LIMONIUM MEYERI (BOISS) KUNTZE ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Masum SAMİ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Esen SEZEN KARAOĞLAN

Yüksek Lisans Tezi-2022

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LIMONIUM MEYERI (BOISS) KUNTZE ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Masum SAMİ

Farmakognozi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Esen SEZEN KARAOĞLAN

ERZURUM
2022

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER ..... **I**

TEŞEKKÜR ..... **IV**

ÖZET ..... **V**

ABSTRACT ..... **VI**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **VII**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **X**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **XI**

1. GİRİŞ **12**

2. GENEL BİLGİLER **14**

2.1. Botanik Bilgiler 14

2.1.1. Plumbaginaceae Familyası 14

2.1.2. *Limonium* Mill. Cinsi 15

2.1.2.1. *Limonium meyeri* (Boiss) Kuntze Türü 15

2.1.3. *Limonium* Türlerinin Yayılışı 16

2.2. *Limonium* Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Çalışmalar 17

2.2.1. *Limonium axillare* 17

2.2.2. *Limonium sinense* 18

2.2.3. *Limonium leptophyllum* 18

2.2.4. *Limonium effusum* 18

2.2.5. *Limonium myrianthum* 19

2.2.6. *Limonium gmelinii* 19

2.2.7. *Limonium sinuatum* 19

2.2.8. *Limonium franchetii* 19

2.2.9. *Limonium delicatulum* 20

2.2.10. *Limonium tetragonum* 20
2.2.11. *Limonium caspium* 20
2.2.12. *Limonium boitardii* 20
2.2.13. *Limonium cercinense* 20
2.2.14. *Limonium popovii* 21
2.2.15. *Limonium aureum* 21
2.2.16. *Limonium wrightii* 21
2.2.17. *Limonium brasiliense* 21
2.2.18. *Limonium duriusculum* 21
2.2.19. *Limonium bicolor* 22
2.2.20. *Limonium meyeri* 22
2.2.21. Uçucu Yağlar 22
2.2.22. Diğer Maddeler 22
2.3. *Limonium* Türleri Üzerinde Yapılmış Biyolojik Aktivite ve Toksisite Çalışmaları 23
2.3.1. Antimikrobiyal Aktivite 23
2.3.2. Antiinflamatuvar Aktivite 26
2.3.3. Antioksidan Aktivite 27
2.3.4. Antikanser Aktivite 29
2.3.5. Enzim İnhibisyon Aktivitesi 30
2.3.6. Anti Obezite Etkileri 31
2.3.7. Antidiyabetik Aktivite 32
2.3.8. Toksisite Çalışmaları 32
2.4. *Limonium* Türlerinin Halk Arasındaki Kullanımı 33
3. MATERYAL VE METOT 35
3.1. Bitki Materyali 35

3.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler 35
3.3. Kullanılan Aletler ve Malzemeler 35
3.4. Ekstraksiyon Yöntemi 36
3.5. Antimikrobiyal Aktivite Yöntemi 36
3.6. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Yöntemi 37
3.7. İzolasyon ve Yapı Tayini 38
3.7.1. İzolasyonda Kullanılan Kolon Kromatografi Yöntemleri 38
3.7.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) 38
3.7.1.2. Açık Kolon Kromatografisi (KK) 39
3.7.1.3. İzolasyonda Kullanılan Solvan Sistemleri 39
3.8. Saf Madellerin Yapı Tayini 40
4. BULGULAR 41
4.1. Antimikrobiyal Aktivite 41
4.2. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu 42
4.3. Fitokimyasal Analiz Sonuçları 44
4.3.1. Apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit (LME1) 44
4.3.2. Mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit (LME2) 55
5. TARTIŞMA 64
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 70
KAYNAKLAR 71
EKLER 81
EK-1. ÖZGEÇMİŞ 81
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU 82
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU 83
EK-4. DİĞER FORMLAR 84

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın başından sonuna kadar benden hiçbir şekilde desteğini esirgemeyen ve gösterdiği özveri ile beni daima teşvik eden, kendisi ile daha önce tanışmamış ve beraber çalışmamış olmayı büyük bir kayıp addettiğim tez danışmanım Doç Dr. Esen SEZEN KARAOĞLAN'a, tez çalışmalarım esnasında NMR spektrumlarımın alınmasında destek olan Prof. Dr. Cavit KAZAZ'a ve antimikrobiyal çalışmalarıma destek olan Dr. Öğr. Üyesi Hayrunisa HANCI'ya, ayrıca lisansüstü eğitim sürecimde bana değerli bilgilerini aktararak katkı sağlayan tüm hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Limonium meyeri (Boiss) Kuntze Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar

Amaç: Bu çalışmada *Limonium meyeri* toprak üstü kısmının metanol, *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat ve su ekstrelerinin antimikrobiyal ve anti-tirozinaz enzim inhibisyonu aktivitelerinin araştırılması ve biyoaktivite yönlendirmeli saf madde izolasyon çalışması amaçlanmıştır. Daha sonra elde edilen saf maddelerin antimikrobiyal ve anti-tirozinaz enzim inhibisyonu aktiviteleri de araştırılmıştır.

Materyal ve Metot: Bitki mantolu ısıtıcıda geri çeviren soğutucu altında ekstre edilmiştir. Ayırma hunisi ile fraksiyonlara ayrılmıştır. Antimikrobiyal etkileri mikrodilüsyon yöntemi, mushroom tirozinaz enzim inhibisyonu ise Masuda ve arkadaşlarının yöntemi ile çalışılmıştır. Saf maddeler kolon kromatografisi yöntemleri ile elde edilmiştir.

Bulgular: 400 µg/ml'lık dozda kojik asit ile kıyaslandığında (%94.75) ana ekstre olan metanol ekstresinin %62.0, alt fraksiyonlardan etil asetat ekstresi %57.6 değerinde yüzde tirozinaz enzim inhibisyonu gösterdiği gözlenmiştir. *n*-Hekzan ekstresinin *Enterococcus faecalis* (MİK = 1 µg/mL), metanol ekstresinin *Pseudomonas aeruginosa* (MİK = 16 µg/mL) üzerinde oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Etil asetat fraksiyonundan apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit ve mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit elde edilmiştir. Saf maddelerden mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit'in *Enterococcus faecalis* (MİK = 128 µg/mL) üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit'in (IC_{50} = 27.7 ± 0.6 µg/mL), apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit'e (IC_{50} = 43.0 ± 0.9 µg/mL) göre daha yüksek tirozinaz enzim inhibitör etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

Sonuç: Bitkinin çeşitli ekstrelerinin farklı bakteriler üzerinde etkili olduğu, saf olarak elde edilen mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit ve apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit'in antitirozinaz ajan olarak alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, antitirozinaz, fitokimyasal

ABSTRACT

Pharmacognostic Studies on *Limonium meyeri* (Boiss) Kuntze

Aim: In this study, it was aimed to investigate antimicrobial and anti-tyrosinase enzyme inhibition activities of methanol, hexane, dichloromethane, ethyl acetate and water extracts of the aerial parts of *L. meyeri* and the bioactivity-directed isolation of pure compounds. Then, antimicrobial and anti-tyrosinase enzyme inhibition activities of the isolated compounds were investigated.

Material and method: The plant was extracted under condenser in a mantle heater. It was divided into fractions with a separatory funnel. Its antimicrobial effects were studied with the microdilution method and the inhibition of mushroom tyrosinase enzyme was studied with Masuda et al.'s method. Pure substances were obtained by column chromatography methods.

Results: Compared to kojic acid at a dose of 400 µg/ml (94.75%), it was observed that the methanol extract, which is the main extract, showed percent tyrosinase enzyme inhibition at a value of 62.0%, and ethyl acetate extract from the lower fractions at a value of 57.6%. It was determined that hexane extract was highly effective on *Enterococcus faecalis* (MIC = 1 µg/mL), and methanol extract was highly effective on *Pseudomonas aeruginosa* (MIC = 16 µg/mL). Apigenin-7-*O*-*β*-glucuronide and myrcetin 3-*O*-*α*-rhamnoside were obtained from the ethyl acetate fraction. It was determined that myricetin 3-*O*-*α*-rhamnoside, one of the pure substances, was effective on *Enterococcus faecalis* (MIC = 128 µg/mL). It was observed that myricetin 3-*O*-*α*-rhamnoside (IC_{50} = 27.7 ± 0.6) showed a higher tyrosinase enzyme inhibitory effect than apigenin-7-*O*-*β*-glucuronide (IC_{50} = 43.0 ± 0.9).

Conclusion: It is thought that various extracts of the plant are effective on different bacteria, and pure myrcetin 3-*O*-*α*-rhamnoside and apigenin-7-*O*-*β*-glucuronide may be alternative antityrosinase agents.

Key Words: Antimicrobial, antityrosinase, phytochemical

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	:	2,2-azinobis(3-etilbenzothiazollin-6-sülfonik asit)
CAMHB	:	Katyonize Mueller-Hinton broth besiyeri
CFU	:	Koloni oluşturan birim
Cm	:	Santimetre
COSY	:	Korelasyon Spektroskopisi
CUPRAC	:	Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite
FTIR	:	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
IC_{50}	:	Yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu
DMSO	:	Dimetil sülfoksit
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
DPPH	:	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EAC	:	Ehrlich ascites karsinomu
g	:	Gram
GAE		Gallik asit eşdeğeri
HMBC	:	Heteronükleer Çoklu Bağ Korelasyonu
HMQC	:	Heteronükleer Çoklu Kuantum Korelasyonu
HSV-1	:	*Herpes simplex* virüs tip I
HT-1080	:	İnsan fibrosarkom hücre hattı
H1N1	:	İnfluenza A
İTK	:	İnce tabaka kromatografisi
J	:	Jiromanyetik sabit
KAE	:	Kojic acid equivalent
Kg	:	Kilogram
LC-DAD	:	Liquid Chromatography with Diode Array Detector

L-DOPA		3,4-dihidroksil-L-fenilalanin
MASS	:	Kütle Spektrometresi
MDCK	:	Madin-Darby Canine Kidney
MHz	:	Megahertz
MİK	:	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
mL	:	Mililitre
MTT	:	3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür
n-BuOH	:	*n*-butanol
NMR	:	Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
OE	:	Orlistat equivalent
PK	:	Poliamid kolon kromatografisi
ppm	:	Milyonda bir birim
Q-TOF-MS	:	Kuadropol uçuş zamanlı kütle spektrometresi
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
SFK	:	Sefadeks kolon kromatografisi
SK	:	Silika jel kolon kromatografisi
TF-SK	:	Ters faz silika jel kolon kromatografisi
U	:	Ünite
UV	:	Ultra viyole
5-FU	:	5-fluorourasil
µg	:	Mikrogram
µL	:	Mikrolitre
^{o}C	:	Santigrat derece
1D-NMR	:	Tek boyutlu nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
2D-NMR	:	İki boyutlu nükleer manyetik rezonans spektroskopisi

^{1}H-NMR	:	Proton nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
^{13}C-NMR	:	Karbon-13 nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
δ	:	Kimyasal kayma değeri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No **Sayfa No**

Şekil 4.1. Ekstrelerin 400 µg/ml'lık dozda yüzde tirozinaz enzim inhibisyon değerleri 43

Şekil 4.2. Apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit ($C_{21}H_{18}O_{11}$) 44

Şekil 4.3. ^{1}H-NMR Spektrumu (LME1, 400 MHz, DMSO-d_6,) 47

Şekil 4.4. ^{1}H-NMR Spektrumu (LME1) 48

Şekil 4.5. ^{13}C -NMR Spektrumu (LME1, 100 MHz, DMSO-d_6) 49

Şekil 4.6. HMQC Spektrumu (LME1) 50

Şekil 4.7. COSY Spektrumu (LME1) 51

Şekil 4.8. HMBC Spektrumu (LME1) 52

Şekil 4.9. HMBC Spektrumu (LME1) 53

Şekil 4.10. Q-TOFF-MS Spektrumu (LME1) 54

Şekil 4.11. Mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit ($C_{21}H_{20}O_{12}$) 55

Şekil 4.12. ^{1}H-NMR Spektrumu (LME2, 400 MHz, CD_3OD) 58

Şekil 4.13. ^{13}C -NMR Spektrumu (LME2, 100 MHz, CD_3OD) 59

Şekil 4.14. HMQC Spektrumu (LME2) 60

Şekil 4.15. COSY Spektrumu (LME2) 61

Şekil 4.16. HMBC Spektrumu (LME2) 62

Şekil 4.17. Q-TOFF-MS Spektrumu (LME2) 63

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No **Sayfa No**

Tablo 3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler 35

Tablo 3.2. Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri 39

Tablo 4.1. LME1, LME2 ve Sülfomerazin antimikrobiyal etkileri 41

Tablo 4.2. LME1 ve LME2 tirozinaz enzim inhibitör etkileri 43

Tablo 4.3. Apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit (LME1) ^{13}C-NMR, ^{1}H-NMR spektrum değerleri 46

Tablo 4.4: Mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit ^{13}C-NMR, ^{1}H-NMR spektrum değerleri 57

1. GİRİŞ

Tarih boyunca insanlar bitkilerden besin, korunma, savunma ve ısınma gibi amaçlarla yararlandığı gibi hastalandığı zaman da tedavi amacıyla yine bitkilere başvurmuştur. Bazı bitkilerin çeşitli hastalıkları tedavi ettiğini gören insanlar bitkileri, hastalıklardan korunmak amacıyla da kullanmaya başlamıştır.[1]

Doz ayarı yapılabilmesi, bitkide istenmeyen maddelerin uzaklaştırılması, paranteral uygulama yapılabilecek preparatların elde edilebilmesi, yapı aydınlatma çalışmaları sonucunda daha ucuz veya daha etkili maddelerin laboratuvar ortamında üretilmesine olanak sağlaması vb. nedenler farmasötik preperatlarda, genel olarak toz drog veya madde karışımları yerine saf madde kullanmasını öne çıkarmaktadır. Bu yüzden etken maddelerin elde edilişi önem taşımaktadır.[2]

Bitkiler, yiyecekleri tatlandırmak ve muhafaza etmek, hastalıkları tedavi etmek ve önlemek için binlerce yıldır kullanılmaktadır. Bitkiler tarafından üretilen sekonder metabolitlerin, bulaşıcı hastalıkların tedavisi de dahil olmak üzere birçok biyolojik etkiye sahip olduğu kayıtlıdır.[3]

Çeşitli enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmalara karşı, insana az zararlı, geniş spektrumlu, küçük dozda kullanıldığında etkili olan sentetik ve bitkisel kaynaklı maddeler bulmak amacıyla çeşitli yöntemlerle antimikrobiyal çalışmalar yapılmaktadır.[4]

Tirozinaz (TYR) bakır içeren; mikroorganizmalarda, bitkilerde ve hayvanlarda bulunan ve memeli derisinin ve saçının renginin belirlenmesinde rol alan melanin biyosentezinde anahtar bir enzimdir. Aşırı melanin üretimi, melazma, yaşlılık lekeleri ve aktinik hasar bölgeleri gibi çeşitli pigmentasyon bozukluklarına neden olur. Ayrıca tirozinaz enzimi, bitki bazlı gıdalarda istenmeyen esmerleşmeye, besin kalitesinde düşüşe ve gıda ürünlerinin ekonomik kaybına neden olur. Tüm bu nedenler, yeni potansiyel tirozinaz enzim inhibitörlerine olan ihtiyacı artırmaktadır.[5-6]

Limonium, Plumbaginaceae familyasına ait bir cinstir. Yapılan çalışmalarda *Limonium* türlerinin flavonoidler bakımından zengin olduğu, halk arasında yüksek ateş, hemoraji, spazm, ülser, mesane taşı gibi bazı hastalıkların tedavisinde kullanıldığı kayıtlıdır[7-9].

Bu çalışmada *L. meyeri* türünün toprak üstü kısmının metanol, *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat ve su ekstrelerinin antimikrobiyal etkileri ve tirozinaz enzim inhibisyon etkileri *in vitro* olarak çalışıldıktan sonra biyolojik aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışması yapılması amaçlanmıştır. Tirozinaz enzim yüzde inhibitör etkisi en yüksek çıkan ve 3 farklı bakteriye etki eden etil asetat fraksiyonunun major bileşikleri kromatografik yöntemlerle izole edilmiştir. Elde edilen LME1 ve LME2 saf maddelerin de antimikrobiyal etkileri ve tirozinaz enzim inhibisyon etkileri çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Plumbaginaceae Familyası

Plumbagineceae familyası, angiyosperm bitkilerin %75'ini oluşturan dikotiledon grubunun Caryophyllales takımına dahildir. Halofitik özellik gösteren bu familya, dünyada 27 cins ve 730-836 tür ile temsil edilirken ülkemizde de son çalışmalara göre 7 cins ve alt varyantlar hariç olmak üzere 82 tür ile temsil edilmektedir Plumbaginaceae familyası, morfolojik yapı ve kimyasal içerik bakımından iki alt familyaya bölünmüştür. Bunlar genellikle spika, rasemus, kapitulum çiçeklenme gösteren Plumbaginoideae ve tirsus çiçeklenme gösteren Staticoideae'dir.[7,10-12]

Tuzlu ve killi toprakları seven Plumbagineceae familyası bitkilerine birçok coğrafyada rastlamak mümkün olsa da bu bitkiler Akdeniz ve Orta Asya ülkelerinde yoğunluk göstermektedir.[13]

Plumbagineceae familyası çoğunlukla çok yıllık çalılar, sarmaşıklar ve nadiren otlardan oluşur. Yapraklar basit, genellikle stipulasız ve spiral şeklinde dizilmiş, bütün veya loblu, bazen aurikulat, nadiren pulludur. Üzerlerinde genellikle bitkinin bulunduğu tuzlu ortamlarda yaşamasını sağlayan, bitkide biriken kalsiyum tuzlarını uzaklaştıran salgı bezleri, bazen de müsilaj bezleri taşırlar. Çiçeklenme durumu; sinsinat dallanma üzerinde spika, rasemus, kapitulum veya tirsus şeklindedir. Çiçekler, biseksual, aktinomorf ve hipogindir. Periantı diklamideiktir. Kaliks; 5 loblu ve 5 veya 10 damarlı sinsepaldir. Sıklıkla petaloid, tüylü veya bazı türlerde incedir. Korolla ise 5 loblu sinpetaldir. Stamenler 5 adet olup antipetal veya epipetal durumda olabilmektedir. Anterler uzunlamasına açılır. Ginekeum sinkarp yapıda olup 5 karpelden oluşmuş bir lokuluslu üst konumlu ovaryumu vardır. Stilus terminal konumda olup 5 adet veya stigması 5 loblu 1 adettir. Ovül anatrop durumdadır. Renkleri antosiyanin kaynaklı olup

kuru, zarlı ve tek bir tohum içeren aken meyveye sahiptir. Embriyo düz, ince, nişastalı endosperm ile çevrilidir.[8,12-22]

2.1.2. *Limonium* Mill. Cinsi

Limonium Miller cinsi, Plumbaginaceae familyasının en büyük grubu olup yapılan taksonomik çalışmalar ile dünyanın her yerine dağılmış 600 ün üzerinde tür içerdiği bildirilmiştir. Ülkemizde 21 tür ve 2 alt tür tespit edilmiş olup bu türlerin 9 adedi endemiktir.[11] Oldukça geniş bir cins olup üye türlerinin birbirinden ayrımı zordur.[4-6,12,13,15] *Limonium* türlerinin %70'i endemiktir.[23]

Bu cinsteki bitkiler, birkaç istisna dışında çok yıllık çalılar ve otlardan oluşmaktadır. Gövde, kalınlaşmış ve sert yapıdadır. Tek veya salkım çiçekler taşıyan çıplak dalları bulunmaktadır. Yapraklar genellikle bazalda roset diziliş göstermektedir. Daha az sıklıkla dallar üzerinde aralıklı dizilmiştir. Panikülat ve korimbus dallanma gösterdiği gibi çiçeksiz dalları da bulunabilir. Çiçeklenme çoğunlukla çok dallı, başaklı olup başaklar 1 veya 8-12 çiçekli birçok başakcıktan oluşur. Çiçekler sapsız veya neredeyse sapsız yapıda olup 3 veya daha fazla brakte taşır. Çiçekler genellikler heterostildir. Kaliks tübüler, infundibular veya obkonik şeklinde, skar-hiyalin dokulu, beş damarlı ve 5 lobludur. Korolla mavi-mor renkli ve yine 5 lobludur. Stamenler, korolla tabanından çıkan uzun filamentli epipetal ve ovaryum hipogin yapıdadır. Stilus, birbirinden bağımsız 5 veya nadiren 3 adet olup filament uzunluğundadır.[12-15]

2.1.2.1. *Limonium meyeri* (Boiss) Kuntze Türü

Tuzlu ve killi topraklarda, taşlık alanlarda yetişen *L. meyeri* 26-48 cm uzunluğunda çok yıllık bir bitkidir. Gövdesi; 4-6 cm boyunda, kısa, kalınlaşmış, koyu kahverengi ve çoğunlukla birkaç dallıdır. Yaprakları 2-6 cm genişlik ve 8-29 cm uzunlukta eliptik-obovat arası yapıda olup gövdeyi rozet şeklinde sarmaktadır. Yaprak kenarları tam, yaprak tepesi mukronattır. Yassı ve geniş yaprak sapı, yaprak tabanına

doğru incelmiştir. Yaprak yüzeyi tüysüzdür ve çok nadir olan sessil beyaz salgı bezleri taşır. Bu salgı bezleri yaprak ayasında, yaprağın alt yüzüne göre daha yoğundur. Çiçek sapı dik, silindirik, tüysüz, neredeyse alt kısımdan dallanmış, seyrek bir panikula çiçek durumu oluşturur. Başaklar seyrek, 5-25 mm uzunluğunda, 5-10 başakçıklı ve 2-5 çiçeklidir. Dış brakte 1.8-2 x 1.2-1.5 ölçülerinde ovat, akut-obtus bir apiks ve zarımsı geniş bir kenara sahiptir. İç brakte 3-4 x 3 mm ölçülerinde, ovat-orbikulat, zarımsı kenarlı, kuvvetli iç bükey ve çiçeği kısmen saran yapıdadır. Brakteol oblong-ovat, dar ve yeşil bir orta damara sahip zarımsı bir yapıdır. 2,5-3 x 1,2-1,5 mm ölçülerindedir. Kaliks, 5-6 loblu, 4-4.5 mm uzunluğunda zarımsı, düz ve obkonik tubulat bir yapıya sahiptir. Tubulat yapı 3-3.5 mm uzunluktadır. Kaliks lobları 0.5-1.5 mm uzunlukta obtus apikse sahiptir. Korolla, 5-5.5 mm uzunluğunda, menekşe rengi beş petalden oluşmaktadır. Petaller bazalda birleşik apiksde bağımsız durumdadır. Stamenler adnat yapıda, serbest 5 adettir. Pistil, obovoid ovüle bağlı 5 uzun stigmalı serbest stilustan oluşur.[24]

2.1.3. *Limonium* Türlerinin Yayılışı

Limonium Miller cinsinin en çok çeşitlilik gösterdiği alan Akdeniz bölgesidir. Ancak Akdeniz bölgesine benzer iklime sahip bölgelerde de türlerine rastlamak mümkündür. *Limonium* türleri, kıyı habitatlarını veya tuzlu toprakları tercih eder. Ortak adları olan “deniz lavantaları”, bu durumdan kaynaklanmaktadır.[15]

Bu cinsteki türler ayrıca “statice, caspia, bataklık biberiyesi” olarak da bilinir. Cins; Asya, Afrika, Avustralya, Avrupa ve Kuzey Amerika'da yaygın olarak dağılım göstermektdir.[25] Ülkemizde “kunduz otu, eşek kulağı ve deve kulağı” olarak adlandırılmakta olan *Limonium* türleri yoğun olarak kıyı kesimlerinde görülmekte ise de benzer toprak yapısına sahip bölgelerde de yetişmektedir.[26]

2.2. *Limonium* Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Çalışmalar

Sekonder metabolitler açısından değerlendirildiğinde *Limonium* cinsi bitkiler, flavonoidlerce zengindirler. *Limonium* cinsi bitkilerin kök ve yapraklarından fenolik asitler (gallik asit, ellagik asit, sitrik asit, siringik asit, kafeik asit, ferulik asit vs.), fenolik glikozit (arbutin, gallik asit-4-*O*-*β*-D-glukozit), flavon (apigenin, luteolin), flavanon (izodihidrosiringetin, naringenin, homoeriodiktiol, eriodiktiol, ökrenon b_9, avikularin), flavonol (mirisetin, kersetin, kemferol vs.), flavonol glikozitleri (rutin, mirisetin 3-*O*-ramnozit, mirisetin 3-*O*-*α*-ramnopiranozit, kersetin-3-*O*-*α*-ramnopiranozit, luteolin-7-*O*-glikozit, mirisetin 3-*O*-*β*-galaktopiranozit, mirisetin 3-*O*-*β*-arabinopiranozit vs.), flavonol glikozit gallat [mirisetin 3-*O*-(2″-*O*-galloil)-*α*-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-(3″-*O*-galloil)-*α*-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-(4″-*O*-galloil)-*α*-ramnopiranozit vs.], izoflavon (leptoizoflavon A, aurikulasin), flavan-3-ol [(-)-epigallokateşin 3-*O*-gallat, (-)-epigallokateşin-3-*O*-(3′-*O*-metil)-gallat, (-)-epigallokateşin-3-*O*-(3′,5′-di-*O*-metil)-gallat], fitosterol (sitosterol, stigmasterol vs.), izokinolon alkaloit (N-trans-kafeoiltiramin, N-trans-feruloiltiramin), antrakinon (emodin), antosiyanin (delfinidin 3-ramnozit, delfinidin 3-glukozit, delfinidin 3,5-diglukozit) ve izokumarin (bergenin) gibi sekonder metabolitler içerdikleri bildirilmiştir.[7,9,29-54]

Kromatografik yöntemler kullanılarak *Limonium* cinsi bazı bitkiler üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu izole edilmiş bazı bileşikler aşağıda belirtilmiştir.

2.2.1. *Limonium axillare*

L. axillare toprak üstü kısımlarının gallik asit, ellagik asit, metil ve etil gallat, mirisetin, kersetin, kemferol, mirisetin 3-*O*-ramnozit, mirisetin 3-*O*-*β*-D-sorbozid,

luteolin-7-*O*-glikozit, luteolin, apigenin, apiin, sitosterol, stigmasterol ve stisterol içerdiği bildirilmiştir.[7]

2.2.2. *Limonium sinense*

L. sinense kurutulmuş köklerinin ve toprak üstü kısımlarının mirisetin, kersetin, mirisetin 3-*O*-*α*-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-*β*-galaktopiranozit, mirisetin 3-*O*-*β*-arabinopiranozit, kersetin 3-*O*-*α*-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-(2″-*O*-galloil)-*α*-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-(3″-*O*-galloil)-*α*-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-(4″-*O*-galloil)-*α*-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-(6″-*O*-galloil)-*α*-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-(2″-*O*-*p*-hidroksibenzoil)-*α*-ramnopiranozit, kersetin-3-*O*-(2″-*O*-galloil)-*α*-ramnopiranozit, apigenin, luteolin, izodihidrosiringetin, naringenin, homoeriodiktiol, eriodiktiol, (-)-epigallokateşin 3-*O*-gallat, (-)-epigallokateşin-3-*O*-(3′-*O*-metil)-gallat, (-)-epigallokateşin-3-*O*-(3′,5′-di-*O*-metil)gallat, samarangenin B, gallik asit ve N-trans-kafeoiltiramin, N-trans-feruloiltiramin içerdiği kayıtlıdır.[9,32]

2.2.3. *Limonium leptophyllum*

L. leptophyllum toprak üstü kısımlarının leptoizoflavon A, aurikulasin, ökrenon b_9, avikularin, kemferol, mirisetin, mirisetin 3-arabinozit, mirisetin 3-*O*-L-ramnopiranozit, 7-*O*-galloil-D-sedoheptuloz, N-trans-feruloiltiramin, N-trans-kafeoiltiramin, *β*-sitosterol, emodin, bergenin, mahuannin B, arbutin, gallik asit-4-*O*-*β*-D-glukozit ve (2R,3S)-2,3,4-trihidroksi-2-metilbütil gallate izole edildiği bildirilmiştir.[25,34]

2.2.4. *Limonium effusum*

L. effusum'un yaprak ve köklerinin mirisetin, kersetin, epigallokateşin, gallokateşin, rutin, rutinozit, sitrik asit, siringik asit, ellagik asit ve kafeik asit içerdiği bildirilmiştir. [26,29]

2.2.5. *Limonium myrianthum*

L. myrianthum kök ve toprak üstü kısımlarından mirisetin, mirisetin 3-*O*-L-ramnopiranozit, 3,5,7,3′,4′,6′-hekzahidroksiflavon, mirisetin 3-*O*-L-arabinozit, mirisetin 3-*O*-*β*-D-glukopiranozit, epigallokateşin-3-*O*-gallat, mirisetin 3-*O*-(6″-galloilglukozit), mirisetin 3-*O*-(2″-*O*-galloil)-*β*-D-glukopiranozit, 1-galloil-*β*-D-glukopiranozit, melitrioz, *β*-sitosterol-3-glukozit ve *β*-sitosterol izole edildiği bildirilmiştir.[34]

2.2.6. *Limonium gmelinii*

L. gmelinii kök ve toprak üstü kısımlarının gallik asit, siringik asit, ellagik asit, mirisetin, kersetin, kemferol, 3,4,5,3′,4′,6′-hekzahidroksiflavon, mirisitrin, rutin, rutinozit, 3-*β*-galaktozilkersetin, 3-*β*-galaktozilmirisetin, mirisetin 3-*α*-galaktopiranozit, mirisetin 7-*O*-*α*-L-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-(4″-*O*-galloil)-*α*-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-*α*-L-(2″-*O*-*α*-ramnopiranozil)ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-*α*-L-(2″-galloil)arabinopiranozit, mirisetin 3-*O*-*β*-D-(6″-galloil)galaktopiranozit**,** 3,5,7,3′,4′,5′-hekzahidroksi-3-*O*-*α*-D-galaktopiranozilflavon, (-)-epigallokateşin-3-*O*-gallat, kersetin-3-*O*-*α*-L-ramnopiranozit ve pirogallol içerdiği bildirilmiştir.[34,43-46]

2.2.7. *Limonium sinuatum*

L. sinuatum çiçeklerinin gallik asit, ferulik asit, kersetin, rutin, epigallokateşin içerdiği bildirilmiştir.[35]

2.2.8. *Limonium franchetii*

L. franchetii tüm kısımlarının kersetin-3-*O*-(2″-*O*-tigloil)-*α*-L-ramnopiranozit, kersetin-3-*O*-(3″-*O*-tigloil)-*α*-L-ramnopiranozit, kersetin-3-*O*-*α*-L-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-(2″-*O*-galloil)-*α*-L-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-(3″-*O*-galloil)-*α*-L-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-*α*-L-ramnopiranozit, kemferol-3-*O*-*α*-L-ramnopiranozit, apigenin, luteolin, kersetin, mirisetin ve dihidrokemferol içerdiği bildirilmiştir.[36]

2.2.9. *Limonium delicatulum*

L. delicatulum sürgünlerinin *p*-kumarik asit, klorojenik asit, 1,2-*p*-hidroksibenzoik asit, 4,3,5-dimetoksihidrobenzoik asit, gallik asit ve rutin içerdiği bildirilmiştir.[37]

2.2.10. *Limonium tetragonum*

L. tetragonum toprak üstü kısımlarının kateşin, mirisetin, mirisetin 3-galaktozit, kersetin-3-*O*-*β*-D-galaktopiranozit, mirisetin 3-*O*-*β*-D-galaktopiranozit, mirisetin 3-*O*-*α*-L-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-*α*-L-arabinopiranozit, kersetin-3-*O*-*β*-D-glukopiranozit, (−)-epigallokateşin-3-(3″-*O*-metil) gallat, (−)-epigallokateşin-3-gallat, mirisetin 3-*O*-(2″-*O*-galloil)-*α*-L-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-(3″-*O*-galloil)-*α*-L-ramnopiranozit içerdiği bildirilmiştir.[38-41]

2.2.11. *Limonium caspium*

L. caspium toprak üstü kısımlarından dihidromirisetin, dihidromirisetin 3′-*O*-sülfat, mirisetin 3'-*O*-sülfat, 5-metilmirisetin, mirisetin, mirisetin 3-*O*-*β*-glukozit, floridzin, tiramin, (2S,3S)-5-metildihidromirisetin, (2S,3S)-5-metildihidromirisetin 3′-*O*-sülfat, *β*-D-glukopiranozit 3-metil but-3-en-1-il 4-*O*-*α*-L-ramnopiranozil izole edildiği bildirilmiştir.[42]

2.2.12. *Limonium boitardii*

L. boitardii toprak üstü kısımlarından gallik asit, siringik asit, mirisetin, mirisetin glukozit, kateşin, rutin, luteolin 7-*O*-glukozit izole edildiği bildirilmiştir.[44]

2.2.13. *Limonium cercinense*

L. cercinense toprak üstü kısımlarından sinapik asit, klorojenik asit, gallik asit, siringik asit, ellagik asit, mirisetin, mirisetin glukozit, kersetin, rutin, epigallokateşin-3-*O*-gallat, kemferol, luteolin 7-*O*-glukozit izole edildiği bildirilmiştir.[44]

2.2.14. *Limonium popovii*

L. popovii kök ve toprak üstü kısımlarının siringik asit, kersetin, mirisetin, mirisetrin, mirisetin 3-*O*-*β*-D-(6″-galloil)galaktopiranozit, mirisetin 3-*O*-*β*-D-galaktopiranozit, mirisetin 3-*O*-*β*-D-glukopiranozit, mirisetin 3-*O*-*β*-D-(6″-galloil)glukopiranozit içerdiği bildirilmiştir.[45]

2.2.15. *Limonium aureum*

L. aureum üzerinde yapılan bir çalışmada homoeriodiktiol, naringenin, eriodiktiol, kemferol, sitosterol, luteolin, kersetin, mirisetin, mirisitrin, kersetin-3-*O*-*α*-L-ramnopiranozit, kersetin-3-*O*-*β*-D-galaktopiranozit, mirisetin 3-*O*-glukozit, mirisetin 3-*O*-*α*-L-ramnopiranozit, mirisetin 3-*O*-*α*-L-arabinopiyranozit, mirisetin 3-*O*-*β*-D-glukopiranozit, mirisetin 3-*O*-*β*-D-galaktopiranozit, homoeriodiktiol-7-*O*-*β*-D-glukopiranozit, 6″-galloilmirisetin 3-*O*-*β*-D-galaktopiranozit içerdiği bildirilmiştir.[44,48-50]

2.2.16. *Limonium wrightii*

L. wrightii üzerinde yapılan bir çalışmada gallik asit izole edildiği bildirilmiştir.[47]

2.2.17. *Limonium brasiliense*

L. brasiliense köklerinin mirisetin 3-*O*-*α*-ramnopiranozit, (-)-epigallokateşin 3-*O*-gallat, (-)-epigallokateşin, (+)-gallokateşin, gallik asit, delfinidin 3-ramnozit, delfinidin 3-glukozit, delfinidin 3,5-diglukozit içerdiği bildirilmiştir.[51]

2.2.18. *Limonium duriusculum*

L. duriusculum toprak üstü kısımlarından apigenin, apigenin 7-*O*-*β*-D-(6″-metilglukuronit) izole edilmiştir.[52]

2.2.19. *Limonium bicolor*

L. bicolor çiçeklerinin luteolin, akasetin, kersetin, izoramnetin, kemferol, eriodiktiol, kemferol-3-*O*-*α*-L-ramnozit, kemferol-3-*O*-*β*-D-glukozit, kersetin-3-*O*-*α*-L-ramnozit, kersetin-3-*O*-*β*-D-glukozit, kersetin-3-*O*-*β*-D-galaktozit, mirisetin 3-*O*-*α*-L-ramnozit, kemferol-3-*O*-(6″-*O*-galloil)-*β*-D-glukozit, hesperidin ve rutin içerdiği bildirilmiştir.[53]

2.2.20. *Limonium meyeri*

L. meyeri kök ve toprak üstü kısımlarından mirisetin 3-*O*-ramnozit elde edildiği bildirilmiştir.[54]

2.2.21. Uçucu Yağlar

L. effusum'un yaprak ve köklerinin mentol, timol ve karvakrol içerdiği bildirilmiştir. [26,29]

Yapılan çalışmalarda *L. bonduellei* uçucu yağının başlıca hekzahidrofarnesil aseton[55], *L. aureum* uçucu yağının başlıca 2-nitro etanol[56], *L. echioides* uçucu yağının başlıca hekzakozan, palmitik asit, nonakozan, (E,E)-farnesil asetat ve vanilin[57] içerdiği kayıtlıdır.

2.2.22. Diğer Maddeler

Yapılan çalışmalarda *Limonium* cinsi bitkilerin valin, treonin ve fenilalanin gibi çeşitli aminoasitler açısından zengin içeriğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *Limonium* cinsi bitkilerin inorganik elementler, özellikle eser elementler yönünden zengin oldukları; yüksek miktarda potasyum, sodyum, kalsiyum ve magnezyum ile birlikte nikel, çinko, krom ve kobalt iz elementlerini de önemli miktarda içerdikleri tespit edilmiştir. *Limonium* türleri C, B1, B2, B12 vitaminleri ve karotenoidler açısından da zengin bulunmuştur.[26,27]

Yapılan bir çalışmada *L. gmelinii* türünden kaprolaktam bileşiği izole edildiği bildirilmiştir.[46]

2.3. *Limonium* Türleri Üzerinde Yapılmış Biyolojik Aktivite ve Toksisite Çalışmaları

2.3.1. Antimikrobiyal Aktivite

L. axillare türünün yapraklarının metanolik ekstresinden izole edilen flavonoidlerin antimikrobiyal etkilerinin incelendiği bir çalışmada, bitkide bulunan flavonoidler *Bacillus subtilis* ve *Aspergillus flavus* mikroorganizmalarına karşı etkili bulunmuştur. Mikroorganizmalara karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi izole edilen flavonoidler içerisinde apigenin ve apiin bileşiklerinin gösterdiği bildirilmiştir.[7,58]

L. sinense türünün kurutulmuş köklerinin etanol ekstraktı alt fraksiyonlara ayrılarak *Herpes simplex* virüs tip I (HSV-1) replikasyonu üzerine etkisinin incelendiği *in vitro* bir çalışmada, biyoaktif görülen *n*-butanol (*n*-BuOH) fraksiyonundan izole edilen samarangenin B ve (-)-epigallokateşin 3-*O*-*α*-gallat bileşiklerinin vero cell kültüründe HSV-1 replikasyonunu inhibe ettiği ve asiklovirden daha etkili olduğu bildirilmiştir.[9,59]

Çoklu ilaç direnci gösteren bazı bakteriler üzerine *L. brasiliense* türünün rizomunun su, metanol, aseton ve etanol ekstrelerinin potansiyel antibakteriyel etkisinin incelendiği bir çalışmada, ham ekstreler ve bunların etil asetat fraksiyonları vankomisine dirençli *Enterococcus faecium*'a, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve karbapenemaz üreten *Klebsiella pneumoniae* karşı test edilmiştir. Sonuç olarak su:aseton:etanol ve metanol:aseton:etanol üçlü ekstraktların etil asetat fraksiyonunun vankomisine dirençli *Enterococcus faecium*'a (MİK = 19 µg/mL) ve MRSA'ya (MİK = 39 µg/mL) karşı inhibisyon sağladığı görülmüştür. Ayrıca yine etil asetat fraksiyonlarının karbapenemaz üreten *Klebsiella pneumoniae* karşı orta derecede

(MİK = 625 µg/mL) etkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma *L. brasilinse* ekstresinin gram pozitif bakteriler üzerinde son derece etkin olduğunu göstermiştir.[28]

L. effusum, L. lilacinum ve *L. globuliferum* türlerinin kurutulmuş toz edilmiş kökleri diklorometan, metanol, distile su ve petrol eteri ekstrelerinin *Escherichia coli, Enterecoccus fecalis, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris, Micrococcus luteus, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa* türleri üzerinde antibakteriyel aktivitesinin disk difüzyon yöntemi ve *Acremonium kiliense, Alternaria alternata, Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Chatomium globosum, Cladosporium oxiporum, Penicillium frequentans, Penicillium griseus, Penicillium castellonense, Penicillium estinogenum, Penicillium zicinthae* ve *Penicillium aurantiogriseum* türleri üzerinde antifungal aktivitesinin agar difüzyon plakası kullanılarak belirlendiği bir çalışma yapılmıştır. Antibakteriyel aktivite tespiti için negatif kontrol olarak dimetilsülfoksit, pozitif kontrol olarak siprofloksasin, penisilin G, eritromisin, amikasin ve kloramfenikol kullanılmıştır. Antifungal aktivite tespiti için 100 µl dimetilsülfoksit veya dimetilsülfoksit içerisinde çözünmüş bitki ekstresi patates dekstroz agar plaklarının ortasına açılan kuyucuklara pipetlenerek çevresine bir haftadan daha uzun kültürler yerleştirilmiştir. Mantar kolonilerinin ortaya pipetlenen maddeye doğru büyümesi belli bir sıcaklık ve süre sonunda ölçülerek gelişimi izlenmiştir. Yapılan bu çalışmada maksimum antibakteriyel aktivite metanol ekstraktında gözlenmiştir. Çalışılan üç türün metanol ekstreleri *Escherichia coli* dışındaki bakterilere karşı etki göstermiştir. Buna karşı bu türlerin petrol eteri, diklorometan ve su ekstrelerinin antibakteriyel etkileri zayıf kalmıştır. Bu türler arasında en yüksek antimikrobiyal aktivite ise *L. lilacinum* türünün metanol ekstresinde gözlenmiştir. Yine bu çalışma *Limonium* kök ekstrelerinin mantarların büyümesini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Sonuçlar, mantar türlerinin büyümesinin,

deneylerin 6. gününde oldukça azaldığını göstermiştir. İncelenen türlerden *L. globuliferum* sulu ekstraktının *Alternaria alternata'*nın misel gelişimini 6. günde %100 inhibe etiği gözlenmiştir.[29]

L. axillare türünün kurutulmuş toz edilmiş toprak üstü kısımlarının %95'lik etanol ile maserasyonu sonucu elde edilen ekstrenin *n*-BuOH alt fraksiyonunun standart kloramfenikol, tetrasiklin ve nalidiksik asit ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, *Candida albicans* ve *Aspergillus flavus*'a karşı üstün antifungal aktivitesi; iki gram negatif bakteri (*Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*), iki gram pozitif (*Bacillus cereus* ve *Staphylococcus aureus*) bakteriye karşı orta antibakteriyel aktivitesi olduğu gözlenmiştir.[29,31]

L. calfornicum türünün toprak altı kısımlarının metanol ekstresinin enterohemorajik *Escherichia coli* tarafından üretilen verotoksin üretimini inhibe ettiği bildirilmiştir.[29,33]

L. meyeri ve *L. hypanicum* türlerinin kök ve toprak üstü kısımlarının antimikrobiyal aktivitelerinin agar mikrodiffüzyon tarama yöntemi ile incelendiği bir çalışmada kök ekstreleri, toprak üstü kısımların ekstrelerinden daha aktif bulunmuş olup test edilen organizmalar arasında *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P toplama suşu üzerinde oldukça etkili (MİK = 62.5 μg/ml) bulunmuştur. Ayrıca her iki bitkinin kök ekstreleri *Candida* türleri üzerinde fungistatik etki göstermiştir.[60]

L. densiflorum sürgünlerinin farklı ekstrelerinin H1N1 influenza (Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells: CCL34 üzerine) virüsüne karşı oseltamivire kıyasla ve HSV-1 virüsüne (Vero cells ATCC: CCL81 üzerine) karşı asiklovire kıyasla antiviral aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada etanolik ekstrenin HSV-1'e karşı yüksek (IC_{50} = 6 μg/mL) virüsidal etki gösterdiği, virüsün hücre içi replikasyonunu %75, hücreye bağlanmasını ise %100 oranında engellediği gözlenmiştir. Yine etanolik ekstrenin

virüsün konak hücre içine girişini engelleyerek MDCK hücrelerinin H1N1 virüsüne karşı koruduğu, virüsün hücre içi replikasyonunu kayda değer oranda engellediği bildirilmiştir. Metanol ekstresinin etkinliği de kayda değer bulunmuştur.[61]

L. delicatulum türünün sürgünlerinin çeşitli ekstrelerinin biyolojik etkilerinin incelendiği bir çalışmada etanol ekstresinin en yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiş olup en yüksek etkinliği *Salmonella*'ya karşı (16 mm inhibisyon çapı) gösterdiği bildirilmiştir.[37]

L. caspium toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinden kromatografik yöntemler ile izole edilen 5-metilmirisetin, mirisetin ve mirisetin 3-*O*-*β*-glukozit bileşikleri sırasıyla 6.79, 15.37 ve 8.53 µg/mL IC_{50} değerleri ile *Candida glabrata*'ya karşı iyi antifungal aktivite sergilemiştir. Mirisetin bileşiğinin *Plasmodium falciparum*'un dirençli ve hassas suşlarına karşı güçlü antimalaryal aktivite gösterdiği; (2S,3S)-5-metildihidromyrisetin, dihidromirisetin, mirisetin 3'-*O*-sülfat, mirisetin ve mirisetin 3-*O*-*β*-glukozit bileşiklerinin de sırasıyla 6.93, 9.65, 8.52, 7.67 ve 6.31 µg/mL IC_{50} değerleri ile *Trypanosoma brucei*'ye karşı yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir.[42]

L. gmelinii türünün toprak üstü kısımlarının etil asetat ve *n*-butanol ekstrelerinden izole edilen mirisetin bileşiğinin sırasıyla 18.5 ve 40.0 µg/mL IC_{50} ve IC_{90} değerleri ile *Leishmania* parazitine karşı orta derecede aktivite gösterdiği bildirilmiştir.[46]

2.3.2. Antiinflamatuvar Aktivite

Antikanser ve antioksidan etkileri bilinen *L. tetragonum* ile fareler üzerinde yapılan çalışmada 8 hafta boyunca etilasetat ekstraktının kullanılması sonucunda karaciğer marker enzimlerinde belirgin düzelme sağladığı ve antiinflamatuvar etkisi olduğu gözlenmiştir. Karaciğer koruyucu etkisi görülen bitkinin alkolik karaciğer sendromunu ve hepatik fibrozis tedavisinde kullanılabileceği düşünülmüştür.[41,62]

L. boitardii ve *L. cercinense* türlerinin toprak üstü kısımlarının %80'lik etanol ekstresinin RAW 264.7 makrofaj hücrelerinde antiinflamatuvar aktivite tayininde, çalışılan bitki ekstreleri 100 U/ml penisilin ve 100 µg/mL streptomisin ile desteklenmiş RAW 264.7 makrofaj hücrelerinde önemli bir sitotoksik etki göstememiştir. Ancak nitrik oksit inhibisyonu testinde IC_{50} değeri, *L. cercinense* ekstresinde 14 µg/mL, *L. boitardii* ekstresinde ise 75 µg/mL olarak tespit edilmiştir.[44]

L. delicatulum türünün yaprak ve köklerinin anti-inflamatuar etkilerinin *in vitro* olarak incelendiği bir çalışmada yaprak ve köklerinin metanolik ve sulu ekstrelerinin sığır serum albümininin 72 ºC'de denatürasyonunu yüksek derecede inhibe ettiği görülmüştür.[63]

2.3.3. Antioksidan Aktivite

L. delicatulum türünün sürgünlerinin çeşitli ekstrelerinin antioksidan kapasitelerinin incelendiği bir çalışmada bitkinin etanol ekstresinin en yüksek toplam antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Aseton ekstresinin en yüksek 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme kapasitesine (IC_{50} = 2 g/mL) sahip olduğu gösterilen çalışmada aseton, metanol ve etanol ekstrelerinin tümünün bütil hidroksitoluene kıyasla daha güçlü etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca metanol ekstresinin de *β*-karoten ağarmasını en iyi inhibe ettiği görülmüştür. Etanol ekstresi, en yüksek total antioksidan aktiviteye (177 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru ağırlık) sahip ekstre olarak hesaplanmıştır.[37]

Serbest radikal süpürücü etkisinin elektron spin rezonans spektrometresi ve kemilüminesans analizörü kullanılarak *in vitro* ve *in vivo* olarak araştırıldığı bir çalışmada *L. wrightii* türünün tüm organlarından elde edilen sulu ekstresinin DPPH veya süperoksit anyonu (O_2^-) için güçlü, hidroksil radikali için orta düzeyde bir süpürücü etki göstediği tespit edilmiştir. Ayrıca ekstrenin erkek ratlara (Sprague-

Dawley) intraperitoneal olarak verildiğinde karbon tetraklorürün neden olduğu karaciğer toksisitesini önemli ölçüde azalttığı ve bu etkilerinin içeriğinde bulunan ve antiapoptozis, antialerjik, antiinflamatuvar, antimutajenik ve antikanserojenik etkilere sahip olduğu bildirilmiş olan gallik asit kaynaklı olduğu bildirilmiştir.[47]

Çiçeklenme döneminde toplanan *L. delicatulum*'un farklı ekstrelerinin antioksidan aktivitesinin DPPH, ferrik indirgeme, *β*-karoten-linoleik asit testi ve total antioksidan aktivite testi ile yapılan bir çalışmada özellikle etanol ekstraktının oldukça yüksek aktivite gösterdiği görülmüştür.[37] *L. delicatulum* ve *L. quesadense* türlerinin yapraklarının metanol ve sulu ekstrelerinin antioksidan aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada *L. delicatulum* sulu ekstresinin güçlü metal bağlayıcı etki gösterdiği, buna karşılık *L. quesadense* metanolik ekstresinin güçlü ferrik indirgeme ve radikal süpürücü kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir.[46]

L. tetragonum türünün tüm kısımlarının ham ekstreleri ve alt fraksiyonlarının antioksidan potansiyellerinin fibrosarkom (HT-1080) hücrelerinde üretilen hücre içi reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleme yeteneklerinin hücre içi ROS oluşum derecesi, HT-1080 hücrelerinde lipid peroksidasyonu ve HT-1080 hücrelerinden saflaştırılan genomik DNA'nın oksidatif hasarının boyutu açılarından değerlendirildiği bir çalışmada bitkiden izole edilen bileşiklerin (mirisetin 3-*O*-*β*-D-galaktopiranozit, mirisetin 3-*O*-*α*-L-ramnopiranozit, kersetin-3-*O*-*β*-D-glukopiranozit ve kersetin-3-*O*-*β*-D-galaktopiranozit) HT-1080 hücrelerinde hücre içi ROS oluşumunu, lipid peroksidasyonunu ve DNA oksidasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği görülmüştür.[40]

L. aureum türünün tüm kısımlarının %95 etanol ekstresinin antioksidan aktivitesinin tespiti çalışmasında, yüksek konsantrasyonda kullanıldığında DPPH ve ferrik iyon indirgeme kapasitesinin askorbik asit ile benzer olduğu görülmüştür. Ayrıca RAW 264.7 hücreleri üzerinde yapılan çalışmada *L. aureum* ekstresi, katalaz, süperoksit

dismutaz ve laktat dehidrojenaz gibi antioksidan etki gösteren enzimlerin hücre içi aktivitesini artırarak etki göstermiştir.[48]

L. brasiliense türünün kersetine kıyasla DPPH süpürücü etkisinin incelendiği bir çalışmada metanolik ekstresinin daha etkin olduğu görülmüştür.[51]

L. boitardii ve *L. cercinense* türlerinin toprak üstü kısımlarının %80'lik etanol ekstrelerinin antioksidan aktivite tayininin incelendiği bir çalışmada her iki bitki ekstresinin gallik aside kıyasla DPPH radikal süpürme aktiviteleri benzer ve güçlü bulunmuştur. Ayrıca *L. cercinense* türünün askorbik aside kıyasla ferrik indirgeme kapasitesi güçlü bulunmuştur.[44]

L. delicatulum türünün antioksidan etkisi DPPH, ABTS, galvinoksil radikal, CUPRAC vb. yöntemlerle araştırılmıştır. Kök metanol ekstresinin en yüksek fenolik içeriğe sahip olduğu (772.52 ± 5.12 mg GAE/mg), yaprak metanol ekstresinin en yüksek flavonoid içeriğine (212.77 ± 1.19 mg kersetin eşdeğeri/mg) sahip olduğu belirlenmiştir. Metanolik ekstrenin su ekstresine kıyasla daha yüksek antioksidan etkisinin olduğu gözlenmiştir.[63]

2.3.4. Antikanser Aktivite

Kromatografik yöntemler kullanılarak *L. axillare*n yapraklarının %70 EtOH ekstresinden izole edilen mirisetin 3-*O*-*β*-D-sorbozit flavonol glikoziti ile yapılan *in vitro* ve *in vivo* bir çalışmada, bileşiğin Ehrlich ascites karsinom (EAC) hücrelerinde ve intraperitonal EAC hücreleri transplantasyonu yapılmış dişi İsviçre albino farelerde metotreksata kıyasla orta derecede inhibisyon gösterdiği bildirilmiştir.[7]

L. sinense türünün köklerinin su ekstresinden izole edilen polisakkaritlerin antitümor ve immünmodülatör aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada polisakkaritlerin mono ve 5-fluorourasil (5-FU) ile kombine olarak Heps tümör taşıyıcı ICR fareler üzerindeki etkileri incelenmiş olup, mono uygulanan polisakkaritlerin tümör

büyümesini önemli derecede inhibe ettiği; 5-FU ile kombine uygulandığında ise sinerjik bir antitümör etki oluşturduğu görülmüştür. Ayrıca bağışıklığı baskılanmış farelerde makrofaj fagositoz aktivitesini artırdığı gözlenmiştir.[64]

L. duriusculum türünün toprak üstü kısımlarının *n*-BuOH ekstresinin doksorubisin ve nutlin-3a bileşiklerine kıyasla proapoptotik aktivitesinin incelendiği bir çalışmada bitkinin *n*-BuOH ekstresinin ve bu ekstreden izole edilen apigenin bileşiğinin HCT116 p53 vahşi tip hücrelerde anti-proliferatif etkinlik gösterdikleri belirlenmiştir.[52]

L. bicolor türünün çiçeklerinin etil asetat ekstresinden izole edilen flavonoidlerin 5-florourasile kıyasla bazı tümör hücreleri üzerinde sitotoksik aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada; luteolin, akasetin ve kersetinin insan kolon kanseri hücreleri üzerinde; luteolin, akasetin ve eriodiktiolün osteosarkom hücreleri üzerinde; akasetinin insan meme kanseri hücreleri üzerinde 5-FU'dan çok daha yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.[53]

2.3.5. Enzim İnhibisyon Aktivitesi

L. tetragonum türünün B16-F10 fare derisi melanom hücreleri üzerinde tirozinaz enzim inhibisyonu, DOPA oksidasyonunu önleme ve melanin üretimi baskılama yöntemleri ile anti-melanogenik ve anti-hiperpigmentasyon etkilerinin *in vitro* araştırıldığı bir çalışmada, kurutulmuş öğütülmüş bitki materyalinin diklorometan ve metanol ekstrelerinin %85 sulu metanol ve *n*-butanol alt fraksiyonları tüm çalışmalarda etkili bulunmuştur. Bu fraksiyonlardan izole edilen mirisetin 3-galaktozit bileşiğinin %65 oranında ve kersetin 3-*O*-*β*-galaktopironazit bileşiğinin %63 oranında tirozinaz enzim aktivitesini düşürdüğü ve kojik asiten (%59) daha etkin oldukları görülmüştür.[38]

L. boitardii ve *L. cercinense* türlerinin toprak üstü kısımlarının %80'lik etanol ekstresinin kojik aside kıyasla tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesinin incelendiği bir çalışmada her iki bitki ekstresi de (*L. cercinense* IC_{50} 3 µg/mL, *L. boitardii* IC_{50} 5

μg/mL) kojik asitten (IC_{50} 25 μg/mL) belirgin şekilde daha etkin bulunmuştur. Diyabet tedavisinde önemli olan α-glukozidaz enzim inhibisyonu açısından değerlendirildiğinde her iki bitki ekstresi akarboza kıyasla çok daha güçlü bulunmuştur. Yine kolajen yıkımında etkin olan kollajenaz enzim inhibisyon etkinliklerinin 1,10-fenanthrolin'e kıyasla daha güçlü olduğu tespit edilmiştir.[44]

L. delicatulum ve *L. quesadense* türlerinin yapraklarının metanol ve sulu ekstrelerinin enzim inhibisyon aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada, *L. delicatulum*'un metanolik ekstraktının tirozinaz inhibisyon aktivitesi (155.87 ± 0.01 mg KAE/g·DE) ve *L. quesadense*'nin metanolik ekstraktının lipaz inhibisyon aktivitesi (65 ± 7 mg OE/g·DE) yüksek bulunmuştur. Her iki bitkinin metanolik ekstrelerinin asetilkolinesteraz ve bütilkolinesteraz inhibisyon aktiviteleri yüksek bulunmuştur. *L. quesadense* sulu ekstresinin α-amilaz inhibisyon aktivitesi, *L. delicatulum* sulu ekstresi ile her iki bitkinin metanolik ekstrelerinin α-glukozidaz enzim inhibisyon aktiviteleri yüksek bulunmuştur.[65]

L. delicatulum türünün kök metanol ekstresinin (IC_{50} = 9.87 ± 0.15 mg/ml), yaprak metanol ekstresi ve kojik asite kıyasla (sırasıyla 24.77 ± 0.5 ve 25.23 ± 0.21 mg/ml) daha yüksek tirozinaz inhibisyon etkisi tespit edilmiştir.[63]

2.3.6. Anti Obezite Etkileri

L. tetragonum'un aşırı kilo alımı, obezite ve buna bağlı sağlık problemlerinde etkisinin tespit edilmesi amacıyla yapılan çalışmada 100 mg/kg dozunda verilen etil asetat ekstresi, 8 hafta boyunca yüksek yağlı bir diyet ile beslenen erkek C57BL/6J farelerinde vücut ağırlığı artışını, yağ dokusu ağırlık artışını, trigliserit ve toplam kolestrol seviyesindeki artışı engellediği, glukoz toleransı ve insülin direncini iyileştirdiği görülmüştür. Ayrıca etil asetat ekstresinin 3T3-L1 adiposit hücrelerine 50

µg/mL *in vivo* olarak uygulanmasında hücrelerin farklılaşmasında belirgin azalma görüldüğü bildirilmiştir.[39]

2.3.7. Antidiyabetik Aktivite

L. axillare türünün köklerinin etanolik eksterelerinin 500 mg/kg dozunda diyabetik ratlarda streptozotosin indüklü hiperglisemiyi %44 azalttığı, serum insülin seviyesini düzelttiği, Glut2 ve Glut4 gibi glukoz taşıyıcı protein ekspresyonunu yeniden sağladığı ve pankreas dokusu hasarını iyileştirdiği bildirilmiştir. Ayrıca yapılan *in vitro* çalışmada ekstrenin IC_{50} = 44,8 µg/mL değeri ile α-glukozidaz ve IC_{50} = 89,1 µg/mL değeri ile α-amilaz enzimleri üzerinde güçlü inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir.[66]

2.3.8. Toksisite Çalışmaları

L. effusum'un kök, gövde ve yaprak kısımlarının sulu ekstratlarının Allium (bitki), Ames (bakteri) ve MTT (memeli hücresi) testleri ile mutajenik ve sitotoksik etkilerinin gözlendiği bir çalışmada Allium kök büyümesini engelleme testi ve mitotik indeks çalışmaları, sulu ekstraktların doza bağlı toksik etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Ames testi, S9 ile *Salmonella typhimurium* TA98 suşunda zayıf mutajenik etkiler göstermiştir. Mitokondriyal aktiviteye dayalı MTT testi, sulu ekstraktların çoğunun sitotoksik etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışma ile *L. effusum* ekstraktlarının yüksek konsantrasyonlarının sitotoksisiteyi artırdığı gösterilmiştir.[26]

Halk arasında kullanılan 6 farklı bitkinin karsinojenik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada NIH Siyah ratlara 2mg/hft dozda 78 haftaya kadar subkütan enjeksiyon ile uygulanan *L. nashii* türünün köklerinin ekstraksiyonundan elde edilen tanen içeren fraksiyonunun %60'ın üzerinde tümör gelişimine neden olduğu belirtilmiştir.[26,30]

L. sokotranum yaprağı sulu ekstresinin 615.1 µg/ml konsantrasyonunun, insan amniyotik epitel hücre hattı (FL hücreleri) ile yapılan sitotoksisite testinde orta derecede toksik bulunduğunu bildirilmiştir.[26,67]

L. leptophyllum'un toprak üstü kısımlarının metanolik ekstresinden izole edilen aurikulasin bileşiğinin kannabinoid reseptör tip 1'e karşı %86,7 afinite gösterdiği, bu yolla kannabinoid bağımlılığı benzeri bir etki oluşturduğu bildirilmiştir.[25]

2.4. *Limonium* Türlerinin Halk Arasındaki Kullanımı

Limonium türlerinin halk ilacı olarak bronşial kanamalarda, sıkılaştırıcı tonik halinde, boğaz ağrılarında, ülser ve nezle gibi hastalıklarda kullanıldığı kayıtlıdır. Haricen, hemoroid ve diğer üriner hastalıklarda losyon olarak tavsiye edildiği belirtilmiştir. Bazı *Limonium* türlerinin taze kök kısımlarının çiğnenerek diyare ve dizanteriye karşı ilaç olarak kullanıldığı bildirilmiştir.[29,35]

Limonium cinsi kök ve yapraklarındaki başlıca bileşenin flavonoitler olduğu kayıtlıdır. Ülkemizde halk arasında "eşek kulağı" ve "deve kulağı" olarak bilinen *L. lilacinum*'un ödeme karşı faydalı olduğu belirtilmiştir. Mesane taşlarının düşürülmesinde, spazm ve ağrıların giderilmesinde kullanıldığı bildirilmiştir. İdrar yollarında biriken kum ve taşların dökülmesine yardımcı olduğu, kanı temizleyip, vücutta biriken zararlı maddelerin atılmasını sağladığı, romatizma ve nikrisin şikayetlerini giderdiği kayıtlıdır.[21]

L. sinuatum türünün çiçekleri yaşlanmayı önleyici çay olarak kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda 51 yenilebilir bitki ile kıyaslandığında *L. sinuatum* türünün çiçeklerinin güçlü bir antioksidan kapasitesi olduğu görülmüştür.[35,68]

L. sinense ve *L. bicolor*, geleneksel Çin tıbbında ateş, kanama, adet bozuklukları ve mide ülseri tedavisinde yüzyıllardır kullanılmaktadır.[9,36] *L. sinense*'in kök ve yapraklarının ayrıca hepatit, diyare ve bronşit gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığı bildirlmiştir.[64] *L. bicolor* türünün anemi ve uterus kanseri tedavisinde de kullanıldığı bildirilmiştir.[53]

L. tetragonum geleneksel tedavide rahim kanaması, adet gecikmesi ve kulak çınlamasında kullanılmıştır.[41]

L. meyeri türünün Azerbaycan'ın doğusunda köklerinin kaynatılarak diyare ve ağız yaralarının tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir.[69]

L. brasiliense (Boiss.) Kuntze türünün kurutulmuş rizomlarının kanamada, premenstrüal sendrom tedavisinde, menstrüal bozuklukların tedavisinde ve genitoüriner enfeksiyonlarda antiseptik olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca kardiyoprotektif etkileri olduğuna inanılmaktadır.[28,51]

L. wrightii türünün Japonya'da kültürü yapılmakta olup bitkinin geleneksel tedavide ateş ve artrit tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir.[47]

L. aureum dekoksiyonu, Çin geleneksel tedavisinde soğuk algınlığı, nevralji, kulak çınlaması, menstrual bozukluklar, baş ağrısı ve diş ağrısı gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmakla birlikte anne sütü artırıcı olarak da kullanılmaktadır.[48]

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitki Materyali

L. meyeri bitkisi Temmuz 2018'de Erzurum-Dumlu yol güzergahından toplanmıştır. Herbaryum örneği Atatürk Üniversitesi Biyoçeşitlilik Uygulama ve Araştırma Merkezi Herbaryum'unda (AUEF 1396) saklanmaktadır.

3.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Kullanılan kimyasal maddeler Tablo.3.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Kimyasal Adı	**Menşei**	**Kimyasal Adı**	**Menşei**
Metanol	İsolab	Normal faz slikajel	Merck
Diklorometan	İsolab	Ters faz slikajel	Merck
n-Hekzan	Sigma	İTK plağı Kiesegel 60 F_{254}	Merck
Etilasetat	Sigma	Sodyum fosfat monobazik	Sigma
Sülfirik asit	Sigma	Sodyum fosfat dibazik dodekahidrat	Sigma
Dötoro dimetilsülfoksit	Sigma	3,4-Dihydroxy-L phenylalanine	Sigma
Dötoro metanol	Eurisolab	Kojik asit	Sigma
Vanilin	Merck	Mushroom tirozinaz enzimi	Sigma
Sefadeks	Sigma	Mueller hinton broth besiyeri	Oxoid
Poliamit	Sigma	Formik asit	İsolab
Asetik asit	Sigma		

3.3. Kullanılan Aletler ve Malzemeler

Mantolu ısıtıcı (Barnstead Electrothermal EM5000/C), rotavapor (Heidolph WB Laborota 4000), UV lambası (Mineralight UVGL-58), eliza okuyucu (BioTek ELx800), vakum pompası (Millipore Model No: WP6122050), hassas terazi (Scaltec SBA 31), etüv (Memmert Typ: UM 500), ultrasonik banyo (Bandelin Sonorex RK 255 H), NMR spektrometresi (Varian Mercury plus), Q-TOF-MS (Agilent 6530), şırınga ucu filtre

(Merck), otoklav, vorteks, 96 kuyucuklu u tabanlı steril mikroplaka, mikropipet, pipet ucu, cam deney tüpleri, tüplük, balon joje, NMR tüpü, kolon, cam pastör pipeti.

3.4. Ekstraksiyon Yöntemi

Bitki kurutulup toz edildikten sonra 1 gece maserasyonda bekletildi (300 g). Süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntü ayrıldıktan sonra, kalan kısım mantolu ısıtıcıda ve geri çeviren soğutucu altında 2'şer saat 4 kez metanol (4 x 800 ml) ile ekstre edildi. Süzgeç kağıdından süzülüp birleştirilen süzüntüler rotavaporda yoğunlaştırıldı (40 g). Ekstre 200 ml su:metanol (9:1) karışımında çözüldü. Önce 5 kez *n*-hekzan ile ayırma hunisinde ekstre edildi (5x200 ml). Sonra sırasıyla diklorometan (5x200 ml) ve etil asetat (5x200 ml) ile ayırma hunisinde ekstraksiyon işlemi yapıldı. Geriye sulu ekstre kaldı. *n*-Hekzan (4.8 g), diklorometan (1,1 g), etil asetat (3,5 g) ve su (25,9 g) ekstreleri rotavaporda kurutularak tartımları yapıldı.

3.5. Antimikrobiyal Aktivite Yöntemi

İn vitro antimikrobiyal etkinliklerin belirlenmesi için *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Proteus mirabilis* (ATCC 29906), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) standart bakteri suşları kullanıldı. Öncelikle, çalışma zamanına kadar -80 °C'de saklanan bakteri suşlarının Mueller-Hinton agar (Oxoid, İtalya) kullanılarak canlandırılması yapıldı. Ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesi, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü önerileri doğrultusunda steril, U-tabanlı 96 kuyucuklu plak kullanılarak mikrodilüsyon metodu ile belirlendi.[70]

Test edilecek maddelerin stok çözeltileri, %10 dimetil sülfoksit (DMSO) ve katyonize Mueller-Hinton broth besiyeri (CAMHB) (Oxoid, İtalya) kullanılarak hazırlandıktan sonra yine CAMHB ile çift katlı sulandırımlar ile 512 µg /mL - 1 µg /mL

aralığında seyreltilmeleri yapıldı. 1600 µg/mL - 3.12 µg/mL aralığında seyreltilmesi yapılan sülfomerazin kontrol antibiyotiği olarak kullanıldı.

Antibakteriyel aktivite için kullanılacak bakteri suşlarının inokulumları 0,5 Mc Farland $1x10^8$ colony forming unit (CFU) / ml olarak hazırlandı ve ardından CAMHB ile 1/100 oranında seyreltilerek nihai konsantrasyonun olan 10^5 CFU/ml olması sağlandı. Hazırlanan bakteri süspansiyonları plaklardaki kuyucuklarda seyreltilmiş olan ekstrelerin üzerine 50 µl üzerine 50 µl olacak şekilde pipetlendi. Plaklar 35 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra ekstrelerin MİK değerleri kuyucuklardaki bulanıklık esasına göre değerlendirildi. Kuyucuklarda bakteri üremesinin olmadığı (gözle görülür bulanıklığın olmadığı) en düşük konsantrasyon MİK olarak belirlendi.

3.6. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Yöntemi

Tirozinaz inhibitör etki Masuda ve arkadaşlarının, 3,4-dihidroksil-L-fenilalanin (L-DOPA)'nin substrat olarak kullanıldığı yönteme göre yapıldı.[71] Kojik asit pozitif kontrol olarak kullanıldı. Çeşitli konsantrasyonlarda 40 µL test çözeltisi, 40 µL tirozinaz solüsyonu ve 80 µL fosfat tamponu (pH = 6.8) 96 kuyucuklu mikroplakaya uygulanarak 23°C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı. 40 µL L-DOPA eklenip 23°C de 10 dakika inkübe edildi ve 490 nm'de absorbansları ölçüldü. Yüzde ihhibisyonları ölçüm formülü aşağıda belirtildi.

% İnhibisyon değeri:[[(A-B)-(C-D)]/(A-B)]×100

A. Örnek ilave edilmeden okunan absorbans

B. Örnek ilave edildikten sonra okunan absorbans

C. Örneğin inkübasyondan sonraki absorbansı

D. Örneğin inkübasyondan önceki absorbansı

3.7. İzolasyon ve Yapı Tayini

Aktivite tayinlerinde en yüksek etki gösteren etil asetat ekstresi 3 g silika jel ile karıştırıldı. 40 g silika jel kolona adsorban olarak konuldu. Yürütücü faz olarak diklorometan:metanol:su (90:10:1, 80:20:2 … 50:50:5) karışımı kullanıldı. 120 fraksiyon tüplere toplandı (E1-E120). İTK tatbiği yapılıp, uygun solvan sistemleri ile yürütülüp, UV_{254} / UV_{366} nm dalga boyunda değerlendirildikten sonra, %1 lik vanilin/sülfirik asit püskürtülüp, 110° C'de ısıtıldı. Benzer fraksiyonlar birleştirildi.

E42-E68. tüpler rotavaporda uçurulup az bir miktar 95:5 su:metanol karışımında çözüldükten sonra sefadeks kolona tatbik edildi. Yürütücü olarak su:metanol (95:5, 9:1, 5:1; 1:1) sistemleri kullanıldı. 11-12. fraksiyonlar temiz olarak elde edildi (LME1).

E19-E23. fraksiyonlar sefadeks kolona tatbik edildi. Yürütücü faz olarak metanol kullanıldı. 28-35. fraksiyonlar (383 mg) 3 g silika jel ile karıştırılıp kurutulduktan sonra 17 g silika jel doldurulmuş kolona tatbik edildi. Hareketli faz olarak diklorometan:metanol:su (90:10:1, 80:20:2 … 50:50:5) kullanıldı. Fraksiyonlar tüplere toplanıldı. 51-58. fraksiyonlar temiz olarak elde edildi (LME2).

Saf olarak elde edilen maddelerin 1D-NMR, 2D-NMR ve Q-TOF-MS ölçümleri yapılarak yapıları aydınlatıldı.

3.7.1. İzolasyonda Kullanılan Kolon Kromatografi Yöntemleri

3.7.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

İzolasyon çalışmaları esnasında izole edilmek istenen maddeler hakkında bilgi edinmek için silika jel kaplı hazır aluminyum plaklar kullanılmıştır. Cam kılcal pipetler ile numuneler plakların alt kısmından 1-1.5 cm yukarıda, ortalama 0.5 cm aralıklarla nokta şeklinde tatbik edilmiştir. Plaklar Tablo 3.2'de verilen ve uygun görülen solvan sistemi konulmuş kromatografi tankının içine yerleştirilerek yapılan tatbikler

yürütülmüştür. Lekeler UV_{254} / UV_{366} nm dalga boyunda UV lambası altında değerlendirilmiştir.

3.7.1.2. Açık Kolon Kromatografisi (KK)

Uygun büyüklükteki cam kolonlara adsorban olarak normal faz silika jel (SK), ters faz silika jel (TF-SK), sefadeks (SFK) ve poliamid (PK) yerleştirilmiş, numune yerleştirildikten sonra Tablo 3.2'de verilen ve uygun görülen solvan sistemleriyle yürütme işlemleri yapılmıştır. Fraksiyonlar tüplere toplandıktan sonra, kontrolleri İTK ile yapılmıştır. Aynı R_f değerine sahip maddeleri içeren fraksiyonlar değerlendirilmiştir.

3.7.1.3. İzolasyonda Kullanılan Solvan Sistemleri

Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri

Solvan sistemi	Yöntem
$CHCl_3$:MeOH:H_2O (90:10:1)	İTK, SK
$CHCl_3$:MeOH:H_2O (80:20:2)	ITK, SK
$CHCl_3$:MeOH:H_2O (70:30:3)	İTK, SK
$CHCl_3$:MeOH:H_2O (65:35:5)	ITK, SK
$CHCl_3$:MeOH:H_2O (50:50:5)	ITK, SK
H_2O:MeOH (95:5)	PK
H_2O:MeOH (90:10)	SFK
H_2O:MeOH (80:20)	SFK
H_2O:MeOH (75:25)	PK
H_2O:MeOH (70:30)	SFK
H_2O:MeOH (50:50)	SFK, PK
H_2O:MeOH (25:75)	PK
MeOH	SFK, PK
Etil asetat: Asetik asit: Formik asit: Su (100:11:11:27)	İTK

3.8. Saf Madellerin Yapı Tayini

İzole edilen saf maddelerin yapıları spektroskopik yötemler ile aydınlatılmıştır. MASS spektrumları Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM)'nde, NMR spektrumları ise Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde çekilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Antimikrobiyal Aktivite

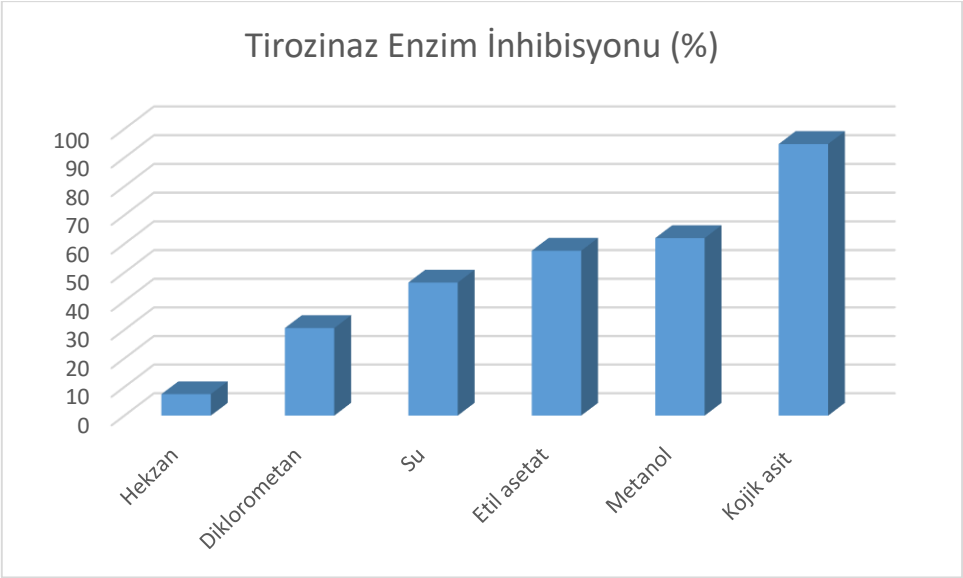
L. meyeri bitkisinin su (LMS), etilasetat (LME), *n*-hekzan (LMH), diklorometan (LMD), metanol (LMM) ekstreleri ve elde edilen saf maddelerin (LME1 ve LME2) antimikrobiyal etkileri sülfomerazinle karşılaştırılarak mikrodilisyon yöntemi ile çalışılmış sonuçlar Tablo 4.1'de gösterilmiştir. LMH'nin *Proteus mirabilis* ve *Enterococcus faecalis,* LMD'nin *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus,* LME'nin *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Enterococcus faecalis,* LMM'nin *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis,* LME1'in *Staphylococcus aureus,* LME2'nin *Escherichia coli, Enterococcus faecalis* üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Çalışılan bakteriler üzerinde en etkili sonucu *n*-hekzan ekstresi *Enterococcus faecalis*'e (MİK = 1 µg/mL) karşı göstermiştir.

Tablo 4.1. LME1, LME2 ve Sülfomerazin antimikrobiyal etkileri

	Escherichia coli (ATCC 25922)	*Klebsiella pneumonia* (ATCC 700603)	*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027)	*Proteus mirabilis* (ATCC 29906)	*Staphylococcus aureus* (ATCC 29213)	*Enterococcus faecalis* (29212)
LMS	-	-	-		-	-
LMH	-	-	-	128	-	1
LMD	-	-	128	-	64	-
LME	256	-	256	-	-	512
LMM	-	-	16	-	512	128
LME1	-	-	-	-	1024	-
LME2	512	-	-	-	-	128
Sülfomerazin (µg /mL)	1600	1600	1600	1600	6.25	3.12

4.2. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu

Bitkinin metanol, *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat ve su ekstrelerinin tirozinaz inhibitör etkisi 25, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml'lik konsantrasyonlarda kojik asitle kıyaslanarak çalışılmıştır. Tüm ekstrelerde doza bağlı olarak aktivitede artış gözlenmiştir. 400 µg/ml'lık dozda kojik asit ile kıyaslandığında (%94.75) ana ekstre olan metanol ekstresi %62.0, alt fraksiyonlardan etil asetat ekstresi %57.6, su ekstresi %46.5, diklorometan ekstresi %30.6, *n*-hekzan ekstresi %7.5 tirozinaz inhibitör etki göstermiştir (Şekil 4.1). Alt fraksiyonlardan en yüksek yüzde inhibisyon etkiyi gösteren etil asetat ekstresi üzerinde yapılan kromatografik yöntemlerle saflaştırma işlemleri sonucunda elde edilen LME1 ve LME2 maddeleri 3,125-200 µg/ml'lik konsantrasyon aralığında çalışılmış, sonuçlar Tablo 4.2'de gösterilmiştir.



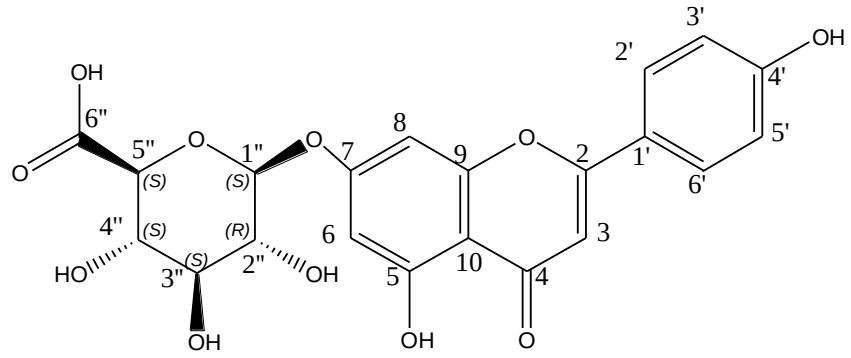
Şekil 4.1. Ekstrelerin 400 µg/ml'lık dozda yüzde tirozinaz enzim inhibisyon değerleri

Tablo 4.2. LME1 ve LME2 tirozinaz enzim inhibitör etkileri

Bileşik	**IC_{50} (µg/mL)**
LME1	43.0 ± 0.9
LME2	27.7 ± 0.6
Kojik asit	12.4 ± 0.4

4.3. Fitokimyasal Analiz Sonuçları

4.3.1. Apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit (LME1)



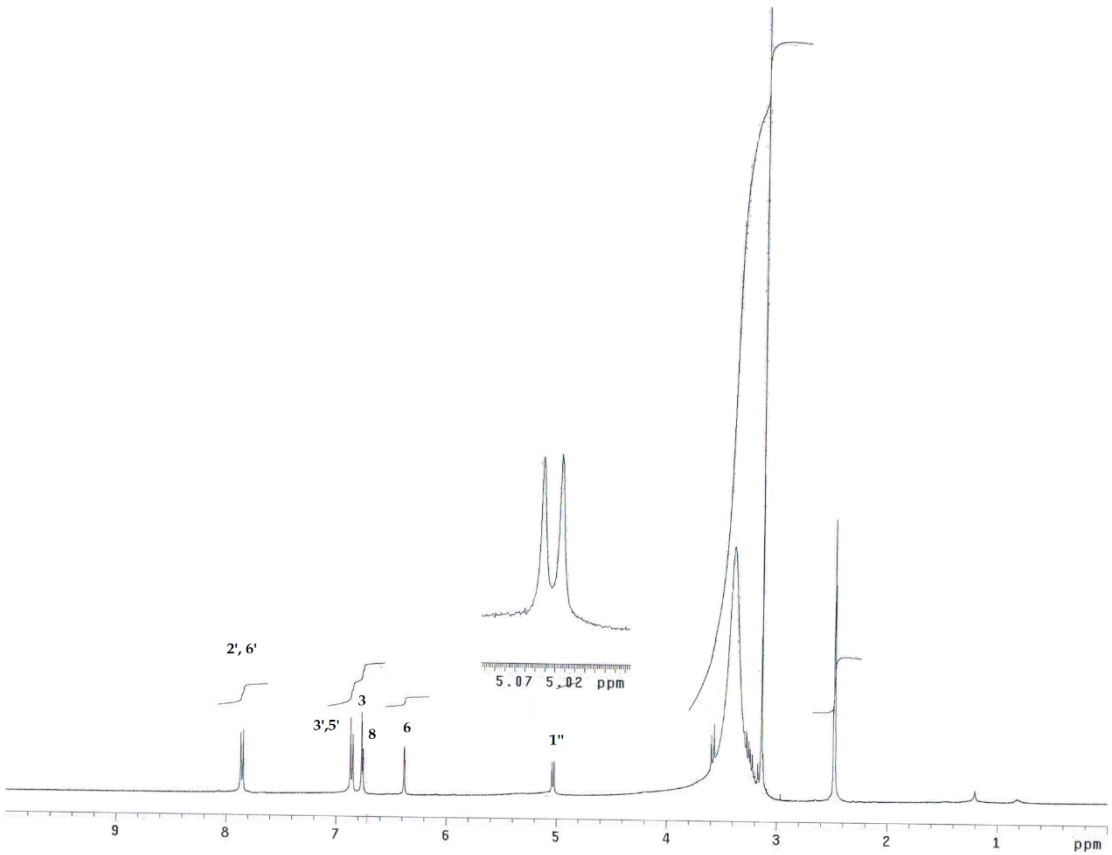
Şekil 4.2. Apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit ($C_{21}H_{18}O_{11}$)

LME1 maddesinin İTK plağında çıplak gözle bakıldığında sarı renkli, herhangi bir reaktif kullanmadan UV_{254} nm'de leke şeklinde, UV_{366} nm'de koyu mor, vanilin/H_2SO_4 ile etüvde 100-110 ºC'de ısı ile parlak sarı renkli olması flavonoid olabileceğini akla getirmiştir. ^{1}H-NMR spektrumunda (Şekil 4.3-4.4, Tablo 4.3) gözlenen δH = 7.86 (d, *J* = 8.8 Hz) ve δH = 6.87 (d, *J* = 8.8 Hz) sinyallerinin C-2', C-6' ve C-3', C-5' protonlarının sinyalleri olduğu ve δH = 6.78'de (s) gelen sinyalin C-3 protonunun sinyali olduğu belirlenmiştir. δH = 6.38 (d, *J* = 1.8 Hz) ve δH = 6.76 (d, *J* = 2.2 Hz) sinyallerinin C-6 ve C-8 protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. C-5 ve C-7 (δC = 161.6 ve 163.7) sübstitüe olduğundan C-6 ve C-8'e göre (δC = 100.3 ve 103.4) ^{13}C-NMR spektrumlarında (Şekil 4.5, Tablo 4.3) daha aşağı alanda çıkmıştır. C-4' konumunda -OH bağlı olduğu için bu karbona ait sinyal (δC = 162.4), C-2', C-6' ve C-3', C-5' sinyalleri (δC = 129.1 ve 116.7) ile kıyaslandığında aşağı alanda görülmüştür. δH = 3.15-3.60 ppm'de gelen proton sinyalleri ve δH = 5.03 (d, *J* = 7.3 Hz)'de gelen anomerik sinyal (^{1}H-NMR spektrumu) ve δC = 72.6-100.1 ppm'de gelen karbon sinyalleri (^{13}C-NMR spektrumu) bileşikte oz varlığını göstermektedir. Anomerik

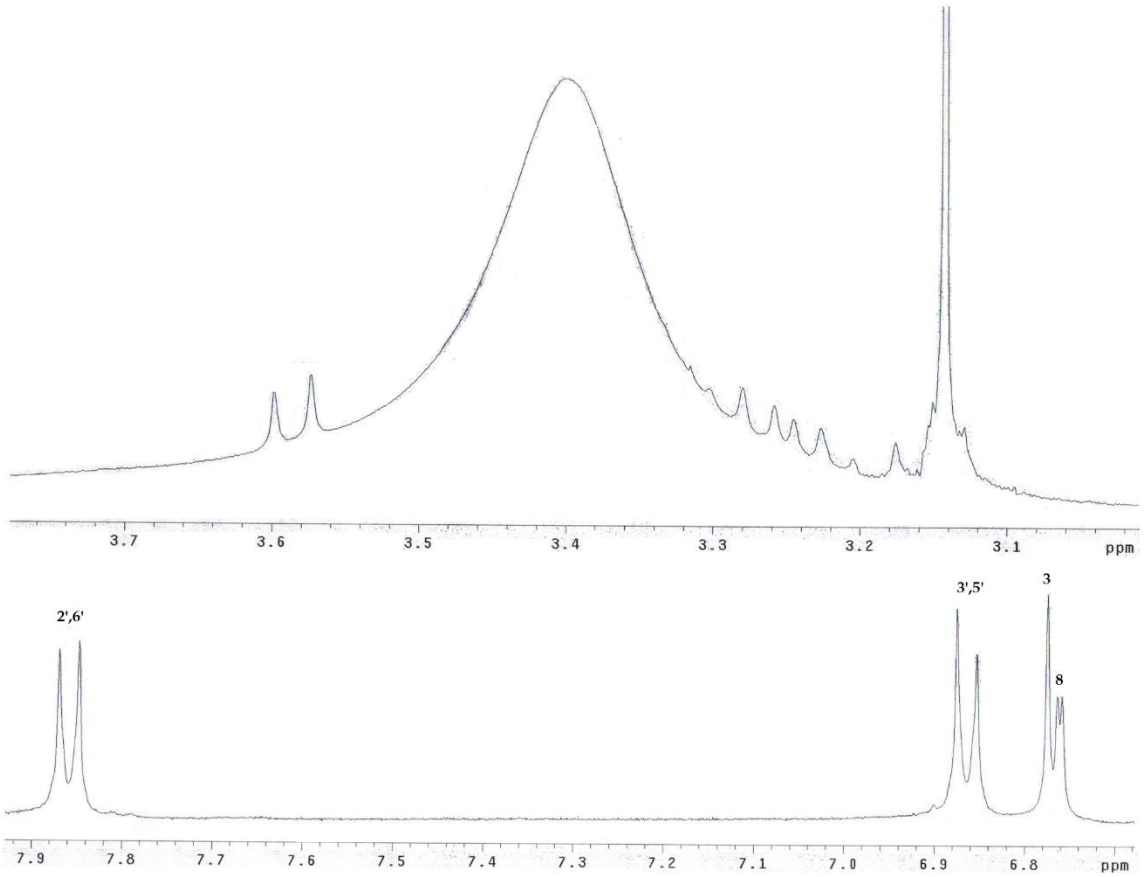
protonun etkileşme sabitinin (*J*) 7.3 değerinde olması nedeniyle ozun *β* konfigürasyonda olduğu belirlenmiştir. ^{13}C-NMR spektrumunda 100.1 ppm'de gelen sinyalin -CH sinyali (C-1") ve 172.8 ppm'de gelen sinyalin -COOH sinyali olması bileşiğe bağlı şekerin glukuronik asit olduğunu göstermiştir. HMBC spektrumu ile (Şekil 4.6) glukuronik asitin aglikona C-7'den bağlandığı, anomerik proton (δC = 100.1) ile C-7 (δC = 163.7) arasındaki korelasyon ile belirlenmiştir. ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri literatür ile uyum sağlamaktadır.[72,73] HMQC (Şekil 4.6), COSY (Şekil 4.7), HMBC (Şekil 4.8-4.9), Q-TOFF-MS (447 $[M+H]^+$, Şekil 4.10) spektrumları (Şekil 4.7,4.8,4.9) bileşiğin apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit (Şekil 4.2) olduğunu desteklemektedir.

Tablo 4.3. Apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit (LME1) ^{13}C-NMR, ^{1}H-NMR spektrum değerleri

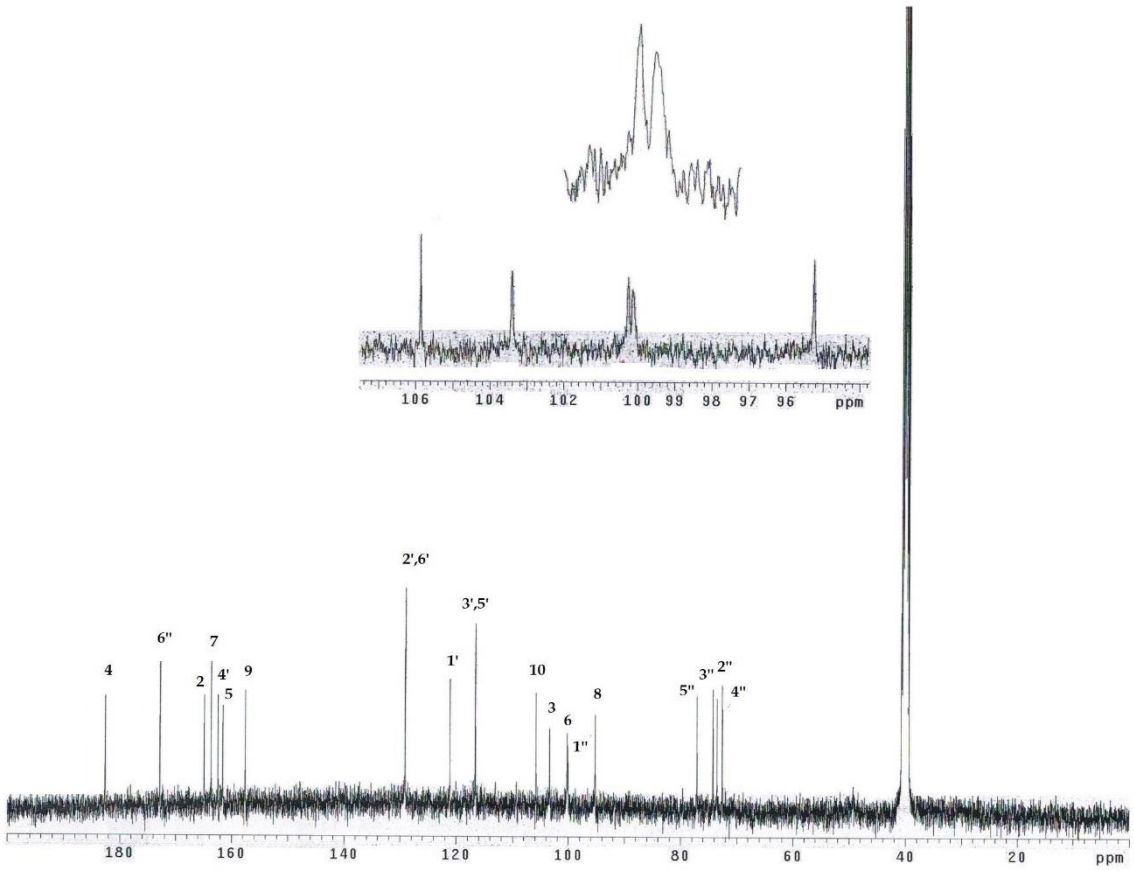
C atomu	^{13}C δ (ppm)	^{1}H δ (ppm)	HMBC
2	164.9		
3	103.4	6.78, s	C-2,4
4	182.6		
5	161.6		
6	100.3	6.38, d, *J* = 1.8 Hz	C-5,7,10
7	163.7		
8	103.4	6.76, d, *J* = 2.2 Hz	C-6,10
9	157.6		
10	105.9		
1'	121.2		
2'	129.1	7.86, d, *J* = 8.8 Hz	C-4'
3'	116.7	6.87, d, *J* = 8.8 Hz	C-1',4'
4'	162.4		
5'	116.7	6.87, d, *J* = 8.8 Hz	C-1',4'
6'	129.1	7.86, d, *J* = 8.8 Hz	C-4'
1"	100.1	5.03, d, J = 7.3 Hz	C-7
2"	73.5	3.15-3.60 Hz	
3"	74.3	3.15-3.60 Hz	
4"	72.6	3.15-3.60 Hz	
5"	77.1	3.15-3.60 Hz	
6"	172.9		



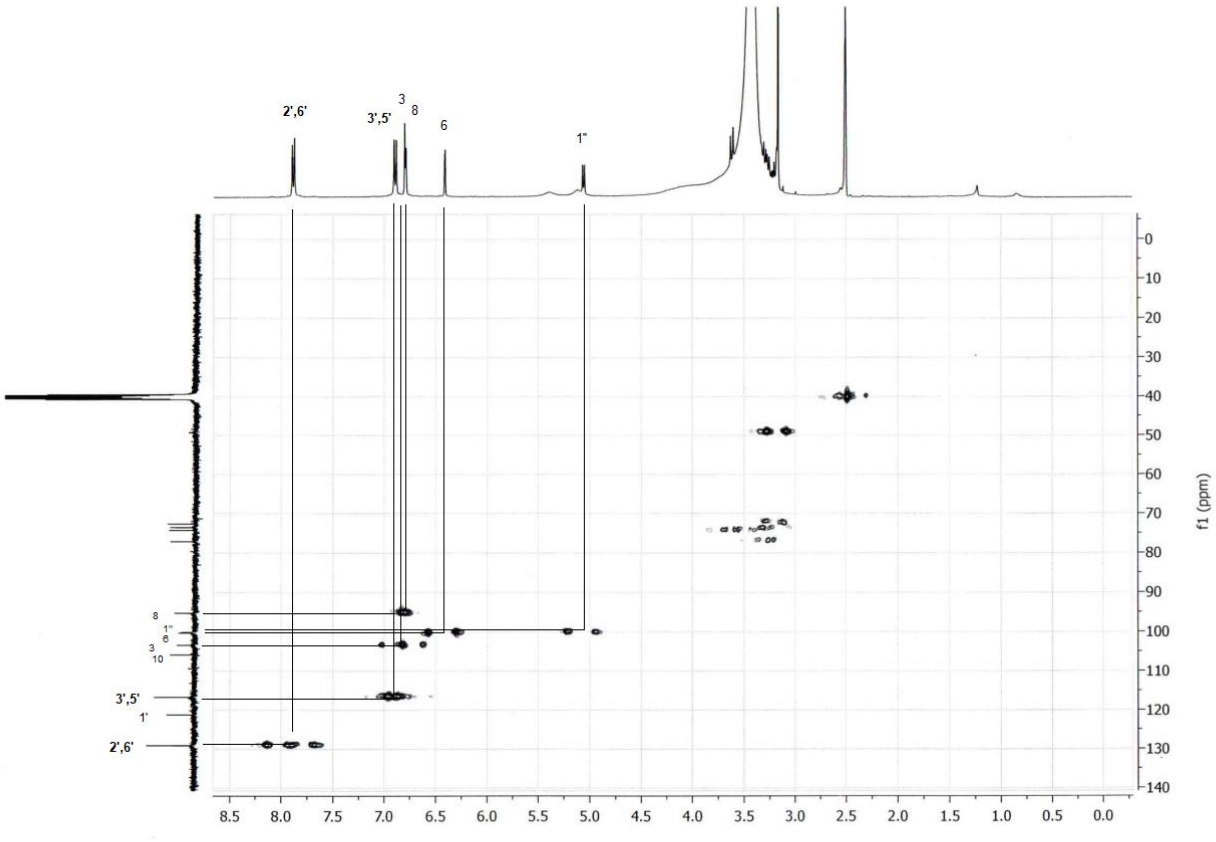
Şekil 4.3. ^{1}H-NMR Spektrumu (LME1, 400 MHz, DMSO-d_6,)



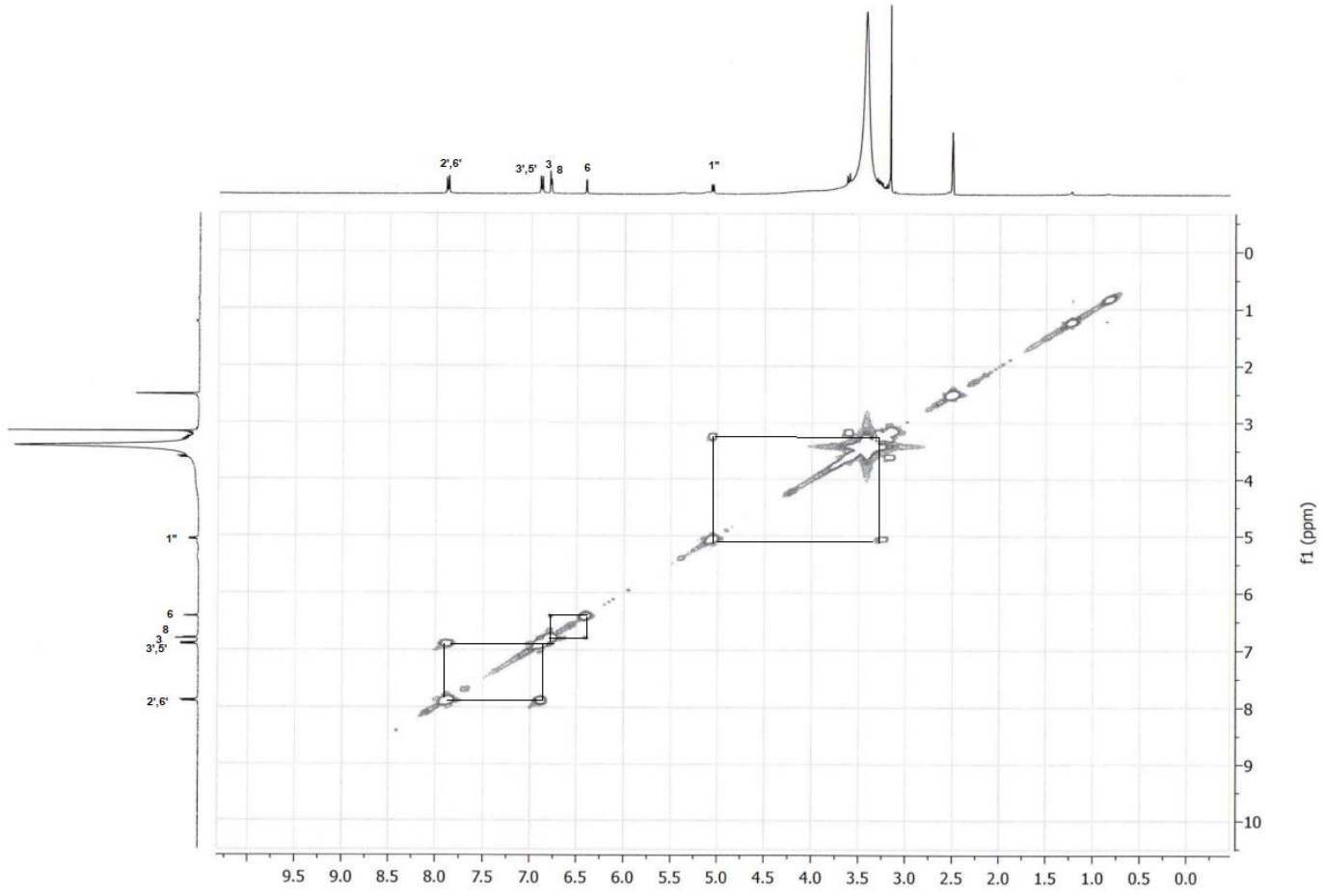
Şekil 4.4. ^{1}H-NMR Spektrumu (LME1)



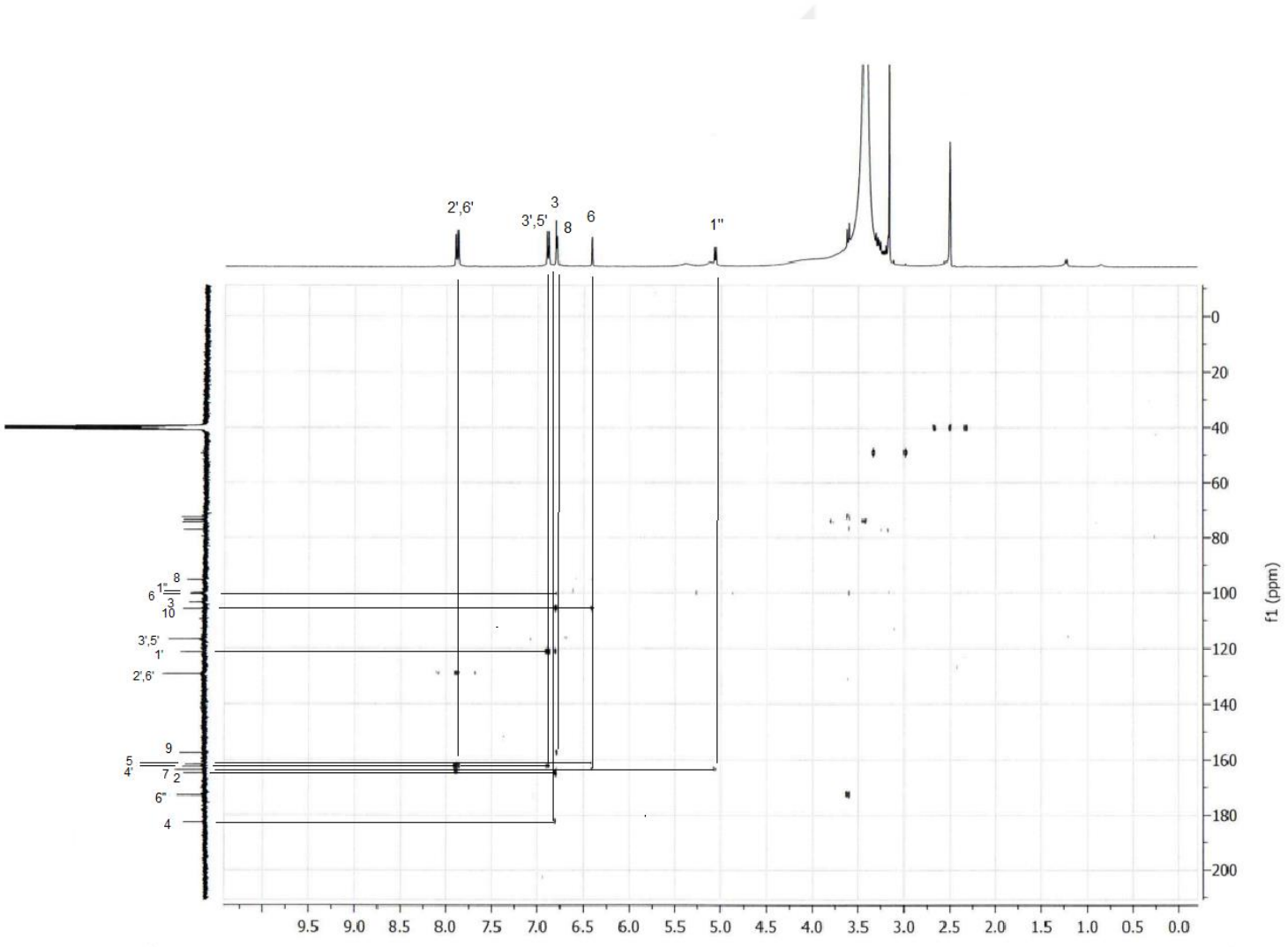
Şekil 4.5. ^{13}C -NMR Spektrumu (LME1, 100 MHz, DMSO-d_6)



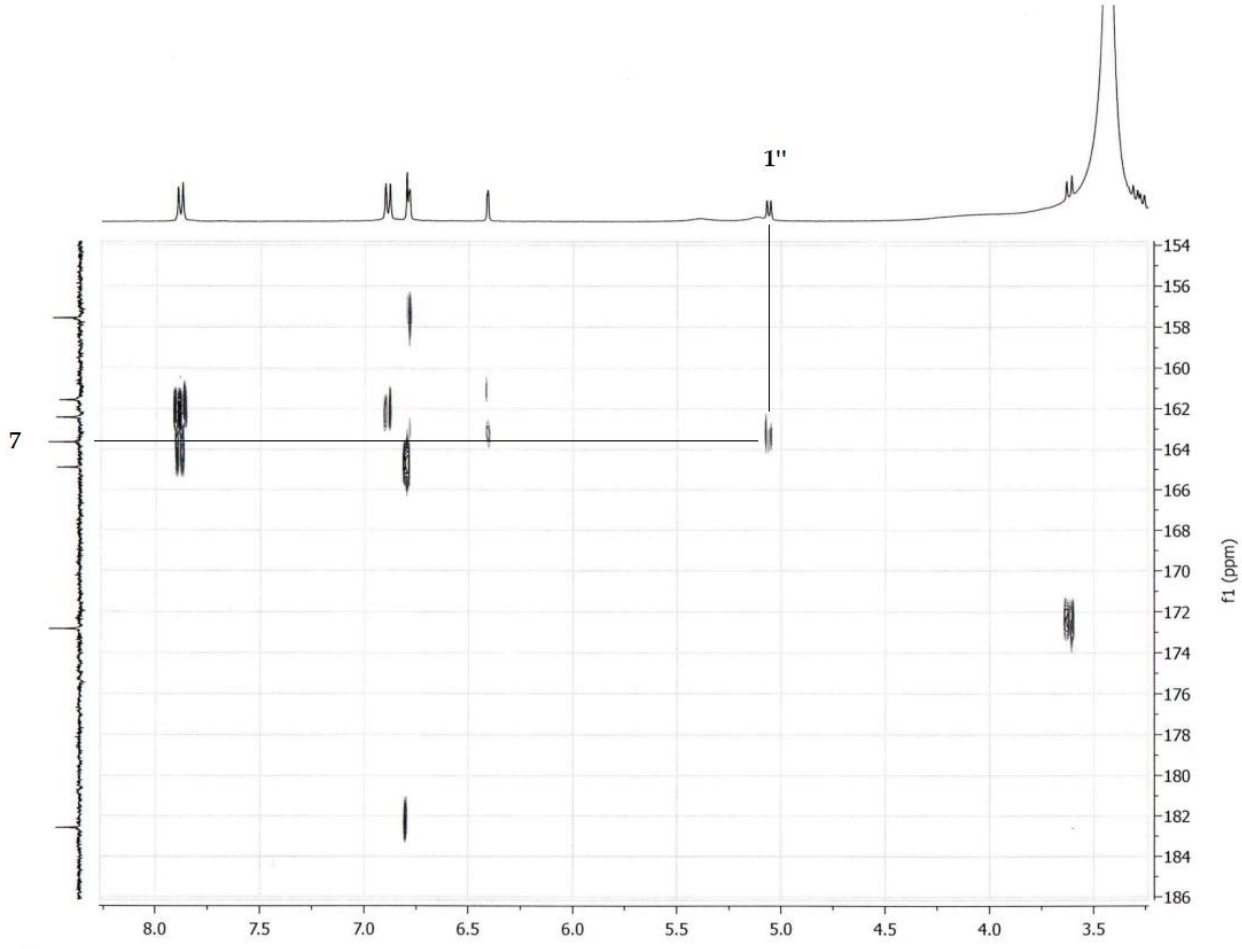
Şekil 4.6. HMQC Spektrumu (LME1)



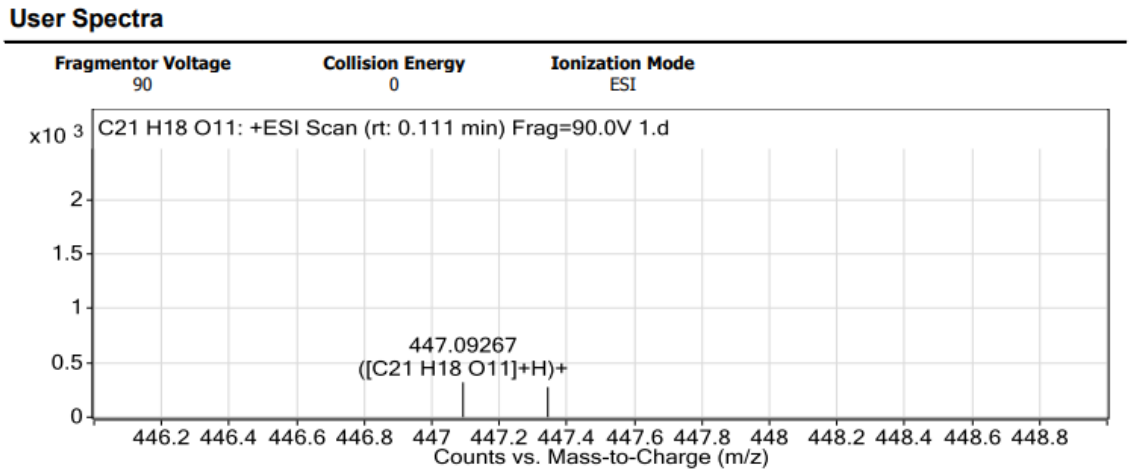
Şekil 4.7. COSY Spektrumu (LME1)



Şekil 4.8. HMBC Spektrumu (LME1)

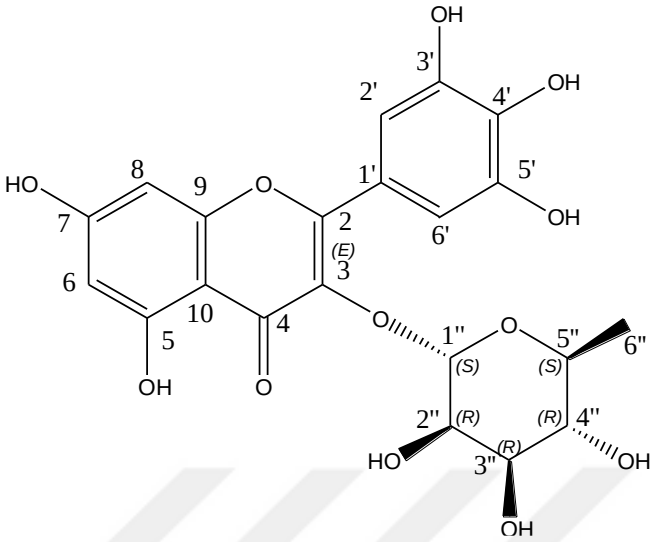


Şekil 4.9. HMBC Spektrumu (LME1)



Şekil 4.10. Q-TOFF-MS Spektrumu (LME1)

4.3.2. Mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit (LME2)



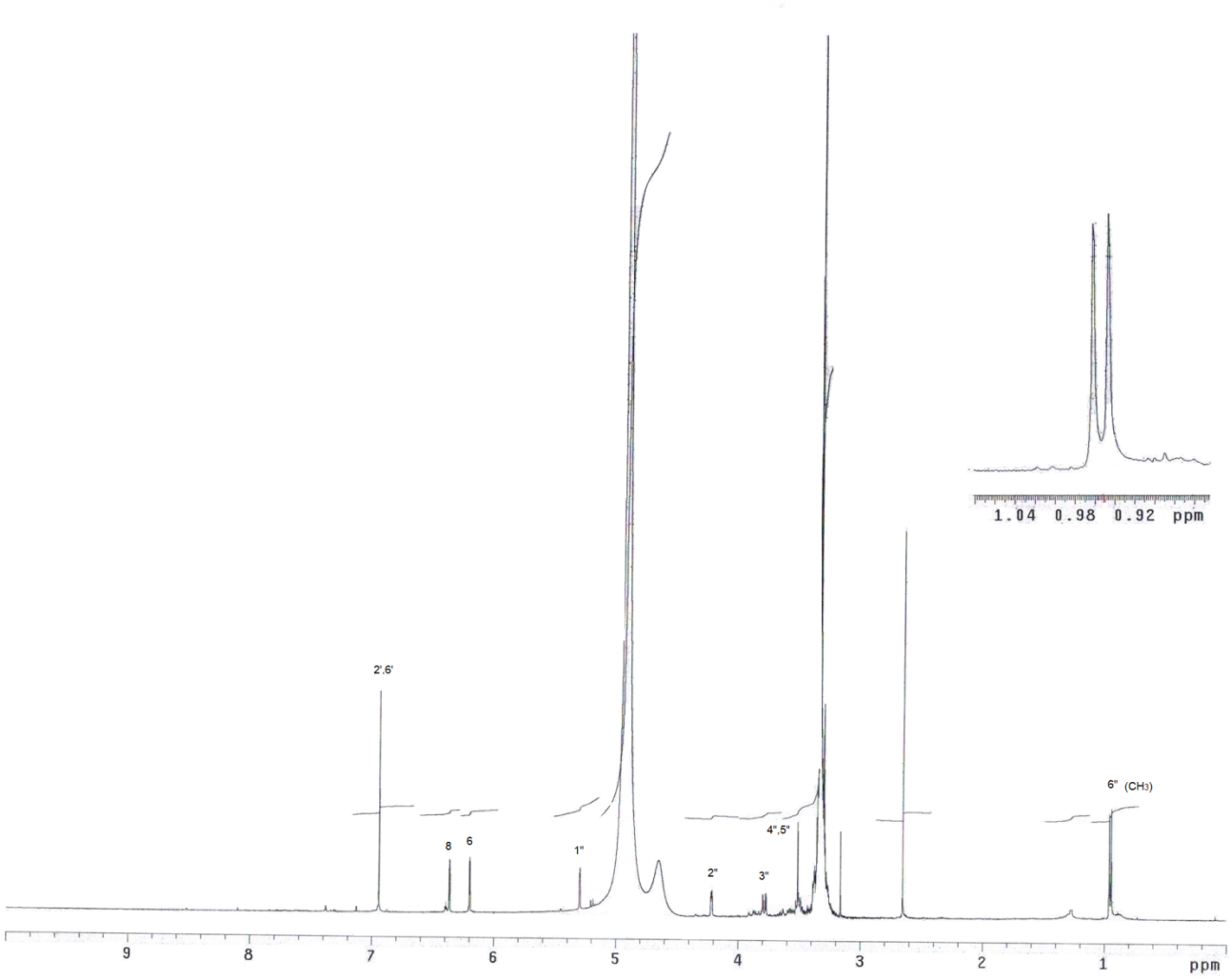
Şekil 4.11. Mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit ($C_{21}H_{20}O_{12}$)

LME2 maddesinin İTK plağında çıplak gözle bakıldığında sarı renkli, herhangi bir reaktif kullanmadan UV_{254} nm'de leke şeklinde, UV_{366} nm'de koyu mor, vanilin/H_2SO_4 ile etüvde 100-110 ºC'de ısı ile sarı renkli olması flavonoid olabileceğini akla getirmiştir. ^{1}H-NMR spektrumunda (Şekil 4.12, Tablo 4.4) δH = 6.19 (d, *J* = 2.0 Hz) ve δH = 6.36 (d, *J* = 2.0 Hz) gözlenen sinyallerin C-6 ve C-8, δH = 6.95 (1H, s) ppm'de gözlenen sinyalin C-2' ve C-6' protonlarının sinyali olduğu belirlenmiştir. δH = 5.30 (1H, d, *J* = 1.6 Hz) ppm'de (^{1}H-NMR spektrumu) görülen anomerik proton sinyali bileşikte oz olduğunu göstermektedir. Anomerik protonun etkileşme sabitinin (*J*) 1.6 değerinde olması nedeniyle ozun *α* konfigürasyonda olduğuna karar verilmiştir. ^{1}H-NMR spektrumunda δH = 0.95 ppm'de ve ^{13}C-NMR spektrumunda (Şekil 4.13, Tablo 4.4) δC = 16.5 ppm'deki sinyaller bileşiğe bağlı şekerin ramnozit olduğunu desteklemektedir. Ozun C-6" protonuna ait sinyal δH = 0.95 (3H, d, *J* = 6.2) ppm'de, C-2" ve C-3" protonlarına ait sinyaller ise δH = 4.21 (m, *J* = 3.0 Hz) ve δH = 3.78 (dd, *J* = 9.4, *J* = 3.5 Hz) ppm'de görülmüştür. ^{13}C-NMR spektrumunda δC = 70.7 ppm'de gelen

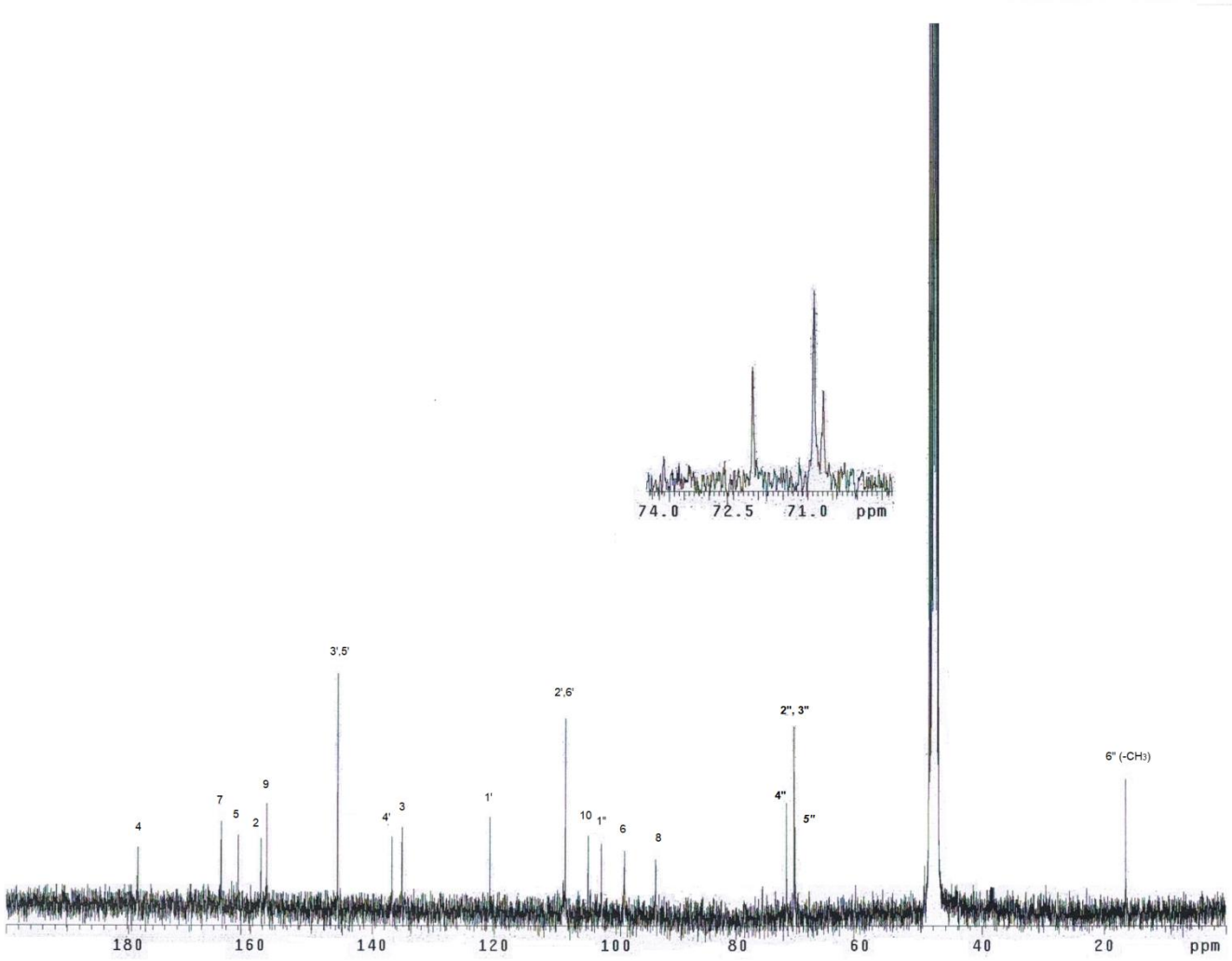
sinyal şekerin C-5" karbonuna aitken, δC = 70.9, 70.9 ve 72.1 ppm'de gelen sinyallerin -OH grubu bağlı olan C-2", C-3" ve C-4" karbonlarına ait olduğu belirlenmiştir. δC = 98.7 ve 93.5 ppm'de gelen sinyallerin (^{13}C-NMR spektrumu) C-6 ve C-8 karbonlarına, δC = 162.0 ve 164.8 ppm'de gelen sinyallerin C-5 ve C-7 karbonlarına ait olduğu belirlenmiştir. δC = 108.4 ppm'de (2C) gözlenen sinyalin C-2' ve C-6', δC = 145.7, 136.7 ve 145.7 ppm'de gelen sinyallerin sırasıyla C-3', C-4' ve C-5' karbon sinyalleri olduğu gözlenmiştir. HMBC spektrumunda ozun aglikona C-3'den bağlandığı anomerik proton (δC = 102.4) ile C-3 (δC = 135.1) arasındaki korelasyon ile belirlenmiştir. HMQC spektrumu ile hangi karbonun yakın mesafede hangi protonla etkileştiği belirlenmiştir. COSY spektrumunda 1" ile 2" arasındaki, 2" ile 3" arasındaki, 5" ile 6" arasındaki proton etkileşimleri görülmektedir. ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri literatür ile uyum sağlamaktadır.[74,75] HMQC (Şekil 4.14), COSY (Şekil 4.15), HMBC (Şekil 4.16) ve Q-TOFF-MS (465 $[M+H]^+$, Şekil 4.17) spektrumları bileşiğin mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit (Şekil 4.11) olduğunu desteklemektedir.

Tablo 4.4: Mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit ^{13}C-NMR, ^{1}H-NMR spektrum değerleri

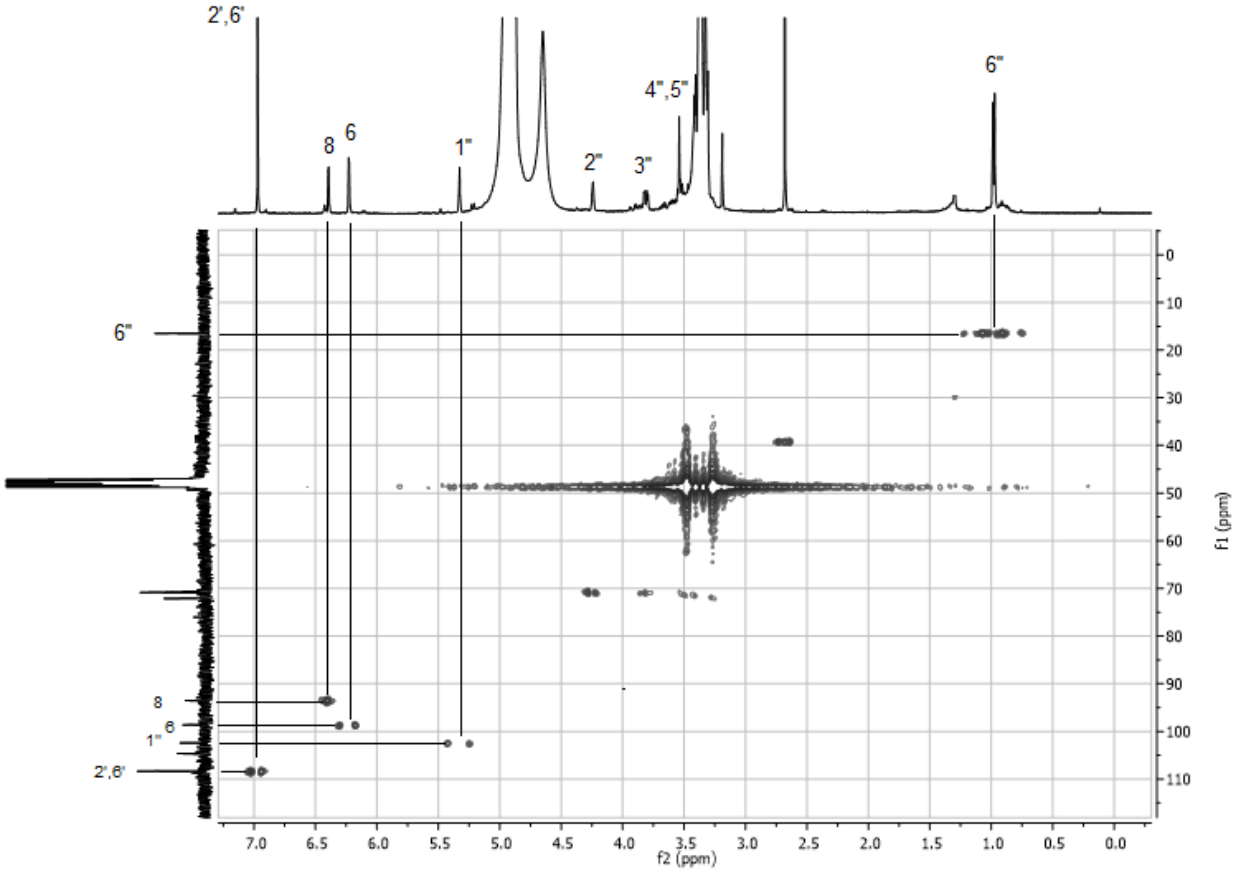
C atomu	δ (ppm)	^{1}H δ (ppm)	HMBC
2	158.3		
3	135.1		
4	178.5		
5	162.0		
6	98.7	6.19, d, *J* = 2.0 Hz	C-5,8,10
7	164.8		
8	93.5	6.36, d, *J* = 2.0 Hz	C-6,9
9	157.3		
10	104.6		
1'	120.7		
2'	108.4	6.95, s, 2H	C-2,1',3',4',5'
3'	145.7		
4'	136.7		
5'	145.7		
6'	108.4	6.95, s, 2H	C-2,1',3',4',5'
1"	102.4	5.30, d, *J* = 1.6 Hz	C-3
2"	70.9	4.21, m	
3"	70.9	3.78, dd, *J* = 9.4, *J* = 3.5 Hz	
4"	72.1	3.23-3.52 Hz	
5"	70.7	3.23-3.52 Hz	
6" (CH_3)	16.5	0.95, d, *J* = 6.2 Hz	



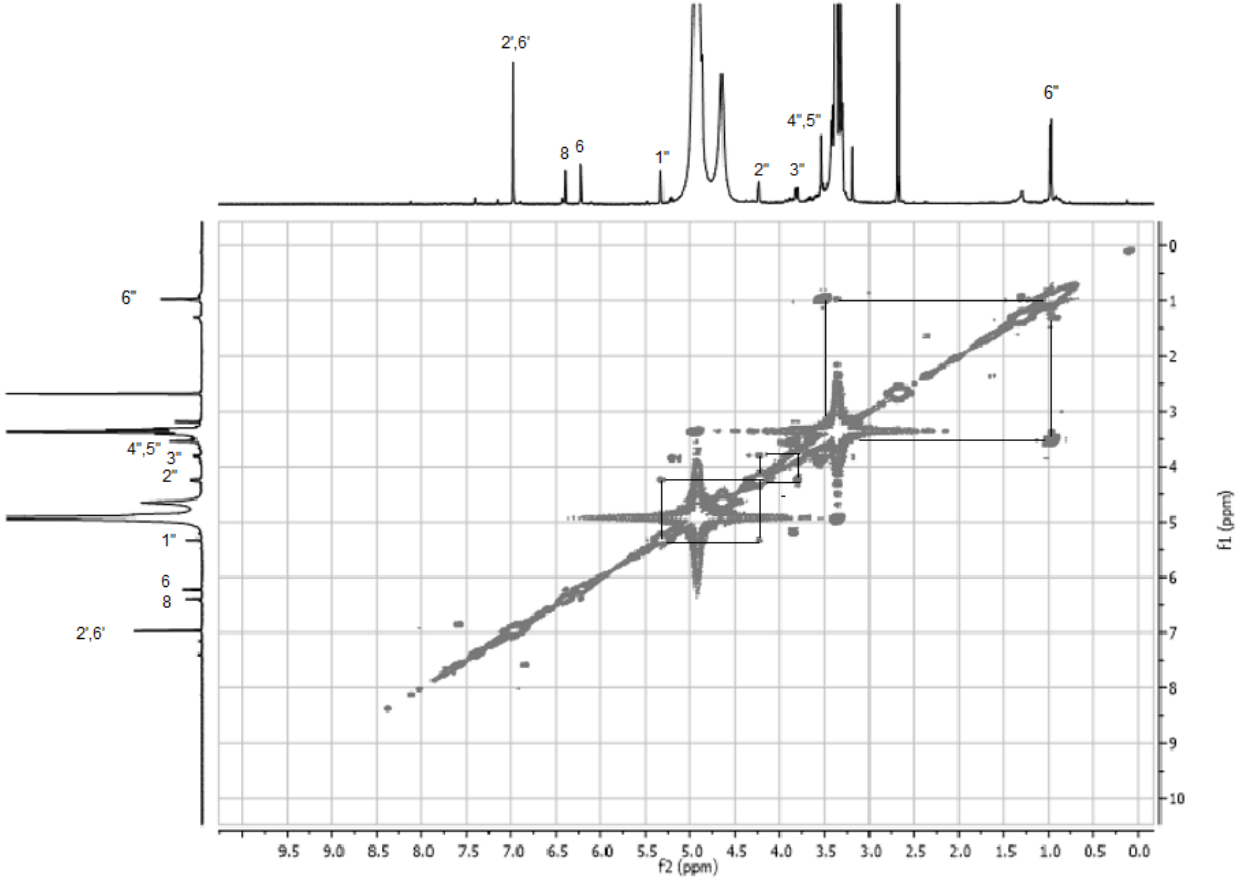
Şekil 4.12. ^{1}H-NMR Spektrumu (LME2, 400 MHz, CD_3OD)



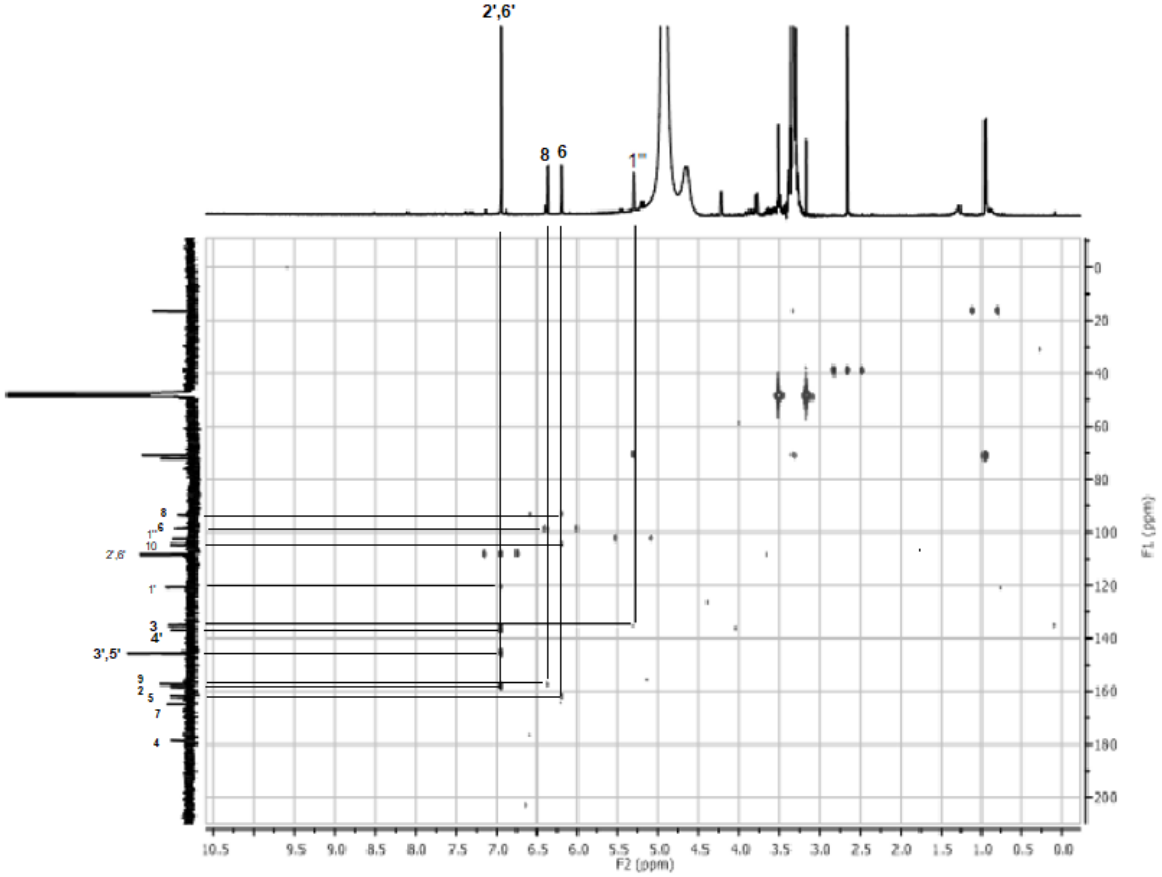
Şekil 4.13. ^{13}C -NMR Spektrumu (LME2, 100 MHz, CD_3OD)



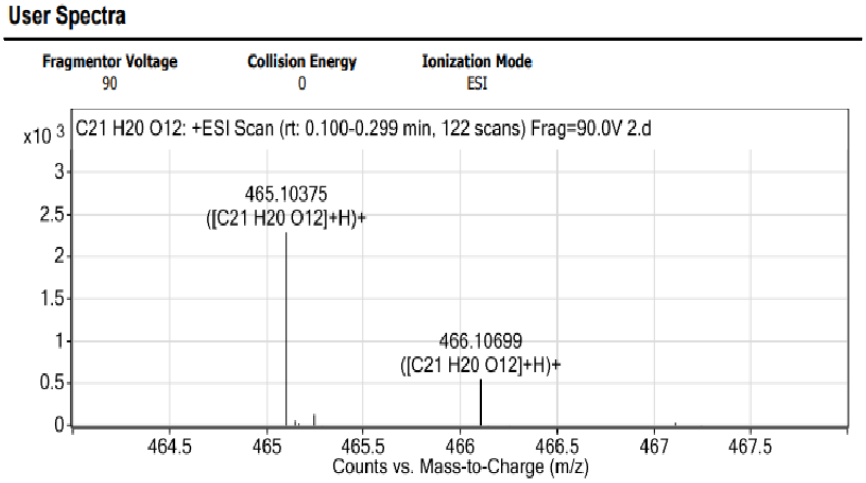
Şekil 4.14. HMQC Spektrumu (LME2)



Şekil 4.15. COSY Spektrumu (LME2)



Şekil 4.16. HMBC Spektrumu (LME2)



Şekil 4.17. Q-TOFF-MS Spektrumu (LME2)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada Plumbaginaceae familyasına ait bir tür olan *L. meyeri* toplanıp, uygun şartlarda kurutulmuştur. Kuru bitki toz edildikten sonra metanol ile ekstre edilerek ana ekstre (LMM) elde edilmiştir. Metanol ekstresinden bir miktar aktivite çalışmalarına ayrılmıştır. Daha sonra kalan metanol ekstresi su ile çözülerek sırasıyla n-*n*-hekzan, diklorometan, etil asetat ile ayırma hunisinde fraksiyonlanarak, rotavaporda kuruluğa kadar uçurulmuştur. Böylece ana metanol ekstresinden *n*-hekzan (LMH), diklorometan (LMD), etil asetat (LME) ve su (LMS) alt fraksiyonları elde edilmiştir. Ana ekstre ve alt fraksiyonların antimikrobiyal etkileri ve tirozinaz enzim inhibitör etkileri çalışılmış ve kromatografik yöntemlerle biyoaktivite yönlendirmeli saf madde izolasyonu yapılması planlanmıştır. Alt fraksiyonlardan en etkili tirozinaz enzim inhibisyonu gösteren ve *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Enterococcus faecalis* üzerinde etkili olan etil asetat fraksiyonu üzerinde saflaştırma çalışmaları yapılmasına karar verilmiştir. Etil asetat fraksiyonundan elde edilen LME1 ve LME2 saf maddelerinin yapıları 1D-NMR, 2D-NMR, MASS ile aydınlatılmış ve ayrıca bu maddelerin antimikrobiyal ve tirozinaz enzim inhibitör etkileride araştırılmıştır.

LME1 ve LME2 maddelerinin İTK plağında çıplak gözle bakıldığında sarı renkli, herhangi bir reaktif kullanmadan UV_{254} nm'de leke şeklinde, UV_{366} nm'de koyu mor, vanilin/H_2SO_4 ile 110 ºC'de ısıtılınca parlak sarı renkli olması flavonoid olabileceğini göstermektedir.

LME1'in ^{1}H-NMR spektrumuna bakıldığında δH 7.86 (d, *J* = 8.8 Hz)'da görülen sinyalin C-2', C-6' protonlarına, δH 6.87 (d, *J* = 8.8 Hz)'de görülen sinyalin C-3', C-5' protonlarına, δH 6.78'de (s) gözlenen sinyalin C-3 protonuna, δH 6.38 (d, *J* = 1.8 Hz) ve δH 6.76 (d, *J* = 2.2 Hz)'de görülen sinyallerin C-6 ve C-8 protonlarına, δH 5.03 (d, *J* = 7.3 Hz)'de gözlenen sinyalin şekerin anomerik karbonuna ait olduğu belirlenmiştir.

δH = 3.15-3.60 ppm'de gözlenen proton sinyalleri ve δH = 5.03 (d, *J* = 7.3 Hz)'de gözlenen anomerik sinyal (^{1}H-NMR spektrumu) ve ^{13}C-NMR spektrumundaki δC = 72.6-100.1 ppm'de gözlenen karbon sinyalleri bileşikte oz varlığını göstermektedir. Anomerik protonun etkileşme sabitinin (*J* = 7.3 Hz) değeri ozun *β* konfigürasyonda olduğu göstermiştir. ^{13}C-NMR spektrumunda 100.1 ppm'de gözlenen sinyalin -CH sinyali (C-1") ve 172.8 ppm'de gözlenen sinyalin -COOH sinyali olması bileşiğe bağlı şekerin glukuronik asit olduğunu göstermiştir. Glukuronik asitin aglikona C-7'den bağlandığı HMBC spektrumunda görülmektedir. HMQC spektrumundaki proton karbon eşleşmeleri molekül ile uyum sağlamaktadır. Tüm bu veriler ışığında LME1 molekülünün apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit olduğuna literatür ile kıyaslayarak karar verilmiştir.[72,73] Gözlemlediğimiz kadarıyla daha önce yapılan çalışmalarda bu bileşiğe *Limonium* türlerinde yaygın olarak rastlanmamıştır.

LME2'nin ^{1}H-NMR spektrumunda δH = 6.19 (1H, d, *J* = 2.0 Hz) ve δH = 6.36 (1H, d, J = 2.0 Hz) gözlenen sinyallerin C-6 ve C-8 protonlarına, δH = 6.95 (1H, s) ppm'de gözlenen sinyalin C-2' ve C-6' protonlarına ait olduğu belirlenmiştir. δH = 5.30 (1H, d, *J* = 1.6 Hz) ppm'de (^{1}H-NMR spektrumu) görülen anomerik proton sinyali bileşikte oz olduğunu göstermektedir. Anomerik protonun etkileşme sabitinin (*J*) 1.6 değerinde olması nedeniyle ozun *α* konfigürasyonda olduğuna karar verilmiştir. ^{1}H-NMR spektrumunda δH = 0.95 ppm'de ve ^{13}C-NMR spektrumunda δC = 16.5 ppm'deki sinyaller bileşiğe bağlı şekerin ramnozit olduğunu desteklemektedir. δH = 4.21 (1H, m, *J* = 3.0 Hz) ve δH = 3.78 (1H, dd, *J* = 9.4, *J* = 3.5 Hz) şeklinde görülen sinyallerin sırasıyla ozun C-2" ve C-3" protonlarına ait olduğu belirlenmiştir. ^{13}C-NMR spektrumunda C-6 ve C-8 sinyalleri δC = 98.7 ve 93.5 ppm'de gözlenirken, C-5 ve C-7 sinyalleri hidroksil grubu bağlı olduğu için daha aşağı alanda sırasıyla δC = 162.0 ve 164.8 ppm'de görülmektedir. δC = 108.4 ppm'de (2C) gözlenen sinyalin C-2' ve C-6'

karbonlarına, δC = 145.7, 136.7 ve 145.7 ppm'de gelen sinyallerin sırasıyla C-3', C-4' ve C-5' karbonlarına ait olduğu gözlenmiştir. C-2", C-3", C-4" ve C-5" şeker sinyalleri 60-80 ppm arasında gözlenmiştir. HMBC spektrumunda ozun aglikona C-3'den bağlandığı anomerik proton δH = 5.30 ile C-3 (δC = 135.1) arasındaki korelasyon ile belirlenmiştir. HMQC spektrumu ile hangi protonun yakın mesafede hangi karbonla etkileştiği belirlenmiştir. ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR değerleri literatür ile uyum sağlamaktadır ve bileşiğin 21 karbonlu flavonol glikoziti olan mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit olduğu belirlenmiştir.[74,75] Daha önce yapılan çalışmalarda *L. bicolor, L. sinense, L. gmelinii, L. myrianthum, L. leptophyllum, L. aureum* gibi birçok *Limonium* türlerinden de mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit bileşiğinin izole edildiği kayıtlıdır.[32,34,46,49,53]

LMM, LMH, LMD, LME ve LMS ekstreleri ve saf maddelerin *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Proteus mirabilis* (ATCC 29906), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) üzerinde antimikrobiyal etkileri sülfomerazin ile kıyaslanarak mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılmıştır. LMH'nin *Proteus mirabilis* ve *Enterococcus faecalis,* LMD'nin *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus,* LME'nin *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Enterococcus faecalis,* LMM'nin *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis* üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. LMS'nin çalışılan hiçbir bakteri üzerinde etkili olmadığı ve *n*-hekzan ekstresinin özellikle *Enterococcus faecalis* üzerinde oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca etil asetat fraksiyonundan elde edilen LME1'in *Staphylococcus aureus,* LME2'nin *Escherichia coli, Enterococcus faecalis* üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Daha önce yapılan bir çalışmada *L. meyeri* topraküstü ve köklerinin etanol ve aseton ekstrelerinin antimikrobiyal etkisi agar difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmada kök ekstrelerinin toprak üstü ekstrelerine göre daha etkili olduğu ve özellikle

Staphylococcus aureus üzerine etkili olduğu belirtilmiştir.[60] Bizim çalışmamızda toprak üstü kısmının farklı ekstreleri ve izole edilen LME1, LME2 saf maddeleri çalışılmış, diklorometan ekstresi, metanol ekstresi ve LME1'in *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili olduğu gözlenmiştir. Çalışılan diğer ekstrelerin ve LME2'nin bu bakteriye etkili olmadığı gözlemlenmiştir. Literatürde farklı *Limonium* türlerinin antimikrobiyal aktiviteleride kayıtlıdır. Yapılan bir çalışmada *L. brasiliense* türünün rizomunun farklı fraksiyonları çalışılmış, *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae* üzerinde etkin olduğunu gösterilmiştir.[28] *L. effusum, L. lilacinum* ve *L. globuliferum* türlerinin kurutulmuş toz edilmiş köklerinin diklorometan, metanol, distile su ve petrol eteri ekstrelerinin *Escherichia coli, Enterecoccus fecalis, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris, Micrococcus luteus, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa* türleri üzerinde antibakteriyel aktivitesinin disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada maksimum antibakteriyel aktivite metanol ekstresinde gözlenmiştir. Çalışılan üç türün metanol ekstreleri *Escherichia coli* dışındaki bakterilere karşı etki göstermiştir. Buna karşı bu türlerin petrol eteri, diklorometan ve su ekstrelerinin antibakteriyel etkileri zayıf kalmıştır.[29] Bizim çalışmalarımızda da benzer olarak su ekstresi etkisiz bulunmuş ve etil asetat ekstresi dışındaki ekstreler *Escherichia coli*'ye karşı etki göstermemiştir.

Bu çalışmada LME1 bileşiğinin *Staphylococcus aureus*'a etki ettiği, diğer bakterilere etki etmediği gözlemlenmiştir. Daha önce yapılan bir çalışmada *Launaea resedifolia*'dan elde edilen apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit'in *Escherichia coli, Staphylococcus aureous, Staphylococcus blanc, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Klebsiella oxytoca, Klebsiella pneumonia, Morganella morgani, Enterobacter sp., Streptococcus sp., Seratia sp.* üzerine etkisi disk difüzyon yöntemi ile araştırılmış, tüm

mikroorganizmalara orta düzeyde zon oluşturduğu ve artan dozda etkinin arttığı belirtilmiştir.[76]

Bu çalışmada LME2 bileşiğinin *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* üzerine etkili olduğu fakat denenen diğer bakterilere etki etmediği gözlemlenmiştir. Daha önce yapılan bir çalışmada ise *Croton menyharthii*'den elde edilen mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit bileşiğinin bizimkine benzer olarak *Escherichia coli* üzeride etkili olduğu, bizim çalışmamızdan farklı olarak ise *Klebsiella pneumonia* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir.[77]

Tirozinaz, farklı organizmalarda yaygın olarak bulunan ve melanogenez ve enzimatik esmerleşmede önemli rol oynayan bakır içerikli bir enzimdir. Bu nedenle tirozinaz inhibitörleri kozmetik, tıp, gıda ve tarım endüstrilerinde esmerleşme önleyici bileşikler olarak kıllanılmaktadır. Bu amaçla bugüne kadar farklı tarama yöntemleri ile birçok doğal, yarı sentetik ve sentetik inhibitör geliştirilmeye çalışılmaktadır.[78] Bu çalışmada *L. meyer*i'nin tirozinaz enzim inhibisyonu çalışmaları gerçekleştirilmiş, tüm ekstrelerde doza bağlı olarak aktivitede artış gözlenmiştir. 400 µg/ml'lık dozda ana ekstre olan metanol ekstresi %62.0, alt fraksiyonlardan etil asetat ekstresi %57.6, su ekstresi %46.5, diklorometan ekstresi %30.6, *n*-hekzan ekstresi %7.5 tirozinaz inhibitör etki göstermiştir. Ayrıca kojik asit (12.4 ± 0.4 µg/ml) ile kıyaslandığında saf olarak elde edilen apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit'in IC_{50} değeri 43.0 ± 0.9 µg/ml iken, mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit'in 27.7 ± 0.6 µg/ml olduğu gözlenmiştir. Daha önce farklı *Limonium* türleri üzerinde tirozinaz enzim inhibitörü çalışmaları yapıldığı kayıtlıdır. *L. tetragonum*'un çeşitli fraksiyonlarının tirozinaz enzim inhibisyon aktiviteleri çalışılmış, %85'lik sulu metanol ekstresi ve *n*-butanol ekstresinin aktivitesi yüksek çıkmıştır. Bu fraksiyonlardan izole edilen mirisetin 3-galaktozit (%65) ve kersetin 3-*O*-*β*-galaktopironozit (%63) bileşiklerinin kojik aside kıyaslandığında etkili olduğu belirtilmiştir.[38] *L. delicatulum*

yaprak ve köklerinin tirozinaz inhibitör etkileri çalışılmış, kök metanol ekstresi en oldukça yüksek olmakla birlikte her iki kısmın metanol ekstresi etkili bulunmuştur.[63] Bizim çalışmamızda benzer olarak ana metanol ekstresi en yüksek etkiyi göstermiştir. İkinci olarak da alt fraksiyonlardan etil asetat ekstresi etkili bulunmuştur. Etil asetat ekstresinden izole edilen apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit ve mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit'inde etkili olduğu gözlenmiştir. Fenolik bileşiklerin ve flavonoidlerin tirozinaz ve melanin sentezinin inhibisyonunda etkili olduğu bilinmektedir.[78] Metanol ve etil asetat gibi fraksiyonların fenolik bileşik ve flavonoidler bakımından daha zengin olması aktivitelerinin daha yüksek çıkmasına sebep olabilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

L. meyeri türünün toprak üstü kısmının etil asetat ekstresinden mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit ve apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit elde edilmiştir. Bu bileşiklerden mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit'in *Limonium* türlerinde oldukça yaygın olduğu, apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit'e ise çok rastlanmadığı gözlemlenmiştir.

Alt fraksiyonlardan etil asetat ekstesinin tirozinaz yüzde inhibitör etkisi *n*-hekzan, diklorometan ve sudan yüksek çıkmıştır. Bu ekstreden elde edilen mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit ve apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit bileşiklerinin etkisinin de bilinen iyi bir tirozinaz enzim inhibitörü olan kojik asitle kıyaslandığında anlamlı olduğu gözlenmiştir. Hem ana metanol ekstresi hem de etil asetat ekstresinde gözlenen tirozinaz enzim inhibitör etkisi bu bileşikler veya bu bileşiklerin bitkide bulunan başka bileşiklerle olan sinerjik etkisiden dolayı olabileceği düşünülmektedir.

n-Hekzan ekstresinin *Proteus mirabilis* ve *Enterococcus faecalis*, diklorometan ekstresinin *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*, etil asetat ekstresinin *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Enterococcus faecalis*, metanol ekstresinin *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis* üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. Su ekstresinin çalışılan hiçbir bakteri üzerinde etkili olmadığı gözlenmiştir. *n*-Hekzan ekstresinin özellikle *Enterococcus faecalis* üzerinde oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca etil asetat fraksiyonundan elde edilen apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit'in *Staphylococcus aureus*, mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit'in *Escherichia coli, Enterococcus faecalis* üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir.

Bitkinin çeşitli ekstrelerinin farklı bakteriler üzerinde etkili olduğu, saf olarak elde edilen mirisetin 3-*O*-*α*-ramnozit ve apigenin-7-*O*-*β*-glukuronit'in antitirozinaz ajan olarak alternatif olabileceği düşünülmektedir. Bu bitki ve izole edilen bileşikler üzerinde ileriki dönemde daha ayrıntı çalışmalar yapılması faydalı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M. *Farmasötik Botanik*, 3. Baskı. Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi, 2007:1.
2. Sakar MK, Tanker M. *Fitokimyasal Analizler*, 1. Baskı. Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi, 1991:1.
3. Silva NCC, Fernandes JA. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 2010, 16(3): 402-413.
4. Abbasoğlu U. Antimikrobial Aktivite Araştırma Yöntemleri. *FABAD J. Pharm. Sci.* 1996, 22:111-118.
5. Parvez S, Kang M, Hwan-Suck C, Hyunsu B. Naturally occurring tyrosinase inhibitors: Mechanism and applications in skin health, cosmetics and agriculture industries. *Phytotherapy Research*, 2007, 21:805-816.
6. Kim YJ, Uyama H. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective or the future. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2005, 62:1707-1723.
7. Kandil FE, Ahmed KM, Hussieny HA, Soliman AM. A new flavonoid from Limonium axillare. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem*. 2000, 333:275–277.
8. Temel M, Ünver MC. Endemik *Limonium lilacinum* (Boiss. Et Bal.) Wagenitz (Plumbaginaceae)'un çimlenme özellikleri, *AKU J. Sci.* 2012, 011006:49-52.
9. Lin LC, Kuo YC, Chou CJ. Anti-herpes simplex virus type-1 flavonoids and a new flavanone from the root of *Limonium sinense*. *Planta Med*, 2000, 66(4):333-336.
10. Simpson M. *Plant Systematics*, 2th ed. Amsterdam, Academic Pres, 2010:275-448.

11. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi. Kardikenigiller. https://www.bizimbitkiler.org.tr/v2/hiyerarsi.php?f=Plumbaginaceae.30.05.2022
12. Kubitzki K. Vasküler Bitkilerin Aileleri ve Cinsleri. İçinde: Kubitzki K, Rohwer JG, Bittrich V (editörler). *Çiçekli Bitkiler Dikotiledonlar,* 1. Baskı. Berlin, Springer, 1993:523-530.
13. Peng TH, Kamelin RV. Plumbaginaceae. In: Wu ZY, Raven PH (eds). *Flora of China,*1th ed. Beijing, Science Press and St. Louis, Missouri Botanical Garden Press, 1996:190-204.
14. Davis PH, Mill RR, Tan K. Limonium Miller In: Davis PH, Mill RR, Tan K (eds). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Supplement,* 7th ed. Edinburgh, Edinburgh Univ. Press, 1982:465-477.
15. Erdal J. A numerical taxonomic study on the family Plumbaginaceae in Turkey. Biyoloji Bölümü. Yüksek Lisans, Ankara: Ortadoğu Teknik Üniversitesi, 2015.
16. Lledó MD, Crespo MB, Cameron KM, Fay MF, Chase MW. Systematics of Plumbaginaceae based on cladistic analysis of rbcL sequence data. *Systematic Botany*, 1998, 23:21-29.
17. Lledó MD, Karis PO, Crespo MB, Fay MF, Chase MW. Phylogenetic position and taxonomic status of the genus Aegialitis and subfamilies Staticoideae and Plumbaginoideae (Plumbaginaceae): Evidence from plastid DNA sequences and morphology. *Plant Systematics and Evolution*, 2001, 229:107-124.
18. Lledó MD, Crespo MB, Fay MF, Chase MW. Molecular phylogenetics of Limonium and related genera (Plumbaginaceae): Biogeographical and systematic implications. *American Journal of Botany*, 2005, 92:1189-1198.

19. Dhale DA, Markandeya SK, Antimicrobial and phytochemical screening of *Plumbago zeylanica* Linn. (Plumbaginaceae) leaf. *Journal of Experimental Sciences,* 2011, 2(3):04-06.
20. Ross S, El-Sayyad M. Flavonoids from the leaves of *Limonium sinuatum* grown in Egypt. *Planta Medica,* 1980, 39(2):187-189
21. Tang XH, Shen M. Research advancement of the chemical components and pharmacological action for the plants of Limonium Mill. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2007, 18:1874-1876.
22. Channell RB, Wood CE. Güneydoğu Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Plumbaginaceae cinsi. *Arnold Arboretum Dergisi*, 1959, 40(4):391-397.
23. Koutroumpa K, Theodoridis S, Warren BH, Jiménez A, Celep F, Doğan M, Romeiras MM, Guerra AS, Palacios JMF, Castells JC, Moura M, Sequeira MM, Conti E. An expanded molecular phylogeny of Plumbaginaceae, with emphasis on Limonium (sea lavenders): Taxonomic implications and biogeographic considerations. *Ecology and Evolution*, 2018, 8:12397-12424.
24. Haloob A. A new record for the flora of Iraq: *Limonium meyeri*, Plumbaginaceae. *Indian Journal of Plant Sciences*, 2016, 5:8-10.
25. Dizamatova A, Zhumanova K, Zhusupova GE, Zhussupova AI, Srivedavyasasri R, Ibrahim MA, Ross SA. A new prenylated isoflavonoid from *Limonium leptophyllum*. *SAGE Publishing*, 2019, 14(5):1-5.
26. Eren Y, Özata A, Konuk M, Akyil D, Liman R. A mutagenicity and cytotoxicity study on *Limonium effusum* aqueous extracts by allium, ames and MTT tests. *Allerton Press*, 2015, 49:125-133.
27. Zhenfa X, Liang Z. *Limonium sinense* in mice with hemorrhagic anemia, *Limonium sinense* main component analysis. *J. Shantou. Univ.* 1991,6:78-83.

28. Blainski A, Gionco B, Oliveira AG, Andrade G, Scarminio IS, Silva DB, Lopes NP, Mello JCP. Antibacterial activity of *Limonium brasiliense* (Baicuru) against multidrug-resistant bacteria using a statistical mixture design. *Journal of Ethnopharmacology,* 2017, 198:313-323.
29. Avaz S. Afyonkarahisar'da doğal olarak yetişen Limonium Mill. türlerinin antimikrobiyal aktiviteler. Institute of Science. Master Thesis, Afyon: Afyon Kocatepe University, 2010.
30. Kapidia GJ, Paul BD, Chung EB, Ghosh B, Pradhan SN. Carcinogenicity of Camellia sinensis (tea) and some tannin-containing folk medicinal herbs administered subcutaneously in rats. *J. Nat. Canc. Inst.*1976, 57:207-209.
31. Mahasneh AM. Screening of some indigenous qatari medicinal plants for antimicrobial activity. *Phytother. Res.* 2002, 16:751-753.
32. Lin LC, Chou CJ. Flavonoids and phenolics from Limonium sinense. *Planta Med*, 2000, 66:382-383.
33. Sakagami Y, Murata H, Nakanishi T, Inatomi Y, Watabe K, Iinuma M, Tanaka T, Murata J, Lang FA. Inhibitory effect of plant extracts on production of verotoxin by entero hemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. J. *Health Sci.* 2001, 47:473-477.
34. Gadetskaya AV, Mohamed SM, Tarawneh AH, Mohamed NM, Ma G, Ponomarev BN, Zhusupova GE, Cantrell CL, Cutler SJ, Ross SA. Phytochemical characterization and biological activity of secondary metabolites from three Limonium species. *Med Chem Res*, 2017, 26:2743-2750.
35. Xu DP, Zheng J, Zhou Y, Li Y, Li S, Li HB. Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. *Food Chemistry*, 2017, 217:552-559.

36. Kong NN, Fang ST, Wang JH, Wang ZH, Xia CH. Two new flavonoid glycosides from the halophyte *Limonium franchetii*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2014, 16:370-375.
37. Medini F, Fellah H, Ksouri R, Abdelly C. Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. *Journal of Taibah University for Science*, 2014, 8:216-224.
38. Lee SG, Karadeniz F, Seo Y, Kong CS. Anti-melanogenic effects of flavonoid glycosides from *Limonium tetragonum* (Thunb.) Bullock via inhibition of tyrosinase and tyrosinase-related proteins. *Molecules*, 2017, 22:1480.
39. Na HK, Jeong DH, Jung RR, Min HY, Eun JJ. Anti-obesity effect of halophyte crop, *Limonium tetragonum* in high fat diet-induced obese mice and 3T3-L1 adipocytes. *Biol. Pharm. Bull.* 2017, 40:1856-1865.
40. Jung IL, Chang SK, Myoung EJ, Joo WH, Sun YL, Youngwan S. Antioxidant activity of the halophyte *Limonium tetragonum* and its major active components. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2011, 16:992-999.
41. Kim NH, Heo JD, Rho JR, Yang MH, Jeong EJ. The standardized extract of *Limonium tetragonum* alleviates chronic alcoholic liver injury in C57BL/6J mice. *Phcog Mag*, 2018, 14:58-63.
42. Gadetskaya AV, Tarawneh AH, Zhusupova GE, Gemejiyeva NG, Cantrell CL, Cutler SJ, Ross SA. Sulfated phenolic compounds from *Limonium caspium*: Isolation, structural elucidation, and biological evaluation. *Fitoterapia*, 2015, 104:80-85.
43. Nurkenov T, Tsoy A, Olzhayev F, Abzhanova E, Turgambayeva A, Zhussupova A, Avula B, Ross S, Aituarova A, Kassymova D. Plant extract of *Limonium*

gmelinii attenuates oxidative responses in neurons, astrocytes, and cerebral endothelial cells in vitro and improves motor functions of rats after middle cerebral artery occlusion. *Antioxidants,* 2021, 10:1814.

44. Sefi O, Bourgou S, Megdiche-Ksouri W, Libiad M, Khabbach A, El Haissoufi M, Lamchouri F, Krigas N, Ghrabi-Gammar Z. Bioactivities and phenolic composition of *Limonium boitardii* Maire and *L. cercinense* Brullo & Erben (Plumbaginaceae): two Tunisian strict endemic plants. *Int J Environ Health Res.* 2021, 5:1-16.
45. Korul'kina LM, Shul'ts EE, Zhusupova GE, Abilov ZA, Erzhanov KB, Chaudri MI. Biologically active compounds from *Limonium gmelinii* and *L. popovii* I. *Chem Nat Compd,* 2004, 40:465–471.
46. Kozhamkulova ZA, Radwan MM, Zhusupova GE, Abilov ZZ, Rahadilova SN, Ross SA. Gmelinoside I, a new flavonol glycoside from *Limonium gmelinii*. *Natural Product Communications,* 2010, 5:1061-1062.
47. Aniya Y, Miyagi C, Nakandakari A, Kamiya S, Imaizumi N, Ichiba T. Free radical scavenging action of the medicinal herb *Limonium wrightii* from the Okinawa islands. *Phytomedicine,* 2002, 9:239-244.
48. Yang Z, Mo Y, Cheng F, Zhang H, Shang R, Wang X, Liang J, Liu Y, Hao B. Antioxidant effects and potential molecular mechanism of action of *Limonium aureum* extract based on systematic network pharmacology. *Frontiers in Veterinary Science,* 2022, 8:775490.
49. Ye G, Huang C. Flavonoids of *Limonium aureum*. *Chemistry of Natural Compounds,* 2006, 42:232-234.
50. Geng DD, Ch XF, Dong Q, Hu FZ. Antioxidants screening in *Limonium aureum* by optimized on-line HPLC– DPPH assay. *Ind Crop Prod.* 2015, 67:492–497.

51. Murray AP, Rodriguez S, Frontera MA, Tomas MA, Mulet MC. Antioxidant metabolites from *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze. *Zeitschrift fur Naturforschung C*, 2004, 7:477-480.
52. Hamadou MH, Kerkatou M, Gatto P, Pancher M, Bisio A, Inga A, Menad A, Benayache S, Benayache F, Ameddah S. Apigenin rich-*Limonium duriusculum* (de Girard) Kuntze promotes apoptosis in HCT116 cancer cells. *Natural Product Research*, 2021, 35:2910-2914.
53. Chen J, Teng J, Ma L, Tong H, Ren B, Wang L, Li W. Flavonoids isolated from the flowers of *Limonium bicolor* and their in vitro antitumor evaluation. *Pharmacognosy Magazine*, 2017, 13:222-225.
54. Movsumov IS, Garaev EA. Flavonoids from *Limonium meyeri*. *Chemistry of Natural Compounds*, 2005, 41:348.
55. Benmeddour T, Laouer H, Flamini G, Akkal S. Chemical composition of essential oil of *Limonium bonduellei*. *Chemistry of Natural Compounds*, 2018, 54:188-190.
56. Liu Y, Zhang YP, Zhang HX, Yang YS, Su C. Study on the Chemical Composition of Essential Oil from *Limonium aureum* (L.) Hill. *Nat Prod Ra Dev*, 2007, 19:1001-1004.
57. Saïdana D, Mahjoub S, Boussaada O, Chriaa J, Mahjoub MA, Che´raif I, Daami M, Mighri Z, Hela AN. Antibacterial and Antifungal Activities of the Essential Oils of Two Saltcedar Species from Tunisia. *J Am Oil Chem Soc*, 2008, 85:817-826.
58. Bashir AK, Abdalla AA, Wasfi IA, Hassan ES, Amiri MH, Crabb TA. Flavonoids of *Limonium axillare*. *International Journal of Pharmacognosy*, 1994, 32:366-372.

59. Kuo YC, Lin LC, Tsai WJ, Chou CJ, Kung SH, Ho YH. Samarangenin B from *Limonium sinense* suppresses herpes simplex virus type 1 replication in vero cells by regulation of viral macromolecular synthesis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 2002, 46:2854-2864.
60. OI Yurchyshyn, GV Rusko, RV Kutsyk. Antimicrobial effect of south Ukrainian sea lavender *Limonium meyeri* (Boiss.) O. Kuntze and *Limonium hypanicum* Klok. with especial emphasizing against staphylococci and Propionibacteria. *The Pharma Innovation Journal,* 2017; 6:380-384.
61. Medini F, Legault J, Pichette A, Abdelly C, Ksouri R. Antiviral efficacy of *Limonium densiflorum* against HSV-1 and influenza viruses. *South African Journal of Botany,* 2014, 92:65-72.
62. Kim NH, Heo JD, Kim TB, Rho JR, Yang MH, Jeong EJ. Protective effects of ethyl acetate soluble fraction of *Limonium tetragonum* on diethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats. *Biol Pharm Bull,* 2016, 39:1022-1028.
63. Bakhouche I, Aliat T, Boubellouta T, Gali L, Şen A¸ Bellik Y. Phenolic contents and in vitro antioxidant, anti-tyrosinase, and anti-inflammatory effects of leaves and roots extracts of the halophyte *Limonium delicatulum*. *South African Journal of Botany,* 2021, 139:42-49.
64. Tang XH, Yan LF, Gao J, Yang XL, Xu YX, Ge HY, Yang HD. Antitumor and immunomodulatory activity of polysaccharides from the root of *Limonium sinense* Kuntze. *International Journal of Biological Macromolecules,* 2012, 51:1134-1139.
65. Ruiz-Riaguas A, Zengin G, Sinan KI, Salazar-Mendı´as C, Llorent-Martı´nez EJ. Phenolic profile, antioxidant activity, and enzyme inhibitory properties of

Limonium delicatulum (Girard) Kuntze and Limonium quesadense Erben. *Journal of Chemistry*, 2020, Article ID 1016208.

66. Abdel-Sattar E, Shams MM, Abd-Rabo MM, Mahmoud N, Mahrous EA. Chemical and biological investigations of *Limonium axillare* reveal mechanistic evidence for its antidiabetic activity. *PLoS ONE*, 2021, 2021, 16(8): e0255904.
67. Ali NAA, Mothana R, Ghaleb N, Lindequist U. Screening of traditionally used endemic Soqotraen plants for cytotoxic activity. *Afr. J. Trad. Comp. Altern. Med.* 2007, 4:529-531.
68. Li AN, Li S, Li HB, Xu DP, Xu XR, Chen F. (2014). Total phenolic contents and antioxidant capacities of 51 edible and wild flowers. *Journal of Functional Foods*, 2014, 6:319-330.
69. Hamidova L. The Analysis of integration of ethnobotanical data to information system. *International Journal of Open Information Technologies*, 2022, 10:27-35.
70. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-seventh informational supplement. M100-S27, 2017. CLSI, Wayne, Pennsylvania
71. Masuda T, Yamashita D, Takeda Y, Yonemori S. Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2005, 69:197-201.
72. Lin JH, Lin YT, Huang YJ, Wen KC, Chen RM, Ueng TH, Liao CH. Isolation and cytotoxicity of flavonoids from *Daphnis genkwae* Flos. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2001, 9:6-11.

73. Ma Q, Zhang XM, Jiang JG, Zhu W. Apigenin-7-*O*-*β*-D-glucuronide inhibits modified low-density lipoprotein uptake and foam cell formation in macrophages. *Journal of Functional Foods,* 2017, 35:615-621.
74. Hwang IW, Chung SK. Isolation and Identification of myricitrin, an antioxidant flavonoid, from daebong persimmon peel. *Prev Nutr Food Sci.* 2018, 23:341-346.
75. Katlego EM, Abdalla MA, Leonard CM, Eloff JN, McGaw LJ. Inhibitory effect of Newtonia extracts and myricetin-3-*O*-rhamnoside (myricitrin) on bacterial biofilm formation. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 2020, 20:358.
76. Moussaoui F, Zellagui A, Segueni N, Touil A, Rhouati S. Flavonoid constituents from algerian *Launaea resedifolia* (O.K.) and their antimicrobial activity. *Rec. Nat. Prod.* 2010, 4:91-95.
77. Aderogba MA, Ndhlala AR, Rengasamy KRR, Staden JV. Antimicrobial and selected in vitro enzyme inhibitory effects of leaf extracts, flavonols and indole alkaloids isolated from *Croton menyharthii*. *Molecules,* 2013, 18:12633-12644.
78. Zolghadri S, Bahrami A, Hassan Khan MT, Munoz-Munoz J, Garcia-Molina F, Garcia-Canovas F, Saboury AA. A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2019, 34:279-309.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Medeni Hali:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
Faks:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	
Lisans:	
Yüksek lisans:	
Yabancı Dil Bilgisi	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU[1]

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Masum SAMİ
Öğrencinin Numarası	19021002004
Ana Bilim Dalı	**Farmakognozi**
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	**Benzerlik Oranı**	**Maksimum Benzerlik Oranları**
I. Giriş	% 4	% 15
II. Genel Bilgiler	% 10	% 35
III. Materyal ve Metod	% 20	% 35
IV. Bulgular	% 10	% 15
V. Tartışma	% 14	% 20

Not: *Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.*

[1] Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tez Savunması Jüri Öneri Formu'yla birlikte Ana Bilim Dalı Başkanlığı aracılığıyla ÜBYS üzerinden Enstitüye iletilmelidir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Eczacılık Fakültesi Dekanlığı
Birim Etik Kurulu

Sayı : 93722986.12/
Konu: Birim Etik Kurul Kararı **23/11/2020**

Sayın: Dr. Öğr. Üyesi Esen Sezen KARAOĞLAN

İlgi: 13.11.2020 tarih ve 2000278326 sayılı dilekçeniz.

Fakültemiz Birim Etik Kurulunun 23.11.2020 tarihinde almış olduğu 06 numaralı karar ile danışmanı olduğunuz Yüksek Lisans öğrencisi Masum SAMİ'nin "Limonium meyeri (Boiss.) Kuntze Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar" başlıklı çalışma etik kurulumuz tarafından kabul edilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Karar -6- Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Esen Sezen KARAOĞLAN'ın danışmanı olduğu yüksek lisans öğrencisi Masum SAMİ'nin Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında yürüteceği "Limonium meyeri (Boiss.) Kuntze Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili 13.11.2020 tarih ve 2000278326 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; söz konusu çalışmanın yürütülmesinin etik kurallara uygun olduğu mevcut oybirliği ile kabul edilmiştir.

Atatürk Üniversitesi kampusu 25040 Tlf: 0442-231 52 07 Fax: 0442 – 2315201 Elektronik Post: eczfak@atauni.edu.tr ERZURUM

EK-4. DİĞER FORMLAR

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Eczacılık Fakültesi Dekanlığı
Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü Başkanlığı
Farmakognozi Ana Bilim Dalı Başkanlığı

Sayı : 93722986-000-E.2000270947 31.10.2020
Konu : Laboratuvar Kullanım İzni

Sayın Dr.Öğr.Üyesi Esen SEZEN KARAOĞLAN

Yüksek Lisans öğrenciniz Ecz. Masum Sami'nin "Limonium meyeri (Boiss.) Kuntze Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar" başlıklı yüksek lisans tez araştırmaları kapsamında Farmakognozi AD Araştırma laboratuvarında ekstraksiyon, izolasyon, biyolojik aktivite ve anatomik araştırmalarını yapması uygun görülmüştür.

Ana Bilim Dalı Başkanı

Farmakognozi Anabilim Dalı
Tel: +90 442 2315200
Elektronik Ağ: http://www.atauni.edu.tr/#eczacilik-fakultesi

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr