ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ahmet UMAY

Lavandula stoechas, Melissa officinalis ve *Tribulus terrestris* BİTKİLERİNİN KİMYASAL İÇERİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

KİMYA ANABİLİM DALI

ADANA 2007

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Lavandula stoechas, Melissa officinalis ve *Tribulus terrestris* BİTKİLERİNİN KİMYASAL İÇERİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ahmet UMAY

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu Tez 17 / 01 / 2007 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oy Birliği / Oy Çokluğu İle Kabul Edilmiştir.

İmza.....	İmza.....	İmza.....
Yrd.Doç.Dr. Ramazan BİLGİN	Prof.Dr. Seyhan TÜKEL	Yrd.Doç.Dr.Tülay ALTUN
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Kimya Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof.Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: FEF2003YL9

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Lavandula stoechas, Melissa officinalis ve ***Tribulus terrestris*** **BİTKİLERİNİN KİMYASAL İÇERİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ahmet UMAY
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
KİMYA ANABİLİM DALI
Danışman: Yrd.Doç.Dr. Ramazan BİLGİN
Yıl: 2007**, Sayfa:** 45
Jüri: Yrd.Doç.Dr. Ramazan BİLGİN
Prof.Dr. Seyhan TÜKEL
Yrd.Doç.Dr.Tülay ALTUN

Karabaş otu, oğul otu ve deve çökerten bitkilerinden elde edilen uçucu yağ bileşenleri incelendi.

Ekstraktlar; hidrodestilasyon, demleme ve subkritik su ekstraksiyonu yöntemleri ile elde edildi. Uçucu yağların bileşenleri GC-MS ile belirlendi

Bu çalışmada; karabaş otu ve deve çökerten bitkilerinin uçucu yağ bileşenlerinde aterosklerozu önleyici olarak bilinen *verbenone*, *carbamazepine* ve *vanillin* bulunmuştur. Karabaş otunun hidrodestilasyon işlemi ile elde edilen ekstraktında % 0,62 *verbenone***,** subkritik su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktında % 0,60 *carbamazepine* ve deve çökerten bitkisinin subkritik su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktında % 0,41 *vanillin* bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Ateroskleroz, kolesterol, lipoprotein, uçucu yağ, terpen

ABSTRACT

MSc Thesis

DETERMINATION OF CHEMICAL COMPOSITION OF *Lavandula stoechas, Melissa officinalis* and *Tribulus terrestris* PLANTS

Ahmet UMAY

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

Supervisor: Assist.Prof.Dr. Ramazan BİLGİN

Year: 2007, **Pages:** 45

Jury: Assist.Prof.Dr. Ramazan BİLGİN

Prof.Dr. Seyhan TÜKEL

Assist.Prof.Dr.Tülay ALTUN

In this study, essential oil composition of *Lavandula stoechas, Melissa officinalis and Tribulus terrestris* plants were examined.

The extracts were obtained with hydrodistillation, brewing and subcritical water extraction methods. Components ofthe essential oils were analysed by GC-MS.

Verbenone, *carbamazepine* and *vanillin* known as atherosclerosis preventing substances and were found in *Lavandula stoechas and Tribulus terrestris* essential oils. The relative amount of *verbenone* was highest hydrodistillation extract of *Lavandula stoechas* (0,62 %) *carbamazepine* was found as (0,60 %) in subcritical water extract of and relative highest amount of *vanillin* (0,41 %) was found subcritical water extract of *Tribulus terrestris.*

Keywords: Atherosclerosis, cholesterol, lipoprotein, essential oil, terpene

TEŞEKKÜR

Eğitimim ve tez çalışmam süresince bana bilgi ve deneyimleri ile yardımcı olan, sabrını ve hoşgörüsünü eksik etmeyen tez danışmanın ve sayın hocam Yrd.Doç.Dr. Ramazan BİLGİN, sayın hocam Prof.Dr.Seyhan TÜKEL, sayın hocam Yrd.Doç.Dr.Tülay ALTUN sayın hocam Prof.Dr. Sultan GİRAY ve sayın hocam Doç.Dr. Güzide YÜCEBİLGİÇ'e ve laboratuar arkadaşlarım Ar.Gör.Murat TÜRK, Ar.Gör.Özgür SÖNMEZ'e ve ayrıca bana her zaman destek olan sevgili eşim Lütfiye UMAY'A

En içten duygularımla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
TEŞEKKÜR III
İÇİNDEKİLER IV
ÇİZELGELER DİZİNİ VI
ŞEKİLLER DİZİNİ VII
SİMGELER VE KISALTMALAR VIII
1. GİRİŞ 1
1.1. Kimyasal İçeriği Araştırılan Bitkiler 1
1.1.1. Karabaş Otu 1
1.1.2. Oğul Otu 2
1.1.3. Deve Çökerten 3
1.2. Uçucu Yağlar 4
1.2.1. Terpenler 4
1.2.1.1. Monoterpenler 6
1.2.1.2. Seskiterpen 8
1.2.1.3. Diterpenler ve Triterpenler 9
1.2.2. Aromatik Özelliklerine Göre Terpenler 10
1.2.3. Farmakolojik ve Terapik Etkilerine Göre Terpenler 10
1.3. Ateroskleroz 11
1.4. Lipitlerin Taşınması ve Depolanması 14
1.5. Kolesterol 14
1.6. Kolesterol Sentezi 15
1.7. Ateroskleroz Oluşumunu Etkileyen Risk Faktörleri 16
1.7.1. Hiperlipidemi 16
1.7.2. Sigara Kullanımı 17
1.7.3. Diyabetes Mellitus 17
1.7.4. Hipertansiyon 18
1.7.5. Şişmanlık 18
1.7.6. Fiziksel Aktivite 19

1.7.7. Genetik Faktörler 19
1.8. Aterosklerozun Gerilemesi 19
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 21
3. MATERYAL VE METOT 24
3.1. Materyal 24
3.1.1. Kimyasallar 24
3.1.2. Cihazlar 24
3.2. Metot 24
3.2.1. Clavenger Cihazı İle Hidrodestilasyon 25
3.2.2. Demleme ve Sonrasında Liyofilizleme 25
3.2.3 Subkritik Su Ekstraksiyonu 25
3.2.4. GC–MS Analizi 26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 27
4.1. Bulgular 27
4.2. Tartışma 34
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 37
KAYNAKLAR 39
ÖZGEÇMİŞ 42
Ek 1 Uçucu Yağların GC Kromatogramları 43

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 1.1. Terpenlerin Genel Yapıları 5
Çizelge 4.1. Bitkilerin HD İle Elde Edilen Ekstraktların Yüzde Verimleri..... 27
Çizelge 4.2. Bitkilerin Dem-LF Elde Edilen Ekstraktlarının Yüzde Verimleri 27
Çizelge 4.3. Bitkilerin SbKSE İle Elde Edilen Ekstraktların Yüzde Verimleri 27
Çizelge 4.4. Karabaş otunun HD İle Elde Edilen Uçucu Yağının Bileşenleri..... 28
Çizelge 4.5. Oğul otunun HD İle Elde Edilen Uçucu Yağının Bileşenleri..... 28
Çizelge 4.6 Karabaş Otunun Liyofilizleme Sonrası n-Hekzan İle Çözülerek Elde Edilen Süzüntüsünün Bileşenleri 29
Çizelge 4.7 Oğul Otunun Liyofilizleme Sonrası n-Hekzan İle Çözülerek Elde Edilen Süzüntüsünün Bileşenleri 29
Çizelge 4.8. Deve Çökerten Otunun Liyofilizleme Sonrası n-Hekzan İle Çözülerek Elde Edilen Süzüntüsünün Bileşenleri 29
Çizelge 4.9. Karabaş Otunun SbKSE Sonrası Diklorometan İle Alınan Ekstraktının Yüzde Olarak Bileşenleri 30
Çizelge 4.10. Oğulotu Bitkisinin SbKSE Ekstraksiyonu Sonrası Diklorometan İle Alınan Ekstraktının Yüzde Olarak Bileşenleri 31
Çizelge 4.11. Deve Çökerten Bitkisinin SbKSE Sonrası Diklorometan İle Alınan Ekstraktının Yüzde Olarak Bileşenleri 32

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 1.1. Karabaş Otu 1
Şekil 1.2. Oğul Otu 2
Şekil 1.3. Deve Çökerten 3
Şekil 1.4. Isoprene 5
Şekil 1.5. Asiklik Monoterpenler 6
Şekil 1.6. Asiklik Monoterpenlerin Oksijenli Türevleri 6
Şekil 1.7. Monosiklik Monoterpenler 7
Şekil 1.8. Monosiklik Monoterpenlerin Oksijenli Türevleri 7
Şekil 1.9. Bisiklik Monoterpenler 7
Şekil 1.10. Bisiklik Monoterpenlerin Oksijenli Türevleri 8
Şekil 1.11. Seskiterpenler 8
Şekil 1.12. Seskiterpenlerin Oksijenli Türevleri 9
Şekil 1.13. Uçucu Yağlardaki Çeşitli Aromatik Bileşikler 10
Şekil 1.14. Arterin Yapısı 13
Şekil 1.15. Normal Bir Arter İle Aterosklerozlu Bir Damarın Kesitleri 13
Şekil 1.16. Normal Bir Arter ve İle İki Farklı Düzeydeki Arterosklerozlu Damar Kesitleri 13

SİMGELER VE KISALTMALAR

VLDL : Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Very Low Density Lipoprotein)

LDL : Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)

HDL : Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (High Density Lipoprotein)

TG : Trigliserit (Triaçilgliserol)

Asetil–CoA : Asetil Koenzim A

HMG–CoA : Hidroksimetil Glutaril Koenzim A

LCAT : Lesitin:Kolesteril Açil Transferaz

ACAT : Kolesterol Açil Transferaz

LPL : Lipoprotein Lipaz

PTZ : Pentilen Tetrazol

LS : Lavandula Stoechas

HD : Hidrodestilasyon

Dem-LF : Demleme ve Liyofilizleme

SbKSE : Subkritik Su Ekstraksiyonu

HPLC : Yüksek Performans Sıvı Kromatografi (High Performance Liquid Chromatography)

GC : Gaz Kromatografisi

GC–MS : Gaz Kromatografisi ve Kütle Kromatografisi

RT : Alıkonma Zamanı (Retention time)

1. GİRİŞ

1.1. Kimyasal İçeriği Araştırılan Bitkiler

1.1.1. Karabaş Otu *Lavandula stoechas*

Bu tür; keşiş otu, yalancı lavanta çiçeği olarak ta bilinmektedir. 45–50 cm yükseklikte, tüylü, kuvvetli kokulu, çalımsı ve çok yıllık bir bitkidir. Çiçek sapı 0,5–2,5 cm arasında, sık dizilmiş şekildedir. Yaprakları dar ve uzun kenarları alta doğru kıvrıktır (Şekil 1.1.).

Batı Anadolu'nun maki bölgelerinde yaygın bir türdür. Yaprak ve çiçeklerinden elde edilen ekstraktları ağrı kesici, antimikrobiyal, sakinleştirici, idrar yolları iltihaplarını giderici, kalp kuvvetlendirici ve damar sertliği damar tıkanıklığı giderici olarak kullanılmaktadır. (Baytop, 1997) (www.webnaturel.com.)



Şekil 1.1. Karabaş otu
(http://www.biyolojiegitim.yyu.edu.tr/sifabit/karabasotu/images)

1.1.2. Oğul Otu *Melissa officinalis*

Bu tür; kovan otu, limon otu, limon nanesi olarak ta bilinmektedir. 20–150 cm arasında uzayabilen hoş kokulu, çok yıllık bir bitkidir. Üzerinde tüyler bulunan dişli kenarlı ve saplı yaprakları, ile dikkati çeker (Şekil 1.2.). Akdeniz bölgesinde bol olarak bulunmaktadır. Türkiye'de üç alt tür saptanmıştır. Bunlardan yalnız Oğul otu limon kokulu olup tedavide kullanılmaktadır. Diğer iki alt tür kokusuz veya kötü kokulu olduklarından tedavi alanında kullanılmamaktadır. Tıbbi olan alt tür Avrupa'da geniş bir şekilde yetiştirilmektedir.

Yemeklere ve çeşitli içeceklere katılan yapraklarından çok eski zamanlardan beri sakinleştirici, terletici ve gaz söktürücü çaylar hazırlanır. Kasılmalara, damar tıkanıklığına, ülsere ve diş ağrısına karşı kullanılmaktadır (Baytop, 1997).



Şekil 1.2. Oğul otu
(http://www.fungoceva.it/erbe_ceb/melissa.htm)

1.1.3. Deve Çökerten *Tribulus terrestris*

Bu tür; çarık dikeni, çoban çökerten, demir dikeni olarak ta adlandırılmaktadır. Genellikle bahçelerde yabani ot olarak bilinmektedir. Hindistan ve Afrika'da bol miktarda yetişmektedir. 15–80 cm boyunda, bir yıllık otsu, sürünücü ve çiçekleri küçük ve açık sarı renklidir Toprak üzerine yatık olarak bulunur. Meyveleri ortalama olarak 10 mm çapında ve boynuz şeklinde sivri uçlara sahiptir (Şekil 1.3.).

Bu bitkinin ekstraktları hipertansiyon, koroner kalp rahatsızlıkları, göze bağlı iltihaplanmaların tedavisinde, tas düşürücü, idrar söktürücü ve kuvvet verici, her iki cinsiyet için kısırlık tedavisi için kullanılmaktadır (Baytop, 1997).



Şekil 1.3. Deve çökerten
(http://www.colostate.edu/Depts/CoopExt/Adams/weed/puncturevine.htm)

1.2. Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar genel olarak terpen içeriklidirler. Uçucu yağlar genellikle sıvı olup, kuvvetli kokulu ve uçucu maddelerdir; genel olarak parfümeri ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadırlar. Su buharı ile sürüklenirler. Suda çözünmez, organik çözücülerde yüksek oranda çözünürler. Bitkilerin yaprak, meyve çiçek gibi tüm organlarında bulunabilirler.

Bitkilerin büyük bir kısmı canlılarda fizyolojik etkileri nedeni ile tıbbi tedavi amacı ile de tercih edilmektedirler. Etken maddelerin genel olarak uçucu yağlarda bulunduğu belirlenmiştir. Bu güne kadar uçucu yağlardan 2000'den fazla sayıda bileşen tespit edilmiştir. Bunların en önemlileri terpenler, fenilpropanlar'dır. Ayrıca çok sayıda su buharında uçucu olan azot ve kükürt içeren bileşiklerin de varlığı tespit edilmiştir.

Fiziksel özellikleri yönünden uçucu yağlar birbirlerine genellikle benzerler. Genel olarak kırılma indeksleri yüksektir ve optikçe aktiftirler.

Uçucu yağlar genel olarak renksiz veya açık sarı renklidirler. Ancak karanfil yağı gibi sarıdan kahverengiye veya papatya yağı gibi yeşilden maviye kadar renkte olanları da vardır. Uzun süre açıkta kalacak olurlarsa renkleri koyulaşır.
Uçucu yağlardaki maddeler genel olarak 4 grup altında incelenebilir.

- Terpenik maddeler
- Aromatik maddeler
- Düz zincirli hidrokarbonlar
- Azot ve kükürt taşıyan bileşikler

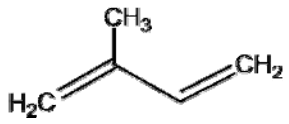
Uçucu yağların büyük çoğunluğu (yaklaşık % 90) terpenik maddelerden oluşmuştur. (Ceylan, 1987)

1.2.1.Terpenler:

Terpenler, doğal ürünlerin en yaygın gruplarından biridir. Bitkilerde ve hayvanlarda birçok farklı işlevleri bulunurken gıdalarda da aroma bileşenleri olarak

önemlidirler. Örneğin turunçgiller, tarçın ve diğer baharat aromaları birkaç terpen ile karakterize edilir. Limonene ve citral (her ikisi de limonda bulunur), camphor, pinene (çam ağaçları), eugenol (karanfil), anethol, thymol, geraniol (gül) ve menthol en yaygın bilinen terpenlerdir.

Kimyasal anlamda terpenler, yapısı çeşitli fakat belli sayıda isoprene birimlerine sahip olan bir moleküller grubu olarak tanımlanır. (methylbuta-1,3-diene, hemiterpene olarak isimlendirilen 5 karbonlu atomdur).



Şekil 1.4. Isoprene

Bu tanım, temel moleküler iskelette isoprene sayılarına dayanan terpenlerin rasyonel bir şekilde sınıflandırılmasını sağlar.

Çizelge 1.1. Terpenlerin Genel Yapıları

	Terpenler	Isoprene units	Carbon atoms
1	Monoterpenler	2	10
2	Sesquiterpenler	3	15
3	Diterpenler	4	20
4	Sesterpenler	5	25
5	Triterpenler	6	30
6	Karotenoidler	8	40
7	Kauçuk	> 100	> 500

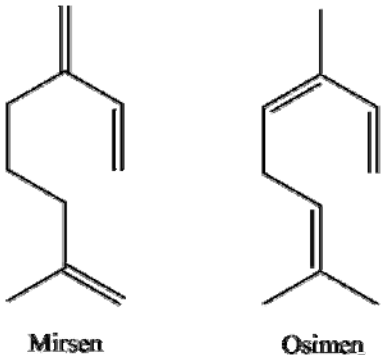
Mono-, sesqui-, di-, ve sesterpenler baş-kuyruk şeklinde bağlanmış isoprene'lerden meydana gelmiştir. Triterpenler iki C_{15} ve Karotenoidler (tetraterpenler) iki C_{20} biriminin kafa-kafaya bağlandıkları yapılardır.

Terpenlerin çoğu hidrokarbonlardır; ancak alkoller, ketonlar veya aldehitler gibi oksijen içeren bileşiklerde olabilirler. Bu türevler çoğunlukla terpenoids olarak adlandırılırlar. Mono- ve sesquiterpenler esansiyel yağların temel bileşenleridir. Diğer terpenler ise reçine, mum ve kauçuğun ana bileşenleridirler.

1.2.1.1. Monoterpenler (C_{10})

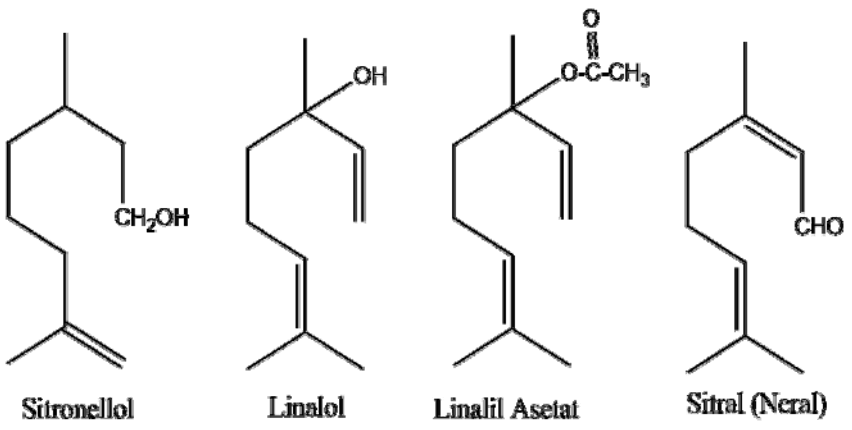
Bugün uçucu yağlarda 150'den fazla monoterpen bulunmuştur. Monoterpenler başlıca 3 grup altında toplanabilir.

a) Asiklik monoterpenler üç çift bağ içerirler:



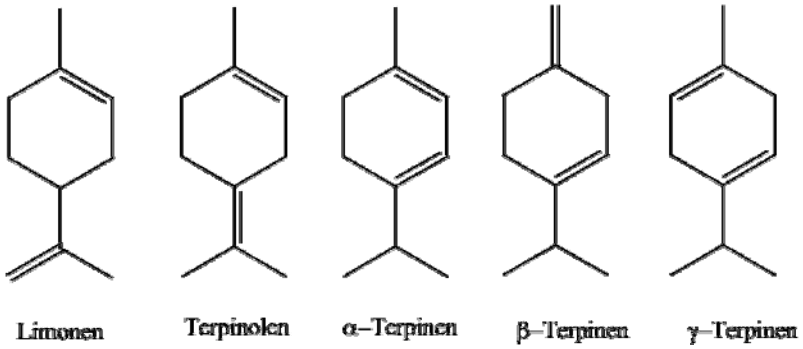
Şekil 1.5. Asiklik Monoterpenler (Ceylan, 1987)

Asiklik monoterpenlerin alkol, ester veya aldehit grubu taşıyan oksijenli türevleri bulunur.



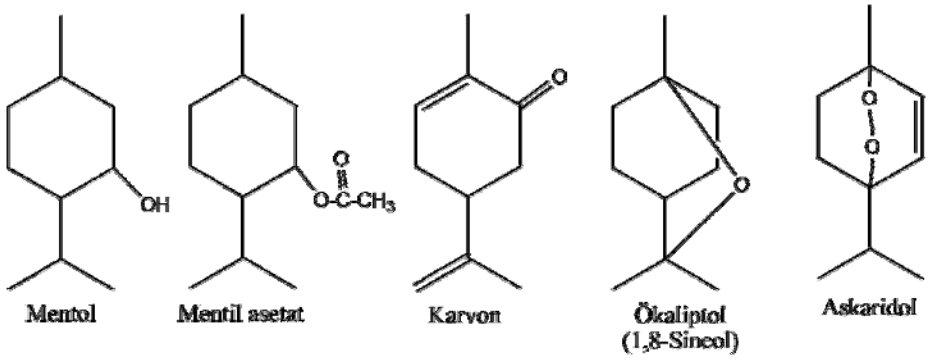
Şekil 1.6. Asiklik Monoterpenlerin Oksijenli Türevleri (Ceylan, 1987)

b) Monosiklik monoterpenlerde iki çift bağ bulunur:



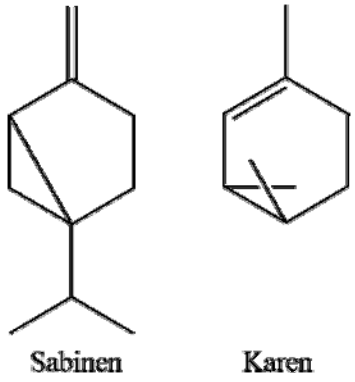
Şekil 1.7. Monosiklik Monoterpenler (Ceylan, 1987)

Monosiklik monoterpenlerin oksijenli türevleri alkol, ester, keton, epoksit ve peroksit grubu taşıyabilirler:



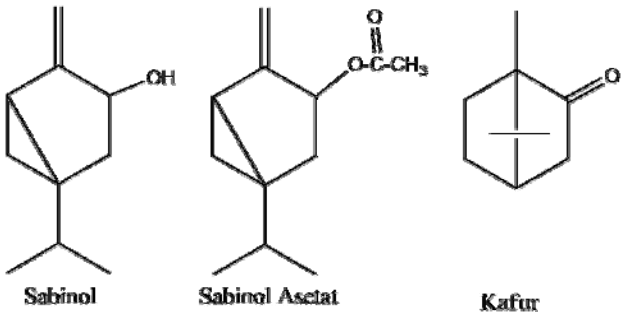
Şekil 1.8. Monosiklik Monoterpenlerin Oksijenli Türevleri (Ceylan, 1987)

c) Bisiklik monoterpenler bir çift bağ içerirler:



Şekil 1.9. Bisiklik Monoterpenler (Ceylan, 1987)

Bisiklik monoterpenlerin alkol, ester veya ketonlu türevleri bulunur:

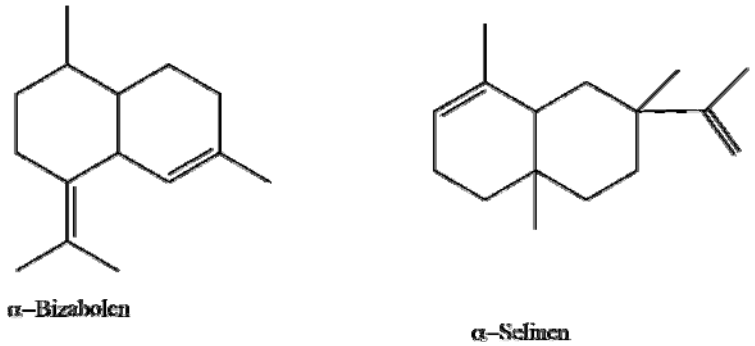


Şekil 1.10. Bisiklik Monoterpenlerin Oksijenli Türevleri (Ceylan, 1987)

1.2.1.2. Seskiterpen (C_{15})

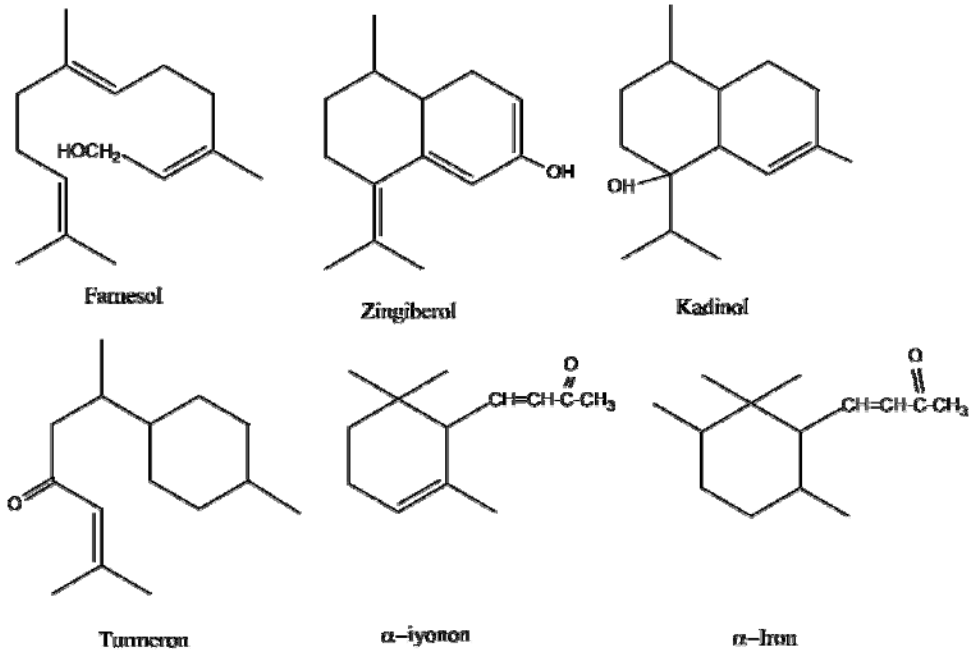
Bunlar da asiklik, monosiklik bisiklik ve trisiklik seskiterpenler olarak alt gruplara ayrılır. Bugün uçucu yağlarda 1000 kadar seskiterpen bağlantılı türevler bulunmaktadır. Seskiterpenlere örnek olarak Bisabolol, Kamazulen, Farnesol verilebilir.

Seskiterpenler, asiklik, monosiklik ve bisiklik yapıda olabilir.



Şekil 1.11. Seskiterpenler (Ceylan, 1987)

Seskiterpenlerin oksijenli türevleri yaygın olarak bulunur.



Şekil 1.12. Seskiterpenlerin Oksijenli Türevleri (Ceylan, 1987)

1.2.1.3. Diterpenler (C_{20}) ve Triterpenler (C_{30})

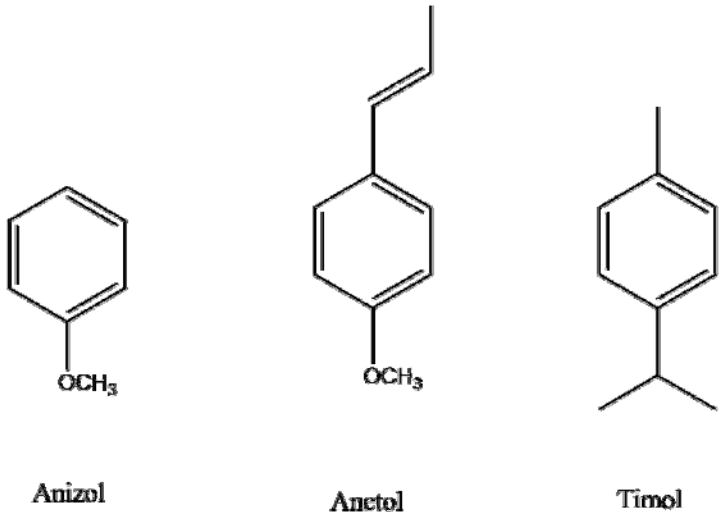
Terpenik ve aromatik maddelerin oksijensiz yada oksijenli türevlerinden bir çoğu uçucu yağda karışım halinde bulunmaktadır. Oksijensiz olanlar çoğunlukla kolay uçucudurlar. Uçucu yağlar düşük sıcaklıklarda bile sıvı halde kalabilirler. Oksijenli türevleri ise daha az uçucudurlar ve uçucu yağ soğutulduğunda birçoğu çökerek oksijensiz bileşiklerden ayrılırlar. Bazı uçucu yağlarda çöken kısmına stearopten, bu koşullarda sıvı halde kalan kısmına da elaopten adı verilir.

Uçucu yağlara fraksiyonlu destilasyon uygulandığında ilk ele geçen fraksiyonlar elaoptenden oluşan oksijensiz bileşiklerdir. Terpenlerin oksitlenmesi ile meydana gelen oksijenli türevler uçucu yağın kendine özgü kokusunu, tadını verirler. Uçucu yağlarda asıl önemli olan bileşikler oksitlenmiş türevlerdir.

1.2.2. Aromatik Özelliklerine Göre Terpenler

Aromatik maddeler, terpenlerden sonra uçucu yağlarda bulunan önemli bileşik grubudur. Benzen, propilbenzen veya p-simen yapısında olabilirler, asit, alkol, ester, aldehit, keton, fenol ve eter gibi organik fonksiyonel gruplar taşıyabilirler. Uçucu yağların tat ve koku açısından çok önemli, belirgin bazı fizyolojik etkilere sahip, kısmını oluştururlar.

Tat ve koku sanayinde önemli birçok bileşiğin sentezinde de kullanılırlar.



Şekil 1.13. Uçucu Yağlardaki Çeşitli Aromatik Bileşikler (Ceylan, 1987)

1.2.3. Farmakolojik Etkilerine Göre Terpenler

Uçucu yağlar farmakolojik etkilerine göre de gruplandırılırlar. Farmokolojik etkilerine göre de uçucu yağlar antiromatizmal, öksürük kesici, idrar söktürücü, iltihap azaltan, dezenfektan vs. gibi gruplandırmaya tabi tutulurlar.(Ceylan, 1987)

1.3. Ateroskleroz

Ateroskleroz büyük ve orta arterlerin (atardamarların) duvarlarının iç kısmında gelişen plak şeklinde lipit içeren bir oluşumdur. Aterosklerozun erken döneminde yağlı çizgiler, ileri dönemde de lifli plaklar ve karmaşık lezyonlar (yapısal bozukluklar) görülür. Yağlı çizgiler aterosklerozun en sık rastlanan lezyonlarıdır.

Yağlı çizgiler düz lezyonlardır. Arter iç yüzeyinde sarı renkte yamaya benzer şekilde görülürler, nadiren iç kısma doğru büyürler. Lifli plak ve karmaşık lezyonlar ise kabarık lezyonlar olup, soluk gri renktedirler.

Aterosklerotik oluşumlar kan akımının değişkenlik gösterdiği, arterlerin ayrım noktalarında daha fazla gözlenmektedir. Bu oluşumlar genellikle asimetriktirler. Bu plaklar damar iç tabakasının (*endotel*) alt bölgesinde bir miktar kolesterol toplanmasıyla başlar. Bu olayın gelişiminde farklı nedenlerle oluşan endotel hasarı artırıcı etki göstermektedir (Ross, 1986).

Aterosklerozun kendine özgü yapısı, bir endotel tabakası ile kaplı, düz kas hücreleri ve fibröz dokudan oluşan bir örtü ile sarımtırak renkli lipit içeren bir çekirdekten oluşan plaktır (Mitchinson, 1994).

Düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL) doğal yapısında toksik etki göstermez. Ancak kanda fazla oranda bulunduğunda oksidanların ve çeşitli bileşenlerin etkileri ile oksitlenirler ve yapısal değişikliğe uğrarlar. Savunma mekanizmasına ait olan ve fagositoz (mikroorganizma ve benzeri moleküllerin yapı içerisine alınarak parçalanması ve etkisiz hale getirilmesi) yeteneği bulunan makrofajlar; yüzeyindeki reseptörler aracılığı ile bu okside olmuş LDL'leri kendi bünyelerine alarak endotel tabakası altında köpük hücre (foam cell) adı verilen sarı renkli yapılara dönüşürler.

LDL'lerin oksidatif modifikasyonu; yapılarında bulunan fosfolipitlerdeki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile başlamaktadır. LDL oksidasyonu özellikle serbest radikaller tarafından gerçekleştirilmektedir. Yapılan çalışmalar, peroksidasyonu başlatan radikallerin, hücrelerde muhtemelen lipoksijenaz enzimleri tarafından üretildiklerini göstermektedirler (Daugherty, 1994).

Özellikle modifikasyona uğramış LDL'ler makrofajlar tarafından alınmaktadır. Deneysel çalışmalarda ayrıca kimyasal modifikasyonlarda asetil LDL, asetoasetil

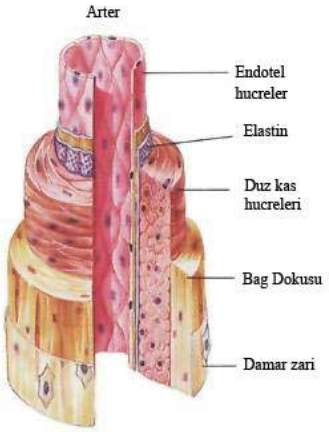
LDL, malondialdehit LDL gibi türlere dönüştükleri belirlenmiştir. Bu değişikliğe uğramış LDL'ler doğal LDL'lere göre makrofajlar tarafından yapılarına 8–10 kat daha hızlı olarak alınmaktadırlar (Baykal, 1998).

Köpük hücreler, çevredeki fibröz (lif) doku hücreleri ve düz kas hücrelerinin de eklenmesi ile büyük plaklara dönüşürler. Hücresel çoğalma ile birlikte kolesterol toplanması o kadar büyük olur ki plak damar içerisinde derinlere doğru uzar ve kan akımını büyük oranda azaltır. Damar içerisinde oluşan bu plaklar çok defa kan akımına doğru çıkıntılar yaparlar. Yüzeyleri pütürlü olduğunda pıhtı oluşumuna da yol açabilirler. Bu olayın ilerlemesi sonucu damar tamamen tıkanabilir.

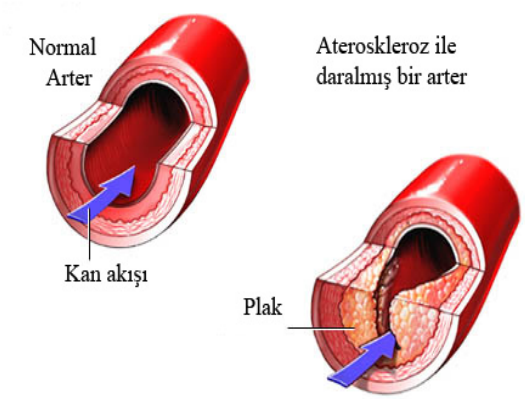
Tıkanmanın olmadığı durumda, plaktaki fibroblastlar (bağ dokusu hücreleri) büyük oranda sıkı bir bağ dokusu haline gelir ve arterleri sertleştirir. Daha sonra kolesterol ve diğer lipitlerle kalsiyum iyonlarının etkileşimi ile de daha büyük çökeltiler oluşur. Bunların sonucunda da bu arterler kasılma ve gevşeme yeteneğini kaybetmiş dayanıksız sert tüpler haline dönüşür.

Aterosklerotik kaynaklı hastalıklar halen ülkemizde ve gelişmiş ülkelerde birinci sıradaki ölüm nedeni olarak yer almaktadır. Aterosklerotik lezyonun bulunduğu yere göre klinik sonuçlar değişkenlik gösterir, örneğin koroner arterin (kalbi besleyen atar damar) aterosklerozu miyokard enfarktüsü (kalp krizi) ve anjina pektorise (kalp rahatsızlığına bağlı göğüs ağrısı) yol açarken, merkezi sinir sistemini besleyen arterlerin aterosklerozunda felç ya da geçici iskemi (belirli bölgeye kan taşınmasında yetersizlik) görülebilir. Böbrek damarlarındaki ateroskleroz ise yüksek tansiyon ve böbrek yetmezliğine yol açabilir (Fuster, and Badimon, 1992).

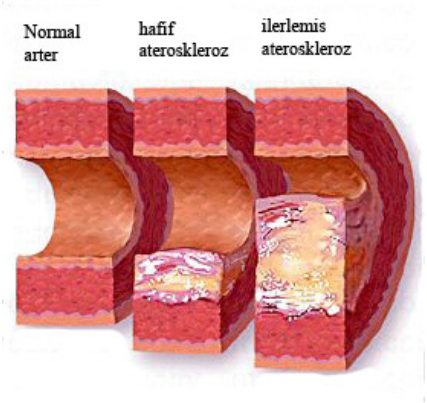
Normal bir arterin iç yüzü endotel ile dış yüzü gevşek bağ dokusu ile kaplıdır. Orta tabakada ise düz kas hücreleri bulunmaktadır. Düz kas hücreleri sistol (kasılma) ve diyastol (gevşeme) sırasında kan akımını sağlayan damar içi geriliminden sorumludurlar. Endotel; damarın kan hücreleri ile temas eden ve etkileşen yüzeyidir, uygun koşullarda da aterosklerotik lezyonların oluşumunda rol oynar (İliçin, 1996).



Şekil 1.14. Arterin Yapısı
(www.sci.sdsu.edu/class/bio590/pictures/lect5/artery-vein.jpeg)



Şekil 1.15. Normal Bir Arter İle Aterosklerozlu Bir Damarın Kesitleri
(www.saintlukeshealthsystem.org/slhs/com/mahi/mm/images)

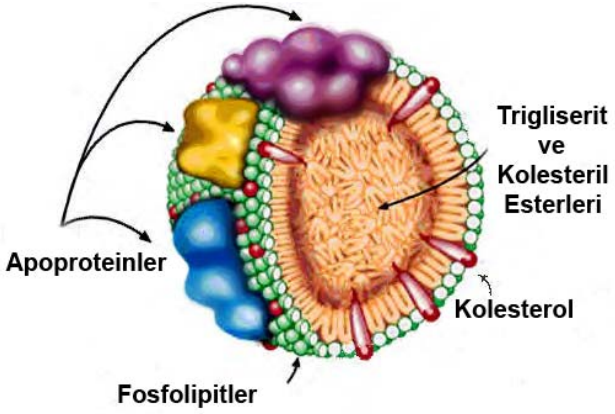


Şekil 1.16. Normal Bir Arter ve İki Farklı Düzeydeki Arterosklerozlu Damar Kesitleri
(www.surrey.ac.uk/SBMS/MicrobialSciences/research/immunology.html)

1.4. Lipitlerin Taşınması ve Depolanması

Diyetten absorbe edilerek alınan ve ayrıca karaciğer ile yağ dokusunda sentezlenen lipitler, kullanımı ve depo edilmesi için çeşitli doku ve organlar arasında taşınmaktadırlar. Lipitler suda çözünmediğinden sulu ortam olan kan plazmasında lipoproteinler şeklinde bulunmaktadırlar. Lipoproteinlerin genel işlevi, suda çözünmeyen lipitlerin, çözünür lipit ve protein kompleksi şeklinde kanda taşınmalarını sağlamaktır.

Makro moleküler kompleksler olan lipoproteinlerin iç kısmında trigliserit ve kolesterol esterlerinden oluşan polar olmayan bir çekirdek ile dış yüzeyinde fosfolipit, serbest kolesterol ve apolipoproteinlerden oluşan polar bir grup yer almaktadır (Onat ve Emerk, 1997).



Şekil.1.17. Şematik olarak Lipoproteinin Yapısı
(www.peprotech.com/uploadedimages/Untitled-1%20copy(5).jpg)

1.5. Kolesterol

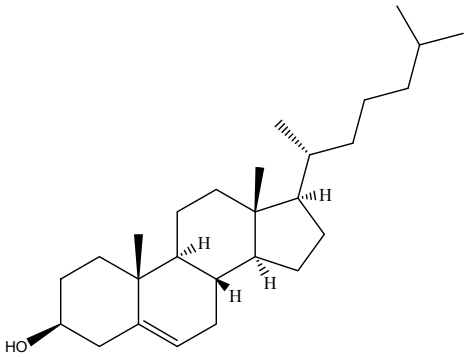
Yaşam için gerekli steroid yapıda 27 karbonlu bir maddedir. Kolesterol, beyin, sinirler, kalp, bağırsaklar, kaslar ve karaciğer başta olmak üzere tüm vücutta yaygın olarak bulunur.

1.6. Kolesterol Sentezi

Başta karaciğer (% 80) olmak üzere, deri, adrenal korteks, beyin, ince bağırsaklar, testis gibi organlarda, Asetil–CoA moleküllerinden 27 karbonlu kolesterol sentezlenmektedir. Kolesterol sentezinde kullanılan Asetil–CoA molekülleri yağ asitlerinin oksidasyonundan, piruvattan, amino asitlerden ve keton cisimlerinden sağlanmaktadır.

Kolesterol sentezinin dört ana basamağı bulunmaktadır. İlk basamakta üç molekül Asetil–CoA molekülü birleşerek altı karbonlu bir ara ürün olan mevalonat oluşur. Bu oluşum, ilk önce iki Asetil–CoA'nın tiolaz enzimi eşliğinde birleşmesi daha sonrasında ise bir glikoprotein olan Hidroksimetil Glutaril–CoA (HMG-CoA) sentaz enzimi yardımıyla bir diğer Asetil–CoA'nın eklenmesi ile gerçekleşir. İkinci basamakta Mevalonat beş karbonlu aktif izopren birimi olan izopentil pirofosfata dönüştürülmektedir. Üçüncü basamakta altı molekül beş karbonlu izoprenin polimerizasyonu ile 30 karbonlu lineer yapıdaki skualen oluşmaktadır. Dördüncü; yani son basamakta steroid çekirdeği oluşmakta ve daha ileri değişikliklerle (oksidasyonlar, metil gruplarının yer değiştirmesi) kolesterol sentezi tamamlanmaktadır.

Asetat	→	Mevalonat	→	İzopentil pirofosfat	→	Skualen	→	Kolesterol
2C		6C		5C		30C		27C



Şekil 1.18. Kolesterolün moleküler yapısı

Gerçekte, çekirdek içeren tüm dokular, kolesterolü sentezleyebilme yeteneğine sahiptirler. Hücrenin mikrozomal (endoplazmik retikulum) ve sitozol fraksiyonu kolesterol sentezinden sorumludur. Ancak temel olarak kolesterol karaciğerde sentezlenmektedir (Menteş ve Ersöz, 1993).

1.7. Ateroskleroz Oluşumunu Etkileyen Risk Faktörleri

1.7.1. Hiperlipidemi

Kronik hiperkolesterolemi yani plazmadaki toplam kolesterol seviyesi ile ateroskleroz arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. Açlık plazma toplam kolesterolü genellikle LDL kolesterol şeklinde artmaktadır. Yüksek kolesterollü hastaların yaklaşık % 80'inden fazlasında ailesel hiperkolesterolemi vardır.

Hiperlipidemi; LDL'nin taşınması, bağlanması, hücreye girişi, yeniden kullanımı ile ilgili genetik bozukluklar olarak özetlenebilir. Plazma kolesterol seviyesi 240 mg/dl'nin üzerinde olduğunda miyokard enfarktüsü oranında belirgin artış bulunmuştur. Plazma kolesterol ve trigliserit düzeylerinde yaşla ilişkili bir artış vardır. Plazma kolesterol seviyesi yüksek olan kişilerde, erken yaşta koroner kalp hastalığı görülme oranı artmaktadır.

Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ateroskleroz arasında ters bir ilişki olduğu belirlenmiştir (Farmer ve Gotto, 1992). HDL'nin yapısında yüksek miktarlarda bulunan antioksidanların lipoproteinlerdeki; ateroskleroz oluşumuna birinci dereceden etkili olan oksidasyonu engellemesi ve dokulardaki kolesterolü karaciğere taşıması ile yüksek konsantrasyondaki HDL koruyucu özellik göstermektedir (Onat, 2002).

Total kolesterol < 200 mg/dl normal düzey.
Total kolesterol 200–239 mg/dl arasında ise sınırda yüksektir.
Total kolesterol > 240 mg/dl ise yüksek kabul edilir.
LDL < 130 mg/dl normal düzeydir.
LDL 130–159 mg/dl arası sınırda yüksektir.
LDL > 160 ise yüksek kabul edilir.
HDL ortalama olarak
Erkeklerde 45 mg/dl
Kadınlarda 55 mg/dl'dir.
HDL < 35 mg/dl ise ateroskleroz riski artmaktadır.

1.7.2. Sigara Kullanımı

Sigara; ateroskleroz, koroner arter hastalıkları için önemli risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Sigaranın azaltılması veya kesilmesi hastalığın ilerlemesini azaltmaktadır. Miyokard enfarktüsü sigara içenlerde sıktır ve bu oran erkeklerde kadınlara oranla daha yüksektir.

Koroner arter aterosklerozu dışında, sigara içenlerde bacak arterlerinde de tıkayıcı lezyonlar görülür. Günde bir paketten fazla sigara içenlerde iskemik kalp hastalığı riski 3–5 kat artmaktadır (İliçin, 1996).

Ani ölüm sigara içenlerde sıktır. Sigara dumanı nitrojen oksitler ve organik hidroperoksitler gibi lipoproteinlere direkt olarak hasar verebilen oksidanlar içerir. Sigara dumanındaki bu oksidanlar aynı zamanda solunum yollarındaki fagositik (makrofaj gibi hücre savunmasından sorumlu olan yapılar) hücrelerin de aktivasyonunu uyararak dış kaynaklı oksidanların üretimini arttırır. Bunun sonucunda da LDL'nin oksidatif modifikasyonu artmaktadır (Eiserich, 1995).

Oksidasyona uğrayan LDL partikülleri reseptörler aracılığı ile makrofajlar tarafından alınır ve aterosklerotik lezyonların gelişiminde önemli rolü olan köpük hücrelerinin oluşumuna yol açar (Scheffler, 1992).

1.7.3. Diyabetes Mellitus

Diyabetes Mellitus'lu (insülin eksikliğine bağlı şeker hastalığı) hastalarda kalp krizi görülme oranı yaklaşık iki kat daha yüksektir. İnsülin yağ dokusunda bulunan lipitlerin hidrolizini sağlayan lipazın inhibisyonunu sağlayarak yağ yıkımını ve plazmaya geçişini kontrol altında tutmaktadır.

İnsülin apo-B fosforilasyonunu artırır. Fosforilasyon apo-B'nin trigliseritlerle bir araya gelerek Çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) oluşturmasını güçleştirir.

Ayrıca mitokondride yer alan "mitokondrial transfer protein" adı verilen bir proteini inhibe eden insülin, VLDL sentezini azaltmış olur.

İnsülin kanda dolaşan serbest yağ asitlerini de azaltır. Serbest yağ asitlerinin VLDL sentezi üzerine uyarıcı etkisi bulunmaktadır.

Ancak diyabetli hastalarda insülin eksikliğine bağlı olarak VLDL artışı dolayısı ile LDL artışı ve HDL azalması ortaya çıkmaktadır. Yani glikoz seviyesi düzensizliğine bağlı olarak hiperlipidemi ortaya çıkabilmektedir. Bu yüzden diyabet hiperlipidemiye neden olarak ateroskleroz oluşumunu artırmaktadır (Asman, 1990).

1.7.4. Hipertansiyon

Kan basıncının yüksekliği ateroskleroz görünme oranını artıran önemli bir risk faktörüdür. Kolaylıkla teşhis konulabilir ve tedavi edilebilir. Ateroskleroz riski kan basıncı yüksekliği arttıkça artar. Orta yaşlı bir erkekte sistolik basınç 160 mm Hg'yi, diyastolik basınç 95 mm Hg'yi aştığında, risk sistolik basıncı 130 mm Hg, diyastolik basıncı 80mm Hg veya daha düşük olanlara göre 5 kata kadar artabilmektedir.

Hipertansiyonu olan kadın ve erkeklerde diyastolik basınçta yükselme sistolik basınçtan daha önemli olabilmektedir. Sistolik basıncın 130 mm Hg'nin altında ve diyastolik basıncın ise 85 mm Hg'nin altında olması tavsiye edilmektedir.

Elli yaşından sonra hipertansiyon ateroskleroz için bir risk faktörü olarak hiperkolesterolemiden daha önemlidir.

Diyastolik basıncın 105 mm Hg'nin altına düşürülmesi beyin kan damarlarına ait hastalıkların, iskemik kalp hastalığının ve tıkanıklığa bağlı kalp yetmezliğinin görülme oranını azaltmaktadır (İliçin, 1996).

1.7.5. Şişmanlık

Vücut ağırlığı normalin % 20 üstü olan kişilerde iskemik kalp hastalığı riski artar. Şişmanlık aterosklerozu hızlandırır. Şişmanlık sıklıkla hipertrigliseridemi, hiperkolesterolemi, glikoz duyarlılığı ve hipertansiyonla birlikte etkisini göstermektedir (İliçin, 1996).

1.7.6. Fiziksel Aktivite

Yapılan birçok çalışmalarda durağan bir şekilde ve sürekli masa başı iş hayatı olanlarda ateroskleroz ve ani ölüm riskinin aktif yaşam tarzı olanlara göre yüksek olduğu vurgulanmıştır. Fiziksel aktivite HDL seviyesini yükseltmektedir. HDL ile ateroskleroz arasında ters bir orantı gözlenmektedir. Uygun şekilde düzenlenmiş egzersiz programları iskemik kalp hastalığına bağlı göğüs ağrılarını ve rahatsızlıkları azaltabilmektedir (Gordon, 1977).

1.7.7. Genetik Faktörler

Hipertansiyon, hiperkolesterolemi, hiperlipidemi ve diyabet gibi faktörler genetik olarak bulunabilmektedir. Dolayısı ile bu kalıtsal rahatsızlıkları olan kişilerde ateroskleroz görünme oranı yüksektir.

Ayrıca, Tiroit bezinin yetersiz çalışması, Karaciğer hastalıkları ve Böbreğin mikrobik olmayan iltihabi hastalıkları da kanda kolesterol seviyesine artırıcı yönde etki etmektedir (İliçin, 1996).

1.8. Aterosklerozun Gerilemesi

İnsan ve hayvanlarda yağlı çizgilerin (*fatty streak*) hiperkolesteroleminin kontrol altına alınması ile gerilediği gözlenmiştir. Lifli plak veya komplike lezyonlar ise kısmen geri dönüşümlü olabilir. Aterosklerozun tedavisinden çok, korunma tüm hastalar için temel hedef olmalıdır. Risk faktörlerinin erkenden belirlenmesi ve ortadan kaldırılması aterosklerozdan korunmada önemlidir. Sigara bırakılmalı, hipertansiyon ve diyabet tedavi edilmeli, diyet şekli bir düzene konmalı; doymuş yağ oranı yüksek gıdalardan uzak durulmalı, doymamış yağ oranı yüksek gıdalar tüketilmeli özellikle beyaz et ve balık türü hayvansal gıdalar tüketilmeli ve mümkün oldukça kolesterol oranı yüksek olan kırmızı et tüketilmemelidir. Sebze ve meyve bolca tüketilmelidir (Heper, 2000). Kolesterol oranını düşürdüğü belirlenmiş olan

fındık ve cevizden günlük olarak bir miktar tüketilmesinde de yarar vardır. Bu düzenlemeler ile aterosklerotik lezyonlar gerileyebilmektedir.

Kolesterol düşürücü ilaçların kullanımı ile hiperlipideminin farmakolojik tedavisi, özellikle plazma kolesterolü 240 mg/dl'den fazla olan veya diyet tedavisine cevap vermeyen hastalara uygulanmalıdır. Bu tedavinin hedefleri arasında toplam kolesterolü 200 mg/dL'nin altına indirmek HDL kolesterolü 35 mg/dL'nin üzerine çıkarmaktır. LDL kolesterol ilk aşamada 130 mg/dL altına indirilmeli, felç veya kalp krizi geçirilmiş ise 100 mg/dL'nin altına indirilmesi gerekli görülmektedir. (Heper, 2000) Ayrıca antitrombosit (pıhtı oluşumunu engelleyen) ilaçların kullanımı da istenmeyen damar içi pıhtı oluşumunun ve dolayısı ile ateroskleroz görülme oranının azalmasına, hastalığın ilerlemesi ile gelişen hasarların önlenmesine yardımcı olabilmektedir(İliçin, 1996).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Zhang ve ark. (2006), Deve çökerten bitkisinin antifungal aktivitelerini ve etki mekanizmalarını geniş bir şekilde araştırmışlardır. Bu bitkiden izole edilmiş ve tanımlanmış 8 adet steroid yapısındaki glikozidlerin; beş önemli durumdaki hastalık yapıcı insan mayasına karşı inaktif edici özelliğini ortaya koymuşlardır.

Ivanova ve ark. (2005), Aralarında Oğul otunun da bulunduğu 21 bitki türünün kaynamış su ile hazırlanmış bitkisel çayları içerisindeki toplam fenolik içeriklerini ve antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Oğul otunun antioksidan gücünü 21 bitki içerisinde ilk 5. sırada ve toplam fenolik içeriğini ise miktar olarak 2. sırada bulmuşlardır.

Phillips ve ark. (2005), Deve çökerten bitkisinin metanol ve su ile ekstraksiyonlarını elde etmişler. Farelerde yaptıkları çalışmalarda KCl ile artırılan kan basıncına karşı bu bitkinin su ve metanol ekstraktlarının doza bağlı oranlarda damar genişletici etkisi (*vasodilator*) ile kan basıncını düşürdüğünü gözlemlemişlerdir. Su ile elde edilen ekstraktın metanol ile elde edilen ekstrakta göre daha fazla oranda damar gevşetici etkisinin olduğunu gözlemlemişlerdir.

Gülçin ve ark. (2004), Karanfil tomurcuğunun *(Eugenia caryophylata)* ve Karabaş Otunun su ve etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini incelemişler. Farklı konsantrasyonlardaki Karanfil tomurcuğunun ve Karabaş otunun su ve etanol ile elde edilen ekstraktlarının lipit peroksidasyonunu anlamlı kabul edilen oranlarda inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Her iki bitkinin etanol ekstraktlarındaki toplam fenol içeriğini su ekstraktlarına göre daha yüksek oranda bulmuşlardır. Karanfil tomurcuğunun ve Karabaş otunun her ikisinin ekstraktlarının da güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduklarını belirlemişlerdir.

Gazola ve ark. (2004), Oğul otu ve diğer bitki türlerinin sulu ekstraktlarının kalp hızı ve kasılma gücü üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Yetişkin farelerden izole edilmiş kalplerle deneyler yapmışlar ve bu ekstraktların kasılma gücüne bir etkisinin olmadığını ancak uzun süreli kalp atım sayısını azalttığını gözlemlemişlerdir. Yapılarında taninler, flavonoidler ve alkaloidlerin olduğunu belirlemişler ve bu etkilerin bu bileşik türlerine ait olabileceği konusunda görüş bildirmişlerdir.

Sadraei ve ark. (2003), Farelerden izole edilen spazmlı bağırsak üzerine, ana bileşeni sitral olan Oğul otundan elde edilen uçucu yağın gevşetici ilaç etkisini incelemişlerdir. Çalışmalarında Oğul otunun temel yağı ve ana bileşeni sitralin ince bağırsak spazmlarını azalttığını gözlemlemişlerdir.

Ali ve ark. (2003), Deve çökerten bitkisinin yaprakları ve meyvelerinin birlikte bulunduğu şekilde sulu ekstraktını elde etmişlerdir. Suyu süzülerek uzaklaştırıldıktan sonra kurutuldu. Daha sonra serum fizyolojik ile istenen konsantrasyonlara getirildi. Hazırlanan ekstraktların Farelere ağız yolu ile verilmesi sonucunda kontrol grubuna karşı kıyaslandığında anlamlı oranlarda diüretik (idrar artırıcı) etkisinin olduğunu gözlemlemişlerdir.

Gören ve ark. (2002), Karabaş otu bitkisinden Clavenger cihazı kullanımı ile HD yöntemi elde ettikleri uçucu yağının bileşenlerini GC-MS ile analiz etmişlerdir. 42 bileşen kazanmışlar. Temel bileşenler olarak % 40,4 göreceli bolluk miktarı ile pulegone, % 18,1 göreceli bolluk miktarı ile menthol ve % 12,6 göreceli bolluk miktarı ile de menthone olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca bu uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Bu incelemeyi sekiz tane standart bakterilere karşı yapmışlar ve beş tanesi için antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu gözlemlemişlerdir.

Ayala ve ark.(2001), Güvey otunu *Ground oregano* HD ve SbKSE yöntemleri ile ekstrakte etmişlerdir. Elde edilen ekstraktların bileşenlerini ise GC-MS ile analiz etmişlerdir. Ortalama 3 saat uygulanan HD yöntemine göre 30 dakikada gerçekleştirilen SbKSE çok daha kısa sürede gerçekleştiğini daha fazla bileşenin daha ucuza elde edildiğini ortaya koymuşlardır.

Gilani ve ark. (2000), Karabaş otunun sulu metanolik ekstraktının spazm giderici ve kontrolsüz kasılmaları önleyici aktivitesini incelemişlerdir. Pentilen tetrazol'ün (PTZ)'nin deri altından verilen tek dozunun PTZ (90 mg/kg) farelerde öldürücü kasılmalara neden olduğunu belirlemişler. Yapılan deneylerde PTZ (90mg/kg) ile Karabaş otunun (400 mg/kg)olarak verilen dozunun ölüm yüzdesini etkilemediğini; ancak Karabaş otunun (600 mg/kg) olarak verilen dozunun ölüm oranını % 60 oranında azalttığını belirlemişlerdir. Ayrıca Karabaş otunun kullanımı ile

tavşandan izole edilen ince bağırsakta suni olarak oluşturulan kasılmaları azalttığını gözlemlemişlerdir.

Wu ve ark. (1999), Deve çökerten bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstraktların içeriğinden bilinen 10 tane bileşenin dışında terrestribisamide, 25*R* – spirost-4-en-3,12-dione ve tribulusterine isimli üç tane yeni bileşen izole etmişlerdir. Bu bileşenlerin tayinini spektral analiz ile yapmışlardır.

Carnat ve ark. (1997), Bitkisel çay olarak geniş bir kullanım alanına sahip olan Oğul otunun yapraklarından Hidrodestilasyon işlemi ile elde ettikleri uçucu yağın bileşenlerini GC-MS ile analiz etmişlerdir. Ana bileşenler olarak % 48,2 göreceli bolluk ile citral (% 20,4 neral + % 27,8 geranial) , % 40 göreceli bolluk miktarı ile citronellal ve % 2 göreceli bolluk miktarı ile de β-caryophyllene olduğunu belirlemişledir.

Xu ve ark. (1997), Deve çökerten bitkisinin içerikleri üzerine yapılan çalışmalarda (*5α, 25R*)- spirostan-3,6,12-trione ve 25*R*-spirostan-4-ene-3,6,12-trione isimli iki yeni steroidal sapogenin izole etmişlerdir. Ayrıca 5 tanede bilinen steroidal sapogenin izole etmişlerdir. Yeni sapogeninlerin yapılarını spektral teknik kullanarak belirlemişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasallar

Karabaş otu, oğul otu ve deve çökerten bitkileri (Kurutulmuş olarak attarlardan temin edilmiştir.)
n-C_6H_{12} (n-Hekzan),
CH_2Cl_2 (Dikloro Metan)
NaCl (Sodyum Klorür),
Na_2SO_4 (Sodyum Sülfat)

3.1.2. Cihazlar

Clavenger Cihazı
Jouan –LP3 France Liyofilizatör
DB5 kapiler kolonu (*0,25mm x 60m, film tabakası kalınlığı 0,25µm*)
Finnigan–Trace GC–MS
HPLC pompası
Giriş ve çıkışında 10 µm gözenekli filtre içeren 14 mL hacimli ekstraksiyon hücresi
Etüv

3.2. Metot

Bu çalışmada uçucu yağların miktar ve bileşenlerini belirlemek için üç farklı ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Bunlar; Clavenger cihazı kullanımı ile yapılan hidrodestilasyon işlemi (HD), Demleme sonrası liyofilizleme işlemi (Dem-LF) ve Subkritik su ekstraksiyonudur (SbKSE). Her çalışma 3 paralel olarak tekrarlanmıştır. Bu yöntemler aşağıda sırasıyla anlatılmaktadır.

3.2.1. Clavenger Cihazı ile Hidrodestilasyon

500 ml'lik cam balon içerisinde Her bir bitki ayrı olarak; Karabaş otu bitkisinin yaprak ve çiçeklerinden 20 gram, Oğul otunun yapraklarından 20 gramı ve Deve çökerten bitkisinin yaprak ve meyvelerinden 20 gram alındı. 250 mL saf su ile geri soğutucu altında HD işlemi ile uçucu yağlarının elde edilmesi için 2 saat kaynatma işlemi yapıldı. Her bitki için bu işlem 3 paralel olarak tekrarlandı. Uçucu yağının toplandığı kapiler borudaki ölçekten okuma yapıldıktan sonra ayırma hunisine aktarıldı. Ayırma hunisine ekstrakt ve 5 mL n-hekzan yerleştirildi emülsiyona yaklaşık 1g NaCl ilave edildi daha sonrada içerisinde kalan su yeterince Na_2SO_4 ilavesi ile tutuldu. Ekstraktlar darası alınan viallere aktarıldı. Sonrasında basınçlı azot gazı kullanımı ile uçucu yağ miktarları belirlenerek kütle/kütle olarak yüzde verimleri hesaplandı. Daha sonra elde edilen ekstraktlar uygun çözücüler ile GC-MS de analiz edilmişlerdir.

3.2.2. Kaynatılmış Suda Demleme ile Ekstraksiyon ve Sonrasında Liyofilizleme

Karabaş otu oğul otu ve deve çökerten bitkilerinden birer 2'şer gramları bir 100 mL kaynatılmış su içerisinde 10 dakika demlenmeye bırakıldı, daha sonra filtre kağıdı ile süzülerek elde edilen ekstraktlar 250 mL'lik rodajlı cam balonların içerisine ilave edilerek Liyofilizatöre kondu ve – 40 C°'de 0,08 mbar basınçta kurutuldu. Kurutulduktan sonra n-hekzan ile çözüldü. Basınçlı azot kullanımı ile çözücü uzaklaştırılarak uçucu yağ miktarı belirlendi.

3.2.3. Subkritik Su Ekstraksiyonu

Deiyonize sudaki çözünmüş oksijeni uzaklaştırma işlemi 15 dakika ultrasound banyoda yapıldı. Daha sonra HPLC pompası yardımı ile düzenek içerisine çekildi. Akış hızı 1 mL/dakika olacak şekilde ayarlandı. Ekstraktör programlanabilir bir etüv içerisinde ısıtıldı. 2m uzunluğundaki ön ısıtmalı helezon bölgesi istenen sıcaklığa getirildi ve gereken basınca ulaştıktan sonra süre başlatıldı.

14 mL ekstraksiyon hücresinin giriş ve çıkışında 10 μm gözenekli filtre eklendi. Etüvün dış kısmında 1m uzunluğunda soğutma bölümü bulunmakta idi. Ekstraksiyon hücresinin giriş ve çıkışında cam pamuk ilave edildi ayrıca çıkış bölümüne cam pamuğundan önce deniz kumu eklendi. Ayırma hunisine ekstrakt ve diklorometan yerleştirildi ve ayrılmayı kolaylaştırmak için emülsiyona yaklaşık 1g NaCl ilave edildi, daha sonrada içerisinde kalan su yeterince Na_2SO_4 ilavesi ile tutuldu.

SbKSE'ndan sonra sıvı–sıvı ekstraksiyon basamağı 5mL diklorometanın kullanımı ile gerçekleştirildi. GC-MS analizleri yapılmak üzere vial içerisine alınan örnek, basınçlı azot gazı altında çözücüsü uzaklaştırılarak bileşenlerin yüzde verimleri hesaplanmıştır.

SbKSE karabaş otu oğul otu ve deve çökerten bitkileri ekstraksiyon hücresinin içerisine aldığı miktarlarda tartılarak 100°C'de 60 bar basınca maruz bırakılması ile gerçekleştirildi. Ekstraksiyon 30 dakika süresince gerçekleştirildi. Ekstraksiyon tamamlandıktan sonra vana açıldı ve sıvının rengi saydam olana kadar bir ayırma hunisine toplandı. Ardından ekstrakt içindeki uçucu yağlar 3 defa diklorometan kullanılarak ayrıldı. Basınçlı azot kullanımı ile çözücü uzaklaştırılarak uçucu yağ miktarı belirlendi.

3.2.4. GC–MS Analizi

GC–MS analizleri Finnigan–Trace GC–MS'in kullanımı ile gerçekleştirildi. Kromatografik ayırmalar DB5 kapiler kolonu (*0,25mm x 60m, 0,25μm film tabakası kalınlığı*) içerisinde gerçekleştirildi. Analizlerde taşıyıcı gaz olarak 1mL/dakika akış hızındaki helyum kullanıldı. Kolon sıcaklığı 3°C/dakika artışla 70°C'den 160°C ye çıkacak, 10 dakika bu sıcaklıkta bekledikten sonra tekrar 3°C/dakika artarak 240°C'ye çıkacak şekilde programlanarak gerçekleştirildi. Örnek hacmi 2mL, enjeksiyon hacmi 1μL ve iyonlaşma voltajı 70eV idi. Kütle Aralığı 41– 400 akb idi. Kantitatif tayinler pik alanları hesaplaması ile gerçekleştirildi. Ayrılmış bileşenler Uluslararası Standartlar ve Teknoloji Endüstrisi'nin kütle spektral kütüphanesindeki veriler ile kıyaslama metodu ile tanımlandı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

Karabaş otu, Oğul otu ve Deve çökerten bitkilerinden HD, Dem-LF ve SbKSE işlemleri ile elde edilen uçucu yağların verimleri Çizelge 4.1, Çizelge 4.2. ve Çizelge 4.3.'de verilmiştir. Verimler; hacim/kütle (v/w) ve kütle/kütle (w/w) olarak gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Bitkilerin HD ile elde edilen ekstraktların yüzde verimleri

Bitkiler	% verim (v/w),(w/w)
Karabaş otu	1,41 – 1,38
Oğul otu	0,43 – 0,40
Deve çökerten	0

Çizelge 4.2. Bitkilerin Dem-LF elde edilen ekstraktlarının yüzde verimleri

Bitkiler	%verim, (w/w)
Karabaş otu	0,37
Oğul otu	0,07
Deve çökerten	0,02

Çizelge 4.3. Bitkilerin SbKSE ile elde edilen ekstraktların yüzde verimleri

Bitkiler	% verim, (w/w)
Karabaş otu	1,49
Oğul otu	0,52
Deve çökerten	0,12

GC-MS (Gaz kromatografisi ve kütle spektrofotometresi) sonuçları

(Tüm sonuçlarda % 0,1'in altındaki değerlerdeki bileşenler gösterilmemiştir. Ayrıca her çizelgede üç ana bileşen koyu şekilde belirtilmiştir.)

Çizelge 4.4. Karabaş otunun yaprak ve çiçeklerinden HD ile elde edilen uçucu yağının bileşenleri

RT (dakika) Alıkonma zamanı	Bileşenler	% dağılım
15,88	sabinene	0,50
17,88	1,3,8-p- menthatriene	0,13
18,08	limonene	0,36
18,25	eucalyptol	0,11
19,91	*cis*-β-terpineol	0,10
21,01	**fenchone**	**30,48**
22,22	D-fenchly alcohol	0,24
22,72	campholene aldehyde	0,33
23,82	**camphor**	**62,74**
25,85	*p*- cymene -8-ol	0,14
26,20	myrtenol	0,42
26,84	verbenone	0,62
27,09	fenchyl acetate	0,26
28,40	3-carene	0,40
30,16	**bornyl acetate**	**1,51**
47,30	*trans*-caryophyllene	0,11
51,36	α-cadinol	1,23

Çizelge 4.5. Oğul otunun yapraklarından HD ile elde edilen uçucu yağının bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
15,63	sabinene	1,84
18,08	**limonene**	**22,45**
18,24	**eucalyptol**	**13,95**
19,90	linalool	1,43
20,98	fenchone	3,36
23,76	camphor	5,86
25,83	α-terpineole	2,13
26,27	n-octyl acetate	5,65
27,99	Z-citral	4,35
29,34	E-citral	4,91
34,43	copaene	0,67
34,95	β-bourbonene	0,62
36,77	caryophyllene	1,02
39,12	9,12-octadienoik acid	0,54
39,87	cedren	6,12
42,52	α-cedrol	0,72
45,13	farnesol	3,97
46,87	spathulenol	8,47
47,26	**caryophyllene oxide**	**10,78**
50,50	azulene	1,14

Çizelge 4.6. Karabaş otunun yaprak ve çiçeklerinden Dem-LF sonrası n-hekzan ile çözülerek elde edilen süzüntüsünün bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
18,18	limonene	0,40
20,16	linalool oxide	0,80
21,05	**fenchone**	**15,16**
21,98	Citral	0,78
22,85	1-formylmorpholine	1,97
23,84	**camphor**	**58,31**
24,84	borneol	1,46
25,56	hotrienol	1,70
26,26	myrtenol	0,19
26,88	verbenone	2,07
27,20	*Trans*-carveol	0,30
29,73	eicosanol	0,98
30,96	limonene dioxide	0,69
31,28	cyclohexasiloxane	1,25
32,26	3,7 dimethyl 1,7 octadiene 3,6 diol	1,31
32,77	geranyl acetate	1,55
34,32	**methoprene**	**5,12**
34,96	Trans sobrerol	0,12
35,72	lilac aldehyde	1,11
39,50	inosine 1 methyl	0,14
39,94	3 cyclohexene – 1 methanol 5 hydroxy	0,24
49,40	Apiol	1,75
50,94	lucenine	0,42
51,38	α-cadinol	0,45
53,04	didodecyl ftalate	0,22

Çizelge 4.7. Oğul otunun yapraklarından Dem-LF sonrası n-hekzan ile çözülerek elde edilen süzüntüsünün bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
16,81	**borinic acid-diethyl**	**50,96**
22,92	**n-formylmorpholine**	**36,01**
25,75	inosine 1 methyl	1,81
28,44	cedranoxide	4,51
49,42	gigantine	4,05
50,93	lucenine	2,41

Çizelge 4.8. Deve çökerten bitkisinin yaprak ve meyvesinden Dem-LF sonrası n-hekzan ile çözülerek elde edilen süzüntüsünün bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
15,59	**inosine**	**21,61**
22,94	**n-formylmorpholine**	**78,38**

Çizelge 4.9 Karabaş otunun yaprak ve çiçeklerinden SbKSE sonrası diklorometan ile alınan ekstraktının bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
7,98	Furanone	0,75
9,81	**Fenchone**	**17,66**
12,19	**Camphor**	**34,09**
12,77	Borneol	0,89
13,09	**Linalool oxide**	**5,71**
13,55	p-cymene-8-ol	0,65
14,12	cis-3-hexenyl phenylacetate	2,10
14,66	Verbenone	5,39
14,95	Carveol 1	0,75
15,36	neral	0,20
15,90	Carvone	0,47
19,26	α-campholenic acid	1,65
19,82	Vinylcyclohexane	1,57
20,75	Eugenic acid	1,12
22,45	6-methyl-5-hepten-2-one	2,45
23,48	α-campholenic aldehyde	4,02
26,37	Limonene oxide	0,83
29,89	Pyrocatechol, 3-methoxy	0,67
31,64	α-naginatene	0,27
32,13	Vanillylacetone	0,18
33,22	n-ethylisatin	2,07
33,66	isopulegol	0,63
34,86	Pyrrolidinocyclohexene	0,85
35,92	Aminosalicylic acid	0,89
36,74	carbamazepine	0,60
40,02	*β*-ionone	1,60
40,65	Cis-α-bisabolene epoxide	0,94
45,29	Tadeonal	0,52
46,01	Benzofuran	1,25
48,16	α-cedrene oxide	2,02
49,35	2-Isopropylidene-3-methylhexa-3,5-dienal	0,90
51,42	Thiophene, 3-(2-phenylcyclopropyl)	1,55
54,52	4-isopropenyl-7-methyl-1-aspiro[2,5]octane	0,99
55,67	Caryophyllenol	0,70
57,33	Aromadendrene	1,14

Çizelge 4.10. Oğul otunun yapraklarının SbKSE sonrası diklorometan ile alınan ekstraktının bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
7,65	1,8-cineole	6,15
9,06	cresol	0,87
9,62	fenchone	0,58
11,77	Camphor	1,38
13,07	Terpinene-4-ol	0,94
13,64	α-terpineol	4,40
14,81	Trans carveol	3,15
15,84	carvone	2,52
17,00	citral	1,48
20,63	**limonene**	**12,38**
20,91	2-Propenylthiobenzene	4,72
21,29	1,2,3-trimethyl-5-pyrazolone	2,61
22,29	isogeraniol	2,52
22,73	**p-Xylene, 2,6-dimethoxy**	**6,56**
23,72	2-Hepten-4-one, 2-methyl-	5,45
24,21	3-Hexene, 3-methyl	1,57
26,13	hydroxy citronellal	3,44
29,40	spathulenol	1,84
30,09	Diethyl phthalate	0,53
31,58	Verbenol	0,58
31,93	Nerolidol	0,29
32,08	pulegone	0,46
32,71	Linalool oxide	1,09
33,78	Isospathulenol	2,47
34,95	2,5,6-trimethyl, 1,3,6-heptatriene	1,67
35,94	Isoaromadendrene epoxide	4,45
37,44	**Loliolide**	**8,32**
39,95	1-naphthalenamine, 4-bromo	3,42
40,79	Cumene, trimethyl	3,71
41,41	Caryophyllene oxide	2,06
45,12	Viridiflorol	0,51
45,86	Capnellane-8-one	1,96
51,36	Cis-limonene oxide	0,58

Çizelge 4.11. Deve çökerten bitkisinin yaprak ve meyvelerinin SbKSE sonrası diklorometan ile alınan ekstraktının bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
11,74	Camphor	2,90
15,32	Ethylmethylmaleimide	3,84
15,80	Carvone	3,11
16,96	Nonanoic acid	0,19
18,24	Carvacrol	2,40
18,70	p-Vinylguaiacol	1,68
20,56	p-Eugenol	2,99
22,19	VANILLINE	4,41
22,56	Methyleugenol	1,55
25,50	Veratral	0,38
25,72	Acetovanillone	0,85
27,42	**2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl**	**12,94**
29,24	6-azathymine	7,81
29,71	Acetovanillone	0,57
31,39	Elemicine	0,53
31,56	4-fluoro-1,2-xylene	1,98
31,67	Acetophenone	0,31
31,84	3-Oxo-α-ionol	1,08
31,96	verbanone	0,98
32,40	Syringaldehyde	1,64
32,54	carvacrol	2,58
32,77	4-Oxo-α-ionone	0,73
33,43	β-Ionone epoxide	2,93
33,58	Hidroxy-β-ionone	3,25
35,41	**Coniferol**	**7,88**
36,89	**Loliolide**	**23,82**
38,01	Phenol, 4-methoxy-, acetate	3,22
38,65	Indole-3-aldehyde	1,60
47,66	Scopoletin	0,51

Üç farklı bitkinin (karabaş otu oğul otu ve deve çökerten) üç farklı yöntemle (Hidrodestilasyon, Demleme sonrası Liyofilizleme, Subkritik su ekstraksiyonu) ekstraktları elde edilmiştir. Üç farklı bitkinin, HD ile elde edilen uçucu yağlarının ortalama olarak yüzde verimleri, Çizelge 4.1'de, Dem-LF elde edilen uçucu yağların ortalama olarak yüzde verimleri Çizelge 4.2'de ve SbKSE ile elde edilen uçucu yağların ortalama olarak yüzde verimleri Çizelge 4.3'de verilmiştir. En fazla uçucu yağın tüm yöntemlerde de Oğul otundan elde edildiği görülmektedir. deve çökerten bitkisinden ise HD yöntemi ile uçucu yağ elde edilemedi. Deve çökerten bitkisi üç farklı attardan temin edilmiştir.

Her bitkinin tüm yöntemler için Elde edilen uçucu yağlarının GC kromatogramları **Ek1** de verilmiştir.

GC-MS analiz sonuçlarına göre; HD ile elde Karabaş otu bitkisinin yaprak ve çiçeklerinden elde edilen uçucu yağ ekstraktında 17 bileşen geri kazanılmıştır (Çizelge 4.4.). GC-MS analizleri, HD ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşen olarak % 62,74 göreceli bolluk miktarı ile **camphor** olduğunu göstermiştir. Camphor dışında göreceli miktarları yüksek olan bileşenler; *fenchone* (% 30,48), *bornyl acetate* (% 1,51), ve *α-cadinol* (% 1,23) olarak bulunmuştur.

Oğul otunun yapraklarından HD ile elde edilen uçucu yağ ekstraktında 20 bileşen geri kazanılmıştır (Çizelge 4.5.). GC-MS analizleri, HD ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşen olarak % 22,45 göreceli bolluk miktarı ile **limonene** olduğunu göstermiştir. limonene dışında göreceli miktarları yüksek olan bileşenler; *eucalyptol* (% 13,95), *caryophyllene oxide* (% 10,78), ve *spathulenol* (% 8,47) olarak bulunmuştur.

Karabaş otunun çiçeklerinden Dem-LF sonrası elde edilen ekstraktında 25 bileşen geri kazanılmıştır(Çizelge 4.6.). GC-MS analizleri, Dem-LF ile elde edilen uçucu yağda temel bileşen olarak % 58,31 göreceli bolluk miktarları ile **camphor** olduğunu göstermiştir. Camphor dışında göreceli miktarları yüksek olan bileşenler; *fenchone* (% 15,16), *methoprene*(% 5,12), ve *verbenone*(% 2,07) olarak bulunmuştur.

Oğul otunun yapraklarından Dem-LF sonrası elde edilen ekstraktında 6 bileşen geri kazanılmıştır(Çizelge 4.7.). GC-MS analizleri, Dem-LF ile elde edilen uçucu yağda temel bileşen olarak % 50,96 göreceli bolluk miktarları ile **borinic acid-diethyl** olduğunu göstermiştir. Borinic acid-diethyl dışında göreceli miktarları yüksek olan bileşenler; *n-formylmorpholine* (% 36,01), *cedranoxide* (% 4,51), ve *gigantine* (% 4,05) olarak bulunmuştur.

Deve çökerten bitkisinin yapraklarının ve meyvelerinin birlikte olduğu şekilde Dem-LF sonrası elde edilen ekstraktında 2 bileşen geri kazanılmıştır(Çizelge 4.8.). GC-MS analizleri, Dem-LF ile elde edilen uçucu yağda *n-formylmorpholine* (% 78,38) ve *inosine* (% 21,61) olduğunu göstermiştir.

SbKSE ile Karabaş otunun yaprak ve çiçeklerinden birlikte olarak elde edilen uçucu yağ ekstraktında 35 bileşen geri kazanılmıştır (Çizelge 4.9.). GC-MS analizleri,

SbKSE ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşen olarak % 34,09 göreceli bolluk miktarı ile **camphor** olduğunu göstermiştir. Camphor dışında göreceli miktarları yüksek olan bileşenler; *fenchone* (% 17,66), *linalool oxide* (% 5,71), ve *verbenonel* (% 5,39) olarak bulunmuştur.

Oğul otunun yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağ ekstraktında 33 bileşen geri kazanılmıştır (Çizelge 4.10.). GC-MS analizleri, SbKSE ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşen olarak % 12,38 göreceli bolluk miktarı ile **limonene** olduğunu göstermiştir. limonene dışında göreceli miktarları yüksek olan bileşenler; *loliolide* (% 8,32), *1-8 cineole* (% 6,15), ve *p-Xylene, 2,6-dimethoxy* (% 6,56) olarak bulunmuştur.

Deve çökerten bitkisinin yapraklarından ve meyvelerinden birlikte olarak SbKSE ile elde edilen uçucu yağ ekstraktında 29 bileşen geri kazanılmıştır (Çizelge 4.11.). GC-MS analizleri, SbKSE ile hazırlanan uçucu yağda temel bileşen olarak % 19,38 göreceli bolluk miktarı ile **Loliolide** olduğunu göstermiştir. Loliolide dışında göreceli miktarları yüksek olan bileşenler*; 2(4H)-benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl* (% 12,94), *coniferol* (% 7,88), ve *6-azathymine* (% 7,81) olarak bulunmuştur.

4.2. Tartışma

Bu çalışmada, karabaş otu, oğul otu ve deve çökerten bitkilerinin ateroskleroz ve kalp rahatsızlıklarına karşı bir etkisinin olup olmadığının araştırmak amacı ile bu bitkilerin uçucu yağlarının bileşenleri GC-MS ile belirlendi.

Yaptıkları çalışmada farklı antioksidan testlerle karanfil ve karabaş otunun antioksidan özelliklerini değerlendirmişler ve güçlü antioksidan özelliklerinin bulunduğunu ve ayrıca lipit peroksidasyonunu engellediğini rapor etmişlerdir (Ivanova ve ark. 2005). Bu sonuçlar LDL'lerde oluşacak muhtemel peroksidasyonları da engelliyerek ateroskleroz oluşumunu azaltabileceği buna bağlı rahatsızlıklara karşı koruyucu etki gösterebileceğini desteklemektedir.

SbKSE ve HD işlemleri ile güvey otunun uçucu yağını elde etmişler ve bileşenlerini GC-MS ile analiz etmişlerdir. Optimum koşulları incelemişlerdir. Elde

ettikleri sonuçlarla yöntemleri kıyasladıkları zaman HD işlemine göre SbKSE yöntemi ile daha kısa sürede daha fazla uçucu yağ bileşenini geri kazandıklarını rapor etmişlerdir (Ayala ve ark. 2001).

Karabaş otunun metanolik ekstraktlarının farklı dozları ile yaptıkları fareler üzerindeki deneysel çalışmalarda spazm giderici "kas gevşetici" ve kontolsüz kasılmaları engelleyici etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir(Gilani ve ark. 2000). Bizim çalışmamızdaki Karabaş otunun SbKSE ile hazırlanan ekstraktının GC-MS analiz sonuçlarına göre; 36,74 dakika alıkonma zamanı ve % 0,60 göreceli bolluk ile geri kazanılan carbamazepine isimli bileşenin bu çırpınmaları "kontrolsüz kasılmalar" gidermede etkin olabileceğini düşünmekteyiz.

Karabaş otu bitkisinin yapraklarından Clavenger cihazı kullanımı ile hidrodestilasyon işleminden elde ettikleri uçucu yağın bileşenlerini GC-MS ile analiz etmişler; % 40,4 göreceli bolluk ile *pulegone,* % 18,1 göreceli bolluk ile *menthol* ve % 12,6 göreceli bolluk ile *menthone* ana bileşenler olmak üzere toplam 42 bileşen geri kazanmışlardır (A.C.Gören, 2002). Bizim çalışmamızda ise aynı yöntemle karabaş otunun bitkisinin yaprak ve çiçeklerinin bir arada olduğu şekilde elde edilen uçucu yağının GC-MS analiz sonuçlarına göre % 62,74 göreceli bolluk ile *camphor,* % 30,48 göreceli bolluk ile *fenchone* ve % 1,51 göreceli bolluk ile *bornyl acetate* ana bileşenler olmak üzere toplam 17 bileşen geri kazanılmıştır.

İran'da yetiştirilen Oğul otunun yapraklarından 4 saatlik HD işlemi ile elde ettikleri uçucu yağın bileşenlerini GC-MS ile analiz etmişlerdir. Analiz sonuçlarına göre monoterpenlerce zengin; % 35,3 göreceli bolluk ile *geranial,* % 24,5 göreceli bolluk ile *neral* ve % 12,9 göreceli bolluk ile *citronellal* ana bileşenler olmak üzere toplam 17 bileşen geri kazanmışlardır (Sadraei ve ark. 2003). Bizim çalışmamızda ise oğul otunun yapraklarından HD işlemi ile elde edilen uçucu yağın bileşenlerinin GC-MS analiz sonuçlarında ise % 22,45 göreceli bolluk ile *limonene,* % 13,95 göreceli bolluk ile *eucalyptol* ve % 10,78 göreceli bolluk ile *caryophyllene oxide* ana bileşenler olmak üzere toplam 20 bileşen geri kazanılmıştır.

Oğul otunun yapraklarından hidrodestilasyon işlemi ile elde ettikleri uçucu yağın bileşenlerini GC-MS ile analiz etmişler; % 39,47 göreceli bolluk ile *citronellal* % 20,40 göreceli bolluk ile *neral* ve % 27,84 göreceli bolluk ile *geranial* ana bileşenler

olmak üzere toplam 14 bileşen geri kazanmışlardır (Carnat ve ark. 1997). Bizim çalışmamızda ise aynı yöntemle Oğul otunun yapraklarından HD işlemi ile elde edilen uçucu yağın GC-MS analiz sonuçlarına göre; % 22,45 göreceli bolluk ile *limonene*, % 13,95 göreceli bolluk ile *eucalyptol* ve % 10,78 göreceli bolluk ile *caryophyllene oxide* ana bileşenler olarak farklılık göstermekte olup toplam 20 bileşen geri kazanılmıştır.

Oğul otu ile yaptıkları çalışmada hidrodestilasyon işlemi ile elde ettikleri uçucu yağın GC-MS sonuçlarına göre ana bileşenin % 48,24 göreceli bolluk ile *citral (neral+geranial)* olduğunu rapor etmişlerdir (Carnat ve ark.1997). Diğer bir çalışmada ise yine aynı yöntemle oğul otundan elde ettikleri uçucu yağın ana bileşeninin % 59,8 göreceli bolluk miktarı ile *citral (neral+geranial)* olduğunu rapor etmişlerdir (Sadraei ve ark 2003). Bizim çalışmamızda ise citral (Z citral+ E citral) toplamda % 9,16 göreceli bolluk miktarı ile geri kazanılmıştır. Bizim çalışmamızdaki ana bileşen olan *caryophyllene oxide* ise % 10,78 göreceli bolluk ile geri kazanılmıştır. Bizim çalışmamızdaki *caryophyllene oxide* ise Sadraei ve ark. Çalışmalarındaki sonuçlarda % 2,7 ve Carnat ve ark. 1997 deki çalışmalarında ise % 0,67 göreceli bolluk miktarı ile geri kazanıldığı rapor edilmiştir.

Yaptıkları çalışmada oğul otundan elde ettikleri ana bileşeni % 59,8 göreceli bolluk ile citral olan uçucu yağ ile farelerden aldıkları ince bağırsak üzerinde yaptıkları deneyde; oluşturulan kasılmaları önemli oranda inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. (H.Sadraei ve ark 2003). Bu çalışmanın sonuçları bize bu bitkilerin kontrolsüz kasılmaları inhibe edebileceğini düşündürmektedir.

Deve çökerten bitkisinin sulu ve metanolik ekstraktları ile laboratuar koşullarında uyutulan hipertansif fareler üzerinde yaptıkları deneylerde hipertansiyona karşı damar genişletici olarak görev yaparak anlamlı oranlarda tansiyon düşürücü etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir (Philips ve ark. 2005). Bu sonuçlar bize tansiyon düşürücü etkisinden dolayı kalp ve damar hastalıklarında deve çökerten bitkisinin kullanılmasına bilimsel kanıt olarak gösterilebilir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bizim çalışmamızda kullanılan metotların kıyaslamalarında SbKSE işlemlerinde uçucu yağ içeriği açısından daha fazla bileşen daha kısa sürede geri kazanılmıştır. SbKSE işlemi ile elde edilen uçucu yağların GC-MS analiz sonuçlarının kıyaslamalarında oksijenli monoterpenlerin daha fazla geri kazanıldığı görülmektedir. Bu sonuçlar bize SbKSE işleminin oksijenli terpenlerin geri kazanılmasında daha uygun olduğunu ortaya koymaktadır. SbKSE yöntemi hidrodestilasyon yöntemi gibi geleneksel yöntemlere göre daha kısa sürede daha etkin bir şekilde (bileşenler açısından) gerçekleştirilebilmektedir.

Karabaş otunun uçucu yağının eldesinde uygulanan yöntemlerin kıyaslamasına göre; HD işleminde 17 bileşen ve en fazla % 62,74 göreceli bolluk miktarı ile **camphor,** Dem-LF işleminde 25 bileşen ve en fazla % 58,31 göreceli bolluk miktarı ile **camphor** üçüncü yöntem olarak ta SbKSE ile 35 bileşen ve % 34,09 göreceli bolluk miktarı ile **camphor** elde edilmiştir.

Oğul otunun uçucu yağının eldesinde uygulanan yöntemlerin kıyaslamasına göre; HD işleminde 20 bileşen ve en fazla % 22,45 göreceli bolluk miktarı ile **limonene,** Dem-LF işleminde 6 bileşen ve en fazla % 50,96 göreceli bolluk miktarı ile **borinic acid-diethyl** üçüncü yöntem olarak ta SbKSE ile 33 bileşen ve % 12,38 göreceli bolluk miktarı ile **limonene** elde edilmiştir. Literatürde ***limonene*** tümör gelişimini engelleyerek cilt kanseri riskini önemli ölçüde azaltabilen bir bileşen olarak verilmektedir (Realage.com).

Deve çökerten bitkisinin uçucu yağının eldesinde uygulanan yöntemlerin kıyaslamasına göre; HD işleminde uçucu yağ elde edilemedi. Dem-LF işleminde iki bileşen ve fazla olarak % 58,31 göreceli bolluk miktarı ile **n-formylmorpholine** üçüncü yöntem olarak ta SbKSE ile 29 bileşen ve % 19,38 göreceli bolluk miktarı ile **Loliolide** elde edilmiştir.

Bu çalışmada araştırılan bitkilerdeki bileşenler içerisinde Çeşitli farmakolojik etkilerinin olduğu bilinen bileşenlerde tespit edilmiştir. GC-MS analizlerine göre;

Karabaş otunun HD işlemi ile elde edilen ekstraktında % 0,62 göreceli bolluk miktarı ile ***verbenone***; antitrombosit "pıhtı önleyici" ve % 0,11 göreceli bolluk miktarı ile bulunan ***caryophyllene***; anti-inflamatuar "iltihap giderici" özellik göstermektedir. Karabaş otu Dem-LF sonrası elde edilen ekstraktında % 0,12 göreceli bolluk miktarı ile bulunan ***sobrerol***; expectorant "balgam söktürücü" özellik göstermektedir. Karabaş otunun SbKSE sonrası elde edilen ekstraktında % 0,60 göreceli bolluk miktarı ile bulunan ***carbamazepine***; anticonvulsant (epileptik tedavilerde kullanılır.) "kontrolsüz kasılmaları giderici" ve % 0,52 göreceli bolluk miktarı ile bulunan ***tadeonal***; anti fungal "mantar giderici" özellik göstermektedir. Son olarakta deve çökerten bitkisinin SbKSE sonrası elde edilen ekstraktında % 0,41 göreceli bolluk miktarı ile bulunan ***vanillin***; anticonvulsant "kontrolsüz kasılmaları giderici" özellik göstermektedir.(http://www.ncbi.nlm.nih.gov).

Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan; karabaş otu, oğul otu ve deve çökerten bitkilerinin uçucu yağ bileşenlerinde esas olarak aterosklerozu önleyici olarak Karabaş otunun HD işlemi ile elde edilen ***verbenone'***a, SbKSE ile elde edilen ekstraktında bulunan ***carbamazepine*** ve deve çökerten bitkisinin SbKSE sonrası elde edilen ekstraktında bulunan ***vanillin***'e rastlanmıştır.

5.2. Öneriler

1. Demleme işlemi kaynatılmış su içerisinde 10 dakika olarak gerçekleştirildi. Bu işlem için harcanan süre ve eklenen bitki miktarları da değiştirilerek verim miktarları ve bileşenlerin miktarları arasında farklılık olup olmadığı incelenebilir.

2. Kullanılan metotlar içerisinde subkritik su ekstraksiyonu işlemi 60 bar ve 100°C de gerçekleştirilmiştir. Farklı sıcaklık ve basınçlarda da incelemeler yapılabilir.

3. Ayrıca bu çalışmada araştırılan bitkilerin uçucu yağları farklı yöntemlerle de (tüketme yöntemi ve soxhlet aparatı kullanımı gibi) elde edilerek analizler yapılabilir.

4. Çalışılan bitkilerin su fazı bileşenlerine de HPLC ile bakılabilir.

KAYNAKLAR

ALI, A.M., WAHBI, S., TWAIJ, H., 2003, Tribulus terrestris: preliminary study of its diuretic and contractile effects and comparison with Zea mays. Journal of Ethnopharmacology (85), 257-260.

ARTHUR, C., GUYTON, M.D., 1986, Tıbbi Fizyoloji, Merk Yayıncılık, 1189–1191

ASSMANN, G., 1990, Dabetic Dyslipidaemia Results From the Prospective Cardiovascular Münster Procam Study. Clinician Vol. (8) 3–11.

AYALA, R.S., CASTRO, M.D., 2001, Continous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible essential oils, Food chemistry (75) 109-113.

BAYKAL, Y., TÜZÜN, A. ve KOCABALKAN, F., 1998, Aterosklerozun Patogenezi, T Klin. Tıp Bilimleri (18), 360–368.

BAYTOP, T., 1997, Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, Türk Dil Kurumu. 88, 153, 217.

CARNAT, A.P., CARNAT, A., FRAISE, D., 1997, The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa offcinalis* L.subsp. *officinalis*) tea, Pharmaceutica Acta Helvetine 72. 301-305.

CEYLAN, A., 1987, Tıbbi Bitkiler II, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:481, s 1-22.

DAUGHERTY, A., DUNN, J.L., RATERI, D.L., 1994, Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. J Clin Invest (94) 437–444.

EISERICH, J.P., VLIET, A., HANDELMAN, G.J., HALLIWELL, B. and CROSS, C.E., 1995, Dietary antioxidants and cigarette smoke induced biomolecular damage: a complex interaction. Am J Clin Nutr, (62), 1490–1500.

FARMER, JA., GOTTO, AM., 1992, Risk Factors for Coronary artery diseases. (BRAUNWALD, E., Editör) WB Saunders Company, Philadelphia, 1125–1160.

FUSTER, F., BADIMON, J.J. and CHESEBRO, J.H., 1992. The pathogenesis of coronary artery disease and acute coronary syndromes. New England Journal Medicine , 326: 242–310.

GAZOLA, R., MACHADO, D. and RUGGIERO,C., 2004, Lippia alba, Melissa officinalis and Cymbopogon citratus: effects of the aqueous extracts on the isolated hearts of rats, Pharmacological Research, (50) 477–480.

GILANI, A.H., AZIZ, N. and KHAN, M.A., 2000, Ethnopharmacological evaluation of the anticonvulsant, sedative and antispasmodic activities of Lavandula stoechas L, Journal of Ethnopharmacology, (71) 161–167.

GORDON, T., CASTELLI, WP., 1977. High Density Lipoprotein as a Protective factor against heart disease. The Framingham Study, Am J Med, 707.

GÖREN, C.A., TOPÇU, G., 2002, The Chemical Constituents and Biological Activity of Essential Oils of *Lavandula stoechas* ssp. Stoechas. Z.Naturfor sch 57c, 797-800.

GÜLÇİN, İ., ŞAT, İ.G., BEYDEMİR, ve Ş., ELMASTAŞ, M., 2004, Comparison of antioxidant activity of clove (Eugenia caryophylata Thunb) buds and lavender (Lavandula stoechas L.), Food Chemistry, (87) 393–400.

HEPER, C., HEPER, Y., MOĞOL, E., 2000, Kardiyoloji, Melisa Matbaacılık, Alfa Basın Yayım, 183–249.

IVANOVA, D., GEROVA, D., CHERVENKOV, T. and YANKOVA, T. 2005, Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants, Journal of Ethnopharmacology (96) 145–150.

İLİÇİN, G., ÜNAL, S. ve BİBEROĞLU, K., 1996, Kardiyovasküler Hastalıklar, Güneş Kitabevi, 304–312

MENTEŞ, G., ERSÖZ B., 1993 Harper'in Biyokimyası. Barış Kitabevi, 292–325.

MITCHINSON, M.J., 1994, The new face of atherosclerosis, Br J Clin Pract (48) 149–151.

ONAT, T., EMERK, K., 1997. Temel Biyokimya. Saray Medikal Yayıncılık, 457–472.

ONAT, T., EMERK, K., ve SÖZMEN, Y., 2002, İnsan Biyokimyası. Palme Yayıncılık, 318–342.

PHILLIPS, O.A., MATHEW K T., and ORIOWO M A., 2005, Antihypertensive and vasodilator effects of methanolic and aqueous extracts of Tribulus terrestris in rats, Journal of Ethnopharmacology 5

ROSS, R. 1986. The Pathogenesis of Atherosclerosis, N Eng J Med, 314–488.

SADRAEI, H., GHANNADI, A., and MALEKSHAHI, K., 2003, Relaxant effect of essential oil of Melissa officinalis and citral on rat ileum contractions, Fitoterapia (74) 445–452.

SCHEFFLER, E., WIEST, E., WOEHRLE, J., 1992 ,Smoking influences the atherogenic potential of low density lipoprotein, Clin Invest, (70) 263–268.

WU, T.S., SHI, L.S., 1999, Alkaloids and other constituents from Tribulus terrestris, Phytochemistry 50. 1411-1415.

XU, Y.X., CHEN, H.S., 1997, Two sapogenins from tribulus terrestris, Phytochemistry, vol 49, No 1. 199-201.

ZHANG, J–D., XU, Z., and CAO, Y–B., 2006, Antifungal activities and action mechanisms of compounds from Tribulus terrestris L., Journal of Ethnopharmacology, (103), 76–84.

www.biyolojiegitim.yyu.edu.tr/sifabit/karabasotu/images/

www.creapharma.ch/melisse.htm

www.colostate.edu/Depts/CoopExt/Adams/weed/puncturevine.htm

www.fungoceva.it/erbe_ceb/melissa.htm

www.peprotech.com/uploadedimages/Untitled-1%20copy(5).jpg

www.ppws.vt.edu/scott/weed_id/trbte.htm

www.saintlukeshealthsystem.org/slhs/com/mahi/mm/images/illus_atherosclerosis.jpg

www.sci.sdsu.edu/class/bio590/pictures/lect5/artery–vein.jpeg

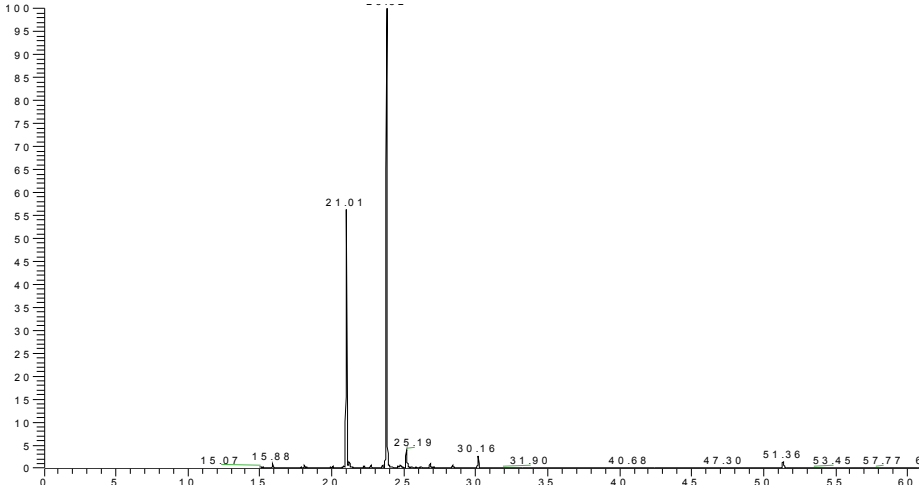
www.surrey.ac.uk/SBMS/MicrobialSciences/research/immunology.html

www.webnaturel.com

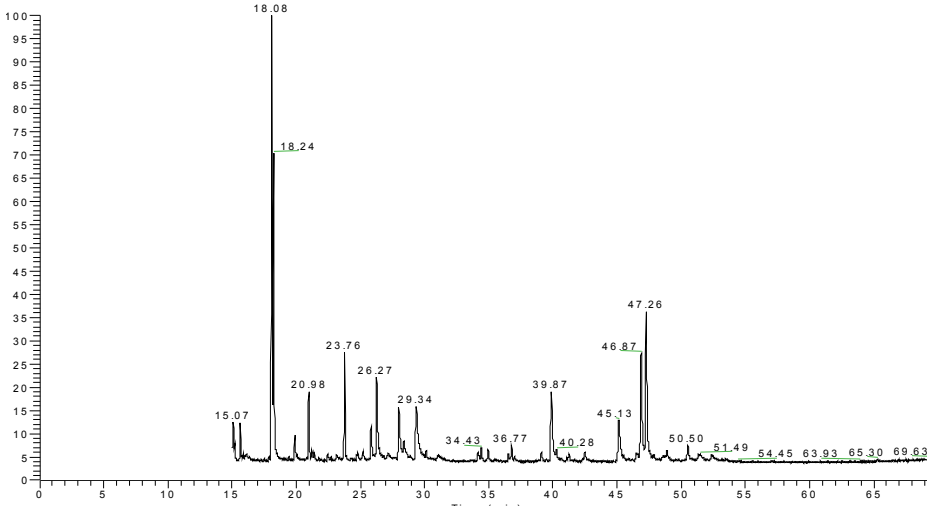
ÖZGEÇMİŞ

1975'de Adana'da doğdum. İlköğretim ve lise eğitimimi Adana'da tamamladım. 1994 yılında Çukurova Üniversitesi Fen–Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde Lisans eğitimime başladım. 1999 yılında mezun oldum. 2000 yılında Çukurova Üniversitesi, Fen–Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümünde yüksek lisansa başladım. Ancak tez çalışmamı tamamlayamadım. 2005 yılında af kapsamında yüksek lisansa yeniden başladım. 2001 yılından itibaren Çukurova Üniversitesi Osmaniye Meslek Yüksekokulunda Öğretim Görevlisi olarak görev yapmaktayım.

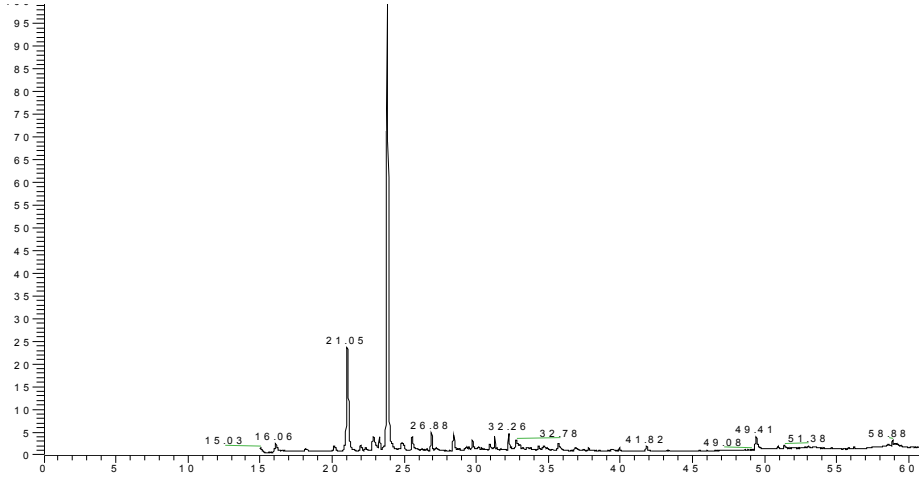
Ek1. Uçucu Yağların GC Kromatogramları



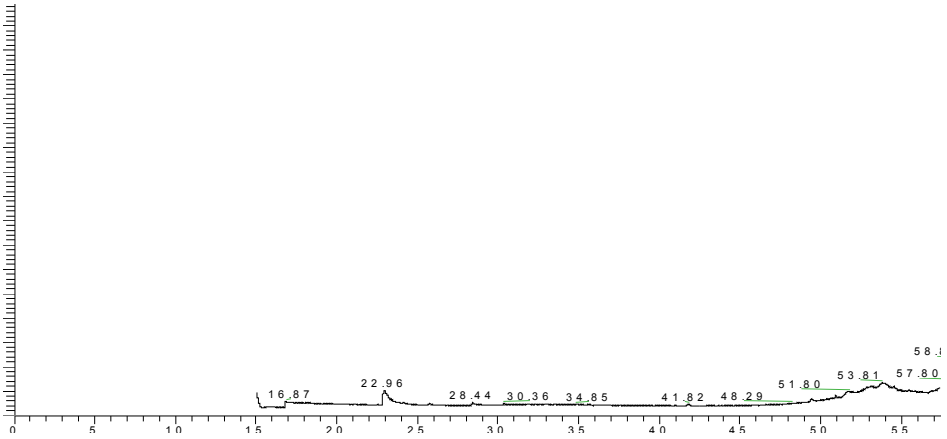
Karabaş otunun HD ekstraksiyonu GC Kromatogramı



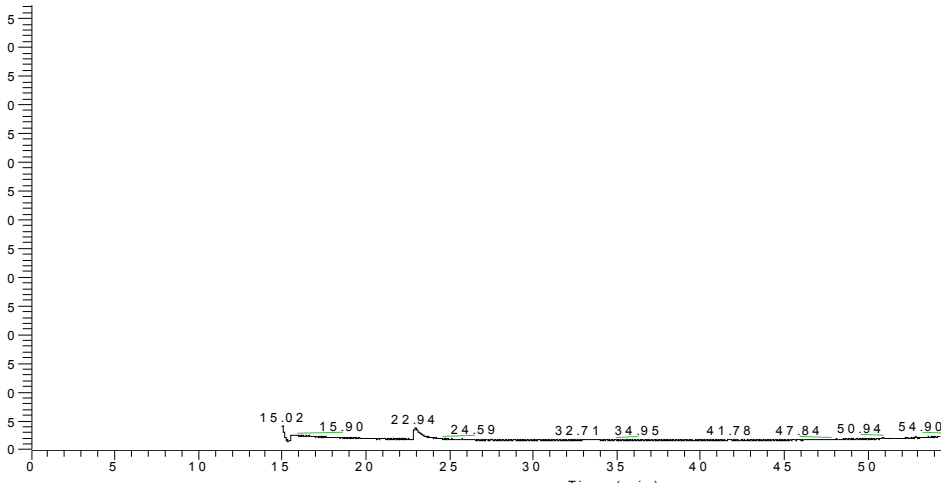
Oğul Otunun HD ekstraksiyonu GC Kromatogramı



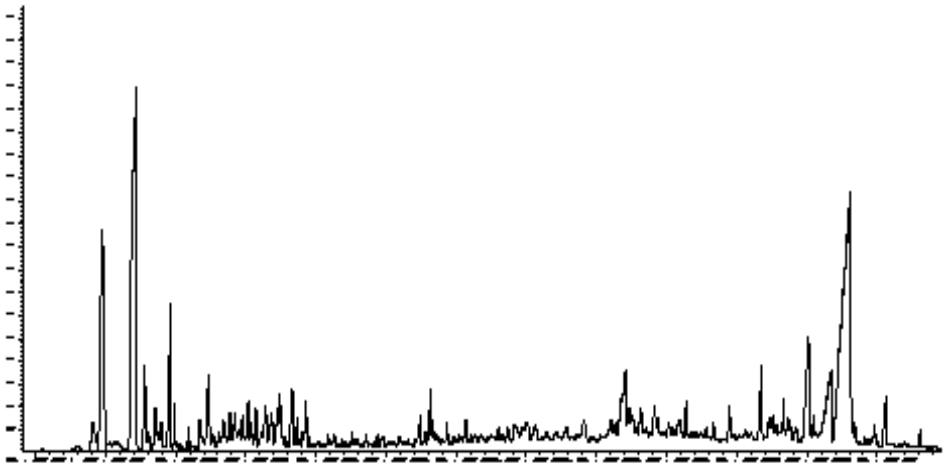
Karabaş otunun Dem-LF ekstraksiyonu GC Kromatogramı



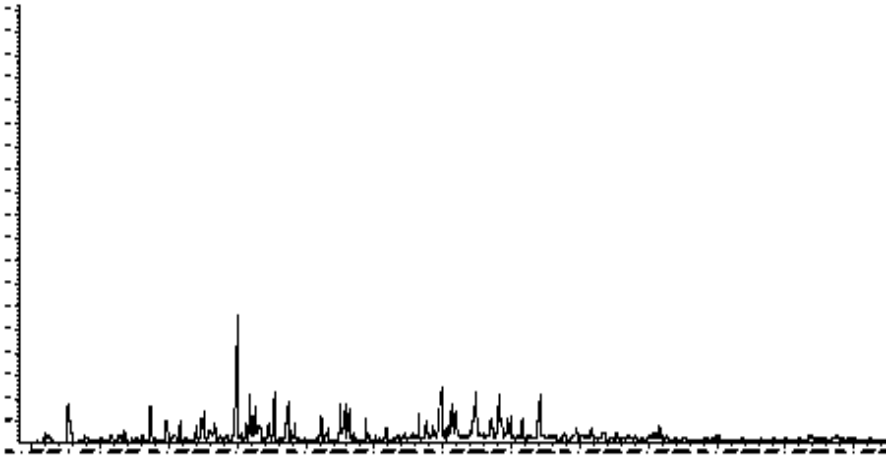
Oğul Otunun Dem-LF ekstraksiyonu GC Kromatogramı



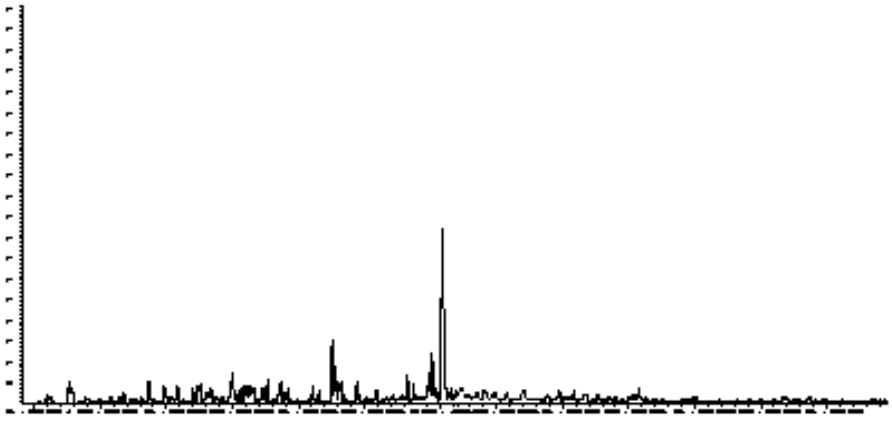
Deve Çökerten bitkisinin Dem-LF ekstraksiyonu GC Kromatogramı



Karabaş otunun SbKSE GC Kromatogramı



Oğul Otunun SbKSE GC Kromatogramı



Deve Çökerten bitkisinin SbKSE GC Kromatogramı