



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

***Trachystemon orientalis* TOPRAK ALTI
KISIMLARINDA FİTOKİMYASAL VE
BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Ayşe Nur KOZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN

TRABZON-2024

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak yapıldığını ve yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

05.04.2024
Ayşe Nur KOZ

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince bilgi, birikim ve tecrübeleriyle her zaman bana destek olan danışman hocam Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN'e,

Yüksek lisans eğitim sürecim boyunca emeği geçen tüm hocalarıma,

Tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Uzm. Tuğba SUBAŞ, Dr. Öğr. Üyesi Merve BADEM ve Dr. Öğr. Üyesi Şeyda KANBOLAT'a,

Yüksek lisans tez çalışmamı THD-2023-10793 proje koduyla destekleyen Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Koordinasyon Birimi'ne

Yüksek lisans tezime katkıda bulunan Prof. Dr. İhsan ÇALIŞ'a ve Öğr. Gör. Adem DEMİR'e,

Manevi desteklerini esirgemeyen ve çalışmalarım boyunca yanımda olan değerli ailem; babam Yusuf KOZ, annem Oya KOZ ve kardeşim Fatih Mehmet KOZ'a,

Teşekkürü bir borç bilirim.

Ayşe Nur KOZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK SAYFASI

ONAY

BEYAN

İthaf

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER

vi

TABLolar DİZİNİ

viii

ŞEKİLLER DİZİNİ

ix

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

xi

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

xii

ÖZET

xiii

ABSTRACT

xiv

1. GİRİŞ ve AMAÇ

1

2. GENEL BİLGİLER

2

2.1. Botanik Bilgiler

2

2.1.1. Boraginaceae Familyasının Genel Özellikler

2

2.1.2. *Trachystemon* Cinsinin Genel Özellikleri

2

2.1.3. *Tracystemon orientalis* G. Don'ın Botanik Özellikleri

3

2.1.4. Bitkinin Sistematikteki Yeri

5

2.1.5. Halk Arasında Kullanılışı

5

2.2. Boraginaceae Familyası Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

6

2.3. Boraginaceae Familyası Türleri Üzerinde Yapılan Biyolojik Aktivite

7

Çalışmaları

2.4. *Trachystemon orientalis* Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

7

2.5. *Trachystemon orientalis* Üzerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları

8

3. GEREÇ ve YÖNTEM

9

3.1. Bitki Materyali

9

3.2. Kullanılan Materyal, Alet ve Yöntemler

9

3.2.1. Çözücüler

9

3.2.2. Kimyasal Katı Maddeler

9

3.2.3. Belirteçler	9
3.2.4. Adsorbanlar	9
3.2.5. Çözücü Sistemleri	10
3.2.6. Aletler ve Cihazlar	11
3.3. İzolasyon Çalışmalarında Kullanılan Kromatografik Yöntemler	11
3.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	11
3.3.2. Kullanılan Kolonların Hazırlanması	11
3.3.2.1. Normal Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi	11
3.3.2.2. Sefadeks Kolon Kromatografisi	12
3.3.2.3. Ters Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi	12
3.3.3. Numunenin Kolona Tatbik Edilmesi	12
3.3.3.1. Çözücü Kullanılarak Tatbik	12
3.3.3.2. Kuru Tatbik	12
3.4. Ekstraksiyon	12
3.5. İzolasyon Çalışmaları	13
3.5.1. Kloroform Alt Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları	13
3.5.2. Etil Asetat Alt Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları	13
3.5.3. Arta Kalan Su Alt Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları	13
3.6. Antioksidan Aktivite	15
3.6.1. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Tayini	15
3.6.2. Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini	15
3.7. Pankreatik Lipaz Enzim İnhibisyonu	15
4. BULGULAR	16
4.1. Rosmarinik Asit	16
4.2. Danshensu	21
4.3. Globoidnan B	29
4.4. Rabdosiin	37
4.5. FRAP ve CUPRAC Tayini Sonuçları	46
4.6. Pankreatik Lipaz Enzim İnhibisyonu Sonuçları	48
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	51
6. KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	61

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
Tablo 1.	Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar	9
Tablo 2.	Kromatografik çalışmalarda kullanılan çözücü sistemleri	10
Tablo 3.	Kromatografi ve biyolojik aktivite çalışmalarda kullanılan aletler ve cihazlar	11
Tablo 4.	Rosmarinik asit ¹ H-NMR (CD ₃ OD, 400 MHz) spektral değerleri	16
Tablo 5.	Rosmarinik asit ¹³ C-NMR (CD ₃ OD, 100 MHz) spektral değerleri	17
Tablo 6.	Danshensu ¹ H-NMR (CD ₃ OD, 400 MHz) spektral değerleri	21
Tablo 7.	Danshensu ¹³ C-NMR (CD ₃ OD, 100 MHz) spektral değerleri	22
Tablo 8.	Globoidnan B ¹ H-NMR (CD ₃ OD, 400 MHz) spektral değerleri	29
Tablo 9.	Globoidnan B ¹³ C-NMR (CD ₃ OD, 100 MHz) spektral değerleri	30
Tablo 10.	Rabdosiin ¹ H-NMR (CD ₃ OD, 400 MHz) spektral değerleri	37
Tablo 11.	Rabdosiin ¹³ C-NMR (CD ₃ OD, 100 MHz) spektral değerleri	38
Tablo 12.	<i>T. orientalis</i> 'e ait ekstraktların ve izole edilen bileşiklerin antioksidan aktivite tayini sonuçları	46
Tablo 13.	<i>T. orientalis</i> 'e ait ekstraktların ve izole edilen bileşiklerin pankreatik lipaz enzim inhibisyonu sonuçları	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Türkiye’de <i>T. orientalis</i> ’in yaygın bulunduğu bölgeler	4
Şekil 2.	<i>T. orientalis</i> üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	14
Şekil 3.	Rosmarinik asit ($C_{18}H_{16}O_8$, 360 g/mol)	16
Şekil 4.	Rosmarinik asit 1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)	18
Şekil 5.	Rosmarinik asit ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)	19
Şekil 6.	Rosmarinik asit kütle spektrumu	20
Şekil 7.	Danshensu ($C_9H_{10}O_5$, 198 g/mol)	21
Şekil 8.	Danshensu 1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)	23
Şekil 9.	Danshensu ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)	24
Şekil 10.	Danshensu COSY spektrumu	25
Şekil 11.	Danshensu HMBC spektrumu	26
Şekil 12.	Danshensu HSQC spektrumu	27
Şekil 13.	Danshensu kütle spektrumu	28
Şekil 14.	Globoidnan B ($C_{27}H_{22}O_{12}$, 538 g/mol)	29
Şekil 15.	Globoidnan B 1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)	31
Şekil 16.	Globoidnan B ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)	32
Şekil 17.	Globoidnan B COSY spektrumu	33
Şekil 18.	Globoidnan B HMBC spektrumu	34
Şekil 19.	Globoidnan B HSQC spektrumu	35
Şekil 20.	Globoidnan B kütle spektrumu	36
Şekil 21.	Rabdosiin ($C_{36}H_{30}O_{16}$, 718 g/mol)	37
Şekil 22.	Rabdosiin 1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)	40
Şekil 23.	Rabdosiin ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)	41
Şekil 24.	Rabdosiin COSY spektrumu	42
Şekil 25.	Rabdosiin HMBC spektrumu	43
Şekil 26.	Rabdosiin HSQC spektrumu	44
Şekil 27.	Rabdosiin kütle spektrumu	45
Şekil 28.	CUPRAC tayininde kullanılan Troloks’a ait kalibrasyon grafiği	47
Şekil 29.	<i>T. orientalis</i> türüne ait ekstrelerin ve izole edilen bileşiklerin CUPRAC tayini sonuçlarının karşılaştırılması	47

Şekil 30.	FRAP tayininde kullanılan Troloks'a ait kalibrasyon grafiği	48
Şekil 31.	<i>T. orientalis</i> türüne ait ekstrelerin ve izole edilen bileşiklerin FRAP tayini sonuçlarının karşılaştırılması	48
Şekil 32.	Pankreatik lipaz enzim inhibisyonu ile ilgili grafikler	50



FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Fotoğraf No		Sayfa
Fotoğraf 1.	<i>T. orientalis</i> 'in genel görünümü	4
Fotoğraf 2.	<i>T. orientalis</i> 'in toprak altı kısımları	5



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

bd	Broad dublet
d	Dublet
dd	Dublet dublet
cm	Santimetre
^{13}C -NMR	^{13}C -Nükleer Manyetik Rezonans
CD_3OD	Dötero Metanol
CHCl_3	Kloroform
COSY	Correlation Spectroscopy
CUPRAC	Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Tayini
EtOAc	Etil Asetat
FDA	Food and Drug Admisnistration
FRAP	Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç Tayini
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
^1H -NMR	^1H -Nükleer Manyetik Rezonans
Hz	Hertz
g	Gram
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
KATO	Karadeniz Teknik Üniversitesi Orman Fakültesi Herbaryumu
MHz	Megahertz
MeOH	Metanol
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
μm	Mikrometre
SFK	Sefadeks Kolon Kromatografisi
SK	Normal Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi
TEAC	Troloks Eşdeğerliği Antioksidan Kapasite Yöntemi
TF-SK	Ters Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi
UV	Ultraviole

ÖZET

***Trachystemon orientalis* Toprak Altı Kısımlarında Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları**

Halk arasında “Kaldırak, Kaldırayak, Hodan, Ispıt, Kaldırık, Kaldirik, Tamara, Zılbit Balıkotu, Acı Hodan ve Doğu Hodanı” isimleri ile bilinen ve Türkiye’de *Trachystemon* cinsine (Boraginaceae) ait tek tür olan *Trachystemon orientalis*, ülkemizde bazı yörelerde gıda ve tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır. *T. orientalis*’in antiviral, antioksidan, antimikrobiyal, antidiyabetik, antitumör ve herbisidal aktivite gösterdiği yürütülen çalışmalarda kanıtlanmıştır.

Bu çalışmada, izolasyon çalışmaları çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak *T. orientalis*’in toprak altı kısımlarının metanol ekstresinden hazırlanan alt ekstratlar (kloroform, etil asetat ve arta kalan su) üzerinde yürütülmüştür. *T. orientalis* ekstratlarından izole edilen bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR (COSY, HMQC, HMBC) ve MS yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır. *T. orientalis*’in toprak altı kısımlarından rosmarinik asit, danshensu, globoidin B ve rabdosin olmak üzere 4 bileşik izole edilmiştir.

T. orientalis’in toprak altı kısımlarından elde edilen ekstratlar ve izole edilen bileşikler üzerinde biyolojik aktivite (antioksidan ve lipaz inhibitör aktivite) çalışmaları yapılmıştır. Antioksidan aktivitesi belirlemek için FRAP ve CUPRAC yöntemleri kullanılmıştır. Pankreatik lipaz inhibisyonu *in vitro* spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. FRAP ve CUPRAC analizlerinde ekstratlar arasında etil asetat alt ekstresi en yüksek antioksidan aktiviteyi sergilemiştir. Pankreatik lipaz enzim inhibisyonu çalışmaları, arta kalan su alt ekstresinin en yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. FRAP ve CUPRAC analizlerinde izole edilen bileşikler arasında rosmarinik asit en yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Pankreatik lipaz enzim inhibisyonu çalışmalarının sonucuna göre rosmarinik asidin en yüksek aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Sonuçta, *T. orientalis*’in toprak altı kısımlarının ve izole edilen bileşiklerinin yüksek antioksidan kapasitesi ve pankreatik lipaz inhibitör aktivitesi nedeniyle obezite tedavisinde umut verici bir doğal ürün olabilir.

Anahtar Sözcükler: Antioksidan, Boraginaceae, Fitokimya, Saflaştırma, *Trachystemon orientalis*

ABSTRACT

Phytochemical and Biological Activity Studies on the Underground Parts of *Trachystemon orientalis*

Trachystemon orientalis (Boraginaceae), which is the only species of *Trachystemon* genus in Türkiye, known by the names of "Kaldırak, Kaldırayak, Borage, Ispıt, Kaldirik, Kaldirik, Tamara, Zılbit Balıkotu, Acı Hodan and Doğu Hodanı" has been used as a medicinal plant. It has been proven in studies that the *T. orientalis* shows antiviral, antioxidant, antimicrobial, antidiabetic, antimutagenic, and herbicidal activities.

In this study, isolation studies were carried out on subextracts (the chloroform, ethyl acetate and remaining aqueous) prepared from the methanol extract of the underground parts of *T. orientalis* using various chromatographic methods. The structures of the compounds isolated from *T. orientalis* extracts were elucidated using ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR (COSY, HMQC, HMBC) and MS methods. Four compounds, including rosmarinic acid, danshensu, globoidnan B and radosiin, were isolated from the underground parts of *T. orientalis*.

The biological activity (antioxidant and lipase inhibitor activity) studies were conducted on the extracts and isolated compounds obtained from the underground parts of *T. orientalis*. FRAP and CUPRAC assays were used to determine antioxidant activity. Pancreatic lipase inhibition was determined by *in vitro* spectrophotometric method. In FRAP and CUPRAC assays, the ethyl acetate subextract exhibited the highest antioxidant activity among the extracts. Pancreatic lipase enzyme inhibition studies showed that the remaining aqueous subextract had the highest activity. Among the isolated compounds in FRAP and CUPRAC assays, rosmarinic acid showed the highest antioxidant activity. According to the results of pancreatic lipase enzyme inhibition studies, rosmarinic acid was found to have the highest activity. In conclusion, *T. orientalis* may be a promising natural product for the treatment of obesity owing to the high antioxidant capacity and pancreatic lipase inhibitory activity of its underground parts and isolated compounds.

Keywords: Antioxidant, Boraginaceae, Phytochemistry, Purification, *Trachystemon orientalis*

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Trachystemon orientalis Boraginaceae familyasına ait bir türdür. Bu tür Türkiye (Karadeniz Bölgesi), Doğu Bulgaristan ve Batı Kafkasya'da yetişmektedir (1). *Trachystemon* D. Don cinsini Türkiye'de temsil eden tek tür *T. orientalis*'tir (2).

T. orientalis ülkemizde "Balıkotu, Kaldirik, Kalduruk, Ispıt" gibi farklı yöresel isimlerle adlandırılmaktadır ve Karadeniz bölgesinde bitkinin çiçekli, tomurcuklu gövdeleri ve yaprakları sebze; kök ve petiollerinden turşu yapılarak tüketilmektedir (2).

T. orientalis tüylü, mavi-kırmızı çiçekli, 30-40 cm boyunda, rizumlu, çok yıllık otsu bir bitkidir (3).

Bu tür, tanen, uçucu yağ, müsilaj, saponin, nitrat tuzları, fenolik bileşikler, rezin, antosiyanınler ve flavonoit içermektedir ve tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır (4,5).

Halk arasında diüretik, ekspektoran, mukolitik, südofirik, sindirim kolaylaştırıcı ve depresyona karşı kullanılmaktadır (3,6). Ayrıca boğaz-bademcik iltihabı içinde faydalı olduğu düşünülmektedir. Özellikle sigara içenler için iyi bir balgam söktürücüdür (7). Bunun yanında bazı doku ekstrelerinin antimikrobiyal, antimitojenik ve antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmektedir (8).

T. orientalis benzer anatomik ve morfolojik yapısı nedeniyle *Borago officinalis* türü ile sık sık karıştırılmaktadır. Yapılan anatomik ve morfolojik araştırmalarla bitki türlerinin ayrımı net bir şekilde yapılabilmektedir (9).

T. orientalis'in toprak altı kısımları üzerinde sekonder metabolitlerinin izolasyonuna yönelik daha önce yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, bitkinin toprak altı kısımlarından hazırlanan farklı polaritedeki ekstrelerinden ana sekonder metabolitlerin izole edilmesi, yapı tayini ile ekstreler ve saf bileşiklerin antioksidan ve pankreatik lipaz enzim inhibitör aktivitelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda *T. orientalis*'in toprak altı kısmının halk arasında kullanımı bilimsel çalışmalarla açıklanmak istenmiştir. Saflaştırılan bileşikler içinde rosmarinik asit bulunmaktadır. Rosmarinik asidin pankreatik lipaz enzim inhibitör aktivitesi bulunduğu kayıtlıdır. Bu sebeple metanol ekstresi, alt ekstreler (kloroform alt ekstresi, etil asetat alt ekstresi ve arta kalan su alt ekstresi) ve izole edilen bileşikler (rosmarinik asit, danshensu, globoidnan B ve rabsosidin) üzerinde pankreatik lipaz enzim inhibisyon çalışmaları yapılmasına karar verilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Boraginaceae Familyasının Genel Özellikler

Dünyanın kuzey ve güney kesimlerinin ılıman ve subtropikal bölgelerde yayılmış olan bu familya; yıllık, iki yıllık veya çok yıllık bitkiler, nadiren çalı, ağaçsı ve nadiren tırmanıcı türler içermektedir (1,10). Ülkemizde Boraginaceae familyası 34 cins, 325 tür, 16 alttür, 16 varyete olmak üzere 357 takson içermektedir. Endemizm oranı % 42.2'dir. Boraginaceae familyasında bulunan en fazla tür taşıyan cinsler şunlardır: *Onosma* (100 takson; yaklaşık %50 endemizm), *Alkanna* (41 takson; %76 endemizm), *Paracaryum* (31 takson; yaklaşık %60 endemizm), *Myosotis* (27 takson, %8 endemizm), *Symphytum* (23 takson; yaklaşık %45 endemizm), *Nonea* (21 takson; yaklaşık %30 endemizm) (11).

Boraginaceae familyası çiçekleri genellikle beyaz, mavi, pembe ya da sarı renktedir ve çoğunlukla böcekler ile tozlaşmaktadır (12). Yapraklar basit, almasıık, stipulasız ve genellikle sık tüy örtüsüne sahiptir. Çiçek durumu kimoiz, skorpiz kimoiz veya helizoid kimoiz şeklinde ya da çiçek durumu nadiren tirsustur. Kaliks birleşik, 5 loblu (nadiren 9 loblu veya düzensiz dişli), sıklıkla çiçek açtıktan sonra büyümeye devam eder. Korolla 5 loblu, aktinomorf veya nadiren zigomorf, genellikle belirgin tüplü ve üst kısmı derin lobludur. Korollanın boğaz kısmında çoğunlukla 5 uzantı veya püskül ya da tüylerden oluşan bir bölge bulunmaktadır veya pürüzsüz ve tüysüzdür. Stamen 5 adet, taç yaprağı yapışık ve korolla loblarıyla almasııktık. Ovaryum üst durumlu, 4 (nadiren 2) odacıklı; stilus ginobazik, çok nadiren terminal, genellikle bölünmemiş, stigma bütün veya 2(-4) lobludur. Meyveler genellikle 4 fındıkçık, körelme nedeniyle nadiren daha az sayıda, mantarimsı 2 merikarp veya bir drupa; nutletler düz ile piramitsi arasında değişen çiçeğin dışı üreme organlarını taşıyan tablanın uzantısı üzerinde meydana gelir (13).

Boraginaceae familyasından bitkiler geleneksel olarak ateş, astım, böbrek taşları ve yara iyileşmesinin tedavisinde ve diüretik olarak kullanılmaktadır (14).

2.1.2. *Trachystemon* D. Don Cinsinin Genel Özellikleri

Trachystemon cinsi monotipik olup bu cinse ait tek türün *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don olduğu bilinmektedir (15).

Çok yıllık, dayanıklı, seyrek dikenli, sağlam rizomları olan bitkilerdir. Çiçek durumu seyrek ve panikula şeklinde olup çiçekleri başını eğerek açar. Kaliks fincan şeklinde, 5

parçalı, meyveye geçtiğinde bir miktar daha büyür. Korolla morumsu-mavi, huni şeklindedir ve 5 doğrusal loba ayrılmıştır. Bu 5 lobdan 2'si pulsu, altta ince tüylü, üst kısmı papillozdur. 5 stamene sahiptir. Filamentler pembe, tabanda tüylü, korolla tüpünün ortasına tutunmuştur. Fındıksı meyveler tabanda halkalıdır (13).

2.1.3. *T. orientalis* (L.) G. Don'ın Botanik Özellikleri

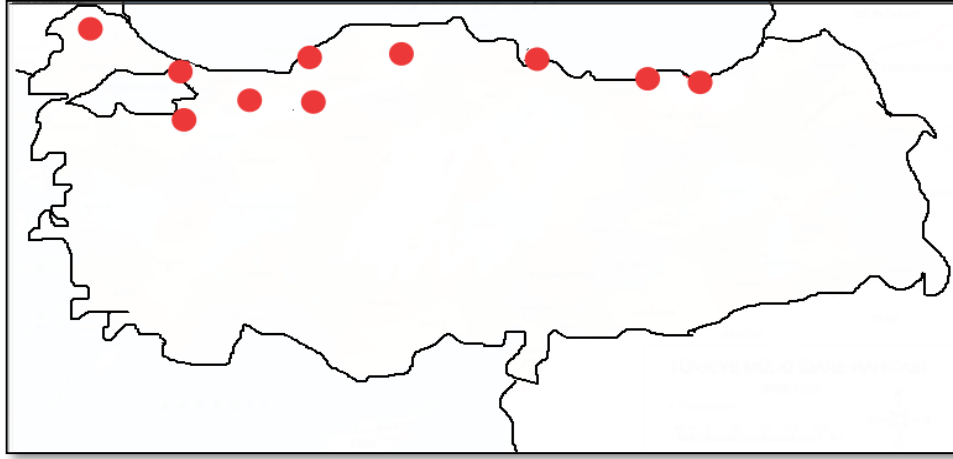
Sinonimleri: *T. orientalis* D. Don, *Nordmannia cordifolia* Ledeb. ex Nordm., *Psilostemon orientalis* DC., *Daphnopsis cordifolia* C.H.Wright & Dewar, *Borago constantinopolitana* Hill, *Borago cordifolia* Moench, *Borago inflata* Salisb. ve *Borago orientalis* L. (16).

Gövdesi 60 cm'ye kadar uzanan, dik, az-çok dallanmış çok yıllık otsu rizomlu bir bitkidir. Yapraklar seyrek hispit, sapı 10-25 cm uzunluğunda; taban yaprakları ovat-kordat, akuminat ve 20×18 cm boyutlarında; gövde yaprakları panduriform, sapsız ve amplexikauldur. Brakteler eliptik-lanseolattan oblanseolata kadar değişen şekilde sapsız ve akuttur. Kaliks çiçekli durumdayken 3-4 mm, meyvede ise 7 mm, lobları triangular, obtus ve hispittir. Korollası 4-6 mm morumsu-mavi, lobları 6-8 mm; üst kısmı beyaz pullu, çok kısa, küt ve emarginattır. Anterler ve stilus dışarı uzamıştır. Küçük fındıksı meyve eğik ovoit, omurgalı, rugoz-retikülattır. Çiçeklenme dönemi mart-mayıs aylarıdır (13).

T. orientalis'in genel görünümü ve toprak altı kısımları Fotoğraf 1 ve 2'de verilmiştir.

T. orientalis nemli, gölgeli, dere kenarlarında ve ormanlık alanlarda, 50-1000 m yüksekliklerde yetişmektedir (13). *T. orientalis* çiçekli bir tür olmasına rağmen, rizomları üreme organı olarak kullanılmaktadır. Tür, ışık yoğunluğunun az olduğu habitatlarda bulunmakta ve bu nedenle yeterli miktarda tohum üretememektedir (3).

Türkiye'de, *Trachystemon* cinsi tek tür ile (*T. orientalis*) temsil edilmektedir. Bu bitki türü Türkiye'de Karadeniz Bölgesi'nde yoğun bir dağılım göstermekle birlikte Marmara Bölgesi'nde de bulunmaktadır (2). Şekil 1'de Türkiye'de *T. orientalis*'in yaygın bulunduğu bölgeler gösterilmiştir.



Şekil 1. Türkiye’de *T. orientalis*’in yaygın bulunduğu bölgeler



Fotoğraf 1. *T. orientalis*’in genel görünümü



Fotoğraf 2. *T. orientalis*'in toprak altı kısımları

2.1.4. Bitkinin Sistematikteki Yeri

T. orientalis'in bitki sınıflandırmasındaki yeri aşağıdaki gibidir (17).

- Alem : Plantae
- Bölüm : Tracheophyta
- Sınıf : Magnoliopsida
- Takım : Boraginales
- Familya : Boraginaceae
- Cins : *Trachystemon*
- Tür : *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don

2.1.5. Halk Arasında Kullanılışı

Ülkemizde *T. orientalis* değişik yöresel isimlerle bilinmektedir. Trabzon'da Tamara; Bolu'da Hodan, Galirek, Kaldırık ve Kalduruk; Artvin'de Burği; Ereğli ve Zonguldak'ta Zılbit olarak ifade edilmektedir (18). Kaldırayak, Ispıt, Kaldirik, Balıkotu, Acı Hodan ve Doğu Hodanı isimleri de halk arasında kullanılmaktadır (19).

Türkiye'de Karadeniz Bölgesi'nde bitkinin çiçek, tomurcuklu gövdeleri ve yaprakları ayrı ayrı ya da birlikte sebze olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Kaldırık bitkisinin taze yaprakları ile yumurtalı kaldırık kavurması, dövülmüş ceviz veya fasulye ile yemeği yapılmaktadır. Yapraklarından mısır yarması ile sarma, cacık; yaprak saplarından turşu yapılmaktadır (20).

Bu tür, ülkemizde bazı yörelerde halk ilacı olarak kullanılmaktadır. *T. orientalis* diüretik, ekspektoran, südorifik olarak ve depresyona karşı kullanıldığı bilinmektedir (21). Gövdesinin sindirim sistemi, köklerinin de inflamasyona karşı kullanıldığı kayıtlıdır (22). Taze köklerden hazırlanan dekoksasyonun, romatizma tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (23). 'Isırgan' (*Urtica dioica*; kökler), 'böğürtlen' (*Rubus sanctus*; kökler), 'merocan' (*Smilax excelsa*; kökler) ve 'kaldirik' (*T. orientalis*; kökler) içeren karışımın dekoksyonu ile elde edilen çay, meme kanseri, mide ağrısı ve mide şişkinliğini tedavi etmek üzere dahilen kullanımı kayıtlıdır (24).

2.2. Boraginaceae Familyası Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Dünyada Boraginaceae familyasının 154 cins ve 2500 tür bulunduğu; ülkemizde ise 34 cins, 325 tür, 16 alttür, 16 varyete olmak üzere toplam 357 takson ile temsil edildiği kayıtlıdır (11).

Boraginaceae familyasına ait türlerde sekonder metabolitler olarak alkaloitler (özellikle pirolizidin alkaloitleri), flavonoidler, naftokinonlar (alkannin/shikonin ve/veya onların türevleri), fenolik asitler (rosmarinik, ferulik, protokateşik, klorojenik, kafeik, *p*-kumarik asit), polifenoller, fitosteroller, hidrokarbon, aromatikler, yağ asitleri ve terpenoidler bulunduğu bildirilmiştir (25,26).

Boraginaceae familyasının bitkileri pirolizidin alkaloitleri açısından zengin olduğu bilinmektedir. Bu alkaloitler, serbest nesinler (bazı heliotridin veya retronesin) veya serbest bazlar ve bunların N-oksitlerinin bir karışımı olarak bulunduğu gösterilmiştir (27).

Boraginaceae familyası türlerinde bulunan flavonoidler ile ilgili yapılan çalışmalarda flavon (örn.: apigenin, luteolin, trisetin), flavonol (galangin, kemferol, kersetin), flavanon (pinosembrin, naringenin, eriodisitol) ve bunların glikozitlerinin bulunduğu gösterilmiştir (28,29).

Boraginaceae familyasına ait bazı cinslerin (*Onosma*, *Alkanna*, *Arnebia*, *Echium*) kökleri naftakinonlar açısından zengindir. Naftakinonlar şikonin/alkanin ve türevleridir (30-32).

Rosmarinik asit, kemotaksonomik bir belirteç görevi gören Boraginaceae familyasının bitkilerinde yaygın olarak bulunur (33).

Boraginaceae familyası üzerinde yapılan çalışmalarda biyolojik aktiviteye sahip bileşiklere ve yüksek yağ asidi miktarına sahip olduğunu gösterilmiştir (34-36). Ayrıca,

türlerde γ -Linolenik asit (GLA) ve Stearidonik asit (SDA) gibi bazı ender bulunan yağ asitlerinin varlığı Boraginaceae familyasını tıbbi ve endüstriyel olarak önemli ve değerli kılmaktadır (37,38).

2.3. Boraginaceae Familyası Türleri Üzerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Boraginaceae familyasında antioksidan, antienflamatuvar, antimutajenik ve antikanser aktiviteler gibi birçok biyolojik aktivite gözlenmektedir; bu aktiviteler familyada yaygın olan fenolik ve flavonoid bileşiklerin varlığıyla ilişkilendirilmiştir (25).

Boraginaceae familyasına ait türlerin biyolojik aktivitesinin naftakinonlar, flavonoidler, terpenoidler ve fenolik bileşikler gibi çeşitli biyolojik olarak aktif bileşenler kaynaklı olduğu bildirilmiştir (39,40).

Rosmarinik asidin antienflamatuvar (lipoksijenaz, siklooksijenaz inhibisyonu), antimutajenik, antibakteriyel, antioksidan ve antiviral aktivite gibi çok sayıda biyolojik aktiviteleri bulunmaktadır. Herpes simplex'in tedavisinde rosmarinik asit içeren preparasyonlar bulunmakta ve kullanılmaktadır. Ayrıca kozmetik sektöründe cilt bakımında antioksidan ve UVB güneş ışınlarından koruyucu olarak da yaygın olarak kullanılmaktadır. Rosmarinik asidin düşük toksisite profiliyle genel olarak güvenli olduğunun kabul edildiği belirtilmelidir (33, 41).

Boraginaceae familyasının bazı cinslerinde bulunan naftakinonlar; önemli yapısal çeşitliliği ve antimikrobiyal, antiviral, antiparaziter, antioksidan, antitrombotik ve yara iyileştirme gibi geniş farmakolojik aktivite spektrumları nedeniyle ilaç endüstrisinde iyi bilinen organik bileşiklerdir (42).

Familyanın bitkilerinde bulunan pirolizidin alkaloidlerinin çoğunun pulmotoksik, hemolitik, antimitotik, teratojenik, mutajenik ve kanserojenik etki gösterdiği gösterilmiştir (27).

Boraginaceae familyasındaki bazı cinslerinin içerdiği alkannin ve shikonin bileşiklerinin antikanser, anti inflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan, antitrombotik ve yara iyileşmesi gibi biyolojik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (30).

2.4. *Trachystemon orientalis* Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

T. orientalis üzerinde yapılan literatür çalışmaları sonunda bu türlerin genotiplerine göre değişen oranlarda antosiyanin taşıdığı bildirilmiştir. Ayrıca tanen, uçucu yağ, nitrat

tuzları, müsilaj, saponin ve rezin içerdiği saptanmıştır (21). Kaldırık bitkisinin allelopatik, antiviral, antioksidan, antimikrobiyal, antifungal ve herbisidal aktivite gösterdiği yürütülen çalışmalarda belirlenmiş bu etkinin, içeriğinde bulunan fenolik bileşikler ve flavonoidlerden kaynaklandığı bulunmuştur (2,43). *T. orientalis*'in, insan diyetinde iyi biyoaktif polifenol kaynağı olarak kullanılabileceği ve yüksek konsantrasyonlarda toplam fenolik bileşikler, flavonoidler ve antosiyaninlerin yanı sıra güçlü antioksidan aktiviteleri nedeniyle besin takviyesi formülasyonları için iyi bir seçenek olabileceği gösterilmiştir (44). Ayrıca, ucuz ve kolay erişilebilir bir doğal antioksidan kaynağı olarak gıda ve kozmetik endüstrisinde, daha toksik sentetik antioksidanlara alternatif bir katkı maddesi olarak *T. orientalis* ekstresinin kullanılabileceği belirtilmiştir (45).

T. orientalis'in önemli besin maddelerine sahip olduğu, yapılan mineral analizleri sonucunda oldukça yüksek miktarda potasyum, fosfor, kalsiyum, magnezyum, sodyum, bakır, manganez ve çinko içerdiği gösterilmiştir. Aynı zamanda, içeriğinde bol miktarda C vitamini ve protein bulunmuştur (19).

2.5. *Trachystemon orientalis* Üzerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Yapılan çalışmalar sonucunda, *T. orientalis*'in birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Kaldırık bitkisinin allelopatik, antiviral, antioksidan, antimikrobiyal ve herbisidal aktivite gösterdiği yürütülen çalışmalarda kanıtlanmıştır (2). *T. orientalis* yaprağı ve gövde ekstraktlarının antidiyabetik aktivitesinin yanı sıra, potansiyel bir doğal antimikrobiyal, antimutajenik ve antioksidan kaynağı olabileceği belirlenmiştir (8). Başka bir çalışmada ise *T. orientalis*'in gövde, çiçek ve yaprak kısımlarının aseton ekstraktlarının antioksidan aktivite gösterdiği ve özellikle gövdesinin kozmetik alanında fotokoruyucu ve yaşlanma karşıtı olarak etkili olduğu ortaya konulmuştur (46). Ayrıca, *T. orientalis*'in asetilkolinesteraz inhibisyonu yapmadığı saptanmıştır (47). Yapılan bir *in vitro* çalışmada ise, rizomlarının endometriyal kanser hücreleri üzerinde antikanser etkili olduğu gösterilmiştir (48).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Trachystemon orientalis 10.05.2019'da Sümer Köyü'nden (Fındıklı/Rize) toplanmıştır ve teşhisi Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN tarafından gerçekleştirilmiştir. Herbaryum örneği KATO Herbaryumu'nda (Karadeniz Teknik Üniversitesi Orman Fakültesi) muhafaza edilmektedir (No. KATO 15486).

Çalışmamızda bitkinin açık havada ve gölgede kurutulmuş toprak altı kısımları (rizom ve kökleri) kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Materyal, Alet ve Yöntemler

3.2.1. Çözücüler

Etil asetat, kloroform, sülfürik asit (Sigma-Aldrich), metanol (Riedel-de Haën), *n*-hekzan (Isolab)

3.2.2. Kimyasal Katı Maddeler

6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Troloks), 2,4,6-tripiridil-S-triazin (TPTZ), vanilin (Fluka Chemie GmbH), *p*-nitrofenil butirat (*p*-NPB), Tris-HCl (Sigma-Aldrich)

3.2.3. Belirteçler

Vanilin/H₂SO₄: Vanilin'in derişik sülfürik asit'teki %1'lik çözeltisi. Püskürtmeden sonra 110 °C'de ısıtılır.

3.2.4. Adsorbanlar

Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar

Yöntem	Adsorban
Kolon Kromatografisi	• Merck 7734 (0.063-0.200 mm) • LiChroprep RP-18, 25-40 µm, Merck 9303 • Sefadeks (Katalog No: 17-0090-02, Sigma-Aldrich)
İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	• Hazır alüminyum plak, 20×20cm, Merck 5554

3.2.5. Çözücü Sistemleri

Kromatografik çalışmalarda kullanılan çözücü sistemleri Tablo 2’de sunulmuştur.

Tablo 2. Kromatografik çalışmalarda kullanılan çözücü sistemleri

Yöntem	Çözücü sistemi
Normal Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi (SK)	n-Hekzan:EtOAc (100:0→0:100)
Ters Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi (TF-SK)	H ₂ O:MeOH (100:0→0:100) MeOH
Sefadeks Kolon Kromatografisi	MeOH
İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	Kloroform alt ekstresi için: • n-Hekzan:EtOAc (9:1, 8:2, 7:3,5:5) Etil asetat alt ekstresi için: • CHCl₃:MeOH:H₂O (70:30:3) • EtOAc:MeOH:H₂O (7:2:1) Arta kalan su alt ekstresi için: • EtOAc:MeOH:H₂O (7:2:1)

3.2.6. Aletler ve Cihazlar

Kromatografi ve biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılan aletler ve cihazlar Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Kromatografi ve biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılan aletler ve cihazlar

Cihaz	Marka
Döner Buharlaştırıcı	Heidolph WB Laborota 4000
Değirmen	Ic-25B öğütücü
UV Kabin	CAMAG
Vakum Pompası	Millipore Model No: WP6122050
Ultrasonik Banyo	Soltec mod.2200 ETH
Terazi	OHAUS Gold series SPJ 602
Etüv	MMM Group-Ecocell LSIS-B2V/EC 111
Hassas Terazi	OHAUS PA214C
Kolon	IsoLab Germany
Kromatografi Tankı	Camag
NMR Spektrometresi	Bruker AVANCE III 400 MHz
Kütle Spektrometresi	Thermo TSQ Quantum Access Max
Spektrofotometre	BMG Labtech Spectrostar Nano
pH metre	OHARUS
İnkübatör	Heidolph Unimax 1010

3.3. İzolasyon Çalışmalarında Kullanılan Kromatografik Yöntemler

3.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

İzolasyon çalışmaları sırasında fraksiyonların takibi ve saflık kontrolü için hazır alüminyum plaklar (normal faz silika jel kaplı) kullanılmıştır.

Oda sıcaklığında kromatografi tankında sürüklenme mesafesi 7-10 cm olarak belirlenmiştir. Lekeler UV lambası altında, UV₂₅₄ veya UV₃₆₆ nm dalga boyunda ve bileşiğin yapısına uygun revelatör seçilerek tespit edilmiştir.

3.3.2. Kullanılan Kolonların Hazırlanması

3.3.2.1. Normal Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi

Uygun miktarda silika jel (0.063-0.200 mm) gerekli miktarda çözücü sistemi ile karıştırılarak uygun özelliklerde cam kolona aktarılmıştır. Adsorbanın şartlanması için belirlenen çözücü sistemi kolondan geçirilmiştir ve numune tatbiğine hazırlamak üzere üst kısımda 2-3 mm çözücü kalana kadar bekletilmiştir.

3.3.2.2. Sefadeks Kolon Kromatografisi

10-50 g sefadeks LH 20 uygun miktarda çözücü (metanol) ile muamele edilerek şişirildikten sonra uygun boyutlarda cam kolona aktarılmış ve başlangıç çözücüsü ile şartlandırılmıştır. Kolon şartlandırıldıktan sonra numune metanolde çözülerek uygulanmıştır.

3.3.2.3. Ters Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi

Yeterli miktarda C18 silika jel metanol ile karıştırılıp, cam kolona aktarıldıktan sonra kolona negatif basınç uygulayarak adsorbanın şartlandırılması için kolondan su geçirilmiştir. Kolon dengeye geldikten sonra numune kolona uygulanmıştır.

3.3.3. Numunenin Kolona Tatbik Edilmesi

3.3.3.1. Çözücü Kullanılarak Tatbik

Karışım mümkün olan en az ölçüde seçilen çözücü veya çözücü sisteminde çözülüp kolona uygulanmıştır. Adsorban yüzeyinin düz kalmasına dikkat edilerek mobil faz olarak kullanılacak çözücü yavaşça eklenmiştir.

3.3.3.2. Kuru Tatbik

Normal faz silika jel kullanılan kolonlara uygulanan karışımlar için tercih edilmiştir. Karışım uygun çözücüde çözülüp gerekli miktarda silika jel ile karıştırılıp sonrasında çözücü yoğunlaştırılmıştır. Hazırlanan kurutulmuş karışım hazır halde bulunan kolona ilave edilerek uygun çözücü sistemi ile muamele edilmiştir.

3.4. Ekstraksiyon

T. orientalis'in açık havada ve gölgede kurutulmuş toprak altı kısımları (250 g) toz edilip oda sıcaklığında 1.5 L metanol ile çalkalayıcıda iki kez ekstre edilmiştir. Ekstraksiyon sonucunda süzgeç kağıdından süzülen metanol ekstreleri birleştirilip 40 °C'de döner buharlaştırıcıda kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. 6.5 g metanol ekstresi (TOK-M) elde edilmiştir. Elde edilen metanol ekstresi 300 mL H₂O:MeOH 90:10 ile homojen bir karışım olana kadar çalkalanmıştır ve sonrasında kloroform ile ekstre edilmiştir. Kloroform fazı rotavaporda düşük basınçta kuruluğa kadar yoğunlaştırılmış ve 0.6 g kloroform alt ekstresi (TOK-K) elde edilmiştir. Arta kalan su fazı etil asetatla ekstre edilmiştir. Etil asetat fazı döner buharlaştırıcıda yoğunlaştırılarak 0.25 g etil asetat alt ekstresi (TOK-EAC) elde edilmiştir. Arta kalan su fazı yoğunlaştırılarak 5.5 g arta kalan su alt ekstresi (TOK-S) elde edilmiştir.

3.5. İzolasyon Çalışmaları

3.5.1. Kloroform Alt Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları

TOK-K (0.5 g) kloroformla çözülerek 5 g silika jel ile karıştırılmıştır. Daha sonra 40 g silika jel ile hazırlanmış kolon kromatografisine uygulanmıştır. Karışımdaki farklı polaritedeki maddelerin ayrılması için, elüsyon artan polaritede *n*-hekzan:etil asetat (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 70:30, 50:50, 0:100) çözücü sistemleriyle sürdürülmüştür. Her biri 12 mL olacak şekilde 50 fraksiyon toplanmıştır. Fraksiyonlar İTK ile kontrol edilmiştir, çözücü sistemi olarak farklı oranda *n*-hekzan:etil asetat (9:1, 8:2, 1:1) kullanılmış ancak ekstreden major bileşik elde edilememiştir.

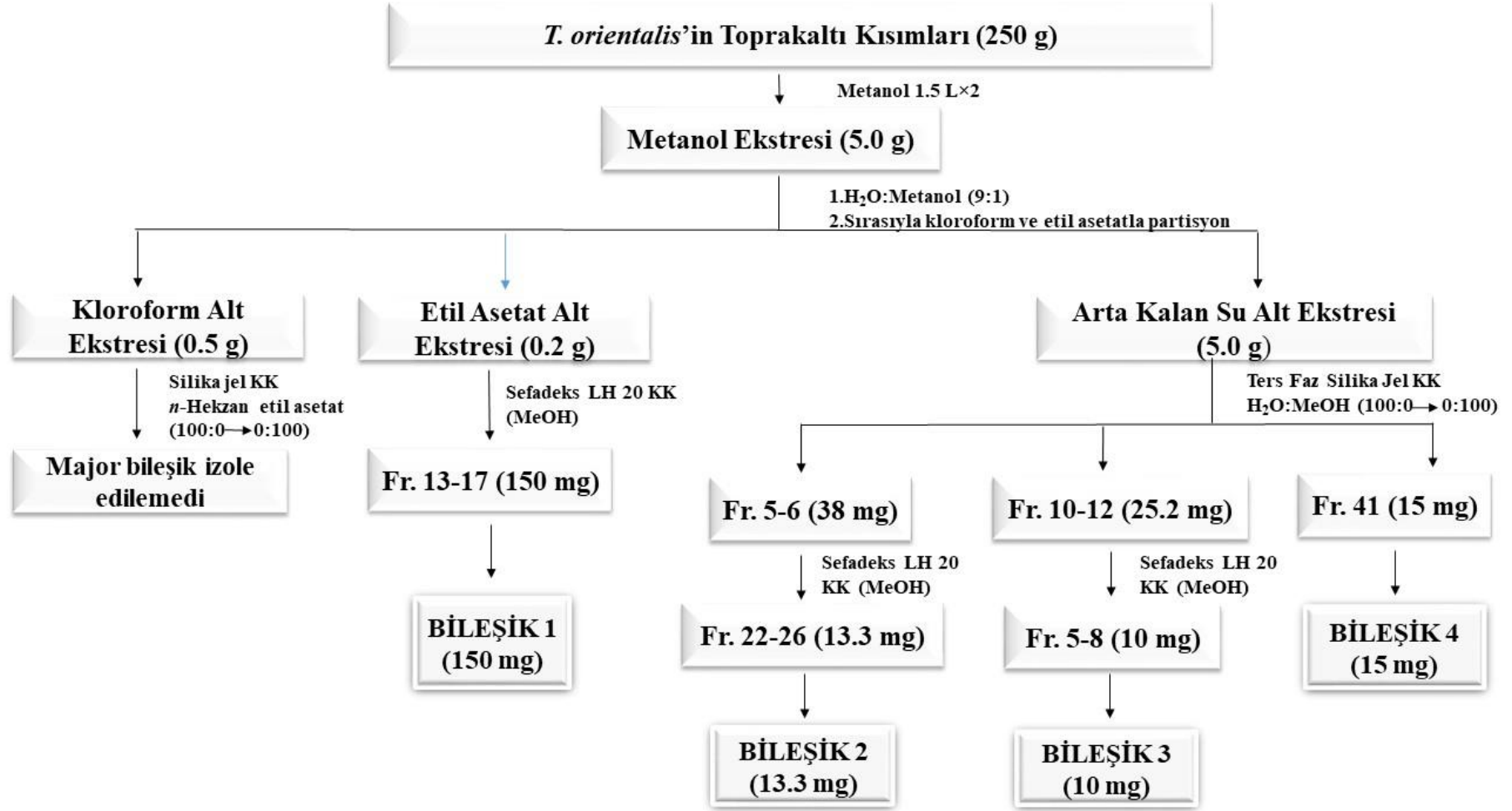
3.5.2. Etil Asetat Alt Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları

TOK-EAC (0.2 g) Sefadeks kolona tatbik edilmiş ve metanol kullanılarak ayırım gerçekleştirilmiştir. 8 mL'lik 21 fraksiyon toplanmıştır. İTK profilleri incelenerek 13-17. fraksiyonlar birleştirilmiş ve Bileşik 1 (150 mg) elde edilmiştir.

3.5.3. Arta Kalan Su Alt Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları

TOK-S (5.0 g) az miktarda suda çözülerek ters faz kolon kromatografisine tatbik edilmiştir. Ardından elüsyona 100 mL su ile başlanmış ve H₂O:MeOH (100:0→0:100) karışımı kullanılarak ayırım gerçekleştirilmiştir. 20 mL'lik 110 fraksiyon toplanmıştır. İTK profilleri çözücü sistemi olarak kullanılan EtOAc:MeOH:H₂O (7:2:1) karışımı ile incelenmiş ve benzer profile sahip fraksiyonlar bir araya getirilmiştir. Fraksiyon 5-6 birleştirilip yoğunlaştırıldıktan sonra (38 mg) metanolde çözündürülerek Sefadeks kolona uygulanmıştır. Elüsyon %100 metanolla yürütülmüştür. Sonuçta 30 fraksiyon toplanmış ve 22-26. fraksiyonlar birleştirilmiş ve yoğunlaştırılmıştır (13.3 mg, Bileşik 2).

Fraksiyon 10-12 birleştirilmiş, yoğunlaştırılıp metanolde çözülerek Sefadeks kolona tatbik edilmiştir. Metanolla yapılan ayırım sonunda 5-8. fraksiyonlar birleştirilmiş ve yoğunlaştırılmıştır (10 mg, Bileşik 3). Fraksiyon 41 yoğunlaştırılmış ve Bileşik 4 (15 mg) elde edilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *T. orientalis* üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

3.6. Antioksidan Aktivite

Antioksidan aktivite kapasitelerini belirlemek üzere *T. orientalis*'in toprak altı kısımlarından hazırlanan ekstreleri (TOK-M, TOK-K, TOK-EAC ve TOK-S) ve izole edilen bileşikler (1-4) üzerinde Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) ve Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) tayini çalışmaları yapılmıştır.

3.6.1. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Tayini

FRAP metodu, antioksidan madde varlığında, Fe(III)-TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-S-triazin) kompleksinin indirgenmesi ile meydana gelen Fe(II)-TPTZ kompleksinin (mavi renkli) 595 nm'de maksimum absorbands vermesi esasına dayanır (49).

3.6.2. Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini

Bu metot, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu Cu(II)-Nc'nin, antioksidan özellikte madde varlığında meydana gelen bakır(I)-neokuproin (Cu(I)-Nc)'in 450 nm'de maksimum absorbands vermesi esasına dayanır (50).

3.7. Pankreatik Lipaz Enzim İnhibisyonu

Pankreatik lipaz enzim inhibisyonu, substrat olarak *p*-nitro fenil butirat'ın kullanıldığı modifiye bir yöntemle yapılmıştır (51).

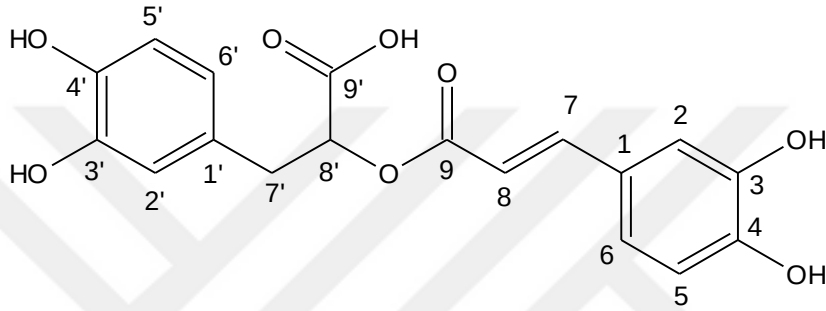
Tüm örnekler tampon çözelti (0.1 M Tris-HCl tamponu, pH= 8.0) ile farklı konsantrasyonlarda (12.5, 25, 50, 100 ve 200 µg/mL); standart olarak kullanılan orlistat ise tampon çözelti ile değişen konsantrasyonlarda (6.25, 12.5, 25, 50, 100 ve 200 µg/mL) hazırlanmıştır. Her örnek için mikropak 3 negatif kontrol kuyucuğu (A), 3 negatif kontrol körü kuyucuğu (B), 3 numune kuyucuğu (C) ve 3 kör kuyucuğu (D) içerecek şekilde hazırlanmıştır. A ve B kuyucuklarına 5 µL tampon, C ve D kuyucuklarına 5 µL test çözeltisi pipetlenmiştir. Tüm kuyucuklara 90 µL lipaz enzim çözeltisi (200 U/mL) pipetlenmiş ve 37 °C, 15 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, A ve C kuyucuklarına substrat çözeltisi (5 µL, 10 mM *p*-nitro fenil butirat asetonitril çözeltisi), B ve D kuyucuklarına 5 µL tampon pipetlenmiştir. Daha sonra, mikropak 37 °C, 10 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından 405 nm'de absorbandslar spektrofotometre ile okunmuştur ve % inhibisyon değerleri aşağıdaki formülden faydalanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{Pankreatik Lipaz İnhibisyonu} = \frac{(A - B) - (C - D)}{(A - B)} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

4. BULGULAR

Yapılan çalışma sonucunda 4 bileşik elde edilmiştir. TOK-EAC'den Bileşik 1, TOK-S'den Bileşik 2, Bileşik 3 ve Bileşik 4 izole edilmiştir. Yapılan yapı tayinleri sonucu Bileşik 1'in fenolik asit yapısında rosmarinik asit; Bileşik 2, Bileşik 3 ve Bileşik 4'ün sırasıyla fenolik asit yapısında danshensu, arilnaftalen lignan yapısında globoidnan B ve rabdosiin olduğu belirlenmiştir.

4.1. Rosmarinik Asit



Şekil 3. Rosmarinik asit ($C_{18}H_{16}O_8$, 360 g/mol)

Rosmarinik asidin 1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral verileri Tablo 4 ve 5'te verilmiştir.

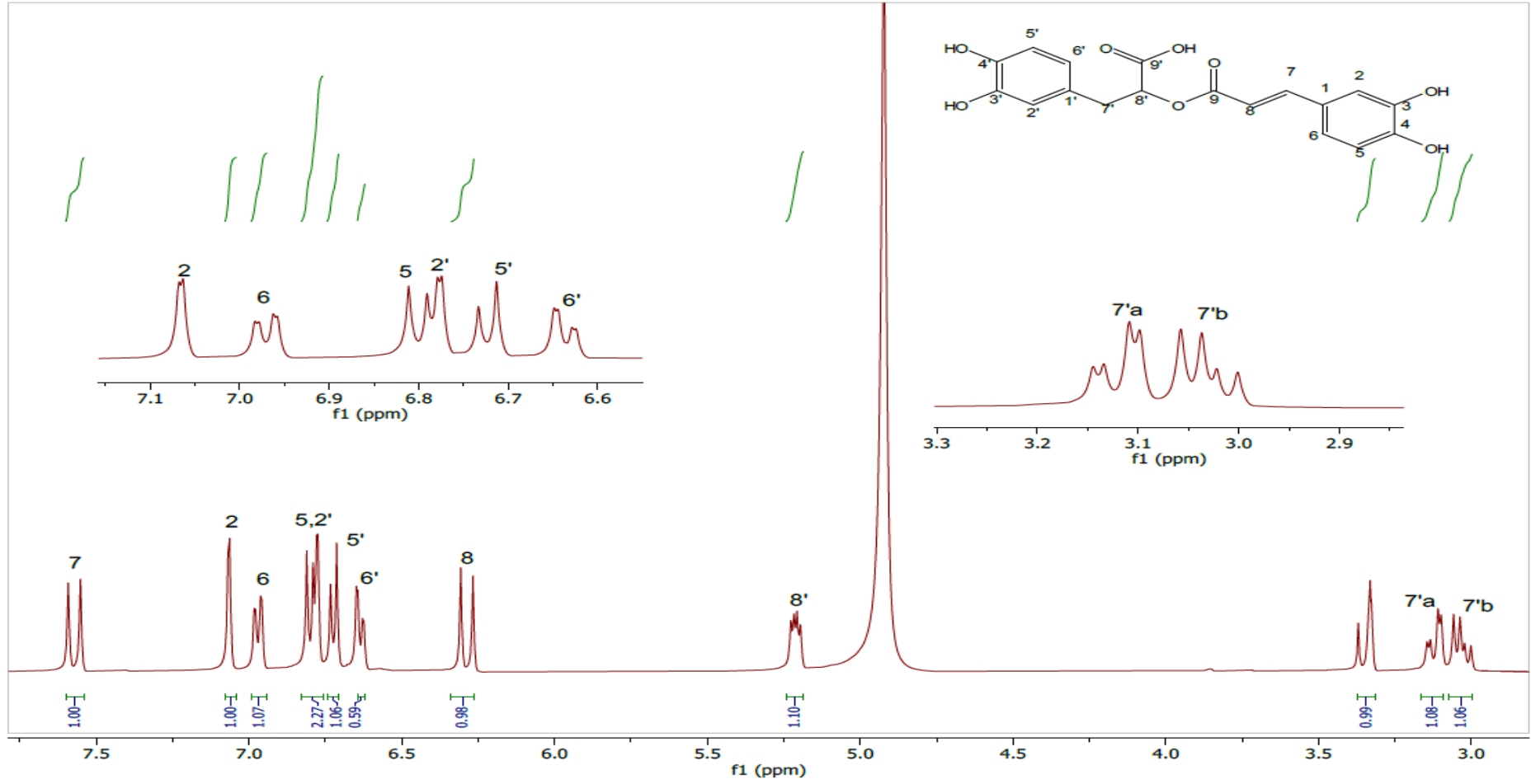
Tablo 4. Rosmarinik asit 1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz) spektral değerleri

H	δ_H (ppm), (J, Hz)
2	7.07 (d, 1H, $J= 2.1$ Hz)
5	6.80 (d, 1H, $J= 8.2$ Hz)
6	6.97 (dd, 1H, $J= 8.2, 2.1$ Hz)
7	7.57 (d, 1H, $J= 15.9$ Hz)
8	6.29 (d, 1H, $J= 15.9$ Hz)
2'	6.78 (d, 1H, $J= 2.0$ Hz)
5'	6.72 (d, 1H, $J= 8.0$ Hz)
6'	6.64 (dd, 1H, $J= 8.1, 2.1$ Hz)
7'a	3.12 (dd, 1H, $J= 14.3, 4.4$ Hz)
7'b	3.03 (dd, 1H, $J= 14.3, 8.3$ Hz)
8'	5.21 (dd, 1H, $J= 8.3, 4.3$ Hz)

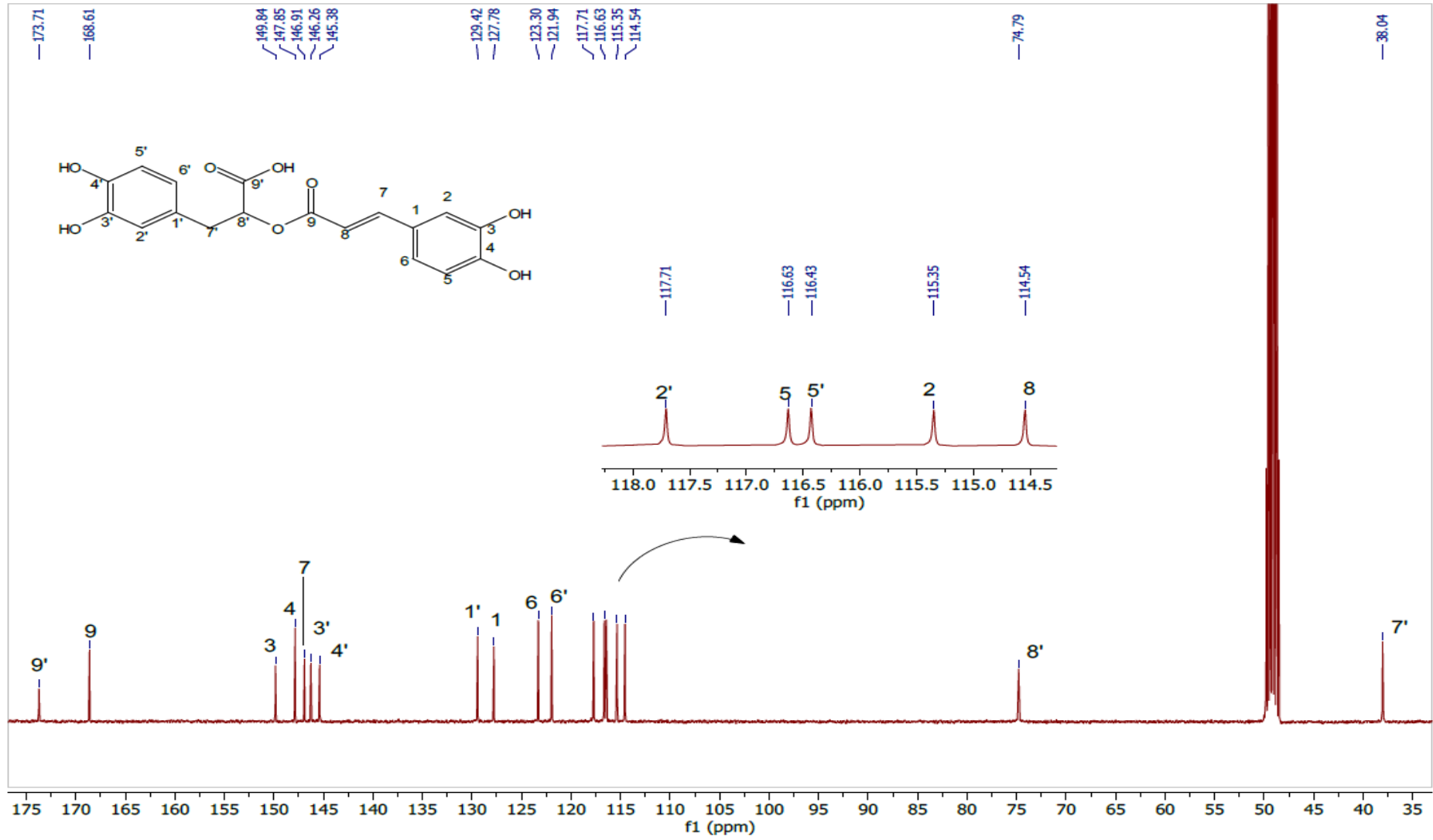
Tablo 5. Rosmarinik asitin ^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz) spektral değerleri

C	δ_{C} (ppm)
1	127.8
2	115.4
3	147.9
4	149.8
5	116.6
6	123.3
7	146.9
8	114.5
9	168.6
1'	129.4
2'	117.7
3'	146.3
4'	145.4
5'	116.4
6'	121.9
7'a	38.0
7'b	38.0
8'	74.8
9'	173.7

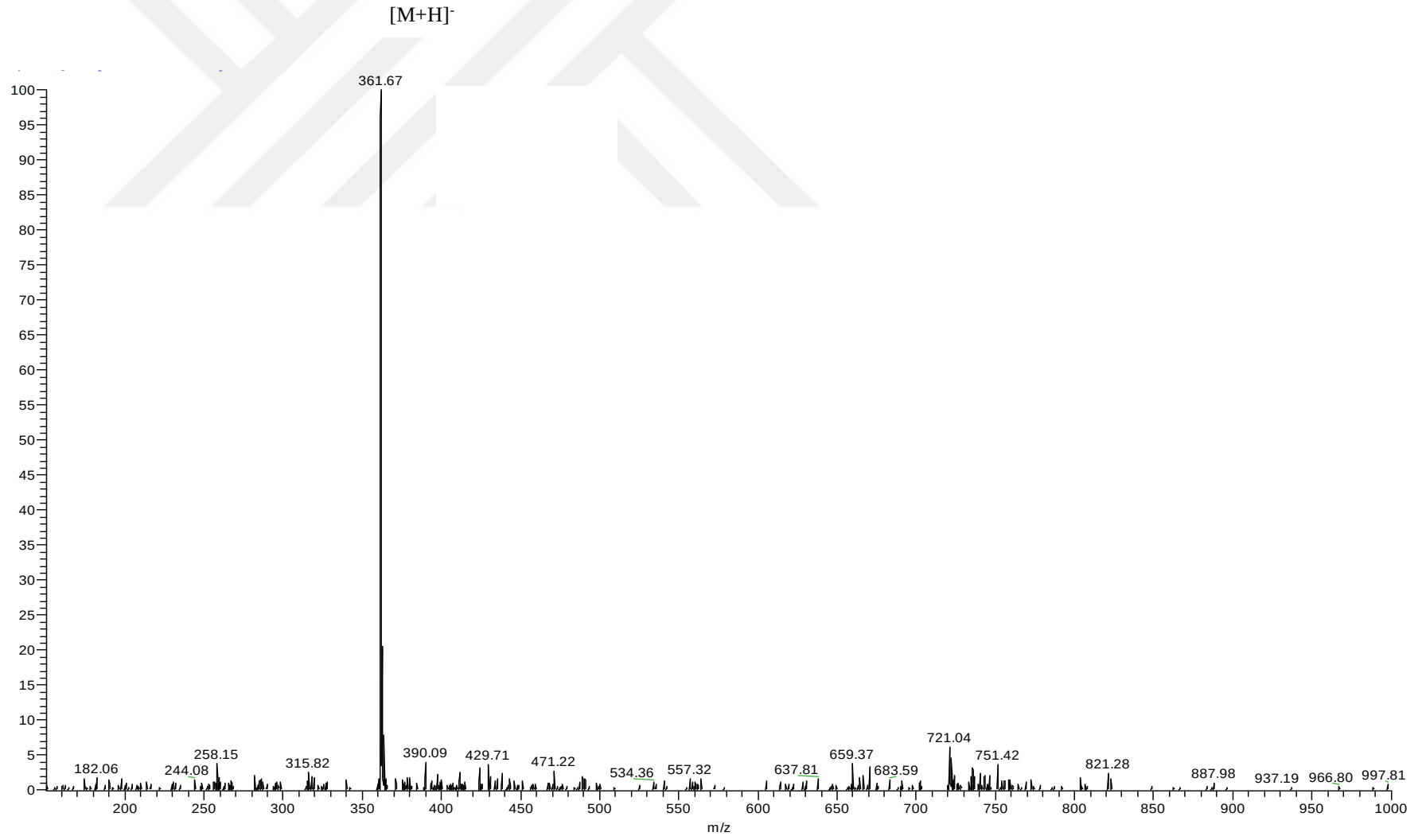
Bulgular, literatürler ile desteklenerek maddenin rosmarinik asit olduğu bulunmuştur (52, 53).



Şekil 4. Rosmarinik asit ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)

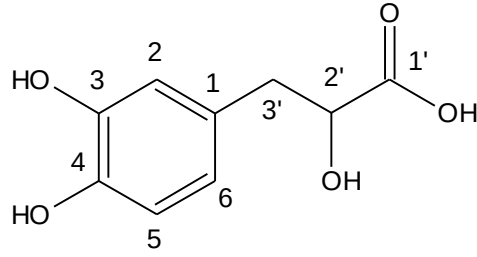


Şekil 5. Rosmarinik asit ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



Şekil 6. Rosmarinik asit kütle spektrumu

4.2. Danshensu



Şekil 7. Danshensu ($C_9H_{10}O_5$, 198 g/mol)

Danshensu 1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri Tablo 6 ve 7’de verilmiştir.

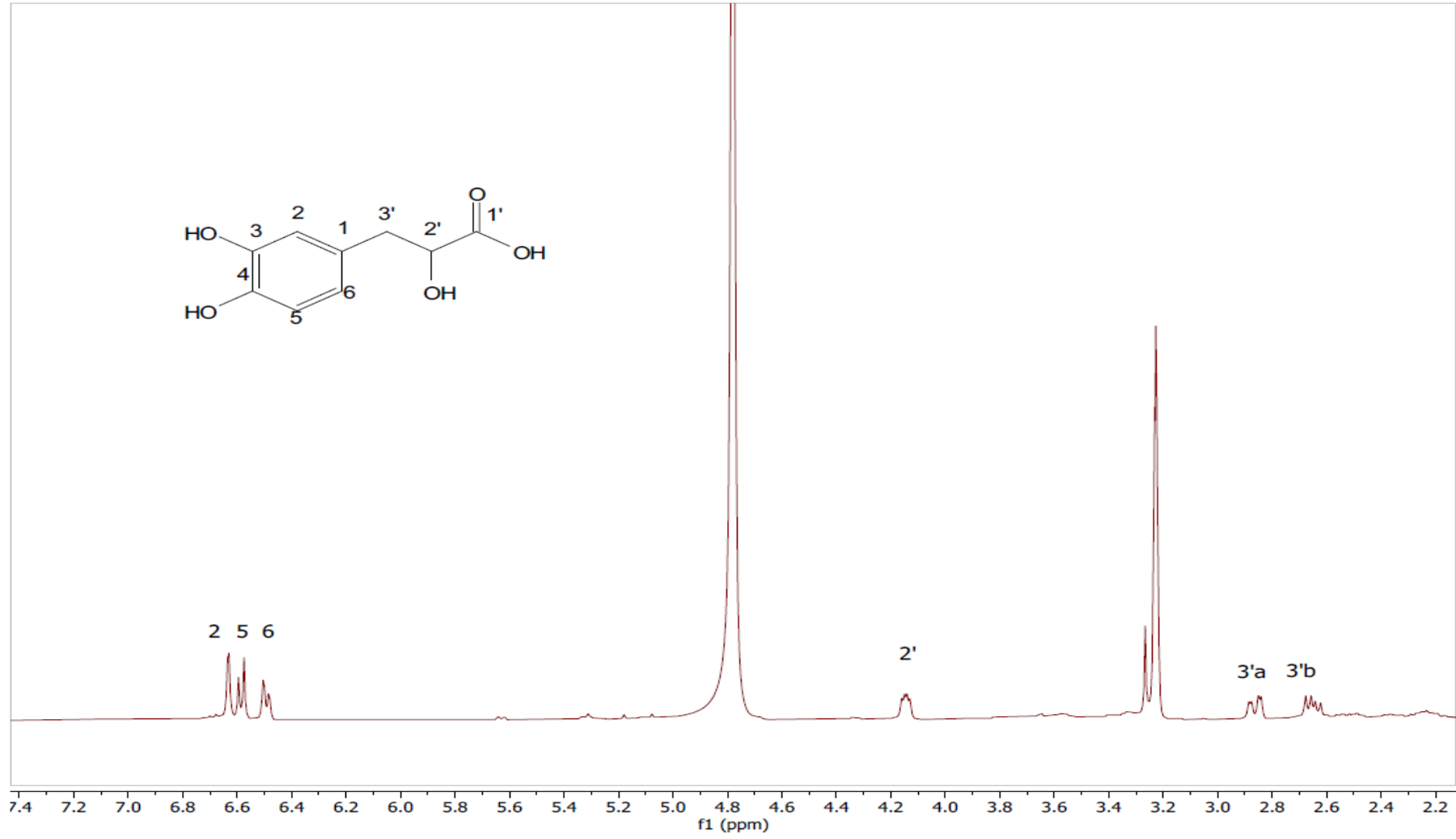
Tablo 6. Danshensu 1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz) spektral değerleri

H	δ_H (ppm), (J, Hz)
2	6.63 (d, 1H, $J= 1.5$ Hz)
5	6.58 (d, 1H, $J= 8.0$ Hz)
6	6.49 (dd, 1H, $J= 8.0, 2.0$ Hz)
2'	4.14 (dd, 1H, $J= 7.6, 4.1$ Hz)
3'a	2.86 (dd, 1H, $J= 14.0, 3.8$ Hz)
3'b	2.65 (dd, 1H, $J= 13.9, 7.9$ Hz)

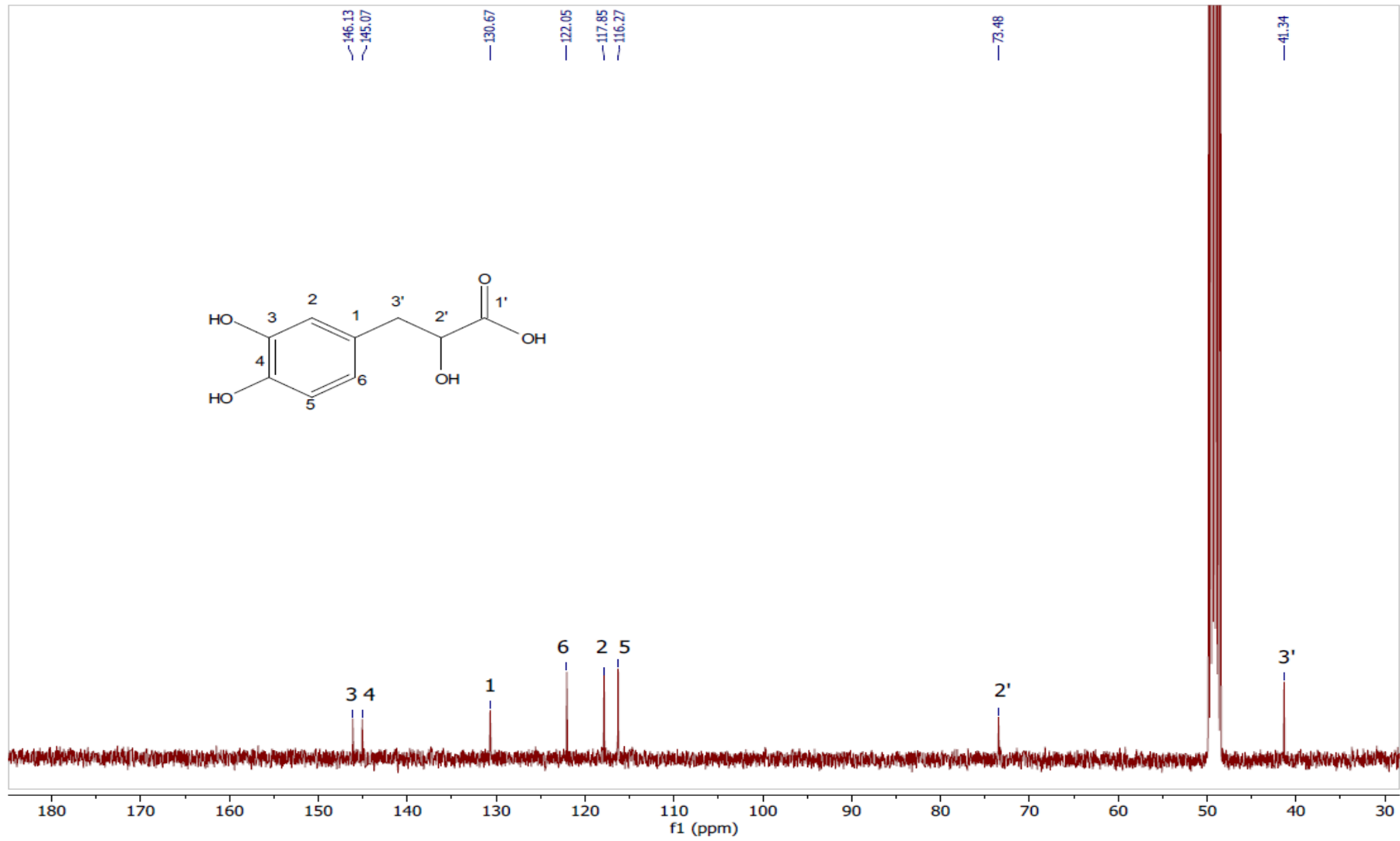
Tablo 7. Danshensu ^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz) spektral değerleri

C	δ_{C} (ppm)
1	130.7
2	117.8
3	146.1
4	145.1
5	116.3
6	122.1
1'	178.3
2'	73.5
3'a	41.3
3'b	41.3

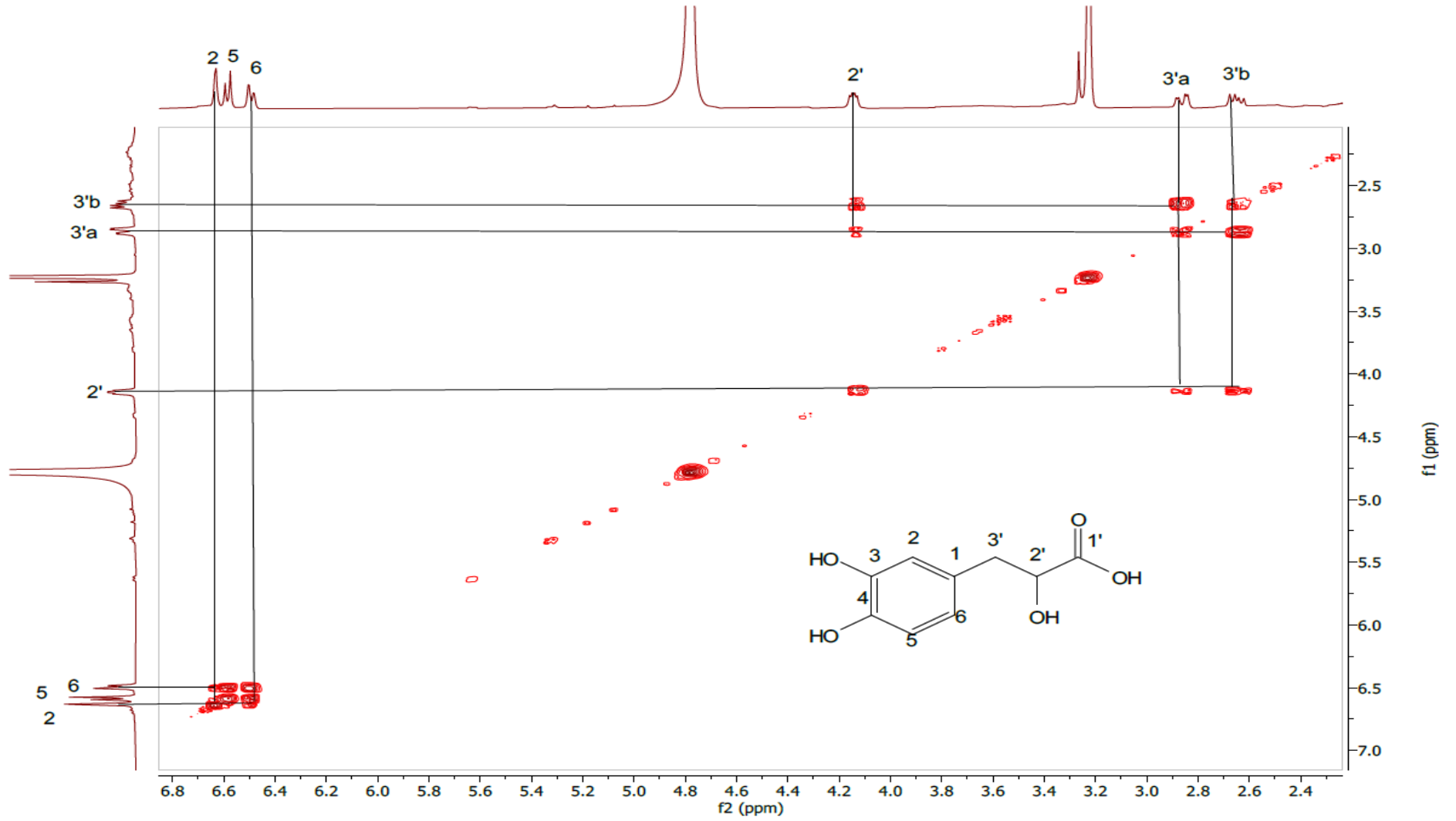
Bu spektral değerler literatürlerdeki 3-(3,4-dihidroksifenil)-2-hidroksipropionik asit (Danshensu) için kayıtlı değerlere uygunluk göstermektedir (54, 55).



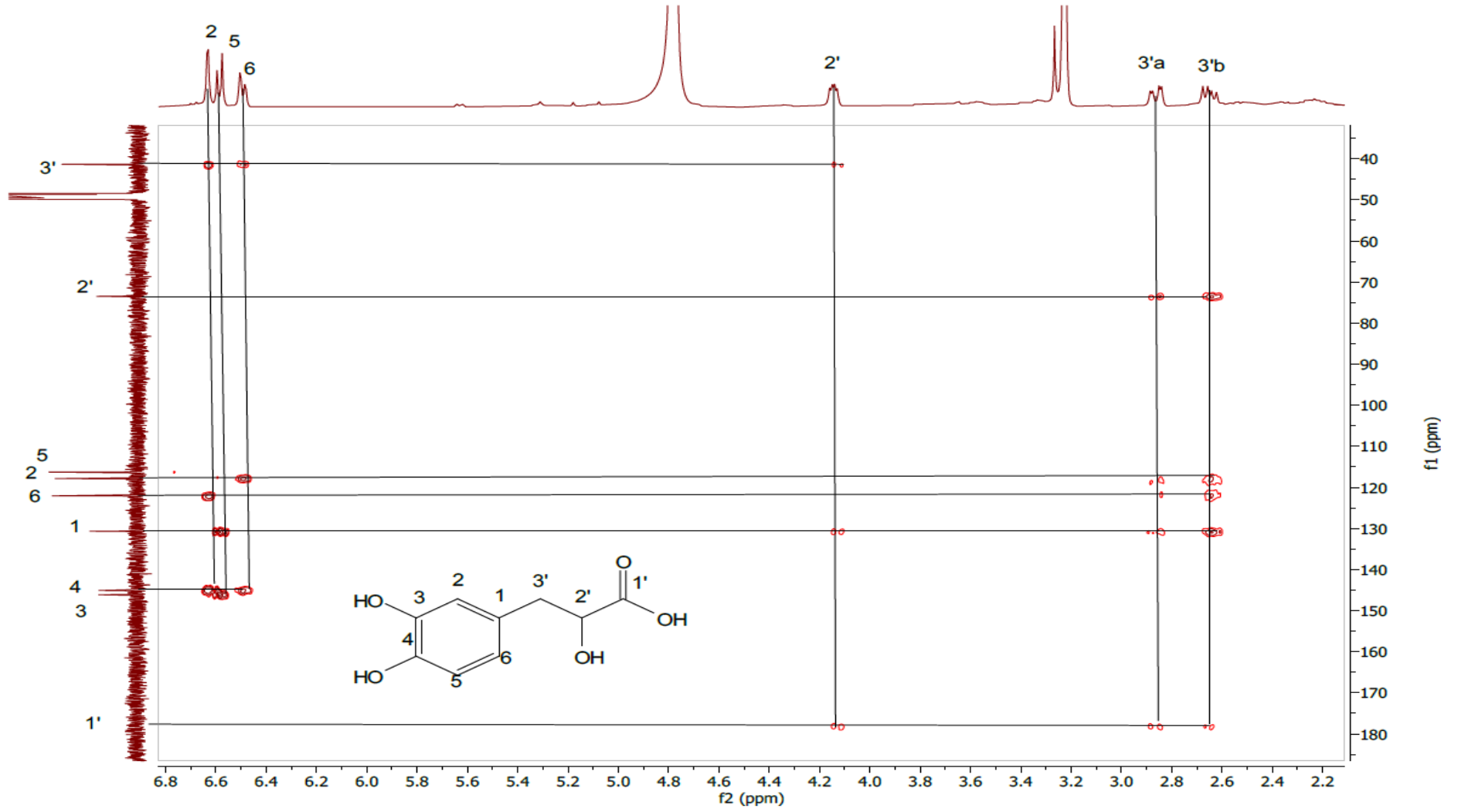
Şekil 8. Danshensu ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



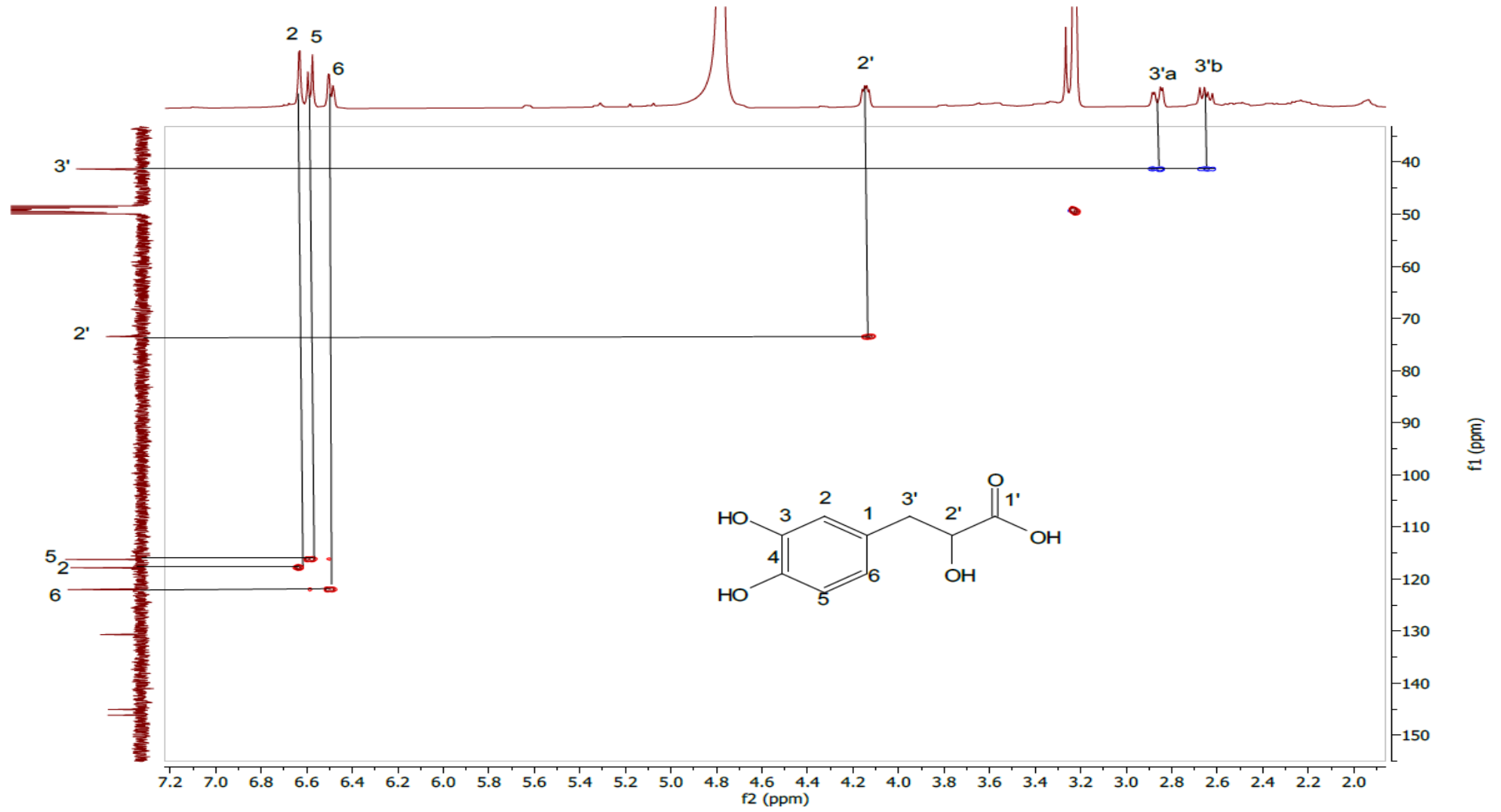
Şekil 9. Danshensu ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



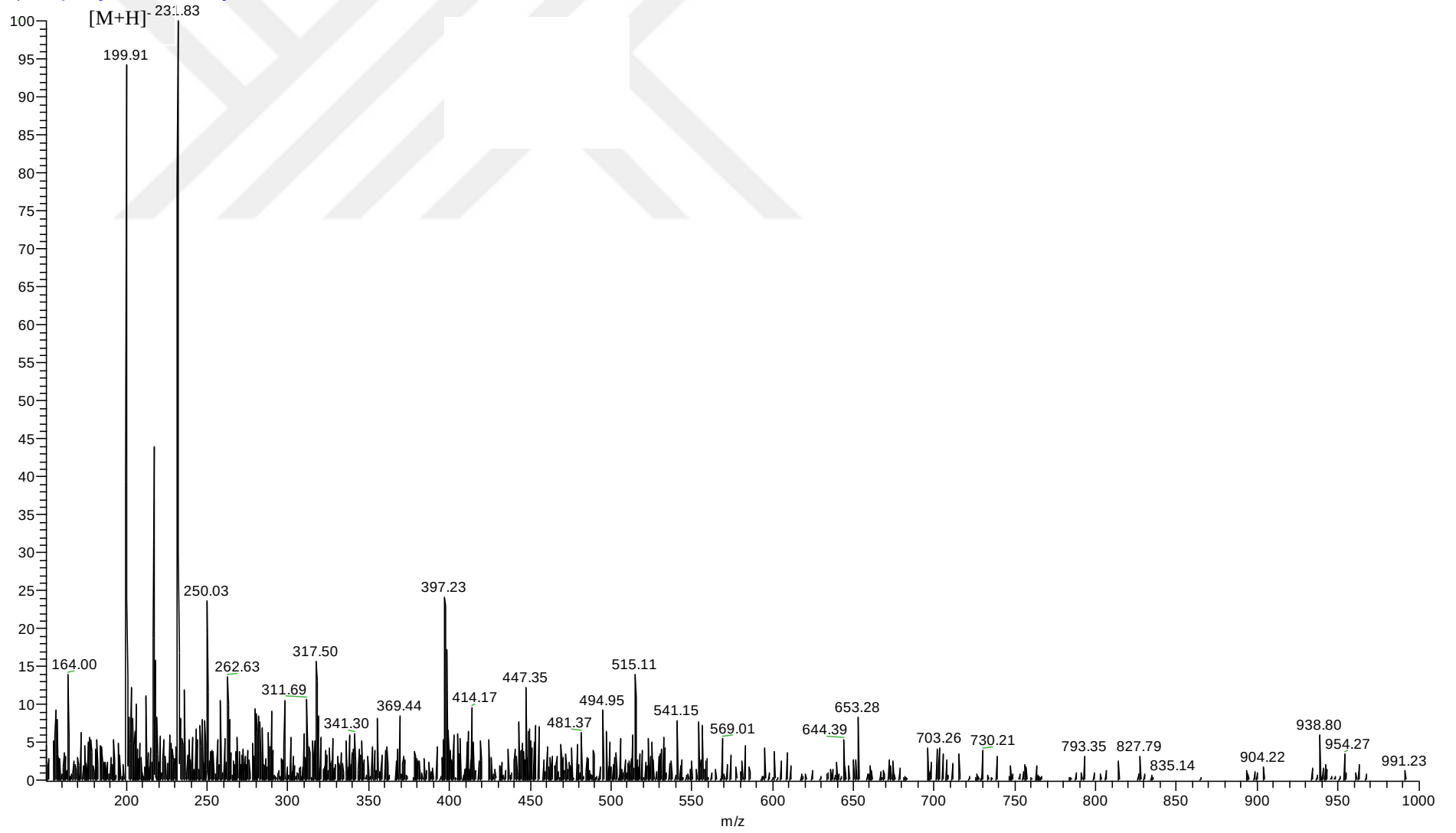
Şekil 10. Danshensu COSY spektrumu



Şekil 11. Danshensu HMBC spektrumu

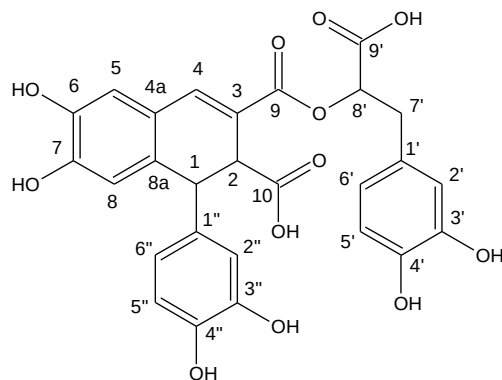


Şekil 12. Danshensu HSQC spektrumu



Şekil 13. Danshensu kütle spektrumu

4.3. Globoidnan B



Şekil 14. Globoidnan B ($C_{27}H_{22}O_{12}$, 538 g/mol)

Globoidnan B'nin 1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri Tablo 8 ve 9'da verilmiştir.

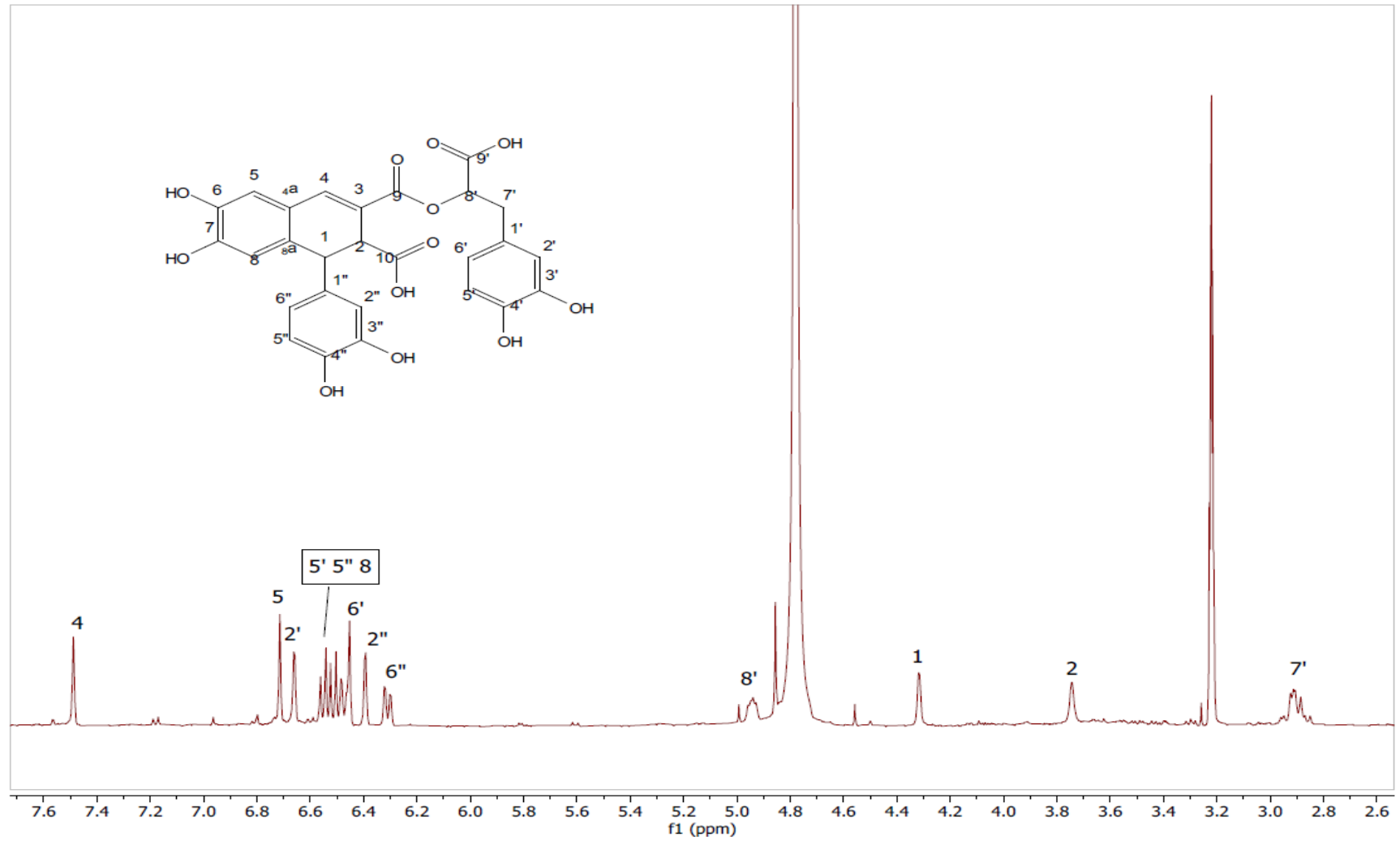
Tablo 8. Globoidnan B'nin 1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz) spektral değerleri

H	δ_H (ppm), (J, Hz)
1	4.32 (s, 1H)
2	3.74 (s, 1H)
4	7.49 (s, 1H)
5	6.71 (s, 1H)
8	6.57-6.48 (m, 3H)
2'	6.66 (d, 1H, $J= 1.5$ Hz)
5'	6.57-6.48 (m, 3H)
6'	6.45 (s, 1H)
7'	2.97-2.84 (m, 2H)
8'	4.94 (s, 1H)
2''	6.39 (d, 1H, $J= 1.8$ Hz)
5''	6.57-6.48 (m, 3H)
6''	6.31 (dd, 1H, $J= 8.2, 1.9$ Hz)

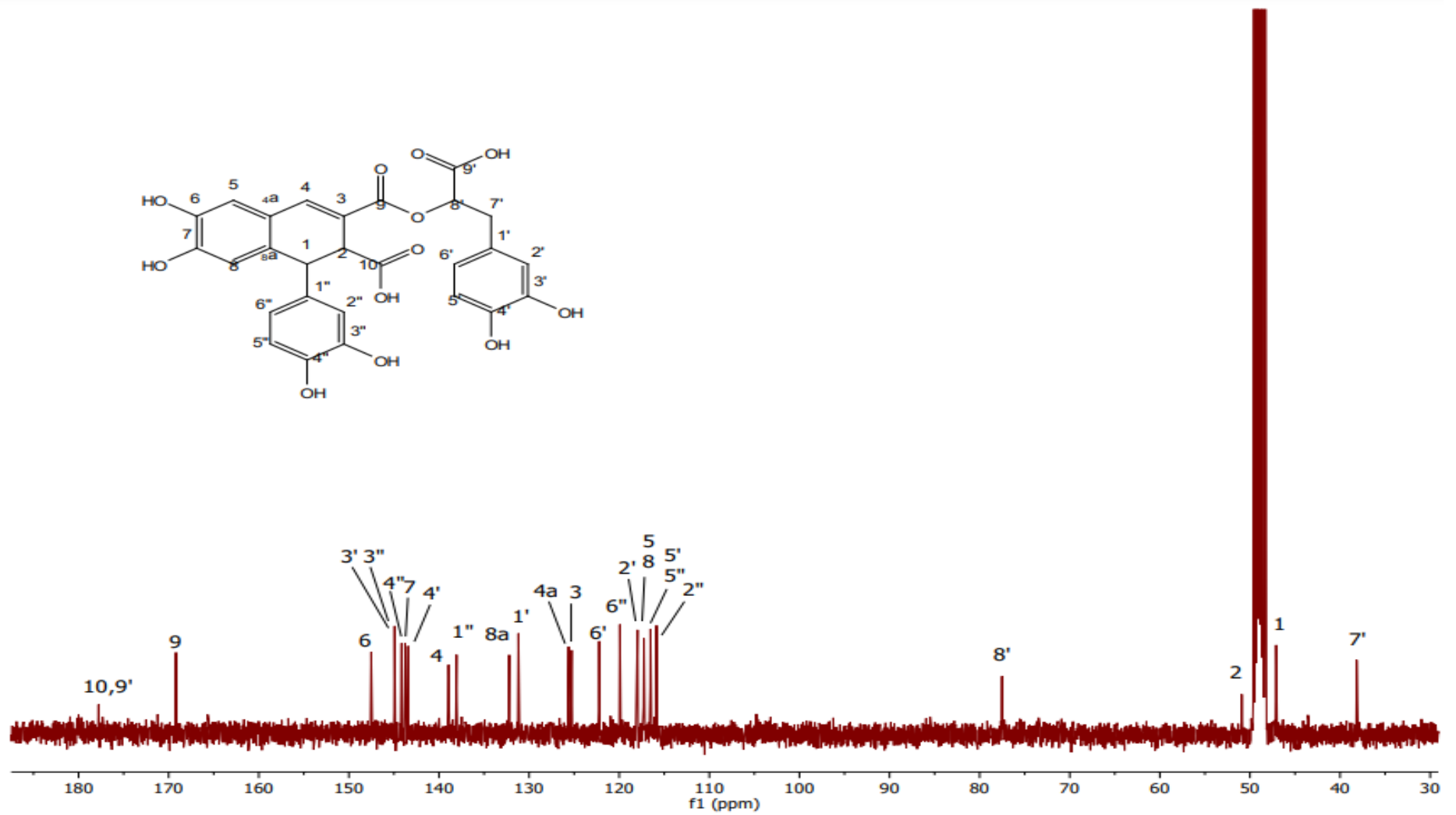
Tablo 9. Globoidnan B'nin ^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz) spektral değerleri

C	δ_{C} (ppm)
1	47.1
2	51.0
3	125.3
4	138.9
4a	125.6
5	117.2
6	147.5
7	143.8
8	117.3
8a	132.2
9	169.2
10	177.5
1'	131.2
2'	118.0
3'	144.9
4'	143.4
5'	116.5
6'	122.2
7'	38.2
8'	77.5
9'	177.3
1''	138.1
2''	115.9
3''	144.9
4''	144.2
5''	116.5
6''	119.9

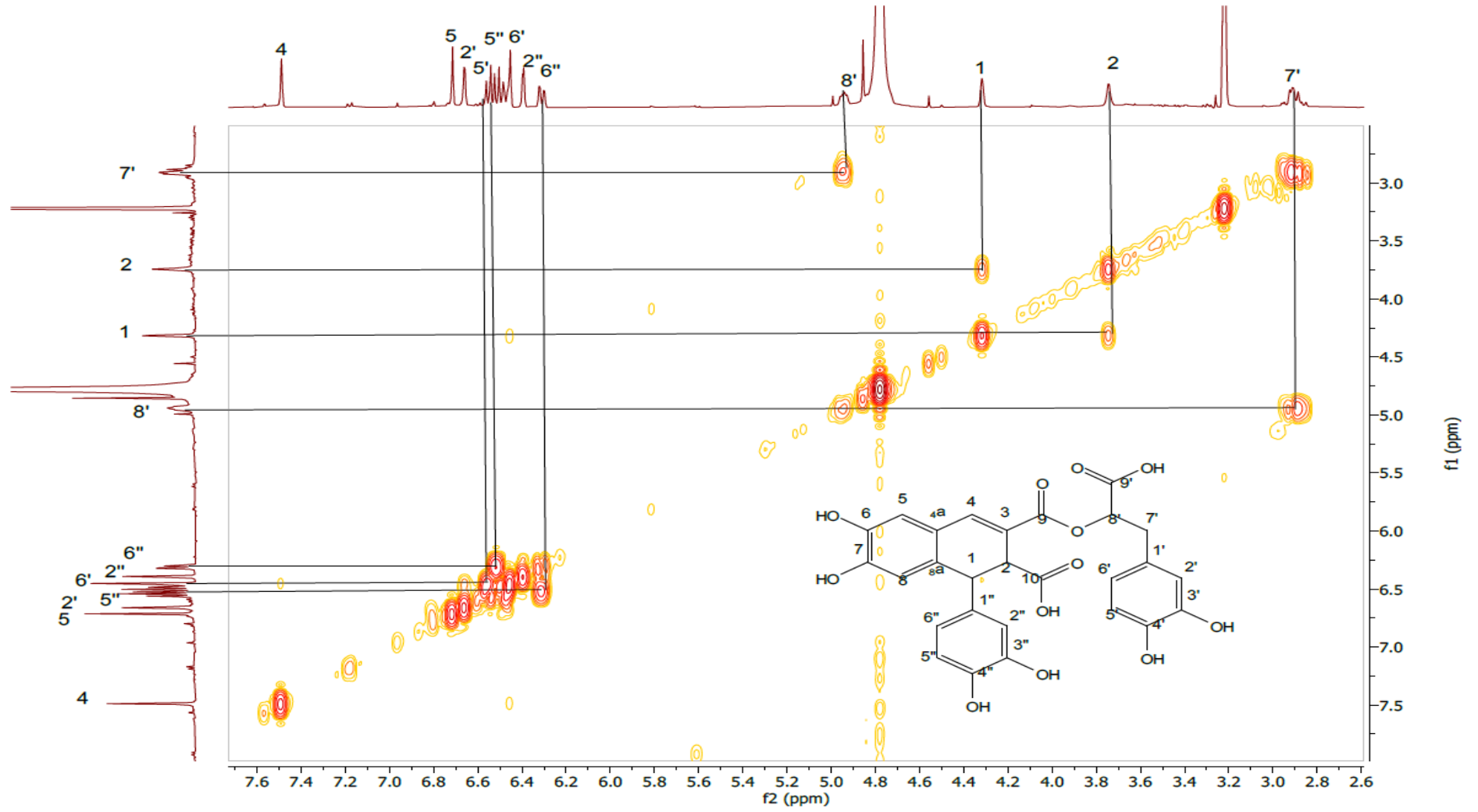
^1H -NMR, ^{13}C -NMR, COSY, HSQC ile birlikte HMBC spektrumlarındaki kimyasal kayma değerleri ve korelasyonlar literatürler ile desteklenerek maddenin Globoidnan B olduğu bulunmuştur (56, 57).



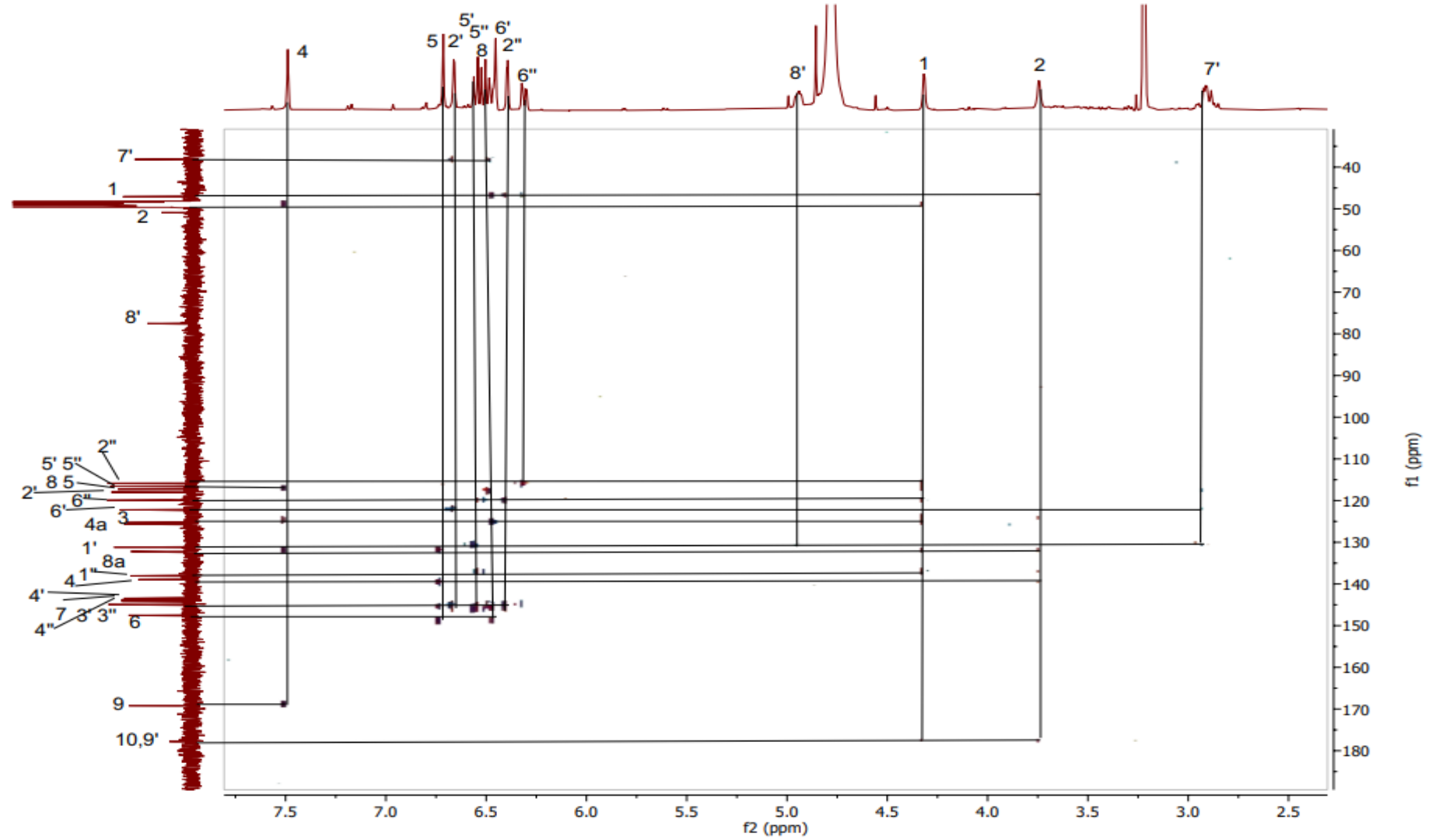
Şekil 15. Globoidnan B ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



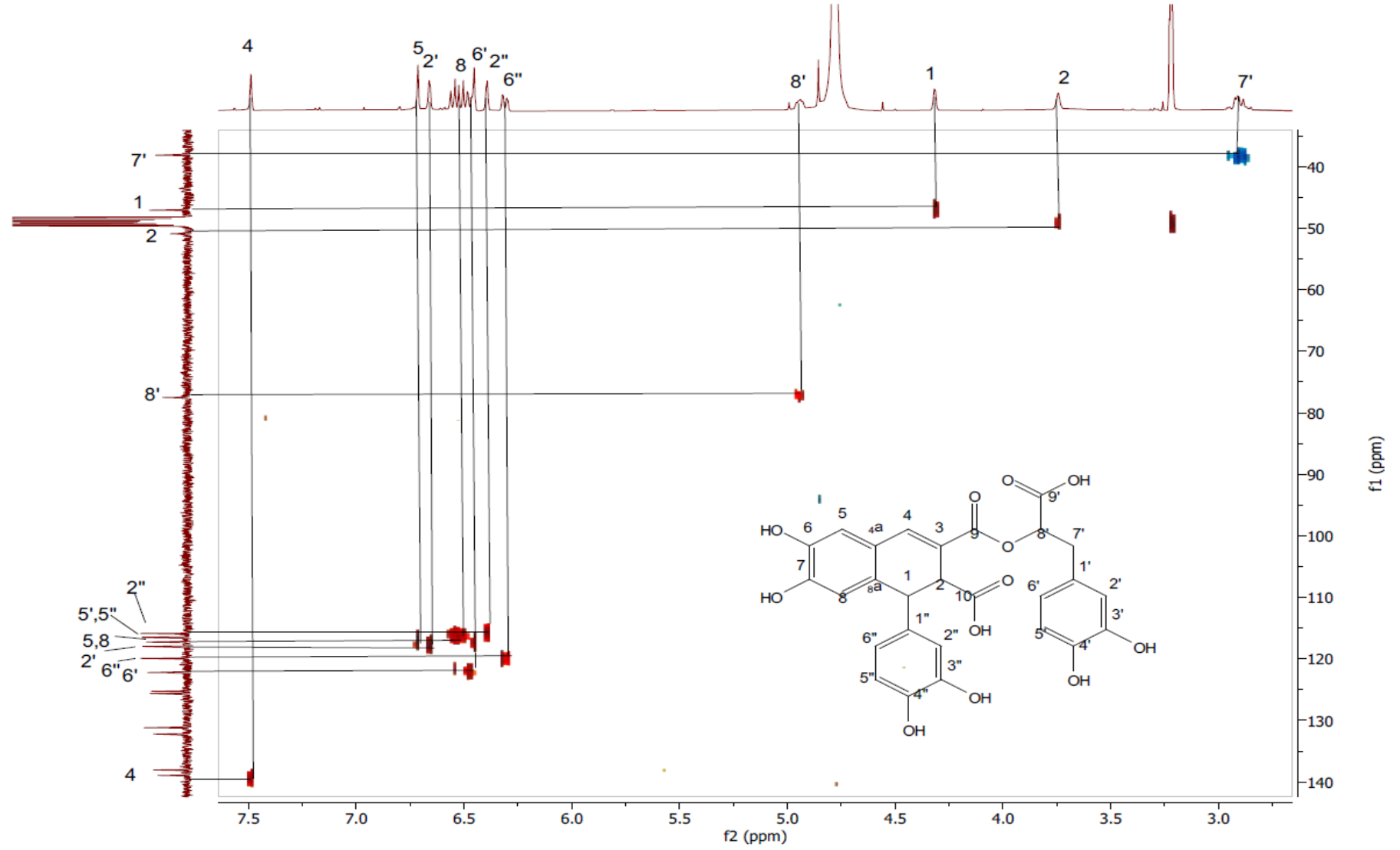
Şekil16. Globoidnan B ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



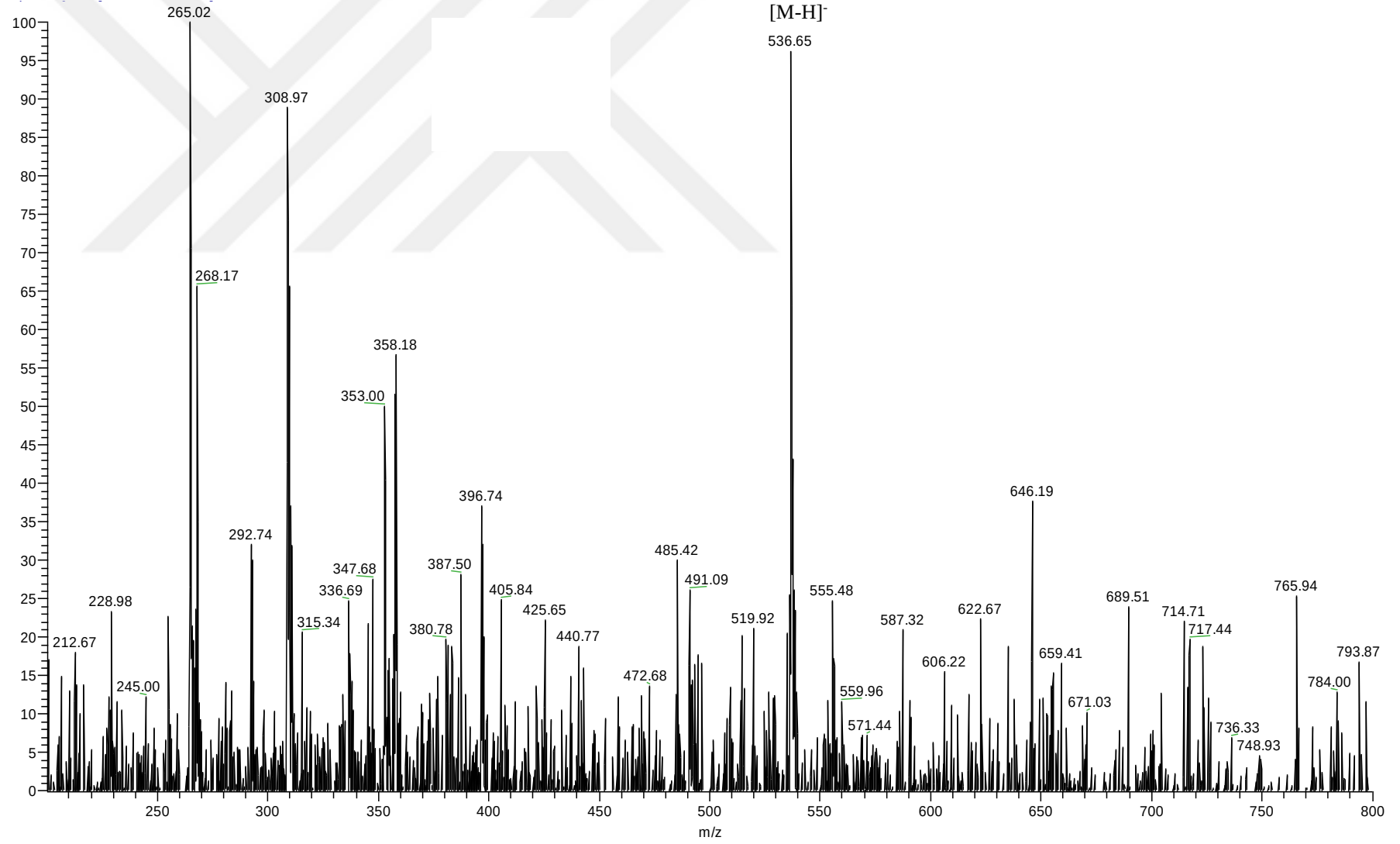
Şekil 17. Globoidnan B COSY spektrumu



Şekil 18. Globoidnan B HMBC spektrumu

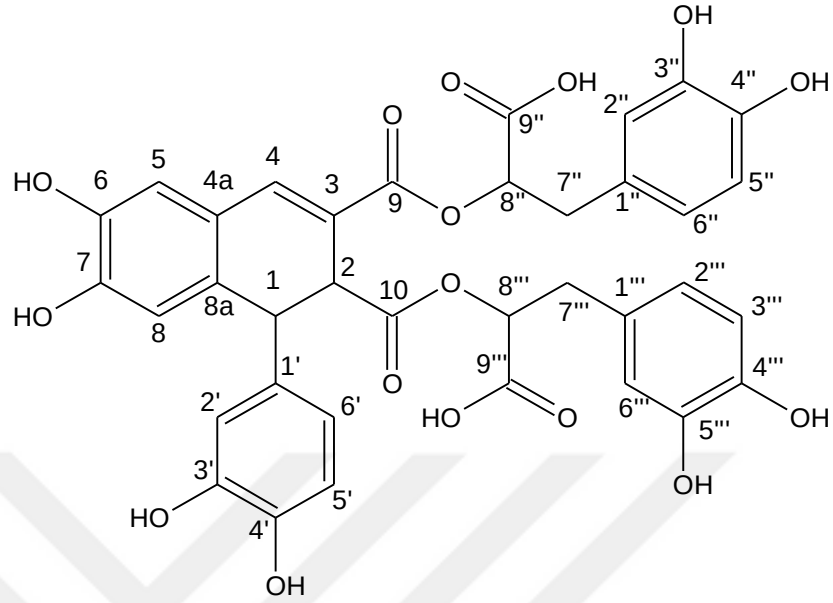


Şekil 19. Globoidnan B HSQC spektrumu



Şekil 20. Globoidnan B kütle spektrumu

4.4. Rabdosiin



Şekil 21. Rabdosiin ($C_{36}H_{30}O_{16}$, 718 g/mol)

Rabdosiin'in 1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri Tablo 10 ve 11'de verilmiştir.

Tablo 10. Rabdosiin 1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz) spektral değerleri

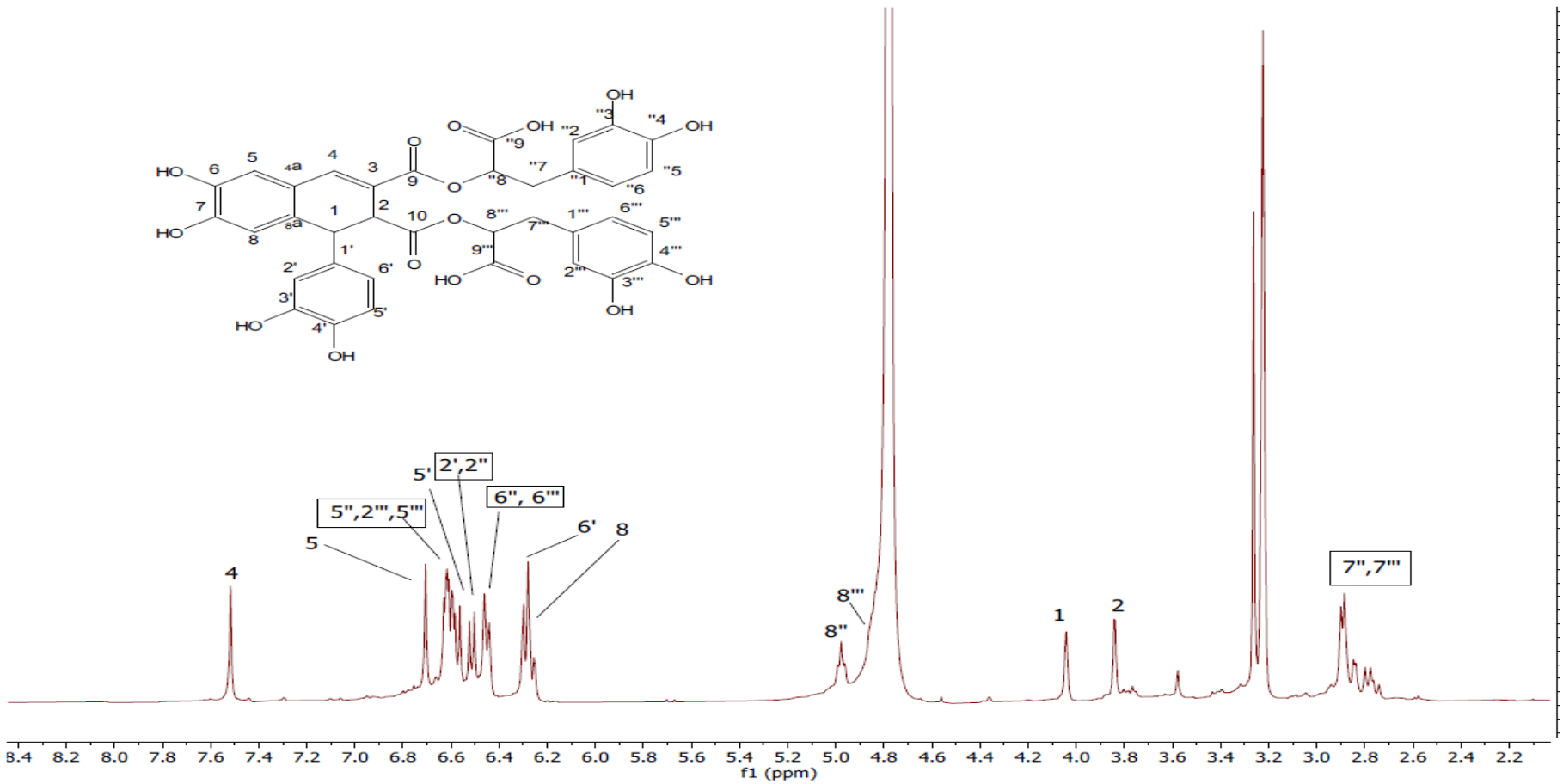
H	$\delta_H(ppm)$, (J, Hz)
1	4.04 (s, 1H)
2	3.84 (d, 1H, $J= 2.0$ Hz)
4	7.52 (s, 1H)
5	6.71 (s, 1H)
8	6.28 (t, 2H, $J= 8.6$ Hz)
2'	6.50 (s, 1H)
5'	6.57 (d, 1H, $J= 8.1$ Hz)
6'	6.28 (t, 1H, $J= 8.6$ Hz)
2''	6.52 (s, 1H)
5''	6.63-6.59 (m, 3H)
6''	6.45 (d, 2H, $J= 8.0$ Hz)
7''	2.92-2.74 (m, 4H)
8''	4.98 (t, 1H, $J= 5.8$ Hz)
2'''	6.63-6.59 (m, 3H)
5'''	6.63-6.59 (m, 3H)
6'''	6.45 (d, 2H, $J= 8.0$ Hz)
7'''	2.92-2.74 (m, 4H)
8'''	Sinyal örtüşmesi

Tablo 11. Rabdosiin ^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz) spektral değerleri

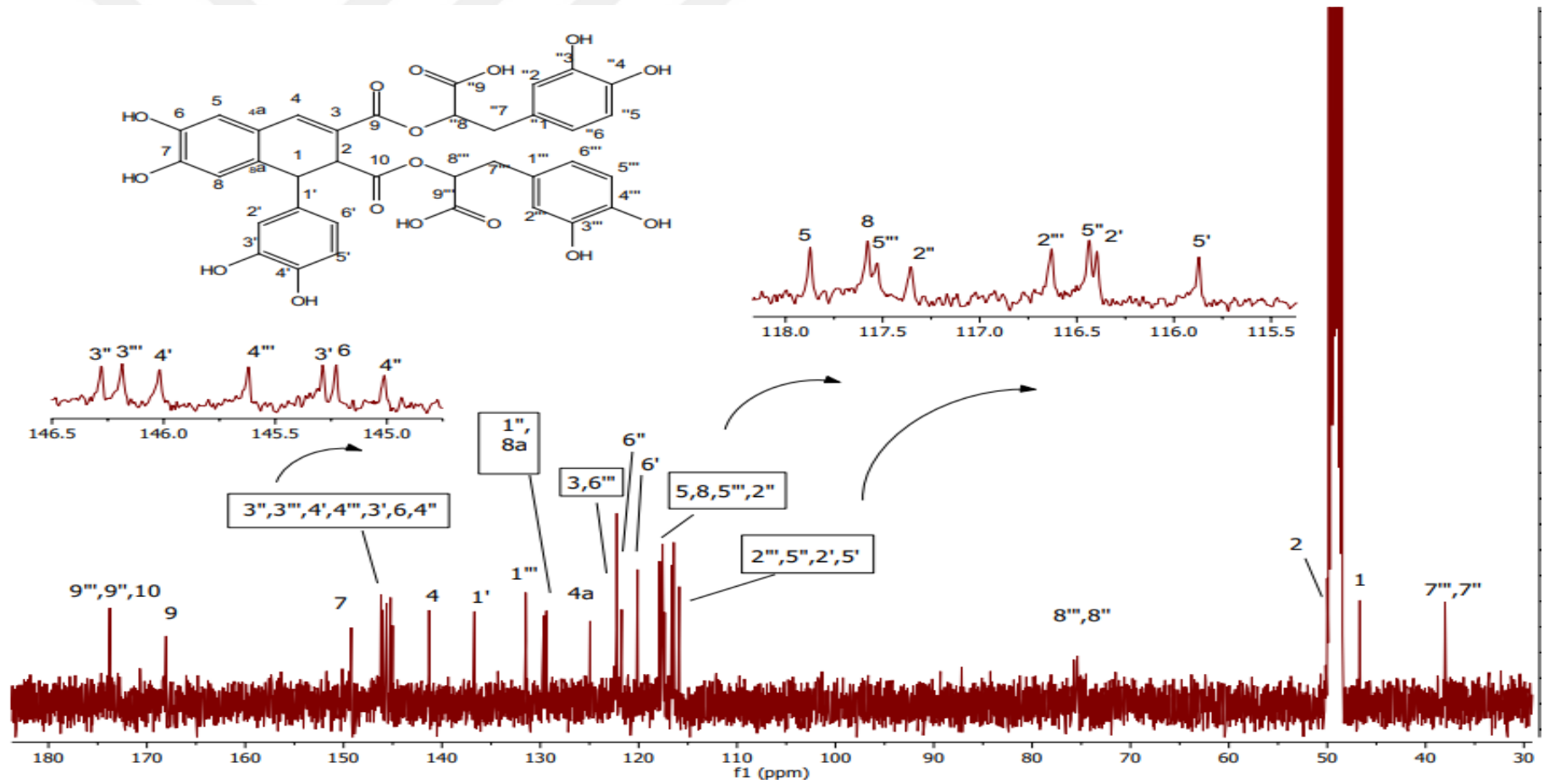
C	δ_{C} (ppm)
1	46.7
2	50.0
3	122.2
4	141.3
4a	124.9
5	117.9
6	145.2
7	149.2
8	117.6
8a	129.4
9	168.1
10	173.8
1'	136.7
2'	117.4
3'	145.3
4'	146.0
5'	115.9
6'	120.1
1''	129.6
2''	117.4
3''	146.3
4''	145.0
5''	116.4
6''	121.7
7''	38.0
8''	75.8
9''	173.6
1'''	131.5
2'''	116.6
3'''	146.2
4'''	145.6
5'''	117.5
6'''	122.2
7'''	38.0
8'''	75.4
9'''	173.7

^1H -NMR, ^{13}C -NMR, COSY, HSQC ile birlikte HMBC spektrumlarındaki kimyasal kayma değerleri ve korelasyonlar literatürler ile desteklenerek maddenin Rabdosiin olduğu bulunmuştur (57, 58).

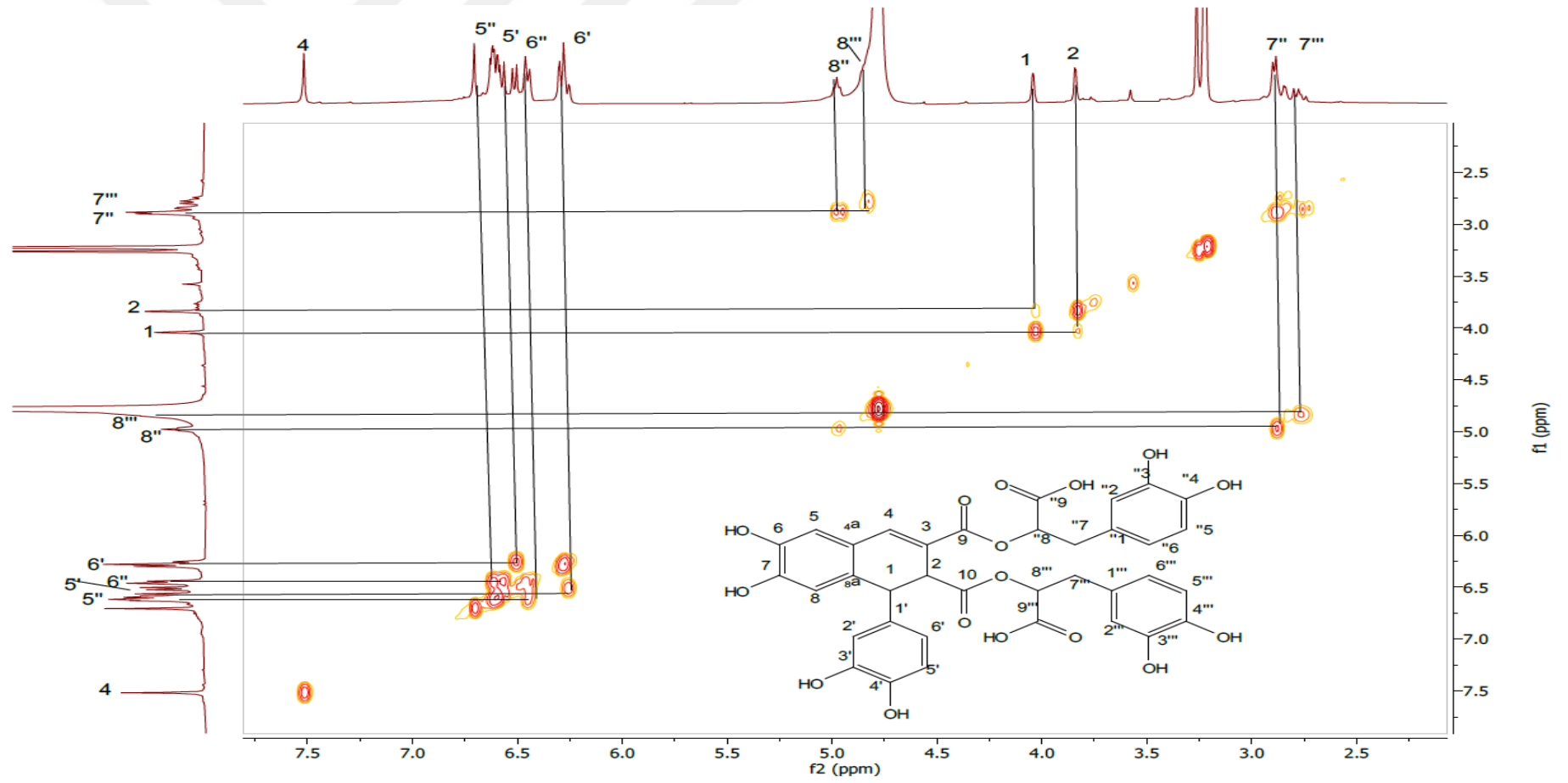




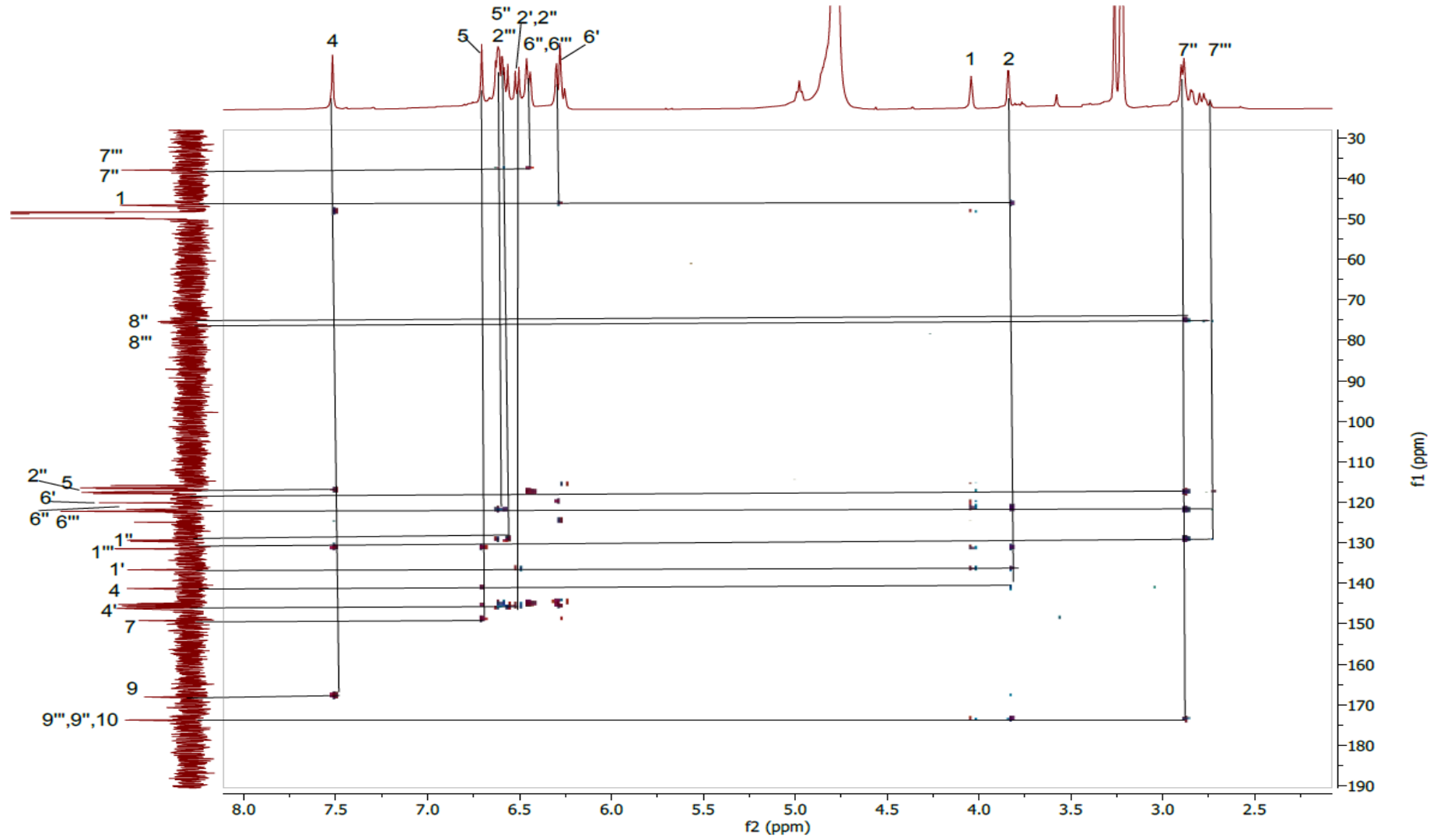
Şekil 22. Rabdosiin ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



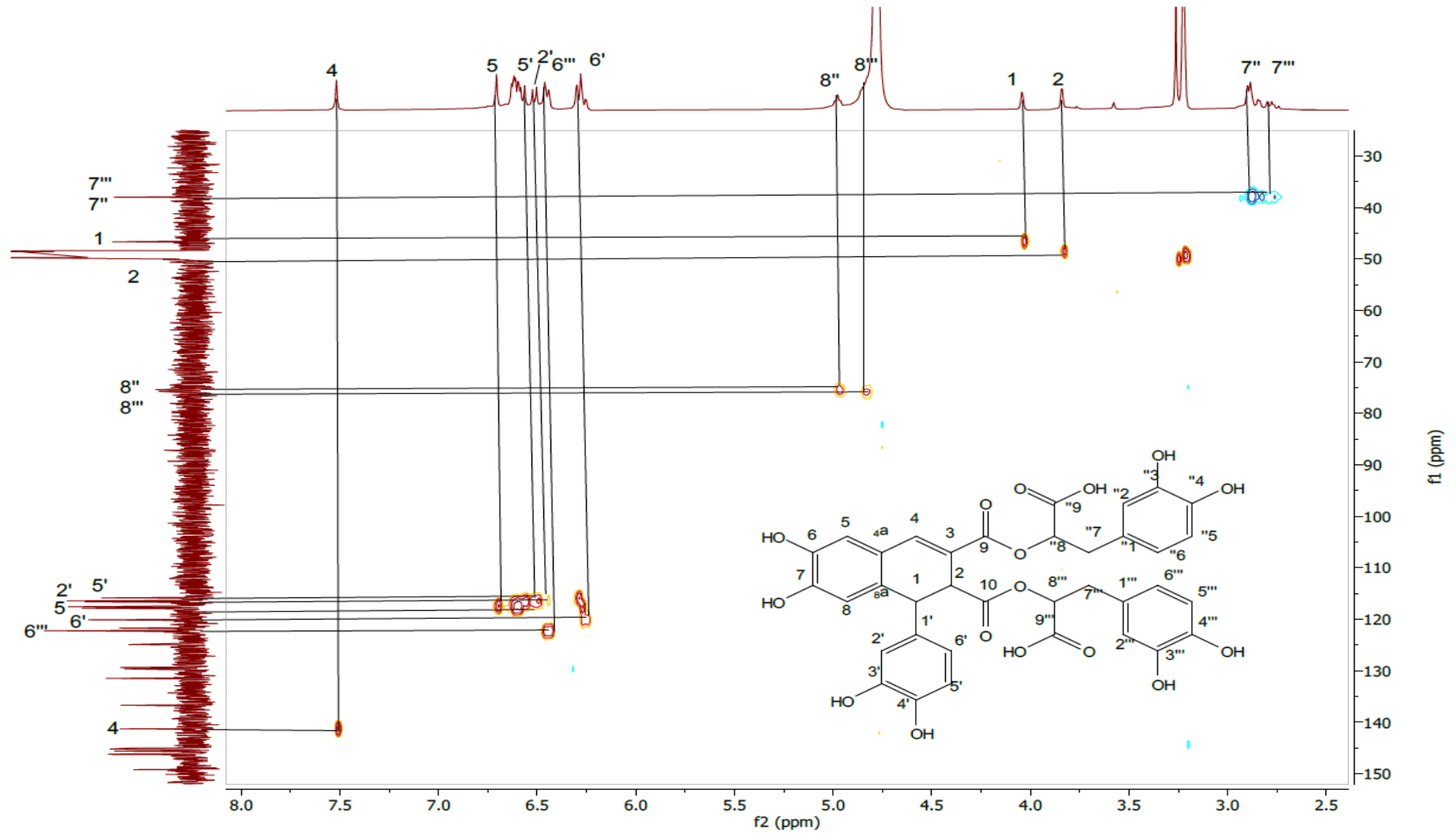
Şekil 23. Rabdosiin ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



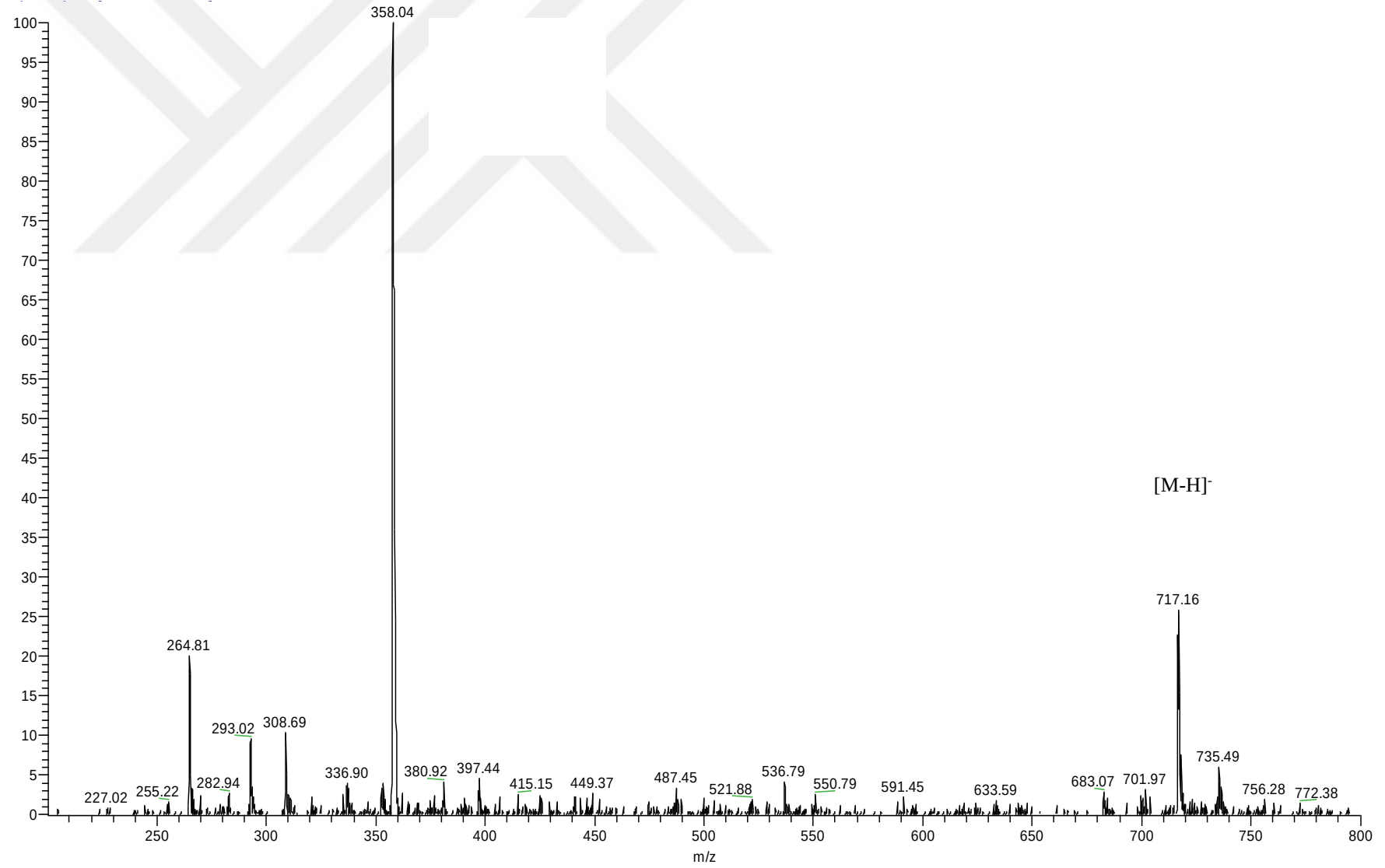
Şekil 24. Rabdosiin COSY spektrumu



Şekil 25. Rabdosiin HMBC spektrumu



Şekil 26. Rabdosiin HSQC spektrumu



Şekil 27. Rabdosiin kütle spektrumu

4.5. FRAP ve CUPRAC Tayini Sonuçları

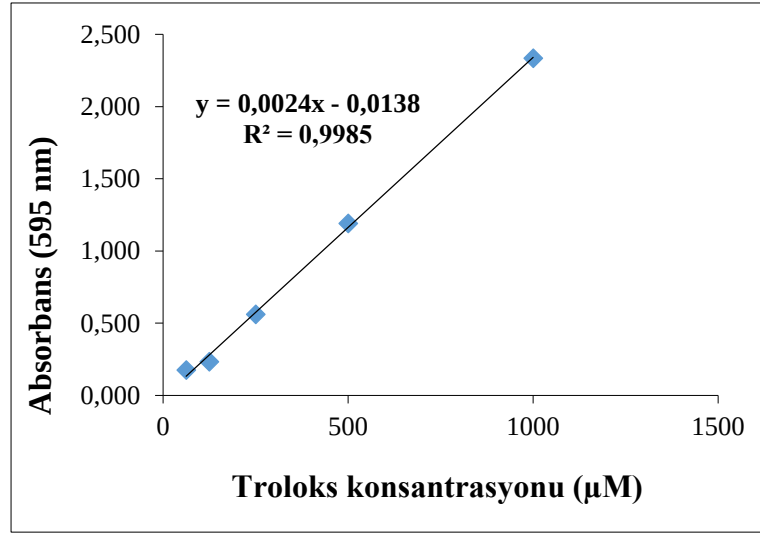
Numunelerin antioksidan kapasitesi standart madde olarak kullanılan Troloks ile karşılaştırılarak TEAC (μM) olarak ifade edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin antioksidan aktiviteleri ekstrelerin aktivitesine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Rosmarinik asit her iki analizde de en yüksek aktiviteyi göstermiştir (FRAP: 1260.273 ± 4.499 , CUPRAC: $608.250 \pm 1.195 \mu\text{M TE/g}$). Ekstreler arasında TOK-EAC en yüksek aktiviteyi göstermiştir.

T. orientalis'e ait ekstrelerin ve izole edilen bileşiklerin antioksidan aktivite tayini sonuçları Tablo 12'de gösterilmiştir.

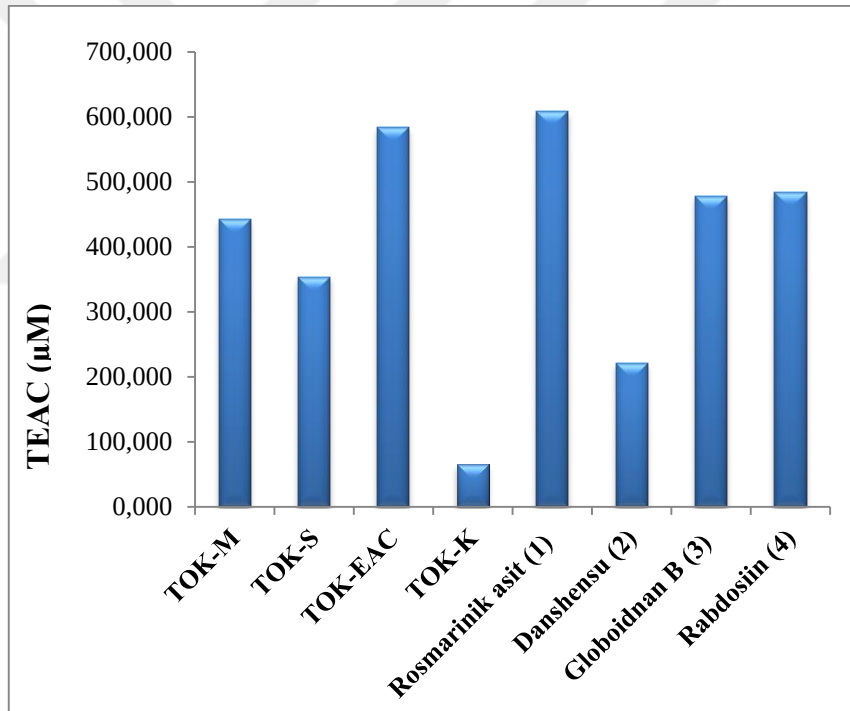
Tablo 12. *T. orientalis*'e ait ekstrelerin ve izole edilen bileşiklerin antioksidan aktivite tayini sonuçları

Numuneler	CUPRAC*	FRAP**
TOK-M	442.972 ± 7.378	677.545 ± 1.285
TOK-S	354.083 ± 6.191	770.273 ± 3.857
TOK-EAC	583.06 ± 5.882	794.818 ± 8.999
TOK-K	65.472 ± 4.317	52.394 ± 5.143
Rosmarinik asit	608.250 ± 1.195	1260.273 ± 4.499
Danshensu	221.306 ± 0.851	919.364 ± 7.071
Globoidnan B	478.389 ± 1.264	813.909 ± 2.571
Rabdosiin	483.667 ± 1.534	1041.182 ± 8.357

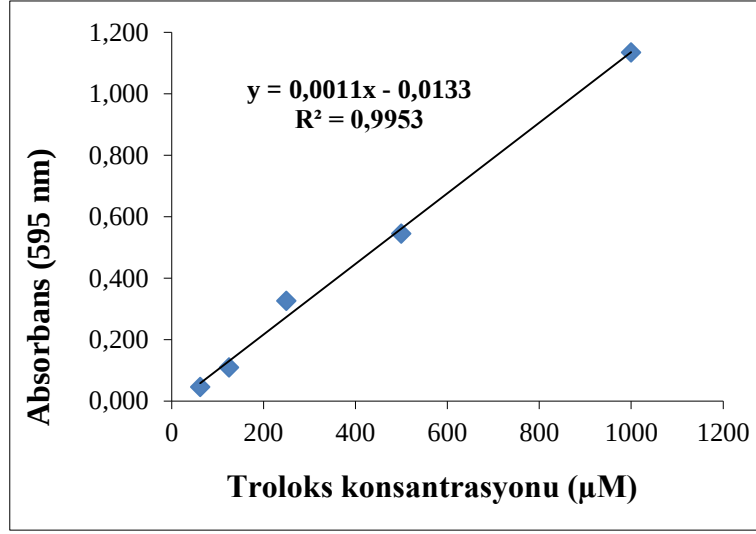
*: CUPRAC değeri bakır indirgeyici antioksidan gücünü (μM Troloks eşdeğeri/gram), **: FRAP değeri demir indirgeyici antioksidan gücünü (μM Troloks eşdeğeri/gram) gösterir.



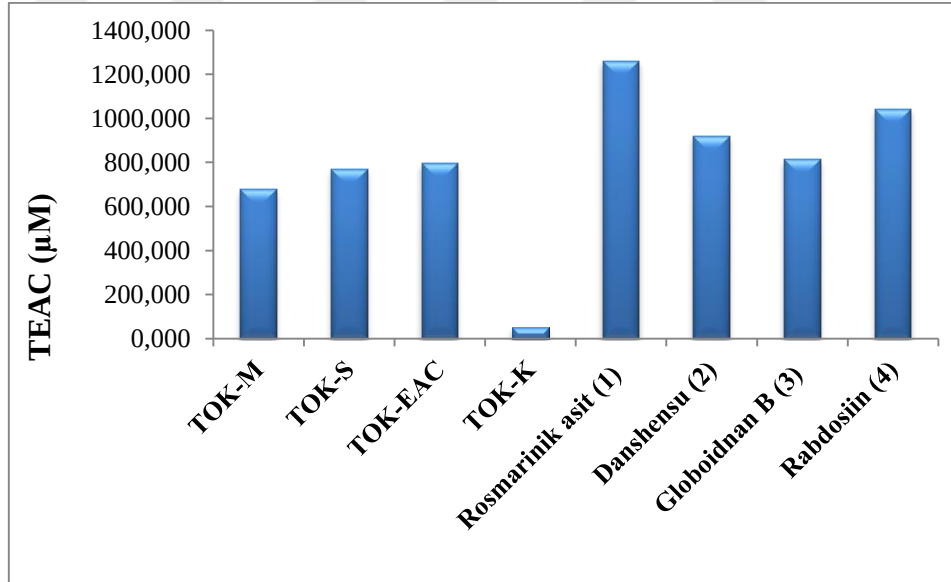
Şekil 28. CUPRAC tayininde kullanılan Troloks'a ait kalibrasyon grafiği



Şekil 29. *T. orientalis* türüne ait ekstrelerin ve izole edilen bileşiklerin CUPRAC tayini sonuçlarının karşılaştırılması



Şekil 30. FRAP tayininde kullanılan Troloks'a ait kalibrasyon grafiği



Şekil 31. *T. orientalis* türüne ait ekstrelerin ve izole edilen bileşiklerin FRAP tayini sonuçlarının karşılaştırılması

4.6. Pankreatik Lipaz Enzim İnhibisyonu Sonuçları

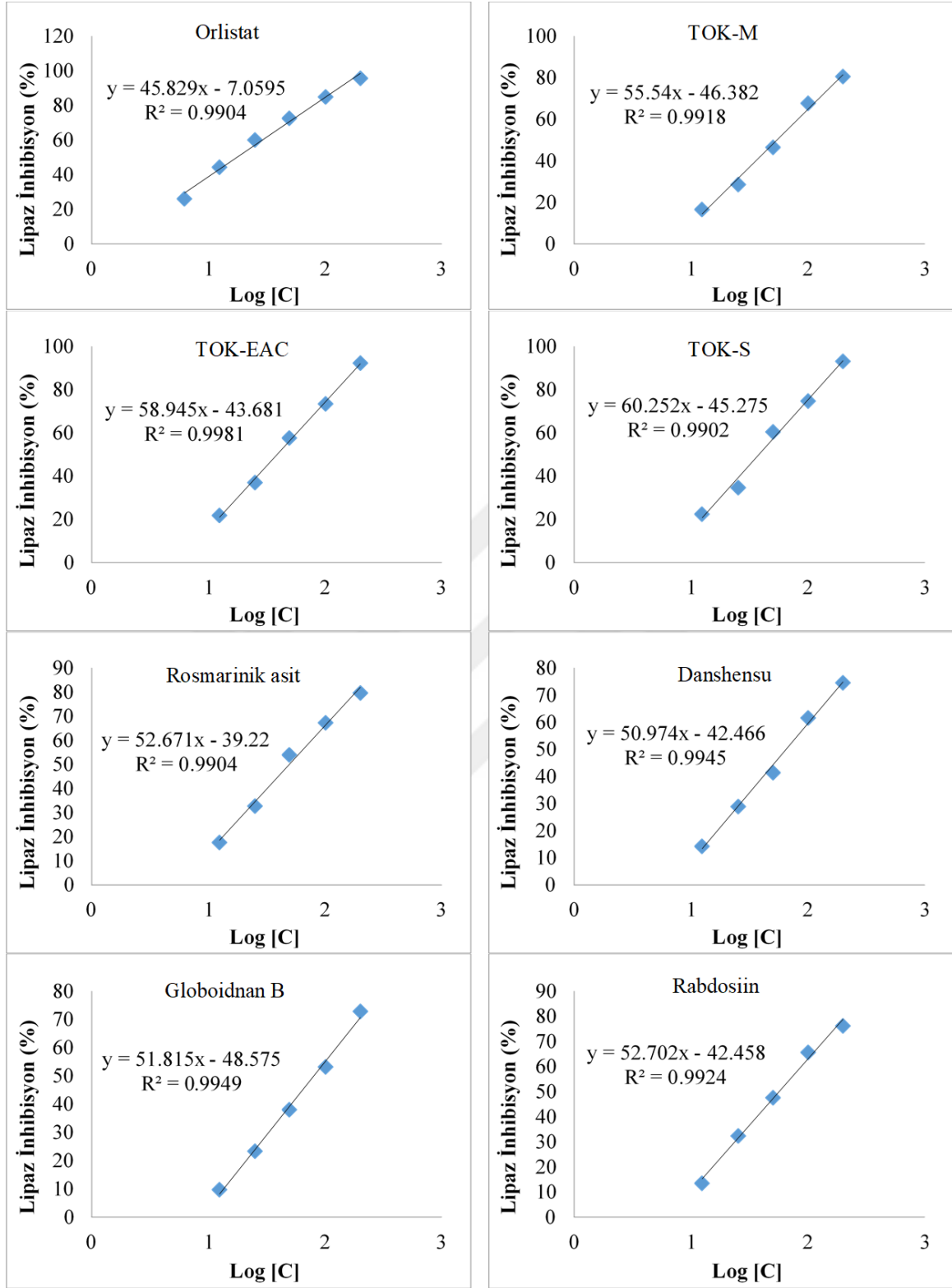
T. orientalis kök ekstrelerinin ve izole edilen bileşiklerin ve standart olarak kullanılan orlistat'ın lipaz enzim inhibisyon sonuçları IC₅₀ değeri şeklinde verilmiştir (Tablo 13). Pankreatik lipaz inhibisyonuyla ilgili grafikler Şekil 32'de verilmiştir. Orlistat'ın IC₅₀ değeri 17.581 ± 0.714 µg/mL olarak bulunmuştur. Ekstrelerin ve izole edilen bileşiklerin pankreatik lipaz inhibitör aktivitelerinin orlistattan daha zayıf olduğu belirlenmiştir. Ayrıca TOK-S ve TOK-EAC'nin, diğer ekstrelere ve izole edilmiş bileşiklere göre daha yüksek

aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (sırasıyla, $IC_{50} = 38.131 \pm 0.720$, 38.841 ± 1.359 $\mu\text{g/mL}$). Rosmarinik asit, diğer bileşiklerle karşılaştırıldığında en yüksek aktiviteyi ($IC_{50} = 49.421 \pm 1.448$ $\mu\text{g/mL}$) göstermiştir.

Tablo 13. *T. orientalis*'e ait ekstralarının ve izole edilen bileşiklerin pankreatik lipaz enzim inhibisyonu sonuçları

Test Bileşikleri	Lipaz Enzim İnhibisyonu (IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ SS*)
TOK-M	54.370 ± 0.937
TOK-S	38.131 ± 0.720
TOK-EAC	38.841 ± 1.359
TOK-K	-
Rosmarinik asit	49.421 ± 1.448
Danshensu	65.160 ± 4.443
Globoidnan B	79.881 ± 3.435
Rabdosiin	56.801 ± 2.052
Orlistat	17.581 ± 0.714

*: Standart sapma, -: Aktivite tespit edilememiştir.



Şekil 32. Pankreatik lipaz enzim inhibisyonu ile ilgili grafikler

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada TOK-M'den hazırlanan alt ekstreler üzerinde izolasyon çalışmaları yapılmıştır. İzolasyon çalışmaları sonucunda TOK-EAC'den rosmarinik asit, TOK-S'den danshensu, globoidnan B ve rabsosiiin izole edilmiştir. Literatür verilerine göre *T. orientalis*'in toprak altı kısımlarında daha önce yapılmış herhangi bir izolasyon çalışmasına rastlanmamıştır. Yapılan bir çalışmada bitkinin köklerinde rosmarinik asit bulunduğu HPLC ile belirlenmiştir (59).

Literatürdeki verilere göre Boraginaceae familyası bitkilerinde rosmarinik asit, danshensu, globoidnan B ve rabsosiiin'in bulunduğu bildirilmiştir. *Symphytum officinale*'nin köklerinden rosmarinik asit, globoidnan B ve rabsosiiin; *Cordia americana*'nın yapraklarından ise rosmarinik asit ve danshensu izole edilmiştir (40,60). *Symphytum officinale*'nin toprak üstü kısımları ve kökleri ile *Symphytum ibericum*'un yaprakları ve köklerinde rosmarinik asit, danshensu, globoidnan B ve rabsosiiin'in bulunduğu LC-HRMS/MS ile tespit edilmiştir (61, 62).

Rosmarinik asit, kafeik asit ve danshensu'nun esterifikasyonu ile oluşan bir polifenolik bileşiktir. Boraginaceae familyasının bitkilerinde yaygın olarak bulunur (63). Rosmarinik asidin antioksidan, antimikrobiyal, immünomodülatör, analjezik, antiinflamatuvar, antiviral, antikanser ve antidiyabet aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir (64). Kateşol ve laktik asitten oluşan danshensu [3-(3,4-dihidroksi-fenil) laktik asit], kardiyovasküler hastalıklarda (örneğin, miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon, ateroskleroz, hipertansiyon), serebral lezyonlarda ve bozukluklarda (örneğin, iskemi, bilişsel gerileme ve anksiyete) ve diğer sağlık problemlerinde (örneğin, tromboz, tümör oluşumu, pankreatit) terapötik etkiler göstermektedir (65). İlk defa 2014'te *Origanum glandulosum*'dan izole edilen globoidnan B'nin antiinflamatuvar, antioksidan ve sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir (56,62,66). Lignan iskeletine bağlı bir kafeik asit tetrameri olan rabsosiiin'in anti-HIV, antialerjik, hiyalüronidaz ve β -heksosaminidaz inhibitör aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir (58).

Antioksidanlar reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyip bu maddelerin meydana getirdiği hasarları önleyerek detoksifikasyonunu sağlamak üzere vücutta görev alan maddelerdir. Antioksidanlar serbest radikalleri temizleyip hücre hasarını engellerler (67). Domates (*Lycopersicon esculantum*), kayısı (*Prunus armeniaca*), elma (*Malus domestica*), çay (*Camellia sinensis*), üzüm (*Vitis vinifera*), sarımsak (*Allium sativum*), kiraz

(*Prunus avium*), soğan (*Allium cepa*), incir (*Ficus carica*) antioksidan içeren bitki türlerine örnek verilebilir (68).

Pankreatik lipaz, bağırsaktaki diyet yağının parçalanmasından sorumludur. Bu diyet yağları parçalandıktan sonra bağırsak tarafından emilir. Bu yüzden pankreatik lipaz diyet triaçilgliserollerinin monoaçilgliserollere sindirimi için önemli bir enzimdir. Bağırsakta emilen yağ miktarı pankreatik lipazların inhibisyonu ile azalacağından pankreatik lipaz inhibitörleri obezite için umut vadeden tedavi yaklaşımları arasındadır (69). Orlistat, sistemik olmayan, potent bir gastrik ve pankreatik lipaz inhibitörüdür. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylı anti-obezite amacıyla kullanılan bir ilaçtır (70).

Bu çalışmada, *T. orientalis* toprak altı kısımlarından hazırlanan TOK-M, TOK-K, TOK-EAC, TOK-S'nin ve izole edilen bileşiklerin pankreatik lipaz inhibisyonu ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Pankreatik lipaz inhibisyon deneyinin sonuçlarına göre ekstrelerin ve bileşiklerin orlistattan daha az aktif olduğu ve TOK-S'nin en yüksek lipaz inhibitör aktiviteyi gösterdiği ortaya çıkmıştır. TOK-EAC'nin, TOK-S'ye yakın bir IC₅₀ değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Tüm izole edilen bileşiklerin lipaz enzimini inhibe ettiği ve rosmarinik asidin diğer bileşiklere göre daha etkili olduğu saptanmıştır. Bu aktivite sonuçları, alt ekstrelerden izole edilen ve diğer bileşiklerin sinerjik etkisinden kaynaklanıyor olabilir. *Rosmarinus officinalis* ekstresinin ve rosmarinik asit dahil fenolik bileşiklerinin pankreatik lipaz inhibisyonunun değerlendirildiği *in vitro* çalışmada ekstrenin IC₅₀ değeri 13.8 µg/mL, rosmarinik asidin IC₅₀ değeri ise 125.2 µg/mL olarak bulunmuştur. Ekstrenin etkisinin rosmarinik asit ve diğer fenolik asitlerin sinerjistik etkisinden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (71). Başka bir çalışmada, rosmarinik asidin yüksek lipaz inhibitör aktivite gösterdiği belirlenmiştir (IC₅₀= 62.8±2.7 µM) ve bu araştırmadaki bulguları desteklemektedir (72).

Bu çalışmada, antioksidan aktivite sonuçlarına göre TOK-EAC'nin diğer ekstrelere göre daha yüksek aktivite gösterdiği ve TOK-S'nin, TOK-EAC'ye yakın antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Rosmarinik asidin en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. İzole edilen bileşiklerin, TOK-EAC ve TOK-S'nin yüksek antioksidan aktivitelerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, *T. orientalis*'in toprak üstü kısımlarından ve köklerinden hazırlanan ekstrelerin yüksek antioksidan aktivitesi içeriğindeki rosmarinik aside bağlanmıştır (59). Rosmarinik asidin serbest radikal süpürücü özelliğe sahip olduğu ve oksidatif reaktif oksijen türlerine karşı

etkili olduğu gösterilmiştir (64). Bir çalışmada danshensu'nun serbest hidroksil radikalleri, süperoksit anyon radikalleri, DPPH ve ABTS radikallerini C vitaminine kıyasla daha yüksek radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (73). Rosmarinik asit, globoidnan B ve rabdosiin gibi bileşikler açısından zengin *Symphytum officinale* kök ekstrelerinin ve *Symphytum anatolicum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin içerdikleri fenolik asitler nedeniyle yüksek antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (62,74). Rabdosiin, rosmarinik asidin bir dimeridir; disodyum tuzu ise yakın zamanda Boraginaceae familyasının başka bir bitkisi olan *Alkanna sfikasiana*'dan izole edilen yeni bir bileşiktir. Potansiyel sitotoksik ve antiviral aktiviteler açısından incelenmiştir (33). Rabdosiin'in antioksidan aktivitesinin globoidnan B ve rosmarinik asitten daha yüksek olduğu belirlenmiştir (40). Fenolik bileşiklerin radikal süpürücü, metal şelatör ve hidrojen donör özellikler gösterdiği bilinmektedir (75). *T. orientalis*'in içerdiği fenolik bileşikler sayesinde yüksek antioksidan ve antilipaz aktivite gösterdiği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, alışmamızda *T. orientalis*'in toprak altı kısmından 4 bileşik izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin kimyasal yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR ve MS spektral yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır. Metanol ekstrelerinden hazırlanan etil asetat alt ekstrelerinden rosmarinik asit, arta kalan su alt ekstrelerinden danshensu, globoidnan B ve rabdosiin izole edilmiştir. CUPRAC ve FRAP yöntemleriyle yapılan antioksidan aktivite tayinine göre rosmarinik asidin en yüksek aktiviteye sahip olduğu, ekstreler arasında ise TOK-EAC'nin daha etkili olduğu belirlenmiştir. Pankreatik lipaz inhibisyon sonuçlarına göre ekstrelerin ve izole edilen bileşiklerin aktivitelerinin orlistata göre zayıf olduğu gözlenmiştir. TOK-S ve TOK-EAC'nin birbirine yakın ve en yüksek lipaz inhibitör aktiviteleri gösterdiği, rosmarinik asidin diğer izole edilen bileşiklere göre daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmanın sonucuna göre *T. orientalis*'in ve izole edilen bileşiklerinin yüksek antioksidan ve pankreatik lipaz inhibitör aktivitesi nedeniyle obezite ve obezite kaynaklı komplikasyonların tedavisinde umut verici bir doğal terapötik olabileceği sonucuna varılmıştır. Tez çalışmamızın sonuçları, *T. orientalis*'in terapötik potansiyelini belirlemek amacıyla yapılacak ileri çalışmalar için yol gösterici olabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Akçin OE, Binzet R (2010). The micromorphological and anatomical properties of *Onosma angustissimum* Hausskn. & Bornm. and *O. cassium* Boiss. (Boraginaceae). Bangladesh J Plant Taxon 17(1): 1-8.
2. Yılar M, Onaran A, Yanar Y, Belgüzar S, Kadioğlu I (2014). *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don (Kaldırık)'ın herbisidal ve antifungal potansiyeli. Iğdır Üni Fen Bilimleri Enst Der 4(4): 19-27.
3. Akçin OE (2004). A morphological and anatomical study on a medicinal and edible plant *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don (Boraginaceae) in the Black Sea region. Turk J Bot 28(4): 435-442.
4. Akçin OE, Ozbudak T, Oztürk Ş (2019). Ordu ve çevresinde yayılış gösteren *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don (Boraginaceae) türünün bazı mikromorfolojik özellikleri ve tüy yapısı. Süleyman Demirel Üni Fen Bilimleri Enst Der 23(3): 787-791.
5. Özen T (2010). Antioxidant activity of wild edible plants in the Black Sea Region of Turkey. Grasas Y Aceites 61(1):86-94.
6. Arslanoğlu SF (2016). Some medicinal plants gathered from natural areas. Lucrări Ştiinţifice 59(2): 173-176.
7. Sakinoğlu-Oruç FC, Oruç SH (2017). Ethnobotanical aspects of some species in Düzce and its vicinity. I. Internatural Congress on Medicinal and aromatic Plants 'Natural And Healty Life' -TABKON'17, Konya, 10-12 Mayıs 2017, 391-399.
8. Ayhan BS, Yalçın E, Cavoşoğlu K, Acar A (2019). Antidiabetic potential and multi-biological activities of *Trachystemon orientalis* extracts. J Food Meas Charact 13: 2887-2893.
9. Sadıkoğlu N, Cevahir G (2014). Anthocyanin content and localization in different parts of *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don. Biotechnol Biotechnol Eq 18(1): 119-123.
10. Mabberley DJ (1987). A Plant Book. University Press, Cambridge.
11. Yıldırım Ş (2000). The chorology of the Turkish species of Boraginaceae family. The Herb Journal of Systematic Botany 7(2): 257-272.
12. Oksüz M, Watson L, Dalwitzs MJ (1991). The families of Angiosperm: Automated descriptions, with interactive identification and information. Retrieval Aust Syst Bot 4: 681-695.
13. Edmondson JR (1978). *Trachystemon* D. Don. Davis PH (Ed.), Flora of Turkey and East Aegean Islands. University Press, Edinburgh, 6, 237-386.

14. Bošković I, Đukić D, Mašković P, Mandić L, Perović S, Lučić AG, Zoranka M (2018). Mineral composition of plant extracts from the family Boraginaceae. Arch Tech Sci 19(1): 85-90.
15. Oksüz M (1985). *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don. üzerinde morfolojik, anatomik, palinolojik ve kimyasal araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, İstanbul
16. World Flora Online (2023). *Trachystemon orientalis* D.Don [online]. Available from: <https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-0000410931-2023-12?page=1>. [Accessed 15 February 2024].
17. Ayhan BS (2018). *Trachystemon orientalis* ekstraktlarının antimutajenik, antimutajenik, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Giresun
18. Onaran A, Yılar M (2012). Antifungal activity of *Trachystemon orientalis* L. -aqueous extracts against plant pathogens. JFAE 10 (3&4): 287-291.
19. Ozbakır Ozer M, Kibar B (2018). Orta Karadeniz Bölgesi'nden toplanan kaldırak (*Trachystemon orientalis* (L.) G. Don.) genotiplerinin morfolojik karakterizasyonu. UTYHBD 4(2): 178-186.
20. Saraç DU, Ozkan ZC, Akbulut S (2013). Ethnobotanic features of Rize/Turkey province. Biodicon 6(3): 57-66.
21. Gül V, Seçkin Dinler B (2016). Kumru (Ordu) yöresinde doğal olarak yetisen bazı tıbbi ve aromatik bitkiler. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 11(1): 146-156.
22. Sağıroğlu M, Arslantürk A, Akdemir Z, Turna M (2012). An ethnobotanical survey from Hayrat (Trabzon) and Kalkandere (Rize/Turkey). Biodicon 5(1): 31-43.
23. Uzun E, Sarıyar G, Adersen A, Karakoc B, Otük G, Oktayoğlu E, Pırıldar S (2004). Traditional medicine in Sakarya province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species. J Ethnopharmacol 95: 287-296.
24. Yeşilada E, Sezik E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T (1999). Traditional medicine in Turkey IX: Folk medicine in north-west Anatolia. J Ethnopharmacol 64: 195-210.
25. Gharib A, Godarzee M (2016). Determination of secondary metabolites and antioxidant activity of some boraginaceae species growing in Iran. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 15(11):2459-2465.

26. Teke Hİ (2012). Türkiye'nin Bazı Endemik *Onosma* L. (Boraginaceae) Taksonlarının morfolojik ve palinolojik yönden incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adıyaman.
27. El-Shazly A, Wink M (2014). Diversity of Pyrrolizidine Alkaloids in the Boraginaceae Structures, Distribution and Biological Properties. *Diversity* 6 (2): 188-282 doi:10.3390/d6020188.
28. Wollenweber E, Wehde R, Dörre M, Stevens JF (2002). On the Occurrence of Exudate Flavonoids in the Borage Family (Boraginaceae). *Z. Naturforsch* 57: 445-448.
29. Kuruüzüm-Uz A, Güvenalp Z, Kazaz C, Demirezer LÖ (2013). Phenolic Compounds From The Roots Of *Anchusa azurea* var. *azurea*. *Turk J Pharm Sci* 10(2), 177-184.
30. Ozgen U, Ikbali M, Hacimuftuoglu A, Houghton PJ, Gocer F, Dogan H, Coskun M (2006). Fibroblast growth stimulation by extracts and compounds of *Onosma argentatum* roots. *J. Ethnopharmacol.* 104(1-2):100-103.
31. Yuzbasioglu M, Kuruuzum-Uz A, Güvenalp, Simon A, Toth G, Harput US, Kazaz C, Bilgili B, Duman H, Saraçoğlu İ, Demirezer LO (2015). Cytotoxic Compounds from Endemic *Arnebia purpurea*. *Nat. Prod. Commun* 10(4): 595-596.
32. Tung NH, Du GJ, Wang CZ, Yuan CS, Shoyama Y (2013). Naphthoquinone Components from *Alkanna tinctoria* (L.) Tausch Showed Significant Antiproliferative Effects on Human Colorectal Cancer Cells. *Phytother. Res.* 27(1): 66-70. doi: 10.1002/ptr.4680
33. Ganos C, Aligiannis N, Chinou I, Naziris N, Chountoules M, Mroczek T, Graikou K (2020). *Rindera graeca* (Boraginaceae) Phytochemical Profile and Biological Activities. *Molecules* 25:362. doi:10.3390/molecules25163625.
34. Guil-Guerrero JL, López-Martínez JC, Gómez-Mercado F, Campra-Madrid P (2006). Gamma-linolenic and stearidonic acids from Moroccan Boraginaceae. *Eur J Lipid Sci Technol* 108: 43-47.
35. Özcan T (2008a). Analysis of the total oil and fatty acid composition of seeds of some Boraginaceae taxa from Turkey. *Plant Syst. Evol.* 274:143-153.
36. Eruygur N, Yılmaz G, Kutsal O, Yücel G, Üstün O (2016). Bioassay-guided isolation of wound healing active compounds from *Echium* Species growing in Turkey. *J. Ethnopharmacol.* 185:370-376.
37. Özcan T (2008b). Fatty acid profiles of the seed oils in two groups of *Anchusa officinalis* L. *IUFS Journal of Biology* 67(1): 65–71.

38. Kiteessa SM, Nichols PD, Abeywardena M (2011). Purple Viper's Bugloss (*Echium plantagineum*) Seed Oil in Human Health. In: Preedy VR, Watson RR, Patel VB, editors. Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention. 1st ed. Academic Press; Cambridge, MA, USA: 951–958. Chapter 112.
39. Zengin G, Ceylan R, Katanic J, Mollica A, Aktumsek A, Boroja T, Matic S, Mihailovic V, Stanic S, Aumeeruddy-Elalfi Z, Yilmaz MA, M.F. Mahomoodally MF (2017). Combining in vitro, in vivo and in silico approaches to evaluate nutraceutical potentials and chemical fingerprints of *Moltkia aurea* and *Moltkia coerulea*. Food Chem. Toxicol. 107:540–553.
40. Trifan A, Skalicka-Woźniak K, Granica S, Czerwińska ME, Kruk A, Marcourt L, Wolfender JL, Wolfram E, Esslinger N, Grubelnik A, Luca SV (2020). *Symphytum officinale* L.: Liquid-liquid chromatography isolation of caffeic acid oligomers and evaluation of their influence on pro-inflammatory cytokine release in LPS-stimulated neutrophils. J Ethnopharmacol 262: 113169.
41. Ozgen U, Mavi A, Terzi Z, Kazaz C, Aşçı A, Kaya Y, Seçen H (2011). Relationship Between Chemical Structure and Antioxidant Activity of Luteolin and Its Glycosides Isolated from *Thymus sipyleus* subsp *sipyleus* var. *sipyleus*. Rec. Nat. Prod. 5(1): 12-21.
42. Pinho BR, Sousa C, Oliveira JMA, Valentão P, Andrade PB. (2012). Naphthoquinones' biological activities and toxicological effects. In: Bitterlich A, Fischl S. (Eds.), Bioactive compounds: Type, Biological Activities and Health Effects. Nova Science Publishers, New York, Sayfa: 181-218.
43. Ayvaz MC (2015). Antioxidant activity of *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don (Borage) grown and eaten as food in Ordu, Turkey. Herba Polonica Journal 61(4): 40-51.
44. Tevfik Ö (2010). Antioxidant activity of wild edible plants in the Black Sea Region of Turkey. Grasas Y Aceites 61(1): 86-94.
45. Sacan O (2018). Antioxidant activity, total phenol and total flavonoid contents of *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don. Eur J Biol 77(2): 70-75.
46. Kurtuluş G, Toksöz O, Sesal C (2022). Potential application of *Trachystemon orientalis* L. extracts in the cosmetic industries: Skincare, photoprotective and antiaging ingredients. Int. J. Adv. Eng. Pure Sci. 34(1): 147-156.
47. Boğa M, Hacibekiroglu I, Kolak U (2011). Antioxidant and anticholinesterase activities of eleven edible plants. Pharm. Biol. 49(3): 290-295.

48. Ergüven M, Özsoy N, Aktaş E, Bitiş L, Taşkın T, Bilir A (2015). *Trachystemon orientalis* has anticancer activity which is highly induced by rhizomes on endometrial cancer *in vitro*. *Anti-Cancer Drugs* 26 (Suppl 1): e12.
49. Benzie IFF, Strain JJ (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Meth Enzymol* 299: 15-27.
50. Apak R, Güçlü K, Demirata B, Ozyürek M, Celik ES, Bektaşoğlu B, Berker IK, Ozyurt D (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* 12: 1496-1547.
51. Bustanji Y, Al-Masri IM, Mohammad M, Hudaib M, Tawaha K, Tarazi H, Alkhatib HS (2011). Pancreatic lipase inhibition activity of trilactone terpenes of *Ginkgo biloba*. *J Enzyme Inhib Med Chem* 26(4): 453-459.
52. Dapkevicius A, Van Beek TA, Lelyveld GP, Van Veldhuizen A, Groot AD, Linssen JPH, Venskutonis R (2002). Isolation and structure elucidation of radical scavengers from *Thymus vulgaris* leaves. *J Nat Prod* 65: 892-896.
53. Serrano CA, Villena GK, Rodríguez EF (2021). Phytochemical profile and rosmarinic acid purification from two Peruvian *Lepechinia Willd.* species (Salviinae, Mentheae, Lamiaceae). *Sci Rep* 11(1): 7260.
54. Dai H, Xiao C, Liu H, Hao F, Tang H (2010). Combined NMR and LC-DAD-MS analysis reveals comprehensive metabonomic variations for three phenotypic cultivars of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *J Proteome Res* 9: 1565-1578.
55. Kelly CJ, Harruff RC, Carmack M (1976). The polyphenolic acids of *Lithospermum ruderale*. II. carbon-13 nuclear magnetic resonance of lithospermic and rosmarinic acids. *J Org Chem* 41: 449-455.
56. Basli A, Delaunay JC, Pedrot E, Bernillon S, Madani K, Monti JP, Merillion JM, Chibane M, Richard T (2014). New cyclolignans from *Origanum glandulosum* active against β -amyloid aggregation. *Rec Nat Prod* 8(3): 208-216.
57. D'Urso G, Masullo M, Seigner J, Holper-Schichl YM, de Martin R, Plaza A, Piacente S (2020). LC-ESI-FT-MS metabolite profiling of *Symphytum officinale* L. roots leads to isolation of Comfrey A, an unusual aryl naphthalene lignan. *Int J Mol Sci* 21(13): 4671.

58. Flegkas A, Milosević Ifantis T, Barda C, Samara P, Tsitsilonis O, Skaltsa H (2019). Antiproliferative activity of (-)-Rabdosiin isolated from *Ocimum sanctum* L. *Medicines* 6(1): 37.
59. Bıyık B, Sarialtın SY, Gökbulut A, Çoban T, Coşkun M (2023). *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don as a valuable source of rosmarinic acid: Biological activities and HPLC profiles. *Turk J Pharm Sci* 20(3): 141-148.
60. Geller F, Schmidt C, Göttert M, Fronza M, Schattel V, Heinzmann B, Weraz O, Flores EMM, Merfort I, Laufer S (2010). Identification of rosmarinic acid as the major active constituent in *Cordia americana*. *J Ethnopharmacol* 128(3): 561-566.
61. Trifan A, Zengin G, Sinan KI, Wolfram E, Skalicka-Woźniak K, Luca SV (2021). LC-HRMS/MS phytochemical profiling of *Symphytum officinale* L. and *Anchusa ochroleuca* M. Bieb. (Boraginaceae): Unveiling their multi-biological potential via an integrated approach. *J Pharm Biomed Anal* 204: 114283.
62. Trifan A, Zengin G, Sinan KI, Skalicka-Wozniak K, Minceva M, Luca SV (2022). *Symphytum ibericum* Steven: LC–HRMS/MS-based phytochemical profile, *in vitro* antioxidant and enzyme inhibitory potential. *Chem Biol Technol Agric* 9: 42.
63. Petersen M, Simmonds MS (2003). Rosmarinic acid. *Phytochemistry* 62(2): 121-125.
64. Alagawany M, Abd El-Hack ME, Farag MR, Gopi M, Karthik K, Malik YS, Dhama K (2017). Rosmarinic acid: modes of action, medicinal values and health benefits. *Anim Health Res Rev* 18(2): 167-176.
65. Zhang J, Zhang Q, Liu G, Zhang N (2019). Therapeutic potentials and mechanisms of the Chinese traditional medicine Danshensu. *Eur J Pharmacol* 864: 172710.
66. Bedane KG, Zühlke S, Spiteller M (2020). Bioactive constituents of *Lobostemon fruticosus*: Anti-inflammatory properties and quantitative analysis of samples from different places in South Africa. *S Afr J Bot* 131: 174-180.
67. Karabulut H, Gülay MS (2016). Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg* 1(1):65-76.
68. Oğüt S (2014). Doğal antioksidanların önemi. *ADÜ Ziraat Derg* 11(1): 25-30.
69. Gündoğdu S, Kuruüzüm-Uz A (2021). Bitkisel lipaz kaynakları ve kullanım alanları. *Hacet Univ J Fac* 41(1):35-44.
70. Harrison SA, Fincke C, Helinski D, Torgerson S, Hayashi P (2004). A pilot study of orlistat treatment in obese, nonalcoholic steatohepatitis patients. *Aliment Pharmacol Ther* 20(6): 623-628.

71. Bustanji Y, Issa A, Mohammad M, Hudaib M, Tawah K, Alkhatib H, Almasri I, Alkhalidi B (2010). Inhibition of hormone sensitive lipase and pancreatic lipase by *Rosmarinus officinalis* extract and selected phenolic constituents. J Med Plant Res 4(21): 2235-2242.
72. Lee IC, Bae JS, Kim T, Kwon OJ, Kim TH (2011). Polyphenolic constituents from the aerial parts of *Thymus quinquecostatus* var. *japonica* collected on ulleung island. J Korean Soc Appl Biol Chem 54(5): 811-816.
73. Zhao GR, Zhang HM, Ye TX, Xiang ZJ, Yuan YJ, Guo ZX, Zhao LB (2008). Characterization of the radical scavenging and antioxidant activities of danshensu and salvianolic acid B. Food Chem Toxicol 46(1): 73-81.
74. Trifan A, Czerwińska ME, Zengin G, Esslinger N, Grubelnik A, Wolfram E, Skalicka-Woźniak K, Luca SV (2023). Influence of pyrrolizidine alkaloids depletion upon the biological activity of *Symphytum officinale* L. extracts. J Ethnopharmacol 303: 116010.
75. Hadrich F, Cher S, Gargouri YT, Adel S (2014). Antioxidant and lipase inhibitory activities and essential oil composition of pomegranate peel extracts. J Oleo Sci 63(5): 515-525.