dioksinler ve dibenzofuranların (PCDD/Fs) fotodegradasyon ile yok olması üzerine bir araştırma yapılmıştır. Klorlanma miktarı arttıkça fotodegradasyonun da arttığı görülmüştür^{24,25}.

2.2.2 Meyve ve Tohumlar Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Olgunlaşmış *L. officinalis* meyvelerinin ve tohumlarının yapısında etanolde ve suda çözünebilen ozlar, fenolik asitler, karboksilik asitler olduğu tespit edilmiştir ve fitokimyasal çalışmalarda bu maddeler dikkate alınmıştır³.

2.2.2.1. Suda Çözünebilen Oz ve Oz Alkolleri

L. officinalis' in meyvelerinde yapılan bütün çalışmalarda ana oz olarak fruktoz, glikoz, sakaroz ve sorbitol bulunduğu tespit edilmiştir. Bu ozların miktarlarının, meyvelerin kültürleri arasında ve toplanma zamanlarına göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir^{5,26-29}.

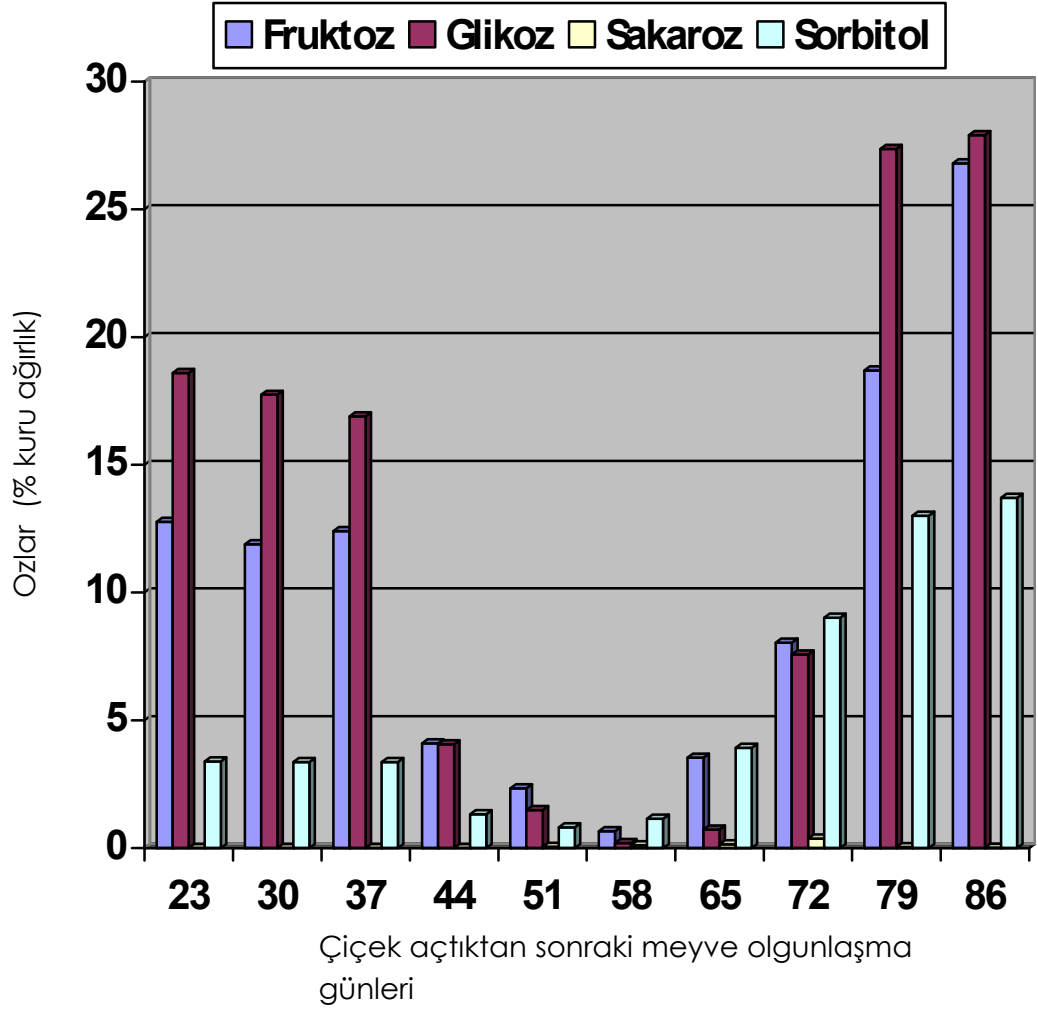
Ayaz ve arkadaşları *L. officinalis*' in Globigemmis kültürünün meyvelerinin olgunlaşma süresi boyunca düşük molekül ağırlıklı karbonhidrat bileşimindeki değişimi incelemişlerdir. Globigemmis kültüründeki düşük molekül ağırlıklı karbonhidratlar olgunlaşma süresi boyunca, gaz kromatografisi kullanılarak tanımlanmış ve ölçülmüştür. Ölçülen ozlar; fruktoz, glikoz, sakaroz ve sorbitoldur. Fruktoz, glikoz ve sorbitol miktarları olgunlaşma sırasında azalmıştır. Sakaroz miktarı olgunlaştıktan 5 hafta sonra en düşük seviyede ölçülmüştür. Fruktoz,

glikoz ve sorbitol seviyeleri 23. günden sonra hızla düşmeye başlamış, 58. güne kadar bu düşük seviyede kalmıştır (sorbitol ise 51. güne kadar). Oz seviyesi 65. günden sonra hızla artmaya başlamış ve hasat zamanı olan 86. güne kadar bu seviyede kalmıştır. Sonuçlar göstermiştir ki, meyvenin olgunlaşmasının 9. ve 10. haftalarında meyveler, tüketim ve ticari kullanım için uygundur. Çalışma sırasında elde edilen, düşük molekül ağırlıklı karbonhidratların oranları meyve gelişim süresince nasıl değiştiği aşağıdaki tabloda verilmiştir²⁶.

Tablo 1: *L. officinalis* cv Globigemmis meyvelerinin olgunlaşma sırasındaki düşük molekül ağırlıklı karbonhidrat içeriğindeki değişiklikler²⁶

Meyve Hasat Tarihi	Meyve Olgunlaşma Günleri	Fruktoz (%)	Glikoz (%)	Sakaroz (%)	Sorbitol (%)	Toplam Şeker
23 Nisan	23	12.77±0.20	18.60±0.33	t.e.	3.38±0.16	34.75
30 Nisan	30	11.89±0.24	17.74±0.28	t.e.	3.36±0.35	32.99
7 Mayıs	37	12.40±0.43	16.90±0.81	t.e.	3.36±0.35	32.66
14 Mayıs	44	4.10±0.36	4.06±0.42	t.e.	1.32±0.14	9.48
21 Mayıs	51	2.33±0.02	1.48±0.04	0.05±0.01	0.81±0.03	4.67
28 Mayıs	58	0.66±0.16	0.19±0.02	0.11±0.02	1.15±0.05	2.11
4 Haziran	65	3.54±0.02	0.72±0.01	0.14±0.02	3.92±0.11	8.32
11 Haziran	72	8.04±0.02	7.57±0.22	0.37±0.01	9.01±0.39	24.99
18 Haziran	79	18.70±0.88	27.37±0.43	0.03±0.04	13.00±0.84	59.10
25 Haziran	86	26.80±0.52	27.90±0.60	0.001±0.02	13.70±0.22	68.40

t.e.= teşhis edilemedi= <%0.1



Şekil 6. *L. officinalis*' ca
meyvelerindeki düşük molekül ağırlıklı karbonhidrat içeriğindeki değişiklikler²⁶

Elde edilen sonuçlardan sonra Ayaz ve arkadaşları *L. officinalis* bitkisinin diğer kültürlerindeki oz bileşimini de tespit etmek için yeni bir çalışma yapmışlardır²⁷. Bu çalışmada *L. officinalis* bitkisinin 3 farklı kültüründeki meyvelerin oz bileşimlerini araştırmıştır. Çalışmalarında kullandıkları kültürler; Oxygemmis, Globigemmis ve Angustifolia' dır. Oxygemmis ve Globigemmis kültürlerindeki oz içerikleri Angustifolia ve doğal formu ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Ozların analizi için GC-

MS kullanılmıştır. Sonuçlar Tablo-2 de gösterilmiştir. Fruktoz, glikoz ve sorbitol bütün formlarda tanımlanmıştır. Sonuç olarak da Globigemmis kültüründeki oz içeriğinin doğal ve diğer kültür formlarından daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca fruktoz ve glikozu hem doğal hem de kültür formlarında ana oz olarak tanımlamışlardır²⁷.

Tablo 2: *L.officinalis*' in kültür ve doğal formlarının meyvelerindeki oz içerikleri²⁷

Tür	Ozlar (% kuru ağırlık)		
	Fruktoz	Glikoz	Sorbitol
<i>L. officinalis</i>			
'Oxygemmis'	23.1 ± 0.10	22.5 ± 0.21	10.2 ± 0.18
'Globigemmis'	27.3 ± 0.09	27.62 ± 0.42	14.2 ± 0.19
'Angustifolia'	20.3 ± 0.22	14.0 ± 0.05	10.2 ± 0.08
'yabani form'	25.2 ± 0.11	23.1 ± 0.09	14.5 ± 0.15

Daha sonra *L. officinalis*' in yabani ve kültür meyvelerindeki suda çözünebilen oz ve oz alkollerini incelemişlerdir²⁸. Çalışmada *L. officinalis*' in Globigemmis, Oxygemmis, Angustifolia kültürleri ve yabani formu kullanılmıştır. Meyveler Trabzon 'da, Ağustos ayında, sabahın erken saatlerinde ve genç ağaçlardan toplanmıştır. Çekirdekler meyvelerden ayrılmış, 60°C de 24 saat kurutulmuştur. Deney için 10 g robottan geçirilmiş meyve kullanılmıştır. Gaz kromatografisi ve katı spektrometresi (GC-MS) yöntemleri kullanılarak ana ozlar tespit edilmiştir. Bunlar fruktoz, glikoz ve oz alkollerinden sorbitol ve mannitoldur. Yabani form ve kültürlerde, fruktoz, glikoz ve sorbitol önemli bir şekilde yüksek miktarlarda bulunmuştur. En yüksek oran %74.4 kuru ağırlıkta Oxygemmis' teki total çözünebilir oz, en yüksek oz alkollerini değeri kuru ağırlıkta %42.6 oranında

yabani formda, en az ise %19.9 kuru ağırlıkta *Angustifolia* kültüründe saptanmıştır. Bütün bu oranları gösteren tablolar aşağıda gösterilmiştir. Ayrıca doğal formunun yüksek oranda oz alkolü içerdiği görülmüş ve acı lezzetinin bundan kaynaklı ve aynı zamanda içerdiği yüksek miktarlardaki hidroksi asitlerden kaynaklandığı düşünülmüştür²⁸.

Tablo 3: *L.officinalis*' in kültür ve doğal formlarının meyvelerindeki oz içerikleri²⁸

Tür <i>L. officinalis</i>	Ozlar (% kuru ağırlık) (Sulu Ekstrakt)				Oz Alkolleri(% kuru ağırlık) (Etanollü Ekstrakt)	
	Fruktoz	Glikoz	Sorbitol	Toplam	Sorbitol	Mannitol
'Oxygemmis'	28.1 ± 0.14	32.0 ± 0.41	15.3 ± 0.13	74.4	29.6 ± 0.04	4.0 ± 0.1
'Globigemmis'	26.1 ± 0.02	30.2 ± 0.01	12.0 ± 0.02	68.3	39.8 ± 0.5	5.4 ± 0.01
'Angustifolia'	21.0 ± 0.02	23.0 ± 0.03	8.3 ± 0.01	52.3	19.9 ± 0.2	3.8 ± 0.06
'yabani form'	25.0 ± 0.03	25.3 ± 0.03	7.4 ± 0.02	57.3	42.6 ± 0.6	4.9 ± 0.3

Toplam şeker Fruktoz, Glukoz ve Sorbitol' ün toplamıdır

Yapılan bu çalışmalar sonucunda *L. officinalis*' in yapısındaki ozlar tespit edilmiştir. Daha sonra da *L. officinalis*' in yabani form meyvelerinde, etanol ve su ekstraksiyonuyla, bazı düşük molekül ağırlıklı karbonhidratlar gaz kromatografisi ile analiz edilmiştir²⁹. Analizler sonucu bir popülasyonun etanol ekstraksiyonunda fruktozun %25.20 (a/a), glikozun %23.00, sorbitolun %14.00 ve sakarozun %0.024 olduğu tespit edilmiştir. Aynı bölgede, su ekstraksiyonundaki benzer ozlardan fruktozun %24.62, glikozun %25.59, sorbitolun %7.43 ve sakarozun %0.114 olduğu belirlenmiştir. Diğer popülasyonda aynı değerler etanol ekstraksiyonunda sırasıyla %25.44, 23.23, 14.24, 0.02 olarak, su ekstraksiyonunda ise

%24.74, 24.98, 7.18 ve 0.11 olarak bulunmuştur. Her iki ekstraksiyonda mannitola rastlanmamıştır. Populasyonlardan biri Trabzon, Akçaabat ilçesinden, denizden yüksekliği 1000 m olan Akçaköy 'den toplanmış, diğeri ise yine Trabzon, Çaykara ilçesinden, denizden yüksekliği 700 m olan Akdoğan köyünden toplanmıştır. Elde edilen sonuçları gösteren tablo aşağıda verilmiştir²⁹.

Tablo 4: *L.officinalis*' in iki populasyonundaki düşük molekül ağırlıklı karbonhidrat içeriği²⁹

Ozlar	Etanollu Ekstrakt		Sulu Ekstrakt	
	Populasyon 1	Populasyon 2	Populasyon 1	Populasyon 2
Fruktoz	25.20 ± 0.26	25.44 ± 0.49	24.62 ± 0.08	24.74 ± 0.48
Glikoz	23.00 ± 0.14	23.23 ± 0.53	25.29 ± 0.32	24.98 ± 0.09
Sorbitol	14.00 ± 0.21	14.24 ± 0.31	7.43 ± 0.40	7.18 ± 0.18
Sakaroz	0.024 ± 0.003	0.023 ± 0.11	0.114 ± 0.019	0.108 ± 0.02
Populasyon 1: Trabzon / Akçaabat (Akçaköy)				
Populasyon 2: Trabzon / Çaykara (Akdoğan)				

Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmalar sonucunda *L. officinalis*' in meyvelerindeki oz ve oz alkollerinin olgunlaşma süresi boyunca değişiklikler gösterebileceğini düşünmüşler ve *L. officinalis* meyvesinin işlenme ve olgunlaşma süreci boyunca oz bileşimindeki değişiklikleri araştırmıştır⁵. Çalışmalarında kullanmak için Karadeniz Bölgesi' nde yetişen en önemli kültürlerden biri olan Oxygemmis seçilmiştir. Oxygemmis kültürünün işlenme ve olgunlaşma süresi boyunca oz bileşimindeki değişiklikleri saptamak için GC-MS yöntemi kullanılmıştır. Fruktoz ve glikoz ana oz olarak bulunurken sakaroz daha az oranlarda

bulunmuştur. Bitki çiçek açtıktan sonraki 23. günden 58. güne kadar olan sürede fruktoz ve glikoz seviyeleri azalmaya başlamış ve en düşük seviyeye ulaşmıştır, sırasıyla %1.3 ve %0.8. 65. günden 86. güne kadar olan sürede ise azalan fruktoz ve glikoz seviyelerinde artış olmaya başlamıştır. Sırasıyla taze ağırlıkta %23.6 ve %20.8 seviyelerine ulaşmıştır. Sorbitol seviyesi ise 51. günde en düşük seviyeye düşmüş ve 58. günden sonra yaş ağırlıkta en yüksek seviyeye ulaşmıştır, %13.4. Bu ozların yanında sakaroza 23. ve 44. günler arasında hiç rastlanmamış fakat 58. güne kadar süratli bir şekilde artış göstermiştir. Bu aşamadan sonra azalmaya başlamıştır. Fruktoz, glikoz ve sorbitol seviyelerindeki hızlı artış, hasat zamanı olan, 79. günden 86. güne kadar olan sürede görülmüştür. Bu sürede elde edilen değerleri gösteren tablo aşağıda gösterilmiştir. Diğer kültürlerde ve yabani formunda da aynı oranlarda oz içerdiği belirtilmiştir⁵.

Tablo 5: *L. officinalis*' in Oxygemmis kültürünün meyvelerinin işlenme ve olgunlaşma süresi boyunca suda çözünebilir oz içeriğindeki değişiklikler⁵

Çiçek Açtıktan Sonraki Günler	Ozlar (% taze meyve ağırlıkları)			
	Fruktoz	Glikoz	Sakaroza	Sorbitol
23	15.6 ± 1.1	20.9 ± 0.5	t.e.	4.7 ± 0.8
30	12.7 ± 2.0	16.4 ± 1.2	t.e.	4.4 ± 0.4
37	13.9 ± 1.1	16.6 ± 1.4	0.1 ± 0.0	5.8 ± 0.2
44	7.0 ± 1.3	5.9 ± 0.6	0.2 ± 0.0	3.1 ± 0.3
51	3.5 ± 0.9	2.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.0
58	1.3 ± 0.4	0.8 ± 0.2	0.6 ± 0.1	2.9 ± 0.4
65	6.3 ± 1.1	3.5 ± 1.2	0.1 ± 0.0	6.0 ± 0.7
72	9.7 ± 0.6	11.9 ± 1.3	0.1 ± 0.0	8.6 ± 0.5
79	17.9 ± 1.3	16.0 ± 0.4	0.3 ± 0.1	12.9 ± 0.5
86	23.6 ± 0.2	20.8 ± 0.7	0.2 ± 0.0	13.4 ± 0.2

(t.e.=teşhis edilemedi = <%0.1)

2.2.2.2. Fenolik Bileşikler

Fenolik asit ve türevleri genellikle bitkide dağılmış durumdadır. Birçok görev de bu bileşiklere yüklenmiştir. Çimlenme, kuruma, saklama ve işleme, meyve gelişme ve olgunlaşma sırasında bazı etkenler fenolik asit miktarını değiştirebilmektedir. Bazı meyve, yaprak ve tohumların acı, nahoş bir tada ve koyu renge sahip olmasında bu fenolik bileşiklerin payı olduğu ileri sürülmektedir³.

Bu bilgilerden hareketle, F. A. Ayaz ve arkadaşları *L. officinalis* bitkisinin yabani ve kültür formlarının meyvelerinde bulunan fenolik asit bileşimlerini araştırmışlardır. Fenolik asitler, gaz kromatografisi – kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemi kullanılarak analiz edilmiş ve sonuç olarak, vanilik, protokateşik, p-hidroksibenzoik asitler, kafeik ve p-kumarik asitler elde edilmiştir. Fenolik asit miktarları, bütün meyvelerde dikkatli bir şekilde ölçülmüştür. Elde edilen değerler aşağıdaki tabloda verilmiştir³⁰.

Tablo 6: *L.officinalis* ve kültür meyvelerindeki fenolik asitlerin % bileşimi³⁰

Bileşikler (% a/a)					
Tür <i>L. officinalis</i>	Vanilik asit	Protokateşik asit	Kafeik asit	p-hidroksi benzoik asit	p-kumarik asit
“Oxygemmis”	4.46±0.016	0.85±0.003	0.37±0.07	t.e.	t.e.
“Globigemmis”	1.70±0.001	t.e.	t.e.	0.69±0.003	t.e.
“Angustifolia”	2.77±0.003	0.22±0.003	t.e.	0.53±0.012	t.e.
“Yabani form”	3.4±0.01	1.13±0.003	0.32±0.002	0.63±0.007	0.49±0.002
t.e. ≤ %0.1					

Fenolik bileşikler elde edildikten sonra olgunlaşma süresi boyunca nasıl bir değişim gösterdiğini tespit etmek amacıyla, F. A. Ayaz bir çalışma yapmıştır³. Bu çalışmada fenolik asit miktarının tayini için Oxygemmis kültürü kullanılmıştır. Kültür meyveleri normal hasat zamanından iki veya üç hafta önce toplanmıştır. Bu çalışmadaki amaç olgunlaşma süreci boyunca meyvedeki fenolik asit bileşiminde meydana gelen değişimi değerlendirmek ve olgunlaşma sırasında tüketilen meyvelerin acılık ve buruklukları ile fenolik asitler arasındaki ilişkiyi anlamaktır³.

Kültür meyveleri, çiçek açtıktan 40 gün sonra Mayıs ve Haziran aylarında toplanmıştır. Meyvelerdeki, p-kumarik, kafeik ve ferulik asitler, benzoik, 4-hidroksi benzoik, vanilik ve 3,4-dihidroksi benzoik asitler tanımlanmıştır. Benzoik, 4-hidroksi benzoik, vanilik ve kafeik asitler çiçek açtıktan sonraki 6. hafta ve 12. haftalar arasında artmaya başlamıştır. p-kumarik ve ferulik asit 6. haftada en yüksek seviyede bulunmuştur. Fakat 11. haftaya kadar giderek azalmış ve 12. haftada tekrar artmaya başlamıştır. Vanilik ve ferulik asitler hariç bütün fenolik asitler, hasat zamanı, 16. haftada azalmaya başlamıştır. Vanilik ve ferulik asitlerin olgunlaşmadan sonraki, 13. ve 16. haftalar arasında artışı gözlenmiştir. Kültürdeki en yüksek fenolik asit bileşimleri benzoik, kafeik ve vanilik asit olarak bulunmuştur (sırasıyla, 2.53, 1.05 ve 0.86). Çiçek açtıktan sonraki haftalara göre fenolik asit miktarlarındaki değişim aşağıdaki tabloda verilmiştir³.

Tablo 7: *L. officinalis* cv. Oxygemmis meyvelerinin olgunlaşma süresi boyunca fenolik asit içeriğindeki değişim³

Bileşikler (mg/100g kuru ağırlık)	Çiçek açtıktan sonraki haftalar							
	6	8	10	11	12	13	15	16
Benzoik asit	0.32	2.51	5.42	12.85	33.54	14.89	9.54	2.53
4-hidroksi benzoik asit	0.48	0.83	1.83	2.21	5.04	0.58	0.34	0.51
p-kumarik asit	7.14	2.67	2.47	1.84	2.64	0.81	0.32	0.01
Vanilik asit	0.21	0.32	0.28	0.49	1.77	0.62	0.69	0.86
3,4-hidroksibenzoik asit	0.15	0.52	0.13	0.21	1.01	0.57	0.43	0.27
Kafeik asit	0.56	3.68	5.68	7.82	16.29	3.48	2.31	1.05
Ferulik asit	0.37	0.15	0.14	0.15	1.0	0.21	0.14	0.24

Meyveler ilk olarak 13 ve 14. haftada yenmeye başlanmaktadır. Bu zamanlarda da 15. ve 16. haftalara göre meyveler daha acı bir lezzete sahiptir ve yüksek oranlarda fenolik asit içermektedir. Bu acı lezzete neden olan asıl maddeler de fenollerdir. Yapısındaki tanenler ve lökoantosiyantinler de acı lezzete sebep olabilmektedir. Genel olarak, olgunlaşma zamanında acı lezzetin azalmasının nedeninin fenolik bileşiklerin ve tanenlerin çözünürlüklerinin azalışı olduğu düşünülmektedir³.

Çolak ve arkadaşları *L. officinalis* bitkisinin Globigemmis ve Oxygemmis kültürlerinin meyvelerinin olgunlaşmalarının ilk aşamasındaki difenollerini araştırmışlardır. Bu iki kültür meyvelerindeki difenoller 50 ve 40°C sıcaklıkta asidik pH değerlerinde 3-(3,4-dihidroksifenil) propiyonik asit (DHPPA) e karşı yüksek derecede aktif olduklarını bulmuşlardır. pH stabilite profilleri her iki polifenol oksidaz enziminin de pH=7 de tamamen

stabil olduklarını göstermelerine rağmen, bu enzimlerin stabiliteleri alkali pH değerinde önemli oranda azalmıştır. Karayemiş difenollerinin termal stabiliteleri, iki kültürdeki enzimlerle benzer termodinamik özellikler ve ısıya karşı benzer duyarlılık göstermişlerdir. 1 mM konsantrasyonda, askorbat ve metasülfid, enzimler yardımıyla DHPPA oksidasyonunu tamamen inhibe etmiştir. Bu da karayemiş kültürlerindeki difenollerin genel polifenoloksidaz inhibitörlerine karşı duyarlılığını göstermiştir. Buradan da her iki kültür meyvesinden hazırlanan ham enzimlerin, meyve gelişiminin ilk safhalarında aynı davranışları gösteren difenol etkinliklerine sahip oldukları sonucuna ulaşılmıştır³¹.

2.2.2.3. Karboksilik Asitler

L. officinalis bitkisinin doğal ve kültür meyvelerinin eterli ekstresinde 22 adet bileşik tanımlanmıştır. Laktik asit, 2-furano karboksilik asit, benzil alkol, benzoik asit, α -hidroksi- β -metil valerik asit, benzen asetik asit, süksinik asit, metil süksinik asit, 2-bütendioik asit, α -hidroksibenzen asetik asit, 5-hidroksimaltol, hidroksisüksinik asit, sinnamik asit, α -hidroksibenzen propiyonik asit, 4-hidroksibenzoik asit, 4-hidroksibenzen asetik asit, vanilik asit benzoat ve kafeik asit. Hidroksisüksinik asit, hidroksisüksinik asit benzoat ve benzoik asit bu meyvelerdeki ana maddelerdir. Benzil alkol, 4-hidroksi benzen asetik asit ve p-kumarik asit sadece doğal formunda bulunmuştur. 5-hidroksi maltol sadece *Angustifolia* kültüründe tanımlanmıştır³².

Karboksilik asitler tespit edildikten sonra, *L. officinalis* kültür ve doğal formların meyvelerinde bulunan karboksilik asit bileşimleri karşılaştırılmıştır. Çalışmada 3 kültür bitkisi ve doğal (yabani) form

kullanılmıştır. Bu çalışmada kültürlerdeki karboksilik asit içeriğindeki değişkenlik ve diğer metabolitler üzerinde daha fazla bilgi ve çalışmalar, yeterli kemotaksonomik bilgilerin değerlendirilmesinde ve coğrafi, iklimsel ve botanik parametrelerle kimyasal bileşen arasında ilişki kurmada, *L. officinalis* seçiminde ve doğal kaliteyi arttırmada bize yardımcı olabileceği düşünülmüştür³².

Kültür ve doğal formların meyvelerinin eterli ekstrasında, GC-MS analiz yöntemleri kullanılarak 22 farklı bileşik tanımlanmıştır. Bu meyve ekstraktlarından Oxygemmisde 17 bileşik, Globigemmisde 14 bileşik, Angustifoliada 18 bileşik, doğal (yabani) formda ise 16 bileşik tanımlanmıştır. Araştırmacılar bu bileşiklerin bir kısmının fenolik yapıda olduklarını da belirtmişlerdir. Tablo-8' de gösterilmiştir³².

Tablo 8: *L. officinalis* kültürleri ve yabani form meyvelerindeki belirlenen karboksilik asitler³²

Bileşik	% pik alanı (TİK)			
	<i>L. officinalis</i>			
	Oxygemmis	Globigemmis	Angustifolia	Yabani form
Laktik asit	0.33	1.65	0.38	0.58
2-furan karboksilik asit	t.e.	0.27	t.e.	0.58
Benzil alkol	t.e.	t.e.	t.e.	4.11
Benzoik asit	8.86	18.2	18.24	26.69
α -hidroksi- β -metilvalerik asit	0.37	0.89	0.65	t.e.
Benzen asetik asit	3.14	3.35	1.61	1.46
Süksinik asit	5.45	4.77	4.08	2.18
Metil süksinik asit	0.58	t.e.	0.34	t.e.
2-butendioik asit	4.91	6.72	8.45	1.38
α -hidroksibenzen asetik asit	7.09	10.21	8.21	2.59
5-hidroksimaltol	t.e.	t.e.	0.40	t.e.
Hidroksisüksinik asit	23.80	25.27	20.24	11.62
Sinamik asit	0.37	0.55	0.88	t.e.
α -hidroksibenzen propanoik asit	0.54	0.50	0.46	0.55
4-hidroksibenzoik asit	1.39	0.70	0.52	0.65
4-hidroksibenzen asetik asit	t.e.	t.e.	t.e.	0.32
Vanilik asit	4.46	1.70	2.77	3.27
Azelaik asit	0.38	t.e.	0.15	t.e.
3,4-dihidroksibenzoik asit	0.86	t.e.	0.23	1.13
p-kumarik asit	t.e.	t.e.	t.e.	0.50
Hidroksisüksinik asit benzoat	25.41	16.69	19.14	30.41
Kafeik asit	0.37	t.e.	0.29	0.33

TIK = Toplam İyon Kromatogramı, t.e. = teşhis edilemedi

2.2.2.4. Yağ ve Yağ Asitleri

L. officinalis' teki yağ asidi içeriğini araştırmak için ilk önce tohumlar kullanılmıştır.

Ayaz ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, *L. officinalis* bitkisinin kültür ve yabani formlarındaki tohumların yağ asidi bileşimlerini incelemiştir. Bu araştırmayı yaparken de GC ve GC-MS yöntemlerini kullanmışlardır. C18:1 ve C18:2 zincir uzunluklu yağ asidi modelleri, bütün türlerin tohumlarında baskın çıkmıştır. C18:1, *L. officinalis* kültürlerinde, yabani formdan daha yüksek değerlerde olmasına rağmen, C18:2 yabani formda daha yüksek değerlerde bulunmuştur. Kültür ve yabani formun tohumlarında bulunan diğer yağ asitleri ve miktarlarını gösteren tablo aşağıda verilmiştir³³.

Tablo 9: *L.officinalis* kültürleri ve yabani form tohumlarındaki yağ asitlerinin dağılımı³³

Yağ asitleri (% a / a)									
<i>L. officinalis</i> formları	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C20:0	C20:1	C22:0	C24:0
"Oxygemmis"	10.5	1.4	2.7	69.1	15.2	0.5	0.2	0.1	0.2
"Globigemmis"	11.0	2.1	2.6	67.0	16.3	0.5	0.2	0.1	0.1
"Angustifolia"	12.9	3.2	1.9	62.6	18.4	0.4	0.2	0.1	0.1
"Yabani form"	12.2	1.5	1.8	50.6	32.7	0.5	0.3	0.1	0.1

Ayaz ve arkadaşları, *L. officinalis* bitkisinin tohumlarındaki yağ asitlerini tespit ettikten sonra yabani ve kültür formlarının meyvelerinde bulunan yağ asidi bileşimlerini de araştırmışlardır. Yağ asitlerinin analizi için, gaz kromatografisi – kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemi kullanılmış ve palmitik (16:0), stearik (18:0), oleik (18:1) ve linoleik (18:2) asitler elde edilmiştir ve linoleik asit baskın olarak bulunmuştur. Yağ asitlerinin miktarları, bütün meyvelerde dikkatli bir şekilde ölçülmüştür. Elde edilen değerler aşağıdaki tabloda verilmiştir³⁰.

Tablo 10: *L. officinalis* ve kültür meyvelerindeki yağ asiti bileşimi³⁰

<i>L. officinalis</i> formları	Yağ asitleri (% kuru ağırlık)			
	Palmitik asit (16:0)	Stearik asit (18:0)	Oleik asit (18:1)	Linoleik asit (18:2)
“Oxygemmis”	0.71±0.13	0.41±0.08	1.56±0.10	2.14±0.05
“Globigemmis”	1.07±0.02	0.53±0.04	0.69±0.06	1.86±0.09
“Angustifolia”	0.76±0.01	0.66±0.15	0.70±0.05	1.86±0.09
”Yabani form”	1.7±0.16	0.48±0.08	0.61±0.06	2.31±0.09

Bu çalışmalardan hareketle *L. officinalis*’ in olgunlaşma süresi boyunca yağ asidi bileşimindeki değişimi incelemek için bir çalışma yapılmıştır³⁴. Bu çalışmada, Ayaz ve Kadioğlu *L. officinalis*’ in Globigemmis kültürünü kullanmışlardır. *L. officinalis*’ in yağ asidi bileşimi 1 Haziran’ dan 15 Ağustos’ a kadar olan dönemde gözle görülür bir biçimde çeşitlilik göstermiştir. Haziran’ dan Ağustos’ a kadar toplanan *L. officinalis* örneklerindeki bulunan başlıca yağ asitleri; palmitik asit (16:0), stearik asit (18:0), oleik asit (18:1), linoleik asit (18:2) ve linolenik asit (18:3) tir.

Globigemmis kültürünün palmitik, stearik, linoleik ve linolenik asit bakımından zengin bir kaynak olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca ikincil yağ asidi olarak da miristik asit (14:0) ve palmitoleik asit (16:1)' e, olgunlaşma aşamasında araşidik asit (20:0)' e de rastlanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları gösteriyor ki, Globigemmis kültürünün olgunlaşma sürecindeki yağ asidi bileşimi değişimleri, yağ asitlerinin meyvenin lezzetinde ve besin değerindeki önemini anlamamıza yardımcı olacaktır. Bu çalışma esnasında elde edilen sonuçlar aşağıda tabloda görülmektedir³⁴.

Tablo 11: *L. officinalis* bitkisinin Globigemmis kültür meyvelerinin yağ asiti bileşimi³⁴

Yağ Asitleri (% kuru ağırlık)	Yılın Günleri				
	151	181	196	211	226
14:0	t.e.	t.e.	15.3±0.47	28.4±1.6	16.1±0.21
16:0	540±2.24	717.4±1.64	636.7±2.58	770±2.43	867.3±1.12
16:1	t.e.	t.e.	11±0.43	t.e.	t.e.
18:0	397.5±1.07	404.7±2.08	349.3±5.15	395.4±0.70	314.3±1.47
18:1	172.6±1.13	175.8±1.27	102.3±0.97	150±0.1	167.7±1.14
18:2	1150±4.25	1601.2±1.16	1449.5±3.24	2267.4±0.61	2045.8±5.29
18:3	937.3±2.13	745.9±1.35	387.5±0.64	390.9±0.75	358.1±1.96
20:0	47.2±1.05	25.4±0.43	25.8±0.24	24.5±0.23	25.7±0.12
Doymamış Yağ Asitleri	226±5.45	251.7±1.91	194.4±3.16	280.6±0.95	256.9±4.30
Doymuş/Doymamış Yağ Asitleri	2.3±0.04	2.2±0.05	2.2±0.63	2.3±0.06	2.1±0.08

t.e.= teşhis edilemedi

Daha sonra Alasalvar ve arkadaşları Giresun' da yetişen, halk arasında kiraz ve fındık karayemişi olarak adlandırılan karayemiş çeşitleri üzerinde bir araştırma yapmışlardır. Bu çalışmada, karayemişlerin lipit içerikleri, lipit sınıfları, yağ asitleri ve yağda çözünebilen biyoetkenleri (tokoller ve fitosteroller) süreli ve karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Kiraz ve fındık karayemişlerinin tohumlarının lipit içerikleri sırasıyla, %38.10 ve %41.61 olarak bulunmuştur. Nonpolar ve polar lipitlerin miktarları sırasıyla, %87.91' den %88.27' ye ve %11.73' ten %12.09' a sınıflandırılmıştır. Triasetilgliserol ve aseton hareketli polar lipit ve fosfolipit, sırasıyla, sadece nonpolar ve polar lipitler olarak belirlenmiştir. İki lipit sınıfı arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. ($P > 0.05$) 13 adet işlenmemiş lipit, 9 adet nötral ve 4 adet polar lipit belirlenmiştir. Belirlenen bu yağ asitleri arasında oleik asit baskın olarak bulunmuş (%62.42-64.18 işlenmemiş yağda, %56.60-60.11 nötral lipitlerde, %78.23-79.55 polar lipitlerde) linoleik ve palmitik asitler de bunu takip etmiştir. 4 adet tokoferol, 4 adet tokotrienol ve 3 adet fitosterol kesin olarak belirlenmiş ve miktarları ölçülmüştür. Bunların arasında, γ -tokoferol (0.55-0.69 mg/100 g yağ) ve β -sitosterol (192.5-222 mg/100 g yağ) her iki tohum yağında da baskın olarak bulunmuştur. Belirli oranlarda tokotrienoller de saptanmıştır (< 0.01 mg/100 g yağ). Kiraz ve fındık karayemişlerinin tokoferol ve fitosterollerinde anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($P < 0.05$). Bu çalışmadaki sonuçlar, karayemiş tohumlarının iyi bir lipit ve doymamış yağ asidi kaynağı olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, her iki karayemiş tohumunun nutrasötikler gibi düşünülebileceği ileri sürülmüştür³⁵.

Tablo 12: Giresun Bölgesi' nde yetişen *L. officinalis* kültür formlarının tohumlarındaki lipit içeriği ve lipit sınıfları³⁵

		Kiraz Karayemişi(%)	Fındık Karayemişi(%)
Lipit içeriği		38.10±0.32	41.61±0.03
Lipit sınıfları			
Nonpolar lipitler	TAG	88.27±0.98	87.91±0.62
Polar lipitler	AMPL	7.83±0.80	8.74±0.20
	PL	3.90±0.32	3.35±0.42

AMPL= Aseton Mobil Polar Lipit

PL= Fosfolipitler TAG= Triasetilgliserol

Tablo 13: Giresun Bölgesi' nde yetişen *L. officinalis* kültür formlarının lipit ekstraktındaki fitosterol bileşimi³⁵

Fitosteroller	Kiraz Karayemişi (mg/100 g yağ)	Fındık Karayemişi (mg/100 g yağ)
Kemfesterol	27.00±0.00	15.35±0.07
Stigmasterol	3.41±0.09	1.48±0.30
β-sitosterol	222.00±0.00	192.50±0.14
Diğer steroller	51.00±0.00	48.40±0.14
Toplam	303.41±0.09	257.73±1.22

2.2.2.5. Diğer Maddeler

Kolaylı ve arkadaşları Karadeniz Bölgesi' nde yetişen *L. officinalis* meyvelerinin yenilen kısımlarını kimyasal bileşim ve antioksidan özellikleri için incelemişlerdir. Bu çalışmada meyvelerdeki toplam nem, kül, protein, şeker, pektin, askorbik asit, fenolik ve mineral içerikleri belirlenmiştir. Ayrıca yüksek mineral bileşiklere sahip olduğu da bulunmuştur. Yüksek konsantrasyonda makro element ve diğer elementler bulunmuştur. Bunlar K, Mg, Ca, Mn, Fe, Zn ve Cu' dır. İlave olarak, iyi besin kalitesi için dikkate alınacak miktarlarda, düşük konsantrasyonlarda, Pb, Ni, Co ve Cr bileşiklerine de rastlanmıştır¹.

Tablo 14: *L. officinalis*' in olgunlaşmış meyvelerinin fiziksel ve kimyasal bileşimi¹

Parametre	Değer
Meyve boyu (cm)	2.02±0.003
Meyve eni (mm)	2.10±0.2
Tohum ağırlığı (g)	0.54±0.03
Salkımda bulunan meyve sayısı	27±6
pH	4.50±0.5
Nem (%)	80±4.1
Kül (%)	0.26±0.05
Kuru madde (%)	27±3.2
Ham protein (%)	2.1±0.2
Toplam oz (%)	1.3±0.2
Askorbik asit (mg/100 g yaş ağırlık)	204±35
Toplam fenolik madde (mg/100 g suda çözünen madde)	10.4±2.3
Pektin (%)	3.2±0.4
Suda çözünen madde (%)	2.37±0.4
Asitte çözünmeyen madde (%)	1.20±0.05

Tablo 15: *L. officinalis* meyvesindeki önemli mineral konsantrasyonları¹

Element	Meyvedeki miktar (mg/kg)	
	Yaş oksidasyon metodu	Kuru oksidasyon metodu
Sodyum (Na)	55±0.3	49±0.2
Potasyum (K)	2215±10.5	2170±9.0
Magnezyum (Mg)	179±11	187±13
Kalsiyum (Ca)	153±0.8	148±0.9
Bakır (Cu)	0.8±0.1	0.9±0.1
Çinko (Zn)	1.9±0.2	1.6±0.2
Demir (Fe)	8.3±0.8	8.0±0.7
Manganez (Mn)	24.2±1.3	22.7±1.2
Krom (Cr)	t.e.	t.e.
Kobalt (Co)	t.e.	t.e.
Nikel (Ni)	t.e.	t.e.
Kurşun (Pb)	t.e.	t.e.

t.e. = teşhis edilemedi

Weinges ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada *L. officinalis* bitkisinin yeşil meyvelerinden (-)-1-o-benzil- β -D-primverozit' i izole edip ve NMR spektroskopisi ile incelemişlerdir³⁶. Çalışmada, *L. officinalis*' in yeşil meyvelerinin asetilenmiş sulu ekstratlarının ITK analizinde pentaasetil-glukopiranoz ve hekzaasetil-1-O-benzil- β -D-primverozit' e uyan iki tane leke görülmüş ve flaş kromatografisiyle kantitatif olarak ayrılmıştır. Hekzaasetil-1-O-benzil- β -D-primverozit' in

sabunlaşması ile serbest 1-O-benzil- β -D-primverozit, bu bileşiğin hidrolizi ile de D-primverozit oluşmuştur. Hekzaasetil-1-O-benzil- β -D-primverozit' in doğrudan hidrolizi ile hekzaasetil- β -D-primverozit oluşmuştur. Bu bileşiklerin yapısı da NMR spektroskopisiyle doğrulanmıştır³⁶.

Ayrıca Majeed ve arkadaşı *L. officinalis* bitkisini ursolik asit içeren tıbbi bitkiler listesinde yayınlamışlardır³⁷. EMEA monografında ise ursolik asit miktarının %1 oranında olduğu belirtilmektedir¹⁴.

Bu maddelere ek olarak, bitki %0.05 oranında esansiyel yağlar, flavonoidlerden kemferol, prunaz, D-oksinitrilaz ve β -glikozidaz enzimlerini; %5–7 oranında kül ve çok az miktarda arsenik ve alüminyum ihtiva etmektedir¹⁴.

2.2.3. *L. officinalis* Meyvelerinden Elde Edilen Pekmez Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

L. officinalis meyvelerinden hazırlanan pekmez, bazı literatürlerde konsantre meyve suyu olarak da geçmektedir. Çalışmalarda kullanılan pekmez geleneksel yöntemlerle elde edilmiştir. Temel olarak toplanmış karayemişlerin çekirdekleri çıkarıldıktan sonra elle sıkılmış ve iki kat tülbentten süzölmüştür. Daha sonra süzölmüş meyve suyu odun ateşinde bakır kazanlarda pekmez kıvamına gelinceye kadar, kullanılan meyve miktarına göre, ortalama 3-4 saat kaynatılmıştır. Kaynama boyunca sürekli karıştırılmıştır. Pekmez kıvamına geldikten sonra soğumaya bırakılmıştır^{38,39}. Pekmez hazırlandıktan sonra araştırmacılar pekmez içeriğini meyvelerle karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir.

Alasalvar ve arkadaşları Giresun' da yetişen, halk arasında kiraz ve fındık karayemişi olarak adlandırılan karayemiş çeşitleri üzerinde bir araştırma yapmışlardır. Ferulik asit eşitlikleri olarak tanımlanan toplam fenolik içeriğini kiraz, fındık karayemişi ve pekmezde, 100 g meyvede, 454, 651 ve 1444 mg olarak bulmuşlardır³⁹.

Kiraz, fındık karayemişi ve pekmezi arasındaki toplam antosiyanin ortalama değeri ise 123.8, 174.3 ve 9.3 mg siyanidin 3-glikozit ekivalen/100 g taze meyve ağırlığıdır. Antosiyaninlerin önemli bir miktarı pekmez yapılırken ısıtma esnasında kaybolmuştur. Bu değerlere bakıldığında, karayemiş çeşitlerinin oldukça iyi antosiyanin kaynakları olduğu düşünülmüştür³⁹.

Ayrıca kiraz, fındık karayemişi ve pekmezi arasında total karotenoit içerikleri 100 g taze meyve ağırlığında 254, 261.3 ve 114 mg ağırlığında bulunmuştur. Antosiyaninlere benzer olarak pekmez yapımı boyunca ısıtma süresi önemli bir karotenoit kaybına sebep olmuştur³⁹.

Pekmez ve karayemiş çeşitlerinin bağlı ve serbest fenolik asit içeriği Tablo 16-17' de verilmiştir. Örnekler benzoik asit, sinnamik asidin hidroksilli türevleri üzerinde çalışılmıştır. *L. officinalis* türleri farklı fenolik maddelere de sahiptir. Bu fenolik asitlerin çoğu serbest yapıdadırlar, halbuki pekmezde bağlı şekilde bulunmaktadır³⁹.

Tablo 16: Giresun Bölgesi' nde yetişen *L. officinalis* kültür formları ve pekmezindeki serbest fenolik asit içerikleri³⁹

Fenolik asit	Kiraz Karayemişi	Fındık Karayemişi	Pekmez
Protokateşik	1.12±0.17	t.e.	8.34±0.26
p-hidroksibenzoik	2.38±0.28	3.01±0.46	t.e.
Klorojenik	136.06±6.39	102.64±4.27	194.53±2.16
Vanilik	12.41±0.04	10.48±1.73	t.e.
Kafeik	t.e.	t.e.	74.39±1.01
Siringik	56.15±5.09	41.43±0.68	t.e.
p-kumarik	49.70±9.42	43.05±4.56	20.47±0.39
Toplam hidroksibenzoik asitler	72.06(27.9)	54.92(27.4)	8.34(2.8)
Toplam hidroksisinnamik asitler	185.76(72.1)	145.69(72.46)	289.39(97.2)
Toplam serbest fenolik asitler	257.82±20.35	200.61±4.84	297.73±1.12

t.e.= teşhis edilemedi

Tablo 17: Giresun Bölgesi' nde yetşen *L. officinalis* kültür formları ve pekmezinin % bağlı fenolik asit içerikleri³⁹

Fenolik Asit	Alkali Hidrolizi			Asit Hidrolizi		
	Kiraz Karayemişi	Fındık Karayemişi	Pekmez	Kiraz Karayemişi	Fındık Karayemişi	Pekmez
Gallik	t.e.	t.e.	53.74±3.42	37.57±2.15	16.54±2.01	222.34±12.04
p-hidroksibenzoik	t.e.	t.e.	11.40±1.31	2.32±0.08	2.77±0.49	16.60±0.91
Vanilik	4.96±0.80	6.33±0.86	5.46±0.37	t.e.	1.47±0.19	
Kafeik	74.83±2.44	64.64±1.40	191.43±3.05	t.e.	1.37±0.31	6.50±0.45
Siringik	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.	0.98±0.14	1.98±0.21
p-kumarik	12.89±1.90	11.49±0.26	28.09±3.40	t.e.	t.e.	t.e.
Ferulik	t.e.	6.18±0.34	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.
o-kumarik	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.	2.24±0.09	t.e.
Toplam hidroksibenzoik asitler	4.96(5.4)	6.33(7.1)	70.6(24.3)	38.89(100)	21.76(85.8)	240.92(97.4)
Toplam hidroksisinnamik asitler	87.72(94.6)	82.31(92.9)	219.52(75.7)	0	3.61(14.2)	6.5(2.6)
Toplam bağlı fenolik asitler	92.68±5.12	88.64±1.20	290.12±0.90	39.89±2.16	25.37±1.45	247.42±13.17

t.e.= teşhis edilemedi

Daha sonra karayemiş çeşitlerinde ve pekmezinde 6 çeşit oz tespit edilmiştir. Bunlar da oz, oz alkolü ve az miktarda diholozit içermektedir. Bunlar arasında, ksiloz ve arabinoz pekmez ve karayemiş

türlerinde ilk defa bulunmuştur. Pekmezdeki ozun %80.5' ine sahip olan ozlar sindirilmeden kolayca kana karışabilmektedir. Toplam oz en fazla pekmezde bulunmaktadır. Bunu sırasıyla kiraz ve fındık karayemişi takip etmektedir. Yüksek miktarda çözünebilen oz içeren pekmez, hızlı enerji kazanımı için kullanılan bir spor içeceği olarak da kullanılmaktadır³⁹.

Tablo 18: Giresun Bölgesi'nde yetişen *L. officinalis* kültür formları ve pekmezindeki % oz bileşimi³⁹

Numune	Ksiloz	Arabinoz	Fruktoz	Glikoz	Sorbitol	Sakaroz	Total
Kiraz Karayemişi	0.19±0.02	0.08±0.01	5.16±0.51	5.88±0.42	4.80±0.45	t.e.	16.11±1.40
Fındık Karayemişi	0.23±0.01	0.07±0.02	4.84±0.19	5.43±0.21	1.51±0.08	t.e.	12.08±0.47
Pekmez	0.48±0.05	0.21±0.01	13.76±0.04	16.39±0.12	7.43±0.05	0.05±0.00	38.32±0.21

t.e.= teşhis edilemedi= <%0.1

Ayrıca elde edilen pekmezin ve *L. officinalis*' e en yakın bileşikleri Tablo-19' da özetlenmiştir. Ayrıca bu bileşimlerin hasat zamanına, olgunluk durumuna, mevsime, ağacın yaşına, coğrafi kökenine, çevresel etkenlere, saklama ve toplama şartlarına göre değiştiği de eklenmiştir³⁹.

Tablo 19: Giresun Bölgesi' nde yetişen *L. officinalis* kültür formları ve pekmezinin tahmini % bileşikleri³⁹

Bileşimi	Kiraz Karayemişi	Fındık Karayemişi	Pekmez
Protein	1.51±0.06	0.54±0.04	1.33±0.03
Yağ	0.23±0.02	0.10±0.01	0.14±0.02
Karbohidrat	20.23±0.58	17.72±0.70	44.22±0.18
Nem	77.28±0.55	81.21±0.74	52.46±0.17
Kül	0.75±0.05	0.43±0.03	1.85±0.01

2.3. Halk İlacı Olarak Kullanımı

L. officinalis bitkisinin meyveleri halk arasında şeker hastalığı, mide ülserleri, idrar zorluğu, bronşit, egzema ve hemoroit tedavisinde kullanılmaktadır^{2,3}. Ayrıca Dioscorides' in kitabında sindirim sistemi problemlerine de iyi geldiği belirtilmiştir⁴.

Yeşilada ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, *L. officinalis*' in yaprak ve tohumlarının Kuzey Batı Anadolu' da halk ilacı olarak kullanıldığı tespit edilmiştir. Bitki, Zonguldak ilinin Çaycuma ve Çayır ilçelerinde taflan olarak adlandırılmakta ve yapraklarının çay şeklinde infüzyonu karın ağrılarında kullanılmaktadır. Bitki, Sakarya ilinin Karasu ve Çukurköy ilçelerinde de taflan olarak adlandırılmakta ve taze yapraklar ateşte soldurulduktan sonra sıcak halde boyuna uygulanarak boyun ağrıları için kullanılmakta; yaprak infüzyonu ise 2 gün soğukta bekletildikten sonra süzülüp, her sabah aç karına bir bardak (50 ml) olmak

üzere 20 gün boyunca içirilerek hemeroit için kullanılmaktadır. Sakarya ilinin Karasu ve Açmabaşı ilçelerinde karayemiş olarak adlandırılmakta olan bitkinin taze yaprakları ateş üzerinde soldurulduktan sonra alın üzerine sürüldüğünde antipiretik ve analjezik olarak; tohumları ise suyu çıkana kadar dövülüp ezildikten sonra oral yolla verildiğinde mide şikayetleri için kullanılmaktadır⁴⁰.

Başka bir çalışmada Gürhan ve arkadaşları halk arasında hemoroit tedavisinde kullanılan bitkileri araştırmışlardır. Hemoroit tedavisinde ve koruyucu olarak genellikle antienflamatuvar, antinositif (analjezik), yara iyi edici, laksatif ve pürgatif ilaçların kullanıldığı dikkate alınırsa benzer etkiye sahip bitkilerin halk ilacı olarak kullanıldığını belirtmişlerdir. *L. officinalis* bitkisinin de antienflamatuvar ve antinositif etkilerinden dolayı hemoroit tedavisinde kullanıldığını ileri sürmüşlerdir⁴¹.

2.4. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.4.1. Antioksidan Aktivite

Farklı serbest radikal temizleyici aktivite testleri [hidrojen peroksit, süper oksit radikali ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)] kullanılarak karayemiş meyveleri ve konsantre meyve suyunun (pekmez) antioksidan aktivitesi incelenmiştir. *L. officinalis* daha önce de bahsettiğimiz gibi yüksek oranda fenolik bileşikler içermektedir. Bu fenolik bileşikler zararlı serbest radikallere karşı koruyucu özelliğe sahiptir. Antioksidan özelliğe sahip bu fenolik bileşikler yükseltgenabilir olmalı ve hidrojen atomu verici veya hareket eden bir madde gibi olmalıdır. Böylece doğal antioksidanlar, serbest radikal süpürücü veya zincir kırıcı gibi görev

yapmaktadır. Ayrıca oksijenin tekli (serbest) halini ortadan kaldırmakta ve prooksidan metal iyonlarını kompleks haline getirmektedir³⁸.

Kolaylı ve arkadaşları Karadeniz Bölgesi'nde yetişen *L. officinalis* meyvelerinin kimyasal ve antioksidan özelliklerini araştırmışlardır¹. Bu çalışmada, meyveler kimyasal bileşim ve antioksidan özellikleri için incelenmiştir. Meyvelerin antioksidan aktiviteleri, ITK ve demir tiyosiyanat kullanılarak araştırılmıştır. Antioksidan özellikleri, hidroksil, DPPH ve süperoksit radikal süpürücü aktivite ölçümleri kullanılarak da değerlendirilmiştir. BHT, C vitamini ve Trolox referans olarak kullanılmıştır. Ayrıca, *L. officinalis* iyi bir besin kaynağı ve koruyucu antioksidan bileşiklerin zengin bir kaynağı olarak bulunmuştur. Antioksidan ve radikal süpürücü aktivitesi, bu referanslardan daha yüksek veya karşılaştırılabilir düzeyde olduğu saptanmıştır¹(Tablo 20).

Tablo 20: *L. officinalis*' in sulu ekstresinin ve standartların in vitro DPPH, Süperoksit ve Hidroksil süpürücü etkisi¹

Numune	C ₅₀ (µg/mL)		
	DPPH	Superoksit	Hidroksil
<i>L. officinalis</i> ekstresi	28.6±2.9	495±14.7	51.3±5.8
Tirolax	9.5±1.2	10.3±1.3	17±1.6
BHT	19.5±2.1	8.5±1.4	46.7±4.6
Askorbik asit	4.16±0.8	1213±26.8	22.13±3.1

C₅₀: %50 inhibisyon sağlayan konsantrasyon

BHT: Bütil Hidroksi Toluen

Başka bir çalışmada ise bitki yapraklarında bulunan alfa tokoferol içerik ile antioksidan aktivite arasındaki ilişki çalışılmıştır. Çalışmada yaprak ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Alfa tokoferol içerik ile antioksidan aktivite arasında bir korelasyon saptanmış ve alfa tokoferolün yapraklarda bulunan, yağda çözünebilen ana antioksidan madde olduğunu ileri sürmüşlerdir¹⁶.

Alasalvar ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise *L. officinalis*' in halk arasında kiraz ve fındık karayemişi olarak bilinen varyetelerinin ve pekmezinin antioksidan bileşenlerini ve bileşimin özelliklerini incelemişlerdir. Karadeniz Bölgesi' nde çok popüler bir meyve olan *L. officinalis* ve pekmezinin bileşimini, antioksidan aktivitelerini, toplam antosiyaninleri, fenolikleri ve kartenoidleri bulmak için araştırmışlardır. Antioksidan aktivite ve toplam fenolik içerikleri arasında düz bir korelasyon meydana gelmiştir. ($r^2 = 0,99$) Antioksidan aktivite ve total fenolik içerik kiraz ve fındık karayemişi ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. En fazla pekmezde antioksidan aktiviteye rastlanmıştır. Pekmez üretimi sırasında, ısıtma süreci boyunca antosiyanin ve karotenoidlerin önemli bir miktarı kaybolmuştur³⁹.

L. officinalis örnekleri ve pekmezi arasında önemli farklılıklar görülmüştür. En yüksek serbest radikalleri emme yeteneği (Oxygen Radical Absorbance Capacity: ORAC_{FL}) değeri pekmezde çıkmıştır. Bunu fındık ve kiraz karayemişi takip etmiştir. Diğer popüler antioksidan aktivite yöntemlerinden farklı olarak, gelişmiş ORAC_{FL} tahlilleri doğrudan peroksit radikallerine karşı zincir kıran antioksidanların aktivitelerini ölçmüştür. Sonuç olarak ORAC_{FL} değerinin besin örneklerinin peroksit radikal absorblama kapasitesi için rehber olarak kullanıldığını ileri sürmüşlerdir.

ORAC_{FL} değerleri ve toplam fenolik içerik arasında çizgisel bir korelasyon bulunmuştur. En yüksek fenolik içerikli örnek en yüksek ORAC_{FL} değerine sahip olarak bulunmuştur. Ama ORAC_{FL} ve total antosiyanin arasında ters ilişki saptanmıştır, bunun nedeninin de muhtemelen pekmezin üretimi sürecindeki ısıtmadan dolayı antosiyanin kaybından kaynaklandığı düşünülmüştür³⁹(Tablo 21).

Tablo 21: *L. officinalis* meyvesi çeşitleri ve pekmezindeki Antioksidan aktivite (ORAC_{FL}), antosiyaninler, karatoneitler ve fenoliklerin değerleri³⁹

Numune	ORAC _{FL} (mmol TE/g)	Total Antosiyaninler (mg / 100 g)	Total Karatoneitler (mg / 100 g)	Total Fenolikler (mg / 100 g)
Kiraz	3363 ± 251	123.8 ± 7.9	254.0 ± 9.5	454 ± 14
Fındık	7996 ± 359	174.3 ± 8.9	261.3 ± 8.5	651 ± 19
Pekmez	19981 ± 361	9.3 ± 0.6	114.0 ± 8.7"	1444 ± 20

TE: Troluks Ekvale

2.4.1.1. Hidrojenperoksit Süpürücü Etkisi

L. officinalis numunelerinin (kiraz karayemişi ve pekmezi) hidrojen peroksit süpürücü etkisi ve referans antioksidan bileşiği (kateşin), 234 nm' de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Kateşin, antioksidan aktivite değerlendirilmesinde kullanılan uluslar arası standart bir maddedir. Kateşinle karşılaştırıldığında, karayemiş meyvesi ve pekmezinin her ikisi de düşük hidrojen peroksit süpürücü etki göstermiştir. 400 ppm konsantrasyonda her iki bileşik de %2.8 ve %3.7 (T.A), %59 ve %16.3

(K.A.) oranında çok düşük bir aktivite göstermiştir. Kateşin ise 100 ppm' de %93.5 ve %100 oranında mükemmel bir etki göstermiştir³⁸(Tablo 22).

Tablo 22: *L. officinalis*' in hidrojen peroksit süpürücü etkisi³⁸

	T.A.			K.A.		
	100 ppm	200 ppm	400 ppm	100 ppm	200 ppm	400 ppm
Hidrojen peroksit süpürücü etki (%)						
Kiraz	0.8±0.0	0.8±0.1	3.7±0.1	3.5±0.1	3.5±0.4	16.3±0.5
Pekmez	1.0±0.1	1.2±0.2	2.8±0.2	2.1±0.2	2.5±0.5	5.9±0.4
Kateşin	93.5±1.2	96.0±1.0	100.0±0.0	93.5±1.2	96.0±1.0	100.0±0.0

T.A.= Taze Meyve Ağırlığı K.A.= Kuru Meyve Ağırlığı

2.4.1.2. Süperoksit Radikal Süpürücü Etkisi

Süperoksit radikali, kuvvetli oksitleyici bir maddedir. Biyolojik membranlardan reaksiyona girebilmekte, zarın hasarına neden olabilmektedir. Sadece oksijen, hidroksil radikali veya hidrojen peroksit bile ayrışabilmektedir. Karayemiş numunelerinin ve kateşinin süperoksit radikal süpürücü etkisi, Tablo 23' de hesaplanmıştır. 560 nm' deki azalan absorban değerleri ile antioksidanların bulunması, reaksiyon karışımındaki süperoksit anyonlarının tüketimini göstermektedir. T.A.' da, artan konsantrasyonlarda, karayemiş meyvesi ve pekmezinin aktivitesi de artmıştır. Pekmez, karayemiş meyvesiyle karşılaştırıldığında 400 ppm' deki hariç, süperoksit radikal süpürücü etkisini daha yüksek göstermiştir. 100 ve 200 ppm' de en etkili şekildedir³⁸.

Kolaylı ve arkadaşları *L. officinalis*' in sulu ektresini, referans madde olarak askorbik asitle kıyasladığında daha yüksek bir aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır¹.

Tablo 23: *L. officinalis*' in süperoksit radikal süpürücü etkisi³⁸

	T.A.			K.A.		
	100 ppm	200 ppm	400 ppm	100 ppm	200 ppm	400 ppm
Süperoksit Radikal Süpürücü Etki (%)						
Kiraz	18.7±0.2	22.3±0.2	25.1±0.2	82.3±1.1	98.2±0.7	100.0±0.0
Pekmez	61.9±0.7	79.7±0.6	92.1±0.5	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0
Kateşin	90.7±0.6	94.0±0.5	100.0±0.0	90.7±0.6	94.0±0.5	100.0±0.0

T.A.= Taze Meyve Ağırlığı K.A.= Kuru Meyve Ağırlığı

Genel olarak gıdaları işleme ve depolama işlemi boyunca doğal antioksidanları ayrıştırmak mümkün olabilmektedir. Diğer yandan, kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan farklı gıda maddeleri ikinci derece antioksidanların oluşumuna neden olmaktadır. Maillard reaksiyonu, gıdaların işlenmesi, pişirilmesi ve depolanması boyunca, proteinlerin amino grupları veya amino asitler ile şekeri azaltılmış ortamda meydana gelmektedir. Bunun sonucunda da reaksiyon ürünü olarak kompleks karışımlar oluşmaktadır. Maillard reaksiyon ürünlerinin (MRP) antioksidan aktivitesi geniş ölçüde çalışılmıştır. MRP, gıda malzemelerine eklenen oksidatif bozulmalarla etkileşebilen bir doğal antioksidan gibi vazife görmektedir. Bu da pekmezin, başlangıç maddesinden neden daha fazla antioksidan özellik gösterdiğinin bir kanıtıdır. Endojen antioksidan bileşikler gibi yüksek sıcaklıkta çalışıldığında bozulabilmektedir. MRP aynı zamanda biçimlendirilmiştir. Böylece işlem görmüş numunenin, geliştirilmiş

antioksidan özelliğine bütün bu meydana gelen değişimler katkıda bulunmuştur³⁸.

2.4.1.3. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürücü Etkisi

DPPH radikal süpürücü deneyi çoğunlukla serbest radikal süpürücü antioksidanların yeteneğini ölçmede kullanılmaktadır. DPPH serbest radikalinin kullanılması antioksidan etkinliğinin ölçülmesinde yararlıdır. Çünkü hidroksil ve süperoksit radikallerinden daha stabildir. Karayemiş numunelerinin olası antioksidan etkisi, stabil DPPH radikali kullanılarak ölçülmektedir. Bu yöntem antioksidan etkisini tahmin etmek için kullanılmakta, çünkü deneyler için kısa sürede değerlendirme yapmak gerekmektedir. Karayemiş meyvesinin ve pekmezinin DPPH süpürücü etkisi, kateşin ile birlikte 100, 200 ve 400 ppm' deki konsantrasyonları Tablo 24' de gösterilmiştir. Kateşin 100 ppm hariç, bütün konsantrasyonlarda DPPH radikalini tamamen süpürmüştür. Böylece fenolik bileşikler, hidrojen bağlama özellikleri ile serbest radikal bağlayıcı gibi rol yapmıştır. Diğer yandan, karayemiş meyvesi ve pekmezi 400 ppm' deki hariç, kateşin konsantrasyonları ile karşılaştırıldığında orta derecede DPPH radikal süpürücü etki göstermiştir³⁸.

Tablo 24: *L. officinalis*' in DPPH radikal süpürücü etkisi³⁸

	T.A.			K.A.		
	100 ppm	200 ppm	400 ppm	100 ppm	200 ppm	400 ppm
DPPH Radikal Süpürücü Etki (%)						
Kiraz	14.0±0.1	20.7±0.1	23.4±0.1	61.6±0.4	91.1±0.5	100.0±0.0
Pekmez	13.9±0.7	25.4±0.9	50.8±0.7	29.2±1.4	53.4±2.0	100.0±0.0
Kateşin	97.0±0.8	100.0±0.0	100.0±0.0	97.0±0.8	100.0±0.0	100.0±0.0

T.A.= Taze Meyve Ağırlığı K.A.= Kuru Meyve Ağırlığı

Tüm bu bilgilerden şu sonuca varılmıştır: T.A.' da pekmez karayemiş meyvelerinden daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Oysa K.A.' da hidrojen peroksit ve DPPH radikal süpürücü aktivite karayemiş meyvesinde, pekmezden daha fazladır. Bu farklılık kısmen nem içeriğinden kaynaklanmıştır. Bu iki numune arasındaki antioksidan aktivitedeki farklılığa, pekmez ve konsantre meyve suyu hazırlandıktan sonra meydana gelen fenolik ve polifenolik bileşiklerin konsantrasyonundaki artış neden olmuştur. Sıcaklık uygulaması bazı fenoliklerin yıkımına neden olduğu gibi doğada antioksidatif olarak bilinen MRP formuna dönüşmesine de neden olabilmektedir. Kateşinle kıyaslandığında karayemiş meyvesi ve pekmezinin her ikisinin de güçlü süper oksit ve DPPH radikallerini süpürücü etkisi K.A.' da gösterilmiştir. Sonuç olarak da karayemiş meyvesinin ve pekmezinin gıda içeriği ve nutrasötikler gibi dikkate alınması gerektiği ileri sürülmüştür³⁸.

2.4.2. İnsan LDL Kolesterolünü Düşürücü Etkisi

Antioksidanlar, arterosklerozis hastalığına karşı çok önemlidir ve koruyucu olarak LDL oksidasyonunu engellemektedirler. *L. officinalis* meyvesi ve pekmezinin in vitro ortamda uyarılmış LDL oksidasyonunu azaltıcı etkisi tespit edilmiş ve Tablo 25' te verilmiştir. Konjuge dienlerin oluşumu kateşin ile beraber uyarılmış LDL oksidasyonunu tamamen inhibe etmektedir. Bunun için farklı konsantrasyonlarda çalışılmıştır. Bu çalışma için geçerli sonuçlar göstermektedir ki insan LDL kolesterolünü düşürmede karayemiş pekmezi, meyvesine göre çok daha fazla etkilidir. Antioksidanların hayatımıza girişiyle beraber arterosklerotik risk azalmış ki bu da LDL kolesterolünün oksidasyonunu engelleme yeteneğiyle ilgilidir. Çeşitli işlenmiş bitki ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri ile ilgili sayısız invitro deneyler

yapılmıştır. Genel olarak, LDL oksidasyonunu radikal reaksiyon zinciri takip etmekte ve önceki ürünleri gibi konjuge dien hidroperoksitleri oluşmaktadır. İnsan LDL kolesterolü oksidasyonunun inhibisyonu, serbest radikal süpürücü veya metal iyon şelasyonunu ortaya çıkardığı belirtilmiştir. Ek olarak, Natelle, Nardihi, Di Felice ve Scaccini (1999) katalizlenmiş oksidasyonun inhibisyonu, LDL sisteminde, metal iyon şelasyonu ve serbest radikal süpürücü olarak her ikisini temsil ettiğini belirtmiştir³⁸.

Tablo 25: *L. officinalis*' in insan LDL kolesterol düşürücü etkisi (% inhibisyon)³⁸

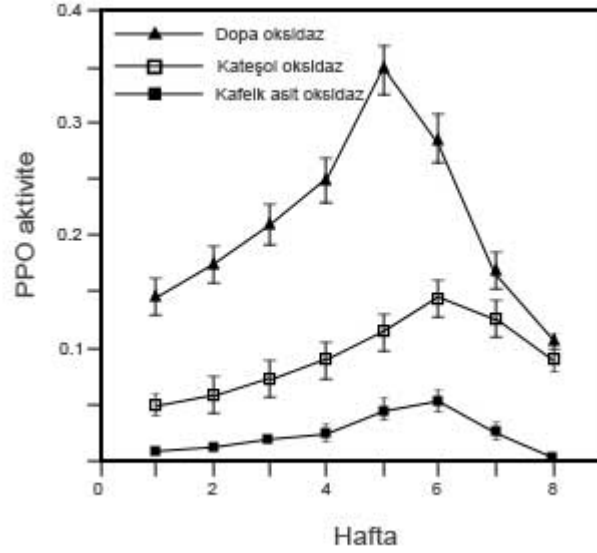
Numune	T.A.		K.A.	
	100 ppm	200 ppm	100ppm	200ppm
Kiraz	9.7±0.1	13.3±0.1	42.7±0.5	58.5±0.3
Pekmez	23.4±0.6	36.5±2.4	49.2±1.2	76.8±5.1
Kateşin	100	100	100	100

T.A.= Taze Meyve Ağırlığı K.A.= Kuru Meyve Ağırlığı

Bu çalışmadan çıkarılan sonuçlar gösteriyor ki, *L. officinalis* çeşitleri ve pekmezi gıda desteği şeklinde, formülasyonlarda ve gıdalarda potansiyel olarak kullanılan doğal bir antioksidan kaynağı olabilir.

2.4.3. Polifenol Oksidaz (PPO) Aktivite

Kadioğlu ve Yavru *L. officinalis*' in gelişimi ve olgunlaşma süresi boyunca kimyasal içeriğindeki ve polifenol oksidaz aktivitesindeki değişimi incelemişlerdir. Bu çalışmada, karayemiş meyvelerinin gelişim ve olgunlaşma süresi boyunca, polifenol oksidazın aktivitesindeki ve çözünebilen şekerler, çözünebilen protein, total fenolik maddeler ve askorbik asit seviyelerindeki değişiklikler araştırılmıştır. PPO aktivitesi, meyvedeki diğer kimyasal bileşenler, Haziran ayı başından Temmuz ayı sonuna kadar her hafta hasat edilmiş ve spektrofotometrik olarak incelenmiştir. Bu çalışmalarındaki asıl amaçları, meyvelerdeki gelişim ve olgunlaşmanın farklı safhalarında, kimyasal bileşenlerdeki varyasyonları ve PPO' nun bazı özelliklerini tayin etmektir. İkinci amaçları ise, biyokimyasal parametreler arasında bir bağıntı olup olmadığını test etmektir. Sonuç olarak da PPO aktivitesi ve fenolik içerik meyvelerin gelişimi boyunca gittikçe artmış, fakat olgunlaşma aşamasında azalmıştır. Çözünebilir şeker ve çözünebilir protein seviyeleri yavaşça artmış, askorbik asit gelişme ve olgunlaşma süresi boyunca azalmıştır. Poliakrilamit jel elektroforezis yöntemi meyvelerdeki iki PPO çeşidindeki değişiklikleri kantitatif olarak göstermiştir⁴².



Şekil 7. *L. officinalis* meyvelerinin olgunlaşma ve gelişim süresi boyunca polifenol oksidaz aktivitesindeki değişiklikler⁴². Meyvelerin haftalara göre toplanması: 1:1 Haziran, 2:7 Haziran, 3:14 Haziran, 4:21 Haziran, 5:28 Haziran, 6:5 Temmuz, 7:12 Temmuz, 8:19 Temmuz. Dikey çizgiler standart hataları göstermektedir.

2.4.4. Antienflamatuvar ve Analjezik Aktivite

Erdemoğlu ve arkadaşları, Türk halk ilacı olarak kullanılan bitki türlerinin sulu ve etanollü ekstralarının in vivo ortamda antienflamatuvar ve analjezik etkilerini incelemişlerdir. Bu bitkilerden bir tanesi de *L. officinalis* bitkisinin taze yapraklarıdır. Taze yapraklardan hazırlanan sulu ve etanollü bitki ekstralarının her ikisi de, p-benzokinon ile uyarılarak karın kasları kasılmış farelerde değişken derecelerde anlamlı bir analjezik etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır. Sadece etanollü ekstresi ise karragenan ile arka patileri ödem olmuş farelerde kuvvetli antienflamatuvar etki göstermiştir⁴³.

2.4.5. Diğer Aktiviteler

Yapılan bir çalışmada Majeed ve arkadaşı ursolik asidin deriyi ve saçı güzelleştirme ve korunmasındaki önemini araştırmışlar. Bu çalışmada *L. officinalis* bitkisini ursolik asit içeren tıbbi bitkiler listesinde yayınlamışlardır. Dolayısıyla ursolik asidin deri tümörünü %45 oranında inhibe ettiği, antienflamatuvar etkili, saç büyümesini arttırdığı, antimikrobiyal etkisi ve anti-aging madde olarak etkinliklerinin olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca *L. officinalis*' in ideal bir kozmetik madde olduğunu da belirtmişlerdir³⁷.

Ertürk ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada bazı bitki ekstralarının *Autographa californica* nüklear pohedrozis virüsünün (AcNPV) *Spodoptera frugiperda* hücre kültüründeki virüs replikasyonuna etkileri araştırılmıştır. AcNPV, Baculovirus cinsine ait, 25*250nm büyüklüğünde, 128kbp, çift zincir süpersarmal DNA ihtiva eden çomak şeklinde, zarflı bir böcek virüsüdür. Bu virüs insanlar üzerinde patojen olan diğer DNA virüslerine iyi bir model oluşturduğundan dolayı oldukça önemlidir. *L. officinalis* bitki ekstresinin virüs replikasyonunu arttırdığı bulunmuştur. Bu durum tıbbi ve ekonomik bakımdan önemli olan proteinlerin üretilmesi amacı ile yaygın bir şekilde ekspresyon vektörü olarak kullanılan bir virüsün yüksek miktarlarda üretilmesi bakımından önemlidir⁴⁴.

Ertürk ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada ise, lahana yaprak güvesi (*Plutella xylostella*, L.)' nin (*Lepidoptera*; *Plutellidae*) gelişmesi üzerine bazı bitki ekstralarının toksik etkilerini araştırmışlardır. Doğal antifidant maddeler böceklerin beslenmesini engelleyen, çeşitli

bitkilerin ihtiva ettiği kimyasal maddelerdir. Çalışmalar sonucunda, *L. officinalis* bitkisinin %50 oranında toksisite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu tür bitkiler içermiş oldukları antifidant maddelerden veya keskin kokularından dolayı bazı böceklerin iştahını kesmektedirler. Bu yüzden böcek yeterli beslenememekte ve gelişimini tamamlayamamaktadır. Çalışma sonucunda geleceğimizi tehdit eden ve doğal kaynaklarımızı kirlüten birçok kimyasal pestisite karşı alternatif maddeler bulunmuş olacağı, ekonomik olarak da ucuz pestisitler elde edilebileceği ve çevre kirlenmesinin giderek yavaşlayacağı düşünülmüştür⁴⁵.

Yiğit ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise, bazı bitki ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerini araştırmışlardır. Bu bitkilerden bir tanesi de *L. officinalis*' tir. Bu amaçla bitkilerin metanol ve kloroform ekstraktları hazırlanmış ve disk difüzyon yöntemi ile incelenmiş fakat antibakteriyel bir etkiye rastlayamamışlardır⁴⁶.

2.5. Diğer Çalışmalar

İslam, *L. officinalis*' in bazı yetiştirme özelliklerini çalışmıştır. Meyve salkım ağırlıkları, her bir salkımdaki meyve adedi, meyve ağırlıkları, suda çözünebilen katı kısımları ve pH değeri ölçülmüş ve sırasıyla 67.9 g, 18.9, 4.8 g, %15.4 ve 4.8 olarak ölçülmüştür. Ayrıca bu çalışma karayemiş meyvesinin yetiştirilme özelliklerini tarif etmektedir⁴⁷.

Kaya ve Aydın yaptıkları çalışmada ısı iletimli kurutucularda *L. officinalis* meyvelerinin kuruma kinetiklerinin deneysel ve teorik olarak araştırmayı amaçlamışlardır. Deneysel kısımda, kuru hava katsayısının değişik değerlerdeki etkisi, sıcaklık ve bağıl nemin karayemiş meyvelerinin

kuruma özellikleri üzerine etkisi belirlenmiştir. Ayrıca kuru karayemiş meyvelerinin eş sıcaklıktaki emilimleri, kuru havadaki dengeli bağıl nem ve farklı sıcaklık değerlerinde de belirlenmiştir. Teorik kısımda ise, farklı ince tabaka kurutma modelleri, Henderson ve Papis gibi, Newton ve iki-sürelilik katsayı modelleri, karayemişteki nem değişikliklerini incelemek için kullanılmıştır. İki-sürelilik katsayı modeli, karayemiş meyvelerini kurutma eğrisini tarif etmek için en uygun modeldir. Difüzyon modeli, bağıl nemde ve her bir sıcaklık için difüzyon gücünü tarif etmek için kullanılmıştır. Karayemişin difüzyon gücü 1.896 ve $3.252 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ arasında ölçülmüştür. Sıcaklığa bağlı difüzyon gücü katsayısı Arrhenius bağıntısı ile de tarif edilebilmektedir. Karayemişin aktivasyon enerjisi ise 15.806 kJ/mol olarak bulunmuştur. Bu çalışma daha verimli, ekonomik ve kaliteli işlem ve ürün için önem taşımaktadır⁴⁸.

Çalışır ve arkadaşı, nem içeriği gibi *L. officinalis*' in fiziksel özelliklerini değerlendirmiştir. Karayemişin ortalama uzunluk, genişlik, kalınlık, geometrik çapı, kütle ve hacmi sırasıyla, 13.05 , 14.10 , 11.26 , 12.71 mm 0.95 g ve 1.10 cm^3 olarak tespit edilmiştir. %9' dan %77.5' e kadar olan nem oranlarında, ıslatılmış *L. officinalis* meyvelerinin hacim yoğunluğunun 450 ' den 615 kg/m^3 e çıktığı, gerçek yoğunluğun ise 950 ' den 1050 kg/m^3 e çıktığı görülmüştür. Gözeneklilik %52.63' ten %42.38' e düşmüş, tahmini alan 1.63 ' ten 4.03 m^2 ye çıkmış ve son hız 6.4 ' ten 8.2 m/s ' ye çıkmıştır. *L. officinalis* meyvelerindeki kuvvetli kopma nem içeriğinin artmasıyla azalmıştır. Aynı nem oranlarında %9-77.5, durgun ve dinamik sürtünme katsayısı kullanılan malzemeye göre 0.16 ' dan 0.48 ' e kadar değişiklik göstermiştir⁴⁹.

Sıralı ve Deveci yaptıkları çalışmada bal arısı (*Apis mellifera* L.) için önemli olan bitkilerin Trakya Bölgesi' nde incelemişlerdir. Bu

bitkilerden *L. officinalis* de bal arısı için önemli bitkilerin arasında yer almaktadır. Çiçeklenme dönemleri ve bölge düzeyinde illere göre yayılışını gösteren verilerin arıcılara ve daha sonra yapılacak bilimsel çalışmalara önemli bir veri tabanı oluşturacaklarını düşünmüşlerdir⁵⁰.

Sandallı ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, *L. officinalis* bitkisinin üç kültürünün ve yabani formunun Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) yöntemiyle analizini yapmışlardır. Bu yöntemin DNA polimorfizmini ortaya çıkarmada kullanışlı bir araç olduğunu düşünmüşlerdir. Böylece RAPD tekniği ile yabani ve kültür formlarının polimorfizmleri arasındaki farkı ortaya çıkarılabileceğini tespit etmişlerdir. Bunun için de Türkiye’ de yetişen üç kültür ve yabani formun genetik benzerliklerini ortaya çıkarmak için bu yöntem kullanılmıştır. Bu çalışma sonucunda da en düşük benzerlik yabani form ile kültürler arasında, en yüksek benzerlik ise Oxygemmis ve Globigemmis kültürleri arasında tespit edilmiştir. Bu iki kültür ile Angustifolia arasında ise bu değer biraz daha düşük bulunmuştur⁵¹.

3.TOKSİSİTESİ

L. officinalis bitkisi yüksek toksik etkiye sahiptir. Bu toksik etkisi de yapısındaki siyanogenetik heterozitlerin hidrojen siyanüre parçalanmasından kaynaklanmaktadır. İnsan ve hayvanlarda hidrojen siyanür, bir miktar *L. officinalis* alındıktan sonra, siyanogenetik heterozitlerin endojen bitki enzimleriyle kısmen hidrolitik yıkıma uğramasıyla açığa çıkmaktadır. Fakat gastrointestinal sistemde bulunan bakteriyel β -glikozidaz ile yüksek derecede yıkım meydana gelmektedir. Ortaya çıkan hidrojen siyanür, kandaki oksijeni dokulara taşıyan enzimleri

inhibe etmektedir. Sitokrom oksidaz-Fe⁺³, e karşı güçlü afinitesi olduğundan hücresel solunumun inhibe olmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak oluşan düşük enerji santral sinir sisteminin çökmesine ve oksijen yetersizliğinden ölüme neden olmaktadır¹⁴.

4. DIABETES MELLITUS' UN TANIMI

Diabetes mellitus hiperglisemi, hiperlipidemi ve hiperaminoasidemi ile karakterize sistemik bir hastalıktır. Hastalığın etiyolojisinde genetik yük, immünolojik uyarılar, biyokimyasal ve epidemiyolojik bulaşma gibi çok geniş ve çeşitli etkenler rol alır⁵²⁻⁵⁵.

Kan glikoz seviyesinin uygun olmayan bir şekilde yükselmesi; pankreas beta hücrelerinden insülin salınımının yapılamaması, düşük düzeyde olması ya da insülin etkisinin azalması, insülin reseptörlerinin cevap vermemeleri sonucu meydana gelmektedir^{52,53,55}.

Kan glikoz seviyesini düzenleyen etkenler arasındaki dengesizliğin sonucunda karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasının yanı sıra sıvı ve elektrolit düzeyinde de bozukluklar belirir. Bunların sonucunda hiperglisemik durumdan ketoasidoit komaya kadar varan acil, hayatı tehdit eden durumlar yanında diyabetik nöropati, retinopati, glomerulopati, enfeksiyonlara ve aterosklerozla eğilim gibi mortalite ve morbiditeyi arttıran kronik tablolara yol açabilir⁵²⁻⁵⁵.

4.1. Diyabetin Teşhisi

Diyabet teşhisi için hastada plazma glikoz konsantrasyonu şüpheye mahal vermeyecek şekilde yükselmiş olmalı, beraberinde poliüri, polidipsi, polifaji, hızlı kilo kaybı gibi belirtiler bulunmalıdır. Yüksek kan glikoz seviyesinin aşağıdaki faktörlere bağlı olarak da değişeceği unutulmamalıdır.

1. Metabolik durumlar: Açlık, ketoz, beslenme bozuklukları, enzim yetersizlikleri, stres, aşırı fiziksel aktivite.
2. Hastalıklar: Akut ve kronik enfeksiyonlar, tiroid, hipofiz hastalıkları
3. İlaçlar: Kortikosteroidler, adrenerjik ilaçlar, doğum kontrol ilaçları, östrojenler, diüretikler, fenotiazinler⁵²⁻⁵⁵.

4.1.1. İdrarda Şeker Aranması

Genel olarak normal kişiler idrarla belirlenemeyecek kadar az glikoz atarken diyabetli kişiler hastalığın şiddeti ve aldıkları karbonhidrat miktarına bağlı olarak fark edilir düzeyde glikoz kaybederler. Bununla beraber renal glikozüri diye bilinen durumda diabetes mellitus olmadan da glikoz kaybı görülür. Bu nedenle teşhiste tek başına kullanılmamalıdır⁵³.

4.1.2. Açlık Kan Glikoz Düzeyi

Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) ile Amerikan Diyabet Derneği kriterlerine göre diyabet tanısı koyabilmek için; açlık plazma veya serum glikoz değerinin 120 mg/dl üzerinde olması gerekir^{52,56}.

4.1.3. Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT)

Oral glikoz yükleme testi diabetes mellitus tanısında kullanılan en hassas testtir. Oral glikoz yüklemesi yapıldıktan sonra, plazma glikoz konsantrasyonunun en az birkaç kez ölçülerek normal değerlerden yüksek bulunması gerekir. Normal fiziksel faaliyeti sürdüren ve karbonhidrat bakımından kısıtlanmamış diyabetle beslenen hasta 10-16 saat aç bırakılır. 1.75 g/kg dozda glikoz çözeltisi içirilir ve 2 saat boyunca 30 dakika arayla plazma glikoz konsantrasyonu ölçülür. Bu ölçümlerin herhangi birinde 200 mg/dl' yi aşan değer elde edilirse hastaya diyabet teşhisi koyulur^{52-54,56}.

Diyabet teşhisinde sık kullanılmayan kimyasal testler de mevcuttur. (i.v. glikoz yükleme testi, glikoz çift yükleme test, oral tolbutamit testi, i.v. tolbutamit testi, i.v. glukagon testi, adrenalin uyarma testi, serum insülin düzeyi ölçümü, lösün tolerans testi, glikozillenmiş hemoglobin tayini, insülin reseptör ölçümü, glikoz taşıyıcılarının ölçümü ...vb)⁵³.

4.2. Bitkilerin Antidiyabetik Aktivitelerinin Araştırılmasında Kullanılan Yöntemler

Bitkilerin antidiyabetik aktivitelerinin belirlenmesinde diğer biyolojik aktivite çalışmalarında olduğu gibi öncelikle ön tarama çalışmaları yapılmaktadır. Ön tarama çalışmalarında yüksek aktivite görülen bitkiler üzerinde etkili maddenin tayinine yönelik çalışmalar adım adım yürütülmektedir. Biyolojik aktivite ile yönlendirilen fraksiyonlama tekniği kullanılarak ham ekstreden fraksiyonlar elde edilir, aktivitesi yüksek olan fraksiyonlar üzerinde çeşitli ayırım yöntemleri ile alt fraksiyonlar ve daha ileriki çalışmalarda da saf haldeki etkili maddeler elde edilmektedir.

Etkili maddelerin toksisite deneyleri sonrasında etki mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik ileri çalışmalar yapılmaktadır

4.2.1. Materyal Ekstraksiyonu

Etkisi incelenecek bitki halk arasında benzer amaçlarla kullanılıyor ise ekstre hazırlamada öncelikle bu yol tercih edilir. Bitki üzerinden su veya diğer çözücüler kullanılarak ekstre hazırlanabileceği gibi kullanılacak kısma göre sıkılarak da sulu kısım materyal olarak kullanılabilir. Ekstrelerin rotavaporda yoğunlaştırılarak liyofilizatörde kurutulması ekstrenin daha uzun süre saklanabilmesi, doz ayarının daha kolay yapılabilmesi nedeniyle tercih edilmektedir⁵⁷⁻⁶².

4.2.2. Deney Numunelerinin Hazırlanışı

Numuneler çözünürlük ve uygulama yoluna dikkat edilerek uygun çözücülerde çözülür. Su ve serum fizyolojik sık kullanılırken çözünürlüğü düşük ekstreler için süspansiyon yapıcı maddeler (karboksi metil selüloz, agar, tween 80, arap zamkı...vb) ile hazırlanmış çözeltiler kullanılmaktadır^{59,61,63,64}.

4.2.3. Deney Numunelerinin Uygulanması

Hazırlanan numuneler çoğunlukla gastrik gavaj yardımıyla oral olarak nadiren de intraperitoneal veya intravenöz yolla uygulanmaktadır^{58,59,61,64}.

Kronik uygulamalarda uygun dozda ekstrenin hayvanların yemlerine veya sularına karıştırılması mümkündür.

4.2.4. Kan Örneklerinin Toplanması ve Ölçümler

Ekstrenin uygulanması üzerinden belli süre geçtikten sonra periyodik olarak toplanan kan örnekleri üzerinde biyokimyasal incelemeler yapılır. Kan örnekleri, kullanılan deney hayvanına göre kuyruk ucundan ya da damar içine enjektörle girilerek uygun damardan toplanabilir.

Ölçüm sürelerinin belirlenmesinde kullanılan deney modeli önemlidir. Akut etkinin incelendiği deneylerde kan örnekleri başlangıçta,

30.; 60.; 120.; 150. ve 240. dakikalarda toplanmaktadır. Ölçümler daha uzun süre sürdürülebilmektedir. Kronik ve subkronik deneylerde ise ekstreler belirlenen süre içinde her gün uygulanmakta ve kan örnekleri ekstrenin uygulanmasından önce toplanmaktadır^{59,60,61,65}.

4.2.5. Referans İlaçlar

Etkisi incelenen ekstrenin, etkisi olduğu düşünülen diyabet tipine uygun olarak referans seçimi yapılmaktadır. Tip I diyabete karşı etki incelenecekse referans olarak insülin, Tip II' ye karşı etki incelenecekse oral diyabetikler kullanılmalıdır. Oral diyabetiklerden en çok tolbutamit, klorpropamit, glibenklamit, glipizit ve metformin tercih edilmektedir^{57,58,60,61,66}.

4.2.6. Deney Hayvanları

Aktivite çalışmalarında fare, sıçan veya tavşanlar kullanılmaktadır. Deney hayvanlarında hormonal değişiklikler kan şekerini etkilediğinden erkek hayvanlar tercih edilmektedir. Deneyde kullanılacak hayvanlar laboratuvar koşullarına uyum sağlamaları amacı ile deneyden yaklaşık bir hafta önce temin edilmektedir. Deneyde kullanılacak hayvanlar deneyden 12-20 saat önce aç bırakılmakta, sadece su verilmektedir^{57,59,61,69}.

Sık Kullanılan Deney Hayvanları

Sprague Dawley Sıçanlar (220-280 g)^{61,63}

Wistar Albino Sıçanlar (140-280 g)^{57,65,70,71}

Swiss Albino Sıçanlar⁶²

Yeni Zellanda Tavşanları (2500-2900 g)⁷²

4.2.7. Deneysel Diyabetin Oluşturulması

Normoglisemik hayvanlar üzerinde yapılan incelemeler sonrasında ekstrenin diyabetik hayvanlar üzerindeki etkisi incelenir. Diyabet oluşturmak amacıyla kimyasal maddeler veya hormonlar uygulanabilmektedir. Ayrıca pankreasın cerrahi yolla çıkarılması da mümkündür. Tip I diyabet üzerinde etki incelenecekse genetik olarak diyabet yapılmış hayvanlar tercih edilmektedir. Tip II diyabet oluşturulmasında ise genellikle streptozotosin daha çok tercih edilmektedir^{60,64,67,68}.

Streptozotosin pankreasta insülin salgılayan beta hücrelerini seçici olarak yıkıma uğratmaktadır. Deneysel diyabet oluşturmak amacıyla intraperitoneal veya intravenöz yolla farklı dozlarda (40, 45, 50, 60, 65, 80 mg/kg) uygulanmaktadır. Streptozotosin ısıyla bozulduğu için derin dondurucuda saklanmalı ve uygulamanın hemen öncesinde buz banyosu içerisinde hazırlanmalıdır. Uygulamalarda çözücü olarak distile su, serum fizyolojik ya da sitrat tamponu (0.1M, pH=4.5) kullanılmaktadır. Streptozotosin uygulaması sonrası suluklara %5' lik glikoz çözeltisi koyularak hayvanlarda oluşacak hipoglisemi nedenli ölüm

önlenebilmektedir. Uygulamadan 3-7 gün sonra ölçülen kan glikoz seviyeleri 250mg/dl üzerinde olan hayvanlar diyabetik kabul edilmektedir^{57,59,63,65,69,70}.

4.2.8. Etkinin Tespit Edilmesine Yönelik Deneyler

Bitkiden farklı çözücüler ile hazırlanan ekstreler farklı dozlarda uygulanarak deney hayvanları üzerinde gösterdiği antidiyabetik etki şiddeti kontrol ve referans grubu ile karşılaştırılarak tespit edilmektedir. Ekstreler akut, subakut veya kronik uygulanabilmektedir⁵⁷⁻⁶².

4.2.8.1. Akut Etkinin Tespiti

Akut etkinin tespitinde 3 farklı deney modeli kullanılmaktadır.

4.2.8.1.1. Normoglisemik Hayvanlar Üzerinde Akut Etkinin Tespiti

Deneyler 12-20 saat önce aç bırakılan, standart laboratuvar koşullarında barındırılan deney hayvanlarının açlık kan glikoz seviyeleri ölçüldükten sonra ekstre ve referans uygulanır. Kontrol grubuna sadece ekstre hazırlanırken kullanılan çözücü uygulanmaktadır. 30 dakika aralarla 4 saat boyunca kan örnekleri toplanmaktadır. Kan örneklerine glikoz, insülin, trigliserit ve kolesterol miktar tayini gibi biyokimyasal analizler yapılmaktadır⁶¹.

4.2.8.1.2. Glikoz-Hiperglisemik Hayvanlar Üzerinde Akut Etkinin Tespiti

Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT) olarak da bilinen deney normoglisemik ve diyabetik hayvanlar üzerinde akut etkinin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır.

12-20 saat aç bırakılan hayvanda açlık kan glikoz konsantrasyonları ölçüldükten 30 veya 60 dakika sonra ekstre uygulanmaktadır. Kan glikozu ölçümünden hemen sonra ekstre uygulamak da mümkündür. Deney numuneleri uygulandıktan 30 dakika sonra glikoz yüklemesi yapılmaktadır. Glikoz 0.5-2 g/kg dozda hazırlanarak oral olarak uygulanır. Glikoz uygulandıktan 30, 60, 120 ve 240 dakika sonra kan örnekleri toplanmaktadır⁵⁹.

4.2.8.1.3. Diyabetik Hayvanlar Üzerinde Akut Etkinin Tespiti

Deneysel diyabet oluşturulmuş hayvanlar, deneyden önce 10-12 saat aç bırakılırlar. Deney başlangıcında açlık kan-glikoz düzeyleri tespit edilir. Deney numunesinin verilmesinden sonra belirli aralıklarla hayvanların kan-glikoz sevyeleri ölçülür. Bu ölçümler 24 saate kadar uzayabilir.

4.2.8.2. Subakut Etkinin Tespit Edilmesi

Deney numunesinin 3 gün ile 2 hafta arasında görülen subakut etkilerinin tespiti amacıyla numune her gün uygulanmaktadır. Kan örnekleri ya her gün ya da belirlenen günlerde toplanarak biyokimyasal

analizleri yapılmaktadır. Deney süresince hayvanlardaki ağırlık değişimleri de incelenmektedir. Deneyin ilk ve son günlerinde OGTT yapılarak numunelerin glikoz toleransı üzerine subakut etkisi incelenebilir⁶¹.

4.2.8.3. Kronik Etkinin Tespit Edilmesi

Antidiyabetik etkinin daha belirgin incelenmesi için 20 gün ile 2 ay arasında değişen sürelerde süren deneyler yapılmaktadır^{58,64,66}.

Kronik modelin ilk ve son gününde OGTT yapılarak numunenin glikoz toleransı üzerindeki kronik etkisi incelenebilir.

4.2.9. Etki Şeklinin Açıklanmasına Yönelik Testler

Etkili bulunan numunenin kan glikoz seviyesinde meydana getirdiği değişikliği hangi mekanizma ile oluşturduğu bu deneylerle aydınlatılır. Kanda ve dokularda glikoz, insülin, enzimlerin ölçüldüğü in vivo yöntemler, izole organ dokuları üzerinde glikozun emilimi ve kullanımının incelendiği in situ yöntemler ve in vitro bu amaçla kullanılmaktadır.

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1.Bitkisel Materyal

Araştırmamızda kullandığımız *L. officinalis* bitkisinin Globigemmis kültür meyveleri Ağustos 2008’ de Trabzon merkezden 9 km uzaklıktaki Doğançay Köyü’ nden toplandı. Toplanan meyveler gölgede kurutuldu. Daha sonra meyvelerin bir kısmı tohumlarından ayrıldı.

5.2.Kimyasal Madde ve Malzemeler

Streptozotosin: Sigma

Tolbutamid: Sigma

Glikoz: OXOID

Karboksi metil selüloz: Sigma

Kan Şekeri Ölçüm Çubukları ve Cihazı: Deney hayvanlarının kan glikoz konsantrasyonlarının ölçümünde Bayer’in Contour marka hazır kan şekeri ölçüm çubukları ve çubuklara uygun ölçüm cihazı kullanılmıştır.

Enjektör: Deney hayvanlarına yapılan oral uygulamalarda 2,5 ml’ lik enjektörler, intraperitoneal uygulamalarda ise insülin enjektörleri kullanılmıştır

Gavaj: Deney hayvanlarına oral yolla numunelerin uygulanmasında gastrik gavaj kullanılmıştır.

Deney Hayvanları

Deneylerimizde kullandığımız Wistar albino dişi sıçanlar (150-250 g) Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden (GÜDAM) temin edilmiştir.

Deney hayvanları şartlara uyum sağlamaları amacıyla çalışmadan en az bir hafta önce laboratuvarımıza getirilmiştir. Hayvanlar normal diyetleri ile beslenerek deneyden 12 saat önce aç bırakılmıştır.

Deney Numuneleri

Hayvanlara oral yolla uygulanacak tüm numuneler, %0.5'lik karboksi metil selüloz çözeltisi içinde süspanse edilerek hayvan ağırlığına göre (1ml/100 g vücut ağırlığı) gastrik gavajla uygulanmıştır.

5.3.Ekstraksiyon

Araştırmamızda *L. officinalis* meyveleri ve tohumlarından hazırlanan 3 farklı ekstre 2 ayrı dozda denenmiştir.

5.3.1.Tohumlu Meyvelerin Etanollü Ekstresinin Hazırlanması

Kurutulmuş meyveler tohumları ile beraber toz edildi. Üzerine %80' lik etanolden 1 L ilave edildi. 37°C' de (oda sıcaklığında) su banyosunda 24 saat mekanik karıştırıcı yardımı ile ekstre edildi. Ekstre süzgeç kağıdından süzüldü. Süzülen ekstre 50°C' nin altında rotavoporda yoğunlaştırıldı (verim = % 49.48).

5.3.2.Tohumsuz Meyvelerin Etanollü Ekstresinin Hazırlanması

Kurutulmuş meyvelerin tohumları el ile çıkarıldı. Tohumsuz kısım pulpa parçalandı ve %80' lik etanolden 1 L ilave edildi. 37°C de su banyosunda 24 saat mekanik karıştırıcı yardımı ile ekstre edildi. Ekstre süzgeç kağıdından süzüldü. Süzülen ekstre 50°C' nin altında rotavoporda yoğunlaştırıldı (verim = % 78.38).

5.3.3.Tohumların Etanollü Ekstresinin Hazırlanması

Kurutulmuş meyvelerden ayıklanan tohumlar toz edildi. Toz edilen tohumların üzerine %80' lik etanolden 1 L ilave edildi. 37°C de su banyosunda 24 saat mekanik karıştırıcı yardımı ile ekstre edildi. Ekstre süzgeç kağıdından süzüldü. Süzülen ekstre 50°C' nin altında rotavoporda yoğunlaştırıldı (verim = % 19.74).

5.4.Aktivite Deneyleri

Deney Grupları

Deneyde kullanılan hayvanlar aşağıdaki şekilde gruplandırılmıştır. Bu gruplar normal, glikoz-hiperglisemik ve diyabetik hayvanlar için ayrı ayrı oluşturulmuştur. Her grupta 6 hayvan bulunmaktadır.

Grup 1: Kontrol grubu olarak kullanılmış ve sadece %0.5' lik karboksimetilsellüloz çözeltisi verilmiştir. (5 ml/kg)

Grup 2: Referans grup olarak kullanılmıştır. Hayvanlara 100 mg/kg dozda tolbutamid verilmiştir.

Grup 3: *L. officinalis* tohumlu meyvelerinin etanollü ekstresi 1000 mg/kg dozda uygulanmıştır.

Grup 4: *L. officinalis* tohumlu meyvelerinin etanollü ekstresi 2000 mg/kg dozda uygulanmıştır.

Grup 5: *L. officinalis* tohumuz meyvelerinin etanollü ekstresi 1000 mg/kg dozda uygulanmıştır.

Grup 6: *L. officinalis* tohumuz meyvelerinin etanollü ekstresi 2000 mg/kg dozda uygulanmıştır.

Grup 7: *L. officinalis* tohumlarının etanollü ekstresi 500 mg/kg dozda uygulanmıştır

Grup 8: *L. officinalis* tohumlarının etanollü ekstresi 1000 mg/kg dozda uygulanmıştır.

5.4.1.Normoglisemik Hayvanlarda Aktivite Tayini (NG)

12 saat aç bırakılan deney hayvanları tartıldı ve açlık kan glikoz seviyeleri ölçüldü. Hayvanlar her grupta 6 denek olacak şekilde gruplandırıldı. Kontrol grubuna çözücü olarak kullanılan %0.5' lik CMC, referans grubuna tolbutamit, deney gruplarına ise uygun dozda tartılmış, CMC' de çözülmüş ekstreler, uygun hacimde (1 ml/100g vücut ağırlığı) gastrik gavaj ile uygulandı. Numunelerin verildiği başlangıç anı 0. dakika olarak kabul edildi. Bundan sonraki 30., 60., 120. ve 240. dakikalarda hayvanların kuyruk uçlarından alınan kanda glikoz konsantrasyonları Bayer' in Contour marka kan glikozu ölçüm çubukları ve cihazı kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

5.4.2.Glikoz Hiperglisemik Hayvanlarda Aktivite Tayini [Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT)]

Oral glikoz yükleme testi diabetes mellitus tanısında kullanılan en hassas test olduğundan bu yöntem tercih edilmektedir.

12 saat aç bırakılan hayvanlar tartılarak açlık kan glikoz seviyeleri ölçüldü. Her grupta 6 denek olacak şekilde gruplandırıldı. Kontrol grubuna CMC, referans grubuna tolbutamit, deney gruplarına CMC' de çözülmüş ekstreler gastrik gavajla uygulanarak 30 dakika sonra kan glikoz seviyeleri ölçülüp 2 g/kg dozda glikoz çözeltisi yüklemesi yapıldı. Glikoz çözeltisi, glikozun distile su içinde çözülmesi ile hazırlandı ve hayvanlara gastrik gavaj yardımıyla uygulandı. Numune uygulanmasından sonraki 30., 60., 120. ve 240. dakikalarında kan glikoz seviyeleri ölçülerek sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

5.4.3.Diyabetik Hayvanlarda Aktivite Tayini

Diyabet oluşturmak amacıyla kimyasal maddeler ya da hormonlar uygulanabilmektedir. Ayrıca pankreasın cerrahi yolla çıkarılması da mümkündür. Tip I diyabet üzerinde etki incelenecekse genetik olarak diyabet yapılmış hayvanlar tercih edilmektedir. Tip II diyabet oluşturulmasında ise genellikle streptozotosin ve alloksan kullanılmaktadır. Alloksan uygulanması sonrası hayvanların hipoglisemiye bağlı olarak ölümü nedeniyle streptozotosin daha çok tercih edilmektedir^{60,64,67,68}.

Bu amaçla kullanılacak deney hayvanları, deneyden 1 hafta önce streptozotosin ile diyabet yapıldı.

5.4.4.Streptozotosin İle Deneysel Diyabet Oluşturulması

150-250 g Wistar albino dişi sıçanlar 12 saat aç bırakıldıktan sonra tartıldı. Distile su içerisinde buz banyosunda taze olarak hazırlanan streptozotosin çözeltisi, hayvanlara 55 mg/kg dozda ve 0.1 ml/kg vücut ağırlığı hacimde intraperitoneal (i.p) yolla uygulandı. Hayvanlar daha sonraki günlerde normal diyetleri ve su ile beslendi. Uygulamadan bir hafta sonra hayvanlar 12 saat aç bırakıldı. Süre sonunda kuyruk uçlarından alınan kanda glikoz seviyeleri, glikoz ölçüm çubukları ve cihazı ile ölçüldü. Kan glikozu 300 mg/dl üzerinde bulunan hayvanlar diyabetik kabul edildi ve aktivite çalışmalarında kullanıldı.

5.5.Akut Antidiyabetik Etkinin Ölçülmesi

Streptozotosin ile diyabet yapılmış hayvanlar üzerinde aktivitenin incelenmesi için 12 saat aç bırakılmış diyabetik hayvanlar her grupta 6 hayvan olacak şekilde gruplandırıldı. Açlık kan şekerlerinin ölçümünden sonra, kontrol grubuna CMC, referansa tolbutamit, deney grubuna ise numuneler gastrik gavajla uygulandı. Uygulamadan sonraki 30., 60., 120. ve 240. dakikalarda kuyruk ucundan alınan kanda glikoz seviyeleri ölçüldü.

6.İSTATİKSEL DEĞERLENDİRMELER

Deney sonuçlarının değerlendirilmesinde Instat-2 bilgisayar programı kullanılmıştır. Programda tek yönlü ANOVA ve Student-Newman-Keuls seçilerek grupların toplam, ortalama, standart sapma ve standart hata değerleri hesaplanmıştır. Antidiyabetik aktivite deneylerinde her numune grubu kendi zaman birimindeki kontrol ve referans grubu ile karşılaştırılmıştır.

7.BULGULAR

7.1.Diyabetik Hayvanlarda Akut Antidiyabetik Aktivite Bulguları

Streptozotosin nedenli diyabetik hayvanlar 12 saat aç bırakılmış ve daha sonra deney numuneleri verilmiştir. 4 saat boyunca ölçülen kan-glikoz düzeyleri Tablo 26' da gösterilmiştir.

Tablo 26: *L. officinalis* meyvelerinden elde edilen ekstrelerin diyabetik sıçanların kan-glikoz düzeyleri üzerine akut etkisi

Deney Numunesi	Doz mg/kg	Kan-glikoz konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart hata (% İnhibisyon)				
		0. dk.	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.
Kontrol	-	546.7±18.9	544.3±19.7	524.9±24.7	528.9±31.9	535.9±25.1
Tolbutamit	100	546.6±39.9	565.6±32.5	588.7±29.1	495.0±53.0	425.2±77.9** (%20.7)
Tohumlu Meyve Ekstresi	1000	532.7±21.5	572.8±9.6	541.7±22.9	564.6±14.6	536.1±20.7
	2000	546.0±31.8	576.8±26.4	566.7±30.7	539.7±28.6	505.3±38.2
Tohumsuz Meyve Ekstresi	1000	511.67±25.3	578.8±12.9	566.77±12.5	544.4±21.0	507.9±23.4
	2000	546.9±21.4	588.9±3.8	563.9±34.6	540.1±30.5	533.3±36.7
Tohum Ekstresi	500	534.5±42.1	561.7±23.4	512.7±22.3	481.9±21.0* (%8.8)	419.7±40.8** (%21.7)
	1000	520.0±12.3	519.5±25.5	500.3±17.3	454.2±14.4* (%14)	417.0±18.4** (%22.2)

*: p<0.05 **: p<0.01

Kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır

7.2. Normoglisemik Hayvanlarda Akut Hipoglisemik Aktivite Bulguları

Sağlıklı hayvanlar 12 saat aç bırakılmış ve daha sonra deney numuneleri verilmiştir. 4 saat boyunca ölçülen kan-glikoz düzeyleri Tablo 27' de gösterilmiştir.

Tablo 27: *L. officinalis* meyvelerinden elde edilen ekstrelerin normal sıçanların kan-glikoz düzeyleri üzerine akut etkisi

Deney Numunesi	Doz mg/kg	Kan-glikoz konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart hata (% İnhibisyon)				
		0. dk.	30. dk.	60. dk.	120. dk.	240. dk.
Kontrol	-	90.6±5.8	90.6±4.0	95.6±8.3	82.8±5.3	77.6±4.5
Tolbutamit	100	92.3±5.0	62.5±2.6*** (%31)	44.1±2.9*** (%53.8)	37.8±3.5*** (%54.3)	50.4±6.8*** (%35)
Tohumlu Meyve Ekstresi	1000	91.0±4.3	98.5±6.8	84.5±2.4	81.6±3.7	72.3±5.5
	2000	85.6±6.7	106.8±5.1	100.6±7.7	102.5±4.3	90.3±3.1
Tohumsuz Meyve Ekstresi	1000	97.0±4.8	89.3±5.5	86.3±4.1	85.6±4.4	75.0±2.0
	2000	88.0±6.7	96.5±7.4	93.0±5.8	82.5±6.7	76.5±6.1
Tohum Ekstresi	500	87.8±5.2	82.5±5.0	85.2±3.0	88.6±3.0	85.0±4.7
	1000	99.0±7.8	86.6±7.0	82.5±3.0	77.5±3.0	80.2±3.2

***: p<0.001

Kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır

7.3.Glikoz-Hiperglisemik Hayvanlarda Akut Hipoglisemik Aktivite Bulguları

Sağlıklı hayvanlar 12 saat aç bırakılmış ve daha sonra deney numuneleri verildikten 30 dakika sonra hayvanlara 2 g/kg dozda glikoz oral olarak verilmiştir. 4 saat boyunca ölçülen kan-glikoz düzeyleri Tablo 28' de gösterilmiştir.

Tablo 28: *L. officinalis* meyvelerinden elde edilen ekstrelerin glikoz-hiperglisemik sıçanların kan-glikoz düzeyleri üzerine akut etkisi (OGTT testi)

Deney Numunesi	Doz mg/kg	Kan-glikoz konsantrasyonu (mg/dl) ± Standart hata (% İnhibisyon)				
		0. dk.	30. dk. 2 g/kg glikoz	60. dk.	120. dk.	240. dk.
Kontrol	-	101.83±4.6	105.8±5.0	146.2±5.5	110.7±5.2	93.8±4.9
Tolbutamit	100	101.8±3.3	62.5±4.7^{***} (%40.9)	91.3±6.4^{***} (%37.5)	75.2±5.6^{***} (%32.0)	47.6±3.4^{***} (%49.0)
Tohumlu Meyve Ekstresi	1000	101.8±7.0	126.4±7.8	143.4±14.5	126.0±10.2	100.8±5.2
	2000	100.0±2.9	122.5±7.5	125.6±5.6	114.5±7.3	113.8±4.0
Tohumsuz Meyve Ekstresi	1000	100.8±6.1	118.9±6.3	127.8±6.8	103.5±4.6	98.0±4.8
	2000	101.0±4.0	128.5±3.3	138.6±4.8	120.3±4.9	101.8±4.9
Tohum Ekstresi	500	102.6±4.2	104.1±6.7	112.0±2.6^{**} (%23.3)	97.0±4.3	89.8±4.0
	1000	96.6±7.2	109.7±5.9	117.7±8.6^{**} (%19.5)	110.4±6.1	105.8±4.8

****:** p<0.01 *****:** p<0.001

Kontrol grubu le karşılaştırılmıştır

7.4.Halk İlacı Olarak Kullanımı İle İlgili Saha Çalışmaları Bulguları

Trabzon' un merkezden 9 km uzaklıktaki Doğançay köyüne, örnek toplamak ve köy halkıyla yüzyüze mülakat yapmak için gidildi.



Şekil 8. Doğançay Köyü

Köylülerden alınan bilgiler aşağıda belirtilmiştir.

Kaynak Kişi 1: Fatma Civelek, 75 yaşındaki annesi Ayşe Civelek' in 15 senedir karayemiş kullandığını söyledi. Karayemişi taze meyve şeklinde, yemekten sonra ya da aç karına, her iki türlü de kullandığını ifade etti. Günde 1 avuç yani 20 tane kadar karayemiş yediğini ve ayrıca şekeri 380-400 değerlerinde olduğu zaman 10 gün boyunca düzenli olarak ilaçla beraber kullandığını ve 10 gün sonunda şekerinin 250' ye düştüğünü söyledi. Kurutulmuş karayemişi de bildiğini fakat kullanmadıklarını da ekledi.



Şekil 9. Kaynak Kişi 1: Fatma Civelek

Kaynak Kişi 2: Nizamettin Satılmış 52 yaşında. 4 senedir karayemiş kullandığını ve meyveyi taze olarak, kurutulmuş meyveyi ise tohumuyla beraber tükettiğini söyledi. Meyvenin aç karına tüketildiğinde daha iyi etki gösterdiğini ayrıca meyveler ne kadar ekşi-acı tada sahipse o kadar iyi şekeri düşürdüğünü söyledi. Normalde sabahları 2 tane şeker düşürücü ilaç kullandığını, fakat karayemiş yediği zaman şeker ilacından 1 tane aldığını da ekledi. Karayemişi kendileri evde kurutuyorlarmış. Fırında 2 saat kadar kuruttuktan sonra açık havada güneş almayan yerde sererek kurutmaya devam ediyorlarmış. Kışın da kurusunu günde 3 defa 1 avuç kadar tok karna aldığını söyledi.



Şekil 10. Kaynak Kişi 2: Nizamettin Satılmış

Kaynak Kişi 3: Seyfettin Satılmış 53 yaşında. Meyveyi taze olarak tükettiğini söyledi. Şeker hastalığının yanında mide ve bağırsak problemi ve şeker hastalığından dolayı yorgunluk ve halsizlik de olduğunu söyledi. Sabah aç karına 1 avuç karayemiş yedikten yarım saat sonra mide ve bağırsaklarına iyi geldiğini ve ayrıca şekerin verdiği halsizliği 5dakika içerisinde geçirdiğini söyledi. Bu etkilerinin dışında sindirim sistemi üzerine etkili olduğuna, şekerden dolayı oluşan ağız kuruluğuna iyi geldiğine, idrar söktürücü etkisi olduğuna aynı zamanda kanın hemoglobin değerlerini de yükselttiğine inandığını da ekledi.

Ayrıca Seyfettin Satılmış 4 çeşit karayemiş olduğunu, halk arasında da şöyle adlandırıldığını söyledi:

Etili, iri olan karayemişe Fuska Karayemişi,

İnce olana Kiraz Karayemişi,

Daha kırmızı olana Sulu Karayemiş,

Bir de simsiyah acı bir karayemiş olduğunu fakat artık bu köyde yetişmediğini söylediği Kara Karayemiş.



Şekil 11. Kaynak Kişi 3: Seyfettin Satılmış

8.TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada Trabzon yöresinde halk arasında şeker hastalığını tedavi etmek amacıyla kullanılan *L. officinalis* meyvelerinin etkisi araştırılmıştır. Bu meyvelerin halk arasında ya doğrudan tohumları ile beraberce yenilerek ya da tohumları çıkarıldıktan sonra yenilerek kullanıldığı tespit edilmiştir. Bu nedenle aktivite deneylerinde tohumlu meyvenin, tohumlu meyvenin ve sadece tohumlarını ayrı ayrı etanolü ekstraktları hazırlanmış ve her ekstre 2 farklı dozda denenmiştir. Doz hesabı yapılırken meyvelerin halk arasındaki kullanım miktarı dikkate alınmıştır.

Bitkinin kan-glikoz düzeyleri üzerine etkisinin araştırılması amacıyla, normal hayvanlar, glikoz yüklemesi yapılmış hayvanlar ve streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturulmuş hayvanlar üzerinde araştırma yapılmıştır.

Tablo 26'da gösterildiği gibi streptozotosin ile diyabet yapılmış hayvanlar üzerinde yürütülen antidiyabetik aktivite çalışmalarında bitkinin tohumlarından hazırlanan ekstre, 500 mg/kg ve 1000 mg/kg dozda %22 civarında bir aktivite göstermiştir. Bu etki hayvanlar uygulama yapıldıktan 4 saat sonra ortaya çıkmıştır. Aynı şartlarda standart madde olarak kullanılan tolbutamid ise % 21 civarında bir etki göstermiştir. Tolbutamid ile karşılaştırıldığında, tohum ekstresinin antidiyabetik etkisi eşdeğer hatta daha da yüksek çıkmıştır.

Tohumlu meyve ve tohumuz meyve ekstrereleri ise aynı şartlarda herhangi bir antidiyabetik etki göstermemişlerdir. Hatta bu ekstrerele hayvanlar verildikten sonraki ilk 2 saat boyunca kan glikoz düzeylerini yükseltmişlerdir. Deneyin başlangıcından sonraki 4. saate ise bu ekstrerelele verildiği gruptaki hayvanların kan-glikozları ile kontrol grubunun kan-glikoz düzeyleri aynı seviyelere gelmiştir (Tablo 26). Sonuç olarak streptozosin nedenli diyabetik hayvanlar ile yapılan çalışmalarda sadece tohum ekstresi istatistiksel olarak anlamlı bir antidiyabetik etki göstermiştir.

Bitkinin hipoglisemik etkisinin belirlenebilmesi amacıyla da normal sağık sıçanlar kullanılarak aktivite deneyi yapılmıştır (Tablo 27). Bu deneyde kullandığımız her üç ekstre de herhangi bir hipoglisemik etki göstermemiştir. Aynı şartlarda referans olarak kullanılan tolbutamit ise 100 mg/kg dozda son derece kuvvetli hipoglisemik etki ortaya çıkarmıştır (%54) .

L. officinalis meyve ve tohumlarının glikoz toleransı üzerindeki etkisinin belirlenebilmesi amacıyla normal sağık sıçanlara ekstre verilmesinden sonraki 30. dakikada 27 g/kg dozda glikoz oral olarak verilmiş. Hayvanların kan-glikoz düzeylerinde değişim kısa aralıklarla kaydedilmiştir. Tablo 28' de de görüldüğü gibi, referans madde tolbutamit deneyin başlangıcından itibaren başlayarak 4. saat ölçümlerinde % 49' a kadar yükselen bir aktivite gösterirken *L. officinalis*'in tohumlu ve tohumuz meyve ekstrerelele etkisiz bulunmuştur. Bitkinin tohumlarından hazırlanan ekstre ise her iki dozda da (500 ve 1000 mg/kg) %20 civarında bir etki göstermiştir. Bu etki glikoz yüklemeinden sonraki 30. dakikada tespit

edilmiştir. Bu durum tohum ekstresinin barsaktan glikoz absorpsiyonunu engellediği şeklinde yorumlanabilir.

Yukarıda da belirtildiği üzere bu çalışma *L. officinalis* meyve ve tohumlarının antidiyabetik, hipoglisemik ve glikoz toleransı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Deneylerde hayvanlara ekstraler bir kez uygulanmış ve uygulamayı takip eden 4 saat boyunca ölçümler yapılmıştır. Tablo 26-28' de görüldüğü gibi sadece tohum ekstresi verilmiş hayvanlarda bir etki görülmüştür. Daha öncede belirtildiği gibi *L. officinalis* bitkisi Karadeniz yöresinde diyabete karşı yenilerek kullanılmaktadır. Bu kullanım şekli birkaç hafta sürmektedir. Dolayısıyla deney hayvanlarını uzun süreli bir uygulamanın yapılması halk arasındaki kullanım şeklinin doğruluğunu belirleyebilmek açısından son derece önemlidir. En az 2 hafta sürecek bir subakut uygulama ile kan-glikoz düzeylerinde değişimin belirlenmesi gereklidir. Çünkü özellikle antioksidan bir mekanizma ile, harap olmuş beta hücrelerinin rejenerasyonu ancak uzun süreli bir uygulama ile mümkün olacaktır. Günümüze kadar bitkinin meyveleri üzerinde yürütülmüş olan kimyasal çalışmalarda, kuvvetli antioksidan özelliği olan antosiyaninler ve diğer fenolik bileşiklerce zengin olduğu görülmektedir. Bu nedenle *L. officinalis* meyvelerin antioksidan bir mekanizma ile beta hücrelerini onararak ve insülin salınımını artırarak etki gösterip göstermediği ancak 2-3 haftalık bir uygulamanın sonucunda belirlenebilecektir.

9.ÖZET

L. officinalis ağaç ve çalı şeklinde, her dem yeşil bir bitkidir. Bitkinin farklı kısımları halk arasında birçok etkisinden dolayı halk ilacı olarak kullanılmaktadır.

Ayrıca acı badem tadından dolayı çeşitli alkollü içeceklerin yapımında yer almaktadır.

Yapısında şekerler, fenolik asitler, karboksilik asitler ve bir siyanogenetik heterozit (prunasin) olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada *L. officinalis* meyve ve tohumlarından hazırlanan etanollü ekstrelerin % verimleri hesaplandı. Ekstrelerin streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlar üzerinde andiyabetik etkisi incelendi. Deney sonucunda tohumlarından elde ettiğimiz etanollü ekstrede, meyvelerden elde ettiğimiz ekstrelerden daha yüksek antidiyabetik etkiye rastlandı.

10.SUMMARY

L. officinalis is an evergreen tree or shrubs. Different parts of the plant have been used for various biological activities in folk medicine.

It is also used in alcoholic beverages because of its bitter almond taste.

The fruits contain sugars, fenolic acids, carboxylic acids and a cyanogenic glycoside.

In this study antidiabetic activity of the ethanolic extracts of the fruits and seeds of *L. officinalis* were investigated on streptozotocin induced-diabetic rats and % efficiency of ethanolic extracts was also calculated. As a result, antidiabetic activity of the ethanolic extracts of seeds were found to be greater than that of the fruits.

11. KAYNAKLAR:

- 1- Kolaylı S, Küçük M, Duran C, Candan F. Chemical and antioxidant properties of *Laurocerasus officinalis* Roem. (Cherry laurel) fruit grown in the Black Sea Region. J. Agric. Food Chem. 2003; 51(1): 7489-94.
- 2- Baytop T. Türkiye 'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün). No:3255 sayfa:394. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul 1984.
- 3- Ayaz FA. Changes in phenolic acids of Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* 'Oxygemmis') fruit during maturation. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 2001; 43(1): 23-6.
- 4- The Herbal of Dioscorides The Greek. Book Four: Other Herbs & Roots 4-149. [online] [cited 2009 January 12] Available from: URL: <http://www.cancerlynx.com/BOOKFOURROOTS.PDF>
- 5- Var M, Ayaz FA. Changes in sugar composition in Cherry laurel (cv Oxygemmis) fruit during development and ripening. Pak. J. Bot. 2004; 36(2): 389-94.
- 6- TUBİTAK – Türkiye Taksonomik Tür Veri Tabanı [online] 2004-2005. [cited 2009 January 12] Available from: URL: <http://biow.tubitak.gov.tr/present/taxonForm1.jsp?taxon=28886>
- 7- Davis PH Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 4, University Press, Edinburgh 1972.
- 8- Beyazoğlu O. Tohumlu Bitkiler Sistematigi. Sayfa: 145. Karadeniz Üniversitesi Yayınları, Trabzon 1987.

- 9- David R, Morgan DR, Soltis DE, Robertson KR. Systematic and evolutionary implication of RBCL sequence variation in Rosaceae. Am. J. Bot. 1994; 81(7): 890-903.
- 10-Sandallı C. Karayemiş (*Laurocerasus officinalis* Roem.) bitkisinin RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) tekniği ile moleküler karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. KTÜ Fen- Edb Fakültesi, 2002.
- 11-Pamay B. Bitki Materyali 1. Ağaç ve Ağaçcıklar Bölümü p.38, İstanbul Üniversitesi Yayınları, Küçükkuyu, İstanbul, 1992.
- 12-Var M. Kuzey Batı Karadeniz Bölgesi Doğal Odunsu Taksonlarının Peyzaj Mimarlığı Yönünden Değerlendirilmesi Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 1992.
- 13-Robinson ME. Methods for the Determination of the Nitrogenous constituents of a Cyanophoric Plant: *P. laurocerasus*. Biochem. J. 1929; 23(5): 1099-113.
- 14-Committee For Veterinary Medicinal Products '*Prunus laurocerasus*'. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. EMEA/MRL/675/99-Final. [online] 1999 [cited 2009 January 14] Available from: URL: <http://www.emea.europa.eu/pdfs/vet/mrls/067599en.pdf>
- 15-Tushishvili LSh, Zambakhidze NE. Sterols of the leaves of *Rhododendron ponticum* and *Laurocerasus officinalis*. Chem. Nat. Comp. 1977; 13(5): 594

- 16-Mallet JF, Cerrati C, Ucciani E, Gamisans J, Gruber M. Food Chem. 1994; 49(1): 61-5.
- 17-Halas L. The carbohydrate management of leaves of *Prunus laurocerasus* L. at low and sub-freezing temperatures. Bio. Plant. (Praha) 1972; 14(6): 399-405.
- 18-Graca J, Schreiber L, Rodrigues J, Pereira H. Glycerol and glyceryl esters of ω -hydroxyacids in cutins. Phytochemistry. 2002; 61(1): 205-15.
- 19-Stammitti L, Derridj S, Garrec JP. Leaf epicuticular lipids of *Prunus laurocerasus*: importance of extraction methods. Phytochemistry. 1996; 43(1): 45-8.
- 20-Schreiber L. Co-permeability of ^3H -labelled water and ^{14}C -labelled organic acids across isolated *Prunus laurocerasus* cuticles: effect of temperature on cuticular paths of diffusion. Plant Cell Environ. 2002; 25(1): 1087-94.
- 21-Gouret E, Rohr R, Chamel A. Ultrastructure and chemical composition of some isolated plant cuticles in relation to their permeability to the herbicide, diuran. New Phytol 1993; 124(3): 423-31.
- 22-Baur P, Buchholz A, Schönherr J. Diffusion in plant cuticles as effected by temperature and size of organic solutes: similarity and diversity among species. Plant Cell Environ. 1997; 20(1): 982-94.

- 23-Jetter R, Schaffer S, Riederer M. Leaf cuticular waxes are arranged in chemically and mechanically distinct layers: evidence from *Prunus laurocerasus* L. Plant Cell Environ. 2000; 23(1): 619-38.
- 24-Schuler F, Schmid P, Schlatter Ch. Photodegradation of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in cuticular waxes of laurel cherry (*Prunus laurocerasus*). Chemosphere 1998; 36(1): 21-34.
- 25-Chen J, Quan X, Yang F, Peijnenburg WJGM. Quantitative structure – property relationships on photodegradation of PCDD/Fs in cuticular waxes of laurel cherry (*Prunus laurocerasus*). Sci. Total Environ. 2001; 269(1): 163-70.
- 26-Ayaz FA, Bertoft E, Reunanen M. Changes in the low molecular weight carbohydrate content of *Laurocerasus officinalis* Roem. Cv. Globigemmis during fruit development. Bulg. J. Plant Physiol. 1996; 22(3-4): 25-9.
- 27-Ayaz FA, Kadioğlu A, Reunanen M, Var M. Sugar composition of *Laurocerasus officinalis* Roem. and its three cultivars. J. Food Compos. Anal. 1997; 10(1): 82-6.
- 28-Ayaz FA. Studies on water soluble sugar and sugar alcohol in cultivars and wild forms of *Laurocerasus officinalis* Roem. Pak. J. Bot. 1997; 29(2): 331-6.
- 29-Ayaz FA, Kadioğlu A, Hayırlıoğlu-Ayaz S. Determination of some low molecular weight carbohydrates in the fruit of wild cherry laurel

- (*Laurocerasus officinalis* Roem.) using gas chromatography. Turk J. Bot. 1998; 22(1): 65-8.
- 30-Ayaz FA, Kadioğlu A, Reunanen M, Var M. Phenolic acid and fatty acid composition in the fruits of *Laurocerasus officinalis* Roem. and its cultivars. J. Food Comp. Anal. 1997; 10(1): 350-57.
- 31-Çolak A, Özen A, Dinçer B, Güner S, Ayaz FA. Diphenolases from two cultivars of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) fruits at an early stage of maturation. Food Chem. 2005; 90(1): 801-7.
- 32-Ayaz FA, Reunanen M, Küçükislamoğlu M, Var M. Determination of carboxylic acids in the fruits of *Laurocerasus officinalis* Roem. and its cultivars. Indian J. Chem. 1998; 37B: 1083-86.
- 33-Ayaz FA, Reunanen M, Küçükislamoğlu M, Var M. Seed fatty acid composition in wild form and cultivars of *Laurocerasus officinalis* Roem. Pak. J. Bot. 1995; 27(2): 305-8.
- 34-Ayaz FA, Kadioğlu A. Changes in fatty acid composition of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* 'Globigemmis') fruit during maturation. New Zeal. J. Crop Hort. Sci. 2000; 28(1): 209-12.
- 35-Alasalvar C, Wanasundara U, Zhong Y, Shahidi F. Functional lipid characteristics of cherry laurel seeds (*Laurocerasus officinalis* Roem.). J. Food Lipids 2006; 13(1): 223-34.
- 36-Weinges K, Schick H, Lautenschlager M, Schiling G. Isolation and NMR-spectroscopic investigation of (—)-1-O-Benzyl-β-D-

primveroside from green fruits of *Prunus laurocerasus*. Liebigs Ann. Chem: 1991; 703-5.

37-Majeed M, Nujoma Y. Ursolic acid, its importance in skin & beautification and protection.[online] 2007 [cited 2009 January 14] Available from: URL: <http://www.sabinsa.com/ursolicacid.htm>

38-Liyana-Pathirana CM, Shahidi F, Alasalvar C. Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. Food Chem. 2006; 99(1): 121-8.

39-Alasalvar C, Al-Farsi M, Shahidi F. Compositional characteristics and antioxidant components of cherry laurel varieties an pekmez. J. Food Sci. 2005; 70(1): 47-52.

40-Yeşilada E, Sezik E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey IX: folk medicine in North-West Anatolia. J. Ethnopharmacol. 1999; 64(1): 195-210.

41-Gürhan G, Ezer N. Halk arasında hemoroit tedavisinde kullanılan bitkiler-1. HU J. Faculty Pharm. 2004; 24(1): 37-55.

42-Kadioğlu A, Yavru I. Changes in the chemical content and polyphenol oxidase activity during development and ripening of cherry laurel fruits. Phyton (Horn, Austria) 1998; 37(2): 241-51.

43-Erdemoğlu N, Küpeli E, Yeşilada E. Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. J. Ethnopharmacol. 2003; 89(1): 123-9.

- 44-Ertürk Ö, Demirbağ Z, Beldüz O. Bazı bitki özütlerinin *Autographa californica* nüklear polihedrozis virüsünün *Spodoptera frugiperda* hücre kültüründeki virüs replikasyonuna etkileri. ÇEV-KOR 1999; 9(33): 15-7.
- 45-Ertürk Ö, Kara Ö, Sezer E, Şan G. Lahana yaprakgüvesi (*Plutella xylostella*, L.) nın (*Lepidoptera plutellidae*) gelişmesi üzerine bazı bitki özütlerinin toksik etkileri. ÇEV-KOR 2004; 13(50): 18-22.
- 46-Yiğit N, Yiğit D, Özgen U, Kandemir A, Ayyıldız A. Bazı bitki ekstraktlarının (*Laurocerasus officinalis*, *Rhododendron luteum*, *Rhododendron ponticum*, *Sambucus ebulus*, *Muscari masmeganus*, *Ornithogalum sphaerocarpum*, *Ornithogalum umbellatum*, *Mentha longifolia*, *Prangos ferulacea*, *Galium verum*, *Salvia limbata*, *Artemisia austriaca*) antibakteriyal aktiviteleri üzerine bir araştırma. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2003; 33(1): 269-72.
- 47-İslam A. 'Kiraz' cherry laurel (*Prunus laurocerasus*). New Zeal. Crop Hort. Sci. 2002; 30(1): 301-2.
- 48-Kaya A, Aydın O. Experimental investigation of drying kinetics of cherry laurel. J. Food Process Eng. 2007; 31(1): 398-412.
- 49-Çalışır S, Aydın C. Some physico-mechanic properties of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) fruits. J. Food Eng. 2004; 65(1): 145-50.

- 50-Sıralı R, Deveci M. Bal arısı (*Apis mellifera* L.) için önemli olan bitkilerin Trakya Bölgesinde incelenmesi. Uludağ Arıcılık Dergisi 2002; 2(1): 17-26.
- 51-Sandallı C, Beris F, Çanakçı S, Demirbağ Z. RAPD analysis of three cultivars and a wild form in *Prunus laurocerasus* (Rosaceae). Biologia, Bratislava 2005; 60(1): 83-7.
- 52-Guyton AC. Tıbbi Fizyoloji (Türkçe), 2. Baskı, Cilt 2, Merk Yayıncılık, Ankara 1988.
- 53-Yenigün M. Her Yönü İle Diabetes Mellitus, 1. Baskı, Taft Ofset, İstanbul 1995.
- 54-Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 7. Baskı, 3. Cilt, 2358-2424, Feryal Matbaacılık, Ankara 1997.
- 55-The expert committee on the diagnosis and classification of Diabetes Mellitus (committee report), report of the expert committee on the diagnosis and classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care, 2002; 25, supp 1, 5-20.
- 56-Berkow R. The merck manual of diagnosis and therapy, cilt 1, Merk Yayıncılık, İstanbul 1983.
- 57-Venkateswaran S, Pari L. Effect of *Coccinia indica* leaves on antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Ethnopharmacol. 2003; 84(1): 163-8.

- 58-Venkateswaran S, Pari L. Antioxidant effect of *Phaseolus vulgaris* in streptozotocin-induced diabetic rats. Asia Pacific J. Clin. Nutr. 2002; 11(3): 206-9.
- 59-Mitra SK, Gopumadhavan S, Muralidhar TS, Anturlikar SD, Sujatha MB. Effect of herbomineral preparation D-400 in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Ethnopharmacol. 1996; 54(1): 41-6.
- 60-Prince PSM, Menon VP, Pari L. Hypoglycemic activity of *Syzigium cumini* seeds. Effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. J. Ethnopharmacol. 1998; 61(1): 1-7.
- 61-Soon YY, Tan BKH. Evaluation of the hypoglycemic and antioxidant activities of *Morinda officinalis* in streptozotocin-induced diabetic rats. Singapore Med. J. 2002; 43(2): 77-85.
- 62-Tunalı T, Yarat A, Yanardağ R, Özçelik F, Özsoy Ö, Ergenekon G, Emekli N. Effect of parsley (*Petroselinum crispum*) on the skin of STZ induced diabetic rats. Phytoter. Res. 1996; 13(1): 138-41.
- 63-Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J. Antioxidant defense system in diabetic kidney: A Time Course Study. Life Sci. 1997; 60(9): 667-79.
- 64-Pari L, Latha M. Effect of Auriculata flowers on blood sugar levels, serum and tissue lipids in streptozotocin diabetic rats. Singapore Med. J. 2002; 43(12): 617-21.
- 65-Gül M, Atalay M, Hannien O. Endurance training and glutathione-dependent antioxidant defence mechanism in heart of the diabetic rats. J. Sports Sci. & Med. 2003; 2(1): 52-61.

- 66-Kavalalı G, Tuncel H, Göksel S, Hatemi HH. Hypoglysemic activity of *Urtica pilulifera* streptozotocin diabetic rats. J. Ethnopharmacol. 2002; 84(1): 241-45.
- 67-Gumieniczek A, Hopkala H, Wojtowicz Z, Nikolajuk N. Change in antioxidant status of heart muscle tissue in experimental diabetes in rabbits. Acta Biochim. Pol. 2002; 49(2): 529-35.
- 68-Yadav P, Sarkar S, Bhatnagar D. Action of *Capparis decidua* against alloxan-induced oxidative stress and diabetes in rats tissues. Pharmacol. Res. 1997; 36(3): 221-28.
- 69-Sun F, Iwaguchi K, Shuda R, Nagaki Y, Tanaka K, Ikeda K, Tokumaru S, Kojo S. Change in tissue concentration of lipid hydroperoxides, vitamin C and E in rats with streptozotocin-induced diabetes. Clin. Sci. 1998; 96(1): 185-90.
- 70-Kedziora-Kornatowska K, Luciak M, Blaszczyk J, Pawlak W, Kedziora J. Effect of AT₁ angiotensin receptor antagonist on lipid peroxidation and antioxidative defence in diabetic kidney. Pethophysiology. 2000; 6(1): 245-9.
- 71-Coudray CF, Rock E, Coudray C, Grzelkowska K, Azais-Braesco V, Dardevet D, Mazur A. Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. Clin. Chim. Acta. 1999; 284(1): 31-43.
- 72-Aydın A, Orhan H, Sayal A, Özata M, Şahin G, Işimer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II Diabetes Mellitus. Effects of Glycemic Control. Clin. Biochem. 2001; 34(1): 65-70.

12.ÖZGEÇMİŞ

Adı: TANGÜL

Soyadı: DAMLACI

Doğum Yeri ve Tarihi: TRABZON, 06.12.1982

Eğitimi:

2000-2004 Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (Ankara)

1996-2000 Trabzon Lisesi (Trabzon)

1993-1996 Cumhuriyet Ortaokulu (Trabzon)

1988-1993 Cudibey İlkokulu (Trabzon)

Yabancı Dil: İngilizce