MORİNA PERSİCA L. ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Rıdvan ÖZGEN

Farmakognozi Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Esen SEZEN KARAOĞLAN

Yüksek Lisans Tezi-2023

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

MORİNA PERSİCA L. ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Rıdvan ÖZGEN

Farmakognozi Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Esen SEZEN KARAOĞLAN

ERZURUM
2023

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER ..... **I**

TEŞEKKÜR ..... **IV**

ÖZET ..... **V**

ABSTRACT ..... **VI**

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

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **X**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **XII**

1. GİRİŞ **1**

2. GENEL BİLGİLER **3**

2.1. Botanik Bilgiler 3

2.1.1. Caprifoliaceae Familyası 3

2.1.2. *Morina* L. Cinsi Botanik Özellikleri 3

2.1.3. *Morina persica* L. Türü Botanik Özellikleri 4

2.2. *Morina persica* L. Türünün Yayılışı 5

2.3. *Morina* Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Çalışmalar 7

2.3.1 Flavonoitler 7

2.3.2. Lignanlar 8

2.3.3. Fenil Propanol Türevleri 12

2.3.4. Triterpenler 19

2.3.5. Fenolik asitler 29

2.3.6. Diğerleri 29

2.3.7. Gaz Kromatografisi (GC) ile Belirlenen Bileşikler 30

2.3.8. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC-DAD) ile Belirlenen Bileşikler 31

2.4. *Morina* Türleri Üzerinde Yapılmış Biyolojik ve Farmakolojik Aktivite Çalışmaları 31
2.4.1. Antiartritik Aktivite 31
2.4.2. Antiastmatik Aktivite 32
2.4.3. Antibakteriyel Aktivite 32
2.4.4. Antifungal Aktivite 34
2.4.5. Antioksidan Aktivite 35
2.4.6. Antiprotozoal Aktivite 36
2.4.7. Mutajenik ve Antimutajenik Aktivite 36
2.4.8. Toksisite Çalışmaları 37
2.4.9. Diğer Biyolojik Aktiviteler 37
3. MATERYAL VE METOT 39
3.1. Bitki Materyali 39
3.2. Kimyasal Malzemeler 39
3.3. Kullanılan Aletler ve Cihazlar 40
3.4. Kromatografik Yöntemler 40
3.4.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) 40
3.4.2. Açık Kolon Kromatografisi (KK) 40
3.4.3. Kolon Kromatografisi İçin Numune Tatbiki 41
3.4.4. Solvan Sistemleri 41
3.5. Ekstraksiyon Yöntemi 41
3.6. İzolasyon Çalışmaları ve Yapı Tayini 42
3.7. Antimikrobiyal Etkinliklerin Belirlenmesi 43
3.8. Antioksidan Etkinliklerin Belirlenmesi 44
3.8.1. Total Fenolik Bileşik Miktar Tayini 44

3.8.2. DPPH Radikali Süpürücü Kapasite Tayini 45
3.8.3. $ABTS^{+}$ Radikali Süpürücü Kapasite Tayini 45
3.9. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Tayini 46
4. BULGULAR 47
4.1. İzolasyon Sonuçları 47
4.1.1. Kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit (Astragalin) (MP-1) 47
4.1.2. Kersetin-3-*O*-rutinozit (Rutin) (MP-2) 61
4.2. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları 79
4.3. Antioksidan Aktivite Bulguları 79
4.3.1. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini Bulguları 79
4.3.2. DPPH Radikali Süpürme Çalışmalarına Ait Bulgular 80
4.3.3. $ABTS^{+}$ Radikali Süpürme Çalışmalarına Ait Bulgular 82
4.4. Tirozinaz İnhibitör Aktivite Bulguları 84
5. TARTIŞMA 86
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 95
KAYNAKLAR 97
EKLER 106
EK-1. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU 106
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU 107

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim sürecinde bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, her zaman ilgi ve desteğini gördüğüm ve bu tezin hazırlanmasında çok büyük emeği olan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Esen SEZEN KARAOĞLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmasında antioksidan aktivite çalışmalarına destek olan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Handan Gökben SEVİNDİK'e, antimikrobiyal aktivite çalışmalarına destek olan Sayın Doç. Dr. Hayrunisa HANCI'ya, NMR spektrumlarının alınmasına destek olan Sayın Prof. Dr. Cavit KAZAZ'a, yüksek lisans eğitimime değer katan Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi ve Farmasötik Botanik Ana Bilim Dallarının değerli öğretim üyelerine, TYL-2023-11978 numaralı BAP projesi ile çalışmamızı destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme teşekkür ederim.

Rıdvan ÖZGEN

ÖZET

Morina persica L. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar

Amaç: Bu çalışmada *M. persica* L. bitkisinin toprak üstü kısımlarından saf madde izolasyonu, farklı polaritelerde hazırlanan alt ekstrelerin ve elde edilen saf bileşiklerin antimikrobiyal, antioksidan ve antitirozinaz özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Farklı polaritelerde hazırlanan ekstrelerden kolon kromatografisi yöntemi ile izolasyon çalışması yapılmıştır. 1D-NMR, 2D-NMR ve kütle spektroskopisi yöntemleri kullanılarak elde edilen bileşiklerin yapıları aydınlatılmıştır. Antimikrobiyal aktivite tayininde mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Toplam fenolik içerik, Folin-Ciocalteu yöntemi ile antioksidan kapasite ise DPPH ve ABTS radikali süpürücü kapasite deneyleri ile belirlenmiştir. Antitirozinaz özellikler, Masuda ve arkadaşlarının yöntemi ile araştırılmıştır.

Bulgular: Etil asetat ekstresinden kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit (astragalin) ve su ekstresinden kersetin-3-*O*-rutinozit (rutin) izole edilmiştir. Metanol ekstresi, *Escherichia coli* (MİK: 4 µg/mL); *n*-hekzan ekstresi, *Staphylococcus aureus* (MİK: 1 µg/mL); diklorometan ekstresi, *Klebsiella pneumoniae* (MİK: 16 µg/mL) ve *Staphylococcus aureus* (MİK: 1 µg/mL); kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit, *Staphylococcus aureus* (MİK: 1 µg/mL) ve kersetin-3-*O*-rutinozit, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* (MİK: 1 µg/mL) üzerinde daha güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir. En yüksek fenolik içerik etil asetat ekstresinde (169.24 ± 0.229 µg GAE/mg) tespit edilmiştir. Ekstreler içerisinde 50 µg/mL konsantrasyonda en yüksek DPPH ve ABTS radikali süpürme aktivitesini etil asetat ekstresi (%38.80 ± 0.136 ve %98.92 ± 0.341) gösterirken, saf maddelerden kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit de yüksek ABTS radikali süpürme aktivitesi (%93.10 ± 0.152) göstermiştir. 200 µg/mL konsantrasyonda en yüksek antitirozinaz etkiyi ise metanol ekstresi (%57.14) göstermiştir.

Sonuç: Bitki antimikrobiyal, antioksidan ve antitirozinaz aktivite bakımından değerlendirilmiştir. Kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit ve kersetin-3-*O*-rutinozit saf olarak elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, antioksidan, antirozinaz, izolasyon, *Morina persica* L.

ABSTRACT

Pharmacognostic Studies on *Morina persica* L.

Aim: The aim of this study was to isolate pure substances from the aerial parts of *M. persica* L. and to investigate the antimicrobial, antioxidant and antityrosinase properties of the extracts prepared at different polarities and the pure compounds obtained.

Material and method: Isolation studies were carried out by column chromatography method from the extracts prepared at different polarities. 1D-NMR, 2D-NMR and mass spectroscopy methods were used to elucidate the structures of the compounds obtained. The microdilution method was used for antimicrobial activity determination. Total phenolic content was determined by Folin-Ciocalteu method and antioxidant capacity was determined by DPPH and ABTS radical scavenging capacity assays. Antityrosinase properties were investigated by the method of Masuda et al.

Results: Kaempferol-3-*O*-*β*-glucopyranoside (astragalin) was isolated from the ethyl acetate extract and quercetin-3-*O*-rutinoside (rutin) from the water extract. Methanol extract, *Escherichia coli* (MIC: 4 µg/mL); *n*-hexane extract, *Staphylococcus aureus* (MIC: 1 µg/mL); dichloromethane extract, *Klebsiella pneumoniae* (MIC: 16 µg/mL) and *Staphylococcus aureus* (MIC: 1 µg/mL); kaempferol-3-*O*-*β*-glucopyranoside, *Staphylococcus aureus* (MIC: 1 µg/mL) and quercetin-3-*O*-rutinoside, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* (MIC: 1 µg/mL) showed stronger antimicrobial activity. The highest phenolic content was found in ethyl acetate extract (169.24 ± 0.229 µg GAE/mg). Ethyl acetate extract showed the highest DPPH and ABTS radical scavenging activity (38.80 ± 0.136% and 98.92 ± 0.341%) at a concentration of 50 µg/ml, while kaempferol-3-*O*-*β*-glucopyranoside, one of the pure substances, showed high ABTS radical scavenging activity (93.10 ± 0.152%). At 200 µg/mL concentration, the methanol extract showed the highest antityrosinase effect (57.14%).

Conclusion: The plant was evaluated for antimicrobial, antioxidant and antityrosinase activity. Kaempferol-3-*O*-*β*-glucopyranoside and quercetin-3-*O*-rutinoside were obtained in pure form.

Key Words: Antimicrobial, antioxidant, antityrosinase, isolation, *Morina persica* L.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	**:**	2,2'-azino-bis(3-etilbenztiyazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu
Ara	**:**	Arabinoz
CD_3OD	**:**	Dötero metanol
CFU	**:**	Koloni oluşturan birim
d	**:**	Dublet
DMSO	**:**	Dimetil sülfoksit
DPPH	**:**	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
FCR	**:**	Folin-Ciocalteu Fenol Reaktifi
Fr.		Fraksiyon
g	**:**	Gram
GAE	**:**	Gallik asit eşdeğeri
Gal	**:**	Galaktoz
Glu	**:**	Glukoz
GC-FİD	**:**	Gaz kromatografisi-alev iyonlaşma dedektörü
GC-MS	**:**	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
HMBC	**:**	Heteronükleer çoklu bağ korelasyonu
HMQC	**:**	Heteronükleer çoklu kuantum korelasyonu
Hz	**:**	Hertz
IC_{50}	**:**	Yarım maksimum inhibitör konsantrasyonu
İTK	**:**	İnce tabaka kromatografisi
J	**:**	Etkileşme sabiti
Kaf	**:**	Kafeoil
Ksi	**:**	Ksiloz

L-DOPA	**:**	3,4-dihidroksil-L-fenilalanin
M_A	**:**	Molekül kütlesi
mg	**:**	Miligram
Mhz	**:**	Megahertz
mm	**:**	Milimetre
mM	**:**	Milimolar
mmol	**:**	Milimol
mL	**:**	Mililitre
m/z	**:**	Kütle/yük
nm	**:**	Nanometre
ppm	**:**	Milyonda bir birim
Q-TOF-MS	**:**	Kuadrupol uçuş zamanlı kütle spektroskopisi
R	**:**	Korelasyon katsayısı
R_f	**:**	Alıkonma faktörü
rpm	**:**	Bir dakidaki devir sayısı
s	**:**	Singlet
UV	**:**	Ultra viyole
µg	**:**	Mikrogram
µL	**:**	Mikrolitre
µmol	**:**	Mikromol
µM	**:**	Mikromolar
°C	**:**	Santigrat derece
^{1}H-NMR	**:**	Proton nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
^{13}C-NMR	**:**	Karbon-13 nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
1D-NMR	**:**	Tek boyutlu nükleer manyetik rezonans spektroskopisi

2D-NMR	**:**	İki boyutlu nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
δ	**:**	Kimyasal kayma değeri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No **Sayfa No**

Şekil 4.1. Kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit'in (astragalin) molekül yapısı 47

Şekil 4.2. MP-1'in ^{1}H-NMR (100 Mhz, DMSO, d_6) spektrumu 50

Şekil 4.3. MP-1'in ^{13}C-NMR (100 Mhz, DMSO, d_6) spektrumu 51

Şekil 4.4. MP-1'in ^{13}C-NMR (100 Mhz, DMSO, d_6) spektrumu 52

Şekil 4.5. MP-1'in ^{13}C-NMR (100 Mhz, DMSO, d_6) spektrumu 53

Şekil 4.6. MP-1'in HMQC spektrumu 54

Şekil 4.7. MP-1'in HMQC spektrumu 55

Şekil 4.8. MP-1'in HMBC spektrumu 56

Şekil 4.9. MP-1'in HMBC spektrumu 57

Şekil 4.10. MP-1'in HMBC spektrumu 58

Şekil 4.11. MP-1'in HMBC spektrumu 59

Şekil 4.12. MP-1'in Q-TOF-MS spektrumu 60

Şekil 4.13. Kersetin-3-*O*-rutinozit'in (rutin) (MP-2) molekül yapısı 61

Şekil 4.14. MP-2'nin ^{1}H-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu 65

Şekil 4.15. MP-2'nin ^{1}H-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu 66

Şekil 4.16. MP-2'nin ^{1}H-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu 67

Şekil 4.17. MP-2'nin ^{13}C-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu 68

Şekil 4.18. MP-2'nin ^{13}C-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu 69

Şekil 4.19. MP-2'nin ^{13}C-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu 70

Şekil 4.20. MP-2'nin ^{13}C-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu 71

Şekil 4.21. MP-2'nin HMQC spektrumu 72

Şekil 4.22. MP-2'nin HMQC spektrumu 73

Şekil 4.23. MP-2'nin HMQC spektrumu 74

Şekil 4.24. MP-2'nin HMBC spektrumu 75

Şekil 4.25. MP-2'nin HMBC spektrumu 76

Şekil 4.26. MP-2'nin HMBC spektrumu 77

Şekil 4.27. MP-2'nin Q-TOF-MS spektrumu 78

Şekil 4.28. Gallik asit standart grafiği 80

Şekil 4.29. Troloksun konsantrasyon-% inhibisyon grafiği 81

Şekil 4.30. Ekstrelerin, saf maddelerin ve troloksun DPPH radikali süpürücü kapasitesi % inhibisyon grafiği 82

Şekil 4.31. Troloksun konsantrasyon-% inhibisyon grafiği 82

Şekil 4.32. Ekstrelerin, saf maddelerin ve troloksun ABTS katyon radikali süpürme kapasitesi % inhibisyon grafiği 83

Şekil 4.33. Ekstrelerin ve kojik asitin tirozinaz enzimi % inhibisyon grafiği 84

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No **Sayfa No**

Tablo 2.1. *Morina* türlerinden izole edilen flavonoit yapısındaki bileşikler 7

Tablo 2.2. *Morina* türlerinden izole edilen lignan yapısındaki bileşikler 8

Tablo 2.3. *Morina* türlerinden izole edilen fenil propanol yapısındaki bileşikler 12

Tablo 2.4. *Morina* türlerinden izole edilen triterpen yapısındaki bileşikler 19

Tablo 2.5. *Morina* türlerinden izole edilen fenolik asit yapısındaki bileşikler 29

Tablo 2.6. *Morina* türlerinden izole edilen diğer bileşikler 29

Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal malzemeler 39

Tablo 3.2. Kromatografik analizlerde kullanılan solvan sistemleri 41

Tablo 4.1. Kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit'in (astragalin) (MP-1) ^{13}C-NMR ve ^{1}H-NMR spektrum değerleri 49

Tablo 4.2. Kersetin-3-*O*-rutinozit'in (rutin) (MP-2) ^{13}C-NMR ve ^{1}H-NMR spektrum değerleri 63

Tablo 4.3. Ekstre ve saf maddelerin antimikrobiyal etkileri 79

Tablo 4.4. Ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarları 80

Tablo 4.5. Ekstrelerin, saf maddelerin ve troloksun DPPH radikali süpürücü kapasitesi % inhibisyon değerleri 81

Tablo 4.6. Ekstrelerin, saf maddelerin ve troloksun ABTS katyon radikali süpürme kapasitesi % inhibisyon değerleri 83

Tablo 4.7. Ekstrelerin ve kojik asitin tirozinaz enzimi % inhibisyon değerleri 84

Tablo 4.8. Saf maddelerin ve kojik asitin tirozinaz enzim inhibisyonu IC_{50} değerleri .. 85

1. GİRİŞ

İnsanlar antik çağlardan günümüze 2500 yılı aşkın süredir şifa bulmak için bitkilerden yararlanmıştır. 18. yüzyıldan itibaren bitkilerle tedavi yerini yavaş yavaş sentetik veya yarı sentetik ilaçlara bırakmıştır. Sentetik veya yarı sentetik ilaçların yan etkilerinin binlerce yıldır deneyimlenen bitkiler kadar iyi bilinmemesi insanların büyük bir çoğunluğunun hala hastalıkların tedavisinde öncelikle bitkileri kullanmasına neden olmuştur. Bununla birlikte bitkilerle tedavide dozlama sorunları veya uygun farmasötik formu kullanamama gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır (Schulz ve ark., 2004).

İlacı uygun doz ve farmasötik formda hastalara sunmaya imkân tanıyan, istenmeyen özellikleri elimine edilip, istenen özellikleri geliştirilmiş bileşikler elde etmek için bilim insanları bitkilerden elde edilen ekstrelerin çeşitli biyolojik aktivitelerini incelemeye ve etkili bulunan fraksiyonlardaki etkiden sorumlu bileşikleri saf olarak izole etmeye yönelmiştir. Sıklıkla ekstreler ve elde edilen saf bileşikler antimikrobiyal, antioksidan ve tirozinaz enzim inhibitörü aktiviteleri gibi birçok yönden araştırılmaktadır (Harput, 2011; Schulz ve ark., 2004).

Antimikrobiyaller mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyon hastalıklarına karşı kullanılır. Mikroorganizmaların sürekli daha dirençli hale gelmesi ve bazen de hastaya bağlı durumlar sebebiyle enfeksiyon hastalıklarına karşı kullanılmak üzere devamlı olarak yeni ve etkili antimikrobiyaller araştırılmaktadır (Abbasoğlu, 1996).

Serbest radikaller insanlarda diyabet, kanser, alzaymır ve parkinson gibi birçok hastalığa neden olmaktadır. Ayrıca gıdaların bozulmasını hızlandırırlar. Antioksidanlar serbest radikallerin sebep olduğu bu sorunları azaltan veya engelleyen maddelerdir (Halliwell & Gutteridge, 2015).

Tirozinaz enzimi insan ve hayvanlarda melanizasyondan sorumludur. Ayrıca gıdalarda esmerleşmeye neden olur. Bu nedenle tirozinaz enzim inhibitörleri gıda ve kozmetik endüstrisinin dikkatini çekmektedir (Masuda ve ark., 2005).

Morina cinsi geçmişte araştırmacılar tarafından Valerianaceae, Dipsacaceae veya Morinaceae familyalarında konumlandırılmıştır (Cannon & Cannon, 1984). Şimdilerde ise APG III (The Angiosperm Phylogeny Group) sisteminde Caprifoliaceae familyasına dahil edilmiştir (Bremer ve ark., 2009).

Otsu veya çalı şeklinde; tek veya çok yıllık bitkilerden oluşan Caprifoliaceae familyası 35 cins ve yaklaşık 1500 türden oluşmaktadır (Davis, 1972; http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-7000000112, 2023). Türkiye'de 12 cins ve 56'sı endemik olmak üzere 191 tür ile temsil edilmektedir (Güner ve ark., 2012).

Caprifoliaceae familyasına ait *Morina* cinsinin yeryüzünde 15 türü bulunmaktadır (http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000024848, 2023). Türkiye'de ikisi endemik olmak üzere 4 taksonla temsil edilmektedir (Güner ve ark., 2012).

Yapılan literatür çalışmasında *Morina persica* L. üzerinde birkaç uçucu yağ ve az sayıda biyolojik aktivite çalışması olduğu görülmüştür. Tarafımızca yapılan literatür taramasında gözlemlediğimiz kadarıyla tür üzerinde bitkide bulunan maddelerin izolasyonu ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda *Morina persica* L. bitkisi toprak üstü kısımlarından bileşiklerin izole edilip, yapılarının tayin edilmesi; hazırlanan ekstre ve elde edilen saf bileşiklerin antioksidan, antibakteriyel ve tirozinaz enzim inhibitörü aktivitelerinin *in vitro* olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Caprifoliaceae Familyası

Caprifoliaceae familyası uzun ile orta boy çalılar veya sarmaşıklar, nadiren cüce çalılar veya çok yıllık otsu bitkilerden oluşmaktadır. Yapraklar çoğunlukla düşücü, karşılıklı, nadiren çevrel dizilişlidir. Yaprak laminalarının kenarları girintili veya derin lopludur. Yaprak kenarları tam, nadiren serrat veya dentattır. Normal stipullar yoktur. Nadiren karşılıklı yaprakların tabanları, nodyumlar boyunca çeşitli şekillerde stipul benzeri yapılar içerir. Çiçek durumu dallanmış, çoğunlukla terminal çiçeği olmayan veya basitleştirilmiş bir spika, rasem veya kapitulumdur. Hepsi veya sadece alt simler genellikle yaprakların koltuklarındadır. Çiçekler gösterişli, aktinomorf, zigomorf veya haplostemondur. Bazen ovaryum tabanında fazladan brakteler bulunur. Kaliks 4 veya 5 parçalıdır. Korolla 4 veya 5 parça, gamopetal, huni şeklinde veya kampanulat, bazen iki dudaklı ve imbrikattır. Nektaryum genellikle eksen dışı petalin tabanındaki korolla tüpünde 1 veya nadiren 3-5 tanedir. Stamenler eşit uzunlukta 4 veya 5 tane ve didinamdır. İç yüzden açılan anterler korolla tüpüne bağlıdır. Stilus basit, uzamış ve ince; stigma kapitat, diskoit veya lobludur. Ovaryum alt durumlu, 2 veya 8 karpelli, tümü veya yalnızca 1-3 tanesi verimlidir. Ovüllerin ovaryumdaki diziliş şekli genellikle eksene aittir, nadiren birkaç ovül ovaryumun eksenden uzak olan serbest bölmesine yerleşmiştir. Meyve çok tohumlu septisit kapsül veya bakka, 2-4 çekirdekli drupa veya 1-2 tohumlu akendir. Endosperm boldur (Hofmann & Bittrich, 2016; Yang ve ark., 2011).

2.1.2. *Morina* L. Cinsi Botanik Özellikleri

Morina L. cinsi genellikle önceki yıldan kalan yaprak tabanları ile çevrilmiş çok yıllık odunsu rizomlu bitkilerden oluşur. Yapraklar linear ile oblong-lanseolat şeklinde, dikenli, çevrel dizilişli veya karşılıklıdır. Petiyoller genellikle gevşek kın şeklinde

kaynaşmıştır. Çiçek durumu vertisillaster, çiçekler sapsız veya kısa saplıdır. Brakteler serbest, boyut olarak değişken ve genellikle en azından tabanda dikenlidir. İnvolusel silindirik veya kampanulat şeklinde, 8-16 dişli, 2'si diğerlerinden belirgin şekilde daha uzundur. Kaliks tüpü meyilli, kampanulat, laminası 2 dudaklı, dudaklar 2 ile 3 loplu veya emarginattır. Korolla tüpü uzamış, laminası yayık, 2 dudaklı, üst dudak 2 loblu, alt dudak 3 lobludur. Verimli stamenleri 2 tane ve korollanın boğazına bitişik; verimsiz stamenler 2 tane, kordat ve korolla tüpü içinde yerleşmiştir. Nektaryum 1 tane, 3 loblu, anterior ve korolla tüpünün tabanındadır. Genellikle stilus stamenlerden uzundur. Stigma tabla şeklinde veya hafif kubbemsidir. Ovaryum alt durumlu ve tek gözlüdür. Ovül tek ve sarkıktır. Akenler rugos, biraz veya belirgin şekilde trunkattır (Cannon & Cannon, 1984; Hong & Barrie, 2011).

2.1.3. *Morina persica* L. Türü Botanik Özellikleri

Genellikle büyük steril rozet kümeleri ve çiçekli sürgünler oluşturan kuvvetli-gür bitkilerdir. Rizom odunsudur ve üst kısmı genellikle eski yaprakların lifli kalıntılarıyla kaplıdır. Steril sürgünlerin yaprakları ve alt gövde yaprakları 25×2 cm kadar, her halkada 3 veya 4 tane, tüysüz, hemen hemen linear, oldukça düzenli 2-5 lobludur. Petiyoller geniş tabanlı ve birleşiktir, 2-3 mm'lik kısa kılıflar oluşturur. Üst gövde yaprakları, alt yapraklara benzer ve daha küçüktür, ancak petiyoller nadiren birleşir. Çiçekli gövdeler 1.25 m'ye kadar dik olarak yükselmiştir. Gövde yoğun ince uzun yumuşak tüylü ve glandular, üstte kare gövdeli, altta silindirik veya biraz kabarık ve daha az tüylüdür. Çiçekler sapsız veya kısa saplı, her halkada 50'ye kadar veya daha fazla sayıda; 8'e kadar (nadiren daha fazla) halkaya sahiptir. Bazen üst yaprakların koltuklarında küçük çiçekli sürgünler bulunur. Halkalar genellikle birbirinden iyi ayrılmıştır, en üstteki bazen birleşir. Brakteler çok değişken, genellikle kaliks halkalarının iki katı uzunlukta, linear ve akuminat tipte, yavaş yavaş daralan uzun bir diken veya kısa dikenli akut bir tepe ile

genişçe ovattır. Hemen hemen tüysüz, yoğun ince uzun yumuşak tüylü ve glandular, dikenli veya sinuat-dentat olabilir. Alt halkaların brakteleri serbest veya tabanda hafifçe örtüşür, üst brakteler serbest veya çok nadiren birleşiktir. İnvolusel silindirik kampanulat, tüp 7-10×3.5-5 mm, yoğun ince uzun yumuşak tüylü ve sapsız salgı tüylü ve saplı salgı tüylüden neredeyse tüysüze kadar; dişler (8-) 10-14 (-16) değişen uzunluklarda, ikisi genellikle diğerlerinden çok daha uzun, genellikle 14 mm, en uzun 2 diş geniş tabanlı, bitki çiçekli iken laminat, olgunlukta ise içe doğru kıvrılmış ve serttir. Kaliks neredeyse tüysüz veya dış kısmı çok kısa yumuşak tüylüdür ve tabanda uzun beyaz tüy kümesi bulunur. Tüp geniş, 3-5 mm uzunluğunda, dudaklar genellikle tüpten çok daha uzun, tepe obtus, trunkat veya az derin emarginattır. Korolla beyaz, pembe veya kırmızı olabilir. Tüp çok uzun ve dar, 35-45 mm, basit veya değil ve salgı tüylü, boğazı biraz şişkin; aya ± 2 dudaklı, üst dudak 2 loblu, alt dudak 3 loblu ve loblar genelde 12×6 mm'dir. Verimli stamenler 2 tane, filamentler 9 mm veya daha uzun, tüpün tepesine yerleştirilmiş ve anter lobları hemen hemen eşittir. Verimsiz stamenler çok küçük, kalp şeklinde ve ön dudağın altındaki korolla ağzının 4-5 mm altından çıkar. Nektaryum 1 tane, 3 loblu ve korolla tüpü tabanının önündedir. Stilus stamenlerden daha uzundur. Stigma tabla şeklindedir. Akenler rugos, eksene bakan yüz neredeyse dışbükey, biraz uzunlamasına oluklu, eksenden uzak olan taraf oluklu, enine rugos ve tepe trunkattır (Cannon & Cannon, 1984).

2.2. *Morina persica* L. Türünün Yayılışı

Ağırlıklı olarak güney doğusu hariç İç Anadolu'da yaygındır. **A1(A)** Tekirdağ: Tekirdağ, 20 *vi* 1890, *Degen.* **A4** Kastamonu: Kastamonu, *T. Baytop* 14198 **A6** Tokat: Erbaa, 300 m, *Tobey* 682 **A7** Gümüşhane: *Stavri,* 2150 m, *Balls* 514 **A8** Erzurum: Tortum'dan Oltu'ya 26 km, geçidin batı tarafında, 2200 m, *D.* 47477 **B1** Balıkesir: Kaz Dağları, *Sint* 1883:439 **B2** Kütahya: Emet'ten Gediz'e, 1150 m, *D.* 36591 **B3** Afyon: 27 km güneyi, 1100 m, *Coode & Jones* 2323 **B4** Ankara: Dikmen Deresi, *Romieux*. **B6** Sivas:

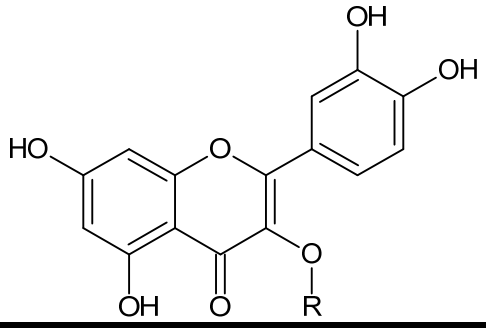
Sivas'tan Kayseri'ye 56 km, 1370 m, *Apold et al.* 33 **B7** Malatya: Hekimhan'dan Malatya'ya, 1400 m, *Stn. & Hend.* 5452 **C2** Antalya: Elmalı, *Bourgeaeu* 240 **C3** Antalya: Elmalı, Bey Dağı, 2000 m, *Khan et al.* 276 **C4** Konya: Konya'dan Beyşehir'e 20 km, yak. 1200 m, *Dudley, D.* 35872 **C5** Konya: Ereğli yakınlarında, 1600 m, *Siehe* 1912:232 **C6** Adana: Düldül yakınlarında, 1500-2100 m, *Haradj,* 2360

Yunanistan, Lübnan, Kuzey Suriye, İran, Orta Asya, İran Turan elementi (Davis, 1972).

2.3. *Morina* Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Çalışmalar

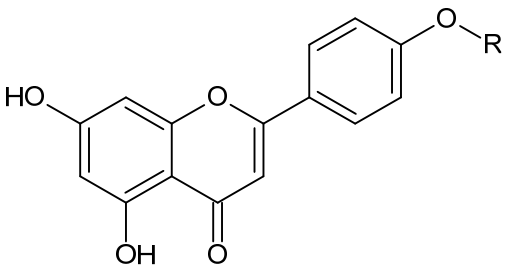
2.3.1 Flavonoitler

Tablo 2.1. *Morina* türlerinden izole edilen flavonoit yapısındaki bileşikler



Bileşik	R	Bitki
Kersetin 3-*O*-[2‴-*O*-(*E*)-kafeoil]-*α*-L-arabinopiranozil-(1→6)-*β*-D-galaktopiranozit (Monepalin A)	Gal (6-1) Ara (2) Kaf	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2002)
Kersetin 3-*O*-[2‴-O-(*E*)-kafeoil]-*α*-L-arabinopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit (Monepalin B)	Glu (6-1) Ara (2) Kaf	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2002)
Kersetin 3-*O*-*α*-L-arabinopiranozil-(1→6)-*β*-D-galaktopiranozit (Rumarin)	Gal (6-1) Ara	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2002)
Kersetin 3-*O*-*β*-D-galaktopiranozit	Gal	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2002)
Kersetin 3-*O*-*β*-D-glukopiranozit	Glu	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2002)

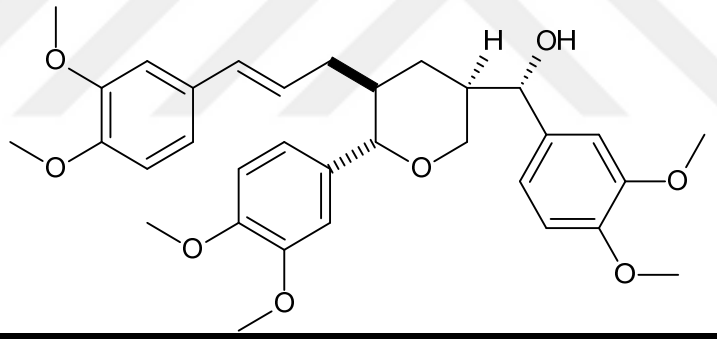
Tablo 2.1. (devam)



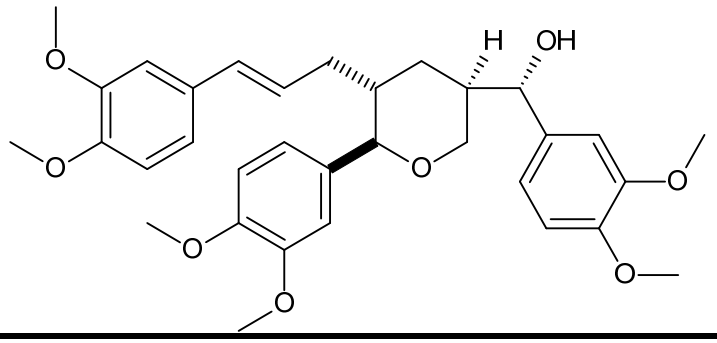
Bileşik	R	Bitki
Apigenin 4′-*O*-*β*-D-glukopiranozit	Glu	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2002)

2.3.2. Lignanlar

Tablo 2.2. *Morina* türlerinden izole edilen lignan yapısındaki bileşikler

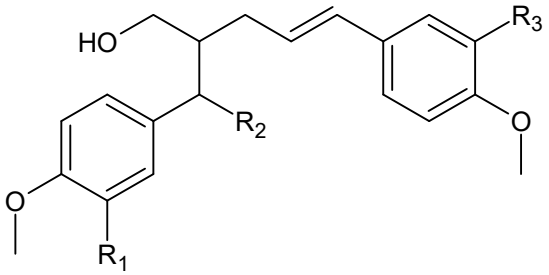


Bileşik	Bitki
Morinol A	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)



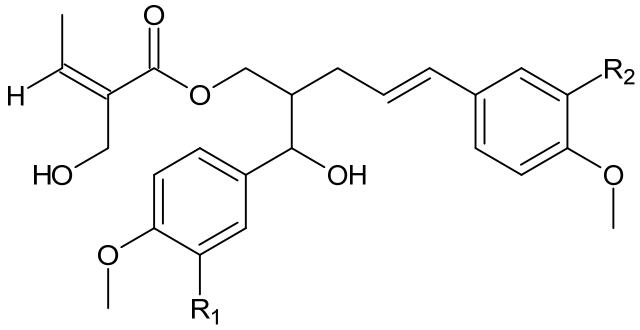
Bileşik	Bitki
Morinol B	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)

Tablo 2.2. (devam)

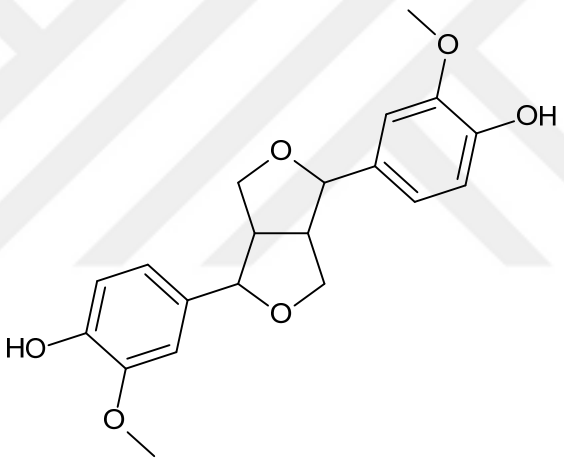


Bileşik	**R_1**	**R_2**	**R_3**	**Bitki**
Morinol C (treo)	OCH_3	OH	H	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)
Morinol D (eritro)	OCH_3	OH	H	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)
Morinol E (treo)	H	OH	OCH_3	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)
Morinol F (eritro)	H	OH	OCH_3	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)
Morinol G (treo)	OCH_3	OH	OCH_3	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999) *M. kokonorica* (Zhu ve ark., 2009)
Morinol H (eritro)	OCH_3	OH	OCH_3	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)
Morinol I	OCH_3	H	OCH_3	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)

Tablo 2.2. (devam)

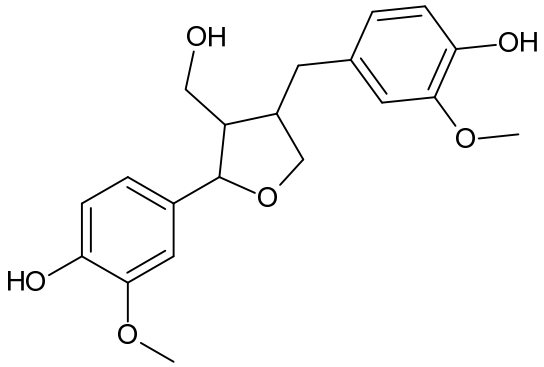


Bileşik	R_1	R_2	Bitki
Morinol J (treo)	OCH_3	H	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)
Morinol K (treo)	H	OCH_3	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)
Morinol L (treo)	OCH_3	OCH_3	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)

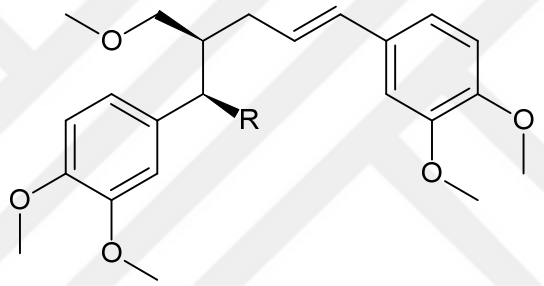


Bileşik	Bitki
Pinoresinol	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999) *M. kokonorica* (Zhu ve ark., 2009)

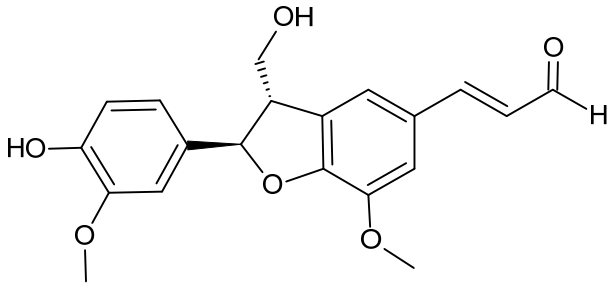
Tablo 2.2. (devam)



Bileşik	Bitki
Larisiresinol	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999) *M. kokonorica* (Zhu ve ark., 2009)



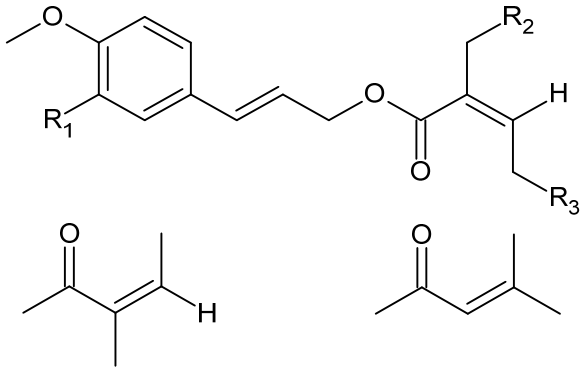
Bileşik	R	Bitki
(*1R,2R,4E*)-1,5-Bis(3,4-dimetoksifenil)-2-(metoksimetil)pent-4-en-1-ol	OH	*M. kokonorica* (Zhu ve ark., 2009)
1,1′-[(*1E,4R,5R*)-5-Metoksi-4-(metoksimetil) pent-1-ene-1,5-diil] bis(3,4-dimetoksibenzen)	OCH_3	*M. kokonorica* (Zhu ve ark., 2009)



Bileşik	Bitki
Balanofonin	*M. kokonorica* (Zhu ve ark., 2009)

2.3.3. Fenil Propanol Türevleri

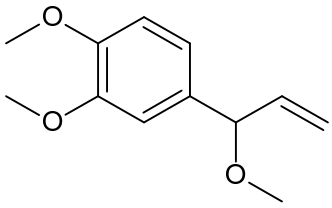
Tablo 2.3. *Morina* türlerinden izole edilen fenil propanol yapısındaki bileşikler



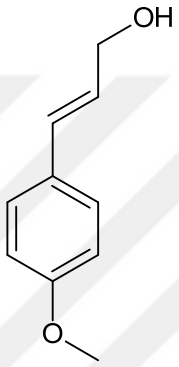
Ang Sen

Bileşik	R_1	R_2	R_3	Bitki
Morinin A	H	H	H	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)
Morinin B	OCH_3	H	H	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)
Morinin C	OCH_3	OH	H	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)
Morinin D	H	OAng	H	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)
Morinin E	H	H	OAng	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)
Morinin F	H	OSen	H	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)

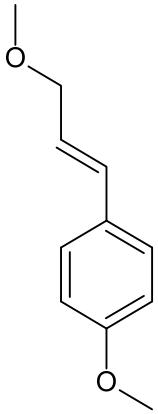
Tablo 2.3. (devam)



Bileşik	Bitki
Morinin G	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)

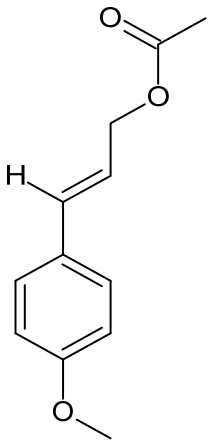


Bileşik	Bitki
4-*O*-Metil sinnamil alkol	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)

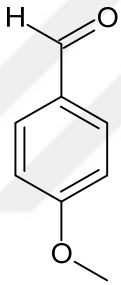


Bileşik	Bitki
4-*O*-Metil sinnamil metil eter	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)

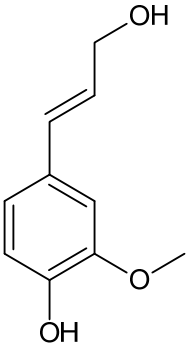
Tablo 2.3. (devam)



Bileşik	Bitki
4-*O*-Metil sinnamil asetat	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)

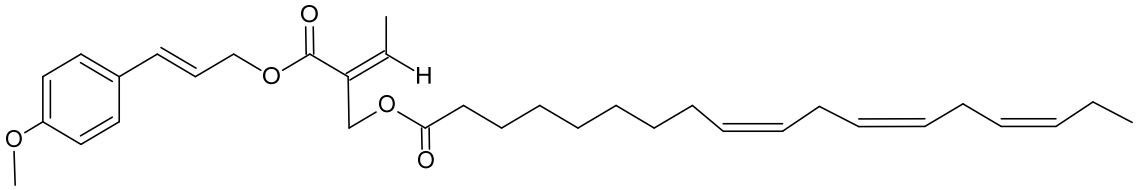


Bileşik	Bitki
p-Metoksi benzaldehit	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)

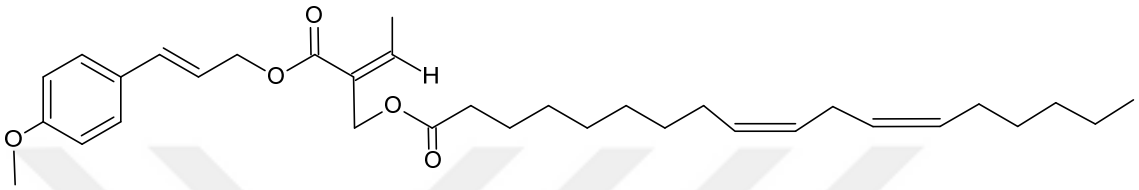


Bileşik	Bitki
4-*O*-Metil-(*E*)-koniferil alkol	*M. chinensis* (Su ve ark., 1999)

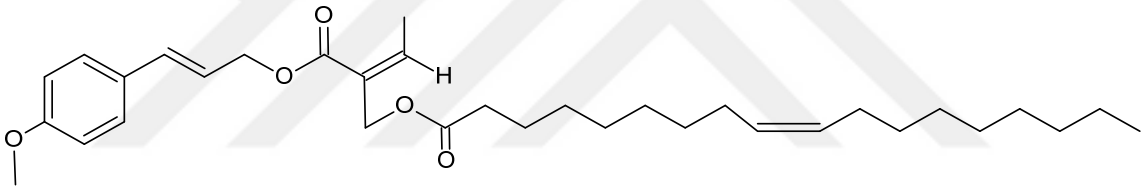
Tablo 2.3. (devam)



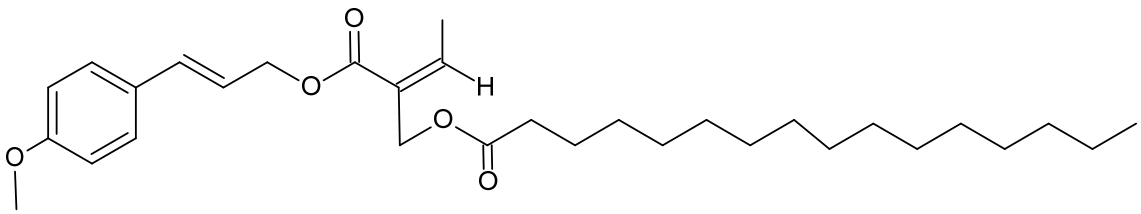
Bileşik	**Bitki**
Morinin H	*M. chinensis* (Su & Takaishi, 1999)



Bileşik	**Bitki**
Morinin I	*M. chinensis* (Su & Takaishi, 1999)

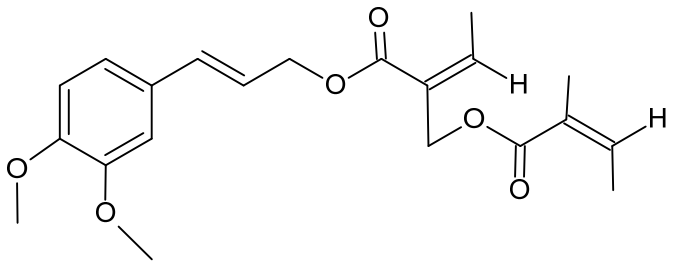


Bileşik	**Bitki**
Morinin J	*M. chinensis* (Su & Takaishi, 1999)

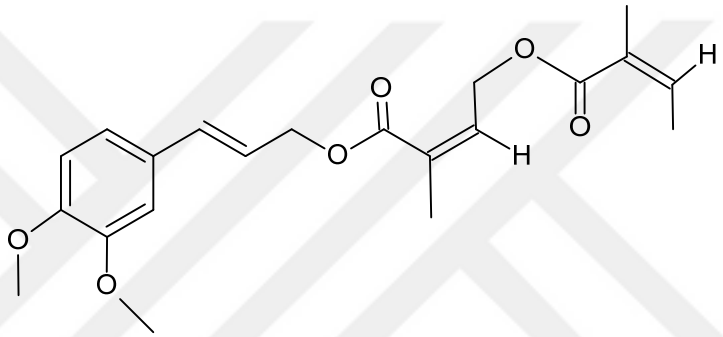


Bileşik	**Bitki**
Morinin K	*M. chinensis* (Su & Takaishi, 1999)

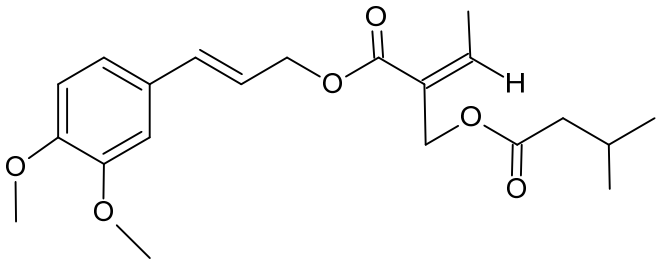
Tablo 2.3. (devam)



Bileşik	Bitki
Morinin L	*M. chinensis* (Su & Takaishi, 1999)

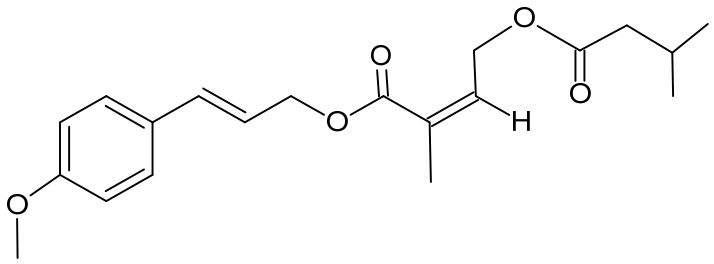


Bileşik	Bitki
Morinin M	*M. chinensis* (Su & Takaishi, 1999)

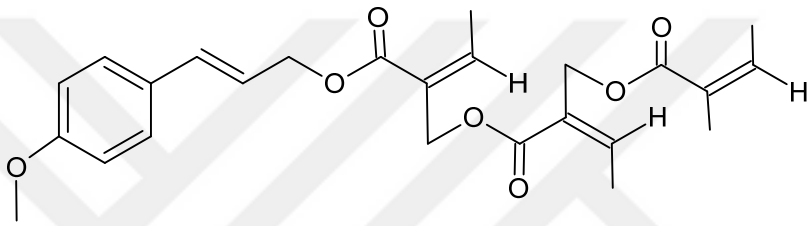


Bileşik	Bitki
Morinin N	*M. chinensis* (Su & Takaishi, 1999)

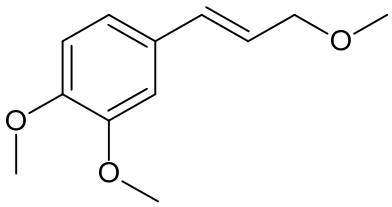
Tablo 2.3. (devam)



Bileşik	**Bitki**
Morinin O	*M. chinensis* (Su & Takaishi, 1999)

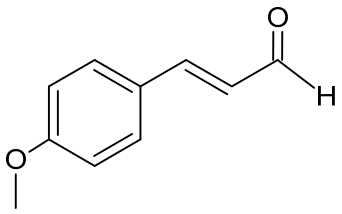


Bileşik	**Bitki**
Morinin P	*M. chinensis* (Su & Takaishi, 1999)

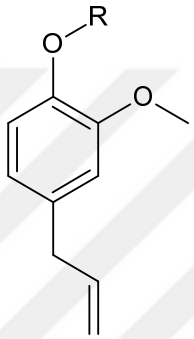


Bileşik	**Bitki**
3,4-Dimetoksi sinnamil alkol metil eter	*M. chinensis* (Su & Takaishi, 1999)

Tablo 2.3. (devam)



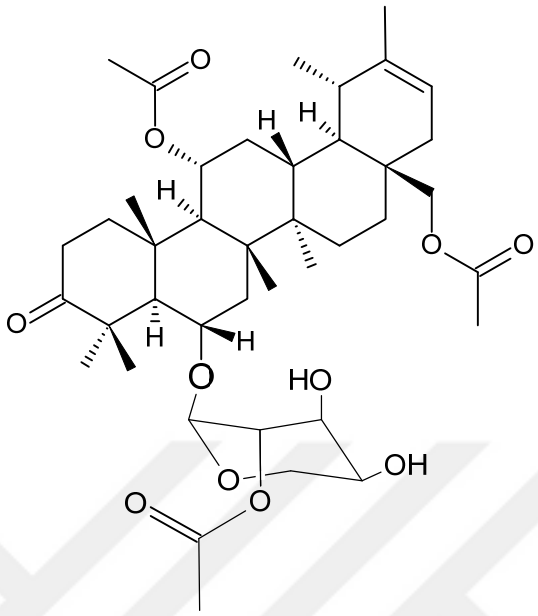
Bileşik	Bitki
p-Metoksi sinnamaldehit	*M. chinensis* (Su & Takaishi, 1999)



Bileşik	R	Bitki
Sitrusin C	Glu	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2005)

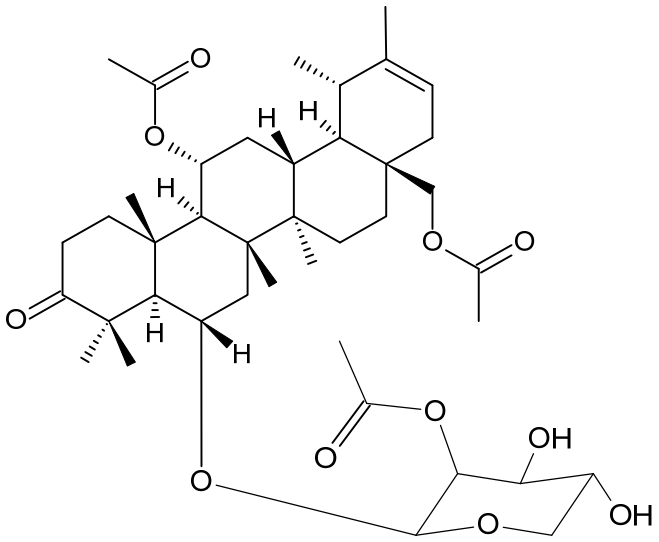
2.3.4. Triterpenler

Tablo 2.4. *Morina* türlerinden izole edilen triterpen yapısındaki bileşikler

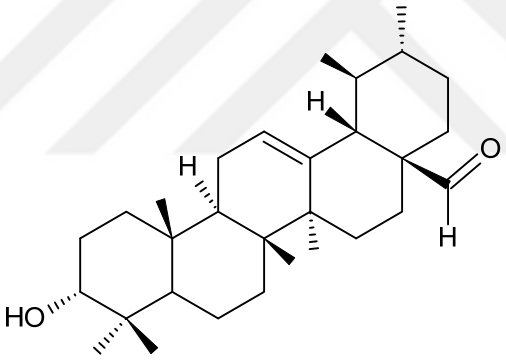


Bileşik	Bitki
(6 *α*,11 *α*)-6-[(2-*O*-Asetil-*α*-L-arabinopiranozil)oksi]-3-oksotaraksast-20-ene-11,28-diil diasetat	*M. kokonorica* (Zhu ve ark., 2009)

Tablo 2.4. (devam)

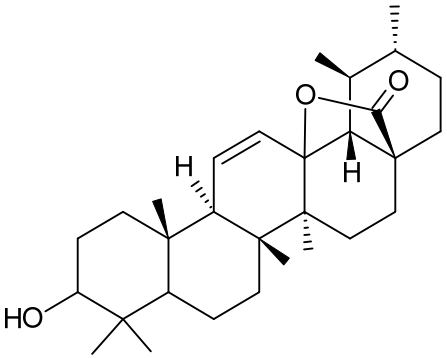


Bileşik	**Bitki**
(6 *α*,11 *α*)-6-[(2-*O*-Asetil-*β*-D-ksilopiranozil)oksi]-3-oksotaraksast-20-ene-11,28-diil diasetat	*M. kokonorica* (Zhu ve ark., 2009)

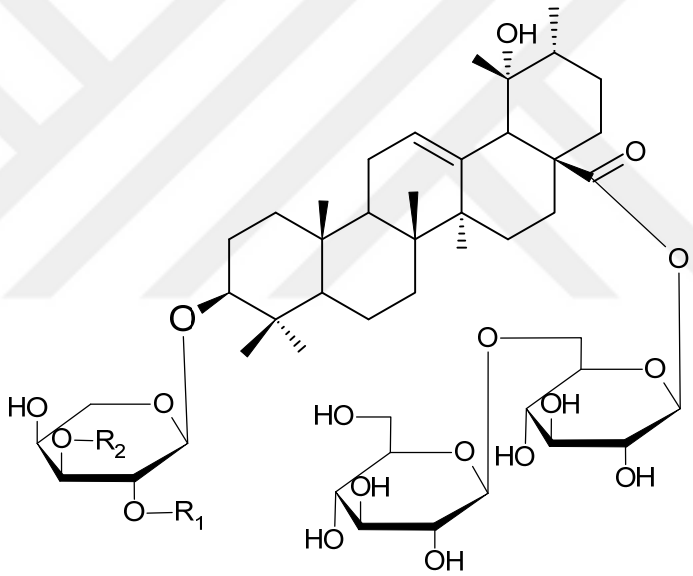


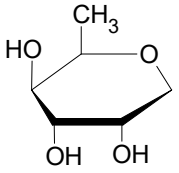
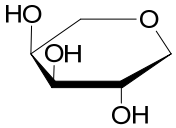
Bileşik	**Bitki**
3-*β*-Hidroksiurs-12-en-28-al (ursolaldehit)	*M. kokonorica* (Zhu ve ark., 2009)

Tablo 2.4. (devam)

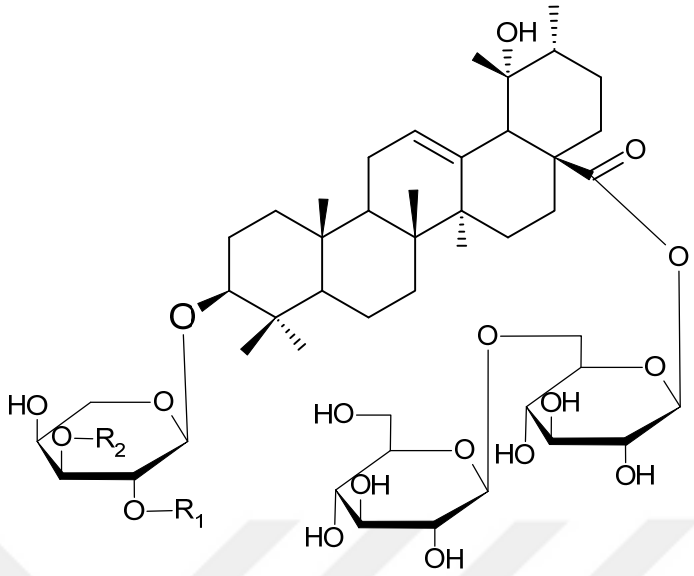


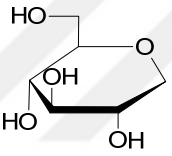
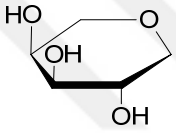
Bileşik	Bitki
3-*β*-Hidroksiurs-11-en-8,13-*β*-olit	*M. kokonorica* (Zhu ve ark., 2009)



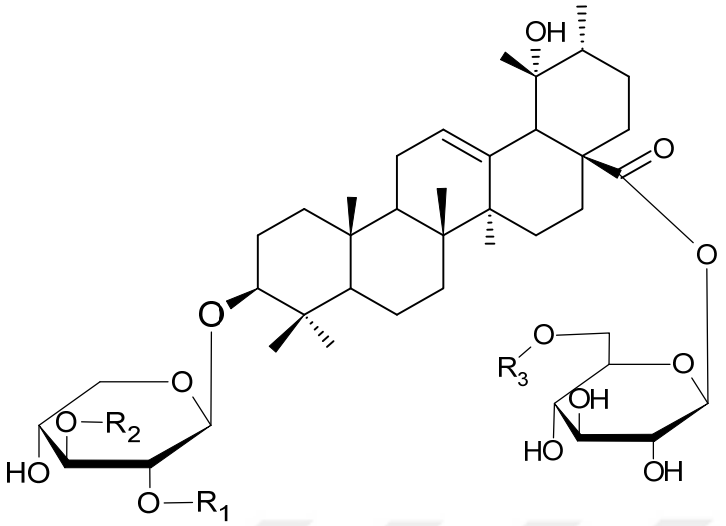
Bileşik	R_1	R_2	Bitki
3-*O*-*α*-L-Arabinopiranozil-(1→3)-[*α*-L-ramnopiranozil-(1→2)]-*α*-L-arabinopiranozil pomolik asit 28-*O*-*β*-D-glukopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit (Monepalozit C)			*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2002)

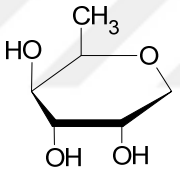
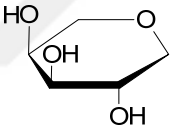
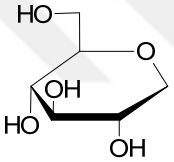
Tablo 2.4. (devam)



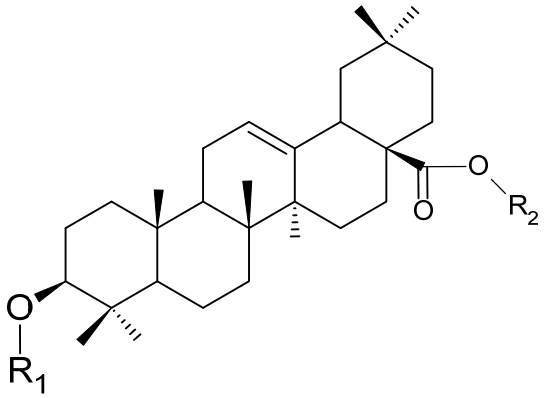
Bileşik	R_1	R_2	Bitki
3-*O*-*α*-L-Arabinopiranozil-(1→3)-[-*β*-D-glukopiranozi-(1→2)]-*α*-L-arabinopiranozil pomolik asit 28-*O*-*β*-D-glukopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit (Monepalozit E)			*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2002)
Mazusaponin II	H	H	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2002)

Tablo 2.4. (devam)



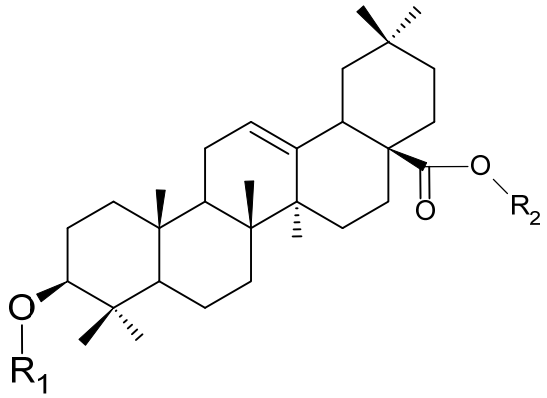
Bileşik	R_1	R_2	R_3	Bitki
3-*O*-*α*-L-Arabinopiranozil-(1→3)-[*α*-L-ramnopiranozil-(1→2)]-*β*-D-ksilopiranozil pomolik asit 28-*O*-*β*-D-glukopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit (Monepalozit D)				*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2002)
3-*O*-*β*-D-Ksilopiranozil pomolik asit 28-*O*-*β*-D-glukopiranozit (Monepalozit F)	H	H	H	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2002)

Tablo 2.4. (devam)



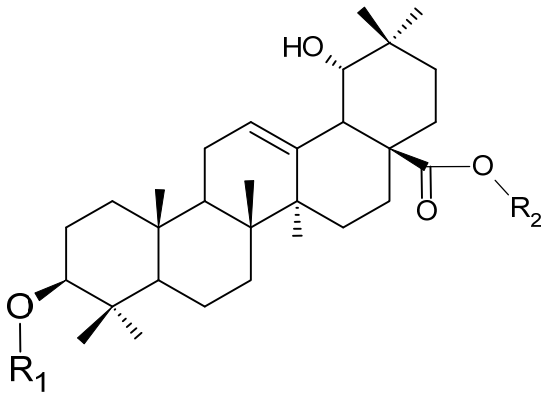
Bileşik	R_1	R_2	Bitki
3-*O*-*α*-L-Arabinopiranozil (1→3)-*α*-L-arabinopiranozil oleanolik asit 28-*O*-*β*-D-glukopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit (Monepalozit G)	Ara (3-1) Ara	Glu (6-1) Glu	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2003)
3-*O*-*α*-L-Arabinopiranozil-(1→3)-*β*-D-ksilopiranozil oleanolik asit 28-*O*-*β*-D-glukopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit (Monepalozit H)	Ksi (3-1) Ara	Glu (6-1) Glu	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2003)
3-*O*-*α*-L-Arabinopiranozil-(1→3)-[*β*-D-glukopiranozil-(1→2)]-*α*-L-arabinopiranozil oleanolik asit 28-*O*-*β*-D-glukopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit (Monepalozit I)	Ara (2-1) Glu (3-1) Ara	Glu (6-1) Glu	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2003)

Tablo 2.4. (devam)



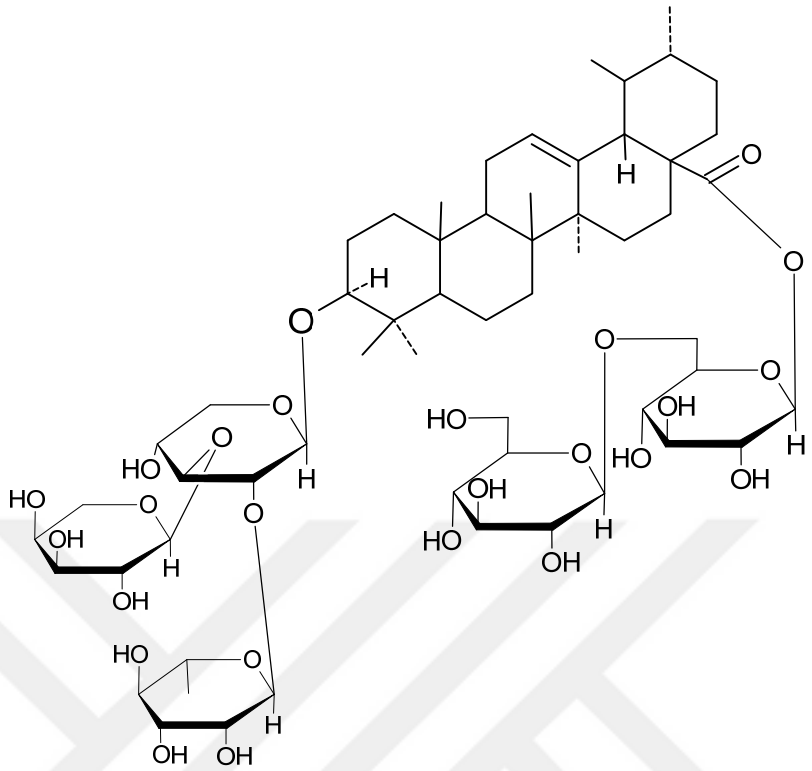
Bileşik	R_1	R_2	Bitki
3-*O*-*β*-D-Glukopiranozil-(1→4)-*β*-D-glukopiranozi-(1→3)-*α*-L-arabinopiranozil oleanolik asit 28-*O*-*β*-D-glukopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit (Monepalozit J)	Ara (3-1) Glu (4-1) Glu	Glu (6-1) Glu	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2003; Zhang ve ark., 2013)

Tablo 2.4. (devam)



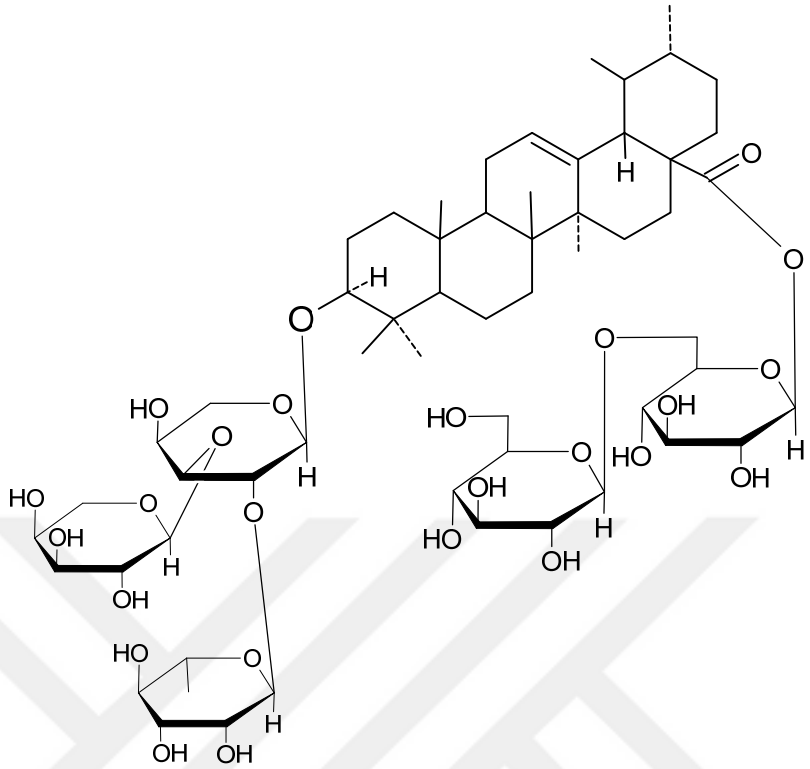
Bileşik	**R_1**	**R_2**	**Bitki**
3-*O*-*α*-L-Arabinopiranozil-(1→3)-*β*-D-ksilopiranozil-siaresinolik asit (Monepalozit K)	Ksi (3-1) Ara	H	*M. nepalensis* var. *alba* (Teng ve ark., 2003)
3-*O*-*β*-D-Glukopiranozil-(1→3)-*α*-L-arabinopiranozil siaresinolik asit 28-*O*-*β*-D-glukopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit (Monepalozit L)	Ara (3-1) Glu	Glu (6-1) Glu	*M. nepalensis* var. *alba* (Teng ve ark., 2003)
Mazusaponin I	Ara	Glu (6-1) Glu	*M. nepalensis* var. *alba* (Teng ve ark., 2003)

Tablo 2.4. (devam)



Bileşik	**Bitki**
3-*O*-*α*-L-Arabinopiranozil-(1→3)-[*α*-L-ramnopiranozil-(1→2)]-*β*-D-ksilopiranozil ursolik asit-28-*O*-*β*-D-glukopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit (Monepalozit M)	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Zhang ve ark., 2013)

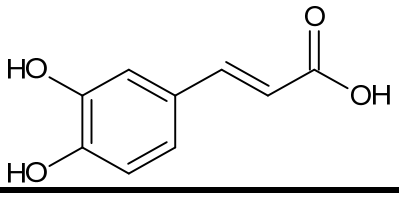
Tablo 2.4. (devam)



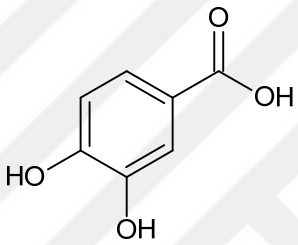
Bileşik	Bitki
3-*O*-*α*-L-Arabinopiranozil-(1→3)-[*α*-L-ramnopiranozil-(1→2)]-*α*-L-arabinopiranozil ursolik asit-28-*O*-*β*-D-glukopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit (Monepalozit N)	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Zhang ve ark., 2013)

2.3.5. Fenolik asitler

Tablo 2.5. *Morina* türlerinden izole edilen fenolik asit yapısındaki bileşikler



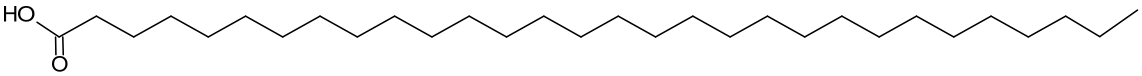
Bileşik	Bitki
(*E*)-Kafeik asit	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2005)



Bileşik	Bitki
3,4-Dihidroksil benzoik asit	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2005)

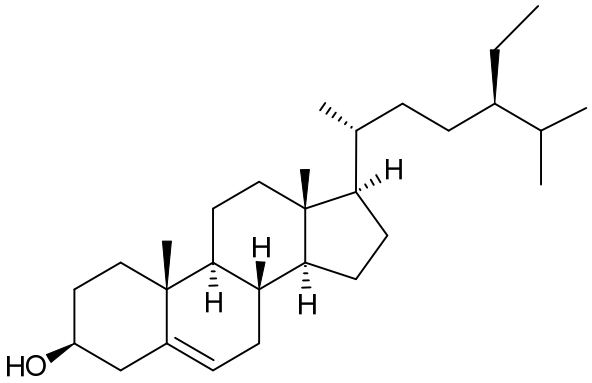
2.3.6. Diğerleri

Tablo 2.6. *Morina* türlerinden izole edilen diğer bileşikler

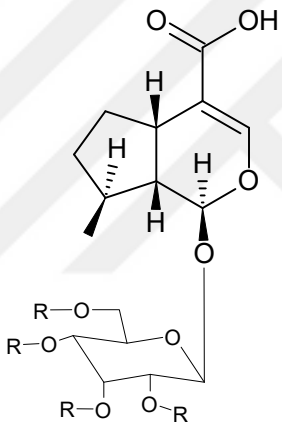


Bileşik	Bitki
Melisik asit	*M. kokonica* (Alimov ve ark., 1982)

Tablo 2.6. (devam)



Bileşik	Bitki
β-Sitosterol	*M. kokonica* (Alimov ve ark., 1982)



Bileşik	R	Bitki
7-Deoksiloganik asit	H	*M. nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. (Teng ve ark., 2005)

2.3.7. Gaz Kromatografisi (GC) ile Belirlenen Bileşikler

M. persica L. çiçeklerinden (*2E, 6E*)-farnesol ve germakren D (Başer & Kürkçüoglu, 1998), *M. longifolia* yapraklarından germakren D, *α*-kadinol, germakren D-4-ol (Kumar ve ark., 2013), germakren D, bisiklogermakren, limonen, *α*-humulen, *trans*-krisantenil asetat ve *β*-fellandren (Kumar ve ark., 2018), *M. longifolia* toprak üstü

kısımlarından germakren D, bisiklogermakren, *β*-mirsen ve limonen (Chauhan ve ark., 2012), germakren D, bisiklogermakren, *β*-mirsen, geraniol format, 2,3-dihidrofarnesol, *β*-kadinen, 1,2,3,5-tetrametilsiklohekzan, metilkommat, (2'-metil-2' propenil) bisiklo [4,1,0,(2,7)] heptan, D-L-limonen, *l*-dekanol, *cis*-D-dihidrokarveol, aromadendren ve *α*-gurjunen (Kothiyal ve ark., 2009), germakren D, bisiklogermakren, *α*-kadinol, *β*-fellandren, *α*-pinen ve *E*-sitronellil tiglat (Joshi & Mathela, 2013), *M. longifolia* bitkisinden *δ*-kadinen, *α*-kopaen, *α*-humulen ve karyofillen (Yousuf ve ark., 2022), *M. longifolia* köklerinden dodekanamid, siklopentanundekanoik asit, metil ester, 2-metil-Z,Z-3,13-oktadekadienol, *cis*-vaksenik asit, 6-oktadekenoik asit, 6,9,12-oktadekatrienoik asit, fenilmetil ester, 14-oktadekenal, 9,12,15-oktadekatrienoik asit, 2-[(trimetilsilil)oksi]-1-[[(trimetilsilil)oksi]metil]etil ester ve oktadek-9-enoik asit (Boora ve ark., 2023) bileşikleri GC-MS/GC-FİD ile yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir.

2.3.8. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC-DAD) ile Belirlenen Bileşikler

M. persica L.'nin metanol ekstresinden HPLC ile ferulik asit, kafeik asit, klorojenik asit, protokateşik asit, *p*-kumarik asit, gallik asit, benzoik asit, *o*-kumarik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, rutin, rosmarinik asit, eriodiktiol, *trans*-sinnamik asit, kemferol ve apigenin fenolik bileşikleri tespit edilmiştir (Mocan ve ark., 2016).

2.4. *Morina* Türleri Üzerinde Yapılmış Biyolojik ve Farmakolojik Aktivite Çalışmaları

2.4.1. Antiartritik Aktivite

M. longifolia Wall'ın antiartritik aktivitesi Freund's Complete Adjuvant (FCA) indüklenmiş monoartritik sıçan modeli kullanılarak araştırılmıştır. *M. longifolia*'nın hidroalkolik ekstresinin 200 ve 400 mg/kg dozda antiartritik aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir (Singh ve ark., 2011).

2.4.2. Antiastmatik Aktivite

Geleneksel olarak astım tedavisinde kullanılan *M. longifolia* köklerinden hazırlanan metanol ekstresinin antiastmatik aktivitesi *in vivo* olarak araştırılmıştır. Araştırmada süt kaynaklı lökositoz ve eozinofili testi ile fare modeli üzerinde çalışılmıştır. *M. longifolia* metanol ekstresi lökosit ve eozinofil sayısını önemli oranda azaltarak antiastmatik özellik göstermiştir (Boora ve ark., 2023).

2.4.3. Antibakteriyel Aktivite

M. longifolia'nın hekzan, petrol eteri, aseton, kloroform, etanol ve su ekstrelerinin *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus pyogens, Bacillus subtilis, Klebsiella pneumoniae* ve *Lactococcus* bakterilerine karşı agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır. Etanol ekstresi *K. pneumoniae* ve *Lactococcus* bakterilerine karşı 23 mm inhibisyon zonu göstermiştir. *E. coli*'ye karşı aseton ekstresi 22 mm, kloroform ekstresi ise 19 mm inhibisyon zonu göstermiştir. Etanol, aseton ve kloroform ekstrelerinin bakteri suşlarına karşı minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK) 0.6 ile 0.8 mg/mL ve minimum letal konsantrasyonları ise 0.7 ile 0.9 mg/mL aralığında bulunmuştur (Yousuf ve ark., 2011).

Ocak, mayıs ve eylül aylarında toplanmış *M. longifolia* Wallich'in uçucu yağının *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi agar disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Mayısta toplanan bitkinin uçucu yağının iki bakteriye karşı MİK değeri 250 µg/mL iken ocakta toplanan bitkinin uçucu yağının MİK değeri 150 µg/mL olarak belirlenmiştir. Eylülde toplanan bitkinin uçucu yağının ise *E. coli*'ye karşı MİK değeri 250 µg/mL iken *S. aureus*'a karşı 150 µg/mL olarak belirlenmiştir (Kothiyal ve ark., 2009).

M. longifolia uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi *Kocuria rhizophila* (MTCC 1541), *Micrococcus luteus* (MTCC 1541) ve *Salmonella typhi* (NCTC 786) bakterilerine

karşı araştırılmıştır. Uçucu yağın %0.5 ile 1 konsantrasyonlarında bakteri büyümelerini inhibe ettiği belirlenmiştir (Yousuf ve ark., 2022).

M. persica L.'nin su, aseton ve metanol ekstrelerinin *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, metisilin dirençli *S. aureus* ATCC 25923 (MSSA), *K. pneumoniae* 70603, metisilin dirençsiz *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) ve *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır. Ayrıca klinik örneklerden izole edilen on dört MRSA suşu *M. persica* L. ekstrelerinin anti-MRSA aktivitesini belirlemek için kullanılmıştır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değerleri belirlenmiştir. Aseton ekstresi 3.125 mg/mL dozda tüm bakterilere karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Benzer şekilde tüm MRSA izolatlarına karşı 3.125 mg/mL dozda anti-MRSA aktivite göstermiştir. Su ekstresi sadece *S. aureus* ATCC 25923 (MSSA) ve *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) karşı sırasıyla 6.25 mg/mL ve 3.125 mg/mL dozlarda antibakteriyel aktivite göstermiştir. On bir MRSA izolatına karşı 3.125 mg/mL ile 6.25 mg/mL dozlarda anti-MRSA aktivite gösterirken üç MRSA izolatına karşı aktivite gözlenmemiştir. Metanol ekstresi 6.25 mg/mL dozda tüm bakterilere karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ayrıca MRSA izolatlarına karşı 3.125 mg/mL ile 6.25 mg/mL dozlarında anti-MRSA aktivite göstermiştir (Mocan ve ark., 2016).

M. persica L.'nin hekzan, diklorometan ve su ekstrelerinin İTK biyootografisi kullanılarak antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. Hekzan ekstresinin *B. subtilis* (ATCC-6633), *S. aureus* (ATCC-25923) bakterilerine karşı inhibisyon zonu 5 mm iken *B. cereus*'a (ATCC-10702) karşı 4 mm olarak belirlenmiştir. Diklorometan ekstresinin *M. luteus*'a (ATCC-9341) karşı inhibisyon zonu 10 mm olarak belirlenmiştir. *B. subtilis* (ATCC-6633), *B. cereus* (ATCC-10702), *S. aureus* (ATCC-25923) bakterilerine karşı 6 mm, *S. epidermidis*'e (ATCC-12228) karşı ise 5 mm inhibisyon zonu ölçülmüştür. Su

ekstresi *M. luteus* (ATCC-9341)'a karşı 5 mm inhibisyon zonu göstermiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan kloramfenikol *M. luteus*'a (ATCC-9341) karşı 9 mm, *B. subtilis*'e (ATCC-6633) karşı 6 mm, *B. cereus* (ATCC-10702) ve *S. aureus* (ATCC-25923) bakterilerine karşı 5 mm ve *S. epidermidis*'e (ATCC-12228) karşı 7 mm inhibisyon zonu göstermiştir (Taşdemir ve ark., 2004).

2.4.4. Antifungal Aktivite

M. longifolia Wall.ex.Dc.'nin uçucu yağının *Candida albicans* (MTCC-1637) ve *C. glabrata* (MTCC-3019)'ya karşı kuyu difüzyon yöntemi ile antifungal aktivitesi araştırılmıştır. 40 µL konsantrasyonda *C. albicans*'a karşı 14 mm inhibisyon zonu gözlenirken, *C. glabrata*'ya karşı 19 mm inhibisyon zonu gözlenmiştir (Joshi, 2014).

M. longifolia uçucu yağının antifungal aktivitesi *Aspergillus niger* (MTCC 1344) ve *C. albicans* (MTCC 227) mantarlarına karşı araştırılmıştır. *A. niger*'in (MTCC 1344) büyümesini %0.5 ile %1 gibi yüksek bir konsantrasyonda inhibe ederken, *C. albicans*'ın (MTCC 227) büyümesini %0.125 ile %0.250 gibi düşük bir konsantrasyonda inhibe ettiği gözlenmiştir (Yousuf ve ark., 2022).

M. persica L.'nin metanol, aseton ve su ekstrelerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile *C. albicans* ve *C. parasilopsis*'e karşı antifungal aktivitesi araştırılmıştır. Tüm ekstreler 6.25 mg/mL dozda antifungal aktivite göstermiştir (Mocan ve ark., 2016).

M. longifolia'nın hekzan, petrol eteri, aseton, kloroform, etanol ve su ekstrelerinin agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile *C. albicans*, *Saccharomyces cerevisae* ve *A. niger*'e karşı antifungal aktivitesi araştırılmıştır. Aseton ekstresi *C. albicans*'a karşı 22 mm, *A. niger*'e 19 mm, etanol ve su ekstreleri ise *C. albicans*'a karşı 19 mm inhibisyon zonu göstermiştir. Minimum inhibisyon konsantrasyonları 0.5 ile 0.6 mg/mL ve minimum lethal konsantrasyonları ise 0.6 ile 0.7 mg/mL aralığında belirlenmiştir (Yousuf ve ark., 2015).

2.4.5. Antioksidan Aktivite

M. longifolia'nın hekzan, petrol eteri, aseton, kloroform, etanol ve su ekstrelerinin antioksidan aktivitesi Folin-Ciocalteu yöntemi ile araştırılmıştır. Etanol ekstresinin toplam fenolik içeriği 224 µg/g GAE (gallik asit eşdeğeri), aseton ekstresinin ise 215 µg/g GAE olarak belirlenmiştir. DPPH radikal süpürme yöntemi ile antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Etanol ekstresi IC_{50} değeri 17.10 µg/mL ve aseton ekstresi 25.10 µg/mL ile yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Ayrıca süperoksit inhibisyon yüzdesi, süperoksit anyon radikali süpürme metoduyla araştırılmış ve etanol ekstresinin %72, aseton ekstresinin ise %60 olarak belirlenmiştir (Yousuf ve ark., 2014).

M. longifolia uçucu yağının antioksidan aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada serbest radikal süpürme aktivitesi (FRSA) %10.19-89.15 aralığında bulunmuştur. Antioksidan aktivitesi ferrik klorür ($FeCl_3$) indirgeme yöntemi ile araştırıldığında *M. longifolia* uçucu yağı 0.75 mg/mL konsantrasyonda %50'den fazla indirgeme potansiyeli göstermiştir (Yousuf ve ark., 2022).

M. persica L.'nin toprak üstü kısımlarının metanol, aseton ve su ekstrelerinin antioksidan aktivitesi Folin-Ciocalteu yöntemi ile araştırılmıştır. Toplam fenolik içerik metanol, aseton ve su ekstrelerinde sırasıyla 53.32 ± 0.87 mg GAE, 32.00 ± 1.59 mg GAE ve 44.27 ± 0.11 mg GAE olarak belirlenmiştir. Toplam flavonoit içerik ise sırasıyla 122.68 ± 3.06 mg RE (rutin eşdeğeri), 105.40 ± 0.25 mg RE ve 42.75 ± 1.15 mg RE olarak belirlenmiştir. DPPH ve ABTS radikal süpürme kapasiteleri araştırıldığında toplam fenolik içerikle orantılı olarak metanol ekstresi en iyi radikal süpürme aktivitesi göstermiştir. Metanol ekstresinin DPPH radikal süpürme kapasitesi 48.09 ± 0.86 mg TE (troloks eşdeğeri), ABTS radikal katyon süpürme kapasitesi ise 146.05 ± 6.84 mg TE olarak belirlenmiştir. FRAP (ferrik indirgeme yöntemi) ve CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite yöntemi) analizleri ile de antioksidan kapasitesi

araştırılmıştır. FRAP analizinde 82.85 ± 2.53 mg TE, CUPRAC analizinde ise 131.51 ± 2.98 mg TE indirgeme aktivitesi göstermiştir. Antioksidan aktivitesi demir iyonları üzerinde metal şelatlama aktivitesi ile araştırıldığında ise su ekstresinin metal şelatlama aktivitesi 42.41 ± 1.58 mg EDTAE (etilendiamintetraasetik asit eşdeğeri) değeri ile metanol ve aseton ekstrelerinin metal şelatlama aktivitelerinden yüksek bulunmuştur. Ayrıca fosfomolibden ve *β*-karoten/linoleik asit metotları ile toplam antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Fosfomolibden yöntemi ile en yüksek antioksidan aktiviteyi aseton ekstresi (1.44 ± 0.02 mmol TE) gösterirken en düşük aktiviteyi su ekstresi (0.94 ± 0.05 mmol TE) göstermiştir. *β*-karoten/linoleik asit metodunda ise en yüksek inhibisyon yüzdesi %80.20 ± 1.46 inhibisyon değeri ile aseton ekstresi tarafından gösterilmiştir. Tüm ekstreler çalışmada kullanılan standart sentetik antioksidanlardan daha düşük aktivite göstermiştir (Mocan ve ark., 2016).

M. persica L.'nin hekzan, diklorometan ve su ekstrelerinin İTK biyootografisi kullanılarak antioksidan özellikleri kalitatif olarak araştırılmıştır. DPPH metodunda yüksek (R_f 0-0.33) ve orta polarite (R_f 0.34-0.66) bölgelerinde en iyi antioksidan etkiyi diklorometan ekstresi göstermiştir (Taşdemir ve ark., 2004).

2.4.6. Antiprotozoal Aktivite

M. persica L.'nin hekzan ve kloroform ekstreleri *Plasmodium falciparum*'a karşı (sırasıyla IC_{50} değerleri 4.9 μg/mL ve 1.9 μg/mL) antiprotozoal aktivite göstermiştir (Taşdemir ve ark., 2005).

2.4.7. Mutajenik ve Antimutajenik Aktivite

M. persica L.'nin mutajenite ve antimutajenite özellikleri metabolik aktivasyon enzimi S9 *Salmonella typhimurium* TA 98 ve TA 100 suşları üzerinde araştırılmıştır. Mutajenite testlerinde 5000 μg/plak konsantrasyonuna kadar farklı konsantrasyonlarda *M. persica* L.'nin metanol, aseton ve su ekstreleri ile muamele edildiğinde en yüksek

konsantrasyonda dahi hiçbir toksisite gözlenmemiştir. TA 98 suşu için tüm ekstreler S9 yokluğunda 5000, 2500 ve 1000 µg/plak dozlarında 4-NPDA'ya (4-nitrofenilendiamin) karşı güçlü antimutajenite göstermiştir. İnhibisyon oranları %49-66 arasında belirlenmiştir. S9 varlığında inhibisyon oranları azalmasına rağmen aseton ve metanol ekstreleri 5000 µg/plak konsantrasyonda 2-AF'ye (aminofloren) karşı antimutajenik aktivite göstermiştir. İnhibisyon oranları sırasıyla %91 ve %86 olarak belirlenmiştir. Üç ekstre de TA 100 suşlarına karşı S9 yokluğunda zayıf antimutajenik etki göstermiştir. Aseton ve metanol ekstreleri S9 varlığında 2-AA'ya (2-amino antrasen) karşı 5000 µg/plak konsantrasyonda %89 inhibisyon ile güçlü antimutajenik etki göstermiştir (Mocan ve ark., 2016).

2.4.8. Toksisite Çalışmaları

M. longifolia köklerinin metanol ekstresi ile yapılan *in vivo* bir toksisite çalışmasında 2000 mg/kg dozda 14 günlük gözlem sonucunda cilt rahatsızlıkları, solunum sorunları veya ölüm gözlenmemiştir (Boora ve ark., 2023).

M. longifolia Wall farklı dozlarda (50-2000 mg/kg) oral olarak sıçanlara verilip hiperaktivite, konvülsiyonlar, sedasyon, hipotermi ve ölüm açısından incelenmiştir. Tüm test hayvanlarına nekropsi uygulanmıştır. 100, 200 ve 400 mg/kg dozlarında toksisite işareti gözlenmemiştir (Singh ve ark., 2011).

2.4.9. Diğer Biyolojik Aktiviteler

M. persica L.'nin metanol, aseton ve su ekstrelerinin asetilkolinesteraz (AChE), bütirilkolinesteraz (BChE), α-amilaz, α-glikozidaz ve tirozinaz inhibitörü özellikleri araştırılmıştır. AChE'ye karşı en iyi inhibisyonu 1.34 ± 0.12 mg GALAE (galantamin eşdeğeri) değeri ile metanol ekstresi göstermiştir. BChE'ye karşı sadece aseton ekstresi (1.19 ± 0.29 mg GALAE) inhibitör aktivite göstermiştir. α-amilaza karşı en iyi inhibitör aktiviteyi 0.47 ± 0.02 mmol AKAE (akarboz eşdeğeri) değeri ile aseton ekstresi

gösterirken, *α*-glikozidaza karşı 0.81 ± 0.09 mmol AKAE değeri ile metanol ekstresi göstermiştir. Tirozinaza karşı sadece su ekstresi 6.36 ± 1.35 mg KAE (kojik asit eşdeğeri) değeri ile inhibitör aktivite göstermiştir. Ayrıca metanol ekstresi, su ve aseton ekstrelerinden daha etkili olmakla birlikte tüm ekstreler 24 ve 48 saatte HeLa hücrelerinde inhibitör etki göstermiştir. Tüm ekstreler en iyi inhibitör etkiyi 100 µg/mL konsantrasyonda göstermiştir (Mocan ve ark., 2016).

M. persica L.'nin hekzan, diklorometan ve su ekstrelerinin İTK biyootografisi kullanılarak AChE inhibitör özellikleri araştırılmıştır. Hekzan ekstresi yüksek (R_f 0-0.33) polaritede, diklorometan ekstresi ise düşük polarite (R_f 0.67-1)'de AChE inhibitör aktivite göstermiştir (Taşdemir ve ark., 2004).

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Birim Etik Kurulu'nun 12.04.2022/6 numaralı izni ile yürütülmüştür.

3.1. Bitki Materyali

M. persica L. bitkisi Mayıs 2018 tarihinde Konaklı/Erzurum'dan toplanmıştır. AUEF-1175 numaralı bitki örnekleri Atatürk Üniversitesi Biyoçeşitlilik Uygulama ve Araştırma Merkezi Herbaryumu'nda muhafaza edilmektedir.

3.2. Kimyasal Malzemeler

Kromatografik analizlerde ve aktivite çalışmalarında kullanılan kimyasal malzemeler Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal malzemeler

Kimyasal Adı	**Menşei**	**Kimyasal Adı**	**Menşei**
Folin-Ciocalteu Reaktifi	Sigma	Gallik asit monohidrat	Sigma
Sodyum karbonat	Sigma	ABTS	Sigma
Sodyum fosfat monobazik	Sigma	3,4-Dihidroksi-L fenilalanin	Sigma
DPPH	Sigma	Troloks	Sigma
Sodyum fosfat dibazik dodekahidrat	Sigma	Mueller hinton broth besiyeri	Oxoid
Mushroom tirozinaz enzimi	Sigma	Kojik asit	Sigma
Potasyum persülfat	Sigma	Etanol	Sigma
Etil asetat	Sigma	Metanol	İsolab
Diklorometan	İsolab	Dötero metanol	Eurisolab
Hekzan	Sigma	Dimetil sülfoksit (DMSO)	Sigma
Sülfirik asit	Sigma	Asetik asit	Sigma
Formik asit	İsolab	Vanilin	Merck
Silika jel (Kieselgel 60, 0.063-0.2 mm)	Merck	İTK plağı (Kieselgel 60 F_{254}, 0.2 mm)	Merck

3.3. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

Öğütücü (Waring Commercial Blender), mantolu ısıtıcı (Barnstead Electrothermal EM5000/C), hassas terazi (Scaltec SBA 31), rotavapor (Heidolph WB Laborota 4000), ultrasonik banyo (Bandelin Sonorex RK 255 H), pH metre (Mettler Toledo Sevencompact S210), vakum pompası (Millipore Model No: WP6122050), manyetik karıştırıcı (Ika RH Basic), eliza okuyucu (Biotek Elx800), etüv (Memmert Typ: UM 500), UV lambası (Mineralight UVGL-58), NMR spektrometresi (Varian Mercury Plus, Bruker Avance III HD), Q-TOF-MS (Agilent 6530).

3.4. Kromatografik Yöntemler

3.4.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

İzolasyon ve fraksiyonlama çalışmalarının izlenebilmesi için silika jel kaplı hazır alüminyum plaklar kullanılmıştır. Numuneler cam kılcal pipetler kullanılarak plakların alt kısmından 1-1.5 cm yukarıda ve yaklaşık 0.5 cm aralıklarla tatbik edilmiştir. Plaklar kromatografi tankına yerleştirilerek Tablo 3.2'de verilen solvan sistemleri ile 7-10 cm boyunca oda sıcaklığında sürüklenmiştir. Plaklardaki lekeler UV lambası altında UV_{254} / UV_{366} nm dalga boyunda belirlenmiştir. Lekelere %1'lik vanilin/sülfürik asit çözeltisi püskürtülüp 110 ˚C sıcaklıkta 1-2 dk ısıtılarak lekelerin belirginleşmesi sağlanmıştır.

3.4.2. Açık Kolon Kromatografisi (KK)

Çalışmalarımızda, adsorban olarak silika jelin kullanıldığı açık kolon kromatoğrafisi yöntemi ile fraksiyonlama ve saflaştırma işlemleri yapılmıştır. Bunun için uygun miktarda adsorban, yeterli miktarda solvan sistemi ile süspansiyon haline getirilip alt ucunda pamuk bulunan uygun büyüklükteki cam kolona aktarılmıştır. Adsorbanın yerleşmesi için kolondan bir miktar solvan sistemi geçirilmiştir. Kolonda yeterli miktarda solvan kalana kadar beklenmiştir. Kuru tatbik yapmak üzere hazırlanan numune adsorban yüzeyini bozmayacak şekilde kolona tatbik edilmiştir. Kolondan Tablo 3.2'de verilen

solvan sistemleri geçirilmiş ve fraksiyonlar tüplere 8-10 mL olarak toplanmıştır. Toplanan fraksiyonlar İTK ile kontrol edilmiş ve R_f değeri aynı olanlar birleştirilmiştir.

3.4.3. Kolon Kromatografisi İçin Numune Tatbiki

Numuneler silika jel kolona kuru tatbik yöntemi ile tatbik edilmiştir. En iyi çözündüğü çözücü ile çözülen numune uygun miktarda adsorban ile karıştırılmıştır. Çözelti adsorbana iyice emdirilmiş ve tam kurutulmuştur. Karışım kuru tatbike uygun hazırlanan kolona aktarılıp, uygun solvan sistemi ile elüe edilmiştir.

3.4.4. Solvan Sistemleri

Kromatografik analizlerde Tablo 3.2'de verilen solvan sistemleri kullanılmıştır.

Tablo 3.2. Kromatografik analizlerde kullanılan solvan sistemleri

Solvan Sistemi	Yöntem
Diklorometan:Metanol:Su (90:10:1→30:70:7)	İTK, SK
Etil asetat:Metanol:Su (7:2:1→5:4:1)	İTK, SK
Etil asetat:Asetik asit:Formik asit:Su (100:11:11:27)	İTK

3.5. Ekstraksiyon Yöntemi

Kurutulup, toz edilen bitki materyali (342 g) bir gece 1250 mL metanolde maserasyona bırakıldıktan sonra geri çeviren soğutucu ve mantolu ısıtıcı kullanılarak 40 ˚C sıcaklıkta 2 saat süreyle 6 defa (6×850 mL) ekstre edilmiştir. Süzülüp birleştirilen metanol ekstresi rotavaporda 40 ˚C sıcaklıkta ve 120 rpm'de yoğunlaştırılıp kurutulmuş ve 59 g ekstre elde edilmiştir. Ekstre 85 mL suda çözülüp sırasıyla hekzan (5×200 mL), diklorometan (5×200 mL) ve etil asetat (5×200 mL) ile ayırma hunisinde tüketilmiş ve elde edilen ekstreler rotavaporda yoğunlaştırılmıştır. Yoğunlaştırma sonunda 7.7 g hekzan, 10.3 g diklorometan, 2.6 g etil asetat ve 34.4 g su ekstresi elde edilmiştir.

3.6. İzolasyon Çalışmaları ve Yapı Tayini

2.6 g etil asetat ekstresi az miktarda metanolle çözülmüştür. Bu çözelti 4 g silika jele iyice emdirilip kurutulmuştur. Karışım, 40 g silika jel ve diklorometan:metanol:su (90:10:1) solvan sisteminin süspanse edilmesiyle ile hazırlanan kolona aktarılmıştır. Elüsyona diklorometan:metanol:su (90:10:1) solvan sistemi ile başlanmıştır. Yavaş yavaş polaritesi artırılarak diklorometan:metanol:su (80:20:2……50:50:5) solvan sistemleri ile elüsyon sürdürülmüştür. Yapılan İTK kontrolü sonucunda Fr. 19-23 (880 mg) birleştirilmiş ve izolasyon çalışmasına bu fraksiyon üzerinden devam edilmesine karar verilmiştir.

Fr. 19-23 metanolle çözülmüş ve 850 mg silika jele emdirilmiştir. Karışım, 11 g silika jel ve diklorometan:metanol:su (90:10:1) solvan sisteminin süspanse edilmesiyle ile hazırlanan kolona kuru tatbik yoluyla aktarılmıştır. Elüsyona aynı solvan sistemi ile başlanıp, diklorometan:metanol:su (80:20:2) ile devam edilmiş ve 84 fraksiyon toplanmıştır. 19-21 fraksiyonlarındaki çökelek süzülmüş ve metanolle yıkanmıştır. Çeşitli mobil fazlar kullanılarak İTK ile kontrol edilmiş ve MP-1 (34.4 mg) saf olarak elde edilmiştir.

34.4 g su ekstresi metanolle çözülmüştür. Bu çözelti 35 g silika jele iyice emdirilip kurutulmuştur. Karışım, 120 g silika jel ve diklorometan:metanol:su (90:10:1) solvan sisteminin süspanse edilmesiyle ile hazırlanan kolona aktarılmıştır. Elüsyona diklorometan:metanol:su (90:10:1) solvan sistemi ile başlanmıştır. Yavaş yavaş polaritesi artırılarak diklorometan:metanol:su (80:20:2……30:70:7) solvan sistemleri ile elüsyon sürdürülmüştür. İTK ile kontrol edilerek benzer fraksiyonlar birleştirilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda Fr. 231-278 (1.9 g) üzerinde saflaştırma işlemine devam edilmesine karar verilmiştir.

Fr. 231-278, 2 g silika jele emdirilip kurutulmuştur. Karışım, 25 g silika jel ve etil asetat:metanol:su (7:2:1) solvan sisteminin süspanse edilmesiyle ile hazırlanan kolona aktarılmıştır. Elüsyona aynı solvan sistemi ile başlanıp, etil asetat:metanol:su (6:3:1-5:4:1) ile devam edilmiştir. Yapılan İTK kontrolü sonucunda Fr. 8-13 (251.9 mg) birleştirilmiştir. Fr. 8-13'te çöken kısım (115.5 mg), su ile yıkanarak ayrılmış ve 130 mg silika jele emdirilmiştir. Karışım, 19 g silika jel ve diklorometan:metanol:su (90:10:1) solvan sisteminin süspanse edilmesiyle ile hazırlanan kolona aktarılmıştır. Elüsyona diklorometan:metanol:su (90:10:1) solvan sistemi ile başlanmıştır. Yavaş yavaş polaritesi artırılarak diklorometan:metanol:su (80:20:2……50:50:5) solvan sistemleri ile elüsyon sürdürülmüştür. Yapılan İTK kontrolü ile birleştirilen Fr. 72-102 (107 mg), 317 mg silika jele emdirilmiştir. Karışım, 25 g silika jel ve diklorometan:metanol:su (61:32:7) solvan sisteminin süspanse edilmesiyle ile hazırlanan kolona tatbik edilmiştir. Elüsyon aynı solvan sistemi ile yapılmıştır. Yapılan İTK kontrolü sonucunda MP-2 (24.3 mg) saf olarak elde edilmiştir.

1D, 2D NMR ve Q-TOF-MS ölçümleri yapılarak izole edilen maddelerin yapıları aydınlatılmıştır. NMR spektrumları Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü ile İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde (İBTAM), kütle spektrumları ise Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (DAYTAM) çekilmiştir.

3.7. Antimikrobiyal Etkinliklerin Belirlenmesi

Bu çalışmada *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) standart bakteri suşları kullanılmıştır. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsünün önerdiği şekilde mikrodilüsyon yöntemi ile numunelerin antimikrobiyal etkinlikleri araştırılmıştır. Sıvı besiyeri olarak Mueller

Hinton besiyerinin kullanıldığı bu yöntemde her bir numunenin çift kat sulandırımları hazırlanmıştır (test maddeleri 1024 µg/mL-1 µg/mL ve sülfomerazin 3200 µg/mL-6.25 µg/mL). Konsantrasyonları 10^5 CFU/mL olacak şekilde hazırlanan mikroorganizmalar ile sulandırımları hazırlanan numuneler 96 kuyucuklu steril plakların kuyucuklarına 50 µL'ye 50 µL olacak şekilde eklenmiş ve plaklar 37 °C sıcaklıkta 24-48 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucu gözle kontrol edilmiş ve bulanıklık oluşmayan en düşük konsantrasyonlar minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) olarak belirlenmiştir.

3.8. Antioksidan Etkinliklerin Belirlenmesi

3.8.1. Total Fenolik Bileşik Miktar Tayini

Örneklerin total fenolik bileşik miktarları, Folin ve Denis tarafından geliştirilen, Singleton tarafından modifiye edilen yöntem kullanılarak belirlenmiştir (Folin & Denis 1912; Slinkard & Singleton 1977). Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanılmıştır. İlk olarak 100, 200, 300, 400, 500 ve 600 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltilerinden 1'er mL alınarak distile su ile 23 mL'ye tamamlanmıştır. Tamamlanan çözeltiler erlene alınmış, 0.5 mL Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) eklenip 3 dk bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda karışıma 1.5 mL %2'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım 2 saat süreyle oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Absorbanslar kör olarak kullanılan distile suya karşı 760 nm'de kaydedilmiştir. Okunan absorbanslar konsantrasyona karşı grafiğe alınmış ve gallik asit standart grafiği elde edilmiştir.

Örneklere ait numunelerin hazırlanması için her bir örneğin 1 mg/mL konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerin her birinden 1'er mL alınarak, distile su ile 23 mL'ye tamamlanmıştır. Tamamlanan çözeltiler erlene alınmış, 0.5 mL FCR eklenip 3 dk bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda karışıma 1.5 mL %2'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi eklenmiştir. Karışım oda sıcaklığında 2 saat süreyle

manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Absorbanslar kör olarak kullanılan distile suya karşı 760 nm'de kaydedilmiştir. Ölçümler üç defa tekrarlanmıştır. Numunelerin absorbanslarına karşılık gelen gallik asit eşdeğerleri standart grafikten elde edilen denklem kullanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE) ve mikrogram (µg) olarak hesaplanmıştır.

3.8.2. DPPH Radikali Süpürücü Kapasite Tayini

Çalışmamızda DPPH radikali süpürücü kapasite tayini Blois yöntemi ile yapılmıştır (Blois, 1958). Serbest radikal olarak 1 mM'lık $DPPH^{\bullet}$ çözeltisi kullanılmıştır. Numunelerin değişik konsantrasyonlarda (10-60 µg/mL) stok çözeltileri hazırlanmıştır. Ölçümde kullanılacak olan mikro plakaya stok çözeltilerin her biri 210 µL ve $DPPH^{\bullet}$ çözeltisi 70 µL olacak şekilde aktarılmıştır. Numuneler 1 dakika boyunca karıştırılmış ve 30 dakika süreyle oda sıcaklığında ve karanlık ortamda inkübe edilmiştir. Kör olarak kullanılan etanole karşı numunelerin absorbansları 517 nm'de ölçülmüştür. Kontrol numunesi olarak 70 µL $DPPH^{\bullet}$ çözeltisi ve 210 µL etanol, pozitif kontrol olarak da troloks kullanılmıştır. Aşağıda verilen formül kullanılarak yüzde inhibisyon değerleri hesaplanmıştır.

DPPH radikali süpürücü kapasite (%) = $[(A_{kontrol}-A_{numune}) / A_{konrol}] \times 100$

A_{Numune}: DPPH çözeltisine numune eklenmesiyle kaydedilen absorbans değeri

$A_{Kontrol}$: Kontrol çözeltisinin absorbans değeri

3.8.3. $ABTS^{+}$ Radikali Süpürücü Kapasite Tayini

Çalışmamızda örneklerin $ABTS^{+}$ radikali süpürücü kapasitesi Re ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre tayin edilmiştir (Re ve ark., 1999). ABTS katyon radikali elde etmek için öncelikle 2 mM ABTS çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiye 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisi 1:1 oranında eklenerek ABTS katyon radikali elde edilmiştir. 100 µL $ABTS^{\bullet+}$ çözeltisi ve 140 µL farklı konsantrasyonlarda

(10-60 µg/mL) hazırlanmış numunelerin stok çözeltilerinden kuyucuklara aktarılmış ve 1 dk süreyle çalkalama işlemi yapılmıştır. 140 µL $ABTS^{\bullet+}$ çözeltisi ile 100 µL fosfat tamponu (pH = 7.4, 0.1 M) kontrol numunesi olarak kullanılmıştır. Kontrol numunesinin 734 nm'de absorbansı 0.700 ± 0.025 olmalıdır. 30 dk bekletme süresinin ardından tampon çözeltisinden oluşan köre karşı 734 nm'de absorbanslar ölçülmüştür. Standart bileşik olarak troloks kullanılmıştır. Ekstrelerin $ABTS^{\bullet+}$ süpürücü kapasiteleri yüzde olarak aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$ABTS^{\bullet+}$ süpürme kapasitesi (%) = $[A_{kontrol}-A_{numune} / A_{konrol}] \times 100$

A_{numune}: $ABTS^{\bullet+}$ çözeltisine numune eklenmesiyle kaydedilen absorbans değeri

$A_{kontrol}$: Kontrol numunesinin absorbans değeri

3.9. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Tayini

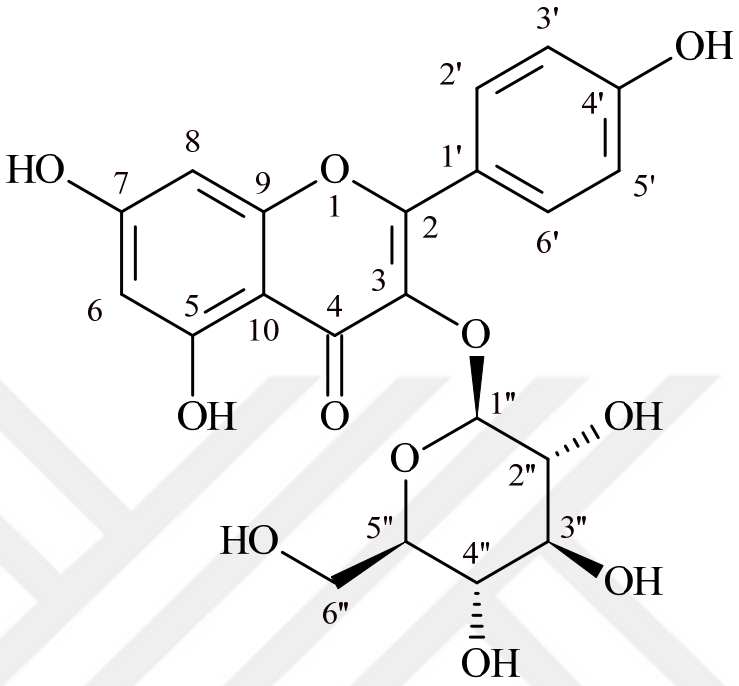
Örneklerin tirozinaz enzim inhibitör özellikleri Masuda'nın metodu modifiye edilerek test edilmiştir (Masuda ve ark., 2005). Substrat olarak 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin (L-DOPA)'nın kullanıldığı bu yöntemde pozitif kontrol olarak kojik asit kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda 40 µL örnek çözelti, 40 µL tirozinaz solüsyonu ve 80 µL fosfat tamponu (pH=6.8), 96 kuyucuklu mikro plaka kuyucuklarına aktarılmış ve 23 °C sıcaklıkta 10 dk süreyle inkübe edilmiştir (A: fosfat tamponu ve enzim, B: fosfat tamponu, C: fosfat tamponu, enzim ve örnek, D: fosfat tamponu ve örnek). Bu sürenin sonunda tüm kuyucuklara 40 µL L-DOPA eklenmiş, tekrar 23°C sıcaklıkta 10 dk inkübe edilmiş ve 490 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Aşağıdaki formül kullanılarak yüzde inhibisyon değerleri hesaplanmıştır.

% İnhibisyon değeri: $[[(A-B)-(C-D)] / (A-B)] \times 100$

4. BULGULAR

4.1. İzolasyon Sonuçları

4.1.1. Kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit (Astragalin) (MP-1)



Şekil 4.1. Kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit'in (astragalin) molekül yapısı

($C_{21}H_{20}O_{11}$, M_A: 448.4 g/mol)

Sarı renkli amorf toz halinde bir bileşik olan MP-1, gün ışığında İTK plağında sarı renkli gözlenmiştir. UV_{254} nm'de koyu bir leke halinde, UV_{366} nm'de koyu mor ve %1'lik vanilin/H_2SO_4 reaktifi püskürtülüp 110 ˚C'de ısıtıldığında parlak sarı renk gözlenmesi flavonoit olabileceğini akla getirmiştir.

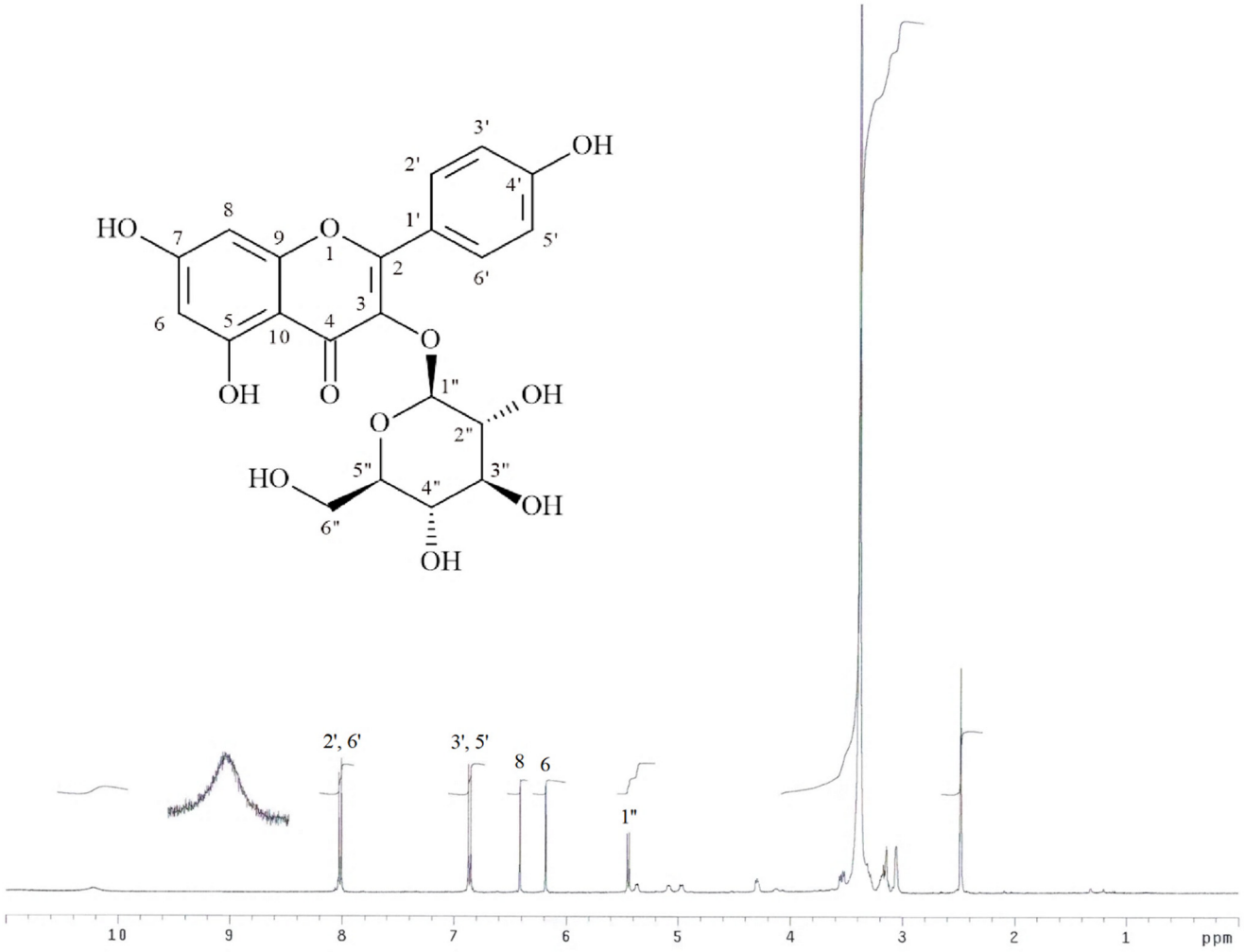
Kütle spektrumunda *m/z* 449.1078 $[M+H]^+$ iyon piki (Şekil 4.12) gözlenmiştir. ^{13}C-NMR spektrumu (Şekil 4.3-Şekil 4.5, Tablo 4.1) incelendiğinde 21 karbon belirlenmiş ve molekülün kapalı formülü $C_{21}H_{20}O_{11}$ olarak bulunmuştur.

^{1}H NMR spektrumunda (Şekil 4.2, Tablo 4.1) gözlenen δ_H 6.18 (*d*, *J* = 1.8 Hz) ve δ_H 6.41 (*d*, *J* = 1.8 Hz) ppm'deki sinyaller molekülde sırasıyla 6 ve 8 numaralı protonlara; δ_H 6.86, (2H, *d*, *J* = 9.2 Hz) ve δ_H 8.01 (2H, *d*, *J* = 8,8 Hz) ppm'deki sinyaller sırasıyla 3',

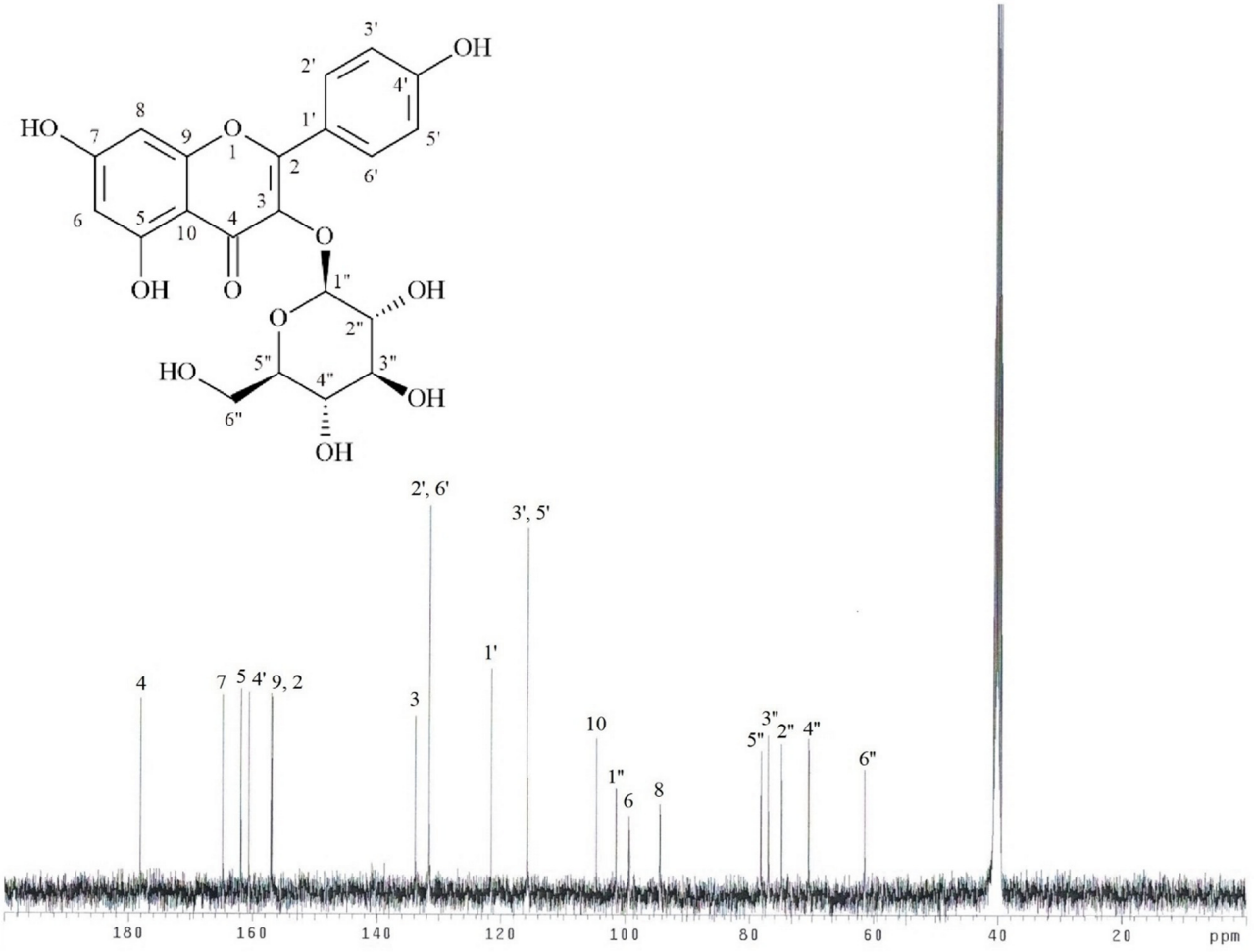
5' ve 2', 6' numaralı protonlara aittir. δ_H 5.44 (*d*, *J* = 7.7 Hz) ppm'deki anomerik protona ait sinyal, molekülde oz varlığını ve etkileşme sabiti (*J* = 7.7 Hz), ozun β konfrügasyonda olduğunu göstermiştir. ^{13}C-NMR spektrumunda δ_C 70.5-78.2 ppm arasında gözlenen sinyaller de molekülde oz varlığını desteklemiştir. Bu sinyaller ve δ_C 101.5 ppm'de gözlenen oza ait anomerik karbon sinyali literatürle karşılaştırılarak ozun glikoz olduğu belirlenmiştir. δ_C 115.8 ppm'de gelen sinyalin C-3', C-5', δ_C 131.6 ppm'de gelen sinyalin C-2', C-6' karbonlarına ait olduğu değerlendirilmiştir. HMQC spektrumu (Şekil 4.6, Şekil 4.7) ile hangi protonun hangi karbon üzerinde olduğu tespit edilmiştir. HMBC spektrumu (Şekil 4.8-Şekil 4.11, Tablo 4.1) incelendiğinde, δ_C 133.8 ppm'deki 3 numaralı karbon ile δ_H 5.44 (*d*, *J* = 7.7 Hz) ppm'deki anomerik protonunun (H-1") korelasyonu, glikozun aglikona 3 numaralı karbondan bağlı olduğunu göstermiştir. Bu bulgulara dayanarak MP-1 bileşiğinin kemferol-3-*O*-β-glukopiranozit (astragalin) (Şekil 4.1) olduğu belirlenmiş ve literatür ile desteklenmiştir (Tram ve ark., 2016; Wei ve ark., 2011).

Tablo 4.1. Kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit'in (astragalin) (MP-1) ^{13}C-NMR ve ^{1}H-NMR spektrum değerleri

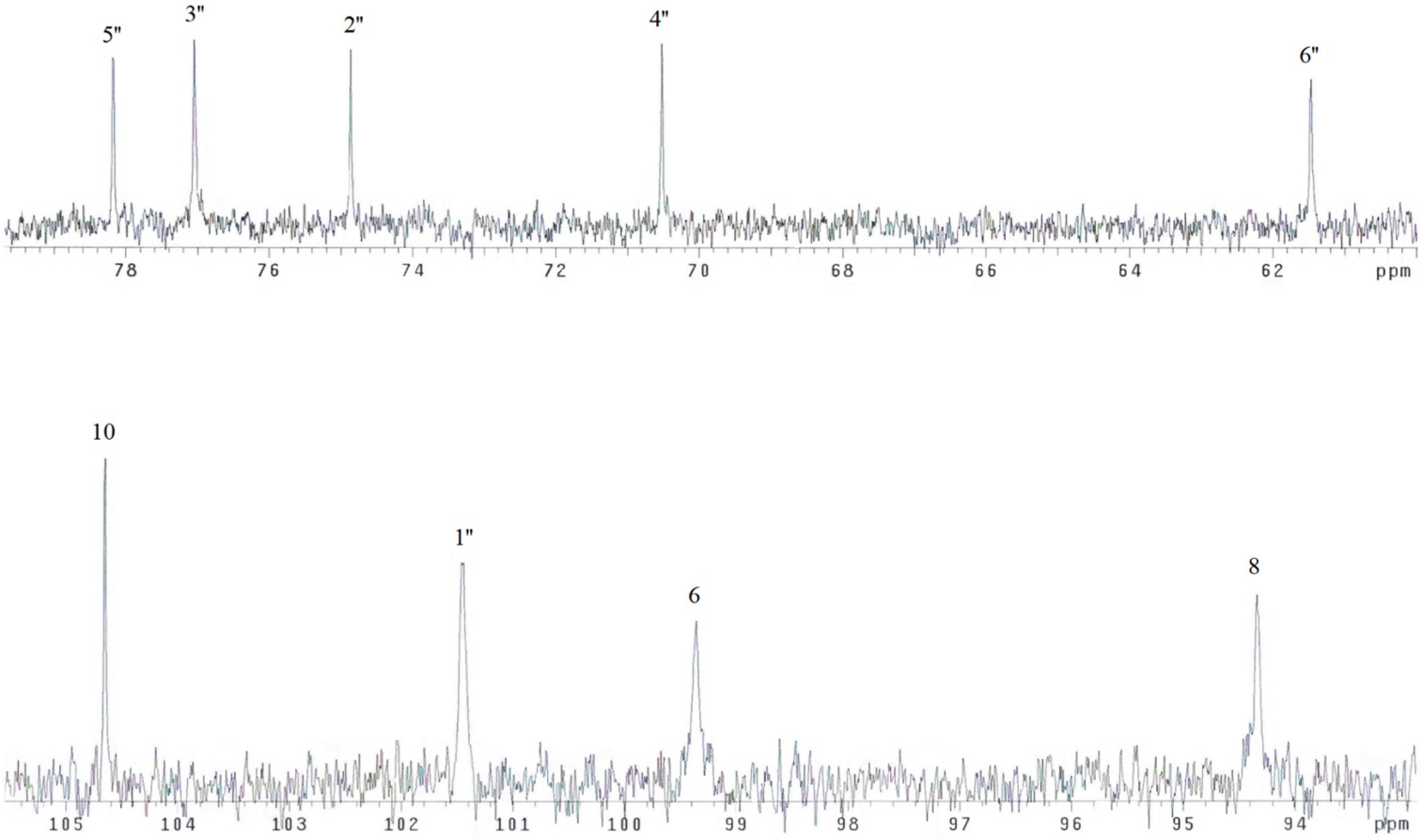
C atomu	^{13}C δ (ppm)	^{1}H δ (ppm)	HMBC
2	156.9		
3	133.8		
4	178.1		
5	161.9		
6	99.4	6.18, *d*, *J* = 1.8 Hz	5, 7, 8, 10
7	164.8		
8	94.4	6.41, *d*, *J* = 1.8 Hz	6, 7, 9, 10
9	157.1		
10	104.7		
1'	121.6		
2'	131.6	8.01, *d*, *J* = 8.8 Hz	2, 4'
3'	115.8	6.86, *d*, *J* = 9.2 Hz	1', 4'
4'	160.6		
5'	115.8	6.86, *d*, *J* = 9.2 Hz	1', 4'
6'	131.6	8.01, *d*, *J* = 8.8 Hz	2, 4'
1"	101.5	5.44, *d*, *J* = 7.7 Hz	3
2"	74.9	3.05-3.56	
3"	77.1	3.05-3.56	
4"	70.5	3.05-3.56	
5"	78.2	3.05-3.56	
6"	61.5	3.05-3.56	



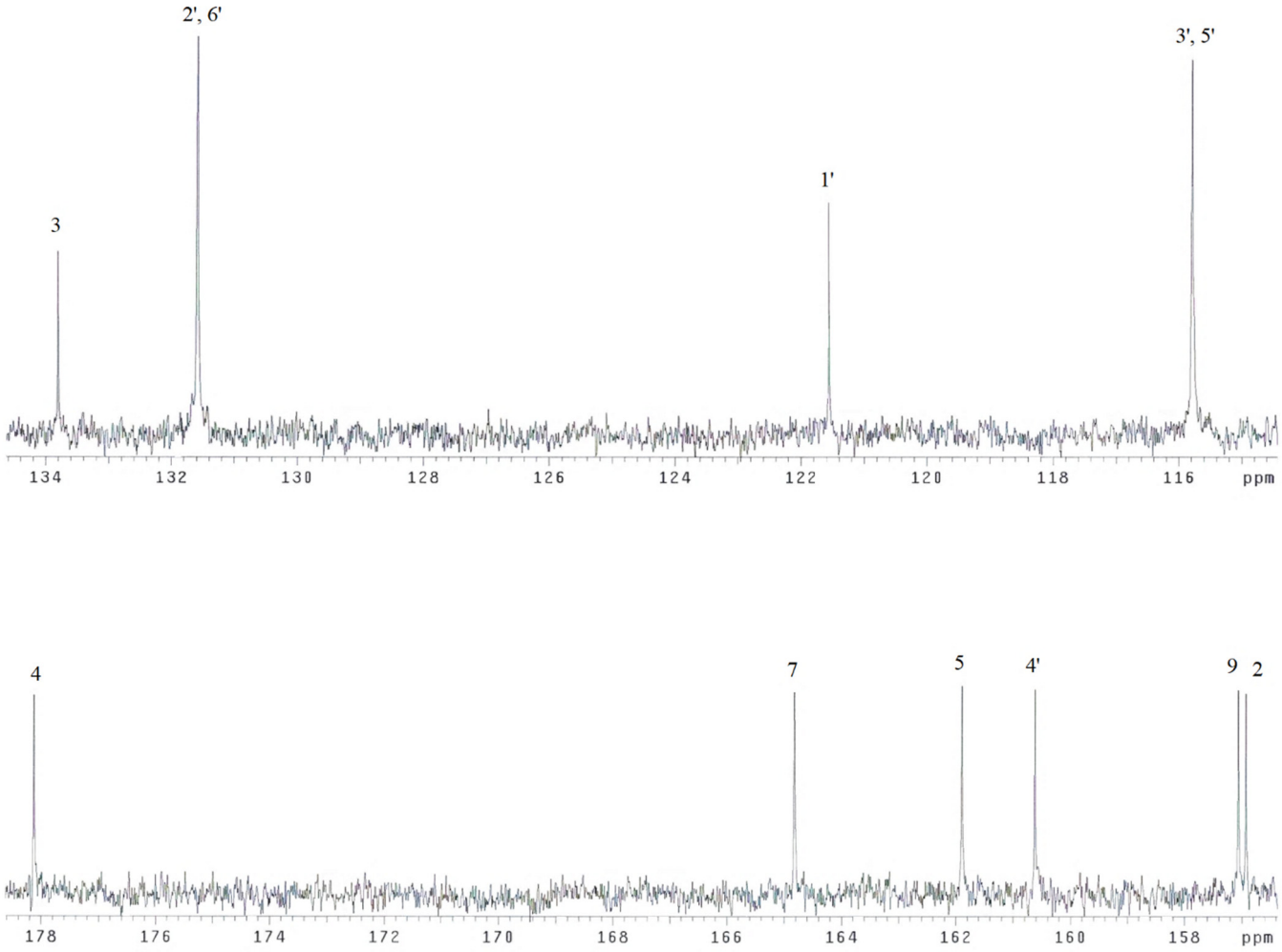
Şekil 4.2. MP-1'in ^{1}H-NMR (100 Mhz, DMSO, d_6) spektrumu



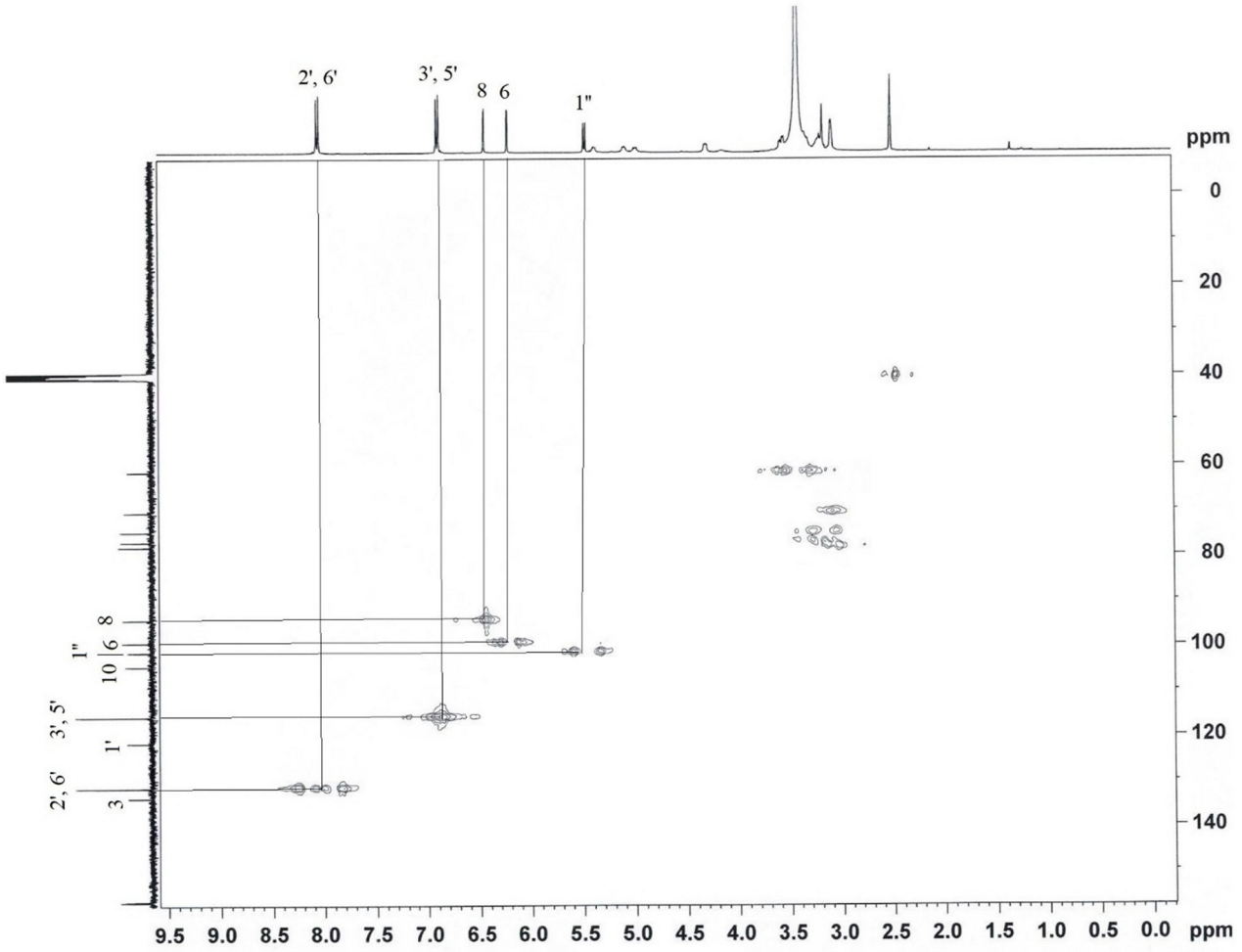
Şekil 4.3. MP-1'in ^{13}C-NMR (100 Mhz, DMSO, *d*$_6$) spektrumu



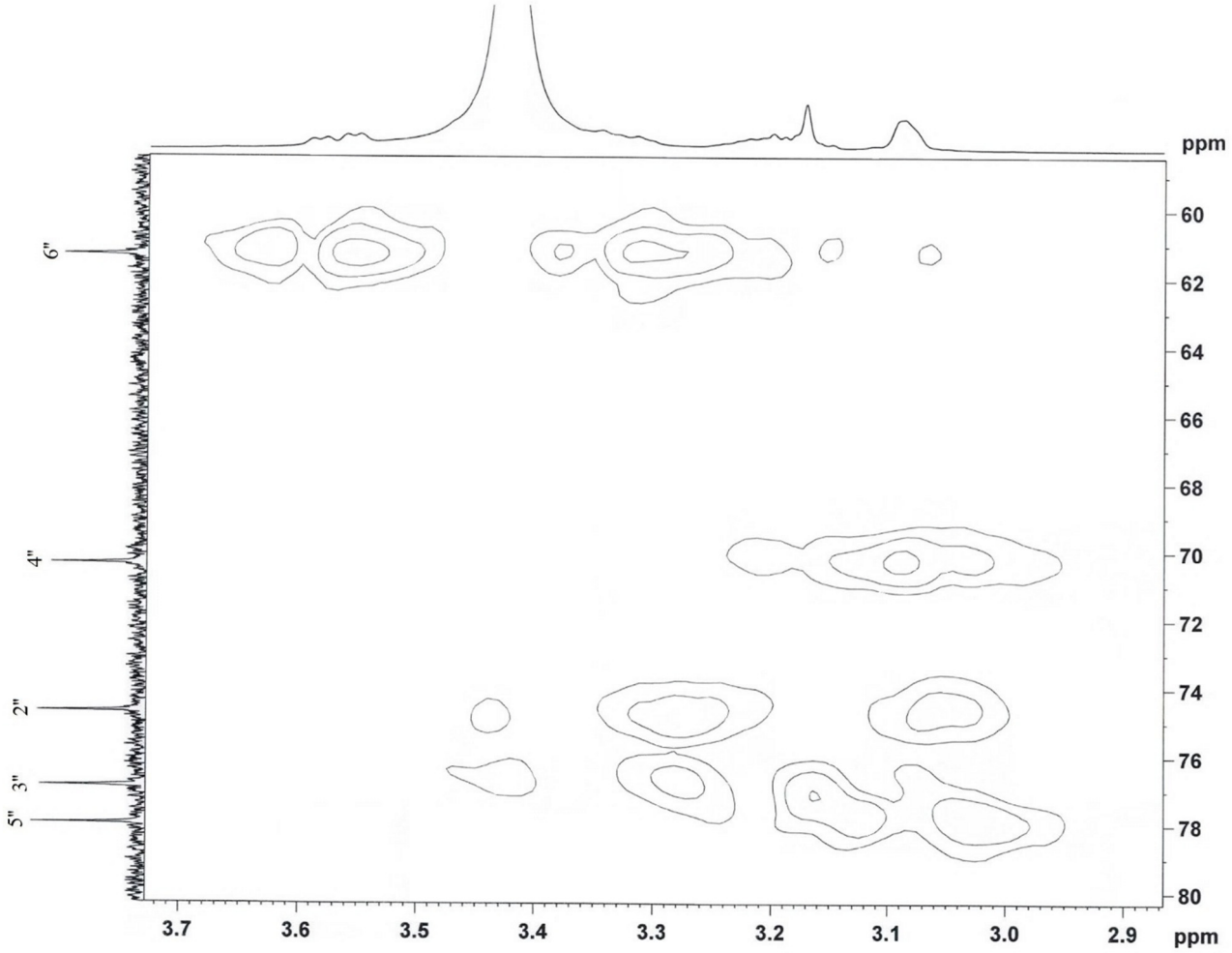
Şekil 4.4. MP-1'in ^{13}C-NMR (100 Mhz, DMSO, d_6) spektrumu



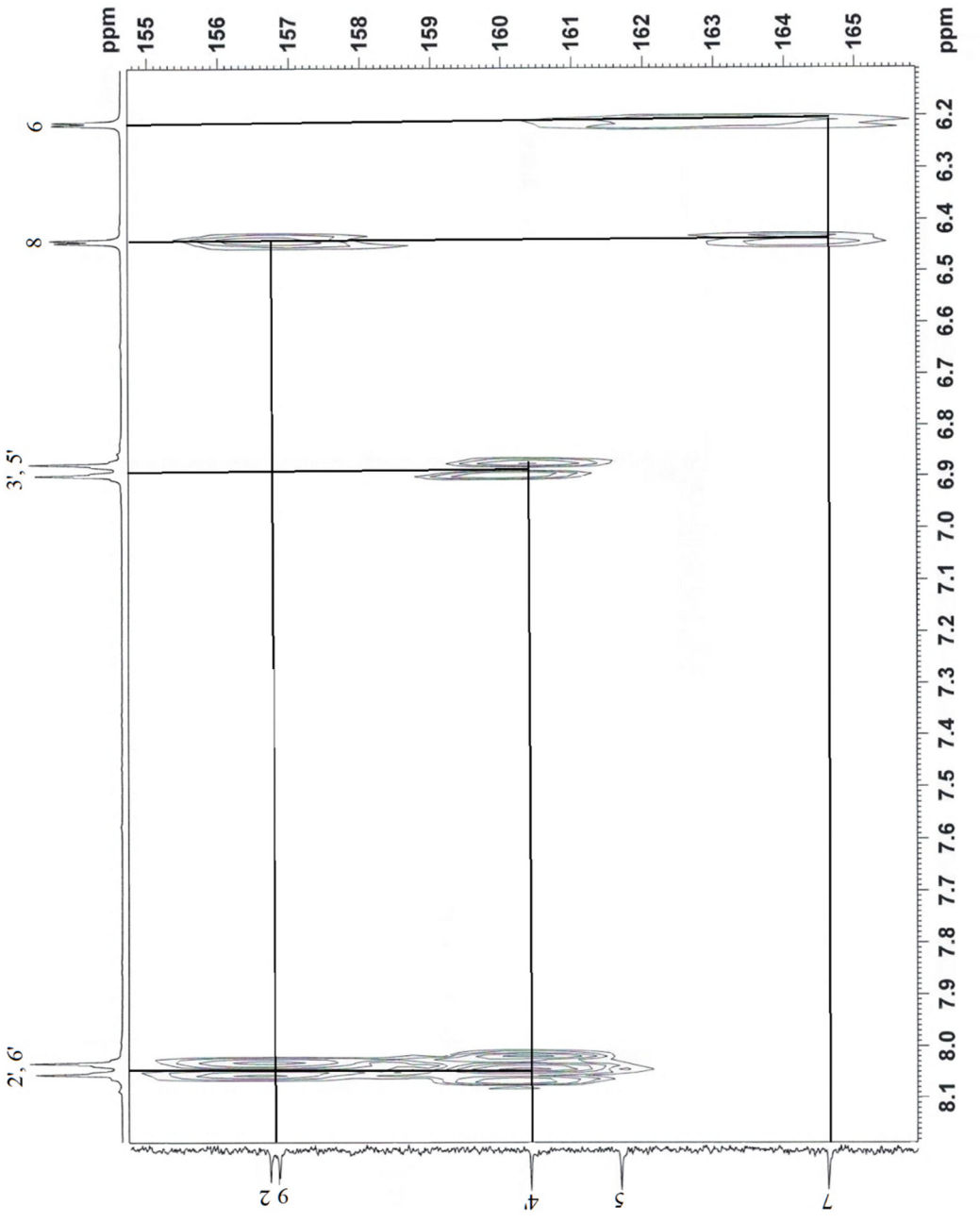
Şekil 4.5. MP-1'in ^{13}C-NMR (100 Mhz, DMSO, d_6) spektrumu



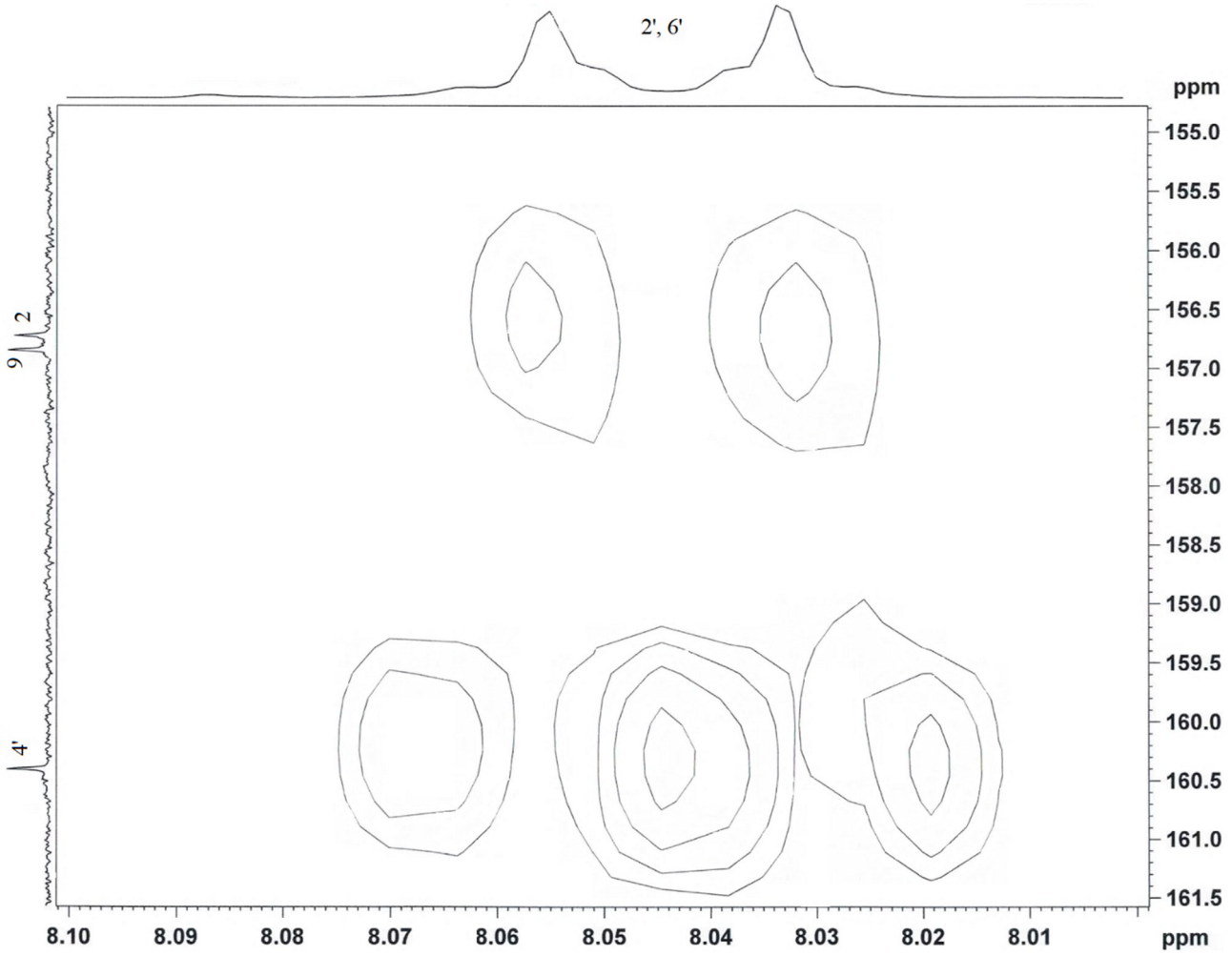
Şekil 4.6. MP-1'in HMQC spektrumu



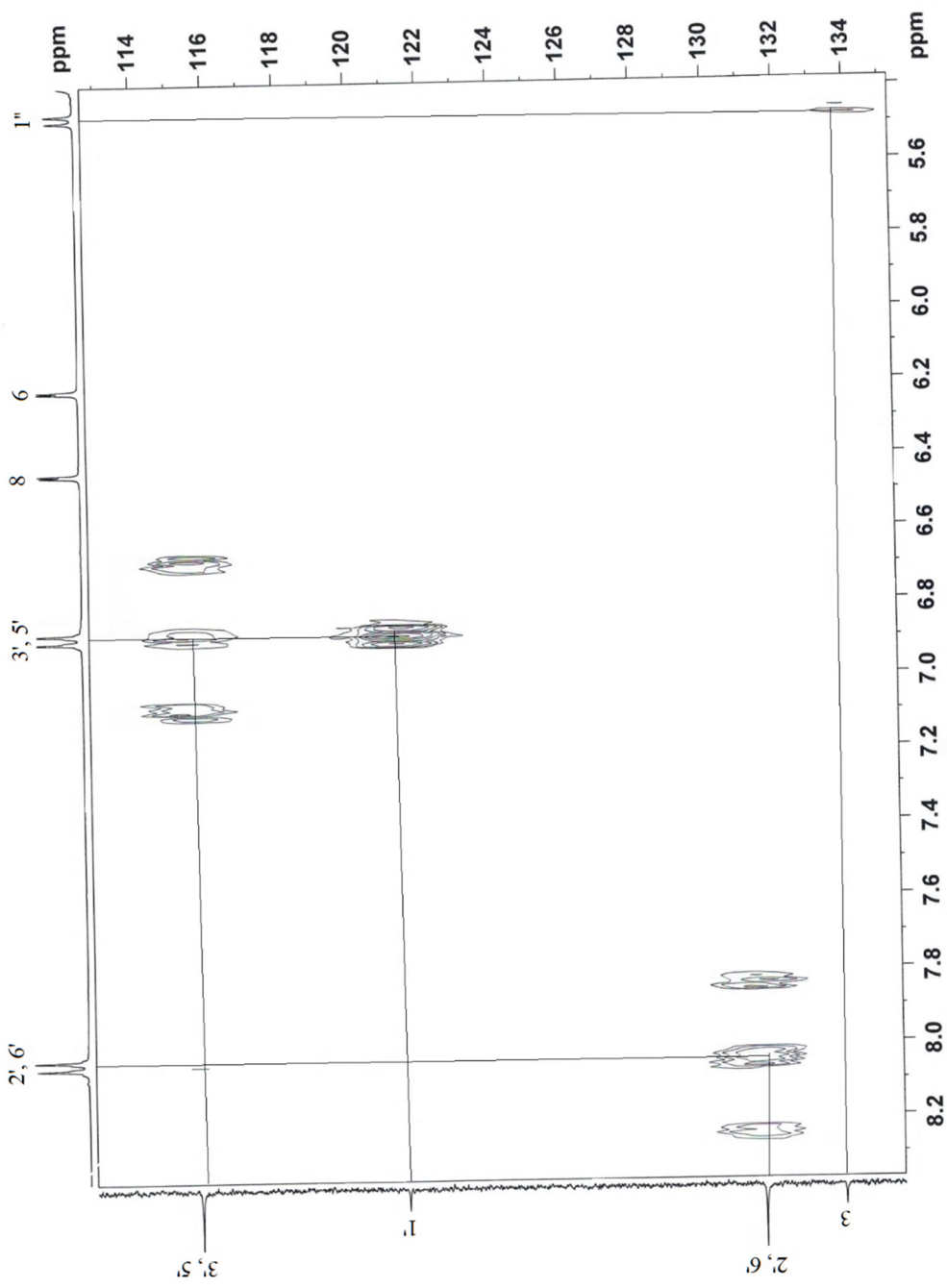
Şekil 4.7. MP-1'in HMQC spektrumu



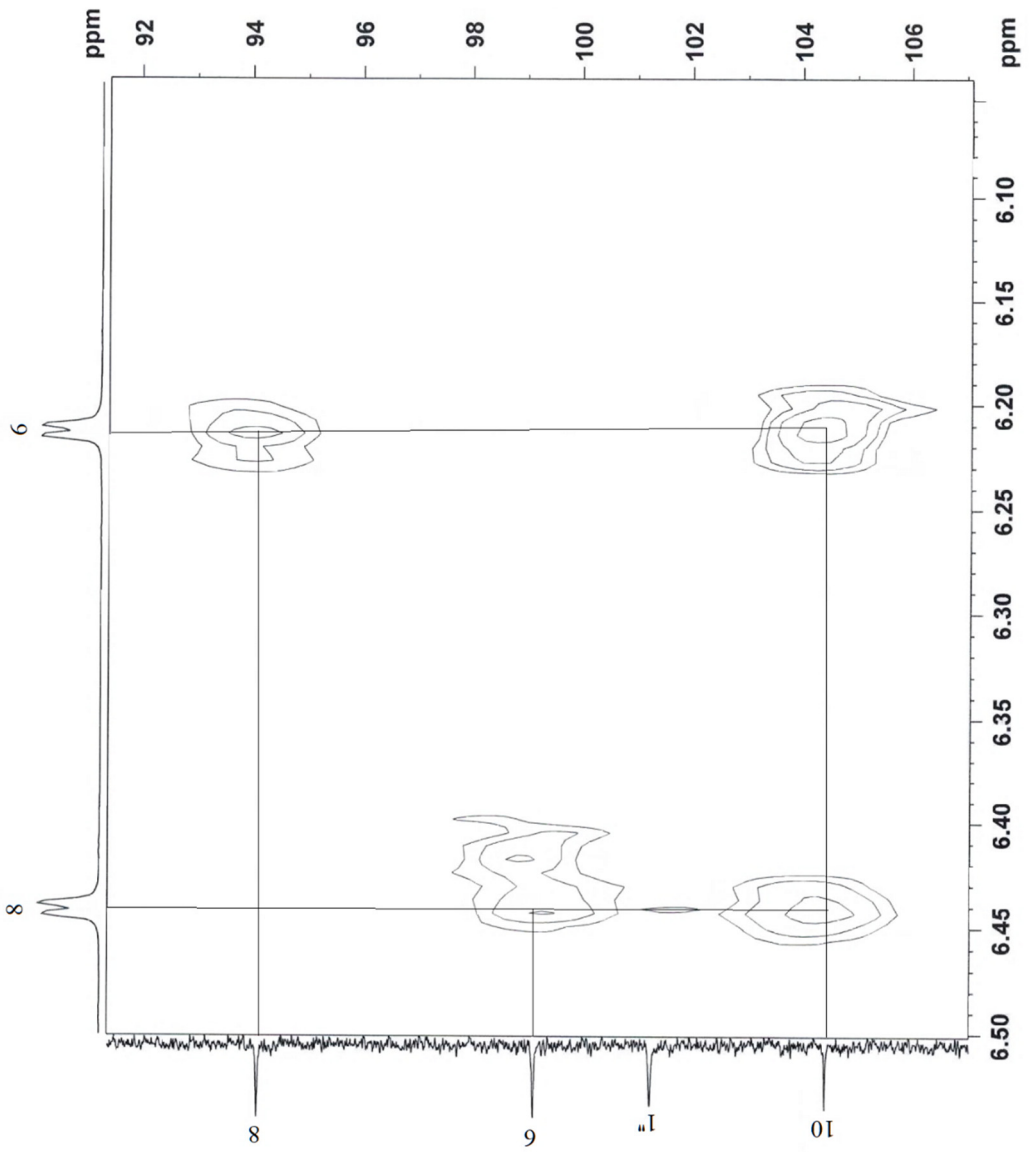
Şekil 4.8. MP-1'in HMBC spektrumu



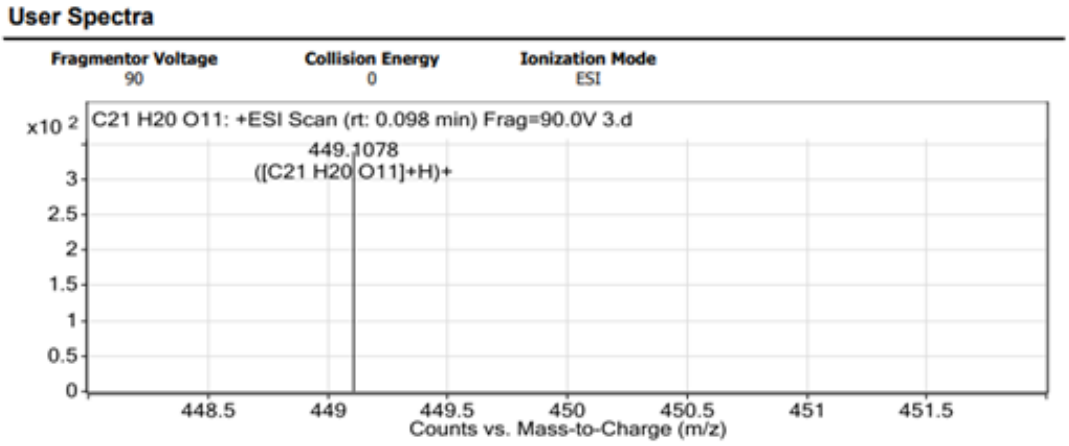
Şekil 4.9. MP-1'in HMBC spektrumu



Şekil 4.10. MP-1'in HMBC spektrumu

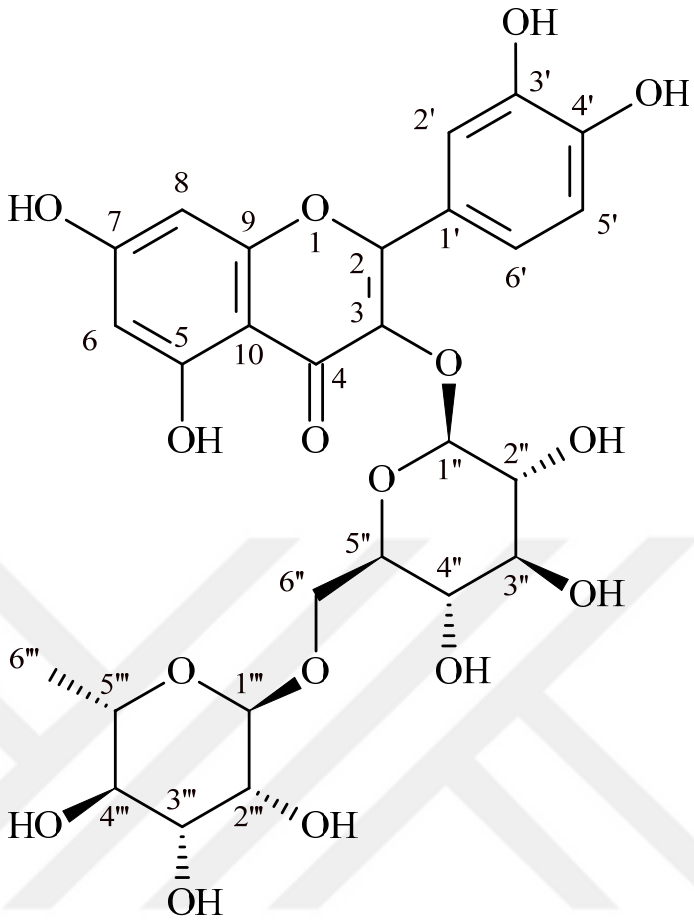


Şekil 4.11. MP-1'in HMBC spektrumu



Şekil 4.12. MP-1'in Q-TOF-MS spektrumu

4.1.2. Kersetin-3-*O*-rutinozit (Rutin) (MP-2)



Şekil 4.13. Kersetin-3-*O*-rutinozit'in (rutin) (MP-2) molekül yapısı

($C_{27}H_{30}O_{16}$, M_A: 610.5 g/mol)

Sarı renkli amorf toz halinde bir bileşik olan MP-2, gün ışığında İTK plağında sarı renkli gözlenmiştir. UV_{254} nm'de koyu bir leke halinde, UV_{366} nm'de koyu mor ve %1'lik vanilin/H_2SO_4 reaktifi püskürtülüp 110 ˚C'de ısıtıldığında parlak sarı renkli olması flavonoit olabileceğini akla getirmiştir.

Kütle spektrumunda *m/z* 611.1602 $[M+H]^+$ iyon piki (Şekil 4.27) gözlenmiştir. ^{13}C-NMR spektrumu (Şekil 4.17-Şekil 4.20, Tablo 4.2) incelendiğinde 27 karbon belirlenmiş ve molekülün kapalı formülü $C_{27}H_{30}O_{16}$ olarak bulunmuştur.

^{1}H NMR spektrumunda gözlenen (Şekil 4.14- Şekil 4.16, Tablo 4.2) δ_H 6.11 (*s*) ve δ_H 6.31 (*s*) ppm'deki sinyaller molekülde sırasıyla 6 ve 8 numaralı protonlara ve δ_H 6.79,

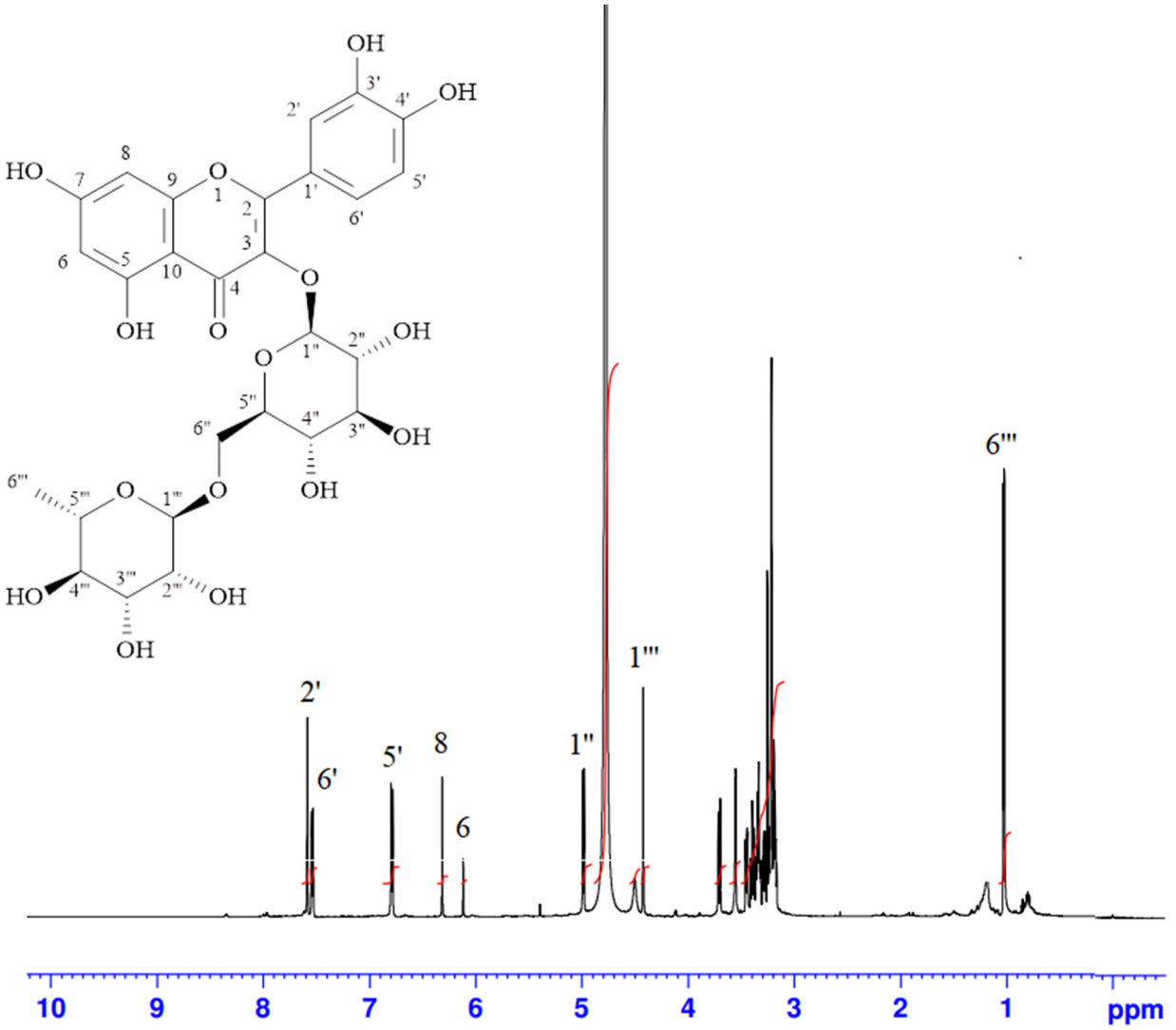
(*d*, *J* = 8.7 Hz), δ_H 7.54 (*dd*, *J* = 8.4/2.2 Hz) ve δ_H 7.58 (*d*, *J* = 2.2 Hz) ppm'deki sinyaller sırasıyla 5', 6' ve 2' numaralı protonlara aittir. δ_H 5.0 (*d*, *J* = 7.7 Hz) ppm ve δ_H 4.42 (*s*) ppm'deki anomerik oz sinyalleri aglikona bağlı iki oz varlığını göstermiştir. ^{13}C-NMR spektrumunda δ_C 67.2-76.8 ppm arasında gözlenen sinyaller de molekülde iki oz varlığını desteklemiştir. Bu sinyaller, δ_C 103.4 ppm'de (C-1"), δ_C 101.0 ppm'de (C-1"') gözlenen ozlara ait anomerik karbon sinyalleri ve δ_C 16.5 ppm'de (C-6"') gelen sinyal literatürle karşılaştırılarak ozların glikoz ve ramnoz olduğu belirlenmiştir. δ_H 1.02 (*d*, *J* = 6.2 Hz) ppm'deki sinyal de ramnozdaki -CH_3'e (6"') aittir. HMQC spektrumu (Şekil 4.21-Şekil 4.23) ile hangi protonun hangi karbon üzerinde olduğu tespit edilmiştir. HMBC spektrumunda görülen (Şekil 4.24-Şekil 4.26, Tablo 4.2) δ_C 134.3 ppm'deki 3 numaralı karbon ile glikoza ait anomerik protonunun (H-1") korelasyonu, glikozun aglikona 3 numaralı karbondan bağlı olduğunu göstermiştir. Ramnozun anomerik karbonu (C-1"') ile glikozun 6" numaralı protonu arasında görülen korelasyon da ramnozun, glikoza 6" numaralı karbondan bağlı olduğunu göstermiştir. Bu bulgulara dayanarak MP-2 bileşiğinin kersetin-3-*O*-rutinozit (rutin) (Şekil 4.13) olduğu belirlenmiş ve literatür ile desteklenmiştir (Al-Majmaie ve ark., 2019; Petrus ve ark., 2012; Xie ve ark., 2014).

Tablo 4.2. Kersetin-3-*O*-rutinozit'in (rutin) (MP-2) ^{13}C-NMR ve ^{1}H-NMR spektrum değerleri

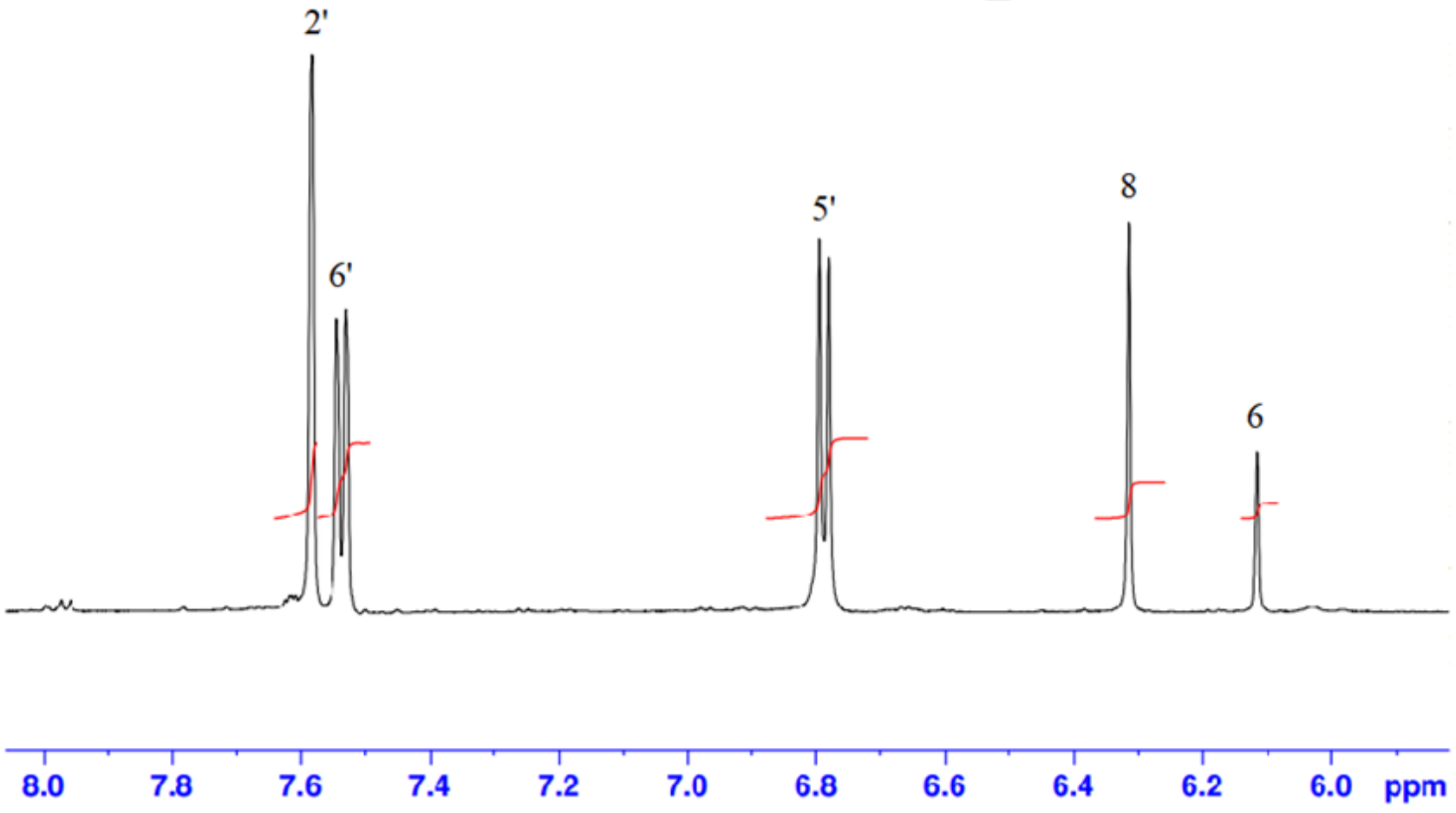
C atomu	^{13}C δ (ppm)	^{1}H δ (ppm)	HMBC
2	158.1		
3	134.3		
4	178.0		
5	161.5		
6	98.6	6.11, *s*	5, 7, 8, 10
7	164.6		
8	93.5	6.31, *s*	6, 7, 9, 10
9	157.3		
10	104.2		
1'	121.7		
2'	116.3	7.58, *d*, *J* = 2.2 Hz	2, 3', 6'
3'	144.4		
4'	148.4		
5'	114.7	6.79, *d*, *J* = 8.7 Hz	3', 4', 5'
6'	122.2	7.54, *dd*, *J* = 8.4/2.2 Hz	2, 2', 4'
1"	103.4	5.0, *d*, *J* = 7.7 Hz	3
2"	74.3	3.16-3.55 Hz	
3"	76.8	3.16-3.55 Hz	
4"	70.0	3.16-3.55 Hz	
5"	75.8	3.16-3.55 Hz	
6"	67.2	3.70, *d*, *J* =10.8	1"'

Tablo 4.2. (devam)

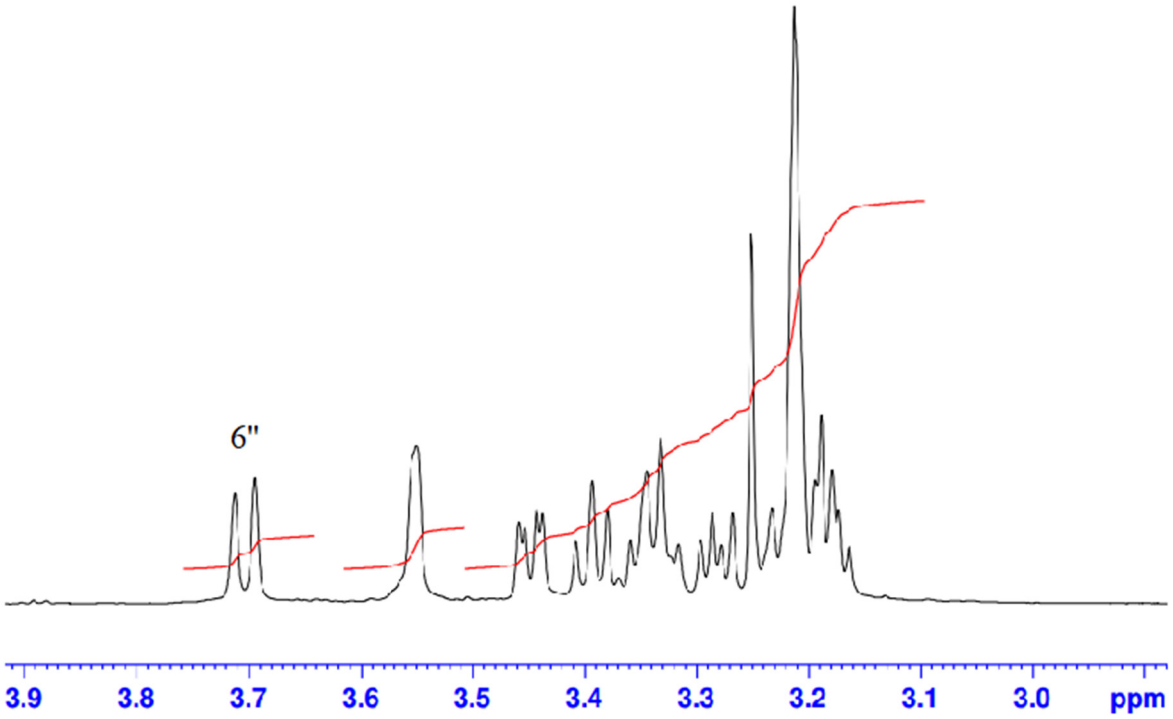
C atomu	^{13}C δ (ppm)	^{1}H δ (ppm)	HMBC
1'''	101.0	4.42, *s*	6''
2'''	70.7	3.16-3.55 Hz	
3'''	70.8	3.16-3.55 Hz	
4'''	72.5	3.16-3.55 Hz	
5'''	68.3	3.16-3.55 Hz	
6'''	16.5	1.02, *d*, *J* = 6.2 Hz	



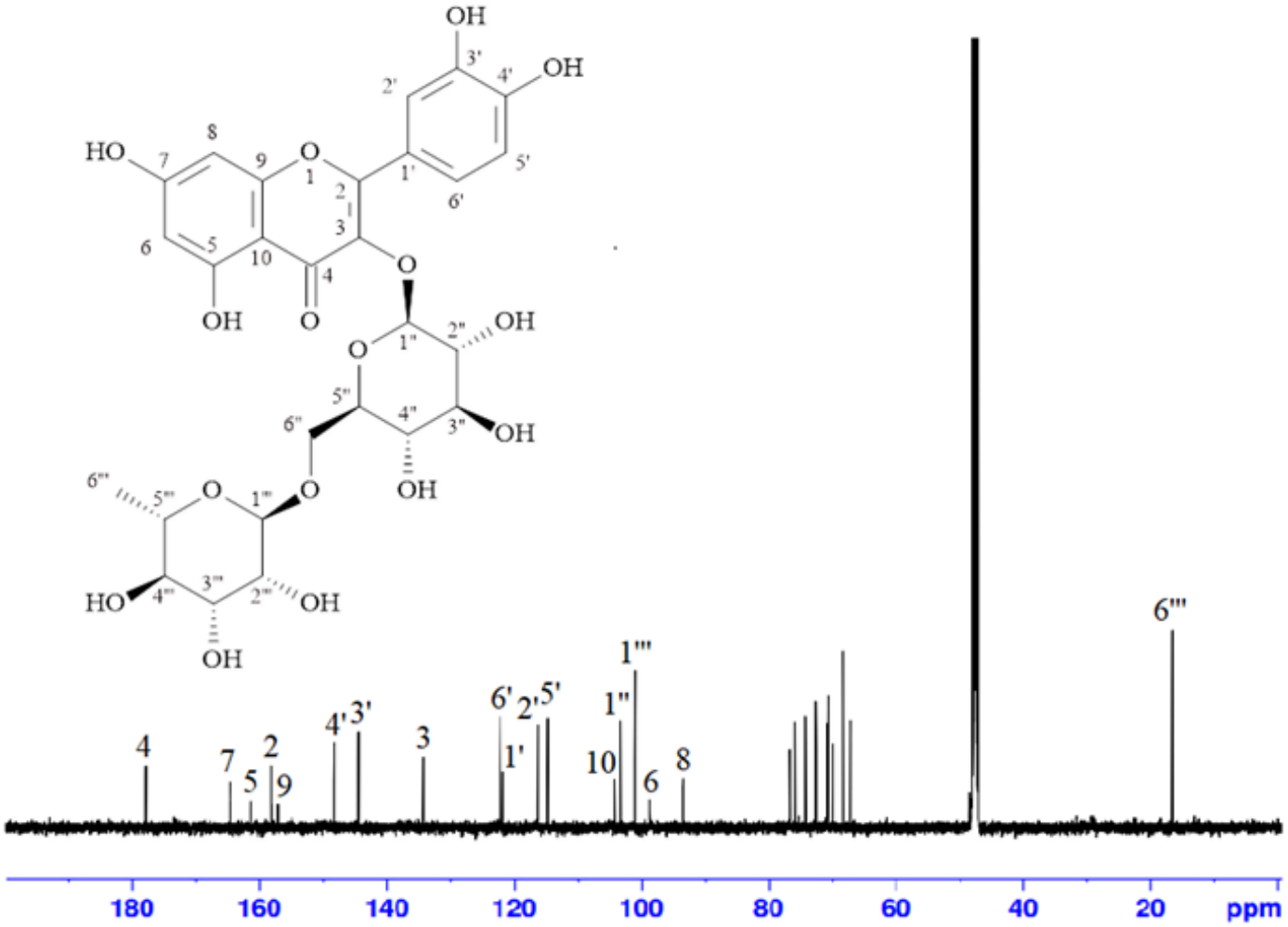
Şekil 4.14. MP-2'nin ^{1}H-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu



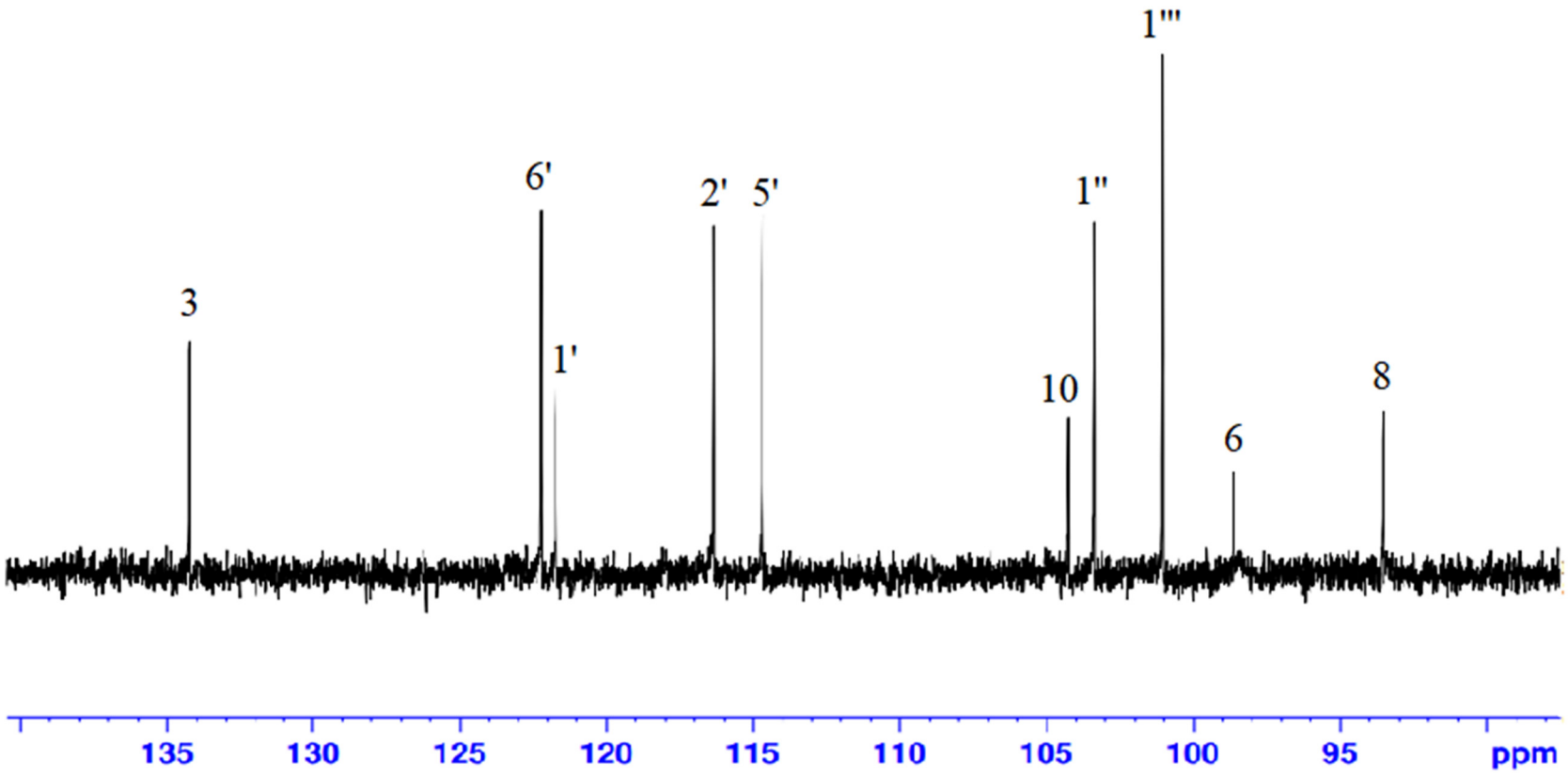
Şekil 4.15. MP-2'nin ^{1}H-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu



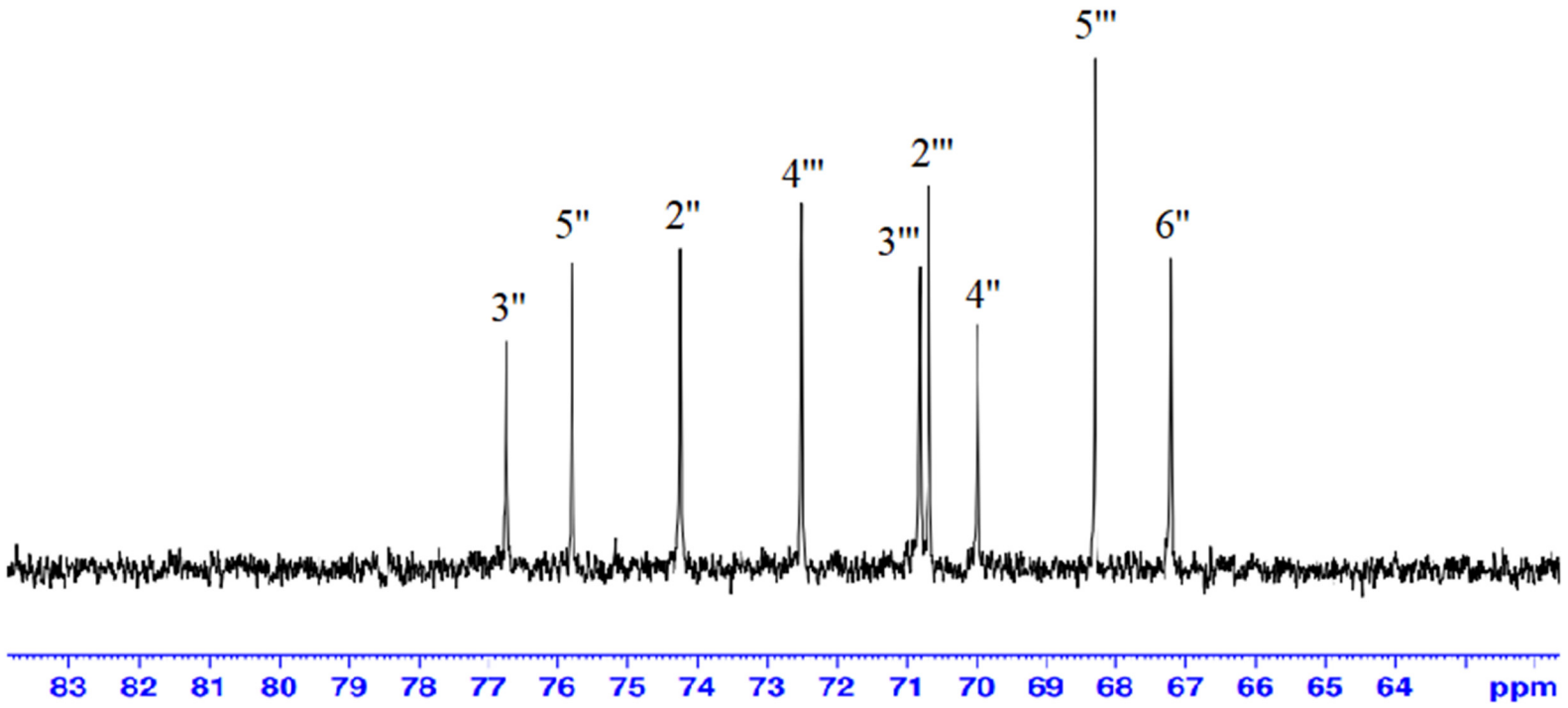
Şekil 4.16. MP-2'nin ^{1}H-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu



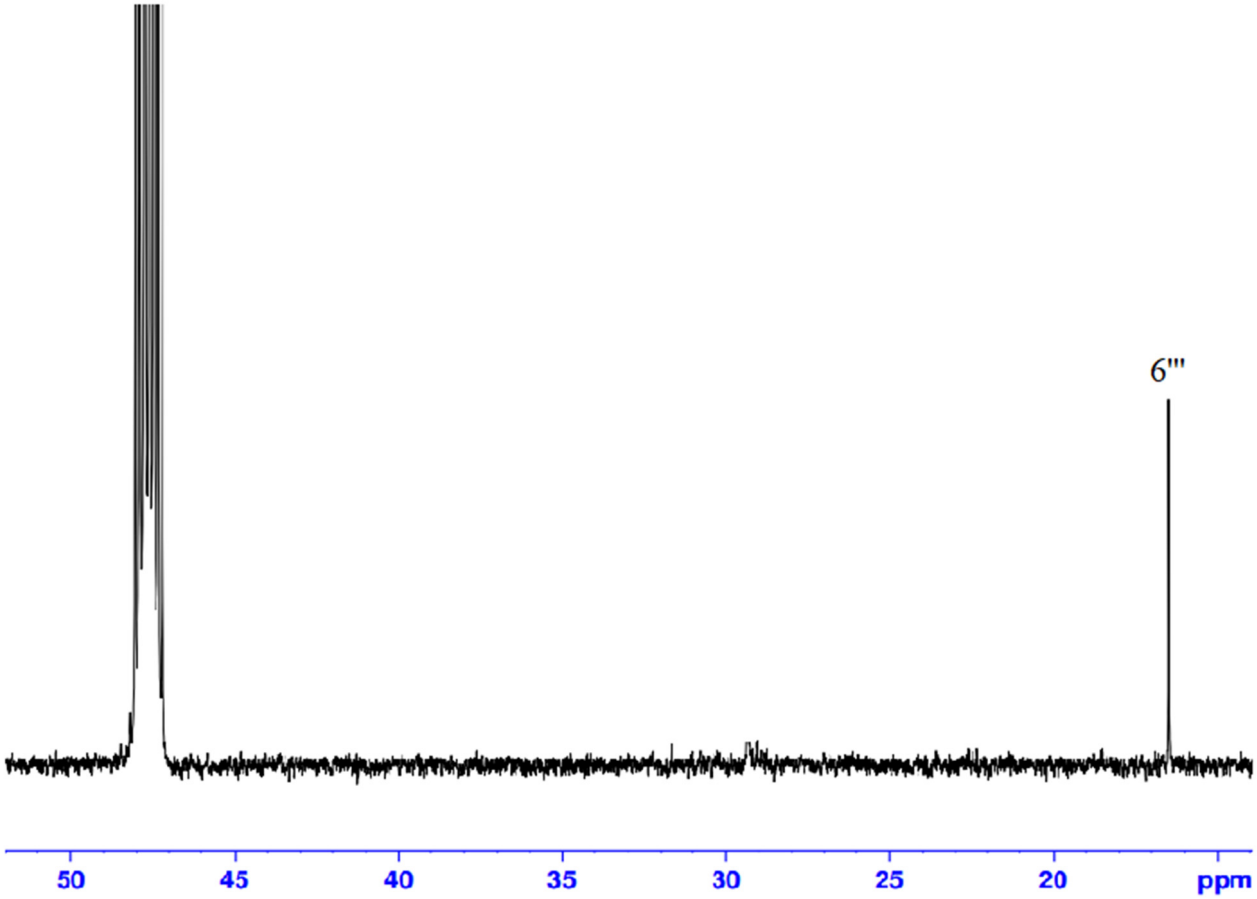
Şekil 4.17. MP-2'nin ^{13}C-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu



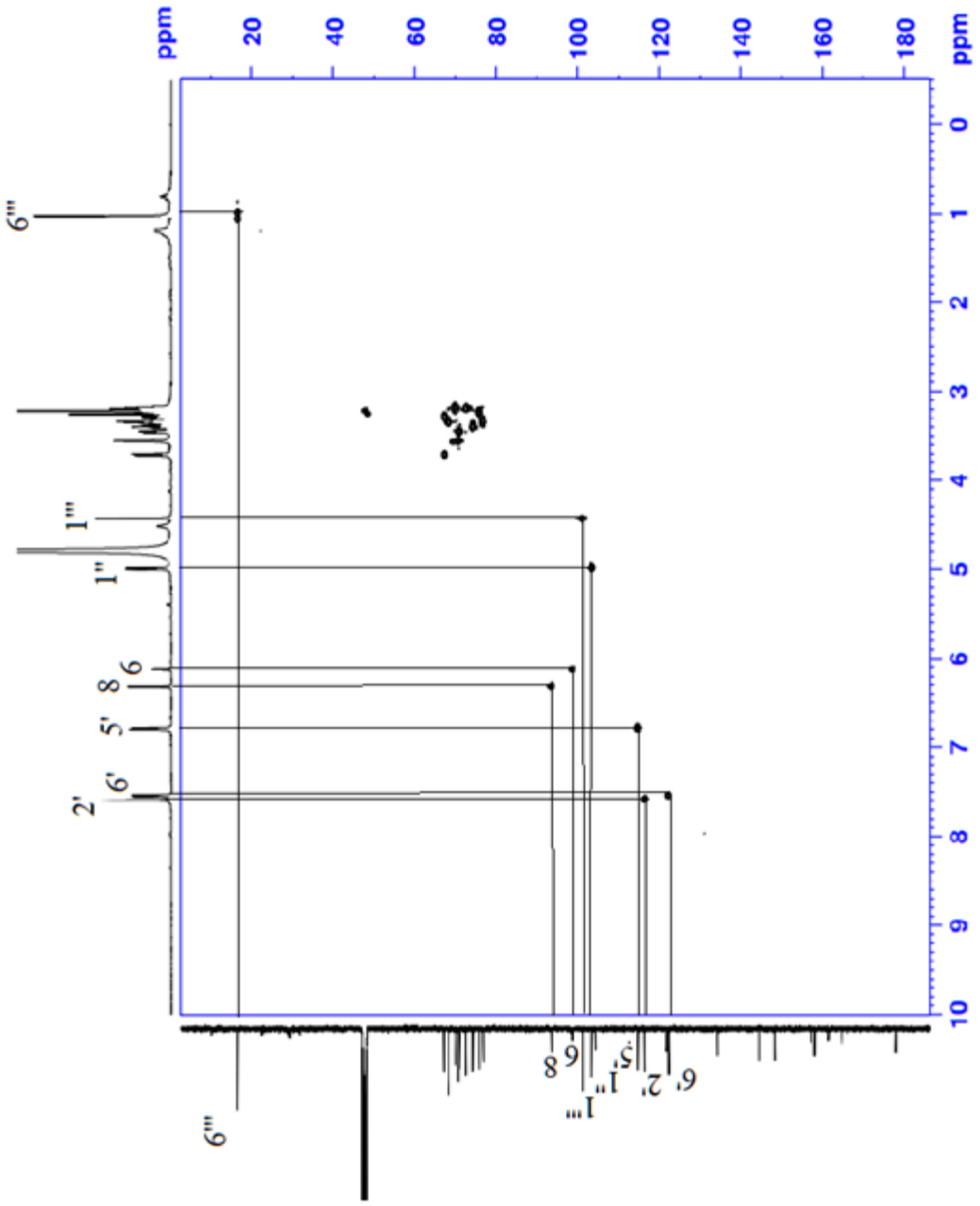
Şekil 4.18. MP-2'nin ^{13}C-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu



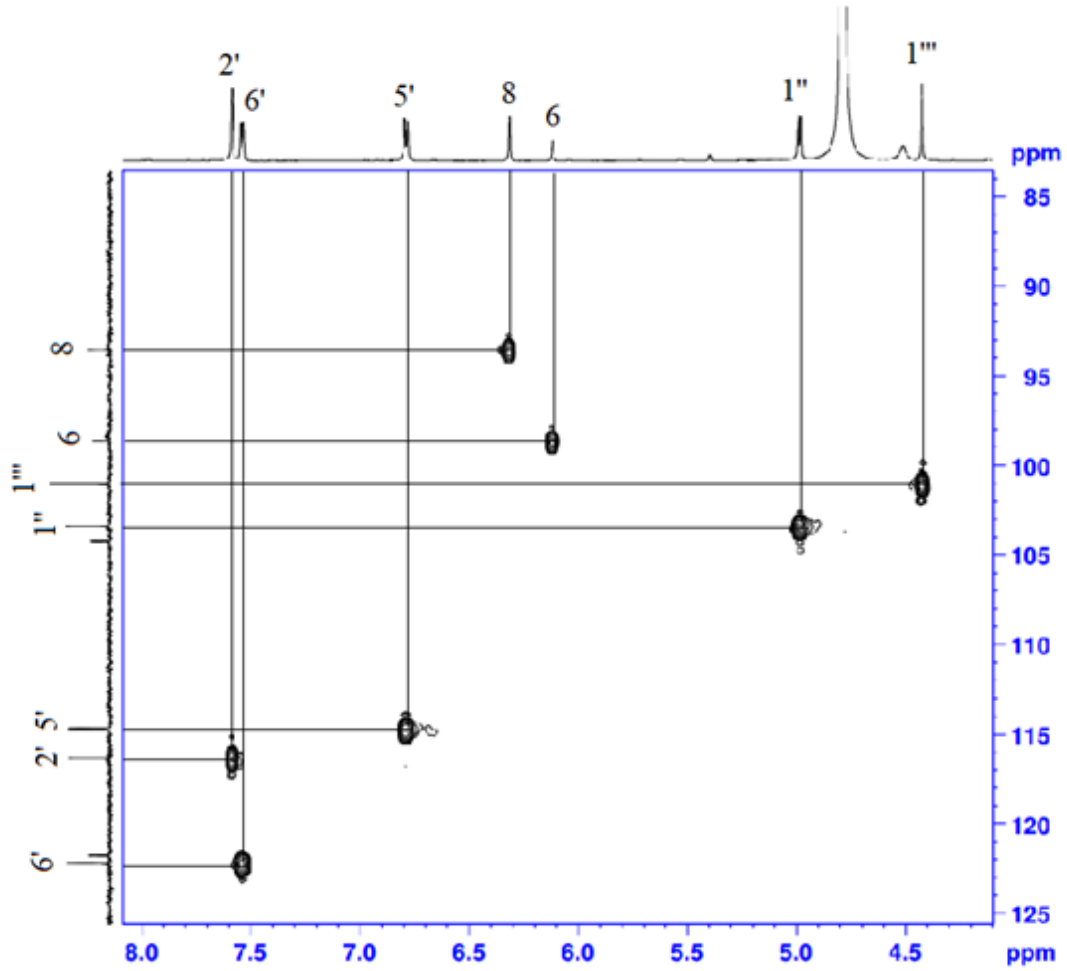
Şekil 4.19. MP-2'nin ^{13}C-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu



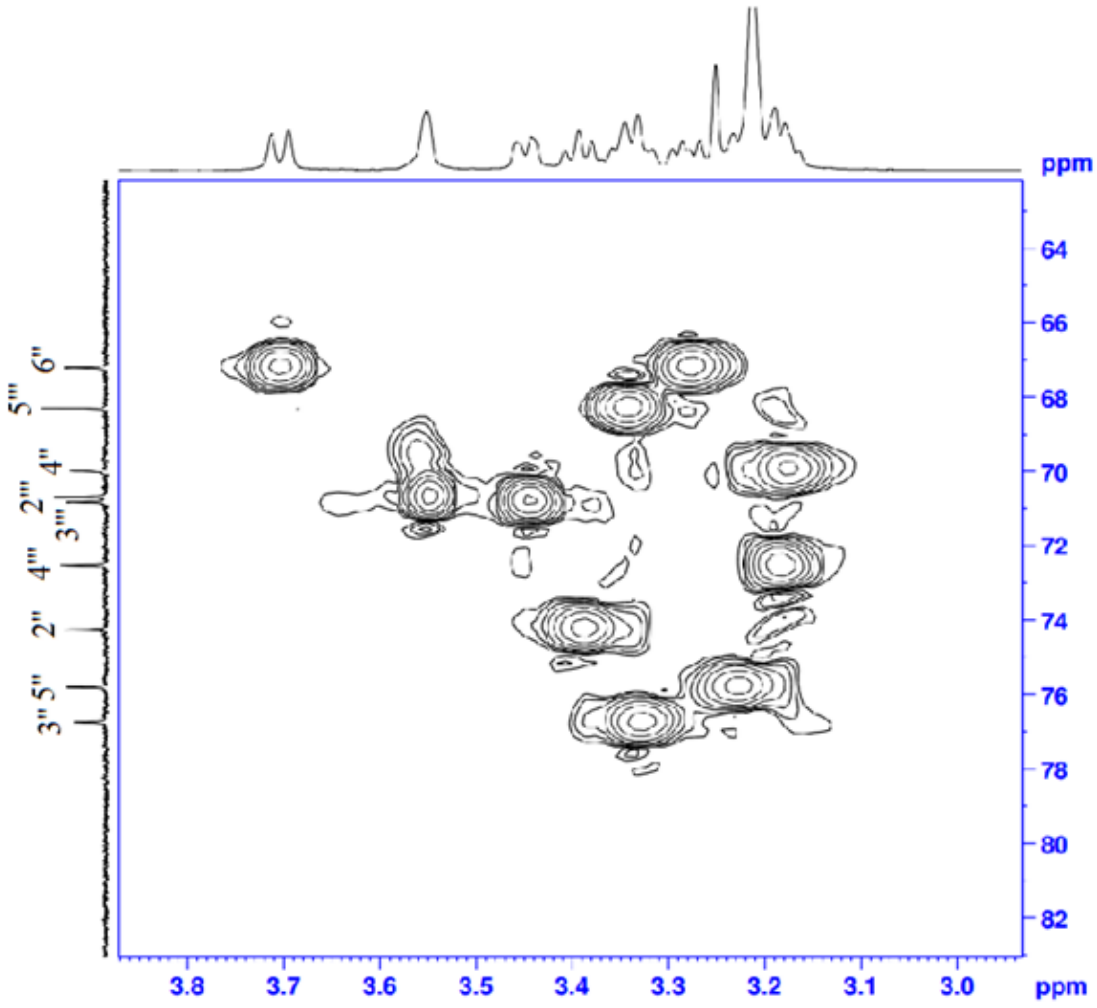
Şekil 4.20. MP-2'nin ^{13}C-NMR (600 Mhz, CD_3OD) spektrumu



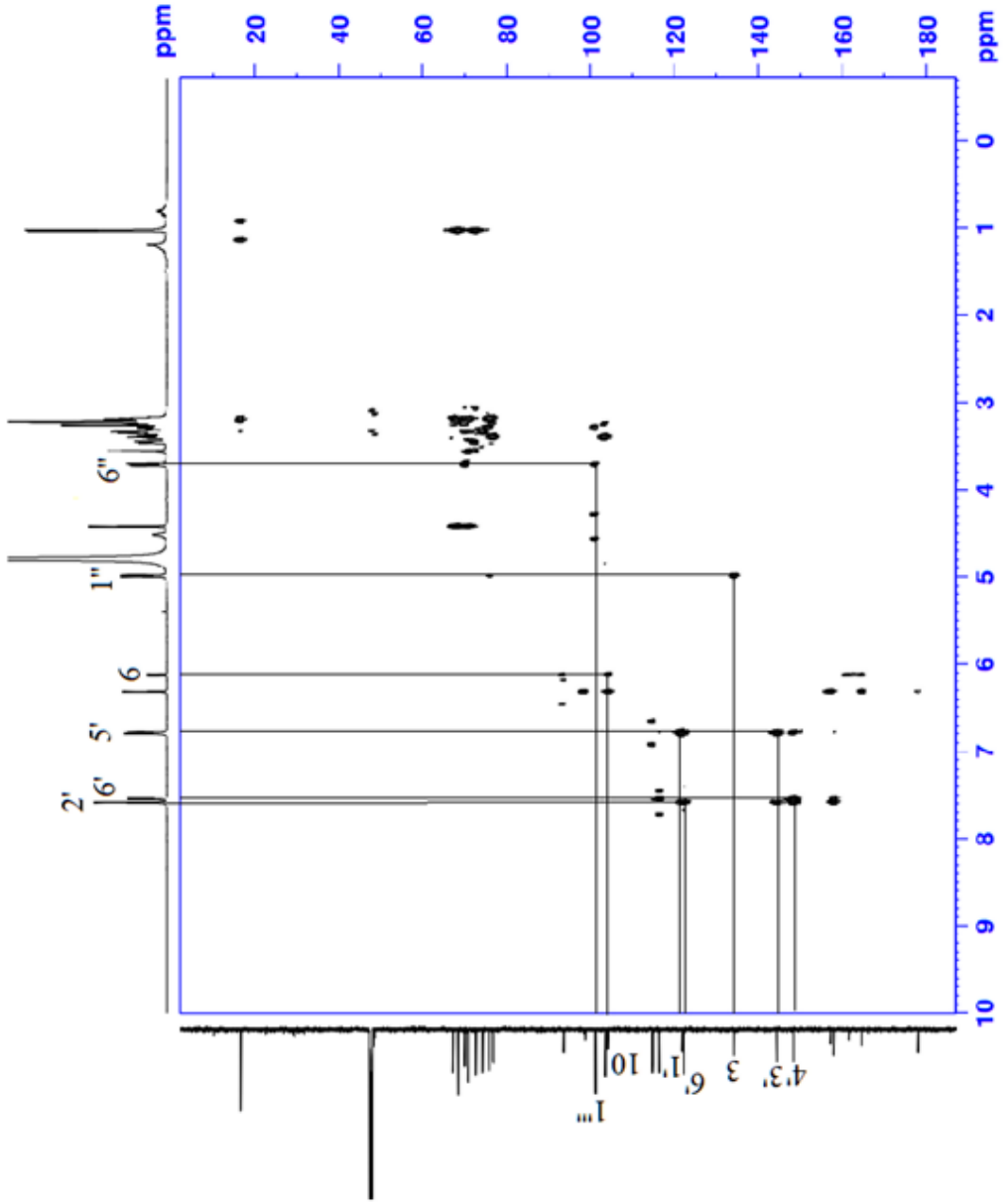
Şekil 4.21. MP-2'nin HMQC spektrumu



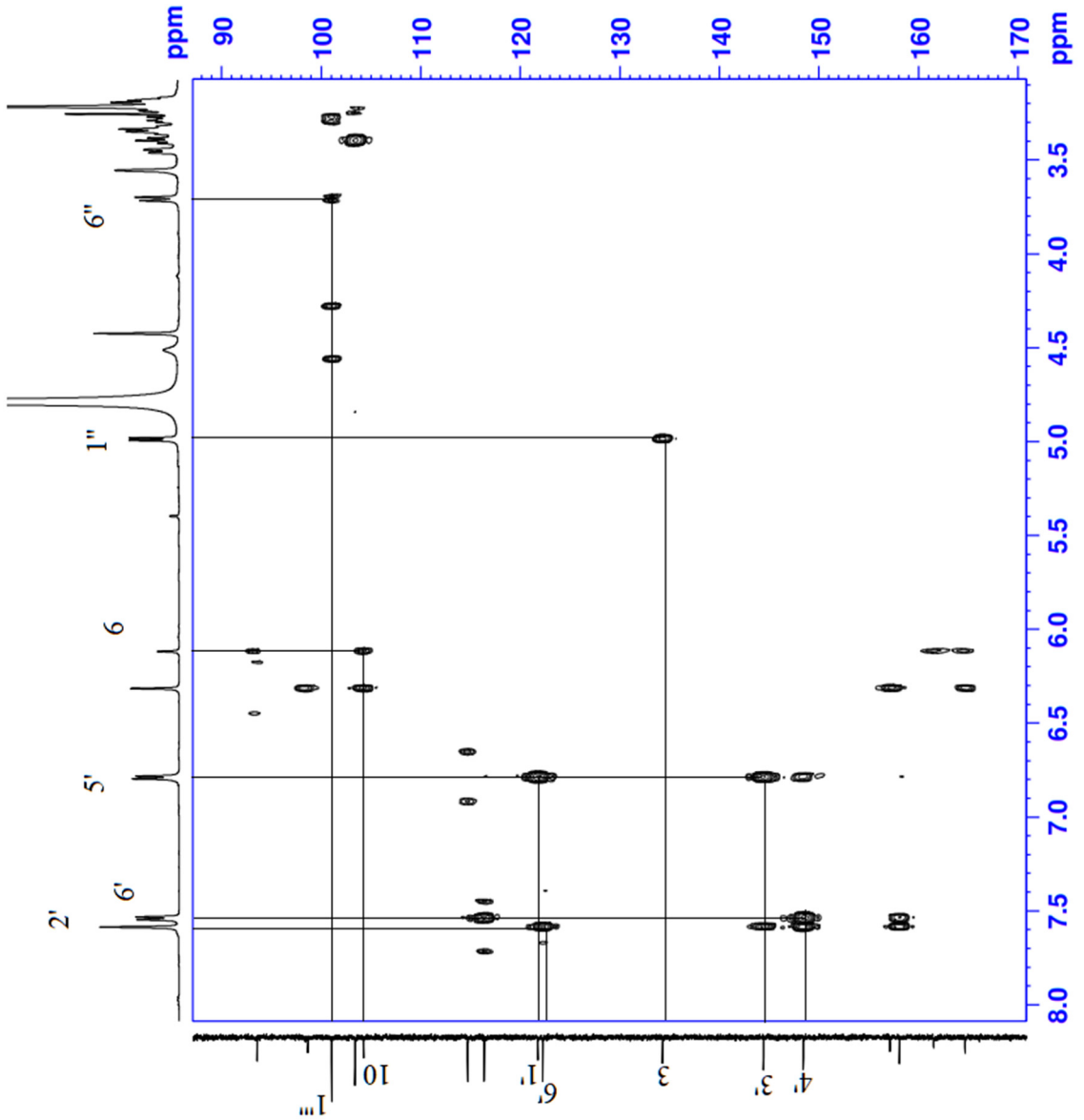
Şekil 4.22. MP-2'nin HMQC spektrumu



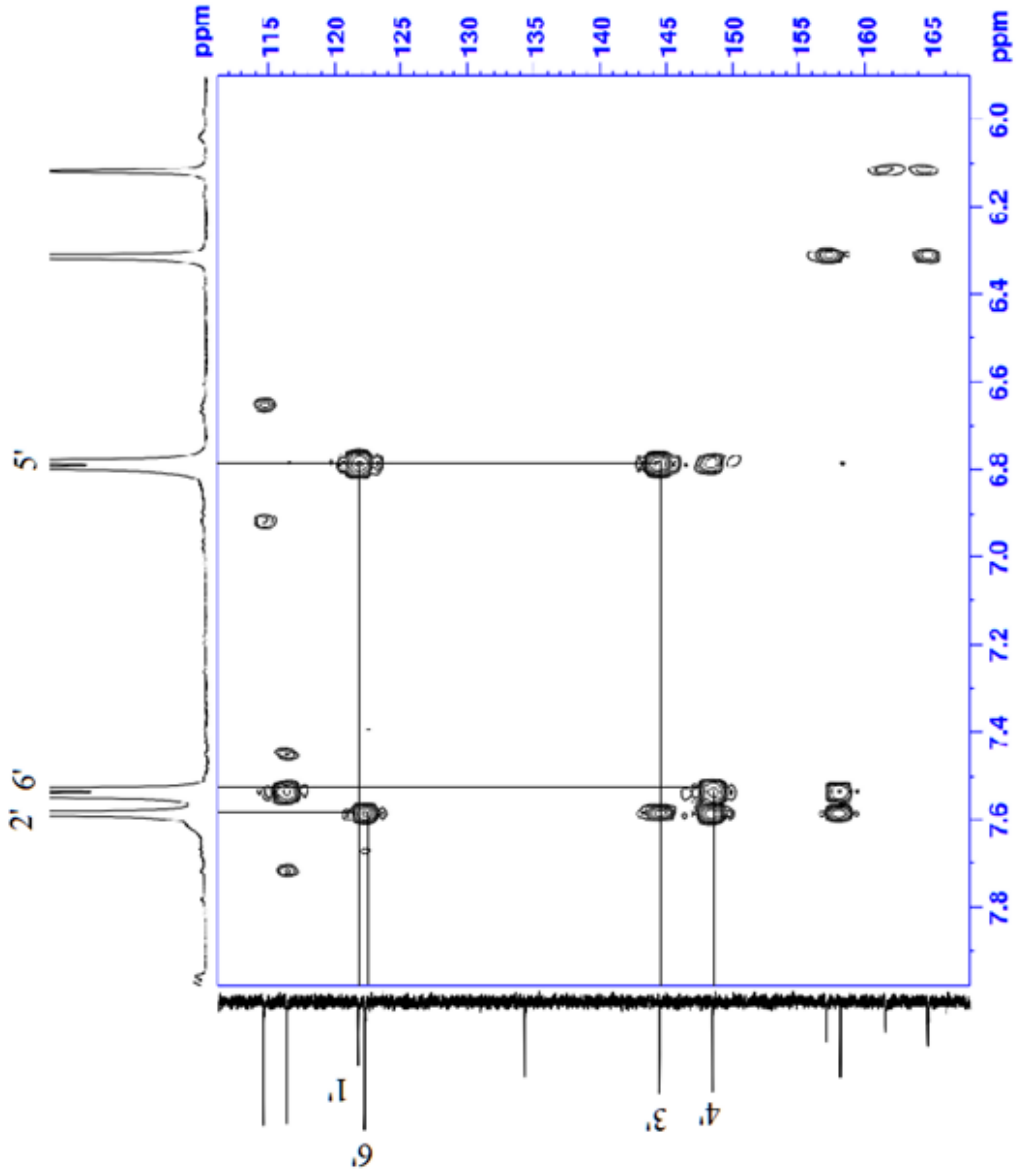
Şekil 4.23. MP-2'nin HMQC spektrumu



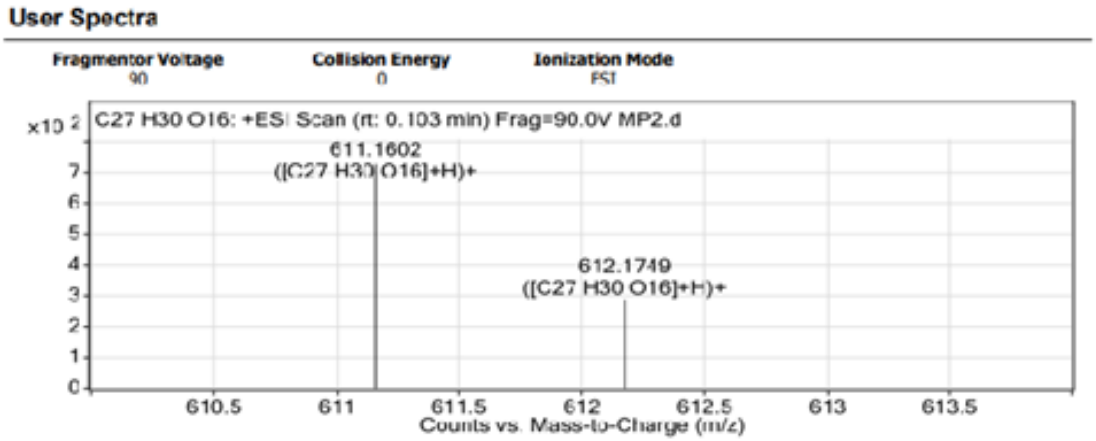
Şekil 4.24. MP-2'nin HMBC spektrumu



Şekil 4.25. MP-2'nin HMBC spektrumu



Şekil 4.26. MP-2'nin HMBC spektrumu



Şekil 4.27. MP-2'nin Q-TOF-MS spektrumu

4.2. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları

Ekstre ve saf bileşiklerin antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 4.3'te gösterilmiştir. *Escherichia coli* üzerine en güçlü etkiyi metanol ekstresi, *Klebsiella pneumoniae* üzerine en güçlü etkiyi diklorometan ekstresi, *Pseudomonas aeruginosa* üzerine en güçlü etkiyi diklorometan ekstresi, *Staphylococcus aureus* üzerine en güçlü etkiyi diklorometan ve *n*-hekzan ekstreleri ile MP-1 ve MP-2 bileşikleri, *Enterococcus faecalis* üzerine en güçlü etkiyi MP-2 bileşiği göstermiştir.

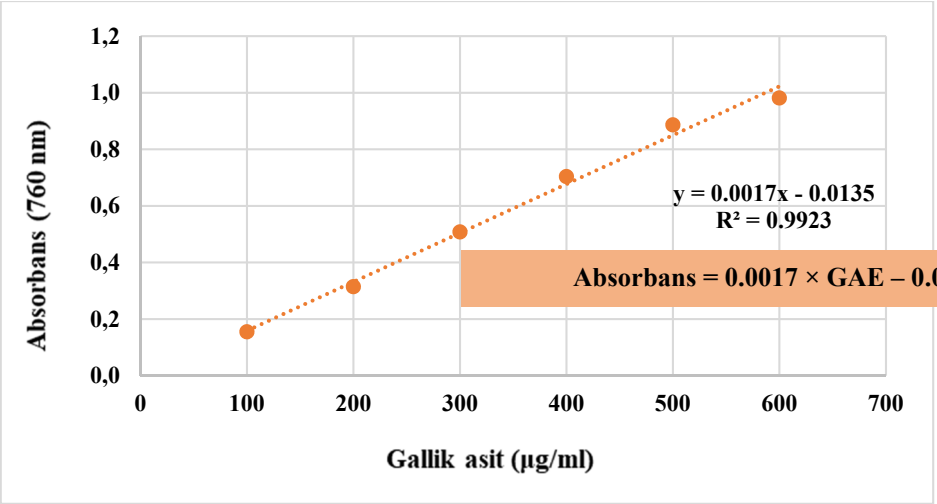
Tablo 4.3. Ekstre ve saf maddelerin antimikrobiyal etkileri

	Escherichia coli **(ATCC 25922)**	***Klebsiella pneumoniae*** **(ATCC 700603)**	***Pseudomonas aeruginosa*** **(ATCC 9027)**	***Staphylococcus aureus*** **(ATCC 29213)**	***Enterococcus faecalis*** **(ATCC 29212)**
Diklorometan	64	**16**	**512**	**1**	2
***n*-Hekzan**	32	64	1024	**1**	4
Etil asetat	32	64	1024	8	64
Su	128	256	1024	4	32
MeOH	**4**	256	1024	4	8
MP-1	32	1024	1024	**1**	4
MP-2	128	1024	1024	**1**	**1**
Sülfamerazin (µg/mL)	1600	1600	1600	6.25	3.12

4.3. Antioksidan Aktivite Bulguları

4.3.1. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini Bulguları

Ana metanol ekstresinin ve değişen polaritelere sahip alt ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarları Folin ve Denis tarafından geliştirilen, Singleton tarafından modifiye edilen yöntem kullanılarak tespit edilmiştir (Folin & Denis 1912; Slinkard & Singleton 1977). Gallik asit standart fenolik bileşik olarak kullanılmıştır. Toplam fenolik içeriğin tespiti için gallik asit standart grafiği (Şekil 4.28) hazırlanmıştır.



Şekil 4.28. Gallik asit standart grafiği

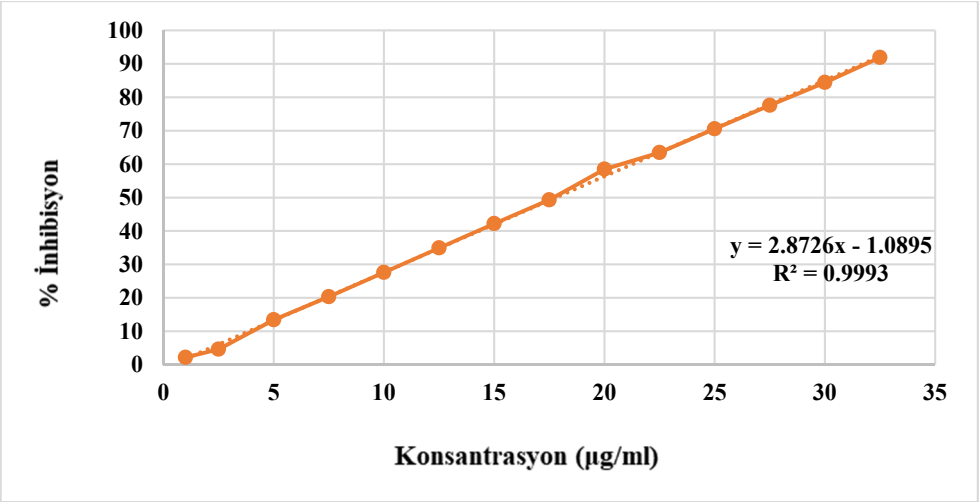
Veriler yardımıyla yukarıdaki formül elde edilmiş, ekstrelerin toplam fenolik bileşik içerikleri GAE olarak hesaplanmış ve Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4. Ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarları

Ekstre	Toplam Fenolik Bileşik (µg GAE/mg ekstre)
Metanol	49.29 ± 0.105
***n*-Hekzan**	22.24 ± 0.080
Diklorometan	53.23 ± 0.152
Etil Asetat	**169.24 ± 0.229**
Su	46.71 ± 0.059

4.3.2. DPPH Radikali Süpürme Çalışmalarına Ait Bulgular

Ana metanol ekstresi, farklı polariteye sahip alt ekstreler, izole edilen saf maddeler ve troloksun DPPH radikali süpürme aktiviteleri Blois metodu ile belirlenmiştir (Blois, 1958). Troloksa ait konsantrasyon-% inhibisyon grafiği Şekil 4.29'da verilmiştir.

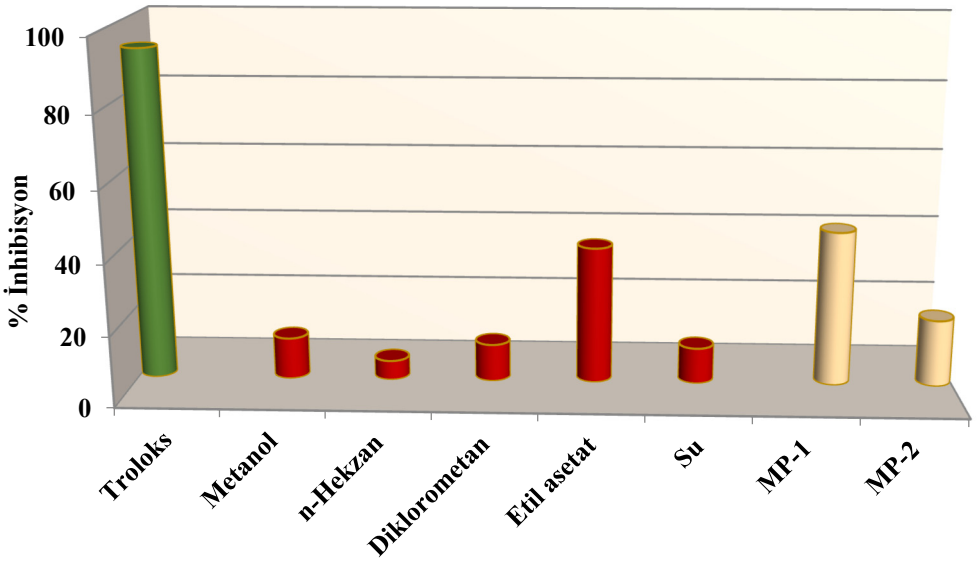


Şekil 4.29. Troloksun konsantrasyon-% inhibisyon grafiği

Ekstrelerin, saf maddelerin ve troloksun 50 µg/mL konsantrasyonda gösterdikleri DPPH radikali süpürme aktiviteleri % inhibisyon halinde Tablo 4.5'te ve Şekil 4.30'da verilmiştir.

Tablo 4.5. Ekstrelerin, saf maddelerin ve troloksun DPPH radikali süpürücü kapasitesi % inhibisyon değerleri

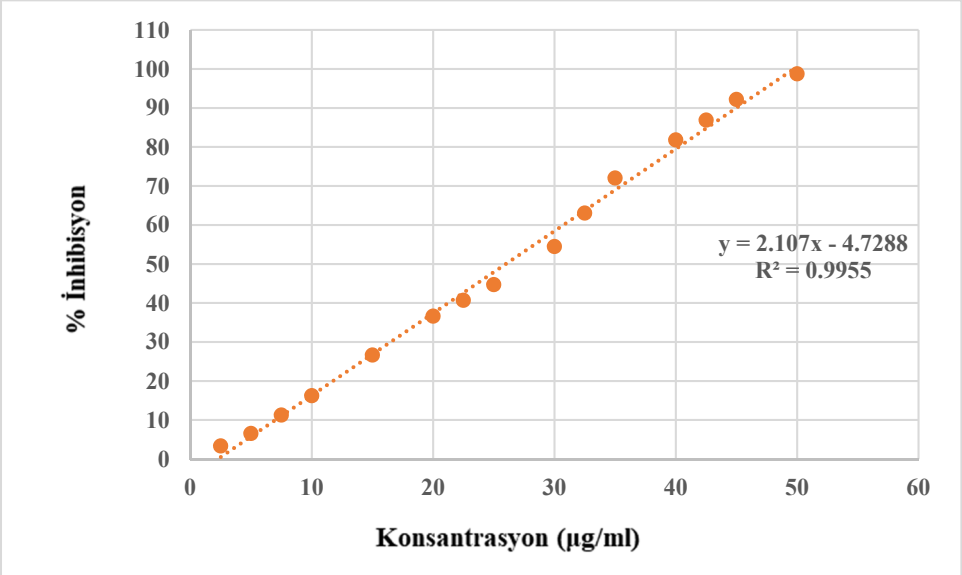
	% İnhibisyon (50 µg/mL)
Metanol	11.80 ± 0.021
***n*-Hekzan**	5.50 ± 0.003
Diklorometan	10.65 ± 0.041
Etil Asetat	**38.80 ± 0.136**
Su	10.25 ± 0.066
MP-1	**43.88 ± 0.106**
MP-2	19.00 ± 0.023
Troloks	93.38 ± 0.209



Şekil 4.30. Ekstrelerin, saf maddelerin ve troloksun DPPH radikali süpürücü kapasitesi % inhibisyon grafiği

4.3.3. ABTS^{+} Radikali Süpürme Çalışmalarına Ait Bulgular

Re ve ark. tarafından geliştirilen yöntemle ekstrelerin, saf maddelerin ve troloksun ABTS katyon radikali süpürme kapasiteleri tespit edilmiştir. (Re ve ark., 1999). Pozitif kontrol olarak troloks kullanılmış ve troloksun konsantrasyon-% inhibisyon grafiği Şekil 4.31'de verilmiştir.

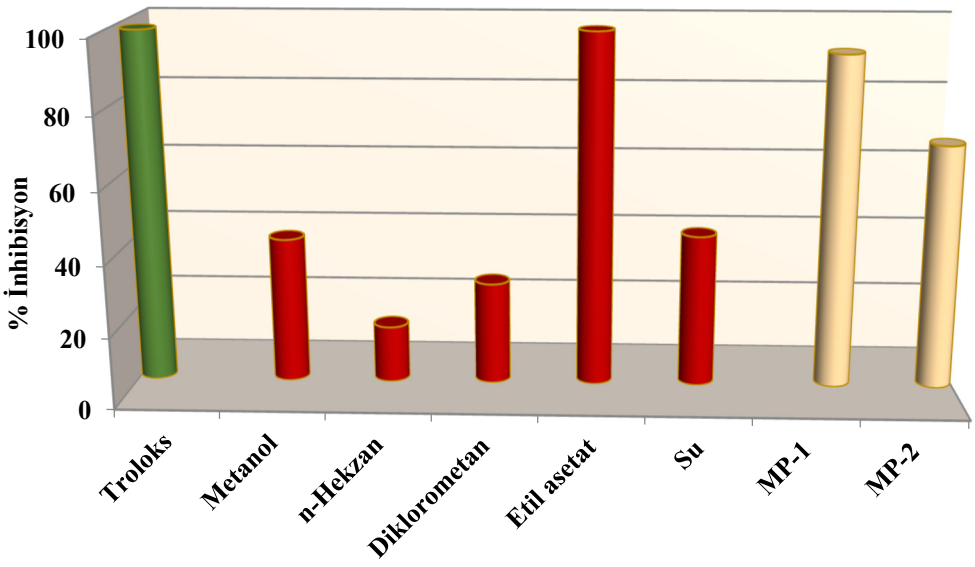


Şekil 4.31. Troloksun konsantrasyon-% inhibisyon grafiği

Ekstrelerin, izole edilen bileşiklerin ve troloksun 50 µg/mL konsantrasyonda gösterdikleri ABTS katyon radikali süpürme kapasiteleri % inhibisyon olarak Tablo 4.6'da ve Şekil 4.32'de verilmiştir.

Tablo 4.6. Ekstrelerin, saf maddelerin ve troloksun ABTS katyon radikali süpürme kapasitesi % inhibisyon değerleri

	% İnhibisyon (50 µg/mL)
Metanol	40.92 ± 0.198
***n*-Hekzan**	15.99 ± 0.034
Diklorometan	28.70 ± 0.148
Etil Asetat	**98.92 ± 0.341**
Su	42.88 ± 0.127
MP-1	**93.10 ± 0.152**
MP-2	68.59 ± 0.211
Troloks	98.71 ± 0.301



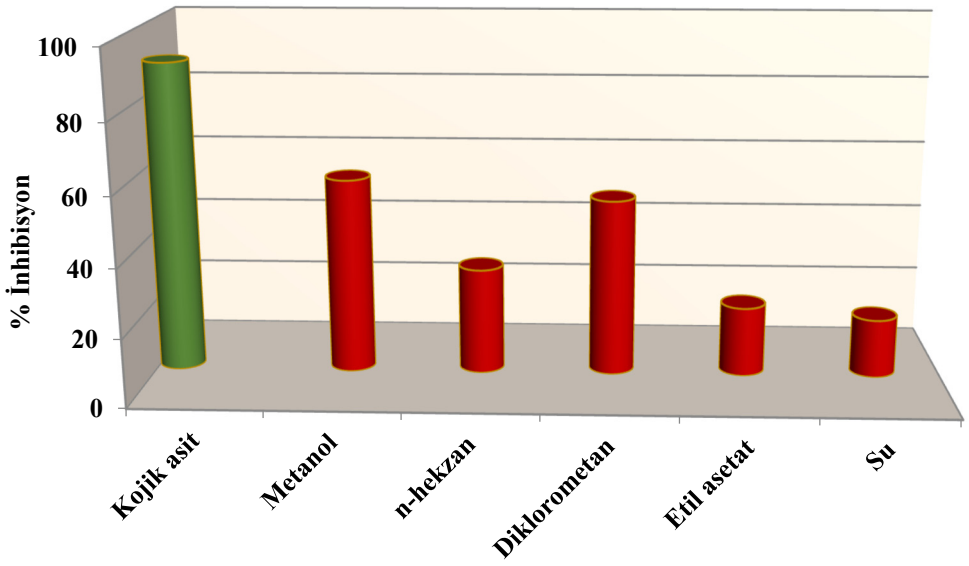
Şekil 4.32. Ekstrelerin, saf maddelerin ve troloksun ABTS katyon radikali süpürme kapasitesi % inhibisyon grafiği

4.4. Tirozinaz İnhibitör Aktivite Bulguları

Metanol ekstresi ve su, etil asetat, diklorometan ve *n*-hekzan alt fraksiyonlarının tirozinaz inhibisyon özellikleri Masuda ve arkadaşlarının yöntemi ile araştırılmıştır (Masuda ve ark., 2005). Ekstrelerin 200 µg/mL konsantrasyonda tirozinaz enzim inhibisyon yüzdeleri ile standart olarak kullanılan kojik asitin tirozinaz enzim inhibisyon yüzdesi Tablo 4.7'de ve Şekil 4.33'te verilmiştir. Etil asetat ekstresinden elde edilen MP-1, su ekstresinden elde edilen MP-2 ve kojik asite ait IC_{50} değerleri Tablo 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Ekstrelerin ve kojik asitin tirozinaz enzimi % inhibisyon değerleri

	% İnhibisyon (200 µg/mL)
Metanol	**57.14**
***n*-Hekzan**	31.03
Diklorometan	51.72
Etil Asetat	20.35
Su	17.24
Kojik asit	90.48



Şekil 4.33. Ekstrelerin ve kojik asitin tirozinaz enzimi % inhibisyon grafiği

Tablo 4.8. Saf maddelerin ve kojik asitin tirozinaz enzim inhibisyonu IC_{50} değerleri

	IC_{50} (µg/mL)
MP-1	297.9 ± 1.2
MP-2	**115.2 ± 0.8**
Kojik asit	14.6 ± 0.5

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada Konaklı/Erzurum'dan toplanan *M. persica* L. bitkisinin toprak üstü kısımlarından iki saf madde izole edilmiş, değişen polaritelerde hazırlanan fraksiyonların ve saf olarak izole edilen bileşiklerin antioksidan, antimikrobiyal ve tirozinaz enzim inhibitörü aktiviteleri araştırılmıştır.

Kurutulup toz edilen *M. persica* L. bitkisi metanolle ekstre edilerek metanol ekstresi elde edilmiştir. Elde edilen metanol ekstresi suda çözülüp sırasıyla *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat ve su ile ayrıma hunisinde tüketilerek alt ekstreler elde edilmiştir. Etil asetat ve su ekstreleri üzerinde kolon kromatografisi yöntemi kullanılarak izolasyon çalışması yapılmıştır. Yapılan çalışmada etil asetat ekstresinden MP-1, su ekstresinden MP-2 bileşiği izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları 1D-NMR, 2D-NMR ve kütle spektroskopisi yöntemleri ile aydınlatılmıştır.

İTK plağında MP-1 ve MP-2 bileşikleri gün ışığında sarı renkli gözlenmiştir. UV_{254} nm'de koyu bir leke halinde, UV_{366} nm'de koyu mor ve %1'lik vanilin/H_2SO_4 reaktifi püskürtülüp 110 ˚C'de ısıtıldığında parlak sarı renk gözlenmesi bileşiklerin flavonoit olabileceğini düşündürmüştür.

MP-1 bileşiğine ait ^{1}H NMR spektrumunda gözlenen δ_H 6.18 (*d*, *J* = 1.8 Hz) ve δ_H 6.41 (*d*, *J* = 1.8 Hz) ppm'deki sinyaller molekülde sırasıyla 6 ve 8 numaralı protonlara aittir. Aromatik alanda gözlenen ve *para* sübstitüe aromatik halkaya işaret eden δ_H 6.86, (2H, *d*, *J* = 9.2 Hz) ve δ_H 8.01 (2H, *d*, *J* = 8,8 Hz) ppm'deki sinyaller sırasıyla 3', 5' ve 2', 6' numaralı protonlara aittir. δ_H 5.44 (*d*, *J* = 7.7 Hz) ppm'deki anomerik protona ait sinyal, molekülde oz varlığını ve etkileşme sabiti (*J* = 7.7 Hz), ozun *β* konfirügasyonda olduğunu göstermiştir. ^{13}C-NMR spektrumunda δ_C 70.5-78.2 ppm arasında gözlenen sinyaller de molekülde oz varlığını desteklemiştir. Bu sinyaller ve δ_C 101.5 ppm'de gözlenen oza ait anomerik karbon sinyali literatürle karşılaştırılarak ozun glikoz olduğu belirlenmiştir.

^{13}C-NMR spektrumunda C-5 (δ_C 161.9 ppm) ve C-7 (δ_C 164.8 ppm) sinyallerinin, C-6 (δ_C 99.4 ppm) ve C-8 (δ_C 94.4 ppm) sinyallerinden daha aşağı alanda gelmesi C-5 ve C-7'in taşıdığı hidroksil gruplarından kaynaklanmaktadır. Aynı şekilde C-4' (δ_C 160.6 ppm) karbonuna ait sinyal, taşıdığı hidroksil grubundan dolayı C-3', C-5' (δ_C 115.8 ppm) ve C-2', C-6' (δ_C 131.6 ppm) karbonlarına ait sinyallerden daha aşağı alanda gözlenmiştir. HMBC spektrumu incelendiğinde, C-3 (δ_C 133.8 ppm) ile δ_H 5.44 (*d*, *J* = 7.7 Hz) ppm'deki anomerik protonunun (H-1'') korelasyonu, glikozun aglikona 3 numaralı karbondan bağlı olduğunu göstermiştir. Bu bulgular literatürle desteklenerek MP-1 bileşiğinin kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit (astragalin) olduğuna karar verilmiştir (Tram ve ark., 2016; Wei ve ark., 2011). Gözlemlediğimiz kadarıyla kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit (astragalin) *Morina* cinsinden ilk defa izole edilmiştir.

MP-2 bileşiğine ait ^{1}H NMR spektrumunda gözlenen δ_H 6.11 (*s*) ve δ_H 6.31 (*s*) ppm'deki sinyaller molekülde sırasıyla 6 ve 8 numaralı protonlara aittir. δ_H 6.79, (*d*, *J* = 8.7 Hz), δ_H 7.54 (*dd*, *J* = 8,4/2.2 Hz) ve δ_H 7.58 (*d*, *J* = 2.2 Hz) ppm'deki sinyaller sırasıyla 5', 6' ve 2' numaralı protonlara ait olup, bu sinyaller kersetinin B halkası için karakteristik olan ABX sistemi ile uyumludur. δ_H 5.0 (*d*, *J* = 7.7 Hz) ppm ve δ_H 4.42 (*s*) ppm'deki anomerik oz sinyalleri aglikona bağlı iki oz varlığını göstermiştir. ^{13}C-NMR spektrumunda δ_C 67.2-76.8 ppm arasında gözlenen sinyaller de molekülde iki oz varlığını desteklemiştir. Bu sinyaller, δ_C 103.4 ppm'de (C-1''), δ_C 101.0 ppm'de (C-1''') gözlenen ozlara ait anomerik karbon sinyalleri ve δ_C 16.5 ppm'de (C-6''') gelen sinyal literatürle karşılaştırılarak ozların glikoz ve ramnoz olduğu belirlenmiştir. δ_H 1.02 (*d*, *J* = 6.2 Hz) ppm'deki sinyal de ramnozdaki -CH_3'e (6''') aittir. C-5 (δ_C 161.5 ppm) ile C-7 (δ_C 164.6 ppm) sinyallerinin, C-6 (δ_C 98.6 ppm) ile C-8 (δ_C 93.5 ppm) sinyallerinden daha aşağı alanda gelmesi C-5 ve C-7'in taşıdığı hidroksil gruplarından kaynaklanmaktadır. Benzer şekilde C-3' (δ_C 144.4 ppm) ve C-4' (δ_C 148.4 ppm) karbonlarına ait sinyaller, taşıdığı

hidroksil gruplarından dolayı C-2' (δ_C 116.3 ppm) ve C-5' (δ_C 114.7 ppm) karbonlarına ait sinyallerden daha aşağı alanda gözlenmiştir. HMBC spektrumunda görülen δ_C 134.3 ppm'deki C-3 ile glikoza ait anomerik protonunun (H-1") korelasyonu glikozun, aglikona 3 numaralı karbondan bağlı olduğunu göstermiştir. Ramnozun anomerik karbonu (C-1'") ile glikozun 6" numaralı protonu arasında da korelasyon gözlenmiştir. Bu durum ramnozun, glikoza 6" numaralı karbondan bağlı olduğunu göstermiştir. ^{13}C-NMR spektrumunda glikozun C-6" (δ_C 67.2 ppm) sinyalinin aşağı alana kayması da bunu desteklemiştir. Bu bulgular literatür ile destelenerek MP-2 bileşiğinin kersetin-3-*O*-rutinozit (rutin) olduğuna karar verilmiştir (Al-Majmaie ve ark., 2019; Petrus ve ark., 2012; Xie ve ark., 2014). *M. persica* L. türü üzerinde daha önce yapılan bir çalışmada rutin içerdiği tespit edilmiş (Mocan ve ark., 2016) olmakla beraber ilk defa bu çalışmada izole edilmiştir.

Metanol ekstresi, su, etil asetat, diklorometan ve *n*-hekzan alt fraksiyonları ile MP-1 ve MP-2 saf maddelerinin antimikrobiyal aktiviteleri mikrodilüsyon yöntemi ile *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) standart bakteri suşları kullanılarak araştırılmış ve antimikrobiyal etkileri sülfomerazin ile kıyaslanmıştır.

Ekstreler ve saf bileşikler tüm bakteri suşlarına karşı değişen konsantrasyonlarda antimikrobiyal etki göstermiştir. En güçlü antimikrobiyal etkiyi *Escherichia coli*'ye karşı metanol ekstresi (MİK: 4 µg/mL), *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı diklorometan ekstresi (sırasıyla MİK: 16 µg/mL ve 512 µg/mL), *Staphylococcus aureus*'a karşı diklorometan ve *n*-hekzan ekstreleri ile MP-1 ve MP-2 bileşikleri (MİK: 1 µg/mL), *Enterococcus faecalis*'a karşı MP-2 bileşiği (MİK: 1 µg/mL) göstermiştir.

Literatürde *Morina* türleri üzerinde yapılmış antimikrobiyal aktivite çalışmaları mevcuttur. Bir çalışmada *M. longifolia* türünün agar kuyucuk difüzyon ve çift kat seyreltme yöntemi ile *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır (Yousuf ve ark., 2011). Bu çalışmada etanol ekstresi, aseton ve kloroform ekstrelerinden daha yüksek etki göstermiştir. Bizim çalışmamızdan farklı olarak su ve hekzan ekstreleri bu üç bakteriye karşı antimikrobiyal etki göstermemiştir.

M. longifolia uçucu yağının *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitesinin agar disk difüzyon yöntemi ile araştırıldığı bir çalışmada *M. longifolia* uçucu yağı iki bakteriye karşı da antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Kothiyal ve ark., 2009).

M. persica L.'nin su, aseton ve metanol ekstrelerinin *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, metisilin dirençli *S. aureus* (MSSA), metisilin dirençsiz *S. aureus* (MRSA) ve *Klebsiella pneumoniae* bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır (Mocan ve ark., 2016). Tüm bakterilere karşı aseton ekstresi ve bizim çalışmamızla benzer olarak metanol ekstresi antibakteriyel aktivite göstermiştir. Su ekstresi ise MRSA ve MSSA'ya karşı antibakteriyel aktivite göstermesine rağmen bizim çalışmamızdan farklı olarak *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella Pneumoniae* karşı etki göstermemiştir.

M. persica L.'nin hekzan, diklorometan ve su ekstrelerinin antibakteriyel etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmada tüm ekstreler *Staphylococcus aureus*'a karşı bizim çalışmamızla benzer şekilde antibakteriyel etki göstermiştir (Taşdemir ve ark., 2004).

İzole edilen saf bileşiklerden kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit'in (MP-1) antimikrobiyal etkisinin agar difüzyon yöntemi araştırıldığı bir çalışmada *Escherichia coli*'ye karşı MİK değeri 0.075 mg/mL (standart madde MİK: 0.020mg/mL) olarak

belirlenmiş, *Klebsiella pneumonia*'ya karşı herhangi bir etki gözlenmemiştir (Akroum ve ark., 2010). Diğer bir çalışmada MİK değerleri, *Escherichia coli*'ye karşı 0.095 mg/mL, *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 0.085 mg/mL ve *Staphylococcus aureus*'a karşı 0.065 mg/mL olarak tespit edilmiştir (Akroum ve ark., 2009). Sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle test edildiği diğer bir araştırmada ise MİK değerleri *Escherichia coli*'ye ve *Klebsiella pneumonia*'ya karşı 1.25 µg/mL (standart madde MİK: 2.50 µg/mL), *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 5.00 µg/mL (standart madde MİK: 2.50 µg/mL) ve *Staphylococcus aureus*'a karşı 0.0625 µg/mL (standart madde MİK: 0.625 µg/mL) olarak belirlenmiştir (Taiwo ve ark., 2019).

İzole edilen diğer saf bileşik olan rutin'in (MP-2) antimikrobiyal aktivitesinin mikrodilüsyon titre tekniği ile araştırıldığı bir çalışmada MİK değerleri *Escherichia coli*'ye ve *Staphylococcus aureus*'a karşı 62.50 µg/mL (standart madde MİK: 7.81 µg/mL) olarak belirlenmiştir (Wen ve ark., 2014). Mikrodilüsyon yöntemi ile test edildiği bir çalışmada MİK değerleri *Escherichia coli*'ye ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 500 µg/mL, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*'a karşı 1000 µg/mL (standart madde MİK: <1 µg/mL) olarak tespit edilmiştir (Adamczak ve ark., 2020). Diğer bir çalışmada MİK değerleri *Escherichia coli*'ye ve *Staphylococcus aureus*'a karşı 0.07 mg/mL (standart madde MİK: 0.01 mg/mL ve 0.03 mg/mL), *Klebsiella pneumonia* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 0.03 mg/mL (standart madde MİK: 0.01 mg/mL) olarak gözlenmiştir (Singh ve ark., 2008). Yapılan diğer bir çalışmada ise MİK değerleri *Escherichia coli*'ye ve *Staphylococcus aureus*'a karşı 4.50 µg/mL olarak belirlenmiştir (Jarial ve ark., 2018).

Bu çalışmada metanol ekstresi ile su, etil asetat, diklorometan ve *n*-hekzan alt fraksiyonlarının toplam fenolik bileşik miktarları FCR ile belirlenmiştir. Gallik asit standart fenolik bileşik olarak kullanılmıştır. Ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarları

gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak tüm ekstreler içinde en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı etil asetat ekstresinde (169.24 ± 0.229 µg) gözlenmiştir. Etil asetat ekstresini diklorometan (53.23 ± 0.152 µg), metanol (49.29 ± 0.105 µg), su (46.71 ± 0.059 µg) ve *n*-hekzan (22.24 ± 0.080 µg) ekstreleri takip etmiştir.

Metanol ekstresi, su, etil asetat, diklorometan ve *n*-hekzan alt fraksiyonları ile MP-1 ve MP-2 saf maddelerinin DPPH radikali süpürme aktivite tayinleri Blois metoduna göre yapılmıştır. 50 µg/mL konsantrasyonda DPPH serbest radikali süpürücü kapasiteleri % inhibisyon olarak hesaplanmıştır. Buna göre ekstreler içinde en yüksek % inhibisyon değerini etil asetat ekstresi (%38.80 ± 0.136) göstermiştir. Etil asetat ekstresini metanol (%11.80 ± 0.021), diklorometan (%10.65 ± 0.041), su (%10.25 ± 0.066) ve *n*-hekzan (%5.50 ± 0.003) ekstreleri takip etmiştir. Saf maddelerden MP-1 %43.88 ± 0.106 değeri ile tüm ekstrelerden ve MP-2'den (%19.00 ± 0.023) daha yüksek DPPH süpürücü kapasite göstermiştir. Tüm ekstreler ve saf maddeler trolokstan (%93.38 ± 0.209) daha düşük DPPH süpürücü kapasite göstermiştir.

Metanol ekstresi, su, etil asetat, diklorometan ve *n*-hekzan alt fraksiyonları ile MP-1 ve MP-2 saf maddelerinin ABTS katyon radikali süpürücü kapasite tayinleri Re ve arkadaşlarının yöntemi ile yapılmıştır. 50 µg/mL konsantrasyonda ABTS katyon radikali süpürme kapasiteleri % inhibisyon olarak hesaplanmıştır. Buna göre ekstreler ve saf maddeler içinde en yüksek % inhibisyon değerini etil asetat ekstresi (%98.92 ± 0.341) göstermiştir. Etil asetat ekstresini su (%42.88 ± 0.127), metanol (%40.92 ± 0.198), diklorometan (%28.70 ± 0.148) ve *n*-hekzan ekstreleri (%15.99 ± 0.034) takip etmiştir. Saf maddelerden MP-1 %93.10 ± 0.152 değeri ile yüksek ABTS katyon radikali süpürme kapasitesi gösterirken, MP-2 (%68.59 ± 0.211) daha düşük aktivite göstermiştir. Etil asetat ekstresi pozitif kontrol olarak kullanılan trolokstan (%98.71 ± 0.301) daha yüksek ABTS katyon radikali süpürme kapasitesi göstermiştir.

Literatürde *M. longifolia* türünün Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik içeriğinin araştırıldığı bir çalışmada en yüksek fenolik içerik etanol ve aseton ekstrelerinde gözlenmiştir. DPPH radikali süpürme kapasitesi de etanol ve aseton ekstrelerinde yüksek çıkmıştır (Yousuf ve ark., 2014). *M. persica* L.'nin toprak üstü kısımlarının metanol, aseton ve su ekstrelerinin Folin-Ciocalteu yöntemi ile antioksidan aktivitesinin araştırıldığı diğer bir çalışmada en yüksek toplam fenolik içerik metanol ekstresinde gözlenmiştir. ABTS ve DPPH radikal süpürme kapasiteleri araştırıldığında da aynı şekilde metanol ekstresi en yüksek aktiviteyi göstermiştir (Mocan ve ark., 2016). Bizim çalışmamız, en yüksek fenolik içerik ile DPPH ve ABTS süpürme aktivitelerini etil asetat ekstresinin göstermesi bakımından bu çalışmadan farklılık göstermiştir. Buna karşın bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer şekilde fenolik içerikle orantılı olarak en yüksek fenolik içeriğe sahip ekstre diğer ekstrelerden yüksek DPPH ve ABTS radikali süpürme kapasitesi göstermiştir. *M. persica* L.'nin hekzan, diklorometan ve su ekstrelerinin, antioksidan özelliklerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada ise en iyi antioksidan aktiviteyi diklorometan ekstresi göstermiştir (Taşdemir ve ark., 2004).

Literatürde kemferol 3-*O*-*β*-glukopiranozit'in (MP-1) antioksidan aktivitesinin araştırıldığı çalışmalar da mevcuttur. Bir çalışmada DPPH radikali süpürme kapasitesi araştırılmış ve IC_{50} değeri 1.25 ± 0.09 µg/mL (standart madde IC_{50}: 3.08 ± 0.06 µg/mL) (Taiwo ve ark., 2019), diğer bir çalışmada ise IC_{50} değeri 54.0 µg/mL olarak belirlenmiştir (Ishaque ve ark., 2017). Yapılan başka bir çalışmada ABTS ve DPPH radikali süpürme kapasiteleri araştırılmıştır. IC_{50} değerleri sırasıyla 170.7 ± 16.0 µg/mL (standart madde IC_{50}: 8.6 ± 2.5 µg/mL) ve 144.1 ± 25.1 µg/mL (standart madde IC_{50}: 6.8 ± 0.9 µg/mL) olarak saptanmıştır (Li ve ark., 2017). DPPH radikali süpürme kapasitesinin test edildiği diğer bir çalışmada kemferol 3-*O*-*β*-glukopiranozit'in IC_{50} değeri 113.79 ± 1.06 µM,

rutin'in (MP-2) ise 7.40 ± 0.12 µM (standart madde IC_{50}: 38.66 ± 1.29 µM) olarak belirlenmiştir (Wen ve ark., 2014).

Rutin'in (MP-2) ABTS ve DPPH radikali süpürme kapasitelerinin araştırıldığı bir çalışmada IC_{50} değerleri sırasıyla 0.621 ± 0.0024 µg/mL (standart madde IC_{50}: 0.324 ± 0.0019 µg/mL) ve 0.715 ± 0.0017 µg/mL (standart madde IC_{50}: 0.449 ± 0.0013 µg/mL) olarak tespit edilmiştir (Ren ve ark., 2018). Yapılan diğer bir çalışmada 10 µg/mL konsantrasyonda DPPH radikali süpürme aktivitesi %75.40 ± 0.33, IC_{50} değeri 5.56 ± 0.05 µg/mL, ABTS radikali süpürme aktivitesi ise %29.08 ± 0.65, IC_{50} değeri 17.16 ± 0.23 µg/mL olarak saptanmıştır (Rusmana ve ark., 2017). DPPH radikali süpürme aktivitesinin araştırıldığı diğer çalışmalarda, DPPH radikali süpürme aktivitesi; 50 µM konsantrasyonda %57.0 (Lee & Lee, 2010), 100 µg/mL konsantrasyonda %80.96 ± 0.09 (standart madde %83.53 ± 0.41); IC_{50} değeri 32.99 ± 0.46 µg/mL (standart madde IC_{50}: 18.77 ± 0.52 µg/mL) (Srinivasan ve ark., 2015), 0.05 mg/mL konsantrasyonda %90.4 (standart madde %58.8) (Yang ve ark., 2008), 20 µmol/L konsantrasyonda, %80.9 ± 0.7 (standart madde %74.7 ± 0.3) ; IC_{50} değeri 14.2 ± 0.34 µmol/L (standart madde IC_{50}: 18.2 ± 0.3 µmol/L) (Wei ve ark., 2013) ve 12.5 µg/mL konsantrasyonda %77.33 ± 0.10; IC_{50} değeri 8.35 ± 0.01 µg/mL (standart madde IC_{50}: 21.36 ± 0.80 µg/mL) (Limanto ve ark., 2019) olarak belirlenmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda ise IC_{50} değerleri 23.7 ± 1.9 µg/mL (standart madde IC_{50}: 18.3 ± 1.9 µg/mL) (Sharififar ve ark., 2009), 3.53 µg/mL (standart madde IC_{50}: 3.57 µg/mL) (Sintayehu ve ark., 2012) ve 2.30 ± 0.0002 µM (standart madde IC_{50}: 11.20 ± 1.36 µM) (Kishore ve ark., 2018) olarak gözlenmiştir.

Metanol ekstresi, su, etil asetat, diklorometan ve *n*-hekzan alt fraksiyonları ile MP-1 ve MP-2 saf maddelerinin tirozinaz enzim inhibitörü aktiviteleri ise Masuda'nın metodu kullanılarak araştırılmıştır. 200 µg/mL konsantrasyonda en yüksek tirozinaz enzim inhibisyon yüzdesini metanol ekstresi (%57.14) göstermiştir. Metanol ekstresini

diklorometan (%51.72), *n*-hekzan (%31.03), etil asetat (%20.35) ve su (%17.24) ekstreleri takip etmiştir. Tüm ekstrelerin % inhibisyon değerleri standart olarak kullanılan kojik asitin % inhibisyon değerinden (%90.48) daha düşüktür. Etil asetat ekstresinden elde edilen MP-1 bileşiğinin IC_{50} değeri 297.9 ± 1.2 µg/mL, su ekstresinden elde edilen MP-2 bileşiğinin IC_{50} değeri 115.2 ± 0.8 µg/mL ve kojik asitin IC_{50} değeri 14.6 ± 0.5 µg/mL olarak tespit edilmiştir.

Literatürde *Morina* türleri üzerinde tirozinaz enzim inhibisyonu ile alakalı yapılan bir çalışmada *M. persica* L.'nin metanol, aseton ve su ekstreleri araştırılmıştır (Mocan ve ark., 2016). Bu çalışmada sadece su ekstresi tirozinaz inhibitörü özellik gösterirken metanol ve aseton ekstreleri etkisiz bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise bunun aksine metanol ekstresinde en yüksek tirozinaz inhibisyon aktivite gözlenmiştir.

Kemferol-3-*O*-*β*-glikopiranozit'in (MP-1), tirozinaz enzim inhibisyonunun araştırıldığı bir çalışmada IC_{50} değeri 35.46 ± 1.67 µM (standart madde IC_{50}: 31.2 ± 1.99 µM) olarak belirlenmiştir (Elgamal ve ark., 2021).

Rutin'in (MP-2) tirozinaz enzim inhibisyonunun araştırıldığı çalışmalarda IC_{50} değerleri; 55.65 ± 0.98 µg/mL (Girsang ve ark., 2020), 0.13 ± 0.003 mM (standart madde IC_{50}: 0.01 ± 0.001 µM) (Kishore ve ark., 2018) ve 90.0 µM (standart madde IC_{50}: 58.2 µM) (Demirkiran ve ark., 2014), 0.856 ± 0.014 µg/mL (standart madde IC_{50}: 80 ± 17 µg/mL) (Ren ve ark., 2018) olarak tespit edilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada 150 µg/mL konsantrasyonda tirozinaz enzimi inhibisyon yüzdesi %67.3 ± 0.9, IC_{50} değeri ise 113.7 µM (30 µg/mL konsantrasyonda standart madde %89.5 ± 1.7, IC_{50}: 12.1 µM) olarak belirlenmiştir (Tada ve ark., 2001). Bir başka çalışmada ise 3 mg/mL konsantrasyonda tirozinaz enzimi inhibisyon yüzdesi %47.23 ± 6.54 (standart madde %94.2 ± 2.87) olarak belirlenmiştir (Neagu ve ark., 2015).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada *M. persica* L. bitkisinin toprak üstü kısımlarında yapılan fitokimyasal çalışma sonucunda etil asetat ekstresinden kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit (astragalin) ve su ekstresinden kersetin-3-*O*-rutinozit (rutin) elde edilmiştir. Gözlemlediğimiz kadarıyla bilinen ve bitkilerden sıklıkla izole edilen bu bileşiklerden kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit (astragalin) *Morina* türlerinden, kersetin-3-*O*-rutinozit (rutin) ise *M. persica* L.'den ilk defa izole edilmiştir.

İzole edilen saf bileşikler, ana metanol ekstresi ve değişen polaritelerde hazırlanan alt fraksiyonlar antioksidan, antimikrobiyal ve tirozinaz enzim inhibitörü aktiviteleri bakımından araştırılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite çalışmasında, diğer ekstreler ve saf bileşikler ile kıyaslandığında metanol ekstresi, *Escherichia coli* üzerinde; *n*-hekzan ekstresi, *Staphylococcus aureus* üzerinde; diklorometan ekstresi, *Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde; MP-1, *Staphylococcus aureus* üzerinde ve MP-2, *Staphylococcus aureus ve Enterococcus faecalis* üzerinde en güçlü antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir. Su ekstresi hiçbir bakteri suşuna karşı en etkili aktiviteyi göstermemiştir.

Toplam fenolik bileşik içeriği açısından değerlendirildiğinde en yüksek fenolik içerik etil asetat ekstresinde tespit edilmiştir. Toplam fenolik içerikle paralel olarak DPPH radikali süpürme aktivitesi en yüksek ekstre, etil asetat ekstresi olarak belirlenmiştir. Etil asetat ekstresinden elde edilen MP-1 daha yüksek aktivite göstermekle birlikte standart olarak kullanılan troloksa kıyasla düşük aktivite göstermiştir. En yüksek ABTS radikali süpürme aktivitesi ise etil asetat ekstresinde gözlenmiştir. Etil asetat ekstresinin aktivitesi standart olarak kullanılan trolokstan daha yüksek bulunmuştur.

Tirozinaz enzim inhibisyonu testinde en yüksek aktiviteyi ekstreler içinde metanol ekstresi gösteririrken, saf maddelerden MP-2 daha etkin bulunmuştur. Buna karşın metanol ekstresi ve MP-2 bileşiği, standart olarak kullanılan kojik asitten düşük aktivite göstermiştir.

Çalışmamızda elde edilen verilerin *Morina* cinsi ve *M. persica* L. türü üzerinde yapılacak fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmalarına ışık tutacağı, kemferol-3-*O*-*β*-glukopiranozit (astragalin) ve kersetin-3-*O*-rutinozit (rutin) bileşiklerinin antimikrobiyal ve antioksidan ajan olarak kullanılabileceği, bu saf maddeler ve tür üzerinde daha detaylı çalışmalar yapılmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abbasoğlu, U., 1996. Antimikrobiyal aktivite araştırma yöntemleri. *Fabad Journal of Pharmaceutial Sciences*, 22, 111-118.

Adamczak, A., Ożarowski, M. and Karpiński, T. M., 2020. Antibacterial activity of some flavonoids and organic acids widely distributed in plants. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 109.

Akroum, S., Bendjeddou, D., Satta, D. and Lalaoui, K., 2009. Antibacterial Activity And Acute Toxicity Effect of Flavonoids Extracted From *Mentha longifolia*. *Journal of Scientific Research*, 4(2), 93-96.

Akroum, S., Bendjeddou, D., Satta, D. and Lalaoui, K., 2010. Antibacterial, antioxidant and acute toxicity tests on flavonoids extracted from some medicinal plants. *International Journal of Green Pharmacy*, 4(3), 165-169.

Alimov, K. I., Khalmatov, K. K., Kharlamov, I. A. and Ikramov, M. T., 1981. Melissic acid and *β*-sitosterol in the leaves of *Morina kokanica*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, 17(6), 792.

Al-Majmaie, S., Nahar, L., Sharples, G. P., Wadi, K. and Sarker, S. D., 2019. Isolation and antimicrobial activity of rutin and its derivatives from *Ruta chalepensis* (Rutaceae) growing in Iraq. *Records of Natural Products*, 13(1), 64-70.

Anonymous., 2023. *Morina* L. The World Flora Online, http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000024848 (05.03.2023).

Anonymous., 2023. Caprifoliaceae Juss. The World Flora Online, http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-7000000112 (05.03.2023).

Başer, K. H. C. and Kürkçüoglu, M., 1998. Composition of the essential oil of *Morina persica* L. flowers. *Journal of Essential Oil Research*, 10(1), 117-118.

Blois, M., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.

Boora, P., Puri, R., Rani, S., Mehta, M. and Angmo, D., 2023. Comparison of the Anti-asthmatic Potential of Himalayan Plants *Lonicera obovata* Royle and *Morina longifolia* Wall: An in vivo Study. *Pharmacognosy Research*, 15(2), 384-391.

Bremer, B., Bremer, K., Chase, M. W., Fay, M. F., Reveal, J. L., Soltis, D. E., Pamela S. Soltis, P. S., Stevens, P. F., Anderberg, A. A., Moore, M. J., Olmstead, R. G., Rudall, P. J., Sytsma, K. J., Tank, D. C., Wurdack, K., Q-Y Xiang, J., Zmarzty, S. and Stevens, P. F., 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Groupclassification for the orders and families of floweringplants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161, 105-121.

Cannon, M. J. and Cannon, J. F. M., 1984. A revision of the Morinaceae (Magnoliophyta-Dipsacales). *Bulletin of the British Museum (Natural History) Botany*, 12(1), 1-35.

Chauhan, R. S., Nautiyal, M. C., Tava, A. and Cecotti, R., 2012. Essential oil composition of *Morina longifolia* Wall. ex DC. from the Himalayan region. *Journal of Essential Oil Research*, 24(5), 461-463.

Davis, P. H., 1972. Flora of turkey and east aegean islands. Edinburg at The University Press, 657 p, Edinburg.

Demirkıran, O., Topçu, G., Azarpira, A. and Choudhary, M. I., 2014. Tyrosinase inhibitory activity of chemical constituents of *Euphorbia macrostegia*. *Chemistry of Natural Compounds*, 50(5), 810-813.

Elgamal, A. M., El Raey, M. A., Gaara, A., Abdelfattah, M. A. O. and Sobeh, M., 2021. Phytochemical profiling and anti-aging activities of *Euphorbia retusa* extract: In silico and in vitro studies. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(6), 103159.

Folin, O. and Denis, W., 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as colour reagents. *The Journal of Biological Chemistry*, 12(2), 239-243.

Girsang, E., Lister, I. N. E., Ginting, C. N., Sholihah, I. A., Raif, M. A., Kunardi, S., Million, H. and Widowati, W., 2020. Antioxidant and antiaging activity of rutin and caffeic acid. *Pharmaciana*, 10(2), 147.

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. and Babaç, M. T., 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, 1290 p, İstanbul, Türkiye.

Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C., 2015. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, 905 p, Oxford, United Kingdom.

Harput, Ş., 2011. Yeni ilaç geliştirme çalışmalarında tıbbi bitkiler. Bitkilerle tedavi sempozyumu. İklim Ofset Matbaacılık, İstanbul, Türkiye, 45-50.

Hofmann, U. and Bittrich, V., 2016. Caprifoliaceae (with Zabelia incert. sed.). The families and genera of vasculer plants, Joachim, W. K. And Bittrich, V. (eds). Springer International Publishing, Switzerland, 117-129.

Hong, D. and Barrie, F. R., 2011. Morinaceae. Flora of China, http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=10584 (18.07.2023).

Ishaque, M., Bibi, Y., Valant-Vetschera, K. M., Schinnerl, J. and Bacher, M., 2017. Fruits of *Rosa brunonii*- A Source of Antioxidant Phenolic Compounds. *Natural Product Communications*, 12(11), 1685-1686.

Jarial, R., Shard, A., Thakur, S., Sakinah, M., Zularisam, A. W., Rezania, S., Kanwar, S. S. and Singh, L., 2018. Characterization of flavonoids from fern *Cheilanthes tenuifolia* and evaluation of antioxidant, antimicrobial and anticancer activities. *Journal of King Saud University- Science*, 30(4), 425-432.

Joshi, R. K., 2014. Antimicrobial activity of volatile oil of *Morina longifolia* wall.ex. DC. from Uttarakhand. *International Journal of PharmTech Research,* 6(1), 240-243.

Joshi, R. K. and Mathela, C. S., 2013. Volatile Oil Composition of *Morina longifolia* Wall. ex. Dc. from Himalayan region of Uttarakhand. *Asian Journal of Research in Pharmaceutical Science*, 3(1), 12-14.

Kishore, N., Twilley, D., Blom Van Staden, A., Verma, P., Singh, B., Cardinali, G., Kovacs, D., Picardo, M., Kumar, V. and Lall, N., 2018. Isolation of Flavonoids and Flavonoid Glycosides from *Myrsine africana* and Their Inhibitory Activities against Mushroom Tyrosinase. *Journal of Natural Products*, 81(1), 49-56.

Kothiyal, S. K., Semwal, D. K., Badoni, R., Rawat, U., Sati, S. C. and Rawa, M. S. M., 2009. Seasonal variation in the essential oil composition from *Morina longifolia* Wallich. *International Journal of Essential Oil Therapeutics*, 3, 171-174.

Kumar, A., Varshney, V. K., Rawat, M. S. M., Martinez, J. R. and Stashenko, E. E., 2013. Chemical composition of the essential oil of *Morina longifolia* wall. leaves. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 19(4), 348-356.

Kumar, A., Varshney, V. K., Rawat, M. S. M., Martinez, J. R. and Stashenko, E. E., 2018. HS SPME GC GC MS Analysis of Volatile Constituents of *Morina longifolia* Wall. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(1), 155-163.

Lee, O. H. and Lee, B. Y., 2010. Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*, 101(10), 3751-3754.

Li, X., Tian, Y., Wang, T., Lin, Q., Feng, X., Jiang, Q., Liu, Y. and Chen, D., 2017. Role of the *p*-Coumaroyl Moiety in the Antioxidant and Cytoprotective Effects of Flavonoid Glycosides: Comparison of Astragalin and Tiliroside. *Molecules*, 22(7), 1165.

Limanto, A., Simamora, A., Santoso, A. W. and Timotius, K. H., 2019. Antioxidant, α-Glucosidase Inhibitory Activity and Molecular Docking Study of Gallic Acid, Quercetin and Rutin: A Comparative Study. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences*, 3(2), 67.

Masuda, T., Yamashita, D., Takeda, Y. and Yonemori, S., 2005. Screening for tyrosinase ınhibitors among extracts of seashore plants and ıdentification of potent ınhibitors from garcinia subelliptica. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, 69(1), 197-201.

Mocan, A., Zengin, G., Uysal, A., Gunes, E., Mollica, A., Degirmenci, N. S., Alpsoy, L. and Aktumsek, A., 2016. Biological and chemical insights of *Morina persica* L.: A source of bioactive compounds with multifunctional properties. *Journal of Functional Foods*, 25, 94-109.

Neagu, E., Paun, G., Albu, C. and Radu, G. L., 2015. Assessment of acetylcholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant activity of *Alchemilla vulgaris* and *Filipendula ulmaria* extracts. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 52, 1-6.

Petrus, J. A., Hemalatha, S. S. and Suguna, G., 2012. Isolation and Characterisation of the Antioxidant Phenolic Metabolites of *Boerhaavia erecta* L. Leaves. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(7), 1856-1861.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

Ren, G., Xue, P., Sun, X. and Zhao, G., 2018. Determination of the volatile and polyphenol constituents and the antimicrobial, antioxidant, and tyrosinase inhibitory activities of the bioactive compounds from the by-product of *Rosa rugosa Thunb.* var. *plena Regal* tea. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 1-9.

Rusmana, D., Wahyudianingsih, R., Elisabeth, M., Balqis, Maesaroh and Widowati, W., 2017. Antioxidant activity of *Phyllanthus niruri* extract, rutin and quercetin. *Indonesian Biomedical Journal*, 9(2), 84-90.

Schulz, V., Hänsel, R., Blumenthal, M. and Tyler, V. E., 2004. Rational phytotherapy. Springer, 417 p, Berlin Heidelberg.

Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G. and Mirtajaldini, M., 2009. Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry*, 112(4), 885-888.

Singh, M., Govindarajan, R., Rawat, A. K. S. and Khare, P. B., 2008. Antimicrobial flavonoid rutin from *Pteris vittata* L. against pathogenic gastrointestinal microflora. *American Fern Journal*, 98(2), 98-103.

Singh, Y., Pandey, D. P., Singh, R. P., Rather, M. A., Bodakhe, S. H. and Bodakhe, K. S., 2011. Antiarthritic Studies On *Morina longifolia*. *Advances in Pharmacology and Toxicology*, 12(3), 19-24.

Sintayehu, B., Asres, K. and Raghavendra, Y., 2012. Radical scavenging activities of the leaf extracts and a flavonoid glycoside isolated from *Cineraria abyssinica* Sch. Bip. exA. Rich. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(4), 44-49.

Slinkard, K. and Singleton V. L., 1977. Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.

Srinivasan, R., Natarajan, D. and Shivakumar, M. S., 2015. Antioxidant Compound Quercetin-3-*O*-*α*-L-rhamnoside(1→6)- *β*-D-glucose (Rutin) isolated from ethyl acetate leaf extracts of *Memecylon edule* Roxb. (Melastamataceae). *Free Radicals and Antioxidants*, 5(1), 35-42.

Su, B. N. and Takaishi, Y., 1999. Morinins L-P, Five New Phenylpropanol Derivatives from *Morina chinensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47(11), 1569-1572.

Su, B. N., Takaishi, Y., Duan, H. Q. and Chen, B., 1999. Phenylpropanol derivatives from *Morina chinensis*. *Journal of Natural Products*, 62(10), 1363-1366.

Su, B. N. and Takaishi, Y., 1999. Morinins H-K, Four Novel Phenylpropanol Ester Lipid Metabolites from *Morina chinensis*. *Journal of Natural Products*, 62, 1325-1327.

Su, B. N., Takaishi, Y. and Kusumi, T., 1999. Morinols A-L, Twelve Novel Sesquineolignans and Neolignans With a New Carbon Skeleton from *Morina chinensis*. *Tetrahedron*, 55(51), 14571-14586.

Tada, T., Tezuka, Y., Shimomura, K., Ito, S., Hattori, H. and Kadota, S., 2001. Effect of Depigmentation for 3,4-di-*O*-Cadeoylquinic Acid Guided by Tyrosinase Inhibitory Activity from *Conyza filaginoides*. *Journal of Oleo Science*, 50(4), 211-215.

Taiwo, F. O., Oyedeji, O. and Osundahunsi, M. T., 2019. Antimicrobial and Antioxidant Properties of kaempferol-3-O-glucoside and 1-(4-Hydroxyphenyl)-3-phenylpropan-1-one Isolated from the Leaves of *Annona muricata* (Linn.). *Journal of Pharmaceutical Research International*, 26(3), 1-13.

Taşdemir, D., Brun, R., Perozzo, R. and Dönmez, A. A., 2005. Evaluation of Antiprotozoal and Plasmodial Enoyl-ACP Reductase Inhibition Potential of Turkish Medicinal Plants. *Phytotherapy Research*, 19(2), 162-166.

Taşdemir, D., Dönmez, A. A., Çalış, İ., & Rüedi, P. (2004). Evaluation of biological activity of Turkish plants. Rapid screening for the antimicrobial, antioxidant, and acetylcholinesterase inhibitory potential by TLC bioautographic methods. *Pharmaceutical Biology*, 42(4-5), 374-383.

Teng, R. W., Wang, D. Z., Wu, Y. S., Lu, Y., Zheng, Q. T. and Yang, C. R., 2005. NMR assignments and single-crystal X-ray diffraction analysis of deoxyloganic acid. *Magnetic Resonance In Chemistry*, 43(1), 92-96.

Teng, R. W., Xie, H. Y., Liu, X. K., Wang, D. Z. and Yang, C. R., 2003. Four new oleanane type saponins from *Morina nepalensis* var. *alba*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 5(2), 75-82.

Teng, R. W., Xie, H. Y., Wang, D. Z. and Yang, C. R., 2002. Four new ursane-type saponins from *Morina nepalensis* var. *alba*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 40(9), 603-608.

Teng, R. W., Zheng, Q. A., Wang, D. Z. and Yang, C. R., (2003). Two New Triterpenoid Saponins from *Morina nepalensis* var. *alba*. *Acta Botanica Sinica*, 45(1), 122-126.

Teng, R., Xie, H. yang, Li, H. Z., Liu, X., Wang, D. and Yang, C., 2002. Two new acylated flavonoid glycosides from *Morina nepalensis* var. *alba* Hand.-Mazz. *Magnetıc Resonance In Chemıstry*, 40(6), 415-420.

Tram, N. C. T., Son, N. T., Thao, D. T. and Cuong, N. M., 2016. Kaempferol and kaempferol glycosides from *Phyllanthus acidus* leaves. *Vietnam Journal of Chemistry, International Edition*, 54(6), 790-793.

Wei, X. H., Yang, S. J., Liang, N., Hu, D. Y., Jin, L. H., Xue, W. and Yang, S., 2013. Chemical constituents of *Caesalpinia decapetala* (Roth) alston. *Molecules*, 18(1), 1325-1336.

Wei, Y., Xie, Q., Fisher, D. and Sutherland, I. A., 2011. Separation of patuletin-3-*O*-glucoside, astragalin, quercetin, kaempferol and isorhamnetin from *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze by elution-pump-out high-performance counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1218(36), 6206-6211.

Wen, L., Wu, D., Jiang, Y., Prasad, K. N., Lin, S., Jiang, G., He, J., Zhao, M., Luo, W. and Yang, B., 2014. Identification of flavonoids in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) leaf and evaluation of anticancer activities. *Journal of Functional Foods*, 6(1), 555-563.

Xie, Z., Liang, Z., Xie, C., Zhao, M., Yu, X., Yang, M., Huang, J. and Xu, X., 2014. Separation and Purification of Rosmarinic Acid and Rutin from *Glechoma hederacea* L. using High-

Speed Counter-Current Chromatography. *Separation Science and Technology,* 49(4), 588-593.

Yang, J., Guo, J. and Yuan, J., 2008. In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT – Food Science and Technology*, 41(6), 1060-1066.

Yang, Q., Landrein, S., Osborne, J. and Borosova, R., 2011. Caprifoliaceae. Flora of China, http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=10159 (18.07.2023).

Yousuf, S., Bachheti, R. K., Joshi, A. and Bhat, M., 2011. In vitro antibacterial screening of different extracts of *Morina longifolia* on pathogenic microorganisms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(4), 303-306.

Yousuf, S., Bacheheti, R. K., Joshi, A. and Mathur, A., 2014. Evaluatıon of antıoxıdant potencial and phytochemıcals of *Morina longifolia*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(6), 208-212.

Yousuf, S., Morenikeji, O., Kutchy, N. A. and Singh, A. P., 2022. Elucidating Pharmacological Activities of Volatile Chemotypes in Essential Oil of *Morina longifolia*. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 36(51).

Yousuf, S., Tahira, Y. and Bachheti, R. K., 2015. Evaluation Of Antifungal Potency Of *Morina longifolia*, *Valeriana hardwıckii* And *Viola patrinıı*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(11), 2040-2051.

Zhang, Z. F., Lu, L. Y., Luo, P., Qing, L. S. and Liu, Y., 2013. Two new ursolic acid saponins from *Morina nepalensis* var. *alba* Hand-Mazz. *Natural Product Research*, 27(24), 2256-2262.

Zhu, Y., Lü, Z. P., Xue, C. B. and Wu, W. S., 2009. New triterpenoid saponins and neolignans from *Morina kokonorica*. *Helvetica Chimica Acta*, 92(3), 536-545.

EKLER

EK-1. 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	Rıdvan ÖZGEN
Öğrencinin Numarası	
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	%2	% 15
II. Genel Bilgiler	%20	% 35
III. Materyal ve Metod	%16	% 35
IV. Bulgular	%12	% 15
V. Tartışma	%8	% 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-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

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

Sayı : 93722986.12/
Konu: Birim Etik Kurul Kararı **13/04/2022**

Sayın: Doç. Dr. Esen SEZEN KARAOĞLAN

İlgi: 08.04.2022 tarih ve 2200113407 sayılı dilekçeniz.

Fakültemiz Birim Etik Kurulunun 12.04.2022 tarihinde 6 numaralı kararı ile danışmanı olduğunuz yüksek lisans öğrencisi Rıdvan ÖZGEN'in "Morina persica L. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar" (İn Vitro) başlıklı çalışması etik kurulumuz tarafından kabul edilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Karar -6- Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Esen SEZEN KARAOĞLAN'ın danışmanı olduğu yüksek lisans öğrencisi Rıdvan ÖZGEN'in Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında yürüteceği "Morina persica L. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar" (İn Vitro) başlıklı araştırma çalışması ile ilgili 08.04.2022 tarih ve 2200113407 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