



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



SCORZONERA PARVIFLORA JACQ. ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Ufuk ATAMAN

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Özlem BAHADIR ACIKARA**

**ANKARA
2021**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SCORZONERA PARVIFLORA JACQ. ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Ufuk ATAMAN

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Özlem BAHADIR ACIKARA**

ANKARA

2021

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Yüksek Lisans olarak hazırlayıp sunduğum “*SCORZONERA PARVIFLORA* JACQ. ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ufuk ATAMAN

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalında

Ufuk ATAMAN tarafından hazırlanan

“*Scorzonera parviflora* Jacq. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar”

adlı tez çalışması

Aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:14.07.2021

Prof. Dr. Betül SEVER YILMAZ

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Özlem BAHADIR ACIKARA

Ankara Üniversitesi

Üye

Dr. Öğretim Üy. Aslı CAN AĞCA

Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen Aktan

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	ix
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Botanik Bilgiler	2
1.1.1. <i>Scorzonera parviflora</i> Jacq. Bitkisinin Sistematikteki Yeri	2
1.1.2. Asteracea Familyasının Özellikleri	2
1.1.3. <i>Scorzonera</i> L. Cinsinin Botanik Özellikleri	3
1.1.4. <i>Scorzonera parviflora</i> Bitkisinin Botanik Özellikleri	4
1.1.5. <i>Scorzonera parviflora</i> Bitkisinin Halk Arasında Kullanımı	5
1.2. <i>Scorzonera parviflora</i> Türü Üzerine Yapılan Çalışmalar	6
1.2.1. Fitokimyasal Çalışmalar	6
1.3. Biyoaktivite Çalışmaları	9
1.3.1. Antioksidan Aktivite	9
1.3.2. Antienflamatuvar Aktivite	9
1.3.3. Antinosiseptif Aktivite	10
1.3.4. Hepatoprotektif Aktivite	10
1.3.5. Yara İyileştirici Aktivite	11
2. GEREÇ VE YÖNTEM	12
2.1. Bitkisel Materyal	12
2.2. Ekstraksiyon Çalışmaları	13
2.2.1. Metanol Ekstresinin Hazırlanışı	13
2.2.2 Metanol Ekstresinin Fraksiyonlandırılması	13
2.3. Kromatografi Çalışmaları	13
2.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi	13
2.3.2. Kolon Kromatografisi Uygulamaları	14
2.3.2.1. Silikajel Kolon Uygulaması	14
2.3.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Uygulamaları	15
2.3.4. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini	16
2.3.4.1. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi	16
2.3.4.2. Kütle Spektroskopisi	16
2.4. Aktivite Çalışmaları	17
2.4.1. ABTS Serbest Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini	17
2.4.2. DPPH Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini	17
3. BULGULAR	19
3.1. Ekstraksiyon Çalışmalarına Ait Bulgular	19
3.2. Kromatografi Çalışmalarına Ait Bulgular	20

3.2.1. Silikajel Kolon Uygulamasına Ait Bulgular	20
3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisine Ait Bulgular	22
3.2.3. YPSK Çalışmasına Ait Bulgular	27
3.2.4. İzole Edilen Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması	29
3.2.4.1. Elde Edilen SPKEA-1 Bileşiğinin Yapı Tayini ile İlgili Bulgular	30
3.2.4.2. Elde Edilen SPKEA-2 Bileşiğinin Yapı Tayini ile İlgili Bulgular	34
3.2.4.3. Elde Edilen SPKEA-3 Bileşiğinin Yapı Tayini ile İlgili Bulgular	38
3.3. Aktivite Çalışmaları	41
3.3.1. Antioksidan Aktivite Tayini	41
3.3.1.1. ABTS Serbest Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini	41
3.3.1.2. DPPH Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini	43
4. TARTIŞMA	45
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	48
ÖZET	50
SUMMARY	51
KAYNAKLAR	52

ÖNSÖZ

Scorzonera parviflora Asteraceae familyasının *Scorzonera* cinsine aittir ve Dünya da Avrupa'dan Orta Asya'ya çok geniş bir coğrafyada yayılış göstermektedir, ülkemizde ise İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerimizde yetişir. Halk arasında yemlik adıyla bilinir. Böylesine geniş bir alana yayılmış olmasına rağmen bu tür üzerinde yapılan fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmaları sınırlı sayıdadır. Bu tez çalışması ile *S. parviflora* üzerinde fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmaları yaparak türün kimyasal içeriğinin aydınlatılması ve potansiyel aktivitelerinin ortaya çıkarılarak bilime katkı sunmak amaçlanmıştır.

Çalışmam boyunca tez konumun belirlenmesi ve çalışma sürecimin her aşamasında benden hiçbir yardımını esirgemeyen, emeğini, bilgisini ve tecrübesini aktaran, sabrını ve hoşgörüsünü sürekli hissettiğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Özlem BAHADIR ACIKARA' ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın yürütülmesinde gerekli olanakların sağlanmasında Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hayriye Gülçin SALTAN İŞCAN'a ve çalışmalarımda bana yardımlarını esirgemeyen başta Arş. Gör. Melek KARACAOĞLU ve Arş. Gör. Ekin KURTUL ve tüm anabilim dalı üyesi hocalarıma ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu zorlu süreçte beni yalnız bırakmayan, elinden gelen her şeyi yapan abim Mehmet Umur KARAASLAN'a ve bana sürekli destek olan başta Bircan GENÇ ve Burçin MERSİN olmak üzere tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmam esnasında kaybettiğim kıymetlim babam Ahmet ATAMAN'a ve en değerlim, annem Fikriye ATAMAN'a beni bugünlere getirdikleri her zaman arkamda durup sevgilerini esirgemedikleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
γ	Gama
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
ABTS	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_4$ (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit))
AEF	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
ALT	Alanin Transaminaz
AST	Aspartat Transaminaz
BHT	Bütil Hidroksi Toluen
CCl_4	Karbon Tetraklorür
CDCl_3	Dötorokloroform
COSY	Correlation Spectroscopy
cm	Santimetre
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
IC_{50}	%50 İnhibasyon konsantrasyonu
i.p.	İntraperitonal
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Chorenance
LC	Sıvı kromatografisi
KS	Kütle spektrometresi
$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$	Potasyum persülfat
M	Molar

m	Metre
MeOD	Dötorometanol
MeOH	Metanol
mm	Milimetre
NMR	Nükleer manyetik rezonans
NO ₂	Azot dioksit
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
°C	Santigrat derece
PGE2	Prostaglandin E2
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
UV	Ultraviyole
TNF	Tümör nekroz faktörü
TOCSY	Total Correlation Spectroscopy
TPA	12-O-tetradekanoil-13-asetat
YPSK	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. <i>Scorzonera parviflora</i> 'nın ülkemizde yetiştiği bölgeler (Tübives, 2020)	4
Şekil 1.2. <i>S.parviflora</i> 'nın doğada görünümü.	5
Şekil 1.3. Klorojenik asit.	7
Şekil 1.4. Hiperozit.	7
Şekil 1.5. Luteolin-7-O-glukozit.	7
Şekil 1.6. Taraksasterol asetat.	8
Şekil 1.7. Lupeol.	8
Şekil 1.8. Lupeol Asetat.	8
Şekil 2.1. <i>Scorzonera parviflora</i> herbaryum numunesi.	12
Şekil 3.1. Etil asetat ekstresinin Etil asetat:Metanol:Su (100:13,5:10) çözücü sistemindeki UV ₂₅₄ ve UV ₃₆₀ nm kromatogramları.	19
Şekil 3.2. Silikajel kolon uygulaması sonucu elde edilen fraksiyonlar.	21
Şekil 3.3. Silikajel kolondan elde edilen fraksiyonlardan 1-20 fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sistemiyle normal faz İTK uygulamasının 254 nm, 360 nm ve vanilin-sülfirik asit reaktifi ile muamele edildikten sonraki kromatogramı.	22
Şekil 3.4. Silikajel kolondan elde edilen fraksiyonlardan 21-42 fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sistemiyle normal faz İTK uygulamasının 254 nm, 360 nm ve vanilin-sülfirik asit reaktifi ile muamele edildikten sonraki kromatogramı.	23
Şekil 3.5. Silikajel kolondan elde edilen fraksiyonlardan 43-64 fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sistemiyle normal faz İTK uygulamasının 254 nm, 360 nm ve vanilin-sülfirik asit reaktifi ile muamele edildikten sonraki kromatogramı.	24
Şekil 3.6. Silikajel kolondan elde edilen fraksiyonlardan 65-83 fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sistemiyle normal faz İTK uygulamasının 254 nm, 360 nm ve vanilin-sülfirik asit reaktifi ile muamele edildikten sonraki kromatogramı.	25
Şekil 3.7. Silikajel kolondan elde edilen fraksiyonlardan 84-100 fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sistemiyle normal faz İTK uygulamasının 254	

nm, 360 nm ve vanilin-sülfirik asit reaktifi ile muamele edildikten sonraki kromatogramı.	26
Şekil 3.8. UA5 fraksiyonun kromatogramı.	27
Şekil 3.9. SPKEA-1 bileşiğinin UV spektrumu.	28
Şekil 3.10. SPKEA-2 bileşiğinin UV spektrumu.	28
Şekil 3.11. SPKEA-3 bileşiğinin UV spektrumu.	28
Şekil 3.12. SPKEA-1 bileşiğinin Kütle spektrumu-1.	30
Şekil 3.13. SPKEA-1 bileşiğinin Kütle spektrumu-2.	31
Şekil 3.14. SPKEA-1 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	32
Şekil 3.15. SPKEA-2 bileşiğinin Kütle spektrumu-1.	34
Şekil 3.16. SPKEA-2 bileşiğinin Kütle spektrumu-2.	35
Şekil 3.17. SPKEA-2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	36
Şekil 3.18. SPKEA-2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.	37
Şekil 3.19. SPKEA-3 bileşiğinin Kütle spektrumu-1.	38
Şekil 3.20. SPKEA-3 bileşiğinin Kütle spektrumu-2.	39
Şekil 3.21. SPKEA-3 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	40

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Ekstrenin İTK analizinde kullanılan solvan sistemleri ve oranları.	14
Çizelge 2.2. YPSK Analizlerinde kullanılan gradient elüsyon sistemi.	16
Çizelge 3.1. Skopolin ¹ H-NMR değerleri.	33
Çizelge 3.2. <i>Scorzonera parviflora</i> metanollü ekstresinin sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen fraksiyonların ABTS radikalini süpürücü aktivite kapasiteleri.	41
Çizelge 3.3. Fraksiyonların ve standart maddenin ABTS serbest radikalini süpürme kapasiteleri	42
Çizelge 3.4. İzole edilen bileşikler ve Trolox'un ABTS radikalini süpürü aktivite kapasiteleri	42
Çizelge 3.5. <i>Scorzonera parviflora</i> metanollü ekstresinin sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen fraksiyonların DPPH radikalini süpürücü aktivite kapasiteleri	43
Çizelge 3.6. Fraksiyonların ve standart maddenin DPPH serbest radikalini süpürme kapasiteleri	44
Çizelge 3.7. İzole edilen bileşikler ve BHT'in DPPH radikalini süpürü aktivite kapasiteleri	44

1. GİRİŞ

Bitkiler tarih boyunca insanlığın karşılaştığı çeşitli hastalıklarla olan savaşında hastalıktan korunma ve tedavi olma sürecinde her zaman birinci tercih olmuştur (Sargın, 2020). Faydaları bilimsel kanıtlarla onaylanmış, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan tıbbi bitkiler eskiden olduğu gibi son zamanlarda da küresel çapta yüksek popülerlik kazanmıştır. Geleneksel tıbbın önemli bir parçası olan tıbbi bitkiler yani bitkilerle tedavi modern tıp ile karşılaştırıldığında yerel halkın inançları, coğrafi koşullar ve daha ekonomik olması sebebiyle çokça tercih edilmektedir. Özellikle kırsal kesimlerde bitkilerle tedavi yöntemi daha çok kullanılmaktadır. Ancak modern tıbbın sağlık hizmetlerinden yararlanamayan ve sosyoekonomik durumu iyi olmayan pek çok insanın yeterli bilgiye sahip olmadan tıbbi bitkileri kullanmaları da önemli sağlık sorunlarına yol açabilmektedir (Shabab ve ark., 2020).

Asteraceae familyasının Dünya da yaklaşık 1620 cinsi ve 23 000' den fazla türü vardır (Martin ve ark., 2012). Bu familyanın bir cinsi olan *Scorzonera* L. Türkiye de genel bir yayılış göstermektedir. Bu cinsin bazı türleri Anadolu da halk arasında hipertansiyon, romatizma, damar sertliği, şeker hastalığı, böbrek hastalıkları ve gut hastalığında kullanılmaktadır (Baytop, 1999; Sezik ve ark., 1997). Anadolu'da Teke Sakalı, Yemlik ve Yakı Otu isimleriyle bilinen *Scorzonera parviflora* Jacq. çok yıllık otsu bir bitkidir (Duran ve ark., 2011; Tübives, 2020;).

Yapılan fitokimyasal çalışmalarda ise *S. parviflora*'nın kök ekstralarında klorojenik asit, toprak üstü kısımlarında ise klorojenik asit, hiperozit ve luteolin-7-O-glukozit tespit edilmiştir. Bitkinin içeriğindeki bu bileşiklerin biyoaktivitesini anlamak üzere çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda bitkinin özellikle antioksidan aktiviteye sahip olmakla beraber antienflamatuvar, antinosiseptif ve hepatoprotektif aktiviteleri gözlemlenmiştir (Akkol ve ark., 2012; Bahadır Acıkara ve ark., 2016; Acıkara ve ark., 2017).

1.1. Botanik Bilgiler

1.1.1. *Scorzonera parviflora* Jacq. Bitkisinin Sistematikteki Yeri

Alem	: Plantae
Alt Alem	: Tracheobionta
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Alt Sınıf	: Asteridae
Takım	: Asterales
Aile	: Asteraceae
Alt Aile	: Cichorioideae
Cins	: <i>Scorzonera</i> L.
Tür	: <i>Scorzonera parviflora</i> Jacq. (Tübives, 2020).

1.1.2. Asteracea Familyasının Özellikleri

Asteraceae yaklaşık 1620 cinsi ve 23600'den fazla türü olan geniş bir bitki ailesidir. Güneybatı Amerika'dan Güney Afrika'ya, Orta ve Güneybatı Asya'dan Avustralya'ya kadar çeşitli bölgelere yayılmıştır. Familya 30 cm boyundaki bitkilerden 1 cm yüksekliğindeki küçük bitkilere kadar değişen büyüklükte bitkileri içermekle kayda değer bir morfolojik çeşitlilik göstermektedir (Bohm, 2001; Martin ve ark., 2012).

Asteraceae familyası Asteroideae (Tubuliflorae) ve Cichorioideae (Liguliflorae) olmak üzere iki taksondan oluşmaktadır. Asteroideae taksonundaki bitkilerin kapitulundaki çiçeklerin tamamı veya orta kısmındakiler tüpsü, çevresindekiler dilsidir. Genellikle süt borusu taşımazlar. Cichorioideae taksonunda yer alan bitkilerde

ise kapitulum sadece dilsî çiçeklerden oluşur. Bitkiler süt borusu taşıır ve nadiren de uçucu yağ içerirler. Eczacılıkta kullanılan ve drog elde edilen bitkilerin çoğu Asteroideae taksonun da yer almaktadır (Tanker ve ark., 2004).

Türkiye ve Doğu Ege adalarında Asteraceae familyasına ait bitkiler oldukça önemli sayıda tür ile yayılış göstermektedir (Chamberlain, 1975). Martin ve ark. (2012), verilerine göre yaklaşık tür sayısı 1209 olarak belirlenmiş ve bunlardan 447 tanesinin endemik tür olduğu belirtilmiştir. Asteraceae familyası ülkemizde içerdği 134 cins ile 2.büyük familyadır. *Scorzonera* L. cinsi de Asteraceae'nın Türkiye de yetişmekte olan bu önemli cinslerinden biridir (Martin ve ark., 2012).

Yıldız şeklinde çiçekleri olan Aster cinsi, Asteraceae familyasına adını vermektedir. Bu familyadaki bitkiler genellikle otsu. Çok azı çalı ve ağaç biçimindedir. Yapraklar alternan veya oppozit dizilişli ya da yaprakların hepsi tabanda yer alır. Çiçek durumu kapitulum. Çiçekler hermafrodit veya tek eşeyli; aktinomorf veya zigomorftur. Kapitulum tüpsü (tubulat) ve dilsî (ligulat) çiçeklerden meydana gelir. Bazı türleri sadece tüpsü bazıları ise sadece dilsî çiçekleri taşırlar. Kapitulum tabanında braketlerden bir involukrum bulunur. Kaliks tamamen körelmiş, papus, halka veya pul biçimindedir. Korolla beş petalli ve simpetal, tubular çiçeklerde aktinomorf, ligulat olanlarda ise zigomorf. Stamenler beş tane, filamentleri serbest (singenezik), anterleri birleşik. Ovaryum iki karpelli, alt durumlu, bir adet ovül taşıır. Meyve aken tiplidir. Tepe bölgesinde papus ve bir kaliks artığı bulundurabilir. Familyada bulunan bitkilerin çoğunda Compositae tipi salgı tüyü ve örtü tüyüne sahiptir. (Baytop, 1996; Martin ve ark., 2012; Tanker ve ark., 2004; Zeybek, 1985).

1.1.3. *Scorzonera* L. Cinsinin Botanik Özellikleri

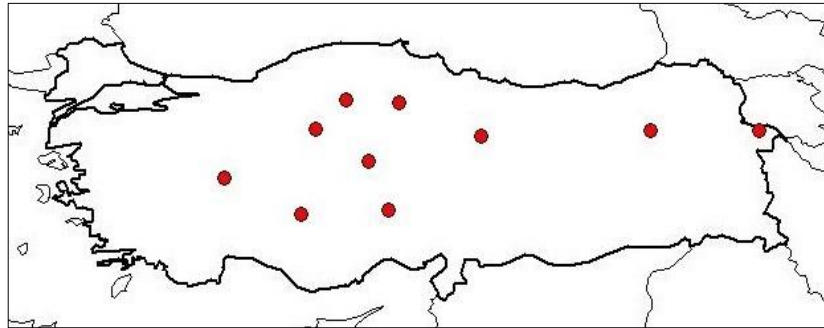
Scorzonera türleri, tek yıllık, iki yıllık veya çok yıllık otsu nadiren yarı çalimsı bitkilerden oluşur. Gövde genellikle yapraksızdır. Cinsin toprakaltı kısmı kalın, silindirik, rizumlu veya yumrulu. Yapraklar tabanda veya gövde üzerinde, basit ve parçalanmamış, lineardan geniş ovat ve lanseolata kadar değişen şekillerde veya derin

pennat parçalı, saplı veya sapsız halde. Kapitulum homogam, tüm çiçekler dilsiz ve her bir gövdede tek veya birkaç tane. İnvolukrumovat veya silindirik, involukrumu oluşturan brakteler iki sıra halinde. İçteki brakteler dıştakilerden daha uzun ve otsu. Çiçek tablası hemen hemen düz ve tüysüz. Çiçekler menekşe renginden mora, beyazdan sarıya kadar değişen renklerde veya mor-sarı renkli. Akenler düz, silindirik veya kostalı, bazen enine pürüzlü, tüysüz veya tüylü, saplı veya sapsız ve gagasız. Papus üç sıralı, sapsız, yumuşak ince ve uzun tüylüdür (Chamberlain, 1975).

1.1.4. *Scorzonera parviflora* Bitkisinin Botanik Özellikleri

Scorzonera parviflora 10-60 cm boylarında, tüysüz çok yıllık otsu bir bitkidir. Kökleri sürgün, çıplak 1,5 cm çapında dallıdır. Gövdesi ise 15-60 cm uzunluğunda dik, genellikle içi boş tek olarak veya daha az sıklıkla dallanmış iki veya 3 yapraklı. Yaprakları beş ile yedi damarlı, hafifçe kavisli ve genelde eliptik veya mızrak şeklinde. Çiçekleri sarı renklidir. Aken boyutu 7-8 mm uzunluğunda düz silindirik şekildedir (Duran ve ark., 2011; Zhu ve ark., 2011).

S. parviflora genellikle 800-1500 rakım da yarı tuzlu bataklıklar, ıslak tuz çayıruları ve orta derece tuzlu habitatlarda yetişir. Küresel olarak Çekya, Balkanlar İspanya'nın Kuzeyi, Türkiye'nin İç Anadolu bölgesi, İran'ın Kuzeyi, Batı Rusya, Çin ve Kazakistan da yayılım göstermektedir (Davis, 1975; Dite ve ark., 2015; Tübives, 2020).



Şekil 1.1. *Scorzonera parviflora*'nın ülkemizde yetiştiği bölgeler (Tübives, 2020)

Ülkemizde Yemlik, Yakı otu ve Tekesakalı ismiyle bilinen *Scorzonera parviflora* Iğdır, Çankırı, Afyon, Ankara, Çorum, Erzurum, Konya, Kırşehir, Niğde ve Sivas illerimizde yetişmektedir. (Davis, 1975; Tübives, 2020)

1.1.5. *Scorzonera parviflora* Bitkisinin Halk Arasında Kullanımı

Scorzonera L. cinsi yaklaşık 160 türü Avrasya ve Afrika'nın kurak bölgelerinde yaygın olarak yetişmektedir. Türkiye florasında yer alan 42 tür yanında (Chamberlain, 1975) yeni teşhis edilen türlerle birlikte ülkemizde 31 tanesi endemik tür ve toplamda 59 takson ile temsil edilmektedir (Coşkunçelebi ve ark., 2015). Bu cinsin birçok türü halk arasında farklı amaçlarla tıbbi bitki olarak ve sebze olarak kullanılmaktadır. Doğu Anadolu da yetişen bazı *Scorzonera* türlerinin kök ve taze sürgünleri “Yemlik” ismi altında taze veya pişmiş olarak tüketilmektedir. Yemlik ancak yaş iken kullanılır, olgun veya çiçekleri açmış olan bitkiler tüketilmemektedir. Yemliğin halk tıbbındaki özellikleri damar sertliği, hipertansiyon, romatizma, böbrek hastalıkları, gut ve şeker hastalığına karşı kullanılır (Baytop, 1999).



Şekil 1.2. *S.parviflora*'nın doğada görünümü.

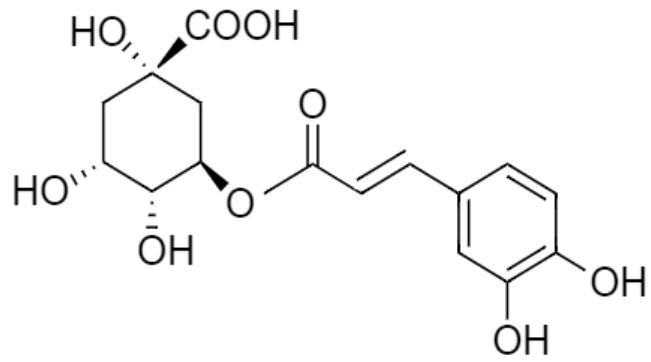
Scorzonera türleri Avrupa geleneksel tıbbında mide rahatsızlıkları, idrar söktürücü, kolagog, antipiretik, iştah açıcı, akciğer hastalıklarının, soğuk algınlığının ve bazı mide-barsak rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Zidorn ve ark., 2000). Moğol halk tıbbında; ishal, akciğer ödemi, bakteriyel, viral ve parazit enfeksiyonlarının neden olduğu ateşin tedavisinde kullanılır (Tsevegsuren ve ark., 2007). Ayrıca Çin ve Tibet geleneksel tıbbında hepatik ağrıların tedavisinde kullanılmakla beraber antipiretik ve antienflamatuvar aktiviteleri sebebiyle dolaylı olarak göğüs iltihabı ve apse rahatsızlığında da kullanılmaktadır (Zhu ve ark., 2009).

1.2. *Scorzonera parviflora* Türü Üzerine Yapılan Çalışmalar

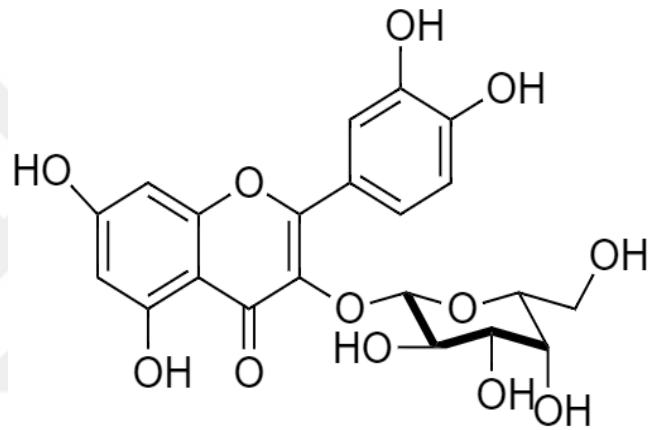
1.2.1. Fitokimyasal Çalışmalar

S. parviflora üzerinde yapılan kimyasal çalışmalar incelendiğinde daha önceki çalışmalarda yalnızca fitokimyasal incelemelerin gerçekleştirildiği, ayrıntılı izolasyon ve yapı tayini çalışmalarının yapılmadığı görülmektedir. Yapılan çalışmalar aşağıdaki şekilde derlenmiştir.

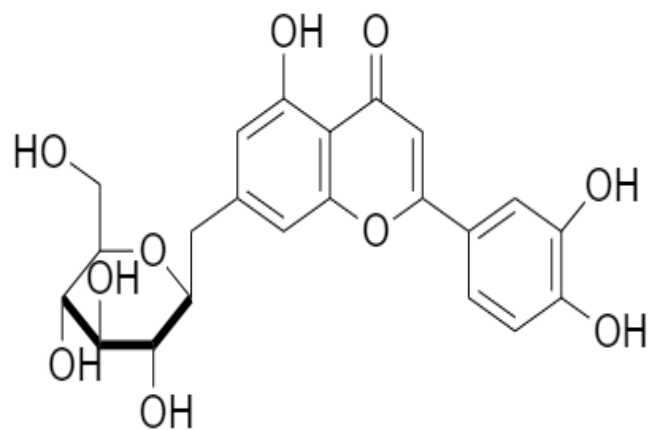
Scorzonera parviflora'nın toprak üstü kısımlarından sulu-metanollü ekstrakter hazırlanmış ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YPSK) ile analizleri yapılmıştır. Analizde Agilent LC 1100 model cihaz (Agilent Technologies, California, USA) kullanılmıştır. Dedektörün dalga boyu 254 nm olarak ayarlanmıştır. Ayırma için ise Supelcosil modelinde 250 nm'ye 4,6 mm ve 5 µm boyutlarında kolon ve hareketli faz için asetonitril ve %0,2 fosforik asitli su kullanılmıştır. Bitkinin toprak üstü kısımlarında klorojenik asite ek olarak hiperozit ve luteolin-7-O-glukozit tespit edildiği bildirilmiştir (Acıkara ve ark., 2013; Küpeli Akkol ve ark., 2011).



Şekil 1.3. Klorojenik asit.

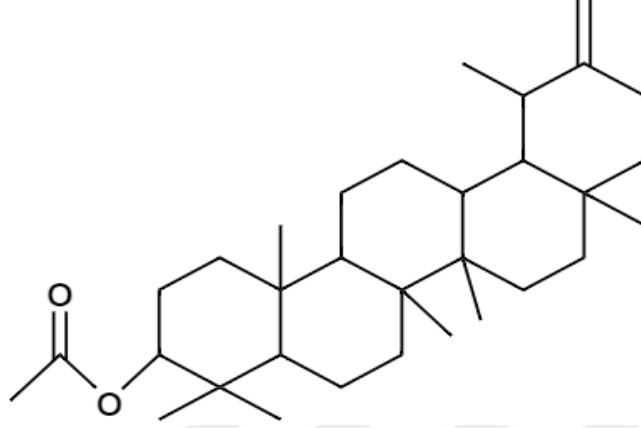


Şekil 1.4. Hiperozit.

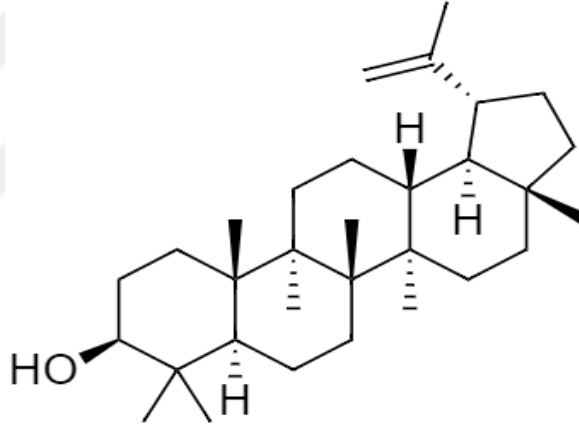


Şekil 1.5. Luteolin-7-O-glukozit.

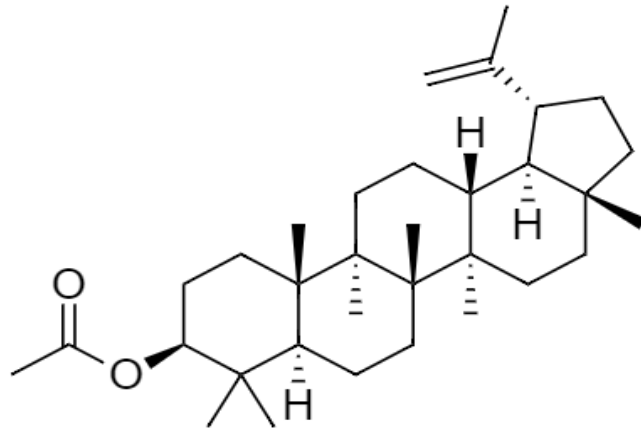
Bitkinin *n*-hekzan ve sulu metanol ekstresiyle yapılan başka bir çalışmada ise topraküstü ve kök kısımlarından Taraksasterol asetat, lupeol ve lupeol asetat elde edilmiştir (Bahadır Acıkara ve ark., 2018).



Şekil 1.6. Taraksasterol asetat.



Şekil 1.7. Lupeol.



Şekil 1.8. Lupeol Asetat.

1.3. Biyoaktivite Çalışmaları

1.3.1. Antioksidan Aktivite

S. parviflora'nın metanollü ekstresiyle yapılan bir çalışmada bitkinin kök kısımlarının süperoksit anyon süpürücü etkisi $IC_{50}= 2,25$ mg/ml ve toprak üstü kısımlarının $IC_{50}=4,7$ mg/ml olarak ölçülmüştür. Referans bileşik olan E vitamini ise toprak üstü kısımları için $IC_{50}=0,37$ mg/ml değerine sahiptir. (Acıkara ve ark., 2013).

1.3.2. Antienflamatuvar Aktivite

S. parviflora bitkisinin antienflamatuvar aktivitesi yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Bu çalışmalardan birinde *S. parviflora*'nın metanollü-sulu ekstresinin karragenin, PGE2 ve serotonin kaynaklı arka pençe ödemi ve 12-O-tetradekanoil-13-asetat (TPA) kaynaklı fare kulak ödemi modelleri ile antienflamatuvar aktivitesi test edilmiştir. Çalışmada referans bileşik olarak indometazin kullanılmıştır. İndometazin karragenin ve PEG2 nedenli arka pençe ödem modelinde 100 mg/kg dozda sırasıyla %36,4 ve %44,2 oranında inhibitör etki göstermiştir. *Scorzonera parviflora*'nın toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstre ise 100 mg/kg dozda karragenin nedenli modelde %23,2, PGE2 nedenli modelde %24,1 oranında inhibitör etki göstermiştir. Serotonin nedenli arka pençe ödemi ve 12-O-tetradekanoil-13-asetat (TPA) nedenli fare kulak ödemi modellerinde ise spesifik bir etki gözlemlenmemiştir (Akkol ve ark., 2012).

Asetik asit kaynaklı kapiller permeabilite modeli ile antienflamatuvar aktivite testi yapılan bir çalışmada indometazin %53,6 oranında inhibisyon gösterirken *S. parviflora*'nın toprak üstü kısımlarının sulu metanollü ekstresi 100 mg/kg dozda %19,8 oranında daha az inhibitör etki göstermiştir (Akkol ve ark., 2012).

S. parviflora'nın da dahil olduğu bazı *Scorzonera* türleri üzerinde yapılan başka bir çalışmada bazı *Scorzonera* türlerinin sulu metanollü ekstrelerinin TNF- α ve IL-1 β üretimini azalttığı, NF- κ B'nin nükleer translokasyonunu inhibe ederek önemli

düzyeyde antienflamatuvar aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ancak *S.parviflora*' ekstrezi anlamlı düzyeyde bir aktivite gerçekleştirememiştir (Bahadır Acıkara ve ark., 2016).

1.3.3.Antinosiseptif Aktivite

S.parviflora'nın toprak üstü kısımlarının sulu metanolle hazırlanmış ekstrelerinin antinosiseptif etkisi farelere intraperitoneal olarak *p*-benzokinon verilerek indüklenen karın kasılma testi ile incelenmiştir. Testte farelerin enjeksiyondan 5 dakika sonra başlayan abdominal kasılma sayıları 15 dakika boyunca sayılmıştır. Referans ilaç olarak 100 mg/kg dozda asetilsalisilik asit kullanılmıştır. Ekstre testte 100 mg/kg dozda %24,3 oranda kasılmaları inhibe ederken asetilsalisilik asit %54,1 oranında inhibe etmiştir (Küpeli Akkol ve ark., 2012).

1.3.4. Hepatoprotektif Aktivite

Scorzonera türleri bol miktarda klorojenik asit içermektedir. Klorojenik asit, kafeik asit ve kinik asit esteridir. Klorojenik asidin hepatoprotektif etkisinin incelendiği bir çalışmada *S. parviflora*'nın kök ekstrezi kullanılmıştır. Çalışmada CCl₄ i.p.(intraperitoneal) verilmesi ile karaciğer toksisitesi indüklenmiş ve *Scorzonera* türlerinin ekstreleri deney hayvanlarına verilmiştir. Ekstrelerden izole edilen klorojenik asidin hücresel dejenerasyonda iyileşme sağlandığı tespit edilmiş olup AST ve ALT düzeylerini önemli ölçüde düşürmediği görülmüştür. Ancak hispatolojik incelemelerde hücresel hasarda iyileşmenin arttığını, daha az sinüzoidal dilatasyon, damar tıkanıklığı, balon dejenerasyonu ve steatoziz tespit edildiği ortaya konulmuştur. Sonuç olarak çalışmada *S. parviflora*'nın hepatoprotektif aktivitesinin içerdiği klorojenik asite bağlanabileceğine, kullanımının karaciğer hastalığı için yararlı olabileceğine ve bu hastalıkların tedavisi için klorojenik asidin daha detaylı çalışmalar gerektiren bir bileşik olduğuna vurgu yapılmıştır (Acıkara ve ark., 2017).

1.3.5. Yara İyileştirici Aktivite

Türk halk tıbbında *Scorzonera* cinsi bitkiler hipertansiyon, diyabet, romatizma ve böbrek rahatsızlıkları gibi çeşitli hastalıkların yanı sıra ağrı kesici ve yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır (Sezik ve ark, 1997). Bu yara iyileştirici aktivitenin araştırıldığı bir çalışmada *Scorzonera parviflora*'nın sulu metanollü ekstresinin yara iyileştirici aktivitesi çizgisel insizyon ve dairesel eksizyon yara modelleri kullanılarak analizi yapılmıştır. Modellerde dokulardaki gerilim kuvveti ve hidroksipirolin miktarı baz alınmış ve referans madde olarak ise içeriğinde %1 oranında *Centella asiatica* ekstresi içeren Madecassol® isimli ilaç kullanılmıştır. *S. parviflora*'nın toprak üstü kısımlarının ekstresinin kullanıldığı çizgisel insizyon yara modelinde gerilim kuvveti %19,5 olarak tespit edilmiştir. Dairesel eksizyon yara modelinde ise 12 günlük tedavi sonucunda %26,96 oranında iyileşme gözlemlenmiştir. Yaralı bölgede ise tespit edilen hidroksipirolin miktarı %20,8 olarak kayda geçmiştir. Madecassol® ile kıyaslandığında ise anlamlı bir aktivite göstermemiştir (Küpelı Akkol ve ark., 2011).

Tarafımızdan yapılan bu tez çalışmasında ülkemizin İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde yayılış gösteren *S. parvilora*'nın kimyasal içeriği ve biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Bunun için yerli ve yabancı kaynaklar taranarak bitkinin familyası, cinsi, morfolojisi, kullanım alanları dünya ve ülkemizdeki yayılışı hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır. *S. parviflora* üzerinde yapılan fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmalar incelenip bitkinin içerdiği bileşikler ve daha önceki çalışmalarda tespit edilen biyolojik aktiviteleri literatür derlemesi şeklinde deneysel çalışmalardan önce verilmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Bitkisel Materyal

Bu tezde bitkisel materyal olarak Ankara Gölbaşı, Yavrucak köyü bölgesinden toplanan *Scorzonera parviflora* Jacq.'nın kök kısımları kullanılmıştır. Bitkinin teşhisi Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Ayşe Mine GENÇLER ÖZKAN tarafından yapılmıştır. *S.parviflora* Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryum'unda AEF 30715 herbaryum numarası ile muhafaza edilmektedir.



Şekil 2.1. *Scorzonera parviflora* herbaryum numunesi.

Bitki Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde uygun şartlarda kurutulduktan sonra *S. parviflora* kökleri öğütülüp ekstraksiyon ve izolasyon çalışmalarında kullanılmıştır.

2.2. Ekstraksiyon Çalışmaları

2.2.1. Metanol Ekstresinin Hazırlanışı

S. parviflora'nın kökleri uygun koşullarda kurutulduktan sonra toz edilerek ağırlığı 266,32g olarak tartılmıştır. Ekstraksiyon için metanol kullanılmış, 1 gün boyunca oda sıcaklığında masere edilmiş ve ardından 60 dakika ultrasonik banyoda tutulduktan sonra pileli süzgeç kağıdından süzölmüştür. Bu işlem bir hafta boyunca tekrarlanmıştır. Elde edilen ekstre 45°C'yi geçmeyecek sıcaklıkta rotavaporda yoğunlaştırıldı ve kalan ekstre liyofilize edilerek suyundan kurtarılmıştır.

2.2.2. Metanol Ekstresinin Fraksiyonlandırılması

Elde edilen liyofilize ekstre 200 ml suyla çözölüp ayırma hunisinde sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Sırasıyla önce petrol eteri ardından kloroform ve en son etil asetat ile sıvı sıvı fraksiyonlama işlemi yapıldı. İşlem sonunda kalan sulu metanollü ekstre ile birlikte 4 farklı polaritede fraksiyon elde edildi. Kloroform, petrol eteri ve etil asetatlı fraksiyonlar rotavapor da çözücüler tamamen ortadan kayboluncaya kadar yoğunlaştırıldı. Sulu ekstre ise liyofilize edilerek kurutuldu.

2.3. Kromatografi Çalışmaları

2.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi

Sıvı-Sıvı ekstraksiyonu sonucu elde edilen fraksiyonlardan izolasyon çalışmalarında hangisi ile devam edileceğinin saptanması ve kolon kromatografisi için uygun solvanın belirlenmesi amacıyla petrol eteri, kloroform, etil asetat ekstraktları ve sulu ekstre İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile incelendi. Çizelge 2.1'de gösterilen çözücü sistemleri kullanılarak silikagel 60 (Merck, 1,05554) kaplı plaklar üzerinde çalışmalar yapıldı.

Çizelge 2.1. Ekstrenin İTK analizinde kullanılan solvan sistemleri ve oranları.

Hekzan:Kloroform	8:2
Etil asetat:Metanol:Su	80:13,5:10

Silikajel kolondan ayrılan fraksiyonların İTK analizleri silikajel 60 normal faz plakları ve solvan sistemi etilasetat:metanol:su (80:13,5:10) çözücü sistemi kullanılarak incelenmiştir. Plaklar öncelikle UV₂₅₄ nm ve UV₃₆₆ nm altında incelendi ve UV absorpsiyonu göstermeyen maddelerin belirlenmesi için vanilin-sülfirik asit reaktifi püskürtülmesini takiben 110°C etüvde bekletmek suretiyle incelenerek bileşiklere ait lekeler tespit edildi.

2.3.2. Kolon Kromatografisi Uygulamaları

2.3.2.1. Silikajel Kolon Uygulaması



Şekil 2.2. Kolon kromatografisi.

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen etil asetat, petrol eteri, kloroform ve su fraksiyonlarının İTK analizleri yapılarak değerlendirilmesi sonucu plaklar üzerinde UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm’lerde etil asetatlı fraksiyonunun incelenmesi sonucunda daha zengin bir içeriğe sahip olduğu tespit edildi. Yapılan antioksidan aktivite sonuçlarında

da en yüksek aktivitenin etil asetatlı fraksiyonda gözlenmesi nedeniyle bu fraksiyonun izolasyon çalışmalarında kullanılmasına karar verildi. Kolonun hazırlanması sürecinde silikajel 60 (230-400 mesh, 0.040-0,063mm, Merck ASTM) 400 g tartılıp ve etil asetatla sürekli karıştırılarak 3,5 x 80 cm kolona uygulandı. Etil asetatlı fraksiyon (3,379 g) aynı ağırlıktaki silikajel ile karıştırılarak kurutuldu ve hazırlanmış kolon üzerine uygulandı. Solvan sistemi olarak 100:13,5:10 oranlarında Etil asetat:metanol:su seçildi ve kullanıldı. Elde edilen fraksiyonların İTK (İnce Tabaka Kromatografisi) ve YPSK (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) analizleri yapıldı.

2.3.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Uygulamaları

Silikajel kolon kromatografisi sonrasında ayrılan ve birleştirilen fraksiyonlardan izole edilen maddelerin ters faz semipreparatif YPSK çalışmaları yapılmıştır. Analiz koşulları aşağıda belirtilmiştir:

Cihaz: Agilent 1260 G1315 DAD

Dedektör: DAD-UV (Diode Array Detector- Ultraviolet)

Dalga boyu: 254 nm, 210nm

Enjeksiyon hacmi: 10µL

Kolon: ACE 5 C18 (250 x 4,6 mm; 5µ partikül büyüklüğü)

Sıcaklık: 25°C

Çözücü sistemi (A): Bidistile su

Çözücü sistemi (B): Asetonitril

Çözücü sistemi (C): Metanol

Akış hızı: 1ml/dk

Akış tipi: Gradient elüsyon

Çizelge 2.2. YPSK Analizlerinde kullanılan gradient elüsyon sistemi.

Zaman(dk)	Hareketli Faz A(%)	Çözücü Sistemi B (%)	Çözücü sistemi C (%)	Akış hızı(mL/dk)
0	90	0	10	1
40	40	0	60	1
40,01	0	0	100	1
43	0	0	100	1

2.3.4. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini

İzole edilen bileşiklerin saflaştırılmasında semipreparatif YPSK yöntemi kullanılmıştır. Saflaştırılan bileşiklerin yapı tayini spektroskopik metotlarla; KS ve NMR spektroskopisi yöntemleriyle yapılmıştır.

2.3.4.1. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi

Bileşiklerin dötorometanol (MeOD) ile hazırlanan çözeltilerinin ¹³C-NMR ve ¹H-NMR spektrumları Ankara Üniversitesi Merkez Laboratuvarı II’de bulunan Varian Mercury 400, 400 MHz High Performance Digi Spektrometre cihazları kullanılarak elde edilmiştir.

2.3.4.2. Kütle Spektroskopisi

İzole edilen bileşiklerin örnekleri metanol içinde çözülüp, dilüe edildikten sonra belirli şartlar altında 10 µL enjekte edilerek analizleri yapıldı. Analizde Ankara Üniversitesi Merkez Laboratuvarı II’de bulunan Walters 2695 Allia Micromass ZQ marka SK/KS (Sıvı kromatografisi) cihazı ile ölçüldü.

2.4. Aktivite Çalışmaları

2.4.1. ABTS Serbest Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini

Ekstrelerin, fraksiyonların ve izole edilen bileşiklerin ABTS yani $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$ (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) serbest radikalini süpürücü etkisi stabil radikalın rengini değiştirme kabiliyeti ile tespit edilmiştir (Re ve ark., 1999) 7 mM ABTS sulu çözeltisi, 2,45 mM $K_2S_2O_8$ ile reaksiyona girmiş ve ABTS radikal katyonu meydana gelmiştir. Çalışmalarda kullanılan çözeltiler taze hazırlanmıştır. Elde edilen çözelti kullanılmadan önce ışığa maruz kalmaması için karanlıkta ve oda sıcaklığında 12-16 saat tutulmuş, sonrasında etanol ile dilüe edilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki (0,001-0,1 mg/ml) numuneler $ABTS^+$ çözeltisi ile 100x oranında seyreltilmiştir. Elde edilen seyreltilmiş çözeltiler oda sıcaklığında 6 dakika bekletildikten sonra 734 nm'de absorbanlarına bakılmıştır. Referans madde olarak Trolox kullanılıp, her deney minimum 3 tekrarlı uygulanmıştır. Numunelerin ABTS serbest radikali süpürücü aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(Absorbans_{kontrol} - Absorbans_{numune}) / Absorbans_{kontrol}] \times 100$$

Numunelerin farklı değerlerdeki konsantrasyonlarının % inhibisyon değerleri ile her bir ekstre için ayrı kalibrasyon grafiği çizilmiş ve yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonları (IC_{50}) hesaplanmıştır.

2.4.2. DPPH Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini

Ekstrelerin, fraksiyonların ve izole edilen maddelerin DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikalinin süpürücü aktivitesi stabil radikalın mor/menekşe rengini değiştirme kabiliyeti ile değerlendirilmiştir. Yöntemin esası ekstrelerin DPPH radikali ile ortaya çıkardığı rengin 517 nm'de ölçümüne ve referans madde ile karşılaştırılmasıdır (Blois, 1958). Çalışmada 100 μM DPPH (metanolde) ve numunelerin farklı konsantrasyonları (0,001-0,5 mg/ml) ile oluşturulan çözeltileri

kullanılmıştır. Bu çözeltiler oda sıcaklığında yarım saat inkübe edilmiş, ardından 517 nm’de spektrofotometrik absorbans ölçümü yapılmıştır. Numunelerin DPPH serbest radikalini süpürücü etkisi hesap edilirken, radikal redüksiyonunun yüzde değeri dikkate alınmış, her deney minimum 3 kere tekrar edilecek şekilde uygulanmıştır. Referans madde olarak BHT kullanılmıştır. Bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikalini süpürücü aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(Absorbans_{kontrol} - Absorbans_{numune}) / Absorbans_{kontrol}] \times 100$$

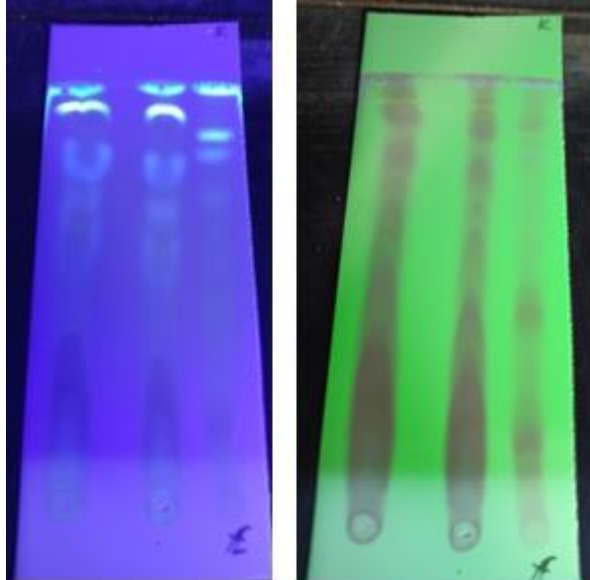
Farklı konsantrasyonlardaki numunelerin % inhibisyon değerleri ile her bir numune için kalibrasyon grafiği çizilmiş ve IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Ekstraksiyon Çalışmalarına Ait Bulgular

Scorzonera parviflora bitkisinin köklerinin metanol ile ekstre edilmesi ve liyofilizasyon ile suyundan kurtarılması sonucunda 70,02 g liyofilize ekstre elde edilmiştir. Liyofilize ekstrenin sıvı-sıvı ekstraksiyonu sonucunda 3,379 g etil asetat 8,69 g petrol eteri, 1,83 g kloroform ekstreleri ve 19,33 g sulu metanollü ekstre elde edildi. Yapılan tüm fitokimyasal çalışma ve biyolojik aktivite tayin yöntemlerinde hazırlanan bu ekstreler kullanıldı.

Yapılan sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen fazlar arasında izolasyona devam edilecek fazın tespit edilmesi için antioksidan aktivite sonuçları göz önüne alınmıştır. Antioksidan aktivite sonuçlarına göre belirgin bir biçimde daha yüksek aktivite gözlenen etil asetatı fraksiyon üzerinden çalışmanın devam etmesine karar verildi. Silikajel kolon kromatografisinde kullanılacak çözücü sistemi olarak bileşiklere ait lekelerde en iyi ayırım görülen Etil asetat:Metanol:Su (100:13,5:10) seçildi.



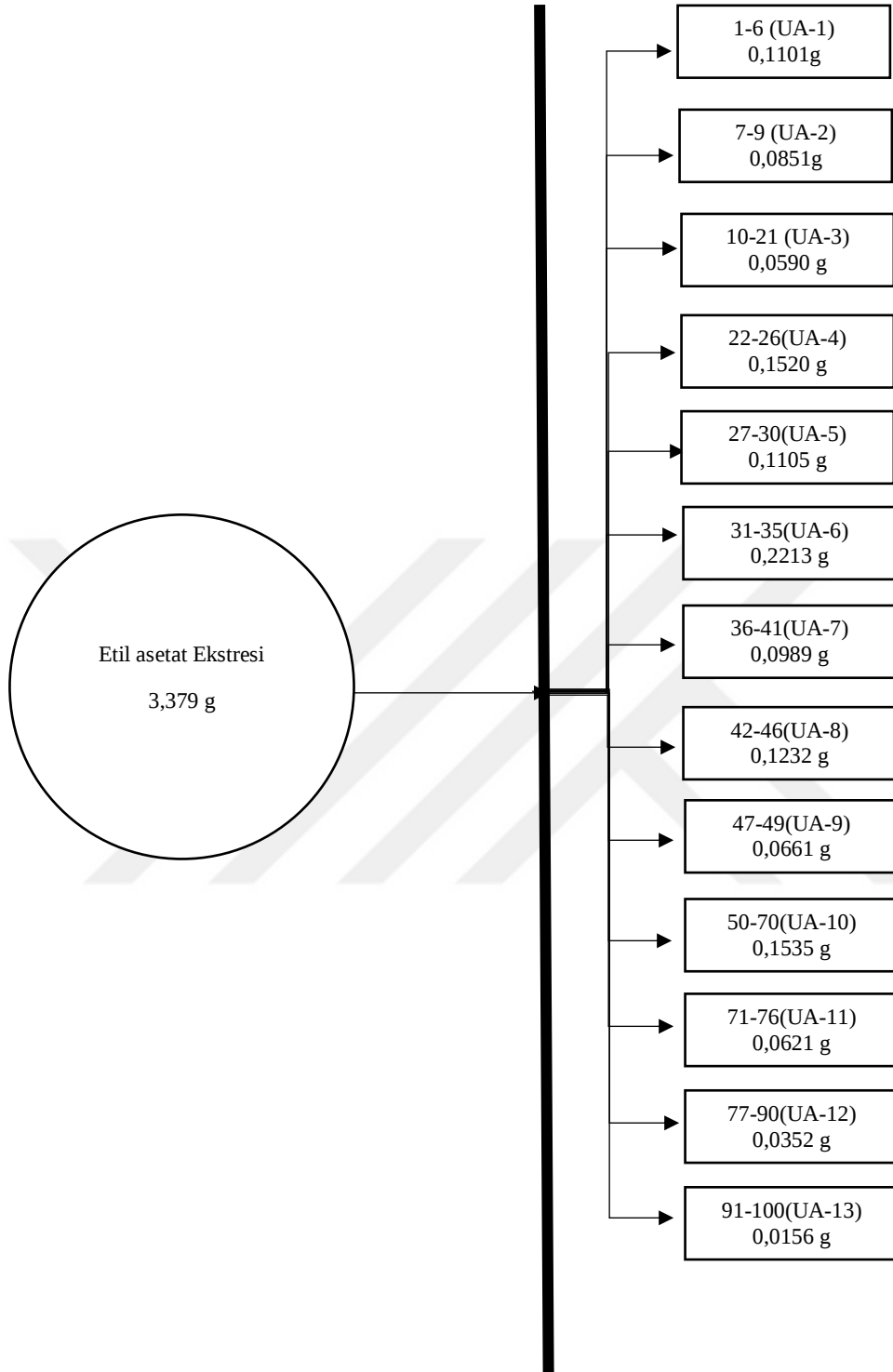
Şekil 3.1. Etil asetat ekstresinin Etil asetat:Metanol:Su (100:13,5:10) çözücü sistemindeki UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm kromatogramları.

3.2. Kromatografi Çalışmalarına Ait Bulgular

3.2.1. Silikajel Kolon Uygulamasına Ait Bulgular

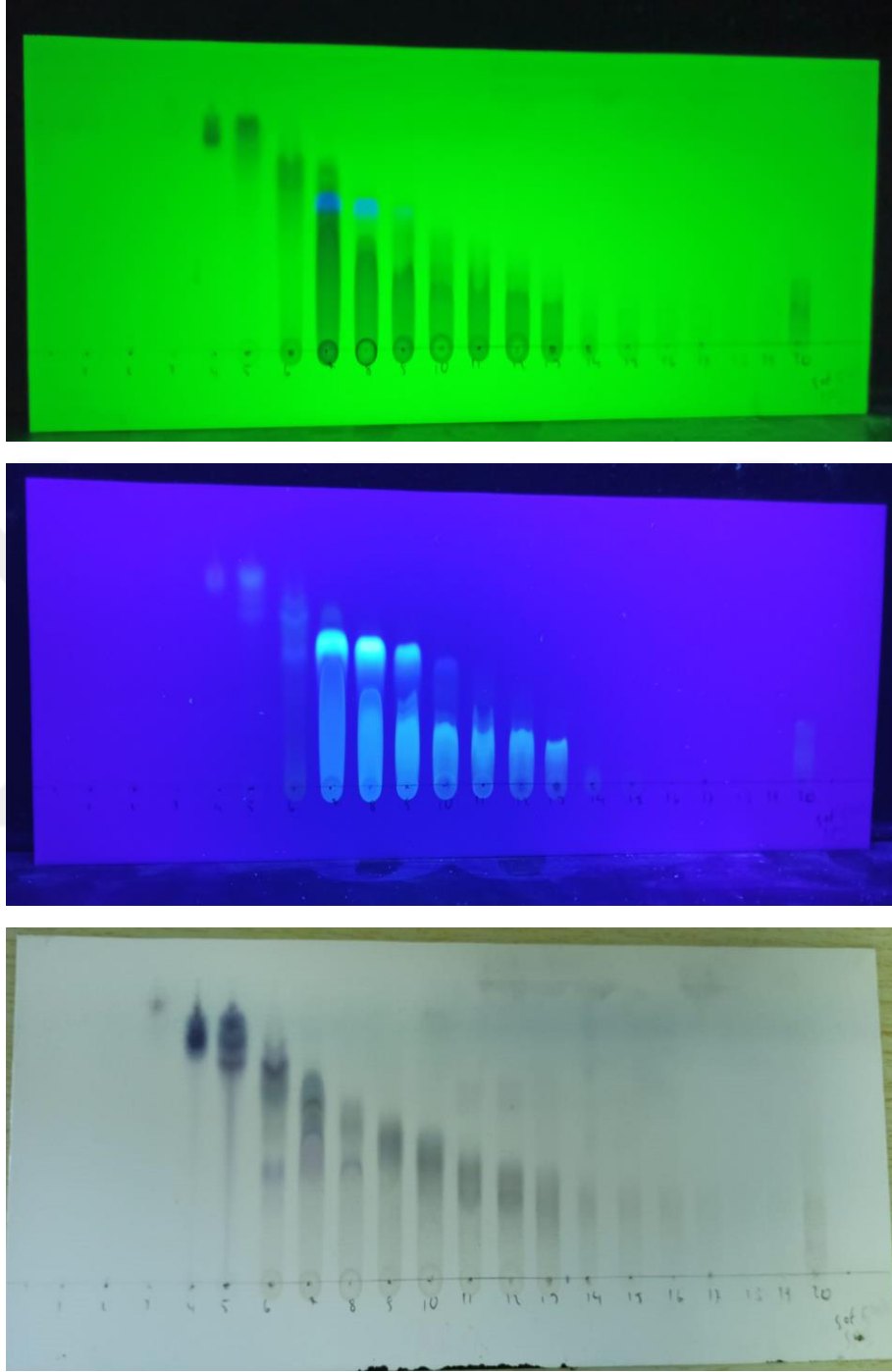
Sıvı-sıvı ekstraksiyonu sonunda elde edilen etil asetat fazı 3,379 g olarak belirlenmiştir. Merck ASTM 0,040-0,063 mm ve 230-400 mesh aralığa sahip silikajel 3,5 x 80 cm kolondan Etil asetat:Metanol:Su (100:13,5:10) çözücü sistemiyle elüsyon sonucu 100 fraksiyon toplandı. Toplanan fraksiyonların İTK analizleri yapılarak benzer kimyasal yapıları içerdiği düşünülen fraksiyonlar birleştirildi ve tartıldı. Kolondan elde edilen fraksiyonların gruplandırılması Şekil 3.2 de gösterilmiştir.



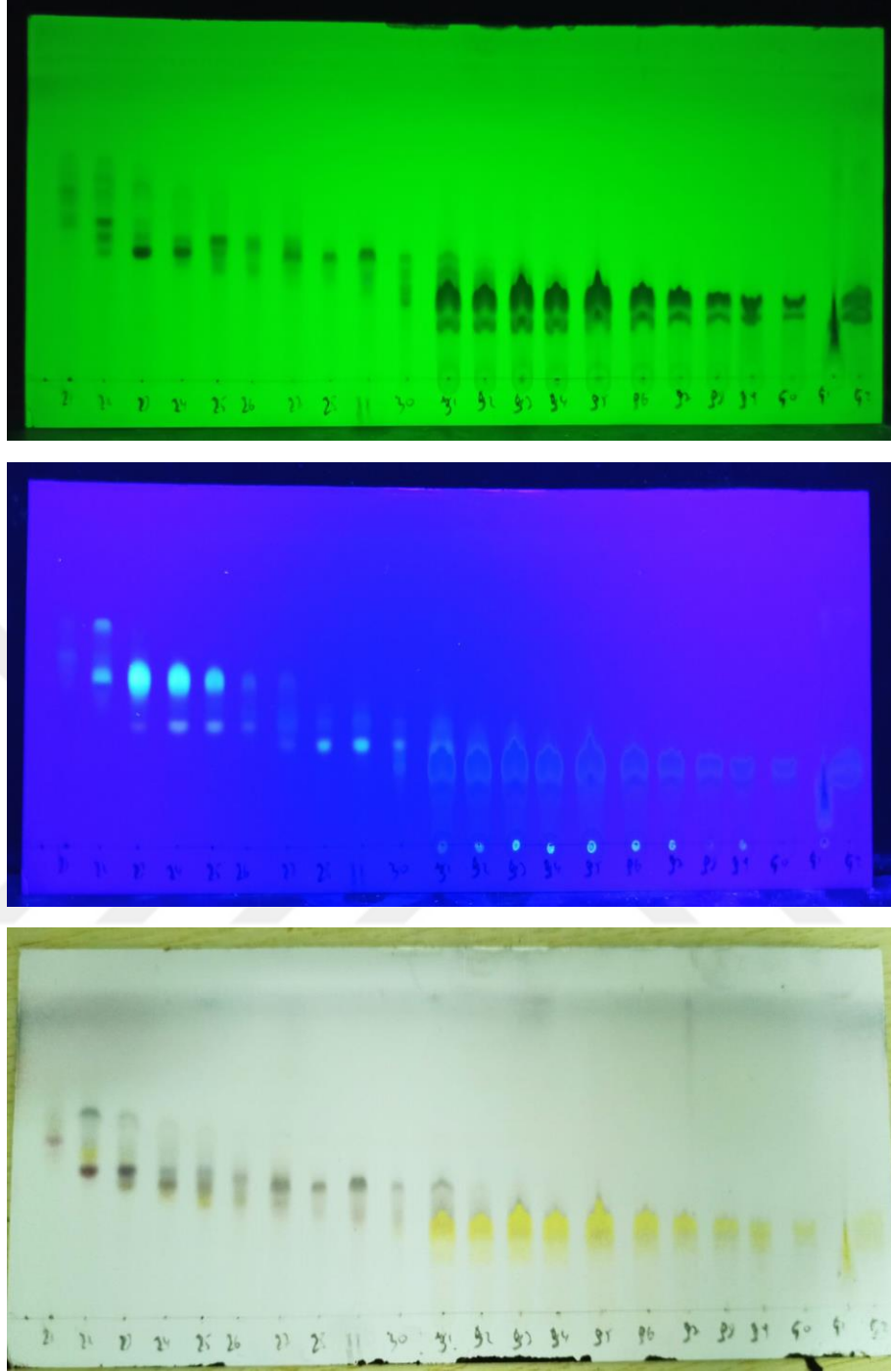


Şekil 3.2. Silikajel kolon uygulaması sonucu elde edilen fraksiyonlar.

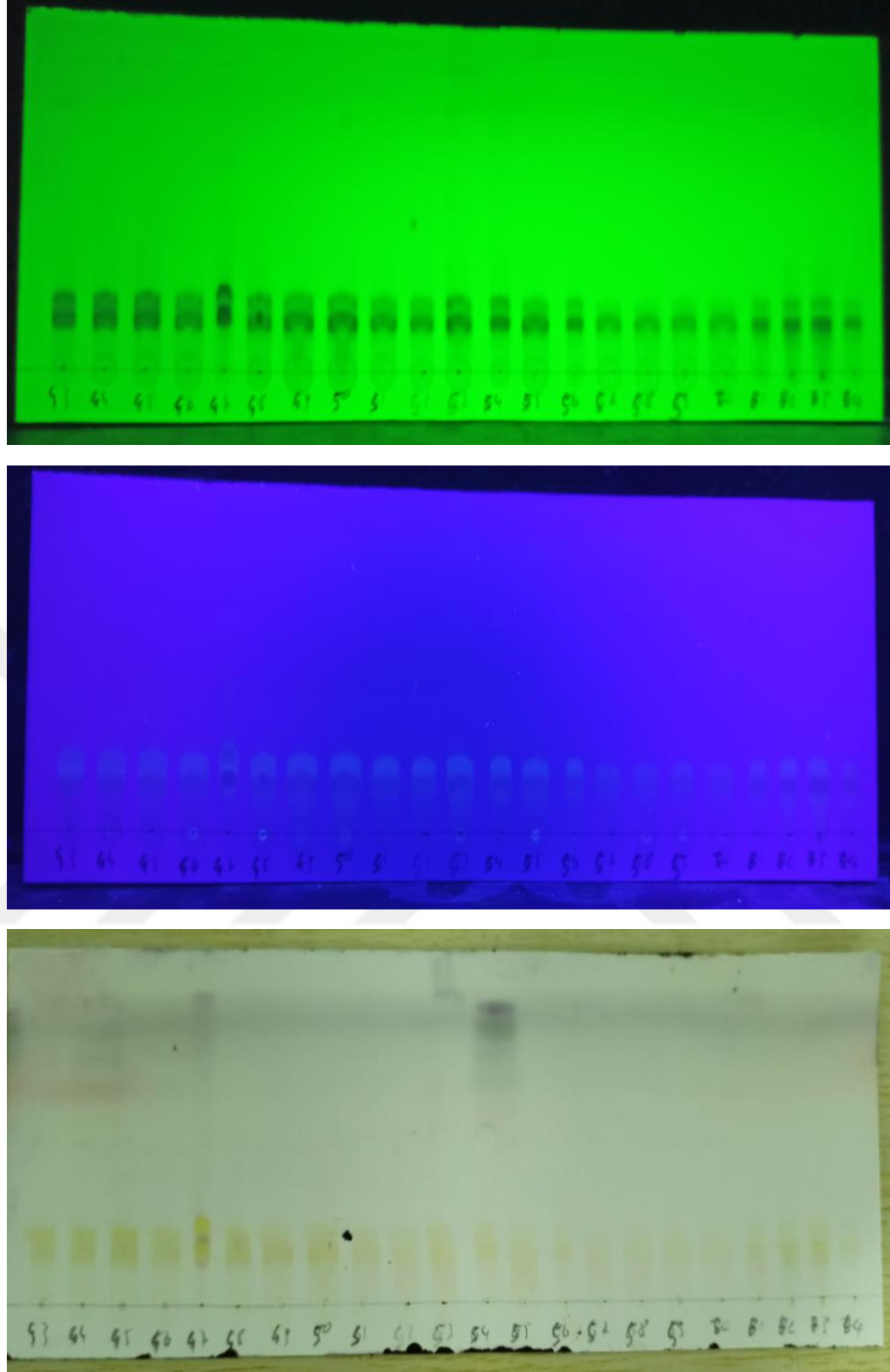
3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisine Ait Bulgular



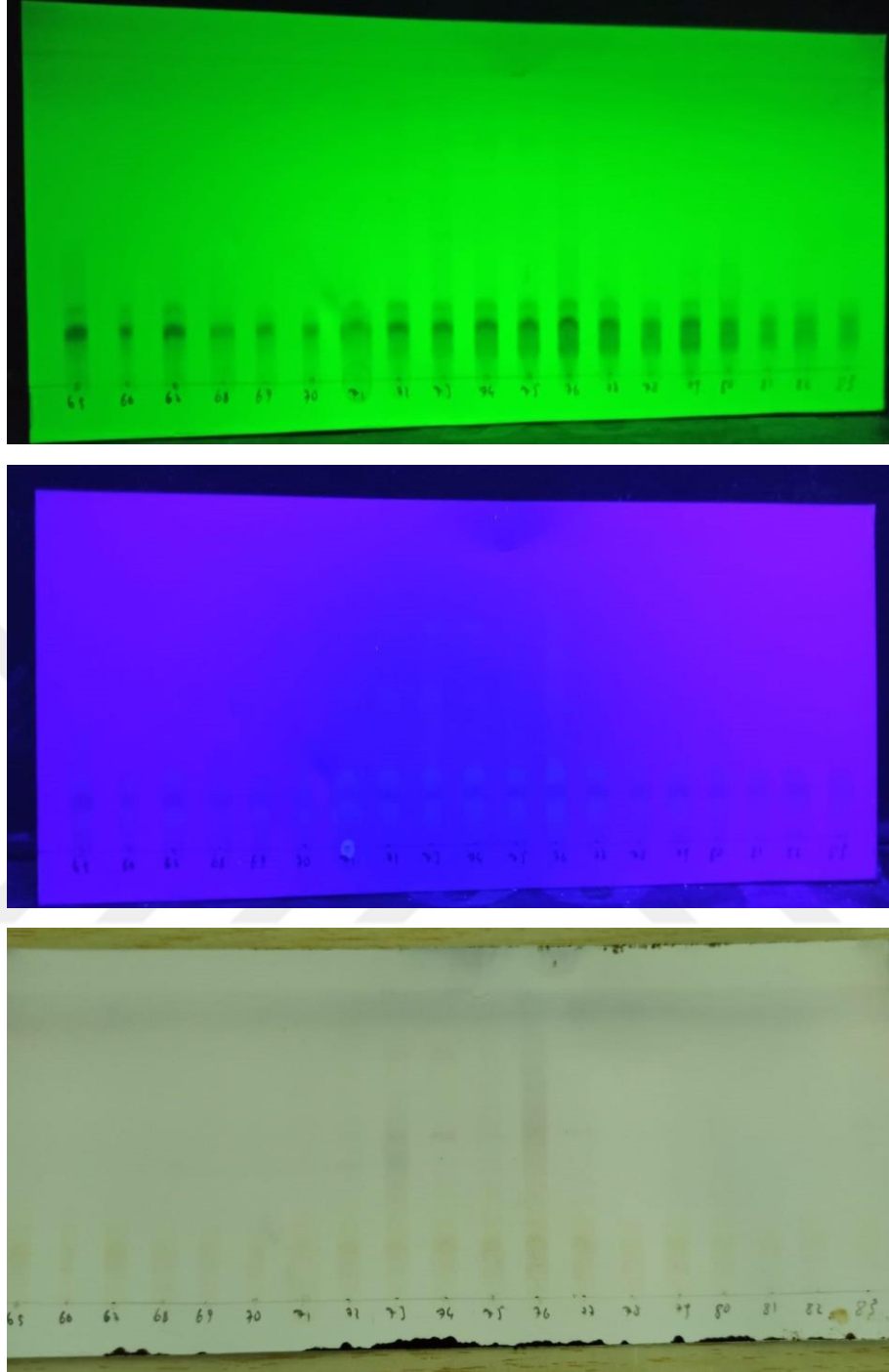
Şekil 3.3. Silikajel kolondan elde edilen fraksiyonlardan 1-20 fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sistemiyle normal faz İTK uygulamasının 254 nm, 366 nm ve vanilin-sülfirik asit reaktifi ile muamele edildikten sonraki kromatogramı.



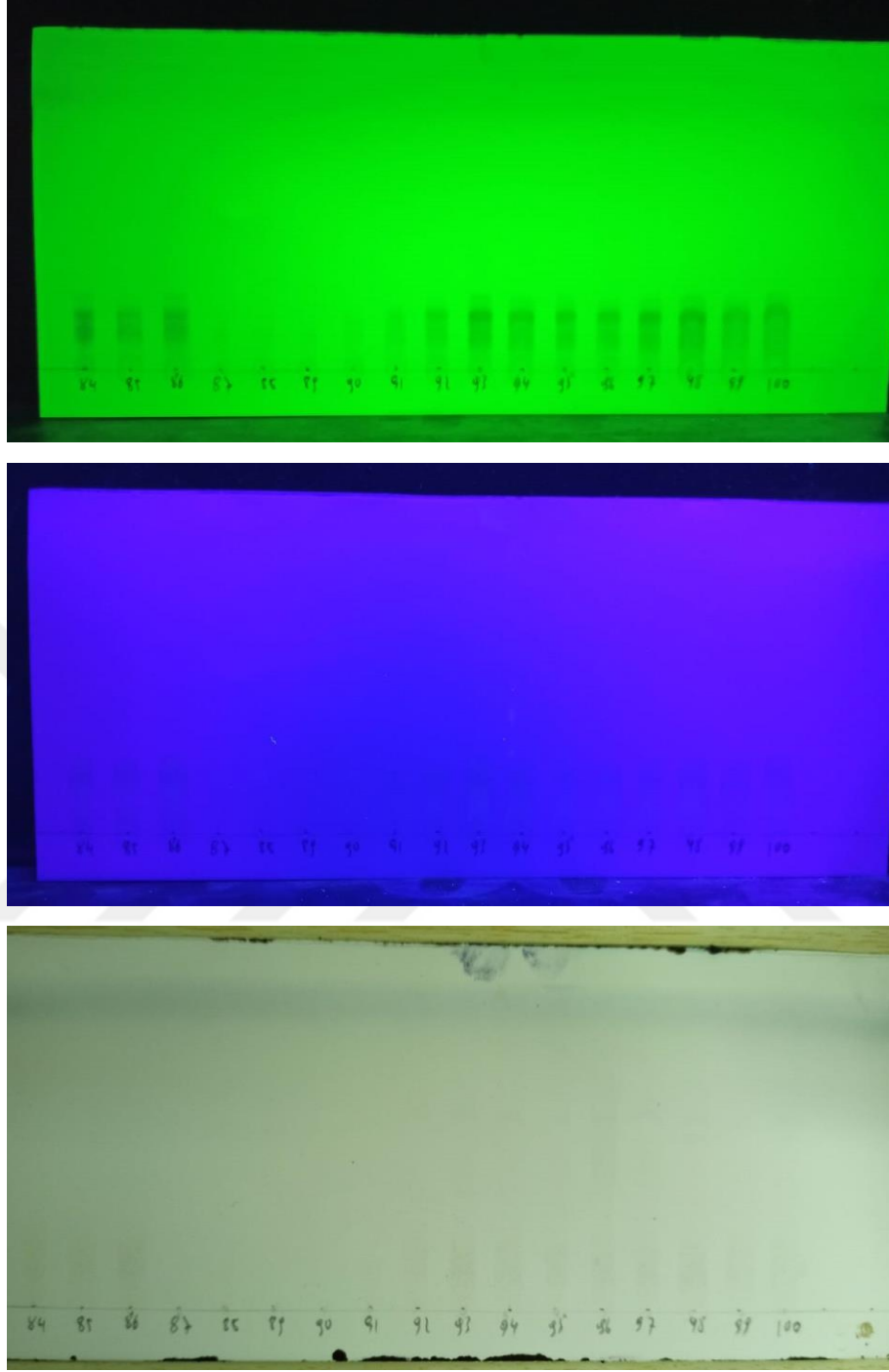
Şekil 3.4. Silikajel kolondan elde edilen fraksiyonlardan 21-42 fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sistemiyle normal faz İTK uygulamasının 254 nm, 366 nm ve vanilin-sülfirik asit reaktifi ile muamele edildikten sonraki kromatogramı.



Şekil 3.5. Silikajel kolondan elde edilen fraksiyonlardan 43-64 fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sistemiyle normal faz İTK uygulamasının 254 nm, 366 nm ve vanilin-sülfirik asit reaktifi ile muamele edildikten sonraki kromatogramı.



Şekil 3.6. Silikajel kolondan elde edilen fraksiyonlardan 65-83 fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sistemiyle normal faz İTK uygulamasının 254 nm, 366 nm ve vanilin-sülfirik asit reaktifi ile muamele edildikten sonraki kromatogramı.

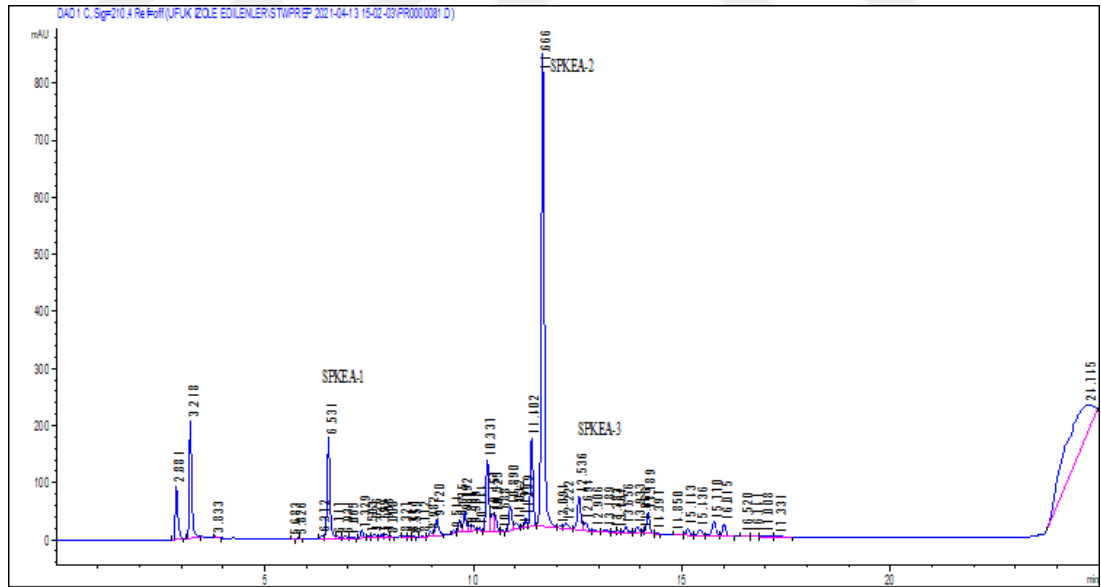


Şekil 3.7. Silikajel kolondan elde edilen fraksiyonlardan 84-100 fraksiyonların Etil asetat:Metanol:Su (80:13,5:10) çözücü sistemiyle normal faz İTK uygulamasının 254 nm, 366 nm ve vanilin-sülfirik asit reaktifi ile muamele edildikten sonraki kromatogramı.

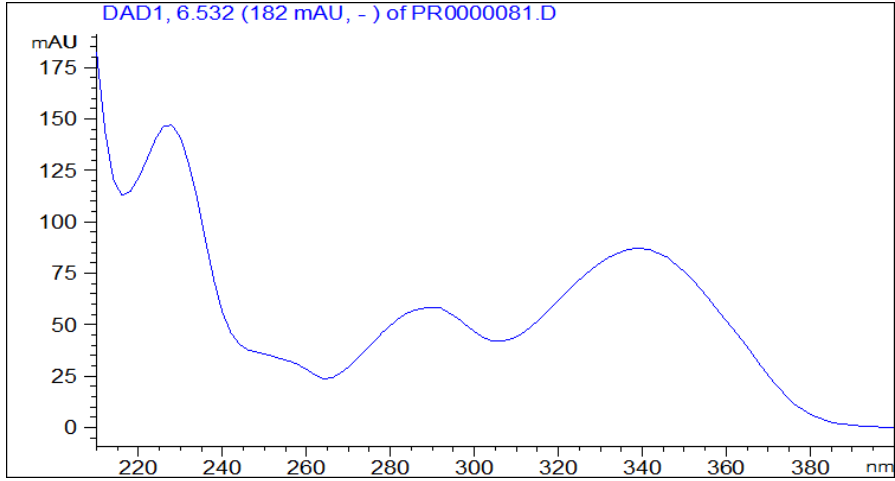
Silikajel kolondan ayrılan fraksiyonların İTK analizleri silikajel 60 normal faz plakları ve solvan sistemi etilasetat:metanol:su (80:13,5:10) çözücü sistemi kullanılarak incelendi. Plaklar üzerine vanilin-sülfirik asit reaktifi püskürtülmesi ve plakların 110°C etüvde bekletilmesiyle lekeler tespit edildi.

3.2.3. YPSK Çalışmasına Ait Bulgular

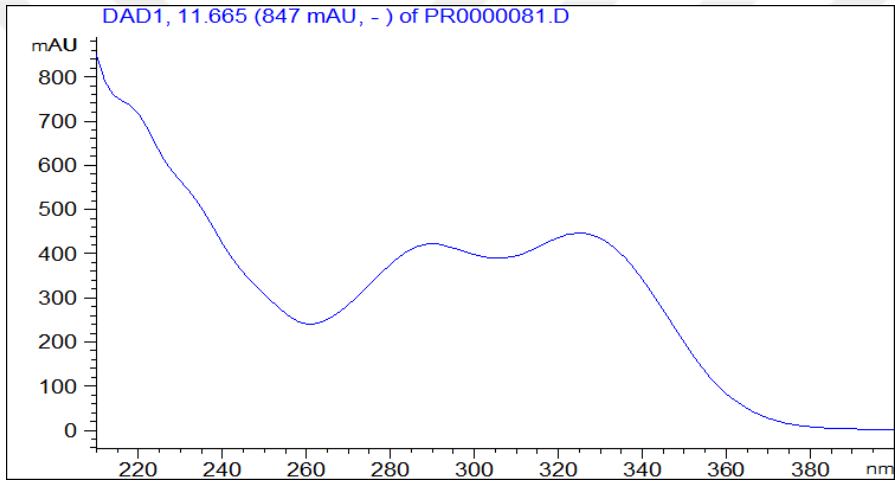
Silikajel kolondan elde edilen tüm fraksiyonlar kimyasal içeriklerine göre incelendikten sonra benzer içeriğe sahip olan fraksiyonlar birleştirildi ve antioksidan aktiviteleri için test edildi. Antioksidan aktivite tayin sonuçlarına göre en yüksek aktivitenin gözlemlendiği UA5 kodlu fraksiyonun daha ileri işlemlerde kullanılmasına karar verildi. UA5 kodlu fraksiyonun miktarının (110,55 mg) az olması nedeniyle semipreparatif YPSK yöntemiyle izolasyon işlemine devam edildi. YPSK analizi sonucunda SPKEA-1 (4 mg), SPKEA-2 (5,5 mg) ve SPKEA-3 (1,4 mg) olmak üzere üç bileşik izole edildi.



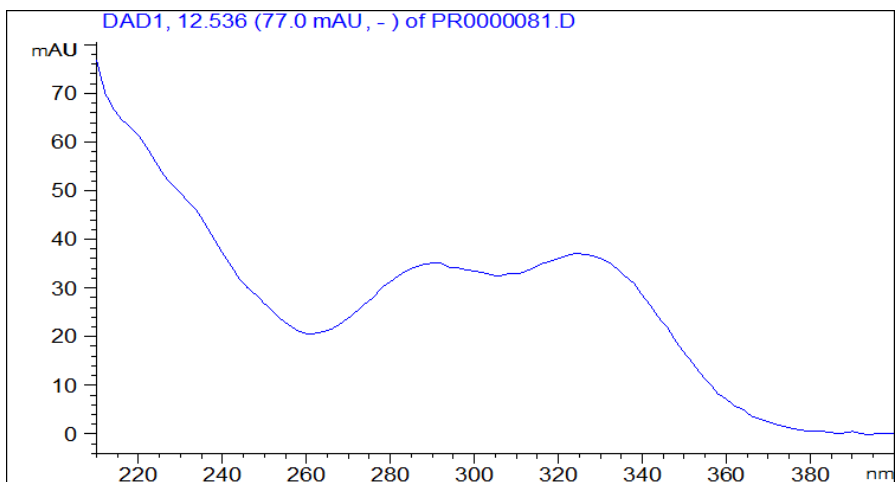
Şekil 3.8. UA5 fraksiyonun kromatogramı.



Şekil 3.9. SPKEA-1 bileşiminin UV spektrumu.



Şekil 3.10. SPKEA-2 bileşiminin UV spektrumu.

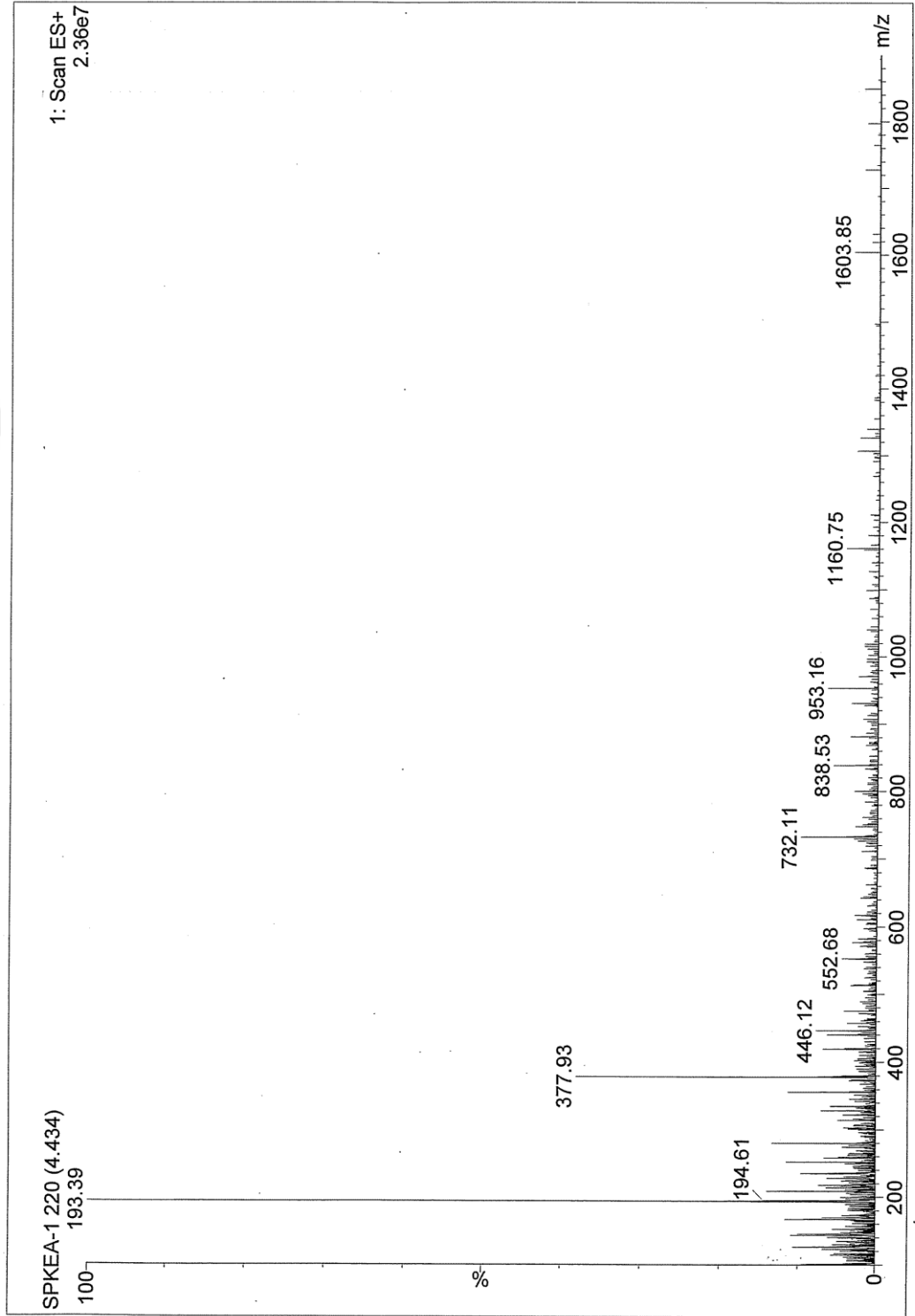


Şekil 3.11. SPKEA-3 bileşiminin UV spektrumu.

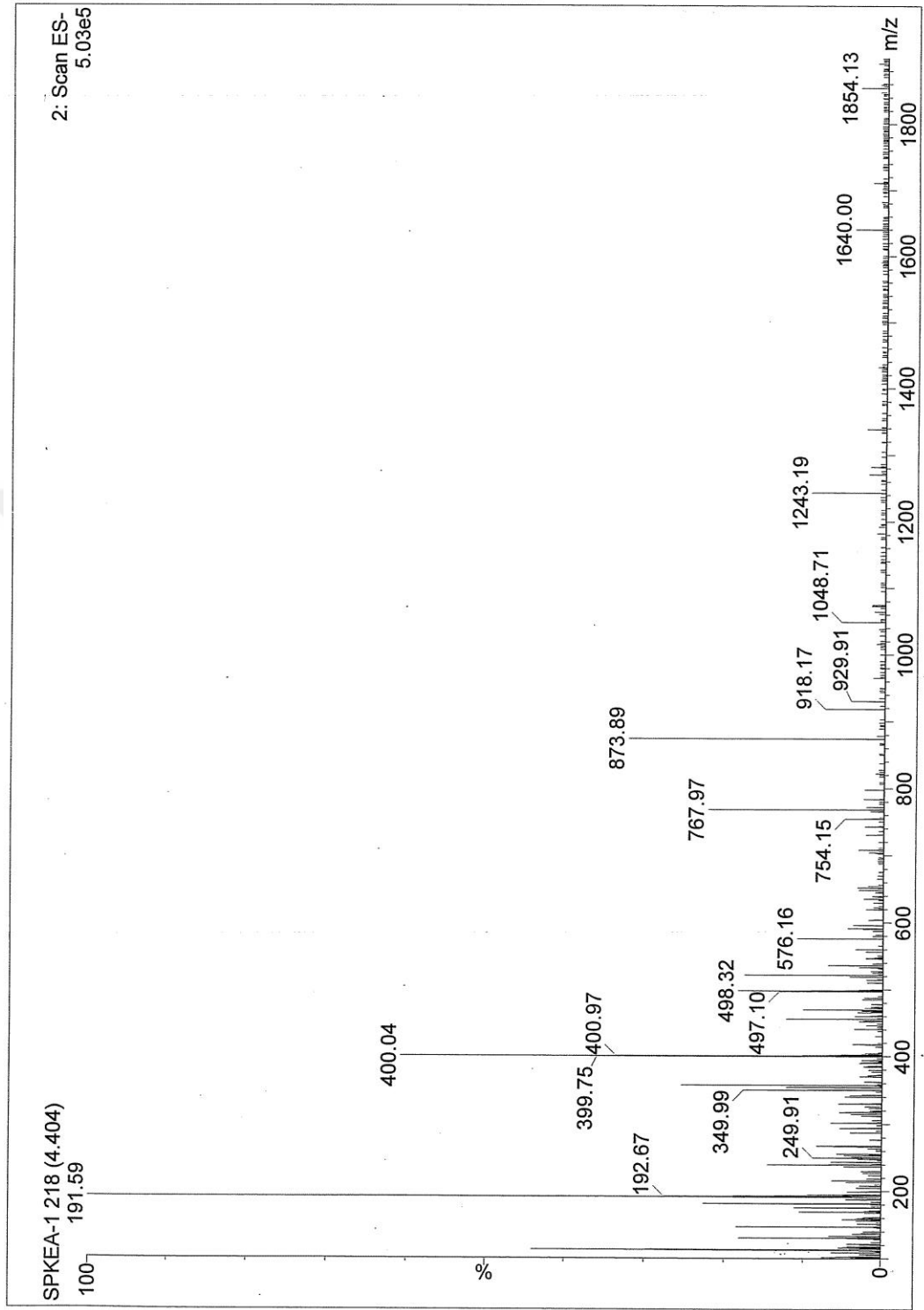
3.2.4. İzole Edilen Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması

İzole edilen üç bileşik de yapılarının aydınlatılması amacıyla spektroskopik analizlere tabi tutuldu, SPKEA-1 ve SPKEA-3 kodlu bileşiklerin miktarlarının az olması nedeniyle yalnızca ^1H -NMR ve KS analizleri gerçekleştirildi. SPKEA-2 kodlu bileşiğin ise ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve KS analizleri gerçekleştirildi. Yapılan incelemeler sonucunda SPKEA-1 kodlu bileşiğin kimyasal yapısının bilinen bir kumarin heteroziti skopolin olduğu literatür verileriyle de doğrulanarak belirlenmiştir. Ancak diğer iki bileşiğin; SPKEA-2 ve SPKEA-3 yeterli spektral verisinin olmaması nedeniyle yapıları tam olarak aydınlatılamamıştır. Her iki bileşiğin de feruloil artığı taşıyan bibenzil türevi olduğu çok benzer yapılara sahip oldukları bellidir. Ancak yapılarının net olarak ortaya konabilmesi amacıyla 2D-NMR (HMBC, HSQC, COSY, TOCSY, NOESY) tekniklerine gerek olduğu ve miktarları nedeniyle fakültemizde bulunan NMR cihazı ile bu analizler gerçekleştirilemediği için farklı bir merkezde analizinin yapılmasının gerektiği ortaya konmuştur.

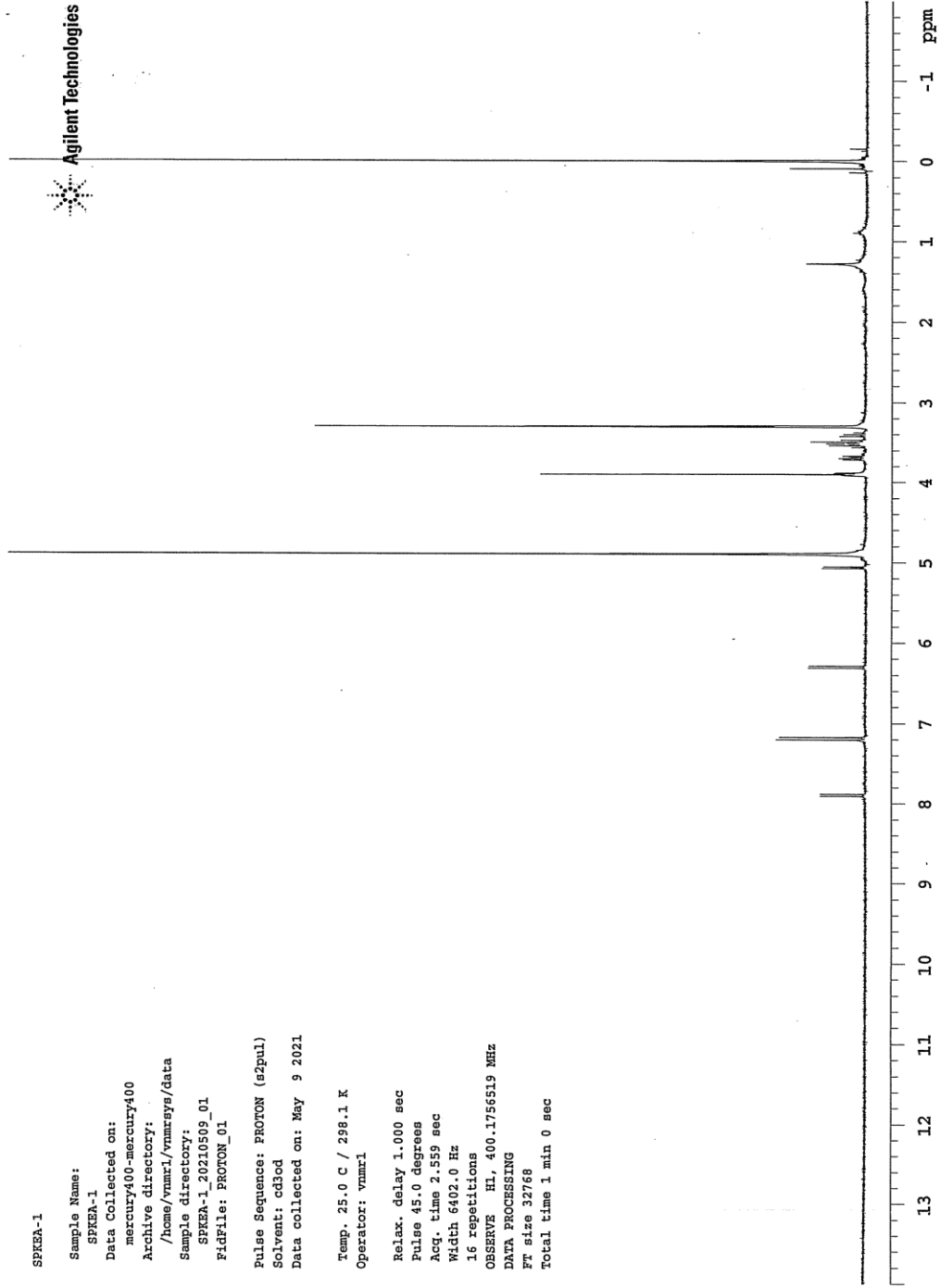
3.2.4.1. Elde Edilen SPKEA-1 Bileşığının Yapı Tayini ile İlgili Bulgular



Şekil 3.12. SPKEA-1 bileşığının Kütle spektrumu-1.



Şekil 3.13. SPKEA-1 bileşiğinin Kütle spektrumu-2.



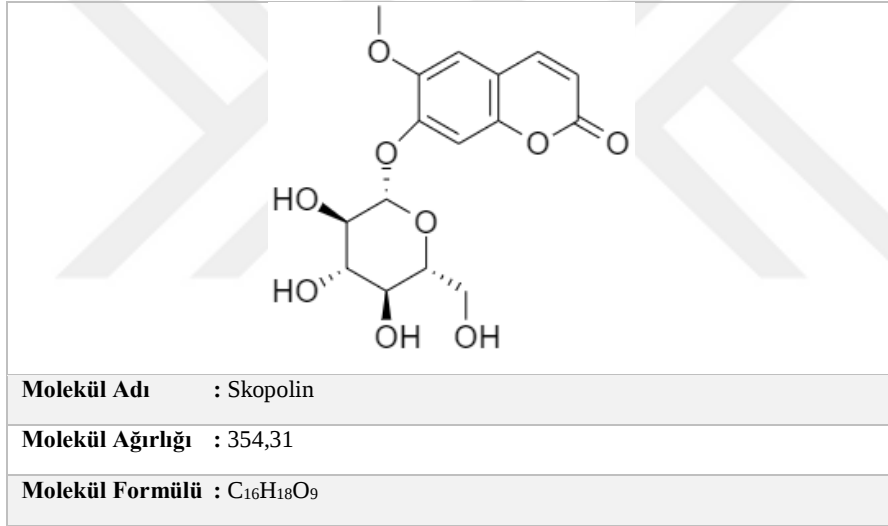
Şekil 3.14. SPKEA-1 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.

Çizelge 3.1. Skopolin ¹H-NMR değerleri (Abdurrahman ve ark., 2016).

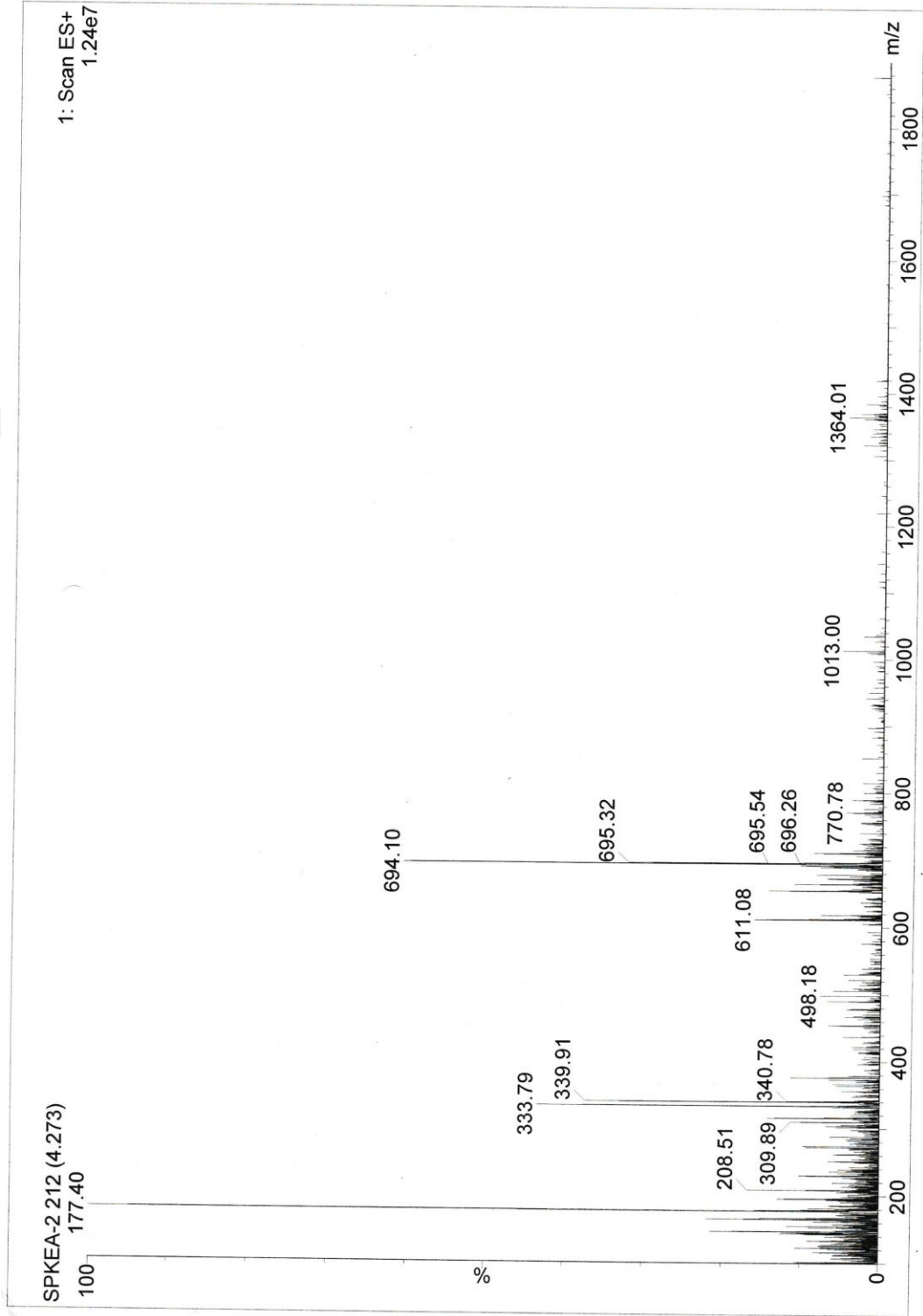
Pozisyon	δ değeri, ppm	İntegrasyon (J, Hz)
H-3	6.29	1H, d (9.2)
H-4	7.89	1H, d (9.6)
H-5	7.17	1H, s
H-8	7.20	1H, s
H-6-OMe	3.90	3H, s
H-1'	5.06	1H, d (7.2)
H-2'-6'	3.91-3.37	6H, m

Formülü

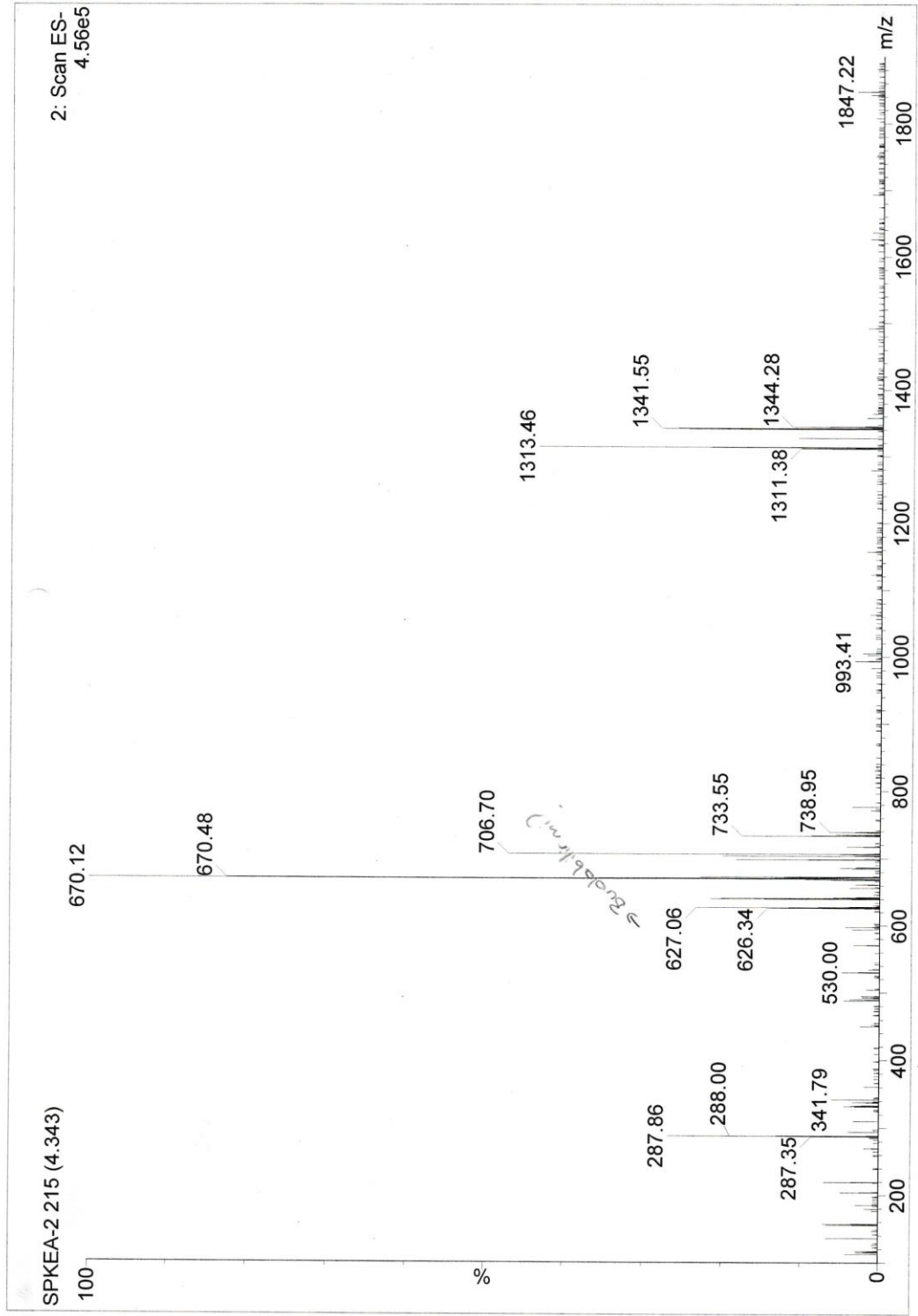
:



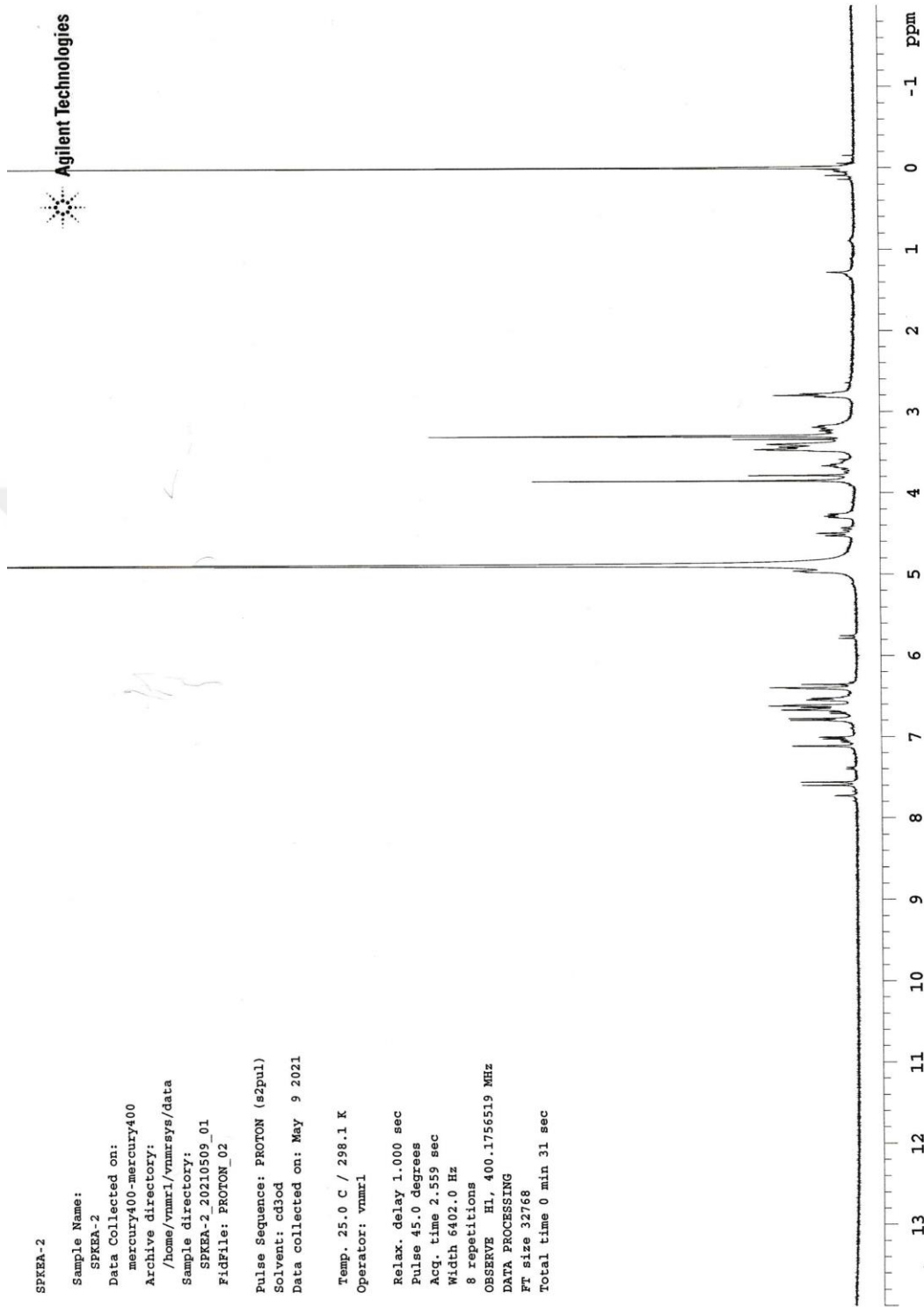
3.2.4.2. Elde Edilen SPKEA-2 Bileşiminin Yapı Tayini ile İlgili Bulgular



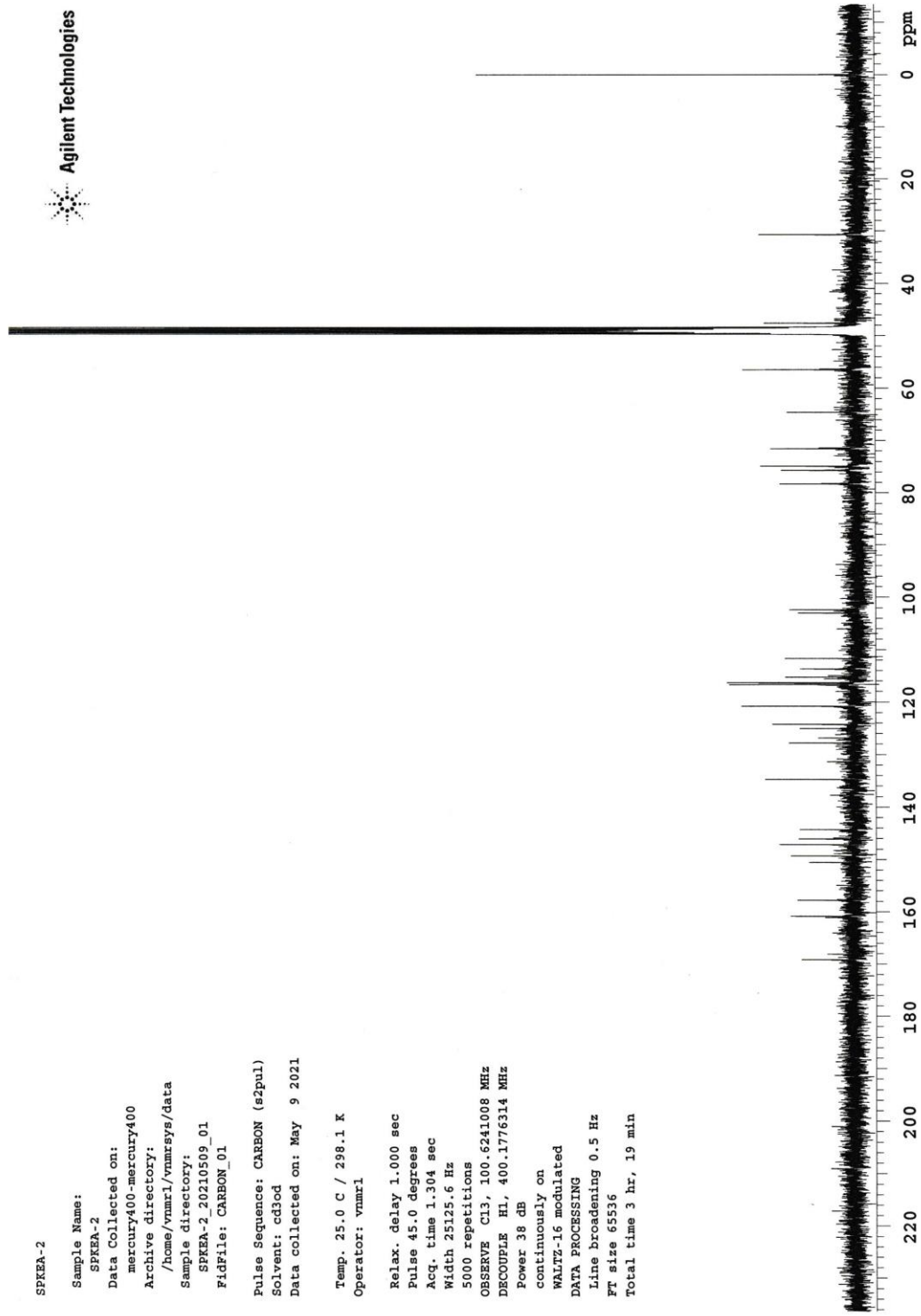
Şekil 3.15. SPKEA-2 bileşiminin Kütle spektrumu-1.



Şekil 3.16. SPKEA-2 bileşiğinin Kütle spektrumu-2.

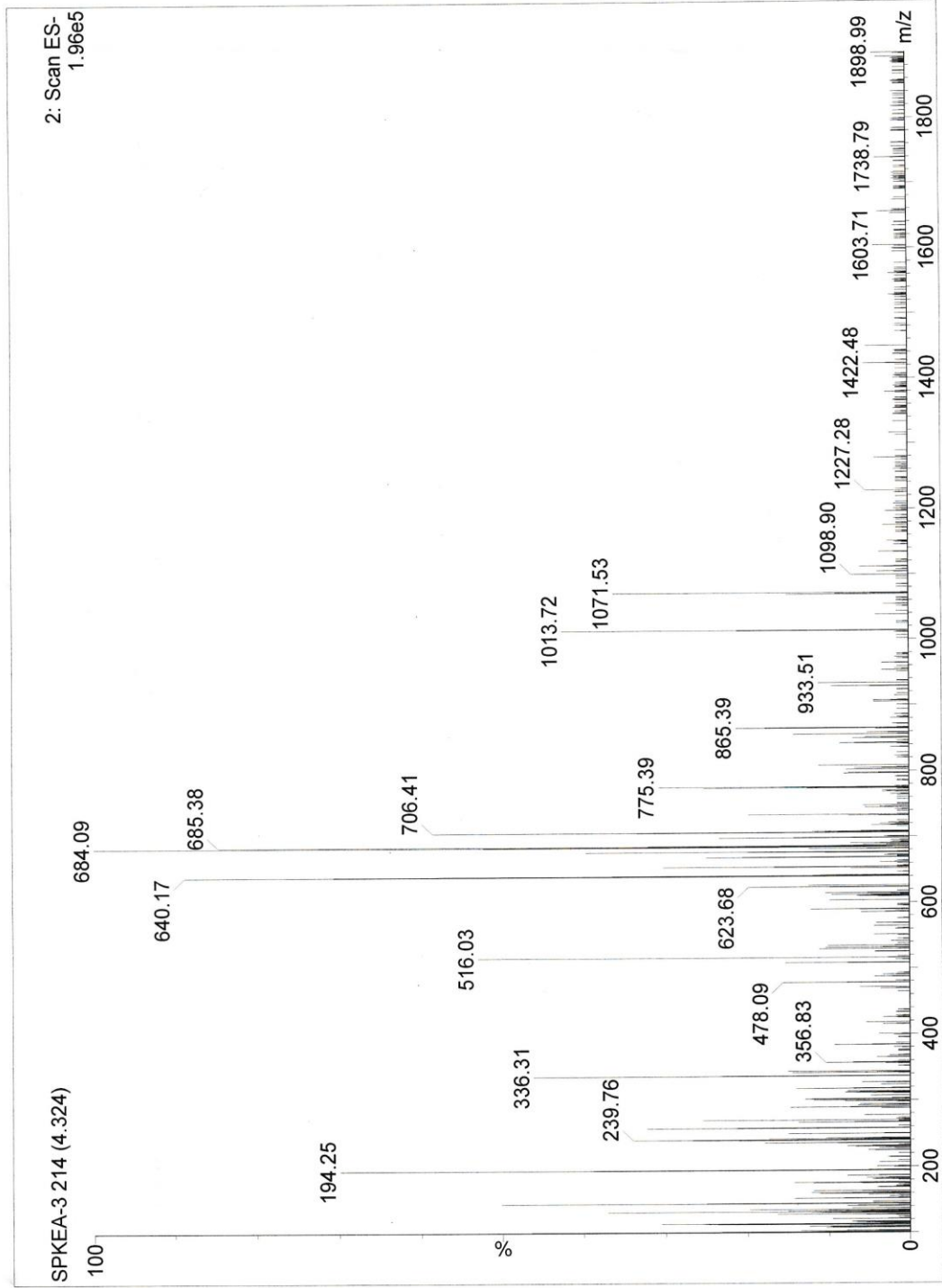


Şekil 3.17. SPKEA-2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.

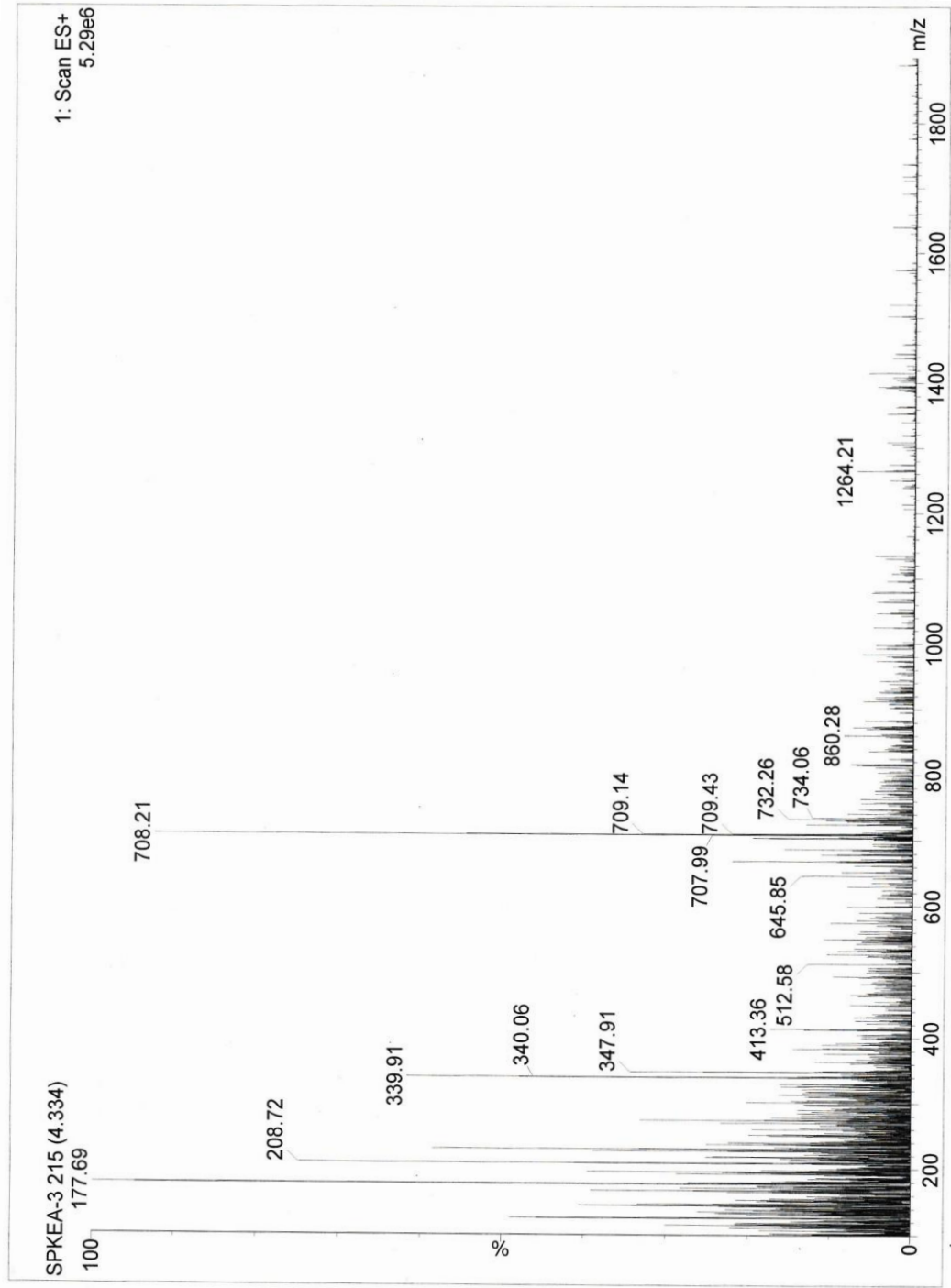


Şekil 3.18. SPKEA-2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

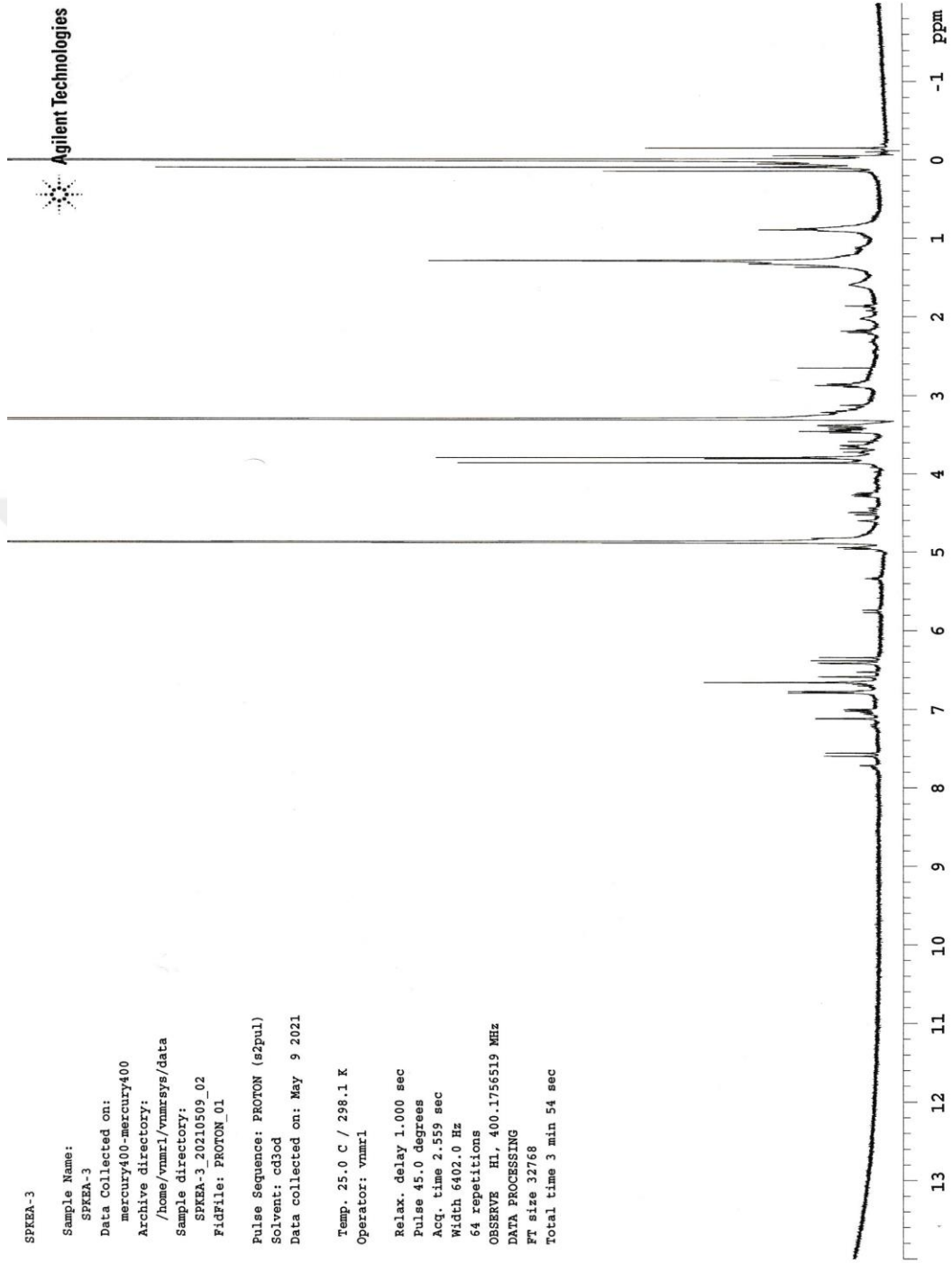
3.2.4.3. Elde Edilen SPKEA-3 Bileşiminin Yapı Tayini ile İlgili Bulgular



Şekil 3.19. SPKEA-3 bileşiminin Kütle spektrumu-1.



Şekil 3.20. SPKEA-3 bileşiğinin Kütle spektrumu-2.



Şekil 3.21. SPEKA-3 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.

3.3. Aktivite Çalışmaları

3.3.1. Antioksidan Aktivite Tayini

3.3.1.1. ABTS Serbest Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini

S. parviflora metanollü ekstresinin sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen petrol eterli, kloroformlu, etil asetatlı ve kalan sulu metanollü fraksiyonlarının ABTS radikalini süpürücü aktivite kapasiteleri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. *Scorzonera parviflora* metanollü ekstresinin sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen fraksiyonların ABTS radikalini süpürücü aktivite kapasiteleri.

Bitki ekstresi		IC ₅₀ (mg/ml)	
		Ortalama	Standart Sapma
1	Petrol Eterli fraksiyon	0,3332	0,0063
2	Kloroformlu fraksiyon	0,1881	0,0073
3	Etil Asetatlı fraksiyon	0,0105	0,0001
4	Sulu Metanollü fraksiyon	0,2104	0,0057
	Trolox	0,0049	0,0001

Etil asetatlı fraksiyon en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Silikajel kolondan elde edilen fraksiyonlarının antioksidan aktivite kapasitelerinin saptanması amacıyla ABTS serbest radikalini süpürücü etkileri değerlendirilmiştir. Tüm sonuçlar için IC₅₀ değerleri hesaplanmış, fraksiyonların antioksidan aktivite kapasiteleri hem kendi aralarında hem de standart madde Trolox ile karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar ve Çizelge 3.3 incelendiğinde tüm fraksiyonlar arasında UA5 isimli fraksiyonun en yüksek ABTS serbest radikalini süpürme kapasitesine (IC₅₀=0,0733 mg/ml) sahip olduğu görülmüştür.

Çizelge 3.3. Fraksiyonların ve standart maddenin ABTS serbest radikalini süpürme kapasiteleri.

Fraksiyonlar	IC ₅₀ (mg/ml)	
	Ortalama	Standart Sapma
UA1	1,1485	0,0941
UA2	0,1012	0,0126
UA3	0,0884	0,0032
UA4	0,8564	0,0445
UA5	0,0733	0,0018
UA6	0,0835	0,0062
UA7	0,1173	0,0084
UA8	0,1413	0,0253
UA9	0,1384	0,0025
UA10	0,1040	0,0105
UA11	0,1053	0,0068
UA12	0,4705	0,0529
UA13	0,3442	0,0437
Trolox	0,0049	0,0001

İzole edilen bileşiklerin ve Trolox'un ABTS serbest radikalini süpürme kapasiteleri Çizelge 3.4'te incelenmiştir ve tüm bileşikler arasında SPEA-2 bileşiği 10,35 µg/ml IC₅₀ değeri ile en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir.

Çizelge 3.4. İzole edilen bileşikler ve Trolox'un ABTS radikalini süpürme aktivite kapasiteleri.

Bileşik		IC ₅₀ (µg/ml)	
Numara	İsim	Ortalama	Standart Sapma
1	SPKEA-1	176,1440	5,4278
2	SPKEA-2	10,3577	0,1763
3	SPKEA-3	151,2887	3,6735
Referans	Trolox	5,4207	0,1686

3.3.1.2. DPPH Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini

S.parviflora metanollü ekstresinin sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen petrol eterli, kloroformlu, etil asetatlı ve kalan sulu metanollü fraksiyonlarının DPPH radikalini süpürücü aktivite kapasiteleri Çizelge 3.5’te verilmiştir.

Çizelge 3.5. *Scorzonera parviflora* metanollü ekstresinin sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen fraksiyonların DPPH radikalini süpürücü aktivite kapasiteleri.

Bitki ekstresi		IC ₅₀ (mg/ml)	
		Ortalama	Standart Sapma
1	Petrol Eterli fraksiyon	0,5740	0,0205
2	Kloroformlu fraksiyon	0,2295	0,0046
3	Etil Asetatlı fraksiyon	0,0066	0,0039
4	Sulu Metanollü fraksiyon	0,5858	0,0262
	BHT	0,0073	0,0004

Etil asetatlı fraksiyon en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Silikajel kolondan elde edilen fraksiyonlarının antioksidan aktivite kapasitelerinin saptanması amacıyla DPPH serbest radikalini süpürücü etkileri değerlendirilmiştir. Tüm sonuçlar için IC₅₀ değerleri hesaplanmış, fraksiyonların antioksidan aktivite kapasiteleri hem kendi aralarında hem de standart madde BHT ile karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar ve Çizelge 3.6 incelendiğinde tüm fraksiyonlar arasında UA5 isimli fraksiyonun en yüksek DPPH serbest radikalini süpürme kapasitesine (IC₅₀=0,0511 mg/ml) sahip olduğu görülmüştür.

Çizelge 3.6. Fraksiyonların ve standart maddenin DPPH serbest radikalini süpürme kapasiteleri.

Fraksiyonlar	IC ₅₀ (mg/ml)	
	Ortalama	Standart Sapma
UA1	1,1806	0,0195
UA2	0,0636	0,0026
UA3	0,1507	0,0034
UA4	0,3979	0,0632
UA5	0,0511	0,0005
UA6	0,0633	0,0013
UA7	0,0714	0,0052
UA8	0,0888	0,0062
UA9	0,0943	0,0042
UA10	0,0742	0,0010
UA11	0,0630	0,0012
UA12	0,1429	0,0044
UA13	0,1598	0,0088
BHT	0,0073	0,0004

İzole edilen bileşiklerin ve BHT'in DPPH serbest radikalini süpürme kapasiteleri Çizelge 3.7'da incelenmiştir ve tüm bileşikler arasında SPEA-2 bileşiği 9,1120 µg/ml IC₅₀ değeri ile neredeyse referans maddenin iki katından fazla aktivite göstererek bileşenler arasında en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir.

Çizelge 3.7. İzole edilen bileşikler ve BHT'in DPPH radikalini süpürme aktivite kapasiteleri.

Bileşik		IC ₅₀ (µg/ml)	
Numara	İsim	Ortalama	Standart Sapma
1	SPKEA-1	241,6120	8,9833
2	SPKEA-2	9,1120	0,5254
3	SPKEA-3	434,7123	12,5987
Referans	BHT	19,1367	0,1097

4. TARTIŞMA

Yaklaşık 160 türü ile Avrasya ve Afrika'nın kurak bölgelerinde yaygın olarak yetişen *Scorzonera* cinsi ülkemizde 31 tanesi endemik tür olmak üzere toplamda 59 takson ile temsil edilmektedir. Cinsin birçok türü halk arasında farklı amaçlarla tıbbi bitki ve sebze olarak kullanılmaktadır. Bu cinsin bir türü olan *S. parviflora* 800-1500m rakımda yetişen, yarı tuzlu habitatları seven, çok yıllık otsu bir bitkidir. Ülkemizde yoğun olarak İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde görülmektedir. *Scorzonera parviflora* üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda artış göstermiş olsa da görece azdır. Yapılan biyoaktivite çalışmalarının fitokimyasal çalışmalara oranla daha fazla olduğu da görülmektedir.

Akkol ve ark. (2012), yılında yaptıkları araştırmada *S. parviflora*'nın toprak üstü kısımlarının sulu metanolla ekstresi sonucu klorojenik asit, hiperozit ve luteolin-7-O-glukozit elde etmişlerdir. Acıkara ve ark. (2018) yılında yaptığı başka bir çalışmada ise *Scorzonera parviflora* n-hekzan ve sulu metanol ile ekstre edilmiş. Önceki araştırmalardan farklı olarak Taraksasterol asetat, lupeol ve lupeol asetat elde edilmiştir.

S. parviflora'nın antioksidan aktivitesi biyoaktivite çalışmalarından birinde bitkinin kök ekstresinin süperoksit anyon süpücü aktivitesi $IC_{50}=2,25$ mg/ml, toprak üstü kısımlarının ekstresinin $IC_{50}=4,7$ mg/ml ölçülmüştür (Acıkara ve ark, 2013). Antienflamatuvar aktivite ise indometazinin referans madde olarak kullanıldığı karragenin ve PGE2 nedenli arka pençe ödem modelinde *S. parviflora*'nın toprak üstü ekstresinin aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Akkol ve ark., 2012). Bitkinin antinosiseptif aktivitesi referans madde olarak asetilsalisilik asit kullanılan ve deneklere intraperitoneal olarak *p*-benzokinon verilerek karın kasılma sayısının ölçüldüğü bir testte toprak üstü kısımlarının sulu metanollü ekstresi kullanılmış ve asetilsalisilik asit kadar olmasa da antinosiseptif aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Küpeli Akkol ve ark., 2012). 2017 yılında Acıkara ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada *S. parviflora*'nın içeriğindeki klorojenik asitten dolayı hepatoprotektif

aktivite gösterebileceği lakin klorojenik asitin bu aktivitesi üzerinden karaciğer hastalıklarında kullanımı için daha detaylı çalışmalar yapılması gerektiği belirtilmiştir (Acıkara ve ark., 2017). En son olarak bitkinin toprak üstü kısımlarının ekstresinin yara iyileştirici aktivite gösterdiği Akkol ve ark. (2011), tarafından bir çalışmada referans madde olarak Madecassol® kullanılan bir çalışmada gösterilmiş ancak Madecassol® kıyaslandığında anlamlı bir etki göstermediği bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda Ankara'nın Gölbaşı ilçesinden topladığımız *S. parviflora* üzerinde farmakognozik araştırmalar yapılmış, bitkinin fitokimyasal yapısının ve biyoaktivitesinin aydınlatılması yönünde çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla *S. parviflora*'nın köklerinin metanol ile ekstresiyle hazırlanmış etil asetat fazından izolasyon çalışması yapılmıştır.

Yaptığımız antioksidan aktivite analizinde metanollü ekstreden sıvı-sıvı ekstraksiyon ile elde ettiğimiz etil asetat, kloroform, petrol eteri ve su fazlarının ABTS serbest radikalini süpürücü aktiviteleri için IC_{50} değerleri hesaplanmış ve aktivite kapasiteleri etil asetat>kloroform>su>petrol eteri fazı olarak bulunmuştur. DPPH radikalini süpürücü aktiviteleri için IC_{50} değerlerini hesapladığımızda aktivite kapasiteleri etil asetat>kloroform>petrol eteri>su fazı olarak bulunmuştur. İzolasyon çalışmamızda etil asetatlı fazda silikajel kolon kromatografisi kullanılmıştır. Silikajel kolonundan 100 alt fraksiyon elde edilmiş ve bu alt fraksiyonların ince tabaka kromatografisi kullanılarak benzer olanları birleştirilmiş ve 13 fraksiyon elde edilmiştir. Silikajel kolondan elde edilen 13 fraksiyonunun ABTS serbest radikalini süpürme kapasitesi ve DPPH radikalini süpürme kapasiteleri incelendiğinde en yüksek aktivite UA5 isimli fraksiyonda görülmüştür. UA5 ABTS için $IC_{50}=0,0733$ mg/ml ve DPPH için $IC_{50}=0,0511$ mg/ml değerleri hesaplanmıştır. UA5 fraksiyonundan YPSK kullanılarak SPKEA-1, SPKEA-2 ve SPKEA-3 bileşikleri elde edilmiştir.

İzole edilen üç bileşik de yapılarının aydınlatılması amacıyla spektroskopik analizlere tabi tutulmuş, SPKEA-1 ve SPKEA-3 kodlu bileşiklerin miktarlarının az olması nedeniyle yalnızca 1H -NMR ve KS analizleri gerçekleştirilmiştir. SPKEA-2

kodlu bileşimin ise ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve KS analizleri gerçekleştirildi. Yapılan incelemeler sonucunda SPKEA-1 kodlu bileşimin kimyasal yapısının bilinen bir kumarin heteroziti skopolin olduğu literatür verileriyle de doğrulanarak belirlenmiştir. Ancak diğer iki bileşimin; SPKEA-2 ve SPKEA-3 yeterli spektral verisinin olmaması nedeniyle yapıları tam olarak aydınlatılamamıştır. Her iki bileşimin de feruloil artığı taşıyan bibenzil türevi olduğu çok benzer yapılara sahip olduklarından dolayı düşünülmektedir. Ancak yapılarının net olarak ortaya konabilmesi amacıyla 2D-NMR (HMBC, HSQC, COSY, TOCSY, NOESY) tekniklerine gerek olduğu ve miktarları nedeniyle fakültemizde bulunan NMR cihazı ile bu analizler gerçekleştirilemediği için farklı bir merkezde analizinin yapılmasının gerektiği ortaya konmuştur.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

21. Yüzyılın ilk çeyreğinde fitoterapiye ve besin takviyelerine olan ilgi artarak yükselmektedir. Bu preparatlar arasında antioksidan içerikli olanlar çok önemli rol oynamaktadır. Vücuda besinlerden alınan antioksidanların dışında son yılda antioksidan içeren birçok besin takviyesi çıkmıştır. Şu zamana kadar bu tür besin takviyelerinin ciddi yan etkileri, toksisiteleri ve olumsuz sonuçları görülmemiş olsa da uzun dönemde nasıl sonuçlar veya yan etkiler doğurabileceği kesin değildir. Bu sebeplerden dolayı vücuda alınan antioksidanların kaynağı ve etkileri iyi bilinmelidir. Araştırma yaptığımız bitkinin antioksidan aktivitesi yeni bileşiklerin ve yeni potansiyel antioksidanların keşfi konusunda mühimdir.

Scorzonera parviflora İspanya'dan Çekya'ya, Anadolu'dan Orta Asya'ya kadar geniş bir coğrafyada yayılış göstermektedir. Bu geniş yetiştirilme alanına rağmen *S.parviflora* hakkında yapılan fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmaları kısıtlıdır. Bu çalışmalarda *S.parviflora*'nın içeriğinde klorojenik asit, hiperozit, luteolin-7-glukozit, taraksasterol asetat, lupeol ve lupeol asetat olduğu bildirilmiştir. Biyoaktivite çalışmalarında ise *Scorzonera parviflora*'nın antioksidan, antienflamatuvar, antinosiseptif, hepatoprotektif ve yara iyileştirici aktivitesi olduğu belirtilmiştir.

Bizim çalışmamız da topladığımız *S.parviflora*'nın metanol ile ekstraksiyonunu takiben yapılan fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmaları sonucunda bitkinin metanol ekstresinin belli ölçüde antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Çalışmalar da izole edilen skopolin bileşiği *S. parviflora*'dan ilk defa izole edilmiştir ve biyoaktivite analizlerinde, antioksidan aktiviteden sorumlu olabileceği analiz sonuçlarındaki IC₅₀ değerlerine bakılarak düşünülmektedir.

Çalışmamız Türkiye'de yetişen *S. parviflora* bitkisinin fitokimyasal içeriğinin aydınlatılmasına, bitkinin yapısının tanınmasına katkıda bulunmakla birlikte gösterdiği antioksidan aktivitesinin içeriğindeki farklı bileşiklerden de kaynaklanabileceğini göstermektedir. *S. parviflora* üzerindeki çalışmaların diğer

Scorzonera türlerine kıyasla oldukça az miktarda olduğu görülmektedir. Bu türün farmakognozik açıdan incelenmesinin sürdürülmesi, özellikle yapısı tayin edilmemiş ve güçlü bir antioksidan aktivite sergilemiş olan SPKEA-2 bileşiğinin yapısının ve güçlü aktivite gözlenen diğer fraksiyonların da incelenerek bitkinin fitokimyasal içeriğinin tam olarak ortaya konmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.



ÖZET

***Scorzonera parviflora* Jacq. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar**

Dünyada çok geniş bir kültürü olan Asteraceae yani papatyagiller familyasının bir üyesi olan *Scorzonera parviflora* tuzlu toprağı seven 800-1500 m rakımlarda yetişen çok yıllık otsu bir bitkidir. Tuzlu bataklıkları seven bu tür İspanya'dan Balkanlar'a, Balkanlar'dan Anadolu ve Orta Asya'ya kadar birçok coğrafya da yetişmektedir. *S. parviflora* diğer *Scorzonera* türleri gibi Avrupa, Asya ve Türk geleneksel tıplarında mide rahatsızlıkları, ağrı kesici, göğüs hastalıkları, böbrek hastalıkları, hipertansiyon ve diyabet gibi pek çok hastalıkta kullanılmaktadır. Çalışmamızda *Scorzonera parviflora*'nın kök kısımları metanol ile ekstraksiyonu yapılmış ve kolon kromatografisi ve YPSK kullanılarak izolasyon çalışmaları yapılmıştır. İzole edilen bileşiğin yapısının çözülmesinde ¹H-NMR ve SK/KS spektroskopik tayin yöntemleri kullanılarak SPKEA-1, SPKEA-2 ve SPKEA-3 bileşikler tespit edilmiştir. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda elde edilen kloroform, etil asetat, petrol eteri ve su fazlarının ve kolon kromatografisi sonucu elde edilen fraksiyonların antioksidan aktiviteleri ABTS ve DPPH radikallerini süpürme kapasitelerine bakılarak incelenmiş, etil asetat fazının yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiş ve o fazdan izole edilen bileşiklerden SPKEA-1'in skopolin bileşiğı olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen SPKEA-2 bileşiğinin ise diğer bileşiklere nazaran en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Antioksidan aktivite, *Scorzonera parviflora*, sekonder metabolit.

SUMMARY

Pharmacognostical Studies on *Scorzonera parviflora* Jacq.

Scorzonera parviflora, a member of the Asteraceae family, which has a very wide culture in the World, is a perennial herbaceous plant that grows at 800-1500m altitudes that loves salty soil. This species, which likes salt marshes, grows in many geographies from Spain to the Balkans, from the Balkans to Anatolia and Central Asia. Like other *Scorzonera* species, *S. parviflora* is used in many diseases such as stomach ailments pain relief, chest diseases, kidney diseases, hypertension and diabetes in European, Asian and Turkish traditional medicine. In our study, the root parts of *Scorzonera parviflora* were extracted with methanol and isolation studies were carried out using column chromatography and HPLC. In the analysis of the determination of the structures of isolated compounds, SPKEA-1, SPKEA-2 and SPKEA-3 compound was determined by using ¹H-NMR and LC/MS spectroscopic determination methods. As a results of liquid-liquid extraction, chloroform, ethyl acetate, petroleum ether and water phases and 13 fractions were obtained as a result of column chromatography. The antioxidant activities of the phases and fractions were examined by looking at their ABTS and DPPH radical scavenging capacities. It was determined that the ethyl acetate phase had high antioxidant activity and SPKEA-1, one of the compounds isolated from that phase, was determined to be a scopoline compound. It was observed that the isolated SPKEA-2 compound had the highest antioxidant activity compared to the other compounds.

Keywords: Antioxidant activity, *Scorzonera parviflora*, secondary metabolite.

KAYNAKLAR

- ABDURRAHMAN, I., CAI-XIA, Y., & YU-LAI, H. (2016). Isolation and structure elucidation of a new coumarin glycoside from *Xeromphis nilotica*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, **5(4)**, 292-300.
- ACIKARA, H. O. O. B., YIĞİTBAŞI, I. K. N. K. T., & IŞCAN, G. S. (2017). Preclinical Evaluation of *Scorzonera* sp. Root Extracts and Major Compounds Against Acute Hepatotoxicity Induced by Carbon Tetrachloride. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **79(5)**: 715-723.
- ACIKARA, O.B., ÇİTOĞLU, G.S., & ÇOBAN, T. (2013). Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Selected *Scorzonera* Species. *Turk J Pharm Sci*, **10(3)**: 453-462.
- AKKOL, E.K., ACIKARA, O.B., SUNTAR, I. ÇİTOĞLU, G.S., (2012). Ethnopharmacological evaluation of some *Scorzonera* species In vivo anti inflammatory and antinociceptive effects. *Journal of Ethnopharmacology*, **140(2)**: 261-270.
- AKKOL, E.K., ACIKARA, O.B., SUNTAR, I. ÇİTOĞLU, G.S., KELEŞ H., ERGENE, B. (2011). Enhancement of wound healing by topical application of *Scorzonera* species: Determination of the constituents by HPLC with new validated reverse phase method. *Journal of Ethnopharmacology*, **137(2)**: 1018-1027.
- ANTOLOVICH, M., PRENZLER, P.D., PATSALIDES, E., MCDONALD, S., & ROBARDS, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, **127(1)**: 183-198.
- BAHADIR ACIKARA, Ö., HOSEK, J., BABULA, P., CVACKA, J., BUDESINSKY, M., DRACINSKY, M., ... & SMEJKAL, K. (2016). Turkish *Scorzonera* species extracts attenuate cytokine secretion via inhibition of NF-κB activation, showing anti-inflammatory effect in vitro. *Molecules*, **21(1)**: 43.
- BAHADIR-ACIKARA, Ö., ÖZBİLGİN, S., SALTAN-IŞCAN, G., DALL'ACQUA, S., RJASKOVA, V., ÖZGÖKÇE, F., ... & SMEJKAL, K. (2018). Phytochemical analysis of *Podospermum* and *Scorzonera* n-hexane extracts and the HPLC quantitation of triterpenes. *Molecules*, **23(7)**: 1813.
- BAYTOP, A., (1996). *Farmasötik Botanik Ders Kitabı*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basımevi, sayfa.:255-260.
- BAYTOP, T., 1999. *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*. Nobel, Ankara, sayfa: 236–237
- BLOIS, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181(4617)**: 1199-1200.

- BOHM, B. A., & STUESSY, T. F. (2001). *Flavonoids of the sunflower family (Asteraceae)*. Springer Science & Business Media. Sayfa 1
- CHAMBERLAIN, D. F. (1975). *Scorzonera L.*, pp. 632– 657. In: DAVIS, P. H. (ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, **Vol. 5**. Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- ÇOŞKUNÇELEBİ, K., MAKBUL, S., GÜLTEPE, M., OKUR, S., & GÜZEL, M. E. (2015). A conspectus of *Scorzonera* sl in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, **39(1)**: 76-87.
- DAVIS, P.H. (1975). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, **Vol.5**. p. 646
- DITE, D., ELIAS JR, P., SUVADA, R., PIS, V., & MELECKOVA, Z. (2015). The phytosociology and ecology of saline vegetation with *Scorzonera parviflora* across the Pannonian-Western Balkan gradient. *Phytocoenologia*, **45(1-2)**: 33-47.
- DURAN, A., DOĞAB, B., HAMZAOĞLU, E., & AKSOY, A. (2011). *Scorzonera coriacea* A. Duran & Aksoy (Asteraceae, Cichorieae), a new species from South Anatolia, Turkey. *Candollea*, **66(2)**: 353-359.
- FERNANDEZ, S. P., WASOWSKI, C., LOSCALZO, L. M., GRANGER, R. E., JOHNSTON, G. A., PALADINI, A. C., & MARDER, M. (2006). Central nervous system depressant action of flavonoid glycosides. *European journal of pharmacology*, **539(3)**: 168-176.
- MARTIN, E., ÇETİN, Ö., MAKBUL, S., DURAN, A., ŞEKER, M., BODUROĞLU, D., & EŞMEKAYA, B. (2012). Karyology of the *Scorzonera L.*(Asteraceae) taxa from Turkey. *Turkish Journal of Biology*, **36(2)**: 187-199.
- RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., & RICE-EVANS, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, **26(9-10)**: 1231-1237.
- SARGIN, S. A. (2020). Potential anti-influenza effective plants used in Turkish folk medicine: A review. *Journal of ethnopharmacology*, 113319.
- SEZER SENOL, F., ACIKARA, O. B., ÇİTOĞLU, G. S., ORHAN, I. E., ACQUA, S. D., & ÖZGÖKÇE, F. (2014). Prospective neurobiological effects of the aerial and root extracts and some pure compounds of randomly selected *Scorzonera* species. *Pharmaceutical Biology*, **52(7)**: 873-882.
- SEZİK E, YEŞİLADA E, TABATA M, HONDA G, TAKAISHI Y, FUJITA T, TANAKA T, TAKEDA Y, Traditional medicine in Turkey VIII. Folk medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Agn, Kars, Iğdır Provinces, *Econ Bot* **51**, 195-211, 1997
- SHABAB, S., GHOLAMNEZHAD, Z., & MAHMOUDABADY, M. (2020). Protective effects of medicinal plant against diabetes induced cardiac disorder: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113328.

- TANKER, N., KOYUNCU, M., COŞKUN, M., (2004). Farmasötik Botanik. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, p.: 319-326.
- TSEVEGSUREN, N., EDRADA, R.A., LIN, W., EBEL, R., TORRE, C., ORTLEPP, S., WRAY, V., PROKSCH, P., 2007. Four new natural products from mongolian medicinal plants *Scorzonera divaricata* and *Scorzonera pseudodivaricata* (Asteraceae). *Planta Medica* **72**, 962–967.
- TUBIVES, TÜRKİYE BİTKİLERİ VERİ SERVİSİ Erişim: [<http://www.tubives.com/>] Erişim tarihi: 02/10/2020
- YOUNG, I. S. AND WOODSIDE, J. V. 2001. Antioxidants in Health and Disease. *Journal of Clinical Pathology*, **54**: 176-186.
- ZEYBEK, N., (1985). Farmasötik Botanik. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, p.: 337-348.
- ZHU, S., XUEJUN, G., KILIAN, N., KIRSCHNER, J., STEPANEK, J., SUKHORUKOV, A. P., ... & GOTTSCHLICH, G. (2011). 5. Tribe Cichorieae. *Flora of China*. St. Louis, 20, 195.
- ZHU, Y., WU, Q., HU, P., WU, W., 2009. Biguaiascorzolides A and B: two novel dimeric guaianolides with a rare skeleton, from *Scorzonera austriaca*. *Food Chemistry* **114**, 1316–1320
- ZIDORN, C., ELLMERER-MULLER, E.P., STUPPNER, H., 2000. Tyrolobibenzyls-novel secondary metabolites from *Scorzonera humilis* L. *Helvetica Chimica Acta* **83**, 2920–2925.