



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMAKOGNOZİ ANA BİLİM DALI

***Plagiomnium rostratum* (Schrad.) ve *P. medium*
(Bruch & Schimp.) TÜRLERİ ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Beyza Nur Evli DERELİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Nurettin YAYLI

TRABZON-2024

BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Plagiomnium rostratum* (Schrad.) ve *P. medium* (Bruch & Schimp.) Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Nurettin YAYLI’nın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri kendim topladığımı, analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, antimikrobiyal aktiviteleri ilgili makamlara yaptırdığımı, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak 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.

01/04/2024

Beyza Nur Evli Dereli

TEŞEKKÜR

“*Plagiomnium rostratum* (Schr.) ve *P. medium* (Bruch & Schimp.) Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar” adlı bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozisi Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Danışmanlığımı üstlenen, çalışma konusunun seçiminde bana yol gösteren, araştırmalarımın başlangıcından bitimine kadar yardım ve desteğini esirgemeyen başta sayın hocam Prof. Dr. Nurettin YAYLI olmak üzere analizlerini yaptığım bitki örneklerinin teşhisini sağlayan sayın Prof. Dr. Nevzat BATAN’a ve biyolojik aktivite çalışmaları için sayın Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU’na teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarımda tüm çalışma boyunca manevi desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Gözde BOZDAL’a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Yüksek Lisans eğitiminin en kritik anında dramatik dokunuşunu yapan Prof. Dr. Ufuk Özgen’e şükranlarımı sunuyorum.

Beni bugünlere getiren, manevi destekleriyle yanımda olan, moral ve sevgi kaynağım aileme ve tez aşamasında akademik destek sağlayan eşim Doç. Dr. Seçkin Dereli’ye sonsuz teşekkür ederim.

Ecz. Beyza Nur Evli Dereli

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK SAYFASI

ONAY

BEYAN

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER

vi

TABLolar DİZİNİ

viii

ŞEKİLLER DİZİNİ

ix

RESİMLER DİZİNİ

x

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

xi

ÖZET

xiii

ABSTRACT

xiv

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1

2. GENEL BİLGİLER

4

2.1. Bryophyte ve Özellikleri

4

2.1.1. *Plagiomnium Rostratum* (Schrad.) Türünün Botanik Bilgileri

5

2.1.2. *Plagiomnium Medium* (Bruch & Schimp.) Türünün Botanik Bilgileri

6

2.2. Esansiyel Yağlar

8

2.2.1. Esansiyel Yağları Taşıyan Organlar

8

2.2.2. Esansiyel Yağların Görevleri

9

2.2.3. Esansiyel Yağların Eldesi İçin Geliştirilen Metotlar

9

2.2.4. Ekstraksiyon Yöntemleri

12

2.2.5. Esansiyel Yağların Genel Özellikleri

15

3. GEREÇ ve YÖNTEM

22

3.1. Bitki Materyalleri

22

3.2. Clevenger Yöntemi ile Uçucu Yağ Eldesi

22

3.3. *n*-Hekzan, Kloroform, Metanol ve Su Ekstrelerinin Eldesi

22

3.4. Uçucu Yağların GC-FID-MS Analiz Yöntemi	23
3.5. Antimikrobiyal Aktivite Yöntemi	24
3.5.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu	24
4. BULGULAR	26
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	32
6. KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	51



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. <i>Vicia</i> L. bitkiler alemindeki sistemağı	17
Tablo 2. <i>P. rostratum</i> ve <i>P. medium</i> bitkilerinden elde edilen ekstre miktarları	23
Tablo 3. Terpenlerin izopren ve karbon atom sayılarına göre sınıflandırması	26
Tablo 4. <i>V. bithynica</i> bitkisinin esansiyal yağ bileşenleri	27
Tablo 5. <i>V. bithynica</i> bitkisinin uçucu bileşenlerinin formülleri	28
Tablo 6. <i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i> bitkisinin uçucu yağ bileşenleri	29
Tablo 7. <i>P. medium</i> ve <i>P. rostratum</i> bitkilerinin uçucu ve çözücü ekstrelerinin agar kuyu difüzyon yöntemi (mm) ile antimikrobiyal inhibisyon çapları	30
Tablo 8. <i>P. medium</i> ve <i>P. rostratum</i> bitkilerindeki uçucu bileşenlerin sınıfları ve miktarı	32
Tablo 9. <i>P. medium</i> bitkisinin sadece HD veya MW UY’da bulunan uçucu bileşenleri	34
Tablo 10. <i>P. rostratum</i> bitkisinin sadece HD veya MW UY’da bulunan uçucu bileşenleri	35
Tablo 11. <i>P. medium</i> bitkisinin UY’daki terpenik bileşenleri	35
Tablo 12. <i>P. rostratum</i> bitkisinin UY’daki terpenik bileşenleri	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 1. Bryophytelerin sınıflandırılması	4
Şekil 2. Su distilasyonu Clevenger yöntemi	10
Şekil 3. Buhar distilasyon düzeneği	11
Şekil 4. Vakum distilasyon yöntemi	11
Şekil 5. İzopren dizilimi	16
Şekil 6. Hemiterpenoid grubundan β -furoik asit molekül yapısı	17
Şekil 7. Asiklik monoterpenoidlerden osimen	18
Şekil 8. Monosiklik monoterpenoidlere örnek D-limonen	18
Şekil 9. Bisiklik monoterpenoid tujen ve para-mentan	19
Şekil 10. Asiklik monoterpenlere örnek afanamoksen ve nemoralisin	19
Şekil 11. α -bisabolen'in molekül yapısı	19
Şekil 12. Bisiklik diterpenlerden Sclareol'ün molekül yapısı	20
Şekil 13. <i>P. medium</i> bitkisinden elde uçucu ana bileşiklerin formülleri	33
Şekil 14. <i>P. rostratum</i> 'dan elde edilen uçucu ana bileşiklerin formülleri	33

RESİMLER DİZİNİ

Resim No	Sayfa
Resim 1. <i>P. rostratum</i>	6
Resim 2. <i>P. medium</i>	7
Resim 3. Uçucu yağ elde etmede kullanılan Clevenger sistemi	22
Resim 4. <i>P. rostratum</i> ve <i>P. medium</i> bitkilerinin n-hekzan, klorofom, metanol ve su ekstraktları	22
Resim 5. GC-FID/MS cihazı	24

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ALA	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
BÇE	Basınçlı çözücü ekstraksiyonu
BHI	Brain heart infusion
FID	Alev iyonizasyon dedektörü
GC	Gaz kromatografisi
GC-FID/MS	Gaz kromatografisi-Kütle spektrometresi/Alev iyonizasyon dedektörü
GC-MS	Gaz kromatografisi-Kütle spektrometresi
Gram (-)	Gram negative
Gram (+)	Gram pozitif
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
Kob	Koloni oluşturan birim
LC-MS	Sıvı kromatografisi-Kütle spektrometresi
MÇE	Mikrodalga destekli çözücü ekstraksiyonu
MHA	Mueller-Hinton agar
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
NCCLS	National committee for clinical laboratory standard
PDA	Potato dextrose agar
RI*	Referans değeri
RT	Alıkonma zamanı
SAE	Süperkritik akışkan ekstraksiyonu
SPME	Katı faz mikro ekstraksiyon
TLC	İnce tabaka kromatografisi

Simgeler

Dk	Dakika
GHz	Giga Hertz
G	Gram
MHz	Mega Hertz
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
Mg	Miligram
mL	Mililitre
Mm	Milimetre
Nm	Nanometre
°C	Santigrat
U	Ünite
%	Yüzde

ÖZET

Plagiomnium rostratum (Schrاد.) ve *P. medium* (Bruch & Schimp.) Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar

Tez kapsamında *Plagiomnium medium* (Bruch & Schimp.) ve *P. rostratum* (Schrاد.) türlerinin subuharı distilasyonu (HD) ve mikrodalga (MW) yöntemleriyle uçucu yağ (UY) eldesi, GC-FID-MS yöntemiyle aydınlatılması, çözücü ekstreleri (*n*-hekzan, kloroform, metanol, su) ve UY'ın antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bitkilerden elde edilen UY bileşenleri GC-FID-MS cihazı kullanılarak aydınlatıldı. *P. medium* türünün HD UY'ında en fazla miktarda pentanal (%29.50), tetradekanal (%9.46), *iso*-bornil asetat (%8.94), oktanal (%5.44), humulen epoksit-II (%5.29) ve MW UY'da ise pentanol (%25.50), bornil asetat (%24.42), β -kopaen (%5.70), tetradekanal (%5.00), ve α -pinen oksit (%4.44) bulunmuştur.

P. rostratum türünün HD UY'ında ise en ana bileşen olarak oktanal (524.12), bornil asetat (%20.98), β -*E*-ionon (%19.90), fiton (%7.62), δ -elemen (%3.67) ve MW UY'da da oktanal (%20.22), *iso*-bornil asetat (%11.44), δ -elemen (%11.34) ve α -humulen (%8.83) tanımlanan diğer ana bileşenlerdir.

Her iki yosun türünün HD ve MW uçucu yağları, *n*-hekzan, kloroform, metanol ve su ekstraktlarının dokuz ayrı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılmıştır. Her iki bitkini uçucu yağları (HD ve MW) *Yersinia pseudotuberculosis* (24 mm), *Enterococcus faecalis* (20 mm), *Bacillus cereus* (25 mm) ve *Candida albicans*'a (15 mm), karşı en etkili olup inhibisyon çapı 15-25 mm aralığında bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, GC-FID-MS, *Plagiomnium medium*, *Plagiomnium rostratum*, Uçucu yağ

ABSTRACT

Pharmacognostic Studies on *Plagiomnium Rostratum* (Schrad.) and *Plagiomnium Medium* (Bruch & Schimp.) Species

Within the scope of the thesis, obtaining essential oils (EOs) by water distillation (HD) and microwave (MW) methods from *Plagiomnium medium* and *P. rostratum* species, identifications by GC-FID-MS, and antimicrobial activities of EOs and solvent extracts (*n*-hexane, chloroform, methanol, water) were aimed to study.

EOs components obtained from plants were elucidated using the GC-FID-MS. The highest amounts of compounds were found in the HD EO of *P. medium* as pentanal (29.50%), tetradecanal (9.46%), iso-bornyl acetate (8.94%), octanal (5.44%), and humulene epoxide-II (5.29%). The most common compounds found in the MW EO of *P. medium*, which were pentanol (25.50%), bornyl acetate (24.42%), β -copaene (5.70%), tetradecanal (5.00%), and α -pinene oxide (4.44%).

The highest amounts of compounds in the HD EO of *P. rostratum* were found to be octanal (24.12%), bornyl acetate (20.98%), β -E-ionone (19.90%), phytone (7.62%), and δ -elemen (3.67%). The most common compounds found in the MW EO of *P. rostratum* were octanal (20.22%), iso-bornyl acetate (11.44%), δ -elemen (11.34%), and α -humulene (8.83%).

Antimicrobial activity of essential oils obtained by HD and MW methods and, solvent extracts (*n*-hexane, chloroform, methanol, and water) of both algae species were conducted against nine different microorganisms. The essential oils of both plants (HD and MW) were found to be most effective against *Yersinia pseudotuberculosis* (24 mm), *Enterococcus faecalis* (20 mm), *Bacillus cereus* (25 mm) and *Candida albicans* (15 mm) with in the range of 15-25 mm inhibition diameter.

Key words: Antimicrobial activity, Essential oils, GC-FID-MS, *Plagiomnium medium*, *Plagiomnium rostratum*

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gelişmemiş bitkiler olarak tanımlanan karayosunlarının dünyada 10.000 üzerinde türü tanımlanmıştır. Karayosunları, bryofit bölümünün bryofita sınıfında yer alan bitkiler aleminin yaklaşık %6 sını oluşturan olgunlaşmamış bitkileridir. Yaklaşık yapılan taksonomik çalışmalar ile 13.000 tür olduğu bildirilmektedir. Filogenetik olarak algler ve eğrelti otları ortasında kabul edilmektedir. Yosunların kimyasal bileşenleri; küçük yapıda olmaları, büyük miktarlarda saf halde toplanmalarının zor olması ve mikroskopik incelemede dahi tespit edilmeleri güç olması gibi nedenlerle üzerinde çalışılamamıştır (1). Benzer kısıtlılık sadece yosunlar değil, genel olarak tüm alt bitkiler içinde geçerlidir. Ayrıca fitokimyasal çalışmalar, yosunun fenolik bileşikler (flavonoidler, bibenzil türevleri), glikozitler, yağ asitleri, terpen bileşikler ve biyolojik olarak önemli aktivitelere sahip bazı sıra dışı aromatik yapılar içerdiğini göstermiştir. (2-4).

Yosunlar, 53 familyadaki 183 cins tarafından temsil edilmekte olup, bu cinslere ait 660 tür ve bryofit kategorisine ait 34 çeşit, botanik çeşitlilik içinde en büyük çeşitliliği sunmaktadır. Sporesperm endemizmi çok düşüktür, ancak bazı Cinclidotus ve Orthotrichum türleri Türkiye'ye endemiktir. Türkiye'de yosunla ilgili ilk çalışma 1829 yılında Müller tarafından yapılmıştır.

Türkiye'de Plagiomnium cinsine ait 8 tür bulunmaktadır. (5, 6). Bunlar, *Plagiomnium affine* (Blandow ex Funck) T.J.Kop., *P. confertidens* (Lindb. & Arnell) T. J. Kop., *P. cuspidatum* (Hedw.) T. J. Kop., *P. elatum* (Bruch & Schimp.) T. J. Kop., *P. ellipticum* (Brid.) T. J. Kop., *P. medium* (Bruch & Schimp.) T. J. Kop., *P. rostratum* (Schrader) T. J. Kop., *P. undulatum* (Hedw.) T. J. Kop. Araştırmada kullandığımız *P. rostratum* (Schrader) Kop. ve *P. medium* (Bruch & Schimp.) T. J. Kop. yapraklı karayosunu türleri literatüre göre teşhis edilmiştir (7-9).

Türkiye, yaklaşık 12.000 tür ile bitki çeşitliliği açısından zengindir. Kullanılan aktif farmasötik bileşenlerin bazıları doğal kaynaklıdır ve doğal kaynaklardan izole edilmiştir. Halihazırda farmasötik aktif maddeler, seri üretimin zorluğundan dolayı laboratuvar ortamında doğal kaynaklardan sentezlenmektedir. (10). Bugüne kadar çoğu araştırmacı tarafından yosunların göz ardı edilmiş olması ve son yıllarda yapılan çalışmaların yosunların

önemli biyolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermesi, bilim insanlarının bu çalışmalara daha fazla ilgi duymasını sağlamıştır. Çeşitli alglerin uçucu bileşenleri ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerine birtakım çalışmalar literatürde bulunmuştur. (11). Araştırmacılar tarafından yosunun fitokimyası ve biyolojik aktiviteleri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. (12). Türkiye'de yosunların dağılımı ve bitki özellikleri ile ilgili çalışmalar devam etmektedir, ancak bu bitkilerin antibakteriyel aktivitesine ilişkin fitokimyasal analizler ve araştırmalar yetersizdir. (13).

Literatürde farklı yosunların uçucu bileşen ve antimikrobial etkinlik konularında aşağıdaki çalışmalara rastlanmıştır. *Brachythecium salebrosum*, *Eurhynchium pulchellum* ve *P. undulatum* yosunlarının GC-FID-MS analizleri sonucu toplam 39 adet bileşik karakterize edilmiş ve sırasıyla *n*-nonanal (%66.3 ve %36.2) ve γ -elemen (%24.1) ana bileşenler olarak belirtilmiştir (14). *Breutelia tomentosa* (Sw. ex Brid.) A. Jaeger, *Leptodontium viticulosoides* (P. Beauv.) Wijk & Margad., *Macromitrium perreflexum* Steere, *Campylopus richardii* Brid., *Rhacocarpus purpurascens* (Brid.) Paris., ve *Thuidium peruvianum* Mitt. yosunlarının uçucu yağ bileşenleri GC-MS yöntemiyle analiz edilmiş ve sırasıyla epizonaren (%8.7), β -selinen (%13.5), selina-3,11-dien-6- α -ol (%19.7), epi- α -muurulol (%15.1) ve phytol (%21.7) ana bileşenler olarak rapor edilmiştir (15). *Rhodobryum ontariense* yosun bitkisinin HP-5-MS kolonu ile GC-FID-MS analizi sonucu diterpen fitol ana bileşen olarak belirtilmiştir (16). *Brachythecium albicans* (Hedw.) Schimp., *Bryum pallescens* Schleich. ex Schwagr ve *Syntrichia intermedia* Brid. yosunlarının GC-FID-MS analizleri sonucu *B. albican* dan nonanal (%41.0) ve 4,4-dimetil-E-2-penten (%6.6%), *B. pallescens* yosundan nonanal (%29.3) ve Z-fitol (%8.9) ve *S. intermedia* yosununda ise E-2-tetradeken-1-ol (%9.9) ve nonanal (%8.3) ana bileşenler olarak rapor edilmiştir (17). *Tortula muralis* Hedw., *Homalothecium lutescens* (Hedw.) H. Rob., *Hypnum cupressiforme* Hedw., *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. yosunlarının HP-5-MS kolonu ile GC-FID-MS analizi sonucu *T. muralis*, *H. lutescens*, *H. cupressiforme*, ve *P. nutans* yosunlarında nonanal (%18.3, 36.8, 12.5, ve 7.8, sırasıyla) bulunmuştur (18). *Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp. ve *Leucodon sciuroides* (Hedw.) Schwagr. yosunlarının GC-FID-MS analizi sonucu *H. splendens* yosununda β -pinen (%11.6) ve α -pinen (%8.9), *L. sciuroides* yosununda da nonanal (%26.8) ve heptanal (%13.7) ana bileşenler olarak rapor edilmiştir. Ayrıca uçucu yağların antimikrobiyal etkinlik çalışmaları da yapıp, *Candida albicans*' a karşı 428-857 μ g/mL aralığında rapor edilmiştir (19). *Grimmia trichophylla* Grew ve *G. decipiens* (Shultz) Lindb.

yosunlarının GC-FID-MS analizi sonucu *G. trichophylla* bitkisinde 23 adet bileşik ve *G. Decipiens* yosununda da 32 adet bileşik aydınlatılmıştır. 2*E*-nonenal (%9.8), nonanal (%6.3), trikosan (%5.1) ve siklotetradekan (%3.7) ana bileşenler olduğu rapor edilmiştir (20). *Tortella inclinata* var. *densa*, *Tortella tortusa* ve *Pleurochaete squarrosa* yosunlarının GC-FID-MS analizi sonucu sırasıyla 13, 33 ve 40 bileşen aydınlatılmıştır. Aldehitlerin ana grup bileşikler olduğu görülmüştür. Antimikrobiyal çalışmalar sonucu uçucu yağların orta derecede aktivite gösterdikleri ve MIC değerlerinin (405-4650 µg/µL aralığında rapor edilmiştir (21). *Cyathophorella adiantum* (Griff.) M. Fleisch. yosununun GC-MS analizi sonucu yağ asitleri rapor edilmiştir (22).

Türkiye bitki çeşitliliği bakımından zengin olup yaklaşık 12.000 tür bulunmaktadır. Kullanılan ilaç etken maddelerinin bazıları doğal orijinli olup doğal kaynaklardan izole edilmişlerdir. Doğal kaynaklardan miktar açısından üretimin zor olması nedeniyle bugün ilaç etken maddeleri laboratuvar ortamında sentezlenmektedir. Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmada ülkemizde yetişen *P. rostratum* ve *P. medium* türlerinde uçucu bileşen ve fenolik bileşen çalışmaları yapılacaktır. Literatür araştırması sonucu *P. rostratum* ve *P. medium* türlerinde fitokimyasal analiz çalışmalarına rastlanmamıştır. *P. rostratum* ve *P. medium* türlerinde çalışılması planlanan GC-FID/MS analizleri ve ekstre bazlı antimikrobiyal aktivite çalışması literatürde mevcut değildir. *Plagiomnium* türleri ile ilgili uçucu fitokimyasal bileşik taraması ve bu türlerin çözücü ekstrelerinde biyolojik aktivitelerinin araştırılıp sonuçlarının değerlendirilmesi ve literatüre yeni bilgi olarak aktarılması ve sonraki çalışmalarda ilaç potansiyellerinin araştırılması için kullanılabilmesi çalışmaları hedeflenmektedir.

Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmada ülkemizde yetişen Mniaceae familyasına ait yapraklı kara yosun türleri *P. rostratum* ve *P. medium* ele alınmış olup bu iki tür üzerinde fitokimyasal ve antimikrobiyal aktiviteye ait çalışmalar planlanmış ve gerçekleştirilmiştir. *P. rostratum* ve *P. medium* türlerinde çalışılması planlanan GC-FID/MS analizleri ve ekstre bazlı antimikrobiyal aktivite çalışması literatürde mevcut değildir. Karayosunları ile yapılmış az sayıda çalışmanın olması ve bu türlerin kimyasal içerikleri, antimikrobiyal yeteneklerinin incelenmesine yönelik bir çalışmanın daha önce yapılmamış olması çalışmamızın özgünlüğünü ortaya koymaktadır. Ayrıca, bu çalışmaya başlarken, ilginç bileşikleri içeren karayosunları ile çalışmanın da önemli olabileceği düşünülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bryophyte ve Özellikleri

“Bryophyte” terimi, Yunancadan gelir ve suyu emdiklerinde şişen bitkileri ifade eder. Aslında briyofit, gametofit aşamasının baskınlığı ile karakterize edilen yaşam döngülerinde haploid ve diploid nesillere sahip bitkilere verilen ortak addır (23). Bryophytes, araştırmacılar tarafından 18. yüzyılın sonlarına kadar küçük çiçekli bitkiler olarak kabul edilmekteydi. Bu türün kendine has özellikleri ilk olarak 1851'de Wilhelm Hoffmeister tarafından briyofitlerin yaşam döngüsü üzerine yıllarca süren araştırmaların bir sonucu keşfedilmiştir ve kuşkusuz benimsenilmiştir (24). Anjiyospermilerden sonra, bryophyteler karada büyüyen en büyük bitki grubunu temsil eder ve ciğerotları (Marchantiophyta), yapraklı karayosunları (bryophytes) ve boynuz otları (Anthocerotophyta) sınıflarını içerir (Şekil 1). Okyanuslarda da olmak üzere çok farklı ortamlarda yetişebilmektedir. Antarktika'da bile ağaçlarda, toprakta, göllerde ve nehirlerde çoğalabilmektedir. Bryophyteler, filogenetik olarak alglar ve pteridofitler arasında yer almaktadır ve bununla beraber 25 bine yakın türe sahiptir. (1).



Şekil 1. Bryophytelerin sınıflandırılması

Bryophyteler; sporofit ve gametofit olmak üzere iki değişik yaşam döngüsüne sahiptir. Yaşam döngüsü, alglere benzer dallanan iplikli formlar oluşturan sporların çimlenmesiyle başlar. Bu iplik formlarının önemli bir kısmı renksiz iken kalan kısmı ise yeşil renkten oluşmaktadır. "Rizoid" diye tarif edilen renksiz kısım zemine tutunmayı sağlayan yapıdır. Yeşil renk parça ise "kloronema" diye isimlendirilir. Kloronema, fotosentez olayının meydana geldiği bölümdür. İki farklı parçadan oluşan birliktelik

"protonema" diye isimlendirilir. Protonema ise belli bir müddet bekledikten sonra tomurcuklar filizlenmeye başlar.

Tomurcukların uç kısımlarından ardışık üç gövde meydana gelir. Erken evrelerde sade yaprak diziliminden oluşan yapı, gametofit diye isimlendirilen yapının devamı niteliğindedir. İlerleyen evrelerde düz yapı giderek sarmal hale gelir. (25). Bu gametofit yapıları bir kısmı monoik iken diğer kısmı ise dioiktir. Bu monoik olan kısımda farklı cinsiyet organları aynı yapıda bulunabilir fakat değişik yüksekliklerde görülür. Sporofit yapı, gametofitte yaygın ve sık yerleşiktir. Yosunlarda gametofit evresini daha fazla gözükmektedir (26).

2.1.1. *P. Rostratum* (Schrad.) Türünün Botanik Bilgileri

P. rostratum (Schrad.) türüne ait taksonomik liste ITIS'e (Integrated Taxonomic Information System) göre aşağıdaki şekildedir (27).

Alem: Plantae

Bölüm: Bryophyta

Sınıf: Bryopsida

Takım: Bryales

Familiya: Mniaceae

Cins: Plagiomnium

Tür: *P. rostratum* (Schrad.) T.J. Kop.

Bitkinin sinonimleri *Minium longirostre* (Brid.) ve *Minium rostratum* (Schrad.) olarak bilinmektedir.

Yayvan filizler ile geniş ve eliptik yapraklar bulunduran bu tür, Plagiomnium olarak hemen tanınır, fakat cinsin diğer ortakları ile özellikle de aynı ortamda büyüyen *P. affine* ile rahatlıkla karıştırılabilir. Sık olmasa da kapsül ile rostrat kapaklar var ise bu tür *P. Rostratum* 'dur. Bakı ile yaprakların dekürren olduğunu anlamak zor olsa da mercek yardımı ile karar vermek daha kolaydır. Fakat yaprak tabanı ise kısa ve dar ise mercek ile de zorluk yaşanabilir. Bu tarz şartlarda incelemeyi mikroskop ile yapmak gerekebilir. *P. Affine* incelendiğinde hücre duvarları gözenekli yapıda iken *P. Rostratum* 'da ise orta yaprak hücrelerinin duvarlarında gözenek bulunmamaktadır. Bu türlerde dikkat edilmesi gereken

önemli bir husus ise *P. undulatumun* oval yapraklarıdır, çünkü *P. rostratum* ile karışabilir. Oval yaprak yapısı benzerdir fakat *P. rostratum*'da daha küçük orta yaprak hücreleri mevcuttur (28).



Resim 1. *P. rostratum*

2.1.2. *P. Medium (Bruch & Schimp.)* Türünün Botanik Bilgileri

P. medium (Bruch & Schimp.) türüne ait taksonomik liste ITIS'e (Integrated Taxonomic Information System) göre aşağıda sıralanmıştır (27).

Alem: Plantae

Bölüm: Bryophyta

Sınıf: Bryopsida

Takım: Bryales

Familya: Mniaceae

Cins: Plagiomnium

Tür: *P. medium (Bruch & Schimp.) T.J. Kop.*

Bitkinin sinonimleri *Minium medium* (Bruch & Schimp.) ve *Minium curvatulum* (Lindb.) olarak bilinmektedir.

Genellikle 2-4 cm uzunluğunda olup gövde dik bir yapıdadır; ağaç dalı biçiminde dallanmış yapıda değildir. Genellikle yeşil renkte iken bazen sarı-yeşil olarak görülebilir. Yapraklar ise nemli ortamda düz, eliptik iken kuru ortamda gevrek ve buruşuktur. Taban uzun-dekurrent; kenarlar tabana yakın dişli, dişler keskin veya ara sıra küt iken uç kısımlar küt, yuvarlak ya da keskin, sivri şekillidir. (28).



Resim 2. *P. medium*

Resim 1 ve 2’de görülen çalışmaya konu olan *P. medium* ve *P. rostratum*, Trabzon ili Düzköy ilçesi Kayabaşı Yaylasından Prof. Dr. Nevzat Batan tarafından toplanılıp teşhis edilmiştir. Bitkilerin herbaryumları KTÜ, Fen Fakültesi, Biyoloji bölümünde *P. rostratum* KTUB 1622 ve *P. medium* KTUB 1623 olarak verilmiştir.

2.2. Esansiyel Yağlar

Aromatik yağlar diye de isimlendirilen esansiyel yağlar; bitkilerden farklı yöntemlerle çıkartılır. Görünüm olarak genellikle renksiz olmakla beraber açık sarı renk de olabilir. Esansiyel yağlarda koku özelliği belirgin olan uçucu bileşenler hâkim iken bunların buharlaşabilme hususu önem arz etmektedir (29).

Uçucu yağların elde edildiği bitkilerin dağılımına bakıldığında yüksek sıcaklıkların görüldüğü ülkeler ile Akdeniz kıyısı ülkeler dahil ılıman iklimin yaşandığı coğrafyada yetişmektedir (30). Ülkemizde en fazla üretilen uçucu yağ gül iken limon ve lavanta da başı çekmektedir. Diğer taraftan ihraç edilen en önemli uçucu yağlar kekik ve defnedir.

Sıcaklığın yüksek olduğu bölgelerde yetişen bitkilerde uçucu yağ oranı daha yüksektir. Bununla beraber tropik ve ılıman coğrafyada yetişen bitkilerden elde edilen uçucu yağların koku özelliği daha belirgindir. Bu özelliğin ise ekosisteme en önemli katkısı ise polenleşmeyi kolaylaştırmaktır. Ayrıca bitkileri de haşerelere karşı korunmasını sağlar. Bitkilerin kök, yaprak, çiçek ve tohum gibi değişik parçalarından üretilebilir. Uçucu yağlar distilasyon ve ekstraksiyon gibi farklı yöntemler ile elde edilebilir. Bitkilere kendine özgü kokularını veren uçucu yağlar normalde sıvı olup sıcaklığa göre buharlaşabilen hoş esansa sahip bileşimlerdir (31, 32).

Terpen yapılı bileşimler uçucu yağların önemli bileşenleridir. Terpenleri oluşturan yapıların sıklığa göre monoterpenler, seskiterpen ve diterpenler olarak sıralayabiliriz. Diğer taraftan sık olmasa da bulunan bileşenler ise keton, ester, alkol, asit ve laktondur. Bununla beraber nadir olarak bulunanlar ise azotlu ve kükürtlü bileşenlerdir. Uçucu yağların bileşimi, ekstraksiyon şekli, elde edildiği oranda bitkinin bulunduğu coğrafya en önemli belirleyecidir. Terpendeki oksijen bulunduran içerikler, esans, aroma ve tıbbi kullanım açısından ön plandadır ve farklı endüstrilerde uçucu yağların kullanımını arttırmaktadır (33). Aromaterapinin daha sık uygulandığı dermokozmetik, akıllı tarım uygulamaları, alternatif tıpta uçucu yağların kullanımı giderek artmaktadır. Fizyoterapide ise masaj yağı olarak kullanımı da sık görülmektedir. FDA gibi dünya çapında önemli gıda ve sağlık otoriteleri tarafından zararsız ve güvenli sınıfına dahil edilmiştir (34, 35).

2.2.1. Esansiyel Yağları Taşıyan Organlar

Her uçucu yağ elde edildiği bitkinin farklı kısımlarında bulunmaktadır ve Flos (Lavanta), Petal (Gül), Folia (Nane), Meyve (Anason), Herba (Kekik), Cortex (Tarçın), Kök

(Valeriana) gibi örnekler verilebilir. Diğer taraftan herhangi bir uçucu yağ aynı bitkinin farklı kısımlarında bulunabilir. Buna örnek vermek gerekirse hem gövdede hem de yaprakta bulunan nane uçucu yağı sayılabilir. Uçucu yağlar; tür ve cinse göre değişmekle beraber; salgı ile ilgili yapıların hücrelerinde ve epiderma hücrelerinde tespit edilebilir (36, 37) .

2.2.2. Esansiyel Yağların Görevleri

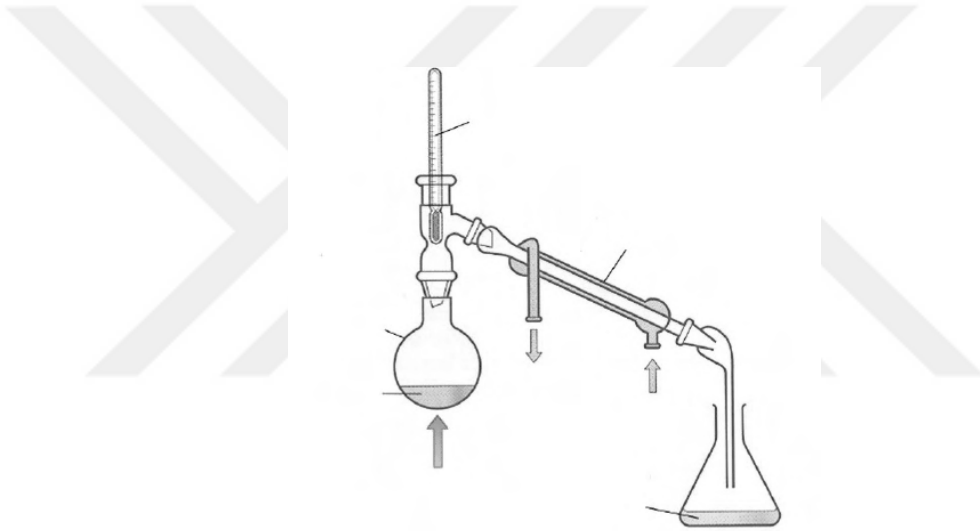
Esansiyel yağların tarihin en eski medeniyetlerinde de günlük yaşamın bir parçası olduğu bilinmektedir. Bakıldığında nane ve lavanta yağının tarımda böcek ve kemirgenlerde korunma amaçlı kullanıldığı görülmektedir. Bazı terpen bileşiklerin zehirli olduğu bilinmektedir. Bu bileşenleri bulunduran bitkiler kendilerinin besin olarak olarak kullanılmasına karşı savunduğunu söyleyebiliriz. Melisa içeriğinde bulunan limonoid uçucu yağı ile Diptera, Lepidoptera ve Coleoptera gibi geniş bir zararlı yelpazesine toksik etkili bir bitkidir. Nane, çam, kimyon yağları insektisit ve akarisit olarak kullanılmaktadır. Uçucu yağların kolay buharlaşabilme yeteneğinden dolayı bitkilerde sıvı kaybının önüne geçmektedir. Bir takım oksidasyon tepkimelerine katılmaları ile hidrojen hareketinde rol alır. Diğer taraftan ekolojik sistemde esansiyel yağların sahip oldukları kokunun cazibesi ile polenlerin taşınmasında diğer taraftan zehirli olmaları ile de bitkilerin korunmasında önemli görev üstlenmektedirler (31, 37, 38).

2.2.3. Esansiyel Yağların Eldesi İçin Geliştirilen Metotlar

Esansiyel yağlar ortaçağın sonlarına doğru Almanya’da distilasyon ile üretilmeye başlandı ve yeniçağın başlamasıyla tüm dünyada farklı bilim dalları ve bilim insanlarının dikkatini çekmesi üzerine yeni metotlar ortaya çıkmıştır (39). Bu yöntemdeki önemli mekanizma uçuculuk dereceleri farklı olan sıvılardan uçucu olanı ayırmaya dayanır. Distilasyon işleminin etkinliği farklı sıvılardan uçucu yağ olmayan sıvının kaynama noktasının düşük olması ile artarken kaynama noktası yüksek olan sıvılarda ise verimlilik düşmektedir (40). Distilasyon işlemi için geliştirilen yöntemler su, buhar ve vakum distilasyon olmak üzere üçe ayrılmaktadır.

2.2.3.1. Su Distilasyonu

Bu yöntem kaynamaya dayanıklı kurutulmuş bitkilerdeki esansiyel yağların eldesinde tercih edilmektedir. Fakat su distilasyonun olumsuz taraflarından biri ester içeriği yoğun olan esansiyel yağların çıkarılmasındaki hidrolizlenmedir. Maliyet etkin ve pratik olan bu yöntemin temel mekanizması sıvı ve kurutulmuş maddelerin sekiz saate yakın kaynama sonrası oluşan uçucu yağ ve su buharının yoğunluklarının değişik olmasıyla soğutucu sistemde ayrışmasıdır. Laboratuvar ortamında Clevenger tercih edilirken, sanayide ise distilasyon kazanları kullanılmaktadır. Bu yöntemde verimlilik en iyi kuru maddelerin toz hale getirilmesi ile elde edilir (41). Şekil 2’de Clevenger düzeneğinin laboratuvar versiyonu görülmektedir.

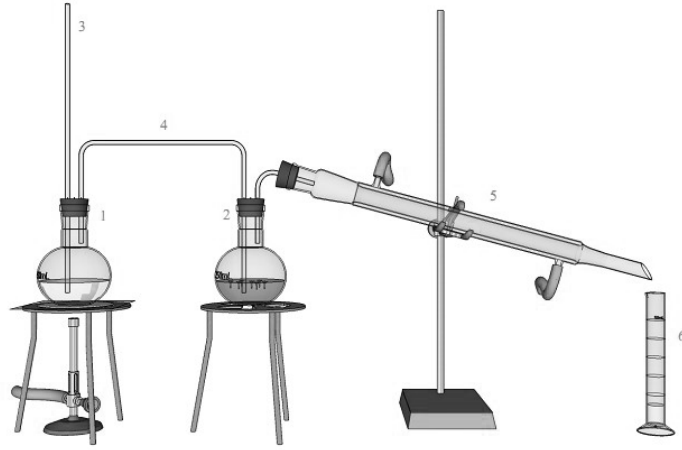


Şekil 2. Su distilasyonu Clevenger yöntemi (Gorâk’tan (41))

2.2.3.2. Buhar Distilasyonu

Buhar distilasyonundaki ana mekanizma; camda biriktirilen bitkinin basınçlı buhara maruz kalması sonucunda materyalin hücre ve hücre duvarındaki esansiyel yağların ayrışması ve soğutucu mekanizmada birikerek farklı yoğunlaşma seviyelerinde birbirinden ayırılmasıdır.

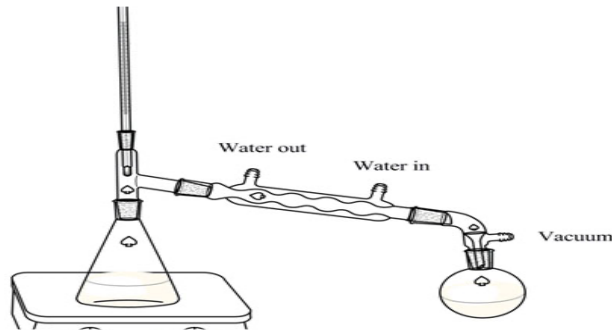
Sıcaklığa dayanıksız ve kolayca bozulabilen uçucu yağların ayrıştırılmasında buharın basıncı ve ısı derecesi ayarlanabilmesi bu yöntemin avantajlarından biridir. Bu yöntemle elde edilen lavanta uçucu yağında bozulmanın minimum olduğu ve farmakolojik özelliklerinin muhafaza edildiği çalışmalarla gösterilmiştir (Şekil 3). Günlük pratikte uçucu yağların elde edilmesinde en sık kullanılan metot buhar distilasyonudur (42, 43).



Şekil 3. Buhar distilasyon düzeneği (Gorâk'tan (41))

2.2.3.3. Vakum Distilasyon

Bazı uçucu yağ elde edilen maddelerin kaynama derecesi yüksek olup bu sıcaklıkta tahrip olmaları nedeni ile düşük basınca ihtiyaç çıkmıştır ve bu yöntem geliştirilmiştir (Şekil 4). Yüksek basınca maruz kalmayacağından esansiyel yağların yapısının bozulmaması bu yöntemin avantajlarından biridir (40, 43).



Şekil 4. Vakum distilasyon yöntemi (Gorâk'tan (41))

2.2.3.4. Hidrodifüzyon

Bitkilerde dokuda esansiyel yağların yerleşimi ve bulunduğu katmanın derinliği türe göre değişmektedir. Üst tabakalardaki bulunan uçucu yağların eldesi kolay iken derinde bulunanların ise yüzeye difüzyonu zorlaşmaktadır. Bilinen buhar distilasyonundan farklı olarak sanayi işleyişinde büyük kazan ile gerçekleştirilen hidrodifüzyon yönteminin birtakım üstünlükleri bulunmaktadır. Bu sistemde buhar hammadde ile kaplı kazana üst kısımdan verilerek alt kısımda yoğunlaştırılır. Hidrodifüzyonda üstünlükleri sıralamamız gerekirse bitkilerin kazana doldurulması ve sonrasında dışarı alınmasındaki kolaylık, düşük basınçtaki nem oranı, işlem süresinin klasik yöntemlere göre daha kısa olması ve daha az buhar ihtiyacı olmasından dolayı daha ekonomik olması, sürenin kısalması ile riflaksın oluşumunun minimize olması ve buna bağlı uçucu yağların bütünlüğünün bozulmaması, üretilen uçucu yağların ise standardizasyonundaki kolaylık şeklinde sıralanabilir (43, 44).

Hidrodifüzyon yönteminde elde edilen yağın özelliklerini korumak adına ısı kontrolü çok önem arz etmektedir. Bazı çalışmalarda bunun için hidrodifüzyon sistemine PID kontrol cihazı sisteme dahil edilmiştir. Fakat hedeflenen kaliteye cihazın yeterli duyarlılıkta çalışmamasından dolayı ulaşılamamıştır. Sonrasında problemi aşmak adına özelleştirilmiş hidroperfüzyon distilasyonu sisteme eklenerek ısı kontrolünde daha stabil cevap alınmış ve uçucu yağın kalitesini korunmuştur (45).

2.2.3.5. Mekanik Presleme Yöntemi

Her uçucu yağın ısı dayanıklılığı farklılık göstermektedir. Distilasyon ile bazı uçucu yağların kalitesinde dramatik düşüş gözlenmiştir. Bu sonuçlar elde edilince ısıl işlemin olumsuz etkilerinden kaçınmak için soğuk sıkım metodu geliştirilmiştir. Bitkilerden uçucu yağı çıkarmak için kullanılan bu işlem mekanik yöntem olarak geçmektedir. Özellikle turunçgillerin kabuğundan uçucu yağ çıkarılmasında için mekanik yöntem tercih edilmektedir. Bu yöntemde soğuk hidrolik presler kullanılır. Fakat presleme sonrası elde edilen yağ bulanıktır.

Sonrasında ise berraklık için birtakım işlemler gerekmektedir. Bunlar sırası ile filtrasyon, santrifüjleme ve son olarak rafinasyonlamadır (46, 47).

2.2.4. Ekstraksiyon Yöntemleri

Ekstraksiyon ayrıştırma temelli bir metottur. Ekstraksiyon yöntemleri zamanla klasik ve modern metotlar şeklinde ikiye ayrılmıştır. İyi bilinen klasik yöntemler soxhlet

ekstraksiyonu ve maserasyon teknikleri yıllardır kullanılmakta olup uzun sürmesi ve fazla miktarda çözücü gerektirmesi dezavantajları olarak ön plana çıkmaktadır. Günümüzde ise süperkritik sıvı ekstraksiyonu ve mikrodalga ekstraksiyon yöntemleri yeni yöntemler olarak dikkati çekmektedir. Kaliteli bir ekstraksiyon işlemi için ısı önemli bir faktördür. Uçucu ve yarı uçucu yağların tespitinde gerekli sıcaklık değerleri 40-60°C ve 80-100°C arasında olması gerekmektedir ve sıcaklığın yükselmesiyle uçucu yağların natürünün bozulacağı akla gelmelidir (48).

2.2.4.1. Solvent Ekstraksiyonu

Geleneksel yöntem olan bu işlemde bitki direkt olarak çözücü ile temas edebilir ya da çözücüye ek olarak organik solvent ile ısıl işlem gördürülebilir. Bu yöntemde işlem eğer sanayi ortamında yapılıyorsa organik solvent olarak hekzan veya etil alkol tercih edilir bununla beraber laboratuvar ortamında ise etilen ve pentan/diklorometan kullanılır. Ekstraksiyon sonrasında solvent ortamdan ayrıştırılarak tekrar kullanımı sağlanır, maliyet üzerinde etkili olur. Solvent ekstraksiyonunun buhar distilasyonuna karşı üstünlükleri vardır. Bunlardan en önemlisini daha düşük sıcaklıkta işlem olması ve uçucu yağın natürünün bozulmaması şeklinde söyleyebiliriz. Diğer taraftan birtakım dezavantajları da vardır. Bunlardan ilki işlem esnasında artefakt nedeni ile bazı uçucu yağların muhafaza edilememesidir. Bir diğerini ise işlem sonrası tekrar kullanımı, geri dönüşümü mümkün olmayan solventler ve bunların mali yükü olarak söyleyebiliriz (49).

2.2.4.2. Maserasyon (Sıcak Yağ Ekstraksiyonu)

Geleneksel yöntemlerden biri maserasyon işleminde bitkiler ile organik çözücü bir arada bekletilerek uçucu yağın elde edilir. Bu işlemin olumsuz tarafları uzun sürmesi ve verimin beklenenin altında olmasıdır. Burada bitki ile sıvı içinde bekletilir. Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda da maserasyon yöntemi kullanılır. Örnek vermek gerekirse sarı kantaron uçucu yağı eldesinde en çok kullanılan yöntemdir (50, 51).

2.2.4.3. Anfloraj (Soğuk Yağ Ekstraksiyonu)

Bu yöntem genellikle ısıya dirençsiz uçucu yağ miktarı düşük bitkilerin ekstraksiyon yöntemidir. Fakat yavaş ilerleyen, uzun süren bununla beraber maliyet olarak yüksek bir işlemdir. Bitkinin uçucu yağ olan bölümleri daha öncesinde yağ ile sıvazlanmış cam üzerine konulur. Üzerindeki bitkiler belirli sürede değiştirilir, bu süreçte cam üzerindeki yağ bitkideki uçucu yağı kendi üzerine alır. Sonrasında cam üzerindeki yağ uçucu yağdan yoğun

hale gelince işlem sonlandırılır. Son olarak elde edilen bileşime pomad denilmektedir. Bu karışımdan uçucu yağ etanol aracılığı ile ayrıştırılır. Anfloraj olarak isimlendirilen bu işlem soğuk yağ ekstraksiyonudur (52).

2.2.4.4. Basınçlı Çözücü Ekstraksiyonu (BÇE)

Yüksek basıncın kullanıldığı bu modern yöntemin geleneksel yöntemlere göre süre, solvent verimi gibi birtakım üstünlükleri mevcuttur. Basınç ve ısı kullanımının amacı solvent etkinliğini arttırmaktır. Yüksek basınç altında solvent sıvı fazda bulunarak ekstraksiyon süresini kısaltır, yüksek sıcaklık verimi artırır (48).

2.2.4.5. Mikrodalga Destekli Çözücü Ekstraksiyonu (MÇE)

Mikrodalga 0.3-300 GHz frekans aralığında elektromanyetik dalganın kullanıldığı bir sistemdir. Bitkilerin mikrodalga ekstraksiyonunda 2.5-75 GHz frekans aralığı tercih edilir. Burada sistemin verimi solvante, uçucu yağı barındıran bitkiye bağlıdır.

Yeni yöntemler arasında olan mikrodalga ekstraksiyonu; uçucu yağ eldesinde en etkin metotlardan biri olarak dikkati çekmektedir (53).

2.2.4.6. Katı-Faz Mikro Ekstraksiyon

Katı-faz mikroekstraksiyon (SPME) yöntemi 1980lerde Pawliszyn isimli bilim insanı ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Bu işlemin dikkat çeken tarafı ise örnek derleme aşamasının pratik olması ve kısa sürmesidir. Diğer taraftan çözücü içermemesi de işlemin sadece bir etapta sonlanmasına sebep olur. Bu da işlem maliyetini üzerine olumlu katkıda bulunur. Bu yöntem GC ya da GC-MS gibi tekniklerle farklı ortamlardan alınan numunelerde uçucu yağ tespitinde çokça kullanılmaktadır (54).

2.2.4.7. Çok Yönlü/Subuharı Ekstraksiyon Yöntemleri (SDE)

60'lı yıllarda Likens ve Nickerson bilim insanları tarafından suyun ekstraksiyon için kullanıldığı zamana bağlı işleyen bir sistem geliştirmiştir. Clevenger yöntemi olarak da tanınmaktadır. Bu sistemin mekanizmasında birincil olarak su dolu SDE balonu içinde bitki yerleştirilir. İkincil olarak geri soğutucu ile 2 saatin üzerinde sıcaklık yükseltilir. Sonrasında uçucu yağlar buhar aracılığı ile soğutucuya iletilir ve yoğunlaşma sonrasında toplama kabında sıvı halde toplanırlar.

Uygulanan bu yöntemin çalışma prensibine göre örnek SDE balonu içine su ile konularak geri soğutucu altında yaklaşık 3 saat süreyle ısıtılmaktadır. Uçucular, su buharıyla

sürüklenerek soğutucuda yoğunlaştıktan sonra toplama kısmında faz oluşturarak birikirler (55).

2.2.5. Esansiyel Yağların Genel Özellikleri

Esansiyel yağlar günlük pratikte sıvı fazda bulunurken diğer taraftan hemen kristal oluşturabilir ve ayrıca damıtma işlemi sonrası filtre amaçlı kullanılan kâğıtta oluşan iz geçicidir. Distilasyon sonrası uçucu yağlar bakıldığında genellikle şeffaftır fakat farklı yağlarda sarı, mavi renkler görülebilir. Stok süresine bağlı olarak ortamdaki ısı, nem gibi faktörler ile de reçineleşme meydana gelebilir (37). Oksijen ile yükseltgenme ve reçineleşme gibi istenilmeyen olayların engellenmesi için stoklamada şeffaf olmayan ve hava geçirmeyen kaplar kullanılmalıdır. Uçucu yağların kaynama sıcaklığı farklı olmakla beraber suyunkinin üzerindedir. Bu özellikten dolayı su buharı aracılığı ile taşınabilir. Özgül ağırlıkları değerlendirmek gerekirse 0.8 ve 1.2 arasında değişmektedir, örneğin biberiye uçucu yağı sudan hafif iken karanfil uçucu yağı ise ağırdır. Çözünürlükleri değişken olmakla beraber suda çözünme zayıftır diğer taraftan polar olmayan solventlerde örmek olarak benzen, ter, hekzan gibi; kolaylıkla çözünebilir. Uçucu yağların özgül esansları varken kötü olmayan aromaları vardır. Günlük pratikte dikkat çeken aromatik sularda en fazla verimi alabilmek için uçucu yağın suda çözünebilme yeteneğini araştırmak önem arz etmektedir (56). Uçucu yağların optik özelliklerine bakmamız gerekirse kırılma indeksi gayet iyidir. Bununla beraber aynı yöntemle farklı zamanlarda aynı bitkiden elde edilen uçucu yağların kırılma indeksleri değişkenlik sergileyebilmektedir. Uçucu yağlarda üretilen mahsul doğallığını değerlendirmek için optik kırılma değerleri önemlidir (57, 58).

Uçucu yağların içeriğini değerlendirdiğimizde farklı moleküllerden oluştuğu görülür. Bunlar içinden en yoğun bulunanı monoterpenler olup diğer taraftan azot ve kükürt içerikli moleküllere de rastlanılmaktadır. Ayrıca oksijen bulunduran terpenoid ile organik asit, keton, fenol gibi farklı birleşiklerde bulunabilir (37, 59).

Uçucu yağlar bitkilerin farklı bölümlerinde bulunur, ayrıca bazı bitkilerde ise tüm bölümlerde bulunabilir. Uçucu yağların önemli oranda bitkilerde bulunduğu yerlerden biri de salgı sistemleridir. Uçucu yağ elde edilen bitki familyalarına örnek vermemiz gerekirse mersingilleri, süsengilleri ve hardalgilleri örnek verebiliriz (60).

2.2.5.1. Esansiyel Yağların Kimyasal İçeriği

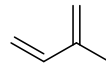
Uçucu yağ elde edildiği bitkiye göre değişik kimyasal yapıda bulunan yapılardan oluşmaktadır. Uçucu yağlarda en yoğun bulunan bileşik terpen diyebiliriz ve bu bileşikler bitkiye özgü esans ve aromanın kaynağıdır.

Terpenik bileşiklerin içeriğinde oksijen içeriği değişken hidrokarbonlar bulunur. Oksijenli hidrokarbonlara örnek verirken alkol, aldehit, ester kinon, lakton, fenol diye söyleyebiliriz. İşlevsel grup olarak 20 bin civarında terpen yapılı bileşik tanımlanmıştır. Uçucu yağlarda içerdiği kimyasal yapılar bakımından aşağıdaki gibi 4 farklı bölümde incelenebilir (61).

1. Terpen yapılı
2. Düz zincirli hidrokarbonlar
3. Aromatik bileşikler
4. Azotlu ve kükürtlü bileşikler

2.2.5.1.2. Terpen ve Terpenoidler

2-metil-1,3-bütadien molekül yapılı İzoprenin (5C) yoğunlaşması sonrası natürel terpenler oluşur (62). İzopren yapısında 1. sıradaki karbon baş, dallanma olmayan tarafta 4. sıra karbon ise kuyruk olarak kabul edilir (Şekil 5). Bu baş ve kuyruk kısımlarının etkileşimi sonrasında terpen ve terpenoid yapılar ortaya çıkar. Diğer taraftan kuyuklarında kendi aralarında etkileşimi olabilirler C15 ve C20 kuyuklarının kendi aralarında etkileşimi sonucunda triterpen ve tetraterpen oluşur. Terpen yapılı moleküller bitkilerin haşerelerin uzaklaştırılması, yabani otların büyümesini engellemek gibi kendini savunmasında önemli rol oynarlar(62, 63).



Şekil 5. İzopren dizillimi

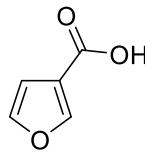
İzopren yapılı molüllerden oluşan terpenler bu izopren sayısına göre sınıflandırılır. Eğer 10 karbon var ise monoterpen, 15 karbon içeriyorsa seskiterpen ve 20 karbon içeriyorsa diterpen olarak isimlendirilir. Terpenlerin karbon sayısına bağlı ayrışması Tablo 1’de

yazılmıştır. Monoterpen ve sekiterpenlerin nispeten diğer terpenlere göre özgül ağırlıkları düşük olduğundan su buharı ekstraksiyonu için uygundur. Fakat özgül ağırlığı nispeten yüksek olan diğer terpenlerin gaz hale geçmesi zor olduğundan su buharı ekstraksiyonu yöntemi için uygun değildir (62-64).

Tablo 1. Terpenlerin izopren ve karbon atom sayılarına göre sınıflandırması

İzopren Sayısı	Terpen Sınıfı	Karbon Atom Sayısı
1	Hemiterpenler (C ₅ H ₈)	5
2	Monoterpenler (C ₁₀ H ₁₆)	10
3	Seskiterpenler (C ₁₅ H ₂₄)	15
4	Diterpenler (C ₂₀ H ₃₂)	20
5	Sesterterpenler (C ₂₅ H ₄₀)	25
6	Triterpenler (C ₃₀ H ₄₈)	30
8	Tetraterpenler (C ₄₀ H ₆₄)	40
>100	Politerpenler (C ₅ H ₈) _n	>500

Hemiterpenler: oksijen içeren ve terpenlerin en ufak parçası olan yapılara hemiterpenoid denir. Bitkiler incelenildiğinde serbest yapıda olmadıkları ve flavonoid ve alkaloid gibi bileşiklerle beraber bulunduğu görülmektedir. Bu bileşiklerde 5 karbonlu izopenten çatısı bulunur (Şekil 6). Esansiyel yağlarda bulunan hemiterpenoidler; izoamil alkol, izovalerik asit ve anjelik asit diye sıralanabilir (65, 66).



Şekil 6. Hemiterpenoid grubundan β-furoik asit molekül yapısı

Monoterpenler: C₁₀H₁₆ yapısında olup iki izoprenden oluşur. En yoğun miktarda çam ağaçlarında görülür. Lipofilik özelliği ile hücre membranından kolay geçer ve deri ile akciğerden de hızlıca emilir. Yapıları incelenildiğinde 40'a yakın farklı dizilime sahip bileşiktir. Çok farklı sanayi kolunda hammadde olarak en yaygın kullanılan monoterpenler; α-pinen ve β-pinendir. Diğer taraftan sağlık endüstrisinde de farklı endikasyonlar için ilaç

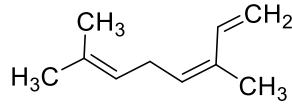
üretiminde kullanılmaktadır. Yenilenebilir yapılarından dolayı günümüzde petrokimyasal ürünlerin yerine kullanılması gündeme gelmektedir (67).

Monoterpenler 200'e yakın değişik birleşim şekli ve dizilim ile uçucu yağların yapısında bulunur. Bitki türlerinden monoterpenlerin bulunduğu familyaları örnek vermemiz gerekirse papatyagiller, defnegiller, gülgiller, zencefilgiller şeklinde sıralayabilir.

Uçucu yağlardan 150'den fazla farklı formülasyonda monoterpen bileşikleri mevcuttur. Monoterpenler bitkiler aleminde ballıbabagiller, yılanıyastığıgiller, kazayağıgiller, lohusaotugiller, çamgiller, papatyagiller, turpgiller, turnagagasıgiller, servigiller, buğdaygiller, maydanozgiller, defnegiller, salepgiller, gülgiller, sedefotugiller, su servisigiller, kediotugiller, menekşegiller, zeytingiller ve zencefilgiller gibi familyalarda rastlanmaktadır (67, 68).

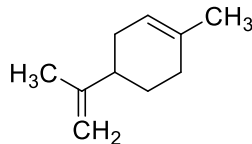
Monoterpenler molekül dizili ve sıralamasına göre 3 farklı şekilde değerlendirilir.

a. asiklik monoterpenler: yapıları açık ve düz bir zincirdir ve 3 çift bağ mevcuttur. Karbon atomlarından dolayı optik özellik olarak aktiftirler. Menthae folium ise asiklik monoterpenlerin yoğun bulunduğu bitkilere örnek verilebilir. Şekil 7'de bu yapıya uygun bileşik osimen örnek verilmiştir.



Şekil 7. Asiklik monoterpenoidlerden osimen

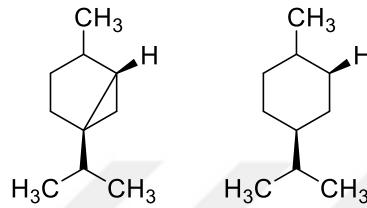
b. monosiklik monoterpenler: tek halka taşıyan tekçevrimli şekle sahip monoterpenlerdir. Narenciyelerden elde edilen β -terpinen, D-limonen ve α -terpinen bu gruba örnek verilebilir. Bu grubun iskelet bileşenleri p-mentandır. Şekil 8'de bu gruba örnek yapı D-limonen gösterilmiştir.



Şekil 8. Monosiklik monoterpenoidlere örnek D-limonen

c. bisiklik monotermenler: dizilim ve sıralamada iki adet halka ve bir de çift bağ vardır. Sabinan, pinen, karan veya kamfan çatı yapılarıdır. Solucan otu, kus dilinde bu gruba sık rastlanılmaktadır.

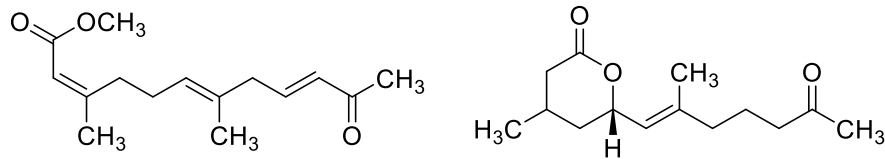
Oksijen içerenler sekonder alkol ve keton bulundurur ve bu moleküller monoetilenik ya da doymuşlardır. Şekil 9’da bu gruba ait örnekler olarak tujen ve para-mentan verilmiştir (62, 68, 69).



Şekil 9. Bisiklik monotermenoid tujen ve para-mentan

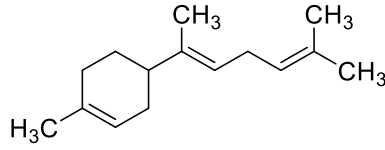
Seskiterpenler: 15 karbona sahip olup 3 tane izopren bulunduran yapı terpenler içinde sık karşılaşılan bir gruptur. 100 farklı dizilime sahip 900 ün üzerinde seskiterpen olup bunların bir kısmı önemli antiproliferatif ve toksik özellikleri ile sağlık ve ilaç endüstrisinde yoğun olarak kullanılmaktadır. Seskiterpenler siklik yapılarına göre 5 alt grupta incelenir. Doymamış yapıları nedeni ile dayanıksızdır ve yoğun esansa sahiptirlerdir (62, 70).

a. Asiklik seskiterpenler: Farklı uçucu yağlarda bulunan nerolidol ve farnesolun bu grubun oksijenli türevlerine örnek verilebilir. Şekil 10’da bu gruba örnek moleküller gösterilmiştir.



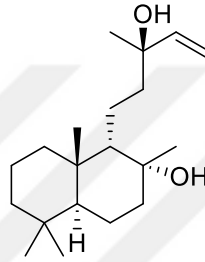
Şekil 10. Asiklik monotermenlere örnek afanamoksen ve nemoralisin

b. Monosiklik seskiterpenler: tek siklik formda 3 adet izoprenden oluşur. α -bisabolen sık karşılaşılan bu grubun örneğidir. Şekil 11’de bu gruba örnek verilmiştir.



Şekil 11. α -bisabolen'in molekül yapısı

c. Bisiklik diterpenler: bu grubun yapısında iki halka ile 3 izopren mevcuttur. Labdan ve klorendans diye isimlendirilen iki farklı iskelet grubu bulundurur ve buna göre iki farklı sınıfta incelenir. Şekil 12'de sclareol bileşik dizilimi görülmektedir (71, 72).



Şekil 12. Bisiklik diterpenlerden Sclareol'ün molekül yapısı

d. Trisiklik diterpenler: bu grubun molekül yapısında üç halka vardır. İğne yapraklı ağaçların reçinelerinde sıkça bulunur. Sedir uçucu yağındaki α -sedren ise önemli örneklerden biridir.

e. Tetrasiklik diterpenler: Dörtlü halka yapısı vardır. Günlük pratikte kaurenes ve beyerenes şeklinde iki farklı grupta incelenir.

Triterpenler: 30 karbona sahip triterpen 40 değişik çatı dizilim ile 3 bin üzerinde farklı bileşiğe sahip bir ailedir. Bu ailenin en bilinen üyeleri fitosteroller, steroidal alkaloidler ve saponinlerdir. Ayrıca bu ailenin ilk üyesi siklik yapıda olmayan köpek balığı karaciğerinden elde edilen skualen dermokozmetiğin önemli hammaddelerinden biridir (73, 74).

Tetraterpenler: 40 karbona sahip 8 adet izoprenden oluşan tetraterpenlerin tespit edilen iki yüze yakın çeşidi mevcut iken en iyi örneklerinden biri bitkilere renk veren karotenoittir. Özellikle bitkilerde fotosentezde görev alırlar (75).

Politerpenler: Çok ve farklı sayıda izoprenin bir araya gelmesi ile oluşurlar. Bu gruba numune göstermemiz gerekirse kauçuktan bahsetmemiz yeterlidir. Kauçuğun farklı bir adı ise latekstir. Tropik ağaçların gövdesinden elde edilir (76).



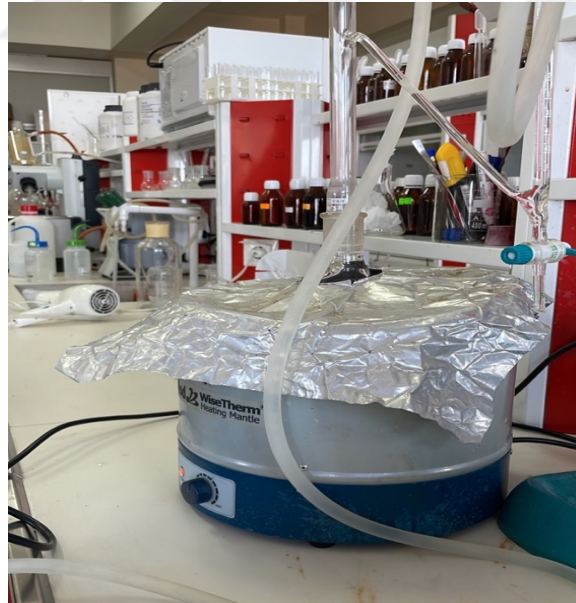
3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Bitki Materyalleri

P. rostratum (Schrad.) T. J. Kop. Trabzon, Düzköy, Kayabaşı Yaylası, 40°51'00.59"K, 39°28'08.37"D, R: 1715 m, 22.09.2022 tarihinde ve *P. medium* (Bruch & Schimp.) T. J. Kop. Trabzon, Düzköy, Kayabaşı Yaylası, 40°50'42.56"K, 39°28'09.57"D, R: 1756 m, 22.09.2022 tarihinde orman içi, dere kenarı veya ıslak toprak üzerinden Prof. Dr. Nevzat BATAN tarafından toplandı ve teşhis edildi. Bitkilerin herbaryumları KTÜ, Fen Fakültesi, Biyoloji bölümünde *P. rostratum* KTUB 1622 ve *P. medium* KTUB 1623 olarak verilmiştir.

3.2. Clevenger Yöntemi ile Uçucu Yağ Eldesi

P. rostratum (116 g, yaş) ve *P. medium* (120 g, yaş) bitkilerinin Clevenger yöntemi (Resim 3) ile uçucu yağ verimleri (v/w) sırasıyla %0.27 ve %0.11 olarak elde edilmiştir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağ *n*-hekzan (2 mL) çözücüsü içinde kahverengi viallere konup -10 °C de saklandı.



Resim 3. Uçucu yağ elde etmede kullanılan Clevenger sistemi

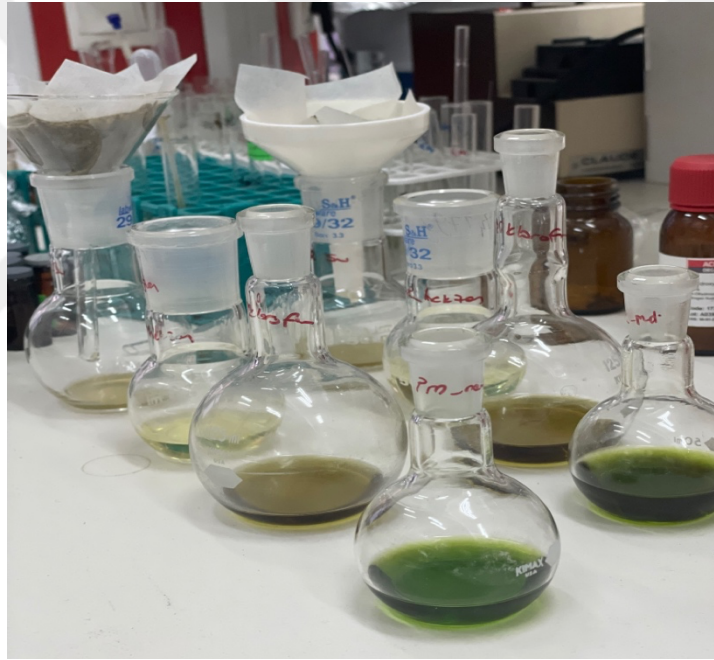
3.3. *n*-Hekzan, Kloroform, Metanol ve Su Ekstrelerinin Eldesi

Her bir bitkiden ayrı ayrı öğütülmüş 5 g (yaş) bitki kahve renkli şişeler (50 cc) içinde *n*-hekzan, kloroform, metanol ve su (10 mL herbiri) ile üç tekrarlı 24 saat süreyle oda

sıcaklığında bekletilerek yapılmıştır (Resim 4). Süzülen ekstreler birleştirilip rotary evaporatörde çözücülerini evapore edilerek ham ekstreler elde edilip verimler hesaplanmıştır (Tablo 2 ve Resim 4) (77).

Tablo 2. *P. rostratum* ve *P. medium* bitkilerinden elde edilen ekstre miktarları

Çözücü	<i>P. rostratum</i>	<i>P. medium</i>
<i>n</i> -Hekzan	0.1402 g	0.1632 g
Kloroform	0.2140 g	0.2472 g
Metanol	0.2942 g	0.3125 g
Su	0.1530 g	0.1626 g



Resim 4. *P. rostratum* ve *P. medium* bitkilerinin *n*-hekzan, kloroform, metanol ve su ekstraları

3.4. Uçucu Yağların GC-FID-MS Analiz Yöntemi

Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar Shimadzu QP 2010 Plus GC-FID-MS cihazında uçucu bileşen analizleri HP5-MS kolon (30 m) kullanılarak ayrı ayrı yapılmıştır (Resim 5) (19, 78). *n*-Hekzan (HPLC kalitesinde, 2mL) içinde çözünmüş uçucu yağ (1 µL) GC cihazına enjeksiyonu, 250 °C'de split modda gerçekleştirilmiştir. GC-FID-MS başlangıçta 60 °C'de 2 dakika tutulup daha sonra 3 °C/dakika ısıtma rampasıyla 240 °C'ye yükseltilip 60 dakika süreyle koşturulmuştur. Taşıyıcı gaz olarak helyum (% 99.999) 1 mL/dakika) kullanılmıştır

(79). Uçucu yağların GC-FID-MS analizleri sonucu bileşenler NIST98, Wiley7n ve HPCH1607 gibi kütüphanelerin taramasıyla yapılmıştır.



Resim 5. GC-FID/MS cihazı

3.5. Antimikrobiyal Aktivite Yöntemi

P. rostratum ve *P. medium* bitkilerinden elde edilen uçucu yağ, *n*-hekzan, kloroform, metanol ve su ekstraktlarının Agar kuyu difüzyon ve Mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak dokuz adet mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite tayini tespit edilmiştir (80, 81). Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü (Ankara)'dan temin edilmiştir. Bu mikroorganizmalar; *Escherichia coli* (*Ec*) ATCC 25922, *Yersinia pseudotuberculosis* (*Yp*) ATCC 911, *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* (*Sa*) ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* (*Ef*) ATCC 29212, *Bacillus cereus* (*Bc*) 702 Roma, *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607, *Candida albicans* (*Ca*) ATCC 60193, *Streptococcus mutans* RSKK 07038, dir. Standart antibakteriyal ve antifungal ilaçlar sırasıyla Ampicillin (Amp), Streptomycin (Str), Fluconazole (Flu) dur.

3.5.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu

P. rostratum ve *P. medium* bitkilerinden elde edilen uçucu yağ, *n*-hekzan, kloroform, metanol ve su ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri olup olmadığının belirlenmesinde ilk olarak agar kuyucuk difüzyon metodu kullanıldı. Bu yöntemde kullanılacak bakteri türleri için Mueller Hinton agar ve sıvı besiyerleri, *Mycobacterium smegmatis* için Brain heart

infusion (BHI) sıvı ve katı besiyeri, mantarlar için maya ekstreli sıvı besiyeri (YEG) (Difco, Detriot, MI) ve Potato Dextrose agar (PDA) (Difco, Detriot, MI) ortamları oluşturulmuş olup testi yapılacak bakteri türlerinin bir gecelik kültürlerinden, sıvı besiyeri ortamına yaklaşık olarak 106 kob/ml (koloni oluşturan birim) şeklinde sulandırılmış olup daha önceki aşamada hazır edilen katı besiyerilerine etkin bir şekilde ekimler oluşturuldu. Ekim işlemleri sonlandırılan ortamlarının içinden, sterilizasyon işlemi yapılmış cam boru vasıtası ile 2 cm boşluk bulunan 5 mm çapında kuyucuklar yarıp her bir kuyucuğa test işlemi yapılacak numunelerin 1 mL hazırlanmış olup stok çözeltilerden 50 mikrolitre damlatıldı. Bakteri içeren petriler 24 saat, maya içeren petriler 48 saat 36 °C’de inkübe işlemi uygulanmış olup bu işlemden sonra bir cetvel yardımıyla inhibisyon zonları ölçüldü. Standart kontrol ilaç olarak bakteriler için Ampisilin (10 µg), mayalar için flukonazol (5 µg), *M. smegmatis* için Streptomisin ve standart çözücü kontrolü kullanılmıştır (82).

4. BULGULAR

P. medium bitkisinden HD (Clevenger) ve mikrodalga yöntemleriyle elde edilen uçucu yağın GC-FID-MS analizi sonucu tanımlanan uçucu bileşikler Tablo 3 ve 4'te verilmiştir.

Tablo 3. *P. medium* bitkisinin HD (Clevenger) yöntemiyle uçucu yağ bileşenleri

Bileşik sınıfı	Bileşik	RT	RI	LRI*	% ^a
Aldehit	Pentanal	8.20	710	715	31.45
Alkan	Oktan	11.72	801	802	3.18
Aldehit	Oktanal	21.25	1009	1002	5.44
Monoterpenoid	α -Terpineol	25.86	1193	1189	0.81
Aldehit	Dekanal	26.36	1206	1202	1.19
Aldehit	2,4-Nonadienal	26.82	1216	1212	0.46
Aldehit	2E-Dekanal	29.15	1263	1269	0.92
Monoterpenoid	iso-Bornil asetat	30.62	1292	1286	8.94
Aldehit	2E,4Z-Dekadienal	30.75	1296	1293	1.01
Aldehit	Undekanal	31.34	1308	1307	1.17
Aldehit	2E,4E-Dekadienal	31.86	1319	1317	2.82
Aldehit	2E-Undekanal	34.06	1366	1364	1.54
Alkol	Undekanol	34.40	1374	1370	0.32
Seskitерpen	β -Kubeben	35.11	1389	1388	0.46
Alkan	Tetradekan	35.64	1400	1400	0.87
Seskitерpen	β -Elemen	35.76	1403	1391	0.29
Diğer	Geosmin	36.55	1420	1423	0.33
Seskitерpen	γ -Elemen	37.26	1436	1437	4.89
Seskitерpen	α -Guain	37.50	1442	1440	2.45
Diğer	Geranil aseton	38.14	1456	1455	0.21
Seskitерpen	α -Humulen	38.80	1471	1477	2.79
Alkol	Dodekanol	38.98	1475	1471	0.51
Seskitерpen	γ -Amorphen	39.66	1490	1496	0.30
Seskitерpenoid	E- β -Ionon	39.91	1496	1489	1.03
Seskitерpen	Eremophilen	40.25	1503	1500	0.14
Aldehit	Tridekanal	40.64	1513	1510	1.92
Seskitерpen	α -Kadinen	41.35	1529	1539	0.24

Tablo 3. (Devamı)

Seskiterpen	Zonaren	41.65	1536	1530	0.57
Seskiterpenoid	<i>E</i> -Nerolidol	43.02	1569	1563	0.40
Seskiterpenoid	Spathulenol	44.05	1597	1605	0.37
Seskiterpenoid	Humulen epoksit-II	44.52	1604	1608	5.29
Aldehit	Tetradekanal	44.95	1615	1613	9.46
Seskiterpenoid	α -Muurolol	46.67	1648	1646	0.19
Seskiterpenoid	Intermedeol	46.73	1663	1667	0.09
Seskiterpenoid	α -Kadinol	47.26	1670	1663	0.93
Alkol	Tetradekanol	47.49	1678	1673	1.28
Alkol	Pentadekanol	51.42	1780	1774	2.69
Alkol	Hekzadekanol	52.88	1819	1816	1.43
Diğer	Fiton	53.93	1845	1838	1.34
Alkol	Heptadekanol	55.17	1882	1876	0.13

(%)^a: Bileşiğin alanı; LRI* : Literatür referans değeri; RT: Alıkonma zamanı; RI: Referans değeri.

Tablo 4. *P. medium* bitkisinin mikrodalga yöntemiyle elde edilen uçucu yağ bileşenleri

Bileşik sınıfı	Bileşik	RT	RI	LRI*	% ^a
Alkol	Pentanol	8.23	697	706	25.50
Monoterpen	α -Terpinolen	20.68	1087	1089	0.85
Monoterpenoid	α -Pinenoksit	23.68	1101	1099	4.44
Monoterpenoid	Terpinen-4-ol	25.26	1169	1177	0.93
Monoterpenoid	α -Terpineol	25.88	1193	1189	0.81
Monoterpenoid	Myrtenol	26.23	1204	1197	0.18
Aldehit	Dekanal	26.37	1202	1206	1.65
Aldehit	2,4-Nonadienal	26.84	1217	1212	0.61
Monoterpenoid	cis-Karveol	27.45	1226	1229	1.10
Aldehit	2 <i>E</i> -Dekenal	29.17	1273	1269	1.15
Monoterpenoid	Bornil asetat	30.65	1294	1289	24.42
Aldehit	Undekanal	31.35	1309	1307	1.00
Aldehit	2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> -Dekadienal	31.87	1319	1317	3.16
Aldehit	2 <i>E</i> -Undekenal	34.07	1366	1367	1.19
Alkol	Undekanol	34.41	1374	1370	0.28
Seskiterpen	β -Kubeben	35.12	1389	1388	0.42
Alkan	Tetradekan	35.64	1400	1400	0.60
Aldehit	Dodekanal	36.12	1410	1409	0.18

Tablo 4. (Devamı)

Seskiterpen	β -Kopaen	37.27	1434	1432	5.70
Seskiterpen	γ -Elemen	37.51	1442	1437	2.48
Aldehit	2E,6Z-Dodekadienal	37.93	1451	1447	0.07
Diğer	Geranil aseton	38.15	1456	1455	0.25
Seskiterpen	α -Humulen	38.81	1471	1477	3.53
Alkol	Dodekanol	38.99	1475	1471	1.00
Aldehit	Tridekanal	40.65	1513	1510	1.16
Seskiterpen	α -Kadien	41.36	1535	1539	0.80
Seskiterpen	Zonaren	41.66	1536	1530	0.63
Seskiterpenoid	E-Nerolidol	43.03	1570	1563	0.75
Seskiterpen	Karyofilen	43.15	1574	1583	0.16
Aldehit	2E-Tridekanal	43.41	1573	1569	1.66
Seskiterpenoid	Humulen epoksit-II	44.53	1604	1608	3.54
Aldehit	Tetradekanal	44.95	1615	1613	5.00
Seskiterpenoid	Intermedol	47.26	1668	1667	1.04
Alkol	Tetradekanol	47.49	1678	1673	0.53
Alkol	Pentadekanol	51.41	1780	1774	0.29
Aromatikhidrokarbon	Fenantren	52.13	1803	1797	0.19
Diğer	Fiton	53.93	1842	1838	0.71

(%)^a: Bileşiğin alanı; LRI* : Literatür referans değeri; RT: Alıkonma zamanı; RI: Referans değeri.

P. rostratum bitkisinden HD Clevenger ve mikrodalga yöntemleriyle elde edilen uçucu yağın GC-FID-MS analizi sonucu tanımlanan bileşikler Tablo 5 ve 6'da verilmiştir.

Tablo 5. *P. rostratum* bitkisinin clevenger yöntemiyle elde edilen uçucu yağ bileşenleri

Bileşik sınıfı	Bileşik	RT	RI	LRI*	% ^a
Keton	2-Nonanon	20.65	1085	1090	0.55
Aldehit	Oktanal	21.26	1008	1002	24.12
Monoterpenoid	iso-Borneol	24.72	1148	1146	1.91
Monoterpenoid	Terpinen-4-ol	25.21	1178	1177	0.29
Aldehit	Dekanal	26.37	1207	1202	0.90
Monoterponoid	β -Siklositral	27.44	1229	1226	0.47
Aldehit	2E-Dekanal	29.16	1264	1264	0.94
Alkol	Dekil alkol	29.58	1282	1286	0.64
Aldehit	2-Fenil krotonaldehit	29.90	1279	1281	0.57

Tablo 5. (Devamı)

Monoterpenoid	Bornil asetat	30.62	1294	1289	20.98
Aldehit	Undekanal	31.34	1374	1370	0.30
Alkol	2E,4E-Dekandienol	31.86	1320	1317	0.72
Aldehit	2E-Undekanal	34.06	1367	1364	0.35
Aldehit	Undekanal	34.40	1374	1370	0.30
Seskiterpen	α -Kopaen	35.10	1389	1394	0.37
Seskiterpen	β -Bourbanen	35.61	1398	1391	0.29
Seskiterpen	δ -Elemen	37.26	1437	1437	3.67
Seskiterpen	α -Guaian	37.61	1444	1440	0.51
Seskiterpen	α -Humulen	38.80	1471	1477	1.69
Alkol	Dodekanol	38.98	1475	1471	2.35
Seskiterpenoid	β -E-ionon	39.92	1493	1489	19.90
Seskiterpenoid	Spatulenol	44.19	1602	1605	0.39
Seskiterpenoid	Viridiflorol	44.51	1604	1593	2.91
Alkol	Tetradekanol	44.93	1615	1613	0.76
Seskiterpenoid	α -Muurolol	46.67	1648	1646	0.26
Seskiterpenoid	α -Kadinol	47.26	1673	1673	2.13
Alkol	Tetradekanol	47.47	1679	1673	0.43
Diterpen	Neofitadien	53.69	1842	1849	0.22
Diğer	Fiton	53.93	1843	1838	7.62
Diterpenoid	iso-Fitol	57.59	1952	1948	1.00
Hidrokarbon	Eikosan	59.78	2001	2000	0.22
Diterpenoid	Thunbergol	60.96	2040	2047	0.53

%^a: Bileşiğin alanı; LRI* : Literatür referans değeri; RT: Alıkonma zamanı; RI: Referans değeri.

Tablo 6. *P. rostratum* bitkisinin mikrodalga yöntemiyle uçucu yağ bileşenleri

Bileşik sınıfı	Bileşik	RT	RI	LRI*	% ^a
Aldehit	Oktanal	21.25	1007	1002	20.22
Monoterpenoid	iso-Borneol	24.71	1147	1146	5.91
Aldehit	Dekanal	26.36	1206	1202	1.15
Aldehit	2E,4E-Nonadienal	26.83	1216	1212	0.46
Monoterpenoid	β -Siklositral	27.43	1228	1226	0.54
Aldehit	2E-Dekenal	29.15	1263	1264	1.87
Alkol	Dekil alkol	29.57	1272	1272	0.99
Monoterpenoid	iso-Bornil asetat	30.61	1293	1286	11.44
Aldehit	Undekanal	31.34	1308	1307	2.78
Aldehit	2E,4E-Dekanadienal	31.85	1319	1317	2.04

Tablo 6. (Devamı)

Aldehit	2E-Undekanal	34.05	1366	1364	1.24
Seskiterpen	β -Bourbonen	35.60	1399	1391	0.71
Seskiterpen	β -Elemen	35.76	1403	1391	0.43
Seskiterpen	β -Cedren	37.11	1423	1421	0.31
Seskiterpen	δ -Elemen	37.26	1436	1437	11.34
Diğer	Geranil aseton	38.14	1456	1455	0.54
Seskiterpen	α -Humulen	38.80	1471	1477	8.83
Alkol	Dodekanol	38.97	1475	1471	3.04
Seskiterpenoid	E- β -ionon	39.91	1492	1489	2.01
Seskiterpen	α -Kadinen	41.64	1526	1523	0.95
Seskiterpenoid	E-Nerolidol	43.02	1569	1563	0.66
Seskiterpenoid	Gleenol	44.04	1590	1585	1.57
Seskiterpenoid	Viridiflorol	44.38	1598	1593	0.58
Seskiterpenoid	Humulen epoksit-II	44.51	1604	1608	5.84
Aldehit	Tetradekanal	44.93	1615	1613	1.90
Seskiterpenoid	α -Muuralol	46.66	1648	1646	1.71
Seskiterpenoid	α -Kadinol	46.87	1663	1663	0.51
Alkol	Tetradekanol	47.46	1678	1673	0.57
Alkol	Pentadekanol	51.40	1780	1774	0.20
Diğer	Fiton	53.92	1848	1838	8.50
Alkol	Hekzadekanol	55.14	1882	1876	1.08

%a: Bileşiğin alanı; LRI* : Literatür referans değeri; RT: Alıkonma zamanı; RI*: Referans değeri.

P. medium ve *P. rostratum* bitkilerinin uçucu ve çözücü ekstralarının agar kuyu difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal inhibisyon çapları (mm) Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. *P. medium* ve *P. rostratum* bitkilerinin uçucu ve çözücü ekstralarının agar kuyu difüzyon yöntemi (mm) ile antimikrobiyal inhibisyon çapları

Ekstreler	Kon. µg/mL	Gram (-)			Gram (+)			Tüber.	Maya mantar.	
		<i>Ec</i>	<i>Yp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sa</i>	<i>Ef</i>	<i>Bc</i>		<i>Ms</i>	<i>Ca</i>
<i>P. medium</i>										
<i>n</i> -Hegzan ekstresi	75200	-	-	-	6	-	-	-	-	-
Kloroform ekstresi	6900	6	6	-	10	-	-	-	-	-
Metanol ekstresi	65000	7	8	10	7	-	8	-	8	-
Su ekstresi	42000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
UY Clevenger	21500	7	10	-	24	20	25	-	15	-

Tablo 7.(Devamı)										
UY MW	19200	7	10	-	24	20	25	-	15	-
<i>P. rostratum</i>										
n-Hegzan ektresi	63500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kloroform ektresi	8000	6	6	-	10	-	-	-	-	-
Metanol ektresi	67000	10	8	10	15	15	15	8	-	8
Su ektresi	35000	-	-	-	-	-	-	-	8	12
UY Clevenger	22300	7	10	-	24	20	25	-	15	-
UY MW	20400	7	10	-	24	20	25	-	15	-
Ampicillin	10	10	18	128	10	35	15			
Streptomycin	10							4		
Fluconazol	5								8	8
<i>Ec: Escherichia coli, Yp: Yersinia pseudotuberculosis, Pa: Pseudomonas aeruginosa, Sa: Staphylococcus aureus, Ef: Enterococcus faecalis, Bc: Bacillus cereus 702 Roma, Ms: Mycobacterium smegmatis, Ca: Candida albicans, Sc: Saccharomyces cerevisiae, (-): Aktivite yok.</i>										

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. *P. medium* ve *P. rostratum* bitkilerinin HD ve MW yöntemlerine göre uçucu bileşenleri

Tez çalışması kapsamında *P. medium* ve *P. rostratum* yosunlarının toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon (HD, Clevenger) ve mikrodalga (MW) yöntemleriyle ayrı ayrı uçucu yağlar elde edildi ve GC-FID-MS analizleri sonucu bileşenler sırasıyla %99.99 (40 bileşik), %99.11 (37 bileşik), %97.85 (32 bileşik) ve %98.87 (31 bileşik) oranında aydınlatılmıştır (Tablo 8) (19, 78, 83).

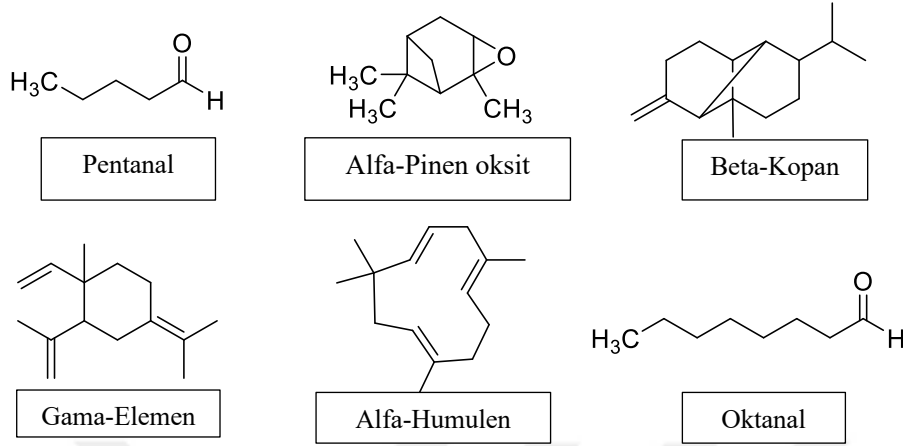
Tablo 8. *P. medium* ve *P. rostratum* bitkilerindeki uçucu bileşenlerin sınıfları ve miktarı

Bileşik Sınıfı	<i>P. medium</i>				<i>P. rostratum</i>			
	HD		MW		HD		MW	
	% ^a	BS ^b	% ^a	BS ^b	% ^a	BS ^b	% ^a	BS ^b
Monoterpen	-	-	0.85	1				
Monoterpenoid	9.75	2	31.88	6	23.65	4	17.89	3
Seskiterpen	12.13	9	13.72	7	6.12	5	22.57	6
Seskiterpenoid	8.3	7	5.33	3	25.59	5	12.88	7
Aldehit	57.52	11	17.98	11	27.48	7	30.61	8
Alkol	6.36	6	27.6	5	4.87	5	5.88	5
Diterpen	-	-	-	-	0.22	1	-	-
Diterpenoid	-	-	-	-	1.53	2	-	-
Keton	-	-	-	-	0.55	1	-	-
Hidrokarbon	4.05	2	0.79	2	0.22	1	-	-
Diğer	1.88	3	0.96	2	7.62	1	9.04	2
Total	99.99	40	99.11	37	97.85	32	98.87	31

(%)^a: Bileşiğin alanı; BS^b: Bileşik sayısı

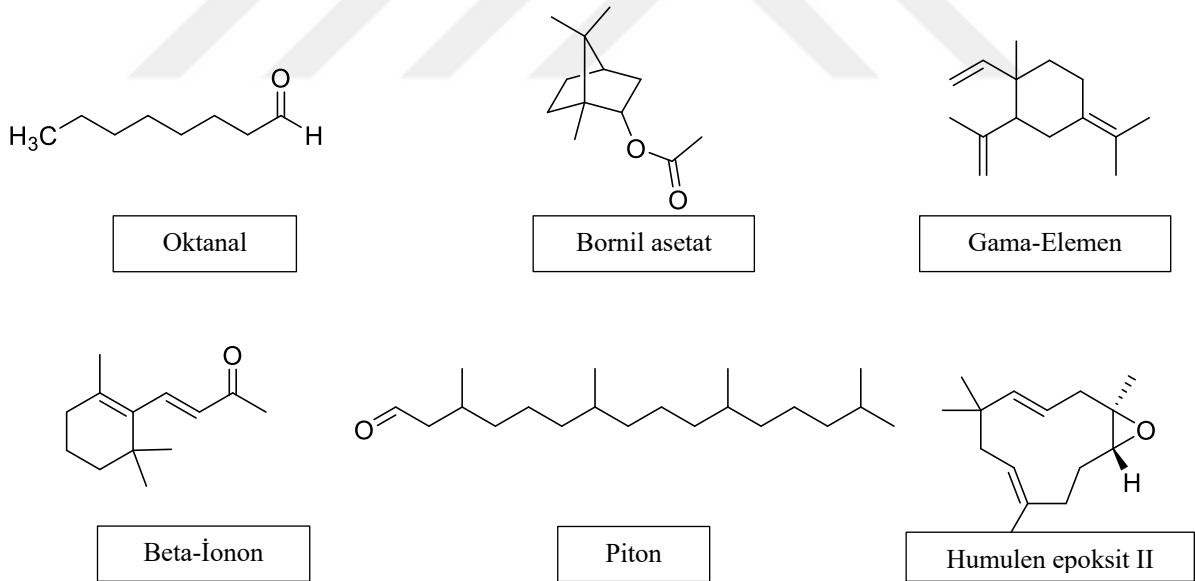
P. medium bitkisinden elde uçucu ana bileşiklerin formülleri Şekil 13'te verilmiştir. *P. medium* türünün HD UY'ında en fazla miktarda pentanal (%29.50), tetradekanal (%9.46), *iso*-bornil asetat (%8.94), oktanal (%5.44) ve humulen epoksit-II (%5.29) bulunmuştur. *P. medium* türünün MW UY'da ise pentanol (%25.50), bornil asetat (%24.42), β -kopaen (%5.70), tetradekanal (%5.00) ve α -pinen oksit (%4.44) tespit edildi. *P. rostratum*'dan elde edilen uçucu ana bileşiklerin formülleri Şekil 14'te verilmiştir. *P. rostratum* türünün HD UY'ında ana bileşen olarak oktanal (%24.12), bornil asetat (%20.98), β -E-ionon (%19.90), fiton (%7.62) ve δ -elemen (%3.67) ana bileşen olarak aydınlatıldı. *P. rostratum* türünün MW

UY'da ise oktanal (%20.22), *iso*-bornil asetat (%11.44), δ -elemen (%11.34) ve α -humulen (%8.83) ana bileşenlerdir.



Şekil 13. *P. medium* bitkisinden elde uçucu ana bileşiklerin formülleri

P. rostratum bitkisinden aydınlatılan uçucu ana bileşenlerin formülleri Şekil14'te verilmiştir.



Şekil 14. *P. rostratum*'dan elde edilen uçucu ana bileşiklerin formülleri

P. medium ve *P. rostratum* bitkilerinde aydınlatılan bileşiklerin bileşen sınıfına göre monoterpen, monoterpenoid, seskiterpen, seskiterpenoid, aldehit, alkol, hidrokarbon, diterpen, diterpenoid ve diğer bileşenler olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 8). *P. medium* bitkisinin HD UY'ında aldehit sınıfı bileşikler %57.52 (11 adet bileşik) oranında ve MW

UY'ında ise monoterpenoid sınıfı bileşikler %31.88 (6 adet bileşik) oranında ana bileşen olarak görülmüştür. *P. rostratum* bitkisinin her iki HD/MW UY'ında aldehit sınıfı bileşikler %27.48 (7 adet bileşik) ve %30.61 (8 adet bileşik) oranlarında ana bileşen olarak tespit edildi (Tablo 9). *P. medium* bitkisinin terpenik bileşen miktarı HD UY'da %29.91 ve MW UY'da %58.78 oranında, *P. rostratum* bitkisinde ise terpenik bileşen miktarı HD UY'da %55.36 ve MW UY'da %53.34 oranında tespit edilmiştir. *P. medium* bitkisinin UY eldesinde terpenik bileşen açısından bakıldığında MW yönteminin daha etkili olduğu, fakat *P. rostratum* bitkisinde her iki HD ve MW yöntemlerinde terpenik içerikler oldukça benzer bulunmuştur.

Uçucu yağ eldesinde farklı teknikler (HD, MW, presleme, enflaraj gibi) kullanılmakta olup, kullanılan tekniklere göre uçucu bileşenlerde farkındalık olduğu literatürde bilinmektedir (Kaynak). Her iki türün HD ve MW yöntemlerine göre elde edilen UY bileşenlerinin GC-MS analizleri sonucu bileşenlerinde farkındalık olduğu görülmüştür. *P. medium* HD UY da olupda MW UY içinde olmayan bileşikler Tablo 9'da görülmektedir. Aynı şekilde *P. medium* MW UY'da olupda HD UY'da olmayan bileşiklerde Tablo 9'da görülmektedir. *P. medium*'un HD UY'da 16 adet farklı bileşik görülmüş olup pentanal %31.45 oranında ve MW UY'da ise 12 adet bileşik olup pentanol %27.49 oranında görülmüştür. Bu bileşiklerin sıcaklığa bağlı dönüşme imkânı kimyasal olarak mümkün değildir.

Tablo 9. *P. medium* bitkisinin sadece HD veya MW UY'da bulunan uçucu bileşenleri

<i>P. medium</i>			
Sadece HD UY'ındaki bileşikler	% ^a	Sadece MW UY'ındaki bileşikler	% ^a
Pentanal	31.45	Pentanol	27.49
Oktan	3.18	α -Terpinolen	0.85
Oktanal	5.44	α -Pinen epoksit	4.44
<i>iso</i> -Bornil asetat	8.94	Terpinen-4-ol	0.93
2 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> -Dekadienal	1.01	<i>cis</i> -Karveol	1.10
β -Elemen	0.29	Bornil asetat	24.42
Geosmin	0.33	Dodekanal	0.18
α -Guain	2.45	β -Kopaen	5.70
γ -Amorfen	0.30	2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> -Dodekadienal	0.07
<i>E</i> - β -Ionon	1.03	Karyofillen	0.16
Eremofilen	0.14	2 <i>E</i> -Tridekenal	5.00
Spathulenol	0.37	Fenantren	0.19
α -Muurolol	0.19		
α -Kadinol	0.93		
Hekzadekanol	1.43		
Heptadekanol	0.13		

(%)^a: Bileşiğin alanı

P. roastratum HD UY da olup da MW UY içinde olmayan, MW UY’da olupda HD UY’da olmayan bileşikler Tablo 10’da görülmektedir. *P. roastratum*’un HD UY’da 12 adet farklı bileşik görülmüş olup bornil asetat %20.98 oranında ve MW UY’da ise 11 adet bileşik olup *iso*-bornil asetat %11.44 oranında görülmüştür. Bu bileşiklerin sıcaklığa bağlı dönüşme imkânı kimyasal olarak mümkün değildir.

Tablo 10. *P. roastratum* bitkisinin sadece HD veya MW UY’da bulunan uçucu bileşenleri

<i>P. roastratum</i>			
Sadece HD UY’ındaki bileşikler	% ^a	Sadece MW UY’ındaki bileşikler	% ^a
2-Nonanon	0.55	2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> -Nonadienal	0.46
Terpinen 4-ol	0.29	<i>iso</i> -Bornil asetat	11.44
2-Fenilkroton aldehit	0.57	β -Elemen	0.43
Bornil asetat	20.98	β -Cedren	0.31
Undekanal	0.30	Geranil aseton	0.54
α -Kopaen	0.37	α -Kadinen	0.95
α -Guaien	0.51	<i>E</i> -Nerolidol	0.66
Spatulenol	0.39	Gleenol	1.57
Neofitadien	0.22	Humulen epoksit-II	5.84
<i>iso</i> -Fitol	1.00	Pentadekanol	0.20
Eikosan	0.22	Hekzadekanol	1.08
Thunbergol	0.53		

(%)^a: Bileşiğin alanı

P. medium bitkisinin HD UY’ında 18 adet ve MW UY’ında ise 17 adet terpenik bileşenleri Tablo 11’de verilmiştir. Terpenik bileşenler içinde sayı ve miktar olarak HD UY’da seskiterpen bileşenleri %12.13 oranında ve MW UY’da ise monoterpenoid bileşenleri %31.88 oranında en fazla miktarda görülmektedir. Her iki yöntemde 9 adet -terpineol, β -kubeben, β -elemen, α -humulen, α -kadinen, zonaren, *e*-nerolidol, humulen epoksit-II ve intermedeol terpen/terpenoid bileşenleri farklı oranlarda görülmüştür.

Tablo 11. *P. medium* bitkisinin UY’daki terpenik bileşenleri

HD			MW		
Bileşik sınıfı	Bileşik	% ^a	Bileşik sınıfı	Bileşik	% ^a
Monoterpenoid	α -Terpineol	0.81	Monoterpen	α -Terpinolen	0.85
Monoterpenoid	<i>iso</i> -Bornil asetat	8.94	Monoterpenoid	α -Pinenoksit	4.44
Seskiterpen	β -Kubeben	0.46	Monoterpenoid	Terpinen-4-ol	0.93
Seskiterpen	β -Elemen	0.29	Monoterpenoid	α -Terpineol	0.81
Seskiterpen	γ -Elemen	4.89	Monoterpenoid	Myrtenol	0.18
Seskiterpen	α -Guain	2.45	Monoterpenoid	<i>cis</i> -Karveol	1.10

Tablo 11 (Devamı)

Seskiterpen	α -Humulen	2.79	Monoterpenoid	Bornil asetat	24.42
Seskiterpen	γ -Amorphen	0.30	Seskiterpen	β -Kubeben	0.42
Seskiterpenoid	<i>E</i> - β -İonon	1.03	Seskiterpen	β -Kopaen	5.70
Seskiterpen	Eremophilen	0.14	Seskiterpen	γ -Elemen	2.48
Seskiterpen	α -Kadinen	0.24	Seskiterpen	α -Humulen	3.53
Seskiterpen	Zonaren	0.57	Seskiterpen	α -Kadien	0.80
Seskiterpenoid	<i>E</i> -Nerolidol	0.40	Seskiterpen	Zonaren	0.63
Seskiterpenoid	Spathulenol	0.37	Seskiterpenoid	<i>E</i> -Nerolidol	0.75
Seskiterpenoid	Humulen epoksit-II	5.29	Seskiterpen	Karyofilen	0.16
Seskiterpenoid	α -Muurolol	0.19	Seskiterpenoid	Humulen epoksit-II	3.54
Seskiterpenoid	Intermedeol	0.09	Seskiterpenoid	Intermedol	1.04
Seskiterpenoid	α -Kadinol	0.93			

(%)^a: Bileşiğin alanı

P. rostratum bitkisinin HD UY'ında 17 adet ve MW UY'ında ise 16 adet terpenik bileşenleri Tablo 12'de verilmiştir. Terpenik bileşenler içinde sayı ve miktar olarak HD UY'da seskiterpenoid bileşenleri %25.59 oranında ve MW UY'da ise seskiterpen bileşenleri %22.57 oranında en fazla miktarda görülmektedir (Tablo 12). Her iki yöntemde 7 adet *iso*-borneol, β -siklositral, δ -elemen, α -humulen, β -*e*-ionon, viridiflorol ve α -kadinol terpen/terpenoid bileşenleri farklı oranlarda görülmüştür.

Tablo 12. *P. rostratum* bitkisinin UY'daki terpenik bileşenleri

HD			MW		
Bileşik sınıfı	Bileşik	% ^a	Bileşik sınıfı	Bileşik	% ^a
Monoterpenoid	<i>iso</i> -Borneol	1.91	Monoterpenoid	<i>iso</i> -Borneol	5.91
Monoterpenoid	Terpinen-4-ol	0.29	Monoterpenoid	β -Siklositral	0.54
Monoterpenoid	β -Siklositral	0.47	Monoterpenoid	<i>iso</i> -Bornil asetat	11.44
Monoterpenoid	Bornil asetat	20.98	Seskiterpen	β -Bourbonen	0.71
Seskiterpen	α -Kopaen	0.37	Seskiterpen	β -Elemen	0.43
Seskiterpen	β -Bourbanen	0.29	Seskiterpen	β -Cedren	0.31
Seskiterpen	δ -Elemen	3.67	Seskiterpen	δ -Elemen	11.34
Seskiterpen	α -Guaien	0.51	Seskiterpen	α -Humulen	8.83
Seskiterpen	α -Humulen	1.69	Seskiterpenoid	<i>E</i> - β -ionon	2.01
Seskiterpenoid	β - <i>E</i> -ionon	19.90	Seskiterpen	α -Kadinen	0.95

Tablo 12 (Devamı)

Seskiterpenoid	Spatulenol	0.39	Seskiterpenoid	<i>E</i> -Nerolidol	0.66
Seskiterpenoid	Viridiflorol	2.91	Seskiterpenoid	Gleenol	1.57
Seskiterpenoid	α -Muurolol	0.26	Seskiterpenoid	Viridiflorol	0.58
Seskiterpenoid	α -Kadinol	2.13	Seskiterpenoid	Humulen epoksit-II	5.84
Diterpen	Neofitadien	0.22	Seskiterpenoid	α -Muralol	1.71
Diterpenoid	<i>iso</i> -Fitol	1.00	Seskiterpenoid	α -Kadinol	0.51
Diterpenoid	Thunbergol	0.53			

(%)^a: Bileşiğin alanı

Her iki bitkinin HD ve MW UY anaizlerinde özellikle terpenik yapılu bileşenler sırasıyla %29.91/%58.78 ve %55.36/%53.34 oranlarında olup, benzerleri olmasına rağmen büyük çoğunlukta farklılıklar gözlemlenmiştir. Her ne kadar aynı aileye ait olsalarda UY elde yöntemine göre farklı bileşenler içerdikleri yapılan çalışmalar sonucunda gözlemlenmiştir.

Litertürde *Brachythecium salebrosum*, *Eurhynchium pulchellum* ve *P. undulatum* yosun bitkilerinin uçucu yağları GC-FID-MS ile araştırılıp *B. salebrosum*, *E. pulchellum* ve *P. undulatum*'un toplam uçucu yağ bileşenleri miktarları sırasıyla %85.2, %80.9 ve %88.8 olup toplam 39 bileşik tanımlanmıştır. Sırasıyla *n*-nonanal (%66.3 ve %36.2) ve γ -elemen (%24.10) ana bileşen olarak rapor edilmiştir. *P. undulatum*'da seskiterpen hidrokarbonlar (%51.7), *B. salebrosum* ve *E. pulchellum*'da ise alifatik aldehytler (%73.3 ve %57.9) ana bileşen olarak rapor edilmiştir (14).

Literatürde *P. acutum* T.Kop. (*P. acutum*) Çinde alternatif tıpta kanser tedavisi için kullanılan yosun türü bir bitki olup uçucu yağları ve antitümör etkisi rapor edilmiştir. Uçucu yağ GC-MS yöntemiyle analiz edilmiş ve toplam 74 bileşen rapor edilmiştir. Uçucu bileşenlerin %25.6 oranında diterpen, %23.89 seskiterpen ve %21.81 alkol sınıfı bileşik oldukları belirtilmiştir. Selina-6-en-4-ol ve dolabella-3,7-dien-18-ol diterpen bileşikleri bu bitkiden ilk defa rapor edildiği bildirilmiştir. Ayrıca, uçucu yağın kanser testinde, G1 fazını bloke edip ve apoptozu indükleyerek HepG2 ve A549 hücreleri üzerinde önemli hücre büyümesini önleyici aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (84).

Dört ayrı yosun türündeki uçucu bileşenler SPME-GC-MS yöntemiyle aydınlatılmış ve çözücü ekstrelerinin antioksidant etkileri ve toplam fenolik madde miktarları rapor edilmiştir (85).

Mnium, Plagiomnium, Homalia, Plagiothecium ve Taxiphyllum (Musci) cinsine ait yosunların uçucu yağları GC-MS ile incelenmiştir. Yeni eeskiterpen bileşikleri (+)-10-epi-muurola-4,11-dien (I) ve 10,11-dihidro- α -kuparenon (II) rapor edilmiştir. Karayosunlarında bulunan uçucu madde miktarlarının ciğer otlarına göre daha az olmasına rağmen, terpenoid bileşenleri bakımından benzer oldukları rapor edilmiştir. Fakat alifatik bileşikler bakımından daha zengin oldukları bildirilmiştir (86).

Ayrı yosunlar üzerinde yapılan farmakognozik çalışmalarda *P. elatum* 'dan 2 yeni di-C-glicosid 6-C- β -D-glukopiranosil-8-C- α -L-ramnopiranosil-luteolin (elatin) and 6-C-hekzoil-8-C-ramnosil-chrysoeriol bileşenleri ve 4 bilinen flavone-C-glikosid bileşikleri rapor edilmiştir. *P. cuspidatum* bitkisinden ise apigenin, luteolin ve chrysoeriol 'ün 6-C-glukosil-7-O-glukosid bileşikleri bildirilmiştir (saponarin, lutonarin ve isoscoparin glukosid bileşikleri) (87).

Plagiomnium 'un 7 ayrı türünde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonrasında toplam 22 flavonoid bileşik rapor edilmiştir. Flavonoidlerin çoğunluğunun apinein C-glikosid türü oldukları belirtilmiştir (88).

P. cuspidatum 'dan 3 yeni dihidrobiflavon 2,3-dihidro-5'-hidroksiamentoflavon, 2,3-dihidro-5',3'''-dihidroksiamentoflavon ve 2,3-dihidro-5'-hidroksirobustafavon rapor edilmiştir(89).

Antitrichia curtipendula ve *Racomitrium lanuginosum* 'dan 5',3'''-dihidroksirobustafavon ve 5',8''-biluteolin ve *P. elatum* 'dan ise yeni biflavon 5'-hidroksiamentoflavon rapor edilmiştir (90).

P. affine 'den isoorientin, isoorientin 3'-O-sophorosid, ve isoorientin 3'-O-neohesperidosid rapor edilmiştir (91).

6 Yosun türünde sterol yapılı bileşikler analiz edilip ana bileşenler olarak kampesterol, 22-dihidrobrassicasterol, sitosterol, clionasterol, stigmasterol, kolesterol, 24-metil-5,22-kolestadienol, ve 24-metil-5,7,22-kolestatrienol olarak bildirilmiştir (92).

P. undulatum bitkisinden İki bilinen biflavonid bileşikleri yanında iki yeni biflavonoid bileşikleri 3'''-desoksidikranolomin, 2,3-dihidro-3'''-desoksidikranolomin ve 2,3-dihidro-5',3'''-dihidroksirobustafavon rapor edilmiştir (93).

Literatürde Marchantia polymorpha, Fissidens taxifolius, Grimmia pulvinata, Polytrichum strictum ve *P. undulatum* türleri üzerinde sekonder metabolit miktarlarında

sezonsal farkındalık araştırması yapılmıştır. Çalışmada mevsimler arasındaki metabolit profillerinde türe özgü güçlü farklılıklar ortaya çıktığı, yaşam stratejileri, büyüme formları, ışık ve toprak gösterge değerleri en önemli ekolojik belirleyiciler arasında olduğu belirtilmiştir (94).

5.2. *P. medium* ve *P. rostratum* bitkilerinin uçucu yağ ve çözücü ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri

P. medium ve *P. rostratum* bitkilerinin uçucu yağ ve çözücü ekstraktlarının (*n*-hekzan, kloroform, metanol ve su) antimikrobiyal aktivite testleri 3 adet Gram (-) bakteri (*E. coli*, *Y. pseudotuberculosis* ve *P. aeruginosa*), 3 adet Gram (+) bakteri (*S. aureus*, *E. faecalis* ve *B. cereus*), 1 no Gram (*M. smegmatis*) ve 2 adet maya mantarına (*C. albicans* ve *Saccharomyces cerevisiae*) karşı yapılmıştır (19, 78).

P. medium'dan elde edilen HD/MW UY ve çözücü ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliğinde gram (+) bakteri *S. aureus*, *E. faecalis* ve *B. cereus*'e karşı UY'ların sırasıyla inhibisyon çapları 24 mm, 20 mm ve 25 mm olarak en etkili bulunmuştur. Çözücü ekstraktlarından metanol ekstresi gram (-) *P. aeruginosa* karşı inhibisyon çapı 10 mm olarak bulunmuştur. *P. medium*'un UY'larının maya mantarı *C. albicans*'a karşı inhibisyon çapı 15 mm olarak görülmüştür. Diğer çözücü ekstraktları ve UY'ların diğer mikroorganizmalara karşı düşük veya etkinlik göstermemiştir. *P. medium* UY içinde terpenik yapıli bileşen miktarının fazla gözlemlenmesi antimikrobiyal etkinlikte etkisi olduğu düşünülmektedir.

P. rostratum'dan elde edilen HD/MW UY ve çözücü ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliğinde gram (+) bakteri *S. aureus*, *E. faecalis* ve *B. cereus*'e karşı UY'ların sırasıyla inhibisyon çapları 24 mm, 20 mm ve 25 mm olarak en etkili bulunmuştur. Çözücü ekstraktlarından metanol ekstresi gram (+) bakteri *S. aureus*, *E. faecalis* ve *B. cereus*'e karşı inhibisyon çapları 15 mm olarak bulunmuştur. *P. rostratum*'un UY'larının maya mantarlarından *C. albicans*'a karşı inhibisyon çapı 15 mm olarak görülmüştür. Diğer çözücü ve UY'ların diğer mikroorganizmalara karşı düşük veya etkinlik göstermemiştir. *P. rostratum* UY içinde terpenik yapıli bileşenlerin yüksek oranda olması antimikrobiyal etkinlikte etkisi olduğu düşünülmektedir.

Literatürde Letonya'dan toplanan 11 Bryophyta türü ve 9 Marchantiophyta türünün sulu ve etanolik ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Bacillus cereus*'a karşı test edilmiştir. *Lophocolea heterophylla* ekstraktı *B. cereus*'un büyümesini engellediği, ancak test edilen ekstraktların hiçbirinin *E. coli*'nin

büyümesini engellemediği belirtilmiştir. Briyofit türlerinin %70'i *S. aureus* ile ilgili olarak belirli bir aktivite göstermediği rapor edilmiştir. Bitkilerin etanolik ekstraktların %73'ü ve sulu ekstraktların %39'u *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite sergilediği, *S. aureus*'a karşı en yüksek antibakteriyel aktivite derecesi, *Dicranum scoparium*'un etanolik ekstraktı ve *Atrichum undulatum* ve *Rhytidiadelphus squarrosus*'un sulu ekstraktları ile gösterdiği belirtilmiştir. Bakterisidal etkiler belirlenmemiştir. *Eurhynchium angustirete*, *Rhytidiadelphus squarrosus* ve *Rhodobryum roseum* yosunlarının antimikrobiyal aktiviteleri ilk kez bu çalışmada rapor edilmiştir (95).

Mnium spinosum, *Anomodon viticulosus*, *P. cuspidatum* yosunlarının sulu ekstraktlarının antioksidant aktiviteleri sırasıyla 20,12 µg/mL, 21,12 µg/mL, and 44,06 µg/mL olarak rapor edilmiştir (96).

Literatürde, yosunlar ve ciğer otları da dahil olmak üzere otuz iki briyofit türünün, lipopolisakkarit (LPS) veya rekombinant insan peroksiredoksin (hPrx1) ile uyarılan Raw 264.7 fare makrofajları üzerindeki anti-inflamatuvar etkilerini araştırılmıştır. Briyofitlerin %70 etanol ekstraktları, önemli bir proinflamatuvar aracı olan nitrik oksit (NO) üretimini azaltma potansiyelleri açısından tarandığı ve analiz edilen ekstraktlar arasında iki yosun türü, sitotoksik etki olmaksızın LPS kaynaklı NO üretimini önemli ölçüde inhibe ettiği belirtilmiştir. *Dicranum majus* ve *Thuidium delicatulum*'un biyoaktif ekstraktları NO üretimini konsantrasyona bağlı bir şekilde IC₅₀ 1,04 µg/mL ve 1,54 µg/mL değerleriyle inhibe ettiği rapor edilmiştir (97).

Antioksidan aktivite ve enzim inhibisyon etkileri açısından sınırlı sayıda çalışmalar olduğu belirtilmiş olup, *P. ellipticum*'dan elde edilen eter ekstraktlarının içeriği, antioksidan ve enzim inhibisyon özellikleri araştırılmıştır. *P. ellipticum*'un eter ekstraktlarının en yüksek flavonoid içeriği 52.41 ± 0.52 (rutin eşdeğeri) ve *A. californica* en yüksek toplam fenolik içeriğe ise 25.84 ± 0.23 (gallik asit eşdeğeri) olarak belirtilmiştir (98).

Seçilen 42 yosun türünün yüz altmış sekiz sulu ve organik ekstraktı, HeLa (serviks epitelyal adenokarsinomu), A2780 (yumurtalık karsinomu) ve T47D (invaziv) içeren insan jinekolojik kanseri hücre dizilerinden oluşan bir panelde antiproliferatif aktivite açısından *in vitro* olarak disk difüzyon yöntemine göre taranmış ve 1 l suş üzerinde antibakteriyel aktivite görülmüştür. 41 Türden elde edilen toplam 99 ekstrakt, 10 µg/mL'de kanser hücre dizilerinden en az birinin proliferasyonunu $\geq 25\%$ inhibe ettiği rapor edilmiştir. *Brachythecium rutabulum*, *Encalypta streptocarpa*, *Climacium dendroides*, *Neckera*

besseri, *Pleurozium schreberi* ve *Pseudoleskeella nervosa* türlerinin antiproliferatif analizde birden fazla ekstraktının aktif olduğu ve en yüksek aktivite *Paraleucobryum longifolium* türünde görüldüğü belirtilmiştir (99).

Sonuç olarak, *P. medium* ve *P. rostratum* bitkilerinin HD ve MW uçucu bileşenleri, miktarları ve antimikrobiyal etkilerinin araştırılması amaçlı ilk defa bu çalışmada yapılmıştır. Bununla birlikte bu iki bitki türünün daha gelişmiş düzeyde farmakognozik izolasyon ve farmakolojik çalışmaları planlanabilir.



6. KAYNAKLAR

1. Aboutabl E, Afifi M, Ghaem N, Yokoyama R, Fukuyama Y, Asakawa Y (1999). Aromatic compounds from the egyptian moss *Eucladium verticillatum* (brid) BSG. The Journal of the Hattori Botanical Laboratory 86: 175-178.
2. Sabovljevic A, Sabovljevic M, Jockovic N (2009). In vitro culture and secondary metabolite isolation in bryophytes. Protocols for in vitro cultures and secondary metabolite analysis of aromatic and medicinal plants, 117-128.
3. Sabovljevic A, Sokovic M, Glamoclija J, Ciric A, Vujicic M, Pejin B, Sabovljevic M (2010). Comparison of extract bio-activities of in situ and in vitro grown selected bryophyte species. Afr J Microbiol Res 4(9): 808-812.
4. Zinsmeister H, Becker H, Eicher T (1991). Mosses, a Source of Biologically Active Natural Products ChemInform 22(17): 121-132.
5. Erdağ A, Kürschner H (2017). Türkiye bitkileri listesi:(Karayosunları) Ali Nihat Gökyiğit Vakfı.
6. Kürschner H, Frey W (2011). Liverworts, mosses and hornworts of southwest Asia (Marchantiophyta, Bryophyta, Anthocerotophyta).
7. Smith AJE (2004). The moss flora of Britain and Ireland Cambridge university press.
8. Pedrotti C (2006). Flora dei muschi d'Italia, Bryopsida (II parte), Antonio Delfino Editore. Medicina: Scienze.
9. Frey W, Frahm J-P, Lobin W (2006). The liverworts, mosses and ferns of Europe Apollo Books.
10. Kümmerer K (2009). The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use—present knowledge and future challenges. Journal of environmental management 90(8): 2354-2366.
11. Yüled Çakır A (2022). Sargassum Vulgare'den elde edilen sekonder metabolitlerin yapılarının aydınlatılması ve sitotoksik, antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi.
12. Başer F (2016). Ülkemizde doğal yayılışa sahip karayosunlarından *Sphagnum centrale* CEO Jensen ve *S. Capillifolium* (Ehrh.) Hedw'un (Bryophyta) anti-mikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

13. Öcalan N, Onbaşılı D, Ödevi B Karayosunlarının Antimikrobiyal Aktivitesi.
14. Özdemir T, Yaylı N, Cansu TB, Volga C (2009). Essential oils in mosses (*Brachythecium salebrosum*, *Eurhynchium pulchellum* and *Plagiomnium undulatum*) grown in Turkey. *Asian journal of chemistry* 21(7): 5505-5509.
15. Valarezo E, Vidal V, Calva J, Jaramillo SP, Febres JD, Benitez A (2018). Essential oil constituents of mosses species from Ecuador. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 21(1): 189-197.
16. Batan N, Özdemir T (2011). Mersin (C12), Trabzon ve Gümüşhane (A4)'den bazı karayosunu (musci) kayıtları. *Turkish Journal of Forestry* 12(2): 104-109.
17. Özdemir T, Üçüncü O, Cansu T, Kahrıman N, Yaylı N (2010). Volatile Constituents in Mosses (*Brachythecium albicans* (Hedw.) Schimp., *Bryum pallescens* Schleich. ex Schwagr and *Syntrichia intermedia* Brid.) Grown in Turkey. *Asian Journal of Chemistry* 22(9).
18. Üçüncü O, Cansu Tb, Özdemir T, Karaoğlu Şa, Yaylı N (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of mosses (*Tortula muralis* Hedw., *Homalothecium lutescens* (Hedw.) H. Rob., *Hypnum cupressiforme* Hedw., and *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb.) from Turkey. *Turkish Journal of Chemistry* 34(5): 825-834.
19. Cansu Tb, Yaylı B, Özdemir T, Batan N, Karaoğlu Şa, Yaylı N (2013). Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oils of mosses (*Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp. and *Leucodon sciuroides* (Hedw.) Schwägr.) growing in Turkey. *Turkish Journal of Chemistry* 37(2): 213-219.
20. Cansu TB, Ucuncu O, Kahrıman N, Ozdemir T, Yaylı N (2010). Essential oil composition of *Grimmia trichophylla* Grew and *G. decipiens* (Shultz) Lindb. grown in Turkey. *Asian Journal of Chemistry* 22(9): 7280-7284.
21. Tosun G, Yaylı B, Özdemir T, Batan N, Yaylı N, Karaoglu SA (2014). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Tortella inclinata* var. *densa*, *T. tortusa* and *Pleurochaete squarrosa*. *Asian J Chem* 26(7): 2001.
22. Mitra S, Burger BV, Poddar-Sarkar M (2013). Headspace volatile oxylipins of Eastern Himalayan Moss *Cyathophorella adiantum* extracted by sample enrichment probe. *Lipids* 48: 997-1004.

23. Vanderpoorten A, Goffinet B (2009). Introduction to bryophytes Cambridge University Press.
24. Frahm J-P (2000). The discovery of the life cycle of bryophytes by Wilhelm Hofmeister (1824–1877). *The Bryologist* 103(1): 87-89.
25. Shaw AJ, Szövényi P, Shaw B (2011). Bryophyte diversity and evolution: windows into the early evolution of land plants. *American journal of botany* 98(3): 352-369.
26. Budke JM, Bernard EC, Gray DJ, Huttunen S, Piechulla B, Trigiano RN (2018). Introduction to the special issue on bryophytes. *Critical Reviews in Plant Sciences* 37(2-3): 102-112.
27. Morin NR (2014). New Publication: Flora of North America North of Mexico, Volume 28: Bryophyta, Part 2. *Evansia* 31(3): 112-112.
28. Frahm J-P, Pócs T, O'shea B, Koponen T, Piipo S, Enroth J, Rao P, Fang Y (2003). Manual of tropical bryology. *Tropical bryology*.
29. Çalıkoğlu E, Kıralan M, Bayrak A (2006). Uçucu yağ nedir, nasıl üretilir ve Türkiye'deki durumuna genel bir bakış. *Türkiye* 9: 24-26.
30. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology* 46(2): 446-475.
31. Çelik E, Çelik GY (2007). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 5(2): 1-6.
32. Temel M, Tınmaz A B, Öztürk M, Gündüz O (2018). Dünyada ve Türkiye'de tıbbi-aromatik bitkilerin üretimi ve ticareti.
33. Gupta A, Naraniwal M, Kothari V (2012). Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. *International journal of applied and natural sciences* 1(1): 8-26.
34. Kaya D, Ergönül PG (2015). Uçucu Yağları Elde Etme Yöntemleri. *Gıda/The Journal Of Food* 40(5).
35. Roopashree K, Naik D (2019). Advanced method of secondary metabolite extraction and quality analysis. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8(3): 1829-1842.
36. Öztürk E, Tekeli A (2021). Esans Yağlar.

37. Bayaz M (2014). Esansiyel yağlar: antimikrobiyal, antioksidan ve antitümör aktivite. Akademik Gıda 12(3): 45-53.
38. Şengezer E, Güngör T (2008). Esansiyel yağlar ve hayvanlar üzerindeki etkileri (derleme). Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi 48(2): 101-110.
39. Tongnuanchan P, Benjakul S (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. Journal of food science 79(7): R1231-R1249.
40. Stichlmair JG, Klein H, Rehfeldt S (2021). Distillation: principles and practice John Wiley & Sons.
41. Górak A, Sorensen E (2014). Distillation: fundamentals and principles Academic Press.
42. Lawrence BM (1995). The isolation of aromatic materials from natural plant products. A manual on the essential oil industry: 57-154.
43. Lei Z, Dai C, Chen B, Ding Z (2021). Special distillation processes Elsevier.
44. Badal S, Delgoda R (2017). Pharmacognosy Elsevier: Amsterdam, The Netherlands.
45. Yusoff ZM, Muhammad Z, Ahmad ND, Rahiman MHF, Taib MN (2016). Hybrid fuzzy plus PID controller of hydro-diffusion steam distillation essential oil extraction system: Design and performance evaluation. AIP Conference Proceedings, 050007.
46. Turhan İ, Tetik N, Karhan M (2006). Turunçgil kabuk yağlarının elde edilmesi ve gıda endüstrisinde kullanımı. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi 3: 71-77.
47. Özkılıç Sy, Vildan T, Danacıoğlu Da Soğuk Pres Yağlar Ve Fonksiyonel Etkileri.
48. YAMAN T, KULEAŞAN Ş (2016). Uçucu yağ elde etmede gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 7(Özel (Special) 1): 78-83.
49. Moyler DA (1993). Extraction of essential oils with carbon dioxide. Flavour and fragrance journal 8(5): 235-247.
50. Öztekin S, Soysal Y (1998). Tıbbi Ve Aromatik Bitkilerde Ekstraksiyon Yöntemleri.
51. Cellat K (2011). Bazı endemik bitkilerin uçucu yağ bileşenlerinin ekstrakte edilmesi ve içeriklerinin araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü.
52. Soe'eib S, Asri NP, NH ADS (2017). Enfleurage essential oil from jasmine and rose using cold fat adsorbent. Widya Teknik 15(1): 58-61.

53. Dülger GÇ, Geçgel Ü, Culpan E Mikrodalga Ekstraksiyon Yöntemiyle Uçucu Yağ Eldesi.
54. Wolski T, Tambor K, Rybak-Chmielewska H, Kedzia B (2006). Identification of honey volatile components by solid phase microextraction (SPME) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). *Journal of Apicultural Science* 50(2): 115-126.
55. Möckel H, Welter G, Melzer H (1987). Correlation between reversed-phase retention and solute molecular surface type and area: I. Theoretical outlines and retention of various hydrocarbon classes. *Journal of Chromatography A* 388: 255-266.
56. Şahin S, Yener ME (2007). Yeni teknolojilerle baharatlardan esansiyel yağ ekstraksiyonu ve bu yağların fiziksel, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri.
57. Çınar O, Tokgöz H, Gölükçü M, Bayar Fu (2022). Biberiye (*Rosmarinus Officinalis* L.) Uçucu Yağ Kalite Parametrelerinin Hasat Zamanı Ve Lokasyona Göre Değişimi. *Journal Of The Institute Of Science And Technology* 12(2): 1114-1123.
58. Gölükçü M, Tokgöz H, Turgut Dy (2020). Farklı Hasat Zamanlarının Bergamot (*Citrus Bergamia Risso Et Poiteau*) Kabuk Uçucu Yağının Bazı Kalite Parametrelerine Etkisi. *Bahçe* 49(2): 67-73.
59. Faydaoğlu E, Sürücüoğlu M (2013). Tibbi Ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri Ve Kullanım Olanakları. *Erzincan University Journal Of Science And Technology* 6(2): 233-265.
60. Kurt Nc, Çankaya İi (2021). Aromaterapi Uygulamaları Ve Uçucu Yağlar. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi Ve Folklorik Tıp Dergisi* 11(2): 230-241.
61. Tiring G, Satar S, Özkaya O (2021). Sekonder Metabolitler. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 35(1): 203-215.
62. Tanker M, Tanker N (2003). *Farmakognozi Cilt 1*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi; P.
63. Dewick PM, Rohr J (1998). Medical natural products. A biosynthetic approach. *Angewandte Chemie-International Edition* 37(16): 2277-2277.
64. Kılıç T (2002). *Sideritis lycia* ve *sideritis leptoclada* türlerinin diterpen bileşiklerinin izolasyonu ve karakterizasyonu.

65. Yaylı N Uçucu Yağlar Ve Tıbbi Kullanımları.
66. Thormar H (2011). Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents.
67. Singh G, Marimuthu P, De Heluani CS, Catalan CA (2006). Antioxidant and biocidal activities of *Carum nigrum* (seed) essential oil, oleoresin, and their selected components. *Journal of agricultural and food chemistry* 54(1): 174-181.
68. Connolly JD, Hill RA (1991). Dictionary of terpenoids. (No Title).
69. Dev S (1989). Terpenoids. (Ed). Natural products of woody plants: chemicals extraneous to the lignocellulosic cell wall. Springer, 691-807.
70. Mabou FD, Belinda I, Yossa N (2021). TERPENES: Structural classification and biological activities. *IOSR J Pharm Biol Sci* e-ISSN 16: 2319-7676.
71. Hanson JR (2006). Diterpenoids. *Natural product reports* 23(6): 875-885.
72. Merritt A, Ley S (1992). Clerodane diterpenoids. *Natural Product Reports* 9(3): 243-287.
73. Mahato SB, Sen S (1997). Advances in triterpenoid research, 1990–1994. *Phytochemistry* 44(7): 1185-1236.
74. Davis EM, Croteau R (2000). Cyclization enzymes in the biosynthesis of monoterpenes, sesquiterpenes, and diterpenes. *Biosynthesis: aromatic polyketides, isoprenoids, alkaloids:* 53-95.
75. da Silveira Vasconcelos M, de Oliveira LMN, Nunes-Pinheiro DCS, da Silva Mendes FR, de Sousa FD, de Siqueira Oliveira L, de Aquino AC, de Souza TdFG, Silva AS, Nabavi SM (2020). Analysis of tetraterpenes and tetraterpenoids (carotenoids). (Ed). *Recent Advances in Natural Products Analysis*. Elsevier, 427-456.
76. Breitmaier E, Breitmaier E (1999). Polyterpene und prenylchinone. *Terpene: Aromen, Düfte, Pharmaka, Pheromone:* 123-126.
77. Breitmaier E (2006). *Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones* John Wiley & Sons.
78. Yaylı N, Tosun G, Yaylı B, Gündoğanc Z, Coşkunçelebic K, Karaoğlu ŞA (2016). Altitude variation in the composition of essential oils, fatty acid methyl esters, and antimicrobial activities of two subspecies of *Primula vulgaris* grown in Turkey. *Natural Product Communications* 11(10): 1934578X1601101020.

79. Netopilova M, Houdkova M, Urbanova K, Rondevaldova J, Kokoska L (2021). Validation of qualitative broth volatilization checkerboard method for testing of essential oils: Dual-column GC–FID/MS analysis and in vitro combinatory antimicrobial effect of *Origanum vulgare* and *Thymus vulgaris* against *Staphylococcus aureus* in liquid and vapor phases. *Plants* 10(2): 393.
80. Andoğan BC, Baydar H, Kaya S, Demirci M, Özbaşar D, Mumcu E (2002). Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. *Archives of pharmacal research* 25: 860-864.
81. Mota AS, Martins MR, Arantes S, Lopes VR, Bettencourt E, Pombal S, Gomes AC, Silva LA (2015). Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oils of Portuguese *Foeniculum vulgare* fruits. *Natural product communications* 10(4): 1934578X1501000437.
82. Du Toit E, Rautenbach M (2000). A sensitive standardised micro-gel well diffusion assay for the determination of antimicrobial activity. *Journal of microbiological methods* 42(2): 159-165.
83. Üçüncü O, Kahriman N, Terzioğlu S, Karaoğlu ŞA, Yaylı N (2010). Composition and antimicrobial activity of the essential oils from flowers of *Senecio othonnae*, *S. racemosus*, and *S. nemorensis*. *Natural product communications* 5(5): 1934578X1000500531.
84. Li M, Wang L, Li S, Hua C, Gao H, Ning D, Li C, Zhang C, Jiang F (2022). Chemical Composition, Antitumor Properties, and Mechanism of the Essential Oil from *Plagiomnium acutum* T. Kop. *International Journal of Molecular Sciences* 23(23): 14790.
85. Yayintas OT, Ozyurt D, Demirata B, Yuceer YK, Yilmaz S (2019). Chemical Composition and Antioxidant Capacities of Mosses Gathered from Mount Ida (Canakkale, Turkey). *Feb-Fresenius Environmental Bulletin*: 2413.
86. Saritas Y, Sonwa MM, Iznaguen H, König WA, Muhle H, Mues R (2001). Volatile constituents in mosses (Musci). *Phytochemistry* 57(3): 443-457.
87. Anhut S, Biehl J, Seeger T, Mues R, Zinsmeister HD (1992). Flavone-C-glycosides from the mosses *Plagiomnium elatum* and *Plagiomnium cuspidatum*. *Zeitschrift für Naturforschung C* 47(9-10): 654-660.

88. Wyatt R, Lane DM, Stoneburner A (1991). Chemosystematics of the Mniaceae. II. Flavonoids of Plagiomnium Section Rosulata. Bryologist: 443-448.
89. Anhut S, Seeger T, Zinsmeister H-D, Geiger H (1989). New dihydrobiflavones from the moss Plagiomnium cuspidatum. Zeitschrift für Naturforschung C 44(3-4): 189-192.
90. Geiger H (1988). Biflavones from some mosses. Zeitschrift für Naturforschung C 43(1-2): 1-4.
91. Freitag P, Mues R, Brill-Fess C, Stoll M, Zinsmeister HD, Markham KR (1986). Isoorientin 3'-O-sophoroside and 3'-O-neohesperidoside from the moss Plagiomnium affine. Phytochemistry 25(3): 669-671.
92. Chiu P-L, Patterson GW, Fenner GP (1985). Sterols of bryophytes. Phytochemistry 24(2): 263-266.
93. Rampendahl C, Seeger T, Geiger H, Zinsmeister HD (1996). The biflavonoids of Plagiomnium undulatum. Phytochemistry 41(6): 1621-1624.
94. Peters K, Gorzalka K, Bruelheide H, Neumann S (2018). Seasonal variation of secondary metabolites in nine different bryophytes. Ecology and Evolution 8(17): 9105-9117.
95. Nikolajeva V, Liepina L, Petrina Z, Krumina G, Grube M, Muiznieks I (2012). Antibacterial activity of extracts from some bryophytes. Advances in Microbiology 2(03): 345.
96. Semerjyan G, Semerjyan I (2022). Antioxidant Activity Of Extract From Three Species Of Mosses: Plagiomnium Cuspidatum, Mnium Spinosum, Anomodon Viticulosus. Ajastan Kensabanakan Handes 74(4).
97. Marques RV, Sestito SE, Bourgaud F, Miguel S, Cailotto F, Reboul P, Jouzeau J-Y, Rahuel-Clermont S, Boschi-Muller S, Simonsen HT (2022). Anti-inflammatory activity of bryophytes extracts in LPS-stimulated RAW264. 7 murine macrophages. Molecules 27(6): 1940.
98. Onder A, Yıldız A, Cinar AS, Zengin G, Ak G, Ozenoğlu H (2022). The comparison of the phytochemical composition, antioxidant and enzyme inhibition activity of two moss species: Plagiomnium ellipticum (Brid.) T. Kop. and Antitrichia californica Sull., from southwest ecological region in Turkey. Natural product research 36(10): 2660-2665.

99. Vollár M, Gyovai A, Szűcs P, Zupkó I, Marschall M, Csupor-Löffler B, Bérdi P, Vecsernyés A, Csorba A, Liktör-Busa E (2018). Antiproliferative and antimicrobial activities of selected bryophytes. *Molecules* 23(7): 1520.



