



**T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA  
TEZİ**

**ÜLKEMİZDE YETİŞEN BAZI TIBBİ BİTKİLERİN  
TESTOSTERON 5 $\alpha$ -REDÜKTAZ İNHİBİTÖR ETKİSİ  
YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**NURTEN ABACI KAPLAN**

**FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI**

**MAYIS 2024**



**ÜLKEMİZDE YETİŞEN BAZI TIBBİ BİTKİLERİN TESTOSTERON  
5 $\alpha$ -REDÜKTAZ İNHİBİTÖR ETKİSİ YÖNÜNDEN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Nurten ABACI KAPLAN**

**DOKTORA TEZİ  
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAYIS 2024**

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
  - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
  - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Nurten ABACI KAPLAN

28/05/2024

# ÜLKEMİZDE YETİŞEN BAZI TIBBİ BİTKİLERİN TESTOSTERON-5 $\alpha$ -REDÜKTAZ İNİHİTÖR ETKİSİ YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

(Doktora Tezi)

NURTEN ABACI KAPLAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MAYIS 2024

## ÖZET

Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimi, testosteronun dihidrotestosterona dönüşümünde önemli bir rol oynar. Bu enzimin inhibisyonu, benign prostat hiperplazisi ve androjenetik alopezi (AGA) gibi durumların tedavisinde etkilidir. Lipoksijenaz (LOX) enzimi, yağ asitlerinin oksidasyonunu katalizleyerek serbest radikallerin oluşumuna yol açar ve oksidatif hasar ile enflamasyona neden olarak saç dökülmesine katkıda bulunabilir. *Lavandula sp.*'den elde edilen uçucu yağlar ve infüzyonlar, Anadolu'da geleneksel olarak saç dökülmesinin tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, *Lavandula stoechas* L. ve *Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.'den hazırlanan MeOH ekstraktları ve elde edilen uçucu yağların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX inhibisyonu üzerine etkisi, *in vitro* enzim inhibisyon testleri ile incelenmiştir. Ayrıca, bu ekstraktların antioksidan aktiviteleri DPPH radikal süpürücü etki, metal iyonu şelasyon etkisi ve demir-indirgeme antioksidan gücü (FRAP) deneyleriyle *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, *L. stoechas* ve *L. × intermedia* toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktların her iki enzimi de inhibe ettiğini göstermiştir. *L. stoechas*'ın etil asetat alt fraksiyonundan hareketle, aktivite-yönlendirmeli izolasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş ve 7 adet flavonoid, sterol ve fenolik asit yapısında bileşik izole edilmiştir. İzole edilen bileşikler; spektral yöntemlerle luteolin-7-*O*-glukozit, rozmarinik asit, apigenin,  $\beta$ -sitosterol, kafeik asit, *p*-kumarik asit ve *trans*-ferulik asit olarak karakterize edilmiştir. *p*-Kumarik asit, 5 $\alpha$ -redüktaza karşı en yüksek inhibitör aktiviteyi gösterirken, *trans*-ferulik asit, LOX'a karşı en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile *L. stoechas* ekstresinde rozmarinik asidin majör bileşik olduğu belirlenmiştir. Rozmarinik asidin de 5 $\alpha$ -redüktaz enzimine karşı yüksek inhibitör etkisi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, moleküler kenetlenme analizleri ile izole edilen bileşiklerin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimi ile güçlü etkileşim içinde olduğu belirlenmiştir. Bulgularımız, *L. stoechas* ve *L. × intermedia*'nin halk arasındaki kullanımını desteklemekte olup, bu bitkilerin ekstraktları ile etkili bileşiklerinin alopezi tedavisinde ümit verici ajanlar olduğuna işaret etmektedir. Bu tez çalışması, *L. stoechas* ve *L. × intermedia* ile etkili bileşiklerinin 5 $\alpha$ -redüktaz inhibisyonuna dair yapılan ilk araştırmayı teşkil etmektedir.

Bilim kodu : 1017

Anahtar kelimeler : *Lavandula stoechas*, *Lavandula × intermedia*, 5 $\alpha$ -redüktaz, androjenetik alopezi, moleküler kenetlenme

Sayfa adedi : 244

Danışman : Prof. Dr. İlkay ERDOĞAN ORHAN

EVALUATION OF SOME MEDICINAL PLANTS GROWING IN OUR COUNTRY IN  
TERMS OF TESTOSTERONE 5 $\alpha$ -REDUCTASE INHIBITORY EFFECT

(Ph.D. Thesis)

NURTEN ABACI KAPLAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

May 2024

ABSTRACT

The enzyme testosterone 5 $\alpha$ -reductase plays an important role in the conversion of testosterone to dihydrotestosterone. Inhibition of this enzyme is effective in the treatment of conditions such as benign prostatic hyperplasia and androgenetic alopecia (AGA). The enzyme lipoxygenase (LOX) catalyses the oxidation of fatty acids, leading to the formation of free radicals and may contribute to hair loss by causing oxidative damage and inflammation. Essential oils and infusions from *Lavandula* sp. are traditionally used in the treatment of hair loss in Anatolia. In this study, the effects of methanol extracts and essential oils prepared from *Lavandula stoechas* L. and *Lavandula*  $\times$  *intermedia* Emeric ex Loisel. on testosterone 5 $\alpha$ -reductase and LOX inhibition were investigated by *in vitro* enzyme inhibition tests. In addition, the antioxidant activities of these extracts were evaluated *in vitro* by DPPH radical scavenging effect, metal ion chelation effect, and iron-reducing antioxidant power (FRAP) assays. The results showed that the extracts obtained from *L. stoechas* and *L.  $\times$  intermedia* aerial parts inhibited both enzymes. Activity-directed isolation studies were carried out from the ethyl acetate sub-fraction of *L. stoechas* and 7 flavonoid, sterol, and phenolic acid type of compounds were isolated. The isolated compounds were characterized as luteolin-7-*O*-glucoside, rosmarinic acid, apigenin,  $\beta$ -sitosterol, caffeic acid, *p*-coumaric acid, and *trans*-ferulic acid by spectral methods. *p*-Coumaric acid showed the highest inhibitory activity against 5 $\alpha$ -reductase, while *trans*-ferulic acid showed the highest activity against LOX. By high performance liquid chromatography, it was determined that rosmarinic acid was the major compound in *L. stoechas* extract. Rosmarinic acid was also found to have a high inhibitory effect against 5 $\alpha$ -reductase. Furthermore, molecular docking analyses revealed that the isolated compounds interacted strongly with the testosterone 5 $\alpha$ -reductase. Our findings support the folk use of *L. stoechas* and *L.  $\times$  intermedia* and indicate that the extracts and effective compounds of these plants are promising agents in the treatment of alopecia. This thesis constitutes the first investigation on the inhibition of 5 $\alpha$ -reductase by *L. stoechas* and *L.  $\times$  intermedia* and their effective compounds.

Science code : 1017

Keywords : *Lavandula stoechas*, *Lavandula*  $\times$  *intermedia*, 5 $\alpha$ -reductase, androgenetic alopecia, molecular docking

Number of pages : 244

Supervisor : Prof. Dr. İlkay ERDOĞAN ORHAN

## TEŞEKKÜR

Hayatımdaki bu önemli dönemde bana bilgisiyle rehberlik eden, tez sürecimin her evresinde desteklerini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini benimle cömertçe paylaşan kıymetli danışman hocam Prof. Dr. İlkay ERDOĞAN ORHAN'a teşekkür ederim.

Tez izleme komitesi (TİK) üyesi Sayın Hocam Prof. Dr. Esra AKKOL ile 5 $\alpha$ -redüktaz enziminin izolasyonu sürecinde her zaman yardımcı olan, Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Öğretim Üyesi ve TİK üyesi Sayın Hocam Prof. Dr. Sevgi AKAYDIN'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca bana destek olan, değerli bilgileriyle her zaman yol gösteren, saygıdeğer Hocam Prof. Dr. Sezer ŞENOL DENİZ'e teşekkür ederim. Fitokimyasal çalışmalarım sırasında beni yönlendiren, bilimsel tecrübelerini bana aktaran Sayın Hocam Doç. Dr. Hasya Nazlı GÖK'e teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve enzim izolasyonu sürecinde desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Öğretim Üyesi Sayın Hocam Dr. Öğr. Üyesi Ece SALİHOĞLU'na teşekkür ederim.

Tez bitkilerimi toplama, temin etme ve tanımlama konusunda büyük yardımları olan Taner BÜYÜKDEMİREL'e teşekkür ederim.

Moleküler kenetlenme deneylerimde yardımlarını esirgemeyen Londra King's College, Kimya Bölümünden Dr. Ramin SALMAS'a ve uçucu yağ analizlerini gerçekleştiren Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Temel ÖZEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım için mali destek sağlayan Türkiye Bilimler Akademisine (TÜBA) teşekkür ederim.

Bu uzun ve zorlu süreçte, her zaman yanımda hissettiğim manevi desteğiyle, her koşulda beni cesaretlendiren annem Aynur ABACI, babam Özgür ABACI ve abim Çağdaş ABACI'ya teşekkür ederim. Son olarak, her adımda ve her zorlukta yanımda duran, inancını hiçbir zaman kaybetmeyen değerli eşim, Yüksek Makine Mühendisi Mehmet KAPLAN'a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|   | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| ÖZET .....  | iv           |
| ABSTRACT.....   | v            |
| TEŞEKKÜR.....   | vi           |
| İÇİNDEKİLER .....   | vii          |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....   | xi           |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....  | xv           |
| RESİMLERİN LİSTESİ .....  | xviii        |
| HARİTALARIN LİSTESİ .....   | xx           |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....  | xxi          |
| 1. GİRİŞ.....   | 1            |
| 2. GENEL BİLGİLER .....   | 5            |
| 2.1. Alopezi.....   | 5            |
| 2.2. Alopezinin Nedenleri .....   | 6            |
| 2.3. Alopezi Sınıflandırması .....  | 8            |
| 2.3.1. Skatrisyel alopeziler .....  | 8            |
| 2.3.2. Skatrisyel olmayan (nonskatrisyel) alopeziler.....                           | 9            |
| 2.4. AGA ve testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz arasındaki ilişki .....                | 16           |
| 2.5. Saç Kılının Yapısı .....   | 19           |
| 2.5.1. Saç uzama döngüsü .....  | 20           |
| 2.6. Oksidatif Stres ve AGA .....   | 22           |
| 2.7. Enflamasyon, LOX ve AGA .....  | 24           |
| 2.8. Tezde Aktivite Ön Taraması İçin Seçilen Bitkiler Hakkında Genel Bilgiler ..... | 26           |
| 2.9. AYF'da Kullanılan Bitki Türlerine Ait Botanik Bilgiler .....                   | 28           |
| 2.9.1. Lamiaceae.....   | 28           |

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| 2.9.2. <i>Lavandula</i> cinsi .....  | 30           |
| 2.10. <i>L. stoechas</i> Bitkisi Üzerinde Yapılan Farmakognozik Çalışmalar .....   | 36           |
| 2.10.1. Biyolojik aktivite çalışmaları .....   | 36           |
| 2.10.2. Fitokimyasal çalışmalar .....  | 44           |
| 2.11. <i>L. × intermedia</i> Üzerinde Yapılan Çalışmalar .....   | 61           |
| 2.11.1. Biyolojik aktivite çalışmaları .....   | 61           |
| 2.11.2. Fitokimyasal çalışmalar .....  | 63           |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>  | <b>69</b>    |
| 3.1. Gereç .....   | 69           |
| 3.1.1. Kimyasal bileşikler ve malzemeler .....   | 73           |
| 3.1.2. Cihazlar .....  | 73           |
| 3.2. Yöntem .....  | 73           |
| 3.2.1. Aktivite çalışmaları .....  | 74           |
| 3.2.2. Aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi (AYF) .....   | 89           |
| 3.2.3. Moleküler kenetlenme çalışmaları .....  | 116          |
| <b>4. BULGULAR .....</b>   | <b>117</b>   |
| 4.1. Ekstre ve Alt Ekstre Verimlerine Ait Bulgular .....   | 117          |
| 4.1.1. Ekstre verimleri .....  | 117          |
| 4.1.2. Alt ekstre verimleri .....  | 117          |
| 4.1.3. Uçucu yağ verimleri .....   | 118          |
| 4.2. Ön Taramada Kullanılan Bitkilerin Enzim İnhibisyonu Tayinlerine Ait Bulgular .....  | 118          |
| 4.3. Ön Taramada Kullanılan Bitkilerin Antioksidan Aktivite Tayinlerine Ait Bulgular .....                                       | 120          |
| 4.4. Ön Taramada Kullanılan Bitkilerin Toplam Fenol ve Toplam Flavonoit İçeriklerine Ait Bulgular .....                          | 122          |
| 4.5. <i>L. × intermedia</i> ve <i>L. stoechas</i> Toprak üstü Ekstrelerinin Aktivite-Yönlendirmeli Fraksiyonlama Bulguları ..... | 123          |

## Sayfa

|  |     |
|--|-----|
| 4.5.1. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen alt ekstrelerin enzim inhibisyonu tayinlerine ait bulgular .....  | 123 |
| 4.5.2. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen alt ekstrelerin antioksidan aktivite tayinlerine ait bulgular .....                                       | 125 |
| 4.5.3. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen alt ekstrelerin toplam fenol ve toplam flavonoit içerik tayinlerine ait bulgular.....                     | 128 |
| 4.6. LSHEAE Alt Ekstresinin Saflaştırma Çalışmalarına Ait Bulgular.....  | 129 |
| 4.6.1. LSHEAE alt ekstresinin silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonlarının aktivite bulguları.....                                 | 129 |
| 4.6.2. B fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonlarının aktivite bulguları.....                                    | 131 |
| 4.6.3. C fraksiyonunun RP-18 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların aktivite bulguları.....   | 132 |
| 4.6.4. D fraksiyonunun RP-18 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların aktivite bulguları.....   | 133 |
| 4.6.5. A fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların aktivite bulguları.....                                      | 134 |
| 4.6.6. E fraksiyonunun RP-18 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların aktivite bulguları.....   | 136 |
| 4.6.7. G fraksiyonunun RP-18 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların aktivite bulguları.....   | 137 |
| 4.6.8. H fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların aktivite bulguları.....                                      | 138 |
| 4.7. LSHEAE Üzerinden Gerçekleştirilen Kolon Kromatografileri Sonucunda Elde Edilen Alt Fraksiyonların Antioksidan Aktivite Tayinlerine Ait Bulgular ..... | 138 |
| 4.8. Uçucu Yağların Analizine Ait Bulgular .....   | 145 |
| 4.8.1. <i>L. stoechas</i> uçucu yağının GC-MS bulguları .....  | 145 |
| 4.8.2. <i>L. x intermedia</i> uçucu yağının gaz kromatografisi-MS bulguları .....  | 147 |
| 4.9. YPSK Analizlerine Ait Bulgular.....   | 149 |
| 4.9.1. <i>L. stoechas</i> bitkisine ait YPSK bulguları.....  | 149 |
| 4.9.2. <i>L. x intermedia</i> bitkisine ait YPSK bulguları .....   | 156 |
| 4.10. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinine Ait Bulgular .....   | 160 |

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| 4.10.1. L-1 kodlu bileşimin yapı tayini bulguları .....              | 160          |
| 4.10.2. L-2 kodlu bileşimin yapı tayini bulguları .....              | 166          |
| 4.10.3. L-3 kodlu bileşimin yapı tayini bulguları .....              | 172          |
| 4.10.4. L-5 kodlu bileşimin yapı tayini bulguları .....              | 178          |
| 4.10.5. L-6 kodlu bileşimin yapı tayini bulguları .....              | 186          |
| 4.10.6. L-7 kodlu bileşimin yapı tayini bulguları .....              | 193          |
| 4.10.7. L-10 kodlu bileşimin yapı tayini bulguları .....             | 199          |
| 4.11. İzole edilen bileşiklerin moleküler kenetlenme sonuçları ..... | 206          |
| 5. TARTIŞMA.....   | 213          |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....   | 223          |
| KAYNAKLAR.....   | 225          |
| ÖZGEÇMİŞ .....   | 243          |

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| Çizelge  | Sayfa |
|--|-------|
| Çizelge 2.1. AGA tedavisinde kullanılan yöntem ve etkili bileşiklerin etki mekanizması ve yan etkileri.....  | 15    |
| Çizelge 2.2. Aktivite taramasında kullanılan bitkiler ve seçilme nedenleri .....   | 27    |
| Çizelge 2.3. <i>L. stoechas</i> bitkisinin fitokimyasal içeriği .....  | 46    |
| Çizelge 2.4. Farklı ülkelerde yetişen <i>L. stoechas</i> bitkisinden elde edilen uçucu yağların bileşimi.....  | 58    |
| Çizelge 2.5. <i>L. × intermedia</i> bitkisinin fitokimyasal içeriği.....   | 64    |
| Çizelge 3.1. Bitkisel materyallerin toplanma / temin edilme yerleri, herbaryum numarası, tarihleri, konumları, kullanılan kısımları ve ailya bilgileri .....   | 70    |
| Çizelge 3.2. YPSK ile ana ekstre ve alt ekstrelerdeki fenolik bileşik ve flavonoid profillerinin değerlendirmesi ve saf bileşiklerin miktar tayininde kullanılan mobil fazların bileşimi ve oranları ..... | 89    |
| Çizelge 3.3. EtOAc alt ekstresinin silika jel kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonlar, alt fraksiyon numaraları ve miktarları.....  | 93    |
| Çizelge 3.4. EtOAc alt ekstresinin silika jel kolona uygulanmasıyla elde edilen alt fraksiyonların birleştirilmesi sonucu elde edilen yeni fraksiyonlar ve miktarları .....                                | 95    |
| Çizelge 3.5. B fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen alt fraksiyonlar ve miktarları .....   | 97    |
| Çizelge 3.6. B fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen alt fraksiyonların birleştirilmesi ve miktarları.....  | 98    |
| Çizelge 3.7. C fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların birleştirilmesi ve miktarları.....   | 101   |
| Çizelge 3.8. A fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen birleştirilmiş alt fraksiyonlar ve miktarları.....   | 106   |
| Çizelge 3.9. E fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanmasıyla elde edilen birleştirilmiş alt fraksiyonlar ve miktarları .....   | 107   |
| Çizelge 3.10. (3-6) fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen birleştirilmiş alt fraksiyonlar ve miktarları.....  | 113   |
| Çizelge 4.1. Ön tarama bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstraktların miktarları ve verimleri .....   | 117   |

| <b>Çizelge</b>   | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Çizelge 4.2. <i>L. stoechas</i> ve <i>L. × intermedia</i> 'dan hazırlanan alt ekstrelerin verimi.....  | 118          |
| Çizelge 4.3. <i>L. stoechas</i> ve <i>L. × intermedia</i> 'dan elde edilen uçucu yağ miktarları ve verimleri .....   | 118          |
| Çizelge 4.4. Ön tarama bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstrelerinin ve uçucu yağların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX inhibisyon değerleri.....                         | 120          |
| Çizelge 4.5. Ön tarama bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstrelerinin ve uçucu yağların DPPH radikal süpürme aktivitesi değerleri.....  | 121          |
| Çizelge 4.6. Ön tarama bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstrelerinin ve uçucu yağların FRAP değerleri.....   | 121          |
| Çizelge 4.7. Ön tarama bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstrelerinin ve uçucu yağların metal-şelasyon kapasitesi değerleri.....  | 122          |
| Çizelge 4.8. Ön tarama bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstrelerinin toplam fenol ve toplam flavonoit içerik değerleri .....   | 123          |
| Çizelge 4.9. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstrelerin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX inhibisyon sonuçları.....  | 124          |
| Çizelge 4.10. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda elde edilen alt ekstrelerin DPPH radikal süpürme aktivitesi değerleri .....   | 125          |
| Çizelge 4.11. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda elde edilen alt ekstrelerin demir indirgeyici antioksidan güç değerleri .....   | 126          |
| Çizelge 4.12. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda elde edilen alt ekstrelerin metal-şelasyon kapasitesi değerleri .....   | 127          |
| Çizelge 4.13. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda elde edilen alt ekstrelerin toplam fenol ve toplam flavonoit içerik değerleri .....   | 128          |
| Çizelge 4.14. LSHEAE ekstresinin silika jel kolona tatbik edilmesi ile elde edilen alt fraksiyonların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX inhibisyon değerleri .....       | 130          |
| Çizelge 4.15. B fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona tatbik edilmesi ile elde edilen alt fraksiyonların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzim inhibisyon değerleri..... | 132          |
| Çizelge 4.16. C fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzim ve LOX inhibisyon değerleri.....          | 133          |
| Çizelge 4.17. L2 bileşimini testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzim ve LOX inhibisyon değerleri.....  | 134          |

| <b>Çizelge</b>  | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| Çizelge 4.18. A fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona tatbik edilmesi ile elde edilen alt fraksiyonların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzim inhibisyon değerleri.....                  | 135          |
| Çizelge 4.19. L-5 ve L-6 kodlu bileşiklerin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzim ve LOX inhibisyon değerleri.....   | 136          |
| Çizelge 4.20. E fraksiyonunun Sefadeks RP-18 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzim ve LOX inhibisyon değerleri.....                           | 137          |
| Çizelge 4.21. LSHEAE hareketle kurulan silika jelden elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi değerleri.....                               | 140          |
| Çizelge 4.22. B fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi değerleri ..... | 141          |
| Çizelge 4.23. A fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi çalışmaları değerleri.....     | 142          |
| Çizelge 4.24. E fraksiyonunun Sefadeks RP-18 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi çalışmaları değerleri.....     | 143          |
| Çizelge 4.25. C fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi çalışmaları.....               | 144          |
| Çizelge 4.26. <i>L. stoechas</i> uçucu yağının kimyasal kompozisyon bulguları.....  | 145          |
| Çizelge 4.27. <i>L. × intermedia</i> uçucu yağının kimyasal kompozisyon bulguları.....  | 147          |
| Çizelge 4.28. <i>L. stoechas</i> ana MeOH ekstresinin fenolik bileşik bulguları .....   | 150          |
| Çizelge 4.29. <i>L. stoechas</i> ana MeOH ekstresinin flavonoit bulguları.....  | 151          |
| Çizelge 4.30. LSHME ve LSHEAE ekstrelerinin içerdiği kafeik asit miktarı.....   | 155          |
| Çizelge 4.31. LSHME ve LSHEAE ekstrelerinin içerdiği <i>p</i> -kumarik asit miktarı .....   | 155          |
| Çizelge 4.32. LSHME ve LSHEAE ekstrelerinin içerdiği apigenin miktarı.....  | 156          |
| Çizelge 4.33. LSHME ve LSHEAE ekstrelerinin içerdiği <i>trans</i> -ferulik asit miktarı.....  | 156          |
| Çizelge 4.34. LSHME ve LSHEAE ekstrelerinin içerdiği rozmarinik asit miktarı .....  | 156          |
| Çizelge 4.35. <i>L. × intermedia</i> ana MeOH ekstresinin fenolik bileşik bulguları.....  | 157          |

| <b>Çizelge</b>   | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Çizelge 4.36. <i>L. × intermedia</i> ana ekstresinin flavonoit bulguları .....                           | 157          |
| Çizelge 4.37. LİHME ve LİHEAE ekstrelerindeki kafeik asit miktarı .....                                  | 159          |
| Çizelge 4.38. LİHME ve LİHEAE ekstrelerinin içerdiği <i>p</i> -kumarik asit miktarı .....                | 159          |
| Çizelge 4.39. LİHME ve LİHEAE ekstrelerinin ekstrelerinin içerdiği apigenin miktarı .....                | 159          |
| Çizelge 4.40. LİHME ve LİHEAE ekstrelerinin içerdiği <i>trans</i> -ferulik asit miktarı .....            | 159          |
| Çizelge 4.41. LİHME ve LİHEAE ekstrelerinin içerdiği rozmarinik asit miktarı .....                       | 159          |
| Çizelge 4.42. L-1 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR ve <sup>13</sup> C-NMR spektrum değerleri .....  | 162          |
| Çizelge 4.43. L-2 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR ve <sup>13</sup> C-NMR spektrum değerleri .....  | 168          |
| Çizelge 4.44. L-3 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR ve <sup>13</sup> C-NMR spektrum değerleri .....  | 174          |
| Çizelge 4.45. L-5 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR ve <sup>13</sup> C-NMR spektrum değerleri .....  | 180          |
| Çizelge 4.46. L-6 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR ve <sup>13</sup> C-NMR spektrum değerleri .....  | 188          |
| Çizelge 4.47. L-7 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR ve <sup>13</sup> C-NMR spektrum değerleri .....  | 194          |
| Çizelge 4.48. L-10 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR ve <sup>13</sup> C-NMR spektrum değerleri ..... | 201          |

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil   | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 2.1. Primer sikatriyal alopezinin sınıflandırılması.....  | 9     |
| Şekil 2.2. Finasterit (solda) ve minoksidilin (sağda) kimyasal yapısı .....                           | 16    |
| Şekil 2.3. Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip-II tarafından DHT'a metabolizması .....               | 18    |
| Şekil 2.4. Saç uzama aşamaları.....   | 22    |
| Şekil 2.5. <i>L. stoechas</i> bitkisinde bulunan bazı hidroksibenzoik asit türevleri .....            | 51    |
| Şekil 2.6. <i>L. stoechas</i> bitkisinde bulunan bazı flavonoit türevleri.....                        | 53    |
| Şekil 2.7. <i>L. stoechas</i> bitkisinde bulunan bazı triterpenoit türevleri.....                     | 54    |
| Şekil 2.8. <i>L. stoechas</i> bitkisinden elde edilen uçucu yağda tespit edilen bazı bileşikler ..... | 57    |
| Şekil 2.9. <i>L. × intermedia</i> uçucu yağında tespit edilen başlıca monotерpenler .....             | 68    |
| Şekil 3.1. Testosteron ve internal standarda ait YPSK kromatogramı.....                               | 78    |
| Şekil 4.1. <i>L. stoechas</i> uçucu yağının kromatografik profili .....                               | 147   |
| Şekil 4.2. <i>L. × intermedia</i> uçucu yağının kromatografik profili .....                           | 149   |
| Şekil 4.3. <i>L. stoechas</i> ana MeOH ekstresinin 260, 280, 320 ve 350 nm'deki kromatogramları.....  | 152   |
| Şekil 4.4. Fenolik bileşik karışımlarının 260, 280, 320 ve 350 nm'deki kromatogramları.....           | 153   |
| Şekil 4.5. Flavonoit karışımlarının 260, 280, 320 ve 350 nm'deki kromatogramları..                    | 154   |
| Şekil 4.6. <i>L. × intermedia</i> ana ekstresinin 260, 280, 320 ve 350 nm'deki kromatogramları.....   | 158   |
| Şekil 4.7. L-1 kodlu bileşiğin yapısı .....   | 160   |
| Şekil 4.8. L-1 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....                                   | 163   |
| Şekil 4.9. L-1 kodlu bileşiğe ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.....                                  | 164   |
| Şekil 4.10. L-1 kodlu bileşiğe ait kütle spektrumu .....  | 165   |
| Şekil 4.11. L-2 kodlu bileşiğin yapısı .....  | 166   |
| Şekil 4.12. L-2 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                 | 169   |
| Şekil 4.13. L-2 kodlu bileşiğe ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                | 170   |

| <b>Şekil</b>   | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Şekil 4.14. L-2 kodlu bileşiğe ait kütle spektrumu .....   | 171          |
| Şekil 4.15. L-3 kodlu bileşiğin yapısı .....   | 172          |
| Şekil 4.16. L-3 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....  | 175          |
| Şekil 4.17. L-3 kodlu bileşiğe ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....   | 176          |
| Şekil 4.18. L-3 kodlu bileşiğe ait kütle spektrumu .....   | 177          |
| Şekil 4.19. L-5 kodlu bileşiğin yapısı .....   | 178          |
| Şekil 4.20. L-5 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....  | 182          |
| Şekil 4.21. L-5 kodlu bileşiğe ait yakınlaştırılmış <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....                          | 183          |
| Şekil 4.22. L-5 kodlu bileşiğe ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....   | 184          |
| Şekil 4.23. L-5 kodlu bileşiğe ait kütle spektrumu .....   | 185          |
| Şekil 4.24. L-6 kodlu bileşiğin yapısı .....   | 186          |
| Şekil 4.25. L-6 kodlu bileşiğe ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....   | 189          |
| Şekil 4.26. L-6 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....  | 190          |
| Şekil 4.27. L-6 kodlu bileşiğe ait yakınlaştırılmış <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....                          | 191          |
| Şekil 4.28. L-6 kodlu bileşiğe ait kütle spektrumu .....   | 192          |
| Şekil 4.29. L-7 kodlu bileşiğin yapısı .....   | 193          |
| Şekil 4.30. L-7 kodlu bileşiğe ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....   | 195          |
| Şekil 4.31. L-7 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....  | 196          |
| Şekil 4.32. L-6 kodlu bileşiğe ait yakınlaştırılmış <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....                          | 197          |
| Şekil 4.33. L-7 kodlu bileşiğe ait kütle spektrumu .....   | 198          |
| Şekil 4.34. L-10 kodlu bileşiğin yapısı .....  | 199          |
| Şekil 4.35. L-10 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....   | 203          |
| Şekil 4.36. L-10 kodlu bileşiğinin yakınlaştırılmış <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                         | 204          |
| Şekil 4.37. L-10 kodlu bileşiğinin yakınlaştırılmış ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.....                     | 205          |
| Şekil 4.38. İzole edilen bileşiklerin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2'ye bağlanma enerjisi              | 206          |
| Şekil 4.39. Apigeninin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimine karşı olası bağlantı konformasyonu..... | 207          |

| <b>Şekil</b>   | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Şekil 4.40. Kafeik asidin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimine karşı olası bağlantı konformasyonu.....                    | 208          |
| Şekil 4.41. Luteolin-7- <i>O</i> -glukozitin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimine karşı olası bağlantı konformasyonu..... | 209          |
| Şekil 4.42. <i>p</i> -Kumarik asidin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimine karşı olası bağlantı konformasyonu.....         | 210          |
| Şekil 4.43. Rozmarinik asidin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimine karşı olası bağlantı konformasyonu.....                | 211          |
| Şekil 4.44. <i>Trans</i> -ferulik asidin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimine karşı olası bağlantı konformasyonu.....     | 212          |

## RESİMLERİN LİSTESİ

| <b>Resim</b>  | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| Resim 3.1. <i>L. × intermedia</i> (Fotoğraf: Taner Büyükdemirel, Antalya, 2021) .....   | 71           |
| Resim 3.2. <i>L. stoechas</i> (Fotoğraf: Taner Büyükdemirel, Antalya, 2021) .....   | 72           |
| Resim 3.3. Clevenger cihazı ile uçucu yağ elde edilmesi .....   | 84           |
| Resim 3.4. Ana kolona uygulanan <i>L. stoechas</i> EtOAc alt ekstresi ve silika jel karışımı .....  | 92           |
| Resim 3.5. EtOAc alt ekstresinin silika jel kolonuna uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>254</sub> görünümü .....   | 95           |
| Resim 3.6. EtOAc alt ekstresinin silika jel kolonuna uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>366</sub> görünümü.....    | 95           |
| Resim 3.7. EtOAc alt ekstresinin silika jel kolonuna uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonlar.....   | 96           |
| Resim 3.8. B fraksiyonuna ait Sefadexs LH-20 kolonu .....   | 98           |
| Resim 3.9. B fraksiyonunun Sefadexs LH-20 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>254</sub> görünümü .....  | 98           |
| Resim 3.10. B fraksiyonunun Sefadexs LH-20 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>366</sub> görünümü ..... | 99           |
| Resim 3.11. C fraksiyonuna ait kolon .....  | 100          |
| Resim 3.12. C fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>366</sub> görünümü .....          | 100          |
| Resim 3.13. D fraksiyonuna ait RP-18 kolon.....   | 102          |
| Resim 3.14. D fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>254</sub> görünümü .....          | 102          |
| Resim 3.15. D fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>366</sub> görünümü .....          | 103          |
| Resim 3.16. A fraksiyonuna ait Sefadexs LH-20 kolonu .....  | 104          |
| Resim 3.17. A fraksiyonunun Sefadexs LH-20 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>254</sub> görünümü ..... | 104          |
| Resim 3.18. A fraksiyonunun Sefadexs LH-20 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>366</sub> görünümü ..... | 105          |

| <b>Resim</b>   | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Resim 3.19. A fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanması ile elde edilen 30 ve 34 numaralı saf bileşiklerin revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>254</sub> ve UV <sub>366</sub> görünümü .....   | 105          |
| Resim 3.20. E fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>366</sub> görünümü .....   | 107          |
| Resim 3.21. E fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten önceki UV <sub>366</sub> görünümü .....  | 108          |
| Resim 3.22. E fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>254</sub> görünümü .....   | 108          |
| Resim 3.23. Preparatif İTK tekniği ile F fraksiyonundan izole edilen 2 adet bileşik ....   | 109          |
| Resim 3.24. G fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması .....   | 110          |
| Resim 3.25. G fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>254</sub> görünümü .....   | 110          |
| Resim 3.26. G fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>366</sub> görünümü .....   | 111          |
| Resim 3.27. G fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen (16-18) alt fraksiyonların preparatif İTK uygulaması .....  | 111          |
| Resim 3.28. (3-6) fraksiyonuna ait Sefadeks LH-20 uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV <sub>366</sub> görünümü .....  | 112          |
| Resim 3.29. İzole edilen ve çöken bileşiklerin UV <sub>366</sub> 'daki İTK profili .....   | 114          |
| Resim 3.30. İzole edilen ve çöken bileşiklerin UV <sub>254</sub> 'deki İTK profili .....   | 114          |
| Resim 3.31. Standart bileşiklerin, <i>L. stoechas</i> MeOH ekstresi, <i>L. stoechas</i> uçucu yağı, fraksiyon 21-26, fraksiyon 27-31, <i>L. × intermedia</i> MeOH ekstresi ve <i>L. stoechas</i> uçucu yağının UV <sub>366</sub> 'daki İTK profili ..... | 115          |
| Resim 3.32. Standart bileşiklerin, <i>L. stoechas</i> MeOH ekstresi, <i>L. stoechas</i> uçucu yağı, fraksiyon 21-26, fraksiyon 27-31, <i>L. × intermedia</i> MeOH ekstresi ve <i>L. stoechas</i> uçucu yağının UV <sub>254</sub> 'deki İTK profili ..... | 115          |

**HARİTALARIN LİSTESİ**

| <b>Harita</b>   | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| Harita 2.1. <i>Lavandula stoechas</i> L. Türkiye'deki genel yayılışı..... | 36           |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kapsamında sıklıkla kullanılan bazı kısaltmalar ve simgeler ile bunlara ilişkin açıklamalar aşağıda belirtilmiştir.

| <b>Simgeler</b> | <b>Açıklamalar</b>  |
|-----------------|---------------------|
| °C              | Santigrad derece    |
| a/a             | Ağırlık/ağırlık     |
| h/h             | Hacim/hacim         |
| µg              | Mikrogram           |
| L               | Litre               |
| µL              | Mikrolitre          |
| µm              | Mikrometre          |
| µM              | Mikromolar          |
| dk              | Dk                  |
| g               | Gram                |
| kg              | Kilogram            |
| M               | Molar               |
| mg              | Miligram            |
| mL              | Mililitre           |
| mM              | Milimolar           |
| nm              | Nanometre           |
| ppm             | Milyonda bir birim  |
| rpm             | Dkdaki devir sayısı |
| mL/dk           | Mililitre/dk        |
| m/z             | Yük/kütle           |
| eV              | Elektronvolt        |
| δ               | Kimyasal kayma      |

**Kısaltmalar****<sup>13</sup>C NMR****<sup>1</sup>H NMR****ABTS****AGA****ATCC****AYF****BHA****BHT****BPH****CAKME****CAT****DAD****DCM****DHEAS****DHT****DMSO****DNA****DPC****DPPH****DSÖ****DTT****EC<sub>50</sub>****EDT****EGCG****EGTA****EI****EtOAc****FDA****FID****FOX****Açıklamalar**

Karbon nükleer manyetik rezonans

Proton nükleer manyetik rezonans

2,2'-Azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)

Androjenetik alopezi

Amerikan tip kültür koleksiyonu

Aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama

Bütilhidroksianisol

Bütilhidroksitoluen

Benign prostat hiperplazisi

*Corylus avellana* L. kabuk MeOH ekstresi

Katalaz

Diode array detektör

Diklorometan

Dehidroepiandrosteron sülfat

Dihidrotestosteron

Dimetil sülfoksit

Deoksiriboz nükleik asit

Dermal papilla hücreleri  
(Dermal papilla cells)

2,2-Difenil-1-pikril hidrazil

Dünya Sağlık Örgütü

Ditiyotritol

Yarım maksimal etkili konsantrasyon

Etilendiamin tetraasetik asit

Epigallokateşin-3-gallat

Etilen glikol tetraasetik asit

İyonizasyon modu

Etil asetat

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

Alev iyonlaştırma detektörü

Ferrik oksidasyonu-ksilenol turuncusu

**Kısaltmalar****FRAP****FSH****GAE****GC****GC-MS****GPx****IC<sub>50</sub>****IL****IFD****İTK****JRKME****LC****LD<sub>50</sub>****LH****LİHBAE****LİHDAE****LİHME****LİHEAE****LİHHAE****LİHSAE****LNCaP****Açıklamalar**

(Ferrous oxidation-xylenol orange)

Demir-indirgeme antioksidan gücü (Ferric reducing antioxidant power)

Folikül uyarıcı hormon

Gallik asit eşdeğeri

Gaz kromatografisi

Gaz kromatografisi-kütle spektrumu

Glutasyon peroksidaz

%50 İnhibisyon yapan doz

İnterlökin

İndüklenmiş uyum bağlanması

(Induced fit docking)

İnce tabaka kromatografisi

*Juglans regia* L. kabuk MeOH ekstresi

Sıvı kromatografisi

Medyan letal doz

Luteinize edici hormon

*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.toprak üstü *n*-butanol alt ekstresi*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.

toprak üstü diklorometan alt ekstresi

*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.

toprak üstü MeOH ekstresi

*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.

toprak üstü etil asetat alt ekstresi

*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.toprak üstü *n*-hekzan alt ekstresi*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.

toprak üstü su alt ekstresi

Prostat lenf nodu karsinomu

**Kısaltmalar****LOX****LSHBAE****LSHDAE****LSHME****LSHEAE****LSHHAE****LSHME****MDA****MeOH****MIC****MLD****MS****MTT****M.S.****NADPH*****n*-BuOH****NMR****NO****OSI****PBS****Açıklamalar**

(Lymph node carcinoma of the prostate)

Lipoksijenaz

*Lavandula stoechas* L. toprak üstü *n*-butanol alt ekstresi*Lavandula stoechas* L. toprak üstü diklorometan alt ekstresi*Lavandula stoechas* L. toprak üstü MeOH ekstresi*Lavandula stoechas* L. toprak üstü etil asetat alt ekstresi*Lavandula stoechas* L. toprak üstü *n*-hekzan alt ekstresi*Lavandula stoechas* L. toprak üstü su alt ekstresi

Malondialdehit

Metanol

Minimum inhibitör konsantrasyon

(Minimum inhibitory concentration)

Minimum letal doz

Kütle spektrometresi

3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyumbromür)

Milattan sonra

Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

*n*-Butanol

Nükleer manyetik rezonans

Nitrik oksit

Oksidatif stres indeksi

Fosfat tamponlu tuz çözeltisi

**Kısaltmalar****Açıklamalar****PDB**

(Phosphate buffered saline)

Protein veri bankası

**PRP**

(Protein data bank)

Plateletten zengin plazma

**RI**

(Platelet-rich plasma)

Retansiyon indisi

**ROS**

(Retention index)

Reaktif oksijen türleri

**RP-18**

(Reactive oxygen species)

Ters faz-18

**RRI**

(Reverse phase-18)

**R<sub>t</sub>**

Relatif retansiyon indisi

Alıkonma/retansiyon zamanı

**S.S.**

(Retention time)

**SOD**

Standart sapma

**TAS**

Süperoksit dismutaz

**TCA**

Toplam antioksidan seviyesi

**TEAC**

Trikloroasetik asit

**TOS**

Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite

**UDHME**

Toplam oksidan seviyesi

**UUHME***Urtica dioica* L. toprak üstü MeOH ekstresi**UV***Urtica urens* L. toprak üstü MeOH ekstresi**YPSK**

Ultraviyole

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

(High performance liquid chromatography)



## 1. GİRİŞ

Androjenetik alopezi (AGA), saç foliküllerinin ilerleyici şekilde küçülmesi ve terminal saçların tüysü hale dönüşmesiyle karakterize edilen genellikle erkeklerde görülen yaygın bir saç dökülmesi tipidir. Bu durum, saç döngüsü dinamiğindeki saç uzunluğunu belirleyen evre olan anajen faz süresinin azalması ve telojen faz süresinin artmasıyla oluşur. Sonuçta, yeni çıkan saçlar daha kısa görünür ve saç folikülleri minyatüre olur. Bu da kellik görünümü ile sonuçlanır. Dünya genelinde erkeklerin %50'si ve kadınların %40'ı, yaşamlarının bir noktasında bu durumdan etkilenmektedir. Türkiye'de de AGA'nin görülme sıklığı oldukça yüksektir. Bu kayda değer oranın, AGA'nin global bir sağlık problemi olarak kabul edilmesinin bir göstergesi olduğu düşünülebilir. AGA, genetik ve hormonal faktörlerin etkileşimi sonucunda ortaya çıkar. Bu durum kişide psikolojik problemler, sosyal sorunlara sebebiyet vermektedir (Al Najjar ve diğerleri, 2023; Yorulmaz, 2016). Androjen hormonlarının saç folikülleri üzerindeki etkisi, bu durumun temel sebebidir. Özellikle, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enziminin katalizlediği reaksiyon sonucu açığa çıkan dihidrotestosteron (DHT), testostere göre daha kuvvetli bir androjenik sinyal oluşturmaktadır. Bu nedenle, DHT yüzünden saç folikülleri küçülür ve saçlar incelişip dökülür. Ancak, aşırı miktarda DHT, saç dökülmesine ve prostat büyümesine ve ilerleyen süreçlerde de prostat kanseri gibi sağlık sorunlarına neden olabilir (Osborn, 1916).

Oksidatif stresin saç dökülmesi üzerindeki etkisi, reaktif oksijen türlerinin (reactive oxygen species, ROS) saç foliküllerine ve saç köklerine zarar vererek saç gelişimini etkilemesiyle ilgilidir. ROS'nin lipit peroksidasyonu ve DNA hasarı gibi hücrel bileşenler üzerinde oluşturduğu zararlar, saç folikül hücrelerinin sağlığını ve fonksiyonlarını bozabilir. Oksidatif stresin saç dökülmesine katkıda bulunabileceği düşünülen bir diğer mekanizma ise oksidatif stresin iltihaplanma süreçlerini tetikleyerek veya bu süreçleri artırarak saç foliküllerinin fonksiyonlarını etkilemesidir. İltihaplanma, saç folikülleri ve saç köklerinde hasara yol açabilir ve saç dökülmesini hızlandırabilir. Antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek ve oksidatif stresi azaltarak saç folikül hücrelerini koruyabilir ve saç dökülmesini önleyebilmektedir (Sung ve diğerleri, 2006; Upton ve diğerleri, 2015).

AGA patogenezi, saç folikülü mikroçevresinde enflamatuvar süreçlerin arttığına dair kanıtlarla desteklenmektedir. Lipoksijenaz (LOX) enzimleri tarafından üretilen lipit mediyatörler, bu süreçlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. LOX yoluyla

üretilen lökotrienler gibi enflamatuvar lipit mediyatörler, saç foliküllerinde enflamasyonu tetikleyerek AGA'nin ilerlemesine katkıda bulunabilir. Araştırmalar, LOX enzimlerinin aktivitesini inhibe eden ajanların AGA üzerinde olumlu etkiler gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Bu inhibitörler, enflamatuvar yanıtı azaltarak ve saç folikülü mikroçevresini iyileştirerek saç dökülmesini yavaşlatabilir veya önleyebilir. LOX enzimlerinin katalize ettiği reaksiyonlar sonucunda oluşan lipit peroksidasyonu ürünleri, oksidatif stresi artırarak saç folikülü hasarına neden olabilir ve bu durum, AGA'nın patogeneziyle doğrudan ilişkilendirilebilir (Aslani ve diğerleri, 2009).

Ülkemizde, Lamiaceae familyasına ait türlerin çoğu Akdeniz bölgesi ve çevresinde yetişmektedir. Lamiaceae, Türkiye'de bulunan en büyük üçüncü familyadır ve Türkiye florasında 45 cins, 565 tür ve 735 takson içermektedir (Başer ve diğerleri, 2018). Ayrıca, bu familya Türkiye'de en fazla endemik türe sahip olanlardan birisi olup ve ülkemize özgü 256 endemik tür içermektedir; endemizm oranı ise %45 olarak bildirilmiştir. *Lavandula stoechas* L., Anadolu topraklarında "karabaş otu" başta olmak üzere "gargan ve keşişotu" gibi çeşitli yöresel isimler ile bilinmektedir.

Günümüzde AGA tedavisinde kullanılan bir ilaç olan finasterit, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibitörüdür. Ancak yan etkileri oldukça fazladır. Bu nedenle, sentetik veya doğal kaynaklı yeni, etkili ve güvenli moleküllerin bulunmasına halen ihtiyaç vardır. *Lavandula* türleri de dahil olmak üzere çeşitli bitki türleri, Türkiye ve dünyanın çeşitli ülkelerinde halk arasında saç dökülmesini engelleyici veya saç çıkarıcı amaçlarla kullanılmaktadır. Etnofarmakolojik kayıtlardan faydalanılarak, doktora tez çalışmamızda *L. stoechas* L. ve *L. × intermedia* Emeric ex Loisel. türlerinin AGA tedavisine yönelik potansiyel etkisi, *in vitro* testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibitör etkileri üzerinden incelenmiştir. Ayrıca AGA'li hastaların saç köklerinde gözlenen enflamasyon nedeniyle destekleyici etki olarak *in vitro* olarak, seçilen tıbbi bitkilerin LOX inhibisyonu da değerlendirilmiştir. Enzim inhibisyonlarının, bu bitkilerin antioksidan aktivitesi de *in vitro* olarak 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü etki, demir indirgeme antioksidan gücü (ferric reducing antioxidant power, FRAP) ve metal şelasyon kapasitesi yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Çalışmamızda *L. stoechas* ve *L. × intermedia*'dan elde edilen uçucu yağların 5 $\alpha$ -redüktaz inhibitör etkileri de incelenmiştir. Ayrıca uçucu yağların fitokimyasal içeriği gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) yöntemi ile belirlenmiştir. Hazırlanan ekstrelerde toplam fenol ve toplam flavonoid miktar tayinleri de

gerçekleştirilmiştir. Bunların yanında ekstrelerde bulunan fenolik bileşiklerin belirlenmesi için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YPSK) analizleri de gerçekleştirilmiştir. Etkiden sorumlu olan bileşiklerin tespit edilmesi amacıyla aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon yöntemi kullanılmıştır. İzole edilen bileşiklerin miktar tayinlerinde YPSK, yapı aydınlatma çalışmalarında ise MS ve nükleer magnetik rezonans (NMR) tekniklerinden faydanılmıştır.

Tez kapsamında, *L. × intermedia* ve *L. stoechas* türlerinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibitör aktivite potansiyelleri ilk kez değerlendirilmiş olup, en yüksek aktiviteye sahip olan *L. stoechas* toprak üstü ekstresi üzerinde ilk defa bu amaçla aktivite-yönlendirmeli izolasyon çalışmaları yapılmıştır. İzole edilen moleküllerin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine bağlanma kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla moleküler kenetlenme deneyleri gerçekleştirilmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Alopezi

Saç dökülmesi (alopezi), her iki cinsiyette ve her yaş grubunda pek çok kişinin karşılaştığı, genetik faktör, hormonal değişiklikler, stres, ilaç kullanımı veya herhangi bir tedavi sonucu oluşan bir etki gibi pek çok sebepten kaynaklanabilen yaygın ve bulaşıcı olmayan bir modern toplum sorunudur. Bir başka deyişle alopezi, saç derisi veya vücudun diğer saçlı derisinde de bulunan kıl foliküllerinin farklı sebeplerden dolayı zayıflaması sonucu oluşan durumdur. Saç dökülmesi son yıllarda modern yaşamın getirdiği başlıca stres nedeniyle farklı toplumlarda birçok kişiyi etkileyen bir durum haline gelmeye başlamıştır (Aukerman ve diğerleri, 2023; Liu ve diğerleri, 2024).

İsrail'de bulunan bir dermatoloji polikliniğinde gerçekleştirilen istatistiksel bir çalışmada, saç dökülmesi nedeniyle kliniğe başvuran hastaların oranı 2010 yılında %1,24 iken 2020 yılında %9,44'e yükselmiştir (Lyakhovitsky ve diğerleri, 2023). Bu 10 yıllık süreçte özellikle saç dökülmesi şikâyeti ile başvuran kadınların oranı artmıştır. Ayrıca, aynı çalışmada en yüksek artışın AGA prevalansında olduğu görülmüştür. Bu oran 2010'da %17 iken 2020'de %32'ye yükselmiştir. Aynı çalışmada kliniğe yapılan başvuruların %30,6'sı androgenetik alopezi, %19,3'u alopezi areata, %15,4'ü telogen effluvium (%15,4), %14,9'u seboreik dermatit ile %7,1'i liken planopilaris oluşturmaktadır.

10-16 yaş aralığındaki 226 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, 10 yıl içerisinde saç kaybı şikâyetlerinin pediatrik hastalarda 2 katına çıktığı bildirilmiştir (F. L. Xiao ve diğerleri, 2006). En yüksek artış erkek çocuklarda gözlenmiştir. Ömürleri boyunca, erkeklerin yarısının ve kadınların 1/3'ünün alopeziyi deneyimleyeceği öngörülmektedir (Al Najjar ve diğerleri, 2023).

Saç dökülmesi günlük hayatta sıkça karşılaşılan bir durumdur. Genellikle günlük 25 ila 125 arasında saç telinin dökülmesi normal kabul edilir, ancak bu miktar cinsiyete göre değişiklik gösterebilir. Kıl foliküllerinde herhangi bir dejenerasyon veya yok olma olmadığı için bu durum patolojik olarak değerlendirilmez. Ancak, günlük olarak ortalama 100 saç telinden fazlasının dökülmesi, patolojik bir belirti olarak görülmektedir (Chumlea ve diğerleri, 2004; Katharina ve diğerleri, 2004; Semalty ve diğerleri, 2011).

Alopezi kişiyi yalnızca estetik açıdan etkilemekle kalmaz; bunun yanında kişilerde psikolojik, mental ve sosyal sorunlara da sebebiyet verebilmektedir. Kişilerin yaşam kalitesini, ruh sağlığını hatta özgüvenlerinde azalmaya sebebiyet vererek sosyal yaşamını oldukça derinden etkileyebilmektedir. Alopezi sorunu olan hastalar diğer insanlara nazaran çok daha yüksek oranda depresyon ve anksiyete yaşamaktadır (Al Najjar ve diğerleri, 2023; Aukerman ve diğerleri, 2023; Razum ve diğerleri, 2022). Polonya'da gerçekleştirilen bir araştırma, Polonyalı erkeklerin %60'ının saç dökülmesinden utanç duyduğunu, %81,3'ünün günlük yaşamda stres yaşadığını ve %66,7'sinin özsaygısının önemli ölçüde etkilendiğini ortaya koymuştur (Adamowicz ve diğerleri, 2022).

## 2.2. Alopezinin Nedenleri

Cinsiyet, yaş ve ırk alopezi görülme sıklığını etkilemektedir. Pek çok hastalık alopeziye neden olabileceği gibi, bazı tedavi yöntemlerinin de komplikasyonu olarak alopezi görülmektedir (Al Najjar ve diğerleri, 2023). Hormonal değişiklikler (hamilelik, menopoz, hormonal hastalıklar, vs), beslenme alışkanlığı, obezite, otoimmün hastalıklar ile stres alopeziyi tetikleyebilir. Menopoz zamanında östrojen seviyelerinin azalması da alopeziye neden olmaktadır. Alopezinin başka bir hastalığın sonucu olarak ortaya çıktığı durumlarda, mevcut hastalık tedavi edilmelidir. Böylece hastalık sonucu oluşan alopezi de tedavi edilmiş olacaktır. Alopezi bazı otoimmün hastalıklar nedeniyle de görülmektedir. Örneğin tiroit hastalıkları, "alopezi areata" olarak adlandırılan vücudun kendi saç foliküllerini yabancı tehdit olarak algılayarak saç dökülmesine neden olduğu alopezi tipine neden olmaktadır. Başta hipotiroidizm olmak üzere hipertiroidizm de alopeziye neden olmaktadır. Stres, "telogen effluvium" gibi geçici saç dökülmesi durumlarına neden olabilir. Yoğun stres dönemlerinde, vücutta hormon seviyelerinde değişiklikler meydana gelir ve saç dökülmesi yaşanabilir. Stres yönetimi ve psikolojik destek, bu tür saç dökülmesinin etkin bir şekilde yönetilmesinde önemlidir.

Beslenme eksiklikleri, özellikle demir, çinko, B vitaminleri ve protein eksikliği, saç dökülmesine neden olabilir. Bu nedenle, dengeli bir beslenme alışkanlığı önemlidir. Kadınlarda sık görülen bir endokrin bozukluk olan polikistik over sendromunda da alopezi görülür. Bu sendromda kadınlarda yüksek düzeyde androjen hormonları üretimi görülmekte ve bu nedenle de androjenetik tipi saç dökülmesine sebebiyet verebilmektedir.

Oksidatif stres, hücrelerdeki normal oksidasyon ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik sonucunda ROS'nin artmasıyla karakterizedir. ROS, hücredeki DNA, proteinler ve lipitler gibi biyomoleküllerde hasara neden olabilir. Oksidatif stresin birçok hastalıkta rol oynadığı bilinmekte olup, bunlar arasında yaşlanma, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar bulunmaktadır. Saç folikülleri, antioksidan enzimler aracılığıyla oksidatif hasara karşı korunur. Ancak, bazı durumlarda, özellikle yaşlanma, hormonal değişiklikler veya çevresel faktörler gibi durumlarda, antioksidan savunma mekanizmaları yetersiz kalabilir ve oksidatif stres artabilir. Bu durumda, saç foliküllerinde hasar artabilir ve saç dökülmesi hızlanabilir. DHT'nin saç foliküllerine etkisi de oksidatif stres için bir mekanizma olabilir. DHT, saç foliküllerindeki hücrelere etki ederek ROS üretimini artırabilir veya antioksidan savunma sistemini zayıflatabilir. Bu durum, saç foliküllerindeki oksidatif stresi artırarak, saç dökülmesini hızlandırabilir. Ayrıca, oksidatif stresin AGA patogeneziindeki rolü, saç foliküllerindeki hücrelerin yaşlanmasıyla da ilişkilendirilebilir. Hücrelerin yaşlanması, hücrelerin fonksiyonlarını kaybetmeleri ve hatta ölüme direnç kazanmaları anlamına gelir. Bu durum, saç foliküllerindeki hücrelerin normal döngüsünü etkileyerek, saç büyüme döngüsünde değişikliklere neden olabilir ve saç dökülmesini tetikleyebilir. Sonuç olarak, oksidatif stresin AGA'nin patogeneziinde rol oynayabileceği ve saç dökülmesini hızlandırabileceği düşünülmektedir. Antioksidanlar saç dökülmesinin önlenmesi ve tedavisinde potansiyel olarak faydalı olabilirler. Antioksidanlar, saç foliküllerinin oksidatif hasarını azaltarak saçların daha sağlıklı kalmasına ve saç dökülmesinin önlenmesine yardımcı olabilirler. Ayrıca, antioksidanlar, saç uzamasını teşvik edebilir ve saç foliküllerinin yenilenmesini destekleyebilirler (Cwynar ve diğerleri, 2020; Prie ve diğerleri, 2016; Trüeb, 2009). Bükreş'te bulunan Elias Dermatoloji Hastanesi ve dermatoloji polikliniğinde gerçekleştirilen bir çalışmada, Ekim 2014 ile Mayıs 2015 tarihleri arasında AGA tanısı koyulmuş 27 hastadan plazma örnekleri alınmıştır (Prie ve diğerleri, 2016). Her hastanın plazmasında troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC), malondialdehit (MDA) ve toplam tiyol seviyeleri ölçülmüştür. Ayrıca, eritrosit örneklerinde antioksidan etki sağlayan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) aktiviteleri ve aynı zamanda TEAC aktivitesi belirlenmiştir. Çalışma sonunda, AGA hastalarında anlamlı derecede azalmış SOD aktivitesi saptanmıştır. AGA hastalarının plazma örneklerinde anlamlı düzeyde azalmış TEAC aktivitesi ve artmış MDA seviyeleri belirlenmiştir. Bu sonuçlar, AGA hastalarında artmış oksidatif stresin varlığının belirtisidir. Bu çalışma ile AGA hastalarının dermal papillasında oksidatif stresin varlığı doğrulanmıştır. Türkiye'de gerçekleştirilen oksidatif stres ile AGA

arasındaki ilişkinin incelendiği bir diğer çalışmada, 18-30 yaşları aralığındaki 33 AGA tanısı olan erkek hastanın toplam oksidan seviyeleri (TOS), toplam antioksidan seviyeleri (TAS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) belirlenmiştir. Çalışma sonunda TAS seviyesi açısından bir fark bulunmazken, TOS ve OSI değerleri AGA hastası olan grupta belirgin şekilde daha yüksek çıkmıştır. AGA'li genç hastalarda artmış oksidatif stres tespit edilmiştir (Kaya Erdoğan ve diğerleri, 2017). AGA'nin etiopatogenezinde oksidatif stresin rolünün önemli olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Daha detaylı anlayabilmek için moleküler çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca, AGA tedavisinde topikal veya sistemik antioksidanların kullanımı da değerlendirilmelidir.

### **2.3. Alopezi Sınıflandırması**

Alopeziler skar (yara) dokusunun bulunup bulunmamasına göre; skatrisyel alopeziler (skarlı alopeziler) ve skatrisyel olmayan alopeziler (nonskarlı alopeziler) olarak 2 ana kategoriye ayrılmaktadır (Lin ve diğerleri, 2019).

#### **2.3.1. Skatrisyel alopeziler**

Skatrisyel alopezi saç foliküllerinin kalıcı olarak yok olup yerine fibroz skar dokusunun geldiği enflamatuvar bir saç dökülmesi bozukluğudur. Bu durum, kıl folikül yapılarının zaman içerisinde atrofiye uğrayarak geri dönüşümsüz olarak hasar görmesi ve skar dokusuyla değiştirilmesi sonucunda ortaya çıkarak kalıcı saç kaybına neden olur. Skatrisyel alopezi yanıklar, Graham-Little sendromu, folikülitis dekalvans, Conradi sendromu, mekanik travma, radyasyon, liken planus, lupus eritematozus, kimyasallar, bazı ilaçlar, foliküler dejenerasyon vb. sebeplerden oluşabilir. Bu tür saç dökülmesi geri dönüşümsüz olduğundan, erken tanı ve tedavi oldukça önemlidir (Al Najjar ve diğerleri, 2023; Lin ve diğerleri, 2019).

Skatrisyel alopezi, Kuzey Amerika Saç Araştırma Derneği tarafından primer skatrisyel alopezi ve sekonder skatrisyel alopezi olarak sınıflandırılmaktadır. Primer sikatriyal alopezi, birincil bir patolojik sürecin neden olduğu ve genellikle başka bir hastalığın sonucu olmayan bir durumdur. Sekonder skatrisyel alopezi, saç dökülmesinin altında yatan bir nedenden kaynaklanan ve genellikle cilt üzerindeki bir travma, enfeksiyon veya başka bir patolojik süreç sonucunda gelişen bir durumdur. Bu tür saç dökülmesinin tedavisinde yatan nedenin

giderilmesi gerekmektedir. Bu durum, primer bir patolojik sürecin sonucu değil, genellikle yanık, cerrahi müdahale, bazı tıbbi tedaviler ve enfeksiyonlu cilt hastalıkları gibi başka bir faktörün neden olduğu bir sonuçtur. 2001 yılında, Kuzey Amerika Saç Araştırma Derneği, kafa derisinden alınan biyopsilerin patolojik bulgularına dayanarak bir sınıflandırma hazırlamıştır (Olsen ve diğerleri, 2003).

|   |
|---|
| <p><b>Lenfositik</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Kronik kutanöz lupus eritematozus</li> <li>•Liken planopilaris</li> <li>•Klasik liken planopilaris</li> <li>•Frontal fibrosing alopesi</li> <li>•Graham-Little sendromu</li> <li>•Brocq'un klasik psödopeladı</li> <li>•Santral santrifüj sikatriyal alopesi</li> <li>•Mukinoz alopesi</li> <li>•Keratoz foliküleri spinuloza dekalvans</li> </ul> |
| <p><b>Nötrofilik</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Folikülit dekalvans</li> <li>•Ayrıştırıcı selülit/folikülit</li> </ul>   |
| <p><b>Karışık</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Folikülitis (akne) keloidalis</li> <li>•Folikülitis (akne) nekrotika</li> <li>•Erozif püstüler dermatoz</li> </ul>  |
| <p><b>Belirsiz</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Kesin klinik ve histopatolojik bulgularla kanıtlanamamış idiyopatik skarlı alopezi türüdür.</li> </ul>   |

Şekil 2.1. Primer sikatriyal alopezinin sınıflandırılması

### 2.3.2. Skatrisyel olmayan (nonskatrisyel) alopeziler

Bu alopezi tipi, kıl folikülünde kalıcı hasar ve skar dokusu bırakmayan, saç foliküllerinin korunduğu ve bu nedenle saç kaybının geri döndürülebildiği alopezilerdir. Kalıcı saç kaybına sebebiyet vermez, tedavi edilebilir veya kendiliğinden iyileşebilirler. Skatrisyel olmayan alopeziler 6 grup altında incelenirler. Bunlar sırasıyla; androgenetik alopezi, alopezi areata, telogen effluvium, anagen effluvium, traksiyon alopezi ve tinea kapitis'tir (Katharina ve diğerleri, 2004; Phillips ve diğerleri, 2017; Wang ve diğerleri, 2023).

### 2.3.2.1. Androjenetik alopezi (AGA)

AGA, saç folikülünün ilerleyici şekilde küçülmesi ve terminal saçın tüysü hale dönüşmesiyle karakterizedir. Bu durum, saç döngüsü dinamiğindeki saç uzunluğunu belirleyen evre olan anajen faz süresinin azalması ve telojen faz süresinin artmasıyla yeni oluşan saçların daha kısa görünmesine ve saç foliküllerinin minyatüre olmasına neden olmakta, sürecin sonunda ise kellik görünümü oluşmaktadır. Minyatürizasyon, saçların daha ince, kısa ve az pigmentli olmasına neden olur. Bazı durumlarda saç foliküllerinde mikroenflamasyonlar da gözlenmektedir. AGA, genellikle skatrisyel olmayan alopeziler sınıfına dahil edilirken, bazı araştırmacılar bu durumu hem skatrisyel hem de skatrisyel olmayan alopezi olarak sınıflandırmaktadır. AGA'de kafanın üzerindeki saç folikülleri, androjenlere karşı çok daha duyarlı hale gelir. Böylece zaman içerisinde saç folikülleri atrofiye uğrar. Kıl oluşum döngüsündeki anajen faz kısalırken, telojen faz uzar ve böylece saç foliküllerinde minyatürleşme oluşur ve kellekle sonuçlanır (Yorulmaz, 2016).

AGA her iki cinsiyette de en sık görülen saç dökülmesi tipidir. AGA ergenlik dönemiyle başlamakta ve görülme insidansı yaş ile birlikte artmaktadır. 70 yaşına gelen erkeklerin %80'inin, kadınların ise %50'sinin AGA'yi deneyimleyeceği belirtilmiştir (Al Najjar ve diğerleri, 2023; Aukerman ve diğerleri, 2023). Hamilton cinsel olgunlaşmanın geciktiği veya olmadığı hipogonadal erkekler üzerindeki çalışmaları sonucunda, saç dökülmesinin hormonal değişikliklerle ilişkili olduğunu ve özellikle testosteron seviyelerindeki değişikliklerin saç uzaması üzerinde belirleyici bir rol oynayabileceğini göstermiştir. Ergenlik döneminden önce hadımlaştırılan erkekler veya hipogonadal erkeklerde neredeyse hiç AGA gelişmezken, bu erkeklere testosteron enjekte edildiğinde AGA tetiklenebilmektedir. Bu çalışma sonucunda, AGA'nin kökeninin androjenler, genetik faktörler ve yaş faktörleri arasındaki etkileşime dayanabileceğini ileri sürmüştür (Hamilton, 1951). AGA'nin insidansı ırka da bağlıdır. AGA en sık Kafkasyalılar'da, ardından Asyalılar'da ve son olarak Eskimolarda görülmektedir. AGA'nin belirli bir ırkta sıklıkla görülmesi, başka bir ırkta ise neredeyse hiç görülmemesi bu durumun genetik ile yakından ilişkisi olduğunu göstermektedir. AGA kadın ve erkeklerde farklı dökülme paternine sahiptir. Erkeklerde görülen AGA genellikle temporal, frontal ve başın üst kısmı olan verteks (tepe) bölgeyi içerir. Alın çizgisinde de geri çekilme olur ve 'at nalı' şeklinde bir dökülme deseni gözlenir. Kadınlarda görülen AGA'de ise saç çizgisinin ön kısmında genellikle belirgin bir gerileme olmaksızın, frontal ve verteks bölge başta olmak üzere seyrekleşme ve incelme

karakterizedir. Ayrıca kadınlarda saç dökülmesi genellikle başın üst kısmında (verteks) ve taç bölgesinde gözlenir. Frontal bölgede daha fazla saç dökülmesi olduğunda “çam ağacı” benzeri bir dökülme görülebilir (Al Najjar ve diğerleri, 2023; Aukerman ve diğerleri, 2023; Chan ve diğerleri, 2018; Fus-Mazurkiewicz ve diğerleri, 2024; Nestor ve diğerleri, 2021).

Erkek tipi AGA’yi sınıflandırmak amacıyla 1951 yılında ilk kez Hamilton-Norwood ölçeği oluşturulmuş olup, halen kullanılmaya devam edilmektedir. Bu ölçek, erkeklerdeki saç dökülmesini 7 klinik evreye ayırmaktadır (Norwood, 1975). Öte yandan, 1977 yılında geliştirilen Ludwig sınıflandırması ile AGA, kadınlarda 3 farklı evreye göre derecelendirilmektedir (Ludwig, 1977). Bu sınıflandırmalar, AGA'nın tanımlanması ve tedavisinde önemli bir yol gösterici olarak kabul edilmekte, erkek ve kadınlarda saç dökülmesinin evrelemede standart bir çerçeve sunmaktadır (Ludwig, 1977). Adından da anlaşılacağı gibi, AGA'nin temel sebebi, saç derisindeki androjen reseptörlerinin fazla olması ve saç foliküllerinin androjen hormonlarına karşı hassas olmasıdır. Özellikle testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enziminin katalizlediği reaksiyon sonucu açığa çıkan DHT, testostere göre daha kuvvetli androjenik sinyal oluşturmaktadır. Bu nedenle DHT nedeniyle saç foliküllerinde küçülme bunun sonucunda da saçlarda incelme ve dökülme görülür. Bu patofizyolojik mekanizma ile uyumlu olarak, AGA’li bireylerde testosteronun DHT’ye dönüşümünde önemli bir enzim olan 5- $\alpha$ -redüktaz tip II seviyesi daha yüksektir. 1916’da Osborn, AGA'nin otozomal dominant bir hastalık olabileceğini, bu şekilde nesilden nesile aktardığını ileri sürmüştür (Osborn, 1916). Ancak daha sonra Küster ve Happle 1984 yılında, AGA'nin genetiğini gözden geçirdiler ve Osborn'un hipotezinin örneklerle yeterince kanıtlanmadığını bu nedenle şüpheli olduğunu ileri sürdüler ve poligenik bir kalıtım modunun daha olası olduğunu belirtmişlerdir (Küster ve diğerleri, 1984). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda AGA'nin poligenik bir özelliğe sahip olduğunu, ancak patofizyolojisinin ve genetiğinin tam olarak anlaşılmadığını desteklemektedir. Androjen reseptörü genin AGA üzerinde etkisi olduğu ve AGA’nin çevresel faktörlerin de etkisiyle birlikte birkaç genin de rol oynadığı multifonksiyonel bir bozukluk olduğu ileri sürülmüştür (Ellis ve diğerleri, 2002). AGA’nin gelişiminde androjenlerin rol oynadığına dair pek çok kanıt ve çalışma bulunmaktadır. AGA’si olan ve olmayan bireylerde testosteron seviyeleri benzer olsa bile AGA’si olan kişilerde serbest testosteron, DHT ve aktif testosteron düzeylerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip II enzim eksikliği olan kişilerde AGA prevalansı daha düşüktür (Devjani ve diğerleri, 2023; Piraccini ve diğerleri, 2014). Ancak hala AGA’nin patofizyolojisi ve moleküler mekanizması tam

olarak açıklanamamıştır. AGA'nin teşhisi hastalığın öyküsü ve yapılan bazı tetkiklerle koyulur. Saç dökülmesinin olduğu bölge, saç dökülmesinin şiddeti belirleyicidir. AGA'nin erken tanısız özelliği "vellus" adı verilen ince tüysü saçların artmış olması ve saç telinin çapında normale nazaran %20 oranında incelmeye olmasıdır (De Lacharrière ve diğeri, 2001; Kaliyadan, 2022; Lolli ve diğeri, 2017). Saç dökülmesinin şiddetini değerlendirmek için kullanılan çeşitli ölçekler vardır. En yaygın kullanılanlarından biri Norwood-Savin ölçeği, erkeklerde saç dökülmesini sınıflandırmak için kullanılırken, kadınlar için Ludwig ölçeği veya Sinclair ölçeği gibi diğeri ölçekler kullanılmaktadır. AGA teşhisi koymadan önce fiziksel muayene yapılır. Fizik muayene sırasında saç çizgisi, saç yoğunluğu, saç dökülmesinin deseni ve saçlı derideki diğeri belirtiler incelenir. Bu, androjenetik alopezinin tipik belirtileri olan saç çizgisinin geri çekilmesi ve tepe bölgesindeki saç incelmeye tespit edilmesini sağlar. Dermatoskopla inceleme yapılır, AGA'ye karakteristik bulgular arasında saç foliküllerinin incelmeye, saçın minyatürleşmesi ve saç derisindeki pigmentasyon değerişiklikleri bulunabilir. Laboratuvar testleri istenerek androjen seviyeleri, özellikle serbest ve toplam testosteron ile dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS) gibi hormonların değeriştirilmesi de teşhise yardımcı olabilir (Alves, 2017; Devjani ve diğeri, 2023; Ellis ve diğeri, 2002; Piraccini ve diğeri, 2014).

### *Androjenetik alopezi tedavisi*

Androjenetik alopezi birçok toplumda sık görölmesine rağmen, tanısı genellikle kolay konulsa da hastalığın yönetimi için standart bir tedavi rehberi bulunmamaktadır. Tedaviye mümkün olan en erken sürede ve evrede başlamak önemlidir. AGA tedavisinde yöntem seçilirken, uygulanabilirlik, etkinlik ve maliyet gibi faktörler değeriştirilerek karar verilir. Androjenetik alopezi tedavisindeki temel amaç, saç foliküllerinin minyatürizasyonunu durdurmak ve saç yoğunluğunu artırmaktır. Genellikle, AGA tedavisi saç dökölmesini yavaşlatmayı, saç yoğunluğunu artırmayı veya saçın yeniden çıkmasını teşvik etmeyi amaçlar. Androjenetik alopezinin tedavisinde Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından onaylı yalnızca 2 adet ilaç etken maddesi bulunmaktadır. Bunlar; oral kullanılan finasterit ile topikal uygulanan minoksidildir. FDA, 1997 yılında hafif ve orta dereceli erkek AGA hastalarında finasteritin 1 mg/gün dozunda kullanımını onaylamıştır. Ancak finasterit teratojenik etkiye sahip olduğundan, kadın hastaların kullanmaması veya uygun kontrasepsiyon yöntemleriyle birlikte kullanılması tavsiye edilmektedir. Finasteritin oral yoldan kullanımıyla, AGA tedavisinde etki sağlandığı pek çok

linik çalışma ve meta analizlerle kanıtlanmıştır. Minoksidilin, %2 (daha çok kadınlar için) ve %5'lik (daha çok erkekler için) çözelti ve %5'lik köpük halinde preparatları vardır. Önerilen dozu ise günde 1-2 kez kullanmak üzere 1 mL'dir. Köpük formu propilen glikol içermediğinden, saç derisini daha az tahriş etmektedir. Minoksidil ilk olarak antihipertansif olarak kullanılmaya başlanmış, ancak kullanan hastalarda yan etki olarak hiperkriroz gözlenmiştir. Bu nedenle minoksidil AGA tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Saç derisinde bulunan sülfotransferaz enzimi, minoksidili aktif metaboliti olan minoksidil sülfata dönüştürür. Minoksidilin etki mekanizması günümüze kadar tam olarak aydınlatılamasa da birkaç hipotez bulunmaktadır. Bunun dışında FDA onaylı olmayan pek çok tedavi yöntemi vardır. Yalnızca ilaçla tedavi değil, yanı sıra farklı fiziksel ve tamamlayıcı tedavi yöntemleri de kullanılmaktadır (Alzaid, 2023; Devjani ve diğerleri, 2023; Ellis ve diğerleri, 2002; Feldman ve diğerleri, 2023; Fus-Mazurkiewicz ve diğerleri, 2024; Liu ve diğerleri, 2024; Lolli ve diğerleri, 2017; Rathnayake ve diğerleri, 2010; Trilisanawati ve diğerleri, 2021). FDA, son yıllarda AGA tedavisinde topikal minoksidil ve oral finasterit ile kombine tedavi yöntemini onaylamıştır (Trilisanawati ve diğerleri, 2021). Finasterit ve minoksidil, 6 aylık tedaviden sonra etki göstermeye başlar. Tedavi için ömür boyu kullanmak gerekmektedir. Zira ilaçlar bırakıldıktan sonra saç kaybı tekrar başlar.

AGA tedavisinde bitkisel ekstraktlar ve doğal moleküller de kullanılmaktadır. Örneğin,  $\beta$ -sitosterol, biokanin A gibi bitkisel moleküller ve ayrıca *Serenoa repens* (W.Bartram) Small, *Panax ginseng* C.A.Mey., *Curcuma aeruginosa* Roxb., *Cucurbita pepo* L., *Trifolium pratense* L. ekstraktları de DHT oluşumunu inhibe ederek etki göstermektedir. *Rosmarinus officinalis* L. (biberiye) ekstresi perifoliküler vaskülarizasyonu artırarak saç dökülmesini azaltmaktadır. *Camellia sinensis* (L.) Kuntze ekstresi ise anti-apoptotik aktivite göstererek saç dökülmesini azaltmaktadır (Feldman ve diğerleri, 2023; Karaca ve diğerleri, 2019; Nestor ve diğerleri, 2021; Ntshingila ve diğerleri, 2023; Trilisanawati ve diğerleri, 2021). *Nigella sativa* L. tohumları ve tohumlarından elde edilen sabit yağı, antioksidan ve anti-enflamatuvar aktiviteye sahiptir. İçeriğini %30-48'ini oluşturan timokinon TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-5, IL-3 gibi pro-enflamatuvar sitokinleri baskılayarak etki göstermektedir. Telogen effluvium tipi alopezi teşhisi konulan 10 hasta üzerinde gerçekleştirilen, randomize, çift kör ve plasebo kontrollü çalışmada 3 ay boyunca hergün *N. sativa*'dan elde edilen sabit yağ topikal olarak uygulanmıştır. Çalışma sonunda, 3 ay içinde saç yoğunluğunda ve saç tellerindeki kalınlıkta anlamlı bir artış olmuştur. Ayrıca bir çok hastada da saç köklerindeki enflamasyon azalmıştır (Rossi ve diğerleri, 2016).

Procapil™, bileşiminde bulunan biyotinil-tripeptit-1, apigenin ve oleanolik asit içeren bir komplekstir. Saç foliküllerinin beslenmesi, saç dökülmesini engellemesi ve yeni saç oluşumunu uyarması gibi etkileri klinik çalışmalar sonucunda kanıtlanmıştır. Günümüzde FDA onaylı olarak kullanılan minoksidil ve finasteritin aksine belirtilen bir yan etkisi bulunmamaktadır. Formülasyonda yer alan flavonoit yapısındaki apigenin, saç foliküllerinde bulunan kılcal damalarda vazodilatasyon sağlayarak, saç köklerinin kanlanmasını ve böylece beslenmesini sağlamaktadır (Guerrero ve diğerleri, 2011). Ancak şimdiye kadar yapılan çalışmalarda apigeninin tek başına saç çıkarıcı etkisi üzerine ayrıntılı bir çalışma bulunmamaktadır. Formülasyonda bulunan triterpenik bir diğer bileşik olan oleanolik asit, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip I ve tip II enzimini inhibe ederek DHT oluşumunu engeller. Biyotinil-tripeptit-1 ise antioksidan aktiviteye sahiptir ve saç köklerinin yaşlanmasını engelleyerek yeni saçların çıkmasını sağlamaktadır (Karaca ve diğerleri, 2019).

İsviçre kökenli bir firma tarafından geliştirilen Redensyl™, saç dökülmesini önlemeye ve yeni saç foliküllerinin büyümesini teşvik etmeye yönelik olarak kullanılmaktadır. Dihidrokersetin glukozit, epigallokateşin gallat (EGCG) glukozit, glisin ve çinko gibi çeşitli bileşenlerden oluşmaktadır. İçeriğindeki dihidrokersetin glukozit ve EGCG glukozit, saç folikül hücrelerini ve dermal papillayı uyararak saç uzamasına neden olmaktadır. Glisin ise saç metabolizmasında önemli rol oynayan ve saç yapısında bulunan proteinlerde spesifik olarak bulunan bir aminoasittir (Jenkins ve diğerleri, 1994). Çinko ise saçın yapısını güçlendirmeye yardımcı olur. Ayrıca saçta sisteyinin keratine tutunmasını sağlamaktadır (Hsu ve diğerleri, 1971).

Capixyl™, bir Fransız firması tarafından geliştirilen, kırmızı yonca (*Trifolium pratense* L.) ekstresi ve biomimetik peptitlerin karışımından oluşan, saç dökülmesini önlemeye yardımcı olmak için kullanılan son zamanlarda oldukça popüler olan bir preparattır (Loing ve diğerleri, 2013). Türkiye’de gerçekleştirilen bir çalışmada, Capixyl™, Procapil™ ve Redensyl™ kombine edilmiş ve %5’lik minoksidile karşı etkisi AGA tanısı koyulmuş 120 erkek hasta üzerinde değerlendirilmiştir. Capixyl™, Procapil™ ve Redensyl™ kombinasyonu, minoksidile göre oldukça yüksek bir başarı göstermiştir. Capixyl™, Procapil™ ve Redensyl™ kombinasyonu ile tedavi edilen hastaların %64,7’sinin önemli veya orta bir düzeyde iyileşme gözlemlendiği belirtilirken; %5 minoksidil ile tedavi edilen hastaların %25,5’i önemli veya orta bir düzeyde iyileşme göstermiştir (Karaca ve diğerleri, 2019).

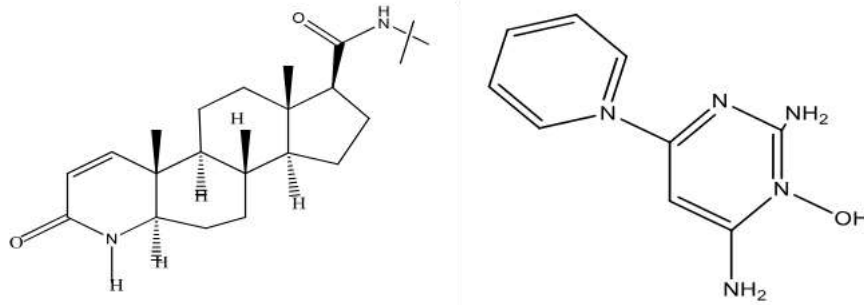
AGA tedavisinde; testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibitörleri (oral dutasterit, oral finasterit, topikal finasterit), potasyum iyon kanalı düzenleyicileri (oral minoksidil ve topikal minoksidil), androjen reseptör antagonistleri (oral flutamit, topikal fluridil, oral spironolakton, oral bikalutamidin), topikal prostaglandin analogları, botulinum toksin tip A, topikal ketokonazol, wnt/ $\beta$  katenin sinyal yolağı aktivatörleri, topikal melatonin, JAK-STAT yolağı inhibitörleri, düşük dereceli lazer ışık tedavisi, mikroıgneleme, kök hücre tedavisi, mezoterapi, plateletten zengin plazma (PRP), saç transplantasyonu yöntemleri uygulanabilmektedir. AGA tedavisinde kullanılan yöntem ve etkili bileşiklerin etki mekanizması ve yan etkileri Çizelge 2.1.' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. AGA tedavisinde kullanılan yöntem ve etkili bileşiklerin etki mekanizması ve yan etkileri

| <b>Etkili bileşik</b>                      | <b>Etki Mekanizması</b>   | <b>Yan Etkileri</b>  |
|--|---|--|
| <b>Minoksidil<br/>(Topikal)</b>            | Arteriyol vazodilatasyonu sağlar.<br>Hücre proliferasyonunu tetikler.<br>Potasyum kanal açıcıdır. | Lokal irritasyon,<br>kaşıntı, ciltte kuruluk,<br>eritem                                      |
| <b>Latanoprost<br/>(Topikal)</b>           | Prostaglandin analogudur. Saçın anajen (uzama) fazını uzatır.                                     | İrritasyon   |
| <b>Dutasterit<br/>(Oral)</b>               | Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip I ve II enzim inhibisyonu sonucu DHT oluşumunu engeller.     | Eretil disfonksiyon,<br>anormal ejakülasyon,<br>jinekomasti, miyopati                        |
| <b>Flutamit<br/>(Oral)</b>                 | Antiandrojeniktir. Testosteronun etkisini azaltır.  | Şişkinlik, baş ağrısı,<br>meme hassasiyeti   |
| <b>Spironolakton<br/>(Oral)</b>            | Antiandrojeniktir. Testosteronun etkisini azaltır.  | Postüral hipotansiyon  |
| <b>Finasterit<br/>(Oral)</b>               | Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip II inhibisyonu sonucu DHT oluşumunu engeller.                | Eretil disfonksiyon,<br>anormal ejakülasyon,<br>jinekomasti, miyopati,<br>ruhsal bozukluklar |
| <b>Bikalutamit<br/>(Oral)</b>              | Antiandrojeniktir. Testosteronun etkisini azaltır.  | Şişkinlik, baş ağrısı,<br>meme hassasiyeti   |
| <b>Botulinum toksin A<br/>(Enjeksiyon)</b> | DHT'nin saç folikülü üzerindeki etkisini engeller.  | Uygulama yapılan yer<br>yakınındaki kaslarda<br>geçici sarkma, baş ağrısı                    |

Çizelge 2.1. (devam) AGA tedavisinde kullanılan yöntem ve etkili bileşiklerin etki mekanizması ve yan etkileri

| Etkili bileşik                       | Etki Mekanizması  | Yan Etkileri                           |
|--------------------------------------|---|--|
| PRP                                  | Plazmadaki trombositler, büyüme faktörleri ve sitokinler, saç uzamasını ve saç onarımını tetiklemektedir. | Baş ağrısı, uygulama bölgesinde kanama |
| <b>Düşük seviyeli lazer tedavisi</b> | Nitrik oksit aracılığı ile hücresel çoğalma ve vazodilatasyon ile saç uzaması sağlanır.                   | Ürtiker                                |
| <b>Mikroiğneleme</b>                 | Anjiyogenezi teşvik eden büyüme faktörlerinin salgılanmasını sağlar.                                      | Ağrı, acı                              |



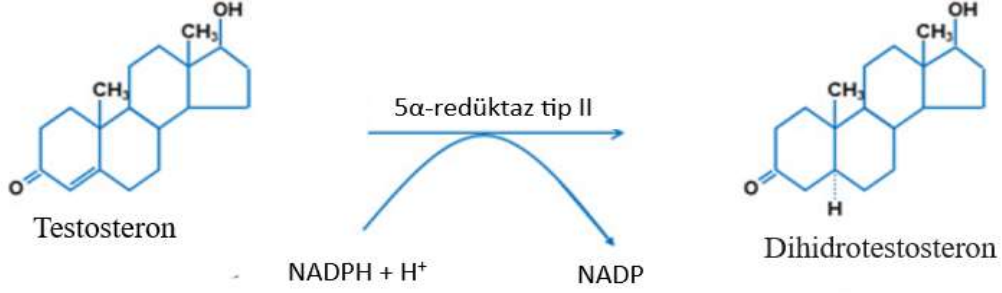
Şekil 2.2. Finasterit (solda) ve minoksidilin (sağda) kimyasal yapısı

#### 2.4. AGA ve testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz arasındaki ilişki

Testosteron, insan vücudunda testis, yumurtalık ve adrenal bezlerde üretilip salınan eril cinsiyet özelliklerinin gelişiminden sorumlu olan ana erkek cinsiyet hormonudur. Bu hormon her iki cinsiyette de bulunmasına rağmen, erkeklerde daha yüksek seviyelerde bulunmaktadır. Testosteron, beynin alt kısmında bulunan hipofiz bezinden salgılanan luteinize edici hormon (luteinizing hormone, LH) ve folikül uyarıcı hormon (follicle-stimulating hormone, FSH) tarafından kontrol edilir. Testosteron insan vücudunda pek çok fonksiyona sahiptir. Başta cinsel olgunlaşma ve üreme olmak üzere kas kütlelerinin artırılması, kemik sağlığının idamesi ve yağların metabolizması gibi pek çok biyolojik olayda rol oynamaktadır. DHT, stoplazmada testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tarafından katalize edilmesiyle

oluşan bir hormondur. DHT, erkeklerde cinsel gelişim ve saç oluşumu gibi birçok fizyolojik süreçte önemli rol oynar. Androjenler sakal, koltuk altı ve kasık bölgesi gibi bölgelerde saç foliküllerinin gelişimini sağlarken, ironik bir şekilde erkeklerin saç foliküllerinin gelişimini engellemekte ve saç dökülmesine sebep olmaktadır. Ancak aşırı miktarda DHT, bazı durumlarda saç dökülmesi, prostat büyümesi gibi sağlık sorunlarına neden olabilir. Saç dökülmesinin testosteron ile arasındaki bağlantı ise DHT üzerinden açıklanmaktadır. DHT saç foliküllerindeki androjenik reseptörlere bağlanarak, saç foliküllerinde minyatürizasyona ve daha da ilerleyerek saç dökülmesine sebebiyet vermektedir. AGA'de genetik yatkınlıkla da saç foliküllerindeki androjenik reseptörlerin DHT'na karşı hassasiyeti artar ve bu nedenle saç dökülmesine neden olur. DHT oluşumunu katalizleyen testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz, 2 izoformu olan membrana gömülü bir proteindir. Her 2 enzim de testosterondan DHT oluşumunu sağlar. Farklı genler tarafından kodlanan bu enzimler testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip I ve tip II'dir. Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip I pH: 6,5'da maksimum etki sağlarken; testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip II pH: 4,5'ta maksimum etki sağlamaktadır. Bu enzim reaksiyonunda NADPH kofaktör olarak rol oynar. Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz, steroid substratların çift bağlarını NADPH'a bağımlı olarak azaltarak etkinliğini artıran bir membran bağlı enzimdir. Ayrıca testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip I enzimi daha çok deri, karaciğer, beyin ve yağ bezleri gibi androjen bağımsız organlarda lokalize olmuşken, tip II enzimi ise prostat, epididim ve saç folikülleri gibi androjen bağımlı organlarda lokalize olmuştur. AGA tedavisinde genellikle testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip II enzim inhibisyonu hedef alınmaktadır. Tip I enzimi ise daha çok dışsal dokularda bulunmaktadır. Bu nedenle AGA tedavisi için testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip II enzimi hedef alınmaktadır (Burns ve diğerleri, 2008; Sperling, 2008). 1994 yılında Dallob ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, AGA patojenezinde testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip II'nin rol oynadığı kanıtlanmış ve bugünkü AGA tedavisinde FDA onaylı finasterit için önemli bir adım atmışlardır (Dallob ve diğerleri, 1994). Androjenlerin insan derisinde, yağ bezlerinin büyümesi, saçların uzaması ve gelişmesi gibi etkileri vardır. Saç oluşumu ve uzamasını yalnızca androjenler değil ayrıca tiroit hormonları ve glukokortikoidler de etkilemektedir. Ancak yine de en önemli düzenleyici olarak androjenler kabul edilmektedir (Inui ve diğerleri, 2003; Madaan ve diğerleri, 2018). Günümüzde AGA tedavisinde kullanılan finasterit ve dutasterit, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibisyonu yaparak etki etmektedir. Ancak bu tür ilaçların çeşitli yan etkileri vardır. Bunlar; erektil disfonksiyon, anormal ejakülasyon, ejakülasyon volümünde azalma, şiddetli miyopati, kas gelişiminde bozukluk, testiküler ağrı, anormal seksüel disfonksiyon ve jinekomastidir. Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibitörleri yalnızca AGA

tedavisinde değil, ayrıca benign prostat hiperplazisi (BPH), prostat kanseri, ayrıca transseksüel kadınlar için hormon replasman tedavisi gibi durumlarda da kullanılır (Alzaid, 2023; G.-S. Choi ve diğerleri, 2022; Dallob ve diğerleri, 1994).



Şekil 2.3. Testosteron-5α-redüktaz tip-II tarafından DHT'a metabolizması (McEwan ve diğerleri, 2021).

Daha önce yapılan çalışmalarda, *Urtica dioica* Linn., *Caesalpinia bonducella* Fleming., *Tribulus terrestris* Linn., *Pedalium murex* Linn., *Sphaeranthus indicus* Linn., *Cuscuta reflexa* Roxb., *Citrullus colocynthis* Schrad., *Benincasa hispida* Cogn., *Phyllanthus niruri* Linn., *Echinops echinatus* Linn., *Ocimum basilicum* L., *Oryza sativa* L., *Polygonum multiflorum* Thunb., *Piper nigrum* L., *Piper cubeba* Bojer., *Carthamus tinctorius* L., *Phyllanthus emblica* L., *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz., *Carthamus tinctorius* L., *Cornus officinalis* Siebold and Zucc., *Cinnamomum verum* J.Presl., *Cuscuta reflexa* Roxb., *Panax ginseng* C.A.Mey., *Rosmarinus officinalis* L., *Thuja occidentalis* L., *Serenoa repens* (W.Bartram) Small., *Scutellaria baicalensis* Georgi., *Glycyrrhiza glabra* L., *Citrullus colocynthis* Schrad., *Equisetum debile* Roxb. ex Vaucher., *Phyllanthus emblica* L., *Pueraria thomsonii* Benth., *Pueraria thomsonii* Benth., *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi., *Polygonum multiflorum* (L) All., *Platyclusus orientalis* (L.) Franco ve *Quercus acutissima* Carruth. gibi bitkilerden hazırlanan ekstrelerin *in vitro* olarak testosteron-5α-redüktazı inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst ve *Cynomorium songaricum* Rupr. gibi makrofunguslardan hazırlanan ekstrelerin *in vitro* ve *in vivo* olarak testosteron-5α-redüktazı inhibe ettiği gösterilmiştir (Chaiyana ve diğerleri, 2017; Chittur ve diğerleri, 2011; Cho ve diğerleri, 2010; H.-M. Choi ve diğerleri, 2016; Dhanotia ve diğerleri, 2011; Fischer ve diğerleri, 2007; Hirata ve diğerleri, 2007; Karunasagara ve diğerleri, 2020; Koseki ve diğerleri, 2015; N. Kumar ve diğerleri, 2012; T.

Kumar ve diğeri, 2011; Murata, Noguchi, ve diğeri, 2012; Murata ve diğeri, 2013; Murata, Takeshita, ve diğeri, 2012; Nahata ve diğeri, 2014; W.-s. Park ve diğeri, 2003; Patel ve diğeri, 2014; Upadhyay ve diğeri, 2012; Zhang ve diğeri, 2016)

## 2.5. Saç Kılının Yapısı

Kıl, insan ve diğeri memeli canlıların vücudunda bulunan, ana bileşeni keratin proteini olan filamentlerdir. Keratin, kılların esnek ve dayanıklı olmasını sağlayan lifli protein yapısıdır. Kıllar deri altındaki kıl köklerinden çıkarak deri yüzeyine kadar uzanırlar. İnsanda kıllar “prenatal ve postnatal kıllar” olmak üzere 2’ye ayrılmaktadır. Embriyoda bulunan prenatal kıllara “lanugo” adı verilmektedir. Lanugo kıllar, ince, pigmentless, tüy görünümlü ve medullanın oluşmadığı kıllardır. Bu saçlar doğumdan sonra “vellus saçlara” evrilir. Vellus kıllar az pigmentli, medulasız ve kuvvetsiz yapıdadır. Ergenlik döneminde yükselen androjen hormonları nedeniyle, her iki cinsiyette belirli vücut bölgelerinde vellus saç foliküllerinin terminal saç foliküllerine dönüşümü görülür. Terminal kıllar ise, yoğun pigmentli, sert, kalın ve medulalı yapılardır. Kılın yapısı ve görevleri vücudun değişik bölgelerinde farklılık göstermektedir. Örneğin kafa da çıkan kıllar daha sert ve uzunken, vücudun diğeri bölgelerinde çıkan kıllar daha ince ve kısadır. Kılların insanın yaşamını etkileyecek bir fonksiyonu olmamakla birlikte, zararlı bileşiklerin depolanması veya vücudun doğrudan UV ışınlarına maruz kalmasını engelleyerek işlev göstermektedir. Kıl fiziksel koruma ve ısı yalıtımı gibi görevlere sahiptir. Saç foliküllerinin oluşumu, gebeliğin 9-12. haftasında başlar (Alves, 2017; Ralf Paus ve diğeri, 1999). Kılın yapısı, genetik faktörler, stres, yaşam tarzı, çevresel etmenler, beslenme tarzı ve hormonal denge gibi birçok faktörden etkilenebilir.

Kıl; kıl gövdesi ve kıl kökünden oluşmaktadır. Kıl kökü, deri yüzeyinden aşağıya doğru 3 bölümden oluşur. Bunlar sırasıyla, kıl kanalı, kıl matrisi ve dermal papilladır. Dermal papilla, kıl kökünün tabanında bulunan, kılın gelişimi için gerekli olan besin ve diğeri bileşikleri taşıyan damarlar ve sinirlerin bulunduğu kısımdır. Dermal papillanın hemen üstünde bulunan ve yeni kıl hücrelerinin oluştuğu kısım ise “kıl matrisi” olarak adlandırılır. Saç foliküllerinde bulunan dermal papilla hücreleri fibroblastlardan oluşmaktadır ve saç folikülü büyümesini, ayrıca saç döngüsünü de koordine eder. Kıl kanalı ise kılın cilt yüzeyine kadar uzanan ve keratin hücrelerinin üretildiği yerdir.

Kıl gövdesi dıştan içe doğru kütikula, korteks ve medulladan oluşmaktadır. Kütikula, korteksin etrafında 10-15 kat hücreden oluşan, kiremit görünümündeki yapıdır. Ayrıca, kıl liflerini dış etkenlere karşı korur ve kaygan bir yüzey sağlar. Kütikulanın altında bulunan ve kılın ana yapısal bileşenini oluşturan kısım ise kortekstir. Korteks, kılın dayanıklılığını sağlayan keratin liflerini ve disülfid bağlarını içeren orta katmandır. Saçın kütlesini oluşturup mekanik gücünü sağlayan kısımdır. Kortekste bulunan melanin granüllerinin sayısı, dağılımı ve türleri saçın rengini belirlemektedir. Medulla ise her kıl dokusunda bulunmayan korteksin merkezinde yer alan içi hava ile kaplı olan boş bir alandır. Bazen saç shaftında olmaz (A. M. Park ve diğerleri, 2018; Rossi ve diğerleri, 2016; Williams ve diğerleri, 2020).

### 2.5.1. Saç uzama döngüsü

Kılın büyüme döngüsü, “anajen, katajen, telojen ve ekzojen” olmak üzere 4 ana aşamadan oluşmaktadır. Kılın uzama döngüsü, genetik faktörler, stres, yaşam tarzı, çevresel etmenler, beslenme tarzı ve hormonal denge gibi faktörlerden etkilenebilmektedir. Bu döngü vücuttaki her kıl folikülünde sürekli olarak tekrarlanır ve böylece sağlıklı bir kılın oluşumu sağlanır. Vücutta bulunan her kıl, farklı bir aşamada bulunabilmektedir. Bu döngü, sağlıklı bir kıl oluşumu ve uzaması için önemli olup, kılların uzun süre boyunca sağlıklı kalmasını sağlamaktadır. Bir kişide bulunan kılların yaklaşık %80-90’ı anajen fazdadır ve her gün yaklaşık 100 folikül ekzojen fazda bulunur (Liu ve diğerleri, 2024). Saç döngüsü, büyüme faktörleri, nükleer reseptörler, sitokinler ve hücre iç sinyalleşme yolları dahil olmak üzere bir dizi moleküler sinyal tarafından kontrol edilir (Kidangazhiathmana ve diğerleri, 2022). Her insanın kafasında yaklaşık 100 bin saç folikülü mevcuttur (R Paus ve diğerleri, 2016).

#### Anajen (uzama) aşaması

Kılın oluşumu, kıl folikülünden başlar. Anajen aşaması ilk olarak kıl kökünde bulunan kıl foliküllerinin aktifleşmesi, uyarılması ile başlar. Kılın aktif olarak uzadığı aşamadır. Bu aşama kıl foliküllerinin hızlı bir şekilde bölünerek yeni kıl hücrelerini ürettiği proliferasyon fazıdır. Kök hücrelerin uyarılmasının ardından kıl folikülünün alt kısmı aşağı inerek dermal papilla çevresinde bir ampul oluşturur. Daha sonra dermal papilla, ampulün matris hücrelerine genişleyen, farklılaşan ve yükselen sinyaller göndererek yeni bir saç oluşturmaya başlar. Anajen aşaması, kafa derisinde çıkan kıllarda 2-7 yıl sürebilirken, vücudun diğer bölgelerinde çıkan kıllarda ise 2-6 ay sürmektedir. Bu süre boyunca kıl kökündeki hücreler

yeni kıl hücreleri üretir ve böylece kılın uzaması sağlanır. Bu aşama saçın uzunluğunu belirleyen aşamadır. Kılta bulunan yağ tabakası da anajen faz boyunca kalınlaşmaktadır. Kılların %80-90'ı bu evrede bulunmaktadır. Yaş ilerledikçe kıllardaki anajen faz süresi kısalmaktadır. Eğer anajen aşaması olması gerekenden kısa sürer ve hemen katajen faza geçiş başlarsa alopeziye neden olur (Liu ve diğerleri, 2024; Messenger, 2011; Schneider ve diğerleri, 2009; Tai ve diğerleri, 2020).

#### Katajen (geçiş) aşaması

Anajen aşama sonrasında, kıl kökü gelişiminin durduğu ve saç foliküllerinin apoptozu aracılığıyla gerilemenin başladığı en kısa aşamadır. Bu aşamada, kıl folikülleri küçülür ve kıl kökündeki hücre bölünmesi tamamen durur. Bu aşama 2-3 hafta sürmektedir. Kıl kökü, artık yeni kıl hücreleri üretmemektedir. Bu aşama, matriksteki hücre bölünmesinin durmasıyla sonuçlanır, bu da saç folikülünün alt kısmının gerilemesine ve alt kısmının kaybolmasına yol açar. Apoptoz yoluyla kıl folikülünün gerilemesi, çapının yaklaşık 1/6'sının kaybıyla sonuçlanır. Dermal papilla bir kez daha çıkıntıyla temas edecek şekilde ilerler. Saç patolojisinin teşhisi için önemli olan bu süreçte, ucunda beyaz, sağlam bir düğüm bulunan kulüp saç oluşumu vurgulanır. Birkaç saç kılı aynı anda büyüyüp sonra ayrıldığında, bu genellikle ölümcül olan incelmeye neden olabilir. Kılların %1-2'si bu evrede bulunmaktadır (Houschyar ve diğerleri, 2020; Liu ve diğerleri, 2024; Tai ve diğerleri, 2020).

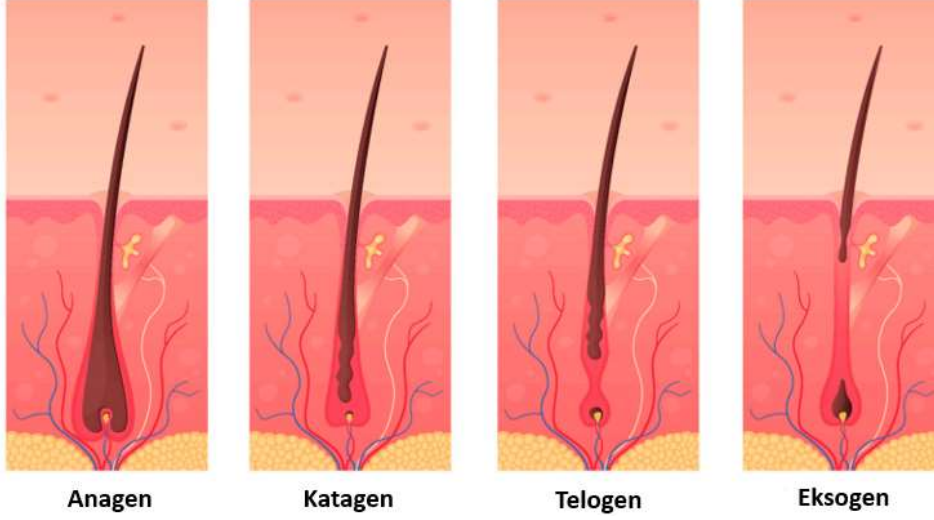
#### Telojen (dinlenme) aşaması

Kıl kökünün dinlediği, dökülmek için beklediği ve yeni kıl üretiminin durduğu aşamadır. Kıl folikülleri bu aşamada tamamen pasif durumdadır ve bu aşama 2-4 ay sürer. Kılların %5-15'i bu evrededir (Liu ve diğerleri, 2024; Tai ve diğerleri, 2020).

#### Ekzojen (dökülme) aşaması

Bazı kaynaklar ekzojen aşamasını ayrı bir aşama olarak değerlendirirken, bazı kaynaklar ise telojen aşamasının bir kısmı olarak değerlendirmektedir. Telojen aşamasından sonra, kıl foliküllerinden ayrılarak dökülen kılların saç derisinden ayrıldığı aşamadır. Böylece yeni kılların oluşumu için yer açılmaktadır. Günde yaklaşık 50-100 saç teli dökülmektedir. Yaş ilerledikçe kıllardaki ekzojen faz süresi uzamaktadır (Liu ve diğerleri, 2024; Messenger,

2011; Tai ve diğeri, 2020). Saç uzama aşamaları görsel olarak Şekil 2.4'de gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Saç uzama aşamaları (Grymowicz ve diğeri, 2020)

## 2.6. Oksidatif Stres ve AGA

Oksidatif stres, hücrelerdeki ROS ve serbest radikallerin ve antioksidan savunma sistemlerinin (enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar) dengesizliği sonucu ortaya çıkan bir durumdur. Normalde, hücrelerde gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda ROS'leri açığa çıkar ve bu reaktif moleküller, hücre işlevlerinin bir parçası olarak kontrol altında tutulur. Ancak, antioksidan savunma mekanizmaları tarafından dengelenemeyen aşırı ROS üretimi veya antioksidan eksikliği durumunda, hücrelerde oksidatif stres meydana gelir.

Oksidatif stres, hücrelerde lipitlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidasyonuna yol açabilir. Bu oksidasyon reaksiyonları, hücre zarları, enzimler ve genetik materyal olan DNA'nın hasar görmesine neden olabilir. Sonuç olarak, oksidatif stres hücre işlevlerini bozabilir ve çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol oynayabilir. Oksidatif stresin birçok kaynağı vardır. Bunlar arasında metabolik reaksiyonlar, iltihaplanma, çevresel toksinler, sigara içme, alkol tüketimi ve UV ışınları gibi dış etkenler yer alır. Bunlar hücrelerde ROS üretimini artırabilir ve antioksidan savunma mekanizmalarını zayıflatabilir.

Dermal papilla hücrelerinde artan oksidatif stres, saç gelişimini ve uzamasını engellemektedir. AGA'li bireylerde antioksidan savunma mekanizmalarının azaldığı

gözlemlenmiştir. Bu durum, hücrelerin oksidatif stresle başa çıkma yeteneğini zayıflatarak, saç dökülmesinin hızını artırabilir.

Oksidatif stresin saç dökülmesi üzerindeki etkisi, ROS'lerinin saç foliküllerine ve saç köklerine zarar vererek saç gelişimini etkilemesiyle ilgilidir. ROS'lerinin lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı gibi hücresel bileşenler üzerinde oluşturduğu zararlar, saç folikül hücrelerinin sağlığını ve fonksiyonlarını bozabilir. Ayrıca, oksidatif stresin saç dökülmesine katkıda bulunabileceği düşünülen başka bir mekanizma da oksidatif stresin iltihaplanma süreçlerini tetikleyerek veya bu süreçleri artırarak saç foliküllerinin fonksiyonlarını etkilemesidir. İltihaplanma, saç folikülleri ve saç köklerinde hasara yol açabilir ve saç dökülmesini hızlandırabilir. Bu nedenle, oksidatif stresin saç dökülmesi üzerindeki etkilerini anlamak ve önlemek için antioksidanlar gibi oksidatif stresi azaltıcı tedavilerin kullanılması önemlidir. Antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek ve oksidatif stresi azaltarak saç folikül hücrelerini koruyabilir ve saç dökülmesini önleyebilirler. AGA hastalarının saçlarındaki dermal papilla hücrelerinden alınan örnekler üzerinde yapılan bir çalışmada, CAT ve toplam glutatyon seviyelerinin vücudun diğer bölgelerinden alınan kılların dermal papilla hücrelerine nazaran daha düşük olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda iyi bir antioksidan olan askorbik asidin, dermal papilla hücrelerinin gelişimini uyardığı ve saç gelişimini pozitif yönde uyardığı gösterilmiştir (Sung ve diğerleri, 2006; Upton ve diğerleri, 2015). Ayrıca AGA hastalarının, plazmalarındaki MDA seviyeleri artmaktadır. Bu ise oksidatif stres sonucunda lipid peroksidasyonun arttığını gösteren bir belirteç olarak değerlendirilmektedir (Sung ve diğerleri, 2006). EGCG yeşil çay içerisinde bulunan en önemli polifenollerden biridir. EGCG'nin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz üzerindeki inhibe edici etkisinden dolayı AGA tedavisinde etki gösterebileceğini gösterilmiştir (Hiipakka ve diğerleri, 2002). Bu çalışmadan hareketle ve ECGC'nin antioksidan aktivitesinin bilinmesinden dolayı, saç folikülleri üzerinde gerçekleştirilmiş *ex vivo* bir çalışmada ECGC saç foliküllerinin gelişimini tetiklemiştir. Aynı çalışmada, EGCG kültüre alınmış olan dermal papilla hücrelerinin proliferasyonunu artırmıştır (Kwon ve diğerleri, 2007). Oksidatif stres, saçın gelişimini ve yenilenmesini sağlayan saç folikül hücrelerine ve bu folikülleri besleyen damarlara zarar verebilir. Hasar gören folikül hücreleri, saç gelişimi döngüsünde sorunlara neden olabilir ve bu da saç dökülmesine yol açabilir. Bu, saçın beslenmesinin azalmasına ve saçın zayıflamasına ve dolayısıyla saç dökülmesine katkıda bulunabilir. Aynı zamanda, oksidatif stres, saç derisindeki kök hücrelerin hızlı yaşlanmasına neden olabilir. Bu, saçların oluşumunda azalmaya ve saçın erken dökülmesine yol açabilir. Oksidatif stres, saç

derisindeki enflamasyonu artırabilen bir faktördür. Kronik enflamasyon, saç foliküllerini tahrip ederek, saç dökülmesine neden olabilir. Saç liflerinin yapısını ve elastikiyetini olumsuz etkileyebilir. Bu durum da saçın kırılğan hale gelmesine ve kolayca kırılmasına neden olarak, böylece saç dökülmesini artırabilir. Bu bulgular, oksidatif stresin AGA'nin gelişiminde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, antioksidanlar gibi oksidatif stresi azaltıcı uygulamaların AGA tedavisinde faydalı olabileceği düşünülmektedir.

## **2.7. Enflamasyon, LOX ve AGA**

Enflamasyon, vücudun zararlı etkenlere karşı doğal bir savunma mekanizması olarak tepki verdiği, genellikle kısa süreli ve iyileştirici, ancak kompleks bir biyolojik süreçtir. Bu durum dokuları korur ve iyileşmeyi teşvik eder. Ancak, kronik enflamasyon durumunda, vücut sürekli olarak iltihaplanmış haldedir. Saç derisinde ve çevresinde görülen enflamasyon nedeniyle de saç dökülmesi gözlenmektedir.

AGA, enflamatuvar bir hastalık olarak kabul edilmese de, gerçekleştirilen histopatolojik çalışmaya göre, saç foliküllerinin 1/3'ünde perifoliküler enflamasyon gözlenmiştir (Aslani ve diğerleri, 2009). Bu sebeple AGA'nin patolojisinde enflamasyonun rol oynadığı da düşünülebilir. Ayrıca oksidatif stresin de enflamasyon ile yakından ilişkisi bulunmaktadır.

AGA, saç dökülmesinin en yaygın nedenlerinden biridir ve genetik yatkınlık ile androjen hormonları arasındaki etkileşimin sonucunda ortaya çıkar. Ancak, son araştırmalar, enflamasyonun da AGA'nin patogeneğinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. AGA'de, saç foliküllerinin çevresindeki deri bölgesindeki enflamasyonun rol oynadığına dair kanıtlar bulunmuştur. Bu enflamasyon, saç foliküllerinin küçülmesine ve minyatürizasyonuna ve sonuç olarak saçların incelmeye ve dökülmesine neden olabilir.

Özellikle, saç derisindeki enflamasyon, folikül hücrelerini ve saç büyüme döngüsünü etkileyen sitokinlerin (enflamatuvar sinyal molekülleri) salınımını artırabilir. Ayrıca, enflamasyon, saç foliküllerindeki kan dolaşımını ve beslenmeyi olumsuz etkilediğinden, saç dökülmesini tetikleyebilir.

Bununla birlikte, AGA'de enflamasyonun kesin rolü hala tam olarak anlaşılmamıştır ve araştırmacılar tarafından daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Ancak, bazı araştırmalar, anti-

enflamatuvar tedavilerin AGA'nin ilerlemesini yavaşlatabileceğini ve saç dökülmesini azaltabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, saç dökülmesi tedavisi için anti-enflamatuvar yöntemlerin de kullanılması, enflamasyonun saç dökülmesindeki rolünün anlaşılmasına yardımcı olabilir ve tedavi seçeneklerini çeşitlendirebilir.

AGA'nin patogenezi, saç folikülü mikroçevresinde enflamatuvar süreçlerin arttığına dair kanıtlarla desteklenmektedir. LOX enzimleri, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksijenlenmesi yoluyla lipoksinlerin sentezinden sorumlu bir enzim ailesidir. Bu enzimler, araşidonik asit ve linoleik asit gibi önemli çoklu doymamış yağ asitlerini metabolize ederek, vücutta enflamasyon süreçlerinde kritik roller oynayan çeşitli biyoaktif lipid mediyatörlerinin üretimini sağlarlar. LOX enzimlerinin aktivasyonu ve ürettikleri mediyatörler, astım, romatoid artrit, kanser ve ateroskleroz gibi çeşitli enflamatuvar hastalıkların patogeneziinde önemli bir rol oynar. LOX enzimleri tarafından üretilen lipid mediyatörler, bu süreçlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. LOX yoluyla üretilen lökotrienler gibi enflamatuvar lipid mediyatörlerin, saç foliküllerinde enflamasyonu tetikleyerek AGA'nin ilerlemesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, LOX yolu ve mediyatörlerini hedef alan farmakoterapiler, enflamatuvar hastalıkların tedavisinde önemli stratejiler arasında değerlendirilmektedir. Özellikle, 5-LOX yolunu inhibe eden ilaçlar ve lökotrien reseptör antagonistleri, bu hastalıkların yönetiminde kullanılan önemli terapötik ajanlardır. Araştırmalar, LOX enzimlerinin aktivitesini inhibe eden ajanların AGA üzerinde de olumlu etkiler gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Bu inhibitörler, enflamatuvar yanıtı azaltarak ve saç folikülü mikroçevresini iyileştirerek saç dökülmesini yavaşlatabilir veya önleyebilir. LOX enzimlerinin katalize ettiği reaksiyonlar sonucunda oluşan lipid peroksidasyonu ürünleri, oksidatif stresi artırabilir ve saç folikülü hasarına neden olabilir. Bu durum, AGA'nin patogeneziyle doğrudan ilişkilendirilebilir. Mevcut bulgular, bu enzimlerin ve yollarının saç dökülmesi üzerindeki etkilerini anlamak için bir temel sağlamaktadır; ancak, bu ilişkinin tam mekanizması hâlâ yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. LOX enzimlerine yönelik terapötik seçeneklerin AGA tedavisinde umut vaat eden sonuçlar sunabileceği, bu enzimlerin ve etkileşim yollarının detaylı incelenmesinin önemini vurgulamaktadır.

## LOX enzimlerinin enflamasyon süreçlerindeki rolü

### *Lipit mediyatörlerin üretimi*

LOX enzimlerinin en önemli fonksiyonlarından biri, enflamasyon süreçlerinin temelini oluşturan lipit mediyatörlerin üretimini katalize etmektedir. Özellikle, 5-LOX enzimi, araşidonik asidi metabolize ederek lökotrienler gibi pro-enflamatuvar mediyatörlerin üretimini gerçekleştirir. Bu lökotrienler, alerjik reaksiyonlar ve astım gibi enflamatuvar hastalıkların patogeneğinde önemli bir yere sahiptir.

### *Enflamasyonun modülasyonu*

LOX enzimleri tarafından üretilen mediyatörler, enflamatuvar yanıtların modülasyonunda kritik roller üstlenirler. Bu mediyatörler, enflamatuvar hücrelerin göçü, damar geçirgenliği ve enflamasyonun şiddeti gibi faktörleri düzenleyerek, enflamatuvar sürecin gelişimine doğrudan etki ederler. Bu bağlamda, kronik enflamasyon ve otoimmün hastalıkların yönetiminde LOX enzimlerinin modülasyonu, potansiyel terapötik hedefler arasında yer almaktadır.

### *Hüresel ve doku tepkileri*

LOX enzimleri tarafından üretilen lipit mediyatörler, hücreler arası adhezyonun artışı, enflamatuvar mediyatörlerin serbest bırakılması ve hücrelerin göçü gibi çeşitli hüresel ve dokusal tepkilere yol açar. Bu tepkiler, enflamasyonun başlaması, sürdürülmesi ve sonlandırılmasında temel mekanizmaları oluşturur (R. Baydar ve diğerleri, 2024; Lončarić ve diğerleri, 2021; Trüeb, 2002; Wisastra ve diğerleri, 2014).

## **2.8. Tezde Aktivite Ön Taraması İçin Seçilen Bitkiler Hakkında Genel Bilgiler**

Tez çalışmalarımız kapsamında araştırılan bitkiler ile bu bitkilerin bazılarında elde edilen uçucu yağlar, halk arasında saç dökülmesini önleyici ve saç çıkarıcı etkisi olduğuna dair etnofarmakolojik kayıtların bulunması, fenolik içeriklerinin yüksek olması, bazılarının halihazırda bulunan saç bakımı ile ilgili olan kozmetik ürünlerde sıklıkla bulunmaları gibi özellikler dikkate alınarak taramaya dahil edilmişlerdir.

Taramada kullanılan bitkiler ve seçilme nedenleri Çizelge 2.2.'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Aktivite taramasında kullanılan bitkiler ve seçilme nedenleri

| <b>Bitkilerin Latince ve Türkçe isimleri</b>                  | <b>Seçilme Nedeni</b>   |
|---|---|
| <i>Lavandula stoechas</i> L.<br>(Karabaş otu)                 | Başka bir türünden elde edilen uçucu yağın, halk tarafından saç dökülmesine karşı kullanıldığı bildirilmiştir (Zgonc Škulj ve diğerleri, 2020). Başka bir türünün halk arasında saç dökülmesine karşı kullanıldığı bildirilmiştir (Neves ve diğerleri, 2009; Pundkar ve diğerleri, 2020).   |
| <i>Lavandula × intermedia</i> Emeric ex Loisel.<br>(Lavandin) | Başka bir türünden elde edilen uçucu yağın, halk tarafından saç dökülmesine karşı kullanıldığı bildirilmiştir (Zgonc Škulj ve diğerleri, 2020). Başka bir türünün halk arasında saç dökülmesine karşı kullanıldığı bildirilmiştir (Neves ve diğerleri, 2009; Pundkar ve diğerleri, 2020).   |
| <i>Corylus avellana</i> L.<br>(Fındık)                        | Dünyanın çeşitli yerlerinde gerçekleştirilen etnofarmakolojik çalışmalarda, halkın saç dökülmesine karşı kullandığı bildirilmiştir (Rashid ve diğerleri, 2020).   |
| <i>Urtica dioica</i> L.<br>(Isırgan otu)                      | Türkiye’de ve dünyanın çeşitli yerlerinde gerçekleştirilen etnofarmakolojik çalışmalarda, halkın saç dökülmesine karşı kullandığı bildirilmiştir (Bouasla ve diğerleri, 2017; Bulut ve diğerleri, 2017; Kaushik ve diğerleri, 2011; Neves ve diğerleri, 2009; Pieroni ve diğerleri, 2004; Polat, 2019; Rashid ve diğerleri, 2020; Uzun ve diğerleri, 2016; Yeşilyurt ve diğerleri, 2017). Saç sağlığı için kullanılan kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır. Bu tür üzerinde yapılmış benzer çalışmalar bulunmaktadır (Prager ve diğerleri, 2002; Türkoğlu ve diğerleri, 2017). |

Çizelge 2.2. (devam) Aktivite taramasında kullanılan bitkiler ve seçilme nedenleri

| Bitkilerin Latince ve Türkçe isimleri         | Seçilme Nedeni  |
|---|---|
| <i>Urtica urens</i> L.<br>(Küçük ısırgan otu) | Türkiye’de gerçekleştirilen etnofarmakolojik bir çalışmada, farklı bir türünün halk tarafından saç dökülmesine karşı kullanıldığı bildirilmiştir (Polat, 2019). Bu tür ve başka bir türü üzerinde yapılmış benzer çalışmalar bulunmaktadır (Türkoğlu ve diğerleri, 2017) (Bouasla ve diğerleri, 2017; Neves ve diğerleri, 2009; Pieroni ve diğerleri, 2004; Prager ve diğerleri, 2002; Rashid ve diğerleri, 2020).  |
| <i>Juglans regia</i> L.<br>(Ceviz)            | Türkiye’de ve dünyanın çeşitli yerlerinde gerçekleştirilen etnofarmakolojik çalışmalarda, halkın saç dökülmesine karşı kullandığı bildirilmiştir (Bouasla ve diğerleri, 2017; Karakaya ve diğerleri, 2020; Pieroni ve diğerleri, 2004; Polat, 2019; Pundkar ve diğerleri, 2020). Bu türün saç dökülmesi üzerine etkilerini belirlemek için yapılmış çalışmalar mevcuttur. Saç dökülmesinde gıda takviyesi olarak kullanımı vardır (Kaushik ve diğerleri, 2011). |

Bitkilerin toplanma veya temin edilme yerlerine ait bilgiler “Gereç” bölümünde yer almaktadır. Deneysel sonuçlarımıza dayanarak, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimini inhibe eden *Lavandula stoechas* L. ve *Lavandula*  $\times$  *intermedia* Emeric ex Loisel. bitkileri üzerinden aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama (AYF) işlemine gidilmiştir.

## 2.9. AYF’da Kullanılan Bitki Türlerine Ait Botanik Bilgiler

### 2.9.1. Lamiaceae

Lamiaceae (önceki adıyla Labiatae) familyası, Lamiales takımının en büyük familyası olup, yaklaşık 236 cins ve takribi 7000 türle dünya çapında en yüksek yayılım gösteren familyalarından biridir. Bu familyadaki en büyük cinsler arasında *Salvia* (900), *Scutellaria* (360), *Stachys* (300), *Plectranthus* (300), *Hyptis* (280), *Teucrium* (250), *Vitex* (250), *Thymus*

(220) ve *Nepeta* (200) bulunmaktadır (Tamokou ve diğeri, 2017). Bu familyaya ait bitkiler, çeşitli iklim ve coğrafi bölgelerde bulunabilirler. Genellikle ılıman iklimlerde daha yaygın olarak görülse de sıcak iklimlerde de yetişebilirler. Özellikle Asya, Avrupa ve Kuzey Afrika gibi bölgelerde, kuru, ılıman ve subtropikal iklim koşullarında sıklıkla bulunurlar. Bununla birlikte, bazı türler tropikal bölgelerde de yetişebilir. Ülkemizde ise bu familyaya ait türlerin çoğu Akdeniz bölgesi ve çevresinde yetişmektedir. Lamiaceae familyası, Türkiye’de bulunan en büyük 3. familyadır ve Türkiye florasında 45 cins, 565 tür ve 735 takson içermektedir. Ayrıca, Türkiye’de endemik tür sayısı en fazla olan familyalardan biri olup, ülkemize özgü olan 256 endemik tür içerdiği ve %45 endemizm oranına sahip olduğu bildirilmiştir (Başer ve diğeri, 2018). Lamiaceae familyasına ait bitkiler, aromatik olmalarından dolayı kadim zamanlardan beri halk hekimliğinde basit hastalıkların tedavisinde, baharat olarak veya dekoratif amaçlı kullanılmıştır. Hatta M.S. 50 ile 70’li yıllar arasında Roma ordusunda görev yapan doktor olan Dioscorides’in “Materia Medica” isimli eserinde Lamiaceae familyasına ait yaklaşık 40 adet bitki bulunmaktadır. Bu bitkilerin birçoğu uçucu yağ taşımakta olup, aromaterapi, masaj yağları, parfümler ve kozmetik ürünlerde de halen kullanılmaktadır (Başer ve diğeri, 2018). Lamiaceae familyasına ait bitkilerin çoğu çok yıllık veya tek yıllık otlar, otsu bitkiler, çalılar veya ağaçlardır. Bu familyaya ait bitkilerin en belirgin özelliği uçucu yağ bakımından zengin olmalarıdır (Watson ve diğeri, 1999).

Lamiaceae familyasına ait tıbbi bitkilerin antioksidan, antispazmodik, sedatif, antimikrobiyal, anti-enflamatuvar, antiviral, anksiyolitik, antiseptik, tonik, analjezik, antipiretik, antiparazitik, antialerjik, vs. gibi pek çok biyolojik aktivitesi bildirilmiştir (Ramos da Silva ve diğeri, 2021). Lamiaceae familyası bitkilerinin belirgin morfolojik özelliklerinden birisi; bu bitkilerin gövdeleri ve dallarının genellikle 4 köşeli olmasıdır. Bu köşelerde sertleşmiş kollenkima dokusu bulunmaktadır. Lamiaceae familyasına ait bitkilerin yaprakları incelendiğinde, genellikle basit, bazen bileşik yapraklar gözlenmektedir. Yapraklar genellikle karşılıklı bazen de dairesel dizilişli ve stipulasızdır. Yapraklar genellikle oval veya mızrak şeklindedir. Yaprakların kenarı genellikle dişlidir ve uçucu yağ taşıyan ve salgılayan bezler bulundurur. Yaprakların iki yüzü de genellikle uçucu yağ bakımından zengin salgı tüyleri bulundurur. Bu tüylerde bulunan uçucu yağlar nedeniyle güçlü bir aromaya sahiptirler. Lamiaceae familyasına ait bitkilerin çiçekleri genellikle hermafrodit (erdişi) ve bazen erkek-sterildir (fonksiyonel olarak dişi). Yaprakların veya braktelerin altında sık kümeler halinde yer alan çiçekler sıklıkla başak, salkım veya kümesel olarak

düzenlenmiş çemberler oluşturur. Çiçeğin merkezinden genellikle zigomorf olan yalnızca bir simetri ekseni geçebilmektedir. Çiçek durumu panikula, kapitulum, korimbus veya simoz olabilmektedir. Çiçeklerin yapısı bu familya için oldukça spesifik olan bilabiat (iki dudaklı), şeklindedir. Zira familyanın ismi de bilabiat çiçek yapısından gelmektedir. Bu çiçeklerde renkli korolla tüpleri iki ayrı parçaya ayrılmış dudak şeklindedir. Bitkiler belirgin sepallere (çanak yaprak) ve petallere (taç yapraklara) sahiptir. Kaliks birleşmiş 5 sepalden oluşur, ancak bazen iki dudaklı olduğu durumlar da vardır. Korolla ise, 2'si üst dudak, 3'ü alt dudak olmak üzere 5 adet petalden oluşur. Petallerin birleşik olduğu bu duruma "simpetal" ismi de verilir. Bunlar bir tüp oluşturacak şekilde birleşiktir. Bazı durumlarda üst dudak körelmiştir. Stamenler korollaya bağlı şekilde genellikle 4 adettir ve 2'si uzun 2'si kısa olan didinam durumundadır. Genellikle stamenlerin arka çifti, ön çifte göre daha kısadır. Bazı türlerde stamen sayısı 2'dir. Ovaryum üst durumlu ve 2 karpellidir. Olgunlaştığında 4 loplu şekilde görünür. Ovaryumda 1 adet pistil bulunmaktadır. Ovaryum loplari arasında yükselen tek bir stilus vardır. Bu stilus ginobazik olmakla birlikte, bazen üstte kısa bifid olabilmektedir. Meyve bu familyaya spesifik olarak olgunlaştığında 4 nuksa ayrılan kuru (nadiren etli) tek tohumlu bir şizokarpıdır (Davis ve diğerleri, 1982; Lis-Balchin, 2002; Seçmen ve diğerleri, 2008).

### **2.9.2. *Lavandula* cinsi**

- Alem: Plantae
- Alt Alem: Tracheophyta
- Bölüm: Magnoliophyta
- Sınıf: Magnoliopsida
- Alt Sınıf: Asteridae
- Takım: Lamiales
- Familya: Lamiaceae
- Genus: *Lavandula*

*Lavandula* cinsi, Lamiaceae familyasında 60-70 farklı tür ile temsil edilmektedir. Bu türler, çoğunlukla ılıman iklimlerde bulunan çalı ve otsu bitkilerden oluşur. Estetik ve ticari açıdan yüksek değere sahip, aromatik çiçeklere sahip çok yıllık ve odunsu bitkilerin bulunduğu bir cinstir. Karakteristik bilabiat çiçekleri ve dikenli yaprakları olmayan yapıları ile dikkat çekerler. Çiçekleri, genellikle mavi, mor veya pembe renklerde ve uzun, silindirik kümeler

halinde yer alır. *Lavandula* bireyleri, ortalama 30-60 cm yüksekliğe ulaşabilen, odunsu gövdeleri ve dik, ince dallarıyla karakterize edilir. Karşılıklı konumlanmış, basit ve tüylü yaprakları vardır. Kök sistemi, genellikle yüzeyde geniş bir alana yayılarak, suyu etkili bir şekilde absorbe eder. Bu morfolojik özellikler, *Lavandula* türlerinin adaptasyon kabiliyeti ve çevresel faktörlere olan direncini artırır. *Lavandula* türleri, Akdeniz havzası ve Ortadoğu gibi ılıman iklimlerde yaygındır, ancak bazıları tropikal ve subtropikal bölgelerde de bulunabilir. Kurak ve güneşli ortamları tercih eder ve genellikle kireçli ve iyi drene edilmiş topraklarda gelişirler. *Lavandula* cinsine ait bitkiler, antik çağlardan beri süs bitkisi olarak, parfümeri, aromaterapi ve mutfakta kullanılmaktadır. Estetik güzelliğinin yanı sıra, uçucu yağları nedeniyle ticari olarak da büyük bir öneme sahiptir. Bu bitkiler, özellikle uçucu yağları sayesinde endüstriyel ve tıbbi alanda geniş bir kullanım alanına sahiptir. Uçucu yağları, parfümeriden sabun yapımına, aromaterapiden tıbbi ürünlere kadar geniş bir yelpazede değerlendirilir. Fransa, Bulgaristan ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD) gibi ülkelerde ekonomik açıdan önemli miktarda lavanta tarımı yapılmaktadır. Lavanta ürünleri, küresel pazarda talep gören ve ekonomik değeri yüksek ürünler arasında yer alır. Lavanta tarımının ekonomiye katkısı, sadece uçucu yağ üretimi ile sınırlı değildir. Turizm sektöründe, özellikle lavanta tarlalarının yoğun olduğu bölgelerde, bu güzel çiçeklerin çekiciliğinden faydalanılır.

*Lavandula* cinsinin çeşitli türleri arasında özellikle dikkat çekenler şunlardır:

*Lavandula angustifolia* Mill. (İngiliz lavantası): Bu tür, en bilinen ve yaygın olarak yetiştirilen lavanta türüdür. Hoş kokusu ve çok yönlü kullanım alanları sayesinde popülerdir. İngiliz lavantası, çiçek buketlerinden uçucu yağ üretimine kadar geniş bir kullanım yelpazesine sahiptir.

*Lavandula stoechas* L. (Karabaş otu): Bu tür, mor renkli çiçek başları ve karakteristik güçlü kokusuyla tanınır. Özellikle kuru ve sıcak iklimleri tercih eder, bu sebeple Akdeniz ikliminde bolca bulunur.

*Lavandula x intermedia* Emeric. ex Loisel. (Melez lavanta): *L. angustifolia* ve *L. latifolia*'nın doğal melezleşmesi sonucu ortaya çıkan bu grup, genellikle "melez lavanta" olarak bilinir. Hem estetik değeri yüksek çiçekleri hem de uçucu yağ üretiminde kullanılması nedeniyle önemli bir türdür (Contreras ve diğerleri, 2018; Şahinler ve diğerleri, 2022).

*Lavandula* cinsinin tayin anahtarı şu şekildedir (Lis-Balchin, 2002).

### Bölüm Tayin Anahtarı

1. Salkımlar 3-9 çiçeklidir; nutletler yalnızca bazal bir iz ile ..... 2  
 Salkımlar tek çiçeklidir; nutletler yan izli..... 4
2. Yapraklar ve çanak yapraklar sessiz, stigma kapitat ..... Bölüm *Stoechas*  
 Yapraklar ve çanak yapraklar kısa saplıdır, stigma iki lopludur ..... 3
3. Yapraklar düzenli sığ kesiklere sahiptir, taç yaprağı lobları yaklaşık olarak aynı boyuttadır, taç tüpü çanak yapraktan hemen çıkar, çanak yaprağın eki çanak yaprağın yaklaşık 1.5 genişliğindedir ..... Bölüm *Dentatae*  
 Yapraklar basit ve bütündür, taç yaprakları boyutları bakımından farklıdır, taç tüpü çanak yaprağın yaklaşık 2 katı uzunluğundadır, çanak yaprağın eki çanak yaprağın genişliği ile aynıdır ..... Bölüm *Lavandula*
4. Yapraklar oval-lanset şeklinde dış hatlara sahip, kesikli veya loblu; çanak yaprak zigomorf (iki taraflı simetrik); taç mor mavi veya beyaz, kuvvetli zigomorf ..... 5  
 Yapraklar lineer ve basit, çanak düzenli ve tüm loblar eşit; taç sarı ..... *L. atriplicifolia*  
 eşit loblu, yıldız şeklinde, kahverengi renkte..... *L. erythraeae*
5. Salkımlar ve brakteler karşılıklı ve çapraz bir düzende düzenlenmiş, çiçek durumu başak, şekli dört sıralı (kare) veya iki sıralıdır ..... Bölüm *Pterostoechas*  
 Salkımlar ve brakteler sıralı bir biçimde düzenlenmiştir. Başak silindirik veya baş benzeri (kafalı) şekildedir ..... 6
6. Başak uzun, yapraklar tüysü veya iki kez parçalanmış, brakteler oval dikenlidir ..... 7

Başak baş benzeri, yapraklar loblu, brakteler dairesel kanatlıdır ..... *L. hasikensis*

7. Yapraklar genellikle tüysü veya iki kez parçalıdır, bodur çalılar, fındıkların yan izi fındık uzunluğunun yaklaşık 0,25'idir. Alt taç dudak yan taç loblarının yaklaşık aynı büyüklüktedir ..... Bölüm *Subnudae*

Yapraklar çok belirgin şekilde iki kez parçalıdır, bitki otsudur, nutletler yan izi fındık uzunluğunun yaklaşık 0,75'idir. Alt taç dudak yan loblardan daha büyüktür ..... Bölüm *Chaetostachys*

### Türler ve Önemli Melezler için Tayin Anahtarı

1. Çiçekleri saran brakteler oval rombik (baklava şeklinde) ..... 2

Çiçekleri saran brakteler lineer ile lineer-mızraksı şekildedir ..... 4

2. Brakteler en az 2 katı kadar geniş, brakteoller minik (açıkça görünmeyen) .....  
..... *L. angustifolia*

Brakteler genişliklerinin yaklaşık olarak 3 katı kadar uzun, brakteoller büyük 1-4 mm... 3

3. Çiçek sapları genellikle dallanmamış, çiçekler derin mor/mürdüm renkte, yaprakları gri tonlarından gümüş rengine kadar yünüksü bir örtüye sahiptir. ....  
..... *L. angustifolia* - *L. lanata*

Çiçek sapları dallı, mor, leylak, mavi veya beyaz tonlarında, yapraklar yünüksü olmayan gri tonlarından gümüş rengine kadar bir örtüye sahiptir. .... *L. × intermedia*

4. Çanak 8 sinirli ve 8 dişlidir. Yapraklar homojen yoğun beyaz yünüksü bir örtüye sahiptir....  
..... *L. lanata*

Çanak 13 sinirli ve 5 dişlidir. Yapraklar gümüş gri bir örtüye sahiptir. .... *L. latifolia*

### ***Lavandula stoechas* L.**

*L. stoechas*, özellikle Akdeniz bölgesi ve Kuzey Afrika bölgeleri olmak üzere oldukça yaygın bir alana yayılım göstermektedir. Esasen Akdeniz bölgesi bitkisi olmasına rağmen, günümüzde kültürü yapılmakta ve dünyanın hemen her yerinde yetiştirilmektedir. Toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ, antik çağlardan beri farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Bunlara başlıca örnekler olarak, insektisit, antiromatizmal, antimikrobiyal ve sedatif etki için kullanımları verilebilir. Ülkemizde doğal olarak 2 alt türü yetişmektedir. Bunlar *L. stoechas* subsp. *stoechas* ve *L. pedunculata* subsp. *cariensis* 'dir (TÜBİVES). Bu iki alt tür çiçek durumu sapının boyuna göre iki alt türe ayrılmaktadır. Çiçek durumunun sapı 0,5-2,5 cm, spikadan daha kısa, üst brakteleri 7-17 x 3-8 mm ebatlarında ve obovattır. Kaliks apendajları tam ise bu alttür *stoechas*'dir. Eğer çiçek durumunun sapı 5-20 cm, spikadan daha uzun, üst brakteleri (7)13-30 x 2-5(-6) mm, dar oblong, kaliks apendajları sık undulat ve loplulu ise alt tür *cariensis* olarak kabul edilmektedir. *L. stoechas*, Türkiye'nin özellikle Akdeniz ve Ege sahillerinde yoğun olarak yetişir. Bu bölgeler, lavantanın ihtiyaç duyduğu kuru ve sıcak iklim koşullarına sahiptir. Akdeniz Bölgesinde; Antalya, Mersin ve Muğla gibi illerde doğal olarak yetişir. Bu alanlar, lavantanın doğal habitatu olan kıyı şeridinde ve iç kesimlerdeki dağlık alanlarda yoğunlaşmıştır. Ege bölgesinde; İzmir, Aydın ve Muğla illeri, lavantanın başlıca yayılış alanlarıdır. Bu bölgeler, özellikle kıyı kesimlerinde ve yüksek rakımlı alanlarda lavantanın doğal olarak yetiştiği yerlerdir. İzmir'de "karabaş, kekik ve tuzla kekiği" adları ile bilinmektedir. Ayrıca, bitkinin çiçeklerinin özgün şekli ve rengi nedeniyle bazen "kuşdili", mor çiçeklere sahip olduğu için "mor kekik" adıyla da anılmaktadır (Miraj, 2016; Oraloğlu, 2018).

*L. stoechas* (karabaş otu, gargan ve keşişotu karabaş) eski zamanlardan beri Anadolu topraklarında çeşitli isimler altında halk hekimliğinde kullanılır. Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde gerek kurutulmuş çiçeklerinden gerekse toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağlar halk arasında geleneksel olarak kullanılmaktadır.

Karabaş otunun uçucu yağları, içerdiği kâfur, fenkon, borneol, terpineol, 1,8-sineol gibi bileşikler sayesinde, ağrı kesici, antiseptik, yara iyileştirici, sakinleştirici, balgam söktürücü, idrar yolları iltihaplarını giderici, egzama iyileştirici, sinir ve kalp güçlendirici gibi çok çeşitli etkilere sahiptir. Bu etkileri sayesinde uçucu yağı hem Osmanlı İmparatorluğu döneminde hem de günümüzde değerli bir aromaterapötik olarak kabul edilmektedir.

Osmanlı İmparatorluğu zamanında 1848 tarihli bir padişah fermanı, kolera hastalığının tedavisinde karabaş otunun kullanılmasını ve satışının yapılmasını emretmiştir. Karabaş otunun çiçekleri ve yapraklarından elde edilen uçucu yağ, parfümeri sanayisi ve eczacılıkta değerlendirilir. Bu bitkinin çeşitli kullanım şekilleri arasında, çay olarak tüketimi, nezle tedavisinde tütsü olarak kullanımı, şeker hastaları tarafından tıbbi çayı olarak tüketimi, idrar arttırıcı ve romatizmal ağrıları dindirici olarak kullanımı gibi yöntemler bulunur. Ayrıca, mide ağrısı, baş ağrısı, yoksunluk sendromu, yanık yaralanmaları ve balgam söktürücü gibi rahatsızlıklar için de kullanılır. Edremit'te (Balıkesir) karabaş otunun çiçekli dalları infüzyon şeklinde karın ağrısı, baş ağrısı, kolesterol, antihipertansif ve damar tıkanıklıklarında kullanıldığı bildirilmiştir. Karabaş otu, analjezik, antimikrobiyal, sakinleştirici, idrar yolları iltihaplarını giderici, kalp güçlendirici ve damar sertliğinde damar tıkanıklığı giderici olarak kullanılmaktadır. Anadolu'da sinüzit tedavisinde de kullanılmaktadır (El Omari ve diğerleri, 2023; Oraloğlu, 2018; Şahinler ve diğerleri, 2022).

*L. stoechas* "Akdeniz lavantası" olarak da bilinir. Türkiye'de özellikle Akdeniz, Ege ve Güney Marmara bölgelerinde doğal olarak yetişen bir bitki türüdür (Şekil 2.5.). Çiçeklerinde, %1-3 arasında değişen bir oranda uçucu yağ bulunur ve genellikle renksiz veya hafif sarıdır. Uçucu yağın başlıca bileşenleri arasında kâfur, fenkon, borneol, terpineol ve sineol gibi bileşikler yer alır. Türkiye'de yetişen *L. stoechas* örneklerinin uçucu yağı, özellikle yüksek oranda %30 kâfur ve %18 fenkon içermesiyle dikkat çekmektedir. Bu nedenle, bitkinin uçucu yağı Avrupa'da bulunan diğer lavanta türlerinden farklı bir kimyasal profile sahiptir. Avrupa'daki türlerin aksine, Türkiye'deki *L. stoechas* örnekleri oksijenli monoterpence zengin (%46,19-92,93) olup, linalol yerine kâfur kaynağı olarak değerlendirilir (Başer ve diğerleri, 2018; Carrasco ve diğerleri, 2015; Miraj, 2016).



Harita 2.1. *Lavandula stoechas* L. Türkiye'deki genel yayılışı (www.floranatolica.com)

*L. stoechas*'ın sinonimleri ise Plant List'e göre; *Lavandula approximata* Gand., *Lavandula corsica* Gand., *Lavandula debeauxii* Gand., *Lavandula fascicularis* Gand., *Lavandula incana* Salisb., *Lavandula olbiensis* Gand., *Lavandula stoechadensis* St.-Lag., *Lavandula stoechas* var. *brachystachya* Ging., *Lavandula stoechas* var. *brevibracteolata* Sennen, *Lavandula stoechas* subsp. *caesia* Borja and Rivas Goday, *Lavandula stoechas* var. *heterophylla* Sennen, *Lavandula stoechas* f. *leucantha* (Ging.) Upson and S.Andrews, *Lavandula stoechas* var. *leucantha* Ging., *Lavandula stoechas* var. *macrostachya* Ging., *Lavandula stoechas* f. *macrostachya* Font Quer, *Lavandula stoechas* f. *microstachya* Font Quer, *Lavandula stoechas* f. *parvibracteata* Sennen, *Lavandula stoechas* var. *platyloba* Briq., *Lavandula stoechas* f. *purpurea* Emb. and Maire, *Lavandula stoechas* f. *rosea* Maire, *Lavandula stoechas* var. *stenoloba* Briq., *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas*, *Stoechas arabica* Garsault ve *Stoechas officinarum* Mill.'dir.

## 2.10. *L. stoechas* Bitkisi Üzerinde Yapılan Farmakognozik Çalışmalar

### 2.10.1. Biyolojik aktivite çalışmaları

#### Anti-enflamatuvar aktivite

*L. stoechas*'ın toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağın ve uçucu yağın GC-MS ile analizi sonucunda majör olarak bulunan bileşiklerin anti-enflamatuvar aktivitesinin belirlenmesi için gerçekleştirilen bir çalışmada, LOX inhibisyonu *in vitro* olarak değerlendirilmiştir (El Omari ve diğerleri, 2023). Referans olarak kullanılan

kersetinden ( $IC_{50}$ :  $3,93 \pm 0,45 \mu\text{g/ml}$ ) sonra en yüksek aktivite  $6,34 \pm 1,29 \mu\text{g/ml}$   $IC_{50}$  değeri ile elde edilen uçucu yağ olmuştur. Daha sonra  $IC_{50}$  değerleri sırasıyla  $17,45 \pm 1,82 \mu\text{g/ml}$  ve  $23,14 \pm 1,16 \mu\text{g/ml}$  olmak üzere kâfur ile fenkon gelmektedir. Bir başka çalışmada, *L. stoechas*'dan buhar distilasyonu uçucu yağ elde edilmiş ve anti-enflamatuvar aktivitesi *in vivo* olarak değerlendirilmiştir (Boukhatem ve diğerleri, 2020). Ksilen ile enfeksiyon oluşturularak gerçekleştirilen fare kulak ödem modelinde uçucu yağ güçlü bir anti-enflamatuvar aktivite göstermiştir. Aynı çalışmada karagen-nedenli pençe ödemi modelinde oluşan ödemleri belirgin bir şekilde azaltmış ve referans olarak kullanılan %0,5'lik betametazon ile benzer bir etki göstermiştir. Uçucu yağ topikal olarak 82 mg/kg ve 410 mg/kg dozlarda, sırasıyla farelerin %51,4'ünde ve %80,1'inde akut kulak ödemi azaltmıştır. Ayrıca gerçekleştirilen histolojik analiz sonrasında da, ciltteki iltihabi yanıtın önemli ölçüde inhibe edildiği gösterilmiştir. *L. stoechas*'ın yapraklarından hazırlanan hidroalkolik ekstre, bu ekstrenin polifenolik fraksiyonu ve uçucu yağının anti-enflamatuvar aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, sıçanlarda karagen ile uyarılan enflamasyon sonrasında, ekstre ve uçucu yağın anti-enflamatuvar aktivitesi değerlendirilmiştir. Oral olarak 400-1600 mg/kg dozda uygulanan hidroalkolik ekstre, sadece formalin testinin ikinci aşamasını inhibe ederken, sıçanlara oral olarak 800 ve 1600 mg/kg dozda verilen ekstrenin polifenolik fraksiyon ve yine oral olarak uygulanan 100 ve 200 mg/kg dozdaki uçucu yağın ise her iki aşamayı da baskıladığını ortaya koymuştur. Asetik asit-nedenli kasılma testinde, polifenolik fraksiyonun ve uçucu yağın, abdomen sıkışmasının sayısını azalttığı görülmüştür. Karagen-nedenli pençe ödemi testinde ise uçucu yağın yalnızca 200 mg/kg dozda etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca farelerde formalin ve asetik asit-nedenli kasılmalarda da ağrı kesici etkili olduğu bildirilmiştir (Hajhashemi ve diğerleri, 2003). Sıçanlarda karagen-nedenli ödem modeli kullanılarak, *L. stoechas* uçucu yağının bileşiminde bulunan linalol ve linalil asetatın anti-enflamatuvar aktivitesinin incelendiği bir çalışma sonucunda, bu monoterpenlerin hem saf enantiyomerin hem de rasemat formlarının, ödemin azalmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Peano ve diğerleri, 2002). Özellikle, saf enantiyomerin daha uzun süreli etkiler sergilediği, rasemat formunun ise karagen uygulamasından kısa bir süre sonra önemli bir ödem azalması sağladığı tespit edilmiştir. Bu çalışma, uçucu yağdaki linalol ve linalil asetatın anti-enflamatuvar aktivite üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu ve bu bileşikler içeren bitkilerin potansiyel anti-enflamatuvar ajanlar olarak kullanılabileceğine işaret etmiştir. Bronşiyal astımın tedavisinde *L. stoechas*'dan elde edilen uçucu yağın etkisinin incelendiği bir diğer çalışmada, uçucu yağın uygulandığı gruptaki farelerde mukus hiperplazisi ve interlökin (IL)-5 ve IL-13 sitokin seviyelerinin daha düşük

olduğu gözlenmiştir (Ueno-Iio ve diğerleri, 2014). Ayrıca akciğer dokusunda IL-4 ve IL-5 mRNA ifadesinde azalma belirlenmiştir.

#### Yara iyileştirici aktivite

Ülkemizde doğal olarak yetişen *L. stoechas*'dan hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağın yara iyileştirici aktivitesinin değerlendirilmesi için, diyabetik bir model kullanılmıştır. Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada, diyabet oluşturmak amacıyla 50 mg/kg dozda streptozotosin kullanılmıştır. Uçucu yağın uygulandığı grupta, iyileşme oranı diğer gruplara göre daha yüksek olmuştur. Biyopsi sonuçları da uçucu yağın yara iyileşmesindeki hızlanmayı destekler nitelikte olduğunu göstermiştir. Ayrıca, uçucu yağ uygulanan gruptaki sıçanların, mononükleer hücre yoğunluğunda azalma, kolajen seviyelerinde artma ve saç folikülü ile yağ dokusu gelişiminde artış gözlemlenmiştir (Demir ve diğerleri, 2023).

#### Antimikrobiyal aktivite

Modern tıpta karşılaşılan en önemli sorunlardan biri, sürekli direnç oluşturan mikroorganizmalara karşı daha etkili tedaviler geliştirme ihtiyacıdır. Antimikrobiyal direnç, bu alandaki araştırmaların odağında yer almakta ve yeni tedavi yöntemlerinin keşfi acil bir konu haline gelmiştir. Doğal kaynaklar, özellikle de uçucu yağlar, yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesi açısından büyük bir potansiyele sahiptir.

*L. stoechas*'ın %70'lik aseton ekstresinin *Staphylococcus aureus*'a karşı etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, hücrelerin %24,30 ± 4,10'unu temizlediği, ancak referans ilaç olarak kullanılan penisilin ile kıyaslandığında düşük bir antibakteriyel etki gözlenmiştir (C.-J. Lee ve diğerleri, 2011). Muğla'da yetişen *L. stoechas*'dan hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağın, gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Uçucu yağa en duyarlı olan suşlar, antibiyotik dirençli *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas stutzeri*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Micrococcus luteus* ve *Bacillus subtilis* olmuştur (Miraj, 2016). Fas'ta yetişen *L. stoechas*'tan elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi referans ilaç ile kıyaslandığında, uçucu yağın gram-pozitif bakterilere karşı gram-negatif olanlara göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği, ayrıca bu durumun

gram-pozitif bakterilerin dış membran farklılıkları nedeniyle olduğu belirtilmiştir (Cherrat ve diğerleri, 2014). *L. stoechas* uçucu yağının önemli bileşenlerinden biri olan 1,8-sineol'un antimikrobiyal aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, suş olarak *S. aureus*, metisiline dirençli *S. aureus*, *E. coli* ve *Candida albicans* kullanılmıştır. Çalışma sonucunda 1,8-sineol'un antimikrobiyal aktiviteden sorumlu olan bir bileşik olabileceği belirtilmiştir (Hendry ve diğerleri, 2009). Bir başka çalışmada, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran hastalardan alınan *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* ve *C. glabrata* suşları üzerinde *L. stoechas*'dan Soxhlet yöntemi elde edilen etil alkol, kloroform ve EtOAc'lı ekstraları ile yapılan çalışmada, ekstralar, 25 µl, 50 µl ve 75 µl miktarlarında steril diskler üzerine uygulanarak, disk difüzyon yöntemi ile anti-*Candida* aktiviteleri değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda ise, standart antifungal antibiyotikler (griseofulvin, flukonazol, amfoterisin B, mikonazol, nistatin, flusitozin, klortrimazol, ketokonazol ve itrakonazol) kullanılmıştır. Araştırma sonucunda, *L. stoechas* ekstralarının, referans antibiyotiklere göre daha etkili bir anti-*Candida* aktivitesi gösterdiği görülmüştür. Araştırmacı, *L. stoechas* bitkisinin etnofarmakolojik olarak da antifungal amaç ile kullanıldığını ve çalışma sonucunda da bu kullanımı destekler nitelikte sonuçlar aldığını belirtmiştir. Çalışma sonucunda, *L. stoechas*'ın kandidiyazis tedavisinde potansiyel bir alternatif olarak değerlendirilebileceği önerilmiştir (Gedik ve diğerleri, 2015).

#### Antitümöral aktivite

Yeni antitümöral ajanların araştırılması, kanser tedavisinde karşılaşılan önemli zorluklara yanıt olarak sürekli bir ihtiyaçtır. Bu arayışın temel nedenleri, kanserin karmaşık doğası, tedaviye direnç gelişimi ve mevcut tedavilerin yan etkileri gibi faktörlerle ilişkilendirilebilir. Yan etkisi düşük, maliyeti düşük ve erişilebilir ajanlar aranırken uçucu yağlar da birçok araştırma grubu tarafından değerlendirmeye alınmaktadır.

Bir çalışmada, *L. stoechas*'dan buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın, insan meme karsinomu (MDA-MB-231), insan mide kanseri (AGS) ve insan melanoma (MV3) hücrelerindeki potansiyel inhibitör aktivitesi MTT testi kullanılarak belirlenmiştir. Uçucu yağ bahsi geçen tümör hücreleri üzerinde seçici ve konsantrasyon-bağımlı sitotoksitesite göstermiştir. AGS, MV-3 ve MDA-MB-231 hücre hatlarına karşı elde edilen IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 0,035 ± 0,018 µL/ml, 0,06 ± 0,022 µL/ml ve 0,259 ± 0,089 µL/ml olarak belirlenmiştir (Boukhatem ve diğerleri, 2020).

### Antioksidan aktivite

Oksidatif stres, hücresel hasar, kronik hastalıkların gelişimi ve yaşlanma sürecinin hızlanması ile yakından ilişkilendirilen bir durumdur. Bu bağlamda, uçucu yağların zengin kimyasal bileşimi, onları önemli potansiyel antioksidan kaynaklağı olarak öne çıkarır. Uçucu yağlar, yeni antioksidan ajanların geliştirilmesinde değerli bir kaynak olarak kabul edilir. Antioksidanlar, vücuttaki zararlı serbest radikalleri nötralize ederek hücresel hasarı ve hastalık ilerlemesini önlemek için kritik öneme sahiptir.

*L. stoechas*'ın toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağın ve uçucu yağın GC-MS ile analizi sonucunda majör olarak bulunan bileşiklerin *in vitro* antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için gerçekleştirilen bir çalışmada, DPPH ve ABTS radikal süpürücü etki ile FRAP yöntemleri kullanılmıştır. DPPH radikal süpürme yönteminde en yüksek etkiyi uçucu yağ ( $IC_{50}$ :  $54,0 \pm 62 \mu\text{g/ml}$ ) göstermekle birlikte, referans olarak kullanılan troloksa ( $IC_{50}$ :  $31,28 \pm 0,89 \mu\text{g/ml}$ ) göre daha düşük antioksidan aktivite sergilemiştir. FRAP testine göre fenkon  $87,12 \pm 2,9 \mu\text{g/ml}$   $IC_{50}$  değeri ile en yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Ancak referans olarak kullanılan troloks ( $IC_{50}$ :  $41,49 \pm 1,97 \mu\text{g/ml}$ ) ile kıyaslandığında uçucu yağın antioksidan aktivitesi daha düşüktür. ABTS testinde ise kâfur  $96,32 \pm 4,15 \mu\text{g/ml}$   $IC_{50}$  değeriyle en yüksek antioksidan aktivite gösterirken, referans olarak kullanılan troloksa ( $IC_{50}$ :  $55,72 \pm 8,16 \mu\text{g/ml}$ ) göre daha düşük bir antioksidan aktiviteye sahiptir (El Omari ve diğerleri, 2023). *L. stoechas*'ın %70'lik aseton ekstresinin DPPH radikal süpürücü etkisinin araştırıldığı bir çalışmada,  $IC_{50}$  değeri  $0,14 \text{ mg/ml}$  olarak belirlenmiştir (C.-J. Lee ve diğerleri, 2011). Ekstrenin  $0,5 \text{ mg/ml}$ 'lik konsantrasyonda radikal süpürücü etkisi ise  $\%73,18 \pm 3,25$  oranındadır. Aynı çalışmada nitrik oksit inhibitör etkisi de araştırılmış ve  $IC_{50}$  değeri  $0,14 \text{ mg/ml}$  olarak tespit edilmiştir. Kullanılan referanslar ile mukayese edildiğinde oldukça yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri bildirilmiştir. Aynı çalışmada, aromatik halkadaki hidroksil gruplarının artmasıyla antioksidan aktivitenin arttığı bildirilmiştir. *L. stoechas*'dan hazırlanan MeOH ekstresinin antioksidan aktivitesi,  $\beta$ -karoten-linoleat ağarma, DPPH radikal süpürücü ve FRAP testleri ile değerlendirilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite DPPH radikal süpürme testinde gözlenmiş ve  $IC_{50}$  değeri  $0,300 \pm 0,010 \text{ mg}$  olarak belirlenmiştir. Deneyde referans olarak kullanılan BHA ve BHT'nin  $IC_{50}$  değerleri sırasıyla  $0,035 \pm 0,007 \text{ mg}$  ve  $0,020 \pm 0,001 \text{ mg}$  olarak tayin edilmiş ve mutedil bir antioksidan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Ceylan ve diğerleri, 2015). *L. stoechas*'ın su ekstresinin DPPH radikallerini süpürmede  $IC_{50}$

değeri  $32,5 \pm 0,8$   $\mu\text{g/ml}$  olarak bulunmuştur. Çalışmada referans olarak kullanılan askorbik asit, gallik asit ve elajik asidin  $\text{IC}_{50}$  değerleri sırasıyla,  $2,0 \pm 0,11$ ,  $2,4 \pm 0,7$  ve  $3,9 \pm 0,10$  olarak tespit edilmiştir. Sulu çözeltilerinin de önemli derecede antioksidan aktivite gösterdiği bu çalışma ile gösterilmiştir (Sariri ve diğerleri, 2009). *L. stoechas* çiçeklerinden su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın antioksidan aktivitesi DPPH radikali süpürme tekniği ile *in vitro* olarak değerlendirilmiş ve uçucu yağın  $\text{IC}_{50}$  değeri  $584,0 \pm 0,58$   $\mu\text{g/ml}$  olarak bulunmuştur. Referans olarak kullanılan vitamin E'nin  $\text{IC}_{50}$  değeri  $384,0 \pm 0,76$   $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Aynı çalışmada, uçucu yağların antioksidan aktivitesi ile içeriğinde bulunan linalol ve linalil asetat miktarı arasında herhangi bir korelasyon bulunmadığı rapor edilmiştir (Barkat ve diğerleri, 2012a). Özetlenecek olursa, *L. stoechas* ve uçucu yağının birçok çalışmada dikkate değer oranda antioksidan etkisi bildirilmiştir. *L. stoechas*'ta bulunan rozmarinik asit, kafeik asit ve ferulik asit gibi fenolik asitler ile diğer fenolik bileşikler bitkinin antioksidan aktivitesine oldukça yüksek bir katkıda bulunmaktadır. Fenolik bileşikler, serbest radikalleri nötralize ederek ve metal iyonlarını şelatlayarak hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Ayrıca *L. stoeschas* içerisinde bulunan luteolin, apigenin ve kersetin gibi flavonoidler de antioksidan etkiden sorumlu olarak bildirilmiştir. Flavonoidler, serbest radikal süpürme aktivitesi ve metal şelasyonu yoluyla antioksidan koruma sağlamaktadır. *L. stoechas* uçucu yağında bulunan, linalol, linalil asetat, 1,8-sineol ve terpinen-4-ol de antioksidan aktiviteden sorumlu bileşiklerdir (Ceylan ve diğerleri, 2015). *L. stoechas* su ekstresinin antioksidan aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, DPPH radikal süpürücü etki testinde  $\text{IC}_{50}$  değeri  $0,031 \pm 0,02$   $\text{mg/ml}$  ve  $\beta$ -karoten testinde  $\text{IC}_{50}$  değeri  $94,33 \pm 12,5$   $\mu\text{g/ml}$  ile su ekstresinin dikkat çeken bir antioksidan güce sahip olduğu belirlenmiştir (Elrherabi ve diğerleri, 2023b). Bu aktivitenin fenol ve flavonoidlerden geldiğini rapor eden araştırmacılar toplam fenol ve flavonoid miktarlarını, sırasıyla  $146,71 \pm 0,53$   $\text{mg}$  gallik asit/ $\text{mg}$  ve  $721,21 \pm 0,21$   $\mu\text{g}$  kersetin/ $\text{mg}$  olarak bildirmiştir.

### Fotoprotektif aktivite

UV ışınları, cilt kanseri, erken yaşlanma ve diğer cilt hasarları gibi ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir. Bu nedenle, etkili güneş koruyucuların kullanımı, cilt sağlığını korumak ve bu tür riskleri azaltmak için hayati öneme sahiptir. Fotoprotektif aktivitenin önemi, UV ışınlarının neden olduğu zararların önlenmesine dayanır.

*L. stoechas*'ın %70'lik aseton ekstresinin UVA ve UVB ışınlarına karşı absorpsiyonunun değerlendirildiği bir çalışmada, sırasıyla  $1,11 \pm 0,07$  ve  $2,78 \pm 0,19$  olarak bulunmuştur (C.-J. Lee ve diğerleri, 2011). Fiziksel koruyucu olan çinko oksit ise aynı çalışmada  $2,55 \pm 0,03$  değerini vermiştir.

### Antidiyabetik aktivite

Diyabet, özellikle tip 2 diyabet, dünya genelinde hızla artan bir prevalansa sahiptir ve ciddi komplikasyonlara yol açabilir. Dünya genelinde diyabet prevalansındaki artış, mevcut tedavi seçeneklerinin yetersiz kalmasına yol açmaktadır. Bu nedenle de yeni ilaç adaylarının geliştirilmesine halen gerek duyulmaktadır. *L. stoechas*'ın toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağın ve uçucu yağın GC-MS ile analizi sonucunda tayin edilen ana bileşiklerin antidiyabetik aktivitesinin belirlenmesi için gerçekleştirilen bir çalışmada,  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzimlerine karşı inhibitör aktiviteleri *in vitro* yöntemler ile belirlenmiştir (El Omari ve diğerleri, 2023).  $\alpha$ -Amilaz enzimine karşı en düşük IC<sub>50</sub> değerine ( $76,92 \pm 2,43$   $\mu\text{g/ml}$ ) sahip olan kâfurun, referans ilaç olarak kullanılan akarbozdan (IC<sub>50</sub>:  $396,42 \pm 4,83$   $\mu\text{g/ml}$ ) daha etkili olduğu bulunmuştur.  $\alpha$ -Glukozidaz enzimine karşı en düşük IC<sub>50</sub> değerine ( $69,03 \pm 2,31$   $\mu\text{g/ml}$ ) sahip olan fenkon, akarbozdan (IC<sub>50</sub>:  $199,53 \pm 3,26$   $\mu\text{g/ml}$ ) daha yüksek etki göstermiştir. Elde edilen uçucu yağ ise  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaza karşı sırasıyla  $106,73 \pm 3,27$   $\mu\text{g/ml}$  ve  $98,54 \pm 4,84$   $\mu\text{g/ml}$  IC<sub>50</sub> değerlerine sahiptir. *L. stoechas*'ın su ekstresinin 150 mg/kg dozda (v.a.) Wistar sıçanları üzerinde antidiyabetik aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, ekstrenin  $\alpha$ -amilaz (IC<sub>50</sub>: 0.485 mg/ml) ve  $\alpha$ -glukozidazı (IC<sub>50</sub>: 168,0  $\mu\text{g/ml}$ ) inhibe ettiği belirlenmiştir. Ayrıca ekstrenin şeker yüklemesi sonrası kan şekerini önemli düzeyde düşürdüğü de gözlenmiştir. Ekstre, bağırsaklardaki glukoz emilimini azaltarak ve şeker sindiriminde görevli olan enzimleri bloke ederek şekerin yükselmesini engellemektedir (Elrherabi ve diğerleri, 2023a). Ayrıca su ekstresi, Fas'ta halk arasında geleneksel olarak diyabet hastaları için kullanılmaktadır. Su ekstresine, *in vitro* hemoglobin glikozilasyon testi uygulanmıştır ve sonuç  $48,94 \pm 3,67$  mg/ml olarak bulunmuştur (Elrherabi ve diğerleri, 2023b). Su ekstresi referans olarak kullanılan gallik asitten daha yüksek aktivite göstermiştir.

### Dermaprotektif etki

Tirozinaz, melanin biyosentezinin başlangıç aşamalarında kritik öneme sahip, çok işlevli ve bakır atomu taşıyan bir enzimdir. Bu enzim, melanin üretiminin enzimatik sürecinde öncül rol oynar. Süreçte, *L*-tirozin önce monofenolaz aktivite göstererek hidroksile edilir ve bu reaksiyonun ürünü olan *L*-DOPA, difenolaz aktivitesi ile daha ileri bir oksidasyon aşamasına taşınır, sonuçta karşılık gelen *o*-kinona dönüşür. Tirozinazın bu katalitik işlevi, insan derisinde melanin üretimi için elzemdir; ancak, aşırı melanin sentezi, dermatolojik sorunlara örnek olarak melazma, çil ve yaşlılık lekelerine yol açabilir (Rzepka ve diğerleri, 2016).

*L. stoechas* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağın ve uçucu yağın GC-MS analizi sonucunda yüksek oranda bulunan bileşiklerin dermaprotektif aktivitesinin belirlenmesi için gerçekleştirilen bir çalışmada, tirozinaz ve elastaz enzimlerine karşı inhibitör aktiviteleri belirlenmiştir. Uçucu yağ, fenkon ve kâfur, her iki çalışmada da referans olarak kullanılan kersetine nazaran daha yüksek anti-tirozinaz aktivite göstermiştir. Herbirinin IC<sub>50</sub> değeri sırasıyla 66,21 ± 3,10 µg/ml, 53,14 ± 3,06 µg/ml, 97,45 ± 5,22 µg/ml olarak hesaplanmıştır. Kersetinin IC<sub>50</sub> değeri ise 246,90 ± 2,54 µg/ml'dir. *L. stoechas*'ın %70'lik aseton ekstresinin toplam fenol, flavon ve kumarin miktarının belirlendiği bir çalışmada, sırasıyla, 92,4 ± 3,2 µg gallik asit/mg, 27,0 ± 2,7 µg kateşin/mg ve 102,5 ± 4,1 µg kumarin/mg olduğu saptanmıştır (C.-J. Lee ve diğerleri, 2011). *L. stoechas*'ın su ekstresinin tirozinaz üzerindeki inhibisyonunun değerlendirildiği bir çalışmada (Sariri ve diğerleri, 2009), referans olarak kullanılan kojik asidin IC<sub>50</sub> değeri 8,9 ± 0,15 µM, ekstrenin IC<sub>50</sub> değeri ise 33,3 ± 0,11 µM olarak bulunmuştur.

### Toksisitesi

*L. stoechas*'dan elde edilen uçucu yağın, yüksek miktarda, hatta majör bileşenlerinden biri olan kâfur nedeniyle, diğer lavanta türlerine göre yüksek dozlarda konvülziyonlara neden olabileceği belirtilmektedir. Ancak, kâfur, Türkiye'de ilaç sektöründe birçok ruhsatlı ilaçta etken bileşik olarak kullanılmakta ve kombine formülasyonlara eklenmektedir. Kâfur oranı yüksek olan uçucu yağlar ve bitkiler sağlık ve kozmetik alanında kullanılan preparatlara eklenmek istenmemektedir. Bunun yerine daha az oranda kâfur içeren *Lavandula* türleri tercih edilmektedir. Daha az kâfur içeren *Lavandula* türleri ise, terpen ve seskiterpen açısından zengindir ve bu türlerin uçucu yağları, özellikle kozmetik ürünlerin

formülasyonlarında tercih edilir. Yüksek kâfur içeren lavanta türleri, yüksek dozlarda kullanıldığında konvülzyonlara neden olabilir. Özellikle çocuklarda, kâfur içeren preparatların kullanımı sonrasında konvülziyon vakaları gözlemlenmiştir. Türkiye'de pastil, pomat formundaki bazı ürünlerde ve aktarlarda %0,00037-12,5 oranında kâfur içeren ürünler bulunmaktadır. FDA, kâfur içeren ürünlerin konsantrasyonunun %11'i geçmemesi gerektiğini belirlemiştir. Daha yüksek konsantrasyonlar, etkili olmaktan ziyade yanlılıkla yutulduğunda daha ciddi advers reaksiyonlara neden olabilir. Topikal uygulanan ağrı kesici ve kaşıntıyı hafifletmekte etkili ürünlerde, güvenli kâfur konsantrasyonu %0,5 ile %5 arasında olmalıdır. İnhalasyon ürünlerinde ise güvenli kâfur konsantrasyon maksimum %1 olarak bildirilmiştir. İki yaş altı çocuklar için kâfur içerikli ürünler kullanılmaması tavsiye edilmektedir. Uzun süreli kâfur kullanımı, sistemik emilimi ve toksisite riskini artırabilir. Kâfur içeren ürünler, talimatlara uygun şekilde kullanılmalıdır. Kâfur toksisitesi, kâfur içeren ürünlerin yutulması, yüksek dozda deri üzerine uygulanması veya inhalasyon ile vücuda girmesiyle oluşur. Bu bileşik, özellikle topikal ağrı kesiciler ve oda kokularında bulunur ve yüksek dozlarda merkezi sinir sistemine zarar verebilir, hatta nadiren ölümcül olabilir. Kâfur toksisitesi belirtileri baş ağrısı, bulantı ve kusma, karın ağrısı, kas spazmları, konfüzyon veya bilinç kaybıdır. *L. stoechas*'tan hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağın, LD<sub>50</sub> dozu 1,88 mg/kg olarak belirlenmiştir ve yüksek dozlarda toksik olabileceği gösterilmiştir (Topçu, 2008). Kâfurun toksik dozu kişiye göre değişkenlik gösterse de oral alımda düşük miktarlar bile toksik olabilir. Yetişkinlerde 2 g, çocuklarda ise 1 g kâfur alımı ciddi riskler taşır. Sonuç olarak, *L. stoechas* toksisitesi, genellikle uçucu yağının aşırı miktarda alınmasıyla ilişkilidir.

### 2.10.2. Fitokimyasal çalışmalar

*L. stoechas* ve uçucu yağı üzerinde yapılan çalışmalara göre, bitkinin farklı kısımlarında aşağıda verilen sekonder metabolit grupları ve bileşikler bildirilmiştir. *L. stoechas*'ın farklı polaritede hazırlanan ekstralarında, kumarinler, flavonoidler, hidroksisinnamik asitler ve türevleri, azotlu bileşikler, fenolik asitler, izobenzofuranlar, stilben türevleri (arilbenzofuranlar) ve terpenoidler (di- ve triterpenoidler) belirlenmiştir (Héral ve diğerleri, 2021b).

*L. stoechas*'ın su-MeOH ekstresinin RP-HPLC-DAD-QTOF-MS yöntemi ile fitokimyasal profilinin belirlendiği bir çalışmada, ekstrede majör olarak fenolik asitlerin bulunduğu

belirlenmiştir (Contreras ve diğerleri, 2018). Flavonlar, toplam fenolik bileşik miktarının %52,35'ini oluşturmaktadır. Ana bileşikler ise luteolin 7-*O*-glukuronit (2,09 g/100 g), rozmarinik asit (1,89 g/100 g), apigenin 7-*O*-glukozit ve 7-*O*-glukuronittir (1,30 g/100 g). Bu çalışmada belirlenen bileşikler Çizelge 2.3.'te gösterilmektedir. *L. stoechas*'ın %70'lik aseton ekstresinin fitokimyasal analizinin yapıldığı bir çalışmada, protokateşik asit, kafeik asit, ferulik asit, trihidroksisinnamik asit, klorojenik asit ve rozmarinik asit gibi fenolik asit ve hidroksisinaimoinik asit türevleri belirlenmiştir. Ayrıca, eriodiktiyol-*O*-heksozit, pinobanksin, pinosembrin, kersetin ve luteolin gibi flavonoid bileşikleri de belirlenmiştir (C.-J. Lee ve diğerleri, 2011). *L. stoechas*'ın MeOH ekstresinin fitokimyasının belirlenmesi için YPSK analizi gerçekleştirilmiştir. YPSK analizi dikkate alındığında, ekstrede 8,347 mg/g rozmarinik asit, 0,875 mg/g kafeik asit, 1,019 mg/g kersetin ve 0,472 mg/g rutin tayin edilmiştir. Çalışma sonunda ekstredeki fenolik asitlerin flavonoidlere göre miktarca daha baskın olduğu belirlenmiştir (Ceylan ve diğerleri, 2015).

Çizelge 2.3. *L. stoechas* bitkisinin fitokimyasal içeriği

| Bileşikler  | Kullanılan Ekstre                 | Bileşik Grubu                         | Kaynaklar   |
|---|-----------------------------------|---------------------------------------|---|
| 4-Hidroksibenzoik asit 4-(6- <i>O</i> -sülfo)glukozit | Su-MeOH ekstresi                  | Hidroksibenzoik asitler ve türevleri  | (Contreras ve diğerleri, 2018)  |
| Vanilik asit sülfokinovozit                           | Su-MeOH ekstresi                  |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)  |
| Vanilik asit  | Su-MeOH ekstresi<br>MeOH ekstresi |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018; Domingues ve diğerleri, 2023)                            |
| Gallik asit   | MeOH ekstresi<br>Su-MeOH ekstresi |                                       | (Ceylan ve diğerleri, 2015)   |
| Hidroksibenzoik asit                                  | Su-MeOH ekstresi                  |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)  |
| 4-Hidroksibenzoik asit                                | MeOH ekstresi                     |                                       | (Domingues ve diğerleri, 2023)  |
| Gentisik asit   | MeOH ekstresi                     |                                       | (Domingues ve diğerleri, 2023)  |
| Protokateşik asit                                     | Su-MeOH ekstresi<br>MeOH ekstresi |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)  |
| 3,4-Dihidroksifenillaktik asit hegzozit               | Su-MeOH ekstresi                  | Hidroksisinnamik asitler ve türevleri | (Contreras ve diğerleri, 2018)  |
| 3,4-Dihidroksifenillaktik asit                        | Su-MeOH ekstresi                  |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)  |
| Klorojenik asit                                       | Su-MeOH ekstresi<br>MeOH ekstresi |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018; Domingues ve diğerleri, 2023)                            |
| Kafeik asit   | Su-MeOH ekstresi<br>MeOH ekstresi |                                       | (Ceylan ve diğerleri, 2015; Contreras ve diğerleri, 2018; Domingues ve diğerleri, 2023) |
| Kumarik asit hegzozit                                 | Su-MeOH ekstresi                  |                                       | (Domingues ve diğerleri, 2023)  |

Çizelge 2.3. (devam) *L. stoechas* bitkisinin fitokimyasal içeriği

| Bileşikler                           | Kullanılan Ekstre              | Bileşik Grubu                         | Kaynaklar   |
|--------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|---|
| Ferulik asit                         | Su-MeOH ekstresi MeOH ekstresi | Hidroksisinnamik asitler ve türevleri | (Ceylan ve diğerleri, 2015; Contreras ve diğerleri, 2018) |
| <i>p</i> -Kumarik asit               | Su-MeOH ekstresi MeOH ekstresi |                                       | (Ceylan ve diğerleri, 2015; Contreras ve diğerleri, 2018) |
| Ferulik asit hekzozit                | Su-MeOH ekstresi               |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                            |
| Hidroksi hidrosinnamik asit glukozit | Su-MeOH ekstresi               |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                            |
| Kumarik asit hekzozit                | Su-MeOH ekstresi               |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                            |
| Kafeoilferuloil tartarik asit        | MeOH ekstresi                  |                                       | (Domingues ve diğerleri, 2023)                            |
| Kaftarik asit                        | MeOH ekstresi                  |                                       | (Domingues ve diğerleri, 2023)                            |
| Yunnaneik asit <i>E</i> izomeri      | Su-MeOH ekstresi               |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                            |
| Yunnaneik asit <i>D</i> izomeri      | Su-MeOH ekstresi               |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                            |
| Yunnaneik asit F                     | Su-MeOH ekstresi               |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                            |
| Sajerinik asit                       | Su-MeOH ekstresi               |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                            |
| Metil kafeat                         | Su-MeOH ekstresi               |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                            |
| Rozmarinik asit                      | Su-MeOH ekstresi MeOH ekstresi | Hidroksisinnamik asitler ve türevleri | (Ceylan ve diğerleri, 2015; Contreras ve diğerleri, 2018) |
| Metil rozmarinat                     | Su-MeOH ekstresi               |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                            |
| Metil dihidroksibenzoik asit türevi  | Su-MeOH ekstresi               |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                            |

Çizelge 2.3. (devam) *L. stoechas* bitkisinin fitokimyasal içeriği

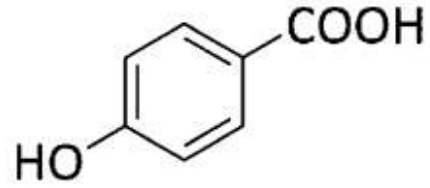
| Bileşikler                   | Kullanılan Ekstre                 | Bileşik Grubu                         | Kaynaklar  |
|------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|--|
| Kaftarik asit                | Su-MeOH ekstresi                  | Hidroksisinnamik asitler ve türevleri | (Contreras ve diğerleri, 2018)                               |
| Dihidrokafeik asit           | Su-MeOH ekstresi                  |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                               |
| Fertarik asit                | Su-MeOH ekstresi                  |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                               |
| Salisilik asit               | MeOH ekstresi                     |                                       | (Domingues ve diğerleri, 2023)                               |
| Şikorik asit                 | Su-MeOH ekstresi<br>MeOH ekstresi |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018; Domingues ve diğerleri, 2023) |
| Rozmarinik asit hekzozit     | Su-MeOH ekstresi                  |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                               |
| İzosalvianolik asit A        | Su-MeOH ekstresi                  |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                               |
| Salvianolik asit B           | Su-MeOH ekstresi                  |                                       |  |
| Salvianolik asit C           | Su-MeOH ekstresi                  |                                       |  |
| Apigenin di-C-hekzozit       | Su-MeOH ekstresi                  | Flavonoitler ve glikozitleri          | (Contreras ve diğerleri, 2018)                               |
| Apigenin glukuronit hekzozit |                                   |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                               |
| Luteolin glukuronit hekzozit |                                   |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                               |
| Hipoletin 8-O-glukuronit     |                                   |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                               |
| Kateşin hidrat               | MeOH ekstresi                     |                                       | (Ceylan ve diğerleri, 2015)                                  |
| Luteolin glukuronit hekzozit | Su-MeOH ekstresi                  |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                               |
| Luteolin 7,4'-di-glukuronit  | Su-MeOH ekstresi                  |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                               |
| Apigenin C-hekzozit          | Su-MeOH ekstresi                  |                                       | (Contreras ve diğerleri, 2018)                               |
| Epikateşin                   | MeOH ekstresi                     |                                       | (Ceylan ve diğerleri, 2015)                                  |

Çizelge 2.3. (devam) *L. stoechas* bitkisinin fitokimyasal içeriği

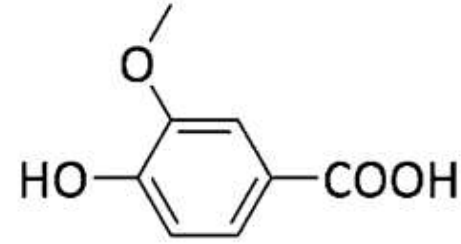
| Bileşikler                        | Kullanılan Ekstre                   | Bileşik Grubu                | Kaynaklar  |
|-----------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|--|
| Luteolin 7- <i>O</i> -glukuronit  | Su-MeOH ekstresi                    | Flavonoitler ve glikozitleri | (Contreras ve diğerleri, 2018; Şahinler ve diğerleri, 2022)                            |
| Apigenin 7- <i>O</i> -glukozit    | Su-MeOH ekstresi                    |                              | (Contreras ve diğerleri, 2018; Şahinler ve diğerleri, 2022)                            |
| Luteolin-7- <i>O</i> -glukuridin  | Su-MeOH ekstresi                    |                              | (Şahinler ve diğerleri, 2022)  |
| Luteolin                          | Su-MeOH ekstresi<br>Etanol ekstresi |                              | (Contreras ve diğerleri, 2018; Héral ve diğerleri, 2021a; Şahinler ve diğerleri, 2022) |
| Viteksin                          | MeOH ekstresi                       |                              | (Ceylan ve diğerleri, 2015; Şahinler ve diğerleri, 2022)                               |
| Apigenin                          | Su-MeOH ekstresi<br>Etanol ekstresi |                              | (Contreras ve diğerleri, 2018; Héral ve diğerleri, 2021a)                              |
| Hipolaetin                        | Etanol ekstresi                     |                              | (Héral ve diğerleri, 2021a)  |
| Skutellarein                      | Etanol ekstresi                     |                              | (Héral ve diğerleri, 2021a)  |
| İzoskutellarein                   | Etanol ekstresi                     |                              | (Héral ve diğerleri, 2021a)  |
| Krizoeriyol                       | Etanol ekstresi                     |                              | (Héral ve diğerleri, 2021a)  |
| Salvigenin                        | Etanol ekstresi                     |                              | (Héral ve diğerleri, 2021a)  |
| Genkwanin                         | Etanol ekstresi                     |                              | (Héral ve diğerleri, 2021a)  |
| Apigenin 7-metil eter (genkwanin) | Su-MeOH ekstresi                    |                              | (Contreras ve diğerleri, 2018)   |
| Luteolin 7- <i>O</i> -glukozit    | Su-MeOH ekstresi                    |                              | (Contreras ve diğerleri, 2018)   |
| Naringin                          | MeOH ekstresi                       |                              | (Ceylan ve diğerleri, 2015)  |
| Rutin                             | MeOH ekstresi                       |                              | (Ceylan ve diğerleri, 2015)  |
| Eriodiktanol                      | MeOH ekstresi                       |                              | (Ceylan ve diğerleri, 2015)  |
| Naringenin                        | MeOH ekstresi                       |                              | (Ceylan ve diğerleri, 2015)  |
| Hesperidin                        | MeOH ekstresi                       |                              | (Ceylan ve diğerleri, 2015)  |

Çizelge 2.3. (devam) *L. stoechas* bitkisinin fitokimyasal içeriği

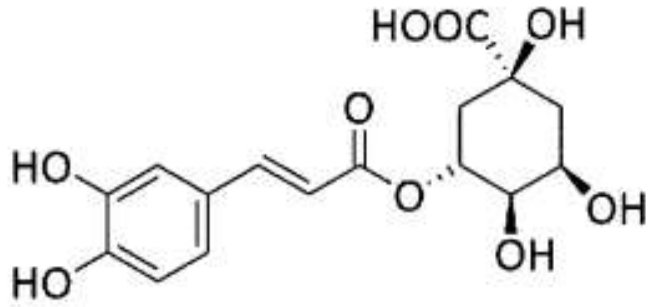
| Bileşikler   | Kullanılan Ekstre | Bileşik Grubu              | Kaynaklar                     |
|--|-------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Karvakrol  | MeOH ekstresi     | Monoterpen fenolik bileşik | (Ceylan ve diğerleri, 2015)   |
| Oleik asit   | MeOH ekstresi     | Yağ asidi                  | (Şahinler ve diğerleri, 2022) |
| β-Sitosterol   | Hekzan ekstresi   | Fitosterol                 | (Şahinler ve diğerleri, 2022) |
| α-Amirin   | Hekzan ekstresi   | Triterpen                  | (Şahinler ve diğerleri, 2022) |
| α-Amirin asetat  | Hekzan ekstresi   |                            | (Şahinler ve diğerleri, 2022) |
| β-Amirin   | Hekzan ekstresi   |                            | (Şahinler ve diğerleri, 2022) |
| Lupeol   | Hekzan ekstresi   |                            | (Şahinler ve diğerleri, 2022) |
| Eritrodiol   | MeOH ekstresi     | Terpenik alkol             | (Şahinler ve diğerleri, 2022) |
| 7-Metoksi kumarin  | MeOH ekstresi     | Kumarin                    | (Şahinler ve diğerleri, 2022) |
| Malvidin 3-(6''- <i>p</i> -kumarilglukozit)-5-(dimalonilglukozit)      | Etanol ekstresi   | Antosiyantinler            | (Lis-Balchin, 2002)           |
| Delfinidin 3-(6''- <i>p</i> -kumarilglukozit)-5-(6'''-malonilglukozit) | Etanol ekstresi   |                            | (Lis-Balchin, 2002)           |
| Siyanidin 3'-(6''- <i>p</i> -kumarilglukozit)-5-(6'''-malonilglukozit) | Etanol ekstresi   |                            | (Lis-Balchin, 2002)           |



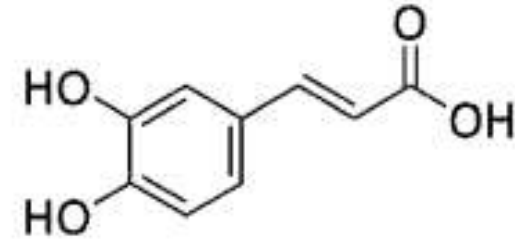
4-Hidroksi-benzoik asit



Vanilik asit

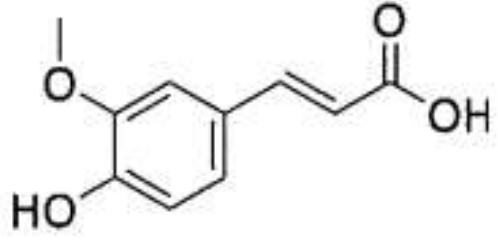


Klorojenik asit

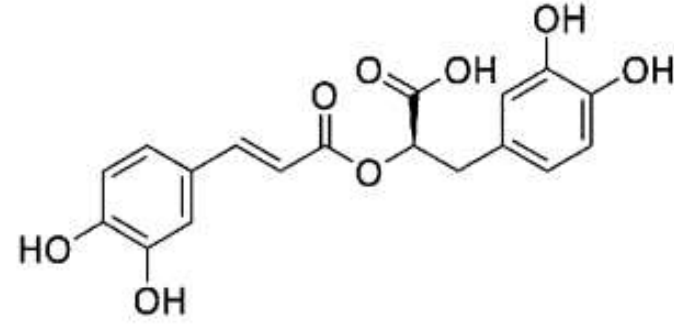


Kafeik asit

Şekil 2.5. *L. stoechas* bitkisinde bulunan bazı hidroksibenzoik asit türevleri

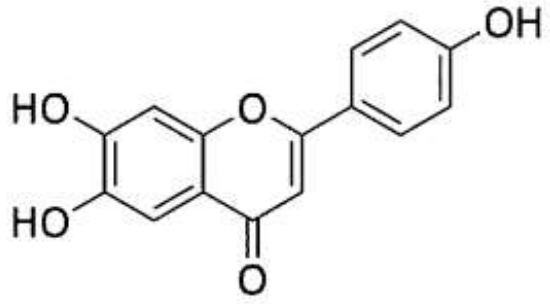


Ferulik asit

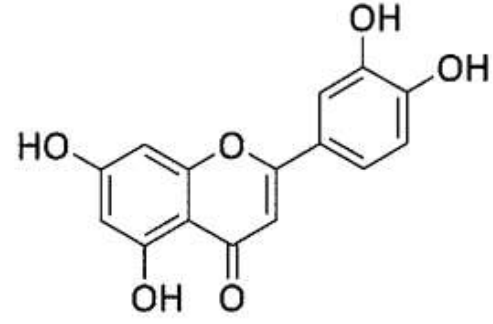


Rozmarinik asit

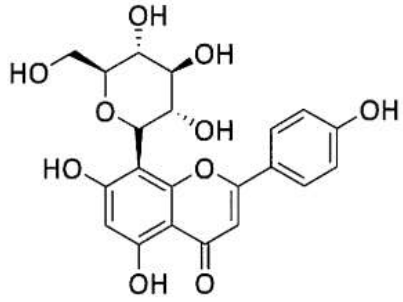
Şekil 2.5. (devam) *L. stoechas* bitkisinde bulunan bazı hidroksibenzoik asit türevleri



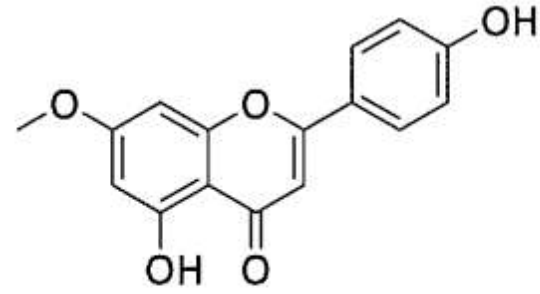
Apigenin



Luteolin

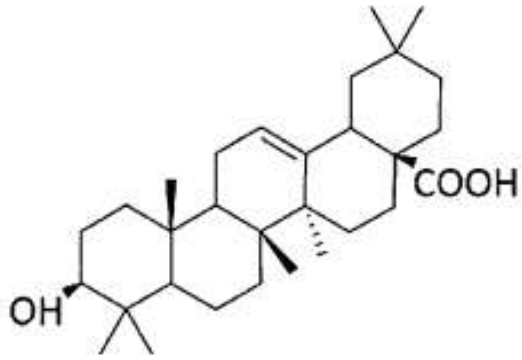


Viteksin

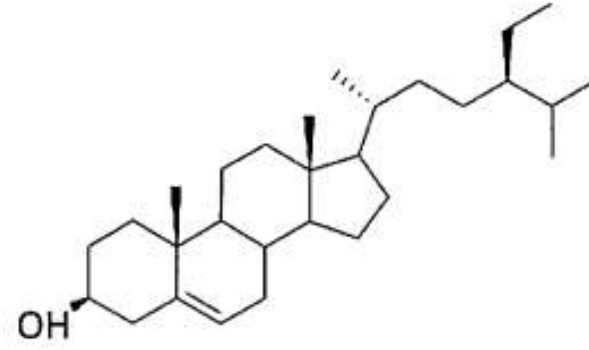


Genkvanin

Şekil 2.6. *L. stoechas* bitkisinde bulunan bazı flavonoit türevleri



Oleanolik asit



$\beta$ -Sitosterol

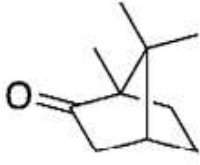
Şekil 2.7. *L. stoechas* bitkisinde bulunan bazı triterpenoit türevleri

## Uçucu yağ

“İspanyol lavantası, karabaş otu veya kelebek lavantası” olarak bilinen *L. stoechas* uçucu yağının bileşimi, yetiştirildiği bölgeye, toplandığı zamana ve çevresel koşullara bağlı olarak değişiklik gösterse de genel olarak fenkon, kâfur, 1,8-sineol, linalol,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen ve borneol içermektedir. Fenkon, uçucu yağa taze ve odunsu bir koku sağlar. Bu tür lavantadan elde edilen uçucu yağ, yüksek fenkon ve kâfur içeriği nedeniyle, diğer lavanta türlerine göre daha keskin bir kokuya ve farklı terapötik özelliklere sahiptir. Ancak, yüksek kâfur ve fenkon içeriği, yan etkilere yol açabileceğinden, kullanımında son derece dikkatli olunmalıdır.

*L. stoechas* uçucu yağının fitokimyasal bileşimi GC-MS tekniği ile analiz edilmiştir. Bu çalışma sonucunda uçucu yağın %31,81 fenkon, %29,60 kâfur, %13,14 terpineol, %8,96 menton, %5,88 ökaliptol, %2,68 mentol, %1,51 karyofillen ile %1,33 1,8-sineol içerdiği bildirilmiştir (El Omari ve diğerleri, 2023). Bir başka çalışmada, *L. stoechas*'dan buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi GC ile belirlenmiştir (Boukhatem ve diğerleri, 2020). Uçucu yağda belirlenen başlıca bileşikler oksijenli monoterenler olmuş ve bunun %61,36'sının 1,8-sineol olduğu tespit edilmiştir. *L. stoechas*'ın toprak üstü kısmından hareketle buhar distilasyonu tekniği ile elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi GC-MS tekniği ile belirlenmiş ve oksijenli monoterenler (%79,23), monoteren hidrokarbonlar (%18,93) ve seskiterpen hidrokarbonlardan (%1,84) oluştuğu saptanmıştır. Uçucu yağın bileşiminde ana bileşen olarak %61,36 oranında 1,8-sineol mevcut olup, bunu %13,83 ile  $\beta$ -pinen ile %4,75 oranla  $\alpha$ -pinen takip etmiştir. Diğer bileşiklerin oranı ise %3'ten az bulunmuştur (Boukhatem ve diğerleri, 2020). *L. stoechas*'dan elde edilen uçucu yağ içerisinde bulunan majör terpenik bileşikler; fenkon, kâfur ve 1,8-sineol olarak belirlenmiştir. Ancak bitkilerin yetiştiği bölge, toprak yapısı ve iklim gibi faktörler bu bileşiklerin oranını değiştirebilmektedir. *L. stoechas* kemotipinin belirlenmesinde fenkon/kâfur oranının kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Bitkinin yetiştiği yerin, uçucu yağın majör bileşikleri üzerine etkisi Çizelge 2.4.'de gösterilmiştir (Ez zoubi ve diğerleri, 2020). *L. stoechas*'ın çiçeklerinden hareketle su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağda GC-alev iyonizasyon dedektörü (flame ionisation dedector, FID) ile gerçekleştirilen analiz ile fitokimyasal içeriğinin %15,26 linalil asetat, %10,68 linalol, %10,25 1,8-sineol, %11,20  $\delta$ -terpinen, %0,35 1,4-sineol ve %11,25 kâfurdan meydana geldiği belirtilmiştir (Barkat ve diğerleri, 2012a). *L. stoechas*'ın uçucu yağının GC-MS ile analiz edildiği bir çalışmada,

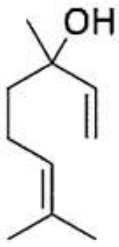
kimyasal bileşimi %0,2 trisiklen, % 0,4  $\alpha$ -pinen, %2,8 kamfen, %0,4 *p*-simen, %0,2 limonen, %6,0 1,8-sineol, %37 fenkon, %0,4 fenkol, %27,3 kâfur, %0,8 borneol, %0,5 mirtenol, %0,3 verbenon, %6,2 bornil asetat, %3,1 timol, %3,4 karvakrol, %1,7 mirtenil asetat, %2,6 viridiflorol olarak belirlenmiştir (Zuzarte ve diğerleri, 2013). *L. stoechas*'ın toprak üstünden elde edilen uçucu yağın bileşimi linalol, linalil asetat, borneol,  $\alpha$ -terpineol, lavandulil asetat, terpinen-4-ol, 1,8-sineol, *trans*-linalol oksit, geranil asetat,  $\beta$ -mirsen,  $\beta$ -karyofilen, oktan-3-on,  $\gamma$ -kadinen, kâfur,  $\alpha$ -limonen, kamfen, *p*-simen, *trans*-pinokarveol, verbenon,  $\alpha$ -pinen, mirtanol,  $\beta$ -pinen, sabinen ve fenkon olarak aydınlatılmıştır (Wells ve diğerleri, 2018). Ülkemizde gerçekleştirilen bir çalışmada, Adana'dan toplanan bitkiden elde edilen uçucu yağın GC-MS ile analizinde,  $\alpha$ -pinen, kamfen, limonen, 1,8-sineol, epoksi linalol , fenkon, linalol ,  $\beta$ -pinen, kâfur, izoborneol, 4-terpinenol, *p*-simen-8-ol,  $\alpha$ -terpinenol, mirtenol, verbenon, *trans*-karveol, karvon, bornil asetat, mirtenil asetat, terpendiol,  $\alpha$ -kamfonelik asit ve izoverellal belirlenmiştir (Giray ve diğerleri, 2008).



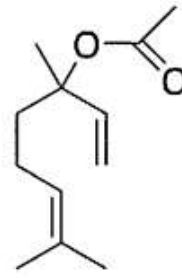
Kâfur



1,8-Sineol



Linalol



Linalil asetat

Şekil 2.8. *L. stoechas* bitkisinden elde edilen uçucu yağda tespit edilen bazı bileşikler

Çizelge 2.4. Farklı ülkelerde yetişen *L. stoechas* bitkisinden elde edilen uçucu yağların bileşimi

| Yetiştirildiği ülke | Uçucu yağın elde edildiği bitki kısmı | Ana bileşenler  | Kaynaklar                    |
|---------------------|---------------------------------------|---|------------------------------|
| Türkiye             | Çiçek                                 | Fenkön (%32,03)<br>Kâfur (%14,71)<br>Mirtenil asetat (%11,70)<br>1,8-Sineol (%7,67)                                 | (Giray ve diğerleri, 2008)   |
| Cezayir             | Çiçek                                 | Linalil asetat (%15,26)<br>Kâfur (%11,25)<br>$\gamma$ -Terpinen (%11,20)<br>Linalol (%10,68)<br>1,8-Sineol (%10,25) | (Barkat ve diğerleri, 2012b) |
| Yunanistan          | Yaprak                                | Fenkön (%44,80)<br>1,8-Sineol (%16,70)<br>$\alpha$ -Kardinol (%7,20)<br>Kâfur (%6,20)                               | (Skoula ve diğerleri, 1996)  |
| İtalya              | Toprak üstü                           | Fenkön (%37,0)<br>Kâfur (%27,3)<br>Bornil asetat (%6,2)<br>1,8-Sineol (%6,0)  | (Zuzarte ve diğerleri, 2013) |
| Fas                 | Toprak üstü                           | Fenkön (%30,5)<br>Kâfur (%18,2)   | (Zrira ve diğerleri, 2003)   |

Çizelge 2.4. (devam) Farklı ülkelerde yetişen *L. stoechas* bitkisinden elde edilen uçucu yağların bileşimi

| Yetiştirildiği ülke | Uçucu yağın elde edildiği bitki kısmı | Ana bileşenler  | Kaynaklar                               |
|---------------------|---------------------------------------|---|---|
| Pakistan            | Toprak üstü                           | Kâfur (%46,24)<br>Borneol (%6,71)<br>Karyofillen (%4,72)<br>1,8-Sineol (%3,69)      | (Zaheer-ud-din Khan ve diğerleri, 2002) |
| Portekiz            | Toprak üstü                           | Fenkon (%37,0)<br>1,8-Sineol (%17,8)<br>Kâfur (%15,6)<br>Linalol (%7,5)             | (Matos ve diğerleri, 2009)              |
| İspanya             | Toprak üstü                           | Fenkon (%34,3)<br>Kâfur (%27,4)<br>Lavandulil asetat (%5,6)<br>1,8-Sineol (%3,4)    | (Carrasco ve diğerleri, 2015)           |
| Tunus               | Toprak üstü                           | Fenkon (%32,03)<br>Kâfur (%14,71)<br>Mirtenik asetat (%11,70)<br>1,8-Sineol (%7,67) | (Messaoud ve diğerleri, 2012)           |

***Lavandula* × *intermedia* Emeric ex Loisel.**

*L. × intermedia* Emeric ex Loisel. (lavandin), *Lavandula angustifolia* Mill. ile *Lavandula latifolia* Medik.'in melezlenmesiyle elde edilen bir türdür. Bu melezleme, *L. × intermedia*'nin daha güçlü ve daha dayanıklı bir versiyonunu oluşturarak, her iki ebeveyn türün olumlu özelliklerini birleştirmeyi amaçlamaktadır. *L. × intermedia*, özellikle uçucu yağ elde etmek için değerlidir, zira genellikle gerçek lavantadan daha yüksek verim sağlamaktadır. Ayrıca, gösterişli çiçekleri nedeniyle bahçecilik ve peyzaj tasarımında da popülerdir (Abdulhabip, 2023). *L. × intermedia*, tohumla üretilmemekte ve vejetatif yöntemlerle çoğaltılmaktadır (H. Baydar ve diğerleri, 2009).

*L. × intermedia* çiçek salkımları, mor, mavi veya bazen beyaz renkte olabilir ve tipik lavanta kokusundan daha keskin bir aroma yayar. İspanya, Fransa ve İtalya'da yetişen doğal steril hibrit "lavandin" adıyla bilinmektedir; yağ üretimi ve bahçecilik için birçok çeşidi mevcuttur. "Alba", yaklaşık 100 cm boyunda beyaz çiçeklere; "Dutch Grubu", 80 cm boyunda açık mavi menekşe çiçekleri ve gri yapraklara, "Grappenhall", 90 cm boyunda lila-mor çiçekler ve yeşil yapraklara, "Grosso", yağ üretiminde popüler olup, 75 cm boyunda koyu menekşe-mavi çiçeklere, "Hidcote Giant", 90 cm boyunda kalın menekşe-mavi çiçek salkımlarına, "Lullingstone Castle", yaklaşık 100 cm boyunda koyu mavi-mor çiçekler ve gri yapraklara, "Old English", 100 cm boyunda menekşe çiçekleri ve gri-yeşil yapraklara ve "Seal" ise 100 cm'den daha uzun olup, menekşe-mavi çiçeklere sahiptir (H. Baydar ve diğerleri, 2009; Lis-Balchin, 2002). Bulgaristan, lavanta üretiminde öncü ülke haline gelmiştir; lavandin uçucu yağı üretiminde ise Fransa lider konumda olup, ardından İspanya gelmektedir. Türkiye'de lavanta çiftliklerinin popüleritesi artmakla birlikte, Türkiye'deki lavanta kültürü büyük ölçüde *L. × intermedia* türüne dayanmaktadır. Lavandin uçucu yağı, aromaterapide ve parfümeride kullanılmak üzere ticari olarak yetiştirilir. Antiseptik, anti-enflamatuvar ve rahatlatıcı özellikleri nedeniyle, masaj yağları, banyo ürünleri ve kişisel/ev temizlik ürünlerinde yaygın olarak kullanılır (Choudhary, 2021). Yağın tıbbi kullanımları huzursuzluk, kaygı, kardiyovasküler ve sindirim bozuklukları, uykusuzluk, yanık, ishal, baş ve boğaz ağrısı ile yaraların tedavisini kapsamaktadır. İnhalasyon yoluyla alındığında günlük doz 0,06-0,2 ml, oral yoldan alındığında ise günlük 20-80 mg dozda, bir şeker küpüne 1-4 damla olarak uygulanması tavsiye edilmektedir (Koriem, 2021).

## 2.11. *L. × intermedia* Üzerinde Yapılan Çalışmalar

### 2.11.1. Biyolojik aktivite çalışmaları

#### Antimikrobiyal aktivite

Romanya'dan toplanan *L. × intermedia*'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi Kirby-Bauer yöntemi ile *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Uçucu yağ, *Shigella flexneri*, *S. aureus*, *E. coli* ve *Salmonella typhimurium* suşları üzerinde güçlü antimikrobiyal aktivite gösterirken, *Streptococcus pyogenes*'e karşı etki göstermediği belirlenmiştir (Jianu ve diğerleri, 2013). *L. × intermedia*'dan elde edilen uçucu yağın antibiyotiklere dirençli iki suş olan *Streptococcus mutans* ve *Lactobacillus* spp.'e karşı etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, uçucu yağ, hücre membranı yırtılması ve daha sonrasında da hücresel sıvının dışarı sızması ile antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Suşlara karşı MIC değeri sırasıyla 6 µL/ml ve 16 µL/ml olarak belirlenmiştir (Tardugno ve diğerleri, 2018). 1,8-Sineol ve borneol açısından zengin bir lavandin uçucu yağı örneği, *in vivo* olarak gerçekleştirilen bir çalışmada *Citrobacter rodentium* üzerine güçlü antimikrobiyal etki göstermiştir. Aynı çalışmada, *Clostridia* spp., *Eubacterium rectale*, *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp. ve *Clostridium coccooides* bakterilerine karşı da ılımlı düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Baker ve diğerleri, 2012). İtalya'da yetişen lavandinden hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ üzerinde yapılan testlerden elde edilen bulgulara göre; *Acinetobacter bohemius* lavandin uçucu yağına karşı (10 µL) 47 mm'lik bir inhibisyon alanı ve %0,47'lik bir MIC ile en duyarlı suş olmuştur (Garzoli ve diğerleri, 2019). *B. cereus* 21,5 mm'lik bir inhibisyon alanı ve %0,94'lük bir MIC sergileyerek uçucu yağa ikinci en hassas mikroorganizma olmuştur. Uçucu yağ *E. coli* ve *Kocuria marina*'ya sırasıyla 13,0 ve 14,5 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuş ve her ikisi de mikrodilüsyon testinde %1,87'lik bir MIC değeri vermiştir. Disk difüzyon testlerinde, *L. × intermedia* uçucu yağı *E. coli* ve *Streptococcus agalactiae*'ye karşı sırasıyla 15-23 mm ve 12-17 mm inhibisyon alanları ile önemli antibakteriyel aktivite göstermiştir. Bu çalışma sonucunda antibakteriyel aktivitenin 1,8-sineol varlığıyla önemli ölçüde ilişkili olduğu belirtilmiştir (Bajalan ve diğerleri, 2017). *L. × intermedia*'dan hazırlanan hidrozol, yaprak etanol ve su ekstresi, disk difüzyon testinde *S. pyogenes*, *S. aureus*, *Citrobacter freundii*,

*Proteus vulgaris*, *E. coli*, *Propionibacterium acnes* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel aktivite göstermemiştir (Moon ve diğeri, 2006).

#### Antioksidan aktivite

*L. × intermedia* uçucu yağı bir hafta boyunca sıçanlara inhalasyon yolu ile verilmiş ve deney sonunda, sıçanların beyinlerinde, CAT, SOD ve GPx aktivitelerinde artış, indirgenmiş GSH içeriğinde azalma ve MDA seviyelerinde düşüş gibi önemli biyokimyasal değişiklikler gözlenmiştir. MDA düzeylerinin düşmesi, serbest radikal kaynaklı lipid peroksidasyonunun azaldığını; CAT, SOD ve GPx aktivitelerinin artışı ise güçlü bir endojen antioksidan savunma sisteminin oluştuğunu göstermektedir (Pizzino ve diğeri, 2017). Başka bir çalışmada, İspanyol kökenli 'Abrial', 'Super' ve 'Grosso' varyetelerinin uçucu yağlarının antioksidan kapasitesi *in vitro* ortamda ABTS ve DPPH testleri kullanılarak incelenmiştir. *L. × intermedia* uçucu yağları, kültürlerine göre değişiklik göstermekle birlikte, testlere göre orta seviyede antioksidan aktivite sergilemiştir. Elde edilen bu uçucu yağların LOX üzerinde hafif inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir (Carrasco ve diğeri, 2016). *L. × intermedia* etanol ekstresinin ve uçucu yağının antioksidan aktivitesinin kıyaslandığı bir çalışmada, uçucu yağın DPPH süpürme aktivitesi %75,03 ± 11,33 iken, aynı testte bitkinin etanol ekstresi %94,38 ± 1,19 oranında aktivite göstermiştir (Ramić ve diğeri, 2022). Ayrıca uçucu yağa kıyasla etanol ekstresi çok daha düşük bir konsantrasyonda daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bunun sebebi olarak, lavantanın etanol ekstresinin, uçucu yağa göre daha bol miktarda flavonoidler, kumarinler, fenolik asitler ve bunların glikozitleri gibi farklı sekonder metabolitler içermesi olarak belirtilmiştir.

#### Uyku kalitesi üzerine etkisi

Kalp rahatsızlığı bulunan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada, hastalar plasebo ve çalışma grubu olmak üzere 2'ye ayrılmıştır. Çalışma grubuna 5 gece boyunca *L. × intermedia* 'Super', *Citrus × bergamia* (Risso) Risso and Poit. (bergamot) ve *Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. and Thomson (ylang ylang) uçucu yağlarının karışımı inhalasyon yoluyla verilirken, plasebo grubuna yalnızca buhar inhalasyonu yapılmıştır (McDonnell ve diğeri, 2019). Çalışma sonunda, yağ karışımını koklayan katılımcıların uyku kalitesi, plasebo yağı alan katılımcılarından önemli ölçüde daha iyi olarak belirlenmiştir.

### Antitrombotik aktivite

Guinea domuzu trombositce zengin plazmasında yapılan çalışmalar, lavanta yağının araşidonik asit ve kolajen ile tetiklenen trombosit agregasyonuna karşı antiplatelet özellikler gösterdiğini ortaya koymuştur. Günde 100 mg/kg dozda, 5 gün boyunca uygulanan lavandin yağı, fare pulmoner tromboembolizm modelinde trombotik olayları anlamlı şekilde azaltırken, aspirin gibi referans ilaçlarla karşılaştırıldığında herhangi bir hemorajik komplikasyona yol açmadığı bildirilmiştir (Ballabeni ve diğerleri, 2004).

### Antitümör aktivite

*L. × intermedia* 'Grosso' uçucu yağı ve nanoformülasyonları ile yapılan bir çalışmada, Caco-2 (insan kolorektal adenokarsinom), MCF7 (insan meme adenokarsinom) ve MCF10A (normal meme epitel), CCRF-CEM (insan lenfoblastik lösemi) ve SHSY5Y (insan nöroblastoma) hücre hatlarında antiproliferatif aktivite göstermiştir. Uçucu yağın nanoformülasyonunun, özellikle daha dirençli hücre hatlarında uçucu yağa nazaran daha fazla antiproliferatif aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Ovidi ve diğerleri, 2020).

## **2.11.2. Fitokimyasal çalışmalar**

### Ekstreler üzerindeki çalışmalar

*L. × intermedia* üzerinde yapılan çalışmalara göre, bitkinin farklı kısımlarında aşağıda verilen sekonder metabolit grupları ve bileşikler bildirilmiştir. *L. × intermedia*'nin farklı polaritede hazırlanan ekstrelerinde, flavonoidler ve glikozitleri, hidroksisinnamik asitler ve türevleri, hidroksi benzoik asitler ve türevleri, yağ asitleri belirlenmiştir ve Çizelge 2.5'te gösterilmiştir

Çizelge 2.5. *L. × intermedia* bitkisinin fitokimyasal içeriği

| Bileşikler                     | Kullanılan Ekstre            | Kimyasal Grubu                           | Kaynaklar   |
|--------------------------------|------------------------------|--|---|
| Rozmarinik asit                | Su ekstresi<br>MeOH ekstresi |  | (Saşmaz ve diğerleri, 2020;<br>Torras-Claveria ve diğerleri,<br>2007) |
| Rozmarinik asit metilester     | MeOH ekstresi                |  | (Saşmaz ve diğerleri, 2020;<br>Torras-Claveria ve diğerleri,<br>2007) |
| Kafeoil tartarik asit          | Su ekstresi                  | Hidroksisinnamik asitler ve<br>türevleri | (Saşmaz ve diğerleri, 2020)   |
| Klorojenik asit                | MeOH ekstresi                |  | (Torras-Claveria ve<br>diğerleri, 2007)                               |
| 6-Kafeoil sükroz               | Su ekstresi                  |  | (Saşmaz ve diğerleri, 2020)   |
| Hidroksisinnamik asit glukozit | Su ekstresi                  |  | (Saşmaz ve diğerleri, 2020)   |
| Ferulik asit heksozit          | Su ekstresi                  |  | (Saşmaz ve diğerleri, 2020)   |
| <i>Ferulik asit-O-glukozit</i> | <i>MeOH ekstresi</i>         |  | <i>(Torras-Claveria ve<br/>diğerleri, 2007)</i>                       |
| Salvianolik asit               | Su ekstresi                  |  | (Saşmaz ve diğerleri, 2020)   |
| Yunnaneik asit                 | Su ekstresi                  |  | (Saşmaz ve diğerleri, 2020)   |

Çizelge 2.5. (devam) *L. × intermedia* bitkisinin fitokimyasal içeriği

| Bileşikler                       | Kullanılan Ekstre            | Kimyasal Grubu               | Kaynaklar   |
|----------------------------------|------------------------------|------------------------------|---|
| Kumarik asit- <i>O</i> -glukozit | Su ekstresi<br>MeOH ekstresi |                              | (Saşmaz ve diğerleri, 2020;<br>Torras-Claveria ve diğerleri,<br>2007) |
| Kafeik asit                      | MeOH ekstresi                |                              | (Torras-Claveria ve<br>diğerleri, 2007)                               |
| Kafeik asit- <i>O</i> -glukozit  | MeOH ekstresi                |                              | (Torras-Claveria ve<br>diğerleri, 2007)                               |
| Luteolin- <i>O</i> -glukozit     | Su ekstresi                  |                              | (Saşmaz ve diğerleri, 2020)   |
| Luteolin                         | MeOH ekstresi                | Flavonoitler ve glikozitleri | (Torras-Claveria ve<br>diğerleri, 2007)                               |
| Apigenin                         | MeOH ekstresi                |                              | (Torras-Claveria ve<br>diğerleri, 2007)                               |
| Krizoeriyol                      | MeOH ekstresi                |                              | (Torras-Claveria ve<br>diğerleri, 2007)                               |
| Naringenin                       | MeOH ekstresi                |                              | (Torras-Claveria ve<br>diğerleri, 2007)                               |
| Kemferol                         | MeOH ekstresi                |                              | (Torras-Claveria ve<br>diğerleri, 2007)                               |

Çizelge 2.5. (devam) *L. × intermedia* bitkisinin fitokimyasal içeriği

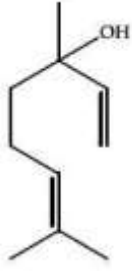
| Bileşikler                     | Kullanılan Ekstre | Kimyasal Grubu                     | Kaynaklar                            |
|--------------------------------|-------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| Kersetin                       | MeOH ekstresi     |                                    | (Torras-Claveria ve diğerleri, 2007) |
| İzokersitrin                   | MeOH ekstresi     |                                    | (Torras-Claveria ve diğerleri, 2007) |
| Luteolin- <i>O</i> -heksozit   | MeOH ekstresi     |                                    | (Torras-Claveria ve diğerleri, 2007) |
| Luteolin- <i>O</i> -glukuronit | MeOH ekstresi     |                                    | (Torras-Claveria ve diğerleri, 2007) |
| Oleik asit                     | Su ekstresi       | Yağ asidi                          | (Saşmaz ve diğerleri, 2020)          |
| Linoleik asit                  | Su ekstresi       |                                    | (Saşmaz ve diğerleri, 2020)          |
| Protokateşik asit              | MeOH ekstresi     | Hidroksi benzoik asit ve türevleri | (Torras-Claveria ve diğerleri, 2007) |

## Uçucu yağ

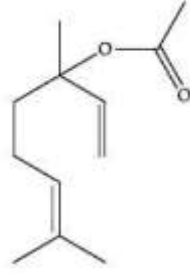
Ülkemizde gerçekleştirilen bir çalışmada 4 farklı lokasyonda yetiştirilip toplanan ve daha sonra kurutulan *L. × intermedia* çiçeklerinden hareketle hidrodistilasyon tekniği ile uçucu yağları elde edilmiş ve analizleri GC-MS ile gerçekleştirilmiştir. Araştırma bulguları lokasyonun lavandinin uçucu yağ oranı ve kompozisyonu üzerinde önemli etkisi olduğunu ortaya koymaktadır. Elde edilen uçucu yağların ana bileşenleri başlıca linalol (%41,34-53,10), linalil asetat (%1,83-23,54), kâfur (%4,48-7,60) ve 1,8-sineol (%1,95-6,27) olarak belirlenmiştir (Katar ve diğerleri, 2020; Koriem, 2021). Bu bileşiklere ilaveten ;  $\alpha$ -pinen, kamfen,  $\beta$ -mirsen, limonen, *cis*-osimen,  $\gamma$ -terpinen,  $\beta$ -ocimen, 3-oktanon, *o*-simen, *n*-hekzil asetat,  $\alpha$ -terpinolen, *trans*-sabinen hidrat, linalol oksit, *cis*-sabinen hidrat, lavandil asetat,  $\beta$ -karyofilen, terpinen-4-ol, (*Z*)- $\beta$ -farnesen, lavandulol, kripton,  $\alpha$ -terpineol, borneol, neril asetat, geranil asetat, nerol, geraniol, karyofilen oksit, karvakrol ve  $\alpha$ -bisabolol de tespit edilmiştir. Romanya'da gerçekleştirilen bir çalışmada, *L. × intermedia*'nın uçucu yağında belirlenen ana bileşenler %32,7 oranında kâfur ve %26,9 oranında 1,8-sineol olarak belirlenmiştir (Jianu ve diğerleri, 2013). Isparta'da yetiştirilen lavandinin uçucu yağ analizinin gerçekleştirildiği başka bir çalışmada ise; uçucu yağda limonen, mirsen, sabinen, simen, linalol, linalil asetat, neril asetat, farnesen, nerol, kripton,  $\alpha$ -terpineol, borneol, geranil asetat, geraniol, kadinol,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, kâfur, ökaliptol, sabinen hidrat, karyofilen, lavandulol ve bisabolol olduğu belirlenmiştir (Nimet ve diğerleri, 2013). Bir başka çalışmada, lavandin uçucu yağı içerisinde 3-oktanon, fellandren, limonen, 1,8-sineol, (*Z*)-osimen, linalol, izoforon, terpinen-4-ol, kripton, linalil propiyonat, linalil asetat, lavandulil asetat, neril asetat, karyofillen ve karyofillen oksit varlığı belirlenmiştir (Rathore ve diğerleri, 2022).

*L. × intermedia* uçucu yağının en dikkat çekici ögeleri arasında; ferahlatıcı bir etkiye sahip olan 1,8-sineol, hoş bir koku veren linalol, kâfur, sakinleştirici etkili borneol, terpinen-4-ol, tatlı bir aroma katkısı olan linalil asetat, lavandulol ve lavandulil asetat bulunmaktadır. Ayrıca, bu yağ; daha düşük miktarlarda olmak üzere  $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen, mirsen, sabinen, 3-karen,  $\alpha$ -terpinen,  $\alpha$ -santalen, germakren D, (*E*)- $\beta$ -karyofilin ve *trans*- $\alpha$ -bergamoten gibi daha az polar olan monoterpen ve seskiterpen hidrokarbonlarını da taşımaktadır. Lavandin uçucu yağlarının öne çıkan ana bileşenleri genellikle %20'yi, bazen ise %50'yi aşan oranlarda linalol ve linalil asetatır. Yüksek orandaki linalol ve linalil asetat, yağların tercih

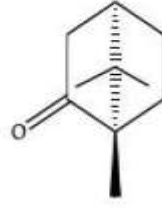
edilen çiçeksi kokusuna ve farmasötik değerine yüksek katkıda bulunur. Lavandin uçucu yağında baskın diğer terpenoitler %5 ile %10 arasında değişen kâfur ile borneol ve 1,8-sineoldür. Terpinen-4-ol ve  $\alpha$ -terpineol gibi önemli bileşikler, uçucu yağın yaklaşık %5 kadarını oluşturmaktadır (Pokajewicz ve diğerleri, 2022).



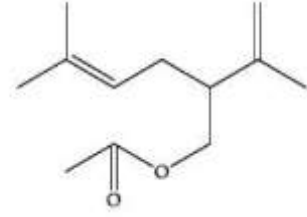
Linalol



Linalil asetat



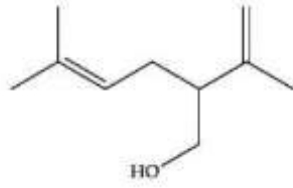
Kâfur



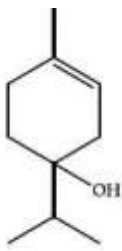
Lavandulol



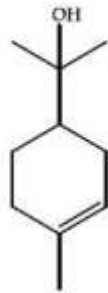
1,8-Sineol



Lavandulil asetat



Terpinen-4-ol

 $\alpha$ -Terpinen

Borneol

Şekil 2.9. *L. × intermedia* uçucu yağında tespit edilen başlıca monotерpenler

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

Deneysel çalışmalarımızda kullanılan bitkisel materyallerin hepsinin toplanma veya temin edilme yerleri, tarihleri, konumları, kullanılan kısımları, herbaryum numaraları ve familya bilgileri Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Toplanan materyallerden hareketle yapılan ön deneysel çalışma sonrasında, *L. × intermedia* ve *L. stoechas* bitkileri üzerinden çalışmalara devam edilmiştir. Kullanılan iki tür *Lavandula*'ya ait herbaryum örnekleri Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryum'unda saklanmaktadır ve örneklere ait herbaryum numaraları Çizelge 3.1.'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Bitkisel materyallerin toplanma / temin edilme yerleri, herbaryum numarası, tarihleri, konumları, kullanılan kısımları ve familya bilgileri

| Bitki                  | Kullanılan Kısım | Herbaryum Numarası | Konumu   | Tarih      | Familya      |
|------------------------|------------------|--------------------|--|------------|--------------|
| <i>L. × intermedia</i> | Toprak üstü      | 3928               | Korkuteli, Çaykenarı köyü,<br>Antalya<br>Yükseklik 960 metre | 01/06/2021 | Lamiaceae    |
| <i>L. stoechas</i>     | Toprak üstü      | 3930               | Korkuteli, Çaykenarı köyü,<br>Antalya<br>Yükseklik 960 metre | 01/06/2021 | Lamiaceae    |
| <i>U. dioica</i>       | Toprak üstü      | -                  | Muzrupağacın köyü,<br>Ankara                                 | 30/08/2021 | Urticaceae   |
| <i>U. urens</i>        | Toprak üstü      | -                  | Muzrupağacın köyü,<br>Ankara                                 | 30/08/2021 | Urticaceae   |
| <i>J. regia</i>        | Kabuk ve zarlari | -                  | Denizli  | 06/2021    | Juglandaceae |
| <i>C. avellana</i>     | Kabuk            | -                  | Denizli  | 06/2021    | Betulaceae   |



Resim 3.1. *L. x intermedia* (Fotoğraf: Taner Büyükdemirel, Antalya, 2021)



Resim 3.2. *L. stoechas* (Fotoğraf: Taner Büyükdemirel, Antalya, 2021)

### 3.1.1. Kimyasal bileşikler ve malzemeler

Tez deneyleri sırasında kullanılan tüm kimyasal bileşikler ve solvanlar, Sigma Aldrich, Merck, Thermo Scientific, Serva ve Bioind firmalarının Türkiye temsilcilerinden satın alınmıştır. Analizler sırasında, kullanılan cihaz ile uyumlu olması gereken çözücülerin seçimine dikkat edilmiştir.

### 3.1.2. Cihazlar

Santrifüj cihazı: İsolab

Plak ısıtıcısı: CAMAG, TLC plate heater II

Etüv: İldam

UV kabini: CAMAG

GC: Agilent 6890N GC

GC-MS: Agilent 5975 GC-MSD

Çalkalayıcı: Heildolph, Promax 2020

Ultrasonik banyo: Elma, Ultrasonic LC 30

Vakum pompası: Heildolph

pHmetre: Hanne, HI 2211

Öğütücü: Gea Getra, Spice Herb Grinder IC-04A

Terazi: Radwag AS 220. R2 ve AandD Company AND HF-3000

NMR: Bruker 600 mHz

YPSK: Agilent 1260 İnfinity

Mikroplaka okuyucu: Molecular Devices, Spectramax ABS Plus

Rotavapor: Büchi, Heildolph

Liyofilizatör: Telstar Lyo Quest

### 3.2. Yöntem

Çizelge 3.1.'de belirtilen tıbbi bitkiler belirtilen tarihlerde toplanmış veya temin edilmiştir. Her bir örnek gölgede tamamen kurutulmuştur. Daha sonra öğütücü (Spice Herb Grinder IC-04A, GEA GETRA) ile toz edilmiştir. Her bir örnek tartılıp (AND HF-3000, AandD Company, İsviçre) erlenlere koyulduktan sonra, üzerlerine MeOH (Merck, Almanya) ilave

edilmiştir. Oda sıcaklığında, 3 gün boyunca, belli aralıklarla elle çalkalanarak masere edilmiştir. Maserasyon sonunda bitki örnekleri filtre kağıdından süzülmüştür ve süzülen organik solvan kısımları alçak basınç altında, 40 °C’de rotavaporda (Büchi, İsviçre) tamamen kuruyana kadar yoğunlaştırılmıştır. Elde edilen ekstrelerin verimleri (a/a) hesaplanmış ve ön tarama deneylerinde kullanılmak üzere +4 °C’de saklanmıştır. Ön taramadan sonra AYP prosesi için seçilen *L. × intermedia* ve *L. stoechas* bitkileri daha yüksek miktarda ekstre hazırlanmak amacıyla tekrar Lavantalya şirketinden (Antalya, Türkiye) temin edilmiştir. Temin edilen bitkiler %100 MeOH (Merck, Almanya) ile 15 gün boyunca, solvanın hergün değiştirilmesi suretiyle, MeOH’ün rengi iyice açılana kadar masere edilmiştir. Her iki bitkiden elde edilen MeOH’ü ana ekstre alçak basınç altında 40 °C’de evaporatörde (Büchi, İsviçre) tamamen kuruyana kadar yoğunlaştırılmıştır. Ana ekstrelerin enzim inhibisyon çalışmalarını gerçekleştirmek için herbirinden uygun miktarlarda tartılmış ve 4 mg/ml’lik stok konsantrasyonları %50 MeOH (Merck, Almanya) içinde çözülerek hazırlanmıştır. Ana ekstrelerin antioksidan aktivite çalışmalarını gerçekleştirmek için ise 2 mg/ml’lik stok konsantrasyonları %96’lık etanol (Merck, Almanya) ile hazırlanmıştır. İzole edilen saf bileşiklerin ve taramaya dahil edilen bazı saf bileşiklerin enzim inhibisyon analizleri için elde edilen miktara göre değişkenlik göstererek 4 mg/ml ile 2 mg/ml arasındaki konsantrasyonlarda %50’lik MeOH ile stok konsantrasyonları hazırlanmıştır. Bahsi geçen konsantrasyonlardaki çözeltiler, inhibisyon sonuçlarına göre azalan konsantrasyonlarda da hazırlanmıştır.

### 3.2.1. Aktivite çalışmaları

#### Enzim inhibisyon tayin yöntemleri

Enzim izolasyonu, Chaiyana ve diğerlerinin geliştirdiği yöntem modifiye edilerek yapılmıştır (Chaiyana ve diğerleri, 2017). Enzim kaynağı olarak, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip II enzimini eksprese eden androjen bağımlı prostat kanser hücresi LNCaP (CRL-1740TM, ATCC) kullanılmıştır. LNCaP hücreleri, %5 CO<sub>2</sub>’li ortamda 37 °C’de kültüre edilmiştir. Besiyeri olarak %10 fetal bovine serum (FBS, Bioind, İsrail) ve 100 U/ml penisilin G (Bioind, İsrail) ve 100 µg/ml streptomisin (Bioind, İsrail) ile desteklenmiş RPMI-1640 (Bioind, İsrail) kullanılmıştır. Kültür kaplarında %80 oranında konfluent olan hücreler, PBS (fosfat tamponlu tuz çözeltisi) ile yıkanmıştır ve kazınarak flakstan toplanmıştır. Daha sonra 1900 devirde 10 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Hücre pelletine (107 hücre/ml) lizis

tamponu (pH 7,4) eklenerek elde edilen hücre süspansiyonu, buz üzerinde 10 saniye açık ve 10 saniye kapalı modda 1 dk boyunca %40 amplitude sonikasyon probu kullanılarak homojenize edilmiştir. Ardından, gliserol (Merck, Almanya) eklenerek %20 (h/h) olacak şekilde homojenat kullanıma kadar -80 °C'de saklanmıştır. Enzim homojenatının protein içeriği, Bradford protein tayin yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Herbir flakonda 1 mg/ml protein içerecek şekilde homojenatlara ayrılmıştır. Ayrılan homojenatlar enzim inhibisyon deneyleri sırasında enzim kaynağı olarak kullanılmak üzere -80 °C'de saklanmıştır.

#### Tris-HCl tampon hazırlanışı

Tris-HCl'den (Merck, Almanya) 12,1 g tartılarak 100 ml deiyonize su içerisinde çözülmüştür. Daha sonra HCl (Merck, Almanya) kullanılarak pH: 7,4 olarak şekilde ayarlanmıştır.

#### Lizis tamponu hazırlanışı

Tris-HCl final konsantrasyonu 50 mM olacak şekilde 100 ml deiyonize su içerisinde çözülmüştür. Çözeltinin pH'sı 10 M NaOH (Merck, Almanya) ile 7,4'e ayarlanmıştır. Tris-HCl (pH 7,4) tamponu içerisine final konsantrasyonu 400 mM olan NaCl (İsolab, Almanya), final konsantrasyonu 2 mM olan etilenglikoltetraasetik asit (EGTA, Sigma, Almanya) ve etilendiamintetraasetik asit (EDTA, Sigma, Almanya), final konsantrasyonu 1 mM eklenmiş ve elde edilen tampon +4 °C'de saklanmıştır. Hazırlanan bu çözeltinin içerisine homojenizasyon işleminden hemen önce, sodyum ortovanadat (100 µM), ditiyotritol (1 mM) (DTT, Sigma, Almanya), sodyum florür (1 mM) (Sigma, Almanya) ve proteaz inhibitörü (Thermo Scientific, Amerika Birleşik Devletleri/ABD) ilave edilmiştir.

Lizis tamponu, hücre veya doku örneklerinin çözülmesi ve analiz için uygun hale getirilmesi için kullanılan bir tampondur. EDTA ve EGTA gibi şelatlayıcı ajanlar, lizis tamponlarına genellikle eklenir. Bu şelatlayıcı ajanlar, metal iyonlarını bağlayarak enzimatik ve oksidatif bozulmayı engellemeye yardımcı olur ve hücre veya doku örneklerinin çözülmesini stabil hale getirir.

### Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzim inhibisyonu tayini

Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibisyonu Matsuda ve diğerlerinin, Kumar ve diğerleri tarafından modifiye edilmiş yöntemin tekrar modifiye edilmesiyle YPSK yöntemi ile tayin edilmiştir (N. Kumar ve diğerleri, 2012; Matsuda ve diğerleri, 2001). Enzim kaynağı olarak LNCaP hücre hattından izole edilen ve daha sonra 1 mg/ml konsantrasyonlarda olacak şekilde flakonlara bölünüp -80 °C'de saklanan homojenatlar kullanılmıştır. Her örneğin enzim inhibisyon değerini bulabilmek için reaksiyon 3 ayrı deney tüpünde gerçekleştirilmiştir. Bunlardan biri  $r_{\text{sample}}$  olarak isimlendirilen, içerisinde örnek bulunan numunedir. Bir diğeri ise,  $r_{\text{ctrl}}$  olarak isimlendirilen enzim körüdür. Enzim körü hazırlanırken, kofaktör olan NADPH (Sigma, Almanya) ilavesinden önce diklorometan (DCM, Sigma, Almanya) ilave edilerek enzimin aktivitesi önlenir ve böylece testosteronun DHT'ye dönüşmesi inhibe edilmiş olur. Son deney tüpü ise  $r_{\text{rxn}}$  olarak adlandırılır. Burada ise deney başında örnek yerine çözücü olarak kullanılan %50'lik etanol (Merck, Almanya) ilave edilir. Ekstreler, referans bileşik ve saf bileşikler %50'lik etanol ile belirli konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Deney tüpüne ilk olarak 100  $\mu$ L örnek/referans ve daha sonra 0,02 mM pH:6,5 fosfat tamponu (500  $\mu$ L) ilave edilmiştir. %50'lik etanol içerisinde hazırlanan 500 ppm testosterondan (Sigma, Almanya) 150  $\mu$ L ilave edildikten sonra 1 mg/ml'lik konsantrasyonda hazırlanan enzim stoklarından 500  $\mu$ L eklenmiştir. pH 6,5 tampon içerisinde hazırlanan 0,77 mg/ml konsantrasyona sahip olan ve enzimin aktivitesi için gerekli olan kofaktör NADPH'dan 250  $\mu$ L konulmuştur. Her tüp etüvde (İldam, Türkiye) 37 °C'de 30 dk boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Reaksiyon sonunda, her tüpe reaksiyonu durdurmak için DCM'den 2,5 ml ilave edilmiştir. Son olarak her tüpe internal standart olarak %50'lik etanol içerisinde hazırlanmış propil-4-hidroksibenzoattan (100 ppm, Sigma, Almanya) 250  $\mu$ L ilave edildikten sonra her biri 3000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj edilmiş ve organik faz dekante edilmiştir. Dekante edilen organik faz, rotavaporda alçak basınçta 40 °C'de uçurulmuştur. Kalıntı üzerine 2,5 ml MeOH ilave edilerek iyice karıştırılmış ve enzim inhibisyonu tayini için çözeltiler 0,22  $\mu$ m por çapına sahip membran filtrelerden süzülerek YPSK viallerine konulmuştur. YPSK analizinde kullanılan mobil fazı oluşturan ve belirtilen oranlarda karıştırılan solvanlar 0,45  $\mu$ m filtrelerden süzüldükten sonra, ultrasonik banyoda (Ultrasonic LC-30, Elma, Belçika) 15 dk boyunca degaze edildikten sonra cihaza bağlanmıştır. Akış hızı 1 ml/dk olarak ayarlanmıştır. Referans ilaç olarak finasterit (Sigma, Almanya) kullanılmıştır.

Finasterit için standart denklemi

y:165,77x-18,2389

y: %İnhibisyon

x: Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )

YPSK analiz şartları

Cihaz: HP Agilent 1260 series LC Sistemi

Pompa: HP Agilent 1260 series 4 (quaternary pump) LC pompa

Kolon: Hypersil-ODS (250 x 4,6 mm iç çapında, 5  $\mu\text{m}$ )

Kolon Sıcaklığı: 40 °C (sıcaklık kontrollü)

Detektör: DAD (245 nm)

Enjeksiyon Ünitesi: HP Agilent 1260 series Autosampler

Akış Hızı: 1 ml/dk

Enjeksiyon Miktarı: 5  $\mu\text{L}$

Çözücü Sistemi: MeOH:deiyonize su (65:35)

Analiz Süresi: 15 dk

Testosteron ve internal standardın pikleri belirlenerek altında kalan alanlardan hareketle % inhibisyon hesabı yapılmıştır. Analizde 7,6. dk'da gelen pik internal standart olarak kullanılan propil-4-hidroksibenzoata, 10,9. dk civarında gelen pik ise testosterona aittir.

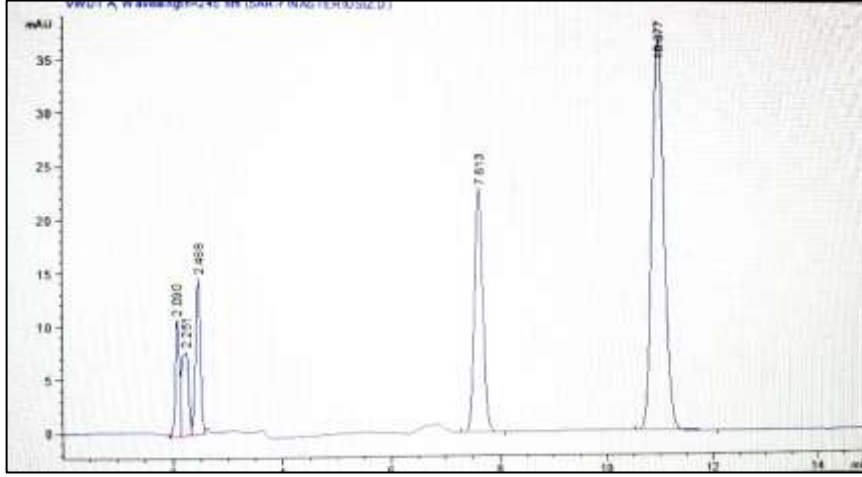
$$\%inhibisyon = \frac{(r_{sample} - r_{rxn})}{(r_{ctrl} - r_{rxn})} \times 100$$

r: Testosteron eğrisi altındaki alan/internal standart

$r_{rxn}$ : En başta örnek veya saf bileşik yerine %50'lik etanol eklenir.

$r_{ctrl}$ : Enzim körü, NADPH ilavesinden önce DCM ilave edilir.

$r_{sample}$ : İnhibisyonu belirlenmek istenen örnek veya referans



Şekil 3.1. Testosteron ve internal standarda ait YPSK kromatogramı

#### 500 ppm testosteron hazırlanışı

2 mg testosteron (safılık  $\geq 99,0$ , Sigma Aldrich, Almanya) tartılmış ve üzerine 4 ml %50'lik etanol ilave edilmiştir. Daha sonra tamamen çözülene kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır.

#### 0,55 mg/ml NADPH hazırlanışı

2 mg NADPH (safılık  $\geq 93,0$ , Sigma Aldrich, Almanya) tartılmıştır. Üzerine 2,6 ml pH: 6,5 tamponu ilave edilmiştir. Tamamen çözülene kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır.

#### Propil-4-hidroksibenzoat hazırlanışı

Propil-4-hidroksibenzoattan (100 ppm, safılık  $\geq 98,0$ , Merck, Almanya) 2 mg tartılmış ve 20 ml %50'lik etanol ilave edilmiştir. Daha sonra tamamen çözülene kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır.

#### Finasterit çözeltisinin hazırlanışı

1 mg finasterit (0,57  $\mu\text{M}$ , safılık  $\geq 98,0$ , Sigma Aldrich, Almanya) tartılmıştır ve üzerine 10 ml %50'lik etanol ilave edilmiştir. Stok çözelti olarak kullanılan bu çözeltiden 20  $\mu\text{L}$  alınmış ve 13,77 ml %50'lik etanol ilave edilmiştir.

### 0,02 mM pH:6,5 fosfat tamponu hazırlanışı

Potasyumdihidrojen fosfattan (Merck, Almanya) 1,7418 g tartılmış ve üzerine 500 ml deiyonize su ilave edildikten sonra pH 6,5'e ayarlanmıştır.

### LOX inhibisyonu

Chung ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntem üzerinde yapılan modifikasyonlar ile LOX enzim inhibisyonu tayin edilmiştir (Chung ve diğerleri, 2009). Öncelikle her örnek ve referans bileşikler 4 mg/ml konsantrasyonda dimetil sülfoksitte (DMSO) çözülmüştür. 96 kuyucuklu mikropakta gerçekleştirilen deneyde her kuyucuğa sırasıyla 10 µL örnek (bitki ekstresi, referans veya izole edilen bileşikler) eklendikten sonra üzerine 60 µL pH: 7,4 50 mM Tris-HCl tamponu ilave edilmiştir. Ardından 20 µL LOX (500 U/ml stok konsantrasyon, 1.13.11.12, tip I-B, soya fasulyesi, Sigma, Almanya) eklenmiş ve 25 °C 'de 5 dk boyunca etüvde inkübe edilmiştir. Reaksiyon, Tween 20 (Merck, Almanya) ve tampon içinde çözülmüş 12,5 mM stok konsantrasyondaki linoleik asit (Merck, Almanya) eklenmesiyle başlatıldıktan sonra reaksiyon karışımı karanlıkta 25 °C'de 20 dk boyunca inkübe edilmiştir. Daha sonra 100 µL taze hazırlanmış ksilenol turuncusu ferrik oksidasyonu (FOX) reaktifi eklenerek reaksiyon sonlandırılmıştır. Sonlandırma işleminden sonra, Fe<sup>+3</sup> boya kompleksi karanlıkta 25 °C'de 30 dk boyunca bekletilmiştir ve mikropak okuyucuda (Molecular Devices, Spectramax i3× mikropak okuyucu, ABD) 560 nm'de ölçülmüştür. Negatif kontrol olarak örneklerin yerine 10 µL DMSO, referans olarak ise baikalein (Sigma, Almanya) kullanılmıştır.

### 500 U/ml LOX enzimi hazırlanması

Deneyde her mikropak için 1,92 ml gerekli olup, 50,000 ünite/mg enzim kullanılmıştır. Bu amaçla 0,2 mg enzim, 20 ml 50 mM Tris HCl tamponu (pH: 7,4) içinde çözülmüştür.

### 12.5 mM Linoleik asit hazırlanması

Linoleik asit (70 mg) ve 140 mg Tween 20'ye 5 ml deiyonize suya eklenmesiyle, 12,5 mM stok çözeltisi hazırlanmıştır. Ardından 0,6 ml 1 N NaOH eklenmiş ve toplam hacim pH 7,4 50 mM Tris HCl tamponuyla 20 ml'ye tamamlanmıştır.

### FOX reaktifi hazırlanması

1 ml 3 M sülfürik asit üzerine, 1 ml 10 mM ksilenol turuncusu ve 1 ml 10 mM amonyum demir (II) sülfat ile akabinde 7 ml deiyonize su ilave edilmiştir. Daha sonra, 9 ml su fraksiyonundan alınmış ve 1 ml MeOH ilave edilmiştir.

### 3 M sülfürik asit hazırlanması

1,25 ml deiyonize suya 0,842 ml sülfürik asit (yoğunluk 1,84 g/ml, molekül ağırlığı 98,08 g/mol, ağırlık yüzdesi 95-98%) eklenmiş ve deiyonize su ile son hacmi 5 ml'ye tamamlanmıştır.

### 10 mM ksilenol turuncusu hazırlanması

Ksilenol turuncusunun 7,6 mg'ı 1 ml deiyonize su içinde çözülerek hazırlanmıştır.

### 10 mM Demir (II) sülfat hazırlanması

Demir (II) sülfatın 39,2 mg'ı 10 ml deiyonize su içinde çözülerek hazırlanmıştır.

### Antioksidan aktivite tayin yöntemleri

#### 2,2-Difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikal süpürücü aktivite

Örneklerin koyu mor renkli DPPH radikaline karşı süpürücü etkileri, reaksiyon sonucunda oluşan kompleksin rengindeki açılmanın 515 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle tayin edilmiştir (Barros ve diğerleri, 2007; Hatano ve diğerleri, 1988). Mikroplakta uygulanan yöntemde, ilk olarak analiz edilecek örneklerin ve referansın %96'lık etanol ile 2 mg/ml konsantrasyonunda çözeltileri hazırlanmıştır. Daha sonra her

birinden 10 µL hacminde plaklara ekilmiştir. Üzerine taze hazırlanmış 0,138 mg/ml DPPH solüsyonunda 90 µL eklenmiştir. Daha sonra mikropalak 30 dk boyunca 37 °C’de karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 515 nm’de ELISA mikropalak okuyucuda (Molecular Devices, Spectramax i3× mikropalak okuyucu, ABD) okutulmuştur. Tüm örnekler için deney 3 paralel olarak uygulanmış ve kersetin referans bileşik olarak kullanılmıştır. % Süpürücü etki aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Süpürücü etki} = [(A_{1-2}) / A_1] \times 100$$

A<sub>1</sub>: DPPH stok solüsyonunun 515 nm dalga boyundaki absorbanısı

A<sub>2</sub>: Örnek solüsyonunun 515 nm dalga boyundaki absorbanısı

#### DPPH solüsyonu hazırlanışı

DPPH’den 3,74 mg tartılmış ve 27 ml %96’lık etanol içerisinde çözülmüştür.

#### Metal-şelasyon etki tayini

Örneklerin metal-şelasyon etkilerini tayin etmek için Carter’in modifiye edilmiş yöntemi uygulanmıştır (Carter, 1971; Lantto ve diğerleri, 2009). Bu yöntem metal iyonları ile bileşik arasındaki kompleks oluşturma yeteneğini değerlendirmektedir. Analiz edilecek örnekler %96’lık etanolde 2 mg/ml konsantrasyonda çözülmüştür. İlk olarak mikropalalara 20 µL örnek eklenmiş ve daha sonra 10 µL 2 mM sulu FeCl<sub>2</sub> çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra 90 µL etanol ilave edilmiş ve 5 dk boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında 40 µL sulu 5 mM ferrozin çözeltisi ilave edilmiş ve 10 dk boyunca oda sıcaklığında tekrar inkübe edilmiştir. Sonunda oluşan kompleksin absorbanısı 562 nm’de ELISA mikropalak okuyucuda (Molecular Devices, Spectramax i3× mikropalak okuyucu, ABD) okunmuştur. Örneklerin % şelasyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 3 deneyden elde edilen % şelasyonların ortalaması ± S.S. olarak verilmiştir. Referans bileşik olarak EDTA (Sigma, Almanya) kullanılmıştır.

$$\% \text{Şelasyon} = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100$$

A<sub>1</sub>: Kontrol çözeltilisinin 562 nm dalga boyundaki absorbansı

A<sub>2</sub>: Örnek çözeltilerinin 562 nm dalga boyundaki absorbansı

### 2 mM FeCl<sub>2</sub> hazırlanışı

FeCl<sub>2</sub>'den 39,7 mg tartılmış, üzerine 100 ml distile su ilave edilmiş ve tamamen homojen olana kadar karıştırılmıştır.

### 5 mM Ferrozin hazırlanışı

Ferrozinden 246,2 mg tartılmış, üzerine 100 ml distile su ilave edilmiş ve tamamen homojen olana kadar karıştırılmıştır.

### EDTA çözeltilisinin hazırlanışı

EDTA'dan 2 mg tartılmış ve 100 ml suda çözülmüştür. Ancak EDTA'nın suda çözünmesi zor olduğundan NaOH ilave edilmiş ve tamamen çözülene kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır.

### Demir-indirgeme antioksidan gücü (FRAP) tayini

Örneklerin demir-indirgeme antioksidan gücü, Oyaizu'nun yönteminden hareketle gerçekleştirilen bazı modifikasyonlarla tayin edilmiştir (Oyaizu, 1986). Bu yöntemde, bir örneğin antioksidan gücü, indirgenmemiş demir (Fe<sup>+3</sup>) ile reaksiyona girerek indirgenmiş demir (Fe<sup>+2</sup>) formuna dönüştürülmesini temel almaktadır. Bu reaksiyon sırasında, indirgenmiş demir (Fe<sup>+2</sup>) formu renksizdir. Dolayısıyla örnekteki antioksidan miktarı arttıkça çözeltideki rengin değişimi ile spektrofotometrik yöntemlerle antioksidan kapasitesi ölçülür. Yönteme göre; antioksidan aktivitesi belirlenecek olan örnekler/referans %96'lık etanolde 2 mg/ml konsantrasyonda çözülmüştür. Mikroplaklara her örnekten 10 µL eklenmiş ve daha sonra pH: 6,6 fosfat tamponundan 25 µL ilave edilmiştir. Daha sonra 25 µL K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> çözeltisi eklenmiş ve 20 dk boyunca 50 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında 25 µL trikloroasetik asidin 100 mg/ml'lik konsantrasyondaki sulu çözeltilisinden eklenmiştir. Daha sonra 85 µL distile su ve son olarak 17 µL FeCl<sub>3</sub>'ün 1,65

mg/ml'lik sulu çözeltisinden ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 30 dk boyunca gerçekleşen reaksiyon sonunda, örneklerin ve referansın 700 nm'de absorbanları ELISA mikroplak okuyucuda (Molecular Devices, Spectramax i3× mikroplak okuyucu, ABD) okunmuştur. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 3 deneyden elde edilen absorbanların ortalaması  $\pm$  S.S. olarak verilmiştir. Referans bileşik olarak kersetin kullanılmıştır. Sonuçlar, artan absorban değerlerinin indirgeme gücünün arttığına işaret etmesi şeklinde yorumlanmaktadır.

#### pH:6,6 Fosfat tamponu hazırlanışı

6,24 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  tartılmış ve üzerine 180 ml distile su ilave edilmiştir. Çözeltinin pH 6,6'ya ayarlanarak toplam hacim 200 ml olacak şekilde distile su ile tamamlanmıştır.

#### $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ çözeltisi hazırlanışı

145 mg  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  tartılmış, distile su ile 100 ml'ye tamamlanmış ve tamamen çözülene kadar manyetik karıştırıcıda bekletilerek çözelti hazırlanmıştır.

#### TCA çözeltisi hazırlanışı

2,5 g TCA tartılmış ve 25 ml distile su ile tamamlanarak çözelti hazırlanmıştır.

#### $\text{FeCl}_3$ çözeltisi hazırlanışı

165 mg  $\text{FeCl}_3$  tartılmış, distile su ile 100 ml'ye tamamlanmış ve tamamen çözülene kadar manyetik karıştırıcıda bekletilmiştir.

#### Uçucu yağ elde edilmesi ve analizi

##### Uçucu yağların elde edilmesi

*L. stoechas* ve *L. × intermedia*'dan Clevenger cihazı kullanılarak, Avrupa Farmakopesinde tanımlanan yonteme göre hidrodistilasyon ile uçucu yağları elde edilmiştir. *L. stoechas* bitki örneği toplamı 280 mg olacak şekilde 3 eşit parçaya bölünmüştür. *L. × intermedia* bitki

örneği ise toplamı 325 mg olacak şekilde 3 eğit parçaya bölünmüğtür. Her örnek 3 saat boyunca hidrodistilasyona tabi tutulmuğtur. Cihazın alt kısmına takılan balona bitki materyalini örtecek kadar su eklenilmiğtir. Balon cihaza takılmığ ve mantolu ısıtıcı kullanılarak distilasyon iğlemi bağlatılmığtır. Sonuç olarak, su yüzeyinde bir tabaka olarak toplanan uçucu yağın hacmi ölçölmüğ, daha sonra deneylerde kullanılmak üzere Eppendorf tüp içerisine koyulmuğ ve ağzı sıkıca kapatılarak +4 °C'de saklanmığtır. Uçucu yağların kimyasal kompozisyonu GC-Alev iyonlağma detektörü (flame ionisation dedector, FID) ve GC-MS ile analiz edilmiğtir.



Resim 3.3. Clevenger cihazı ile uçucu yağ elde edilmesi

## Uçucu yağların analizi

### Gaz Kromatografisi (GC)

Uçucu yağların kimyasal bileşimi, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Temel ÖZEK tarafından Agilent 6890N GC sistemi (SEM Ltd., İstanbul, Türkiye) kullanılarak kapiler GC ile analiz edilmiştir. GC-MS ile aynı elüsyon sırasını elde etmek için aynı kolon ve uygun işletim koşulları kullanılarak eşzamanlı enjeksiyon yapılmıştır (Özek ve diğerleri, 2010).

### GC analiz koşulları

Sistem: Agilent 6890N GC

Kolon: Agilent HP-Innowax (60 m × 0,25 mm iç çap × 0,25 µm film kalınlığı)

Detektör: FID

Enjeksiyon Sıcaklığı: 250 °C

Detektör Sıcaklığı: 250 °C

Kolon Fırın Sıcaklığı: İlk 10 dk'da 60 °C'da kalıp, daha sonra dk'da 4 °C artarak 220 °C'a çıkarılmıştır. 220 °C'da 10 dk sabit kalan sıcaklık dkda 1°C artırılmak suretiyle 240 °C'a yükseltilmeye programlanmıştır.

Enjeksiyon Modu: Split (30:1)

Taşıyıcı Gaz: Helyum

Akış Hızı: 0,8 ml/dk

Analiz Süresi: 80 dk

### Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS)

GC ile aynı elüsyon sırasını elde etmek için aynı kolon ve uygun işletim koşulları kullanılarak eşzamanlı gerçekleştirilmiştir.

### GC-MS Analiz koşulları

Sistem: Agilent 5975 GC-MSD (Mass Selective Dedector)

Kolon: Agilent HP-Innowax (60 m × 0,25 mm iç çap × 0,25 µm film kalınlığı)

Enjeksiyon Sıcaklığı: 250 °C

GC Fırın Sıcaklığı: 60 °C'de 10 dk boyunca sabit tutulup, ardından 220 °C'ye 4 °C/dk hızında programlanarak 10 dk sabit tutulmuş, daha sonra 220 °C'de 10 dk sabit tutulduktan sonra 1 °C/dk artırılarak 240 °C'ye programlanmıştır.

İyon Kaynağı Sıcaklığı: 230 °C

İyonizasyon Modu: EI

Elektron Enerjisi: 70 eV

Kütle Aralığı: 35-450 m/z

### *Bileşiklerin Tanımlanması ve Miktarının Belirlenmesi*

Uçucu bileşenlerin tanımlanması, bunların retansiyon indislerinin ve kütleli spektrumlarının, Wiley GC-MS Kütüphanesi (Wiley, New York, NY, ABD), MassFinder yazılımı 3.0 (Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg), Adams Kütüphanesi, NIST Kütüphanesi ve Başer Uçucu yağ Bileşenleri Kütüphanesinde bulunan verilerle paralel karşılaştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Retansiyon indislerinin (RI) hesaplanmasında referans noktaları olarak *n*-alkanlar (C<sub>8</sub>-C<sub>40</sub>) kullanılmıştır. Uçucu bileşenlerin miktarlarının belirlenmesi, entegrasyon verileri kullanılarak GC-FID pik alanlarının temel alınmasıyla gerçekleştirilmiştir.

### *Miktar tayini çalışmaları*

#### *Toplam fenol miktar tayini*

Toplam fenol miktarını tayin etmek için Singleton ve Rossi'nin modifiye edilmiş Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır (Singleton ve diğerleri, 1965). Yöntemde referans bileşik olarak kullanılan galik asit üzerinden kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Bu grafik için galik asidi 0,0625 mg/ml, 0,125 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,5 mg/ml, 1 mg/ml'lik konsantrasyonları %96'lık etanol kullanılarak hazırlanmıştır. Toplam fenol miktar tayini yapılacak örnekler 2 mg/ml konsantrasyonda %96'lık etanol ile hazırlanmıştır. Daha sonra mikropklara 2 kat distile su ile dilüe edilmiş olan Folin-Ciocalteu reajanından 30 µL ilave edilmiştir. %3,5 sulu Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinden herbir kuyucuğa 150 µL ilave edilmiştir ve daha sonra 40 °C'de 30 dk boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 760 nm'de ELISA mikropklak okuyucuda (Molecular Devices, Spectramax i3× mikropklak okuyucu, ABD)

okutulmuştur. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmıştır. Örneğin absorbandsından, gallik asit kalibrasyon çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, toplam fenol konsantrasyonu gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmış ve ekstrenin toplam fenol miktarı mg gallik asit eşdeğeri/g ekstre  $\pm$  S.S. olarak verilmiştir.

#### Toplam flavonoit miktar tayini

Toplam flavonoit miktarını tayin etmek için Woisky ve Salatino'nun geliştirdiği alüminyum klorür ( $AlCl_3$ ) kolorimetrik yöntemi uygulanmıştır. Yöntemde referans bileşik olarak kullanılan kersetin üzerinden kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Bu grafik için kersetinin 0,0625 mg/ml, 0,125 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,5 mg/ml ve 1 mg/ml'lik konsantrasyonları %96'lık etanol kullanılarak hazırlanmıştır. Daha sonra mikropklara sırasıyla, 25  $\mu$ L örnek, 75  $\mu$ L %96'lık etanol, 5 $\mu$ L %10'luk etanollü  $AlCl_3$ , 5  $\mu$ L sodyum asetatın sulu 1 M çözeltisi ile 100  $\mu$ L distile su ilave edilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığında 30 dk boyunca inkübe edilmiştir ve inkübasyon sonrasında 415 nm'de ELISA mikropklak okuyucuda (Molecular Devices, Spectramax i3 $\times$  mikropklak okuyucu, Amerika Birleşik Devletleri) okutulmuştur. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmıştır. Örneğin absorbandsından, kersetin kalibrasyon çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, toplam flavonoit konsantrasyonu kersetin eşdeğeri olarak hesaplanmış ve ekstrenin toplam flavonoit miktarı mg kersetin eşdeğeri/g ekstre  $\pm$  S.S. olarak verilmiştir.

#### İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler, GraphPad Prism 6.0. programında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Dunnett çoklu karşılaştırma testi uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

#### YPSK ile miktar tayini çalışmaları

Bu çalışmada, *L. stoechas* ve *L.  $\times$  intermedia* ana ekstrelerindeki fenolik bileşik ve flavonoit profili kütüphanemizdeki saf bileşik standartları ile kıyaslanmıştır ve tez bitkilerinden izole edilen saf bileşiklerin ana ekstreler ve alt ekstreler içerisindeki miktarını belirlemek için ters fazlı (reverse phase, RP) YPSK analizi yapılmıştır. Ekstreler içerisindeki saf bileşiklerin kromatogramları ve retensiyon zamanları ile kütüphanedeki bileşiklerin retensiyon zamanı

ve kromatogramları üst üste çakıştırılarak, ekstrelerin fenolik içerikleri belirlenmiştir. Genel fenolik bileşik ve flavonoit profili bakılacak olan ana ekstreler ve alt ekstrelerin 5 mg/ml konsantrasyonları %25 asetonitril (h/h) ile hazırlanmıştır. Her ekstre 0,22 µm membran filtrelerden süzülerek viallere aktarılmıştır. Ekstredeki miktar tayini yapılacak olan saf bileşikler ise 1, 5, 20, 50 ve 100 ppm olmak üzere farklı konsantrasyonlarda %25'lik asetonitril ile hazırlanmıştır. Bu konsantrasyonlardan hareketle kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Oluşturulan grafik  $y = ax + b$  şeklindedir ve y değeri yerine pik alanları, x yerine ise konsantrasyon değerleri yazılmıştır. Tüm saf bileşikler ve ekstreler 3'er tekrarlı olarak çalışılmış ve aradaki sapma S.S. şeklinde belirtilmiştir.

#### YPSK analiz şartları

Cihaz: HP Agilent 1260 series LC Sistemi

Pompa: HP Agilent 1260 series 4 (quaternary pump) LC pompa

Kolon: ACE Generix 5 C18 Gen-8517 (5 µm, 150 mm x 4,6 mm)

Kolon Sıcaklığı: 25 °C (sıcaklık kontrollü)

Detektör: DAD (260, 280, 320 ve 350 nm)

Enjeksiyon Ünitesi: HP Agilent 1260 Series Autosampler

Akış Hızı: 0,8 ml/dk

Enjeksiyon Miktarı: 20 µL

Enjeksiyon Yıkama Süresi: 1 dk

Çözücü Sistemi: Çözücü A (asetonitril:distile su:formik asit/80:20:0,1) Çözücü B (distile su:formik asit/100:0,5)

Analiz Süresi: 53 dk

Basınç limiti: 265 bar

Pikleri birbirinden uygun bir şekilde ayırabilmek için gradient bir akış uygulanmıştır. Mobil faz akış şeması; 0 dk'dan itibaren %5 A, 10 dk'da %15 A, 17 dk'da %15 A, 22 dk'da %20 A, 32 dk'da %30 A, 50 dk'da %100 A, 53 dk'da %100 A olacak şekilde ve analiz süresi 53 dk olarak belirlenmiştir. Mobil faz bileşimi ve uygulanan gradient Çizelge 3.2.'de sunulmaktadır.

Çizelge 3.2. YPSK ile ana ekstre ve alt ekstrelerdeki fenolik bileşik ve flavonoit profillerinin değerlendirilmesi ve saf bileşiklerin miktar tayininde kullanılan mobil fazların bileşimi ve oranları

| Zaman (dk) | %A    | %B     | Akış hızı (ml/dk) |
|------------|-------|--------|-------------------|
| 0          | 95,00 | 5,00   | 0,80              |
| 10,00      | 85,00 | 15,00  | 0,80              |
| 15,00      | 85,00 | 15,00  | 0,80              |
| 15,01      | 85,00 | 15,00  | 0,60              |
| 17,0       | 85,00 | 15,00  | 0,60              |
| 17,01      | 85,00 | 15,00  | 0,80              |
| 22,00      | 80,00 | 20,00  | 0,80              |
| 32,00      | 70,00 | 30,00  | 0,80              |
| 50,00      | 0,00  | 100,00 | 0,80              |
| 50,01      | 0,00  | 100,00 | 1,00              |
| 53,00      | 0,00  | 100,00 | 1,00              |

### 3.2.2. Aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi (AYF)

#### Ana ekstrelerin hazırlanması

#### *L. stoechas* ve *L. × intermedia* ana ekstrelerinin hazırlanması

Bitki örneklerinin toprak üstü kısımlarından sırasıyla 1102,09 g ve 1104,471 g tartılarak mekanik öğütücü ile toz hale getirilmiştir. Üzerlerine 5,5 L MeOH (%100, MeOH) ilave edilmiştir. Hergün belirli aralıklarla elle çalkalanarak maserasyona bırakılmışlardır. Bitkiler her gün süzlmüştür ve toplanan maserat alçak basınç altında 40 °C'de rotavaporda yoğunlaştırılmıştır. Elde edilen ekstreler bir cam balon içerisinde biriktirilmiştir. Her süzme aşamasından sonra, üzerlerine tekrar 5,5 L %100 MeOH ilave edilip, yine ekstraksiyona bırakılmıştır. Toplam 15 gün boyunca bu işlem uygulanmıştır.

## Sıvı-sıvı ekstraksiyon

### *L. × intermedia MeOH ekstresinin sıvı-sıvı ekstraksiyonu*

Bitkinin kurutulmuş olan MeOH ekstresinden 45 g ayrıldıktan sonra, kalan 200 g ile sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemine geçilmiştir. 200 g MeOH ekstresi %90 MeOH'de belli bir kıvama kadar çözülmüştür. Artan polaritedeki solvanlar ile sıvı-sıvı ekstraksiyon yapılmıştır. İlk olarak *n*-hekzan (Merck, Almanya) ile sıvı-sıvı ekstraksiyona başlanmıştır. Her defasında 500 ml *n*-hekzan kullanılmak üzere 30 defa ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. *n*-Hekzan ekstreleri rotavaporda yoğunlaştırılmıştır. MeOH'de kalan kısım da tamamen rotavaporda yoğunlaştırılmış ve kalan kısım distile suda süspande edilmiştir. Sulu kısım diklorometan (DCM) ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Her ekstraksiyon işleminde 400 ml DCM kullanılmış ve toplam 12 kez ekstraksiyona tabi tutulmuştur. DCM'li kısımlar alçak basınç altında rotavaporda tamamen kuruyana kadar yoğunlaştırılmıştır. Kalan sulu kısım, etil asetat (EtOAc) ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Her defasında 400 ml EtOAc kullanılarak, toplamda 18 kere ekstraksiyona tabi tutulmuştur. EtOAc'lı kısımlar da alçak basınç altında rotavaporda tamamen kuruyana kadar yoğunlaştırılmıştır. En son kalan sulu kısım başka bir ayırma hunisinde su ile doyurulmuş olan *n*-butanol ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Her defasında 200 ml *n*-butanol kullanılarak toplamda 14 kere ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. *n*-Butanollü kısım rotavaporda yoğunlaştırılmıştır. Geriye kalan sulu ekstre tamamen kuruyana kadar liyofilizatörde (Telstar Lyo Quest, Japonya) 2 gün boyunca liyofilize edilmiştir. Sonuç olarak, ana ekstreten hareketle farklı polaritelere sahip 5 adet ekstre elde edilmiş, tartılarak % verimleri (a/a) hesaplanmıştır. Elde edilen ekstreler enzim inhibisyon ve antioksidan aktivite testleri uygulanmıştır.

### *L. stoechas MeOH ekstresinin sıvı-sıvı ekstraksiyonu*

Bitkinin kurutulmuş olan MeOH ekstresinden 29 g kenara ayrıldıktan sonra, kalan 170 g ile sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemine geçilmiştir. 170 g MeOH ekstresi %90 MeOH'de belli bir kıvama kadar çözülmüştür. Artan polaritedeki solvanlar ile sıvı-sıvı ekstraksiyonlama yapılmıştır. İlk olarak *n*-hekzan ile sıvı-sıvı ekstraksiyonlamaya başlanmıştır. Her defasında 500 ml *n*-hekzan kullanılarak, 30 defa ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. *n*-Hekzan alt ekstreleri rotavaporda kontrollü bir şekilde yoğunlaştırılmıştır. MeOH'de kalan kısım da tamamen rotavaporda yoğunlaştırılmış ve kalan kısım distile suda süspande edilmiştir. Sulu

kısım DCM ile sıvı-sıvı ekstraksiyonlamaya tabi tutulmuştur. Her bir ekstraksiyon işleminde 400 ml DCM kullanılmak üzere toplam 16 kere ekstraksiyona tabi tutulmuştur. DCM’li kısımlar alçak basınç altında rotavaporda tamamen kuruyana kadar yoğunlaştırılmıştır. Kalan sulu kısım, akabinde EtOAc ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Her defasından 400 ml EtOAc kullanılmak üzere toplam 22 kere ekstraksiyona tabi tutulmuştur. EtOAc’lı kısımlar alçak basınç altında rotavaporda tamamen kuruyana kadar yoğunlaştırılmıştır. En son kalan sulu kısım başka bir ayırma hunisinde su ile doyurulmuş olan *n*-butanol ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Her defasında 200 ml *n*-butanol kullanılarak, toplam 19 kere ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. *n*-Butanollü kısım rotavaporda yoğunlaştırılmış ve geriye kalan sulu ekstraksiyon tamamen kuruyana kadar liyofilizatörde (Telstar Lyo Quest, Japonya) 2 gün boyunca liyofilize edilmiştir. Sonuç olarak, ana ekstreden hareketle farklı polaritelere sahip 5 adet ekstre elde edilmiş, tartılarak % verimleri (a/a) hesaplanmıştır. Elde edilen ekstreler enzim inhibisyon ve antioksidan aktivite testleri uygulanmıştır.

### Kolon kromatografisi

Sıvı-sıvı ekstraksiyon ile elde edilen alt ekstreler testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibisyon ve LOX inhibisyon testleri uygulanmış ve yüksek inhibisyon saptanan *L. stoechas* EtOAc alt ekstresi AYF çalışmaları için seçilmiştir. Bu amaçla kolon kromatografisinde ilk önce adsorban olarak silika jel kullanılmıştır.

### Kullanılan kolonun özellikleri

Kolon uzunluğu: 86 cm

Kolon çapı: 4 cm

Kolondaki silika jel uzunluğu: 63 cm

Kolondaki ekstre uzunluğu: 6 cm

*L. stoechas* EtOAc alt ekstresinde 15,58 g tartılmış, %100 MeOH’de çözülüp bir petri kabına alınıp, kurumaya bırakılmıştır. 22 g silika jel tartılıp, konsantre ekstre üzerine ilave edilmiştir. Ekstre ve silika tamamen kuruyup, bütünleşene kadar karıştırılmıştır. Ana kolona uygulanan alt ekstresi Resim 3.4.’te gösterilmiştir.



Resim 3.4. Ana kolona uygulanan *L. stoechas* EtOAc alt ekstresi ve silika jel karışımı

Kolonun alt kısma bir parça cam pamuğu yerleştirilmiştir. Başka bir erlene 304 g silika jel tartılmış ve *n*-hekzanda çözülmüştür. Kolonun 2/3'si silika jel ile doldurulmuştur. Kolonun oturması için bir gün boyunca beklenmiştir. Daha sonra, kuru EtOAc ekstresi kolondaki silika jel üzerine kuru tatbik yöntemi ile ilave edilmiştir. Ekstre üzerine tekrar cam pamuğu koyulmuştur. Elüsyon, gradient sistem uygulanarak gerçekleştirilmiş ve toplam hacmi 150'şer ml olarak belirlenmiştir.

Kolona tatbik edilen ekstre sırasıyla % 100 *n*-hekzan (2 × 150 ml), %95 *n*-hekzan-%5 EtOAc (2 x 150 ml), %80 *n*-hekzan-%20 EtOAc (2 x 150 ml), %70 *n*-hekzan-%30 EtOAc (2 x 150 ml), %65 *n*-hekzan-%35 EtOAc (2 x 150 ml), %60 *n*-hekzan-%40 EtOAc (2 x 150 ml), %55 *n*-hekzan-%45 EtOAc (2 x 150 ml), %50 *n*-hekzan-%50 EtOAc (2 x 150 ml), %45 *n*-hekzan-%55 EtOAc (2 x 150 ml), %40 *n*-hekzan-%60 EtOAc (2 x 150 ml), %35 *n*-hekzan-%65 EtOAc (2 x 150 ml), %30 *n*-hekzan-%70 EtOAc (2 x 150 ml), %25 *n*-hekzan-%75 EtOAc (2 x 150 ml), %20 *n*-hekzan-%80 EtOAc (2 x 150 ml), %10 *n*-hekzan-%90 EtOAc (2 x 150 ml), %100 EtOAc (2 x 150 ml), %95 EtOAc -%5 MeOH (2 x 150 ml), %90 EtOAc -%10 MeOH (12 x 150 ml), %85 EtOAc -%15 MeOH (2 x 150 ml), %95 EtOAc -%5 MeOH (29 x 150 ml), %80 EtOAc -%20 MeOH (44 x 150 ml), %75 EtOAc -%25 MeOH (32 x 150 ml), %70 EtOAc -%30 MeOH (14 x 150 ml) ile elüe edilmiştir. %30 MeOH'den sonra silika jelde çözümler başlayacağı için sadece yıkama amacıyla %55 MeOH'e kadar gidilmiştir. Ana kolondan toplamda 330 fraksiyon toplanmıştır. Her birinin fitokimyasal profili İTK ile

kontrol edilip, benzer profildeki fraksiyonlar birleştirilmiştir. Bu kolonda ilk alınan fraksiyonların İTK analizine mobil faz olarak *n*-hekzan:EtOAc (3:2) ile başlanmıştır. Revelatör olarak %10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kullanılmıştır. Kolonda kullanılan mobil fazın zamanla daha polar hale gelmesinden dolayı İTK'da kullanılan mobil faz sürekli değiştirilmiştir. En son kullanılan mobil faz ise kloroform:MeOH:su:formik asittir (6,8:3,2:0,4:0,3).

İTK kromatogramlarına göre benzer fraksiyonlar birleştirilmiş olup, bu alt fraksiyonların tamamı, AYF sürecine uygun olarak *in vitro* enzim inhibisyon testlerinde denenmiştir. İTK profillerine göre birleştirmeden sonra 39 adet alt fraksiyon elde edilmiştir. Alt fraksiyonların verimleri ve miktarları Çizelge 3.3. ve 3.4.'te gösterilmiştir. Bu kromatogramların %10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> püskürtülüp ısıtıldıktan sonra UV<sub>254</sub> ve UV<sub>366</sub>'daki görüntüleri ise Resim 3.5. ve 3.6.'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. EtOAc alt ekstresinin silika jel kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonlar, alt fraksiyon numaraları ve miktarları

| Elde edilen fraksiyon numaraları | Alt fraksiyon numarası | Miktar (g) |
|----------------------------------|------------------------|------------|
| 1-2                              | 1                      | 0,0391     |
| 3-6                              | 2                      | 0,0291     |
| 7-10                             | 3                      | 0,0368     |
| 10-18                            | 4                      | 0,0387     |
| 19                               | 5                      | 0,0243     |
| 20-21                            | 6                      | 0,0490     |
| 22-26                            | 7                      | 0,1456     |
| 22-26 (çöken bileşik)            | 8                      | 0,0417     |
| 27-30                            | 9                      | 0,0662     |
| 31-34                            | 10                     | 0,1042     |
| 35-39                            | 11                     | 0,1510     |
| 40-42                            | 12                     | 0,2262     |

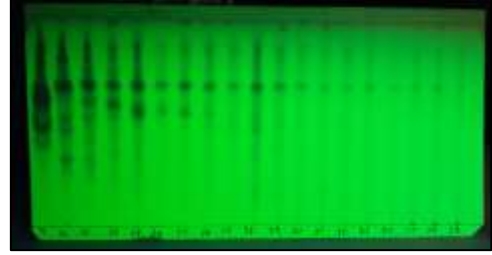
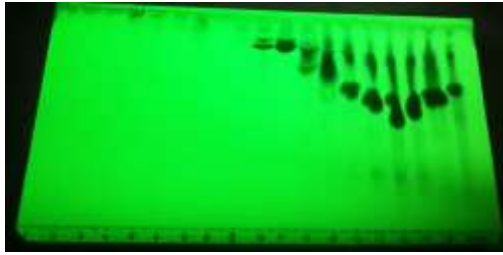
Çizelge 3.3. (devam) EtOAc alt ekstresinin silika jel kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonlar, alt fraksiyon numaraları ve miktarları

| <b>Elde edilen fraksiyon numaraları</b> | <b>Alt fraksiyon numarası</b> | <b>Miktar (g)</b> |
|---|-------------------------------|-------------------|
| 43-50                                   | 13                            | 0,7497            |
| 51-54                                   | 14                            | 0,9635            |
| 55-58                                   | 15                            | 0,5881            |
| 59-66                                   | 16                            | 0,7765            |
| 67-69                                   | 17                            | 0,4619            |
| 70-73                                   | 18                            | 0,9804            |
| 74-79                                   | 19                            | 2,6746            |
| 80-82                                   | 20                            | 0,6341            |
| 83-97                                   | 21                            | 0,6655            |
| 98-103                                  | 22                            | 0,5403            |
| 104-122                                 | 23                            | 0,5532            |
| 109 (tek)                               | 24                            | 0,0519            |
| 122-138                                 | 25                            | 0,1815            |
| 139-154                                 | 26                            | 0,2555            |
| 162-165                                 | 27                            | 0,1101            |
| 166-202                                 | 28                            | 0,5356            |
| 203-210                                 | 29                            | 0,1164            |
| 211-217                                 | 30                            | 0,0739            |
| 218-224                                 | 31                            | 0,0764            |
| 225-242                                 | 32                            | 0,2054            |
| 243-258                                 | 33                            | 0,1645            |
| 259-266                                 | 34                            | 0,0723            |
| 267-273                                 | 35                            | 0,3321            |
| 274-281                                 | 36                            | 0,0971            |
| 282-290                                 | 37                            | 2,2057            |
| 291-298                                 | 38                            | 0,0440            |
| 299-330                                 | 39                            | 0,0586            |

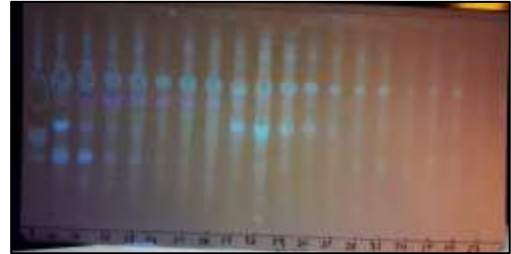
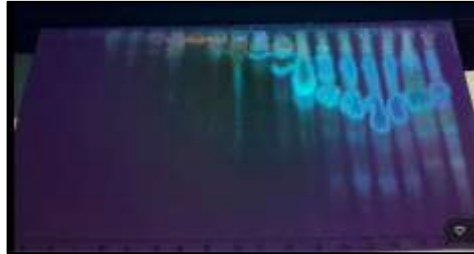
Yukarıda bahsedilen alt fraksiyonların miktarlarının az olması ve İTK profillerinin benzer olması nedeniyle, Resim 3.5 ve 3.6.'daki İTK profillerine göre tekrar birleştirme yapılmıştır ve son olarak toplam 12 alt fraksiyon elde edilmiştir (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.4. EtOAc alt ekstresinin silika jel kolona uygulanmasıyla elde edilen alt fraksiyonların birleştirilmesi sonucu elde edilen yeni fraksiyonlar ve miktarları

| Birleştirilen alt fraksiyon numaraları | Miktar (g) |
|--|------------|
| 1-2                                    | 0,07       |
| 3-6                                    | 0,15       |
| 7-8                                    | 0,19       |
| 9-10                                   | 0,17       |
| 11-12                                  | 0,38       |
| 13-16                                  | 3,08       |
| 17-18                                  | 1,44       |
| 19                                     | 2,67       |
| 20                                     | 0,63       |
| 21-26 (A fraksiyonu)                   | 2,25       |
| 27-31 (B fraksiyonu)                   | 0,91       |
| 32-37                                  | 3,18       |



Resim 3.5. EtOAc alt ekstresinin silika jel kolonuna uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>254</sub> görünümü



Resim 3.6. EtOAc alt ekstresinin silika jel kolonuna uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>366</sub> görünümü



Resim 3.7. EtOAc alt ekstresinin silika jel kolonuna uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonlar Fraksiyon 21-26 (A fraksiyonu) ve fraksiyon 27-31 (B fraksiyonu) test edilen *in vitro* enzim modellerinde en aktif olan iki fraksiyon olduğu için saflaştırma işlemlerine bu fraksiyonlarla devam edilmiştir.

#### B fraksiyonunda yapılan saflaştırma çalışmaları

Ana kolondan elde edilen ve *in vitro* enzim deneylerinde inhibisyon oranının yüksek olduğu bulunan B fraksiyonun saflaştırılması için Sefadexs LH-20 kolon kurulmuştur.

Kullanılan kolon 105 cm uzunluğunda ve çapı 2,5 cm'dir. Sefadexs LH-20'den (25-100 µm, Sigma Aldrich, Almanya) 70 g bir behere tartılmıştır ve 600 ml %100 MeOH ilave edilmiştir. Dolgu maddesi MeOH içerisinde, 20 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Kolonun alt kısmına cam pamuğu yerleştirildikten sonra dolgu maddesi kolona ilave edilmiştir ve üzerinden %100 MeOH ilave edilmeye başlanmıştır. Bu esnada kolonun musluğu açık bırakılmıştır ve sürekli mobil faz akışı sağlanmıştır. Musluk kapatıldıktan sonra, kolonun oturması için bir gün boyunca beklenmiştir. Bu esnada, 0,9124 g B fraksiyonu, 2 ml %100 MeOH içinde tamamen çözülmüştür. Islak tatbik tekniği ile B fraksiyonu kolon içerisine yüklenmiştir. Eklenen fraksiyon Sefadexs tarafından tamamen emildikten sonra, %100 MeOH ilave edilerek elüsyon başlatılmıştır. Her 25 ml'de bir deney tüpü değiştirilmiştir. Toplam 26 alt fraksiyon elde edilmiştir. Bu kolondan toplanan alt fraksiyonlar, İTK ile kloroform:MeOH:su:formik asit (7,1:3:0,3:0,3) solvan sistemi kullanılarak takip edilmiş ve revelatör olarak Naturstoff rejanı püskürtülüp, 110 °C'de 5 dk boyunca ısıtılmıştır. İTK kromatogramlarındaki profillere göre fraksiyonlar birleştirilmiştir. B fraksiyonuna ait kolon Resim 3.8.'de, B fraksiyonunun Sefadexs kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>254</sub>

görünümü Resim 3.9.'da ve B fraksiyonunun Sefadex kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>366</sub> görünümü Resim 3.10.'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.5. B fraksiyonunun Sefadex LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen alt fraksiyonlar ve miktarları

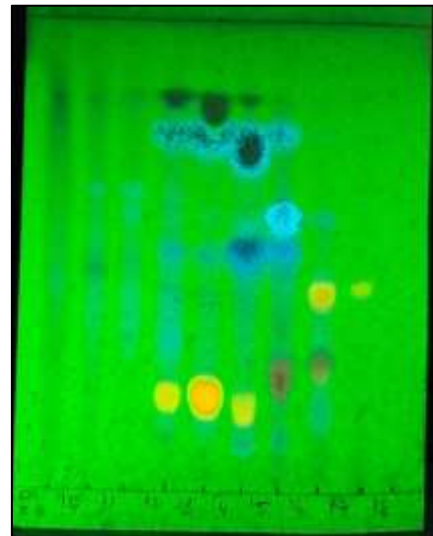
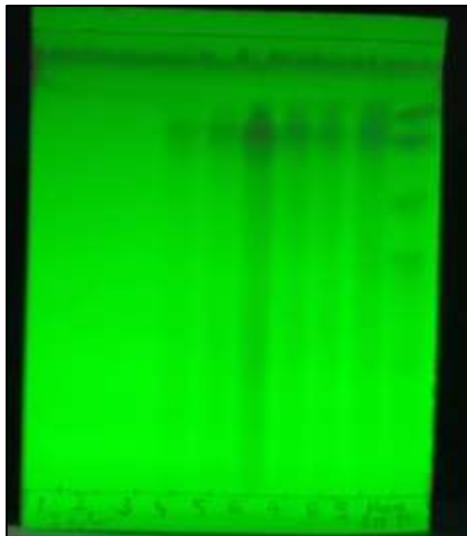
| Birleştirilen alt fraksiyon numaraları | Miktar (mg) |
|--|-------------|
| 1                                      | 9,23        |
| 2                                      | 7,83        |
| 3                                      | 12,83       |
| 4                                      | 25,15       |
| 5                                      | 23,12       |
| 6                                      | 18,04       |
| 7                                      | 29,12       |
| 8                                      | 14,56       |
| 9                                      | 19,24       |
| 10                                     | 26,32       |
| 11                                     | 19,35       |
| 12                                     | 29,21       |
| 13                                     | 56,12       |
| 14                                     | 65,15       |
| 15 (çökelek oluştu)                    | 137,21      |
| 16 (çökelek oluştu)                    | 158,54      |
| 17 (çökelek oluştu)                    | 119,21      |
| 18                                     | 18,12       |
| 19                                     | 13,12       |
| 20                                     | 16,21       |
| 21                                     | 17,13       |
| 22                                     | 14,24       |
| 23                                     | 22,21       |
| 24                                     | 13,67       |
| 25                                     | 12,12       |
| 26                                     | 6,23        |



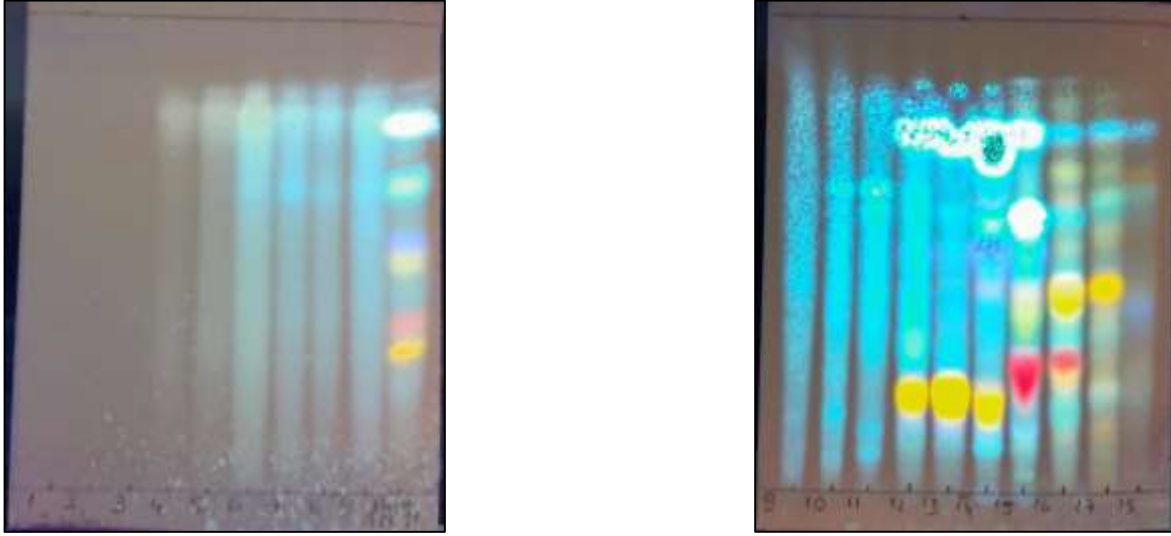
Resim 3.8. B fraksiyonuna ait Sefadex LH-20 kolonu

Çizelge 3.6. B fraksiyonunun Sefadex LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen alt fraksiyonların birleştirilmesi ve miktarları

| Birleştirilen alt fraksiyon numaraları | Miktar (mg) |
|--|-------------|
| (1-10)                                 | 185,44      |
| (11-14) (G fraksiyonu)                 | 169,83      |
| (15-17) (C fraksiyonu)                 | 414,96      |
| 18                                     | 18,12       |
| (19-26)                                | 124,93      |



Resim 3.9. B fraksiyonunun Sefadex LH-20 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>254</sub> görünümü



Resim 3.10. B fraksiyonunun Sefadex LH-20 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>366</sub> görünümü

B fraksiyonun Sefadex LH-20 ile saflaştırması sonunda elde edilen 15., 16. ve 17. alt fraksiyonlar birleştirilmiştir. Bir gün buzdolabında bekletildikten sonra çökelek oluştuğu görülmüştür. Böylece 15., 16. ve 17. alt fraksiyonların birleşmesiyle C fraksiyonu oluşturulmuştur. C fraksiyonu test edilen *in vitro* enzim modellerinde en aktif bulunan fraksiyon olduğu için saflaştırma işlemlerine bu fraksiyonlarla devam edilmiştir.

C fraksiyonun ayrıştırılması için RP-18 (40-63 µm, Merck, Almanya) dolgu maddesi kullanılmıştır.

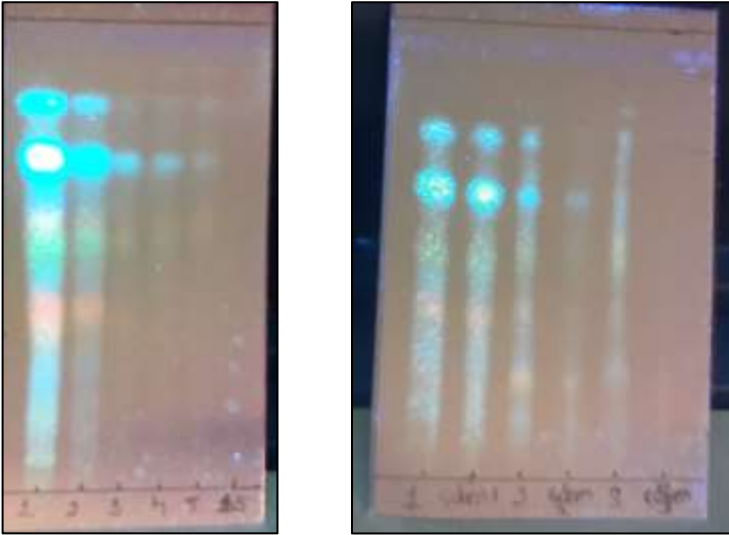
10 g RP-18 dolgu maddesi, kolona tamamen kuru tatbik ile yüklenmiştir. Yüklenen kuru RP-18 üzerine %100 distile su ilave edilerek, musluk açılmıştır. Ayrım esnasında kolon üzerinden basınç uygulanmıştır. Musluktan su akıtılarak kolon dolgu materyalinin oturması sağlanmıştır. 414,96 mg C fraksiyonu %100 distile su ile çözüldükten sonra, kolona yaş yükleme yapılmıştır. Elüsyon için önce %100 distile su kullanılmıştır. Her 10 ml'de 1 birim distile su miktarı düşürülürken; 1 birim %100 MeOH miktarı arttırılarak elüsyon sağlanmıştır (örneğin %99 distile su + %1 MeOH daha sonra %98 distile su + %2 MeOH). Elüsyon sonunda %100 MeOH geçirilmiştir. Ayrım sonunda 10 alt fraksiyon elde edilmiştir. Bu alt fraksiyonlar kloroform:MeOH:su:formik asit (7,1:3:0,3:0,3) ile İTK'da incelenmiştir. Revelatör olarak %10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi ve Naturstoff reaktifi kullanılmıştır.

Kullanılan kolonun özellikleri

Kullanılan kolonun uzunluğu 30 cm, çapı 1,5 cm'dir. C fraksiyonuna ait kolon Resim 3.11.'de, C fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>366</sub> görünümü Resim 3.12.'de gösterilmiştir.



Resim 3.11. C fraksiyonuna ait kolon



Resim 3.12. C fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>366</sub> görünümü

Çizelge 3.7. C fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların birleştirilmesi ve miktarları

| Birleştirilen alt fraksiyon numaraları | Miktar (mg) |
|--|-------------|
| (1-3) (D Fraksiyonu)                   | 392,79      |
| (4-10)                                 | 22,17       |

RP-18 kolonuna tatbik edilen C fraksiyonun elüsyonu sonucunda elde edilen 1., 2. ve 3. alt fraksiyonlar birleştirilerek D fraksiyonu elde edilmiştir. D fraksiyonu için tekrar RP-18 kolonu kurulmuştur. D fraksiyonu test edilen *in vitro* enzim modellerinde en aktif olan iki fraksiyon olduğu için saflaştırma işlemlerine bu fraksiyonla devam edilmiştir.

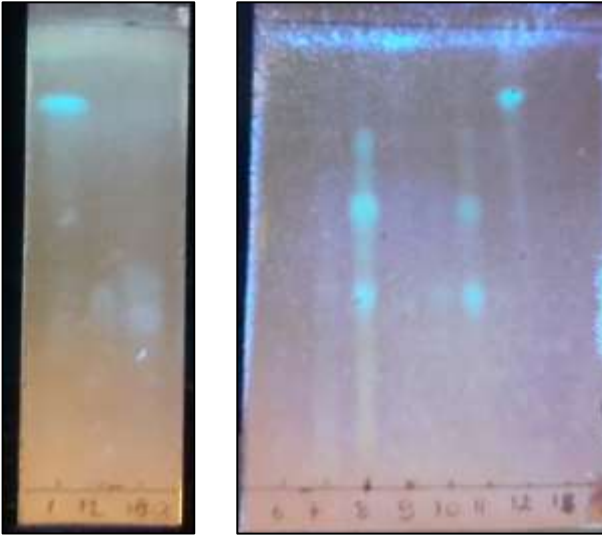
20 g RP-18 dolgu maddesi, kolona tamamen kuru olacak şekilde yüklenmiştir. Yüklenen kuru RP-18 üzerine %100 distile su ilave edilerek, musluk açılmıştır. Musluktan su akıtılarak kolon dolgu materyalinin oturması sağlanmıştır. RP-18 kolon oldukça yavaş aktığı için kolonun üst ağız kısmında pompa ile basınç uygulanmıştır. 392,79 mg D fraksiyonu %100 distile su ile çözüldükten sonra, kolona yaş yükleme yapılmıştır. Elüsyon için önce %100 distile su kullanılmıştır. Her 10 ml'de 1 birim distile su miktarı düşürülürken; 1 birim %100 MeOH miktarı arttırılarak elüsyon sağlanmıştır (örneğin %99 distile su + %1 MeOH daha sonra %98 distile su + %2 MeOH). Elüsyon sonunda %100 MeOH geçirilmiştir. Ayrım sonunda 13 adet alt fraksiyon elde edilmiştir. Bu fraksiyonlar kloroform:MeOH:su:formik asit (7,1:3:0,3:0,3) ile İTK'da incelenmiştir. Revelatör olarak Naturstoff reaktifi kullanılmıştır.

#### Kullanılan kolonun özellikleri

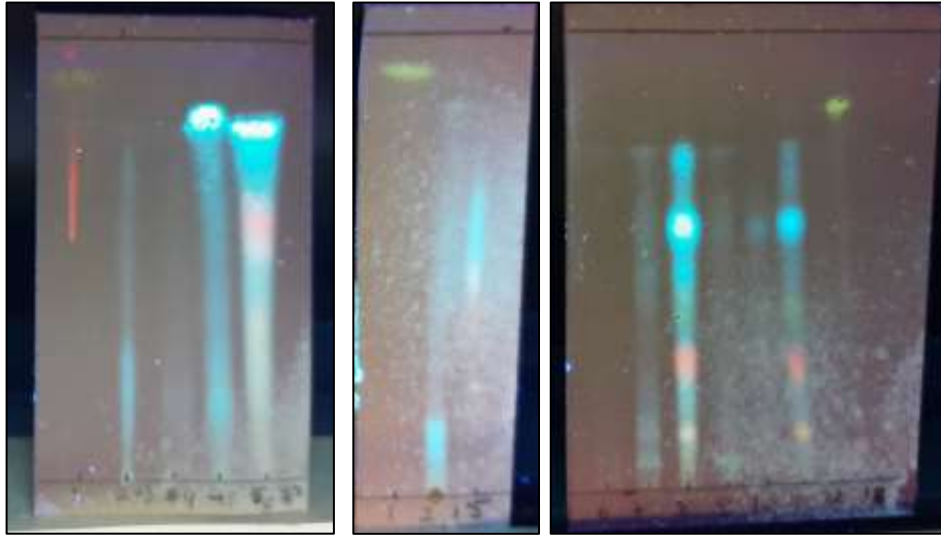
Kullanılan kolonun uzunluğu 72 cm ve çapı 1,5 cm'dir.



Resim 3.13. D fraksiyonuna ait RP-18 kolon



Resim 3.14. D fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki  $UV_{254}$  görünümü



Resim 3.15. D fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>366</sub> görünümü

D fraksiyonundan elde edilen, 1, 5, 9 ve 12 numaralı bileşiklerin saf olduğu tespit edilmiştir.

Ana kolondan elde edilen ve *in vitro* enzim deneylerinde aktif olduğu bulunan A fraksiyonun saflaştırılması için Sefadeks LH-20 kolon kurulmuştur.

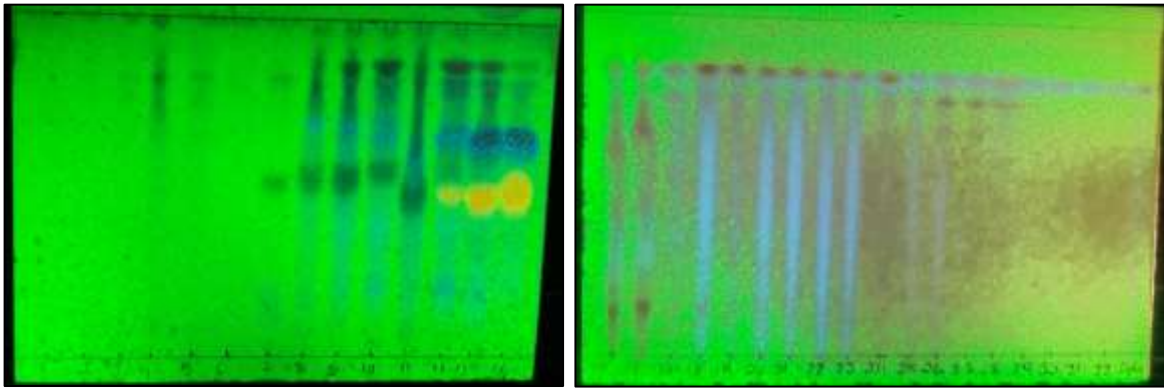
#### Kullanılan kolonun özellikleri

Kullanılan kolonun uzunluğu 105 cm ve çapı 2,5 cm'dir. 70 g Sefadeks LH-20 (25-100 µm, Sigma Aldrich, Almanya) bir behere tartılmıştır ve 600 ml %100 MeOH ilave edilmiştir. Dolgu maddesi, MeOH içerisinde, 20 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Kolonun alt kısmına cam pamuğu yerleştirildikten sonra dolgu maddesi kolona ilave edilmiştir ve üzerinden %100 MeOH ilave edilmeye başlanmıştır. Bu esnada kolonun musluğu açık bırakılmıştır ve sürekli mobil faz akışı sağlanmıştır. Musluk kapatıldıktan sonra, kolonun oturması için bir gün boyunca beklenmiştir. Bu esnada, 2,25 g A fraksiyonu, 2 ml %100 MeOH içinde tamamen çözülmüştür. Islak yükleme tekniği ile, A fraksiyonu kolon içerisine yüklenmiştir. Eklenen fraksiyon Sefadeks tarafından tamamen emildikten sonra, %100 MeOH ilave edilerek elüsyon başlatılmıştır. Her 25 ml'de bir deney tüpü değiştirilmiş ve toplam 32 alt fraksiyon elde edilmiştir. Bu kolondan toplanan alt fraksiyonlar, İTK ile kloroform:MeOH:su:formik asit (7,1:3:0,3:0,3) solvan sistemi kullanılarak takip edilmiş ve revelatör olarak Naturstoff rejanı püskürtülüp 110 °C'de 5 dk

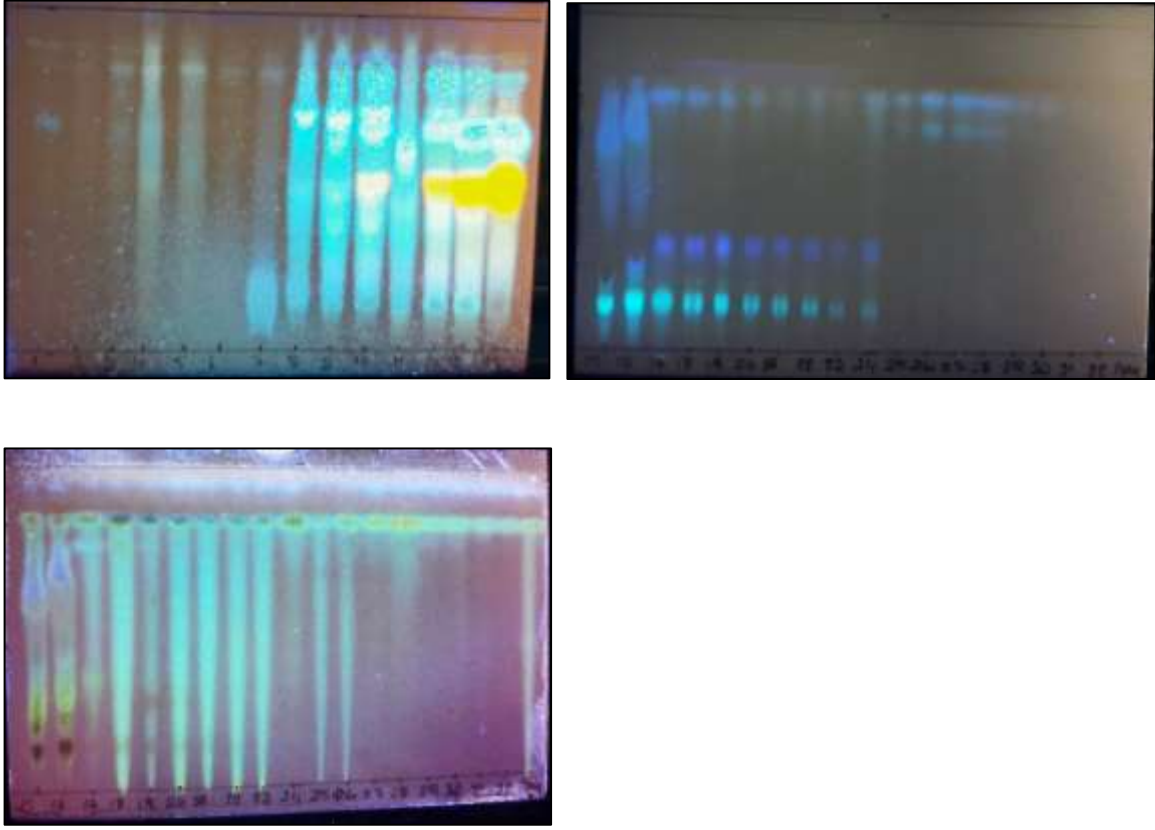
boyunca ısıtılmıştır. İTK kromatogramlarındaki profillere göre alt fraksiyonlar birleştirilmiştir. A fraksiyonuna ait kolon Resim 3.16.'da, A fraksiyonunun Sefadex kolona uygulanması ile elde edilen fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>254</sub> görünümü Şekil 3.17'de, A fraksiyonunun Sefadex kolona uygulanması ile elde edilen fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>366</sub> görünümü Şekil 3.18.'de gösterilmiştir.



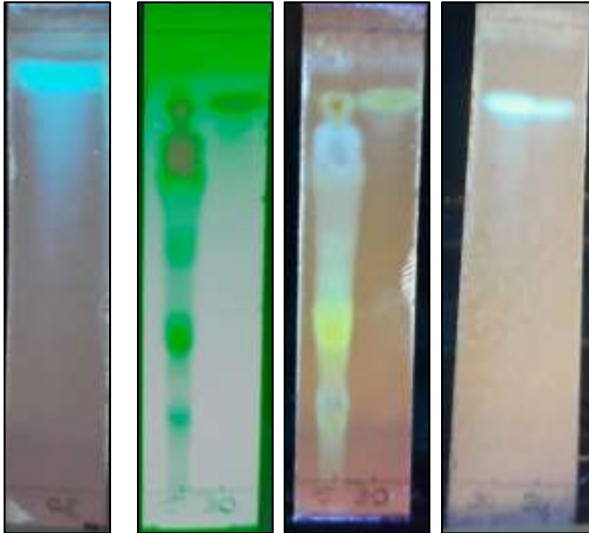
Resim 3.16. A fraksiyonuna ait Sefadex LH-20 kolonu



Resim 3.17. A fraksiyonunun Sefadex LH-20 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>254</sub> görünümü



Resim 3.18. A fraksiyonunun Sefadex LH-20 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>366</sub> görünümü



Resim 3.19. A fraksiyonunun Sefadex LH-20 kolona uygulanması ile elde edilen 30 ve 34 numaralı saf bileşiklerin revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>254</sub> ve UV<sub>366</sub> görünümü

A fraksiyonundan hareketle gerçekleştirilen saflaştırma sonucunda, 1, 7, 10 ve 11 numaralı alt fraksiyonlar saf görünmekte olduğu için daha ileri temizleme işlemine karar verilmiştir. 2,3,4,5 ve 6 numaralı alt fraksiyonların profilleri çok benzediği için birleştirilmiştir. 8 ve 9 numaralı alt fraksiyonlar, 12-14 numaralı alt fraksiyonlar, 17-25 numaralı alt fraksiyonlar, 27-30 numaralı alt fraksiyonlar ile 31 ve 32 numaralı alt fraksiyonlar İTK profili benzediği için birleştirilmiştir.

Çizelge 3.8. A fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen birleştirilmiş alt fraksiyonlar ve miktarları

| Birleştirilen alt fraksiyon numaraları | Miktar (mg) |
|--|-------------|
| 1                                      | 3,28        |
| (2-6)                                  | 115,32      |
| 7                                      | 4,78        |
| (8-9)                                  | 43,19       |
| 10                                     | 3,11        |
| 11                                     | 2,98        |
| (12-14) E fraksiyonu                   | 345,21      |
| (15-16)                                | 87,12       |
| (17-25)                                | 782,84      |
| (26-30)                                | 798,45      |
| (31-32)                                | 42,37       |

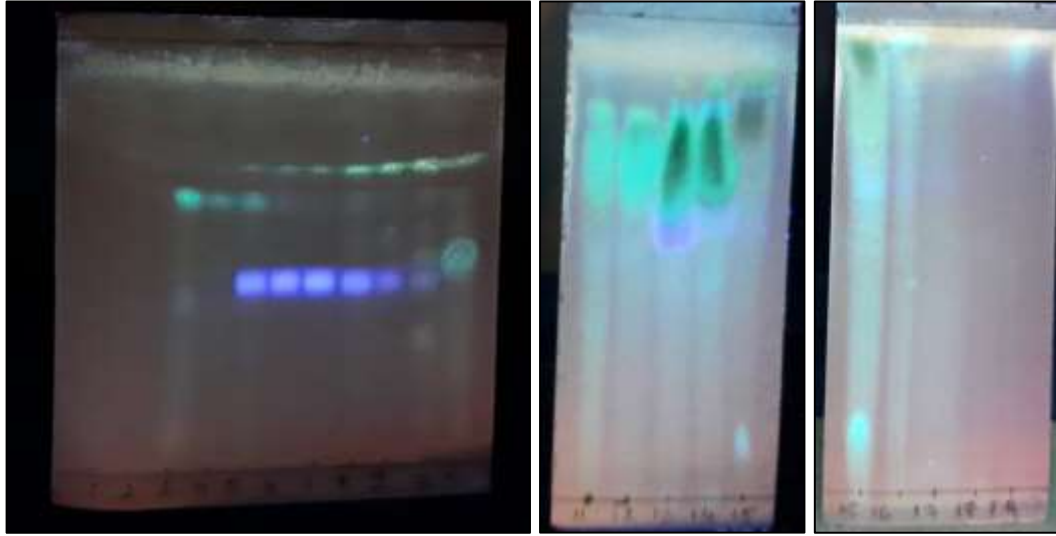
A fraksiyonundan elde edilen E fraksiyonundaki majör bileşiklerin izolasyonu için saflaştırma çalışmalarına devam edilmiştir.

E fraksiyonunun ayrıştırılması için RP-18 (40-63 µm, Merck, Almaya) dolgu maddesi kullanılmıştır. 20 g RP-18 dolgu maddesi, kolona tamamen kuru olacak şekilde yüklenmiştir. Yüklenen kuru RP-18 üzerine %100 distile su ilave edilerek, musluk açılmıştır. Musluktan su akıtılarak kolon dolgu materyalinin oturması sağlanmıştır. RP-18 kolon oldukça yavaş aktığı için kolonun üst ağız kısmında pompa ile basınç uygulanmıştır. 345,21 mg A fraksiyonu %100 distile su ile çözüldükten sonra, kolona yaş yükleme yapılmıştır. Elüsyon için önce %100 distile su kullanılmıştır. Her 10 ml'de 1 birim distile su miktarı düşürülürken; 1 birim %100 MeOH miktarı arttırılarak elüsyon sağlanmıştır (örneğin %99 distile su + %1 MeOH, daha sonra %98 distile su + %2 MeOH). Elüsyon sonunda %100 MeOH geçirilmiştir. Elüsyon sonunda 19 alt fraksiyon elde edilmiştir. Bu alt fraksiyonlar

kloroform:MeOH:su:formik asit (7,1:3:0,3:0,3) ve EtOAc:MeOH:su (6:4:0,7) hareketli fazı ile İTK'da incelenmiştir ve revelatör olarak %10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi kullanılmıştır.

Kullanılan kolonun özellikleri

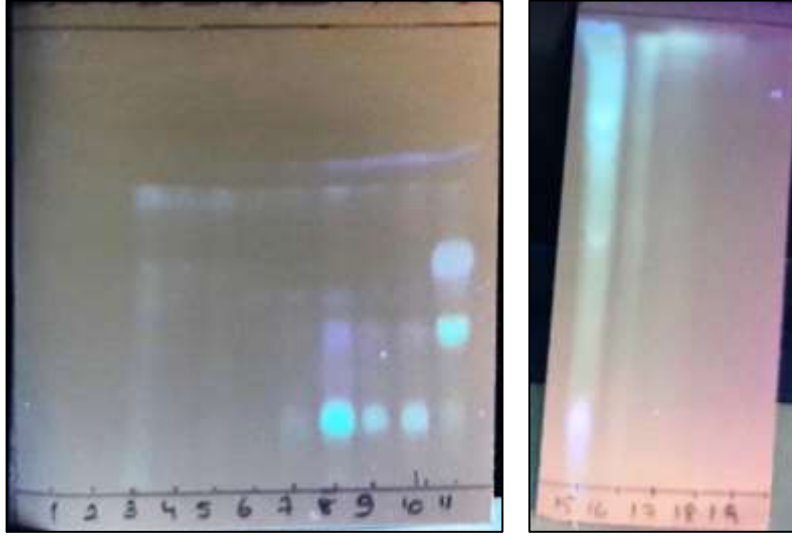
Kullanılan kolonun uzunluğu 72 cm ve çapı 1,8 cm'dir.



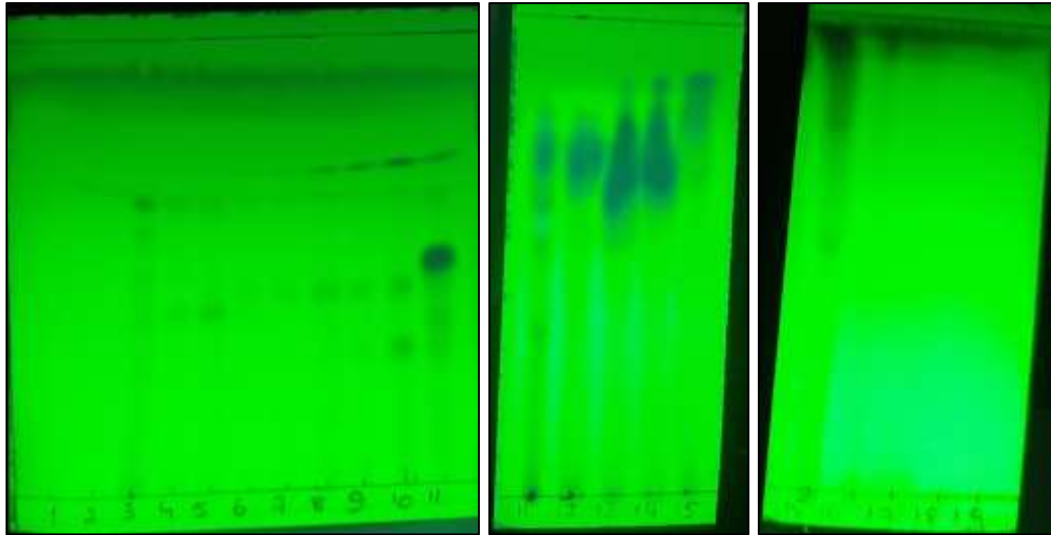
Resim 3.20. E fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>366</sub> görünümü

Çizelge 3.9. E fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanmasıyla elde edilen birleştirilmiş alt fraksiyonlar ve miktarları

| Birleştirilen alt fraksiyon numaraları | Miktar (mg) |
|--|-------------|
| (3-4)                                  | 42,38       |
| <b>(5-10) F fraksiyonu</b>             | 210,62      |
| (11-12)                                | 35,94       |
| (13-14)                                | 44,16       |
| 15                                     | 5,2         |
| (16-19)                                | 5,92        |



Resim 3.21. E fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten önceki UV<sub>366</sub> görünümü



Resim 3.22. E fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>254</sub> görünümü

E fraksiyonunun RP-18 kolon ile saflaştırılması neticesinde, 1-4 numaralı alt fraksiyonlar ile 5-10 numaralı alt fraksiyonların İTK profilleri benzediği için birleştirilmiştir ve 2 adet majör bileşik bulunduğu gözlenmiştir. 11 ve 12 numaralı alt fraksiyonlar ile 13 ve 14 numaralı alt fraksiyonların İTK profilleri benzediği için birleştirilmiştir. 15 no'lu alt fraksiyonun tek leke halinde safa yakın bir bileşik taşıdığı tespit edildiğinden, temizleme işlemi için ayrılmıştır. 16-19 numaralı alt fraksiyonların İTK profilleri benzediği için birleştirilmiştir ve birleştirilen alt fraksiyonun tek leke halinde safa yakın bir bileşik taşıdığı tespit edilmiştir. F

fraksiyonunda bulunan 2 majör bileşiğin ayrılması için preparatif İTK yöntemi kullanılmıştır. Normal faz silika jel kaplı alüminyum plaklar (Merck, Silica gel 60 F<sub>254</sub>) kullanılarak preparatif İTK yöntemi uygulanmıştır. Uygun sistemin belirlenmesi için küçük bir İTK plağına uygulama yapıp, belirlenen sistemde yürütüldükten sonra %10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> püskürtülmüştür. Böylece ayrılması hedeflenen bileşiklerin yeri UV<sub>254</sub> ve UV<sub>366</sub>'da belirlenmiştir. Ayrımı yapılacak olan karışım 0,5 ml MeOH'de çözüldükten sonra plaklara tatbik edilmiştir ve mobil fazda yürütülmüştür. Kuruyan plaklar UV<sub>254</sub> ve UV<sub>366</sub>'de incelenmiş ve lekeler belirlenmiş ve kesilmiştir. Kesilen alüminyum plaklar üzerindeki silika jel kazınarak MeOH ile yıkanmıştır. Silika jel ve bileşik içeren MeOH'lü çözeltiler süzgeç kağıdından (Whatman®, blue ribbon) süzülmüş ve elde edilen bileşikler İTK ile kontrol edilmişlerdir. Resim 3.23.'te görülen iki bileşik böylece preparatif İTK ile ayrılmıştır.



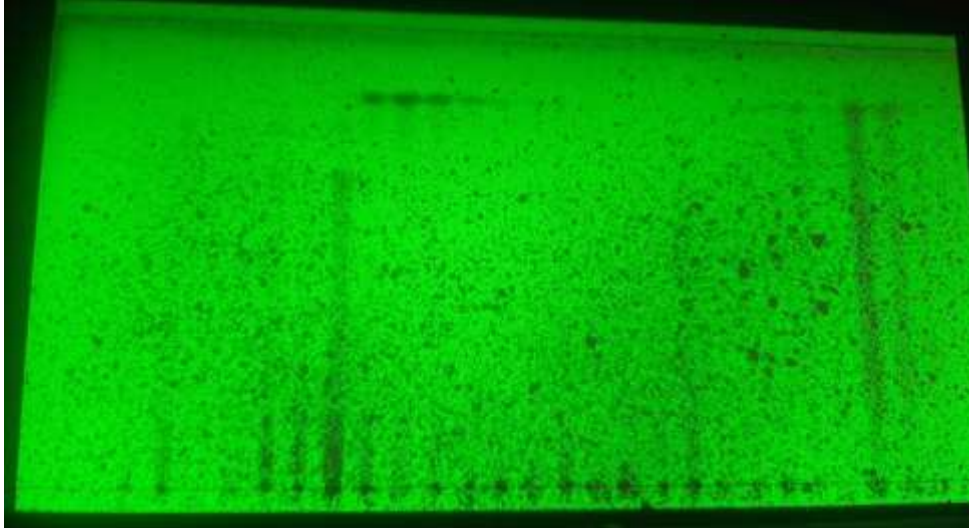
Resim 3.23. Preparatif İTK tekniği ile F fraksiyonundan izole edilen 2 adet bileşik

G fraksiyonun saflaştırılması için RP-18 kolon kurulmuştur. E fraksiyonun ayrıştırılması için RP-18 (40-63 µm, Merck, Almaya) dolgu maddesi kullanılmıştır. 15 g RP-18 dolgu maddesi, kolona tamamen kuru olacak şekilde yüklenmiştir. Yüklenen kuru RP-18 üzerine %100 distile su ilave edilerek, musluk açılmıştır. Musluktan su akıtılarak kolon dolgu materyalinin oturması sağlanmıştır. RP-18 kolon oldukça yavaş aktığı için kolonun üst ağız kısmında pompa ile basınç uygulanmıştır. G fraksiyonundan 169,83 mg tartılarak %100 distile su ile çözüldükten sonra, kolona yaş yükleme yapılmıştır. Elüsyon için önce %100 distile su kullanılmıştır. Her 10 ml'de 1 birim distile su miktarı düşürülürken; 1 birim %100

MeOH miktarı artırılarak elüsyon sağlanmıştır (örneğin %99 distile su + %1 MeOH daha sonra %98 distile su + %2 MeOH). Elüsyon sonunda %100 MeOH geçirilmiştir. Elüsyon sonunda 29 alt fraksiyon elde edilmiştir. Bu alt fraksiyonlar kloroform:MeOH:su:formik asit (7,1:3:0,3:0,3) hareketli fazı ile İTK'da incelenmiştir ve revelatör olarak %10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi kullanılmıştır.



Resim 3.24. G fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması

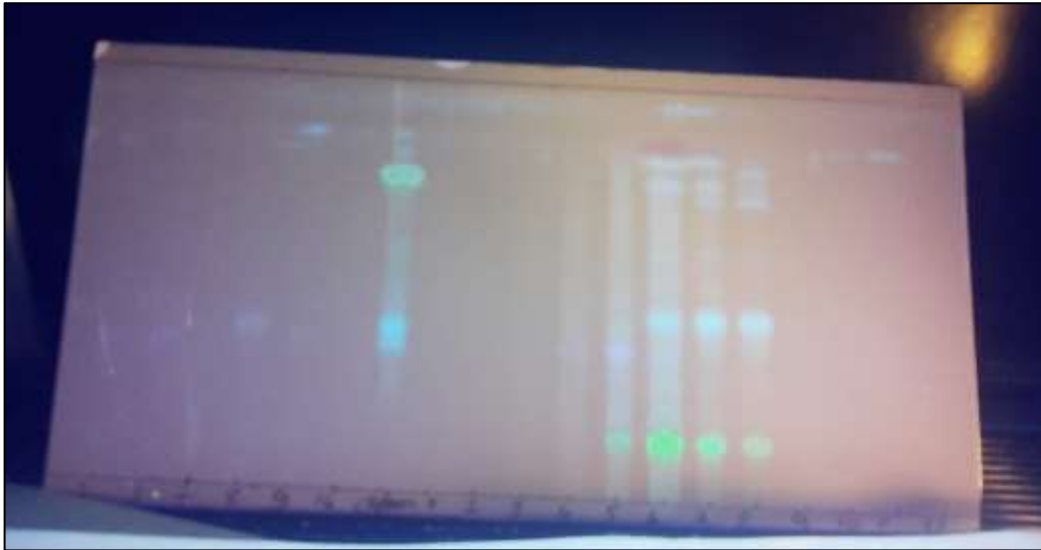


Resim 3.25. G fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>254</sub> görünümü



Resim 3.26. G fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>366</sub> görünümü

Bu fraksiyondaki 16, 17 ve 18 numaralı alt fraksiyonlar birleştirilip, preparatif İTK'ne tabi tutulmuştur ve 2 adet bileşik izole edilmiştir.



Resim 3.27. G fraksiyonunun RP-18 kolona uygulanması ile elde edilen (16-18) alt fraksiyonların preparatif İTK uygulaması

Ana fraksiyondan elde edilen (3-6) numaralı alt fraksiyondan saf bileşikleri izole etmek için Sefadeks LH-20 kolon kurulmuştur.

Kullanılan kolonun özellikleri

Kullanılan kolonun uzunluğu 105 cm, çapı 2,5 cm'dir. 70 g Sefadeks LH-20 (25-100 µm, Sigma Aldrich, Almanya) bir behere tartılmıştır ve 600 ml %100 MeOH ilave edilmiştir. Dolgu maddesi MeOH içerisinde, 20 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Kolonun alt kısmına cam pamuğu yerleştirildikten sonra dolgu maddesi kolona ilave edilmiştir ve üzerinden %100 MeOH ilave edilmeye başlanmıştır. Bu esnada kolonun musluğu açık bırakılmıştır ve sürekli mobil faz akışı sağlanmıştır. Musluk kapatıldıktan sonra, kolonun oturması için bir gün boyunca beklenmiştir. Bu esnada, 150 mg (3-6) fraksiyonu, 1 ml %100 MeOH içinde tamamen çözülmüştür. Islak yükleme tekniği ile, (3-6) fraksiyonu kolon içerisine yüklenmiştir. Eklenen fraksiyon Sefadeks tarafından tamamen emildikten sonra, %100 MeOH ilave edilerek elüsyon başlatılmıştır. Her 25 ml'de bir deney tüpü değiştirilmiştir. Toplamda 10 alt fraksiyon elde edilmiştir. Bu kolondan toplanan alt fraksiyonlar, İTK ile *n*-hekzan:EtOAc (3:2) solvan sistemi kullanılarak takip edilmiş ve revelatör olarak %10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 110 °C'de 5 dk boyunca ısıtılmıştır. Resim 3.28.'de (3-6) fraksiyonuna ait Sefadeks LH-20 uygulanması ile elde edilen fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>366</sub> görünümü Şekil 3.29.'da gösterilmiştir.

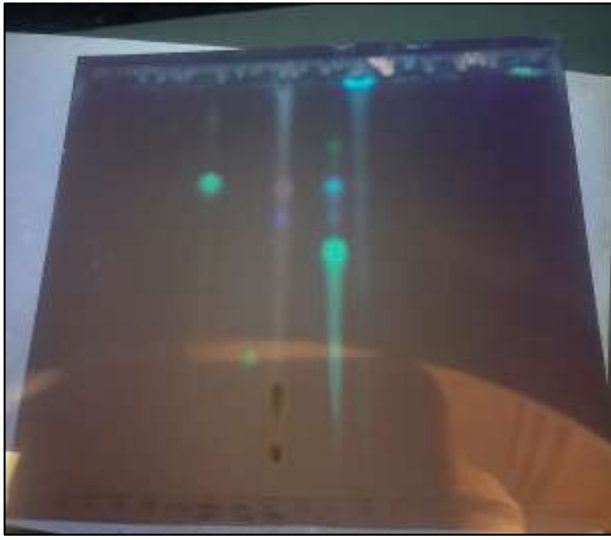
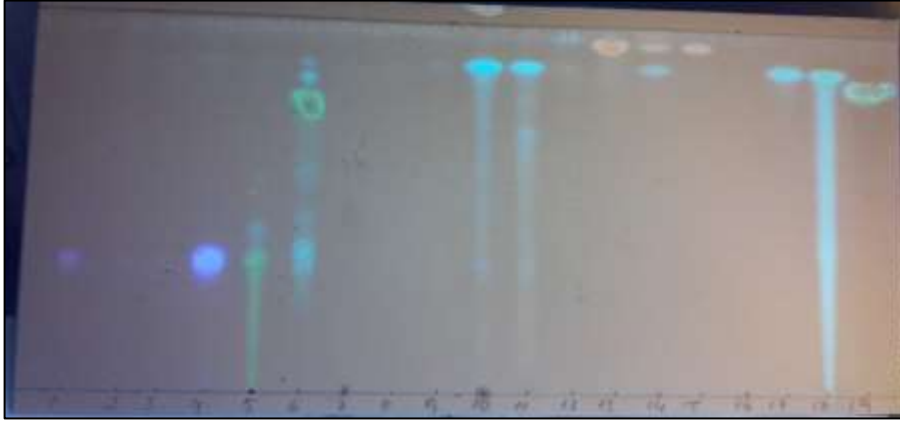


Resim 3.28. (3-6) fraksiyonuna ait Sefadeks LH-20 uygulanması ile elde edilen alt fraksiyonların revelatör püskürtüldükten sonraki UV<sub>366</sub> görünümü

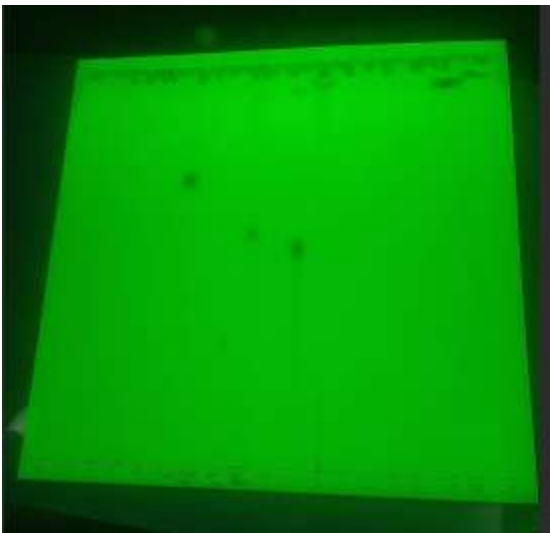
Çizelge 3.10. (3-6) fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen birleştirilmiş alt fraksiyonlar ve miktarları

| Birleştirilen alt fraksiyon numaraları | Miktar (mg) |
|--|-------------|
| (1-6)                                  | 0,79        |
| (7-8)                                  | 98,24       |
| (9-10)                                 | 46,27       |

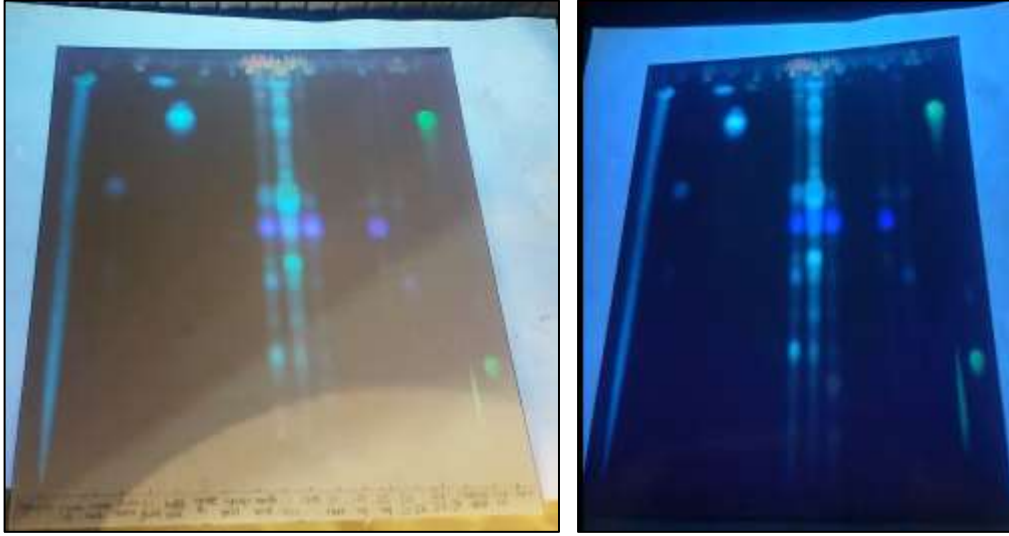
Saflaştırma işlemleri sonunda, izole edilen ve çöken bileşiklerle birlikte toplam 21 adet bileşik izole edilmiştir. Benzer olanlar İTK profiline göre belirlenip birleştirilmiş ve sonuç olarak toplam 7 adet saf bileşik izole edilmiştir. İzole edilen bileşikler toluen:formik asit:EtOAc (2,5:1,5:6) mobil fazla sürüklenmiştir ve İTK profillerinin UV<sub>366</sub>'daki görüntüsü Resim 3.29.'da gösterilmiştir. İTK profillerinin UV<sub>254</sub>'deki görüntüsü Resim 3.30.'da gösterilmiştir Aynı mobil fazda, YPSK yöntemi ile ekstre içerisinde bulunduğunu belirlediğimiz ve elimizde standardı bulunan, apigenin, *p*-kumarik asit, rozmarinik asit,  $\beta$ -sitosterol, *trans*-ferulik asit, kafeik asit, genistein, sirinjik asit, vanilik asit, oleanolik asit, kersetin ve rutin İTK plağında yürütülmüştür. Yine aynı plakta *L. stoechas* MeOH ekstresi, *L. stoechas*'ın EtOAc alt ekstresinin ilk silika jel kolonundan alınan fraksiyon 21-26 ve fraksiyon 27-31 ayrıca *L. stoechas*'dan elde edilen uçucu yağ ve son olarak *L. × intermedia* MeOH ekstresi ile uçucu yağı da tatbik edilmiştir. Bu örneklerin UV<sub>366</sub>'daki İTK profilleri Resim 3.31.'de, UV<sub>254</sub>'deki İTK profilleri ise Resim 3.32.'de gösterilmiştir.



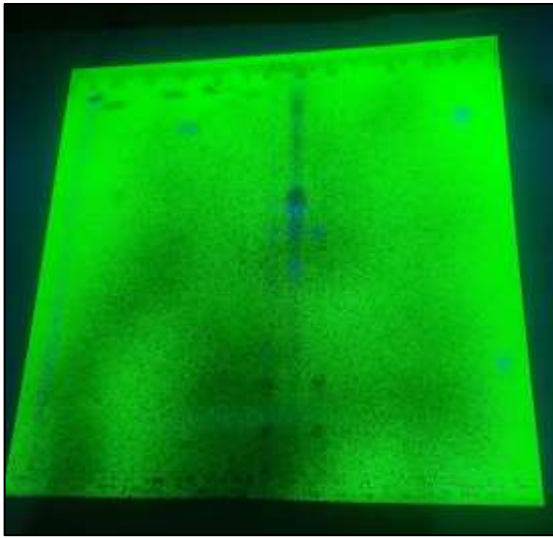
Resim 3.29. İzole edilen ve çöken bileşiklerin UV<sub>366</sub>'daki İTK profili



Resim 3.30. İzole edilen ve çöken bileşiklerin UV<sub>254</sub>'deki İTK profili



Resim 3.31. Standart bileşiklerin, *L. stoechas* MeOH ekstresi, *L. stoechas* uçucu yağı, fraksiyon 21-26, fraksiyon 27-31, *L. × intermedia* MeOH ekstresi ve *L. stoechas* uçucu yağının UV<sub>366</sub>'daki İTK profili



Resim 3.32. Standart bileşiklerin, *L. stoechas* MeOH ekstresi, *L. stoechas* uçucu yağı, fraksiyon 21-26, fraksiyon 27-31, *L. × intermedia* MeOH ekstresi ve *L. stoechas* uçucu yağının UV<sub>254</sub>'deki İTK profili

#### Nükleer magnetik rezonans (NMR) analizleri

AYF işlemleri ile fraksiyonlanan, kolon kromatografisi veya preparatif İTK ile elde edilen ve miktarı yeterli olan bileşiklerin, Gazi Üniversitesi Temel ve Mühendislik Bilimleri Merkez Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (GÜTMAM), NMR laboratuvarında, yüksek

çözünürlüklü dijital NMR Spektrometresi (500 MHz, Bruker Ascend, Almanya) ile  $^1\text{H}$ - (500 MHz) ve  $^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz) analizleri kloroform-D1, dötero-su, DMSO-D6 veya dötero-MeOH içerisinde çözülerek gerçekleştirilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapı tayinine ait sonuçlar “Bulgular” bölümünde verilmiştir.

### 3.2.3. Moleküler kenetlenme çalışmaları

Moleküler kenetlenme çalışmaları, Schrödinger'in Maestro yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İnsan testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 (PDB ID: 7BW1) enzimine ait 3D X-ray kristal yapıları Protein Data Bank (PDB) veri tabanından indirilmiş ve kenetlenme simülasyonları için yapıyı hazırlamak amacıyla Schrödinger programının Protein Preparation Wizard modülü kullanılmıştır (Release, 2024; Q. Xiao ve diğerleri, 2020). Proteinin hazırlık aşamasında, eksik olan hidrojen ve diğer atomlar eklenmiş, bağlar optimize edilmiş, disülfit bağları eklenmiş, su molekülleri silinmiş, biyolojik pH belirlenmiş ve atom çarpışmaları önlenmiştir. Ligand yapıları PubChem'den temin edilmiştir. Çalışma sırasında, bileşikler biyolojik pH koşulları altında enerji minimizasyonuna tabi tutulmuştur. Protein-ligand bağlanma enerjileri, Induced Fit Docking (IFD) yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Kullanılan bu yöntemde, simülasyonlar sırasında hem ligandın hem de aktif bölgedeki atomların esnekliğine izin vererek, bağlanma bölgesi içinde olası ligand pozlarının bir aralığı oluşturulmuştur ve her poz için ayrı bir bağlanma enerjisi belirlenmiştir (Farid ve diğerleri, 2006; Sherman, Beard, ve diğerleri, 2006; Sherman, Day, ve diğerleri, 2006).

## 4. BULGULAR

### 4.1. Ekstre ve Alt Ekstre Verimlerine Ait Bulgular

#### 4.1.1. Ekstre verimleri

Ön tarama çalışmalarımız için etnofarmakolojik kayıtlara göre halk arasında saç dökülmesine karşı veya saç çıkarmak amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerden *L. × intermedia*, *L. stoechas*, *U. dioica*, *U. urens*, *J. regia* ve *C. avellana* seçilmiştir. Bunlardan *L. × intermedia*, *L. stoechas*, *U. urens* ve *U. dioica*'nın toprak üstü kısımlarından MeOH ekstraları hazırlanmıştır. *J. regia*'nın kabukları ile birlikte zarları, son olarak *C. avellana*'nın kabuklarından MeOH ekstresi hazırlanmıştır. Tez materyallerimizden hareketle ön tarama için hazırlanan MeOH ekstralarının miktarı ve hesaplanan % verimleri (a/a) Çizelge 4.1.'de verilmektedir.

Çizelge 4.1. Ön tarama bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstraların miktarları ve verimleri

| Bitkiler               | Ekstre Miktarı (g) | Verimi (a/a) |
|------------------------|--------------------|--------------|
| <i>L. × intermedia</i> | 36,02              | 16,76        |
| <i>L. stoechas</i>     | 19,65              | 14,22        |
| <i>U. dioica</i>       | 11,1               | 13,11        |
| <i>U. urens</i>        | 1,48               | 12,86        |
| <i>J. regia</i>        | 27,4               | 8,21         |
| <i>C. avellana</i>     | 31,2               | 5,91         |

#### 4.1.2. Alt ekstre verimleri

Ön taramada öncelikle testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine karşı etkili olduğunu tespit ettiğimiz *L. × intermedia* ve *L. stoechas* bitkileri ileri çalışmalarda kullanılmak için aynı yerden çok daha yüksek miktarlarda tekrar temin edilmiştir. Ayrıca *L. × intermedia* ve *L. stoechas* uçucu yağları da elde edilmiştir. Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibisyonu yanında, *L. × intermedia* ve *L. stoechas* bitkilerinden hazırlanan etanollü ekstralar ve elde edilen uçucu yağlar LOX enzimine de karşı da inhibisyon göstermiştir. Bu nedenle *L. × intermedia* ve *L.*

*stoechas*'dan hareketle sıvı-sıvı ekstraksiyon ile elde edilen ekstrelerin % verimleri a/a cinsinden Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. *L. stoechas* ve *L. × intermedia*'dan hazırlanan alt ekstrelerin verimi

| <i>L. stoechas</i> MeOH ekstresi %18,15 (a/a)     |         |         |                   |         |
|---|---------|---------|-------------------|---------|
| <i>n</i> -Hekzan                                  | DCM     | EtOAc   | <i>n</i> -Butanol | Su      |
| %24,81  | %12,4   | %7,22   | %12,04            | %22,01  |
| 42,18 g   | 21,08 g | 15,97 g | 20,46 g           | 37,41 g |
| <i>L. × intermedia</i> MeOH ekstresi %22,18 (a/a) |         |         |                   |         |
| <i>n</i> -Hekzan                                  | DCM     | EtOAc   | <i>n</i> -Butanol | Su      |
| %19,39  | %13,82  | %8,66   | %18,79            | %33,42  |
| 38,77 g   | 27,63 g | 17,32 g | 37,58 g           | 33,42 g |

#### 4.1.3. Uçucu yağ verimleri

Ön taramada öncelikle testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine karşı etkili olduğunu tespit ettiğimiz uçucu yağlar üzerinde daha geniş çalışma yapabilmek için, temin edilen bitkilerden daha çok miktarda uçucu yağ elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağların miktarı ve verimleri Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. *L. stoechas* ve *L. × intermedia*'dan elde edilen uçucu yağ miktarları ve verimleri

| Bitki                  | Elde edilen uçucu yağ miktarı | Verim  |
|------------------------|-------------------------------|--------|
| <i>L. stoechas</i>     | 2,57 ml                       | %0,92  |
| <i>L. × intermedia</i> | 6,8 ml                        | %2,275 |

#### 4.2. Ön Taramada Kullanılan Bitkilerin Enzim İnhibisyonu Tayinlerine Ait Bulgular

Ön tarama çalışmaları için hazırlanan *L. × intermedia*, *L. stoechas*, *U. urens* ve *U. dioica*'nın toprak üstü MeOH ekstreleri, *J. regia*'nın kabuk ve zarlarından hareketle hazırlanan MeOH ekstresi ve son olarak *C. avellana*'nın kabuklarından 4 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan MeOH ekstresi hem testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve hem de LOX inhibisyon modelinde test edilmiştir. Daha sonra %50 üzerinde inhibisyon gösteren ekstrelerin IC<sub>50</sub> değerlerini hesaplayabilmek için alt konsantrasyonlarına inilerek enzim inhibisyon deneyleri tekrar gerçekleştirilmiştir. Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz deneyinde final konsantrasyon 59  $\mu$ g/ml ve

LOX enzim inhibisyon deneyinde ise 200 µg/ml'dir. Enzim inhibisyon sonuçları testosteron-5α-redüktaz bakımından değerlendirildiğinde, referans ilaç olarak kullanılan finasteritin IC<sub>50</sub> değerine (0,15 ± 0,01 µg/ml) en yakın, 11,16 ± 0,01 µg/ml IC<sub>50</sub> değeri ile *L. stoechas*'dan elde edilen uçucu yağ olmuştur. Arkasından 19,15 ± 0,02 µg/ml IC<sub>50</sub> değeri ile *L. × intermedia*'dan elde edilen uçucu yağ gelmektedir. Uçucu yağlardan sonra *L. stoechas*'ın toprak üstü kısımlarından hazırlanan MeOH ekstresi (LSHME) 21,18 ± 0,01 µg/ml IC<sub>50</sub> değeri ile, ekstreler arasındakiler en düşük IC<sub>50</sub> değerine sahip ekstre olmuştur. Daha sonra 32,25 ± 0,02 µg/ml IC<sub>50</sub> değeri ile *L. × intermedia*'nın toprak üstü kısmından hazırlanan MeOH ekstresi (LİHME) olmuştur. Diğer ekstrelerin IC<sub>50</sub> değerlerinin bu sonuçlara kıyasla oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Enzim inhibisyon sonuçları LOX enzimi bakımından değerlendirildiğinde, referans olarak kullanılan baikaleinin IC<sub>50</sub> değerine (12,8 ± 0,42 µg/ml) en yakın olan 135,62 ± 1,02 µg/ml IC<sub>50</sub> değeri ile *L. stoechas*'dan elde edilen uçucu yağ olmuştur. Arkasından 162,74 ± 2,31 µg/ml IC<sub>50</sub> değeri ile *L. × intermedia*'dan elde edilen uçucu yağ gelmektedir. Uçucu yağlardan sonra 165,92 ± 2,14 µg/ml IC<sub>50</sub> değeri ile LSHME ekstreler arasındakiler en düşük IC<sub>50</sub> değerine sahip ekstre olmuştur. LİHME, %48,12 ± 2,12 enzim inhibisyonu göstermiş ve bu nedenle IC<sub>50</sub> değeri hesaplanamamıştır.

İki *in vitro* enzim testinde de en düşük IC<sub>50</sub> değeri *L. stoechas*'dan elde edilen uçucu yağda ve LSHME'de tespit edilmiştir. Bu nedenle izolasyon ve AYF prosesi LSHME üzerinden gerçekleştirilmiştir. LİHME de özellikle testosteron-5α-redüktaz enzimine karşı yüksek inhibisyon göstermiştir. Bu nedenle bu ekstre üzerinden de sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş ve alt ekstrelerinin adı geçen enzimler üzerindeki inhibitör aktivitesi incelenmiştir. Ön tarama çalışmalarında kullanılan ekstrelerin ve uçucu yağların testosteron-5α-redüktaz ve LOX üzerine inhibisyon değerleri Çizelge 4.4.'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Ön tarama bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstralarının ve uçucu yağların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX inhibisyon değerleri

| Ekstreler ve Uçucu Yağlar                           | %İnhibisyon (5 $\alpha$ -redüktaz) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>59 $\mu$ g/ml <sup>b</sup> | %İnhibisyon (LOX) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>200 $\mu$ g/ml <sup>b</sup> |
|---|--|--|
| <i>L. <math>\times</math> intermedia</i>            | 75,45 $\pm$ 0,02<br>(IC <sub>50</sub> : 32,25 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                     | 48,12 $\pm$ 2,12   |
| <i>L. stoechas</i>                                  | 90,62 $\pm$ 0,01<br>(IC <sub>50</sub> : 21,18 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)                     | 57,34 $\pm$ 1,72<br>(IC <sub>50</sub> : 165,92 $\pm$ 2.14 $\mu$ g/ml)    |
| <i>U. dioica</i>                                    | 59,76 $\pm$ 0,01<br>(IC <sub>50</sub> : 52,16 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                     | 32,56 $\pm$ 1,53   |
| <i>U. urens</i>                                     | 69,42 $\pm$ 0,02<br>(IC <sub>50</sub> : 44,19 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                     | 37,72 $\pm$ 1,04   |
| <i>J. regia</i>                                     | 52,83 $\pm$ 0,01<br>(IC <sub>50</sub> : 57,85 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)                     | 11,47 $\pm$ 0,32   |
| <i>C. avellana</i>                                  | 61,49 $\pm$ 0,02<br>(IC <sub>50</sub> : 53,74 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                     | 17,91 $\pm$ 1,14   |
| <i>L. <math>\times</math> intermedia</i> uçucu yağı | 90,14 $\pm$ 0,01<br>(IC <sub>50</sub> : 19,15 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                     | 55,13 $\pm$ 2,52<br>(IC <sub>50</sub> : 162,74 $\pm$ 2,31 $\mu$ g/ml)    |
| <i>L. stoechas</i> uçucu yağı                       | 93,62 $\pm$ 0,02<br>(IC <sub>50</sub> : 11,16 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)                     | 61,72 $\pm$ 2,13<br>(IC <sub>50</sub> : 135, 62 $\pm$ 1,02 $\mu$ g/ml)   |
| Referanslar <sup>c</sup>                            | 76,25 $\pm$ 0,03<br>(IC <sub>50</sub> : 0,15 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)                      | 81,65 $\pm$ 2,71<br>(IC <sub>50</sub> : 12,8 $\pm$ 0,42 $\mu$ g/ml)      |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Final konsantrasyon, <sup>c</sup>Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz için finasterit (0,57  $\mu$ M); LOX için baikalein (1 mg/ml, 50  $\mu$ g/ml)

### 4.3. Ön Taramada Kullanılan Bitkilerin Antioksidan Aktivite Tayinlerine Ait Bulgular

İlk aşamada ön taramada kullanılan bitkilerin ve uçucu yağların antioksidan aktiviteleri DPPH radikal süpürücü aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi deneyleri ile belirlenmiştir. Deney öncesinde, ekstralar için 2 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltiler hazırlanmıştır. Daha sonra, bu stok çözeltilerden yola çıkarak 0,5 mg/ml ve 1 mg/ml konsantrasyonlarında seyreltilmiş çözeltiler elde edilmiştir. Bu örneklerin DPPH radikal süpürme aktivitesi değerleri Çizelge 4.5.'te, demir indirgeyici antioksidan güç değerleri Çizelge 4.6.'da ve metal-şelasyon kapasitesi değerleri Çizelge 4.7.'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Ön tarama bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstralarının ve uçucu yağların DPPH radikal süpürme aktivitesi değerleri

| Ekstreler ve Uçucu Yağlar         | DPPH Radikal Süpürücü Aktivitesi (%İnhibisyon ± S.S. <sup>a</sup> ) |              |              |
|-----------------------------------|---|--------------|--------------|
|                                   | 2 mg/ml   | 1 mg/ml      | 0,5 mg/ml    |
| <i>L. × intermedia</i>            | 88,33 ± 0,09  | 84,64 ± 0,32 | 79,32 ± 0,32 |
| <i>L. stoechas</i>                | 82,71 ± 0,76  | 81,43 ± 0,21 | 78,42 ± 0,64 |
| <i>U. dioica</i>                  | 75,02 ± 0,58  | 72,38 ± 0,64 | 68,53 ± 0,53 |
| <i>U. urens</i>                   | 83,96 ± 0,54  | 81,72 ± 0,73 | 80,64 ± 0,25 |
| <i>J. regia</i>                   | 72,82 ± 0,52  | 70,51 ± 0,21 | 65,73 ± 0,32 |
| <i>C. avellana</i>                | 68,23 ± 0,21  | 66,17 ± 0,15 | 62,73 ± 0,79 |
| <i>L. × intermedia</i> uçucu yağı | 89,25 ± 0,43  | 88,52 ± 0,21 | 85,93 ± 0,52 |
| <i>L. stoechas</i> uçucu yağı     | 86,93 ± 0,42  | 85,73 ± 1,53 | 83,83 ± 0,31 |
| Kersetin <sup>b</sup>             | 95,43 ± 0,19  | 93,73 ± 0,21 | 89,54 ± 0,32 |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Referans bileşik

Çizelge 4.6. Ön tarama bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstralarının ve uçucu yağların FRAP değerleri

| Ekstreler ve Uçucu Yağlar         | FRAP <sup>a</sup> (700 nm'deki absorbans ± S.S. <sup>b</sup> ) |             |             |
|-----------------------------------|--|-------------|-------------|
|                                   | 2 mg/ml  | 1 mg/ml     | 0,5 mg/ml   |
| <i>L. × intermedia</i>            | 1,06 ± 0,18  | 1,02 ± 0,02 | 0,96 ± 0,01 |
| <i>L. stoechas</i>                | 1,03 ± 0,01  | 1,01 ± 0,03 | 0,97 ± 0,01 |
| <i>U. dioica</i>                  | 0,87 ± 0,02  | 0,86 ± 0,01 | 0,83 ± 0,02 |
| <i>U. urens</i>                   | 0,98 ± 0,02  | 0,97 ± 0,05 | 0,87 ± 0,03 |
| <i>J. regia</i>                   | 0,47 ± 0,01  | 0,44 ± 0,01 | 0,35 ± 0,01 |
| <i>C. avellana</i>                | 0,64 ± 0,01  | 0,51 ± 0,02 | 0,48 ± 0,01 |
| <i>L. × intermedia</i> uçucu yağı | 1,27 ± 0,01  | 1,16 ± 0,02 | 1,03 ± 0,03 |
| <i>L. stoechas</i> uçucu yağı     | 1,26 ± 0,05  | 1,23 ± 0,01 | 1,18 ± 0,02 |
| Kersetin <sup>c</sup>             | 1,98 ± 0,02  | 1,87 ± 0,01 | 1,64 ± 0,02 |

<sup>a</sup>Yüksek absorbans FRAP'ta daha yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir, <sup>b</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>c</sup>Referans bileşik

Çizelge 4.7. Ön tarama bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstralarının ve uçucu yağların metal-şelasyon kapasitesi değerleri

| Ekstreler ve Uçucu Yağlar         | Metal-Şelasyon Kapasitesi (% ± S.S. <sup>a</sup> ) |              |                |
|-----------------------------------|--|--------------|----------------|
|                                   | 2 mg/ml  | 1 mg/ml      | 0,5 mg/ml      |
| <i>L. × intermedia</i>            | 21,07 ± 3,30                                       | 8,42 ± 0,63  | - <sup>b</sup> |
| <i>L. stoechas</i>                | -  | -            | -              |
| <i>U. dioica</i>                  | -  | -            | -              |
| <i>U. urens</i>                   | -  | -            | -              |
| <i>J. regia</i>                   | -  | -            | -              |
| <i>C. avellana</i>                | -  | -            | -              |
| <i>L. × intermedia</i> uçucu yağı | -  | -            | -              |
| <i>L. stoechas</i> uçucu yağı     | -  | -            | -              |
| EDTA <sup>c</sup>                 | 94,75 ± 0,13                                       | 92,54 ± 0,14 | 89,56 ± 0,74   |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Etki yok, <sup>c</sup>Referans bileşik

DPPH radikal süpürme etkisi açısından yapılan deneylerde, %89,25 ± 0,43 oranında inhibisyon ile *L. × intermedia* bitkisinden elde edilen uçucu yağ en yüksek aktiviteyi sergilemiştir. Bu bulguların hemen ardından, %88,33 ± 0,09 inhibisyon ile LİHME takip etmiştir. FRAP sonuçlarına göre, yine *L. × intermedia*'dan elde edilen uçucu yağ 1,27 ± 0,01 ile en yüksek FRAP değerini göstermiş, ardından 1,06 ± 0,18 ile LİHME gelmiştir. Metal-şelasyon kapasitesi testinde ise sadece LİHME aktivite göstermiş, ancak bu aktivite oldukça düşük bulunmuştur.

#### 4.4. Ön Taramada Kullanılan Bitkilerin Toplam Fenol ve Toplam Flavonoit İçeriklerine Ait Bulgular

Toplam fenol ve flavonoit miktarlarının tayini için yapılan çalışmada, örnekler %96'lık etanol kullanılarak 2 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmıştır. Fenollerin miktar tayini, gallik asit kullanılarak oluşturulan kalibrasyon grafiği üzerinden gerçekleştirilmiştir. Gallik asit için hazırlanan çözelti konsantrasyonları, 0,0625 mg/ml'den 1 mg/ml'ye kadar değişmektedir ve bu konsantrasyonlar, spektrofotometre ölçümlerinde x eksenini olarak kullanılmıştır. Karşılık gelen absorbans değerleri ise y eksenini olarak belirlenmiştir. Elde edilen verilere

dayanarak,  $y = 2,3776x + 0,0533$  şeklinde bir kalibrasyon denklemi oluşturulmuş ve bu eğrinin korelasyon katsayısı ( $r^2$ ) 0,9995 olarak hesaplanmıştır. Flavonoitlerin miktar tayini için ise kersetin temel alınmıştır. Kersetin için de benzer şekilde 0,0625 mg/ml'den 1 mg/ml'ye kadar konsantrasyonlar hazırlanmış ve  $y = 4,8570x + 0,0341$  şeklinde bir kalibrasyon denklemi ile temsil edilen kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Bu ikinci kalibrasyon grafiğinin korelasyon katsayısı ise 0,9911 olarak bulunmuştur. Deney sonuçlarına göre, LSHME örneği,  $83,54 \pm 0,20$  değeri ile analiz edilen örnekler arasında en yüksek fenolik bileşik içeriğine sahiptir. Bu özelliği ile LSHME, flavonoit içeriği bakımından da ön plana çıkmakta ve  $42,74 \pm 0,72$  değeri ile en yüksek flavonoit içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Ön taramada kullanılan bitkilerden hazırlanan MeOH ekstralarının toplam fenol ve toplam flavonoit içerik değerleri Çizelge 4.8.'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Ön tarama bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstralarının toplam fenol ve toplam flavonoit içerik değerleri

| <b>Ekstreler</b>       | <b>Toplam Fenol Miktarı<sup>a</sup> ± S.S.<sup>b</sup></b> | <b>Toplam Flavonoit Miktarı<sup>c</sup> ± S.S.<sup>b</sup></b> |
|------------------------|--|--|
| <i>L. × intermedia</i> | 27,32 ± 0,71   | 22,03 ± 1,90   |
| <i>L. stoechas</i>     | 83,54 ± 0,20   | 42,74 ± 0,72   |
| <i>U. dioica</i>       | 67,94 ± 0,26   | 34,73 ± 0,53   |
| <i>U. urens</i>        | 68,63 ± 0,67   | 31,83 ± 0,26   |
| <i>J. regia</i>        | 11,74 ± 0,28   | 8,27 ± 0,35  |
| <i>C. avellana</i>     | 7,82 ± 0,72  | 6,92 ± 0,11  |

<sup>a</sup>Veriler 1 g ekstrede gallik asidin mg eşdeğeri olarak ifade edilmiştir, <sup>b</sup> Standart sapma (n: 3), <sup>c</sup>Veriler 1 g ekstrede kersetinin mg eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

#### **4.5. *L. × intermedia* ve *L. stoechas* Toprak üstü Ekstrelerinin Aktivite-Yönlendirmeli Fraksiyonlama Bulguları**

##### **4.5.1. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen alt ekstraların enzim inhibisyonu tayinlerine ait bulgular**

Ana ekstraların sıvı-sıvı ekstraksiyonu sonucu elde edilen alt ekstralar içinde, her iki enzime karşı da iki bitkiden elde edilen EtOAc alt ekstresi en yüksek aktiviteyi sergilemiştir. Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine karşı LİHEAE ve LSHEAE'nin IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla  $51,16 \pm 0,02$   $\mu$ g/ml ve  $30,19 \pm 0,01$   $\mu$ g/ml olarak tespit edilmiştir. Her iki ana ekstre de alt

ekstrelelere ayrıldığında testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine olan inhibisyon yüzdesi azalmış ve IC<sub>50</sub> değeri yükselmiştir. LOX inhibisyonunda, *L. × intermedia*'nın alt ekstreleri, ana ekstreye oranla daha düşük inhibisyon gösterirken, LSHEAE ana ekstre ile karşılaştırıldığında daha yüksek inhibisyon göstermiştir ve IC<sub>50</sub> değeri düşmüştür. Her iki enzime karşı da en yüksek inhibitör etki LSHEAE'de gözlemlendiğinden, saflaştırma işlemleri EtOAc alt ekstresi üzerinden devam edilmiştir.

Çizelge 4.9. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstrelerin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX inhibisyon sonuçları

| Ekstreler             | %İnhibisyon  |   |
|-----------------------|--|---|
|                       | (5 $\alpha$ -Redüktaz) $\pm$ S.S. <sup>a</sup> (59 $\mu$ g/ml <sup>b</sup> ) | (LOX) $\pm$ S.S. <sup>a</sup> (200 $\mu$ g/ml <sup>b</sup> )          |
| LİHME <sup>c</sup>    | 76,49 $\pm$ 0,02<br>(IC <sub>50</sub> : 32,92 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)         | 48,12 $\pm$ 2,12  |
| LİHHAEd               | 52,76 $\pm$ 1,15<br>(IC <sub>50</sub> : 55,25 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)         | 23,73 $\pm$ 1,27  |
| LİHDAE <sup>e</sup>   | 50,31 $\pm$ 0,11<br>(IC <sub>50</sub> : 57,62 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)         | 32,56 $\pm$ 1,53  |
| LİHEAE <sup>f</sup>   | 58,53 $\pm$ 8,04<br>(IC <sub>50</sub> : 51,16 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)         | 37,72 $\pm$ 1,04  |
| LİHBAE <sup>g</sup>   | - <sup>n</sup>   | 11,47 $\pm$ 0,32  |
| LİHSAE <sup>h</sup>   | 5,12 $\pm$ 0,11  | 17,91 $\pm$ 1,14  |
| LSHME <sup>i</sup>    | 93,73 $\pm$ 0,47<br>(IC <sub>50</sub> : 20,47 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)         | 57,34 $\pm$ 1,72<br>(IC <sub>50</sub> : 165,92 $\pm$ 2,14 $\mu$ g/ml) |
| LSHHAEl               | 59,04 $\pm$ 1,18<br>(IC <sub>50</sub> : 47,82 $\pm$ 0,03 $\mu$ g/ml)         | 27,39 $\pm$ 1,25  |
| LSHDAE <sup>j</sup>   | 60,71 $\pm$ 0,63<br>(IC <sub>50</sub> : 48,16 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)         | 46,25 $\pm$ 1,89  |
| LSHEAE <sup>k</sup>   | 66,60 $\pm$ 1,33<br>(IC <sub>50</sub> : 30,19 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)         | 68,36 $\pm$ 1,64<br>(IC <sub>50</sub> : 148,04 $\pm$ 1,94 $\mu$ g/ml) |
| LSHBAE <sup>l</sup>   | 21,54 $\pm$ 0,04   | 14,24 $\pm$ 2,61  |
| LSHSAE <sup>m</sup>   | 21,11 $\pm$ 0,02   | 9,24 $\pm$ 0,42   |
| Referans <sup>o</sup> | 76,25 $\pm$ 0,03<br>(IC <sub>50</sub> : 0,15 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)          | 81,65 $\pm$ 2,71<br>(IC <sub>50</sub> : 12,8 $\pm$ 0,42 $\mu$ g/ml)   |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Final konsantrasyon, <sup>c</sup>*L. × intermedia* toprak üstü MEOH ekstresi, <sup>d</sup>*L. × intermedia* toprak üstü *n*-hekzan alt ekstresi, <sup>e</sup>*L. × intermedia* toprak üstü DCM alt ekstresi, <sup>f</sup>*L. × intermedia* toprak üstü EtOAc alt ekstresi, <sup>g</sup>*L. × intermedia* toprak üstü *n*-butanol alt ekstresi, <sup>h</sup>*L. × intermedia* toprak üstü su alt ekstresi, <sup>i</sup>*L. stoechas* toprak üstü MeOH ekstresi, <sup>j</sup>*L. stoechas* toprak üstü *n*-hekzan alt ekstresi, <sup>k</sup>*L. stoechas* toprak üstü DCM alt ekstresi, <sup>l</sup>*L. stoechas* toprak üstü EtOAc alt ekstresi, <sup>m</sup>*L. stoechas* toprak üstü *n*-butanol alt ekstresi, <sup>n</sup>*L. stoechas* toprak üstü su alt ekstresi, <sup>o</sup>Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz için finasterit (0,57  $\mu$ M); LOX için baikalein (1 mg/ml, 50  $\mu$ g/ml)

#### 4.5.2. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen alt ekstrelerin antioksidan aktivite tayinlerine ait bulgular

LİHME ve LSHME ana ekstrelerinden yola çıkarak gerçekleştirilen sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen LİHHAE, LİHDAE, LİHEAE, LİHBAE, LİHSAE, LSHHAE, LSHDAE, LSHEAE, LSHBAE ve LSHSAE alt ekstrelerinin antioksidan aktivitelerini incelenmiştir. Antioksidan aktivitelerini değerlendirmek için DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi olmak üzere 3 farklı deney yöntemi kullanılmıştır. Deneyler sırasında, her bir ekstre için 2 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlanmış ve bu stok çözeltiler daha sonra 0,5 mg/ml ve 1 mg/ml konsantrasyonlarında seyreltilerek antioksidan aktivitenin doza bağlı değişimi incelenmiştir. Bu alt ekstrelerin DPPH radikal süpürme aktivitesi değerleri Çizelge 4.10.'da, FRAP değerleri Çizelge 4.11.'de ve metal-şelasyon kapasitesi değerleri Çizelge 4.12.'de verilmiştir.

Çizelge 4.10. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda elde edilen alt ekstrelerin DPPH radikal süpürme aktivitesi değerleri

| Ekstreler           | DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi<br>(%İnhibisyon $\pm$ S.S. <sup>a</sup> ) |                  |                  |
|---------------------|---|------------------|------------------|
|                     | 2 mg/ml   | 1 mg/ml          | 0,5 mg/ml        |
| LİHHAE <sup>b</sup> | 88,76 $\pm$ 0,14  | 86,27 $\pm$ 0,16 | 79,64 $\pm$ 0,34 |
| LİHDAE <sup>c</sup> | 89,30 $\pm$ 0,10  | 87,48 $\pm$ 0,63 | 76,27 $\pm$ 0,63 |
| LİHEAE <sup>d</sup> | 83,19 $\pm$ 0,34  | 82,63 $\pm$ 0,72 | 81,64 $\pm$ 1,75 |
| LİHBAE <sup>e</sup> | 88,21 $\pm$ 0,13  | 86,21 $\pm$ 0,53 | 81,63 $\pm$ 0,83 |
| LİHSAE <sup>f</sup> | 88,85 $\pm$ 0,62  | 84,36 $\pm$ 0,71 | 75,74 $\pm$ 1,64 |
| LSHHAE <sup>g</sup> | 87,93 $\pm$ 0,46  | 84,53 $\pm$ 1,53 | 73,67 $\pm$ 0,27 |
| LSHDAE <sup>h</sup> | 87,18 $\pm$ 0,65  | 86,27 $\pm$ 0,82 | 85,17 $\pm$ 1,36 |
| LSHEAE <sup>i</sup> | 83,94 $\pm$ 0,17  | 81,52 $\pm$ 0,63 | 80,52 $\pm$ 0,84 |
| LSHBAE <sup>i</sup> | 84,57 $\pm$ 0,28  | 80,27 $\pm$ 1,47 | 73,63 $\pm$ 2,63 |

Çizelge 4. 10. (devam) Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda elde edilen alt ekstrelerin DPPH radikal süpürme aktivitesi değerleri

| Ekstreler             | DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi    |              |              |
|-----------------------|------------------------------------|--------------|--------------|
|                       | (%İnhibisyon ± S.S. <sup>a</sup> ) |              |              |
|                       | 2 mg/ml                            | 1 mg/ml      | 0,5 mg/ml    |
| LSHSAE <sup>j</sup>   | 87,95 ± 0,51                       | 82,63 ± 0,63 | 80,27 ± 1,29 |
| Kersetin <sup>k</sup> | 95,43 ± 0,19                       | 93,73 ± 0,21 | 89,54 ± 0,32 |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>*L. × intermedia* toprak üstü *n*-hekzan alt ekstresi, <sup>c</sup>*L. × intermedia* toprak üstü DCM alt ekstresi, <sup>d</sup>*L. × intermedia* toprak üstü EtOAc alt ekstresi, <sup>e</sup>*L. × intermedia* toprak üstü *n*-butanol alt ekstresi, <sup>f</sup>*L. × intermedia* toprak üstü su alt ekstresi, <sup>g</sup>*L. stoechas* toprak üstü *n*-hekzan alt ekstresi, <sup>h</sup>*L. stoechas* toprak üstü DCM alt ekstresi, <sup>i</sup>*L. stoechas* toprak üstü EtOAc alt ekstresi, <sup>j</sup>*L. stoechas* toprak üstü *n*-butanol alt ekstresi, <sup>k</sup>*L. stoechas* toprak üstü su alt ekstresi, <sup>k</sup>Referans bileşik

Çizelge 4.11. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda elde edilen alt ekstrelerin demir indirgeyici antioksidan güç değerleri

| Ekstreler             | FRAP <sup>a</sup>                            |             |             |
|-----------------------|--|-------------|-------------|
|                       | (700 nm'deki absorbans ± S.S. <sup>b</sup> ) |             |             |
|                       | 2 mg/ml                                      | 1 mg/ml     | 0,5 mg/ml   |
| LİHHAEC <sup>c</sup>  | 1,17 ± 0,01                                  | 1,12 ± 0,05 | 1,10 ± 0,02 |
| LİHDAE <sup>d</sup>   | 1,39 ± 0,03                                  | 1,35 ± 0,02 | 1,27 ± 0,07 |
| LİHEAE <sup>e</sup>   | 1,15 ± 0,09                                  | 1,13 ± 0,03 | 1,11 ± 0,02 |
| LİHBAE <sup>f</sup>   | 1,08 ± 0,09                                  | 1,06 ± 0,02 | 1,02 ± 0,01 |
| LİHSAE <sup>g</sup>   | 1,26 ± 0,04                                  | 1,24 ± 0,01 | 1,18 ± 0,02 |
| LSHHAEH <sup>h</sup>  | 1,23 ± 0,09                                  | 1,19 ± 0,04 | 1,06 ± 0,02 |
| LSHDAEI <sup>i</sup>  | 1,45 ± 0,23                                  | 1,36 ± 0,02 | 1,29 ± 0,01 |
| LSHEAE <sup>i</sup>   | 1,05 ± 0,05                                  | 0,99 ± 0,02 | 0,96 ± 0,03 |
| LSHBAE <sup>j</sup>   | 1,16 ± 0,05                                  | 1,12 ± 0,02 | 1,04 ± 0,01 |
| LSHSAEK <sup>k</sup>  | 1,31 ± 0,04                                  | 1,27 ± 0,03 | 1,04 ± 0,03 |
| Kersetin <sup>l</sup> | 1,98 ± 0,02                                  | 1,87 ± 0,01 | 1,64 ± 0,02 |

<sup>a</sup>Yüksek absorbans FRAP'ta daha yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir, <sup>b</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>c</sup>*L. × intermedia* toprak üstü *n*-hekzan alt ekstresi, <sup>d</sup>*L. × intermedia* toprak üstü DCM alt ekstresi, <sup>e</sup>*L. × intermedia* toprak üstü EtOAc alt ekstresi, <sup>f</sup>*L. × intermedia* toprak üstü *n*-butanol alt ekstresi, <sup>g</sup>*L. × intermedia* toprak üstü su alt ekstresi, <sup>h</sup>*L. stoechas* toprak üstü *n*-hekzan alt ekstresi, <sup>i</sup>*L. stoechas* toprak üstü DCM alt ekstresi, <sup>j</sup>*L. stoechas* toprak üstü EtOAc alt ekstresi, <sup>k</sup>*L. stoechas* toprak üstü *n*-butanol alt ekstresi, <sup>l</sup>*L. stoechas* toprak üstü su alt ekstresi, <sup>l</sup>Referans bileşik

Çizelge 4.12. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda elde edilen alt ekstrelerin metal-şelasyon kapasitesi değerleri

| Ekstreler           | Metal-Şelasyon Kapasitesi<br>(%Şelasyon ± S.S. <sup>a</sup> ) |              |              |
|---------------------|---|--------------|--------------|
|                     | 2 mg/ml   | 1 mg/ml      | 0,5 mg/ml    |
| LİHHAEC             | - <sup>b</sup>  | -            | -            |
| LİHDAE <sup>d</sup> | -   | -            | -            |
| LİHEAE <sup>e</sup> | 72,76 ± 0,03  | 66,27 ± 1,63 | 52,16 ± 1,05 |
| LİHBAE <sup>f</sup> | -   | -            | -            |
| LİHSAE <sup>g</sup> | -   | -            | -            |
| LSHHAE <sup>h</sup> | -   | -            | -            |
| LSHDAE <sup>i</sup> | -   | -            | -            |
| LSHEAE <sup>i</sup> | 65,83 ± 2,42  | 56,26 ± 1,64 | 42,83 ± 1,28 |
| LSHBAE <sup>j</sup> | -   | -            | -            |
| LSHSAE <sup>k</sup> | -   | --           | -            |
| EDTA <sup>l</sup>   | 94,75 ± 0,13  | 92,54 ± 0,14 | 89,56 ± 0,74 |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Etki yok, <sup>c</sup>*L. × intermedia* toprak üstü *n*-hekzan alt ekstresi, <sup>d</sup>*L. × intermedia* toprak üstü DCM alt ekstresi, <sup>e</sup>*L. × intermedia* toprak üstü EtOAc alt ekstresi, <sup>f</sup>*L. × intermedia* toprak üstü *n*-butanol alt ekstresi, <sup>g</sup>*L. × intermedia* toprak üstü su alt ekstresi, <sup>h</sup>*L. stoechas* toprak üstü *n*-hekzan alt ekstresi, <sup>i</sup>*L. stoechas* toprak üstü DCM alt ekstresi, <sup>j</sup>*L. stoechas* toprak üstü EtOAc alt ekstresi, <sup>k</sup>*L. stoechas* toprak üstü *n*-butanol alt ekstresi, <sup>l</sup>Referans bileşik

Her iki bitkiden elde edilen alt ekstreler arasında yapılan kıyaslamalarda, DPPH radikal süpürme aktivitesi açısından en yüksek aktivitenin LİHDAE’de olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, tüm alt ekstrelerin antioksidan aktiviteleri dikkate değer düzeyde yüksek bulunmuş ve referans bileşik olan kersetine benzer sonuçlar vermiştir. Bu, söz konusu alt ekstrelerin potansiyel olarak güçlü antioksidan bileşenler içerdiğini gösterir. Demir indirgeyici antioksidan güç değerlerine göre yapılan kıyaslamalarda ise en yüksek etkinin LSHDAE’inde gözlemlendiği belirlenmiştir. Yine, tüm alt ekstrelerin antioksidan aktiviteleri yüksek olarak değerlendirilmiş ve kersetinle benzer sonuçlar elde edilmiştir. Metal-şelasyon kapasitesi açısından ise, yalnızca LİHEAE ve LSHEAE’de belirgin bir aktivite gözlenmiştir. Genel olarak, bu bulgular, her iki bitkiden elde edilen alt ekstrelerin güçlü antioksidan aktivitelere sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

#### 4.5.3. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen alt ekstrelerin toplam fenol ve toplam flavonoit içerik tayinlerine ait bulgular

Toplam fenol ve flavonoit miktarlarının tayini için yapılan çalışmada, alt ekstrelerin %96'lık etanol kullanılarak 2 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmıştır. Fenollerin miktar tayini, gallik asit kullanılarak oluşturulan kalibrasyon grafiği üzerinden gerçekleştirilmiştir. Gallik asit için hazırlanan çözelti konsantrasyonları, 0,0625 mg/ml'den 1 mg/ml'ye kadar değişmektedir ve bu konsantrasyonlar, spektrofotometre ölçümlerinde x eksenini olarak kullanılmıştır. Karşılık gelen absorbans değerleri ise y eksenini olarak belirlenmiştir. Elde edilen verilere dayanarak,  $y = 2,3776x + 0,0533$  şeklinde bir kalibrasyon denklemi oluşturulmuş ve bu eğrinin korelasyon katsayısı ( $r^2$ ) 0,9995 olarak hesaplanmıştır. Flavonoitlerin miktar tayini için ise kersetin temel alınmıştır. Kersetin için de benzer şekilde 0,0625 mg/ml'den 1 mg/ml'ye kadar konsantrasyonlar hazırlanmış ve  $y = 4,8570x + 0,0341$  şeklinde bir kalibrasyon denklemi ile temsil edilen kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Bu ikinci kalibrasyon grafiğinin korelasyon katsayısı ise 0,9911 olarak bulunmuştur. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucu elde edilen alt ekstrelerin toplam fenol ve toplam flavonoit içerik değerleri Çizelge 4.13.'te verilmiştir.

Çizelge 4.13. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda elde edilen alt ekstrelerin toplam fenol ve toplam flavonoit içerik değerleri

| Ekstreler           | Toplam Fenol Miktarı <sup>a</sup> ± S.S. <sup>b</sup> | Toplam Flavonoit Miktarı <sup>c</sup> ± S.S. <sup>b</sup> |
|---------------------|---|---|
| LİHHAE <sup>c</sup> | 12,39 ± 0,68  | 86,31 ± 2,56  |
| LİHDAE <sup>d</sup> | 33,56 ± 0,74  | 34,88 ± 2,04  |
| LİHEAE <sup>e</sup> | 154,06 ± 0,12   | 59,25 ± 2,94  |
| LİHBAE <sup>f</sup> | 39,69 ± 1,83  | 17,04 ± 0,37  |
| LİHSAE <sup>g</sup> | 28,86 ± 0,74  | 6,15 ± 0,52   |
| LSHHAE <sup>h</sup> | 17,48 ± 1,16  | 112,72 ± 1,67   |
| LSHDAE <sup>i</sup> | 35,96 ± 2,01  | 25,11 ± 0,20  |
| LSHEAE <sup>i</sup> | 451,40 ± 16,82  | 192,93 ± 3,2  |
| LSHBAE <sup>j</sup> | 127,07 ± 4,53   | 76,78 ± 1,87  |
| LSHSAE <sup>k</sup> | 33,43 ± 0,77  | 5,25 ± 0,17   |

<sup>a</sup>Veriler 1 g ekstrede gallik asidin mg eşdeğeri olarak ifade edilmiştir, <sup>b</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>c</sup>L. × *intermedia* toprak üstü n-hekzan alt ekstresi, <sup>d</sup>L. × *intermedia* toprak üstü DCM alt ekstresi, <sup>e</sup>L. × *intermedia* toprak üstü EtOAc alt ekstresi, <sup>f</sup>L. × *intermedia* toprak üstü n-butanol alt ekstresi, <sup>g</sup>L. × *intermedia* toprak üstü su alt ekstresi, <sup>h</sup>L. *stoechas* toprak üstü n-hekzan alt ekstresi, <sup>i</sup>L. *stoechas* toprak üstü DCM alt ekstresi, <sup>j</sup>L. *stoechas* toprak üstü EtOAc alt ekstresi, <sup>k</sup>L. *stoechas* toprak üstü n-butanol alt ekstresi, <sup>l</sup>L. *stoechas* toprak üstü su alt ekstresi

Her iki bitkiden elde edilen EtOAc alt ekstralarında toplam fenol ve flavonoid içeriklerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Bu sonuçlar, EtOAc alt ekstresinin özellikle fenolik bileşikler ve flavonoidler açısından zengin bir alt ekstre olduğunu ortaya koymaktadır. Bu durum, söz konusu alt ekstraların antioksidan aktivite ve enzim inhibisyon aktivitelerinin yüksekliğinin olası bir nedeni olarak düşünülmektedir. Yüksek toplam fenol ve flavonoid içeriğine sahip bu alt ekstraların varlığı nedeniyle, fenol ve flavonoid profilleri YPSK ile incelenmiştir ve kantitatif analizler yapılmıştır.

*L. × intermedia* ve *L. stoechas* bitkilerinin MeOH ana ekstralarının sıvı-sıvı ekstraksiyonlanması sonucunda elde edilen alt ekstralar arasında LSHEAE, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzimlerine karşı en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Bu nedenle saflaştırma işlemlerine bu ekstre üzerinden devam edilmiştir.

#### **4.6. LSHEAE Alt Ekstresinin Saflaştırma Çalışmalarına Ait Bulgular**

##### **4.6.1. LSHEAE alt ekstresinin silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonlarının aktivite bulguları**

*L. stoechas*'ın EtOAc alt ekstresinin saflaştırma süreci, öncelikle silika jel kolon kromatografisi kurularak başlanmıştır. Bu aşamada, kolon içerisinde gradient akış uygulanarak, elde edilen fraksiyonlar İTK kromatogramlarının profillerine göre değerlendirilmiştir. Bu profillerin analizi sonucunda, benzer bileşik profillerine sahip fraksiyonlar birleştirilmiş ve toplamda 12 adet alt fraksiyon elde edilmiştir. Daha sonra, bu alt fraksiyonlar, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzim inhibisyon testlerine tabi tutulmuştur. Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX inhibisyon sonuçları Çizelge 4.14.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.14. LSHEAE ekstresinin silika jel kolona tatbik edilmesi ile elde edilen alt fraksiyonların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX inhibisyon değerleri

| Fraksiyonlar              | %İnhibisyon<br>(5 $\alpha$ -Redüktaz) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>59 $\mu$ g/ml <sup>b</sup> | %İnhibisyon (LOX) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>200 $\mu$ g/ml <sup>b</sup> |
|---------------------------|---|--|
| (1-2)                     | 48,17 $\pm$ 0,02  | 59,47 $\pm$ 1,39<br>(IC <sub>50</sub> : 183,72 $\pm$ 3,26 $\mu$ g/ml)    |
| (3-6)<br>(H fraksiyonu)   | 42,77 $\pm$ 0,03  | 48,16 $\pm$ 2,18   |
| (7-8)                     | 38,16 $\pm$ 0,02  | 46,17 $\pm$ 1,62   |
| (9-10)                    | 20,86 $\pm$ 0,01  | 18,29 $\pm$ 1,25   |
| (11-12)                   | 9,19 $\pm$ 0,01   | 11,24 $\pm$ 6,35   |
| (13-16)                   | 36,19 $\pm$ 0,02  | 41,37 $\pm$ 1,32   |
| (17-18)                   | 48,84 $\pm$ 1,67  | 43,48 $\pm$ 2,61   |
| 19                        | 68,02 $\pm$ 0,02<br>(IC <sub>50</sub> : 36,95 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                        | 51,27 $\pm$ 1,41<br>(IC <sub>50</sub> : 193,05 $\pm$ 3,16 $\mu$ g/ml)    |
| 20                        | 67,19 $\pm$ 0,02<br>(IC <sub>50</sub> : 36,92 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                        | 58,25 $\pm$ 2,16<br>(IC <sub>50</sub> : 162,03 $\pm$ 1,53 $\mu$ g/ml)    |
| (21-26)<br>(A fraksiyonu) | 73,29 $\pm$ 1,12<br>(IC <sub>50</sub> : 31,73 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                        | 67,21 $\pm$ 1,92<br>(IC <sub>50</sub> : 142,06 $\pm$ 2,92 $\mu$ g/ml)    |
| (27-31)<br>(B fraksiyonu) | 99,85 $\pm$ 1,59<br>(IC <sub>50</sub> : 17,52 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)                        | 79,12 $\pm$ 0,67<br>(IC <sub>50</sub> : 94,63 $\pm$ 1,37 $\mu$ g/ml)     |
| (32-37)                   | 65,92 $\pm$ 2,14<br>(IC <sub>50</sub> : 38,71 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)                        | 49,16 $\pm$ 1,44   |
| Referans <sup>c</sup>     | 76,25 $\pm$ 0,03<br>(IC <sub>50</sub> : 0,15 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)                         | 81,65 $\pm$ 2,71<br>(IC <sub>50</sub> : 12,8 $\pm$ 0,42 $\mu$ g/ml)      |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Final konsantrasyon, <sup>c</sup>Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz için finasterit (0,57  $\mu$ M); LOX için baikalein (1 mg/ml, 50  $\mu$ g/ml)

Silika jel kolon kromatografisi sonrası elde edilen fraksiyon (21-26) (A fraksiyonu) ve fraksiyon (27-31) (B fraksiyonu), testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzimlerine karşı yapılan *in vitro* inhibisyon testlerinde dikkate değer sonuçlar sergilemiştir. B fraksiyonu, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine karşı son derece düşük bir IC<sub>50</sub> değeri olan 17,52  $\pm$  0,01  $\mu$ g/ml ile en yüksek inhibisyon oranını (%99,85  $\pm$  1,59) göstermiştir. A fraksiyonu ise 31,73  $\pm$  0,02  $\mu$ g/ml IC<sub>50</sub> değeri ve 73,29  $\pm$  1,12 inhibisyon oranı ile takip etmiştir. Bu sonuçlar, A ve B

fraksiyonlarının testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine karşı önemli bir inhibisyon kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Referans ilaç olan finasteritin IC<sub>50</sub> değeri  $0,15 \pm 0,01$   $\mu\text{g/ml}$  ve inhibisyon oranı  $\%76,25 \pm 0,03$  olarak belirlenmiştir. Karşılaştırma yapıldığında, finasteritin düşük IC<sub>50</sub> değeri, yüksek inhibisyon kapasitesini gösterse de A fraksiyonunun çok daha yüksek bir inhibisyon oranına sahip olması dikkat çekmiştir. LOX inhibisyonu açısından değerlendirildiğinde, A ve B fraksiyonları yine en düşük IC<sub>50</sub> değerlerine ve en yüksek inhibisyon oranlarına sahip olan fraksiyonlar olmuştur. A fraksiyonunun LOX enzimine karşı inhibisyon oranı  $\%67,21 \pm 1,92$  ve IC<sub>50</sub> değeri  $142,06 \pm 2,92$   $\mu\text{g/ml}$  olarak belirlenmiştir. B fraksiyonu ise  $\%79,12 \pm 0,67$  inhibisyon oranı ve  $94,63 \pm 1,37$   $\mu\text{g/ml}$  IC<sub>50</sub> değeri ile takip etmiştir. LOX enzimi için referans bileşik olarak kullanılan baikaleinin inhibisyon oranı  $\%81,65 \pm 2,71$  ve IC<sub>50</sub> değeri  $12,8 \pm 0,42$   $\mu\text{g/ml}$  olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, A ve B fraksiyonlarının her iki enzim üzerinde de önemli inhibisyon aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir. Elde edilen bu sonuçlar neticesinde, saflaştırma işlemlerinin A ve B fraksiyonları ile devam edilmesine karar verilmiştir.

#### **4.6.2. B fraksiyonunun Sefadex LH-20 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonlarının aktivite bulguları**

Silika jel kolon kromatografisinden elde edilen B fraksiyonu, ilk olarak Sefadex LH-20 kolonuna uygulanarak tatbik edilmiştir. Bu aşamada, kolon içinde gradient akış yöntemi kullanılarak elde edilen fraksiyonlar, İTK kromatogram profillerine göre analiz edilmiştir. Bu analiz sonucunda, benzer kimyasal bileşen profillerine sahip olan fraksiyonlar birleştirilmiş, bu işlemle toplamda 5 alt fraksiyon oluşturulmuştur. Daha sonraki aşamada, bu 5 alt fraksiyon testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzim inhibisyon testlerine tabi tutulmuştur. Elde edilen sonuçlar, bu fraksiyonların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzimleri üzerindeki inhibisyon aktivitelerini gösteren Çizelge 4.15.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.15. B fraksiyonun Sefadeks LH-20 kolona tatbik edilmesi ile elde edilen alt fraksiyonların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzim inhibisyon değerleri

| Fraksiyonlar              | %İnhibisyon<br>(5 $\alpha$ -redüktaz) $\pm$ S.S. <sup>a</sup>        | %İnhibisyon (LOX) $\pm$ S.S. <sup>a</sup>                             |
|---------------------------|--|---|
|                           | 59 $\mu$ g/ml <sup>b</sup>   | 200 $\mu$ g/ml <sup>b</sup>   |
| (1-10)                    | 52,69 $\pm$ 0,02<br>(IC <sub>50</sub> : 56,26 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml) | 65,28 $\pm$ 1,72<br>(IC <sub>50</sub> : 150,48 $\pm$ 1,32 $\mu$ g/ml) |
| (11-14)                   | 58,28 $\pm$ 0,01<br>(IC <sub>50</sub> : 51,72 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml) | 55,82 $\pm$ 2,73<br>(IC <sub>50</sub> : 179,53 $\pm$ 1,44 $\mu$ g/ml) |
| (15-17)<br>(C fraksiyonu) | 89,26 $\pm$ 0,02<br>(IC <sub>50</sub> : 25,62 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml) | 84,27 $\pm$ 1,47<br>(IC <sub>50</sub> : 82,61 $\pm$ 2,61 $\mu$ g/ml)  |
| 18                        | 42,62 $\pm$ 0,01   | 41,61 $\pm$ 1,26  |
| (19-26)                   | 52,61 $\pm$ 0,01<br>(IC <sub>50</sub> : 56,28 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml) | 49,17 $\pm$ 2,62  |
| Referans <sup>c</sup>     | 76,25 $\pm$ 0,03<br>(IC <sub>50</sub> : 0,15 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)  | 81,65 $\pm$ 2,71<br>(IC <sub>50</sub> : 12,8 $\pm$ 0,42 $\mu$ g/ml)   |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Final konsantrasyon, <sup>c</sup>Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz için finasterit (0,57  $\mu$ M); LOX için baikalein (1 mg/ml, 50  $\mu$ g/ml)

B fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolonu kullanılarak fraksiyonlanması sonucu elde edilen beş alt fraksiyon, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzimleri karşısındaki inhibisyon aktiviteleri açısından incelenmiştir. Bu inceleme neticesinde, C fraksiyonu özellikle dikkat çekici sonuçlar göstermiştir. Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine karşı 25,62  $\pm$  0,02  $\mu$ g/ml ve LOX enzimine karşı 82,61  $\pm$  2,61  $\mu$ g/ml IC<sub>50</sub> değerleri ile C fraksiyonu, analiz edilen fraksiyonlar arasında en yüksek inhibisyon aktivitesine sahip olanı olarak belirlenmiştir. Bu bulgular ışığında, C fraksiyonundan saf bileşenlerin izolasyonu için saflaştırma sürecine devam edilmiş ve fraksiyon, RP-18 kolon kromatografisine uygulanmıştır.

#### 4.6.3. C fraksiyonunun RP-18 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların aktivite bulguları

RP-18 kolon kromatografisi ile ayrılan C fraksiyonunun elüsyonu sonucunda elde edilen iki fraksiyondan biri, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzimlerine karşı önemli inhibitör aktivite göstermiştir. Bu fraksiyon, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine karşı %64,16  $\pm$  0,02 inhibisyon oranı ve 32,62  $\pm$  0,02  $\mu$ g/ml IC<sub>50</sub> değeri ile dikkat çekmektedir. Aynı fraksiyon,

LOX enzimine karşı daha yüksek bir inhibisyon oranı olan  $73,16 \pm 2,53$  ve  $143,61 \pm 3,53$   $\mu\text{g/ml}$   $\text{IC}_{50}$  değeri göstermiştir. C fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların testosteron- $5\alpha$ -redüktaz enzim ve LOX inhibisyon değerleri Çizelge 4.16.'da gösterilmiştir. Bu sonuçlar, fraksiyonun her iki enzime karşı potansiyel inhibisyon aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir. İTK profilinde görülen belirgin leke, bu fraksiyonun daha detaylı bir saflaştırma işlemine ihtiyacı olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, D fraksiyonu olarak adlandırılan bu fraksiyon, daha yüksek saflık derecesine ulaşmak ve aktif bileşen(ler)i izole etmek amacıyla tekrar RP-18 kolon kromatografisine tabi tutulmuştur.

Çizelge 4.16. C fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların testosteron- $5\alpha$ -redüktaz enzim ve LOX inhibisyon değerleri

| Fraksiyonlar            | %İnhibisyon<br>( $5\alpha$ -redüktaz) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>59 $\mu\text{g/ml}^b$ | %İnhibisyon (LOX) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>200 $\mu\text{g/ml}^b$           |
|-------------------------|--|---|
| (1-3)<br>(D Fraksiyonu) | $64,16 \pm 0,02$<br>( $\text{IC}_{50}$ : $32,62 \pm 0,02$ $\mu\text{g/ml}$ )           | $73,16 \pm 2,53$<br>( $\text{IC}_{50}$ : $143,61 \pm 3,53$ $\mu\text{g/ml}$ ) |
| (4-10)                  | $55,27 \pm 0,03$<br>( $\text{IC}_{50}$ : $45,26 \pm 0,01$ $\mu\text{g/ml}$ )           | $52,61 \pm 1,31$<br>( $\text{IC}_{50}$ : $184,32 \pm 2,58$ $\mu\text{g/ml}$ ) |
| Referans <sup>c</sup>   | $76,25 \pm 0,03$<br>( $\text{IC}_{50}$ : $0,15 \pm 0,01$ $\mu\text{g/ml}$ )            | $81,65 \pm 2,71$<br>( $\text{IC}_{50}$ : $12,8 \pm 0,42$ $\mu\text{g/ml}$ )   |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Final konsantrasyon, <sup>c</sup>Testosteron- $5\alpha$ -redüktaz için finasterit ( $0,57$   $\mu\text{M}$ ); LOX için baikalein ( $1$   $\text{mg/ml}$ ,  $50$   $\mu\text{g/ml}$ )

#### 4.6.4. D fraksiyonunun RP-18 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların aktivite bulguları

D fraksiyonu, RP-18 kolonuna tatbik edilmiştir. Bu aşamada, kolon içinde gradient akış yöntemi kullanılarak elde edilen fraksiyonlar, İTK kromatogram profillerine göre analiz edilmiştir. Alt fraksiyonlardan izole edilen L1, L2, L3 ve L4 kodlu bileşiklerin saflık düzeyleri, İTK kullanılarak Şekil 3.16.'da görselleştirilmiştir. Daha sonraki aşamada, bu bileşiklerin yapısal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla NMR analizi ve kütle spektrometresi analizi gibi gelişmiş analitik yöntemlere başvurulmuştur. Miktarların kısıtlı olması nedeniyle, sadece L4 bileşiği üzerinde *in vitro* testosteron- $5\alpha$ -redüktaz enzim ve LOX

enzim inhibisyon testleri gerçekleştirilememiştir. L2 bileşiğinin, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzim ve LOX enzimlerine karşı inhibisyon değerleri Çizelge 4.17.'de belirtilmiştir.

Çizelge 4.17. L2 bileşiğini testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzim ve LOX inhibisyon değerleri

| Bileşik               | %İnhibisyon<br>(5 $\alpha$ -Redüktaz) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>59 $\mu$ g/ml <sup>b</sup> | %İnhibisyon (LOX) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>200 $\mu$ g/ml <sup>b</sup> |
|-----------------------|---|--|
| L-1                   | 52,74 $\pm$ 0,01<br>(IC <sub>50</sub> : 48,85 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                        | 13,93 $\pm$ 1,01   |
| L-2                   | 72,75 $\pm$ 0,01<br>(IC <sub>50</sub> : 37,21 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                        | 46,41 $\pm$ 2,21   |
| L-3                   | 64,76 $\pm$ 0,01<br>(IC <sub>50</sub> : 28,65 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                        | 78,42 $\pm$ 1,04<br>(IC <sub>50</sub> : 131,73 $\pm$ 1,63 $\mu$ g/ml)    |
| Referans <sup>c</sup> | 76,25 $\pm$ 0,03<br>(IC <sub>50</sub> : 0,15 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)                         | 81,65 $\pm$ 2,71<br>(IC <sub>50</sub> : 12,8 $\pm$ 0,42 $\mu$ g/ml)      |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Final konsantrasyon, <sup>c</sup>Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz için finasterit (0,57  $\mu$ M); LOX için baikalein (1 mg/ml, 50  $\mu$ g/ml)

Ana kolondan elde edilen ve *in vitro* enzim deneylerinde aktif bulunan A fraksiyonu saflaştırılma işlemleri için ele alınmıştır ve A fraksiyonu için Sefadeks LH-20 kolon kurulmuştur.

#### 4.6.5. A fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların aktivite bulguları

LSHEAE'nin silika jel kolon kromatografisinden elde edilen A fraksiyonu, ilk olarak Sefadeks LH-20 kolonuna uygulanarak tatbik edilmiştir. Bu aşamada, kolon içinde gradient akış yöntemi kullanılarak elde edilen fraksiyonlar, İTK profillerine göre takip edilmiştir. Buna göre, benzer kimyasal bileşen profillerine sahip olan fraksiyonlar birleştirilmiş, bu işlemle toplamda 11 alt fraksiyon oluşturulmuştur. Daha sonraki aşamada, bu 11 alt fraksiyon testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzim modelleri üzerinde *in vitro* aktivite testlerine tabi tutulmuştur. Elde edilen sonuçlar, bu fraksiyonların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzimlerine karşı inhibitör aktivitelerini gösteren Çizelge 4.18.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.18. A fraksiyonun Sefadexs LH-20 kolona tatbik edilmesi ile elde edilen alt fraksiyonların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzim inhibisyon değerleri

| Fraksiyonlar          | %İnhibisyon<br>(5 $\alpha$ -Redüktaz) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>59 $\mu$ g/ml <sup>b</sup> | %İnhibisyon (LOX) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>200 $\mu$ g/ml <sup>b</sup> |
|-----------------------|---|--|
| 1                     | 66,19 $\pm$ 0,01<br>(IC <sub>50</sub> : 43,17 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)                        | 22,73 $\pm$ 1,63   |
| (2-6)                 | 42,17 $\pm$ 0,02  | 25,62 $\pm$ 1,71   |
| 7                     | 39,62 $\pm$ 0,01  | 35,37 $\pm$ 1,24   |
| (8-9)                 | 55,26 $\pm$ 0,03<br>(IC <sub>50</sub> : 50,16 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                        | 47,26 $\pm$ 1,26   |
| 10                    | 31,85 $\pm$ 0,02  | 32,13 $\pm$ 2,15   |
| 11                    | 49,73 $\pm$ 0,01  | 36,62 $\pm$ 1,25   |
| (12-14)               | 64,69 $\pm$ 0,02  | 57,26 $\pm$ 1,53   |
| E fraksiyonu          | (IC <sub>50</sub> : 43,72 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)  | (IC <sub>50</sub> : 158,25 $\pm$ 2,52 $\mu$ g/ml)                        |
| (15-16)               | 62,72 $\pm$ 0,01<br>(IC <sub>50</sub> : 44,28 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)                        | 49,17 $\pm$ 1,63   |
| (17-25)               | 44,18 $\pm$ 0,02  | 48,16 $\pm$ 1,85   |
| (26-30)               | 48,65 $\pm$ 0,01  | 51,37 $\pm$ 1,73<br>(IC <sub>50</sub> : 185,72 $\pm$ 1,73 $\mu$ g/ml)    |
| (31-32)               | 48,52 $\pm$ 0,02  | 42,72 $\pm$ 1,64   |
| (33-34)               | 49,16 $\pm$ 0,01  | 43,16 $\pm$ 2,63   |
| Referans <sup>c</sup> | 76,25 $\pm$ 0,03<br>(IC <sub>50</sub> : 0,15 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)                         | 81,65 $\pm$ 2,71<br>(IC <sub>50</sub> : 12,8 $\pm$ 0,42 $\mu$ g/ml)      |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Final konsantrasyon, <sup>c</sup>Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz için finasterit (0,57  $\mu$ M); LOX için baikalein (1 mg/ml, 50  $\mu$ g/ml)

Kolon kromatografisi süreci, 1, (31-32) ve (33-34) numaralı fraksiyonlar için İTK ile saf profiller elde edilmesiyle sonuçlanmıştır. Özellikle, (31-32) ve (33-34) numaralı fraksiyonların İTK profilleri arasında yüksek bir benzerlik ve saflık gözlenmiş, bu nedenle bu fraksiyonlar birleştirilerek L-6 kodlu yeni bir alt fraksiyon oluşturulmuştur. Ayrıca, 1 numaralı fraksiyona L-5 kodu atanmıştır. L-5 ve L-6 kodlu bileşiklerinin saflık düzeyleri, İTK kullanılarak sırasıyla Resim 3.29 ve 3.30.'da görselleştirilmiştir. Bu bileşikler, yapısal karakterizasyonları için NMR analizi ve kütle spektrometresi analizine tabi tutulmuşlardır. Ardından, L-5 ve L-6 kodlu bileşiklerinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzimleri

üzerindeki inhibisyon kapasitesi *in vitro* testlerle incelenmiştir. Bu bileşiklerin enzimler üzerindeki inhibisyon değerleri, Çizelge 4.19.'da gösterilmiştir. Aynı zamanda, kolondan elde edilen diğer fraksiyonlar arasında yapılan değerlendirmede, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine karşı  $43,72 \pm 0,02$   $\mu\text{g/ml}$  IC<sub>50</sub> değeri ve LOX enzimine karşı  $158,25 \pm 2,52$   $\mu\text{g/ml}$  IC<sub>50</sub> değeri ile E fraksiyonunun en yüksek aktiviteyi sergilediği belirlenmiştir. Bu bulgu, E fraksiyonunun potansiyel biyoaktif bileşenler açısından zengin olduğunu ve daha detaylı bir saflaştırma ve karakterizasyon işlemine ihtiyaç duyduğunu göstermiştir. Bu nedenle, E fraksiyonu, daha yüksek saflıkta bileşikler elde etmek amacıyla tekrar RP-18 kolon kromatografisine uygulanmıştır.

Çizelge 4.19. L-5 ve L-6 kodlu bileşiklerin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzim ve LOX inhibisyon değerleri

| Fraksiyonlar          | %İnhibisyon<br>(5 $\alpha$ -Redüktaz) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>59 $\mu\text{g/ml}$ <sup>b</sup> | %İnhibisyon (LOX) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>200 $\mu\text{g/ml}$ <sup>b</sup> |
|-----------------------|---|--|
| L-5                   | $66,19 \pm 0,01$<br>(IC <sub>50</sub> : $43,17 \pm 0,01$ $\mu\text{g/ml}$ )                       | $22,73 \pm 1,63$   |
| L-6                   | $49,13 \pm 0,01$  | $43,03 \pm 0,53$   |
| Referans <sup>c</sup> | $76,25 \pm 0,03$<br>(IC <sub>50</sub> : $0,15 \pm 0,01$ $\mu\text{g/ml}$ )                        | $81,65 \pm 2,71$<br>(IC <sub>50</sub> : $12,8 \pm 0,42$ $\mu\text{g/ml}$ )     |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Final konsantrasyon, <sup>c</sup>Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz için finasterit (0,57  $\mu\text{M}$ ); LOX için baikalein (1 mg/ml, 50  $\mu\text{g/ml}$ )

#### 4.6.6. E fraksiyonunun RP-18 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların aktivite bulguları

E fraksiyonunun RP-18 kolonuna uygulanması sonucunda, gradient akış yöntemi ile analiz edilerek toplamda 6 alt fraksiyon elde edilmiştir. Bu alt fraksiyonlar arasında, (16-19) numaralı fraksiyonun saf bileşik olarak değerlendirilmesiyle, bu fraksiyona “L-7” kodu verilmiştir. L-7 bileşiğinin saflık düzeyi, İTK kullanılarak Resim 3.29. ve 3.30.'da görselleştirilmiş ve bileşiğin yapısal özellikleri, NMR analizi ve kütle spektrometresi analizi gibi gelişmiş yöntemlerle incelenmiştir. L-7 bileşiği üzerinde testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzimlerine karşı inhibisyon testleri yapılmıştır. Aynı işlem sonucunda elde edilen fraksiyonlar arasında, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine karşı  $46,16 \pm 0,01$   $\mu\text{g/ml}$  IC<sub>50</sub> değeri ve LOX enzimine karşı  $163,63 \pm 1,27$   $\mu\text{g/ml}$  IC<sub>50</sub> değeri ile en yüksek aktivite gösteren (5-

10) numaralı fraksiyona “F fraksiyonu” adı verilmiştir. F fraksiyonundan preparatif İTK tekniği ile iki saf bileşik daha izole edilmiştir ve bu bileşiklere sırasıyla “L-8” ve “L-9” kodları atanmıştır. İTK profilleri Şekil 3.19.'da sunulmuş ve bu bileşiklerin yapısal özellikleri için de NMR ve kütle spektrometresi analizleri yapılmıştır. Ancak, her iki bileşiğin miktarlarının 4 mg altında olması nedeniyle, *in vitro* testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzim inhibisyon testleri gerçekleştirilememiştir. E fraksiyonunun ve elde edilen alt fraksiyonların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzim ve LOX enzimlerine karşı inhibisyon değerleri Çizelge 4.20.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.20. E fraksiyonunun Sefadeks RP-18 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzim ve LOX inhibisyon değerleri

| Ekstreler             | %İnhibisyon<br>(5 $\alpha$ -redüktaz) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>59 $\mu$ g/ml <sup>b</sup> | %İnhibisyon (LOX) $\pm$ S.S. <sup>a</sup><br>200 $\mu$ g/ml <sup>b</sup> |
|-----------------------|---|--|
| (3-4)                 | 49,26 $\pm$ 0,01  | 45,26 $\pm$ 1,63   |
| (5-10)                | 61,47 $\pm$ 0,01  | 56,62 $\pm$ 1,47   |
| F fraksiyonu          | (IC <sub>50</sub> : 46,16 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)  | (IC <sub>50</sub> : 163,63 $\pm$ 1,27 $\mu$ g/ml)                        |
| (11-12)               | 55,26 $\pm$ 0,02<br>(IC <sub>50</sub> : 50,27 $\pm$ 0,02 $\mu$ g/ml)                        | 47,16 $\pm$ 3,62   |
| (13-14)               | 43,14 $\pm$ 0,03  | 45,74 $\pm$ 1,37   |
| 15                    | 39,16 $\pm$ 0,01  | 31,68 $\pm$ 1,63   |
| (16-19)               | 99,21 $\pm$ 0,01  | 13,26 $\pm$ 2,62   |
| L-7 bileşiği          | (IC <sub>50</sub> : 4,82 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)   |  |
| Referans <sup>c</sup> | 76,25 $\pm$ 0,03<br>(IC <sub>50</sub> : 0,15 $\pm$ 0,01 $\mu$ g/ml)                         | 81,65 $\pm$ 2,71<br>(IC <sub>50</sub> : 12,8 $\pm$ 0,42 $\mu$ g/ml)      |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Final konsantrasyon, <sup>c</sup>Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz için finasterit (0,57  $\mu$ M); LOX için baikalein (1 mg/ml, 50  $\mu$ g/ml)

#### 4.6.7. G fraksiyonunun RP-18 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların aktivite bulguları

G fraksiyonunun RP-18 kolonuna uygulanması sonucunda, gradient akış yöntemi ile analiz edilerek fraksiyonlanmıştır. Bu alt fraksiyonlar arasında 16, 17 ve 18 numaralı fraksiyonlar birleştirilip, preparatif İTK'ya tabi tutulmuştur ve iki bileşik izole edilmiştir. Aşağıdaki yeşil leke ve yukarıdaki mavi leke kazınarak alınmıştır. G fraksiyonunun RP-18 kolona

uygulanması ile elde edilen (16-18) fraksiyonların preparatif İTK uygulaması Resim 3.23.'te gösterilmektedir. Elde edilen bu iki saf bileşikten mavi renk olana "L-12" ve yeşil renk olana "L-13" kodu verilmiştir. L-7 bileşiğinin yapısal özellikleri, NMR analizi ve kütle spektrometresi analizi gibi gelişmiş yöntemlerle incelenmiştir. L-7 bileşiği üzerinde testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzimlerine karşı inhibisyon testleri yapılmıştır. Ancak, L-12 ve L-13 kodlu bileşiklerinin miktarlarının düşük olması nedeniyle, *in vitro* testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzim inhibisyon testleri gerçekleştirilememiştir.

#### **4.6.8. H fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonların aktivite bulguları**

Ana fraksiyondan elde edilen (3-6) numaraları fraksiyonlara "H" kodu verilmiştir. Bu fraksiyon testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine karşı inhibisyon oranı %42,77  $\pm$  0,03 ve LOX enzimine karşı olan inhibisyon oranı %48,16  $\pm$  2,18 olarak belirlenmiştir. Bu fraksiyonlama işlemi sonucunda toplam 3 alt fraksiyon elde edilmiştir. Bu fraksiyonlardan (7-8) ve (9-10)'ın saf olduğu Resim 3.28.'de gösterilmiştir.

#### **4.7. LSHEAE Üzerinden Gerçekleştirilen Kolon Kromatografileri Sonucunda Elde Edilen Alt Fraksiyonların Antioksidan Aktivite Tayinlerine Ait Bulgular**

Elde edilen alt fraksiyonların antioksidan aktiviteleri DPPH radikal süpürücü aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi deneyleri ile belirlenmiştir. Bu çalışmalarda yalnızca 2 mg/ml konsantrasyon için gerçekleştirilmiştir. LSHEAE'dan hareketle kurulan silika jelden elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi çalışmaları Çizelge 4.19.'da gösterilmiştir. LSHEAE'dan hareketle kurulan silika jelden elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi bulguları Çizelge 4.21.'de gösterilmiştir. B fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi değerleri Çizelge 4.22.'de gösterilmiştir. A fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi değerleri Çizelge 4.23.'de sunulmuştur. E fraksiyonunun Sefadeks RP-18 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi değerleri Çizelge 4.24.'te gösterilmiştir. C fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların DPPH

radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi değerleri izelge 4.25.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.21. LSHEAE hareketle kurulan silika jelden elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi değerleri

| <b>Fraksiyonlar</b>   | <b>DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi (%Süpürme <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>) 2000 <math>\mu</math>g/ml</b> | <b>FRAP<sup>b</sup> (700 nm'deki absorbans<sup>b</sup> <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>) 2000 <math>\mu</math>g/ml</b> | <b>Metal-Şelasyon Kapasitesi (%Şelasyon <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>) 2000 <math>\mu</math>g/ml</b> |
|-----------------------|---|---|--|
| (1-2)                 | 85,15 $\pm$ 0,02  | 0,74 $\pm$ 0,01   | - <sup>c</sup>   |
| (3-6)                 | 87,15 $\pm$ 0,03  | 1,03 $\pm$ 0,01   | -  |
| (7-8)                 | 74,26 $\pm$ 0,16  | 0,97 $\pm$ 0,01   | -  |
| (9-10)                | 75,27 $\pm$ 0,57  | 1,03 $\pm$ 0,02   | -  |
| (11-12)               | 79,16 $\pm$ 0,05  | 0,87 $\pm$ 0,01   | -  |
| (13-16)               | 83,16 $\pm$ 0,53  | 0,98 $\pm$ 0,01   | -  |
| (17-18)               | 87,17 $\pm$ 0,64  | 0,85 $\pm$ 0,01   | -  |
| 19                    | 89,18 $\pm$ 0,52  | 1,46 $\pm$ 0,03   | -  |
| 20                    | 88,83 $\pm$ 0,38  | 1,16 $\pm$ 0,03   | -  |
| (21-26)               | 96,17 $\pm$ 0,32  | 1,67 $\pm$ 0,02   | 46,54 $\pm$ 1,64   |
| (27-31)               | 97,18 $\pm$ 0,42  | 1,74 $\pm$ 0,02   | -  |
| (32-37)               | 86,18 $\pm$ 0,12  | 0,99 $\pm$ 0,01   | -  |
| Referans <sup>d</sup> | 95,43 $\pm$ 0,19  | 1,98 $\pm$ 0,02   | 94,75 $\pm$ 0,13   |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Yüksek absorbans FRAP'ta daha yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir, <sup>c</sup>Etki yok, <sup>d</sup>Referans bileşik; DPPH radikal süpürücü aktivite ve FRAP için kersetin (2 mg/ml); Metal-şelasyon kapasitesi için EDTA (2 mg/ml)

Çizelge 4.22. B fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi değerleri

| <b>Fraksiyonlar</b>       | <b>DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi<br/>(%Süpürme <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>)<br/>2000 <math>\mu</math>g/ml</b> | <b>FRAP<sup>b</sup><br/>(700 nm'deki absorbans<sup>b</sup> <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>)<br/>2000 <math>\mu</math>g/ml</b> | <b>Metal-Şelasyon Kapasitesi<br/>(%Şelasyon <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>)<br/>2000 <math>\mu</math>g/ml</b> |
|---------------------------|---|---|--|
| (1-10)                    | 83,74 $\pm$ 0,83  | 0,94 $\pm$ 0,01   | - <sup>c</sup>   |
| (11-14)                   | 92,17 $\pm$ 0,53  | 0,53 $\pm$ 0,02   | -  |
| (15-17)<br>(C fraksiyonu) | 96,37 $\pm$ 0,82  | 1,35 $\pm$ 0,04   | -  |
| 18                        | 85,42 $\pm$ 0,37  | 0,21 $\pm$ 0,02   | -  |
| (19-26)                   | 82,97 $\pm$ 0,36  | 0,15 $\pm$ 0,01   | -  |
| Referans <sup>d</sup>     | 95,43 $\pm$ 0,19  | 1,98 $\pm$ 0,02   | 94,75 $\pm$ 0,13   |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Yüksek absorbans FRAP'ta daha yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir, <sup>c</sup>Etki yok, <sup>d</sup>Referans bileşik; DPPH radikal süpürücü aktivite ve FRAP için kersetin (2 mg/ml); Metal-şelasyon kapasitesi için EDTA (2 mg/ml)

Çizelge 4.23. A fraksiyonunun Sefadeks LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi çalışmaları değerleri

| <b>Fraksiyonlar</b>   | <b>DPPH Radikal Süpürücü Aktivitesi<br/>(%Süpürme <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>)<br/>2000 <math>\mu</math>g/ml</b> | <b>FRAP<sup>b</sup><br/>(700 nm'deki absorbans<sup>b</sup> <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>)<br/>2000 <math>\mu</math>g/ml</b> | <b>Metal-Şelasyon Kapasitesi<br/>(%Şelasyon <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>)<br/>2000 <math>\mu</math>g/ml</b> |
|-----------------------|--|---|--|
| 1                     | 87,19 $\pm$ 0,82   | 0,93 $\pm$ 0,02   | - <sup>c</sup>   |
| (2-6)                 | 82,73 $\pm$ 0,52   | 0,47 $\pm$ 0,01   | -  |
| 7                     | 81,17 $\pm$ 0,74   | 0,53 $\pm$ 0,03   | -  |
| (8-9)                 | 94,63 $\pm$ 0,64   | 0,65 $\pm$ 0,01   | -  |
| 10                    | 92,17 $\pm$ 0,82   | 0,95 $\pm$ 0,01   | -  |
| 11                    | 82,69 $\pm$ 0,52   | 1,05 $\pm$ 0,02   | -  |
| (12-14) E fraksiyonu  | 96,17 $\pm$ 0,35   | 1,24 $\pm$ 0,01   | -  |
| (15-16)               | 87,17 $\pm$ 0,64   | 0,64 $\pm$ 0,04   | -  |
| (17-25)               | 88,59 $\pm$ 1,74   | 0,83 $\pm$ 0,01   | -  |
| (26-30)               | 82,73 $\pm$ 0,32   | 0,65 $\pm$ 0,02   | -  |
| (31-32)               | 85,28 $\pm$ 0,23   | 0,88 $\pm$ 0,02   | -  |
| Referans <sup>d</sup> | 95,43 $\pm$ 0,19   | 1,98 $\pm$ 0,02   | 94,75 $\pm$ 0,13   |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Yüksek absorbans FRAP'ta daha yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir, <sup>c</sup>Etki yok, <sup>d</sup>Referans bileşik; DPPH radikal süpürücü aktivite ve FRAP için kersetin (2 mg/ml); Metal-şelasyon kapasitesi için EDTA (2 mg/ml)

Çizelge 4.24. E fraksiyonunun Sefadeks RP-18 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi çalışmaları değerleri

| <b>Fraksiyonlar</b>   | <b>DPPH Radikal Süpürücü Aktivitesi<br/>(%Süpürme <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>)<br/>2000 <math>\mu</math>g/ml</b> | <b>Demir İndirgeyici Antioksidan<br/>Güçb (FRAP)<sup>b</sup><br/>(700 nm'deki absorbans<sup>b</sup> <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>)<br/>2000 <math>\mu</math>g/ml</b> | <b>Metal-şelasyon Kapasitesi<br/>(% <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>)<br/>2000 <math>\mu</math>g/ml</b> |
|-----------------------|--|--|--|
| (3-4)                 | 83,27 $\pm$ 0,73   | 0,42 $\pm$ 0,01  | - <sup>c</sup>   |
| (5-10) F fraksiyonu   | 88,17 $\pm$ 1,67   | 0,86 $\pm$ 0,01  | -  |
| (11-12)               | 82,17 $\pm$ 0,54   | 0,53 $\pm$ 0,03  | -  |
| (13-14)               | 82,83 $\pm$ 0,86   | 0,21 $\pm$ 0,02  | -  |
| 15                    | 82,92 $\pm$ 0,32   | 0,64 $\pm$ 0,03  | -  |
| (16-19)               | 92,16 $\pm$ 0,53   | 0,75 $\pm$ 0,02  | -  |
| Referans <sup>d</sup> | 95,43 $\pm$ 0,19   | 1,98 $\pm$ 0,02  | 94,75 $\pm$ 0,13   |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Yüksek absorbans FRAP'ta daha yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir, <sup>c</sup>Etki yok, <sup>d</sup>Referans bileşik; DPPH radikal süpürücü aktivite ve FRAP için kersetin (2 mg/ml); Metal-şelasyon kapasitesi için EDTA (2 mg/ml)

Çizelge 4.25. C fraksiyonunun Sefadex LH-20 kolona uygulanmasıyla elde edilen fraksiyonların DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi çalışmaları

| <b>Fraksiyonlar</b>     | <b>DPPH Radikal Süpürücü Aktivitesi (%Süpürme <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>) 2000 <math>\mu</math>g/ml</b> | <b>Demir İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP)<sup>b</sup> (700 nm'deki absorbans<sup>b</sup> <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>) 2000 <math>\mu</math>g/ml</b> | <b>Metal-şelasyon Kapasitesi (% <math>\pm</math> S.S.<sup>a</sup>) 2000 <math>\mu</math>g/ml</b> |
|-------------------------|--|---|--|
| (1-3)<br>(D Fraksiyonu) | 89,04 $\pm$ 0,53   | 0,54 $\pm$ 0,01   | - <sup>c</sup>   |
| (4-10)                  | 87,23 $\pm$ 0,42   | 0,86 $\pm$ 0,02   | -  |
| Referans <sup>d</sup>   | 95,43 $\pm$ 0,19   | 1,98 $\pm$ 0,02   | 94,75 $\pm$ 0,13   |

<sup>a</sup>Standart sapma (n: 3), <sup>b</sup>Yüksek absorbans FRAP'ta daha yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir, <sup>c</sup>Etki yok, <sup>d</sup>Referans bileşik; DPPH radikal süpürücü aktivite ve FRAP için kersetin (2 mg/ml); Metal-şelasyon kapasitesi için EDTA (2 mg/ml)

#### 4.8. Uçucu Yağların Analizine Ait Bulgular

*L. stoechas* ve *L. × intermedia*'dan Clevenger cihazı kullanılarak, hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağlar testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzimlerine karşı yüksek inhibisyon gösterdiği için uçucu yağ analizleri yapılmıştır.

##### 4.8.1. *L. stoechas* uçucu yağının GC-MS bulguları

*L. stoechas* uçucu yağının kimyasal kompozisyonu Çizelge 4.26.'da gösterilmiştir.

*L. stoechas* uçucu yağının kromatografik profili Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.

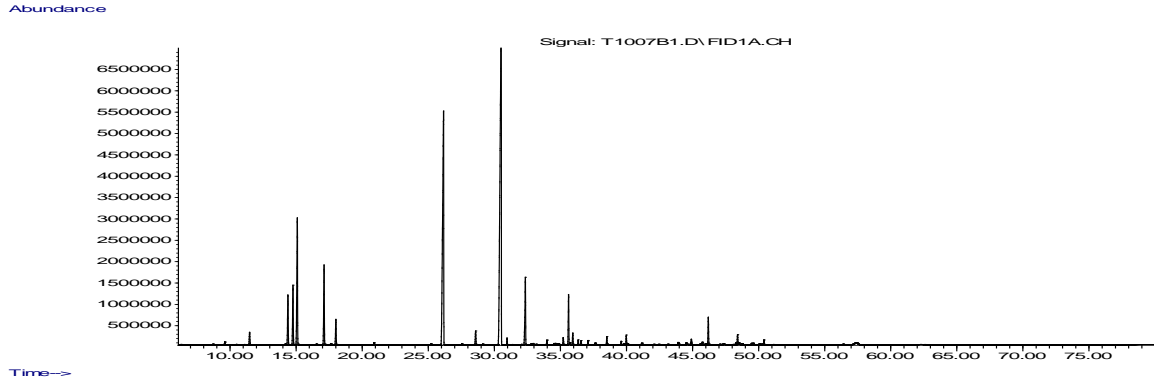
Çizelge 4.26. *L. stoechas* uçucu yağının kimyasal kompozisyon bulguları

| RRI <sup>a</sup> | Bileşik Adı                            | % <sup>b</sup> |
|------------------|--|----------------|
| 1032             | $\alpha$ -Pinen                        | 0,2            |
| 1069             | <i>cis</i> -3-Bütil-4-vinilsiklopenten | 0,1            |
| 1076             | Kamfen                                 | 0,8            |
| 1141             | Tuya-2,4(10)-dien                      | 0,1            |
| 1145             | Etilbenzen                             | 2,9            |
| 1151             | <i>p</i> -Ksilen                       | 3,5            |
| 1157             | <i>m</i> -Ksilen                       | 8,0            |
| 1178             | 1-Metiletilbenzen                      | 0,1            |
| 1193             | <i>o</i> -Ksilen                       | 4,7            |
| 1203             | Limonen                                | 0,1            |
| 1213             | 1,8-Sineol                             | 1,5            |
| 1280             | <i>p</i> -Simen                        | 0,2            |
| 1386             | Oktenil asetat                         | 0,1            |
| 1406             | $\alpha$ -Fenkon                       | 2,0            |
| 1450             | <i>trans</i> -Linalol oksit (Furanoit) | 0,1            |
| 1482             | Fensil asetat                          | 0,9            |
| 1499             | $\alpha$ -Kamfolen aldehit             | 0,1            |
| 1532             | Kâfur                                  | 38,5           |
| 1553             | Linalol                                | 0,4            |

Çizelge 4.26. (devam) *L. stoechas* uçucu yağının kimyasal kompozisyon bulguları

| RRI <sup>a</sup> | Bileşik Adı                     | % <sup>b</sup> |
|------------------|---------------------------------|----------------|
| 1586             | Pinokarvon                      | 0,1            |
| 1590             | Bornil asetat                   | 4,3            |
| 1604             | İzobornil asetat                | 0,1            |
| 1630             | 4-Terpinenil asetat             | 0,1            |
| 1648             | Mirtenal                        | 0,3            |
| 1661             | <i>trans</i> -Pinokarvil asetat | 2,5            |
| 1704             | Mirtenil asetat                 | 0,6            |
| 1714             | Verbenon                        | 0,3            |
| 1716             | <i>p</i> -Menta- 1,5-dien-8-ol  | 0,2            |
| 1719             | Bornel                          | 0,3            |
| 1751             | Karvon                          | 0,1            |
| 1773             | $\delta$ -Cadinen               | 0,4            |
| 1804             | Mirtenol                        | 0,2            |
| 1853             | Kalamenene                      | 0,1            |
| 1864             | <i>p</i> -Simen-8-ol            | 0,5            |
| 1882             | <i>cis</i> -Karveol             | 0,1            |
| 1898             | 1,11-Oksidokalamenen            | 0,1            |
| 1941             | $\alpha$ -Kalakoren             | 0,1            |
| 2088             | 1- <i>epi</i> -Kubenol          | 0,2            |
| 2098             | Globulol                        | 0,4            |
| 2104             | Viridiflorol                    | 1,4            |
| 2198             | Timol                           | 0,5            |
| 2209             | T-Murolol                       | 0,1            |
| 2256             | Kadalene                        | 0,1            |
| 2261             | Kopaborneol                     | 0,1            |
| 2289             | 4-Okso- $\alpha$ -ilangen       | 0,3            |
|                  | Toplam                          | 98,8           |

<sup>a</sup>*n*-alkanlara karşı hesaplanan bağıl alıkonma indeksleri, <sup>b</sup>% değeri alev iyonlaştırma detektörü verilerinden hesaplanmıştır.



Şekil 4.1. *L. stoechas* uçucu yağının kromatografik profili

#### 4.8.2. *L. x intermedia* uçucu yağının gaz kromatografisi-MS bulguları

*L. x intermedia* uçucu yağının kimyasal kompozisyonu Çizelge 4.27.'de gösterilmiştir.

*L. x intermedia* uçucu yağının kromatografik profili Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.

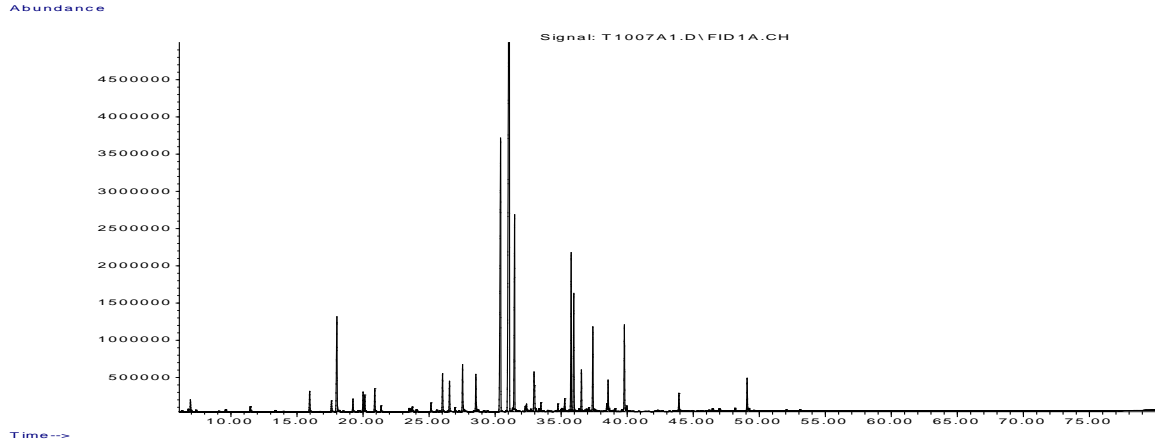
Çizelge 4.27. *L. x intermedia* uçucu yağının kimyasal kompozisyon bulguları

| RRI <sup>a</sup> | Bileşik Adı          | % <sup>b</sup> |
|------------------|----------------------|----------------|
| 1032             | $\alpha$ -Pinen      | 0,1            |
| 1076             | Kampen               | 0,2            |
| 1118             | $\beta$ -Pinen       | 0,1            |
| 1174             | Mirsen               | 0,7            |
| 1203             | Limonen              | 0,4            |
| 1213             | 1,8-Sineol           | 4,2            |
| 1246             | (Z)- $\beta$ -Osimen | 0,4            |
| 1266             | (E)- $\beta$ -Osimen | 0,7            |
| 1267             | 3-Oktanon            | 0,5            |
| 1282             | Hekzil asetat        | 0,8            |
| 1290             | Terpinolen           | 0,2            |
| 1347             | 3-Oktil asetat       | 0,3            |
| 1350             | Hekzil propionat     | 0,1            |
| 1353             | Heksil izobutirat    | 0,1            |
| 1386             | Oktanil asetat       | 0,3            |
| 1406             | $\alpha$ -Fenkon     | 1,4            |

Çizelge 4.27. (devam) *L. × intermedia* uçucu yağının kimyasal kompozisyon bulguları

| RRI <sup>a</sup> | Bileşik Adı                               | % <sup>b</sup> |
|------------------|---|----------------|
| 1424             | Hekzil butirat                            | 1,0            |
| 1438             | Hekzil 2-metil butirat                    | 0,1            |
| 1450             | <i>trans</i> -Linalol oksit<br>(Furanoit) | 1,7            |
| 1478             | <i>cis</i> -Linalol oksit<br>(Furanoit)   | 1,3            |
| 1532             | Kâfur                                     | 1,7            |
| 1553             | Linalol                                   | 41,4           |
| 1565             | Linalil asetat                            | 7,0            |
| 1601             | İzobornil format                          | 0,1            |
| 1604             | İzobornil asetat                          | 0,2            |
| 1616             | Hotrienol                                 | 1,4            |
| 1617             | Lavandulil asetat                         | 0,5            |
| 1631             | Hekzil tiglät                             | 0,3            |
| 1690             | Kripton                                   | 0,6            |
| 1706             | $\alpha$ -Terpineol                       | 5,4            |
| 1719             | Bornil                                    | 4,5            |
| 1733             | Neril asetat                              | 1,4            |
| 1765             | Geranil asetat                            | 2,8            |
| 1808             | Nerol                                     | 1,0            |
| 1857             | Geraniol                                  | 3,1            |
| 1864             | <i>p</i> -Simeol                          | 0,1            |
| 2008             | Karyofilen oksit                          | 0,7            |
| 2232             | $\alpha$ -Bisabolol                       | 1,2            |
|                  | Toplam                                    | 100,0          |

<sup>a</sup>*n*-alkanlara karşı hesaplanan bağıl alıkonma indeksleri, <sup>b</sup>% değeri alev iyonlaştırma detektörü verilerinden hesaplanmıştır.



Şekil 4.2. *L. × intermedia* uçucu yağının kromatografik profili

#### 4.9. YPSK Analizlerine Ait Bulgular

YSPK analizi, *L. stoechas* ve *L. × intermedia*'nın MeOH ile elde edilen ana ekstralarının fenolik ve flavonoid içeriğini belirlemek için kullanılmıştır. Her iki ana ekstre içerisindeki fenolik ve flavonoid bileşiklerin standartları, kütüphanemizdeki bilgilerle kıyaslanmıştır. Ayrıca, tez deneyleri sürecinde, izole edilen fenolik ve flavonoid bileşiklerin standartları temin edilmiştir. Bu bileşiklerin ana ekstre içerisindeki miktarları YPSK yöntemi ile tespit edilmiştir.

##### 4.9.1. *L. stoechas* bitkisine ait YPSK bulguları

###### Kalitatif analiz

Bu çalışmada, *L. stoechas* ana MeOH ekstresindeki fenolik ve flavonoid bileşik profili kütüphanemizdeki saf bileşiklerle kıyaslanmıştır ve bitkilerden izole edilen saf bileşiklerin ana ekstraları içerisindeki miktarı belirlenmiştir. Ekstre içerisindeki saf bileşiklerin kromatogramları ve retensiyon zamanları ile kütüphanedeki bileşiklerin retensiyon zamanı ve kromatogramları üst üste karşılaştırılarak, ekstre içerikleri belirlenmiştir. *L. stoechas* ana MeOH ekstresinin fenolik bileşik kompozisyon bulguları Çizelge 4.28.'de gösterilmiştir. *L. stoechas* ana MeOH ekstresinin flavonoid kompozisyon bulguları Çizelge 4.29.'da gösterilmiştir. *L. stoechas* ekstresinin 260, 280, 320 ve 350 nm'deki kromatogramları Şekil 4.3.'te verilmiştir. Ayrıca YPSK analizinde kullanılan fenolik bileşik karışımlarının 260, 280,

320 ve 350 nm'deki kromatogramları Şekil 4.4.'de ve flavonoit karışımlarının 260, 280, 320 ve 350 nm'deki kromatogramları Şekil 4.5.'de verilmiştir. 260 nm'de gözlenen kromatogramlarda görüldüğü üzere 17,230. dk'da gelen pik vanilik asit, 41,428. dk'da gelen pik apigenin, 30,055. dk'da gelen pik ise rutindir. 320 nm'de gözlenen kromatogramlarda görüldüğü üzere 35,159'daki majör pik rozmarinik asit, 27,704. dk'da gözlenen pik ferulik asit, 18,431. dk'da gelen pik kafeik asit, 25,321. dk'da gelen pik ise *p*-kumarik asit olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.28. *L. stoechas* ana MeOH ekstresinin fenolik bileşik bulguları

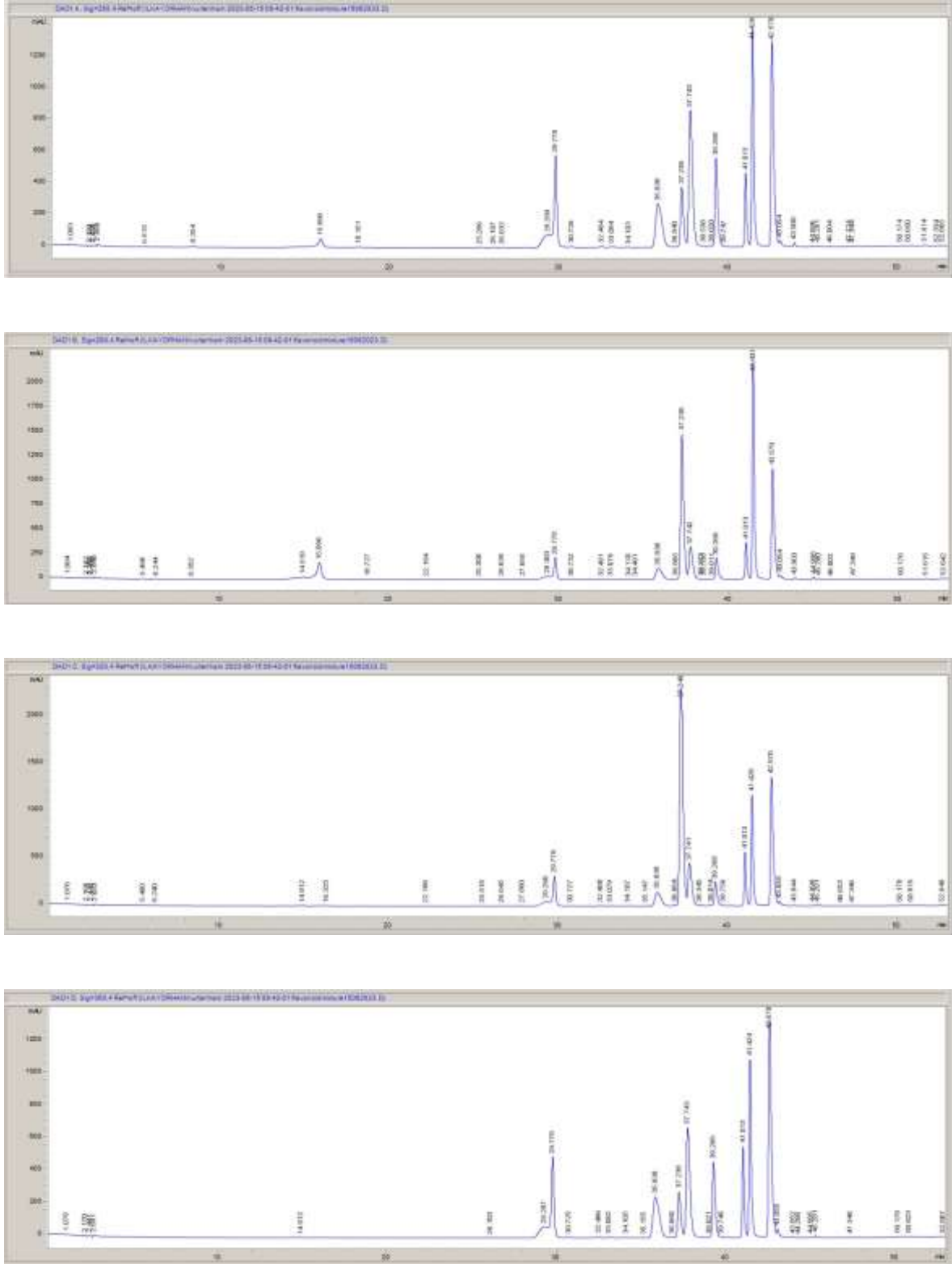
| <b>Fenolik Standart Bileşikler</b> | <b>Retensiyon zamanı (dk)</b> | <b>Dalga Boyu (nm)</b> | <b>Ekstredeki Varlığı</b> |
|------------------------------------|-------------------------------|------------------------|---------------------------|
| 3-hidroksi tirozol                 | 11,640                        | 280                    | -                         |
| Elajik asit                        | 30,179                        | 260                    | -                         |
| Ferulik asit                       | 27,721                        | 320                    | +                         |
| Gallik asit                        | 5,8113                        | 280                    | -                         |
| Kafeik asit                        | 18,390                        | 320                    | +                         |
| Klorojenik asit                    | 15,573                        | 320                    | -                         |
| <i>p</i> -kumarik asit             | 25,323                        | 320                    | +                         |
| Resveratrol                        | 37,544                        | 320                    | -                         |
| Rozmarinik asit                    | 35,156                        | 320                    | +                         |
| Sirinjik asit                      | 18,908                        | 280                    | -                         |
| Tirozol                            | 13,479                        | 280                    | -                         |
| Vanillik asit                      | 17,208                        | 260                    | +                         |

Çizelge 4.29. *L. stoechas* ana MeOH ekstresinin flavonoit bulguları

| <b>Fenolik Standart Bileşikler</b> | <b>Retensiyon zamanı<br/>(dk)</b> | <b>Dalga Boyu<br/>(nm)</b> | <b>Ekstredeki<br/>Varlığı</b> |
|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Amentoflavon                       | 42,709                            | 280                        | -                             |
| Apigenin                           | 41,426                            | 260                        | +                             |
| Daidzein                           | 38,119                            | 260                        | -                             |
| Diosmetin                          | 41,426                            | 260                        | -                             |
| Epigallokateşin gallat             | 22,522                            | 260                        | -                             |
| Fisetin                            | 35,838                            | 260                        | -                             |
| Genistein                          | 41,013                            | 260                        | -                             |
| Hesperitin                         | 41,800                            | 280                        | -                             |
| Kateşin hidrat                     | 16,086                            | 280                        | -                             |
| Kemferol                           | 41,692                            | 260                        | -                             |
| Kersetin                           | 39,268                            | 260                        | -                             |
| Mirisetin                          | 36,061                            | 260                        | -                             |
| Morin hidrat                       | 37,954                            | 260                        | -                             |
| Naringin                           | 33,515                            | 260                        | -                             |
| Rutin                              | 30,364                            | 260                        | +                             |
| Tangeretin                         | 46,293                            | 260                        | -                             |
| Taksifolin                         | 29,417                            | 260                        | -                             |







### Kantitatif analiz

Saflaştırma işlemleri sonucunda izole edilen ve kantitatif analiz sonucunda ekstrede bulunduğu tespit edilen kafeik asit, *p*-kumarik asit, apigenin, *trans*-ferulik asit ve rozmarinik asidin LSHME ve LSHEAE ekstralarının içerdiği miktarlar belirlenmiştir. Diğer izole edilen luteolin-7-*O*-glukozit ve  $\beta$ -sitosterolün standartlarına ulaşamadığı için kantitatif analiz yapılamamıştır. LSHME ve LSHEAE ekstralarının içerdiği kafeik asit miktarı Çizelge 4.30'da LSHME ve LSHEAE ekstralarının içerdiği *p*-kumarik asit miktarı Çizelge 4.31.'de, LSHME ve LSHEAE ekstralarının içerdiği apigenin miktarı Çizelge 4.32.'de, LSHME ve LSHEAE ekstralarının içerdiği ferulik asit miktarı Çizelge 4.33.'de, LSHME ve LSHEAE ekstralarının içerdiği rozmarinik asit miktarı Çizelge 4.34.'te gösterilmiştir. İzole edilen her bir bileşiğin standardının 200 ppm konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden hareketle; 100 ppm, 25 ppm, 10 ppm ve 1 ppm konsantrasyonlardaki dilüsyonları hazırlanmıştır. Sisteme üç tekrar olacak şekilde verilmiştir. Enjeksiyon sonrası elde edilen pik alanlarının ortalaması alınmış, her bir konsantrasyona (x) karşılık gelen pik alanları ortalaması (y) kullanılarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Böylece, her bir bileşik için doğru denklemi ve  $r^2$  (determinasyon katsayısı) değeri bulunmuştur.  $y = bx + a$  doğru denkleminde hareketle, ekstradaki bileşiklerin miktarı hesaplanmıştır.

Çizelge 4.30. LSHME ve LSHEAE ekstralarının içerdiği kafeik asit miktarı

| Ekstre/Alt ekstre | Hesaplanan Miktar (%) |
|-------------------|-----------------------|
| LSHME             | 0,14 ± 0,00           |
| LSHEAE            | 1,19 ± 0,01           |

Kafeik asidin doğru denklemi:  $y = 28,919x - 54,98$ ,  $r^2 = 0,9974$ , test aralığı (ppm): 1-200

Çizelge 4.31. LSHME ve LSHEAE ekstralarının içerdiği *p*-kumarik asit miktarı

| Ekstre/ Alt ekstre | Hesaplanan Miktar (%) |
|--------------------|-----------------------|
| LSHME              | 0,31 ± 0,00           |
| LSHEAE             | 0,81 ± 0,000          |

*p*-kumarik asidin doğru denklemi:  $y = 211,14x - 209,8$ ,  $r^2 = 0,9998$ , test aralığı (ppm): 1-200

Çizelge 4.32. LSHME ve LSHEAE ekstrelerinin içerdiği apigenin miktarı

| Ekstre/ Alt ekstre | Hesaplanan Miktar (%) |
|--------------------|-----------------------|
| LSHME              | 0,01 ± 0,00           |
| LSHEAE             | 0,23 ± 0,01           |

Apigeninin doğru denklemi:  $y: 75,521x - 54,214$ ,  $r^2: 0,9998$ , test aralığı (ppm): 1-200

Çizelge 4.33. LSHME ve LSHEAE ekstrelerinin içerdiği *trans*-ferulik asit miktarı

| Ekstre/ Alt ekstre | Hesaplanan Miktar (%) |
|--------------------|-----------------------|
| LSHME              | 0,06 ± 0,00           |
| LSHEAE             | 0,38 ± 0,00           |

*trans*-Ferulik asidin doğru denklemi:  $y: 145,82x - 190,86$ ,  $r^2: 0,9999$ , test aralığı (ppm): 1-200

Çizelge 4.34. LSHME ve LSHEAE ekstrelerinin içerdiği rozmarinik asit miktarı

| Ekstre/ Alt ekstre | Hesaplanan Miktar (%) |
|--------------------|-----------------------|
| LSHME              | 3,66 ± 0,00           |
| LSHEAE             | 11,47 ± 0,18          |

Rozmarinik asidin doğru denklemi:  $y: 79,984x - 0,5013$ ,  $r^2: 0,9997$ , test aralığı (ppm): 1-200

#### 4.9.2. *L. x intermedia* bitkisine ait YPSK bulguları

##### Kalitatif analiz

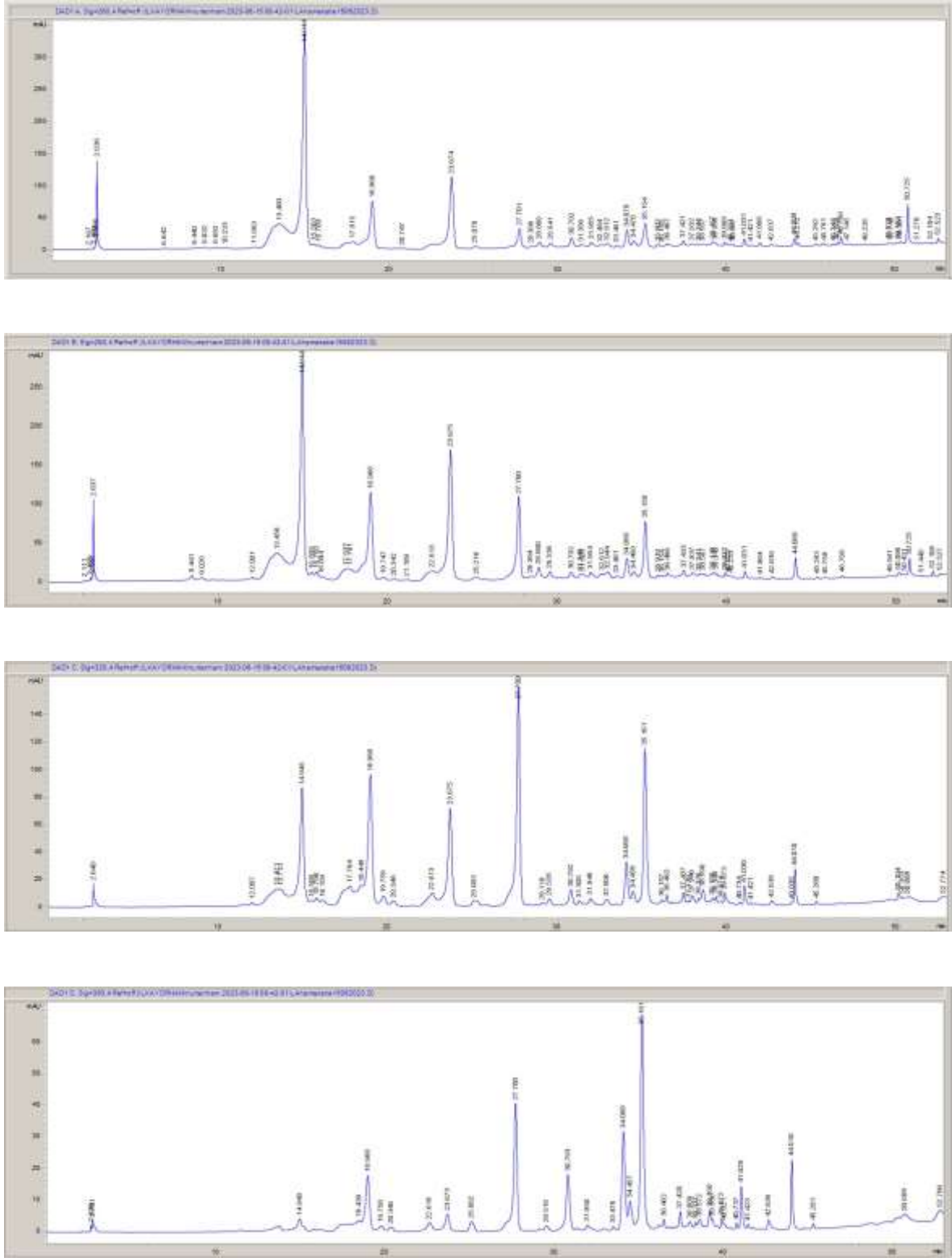
Bu çalışmada, *L. x intermedia* ana ekstresindeki fenolik ve flavonoit bileşik profili kütüphanemizdeki saf bileşiklerle kıyaslanmıştır ve bitkilerden izole edilen saf bileşiklerin ana ekstreler içerisindeki miktarı belirlenmiştir. Ekstre içerisindeki saf bileşiklerin kromatogramları ve retensiyon zamanları ile kütüphanedeki bileşiklerin retensiyon zamanı ve kromatogramları üst üste karşılaştırılarak, ekstre içerikleri belirlenmiştir. *L. x intermedia* MeOH ana ekstresinin fenolik bileşik bulguları Çizelge 4.35.'te gösterilmiştir. *L. x intermedia* ana MeOH ekstresinin flavonoit kompozisyon bulguları Çizelge 4.36.'da gösterilmiştir. 260 nm'de gözlenen kromatogramlarda görüldüğü üzere 17,815. dk'da gelen pik vanilik asit, 41,031. dk'da gelen pik apigenin, 41,421. dk'da gelen pik genisteindir. 320 nm'de gözlenen kromatogramlarda görüldüğü üzere 27,701. dkda gelen pik ferulik asit, 18,968. dk'da gelen pik kafeik asit, 25,083. dk'da gelen pik *p*-kumarik asit, 35,161. dk'da gelen majör pik rozmarinik asittir. YPSK kalitatif analiz sonucunda belirlenen bileşiklerin bazılarının kantitatif analizleri de yapılmıştır.

Çizelge 4.35. *L. × intermedia* ana MeOH ekstresinin fenolik bileşik bulguları

| Fenolik Standart Bileşikler | Retensiyon Zamanı (dk) | Dalga Boyu (nm) | Ekstredeki Varlığı |
|-----------------------------|------------------------|-----------------|--------------------|
| 3-Hidroksitirozol           | 11,640                 | 280             | -                  |
| Elajik asit                 | 30,179                 | 260             | -                  |
| Ferulik asit                | 27,721                 | 320             | +                  |
| Gallik asit                 | 5,8113                 | 280             | -                  |
| Kafeik asit                 | 18,390                 | 320             | +                  |
| Klorojenik asit             | 15,573                 | 320             | -                  |
| <i>p</i> -Kumarik asit      | 25,323                 | 320             | +                  |
| Resveratrol                 | 37,544                 | 320             | -                  |
| Rozmarinik asit             | 35,156                 | 320             | +                  |
| Sirinjik asit               | 18,908                 | 280             | -                  |
| Tirozol                     | 13,479                 | 280             | -                  |
| Vanilik asit                | 17,208                 | 260             | +                  |

Çizelge 4.36. *L. × intermedia* ana ekstresinin flavonoit bulguları

| Fenolik Standart Bileşikler | Retensiyon zamanı (dk) | Dalga Boyu (nm) | Ekstredeki Varlığı |
|-----------------------------|------------------------|-----------------|--------------------|
| Amentoflavon                | 42,709                 | 280             | -                  |
| Apigenin                    | 41,323                 | 260             | +                  |
| Daidzein                    | 38,119                 | 260             | -                  |
| Diosmetin                   | 41,558                 | 260             | -                  |
| Epigallokateşin gallat      | 22,522                 | 260             | -                  |
| Fisetin                     | 35,836                 | 260             | -                  |
| Genistein                   | 41,144                 | 260             | +                  |
| Hesperitin                  | 41,800                 | 280             | -                  |
| Kateşin hidrat              | 16,086                 | 280             | -                  |
| Kemferol                    | 41,692                 | 260             | -                  |
| Kersetin                    | 39,483                 | 260             | -                  |
| Mirisetin                   | 36,061                 | 260             | -                  |
| Morin hidrat                | 37,954                 | 260             | -                  |
| Naringin                    | 33,515                 | 260             | -                  |
| Rutin                       | 30,364                 | 260             | -                  |
| Tangeretin                  | 46,293                 | 260             | -                  |
| Taksifolin                  | 29,417                 | 260             | -                  |



Şekil 4.6. *L. × intermedia* ana ekstresinin 260, 280, 320 ve 350 nm'deki kromatogramları

Kantitatif analiz

Çizelge 4.37. LİHME ve LİHEAE ekstrelerindeki kafeik asit miktarı

| Ekstre/ Alt ekstre | Hesaplanan Miktar (%) |
|--------------------|-----------------------|
| LİHME              | 0,09 ± 0,00           |
| LİHEAE             | 0,58 ± 0,02           |

Kafeik asidin doğru denklemi:  $y: 28,919x - 54,98$ ,  $r^2: 0,9974$ , test aralığı (ppm): 1-200

Çizelge 4.38. LİHME ve LİHEAE ekstrelerinin içerdiği *p*-kumarik asit miktarı

| Ekstre/ Alt ekstre | Hesaplanan Miktar (%) |
|--------------------|-----------------------|
| LİHME              | 0,03 ± 0,00           |
| LİHEAE             | 0,06 ± 0,00           |

*p*-Kumarik asidin doğru denklemi:  $y: 211,14x - 209,8$ ,  $r^2: 0,9998$ , test aralığı (ppm): 1-200

Çizelge 4.39. LİHME ve LİHEAE ekstrelerinin ekstrelerinin içerdiği apigenin miktarı

| Ekstre/ Alt ekstre | Hesaplanan Miktar (%) |
|--------------------|-----------------------|
| LİHME              | 0,20 ± 0,00           |
| LİHEAE             | 0,16 ± 0,00           |

Apigeninin doğru denklemi:  $y: 75,521x - 54,214$ ,  $r^2: 0,9998$ , test aralığı (ppm): 1-200

Çizelge 4.40. LİHME ve LİHEAE ekstrelerinin içerdiği *trans*-ferulik asit miktarı

| Ekstre/ Alt ekstre | Hesaplanan Miktar (%) |
|--------------------|-----------------------|
| LİHME              | 0,36 ± 0,00           |
| LİHEAE             | 2,21 ± 0,01           |

*trans*-Ferulik asidin doğru denklemi:  $y: 145,82x - 190,86$ ,  $r^2: 0,9999$ , test aralığı (ppm): 1-200

Çizelge 4.41. LİHME ve LİHEAE ekstrelerinin içerdiği rozmarinik asit miktarı

| Ekstre/ Alt ekstre | Hesaplanan Miktar (%) |
|--------------------|-----------------------|
| LİHME              | 0,37 ± 0,00           |
| LİHEAE             | 4,34 ± 0,02           |

Rozmarinik asidin doğru denklemi:  $y: 79,984x - 0,5013$ ,  $r^2: 0,9997$ , test aralığı (ppm): 1-200

#### 4.10. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinine Ait Bulgular

İzole edilen herbir molekülün  $^1\text{H-NMR}$ 'ı 25 dk ve  $^{13}\text{C-NMR}$ 'ı 8 saat olacak şekilde çekilmiştir.

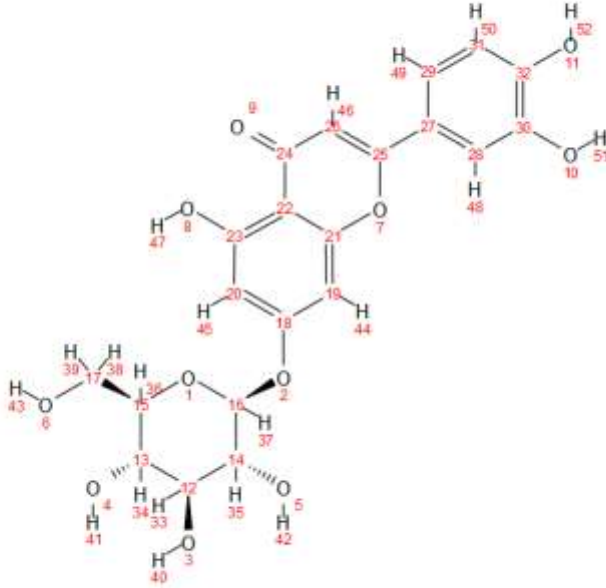
##### 4.10.1. L-1 kodlu bileşiğin yapı tayini bulguları

**Bileşik adı:** 2-(3,4-Dihidroksifenil)-5-hidroksi-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil)okzan-2-il]oksikromen-4-on (luteolin-7-O-glukozit)

**Kapalı formülü:**  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$

**Molekül ağırlığı:** 448,4 g/mol

**Fiziksel özellikleri:** Hafif sarı renkli bir toz, kokusuz, MeOH'de çözünür.



Şekil 4.7. L-1 kodlu bileşiğin yapısı

L-1 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H-NMR}$  ve  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrum değerleri Çizelge 4.42.'de verilmiştir. Bileşik  $^1\text{H-NMR}$  ve  $^{13}\text{C-NMR}$ 'ları  $\text{CH}_3\text{OD}$ 'de çözülerek çekilmiştir.

NMR analizi sonucunda elde edilen değerler şu şekildedir:

$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, MeOD):  $\delta$  183,53, 164,38, 162,38, 158,46, 146,61, 122,95, 120,00, 116,28, 113,75, 103,65, 101,16, 100,65, 95,54, 77,90, 77,36, 74,23, 70,76, 61,96

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, MeOD):  $\delta$  7,66 – 7,56 (s, 1H), 7,48 – 7,41 (m, 2H), 6,99 – 6,90 (m, 2H), 6,83 (d,  $J$ : 2,3 Hz, 1H), 6,63-6,67 (m, 2H), 6,53 (d,  $J$ : 2,2 Hz, 1H), 5,12 – 5,06 (m, 1H), 4,59 (d, 1H), 3,96 (dd,  $J$ : 12,2, 2,3 Hz, 1H), 3,78 – 3,63 (m, 1H), 3,60 – 3,48 (m, 3H), 3,47 – 3,39 (m, 2H).

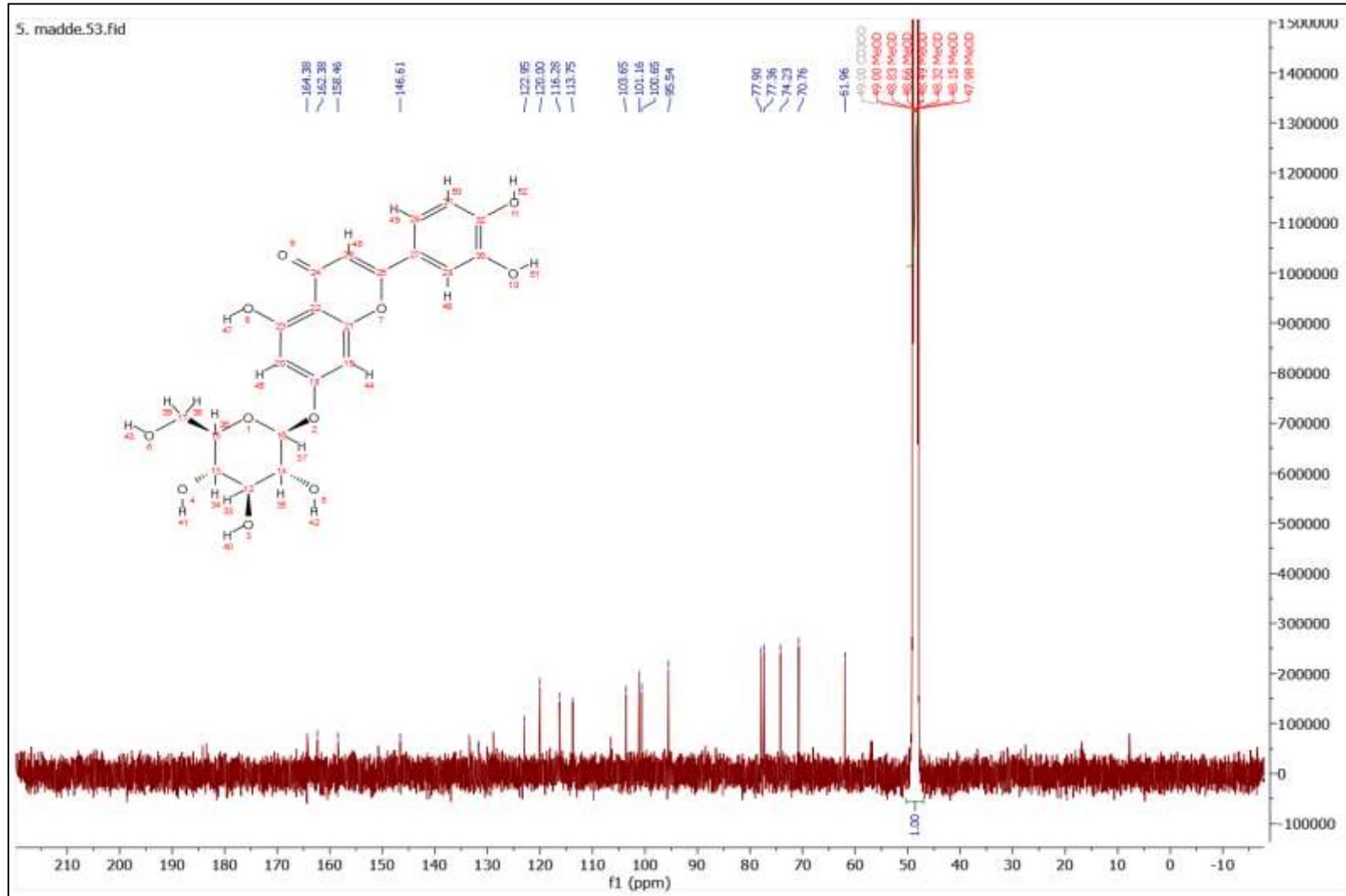
$^{13}\text{C}$  NMR’da 18 farklı karbon piki gözlenmiştir. 183,53 ppm’deki karbon atomu, flavonoit yapısında yer alan keton grubuna işaret etmektedir. Çünkü bu tür bir karbonil grubunun karakteristik bir kimyasal kayma değeri olarak 180 ppm civarında olmaktadır. 164,38, 162,38, 158,46, 146,61 ppm’lerdeki karbon atomları aromatik halkalardaki oksijene bağlı karbonlar veya diğer elektronik olarak zenginleştirilmiş karbonları temsil etmektedir. Çünkü elektron çekici bu tür gruplar, karbonların kimyasal kaymasını önemli ölçüde artırmaktadır. 122,95, 120,00, 116,28 ve 113,75 ppm’deki karbon atomları aromatik halkalardaki diğer karbon atomları olarak yorumlanmıştır. 103,65, 101,16, 100,65 ve 95,54 ppm’deki karbonlar bileşiğin yapısında bulunan glukozit bağının bir parçası olan şeker moleküllerinin anomerik karbonlarına ait olacağı şekilde yorumlanmıştır. 77,90, 77,36, 74,23, 70,76, 61,96 ppm’deki karbonlar glukoz molekülünün karbon iskeleti olarak yorumlanmıştır.  $^1\text{H}$ -NMR’da 18 proton belirlenmiştir. 7,66 – 7,56 ppm (s, 1H), 7,48 - 7,41 ppm (m, 2H), 6,99 – 6,90 ppm (m, 2H) sinyalleri flavonoit çekirdeğindeki aromatik hidrojen atomları olarak yorumlanmıştır. 6,83 ppm (d,  $J$ : 2.3 Hz, 1H), 6,63 - 6,67 ppm (m, 2H), 6,53 ppm (d,  $J$ : 2.2 Hz, 1H) ise aromatik hidrojen atomları olarak belirlenmiştir. 5,12 – 5,06 ppm (m, 1H), 4,59 ppm (d, 1H) sinyalleri şeker molekülünün anomerik hidrojeni (glukozit bağının bir parçası) olarak yorumlanmıştır. 3,96 ppm (m,  $J$ : 12,2, 2,3 Hz, 1H), 3,78 – 3,63 ppm (m, 1H), 3,60 – 3,48 ppm (m, 3H), 3,47 – 3,39 ppm (m, 2H) glukoz molekülünün hidrojen atomları olarak değerlendirilmiştir. Bu sinyaller, şekerin alifatik hidrojenlerine karşılık gelmektedir. Bu veriler, luteolin-7-*O*-glukozidin yapısal özelliklerini ve heterosiklik flavonoit çekirdeği ile monosakkarit biriminin karakteristik NMR özelliklerini ortaya koymaktadır. Aromatik halkalardan ve glukoz biriminden kaynaklanan çeşitli sinyaller, molekülün karmaşık yapısını doğrulamaktadır. Anomerik karbon ve hidrojen sinyalleri,

glukozidik bağın varlığını net bir şekilde gösterirken, karbonil ve oksijene bağlı aromatik karbon sinyalleri, flavonoid çekirdeğin özgün yapısını göstermektedir. MS analizi sonucunda izole edilen bileşiğin moleküler ağırlığı 448 g/ml olarak belirlenmiştir.

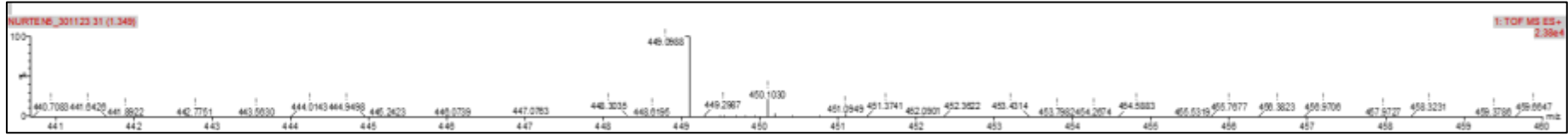
Çizelge 4.42. L-1 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrum değerleri

| Pozisyon   | $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta_{\text{C}}$ ppm) | $^1\text{H}$ -NMR ( $\delta_{\text{H}}$ ppm, $J$ Hz) |
|------------|---|--|
| 24         | 183,53  |  |
| 25         | 164,38  |  |
| 18         | 162,38  |  |
| 21         | 158,46  |  |
| 30         | 146,61  |  |
| 27         | 122,95  |  |
| 29         | 120,00  |  |
| 31         | 116,28  |  |
| 28         | 113,75  |  |
| 26         | 103,65  |  |
| 16         | 101,16  |  |
| 20         | 100,65  |  |
| 19         | 95,54   |  |
| 15         | 77,90   |  |
| 12         | 77,36   |  |
| 14         | 74,23   |  |
| 13         | 70,76   |  |
| 17         | 61,96   |  |
| 33 ve 35   |   | 3,47 - 3,39 (m, 2H)                                  |
| 36, 38, 34 |   | 3,60 - 3,48 (m, 3H)                                  |
| 43         |   | 3,78 - 3,63 (m, 1H)                                  |
| 39         |   | 3,96 (m, $J$ : 12,2 ve 2,3 Hz, 1H)                   |
| 42         |   | 4,59 (d, 1H)   |
| 51         |   | 7,66 (s, 1H)   |
| 48 ve 49   |   | 7,48 - 7,41 (m, 2H)                                  |
| 44         |   | 6,83 (d, $J$ : 2,3 Hz, 1H)                           |
| 37         |   | 5,12 - 5,06 (m, 1H)                                  |
| 50 ve 52   |   | 6,99 - 6,90 (m, 2H)                                  |
| 41         |   | 6,53 (d, $J$ : 2,2 Hz, 1H)                           |
| 46 ve 45   |   | 6,63 - 6,67 (m, 2H)                                  |





Şekil 4.9. L-1 kodlu bileşiğe ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu



Şekil 4.10. L-1 kodlu bileşiğe ait kütle spektrumu

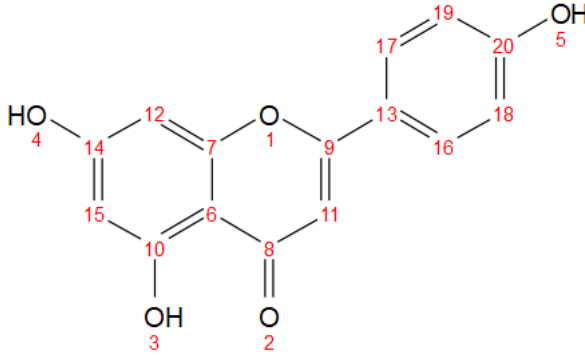
#### 4.10.2. L-2 kodlu bileşiğin yapı tayini bulguları

**Bileşik adı:** 5,7-Dihidroksi-2-(4-hidroksifenil)-4H-kromen-4-on (apigenin)

**Kapalı formülü:** C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>

**Molekül ağırlığı:** 270,24 g/mol

**Fiziksel özellikleri:** Beyazımsı, hafif sarı kristalimsi bir toz, kokusuz, DMSO'da çözünür.



Şekil 4.11. L-2 kodlu bileşiğin yapısı

L-2 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrum değerleri Çizelge 4.43.'te verilmiştir. Bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR'ları DMSO'da çözülerek çekilmiştir.

NMR analizi sonucunda elde edilen değerler şu şekildedir:

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO): δ 181,75, 164,15, 163,74, 161,48, 161,17, 157,32, 128,46, 121,21, 115,97, 103,73, 102,85, 98,85, 93,97,

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO): δ 12,96 (s, 1H), 10,57 (s, 2H), 7,90 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,92 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,75 (s, 1H), 6,47 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,19 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H).

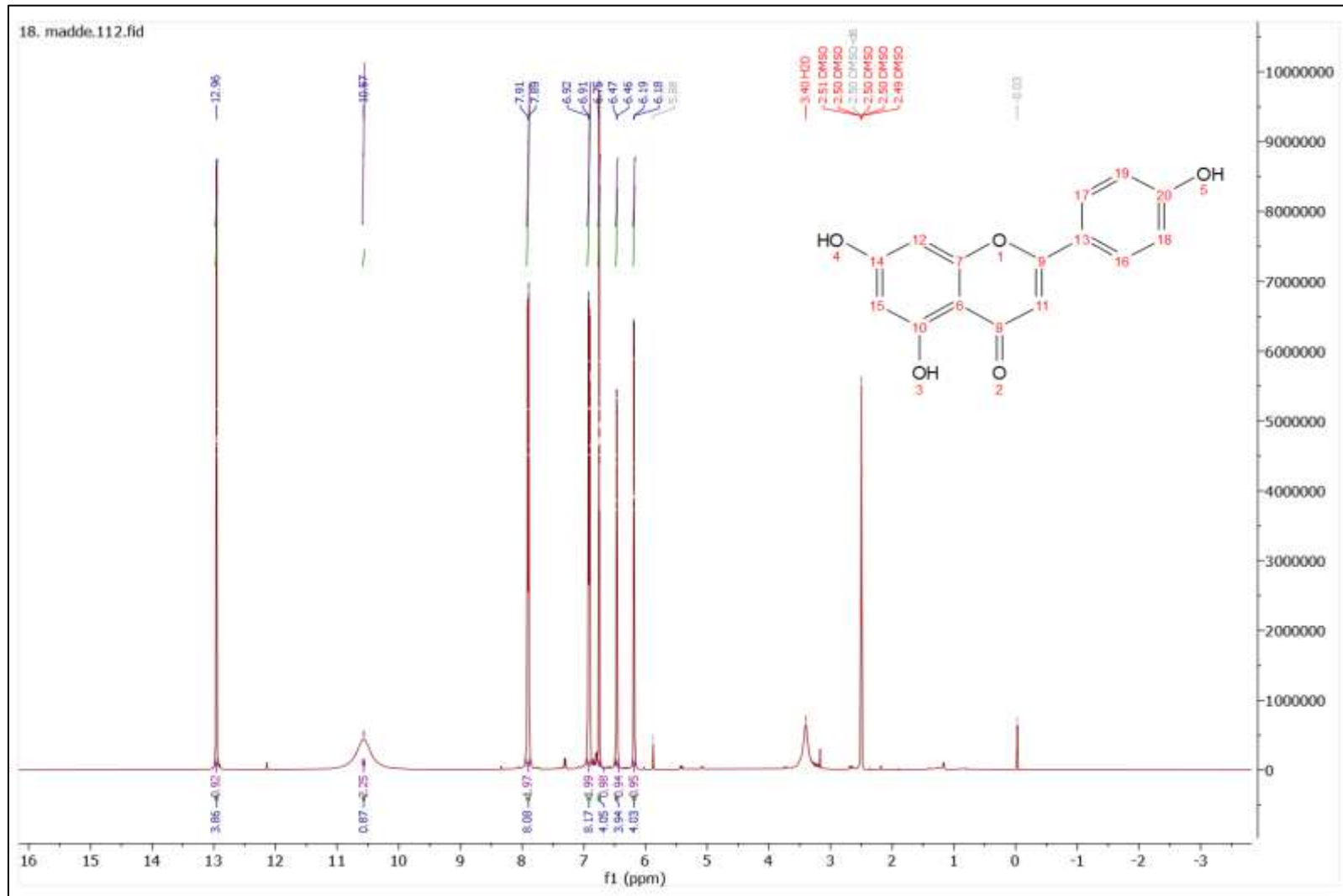
<sup>13</sup>C NMR'da 12 farklı karbon piki gözlenmiştir. Kütle spektrometrisi analizi sonucunda da izole edilen bileşiğin moleküler ağırlığı 270 g/ml olarak belirlenmiştir. 181,75 ppm'deki karbon, flavon yapısındaki karbonil grubuna (C=O) ait olarak yorumlanmıştır. 164,15 ppm,

163,74 ppm, 161,48 ppm ve 161,17 ppm'deki karbonlar aromatik halkalardaki oksijenle bağlı karbon atomları olarak yorumlanmıştır. Bu tür karbonlar, hidroksil grupları veya eter bağları nedeniyle yüksek kimyasal kaymalara sahiptir. 157,32 ppm'deki karbon atomu, aromatik halkadaki hidroksil grubuna bağlı olan bir karbonu olarak yorumlanmıştır. 128,46 ppm, 121,21 ppm ve 115,97 ppm bu değerler ise aromatik halkalardaki  $sp^2$  hibridize karbon atomları olarak değerlendirilmiştir. 103,73 ppm, 102,85 ppm, 98,85 ppm ve 93,97 ppm ise aromatik halkaların oksijenle bağlı karbonları olarak yorumlanmıştır. 12,96 ppm (s, 1H) protonu, fenolik hidroksil grubunun hidrojen atomuna ait bir sinyal olarak yorumlanmıştır. 10,57 ppm (s, 2H) ise başka fenolik hidroksil gruplarının hidrojen atomlarına ait olduğu şeklinde değerlendirilmiştir. 7,90 ppm (d,  $J$ : 8,3 Hz, 2H) ve 6,92 ppm (d,  $J$ : 8,3 Hz, 2H) ise aromatik halkalardaki hidrojen atomlarını göstermektedir. Bu hidrojen atomları arasındaki  $J$  değeri orto pozisyonunda bulunan hidrojen atomları olduğunu göstermekte olduğu şeklinde değerlendirilmiştir. 6,75 ppm (s, 1H) flavonot halkasındaki hidrojen olarak yorumlanmıştır. 6,47 ppm (d,  $J$ : 2,1 Hz, 1H) ve 6,19 ppm (d,  $J$ : 2,1 Hz, 1H) ise  $J$  değerleri oldukça düşük olduğu için aromatik halkadaki meta pozisyonunda bulunan hidrojen atomlarına işaret ettiği şekilde değerlendirilmiştir.

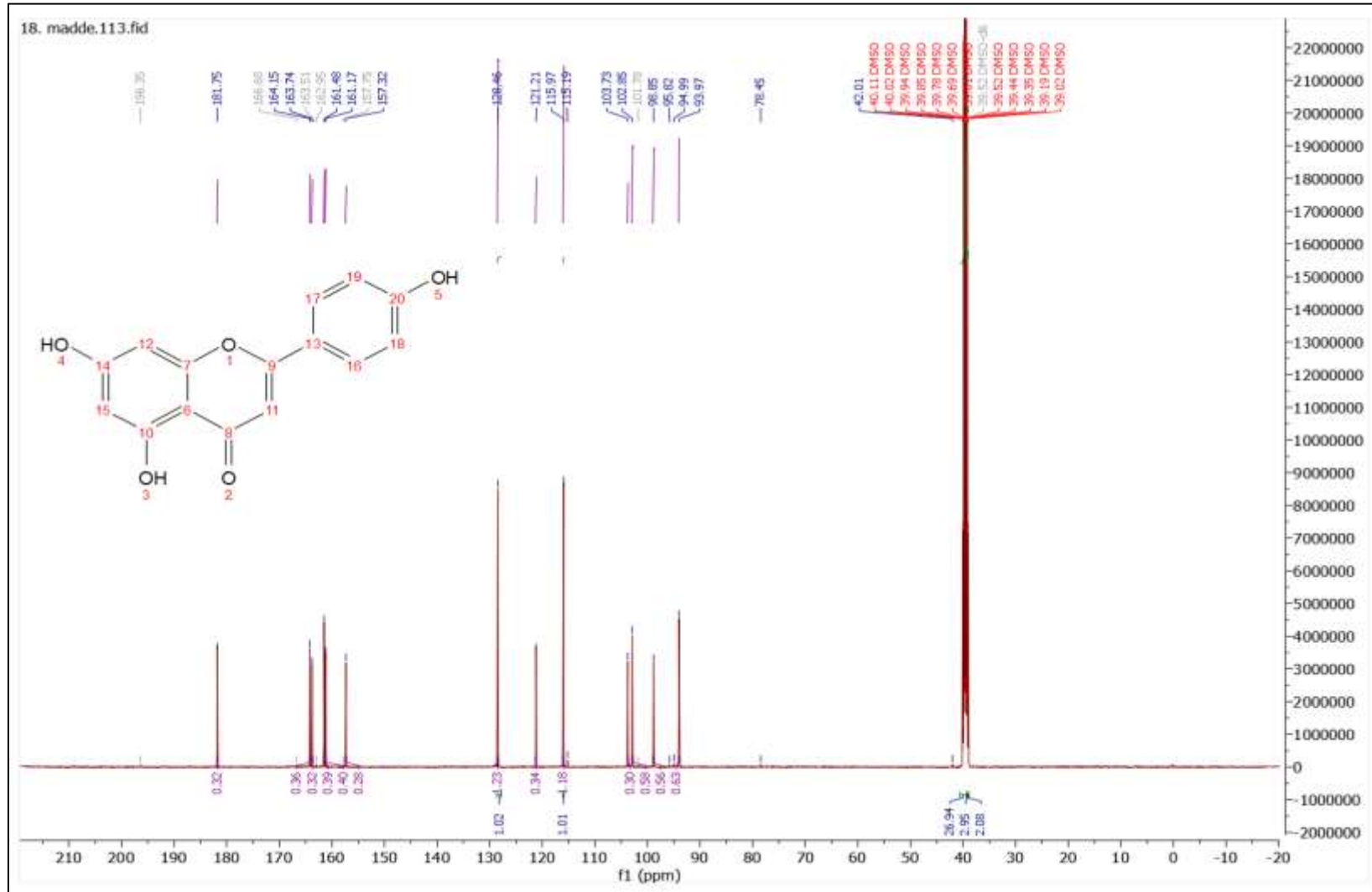
Analizler sonucunda elde ettiğimiz  $^{13}C$  ve  $^1H$  NMR verileri, apigeninin karakteristik aromatik ve fenolik yapısını yansıtılmaktadır.

Çizelge 4.43. L-2 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrum değerleri

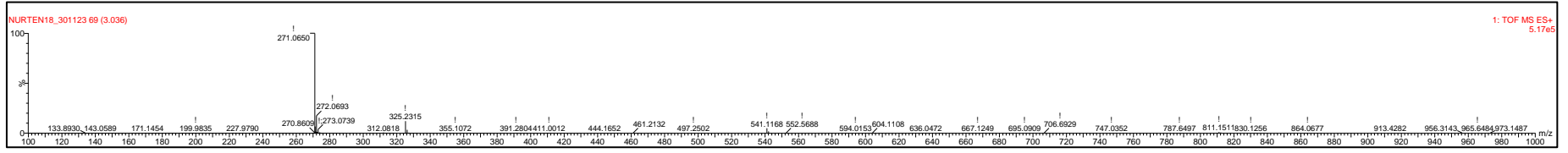
| Pozisyon | $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta_{\text{C}}$ ppm) | $^1\text{H}$ -NMR ( $\delta_{\text{H}}$ ppm, $J$ Hz) |
|----------|---|--|
| 8        | 181,75  |  |
| 14       | 164,15  |  |
| 9        | 163,74  |  |
| 20       | 161,48  |  |
| 10       | 161,17  |  |
| 7        | 157,32  |  |
| 16 ve 17 | 128,46  |  |
| 13       | 121,21  |  |
| 18 ve 19 | 115,97  |  |
| 6        | 103,73  |  |
| 11       | 102,85  |  |
| 15       | 98,85   |  |
| 12       | 93,97   |  |
| 4        |   | 12,96 (s, 1H)  |
| 3 ve 5   |   | 10,57 (s, 2H)  |
| 16 ve 17 |   | 7,90 (d, $J$ : 8,3 Hz, 2H)                           |
| 18 ve 19 |   | 6,92 (d, $J$ : 8,3 Hz, 2H)                           |
| 11       |   | 6,75 (s, 1H)   |
| 12       |   | 6,47 (d, $J$ : 2,1 Hz, 1H)                           |
| 15       |   | 6,19 (d, $J$ : 2,1 Hz, 1H)                           |



Şekil 4.12. L-2 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Şekil 4.13. L-2 kodlu bileşiğe ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu



Şekil 4.14. L-2 kodlu bileşiğe ait kütle spektrumu

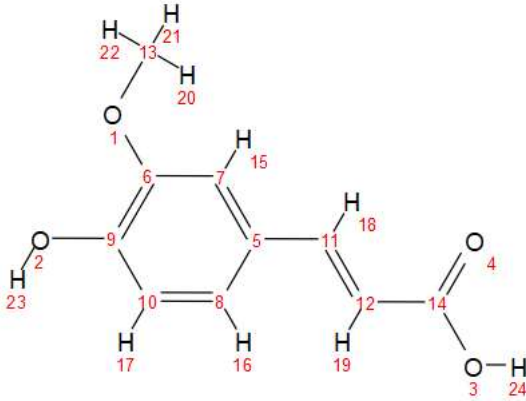
### 4.10.3. L-3 kodlu bileşiğin yapı tayini bulguları

**Bileşik adı:** 4-Hidroksi-3-metoksisinnamik asit (*trans*-ferulik asit)

**Kapalı formülü:** C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>

**Molekül ağırlığı:** 194,18 g/mol

**Fiziksel özellikleri:** Beyazımsı, hafifçe sarı kristalimsi bir toz, kokusuz, DMSO’da çözünür.



Şekil 4.15. L-3 kodlu bileşiğin yapısı

L-3 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrum değerleri Çizelge 4.44.’te verilmiştir. Bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR’ları DMSO’da çözülerek çekilmiştir.

NMR analizi sonucunda elde edilen değerler şu şekildedir:

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO): δ 12,09 (s, 1H), 9,56 (s, 1H), 7,50 (d, *J*: 15,9 Hz, 1H), 7,28 (s, *J*: 2,0 Hz, 1H), 7,08 (dd, *J*: 8,2, 2,0 Hz, 1H), 6,80 (d, *J*: 8,2 Hz, 1H), 6,37 (d, *J*: 16,0 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H),

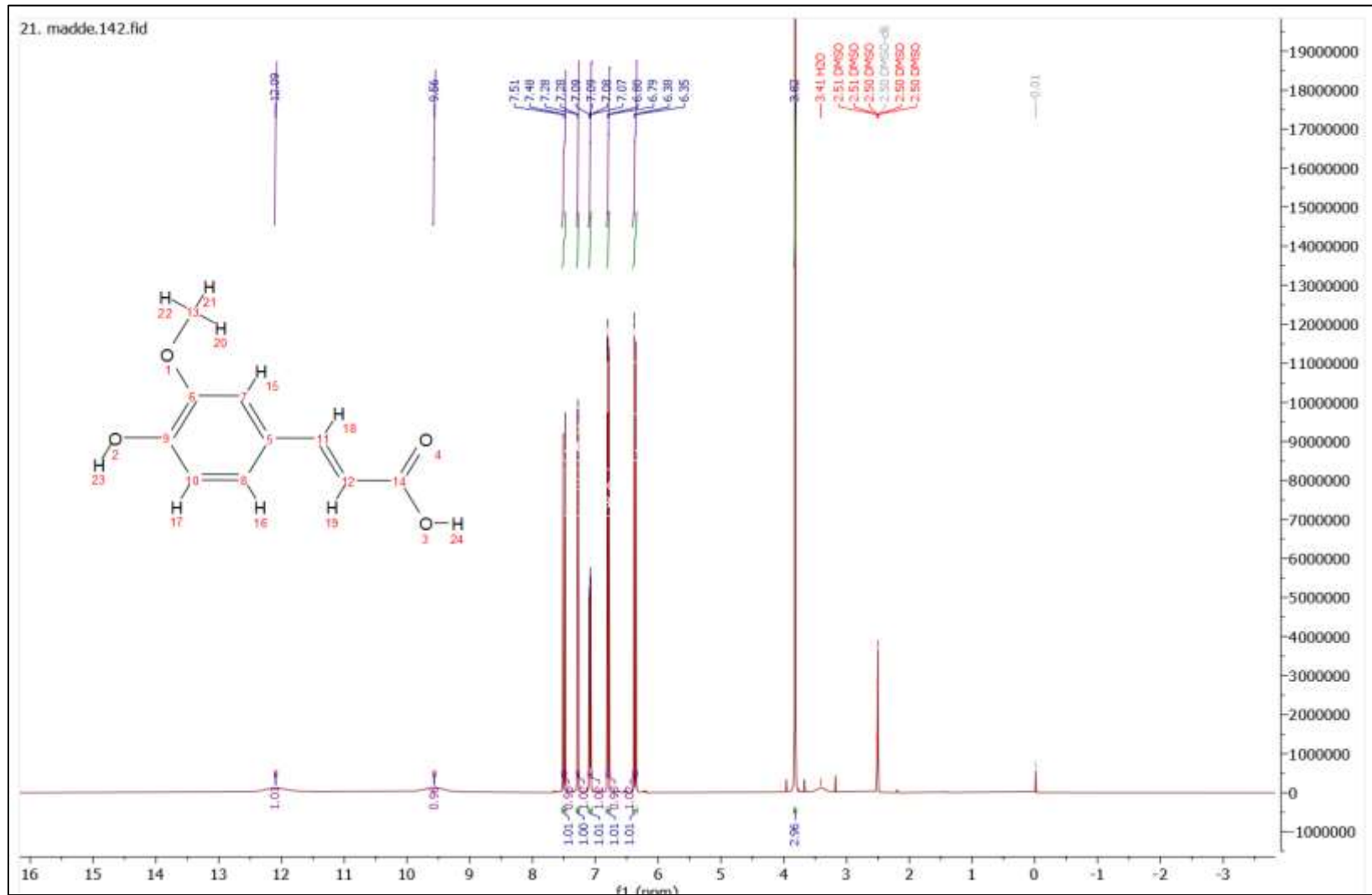
<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO): δ 167,90, 148,96, 147,80, 144,40, 125,67, 122,71, 115,47 (d, *J*: 14,7 Hz), 111,03, 55,56.

Proton NMR sonuçlarına göre 10 proton ve  $^{13}\text{C}$  NMR sonuçlarına göre de 10 farklı karbon atomu belirlenmiştir. Kütle spektrumu analiz edildiğinde ise molekülün, molekül ağırlığı 194 olarak bulunmuştur. 167,90 ppm'deki karbon atomu, karboksil grubunun karbonu olarak değerlendirilmiştir. 148,96 ppm, 147,80 ppm ve 144,40 ppm'deki karbon sinyalleri, aromatik halkadaki oksijenle doğrudan bağlı olan ve elektronik olarak zenginleştirilmiş karbon atomları olarak yorumlanmıştır. 125,67 ppm ve 122,71 ppm'deki sinyaller, aromatik halkanın karbon atomlarına olarak yorumlanmıştır. 115,47 ppm (d,  $J$ : 4,7 Hz) ve 111,03 ppm ise *trans* çift bağa bağlı karbonlar olarak değerlendirilmiştir. 55,56 ppm'deki karbon ise metoksil grubunun karbon atomu olarak yorumlanmıştır. 12,09 ppm (s, 1H)'deki sinyal bu karboksil asit grubunun hidrojen atomu olarak değerlendirilmiştir. 9,56 ppm (s, 1H) ise, fenolik hidroksil grubunun hidrojen atomu olarak yorumlanmıştır. 7,50 ppm (d,  $J$ : 15,9 Hz, 1H) ve 6,37 ppm (d,  $J$ : 16,0 Hz, 1H) sinyalleri *trans* çift bağın her iki tarafındaki hidrojenlerin sinyalleri olarak belirlenmiştir. Bu yüksek  $J$  değeri, *trans* konfigürasyondaki bir çift bağın varlığını göstermektedir. 7,28 ppm (s,  $J$ : 2,0 Hz, 1H), 7,08 ppm (m,  $J$ : 8,2 ve 2,0 Hz, 1H) ve 6,80 ppm (d,  $J$ : 8,2 Hz, 1H) sinyalleri ise aromatik halkadaki hidrojen atomlarının sinyalleri olarak değerlendirilmiştir.  $J$  değerleri ve sinyal şekilleri, halka üzerindeki hidrojen atomlarının konumlarını ve birbirleriyle olan elektronik etkileşimlerini yansıtmaktadır. 3,82 ppm (s, 3H) sinyali metoksil grubunun 3 hidrojen atomuna ait olduğu şekilde değerlendirilmiştir.

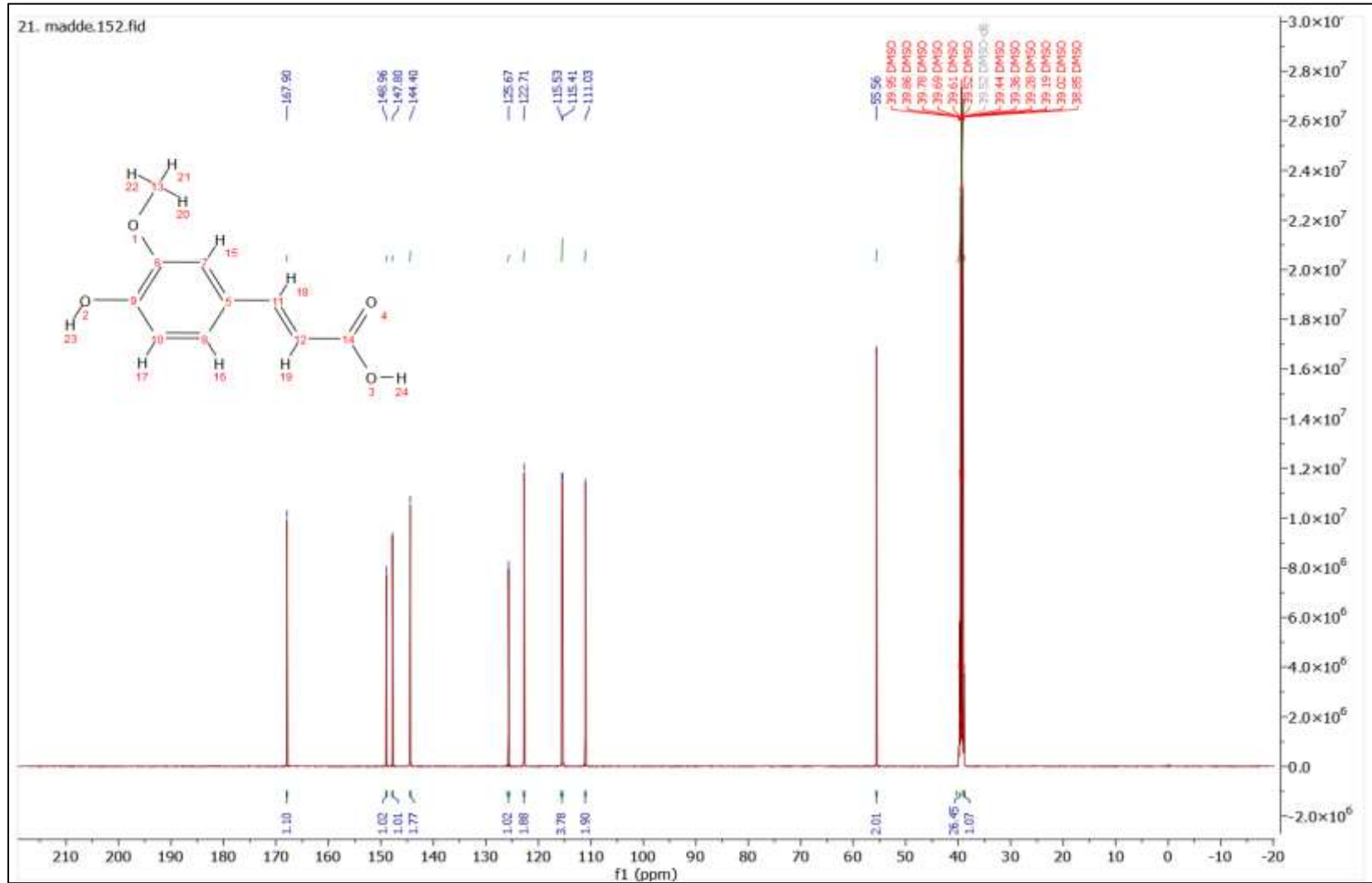
*Trans*-ferulik asidin NMR spektrumları, karboksil ve fenolik hidroksil gruplarının, bir metoksil grubunun ve bir *trans* çift bağın varlığını göstermektedir. Aromatik halkadaki hidrojen ve karbon atomlarından gelen sinyaller, molekülün elektronik yapısını ve geometrisini daha da aydınlatmıştır. *Trans* konfigürasyon, belirli  $J$  sabiti ile kendini göstermektedir ve bu da çift bağın geometrisi hakkında bilgi vermektedir.

Çizelge 4.44. L-3 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrum değerleri

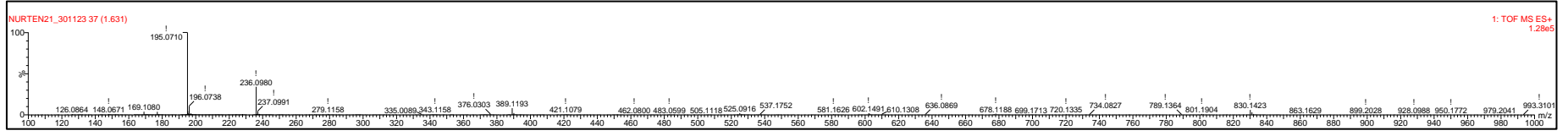
| Pozisyon     | <sup>13</sup> C-NMR (δ <sub>C</sub> ppm) | <sup>1</sup> H-NMR (δ <sub>H</sub> ppm, <i>J</i> Hz) |
|--------------|--|--|
| 14           | 167,90                                   |  |
| 9            | 148,96                                   |  |
| 6            | 147,80                                   |  |
| 11           | 144,40                                   |  |
| 5            | 125,67                                   |  |
| 8            | 122,71                                   |  |
| 12           | 115,53                                   |  |
| 10           | 115,41                                   |  |
| 7            | 111,03                                   |  |
| 13           | 55,56                                    |  |
| 20, 21 ve 22 |  | 3,82 (s, 3H)   |
| 19           |  | 6,37 (d, <i>J</i> : 16,0 Hz, 1H)                     |
| 17           |  | 6,80 (d, <i>J</i> : 8,2 Hz, 1H)                      |
| 16           |  | 7,08 (m, <i>J</i> : 8,2 ve 2,0 Hz, 1H)               |
| 15           |  | 7,28 (d, <i>J</i> : 2,0 Hz, 1H)                      |
| 18           |  | 7,50 (d, <i>J</i> : 15,9 Hz, 1H)                     |
| 23           |  | 9,56 (s, 1H)   |
| 24           |  | 12,09 (s, 1H)  |



Şekil 4.16. L-3 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Şekil 4.17. L-3 kodlu bileşiğe ait <sup>13</sup>C-NMR spektrumu



Şekil 4.18. L-3 kodlu bileşiğe ait kütle spektrumu

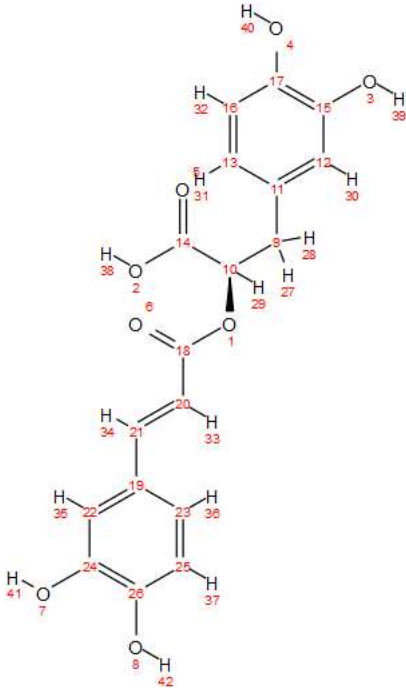
#### 4.10.4. L-5 kodlu bileşiğin yapı tayini bulguları

**Bileşik adı:** (2R)-3-(3,4-dihidroksifenil)-2-[(E)-3-(3,4-dihidroksifenil)prop-2-enoil]oksipropanoik asit (rozmarinik asit)

**Kapalı formülü:** C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub>

**Molekül ağırlığı:** 360,3 g/mol

**Fiziksel özellikleri:** Beyazımsı, hafifçe sarı kristalimsi bir toz, kokusuz, DMSO’da çözünür.



Şekil 4.19. L-5 kodlu bileşiğin yapısı

L-5 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrum değerleri Çizelge 4.45.’te verilmiştir. Bileşik <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR’ları DMSO’da çözülerek çekilmiştir.

NMR analizi sonucunda elde edilen değerler şu şekildedir:

$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO)  $\delta$  170,69, 165,76, 148,46, 145,76, 145,43, 144,77, 143,85, 127,14, 125,19, 121,42, 119,88, 116,52, 115,60, 115,22, 114,73, 113,10, 72,68, 35,95,

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO)  $\delta$  9,64 (s, 1H), 9,16 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,73 (s, 1H), 7,47 (d,  $J$ : 15,9 Hz, 1H), 7,06 (d,  $J$ : 2,1 Hz, 1H), 7,01 (dd,  $J$ : 8,2, 2,1 Hz, 1H), 6,77 (d,  $J$ : 8,1 Hz, 1H), 6,68 (d,  $J$ : 2,0 Hz, 1H), 6,64 (d,  $J$ : 8,0 Hz, 1H), 6,53 (dd,  $J$ : 8,0, 2,1 Hz, 1H), 6,24 (d,  $J$ : 15,9 Hz, 1H), 5,03 (dd,  $J$ : 8,5, 4,2 Hz, 1H), 2,99 (dd,  $J$ : 14,4, 4,3 Hz, 1H), 2,91 (dd,  $J$ : 14,4, 8,5 Hz, 1H).

Proton NMR sonuçlarına göre 15 proton ve  $^{13}\text{C}$  NMR sonuçlarına göre de 18 farklı karbon atomu belirlenmiştir. Kütle spektrumu analiz edildiğinde ise molekülün, molekül ağırlığı 360 g/mol olarak bulunmuştur. Rozmarinik asit, fenolik bir asit olup, özellikle adaçayı, biberiye ve diğer bitkilerde bulunan güçlü bir antioksidan ve anti-enflamatuvar bileşiktir. Kafeik asit ve 3,4-dihidroksifenillaktik asit (DHPLA) olarak üzere kki ana bileşenin esterleşmesiyle oluşur. Bu yapısal özellikler, NMR spektrumlarında bir dizi karakteristik sinyale yol açmaktadır. 170,69 ppm'deki karbon sinyali karboksil grubunun karbonu olarak değerlendirilmiştir. 165,76 ppm'deki karbon sinyali oksijenle bağlı bir aromatik karbonun sinyali olarak değerlendirilmiştir. 148,46 ppm, 145,76 ppm, 145,43 ppm, 144,77 ppm ve 143,85 ppm sinyalleri fenolik hidroksil gruplarına yakın bulunan ve elektronik olarak zenginleştirilmiş aromatik karbon atomları olarak değerlendirilmiştir. 127,14 ppm ve 113,10 ppm sinyalleri aromatik halkaların  $\text{sp}^2$  hibridize karbon atomları olarak yorumlanmıştır. 125,19 ppm, 121,42 ppm, 119,88 ppm, 116,52 ppm, 115,60 ppm, 115,12 ppm ve 114,73 ppm sinyalleri aromatik halkanın karbon atomları olarak yorumlanmıştır. 72,68 ppm ve 35,95 ppm flavonoit halkasına ait bir karbon sinyalleri olarak değerlendirilmiştir. 9,64 ppm (s, 1H), 9,16 ppm (s, 1H), 8,79 ppm (s, 1H), 8,73 ppm (s, 1H) sinyalleri fenolik hidroksil gruplarının hidrojen atomları olarak değerlendirilmiştir. 7,47 ppm (d,  $J$ : 15,9 Hz, 1H) ve 6,24 ppm (d,  $J$ : 15,9 Hz, 1H) bu hidrojen çifti, *trans* çift bağa yakın hidrojen atomlarının sinyalleri olup, yüksek  $J$  değeri *trans* konfigürasyonun varlığını göstermektedir. 7,06 ppm (d,  $J$ : 2,1 Hz, 1H), 7,01 ppm (m,  $J$ : 8,2 ve 2,1 Hz, 1H) sinyalleri aromatik halkaların hidrojen atomları olarak değerlendirilmiştir. 5,03 ppm (m,  $J$ : 8,5 ve 4,2 Hz, 1H) flavonoit halkasının hidrojeni olarak yorumlanmıştır. 2,99 ppm (m,  $J$ : 14,4 ve 4,3 Hz, 1H), 2,91 ppm (m,  $J$ : 14,4 ve 8,5 Hz, 1H) sinyalleri ise alifatik hidrojen atomları olarak değerlendirilmiştir. Rozmarinik asidin NMR spektrumları, bu bileşiğin kompleks fenolik yapısını ve ester bağını yansıtır. Aromatik

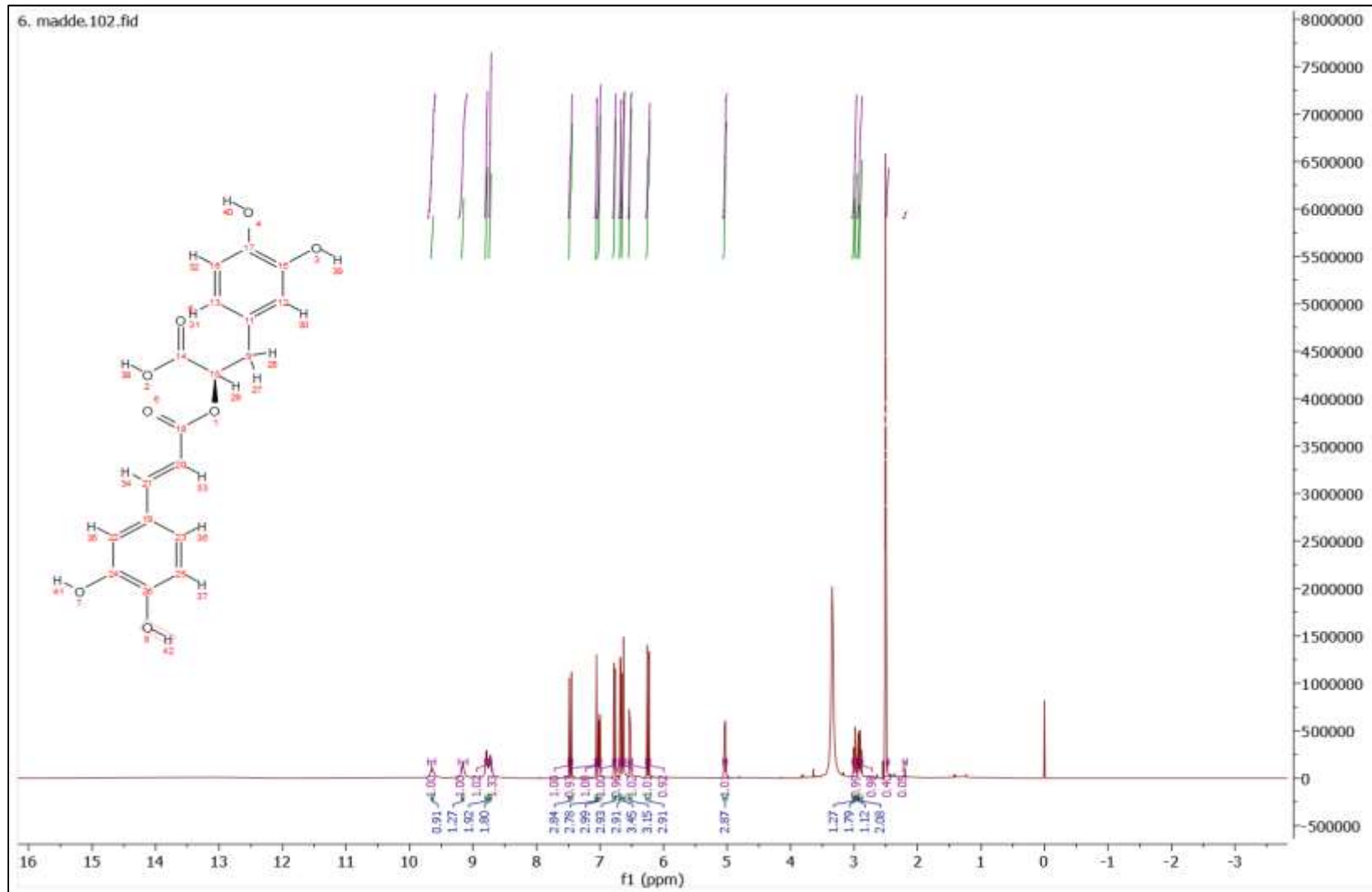
halkalardan ve ester bağının her iki yanından gelen karakteristik sinyaller, molekülün yapısal özelliklerine ve fonksiyonel gruplarına dair önemli bilgiler sağlamıştır.

Çizelge 4.45. L-5 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrum değerleri

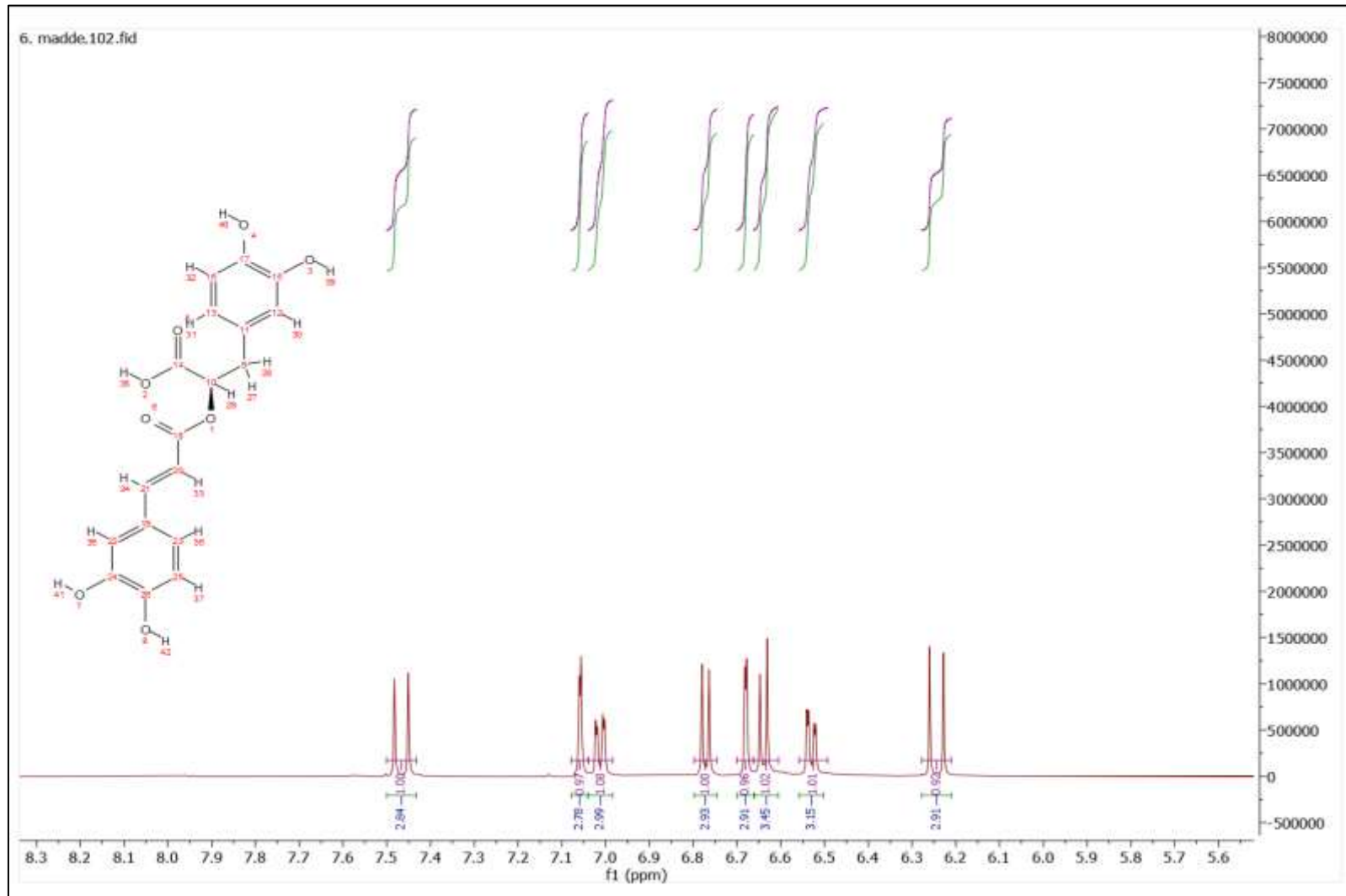
| Pozisyon | $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta_{\text{C}}$ ppm) | $^1\text{H}$ -NMR ( $\delta_{\text{H}}$ ppm, $J$ Hz) |
|----------|---|--|
| 14       | 170,69  |  |
| 18       | 165,76  |  |
| 24       | 148,46  |  |
| 21       | 145,76  |  |
| 17       | 145,43  |  |
| 26       | 144,77  |  |
| 17 ve 15 | 143,85  |  |
| 11       | 127,14  |  |
| 19       | 125,19  |  |
| 23       | 121,42  |  |
| 13       | 119,88  |  |
| 12       | 116,52  |  |
| 25       | 115,60  |  |
| 16       | 115,12  |  |
| 20       | 114,73  |  |
| 22       | 113,10  |  |
| 10       | 72,68   |  |
| 9        | 35,95   |  |
| 34       |   | 7,47 (d, $J$ :15,9 Hz, 1H)                           |
| 35       |   | 7,06 (d, $J$ :2,1 Hz, 1H)                            |
| 36       |   | 7,01 (m, $J$ : 8,2 ve 2,1 Hz, 1H)                    |
| 37       |   | 6,77 (d, $J$ : 8,1 Hz, 1H)                           |
| 30       |   | 6,68 (d, $J$ : 2,0 Hz, 1H)                           |

Çizelge 4.45. (devam) L-5 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrum değerleri

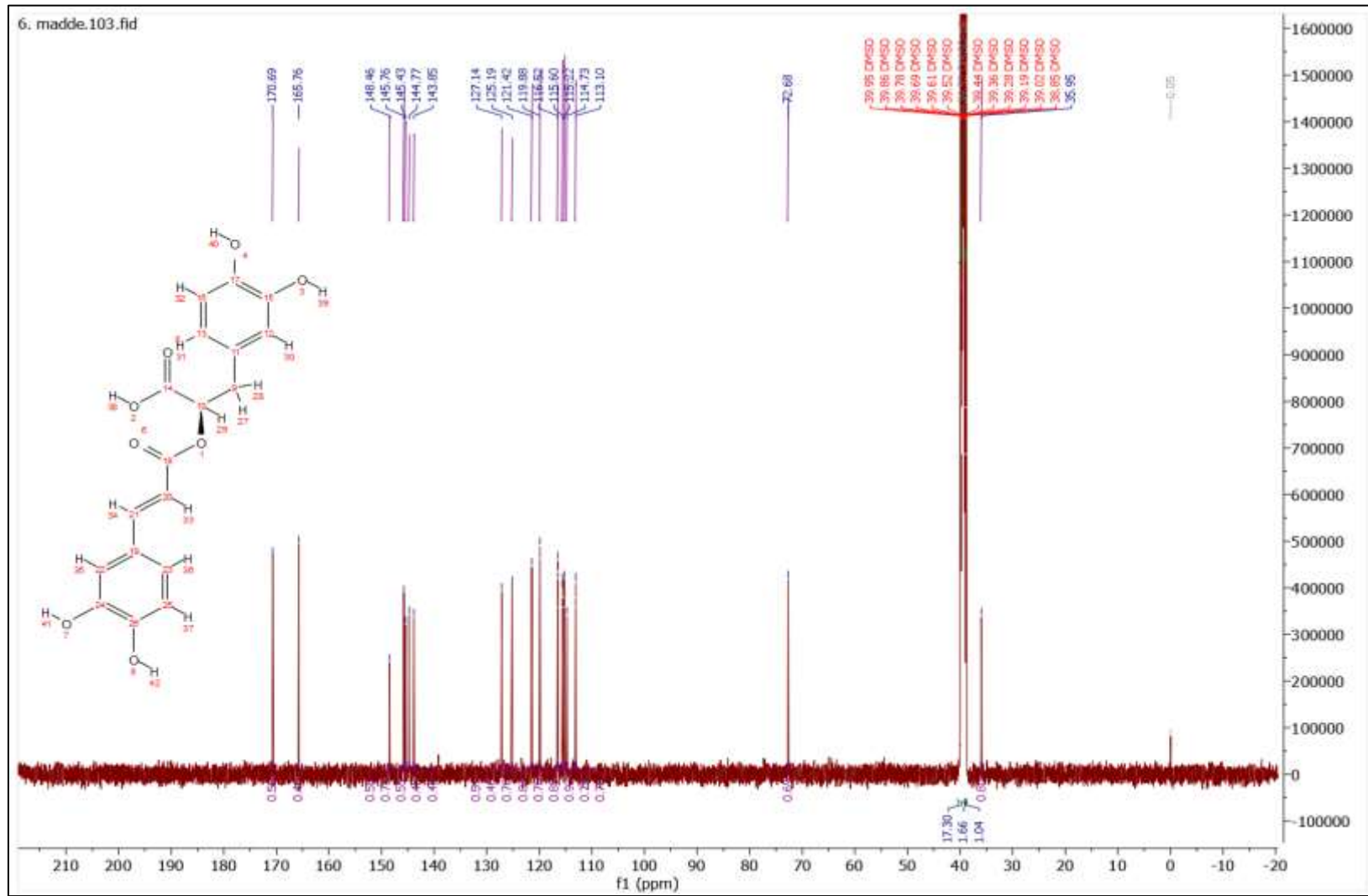
| Pozisyon | $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta_{\text{C}}$ ppm) | $^1\text{H}$ -NMR ( $\delta_{\text{H}}$ ppm, $J$ Hz) |
|----------|---|--|
| 32       |   | 6,64 (d, $J$ : 8,0 Hz, 1H)                           |
| 31       |   | 6,53 (m, $J$ : 8,0 ve 2,1 Hz, 1H)                    |
| 33       |   | 6,24 (d, $J$ : 15,9 Hz, 1H)                          |
| 29       |   | 5,03 (m, $J$ : 8,5 ve 4,3 Hz, 1H)                    |
| 27       |   | 2,99 (m, $J$ : 14,4 ve 4,3 Hz, 1H)                   |
| 28       |   | 2,91 (m, $J$ : 14,4 ve 8,5 Hz, 1H)                   |
| 39       |   | 9,64 (s, 1H)   |
| 40       |   | 9,16 (s, 1H)   |
| 41       |   | 8,79 (s, 1H)   |
| 42       |   | 8,73 (s, 1H)   |



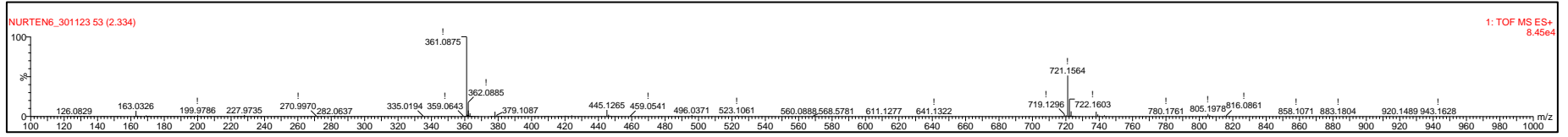
Şekil 4.20. L-5 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu



Şekil 4.21. L-5 kodlu bileşiğe ait yakınlştırılmış  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu



Şekil 4.22. L-5 kodlu bileşiğe ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu



Şekil 4.23. L-5 kodlu bileşiğe ait kütle spektrumu

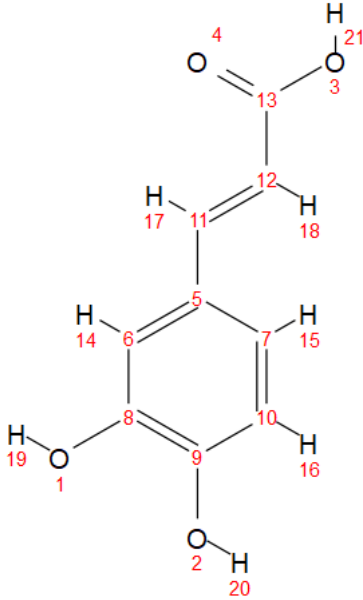
#### 4.10.5. L-6 kodlu bileşiğin yapı tayini bulguları

**Bileşik adı:** 3,4-Dihidroksisinnamik asit (kafeik asit)

**Kapalı formülü:** C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>

**Molekül ağırlığı:** 180,16 g/mol

**Fiziksel özellikleri:** Beyazımsı, hafifçe sarı kristalimsi bir toz, kokusuz, DMSO’da çözünür.



Şekil 4.24. L-6 kodlu bileşiğin yapısı

L-6 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrum değerleri Çizelge 4.46.’da verilmiştir.

Bileşik <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR’ları DMSO’da çözülerek çekilmiştir.

NMR analizi sonucunda elde edilen değerler şu şekildedir:

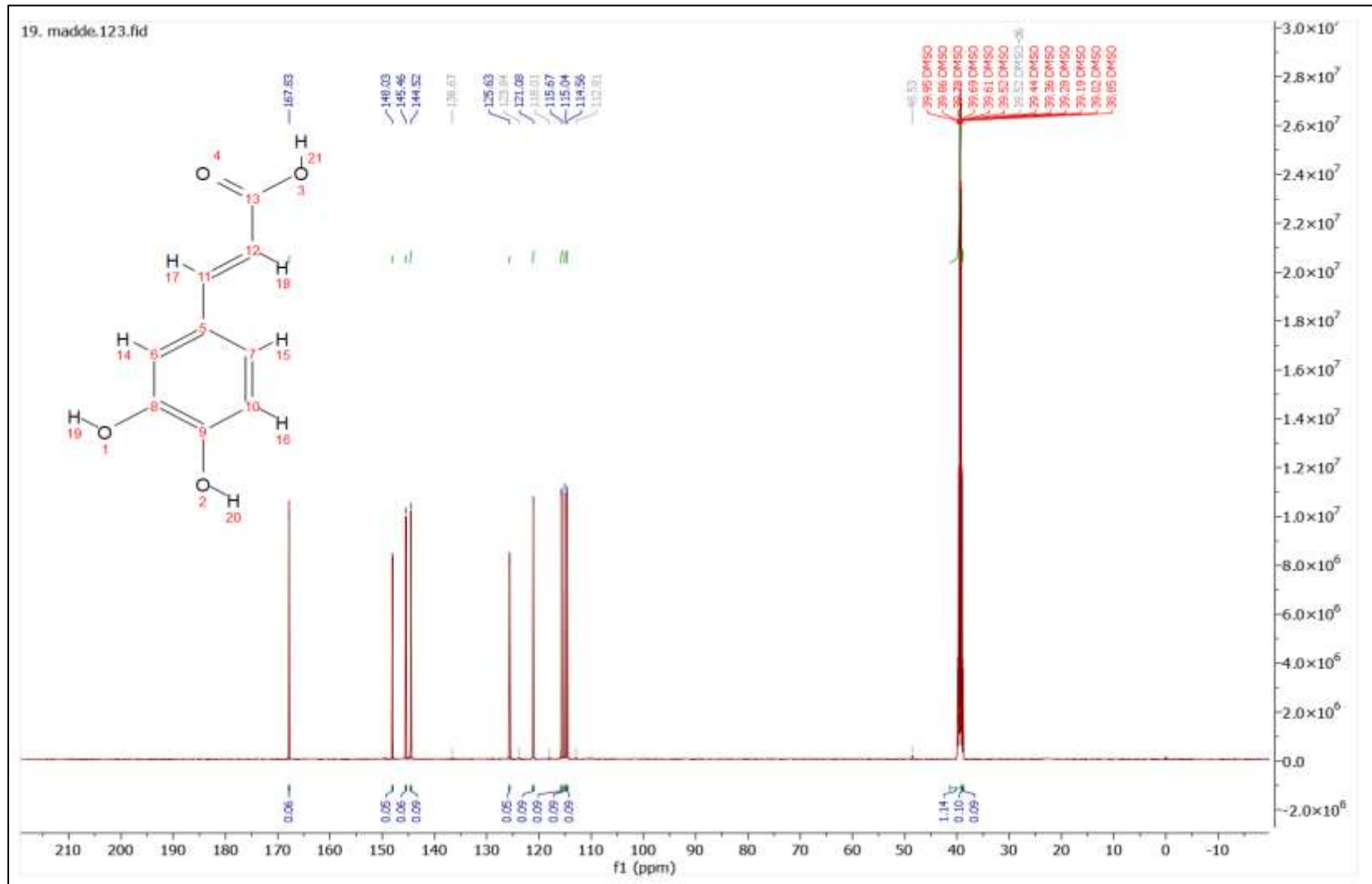
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO) δ 12,08 (s, 1H), 9,50 (s, 1H), 9,16 (s, 0H), 9,09 (s, 0H), 7,43 (d, *J*: 15,9 Hz, 1H), 7,04 (d, *J*: 2,1 Hz, 1H), 6,97 (dd, *J*: 8,2, 2,1 Hz, 1H), 6,77 (d, *J*: 8,2 Hz, 1H), 6,18 (d, *J*: 15,9 Hz, 1H),

$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO)  $\delta$  168,38, 148,58, 146,01, 145,07, 126,18, 121,63, 116,22, 115,59, 115,11.

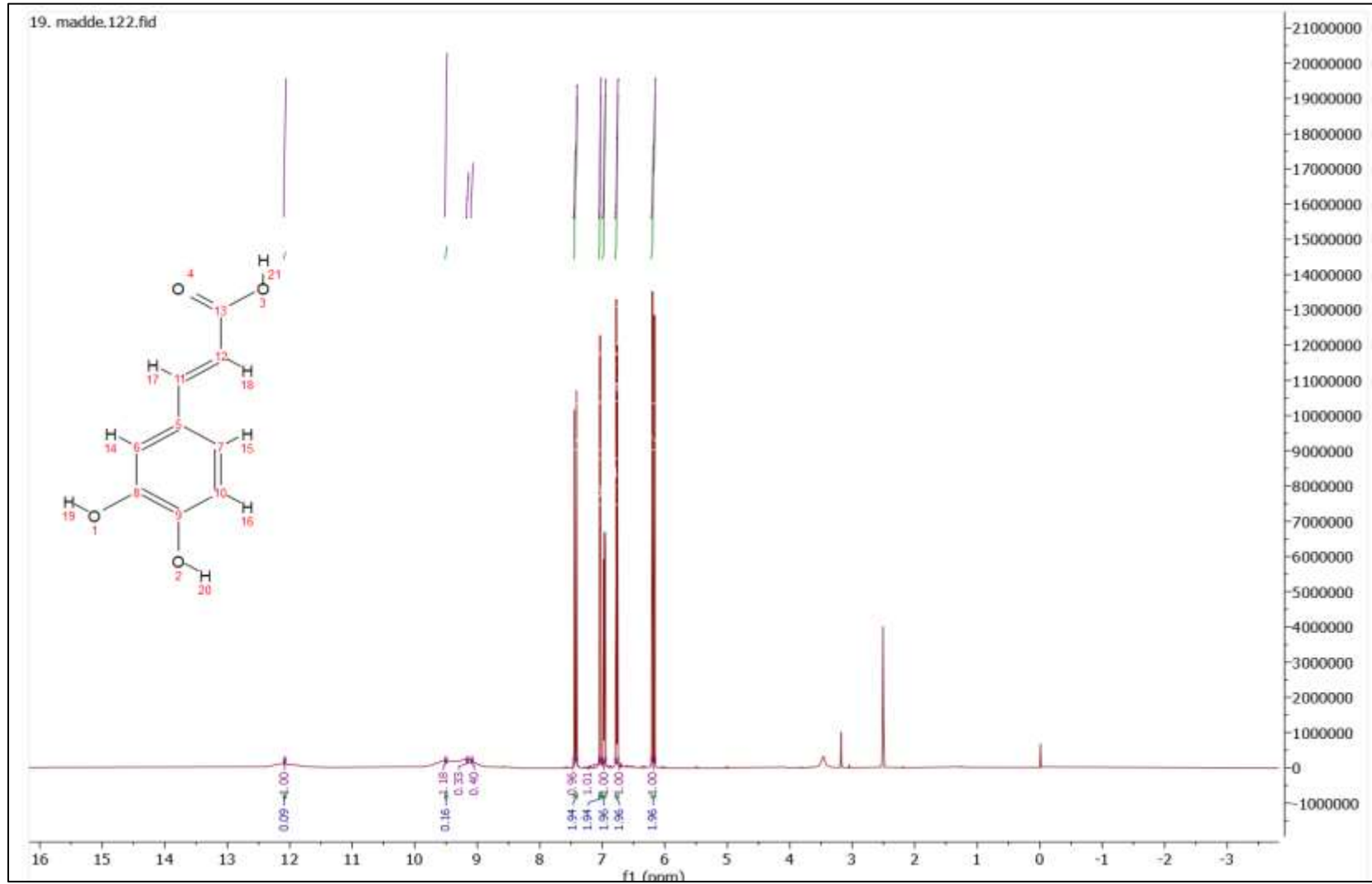
Proton NMR sonuçlarına göre 8 proton ve  $^{13}\text{C}$  NMR sonuçlarına göre de 9 farklı karbon atomu belirlenmiştir. Kütle spektrumu analiz edildiğinde ise molekülün, molekül ağırlığı 180 g/mol olarak bulunmuştur. 12,08 ppm (s, 1H) sinyali karboksilik asidin hidroksil grubunun hidrojen atomu olarak yorumlanmıştır. 9,50 ppm (s, 1H) sinyali fenolik hidroksil grubunun hidrojen atomu olarak değerlendirilmiştir. 7,43 ppm (d,  $J$ : 15,9 Hz, 1H) ve 6,18 ppm (d,  $J$ : 15,9 Hz, 1H) sinyalleri trans çift bağa yakın hidrojen atomlarının sinyalleri olarak değerlendirilmiştir. Yüksek  $J$  değeri trans konfigürasyonun varlığını göstermektedir. 7,04 ppm (d,  $J$ : 2,1 Hz, 1H), 6,97 ppm (m,  $J$ : 8,2, 2,1 Hz, 1H) ve 6,77 ppm (d,  $J$ : 8,2 Hz, 1H) sinyalleri aromatik halkanın hidrojen atomlarına olarak yorumlanmıştır.  $J$  değerleri ve sinyal şekilleri, halka üzerindeki hidrojen atomlarının konumlarını hakkında bilgi vermektedir. 168,38 ppm karboksilik asidin karbonil karbonundaki karbon atomu olarak yorumlanmıştır. 148,58 ppm, 146,01 ppm ve 145,07 ppm karbonları ise oksijen atomuna doğrudan bağlı olan ve elektronik olarak zenginleştirilmiş aromatik karbon atomları olarak yorumlanmıştır. Çünkü bu tarz sinyaller, metoksil grubu ve fenolik hidroksik gruplarına yakın karbon atomları için tipiktir. 126,18 ppm, 121,63 ppm, 116,22 ppm, 115,59 ppm ve 115,11 ppm sinyalleri aromatik halkanın diğer karbon atomlarına ait sinyaller olarak yorumlanmıştır.

Çizelge 4.46. L-6 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrum değerleri

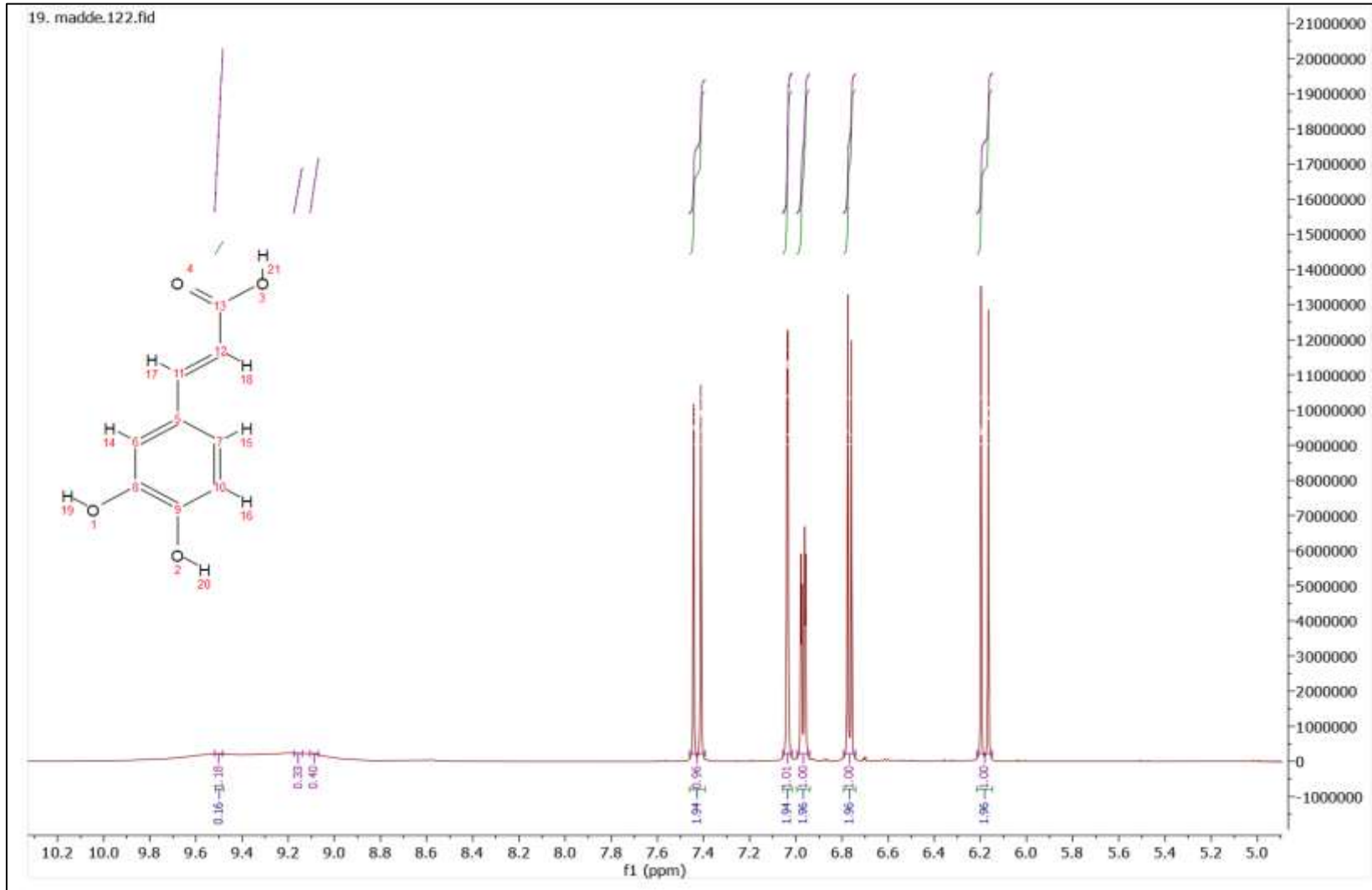
| Pozisyon | $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta_{\text{C}}$ ppm) | $^1\text{H}$ -NMR ( $\delta_{\text{H}}$ ppm, $J$ Hz) |
|----------|---|--|
| 13       | 168,38  |  |
| 9        | 148,58  |  |
| 8        | 146,01  |  |
| 11       | 145,07  |  |
| 5        | 126,18  |  |
| 7        | 121,63  |  |
| 12       | 116,22  |  |
| 10       | 115,59  |  |
| 6        | 115,11  |  |
| 21       |   | 12,08 (s, 1H)  |
| 19       |   | 9,50 (s, 1H)   |
| 20       |   | 9,15 (s, 1H)   |
| 17       |   | 7,42 (d, $J$ : 15,9 Hz, 1H)                          |
| 18       |   | 6,14 (d, $J$ : 15,9 Hz, 1H)                          |
| 14       |   | 7,03 (d, $J$ : 2,1 Hz, 1H)                           |
| 15       |   | 6,96 (m, $J$ : 8,2 ve 2,1 Hz, 1H)                    |
| 16       |   | 6,76 (d, $J$ : 8,2 ve 2,1 Hz, 1H)                    |



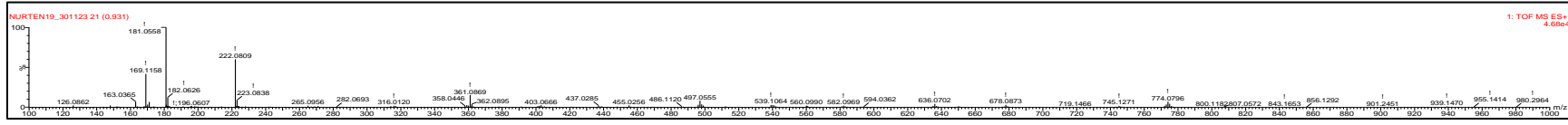
Şekil 4.25. L-6 kodlu bileşiğe ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu



Şekil 4.26. L-6 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Şekil 4.27. L-6 kodlu bileşiğe ait yakınlştırılmış <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Şekil 4.28. L-6 kodlu bileşiğe ait kütle spektrumu

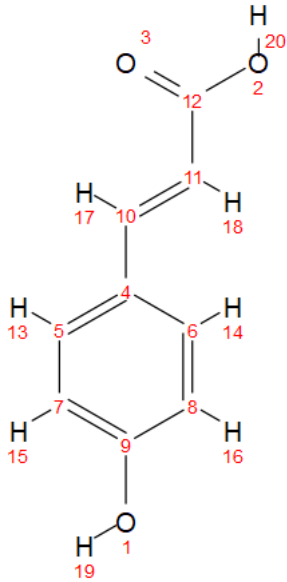
#### 4.10.6. L-7 kodlu bileşiğin yapı tayini bulguları

**Bileşik adı:** 4-Hidroksisinnamik asit (*p*-kumarik asit)

**Kapalı formülü:** C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>

**Molekül ağırlığı:** 164,16 g/mol

**Fiziksel özellikleri:** Beyazımsı, hafifçe sarı kristalimsi bir toz, kokusuz, DMSO’da çözünür.



Şekil 4.29. L-7 kodlu bileşiğin yapısı

L-7 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrum değerleri Çizelge 4.47.’de verilmiştir.

Bileşik <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR’ları DMSO’da çözülerek çekilmiştir.

NMR analizi sonucunda elde edilen değerler şu şekildedir:

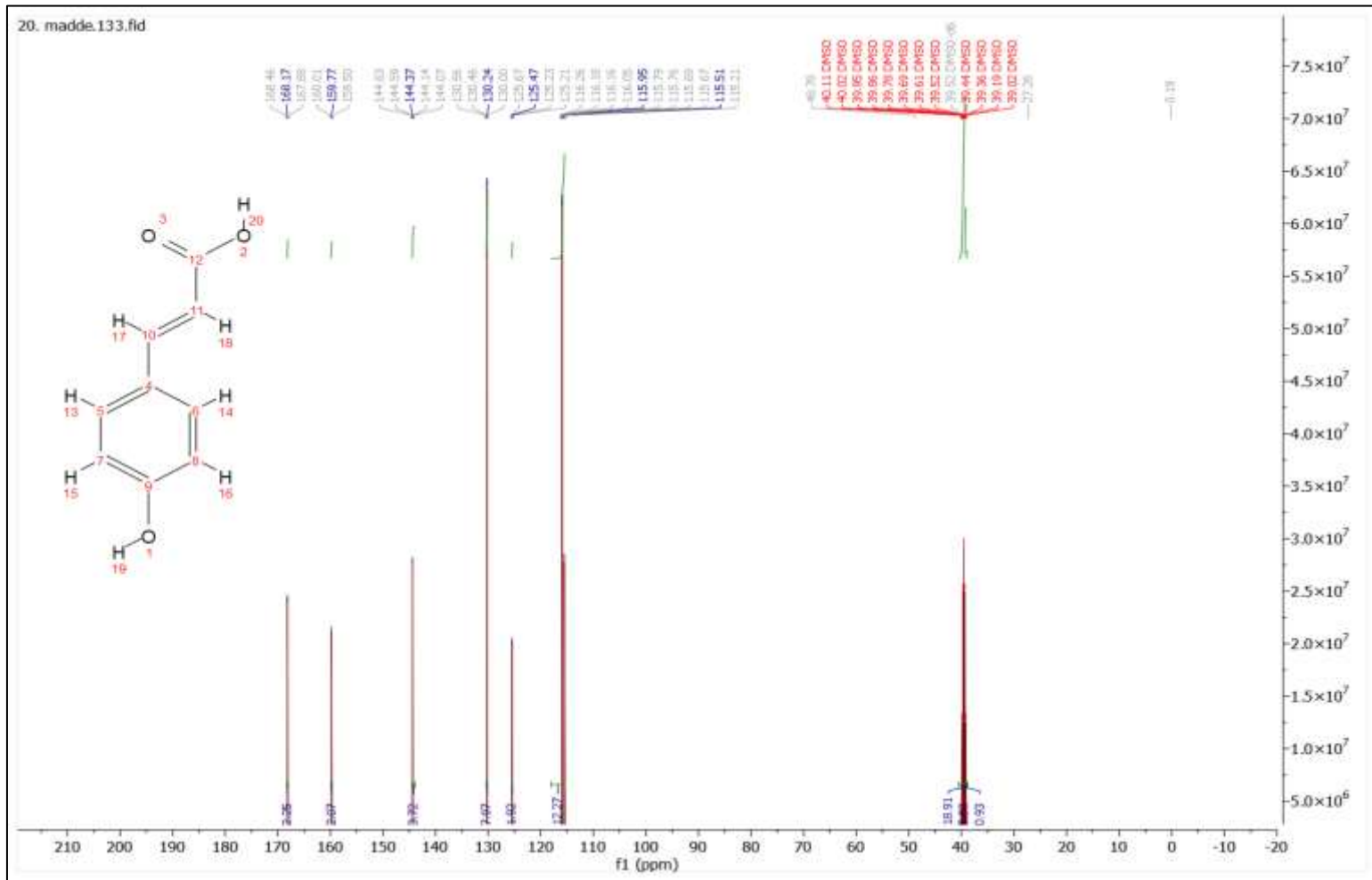
<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO) δ 168,47, 160,06, 144,67, 130,53, 125,76, 116,24, 115,81,

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO)  $\delta$  11,96 (s, 1H), 10,11 (s, 1H), 7,55 – 7,46 (m, 3H), 6,83 – 6,77 (m, 2H), 6,30 (d,  $J$ : 16,0 Hz, 1H).

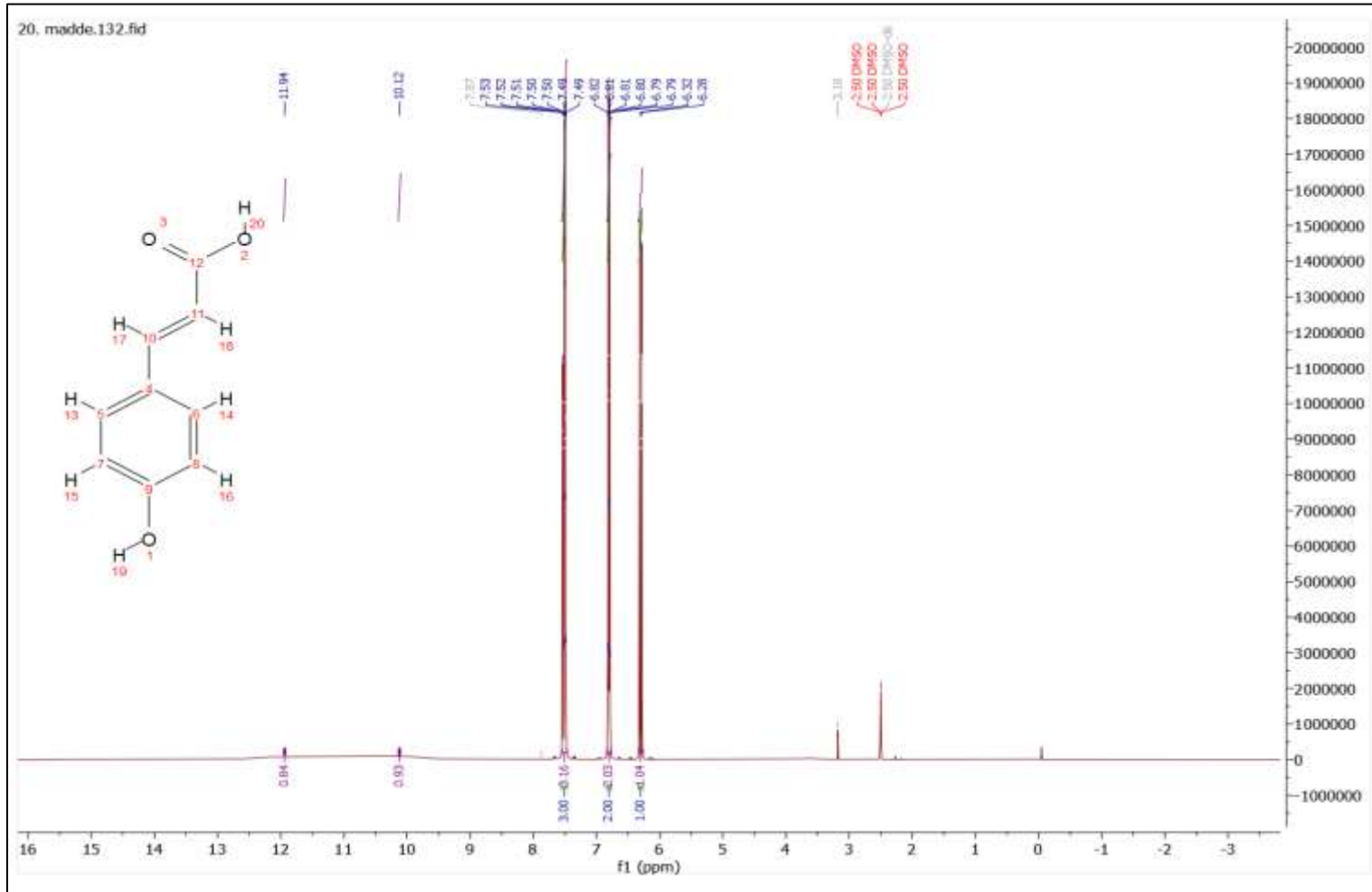
Proton NMR sonuçlarına göre 8 proton ve  $^{13}\text{C}$  NMR sonuçlarına göre de 7 farklı karbon atomu belirlenmiştir. Kütle spektrumu analiz edildiğinde ise molekülün, molekül ağırlığı 164 g/mol olarak bulunmuştur. 168,47 ppm'deki karbon sinyali karboksilli asit grubunun karbonil karbonuna ait bir sinyal olarak değerlendirilmiştir. 160,06 ppm'deki karbon sinyali fenolik hidroksil grubuna bağlı olan aromatik karbon atomu olarak değerlendirilmiştir. Oksijenin elektron çekici etkisi, bu karbonun kimyasal kaymasını bir miktar artırmıştır. 144,67 ppm'deki karbon sinyali çift bağ ile bağlı bulunan alken grubu karbon atomu olarak yorumlanmıştır. 130,53 ppm, 125,76 ppm, 116,24 ppm ve 115,81 ppm'deki sinyaller aromatik halkanın karbon atomları olarak değerlendirilmiştir. 11,96 ppm (s, 1H) sinyali, fenolik hidroksil grubunun hidrojen atomuna olarak yorumlanmıştır. 10,11 ppm (s, 1H) sinyali ise karboksil grubunun hidrojen atomu olarak değerlendirilmiştir. 7,55 – 7,46 ppm (m, 3H), 6,83 – 6,77 ppm (m, 2H) hidrojenleri ise aromatik halkadaki hidrojen atomları olarak yorumlanmıştır. 6,30 ppm (d,  $J$ : 16,0 Hz, 1H) sinyali ise trans çift bağa yakın olan bir hidrojen atomunun sinyali olarak yorumlanmıştır. Ayrıca  $J$  değerinin yüksek olması ise bileşikte trans konfigürasyonun bir olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.47. L-7 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrum değerleri

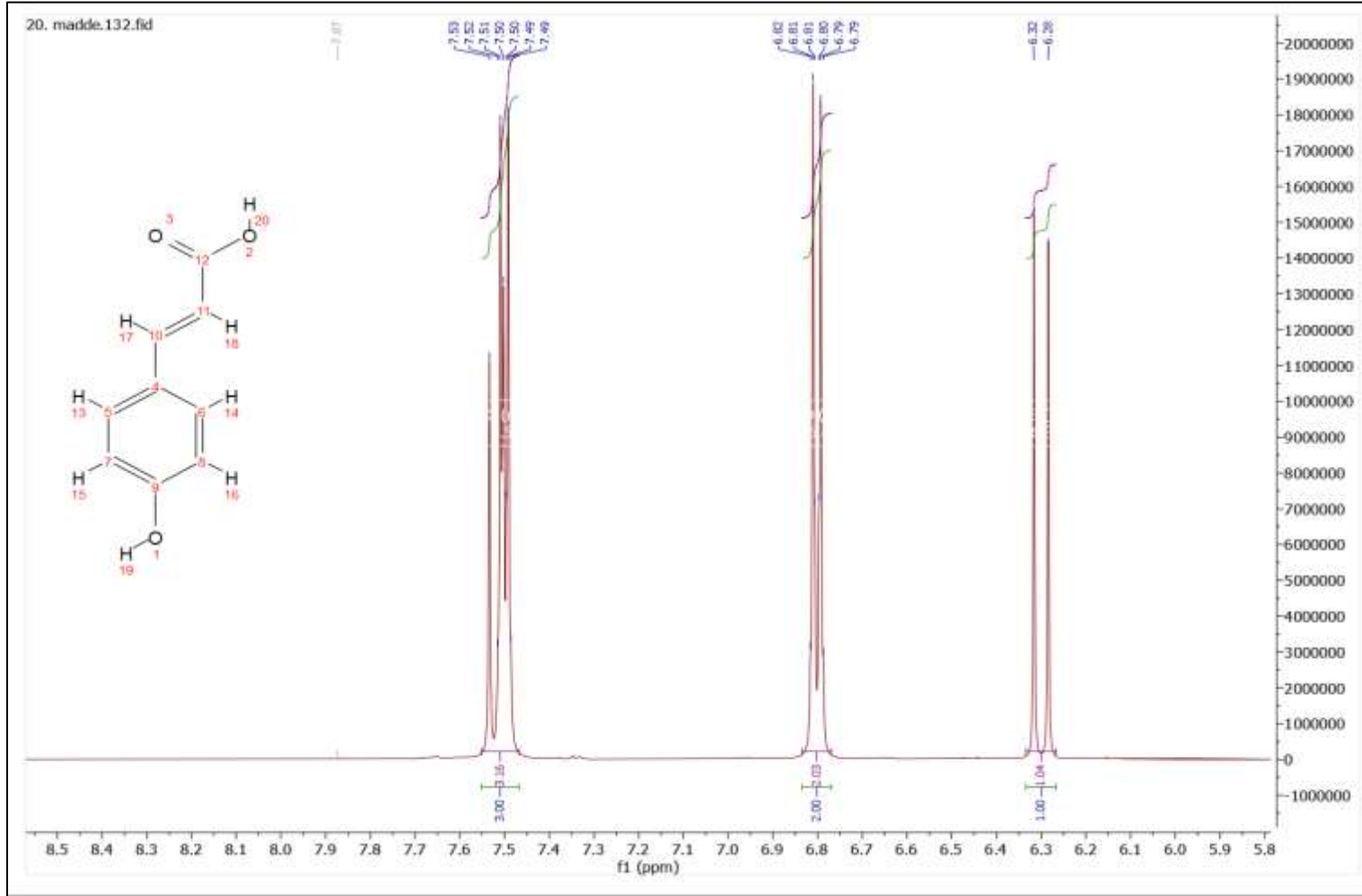
| Pozisyon     | $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta_{\text{C}}$ ppm) | $^1\text{H}$ -NMR ( $\delta_{\text{H}}$ ppm, $J$ Hz) |
|--------------|---|--|
| 12           | 168,47  |  |
| 9            | 160,06  |  |
| 10           | 144,67  |  |
| 5 ve 6       | 130,53  |  |
| 4            | 125,76  |  |
| 11           | 116,24  |  |
| 7 ve 8       | 115,81  |  |
| 20           |   | 11,96 (s, 1H)  |
| 19           |   | 10,11 (s, 1H)  |
| 13, 14 ve 17 |   | 7,55 – 7,46 (m, 3H)                                  |
| 15 ve 16     |   | 6,83 – 6,77 (m, 2H)                                  |
| 18           |   | 6,30 (d, H:16,0, 1H)                                 |



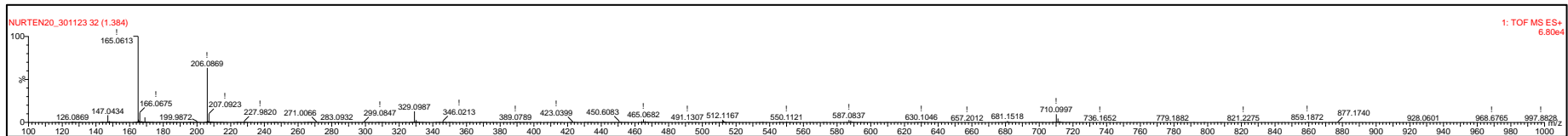
Şekil 4.30. L-7 kodlu bileşiğe ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu



Şekil 4.31. L-7 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu



Şekil 4.32. L-6 kodlu bileşiğe ait yakınlştırılmış  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu



Şekil 4.33. L-7 kodlu bileşiğe ait kütle spektrumu

#### 4.10.7. L-10 kodlu bileşiğin yapı tayini bulguları

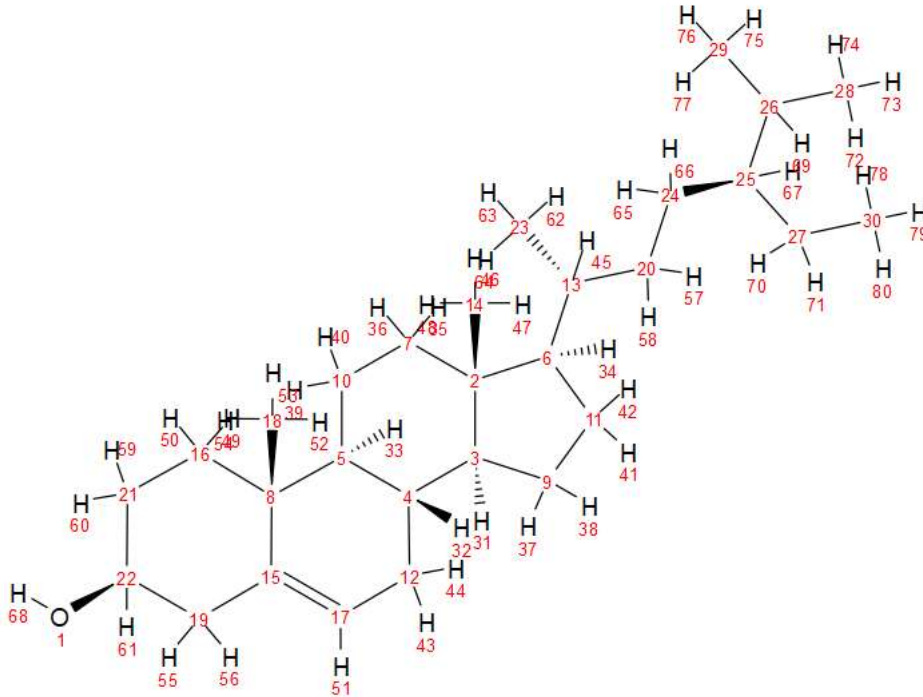
**Bileşik adı:** (3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(2R,5R)-5-Etil-6-metilheptan-2-il]-10,13-dimetil-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodekahidro-1H-siklopenta[a]fenanten-3-ol

( $\beta$ -sitosterol)

**Kapalı formülü:** C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>10</sub>

**Molekül ağırlığı:** 414,7 g/mol

**Fiziksel özellikleri:** Beyazımsı, hafifçe sarı kristalimsi bir toz, kokusuz, kloroformda çözünür.



Şekil 4.34. L-10 kodlu bileşiğin yapısı

L-10 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrum değerleri Çizelge 4.48.'de verilmiştir. Bileşik  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR'ları DMSO'da çözülerek çekilmiştir.

NMR analizi sonucunda elde edilen değerler şu şekildedir:

$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  141,06, 121,66, 71,51, 56,83, 56,16, 50,38, 46,07, 42,39, 42,32, 39,78, 37,42, 36,52, 36,19, 34,11, 32,21, 32,02, 31,69, 29,50, 28,28, 26,61, 24,46, 23,42, 21,19, 19,39, 19,35, 18,83, 12,21, 12,19,

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5,35 (dt,  $J$ : 5,4, 2,0 Hz, 1H), 3,52 (tt,  $J$ : 11,1, 4,6 Hz, 1H), 2,30 (ddd,  $J$ : 13,0, 5,2, 2,2 Hz, 1H), 2,23 (tq,  $J$ : 13,2, 2,7 Hz, 1H), 2,05 – 1,98 (m, 1H), 2,01 – 1,93 (m, 1H), 1,84 (ddt,  $J$ : 13,7, 6,2, 3,4 Hz, 3H), 1,73 – 1,57 (m, 1H), 1,60 – 1,51 (m, 1H), 1,54 – 1,45 (m, 2H), 1,48 – 1,40 (m, 1H), 1,40 – 1,19 (m, 3H), 1,25 (s, 2H), 1,22 – 1,02 (m, 4H), 1,01 (s, 3H), 1,05 – 0,96 (m, 1H), 0,98 – 0,91 (m, 2H), 0,94 – 0,88 (m, 2H), 0,90 – 0,78 (m, 7H), 0,81 – 0,75 (m, 2H), 0,68 (s, 3H).

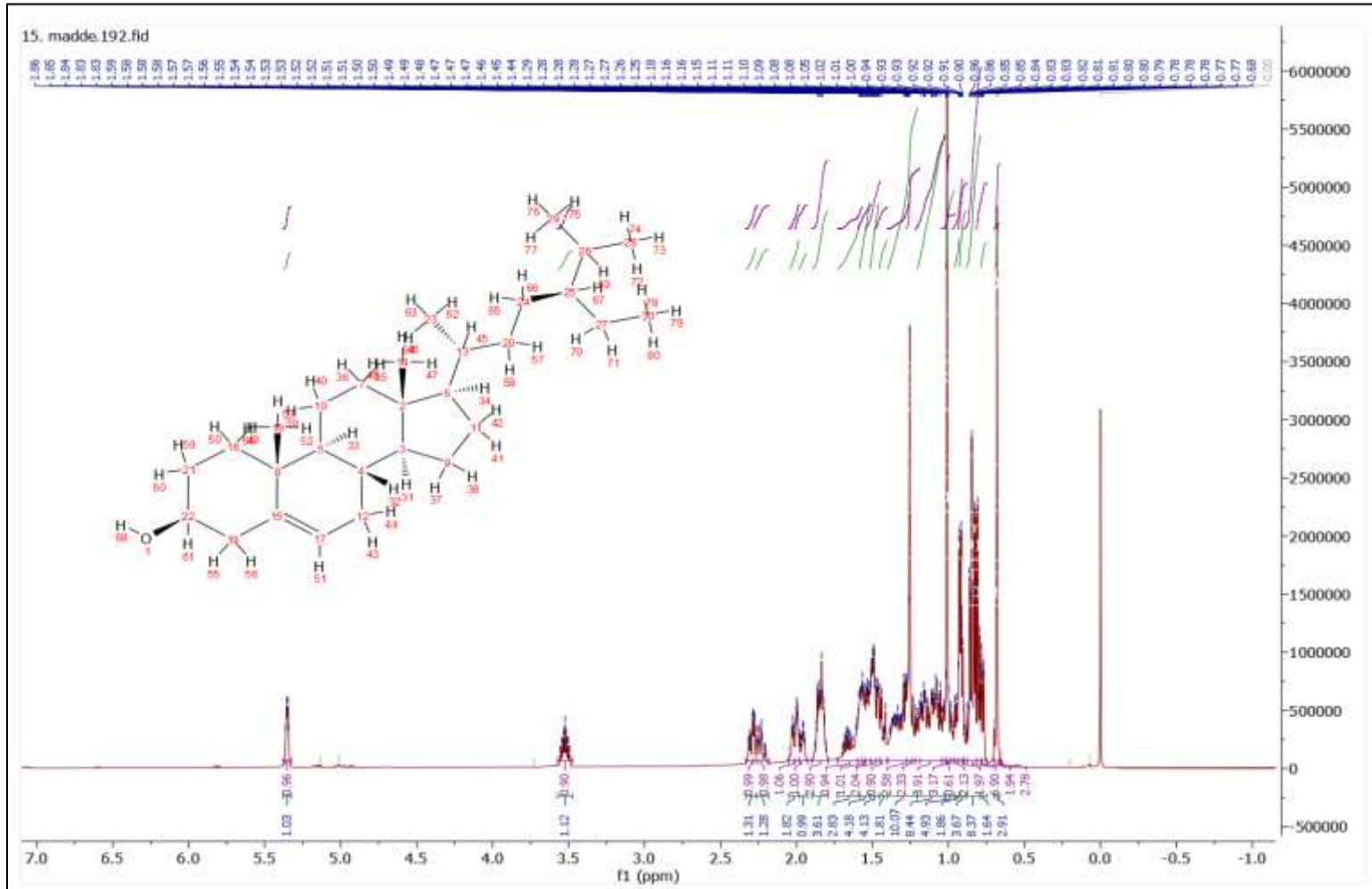
$^1\text{H}$  NMR sonuçlarına göre 43 proton ve  $^{13}\text{C}$  NMR sonuçlarına göre 28 farklı karbon atomu belirlenmiştir. *L. stoechas* fitokimyası hakkında yapılan araştırmamızda  $\beta$ -sitosterolün bu türden daha önce izole edildiği görülmüştür ve izole edilen bileşiğin NMR profili, literatürdeki NMR çalışmaları ile kıyaslanarak, bileşiğin  $\beta$ -sitosterol olduğu sonucuna varılmıştır (Eswaraiah ve diğerleri, 2011). 141,06 ppm ve 121,66 ppm sinyalleri çift bağa sahip karbon atomları olarak değerlendirilmiştir. 71,55 ppm karbonu hidroksil grubuna bağlı bir karbon atomu olarak yorumlanmıştır ve sterol çekirdeğinin fonksiyonel gruplarını işaret etmektedir. 56,83 ppm, 56,16 ppm ve 50,38 ppm - sinyalleri, metil grubuna bağlı karbon atomları veya sterol halkasındaki elektronik olarak zenginleştirilmiş karbon atomları olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. 46,07 ppm'den 12,19 ppm'e kadar olan karbon sinyalleri sterol çekirdeği ve alkil yan zincirinde bulunan alifatik karbon atomlarına ait sinyaller olarak yorumlanmıştır. 5,35 ppm (dt,  $J$ : 5,4 ve 2,0 Hz, 1H) sinyali çift bağa yakın bir hidrojen atomunun sinyali, çift bağın konumunu ve geometrisini işaret etmektedir. 3,52 ppm (tt,  $J$ : 11,1 ve 4,6 Hz, 1H) protonu ise hidroksil grubuna bağlı bir hidrojen atomunun sinyali olarak yorumlanmıştır. Bu, sterol çekirdeğindeki bir OH grubunun varlığını göstermektedir. 2,30 ppm'den 0,68 ppm'e kadar olan sinyaller alifatik hidrojen atomlarına ait çoklu sinyallerdir ve bu sinyaller, sterol çekirdeği ve yan zincirdeki çeşitli metilen, metin ve metil gruplarının hidrojen atomları olarak yorumlanmıştır.

Çizelge 4.48. L-10 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrum değerleri

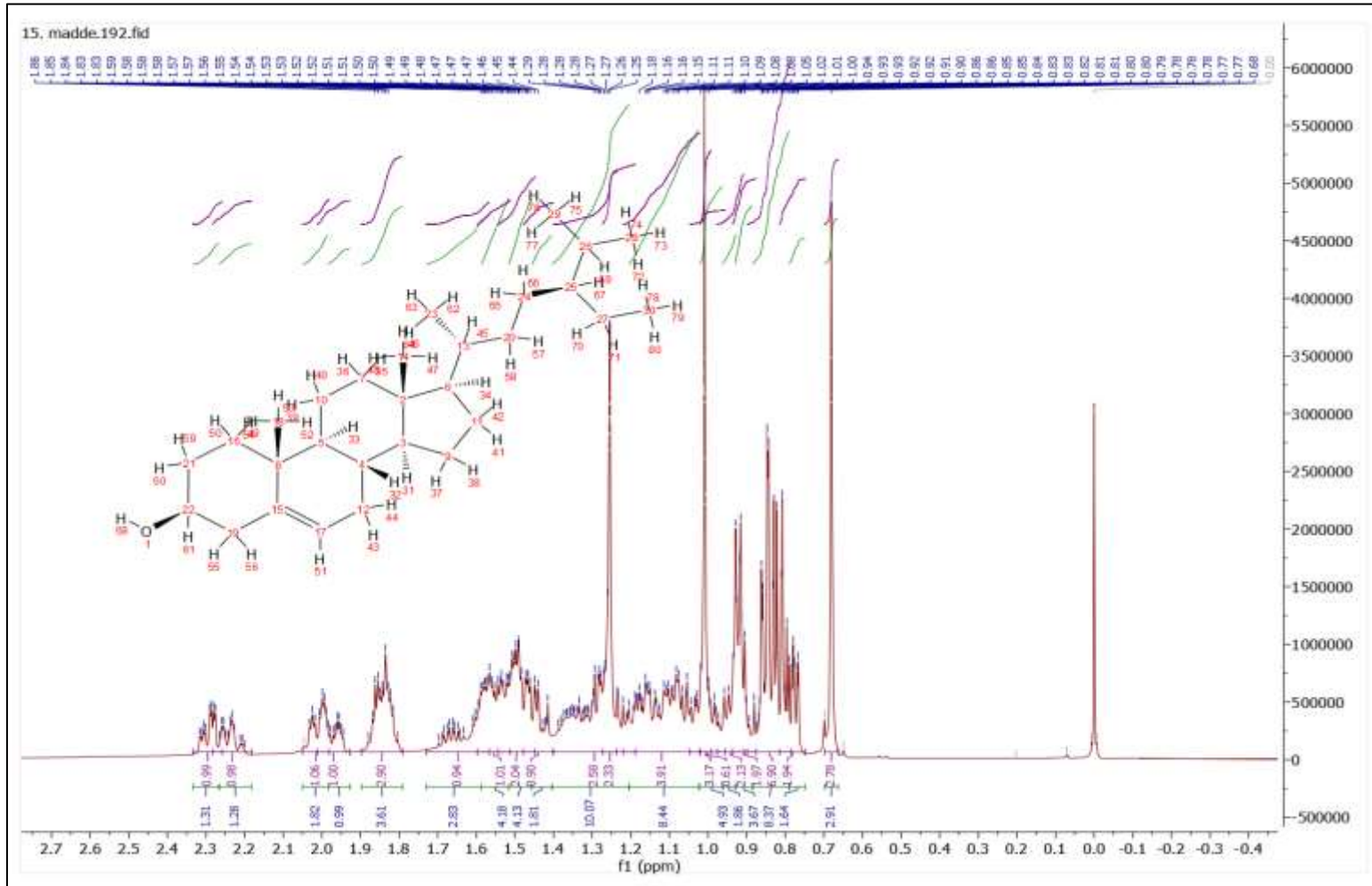
| Pozisyon | <sup>13</sup> C-NMR (δ <sub>C</sub> ppm) | <sup>1</sup> H-NMR (δ <sub>H</sub> ppm, <i>J</i> Hz) |
|----------|--|--|
| 15       | 141,06                                   |  |
| 17       | 121,66                                   |  |
| 22       | 71,51                                    |  |
| 3        | 56,83                                    |  |
| 6        | 56,16                                    |  |
| 5        | 50,38                                    |  |
| 25       | 46,07                                    |  |
| 2        | 42,39                                    |  |
| 19       | 42,32                                    |  |
| 7        | 39,78                                    |  |
| 16       | 37,42                                    |  |
| 8        | 36,52                                    |  |
| 13       | 36,19                                    |  |
| 20       | 34,11                                    |  |
| 4        | 32,21                                    |  |
| 12       | 32,02                                    |  |
| 21       | 31,69                                    |  |
| 26       | 29,50                                    |  |
| 11       | 28,28                                    |  |
| 24       | 26,61                                    |  |
| 9        | 24,46                                    |  |
| 27       | 23,42                                    |  |
| 10       | 21,19                                    |  |
| 18       | 19,39                                    |  |
| 28       | 19,35                                    |  |
| 29       | 18,83                                    |  |
| 30       | 12,21                                    |  |
| 14       | 12,19                                    |  |
| 51       |  | 5,35 (m, <i>J</i> : 5,4, 2,0 Hz, 1H),                |
| 61       |  | 3,52 (m, <i>J</i> : 11,1, 4,6 Hz, 1H),               |

Çizelge 4.48. (devam) L-10 kodlu bileşiğe ait <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrum değerleri

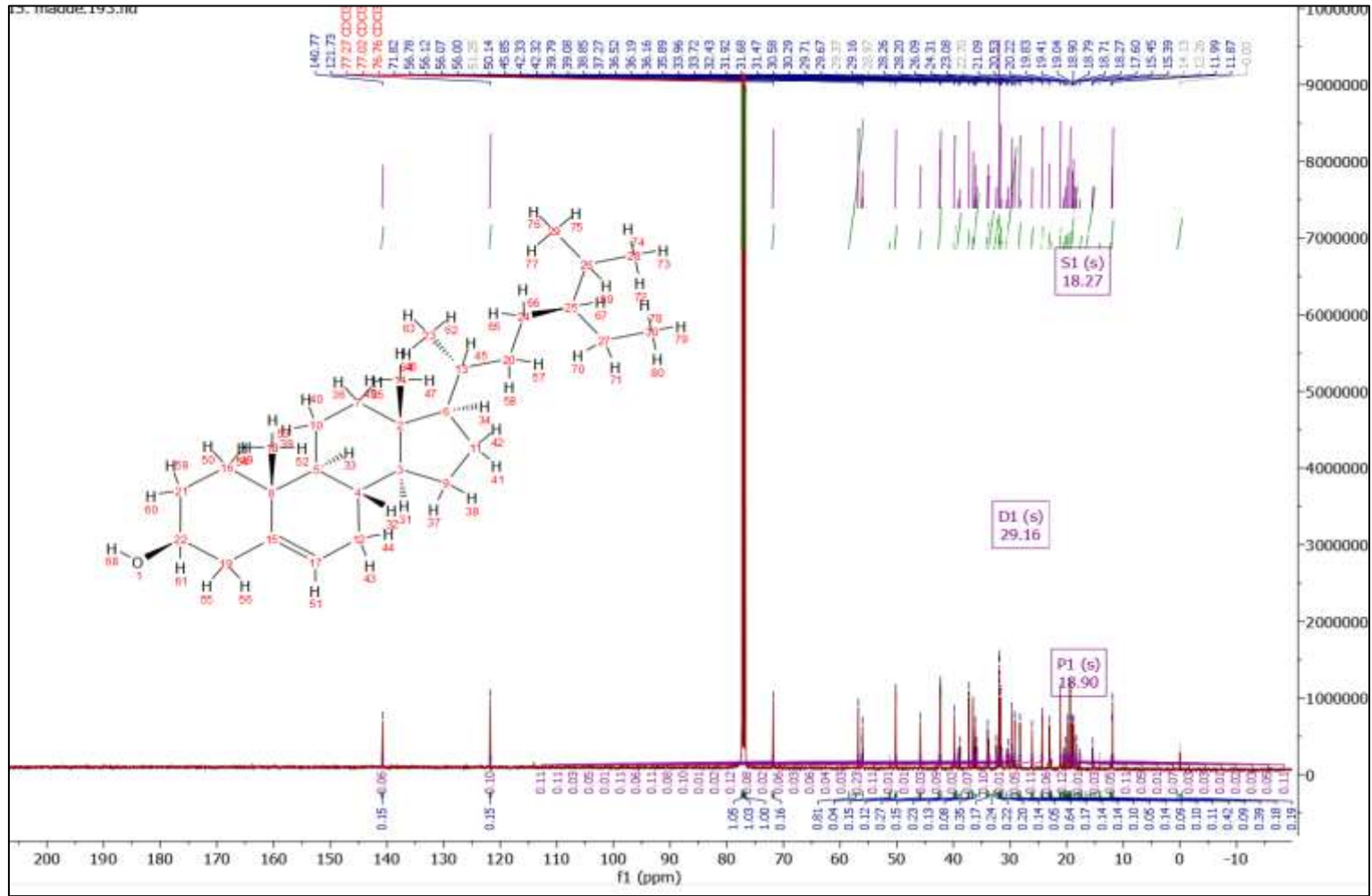
| Pozisyon                     | <sup>13</sup> C-NMR ( $\delta_C$ ppm) | <sup>1</sup> H-NMR ( $\delta_H$ ppm, <i>J</i> Hz) |
|------------------------------|---------------------------------------|---|
| 55                           |                                       | 2,30 (m, <i>J</i> : 13,0, 5,2, 2,2 Hz, 1H),       |
| 56                           |                                       | 2,23 (m, <i>J</i> : 13,2, 2,7 Hz, 1H),            |
| 44                           |                                       | 2,05 – 1,98 (m, 1H)                               |
| 40                           |                                       | 2,01 – 1,93 (m, 1H)                               |
| 50, 60 ve 42                 |                                       | 1,84 (m, <i>J</i> : 13,7, 6,2, 3,4 Hz, 3H)        |
| 36                           |                                       | 1,73 – 1,57 (m, 1H)                               |
| 69                           |                                       | 1,60 – 1,51 (m, 1H)                               |
| 43 ve 59                     |                                       | 1,54 – 1,45 (m, 2H)                               |
| 38                           |                                       | 1,48 – 1,40 (m, 1H)                               |
| 32, 39 ve 58                 |                                       | 1,40 – 1,19 (m, 3H)                               |
| 45 ve 34                     |                                       | 1,25 (s, 2H)                                      |
| 41, 37, 66 ve 70             |                                       | 1,22 – 1,02 (m, 4H)                               |
| 71, 65 ve 49                 |                                       | 1,01 (s, 3H)                                      |
| 62                           |                                       | 1,05 – 0,96 (m, 1H)                               |
| 31 ve 57                     |                                       | 0,98 – 0,91 (m, 2H)                               |
| 52 ve 53                     |                                       | 0,94 – 0,88 (m, 2H)                               |
| 78, 79, 80, 72, 75, 73 ve 74 |                                       | 0,90 – 0,78 (m, 7H)                               |
| 63 ve 64                     |                                       | 0,81 – 0,75 (m, 2H)                               |
| 46, 47 ve 48                 |                                       | 0,68 (s, 3H)                                      |



Şekil 4.35. L-10 kodlu bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu



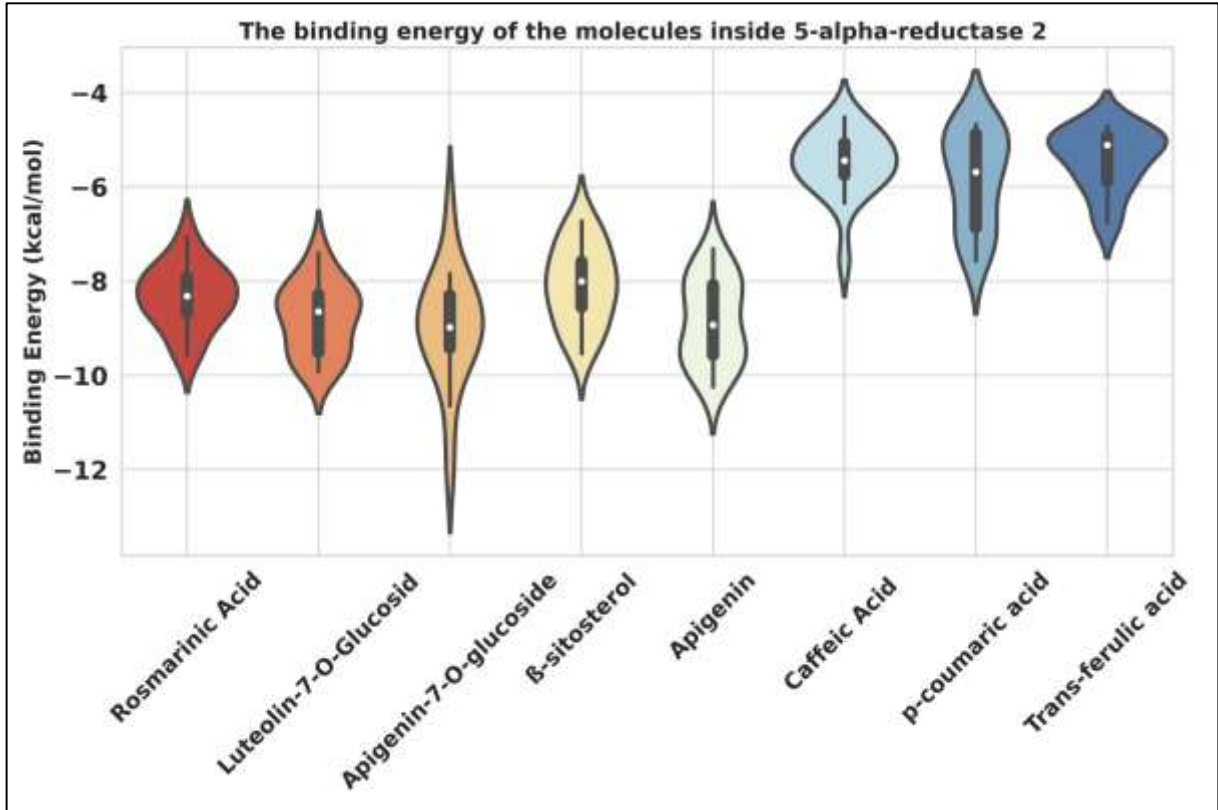
Şekil 4.36. L-10 kodlu bileşiğinin yaklaşıtırlmış  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Şekil 4.37. L-10 kodlu bileşiğinin yaklaşılmış ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

#### 4.11. İzole edilen bileşiklerin moleküler kenetlenme sonuçları

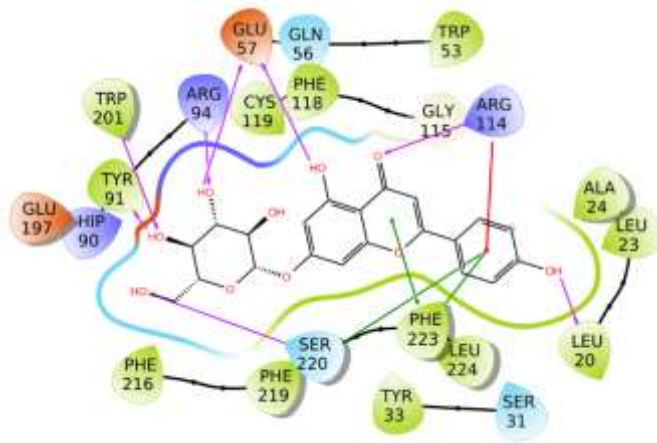
Şekil 4.38.'deki grafikte, izole edilen bileşiklerin moleküler kenetlenme sonuçları gösterilmektedir. Her bileşiğin birden fazla bağlanma enerjisine sahip olması, simülasyonlar sırasında indüklenmiş uygun kenetlenme (induced fit docking) yöntemindeki esnekliğe bağlanır ve çeşitli pozlar ve dolayısıyla farklı bağlanma skorlarına yol açar. Bu bulgular, tüm bileşiklerin proteinin aktif bölgesine bağlanma yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir. Diğer ligantlara kıyasla apigenin en düşük bağlanma enerjisi (yaklaşık olarak -11 kcal/mol) sergilemiştir.



Şekil 4.38. İzole edilen bileşiklerin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2'ye bağlanma enerjisi

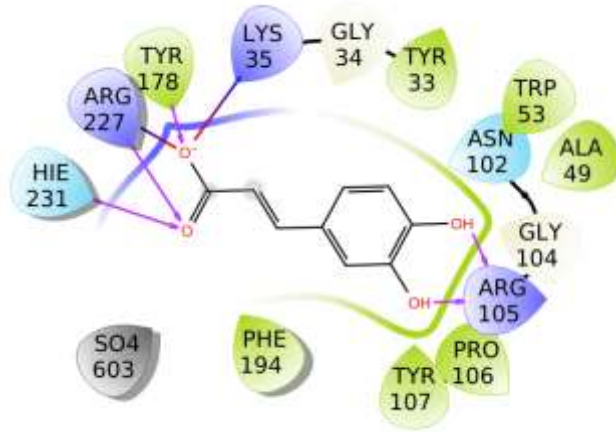
Şekil 4.39.'da apigenin bileşiğinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimin aktif bölgesi ile etkileşimini gösterilmektedir. Apigenin ve enzimin aktif bölgesi arasındaki hidrojen bağları diyagramda pembe çizgilerle gösterilmiştir. Arg 94, Glu 57, Arg 114, Cys 119, Tyr 91, Ser 31, Ser 220 gibi amino asitler ile apigenin arasında hidrojen bağları kurulmuştur. Hidrofobik etkileşimler, ligant ve protein arasındaki hidrofobik alanların etkileşimidir ve diyagramda yeşil renkle gösterilmiştir. Phe 223, Phe 118, Leu 23, Leu 20, Ala 24, Trp 53, Trp 201, Leu

224 gibi hidrofobik amino asitlerle etkileşimler görülmektedir. Apigeninin aromatik halkası ve protein içindeki aromatik amino asit birimleri arasında  $\pi$  - $\pi$  etkileşimi gözlenmiştir. Tyr 98, Phe 118, Trp 53, Tyr 33 gibi aromatik amino asitlerle  $\pi$  - $\pi$  etkileşimleri kurulmuştur. Şekildeki kırmızı çizgiler, apigenin ve protein arasındaki elektrostatik çekim veya itme kuvvetlerini göstermektedir. Yeşil çizgiler ise apigenin ile proteinin hidrofobik etkileşimlerini göstermektedir.



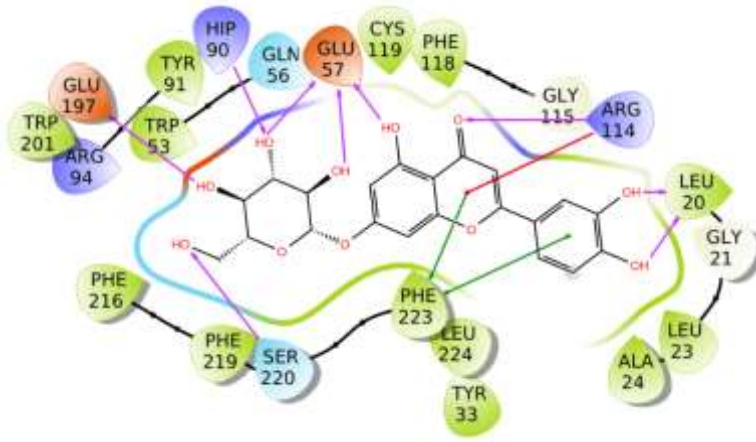
Şekil 4.39. Apigeninin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimine karşı olası bağlantı konformasyonu

Kafeik asit bileşiğinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimin aktif bölgesi ile etkileşimi şekil 4.40.'da gösterilmektedir. Kafeik asit ve enzimin aktif bölgesi arasındaki hidrojen bağları, şekilde pembe çizgilerle gösterilmiştir: Arg 227, Lys 35, His 231, Tyr 178, Gly 104 gibi amino asit kalıntıları ile kafeik asit arasında hidrojen bağları mevcuttur. Hidrofobik etkileşimler, ligandın hidrofobik kısımlarının enzimin aktif bölgesinin hidrofobik bölgeleriyle etkileşimde bulunduğunu gösterir ve şekilde yeşil renkle gösterilmiştir. Phe 194, Phe 216, Phe 219, Pro 106, Tyr 107 ve Ala 49 gibi hidrofobik amino asit kalıntıları ile etkileşimler gözlenmektedir. Kafeik asitin aromatik halkası ile protein içindeki aromatik amino asit birimleri arasında  $\pi$  - $\pi$  etkileşimi olduğu belirlenmiştir. Tyr 178, Tyr 33, Tyr 107 ve Tyr 91 gibi aromatik amino asit birimleri ile potansiyel etkileşimler olabilir. Şekildeki kırmızı çizgiler, kafeik asit ve enzimin aktif bölgesi arasındaki elektrostatik çekim veya itme kuvvetlerini göstermektedir. Yeşil çizgiler ise kafeik asit ile proteinin hidrofobik etkileşimlerini göstermektedir.



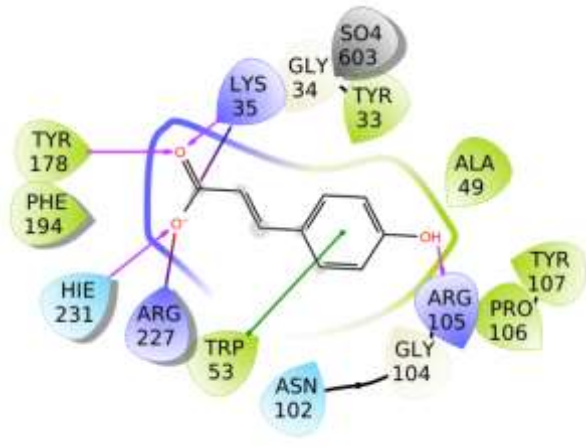
Şekil 4.40. Kafeik asidin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimine karşı olası bağlantı konformasyonu

Luteolin-7-*O*-glukozit bileşiğinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enziminin aktif bölgesi ile etkileşimi Şekil 4.41.'de gösterilmiştir. Luteolin-7-*O*-glukozit ve enzimin aktif bölgesi arasındaki hidrojen bağları pembe çizgilerle gösterilmiştir. Arg 94, Arg 114, Cys 119, Glu 57, Gln 56, Ser 220, Gly 115, Leu 20 gibi amino asit kalıntıları ile luteolin-7-*O*-glukozit arasında hidrojen bağları gözlenmektedir. Hidrofobik etkileşimler, ligandın hidrofobik kısımlarının proteinin hidrofobik bölgeleriyle etkileşimde bulunduğunu göstermektedir ve Şekil 4.41.'de yeşil renk ile gösterilmiştir. Phe 118, Phe 194, Phe 216, Phe 219, Phe 223, Leu 23, Leu 24, Leu 224, Trp 53, Trp 201 ve Tyr 33 gibi hidrofobik amino asit birimleri ile etkileşimler gözlenmektedir. Luteolin-7-*O*-glukozit'in aromatik halkası ile protein içindeki aromatik amino asit kalıntıları arasında  $\pi$ - $\pi$  etkileşimleri gözlenmiştir. Tyr 33, Tyr 91, Trp 53, Trp 201 ve Tyr 107 gibi aromatik amino asit birimleri ile potansiyel etkileşimler gözlenmiştir. Şekil 4.41.'deki kırmızı çizgiler, luteolin-7-*O*-glukozit ve protein arasındaki elektrostatik çekim veya itme kuvvetlerini gösterir. Şekil 4.41.'deki yeşil çizgiler, luteolin-7-*O*-glukozit ve protein arasındaki hidrofobik etkileşimleri göstermektedir.



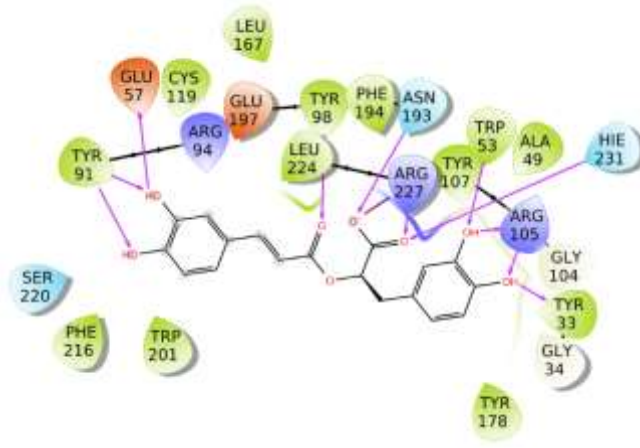
Şekil 4.41. Luteolin-7-*O*-glukozitin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimine karşı olası bağlantı konformasyonu

Enzimin aktif bölgesi ile *p*-kumarik asit bileşiğinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enziminin aktif bölgesi ile etkileşimi gösterilmektedir. Şekil 4.42.'de, *p*-kumarik asit ile enzimin aktif bölgesi arasındaki hidrojen bağları pembe çizgilerle gösterilmiştir. Bu bağlar, aşağıdaki amino asit birimleri ile *p*-kumarik asit arasında kurulmuştur. Arg 227, His 231, Lys 35, Tyr 178, Arg 105 ve Gly 104 gibi amino asit birimleri *p*-kumarik asit arasında hidrojen bağları gözlenmektedir. Hidrofobik etkileşimler, ligandın hidrofobik kısımlarının proteinin hidrofobik bölgeleriyle etkileşimde bulunmasını göstermektedir ve Şekil 4.42.'de yeşil renk ile gösterilmiştir. Phe 194, Phe 219, Trp 53, Tyr 107, Pro 106, Ala 49 ve Phe 216 gibi hidrofobik amino asit birimleri ile etkileşimler gözlenmektedir. Enzimin aktif bölgesi ile *p*-kumarik asidin aromatik halkası ile protein içindeki aromatik amino asit kalıntıları arasında  $\pi$ - $\pi$  etkileşimleri gözlenmiştir. Bu etkileşimlerin, Tyr 178, Tyr 107, Tyr 33 ve Tyr 91 aromatik amino asit birimleri arasında olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.42. *p*-Kumarik asidin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimine karşı olası bağlantı konformasyonu

Rozmarinik asit bileşiğinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enziminin aktif bölgesi ile etkileşimi Şekil 4.43.'te gösterilmektedir. Rozmarinik asit ile enzim aktif bölgesi arasındaki hidrojen bağları pembe çizgilerle gösterilmiştir. Hidrojen bağlarının Glu 57, Arg 94, Tyr 91, Arg 105, Arg 114, Arg 227 ve His 231 amino asit birimleri ile rozmarinik asit arasında olduğu saptanmıştır. Hidrofobik etkileşimler, ligandın hidrofobik kısımlarının enzimin hidrofobik bölgeleriyle etkileşimde bulunduğunu göstermektedir ve Şekil 4.43.'te yeşil renk ile gösterilmiştir. Phe 118, Phe 194, Phe 216, Phe 219, Phe 223, Leu 20, Leu 23, Leu 24, Leu 224, Trp 53 ve Trp 201 amino asit birimleri ile rozmarinik asit arasında hidrofobik etkileşimler kurulmuştur. Rozmarinik asidin aromatik halkası ile enzim içindeki aromatik amino asit birimleri arasında  $\pi$ - $\pi$  etkileşimleri olduğu tespit edilmiştir. Bu etkileşimler, Tyr 91, Tyr 107, Tyr 33 ve Tyr 178 aromatik amino asit birimleri ile rozmarinik asit arasında kurulmuştur.

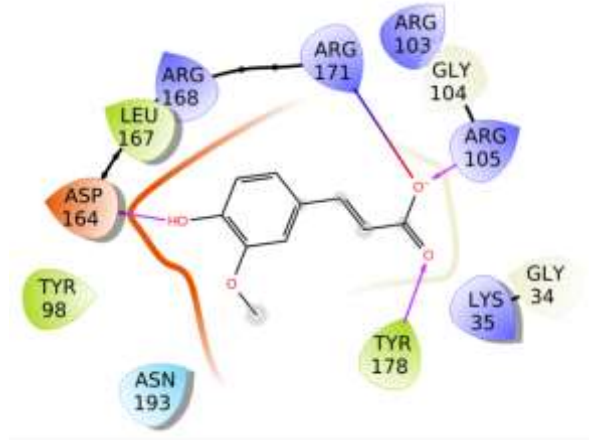


Şekil 4.43. Rozmarinik asidin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimine karşı olası bağlantı konformasyonu

$\beta$ -sitosterol bileşiğinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enziminin aktif bölgesi ile etkileşimi Şekil 4.44.'te gösterilmiştir.  $\beta$ -sitosterol ve enzim arasındaki hidrojen bağları pembe çizgilerle gösterilmiştir. Arg 227, His 231, Lys 35, Glu 57, Gly 115, Tyr 91, Arg 105 ve Ser 31 gibi amino asit birimleri ile  $\beta$ -sitosterol arasında hidrojen bağları olduğu gözlenmiştir. Hidrofobik etkileşimler, ligandın hidrofobik kısımlarının proteinin hidrofobik bölgeleriyle etkileşimde bulunmasını göstermektedir. Bu tür etkileşimler Şekil 4.44.'te yeşil renk ile gösterilmiştir. Phe 118, Phe 194, Phe 216, Phe 219, Phe 223, Leu 20, Leu 23, Leu 24, Leu 224, Trp 5 ve Trp 201 gibi hidrofobik amino asit birimleri ile etkileşimler görülmüştür.  $\beta$ -sitosterolün aromatik halkası ile protein içindeki aromatik amino asit birimleri arasında  $\pi$ - $\pi$  etkileşimleri kurulmuştur. Tyr 91, Tyr 107, Tyr 33 ve Tyr 178 gibi aromatik amino asitlerle de etkileşimler meydana gelmiştir.

*Trans*-ferulik asit bileşiğinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enziminin aktif bölgesi ile etkileşimi Şekil 4.45'te gösterilmiştir. Şekilde, *trans*-ferulik asit ve enzim arasındaki hidrojen bağları pembe çizgilerle gösterilmiştir. Asp 164, Lys 35, His 231, Tyr 178, Tyr 91, Glu 57, Arg 94, Arg 114, Gly 115, Arg 105 ve Arg 227 gibi amino asit birimleri ile *trans*-ferulik asit arasında hidrojen bağları kurulmuştur. Hidrofobik etkileşimler, ligandın hidrofobik kısımlarının proteinin hidrofobik bölgeleriyle etkileşimde bulunmasını göstermektedir. Bu tür etkileşimler Şekil 4.45'te yeşil renk ile gösterilmiştir. Phe 118, Phe 194, Phe 216, Phe 219, Phe 223, Leu 20, Leu 23, Leu 24, Leu 224, Trp 53, Trp 201 ve Tyr 33 gibi hidrofobik amino asit birimleri ile etkileşimler gösterilmiştir. *Trans*-ferulik asitin

aromatik halkası ile protein içindeki aromatik amino asit birimleri arasında  $\pi$ - $\pi$  etkileşimleri gösterilmiştir. Tyr 178, Tyr 107, Tyr 91 ve Tyr 33 gibi aromatik amino asitlerle de etkileşimler meydana gelmiştir.



Şekil 4.44. *Trans*-ferulik asidin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip 2 enzimine karşı olası bağlantı konformasyonu

## 5. TARTIŞMA

AGA, saç dökülmesinin yaygın bir türüdür ve hem erkeklerde hem de kadınlarda sıkça görülmektedir. Genetik yatkınlık ve androjen hormonlarının etkisiyle ortaya çıkan bu durum, pek çok bireyin hayat kalitesini etkileyebilmektedir. Testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibitörleri, AGA ve BPH tedavisinde kullanılan önemli bir ilaç sınıfıdır. Bu ilaçlar, testosteronun daha güçlü bir androjen olan dihidrotestosterona dönüşümünü engelleyerek saç dökülmesini azaltmayı hedeflemektedir. Bu inhibitörlerin AGA tedavisinde etkinliği, çeşitli klinik çalışmalarla gösterilmiştir. Finasterit ve dutasterit gibi ilaçlar, saç dökülmesini azaltmada ve saç gelişimini teşvik etmede etkili bulunmuştur. Ancak testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibitörlerinin kullanımında, yan etkiler ve güvenlik önemli konular olarak göze çarpmaktadır. Bu ilaçlar genellikle iyi tolere edilse de cinsel istek kaybı, erektil disfonksiyon ve jinekomasti gibi yan etkiler rapor edilmiştir. Bahsi geçen yan etkilerin, bu ilaçların uzun süreli kullanımı ile ortaya çıkma olasılığı artmaktadır (Al Najjar ve diğerleri, 2023; Yorulmaz, 2016).

Bitkiler, binlerce yıldır çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan doğal kaynaklar olmuştur ve günümüzde de ilaç keşfi için önemli bir potansiyel sunmaktadırlar. Bitkiler, zengin biyolojik çeşitlilikleri, geleneksel kullanım bilgisi, doğal kimyasal çeşitlilik ve biyoaktif bileşiklerin varlığı nedeniyle, potansiyel yeni ilaç adaylarının keşfinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu doğal kaynaklar, ilaç keşfi ve geliştirme sürecinde hem ilham kaynağı hem de doğrudan kaynak olarak hizmet edebilmektedir. Bu nedenle, bitkilerin tıbbi potansiyelini anlamak ve keşfetmek, yeni ve etkili tedavi seçenekleri geliştirmek için kritik öneme sahiptir. AGA tedavisine yönelik olarak, bitkisel ekstraktlar ve uçucu yağlar üzerindeki araştırmalar da alternatif bir yaklaşım olarak dikkat çekmektedir. *Serenoa repens* (W.Bartram) Small, *Panax ginseng* C.A.Mey., *Curcuma aeruginosa* Roxb., *Cucurbita pepo* L. ve *Trifolium pratense* L. gibi bitkiler, doğal kaynaklı testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibitörleri olarak bildirilmiştir. Bunun yanı sıra, kekik yağı ve biberiye yağı gibi uçucu yağların, saç büyümesini teşvik etme potansiyeline sahip oldukları gösterilmiştir. Bitkisel tedaviler genellikle yan etkileri azaltmak ve doğal bir alternatif sunmak amacıyla son zamanlarda pek çok hastalığın tedavisinde tercih edilmektedir (Feldman ve diğerleri, 2023; Karaca ve diğerleri, 2019; Nestor ve diğerleri, 2021).

Androjenetik alopezi tedavisi için yeni molekül araştırmalarında hem *in vitro* hem de *in vivo* modeller ve test yöntemleri kullanılmaktadır. *In vitro* yöntemler olarak; hücre kültürü çalışmaları, enzim aktivite testleri, hormon seviyesi ve reseptör analizleri kullanılmaktadır. Hücre kültürü çalışmalarında, saç folikülündeki dermal papilla hücreleri ve keratinosit hücrelerinin proliferasyonu ve diferansiyasyonu değerlendirilmektedir. Enzim aktivite çalışmalarında, saç dökülmesinde rol oynayan testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enziminin inhibe edilip edilmediğini belirlemek için enzimin aktivitesi ölçülmektedir. Hormon seviyesi ve reseptör analizlerinde ise, etkisi araştırılan molekülün androjen reseptörleri üzerindeki etkisini incelemek için androjen reseptör aktivitesi ölçülmektedir. Ayrıca molekülün, saç dökülmesine neden olabilecek hormonların salgılanmasını etkileyip etkilemediğini değerlendirmek için hormon seviyesi analizleri yapılabilmektedir.

*In vivo* yöntemler olarak; etki, cilt irritasyon ve duyarlılık testleri yapılabilmektedir. AGA araştırmalarında yaygın olarak fare, sıçan veya kobay kullanılan *in vivo* modeller, yeni molekülün saç oluşumu üzerindeki etkisini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Bu amaçla spesifik olarak, androjen uygulanan fare modeli veya genetik olarak değiştirilmiş fare modelleri kullanılabilir. Kobayların saç dökülme modeli, insanlardaki saç dökülmesine benzediğinden kobaylar sıkça kullanılmaktadır. Etkisi araştırılan ekstrenin veya molekülün ciltte herhangi bir tahrişe neden olup olmadığını değerlendirmek için, cilt irritasyon testleri yapılabilmektedir. Aynı şekilde, ciltte duyarlılık reaksiyonlarına yol açıp açmadığını değerlendirmek için duyarlılık testleri yapılabilmektedir (Amaral ve diğerleri, 2013; İltaf ve diğerleri, 2021; Lao ve diğerleri, 2022; Pérez-Ornelas ve diğerleri, 2005).

Bu tez kapsamında, AGA tedavisinde kullanılabilir bitkisel kökenli ekstre ve moleküllerin araştırılması amacıyla *in vitro* modeller kullanılmıştır. *In vitro* modellerde, testosteronun DHT'ye dönüşümünde rol oynayan testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve AGA oluşumunu destekleyen etkenlerden biri olarak kabul edilen enflamasyona neden olan LOX enziminin inhibisyonları incelenmiştir. Tezimizde, örneklerin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibisyon aktivitelerini değerlendirmek için referans bileşik olarak finasterit, LOX inhibisyon aktivitelerini değerlendirmek için ise baikalein referans bileşik olarak kullanılmıştır.

*L. stoechas*, *L. × intermedia* ve diğer *Lavandula* türlerinin toprak üstü, çiçek, yaprak kısımlarının saç çıkmasını veya uzamasını tetiklediğine ve saç dökülmesini engellediğine

dair deęişik ülkelerde etnofarmakolojik kayıtlar bulunmaktadır (Bouhlal ve dięerleri, 2014; Neves ve dięerleri, 2009; Pundkar ve dięerleri, 2020; Zgonc Škulj ve dięerleri, 2020).

Literatürde, *Lavandula* türleri arasında yalnızca *L. angustifolia* Mill.'in saç dökülmesine karşı *in vivo* etkisini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmada, dişi C57BL/6 farelerinde *L. angustifolia*'dan elde edilen uçucu yağın saç uzaması üzerindeki etkileri incelenmiştir. Pozitif kontrol olarak %3 minoksidil ve test bileşiği olarak jojoba yağı içerisinde çözülmüş %3'lük ve %5'lik uçucu yağ kullanılmıştır. Bulgular, *L. angustifolia* uçucu yağının saç uzamasını teşvik edici bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (B. H. Lee ve diğerleri, 2016). Bir diğer çalışmada, alopezi areata hastalarının tedavisinde, yine *L. angustifolia* uçucu yağının etki olup olmadığı incelenmiştir. Çalışmaya alopezi areata tanısı koyulmuş 86 hasta katılmıştır. Bu randomize, çift kör, kontrollü çalışmada, 3 ve 7 aylık takipler yapılmıştır. Tedavi sonunda, aktif gruptaki hastaların %44'ünde iyileşme görülmüştür (Hay ve diğerleri, 1998). Ancak geniş kapsamlı literatür araştırmamıza göre, hiçbir *Lavandula* türünün *in vitro* olarak testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimine karşı etkisini inceleyen bir çalışma bulunamamıştır. Literatürde bulunan ve yukarıda da bahsedilen çalışmalar, yalnızca *Lavandula* cinsinden elde edilen uçucu yağlar ile yapılmıştır. *L. stoechas* ve *L. × intermedia*'dan hazırlanan ekstrelerin AGA tedavisi üzerindeki etkisi *in vitro* olarak testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimi inhibisyonu üzerinden ilk kez bu doktora tezi kapsamında incelenmiştir.

Literatür tarama çalışmalarımız sonucunda, özellikle *Lavandula* ve *Urtica* türlerinin halk ilacı olarak saç dökülmesini engellemek için kullanıldığı belirlenmiştir. Bu nedenle, tezimizin ön tarama çalışmalarına *L. stoechas* ve *L. × intermedia*'nın yanısıra, *U. dioica* ile *U. urens* ve yine halk arasında saç dökülmesine karşı kullanıldığı kaydedilen *J. regia* ve *C. avellana* da dahil edilmiştir. Bu türlerin MeOH'lü ekstreleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, her iki enzim sisteminde de en yüksek inhibisyon *L. stoechas* ve *L. × intermedia* türlerinde ve bunlardan elde edilen uçucu yağlarda gözlemlenmiş, bu nedenle ileri çalışmalarımız bu iki bitki türü üzerinde sürdürülmüştür. Yukarıda da bahsedildiği gibi, tıbbi bitkilerde daha önce gerçekleştirilen testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz aktivite çalışmaları incelendiğinde, bu iki *Lavandula* türünde ve ayrıca hiçbir *Lavandula* türünde de herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. İlk ön tarama çalışmaları sonucunda, iki ekstrenin de testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimini güçlü şekilde inhibe ettiği tespit edilmiştir. LOX enzimine

karşı ise orta derecede inhibisyon göstermişlerdir. LİHME (*L. × intermedia* toprak üstü MeOH ekstresi) ve LSHME (*L. stoechas* toprak üstü MeOH ekstresi) ekstrelerinin 59 µg/ml final konsantrasyondaki testosteron-5α-redüktaz enzim inhibisyonları sırasıyla %76,49 ± 0,02 (IC<sub>50</sub>: 32,92 ± 0,01 µg/ml) ve 93,73 ± 0,47 (IC<sub>50</sub>: 20,47 ± 0,01 µg/ml) olarak bulunmuş ve referans olarak kullanılan finasterit ise %76,25 ± 0,03 (IC<sub>50</sub>: 0,41 ± 0,02 µM, IC<sub>50</sub>: 0,15 ± 0,01 µg/ml) oranında inhibitör etki oluşturmuştur. LOX'a karşı LİHME ve LSHME'nin inhibisyon değerleri, 200 µg/ml final konsantrasyonda, sırasıyla, %48,12 ± 2,12 ve %57,34 ± 1,72 (IC<sub>50</sub>: 165,92 ± 2,14 µg/ml) olarak bulunmuştur. Referans bileşik olarak kullanılan baikaleinin LOX inhibitör etkisi ise %81,65 ± 2,71 (IC<sub>50</sub>: 12,8 ± 0,42 µg/ml) olarak bulunmuştur. Çalışılan iki ekstrenin her iki enzime karşı etkileri değerlendirildiğinde, en yüksek aktiviteye LSHME ekstresinin sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

*L. stoechas* ve *L. × intermedia*'dan Clevenger cihazı kullanılarak, Avrupa Farmakopesinde tanımlanan yöntemle göre uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağların verimi sırasıyla %0,92 ve %2,28 olarak belirlenmiştir. Uçucu yağların her iki enzim sistemine karşı inhibitör etkileri ve antioksidan aktiviteleri yüksek bulunduğundan GC-MS yöntemi ile analizleri yapılmıştır. *L. stoechas* uçucu yağında en yüksek oranda bulunan bileşenler; %38,5 kâfur, %23,0 α-fenkon ve %8,0 m-ksilen'dir. *L. × intermedia* uçucu yağında en yüksek oranda bulunan bileşenlerin ise; %41,4 linalol, %13,7 kâfur ve %7,0 linalil asetat olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin testosteron-5α-redüktaza karşı aktivitelerine dair literatürde herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Bazı *Lavandula* türlerinden elde edilen uçucu yağların LOX enzim inhibisyonunun değerlendirildiği bir çalışmada, *L. angustifolia*, *L. stoechas* ve *L. heterophylla* uçucu yağlarının 20 µg/ml konsantrasyonda ve ana bileşenleri olan linalol ve kâfurun *in vitro* LOX enzim inhibisyon potansiyelleri ise 5 µg/ml konsantrasyonda gerçekleştirilmiştir. *L. angustifolia*, *L. stoechas* ve *L. × heterophylla* uçucu yağlarının LOX inhibisyonları sırasıyla %79,0, %49,1 ve %86,7 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, linalol ve kâfurun LOX inhibisyonunun sırasıyla %92,0 ve %67,2 olduğu görülmüştür. İlk bulguların sonucunda, güvenli kullanımını onaylamak için daha detaylı *in vivo* çalışmaların yapılması gerektiği vurgulanmıştır (Biltekin ve diğerleri, 2022). *L. angustifolia* Chaix.'in toprak üstü kısımlarından hazırlanan MeOH'lü ekstrenin 12-15 LOX enzimine karşı IC<sub>50</sub> değeri 329,48 ± 44,77 µg/ml olarak belirlenmiştir. Aynı ekstrenin DPPH radikalini süpürme kapasitesi konsantrasyon-bağımlı olarak belirlenmiş ve EC<sub>50</sub> değerinin 100 µg/ml'nin üzerinde olduğu saptanmıştır. Referans olarak kullanılan kersetinin EC<sub>50</sub> değeri ise 2,92 ± 8,54 µg/ml olarak belirlenmiştir (Şener ve diğerleri, 2024). Literatür çalışmalarında *L. stoechas* uçucu

yağlarının içeriğinde genellikle en yüksek oranda bizim çalışmamızda da olduğu gibi kâfur bulunmaktadır (Mokhtarzadeh ve diğerleri, 2019).

Dermal papilla hücrelerinde artan oksidatif stres, saç gelişimini ve uzamasını engelleyebilmektedir. AGA hastalarında antioksidan savunma mekanizmalarının azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, hücrelerin oksidatif stresle başa çıkma yeteneğini zayıflatarak, saç dökülmesinin hızını artırabilir. Oksidatif stresin saç dökülmesi üzerindeki etkisi, ROS'nin saç foliküllerine ve saç köklerine zarar vererek saç gelişimini etkilemesiyle ilgilidir. ROS'un lipit peroksidasyonu ve DNA hasarı gibi hücresel bileşenler üzerindeki zararları, saç folikül hücrelerinin sağlığını ve fonksiyonlarını bozabilir. Ayrıca, oksidatif stresin saç dökülmesine katkıda bulunabileceği düşünülen başka bir mekanizma, oksidatif stresin iltihaplanma süreçlerini tetikleyerek veya bu süreçleri artırarak saç foliküllerinin fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemesidir. İltihaplanma, saç folikülleri ve saç köklerinde hasara yol açarak saç dökülmesini hızlandırabilir (Sung ve diğerleri, 2006; Upton ve diğerleri, 2015). Bu nedenle, oksidatif stresin saç dökülmesi üzerindeki etkilerini anlamak ve önlemek için, antioksidanlar gibi oksidatif stresi azaltıcı tedavilerin kullanılması önemlidir. Bu amaçla, tezimizde DPPH radikal süpürücü aktivite, FRAP ve metal-şelasyon kapasite testleri hem ekstreler hem de uçucu yağlar için uygulanmıştır.

LİHME ve LSHME ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri incelendiğinde, DPPH radikal süpürücü aktivite en fazla LİHME ekstresinin sahip olduğu (%88,33 ± 0,09; 2 mg/ml), LSHME ekstresi ise (%82,71 ± 0,76; 2 mg/ml) süpürücü aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağların antioksidan aktivitesi de oldukça yüksek bulunmuştur. *L. × intermedia*'dan elde edilen uçucu yağın DPPH radikal süpürücü aktivitesi (%89,25 ± 0,43; 2 mg/ml) ve *L. stoechas*'tan elde edilen uçucu yağın etkisi ise (%86,93 ± 0,42; 2 mg/ml) olarak bulunmuştur. Her bir ekstre ve uçucu yağ konsantrasyon-bağımlı antioksidan aktivite göstermiştir. Referans bileşik kersetinin ise aynı konsantrasyonda %95,43 ± 0,19 inhibisyon gösterdiği bulunmuştur. Ekstrelerin FRAP değerleri kıyaslandığında, LİHME ekstresinin (1,06 ± 0,18; 2 mg/ml) en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği, ardından LSHME ekstresinin (1,03 ± 0,01; 2 mg/ml) etki gösterdiği tespit edilmiştir. Uçucu yağların indirgeme güçlerinin ise ekstrelerden daha yüksek olduğu bulunmuştur. *L. × intermedia*'dan elde edilen uçucu yağın FRAP değeri 1,27 ± 0,01; 2 mg/ml; *L. stoechas*'tan elde edilen uçucu yağın değeri ise 1,26 ± 0,05; 2 mg/ml olarak bulunmuştur. Ekstreler ve uçucu yağ konsantrasyon-

bağımlı antioksidan aktivite göstermiştir. Referans bileşik kersetinin ise aynı konsantrasyonda  $1,98 \pm 0,02$  absorbansa sahip olduğu bulunmuştur. Ekstrelerin ve uçucu yağların metal-şelasyon kapasitesi değerlendirildiğinde, yalnızca LİHME'nin aktivite gösterdiği ( $\%21,07 \pm 3,30; 2 \text{ mg/ml}$ ) ve referansa oranla düşük şelasyon kapasitesine sahip olduğu saptanmıştır. Referans bileşik olarak kullanılan EDTA ise aynı konsantrasyonda  $\%94,75 \pm 0,13$  etki göstermiştir. Literatürde *L. × intermedia* ve *L. stoechas*'ın antioksidan çalışmalarına dair bulgular, tez çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz antioksidan aktivite çalışmaları ile tutarlılık göstermektedir (Kıvrak, 2018; Torras-Claveria ve diğerleri, 2007).

*L. stoechas*'ın MeOH ekstresinde başlıca fenolik bileşenler rutin, rozmarinik asit ve kafeik asit olarak belirlenmiştir. Bir başka çalışmada ekstrenin toplam fenolik içeriği  $105,5 \pm 2,7$  mg gallik asit eşdeğeri olarak tespit edilmiştir (Ceylan ve diğerleri, 2015). Ekstrelerimizin toplam fenol içerikleri değerlendirildiğinde, LSHME ekstresinin en yüksek fenol miktarına ( $83,54 \pm 0,20$  mg GAE/g ekstre) sahip olduğu, LİHME ekstresinin toplam fenol miktarının ise daha düşük ( $27,32 \pm 0,71$  mg GAE/g ekstre) olduğu tespit edilmiştir. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda, LSHEAE ( $451,40 \pm 16,82$  mg GAE/g ekstre) ve LİHEAE'nin ( $154,06 \pm 0,12$  mg GAE/g ekstre) toplam fenol içeriği belirlenmiştir. Ekstreler ve alt ekstreler arasında en yüksek toplam fenol içeriği LSHEAE'ye aittir. Toplam flavonoit içerikleri açısından, LSHME ana ekstresi ( $42,74 \pm 0,72$  mg KE/g ekstre) en yüksek miktara sahiptir. LİHME ana ekstresinin ise daha düşük miktarda ( $22,03 \pm 1,90$  mg KE/g ekstre) toplam flavonoit içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sonucunda, LSHEAE'nin toplam flavonoit içeriği  $192,93 \pm 3,2$  mg KE/g ekstre ve LİHEAE'nin  $59,25 \pm 2,94$  mg KE/g ekstre olarak belirlenmiştir. Buna göre, ekstreler ve alt ekstreler arasında en yüksek toplam flavonoit içeriğinin LSHEAE'ne ait olduğu tespit edilmiştir. Ekstreler üzerinde gerçekleştirilen *in vitro* çalışmaların sonuçları incelendiğinde, her iki enzim deneyinde de LSHME ana ekstresinin en yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu nedenle, aktivite-yönlendirmeli izolasyon çalışmalarımız bu ekstre üzerinden devam etmiştir. MeOH ekstresi, nonpolardan polara doğru giden çözücülerle (*n*-hekzan, DCM, EtOAc, suyla doyurulmuş *n*-butanol) sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen 5 alt ekstre (*n*-hekzan, DCM, EtOAc, *n*-butanol ve kalan su alt ekstreleri) içinde, EtOAc alt ekstresi testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ( $IC_{50}$ :  $30,19 \pm 0,01$   $\mu\text{g/ml}$ ) ve LOX'a ( $IC_{50}$ :  $148,04 \pm 1,94$   $\mu\text{g/ml}$ ) karşı yüksek inhibitör etki göstermiştir. Bu nedenle, EtOAc alt ekstresi, bir dizi kolon kromatografisi işlemine (silika jel, Sefadex LH-20 ve RP-18 dolgu maddeleri

kullanılarak) tabii tutularak aktiviteden sorumlu olan etkili bileşiklerin izolasyonu için daha ileri çalışılmıştır.

Kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar her aşamada her iki enzime karşı inhibitör aktiviteleri açısından test edilmiştir. Sorumlu bileşik veya bileşiklerin tespiti için hangi fraksiyondan izolasyon çalışmalarına devam edilmesi gerektiğine karar verilmiştir. Sonuç olarak, 7 adet bileşik izole edilmiş, yapılarına NMR ve kütle spektrometresi teknikleri ile ışık tutulmuş ve bileşiklerin doğruluğu standartlar ile birlikte HPLC'de kıyaslanarak teyit edilmiştir. Spektroskopik bulgulara göre, bileşiklerin luteolin-7-*O*-glukozit (L-1 kodlu bileşik), apigenin (L-2 kodlu bileşik), *trans*-ferulik asit (L-3 kodlu bileşik), rozmarinik asit (L-5 kodlu bileşik), kafeik asit (L-6 kodlu bileşik), *p*-kumarik asit (L-7 kodlu bileşik) ve  $\beta$ -sitosterol (L-10 kodlu bileşik) olduğu belirlenmiştir. Literatür taramaları sonucunda, bu bileşiklerin *L. stoechas* bitkisinden daha önce izole edildiği görülmüştür (Celep ve diğerleri, 2018; Karabagias ve diğerleri, 2019; Sriti ve diğerleri, 2022; Tayarani-Najaran ve diğerleri, 2021). İzole edilen bileşikler, her iki enzime karşı *in vitro* aktivite testlerine tabii tutulmuştur. L-1 kodlu bileşik, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz (final konsantrasyon 59  $\mu$ g/ml olacak şekilde) ve LOX (final konsantrasyon 200  $\mu$ g/ml olacak şekilde) karşısında, sırasıyla, %52,74  $\pm$  0,01 (IC<sub>50</sub>: 48,85  $\pm$  0,02  $\mu$ g/ml) ve %13,93  $\pm$  1,01 inhibisyon oranlarına sahiptir. L-2 kodlu bileşik için bu değerler sırasıyla %72,75  $\pm$  0,01 (IC<sub>50</sub>: 37,21  $\pm$  0,02  $\mu$ g/ml) ve %46,41  $\pm$  2,21'dir. L-3 kodlu bileşik için ise sırasıyla %64,76  $\pm$  0,01 (IC<sub>50</sub>: 28,65  $\pm$  0,02  $\mu$ g/ml) ve %78,42  $\pm$  1,04 (IC<sub>50</sub>:131,73  $\pm$  1,63  $\mu$ g/ml) olarak bulunmuştur. L-5 kodlu bileşik için sırasıyla %66,19  $\pm$  0,01, I (IC<sub>50</sub>: 43,17  $\pm$  0,01  $\mu$ g/ml) ve %22,73  $\pm$  1,63'tür. L-6 kodlu bileşik için sırasıyla %49,13  $\pm$  0,01 ve %43,03  $\pm$  0,53'tür. L-7 kodlu bileşik için ise sırasıyla %99,21  $\pm$  0,01 (IC<sub>50</sub>: 4,82  $\pm$  0,01  $\mu$ g/ml) ve %13,26  $\pm$  2,62'dir. L-10 kodlu bileşik için bu oranlar sırasıyla %57,32  $\pm$  0,01 (IC<sub>50</sub>: 48,98  $\pm$  0,02  $\mu$ g/ml) ve %46,42  $\pm$  1,28 olarak belirlenmiştir. L-2 ve L-7 kodlu bileşikler, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaza karşı, izole edildiği EtOAc alt ekstresinden daha yüksek oranda inhibitör aktivite göstermiştir. L-2 ve L-7 kodlu bileşiklerin ana ekstredeki miktarları, YPSK ile belirlenmiş ve sırasıyla %0,23  $\pm$  0,01 ve %0,81  $\pm$  0,000 olarak bulunmuştur. LOX'a karşı ise yalnızca L-3 kodlu bileşik LSHEAE'dan daha yüksek aktivite göstermiştir. L-3 kodlu bileşiğin LSHME ekstresindeki miktarı ise YPSK ile %0,38  $\pm$  0,00 olarak belirlenmiştir. Literatür verileri incelendiğinde, bugüne kadar testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX enzim inhibisyonları açısından *L. stoechas* üzerinde aktivite-yönlendirmeli izolasyon çalışmalarının yapılmadığı ve tez çalışmamızda kullandığımız iki enzim modelini de içeren

AGA tedavisi için herhangi bir çalışmanın yürütülmediği görülmüştür.  $\beta$ -Sitosterol *Serenoa repens*, *Hypoxis hemerocallidea*, *Secale cereale*, *Urtica dioica* ve *Prunus africana* gibi birçok bitkiden daha önce izole edilmiştir. PC-3 (bir prostat kanseri hücre hattı) üzerinde yapılan bir çalışmada,  $\beta$ -sitosterol'ün tip I ve II testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enzimlerini inhibe ettiği, IC<sub>50</sub> değerinin ise 2,7  $\mu$ M olduğu bulunmuştur (Azizi ve diğerleri, 2021). *In vitro* ve *in vivo* olarak gerçekleştirilen bir başka çalışmada, *Uvaria rufa* Blume'nin toprak üstü kısımlarının EtOAc'lı ekstresinin benign prostat hiperplazisi (BPH) üzerindeki potansiyel terapötik etkileri değerlendirilmiştir. Araştırmada, ekstrenin testosteron 5 $\alpha$ -redüktazı inhibe edebilme kapasitesi özel olarak incelenmiş ve IC<sub>50</sub> değeri 46,65  $\pm$  3,11  $\mu$ g/ml, referans ilaç olarak kullanılan finasteritin IC<sub>50</sub> değeri ise 26,58  $\pm$  0,17  $\mu$ g/ml olarak belirlenmiştir. Yapılan YPSK analizinde, ekstre içerisindeki miktarı 69,67  $\pm$  12,36  $\mu$ g/g olarak belirlenmiş ve ekstrenin önemli bir bileşeni olarak  $\beta$ -sitosterol tanımlamıştır. Çalışma sonucunda testosteron 5 $\alpha$ -redüktaz enzim inhibisyonunun major bileşik olarak bulunan  $\beta$ -sitosterolden kaynaklanabileceğine dair yorum yapılmıştır (Buncharoen ve diğerleri, 2016). Başka bir çalışmada, *Eclipta alba*'nın petrol eteri ve MeOH ekstresinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibisyonu *in vitro* yöntemle incelenmiştir. Ekstrelerin YPSK analizlerine göre, petrol eteri ekstresi %0,11 oranında  $\beta$ -sitosterol içermekteyken, MeOH ekstresi daha yüksek bir konsantrasyonda (%4,75) içermektedir. Bu bitki ekstrelerinin enzim inhibisyon aktivitesi, referans olarak kullanılan finasterit ile karşılaştırılmıştır. *E. alba*'nın petrol eteri ekstresi, MeOH ekstresi ve  $\beta$ -sitosterol için IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 150,76  $\pm$  4,56, 215,87  $\pm$  2,92 ve 77,09  $\pm$  3,07  $\mu$ g/ml; referans ilaç olan finasteridin IC<sub>50</sub> değeri ise 0,246  $\pm$  0,02  $\mu$ g/ml olarak belirlenmiştir (Chakraborty ve diğerleri, 2023).

Birçok bitkinin aktif bileşenleri olan flavonoidlerin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz üzerine etkisi hakkında yapılan bir çalışmada, tip I 5 $\alpha$ -redüktaz inhibitörlerinde bulunan kateşol grubunun, bu flavonoidlerin etkisine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Herman ve diğerleri, 2016). Mirisetin, kersetin, baikalein ve fisetin gibi flavonoidler, tip I 5 $\alpha$ -redüktazı etkili bir şekilde inhibe etmektedir. Aynı çalışmada, biokanin A, daidzein, genistein ve kemferol ise tip II 5 $\alpha$ -redüktaz inhibitörleri olarak belirlenmiştir. Doğal polifenolik bileşikler olan alizarin ve kafeik asit fenetil ester de tip I'de daha etkili 5 $\alpha$ -redüktaz inhibitörleri olarak bildirilmiştir. Östrojenler ve antiandrojenler, insan saç foliküllerinin DPC'leri ve dış kök kılıf keratinositlerinde doza bağlı olarak saç uzamasını teşvik eder. Kadın tipi AGA tedavisinde, androjene duyarlı bölgelerde topikal östrojen uygulaması telojen fazdaki saç oranını azaltmakta ve saç foliküllerinin anajen fazını uzatmaktadır. 17- $\beta$ -Östradiolün, kemoterapiye

bağlı saç dökülmesi sonrası saçın yeniden uzamasını desteklediğine dair çalışma bulunmaktadır. Ancak bazı çalışmalar, östrojenlerin insan saç uzamasını inhibe ettiğini göstermiştir. Örneğin, farelerin tıraşlı dorsal cildine 17- $\beta$ -östradiol uygulanması, saç foliküllerini telojen aşamasında durdurmuş ve saç uzamasını uzun süreli olarak engellemiştir (Herman ve diğerleri, 2016).

Moleküler kenetlenme, bir ligandın bir hedef proteine (genellikle bir enzim) bağlanma şeklini ve potansiyel etkileşimlerini modellemek için kullanılan bir hesaplama yöntemidir ve ilaç tasarımı ve biyolojik süreçlerin anlaşılması gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Ligantlar, genellikle bir hedef proteine bağlanarak biyolojik etkileşimlerini gerçekleştirirler. Bu etkileşimler, hedef proteinin işlevini modüle edebilir veya değiştirebilir. Örneğin, bir ilaç molekülü bir enzime bağlanarak enzimin katalitik aktivitesini artırabilir veya inhibe edebilir. Bu süreç, potansiyel ilaç adaylarının bilgisayar ortamında hızlı ve maliyet-etkin bir şekilde taranması ve değerlendirilmesi için önemlidir. Bu değerlendirme, gerçek deneylere geçmeden önce bir ilacın etkinliği ve güvenliği hakkında önemli bilgiler sağlayabilmektedir. Çalışmamızda izole edilen bileşiklerin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enziminin aktif bölgesindeki konformasyonlarını belirlemek amacıyla moleküler kenetlenme çalışmaları yapılmıştır. Bulgular, tüm bileşiklerin enzimin aktif bölgesine değişen seviyelerde bağlanma kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Apigenin, diğer ligantlara kıyasla en düşük bağlanma enerjisine (-11 kcal/mol) sahiptir.

Tez çalışmalarımızda izole edilen bileşiklerin *in vitro* aktiviteleri, moleküler kenetlenme deneylerimizin sonuçları ile paralellik göstermiş ve doğrulanmıştır. Bir çalışmada, *Oryza sativa* Linn.'nin farklı alt türlerinin kepeklerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibitör etkisi değerlendirilmiştir (Khantham ve diğerleri, 2021). Ekstrelerin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz II enzim gen ekspresyonunu %42-%61 arasında olmak üzere dikkate değer oranda engellediği belirlenmiştir. YPSK ile analizi sonucunda ekstrede yüksek oranda *trans*-ferulik asit bulunduğu bildirilmiştir. Finasterit ve dutasterit gibi referans moleküllerle birlikte *trans*-ferulik asidin de testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz tip II enzimine olan bağlanma serbest enerjisi *in silico* olarak değerlendirilmiş ve sırasıyla -10,13, -8,75 ve -5,22 kcal/mol olarak belirlenmiştir. *Trans*-ferulik asidin enzimin aktif bölgesine bağlanma enerjisi, referans olarak kullanılan bileşikler ile benzerlik göstermiştir.

Tez çalışmamız kapsamında, halk arasında saç dökülmesini önleyici amaçla kullanılan *L. stoechas* ve *L. × intermedia* adlı *Lavandula* türlerinin etnofarmakolojik kullanımı testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibisyon mekanizması üzerinden bilimsel olarak doğrulanmış, *L. stoechas*'ın EtOAc alt ekstresinde aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama ile aktiviteden sorumlu veya katkıda bulunan bileşikler izole edilmiştir. Ayrıca LOX inhibitör etkileri ile antioksidan etkileri de 3 yöntem ile incelenmiştir. Tez çalışmamız, *Lavandula* türlerinin 5 $\alpha$ -redüktaz inhibitör etkisini incelemeye ve aktiviteden sorumlu bileşiklerini *in vitro* ve *in silico* yöntemlerle aydınlatmaya yönelik ilk doktora tez çalışmasıdır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Değişik ülkelerdeki etnobotanik kayıtlar, *Lavandula* türlerinin saç dökülmesini engellemek amacıyla kullanıldığını göstermektedir. *L. stoechas* ve *L. × intermedia* türleri de saç dökülmesini engellemede kullanılan bitkiler arasında yer almaktadır. Bu çalışmada, *L. stoechas* ve *L. × intermedia* türlerinden hazırlanan ekstrelerin ve elde edilen uçucu yağların *in vitro* olarak testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz ve LOX inhibitör aktiviteleri incelenmiştir. Ayrıca, DPPH radikal süpürücü etki, FRAP ve metal-şelasyon kapasitesi deneyleri uygulanarak antioksidan aktiviteleri de *in vitro* olarak değerlendirilmiştir.

*L. stoechas* ve *L. × intermedia*'nın toprak üstü kısımlarından MeOH ile hazırlanan ekstreler üzerinde *in vitro* enzim inhibitör aktivite çalışmaları yürütülmüştür. Ekstrelerin fraksiyonlanması sonucu, her iki enzimde de en yüksek aktivite *L. stoechas*'ın EtOAc alt ekstresinde gözlenmiştir. Bu alt ekstreten hareketle, aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemine başlanmış ve çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak sorumlu bileşik veya bileşik gruplarının tespit edilmesi hedeflenmiştir. Her alt ekstre aşamasında, *in vitro* enzim modelleri ile aktivite kontrolü yapılmış ve toplam 7 adet bileşik izole edilmiştir.

Sonuç olarak, *L. stoechas* ve *L. × intermedia* türlerinin ekstre ve uçucu yağlarının testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibisyonları ilk kez tezimiz kapsamında araştırılmıştır. İzole edilen bileşiklerden biri olan *p*-kumarik asit, referans ilaç olarak kullandığımız finasterit ile aynı final konsantrasyonunda daha yüksek bir yüzde inhibisyon göstermiştir. Ancak IC<sub>50</sub> değerinin finasteritden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, apigenin, luteolin-7-*O*-glukozit, *trans*-ferulik asit ve rozmarinik asit, testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enziminin %50'nin üzerinde inhibisyonunu sağlamıştır. *trans*-Ferulik asit, LOX'a karşı da %50'nin üzerinde inhibisyon göstermiştir. Ancak IC<sub>50</sub> değeri, referans maddeye kıyasla oldukça yüksek bulunmuştur.

Bu bilgiler ışığında, *L. stoechas* bitkisinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz inhibisyonu etkisinden başlıca *p*-kumarik asit, rozmarinik asit, *trans*-ferulik asit, apigenin, luteolin-7-*O*-glukozit olmak üzere, izole edilen diğer kafeik asit ve  $\beta$ -sitosterol de katkı sağlamaktadır. İzole edilen maddelerle birlikte fraksiyonlar içerisinde bulunan diğer bileşikler de etkiye katkı sağlayarak sinerjik bir etki oluşturduğu sonucuna varılmıştır.

*L. stoechas*'tan izole edilen bileşikler arasında luteolin-7-*O*-glukozit (L-1), apigenin (L-2), *trans*-ferulik asit (L-3), rozmarinik asit (L-5), kafeik asit (L-6), *p*-kumarik asit (L-7) ve  $\beta$ -sitosterol (L-10) bulunmaktadır. Moleküler kütlenme çalışmaları, bu bileşiklerin hepsinin testosteron-5 $\alpha$ -redüktaz enziminin katalitik kısmı ile etkileşimde olduğunu göstermiştir.

Gelecekteki araştırmalar, tezimizde aktif olduğu bulunan ekstrelerin, uçucu yağların ve izole edilen saf bileşiklerin *in vivo* aktivitelerine de odaklanmalıdır. Ayrıca, uçucu yağlar ve LSHME ekstrelerinde akut ve kronik toksisite deneyleri ile farmakodinamik ve farmakokinetik çalışmalar yapılmalıdır. Böylece, uygun biyoyararlanım için uygun formülasyonlar geliştirilebilir. Ayrıca ön taramamızda aktif olduğu bulunan diğer bitki ekstreleri üzerinde benzer aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları yapılarak, aktiviteden sorumlu bileşiklerin aydınlatılması da hedefler arasındadır. Tez çalışmalarımızın akabinde, etkili ekstre ve uçucu yağ üzerinden saç dökülmesine karşı formülasyon geliştirme çalışmaları yapılması planlanmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Abdulhabip, Ö. (2023). Lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel.)’de morfogenetik varyabilitenin belirlenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 27(2), 166-174. doi:10.29050/harranziraat.1212906
- Adamowicz, R., Załęcki, P., Dukiel, A., and Nowicka, D. (2022). Association between androgenetic alopecia and psychosocial disease burden: A cross-sectional survey among Polish men. *Dermatology research and practice*, 2022. doi:10.1155/2022/1845044
- Al Najjar, O. A., Alkhars, M. A., Al Molhim, S. F., AlAjmi, M. S., and Alajmi, M. S. (2023). The impact of androgenic alopecia on the quality of life of male individuals: A cross-sectional study. *Cureus*, 15(10). doi:10.7759/cureus.47760
- Alves, R. (2017). Androgenetic alopecia: a review and emerging treatments. *Clinical Research in Dermatology: Open Access*, 4(4), 1-13. doi:10.15226/2378-1726/4/4/00164
- Alzaid, M. Y. M. (2023). Dutasteride for androgenetic alopecia. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 90(1), 1098-1101. doi:10.21608/EJHM.2023.280264
- Amaral, C., Cunha, S. C., Fernandes, J. O., da Silva, E. T., Roleira, F. M., Teixeira, N., and Correia-da-Silva, G. (2013). Development of a new gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) methodology for the evaluation of 5 $\alpha$ -reductase activity. *Talanta*, 107, 154-161. doi:10.1111/and.12115
- Aslani, F. S., Dastgheib, L., and Banihashemi, B. M. (2009). Hair counts in scalp biopsy of males and females with androgenetic alopecia compared with normal subjects. *Journal of cutaneous pathology*, 36(7), 734-739. doi:10.1111/j.1600-0560.2008.01149.x
- Aukerman, E. L., and Jafferany, M. (2023). The psychological consequences of androgenetic alopecia: A systematic review. *Journal of cosmetic dermatology*, 22(1), 89-95. doi:10.1111/jocd.14983
- Azizi, A., Mumin, N. H., and Shafqat, N. (2021). Phytochemicals With Anti 5-alpha-reductase Activity: A Prospective For Prostate Cancer Treatment *F1000Research*. doi:10.12688/f1000research.51066.3
- Bajalan, I., Rouzbahani, R., Pirbalouti, A. G., and Maggi, F. (2017). Chemical composition and antibacterial activity of Iranian *Lavandula*  $\times$  *hybrida*. *Chemistry and Biodiversity*, 14(7), 199-223. doi:10.1002/cbdv.201700064
- Baker, J., Brown, K., Rajendiran, E., Yip, A., DeCoffe, D., Dai, C., Mahmoud, S. (2012). Medicinal lavender modulates the enteric microbiota to protect against *Citrobacter rodentium*-induced colitis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 303(7), 25-36. doi:10.1152/ajpgi.00327.2011

- Ballabeni, V., Tognolini, M., Chiavarini, M., Impicciatore, M., Bruni, R., Bianchi, A., and Barocelli, E. (2004). Novel antiplatelet and antithrombotic activities of essential oil from *Lavandula hybrida* Reverchon "grosso". *Phytomedicine*, 11(7-8), 596-601. doi:10.1016/j.phymed.2004.01.002
- Barkat, M., and Laib, I. (2012a). Antioxidant activity of the essential oil from the flowers of *Lavandula stoechas*. *J. Pharmacogn. Phytother*, 4(7), 96-101.
- Barkat, M., and Laib, I. (2012b). Antioxidant activity of the essential oil from the flowers of *Lavandula stoechas*. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 4(7), 96-101. doi:10.5897/JPP12.030
- Barros, L., Baptista, P., and Ferreira, I. C. (2007). Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. *Food and chemical Toxicology*, 45(9), 1731-1737. doi:10.1016/j.fct.2007.03.006
- Başer, K., and Kırimer, N. (2018). Essential oils of anatolian Lamiaceae-An update. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 5(4), 1-28.
- Baydar, H., and Kineci, S. (2009). Scent composition of essential oil, concrete, absolute and hydrosol from lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12(2), 131-136. doi:10.1080/0972060X.2009.10643702
- Baydar, R., Karadağ, A. E., Biltekin, S. N., Güzelmeriç, E., and Demirci, F. (2024). *In vitro* anti-inflammatory activities of *Tanacetum parthenium* L. extract and its major metabolite parthenolide. *ACTA Pharmaceutica Scientia*, 62(1), 183-192. doi:10.23893/1307-2080.APS6212
- Biltekin, S. N., Karadağ, A. e. E., Demirci, B. l., and Demirci, F. (2022). ACE2 and LOX enzyme inhibitions of different lavender essential oils and major components linalool and camphor. *American Chemical Society Omega*, 7(41), 36561-36566. doi:10.1021/acsomega.2c04518
- Bouasla, A., and Bouasla, I. (2017). Ethnobotanical survey of medicinal plants in northeastern of Algeria. *Phytomedicine*, 36(1), 68-81. doi:10.1016/j.phymed.2017.09.007
- Bouhlal, T., Loukili, K., Salhi, S., Sobh, M., Zidane, L., and Fadli, M. (2014). Medicinal plants used for the medicalization and the cosmetics of the hair in a human population of the plain of the gharb (Morocco). *The Nature Partner Journals* 10(1), 7-12.
- Boukhatem, M. N., Sudha, T., Darwish, N. H., Chader, H., Belkadi, A., Rajabi, M., Mousa, S. A. (2020). A new eucalyptol-rich lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oil: Emerging potential for therapy against inflammation and cancer. *Molecules*, 25(16), 3671. doi:10.3390/molecules25163671
- Bulut, G., Haznedaroğlu, M. Z., Doğan, A., Koyu, H., and Tuzlacı, E. (2017). An ethnobotanical study of medicinal plants in Acipayam (Denizli-Turkey). *Journal of Herbal Medicine*, 10, 64-81. doi:10.1016/j.hermed.2017.08.001

- Buncharoen, W., Saenphet, K., Saenphet, S., and Thitaram, C. (2016). *Uvaria rufa* Blume attenuates benign prostatic hyperplasia via inhibiting 5 $\alpha$ -reductase and enhancing antioxidant status. *Journal of Ethnopharmacology*, 194, 483-494. doi:10.1016/j.jep.2016.10.036
- Burns, T., Breathnach, S. M., Cox, N., and Griffiths, C. (2008). *Rook's textbook of dermatology*: John Wiley and Sons.
- Carrasco, A., Martinez-Gutierrez, R., Tomas, V., and Tudela, J. (2016). Lavandin (*Lavandula*  $\times$  *intermedia* Emeric ex Loiseleur) essential oil from Spain: determination of aromatic profile by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. *Natural product research*, 30(10), 1123-1130. doi:10.1080/14786419.2015.1043632
- Carrasco, A., Ortiz-Ruiz, V., Martinez-Gutierrez, R., Tomas, V., and Tudela, J. (2015). *Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. *Industrial Crops and Products*, 73, 16-27. doi:10.1016/j.indcrop.2015.03.088
- Carter, P. (1971). Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). *Analytical biochemistry*, 40(2), 450-458. doi:10.1016/0003-2697(71)90405-2
- Celep, E., Akyüz, S., İnan, Y., and Yesilada, E. (2018). Assessment of potential bioavailability of major phenolic compounds in *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas*. *Industrial Crops and Products*, 118, 111-117. doi:10.1016/j.indcrop.2018.03.041
- Ceylan, Y., Usta, K., Usta, A., Maltas, E., and Yıldız, S. (2015). Evaluation of antioxidant activity, phytochemicals and ESR analysis of *Lavandula stoechas*. *Acta Physica Polonica Series A*, 128(2B), 483-488. doi:10.12693/APhysPolA.128.B-483
- Chaiyana, W., Punyoyai, C., Somwongin, S., Leelapornpisid, P., Ingkaninan, K., Waranuch, N., Schuster, R. (2017). Inhibition of 5 $\alpha$ -reductase, IL-6 secretion, and oxidation process of *Equisetum debile* Roxb. ex vaucher extract as functional food and nutraceuticals ingredients. *Nutrients*, 9(10), 1105. doi:10.3390/nu9101105
- Chakraborty, A., Bhattacharjee, A., Mondal, B., Chakraborty, M., Mukhopadhyay, G., Ghosh, M., and Majumder, A. (2023). Exploring the Potential of *Eclipta alba*: A Promising Approach for Hair Treatment Management through 5-Alpha Reductase Inhibition. *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance*, 14(2), 283-288. doi:10.25258/ijpqa.14.2.07
- Chan, L., and Cook, D. K. (2018). Female pattern hair loss. *Australian Journal of General Practice*, 47(7), 459-464. doi:10.31128/AJGP-02-18-4498
- Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., Pagán, R., and Laglaoui, A. (2014). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their

- bactericidal effect in combined processes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22, 221-229. doi:10.1016/j.ifset.2013.12.016
- Chittur, S., Parr, B., and Marcovici, G. (2011). Inhibition of inflammatory gene expression in keratinocytes using a composition containing carnitine, thioctic acid and saw palmetto extract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011. doi:10.1093/ecam/nep102
- Cho, C.-H., Bae, J.-S., and Kim, Y.-U. (2010). 5 $\alpha$ -reductase inhibitory components as antiandrogens from herbal medicine. *Journal of acupuncture and meridian studies*, 3(2), 116-118. doi:10.1016/S2005-2901(10)60021-0
- Choi, G.-S., Sim, W.-Y., Kang, H., Huh, C. H., Lee, Y. W., Shantakumar, S., Cheng, W. Y. (2022). Long-term effectiveness and safety of dutasteride versus finasteride in patients with male androgenic alopecia in South Korea: A multicentre chart review study. *Annals of Dermatology*, 34(5), 349. doi:10.5021/ad.22.027
- Choi, H.-M., Jung, Y., Park, J., Kim, H.-L., Youn, D.-H., Kang, J., Lee, S.-G. (2016). *Cinnamomi cortex* (*Cinnamomum verum*) suppresses testosterone-induced benign prostatic hyperplasia by regulating 5 $\alpha$ -reductase. *Scientific reports*, 6(1), 31906. doi:10.1038/srep31906
- Choudhary, B. (2021). An review of world lavender oil markets and lessons for Turkey. *International Journal of Innovative Research in Computer Science and Technology*, 9(4), 78-82. doi:10.1080/0972060X.2019.1574612
- Chumlea, W. C., Rhodes, T., Girman, C. J., Johnson-Levonas, A., Lilly, F. R., Wu, R., and Guo, S. S. (2004). Family history and risk of hair loss. *Dermatology*, 209(1), 33-39. doi:10.1159/000078584
- Chung, L. Y., Soo, W. K., Chan, K. Y., Mustafa, M. R., Goh, S. H., and Imiyabir, Z. (2009). Lipoxxygenase inhibiting activity of some Malaysian plants. *Pharmaceutical biology*, 47(12), 1142-1148. doi:10.3109/13880200903008724
- Contreras, M. d. M., Algeri, F., Rodriguez-Nogales, A., Gálvez, J., and Segura-Carretero, A. (2018). Phytochemical profiling of anti-inflammatory *Lavandula* extracts via RP-HPLC-DAD-QTOF-MS and-MS/MS: Assessment of their qualitative and quantitative differences. *Electrophoresis*, 39(9-10), 1284-1293. doi:10.1002/elps.201700393
- Cwynar, A., Olszewska-Słonina, D., and Czajkowski, R. (2020). The impact of oxidative stress in the androgenic alopecia in women. *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii*, 37(1), 119-120. doi:10.5114/ada.2019.81685
- Dallob, A., Sadick, N., Unger, W., Lipert, S., Geissler, L., Gregoire, S., Tanaka, W. (1994). The effect of finasteride, a 5  $\alpha$ -reductase inhibitor, on scalp skin testosterone and dihydrotestosterone concentrations in patients with male pattern baldness. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 79(3), 703-706. doi:10.1210/jcem.79.3.8077349

- Davis, P. H., Mill, R., and Tan, K. (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands Volume 7* (Vol. 7): Edinburgh University Press.
- De Lacharrière, O., Deloche, C., Misciali, C., Piraccini, B. M., Vincenzi, C., Bastien, P., Tosti, A. (2001). Hair diameter diversity: a clinical sign reflecting the follicle miniaturization. *Archives of dermatology*, 137(5), 641-646.
- Demir, D., Toygar, I., Soylu, E., Aksu, A. T., Türeyen, A., Yıldırım, I., and Çetinkalp, Ş. (2023). The effect of *Lavandula stoechas* on wound healing in an experimental diabetes model. *Cureus*, 15(9). doi:10.7759/cureus.45001
- Devjani, S., Ezemma, O., Kelley, K. J., Stratton, E., and Senna, M. (2023). Androgenetic alopecia: therapy update. *Drugs*, 1-15. doi:10.1007/s40265-023-01880-x
- Dhanotia, R., Chauhan, N. S., Saraf, D. K., and Dixit, V. K. (2011). Effect of *Citrullus colocynthis* Schrad fruits on testosterone-induced alopecia. *Natural product research*, 25(15), 1432-1443. doi:10.1080/14786410802632820
- Domingues, J., Delgado, F., Gonçalves, J. C., Zuzarte, M., and Duarte, A. P. (2023). Mediterranean lavenders from section stoechas: an undervalued source of secondary metabolites with pharmacological potential. *Metabolites*, 13(3), 337. doi:10.3390/metabo13030337
- El Omari, N., Balahbib, A., Bakrim, S., Benali, T., Ullah, R., Alotaibi, A., Ming, L. C. (2023). Fenchone and camphor: Main natural compounds from *Lavandula stoechas* L., expediting multiple *in vitro* biological activities. *Heliyon*, 9(11). doi:10.1016/j.heliyon.2023.e21222
- Ellis, J. A., Sinclair, R., and Harrap, S. B. (2002). Androgenetic alopecia: pathogenesis and potential for therapy. *Expert reviews in molecular medicine*, 4(22), 1-11. doi:10.1017/S1462399402005112
- Elrherabi, A., Bouhrim, M., Abdnim, R., Berraaouan, A., Ziyat, A., Mekhfi, H., Bnouham, M. (2023a). Antihyperglycemic potential of the *Lavandula stoechas* aqueous extract via inhibition of digestive enzymes and reduction of intestinal glucose absorption. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 14(5), 100795. doi:10.1016/j.jaim.2023.100795
- Elrherabi, A., Bouhrim, M., Abdnim, R., Berraaouan, A., Ziyat, A., Mekhfi, H., Bnouham, M. (2023b). Phenolic content, antioxidant, hemidiaphragm glucose consumption, and hemoglobin glycosylation inhibitory activities of *Lavandula stoechas* L. aqueous extract. *Journal of Natural Remedies*, 23(2), 653-660. doi:10.18311/jnr/2023/29451
- Eswaraiah, M. C., and Elumalai, A. (2011). Isolation of phytoconstituents from the stems of *Mussaenda erythrophylla*. *Der Pharmacia Sinica*, 2(6), 132-142.
- Ez zoubi, Y., Bousta, D., and Farah, A. (2020). A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: *Lavandula stoechas* L. *Clinical Phytoscience*, 6(1), 1-9. doi:10.1186/s40816-019-0142-y

- Farid, R., Day, T., Friesner, R. A., and Pearlstein, R. A. (2006). New insights about HERG blockade obtained from protein modeling, potential energy mapping, and docking studies. *Bioorganic and medicinal chemistry*, *14*(9), 3160-3173. doi:10.1016/j.bmc.2005.12.032
- Feldman, P. R., Gentile, P., Piwko, C., Motswaledi, H. M., Gorun, S., Pesachov, J., Feldman, O. J. (2023). Hair regrowth treatment efficacy and resistance in androgenetic alopecia: A systematic review and continuous Bayesian network meta-analysis. *Frontiers in medicine*, *9*, 3800. doi:10.3389/fmed.2022.998623
- Fischer, T. W., Hippler, U., and Elsner, P. (2007). Effect of caffeine and testosterone on the proliferation of human hair follicles *in vitro*. *International journal of dermatology*, *46*(1), 27-35. doi:10.1111/j.1365-4632.2007.03119.x
- Fus-Mazurkiewicz, L., Nowiński, M., Sak, J., Mazurkiewicz, W., and Król, D. (2024). Review of current knowledge and management of androgenetic alopecia. *Polish Journal of Applied Sciences*, *9*(3), 32-35. doi:10.34668/PJAS.2023.9.3.05
- Garzoli, S., Turchetti, G., Giacomello, P., Tiezzi, A., Laghezza Masci, V., and Ovidi, E. (2019). Liquid and vapour phase of lavandin (*Lavandula × intermedia*) essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *Molecules*, *24*(15), 2701. doi:10.3390/molecules24152701
- Gedik, B., and Dülger, G. (2015). Anti-candidal activity of the *Lavandula stoechas* L. against pathogenic *Candida* species isolated from the hospital. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, *3*(2), 367-372.
- Giray, E. S., Kırıcı, S., Kaya, D. A., Türk, M., Sönmez, Ö., and Inan, M. (2008). Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta*, *74*(4), 930-935. doi:10.1016/j.talanta.2007.07.040
- Grymowicz, M., Rudnicka, E., Podfigurna, A., Napierala, P., Smolarczyk, R., Smolarczyk, K., and Meczekalski, B. (2020). Hormonal effects on hair follicles. *International journal of molecular sciences*, *21*(15), 5342. doi:10.3390/ijms21155342
- Guerrero, A. R., and Ch, M. K. (2011). Alopecias. *Revista Médica Clínica Las Condes*, *22*(6), 775-783. doi:10.1016/S0716-8640(11)70490-4
- Hajhashemi, V., Ghannadi, A., and Sharif, B. (2003). Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. *Journal of Ethnopharmacology*, *89*(1), 67-71. doi:10.1016/s0378-8741(03)00234-4
- Hamilton, J. B. (1951). Patterned loss of hair in man: types and incidence. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *53*(3), 708-728. doi:10.1111/j.1749-6632.1951.tb31971.x
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., and Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, *36*(6), 2090-2097. doi:10.1248/cpb.36.2090

- Hay, I. C., Jamieson, M., and Ormerod, A. D. (1998). Randomized trial of aromatherapy: successful treatment for alopecia areata. *Archives of dermatology*, 134(11), 1349-1352. doi:10.1001/archderm.134.11.1349
- Hendry, E., Worthington, T., Conway, B. R., and Lambert, P. (2009). Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1, 8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64(6), 1219-1225. doi:10.1093/jac/dkp362
- Héral, B., Stierlin, É., Fernandez, X., and Michel, T. (2021a). Phytochemicals from the genus *Lavandula*: A review. *Phytochemistry Reviews*, 20, 751-771.
- Héral, B., Stierlin, É., Fernandez, X., and Michel, T. (2021b). Phytochemicals from the genus *Lavandula*: A review. *Phytochemistry Reviews*, 20(4), 751-771. doi:10.1007/s11101-020-09719-z
- Herman, A., and Herman, A. P. (2016). Mechanism of action of herbs and their active constituents used in hair loss treatment. *Fitoterapia*, 114, 18-25. doi:10.1016/j.fitote.2016.08.008
- Hiipakka, R. A., Zhang, H.-Z., Dai, W., Dai, Q., and Liao, S. (2002). Structure–activity relationships for inhibition of human 5 $\alpha$ -reductases by polyphenols. *Biochemical pharmacology*, 63(6), 1165-1176. doi:10.1016/s0006-2952(02)00848-1
- Hirata, N., Tokunaga, M., Naruto, S., Iinuma, M., and Matsuda, H. (2007). Testosterone 5 $\alpha$ -reductase inhibitory active constituents of *Piper nigrum* leaf. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(12), 2402-2405. doi:10.1248/bpb.30.2402
- Houshyar, K. S., Borrelli, M. R., Tapking, C., Popp, D., Puladi, B., Ooms, M., Thor, D. (2020). Molecular mechanisms of hair growth and regeneration: current understanding and novel paradigms. *Dermatology*, 236(4), 271-280. doi:10.1159/000506155
- Hsu, J., and Anthony, W. (1971). Impairment of cystine-35S incorporation into skin protein by zinc-deficient rats. *The Journal of Nutrition*, 101(4), 445-452. doi:10.1093/jn/101.4.445
- Iltaf, J., Noreen, S., Rehman, M. F. U., Ghumman, S. A., Batool, F., Mehdi, M., Butt, H. (2021). *Ficus benghalensis* as potential inhibitor of 5 $\alpha$ -reductase for hair growth promotion: *in Vitro*, *in Silico*, and *in vivo* evaluation. *Frontiers in pharmacology*, 12, 774583. doi:10.3389/fphar.2021.774583
- Inui, S., Fukuzato, Y., Nakajima, T., Yoshikawa, K., and Itami, S. (2003). *Identification of androgen-inducible TGF- $\beta$ 1 derived from dermal papilla cells as a key mediator in androgenetic alopecia*. Paper presented at the Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings.
- Jenkins, B. J., and Powell, B. C. (1994). Differential expression of genes encoding a cysteine-rich keratin family in the hair cuticle. *Journal of Investigative Dermatology*, 103(3), 310-317. doi:10.1111/1523-1747.ep12394770

- Jianu, C., Pop, G., Gruia, A. T., and Horhat, F. G. (2013). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula × intermedia*) grown in western Romania. *International Journal of Agriculture and Biology*, 15(4), 772-776.
- Kaliyadan, F. (2022). Androgenetic alopecia—Medical management. *Clinical Dermatology Review*, 6(2), 75-79. doi:10.4103/cdr.cdr\_27\_21
- Karabagias, I. K., Karabagias, V. K., and Riganakos, K. A. (2019). Physico-chemical parameters, phenolic profile, in vitro antioxidant activity and volatile compounds of ladastacho (*Lavandula stoechas*) from the region of Saidona. *Antioxidants*, 8(4), 80. doi:10.3390/antiox8040080
- Karaca, N., and Akpolat, N. D. (2019). A comparative study between topical 5% minoxidil and topical “Redensyl, Capixyl, and Procapil” combination in men with androgenetic alopecia. *Journal of Cosmetology and Trichology*, 150370987. doi:10.4172/2471-9323.1000140
- Karakaya, S., Polat, A., Aksakal, Ö., Sümbüllü, Y. Z., and İncekara, Ü. (2020). Ethnobotanical study of medicinal plants in Aziziye district (Erzurum, Turkey). *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(2), 211-220. doi:10.4274/tjps.galenos.2019.24392
- Karunasagara, S., Hong, G.-L., Jung, D.-Y., Kim, K.-H., Cho, K., and Jung, J.-Y. (2020). Protective effects of combination of *Stauntonia hexaphylla* and *Cornus officinalis* on testosterone-induced benign prostatic hyperplasia through inhibition of 5 $\alpha$ -reductase type 2 and induced cell apoptosis. *Public Library of Science One*, 15(8), e0236879. doi:10.1371/journal.pone.0236879
- Katar, D., Mustafa, C., and Katar, N. (2020). Farklı lokasyonların lavandin (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.)’de uçucu yağ oranı ve kimyasal kompozisyonu üzerine etkisi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 6(3), 546-553. doi:10.24180/ijaws.728780
- Katharina, W., Wolf-Bernhard, S., and Christoph, L. (2004). Diseases on hair follicles leading to hair loss part I: nonscarring alopecias. *SKINmed: Dermatology for the Clinician*, 3(4), 209-214. doi:10.1111/j.1540-9740.2004.02326.x
- Kaushik, R., Gupta, D., and Yadav, R. (2011). Alopecia: herbal remedies. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(7), 1631.
- Kaya Erdoğan, H., Bulur, I., Kocatürk, E., Yıldız, B., Saraçoğlu, Z. N., and Alataş, Ö. (2017). The role of oxidative stress in early-onset androgenetic alopecia. *Journal of cosmetic dermatology*, 16(4), 527-530. doi:10.1111/jocd.12300
- Khantham, C., Yoo-in, W., Sringarm, K., Sommano, S. R., Jiranusornkul, S., Carmona, F. D., . . . Ruksiriwanich, W. (2021). Effects on steroid 5-alpha reductase gene expression of Thai rice bran extracts and molecular dynamics study on SRD5A2. *Biology*, 10(4), 319. doi:10.3390/biology10040319

- Kidangazhiathmana, A., and Santhosh, P. (2022). Pathogenesis of androgenetic alopecia. *Clinical Dermatology Review*, 6(2), 69-74. doi:10.4103/cdr.cdr\_29\_21
- Kıvrak, Ş. (2018). Essential oil composition and antioxidant activities of eight cultivars of Lavender and Lavandin from western Anatolia. *Industrial Crops and Products*, 117, 88-96. doi:10.1016/j.indcrop.2018.02.089
- Koriem, K. M. M. (2021). Lavandulae aetheroleum oil: A review on phytochemical screening, medicinal applications, and pharmacological effects. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(3), 9836-9847. doi:10.33263/BRIAC113.98369847
- Koseki, J., Matsumoto, T., Matsubara, Y., Tsuchiya, K., Mizuhara, Y., Sekiguchi, K., Hattori, T. (2015). Inhibition of rat 5 $\alpha$ -reductase activity and testosterone-induced sebum synthesis in hamster sebocytes by an extract of *Quercus acutissima* cortex. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015. doi:10.1155/2015/853846
- Kumar, N., Rungseevijitprapa, W., Narkkhong, N.-A., Suttajit, M., and Chaiyasut, C. (2012). 5 $\alpha$ -reductase inhibition and hair growth promotion of some Thai plants traditionally used for hair treatment. *Journal of Ethnopharmacology*, 139(3), 765-771. doi:10.1016/j.jep.2011.12.010
- Kumar, T., Chaiyasut, C., Rungseevijitprapa, W., and Suttajit, M. (2011). Screening of steroid 5 $\alpha$ -reductase inhibitory activity and total phenolic content of Thai plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(7), 1265-1271. doi:10.5897/JMPR.9001115
- Küster, W., and Happle, R. (1984). The inheritance of common baldness: two B or not two B? *Journal of the American Academy of Dermatology*, 11(5), 921-926. doi:10.1016/s0190-9622(84)80498-3
- Kwon, O., Han, J., Yoo, H., Chung, J.-H., Cho, K., Eun, H., and Kim, K. H. (2007). Human hair growth enhancement in vitro by green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *Phytomedicine*, 14(7-8), 551-555. doi:10.1016/j.phymed.2006.09.009
- Lantto, T. A., Dorman, H. D., Shikov, A. N., Pozharitskaya, O. N., Makarov, V. G., Tikhonov, V. P., . . . Raasmaja, A. (2009). Chemical composition, antioxidative activity and cell viability effects of a Siberian pine (*Pinus sibirica* Du Tour) extract. *Food Chemistry*, 112(4), 936-943. doi:10.1016/j.foodchem.2008.07.008
- Lao, Z., Fan, Y., Huo, Y., Liao, F., Zhang, R., Zhang, B., Sang, C. (2022). Phycion, a novel inhibitor of 5 $\alpha$ -reductase that promotes hair growth *in vitro* and *in vivo*. *Archives of dermatological research*, 1-11. doi:10.1007/s00403-021-02195-1
- Lee, B. H., Lee, J. S., and Kim, Y. C. (2016). Hair growth-promoting effects of lavender oil in C57BL/6 mice. *Toxicological research*, 32, 103-108. doi:10.5487/TR.2016.32.2.103
- Lee, C.-J., Chen, L.-G., Chang, T.-L., Ke, W.-M., Lo, Y.-F., and Wang, C.-C. (2011). The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants. *Food Chemistry*, 124(3), 833-841. doi:10.1016/j.foodchem.2010.07.003

- Lin, J., Saknite, I., Valdebran, M., Balu, M., Lentsch, G., Williams, J. N., Atanaskova Mesinkovska, N. (2019). Feature characterization of scarring and non-scarring types of alopecia by multiphoton microscopy. *Lasers in surgery and medicine*, 51(1), 95-103. doi:10.1002/lsm.23017
- Lis-Balchin, M. (2002). *Lavender: The genus Lavandula*: CRC press.
- Liu, D., Xu, Q., Meng, X., Liu, X., and Liu, J. (2024). Status of research on the development and regeneration of hair follicles. *International Journal of Medical Sciences*, 21(1), 80. doi:10.7150/ijms.88508
- Loing, E., Lachance, R., Ollier, V., and Hocquaux, M. (2013). A new strategy to modulate alopecia using a combination of two specific and unique ingredients. *Journal of Cosmetic Science*, 64(1), 45-58.
- Lolli, F., Pallotti, F., Rossi, A., Fortuna, M. C., Caro, G., Lenzi, A., Lombardo, F. (2017). Androgenetic alopecia: a review. *Endocrine*, 57, 9-17. doi:10.1007/s12020-017-1280-y
- Lončarić, M., Strelec, I., Moslavac, T., Šubarić, D., Pavić, V., and Molnar, M. (2021). Lipoxygenase inhibition by plant extracts. *Biomolecules*, 11(2), 152. doi:10.3390/biom11020152
- Ludwig, E. (1977). Classification of the types of androgenetic alopecia (common baldness) occurring in the female sex. *British Journal of Dermatology*, 97(3), 247-254. doi:10.1111/j.1365-2133.1977.tb15179.x
- Lyakhovitsky, A., Tzanani, I., Gilboa, S., Segal, O., Galili, E., Baum, S., and Barzilai, A. (2023). Changing spectrum of hair and scalp disorders over the last decade in a tertiary medical centre. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 37(1), 184-193. doi:10.1111/jdv.18570
- Madaan, A., Verma, R., Singh, A. T., and Jaggi, M. (2018). Review of hair follicle dermal papilla cells as in vitro screening model for hair growth. *International journal of cosmetic science*, 40(5), 429-450. doi:10.1111/ics.12489
- Matos, F., Miguel, M. G., Duarte, J., Venâncio, F., Moiteiro, C., Correia, A. I., Pedro, L. G. (2009). Antioxidant capacity of the essential oils from *Lavandula luisieri*, *L. stoechas* subsp. *lusitanica*, *L. stoechas* subsp. *lusitanica* x *L. luisieri* and *L. viridis* grown in Algarve (Portugal). *Journal of Essential Oil Research*, 21(4), 327-336.
- Matsuda, H., Sato, N., Yamazaki, M., Naruto, S., and Kubo, M. (2001). Testosterone 5 $\alpha$ -reductase inhibitory active constituents from *Anemarrhenae rhizoma*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24(5), 586-587. doi:10.1248/bpb.24.586
- McDonnell, B., and Newcomb, P. (2019). Trial of essential oils to improve sleep for patients in cardiac rehabilitation. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 25(12), 1193-1199. doi:10.1089/acm.2019.0222
- McEwan, I. J., and Brinkmann, A. O. (2021). Androgen physiology: receptor and metabolic disorders. *Endotext [Internet]*.

- Messaoud, C., Chograni, H., and Boussaid, M. (2012). Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild *Lavandula* L. species. *Natural product research*, 26(21), 1976-1984. doi:10.1080/14786419.2011.635343
- Messenger, A. (2011). Hair through the female life cycle. *British Journal of Dermatology*, 165(s3), 2-6. doi:10.1111/j.1365-2133.2011.10628.x
- Miraj, S. (2016). *Lavandula stoechas* L: A systematic review of medicinal and molecular perspectives. *Der Pharmacia Lettre*, 5(6), 170-179.
- Mokhtarzadeh, S., Demirci, B., Agalar, H. G., Khawar, K. M., and Kirimer, N. (2019). In vitro propagation and volatile compound characterization of *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas*-an economically important source of essential oil. *American College of Gastroenterology*. doi:10.25135/rnp.86.18.04.105
- Moon, T., Wilkinson, J., and Cavanagh, H. (2006). Antibacterial activity of essential oils, hydrosols and plant extracts from Australian grown *Lavandula* spp. *International Journal of Aromatherapy*, 16(1), 9-14. doi:10.1016/j.ijat.2006.01.007
- Murata, K., Noguchi, K., Kondo, M., Onishi, M., Watanabe, N., Okamura, K., and Matsuda, H. (2012). Inhibitory activities of Puerariae Flos against testosterone 5 $\alpha$ -reductase and its hair growth promotion activities. *Journal of natural medicines*, 66, 158-165. doi:10.1007/s11418-011-0570-6
- Murata, K., Noguchi, K., Kondo, M., Onishi, M., Watanabe, N., Okamura, K., and Matsuda, H. (2013). Promotion of hair growth by *Rosmarinus officinalis* leaf extract. *Phytotherapy Research*, 27(2), 212-217. doi:10.1002/ptr.4712
- Murata, K., Takeshita, F., Samukawa, K., Tani, T., and Matsuda, H. (2012). Effects of ginseng rhizome and ginsenoside Ro on testosterone 5 $\alpha$ -reductase and hair re-growth in testosterone-treated mice. *Phytotherapy Research*, 26(1), 48-53. doi:10.1002/ptr.3511
- Nahata, A., and Dixit, V. (2014). Evaluation of 5 $\alpha$ -reductase inhibitory activity of certain herbs useful as antiandrogens. *Andrologia*, 46(6), 592-601. doi:10.1111/and.12115
- Nestor, M. S., Ablon, G., Gade, A., Han, H., and Fischer, D. L. (2021). Treatment options for androgenetic alopecia: Efficacy, side effects, compliance, financial considerations, and ethics. *Journal of cosmetic dermatology*, 20(12), 3759-3781. doi:10.1111/jocd.14537
- Neves, J. M., Matos, C., Moutinho, C., Queiroz, G., and Gomes, L. R. (2009). Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Trás-os-Montes (northern of Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*, 124(2), 270-283. doi:10.1016/j.jep.2009.04.041

- Nimet, K., and Baydar, H. (2013). Determination of lavender and lavandin cultivars (*Lavandula* sp.) containing high quality essential oil in Isparta, Turkey. *Turkish Journal of Field Crops*, 18(1), 58-65.
- Norwood, O. (1975). Male pattern baldness: classification and incidence. *Southern medical journal*, 68(11), 1359-1365. doi:10.1097/00007611-197511000-00009
- Ntshingila, S., Oputu, O., Arowolo, A. T., and Khumalo, N. P. (2023). Androgenetic alopecia: An update. *The Journal of the American Academy of Dermatology*, 13, 150-158. doi:10.1016/j.jdin.2023.07.005
- Olsen, E. A., Bergfeld, W. F., Cotsarelis, G., Price, V. H., Shapiro, J., Sinclair, R., Whiting, D. A. (2003). Summary of North American Hair Research Society (NAHRS)-sponsored workshop on cicatricial alopecia. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 48(1), 103-110. doi:10.1067/mjd.2003.68
- Oraloğlu, Z. (2018). *Bitkisel drog monografi hazırlanması: Lavandula stoechas L.* Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
- Osborn, D. (1916). Inheritance of baldness: various patterns due to heredity and sometimes present at birth—a sex-limited character—dominant in man—women not bald unless they inherit tendency from both parents. *Journal of Heredity*, 7(8), 347-355. doi:10.1093/oxfordjournals.jhered.a110746
- Ovidi, E., Masci, V. L., Taddei, A. R., Paolicelli, P., Petralito, S., Trilli, J., Giacomello, P. (2020). Chemical investigation and screening of anti-proliferative activity on human cell lines of pure and nano-formulated lavandin essential oil. *Pharmaceuticals*, 13(11), 352. doi:10.3390/ph13110352
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315. doi:10.5264/eiyogakuzashi.44.307
- Özek, G., Demirci, F., Özek, T., Tabanca, N., Wedge, D. E., Khan, S. I., Hamzaoğlu, E. (2010). Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of volatiles obtained by four different techniques from *Salvia rosifolia* Sm., and evaluation for biological activity. *Journal of Chromatography A*, 1217(5), 741-748. doi:10.1016/j.chroma.2009.11.086
- Park, A. M., Khan, S., and Rawnsley, J. (2018). Hair biology: growth and pigmentation. *Facial Plastic Surgery Clinics*, 26(4), 415-424. doi:10.1016/j.fsc.2018.06.003
- Park, W.-s., Lee, C.-h., Lee, B.-g., and Chang, I.-s. (2003). The extract of *Thuja occidentalis* semen inhibited 5 $\alpha$ -reductase and androchronogenetic alopecia of B6CBAF1/j hybrid mouse. *Journal of dermatological science*, 31(2), 91-98. doi:10.1016/s0923-1811(02)00146-9
- Patel, S., Nag, M. K., Sharma, V., Chauhan, N. S., and Dixit, V. (2014). A comparative *in vivo* and *in vitro* evaluation of hair growth potential of extracts and an isolate from petroleum ether extract of *Cuscuta reflexa* Roxb. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3), 165-171. doi:10.1016/j.bjbas.2014.10.002

- Paus, R., Burgoa, I., Platt, C., Griffiths, T., Poblet, E., and Izeta, A. (2016). Biology of the eyelash hair follicle: an enigma in plain sight. *British Journal of Dermatology*, 174(4), 741-752. doi:10.1111/bjd.14217
- Paus, R., and Cotsarelis, G. (1999). The biology of hair follicles. *New England journal of medicine*, 341(7), 491-497. doi:10.1056/NEJM199908123410706
- Peana, A. T., D'Aquila, P. S., Panin, F., Serra, G., Pippia, P., and Moretti, M. D. L. (2002). Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, 9(8), 721-726. doi:10.1078/094471102321621322
- Pérez-Ornelas, V., Cabeza, M., Bratoeff, E., Heuze, I., Sánchez, M., Ramírez, E., and Naranjo-Rodríguez, E. (2005). New 5 $\alpha$ -reductase inhibitors: *in vitro* and *in vivo* effects. *Steroids*, 70(3), 217-224. doi:10.1016/j.steroids.2004.11.008
- Phillips, T. G., Slomiany, W. P., and Allison, R. (2017). Hair loss: common causes and treatment. *American family physician*, 96(6), 371-378.
- Pieroni, A., Quave, C. L., Villanelli, M. L., Mangino, P., Sabbatini, G., Santini, L., Rampa, L. G. (2004). Ethnopharmacognostic survey on the natural ingredients used in folk cosmetics, cosmeceuticals and remedies for healing skin diseases in the inland Marches, Central-Eastern Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(2-3), 331-344. doi:10.1016/j.jep.2004.01.015
- Piraccini, B. M., and Alessandrini, A. (2014). Androgenetic Alopecia. *Italian Journal of Dermatology and Venereology*, 149(1), 15-24.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Bitto, A. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017(2017), 1-13. doi:10.1155/2017/8416763
- Pokajewicz, K., Białoń, M., Svydenko, L., Hudz, N., Balwierz, R., Marciniak, D., and Wieczorek, P. P. (2022). Comparative evaluation of the essential oil of the new Ukrainian *Lavandula angustifolia* and *Lavandula x intermedia* cultivars grown on the same plots. *Molecules*, 27(7), 2152. doi:10.3390/molecules27072152
- Polat, R. (2019). Ethnobotanical study on medicinal plants in Bingöl (City center) (Turkey). *Journal of Herbal Medicine*, 16, 100211. doi:10.1016/j.hermed.2018.01.007
- Prager, N., Bickett, K., French, N., and Marcovici, G. (2002). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial to determine the effectiveness of botanically derived inhibitors of 5- $\alpha$ -reductase in the treatment of androgenetic alopecia. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 8(2), 143-152. doi:10.1089/acm.2002.8.143
- Prie, B., Iosif, L., Tivig, I., Stoian, I., and Giurcaneanu, C. (2016). Oxidative stress in androgenetic alopecia. *Journal of medicine and life*, 9(1), 79.
- Pundkar, A. S., Murkute, P. M., Wani, S., and Tathe, M. (2020). A review: Herbal therapy used in hair loss. *Pharmaceutical Resonance*, 3(1), 44-50.

- Ramić, D., Ogrizek, J., Bucar, F., Jeršek, B., Jeršek, M., and Možina, S. S. (2022). *Campylobacter jejuni* biofilm control with lavandin essential oils and by-products. *Antibiotics*, *11*(7), 854. doi:10.3390/antibiotics11070854
- Ramos da Silva, L. R., Ferreira, O. O., Cruz, J. N., de Jesus Pereira Franco, C., Oliveira dos Anjos, T., Cascaes, M. M., . . . Santana de Oliveira, M. (2021). Lamiaceae essential oils, phytochemical profile, antioxidant, and biological activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2021*. doi:10.1155/2021/6748052
- Rashid, K., Raj, V. B. A., Kumar, P. S., and Nishad, K. (2020). Hair care promising herbs: a review. *Pharmaceutical Research*, *10*(3), 677-688.
- Rathnayake, D., and Sinclair, R. (2010). Male androgenetic alopecia. *Expert opinion on pharmacotherapy*, *11*(8), 1295-1304.
- Rathore, S., and Kumar, R. (2022). Essential oil content and compositional variability of *Lavandula* species cultivated in the mid hill conditions of the western himalaya. *Molecules*, *27*(11), 3391. doi:10.3390/molecules27113391
- Razum, J., and Vukasović Hlupić, T. (2022). Quality of life in young men with androgenetic alopecia: A mixed methods study. *Journal of cosmetic dermatology*, *21*(2), 794-801.
- Release, S. (2024). 1: Induced Fit Docking protocol. *Glide, Schrödinger, LLC, New York, NY*.
- Rossi, A., Anzalone, A., Fortuna, M. C., Caro, G., Garelli, V., Pranteda, G., and Carlesimo, M. (2016). Multi-therapies in androgenetic alopecia: Review and clinical experiences. *Dermatologic therapy*, *29*(6), 424-432. doi:10.1111/dth.12390
- Rzepka, Z., Buszman, E., Beberok, A., and Wrześniok, D. (2016). From tyrosine to melanin: Signaling pathways and factors regulating melanogenesis. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*, *70*, 695-708. doi:10.5604/17322693.1208033
- Sariri, R., Seifzadeh, S., and Sajedi, R. (2009). Anti-tyrosinase and antioxidant activity of *Lavandula* sp. extracts. *Pharmacology Online*, *2*, 413-420.
- Saşmaz, H. K., Uzlaşır, T., and Kelebek, H. (2020). Effect of infusion time on the phenolic profile and some physicochemical properties of *Lavandula x intermedia* cv.'Super'. *Journal of Raw Materials to Processed Foods*, *1*(2), 55-71.
- Schneider, M. R., Schmidt-Ullrich, R., and Paus, R. (2009). The hair follicle as a dynamic miniorgan. *Current biology*, *19*(3), R132-R142. doi:10.1016/j.cub.2008.12.005
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Gök, G., Bekat, L., and Leblebici, E. (2008). *Tohumlu Bitkiler Sistematiği* (Vol. 286): İzmir.
- Semalty, M., Semalty, A., Joshi, G. P., and Rawat, M. S. M. (2011). Hair growth and rejuvenation: an overview. *Journal of dermatological treatment*, *22*(3), 123-132. doi:10.3109/09546630903578574

- Sherman, W., Beard, H. S., and Farid, R. (2006). Use of an induced fit receptor structure in virtual screening. *Chemical biology and drug design*, 67(1), 83-84. doi:10.1111/j.1747-0285.2005.00327.x
- Sherman, W., Day, T., Jacobson, M. P., Friesner, R. A., and Farid, R. (2006). Novel procedure for modeling ligand/receptor induced fit effects. *Journal of medicinal chemistry*, 49(2), 534-553. doi:10.1021/jm050540c
- Singleton, V. L., and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. doi:10.5344/ajev.1965.16.3.144
- Skoula, M., Abidi, C., and Kokkalou, E. (1996). Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochemical systematics and ecology*, 24(3), 255-260. doi:10.1016/0305-1978(96)00023-3
- Sperling, L. (2008). Alopecias In: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP, Dermatology. In: New York, NY: Mosby.
- Sriti, J., Fares, N., Msaada, K., Zarroug, Y., Boulares, M., Djebbi, S., Limam, F. (2022). Phenological stage effect on phenolic composition, antioxidant, and antibacterial activity of *Lavandula stoechas* extract. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 99, 225-234.
- Sung, Y. K., Hwang, S. Y., Cha, S. Y., Kim, S. R., Park, S. Y., Kim, M. K., and Kim, J. C. (2006). The hair growth promoting effect of ascorbic acid 2-phosphate, a long-acting Vitamin C derivative. *Journal of dermatological science*, 41(2), 150-152. doi:10.1016/j.jdermsci.2005.11.010
- Şahinler, S. Ş., Yılmaz, B. S., Sarıkürkçü, C., and Bektaş, T. (2022). The importance of *Lavandula stoechas* L. in pharmacognosy and phytotherapy. *International Journal of Secondary Metabolite*, 9(3), 360-376. doi:10.1111/jocd.14132
- Şener, K., Ekici, M., Gönülalan, E. M., and Bodur, E. (2024). Comparative Study of The Anti-Inflammatory Pathway Enzyme Activities of Selected Plant Extracts from Lamiaceae Family. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(1), 197-210. doi:10.55262/fabadeczacilik.1391109
- Tai, T., and Kochhar, A. (2020). Physiology and medical treatments for alopecia. *Facial Plastic Surgery Clinics*, 28(2), 149-159. doi:10.1016/j.fsc.2020.01.004
- Tamokou, J., Mbaveng, A., and Kuete, V. (2017). Antimicrobial activities of African medicinal spices and vegetables. In *Medicinal Spices and Vegetables from Africa* (pp. 207-237): Elsevier.
- Tardugno, R., Pellati, F., Iseppi, R., Bondi, M., Bruzzesi, G., and Benvenuti, S. (2018). Phytochemical composition and in vitro screening of the antimicrobial activity of essential oils on oral pathogenic bacteria. *Natural product research*, 32(5), 544-551. doi:10.1080/14786419.2017.1329730

- Tayarani-Najaran, Z., Hadipour, E., Mousavi, S. M. S., Emami, S. A., Mohtashami, L., and Javadi, B. (2021). Protective effects of *Lavandula stoechas* L. methanol extract against 6-OHDA-induced apoptosis in PC12 cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 273, 114023. doi:10.1016/j.jep.2021.114023
- Topçu, U. (2008). *Lavandula stoechas* esansiyel yağının farelerdeki akut toksik etkileri ve epileptik etkinin antiepileptik ilaçlarla etkileşimi. Düzce Üniversitesi Türkiye.
- Torras-Claveria, L., Jauregui, O., Bastida, J., Codina, C., and Viladomat, F. (2007). Antioxidant activity and phenolic composition of lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loiseleur) waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8436-8443. doi:10.1021/jf070236n
- Trilisnawati, D., Diba, S., Kurniawati, Y., Nugroho, S. A., Rusmawardiana, R., and Pamudji, R. (2021). Update treatment of male androgenetic alopecia. *International Journal of Dermatology and Venereology*, 33, 63-71. doi:10.20473/bikk.V33.1.2021.63-71
- Trüeb, R. M. (2002). Molecular mechanisms of androgenetic alopecia. *Experimental gerontology*, 37(8-9), 981-990. doi:10.1016/s0531-5565(02)00093-1
- Trüeb, R. M. (2009). Oxidative stress in ageing of hair. *International journal of trichology*, 1(1), 6-14. doi:10.4103/0974-7753.51923
- Türkoğlu, M., Dündar, C., Sevinç, H., and Kılıç, S. (2017). A comparative study to test a plant extract against Minoxidil in HaCaT cells. *American Journal of Dermatology and Venereology*, 6(1), 6-10. doi:10.5923/j.ajdv.20170601.02
- Ueno-Iio, T., Shibakura, M., Yokota, K., Aoe, M., Hyoda, T., Shinohata, R., Kataoka, M. (2014). Lavender essential oil inhalation suppresses allergic airway inflammation and mucous cell hyperplasia in a murine model of asthma. *Life sciences*, 108(2), 109-115. doi:10.1016/j.lfs.2014.05.018
- Upadhyay, S., Ghosh, A. K., and Singh, V. (2012). Hair growth promotant activity of petroleum ether root extract of *Glycyrrhiza glabra* L (Fabaceae) in female rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11(5), 753-758. doi:10.4314/TJPR.V11I5.8
- Upton, J. H., Hannen, R. F., Bahta, A. W., Farjo, N., Farjo, B., and Philpott, M. P. (2015). Oxidative stress-associated senescence in dermal papilla cells of men with androgenetic alopecia. *Journal of Investigative Dermatology*, 135(5), 1244-1252. doi:10.1038/jid.2015.28
- Uzun, M., and Kaya, A. (2016). Ethnobotanical research of medicinal plants in Mihalgazi (Eskişehir, Turkey). *Pharmaceutical biology*, 54(12), 2922-2932. doi:10.1080/13880209.2016.1194863
- Wang, W., Wang, H., Long, Y., Li, Z., and Li, J. (2023). Controlling hair loss by regulating apoptosis in hair follicles: A comprehensive overview. *Biomolecules*, 14(1), 1-20. doi:10.3390/biom14010020

- Watson, L., and Dallwitz, M. J. (1999). *The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval*: University of New Orleans New Orleans, LA.
- Wells, R., Truong, F., Adal, A. M., Sarker, L. S., and Mahmoud, S. S. (2018). *Lavandula* essential oils: A current review of applications in medicinal, food, and cosmetic industries of lavender. *Natural Product Communications*, 13(10), 1403-1417. doi:10.1177/1934578X18013010
- Williams, R., Pawlus, A. D., and Thornton, M. J. (2020). Getting under the skin of hair aging: the impact of the hair follicle environment. *Experimental dermatology*, 29(7), 588-597. doi:10.1111/exd.14109
- Wisastra, R., and Dekker, F. J. (2014). Inflammation, cancer and oxidative lipoxigenase activity are intimately linked. *Cancers*, 6(3), 1500-1521. doi:10.3390/cancers6031500
- Xiao, F. L., Yang, S., Liu, J. B., He, P. P., Yang, J., Cui, Y., Zhang, X. J. (2006). The epidemiology of childhood alopecia areata in China: a study of 226 patients. *Pediatric dermatology*, 23(1), 13-18. doi:10.1111/j.1525-1470.2006.00161.x
- Xiao, Q., Wang, L., Supekar, S., Shen, T., Liu, H., Ye, F., Zhang, C. (2020). Structure of human steroid 5 $\alpha$ -reductase 2 with the anti-androgen drug finasteride. *Nature communications*, 11(1), 5430. doi:10.21203/rs.3.rs-40159/v1
- Yeşilyurt, E. B., Şimşek, I., Akaydin, G., and Yeşilada, E. (2017). An ethnobotanical survey in selected districts of the Black Sea region (Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 41(1), 47-62. doi:10.3906/bot-1606-12
- Yorulmaz, A. (2016). Androgenetik Alopesi. *Çağdaş Tıp Dergisi*, 6(3), 248-254. doi:10.16899/ctd.45565
- Zaheer-ud-din Khan, Z.-u.-d. K., and Saeed, M. (2002). Antibacterial potentials of some constituents of *Lavandula stoechas* L. *Pakistan Journal of Botany*.
- Zgonc Škulj, A., Poljšak, N., Kočevar Glavač, N., and Kreft, S. (2020). Herbal preparations for the treatment of hair loss. *Archives of dermatological research*, 312(6), 395-406. doi:10.1007/s00403-019-02003-x
- Zhang, B., Zhang, R.-w., Yin, X.-q., Lao, Z.-z., Zhang, Z., Wu, Q.-g., Li, G. (2016). Inhibitory activities of some traditional Chinese herbs against testosterone 5 $\alpha$ -reductase and effects of *Cacumen platycladi* on hair re-growth in testosterone-treated mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 177, 1-9. doi:10.1016/j.jep.2015.11.012
- Zrira, S., and Benjlali, B. (2003). The constituents of the oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *atlantica* Br.-Bl. and *L. stoechas* ssp. *stoechas* from Morocco. *Journal of Essential Oil Research*, 15(2), 68-69. doi:10.1080/10412905.2003.9712066
- Zuzarte, M., Gonçalves, M., Cavaleiro, C., Cruz, M., Benzarti, A., Marongiu, B., Salgueiro, L. (2013). Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and

*Thymus herba-barona* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 44, 97-103.  
doi:10.1016/j.indcrop.2012.11.002

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Abacı Kaplan, Nurten  
Uyruğu : T.C.



### Eğitim

| Derece  | Eğitim Birimi   | Mezuniyet Tarihi |
|---------|---|------------------|
| Doktora | Gazi Üniversitesi / Eczacılık<br>Farmakognozi Anabilim Dalı | Devam ediyor     |
| Lisans  | Gazi Üniversitesi / Eczacılık                               | 2019             |
| Lise    | Osmangazi Anadolu Lisesi                                    | 2014             |

### İş Deneyimi

| Yıl       | Yer                                   | Görev     |
|-----------|---------------------------------------|-----------|
| 2021-2023 | Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi | Arş. Gör. |
| 2019-2021 | Bolvadin Devlet Hastanesi             | Eczacı    |

### Yabancı Dil

İngilizce, Almanca, Azerbaycan Türkçesi

### Yayımlar

Abacı Kaplan, N., Şenol Deniz, F.S., Salmas, R., Uysal Bayar, F., Turgut, K., Orhan, I. E. (2024). *In vitro* and *in silico* cholinesterase inhibitory and antioxidant effects of essential oils and extracts of two new *Salvia fruticosa* Mill. cultivars (Turgut and Uysal) and GC-MS analysis of the essential oils. *International Journal of Environmental Health Research*, 34(2), 674-686. doi: 10.1080/09603123.2022.2163988

Khursheed, A., Ahmed, S., Saleem, M., Tousif, M. I., Orhan, I. E., Abacı, N., Imran, M., Tauseef, S., Uddin, R., Yawer, A. M., Khan, J., Ojha, S. C. (2022). Phytochemical

profiling, *in vitro* biological activity, docking studies and cytotoxicity assessments on *Rondeletia odorata* Jacquin: An Unexplored Plant of Coffee Family. *Frontiers in Chemistry*, 10, 1-20. doi: 10.3389/fchem.2022.1017577

Abacı, N., Senol Deniz, F. S., and Orhan, I. E. (2022). Kombucha – An ancient fermented beverage with desired bioactivities: A narrowed review. *Food Chemistry X*, 14, 100302. doi: 10.1016/j.fochx.2022.100302

Polumackanycz, M., Konieczynski, P., Orhan, I.E., Abacı, N., Viapiana, A. (2022). Chemical composition, antioxidant and anti-enzymatic activity of golden root (*Rhodiola rosea* L.) commercial samples. *Antioxidants*, 11(5), 919-1015. doi:10.3390/antiox11050919

Kaplan Abacı, N., Gök Hasya, N., Aslan, M., Orhan, I. E. (2023). Enzyme inhibitory and antioxidant activities and HPLC quantification of chlorogenic acid in *Helichrysum stoechas* (L.) Moench and *H. stoechas* subsp. *barrelieri* (Ten) Nyman. *Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants*, 6(1), 38-50. doi: 10.38093/cupmap.1314950

Abacı, N., and Orhan, İ. E. (2022). Bee venom and its biological effects. *Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants*, 5(1), 86-105. doi:10.38093/cupmap.1127949

## **Hobiler**

Tenis



*GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...*

