



**T.C**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI**

***HERNIARIA HIRSUTA L. VE HERNIARIA ARGAEA BOISS.***  
**TÜRLERİNİN FARMAKOGNOZİK AÇIDAN İNCELENMESİ**

**Hazırlayan**  
**Hatice Özlem UVAT**

**Danışman**  
**Prof. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Haziran 2025**  
**Kayseri**



**T.C.**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI**

***HERNIARIA HIRSUTA L. VE HERNIARIA ARGAEA BOİSS.***  
**TÜRLERİNİN FARMAKOGNOZİK AÇIDAN İNCELENMESİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Hazırlayan**  
**Hatice Özlem UVAT**

**Danışman**  
**Prof. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK**

**Haziran 2025**

**Kayseri**

## **BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK**

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu çalışmanın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

**Hazırlayan: Hatice Özlem UVAT**

**İmza:**

## YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

**“*Herniaria hirsuta* L. ve *Herniaria argaea* Boiss. Türlerinin Farmakognozik Açıdan İncelenmesi”** başlıklı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesine uygun olarak hazırlanmıştır.

### Hazırlayan

Hatice Özlem UVAT

### Danışman

Prof. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK

### Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK

## KABUL VE ONAY TUTANAĞI

**Prof. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK** danışmanlığında **Hatice Özlem UVAT** tarafından hazırlanan “***Herniaria hirsuta* L. ve *Herniaria argaea* Boiss. Türlerinin Farmakognozik Açıdan İncelenmesi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognози Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

.../.../2025

JÜRİ:

İmza

Danışman: Prof. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK

Üye: Doç. Dr. Selen İLGÜN

Üye: Doç. Dr. Zekiye KOCAKAYA

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulu'nun .... /.../..... tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... /...../ .....

Prof. Dr. Aydın ALAN

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve bitirme tezim boyunca bana değerli rehberlik ve desteklerini sunan, hem bilgi birikimiyle hem de samimiyetiyle kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayıran, üniversite hayatım boyunca kendisinden aldığım dersler sayesinde bitkileri sevip bu dal üzerinde uzmanlaşmak istememe sebep olan kıymetli hocam Prof. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK'a, çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından bilgi birikimini benimle paylaşıp yardımlarını esirgemeyen ve yol gösteren, çalışma azmine hayran olduğum değerli hocam Doç. Dr. Selen İLGÜN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Farmakognozi alanındaki araştırmalarımnda sağladıkları altyapı ve imkânlarla katkı sağlayan Erciyes Üniversitesi akademik ve idari personeline teşekkür ederim. Tez çalışmamı finansal olarak destekleyen 122Z118 kodlu, "Türkiye *Herniaria* L. (Caryophyllaceae) Cinsinin Moleküler Revizyonu ve Cinse Ait Türlerin Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi" başlıklı Tübitak projesine teşekkürlerimi sunarım.

Teşekkürlerimin bir diğerini iş hayatına devam ederken aynı zamanda yüksek lisans yapmamı destekleyen, insanın kendi gelişimine her zaman önem vermesi gerektiğini aşıl原因, kendime bir idol, bir abla olarak gördüğüm, tecrübelerini içtenlikle paylaşan Uzman Eczacı Başak Aksoy Aslan'a, eğitimim dönemim boyunca yanımda olan, fedakarlıklarını benden esirgemeyip gerektiği zamanlarda beni idare eden değerli ekip arkadaşlarım Aslıhan Bulut ve Emin Cebe'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Kayseri'de eğitimim devam ederken yanımda olup bana destek olan değerli arkadaşlarım; Recep Dundar, İrem Köse, Ayşe Yeni ve Sıla Türk'e teşekkür ederim.

Son olarak çalışmamda desteğini ve bana olan güvenini benden esirgemeyen, beni bu günlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiştirerek getiren bu hayattaki en büyük şansım olan canım annem Hülya UVAT ve canım babam Abdulkadir UVAT'a, çok iyi yerlere geleceğine inandığım biricik kardeşim Özgür UVAT'a, bana olan inancını her zaman hissettiğim ve çok özlediğim pamuk dedem Hüdaver TÜZ ve kıymetlim anneannem Afife TÜZ'e sonsuz teşekkürler.

# **HERNIARIA HIRSUTA L. VE HERNIARIA ARGAEA BOISS. TÜRLERİNİN FARMAKOĞNOZİK AÇIDAN İNCELENMESİ**

**Hatice Özlem UVAT**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Farmakognozi Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi, Haziran 2025**

**Danışman: Prof. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK**

## **ÖZET**

Caryophyllaceae familyasına ait *Herniaria hirsuta* L. ve *Herniaria argaea* Boiss. bitkileri Akdeniz bölgesi başta olmak üzere Avrupa'nın ılıman yerlerinde, ön ve orta Asya'da, Afrika'nın kuzey bölgelerinde, Arap yarımadasında yayılış gösterirler.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, *H. hirsuta* ve *H. argaea* bitkilerinin sırasıyla Ankara ve Kayseri illerinden toplanan toprak üstü kısımlarından %80 metanol ile ekstraktlar hazırlanmıştır. Çalışma kapsamında, bu ekstraktların spektrofotometrik analizler ile kimyasal bileşenlerinin (toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinin) belirlenmesi, antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesi ve insan akciğer kanseri hücre hattı (A549) üzerinde sitotoksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Kimyasal bileşenlerin analizi neticesinde, hazırlanan ekstraktlar arasında *H. argaea* ekstresinin hem toplam fenol ( $147,01 \pm 2,72$  mg<sub>GAE</sub>/g<sub>ekstre</sub>) hem de toplam flavonoid ( $35,81 \pm 2,32$  mg<sub>CA</sub>/g<sub>ekstre</sub>) içeriğiyle *H. hirsuta* ekstresine kıyasla daha yüksek içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir. Antioksidan etkilerin belirlenmesinde iki farklı yöntem kullanılmıştır. Bunlar DPPH ve ABTS radikalini süpürme testleridir. Farklı konsantrasyonlarda çalışılan ekstraktlarda, tüm konsantrasyon değerleri için DPPH inhibisyonu gözlenmiştir. *H. argaea* ekstresinin DPPH inhibisyon yüzdeleri aynı konsantrasyonlardaki *H. hirsuta* ekstresinin değerlerinden daha yüksektir. Her iki ekstre için ABTS testi sonuçları değerlendirildiğinde, 1 mg/mL konsantrasyonunda referans madde olan BHA ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Antioksidan aktivite deney sonuçlarına göre çalışılan iki farklı bitki ekstresinin de antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bitki ekstraktlarının A549 hücre hattı üzerindeki sitotoksitesi MTT kolorimetrik yöntemi ile belirlenmiştir. Sitotoksite deneylerinde yüksek konsantrasyonlarda bitki ekstraktları canlılığı %50'nin altına düşürebilmiştir. Ekstreler arasında *H. argaea* ekstresi 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarda canlılığı  $p < 0.001$  anlamlılıkta, *H. hirsuta* ekstresi ise en yüksek konsantrasyonda canlılığı  $p < 0.01$  anlamlılıkta inhibe etmiştir. *H. argaea* ekstresi *H. hirsuta* ekstresine kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda daha yüksek sitotoksite gösterme eğilimindedir.

**Anahtar kelimeler:** Antioksidan; Caryophyllaceae; *Herniaria*; Sitotoksite.

**PHARMACOGNOSTIC INVESTIGATION OF HERNIARIA HIRSUTA L.  
AND HERNIARIA ARGAEA BOISS. SPECIES**

**Hatice Özlem UVAT**

**Erciyes University, Institute of Health Sciences**

**Department of Pharmacognosy**

**Master's Thesis, June 2025**

**Advisor: Prof. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK**

**ABSTRACT**

The plants *Herniaria hirsuta* L. and *Herniaria argaea* Boiss., belonging to the Caryophyllaceae family, are distributed primarily in the Mediterranean region, as well as in temperate areas of Europe, Western and Central Asia, Northern Africa, and the Arabian Peninsula.

In this master's thesis study, extracts were prepared from the aerial parts of *H. hirsuta* and *H. argaea*, collected respectively from the provinces of Ankara and Kayseri, using 80% methanol. The aim of the study was to determine the chemical components (total phenolic and flavonoid contents) of these extracts using spectrophotometric analyses, to evaluate their antioxidant activities, and to investigate their cytotoxic effects on the human lung cancer cell line (A549).

As a result of the chemical component analyses, the extract of *H. argaea* was found to have higher contents of both total phenols ( $147.01 \pm 2.72$  mg GAE/g extract) and total flavonoids ( $35.81 \pm 2.32$  mg CA/g extract) compared to the *H. hirsuta* extract. Two different methods were used to determine antioxidant effects: DPPH and ABTS radical scavenging assays. In the extracts tested at different concentrations, DPPH inhibition was observed at all concentration levels. The DPPH inhibition percentages of the *H. argaea* extract were higher than those of the *H. hirsuta* extract at the same concentrations. When evaluating the ABTS test results for both extracts, no statistically significant difference was found at a concentration of 1 mg/mL compared to the reference compound BHA. According to the antioxidant activity test results, both plant extracts exhibited antioxidant activity.

The cytotoxicity of the plant extracts on the A549 cell line was determined using the MTT colorimetric assay. At high concentrations, the plant extracts were able to reduce cell viability below 50%. Among the extracts, *H. argaea* extract significantly inhibited cell viability at concentrations of 500 and 1000 µg/mL ( $p < 0.001$ ), while *H. hirsuta* extract showed significant inhibition at the highest concentration ( $p < 0.01$ ). The *H. argaea* extract tended to exhibit higher cytotoxicity at lower concentrations compared to the *H. hirsuta* extract.

**Keywords:** Antioxidant; Caryophyllaceae; Cytotoxicity; *Herniaria*

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                               |         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| İÇ KAPAK.....                                                                                                 |         |
| BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....                                                                                  | i       |
| YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....                                                                                 | ii      |
| KABUL VE ONAY TUTANAĞI .....                                                                                  | iii     |
| TEŞEKKÜR.....                                                                                                 | iv      |
| ÖZET .....                                                                                                    | v       |
| ABSTRACT.....                                                                                                 | vi      |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                                             | iii     |
| KISALTMALAR ve SİMGELER .....                                                                                 | vi      |
| TABLolar                                                                                                      | LİSTESİ |
| .....                                                                                                         | vii     |
| i                                                                                                             |         |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                                                                        | ix      |
| 1.GİRİŞ VE AMAÇ.....                                                                                          | 1       |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                                                       | 4       |
| 2.1. Botanik Özellikler .....                                                                                 | 4       |
| 2.1.1. Caryophyllaceae Familyasının Genel Özellikleri .....                                                   | 4       |
| 2.1.2. Caryophyllaceae Familyasına Ait Bazı Türler ve Türkiye’deki Yayılışları.....                           | 4       |
| 2.1.3. Caryophyllaceae Familyasının Botanik Özellikleri.....                                                  | 6       |
| 2.1.4. Caryophyllaceae Familyasına Ait Bitkilerin Etnobotanik Kullanımları ve Farmakolojik Aktiviteleri ..... | 7       |
| 2.1.5. <i>Herniaria</i> Cinsinin Botanik Özellikleri .....                                                    | 8       |
| 2.1.6. <i>Herniaria hirsuta</i> Türünün Botanik Özellikleri.....                                              | 9       |
| 2.1.7. <i>Herniaria argaea</i> Türünün Botanik Özellikleri.....                                               | 10      |
| 2.1.8. <i>Herniaria hirsuta</i> Türünün Coğrafi Dağılımı.....                                                 | 11      |
| 2.1.9. <i>Herniaria argaea</i> Türünün Coğrafi Dağılımı .....                                                 | 11      |
| 2.1.10. <i>Herniaria</i> Cinsinin Etnobotanik Kullanımları ve Farmakolojik Aktiviteleri .....                 | 11      |
| 2.2. <i>Herniaria</i> Türleri ile Yapılan Çalışmalar .....                                                    | 13      |
| 2.2.1. Kimyasal İçerik Çalışmaları .....                                                                      | 13      |
| 2.2.2. Biyoaktivite Çalışmaları .....                                                                         | 19      |

|                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.2.1. Anti-ürolitik Aktivite .....                                                                                               | 19 |
| 2.2.2.2. Diüretik Aktivite .....                                                                                                    | 20 |
| 2.2.2.3. Antioksidan Aktivite .....                                                                                                 | 21 |
| 2.2.2.4. Sitotoksik Aktivite .....                                                                                                  | 21 |
| 2.2.2.5. Kolesterol Değerleri Üzerine Aktivite .....                                                                                | 22 |
| 2.2.2.6. Enzim İnhibisyonu Aktivitesi .....                                                                                         | 22 |
| 2.2.2.7. Antibakteriyel Aktivite .....                                                                                              | 22 |
| 2.2.2.8. Yara Onarıcı Aktivite .....                                                                                                | 23 |
| 2.2.2.9. Toksisite Çalışmaları .....                                                                                                | 23 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....                                                                                                            | 24 |
| 3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler ve Ekipmanlar .....                                      | 24 |
| 3.1.1. Bitkisel Materyal .....                                                                                                      | 24 |
| 3.1.2. Kimyasal Maddeler .....                                                                                                      | 24 |
| 3.1.3. Kullanılan Cihazlar .....                                                                                                    | 24 |
| 3.2. DENEYSEL ÇALIŞMA .....                                                                                                         | 25 |
| 3.2.1. Ekstreleri Hazırlama Yöntemi .....                                                                                           | 25 |
| 3.2.2. Kimyasal İçerik Tespiti .....                                                                                                | 27 |
| 3.2.2.1. Toplam Flavonoit Miktarının Tespiti .....                                                                                  | 28 |
| 3.2.2.2. Toplam Fenol Miktarının Tespiti .....                                                                                      | 28 |
| 3.2.2.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Analizi .....                                                                      | 28 |
| 3.2.3. Antioksidan Aktivite Üzerine Yapılan Araştırmalar .....                                                                      | 29 |
| 3.2.3.1. ABTS <sup>+</sup> • (2,2'-azino-bis (3-etilbenzothiazolin-6-sülfonik asit)) Radikal Süpürme Etkisinin Tayin Edilmesi ..... | 29 |
| 3.2.3.2. DPPH <sup>•</sup> (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Kapasitesinin Tayin Edilmesi .....                        | 30 |
| 3.2.4. Hücre Kültürü Çalışmaları .....                                                                                              | 30 |
| 3.2.4.1. A549 Hücrelerinin Kültüre Edilmesi .....                                                                                   | 30 |
| 3.2.4.2. A549 Hücrelerinin Pasajlama İşlemi .....                                                                                   | 31 |
| 3.2.4.3. A549 Hücre sayımı .....                                                                                                    | 31 |
| 3.2.4.4. Hücre Dondurma ve Saklama .....                                                                                            | 32 |

|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.4.5. A549 Hücre Hattında Sitotoksik Etkinin MTT [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5- difeniltetrazolyum-bromid] Testi ile Belirlenmesi ..... | 32 |
| 3.3. İstatistiksel Analiz .....                                                                                                               | 33 |
| 4. BULGULAR .....                                                                                                                             | 34 |
| 4.1. Ekstreleri Hazırlama Yöntemi, Spektrofotometrik Bileşim Analizleri .....                                                                 | 34 |
| 4.1.1. Ekstreleri Hazırlama Yöntemi .....                                                                                                     | 34 |
| 4.1.2. Toplam Flavonoit ve Toplam Fenol Miktarlarının Tayin Edilmesi .....                                                                    | 34 |
| 4.1.3. İçerik Analizi .....                                                                                                                   | 35 |
| 4.2. Antioksidan Aktivite Üzerine Yapılan Araştırmalar .....                                                                                  | 44 |
| 4.2.1. ABTS <sup>+</sup> • (2,2'-azino-bis (3-etilbenzothiazolin-6-sülfonik asit)) Radikal Süpürme Etkisinin Tayin Edilmesi .....             | 44 |
| 4.2.2. DPPH <sup>•</sup> (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Kapasitesinin Tayin Edilmesi .....                                    | 44 |
| 4.3. Hücre Kültürü Çalışmaları .....                                                                                                          | 45 |
| 4.3.1. A549 Hücre Hattında Sitotoksik Etkinin MTT Testi ile Belirlenmesi .....                                                                | 45 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....                                                                                                                    | 47 |
| 6. KAYNAKLAR .....                                                                                                                            | 51 |
| EKLER                                                                                                                                         |    |
| ÖZGEÇMİŞ                                                                                                                                      |    |

## KISALTMALAR ve SİMGELER

|                   |                                                         |
|-------------------|---------------------------------------------------------|
| ABTS <sup>+</sup> | : 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) |
| A549              | : İnsan akciğer kanseri hücre hattı                     |
| BHA               | : Bütillenmiş hidroksianisol                            |
| Caco-2            | : İnsan kolorektal adenokarsinom hücre hattı            |
| CaOx              | : Kalsiyum oksalat                                      |
| cm                | : Santimetre                                            |
| CO <sub>2</sub>   | : Karbondioksit                                         |
| DMSO              | : Dimetilsülfoksit                                      |
| DPPH              | : 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil                          |
| <i>E. coli</i>    | : <i>Escherichia coli</i>                               |
| FBS               | : Fetal bovine serum                                    |
| g                 | : Gram                                                  |
| HeLa              | : Servikal karsinom hücre hattı                         |
| HepG2             | : Hepatoselüler karsinom hücre hattı                    |
| HLM               | : İnsan karaciğer mikrozomları                          |
| HPLC              | : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi               |
| IC <sub>50</sub>  | : %50 İnhibisyon Konsantrasyonu                         |
| kg                | : Kilogram                                              |
| K-562             | : İnsan kronik miyelojenöz lösemi hücre hattı           |
| L                 | : Litre                                                 |
| LC-MS             | : Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometrisi                |
| M                 | : Molar                                                 |
| MDCK              | : Madin-Darby köpek böbreği hücre hattı                 |
| MCF-7             | : Meme adenokarsinomu hücre hattı                       |

|                                        |                                                                                          |
|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| mg                                     | : Miligram                                                                               |
| mg <sub>CA</sub> /g <sub>ekstre</sub>  | : Gram ekstre başına miligram kateşin eşdeğeri                                           |
| mg <sub>GAE</sub> /g <sub>ekstre</sub> | : Gram ekstre başına miligram gallik asit eşdeğeri                                       |
| mg <sub>QE</sub> /g <sub>ekstre</sub>  | : Gram ekstre başına miligram kuersetin eşdeğeri                                         |
| mL                                     | : Mililitre                                                                              |
| mM                                     | : Milimolar                                                                              |
| mm                                     | : Milimetre                                                                              |
| mmol                                   | : Milimol                                                                                |
| MTT                                    | : 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid                              |
| NCI-H460                               | : Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hattı                                      |
| nm                                     | : Nanometre                                                                              |
| nM                                     | : Nanomolar                                                                              |
| PBS                                    | : Fosfat tamponlu salin                                                                  |
| rpm                                    | : Dakikadaki dönüş sayısı                                                                |
| S9 fraksiyonları                       | : Karaciğer homojenatının 9000g'de santrifüjlenmesiyle elde edilen süpernatant fraksiyon |
| TEAC                                   | : Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi                                                |
| µg                                     | : Mikrogram                                                                              |
| µL                                     | : Mikrolitre                                                                             |
| µM                                     | : Mikromolar                                                                             |

## TABLÖLAR LİSTESİ

|                                                                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 2.1.</b> <i>Herniaria</i> türlerinden elde edilen bazı flavonoidlerin yapısal özellikleri. ....                  | 14 |
| <b>Tablo 2.2.</b> <i>Herniaria</i> türlerinden elde edilen saponinler (saponin 1-19 arası). ....                          | 15 |
| <b>Tablo 2.3.</b> <i>Herniaria</i> türlerinden elde edilen saponinler (saponin A-F arası). ....                           | 18 |
| <b>Tablo 4.1.</b> <i>H. hirsuta</i> ve <i>H. argaea</i> ekstraktlarının toplam fenol ve toplam flavonoid miktarları. .... | 35 |
| <b>Tablo 4.2.</b> Ekstrelerde tespit edilen bileşikler ve miktarları (mg bileşik/ g ekstre).....                          | 37 |
| <b>Tablo 4.3.</b> Analitik validasyon parametreleri .....                                                                 | 41 |
| <b>Tablo 4.4.</b> Ekstrelerin DPPH radikalini süpürücü etkileri.....                                                      | 45 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|            |                                                                             |    |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1. | <i>Herniaria argaea</i> bitkisinin Türkiye'deki dağılımı.....               | 5  |
| Şekil 2.2. | <i>Herniaria hirsuta</i> bitkisinin Türkiye'deki dağılımı .....             | 6  |
| Şekil 2.3. | Caryophyllaceae familyasında karakterize belirgin nodül örneği.....         | 7  |
| Şekil 2.4. | <i>Herniaria hirsuta</i> türüne ait herbaryum örneği.....                   | 9  |
| Şekil 2.5. | <i>Herniaria argaea</i> türüne ait herbaryum örneği.....                    | 10 |
| Şekil 2.6. | <i>Herniaria hirsuta</i> , Goral Hills, İsrail .....                        | 11 |
| Şekil 3.1. | <i>Herniaria</i> cinsi bitkilerin toprak üstü kısımları. ....               | 26 |
| Şekil 3.2. | Bitkisel materyalin masere edilmesi. ....                                   | 26 |
| Şekil 3.3. | Filtrasyon işlemi.....                                                      | 27 |
| Şekil 3.4. | Rotavapor cihazında ekstrelerin çözücülerinin buharlaştırılması işlemi..... | 27 |
| Şekil 4.1. | <i>H. argaea</i> ekstresi kromatogramı.....                                 | 35 |
| Şekil 4.2. | <i>H. hirsuta</i> ekstresi kromatogramı.....                                | 36 |
| Şekil 4.3. | Ekstrelerin ABTS radikali süpürücü aktiviteleri. ....                       | 44 |
| Şekil 4.4. | <i>H. hirsuta</i> ekstresinin A549 hücre hattındaki toksisitesi. ....       | 46 |
| Şekil 4.5. | <i>H. argaea</i> ekstresinin A549 hücre hattındaki toksisitesi. ....        | 46 |

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tarih boyunca bitkiler çeşitli amaçlar doğrultusunda kullanılmıştır. Özellikle hastalıklarla mücadelede sıkça başvurulmuş ve bu kullanım günümüze kadar ulaşmıştır. Öyle ki bugün kullandığımız müstahzarların dörtte birinin bileşimini bitkisel kaynaklar oluşturmaktadır. Bununla birlikte, bazı bölgelerde bitkisel tedaviler ilaçlardan ziyade mevcut veya ekonomik olarak ulaşılabilir halk sağlığı hizmeti seçeneği olmaya devam etmektedir (Wachtel-Galor ve Benzie, 2011).

Türkiye, Dünya üzerinde bitkisel zenginliğe sahip bir ülkedir. Özellikle bu durumu etkileyen bazı faktörler vardır. Bunlar arasında ülkenin coğrafi olarak yerleşimi, ılıman iklim kuşağı içerisinde bulunması, farklı bölgelerdeki iklim ve toprak çeşitliliği, yeryüzü şekillerinin farklılıkları gibi faktörler bitki örtüsünün ve tür zenginliğinin artmasına neden olmaktadır (Avcı, 2014). Bu veriler bize Türkiye'nin bitki zenginliği üzerindeki önemini gösterirken sahip olunan dikkat çekici bitki çeşitliliği içerisinde yer alan Caryophyllaceae familyasına ait *Herniaria* türleri, bu coğrafyanın özgün florasının bir parçası olarak önem taşımaktadır. Bu çalışma Türkiye florasının daha iyi tanınmasına katkı sağlamak amacıyla Türkiye'deki *Herniaria* türlerinden olan *Herniaria hirsuta* L. ve *Herniaria argaea* Boiss. bitkilerini farmakognozik açıdan incelemeyi amaçlamaktadır.

Caryophyllaceae ailesi Angiospermilerin geniş ailelerindendir. 80'den fazla cins ve 2400'den fazla tür barındıran aile üyeleri Kuzey Yarımküre başta olmak üzere ılıman iklimin hâkim olduğu bölgelerde bulunur. Park bahçe düzenlemelerinden tıbbi uygulamalara kadar çeşitli alanlarda kullanım yelpazesine sahip bitki üyeleri içerik olarak saponin ve uçucu yağlar bakımından zengindir (Yang ve ark., 2024).

Fıtık otu olarak bilinen *Herniaria* bitkileri halk arasında çoğunlukla fıtık tedavisinde kullanıldıklarından bu tıbbi kullanımına atıfta bulunarak isimleri türetilmiştir (Amer, 1991). *Herniaria* cinsinin Türkiye’de 12 türü tespit edilmiştir. Bu türler arasında *H. hirsuta* ve *H. argaea* bulunmakla birlikte *H. argaea* Türkiye’ye özgü endemik bir bitkidir (Güner, 2012). *Herniaria* cinsi bitkiler, tek ya da çok yıllık otsu bitkilerden oluşur. Bitkinin gövde kısmı çoğunlukla yere yatık, çok sayıda dal içeren dairesel bir düzen şeklinde sıralanmıştır. Yapraklar incelendiğinde kenarları düz, tüye sahip veya tüyü olmayıp karşılıklı bir diziliş gösterirler. Küçük boyutlu stipül benzeri yapılar (yan yaprakçıklar) taşımaktadırlar (Boissier ve Buser, 1867).

Bitkiler tarih boyunca çok çeşitli amaçlar için kullanılmışlardır. Bundan dolayı üzerinde detaylı araştırmalar yapılan bitkilerin, temel olarak hücrenin hayatta kalması için gereken birincil adı verilen metabolitleri ve büyüme, savunma gibi mekanizmalarda kullanılan, yapılarında azot bulunup bulunmamasına göre ayrılan, tanımlanan binden fazla çeşide sahip ikincil adı verilen metabolitleri ürettikleri belirlenmiştir. Sekonder metabolit ailesinden biri olan fenolik bileşiklerin literatürde yapılan deneyler sonucunda güçlü antioksidan etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu antioksidan etkinin yapılarında bulunan aromatik halkaya bağlanan gruplar ve yapılarındaki hidroksil gruplarının sayısı ile orantılı olduğu düşünülmektedir. Anlatımlarda akademik dile dikkat edelim lütfen öneri Bitkilerde antioksidan aktivitenin belirlenmesine yönelik olarak çeşitli analitik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında yer alan serbest radikal süpürme testleri, bitkisel ekstraktların oksidatif stresle ilişkili hastalıkların gelişim sürecine etkisini değerlendirmede önemli bir araçtır (Kasote ve ark., 2015).

Serbest radikal ve oksidatif stres arasındaki ilişkiyi anlamak için öncelikle mekanizmasının anlaşılması gerekmektedir. Reaktif oksijen türleri yapısında reaktif oksijen bileşiği bulunduran, serbest radikale sahip veya sahip olmayan moleküllere denir. Ayrıca oksijen içermeyen reaktifler de bulunmaktadır. Metabolik olaylar sonucunda reaktif türler vücutta açığa çıkmasına karşın antioksidan sistem sayesinde zararlı etkileri engellenmektedir. Reaktif türler vücudumuzda birden fazla olayda rol alır. Örneğin immün sistem hastalıkları önlemeye yönelik çalışırken reaktif türleri kullanır. Eğer bu türler çok fazla üretilir ve antioksidanlar tarafından dengelenemezse oksidatif stres açığa çıkar ve hücrede birçok zarara sebep olur. Yapılan araştırmalar

açığa çıkan oksidatif stresin birçok rahatsızlıkla bağlantılı olduğunu tespit etmiştir (Demirci-Çekiç ve ark., 2022).

Kanser, dünya genelinde en önemli ölüm nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü, kanseri vücudun çevre dokularına yayılabilen ve/veya uzak organlara metastaz yapabilen anormal hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla karakterize edilen geniş kapsamlı bir hastalık grubu olarak tanımlamaktadır (WHO, 2022). Bitkilerin gösterdiği antioksidan özellikler, bu organizmaların gıda yoluyla alınmaları durumunda yaşam süresini uzatabileceği ve antimutajenik etkiler sağlayabileceği düşüncesini ortaya çıkarmıştır. Günümüzde, artan mutasyon oranları ve kanser vakaları, antimutajenik ve antikarsinojenik etkilere sahip bileşiklerin araştırılmasını ve keşfini zorunlu hale getirmiştir. Özellikle kansere karşı koruyucu etki gösteren metabolitlerin çeşitli hastalıklar üzerindeki baskılayıcı etkileri hem in vitro hem de in vivo çalışmaların yanı sıra epidemiyolojik verilerle desteklenmiş; bu durum, koruyucu özellik taşıyan bitkisel kaynaklara olan ilginin artmasına neden olmuştur (Lobo ve ark., 2010).

Literatür taraması sonucunda *Herniaria* cinsine ait türler üzerinde yapılan antioksidan ve sitotoksik aktivite çalışmaları bulunmuştur (Borhane ve ark., 2015), (Kozachok ve ark., 2018). Ulaşılan bilgiler ışığında bu yüksek lisans tezinde çalışılan türlerin aktivitelerinin, tespit edilen türler ile benzer özelliklere sahip olabileceği hipotezi öne sürülmüştür. Mevcut bilimsel yayınlar incelendiğinde *H. argaea* ve *H. hirsuta* türlerinin biyolojik aktiviteleri hakkında sınırlı sayıda çalışma olduğu belirlenmiştir. Günümüze kadar çeşitli hastalıkların tedavisinde rol alan bitkilerden *Herniaria* türlerinin geleneksel kullanımlarının bilimsel olarak değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada elde edilen verilerin tez konusu olan bitkilerin geleneksel kullanımlarının bilimsel dayanaklarının güçlendirilmesi ve potansiyel yeni kullanım alanlarının belirlenmesine katkı sağlanması beklenmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Botanik Özellikler

#### 2.1.1. Caryophyllaceae Familyasının Genel Özellikleri

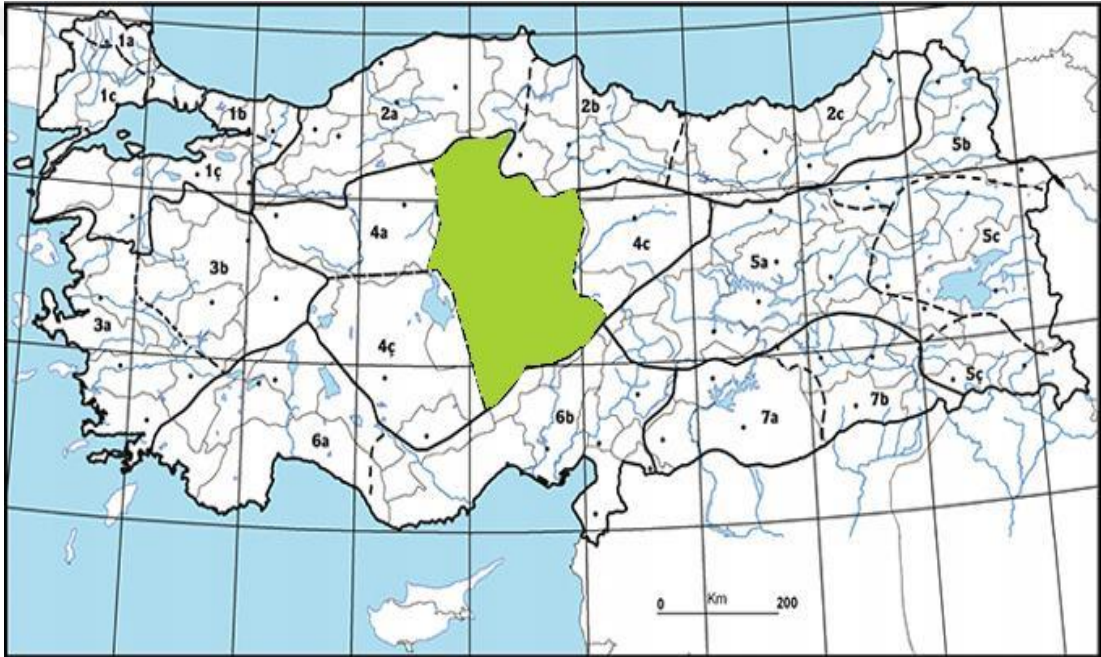
Caryophyllaceae familyası ılıman yerler başta olmak üzere Kuzey Yarımküre’de yaygın olarak bulunur ve dünya genelinde geniş bir coğrafyada görülür. İçinde 80’den fazla cins ve 2400’den fazla tür barındırır. Paronychioideae, Alsinoideae ve Caryophylloideae adında üç alt familyası bulunan ailede bu sınıflandırma stipül, kaliks ve korolla farklılığına göre yapılır. Tez konusu olan *Herniaria* L. Paronychioideae alt familyasına mensuptur (Jakimiuk ve ark., 2022). Aile üyelerinin yetiştiği yerler arasında çimenlik alanlar, savanlar ve yarı çöller gibi ortamlar yer alır. Ayrıca, yol kenarları, kayalık alanlar ve kaya yarıkları gibi bozulmuş veya marjinal habitatlarda da doğal olarak yayılım göstermektedirler (Larsen, 2002).

#### 2.1.2. Caryophyllaceae Familyasına Ait Bazı Türler ve Türkiye’deki Yayılışları

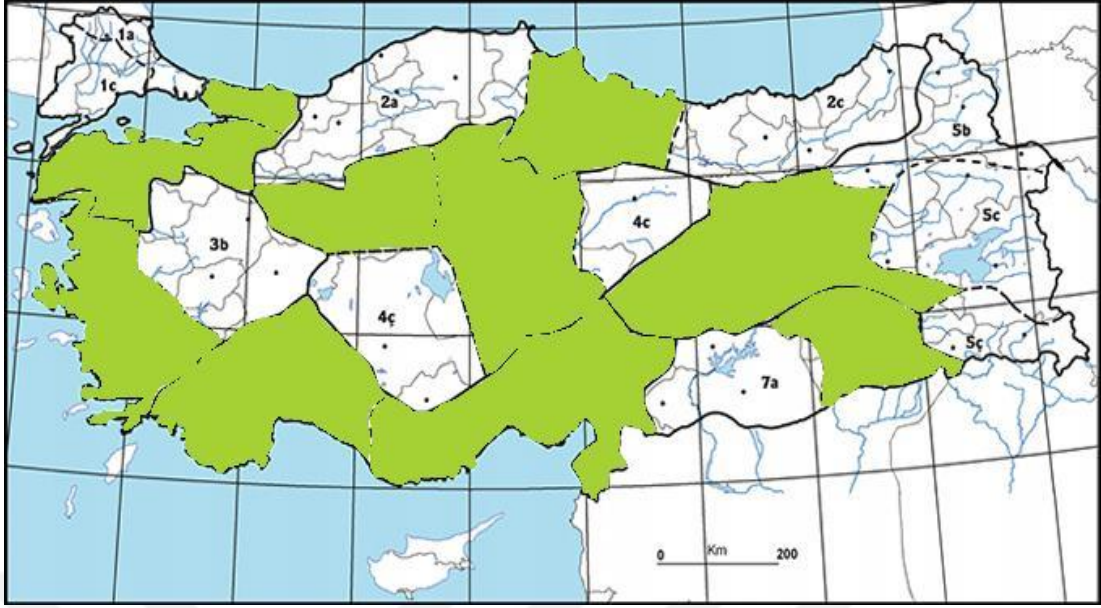
Familyanın dünyaca ünlü bazı üyeleri; *Dianthus caryophyllus* (karanfil), *Gypsophila venusta* (çöven otu), *Saponaria officinalis* (sabun otu), *Agrostemma githago* (karamuk)’dur (Tanker ve ark., 2007).

35’ten fazla cins 550’den fazla tür ile Türkiye’de yetişen çok sayıda Caryophyllaceae üyesi vardır (Güner, 2012). Familyaya ait Türkiye’de yetişen *Cerastium* L. (Boynuz otu) cinsine ait 30’dan fazla tür belgelenmiştir. Bunlardan bazıları ve görüldükleri yerler şu şekildedir; *Cerastium ligusticum* türünün Muğla Köyceğiz, *Cerastium longifolium* türünün Van Muradiye, *Cerastium fragillimum* türünün İstanbul Kartal bölgesinde dağılım gösterdiği belirlenmiştir (Keskin ve Menemen, 2023). *Dianthus* L. cinsine ait *Dianthus pallens* türünün İstanbul, Karaman gibi çeşitli bölgelerde, *Dianthus plumbeus* türünün ise Erzurum bölgesinde dağılım gösterdiği belirlenmiştir (Hamzaoglu ve Koç, 2019). *Gypsophila* L. cinsine ait 35’i Türkiye coğrafyasına

özgü olmakla birlikte 50'den fazla tür bulunur. Bulunduğu yerler arasında Ankara, Çankırı bölgesi örnek olarak verilebilir (Korkmaz ve ark., 2019). Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda Türkiye'de 40'tan fazla türü bulunan *Minuartia* L. cinsine ait yeni bir tür olan *Minuartia sechmenii* Gökçada taraflarında keşfedilmiştir (Yıldız ve Dirmenci, 2022). *Herniaria* L. cinsine ait farklı türler de Türkiye'de yayılım gösteren Caryophyllaceae üyelerine olarak örnek verilebilir. Tez konusu olan *Herniaria hirsuta* ve *Herniaria argaea* bitkilerinin Türkiye üzerindeki coğrafi dağılımı aşağıdaki şekillerde gösterildiği gibidir. *H. argaea* bitkisi İç Anadolu bölgesinde yetişirken, *H. hirsuta* bitkisi için birden fazla bölge doğal olarak yetiştirme alanını oluşturmaktadır.



**Şekil 2.1.** *Herniaria argaea* bitkisinin Türkiye'deki dağılımı (Bizim Bitkiler®, 2025a).



**Şekil 2.2.** *Herniaria hirsuta* bitkisinin Türkiye’deki dağılımı (Bizim Bitkiler®, 2025b).

### 2.1.3. Caryophyllaceae Familyasının Botanik Özellikleri

Familyanın üyeleri morfolojik olarak incelendiğinde çoğunlukla otsu bitkilerken; çalılar, sarmaşıklar aynı zamanda ağaçlara da ev sahipliği yapar. Botanik özelliklerine bakıldığında yapraklar çoğunlukla karşılıklı diziliş gösterirken stipül içermez. Dörtlü ya da beşli simetrik yapıları olan çiçekler hem erkek hem de dişi organları bünyesinde barındırabilirken yalnızca bir cinsiyeti de taşıyabilirler. Çiçek sapı çiçeğin alt kısmında konumlanır. Çoğunlukla çanak yapraklar birleşmiş durumda taç yapraklar birbirinden ayrıdır (Simpson, 2010).

Familyanın tanımlanmasına yardımcı niteliklerden bazıları şu şekildedir; gövde üzerinde belirgin düğümlerle karakterize olması, çoğu bitkide meyvenin kapsül şeklinde olup içerisinde çok sayıda tohum barındırması, ovaryumun çiçeğin diğer organlarından yukarıda yani üst durumlu olması, ovüllerin taban kısmına yakın ya da ortada serbest bir şekilde yerleşim düzenine sahip olması, taç yaprakların pençeli bir formda bulunması (Bittrich, 1993).

Familyaya ait bitkilerdeki saponin varlığı bitki kesitlerinin su ile karıştırılmasıyla olan temasında köpük meydana getirmesine neden olur. Bitkilerin farklı kısımlarında miktarları değişse de saponinin en fazla konsantrasyonda olduğu yerler kök ile tohumlardır. Ayrıca antosiyanin ve C-glikozilflavonoid içermeleri belirgin

özelliklerindendir. Bu içeriklerin haricinde aile üyelerinden yağ asidi türevleri, benzenoidler, fenil propanoidler, izoprenoidler ve azotlu bileşikler elde edilmektedir (Jakimiuk ve ark., 2022).



**Şekil 2.3.** Caryophyllaceae familyasında karakterize belirgin nodül örneği (Simpson, 2010. *Plant Systematics*, ScienceDirect)

#### **2.1.4. Caryophyllaceae Familyasına Ait Bitkilerin Etnobotanik Kullanımları ve Farmakolojik Aktiviteleri**

Pembe ailesi ya da karanfil ailesi ismiyle bilinen Caryophyllaceae üyelerine Çin başta olmak üzere pek çok toplum tedavi yöntemlerinde başvurmaktadır. Familyaya mensup bitkiler üzerinde yapılan araştırmalar bu bitkilerin kanser gelişimini baskılama, oksidatif stresi azaltma, bakteri, mantar ve virüsleri inhibe etme, inflamasyonu azaltma gibi etkiler taşıdığını ortaya koymaktadır (Chandra ve Rawat, 2015). *Dianthus* cinsiyle yapılan çalışmalardan elde edilen bazı veriler şunlardır: *Dianthus caryophyllus*'tan elde edilen kamferid kolon kanseri hücrelerinde, *Dianthus chinensis*'ten elde edilen etanol ekstresi karaciğer kanseri hücrelerinde hücre çoğalmasını baskılar (Haspolat, 2024).

Tıbbi kullanım alanları dışında ise bazı türler estetik görünümüleriyle bahçe ve iç mekanları süslemek amacıyla tercih edilmektedir (Mamadalieva ve ark., 2014). *Silene* L. cinsine ait *Silene acaulis*, *Silene multifida* ve *Silene regia*, *Dianthus* cinsine ait *Dianthus cruentus* (Haspolat, 2024), *Gypsophila* cinsine ait *Gypsophila paniculata* (Kaya ve ark., 2012) bunlara örnek olarak verilebilir. Çalışma kapsamında ele alınan *Herniaria* cinsi bitkilerin kullanımları aşağıda ayrı bir başlık altında verilmektedir.

### 2.1.5. *Herniaria* Cinsinin Botanik Özellikleri

30'dan fazla türe ev sahipliği yapan *Herniaria* bitkileri genellikle kurak ve kumlu topraklarda, aynı zamanda tarım arazilerinde ve bağlarda yetiştirme eğilimindedir. Bu bitkilerin coğrafi dağılımlarına bakıldığında Akdeniz bölgesi başta olmak üzere Avrupa'nın ılıman yerlerinde, ön ve orta Asya'da, Afrika'nın kuzey bölgelerinde, Arap yarımadasında yayılım gösterirler. *Herniaria* cinsi bitkiler, tek ya da çok yıllık otsu bitkilerden oluşur. Bitkinin gövde kısmı çoğunlukla yere yatık, çok sayıda dal içeren dairesel bir düzen şeklinde sıralanmıştır. Yapraklar incelendiğinde kenarları düz, tüye sahip veya tüyü olmayıp karşılıklı bir diziliş gösterirler. Ufak yan yapraklar barındırırlar (Hegi, 1979).

4-5 adet düz-iç bükey kabarık yapıda kaliks gözlemlenirken petallerin yapısı ince ve ip benzeri biçimdedir. Çiçekteki erkek organların sayısı 5, 4 ya da 2 adet olarak farklılık gösterir. Dişi organı iki ayrı veya birleşik stilus parçasından oluşmaktadır. Tohum yapısı kök kısmına benzer yapılarla donatılmıştır. Cins, güçlü ve belirgin yapraklara sahiptir (Boissier ve Buser, 1867).

Türler incelendiğinde soğuk ve kuraklık da dahil olmak üzere zorlu koşullara karşı dirençli olan *H. glabra* gölgeli ortamlarda değil ışık ihtiyacı yüksek ortamlarda yetişir (Seyedabadi ve ark., 2021). Besin maddelerinden fakir ve yüksek pH seviyelerine sahip olan serpantin ismiyle tanımlanan topraklarda yetişen *H. glabra* gübre ve besince zenginleştirilmiş topraklarda daha iyi gelişim gösterdiğinden yetiştirme alanlarına uyum sağlayarak hayatta kalmayı başarmıştır ve aslında serpantin topraklara özgü bir tür değildir (Ricotta ve ark., 2004).

#### 2.1.6. *Herniaria hirsuta* Türünün Botanik Özellikleri



**Şekil 2.4.** *Herniaria hirsuta* türüne ait herbaryum örneği (Consortium of Midwest Herbaria, 2025).

Caryophyllaceae familyasından *Herniaria* cinsine ait olan *H. hirsuta* yaşam döngüsü tek yıllık olan, yüzeyi sık tüylerle kaplı, grimsi yeşil renge sahip bir bitkidir. Boyu 20 cm'den kısa olup gövdesi ya yere yatık bir formda ya da yerden hafifçe yüksektir. Diğer *Herniaria* türlerinden ayırt edilmesine yardımcı olan karakteristik özelliği tüylerinin çanak yaprakta dikenimsi, periginöz bölgede çengelli olmasıdır. Gövdenin alt kısmında karşılıklı durumda olan yapraklar üst gövdede sıralı ve tek tek konumlanmıştır. Yapraklar küçük olmakla birlikte morfolojik olarak lamina eliptik veya oblanceolat şeklindedir. 2 mm'den küçük olan çiçekler yaprakların gövdeye bağlandığı yerlerde veya kısa dallar üzerinde gruplar halindedir. Her bir çiçek grubu 3 ila 8 çiçeğe sahiptir. Çiçeğin içyapısında bulunan üreme organlarından stamenlerin sayısı 2, 3 veya 5 olarak değişkenlik göstermekte stiller ise ayrı ayrı ya da alt kısımları kısmen birleşik şekildedir. Döllenmeden sonra çiçek, boyutu neredeyse çanak yapraklar gibi 1 mm'den küçük meyveye dönüşür (Al-Snafi, 2018). Bitkinin çiçeklenme dönemi yaz aylarıdır (Eliaş, 2012). *Herniaria* herba, kurutulduğunda kumarin benzeri karakteristik bir koku yaymakta olup, tadı hafif acımsıdır. Mikroskopik özellikleri incelendiğinde yapraklarda epidermisinin dalgali bir yapıya sahip olduğu ve dikenimsi tüylerinin boyutlarının 250 µm'ye ulaşabildiği dikkat

çeker. Dış yüzey ise taneciklidir. Yaprakların iç kısmındaki mezofil tabakası, uzun olmayan sıralı palizat hücrelerinden ve 40 µm'ye ulaşan boyutlarda kalsiyum oksalat druzlarına sahip süngerimsi bir dokuya sahiptir. Polenin yapısı düz ve 3 yarıklı bir çıkış açıklığına sahiptir. Gövde yaprak epidermisindeki gibi tüyler ve kalsiyum oksalat druzları, odun ve kabuk lifleri içerir (Strasser, 2011).

#### 2.1.7. *Herniaria argaea* Türünün Botanik Özellikleri



**Şekil 2.5.** *Herniaria argaea* türüne ait herbarium örneği (Royal Botanic Gardens, Kew, 2025).

Caryophyllaceae familyasından *Herniaria* cinsine ait olan *H. argaea* yaşam döngüsü çok yıllık olup, kısa yere yatık bir formda gövdeye sahiptir. Yapraklar küçük olmakla birlikte morfolojik olarak lamina obovat şeklindedir. Çiçekler, sapsız bir yapıda olup, 7 ila 10 çiçekten oluşan toplu bir düzen içinde sıralanmıştır. Çanak yaprağın yapısı oval şekilde kadifemsi bir dokudadır. Çiçeğin içyapısında bulunan üreme organlarından stil kısa yapıda, stigma ise başlı, iki lobludur.

*H. argaea* ve *H. hirsuta* türleri arasındaki morfolojik farklılıklar birbirlerinden ayırt edilmelerini sağlar. Temel farklar yaprakların şekli, boyutu ve tüylülüğü ile çanak yaprakların tüylülüğüdür. *H. argaea*'nın obovat, tüysüz veya kısa kenar tüycükleri olan yaprakları ve kadifemsi çanak yapraklarına karşılık, *H. hirsuta*'nın yaprakları daha küçük, oval ve küt, çanak yaprakları ise kısa ve eşit tüylüdür (Boissier ve Buser, 1867).

#### 2.1.8. *Herniaria hirsuta* Türünün Coğrafi Dağılımı



**Şekil 2.6.** *Herniaria hirsuta*, Goral Hills, İsrail (Kew Botanik Bahçeleri, 2003).

Afrika'nın kuzey ve doğu bölgeleri, Orta Doğu, Orta Asya, Kafkasya, Batı, Orta ve Güney Avrupa türün doğal olarak geniş bir coğrafyada yayılış gösterdiği yerlerdendir. Doğal yaşam alanları kumlu veya tınlı adı verilen farklı toprak tiplerinden oluşur. Genellikle pH değeri 7 veya 7'den düşük topraklarda bulunur. Doğal yaşam alanlarının yanı sıra demiryolu ve kaldırım kenarlarında da yetişebildiği gözlemlenmiştir (Eliaş, 2012).

#### 2.1.9. *Herniaria argaea* Türünün Coğrafi Dağılımı

Bitki, Türkiye'ye ait endemik bir tür olmakla birlikte özellikle Kayseri bölgesinde yayılım göstermektedir. Erciyes Dağı ve çevresinde Tekir Yokuşu'nun yüksek rakımlı bölgelerinde (Vural ve Aytaç, 2005) Hisarcık Kapısı girişinin güneyinde (Koç ve Hamzaoglu, 2014), Pınarbaşı ilçesinde kaya yamaçlarından toplanan örneklerde (Dönmez, 2000) tespit edilmiştir. Ayrıca, Antalya-Isparta geçiş bölgesi (Özçelik, 2012) ile Giresun ilinde (Bahadır, 2022) yapılan floristik çalışmalarda da varlığı rapor edilmiştir.

#### 2.1.10. *Herniaria* Cinsinin Etnobotanik Kullanımları ve Farmakolojik Aktiviteleri

*Herniaria* cinsi bitkileri halk arasında birçok rahatsızlıkta tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Bunlardan bazılarına örnek olarak; Fas'ta yaşayanlar *Herniaria cinera* bitkisinin su ile yapılan infüzyonuna antienflamatuar ve analjezik etkisi için başvurumaktadırlar (Lefrioui ve ark., 2024). Bosna-Hersek'te ise yerel halk *Herniaria*

cinsi bitkileri dekoksasyon yöntemiyle hazırlayıp mesane enfeksiyonunda, özellikle *H. hirsuta* ve *H. glabra* türlerinin çayını idrar söktürücü etkisi için kullanılmaktadır (Šarić-Kundalić ve ark., 2010). Kansere tedavisi almakta olan bireyler üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada *H. glabra* bitkisinin kaynatma yoluyla hazırlanarak içilmesinin sindirim sistemi ve böbrekler üzerinde oluşan kanserlerde etkili olduğu inancıyla kullanıldığı raporlanmıştır (Kabbaj ve ark., 2012). Fas halkının önemli bir çoğunluğunun bitkilerle tedaviyi halen kullandıkları bilinmektedir. Etnobotanik araştırmalar için Arrout ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada Fas'ta hastanede yatmakta olan ve safra taşı rahatsızlığı bulunan 128 bireye bir anket yapılmış ve anket sonucunda bireylerin sıklıkla başvurduğu bitkisel tedavilerde *H. hirsuta* öne çıkmıştır (Arrout ve ark., 2024). Her ne kadar bitkiler masum gibi görünüp halk tarafından kullanılsa da unutulmamalıdır ki bitkinin kullanılma dozu ve sıklığı bireyde istenmeyen sonuçlara yol açabilir. Yine Fas'ta hastanede yatmakta ve aynı zamanda böbrek hastalığı olup bitkileri tedavi amaçlı kullanan bireylerde yapılan bir çalışma sonucunda nefrotoksisiteye sebep olan bitkilerin başında *H. hirsuta* gelmektedir (Touiti ve ark., 2019). Geleneksel bitkisel tedavilerde kullanılan *H. hirsuta* bitkisinin çiçekli kısmının idrar yolu ile ilgili problemlerde kullanımının yer bulduğu Avrupa Birliği'nin bilimsel denetimi altında olan Avrupa İlaç Ajansı tarafından hazırlanan raporda belirtilmiştir (European Medicines Agency, 2021). Bencheikh ve arkadaşları ise çalışmalarında 1991'den 2019'a kadar Fas'ta yapılmış olan literatür çalışmalarını taramış ve halkın farklı sağlık sorunlarını tedavi etmek amacıyla kullandıkları bitkiler değerlendirilmiştir. Çalışmada ele alınan 290 farklı tıbbi bitkiden böbrek sorunlarında yaygın kullanılanların başında *H. hirsuta subsp. cinerea* (DC.) gelmektedir (Bencheikh ve ark., 2022). Meiouet ve ekibinin yaptığı deneyler sonucunda böbreklerde sistin birikimi sonucu oluşan taşlar *H. hirsuta*'nın infüzyonundan hazırlanan ekstreye belirli süreyle temasa sokulmuş ve süre sonunda taşların boyutunda ya da yapısında değişiklik olup olmadığı incelenmiştir. Bitkinin sahip olduğu bileşenlerin sistin taşları üzerinde çözünürlük artırıcı etkilerinin olabileceği ancak ileri çalışmalara gereksinim duyulduğu belirtilmiştir (Meiouet ve ark., 2011). Bitkinin yaprak ve sap gibi toprak üstü kısımlarının su ile kaynatılarak hazırlanmasıyla elde edilen ekstre, halk hekimliğinde kan kanseri tedavisinde geleneksel bir şifa kaynağı olarak kullanılmaktadır (Amrati ve ark., 2021).

bölge sakinleriyle yapılan çalışmada halkın Burst wort olarak bilinen *H. hirsuta*'nın çeşitli kısımlarını kullanarak şurup formunda hazırlayıp idrar yolu problemlerinde, solunum yollarını açıcı olarak ve yara onarımında kullandıkları belirlenmiştir (Al-Qura'n, 2009). *H. hirsuta*'nın doğum sonrası dönemde karın ağrısı gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığı bildirilen bitkiler arasında yer almaktadır (Muatasim Jan ve ark., 2023). Elçi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Ankara ili Güdül ilçesinde halk tarafından kullanılan 35 bitki araştırılmış ve bunların arasında sabun otu adıyla bilinen *H. argaea*'nın toprak üstü kısımlarının antiseptik olarak kullanıldığı tespit edilmiştir (Elçi ve Erik, 2006).

Piyasada yapılan araştırma sonucunda Avusturya bölgesinde *Herniaria* herba adı altında *H. glabra* ve *H. hirsuta* bileşimine sahip bitki çayları satılmaktadır. Bunun haricinde İtalya'da ise *Herniaria* cinsi bitkileri içeren takviye edici gıda Renalit Combi Colic olarak bulunmaktadır (Van Dooren, 2016).

## **2.2. *Herniaria* Türleri Ile Yapılan Çalışmalar**

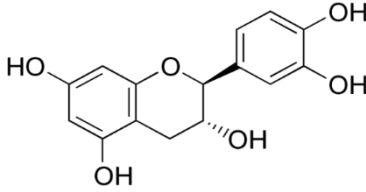
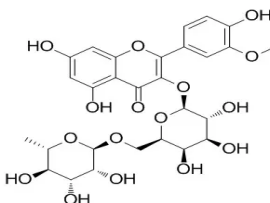
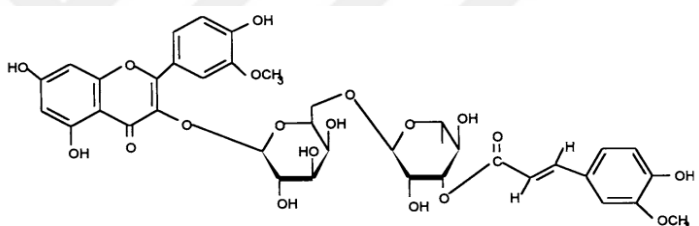
### **2.2.1. Kimyasal İçerik Çalışmaları**

*Herniaria*'ların içerdiği medikagenik asit, bitkilerde doğal olarak bulunan bir triterpenoid saponindir (Böttger ve Melzig, 2011).

*Herniaria* cinsinin biyolojik aktivitelerinin sebep olduğu sekonder metabolitleri ile ilgili literatürde çalışmalar bulunmaktadır. Bunlardan biri *H. fontanesii*'nin incelendiği Mbark ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmadır. Çalışmada belli standartlardaki çözücülerle art arda ekstraksiyon yapıp yapı detaylı olarak incelendiğinde flavonoidlerin ve saponinlerin izolasyonu yapılmıştır (Mbark ve ark., 1999).

Yapılan literatür taramasında özellikle saponinlerin varlığı keşfedilmiş ve farklı şeker gruplarının glikozidik bağlarla birbirine bağlandığı tespit edilmiştir.

**Tablo 2.1.** *H5erniaria* türlerinden elde edilen bazı flavonoitlerin yapısal özellikleri.

| Bitkinin türü        | Bileşiğin Kimyasal Yapısı                                                                                                              | Kaynak                |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| <i>H. fontanesii</i> | <p>(-) Kateşin (2 <i>S</i>, 3 <i>R</i>)</p>          | (Mbark ve ark., 1999) |
| <i>H. fontanesii</i> | <p>İzoramnatin 3-O-robinobiozit</p>                  | (Mbark ve ark., 1999) |
| <i>H. fontanesii</i> | <p>İzoramnatin 3'''-feruloil-3- O-robinobiozit</p>  | (Mbark ve ark., 1999) |

**Tablo 2.2.** *Herniaria* türlerinden elde edilen saponinler (saponin 1-19 arası).

| <b>Bulunduğu Tür</b> | <b>Bileşik Adı</b>         | <b>Kimyasal Adlandırma</b>                                                                                                                                                                                                                                         | <b>Kaynak</b>             |
|----------------------|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| <i>H. glabra</i>     | <i>Herniaria</i> saponin 1 | 28-O-[ $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)-3,4-di-O-asetil- $\beta$ -D-fukopiranozil-(1 $\rightarrow$ )]-medikajenik asit-3-O- $\beta$ -D-glukuronit                                                     | (Reznicek ve ark., 1993)  |
| <i>H. glabra</i>     | <i>Herniaria</i> saponin 2 | 28-O-{ $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ )}-2-O-asetilmedikajenik asit                                    | (Reznicek ve ark., 1993)  |
| <i>H. glabra</i>     | <i>Herniaria</i> saponin 3 | 28-O-[ $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)]-4-O-asetil- $\beta$ -D-fukopiranozil-(1 $\rightarrow$ )]-medikajenik asit-3-O- $\beta$ -D-glukuronit         | (Schroeder ve ark., 1993) |
| <i>H. glabra</i>     | <i>Herniaria</i> saponin 4 | O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 6)-O-[ $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glukopiranozil medikajen-28-at                                                                   | (Freiler ve ark., 1996)   |
| <i>H. glabra</i>     | <i>Herniaria</i> saponin 5 | O- $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 3)-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)-O-[ $\beta$ -D-apiofuranosil-(1 $\rightarrow$ 3)]- $\beta$ -D-4-O-asetilfukopiranozil 3-O-( $\beta$ -D-glukuronopiranozil)-16 $\alpha$ -hidroksimedikajen-28-at | (Freiler ve ark., 1996)   |
| <i>H. glabra</i>     | <i>Herniaria</i> saponin 6 | O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 6)-O-[ $\beta$ -D-6-O-asetilglukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glukopiranozil medikajen-28-at                                                         | (Freiler ve ark., 1996)   |

**Tablo 2.2.Devam**

|                  |                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                          |
|------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| <i>H. glabra</i> | <i>Herniaria</i><br>saponin 8  | 3- O - $\beta$ -D-glukuronopiranosil-28- O -<br>{ $[\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)]- $[\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)]-4- O -asetil- $\beta$ -D-fukopiranosil-(1 $\rightarrow$ )}-<br>medikajenik asit                      | (Kozachok ve ark., 2020) |
| <i>H. glabra</i> | <i>Herniaria</i><br>saponin 9  | 3- O - $\beta$ -D-glukuronopiranosil-28- O -<br>{ $[\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)]- $[\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)]-4- O -asetil- $\beta$ -D-fukopiranosil-(1 $\rightarrow$ )}-29-<br>hidroksimedikajenik asit           | (Kozachok ve ark., 2020) |
| <i>H. glabra</i> | <i>Herniaria</i><br>saponin 10 | 3- O - $\beta$ -D-glukuronopiranosil-28- O -<br>{ $[\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)]- $[\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)]-4- O -asetil- $\beta$ -D-fukopiranosil-(1 $\rightarrow$ )}-16 $\alpha$ -<br>hidroksimedikajenik asit | (Kozachok ve ark., 2020) |
| <i>H. glabra</i> | <i>Herniaria</i><br>saponin 11 | 3- O - $\beta$ -D-glukuronopiranosil-28- O -<br>{ $[\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)]- $[\beta$ -D-apiofuranosil-(1 $\rightarrow$ 3)]-4- O -asetil- $\beta$ -D-fukopiranosil-(1 $\rightarrow$ )}-<br>medikajenik asit                                                                       | (Kozachok ve ark., 2020) |
| <i>H. glabra</i> | <i>Herniaria</i><br>saponin 12 | 3- O - $\beta$ -D-glukuronopiranosil-28- O -<br>{ $[\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-fukopiranosil-(1 $\rightarrow$ )}-16 $\alpha$ -<br>hidroksimedikajenik asit                                                                | (Kozachok ve ark., 2020) |
| <i>H. glabra</i> | <i>Herniaria</i><br>saponin 13 | 3- O - $\beta$ -D-glukuronopiranosil-28- O -<br>{ $[\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)]-3,4- O -diasetil- $\beta$ -D-fukopiranosil-(1 $\rightarrow$ )}-<br>medikajenik asit                                                                                                                   | (Kozachok ve ark., 2020) |

**Tablo 2.2.Devam**

|                  |                                |                                                                                                                                                                                                                                                     |                          |
|------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| <i>H. glabra</i> | <i>Herniaria</i><br>saponin 14 | 28- O- {[6- O -asetil- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)]-[2- O -asetil- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ )}-medikajenik asit | (Kozachok ve ark., 2020) |
| <i>H. glabra</i> | <i>Herniaria</i><br>saponin 15 | 28- O- {[6- O -asetil- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)]-[3- O -asetil- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ )}-medikajenik asit | (Kozachok ve ark., 2020) |
| <i>H. glabra</i> | <i>Herniaria</i><br>saponin 16 | 28- O- {[6- O -asetil- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)]-[4- O -asetil- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ )}-medikajenik asit | (Kozachok ve ark., 2020) |
| <i>H. glabra</i> | <i>Herniaria</i><br>saponin 17 | 8- O - {[6- O -asetil- $\beta$ -D-glukopiranosil- (1 $\rightarrow$ 2)]-[ $\beta$ -D-glukopiranosil- (1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ )}-medikajenik asit                                                            | (Kozachok ve ark., 2020) |
| <i>H. glabra</i> | <i>Herniaria</i><br>saponin 18 | 28- O- {[ $\beta$ -D glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)]- [ $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ )}-medikajenik asit                                                                          | (Kozachok ve ark., 2020) |
| <i>H. glabra</i> | <i>Herniaria</i><br>saponin 19 | 28- O- {[6- O -asetil- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)]-[ $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glukopiranosil-(1 $\rightarrow$ )}-herniarik asit                | (Kozachok ve ark., 2020) |

**Tablo 2.3.** *Herniaria* türlerinden elde edilen saponinler (saponin A-F arası).

| Bulunduğu Tür        | Bileşik Adı                | Kimyasal Adlandırma                                                                                                                                                                                                      | Kaynak                                       |
|----------------------|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| <i>H. fontanesii</i> | <i>Herniaria</i> saponin A | 3-O-[β-D-glukopiranosilüronik(1→4)-α-L-ramnopiranosil]-2β,3β-dihidroksi-olean-12-en-23,28-dioik asidin 28-O-[-α-L-ramnoiranosil(1→2)-[α-L-ramnopiranosil(1→3)]-β-D-ksilopiranosil(1→2)-β-D-fukopiranosil] esteri         | (Mbark ve ark., 1999), (Mbark ve ark., 1995) |
| <i>H. fontanesii</i> | <i>Herniaria</i> saponin B | 28-O-[α-L-ramnopiranosil (1→2)[α-L-ramnopiranosil(1→3)]-β-D-ksilopiranosil (1→2)-β-D-fukopiranosil] 3-O-[β3-D-glukopiranosil üronik (1→4) α-L-ramnopiranosil] esteri 2 β, 3 β, 16-α-trihidroksi olean-12-en 23, 28-dioik | (Mbark ve ark., 1999)                        |
| <i>H. fontanesii</i> | <i>Herniaria</i> saponin C | 28-O-[α-L-ramnopiranosil (1→2) [α-L-ramnopiranosil (1→3)]-β-D-4-asetoksifükopiranosil] 3-O-[α-L-ramnopiranosil (1→2)-β-D-glukopiranosil üronik] 2 β, 3 β, 16- α-trihidroksi olean12-en 23, 28-dioik asidin esteri.       | (Mbark ve ark., 1999)                        |
| <i>H. fontanesii</i> | <i>Herniaria</i> saponin D | 28-O-{αL-ramnopiranosil (1→2)-[α-L-ramnopiranosil (1→3)] 13-D-fukopiranosil} 3-O-[α-L-ramnopiranosil (1→2)-β-D-glukopiranosil üronik] 2 β, 3 β, 16- α-trihidroksi olean12-en 23, 28-dioik asidin esteri                  | (Mbark ve ark., 1999)                        |
| <i>H. hirsuta</i>    | <i>Herniaria</i> saponin E | 2-O-asetil medikajenik asit 28-O-beta-D-ksilopiranosil- (1-->4)-alfa-L-ramnopiranosil(1-->2)-[beta-D-glukopiranosil(1-->6)]-beta-D-glukopiranosid                                                                        | (Mbark ve ark., 2000)                        |
| <i>H. hirsuta</i>    | <i>Herniaria</i> saponin F | medikajenik asit 28-O-beta-D-ksilopiranosil(1-->4)-alfa-L-ramnopiranosil(1-->2)-[alfa-L-ramnopiranosil-(1-->4)-beta-D-glukopiranosil-(1-->6)]-beta-D-glukopiranosid                                                      | (Mbark ve ark., 2000)                        |

## 2.2.2. Biyoaktivite Çalışmaları

### 2.2.2.1. Anti-ürolitik Aktivite

*H. hirsuta*'nın geçirdiği metabolik süreci incelemek amacıyla Peeters ve arkadaşları medikajenik asit ile iki farklı deney yapmıştır. Birinde faz 1 ve faz 2 reaksiyonlarının aynı anda gerçekleşebildiği S9 fraksiyonları kullanılmış diğerinde ise reaksiyonların ayrı ayrı başlatıldığı insan karaciğer mikrozomları (HLM) kullanılmıştır. Reaksiyonlar sonucunda oluşan metabolitler her iki deneyde de benzerlik göstermektedir. Reaksiyonların tek seferde gerçekleşmesi nedeniyle S9 fraksiyonları daha hızlı ve ekonomik bir seçenek olarak görülmektedir (Peeters ve ark., 2020).

Peeters ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada *H. hirsuta*'nın kimyasal içeriğindeki ana madde olan medikajenik asit esas alınmıştır. Laboratuvar ortamında yapılan deneylerde öncelikle karaciğer enzimlerini içeren (S9 fraksiyonları) bir ortam oluşturulmuş ve bunun sonucunda medikajenik asitin en yüksek oranda dönüştüğü metabolit medikajenik asit glukuronidi olarak tespit edilmiştir. İdrar taşlarını oluşturan kalsiyum oksalat (CaOx) kristalleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Deneylerin sonucunda metabolitin kristallerin ilk oluşum aşamasını değil birikme aşamasını etkilediği ve metabolitin sahip olduğu karboksilik grup sebebiyle böbrek hücrelerine yapışmasını önleyerek tedavi edici bir potansiyele sahip olduğu ancak ileri araştırmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (Peeters ve ark., 2022).

Atmani ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada kullanılan *H. hirsuta* örnekleri, Fas'ta yer alan doğal bitki örtüsünden elde edilmiş ve kaynatma yöntemiyle ekstresi hazırlanmıştır. Çalışmaya 18 tane Wistar tipi sıçanlar dâhil edilmiş ve üç kısma ayrılmışlardır. Bunların bir kısmı herhangi bir işleme tabi tutulmayarak kontrol amacıyla, bir kısmı böbrek taşı modeli oluşturmak için %0,75 etilen glikole tabi tutulmuş diğer kısım ise hazırlanan belli miktardaki bitki özütü ve %0,75 etilen glikole tabi tutulmuştur. Yapılan çalışma sonucunda sıçanlardaki idrar bileşenleri ve böbreklerdeki histolojik değişiklikler değerlendirilmiştir. Bitki ekstresine tabi tutulan grupta idrar oksalat ve kalsiyum dengesi üzerinde düzenleyici bir etkinin olduğu ayrıca kristallerin boyutlarının küçüldüğü gözlenmiştir (Atmani ve ark., 2004b).

Atmani ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada *H. hirsuta* örnekleri, Fas'ta yer alan doğal bitki örtüsünden elde edilmiş ve kaynatma yöntemiyle ekstresi

hazırlanmıştır. Çalışmada ekstrenin Madin Darby köpek böbreği (MDCK) hücreleri üzerindeki anti-ürolitik aktivitesine bakılmıştır. Kimyasal bileşimi sayesinde ekstrenin kristallere tutunduğu, böbrek hücre hattı üzerindeki epitel hücrelerin serbest kaldığı tespit edilmiştir (Atmani ve ark., 2004a).

*H. hirsuta*'nın tedavi edici veya önleyici etkilerini görmek amacıyla sıçanlarda böbrek taşı oluşturulmuş ve hazırlanan ekstre ile muamele edilmişlerdir. Yapılan deneyler sonucundaki verilere bakıldığında bitki özütü ile tedavi edilen sıçanlarda, böbrek taşlarının oluşumunu etkileyebilecek bazı biyokimyasal değişikliklerin meydana geldiği ortaya konmaktadır. Referans grubun su tüketimi, idrar miktarı, oksalat ve kalsiyum eliminasyonunda ekstrenin verildiği gruba göre artış gözlemlenirken pH ve magnezyum eliminasyonunda düşüş gözlemlenmiştir. Ayrıca yapılan incelemelerde ekstrenin CaOx kümelenmesinin inhibisyonuna ve boyutlarında azalmaya katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (Atmani ve ark., 2003).

Grases ve ekibi tarafından yürütülen çalışmada *H. hirsuta* ve *Agropyron repens* bitkilerinin infüzyonu hazırlanmıştır. Wistar tipi sıçanlarla yapılan deneyde eşit kaloriye sahip farklı diyetlerle beslenen üç grup oluşturulmuştur. Bu diyet tipleri şunlardır; standart diyet, proteince zengin ve glukoz açısından zengin diyet. Aynı zamanda hazırlanan infüzyonlar belirlenen gruplara verilip idrar numuneleri sıçanlardan toplanmıştır. Kontrol grubuna kıyasla *H. hirsuta* infüzyonunun verildiği ve sadece yüksek proteince zengin beslenen grupta taş oluşumunu engelleme etkisi anlamlı bir şekilde gözlemlenmiştir (Grases ve ark., 1995).

Kariev ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise 169 hastaya farklı bitki ekstreleri verilerek hastalar gruplara ayrılmış ve hastaların böbrekleri üzerindeki bazı değerler incelenmiştir. *H. glabra* ekstresine tabi tutulan hastalarda CaOx kristallerinin birleşme ve çökme eğilimlerinde düşüş idrar üretiminde ise artış gözlemlenmiştir (Kariev ve ark., 2013).

#### **2.2.2.2. Diüretik Aktivite**

El Mabrouki ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Fas'tan toplanan *H. glabra*'nın etanol ve saponince zengin olmak üzere iki farklı özütleri hazırlanmıştır. İdrar söktürücü etkiden sorumlu olduğu düşünülen medikajenik asit ve oleanolik asit HPLC cihazı ile tespit edilip ekstredeki en yüksek miktarda bulunan bileşenlerdir.

Wistar sıçanları kullanılarak yapılan deneylerde idrar örneklerindeki kreatinin seviyeleri ölçülerek böbrek fonksiyonları incelenmiştir. Yapılan deneyler sonucunda her iki ekstrenin de idrar üretimini, pH değerini, böbreklerin kanı filtreleme kapasitesini artırdığı ölçülmüştür (El Mabrouki ve ark., 2021).

Atmani ve arkadaşları tarafından yapılan ve bu tez çalışmasında anti ürolitik aktivite bölümünde yer alan deneyde *H. hirsuta* ekstresinin verildiği gruptaki sıçanlarda idrar hacminde gözlenen artış dolayısıyla bitki için idrar söktürücü etki desteklenmektedir (Atmani ve ark., 2004b).

#### **2.2.2.3. Antioksidan Aktivite**

Kozachok ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Ukrayna'dan *H. glabra*'nın farklı kısımları toplanıp, %80 sulu metanol ekstraktları hazırlanmıştır. Ekstreye yapılan analizler sonucu tespit edilen bileşenlerinin serbest radikallere etkisinden sorumlu olduğu düşünülen yapılarındaki gamma-piron halkasıdır. Yapılan deneylerde peroksinitrit tarafından tetiklenen oksidatif stresi başta apiorutin olmak üzere, biyobelirteçler olan lipid peroksidler ve nitro tirozini azaltarak antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Kozachok ve ark., 2018).

Cezayir'den farklı kısımları toplanılarak infüzyonu hazırlanan *H. hirsuta*'nın antioksidan etkinliğinin tespitinde DPPH radikalini süpürücü etki tayini yöntemi kullanılmıştır. Kullanılan bir diğer yöntem ise  $\beta$ -karoten/linoleik asit yöntemidir. Deneyler sonucunda bitkinin antioksidan etkisinin düşük olduğu gözlemlenmiştir (Borhane ve ark., 2015).

#### **2.2.2.4. Sitotoksik Aktivite**

Borhane ve arkadaşlarının *H. hirsuta* üzerinde yaptığı deneyde standart referans hücreler olarak kullandığı insan kanser hücreleri MCF-7 (meme), NCI-H460 (akciğer), HeLa (serviks) ve HepG2 (karaciğer) bu çalışmanın temelini oluşturmuştur. Ancak yapılan deneyler sonucu bu bitkinin test edilen konsantrasyonlarında (400  $\mu$ g/mL'ye kadar) hücre büyümesini %50 oranında inhibe edemediği tespit edilmiştir (Borhane ve ark., 2015).

#### 2.2.2.5. Kolesterol Değerleri Üzerine Aktivite

Van Dooren ve arkadaşları araştırmasında Fas'tan topladıkları *H. hirsuta* örneklerinin standart bir ekstresini hazırlamıştır. Araştırmada 21 tane uygun koşulları sağlayan köpek kolelitiazisin etyopatogenezinin bakıldığında kolesterolün kilit bir rol oynamasından dolayı yüksek kolesterolü diyetle beslenmiştir. Köpeklerin bir kısmı kontrol grubuyken, bir kısmına belli dozda hazırlanan ekstreden, kalan kısma ise uygun dozda ursodeoksikolik asit verilmiştir. Çalışmanın sonunda safra ve kan örnekleri toplanan köpeklerde kolesterol düzeyinin kanda anlamlı bir değişime uğramadığı ancak safrada anlamlı bir düşüşün gözlemlendiği tespit edilmiştir (Van Dooren ve ark., 2015).

#### 2.2.2.6. Enzim İnhibisyonu Aktivitesi

*H. glabra* ile yapılan Kozachok ve ekibi tarafından yürütülen çalışmada farklı enzim kaynakları ve substratlar kullanılarak çeşitli inhibisyon yöntemleri uygulanmıştır. Deneylerin sonucu absorbans ölçümleriyle izlenmiş ve inhibisyon oranları her bir deneyde referans bileşikler kullanılarak belirlenmiştir. Yaşlanma süreçlerinde yer alan elastaz ve kolajenaz ve ek olarak hem bu süreçte hem de melanin sentez yolağında etkili olan tirozinaz enzimine karşı yapılan inhibisyon deneylerinde anlamlı bir etki gözlenmemiştir. Ürolitiyazis oluşum mekanizmasında rol alan ksantin oksidaz üzerindeki inhibe edici etki de gene aynı şekilde anlamlı bulunmamıştır. Yapılan literatür taraması sonucu saponinlerin kolinesteraz düzeylerinde etki göstermesinden dolayı bitki özütünün içeriğinin asetil ve bütiril kolinesterazlar üzerine inhibisyonu değerlendirilmiş anlamlı sonuçlar elde edilmemiştir (Kozachok ve ark., 2020).

#### 2.2.2.7. Antibakteriyel Aktivite

Böbrek enfeksiyonuna neden olan ve enfekte bir bireyin idrarından elde edilen *Escherichia coli*'ye karşı 0,125 mg/mL'den 20,0 mg/mL 'ye ulaşan farklı konsantrasyonlardaki *H. glabra* ekstresinin etkileri incelenmiştir. Analizlerin sonucunda iridoit, flavonol ve fenolik bileşikler majör bileşikler olarak tespit edilmiştir. Birden fazla bitki ekstraktları kullanılarak yapılan deneyde *H. glabra*'nın diğerlerine kıyasla yüksek oranda bakteri hücrelerinin canlılığını ve biyofilm kitle üretimini ortadan kaldırdığı tespit edilmiştir. *E. coli*'nin yüzme hareketliliğini ise

belirgin bir şekilde etkilemediğini, ancak sınırladığı gözlemlenmektedir (Wojnicz ve ark., 2012).

#### **2.2.2.8. Yara Onarıcı Aktivite**

Gölgeli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *H. argaea* ve *H. hirsuta* ekstrelerinin yara onarıcı aktiviteleri incelenmiştir. Diyabetik bir model oluşturmak için Wistar tipi sıçanlara streptozotocin uygulanmış ve oluşturulan yara alanlarına farklı tedavi yöntemleri uygulanmıştır. Yara iyileşmesi, tedavi öncesi ve sonrası günlerde ölçülmüş, histolojik incelemeler ve biyokimyasal analizler yapılmıştır. Bulgular, uygulanan tedavi yöntemlerinden *H. argaea* ekstresinin yara iyileşmesi üzerinde en yüksek etkinliği gösterdiğini ortaya koymuştur (Gölgeli Bedir ve ark., 2022).

#### **2.2.2.9. Toksisite Çalışmaları**

*H. cinerea* ile yapılan toksisite çalışmalarında Sokar ve ekibi Messiwa'dan toplanıp n- bütanol ekstresi hazırlanan bitkiyi belirlenen özellikteki Wistar tipi sıçanlarda değişen konsantrasyonlarda test etmişlerdir. 0,5 g/kg ve altındaki dozlarda toksisite gözlemlenmemiştir fakat 1 g/kg ve üzeri dozlarda sindirim ve solunum mekanizmalarında bozulmalar görülmüş, 2 g/kg'da ölüm oranı %10, 4 g/kg'da ise %30'a çıkmıştır. Toksisitenin kimyasal bileşenindeki saponinlerden ileri geldiği düşünülmüştür (Sokar ve ark., 2003).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler Ve Ekipmanlar

##### 3.1.1. Bitkisel Materyal

Yapılacak olan deneylerde kullanılmak üzere *Herniaria hirsuta* L. bitkisi Ankara ili Etimesgut ilçesi Yaprıcak köyü civarında 03.06.2023 tarihinde toplanmıştır. *Herniaria argaea* bitkisi ise Kayseri ili Hacılar ve Kızılören arasında kalan mevkide 07.06.2023 tarihinde toplanmıştır. Bitkilerin toprak üstü kısımları, açık havada ve gölgede kurutularak kullanılmıştır. Bitkilerin örnekleri Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalında muhafaza edilmektedir.

##### 3.1.2. Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik kaliteye sahip olup, sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS) analizlerinde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi için uygun çözücüler ve kimyasal bileşikler tercih edilmiştir. Deneylerde kullanılan su ise distile veya deiyonize su olarak temin edilmiştir.

##### 3.1.3. Kullanılan Cihazlar

|                        |                          |
|------------------------|--------------------------|
| Spektrofotometre       | : Shimadzu UV-1800 240 V |
| Hassas terazi          | : OHAUS/ Model:PA214C    |
| Liyofilizatör          | : Labconco FreeZone 4.5  |
| Çalkalamalı su banyosu | : Nüve ST 402            |
| Su banyosu             | : Memmert                |

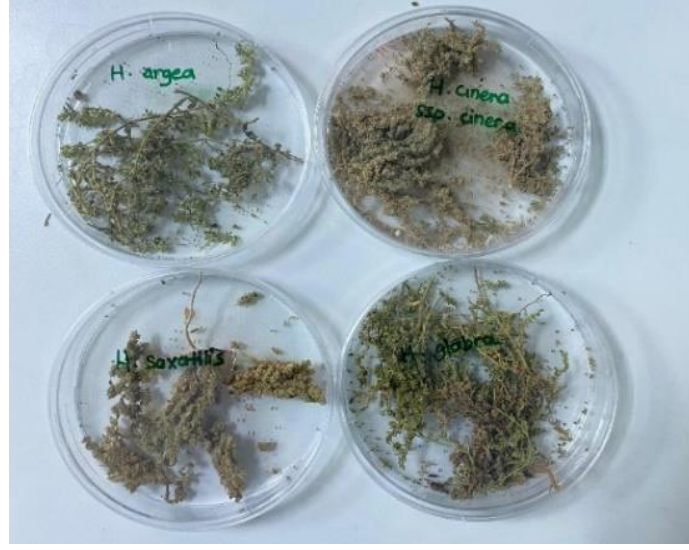
|                          |                                     |
|--------------------------|-------------------------------------|
| Vorteks karıştırıcı      | : Velp scientifica                  |
| Ultrasonik banyo         | : Elma S 100H Elmasonic             |
| Laminar flow hood        | : Safe Fast/Model: Elite            |
| Mikroplaka elisa okuyucu | : Biotek Synergy HT                 |
| İnkübatör                | : New Brunswick/ Model: Galaxy 170R |
| pH metre                 | : İnoLAB pH 720 WTW                 |
| Santrifüj cihazı         | : Hettich / Model: Universal 320R   |
| Otoklav                  | : HCM HIRAYAMA HV-50L               |
| Etüv                     | : Ecocell                           |
| Rotavapor                | : Ilmvac vakum pompası, Heidolph    |
| Laborota 4000 efficient  |                                     |

### 3.2. Deneysel Çalışma

Bu bölümde, *Herniaria hirsuta* ve *Herniaria argaea* bitkilerinin aktivite ve içerik analizlerinde kullanılmak üzere toprak üstü kısımlarından gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemleri ile elde edilen ekstraktların kantitatif analizleri ve biyolojik aktivite testlerine ilişkin yöntemsel bilgiler sunulmaktadır.

#### 3.2.1. Ekstreleri Hazırlama Yöntemi

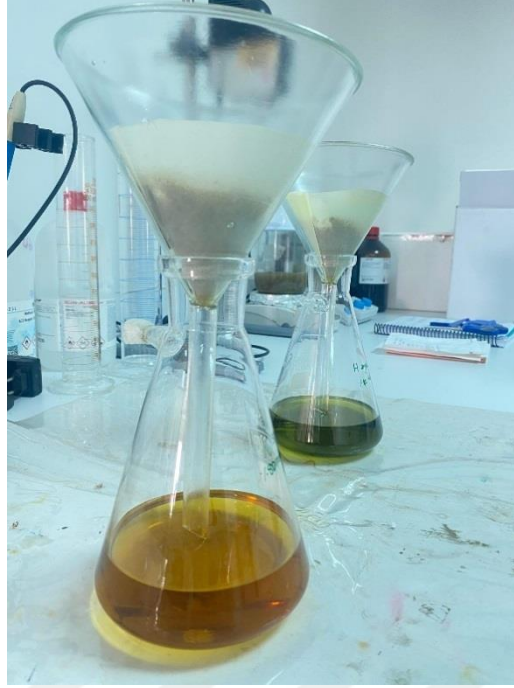
Bitkisel materyallerin farklı sekonder metabolitleri içerebilme potansiyeli dikkate alınarak, hazırlanması planlanan ekstrede metanol çözücü olarak kullanılmıştır. Bitkisel materyallerin gölgede kurutulmuş toprak üstü kısımları, kaba bir şekilde toz haline getirilip, %80'lik metanol çözücüsüyle çalkalama usulü su banyosunda 24 saatlik periyotlarla üç defa masere edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar süzgeç kağıdından süzülüp birleştirildikten sonra, vakum altında rotavapor kullanılarak (37 °C) alçak basınç altında kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. Yoğunlaştırılmış ekstre daha sonra filtre kağıdından süzülerek liyofilize edilmiştir ve analiz işlemleri için -18 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. *Herniaria* cinsi bitkilerin toprak üstü kısımları.



Şekil 3.2. Bitkisel materyalin masere edilmesi.



Şekil 3.3. Filtrasyon işlemi.



Şekil 3.4. Rotavapor cihazında ekstrelerin çözücülerinin buharlaştırılması işlemi.

### 3.2.2. Kimyasal İçerik Tespiti

Bitkisel materyallerden elde edilen ekstreler, spektrofotometrik ve kromatografik analizler ile değerlendirilmiştir.

### 3.2.2.1. Toplam Flavonoit Miktarının Tespiti

Ekstrelerdeki toplam flavonoit miktarı, Zhishen ve arkadaşlarının yöntemine dayalı olarak modifiye edilerek belirlenmiştir (Zhishen ve ark., 1999). Bu yöntemde göre, 1 mL ekstreye, başlangıçta 0,3 mL %5'lik sodyum nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) çözeltisi eklenerek karıştırılmıştır. Beşinci dakikada, 0,3 mL %10'luk alüminyum klorür heksahidrat ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) çözeltisi eklenip, altıncı dakikada 2 mL 1 M sodyum hidroksit ( $\text{NaOH}$ ) çözeltisi ilave edilmiştir. Ardından, 2,4 mL su eklenip karıştırılmıştır. 510 nm'de absorbans değeri ölçülerek flavonoit miktarı belirlenmiştir. Toplam flavonoit içeriği, kateşine eşdeğer olarak  $\text{mg}_{\text{CE}}/\text{g}_{\text{ekstre}}$  cinsinden hesaplanmış ve kateşinin kalibrasyon eğrisi etanol kullanılarak hazırlanmıştır. Tüm ölçümler üç paralel örnek ile yapıp ortalama sonuçlar raporlanmıştır.

### 3.2.2.2. Toplam Fenol Miktarının Tespiti

Ekstrelerin toplam fenol içeriği, gallik asit eşdeğeri cinsinden Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Singleton ve ark., 1999). 10 mL'lik bir kaba, 6 mL distile su eklenip, 100  $\mu\text{L}$  örnek çözeltisi ve 500  $\mu\text{L}$  Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiştir. Bir dakika sonra 1,5 mL %20'lik sulu sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) çözeltisi eklenmiş ve karışım, su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Kontrol çözeltisi olarak, ekstre içermeyen reaktif karışım uygulanmıştır. Karışım, 25 °C'de 2 saat inkübe edildikten sonra, 760 nm'deki absorbans değeri ölçülmüş ve sonuçlar gallik asit kalibrasyon eğrisiyle karşılaştırılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı, gallik asit cinsinden ifade edilerek hesaplanmıştır. Deneyler üç paralel örnek ile yapılmış ve ortalama sonuçlar raporlanmıştır.

### 3.2.2.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Analizi

53 fitokimyasal maddenin miktarsal analizi için (Yılmaz, 2020) Shimadzu-Nexera model UHPLC cihazına bağlı tandem kütle spektrometresi kullanılmıştır. Kullanılan ters faz UHPLC sistemi bir otoörnekleyici (SIL-30AC model), bir kolon fırını (CTO-10ASvp model), gradient pompa sistemi (LC-30AD model) ve bir degazer (DGU-20A3R model) bileşenlerinden oluşmuştur. Kromatografik ayırım Agilent Poroshell 120 EC-C18 model (150 mm×2.1 mm, 2.7  $\mu\text{m}$ ) bir kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kolon sıcaklığı 40°C'ye ayarlıdır. Elüsyon gradiyenti mobil faz A (ultrasaf su+5 mM amonyum format+0.1% formik asit) ve mobil faz B (ultrasaf

su+5 mM amonyum format+0.1% formik asit)'den oluşmuştur. Şu şekilde bir gradiyent elusion profile kullanılmıştır: 20-100% B (0-25 dk), 100% B (25-35 dk), 20% B (35-45 dk). Ayrıca mobil faz akış hızı ve enjeksiyon hacmi sırasıyla 0.5 mL/min ve 5 µL olarak belirlenmiştir (Yılmaz, 2020).

Kullanılan LC-MS/MS sisteminin kütle spektrometre dedeksiyonu için hem pozitif hem de negative modda çalışan bir elektrosprey iyonlaşma kaynağı ile donanmış Shimadzu LCMS-8040 model sıralı kütle spektrometresi kullanılmıştır. LC-ESI-MS/MS verileri LabSolutions yazılımı (Shimadzu) ile alınmış ve işlenmiştir. Fitokimyasalların kantitasyonu için MRM (multiple reaction monitoring/Çoklu Reaksiyon Görüntüleme) modu kullanılmıştır. MRM metodu, belirli ana iyon-parçalanma iyonu geçişlerinin taranmasına dayalı olarak fitokimyasalların seçici olarak tespit edilip miktarsal tayininin yapılması için optimize edilmiştir. Optimum fitokimyasal fragmentasyonu ve arzulanan parçalanma iyonlarının maksimal geçişini elde etmek için çarpışma enerjileri (CE) optimize edilmiştir. Uygulanan MS çalışma şartları: kurutucu gaz (N<sub>2</sub>) akışı, 15 L/dk; nebulizer gaz (N<sub>2</sub>) akışı, 3 L/dk; DL sıcaklığı, 250°C; heat block sıcaklığı, 400°C ve arayüz sıcaklığı, 350°C olarak belirlenmiştir (Yılmaz, 2020).

### **3.2.3. Antioksidan Aktivite Üzerine Yapılan Araştırmalar**

#### **3.2.3.1. ABTS<sup>+</sup>• (2,2'-azino-bis (3-etilbenzothiazolin-6-sülfonik asit)) Radikal Süpürme Etkisinin Tayin Edilmesi**

Bitki ekstratlarının ABTS<sup>+</sup>• radikalini süpürme aktivitesi, Re ve arkadaşlarının yöntemine göre incelenmiştir (Re ve ark., 1999). ABTS<sup>+</sup>• radikali oluşturmak için 7 mM ABTS çözeltisi son yoğunluğu 2.45 mM'ye ulaşacak şekilde potasyum persülfat (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) çözeltisi ile karıştırılarak karanlık ortamda 12 ila 16 saat arasında bekletilmiştir. Çözelti, oda sıcaklığında 734 nm'de absorbans değeri 0.700 (± 0.030) olacak şekilde düzenlenmiştir. Radikal ve ekstre çözeltileri, sırasıyla 990 µL ve 10 µL hacimlerinde birleştirilerek homojen bir karışım elde edilmiştir. Bu karışımın reaksiyon kinetiği 734 nm'de absorpsiyon değişimleri izlenerek 30 dakika süresince her 1 dakikada spektrofotometrik yöntemle kaydedilmiştir. Elde edilen inhibisyon yüzdeleri, Troloks'a Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (TEAC) birimi cinsinden

belirlenmiştir. Güvenilir sonuçlar için deneyler üç paralel ölçümle yapılmış ve sonuçlar ortalama olarak rapor edilmiştir.

### **3.2.3.2. DPPH• (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Kapasitesinin Tayin Edilmesi**

Ekstrelerin DPPH• radikalini süpürme aktiviteleri, Gyamfi ve arkadaşlarının yöntemiyle gerçekleştirilmiştir (Gyamfi ve ark., 1999). 50 nM konsantrasyona sahip pH değeri 7.4 olan Tris-HCl tamponu, 0.1 mM metanol içinde çözülmüş 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil çözeltisinden 1 mL alınarak birleştirilmiştir. Deneyde ekstre ilave edilmemiş reaktif çözelti kontrol grubunda iken BHA pozitif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Karışım, oda sıcaklığında ve ışık görmeyen yerde 30 dakika süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Ardından, absorbans 517 nm’de ölçülerek inhibisyon yüzdesi hesaplanmıştır. IC<sub>50</sub> değerleri, nonlinear regresyon eğrileriyle belirlenmiş ve Sigma Plot 2001 versiyon 7.0 yazılımı (SPSS Inc., Chicago IL) kullanılarak analiz edilmiştir. Güvenilir sonuçlar için deneyler üç paralel ölçümle yapılmış ve sonuçlar ortalama olarak rapor edilmiştir. İnhibisyon yüzdesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(Abs_{\text{kontrol}} - Abs_{\text{örnek}}) / Abs_{\text{kontrol}}] \times 100$$

### **3.2.4. Hücre Kültürü Çalışmaları**

A549 insan akciğer kanseri hücre hattı bu çalışma kapsamında kullanılan hücre hattıdır. Hücreler kültür süresince %5 CO<sub>2</sub>’li inkübatör içerisinde 37°C’de delikler sayesinde gaz alışverişine izin veren hücre kültürü kaplarında muhafaza edilmiştir. Kültür boyunca hücreler düzenli aralıklarla izlenip besiyerleri iki günde bir yenilenmiştir. Yapılan kültür sonucunda elde edilen hücrelerin bir kısmı uzun süreli muhafaza amacıyla dondurularak -80°C’ de saklanmıştır.

#### **3.2.4.1. A549 Hücrelerinin Kültüre Edilmesi**

Hücreler, 37 °C’de çözülüp üzerine 5 mL PBS ilave edilerek hücrelerin çözünmesi sağlanmıştır. Ardından, hücreler 20°C’de 1000 rpm hızında 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan süpernatant kısmı atılmıştır. Hücre pelletinin üzerine 5 mL taze besiyeri ilave edilip, pipetle dikkatlice karıştırılarak homojenizasyon sağlanmıştır. Elde edilen hücre süspansiyonu, delikli hücre kültür

kabına aktarılmış ve CO<sub>2</sub>'li inkübatöre yerleştirilmiştir. Hücrelerin sağlıklı bir şekilde çoğalması ve canlılığını koruyabilmek amacıyla düzenli olarak pasajlama işlemleri yapılmıştır.

#### **3.2.4.2. A549 Hücrelerinin Pasajlama İşlemi**

Flask ortamında kültürü yapılan hücreler, iki günlük inkübasyon periyodu ardından uygun koşullarda pasajlanmıştır. Hücreler, 15 mL hacime sahip eppendorf tüplerine transfer edilmiş ve ardından 800 g'lık bir santrifüj kuvveti uygulanarak 5 dakika süreyle santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem ile süpernatant kısmı ayrılmıştır. Hücre pelleti, pH değeri 7.3 değerinde, hacim olarak 5mL'e yakın miktarda ve penisilin içeren PBS tamponu içinde hücrelere zarar vermeyecek şekilde çözülmüş ve önceki santrifüj parametrelerinde yeniden santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Süpernatant kısmı yeniden ayrılmıştır. Hücre pelleti önceden hazır hale getirilmiş besiyeri ortamında çözülüp, kültür kabına transfer edilmiştir. Pasajlama işleminin her iki günde bir yenilenmesinin nedeni, hücrelerin sağlıklı bir şekilde çoğalmasını sağlamak, kontaminasyon riskini azaltmak ve ölü hücre kalıntılarının birikmesinin önüne geçmektir. Bu sayede canlı hücrelerin büyüme ve çoğalma süreçleri optimize edilerek deneyin verimliliği artırılmıştır.

#### **3.2.4.3. A549 Hücre sayımı**

Hücre sayımı için, ilk olarak 1 mL besi yerinde süspande edilmiş hücrelerden 20 µL alınarak 2 mL'lik bir eppendorf tüpüne aktarılır. Ardından, 20 µL hacimde tripan mavisi eklenir ve bu karışımda 1:1 oranında seyreltme yapılmış olur. Tripan mavisi, ölü hücreleri mavi renkte boyayarak canlı hücrelerle ayırt edilmesini sağlar. Bu karışımın ardından, 10 µL'lik bir örnek alınıp hücre sayım cihazının lamellerine yerleştirilir. Cihaz, hücreleri sayarak, her bir mL'deki toplam hücre ve canlı hücre sayısını ayrı ayrı hesaplar.

1 kuyucuk                      7.500 hücre

60 kuyucuk                      X

$$X = 7.500 \text{ hücre/kuyucuk} \times 60 \text{ kuyucuk} = 450.000 \text{ hücre}$$

Toplam hücre sayısını 100 µL'lik çözeltide süspande etmek için;

$$100 \text{ µL} \times 60 \text{ kuyucuk} = 6 \text{ mL}$$

Bu durumda, 6 mL hücre süspansiyonunda toplam 450.000 hücre olacak. 6 mL'yi kullanarak her kuyucukta 7.500 hücre olacak şekilde dağıtmak için her kuyucuğa 100 µL pipetlenir.

1mL' de X adet Hücre varsa; (X= cihazda sayılan hücre sayısı)

B mL' de 450.000 hücre vardır.

#### **3.2.4.4. Hücre Dondurma ve Saklama**

Hücrelerin besiyerinin değişmesi sırasında, hücreler önce santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve ardından süpernatant sıvı atılmıştır. Hücreler, 1 mL PBS ile süspansiyon haline getirilerek steril tüpe transfer edilmiştir. Sonrasında, hücrelerin dondurulmadan önce korunması için 1 mL krio çözeltisi karışımı ilave edilmiştir. (%5 DMSO). Hazırlanan kriolar, kademeli olarak dondurulması için ilk olarak +4 °C'de yarım saat, ardından -20 °C'de 3 saat bekletilmiştir. Son adımda ise hücreler -80 °C'de saklanarak uzun süreli muhafazaya alınmıştır.

#### **3.2.4.5. A549 Hücre Hattında Sitotoksik Etkinin MTT [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5- difeniltetrazolyum-bromid] Testi ile Belirlenmesi**

Ekstrelerin A549 hücre hattındaki sitotoksik etkisi MTT kolorimetrik testiyle değerlendirilmiştir. Çalışmaya başlamadan bir gün önce, hücreler sayılarak 96 kuyucuklu mikropolağa ekilmiştir. A549 hücre hattı için her kuyucuğa 10.000 hücre eklenmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonrası, hücrelerin üzerinde bulunan besiyeri atılmış ve hücrelere seyreltilmiş ekstreler eklenmiştir. Ekstreler, 3,9 µg/mL ile 1000 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda hazırlanmış olup, her kuyucuğa 100 µL eklenmiştir. Bu işlemin ardından, hücreler 37°C'de karbondioksitli ortamda 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. 48 saat sonra, her kuyucuğa steril PBS içinde hazırlanmış 0,5 mg/mL konsantrasyonda MTT çözeltisi eklenmiş ve 3 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda, plaklardaki besiyeri boşaltılmış ve her kuyucuğa 100 µL DMSO eklenerek 5 dakika süreyle çalkalanmıştır. DMSO, formazan kristallerinin çözülmesini sağlamaktadır. Ardından, hücrelerin optik yoğunluğu ELISA cihazında (Bio-Rad, ABD) 540 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Kontrol grubu kuyucuklarındaki absorbans değerleri %100 canlı hücre olarak kabul edilmiştir. Çözücü ve ekstre uygulanan kuyucuklardan elde edilen absorbans değerleri, kontrol

absorbans değerine oranlanarak % canlılık hesaplanmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda, her bir ekstre için sitotoksisite seviyesi belirlenmiştir. Deneyler u paralel tekrar edilmiştir ve sonuçlar ortalama olarak rapor edilmiştir.

Sitotoksisite Hesaplama Formülü:  $1 - (\text{test kuyucuğunun absorbansı} / \text{kontrol kuyucuğunun absorbansı}) \times 100$

Kontrol grubuna kıyasla %50 sitotoksik etki gösteren konsantrasyon sitotoksik doz olarak belirlenmiştir.

### **3.3. İstatistiksel Analiz**

Bütün istatistiksel analizler SPSS 12 (Inc., Chicago, IL, USA) istatistik programı ile yapılmıştır. Varyansların analizi ANOVA prosedürüne göre uygulanmıştır. Ortalamalar arasındaki belirgin farklılıklar  $p < 0,05$  seviyesinde değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Ekstreleri Hazırlama Yöntemi, Spektrofotometrik Bileşim Analizleri

#### 4.1.1. Ekstreleri Hazırlama Yöntemi

*Herniaria hirsuta* ve *Herniaria argaea* bitkilerinin kurutulmuş toprak üstü kısımları, toz haline getirilip %80 metanol kullanılarak 24 saat süreyle üç kez maserasyona tabi tutulmuştur. Elde edilen ekstratlar süzöldükten sonra birleştirilmiş ve vakum altında, 37°C'de rotavaporda yoğunlaştırılmıştır. Ardından, liyofilizasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve elde edilen ekstratlar, analizler yapılana kadar -18°C'de saklanmıştır.

Hazırlanan ekstratların kodları şu şekildedir:

*Herniaria hirsuta*: Hh

*Herniaria argaea*: Ha

#### 4.1.2. Toplam Flavonoit ve Toplam Fenol Miktarlarının Tayin Edilmesi

Elde edilen ekstratların toplam flavonoit ve fenol içerikleri, deneysel bölümde açıklanan yöntemlere dayanarak spektrofotometrik analizle belirlenmiştir. Toplam fenol miktarları galik asit ve toplam flavonoit miktarı katesine eşdeğer olarak hesaplanmıştır. *H. argaea* ekstratının toplam fenol ve toplam flavonoit içeriğinin *H. hirsuta*'ya göre daha zengin olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.1.'de sunulmuştur.

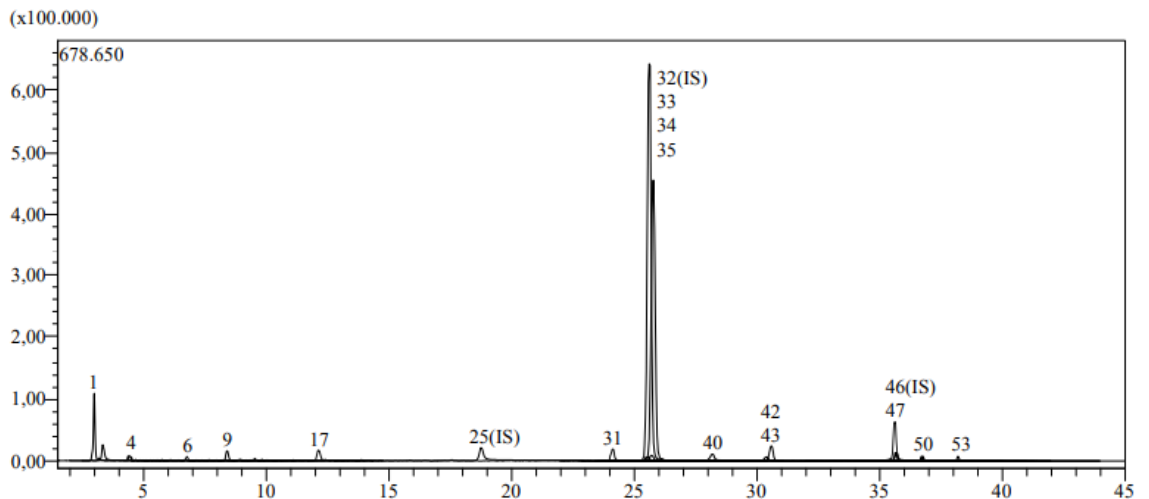
**Tablo 4.1.** *H. hirsuta* ve *H. argaea* ekstralarının toplam fenol ve toplam flavonoit miktarları.

| Ekstre | Toplam Fenol<br>[mg <sub>GAE</sub> /g <sub>ekstre</sub> ] | Toplam Flavonoit<br>[mg <sub>CA</sub> /g <sub>ekstre</sub> ] |
|--------|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Hh     | 135,44±3,08                                               | 34,39±1,41                                                   |
| Ha     | 147,01±2,72                                               | 35,81±2,32                                                   |

Ort±sd

#### 4.1.3. İçerik Analizi

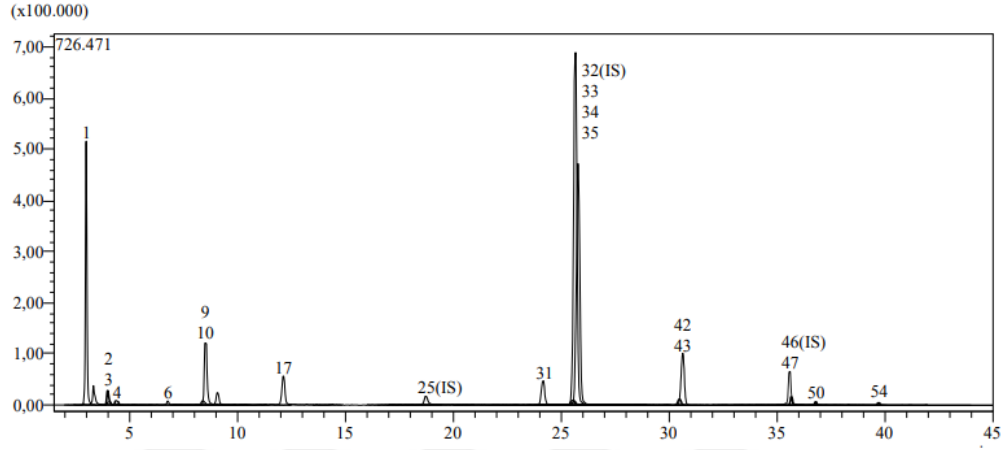
Bitki ekstralarının fenolik ve flavonoid bileşik profillerinin detaylı şekilde belirlenebilmesi amacıyla LC-MS/MS yöntemi kullanılmış ve elde edilen kromatogramlar Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de sunulmuştur. Yapılan analizler sonucunda 53 farklı fitokimyasal maddenin kantitatif analizi yapılmıştır. Şekil 4.1’de *Herniaria argaea* ekstresine ait kromatogramda, özellikle rutin, hesperidin ve nikotiflorin bileşiklerine ait belirgin pikler dikkat çekmektedir. Bu piklerin yoğunluğu, *H. argaea* türünün fenolik içerik açısından zenginliğini göstermektedir. Ayrıca düşük yoğunluklu bazı minor fenolik asit ve flavonoid bileşiklerine ait sinyaller de gözlenmiştir.



**Şekil 4.1.** *H. argaea* ekstresi kromatogramı

Şekil 4.2’de ise *Herniaria hirsuta* ekstresine ait kromatogram yer almakta olup, bu kromatogramda kinik asit pikinin yüksek yoğunluğu özellikle öne çıkmaktadır.

Bunun yanı sıra klorojenik asit, hesperidin ve rutin gibi bileşikler de tespit edilmiştir. Ancak fenolik asit ve flavonoid dağılımının *H. argaea* 'ya göre daha sınırlı olduğu görülmektedir. Medikajenik asit her iki ekstrede de en yüksek konsantrasyonda bulunan bileşiktir. *H. hirsuta*'da  $331,17 \pm 0,55 \mu\text{g/g}$ , *H. argaea*'da  $315,14 \pm 0,73 \mu\text{g/g}$  tespit edilmiştir. Bu durum, bu bileşiğin her iki türde de majör bir metabolit olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.2. *H. hirsuta* ekstresi kromatogramı

Elde edilen bu veriler, her iki tür arasında fitokimyasal içerik bakımından belirgin farklılıklar olduğunu ve bunun da biyolojik aktivite sonuçlarını etkileyebileceğini ortaya koymaktadır. Tablo 4.2'de *Herniaria argaea* ve *Herniaria hirsuta* ekstrelerinde LC-MS/MS yöntemiyle tespit edilen fenolik ve flavonoid bileşikler ile bunların miktarları sunulmuştur.

*H. argaea* ve *H. hirsuta* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen %80 metanol ekstrelerinin içerik analizleri gerçekleştirilmiştir. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemiyle yapılan analizler sonucunda, her iki bitki türünde de çeşitli fenolik bileşikler ve flavonoidler tespit edilmiştir. Elde edilen kantitatif verilere göre, her iki türdeki en baskın ve en düşük konsantrasyonlarda bulunan bileşikler aşağıda sunulmuştur.

**Tablo 4.2.** Ekstrelerde tespit edilen bileşikler ve miktarları (mg bileşik/ g ekstre)

| #  | Bileşikler              | <i>H. argaea</i> | <i>H. hirsuta</i> |
|----|-------------------------|------------------|-------------------|
| 1  | Kinik asit              | 7.908            | 38.195            |
| 2  | Fumarik asit            | N.D.             | 0.472             |
| 3  | Akonitik asit           | N.D.             | 0.033             |
| 4  | Gallik asit             | 0.015            | 0.037             |
| 5  | Epigallokateşin         | N.D.             | N.D.              |
| 6  | Protokateşik asit       | 0.089            | 0.18              |
| 7  | Kateşin                 | N.D.             | N.D.              |
| 8  | Gentisik asit           | N.D.             | N.D.              |
| 9  | Klorojenik asit         | 0.237            | 2.239             |
| 10 | Protokateşik aldehit    | N.D.             | 0.073             |
| 11 | Tanik asit              | N.D.             | N.D.              |
| 12 | Epigallokateşin gallat  | N.D.             | N.D.              |
| 13 | 1,5-dikafeoilkinik asit | N.D.             | N.D.              |
| 14 | 4-hidroksibenzoik asit  | N.D.             | N.D.              |
| 15 | Epikateşin              | N.D.             | N.D.              |
| 16 | Vanilik asit            | N.D.             | N.D.              |
| 17 | Kafeik asit             | 0.099            | 0.311             |
| 18 | Siringik asit           | N.D.             | N.D.              |
| 19 | Vanilin                 | N.D.             | N.D.              |
| 20 | Siringik aldehit        | N.D.             | N.D.              |
| 21 | Daidzin                 | N.D.             | N.D.              |
| 22 | Epikateşin gallat       | N.D.             | N.D.              |
| 23 | Piseid                  | N.D.             | N.D.              |
| 24 | p-Kumarik asit          | N.D.             | N.D.              |
| 25 | Ferulik asit-D3-IS      | N.A.             | N.A.              |
| 26 | Ferulik asit            | N.D.             | N.D.              |
| 27 | Sinapik asit            | N.D.             | N.D.              |
| 28 | Kumarin                 | N.D.             | N.D.              |
| 29 | Salisilik asit          | N.D.             | N.D.              |
| 30 | Siranozit               | N.D.             | N.D.              |
| 31 | Mikueliyanin            | 0.88             | 2.124             |
| 32 | Rutin-D3-IS             | N.A.             | N.A.              |
| 33 | Rutin                   | 27.016           | 27.572            |

**Tablo 4.2. devamı**

|    |                 |        |       |
|----|-----------------|--------|-------|
| 34 | İzokuersitrin   | 0.456  | 0.37  |
| 35 | Hesperidin      | 14.145 | 14.91 |
| 36 | o-Kumarik asit  | N.D.   | N.D.  |
| 37 | Genistin        | N.D.   | N.D.  |
| 38 | Rozmarinik asit | N.D.   | N.D.  |
| 39 | Ellajik asit    | N.D.   | N.D.  |
| 40 | Kozmosin        | 0.033  | N.D.  |
| 41 | Kersitrin       | N.D.   | N.D.  |
| 42 | Astragalin      | 0.027  | 0.053 |
| 43 | Nikotiflorin    | 1.186  | 4.891 |
| 44 | Fisetin         | N.D.   | N.D.  |
| 45 | Daidzein        | N.D.   | N.D.  |
| 46 | Kersetin-D3-IS  | N.A.   | N.A.  |
| 47 | Kersetin        | 0.186  | 0.085 |
| 48 | Naringenin      | N.D.   | N.D.  |
| 49 | Hesperetin      | N.D.   | N.D.  |
| 50 | Luteolin        | 0.007  | 0.005 |
| 51 | Genistein       | N.D.   | N.D.  |
| 52 | Kemferol        | N.D.   | N.D.  |
| 53 | Apigenin        | 0.004  | N.D.  |
| 54 | Amentoflavon    | N.D.   | 0.003 |
| 55 | Krisin          | N.D.   | N.D.  |
| 56 | Akasetin        | N.D.   | N.D.  |

N.D: analiz edilemedi

*H. argaea* ekstresinde yapılan analizler sonucunda, en yüksek miktarda tespit edilen bileşik Rutin (27.016 mg/g ekstre) olmuştur. Rutin'i sırasıyla Hesperidin (14.145 mg/g ekstre) ve Nikotiflorin (1.186 mg/g ekstre) takip etmektedir. *H. argaea* ekstresinde en düşük miktarlarda veya tespit edilemeyen bileşikler ise Fumarik asit, Akonitik asit, Epigallokateşin, Kateşin, Gentisik asit, Protokateşik aldehit, Tannik asit, Epigallokateşin gallat, 1,5-dikafeoilkinik asit, 4-hidroksibenzoik asit, Epikateşin, Vanilik asit, Kafeik asit, Siringik asit, Vanilin, Siringik aldehit, Daidzein, Epikateşin gallat, Piseid, p-Kumarik asit, Ferulik asit, Sinapik asit, Kumarin, Salisilik

asit, Siranozit, Rozmarinik asit, Ellajik asit, Kuersitrin, Astragalin, Fisetin, Duisdzein, Kuersetin-D3-IS, Naringenin, Hesperetin, Luteolin, Genistein, Kemferol, Apigenin, Amentoflavon, Krii ve Akasetin olarak belirlenmiştir.

*H. hirsuta* ekstresinde ise en yüksek konsantrasyonda bulunan bileşik Kinik asit (38.195 mg/g ekstre) olarak saptanmıştır. Kinik asidi Rutin (27.572 mg/g ekstre) ve Hesperedin (14,91 mg/g ekstre) izlemektedir. *H. hirsuta* ekstresinde en düşük miktarlarda veya tespit edilemeyen bileşikler ise Akonitik asit, Gallik asit, Epigallokateşin, Kateşin, Gentisik asit, Klorojenik asit, Protokateşik aldehit, Tannik asit, Epigallokateşin gallat, 1,5-dikafeoilkinik asit, 4-hidroksibenzoik asit, Epikateşin, Vanilik asit, Siringik asit, Vanilin, Siringik aldehit, Daidzein, Epikateşin gallat, Piseid, p-Kumarik asit, Ferulik asit, Sinapik asit, Kumarin, Salisilik asit, Siranozit, Rozmarinik asit, Ellajik asit, Kozmozin, Kuersitrin, Fisetin, Duisdzein, Kuersetin-D3-IS, Naringenin, Hesperetin, Luteolin, Genistein, Kemferol, Apigenin, Amentoflavon, Krii ve Akasetin şeklinde sıralanmaktadır.

Çalışmada uygulanan LC-MS/MS yöntemi ile fenolik ve flavonoid bileşiklerin kantitatif tayinlerinin güvenilir ve doğru sonuçlar verebilmesi için analitik yöntem validasyonu gerçekleştirilmiştir. Validasyon kapsamında; doğrusal aralık, doğruluk, kesinlik, tespit sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) gibi temel parametreler değerlendirilmiştir.

Analitlerin kalibrasyon eğrileri geniş bir konsantrasyon aralığında oluşturulmuş olup, tüm bileşikler için korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) değerlerinin 0.995 üzerinde olduğu saptanmıştır. Bu yüksek korelasyon katsayıları, yöntemin kantitatif analizler için doğrusal ve güvenilir bir çalışma aralığına sahip olduğunu göstermektedir.

Doğruluk ve kesinlik değerlendirmelerinde, düşük ve yüksek konsantrasyon seviyelerinde yapılan tekrarlı ölçümler sonucunda elde edilen varyasyon katsayılarının (RSD %) %5'in altında olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, yöntemin tekrarlanabilirlik ve güvenilirlik açısından uygun olduğunu ortaya koymaktadır.

Ayrıca tespit sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) hesaplamaları, analiz edilen her bileşik için duyarlılığın yüksek olduğunu ve düşük miktardaki bileşiklerin de güvenle tespit edilebildiğini göstermiştir. Düşük LOD ve LOQ değerleri, yöntemin kompleks bitkisel matrislerde dahi hassas ölçüm yapabilme yeteneğini ortaya koymaktadır.

Genel olarak validasyon sonuçları, kullanılan LC-MS/MS yönteminin *Herniaria* türlerinden elde edilen ekstrelerin fenolik ve flavonoid bileşik analizlerinde güvenilir, tekrarlanabilir ve geçerli sonuçlar verdiğini kanıtlamaktadır.



**Tablo 4.3.** Analitik validasyon parametreleri

| No | Bileşikler              | RT <sup>a</sup> | M.I. (m/z) <sup>b</sup> | F.I. (m/z) <sup>c</sup> | İyon. mod | Denklem                              | $r^{2d}$ | RSD% <sup>e</sup><br>Güniçi | Günler arası | Doğrusallık aralığı (mg/L) | LOD/LOQ (µg/L) <sup>f</sup> | Recovery (%) |        | U <sup>g</sup> | Gr. No <sup>i</sup> |
|----|-------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-----------|--------------------------------------|----------|-----------------------------|--------------|----------------------------|-----------------------------|--------------|--------|----------------|---------------------|
| 1  | Kinik asit              | 3.0             | 190.8                   | 93.0                    | Neg       | $y = -0.0129989 + 2.97989 \times$    | 0.996    | 0.69                        | 0.51         | 0.1-5                      | 25.7/33.3                   | 1.0011       | 1.0083 | 0.0372         | 1                   |
| 2  | Fumarik asit            | 3.9             | 115.2                   | 40.9                    | Neg       | $y = -0.0817862 + 1.03467 \times$    | 0.995    | 1.05                        | 1.02         | 1-50                       | 135.7/167.9                 | 0.9963       | 1.0016 | 0.0091         | 1                   |
| 3  | Akonitik asit           | 4.0             | 172.8                   | 129.0                   | Neg       | $y = -0.7014530 + 32.9994 \times$    | 0.971    | 2.07                        | 0.93         | 0.1-5                      | 16.4/31.4                   | 0.9968       | 1.0068 | 0.0247         | 1                   |
| 4  | Gallik asit             | 4.4             | 168.8                   | 79.0                    | Neg       | $y = 0.0547697 + 20.8152 \times$     | 0.999    | 1.60                        | 0.81         | 0.1-5                      | 13.2/17.0                   | 1.0010       | 0.9947 | 0.0112         | 1                   |
| 5  | Epigallokateşin         | 6.7             | 304.8                   | 219.0                   | Neg       | $y = -0.00494986 + 0.0483704 \times$ | 0.998    | 1.22                        | 0.73         | 1-50                       | 237.5/265.9                 | 0.9969       | 1.0040 | 0.0184         | 3                   |
| 6  | Protokateşik asit       | 6.8             | 152.8                   | 108.0                   | Neg       | $y = 0.211373 + 12.8622 \times$      | 0.957    | 1.43                        | 0.76         | 0.1-5                      | 21.9/38.6                   | 0.9972       | 1.0055 | 0.0350         | 1                   |
| 7  | Kateşin                 | 7.4             | 288.8                   | 203.1                   | Neg       | $y = -0.00370053 + 0.431369 \times$  | 0.999    | 2.14                        | 1.08         | 0.2-10                     | 55.0/78.0                   | 1.0024       | 1.0045 | 0.0221         | 3                   |
| 8  | Gentisik asit           | 8.3             | 152.8                   | 109.0                   | Neg       | $y = -0.0238983 + 12.1494 \times$    | 0.997    | 1.81                        | 1.22         | 0.1-5                      | 18.5/28.2                   | 0.9963       | 1.0077 | 0.0167         | 1                   |
| 9  | Klorojenik asit         | 8.4             | 353.0                   | 85.0                    | Neg       | $y = 0.289983 + 36.3926 \times$      | 0.995    | 2.15                        | 1.52         | 0.1-5                      | 13.1/17.6                   | 1.0000       | 1.0023 | 0.0213         | 1                   |
| 10 | Protokateşik aldehit    | 8.5             | 137.2                   | 92.0                    | Neg       | $y = 0.257085 + 25.4657 \times$      | 0.996    | 2.08                        | 0.57         | 0.1-5                      | 15.4/22.2                   | 1.0002       | 0.9988 | 0.0396         | 1                   |
| 11 | Tanik asit              | 9.2             | 182.8                   | 78.0                    | Neg       | $y = 0.0126307 + 26.9263 \times$     | 0.999    | 2.40                        | 1.16         | 0.05-2.5                   | 15.3/22.7                   | 0.9970       | 0.9950 | 0.0190         | 1                   |
| 12 | Epigallokateşin gallat  | 9.4             | 457.0                   | 305.1                   | Neg       | $y = -0.0380744 + 1.61233 \times$    | 0.999    | 1.30                        | 0.63         | 0.2-10                     | 61.0/86.0                   | 0.9981       | 1.0079 | 0.0147         | 3                   |
| 13 | 1,5-dikafeoilkinik asit | 9.8             | 515.0                   | 191.0                   | Neg       | $y = -0.0164044 + 16.6535 \times$    | 0.999    | 2.42                        | 1.48         | 0.1-5                      | 5.8/9.4                     | 0.9983       | 0.9997 | 0.0306         | 1                   |
| 14 | 4-hidroksibenzoik asit  | 10.5            | 137.2                   | 65.0                    | Neg       | $y = -0.0240747 + 5.06492 \times$    | 0.999    | 1.24                        | 0.97         | 0.2-10                     | 68.4/88.1                   | 1.0032       | 1.0068 | 0.0237         | 1                   |
| 15 | Epikateşin              | 11.6            | 289.0                   | 203.0                   | Neg       | $y = -0.0172078 + 0.0833424 \times$  | 0.996    | 1.47                        | 0.62         | 1-50                       | 139.6/161.6                 | 1.0013       | 1.0012 | 0.0221         | 3                   |
| 16 | Vanilik asit            | 11.8            | 166.8                   | 108.0                   | Neg       | $y = -0.0480183 + 0.779564 \times$   | 0.999    | 1.92                        | 0.76         | 1-50                       | 141.9/164.9                 | 1.0022       | 0.9998 | 0.0145         | 1                   |
| 17 | Kafeik asit             | 12.1            | 179.0                   | 134.0                   | Neg       | $y = 0.120319 + 95.4610 \times$      | 0.999    | 1.11                        | 1.25         | 0.05-2.5                   | 7.7/9.5                     | 1.0015       | 1.0042 | 0.0152         | 1                   |
| 18 | Siringik asit           | 12.6            | 196.8                   | 166.9                   | Neg       | $y = -0.0458599 + 0.663948 \times$   | 0.998    | 1.18                        | 1.09         | 1-50                       | 82.3/104.5                  | 1.0006       | 1.0072 | 0.0129         | 1                   |
| 19 | Vanilin                 | 13.9            | 153.1                   | 125.0                   | Poz       | $y = 0.00185898 + 20.7382 \times$    | 0.996    | 1.10                        | 0.85         | 0.1-5                      | 24.5/30.4                   | 1.0009       | 0.9967 | 0.0122         | 1                   |
| 20 | Siringik aldehit        | 14.6            | 181.0                   | 151.1                   | Neg       | $y = -0.0128684 + 7.90153 \times$    | 0.999    | 2.51                        | 0.77         | 0.4-20                     | 19.7/28.0                   | 1.0001       | 0.9964 | 0.0215         | 1                   |
| 21 | Daidzin                 | 15.2            | 417.1                   | 199.0                   | Poz       | $y = 9.45747 + 152.338 \times$       | 0.996    | 2.25                        | 1.32         | 0.05-2.5                   | 7.0/9.5                     | 0.9955       | 1.0017 | 0.0202         | 2                   |
| 22 | Epikateşin gallat       | 15.5            | 441.0                   | 289.0                   | Neg       | $y = -0.0142216 + 1.06768 \times$    | 0.997    | 1.63                        | 1.28         | 0.1-5                      | 19.5/28.5                   | 0.9984       | 0.9946 | 0.0229         | 3                   |
| 23 | Piseid                  | 17.2            | 391.0                   | 135/106.9               | Poz       | $y = 0.00772525 + 25.4181 \times$    | 0.999    | 1.94                        | 1.16         | 0.05-2.5                   | 13.8/17.8                   | 1.0042       | 0.9979 | 0.0199         | 1                   |
| 24 | p-Kumarik asit          | 17.8            | 163.0                   | 93.0                    | Neg       | $y = 0.0249034 + 18.5180 \times$     | 0.999    | 1.92                        | 1.43         | 0.1-5                      | 25.9/34.9                   | 1.0049       | 1.0001 | 0.0194         | 1                   |
| 25 | Ferulik asit-D3-IS      | 18.8            | 196.2                   | 152.1                   | Neg       | N.A.                                 | N.A.     | N.A.                        | N.A.         | N.A.                       | N.A.                        | N.A.         | N.A.   | 0.0170         | 1                   |
| 26 | Ferulik asit            | 18.8            | 192.8                   | 149.0                   | Neg       | $y = -0.0735254 + 1.34476 \times$    | 0.999    | 1.44                        | 0.53         | 1-50                       | 11.8/15.6                   | 0.9951       | 0.9976 | 0.0181         | 1                   |
| 27 | Sinapik asit            | 18.9            | 222.8                   | 193.0                   | Neg       | $y = -0.0929932 + 0.836324 \times$   | 0.999    | 1.45                        | 0.52         | 0.2-10                     | 65.2/82.3                   | 1.0031       | 1.0037 | 0.0317         | 1                   |
| 28 | Kumarin                 | 20.9            | 146.9                   | 103.1                   | Poz       | $y = 0.0633397 + 136.508 \times$     | 0.999    | 2.11                        | 1.54         | 0.05-2.5                   | 214.2/247.3                 | 0.9950       | 0.9958 | 0.0383         | 1                   |

**Tablo 4.3. devamı**

| No | Bileşkler       | RT <sup>a</sup> | M.I. (m/z) <sup>b</sup> | F.I. (m/z) <sup>c</sup> | Iyon. mod | Denklem                        | $r^{2d}$ | RSD% <sup>e</sup><br>Güniçi | Günler arası | Doğrusallık aralığı (mg/L) | LOD/LOQ (µg/L) <sup>f</sup> | Recovery (%) |        | Iyon. mod | Denklem |
|----|-----------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-----------|--------------------------------|----------|-----------------------------|--------------|----------------------------|-----------------------------|--------------|--------|-----------|---------|
| 29 | Salisilik asit  | 21.8            | 137.2                   | 65.0                    | Neg       | $y=0.239287+153.659 \times$    | 0.999    | 1.48                        | 1.18         | 0.05-2.5                   | 6.0/8.3                     | 0.9950       | 0.9998 | 0.0158    | 1       |
| 30 | Siranozit       | 23.7            | 447.0                   | 284.0                   | Neg       | $y=0.280246+6.13360 \times$    | 0.997    | 1.56                        | 1.12         | 0.05-2.5                   | 12.1/16.0                   | 1.0072       | 1.0002 | 0.0366    | 2       |
| 31 | Mikueliyanin    | 24.1            | 477.0                   | 150.9                   | Neg       | $y=-0.00991585+5.50334 \times$ | 0.999    | 1.31                        | 0.95         | 0.1-5                      | 10.6/14.7                   | 0.9934       | 0.9965 | 0.0220    | 2       |
| 32 | Rutin-D3-IS     | 25.5            | 612.2                   | 304.1                   | Neg       | N.A.                           | N.A.     | N.A.                        | N.A.         | N.A.                       | N.A.                        | N.A.         | N.A.   | N.A.      | 2       |
| 33 | Rutin           | 25.6            | 608.9                   | 301.0                   | Neg       | $y=-0.0771907+2.89868 \times$  | 0.999    | 1.38                        | 1.09         | 0.1-5                      | 15.7/22.7                   | 0.9977       | 1.0033 | 0.0247    | 2       |
| 34 | İzokuersitrin   | 25.6            | 463.0                   | 271.0                   | Neg       | $y=-0.111120+4.10546 \times$   | 0.998    | 2.13                        | 0.78         | 0.1-5                      | 8.7/13.5                    | 1.0057       | 0.9963 | 0.0220    | 2       |
| 35 | Hesperidin      | 25.8            | 611.2                   | 449.0                   | Poz       | $y=0.139055+13.2785 \times$    | 0.999    | 1.84                        | 1.35         | 0.1-5                      | 19.0/26.0                   | 0.9967       | 1.0043 | 0.0335    | 2       |
| 36 | o-Kumarik asit  | 26.1            | 162.8                   | 93.0                    | Neg       | $y=0.00837193+11.2147 \times$  | 0.999    | 2.11                        | 1.46         | 0.1-5                      | 31.8/40.4                   | 1.0044       | 0.9986 | 0.0147    | 1       |
| 37 | Genistin        | 26.3            | 431.0                   | 239.0                   | Neg       | $y=1.65808+7.57459 \times$     | 0.991    | 2.01                        | 1.28         | 0.1-5                      | 14.9/21.7                   | 1.0062       | 1.0047 | 0.0083    | 2       |
| 38 | Rozmarinik asit | 26.6            | 359.0                   | 197.0                   | Neg       | $y=-0.0117238+8.04377 \times$  | 0.999    | 1.24                        | 0.86         | 0.1-5                      | 16.2/21.2                   | 1.0056       | 1.0002 | 0.0130    | 1       |
| 39 | Ellajik asit    | 27.6            | 301.0                   | 284.0                   | Neg       | $y=0.00877034+0.663741 \times$ | 0.999    | 1.57                        | 1.23         | 0.4-20                     | 56.9/71.0                   | 1.0005       | 1.0048 | 0.0364    | 1       |
| 40 | Kozmosin        | 28.2            | 431.0                   | 269.0                   | Neg       | $y=-0.708662+8.62498 \times$   | 0.998    | 1.65                        | 1.30         | 0.1-5                      | 6.3/9.2                     | 0.9940       | 0.9973 | 0.0083    | 2       |
| 41 | Kuersitrin      | 29.8            | 447.0                   | 301.0                   | Neg       | $y=-0.00153274+3.20368 \times$ | 0.999    | 2.24                        | 1.16         | 0.1-5                      | 4.8/6.4                     | 0.9960       | 0.9978 | 0.0268    | 2       |
| 42 | Astragalin      | 30.4            | 447.0                   | 255.0                   | Neg       | $y=0.00825333+3.51189 \times$  | 0.999    | 2.08                        | 1.72         | 0.1-5                      | 6.6/8.2                     | 0.9968       | 0.9957 | 0.0114    | 2       |
| 43 | Nikotiflorin    | 30.6            | 592.9                   | 255.0/284.0             | Neg       | $y=0.00499333+2.62351 \times$  | 0.999    | 1.48                        | 1.23         | 0.05-2.5                   | 11.9/16.7                   | 0.9954       | 1.0044 | 0.0108    | 2       |
| 44 | Fisetin         | 30.6            | 285.0                   | 163.0                   | Neg       | $y=0.0365705+8.09472 \times$   | 0.999    | 1.75                        | 1.19         | 0.1-5                      | 10.1/12.7                   | 0.9980       | 1.0042 | 0.0231    | 3       |
| 45 | Daidzein        | 34.0            | 253.0                   | 223.0                   | Neg       | $y=-0.0329252+6.23004 \times$  | 0.999    | 2.18                        | 1.73         | 0.1-5                      | 9.8/11.6                    | 0.9926       | 0.9963 | 0.0370    | 3       |
| 46 | Kueretin-D3-IS  | 35.6            | 304.0                   | 275.9                   | Neg       | N.A.                           | N.A.     | N.A.                        | N.A.         | N.A.                       | N.A.                        | N.A.         | N.A.   | N.A.      | 3       |
| 47 | Kueretin        | 35.7            | 301.0                   | 272.9                   | Neg       | $y=+0.00597342+3.39417 \times$ | 0.999    | 1.89                        | 1.38         | 0.1-5                      | 15.5/19.0                   | 0.9967       | 0.9971 | 0.0175    | 3       |
| 48 | Naringenin      | 35.9            | 270.9                   | 119.0                   | Neg       | $y=-0.00393403+14.6424 \times$ | 0.999    | 2.34                        | 1.69         | 0.1-5                      | 2.6/3.9                     | 1.0062       | 1.0020 | 0.0392    | 3       |
| 49 | Hesperetin      | 36.7            | 301.0                   | 136.0/286.0             | Neg       | $y=+0.0442350+6.07160 \times$  | 0.999    | 2.47                        | 2.13         | 0.1-5                      | 7.1/9.1                     | 0.9998       | 0.9963 | 0.0321    | 3       |
| 50 | Luteolin        | 36.7            | 284.8                   | 151.0/175.0             | Neg       | $y=-0.0541723+30.7422 \times$  | 0.999    | 1.67                        | 1.28         | 0.05-2.5                   | 2.6/4.1                     | 0.9952       | 1.0029 | 0.0313    | 3       |
| 51 | Genistein       | 36.9            | 269.0                   | 135.0                   | Neg       | $y=-0.00507501+12.1933 \times$ | 0.999    | 1.48                        | 1.19         | 0.05-2.5                   | 3.7/5.3                     | 1.0069       | 1.0012 | 0.0337    | 3       |
| 52 | Kemferol        | 37.9            | 285.0                   | 239.0                   | Neg       | $y=-0.00459557+3.13754 \times$ | 0.999    | 1.49                        | 1.26         | 0.05-2.5                   | 10.2/15.4                   | 0.9992       | 0.9990 | 0.0212    | 3       |
| 53 | Apigenin        | 38.2            | 268.8                   | 151.0/149.0             | Neg       | $y=0.119018+34.8730 \times$    | 0.998    | 1.17                        | 0.96         | 0.05-2.5                   | 1.3/2.0                     | 0.9985       | 1.0003 | 0.0178    | 3       |
| 54 | Amentoflavon    | 39.7            | 537.0                   | 417.0                   | Neg       | $y=0.727280+33.3658 \times$    | 0.992    | 1.35                        | 1.12         | 0.05-2.5                   | 2.8/5.1                     | 0.9991       | 1.0044 | 0.0340    | 3       |
| 55 | Krisin          | 40.5            | 252.8                   | 145.0/119.0             | Neg       | $y=-0.0777300+18.8873 \times$  | 0.999    | 1.46                        | 1.21         | 0.05-2.5                   | 1.5/2.8                     | 0.9922       | 1.0050 | 0.0323    | 3       |
| 56 | Akasetin        | 40.7            | 283.0                   | 239.0                   | Neg       | $y=-0.559818+163.062 \times$   | 0.997    | 1.67                        | 1.28         | 0.02-1                     | 1.5/2.5                     | 0.9949       | 1.0011 | 0.0363    | 3       |

aR.T.: Tutunma süresi;

bMI (m/z): Standart analitlerin moleküler iyonları (kütle/yük oranı);

cFI (m/z): Parçalanma (fragment) iyonları;

dR<sup>2</sup>: Belirleme katsayısı (doğrusal uygunluk derecesi);

eRSD: Göreli standart sapma (%);

fLOD/LOQ (µg/L): Saptama ve sayısallaştırma (kantifikasyon) sınırları;

gU (%): %95 güven düzeyinde bağıl belirsizlik (k = 2);

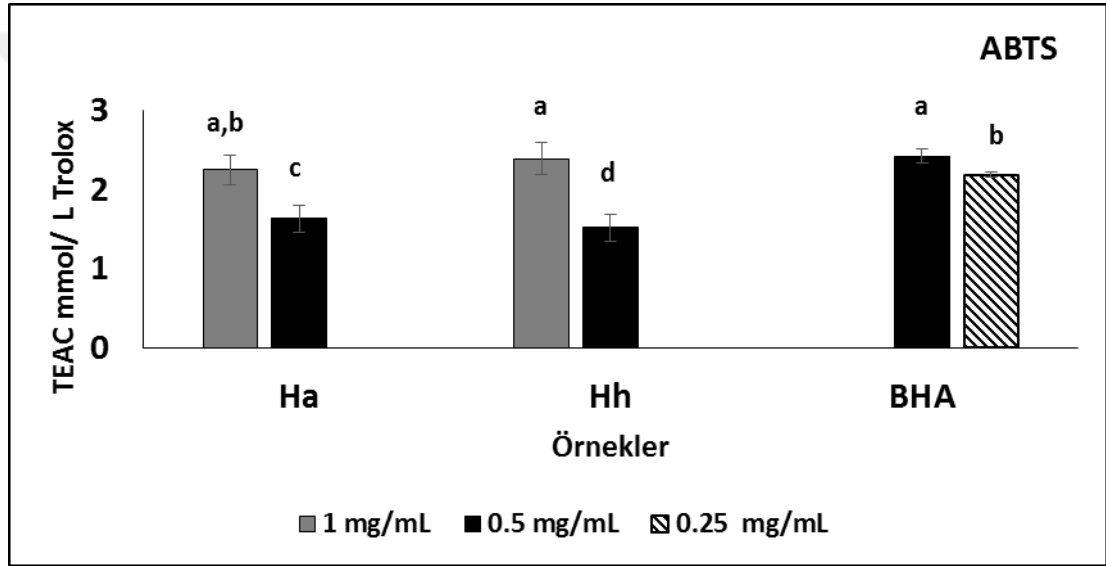
hIS: İç standart;

iGr. No: İç standart gruplamasını ifade eder; bu numaralar, hangi iç standartın hangi fenolik bileşiği temsil ettiğini göstermektedir.

## 4.2. Antioksidan Aktivite Üzerine Yapılan Araştırmalar

### 4.2.1. ABTS<sup>+</sup> (2,2'-azino-bis (3-etilbenzothiazolin-6-sülfonik asit)) Radikal Süpürme Etkisinin Tayin Edilmesi

Bitki ekstralarının ABTS<sup>+</sup> radikalini süpürme kapasiteleri TEAC değerlerine göre birbirine yakın bulunmuştur. Standart olarak kullanılan BHA'nın 0,5 mg/mL konsantrasyonunda TEAC değeri 2,42±0,09 mmol/L Trolox bulunurken ekstralar 1mg/mL konsantrasyonda BHA ile istatistiksel olarak aynı anlamlılıkta aktivite sergileyebilmişlerdir (p>0.05). Her iki ekstrenin de artan konsantrasyonla birlikte radikal süpürücü etkisi artmıştır. Sonuçlar Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Ekstrelerin ABTS radikali süpürücü aktiviteleri.

İstatistiksel olarak belirgin farklılıklar p<0.05 anlamlılıkta değerlendirilmiştir. (A, c) ile belirtilen farklı harfler istatistiksel olarak aynı anlamlılıkta değildir.

### 4.2.2. DPPH<sup>•</sup> (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Kapasitesinin Tayin Edilmesi

Bitki ekstralarının DPPH radikali süpürme kapasiteleri karşılaştırıldığında metanol ekstresinin 0,5-4 mg/mL konsantrasyon aralığında en yüksek % inhibisyon değerlerine sahip en aktif ekstre olduğu belirlenmiştir. Standart olarak kullanılan BHA'nın aktivitesi çalışılan bütün ekstralardan daha yüksek bulunmuştur. BHA'nın 0,5 mg/mL konsantrasyonundaki aktivitesi ile *Herniaria argaea*'nın 4 mg/mL

konsantrasyondaki aktivitesi istatistiksel olarak aynı anlamlılıkta aktivite sergiyebilmiştir ( $p>0.05$ ). Toplam fenol içeriği yüksek olan *H. argaea*'nın radikal süpürücü özelliği *H. hirsuta*'dan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tüm ekstrelerin DPPH• radikalini süpürme kapasiteleri tespit edilmiş ve sonuçlar Tablo 4.4'de verilmiştir.

**Tablo 4.4.** Ekstrelerin DPPH radikalini süpürücü etkileri

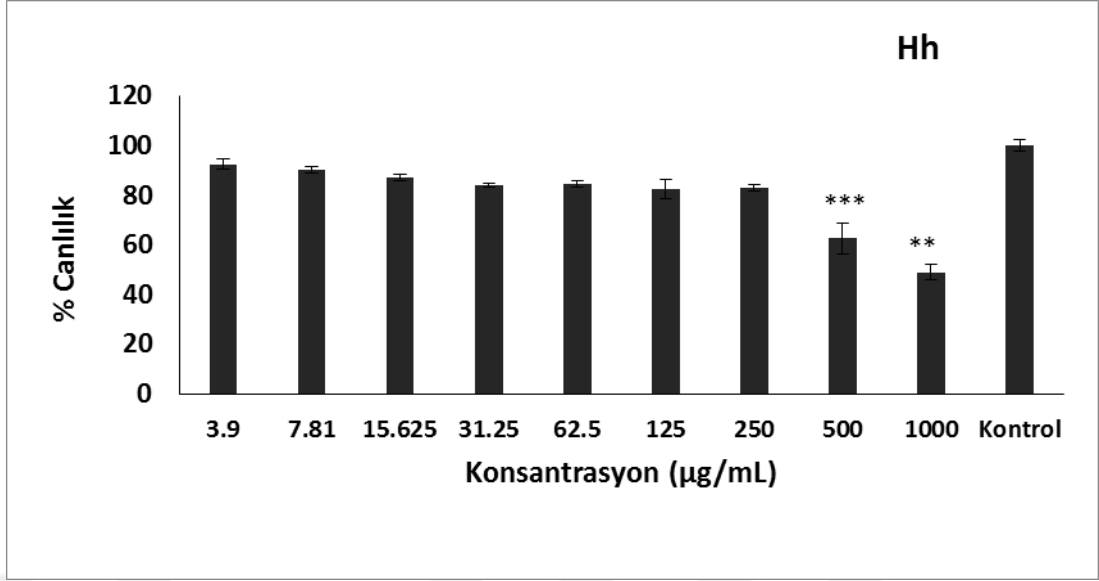
| Ekstreler  | % İnhibisyon            |                         |                           |                         |
|------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|
|            | 4 mg/mL                 | 2 mg/mL                 | 1 mg/mL                   | 0.5 mg/mL               |
| <b>Hh</b>  | 67,14±3,79 <sup>c</sup> | 43,07±0,87 <sup>e</sup> | 31,08±0,65 <sup>f</sup>   | 24,58±0,51 <sup>g</sup> |
| <b>Ha</b>  | 77,03±1,42 <sup>b</sup> | 52,35±1,08 <sup>d</sup> | 36,94±3,08 <sup>f</sup>   | 27,10±0,85 <sup>g</sup> |
| <b>BHA</b> | 86,14±3,21 <sup>a</sup> | 84,13±1,17 <sup>a</sup> | 81,74±2,82 <sup>a,b</sup> | 75,49±3,56 <sup>b</sup> |

\*Ortalama ± SD; n=3. İstatistiksel olarak belirgin farklılıklar  $p<0.05$  anlamlılıkta değerlendirilmiştir. (a,c) ile belirtilen farklı harfler istatistiksel olarak aynı anlamlılıkta değildir.

### 4.3. Hücre Kültürü Çalışmaları

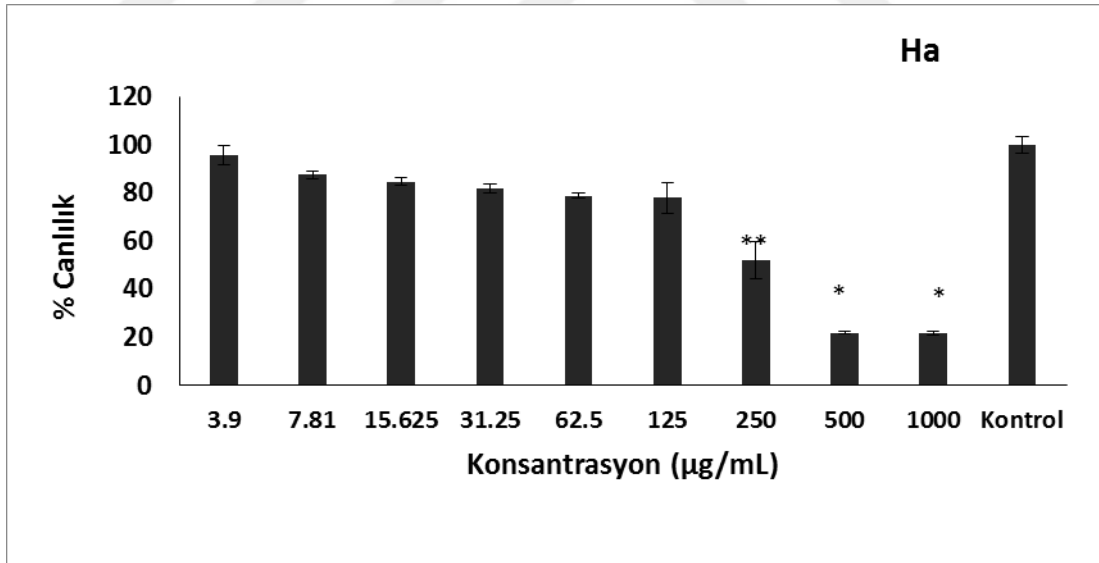
#### 4.3.1. A549 Hücre Hattında Sitotoksik Etkinin MTT Testi ile Belirlenmesi

Ekstreler 3,9-1000 µg/mL aralığında çalışılmıştır. Sonuçlar yüzde (%) olarak verilmiş ve hücre kontrol grubu canlılığı %100 kabul edilerek diğer gruplar hesaplanmıştır. Genel olarak bakıldığında, yüksek konsantrasyonlarda tüm ekstreler canlılığı %50'nin altına düşürebilmişlerdir. Her iki bitki ekstresinde de konsantrasyona bağlı olarak hücre canlılığında azalma gözlenmiştir. Ekstrelerin A549 hücre hattının canlılığı üzerine olan etkileri Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te verilmiştir. Ekstreler arasında *H. argaea* ekstresi 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonda canlılığı  $p<0.001$  anlamlılıkta inhibe edebilmiştir. *H. hirsuta* ise en yüksek konsantrasyonda canlılığı  $p<0.01$  anlamlılıkta inhibe etmiştir. *Herniaria argaea* ekstresinin, *Herniaria hirsuta* ekstresine göre daha düşük konsantrasyonlarda dahi daha güçlü sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.



**Şekil 4.4.** *H. hirsuta* ekstresinin A549 hücre hattındaki toksisitesi.

Ortalama  $\pm$  SS olarak verilen değerler  $\pm$  %95 güven aralığında belirtilmiştir (n=3). İstatistiksel olarak belirgin farklılıklar \*p<0,001; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,05 olarak belirtilmiştir.



**Şekil 4.5.** *H. argaea* ekstresinin A549 hücre hattındaki toksisitesi.

Ortalama  $\pm$  SS olarak verilen değerler  $\pm$  %95 güven aralığında belirtilmiştir (n=3). İstatistiksel olarak belirgin farklılıklar \*p<0,001; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,05 olarak belirtilmiştir.

## 5. TARTIşMA VE SONUÇ

Bu alışma kapsamında *Herniaria hirsuta* L. ve *Herniaria argaea* Boiss. türlerinin farmakognozik özellikleri kapsamlı şekilde değerlendirilmiş; kimyasal içerikleri, antioksidan aktiviteleri ve sitotoksik etkileri ilk defa bir arada sistematik olarak araştırılmıştır. Araştırmada kullanılan %80 metanol ekstraksiyonu, hem fenolik hem flavonoit bileşiklerin çözünürlüğünü maksimize etmesi nedeniyle tercih edilmiştir. Elde edilen bulgular, her iki türün de biyoaktif bileşikler açısından zengin olduğunu ve biyolojik aktiviteler bakımından potansiyel taşıdığını göstermektedir.

Çalışmada yapılan spektrofotometrik analizler sonucunda, *H. argaea* ekstresinin hem toplam fenolik hem de flavonoit içerikleri bakımından *H. hirsuta* ekstresine kıyasla daha yüksek değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu farklılığın temelinde bitkilerin türler arası biyosentetik farklılıkları, yetişme ortamları ve ekstraksiyonda kullanılan çözücü polaritesinin etkili olduğu düşünülmektedir.

Elde edilen bu bulgular, *H. argaea* ve *H. hirsuta* türlerinin fitokimyasal profillerinin farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle *H. argaea* ekstresinde Rutin'in yüksek oranda bulunması dikkat çekerken, *H. hirsuta* ekstresinde Kinik asit baskın bileşik olarak tespit edilmiştir. Bu farklılıklar, bitki türlerinin potansiyel biyolojik aktiviteleri ve farmakolojik uygulamaları açısından önem taşıyabilir. Ayrıca kullanılan bitki materyalinin coğrafi kökeni, toplanma dönemi ve çevresel koşulları da fenolik/flavonoit içeriği üzerinde etkili faktörler arasındadır (Roby ve ark., 2013). *H. argaea*'nın endemik bir tür olması ve belirli coğrafi koşullara adaptasyonu, bu türün zengin kimyasal içerik profile sahip olmasına katkı sağlayabilir.

Çalışmada antioksidan aktiviteler DPPH ve ABTS radikal süpürme testleri ile değerlendirilmiştir. Her iki testte de hem *H. hirsuta* hem de *H. argaea* ekstreleri antioksidan aktivite göstermiştir. Özellikle DPPH testinde, *H. argaea* ekstresinin tüm konsantrasyonlarda *H. hirsuta* ekstresine kıyasla daha yüksek radikal süpürme etkisi sergilediği belirlenmiştir. ABTS testinde ise 1 mg/mL konsantrasyonda her iki ekstre içinde BHA ile istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Elde edilen bu sonuçlar literatürde *Herniaria* türlerinin antioksidan özelliklerini destekleyen çalışmalarla uyumludur (Mbark ve ark., 1999; Kozachok ve ark., 2020). Bununla birlikte, literatürde *Herniaria* cinsine ait türlerle yapılan çalışmaların sınırlı olması, bu çalışmanın literatüre önemli katkı sağlamasına neden olmaktadır.

Antioksidan aktivite üzerinde fenolik ve flavonoit bileşiklerin yapısal özelliklerinin etkili olduğu bilinmektedir. Özellikle aromatik halkalara bağlı hidroksil gruplarının sayısı, serbest radikal temizleme kapasitesini artırmaktadır (Kasote ve ark., 2015). *H. argaea* ekstresinin fenolik ve flavonoit içeriğinin daha yüksek bulunması, antioksidan aktivitesinin de daha yüksek olmasına katkı sağlamış olabilir.

Uddin ve arkadaşlarının (2017) yaptığı çalışmada, *H. hirsuta*'nın metanol ekstresinin DPPH radikal süpürme kapasitesi değerlendirilmiştir. Çalışmada kullanılan konsantrasyon aralığı 10–100 ppm olarak belirlenmiş ve konsantrasyon arttıkça DPPH inhibisyon yüzdesinde artış gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada referans standart olarak kullanılan kuersetin, tüm konsantrasyon aralıklarında *H. hirsuta* ekstresine kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bu durum, saf fenolik bileşiklerin (kuersetin gibi) antioksidan aktivitelerinin, kompleks bitki ekstrelerine göre genellikle daha yüksek olabileceğini ortaya koymaktadır. Çünkü bitki ekstreleri birçok farklı bileşiğin karışımını içerdiğinden, aktif bileşiklerin etkileşimleri antioksidan aktiviteyi hem artırabilir hem de zaman zaman sınırlayabilir (Ignat ve ark., 2011). Literatürdeki bu farklı çalışmaların karşılaştırılması, kullanılan ekstraksiyon yöntemi, çözücü tipi, konsantrasyon aralıkları ve standart referans bileşiklerin farklı olmasından kaynaklanan varyasyonların da göz önünde bulundurulmasını gerektirmektedir.

Ammor ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *H. hirsuta*'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen hidroetanol ekstresinde toplam fenol miktarı  $71,39 \pm 1,13$  mg<sub>GAE</sub>/g, toplam

flavonoit miktarı  $13,93 \pm 0,12$  mg<sub>QE</sub>/g olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada sulu ekstraksiyon sonucunda toplam fenol miktarı  $56,57 \pm 6,77$  mg<sub>GAE</sub>/g, toplam flavonoit miktarı ise  $7,72 \pm 0,164$  mg<sub>QE</sub>/g bulunmuştur (Ammor ve ark., 2018). Buna göre, hidroetanol ekstraktının su ekstraktına göre fenolik ve flavonoit içeriklerinin daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar ise, her iki ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen değerlere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Metanol ekstraksiyonu ile hazırlanan ekstrelere ait toplam fenol ve flavonoit içeriklerinin daha yüksek tespit edilmesinin temel nedeni, kullanılan çözücünün polaritesinin fenolik ve flavonoit bileşiklerin çözünürlüğüne olan etkisidir. Metanol hem hidrofilik hem de hafif lipofilik özellik gösteren orta derecede polar bir çözücü olduğundan, bitkide bulunan fenolik bileşiklerin ve özellikle flavonoidlerin geniş spektrumunu çözme kapasitesine sahiptir. Buna karşılık su, yalnızca oldukça polar bileşikleri çözebilirken, hidroetanol karışımları ise metanol kadar geniş bir çözünürlük profiline sahip değildir. Ayrıca metanolün düşük viskozitesi ve penetrasyon kapasitesi, bitki dokusundan etkin madde geçişini kolaylaştırmakta ve ekstraksiyon verimini artırmaktadır. Literatürde de benzer şekilde metanol ve etanol gibi organik çözücülerin fenolik ve flavonoit bileşiklerin ekstraksiyonunda daha etkili olduğu bildirilmektedir (Stalikas, 2007; Ignat ve ark., 2011). Bu durum, çalışmamızda kullanılan %80 metanol ekstraksiyonunun etkinliğini ve elde edilen yüksek fenolik ve flavonoit içeriklerini açıklamaktadır.

Çalışmada her iki bitki ekstresinin A549 insan akciğer adenokarsinom hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri MTT testi ile değerlendirilmiştir. Bulgulara göre, her iki ekstrakt da konsantrasyon bağımlı şekilde hücre canlılığını azaltmıştır. *H. argaea* ekstresi 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarda hücre canlılığını anlamlı şekilde %50'nin altına indirirken ( $p < 0.001$ ), *H. hirsuta* ekstresi ise yalnızca en yüksek konsantrasyonda anlamlı inhibisyon göstermiştir ( $p < 0.01$ ).

Literatürde *Herniaria* türlerinin sitotoksik etkilerine yönelik yapılan çalışmalar sınırlıdır. Ancak bazı araştırmalar, *Herniaria* türlerinin içerdiği saponin, flavonoit ve triterpen türevlerinin hücre proliferasyonunu baskılayıcı etkiler gösterebileceğini ortaya koymuştur (Böttger ve Melzig, 2011; Mbark ve ark., 1999). Bu çalışmada da

gözlemlendiği üzere, *H. argaea*'nın içerik bakımından daha zengin olması, daha güçlü sitotoksik etki göstermesine katkıda bulunmuş olabilir.

Bu çalışma, *H. hirsuta* ve *H. argaea* türlerinin farmakognozik özelliklerini ilk kez karşılaştırmalı olarak değerlendirmesi açısından literatüre özgün katkı sağlamaktadır. Özellikle *H. argaea*'nın biyolojik aktivite potansiyelinin ilk kez bu kapsamda ortaya konulması önemli bir bulgudur. Ancak çalışmanın bazı sınırlılıkları da mevcuttur. Çalışma yalnızca in vitro düzeyde yürütülmüş olup, elde edilen bulguların in vivo sistemlerde ve klinik modellerde doğrulanmasına ihtiyaç vardır.

Bunun yanı sıra farklı kanser hücre hatları ve sağlıklı hücreler üzerinde sitotoksik etkilerin araştırılması, güvenlik ve seçicilik profili açısından daha geniş bilgi sağlayacaktır. Elde edilen bu ön bulgular, *Herniaria* türlerinin potansiyel farmasötik ve fitoterapötik uygulamalarının araştırılması açısından önemli bir başlangıç oluşturabilir.

*Herniaria* cinsine ait bitkiler, halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde geleneksel olarak kullanılmıştır. Bu cinse ait bitki ekstrelerinin etkisi ve güvenilirliği üzerine yapılacak bilimsel araştırmalar, potansiyel bir yardımcı tedavi yönteminin geliştirilmesine olanak sağlayabilir. Bu nedenle, bu alandaki ileri düzey çalışmaların gerçekleştirilmesi, yeni bitkisel tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi açısından büyük önem arz etmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Al-Qura'n S. Ethnopharmacological survey of wild medicinal plants in Showbak, Jordan. *J Ethnopharmacol.* 2009;123(1):45-50.
- Al-Snafi AE. Pharmacological importance of *Herniaria glabra* and *Herniaria hirsuta*: A review. *Int Arch Appl Sci.* 2018;5(4):2167-2175.
- Amer AM. *Herniaria* L. In: Middleditch BS, ed. *Studies in Plant Science*. Vol 2. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 1991:42.
- Ammor K, Bousta D, Jennan S, Bennani B, Chaqroune A, Mahjoubi F. Phytochemical screening, polyphenols content, antioxidant power, and antibacterial activity of *Herniaria hirsuta* from Morocco. *Sci World J.* 2018;3:41-45.
- Amrati FE, Bourhia M, Slighoua M. Traditional medicinal knowledge of plants used for cancer treatment by communities of mountainous areas of Fez-Meknes-Morocco. *Saudi Pharm J.* 2021;29(10):1185-1204.
- Arrout A, El Ghallab Y, Yafout M, Lefriyekh MR, Ait Haj Said A. Medicinal plants for gallstones: A cross-sectional survey of Moroccan patients. *Phytomedicine Plus.* 2024;4(1):100524.
- Atmani F, Farell G, Lieske JC. Extract from *Herniaria hirsuta* coats calcium oxalate monohydrate crystals and blocks their adhesion to renal epithelial cells. *J Urol.* 2004;172(4):1510-1514.
- Atmani F, Slimani Y, Mimouni B, Hacht B. Prophylaxis of calcium oxalate stones by *Herniaria hirsuta* on experimentally induced nephrolithiasis in rats. *BJU Int.* 2003;92(1):137-140.
- Atmani F, Slimani Y, Mimouni M, Aziz M, Hacht B, Ziyat A. Effect of aqueous extract from *Herniaria hirsuta* L. on experimentally nephrolithiasic rats. *J Ethnopharmacol.* 2004;95(1):87-93.
- Avci M. Türkiye'nin bitki çeşitliliği ve coğrafi açıdan değerlendirilmesi. In: Akkemik Ü, ed. *Türkiye'nin Doğal-Egzotik Ağaç ve Çalıları I*. 1st ed. Orman Genel Müdürlüğü Yayını; 2014:28-53.

- Bahadır KOZ. Giresun Karagöl Yaylası bitki örtüsü. Karagöl Dağı Civarı Obalarındaki. 2022;39.
- Bencheikh N, Elachouri M, Mandal SC. Ethnobotanical, pharmacological, phytochemical, and clinical investigations on Moroccan medicinal plants traditionally used for the management of renal dysfunctions. J Ethnopharmacol. 2022;292:115178.
- Bittrich V. Caryophyllaceae. In: Kubitzki K, Rohwer JG, Bittrich V, eds. Flowering Plants: Dicotyledons. Families and Genera of Vascular Plants. Vol 2. Springer; 1993:406-460.
- Bizim Bitkiler®. Version 3.1. Published 2025. Accessed April 5, 2025. <http://www.bizimbitkiler.org.tr/v3/demo/details.php?id=5038>
- Boissier E, Buser R. Flora Orientalis: Sive, Enumeratio Plantarum in Oriente a Graecia et Aegypto ad Indiae Fines Hucusque Observatarum. Vol 1. H. Georg; 1867:739-742. <https://www.biodiversitylibrary.org/page/18093466>
- Borhane EC, Ziani RC, Calhelha JCM. Bioactive properties of medicinal plants from the Algerian flora: Selecting the species with the highest potential in view of application purposes. Ind Crops Prod. 2015;77:582-589.
- Böttger S, Melzig MF. Triterpenoid saponins of the Caryophyllaceae and Illecebraceae family. Phytochem Lett. 2011;4(2):59-68.
- Chandra S, Rawat DS. Medicinal plants of the family Caryophyllaceae: A review of ethno-medicinal uses and pharmacological properties. Integr Med Res. 2015;4(3):123-131.
- Consortium of Midwest Herbaria. *Herniaria hirsuta* L. Accessed February 18, 2025. <https://midwestherbaria.org/portal/taxa/index.php?taxon=3146veclid=31>
- Demirci-Çekiç S, Özkan G, Avan AN. Biomarkers of oxidative stress and antioxidant defense. J Pharm Biomed Anal. 2022;209:114477.
- Dönmez E. New floristic records from square B6 (Sivas/Kayseri). Turk J Bot. 2000;24(5). <https://journals.tubitak.gov.tr/botany/vol24/iss5/9>
- El Mabrouki H, Sivak KV, Kaukhova IE. Evaluation of the diuretic effect of crude ethanol and saponin-rich extracts of *Herniaria glabra* L. in rats. J Ethnopharmacol. 2021;273:113942.
- Elçi B, Erik S. Gündül (Ankara) ve çevresinin etnobotanik özellikleri. HUJPHARM. 2006;2:57-64.
- Eliáš P. *Herniaria* L. In: Goliašová K, Michalková E, eds. Flóra Slovenska. 2012;3:107-119.

- European Medicines Agency. Final assessment report on *Herniaria glabra* L., *H. hirsuta* L., and *H. incana* (Lam.) herba. Published 2021. Accessed February 2025; 3:36-45.
- Freiler M, Reznicek G, Jurenitsch J. New triterpene saponins from *Herniaria glabra*. *Helv Chim Acta*. 1996;79:385-390.
- Gölgeli Bedir A, Yanmaz LE, Okur S. Investigation of the effect of *Herniaria argea* and *Herniaria hirsuta* on diabetic wound healing. In: XVII. Ulusal III. Uluslararası Veteriner Cerrahi Kongresi; 2022:52; Samsun, Turkey.
- Grases F, Ramis M, Costa-Bauzá A, March JG. Effect of *Herniaria hirsuta* and *Agropyron repens* on calcium oxalate urolithiasis risk in rats. *J Ethnopharmacol*. 1995;45(3):211-214.
- Güner A. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları; 2012.
- Gyamfi M, Yonamine M, Aniya Y. Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana *Thonningia sanguinea* on experimentally induced liver injuries. *Gen Pharmacol*. 1999;32:661-667.
- Hamzaoglu E, Koç M. Bazı *Dianthus* (Caryophyllaceae) taksonlarının Türkiye'deki varlığı üzerine bir araştırma. *Güfbed*. 2019;9(4):620-627.
- Haspolat G. Farklı karanfil (*Dianthus* spp.) türlerinde morfolojik karakterizasyon. *Anadolu Ege Tarım Araşt Enst Derg*. 2024;34(Special Issue):160-167.
- Hegi G. *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*. Vol 3, Part 2. Berlin/Hamburg: Verlag Paul Parey; 1979.
- Ignat I, Volf I, Popa VI. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem*. 2011;126(4):1821-1835.
- Jakimiuk K, Wink M, Tomczyk M. Flavonoids of Caryophyllaceae. *Phytochem Rev*. 2022;21:179-218.
- Kabbaj FZ, Meddah B, Cherrah Y, Faouzi MEA. Ethnopharmacological profile of traditional plants used in Morocco by cancer patients as herbal therapeutics. *Phytopharmacology*. 2012;2(2):243-256.
- Kariev SS, Gaybullaev AA, Tursunov B. Phytotherapy of urolithiasis: Are extracts from medicinal plants only diuretics or are they really able to change the activity of lithogenesis? *Eur Urol Suppl*. 2013;12:69-94.

- Kasote DM, Katyare SS, Hegde MV, Bae H. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *Int J Biol Sci.* 2015;11(8):982-991.
- Kaya A, Karagüzel Ö, Aydınşakir K, Kazaz S. Türkiye’de doğal olarak yetişen bazı *Gypsophila* (*Gypsophila* sp.) türlerinin süs bitkisi olarak kullanım olanakları. *Derim.* 2012;29(1):37-47.
- Keskin M, Menemen Y. *Cerastium* (Caryophyllaceae) cinsinin Türkiye’deki bazı türlerinin tiplendirilmesi. *Bağbahçe Bilim Dergisi.* 2023;10(3):326-332.
- Kew Botanik Bahçeleri. *Herniaria hirsuta* - Goral Hills, Israel. Plant of the World Online. Published 2003. Accessed February 2025; 8:36-45.
- Koç M, Hamzaoglu E. *Herniaria caucasica* (Caryophyllaceae), *Rumex cyprius* (Polygonaceae), and *Potentilla multifida* (Rosaceae): Three new records for Turkey. *Turk J Bot.* 2014;38(4). doi:10.3906/bot-1401-40
- Korkmaz M, Özçelik H, İlhan V. Türkiye’nin bazı *Gypsophila* L. (Caryophyllaceae) taksonlarının habitat özellikleri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi.* 2019;5(2):111-125.
- Kozachok S, Pecio Ł, Kolodziejczyk-Czepas J.  $\gamma$ -Pyrone compounds: Flavonoids and maltol glucoside derivatives from *Herniaria glabra* L. collected in the Ternopil region of Ukraine. *Phytochemistry.* 2018;152:213-222.
- Kozachok S, Pecio Ł, Orhan İE. Reinvestigation of *Herniaria glabra* L. saponins and their biological activity. *Phytochemistry.* 2020;169:112162.
- Larsen K. Caryophyllaceae. *Flora Malesiana - Series 1, Spermatophyta.* 2002;16(1):1-51.
- Lefrioui Y, Chebaibi M, Djiddi Bichara M. Ethnobotanical survey of medicinal plants used in north-central Morocco as natural analgesic and anti-inflammatory agents. *Sci Afr.* 2024;25:e02275.
- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 2010;4(8):118-126.
- Mamadaliyeva NZ, Lafont R, Wink M. Diversity of secondary metabolites in the genus *Silene* L. (Caryophyllaceae): Structures, distribution, and biological activities. *Diversity.* 2014;6(3):415-499.
- Mbark AN, Charouf Z, Wray V. Monodesmosidic saponins from *Herniaria hirsuta*. *Pharmazie.* 2000;55(9):690-692.

- Mbark AN, Charrouf Z, Guillaume D, Kol O. New glycosides from *Herniaria fontanesii*. In: Yang CR, Tanaka O, eds. *Studies in Plant Science*. Vol 6. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 1999:314-319.
- Mbark AN, Charrouf Z, Wieruszeski JM. *Herniaria Saponin A*, a novel saponin from *Herniaria fontanesii*. *Nat Prod Lett*. 1995;6(3):233-240.
- Meiouet F, El Kabbaj S, Daudon M. Étude in vitro de l'activité litholytique de quatre plantes médicinales vis-à-vis des calculs urinaires de cystine. *Progrès en Urologie*. 2011;21(1):40-47.
- Muatasim Jan M, Mir TA, Jan HA. Ethnomedicinal study of plants utilized in pregnancy, childbirth and postpartum healthcare in Kashmir Himalaya. *J Herbal Med*. 2023;42:100767.
- Özçelik H. The endemic plant taxa of the Köprülü Kanyon National Park and its surroundings (Antalya-Isparta). *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2012;16(3):3094-3111.
- Peeters L, Foubert K, Breynaert A. Effects of medicagenic acid metabolites, originating from biotransformation of a *Herniaria hirsuta* extract, on calcium oxalate crystallization in vitro. *J Ethnopharmacol*. 2022;285:114860.
- Peeters L, Vervliet P, Foubert K. A comparative study on the in vitro biotransformation of medicagenic acid using human liver microsomes and S9 fractions. *Chem Biol Interact*. 2020;328:109192.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999;26:1231-1237.
- Reznicek G, Cart J, Korhammer S. The first two spectroscopically confirmed saponins from *Herniaria glabra* L. *Pharmazie*. 1993;48(6):450-452.
- Ricotta C, Chiarucci A, Avena G. Quantifying the effects of nutrient addition on community diversity of serpentine vegetation using parametric entropy of type  $\alpha$ . *Acta Oecol*. 2004;25(1-2):61-65.
- Roby MHH, Sarhan MA, Selim KAH, Khalel KI. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in selected herbs and spices. *Int J Food Sci Technol*. 2013;48(2):412-416.
- Royal Botanic Gardens, Kew. Herbarium Catalogue Specimens. The Herbarium Catalogue, Royal Botanic Gardens, Kew. Accessed February 8, 2025:8:41-49.

- Šarić-Kundalić B, Dobeš C, Klatte-Asselmeyer V, Saukel J. Ethnobotanical study on medicinal use of wild and cultivated plants in middle, south and west Bosnia and Herzegovina. *J Ethnopharmacol.* 2010;131(1):33-55.
- Schroeder H, Schubert-Zsilavecz M, Reznicek G. A triterpene saponin from *Herniaria glabra*. *Phytochemistry.* 1993;34:1609-1613.
- Seyedabadi MR, Eicker U, Karimi S. Plant selection for green roofs and their impact on carbon sequestration and the building carbon footprint. *Environ Challenges.* 2021;4:100119.
- Simpson MG. A diversity and classification of flowering plants: Eudicots. In: Simpson MG, ed. *Plant Systematics*. 2nd ed. Academic Press; 2010:295-312.
- Simpson MG. Diversity and classification of flowering plants: Eudicots. *Plant Systematics*. 2nd ed. ScienceDirect. Accessed February 27, 2025;27:41-55.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 1999;299:152-178.
- Sokar Z, Gadhi CA, Benharref A, Jana M. Toxic effect of *Herniaria cinerea* DC. on the stomach, intestine, lung, and kidney of rats. *J Ethnopharmacol.* 2003;88(2-3):149-153.
- Stalikas CD. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J Sep Sci.* 2007;30(18):3268-3295.
- Strasser AT. Überarbeitung der ÖAB-Monographie von *Herba Herniariae*. Wien; 2011;3:52-61.
- Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M. *Farmasötik Botanik*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No. 93; 2007.
- Touiti N, Achour S, Iken I. Nephrotoxicity associated with herbal medicine use, experience from Morocco. *Toxicol Anal Clin.* 2019;31(3):145-152.
- Uddin G, Ali J, Feroz S. Antimicrobial, antioxidant and phytochemical analysis of *Herniaria hirsuta*. *Univ Swabi J.* 2017;1:84-93.
- Van Dooren I, El Abbes Faouzi M, Foubert K. Cholesterol lowering effect in the gall bladder of dogs by a standardized infusion of *Herniaria hirsuta* L. *J Ethnopharmacol.* 2015;169:69-75.
- Vural C, Aytaç Z. The flora of Erciyes Dağı (Kayseri, Turkey). *Turk J Bot.* 2005;29(3):33-45.

- Wachtel-Galor S, Benzie IFF. Herbal medicine: An introduction to its history, usage, regulation, current trends, and research needs. In: Benzie IFF, Wachtel-Galor S, eds. *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*. 2nd ed. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2011. Accessed February 2025;25:65-74.
- Wojnicz D, Kucharska AZ, Sokół-Lętowska A. Medicinal plant extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. *Urol Res*. 2012;40(6):683-697. World Health Organization. Cancer. Published 2022;6:63-71.
- Yang L, Zhu Y, Hua Q. Comparative chloroplast genomics of Caryophyllaceae species: Insights into sequence variations and phylogenetic evolution. *BMC Plant Biol*. 2024;24(1):1259-1265.
- Yıldız B, Dirmeni T. Gökçeada'dan (Çanakkale-Türkiye) yeni bir *Minuartia* (Caryophyllaceae) türü. *Bağbahçe Bilim Dergisi*. 2022;9(1):1-4.
- Yilmaz MA. Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: A detailed, robust and comprehensive LC–MS/MS method validation. *Ind Crops Prod*. 2020;149:112347.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*. 1999;64(4):555-559.

## özlem tez

### ORJİNALLİK RAPORU

%**24**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**23**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**18**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

### BİRİNCİL KAYNAKLAR

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |             |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 1  | <b>abis-files.yyu.edu.tr</b><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                                          | % <b>6</b>  |
| 2  | <b>acikbilim.yok.gov.tr</b><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                                           | % <b>5</b>  |
| 3  | <b>Mustafa Abdullah Yilmaz. "Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: A detailed, robust and comprehensive LC-MS/MS method validation", Industrial Crops and Products, 2020</b><br>Yayın                                                  | % <b>3</b>  |
| 4  | <b>acikerisim.aku.edu.tr</b><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                                          | % <b>1</b>  |
| 5  | <b>earsiv.batman.edu.tr</b><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                                           | % <b>1</b>  |
| 6  | <b>www.researchgate.net</b><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                                           | % <b>1</b>  |
| 7  | <b>docplayer.biz.tr</b><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                                               | % <b>1</b>  |
| 8  | <b>mdpi-res.com</b><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                                                   | % <b>1</b>  |
| 9  | <b>hdl.handle.net</b><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                                                 | % <b>1</b>  |
| 10 | <b>amu.edu.az</b><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                                                                                     | <% <b>1</b> |
| 11 | <b>F. Sezer Senol Deniz, Ilkay Erdogan Orhan, Przemyslaw Andrzej Filipek, Abdulselam Ertas et al. "Evaluation of the Anti-Aging Properties of Ethanolic Extracts from Selected Plant Species and Propolis by Enzyme Inhibition Assays and 2D/3D Cell Culture Methods", Pharmaceuticals, 2025</b><br>Yayın | <% <b>1</b> |

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Hatice Özlem UVAT

Uyruğu : Türkiye (TC)

### EĞİTİM

| Derece | Kurum                           | Mezuniyet Tarihi |
|--------|---------------------------------|------------------|
| Lisans | Erciyes Üniversitesi            | Kayseri, 2022    |
| Lise   | Aksaray Anadolu Öğretmen Lisesi | Aksaray, 2016    |

### YABANCI DİL

İngilizce

.