



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**BALLOTA ACETABULOSA (L.) BENTH. ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Ayşe Nur YAZGAN

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Betül SEVER YILMAZ**

2013- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***BALLOTA ACETABULOSA (L.) BENTH. ÜZERİNDE*
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Ayşe Nur YAZGAN

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Betül SEVER YILMAZ

2013- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakognozi Yüksek Lisans Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09/07/2013

Prof. Dr. Gülçin SALTAN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. M. Levent ALTUN
Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. Betül SEVER YILMAZ
Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. Ayşe Mine ÖZKAN
Ankara Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Sinem ASLAN ERDEM
Ankara Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	xi
Çizelgeler	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Botanik Bilgiler	5
1.1.1. <i>Ballota acetabulosa</i> 'nın Sistematikteki Yeri	5
1.1.2. <i>Lamiaceae</i> Familyasının Botanik Özellikleri	6
1.1.3. <i>Ballota</i> L. Cinsinin Botanik Özellikleri	6
1.1.4. Türkiye'de Yetişen <i>Ballota</i> Türleri	7
1.1.5. <i>Ballota</i> Cinsinin Türkiye'de Yetişen Türlerinin Tayin Anahtarı	9
1.1.6. <i>Ballota acetabulosa</i> 'nın Tür Özellikleri	10
1.2. Fitokimyasal Bölüm	12
1.2.1. <i>Ballota</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	12
1.2.1.1. Diterpenler	13
1.2.1.2. Flavonoidler	18
1.2.1.3. Fenilpropanoitler	22
1.2.1.4. Uçucu Yağlar	24
1.2.1.5. Diğer Bileşikler	27

1.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	29
1.3.1. <i>Ballota</i> Türlerinin Biyolojik Aktivite Çalışmaları	29
1.3.1.1. Sedatif Etki	29
1.3.1.2. Antimikrobiyal Etki	30
1.3.1.3. Antioksidan Etki	42
1.3.1.4. Antiproliferatif ve Sitotoksik Etki	48
1.3.1.5. İnsektisit Etki	50
1.3.1.6. Antienflamatuvar Etki	50
1.3.1.7. Hepatoprotektif Etki	52
1.3.1.8. Hipolipidemik Etki	53
1.3.1.9. Antifertiliter Etki	54
1.3.1.10. Antinosiseptif Etki	55
1.3.1.11. Antiemetik Etki	56
1.3.1.12. Hipoglisemik Etki	56
1.3.1.13. Diğer Etkiler	57
1.3.2. <i>Ballota</i> Türlerinin Kullanılışı	59
2. GEREÇ VE YÖNTEM	66
2.1. Bitkisel Materyal	66
2.2. Yöntem ve Fitokimyasal Çalışmalar	66
2.2.1. Farmakope Analizleri	66
2.2.1.1. Makroskobik Analiz	66
2.2.1.2. Mikroskobik Analiz	67
2.2.1.3. Kurutmada Kayıp Tayini	67
2.2.1.4. Toplam Kül Tayini	67

2.2.1.5. Toplam <i>o</i> -Dihidroksisinnamik Asit Miktar Tayini	68
2.2.2. Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları	69
2.2.2.1. <i>Ballota acetabulosa</i> Ekstresinin Hazırlanması	70
2.2.2.2. Kolon Kromatografisi	70
2.2.2.3. Safılaştırma Kolonu Uygulaması	71
2.2.2.4. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini Çalışmaları	71
2.2.3. <i>Ballota acetabulosa</i> Uçucu Yağının Elde Edilmesi	72
2.2.3.1. Analiz Yöntemi	72
2.2.3.2. Gaz Kromatografisi Koşulları	72
2.2.3.3. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi Koşulları	73
2.2.4. <i>Ballota acetabulosa</i> Uçucu Yağının Antioksidan Aktivite Tayini	74
2.2.4.1. MDA Tayini	74
3. BULGULAR	76
3.1. Farmakope Analizleri	76
3.1.1. Makroskobik Analiz	76
3.1.2. Mikroskobik Analiz	79
3.1.3. Kurutmada Kayıp Tayini	86
3.1.4. Toplam Kül Tayini	86
3.1.5. Toplam <i>o</i> -Dihidroksisinnamik Asit Miktar Tayini	86
3.2. Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları	86
3.2.1. <i>Ballota acetabulosa</i> 'dan İzole Edilen Bileşikler	87
3.2.2. Yapı Tayini Bulguları	87
3.3. Uçucu Yağ Analizine Ait Bulgular	98
3.4. Antioksidan Aktivite Tayinine Ait Bulgular	99

4. TARTIŞMA	100
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	106
ÖZET	108
SUMMARY	109
KAYNAKLAR	110
ÖZGEÇMİŞ	123

ÖNSÖZ

Lamiaceae familyasında bulunan ve dünyada 35 türü bulunan *Ballota* L. cinsine dâhil olan bitkiler genellikle Akdeniz çevresinde yetişmektedir. Yurdumuzda doğal olarak yetişen *Ballota acetabulosa* halk arasında hemoroit tedavisinde ve yara iyileştirici etkisi nedeniyle kullanılmaktadır. Bitki üzerinde yapılmış olan sınırlı sayıdaki fitokimyasal araştırmalar ve aktivite çalışmalarında bitkiden izole edilen bileşiklerin önemli farmakolojik aktivitelere sahip olduğu belirtilmiştir. Bitki ile ilgili yapılan yurtiçi ve yurtdışı çalışmaların yetersiz olması, bizi bu tür üzerinde farmakognozik araştırmalar yapmaya yöneltmiştir. Bitki üzerinde farmakope analizi, ekstraksiyon, izolasyon, yapı tayini ve antioksidan aktivite çalışmaları yapılarak elde edilen yeni verilerle bilime ve sağlığa katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

Tez konumun seçiminden başlayarak çalışmalarımın her aşamasında bana rehberlik etmenin ötesinde emek sarf eden; deneyim, hoşgörü, sabır ve ilgisini esirgemeyen; çalışmalarım dışında da bana karşı her zaman dostça ve samimi bir yaklaşım içinde bulunan; onunla çalışma fırsatı bulduğum için çok mutlu olduğum tez danışmanım, sayın ve sevgili hocam Doç. Dr. Betül SEVER YILMAZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Hocam Prof. Dr. Gülçin SALTAN başta olmak üzere, Farmakognozi ve Farmasötik Botanik Anabilim Dallarından katkısını gördüğüm tüm değerli hocalarıma ve Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

GK-KS analizlerinde bilgi ve tecrübesini benimle sonuna kadar paylaşan Yrd. Doç. Dr. Sinem ASLAN ERDEM'e, çalışmalarım sırasında çok yardımlarını gördüğüm Dr. Bio. Gülderen YILDIZ YILMAZ ve Yrd. Doç. Dr. Özlem BAHADIR ACIKARA'ya; antioksidan aktivite çalışmalarını yürüten Dr. Ecz. Filiz BAKAR'a; çalışmalarımda kullandığım bitki materyalinin toplanmasında samimiyetle yardımcı olan Aytül SEVER'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında UV analizlerini gerçekleştirebilmem için Merkez Laboratuvarından yararlanmamı sağlayan A. Ü. Eczacılık Fakültesi Dekanlığına teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım esnasında beni bu yolda yalnız bırakmayan, çalışmalarım dışında da beni cesaretlendiren, zor anlarımda bana katlanan, varlıkları her zaman güven veren ve dostlukları her şeyden değerli olan arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

¹³ C-NMR	Carbon–13 Nuclear Magnetic Resonance
¹ H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
AEF	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
ALP	Alkaline Phosphatase
ALT	Alanine Aminotransferase
AMP	Ampisilin
AMU	Atomic Mass Unit
AST	Aspartate Aminotransferase
BHA	Butylated Hydroxyanisole
CEM-SS	İnsan T Lenfoblastoid Hücresi
CI	Chemical Ionization
COSY	Correlation Spectroscopy
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
ED ₅₀	% 50'sine Etkili Olan Doz
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
EI-MS	Electron Ionization-Mass Spectrometry
ESI-MS	Electrospray Ionization-Mass Spectrometry
EUP	Euphytose®
FB	Forsitozit B
FDA	Food and Drug Administration
FID	Flame Ionization Detector
FP	Fenilpropanoit
GC (GK)	Gas Chromatography (Gaz Kromatografisi)

GC-MS (GK-KS)	Gas Chromatography Mass Spectrometry (Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi)
gHMBC	Gradient Heteronuclear Multiple Bond Correlation
gHMQC	Gradient Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
GLC	Gas Liquid Chromatography
HAM-A	Hamilton Anksiyete Derecelendirme Ölçeği
HeLa	İnsan Uterus Karsinoma Hücresi
HSV-1	<i>Herpes simplex Virus-1</i>
IC ₅₀	% 50'sini İnhibe Eden Konsantrasyon
IR	İnfrared
<i>i.p.</i>	İntraperitoneal
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
KB	İnsan Nazofarenks Karsinoması
KETO	Ketokonazol
KK	Kreatin Kinaz
KLT	Klotrimazol
KM	Kafeoil-malik asit
KS	Kütle Spektroskopisi
LD ₅₀	Ortalama Letal Doz
LDL	Low Density Lipoprotein
M _a	Molekül Ağırlığı
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MCF7	Meme Adenokarsinomu Hücreleri
MDA	Malondialdehit
MDR-1	Multidrug Resistance Protein-1
MDSA	Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MFK	Minimum Fungusidal Konsantrasyon

MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NIS	Nistatin
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
P	Penisilin
P-388	Murin Lökoma
PMS	Phenazine Methosulfate
RI	Retansiyon İndisi
RNA	Ribonükleik Asit
s.c.	Subkütan
ST	Streptomisin
SSS	Santral Sinir Sistemi
Syn	Sinonim
TBA	Thiobarbituric Acid
TCA	Trichloroacetic Acid
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TGF- β	Transforming Growth Factor Beta
Tn I	Troponin I
TOB	Tobramisin
UV	Ultraviyole
VE	Verbaskozit
Vero	Yeşil Afrika Maymun Böbreği
X/XO	Xanthine/Xanthine Oxidase
XTT	Tetrazolyum Tuzu
YBSK	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	<i>Ballota acetabulosa</i> 'nın habitatı	11
Şekil 1.2.	<i>Ballota acetabulosa</i>	12
Şekil 3.1.	<i>Ballota acetabulosa</i> (L.) Benth.	78
Şekil 3.2.	Gövde, toz drog incelemesi	80
Şekil 3.3.	Yaprak, toz drog incelemesi	81
Şekil 3.4.	Gövdeden enine kesit	82
Şekil 3.5.	Yapraktan enine kesit	84
Şekil 3.6.	İzole edilen bileşiklerin ¹ H-NMR spektrumu	89
Şekil 3.7.	İzole edilen bileşiklerin ¹³ C-NMR spektrumu	90
Şekil 3.8.	İzole edilen bileşiklerin HSQC spektrumu	91
Şekil 3.9.	İzole edilen bileşiklerin DEPT spektrumu	92
Şekil 3.10.	İzole edilen bileşiklerin GK-KS kromatogramı	93
Şekil 3.11.	Standart olarak kullanılan stigmasterol bileşiğinin mass spektrumu	94
Şekil 3.12.	İzole edilen stigmasterol bileşiğinin mass spektrumu	95
Şekil 3.13.	İzole edilen β -sitosterol bileşiğinin mass spektrumu	96
Şekil 3.14.	Lipit peroksit kalibrasyon eğrisi	99

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	<i>Ballota</i> türlerinin diterpen içerikleri	16
Çizelge 1.2.	<i>Ballota</i> türlerinin flavonoit içerikleri	21
Çizelge 1.3.	<i>Ballota</i> türlerinin etanollü ekstralarının antimikrobiyal aktivitesi	33
Çizelge 1.4.	Bitkilerin etanollü ekstralarının inhibisyon zonlarının çapları (mm)	34
Çizelge 1.5.	<i>B. acetabulosa</i> bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi	36
Çizelge 1.6.	<i>B. acetabulosa</i> 'nın MİK değerleri	37
Çizelge 1.7.	<i>B. acetabulosa</i> bitkisi ve bazı standart antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesi	39
Çizelge 1.8.	<i>B. acetabulosa</i> ekstralarının MİK değerleri	39
Çizelge 1.9.	Antioksidan yöntemlerinden elde edilen veriler	46
Çizelge 1.10.	Brine Shrimp yönteminden elde edilen veriler	49
Çizelge 2.1.	GK Sıcaklık Programı	73
Çizelge 2.2.	GK-KS Sıcaklık Programı	73
Çizelge 3.1.	β -Sitosterol ve stigmasterol bileşiklerinin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektral değerleri	97
Çizelge 3.2.	<i>B. acetabulosa</i> uçucu yağının bileşimi	98
Çizelge 4.1.	<i>Ballota acetabulosa</i> 'nın <i>Ballota nigra</i> 'ya göre morfolojik farkları	101



Ballota acetabulosa (L.) Benth.

1. GİRİŞ

Ballota türleri *Lamiaceae* familyasına ait çok yıllık otsu bitkilerdir. *Lamiaceae* familyası tıbbi kullanımlarıyla tanınan çok çeşitli ve yaygın familyalardan biridir. Familyaya ait *Ocimum*, *Lavandula*, *Mentha*, *Rosmarinus*, *Salvia* ve *Thymus* gibi bitkilerin insanlar tarafından tarih öncesi zamanlardan beri kullanıldığı bilinmektedir. Arkeolojik kazılardan elde edilen bulgular, bu familya bitkilerinden günümüzde sadece yabancı bitkiler olarak bildiğimiz bazılarının, geçmişte yerel olarak kültürünün yapıldığını göstermektedir. Familyanın bazı türleri gıdalarda tatlandırıcı ve sebze olarak kullanılır. Ayrıca bu bitkiler parfüm endüstrisinde kullanılabilecek uçucu yağlarca zengin birer kaynaktır. Tedavi edici özellikleri esas olarak uçucu yağlarına dayanmaktadır. Familya bitkilerinin kök, yaprak ve dallarından bir dizi bisiklik labdan ve klerodan serisi diterpenler, trisiklik diterpenler, furanoid diterpenler, monoterpenler, seskiterpenler, seskiterpen türevleri, triterpenler, flavonoidler, fenolik asitler ve steroidler gibi çeşitli etken madde grupları izole edilmiştir (Savona ve ark., 1976a; Savona ve ark., 1977a; Sever, 1996; Hatamneia ve ark., 2008).

Ballota cinsinin dünyada en fazla çeşitliliği Akdeniz çevresinde olmak üzere Avrupa, Kuzey Afrika ve Batı Asya'nın ılıman bölgelerinde ve Güney ve Doğu Afrika'da yayılım gösteren 35 tür ve 14 alt türü bulunmaktadır. Bu cinsin Türkiye'de 12 tür ve 17 taksonu bulunmakta olup bu taksonlardan 9 tanesi endemiktir. *Ballota* türleri kış aylarının sert geçtiği iklimlere uygun değildir, bu nedenle coğrafi dağılımı sınırlı ve ömrü kısadır. Bu türler çok yıllık otlar ya da küçük çalılıklardan oluşur. *Ballota* isminin Dioscorides zamanında verildiği ve *Ballota nigra* L. yapraklarının o dönemde kuduz köpek ısırmasında panzehir olarak kullanıldığı öne sürülmektedir. *Lamiaceae* familyasına ait çoğu bitkiden otsu yapıları sebebiyle el yapımı nesnelere üretilmemesine karşın *Ballota nigra* fırınları temizlemek için süpürge olarak kullanılmış, *Ballota pseudodictamnus* (L.) Benth. kalikslerinin dini ritüellerle bağlantılı bir kullanımı bulunmuştur. Bu bitki kısımları yağa batırıldıktan sonra kutsal

lambalar için fitil olarak kullanılmıştır (Gunther, 1959; Patzak, 1961; Seidel ve ark., 1999; Mulas, 2006; Ahmed ve ark., 2009).

Taze yaprak, meyve ve tohumları Dioscorides'ten beri bilinen *Ballota* türleri Türkiye'de geleneksel olarak antiülser, antispazmodik, diüretik, sedatif, antibakteriyel, vermifüj ve hafif astrenjan amaçla kullanılmaktadır. Ayrıca kaşıntı durdurucu ve lokal ağrı üzerine analjezik etkilere de sahiptirler. Avrupa'da yetişen *Ballota* türleri yıllardan beri sindirim sistemi spazmlarında, anksiyetede ve sempatikotoni hallerinde kullanılmaktadır (Davies-Coleman ve Rivett, 1993; Sever, 1996; Çitoğlu ve ark., 1998).

Ballota türleri üzerinde çeşitli biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır ve bu çalışmalarda; *Ballota* türlerinin antimikrobiyal, antioksidan, antiinflamatuvar ve anksiyolitik etkileri rapor edilmiştir. *Ballota nigra*, *Ballota acetabulosa* (L.) Benth., *Ballota andreuziana* Pamp., *Ballota limbata* Benth. ve *Ballota undulata* (Sieber ex Fresen.) Benth. başta olmak üzere, tıbbi değeri yüksek olan türler üzerindeki çalışmalar son yıllarda oldukça artmıştır. *B. nigra* bitkisinin anksiyolitik olarak kullanıldığı kaydedilmiştir. *B. acetabulosa* ve *B. undulata* bitkilerinin toprak üstü kısımları; sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle *B. limbata* ise öksürük tedavisinde kullanılmaktadır (Çitoğlu ve ark., 2003b; Çitoğlu ve ark., 2004a; Dumlu ve Bulut, 2007; Erdoğan-Orhan ve ark., 2010; Haq ve ark., 2011).

Ballota türleri üzerinde günümüze kadar yapılan çalışmalarda; terpenoit, flavonoid, feniletanoit yapılı bileşiklerin varlığı göze çarpmaktadır. Farklı *Ballota* türlerinde bulunduğu bildirilen fenilpropanoitler, *p*-kumaroil glikozit flavonoidleri, polimetoksile flavonoidler ve betainler kemotaksonomik açıdan önemli belirteçler olarak kabul edilmektedir. Laktatlanmış flavonoidler bitkilerde çok nadir olarak rastlanan bileşenlerdir ve *B. nigra*'dan iki laktoilli flavonoid izole edilmiştir, bu durum kemotaksonomik açıdan oldukça ilgi çekicidir ve drog ile ekstrenin standardizasyonunda bu iki bileşiğin kullanılabileceği düşünülmektedir. *Ballota*

cinsine dâhil olan bitkilerin içerdiği diterpenler çeşitli farmakolojik aktiviteler gösterirler. Bu aktiviteler arasında; antitümöral, insektisit, antiülser, antiviral, platelet agregasyonunu inhibe edici, antienflamatuvar, antipiretik, SSS deprese edici, antifertilite ve antifungal aktiviteler sayılabilir (Seidel ve ark., 1996b; Seidel ve ark., 1997; Didry ve ark., 1999; Bertrand ve ark., 2000; Siciliano ve ark., 2005; Tóth ve ark., 2007).

Günümüze kadar edinilen bilgilere göre *Ballota* türlerinin antioksidan aktivitesine özellikle polifenolik bileşikler ve fenilpropanoitlerin sebep olduğu düşünülmektedir. *B. nigra*, *B. undulata*, *B. hirsuta*, *B. rupestris* gibi bazı *Ballota* türlerinin toprak üstü kısımlarında fenilpropanoit türevlerini içerdikleri ve bu türlerden izole edilen fenilpropanoit türevlerinin, *in vitro* antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır. *B. nigra*'dan izole edilen fenilpropanoit türevleri ayrıca sedatif, antiemetik ve antibakteriyel aktivite göstermiştir. Bunlara ek olarak fenilpropanoit türevlerinin antienflamatuvar rolünden bahsedilmektedir. Bazı *Ballota* türlerinden izole edilen flavonoidlerin önemli antioksidan aktivite gösterdiği vurgulanmıştır. Flavonoidlerin antitüsif, antifungal ve antibakteriyel özellikleri nedeniyle terapötik kullanımlarının olduğu da belirtilmiştir (Harborne ve Baxter, 1993; Erdoğan-Orhan ve ark., 2010).

Çeşitli farmakolojik etkileri nedeniyle iyi tanınan bitkiler olan *Ballota*'ların tam bir Türkçe adı bulunmamaktadır. Ancak Türkiye Bitkileri Listesi'nde "nemnemotu" olarak isimlendirilmiştir, bunun yanında değişik yörelerde farklı isimlerle anılmaktadır. Örneğin *Ballota nigra*'ya; köpek otu, karayerpırasası, gezgez otu, ısırgan, çalba, şalba, bal otu, ballık otu, nemnem otu, *Ballota nigra* subsp. *uncinata*'ya elkurtaran, *Ballota acetabulosa*'ya pat pat otu adları verilmektedir. *Ballota saxatilis*'e ise somruk (Gaziantep), karınca somurcağı (Silifke) denildiğine rastlanılmıştır. Halk arasında yalancı ısırgan, boz otu, kurt düşürücü, leylim otu, kandil otu gibi isimlerle de bilinen *Ballota* türleri, infüzyon halinde boğmacada, kurt düşürücü olarak, mide ülserinde, spazm çözücü ve yaralar üzerine antiseptik olarak, öksürüğün semptomatik tedavisi, astım, baş ağrısı, mide bulantısı ve özellikle

merkezi sinir sistemi kaynaklı kusmada, sinirsel dispepside, hemoroitte ve sempatikotoni hallerinde kullanılmaktadır (Baytop, 1984; Meriçli ve ark., 1988; Yeşilada ve ark., 1993; Yeşilada ve ark., 1995; Newall ve ark., 1996; Sever, 1996; Çitoğlu ve ark., 1998; Eryaşar ve Tuzlacı, 1998; Tolon Fenercioğlu ve Tuzlacı, 1998; Ezer ve ark., 1999; Tuzlacı ve Tolon, 2000; Sever, 2002; Güner, 2012). İçerdiği bileşikler nedeniyle gösterdikleri bu aktivitelerden ötürü; *Ballota* türleri üzerinde yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. *Ballota* cinsine ait dünyada 35 tür bulunmasına karşın ancak 20 tür kimyasal yönden incelenmiştir. Bu türler: *Ballota acetabulosa*, *B. africana*, *B. andreuzziana*, *B. antalyense*, *B. aucheri*, *B. cristata*, *B. hirsuta*, *B. hispanica*, *B. lanata*, *B. larendana*, *B. limbata*, *B. macrodonta*, *B. nigra*, *B. pseudodictamnus*, *B. rotundifolia*, *B. rupestris*, *B. saxatilis*, *B. undulata*, *B. glandulosissima*, *B. inaequidens*'tir (Sever, 2002; Ahmad ve ark., 2004b; Erdoğan-Orhan ve ark., 2010). *Ballota* cinsine dâhil olan bitkiler arasında henüz hiç çalışılmamış ya da sınırlı sayıda çalışma yapılmış türlerin varlığı, araştırmacıların ilgisini bu yöne çekmektedir. Etkili bileşikler açısından zengin olan *Ballota* türleri üzerinde yapılacak olan ileri çalışmalar, hem yeni bileşiklerin ortaya çıkarılmasına hem de ilaç haline getirilebilmesine yardımcı olacaktır. Ayrıca ülkemiz *Ballota* cinsine ait tür sayısı bakımından en zengin ülke olup bu özelliğiyle gen merkezi niteliğindedir. Buna karşın bu bitkiler üzerinde yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Halk arasında kullanımının yaygınlığı da göz önüne alınarak bu türler üzerinde daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Ballota türlerinin geleneksel olarak kullanıldığı gastrointestinal bozukluklar ve enflamatuvar yaralanmalar gibi olgulara reaktif oksijen türlerinin yol açtığı ve polifenolik bileşiklerin reaktif oksijen türlerine olan direnci artırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu nedenle bu bitki türünün antioksidan kapasitesinin aydınlatılması gerekmektedir. Türkiye'de doğal olarak yetişen *Ballota acetabulosa* üzerinde ülkemizde yayınlanmış, antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik aktivite konusunda birkaç çalışma olmasının yanı sıra; bu bitkinin morfolojik özellikleri hakkında yurtiçi ve yurtdışı yayın sayısı da sınırlıdır. Bu çalışmada, *Ballota*

acetabulosa bitkisinin morfolojik, anatomik ve kimyasal yapısı aydınlatılmaya çalışılmış; bu amaçla uçucu yağ elde edilmiş, GK ile analizi yapıp antioksidan etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bitkiden bazı bileşiklerin izolasyon ve yapı tayinine de gidilmiştir. Yapılan kimyasal çalışmalardan elde edilen veriler ışığında; etkili bileşikleri ortaya çıkarılarak bilime katkı sağlanması amaçlanmıştır.

1.1. Botanik Bilgiler

1.1.1. *Ballota acetabulosa*'nın Sistematikteki Yeri

Ballota acetabulosa'nın TÜBİVES'e (Türkiye Bitkileri Veri Servisi) göre sistematik olarak sınıflandırılması:

Alem	: Plantae
Alt Alem	: Tracheobionta
Bölüm	: Magnoliophyta
Alt Bölüm	: Angiospermae
Sınıf	: Magnoliopsida
Altsınıf	: Asteridae
Takım	: Lamiales
Familya	: <i>Lamiaceae</i>
Altfamilya	: Lamioideae
Oymak	: Stachydae
Altoymak	: Ballotae
Cins	: <i>Ballota</i> L.
Tür	: <i>Ballota acetabulosa</i> (L.) Bentham

1.1.2. *Lamiaceae* Familyasının Botanik Özellikleri

Lamiaceae familyası, dünyanın her tarafına yayılmış çiçekli bitkilerden oluşan 250'den fazla cins ve yaklaşık 7000 tür ile en geniş ve karakteristik familyalardan biridir. Bu familya bitkileri başlıca Akdeniz havzasında yaygındır ve Türkiye'de 45 cins, 574 tür ile temsil edilmektedir. Familyanın Türkiye'ye endemik olan 256 türü vardır ve familya içinde tür endemizmi oranı % 44'tür. Bu familyadaki türlerin birçoğu otsu veya çalı formunda, tek veya çok yıllık bitkilerden oluşmaktadır. Gövde dört köşeli; yapraklar çoğu zaman basit, bazen parçalı ve dekusat dizilişlidir. Çiçekler her nodusta vertisillastrum durumunda, zigomorftur. Hermafrodit olan çiçeklerde kaliks 5 loblu kalıcı, bazen bilabiat; korolla bilabiat, üst dudak bazen körelmiştir. Stamen 4 tane, çoğu zaman didinamdır; bazen 2 stamen bulunur. Ovaryum 2 karpelden meydana gelmiş 4 gözlü ve üst durumludur, her gözde 1 ovül bulunur; stilus ginobaziktir. Meyve 4 fındıkcıktan meydana gelen bir şizokarptır. Familyanın büyük çoğunluğu ve özellikle bazı cinslerde popülasyonun % 50'sinde erkek organ yoktur yani seksüel dimorfizme yönelme vardır. Böyle olan dişi bitkiler genellikle küçük ve korollaları soluk renklidir. Familya bitkileri toprak üstü kısımlarında, uçucu yağ içeren *Lamiaceae* tipi salgı tüyleri (sapı tek, başı 8 hücreli) ve daha fazla sayıda örtü tüyü taşır. Örtü tüyleri hücrelerin morfolojisi ve sayısına göre basit tek hücreli, basit çok hücreli, dallanmış tek hücreli ve dallanmış çok hücreli olmak üzere dörde ayrılmıştır. (Davis, 1982; Tanker ve ark., 1992; Erik ve Tarıkahya, 2004; Hatamneia ve ark., 2008; Osman, 2012).

1.1.3. *Ballota* L. Cinsinin Botanik Özellikleri

Ballota cinsinin Akdeniz çevresi, Avrupa, Kuzey Afrika ve Batı Asya'nın ılıman bölgelerinde yayılım gösteren 35 tür ve 14 alt türü bulunmaktadır. Sadece dört tür Güney ve Doğu Afrika kökenlidir. *Ballota* cinsi çok yıllık otlar ya da küçük çalılardan oluşur. Gövdesi dörtgen biçimli, gövde üzerindeki yapraklar saplı, genellikle tabanda kordat, kenarları undulat ya da krenat-dentattır. Vertisillatlar

türlere göre sık veya seyrek, fakat genellikle sık; çiçekli yapraklar tomurcuk taşır, brakteoller genellikle dardır. Kaliks tüpsü veya ters koni şeklindedir, 10 damarlı, tüylü, dış şekilleri farklı, dış sayısı 5–10 veya daha fazladır. Korolla mor, pembe veya beyaz renkli, dış kısmı tüylü, 2 dudaklı, üst dudak düz, alt dudak yarı, emarginat veya konkav, sık sık kristattır. Loblar dikensi uçlu, nadiren bütündür. Korolla tüpü kaliksten daha kısa veya eşittir. Stamenler paralel, alttaki çift daha uzun, anterler üst dudağın altında ve anter kılıfları dallanmıştır. Meyvesi nuks tipinde, oblong, tepesi yuvarlaktır. Gövdede dendroit, demet, yıldız şeklinde veya basit örtü tüyleri vardır. Farklı tipte salgı tüyleri (sapı uzun ve tek hücreli, başı 2 hücreli; sapı kısa ve tek hücreli, başı 4 hücreli; sapı çok kısa ve tek hücreli, başı 8 hücreli) bulunur (Patzak, 1961; Metcalfe ve Chalk, 1965; Tutin ve ark., 1972; Davis, 1982; Seidel ve ark., 1999; Ahmed ve ark., 2009).

Morfolojik açıdan *Ballota*'lara en çok benzeyen bitkiler *Marrubium*'lardır. Fakat *Marrubium*'larda stamenler kaliks tüpünün içindedir (*Ballota*'larda dışında) ve kaliks tüpü yukarı doğru genişlemez (*Ballota*'larda genişler) (Sever, 1996).

Ballota cinsi on seksiyona ayrılır: *Ballota* Patzak, *Acanthoprasium* Benth., *Rubiformis* Patzak, *Acetabulosa* Patzak, *Pseudodictamnus* Patzak, *Microphylla* Patzak, *Beringeria* (Neck.) Benth., *Microselidae* (Briq.) Patzak, *Stachydiformis* Patzak, *Royleoides* Patzak (Patzak, 1958, 1959, 1961).

1.1.4. Türkiye'de Yetişen *Ballota* Türleri

Ballota cinsi için gen merkezi olan Türkiye'de bitkinin 12 tür, 17 taksonu bulunmaktadır ve bu taksonlardan 9 tanesi endemiktir. Tez konusu olan *Ballota acetabulosa* türü ülkemizde doğal olarak yetişmektedir. Türkiye'de yetişen *Ballota* taksonları ve ait oldukları seksiyonlar şöyledir (Patzak, 1959; Tezcan, 2001; Çitoğlu ve ark., 2005b):

*Acetabulosa****Ballota acetabulosa* L. Benth.***Pseudodictamnus**B. pseudodictamnus* L. Benth. subsp. *lycia* Hub.-Mor**Microselidae**B. cristata* P. H. Davis**B. antalyense* F. Tezcan & H. Duman**B. saxatilis* Sieber ex. J.& C. Presl subsp. *saxatilis**B. saxatilis* Sieber ex. J.& C. Presl subsp. *brachyodonta* (Boiss.) P. H. Davis & Doroszenko*B. inaequidens* Hub.-Mor. & Patzak**B. glandulosissima* Hub.-Mor. & Patzak**B. larendana* Boiss. & Heldr.***B. latibracteolata* P. H. Davis & Doroszenko**B. rotundifolia* C. Koch***B. macrodonta* Boiss. & Bal.***Ballota**B. nigra* L. subsp. *nigra* (Swartz) Briq.*B. nigra* L. subsp. *foetida* Hayek*B. nigra* L. subsp. *ruderalis* (Swartz) Briq.*B. nigra* L. subsp. *anatolica* P. H. Davis*B. nigra* L. subsp. *kurdica* P. H. Davis

*Bu türler Akdeniz fitocoğrafik bölgesine endemiktir. **Bu türler ise İran-Turan fitocoğrafik bölgesine endemiktir (Davis, 1982; Sever, 2002; Güner, 2012).

1.1.5. *Ballota* Cinsinin Türkiye’de Yetişen Türlerinin Tayin Anahtarı

1. Kaliks daima eşit 5 dişli bitkinin vejetatif kısımlarında yıldız ve dendroit tüy yok

11. nigra

1. Kaliks genellikle 10 dişli (daha az ve daha çok olabilir) bunlardan 5’i diğerlerinden daha uzun, vejetatif kısımlarda yıldız ve dendroit tüy var

2. Gövde yumuşak yünsü-keçeli şekilde dendroit tüylü

3. Kaliks dişleri kısa ve nadiren yayvan, 3–4 mm çapında

4. cristata

3. Kaliks dişleri genişleyen yayvan ve yuvarlak, 9–20 mm çapında

4. Kaliks dişleri 15–20 mm çapında (loblar geniş, eni boyundan daha fazla) uçları yuvarlak, yapraklar krenat, gri tüylü

1. acetabulosa

4. Kaliks dişleri 9–10 mm çapında, loblar geniş, uçları akut, ovat-üçgensiz yapraklar hemen hemen tam, sık yünsü tüylü

2. pseudodictamnus subsp. lycia

2. Gövde basit ya da yıldız tüylü (dendroit değil)

5. Vertisillastrumlar gevşek, pedunküller 5–12 mm (yaklaşık çiçek durumunun hemen altındaki yaprakların petiolleri kadar uzunlukta)

3. inaequidens

5. Vertisillastrumlar sık, pedunküller çok kısa

6. Uzun olan kaliks dişleri lanseolat ya da subulat

7. Uzun olan kaliks dişleri 5–7 mm yayvan

10. macrodonta

7. Uzun olan kaliks dişleri 2-3 mm geriye kıvrık

9. rotundifolia

6. Uzun kaliks dişleri üçgenden ovat akuminata değişen şekillerde
8. Gövde ince uzun yumuşak yapışkan tüylerle kaplı, kaliks 12–15 mm dişler kısa dikensi tüylü **6. glandulosissima**
8. Gövde uzun yumuşak örtü tüylü veya stellat ya da demet tüylü, kaliks 6–10 mm dişler mukronat veya değil
9. Brakteoller linear-oblanseolattan spatulata doğru değişen şekillerde 6–10 x 0,6–2,2 mm mukronat, kaliks ve brakteoller glandular tüylü **8. latibracteolata**
9. Brakteoller linear–filiform 2-4x0,2–0,4 mm, mukronat değil kaliks ve brakteoller örtü tüylü
10. Kaliks limbi yayvan gövde sık ipeksi (yumuşak) tüylü **7. larendana**
10. Kaliks limbi huni şeklinde, gövde kısa demet ya da yıldız tüylü yaygın basit tüyler var ya da yok **5. saxatilis**
- (Davis, 1982)

1.1.6. *Ballota acetabulosa*'nın Tür Özellikleri

Syn: Marrubium acetabulosum L. (1753).

Ballota acetabulosa çok yıllık, otsu, dallanmamış, dik, tabanı odunsu, gövdesi 30–80 cm boyunda, yoğun yıldız şeklinde örtü tüyleri ve salgı tüyleri ile kaplıdır. Yapraklar dekusat dizilişli, basit, ovat-kordat, tepesi obtus, 2–5 x 2–4 cm boyutunda, orta ve üst yaprakların tabanı genelde kordat, yaprak kenarı krenat dişli, gri yünsü-yıldız tüylü ve yaprak sapı kısadır. Brakteoller lineardan spatulata kadar değişen şekillerdedir. Çiçekler hermafrodit; kaliks tüp şeklinde, 6–8 mm uzunluğunda, yoğun yıldızimsı-yünsü tüylü ve 10 dişlidir. Kaliks tüpü tepede birden genişleyip 10–20 mm boyunda zarımsı bir dudak oluşturur. Ağsı loblu olan bu dudaklar yuvarlak ve tepesi mukronattır. Kaliks dişleri bu şekilde 5 büyük lobdan oluşurken dişler arasında

küçük, mukronat loblar bulunmaktadır. Korolla 15–18 mm uzunluğunda, beyaz renklidir ve üzerinde mor lekeler bulunmaktadır. Meyve kaliksten meydana gelen bir fındıkçıktır. Nisan-Temmuz aylarında çiçek açan bu bitki Güney Avrupa, Güney ve Doğu Yunanistan ve Batı Anadolu'da 1500 metreye kadar olan kurak tepelerdeki kireçtaşı kayalar, harabeler ve engebeli arazilerde sert zeminlerde, gölgeliklerde yaygın olarak yetişir. Bitki ülkemizde Edirne, Çanakkale, Balıkesir, İzmir, Manisa, Muğla, Aydın ve Antalya illerinde doğal olarak yetişmektedir (Tutin ve ark., 1972; Davis, 1982; Petanidou ve Smets, 1996; Sahpaz ve ark., 2002).



Şekil 1.1. *Ballota acetabulosa*'nın habitatı



Şekil 1.2. *Ballota acetabulosa*

1.2. Fitokimyasal Bölüm

Yapılan fitokimyasal çalışmalarda aşağıda adı geçen *Ballota* türlerinden izole edilen pek çok bileşiğin kimyasal yapıları spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır.

1.2.1. *Ballota* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Farklı *Ballota* türlerinden biyolojik olarak aktif olan çok çeşitli bileşenler izole edilmiştir. Yapılan literatür taraması sonucu, *Ballota* cinsinin genellikle toprak üstü kısımlarından izole edilen ana madde gruplarının labdan diterpenoitleri, fenilpropanoitler ve flavonoitler olduğu göze çarpmaktadır (Siciliano ve ark., 2005).

1.2.1.1. Diterpenler

Ballota türleri üzerinde yapılan araştırmalar sonucu içerdikleri en önemli doğal ürünlerin furanolabdan tipi diterpenler olduğu ortaya konulmuştur (Seidel ve ark., 1999).

Yapılan bir dizi çalışma sonucu *B. nigra*'dan ballonigrin, ballonigrinon furanolabdanları ve eser miktarda marrubiin bisiklik diterpeni izole edilmiş ve İTK yardımıyla teşhisi yapılmıştır. *B. rupestris*'ten ballonigrin ($C_{20}H_{24}O_4$), ballonigrinon ($C_{20}H_{22}O_5$), rupestralik asit, 7- α -asetoksi marrubiin diterpenleri izole edilmiştir. *B. nigra* subsp. *foetida* yapraklarının etil asetatlı ekstresinden hareketle furanolabdan diterpenoitlerinden ballotinon ($C_{20}H_{26}O_5$, 7-oksomarrubiin), 7- α -asetoksi marrubiin ve ballotenol izole edilmiştir (Savona ve ark., 1976a; 1976b; 1977a; 1977b). *B. nigra* subsp. *foetida*'nın toprak üstü kısımlarının asetonlu ekstresinden bir prefuranik labdan diterpeni olan preleosibirin izole edilmiş ve yapısı, bilinen bir bileşik olan leosibirin ile spektroskopik bulgular temelinde ilişki kurularak aydınlatılmıştır (Bruno ve ark., 1986).

B. lanata'nın yaprak ve ince dallarının asetonlu ekstresi yoğunlaştırılıp yoğun ekstre de etil asetatla muamele edildikten sonra kolon kromatografisine uygulanıp etil asetat:petrol eteri solvan sistemi ile elüsyon yapıldığında ballonigrin, metanol:etil asetat ile elüsyon yapıldığında ise 13-hidroksiballonigrinolit izole edilmiştir (Savona ve ark., 1978a).

B. acetabulosa yapraklarından 18-hidroksiballonigrin diterpeni izole edilmiş ve yapılan spektroskopik ölçümlerle yapısının ballonigrinle olan ilişkisi ortaya konulmuştur (Savona ve ark., 1978b).

Aynı araştırma grubu *B. andreuzziana* toprak üstü kısımlarının aseton ekstresinde hispanolon ve *Ballota pseudodictamnus*'un toprak üstü kısımlarında ballonigrin,

18-hidroksiballonigrin ve marrubenol bulunduğunu yayınlamışlardır. Eser miktarda elde edilen marrubenol ilk olarak *Lamiaceae* familyasından *Marrubium vulgare* L. de bulunmuştur. Bu özellik *Ballota* ve *Marrubium* cinsleri arasında bir yakınlık olduğunu göstermektedir. İki cins arasındaki fark *Ballota* cinsinde bulunan diterpenlerin 7. karbonlarında oksijen taşıyan labdan iskeletine sahip olmalarıdır (Savona ve ark., 1982).

İspanya'da yetişen *B. hispanica*'nın kurutulup toz edilmiş çiçek ve yapraklarının aseton ekstresi kolon kromatografisinde petrol eteri-etil asetatın değişen oranlarıyla elüe edilerek, furanolabdanik bir diterpenoit olan hispanolon, hispanonik ve hispaninik asit izole edilmiştir, ayrıca kromatografiden elde edilen fraksiyonlara diazometan uygulanması ve saflaştırma sonucu metil hispanonat ve metil hispaninat elde edilmiştir (Rodriguez ve ark., 1979). Yine bu bitkiden bir başka çalışmada hispanonik asit metil ester (Lopez de Lerma ve ark., 1980) izole edilmiştir.

Güney Afrika'ya endemik ve hispanolon için iyi bir kaynak olan ve o yörede "catmint" ismiyle anılan *B. africana*'nın toprak üstü kısımlarının aseton ekstresine kolon kromatografisi uygulanıp hekzan:etil asetat ile elüe edildiğinde furanolabdan diterpenleri olan hispanolon, dehidrohispanolon ve marrubiin izole edilmiş ve aynı solvan sisteminden de kristallendirilmiştir. İnce tabaka kromatografisi ekstrede normalde bu bileşiklerin bulunmadığını ancak ekstrenin bekletilmesi sonucunda oluştuğunu göstermiştir. Hispanolonun yarı-sentetik transformasyonlar için uygun bir başlangıç maddesi olduğu belirtilmiştir. Bu araştırma esnasında, ilk olarak *B. aucheri*'den Rustaiyan ve arkadaşları tarafından 1995'te izole edilen 6 β -hidroksi-15,16-epoksilabda-8,13(16),14-trien-7-on bileşiği elde edilmiştir (Davies-Coleman ve Rivett, 1993). Gray ve arkadaşları (2003) tarafından *B. africana* toprak üstü kısımlarından kuru ağırlığın % 0,8'i kadar hispanolon izole edilmiştir.

Rustaiyan ve arkadaşları (1992, 1995) *B. aucheri* toprak üstü kısımları ile çalışmış, droğu eter:etanol:petrol eteri (1:1:1) solvan sistemi ile ekstre etmiş ve bu ekstreten

ballotinin, ballooşerolit (seko-labdan) ve labdan yapısında 4 diterpen daha (9,13:15,16-diepoksi-6-hidroksi-seko-15-hidroksi-7-labdanon, 9,13:15,16-diepoksi-7-hidroksi-14-labden-6-on, 6,9:15,16-diepoksi-9-hidroksi-8,9-13(16),14-labdadien-7-on, 15,16-epoksi-7,9-dihidroksi-13(16),14-labdadien-6-on) izole etmişlerdir. Yaptıkları diğer çalışmalarda aynı bitkiden dimerik bir furolabdan diterpeni olan persianonun yanı sıra 7 β ,9 α -dihidroksi-15,16-epoksi-labda-13(16),14-dien-6-on, 7 β -hidroksi-9 α ,13,15,16-bis-epoksilabd-14-en-6-on, 6 β -hidroksi-15-metoksi-9 α ,13,15,16-bis-epoksilabdan-7-on, 15-*epi*-6 β -hidroksi-15-metoksi-9 α ,13,15,16-bis-epoksilabdan-7-on, 6 β -hidroksi-15-etoksi-9 α ,13,15,16-biepoksi-labdan-7-on, 6 β -hidroksi-15,16-epoksi-labda-8,13(16),14-trien-7-on, seko-labdan ve ballonigrin izole edilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada *B. nigra* çiçekli toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden hareketle 13-hidroksiballonigrinolit diterpeni izole edilip spektrometrik yöntemlerle yapısı belirlenmiştir. Bu diterpenin *Ballota* türlerine özgü olduğu ve bitkinin standardizasyonunda kullanılabileceği bildirilmiştir (Seidel ve ark., 1996a).

Çitoğlu ve arkadaşları (1998) tarafından *B. saxatilis* subsp. *saxatilis* toprak üstü kısımlarının asetonlu ekstresi kolon kromatografisi yöntemi kullanılarak petrol eteri:etil asetatın artan polariteleri ile muamele edilmiş ve 3 tane furanolabdan yapısında diterpenoit (hispanolon, ballonigrin ve dehidrohispanolon) izole edilmiştir. Bu diterpenlerden sonuncusunun normalde bitkide olmayan fakat bitkiden elde edilen ekstrenin bir süre bekletilmesiyle oluşan bir artefakt olduğu yani bekletilen ekstrede hispanolonun zamanla dehidrohispanolona dönüştüğü belirtilmiştir. Hersel ve arkadaşları (2000) *B. saxatilis*'ten hispanon diterpenini izole etmiştir. Bruno ve arkadaşları (2001) ise Lübnan'da yetişen aynı bitkinin toprak üstü kısımlarının asetonlu ekstresinden furanolabdanik yapıda bir diterpen olan 18-hidroksiballonigrini izole etmişlerdir.

Hispanolon, ballonigrin ve dehidrohispanolon'un Türkiye'de yetişen 16 *Ballota* taksonundaki dağılımının yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) ile nitel olarak incelendiği bir çalışmada, *B. acetabulosa*, *B. pseudodictamnus* subsp. *lycia*, *B. cristata*, *B. inaequidens*, *B. saxatilis* subsp. *saxatilis*, *B. saxatilis* subsp. *brachyodonta*, *B. larendana*, *B. latibracteolata*, *B. rotundifolia*, *B. macrodonta*, *B. nigra* subsp. *foetida*, *B. nigra* subsp. *uncinata* ve *B. antalyense*'nin diterpenoid yapılı maddeler içerdiği bulunmuştur. İzole edilen bileşiklerin yapı tayinlerinde tek ve çift dimensiyonlu NMR tekniklerinden (DEPT, COSY, HMBC, HMQC) yararlanılmıştır. Çizelge 1.1'de bu *Ballota* türlerinin diterpen içerikleri gösterilmektedir (Yılmaz ve Çitoğlu, 2003).

Çizelge 1.1. *Ballota* türlerinin diterpen içerikleri

	Örnekler	Hispanolon	Ballonigrin	Dehidrohispanolon
1	<i>B. acetabulosa</i>	+	+	+
2	<i>B. pseudodictamnus</i> subsp. <i>lycia</i>	+	-	+
3	<i>B. cristata</i>	+	+	+
4	<i>B. inaequidens</i>	+	+	-
5	<i>B. saxatilis</i> subsp. <i>saxatilis</i>	+	+	+
6	<i>B. saxatilis</i> subsp. <i>brachyodonta</i>	-	+	+
7	<i>B. glandulosissima</i>	-	-	-
8	<i>B. larendana</i>	-	+	+
9	<i>B. latibracteolata</i>	-	-	+
10	<i>B. rotundifolia</i>	+	-	+
11	<i>B. macrodonta</i>	-	-	+
12	<i>B. nigra</i> subsp. <i>nigra</i>	-	-	-
13	<i>B. nigra</i> subsp. <i>foetida</i>	-	+	-
14	<i>B. nigra</i> subsp. <i>uncinata</i>	-	-	+
15	<i>B. nigra</i> subsp. <i>anatolica</i>	-	-	-
16	<i>B. antalyense</i>	-	+	+

Riaz ve arkadaşları 2004'te, Asya'da yetişen bir tıbbi bitki olan *B. limbata*'nın toprak üstü kısmının metanol ekstresinin kloroformda çözünebilen fraksiyonuna tekrarlayan kromatograflerin uygulanmasıyla, çok seyrek görülen nafto[2,1-f]azulen-7-on iskeletine sahip limbetazulon diterpenoitini izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bileşiğin yapısı 1D ve 2D NMR gibi ayrıntılı spektroskopik yöntemlerle belirlenmiştir.

Pakistan'dan toplanıp kurutulmuş *B. limbata* bitkisinin kloroform ekstresi ballotenik asit ve ballodiolik asit olarak isimlendirilen iki klerodan tipi diterpen elde etmek amacıyla silikajel kolon kromatografisine tabi tutulmuştur. Ballotenik asit renksiz bir yağ olarak izole edilmiştir. Bileşiklerin yapı tayinleri COSY, HMQC, HMBC, NOE gibi iki boyutlu NMR tekniklerine dayanılarak yapılmıştır (Ahmad ve ark., 2004b). Aynı araştırma grubu aynı yıl yayınladıkları bir başka çalışmada ise *B. limbata* kloroform ekstresine (silikajel) kromatografi uygulanması sonucu, yalnızca *Ballota* cinsinde bulunduğu bilinen çok seyrek rastlanan tetrasiklik diterpenler sınıfına dahil olan limbatenolit A, B ve C, ballotenolit A ve iki klerodan tipi bileşiği ((4aR,5S,6R,8aR)-5-[2-(2,5-Dihidro-5-metoksi-2-oksofuran-3-il)etil]-3,4,4a,5,6,7,8,8a-oktahidro-5,6,8a-trimetilnaftalen-1-karboksilik asit ve (4aR,5S,6R,8aR)-5-[2-(2,5-Dihidro-2-oksofuran-3-il)etil]-3,4,4a,5,6,7,8,8a-oktahidro-5,6,8a-trimetilnaftalen-1-karboksilik asit) izole edip yapılarını belirlemişlerdir (Ahmad ve ark., 2004a).

Farooq ve arkadaşları (2007) *B. limbata* üzerine yaptıkları kimyasal araştırmalar sonucu bitkiden tetrasiklik diterpenler izole etmiştir. Aynı araştırma grubu *B. limbata* köklerinden ballonigrin lakton A ve B olarak isimlendirilen iki yeni tip diterpenoid izole etmiş ve yapılarını spektroskopik (IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR (HMQC, HMBC, COSY ve NOESY)) ve EI-MS verilerine göre aydınlatılmıştır (Farooq ve ark., 2012).

Hussein ve arkadaşları (2007) tarafından Mısır'dan toplanan *B. undulata*'dan, daha önce diğer *Ballota* türlerinde saptanan furolabdan yapısında ballotinon, ballonigrin

ve ballonigrinin yanında yeni furolabdan diterpenoiti 3 β -hidroksiballotinon ve ek olarak monoterpen (-)-karvon ve stigmasterol izole edilmiştir. İzolasyonlar *B. undulata* etanollü ekstresine tekrarlayan kromatografik yöntemlerin uygulanması ile gerçekleştirilmiştir. İzole edilen 3 β -hidroksiballotinon, ballotinon, ballonigrin ve ballonigrinin yapıları aydınlatılmıştır.

1.2.1.2. Flavonoidler

B. nigra ekstresi ve uçucu yağı kâğıt ve ince tabaka kromatografisi ile test edilmiş, bitkide flavonoidler ve fenolik bileşiklerin varlığı ortaya konulmuştur (Strzelecka ve ark., 1975). Kisiel ve Piozzi tarafından 1995'te bu bitkinin toprak üstü kısımlarından polimetoksiflavon yapısında tangeretin izole edilmiştir.

Fransa'dan toplanan *B. nigra*'nın kurutulmuş toprak üstü kısımlarının MeOH:su ekstresine jel filtrasyon kromatografisi uygulanması sonucu, laktoilli flavonoidler, luteolin-7-O-laktat ve luteolin-7-O-(2-O- β -D-glukopiranozil-laktat) izole edilmiştir. Bunların *B. nigra*'dan izole edilen ilk laktatlanmış flavonoidler olduğu ve bu iki bileşiğin daha önce *Marrubium vulgare*'den izole edildiği vurgulanmıştır (Bertrand ve ark., 2000).

B. nigra subsp. *foetida* toprak üstü kısımları ile yapılan bir kimyasal çalışmada apigenin-7-glikozit ve visenin-2 flavonoidleri izole edilmiştir (Darbour ve ark., 1986).

B. larendana'nın metanollü ekstresinden apigenin-7- β -D-O-(6''-O-*p*-kumaroil) glukopiranozit, apigenin-7- β -D-O-(3''-O-*p*-kumaroil)glukopiranozit ve luteolin-7- β -D-O-glukopiranozit elde edilmiştir. Savona ve arkadaşları *B. pseudodictamnus*'un toprak üstü kısımlarından 5-hidroksi-7,4'-dimetoksiflavon ve 7,4'-di-O-metil apigenin elde etmişlerdir. Aynı bitkinin MeOH ekstresinden ise krizoeriol-7- β -D-O-(3''-O-*p*-kumaroil)-glukopiranozit ve krizoeriol-7- β -D-O-glukopiranozit izole edilmiştir. Apigenin-7- β -D-O-glukopiranozit ise hem *B. larendana*'da hem de

B. pseudodictamnus'ta bulunmuştur (Savona ve ark., 1982; Agrawal, 1989; El-Ansari ve ark., 1995; Marin ve ark., 2007).

İspanya'dan toplanan *B. hirsuta*'nın toprak üstü kısımlarının *n*-hekzan, kloroform ve etanol ekstreleri kolon ve kağıt kromatografisine tabi tutularak sonuçta 8 flavonoit aglikonu (salvigenin, kumatakenin, genkvanin, ladanein, nukensin, izokemferol, apigenin ve luteolin) ve 5 adet *O*-glikoziti (apigenin-7-(*p*-kumaroil)-glikozit, apigenin-7-glikozit, luteolin-7-glikozit, kersetin-3-glikozit, luteolin-7-rutinozit) ve bir flavon-C-glikoziti (visenin-2 (apigenin-6,8-di-C-glukozit)) elde edilip ötentik bileşiklerle karşılaştırılarak yapıları aydınlatılmıştır (Ferrerres ve ark., 1986).

Meriçli ve arkadaşları (1988) tarafından *B. acetabulosa*'nın toprak üstü kısımlarından (850 g) Soxhlet cihazında önce petrol eterli sonra etanollü ekstre hazırlanmıştır. Etanollü konsantre ekstre suyla dilüe edilmiş ve sırasıyla benzen, kloroform ve etil asetat ile ekstreler hazırlanmıştır. Petrol eterli ve benzenli ekstrelerin flavonoit içermediği gösterilmiştir. Bu nedenle kloroform ve etil asetatlı ekstrelerin flavonoit içerikleri incelenmiştir. Kloroformlu ekstre (9,27 g) silikajel kolona uygulanmıştır. Elüsyon çeşitli oranlarda toluen:aseton (9:1, 8:2, 7:3) karışımı ile yapılmıştır. Buradan 38 mg skutellarein-4',7-dimetileter ve 24 mg apigenin elde edilmiştir. Etil asetatlı ekstre (4,02 g) poliamid içeren kolona uygulanmış ve su:etanol karışımının çeşitli oranlarıyla (9:1, 8:2, 7:3, 6:4) elüsyon yapılmıştır. Sonuçta 24 mg apigenin-7-glikozit, 12 mg akasetin-7-glikozit, 14 mg krizoeriol-7-glikozit ve 19 mg luteolin-7-glikozit elde edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerin varlığı *B. acetabulosa*'nın hemoroit iyileştirici etkisini açıkladığı belirtilmiştir.

B. acetabulosa'nın kurutulup toz edilmiş çiçekli toprak üstü kısımları CH₂Cl₂ ve metanol ile ekstre edilmiştir. Ekstre silikajel açık kolonunda değişik çözücülerin artan polaritedeki karışımları ile elüe edilerek ayrıştırılmış ve sonuçta çok sayıda polifenol bileşiği izole edilmiştir. Bunlar krizoeriol-7-*O*-β-(3''-*Z*-*p*-kumaroil)-glukopiranozit,

krizoeriol-7-*O*- β -(3''-*E-p*-kumaroil)-glukopiranozit, krizoeriol-7-*O*- β -glukopiranozit, apigenin-7-*O*- β -(4''-*E-p*-kumaroil)-glukopiranozit ve apigenin-7-*O*- β -glukopiranozit'tir (Sahpaz ve ark., 2002).

B. undulata üzerinde yapılan bir fitokimyasal çalışma sonucunda luteolin-7-*O*-glukoit, apigenin-7-*O*-glikozit ve rutin elde edilmiştir (Radwan ve ark., 1997). Başka bir çalışmada ise aynı bitkinin toprak üstü kısımlarından yedi flavonoit (luteolin-7- β -*D-O*-glukopiranozit, luteolin-3'-metil eter-7-(6''-*p*-kumaroil)- β -*D*-glukopiranozit, diosmetin-7- β -*D-O*-glukopiranozit, kersetin-3,7,3',4'-tetrametil eter, kemferol-3,7,4'-trimetil eter, kersetin-3,7,3'-trimetil eter, luteolin-7,3'-dimetil eter) izole edilmiştir (Siciliano ve ark., 2005).

B. saxatilis subsp. *saxatilis* üzerine yapılmış az sayıda literatür çalışmasından birinde bitkinin toprak üstü kısımlarından asetonlu ekstre hazırlanmış ve kolon kromatografisine uygulanmıştır. Petrol eteri:etil asetat çözücü sistemi artan polaritede uygulanmış, benzer fraksiyonlar birleştirilmiştir. Saflaştırma yapmak amacıyla preparatif İTK uygulanmış ve 3 tane flavonoit aglikonu; 6-hidroksiapigenol-7,4'-dimetil eter (ladanein), kemferol-3,7,4'-trimetil eter ve kersetin-3,7,3',4'-tetrametil eter (retusin) izole edilmiştir (Çitoğlu ve ark., 1999).

Parvez ve arkadaşları (2001) *B. limbata*'dan öpatorin, Riaz ve arkadaşları (2004) ise apigenin, akasetin,7,4'-dimetilagegenin ve kemferit flavonoitlerini izole etmişlerdir.

B. inaequidens'ten 5-hidroksi-3,7,4'-trimetoksiflavon, retusin, 5-hidroksi-7,4'-dimetoksiflavon, pakipodol, filindulatin, 5-hidroksi-7,3',4'-trimetoksiflavon olmak üzere 6 adet flavonoit saf halde izole edilmiş ve yapıları UV, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik yöntemleri yardımıyla açıklanmıştır (Sever, 2002).

Kumatakenin (5,4'-dihidroksi-3,7-dimetoksiflavon), pakipodol (5,4'-dihidroksi-3,7,3'-trimetoksiflavon), 5-hidroksi-7,3',4'-trimetoksiflavon, velutin (5,4'-dihidroksi-7,3'-

dimetoksiflavon), salvigenin (5-hidroksi-6,7,4'-trimetoksiflavon), retusin (5-hidroksi-3,7,3',4'-tetrametoksiflavon) ve korimbosin (5-hidroksi-7,3',4',5'-tetrametoksiflavon) *B. glandulosissima*'nın kurutulup toz edilmiş toprak üstü kısımlarının asetonlu ekstresinden kolon kromatografisi ve preparatif İTK yardımıyla izole edilmiş ve yapıları UV, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spektrumlarına bakılarak ve İTK ile ötentik maddelerle mukayeselerine dayanarak aydınlatılmıştır (Çitoğlu ve ark., 2003a).

Çitoğlu ve arkadaşları (2005b) tarafından *B. glandulosissima* (7) ve *B. inaequidens* (4)'ten izole edilen 10 adet flavonoitin, Türkiye'de yetişen diğer *Ballota* türlerindeki mevcudiyeti konusunda yapılan bir YBSK çalışmasında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

Çizelge 1.2. *Ballota* türlerinin flavonoit içerikleri

Flavonoitler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16*
Kumatakenin	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Pakipodol	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5-hidroksi-7,3',4'-trimetoksiflavon	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Velutin	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Korimbosin	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5-hidroksi-3,7,4'-trimetoksiflavon	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
Retusin	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
5-hidroksi-7,4'-dimetoksiflavon	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
5-hidroksi-3,6,7,4'-tetrametoksiflavon	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ladanein	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-

*1-16: Bkz. Çizelge 1.1

B. andreuziana üzerinde yapılan incelemeler sonucu etil asetat fraksiyonundan 7-metoksi luteolin ve 6,7-dimetoksi skutellarein olarak tespit edilen iki aglikona ek olarak butanol fraksiyonundan luteolin-7-O-glikozit, 6,4'-dimetoksi skutellarein-7-O-glikozit ve kersetin-7-O-ramnoglikozit olarak bilinen bileşikler izole edilmiştir (Abdelshafeek ve Daboob, 2009).

1.2.1.3. Fenilpropanoitler

Veronique Seidel ve arkadaşları 1996 yılında yayınladıkları bir makalede *B. nigra* toprak üstü kısımlarının sulu alkollü ekstresinin polar fraksiyonlarından ballotetroziti, amorf bir toz olarak elde ettiklerini bildirmişlerdir. Kimyasal ve spektral veriler temelinde, ballotetrozitin yapısı (3,4-dihidroksifenil)-2-etil[α -L-arabinopiranozil-(1 \rightarrow 2)- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 3)]- β -D-apiofuranozil-(1 \rightarrow 6)-4-O-kafeoil- β -D-glukopiranozit olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada izole edilen ballotetrozitin tetrasakkarit yapısındaki fenilpropanoit glikozitlerinin ilk örneği olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışma grubu tarafından bu bitkinin çiçekli toprak üstü kısımlarının sulu alkollü ekstresinden hidroksisinnamik asit esterleşmesiyle oluşan verbaskozit, forsitozit B ve arenariozit fenilpropanoitleri izole edilmiştir. İzole edilen bu bileşiklerin *Ballota* türlerine özgü olduğu ve bitkinin standardizasyonunda kullanılabileceği söylenmiştir (Seidel ve ark., 1997). Başka bir çalışmada *B. nigra* toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinden sefadeks ve silikajel yardımıyla fenilpropanoit glikozitlerinden alissonozit, lavandulifoliolozit, angorozit A ve glikozidik olmayan bir türev, (+)-(E)-kafeoil-L-malik asit izole edilmiştir (Didry ve ark., 1999).

Ezer ve arkadaşları (1999) tarafından *B. nigra* subsp. *anatolica*'nın toprak üstü kısımlarında fenilpropanoit heterozitlerinin varlığı tespit edilmiştir.

Tóth tarafından 2009 yılında Macaristan'da yayınlanan bir doktora tezinde *B. nigra*, *B. hirsuta* ve *B. rupestris* bitkilerinin farklı kısımları fenilpropanoit (FP) içerikleri bakımından karşılaştırılmıştır. Etken madde izolasyonu, basit ekstraksiyon yöntemleri ve yeni keşfedilen bir İTK-dansitometrik yöntem kullanılarak yapılmıştır. İzole edilip incelenen bileşikler verbaskozit (VE), forsitozit B (FB) ve kafeoil-malik asit (KM)'tir. Karşılaştırılan üç bitki türünden FP içeriği en yüksek olan yapraklarında – (% 0,3) KM ve (% 4,58) VE bulunan *B. rupestris* ve onu takiben köklerinde – FB (% 3) bulunan *B. nigra*'dır ancak *B. hirsuta* yapraklarında FP miktarı çok azdır (% 0,09 KM,

% 1,64 VE ve % 0,91 FB). Genellikle köklerde kafeoil malik asit bulunmamaktadır. Yılın farklı dönemlerinde toplanan *B. nigra* örnekleri karşılaştırıldığında en yüksek FP düzeylerine Haziran (yapraklarda FB % 6; VE % 8,5; KM % 0,45) ve Eylül (yapraklarda FB % 3,8; VE % 7; KM % 0,35) aylarında yani büyümenin ilk ve ikinci çiçeklenme dönemlerinde ulaşılmıştır. Ekstraksiyon metotları karşılaştırıldığında, ultrasonik banyoda yapılan ekstraksiyondan ziyade geri çeviren soğutucu altında yapılan ekstraksiyonun daha verimli olduğu görülmüştür. *B. nigra* metanollü ekstresinin FP içeriğinin karanlıkta aydınlığa göre daha stabil olduğu gösterilmiş ve saklama koşulları buna göre belirlenmiştir. Ekstrelerin 5 ya da 25 °C'de karanlıkta muhafaza edildiğinde 14 gün boyunca stabil kaldığı kanıtlanmıştır.

B. pseudodictamnus'un metanol ekstresinden (E)-kafeoilmalik asit (fazelik asit) ve forsitozit B izole edilmiştir (Wang ve ark., 1998; Seidel ve ark., 1999; Housti ve ark., 2002).

B. undulata'nın toprak üstü kısımlarından dört fenilpropanoit; forsitozit B, lisionotozit, verbaskozit, betoniozit F izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları, NMR ve yüksek çözünürlüklü ESI-MS ile tespit edilmiştir (Siciliano ve ark., 2005).

B. acetabulosa'nın çiçekli toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstre silikajel kolona uygulanarak ayrıştırılmış ve sonuçta kumarik asit türevi bir feniletanoit glikoziti olan ötigozit A elde edilmiştir. Ötigozit A kemotaksonomik açıdan ilgi çekici bir bileşiktir (Jimenez ve Riguera, 1994).

1.2.1.4. Uçucu Yağlar

B. nigra'dan bitkiye hoş olmayan bir koku veren % 0,01 oranında uçucu yağ elde edilmiş ve yağın ana bileşeninin germakren D olduğu bildirilmiştir (Strzelecka ve ark., 1975; Başer, 1994).

Morteza-Semnani ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada *B. nigra* kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımlarının su distilasyonu sonucu % 0,5 (h/a) verimle açık sarı renkli bir yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın % 95,4'ünü oluşturan 42 bileşik tanımlanmış ve bunlardan majör olanların karyofillen oksit (% 7,9), *epi- α -murolol* (% 6,6), δ -kadinen (% 6,5) ve α -kadinol (% 6,3) olduğu tespit edilmiştir. Bu yağ seskiterpenlerce zengindir.

Sırbistan'da yetişen *B. nigra*'nın kurutulmuş kök, gövde ve yapraklarından Clevenger apareyi kullanılarak 3 saatlik su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağlar susuz sodyum sülfatla suyundan kurtarıldıktan sonra kimyasal bileşimleri gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GK/KS) ile araştırılmıştır. Kuru ağırlıkları baz alındığında elde edilen yağın verimi kök için % 0,09; gövde için % 0,19 ve yaprak için % 0,23 olarak bulunmuştur. Bileşenlerin miktarları GK pik alanları baz alınarak hesaplanmıştır. Toplam 115 bileşiğin tanımlanmasında Kovats indeksleri, kütle spektrumları ve standart bileşikler kullanılmıştır. Sonuçta bitkinin iki tip uçucu yağ ürettiği belirlenmiştir. Gövde ve yapraklardan elde edilen yağ seskiterpenlerce zengindir (sırasıyla % 78,17 ve % 88,4), esas olarak β -karyofillen, germakren D ve α -humulen içerir. Gövde ve yapraklardan elde edilen yağlar sırasıyla % 2,5 ve 3,84 diterpen içermektedir. Buna karşılık, köklerden elde edilen ve oksijenli monoterpenlerce zengin olan yağdan, yağın % 43'ten fazlasını oluşturan 17 monoterpen elde edilmiştir. Bu uçucu yağın en önemli bileşenleri ise *p*-vinilgaiakol (% 9,24), borneol (% 7,51), mirtenol (% 7,13), *trans*-pinokarveol (% 5,22), pinokarvon (% 4,37), 2-metil-3-fenilpropanal (% 4,32) ve *p*-simeen-8-ol (% 4,3)'dür (Vukovic ve ark., 2009).

İran'dan toplanan *B. nigra*'nın toprak üstü kısımlarından hisrodistilasyonla elde edilen uçucu yağın bileşimi GK ve GK-KS ile analiz edilmiştir. Yağın % 99,3'üne karşılık gelen tanımlanan 12 bileşikten β -pinen (% 39) ve α -pinen'in (% 34,5) yağın ana bileşenleri olduğu belirlenmiştir (Jamzad ve ark., 2011).

Yine İran'dan toplanan *B. nigra* subsp. *anatolica* bitkisinin kurutulmuş toprak üstü kısımlarından Clevenger aпараты kullanarak yapılan su distilasyonu sonucu % 0,4 (a/a) verimle sarımsı bir yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın ana bileşenleri germakren D (% 18,1), nerolidol epoksiasetat (% 15,4), sklareol oksit (% 12,1), linalil asetat (% 11,5), β -karyofillen (% 10,5) ve spatulenol (% 9)'dür ve ayrıca yağın bileşiminde linalol, α -terpineol, geraniol, α -kopaen, α -humulen ve longipinen epoksit de bulunmuştur. Yağ oksijenli monoterpenler (% 18,1), seskiterpen hidrokarbonlar (% 32,5) ve oksijenli seskiterpenlerden (% 41,2) oluşmaktadır (Kazemizadeh ve ark., 2009). Aynı araştırmacılar aynı yıl yayınladıkları başka bir çalışmalarında ise aynı bitkinin çiçekli toprak üstü kısımlarından 3 saatlik bir distilasyonu sonucu % 0,7 (a/a) verimle uçucu yağ elde edip GK ve GK/KS ile analiz etmişlerdir. Uçucu yağın bileşenleri, kütle spektrumları ve retansiyon indekslerinin ötentik bileşiklerle karşılaştırılmasıyla tespit edilmiştir. *B. nigra* subsp. *anatolica* uçucu yağının % 91,8'ini oluşturan on iki bileşik tanımlanmıştır. Yağın içeriğini bir önceki yayında bildirdiklerine benzer bulmuşlar ve uçucu yağın % 73,7 oranında seskiterpen taşıdığını belirtmişlerdir (Kazemizadeh ve Amini, 2009).

B. nigra subsp. *foetida*'nın çiçekli toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın bileşimi GK/KS ile analiz edilmiştir. Yağda tespit edilen 37 bileşenden en önemlileri β -karyofillen (% 20), germakren D (% 18) ve karyofillen oksit (% 15)'tir (Fraternale ve ark., 2009).

Bader ve arkadaşları (2003) Ürdün'den topladıkları üç *Ballota* türünü inceleyerek şu bilgileri elde etmişlerdir: *B. nigra* subsp. *foetida* uçucu yağı yüksek oranda (% 64,8) seskiterpen içerir. Bu uçucu yağın ana bileşeni β -karyofillen (% 25,1) ve germakren D (% 24,2)'dir. Bunlara ek olarak *B. nigra* subsp. *foetida*, *B. undulata* ve *B. saxatilis* uçucu yağlarını karşılaştırdıklarında şu sonuçlara varmışlardır: *B. undulata* ve *B. nigra* subsp. *foetida* uçucu yağlarında monoterpenler düşük yüzdelerde ya da eser miktarda bulunmuştur. Diğer iki türden farklı olarak *B. saxatilis* uçucu yağı yüksek oranda monoterpen hidrokarbonlar (% 7) ve ayrıca oksijenli

monoterpenlerden özellikle linalol (% 14,6) taşımaktadır. *B. undulata* uçucu yağının ana bileşeni germakren D seskiterpenidir (% 19,1). Bisiklogermakren, *B. undulata* uçucu yağında % 11,6 oranında bulunurken, diğer iki bitkinin yağlarında yalnızca eser miktarda bulunmuştur. Viridiflorol, *B. undulata*'da toplam yağın % 6'sını teşkil ederken, *B. nigra* ve *B. saxatilis*'te bu bileşiğe hiç rastlanmamıştır. *B. nigra* ve *B. saxatilis*'teki toplam β -karyofillen ve β -karyofillen oksit yüzdesi sırasıyla % 29,3 ve % 19,9 iken, *B. undulata*'da bu miktar yalnızca % 1,4'tür. *B. saxatilis* uçucu yağındaki başlıca monoterpen alkol olan linalol, *B. undulata* (% 0,4) ve *B. nigra*'da (% 1,7) çok az oranda bulunmuştur.

Girit'ten toplanan *Ballota pseudodictamnus*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın bileşimi GK-KS ile analiz edilmiştir. Tanımlanan 52 maddeden en önemlileri karyofillen oksit (% 22,4), fitol, γ -murolen, β -karyofillen, α -kopaen ve β -kübebendir (Couladis ve ark., 2002).

İran'a endemik olan *B. aucheri*'den hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağın GK ve GK/KS analizi sonucu yağın % 82,5'ini oluşturduğu belirlenen 37 bileşikten majör olanların α -kadinol (% 21) ve dehidroaromadendren (% 11,8) olduğu ve yağın ağırlıklı olarak seskiterpenlerden oluştuğu bildirilmiştir (Rustaiyan ve ark., 2006).

Libya'da yetişen *B. andreuzziana* uçucu yağının kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada taze bitki materyaline su distilasyonu uygulanmış ve açık sarı bir yağ (% 0,2) elde edilmiştir. Sonuçta uçucu yağın doymuş ve doymamış hidrokarbon, alkol, aldehit, keton, ester, oksit ve aromatik bileşikler gibi pek çok kimyasal sınıfa ait yirmi bileşiğin karışımından meydana geldiği gösterilmiştir. Yağ en fazla oranda seskiterpenleri içermektedir, karyofillen (% 63,1), cis- γ -bizabolen (% 26,3) ve α -selinen (% 5,03) yağda en fazla bulunan bileşiklerdir. Yağın oksijenli seskiterpen içeriği yaklaşık % 2,45 ve bu grup bileşiklerin ana bileşeni karyofillen oksittir (% 2). Monoterpenler yağın yaklaşık % 2,4'ünü teşkil eder ve bu grup bileşiklerin ise ana bileşeni tujen (bisiklik monoterpen % 0,7)'dir. *B. andreuzziana*

uçucu yağının GK-KS analizi sonucunda ayrıca β -pinen ve D-limonen de bulunmuştur (Abdelshafeek ve ark., 2010).

B. sechmenii'den hidrodistilasyonla % 0,02 verimle elde edilen uçucu yağ linalolün enansiyomerlerine ayrılmasında kaynak olarak kullanılmıştır. Yağda % 5 linalol bulunmaktadır, bunun % 26,9'u (+)-linalol ve % 73,1'i (-)-linalolden oluşmaktadır (Özek ve ark., 2010).

1.2.1.5. Diğer Bileşikler

B. foetida'nın acı madde, nötral saponin ve kolin gibi bileşenler içerdiği belirlenmiştir (Balansard, 1934). *B. nigra* subsp. *anatolica*'nın toprak üstü kısımlarında da tanen, saponozit ve şekerlerin varlığı gösterilmiştir (Ezer ve ark., 1999). *B. nigra*'nın ise salisilik, kafeik ve ferulik asit türevleri içerdiği tespit edilmiştir (Strzelecka ve ark., 1975, Gruenwald ve ark., 1998).

Seidel ve arkadaşları (2000) *B. nigra* toprak üstü kısımlarının toplam hidroksisinnamik asit miktarını kolorimetrik bir metotla kuru ağırlığın % 5,5'i olarak hesaplamıştır. Bitkinin içerdiği toplam fenolik madde miktarı ise 45 mg gallik asit eşdeğeri/gr olarak bulunmuştur (Niciforovic ve ark., 2010).

B. saxatilis subsp. *saxatilis*'in toprak üstü kısımlarında daha önce bahsedilen etken maddelerin dışında tanen, kumarin ve saponozitlerin de bulunduğu gösterilmiştir (Sever, 1996). *B. pseudodictamnus* ekstresine uygulanan kalitatif testler sonucu bitkide tanen bulunduğu tespit edilmiştir (Elmezogi ve ark., 2012).

B. limbata'nın β -amirin, β -sitosterol ve oleanolik asit içerdiği Ahmad ve arkadaşları tarafından 2004 yılında bildirilmiştir (Ahmad ve ark., 2004b). Aynı yıl Tıprıdamaz ve Güvenç *B. cristata* tohumlarının % 20 total yağ asidi içerdiğini; bunların % 14,24'ünün doymuş, % 85,87'sinin ise doymamış olduğunu bildirmişlerdir. En çok

bulunan yağ asitleri linoleik, oleik ve tarririk asittir (Tıprıdamaz ve Güvenç, 2004). Yine 2004'te *B. africana*'da saponin ve tanenlerin varlığı kanıtlanmıştır (Scott ve ark., 2004).

B. undulata toprak üstü kısımlarının içerdiği toplam 3,4-dihidroksifenilalanin türevi madde miktarı kolorimetrik bir yöntemle hesaplanarak kuru ağırlığın % 8,8'i olarak belirlenmiştir. Bu oran diğer *Ballota* türleri için rapor edilen miktarlardan daha yüksektir (Didry ve ark., 1999; Siciliano ve ark., 2005).

Ürdün'den toplanan *B. undulata*'nın toprak üstü kısımları üzerinde yapılmış bir çalışmada iki betain türevi bileşik (*trans*-4-hidroksiprolinbetain ve prolinbetain) ve verminozit iridoitinin varlığı rapor edilmiştir. Bu bitkinin en önemli bileşenleri monoterpen ve seskiterpenlerdir. Aynı türün etanol ekstresinde vitamin E (% 3,15) ve karyofillen oksit (% 2,70) bulunduğu da tespit edilmiştir (Siciliano ve ark., 2005; Al-Bakri ve Afifi, 2007; Hashem, 2011).

Yapılan bir çalışmada kurutulup toz edilmiş *B. andreuzziana* bitkisi, Soxhlet apareyi yardımıyla petrol eteri ile ekstre edilerek lipit bileşenleri elde edilmiştir. GLC analizi sonucunda sabunlaşmayan kısımda özellikle bir n-alkan serisi karışımı, bir sterol fraksiyonu ve triterpen fraksiyonu bulunmuştur; hidrokarbon serisinin ana bileşeni olarak n-C-25, sterollerden en yüksek oranda olan kolesterol ve triterpen olarak da β -amirin göze çarpmaktadır. Ayrıca bitkide stigmasterol, β -sitosterol ve yağ asitlerinden oleik, araşidik, gadolik ve behenik asit bulunmuştur. Yağ alkollerinin karışımının GK-KS analizi sonucu ise ana bileşenin oktadekanol (% 46,07) olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada *B. andreuzziana*'nın doymuş (% 35,28) ve doymamış (% 64,72) yağ asitleri içerdiği ortaya konulmuş ve sırasıyla palmitik ve linoleik asitin bu fraksiyonların ana bileşenleri olduğu gösterilmiştir (Abdelshafeek ve ark., 2010).

1.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

1.3.1. *Ballota* Türlerinin Biyolojik Aktivite Çalışmaları

1.3.1.1. Sedatif Etki

B. nigra çiçekli toprak üstü kısımlarının sulu ve sulu-alkollü polar ekstralarının özellikle Avrupa'da çocuklarda ve yetişkinlerde aşırı aktif sinir hücreleri üzerine sedatif etkisinden dolayı kullanıldığı bilinmektedir. Bu aktiviteye fenilpropanoit glikoziti türevlerinin neden olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir araştırmada bu ekstralardan izole edilen fenilpropanoitlerin (verbaskozit, forsithozit B, arenariozit, ballotetrozit, kafeoil malik asit) sıçan beynindeki benzodiazepin, dopaminerjik ve morfinik reseptörlere bağlanma yeteneği araştırılmıştır. Sonuçta ballotetrozit hariç diğer dört bileşiğin test edilen reseptörlere bağlanma yeteneği olduğu gösterilmiştir (Racz-Kotilla ve ark., 1980; Mongold ve ark., 1991; Pieretti ve ark., 1992; Daels-Rakotoarison ve ark., 2000).

B. larendana ve *B. nigra* subsp. *anatolica*'nın kurutulup toz edilmiş toprak üstü kısımlarından hazırlanan % 10'luk infüzyon liyofilize edilmiş ve sıçanlar üzerindeki etkisi zorlu yüzme testi ve yükseltilmiş artı labirent testi kullanılarak araştırılmıştır. Bitkilerin antidepresan aktiviteleri standart madde olarak amitriptilin ve *Passiflora* ekstresi ile, anksiyolitik etkileri ise diazepamın etkisiyle karşılaştırılmıştır. Sonuçta her iki bitki de amitriptilin ve *Passiflora* ekstresi kadar güçlü antidepresan etkinliğe sahip bulunmakla beraber *B. larendana* ayrıca anksiyolitik aktiviteye de sahip bulunmuştur, *B. nigra* subsp. *anatolica* bu etkiyi göstermemektedir (Vural ve ark., 1996).

Fransa'da sedatif etkili *B. foetida* ve beş diğer bitkinin kuru ekstralarının kombinasyonu ile hazırlanarak 1927'den beri kullanılan Euphytose (EUP) isimli

preparatın sağlıklı gönüllülerin psikometrik performansları üzerindeki etkileri resim testi, rakam-sembol eşleştirme testi, seçimli reaksiyon zamanı ve kritik titreşim algılama yöntemleriyle test edilmiştir. Sonuçta EUP ve plasebo arasında test edilen değerlerde herhangi bir fark olmadığı gösterilmiştir. EUP'nin sedatif ya da psikostimülan etkisi bulunmamaktadır (Bourin, 1994). EUP preparatının anksiyöz duygu durum ile seyreden uyum bozukluğu şikâyetiyle başvuran hastalar üzerindeki etkilerini incelemek üzere çok merkezli, çift körlü, plasebo kontrollü bir klinik çalışma yürütülmüştür. EUP ve plasebo gruplarına 91'er hasta alınarak 28 günlük tedavi uygulanmış ve hastalar belli aralıklarla Hamilton-anksiyete derecelendirme ölçeğine (HAM-A) göre izlenmiştir. Tedavi sonunda iki grup karşılaştırıldığında EUP kullanan hastaların % 42,9'unun, plasebo grubu hastalarının ise % 25,3'ünün HAM-A skoru 10'dan küçük bulunmuştur ve EUP grubunun % 83'üne karşılık plasebo grubunun % 65'i sosyal yaşamlarında iyileşme olduğunu bildirmişlerdir. EUP grubunda 4, plasebo grubunda ise 8 hastada hafif yan etkiler gözlenmiştir. İki tedavi arasında 7 ila 28. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur, sonuç olarak anksiyöz duygu durum ile seyreden uyum bozukluğunun tedavisinde EUP'nin plasebodan daha etkili olduğu ve EUP tedavisinin iyi şekilde tolere edilebildiği gösterilmiştir (Bourin ve ark., 1997).

1.3.1.2. Antimikrobiyal Etki

Bazı *Ballota* türlerinde bulunduğu kanıtlanmış pakipodol flavonoiti antiviral etkilidir. Bu etkiyi viral RNA sentezinde RNA polimerazı inhibe edip viral replikasyonu engelleyerek göstermektedir (Ishitsuka ve ark., 1986; Pérez ve Carrasco, 1992).

Ballota saxatilis subsp. *saxatilis* toprak üstü kısımlarından elde edilen üç diterpenoitin (hispanolon, dehidrohispanolon, ballonigrin) Gram-pozitif (*Stapylococcus aureus*, *Stapylococcus faecalis*) ve Gram-negatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) mikroorganizmalar ve bir mantar olan *Candida albicans*'a karşı etkileri sıvı dilüsyon yöntemi ile incelenmiştir.

Standart antibiyotik olarak bakteriler için ampisilin, eritromisin, kloramfenikol, amoksisilin; fungus için haloprogin ve klotrimazol kullanılmıştır. Sonuçta tüm bileşiklerin *C. albicans*'a karşı çok düşük konsantrasyonlarda bile etkili oldukları, Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı ise 25-50 µg/ml konsantrasyonda etkili oldukları bulunmuştur (Çitoğlu ve ark., 1998). Benzer şekilde *B. saxatilis* bitkisinden hispanolonun transformasyonu ile elde edilen hispanonun fungusit ve bakterisit bir furolabdan olduğu bulunmuştur (Hersel ve ark., 2000).

B. undulata etanol ekstresi *Bacillus subtilis*'e karşı rapid XTT kolorimetri yöntemiyle test edildiğinde güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Al-Bakri ve Afifi, 2007).

Yapılan bir başka çalışmada beş farklı tıbbi bitki ekstresinin antifungal özellikleri dermatofit mantarlara karşı test edilmiştir. Her bitkinin etanol, etil asetat, kloroform ve n-hekzan ekstresinin antifungal aktivitesi kâğıt disk-agar difüzyon yöntemi ile ayrı ayrı incelenmiştir. Ekstreler genellikle, mantarların büyümesini önleyici etki göstermiştir. En etkili ekstreler *B. undulata*'dan elde edilmiş ve test edilen tüm mantarlara karşı en yüksek inhibitör etkiyi etanol ekstresi göstermiştir. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) test edilen bileşiğin, mikroorganizmanın büyümesini tamamen inhibe eden en düşük konsantrasyonu olarak tanımlanır. *B. undulata* etanol ekstresinin *C. albicans*, *Paecilomyces lilacinus* ve *Paecilomyces variotii*'ye karşı MİK'i 25 mg/ml olarak bulunmuştur. *Chrysosporium tropicum*, *Scopulariopsis bervicaulis* ve *Trichophyton rubrum* için MİK değeri 50 mg/ml, *Trichophyton tonsurans* için ise 100 mg/ml dir. Etil asetat, kloroform ve n-hekzan ekstreleri 25 mg/ml MİK değeri ile *P. lilacinus*'a karşı etkili bulunmuştur. Işık ve elektron mikroskopuyla yapılan incelemelerde *B. undulata* etanol ekstresinin *P. lilacinus* üzerine hif yapılarında şişme ve tomurcuklanma meydana getirmek suretiyle fungusit etkisi olduğu kanıtlanmıştır. *B. undulata* etanol ekstresinin GK-KS analizi sonucu tespit edilen 35 alifatik ve aromatik hidrokarbon ile bazı esansiyel yağlarla birlikte seskiterpen hidrokarbonların antifungal aktiviteye katkı sağlayabileceği belirtilmiştir. Ekstrede bulunduğu tespit edilen önemli bileşenler

3-hidroksi-(5-beta)androst-2-en-17-on (% 24,58), 4-(1,1-dimetil)-1,2-benzendiol (% 10,34), dezoksi-dihidro-izosteviol (% 9,24), 2,5-dimetoksi etil benzen (% 8,39), 2-metil-4,6-dipropil-piridin (% 5,24), 1-metil-4-(1-metiletil)-1,4-sikloheksadien (% 5,04), 2-izopropil-5-metil-9-metilen-bisiklo[4,4,0]dek-1-en (% 3,25), vitamin E (% 3,15), karyofillen oksit (% 2,70), 5,6-dihidro-5,5-dimetil-benzo[d] pirazdo[3,4-b] azepin-3(2H)-on (% 2,70), 3-metoksi-2,5,6-trimetil fenol (% 2,55) ve oktadekan (% 2,20)'dir. 3-hidroksi-(5-beta)androst-2-en-17-on hücre metabolizmasında önemli rol oynayan steroidal bir bileşiktir. Tespit edilen diğer bileşikler ise tek başına ya da kombinasyon halinde mantar gelişiminde inhibitör etkiye katkı sağlayabilmektedir. Sonuç olarak özellikle fırsatçı mantarların neden olduğu cilt enfeksiyonlarının tedavisinde doğal bir antifungal ilaç olarak *B. undulata* ekstresinin kullanımı için daha fazla farmasötik ve klinik inceleme yapılması gerektiği yorumu yapılmıştır (Hashem, 2011).

Ürdün'de yetişen *Ballota philistaea* patojen mikroorganizmalar olan *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı inhibisyon gösterirken *B. undulata* yalnızca *P. aeruginosa*'ya karşı inhibisyon göstermiştir. İki bitki de *C. albicans*'a karşı inhibitör etki göstermemiştir (Khalil ve ark., 2009).

B. pseudodictamnus uçucu yağının *S. aureus*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *Candida tropicalis* ve *Candida glabrata*'ya karşı antimikrobiyal aktivitesi dilüsyon tekniğiyle araştırılmıştır. Bitkinin uçucu yağı test edilen tüm bakterilere karşı orta ila güçlü düzeyde aktivite göstermiştir (MİK değerleri 0,45–10,15 mg/ml). Ancak yağın test edilen mantarlara karşı inaktif olduğu bulunmuştur (Couladis ve ark., 2002).

Türkiye'de yetişen 16 *Ballota* taksonunun etanol ekstralarının *in vitro* ortamda Gram-negatif (*E. coli*, *P. aeruginosa*) ve Gram-pozitif suşlar (*S. aureus*, *B. subtilis*) ve mantar kültürlerine (*C. albicans*, *C. glabrata*, *Candida krusei*) karşı antimikrobiyal aktiviteleri agar difüzyon metodu ile incelenmiştir. Çizelge 1.3'ten de görülebileceği

gibi, *B. inaequidens* (4) ekstresi en fazla antimikrobiyal etkiye sahip olan ekstredir ve onu *B. saxatilis* subsp. *saxatilis* (5) ve *B. rotundifolia* (10) takip etmektedir. *B. acetabulosa* (1) ekstresinin de test edilen mantarlara karşı inhibisyon zonları sırasıyla 12, 13 ve 12 mm olmak üzere antifungal etkili ve bakteri suşlarına karşı da güçlü antibakteriyel etkili olduğu bulunmuştur (Çitoğlu ve ark., 2003b).

Çizelge 1.3. *Ballota* türlerinin etanollü ekstralarının antimikrobiyal aktivitesi

İnhibisyon zonunun çapı (mm)							
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>
1	15	0	5	9	12	13	12
2	0	6	0	9	0	17	16
3	0	0	7	0	14	17	18
4	12	12	17	12	18	20	23
5	11	10	0	12	11	16	13
6	0	10	0	11	8	13	11
7	0	0	6	8	12	9	15
8	0	4	0	8	0	0	7
9	8	17	7	10	13	15	17
10	12	13	5	11	18	15	19
11	10	6	0	9	7	14	10
12	0	6	6	7	11	12	7
13	12	10	0	12	13	17	14
14	11	11	0	10	16	6	15
15	9	6	0	12	13	14	15
17*	13	13	5	7	12	15	13

*1-15: Bkz. Çizelge 1.1 17: *B. sechmenii*

Türkiye’de yetişen on altı *Ballota* taksonunun etanol ekstraları, izole edilen dört farklı *Listeria*’ya (*Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Listeria innocua*, *Listeria murrayi*) karşı agar difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. Bitkilerin tümü *L. monocytogenes*’e karşı güçlü antilisteriyal aktivite göstermiştir. *L. monocytogenes*’e karşı en güçlü antilisteriyal aktivite gösteren türler ise *B. nigra* subsp. *anatolica* (15), *B. cristata* (3), *B. nigra* subsp. *foetida* (13), *B. rotundifolia* (10), *B. nigra* subsp. *uncinata* (14), *B. pseudodictamnus* subsp. *lycia* (2) ve *B. saxatilis* subsp. *saxatilis* (5) olmuştur. Bu türler arasında *B. nigra* subsp. *anatolica*, *B. cristata* ve *B. nigra* subsp. *foetida* aynı zamanda *L. ivanovii*, *L. innocua* ve *L. murrayi*’ye karşı da antilisteriyal aktivite göstermiştir. Çizelge 1.4’ten de görülebileceği gibi standart antibiyotikle

karşılaştırıldığında en iyi antilisteriyal aktiviteyi *B. nigra* subsp. *anatolica* göstermektedir. *B. acetabulosa* (1), *L. innocua* hariç tüm *Listeria* türlerine karşı güçlü bir antilisteriyal etkiye sahiptir (Yılmaz ve ark., 2005).

Çizelge 1.4. Bitkilerin etanollü ekstrelerinin inhibisyon zonlarının çapları (mm)

Örnek numarası	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. murrayi</i>
1	15	6	0	10
2	17	9	15	10
3	18	8	10	15
4	15	15	0	10
5	17	17	10	11
6	17	0	10	0
7	14	0	0	0
8	15	10	9	15
9	12	11	13	10
10	18	20	0	10
11	10	5	0	10
12	11	10	0	10
13	18	15	10	15
14	16	20	0	10
15	20	15	15	16
16*	9	0	0	0
Ofloksasin	22	20	20	20

*1–16: Bkz. Çizelge 1.1

B. glandulosissima'dan elde edilen 5 flavonoidin gram pozitif ve gram negatif bakteriler ve mantarlara karşı antimikrobiyal aktivitesi disk-difüzyon metodu ile ölçüldüğünde bileşiklerin *C. albicans*, *C. krusei* ve *C. glabrata*'ya karşı etkili olduğu ancak bakterilere karşı etkili olmadığı gösterilmiştir (Çitoğlu ve ark., 2003a).

Antalya'dan toplanan *B. inaequidens*'in kurutulmuş toprak üstü kısımlarından izole edilen diterpen ve flavonoidlerin *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* ve *C. krusei*'ye karşı aktiviteleri makrobroth dilüsyon tekniğiyle MİK'leri hesaplamak suretiyle araştırılmıştır. Bakteriler için standart antibiyotik olarak ampisilin, *C. albicans* ve *C. krusei* için ise flukonazol pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Test edilen tüm bileşikler bakterilere karşı çok az inhibitör etki

göstermiş ancak *C. albicans* ve *C. krusei*'ye karşı güçlü aktivite göstermiştir (Çitoğlu ve ark., 2004b).

Güney Afrika'da geleneksel tıpta kullanılan *B. africana*'nın sulu ekstresi *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis* ve *C. albicans*'a karşı inhibisyon göstermiştir. Aynı ekstrenin yüksek konsantrasyonlarda Coxsackie B2 virüsünün ve HSV-1'in enfeksiyon yapma kapasitesini düşürdüğü bulunmuş ancak *in vitro* hücre kültürü antiviral testlerinde virüsün replikasyonunu inhibe edici bir etkisi gösterilememiştir (Scott ve ark., 2004).

Etüde kurutulup toz edilmiş *B. acetabulosa* toprak üstü kısımlarından Soxhlet aпараты kullanarak elde edilen etanol ekstralarının *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *P. aeruginosa*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces fragilis* ve *Rhodotorula rubra*'ya karşı antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon ve mikro dilüsyon yöntemleri ile araştırılmıştır. Ekstrelerin, 1000 (1000) ila 250 (500) µg/ml arasında değişen MİK, MBK (Minimum Bakterisidal Konsantrasyon) ya da MFK (Minimum Fungusidal Konsantrasyon) gösterdiği mikroorganizmalara karşı düşük antimikrobiyal etkiye sahip olduğu kabul edilmiştir. Çünkü bu değerler, standart antibiyotiklere göre çok yüksektir. *B. acetabulosa* ekstraları hem bakteri hem maya kültürlerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Çizelge 1.5 ve 1.6). *K. fragilis*'in 18,2 mm inhibisyon zonu ve sırasıyla 16 ve 32 µg/ml MİK ve MFK ile ekstreye en duyarlı maya kültürü olduğu bulunmuştur ve onu 32 (32) ile 64 (>128) µg/ml arasında değişen değerler ile sırasıyla *R. rubra* ve *D. hansenii* takip etmektedir. Ekstreler test edilen diğer mikroorganizmalara karşı inhibisyon zonları 11,6–18,6 olmak üzere güçlü derecede aktivite göstermiştir. Özellikle, *E. coli* karşılaştırılan tüm standart antibiyotiklerden ziyade *B. acetabulosa* ekstresine daha duyarlıdır (inhibisyon zonu 18,6 mm). Benzer şekilde ekstralar, *S. typhimurium*'a karşı tüm standart antibiyotiklerden daha güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir (inhibisyon zonu 14,2 mm). Bitkinin gösterdiği bu aktivitenin içerdiği metabolik toksinler ya da daha

önce bahsedilen bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Dülger ve Şener, 2010).

Çizelge 1.5. *B. acetabulosa* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zonları (mm) ^a						
	Bitki ekstresi (µg/disk)	Standart antibiyotikler					
		P	AMP	TOB	NIS	KETO	KLT
<i>B. subtilis</i>	11,6	14	12	24	t.e.	t.e.	t.e.
<i>B. cereus</i>	12,4	13	16	18	t.e.	t.e.	t.e.
<i>E. coli</i>	18,6	16	14	10	t.e.	t.e.	t.e.
<i>S. aureus</i>	15,2	23	16	8	t.e.	t.e.	t.e.
<i>P. aeruginosa</i>	12,8	8	10	12	t.e.	t.e.	t.e.
<i>P. vulgaris</i>	12,4	10	16	13	t.e.	t.e.	t.e.
<i>S. typhimurium</i>	14,2	13	13	10	t.e.	t.e.	t.e.
<i>D. hansenii</i>	16,2	t.e.	t.e.	t.e.	16	14	20
<i>K. fragilis</i>	18,2	t.e.	t.e.	t.e.	18	16	18
<i>R. rubra</i>	17,4	t.e.	t.e.	t.e.	18	22	16

^a : Disk çapı 6 mm; değerler üç deneyin ortalamasıdır; **t.e.:** test edilmemiş; **P:** penisilin (10 µg/disk); **TOB:** tobramisin (10 µg/disk); **AMP:** ampisilin (20 µg/disk); **NIS:** nistatin (30 µg/disk); **KETO:** ketokonazol (20 µg/disk); **KLT:** klotrimazol (30 µg/disk)

Çizelge 1.6. *B. acetabulosa*'nın MİK değerleri

Mikroorganizmalar	MİK (MBK veya MFK)			
	EtOH ekstresi ($\mu\text{g/ml}$)	Standartlar		
		ST	AMP	NIS
<i>B. subtilis</i>	1000(1000)	0,5(0,5)	0,5(0,2)	t.e.
<i>B. cereus</i>	500(>1000)	4(4)	8(8)	t.e.
<i>E. coli</i>	16(32)	4(4)	64(128)	t.e.
<i>S. aureus</i>	250(500)	2(4)	<0,25(0,35)	t.e.
<i>P. aeruginosa</i>	500(>1000)	1(1)	16(32)	t.e.
<i>P. vulgaris</i>	500(>1000)	8(8)	0,5(0,5)	t.e.
<i>S. typhimurium</i>	1000(1000)	16(32)	1(4)	t.e.
<i>D. hansenii</i>	64(>128)	t.e.	t.e.	16(32)
<i>K. fragilis</i>	16(32)	t.e.	t.e.	16(16)
<i>R. rubra</i>	32(32)	t.e.	t.e.	16(16)

t.e.: test edilmemiş; **ST**: Streptomisin; **AMP**: Ampisilin; **NIS**: Nistatin

Türkiye’de geleneksel ilaç olarak kullanılan *B. acetabulosa*’dan elde edilen sulu ve etanollü ekstrelerin hastane enfeksiyonlarından izole edilmiş 35 adet metisiline dirençli *S. aureus*’u (MDSA) inhibe etme yetenekleri araştırılmıştır. Her iki ekstrede de MDSA suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterilmiştir. Bitkinin gösterdiği en yüksek etki etanol ekstresi ile sağlanmıştır MİK ve MBK’leri sırasıyla 0,4–1,6 $\mu\text{g/ml}$ ve 3,2–12,5 $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur (Dülger ve Kılçık, 2011a).

B. acetabulosa yaprak, kök ve bunların karışımından hazırlanan etanol ekstrelerinin *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. guilliermondii*) ve *Cryptococcus* (*C. neoformans* ve *C. laurentii*) türlerine karşı antifungal aktiviteleri broth makrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Tüm ekstreler mantar kültürlerine karşı güçlü antifungal etki göstermiştir ve MİK değerleri 3,12 ile 25 mg/ml arasında değişmektedir. Bunun yanı sıra ekstrelerin *Cryptococcus* türlerine nazaran *Candida*

türlerine karşı daha fazla antifungal etki gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışma ile ekstrelerin özellikle kandidiyazis gibi mantar enfeksiyonlarının tedavisindeki geleneksel kullanımlarına bilimsel bir temel oluşturulmuştur (Dülger ve Kılıçık, 2011b).

B. acetabulosa yapraklarından elde edilen metanol ekstrelerinin, komplike idrar yolu enfeksiyonları oluşturan patojenlere (*Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Proteus mirabilis* ve *C. albicans*) karşı antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon ve mikrodilüsyon metotları kullanılarak araştırılmıştır (Çizelge 1.7 ve 1.8). Test edilen mikroorganizmaların duyarlılığını belirlemede, bazı antibakteriyel ve antifungal referans antibiyotikler (penisilin, ampisilin/sulbaktam ve tobramisin) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Ekstreler, *E. coli* bakterisine karşı 18,6 mm inhibisyon zonu, 32 ve 64 µg/ml MİK ve MBK değerleri oluşturarak güçlü düzeyde antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *E. faecalis* ve *P. mirabilis* ise standart antibiyotikler olan penisilin ve ampisiline karşı daha duyarlıdır. Ekstreler *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans*'a karşı standart maddelerden daha zayıf aktivite göstermiştir. Ekstrelerin *E. coli*'den sonra en düşük MİK'e sahip olduğu mikroorganizmalar *E. faecalis* ve *C. albicans*'tır (MİK değerleri 64 ve 128 µg/ml). Gözlenen antibakteriyel etkiden flavonoidlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Elde edilen bulgular, *B. acetabulosa* yapraklarının metanol ekstrelerinin güçlü ve geniş spektrumlu bir aktiviteye sahip olduğunu ve enfeksiyonların tedavisinde yararlı olabileceğini göstermektedir (Dülger ve Dülger, 2012).

Çizelge 1.7. *B. acetabulosa* bitkisi ve bazı standart antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zonları (mm) ^a						
	Bitki ekstresi (250 µg/disk)	Standart antibiyotikler					
		P 10	SAM 20	TOB 10	NIS 30	KETO 20	KLT 30
<i>E. faecalis</i>	16,2	14	16	18	t.e.	t.e.	t.e.
<i>E. coli</i>	18,6	16	14	10	t.e.	t.e.	t.e.
<i>K. pneumoniae</i>	13,2	18	14	15	t.e.	t.e.	t.e.
<i>P. aeruginosa</i>	9,6	8	10	12	t.e.	t.e.	t.e.
<i>P. mirabilis</i>	13,4	13	16	14	t.e.	t.e.	t.e.
<i>C. albicans</i>	15,8	t.e.	t.e.	t.e.	18	22	16

^a : Disk çapı 6 mm; değerler üç deneyin ortalamasıdır; **t.e.**: test edilmemiş; **P**: penisilin (10 µg/disk); **TOB**: tobramisin (10 µg/disk); **SAM**: ampisilin/sulbaktam (20 µg/disk); **NIS**: nistatin (30 µg/disk); **KETO**: ketokonazol (20 µg/disk); **KLT**: klotrimazol (30 µg/disk)

Çizelge 1.8. *B. acetabulosa* ekstralarının MİK değerleri

Mikroorganizmalar	MİK (MBK veya MFK) (µg/ml)			
	Ekstre	Standartlar		
		ST	AMP	NIS
<i>E. faecalis</i>	64 (128)	2 (4)	1 (4)	t.e.
<i>E. coli</i>	32 (64)	4 (4)	32 (64)	t.e.
<i>K. pneumoniae</i>	512 (1024)	8 (16)	8 (8)	t.e.
<i>P. aeruginosa</i>	1024 (1024)	1 (1)	16 (32)	t.e.
<i>P. mirabilis</i>	512 (1024)	4 (8)	0,5 (1)	t.e.
<i>C. albicans</i>	64 (128)	t.e.	t.e.	8 (16)

t.e.: test edilmemiş; **ST**: Streptomisin; **AMP**: Ampisilin; **NIS**: Nistatin

Aralarında *B. acetabulosa* ve *B. nigra* subsp. *foetida*'nın da bulunduğu 23 bitki Muğla'nın değişik bölgelerinden toplanmış ve Soxhlet aparatı kullanılarak etanol ile ekstre edilmiştir. Ekstrelerin 7 Gram pozitif, 7 Gram negatif bakteri ve *C. albicans*'a

karşı antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Ayrıca inhibisyon zonlarını karşılaştırmak için değişik standart antibiyotik diskler kullanılmıştır. Ancak *B. acetabulosa* ve *B. nigra* subsp. *foetida*'nın test edilen mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel aktivitesi gösterilememiştir (Saraç ve Uğur, 2007).

Fraternale ve arkadaşları 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada *B. nigra* subsp. *foetida*'nın çiçekli toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın, test ettikleri hem Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı hem de üç *Candida* türüne karşı etkili olduğunu bulmuşlardır.

Dülger ve arkadaşları (2010) tarafından Türkiye'de yetişen bir alttür olan *B. nigra* subsp. *anatolica*'dan elde edilen etanol ekstresinin antimikrobiyal özellikleri araştırılmıştır. Ekstrenin *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *D. hansenii*, *K. fragilis* ve *R. rubra*'ya karşı antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemi ile test edilmiştir. Suşların duyarlılığının belirlenmesi için bazı antibakteriyel ve antifungal antibiyotikler pozitif referans standart olarak kullanılmıştır. Ekstre *E. coli*'ye karşı 13 mm inhibisyon zonu ve sırasıyla 250 ve 500 µg/ml MİK ve MBK ile güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ekstre ayrıca test edilen diğer mikroorganizmalara karşı da orta düzeyde aktivite göstermiştir. Sonuçta *B. nigra* subsp. *anatolica*'nın kayda değer bir antimikrobiyal aktivitesi olduğu ve enfeksiyonların tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir.

B. nigra köklerinden elde edilen uçucu yağın altı bakteri türü (*Bacillus mycooides*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *Micrococcus lysodeikticus*, *K. pneumoniae*, *E. coli*) ve bir mantara (*C. albicans*) karşı antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar yağın özellikle *B. subtilis* ve *K. pneumoniae*'ye karşı iyi derecede antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Vukovic ve ark., 2009).

Yapılan bir çalışmada *B. nigra* bitkisinde tespit edilmiş olan birçok fenilpropanoit türevi bileşiğin (verbaskozit, forsithozit B, arenariozit, (+)-(E)-kafeoil-L-malik asit, ballotetrozit) Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin çeşitli suşlarına karşı aktiviteleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar ballotetrozit ve kafeoil malik asitin antimikrobiyal aktivite göstermediğini; verbaskozit ve arenariozitin, *P. mirabilis* ve *S. aureus*'un büyümesinde orta derecede inhibitör etkili olduğunu; verbaskozit ve forsithozit B'nin *P. mirabilis*'in 3 suşundan birine ve *S. aureus*'un 2 suşuna karşı etkili olduğunu; arenariozitin ise diğer fenilpropanoitlere göre daha etkili olduğunu göstermiştir (Didry ve ark., 1999).

İtalya'nın tıbbi bitkilerinin araştırıldığı bir çalışma kapsamında kara ısırgan olarak adlandırılan *B. nigra* bitkisinin farklı kısımlarından çeşitli ekstreler hazırlanmıştır. Halk tıbbındaki geleneksel kullanımına benzer şekilde hazırlanan toprak üstü kısımların sulu ekstresinin biyofilm gelişimi ve adezyonunu en etkili şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Ekstre metisiline dirençli *S. aureus* üzerinde doza bağlı olan (hücrelerin çoğalmasını % 50 oranında baskılayan doz-IC₅₀ ≤ 32 µg/ml) belirgin bir biyofilm inhibisyon cevabı göstermiştir. Bu sonuçlar İtalyan halkının deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında ilaç olarak kullandığı *B. nigra*'nın topikal uygulamasının etkinliğini doğrular niteliktedir (Quave ve ark., 2011).

Yapılan bir çalışmada Pakistan'dan toplanan *B. limbata*'nın insanlar için potansiyel patojen olan mikroorganizmalara karşı antibakteriyel özellikleri agar kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. İnhibisyon zonları hesaplanmış, MİK'leri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Ekstrenin % 23,93 (a/h)'lük konsantrasyonuna tüm gram pozitif bakterilerin duyarlı olduğu ve önemli bir inhibisyon zonu gösterdiği bulunmuştur. *B. limbata* etanollü ekstresi *S. aureus*, *E. faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus*'un dâhil olduğu 5 gram pozitif suşa karşı 9 mm agar kuyucuğu başına 0,25 mg–32,30 mg arasında değişen MİK değerleri ile önemli bir antibakteriyel aktivite göstermiştir. Buna karşın, *B. limbata* ekstresi *Providencia rottgeri*, *K. pneumonia*, *Klebsiella*

terrigena, *E. coli*, *Morganella morganii*, *Kluyvera spp.* ve *Enterobacter cloacae*'nin de dâhil olduğu test edilen 14 gram negatif bakteri suşuna karşı aktivite göstermemiştir. Sonuçta bu çalışma *B. limbata* yapraklarının çeşitli hastalıklara karşı antimikrobiyal kaynak olarak önerilebileceğini göstermiştir (Ahmed ve ark., 2009).

B. rotundifolia metanol ekstresinin antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada agar-kuyu difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Ekstrelerin test edilen mikroorganizmalara karşı MİK'leri mikro broth dilüsyon yöntemi ile tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre polar alt fraksiyonlar, polar olmayanlarla karşılaştırıldığında daha zayıf aktivite göstermiştir. Non-polar ekstrlerdeki toplam fenolik madde miktarının yüksek olmasının bu duruma sebebiyet verdiği düşünülmektedir. *B. rotundifolia* non-polar fraksiyonu *Acinetobacter lwoffii*, *Clostridium perfringens*'e ve mayalara karşı orta düzeyde aktivite göstermiştir (Gürsoy ve Tepe, 2009).

B. andreuziana ile yapılan bir antimikrobiyal çalışmada bitkinin butanol ekstresinin *Mycobacterium phlei*, *S. aureus* ve *C. albicans*'a karşı belirgin düzeyde (sırasıyla inhibisyon zonu= 16,3 ; 11,3 ; 10,7 mm, kons.= 150 mg/ml) etkinlik sergilediği ortaya konulmuştur. Aynı zamanda kloroform ekstresi de *B. subtilis*'e karşı iyi derecede aktivite (inhibisyon zonu= 11 mm, kons.= 150 mg/ml) göstermiştir. Bunların dışında sulu ekstrler test edilen hiçbir organizmaya karşı hiçbir konsantrasyonda etki göstermemiştir. Ayrıca test edilen tüm Gram negatif bakteriler ve *Aspergillus niger* mantarı, ekstrlerin tüm konsantrasyonlarına karşı direnç göstermiştir (Abdelshafeek ve Daboob, 2009).

1.3.1.3. Antioksidan Etki

Bazı *Ballota* türlerinden izole edilen kumatakenin ve pakipodol bileşiklerinin antitumörjenik etkileri bulunmuştur (Miyazawa ve ark., 2000).

Seidel ve arkadaşları bir yayınlarında *B. nigra* fenilpropanoitlerinin LDL (düşük dansiteli lipoprotein) peroksidasyonunu *in vitro* ortamda doza bağlı bir şekilde inhibe ettiğini bildirmişlerdir. İncelenen majör fenilpropanoit esterleri (verbaskozit, forsitozit B, arenariozit, ballotetrozit, kafeoil-L-malik asit) iyi bilinen bir LDL oksidasyon inhibitörü olan kersetinin aktivitesi ile karşılaştırılmış ve bu bileşiklerin, Cu^{+2} ile uyarılmış LDL peroksidasyonunu güçlü şekilde inhibe ettikleri bulunmuştur. Moleküllerin ortalama etkin doz (ED 50) değerleri şu şekildedir: forsitozit B 1,0 μM ; verbaskozit 1,0 μM ; arenariozit 1,8 μM ; kersetin 2,3 μM ; ballotetrozit 7,5 μM ve kafeoil-L-malik asit 9,5 μM . Fenilpropanoit glikozitleri ve kafeoil-L-malik asitin LDL oksidasyonunu inhibe etme kapasitelerinin, bu bileşiklerin serbest radikal süpürücü etkinlikleri ile bağlantılı olduğu, bakır iyonlarını şelatlayıcı özellikleri olmadığı bulunmuştur. Bununla birlikte, bileşikteki α -L-arabinoz süstitüsyonunun LDL inhibe edici kapasiteyi artırdığı ve bu nedenle, forsitozit B'nin etkinliğinin ballotetrozitten daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ballotetrozitin aktivitesinin diğerlerine göre düşük olmasının sebebinin ballotetrozitin yağda çözünürlüğünün diğerlerine göre daha az olmasıyla da açıklanabileceği söylenmiştir. Kafeoil-L-malik asit fenilpropanoit glikozitlerinden daha az aktiftir, bunun muhtemel sebebi ise glikozitlerdeki gibi iki değil sadece tek bir *orto*-dihidroksifenolik grup içermesidir. Sonuçta bu çalışmada elde edilen bu veriler polifenolik bileşiklerin antioksidan etkinliğini desteklemektedir (Seidel ve ark., 2000).

Daels-Rakotoarison ve arkadaşları (2000) tarafından *B. nigra*'nın hidroalkolik ekstresinden izole edilen bu bileşikler, hücre dışı sistemlerde üretilen veya kimyasal uyarılarla *in vitro* olarak uyarılmış polimorfonükleer nötrofillerden enflamatuvar hastalıklar sırasında salınan süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hipokloröz asit, hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerine karşı test edilmiştir. En belirgin etki, hidrojen peroksit ve hipokloröz asite karşı gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar izole edilen bileşiklerin reaktif oksijen türlerini süpürme yeteneğinin bilinen antioksidan ilaçlar olan mesna (sodyum-2-merkaptometanolsülfonat) ve N-asetil sisteinle karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu göstermiştir. Verbaskozit, forsithozit B ve

kafeoil malik asitin hidrojen peroksit ve hipokloröz asit inhibisyonu açısından bu ilaçlardan daha etkili oldukları görülmüştür. Aktivite sıralaması şöyledir: verbaskozit > forsithozit B > kafeoil malik asit > arenariozit > ballotetrozit. Doza bağlı olan antioksidatif etkinin mekanizması ise fenilpropanoit esterlerinin protein kinaz C ya da fosfolipaz C yolağı ile etki göstermesiyle açıklanmaktadır.

Vrchovská ve ark. 2007 yılındaki yayınlarında *B. nigra* infüzyonunun DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikali, reaktif oksijen türleri ve nitrik oksiti yok edici yeteneğini araştırmıştır. Bitkinin en yaygın kullanım şekli olan liyofilize infüzyonun DPPH'yi konsantrasyona bağlı olarak güçlü bir şekilde süpürdüğü bulunmuştur ($IC_{25}= 4,81 \mu\text{g/ml}$). İnfüzyonun özellikle $2,25 \mu\text{g/ml}$ nin üzerindeki konsantrasyonlarda, askorbik asite çok etkili bir alternatif olduğu bulunmuştur. Ekstre ayrıca konsantrasyona bağlı bir şekilde IC_{25} değeri $122 \mu\text{g/ml}$ olmak üzere nitrik oksit süpürücü etki göstermiş ancak hidroksil radikalini süpürücü etkinlik göstermemiştir. Hatta *B. nigra* infüzyonunun, askorbik asit yokluğunda hidroksil radikal oluşumunu stimüle ettiği görülmüştür ve bunun Wilson hastalığı ve hemokromatozis gibi patolojik olgularda önemli olabileceği belirtilmiştir. Bu durum kısmen, infüzyonda bulunan ve prooksidan özellikleri rapor edilmiş olan kafeik ve klorojenik asite bağlanmıştır. Ekstre aynı zamanda ksantin/ksantin oksidaz (X/XO) sisteminde konsantrasyona bağlı olarak ($IC_{25}= 14,6 \mu\text{g/ml}$) süperoksit radikalini süpürücü aktivite göstermiştir. Ancak ekstrenin XO üzerine düşük inhibitör etki ($IC_{25}= 143 \mu\text{g/ml}$) göstermesi nedeniyle süperoksit radikale karşı kesin bir süpürücü etkisi vardır demek mümkün değildir. İnfüzyonun süperoksit radikal süpürücü aktivitesini doğrulamak amacıyla PMS (fenazin metasülfat), NADH (nikotinamid adenin dinükleotid) ve oksijenden oluşan bir kimyasal sistem kullanılarak yürütülen deney sonucunda, süperoksit radikalinin konsantrasyona bağlı bir şekilde IC_{25} değeri $26,1 \mu\text{g/ml}$ olmak üzere süpürüldüğü bulunmuştur. İki sistem arasında bulunan farklı IC_{25} değerlerinin, enzimatik olmayan deneyde süperoksit radikal üretiminin daha yüksek olmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. EDTA'sız ortamda yürütülen deney sonucunda, *B. nigra* liyofilize infüzyonunun Fe^{+3} iyonunu şelatlayıcı özelliğinin

olmadığı ve güçlü bir oksidan olan hipokloröz asite (HOCl) karşı etkinliğinin olmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle *B. nigra*'nın enflamatuvar olgulardaki geleneksel kullanımını HOCl'yi süpürmesine bağlanamamaktadır. İnfüzyonun gösterdiği radikal süpürücü aktiviteler, içerdiği fenolik türevlere bağlanmıştır. Ayrıca antioksidan kapasiteye sahip olduğu bilinen organik asitlerin de gözlenen etkilere katkıda bulunabileceği belirtilmektedir. Kafeik ve klorojenik asitler üzerine yapılan çalışmalarda da bu bileşiklerin etkili düzeyde antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulunmuştur.

Aralarında *B. nigra*'nın da bulunduğu Sırbistan'da yetişen altı bitki antioksidan etkileri bakımından çeşitli yöntemler kullanılarak test edilmiştir. Bunlardan biri olan fosfomolibden yöntemi Mo (VI)'nın antioksidan bileşik varlığında Mo (V)'ye indirgenmesine dayanır ve etki kuru ekstrenin gramı başına karşılık gelen askorbik asit miktarı olarak ifade edilir. Bitkinin alkollü ekstresinin antioksidan kapasitesi bu yöntemle 131 mg askorbik asit/g olarak belirlenmiştir. Test edilen bitkiler içinde en düşük düzeyde DPPH serbest radikal süpürücü aktivite ve lipit peroksidasyon inhibisyonu gösteren bitki *B. nigra* olmuştur (Niciforovic ve ark., 2010).

Couladis ve arkadaşlarının (2003) yaptıkları bir çalışmada, *Lamiaceae* familyasına ait 21 aromatik bitkiden elde edilen metanol ekstralarının *in vitro* antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Test edilen ekstralardan, *B. pseudodictamnus* ve *B. acetabulosa* α -tokoferol ile aynı ölçüde etki göstermiştir.

B. acetabulosa toprak üstü kısımlarının etanollü ekstresinden hareketle hazırlanan 50, 100, 250 ve 500 μ g/l konsantrasyonlarındaki çözeltiler DPPH ve indirgeme metotları kullanılarak test edildiğinde kayda değer ölçüde antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. İki farklı metot kullanılarak elde edilen sonuçlar Çizelge 1.9'da özetlenmiştir. Veriler, BHA, α -tokoferol ve askorbik asit gibi ötentik bileşiklerle karşılaştırılmıştır. Bu bilgiler ışığında bitkinin potansiyel antioksidan kapasiteye sahip olduğu ve bilinen fitoterapötik özelliklerinin dışında antioksidan bir kaynak olarak da kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır (Dumlu ve Bulut, 2007).

Çizelge 1.9. Antioksidan yöntemlerinden elde edilen veriler

Örnek	DPPH yöntemi (%) (517 nm absorbans)	İndirgeme yöntemi (700 nm absorbans)
Etanol ekstresi	79	75
Askorbik asit	98	-
Standart (α -Tokoferol)	-	0,98
Standart (Bütilhidroksianisol)	-	1

Ürdün bitkileri üzerine yapılan bir çalışmada *B. undulata* toprak üstü kısımlarından elde edilen dört fenilpropanoit, bir iridoit, yedi flavonoit ve iki betain türevi bileşiğin antioksidan aktivitesi TEAC (trolox eşdeğeri antioksidan kapasite) testi ile serbest radikal süpürücü aktiviteleri ölçülerek tespit edilmiştir. TEAC testi, antioksidanın 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) radikal katyonunu süpürme yeteneğinin ölçüldüğü spektrofotometrik bir analizdir. Bu analizde referans bileşik olarak kersetin kullanılmıştır. Deney sonucunda fenilpropanoit glikozitlerinden forsitozit B ve verbaskozitin TEAC değerleri ~ 1,6 mM olmak üzere en aktif bileşikler olduğu; lisinotozit ve betoniozit F'nin ise daha az aktif (TEAC değeri ~ 1 mM) olduğu bulunmuştur. Fenilpropanoit glikozitlerinde gözlenen bu antioksidan etkinliğin, fenolik kısımlarında iki *orto*-hidroksi grubunun olmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Flavonoitlerden en aktif olan luteolin-7- β -D-O-glukopiranozit (TEAC değeri ~ 1,2 mM) iken; luteolin-3'-metil eter-7-(6''-*p*-kumaroil)- β -D-glukopiranozit ve diosmetin-7- β -D-O-glukopiranozit daha düşük aktivite göstermiştir. Flavonol türevleri ve betainlerin ise radikal süpürücü olarak tamamen etkisiz olduğu bulunmuştur (Siciliano ve ark., 2005).

B. rotundifolia'nın Soxhlet ile metanol ekstresi hazırlanmış ve bu ekstre polar ve non-polar alt fraksiyonlara ayrılmıştır. Bu fraksiyonların potansiyel antioksidan aktiviteleri DPPH serbest radikal-süpürücü ve β -karoten/linoleik asit deneyleri ile test edilmiştir. Bitkinin non-polar ekstreleri test edilen iki sistemde de inaktif

bulunmuştur. Diğer taraftan polar ekstreler kayda değer düzeyde antioksidan aktivite göstermiştir (Gürsoy ve Tepe, 2009).

Türkiye’de yetişen 16 *Ballota* taksonunun kurutulmuş toprak üstü kısımlarına etanol ile Soxhlet ekstraksiyonu uygulanarak elde edilen ekstrelerin süperoksit anyon oluşumu ve lipit peroksidasyonu üzerindeki antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Ekstrelerin süperoksit anyonu süpürücü kapasitesi, sitokrom c redüksiyonunu inhibe etme yetenekleri baz alınarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Süperoksit anyonu X/XO sisteminde üretilmiştir. Her bir bitki ekstresi için kalibrasyon eğrisinden IC₅₀ değeri (maksimum inhibisyonun % 50’sini oluşturan ilaç konsantrasyonu) hesaplanmıştır. Ekstrelerin FeCl₂-askorbik asit ile indüklenen sıçan karaciğer homojenatı ve lipit peroksidasyonu üzerine etkileri de belirlenmiştir. Sonuçlar tüm *Ballota* ekstrelerinin süperoksit oluşumunu farklı derecelerde inhibe etme yeteneği olduğunu göstermiştir. *B. antalyense*, *B. macrodonta*, *B. glandulosissima*, *B. larendana*, *B. pseudodictamnus*, *B. nigra* subsp. *anatolica*, *B. saxatilis* subsp. *saxatilis*, ve *B. saxatilis* subsp. *brachyodonta* ekstreleri IC₅₀ değerleri 0,5 ile 0,87 mg/ml arasında, *B. rotundifolia* ise 0,93 mg/ml olmak üzere süperoksit anyonu oluşumuna karşı kayda değer bir etki göstermiştir. En düşük IC₅₀ değerlerine *B. antalyense*, *B. macrodonta* ve *B. glandulosissima* (sırasıyla 0,50 ; 0,51 ve 0,51 mg/ml) ekstrelerinin sahip olduğu bulunmuştur. Bu değerler iyi bilinen bir süperoksit anyon süpürücü olan α -tokoferole (IC₅₀: 0,22 mg/ml) çok yakın değerlerdir. *B. inaequidens*, *B. glandulosissima*, *B. saxatilis* subsp. *saxatilis*, *B. macrodonta* ve *B. antalyense* ekstreleri lipit peroksidasyonunu IC₅₀ değerleri 12 ila 20 mg/ml olacak şekilde inhibe etmiştir. α -Tokoferolle karşılaştırıldığında (IC₅₀: 3 mg/ml) lipit peroksidasyonuna karşı en güçlü etkiyi gösteren ekstrelerin *B. inaequidens* (IC₅₀: 12 mg/ml) ve *B. glandulosissima* (IC₅₀: 15 mg/ml) ekstreleri olduğu bulunmuştur. *B. larendana*, *B. latibracteolata* ve *B. rotundifolia* lipit peroksidasyonu üzerinde etkisiz bulunmuştur. Bazı bitki ekstrelerinin lipit peroksidasyonu ve süperoksit anyon radikal oluşumu üzerine farklı etkiler göstermesinin sebebi, oksidatif stres oluşum mekanizmalarının farklı olmasıyla

açıklanmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda, incelenen 16 *Ballota* taksonu içinde en güçlü antioksidan aktiviteye sahip olan bitkinin *B. glandulosissima* olduğu gösterilmiştir (Çitoğlu ve ark., 2004a).

Başka bir çalışmada 16 *Ballota* taksonunun 1 mg/ml konsantrasyondaki etil asetat, metanol ve sulu ekstralarının demir-indirgeyici antioksidan gücü, DPPH radikal süpürücü ve demir iyonunu şelatlama kapasiteleri gösterilmiştir. *Ballota* cinsinde bulunan ana diterpen olan hispanolon da aynı şekilde test edilmiştir. Ekstrelerin toplam fenol ve flavonoit içerikleri sırasıyla Folin-Ciocalteu ve $AlCl_3$ reaktifleri ile belirlenmiştir. Ekstreler ve hispanolon DPPH radikaline karşı anlamlı düzeyde süpürücü aktivite gösterememiştir ancak demir-indirgeme deneyinde referans bileşik olan klorojenik asitle karşılaştırıldığında orta dereceli antioksidan aktivite göstermiştir. Tüm ekstralar (özellikle etil asetat ekstraları) ve hispanolon konsantrasyona bağlı olarak dikkate değer ölçüde, % 60'ın üzerinde demir iyonu şelatlayıcı etki göstermiştir. Ekstrelerde gözlenen şelatlayıcı etkinin de, yüksek demir-şelatlama kapasitesine sahip olan hispanolondan kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. En yüksek şelatlayıcı etkiye *B. inaequidens* metanol ekstresi sebep olmuştur. En yüksek fenol (gallik asit eşdeğeri) ve flavonoit (kersetin eşdeğeri) içeriğine *B. glandulosissima*'nın etil asetat ekstresinde rastlanmıştır. Metanol ve sulu ekstralardan ise en yüksek total fenol içeriğine sahip olanın *B. antalyense*, en yüksek DPPH süpürücü aktiviteye sahip olanın ise *B. saxatilis* subsp. *brachyodonta* olduğu bulunmuştur. Tüm bu veriler sonucunda *Ballota* türlerinin gıda koruyucusu olarak kullanılmak üzere iyi bir kaynak olabileceği öne sürülmüştür (Erdoğan-Orhan ve ark., 2010).

1.3.1.4. Antiproliferatif ve Sitotoksik Etki

Çeşitli *Ballota* türlerinden izole edilen retusin'in KB (insan nazofarenks karsinoması)'na karşı *in vitro* sitotoksik aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Arisawa ve ark., 1991).

B. glandulosissima'dan izole edilen velutin'in P-388 (murin lökoma) ve KB'ye karşı *in vitro* ortamda etkili olduğu bulunmuştur (Zahir ve ark., 1996).

Güney Afrika geleneksel ilaçlarının sitotoksitesinin araştırıldığı bir çalışmada *B. africana* sulu ekstralarının test edilen hiçbir konsantrasyonda HeLa (insan uterus karsinoma hücresi), Vero (yeşil Afrika maymun böbreği), Jurkat E6.1. AA-2 (T-lenfositik lösemi hücre dizisi) ve CEM-SS (insan T lenfoblastoid hücresi)'ye karşı belirgin bir sitotoksite göstermediği bulunmuştur (Treurnicht, 1997).

B. undulata'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen sulu ekstrede BG (kemoterapiye dirençli) ve GA (kemoterapiye duyarlı) melanom hücre dizilerine karşı sırasıyla % 95,7 ve 94,3 oranında sitotoksite gözlenmiştir (Sathiyamoorthy ve ark., 1999). Ürdün'den toplanan aynı bitkinin yapraklarının antiproliferatif etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada meme adenokarsinomu hücrelerinin (MCF7) 72 saat boyunca 50 µg/ml etanol ekstresine maruz bırakıldıktan sonraki sağ kalım yüzdesi $94,83 \pm 6,07$ olarak bulunmuştur (Abu-Dahab ve Afifi, 2007).

B. acetabulosa kurutulup toz edilmiş toprak üstü kısımlarının (500 g) 8 saat boyunca etanol ile Soxhlet apareyinde ekstraksiyona tabi tutulmasıyla elde edilen ekstrenin potansiyel sitotoksik aktivitesi Brine Shrimp (*Artemia salina*) yöntemi kullanılarak araştırılmış ve etkili olduğu bulunmuştur. Elde edilen veriler standart madde (umbelliferon) ile karşılaştırılmıştır (Çizelge 1.10) (Dumlu ve Bulut, 2007).

Çizelge 1.10. Brine Shrimp yönteminden elde edilen veriler

Örnek	ppm	LC ₅₀
Etanol ekstresi	1000: 100: 10	356,4512
Standart (Umbelliferon)	1000: 100: 10	715,3625

1.3.1.5. İnsektisit Etki

Güneydoğu İspanya'da doğal olarak yetişen *B. hirsuta* yapraklarının aseton ekstresi, hububat zararlısı olan *Tribolium castaneum* larvalarının büyümelerinde önemli ölçüde inhibisyon sağlamıştır; 10 gün sonra mortalite düşmektedir. Bu etki kasım ayında toplanan bitkide gözlenmiş, nisan ayında toplanan bitkide gözlenmemiştir. Bu durum, biyolojik etki üzerine toplama zamanı ve/veya mevsimlerin ne kadar etkili olduğunu göstermektedir (Pascual-Villalobos ve Robledo, 1999).

Ürdün'ün tıbbi bitkilerinden elde edilen ekstraların bitki patojeni mantarlara karşı inhibitör etkinliğinin MİK'leri ölçülerek test edildiği bir çalışmada *B. philistaea* yapraklarının etanol ekstresi, incelenen mantarlara karşı konsantrasyonla orantılı olarak orta dereceli bir antifungal aktivite göstermiştir. *B. philistaea* marul yapraklarında bulunan *Fusarium oxysporum*'a karşı % 24, patates yapraklarında bulunan *Verticillium* türüne karşı % 23,7, salatalık köklerinde bulunan *Rhizoctonia solani*'ye karşı % 22,5 ve domates yapraklarında bulunan bir *Penicillium* türüne karşı % 3,5 inhibisyon göstermiştir (Dababneh ve Khalil, 2007). Aynı yöreden toplanan *B. undulata* yapraklarından elde edilen sulu ekstrenin tatlı patates beyaz sineği *Bemisia tabaci*'ye karşı repellent aktivite gösterdiği bulunmuştur (Ateyyat ve ark., 2009).

1.3.1.6. Antienflamatuvar Etki

B. limbata'dan izole edilen ballotenik ve ballodiolik asit bileşiklerinin, bronşiyal astımda ve hava yolu enflamasyonunda önemli rol oynayan lipoksigenaz enzimini inhibe etme potansiyeli *in vitro* spektrometrik bir yöntemle ölçülmüş ve bileşiklerin konsantrasyona bağlı olarak enzim inhibisyonu sağladığı gösterilmiştir. IC₅₀ değerleri ise sırasıyla 99,6 µM ve 38,3 µM olarak bulunmuştur (Ahmad ve ark., 2004b).

Özbek ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları çalışmanın sonuçları *B. glandulosissima*'nın (BG) antienflamatuvar aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Oral olarak verilen 100 mg/kg BG sulu ekstresi, karragenan ile oluşturulan sıçan pençe ödeminde önemli bir azalmaya (% 34,22) neden olmuştur. Bu etkinlik indometazin kadar güçlü olmamakla birlikte neredeyse etodolak ile aynı derecede güçlüdür. BG'nin antienflamatuvar etkisinin, enflamasyonda rol oynayan reaktif oksijen türlerine karşı gösterdiği antioksidan özelliğe bağlı olduğu düşünülmektedir. Başka bir çalışmada *B. inaequidens* (BI) sulu ekstresinin antienflamatuvar aktivitesi fare ve sıçanlar üzerinde araştırılmıştır. Bu etkinin belirlenmesi için karragenan ile oluşturulan sıçan pençe ödemi testi kullanılmış ve sonuçta bir inhibitör etki saptanmıştır. BI'nın ED₅₀ değeri 99,42 mg/kg olarak bulunmuştur. Özellikle 200 mg/kg dozda BI'nın en yüksek etkinliğe sahip olduğu bulunmuştur (% 85,85). Sonuçta BI sulu ekstresinin BG sulu ekstresinden daha iyi bir antienflamatuvar aktiviteye sahip olduğu söylenmiştir (Sever Yılmaz ve ark., 2006). Aynı araştırma grubu başka bir yayınlarında *B. nigra*'nın da enflamasyonu tedavi edici etkisi olduğunu belirtmiştir (Çitoğlu ve ark., 2004a).

Yapılan başka bir çalışmada kokulu bir bitki olan *B. africana*'dan Clevenger aparatı kullanılarak yapılan 3 saatlik su distilasyonu sonucu elde edilen uçucu yağın 29,99 ppm. lik bir IC₅₀ değeri ile 5-lipoksigenaz inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu sonuçlar, antienflamatuvar bileşiklerin izole edilmesine önayak olması açısından umut vericidir (Frum ve Viljoen, 2006). *B. undulata* bitkisinin de antienflamatuvar etkileri nedeniyle kullanıldığı belirtilmektedir (Al-Bakri ve Afifi, 2007).

Libya florasında iyi bilinen tıbbi bir bitki olan *B. pseudodictamnus* geçmiş zamanlardan beri enflamasyon tedavisinde kullanılmaktadır. Elmezogi ve arkadaşlarının (2012) yaptığı bu çalışmada bitkinin gölgede kurutulmuş toprak üstü kısımlarından Soxhlet aparatı ile elde edilen metanol ekstresinin farelerde karragenan ile oluşturulan pençe ödemi üzerindeki antienflamatuvar özelliği araştırılmıştır. 500 mg/kg vücut ağırlığı dozunda ekstre, karragenan uygulamasından

sonra 3 saat içinde istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyon oluşmasını sağlamıştır. *B. pseudodictamnus* ekstresi pençe ödeminin hacmini % 51,2 oranında azaltmıştır. Bu antienflamatuvar aktivitenin, bitkide bulunan flavonoidler gibi fenolik bileşiklerle ilişkili olduğu kabul edilmektedir ve dolayısıyla bitkide potansiyel bir antioksidan aktivitenin olabileceği söylenmektedir.

1.3.1.7. Hepatoprotektif Etki

Özbek ve arkadaşları (2004) yaptıkları çalışmada sıçanlarda karbontetraklorürle (CCl₄) oluşturulan akut karaciğer toksisitesi üzerinde *B. glandulosissima* (BG) liyofilize sulu ekstresinin hepatoprotektif etkisini araştırmıştır. CCl₄ uygulaması (7 gün boyunca intraperitoneal olarak 0,8 ml/kg) kontrol grubuyla karşılaştırıldığında serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP) ve bilirubin seviyelerini artırmıştır. Biyokimyasal testlerin sonuçları histopatolojik gözlemlerle de doğrulanmıştır. Ekstrenin, yükselen serum AST, ALT ve ALP değerlerini CCl₄:zeytinyağı kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşürdüğü, bilirubin değerini ise anlamlı olmayan oranda düşürdüğü gözlenmiştir. Ancak 100 mg/kg dozda intraperitoneal (*i.p.*) yolla BG ekstresi uygulanan sıçanların klinik durumlarının serum fizyolojik kontrol grubuna göre oldukça kötü seyrettiği; sıçanların hareket, canlılık ve beslenmelerinde belirgin bir azalma olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla BG ekstresinin CCl₄'le oluşturulmuş akut karaciğer toksisitesi üzerinde belli bir hepatoprotektif etki potansiyeline sahip olduğu ancak üzerinde daha fazla araştırma yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

B. nigra'nın etanollü ekstresinin albino sıçanların AST, ALT, troponin I (Tn I), serum kreatin kinaz (KK), total protein, total bilirubin ve kandaki üre düzeyleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ekstrenin kan KK seviyelerinde anlamlı bir azalmaya yol açtığı bulunmuştur. Kandaki Tn I, AST, ALT, total bilirubin, total protein ve üre seviyesi ise değişmemiştir (Nusier ve ark., 2007a).

1.3.1.8. Hipolipidemik Etki

B. nigra'nın % 70 etanol ekstresi (7 gün boyunca 400 mg/kg vücut ağırlığı dozunda) albino sıçanlara (n=10) oral yolla uygulandığında total kolesterol ve trigliserit üzerine etkisi araştırılmıştır. *B. nigra* ekstresi serum total kolesterol seviyesinde anlamlı bir azalmaya yol açmıştır. Kandaki trigliserit miktarı ise değişmemiştir (Nusier ve ark., 2007a).

B. undulata'nın hipolipidemik etkisinin belirlenmesi için yetişkin sağlıklı albino tavşanlardan bazılarında standart pelletler ile kontrol diyeti uygulanmış, bu diyetle yeşil yapraklı sebzeler ve su ilave edilmiştir. Aterojenik diyet uygulanan tavşanlara ise buğday unu, süt tozu, kurutulmuş yumurta sarısı, hidrojenlenmiş yağ, tereyağı, tuz ve vitamin karışımı verilmiştir. Aterojenik diyetle ilave olarak, tavşanlar hindistan cevizi yağı içinde çözülmüş kolesterol ile beslenmiştir. 500 g *B. undulata* 50 °C'de 36 saat boyunca etanol ile Soxhlet ekstraksiyonuna tabi tutularak elde edilen ekstre sıçanların beslenmesinde 1,2 g kg⁻¹ vücut ağırlığı/gün dozunda oral olarak verilmiştir. Deney süresince lipit profilinin belirlenebilmesi için tavşanlardan kan alınıp, serumu analiz edilmiştir. Hayvanlar öldürüldükten sonra kalp ve karaciğerleri çıkarılarak test edilene kadar -20 °C'de bekletilmiştir. Kolesterol, fosfolipit ve trigliseritler için biyokimyasal analizler yapılmıştır. *B. undulata* sulu ekstresinin LD₅₀ değeri (test edilen maddenin, hayvanların % 50'sinin ölümüne yol açan dozu) 4,14 g/kg vücut ağırlığı olarak bulunmuştur. Yüksek kolesterol seviyelerinin *B. undulata* uygulamasıyla normal düzeye getirildiği gözlenmiştir. Serum kolesterol seviyeleri deney sonuna kadar 940,7'den 230,41'e (% 75,55) ve daha sonra da 119,2'ye (% 87,32) kadar düşmüştür. *B. undulata* ekstresi ile tedavi, serum kolesterol ve trigliseritlerini sırasıyla 7,8 ve 3,5 kat azaltmıştır. Benzer şekilde, fosfolipit düzeylerinde de azalma gözlenmiştir. Sonuçta *B. undulata*'nın aktif hipolipidemik bileşenlere sahip olduğu gösterilmiştir. Lipit düzeyindeki değişikliğe sebep olan muhtemel mekanizmanın *B. undulata*'nın karaciğerdeki lipoproteinleri uzaklaştırarak ya da katabolizmasını artırarak kolestatik etkiye sebep olması ve/veya

karaciğer tarafından salgılanan lizozomal lipit hidrolitik enziminin inhibisyonuna neden olması olabileceği düşünülmüştür. Total kolesterol, trigliserit, karaciğer ve ventriküler kalp kası fosfolipitlerinde gözlenen azalma; *B. undulata*'nın hiperlipidemi tedavisinde yararlı bir rolü olabileceğini düşündürmektedir (Qazan, 2008b).

1.3.1.9. Antifertiliter Etki

Qazan yaptığı bir çalışmada kısa ve uzun dönem *B. undulata* (300 mg/kg etanollü ekstre) uygulamasının dişi albino sıçanların üreme sistemi üzerine toksik etkilerini araştırmıştır. Dört haftalık *B. undulata* uygulamasının incelenen parametreler üzerine önemli bir etkisi olmadığı, bununla birlikte yumurtalık ve embriyo ağırlıklarında hafif bir azalma meydana getirdiği gözlenmiştir. Üreme organlarının ağırlığında meydana gelen bu azalmanın, androjen hormon seviyesinin azalmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 12 haftalık *B. undulata* uygulaması hamile kalma yüzdesini anlamlı ölçüde azaltmış ve bir farede de ölüm gözlenmiştir. Buna ek olarak, yumurtalık ağırlığı ve canlı fetüs sayısında da azalma gözlenmiştir. *B. undulata* uygulanan dişilerin yumurtalıklarının histolojik kesitlerinde corpus luteum çevresinde ve medullada tıkalı kan damarları ve buna bağlı olarak corpus luteumda dejenerasyon başlangıcı gözlenmiştir. Sonuçta *B. undulata* ile uzun süreli tedavinin dişi sıçanların üremesi üzerine çeşitli olumsuz etkilere yol açabildiği gözlenmiştir. Beş farklı konsantrasyondaki ekstrelerin intraperitoneal akut toksisitesi (LD₅₀) değerlendirildiğinde 24 saat sonunda 1, 10, 100 ve 500 mg/kg dozlarda ekstre alan hayvanlarda ölüm gözlenmemiş ancak 1000 mg/kg dozda bir ölüm vakası rapor edilmiştir (Qazan, 2008a).

Yapılan bir çalışmada 60 gün boyunca oral yolla *B. undulata* (günde 400 mg/kg vücut ağırlığı) uygulanan farelerin vücut ağırlığında herhangi önemli bir değişiklik gözlenmemiş ancak testis, epididim, seminal vezikül ve ventral prostat ağırlıklarının anlamlı şekilde azaldığı gözlenmiştir. *B. undulata* ile beslenen farelerin testis ve epididim sperm konsantrasyonları ve kauda epididimal sperm hareketliliği de önemli

ölçüde azalmıştır (Bataineh ve Mohammad, 2012). Hindistan halk hekimliğinde kullanılan bir bitki olan *B. undulata* yaprak ve çiçeklerinin antiimplantasyon aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Priya ve ark., 2012).

1.3.1.10. Antinosiseptif Etki

B. glandulosissima'nın halk arasında solunum yolu hastalıklarında kullanılmasından yola çıkılarak antinosiseptif etkisi (ağrılı uyarıyı azaltma veya durdurma etkisi) araştırılmıştır. Liyofilize sulu ekstrenin antinosiseptif aktivitesi, asetik asitle indüklenen writhing ve tail-flick testleri kullanılarak ölçülmüştür. Hayvanların motor koordinasyonları ise rotarod testi ile saptanmıştır. Ekstre farelere *i.p.* yolla serum fizyolojik içinde çözülerek verilmiş ve kontrol grubuna sadece serum fizyolojik verilmiştir. Abdominal ağrı asetik asit ile (*i.p.* yolla % 6, 60 mg/kg) oluşturulmuştur. Standart madde olarak 300 mg/kg dozda asetil salisilik asit ve morfin kullanılmıştır. *B. glandulosissima*'nın akut toksisitesinin belirlenmesi amacıyla bitki ekstresi farelere 0,05–1,6 g/kg dozda uygulandığında hayvanların davranışlarında değişim olmamış ve üç günden önce mortaliteye rastlanmamıştır. *B. glandulosissima*'nın LD₅₀ değeri 8,885 g/kg olarak belirlenmiştir. Rotarod testi sonuçlarına göre bitki ekstresinin deney hayvanlarında sensorimotor aktiviteyi bir miktar deprese ettiği söylenmiştir. Tail-flick testine göre bitki ekstresi 100 ve 200 mg/kg dozlarda uygulandığında, ilk 30 dakika içerisinde, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde analjezik etki göstermiştir. Bu etki 60. dakikaya doğru gelindiğinde azalmaya başlamaktadır. İlaveten, 200 mg/kg ekstrenin etki süresinin 100 mg/kg ekstrenin etki süresine göre daha uzun olduğu gözlenmiştir. Writhing testi sonuçlarına göre ise *B. glandulosissima* sulu ekstresi, farelerde asetik asitle oluşturulan abdominal ağrıyı inhibe etmektedir. Sonuçta *B. glandulosissima* sulu ekstresinin asetilsalisilik asitle aynı derecede güçlü olan ancak morfin kadar da güçlü olmayan bir analjezik etkiye sahip olduğu yapılan testlerde gösterilmiştir. Bu etkiler bitkinin içerdiği ve daha önce analjezik özellikleri bulunduğu rapor edilmiş flavonoid ve fenilpropanoitlere bağlanmıştır (Çitoğlu ve ark., 2005a).

B. inaequidens'in (BI) sulu ekstresinin fare ve sıçanlar üzerindeki (merkezi ya da periferik) antinosiseptif aktivitesi araştırılmıştır. Bu etkinin belirlenmesi için asetik asitle indüklenen writhing ve tail-flick testleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre BI, farelerde asetik asitle oluşturulan abdominal ağrıyı doza bağımlı olarak inhibe etmektedir. BI'nın ED₅₀ değeri 85,38 mg/kg, LD₅₀ değeri ise 3,914 g/kg olarak belirlenmiştir (Sever Yılmaz ve ark., 2006).

1.3.1.11. Antiemetik Etki

Bazı *Ballota* türlerinde varlığı kanıtlanmış pakipodol ve retusin, CuSO₄ ile emezis oluşturulan civcivlerde antiemetik etkisi kanıtlanmış olan flavonollerdir (Yang ve ark., 1999).

Hindistan'da antiemetik etkili tıbbi bitkilerin araştırıldığı bir derleme çalışmasında yöresel ismi 'Shalmali' olan *B. nigra* bitkisinin içerdiği polifenol, fenilpropanoit ve mangiferinden dolayı antiemetik etkisi olduğundan bahsedilmektedir (Shivhare, 2011).

1.3.1.12. Hipoglisemik Etki

Nusier ve arkadaşları (2007b) oral yolla uygulanan *B. nigra* sulu ekstresinin albino sıçanların kan glikoz seviyesi üzerinde anlamlı bir azalmaya yol açtığını bulmuşlardır. Bunun üzerine *B. nigra* ekstresinin hipoglisemik etkisi intraperitoneal glikoz tolerans testiyle daha ayrıntılı olarak incelenmiştir. Sağlıklı sıçanlar kuru ekstrenin 400 mg/kg vücut ağırlığı dozunda uygulamasını takiben 18 saat boyunca aç bırakılmıştır. Kan şekeri düzeyinde önemli bir azalma (15, 30 ve 45 dakika sonra) ile serum insülin seviyesinde önemli bir artış (15 ve 30 dakika sonra) gözlenmiştir (Nusier ve ark., 2007a). Aynı araştırma grubu bir başka yayınlarında alloksanla diyabet oluşturulması sonucu plazma glikoz seviyesinde birkaç kat artış meydana gelen albino sıçanları incelemişlerdir. *B. nigra* sulu ekstresinin uygulanmasıyla hem sağlıklı hem diyabetik

sıçanlarda glikoz seviyesinin önemli ölçüde azaldığını gözlemlemişlerdir. Bu sonuçlar, *B. nigra*'nın sıçanlarda hipoglisemik etkiye sahip olduğunu ve bu nedenle, diyabet tedavisinde yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

1.3.1.13. Diğer Etkiler

Yapılan bir araştırmaya göre, *B. nigra* infüzyonu (kg vücut ağırlığı başına 2,5 g dozda) intravenöz olarak bir köpeğe enjekte edildiğinde arteriyel kan basıncında düşüş ve bradikardi gözlenmiştir. Taze bitkinin dekoksasyonu intravenöz olarak uygulandığında 30 dakika içinde safra salgısının hacmi üç katına çıkmıştır. Köpek otu aynı zamanda uyarıcı ve mide kramplarına karşı antispazmodik olarak etmektedir (Gruenwald ve ark., 1998). Bu bitkinin yaşlanmayı geciktirici etkileri de olduğu belirtilmiştir (Duke ve ark., 2002).

Ahmad ve arkadaşları (2004a), *B. limbata*'dan izole etikleri bileşiklerin butirilkolinesteraz enzimi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Pozitif kontrol olarak galantaminin kullanıldığı bu çalışmada tüm bileşiklerin, enzimi az ya da çok inhibe etme potansiyeli olduğunu gösterilmiştir. Limbatenolit A, B ve C'nin butirilkolinesteraza karşı seçici ve orta düzeyde etkili olduğu ancak asetilkolinesteraza karşı inaktif olduğu bulunmuştur. İzole edilen ballatenolit A ve iki klerodan tipi bileşik daha, hem asetil hem butirilkolinesteraza karşı gösterdikleri umut verici IC₅₀ değerleriyle konsantrasyona bağlı bir şekilde inhibisyon göstererek öne çıkmaktadır.

Pakistan'da yetişen *B. limbata* kuru ekstresinin antitussif etkisi, farelerde sülfür dioksit (SO₂) ile oluşturulan öksürük modeli kullanılarak incelenmiştir. Pozitif kontrol olarak kodein ve dekstrometorfan kullanılmıştır. *B. limbata* ekstresi farelerde SO₂ gazı ile oluşturulan öksürüğü doza bağımlı bir şekilde, önemli bir toksisiteye sebep olmadan inhibe etmektedir. Ekstre uygulandıktan 60 dakika sonra SO₂'ye bağlı gelişen öksürüğe karşı maksimum düzeyde koruma sağlanmıştır. Bu etki 10 mg/kg

dozda subkütan (s.c.) yolla uygulanan kodein ve dekstrometorfanın etkisinin yaklaşık üçte biri kadardır. *B. limbata* ekstresi 400 mg/kg gibi orta düzeyde bir dozda SO₂ gazı ile oluşturulmuş öksürüğün sıklığında belirgin azalmaya yol açmıştır. Daha yüksek dozlarda ise (800 mg/kg, s.c.) öksürüğün sıklığında daha belirgin bir azalmaya yol açmıştır, ek olarak 30 ve 90. dakikalarda öksürüğün sıklığında önemli bir azalma meydana gelmiştir, bu da ekstrenin uzun etki süresine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Antitüssif etkinin kısmen, bitkinin içerdiği flavonoidlerin antialerjik özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir ve etki mekanizması periferik yolla antialerjik ve spazmolitik etki göstermesiyle açıklanmaktadır. Ancak merkezi olarak öksürüğü baskılayıcı etkisi olabileceği de (özellikle hafif sedatif etkisinin de olması nedeniyle) göz ardı edilemez. Bu çalışmada akut nörotoksisite testi kullanılarak yapılan değerlendirme sonucu bitkinin antitüssif dozlarda (2000 mg/kg'a kadar) verildiğinde herhangi bir sinir hasarına yol açmadığı ve ekstrenin yüksek dozlarda da iyi tolere edildiği gösterilmiştir. *B. limbata*'nın LD₅₀ değeri 5000 mg/kg'dan büyük iken aynı yolla uygulanan kodein ve dekstrometorfanın LD₅₀ değerleri 140 ve 275 mg/kg olarak bulunmuştur (Haq ve ark., 2011).

Al-Bakri ve Afifi (2007) *B. undulata* bitkisinin antialerjik ve antispazmodik etkiler elde etmek için kullanıldığını belirtmiştir.

Civcivlere % 10 *Peganum harmala* veya % 10 *B. undulata* yaprağı veya bunların 1:1 karışımından (% 5+5) oluşan diyet 2 hafta boyunca uygulanmış ve etkileri incelenmiştir. Bu bitkiler tek başlarına verildiğinde civcivlerin büyümelerinde yavaşlama ve hepatotoksisite ve buna bağlı olduğu düşünülen hipoproteinemi gözlenmiştir. İki bitkinin karışımı ile beslenen civcivlerin de büyümelerinde belirgin bir yavaşlama gözlenmiş ancak hiçbirinin serum ürik asit konsantrasyonlarında değişiklik olmamış, nefrotoksisite ya da ölüm meydana gelmemiştir (Qazan, 2009).

Salman ve arkadaşları (2012) tarafından *Ballota* türlerinin tohumlarını yiyen bıldırcın türlerinin avlanması sonucu insanlarda toksisite görülebileceği belirtilmiştir.

1.3.2. *Ballota* Türlerinin Kullanılışı

Ballota cinsi *B. nigra* ve alttürleri başta olmak üzere, tıbbi değeri yüksek olan birçok bitkiden oluşmaktadır. Avrupa'da doğal olarak yetişen *B. nigra* (köpek otu) bazı referans kitaplarında (Avrupa, Fransız, Macar Farmakopeleri ve ESCOP gibi) adı sıklıkla geçen ve oldukça yaygın olarak kullanılan tıbbi bir bitkidir. *B. nigra* (Sinonim: *B. foetida* Lam.) hafif balgam söktürücü ve menstruasyonu normalleştirmeye yardımcı etkileri nedeniyle Avrupa'da, antikonvülzan ve diüretik olarak İran'da, hamilelerdeki hafif dereceli uyku bozukluğuna karşı da Fransa'da geleneksel olarak kullanılmaktadır. Türkiye'de, Akdeniz bölgesinde geleneksel olarak kullanılan bitkilerden biri olan *B. nigra*'nın halk arasında "leylimkara" adıyla anıldığı ve dövülmüş toprak üstü kısımlarının ayak ya da koltuk altı enflamasyonlarının tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Hoffmann, 1990; Zargari, 1990; Yeşilada ve ark., 1993; Damase-Michel ve ark., 2004; ESCOP, 2009).

İtalya'nın Lucca bölgesindeki bitkilerin geleneksel kullanımlarının araştırıldığı etnobotanik bir çalışmada, yöresel olarak 'Erbo moro' ismiyle anılan *B. nigra* yapraklarının yara ve burkulmalara karşı (haricen lapa halinde) ve pek sık rastlanmayan şekilde gıdalarda koruyucu olarak kullanıldığı gözlenmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan dekoksionun ise hemostatik amaçlı kullanıldığı gösterilmiştir. Bitkinin gösterdiği antienflamatuvar etkinin, içerdiği labdan tipi diterpenlerle sinnamik asit türevleri arasındaki bir sinerjizmden kaynaklandığı düşünülse de bu olay fitokimyasal açıdan tam olarak aydınlatılamamıştır (Pieroni, 2000; Pieroni ve ark., 2004).

B. nigra Fransız Farmakopesi ve British Herbal Pharmacopoeia'deki monograflarına göre infüzyon (10 g/l) halinde bulantı, kusma ve sinir rahatsızlıklarında kullanılmaktadır. Güçlü tadı nedeniyle genellikle başka bitki ya da içkilerle kombine kullanılıp tatlandırılır. *Filipendula* ve *Chamaemelum* ile birlikte sinirsel dispepside kullanılışı vardır (Fransız Farmakopesi, 1989; Carol ve ark., 1996).

Avrupa ülkelerinde 40 g *B. nigra* alkolatürü, 10 g *Passiflora* tentürü ile karıştırılarak hipotansif etkilerinden dolayı kullanılmaktadır. Arnavut halkı ise geçmişte *B. nigra* yapraklarını *Lycopersicon aesculentum* meyve sapsarı ve *Agropyrum repens* rizomlarıyla birlikte kaynatarak dekoksasyon halinde dâhilen diüretik amaçla kullanmıştır (Garnier ve ark., 1961; Pieroni ve ark., 2002).

B. nigra hidrofilik ekstresi ve/veya eterik yağının uygulandığı kişilerde horlama üzerine olumlu etkilere sahip olduğu bulunmuştur. Bu bitki *Marrubium* ile kombine kullanıldığında horlamayı baskılamada sinerjik bir etki göstermektedir. Bu kombinasyonun hoş olmayan ve acı tadının en etkili şekilde nane, anason ve okaliptüs ile baskılandığı belirtilmiş, zencefil ile yapılan kombinasyonda ise horlamayı baskılayıcı etkinin arttığı söylenmiştir. Bu şekilde kötü tat sorunu da ortadan kalkıp tedaviye hasta uyuncu sağlanabilmektedir. *B. nigra* ile *Marrubium vulgare* karışımından elde edilen tentür dâhilen histeri ve hipokondri vakalarında, boğmaca öksürüğünde, safra akışını artırmak için, mide rahatsızlıkları, bulantı ve kusmanın tedavisinde, geleneksel olarak sinir hastalıkları, öksürüğün semptomatik tedavisi ve üst solunum yolu enflamasyonlarında; haricen gut hastalığında kullanılır. Ayrıca, bitkinin astrenjan özelliğinden dolayı da kullanımı tercih edilmektedir, taze bitki suyu koyulaştırılarak lavman hazırlanmaktadır. *B. nigra* ile birlikte *Melissa officinalis* yaprakları, *Glycyrrhiza glabra* kökleri gibi birkaç bitkinin karışımından oluşan bir kombinasyonun insanlarda lupus, multiple skleroz, romatoid artrit, romatizma ve osteoporozda kullanılabileceği belirlenmiştir (Gruenwald ve ark., 1998; Tuzlacı ve Tolon, 2000; Sever, 2002; Brand ve Goedbloed, 2011; Taal ve Taal-Vlas, 2011).

İtalyan Farmakopesi'nde kara ısırgan olarak geçen *B. nigra* subsp. *nigra* toprak üstü kısımlarından hazırlanan infüzyonun deri döküntülerinde yıkama suyu olarak kullanıldığı ve dolaşımı stimüle etmek için içildiği belirtilmiştir. Bitkinin dekoksyonu Batı Anadolu'da dâhilen sarılık tedavisinde kullanılmaktadır. Aynı bitkinin gövde, yaprak ve çiçeklerinden elde edilen etanol ekstresinin de etnobotanik kullanımına

rastlanmıştır ancak kökleri için herhangi bir kullanım şekli rapor edilmemiştir (Altundağ ve Öztürk, 2011; Quave ve ark., 2011).

B. nigra subsp. *anatolica* halk hekimliğinde antiseptik ve antiromatik ajan olarak kullanılır. Türkiye’de yapılan etnofarmakognozok araştırmalarda bitkinin İstanbul-Şile halk hekimliğinde balotu, ballık otu adıyla anıldığı ve astımda vazodilatatör olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Aynı bitkinin Gönen (Balıkesir)’de ise pembe renkli oğul otu ya da arı otu olarak bilindiğı ve yaprakların dekoksasyon halinde haricen yara ve yanık tedavisinde, dâhilen baş ağrısında kullanıldığı tespit edilmiştir. Kırklareli yöresinde ise bitki ‘grip otu’ olarak adlandırılmakta ve yaprakları ısıtılıp buharı solunarak soğuk algınlığı ve gribe karşı kullanılmaktadır (Eryaşar ve Tuzlacı, 1998; Tolon Fenercioğlu ve Tuzlacı, 1998; Tuzlacı ve Tolon, 2000; Tuzlacı ve Aymaz, 2001; Kültür, 2007; Kazemizadeh ve ark., 2009).

Türkiye’de yapılan bir etnofarmakognozok araştırmada Karaman ve Ermenek’te elkurtaran adıyla bilinen *Ballota nigra* subsp. *uncinata* bitkisi yapraklarının dahilen mide gazına karşı koruyucu olarak kullanıldığı saptanmıştır (Yeşilada ve ark., 1995).

Özellikle Avrupa’da *Ballota* türlerini içeren ticari preparatlar genellikle sedatif ve trankilizan özellikleri nedeniyle satılmaktadır. Bu preparatlar aşağıda verilmiştir.

1) Ballotyl® (Pharmascience, Fransa)

Fenazon ve sodyum fenobarbital, *Ballota foetida* ile birlikte sinir rahatsızlıklarında kullanılır.

2) Dicalm® (Schieffer, İsviçre)

Valeriana, *Humulus lupulus*, *Hyoscyami*, *Ballota*, *Passiflora* anksiyete ve sinirlilik hallerinde kullanılır.

3) Euphytose® (Soekami, Fransa)

Crataegus, *Passiflora*, *Paullinia*, *Cola*, *Valeriana* ile birlikte *Ballota* sinir rahatsızlıklarında kullanılır. Bu bitkilerin geleneksel olarak sedatif ve anksiyolitik amaçla kullanıldığı bilinmektedir. Bu bitkiler arasında şaşırtıcı olan yüksek oranda kafein içeren *Paullinia* ve *Cola*'nın da merkezi benzodiazepin reseptörleri üzerinde etkili olduğunun gözlenmesidir. Karışımın içindeki maddeler arasında sinerjik etki bulunduğu bildirilmiştir.

4) Sedibaine® (Merrell, Fransa)

Strophanthus, fenobarbiton, *Hyoscyamus*, *Crataegus*, *Valeriana*, *Belladonna* ile birlikte yer alan *Ballota* sinir rahatsızlıklarında kullanılır.

5) Sedovalin® (Streuli, İsviçre)

Difenhidramin hidroklorür, *Belladonna*, *Hyoscyamus*, *Crataegus*, *Valeriana* ile birlikte yer alan *Ballota* sinir rahatsızlıklarında kullanılır (Sever, 2002).

Köpek otu ekstresi içeren bazı ürünler için 1996 yılında patent alınmıştır. Burada köpek otu olarak adı geçen örnekler *B. nigra* ya da *B. foetida*'dır. Köpek otunun geleneksel olarak tonik, stomaşik, temizleyici, antihelmintik ve çözücü özelliklere sahip olduğu söylenmektedir. Aynı belgede *Ballota suavelens*'in (kokulu *Ballota*), emenagog ve anti histerik olarak önerildiğinden bahsedilmektedir. Patenti alınan bu ürünlerin hazırlanmasında kullanılan ekstre, *B. nigra*, *B. lanata* ve *B. suavelens* arasından etki düzeylerine göre seçilerek Soxhlet ekstraksiyonu ve ardından maserasyonla elde edilmiştir. Bitkinin, toprak üstü kısımlarından ve özellikle gövde ve yapraklarından hazırlanan ekstrelerden çok iyi sonuçlar elde edilmiştir. Köpek otu ekstresinin, ciltte pigmentasyonu uyarmak, beyaz saçların oluşumunu engellemek ya da geciktirmek, pigmentasyon bozukluklarını tedavi etmek, yağ hücrelerinde trigliserit düzeylerini azaltmak ve selülit gibi vücut yağlarının birikimini engellemek amaçlarıyla özellikle dermatolojik kozmetik ya da farmasötik bir bileşim hazırlanmasında kullanılabileceği belirtilmiştir. Ekstrelerin ciltte ya da kıl

foliküllerinde bulunan melanositlerde melanin biyosentezini beklenmedik şekilde uyarıcı etkide olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, ilerleyen zamanlarda özellikle insanlarda vitiligo gibi bazı pigmentasyon bozukluklarının tedavisi için melanosit nakli gibi yöntemlerin yolunu açmaktadır. Ayrıca bu etki için genellikle uzun ve pahalı bir işlem sonucu elde edilebilen herhangi bir aktif bileşiğin izolasyon sürecine de gerek yoktur. Aynı zamanda bu bitki ekstrelerinin herhangi bir etken madde izolasyonu gerekmeksizin adipositlerdeki trigliserit sentezini beklenmedik şekilde azaltarak etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu ekstrelerin organizmada selülit gibi yağ birikimlerini önleyebileceği, bu nedenle de özellikle dermatolojik olarak zayıflama amaçlı kozmetik veya farmasötik bileşimlerin hazırlanmasında kullanılabilirliği düşünülmektedir. Patenti alınan bu ürünler özellikle pigmentasyonun teşvik edilmesi için cilde veya saç beyazlamasının yavaşlatılması için kafa derisine topikal olarak uygulanması amaçlanan bir formda örneğin krem, jel, süt ya da losyon halinde sunulabilecektir. Bu ürünler güneş preparatları olarak da kullanılabilir; epidermin melanin içeriğini artırarak ultraviyole ışınlarına karşı vücudun doğal savunmasını güçlendirir. Cilde daha bronz bir görüntü vermek amacıyla da kullanılabilir bu preparatın ise krem formunda sunulabileceği belirtilmiştir (Bonte ve ark., 1996).

Belirlenen terapötik dozlara uygun şekilde verildiğinde *B. nigra*'nın bilinen herhangi bir sağlık riski veya yan etkisi bulunmamaktadır. Sıvı ekstresi % 25 etanol ile 1:1 oranında ve tentürü ise % 45 etanol ile 1:10 oranında hazırlanır. Drog için belirlenen günlük doz; kurutulmuş toprak üstü kısımlar infüzyon şeklinde 2–4 g, sıvı ekstre halinde 1 ila 3 mililitre veya tentür halinde 1 ila 2 mililitredir. Tüm dozaj formlarında günde 3 kez kullanılmalıdır. Bitki hakkında farmakolojik, fitokimyasal ve toksikolojik verilerin tam olmaması nedeniyle hamilelik ve laktasyon döneminde kullanımından kaçınılmalı ayrıca yine veri eksikliğinden dolayı yüksek dozda kullanımından da kaçınılmalıdır (Carol ve ark., 1996).

İspanya'da yöresel olarak 'Malrubio negro' adıyla bilinen *B. nigra* bitkisinin dalları pirelere karşı kullanılmaktadır. Ayrıca, bu tür kan emici böceklerin sokmasını önlemek için, yerel halk yataklarının altında bu bitkiyi yakarak elde ettikleri dumanla evlerini dezenfekte etmektedir. Portekiz'in kuzeyinde ise insanlar bu bitkiyi tavşan ve tavuk kümeslerinin etrafında yakarak parazitleri uzaklaştırmak amacıyla kullanılmaktadır. Akdeniz çevresindeki ülkelerde *B. nigra*'nın geleneksel olarak birkaç bitki ile karıştırılarak atlardaki egzama ve boğaz ağrısına karşı kullanıldığı belirlenmiştir (Mulas, 2006; Gonzalez ve ark., 2011; Taal ve Taal-Vlas, 2011).

Ürdün'de yetişen *B. philistaea* ve *B. undulata*'nın antioksidan, diüretik ve hemostatik amaçlı tıbbi kullanımı bulunmaktadır. *B. undulata* Bedeviler tarafından yaralarda, akrep ve arı sokmalarında ilaç olarak kullanılmıştır. *B. limbata* ise Pakistan'da yöresel olarak 'Bui' ya da 'Phutkand' ismiyle anılır ve geleneksel olarak çocuklarda dişeti tedavisinde, göz enfeksiyonlarında ve yara tedavisinde kullanılmaktadır (Chopra ve ark., 1956; Sathiyamoorthy ve ark., 1997; Khalil ve ark., 2009).

Güney Afrika'da 'kattekrui' olarak anılan bir tıbbi bitki olan *B. africana*'nın yaprakları eskiden kolitlere ve yılan sokmalarına karşı, oral olarak infüzyon şeklinde ateş, kızamık, astım, bronşit, ses kısıklığı, kalp ve akciğer rahatsızlıkları, histeri, uykusuzluk, stres, tifo ve baş ağrısına karşı, toprak üstü kısımları topikal olarak ağrılara, hemoroide ve cilt hastalıklarına (özellikle kafa derisindeki yaralara) karşı, ayak banyosu şeklinde de artrit karşı sıkça kullanılmıştır. Bir çay kaşığı bitkinin bir bardak suda hazırlanan çayı mide rahatsızlıkları ve karaciğer problemlerine, kaynar su ve şekerle yapılan şurubu soğuk algınlığı, nezle, grip ve öksürüğe karşı önerilmektedir (Davies-Coleman ve Rivett, 1993; Scott ve ark., 2004; Frum ve Viljoen, 2006; Thring ve Weitz, 2006; Van Wyk ve ark., 2010).

Endemik bir tür olan *B. inaequidens*'in solunum rahatsızlıklarında yararlı olduğu söylenmektedir. *B. saxatilis* yapraklarından hazırlanan infüzyonların anti ülser,

antispazmodik ve sedatif aktivitelere sahip olduğu rapor edilmiştir, yaprak ve dal uçları karın ağrısı, astım, grip, uykusuzluk ve hemoroit için kullanılmaktadır. *B. acetabulosa* toprak üstü kısımlarının ise haricen yara ve yanık, dâhilen enflamasyon tedavisinde ve öksürüğün bastırılması ile gastrointestinal bozukluklara karşı kullanıldığı bildirilmiştir. Bitki Balıkesir çevresinde, infüzyon halinde hemoroit tedavisinde kullanılmaktadır (Ahmad ve ark., 2004b; Sever Yılmaz ve ark., 2006; Dumlu ve Bulut, 2007; Dülger ve Dülger, 2012).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Bitkisel Materyal

İzmir'in Yenifoça beldesi yol kenarı, 10 m yükseklikten 21 Haziran 2012 tarihinde tarafımızdan toplanan ve Doç. Dr. Betül Sever Yılmaz tarafından teşhis edilen *Ballota acetabulosa* bitkisi çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Morfolojik ve anatomik incelemeler için ayrılan gövde ve yaprak örnekleri 70 derecelik etanol içine alınarak saklanmıştır. Bitki uygun şekilde preslenip kurutulup, derin dondurucuda yeterli süre bekletildikten sonra herbaryum örneği haline getirilmiştir. Örnekler Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda muhafaza edilmektedir (AEF 26267). Bitki uygun koşullarda kurutulduktan sonra; tüm toprak üstü kısmı değirmende toz edilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısmı farmakope analizlerinde ve uçucu yağın elde edilmesinde; toprak üstünden elde edilen ekstre ise izolasyon çalışmalarında kullanılmıştır.

2.2. Yöntem ve Fitokimyasal Çalışmalar

2.2.1. Farmakope Analizleri

Avrupa Farmakopesi 7.2'de verilen 'Black Horehound' (*Ballotae nigrae herba*) monografı esas alınarak yapılmıştır.

2.2.1.1. Makroskobik Analiz

Bitki toplanırken arazideki genel görünüşü ve habitatın fotoğrafları Panasonic DMC-ZX1 marka dijital fotoğraf makinesi ile çekilmiştir. Preslenip kurutulmuş örnekler

üzerinde yapılan incelemelerle bitkinin morfolojik özellikleri aydınlatılmaya çalışılmıştır.

2.2.1.2. Mikroskopik Analiz

Anatomik çalışmalar için 70 derecelik etanol içinde saklanan gövde ve yaprak örneklerinden enine kesit alınmıştır. Toz drogun mikroskopik incelemesi için toplu iğne ucu ile alınan numune bir damla reaktif damlatılan lam üzerine yayıldıktan sonra üzerine hava kabarcığı kalmayacak şekilde lamel kapatılıp, hafifçe ısıtılmıştır. Hem toz drog hem de enine kesitler için Sartur ve kloralhidrat reaktifleriyle preparat hazırlanmıştır. Şematik incelemeler 10x4, 10x10; anatomik incelemeler ise 10x40 oranında büyütülerek yapılmıştır.

Örneklerin mikroskopik incelemeleri için Leica DM 4000 B marka ışık mikroskobu kullanılmıştır. Mikroskoptaki görüntüler Leica DFC 280 dijital fotoğraf makinesi ile çekilmiştir.

2.2.1.3. Kurutmada Kayıp Tayini

Kurutma sırasında meydana gelen kayıplar yüzde a/a olarak ifade edilen kütleli kayıplardır. 1.000 g toz drog sabit tartıma getirilmiş kapaklı cam kaplara konular. Etüvde 105°C'de 2'şer saat aralıklarla sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulur ve tartılır. Drogda % 12'den fazla kurutmada kayıp olmamalıdır.

2.2.1.4. Toplam Kül Tayini

Toplam kül tayini için biri Avrupa, diğeri Fransız Farmakopesi'nde kayıtlı olan iki farklı yöntem kullanılmıştır.

Avrupa Farmakopesi yöntemine göre bir porselen kroze 30 dakika kor hale gelinceye kadar kızdırılır. Desikatörde soğutulur ve darası alınır. Toz edilmiş bitkinin 1,00 gramı kroze konulur. Bir saat 100-105°C'de kurutulur ve 600 °C'lik fırına alınır. Sabit tartıma gelene kadar birer saat fırında yakılır. Her bir yakmadan sonra kroze desikatörde soğumaya bırakılır. İşlem boyunca herhangi bir zamanda alev oluşmamalıdır. Eğer yakma işlemi uzarsa kül hala siyah partiküller içerir; sıcak su eklenir, kül bırakmayan süzgeç kâğıdından süzülür ve artık ile süzgeç kâğıdı yakılır. Kül ile filtrat birleştirilir, dikkatlice kuruluğa kadar uçurulur ve sabit kütle yakılır.

Fransız Farmakopesi yöntemine göre ise porselen kroze 30 dakika kor hale gelinceye kadar kızdırılır. Desikatörde soğutulur ve darası alınır. Toz edilmiş bitkinin 1,00 gramı kroze konulur. Kroze üçgen porselen üzerine hafif yan yatık şekilde konulur ve önce hafif bek alevinde kömürleşme tamamlanıp numune siyah hale gelene kadar yakılır, sonra da kuvvetli bek alevinde beyaz kül haline gelinceye kadar yakılır. Daha sonra kroze fırında sabit tartıma gelene kadar birer saat yakılır. Her bir yakmadan sonra kroze desikatörde soğumaya bırakılır. Toplam kül % 13'ten fazla olmamalıdır.

2.2.1.5. Toplam o-Dihidroksisinnamik Asit Miktar Tayini

Toplam o-dihidroksi sinamik asit miktar tayininde bir stok çözelti, bir test çözeltisi ve bir de kompensasyon sıvısı kullanılmıştır. Bu çözeltilerin hazırlanışı aşağıda verilmiştir:

Stok çözelti: 1,000 g toz drog balona alınır. Üzerine 90 ml etanol (% 50 h/h) R eklenir. Geri çeviren soğutucu altında 30 dk ısıtılır. Soğumaya bırakılır, süzülür ve süzüntü 100 mililitrelik balon jøjeye alınır. Balon ve süzgeç kâğıdı 10 ml etanol (% 50 h/h) R ile yıkanır ve süzüntüye eklenir. Süzüntü balon jøjede etanol (% 50 h/h) R ile 100 mililitreye tamamlanır.

Test çözeltisi: 10 mililitrelik bir balon jöjeye; 1 ml stok çözelti, 2 ml 0,5 M hidroklorik asit, 2 ml 100 g/l sodyum nitrit R ve 100 g/l sodyum molibdat R içeren çözelti ve 2 ml dilüe sodyum hidroksit çözeltisi art arda konulur. Her ekleden sonra çalkalanır ve su ile 10 mililitreye tamamlanır.

Kompansasyon sıvısı: 10 ml. lik bir balon jöjeye; 1 ml stok çözelti, 2 ml 0,5 M hidroklorik asit ve 2 ml dilüe sodyum hidroksit çözeltisi konulur ve su ile 10 mililitreye tamamlanır.

Test çözeltisinin absorbanısı 525 nanometrede kompansasyon sıvısı ile kıyaslanarak ivedilikle ölçülür. Toplam *orto*-dihidroksisinnamik asit türevlerinin yüzde miktarı, akteozit üzerinden aşağıdaki denkleme göre hesaplanır:

$$\frac{A \times 1000}{185 \times m}$$

Akteozitin spesifik absorbanısı 185 olarak alınır.

A = 525 nanometredeki absorbanıs

m = incelenen numunenin gram olarak ağırlığı

Kurutulmuş drogun akteozit ($C_{29}H_{36}O_{15}$; M_a 625) üzerinden hesaplanan toplam *orto*-dihidroksisinnamik asit türevi içeriğı % 1,5'tan az olmamalıdır.

2.2.2. Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları

Tez projesi kapsamında; bitkinin içerdığı bazı bileşiklerin izolasyon çalışmaları yapılmıştır.

2.2.2.1. *Ballota acetabulosa* Ekstresinin Hazırlanması

Rodriguez ve arkadaşlarının (1979) kullandığı ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. *Ballota acetabulosa*'nın toprak üstü kısımları uygun şartlar altında kurutulup toz edildikten sonra, 375 gram tartılıp 7 litre aseton ile 3 gün süreyle oda sıcaklığında hareketli maserasyona bırakıldı. Maserasyon süresi tamamlandıktan sonra ekstre, pilili süzgeç kağıdından süzüldü. Elde edilen ekstre rotavaporda düşük basınç altında 50 °C'yi geçmeyen sıcaklıkta porsiyonlar halinde yoğunlaştırılarak çözücüsünden kurtarıldı. Aseton distillendi, geriye kalan yoğun ekstre 250 ml etil asetat ile süspande edildi ve etil asetatlı ekstre ayırma hunisinde su ile yıkandı, alttaki sulu faz atıldı. Üst fazdaki etil asetat rotavaporda yoğunlaştırıldı ve tartıldı (5,36 g). Bu şekilde bitki ekstresi hazırlanmış oldu.

2.2.2.2. Kolon Kromatografisi

Etil asetatlı ekstre kolon kromatografisine uygulandı. Bu amaçla 100 g silikajel (0,063–0,200 mm, 70–230 mesh ASTM, Merck) adsorban olarak kullanıldı. 5,36 g ekstre önce bir miktar etil asetat içinde çözüldü sonra 5,36 g silikajel ile slury yöntemi kullanılarak tritürasyon işlemi uygulandı. Silikajel petrol eteriyle süspande edilerek yaş halde kolona dolduruldu, üzerine silikajele emdirilmiş ekstre ilave edildi. Aşağıda belirtilen solvan sistemleri ile sırasıyla elüsyon gerçekleştirildi:

<u>Sistem No</u>	<u>Solvan sistemi</u>
1	Petrol eteri (100)
2	Petrol eteri : Etil asetat (98:2)
3	Petrol eteri : Etil asetat (95:5)
4	Petrol eteri : Etil asetat (90:10)
5	Petrol eteri : Etil asetat (85:15)
6	Petrol eteri : Etil asetat (80:20)
7	Metanol (100) (yıkamak için)

İki saniyede bir damla akacak şekilde 100'er ml halinde toplanan fraksiyonlar 30°C'de alçak basınç altında 2 mililitreye kadar yoğunlaştırılıp İTK ile kontrol edildi, rivelatör olarak Vanilin-H₂SO₄ reaktifinden yararlandı. Benzer fraksiyonlar birleştirildi ve numaralandırıldı. Toplanan fraksiyonlardan bazıları üzerinde izolasyon ve saflaştırma işlemi uygulandı.

2.2.2.3. Saflaştırma Kolonu Uygulaması

Fraksiyonların saflaştırılması amacıyla adsorban olarak yine silikajel (0,063–0,200 mm, 70–230 mesh ASTM, Merck) kullanılarak küçük bir kolonda kromatografi uygulandı. Silikajel, petrol eteri:etil asetat (80:20) çözücü sistemi ile süspande edilerek kolona dolduruldu, üzerine saflaştırılacak olan fraksiyon yine bu çözücüde çözülerek ilave edildi. Petrol eteri:etil asetat (80:20) çözücü sistemi ile izokratik elüsyon gerçekleştirildi. Elüsyon sonucu alınan fraksiyonların İTK'ları incelenerek saflık bakımından benzer olanlar birleştirildi ve yoğunlaştırıldı.

2.2.2.4. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini Çalışmaları

Kolon kromatografisi yardımıyla izole edilen bileşikler, kristallendirme ve kromatografik yöntemlerle saflaştırıldı ve bileşiğin yapısı çeşitli spektroskopik yöntemlerle (¹H-NMR, ¹³C-NMR, GK-KS, HSQC ve DEPT) tayin edildi.

Gaz Kromatografisi-Kütle spektroskopisi: Bileşiklerin kütle spektrumları; 7890A gaz kromatografisi (Agilent, Santa Clara, CA, USA) ile kombine edilmiş dik hızlanma uçuş zamanlı kütle spektrometresi GCT Premier (Waters) kullanılarak kaydedilmiştir. Örnekler 10:1 split oranında 220 °C'de enjekte edilmiştir. Kromatografik ayırmada J&W DB-5MS kapiler kolon (30 m x 0,25 mm, film kalınlığı 0,25 µm) kullanılmıştır. GK sisteminde taşıyıcı gaz olarak helyum ile sürekli akış modu (1 ml/dk) çalıştırılmıştır. Sıcaklık programı şöyledir: 60°C (0 dk), sonra 37°C/dk artışla 150 °C'ye, daha sonra 38°C/dk artışla 380°C'ye (9 dk). Kimyasal İyonizasyon (CI) spektrumu pozitif iyon

modunda, reaktif gaz olarak metan kullanılarak kaydedilmiştir. İyon kaynağı sıcaklığı 140 °C'dir.

¹H-NMR ve DEPT spektrumları: Bruker Avance 600 MHz cihazı kullanılarak kaydedilmiştir.

¹³C-NMR ve HSQC spektrumları: Mercury 400 MHz cihazı kullanılarak kaydedilmiştir.

2.2.3. Ballota acetabulosa Uçucu Yağının Elde Edilmesi

Ballota acetabulosa'nın uçucu yağı, 100 g kurutulup toz edilmiş toprak üstü kısımlarından Avrupa Farmakopesi'ne uygun Clevenger Cihazı kullanılarak 1 litre su ile 3 saatlik hidrodistilasyon işlemi sonucunda elde edilmiştir. *B. acetabulosa* toprak üstü kısımlarından 0,3 ml uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağı cihazdan almak için sikloheksan (100 µl) kullanılmış ve uçucu yağ analiz edilene kadar -20°C'de saklanmıştır.

2.2.3.1. Analiz Yöntemi

B. acetabulosa toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ için kullanılan GK ve GK-KS yöntemi, uçucu yağlar için kullanılan standart bir yöntemdir.

2.2.3.2. Gaz Kromatografisi Koşulları

Cihaz: Agilent 6890N Network GC system

Kolon: Agilent 19091N-136 (HP Innowax Capillary; 60,0 m x 0,25 mm x 0,25 µm)

Taşıyıcı Gaz: Helyum

Akış hızı: 1 ml/dk

Enjeksiyon Hacmi: 1 µl

Split oranı: 60:1

Enjektör Sıcaklığı: 250°C

FID Sıcaklığı: 250°C

Çizelge 2.1. GK Sıcaklık Programı

Sıcaklık°C	Artış Oranı	Tutulma Zamanı (dk.)	Total Zaman (dk.)
60	----	10	10
220	4	10	60
240	1	----	80

2.2.3.3. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi Koşulları

Cihaz: Agilent 6890N Network GC system combined with Agilent 5973 Network Mass Selective Detector (GC-MS)

Kolon: Agilent 19091N–136 (HP Innowax Capillary; 60,0 m x 0,25 mm x 0,25 µm)

Taşıyıcı Gaz: Helyum

Akış hızı: 1,2 ml/dk

Enjeksiyon Hacmi: 1 µl

Split oranı: 60:1

Enjektör Sıcaklığı: 250°C

Kütle Tarama Aralığı (m/z): 35–450 Atomik Kütle Ünitesi (AMU)

İyonlaştırma: Electron Impact Ionization (EI) (70 eV)

Çizelge 2.2. GK-KS Sıcaklık Programı

Sıcaklık°C	Artış Oranı	Tutulma Zamanı (dk.)	Total Zaman (dk.)
60	----	10	10
220	4	10	60
240	1	----	80

Ballota acetabulosa uçucu yağının bileşenlerinin teşhisi kütle spektrumlarının Wiley ve Nist GK-KS Kütüphaneleriyle karşılaştırılması ve retansiyon indislerinin n-alkan'lara bağlı olarak ilgili literatürden sağlanan verilerle karşılaştırılması yoluyla yapılmıştır. Uçucu yağ bileşenlerinin yüzde miktarları normalizasyon metodu kullanılarak GK pik alanlarından hesaplanmıştır.

Retansiyon İndisinin Hesaplanması:

$$I = \left[\frac{\log V_n^u - \log V_n^x}{\log V_n^{x+1} - \log V_n^x} \right] + 100x$$

V_n^u = RI hesaplanacak maddenin retansiyon hacmi

V_n^{x+1} = RI hesaplanacak maddeden sonra gelen hidrokarbonun retansiyon hacmi

V_n^x = RI hesaplanacak maddeden önce gelen hidrokarbonun retansiyon hacmi

x = RI hesaplanacak maddeden önce gelen hidrokarbonun karbon sayısı

$x + 1$ = RI hesaplanacak maddeden sonra gelen hidrokarbonun karbon sayısı

2.2.4. *Ballota acetabulosa* Uçucu Yağının Antioksidan Aktivite Tayini

2.2.4.1. MDA Tayini

Ballota acetabulosa uçucu yağının antioksidan aktivitesi, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehitin (MDA) ölçülmesiyle belirlenmiştir. Bu amaçla Puhl ve ark. (1994) ve Zhang ve ark. (1994)'ın yöntemleri modifiye edilerek uygulanmıştır. Bu metot, lipid peroksidasyonu yıkım ürünlerinden olan MDA'nın tiyobarbitürikasit (TBA) ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renkli kompleksin 532 nm dalga boyunda verdiği absorbansın spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır.

50 µl kör/standart/örnek üzerine 50 µl % 0,13 (a/h) CuSO₄ çözeltisi eklendi. 37°C'de 3 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 25 µl, % 1 (a/h) EDTA çözeltisi eklendi ve 4°C'de 10 dk. bekletildi. Kapaklı tüplere alınan örnekler üzerine 1 ml % 1 (a/h) TCA çözeltisi ve 1 ml % 0,67 (a/h) TBA çözeltisi eklendi. Tüpler 100°C'lik su banyosunda 20 dk. bekletildi ve çeşme suyu altında soğutulularak oda ısısına getirildi. Üzerine 2,5 ml n-butanol ilave edildi ve her tüp 1 dk vortekslendi. Daha sonra 20°C'de, 10.000xg'de 10 dk santrifüj edildi. Üst fazlar alınarak, UV spektrofotometresinde 532 nm'de absorbans değerleri kaydedildi. Kör tüpe sadece n-butanol eklendi. Standart olarak kullanılan 1,1,3,3-tetraetoksipropan'ın farklı dilüsyonları (0,01 ; 0,1 ; 1 ; 5 ; 10 nmol/ml) ile hazırlanan kalibrasyon eğrisinden hareketle örnekler için lipit peroksit düzeyleri tayin edildi. % 0,5 aseton (h/h) kontrol olarak kullanıldı.

3. BULGULAR

3.1. Farmakope Analizleri

3.1.1. Makroskobik Analiz

Bitki örneklerinin kurutulmuş, çiçekli toprak üstü kısımlarından hareketle yapılmıştır.

Avrupa Farmakopesi'ndeki monografına göre *Ballota nigra* bitkisinin gövdesi dört köşeli, uzunlamasına çizgili, koyu yeşil renkli ve yoğun şekilde tüylerle kaplıdır. Yaprakları grimsi yeşil renkli, petiolat, 2–4 cm genişliğinde, laminası ovat-orbikular, tabanı kuneat ya da kordat, kenarı düzensiz krenat dişlidir. Her iki yüzeyi bol miktarda beyaz renkli tüylerle kaplı; damarlanması pennattır. Çiçekleri kısa saplı ya da sapsız; kaliks tüp şeklinde, yoğun tüylü ve 5 dişlidir. Korollası mor renkli bir tüptür.

Ballota acetabulosa bitkisinin gövdesi yine dört köşeli, uzunlamasına çizgili, grimsi açık yeşil renkli ve yoğun şekilde yıldız tüylerle kaplıdır. Yaprakları grimsi yeşil renkli, 2–4 cm genişliğinde, laminası basit, ovat-kordat, tepesi obtus, tabanı kordat, kenarı krenat dişlidir. Her iki yüzeyi bol miktarda beyaz renkli yıldız tüylerle kaplı; damarlanması pennat-retikulattır. Yaprak sapı kısa (5–15 mm) ve kalındır. Çiçekleri kısa saplı; kaliks tüp şeklinde, 6–8 mm uzunluğunda, yoğun yıldızimsı-yünsü tüylü ve 10 dişlidir. Kaliks tüpü tepede birden genişleyip 10–20 mm boyunda zarımsı bir dudak oluşturur. Ağsı loblu olan bu dudaklar yuvarlak ve tepesi mukronattır. Kaliks dişleri bu şekilde 5 büyük lobdan oluşurken dişler arasında küçük, mukronat loblar bulunmaktadır. Korolla bilabiat, 15–18 mm uzunluğunda, beyaz renklidir ve üzerinde mor lekeler bulunmaktadır. Kaliks içinde bulunan nuks şeklindeki meyve rüzgârla dağılır (Şekil 3.1).

İki bitki arasında gözlenen belli başlı morfolojik farklar şu şekilde sıralanabilir: *B. nigra*'nın gövdesi koyu yeşil ya da kırmızımsı kahverengi iken, *B. acetabulosa*'nın gövdesi grimsi açık yeşil renklidir. *B. nigra*'nın lamina şekli ovat-orbikulardır, *B. acetabulosa*'nın lamina şekli ise ovat-kordattır. *B. nigra*'nın yaprak damarlanması pennat iken, *B. acetabulosa*'nıniki pennat-retikulattır. *B. nigra*'nın korollası mor renklidir, *B. acetabulosa*'nın korollası beyaz renkli ve mor lekelidir. *B. nigra*'nın kaliksi 5 dişli iken *B. acetabulosa*'nın kaliksi 10 dişlidir.



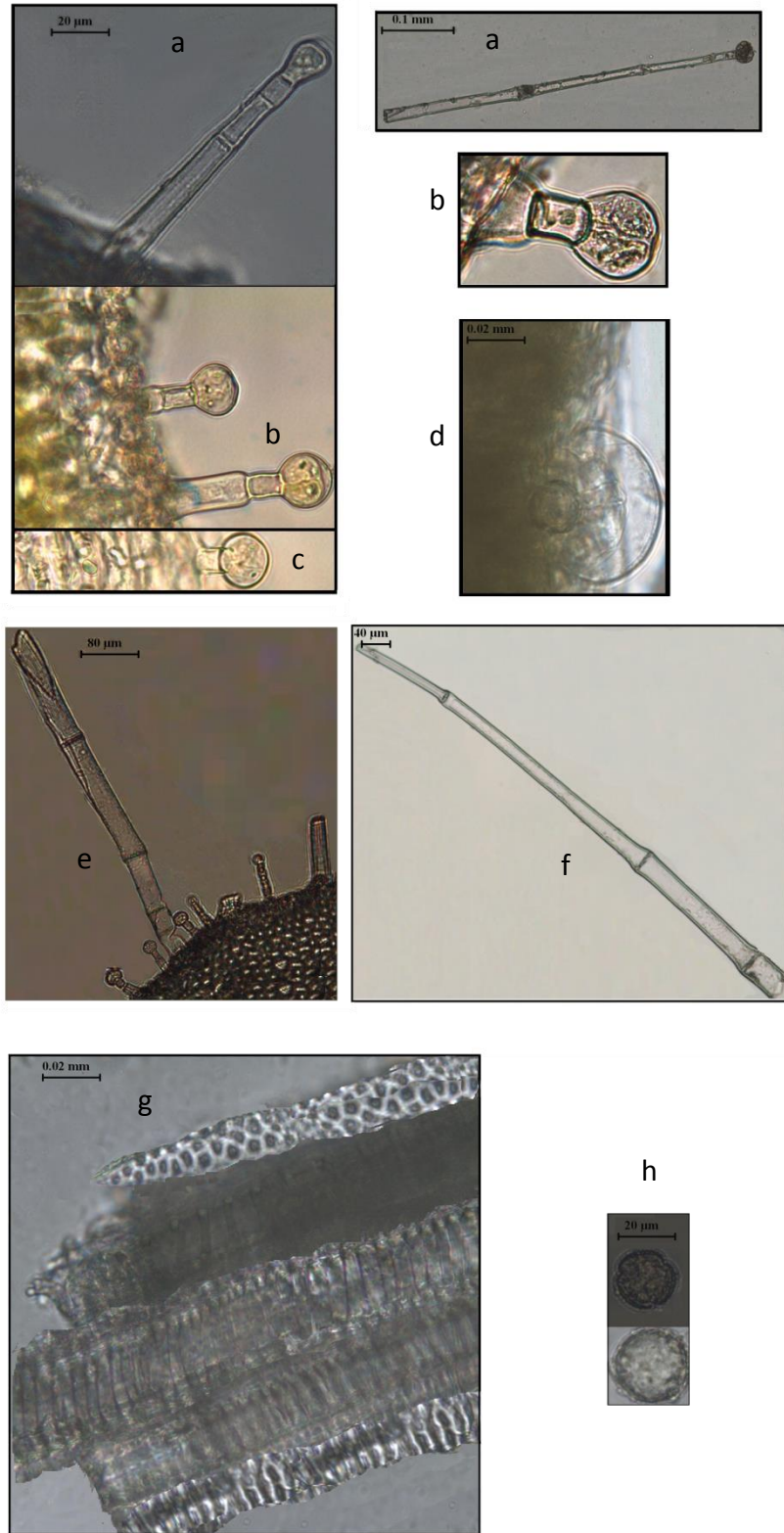
Şekil 3.1. *B. acetabulosa* (L.) Benth.

3.1.2. Mikroskopik Analiz

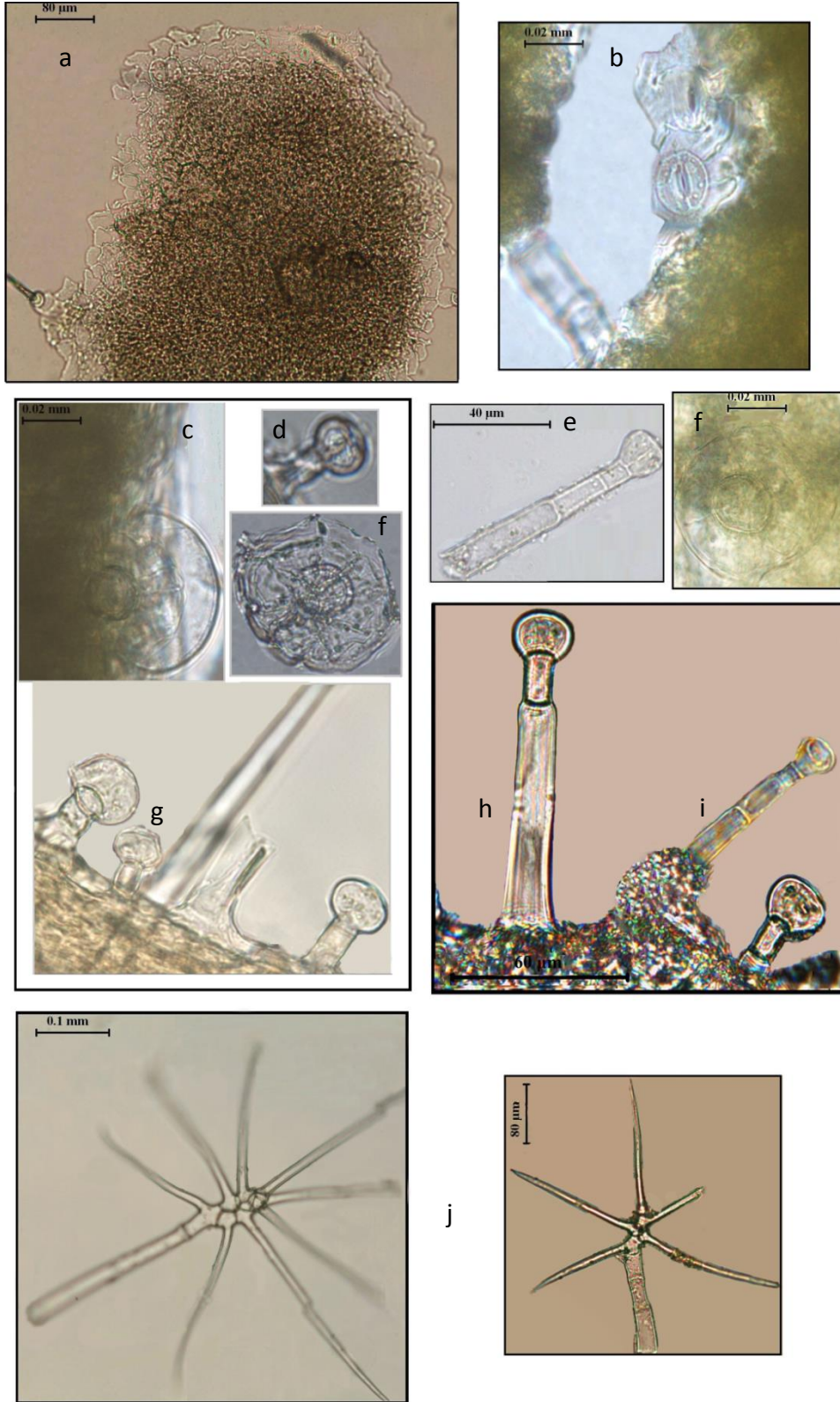
Toz Drog İncelemesi

Toprak üstü kısımlar toz edilip mikroskop altında incelendiğinde odun borularının halkalı, merdivenli, helezonlu ve noktalı geçitler taşıdığı görülür. Çok sayıda bulunan örtü tüyleri genellikle 4 ya da daha fazla hücreli iken, epiderma üzerinde bulunan salgı tüyleri ise: sapı tek, başı tek hücreli; sapı iki, başı iki hücreli; sapı üç, başı tek hücreli ve *Labiatae* tipi (sapı tek, başı 8 hücreli) salgı tüyleri olarak sınıflandırılır. Polen taneleri hemen hemen küresel, 3 porlu ve duvarları düzdür (Şekil 3.2).

Yaprak değirmende toz edildiğinde elde edilen numunenin: kendine özgü bir kokuda, açık yeşil-gümüşü renkte, yünsü ve kendine özgü lezzette olduğu tespit edilmiştir. Numune kloralhidrat ve Sartur reaktifleri yardımıyla incelendiğinde üst ve alt epiderma hücrelerinin birbirine benzediği, kenarları dalgalı ve ince çeperli hücreler oldukları gözlenmiştir. Örtü tüyleri oldukça fazla miktardadır, karakteristik yıldız şeklinde dizilmiş, tüylerin kesişme yerlerinde şişmiş ve kalınlaşmış, çok hücreli veya basit 1–3 hücrelidir. *Labiatae* tipi salgı tüyüne bol rastlanır. Özellikle başı çok, sapı tek hücreli olanların yanında, sapı ve başı tek hücreli; sapı tek, başı 2 hücreli; sapı 2, başı tek hücreli olanlar da bol miktardadır. Stomalar, yoğun örtü tüylerinden dolayı zor görülmekte olup, stoma kilit hücreleri karakteristik böbrek şeklindedir, komşu hücrelerin sayısı 2'dir ve kenarları dalgalıdır (Şekil 3.3).



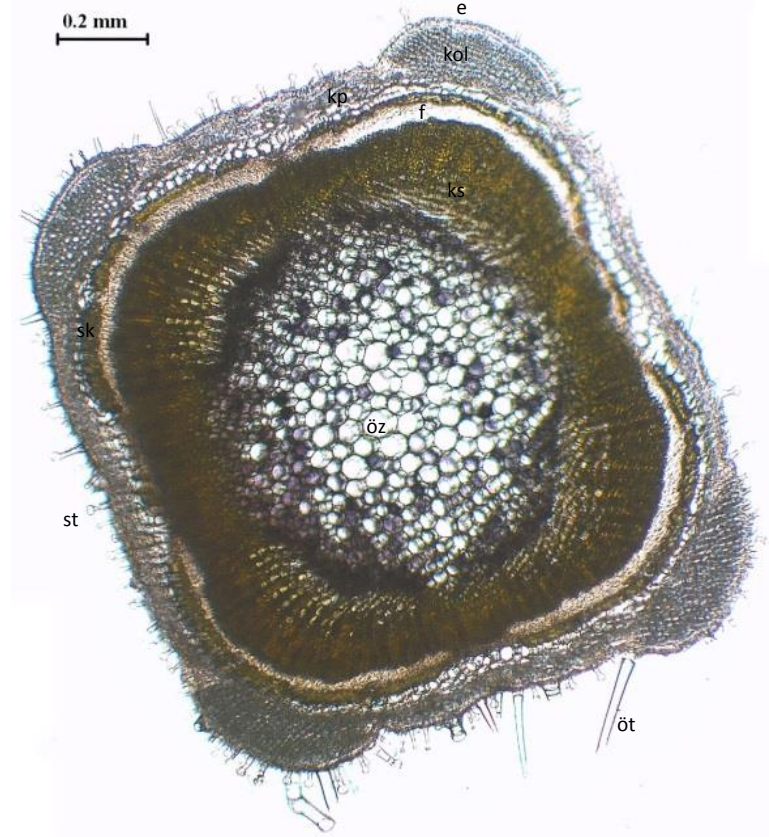
Şekil 3.2. Gövde, toz drog incelemesi a) sapı çok başı tek hücreli salgı tüyü b) sapı iki başı iki hücreli salgı tüyü c) sapı tek başı tek hücreli salgı tüyü d) *Labiatæ* tipi salgı tüyü (yandan görünüş) e) çok hücreli örtü tüyü epiderma üzerinde f) çok hücreli örtü tüyü serbest halde g) trake ve trakeitler h) polen taneleri.



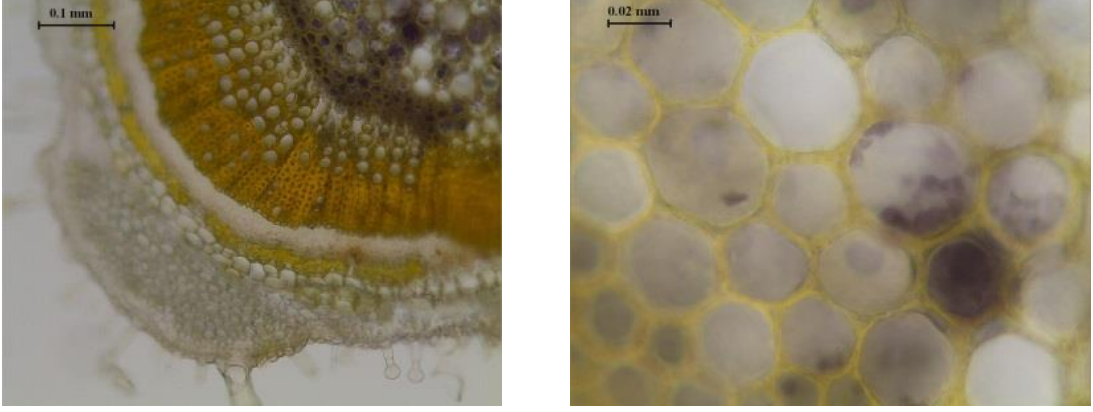
Şekil 3.3. Yaprak, toz drog incelemesi a) üst epiderma ve palizat parenkiması b) stoma+komşu hücreler c) *Labiatae* tipi salgı tüyü (yandan görünüş) d) sapı tek başı iki hücreli salgı tüyü e) sapı, başı çok hücreli salgı tüyü f) *Labiatae* tipi salgı tüyü (üstten görünüş) g) sapı tek, başı tek hücreli salgı tüyü h) sapı iki, başı tek hücreli salgı tüyü i) sapı çok, başı tek hücreli salgı tüyü j) yıldız tüy

Enine Kesit İncelemesi

Gövde enine kesiti belirgin 4 köşelidir, epiderma çok sayıda salgı tüyleri ve salgı tüyelerine oranla daha az sayıda, dallanmış örtü tüyleri ile kaplıdır. En dışta ince kütikula tabakası ve altında tek sıralı, düzgün, ince çeperli, dikdörtgenimsi hücrelerden oluşan epiderma tabakası vardır. Kabuk bölgesi iki kısma ayrılmaktadır. Epidermanın altında köşelerde 10–15 sıralı parenkima hücreleri ile çeperleri kalınlaşmış köşe kollenkiması hücreleri bulunmaktadır. Kabuk parenkimasının altında tüm gövdeyi çepeçevre saran 2–3 sıralı sklerenkima tabakası bulunmaktadır. Sklerenkima tabakası ve iletim doku demetleri tüm gövdeyi sarmaktadır. Floem ince 2–3 sıralı hücrelerden oluşurken; ksilem trake, trakeit ve ksilem parenkimasından oluşan kalın bir bant halindedir. Kambiyum belirgin değildir. Öz bölgesi geniş, büyük parenkima hücrelerinden oluşmakta ve içerisinde çok sayıda nişasta tanesi bulunmaktadır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Gövdeden enine kesit e) epiderma, kol) kollenkima, kp) kabuk parenkiması, sk) sklerenkima, f) floem, ks) ksilem, st) salgı tüyü, öt) örtü tüyü.



Şekil 3.4 Devam. Gövdeden enine kesit

Gelişmiş bir yaprağın orta kısmından geçmek üzere alınan enine kesitler mikroskopta (4x10 büyütmede) incelendiğinde, üst yüzde derin bir girinti, alt yüzde ise büyük bir çıkıntı bulunur. Yaprağın her iki yüzü hem uzunluk hem de sıklık bakımından yoğun tüylüdür; bu nedenle yeşil olduğu halde gümüşü renkte görünür. Yaprak bifasiyal olup çok sayıda örtü ve salgı tüyleri taşımaktadır. Kalın kütikula tabakası altında tek sıralı, ince çeperli, dikdörtgen şekilli epiderma hücreleri bulunmaktadır. Epidermadan yükselen örtü tüyleri 1–5 hücreli, eklemli, bazen yıldız tüy biçimindedir. Salgı tüyleri ise: sapı tek, başı tek hücreli; sapı iki, başı tek hücreli; sapı tek, başı iki hücreli; sapı çok, başı iki hücreli ve *Labiatae* tipi (sapı tek, başı çok hücreli) salgı tüyü olmak üzere sınıflandırılabilir. Stomalar yaprağın hem üst hem alt epidermasında bulunmakla beraber, alt epidermada daha fazladır. Fakat salgı ve örtü tüylerinin yoğunluğundan dolayı net görülememektedir. Kollenkima orta damar bölgesinde üst epidermanın altında 1–2 sıralı, alt epidermanın altında ise ince çeperli; 3–4 sıralı hücreler halinde bulunmaktadır. Mezofil palizat ve sünger parenkiması hücrelerinden oluşmaktadır. Orta damar bölgesinde iletim demetlerinden floem ve ksilem yer almaktadır. Gerek palizat, gerekse sünger parenkimasında karakteristik elementlere (kalsiyum oksalat kristalleri gibi) rastlanmamaktadır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Yapraktan enine kesit k) kütikula, e) epiderma, kol) kollenkima, sk) sklarenkima, f) floem, ks) ksilem, st) salgı tüyü, öt) örtü tüyü



Şekil 3.5 Devam. Yapraktan enine kesit k) kütikula, e) epiderma, st) salgı tüyü, öt) örtü tüyü, p) palizat parenkiması, s) sünger parenkiması.

3.1.3. Kurutmada Kayıp Tayini

Eşzamanlı olarak yürütülen 3 örnek ile çalışılmış, ortalamaları alınarak sonuç hesaplanmıştır.

Droğun kurutmada kayıp oranı ortalama % 6,38 olarak bulunmuştur.

3.1.4. Toplam Kül Tayini

Avrupa ve Fransız Farmakopesi yöntemlerine göre ayrı ayrı 3'er örnek ile çalışılmış, ortalamaları alınarak iki yöntem için ayrı ayrı sonuçlar hesaplanmıştır.

Avrupa Farmakopesi yöntemine göre droğun kül miktarı ortalama % 8,34

Fransız Farmakopesi yöntemine göre ise droğun kül miktarı ortalama % 8,65 olarak bulunmuştur.

3.1.5. Toplam *o*-Dihidroksisinnamik Asit Miktar Tayini

Deney 6 örnek ile yürütülmüş, ortalamaları alınarak sonuç hesaplanmıştır.

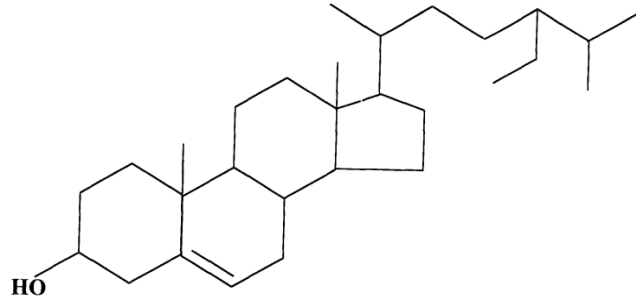
Droğun *o*-dihidroksisinnamik asit miktarı ortalama % 1,79 olarak bulunmuştur.

3.2. Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları

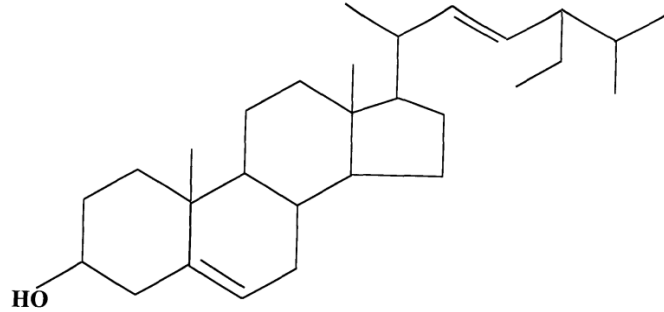
Petrol eteri:etil asetat (95:5) elüsyonuyla toplanan 111-117 fraksiyonu ince tabaka kromatografisine tatbik edildi, birden fazla madde olduğu için ayırma ve saflaştırma işlemi için küçük bir kolonda kromatografi uygulandı. Saflaştırılacak olan 50 mg madde elüsyonda kullanılacak çözücü sisteminde çözülerek yaş usul ile doldurulan

kolona uygulandı. Petrol eteri:etil asetat (80:20) çözücü sistemi ile gerçekleştirilen izokratik elüsyon sonucu alınan 22-30. fraksiyonlar petrol eteri:etil asetat (80:20) çözücü sisteminde İTK'ya uygulandığında tek leke verdiği ve bu fraksiyonlar yoğunlaştırılıp oda sıcaklığında bekletildiğinde ise kristallendiği görülmüştür.

3.2.1. *Ballota acetabulosa*'dan İzole Edilen Bileşikler



β -sitosterol

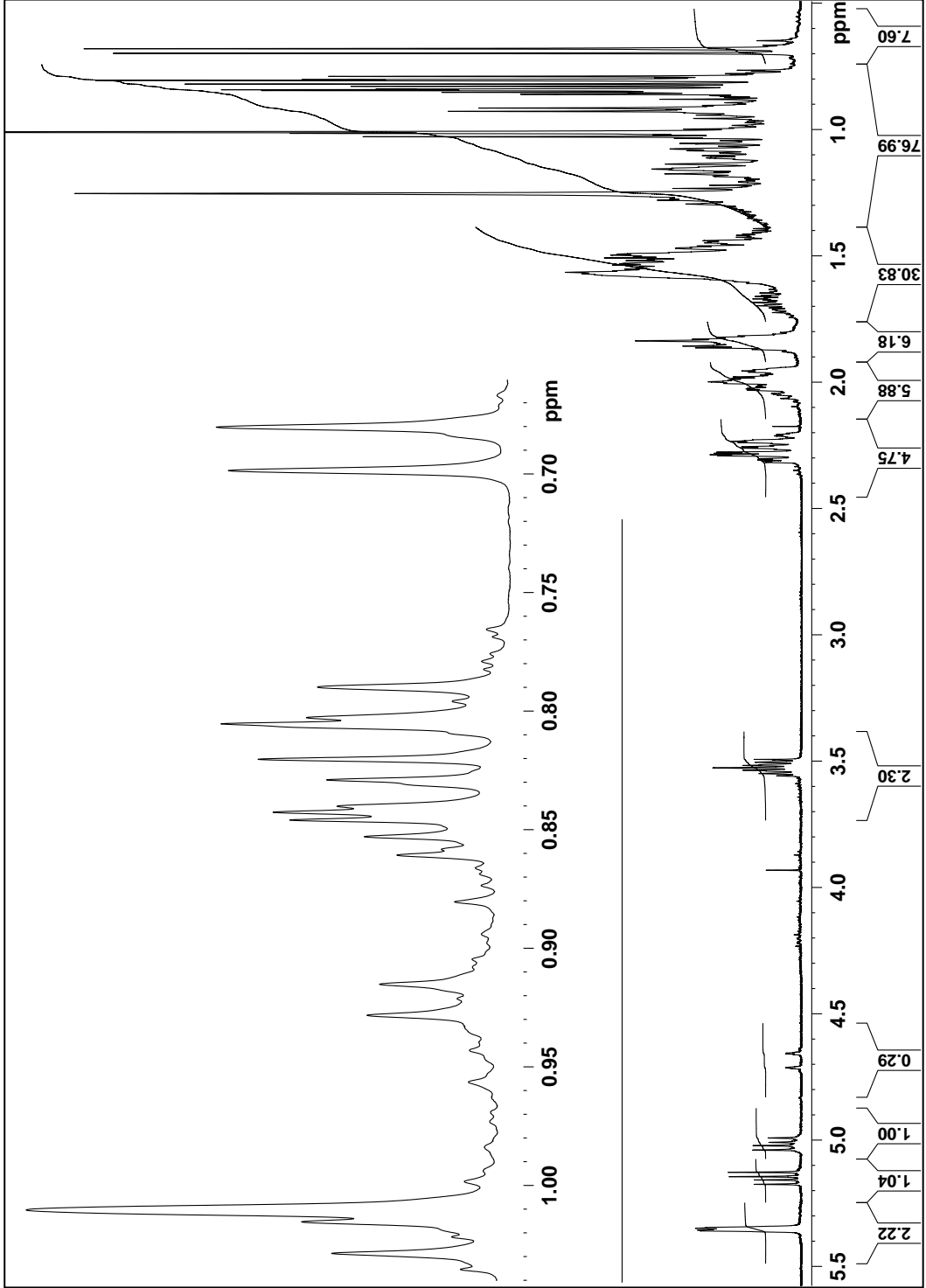


Stigmasterol

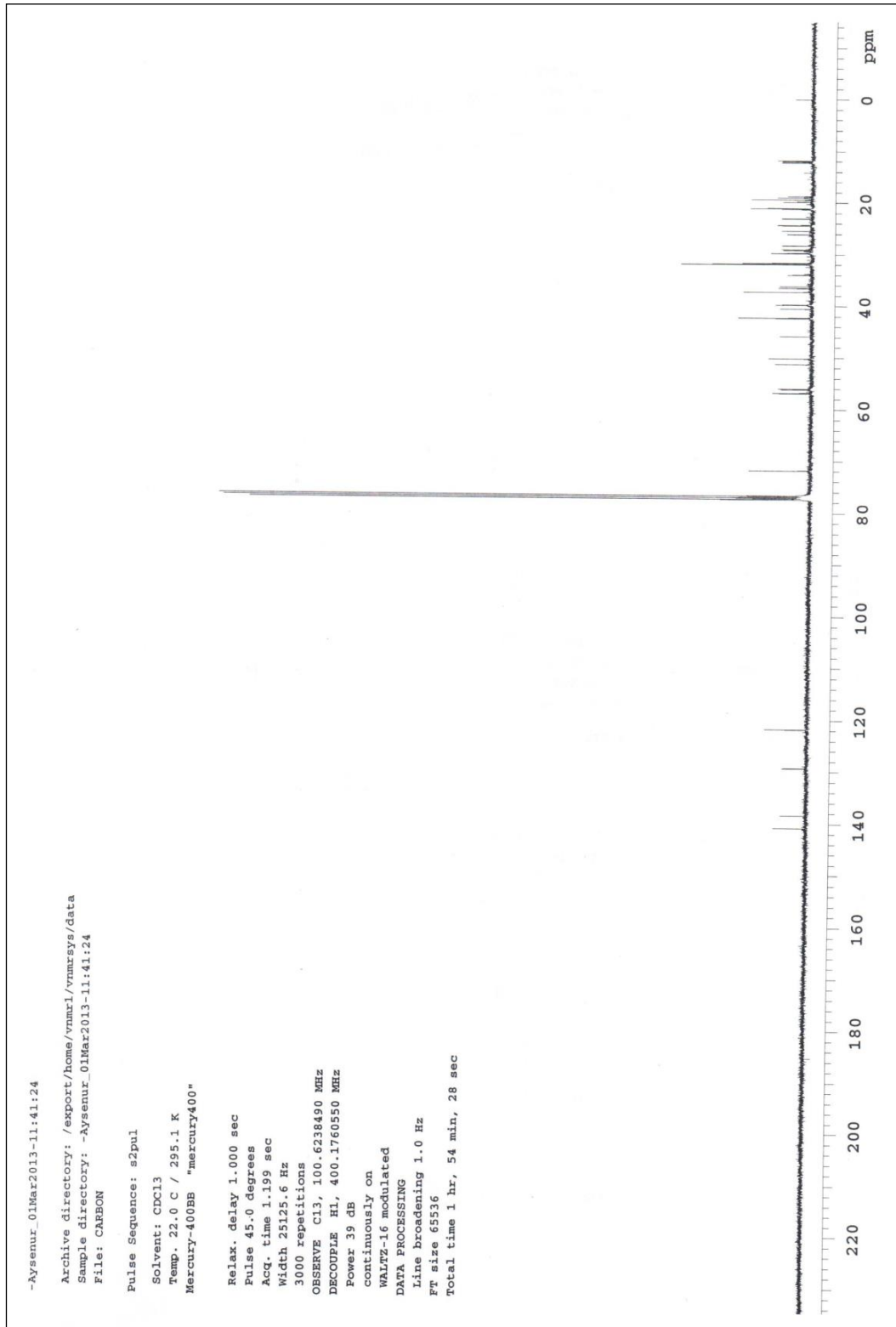
3.2.2. Yapı Tayini Bulguları

İzolasyon çalışmaları sonucunda elde edilen kristaller, ayrılarak İTK ile incelenmiş ve saflığı petrol eteri:etil asetat (80:20) solvan sistemi kullanılarak araştırılmıştır. Tek bir leke gözlenmesi saf bir bileşiğin varlığını düşündürmüştür, ancak yapılan GK-KS

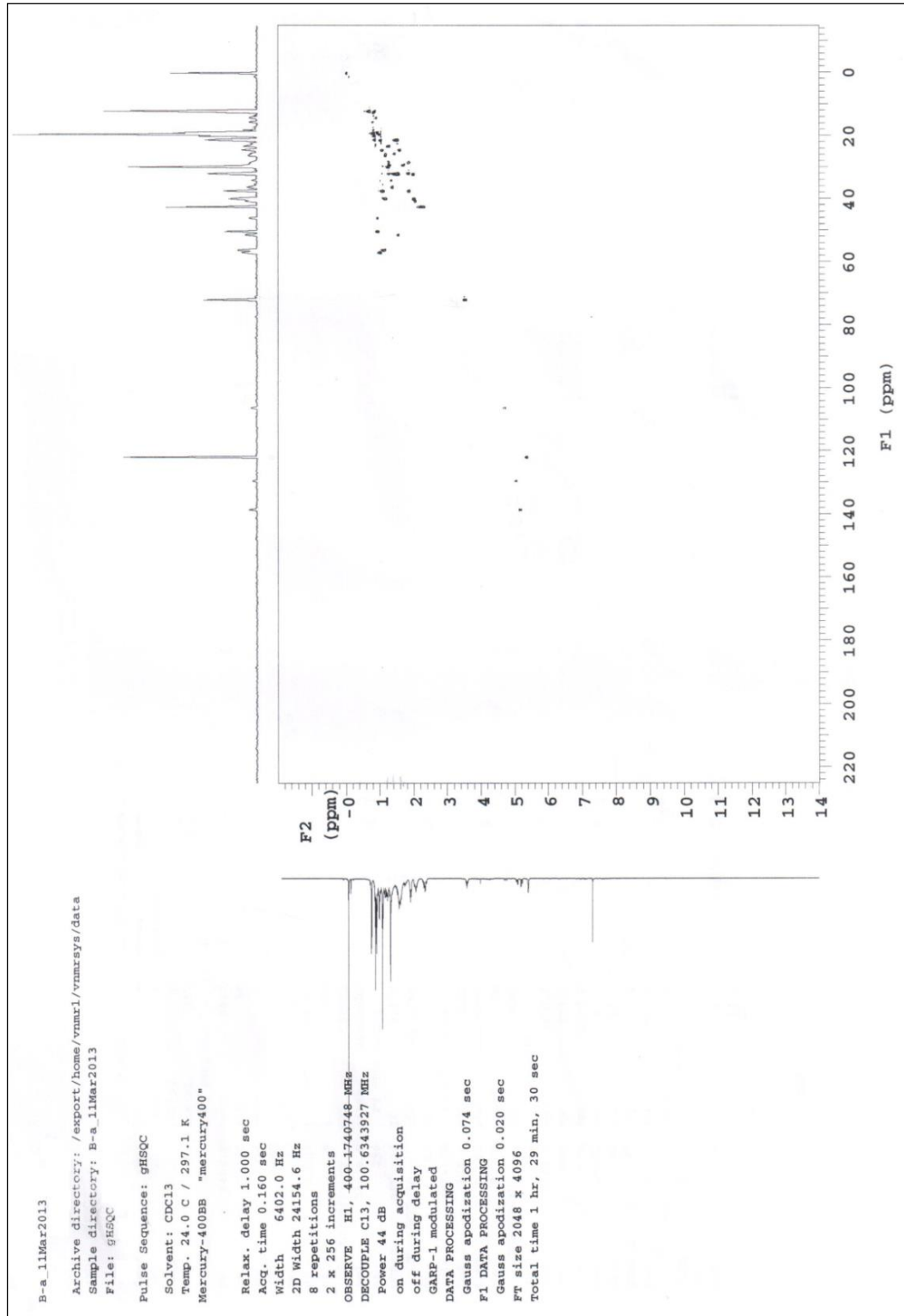
analizi sonucu gözlenen 2 pik (Şekil 3.10, 3.12, 3.13) elde edilen kristallerin, molekül ağırlığı 414 m/z ve 412 m/z olan farklı 2 bileşikten meydana geldiğini ortaya koymuştur. $^1\text{H-NMR}$ (Şekil 3.6) ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumlarına bakıldığında δ 3,52 ppm'de gözlenen sinyalin elektron çekici bir grubun varlığını gösterdiği ve 3. konumda yer alan protona ait olduğu ve HSQC spektrumuna bakıldığında (Şekil 3.8) δ 3,52 ppm'deki sinyalin $-\text{OH}$ grubu taşıyan δ 71,8 ppm'deki (C-3) karbon atomuna ait olduğu anlaşılmıştır. $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (Şekil 3.7) gözlenen δ 140,8 ve δ 121,7 ppm'lerdeki sinyaller çifte bağın varlığını düşündürmekte, $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda δ 5,35 ppm'de gözlenen multiplentin ise H-6 olefinik protonunu işaret ettiği görülmektedir. HSQC spektrumuna bakıldığında ise δ 5,35 ppm'deki multiplentin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda gözlenen δ 121,72 sinyali ile etkileşimi C-6'ya bağlı olefinik protona ait olduğunu doğrulamıştır. $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda gözlenen δ 5,15 ve δ 5,013 ppm'lerde gözlenen sinyallerin de olefinik protonlara ait olduğu düşünülmüş, HSQC spektrumu ile sırasıyla C-23 ve C-22 karbon atomlarına bağlı protonlar oldukları anlaşılmıştır. δ 0,68 (3H), δ 1,01 (3H), δ 0,92 (3H, d), δ 0,84 (3H, d), δ 0,81 (3H, d) ve δ 0,85 (3H) ppm'lerde gözlenen sinyallerin ise metil protonlarına ait olduğu $^1\text{H-NMR}$ spektrumu yanında HSQC spektrumu ve DEPT spektrumu (Şekil 3.9) ile doğrulanmış, bağlı buldukları karbon atomlarının sinyalleri belirlenmiştir. Stigmasterol ve β -sitosterol yapıları birbirlerine çok yakındır ve $^{13}\text{C-NMR}$ ile $^1\text{H-NMR}$ spektrumları çok benzerdir. Aralarındaki en önemli fark stigmasterolün C 22-23 konumları arasında taşıdığı δ 138,32 ve δ 129,3 ppm'lerde gözlenen çifte bağdır. KS analizi ve NMR verileri literatür bulguları (Kamboj ve Saluja, 2011; Rajput ve Rajput, 2012) ile de karşılaştırıldığında (Şekil 3.11-3.13) bu karışımın stigmasterol ve β -sitosterolden oluştuğu ortaya konmuştur.



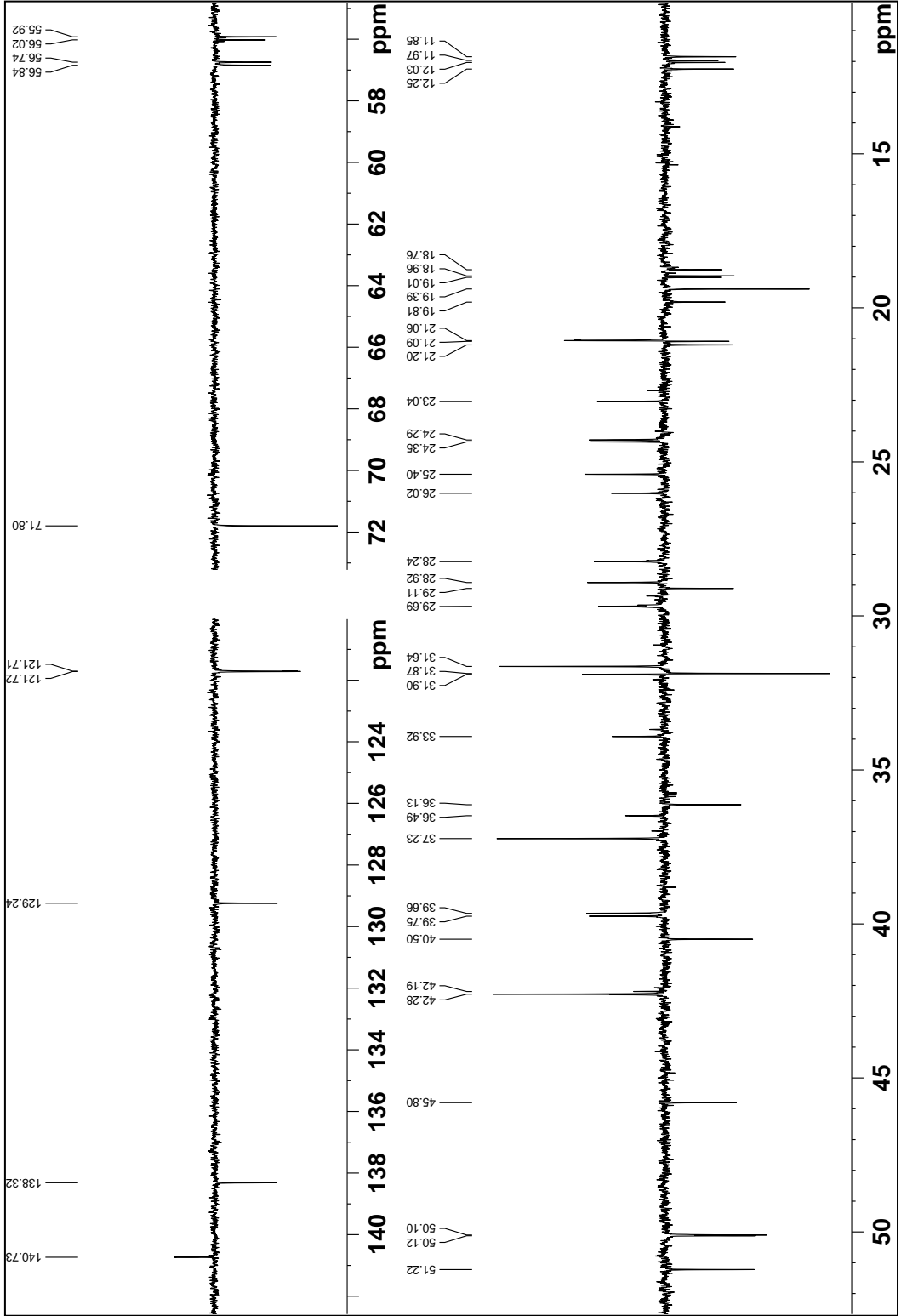
Şekil 3.6. İzole edilen bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



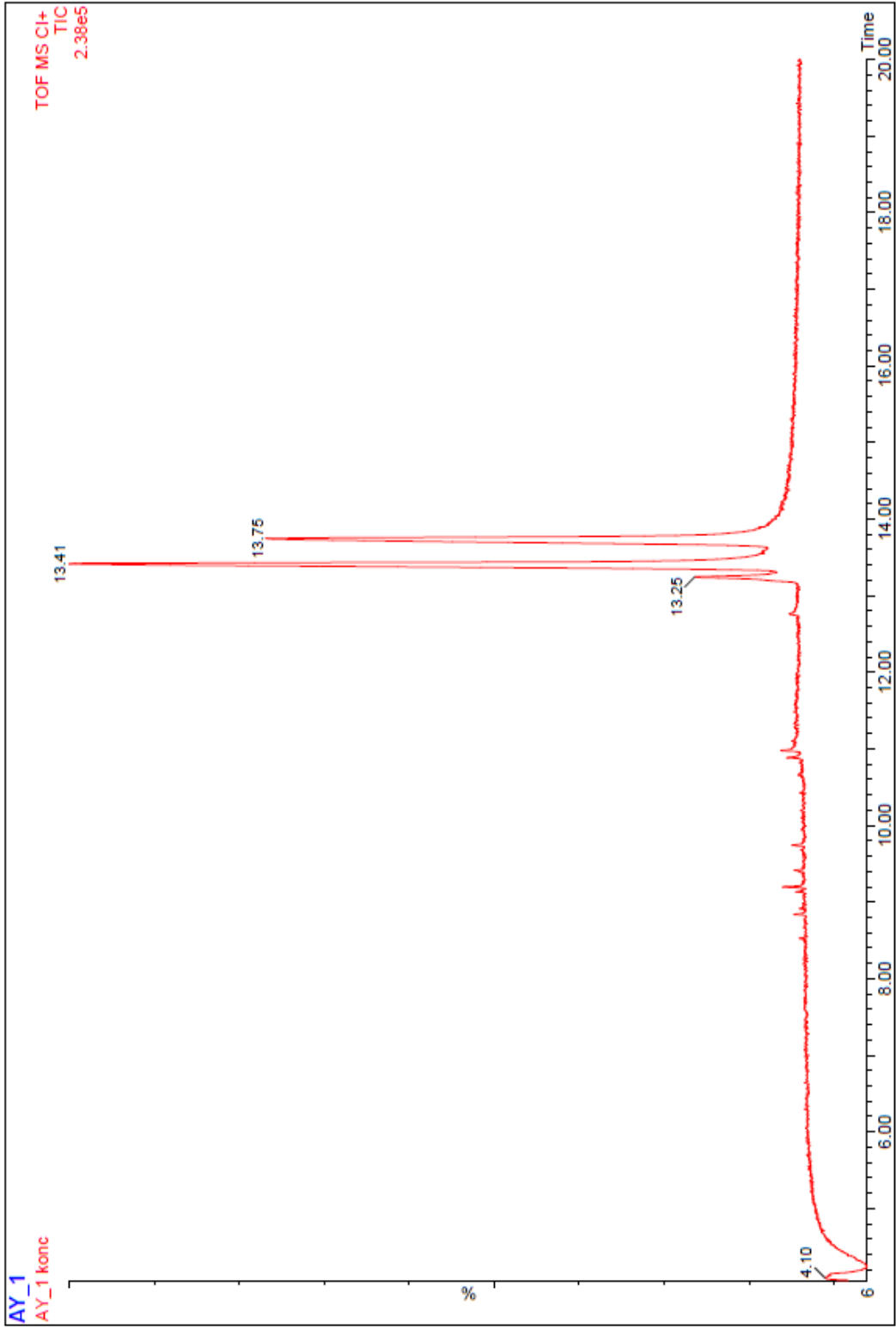
Şekil 3.7. İzole edilen bileşiklerin ^{13}C -NMR spektrumu



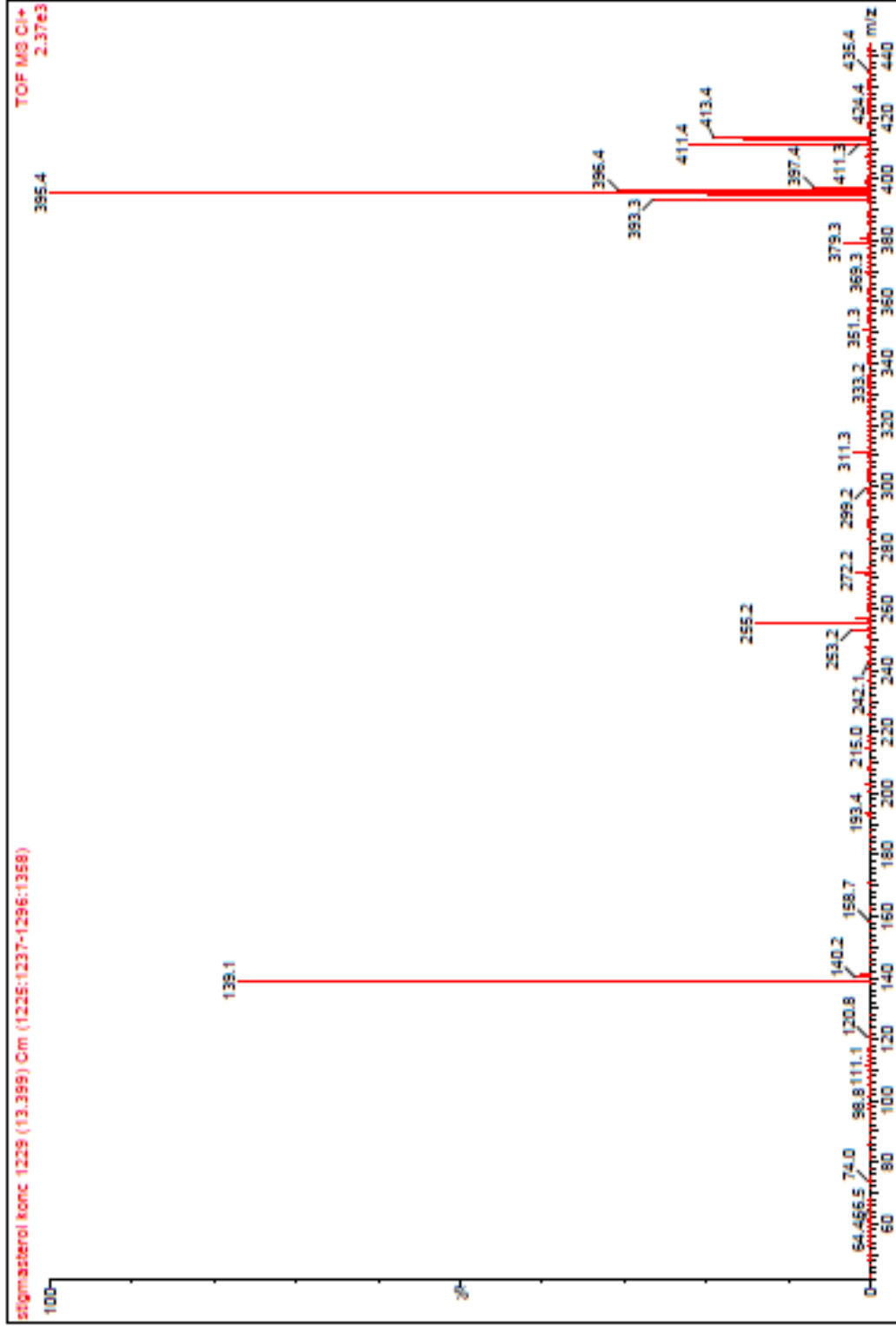
Şekil 3.8. izole edilen bileşiklerin HSQC spektrumu



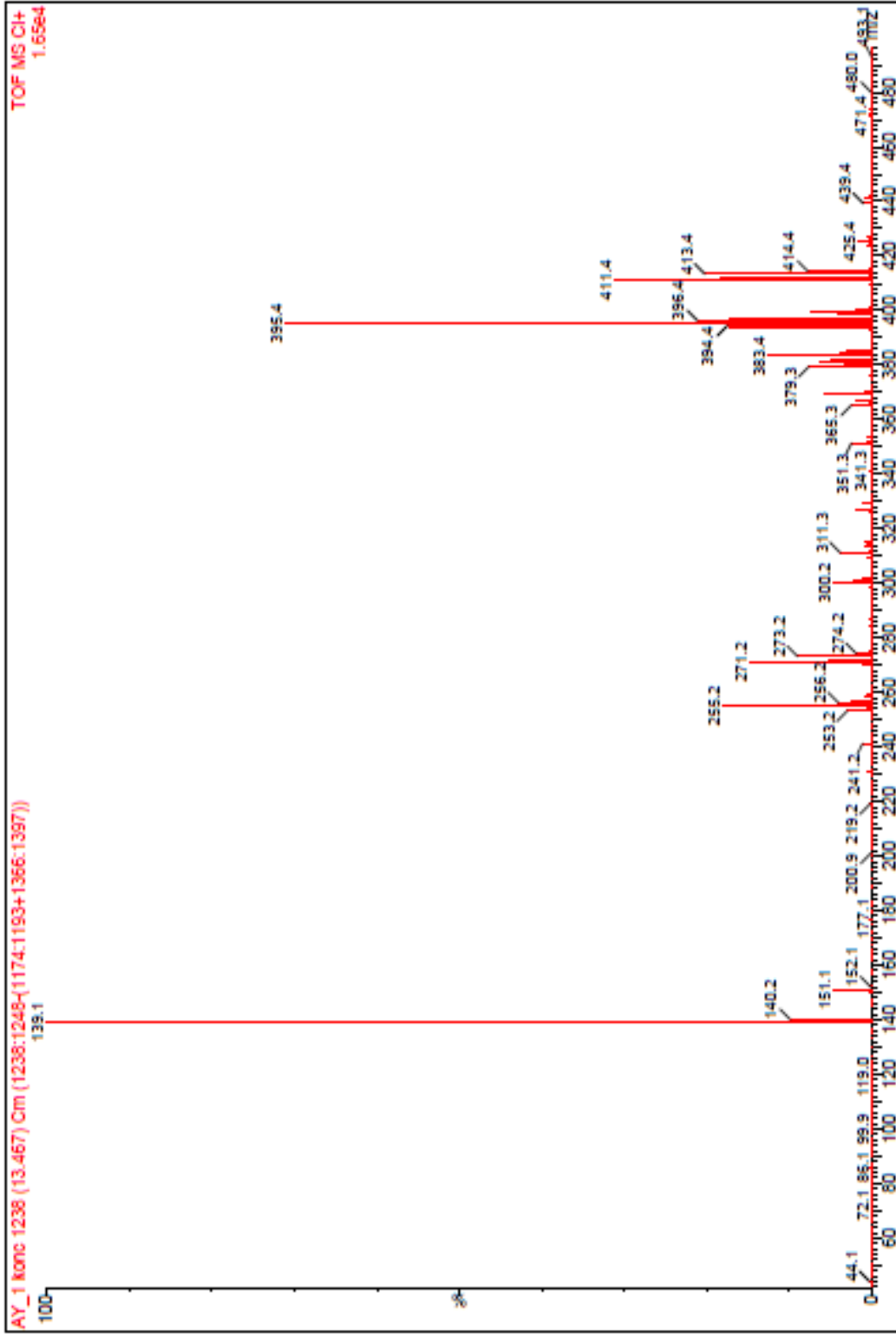
Şekil 3.9. İzole edilen bileşiklerin DEPT spektrumu



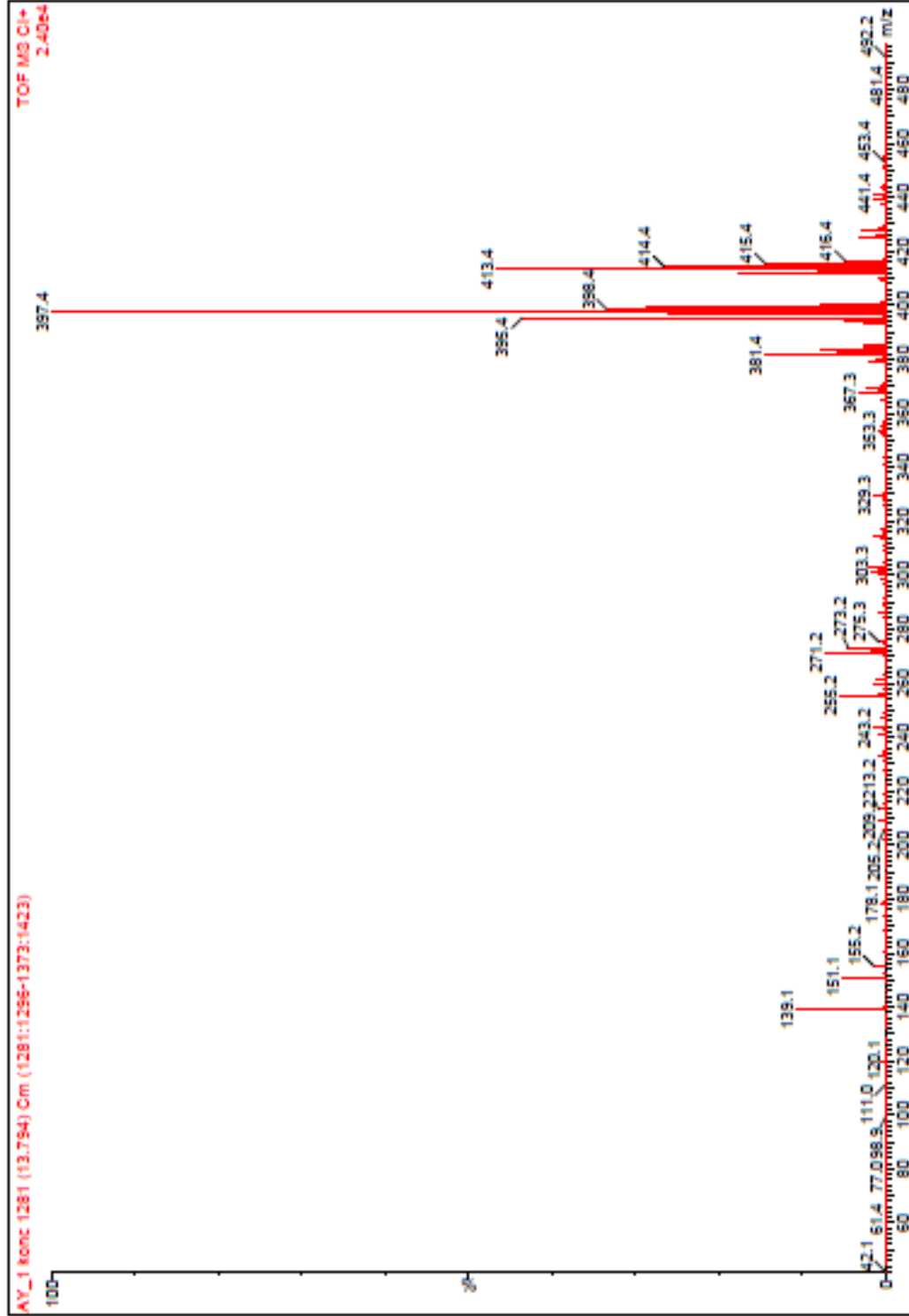
Şekil 3.10. İzole edilen bileşiklerin GK-KS kromatogramı



Şekil 3.11. Standart olarak kullanılan stigmasterol bileşiminin mass spektrumu



Şekil 3.12. İzole edilen stigmasterol bileşiğinin mass spektrumu



Şekil 3.13. İzole edilen β -sitosterol bileşiğinin mass spektrumu

Çizelge 3.1. β -Sitosterol ve stigmasterol bileşiklerinin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektral değerleri

Konum	β -Sitosterol		Stigmasterol	
	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$
1	37.23	1.86; 1.08	37.23	1.86; 1.08
2	31.64	1.84 (2H)	31.64	1.84 (2H)
3	71.80	3.52 m	71.80	3.53 m
4	42.28	2.30; 2.24	42.28	2.30; 2.23
5	140.73	--	140.73	--
6	121.72	5.35 m	121.71	5.35 m
7	31.90	1.97; 1.48	31.90	1.97; 1.48
8	31.87	1.52	31.87	1.52
9	50.10	0.94	51.12	0.94
10	36.49	--	36.49	--
11	21.06	1.53–1.47	21.05	1.53–1.47
12	39.75	1.99; 1.18	39.66	1.99; 1.18
13	42.30	--	42.30	--
14	56.74	1.12	56.84	1.02
15	24.29	1.57; 1.06	24.35	1.57; 1.06
16	28.24	1.85; 1.27	28.92	1.71; 1.27
17	56.00	1.15	56.02	1.16
18	11.85	0.68 s	12.03	0.70 s
19	19.39	1.01 s	19.39	1.01 s
20	36.13	1.36	40.50	2.04
21	18.76	0.92 d	21.20	1.02 d
22	33.92	1.32; 1.02	138.32	5.15 dd, J=15.2, 8.7
23	26.02	1.17 (2H)	129.24	5.02 dd, J=15.2, 8.8
24	45.80	0.93	51.22	1.53
25	29.11	1.69	31.87	1.52
26	19.81	0.84 d	21.09	0.85 d
27	19.01	0.81 d	18.96	0.80 d
28	23.04	1.28; 1.24	25.40	1.42; 1.17
29	11.97	0.85 t	12.25	0.805 t

3.3. Uçucu Yağ Analizine Ait Bulgular

Çizelge 3.2. *Ballota acetabulosa* uçucu yağının bileşimi

	Bileşik	RI^a	% Alan
1	Ökalyptol	1206	0,11
2	<i>p</i> -Simen	1271	0,12
3	Nonanal	1391	2,05
4	1-Okten-3-ol	1446	1,55
5	β -Elemen	1595	0,11
6	Karyofillen	1607	4,84
7	Aromadendren	1616	0,32
8	Alloaromadendren	1657	0,32
9	γ -Gurjunen	1666	0,12
10	α -Humulen	1682	0,36
11	α -Amorfen	1699	0,20
12	Leden	1707	0,14
13	Germakren-D	1722	0,85
14	Epi-bisikloeskifellandren	1728	0,11
15	α -Murolen	1734	0,52
16	α -Selinen	1738	0,60
17	Bisiklogermakren	1748	1,68
18	Naftalen	1760	2,37
19	δ -Kadinen	1768	0,96
20	Trans- β -damasenon	1833	0,20
21	Geranil aseton	1861	0,34
22	Nonadekan	1900	0,27
23	Karyofillen oksit	2008	8,30
24	Carotol	2036	1,65
25	Nerolidol	2042	0,54
26	6,10,14-Trimetil-2-pentadekanon	2132	4,58
27	Spatulenol	2143	25,03
28	Dokosan	2205	0,27
29	Palmitik asit metil ester	2220	0,37
30	Karvakrol	2224	0,61
31	İzospatulenol	2241	1,43
32	Di-terziyer bütül fenol	2313	0,54
33	Manoil oksit	2371	1,07
34	Epi-manoil oksit	2389	0,32
35	Metil linoleat	2484	0,41
36	Neofitadien	2625	3,39
37	Heptakozan	2693	1,71
38	Palmitik asit	2908	5,58

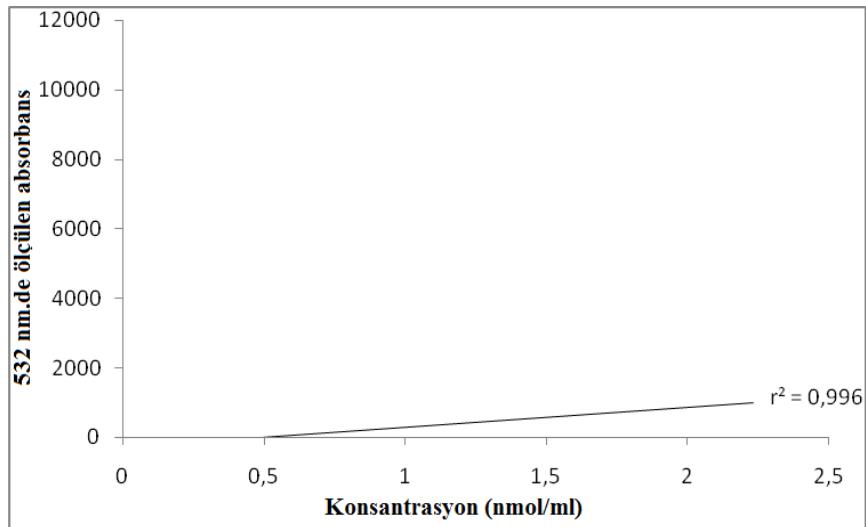
Çizelge 3.2 Devam. *Ballota acetabulosa* uçucu yağının bileşimi

Oksijen içeren monoterpenler	0,72
Seskiterpen hidrokarbonlar	11,13
Oksijen içeren seskiterpenler	36,95
Monoterpen hidrokarbonlar	0,12
Aromatik hidrokarbonlar	4,50
Hidrokarbonlar	20,52
Toplam tanımlanan uçucu yağ %	73,94

^a Retansiyon İndisi

3.4. Antioksidan Aktivite Tayinine Ait Bulgular

Ballota acetabulosa toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın MDA yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite bulguları aşağıda verilmiştir.



Şekil 3.14. Lipit peroksit kalibrasyon eğrisi

Bitkinin uçucu yağı ile elde edilen sonuçlara göre MDA düzeyi 0,051 nmol olarak bulunmuştur. Aynı değer kontrol grubu için 0,010 nanomoldür. Sonuçta uçucu yağın MDA düzeyinin kontrol grubununkinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

4. TARTIŞMA

Lamiaceae familyasında bulunan *Ballota* cinsi Akdeniz çevresindeki ülkeler başta olmak üzere; Avrupa, Batı Asya, Afrika ve Güney Anadolu'da geniş yayılış göstermektedir. *Ballota* türleri, halk ilacı olarak geleneksel tıpta ve çeşitli farmakolojik etkileri nedeniyle modern tıpta yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. *Ballota* türleri halk arasında antienflamatuvar, anksiyolitik, antimikrobiyal, antitussif, ekspektoran ve hepatoprotektif özelliklerinden dolayı; boğmaca, dispepsi, bulantı, kusma, sinir rahatsızlıklarının tedavisinde ve balgam söktürücü olarak kullanılmaktadır. Bu türün bitkileri ve bitkilerinden hazırlanan ekstreler sedatif ve trankilizan amaçlı kullanılan preparatların bileşimine girmektedir. *Ballota* türleri antimikrobiyal, antioksidan, antienflamatuvar ve anksiyolitik etkileri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmekte ve bu türler üzerinde yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Türkiye'de doğal olarak yetişen 12 *Ballota* türünden biri olan *Ballota acetabulosa* üzerinde ülkemizde yayınlanmış, antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik aktivite konularında birkaç çalışma olmasının yanı sıra; bu bitkinin morfolojik özellikleri hakkındaki yurtiçi ve yurtdışı yayın sayısı da oldukça sınırlıdır.

Bu tez çalışmasında Davis'in Grid sistemi B₁ karesi içinde bulunan İzmir : Yenifoça 10 metreden toplanan *B. acetabulosa* üzerinde farmakognozik araştırmalar yapılmıştır. Bu kapsamda bitkinin toprak üstü kısımları, ülkemizde ve dünyada kabul edilen başvuru kaynağı olan Avrupa Farmakopesi'nin *Ballota nigra* için belirlediği kalite özelliklerine uygunluğu bakımından araştırılmış, fitokimyasal izolasyon çalışmaları yürütülmüş, bitkinin uçucu yağ bileşimi aydınlatılmış ve uçucu yağın antioksidan aktivitesi tayin edilmiştir. İnce Tabaka Kromatografisi dışında, farmakope analizinde belirtilen testlerin tümü gerçekleştirilmiştir. Bu testte kullanılacak standart maddelerin elimizde bulunmaması nedeniyle deney gerçekleştirilememiştir. Ayrıca farmakopede yer almadığı halde bitkinin gövde ve yapraklarından alınan kesitler mikroskopta 10x40 büyütme altında incelenerek anatomik yapısı gösterilmiş ve özellikleri belirtilmiştir.

Farmakope analizine göre makroskobik inceleme sonucunda bitkinin gövdesinin dört köşeli, uzunlamasına çizgili, grimsi açık yeşil renkli ve yoğun şekilde dallanmış tüylerle kaplı olduğu görülmüştür. Yaprakları grimsi yeşil renkli, 2–4 cm genişliğinde, laminası ovat-kordat, tabanı kordat, kenarı krenattır. Her iki yüzeyi bol miktarda beyaz renkli tüylerle kaplı; damarlanması pennat-retikulattır. Çiçekleri kısa saplı; kaliks tüp şeklinde, yoğun tüylü ve 10 dişlidir. Kaliks dişleri 5 büyük lobdan oluşurken dişler arasında küçük, mukronat loblar bulunmaktadır. Korolla, beyaz renklidir ve üzerinde mor lekeler bulunmaktadır. Bu görünüş özellikleriyle literatürde belirtilen tanımlara uygunluk göstermiştir. Tez konumuzu teşkil eden *B. acetabulosa*'nın, çeşitli farmakopelere kayıtlı tek *Ballota* türü olan *B. nigra* ile aralarındaki belli başlı morfolojik farklar şunlardır:

Çizelge 4.1. *Ballota acetabulosa*'nın *Ballota nigra*'ya göre morfolojik farkları

<i>Ballota acetabulosa</i>	<i>Ballota nigra</i>
Gövdesi grimsi açık yeşil renkli	Gövdesi koyu yeşil ya da kırmızımsı kahverengi
Laminası ovat-kordat	Laminası ovat-orbikular
Yaprak damarlanması pennat-	Yaprak damarlanması pennat
Korolla, beyaz renkli ve mor lekeli	Korolla mor renkli
Kaliks 10 dişlidir	Kaliks 5 dişlidir

Toz edilmiş herba açık yeşil-gümüşü renkte, yünsü, heterojen ve birbirine tutunmuş partiküller halindedir. Kloralhidrat çözeltisi kullanılarak mikroskop altında incelendiğinde çok sayıda, genellikle 4 ya da daha fazla hücreli, kesişme yerlerinde şişmiş ve kalınlaşmış, yıldız şeklinde dizilmiş veya tek hücreli örtü tüyleri taşıdığı görülmüştür. Epiderma üzerinde bulunan salgı tüylerinden ise: özellikle sapı tek, başı çok hücreli olanların yanında, sapı ve başı tek hücreli olanlar ve *Lamiaceae* tipi (sapı tek, başı 8 hücreli) salgı tüyleri bol miktardadır. Yaprak üst epidermasında palizat parenkiması ve kenarları dalgalı hücreler görülür. Alt epidermada bol miktarda stoma bulunur, stoma komşu hücrelerinin sayısı 2'dir ve kenarları dalgalıdır. Polen taneleri hemen hemen küresel, 3 porlu ve duvarları düzdür. Gövdede kollenkima hücreleri ile halkalı ya da helezonlu geçitler taşıyan odun boruları bulunur.

Farmakope analizinde yer almayan, enine kesitlerin anatomik incelemesi sonucu gövdenin en dışında bir kütikula tabakası ve altında tek sıralı hücrelerden oluşan epiderma tabakası gözlenmiştir. Epidermanın altında köşelerde çeperleri kalınlaşmış köşe kollenkiması hücreleri bulunmaktadır. Kabuk parenkimasının altında 2–3 sıralı sklerenkima tabakası bulunmaktadır. Floem ince çeperli hücrelerden oluşurken, ksilem kalın bir bant halindedir. Kambiyum belirgin değildir. Öz bölgesi geniştir ve içinde çok sayıda nişasta tanesi bulunmaktadır. Yaprak ise bifasiyal olup çok sayıda örtü ve salgı tüyleri taşımaktadır.

Numunenin kurutmada kaybı % 6,38 olarak bulunmuştur. Avrupa Farmakopesi'nde en fazla % 12 olarak belirtilen değerden çok daha düşük çıkararak uygunluk göstermiştir.

Numunenin toplam kül miktarı Avrupa Farmakopesi yöntemine göre % 8,34; Fransız Farmakopesi yöntemine göre ise % 8,65 olarak saptanmıştır ve farmakopeye göre kül miktarı % 13'ten fazla olmamalıdır. Her iki yöntemde de numunelerin kül miktarı bu değerlerin altında olduğu için farmakopeye uygundur.

Bitkinin, Avrupa Farmakopesi'ndeki monografta belirtilen spesifikasyonlardan biri olarak toplam *o*-dihidroksisinnamik asit miktarı tayin edilmiştir. Yaklaşık 1,0 g drogda % 1,79 oranında *o*-dihidroksisinnamik asit bulunmuştur. Bu miktar, Avrupa Farmakopesi'nde belirtilen asgari değer olan % 1,5'e uygundur. Yani bitki fenolik bileşiklerce zengindir ve bu özelliğinden dolayı da potansiyel olarak etkili bir bitkidir.

Yapılan fitokimyasal çalışmalarda bitkinin toprak üstü kısmının asetonlu ekstresi Rodriguez ve arkadaşlarının (1979) kullanıldığı yöntemde göre hazırlanmış, ekstreye tekrarlayan kolon kromatografilerinin uygulanması sonucu sterol yapısında β -sitosterol ve stigmasterol bileşiği izole edilmiştir. İzole edilen β -sitosterol ve stigmasterol bileşiklerinin yapı tayini, çeşitli spektroskopik yöntemlere ($^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$, GK-KS, HSQC ve DEPT) dayanılarak yapılmıştır. Bitki üzerinde daha önce

yapılan çalışmalarda diterpen, flavonoit ve feniletanoit glikoziti yapısında bileşikler izole edilmiştir; fakat sterol yapısında bir bileşiğin izolasyonu ile ilgili herhangi bir fitokimyasal çalışma bulunmamaktadır. Bitkiden izole edilen β -sitosterol bileşiğinin daha önce *Ballota limbata* ve *Ballota andreuziana* türlerinden izole edildiği bilinmektedir. Bu bileşiğin antiandrojen, antiinflamatuvar, antikolesterol etkileri bulunduğu ileri sürülmektedir. Halen benign prostat hipertrofinin tedavisinde denenen β -sitosterolün etki mekanizması tam olarak anlaşılacakla beraber prostat stromal hücrelerinde transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β) ve protein kinaz C α üzerinden etkili olabileceği savunulmuştur (Çam, 2008). Bitkiden izole edilen diğer bileşik olan stigmasterolün ise daha önce *Ballota undulata* ve *Ballota andreuziana* türlerinden izole edildiği bilinmektedir. Yapılan araştırmalar stigmasterolün yumurtalık, prostat, meme ve kolon kanserleri dâhil olmak üzere, bazı kanser türlerinin önlenmesinde yararlı olabileceğini göstermiştir. Ayrıca fitosterollerce zengin bir diyet uygulandığında, bağırsaktan emilim aşamasında kolesterolle yarışarak emilimini inhibe edebileceği ve sonuçta serum kolesterol düzeylerini düşürebileceği gösterilmiştir. 6 haftalık bir süre boyunca stigmasterol ile beslenen deney hayvanlarının kolesterol emiliminin % 23 azaldığı bulunmuştur. Bu bileşiğin, osteoartrit ile indüklenen kıkırdak degradasyonuna neden olan mediatörler gibi birçok proenflamatuvar ajanı inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca güçlü antioksidan, hipoglisemik ve tiroid inhibe edici özelliklere sahiptir (Panda ve ark., 2009; Gabay ve ark., 2010). İzole edilen bu bileşiklerin, bitkinin gösterdiği sitotoksik aktiviteye katkı sağladığı düşünülebilir.

Yapılan literatür araştırmasında *B. acetabulosa* bitkisinin uçucu yağ kompozisyonuna ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile aydınlatılan bitkinin uçucu yağ bileşimi, diğer *Ballota* türlerinin uçucu yağ bileşimleri ile paralellik göstermekle beraber yüzde oranlarında farklılıklar gözlenmiştir. Örneğin *B. acetabulosa* uçucu yağında düşük miktarlarda tespit ettiğimiz germakren D, α -humulen, δ -kadinen ve α -selinen diğer *Ballota* türlerinin uçucu yağlarında daha yüksek oranlarda bulunmakta iken, bitkinin majör uçucu yağ bileşeni olarak tespit

ettiğimiz spatulenol ise diğer *Ballota* türlerinin uçucu yağlarında daha düşük oranda bulunmaktadır. Ayrıca uçucu yağda karyofillen oksit de öne çıkmaktadır. *B. acetabulosa* uçucu yağında bulunduğunu tespit ettiğimiz spatulenol (% 25,03) daha önce *B. nigra* subsp. *anatolica* uçucu yağında % 9 oranında (Kazemizadeh ve ark., 2009); karyofillen oksit (% 8,3) *B. nigra*, *B. nigra* subsp. *foetida*, *B. saxatilis*, *B. undulata*, *B. pseudodictamnus* ve *B. andreuzziana* uçucu yağlarında sırasıyla % 7,9 % 15 % 19,9 % 1,4 % 22,4 ve % 2 oranlarında (Couladis ve ark., 2002; Bader ve ark., 2003; Morteza-Semnani ve ark., 2007; Fraternali ve ark., 2009; Abdelshafeek ve ark., 2010); β -karyofillen (% 4,84) *B. nigra* köklerinden elde edilen uçucu yağda % 35,36; yapraklarından elde edilen uçucu yağda % 39,14 oranında, *B. nigra* subsp. *anatolica*, *B. nigra* subsp. *foetida*, *B. saxatilis*, *B. undulata*, *B. pseudodictamnus* ve *B. andreuzziana* uçucu yağlarında sırasıyla % 10,5 % 20 (bir başka yayında % 25,1) % 29,3 % 1,4 % 10,7 ve % 63,1 oranlarında (Couladis ve ark., 2002; Bader ve ark., 2003; Fraternali ve ark., 2009; Kazemizadeh ve ark., 2009; Vukovic ve ark., 2009; Abdelshafeek ve ark., 2010); germakren D (% 0,85) *B. nigra* köklerinden elde edilen uçucu yağda % 27,36; yapraklarından elde edilen uçucu yağda % 35,72 oranında, *B. nigra* subsp. *anatolica*, *B. nigra* subsp. *foetida* ve *B. undulata* uçucu yağlarında sırasıyla % 18,1 % 18 (bir başka yayında % 24,2) % 19,1 oranında (Bader ve ark., 2003; Fraternali ve ark., 2009; Kazemizadeh ve ark., 2009; Vukovic ve ark., 2009); bisiklogermakren (% 1,68) *B. nigra* subsp. *foetida* ve *B. saxatilis* uçucu yağlarında eser miktarda, *B. undulata* uçucu yağında ise % 11,6 oranında (Bader ve ark., 2003), α -humulen (% 0,36) *B. nigra* köklerinden elde edilen uçucu yağda % 7,44; yapraklarından elde edilen uçucu yağda % 10,37 oranında, *B. nigra* subsp. *anatolica* uçucu yağında % 1,5 oranında (Kazemizadeh ve ark., 2009; Vukovic ve ark., 2009); δ -kadinen (% 0,96) *B. nigra* uçucu yağında % 6,5 oranında (Morteza-Semnani ve ark., 2007); α -selinen (% 0,6) *B. andreuzziana* uçucu yağında % 5,03 oranında (Abdelshafeek ve ark., 2010) tespit edilmiştir. Uçucu yağın majör bileşiği olarak tespit edilen spatulenol, immunsupresif etkiye sahip bir biyolojik aktif maddedir. Deneylerde lenfositlerde doza bağımlı ölüme (apoptoz) neden olduğu gösterilmiştir. Spatulenol, *in vitro* MDR-1 proteininin inhibisyonuna neden olarak kanserde

kemoterapiye destek tedavi olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir. Pek çok bitkinin uçucu yağında bulunan karyofillen oksitin ise gıda ve kozmetiklerde koruyucu olarak kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır ve Avrupa Konseyi tarafından doğal ve sentetik tatlandırıcı maddeler listesine dâhil edilmiştir. Tolere edilebilir, güvenli ve non-toksik olduğu kabul edilmektedir. Bu bileşiğin anti-enflamatuvar, anti-kanserojen, analjezik ve cildi yenileyici etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Yang ve ark., 2000).

Tez kapsamında yürütülen antioksidan aktivite tayini çalışmaları Puhl ve ark., (1994) ve Zhang ve ark., (1994)'in yöntemleri modifiye edilerek geliştirilen MDA yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Deneyde *B. acetabulosa* toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ kullanılmıştır. Uçucu yağın MDA düzeyinin (0,051 nmol), kontrol grubununkinden (0,010 nmol) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Deneyde test edilen *B. acetabulosa*'ya ait uçucu yağda düşük seviyeli bir aktiviteyle karşılaşmıştır. Bu durum uçucu yağın bileşimi ile açıklanabilir. Ruberto ve Baratta (2000) uçucu yağlarda en sık rastlanan 100 bileşenin antioksidan aktivitelerini, iki farklı lipit model sistemi kullanarak araştırdıkları çalışmalarında seskiterpen hidrokarbonlar ve terpenik olmayan bileşenlerin düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir. *B. acetabulosa* uçucu yağında bu grup bileşiklerin oldukça yüksek oranda (sırasıyla % 11,13 ve 25,14) bulunduğu belirlenmiştir. Uçucu yağların gösterdikleri antioksidan aktivitenin kaynağı olabilecek bir başka grup, monoterpen hidrokarbonlardır ancak *B. acetabulosa* uçucu yağında monoterpen hidrokarbonların oranı yalnızca % 0,12 bulunmuştur. Oksijenli monoterpenlerden ise aktif olan bileşikler timol ve karvakroldür, bu sınıfa ait diğer bileşikler genellikle düşük aktivite göstermektedir. *B. acetabulosa* uçucu yağında karvakrol oranı % 0,61'dir. Yani uçucu yağ, içerisinde antioksidan aktivitesi yüksek bileşikleri düşük oranda; aktivitesi düşük bileşikleri ise yüksek oranda içermektedir. Bunun bir sonucu olarak yağın aktivitesi düşük bulunmuş olabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Lamiaceae familyasında bulunan ve dünyada 35 tür ile temsil edilen *Ballota* cinsi, genellikle Akdeniz çevresinde doğal olarak yetişen bitkilerden oluşmaktadır. *Ballota* türlerinden birçoğu, dünyada geleneksel halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda özellikle antimikrobiyal, antioksidan ve antienflamatuvar etki gibi farklı biyolojik aktivitelerinden dolayı *Ballota* türleri dikkat çekmektedir. Türkiye’de doğal olarak yetişen *Ballota acetabulosa* bitkisinin toprak üstü kısımları enflamasyonda, hemoroitte, yara ve yanıkların tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bitkinin halk arasında, gastrointestinal bozukluklara karşı kullanımının yanı sıra; öksürüğün bastırılmasında kullanıldığı da bilinmektedir. Bitkinin bu şekilde geleneksel olarak kullanımı muhtemelen taşıdığı flavonoit, tanen, diğer fenolik bileşikler ve saponozitlerinden kaynaklanmaktadır.

Tez çalışmasının başında; *B. acetabulosa* ve *Ballota* cinsine dahil olan diğer türlerin taşıdıkları etken maddeler ve gösterdikleri farmakolojik aktivitelerle ilgili kapsamlı literatür taraması yapılmıştır. Literatür verilerine göre; bitki üzerinde yapılmış fitokimyasal araştırmaların ve aktivite çalışmalarının oldukça sınırlı sayıda olduğu saptanmıştır.

İzmir’den toplanan *Ballota acetabulosa* üzerinde ilk kez bu araştırma dahilinde yapılan fitokimyasal çalışmalar kapsamında bitkinin toprak üstü kısımlarının farmakope analizi yapılmış ve Avrupa Farmakopesi’nde yer alan *Ballota nigra* monografındaki spesifikasyonlara benzer sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Bununla birlikte; saflaştırmayı planladığımız bileşiklerin izolasyonu için en uygun yöntem olarak kolon kromatografisi yöntemi seçilip, sterol yapısında maddelerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen β -sitosterol ve stigmasterol bileşiklerinin yapıları, KS analizi ve NMR verileri literatür bulguları ile kıyaslanarak aydınlatılmıştır. Sterol yapısındaki bu bileşiklerin izolasyonu, bu bitki için bir ilktir.

Bitkinin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyonla uçucu yağ elde edilmiştir. Bitkinin uçucu yağı içerisinde bulunan bileşikler ve yüzde miktarları GK ve GK-KS yöntemleriyle tayin edilmiştir.

Antioksidan aktivite çalışmasında; bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın aktivitesini belirlemek için lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın ölçümüne dayanan bir yöntem kullanılmıştır. Bitkinin uçucu yağının; MDA değerleri üzerinde düşük düzeyli bir etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol grubunun, uçucu yağdan daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bu durum uçucu yağın bileşimi ile açıklanabilmektedir.

Kalite, kimyasal içerik ve biyolojik aktivite çalışmalarında alınan bu sonuçlar, Avrupa Farmakopesi ve mevcut literatürle paralellik göstermektedir. *Ballota acetabulosa* üzerinde yapılan veri taramalarında; bu tür ile ilgili yurtiçi ve yurtdışı çalışmaların yetersiz olduğu anlaşılmaktadır. Bitkinin içerdiği bileşikler nedeniyle gösterdiği antioksidan, sitotoksik, antimikrobiyal, antiproliferatif ve sedatif aktiviteler araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Halk arasında da kullanılan bu tür ile ilgili araştırmaların devamının sağlanmasıyla çok çarpıcı sonuçların alınabileceği düşünülmektedir. Yapılacak yeni çalışmalar, bilim dünyasında yeni veriler kazandırılmasına olanak sağlayacaktır. Bu amaçla; *B. acetabulosa* üzerinde fitokimyasal ve etki çalışmaları devam etmektedir.

ÖZET

***Ballota acetabulosa* (L.) Benth. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar**

Ballota türleri *Lamiaceae* familyasından Akdeniz çevresinde yetişen bitkiler olup halk arasında ve modern tıpta kullanılmaktadır. Türkiye’de doğal olarak yetişen 12 *Ballota* türünden biri olan *Ballota acetabulosa*, dünyada da geniş bir habitat içerisinde yetişen, çok yıllık bir bitkidir. Bu tez kapsamında *Ballota acetabulosa*’nın farmakopeye uygunluğu, fitokimyasal içeriği ve uçucu yağı ile uçucu yağın antioksidan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

İzmir’den toplanan *B. acetabulosa*’nın toprak üstü kısımları araştırılarak makroskobik, mikroskobik analiz, kurutmada kayıp, toplam kül ve toplam *orto*-dihidroksisinnamik asit miktar tayini analizleri uygulanmıştır. Sonuçlar Avrupa Farmakopesi 7.2’deki *Ballota nigra* monografına göre değerlendirilmiş ve bitkinin bu spesifikasyonlara benzer sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Yapılan fitokimyasal araştırmalar sonucunda *B. acetabulosa* herbasının asetonlu ekstresinden kolon kromatografileri ile 2 bileşik izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapıları çeşitli spektral yöntemler ile saptanmıştır. İzole edilen bileşiklerin sterol yapısındaki β -sitosterol ile stigmasterol olduğu sonucuna varılmıştır.

Ballota acetabulosa herbasının uçucu yağ kompozisyonu araştırılmış, majör uçucu yağ bileşeni olarak spatulenol bulunmuştur. Bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın gösterdiği antioksidan aktivite, MDA yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Bitkinin uçucu yağının MDA değerleri üzerinde düşük ölçüde etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol grubunun, uçucu yağdan daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Antioksidan aktivite, *Ballota acetabulosa*, farmakope analizi, sterol izolasyonu, uçucu yağ.

SUMMARY

Pharmacognostical Investigations on *Ballota acetabulosa* (L.) Benth.

Ballota species are the plants that grow around the Mediterranean region, belong to *Lamiaceae* family and they have been used in folk and modern medicine. *Ballota acetabulosa* is a perennial plant which naturally grows in Turkey as one of the 12 species of *Ballota* genus is also widely distributed all around the world. Pharmacopoeial compatibility, phytochemical composition, essential oil of *Ballota acetabulosa* and antioxidant activity of the essential oil were aimed to be investigated for the scope of this thesis study.

Pharmacopoeial analyses (macroscopic and microscopic examination, loss on drying, total ash and determination of the amount of *ortho*-dihydroxycinnamic acid derivatives) of the aerial parts of *Ballota acetabulosa* which is collected from Izmir have been determined. Results indicated that the plant shows good agreement with the specifications given by European Pharmacopoeia 7.2. As a result of phytochemical investigations, two compounds were isolated by column chromatography from the acetone extract of the aerial parts of *Ballota acetabulosa*. The structures of the isolated compounds were determined by using several spectral methods. Isolated compounds were observed to have sterol structure which are β -sitosterol and stigmasterol.

Volatile oil composition of the aerial parts of *Ballota acetabulosa* was investigated and the major component of the volatile oil was found to be as spathulenol. Antioxidant activity of the essential oil of the plant was determined by using TBARS assay. Consequently, essential oil was observed to have insignificant effect on MDA values. Additionally, control group was observed to show more activity compared to the essential oil.

Key Words: Antioxidant activity, *Ballota acetabulosa*, isolation of sterols, pharmacopoeial analysis, volatile oil.

KAYNAKLAR

- ABDELSHAFEEK, K.A., DABOUB, A.A. (2009). Investigation of the flavonoids and antimicrobial activity of *Ballota andreuziana*. *Pharmacognosy Magazine*, **4**: 203-208.
- ABDELSHAFEEK, K.A., ELGATTAR, A.A., ZARKOON, A.H., ALWAHASH, M.A., SHAHAT, A.A. (2010). Investigation of the volatile oils, lipid constituents and biological activity of *Ballota andreuziana*, *Teucrium zanonii* and *Verbena tenuisecta* in Libya. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 594–601.
- ABU-DAHAB, R., AFIFI, F. (2007). Antiproliferative activity of selected medicinal plants of Jordan against a breast adenocarcinoma cell line (MCF7). *Scientia Pharmaceutica*, **75**: 121–136.
- AL-BAKRI, A.G., AFIFI, F.U. (2007). Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. *Journal of Microbiological Methods*, **68**: 19–25.
- ALTUNDAĞ, E., ÖZTÜRK, M. (2011). Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia Social And Behavioral Sciences*, **19**: 756–777.
- AGRAWAL, P.K. (1989). Carbon-13 NMR of Flavonoids. New York: Elsevier.
- AHMAD, V.U., FAROOQ, U., ABBASKHAN, A., HUSSAIN, J., ABBASI, M.A., NAWAZ, S.A., CHOUDHARY, M.I. (2004a). Four new diterpenoids from *Ballota limbata*. *Helvetica Chimica Acta*, **87**: 682–689.
- AHMAD, V.U., FAROOQ, U., HUSSAIN, J., ULLAH, F., NAWAZ, S.A., CHOUDHARY, M.I. (2004b). Two new diterpenoids from *Ballota limbata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **52**: 441–443.
- AHMED, D., MANSHA, M., HANNAN, A., BARKAAT, M., BIBI, N. (2009). Antibacterial Activity of *Ballota Limbata* Against Potential Multidrug Resistant Human Pathogens. *Journal of Applied Sciences Research*, **5**: 1611–1614.
- ARISAWA, M., HAYASHI, T., SHIMIZU, M., MORITA, N., BAI, H., KUZE, S., ITO, Y. (1991). Isolation and cytotoxicity of two new flavonoids from *Chrysosplenium grayanum* and related flavonols. *Journal of Natural Products*, **54**: 898–901.
- ATEYYAT, M.A., AL-MAZRAAWI, M., ABU-RJAI, T., SHATNAWI, M.A. (2009). Aqueous extracts of some medicinal plants are as toxic as Imidacloprid to the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Journal of Insect Science*, **9**: 1–6.
- AVRUPA FARMAKOPESİ 7.2. (2010). 7. Baskı. Strasbourg: Council of Europe.
- BADER, A., CAPONI, C., CIONI, P.L., FLAMINI, G., MORELLI, I. (2003). Composition of the essential oil of *Ballota undulata*, *B. nigra* ssp. *foetida* and *B. saxatilis*. *Flavour Fragrance Journal*, **18**: 502–504.

- BALANSARD, J. (1934). Pharmacological study of *Ballota foetida*. *Comptes Rendus Des Seances De La Societe De Biologie Et De Ses Filiales*, **115**: 1295–1297.
- BAŞER, K.H.C. (1994). Essential oils of *Labiatae* from Turkey resent results. *Lamiales Newsletter*, **3**: 6–11.
- BATAINEH, H.N., MOHAMMAD, M.A.M. (2012). Effects of oral administration of *Euphorbia prostrata* extract on the reproductive system of male albino rats: a histometric and biochemical study. *Comparative Clinical Pathology*, **21**: 433–439.
- BAYTOP, T. (1984). Türkiye'de Bitkilerle Tedavi, No: 2. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları.
- BERTRAND, M.C., TILLEQUIN, F., BAILLEUL, F. (2000). Two major flavonoids from *Ballota nigra*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **28**: 1031–1033.
- BONTE, F., MEYBECK, A., DUMAS, M. (1996). Cosmetic or pharmaceutical composition containing a black horehound extract. US Patent, 5514374.
- BOURIN, M. (1994). Effects of a combined plant extract (Euphytose®) on psychometric performance in healthy volunteers. *Psychologie Medicale*, **14**: 1471–1478.
- BOURIN, M., BOUGEROL, T., GUITTON, B., BROUTIN, E. (1997). A combination of plant extracts in the treatment of outpatients with adjustment disorder with anxious mood: controlled study versus placebo. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, **11**: 127–132.
- BRAND, H.M., GOEDBLOED, A.F. (2011). Marrubiin and composition for reducing snoring, package and method. US Patent, 0305780.
- BRUNO, M., BONDI, M.L., PIOZZI, F.L., ARNOLD, N.A., SIMMONDS, M.S.J. (2001). Occurrence of 18-hydroxyballonigrine in *Ballota saxatilis* ssp. *saxatilis* from Lebanon. *Biochemical Systematics and Ecology*, **29**: 429–431.
- BRUNO, M., SAVONA, G., PASCUAL, C., RODRIGUEZ, B. (1986). Preleosibirin, a prefuranic labdane diterpene from *Ballota nigra* subsp. *foetida*. *Phytochemistry*, **25**: 538–539.
- CAROL, A.N., LINDA ANDERSON, A., DAVID PHILLIPSON, J. (1996). Herbal Medicine a Guide for Health-care Professionals. London: The Pharmaceutical Press.
- COULADIS, M., CHINO, I.B., TZAKOU, O., LOUKIS, A. (2002). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ballota pseudodictamnus* L. Benth. *Phytotherapy Research*, **16**: 723–726.
- COULADIS, M., TZAKOU, O., VERYKOKIDOU, E., HARVALA, C. (2003). Screening of some Greek aromatic plants for antioxidant activity. *Phytotherapy Research*, **17**: 194–195.
- CHOPRA, R.N., NAYAR, S.I., CHOPRA, I.C. (1956). Glossary of Indian Medicinal Plants. India: Indian Council of Scientific & Industrial Research.

- ÇAM, K. (2008). Benign prostat hiperplazisinde fitoterapi. *Üroonkoloji Bülteni*, **3**: 33–37.
- ÇİTOĞLU, G.S., ÇOBAN, T., SEVER, B., İŞCAN, M. (2004a). Antioxidant properties of *Ballota* species growing in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, **92**: 275–280.
- ÇİTOĞLU, G.S., ÖZBEK, H., SEVER, B. (2005a). Antinociceptive Activity of *Ballota glandulosissima* Hub. —Mor & Patzak. *Eastern Journal of Medicine*, **10**: 24–28.
- ÇİTOĞLU, G.S., SEVER, B., ANTUS, S., BAITZ-GACS, E., ALTANLAR, N. (2003a). Antifungal flavonoids from *Ballota glandulosissima*. *Pharmaceutical Biology*, **41**: 483–486.
- ÇİTOĞLU, G.S., SEVER, B., ANTUS, S., BAITZ-GACS, E., ALTANLAR, N. (2004b). Antifungal diterpenoids and flavonoids from *Ballota inaequidens*. *Pharmaceutical Biology*, **42**: 659–663.
- ÇİTOĞLU, G.S., TANKER, M., SEVER, B. (1999). Flavonoid aglycons from *Ballota saxatilis* subsp. *saxatilis*. *Pharmaceutical Biology*, **37**: 158–160.
- ÇİTOĞLU, G.S., TANKER, M., SEVER, B., ENGLERT, J., ANTON, R., ALTANLAR, N. (1998). Antibacterial activities of diterpenoids isolated from *Ballota saxatilis* subsp. *saxatilis*. *Planta Medica*, **64**: 484–485.
- ÇİTOĞLU, G.S., YILMAZ, B.S., ALTANLAR, N. (2003b). Antimicrobial activity of *Ballota* species growing in Turkey, *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*, **32**: 93–97.
- ÇİTOĞLU, G.S., YILMAZ, B.S., TARIKAHYA, B., TIPIRDAMAZ, R. (2005b). Chemotaxonomy of *Ballota* species. *Chemistry of Natural Compounds*, **41**: 299–302.
- DABABNEH, B.F., KHALIL, A. (2007). The Inhibitory Effect of Extracts from Jordanian Medicinal Plants Against Phytopathogenic Fungi. *Plant Pathology Journal*, **6**: 191–194.
- DAELS-RAKOTOARISON, D.A., SEIDEL, V., GRESSER, B., BRUNET, C., TILLEQUIN, F., BAILLEUL, F., LUYCKX, M., DINE, T., CAZIN, M., CAZIN, J.C. (2000). Neurosedative and antioxidant activities of phenylpropanoids from *Ballota nigra*. *Arzneimittel Forschung*, **50**: 16–23.
- DAMASE-MICHEL, C., VIE, C., LACROIX, I., LAPEYRE-MESTRE, M., MONTASTRUC, J.L. (2004). Drug counselling in pregnancy: an opinion survey of French community pharmacists. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, **13**: 711–715.
- DARBOUR, N., BALTASSAT, F., RAYNAUD, J. (1986). Sur la présence d'un O-hétéroside et d'un C-hétéroside d'apigénine dans les feuilles de *Ballota foetida* Lamk. (Labiées). *Pharmazie*, **41**: 605–606.
- DAVIES-COLEMAN, M.T., RIVETT, D.E.A. (1993). Transformation of hispanolone from *Ballota africana* into 15,16-epoxy-9-hydroxy- λ -13(16),14-diene. *South African Journal of Chemistry*, **43**: 117–119.

- DAVIS, P.H. (1982). Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol 7. Edinburgh: University Press.
- DIDRY, N., SEIDEL, V., DUBREUIL, L., TILLEQUIN, F., BAILLEUL, F. (1999). Isolation and antibacterial activity of phenylpropanoid derivatives from *Ballota nigra*. *Journal of Ethnopharmacology*, **67**: 197–202.
- DUKE, J.A., BOGENSCHUTZ-GODWIN, M.J., DE CELLIER, J., DUKE, P.A.K. (2002). Handbook of Medicinal Herbs, 2nd Ed. Florida, USA: CRC Press.
- DUMLU, M.U. , BULUT, G.E. (2007). Some biological activity investigations on *Ballota acetabulosa*. *Journal of Pharmacy of Istanbul University*, **39**: 53–56.
- DÜLGER, G. , AKI, C., DÜLGER, B. (2010). Antimicrobial activity of endemic *Ballota nigra* subsp. *anatolica* in Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, **22**: 6497–6502.
- DÜLGER, B., DÜLGER, G. (2012). Antimicrobial activity of the leaves of *Ballota acetabulosa* on microorganisms isolated from urinary tract infections. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, **9**: 257–262.
- DÜLGER, B., KILÇIK, M.A. (2011a). Antibacterial activity of *Ballota acetabulosa* against methicillin-resistant *Stapylococcus aureus*. *Asian Journal of Chemistry*, **23**: 416–418.
- DÜLGER, B., KILÇIK, M.A. (2011b). Antifungal activity of *Ballota acetabulosa* against yeast *Candida* and *Cryptococcus* species. *Asian Journal of Chemistry*, **23**: 413–415.
- DÜLGER, B., ŞENER, A. (2010). Evaluation of antimicrobial activity of *Ballota acetabulosa*. *African Journal Of Microbiology Research*, **4**: 1235–1238.
- EL-ANSARI, M., NAWWAR, M.A., SALEH,N.A.M. (1995). Stachysetin, a diapigenin-7-glucoside-*p,p'*-dihydroxy-truxinate from *Stachys aegyptiaca*. *Phytochemistry*, **40**: 1543–1548.
- ELMEZOGI, J., ZETRINI, A., BEN-HUSSEIN, G., ANWAIR, M., GBAJ, A., EL-ASHHEB, M., NAHAR, L., SARKER, S.D. (2012). Evaluation of anti-inflammatory activity of some Libyan medicinal plants in experimental animals. *Archives of Biological Sciences*, **64**: 1059–1063.
- ERDOĞAN-ORHAN, İ., SEVER-YILMAZ, B., ALTUN, M.L., SALTAN, G. (2010). Radical Quenching Activity, Ferric-Reducing Antioxidant Power, and Ferrous Ion-Chelating Capacity of 16 *Ballota* Species and Their Total Phenol and Flavonoid Contents. *Journal of Medicinal Food*, **13**: 1537–1543.
- ERİK, S., TARIKAHYA, B. (2004). Türkiye Florası Üzerine. *Kebikec*, **17**: 139–163.
- ERYAŞAR, P., TUZLACI, E. (1998). Gönen (Balıkesir) halk hekimliğinde kullanılan bitkiler, XII. Ankara: Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı.

- ESCOP (2009). ESCOP Monographs: The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products, 2nd Ed. Exeter. United Kingdom: European Scientific Cooperative on Phytotherapy. p.: 16-19.
- EZER, N., ŞAHİN, F.P., TOKER, M.C. (1999). Morphological and anatomical investigations of *Ballota nigra* L. subsp. *anatolica* P.H. Davis used as folk medicine. *Israel Journal of Plant Sciences*, **47**: 43–48.
- FAROOQ, U., KHAN, A., AHMAD, V.U., KHAN, S.S., KOUSAR, F., ARSHAD, S. (2007). Two new rare-class tetracyclic diterpenoids from *Otostegia limbata*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **55**: 471–473.
- FAROOQ, U., KHAN, A., KHAN, A.F., KHAN, S.S., SARWAR, R., AHMAD, V.U., WASSEEM, A. (2012). Two new ballonigrin-type diterpenoids from the roots of *Ballota limbata*. *Natural Product Communications*, **7**: 149–150.
- FERRERES, F., TOMAS-BARBERAN, F.A., TOMAS-LORENTE, F. (1986). Flavonoid compounds from *Ballota hirsuta*. *Journal of Natural Products*, **49**: 554–555.
- FRANSIZ FARMAKOPEŞİ. (1989). 10. Baskı. Paris: Ministere de la Sante.
- FRATERNALE, D., BUCCHINI, A., GIAMPERI, L., RICCI, D. (2009). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Ballota nigra* L. ssp *foetida*. *Natural Product Communications*, **4**: 585–588.
- FRUM, Y., VILJOEN, A.M. (2006). *In vitro* 5-Lipoxygenase and Anti-Oxidant Activities of South African Medicinal Plants Commonly Used Topically for Skin Diseases. *Skin Pharmacology and Physiology*, **19**: 329–335.
- GABAY, O., SANCHEZ, C., SALVAT, C., CHEVY, F., BRETON, M., NOURISSAT, G., WOLF, C., JACQUES, C., BERENBAUM, F. (2010). Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **18**: 106–116.
- GARNIER, G., DEBRAUX, G., BEZANGER-BEAUQUESNE, L. (1961). Ressources Medicinales de la Flore Française, Vigot Freres Editeurs, Paris, 1156–1158.
- GONZALEZ, J.A., GARCIA-BARRIUSO, M., GORDALIZA, M., AMICH, F. (2011). Traditional plant-based remedies to control insect vectors of disease in the Arribes del Duero (western Spain): An ethnobotanical study. *Journal Of Ethnopharmacology*, **138**: 595–601.
- GRAY, C.A., RIVETT, D.E.A., DAVIES-COLEMAN, M.T. (2003). The absolute stereochemistry of a diterpene from *Ballota aucheri*. *Phytochemistry*, **63**: 409–413.
- GRUENWALD, J., BRENDLER, T., JAENICKE, C. (1998). PDR for Herbal Medicines. Montvale, New Jersey: Medical Economics Company.
- GUNTHER, R.T. (1959). The Greek Herbal of Dioscorides. New York: Hafner Publishing Co.

- GÜNER, A. (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler), Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları, Flora Dizisi 1. İstanbul, s.: 548–550.
- GÜRSOY, N., TEPE, B. (2009). Determination of the Antimicrobial and Antioxidative Properties and Total Phenolics of Two “Endemic” *Lamiaceae* Species from Turkey: *Ballota rotundifolia* L. and *Teucrium chamaedrys* C. Koch. *Plant Foods for Human Nutrition*, **64**: 135–140.
- HAQ, R., FAROOQ, U., WAHAB, A., RAZA, M., AHMAD, V.U., KHAN, R.A. (2011). Investigation of antitussive and toxicological activity of *Ballota limbata* in mice. *Pharmaceutical Biology*, **49**: 627–632.
- HARBORNE, J.B., BAXTER, H., (1993). *Phytochemical Dictionary, A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. London: Taylor and Francis.
- HASHEM, M. (2011). Antifungal properties of crude extracts of five Egyptian medicinal plants against dermatophytes and emerging fungi. *Mycopathologia*, **172**: 37–46.
- HATAMNEIA, A.A., KHAYAMI, M., MAHMUDZADEH, A., SARGHEIN, S.H., HEIDARIH, M. (2008). Comparative Anatomical Studies of Some Genera of *Lamiaceae* Family in West Azarbaijan in Iran. *Botany Research Journal*, **1**: 63–67.
- HERSEL, U., STECK, M., SEIFERT, K. (2000). A new route to 2,7- and 7-functionalized labdanes. *European Journal of Organic Chemistry*, **8**: 1609–1615.
- HOFFMANN, D. (1990). *The New Holistic Herbal*. Shaftesbury, Dorset.
- HOUSTI, F., ANDARY, C., GARGADENNEC, A., AMSSA, M. (2002). Effects of wounding and salicylic acid on hydroxycinnamoylmalic acids in *Thunbergia alata*, *Plant Physiology and Biochemistry*, **40**: 761–769.
- HUSSEIN, A.A., JIMENO, M.L., RODRIGUEZ, B. (2007). Structural and spectral assignment of a new diterpenoid isolated from *Ballota undulata* and a complete ¹H and ¹³C NMR data assignment for three other structurally related compounds. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **45**: 899–901.
- ISHITSUKA, H., NINOMIYA, Y., SUHARA, Y. (1986). Molecular basis of drug resistance to new anti rhinovirus agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **18**: 11–18.
- JAMZAD, M., RUSTAIYAN, A., JAMZAD, Z., MASOUDI, S. (2011). Essential oil composition of *Salvia indica* L., *Thymus caucasicus* wind. Ex *ronniger* subsp. *grossheimii* (ronniger) jalas. and *Ballota nigra* L. Three *Labiatae* species from Iran. *Journal Of Essential Oil-Bearing Plants*, **14**: 76–83.
- JIMENEZ, C., RIGUERA, R. (1994). Phenylethanoid glycosides in plants: structure and biological activity. *Natural Product Reports*, **11**: 591–606.
- KAMBOJ, A., SALUJA, A.K. (2011). Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *Ageratum conyzoides* (*Asteraceae*). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **3**: 94–96.

- KAZEMIZADEH, Z., AMINI, T. (2009). Volatile constituents of *Ballota nigra* L. subsp. *anatolica* P. H. Davis, growing in Mazandaran Province. *Journal of Medicinal Plants*, **8**: 33–36.
- KAZEMIZADEH, Z., AMINI, T., NAZARI, F., HABIBI, Z. (2009). Volatile constituents of *Ballota nigra* subsp. *anatolica* from Iran. *Chemistry of Natural Compounds*, **45**: 737–738.
- KHALIL, A., DABABNEH, B.F., AL-GABBIESH, A. (2009). Antimicrobial activity against pathogenic microorganisms by extracts from herbal Jordanian plants. *Journal Of Food, Agriculture & Environment*, **7**: 103–106.
- KISIEL, W., PIOZZI, F. (1995). Tangeretin from *Ballota nigra*. *Polish Journal of Chemistry*, **69**: 476–477.
- KÜLTÜR, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli Province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, **111**: 341–364.
- LOPEZ DE LERMA, J., GARCIA-BLANCO, S., RODRIGUEZ, J.G. (1980). New compounds from *Ballota hispanica*. X-ray crystal and molecular structure of hispanonic acid methyl ester (MEAH). *Tetrahedron Letters*, **21**: 1273–1274.
- MARIN, P.D., VEITCH, N.C., GRAYER, R.J., KITE, G.C., SOKOVIC, M., JANACKOVIC, P. (2007). Flavonoids from *Phlomis fruticosa* (*Lamiaceae*) growing in Montenegro. *Biochemical Systematics and Ecology*, **35**: 462–466.
- MERİÇLİ, A.H., MERİÇLİ, F., TUZLACI, E. (1988). Flavonoids of *Ballota acetabulosa*. *Acta Pharmaceutica Turcica*, **30**: 143–144.
- METCALFE, C.R., CHALK, L. (1965). *Anatomy of the Dicotyledones*, Vol. 2. Oxford: Clarendon Press.
- MIYAZAWA, M., OKUNO, Y., NAKAMURA, S., KOSAKA, H. (2000). Antimutagenic activity of flavonoids from *Pogostemon cablin*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**: 642–647.
- MONGOLD, J. J., CAMILLIERI, S., SERRANO, J. J., TAILLADE, C., MASSE, J. P., SUSPLUGAS, P. (1991). Etude expérimentale de l'activité psychotrope de *Ballota nigra*. *Phytotherapy*, **36**: 5–11.
- MORTEZA-SEMNANI, K., SAEEDI, M., AKBARZADEH, M. (2007). The Essential Oil Composition of *Ballota nigra*. *Chemistry of Natural Compounds*, **43**: 722–723.
- MULAS, M. (2006). Traditional Uses of *Labiatae* in the Mediterranean Area. *Acta Horticulturae*, **723**: 25–32.
- NEWALL, C.A., ANDERSON, L.A., PHILIPSON, J.D. (1996). *Herbal medicines, A Guide for Health-care Professionals*. London: The Pharmaceutical Press.
- NICIFOROVIC, N., MIHAILOVIC, V., MASKOVIC, P., SOLUJIC, S., STOJKOVIC, A., PAVLOVIC MURATSPAHIC, D. (2010). Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, **48**: 3125–3130.

- NUSIER, M.K. , BATAINEH, H.N., BATAINEH, Z.M., DARADKA, H.M. (2007a). Effects of *Ballota nigra* on blood biochemical parameters and insulin in albino rats. *Neuroendocrinology Letters*, **28**: 473–476.
- NUSIER, M.K. , BATAINEH, H.N., BATAINEH, Z.M., DARADKA, H.M. (2007b). Effects of *Ballota nigra* on glucose and insulin in alloxan-diabetic albino rats. *Neuroendocrinology Letters*, **28**: 470–472.
- OSMAN, A.K. (2012). Trichome micromorphology of Egyptian *Ballota* (*Lamiaceae*) with emphasis on its systematic implication. *Pakistan Journal of Botany*, **44**: 33–46.
- ÖZBEK, H., ÇİTOĞLU, G.S., DULGER, H., UĞRAŞ, S., SEVER, B. (2004). Hepatoprotective and antiinflammatory activities of *Ballota glandulosissima*. *Journal of Ethnopharmacology*, **95**: 143–149.
- ÖZEK, T., TABANCA, N., DEMİRCİ, F., WEDGE, D.E., BAŞER, K.H.C. (2010). Enantiomeric Distribution of Some Linalool Containing Essential Oils and Their Biological Activities. *Records of Natural Products*, **4**: 180–192.
- PANDA, S., JAFRI, M., KAR, A., MEHETA, B.K. (2009). Thyroid inhibitory, antiperoxidative and hypoglycemic effects of stigmasterol isolated from *Butea monosperma*. *Fitoterapia*, **80**: 123–126.
- PARVEZ, M., RIAZ, M., MALIK, A. (2001). Eupatorin. *Acta Crystallogr., Sect. E*.
- PATZAK, A. (1958). Revision der Gattung *Ballota* Section *Ballota*. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, **62**: 57–86.
- PATZAK, A. (1959). Revision der Gattung *Ballota* Section *Ballota*. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, **63**: 33–81.
- PATZAK, A. (1961). Revision der Gattung *Ballota* Section *Ballota*. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, **64**: 42–56.
- PASCUAL-VILLALOBOS, M.J., ROBLEDO, A. (1999). Anti-insect activity of plant extracts from the wild flora in southeastern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology*, **27**: 1–10.
- PÉREZ, L., CARRASCO, L. (1992). Lack of direct correlation between p220 cleavage and the Shut-off of host translation after Poliovirus infection. *Virology*, **189**: 178–186.
- PETANIDOU, T., SMETS, E. (1996). Does temperature stress induce nectar secretion in Mediterranean plants? *New Phytologist*, **133**: 513–518.
- PIERETTI, S., DI GIANNUARIO, A., CAPASSO, A., NICOLETTI, M. (1992). Pharmacological effects of phenylpropanoid glycosides from *Orobancha hederæ*. *Phytotherapy Research*, **6**: 89–93.
- PIERONI, A. (2000). Medicinal plants and food medicines in the folk traditions of the upper Lucca Province, Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, **70**: 235–273.

- PIERONI, A., QUAVE, C., NEBEL, S., NEINRICH, M. (2002). Ethnopharmacy of the ethnic Albanians (Arbereshe) of northern Basilicata, Italy. *Fitoterapia*, **73**: 217–241.
- PIERONI, A., QUAVE, C., SANTORO, R.F. (2004). Folk pharmaceutical knowledge in the territory of the Dolomiti Lucane, inland southern Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, **95**: 373–384.
- PRIYA, G., SARAVANAN, K., RENUKA, C. (2012). Medicinal plants with potential antifertility activity- a review of sixteen years of herbal medicine research (1994–2010). *International Journal of PharmTech Research*, **4**: 481–494.
- PUHL, H., WAEG, G., ESTERBAUER, H. (1994). Methods to determine oxidation of low-density lipoproteins. *Methods in Enzymology*, **233**: 425–441.
- QAZAN, W.S. (2008a). Effects of short and long term treatment of *Ballota undulate* on female albino rats fertility and pregnancy. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **11**: 638–642.
- QAZAN, W.S. (2008b). Hypolipidaemic effects of *Ballota undulata* in Rabbits. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **11**: 1169–1172.
- QAZAN, W.S. (2009). The Effect of Low Levels of Dietary *Peganum harmala* L. and *Ballota undulata* or Their Mixture on Chicks. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **8**: 1535–1538.
- QUAVE, C.L., PLANO, L.R.W., BENNETT, B.C. (2011). Quorum Sensing Inhibitors for *Staphylococcus aureus* from Italian Medicinal Plants. *Planta Medica*, **77**: 188–195.
- RACZ-KOTILLA, G., RACZ, G., JOZSA, J. (1980). Activity of some species belonging to Labiatae on the central nervous systems of mice. *Herba Hungarica*, **19**: 49–53.
- RADWAN, H.M., EL-MISSIRY, M.M., EL-NASR, M.M. (1997). Phytochemical investigation of *Ballota undulata* Benth. *Bulletin of Faculty of Pharmacy Cairo University*, **35**: 83–86.
- RAJPUT, A.P., RAJPUT, T.A. (2012). Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from Chloroform Extract of Leaves of *Corchorus fascicularis* Lam. *International Journal of Biological Chemistry*, **6**: 130–135.
- RIAZ, M., KROHN, K., MALIK, A., FLOERKE, U. (2004). Limbetazulone: a new “decahydro-8-oxonaphtho[2,1-f]azulen-7-one” diterpenoid from *Ballota limbeta*, and occurrence of two conformational isomers in the crystal. *Chemistry & Biodiversity*, **1**: 458–462.
- RODRIGUEZ, B., SAVONA, G., PIOZZI, F. (1979). Two new unusual diterpenoids from *Ballota hispanica*. *Journal of Organic Chemistry*, **44**: 2219–2221.
- RUBERTO, G., BARATTA, M.T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, **69**: 167–174.

- RUSTAIYAN, A., MASOUDI, S.B., AMERI, N.B., SAMIEE, K.C., MONFARED, A. (2006). Volatile constituents of *Ballota aucheri* Boiss., *Stachys benthamiana* Boiss. and *Perovskia abrotanoides* Karel. growing wild in Iran. *Journal of Essential Oil Research*, **18**: 218–221.
- RUSTAIYAN, A., MOSSLEMIN-KUPAII, M.H., PAPASTERGIOU, F., JAKUPOVIC, J. (1995). Persianone, a dimeric diterpene from *Ballota aucheri*. *Phytochemistry*, **40**: 875–879.
- RUSTAIYAN, A., MOSSLEMIN-KUPAII, M.H., ZDERO, C. (1992). Furolabdanes and related compounds from *Ballota aucheri*. *Phytochemistry*, **31**: 344–346.
- SAHPAZ, S., SKALTSOUNIS, A.L., BAILLEUL, F. (2002). Polyphenols from *Ballota acetabulosa*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **30**: 601–604.
- SALMAN, M., MUĞLALI, Ö.H., GÜLBAHAR, M.Y., ÖZDENER, Y., SELÇUK, Z. (2012). The effects of the seeds of *Galeopsis ladanum* on fattening performance in quails and occurrence of rhabdomyolysis in rats. *African Journal of Biotechnology*, **11**: 14236–14241.
- SARAÇ, N., UĞUR, A. (2007). Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some *Lamiaceae* species growing in Muğla, Turkey. *EurAsian Journal of BioSciences*, **4**: 28–37.
- SATHIYAMOORTHY, P., LUGASI-EVGI, H., SCHLESINGER, P., KEDAR, I., GOPAS, J., POLLACK, Y., GOLAN-GOLDHIRSH, A. (1999). Screening for cytotoxic and antimalarial activities in desert plants of the Negev and Bedouin market plant products. *Pharmaceutical Biology*, **37**: 188–195.
- SATHIYAMOORTHY, P., LUGASI-EVGI, H., VAN-DAMME, P., ABU-RABIA, A., GOPAS, J., GOLAN-GOLDHIRSH, A. (1997). Larvicidal activity in desert plants of the Negev and Bedouin market plant products. *International Journal of Pharmacognosy*, **35**: 265–273.
- SAVONA, G., BRUNO, M., PIOZZI, F., BARBAGALLO, C. (1982). Diterpenes from *Ballota* species. *Phytochemistry*, **21**: 2132–2133.
- SAVONA, G., PIOZZI, F., HANSON, J.R. (1978a). 13-hydroxyballonigrinolide, a new diterpenoid from *Ballota lanata*. *Phytochemistry*, **17**: 2132–2133.
- SAVONA, G., PIOZZI, F., HANSON, J.R., SIVERNS, M. (1976a). Structure of ballotinone, a diterpenoid from *Ballota nigra*. *Journal of the Chemical Society, Perkin 1*, **15**: 1607–1609.
- SAVONA, G., PIOZZI, F., HANSON, J.R., SIVERNS, M. (1976b). New diterpenoids from species of genus *Ballota*. *Chimica e l'Industria*, **58**: 378.
- SAVONA, G., PIOZZI, F., HANSON, J.R., SIVERNS, M. (1977a). Structures of three new diterpenoids from *Ballota* species. *Journal of the Chemical Society, Perkin 1*, **3**: 322–324.

- SAVONA, G., PIOZZI, F., HANSON, J.R., SIVERNS, M. (1977b). The structure of ballotenol, a new diterpenoid from *Ballota nigra*. *Journal of the Chemical Society, Perkin 1*, **5**: 497–499.
- SAVONA, G., PIOZZI, F., HANSON, J.R., SIVERNS, M. (1978b). 18-Hydroxyballonigrin, a new diterpenoid from *Ballota acetobulosa*. *Journal of the Chemical Society, Perkin 1*, **10**: 1271–1272.
- SCOTT, G., SPRINGFIELD, E.P., COLDREY, N. (2004). A Pharmacognostical Study of 26 South African Plant Species Used as Traditional Medicines. *Pharmaceutical Biology*, **42**: 186–213.
- SEIDEL, V., BAILLEUL, F., LIBOT, F., TILLEQUIN, F. (1997). A phenylpropanoid glycoside from *Ballota nigra*. *Phytochemistry*, **44**: 691–693.
- SEIDEL, V., BAILLEUL, F., TILLEQUIN, F. (1996a). Isolation from *Ballota nigra* of 13-hydroxyballonigrinolide, a diterpene useful for the standardization of the drug. *Journal de pharmacie de Belgique*, **51**: 72–73.
- SEIDEL, V., BAILLEUL, F., TILLEQUIN, F. (1996b). Phenylpropanoid glycosides from *Ballota nigra*. *Planta Medica*, **62**: 186–187.
- SEIDEL, V., BAILLEUL, F., TILLEQUIN, F. (1999). Terpenoids and phenolics in the genus *Ballota* L. (*Lamiaceae*). *Recent Res. Devel. Phytochemistry*, **3**: 27–39.
- SEIDEL, V., VERHOLLE, M., MALARD, Y., TILLEQUIN, F., FRUCHART, J.C., DURIEZ, P., BAILLEUL, F., TEISSIER, E. (2000). Phenylpropanoids from *Ballota nigra* L. Inhibit *in vitro* LDL Peroxidation. *Phytotherapy Research*, **14**: 93–98.
- SEVER, B. (1996). *Ballota saxatilis* subsp. *saxatilis* Sieber ex J. & C. Presl üzerinde farmakognozik araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- SEVER, B. (2002). Türkiye’de yetişen *Ballota* türlerinin diterpen ve flavonoit içeriklerinin değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- SEVER YILMAZ, B., ÖZBEK, H., SALTAN ÇİTOĞLU, G. (2006). Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of *Ballota inaequidens*. *Pharmaceutical Biology*, **44**: 636–641.
- SHIVHARE, Y. (2011). Medicinal Plants as Source of Antiemetic Agents: A Review. *Asian Journal of Pharmacy and Technology*, **1**: 25–27.
- SICILIANO, T., BADER, A., VASSALLO, A., BRACA, A., MORELLI, I., PIZZA, C., DE TOMMASI, N. (2005). Secondary metabolites from *Ballota undulata* (*Lamiaceae*). *Biochemical Systematics and Ecology*, **33**: 341–351.
- STRZELECKA, H., DOBROWOLSKA, B., TWARDOWSKA, K. (1975). Anatomical investigation and preliminary phytochemical examinations of Herba galeopsidis and Herba ballotae nigrae. *Herba Polonica*, **21**: 3–16.

- TAAL, L., TAAL-VLAS, A.M. (2011). Botanical extract composition. US Patent, 7875298.
- TANKER, N., KOYUNCU, M., COŞKUN, M. (1992). Farmasötik Botanik Ders Kitabı, Ankara.
- TEZCAN, F. (2001). *Ballota* L. cinsinin revizyonu. Doktora Tezi, Gazi Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- THRING, T.S.A, WEITZ, F.M. (2006). Medicinal plant use in the Bredasdorp/Elim region of the Southern Overberg in the Western Cape Province of South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, **103**: 261–275.
- TIPIRDAMAZ, R., GÜVENÇ, A. (2004). Seed fatty acids composition of *Ballota cristata*. *Chemistry of Natural Compounds*, **40**: 291–292.
- TOLON FENERCİOĞLU, E., TUZLACI, E. (1998). Şile (İstanbul) halk hekimliğinde kullanılan bitkiler, XII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı, Ankara.
- TÓTH, E. (2009). Comparative chemical analysis of *Ballota* species, with special respect to *Ballota nigra*, our new official plant in Ph. Hg. VIII. PhD Thesis, University of Szeged Faculty of Pharmacy Department of Pharmacognosy.
- TÓTH, E., TÓTH, G., MÁTHÉ, I., BLUNDEN, G. (2007). Martynoside, forsythoside B, ladanein and 7-a-acetoxyroyleanone from *Ballota nigra* L.. *Biochemical Systematics and Ecology*, **35**: 894–897.
- TREURNICHT, F.T. (1997). An evaluation of the toxic and potential antiviral effects of some plants used by South Africans for medicinal purposes. M. Sc. Thesis, University of Stellenbosch.
- TUTIN, T.G., HEYWOOD, V.H., BURGESS, N.A., MOORE, D.M., VALENTINE, D.H., WALTERS, S.M., WEBB, D. A. (1972). *Flora Europea*, Vol. 3. Cambridge: Cambridge University Press.
- TUZLACI, E., AYMAZ, P.E. (2001). Turkish folk medicinal plants, part IV: Gönen (Balıkesir). *Fitoterapia*, **72**: 323–343.
- TUZLACI, E., TOLON, E. (2000). Folk medicinal plants of Şile (İstanbul, Turkey). *Fitoterapia*, **71**: 673–685.
- VAN WYK, B.E., VAN OUDTSHOORN, B., GERICHE, N. (2010). *Medicinal Plants of South Africa*, 2nd Ed, Briza, Pretoria, South Africa.
- VRCHOVSKÁ, V., SPILKOVÁ, J., VALENTAO, P., SOUSA, C., ANDRADE, P.B., SEABRA, R.M. (2007). Antioxidative properties and phytochemical composition of *Ballota nigra* infusion. *Food Chemistry*, **105**: 1396–1403.
- VUKOVIC, N., SUKDOLAK, S., SOLUJIC, S., NICIFOROVIC, N. (2009). Antimicrobial Activity of the Essential Oil Obtained from Roots and Chemical Composition of the Volatile Constituents from the Roots, Stems, and Leaves of *Ballota nigra* from Serbia. *Journal of Medicinal Food*, **12**: 435–441.

- VURAL, K., EZER, N., EROL, K., SAMIN, F. P. (1996). Anxiolytic and antidepressant activities of some *Ballota* species. *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University*, **13**: 29–32.
- WANG, S., GHISALBERTI, E.L., RIDSDILL-SMITH, J. (1998). Bioactive Isoflavonols and Other Components from *Trifolium subterraneum*. *Journal of Natural Products*, **61**: 508–510.
- YANG, Y., KINOSHITA, K., KOYAMA, K., TAKAHASHI, K., TAI, T., NUNOURO, Y., WATANABE, K. (1999). Anti-emetic principles of *Pogostemon cablin*. *Phytomedicine*, **6**: 89–93.
- YANG, D., MICHEL, L., CHAUMONT, J-P., MILLET-CLERC, J. (2000). Use of caryophyllene oxide as an antifungal agent in an *in vitro* experimental model of onychomycosis. *Mycopathologia*, **148**: 79–82.
- YEŞİLADA, E., HONDA, G., SEZİK, E., TABATA, M., FUJITA, T., TANAKA, T., TAKEDA, Y., TAKAISHI, Y. (1995). Traditional medicine in Turkey. V. folk medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of Ethnopharmacology*, **46**: 133–152.
- YEŞİLADA, E., HONDA, G., SEZİK, E., TABATA, M., GOTO, K., IKESHIRO, Y. (1993). Traditional medicine in Turkey IV. Folk medicine in the Mediterranean subdivision. *Journal of Ethnopharmacology*, **39**: 31–38.
- YILMAZ, B.S., ALTANLAR, N., ÇİTOĞLU, G.S. (2005). Antilisterial activity of *Ballota* species growing in Turkey, *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*, **34**: 155–164.
- YILMAZ, B.S., ÇİTOĞLU, G.S. (2003). High Performance Liquid Chromatographic Analysis of some Diterpenoids of the *Ballota* species. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, **28**: 13–17.
- ZAHIR, A., JOSSANG, A., BODO, B., PROVOST, J., COSSON, J.P., SEVENET, T. (1996). DNA topoisomerase I inhibitors: Cytotoxic flavones from *Lethedon tannaensis*. *Journal of Natural Products*, **59**: 701–703.
- ZARGARI, A. (1990). Medicinal Plants, Vol. 4. Tehran, Iran: Tehran University Publications.
- ZHANG, A., VERTOMMEN, J., GAAL, L., LEEUW, L. (1994). A rapid and simple method for measuring the susceptibility of low-density lipoprotein and very low-density lipoprotein to copper-catalyzed oxidation. *Clinica Chimica Acta*. **227**: 159–173.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Ayşe Nur
Soyadı: YAZGAN
Doğum Yeri: BOLU
Doğum Tarihi: 20.10.1988
Medeni Hal: Bekâr
Adres: Yukarı Bahçelievler Mah. 4. Cad. 123/8 Çankaya/ANKARA
Telefon: 0 312 203 30 97

II- Eğitim

- Yüksek Lisans: **Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 2010-**
- Lisans: **Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 2010**
- Lise: **Bolu Fen Lisesi, 2005**
- İlköğretim: **Özel Gürtan İlköğretim Okulu, 2002**

III- Ünvanları

Eczacı

IV- Yabancı Dil

İngilizce

V- Mesleki Deneyimi

Mart 2011'den bu yana Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi A.B.D. de Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.

VI- Bilimsel Etkinlikleri

Posterler:

26–29 Haziran 2012, 10. ISOPS (International Symposium on Pharmaceutical Sciences), Ankara.

“Total Phenol and Flavonoid Content and Radical Scavenging Capacity of Some Turkish *Viburnum* Species” Özçelik, H., Çoban, T., Özbilgin, S., Yazgan, A.N., Sever Yılmaz, B., Altun, M.L., Saltan, G.

Seminerler:

Hedera helix (L.) Bitkisinin Biyolojik Etkileri (2012)