

***HERNIARIA INCANA* LAM. (ILLECEBRACEAE)
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK
ARAŞTIRMALAR**

Eylem KINA

Farmakognozi Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN**

Yüksek Lisans Tezi - 2013

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***HERNIARIA INCANA* LAM. (ILLECEBRACEAE)
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Eylem KINA

**Farmakognozi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN**

**ERZURUM
2013**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI

HERNIARIA INCANA LAM. (ILLECEBRACEAE) ÜZERİNDE
FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR

Eylem KINA

Tez Savunma Tarihi : 06.05.2013

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Zühâl GÜVENALP

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Yücel KADIOĞLU

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir

Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM - 2013



Herniaria incana Lam. (Illecebraceae)

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
TABLolar DİZİNİ.....	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Botanik Bilgiler.....	3
2.1.1. Illecebraceae Familyası.....	3
2.1.2. <i>Herniaria</i> Cinsi	4
2.1.3. <i>Herniaria incana</i> Lam.	5
2.1.3.1. İsimlendirme	5
2.1.3.2. Yayılışı.....	5
2.2. <i>Herniaria</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	6
2.2.1. Saponozitler	6
2.2.2. Flavonoitler	10
2.2.2.1 Flavonoller	10
2.2.2.2 Flavanol	11
2.2.3. Kumarinler	12
2.2.4. Fenolik Asitler	13
2.2.5. Diğerleri	14
2.3. <i>Herniaria</i> Türlerinin Kullanılışı ve Biyolojik Aktiviteleri	15
2.3.1. Antihipertansif Aktivite	15

2.3.2. Diürez ile İlgili Aktiviteleri	15
2.3.3. Spastik ya da Spazmolitik Aktivite.....	16
2.3.4. Antiviral Aktivite.....	16
2.3.5. Üriner Sistem Taşları Üzerine Etkileri	16
2.3.6. Sabun ve Deterjan Olarak Kullanımları.....	17
2.3.7. <i>Herniaria</i> Türleri Üzerinde Toksisite Çalışmaları.....	17
2.3.7.1. Akut ve Sub-kronik Toksisite Çalışmaları.....	17
2.4. <i>Herniaria</i> Türleri ile İlgili Patent Çalışmaları	19
3. MATERYAL VE METOT.....	21
3.1. Fitokimyasal Çalışmalar	21
3.1.1. Kullanılan Materyal, Alet ve Yöntemler	21
3.1.1.1. Bitki Materyali	21
3.1.1.2. Kimyasal Maddeler ve Aletler.....	21
3.1.1.2.1. Kimyasal Katı Maddeler	21
3.1.1.2.2. Solvanlar	21
3.1.1.2.3. Revelatörler.....	21
3.1.1.2.4. Adsorbanlar.....	21
3.1.1.2.5. Solvan sistemleri.....	22
3.1.1.2.6. Kullanılan Araçlar.....	23
3.1.1.3. Kromatografik Yöntemler.....	23
3.1.1.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	23
3.1.1.3.2. Açık Kolon Kromatografisi (KK).....	24
3.1.1.4. Kullanılan Kolonların Hazırlanması	24
3.1.1.4.1. Normal Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi (SK)	24
3.1.1.4.2. Sefadeks Kolon Kromatografisi (SFK).....	24

3.1.1.4.3. Ters Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi (TF-SK).....	24
3.1.1.5. Numune Tatbiki	25
3.1.1.5.1. Çözücü Yardımı ile Tatbik	25
3.1.1.5.2. Kuru Tatbik.....	25
3.1.1.6. Ekstraksiyon.....	25
3.1.1.7. İzolasyon Çalışmaları	26
3.1.1.7.1. Su Fraksiyonu Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları.....	26
3.1.1.7. 2. HİS-1 ve HİS-2 Bileşiklerinin İzolasyonu.....	26
4. BULGULAR.....	28
4.1. Ramnositrin 3-O- β -D-Galaktozit (HİS-1)	30
4.2. Herniaria Saponin 6 (HİS-2).....	41
5. TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	58
KAYNAKLAR	59
EKLER	65
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	65
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	66

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bana her konuda destek olan, çalışmalarımda büyük emeği geçen değerli hocam Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN'e;

Ders aşamasındaki yardımlarından dolayı Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Zühâl GÜVENALP'e ve Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesindeki bütün hocalarıma,

İzole edilen bileşiklerin ^1H NMR, ^{13}C NMR, 2D NMR (HSQC, HMBS) ve Kütle spektrumlarının alınmasını sağlayan Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Hasan SEÇEN'e; yardımları ve yol gösterici tavsiyelerinden dolayı, Sayın Doç. Dr. Ahmet Ceyhan GÖREN'e; Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Arş. Gör. Sıla Özlem ŞENER'e,

Bu süre zarfında benden desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. Hilal ÖZBEK, Arş. Gör. Handan Gökben SEVİNDİK, Arş. Gör. Mehtap TUĞRAK ve Arş. Gör. Onur ŞENOL'a,

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu önemli aşamasında da desteklerini benden esirgemeyen aileme, özellikle sevgili kardeşim Özlem KINA'ya ve dayım Fatih KINA'ya çok teşekkür ederim.

Eylem KINA

ÖZET

Herniaria incana Lam. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar

Amaç. Bu çalışmada *Herniaria incana* Lam. bitkisinin topraküstü kısımlarında fitokimyasal çalışmalar yapılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot. Bu çalışmada, bitkinin topraküstü kısımlarında fitokimyasal çalışmalar yapılmıştır. Bitkinin topraküstü kısmının metanollü ekstresi fraksiyonlanmış ve kloroform, etil asetat ve sulu fraksiyonları elde edilmiştir. Su fraksiyonu üzerinde, çeşitli kromatografik teknikler [Açık kolon kromatografisi (normal faz silika jel, sefadeks, ters faz silika jel)] kullanılarak yapılan çalışmalar sonunda flavonol heteroziti yapısında bir bileşik olan Ramnositrin 3-*O*- β -D-galaktozit ve triterpenik saponozit yapısında bir bileşik olan *Herniaria* saponin 6 [O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -D-6-*O*-asetilglukopiranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glukopiranozil Medikagen-28-at] izole edilmiştir. Bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler [1 H NMR, 13 C NMR, 2D NMR (HSQC, HMBS) ve Kütle Spektroskopisi] kullanılarak aydınlatılmıştır.

Bulgular. *Herniaria incana*'nın topraküstü kısmından, su fraksiyonundan flavonol heteroziti yapısında bir bileşik olan Ramnositrin 3-*O*- β -D-galaktozit ve triterpenik saponozit yapısında bir bileşik olan *Herniaria* saponin 6 [O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 6)-*O*-[β -D-6-*O*-asetilglukopiranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glukopiranozil Medikagen-28-at] elde edilmiştir. Bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler [1 H NMR, 13 C NMR, 2D NMR (HSQC, HMBS) ve Kütle Spektroskopisi] kullanılarak aydınlatılmıştır.

Sonuç. Yapılan çalışmalar sonucunda su fraksiyonundan bir flavonol heteroziti Ramnositrin 3-*O*- β -D-galaktozit ve triterpenik saponozit yapısında bir bileşik olan Herniaria saponin 6 [O- α -L-ramnopiranozil -(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-glukopiranozil -(1 \rightarrow 6)-O- β -D-6-*O*-asetilglukopiranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glukopiranozil Medikagen-28-at] izole edilmiştir. Bileşiklerin yapısı ¹H NMR, ¹³C NMR, 2D NMR (HSQC, HMBS) ve Kütle Spektroskopisi gibi spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Herniaria*, *Herniaria incana*, Illecebraceae, Ramnositrin 3-*O*- β -D-galaktozit, Herniaria saponin 6.

ABSTRACT

Pharmacognosic Studies On *Herniaria incana* Lam.

Aim. In this study, it was aimed to performed phytochemical studies on the aerial parts of *Herniaria incana* Lam.

Material and Method. In this study, phytochemical studies were performed on the aerial parts of *Herniaria incana*. The phytochemical studies were carried out on chloroform, ethyl acetate and aqueous phases that were partitioned from methanol extract obtained from plant, using several and repeated chromatographic techniques [open colon chromatography (normal phase silica gel, sephadex and reverse phase silica gel)]. Rhamnocitrin 3-*O*- β -D-galactoside and Herniaria saponin 6 [*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-*O*-[β -D-6-*O*-acetylglucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl medicagen-28-ate] were isolated from aqueous phase. Their structure were elucidated by means of ^1H NMR, ^{13}C NMR, 2D NMR and Mass Spectroscopy.

Results. Rhamnocitrin 3-*O*- β -D-galactoside and Herniaria saponin 6 [*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-*O*-[β -D-6-*O*-acetylglucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl medicagen-28-ate] from water fraction was obtained from aerial part of *Herniaria incana*. The assignation of the compound was realized by using spectroscopic methods ^1H NMR, ^{13}C NMR, 2D NMR and Mass Spectroscopy.

Conclusion. In the result of the studies carried out, Rhamnocitrin 3-*O*- β -D-galactoside and Herniaria saponin 6 [*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-*O*-[β -D-6-*O*-acetylglucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl medicagen-28-

ate] were isolated from water fraction. The structure of the compound was illuminated by using spectral methods such as ^1H NMR, ^{13}C NMR, 2D-NMR and Mass Spectroscopy.

Key Words: *Herniaria*, *Herniaria incana*, illecebraceae, Rhamnocitrin 3-*O*- β -D-galactoside and *Herniaria* saponin 6.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CD₃OD	: Dötero metanol
CHCl₃	: Kloroform
CH₃OH	: Metanol
¹³C-NMR	: ¹³ C Nükleer Manyetik Rezonans
cm	: Santimetre
d	: Dublet
dd	: Dubletin dubleti
DMSO-<i>d</i>₆	: Dötero Dimetilsülfoksit
EtOAc	: Etil asetat
Fr	: Fraksiyon
g	: Gram
¹H-NMR	: ¹ H Nükleer Manyetik Rezonans
H₂O	: Su
H₂SO₄	: Sülfürik asit
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
<i>J</i>	: Kenetlenme Sabiti
KK	: Kolon Kromatografisi
m	: Multiplet
M.A.	: Molekül ağırlığı
MeOH	: Metanol
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre

µm	: Mikrometre
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
OH	: Hidroksil
ppm	: Milyonda bir kısım (NMR ölçü birimi)
Prep.	: Preparatif
RP	: Reversed Phase
s	: Singlet
SFK	: Sefadeks Kolon Kromatografisi
SK	: Silika jel Kolon Kromatografisi
t	: Triplet
TF-SK	: Ters Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi
UV	: Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1. <i>Herniaria incana</i> üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları.....	27
Şekil 4.1. Ramnositrin 3- <i>O</i> - β -D-galaktozit.....	29
Şekil 4.2. Ramnositrin 3- <i>O</i> - β -D- galaktozit ¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 600 MHz) spektrumu.....	34
Şekil 4.3. Ramnositrin 3- <i>O</i> - β -D- galaktozit ¹³ C-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 150 MHz) spektrumu.....	35
Şekil 4.4. Ramnositrin 3- <i>O</i> - β -D-galaktozit'in 2D- ¹ H, ¹ H-Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (COSY)	36
Şekil 4.5. Ramnositrin 3- <i>O</i> - β -D-galaktozit'in 2D- ¹ H, ¹³ C-Heteronükleer Korelasyonlu (kısa mesafe) Spektrumu (HSQC).....	37
Şekil 4.6. Ramnositrin 3- <i>O</i> - β -D-galaktozit'in 2D- ¹ H, ¹³ C-Heteronükleer Korelasyonlu (uzun mesafe) Spektrumu (HMBC)	38
Şekil 4.7. Ramnositrin 3- <i>O</i> - β -D-galaktozit'in Kütle Spektrumu.....	39
Şekil 4.8. <i>Herniaria saponin 6</i>	40
Şekil 4.9. <i>Herniaria saponin 6</i> ¹ H NMR (CD ₃ OD, 600 MHz) spektrumu.....	46
Şekil 4.10. <i>Herniaria Saponin 6</i> ¹³ C Attached-Proton-Test (APT) spektrumu ...	47
Şekil 4.11. <i>Herniaria Saponin 6</i> ¹³ C Attached-Proton-Test (APT) spektrumu ...	48
Şekil 4.12. <i>Herniaria Saponin 6</i> ¹³ C Attached-Proton-Test (APT) spektrumu	49
Şekil 4.13. <i>Herniaria Saponin 6</i> ¹³ C Attached-Proton-Test (APT) spektrumu	50
Şekil 4.14. <i>Herniaria Saponin 6</i> ¹³ C Attached-Proton-Test (APT) spektrumu	51
Şekil 4.15. <i>Herniaria Saponin 6</i> ¹³ C Attached-Proton-Test (APT) spektrumu	52
Şekil 4.16. <i>Herniaria saponin 6</i> Kütle spektrumu.....	53

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>		<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1.	<i>Herniaria</i> türlerinde bulunan sapogenoller	6
Tablo 2.2.	<i>Herniaria</i> türlerinde bulunan saponozitler	7
Tablo 2.3.	<i>Herniaria</i> türlerinde bulunan flavonoller	10
Tablo 2.4.	<i>Herniaria</i> türlerinde bulunan flavanoller	11
Tablo 2.5.	<i>Herniaria</i> türlerinde bulunan kumarinler	12
Tablo 2.6.	<i>Herniaria</i> türlerinde bulunan fenolik asitler.....	13
Tablo 2.7.	<i>Herniaria</i> türlerinde bulunan diğer bileşikler.....	14
Tablo 3.1.	Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar.....	22
Tablo 3.2.	Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri	22
Tablo 4.1.	Ramnositrin 3- <i>O</i> - β -D- galaktozit ¹ H NMR spektral değerleri	32
Tablo 4.2.	Ramnositrin 3- <i>O</i> - β -D- galaktozit ¹³ C NMR spektral değerleri	33
Tablo 4.3.	<i>Herniaria</i> saponin 6 ¹ H NMR spektral değerleri	43
Tablo 4.4.	<i>Herniaria</i> saponin 6 ¹³ C NMR spektral değerleri	44

1. GİRİŞ

Tıbbi ve aromatik bitkilerden faydalanma ilk insanla başlar ve günümüze kadar devam eder. Bu bitkiler zaman içerisinde az veya daha çok önemli konuma gelmişlerdir. Ancak hiçbir zaman önemlerini tamamen yitirmemişlerdir. Nitekim son yıllarda bu bitkilerin tüketimine baktığımızda tekrar önem kazandıklarını görmekteyiz. Günümüzde bitkiler, ilaçların hammaddesi olma yönünde çok önemli bir konumdadırlar. Bu önemlilik gün geçtikçe daha da artmaktadır. İnsanların sentetik ilaçlardan olan beklentisinin azalması, bitkisel kaynaklı ilaçlara olan eğilimi artırmaktadır.¹

Türkiye, 12000 civarında eğrelti ve tohumlu bitki taksonu ile dünyada bulunduğu iklim kuşağında oldukça zengin floraya sahip ülkelerden biridir. Avrupa kıta florasının 12000'e yakın türe sahip olduğu ve kıtanın ülkemizin yaklaşık 15 katı büyüklükte olduğu düşünülürse, yurdumuzun floristik zenginliği daha da belirginleşir. Türkiye florasının ilginçliği, sahip olduğu tür zenginliğinin yanında, çok sayıda endemik tür de içermesinden kaynaklanır. Avrupa ülkelerindeki endemik taksonların toplamı 2750 kadar iken, ülkemizde bu sayı 3000'den fazladır.¹

Yaklaşık 20 cins ve 100 türü bulunan Illecebraceae familyası, sıcak kuru bölgelerde yayılmıştır.²

Herniaria türlerinden elde edilen ekstratler, geleneksel olarak, hernia (fitık) için tedavi etkisi olduğuna inanıldığından cins ismi olarak kullanılmıştır. *Herniaria* türleri, böbrek taşları, hipertansiyon gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde geleneksel tıpta kullanılmıştır.

Herniaria türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonunda, saponozit, tanenler, flavonoidler ve fenolik asitler teşhis edilmiştir.³⁻¹⁰ Yapılan fitokimyasal çalışmalarda, *Herniaria* türlerinde bulunan saponozitlerin, medikagenik asit ve 16 α -hidroksi medikagenik asidin heterozitleri olduğu bulunmuştur.¹¹

Bu güne kadar, *Herniaria incana* üzerinde yapılmış bir çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışma *H. incana*'nın uçucu yağının analizi üzerinde gerçekleştirilmiştir.¹² *H. incana*'nın topraküstü kısımlarının sekonder ana bileşenlerinin saflaştırılması ile ilgili yayınlanmış veriler bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, *Herniaria incana*'nın topraküstü kısımlarında bulunan ana bileşiklerin saflaştırılması ve saflaştırılan bu bileşiklerin yapılarının aydınlatılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Illecebraceae Familyası

Bazen tabanı odunsu da olabilen alçak boylu otsu bitkilerdir. Yapraklar genellikle karşılıklı olup; bazı durumlarda alternat (almasıık) ve basittir. Stipulalar belirgin ve zarımsıdır; ancak bazen yalnızca stipulanın tabanına doğru dar, zarımsı bir kenarı bulunur. Çiçekler küçük ve gösterişsiz, yeşilimsi gevşek simlerde toplanmıştır veya yoğun kümeler halinde toplanmıştır. Çiçekler perigindir ve ülkemizdeki türleri aktinomorfudur. Brakteler zarımsıdır ve stipulalara benzer, çoğunlukla bulunur, bazen çok belirgindir. Sepaller, ülkemizde yetişen türlerde 5 tane veya nadiren anormal olarak 4 veya 6 tanedir ve kalıcıdır. Petalleri yoktur. Stamen 10 tanedir. Hepsisi verimlidir veya sepallere karşılık gelen 5 verimli ve onlara almasıık olan 5 staminot bulunur veya nadiren stamenlerin 2-3 tanesi verimlidir. Ovaryum tek bir taban ovülünü bulunduran tek gözlü bir yapıdadır. Meyva açılmaz ve kalıcı sepalleri biraz geçer. Ülkemizde Illecebraceae familyasına ait 4 cins bulunmaktadır: *Herniaria* sp., *Paronychia* sp., *Corrigiola* sp., *Scleranthus* sp.¹³

1. Yaprakların hepsi alternattır. (Spiral diziliştedir)..... 3. *Corrigiola*

1. Yapraklar genellikle karşılıklıdır. (Bazen çift yapraklardan biri gelişmezse alternat olarak da ortaya çıkabilir fakat asla spiral dizilişte değildir).

2. Tabana doğru zarımsı bir kenara rağmen yapraklar belirgin stipulalı değildir.....4. *Scleranthus*

2. Yapraklar belirgin, zarımsı stipulalıdır.

3. Brakteler oldukça belirgindir, çiçeklerin boyunu aşar ve onları gizler.....2. *Paronychia*

3. Brakteler çok belirgin değildir, çiçeklerin boyunu geçmez.

4. Tek yıllık, dik; yapraklar kırmızımsı, aristalı (kılıçlıklı), zarımsı bir kenarı olan.....2. *Paronychia*

4. Tek yıllık ya da çok yıllık olup; bitkiler dikten yatığa kadar değişen durumdadırlar. Yapraklar yeşil, aristalı (kılıçlıklı) değildir ve zarımsı bir kenarı yoktur..... 1. *Herniaria*

2.1.2. *Herniaria* Cinsi

Tek yıllıktan çok yıllığa kadar veya dikten yatığa kadar değişen durumdadırlar.

Yapraklar karşılıklı (çift yapraklardan biri gelişmediği durumda bazen alternat görünüştedir) ve küçüktür. Çiçekler (kısa çiçek sapları dahil) çok küçük, yapraklarla karşılıklı veya yaprakların koltuğunda, nadiren terminal, kümeler halinde; brakteler ise gösterişsizdir. Türkiye’de yetişen türlerde sepaller genellikle 5 adet, hemen hemen eşit olup nadiren 4-6 tanedir. Staminotlar 4-5 adet, küçük, iplik şeklinde ve çok gösterişsizdir veya yoktur. Stamenler 2-5 tanedir. Meyvalar sepallerden kısadır ve stigma 2 lobludur.⁴ Ülkemizde yetiştiği kayıtlı olan *Herniaria* türleri şunlardır:^{13,14}

Herniaria glabra

Herniaria argaea (Endemik)

Herniaria micrantha

Herniaria hirsuta

Herniaria incana

Herniaria pisidica (Endemik)

Herniaria saxatilis (Endemik)

Herniaria olympica (Şüpheli endemik)

Herniaria orientale (Şüpheli kayıt)

Herniaria amoena (Endemik)

2.1.3. *Herniaria incana* Lam.

Yoğun olarak tüylü, tüyleri sertçe, yayılmış ya da biraz aşağı bükülmüş, kökleri çoğunlukla 10-25 cm, dayanıklı odunsu gövdeli çok yıllık bitkilerdir. Aşırı beyazımsı tüylerle yoğun olarak örtülmüş, oblanseolatdan spatulata kadar değişen şekildedir, üstte olanlar, genişliğinden en az 3 katı kadar uzunluktadır, yapraklar 12x3 mm kadardır. Stipulalar genellikle yüzey dışında tüylüdür. Çiçekler demetler halinde bitişik 1.5-2 mm'dir. Beyazımsı, dayanıklı, sertçe yayılmış tüylerle örtülmüş sepaller 5 tanedir. Stamenler 5 tanedir. Meyveleri çok küçük ve yaygın olarak loblar farklı olup 2'si kısa saplı stigmalı, sepaller tarafından tamamen çevrelenmiştir.¹³

2.1.3.1. İsimlendirme

Herniaria incana halk arasında "sabun otu" olarak bilinmektedir.

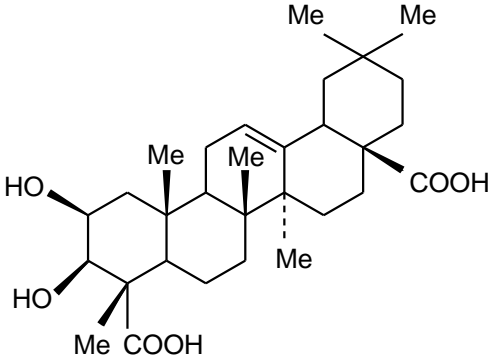
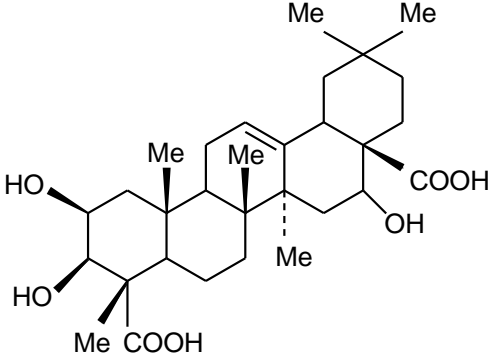
2.1.3.2. Yayılışı

A1 Çanakkale: Çanakkale Boğazı **A1(E)** Çanakkale: Gaba Tepe **A2(E)** İstanbul: Kiathanekeuy, Azn. **A2(A)** Bursa: Uludağ, Elmaçukuru **A3** Bolu: Abant'ın yukarısı **A4** Ankara: Kızılcahamam, Işık Dağı, Khan et al. **A5** Samsun: Ladik, Karadağ **A6** Samsun: Samsun etrafı **A9** Kars: Sarıkamış'a doğru Selim **A9**: Kars: Susuz Kırçıçeği Köyü, **B1** İzmir: Bergama'ya doğru Akropol **B2** Kütahya: Demirci Da. ve Simav arası.¹³

2.2. *Herniaria* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

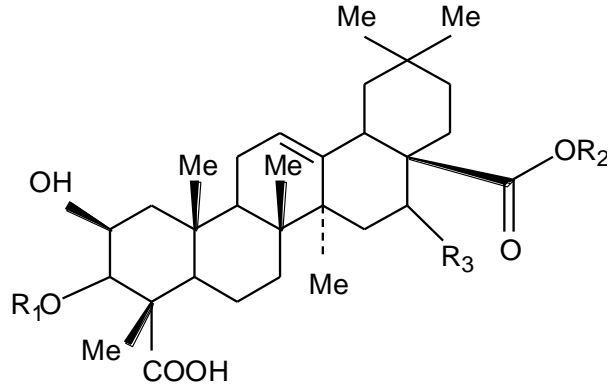
2.2.1. Saponozitler

Tablo 2.1. *Herniaria* türlerinde bulunan sapogenoller

Bileşik	Kaynaklar
Medikagenik asit	
 <p>The chemical structure of Medikagenic acid is a complex pentacyclic triterpene. It features a central five-membered ring with a double bond. The structure is substituted with several methyl (Me) groups and hydroxyl (HO) groups. A carboxylic acid group (COOH) is attached to the right side of the structure. The stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p>	11,15
16 α -Hidroksi medikagenik asit	
 <p>The chemical structure of 16α-Hydroxy medikagenic acid is similar to Medikagenic acid, but it has an additional hydroxyl (OH) group at the 16α position. The rest of the structure, including the methyl groups and the carboxylic acid group, is identical to Medikagenic acid.</p>	11

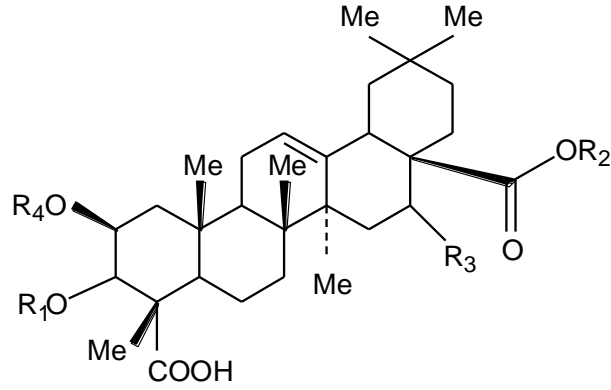
Tablo 2.2. *Herniaria* türlerinde bulunan saponozitler

Bileşik Adı (<i>Bulunduğu türler</i>)	R ₁	R ₂	R ₃	Kaynak
Herniaria saponin A (<i>H. fontanesii</i>)	$-(\beta\text{-D-glukuronopiranozil})$ (1→4) $\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$	$-\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ (1→2) [$\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ (1→3)]- $\beta\text{-D-ksilopiranozil}$ (1→2)- $\beta\text{-D-fukopiranozil}$	H	16,17
Herniaria saponin B (<i>H. fontanesii</i>)	$-\beta\text{-D-glukoronopiranozil}$ (1→4) $\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$	$-\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ (1→2)[$\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ (1→3)]- $\beta\text{-D-ksilopiranozil}$ (1→2)- $\beta\text{-D-fukopiranozil}$	OH	16,18
Herniaria saponin C (<i>H. fontanesii</i>)	$-\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ (1→2)- $\beta\text{-D-glukoronopiranozil}$	$-\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ (1→2)[$\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ (1→3)]- $\beta\text{-D-4-asetoksifukopiranozil}$	OH	16,19
Herniaria saponin D (<i>H. fontanesii</i>)	$-\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ (1→2)- $\beta\text{-D-glukoronopiranozil}$	$-\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ (1→2)- [$\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ (1→3)] $\beta\text{-D-fukopiranozil}$	OH	16,19
Herniaria saponin E (<i>H. hirsuta</i>)	$-\text{COCH}_3$	$-\beta\text{-D-ksilopiranozil}$ -(1→4)- $\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ (1→2)-[$\beta\text{-D-glukopiranozil}$ (1→6)]- $\beta\text{-D-glukopiranozil}$	H	20
Herniaria saponin F (<i>H. hirsuta</i>)		$-\beta\text{-D-ksilopiranozil}$ (1→4)- $\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ (1→2)-[$\alpha\text{-L-ramnopiranozil}$ -(1→4)- $\beta\text{-D-glukopiranozil}$ -(1→6)]- $\beta\text{-D-glukopiranozil}$	H	20



Tablo 2.2. *Herniaria* türlerinde bulunan saponozitler (Devam)

Bileşik Adı (<i>Bulunduğu türler</i>)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Kaynak
Herniaria saponin 1 (<i>H. glabra</i>)	-(β -D-glukuronopiranozil)	- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 3)-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 2)-O- β -D-4,5-O-diasetilfukopiranozil	H		11, 21
Herniaria saponin 2 (<i>H. glabra</i>)	H	- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 6)-O-[β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glukopiranozil		-COCH ₃	11, 21
Herniaria saponin 3 (<i>H. glabra</i>)	-(β -D-glukuronopiranozil)	- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 3)-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 2)-O-[β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-4-O-asetilfukopiranozil	H		22
Herniaria saponin 4 (<i>H. glabra</i>)		- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 6)-O-[β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glukopiranozil	H	H	23



Tablo 2.2. *Herniaria* türlerinde bulunan saponozitler (Devam)

Bileşik Adı (<i>Bulunduğu türler</i>)	R ₁	R ₂	R ₃	Kaynak
Herniaria saponin 5 (<i>H. glabra</i>)	-(β -D-glukuronopiranozil)	- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 3)-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 2)-O-[β -D-apiofuranozil-(1 \rightarrow 3)]- β -D-4-O-asetilfukopiranozil	OH	23
Herniaria saponin 6 (<i>H. glabra</i>)		- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 6)-O-[β -D-6-O-asetilglukopiranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glukopiranozil	H	23
Herniaria saponin 7 (<i>H. glabra</i>)	-(β -D-glukuronopiranozil)	- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 3)-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 2)-O-[β -(3R)-D-apiofuranozil-(1 \rightarrow 3)]- β -D-4-O-asetilfukopiranozil	H	24

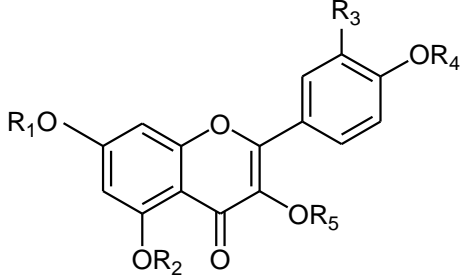
2.2.2. Flavonoitler

2.2.2.1 Flavonoller

Tablo 2.3. *Herniaria* türlerinde bulunan flavonoller

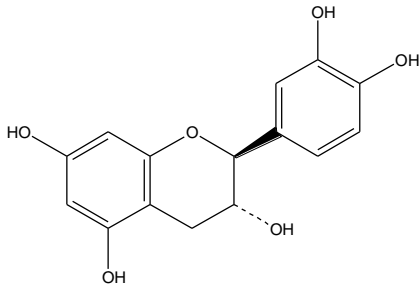
Bileşik Adı (Bulunduğu türler)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Kaynak
Kersetin (<i>H. mauritanica</i> , <i>H. polygama</i>)	H	H	OH	H	H	25,26,27
Kemferol (<i>H. mauritanica</i>)	H	H	H	H	H	25
İzoramnetin (<i>H. mauritanica</i> , <i>H. polygama</i>)	H	H	-OCH ₃	H	H	25,26
İzoramnetin 3-O-robinobiozit (<i>H. fontanesii</i>)	H	H	-OCH ₃	H	-robinobiozit	16,28
İzoramnetin 3'''-feruloil-3-O-robinobiozit (<i>H. fontanesii</i>)	H	H	-OCH ₃	H	3'''-feruloil-3-robinobiozit	16
İzokersitrin (<i>H. mauritanica</i>)	H	H	OH	H	-β-glukopiranozit	16
Astragalin (<i>H. mauritanica</i>)	H	H	H	H	-β-glukopiranozit	25
Narsissin (<i>H. ciliolata</i> spp. <i>robusta</i> , <i>H. glabra</i>)	H	H	-OCH ₃	H	-rutinoz	3,29

Tablo 2.3. *Herniaria* türlerinde bulunan flavonoller (Devam)

						
Bileşik Adı (<i>Bulunduğu türler</i>)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Kaynak
Rutin (<i>H. ciliolata</i> spp. <i>robusta</i> , <i>H. glabra</i> , <i>H. polygama</i>)	H	H	OH	H	-rutinoz	3,26,29
Ramnazin 3-rutinozit (<i>H. ciliolata</i> spp. <i>robusta</i>)	-CH ₃	H	OH	H	-rutinoz	29
İzoramnatin 3-[3''- feruloil(1→)galaktozit (<i>H. fontanesii</i>)	H	H	-OCH ₃	H	-3-[3''- feruloil(1→)galaktozit	28

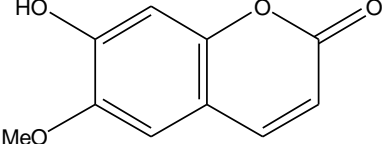
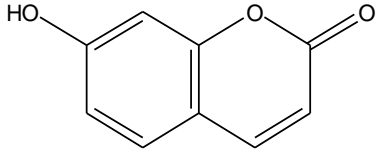
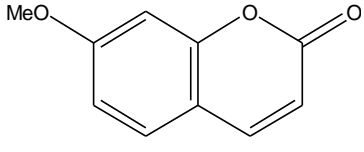
2.2.2.2 Flavanol

Tablo 2.4. *Herniaria* türlerinde bulunan flavanoller

		
Bileşik Adı	(<i>Bulunduğu türler</i>)	Kaynak
(-)-Kateşin	(<i>H. fontanesii</i>)	16,28

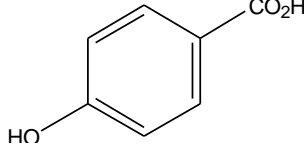
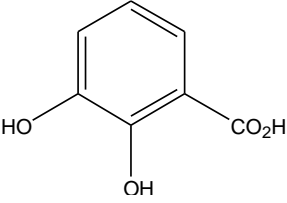
2.2.3. Kumarinler

Tablo 2.5. *Herniaria* türlerinde bulunan kumarinler

		
Bileşik Adı	(Bulunduğu türler)	Kaynak
Skopoletin	<i>H. mauritanica, H. cinerea, H. hirsuta, H. kotovii, H. polygama, H. euxina, H. suavis, H. besseri</i> ve <i>H. glabra</i>	27,30,31
		
Bileşik Adı	(Bulunduğu türler)	Kaynak
Umbelliferon	<i>H. mauritanica, H. cinerea, H. hirsuta, H. kotovii, H. polygama, H. euxina</i> ve <i>H. glabra</i>	27, 30,31,32,
		
Bileşik Adı	(Bulunduğu türler)	Kaynak
Herniarin	<i>H. mauritanica, H. cinerea, H. hirsuta, H. kotovii, H. polygama, H. euxina</i> ve <i>H. glabra</i>	15,22,23,24,33

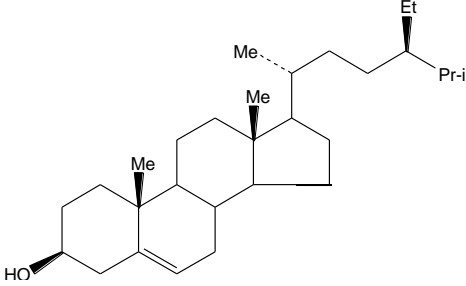
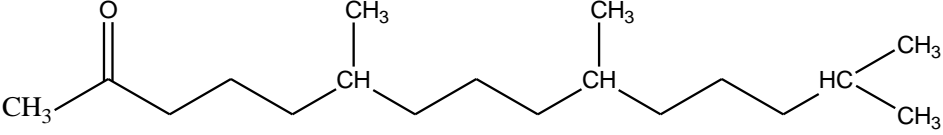
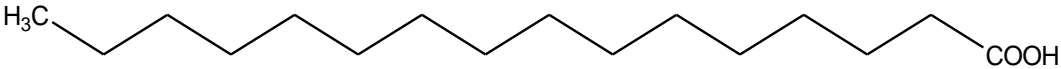
2.2.4. Fenolik Asitler

Tablo 2.6. *Herniaria* türlerinde bulunan fenolik asitler

		
Bileşik Adı	(Bulunduğu türler)	Kaynak
p-Hidroksibenzoik asit	<i>H. glabra</i>	3
		
Bileşik Adı	(Bulunduğu türler)	Kaynak
Pirokateşik asit	<i>H. glabra</i>	3

2.2.5. Diğerleri

Tablo 2.7. *Herniaria* türlerinde bulunan diğer bileşikler

		
Bileşik Adı	(Bulunduğu türler)	Kaynak
β -sitosterol	<i>H. mauritanica</i> ,	27
		
Bileşik Adı	(Bulunduğu türler)	Kaynak
6,10,14-trimetil 2-pentadekanon	<i>H. incana</i>	12
		
Bileşik Adı	(Bulunduğu türler)	Kaynak
Palmitik asit	<i>H. incana</i>	12

2.3. *Herniaria* Türlerinin Kullanılışı ve Biyolojik Aktiviteleri

2.3.1. Antihipertansif Aktivite

Herniaria glabra saponozitlerinin antihipertansif etkisi, furosemit ile karşılaştırılmıştır. Spontane hipertansiyonlu sıçanlara 200 mg/kg/gün dozda, *H. glabra* saponozitleri verilmiştir. Hem sistolik hem de diastolik basıncı kademeli olarak düşürdüğü gözlenmiştir. Kalp atışında değişiklik olmamıştır. *H. glabra* saponozitleri, multifaktöriyel mekanizma yoluyla kan basıncını düşürdüğü bulunmuştur.³⁴

Diğer bir çalışmada, *Herniaria glabra*'dan elde edilen saponozitlerin, 30 gün süreyle sıçanlara oral olarak 200 mg/kg/gün dozda uygulanmasının, hipertansif sıçanlarda kan basıncında önemli bir düşüş olduğu gözlenmiştir.³⁵

2.3.2. Diürez ile İlgili Aktiviteleri

Herniaria glabra bitkisinin preparatlarının diürezi inhibe ettiği bulunmuştur.³⁶

Başka bir çalışmada da, bir *Herniaria* türünün infüzyon ve droğun sulu ekstresinin çözeltileri, sıçanlarda idrar salgılamada dikkate değer bir azalmaya neden olduğu bulunmuştur. Drogda, mevcut saponozitlerin, antidiüretik etkiden sorumlu oldukları gösterilmiştir. İdrar atılımının miktarındaki azalmaya rağmen, idrarın üre miktarında ve Cl'da artma olduğu tespit edilmiştir.³⁷

Herniaria glabra ve *Herniaria hirsuta*, tuz ve idrarın atılımını inhibe eden bileşiklere ek olarak, diüretik ve tuz salgılayan bileşenler de içerirler. Bitkinin flavon bileşikleri diüretik ve tuz atılımına neden olan aktivite göstermiştir. Saponinler, diürez ve tuz atılımını inhibe ederler. Uçucu yağ, atılan idrarın miktarını etkilememiştir; ancak, Na⁺ ve Cl⁻ miktarlarını azaltmıştır. Kumarin, herhangi bir diüretik ya da tuz salgılama etkisi göstermemiştir.³⁸

2.3.3. Spastik ya da Spazmolitik Aktivite

Herniaria glabra ve *Herniaria hirsuta*'dan hazırlanan çok sayıda ekstre ve fraksiyon, farmakolojik aktiviteleri açısından incelenmiştir. Çalışmanın sonunda, spazmolitik ve spastik etkili bileşikler içerdiği gözlenmiştir. Spazmolitik etki, kumarinler (umbelliferon, herniarin) ve flavonozitlerde belirlenmiştir. Saponozitler ve uçucu yağı da aynı etkiye sahiptir.³⁸

2.3.4. Antiviral Aktivite

Grip virüsüne karşı *Herniaria glabra* ekstresinin etkileri in vitro, in ovo ve in vivo olarak çalışılmıştır, ancak, etkili bulunmamıştır.³⁹

2.3.5. Üriner Sistem Taşları Üzerine Etkileri

Yapılan bir çalışmada, *Herniaria hirsuta* ekstresinin kalsiyum oksalat monohidrat kristallerini çevrelediği ve renal epitel hücrelerine yapışmasını bloke ettiği gösterilmiştir.⁴⁰

Herniaria hirsuta'dan hazırlanan sulu ekstrenin böbrek taşı bulunan sıçanlar üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışma, 3 hafta boyunca, normal sıçanlar ve kalsiyum oksalat böbrek taşı bulunan sıçanlar üzerinde yürütülmüştür. Çalışmanın sonunda, böbrek taşı bulunan sıçanlarda su geri alımı ve idrar hacminin arttığı, ancak, 3 haftalık tedavide, özellikle, idrar pH'sının azaldığı gözlenmiştir. Sonuç olarak, elde edilen veriler, *H. hirsuta*'nın yararlı etkilerini in vivo olarak doğrulamıştır. *H. hirsuta*'nın böbrek taşı oluşumuna karşı koruyucu ajan olarak kullanımını doğrulamaktadır.⁴¹

Herniaria hirsuta ekstresinin nefrolitik sıçanlarda, kalsiyum oksalat taşlarının oluşumuna karşı koruyucu etkisinin bulunduğu görülmüştür.⁴²

Herniaria hirsuta ekstresi, kalsiyum oksalat kristallerinin sayılarını arttırıp, boyutlarını küçülterek, kalsiyum oksalat kristallerinin çekirdekleşmesini sağlamıştır.

Aynı zamanda, kalsiyum okzalit monohidrat partiküllerinin varlığına rağmen, kalsiyum okzalit dihidrat kristallerinin oluşumunu arttırmıştır. Bu durumun, ekstrenin kalsiyum okzalit kristallerinin agregasyonu olmasını inhibe etmesi ile ilgili olduğu ve *H. hirsuta*'nın bu özelliklerinin böbrek taşı oluşumunu önlemede yararlı olabileceği düşünülmektedir.⁴³

Farklı yiyecekler ile (standart, yüksek glusidik içerikli veya yüksek protein içerikli) kombine olmuş *Herniaria hirsuta* infüzyonunun kalsiyum oksalat ürolityaz risk faktörleri üzerine etkileri Wistar sıçanları kullanılarak araştırılmıştır. *Herniaria hirsuta* infüzyonunun geçici antilitiazik etkilerinin yiyeceğe bağlı olduğu düşünülmektedir. Sitraturideki artış, bu tür infüzyonun yüksek proteinli yiyecekler ile alındığında görülmüştür.⁴⁴

2.3.6. Sabun ve Deterjan Olarak Kullanımları

Herniaria glabra'nın, içerdiği saponinler nedeniyle deterjan amaçlı kullanılabilmesi bildirilmektedir.⁴⁵

2.3.7. *Herniaria* Türleri Üzerinde Toksikite Çalışmaları

2.3.7.1. Akut ve Sub-kronik Toksikite Çalışmaları

Herniaria glabra yapraklarının sulu ekstresinin sağlık açısından güvenilirliğini değerlendirmek amacıyla, akut ve subkronik toksisite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Akut toksisite çalışmaları için, *H. glabra*'nın liyofilize sulu ekstresi farelere, gavaj yoluyla 5-14.5 g/kg'lık tek dozda uygulanmıştır. Genel davranış yan etkileri ve ölüm oranı 14. güne kadar belirlenmiştir. Farelerde akut çalışmada *H. glabra* bitkisinin ham sulu ekstresi, doz bağımlı genel davranış yan etkilere ve ölüme yol açmıştır. *Herniaria glabra* ekstresinin NOAEL'i (yan etki gözlenmeyen dozu) 5 g/kg ve LOAEL'i (yan etki gözlenen en düşük dozu) 5.5 g/kg'dır. Artan doz ile ölüm oranı da artmıştır. Hesaplanan LD₅₀ farelerde 0.42-8.50 g/kg'dır.

Subkronik doz çalışmasında, *H. glabra* ekstresi, Wistar sıçanlarına 90 gün boyunca, günlük olarak, 1, 2 ve 4 g/kg'lık dozlarda ağızdan verilmiştir. Seçilen biyokimyasal ve hematolojik parametreler, günlük uygulamaların 30, 60 ve 90. gün sonunda belirlenmiştir. Sıçanlardaki sub-kronik çalışmada, 90 güne kadar ham *H. glabra* ekstresinin günlük oral uygulaması sonunda, vücut ağırlıklarında önemli ölçüde azalma görülmüştür. Yalnızca en yüksek dozda, *H. glabra* ekstresi eozinofil, plateletler, lökosit ve eritrositlerde önemli ölçüde artışa neden olmuştur. Ancak, *H. glabra* ekstresinin, lenfosit, monosit, nötrofil ve bazofiller üzerinde etkili olmadığı gözlenmiştir.

Tek yüksek dozda, karaciğer enzimlerinin (alanin amino transferaz ve aspartat aminotransferaz) serum düzeylerinde, serum kreatinin düzeylerinde önemli bir artışa neden olmuştur. Bu durum, ekstrenin yüksek dozlarda karaciğer ve böbrek üzerinde toksik etkileri olduğunu göstermektedir. Organ toksisitesi, karaciğer ve böbrekte yapılan histopatolojik çalışmalarla gösterilmiştir. Aynı zamanda, bu çalışma, normoglisemik sıçanlarda *H. glabra* ekstresinin hipoglisemik etkisini de ortaya çıkarmıştır.

Çalışmanın sonunda, *H. glabra* ekstresinin yüksek dozlar hariç, önemli bir toksisite göstermediği kabul edilmiştir. Deneysel olarak tüketilen dozlar göz önünde bulundurulursa, *Herniaria glabra*'nın tedavi edici olarak kullanımı için geniş bir güvenilirlik payı olduğu söylenebilir.⁴⁶

Yapılan diğer bir çalışmada, renal taşların tedavisinde geleneksel olarak kullanılan bir bitki olan *Herniaria cinerea*'nın butanolik ekstresinin toksik etkisi, Wistar erkek sıçanları üzerinde, oral yolla uygulanarak incelenmiştir. Ekstrenin, kanlı ishal ve solunum bozukluklarına neden olduğu gözlenmiştir. Böbrek, akciğer, bağırsak ve midede oluşan lezyonlar üzerinde, histopatolojik çalışmalar alveoler yıkım ve sindirim

sistemi üzerinde bir ülser etkiyi ortaya çıkarmıştır. Böbrekte iç kanama ile birlikte total tübüler nekroz gözlenmiştir.⁴⁷

2.4. *Herniaria* Türleri ile İlgili Patent Çalışmaları

Bir *Herniaria* türü ile birlikte, Fructus Rosae davuricae, ısırganotu yaprağı, Flos Matricariae chamomillae, Herba Equiseti arvensis, yabani çileği yaprağı, Alman yapışkanotu, betula yaprağı, Herba Polygoni avicularis'in bulunduğu bir karışımdan Çin tıbbında piyelonefrit gibi üriner sistem hastalıklarının önlenmesinde ve tedavisinde yararlanılmaktadır. Hazırlanan bu karışım immünostimulatör, antispazmodik, diüretik, antienflamatuvar etkilere sahip olup, su-elektrolit dengesini koruma ve idrarı alkalileendirme için de etkili olduğu bildirilmektedir.⁴⁸

H. glabra, huş ağacı yaprağı, çuhaçiçeği, Herba Leonuri ve Fructus Rosae davuricae bitkilerinin bir kaptaki toz edilerek 200 ml sıcak su ilavesiyle kaynama sıcaklığına kadar karıştırılıp süzülmesiyle elde edilen tıbbi çözelti, antibakteriyel, antienflamatuvar, spazm azaltıcı, nonspesifik bağışıklık düzeltici, diüretik ve ürik asit atılımında etkilidir. Karışımın kronik piyelonefrit tedavisi için kullanılabileceği bildirilmiştir.⁴⁹

H. glabra'nın da aralarında bulunduğu çok sayıda bitkiden elde edilen özsu ile balın 1: (20-100) oranında karıştırılması ile yüksek biyoaktiviteye sahip bir karışım elde edilmiştir. Biyoaktivitesi yüksek olan bu balın üriner sistem hastalıklarında ve böbrek tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir.⁵⁰

Aralarında *H. glabra*'nın da bulunduğu çok sayıda tıbbi bitkiden elde edilen bir içecek hazırlanmıştır. Bitkiler eşit oranda karıştırılmış, %45 etanol eklenerek 14 gün bekletilmiş, süzülmüş, siyah renkli kaplarda konulmuş ve kapatılmıştır. Hazırlanan içeceğin solunum yolları hastalıklarında, bronşiyal astımda, gastritte, gangrende,

tümörlerde ve hipertansiyonda, ayrıca hastalıkların önlenmesinde ve sağlıklı bir yaşam sürdürülebilmesi için kullanılabileceği bildirilmektedir.⁵¹

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Fitokimyasal Çalışmalar

3.1.1. Kullanılan Materyal, Alet ve Yöntemler

3.1.1.1. Bitki Materyali

Herniaria incana 2011 yılında, Temmuz ayında Susuz İlçesi (Kars), Kırçiçeği Köyü'nden toplanmıştır. Prof. Dr. Ufuk ÖZGEN tarafından teşhis edilmiştir. Bitki örneği Karadeniz Teknik Üniversitesi Orman Fakültesi Herbaryumu'nda (KATO, 9732) saklanmaktadır.

Çalışmamızda, bitkinin açık havada ve gölgede kurutulmuş topraküstü kısmı kullanılmıştır.

3.1.1.2. Kimyasal Maddeler ve Aletler

3.1.1.2.1. Kimyasal Katı Maddeler

Vanilin (Fluka)

3.1.1.2.2. Solvanlar

Etil asetat, formik asit, metanol, sülfürik asit, toluen, *n*-hekzan, kloroform

3.1.1.2.3. Revelatörler

Vanilin / H₂SO₄: Vanilin'in derişik sülfürik asit'teki %1'lik çözeltisi.

Püskürtmeden sonra 110 °C'de ısıtılır.

3.1.1.2.4. Adsorbanlar

Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar

Yöntem	Adsorban
İTK	<ul style="list-style-type: none">• Normal faz silika jel (Hazır alüminyum plak, Kieselgel 60 F₂₅₄, 0.2 mm, 20x20 cm, Merck 5554)• Ters faz silika jel (Hazır alüminyum plak, RP-18 F₂₅₄, 20x20 cm, Merck 5559)
Preparatif İTK	<ul style="list-style-type: none">• Normal faz silika jel (Hazır alüminyum plak, Kieselgel 60 F₂₅₄, 0.2 mm, 20x20 cm, Merck 5554)
KK	<ul style="list-style-type: none">• Normal faz silika jel (Kieselgel 60, 0.040-0.063 mm Merck 9385 ve Kieselgel 60, 0.063-0.2 mm, Merck 7734)• Sefadeks (Sephadex LH-20, Sigma-Aldrich, LH-20-100)• Ters faz silika jel (LiChroprep RP-18, 25-40 µm, Merck 9303)

3.1.1.2.5. Solvan Sistemleri

Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri

Solvan sistemi	Yöntem
CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O (80:20:2)	SK, İTK
CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O (70:30:3)	Prep. İTK, İTK, SK
CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O (50:50:5)	SK, İTK
H ₂ O:MeOH (95:5-0:100)	TF-SK
MeOH	SFK, TF-SK
Etil asetat:Metanol:Su (7:2:1)	İTK, SK

3.1.1.2.6. Kullanılan Araçlar

Rotavapor	: Heidolph WB Laborota 4000
UV Lambası	: Mineralight UVGL -58
Vakum Pompası	: Millipore Model No: WP6122050
Ultrasonik Banyo	: Bandelin Sonorex RK 255 H
Terazi	: Precisa XB 620M
Mantolu ısıtıcı	: Barnstead Electrothermal EM5000/C
Etüv	: Memmert Typ: UM 500
Hassas Terazi	: Scaltec SBA 31
Kolon	: IsoLab Germany
NMR Spektrometresi	: Varian Mercury plus 600 MHz (¹ H NMR), 150 MHz (¹³ CNMR)
Kütle Spektrometresi	: Zivak Tandem Gold

3.1.1.3. Kromatografik Yöntemler

3.1.1.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

İzolasyon çalışmalarının izlenmesinde normal faz ve ters faz silika jel kaplı hazır alüminyum plaklar kullanılmıştır.

Tatbikler pastör pipeti yardımıyla plağın alt ucunun 1 cm yukarisından ve 0.6 cm aralıklarla yapılmıştır. İTK'da kullanılan solvan sistemleri Tablo 3.2'de verilmiştir. Sigma kromatografi tankına (29x27x10 cm veya 14x12x10 cm) konulan plaklar oda sıcaklığında 7-10 cm mesafe boyunca sürüklenmiştir.

Lekeler UV₂₅₄/UV₃₆₆ nm dalga boyunda UV lambası altında ve/veya tayin edilen bileşiğe karakteristik revelatör kullanılarak belirlenmiştir.

3.1.1.3.2. Açık Kolon Kromatografisi (KK)

Çalışmalarımızda adsorban olarak normal faz silika jel, ters faz silika jel ve sefadeks kullanılmış olan açık kolon kromatografisi yönteminden yararlanılmıştır. Fraksiyonlar ön fraksiyonlama işleminde 50'şer ml, saflaştırma aşamalarında ise 5-10 ml toplanmıştır ve kontrolleri İTK ile yapılmıştır. Aynı Rf değerine sahip maddeleri içeren fraksiyonlar birleştirilerek kuruluğa kadar uçurulmuştur.

3.1.1.4. Kullanılan Kolonların Hazırlanması

3.1.1.4.1. Normal Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi (SK)

İstenilen miktarda tartılan silika jel, yeterli miktarda solvan sistemi ile süspansiyon haline getirilmiş ve bu karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş cam kolona aktarılmıştır. Kolondan yeterli miktar solvan sistemi (Tablo 3.2) geçirilerek, adsorbanın yerleşmesi sağlanmış ve adsorban üzerinde 2-3 mm solvan kalıncaya kadar beklenerek, kolon numune tatbiğine hazır hale getirilmiştir.

3.1.1.4.2. Sefadeks Kolon Kromatografisi (SFK)

10-50 g sefadeks, yeterli miktar metanol ile karıştırılmıştır. Dolgu materyali, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş cam kolona doldurulmuş ve iyice yerleşene kadar kolondan metanol geçirilmiştir. Solvan adsorbanın üzerinde 1-2 mm kalıncaya kadar akıtılmış ve metanolde çözülen numune tatbik edilmiştir.

3.1.1.4.3. Ters Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi (TF-SK)

10-50 g ters faz silika jel, yeterli miktar metanol ile karıştırılmıştır. Dolgu materyali, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş cam kolona doldurulmuş ve iyice yerleşene kadar kolondan metanol geçirilmiştir. Solvan adsorbanın üzerinde 1-2 mm kalıncaya kadar akıtılmış, kolondaki adsorbanın yüzeyi düzeltildikten sonra metanolde çözülen numune tatbik edilmiştir.

3.1.1.5. Numune Tatbiki

Çözücü yardımıyla veya kuru tatbik yöntemi ile numune tatbiği yapılmıştır.

3.1.1.5.1. Çözücü Yardımı ile Tatbik

Numune yeterli miktarda solvan/solvan sistemi içinde ve gerekiyorsa ultrasonik banyoda çözülerek, pastör pipeti yardımı ile kolona tatbik edilmiştir. Adsorbanın yüzeyini bozmadan yavaşça solvan ilave edilerek elüsyona başlanmıştır.

3.1.1.5.2. Kuru Tatbik

Silika jel kolona numune tatbiği için bu yöntemden faydalanılmıştır. Numune en iyi çözüldüğü çözücü ile çözülmüş ve kolon hazırlamada kullanılan adsorban ve numune miktarı da göz önünde tutularak yeterli miktarda adsorban ile karıştırılmıştır. Adsorbanın çözeltiyi iyice adsorbe etmesi ve kuruması sağlandıktan sonra, kuru haldeyken tatbik için hazırlanmış kolona aktarılmış ve solvan sistemi ilave edilerek elüsyona başlanmıştır.

3.1.1.6. Ekstraksiyon

Açık havada ve gölgede kurutulmuş bitkinin topraküstü kısmı, toz edildikten sonra (500 g), 2 litre metanol ile elektrikli ısıtıcıda geri çeviren soğutucu altında 40 °C'de 3 saat ekstre edilmiştir. Ekstre sıcakken süzgeç kağıdından süzümüştür. Kalan bitki numunesi 2 kez daha 2'şer litre metanol ile aynı şartlarda ekstre edilerek süzümüştür ve süzüntüler birleştirilmiştir. Rotavaporda 40°C'de tamamen yoğunlaştırılmıştır (120 g).

Metanollü ekstre 200 ml H₂O:MeOH (9:1) karışımında süspanse edilmiş ve çözelti ayırma hunisine alınmıştır. Çözelti sırası ile kloroform (3 x 300 ml) ve etil asetat (3 x 300 ml) ile tüketilmiştir. Ekstreler ayrı ayrı birleştirilerek rotavaporda 40-50 °C'de kuruluğa kadar uçurulmuştur. Bu işlemler sonucunda; kloroform (16 g), etil asetat (2.5 g) ve arta kalan su (98 g) ekstreleri elde edilmiştir.

3.1.1.7. İzolasyon Çalışmaları

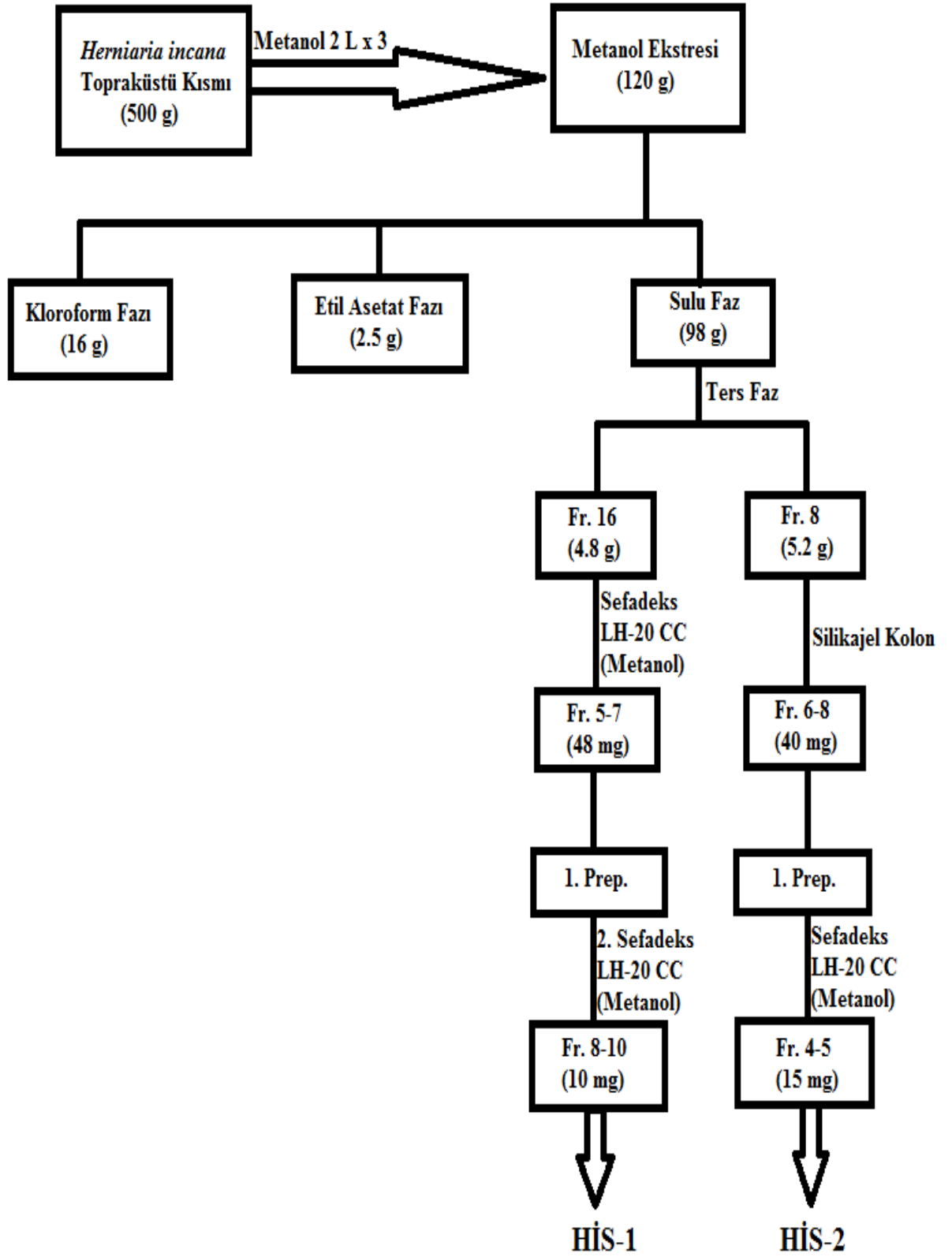
3.1.1.7.1. Su Fraksiyonu Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları

Sulu ekstre (98 g) ön ayırım işlemi için az miktarda metanolde süspanse edilmiş ve ters faz silika jel (LiChroprep RP-18, 25-40 µm, Merck 9303) ile hazırlanmış kolona (3x70 cm) uygulanmıştır. Elüsyona su ile başlanmış, daha sonra metanolün artan oranlarında su:metanol (95:5, 90:10) elüsyona devam edilmiştir. Fraksiyonlar 100'er ml toplanmış ve toplam olarak 17 fraksiyon elde edilmiştir.

3.1.1.7.2. HİS-1 ve HİS-2 Bileşiklerinin İzolasyonu

Arta kalan su fraksiyonunda 16. fraksiyon (4.8 g) sefadeks kolona tatbik edilmiştir. Metanol ile elüe edilmiştir. 5-7. fraksiyonlar (48 mg), sırasıyla, preparatif İTK ve sefadeks kolonda metanol ile elüe edilmiştir. Fraksiyon 8-10 HİS-1 bileşimini vermiştir (10 mg).

Arta kalan su fraksiyonunda 8. fraksiyon(5.2 g) silikajel kolona tatbik edilmiştir. 6-8 fraksiyonlar (40 mg) sırasıyla preparatif İTK ve sefadeks kolonda metanol ile elüe edilmiştir. Fraksiyon 4-5 HİS-2 bileşimini vermiştir (15 mg).

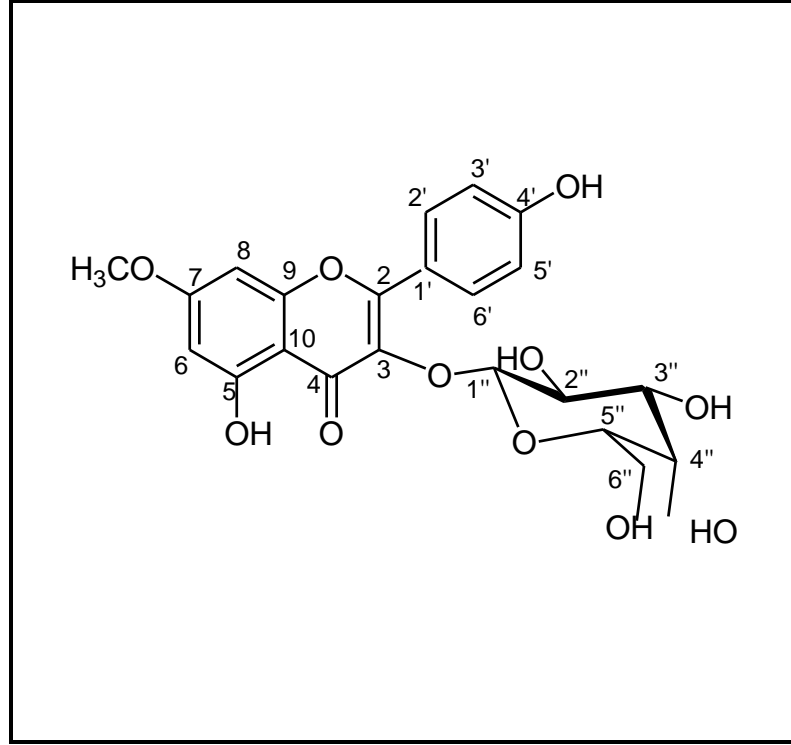


Şekil 3.1. *Herniaria incana* üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

4. BULGULAR

Herniaria incana'nın topraküstü kısmından, su fraksiyonundan bir flavonol heteroziti yapısında olan Ramnositrin 3-O- β -D-galaktozit ve triterpen heteroziti yapısında *Herniaria* saponin 6 [*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 6)-*O*-[β -D-6-*O*-asetilglukopiranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glukopiranozil Medikagen-28-at] elde edilmiştir. Bileşiğin yapı tayini spektroskopik (^1H NMR, ^{13}C NMR, 2D NMR ve Kütle spektroskopisi) yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

RAMNOSİTRİN 3-O- β -D-GALAKTOZİT (HİS-1)



Şekil 4.1. Ramnositrin 3-O- β -D-galaktozit

$C_{22}H_{22}O_{11}$ (Mol. Ağ.: 462)

1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): Şekil 4.2, Tablo 4.1.

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz): Şekil 4.3, Tablo 4.2.

2D-COSY Spektrumu: Şekil 4.4.

2D-HSQC Spektrumu: Şekil 4.5.

2D-HMBC Spektrumu: Şekil 4.6.

ESI-Positive Kütle Spektrumu: Şekil 4.7.

4.1. Ramnositrin 3-O- β -D-Galaktozit

HİS-1 bileşiğinin bulunduğu fraksiyon İTK analizlerinde revelatör püskürtülmeden önce gün ışığında sarı renkli, UV₂₅₄ nm'de sönük zon şeklinde, UV₃₆₆ nm'de koyu mor, Vanilin H₂SO₄ reaktifi püskürttükten sonra 110°C'de ısıtılınca sarı renk vermesi bileşiğin flavonoit olabileceğini gösterir.

Bileşiğin pozitif iyonları ESI-Positivie mode-kütle spektrumunda m/z 485'de gözlenen [M+Na]⁺ piki, ¹³C NMR ve ¹H NMR bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde, molekül formülü C₂₂H₂₂O₁₁ olarak hesaplanmıştır.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.2, Tablo 4.1.) $\delta_H = 8.11$ (2H, d, $J = 8.3$) ve $\delta_H = 6.87$ (2H, d, $J = 8.3$ Hz) ppm şeklinde görülen sinyaller sırasıyla B halkasının C-2', C-6' ve C-3', C-5' protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. $\delta_H = 6.40$ (1H, d, $J = 2.0$) ve $\delta_H = 6.75$ (1H, d, $J = 2.0$ Hz) ppm'de görülen sinyaller de sırasıyla, A halkasının C-6 ve C-8 protonlarına aittir. $\delta_H = 3.86$ (3H, s) ppm'de görülen sinyalin metoksil grubu (-OCH₃) protonlarına ait olduğu düşünülmektedir.

¹H NMR spektrumunda $\delta_H = 3.66-3.28$ (6H) ppm arasında görülen proton sinyalleri ve ¹³C NMR spektrumunda $\delta_C = 61.4-102.8$ ppm arasında görülen sinyaller molekülde bir oz olduğunu düşündürmüştür. $\delta_H = 5.42$ (1H, d, $J = 7.6$ Hz) ppm'de gözlenen sinyal ozun anomerik protonuna aittir. Anomerik protonun etkileşme sabiti ($J = 7.6$ Hz) değerinden ozun β konfigürasyonda olduğu anlaşılmıştır. Oza ait proton sinyalleri literatürlerle karşılaştırılarak ozun galaktoz olduğu tespit edilmiştir.

¹³C NMR spektrumunda (Şekil 4.3.-Şekil 4.6., Tablo 4.2) C-6 ve C-8 sinyallerinin ($\delta_C = 99.1$ ve 93.6 ppm), C-5 ve C-7 sinyallerinden ($\delta_C = 162.2$ ve 166.4 ppm) farklı olarak daha yüksek alanda çıkması C-5 ve C-7'de bulunan sübstitüsyonlardan ileri gelmektedir. C-4' konumundaki bir serbest hidroksil grubu bulunması nedeniyle bu karbona ait sinyal $\delta_C = 161.4$ ppm'de görülmektedir. HMBC

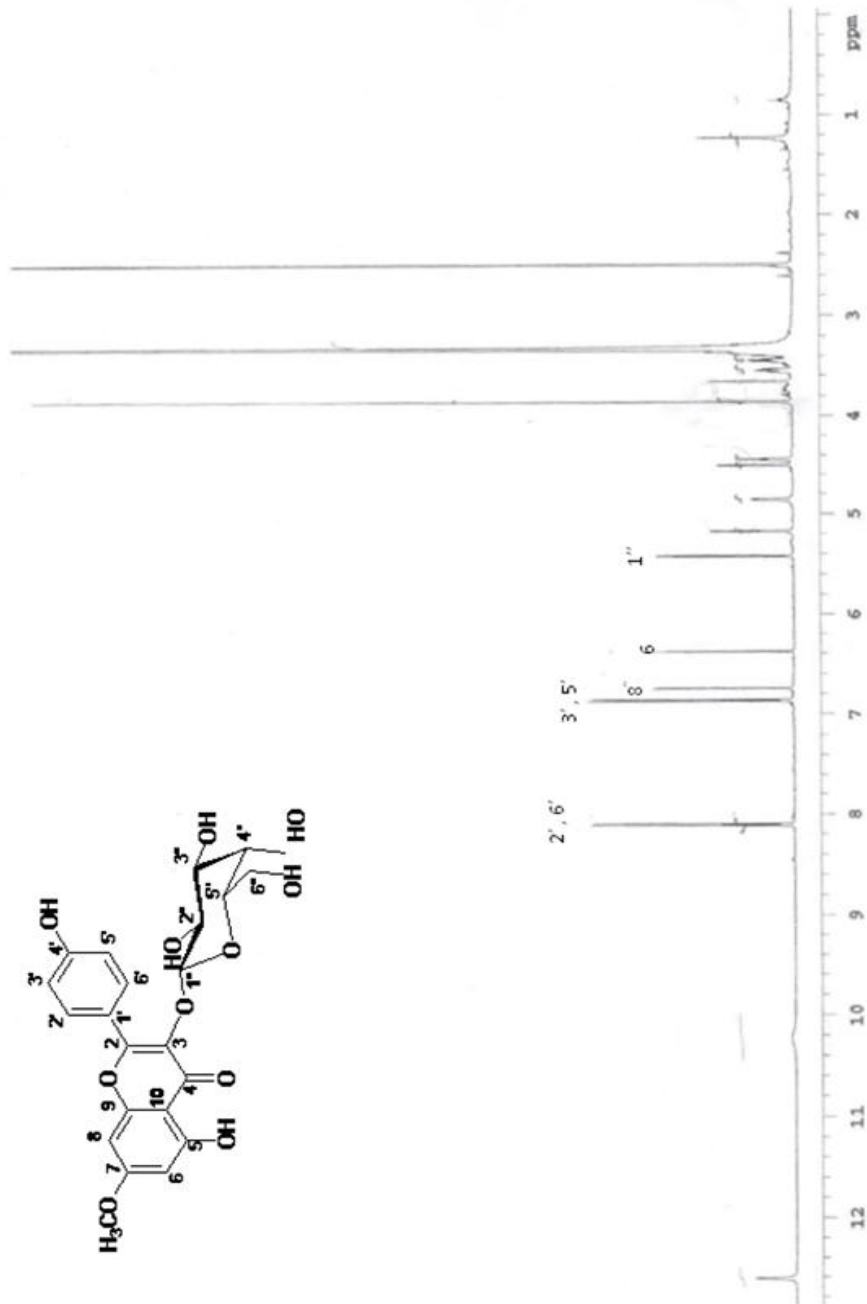
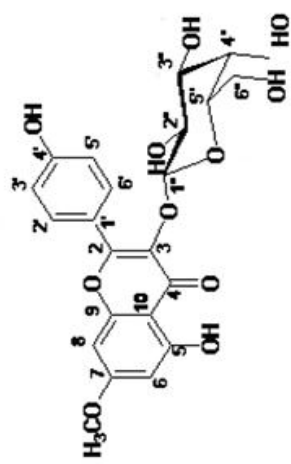
spektrumunda gözlenen korelasyonlardan yararlanarak ozun aglikona C-3'den bağlandığı ve bileşiğin Ramnositrin 3-O- β -D-galaktozit olduğu düşünülmüştür.^{52,53}

Tablo 4.1. Ramnositrin 3-O- β -D-galaktozit ^1H NMR spektral değerleri

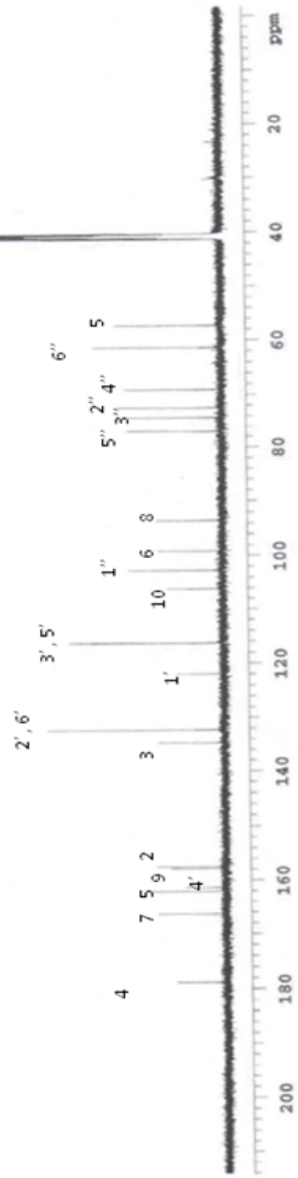
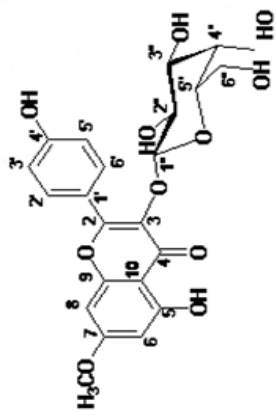
H	δ_{H} (ppm)
H-2',6'	8.11 (2H, d, $J= 8.3$)
H-3',5'	6.87 (2H, d, $J= 8.3$)
H-8	6.75 (1H, d, $J= 2.0$)
H-6	6.40 (1H, d, $J= 2.0$)
H-1''	5.42 (1H, d, $J= 7.6$)
Şeker protonları	3.66-3.28 (6H)
-OCH₃	3.86 (3H, s)

Tablo 4.2. Ramnositrin 3-*O*- β -D-galaktozit ^{13}C NMR spektral değerleri

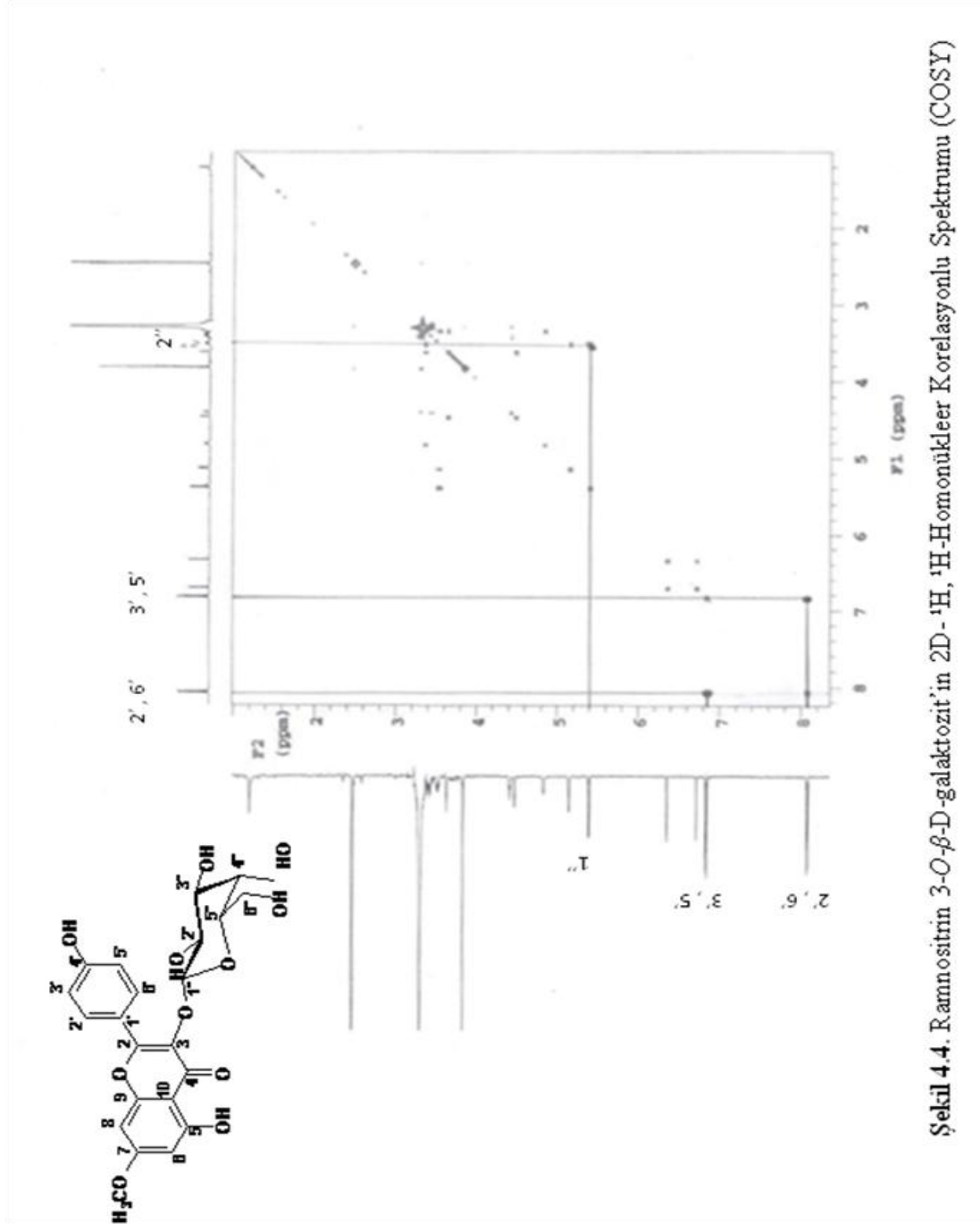
C/H	δ_{C} (ppm)
2	157.6
3	134.7
4	178.9
5	162.2
6	99.1
7	166.4
8	93.6
9	157.9
10	106.2
1'	122.0
2'	132.3
3'	116.3
4'	161.4
5'	116.3
6'	132.3
<u>-OCH₃</u>	57.4
GALAKTOZ	
1''	102.8
2''	72.5
3''	74.3
4''	69.1
5''	77.1
6''	61.4



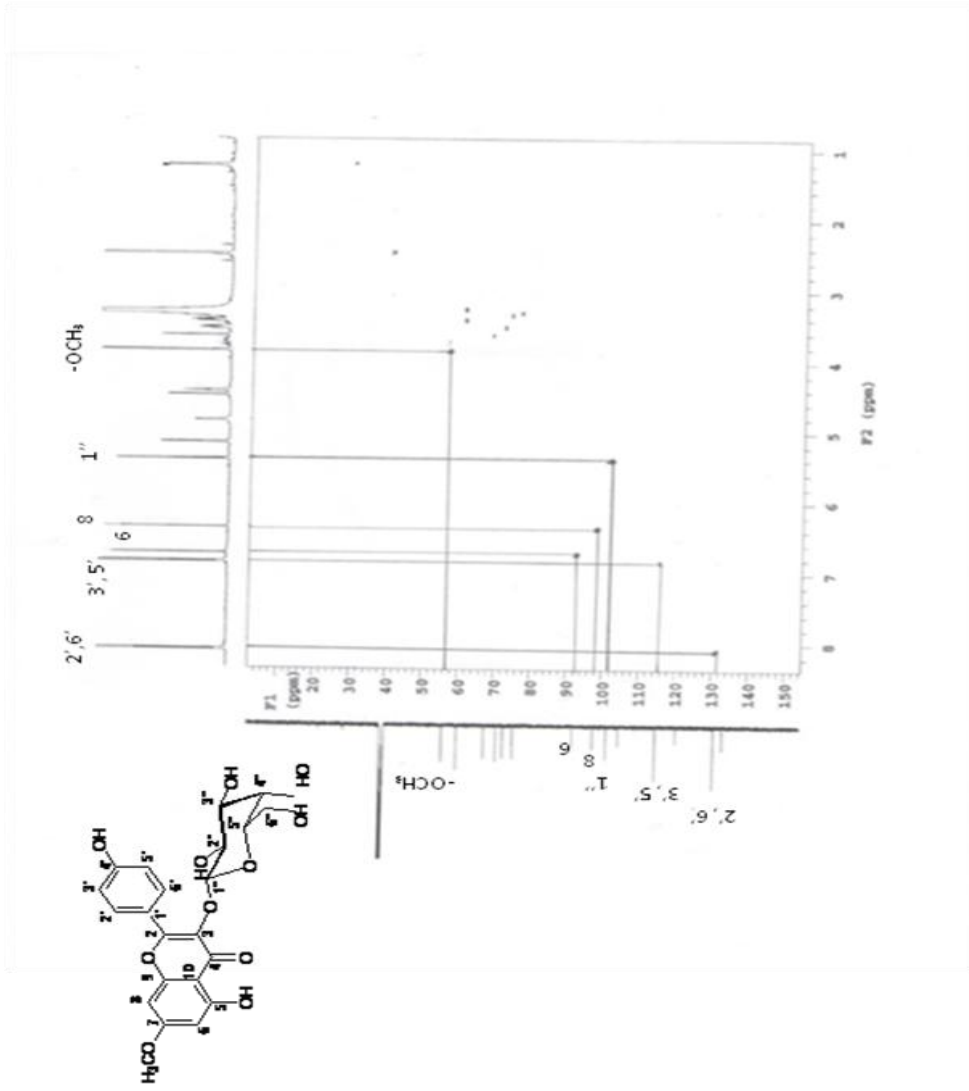
Şekil 4.2. Ramnositrin 3-O-β-D-galaktozit'in ¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz) spektrumu



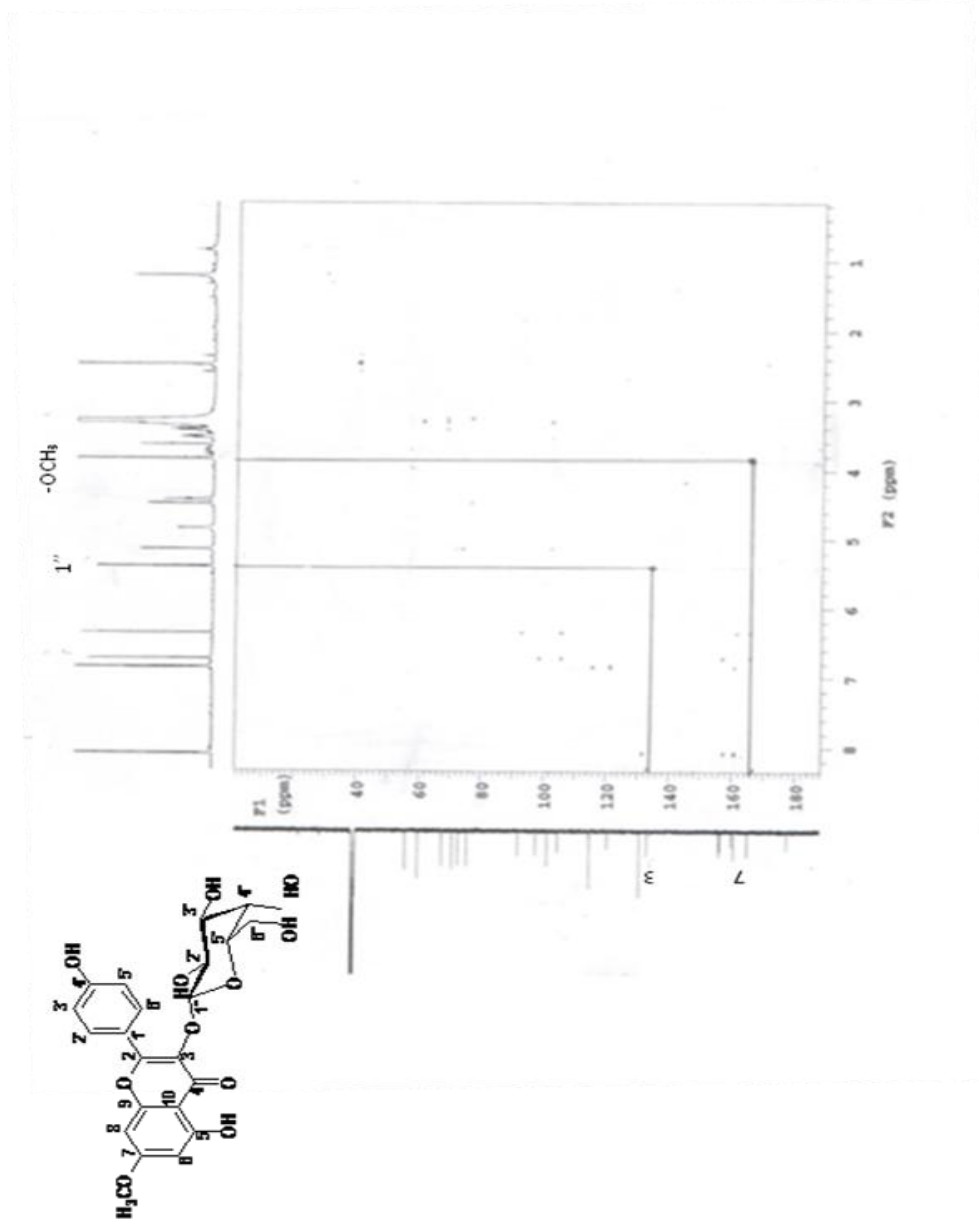
Şekil 4.3. Rannositrin 3-O- β -D-galaktozitin ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) spektrumu



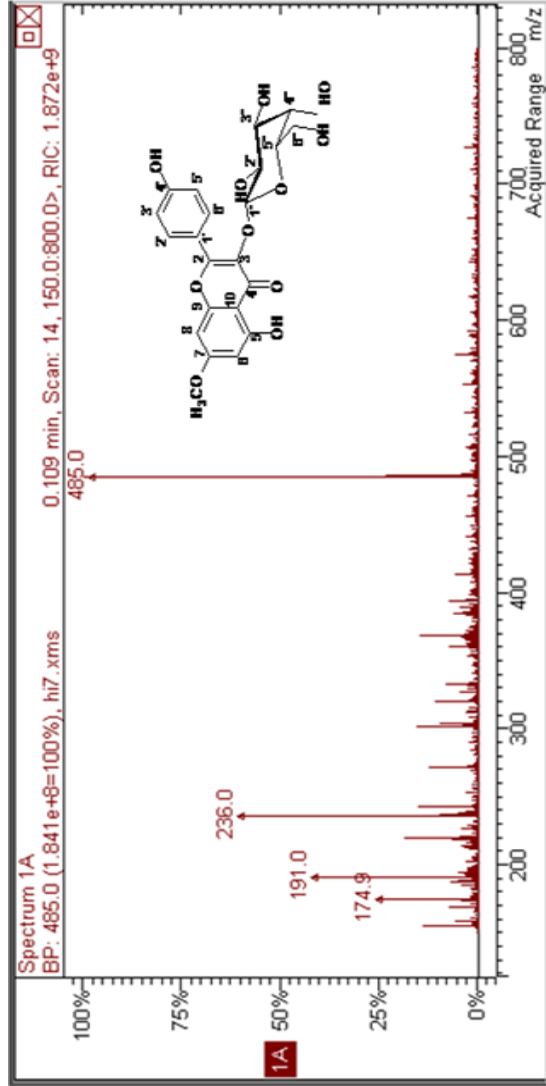
Şekil 4.4. Ramnositrin 3-O-β-D-galaktosiz'in 2D-¹H, ¹H-Homonukleer Korelasyonlu Spektrumu (COSY)



Şekil 4.5. Ramnositrin 3-O-β-D-galaktozit'in 2D-¹H, ¹³C-Heteronükleer Korelasyonlu (kısa mesafe) Spektrumu (HSQC)

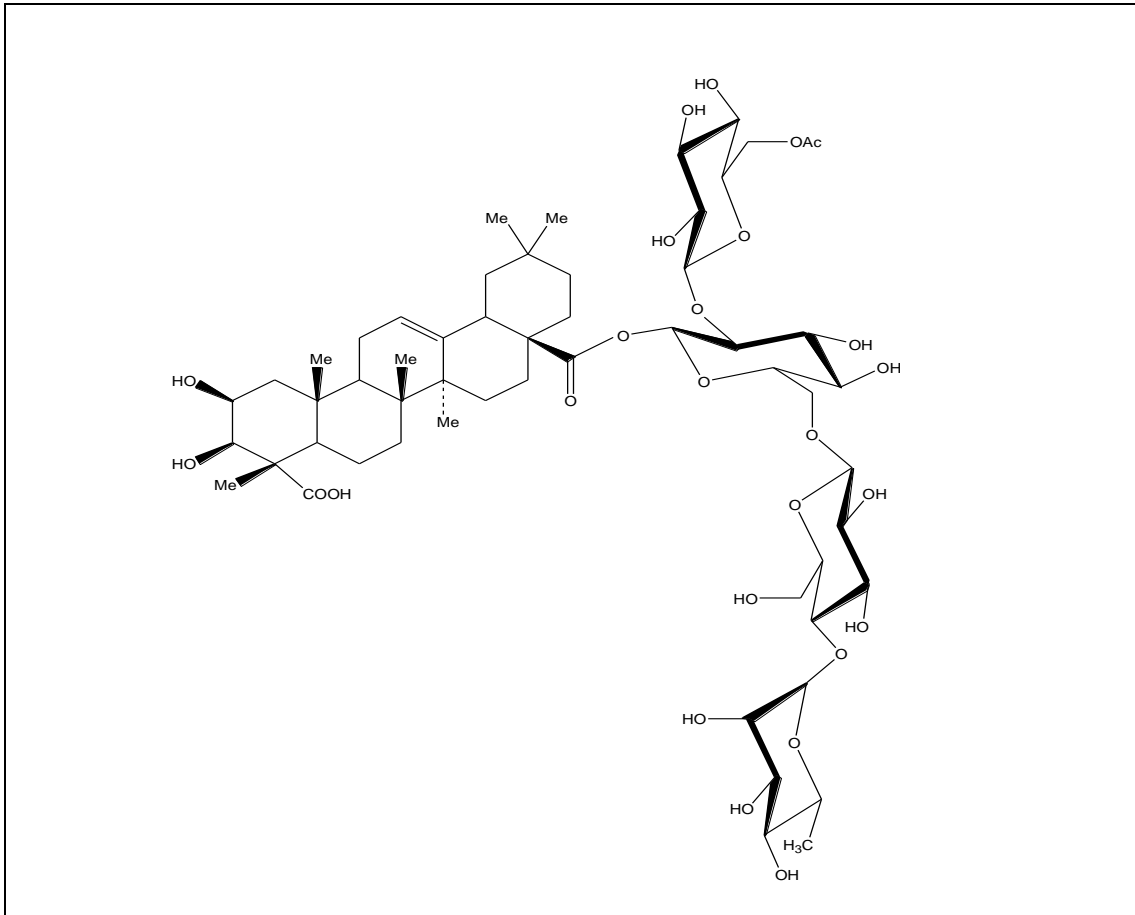


Şekil 4.6. Ramnositrin 3-O-β-D-galaktosid'in 2D-¹H, ¹³C-Heteronükleer Korrelasyonlu (uzun mesafe) Spektrumu (HMBC)



Şekil 4.7. Ramnostrin 3-O-β-D-galaktosiz'in Kütle Spektrogramu

HERNİARİA SAPONİN 6 (HİS-2)



Şekil 4.8. Herniaria saponin 6 [*O*- α -L-rannopiranozil-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-glukopiranozil-(1-6)-*O*-[β -D-6-*O*-asetilglukopiranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glukopiranozil Medikagen-28-at]

C₅₆H₈₈O₂₆ (Mol. Ağ. 1176)

¹H NMR (CD₃OD, 600 MHz): Şekil 4.9., Tablo 4.3.

¹³C NMR (CD₃OD, 150 MHz): Şekil 4.10.-Şekil 4.15., Tablo 4.4.

ESI-Positive Kütle Spektrumu: Şekil 4.16.

4.2. Herniaria Saponin 6[*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 6)-*O*-[β -D-6-*O*-asetilglukopiranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glukopiranozil Medikagen-28-at]

HİS-2 bileşiğinin bulunduğu fraksiyon İTK analizlerinde revelatör püskürtülmeden önce gün ışığında renksiz olup, Vanilin H₂SO₄ reaktifi püskürttükten sonra 110°C'de ısıtılınca mavi-mor renk vermesi bileşiğin triterpenik yapıda olabileceğini göstermiştir.

Bileşiğin pozitif iyonları ESI-Positive mode-kütle spektrumunda m/z 1200'de gözlenen [M+Na]⁺ piki, ¹³C NMR ve ¹H NMR bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde, molekül formülü C₅₆H₈₈O₂₆ olarak hesaplanmıştır.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.9., Tablo 4.3.) $\delta_{\text{H}}= 5.36$ (1H, d, $J= 8.2$), 4.79 (1H, d, $J= 7.7$) ve $\delta_{\text{H}}= 4.42$ (1H, d, $J= 7.6$) ppm şeklinde görülen sinyaller, triterpen halkasına bağlı ozların ve sırasıyla H-1', H-1'''' ve H-1'' anomerik protonlara ait olduğu belirlenmiştir. Anomerik protonun etkileşme sabitleri H-1' için ($J= 8.2$ Hz), H-1'' için ($J= 7.6$ Hz), H-1'''' için ($J= 7.7$ Hz) değerinden bu üç ozun β konfigürasyonda olduğu ve literatür verileri ile karşılaştırılarak glukoz olduğu anlaşılmıştır. Dördüncü oza ait anomerik proton sinyali çözücü sinyalleri ile çakışmaktadır. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında, bu ozun ramnoz olduğu tesbit edilmiştir.

Triterpen halkasında bağlı metil gruplarının sinyallerinin, $\delta_{\text{H}}= 1.33$ (3H, s, H-24), 1.25 (3H, s, H-25), 0.93 (3H, s, H-26), 1.14 (3H, s, H-27), 0.78 (3H, s, H-29), 0.91 (3H, s, H-30) ppm'de görülen sinyaller olduğu literatür karşılaştırmaları ile belirlenmiştir. $\delta_{\text{H}}= 2.10$ (3H, s) ppm'de görülen sinyalin -OOCCH₃ protonlarına ait olduğu düşünülmektedir.

Şeker moleküllerinden ramnoza ait -CH₃ sinyali $\delta_{\text{H}}= 1.28$ (3H, d, $J= 2,3$, H-6''')

ppm'de gözlenmiştir.

Yapılan literatür çalışmaları sonunda, spektrumda görülen hem ^1H NMR hem de ^{13}C NMR kimyasal kayma değerleri ile literatür değerleri karşılaştırıldığında yapının *Herniaria saponin 6* [*O*- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-glukopiranozil-(1-6)-*O*-[β -D-6-*O*-asetilglukopiranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glukopiranozil medikagen-28-at] isimli bileşik olduğuna karar verilmiştir.¹²

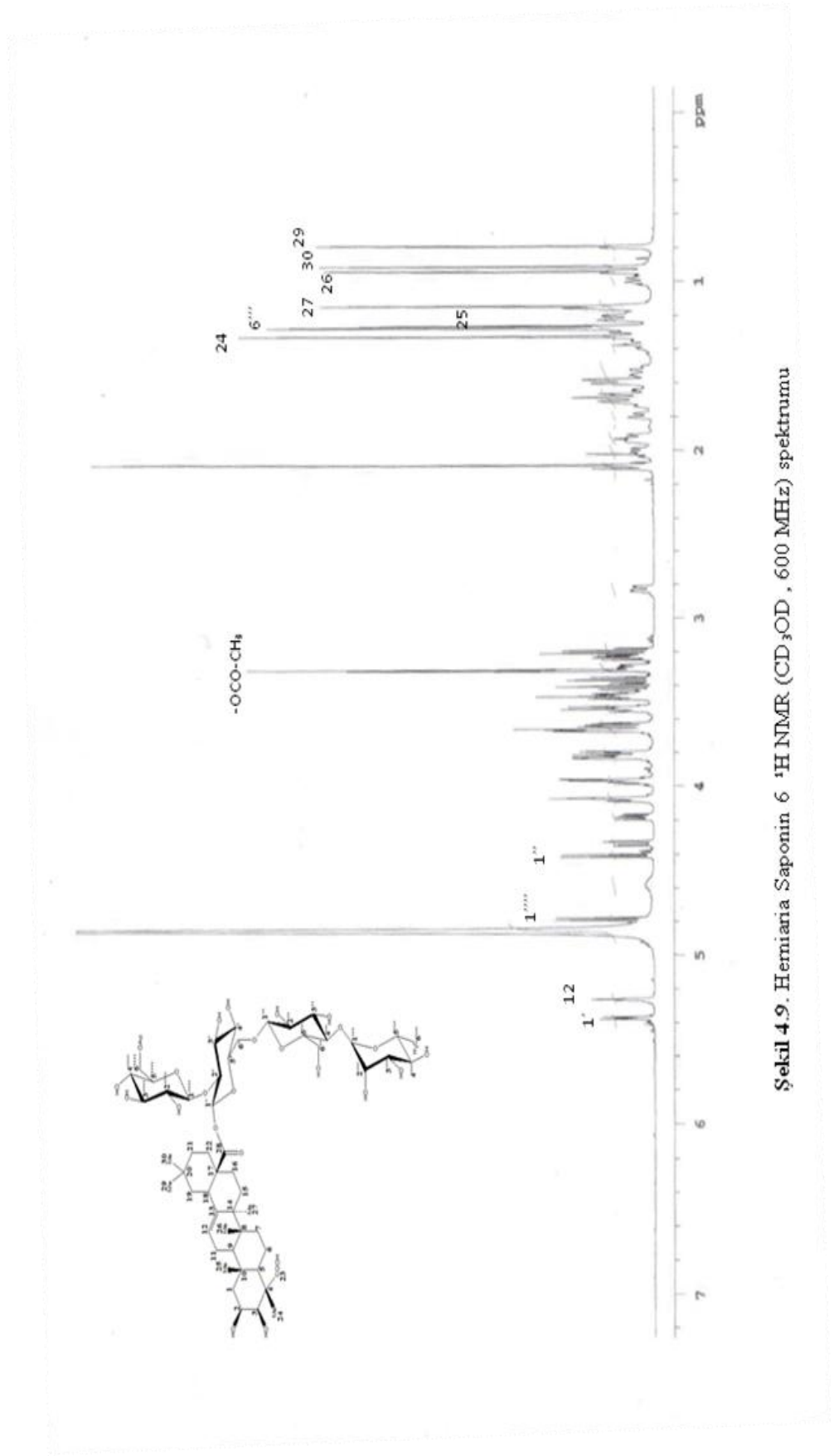
Tablo 4.3. Herniaria saponin 6 ¹H NMR spektral değerleri

H	δ_H (ppm)
H-1'	5.36 (1H, d, <i>J</i> = 8.2)
H-1''''	4.79 (1H, d, <i>J</i> = 7.7)
H-1''	4.42 (1H, d, <i>J</i> = 7.6)
H-12	5.26 (1H, t, <i>J</i> =3.5)
H-24	1.33 (3H, s)
H-25	1.25 (3H, s)
H-26	0.93 (3H, s)
H-27	1.14 (3H, s)
H-29	0.78 (3H, s)
H-30	0.91 (3H, s)
H-6'''	1.28 (3H, d, <i>J</i> = 2.3)
-OOC<u>CH</u>₃	2.10 (3H, s)

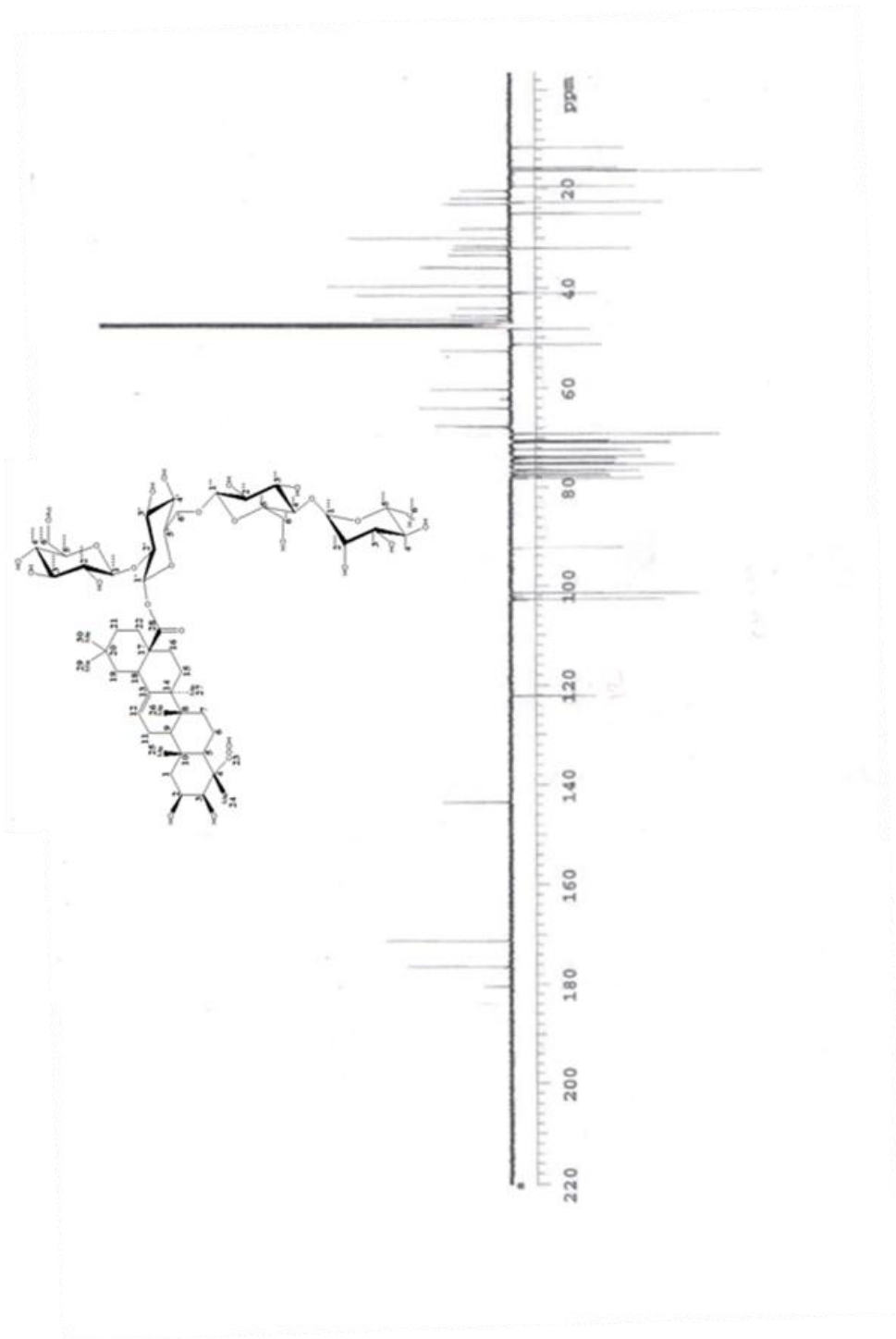
Tablo 4.4. Herniaria saponin 6 ¹³C NMR spektral değerleri

C/H	δ_c (ppm)
1	44.1
2	70.5
3	75.0
4	52.8
5	51.4
6	20.6
7	32.4
8	39.7
9	48.2
10	36.0
11	22.1
12	122.2
13	143.6
14	41.6
15	28.2
16	23.2
17	46.5
18	41.0
19	45.6
20	30.1
21	33.5
22	31.7
23	180.1
24	11.7
25	15.8
26	16.3
27	25.1
28	176.6
29	32.0
30	22.8
-OOC <u>CH</u> ₃	19.6

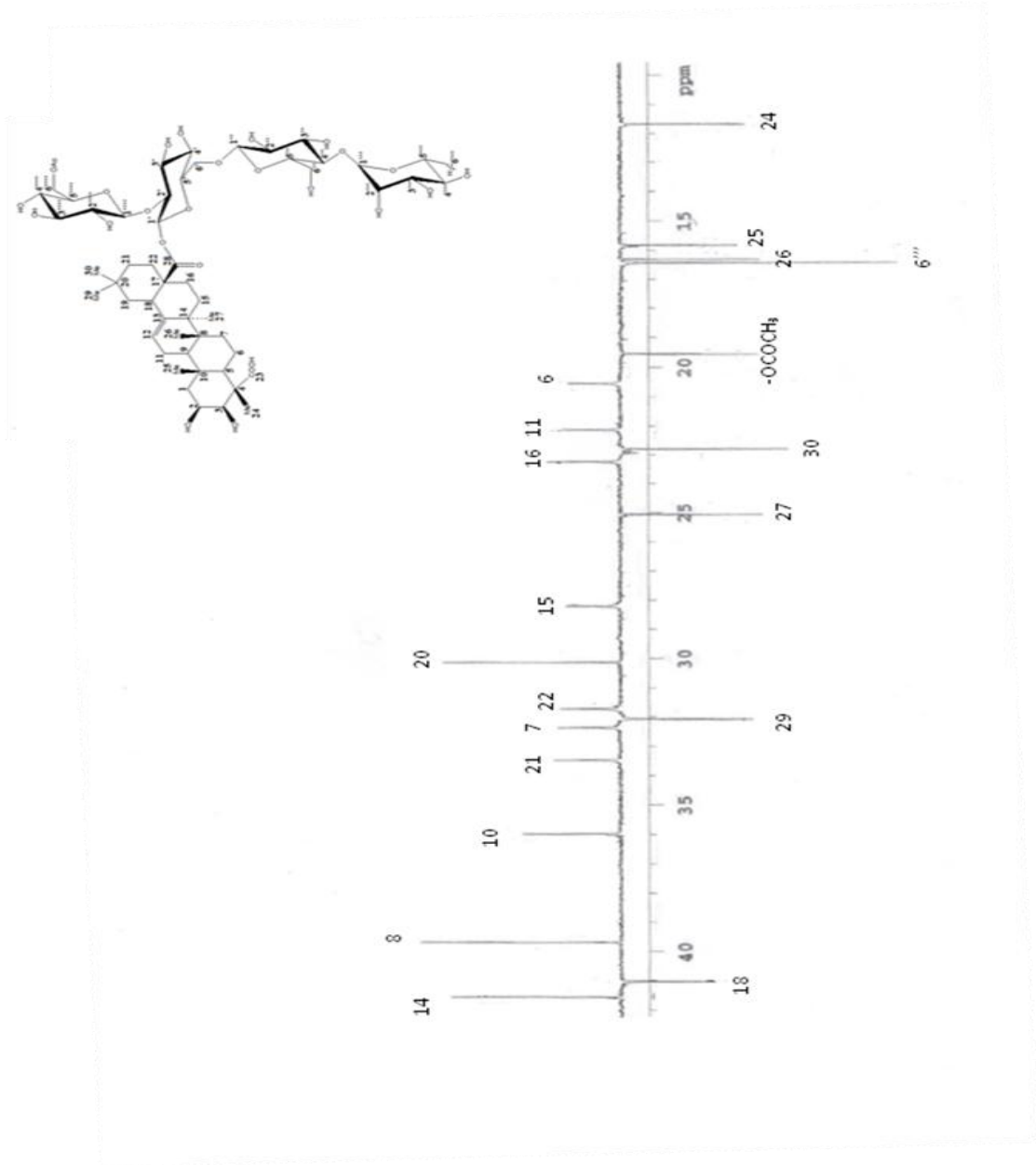
-OOCCH₃	171.3
GLUKOZ	
1'	92.3
2'	77.3
3'	73.8
4'	69.2
5'	76.6
6'	67.7
GLUKOZ	
1''	102.7
2''	73.9
3''	75.2
4''	78.1
5''	75.4
6''	60.4
RAMNOZ	
1'''	101.5
2'''	71.0
3'''	70.8
4'''	72.3
5'''	69.2
6'''	16.4
GLUKOZ	
1''''	102.7
2''''	74.2
3''''	76.5
4''''	70.6
5''''	77.6
6''''	64.2



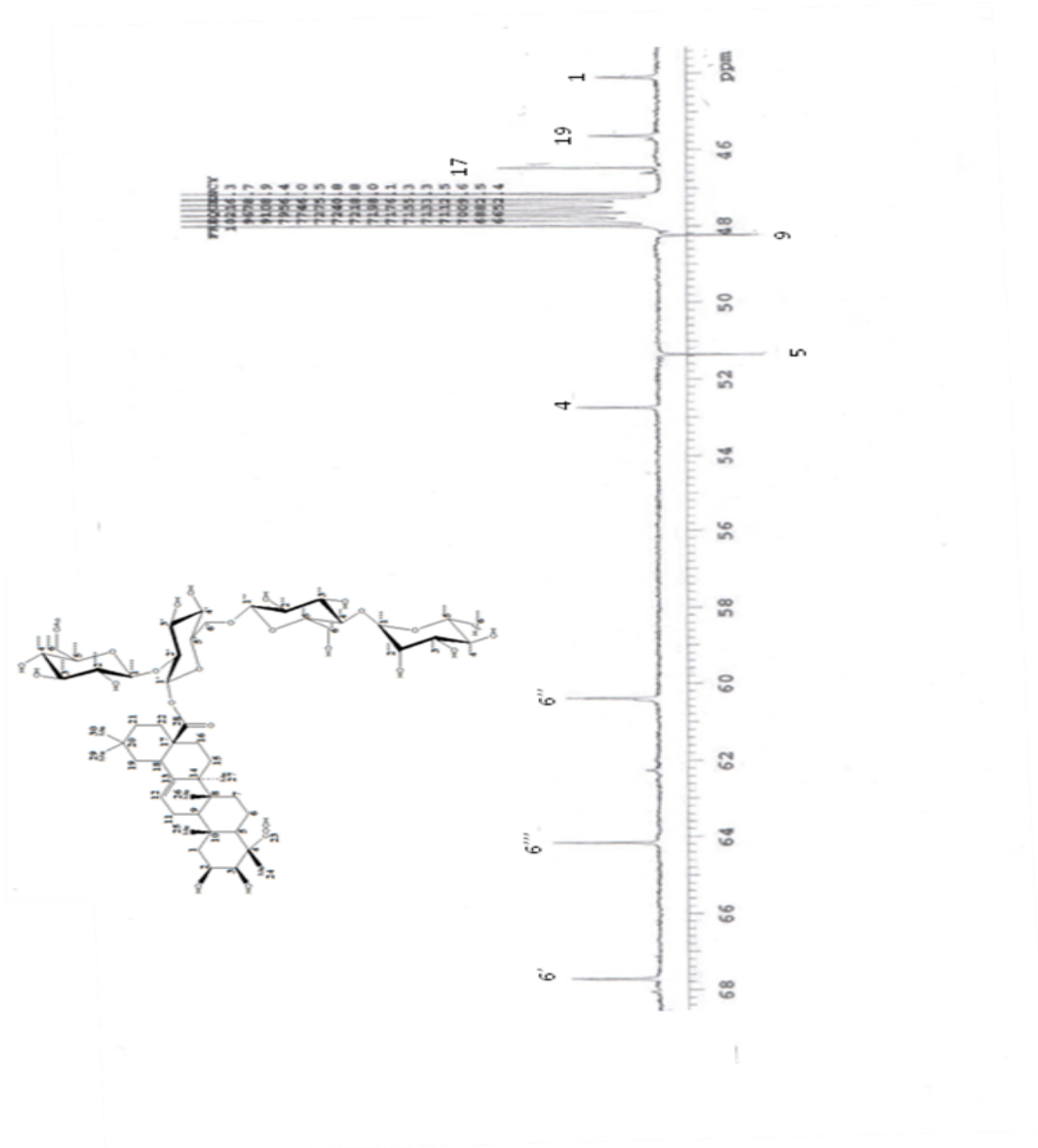
Şekil 4.9. Hermiaria Saponin 6 ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz) spektrumu



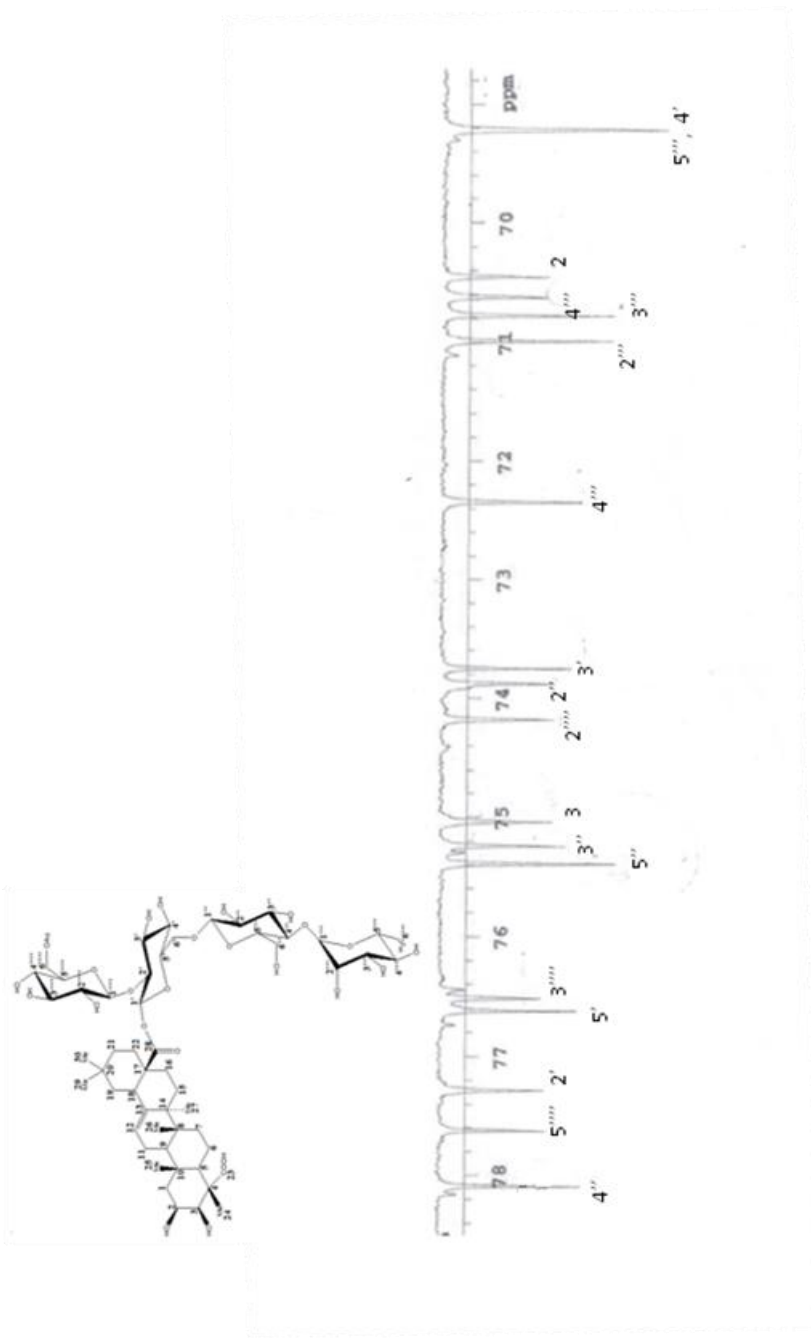
Şekil 4.10. Herniaria Saponin 6 ^{13}C Attached-Proton-Test (APT) (CD_3OD , 150 MHz) spektrumu



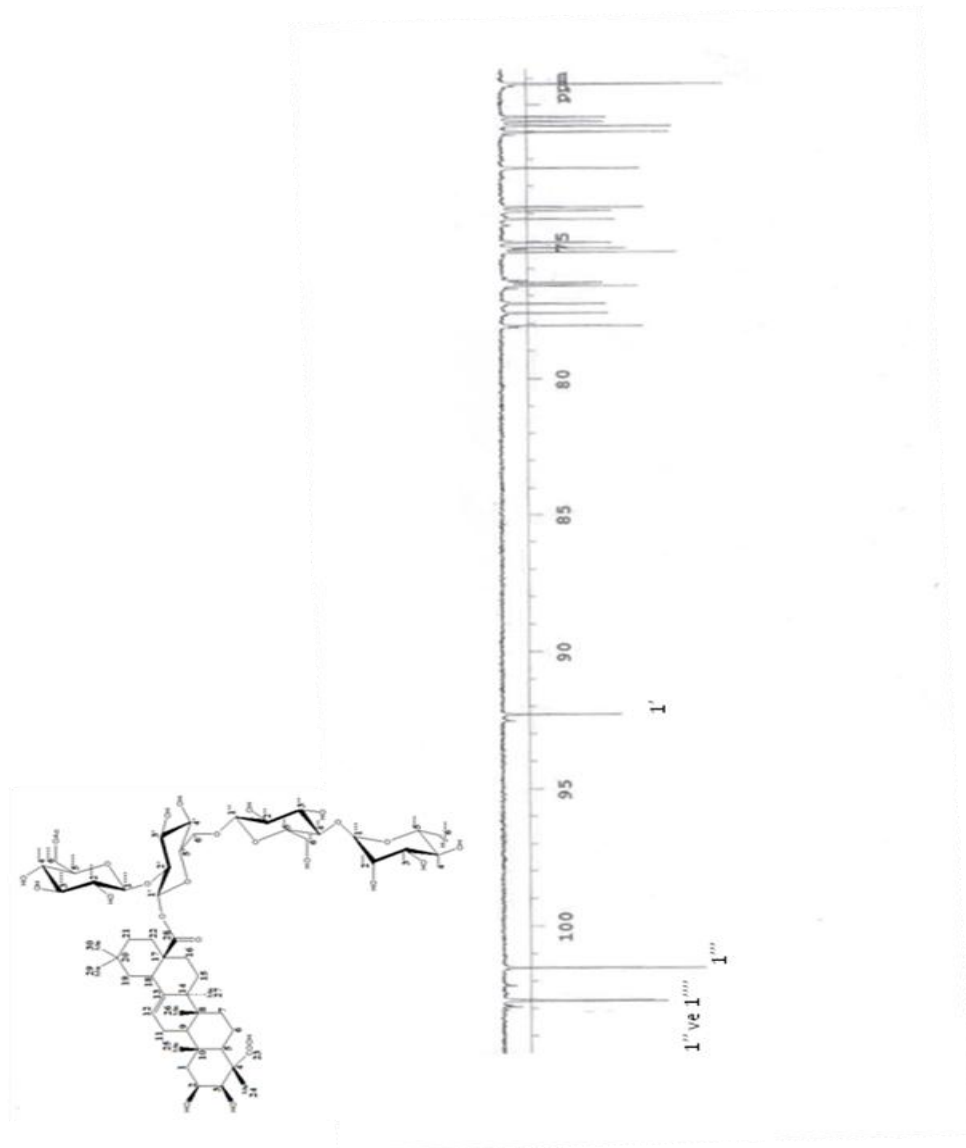
Şekil 4.11. Herniaria Saponin 6 ^{13}C Attached-Proton-Test (APT) (CD_3OD , 150 MHz) spektrumu



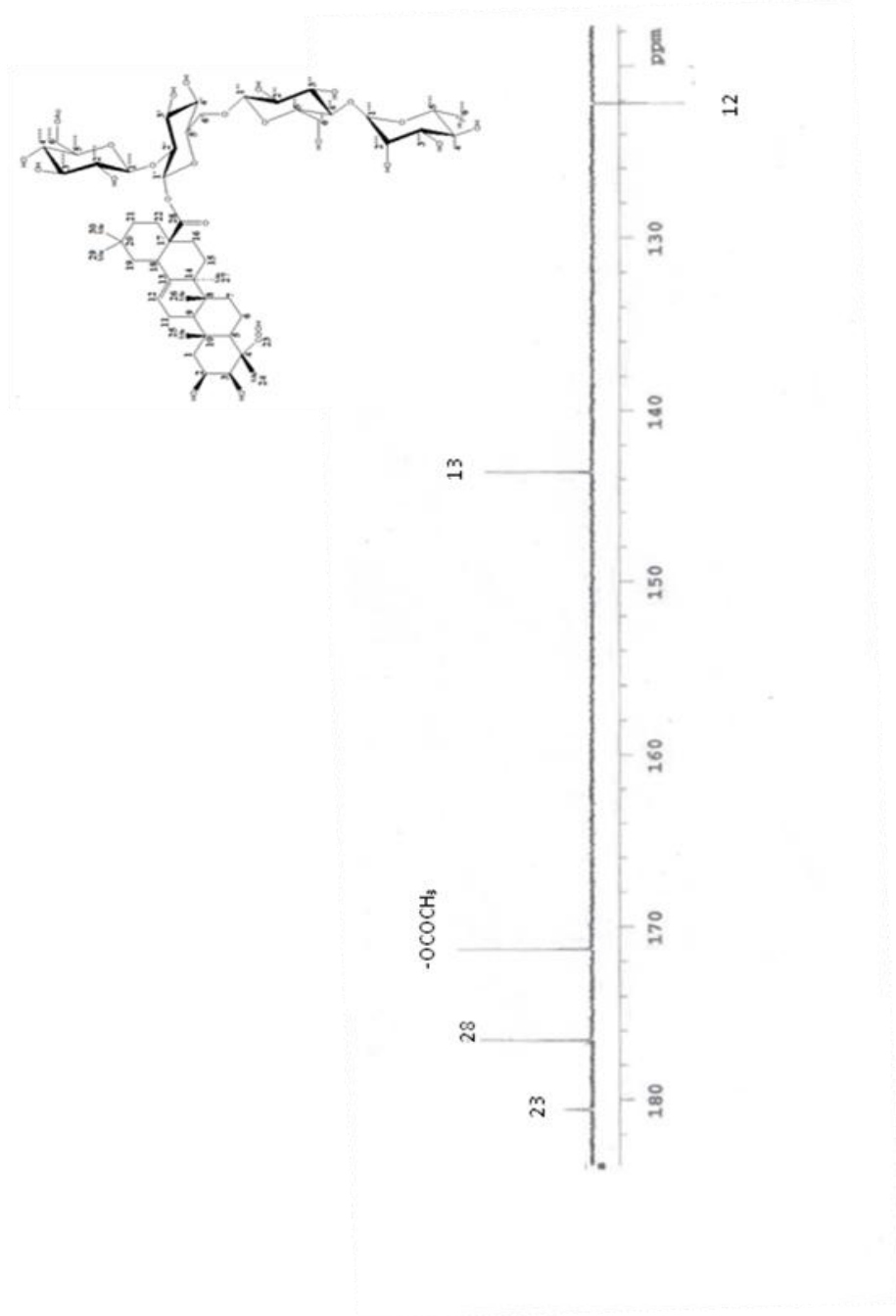
Şekil 4.12. Hermiana Saponin 6 ¹³C-Attached-Proton-Test (APT) (CD₃OD, 150 MHz) spektrumu



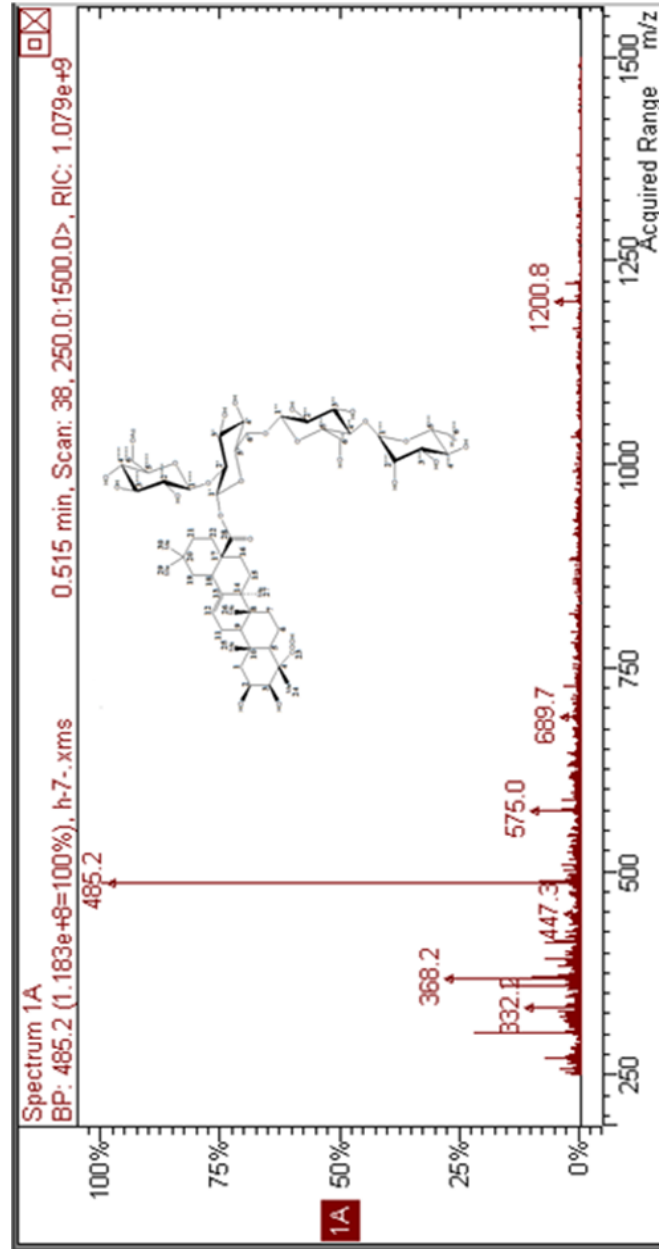
Sekil 4.13. Hemiarinia Saponin 6 ¹³C Attached-Proton-Test (APT) (CD₃OD, 150 MHz) spektrumu



Sekil 4.14. Herniaria Saponin 6 ^{13}C Attached-Proton-Test (APT) (CD_3OD , 150 MHz) spektrumu



Şekil 4.15. Herniaria Saponin 6 ^{13}C Attached-Proton-Test (APT) (CD_3OD , 150 MHz) spektrumu



Şekil 4.16. Herniaria saponin 6 Kütile spektrumu

5. TARTIŞMA

Ülkemiz bitki florası yönünden zengin bir ülkedir. Türkiye florası yaklaşık 10000 bitki türü barındırmaktadır. Avrupa florasında 12000 tür bulunduğu göz önüne alınırsa, ülkemizin bitki türü yönünden önemli bir varlığa sahip olduğu görülmektedir. Türkiye florasında bulunan türlerin yaklaşık % 30'u endemiktir. Yani, yaklaşık 10000 türün 3000 türü yalnızca ülkemiz sınırları içinde yetişmektedir.

Yaklaşık 100 tür ve 20 cinsi bulunan Illecebraceae familyası, bazen tabanı odunsu da olabilen alçak boylu otsu bitkilerdir.² Illecebraceae familyasına ait bir cins olan *Herniaria* cinsinin ülkemizde 4'ü endemik, 1'i şüpheli endemik ve 1'i şüpheli kayıt olmak üzere 10 türü bulunmaktadır.^{4,5} Yapılan literatür tarama çalışmaları sonunda *Herniaria* türlerinde saponinler, flavonoidler, kumarinler ve diğer bazı bileşikler bulunduğu görülmüştür. *Herniaria incana* ülkemizde yetişen *Herniaria* türlerinden biridir ve yetiştiği yörelerde sabun otu, leylek otu gibi isimlerle bilinmektedir

Bitkiler, yapılarında primer metabolitler (yani bitkilerin yaşamlarını sürdürebilmek için gerekli yapı taşları -karbonhidratlar, proteinler ve yağlar-) yanında, sekonder metabolitler (bitki hücrelerinde sentezlenen, bitkinin yaşamlarını sürdürmeleri için gerekli olmayan ikincil ürünler) bulundurmaktadır. Sekonder metabolitler alkaloidler, glikosidler, heterozitler, uçucu yağlar, sabit yağlar, tanenler, proteik maddeler ve antibiyotiklerdir.

Alkaloidler yapılarında azot taşıyan, halkalı ya da halkasız bir yapıya sahip olan, çok düşük derişimlerde bile fizyolojik etki gösteren bileşiklerdir. Çok sayıda alkaloid yapısındaki bileşik, ilaç olarak kullanılmaktadır (örneğin, morfin, kodein, atropin, kafein, efedrin, teofillin, kinin, vb.).

Glusitler oz (şeker) moleküllerinden oluşan bileşiklerdir. Tedavide ve eczacılık tekniğinde kullanılan çok sayıda glusit yapılı bileşik bulunmaktadır (glukoz, fruktoz, sakkaroz, nişasta, selüloz, zamk, müsilaj, dekstran vb.).

Heterozitler, yapılarında bir oz molekülü ile birlikte, oz olmayan bir yapı da taşıyan bileşiklerdir (flavonoitler, kardiyoaktif heterozitler, antrasenoitler, saponozitler vb.). Tedavide kullanılan birçok heterozit yapılı bileşik bulunmaktadır (örneğin, digoksin, hesperidozit, sennozidler, rutin vb.).

Uçucu yağlar, bitkilerden genellikle distilasyon yöntemi ile elde edilen, oda sıcaklığında uçucu, terpenik yapıda bileşiklerdir. Uçucu yağlar, tedavide ve eczacılık tekniğinde birçok amaçla kullanılmaktadır. Bazı *Mentha* (nane) türlerinde bulunan mentol, sinir uçlarında anestezik etkisi nedeniyle antipüriritik olarak kullanılır. Bazı uçucu yağlar farmasötik formülasyonlarda koku ve tat verici olarak kullanılır (örneğin, portakal yağı, limon yağı, bergamot yağı vb.). Birçok uçucu yağ kozmetikte kullanılmaktadır (örneğin, gül yağı, lavanta yağı vb.).

Sabit yağlar, genellikle, sıkma yöntemiyle elde edilen, yağ asitlerinin gliserol ile oluşturdukları trigliserit yapısında bileşiklerdir. Çoğu, eczacılık tekniğinde sıvağ olarak kullanılmaktadır. Zeytinyağı, susam yağı yağda çözünen bileşiklerin enjektabl preparatlarının hazırlanmasında kullanılır.

Tanenler, astrenjan özellikte, polifenolik bileşiklerdir. Hemostatik etki gösterirler. Bunun dışında, deri tabaklamada da kullanılmaktadır.

Proteik yapılı bazı bileşikler de ilaç olarak ya da eczacılık tekniğinde kullanılmaktadır. Örneğin bazı enzimler ve proteik yapılı bileşikler (örneğin, pepsin, papain, protamin, bromolein vb.) tedavide kullanılırken, jelatin eczacılık tekniğinde kullanılmaktadır.

Antibiyotikler de birçok bakteri ve mantar hücresinde sentezlenen, çok düşük derişimlerde bile etki gösteren doğal ürünlerdir (örneğin, penisilinler, sefalosporinler, tetrasiklinler, makrolitler vb.).

Bitkiler, insanlığın varoluşundan günümüze kadar, hastalıkların tedavisinde ve ilaç elde edilmişinde kullanılan en önemli kaynaklardır. Onkolojide kullanılan taksol (*Taxus brevifolia* kabuklarından), narkotik anestezi olan morfin (*Papaver somniferum* meyvalarından), kardiyolojide kullanılan digoksin (*Digitalis purpurea* yapraklarından), parenteral çözelti olarak kullanılan dekstroz (glukoz) bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir.

Günümüzde, çok sayıda bitki türü, geleneksel tıpta halk ilacı olarak da kullanılmaktadır. Dünyanın tüm ülkelerinde olduğu gibi, ülkemizde de bitkilerden halk ilacı olarak yararlanılmaktadır. Ancak, köyden kente göçün artması, sentetik ilaçlara daha kolay ulaşılabilmesi gibi nedenlerle, bitkilerin tedavide kullanımı yavaş yavaş terk edilmektedir. Bu nedenle, tüm dünyada, halk tıbbında kullanılan bitkilerle ilgili alan taraması çalışmaları yapılmaktadır. Bu çalışmalara etnobotanik, etnofarmakolojik, etnomedisinal çalışmalar da denilmektedir. Bu tür çalışmalarda belirli çalışma alanları belirlenmekte ve bu alan içine giren yerleşim birimlerinde (bir ilin veya ilçenin sınırları içine giren tüm köyler) konu hakkında bilgi ve deneyim sahibi olan kişilerden bilgi toplanmaktadır. Sonuçta, bu alana ait bir envanter çıkarılmaktadır. Bu envanterde hangi bitkilerin, hangi kısımlarının, hangi hastalıklara karşı ve nasıl hazırlandığı ile ilgili bilgiler bulunmaktadır. Bu tür çalışmalar, tedavide kullanılacak yeni bileşiklere ulaşılmasında kılavuz olabilecek çalışmalardır.

Üzerinde çalıştığımız, yüksek lisans tez konusu olarak belirlediğimiz *Herniaria incana* (Illecebraceae) türünden, su ile çalkalayarak elde edilen çözelti, Kars'ın Susuz ilçesine bağlı Kırçiceği Köyü'nde haricen cilt temizleyici olarak kullanılmaktadır.

Kozmetik kullanımı bulunan bu tür üzerinde, içeriğinde bulunan major bileşiklerle ilgili bir çalışma bulunmadığı yapılan literatür çalışmalarında belirlenmiş ve üzerinde farmakognozik çalışmalar yapılmasına karar verilmiştir. Tür üzerinde fitokimyasal çalışmalar bulunmamakla birlikte, Norveç’de yapılan bir tez çalışmasında bitkinin total flavonoit içeriği, antioksidan özelliği ve serbest radikal süpürücü kapasitesi incelenmiştir. Diğer *Herniaria* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalarda, flavonoitler ve saponozitler saflaştırılmıştır.

Kırçiçeği Köyü’nden toplanan türün topraküstü kısmı kurutulup toz edildikten sonra metanol ile ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstre, rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldıktan sonra, su ile süspande edilmiştir. Elde edilen süspansiyon, sırasıyla kloroform ve etil asetat ile fraksiyonlanmıştır. Fraksiyonlanma sonunda farklı polariteye sahip 3 farklı ekstre elde edilmiştir: Kloroform ekstresi, etil asetat ekstresi ve arta kalan su ekstresi.

Her bir ekstrenin ters faz silika jel, normal faz silika jel ve sefadeks kolon dolgu maddeleri kullanılarak kolon kromatografisi ile tekrar fraksiyonlanmıştır. Elde edilen her bir fraksiyon İnce Tabaka Kromatografisi ile kontrol edilmiş ve tekrarlı kromatografik yöntemlerle saf bileşikler elde edilmiştir.

Elde edilen saf bileşiklerin yapı tayini spektroskopik yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) Spektroskopisinden yararlanılmıştır. ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve Kütle Spektrumları alınmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1- Bu çalışmada *Herniaria incana* bitkisinin topraküstü kısmının taşıdığı bazı bileşiklerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

2- Yapılan çalışmalar sonucunda su fraksiyonundan 1 flavonol heteroziti Ramnositrin 3-O- β -D-galaktozit ve 1 triterpenik yapıda saponozit olan herniaria saponin 6 [O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-glukopiranozil-(1 \rightarrow 6)-O-[β -D-6-O-asetilglukopiranozil - (1 \rightarrow 2)] - β -D-glukopiranozil medikagen-28-at] izole edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin kimyasal yapı tayinleri spektroskopik yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) Spektroskopisinden yararlanılmıştır. ^1H NMR, ^{13}C NMR ve 2D NMR spektrumları alınmıştır.

3- Bu çalışmalar sonunda, başka saf bileşikler de elde edilmiştir.

4- Elde edilen saf bileşiklerin yapı aydınlatma çalışmalarında iki maddenin yapısı aydınlatılmıştır. Diğer saflaştırılan bileşikler üzerindeki çalışmalar sürmektedir.

5- Yapılan fitokimyasal çalışmalar sonunda bitkiden major bileşikler saflaştırılmıştır.

6- Bundan sonraki aşamada, bitkiden elde edilen metanol ekstresi, metanol ekstresinden hareketle elde edilen kloroform, etil asetat ve arta kalan su fraksiyonları ile bu fraksiyonlardan elde edilen saf bileşikler üzerinde bazı biyolojik aktivite çalışmaları yapılması düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. İnan E, İpek G, İpek A. Çankırı'nın Endemik Tıbbi Bitkileri *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2012, 5:38-40.
2. Perveen A, Quasier M. Pollen Flora of Pakistan – XVII. Illecebraceae. *Pak. J. Bot.*, 2003, 35:141-144.
3. Weglarz Z, Geszprych A, Angielczyk M. Intraspecific chemical variability of common burdickwort (*Herniaria glabra* L.) growing wild in the middle part of the Bug River Valley. *Herba Polonica*. 2004, 50: 15-19.
4. Tamas M, Canciu E. Comparative phytochemical study of saponins, flavones and coumarins from *Herniaria glabra* L. and *H. Hirsuta* L. (Caryophyllaceae). *Clujul Medical* 1977, 50: 198-204.
5. Khalmatov KhKh, Pirmukhamedov, I. Phytochemical investigation of *Herniaria glabra*, a plant indigenous to Uzbekistan. *Rastitel'nye Resursy* 1967, 3: 442-445.
6. Czyszevska S. Chromatographic separation of saponins from *Herniaria glabra* and *Herniaria hirsuta* and chromatographic identification of their sugar component. *Biuletyn Instytutu Roslin Leczniczych* 1963, 9: 12-20.
7. Triterpene compounds in plant materials. IV. Chromatographic characterization of the more important saponins in medicinal plants. Pasich B. *Dissertationes Pharmaceuticae* (1961), 13, 1-10. cf. CA 55, 5873e
8. Study of saponins in *Herniaria hirsuta* and *H. glabra*. Czyszevska S. *Biuletyn Instytutu Roslin Leczniczych* (1960), 6, 192-194.
9. Isolation of flavones from *Herniaria glabra*. Borkowski B, Pasich B. *Planta Medica* (1958), 6, 225-237.
10. Saponins from domestic [German] plants. Wagner E. *Seifensieder-Zeitung* (1941), 68, 35.

11. Zhonghua Jia, Kazuo Koike, Niranjana P. Sahu, Tamotsu Nikaido. Triterpenoid saponins from *Caryophyllaceae* family, in *Studies in Natural Products Chemistry Bioactive Natural Products* (Ed. Atta-ur-Rahman). 2002, Vol. 26, Part G, 3-61
12. Lazari DM, Skaltsa HD, Constantinidis T. Composition of the essential oil of *Herniaria incana* Lam. from Greece. *Journal of Essential Oil Research*, 2000, 12: 435-437.
13. Jalas J. *Herniaria* in Flora of Turkey and the East Aegean Islands. In: Davis PH (ed). Edinburgh UK, Edinburgh University Press, 1967, 2: 245-250.
14. Ekim T. *Herniaria* in Flora of Turkey and the East Aegean Islands. In: Davis PH (ed). Edinburgh UK, Edinburgh University Press, 2000, 11: 53.
15. Klein G, Jurenitsch J, Kubelka W. Structure of the saponins from *Herba Herniariae* (*Herniaria glabra* L. and *Herniaria hirsuta* L.). *Scientia Pharmaceutica* 1982, 50: 216-233.
16. Mbark AN, Charrouf Z, Guillaume D, Kol O. New glycosides from *Herniaria fontanesii*. *Studies in Plant Science (Advances in Plant Glycosides, Chemistry and Biology)* 1999, 6: 314-319.
17. Mbark AN, Charrouf Z, Wieruszkeski JM, Leroy Y, Kol O. *Herniaria* saponin A, a novel saponin from *Herniaria fontanesii*. *Natural Product Letters* 1995, 6: 233-240.
18. Charrouf Z, Mbark AN, Guillaume D, Leroy Y, Kol O. *Herniaria* saponin B, a novel triterpenoid saponin from *Herniaria fontanesii*. *Advances in Experimental Medicine and Biology (Saponins Used in Food and Agriculture)*. 1996, 405: 241-245.
19. Mbark AN, Guillaume D, Kol O, Charrouf, Z. Triterpenoid saponins from *Herniaria fontanesii*. *Phytochemistry*. 1996, 43: 1075-1077.
20. Mbark AN, Charrouf Z, Wray V, Nimtz M, Schopke TH. Monodesmosidic saponins from *Herniaria hirsuta*. *Pharmazie* 2000, 55: 690-692.

21. Reznicek G, Cart J, Korhammer S, Kubelka W, Jurenitsch J, Haslinger E. The first two spectroscopically confirmed saponins from *Herniaria glabra* L. *Pharmazie*. 1993, 48: 450-452.
22. Schroeder H, Schubert-Zsilavec M, Reznicek G, Cart J, Jurenitsch J, Haslinger E. A triterpene saponin from *Herniaria glabra*. *Phytochemistry*. 1993, 34: 1609-1613.
23. Freiler M, Reznicek G, Jurenitsch J, Kubelka W, Schmidt W, Schubert-Zsilavec M, Haslinger E, Reiner J. New triterpene saponins from *Herniaria glabra*. *Helvetica Chimica Acta*. 1996, 79: 385-390.
24. Freiler M, Reznicek G, Schubert-Zsilavec M, Reiner J, Haslinger E, Jurenitsch J, Kubelka W. Structures of triterpene saponins from *Herniaria glabra*. *Scientia Pharmaceutica*. 1996, 64: 359-365.
25. Cheriti A, Sekkoum K. Flavonoids from *Herniaria mauritanica*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1996, 58: 203-204.
26. Boguslavskaya LI, Tikhonov AI, Pashnev PD, Jemal B, Sklyar VI. Flavonoid compounds of *Herniaria polygama*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* 1985, 411.
27. Cheriti A, Sekkoum K. Chemical constituents of Algerian *Herniaria mauritanica*. *Indian Journal of Natural Products*. 1995, 11: 19-20.
28. Mbark AN, Guillaume D, Cherrah Y, Wieruszeki JM, Ricart G, Charrouf Z. An acylated isorhamnetin glycoside from *Herniaria fontanesii*. *Phytochemistry* 1996, 41: 989-990.
29. Krolikowska M, Szymanska M, Wolbis M. Rhamnazin 3-rutinoside from *Herniaria ciliolata* Meld. spp. *robusta* Chaudhri. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 1983, 40: 643-648.
30. Zoz IG, Komissarenko NF, Chernykh NA. Chemotaxonomic study of species of the genus *Herniaria* L. of USSR flora. *Rastitel'nye Resursy*. 1976, 12: 411-414.

31. Komissarenko NF. Coumarins from some species of the genus *Herniaria*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*. 1970, 6: 624.
32. Horhammer L, Wagner H, Probst W. Diuretic principle from *Herniaria glabra*. *Naturwissenschaften*. 1960, 47: 63-64.
33. Primukhamedov I, Tillyaev KS, Khalmatov Kh.Kh. Coumarins of *Herniaria glabra* growing in Uzbekistan. Edited by Khalmatov, Kh. Kh Mater. Yubileinoi Resp. Nauchn. Konf. Farm., Posvyashch. 50-Letiyu Obraz. SSSR 1972, 169-170.
34. Rhiouani H, Lyoussi B, Sattaf A, Cherrah Y, Hassar M. Antihypertensive effect of *Herniaria glabra* saponins in the spontaneously hypertensive rat. *Annales Pharmaceutiques Francaises*. 2001, 59: 211-214.
35. Rhiouani H, Settaf A, Lyoussi B, Cherrah Y, Lacaille-Dubois MA, Hassar M. Effects of saponins from *Herniaria glabra* on blood pressure and renal function in spontaneously hypertensive rats. *Therapie*. 1999, 54: 735-739.
36. Borkowski B. Diuretic action of several flavone drugs. *Planta Medica*. 1960, 8: 95-104.
37. Jaretsky R, Kruse A. Effect of herba *herniariae* on diuresis in rats. *Archiv der Pharmazie und Berichte der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft*. 1941, 279: 187-193.
38. Czyszewska S, Kaczmarek F, Szpunar K. Effect of Herba *Heriariae* on the isolated small intestine of a rabbit and on diuresis in a dog. *Biuletyn Instytutu Roslin Leczniczych*. 1963, 9: 121-135.
39. Lozyuk LV. Antiviral properties of some compounds of plant origin. *Mikrobiologichnii Zhurnal*. 1977, 39: 343-348.
40. Atmani F, Farell G, Lieske JC. Extract from *Herniaria hirsuta* coats calcium oxalate monohydrate crystals and blocks their adhesion to renal epithelial cells. *The Journal of urology*, 2004, 172: 1510-1514.

41. Atmani F, Slimani Y, Mimouni M, Aziz M, Hacht B, Ziyat A. Effect of aqueous extract from *Herniaria hirsuta* L. on experimentally nephrolithiasic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 2004, 95: 87-93.
42. Atmani F, Slimani Y, Mimouni M, Hacht B. Prophylaxis of calcium oxalate stones by *Herniaria hirsuta* on experimentally induced nephrolithiasis in rats. *BJU international*, 2003, 92: 137-140.
43. Atmani F, Khan SR. Effects of an extract from *Herniaria hirsuta* on calcium oxalate crystallization in vitro. *BJU international*, 2000, 85: 621-625.
44. Grases F, Ramis M, Costa-Bauza A, March JG. Effect of *Herniaria hirsuta* and *Agropyron repens* on calcium oxalate urolithiasis risk in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 1995, 45: 211-214.
45. Saponiferous plants as soap substitutes in Germany. Anon. *Journal of the Society of Chemical Industry*, London. 1918, 37: 280.
46. Rhiouani H, El-Hilaly J, Israili ZH, Lyoussi B. Acute and sub-chronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of *Herniaria glabra* in rodents. *Arid Land Research and Management*. 2008, 22: 286-295.
47. Sokar Z, Gadhi CA, Benharref A, Jana M. Toxic effect of *Herniaria cinerea* DC. on the stomach, intestine, lung, and kidney of rats. *Journal of ethnopharmacology*, 2003, 88: 149-153.
48. Darmograi VN, Kalacheva NM. A Chinese medicinal preparation for treating pyelonephritis and its application. RU 2088253 C1 19970827, (1997).
49. Akulshina EV, Darmograi VN, Zhiborev BN, Strov EA. A pharmaceutical composition for the treatment of chronic pyelonephritis and its preparation method, SU 2026079 A1 19950109,1995.

50. Savin, VN. A method for preparing high bioactivity honey, RU 2130714 C1 19990527, 1999.
51. Kirillov NA, Mitrasov YN, Ionova EA, Sergeeva VE, Russ. A medicated liquor containing medicinal composition for treating and preventing diseases, RU 2192877 C1 20021120, 2002.
52. Agrawal PK. Carbon-13 NMR of Flavonoids. *Elsevier Science Publishing Company Inc. New York*, 1989.
53. Foo LY, Lu Y, Molan AL, Woodfield DR, McNabb WC. The phenols and prodelphinidins of white clover flowers. *Phytochemistry* 2000, 54: 539-548.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	: Eylem KINA
Doğum Yeri ve Tarihi	: KARS/SUSUZ -01.09.1980
Eğitim Durumu	
Lisans Öğrenimi	: Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü
Y. Lisans Öğrenimi	: Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi ABD
Bildiği Yabancı Diller	: İngilizce
İş Deneyimi	
Çalıştığı Kurumlar	Atatürk Üniversitesi Araştırma Görevlisi
İletişim	
E-Posta Adresi	: eylem.kina@atauni.edu.tr
Tel	: 0442 316 31 80

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

“2011. 4.1/ 10 “SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 06.10.2011

1/10- Enstitümüz Eczacılık Farmakognozi Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Eylem KINA' nın “ *Herniaria İncana Lam. Üzerinde Farmakognozik Çalışmalar* ” tez konusu görüşüldü;

İlgilinin tez konusunun etik değerlere uygun olduğu mevcudun oybirliği ile,

ADI SOYADI	GÖREVİ	İMZA
Prof.Dr.Türkan PASİNLİOĞLU	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkanı	
Prof. Dr. Funda BAYINDIR	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkan Yardımcısı	
Prof. Dr. İsmail CEYLAN	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	<u>Katılmadı</u>
Prof. Dr. Mustafa ATASEVER	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	<u>Katılmadı</u>
Prof. Dr. Zekeriya AKTÜRK	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	<u>Katılmadı</u>
Prof. Dr. H. İnci GÜL	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç. Dr. Hakan USLU	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç.Dr. Abdulkadir YILDIRIM	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Yrd. Doç. Dr. İlhan ŞEN	Raportör	