

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***CISTUS CRETICUS* L. VE *CISTUS LAURIFOLIUS* L. STANDARDİZE
EKSTRELERİNİN HAZIRLANMASI VE BİYOLOJİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kübra ERDUĞAN

**Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı
Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Yüksek Lisans Programı**

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL

ŞUBAT 2021

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***CİSTUS CRETICUS L. VE CİSTUS LAURIFOLIUS L. STANDARDİZE
EKSTRELERİNİN HAZIRLANMASI VE BİYOLOJİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI***



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Kübra ERDUĞAN
(185313002)**

**Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı
Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Yüksek Lisans Programı**

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL

ŞUBAT 2021

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 185313002 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Kübra ERDUĞAN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “*CISTUS CRETICUS* L.VE *CISTUS LAURIFOLIUS* L. STANDARDİZE EKSTRELERİNİN HAZIRLANMASI VE BİYOLOJİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Murat KARTAL**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Fatih DEMİRCİ
Anadolu Üniversitesi

Teslim Tarihi : **02 Nisan 2021**
Savunma Tarihi : **04 Şubat 2021**



Eşime ve oğluma,

ÖNSÖZ

Yüksek lisans süreci boyunca bana tüm desteğini ve bilgi birikimini, deneyimlerini her zaman aktaran sayıdeğer hocam Prof. Dr. Murat KARTAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgisini, deneyimlerini ve tavsiyelerini sınırsız şekilde aktararak kendimi geliştirmeme destek olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tüm laboratuvar çalışmalarım boyunca bana hem zamanı hemde bilgi birikimleri ile her zaman destek olan başta İlker DEMİRBOLAT ve Kevser SALİHLER olmak üzere Bezmialem Fitoterapi Eğitim, Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİTEM) çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Tezım boyunca *Cistus creticus L.* ve *Cistus laurifolius L.* bitkilerinin toplanmasında bana destek olan Meltem URUÇ ve eşim Oğuz ERDUĞAN'a emeklerinden ötürü teşekkür ederim.

Tezımın tüm süreçlerinde ve hayatımın her anında bana her zaman güvenip teşvik eden, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen anne ve babam Asuman ve Mehmet TİRZİK'e çok teşekkür ederim.

Tez sürecim boyunca oğlumıza annelik yapan eşim Oğuz ERDUĞAN'a hayatımda olduğu ve bana her zaman destek olduğu için teşekkür ederim

Şubat 2021

Kübra ERDUĞAN

(Biyolog)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Kübra ERDUĞAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iv
BEYAN.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
SEMBOLLER	ix
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xii
SUMMARY	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Cistaceae Familyası.....	3
2.2. <i>Cistus</i> L. Cinsi.....	3
2.3. <i>Cistus</i> Türlerinin Yayılışı.....	3
2.4. Sistematik.....	4
2.5. <i>C. Creticus</i> ve <i>C. laurifolius</i> Türleri İçin Tayin Anahtarı.....	6
2.6. <i>Cistus laurifolius</i> L.....	6
2.7. <i>Cistus creticus</i> L.....	6
2.8. <i>Cistus</i> L. Türlerinin Kimyasal Bileşimi	7
2.8.2. Flavonoidler.....	8
2.8.3. Flavanoller.....	12
2.8.4 Lignan glikozitleri.....	17
2.8.5. Uçucu yağlar.....	18
2.9. <i>Cistus</i> LTürlerinde Daha Önce Yapılan Çalışmalar.....	22
2.9.1 Sitotoksik aktivite.....	22
2.9.2. Antimikrobiyal aktivite.....	22
2.9.3 Antioksidan aktivite.....	23
2.9.4. Analjezik aktivite.....	23
2.9.5. Diğer farmakolojik aktiviteler.....	23
2.9.6. Sağlık üzerine yapılan çalışmaları.....	23
2.10. <i>Cistus</i> L Türlerinin Etkin Bileşiklerinin Analiz Yöntemleri	25
2.10.1. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC).....	25
2.10.2. Kütle spektrometrisi (MS).....	26

3.GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Bitkisel Materyal.....	27
3.2. Yöntem.....	27
3.2.1. Ekstrelerde total flavonoit miktarının belirlenmesi.....	27
3.2.2. Ekstrelerde total fenolik madde miktarının belirlenmesi.....	31
3.3.Creticus ve Laurifolius Ekstrelerinde Fenolik ve Saponin Bileşen Tayini	33
3.3.1 HPLC yöntemi.....	33
3.3.1.1. Ekstrelerin eldesi.....	33
3.3.2.Ekstrelerde antioksidan aktivitenin belirlenmesi.....	36
4. BULGULAR	40
4.1. HPLC Bulguları	40
4.2. Total Fenol ve Flavonoit İçeriğine Ait Bulgular.....	45
4.3. Antioksidan Aktiviteye Ait Bulgular	47
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	49
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	65

KISALTMALAR

Akontrol	: Akontrolün absorbansı
Aörnek	: Aörneğin absorbansı
BHA	: Bütillenmiş hidroksi anisol
BPA	: Bütillenmiş hidroksi tolüen
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EtOH	: Etanol
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
Gly	: Gliserin
H2O	: Su
OGM	: Orman Genel Müdürlüğü
pH	: Hidrojen gücü-+
STD	: Standart sapma
UV	: Ultraviyole
UV-VIS	: Ultraviyole Görünür Bölge
YBSK	: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

SEMBOLLER

cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
mL	: Mililitre
g	: Gram
μl	: Mikrolitre
mg	: Miligram
M	: Molarite
%	: Yüzde
μ	: Mikron
L	: Litre
ppm	: Milyonda bir kısım

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1 : <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen bazı flavonoidler.....	9
Tablo 2.2 : <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen bazı flavanoller.....	13
Tablo 2.3 : <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen bazı lignan glikozitleri.....	18
Tablo 2.4 : <i>Cistus</i> L. türlerinden elde edilen bazı uçucu yağlar ve terpenik bileşikler.	19
Tablo 2.5 : <i>C.creticus</i> ve <i>C.laurifolius</i> Bitkilerinin Halk Arasında Kullanımı.	24
Tablo 3.1 : <i>Cistus creticus</i> ekstrelerinin verimleri.	28
Tablo 3.2 : <i>Cistus laurifolius</i> ekstrelerinin verimleri.	29
Tablo 3.3 : Kullanılan Çözücü sistemleri.....	31
Tablo 3.4 : HPLC Gradient time.	33
Tablo 3.5 : HPLC Gradient time.	35
Tablo 3.6 : Kullanılan Çözücü Sistemleri.	36
Tablo 3.7 : DPPH Yönteminin formülünde kullanılan birimle.	39
Tablo 4.1 : Bitki ekstrelerinde tayin edilen bileşikler ve miktarları (mg/L).	40
Tablo 4.2 : <i>C. creticus</i> bitkisinde Total Poli Fenol ve Total Flavanoit Bulguları.....	46
Tablo 4.3 : <i>C.laurifolius</i> bitkisinde Total Poli Fenol içeriği ve Total Flavanoit içeriği Bulguları.....	47
Tablo 4.4 : <i>C.creticus</i> için DPPH % İnhibisyon.	48
Tablo 4.5 : <i>C.laurifolius</i> için DPPH % İnhibisyon.	48
Tablo 5.1 : Alman Finzelberg firmasının patentli <i>Cistus</i> L. hammaddesi.	53

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Cistus sp.'nin Türkiye'de dağılışı [63].....	4
Şekil 2.2 : Cistus creticus genel görünüş [85].	5
Şekil 2.3 : Cistus laurifolius genel görünümü [85].....	5
Şekil 3.1 : Kersetin kalibrasyon eğrisi grafiği.	30
Şekil 3.2 : Gallik asit kalibrasyon eğrisi grafiği.	32
Şekil 3.3 : Viyallerin Genel Görünümü.....	39
Şekil 4.1 : Cistus creticus'a Ait Kromatogramlar.....	43
Şekil 4.2 : Cistus laurifolius Ait Kromatogramlar.....	44
Şekil 5.1 : Cistus L. ait patent örneği (Finzelberg).....	52
Şekil 5.2 : Cistus L. türlerinin DPPH süpürücü özellikleri.	52

CISTUS CRETICUS L. VE CISTUS LAURIFOLIUS L. STANDARDİZE EKSTRELERİNİN HAZIRLANMASI VE BİYOLOJİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Cistaceae (ladengiller) familyası ılıman bölge olarak özellikle kuzey yarım kürede, akdeniz ikliminde dağılışı olan toplam 8 cins 180 tür bulunduran bir familyadır. En önemli üyesi ise *Cistus L.* cinsi dünyada 21 Türkiye’de ise 5 tür ile temsil edilmektedir. *Cistus L.* türleri ülkemizde genel olarak ‘karağan, pamukluk, laden’ gibi isimlerle bilinmektedir.

Cistus türleri halk arasında özellikle kısırlık, yüksek ateş, ülser, deri hastalıkları, romatizma, idrar yolu rahatsızlıkları, antidiyabetik ve anti-enflamatuvar gibi kullanım alanları bulunmaktadır.

Bu çalışmada *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* bitkilerinin antioksidan, antiülser ve antikanserojen yönden değerlendirmesi yer almaktadır. Yapılan bu çalışmada elde edilen veriler *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* bitkilerinin tıbbi özelliklerinin aydınlatılmasına katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Cistus creticus ve *Cistus laurifolius* bitkilerinde total fenolik madde miktarı belirlenirken Folin-Ciocalteu metodu kullanılmıştır. Bitkilerin toprak üstü kısımlarının likit ekstralarının fenolik madde miktarı % 3,9 ile % 22,4 aralığındadır. Total flavonoit madde miktarı ise alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi ile belirlenmiştir. Bitkilerin toprak üstü kısımlarının likit ekstralarının flavonoit madde miktarı % 0,3 ile % 14,6 olarak belirlenmiştir. Antioksidan kapasitesi ise DPPH yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* bitkilerinin halk arasındaki kullanımlarında dikkate alınarak ilaç sektöründe öncü bir hammadde olarak kullanılabilmesi, ülkemizde olmayan Avrupa’da ise kullanımı yaygın olan preparatları konusunda bilgi verilmiştir. Bu çalışmada ayrıca *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* bitkilerinin antioksidan özelliğinden bahsedilerek yüksek radikal süpürücü etkinliğine ve anti-enflamatuvar etkinliğine değinilmiştir.

C. creticus ve *C. laurifolius* bitkilerinin ülkemizde doğal olarak yetişmesi nedeniyle bitkisel kökenli ilaç hammaddesi açısından değeri vurgulanmıştır. Geniş yayılım alanı gösteren ve doğal olarak yetişen bu iki tür zengin fenolik içeriği nedeniyle ilaç adayı moleküllerin elde edilmesinde potansiyel olarak kaynak olabileceği düşünülebilir

Anahtar Kelimeler: *Cistus creticus*, *Cistus laurifolius*, Extract, Fenolik bileşikler

CISTUS CRETICUS L. AND CISTUS LAURIFOLIUS
L. PREPARING STANDARDIZED EXTRACTS AND INVESTIGATION
OF THE BOLOGICAL EFFECTS

SUMMARY

Cistaceae (ladengiller) family is a family consisting of 180 species in total, 8 genera, which are distributed in the Mediterranean climate, especially in the northern hemisphere, as the temperate zone. The most important member of the genus *Cistus* L. 5 is represented by 21 species in the world and in Turkey.

Cistus L. species are generally known in our country with names such as "blackberry, cotton bush, and laden". *Cistus* species are used among the public, especially in infertility, high fever, ulcers, skin diseases, rheumatism, urinary tract diseases, antidiabetic and anti-inflammatory. This study includes the evaluation of *Cistus creticus* and *Cistus laurifolius* plants in terms of antioxidant, antiulcer and anticarcinogenic. The data obtained in this study is aimed to enlighten the medicinal properties of *Cistus creticus* and *Cistus laurifolius* plants. The Folin-Ciocalteu method was used to determine the total amount of phenolic matter in *Cistus creticus* and *Cistus laurifolius* plants. The phenolic content of the liquid extracts of the above-ground parts of the plants is between 3.9% and 22.4%. The total flavonoid content was determined by the aluminum chloride colorimetric method. The flavonoid content of the liquid extracts of the above-ground parts of the plants was determined as 0.3% to 14.6%. Antioxidant capacity was determined using the DPPH method. In line with the results obtained, information was given about the preparations that *Cistus creticus* and *Cistus laurifolius* plants can be used as a pioneering raw material in the pharmaceutical industry, taking into account their use among the public, and their use in Europe, which is not in our country. In this study, the antioxidant properties of *Cistus creticus* and *Cistus laurifolius* plants were mentioned, and their high radical scavenging activity and anti-inflammatory activity were mentioned.

Since *C. creticus* and *C. laurifolius* plants grow naturally in our country, their value in terms of herbal-based pharmaceutical raw materials has been emphasized. These two species, which show a wide range and grow naturally, can be considered potentially a resource for obtaining drug candidate molecules due to their rich phenolic content.

Keywords: *Cistus creticus*, *Cistus laurifolius*, Extract, Phenolic compounds

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Serbest radikaller electron fazlalığı yada azlığı olan moleküller olup, yüksek enerjije sahiplerdir. Serbest radikaller hücrenin içerisinde, mitokondride şekerlerin ve yağ asitlerinin sindirilmesinin sonucunda yan ürün olarak ortaya çıkarlar.

Serbest radikaller elektron azlığı durumunda hücre zarından ve hücre içindeki RNA ve DNA'dan almaya çalışırlar, bu sırada hücre zarına zarar verirler. Hücre zarı bu zararı onaramazsa kanser hücrelerinin oluşumu, Alzheimer, Vitiligo gibi birçok hastalık ortaya çıkmaya başlar [1,2]. Antioksidanlar ise; serbest radikallere fazla elektronlarını veya hidrojenlerini vererek serbest radikalleri kolayca etkisiz hale getiren moleküllerdir [3].

Bu çalışmanın amacı, Türkiye'de doğal olarak yetişen ve son yıllarda kullanımı da artan *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* türlerinin tıbbi özelliklerinin aydınlatılmasına katkı sağlamaktır. Bu tezde ayrıca ülkemizin endemik bitkilerinden olan *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* türlerinin insan sağlığı açısından öneminin araştırılmasında amaçlanmıştır.

Hedeflenen amaç doğrultusunda gerekli literatür çalışmaları yapılmıştır. *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* türlerinin total fenolik madde miktarı, total flavonoid madde miktarı, DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite tayini, fenolik ve saponin bileşen tayini bakılmıştır. Her iki bitkininde toprak üstü kısmı ve yaprak kısımları kullanılmıştır.

Ülkemizde ve dünyada ise gün geçtikçe bitkiler ve bitkilerden hazırlanan ürünlere karşı olan talep artmaktadır. Bu nedenle birçok hastalığın tedavisinde bitkiler ve bitkisel kökenli preparatlar kullanılmaktadır.

Standardize ekstrelerin hazırlanması ve bu ekstrelerin Avrupa

Farmakopesin kalitesinde üretilebilmesi, ülkemiz için bitkisel ilaç sanayiinin ham madde teminini yerli kaynaktan elde edilmesi açısından oldukça önem taşımaktadır. Bu çalışmada bu ürünlerin ülkemizde üretilebileceğinin ortaya konması ve ekonomimize yeni bir sektör oluşturulmasında öncü olmak amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Cistaceae Familyası

Genel olarak çalı, çok veya tek yıllık otsu bitkiler olmakla birlikte; stipulalı veya stipulasız yapraklar basit konumlanmış ve karşılıklıdır. Sepaller ise 3 yada 5, genel olarak eşit değildirler. Aktinomorfik korolloya sahiptirler. Petaller ise 5 adet serbest, sarı, pembe yada beyaz, düşüçüdür. Çok sayıda stamen bulunur ve serbest haldedirler. Üst durumlu ovaryum, 3 -10 karpel, stilus ise tektir. Meyve ise bu familyada lokulusit kapsuladır. Tohumlar ise 3 yada daha fazla sayıda olmaktadır [10,11].

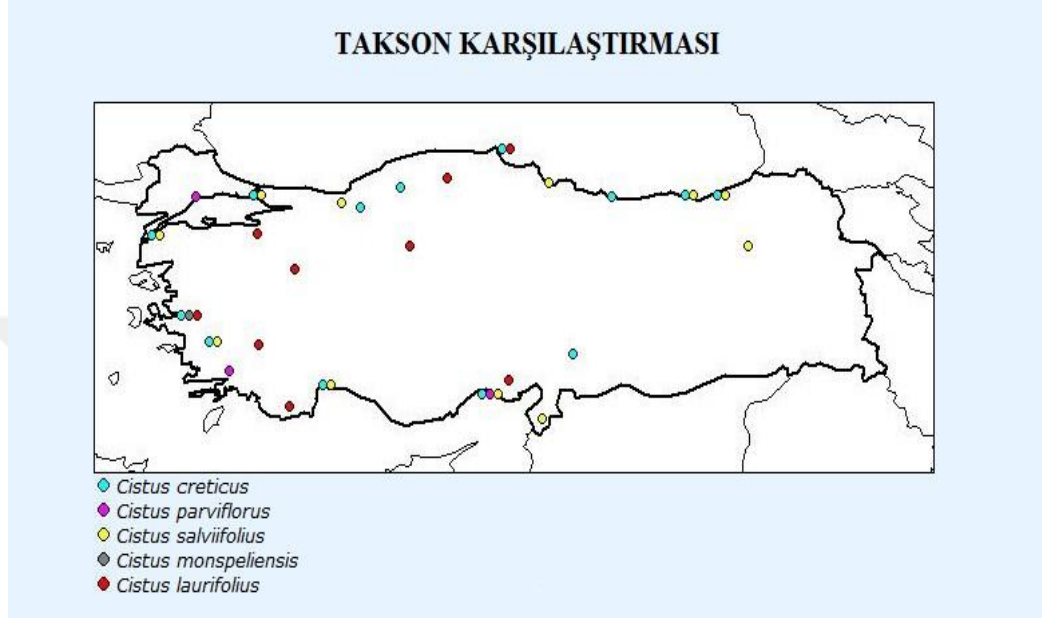
2.2. *Cistus* L. Cinsi

Çalı şeklinde olan bitkiler genel olarak stipulasız, saplı yapraklı ve karşılıklıdır. Genel olarak düzgün gövdeleri ve karşılıklı bol dallıdırlar. Buradaki en önemli özellik ise ekli veya demetler halinde olan yapraklar basit epidermal tüyler (trikomlar) ile kaplıdır. 5 adet veya 3 adet sepal bulunmakta. Dışta bulunan sepaller ya içtekiler kadardır ayda daha büyüktür. Pembe yada beyaz petallere sahiptirler. Stamenlerin hemen hemen hepsi verimlidir. Kısa saplı stigma ya da düz bir stilus üzerindedir. Karpeller genel olarak 10 veya 5 adettir [10,11].

2.3. *Cistus* Türlerinin Yayılışı

Cistaceae (ladengiller) familyası ılıman bölge olarak özellikle kuzey yarım kürede, akdeniz ikliminde dağılışı olan toplam 8 cins 180 tür bulunduran bir familyadır Şekil 2.1 de Türkiye’de dağılışı gösterilmiştir. En önemli üyesi ise *Cistus* L. cinsi dünyada 21 Türkiye’de ise 5 tür ile temsil edilmektedir. *Cistus* L.

türleri ülkemizde genel olarak 'karağan, pamukluk, laden' gibi isimlerle bilinmektedir. Bu cins genel olarak hoş kokulu oldukları için parfümeri, kozmetik ve süs bitkileri sektörlerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca yanmaya karşı dirençleri nedeniyle orman yangınları gibi afetlerin büyümesinde kullanılmaktadır [72].



Şekil 2.1 : *Cistus sp.*'nin Türkiye'de dağılışı [63].

2.4. Sistematik

Cistaceae familyası 8 cins ve 180 tür olarak oluşmaktadır. Cinsin taksonomik olarak ayrımı ise şekil, yaprak sayıları, çiçek şekli ve rengi, meyve durumları gibi morfolojik özellikleri dahil olmak üzere fenotip olarak gözlemlere dayalı yapılmıştır [62].

Alem: *Plantae*

Alt alem: Tracheobionta

Üst şube: Spermatophyta (tohumlu bitkiler)

Şube: Magnoliophyta (çiçekli bitkiler)

Sınıf: Magnoliopsida (dikotiledonlular)

Alt sınıf: Dilleniidae

Takım: Violales

Familya: Cistaceae

Cins: *Cistus* L.



Şekil 2.2 : *Cistus creticus* genel görünüş [85].



Şekil 2.3 : *Cistus laurifolius* genel görünümü [85].

2.5. *C. Creticus* ve *C. laurifolius* Türleri İçin Tayin Anahtarı

- 1.pembe çiçekler; simoz terminal (uçta); sepal 5 tane ve yuvarlak ve tabanda.
- 2.Simoz gevşek yapıda; çiçekler 3-5(-6) cm boyunda; yapraklar üsttedir yeşil renk, stilus stamenlere eşit boy [25,26].

Cistus creticus

1.Çiçekler beyaz renkte; simoz lateral; Sepal 3 veya 5 adet, eğer sepal 5 tane ise tabanda kalp şeklidir ve dıştaki 3 sepal içteki 2 sepalden daha geniş olmaktadır [25,26].

2. Sepal 3 tane ise

Cistus laurifolius

2.6. *Cistus laurifolius* L.

Çalı formunda olan bitki genelde 30 ile 60 cm'ye kadar yükselebilmektedir. Yumurtamsı formda yaprakları vardır. Bu bitkilerin en karakteristik özelliği yaprakların her iki yüzeyinde yıldızlı tüylerle kaplı olmasıdır. Çiçekler ise 1 ile 3 adet arasında bulunmaktadır ve çiçekler beyaz renktedir. Maki alanlarında sıkça görülmektedir. Halk genel olarak bu bitkiyi 'laden, yavşancıl, karakan yaprağı, kaya gülü' gibi isimlerle anmaktadır. Bitki genel olarak mayıs – haziran aylarında çiçeklenmektedir. Ülkemizde ise yayılış olarak iç Anadolu, Akdeniz, Trakya ve Batı Anadolu'da görülmektedir [10, 73,74]. Genel görünüşü Şekil 2.3 de gösterilmiştir.

2.7. *Cistus creticus* L.

Genel olarak 100 cm gibi bir boya ulaşan çalılardır. Yaprakları yumurta gibi görünümde ya da laminası elipse benzer şekilde olabilir. Yapraklar pinnat şeklinde damarlanma gösterirken renk olarak yeşil ya da yeşilimsi bir renktedir genel olarak. En önemli özelliklerden biri olansa yaprakların yıldızlı tüylerle kaplı olmasıdır. 3 ile 15 mm çapına ait yaprak sapları bulunmaktadır. Toplamda 5 adet taç yaprak bulunmaktadır. Çiçekler kimoza yapıdadır ve eflatuna benzer

pembe bir renge sahiptir. Meyveler ise basık ve sık tüylüdür. Kayalık ve kurak yerlerde görülebilmektedir [74].

Cistus creticus sistematığı hakkında birden fazla fikir bulunmaktadır. Bazı kaynaklarda bu türün *C.albidus* x *C.crispus* hibridi olduğu kabul edilirken bazı kaynaklarda ise bu tür *C. creticus subsp. Eriocephalus* olarak isimlendirilmektedir. [82,83] Yapılan son güncellemelere ve kaynaklara göre *Cistus* × *incanus subsp. creticus* = *C. creticus subsp. creticus* olduğu düşünülmektedir [84]. Genel görünüşü Şekil 2.2 de gösterilmiştir.

2.8. *Cistus* L. Türlerinin Kimyasal Bileşimi

Yapılan çalışmalar sonucunda elden edilen bileşikler yapılarına göre; uçucu yağlar (seskiterpen ve monoterpenler), fenolikler (flavonoitler, flavanoller, lignan tipi glikozitler) ve diğer terpenik yapılar (diterpen ve triterpenler) olarak ayrılmıştır.

C. creticus subsp. creticus 92 terpen (36 monoterpen, 35 seskiterpen ve 21 diterpen) ve 12 fenilpropanoid-flavonoid bulunmaktadır [61].

C. laurifolius, ana fenilpropanoid kaynağıdır (44 flavonoid, 6 fenolik ve 7 tanen) ve ayrıca 4 terpen (1 labdan tipi diterpen ve 3 klerodan) ve 1 karbonik bileşik içerir [61].

Benzer şekilde, birçok monoterpen ve oksijenli monoterpen, Yunanistan'da Girit'in farklı bölgelerinden toplanan *creticus* yaprağı ve uçucu yağında görülmüştür [61,22].

C. creticus subsp. Reçinesinden salgılanan uçucu yağların analizinde birkaç seskiterpen ve oksijenli seskiterpen varlığını ortaya çıkarmıştır. Birkaç diterpende mevcuttur [61,22].

Flavonoidler ise quercetin, myricetin, kaempferol, apigenin ve bunların türevlerini içeren çeşitli flavonoidler, olarak görülmektedir ve aynı flavonoidler *C.laurifolius* türündede görülmüştür [61].

Ayrıca genç *C. laurifolius* yapraklarının yaprak reçinesinde saptanan flavonol aglikonları quercetin 5,3'-dimetil eter ve quercetin 3,5,3'-trimetil eter tanımlanmış ve karakterize edilmiştir [61].

2.8.1. Fenolik bileşikler

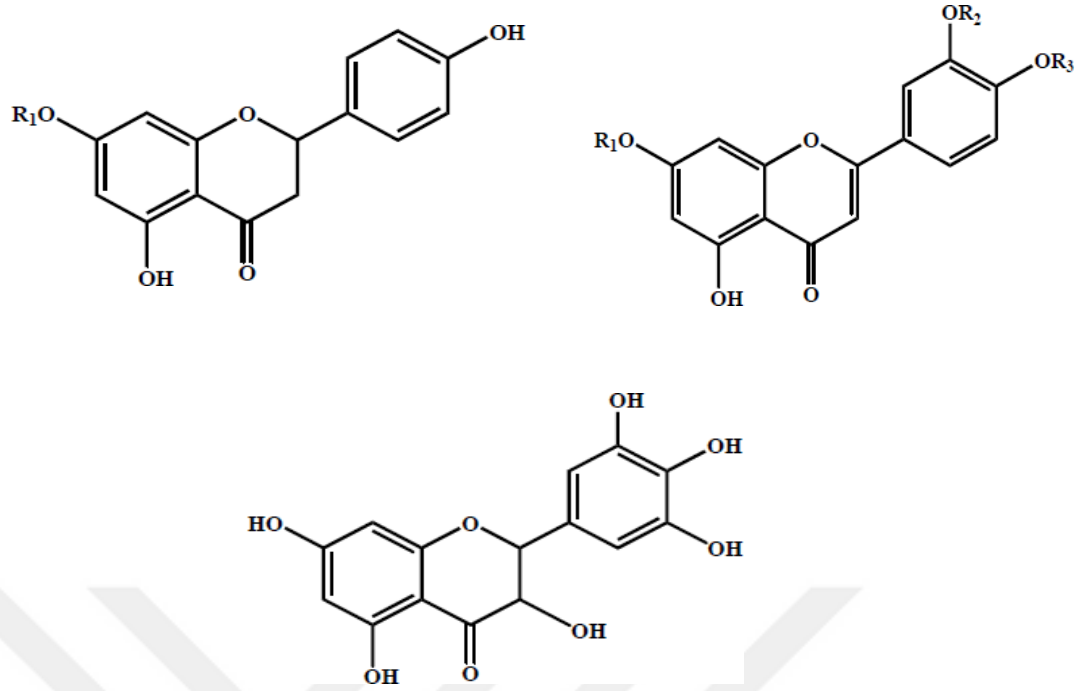
Fenolik bileşikler özellikle antioksidan dediğimiz sınıfın önemli bir grubunu oluşturur. Bitkilerde doğal halde bulunan bu bileşikler önemli sekonder metabolitlerdir.

Fenolik bileşiklerin özellikle son yıllarda üzerinde yapılan çalışmalarda antioksidan aktivitelerinin oldukça yüksek olduğunu ortaya koyan sayısız çalışma yapılmıştır. Büyük ölçüde sebze ve meyvelerde bulunan ve sağlık üzerine olumlu etkilerinden bahsedilen fenolik bileşikler; büyüme ve üreme gibi durumlarda patojenlere karşı koruyucu olmaları dışında olumsuz iç ve dış koşullara karşıda bir koyurucu görevde buldukları yine çalışmalarda kanıtlanmıştır [76]. Fenolikler genel olarak suda çözünen, hidroksil grubu barındıran geniş bir gruptur [75].

2.8.2. Flavonoidler

Flavonoidler, fenolik bileşiklerin oldukça geniş bir grubudur. Bu grupta; flavonoller (kaemferol, kuersetin), flavanoller (epikateşin, kateşin, epikateşin galat), antosiyaninler, izoflavonoidler (genistein), flavonlar (apigenin), flavononlar (naringin, naringenin), kumarinler, lignin gibi önemli maddeler bulunmaktadır. Flavonoidlerin bir diğer adı ise bitkisel pigmentlerdir. Sadece 1990 yılına kadar bile 5000'den fazla flavonoid alt birimi tespit edilmiştir [77].

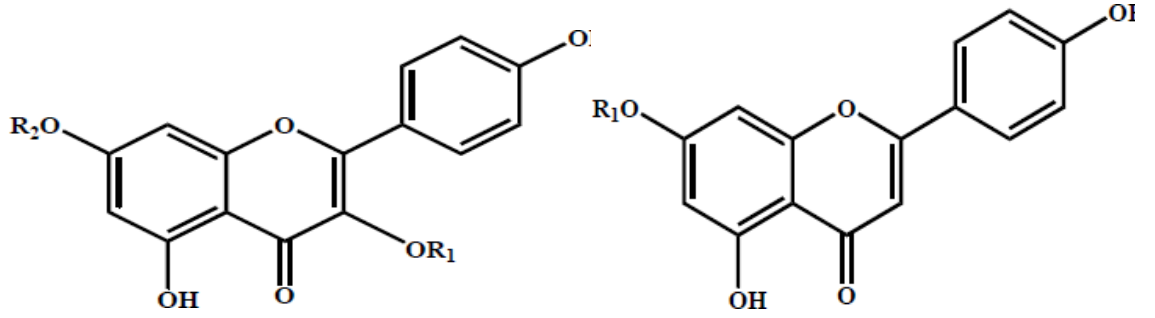
Yapı olarak ise flavonoidler yapılarında C6-C3-C6 olarak iki fenil halkası ile propan zincirinin birleşmesinden meydana gelmektedir ve genellikle 15 karbon atomuna sahiplerdir. Toplamda flavonoidler 6 alt gruba ayrılmaktadırlar (Flavonlar, flavonoller, protoantosiyanidinler, antosiyanidinler, kateşin, lokoantosiyanidinler) [78]. Elde edilen bazı flavonoidler Şekil 2.4'de gösterilmiştir.



Şekil 2.4: *Cistus* L. türlerinden elde edilen bazı flavonoidler.

Tablo 2.1: *Cistus* L. türlerinden elde edilen bazı flavonoidler.

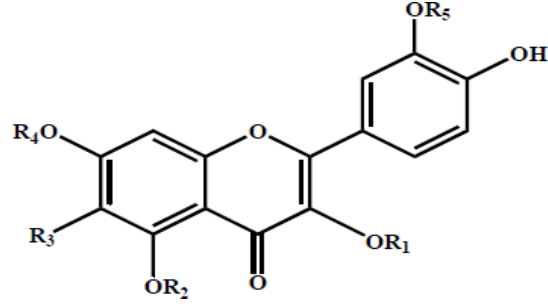
Bileşik	Bitki
Naringenin -7- metil eter	<i>C.laurifolius</i> [12]
2,3- Dihidromirsetin	<i>C.creticus</i> [13]
Luteolin	<i>C.laurifolius</i> [14]



Şekil 2.5 : *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavonoidler.

Tablo 2.2 : *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavonoidler.

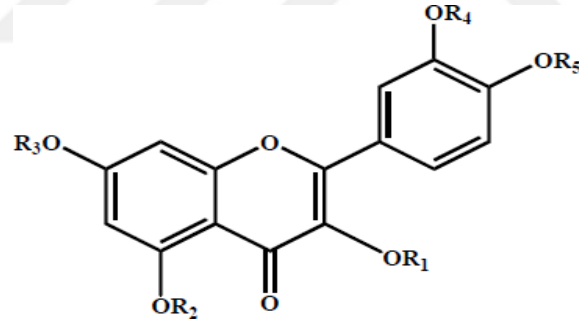
Bileşik	Bitki
Kamferol	<i>C.creticus</i> [14]
Kamferol 3- metil eter	<i>C.creticus</i> [14]
Kamferol 3,7- dimetil eter (jaranol)	<i>C.laurifolius</i> [15]
Kamferol 3- <i>O</i> - β D- Glukopiranozit	<i>C.creticus</i> [16]
Apigenin	<i>C.laurifolius</i> [15] <i>C.creticus</i> [14]



Şekil 2.6 : *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavonoidler.

Tablo 2.3 : *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavonoidler.

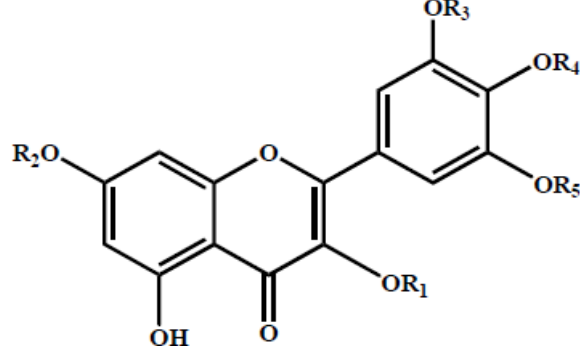
Bileşik	Bitki
Kersetin	<i>C.creticus</i> [14]
Kersetin 3-metil eter	<i>C.laurifolius</i> [15,17]
Kersetin 3- <i>O</i> - β -D- Glukopiranozit	<i>C.creticus</i> [16]
Kersetin 3- <i>O</i> - α -D- ramnozit	<i>C.laurifolius</i> [15]



Şekil 2.7 : *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavonoidler.

Tablo 2.4 : *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavonoidler.

Kersetin 3,4'- dimetil eter	<i>C.laurifolius</i> [15]
Kersetin 5,3'- dimetil eter	<i>C.laurifolius</i> [18]
Kersetin 3,5,3'-trimetil eter	<i>C.laurifolius</i> [18]



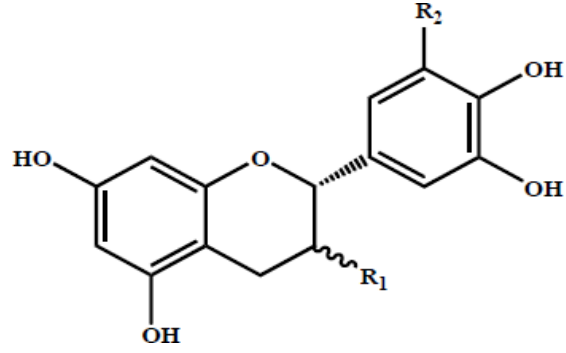
Şekil 2.8: *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavanoidler.

Tablo 2.5: *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavanoidler.

Bileşik	Bitki
Mirsetin	<i>C.creticus</i> [14]
Mirsetin 3-O-β-D galaktopiranozit	<i>C.creticus</i> [16]
Mirsetin 3-O-α-L-ramnopiranozit	<i>C.creticus</i> [16]

2.8.3. Flavanoller

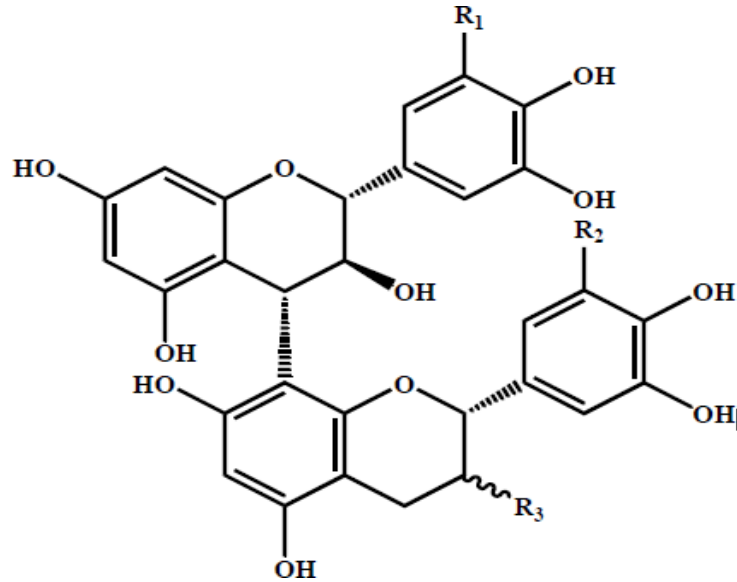
Flavanoidler kendi içlerinde merkez halka olan C halkasının oksidasyon durumuna göre altı başlığa ayrılırlar. Bu başlıklar şunlardır: flavonlar, flavonoller, flavanoller, flavanonlar, izoflavonlar ve antosiyaninler. Flavanollerin kimyasal özellikleri, bileşiklerin biyoyararlanımını etkiler ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesine yardımcı olur. Ayrıca flavanoidler antidiyabetik, antiinflamatuvar, antikanser ve nöroprotektif özelliklere sahiptir [80]. Elde edilen bazı flavanoller Şekil 2.9’de gösterilmiştir.



Şekil 2.9: *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavanoller.

Tablo 2.6: *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavanoller.

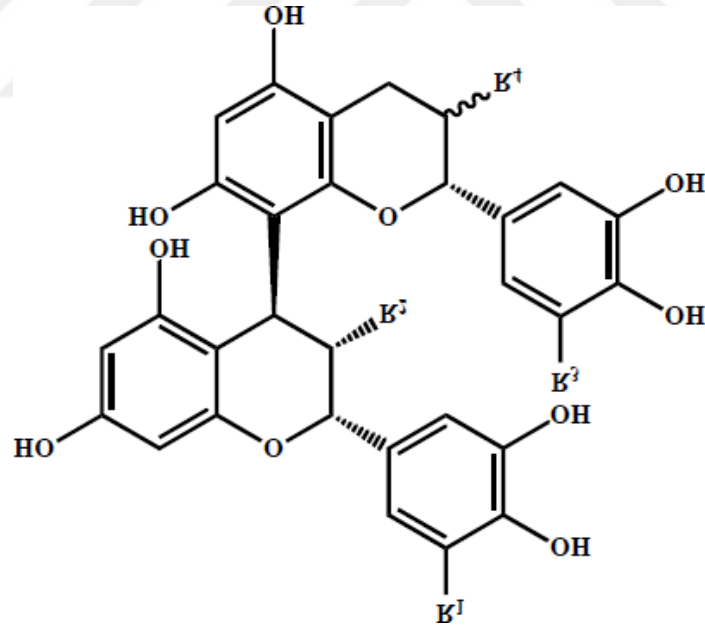
Bileşik	Bitki
Gallokateşin	<i>C.creticus</i> [19]
Kateşin	<i>C.creticus</i> [19]
Gallokateşin 3- O- gallat	<i>C.creticus</i> [19, 20]
Kateşin 3-O- α -L- ramnozid	<i>C.creticus</i> [19,20]



Şekil 2.10: *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavanoller.

Tablo 2.7: *Cistus* L. türlerinden elde edilen bazı flavanoller.

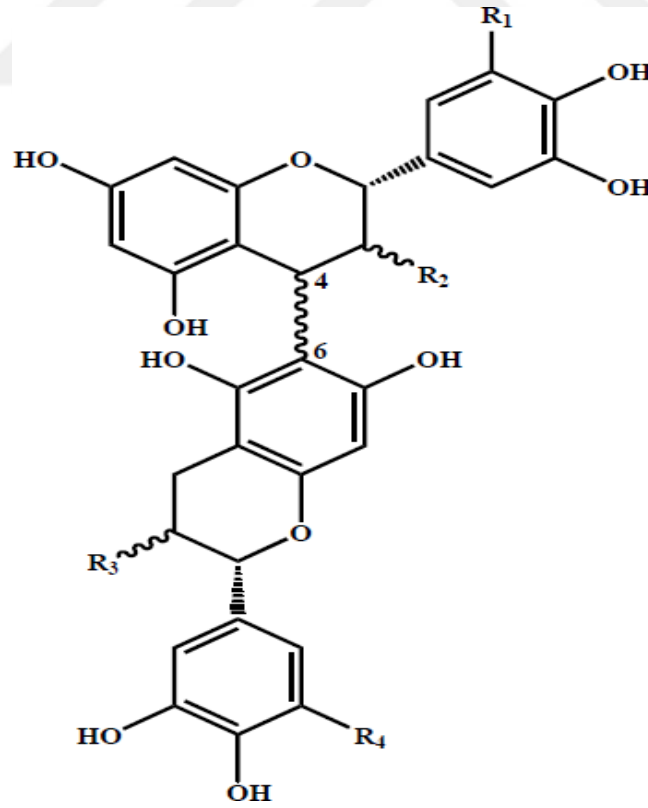
Bileşik	Bitki
Gallokateşin- (4 α →8)- gallokateşin	<i>C.creticus</i> [19,20]
Gallokateşin- (4 α →8)- kateşin	<i>C.creticus</i> [19,20] <i>C.creticus</i> [19]
Kateşin- (4 α →8)- gallokateşin	<i>C.creticus</i> [19]
Kateşin (4 α →8)- kateşin	



Şekil 2.11: *Cistus* L. türlerinden elde edilen bazı flavanoller.

Tablo 2.8: *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavanoller.

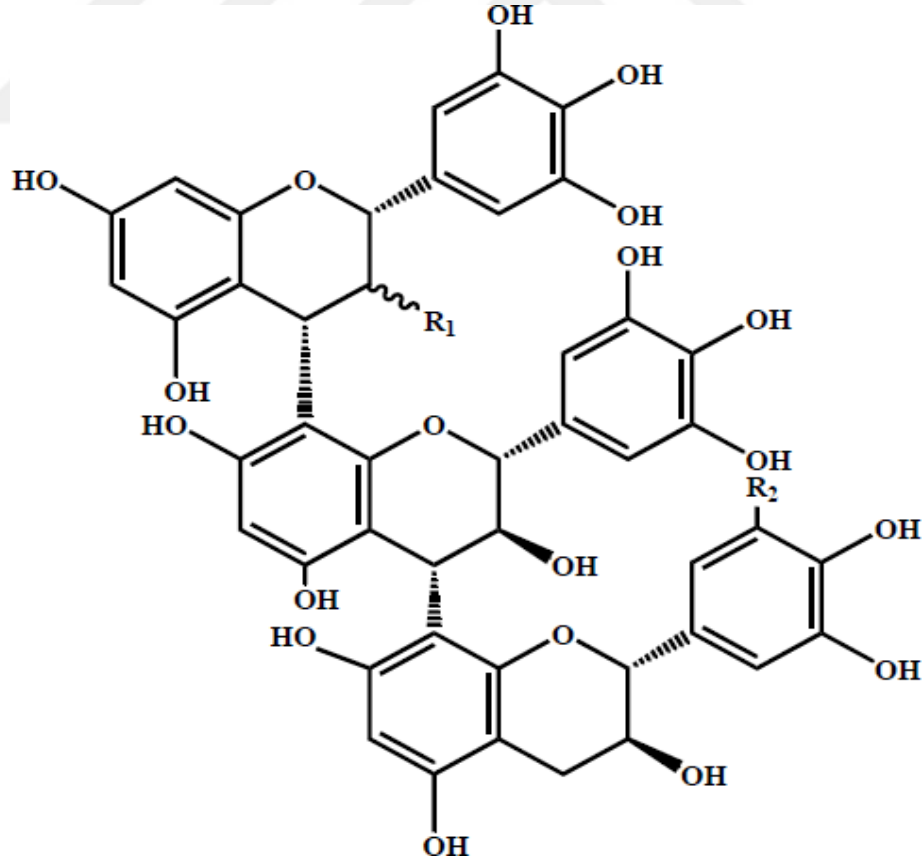
Bileşik	Bitki
Epigallokateşin-(4 β →8)- gallokteşin	<i>C.creticus</i> [21]
Epigallokateşin- (4 β →8)- kateşin	<i>C.creticus</i> [20,21]
Epikateşin- (4 β →8)- kateşin	<i>C.creticus</i> [19]
Epigallokateşin 3-O-gallat- (4 β →8)-epigallokateşin 3-O- gallat	<i>C.creticus</i> [19]
Epigallokateşin- 3-O-gallat- (4 β →8)-gallokteşin	<i>C.creticus</i> [21]



Şekil 2.12: *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavanoidler.

Tablo 2.9: *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavanoller.

Bileşik	Bitki
Epigallokateşin- (4 α →6) kateşin	<i>C.creticus</i> [19]
Epikateşin- (4 β →6)- kateşin	<i>C.creticus</i> [21]
Gallokateşin- (4 α →6)-	<i>C.creticus</i> [19]
Gallokateşin	
Epigallokateşin	
3- <i>O</i> -gallat (4 β →6)- gallokateşin	<i>C.creticus</i> [21]



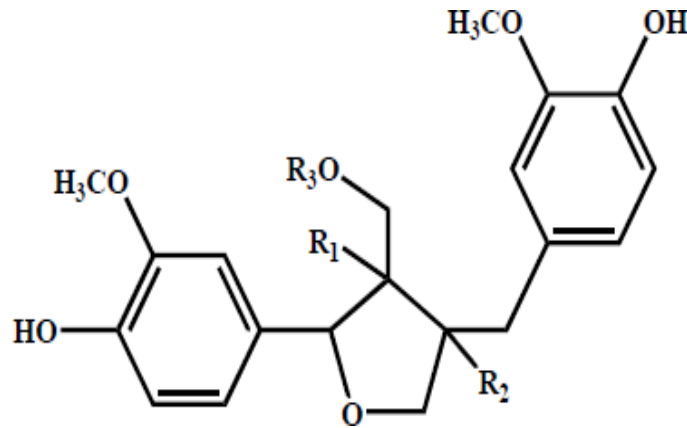
Şekil 2.13: *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavanoidler.

Tablo 2.10: *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı flavanoller.

Bileşik	Bitki
Gallokateşin- (4 α →8)- gallokateşin-(4 α →8)- kateşin	<i>C.creticus</i> [19]
Gallokateşin-(4 α →8)- gallokateşin- (4 α →8)- gallokateşin	<i>C.creticus</i> [21]

2.8.4 Lignan glikozitleri

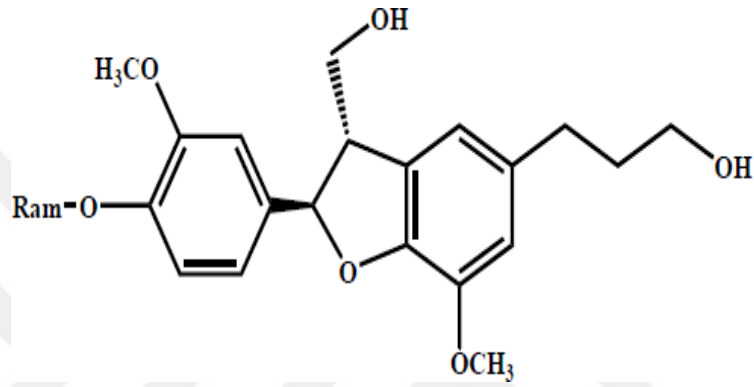
Lignanlar önemli fitoöstrojenik aktiviteye sahiptirler. Birçok biyolojik aktiviteleri uyarıcı olarak bilinmektedirler. Bu aktiviteler özellikle antitümör aktivite, antioksidan aktivite, antibakteriyel aktivite, antiviral ve antifungal aktivitelerdir. Lignanların farmakolojik olarak stres azaltıcı aktivite ve anti-enflamatuvar aktiviteyi sağladıkları görülmüştür. Lignanların özellikle insan sağlığı açısından yararlı fito- östrojenik etkileri nedeniyle prostat ve meme kanseri gibi hormon ilişkili kanserlerde, menopoz semptomlarını, kardiyovasküler hastalıkları ve osteoporozu azaltmayı hatta önlemeye yardımcı olduğu görülmüştür [81]. Elde edilen lignan glikozitleri Şekil 2.14'te gösterilmiştir.



Şekil 2.14: *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı lignan glikozitleri.

Tablo 2.11: *Cistus* L. türlerinden elde edilen bazı lignan glikozitleri.

Bileşik	Bitki
Olivil 9- <i>O</i> - β -D-ksilozit	<i>C.laurifolius</i> [15]
Berşemol 9- <i>O</i> - α -L-ramnozit	<i>C.laurifolius</i> [15]



Şekil 2.15: *Cistus* L. türlerinden elde edilen bazı lignan glikozitleri.

Tablo 2.12: *Cistus* L. türlerinden elde edilen bazı lignan glikozitleri.

Bileşik	Bitki
2,3-dihidro-2-(4'- α -L-ramnopiranoziloksi-3'-metoksifenil)-3-hidroksimetil-7- metoksi-5-benzofuranpropanol	<i>C.laurifolius</i> [15]

2.8.5. Uçucu yağlar

Cistus creticus uçucu yağında yapılan analizde monotерpenler, seskiterpenler, diterpenler, labdan tip diterpenler, aldehitler, alkanlar, esterler, yağ asitleri, ketonlar gibi bileşikler tespit edilmiştir. GC/MS analizi yapılan başka bir

çalışmada ise ana bileşenleri, α -kadinen, viridiflorol, bulnesol, ledol, α -kopaen, β -selinen, kubenen, manoil oksit ve 13-epi-manoil oksit olduğu görülmüştür. *Cistus creticus* ‘ladano’ adlı reçinesinden ise; ribenol, ribenol asetat, ent-13-epi-manoil oksit, malonik asit ile esterleşmiş diterpenler elde edildiği görülmüştür [22,6,23].

Cistus laurifolius bitkisinde ise GC/MS analizinde uçucu yağının ana bileşeni borneol ve nonakozan oldukları tespit edilmiştir [24]. Bazı uçucu yağ bileşenleri Tablo 2.13.’de gösterilmiştir.

Tablo 2.13: *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı uçucu yağlar ve terpenik bileşikler.

Bileşik	Bitki	
-Okso-8-hidroksi labdan-	<i>C.laurifolius</i>	Labdan tip diterpen[25]
15-oik asit, metil ester	<i>C.laurifolius</i>	Labdan tip diterpen [25]
6,8-Dihidroksi- labdan	<i>C.laurifolius</i>	Labdan tip diterpen [26]
15 oik asit	<i>C.laurifolius</i>	Labdan tip diterpen [26]
Salmantik asit		Labdan tip diterpen [26]
Salmantik asit metil esteri	<i>C.laurifolius</i>	Labdan tip diterpen [26]
Salmantidiol	<i>C.creticus</i>	Labdan tip diterpen [23]
13-Labden-8,15- diol		Labdan tip diterpen [27]
15-Asetoksi-13- labden	<i>C.creticus</i>	Labdan tip diterpen [27]
Laurifolik asit		
13-Labden-6- asetoksi-	<i>C.laurifolius</i>	Labdan tip diterpen [28]
8- hidroksi- 15-oik asit	<i>C.laurifolius</i>	Labdan tip diterpen [25]
13-Labden-6,8,15- triol	<i>C.laurifolius</i>	Labdan tip diterpen [25]

Tablo 2.13 (devam): *Cistus L.* türlerinden elde edilen bazı uçucu yağlar ve terpenik bileşikler.

Bileşik	Bitki	
Labd-13-en-15-il malonik asit	<i>C.creticus</i>	Labdan tip diterpen [29]
8-Hidroksi-13-labden-15-oik asit metil esteri	<i>C.creticus</i>	Labdan tip diterpen [5]
Labd-7,13-dien- 15-il malonik asit	<i>C.creticus</i>	Labdan tip diterpen [22,23,29]
Labd-7,13-dien- 15-il malonik asit metil esteri	<i>C.creticus</i>	Labdan tip diterpen[22,23,29]
15-Asetoksi- 7, 13-labdadien	<i>C.creticus</i>	Labdan tip diterpen [23,14]
7, 13-Labdadien-15-ol		
Labd-14-en, 8,13-epoksi (Manoil oksit)	<i>C.creticus</i>	Labdan tip diterpen [14]
3-Asetoksi- labd-14-en, 8,13-epoksi (Ribenol Asetat)	<i>C:creticus</i>	Labdan tip diterpen[23,14,30,22]
di-[(13)-labd-7,13-dien, 8-ol-15-il] malonat	<i>C.creticus</i>	Labdan tip diterpen [23]
	<i>C:creticus</i>	Labdan tip diterpen [23,22]

Tablo 2.13 (devam): *Cistus* L. türlerinden elde edilen bazı uçucu yağlar ve terpenik bileşikler

Bileşik	Bitki	
di-[(13)-Labd-13-en-8-ol-15-il] malonat	<i>C.creticus</i>	Labdan tip diterpen [22,23]
Labd-14-en-8,13-diol (Sklareol)	<i>C.creticus</i>	Labdan tip diterpen [31]
Kaur -16-en	<i>C.creticus</i>	Labdan tip diterpen [30]
β -sitosterol-3-O- β -glukozit	<i>C.laurifolius</i>	Triterpen[15]
5-O- <i>p</i> -Kumaroil kinik asit metil esteri	<i>C.laurifolius</i>	[15]
inozitol 1-O-metil	<i>C.laurifolius</i>	[28]
inozitol, 1-O-metil-, 3,4,5,6-tetraasetat	<i>C.laurifolius</i>	[28]
Eskulin	<i>C.creticus</i>	[16]
<i>p</i> -Hidroksiasetofenon glukozit(<i>Salinigrin</i>)	<i>C.laurifolius</i>	[28]

2.9. *Cistus* LTürlerinde Daha Önce Yapılan Çalışmalar

2.9.1 Sitotoksik aktivite

C. creticus bitkisinin toprak üstü kısmından elde edilen diterpenler üç tip kanser (lösemi, insan rinofarinks kanser, insan bronşiyal epidermoid karsinoma) hücre dizisi üzerinde denenmiştir. Bu diterpenlerden bazıları hafif etkili, orta etkili ve kanser hücrelerine karşı oldukça yüksek etkili bulunmuşlardır [4,48,6,].

C. creticus bitkisinin sulu ekstresinin ise insan lökosit hücrelerinin DNA sentezini inhibe ederek azalttığı ve bu hücreler üzerinde sitotoksik etkilerinin olduğu bulunmuştur [48].

C. creticus reçine kısmından elde edilen labdan tip diterpenler akut lenfoblastik lösemi, Burkitt lenfoma hücreleri üzerinde etkili olarak görülmüştür. Ayrıca yine elde edilen bazı labdan tip diterpenlerin kanser hücrelerinin çoğalmasını önleyici etki gösterdiği görüldü (meme kanseri,merkezi sinir sistemi kanseri, akciğer kanseri, kolon kanseri) [6].

Cistus creticus 'un ladona adı verilen reçinesinden ise elde edilen bir diterpenin lösemi hücreleri üzerinde sitotoksik olarak etkili bulunmuştur [23].

Yine *Cistus creticus* 'tan elde edilen labdan tip bir diterpen olan sklareolün çeşitli kanser hücrelerinde çoğalmayı inhibe edici ve sitotoksik aktivitesi görülmüştür. Özellikle sklareolün kolon kanseri, lösemi, meme kanseri gibi birçok kanser türünde sitotoksik etki gösterdiği görülmüştür [49-51].

Ayrıca *Cistus creticus* 'un bazı antikanser ilaçlarının (doksorubisin, etopozit, sisplatinin) etkinliğini artırdığı bulunmuştur [52].

2.9.2. Antimikrobiyal aktivite

Cistus creticus 'dan elde edilen labdan tip diterpenlerin *S.aureus*, *P.aeruginosae*, *Kl. Pneumoniae* bakterileri üzerinde ampisilinden daha yüksek etki göstermiştir. Bu elde edilen diterpenler ayrıca *candida albicans* üzerinde etkili olmuştur [4].

Cistus creticus infüzyon ile hazırlanan çayının ağız içi bakteri kolonizasyonunu önemli ölçüde azalttığı görülmüştür [53,54].

Cistus creticus 'un reçinesinden elde edilen labdan tip diterpenlerin yarı sentetik karbamidik esterleri, gram negatif ve gram pozitif bakterilere ve patojen mantarlara karşı önemli ölçüde antimikrobiyal aktivite göstermiştir [55].

Türkiye’de yetişen toplam 5 *Cistus* türü üzerinde *C. monspeliensis*, *C. parviflorus*, *C. salviifolius*, *C. Laurifolius*, *C. Creticus* antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılmaktadır. Bu çalışmalar sonucunda hazırlanan farklı ekstrelerin tamamında *S. Aureus*’a karşı yüksek bir etki göstermiştir. Ayrıca bitkilerin *n*-butanol ekstreleri *E. coli*’ ye karşı etkili bulunmuştur [7]. *Cistus laurifolius*’un kloroform ekstresi ise *helicobacter pylori* üzerine MIC değeri standart antibiyotiklere en yakın bileşiğin kersetin-3-metil-eter olduğu bulunmuştur [56].

2.9.3 Antioksidan aktivite

Cistus laurifolius bitkisinin yapraklarının metanollü ekstresinde antioksidan aktivite bakılmıştır. Aktif bileşiklerin tespiti yapılmış iki fenolik grup nedeniyle bir lignan glikoziti olan olivil 9-*O*- β -D-ksilozit en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Yapılan farklı bir çalışmada ise lipid peroksidasyon üzerine etkisi ölçülmüş, görülen etki üzerine yapılan izolasyonda aktif bileşiğin kersetin-3,7-dimetil-eter olduğu bulunmuştur [15,57].

2.9.4. Analjezik aktivite

Cistus laurifolius’un kloroformlu ekstresinde analjezik etkisi olduğu görülmüştür. Bunun yanında yapılan farklı bir çalışmada ise *Cistus laurifolius* bitkisinin aktif bileşenleri izole edilmiş ve izole edilen tüm flavonoidlerin analjezik aktivite gösterdiği görülmüştür (3,7-*O*-dimetilkersetin, 3-*O*-metilkersetin ve 3,7-*O*-dimetilkemferol) [58,59].

2.9.5. Diğer farmakolojik aktiviteler

Cistus laurifolius’un gastrik ve duodonal lezyonlara karşı antiasit aktivitesi saptanmıştır [9].

Cistus laurifolius meyvesi ve *Cistus creticus*’un yaprak ve meyvesinin metanollü ekstreleri antikoagülan aktivite göstermiştir [60].

2.9.6. Sağlık üzerine yapılan çalışmalar

Cistus L.türleri halk arasında özellikle kısırlık, yüksek ateş, ülser, deri hastalıkları, romatizma, idrar yolu rahatsızlıkları, antidiyabetik ve anti-enflamatuvar gibi kullanım alanları bulunmaktadır [32-34,7,9].

Birçok *Cistus* L. türleri üzerinde yapılan çalışmalarda ise, antibakteriyel, antifungal, antiülser, antioksidan, antispazmodik, hipotansif aktivite, antiviral gibi etkiler göstermiştir [4-6,35-37,31,23].

Cistus creticus ile hazırlanan bir ekstrede (CYSTUS052) influenza A virüsüne karşı (kuş gribi) etkisi görülmüştür [38,39]. Hazırlanan CYSTUS052 ekstresi üst solunum yolu rahatsızlığı yaşayan hastalarda ise semptomları olumlu yönde azalttığı görülmüştür [40,41]. Özellikle sulu etanollü ekstrelerin ise grip virüsüne ve üst solunum yolu enfeksiyonlarından korunma ve tedavi amacı ile patentli olarak kullanılmaktadır [42].

Cistus laurifoliusun yapraklarından hazırlanan infüzyon, Türkiye’de halk arasında şeker hastalığına karşı kullanılmaktadır [43].

C.creticus’un yapraklarından hazırlanan infüzyon ise kabız, uyarıcı ve balgam söktürücü olarak kullanılmaktadır [43]. Ayrıca *C. creticus* uyarıcı, stomaşik, antidiyareik ve kan dindirici olarak kullanılmaktadır [44-46].

C.creticus osmanlı döneminde saç ve kaş boyamada kullanılan bir macunun hazırlanmasında kullanılırdı [43].

C.laurifolius’un yaprakları ise romatizma tedavisinde kullanılmaktadır. Bunun dışında yüksek ateş tedavisinde, peptik ülserde ve mide ağrılarında kullanılabilirliği mevcuttur [44,47]. Halk arasında kullanılan endikasyonlar Tablo 2.14.’ de gösterilmiştir.

Tablo 2.14.: *C.creticus* ve *C.laurifolius* Bitkilerinin Halk Arasında Kullanımı.

İyileştirici Ajan Olarak	Ağrı Kesici olarak	Enfeksiyöz Hastalıkların Tedavisinde
Şeker Hastalığında	Mide	
Yüksek Ateş	Ağrılarında	Antienflamatuvar
Kabızlık	Peptik Ülser	Antibakteriyel
Balgam Sökrücü		
Kısırlık Deri Hastalıkları	Romatizma	Üst Solunum Yolu
İdrar Yolu Enfeksiyonları	Antispazmotik	Enf. Kuş Gribi

2.10. *Cistus L* Türlerinin Etken Bileşiklerinin Analiz Yöntemleri

2.10.1. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC)

Kromatografi bir karışımdaki bileşenlerin biri sabit diğeri hareketli iki faz arasındaki dağılımın dengelerine dayanan analiz yöntemidir. Bileşenler hareketli faz tarafından sabit faz üzerinde sürüklenir. Hareketli faz ile etkileşimi fazla olan bileşen sürüklenme hızı da fazla olacaktır [67].

Kromatografik yöntemlerde hareketli faz sıvı, gaz ya da süperkritik akışkandır, sabit faz ise katı ya da sıvı olabilir. Kromatografinin çeşitlere ayrılmasında ise hem hareketli faza (Sıvı kromatografi-SK/LC, Gaz kromatografisi-GK/GC) hem de sabit faza (dağılım ve absorpsiyon kromatografisi) göre yapılabilir.

Kromatografik yöntemlerde ayrılma, sabit faz sıvı ise dağılım, katı ise absorpsiyon prensibi üzerinden gerçekleşir.

Bunun yanında hareketli faz ile sabit fazın birbirine nasıl temas ettiğine göre de başka bir sınıflandırma (Kolon Kromatografisi ve Düzlemsel Kromatografi) yapılabilir [67,68]. YBSK sabit fazı içeren kolonda analizi yapılacak numunenin yüksek bir basınçta hareketli faz (sıvı) ile sürüklenme prensibine dayanan kromatografik analiz yöntemidir. Analiz numunesini içeren sıvı çözelti enjeksiyon yoluyla sisteme uygulanır ve kolona hareketli fazın akışında çözünerek sürüklenir. Kolondan geçen madde/maddelerin çıkışı özel kimyasal ve/veya fiziksel etkileşimler sonucunda belli bir süre sonra gerçekleşir. Bu geçen süreye retansiyon denir. Maddelerin fiziksel ve kimyasal davranış farkları nedeniyle retansiyon farkı oluşur ve ayırım bu şekilde gerçekleşir [67,69].

YBSK bütün analitik ayırma yöntemlerinde en yaygın kullanılanıdır.

Bunun nedenleri genel olarak:

- Duyarlılık
- Kolayca uygulanması
- Uçucu olmayan ve sıcakta kolayca bozulan maddelerin ayrılmasında uygun olması

- Her türlü maddenin geniş bir şekilde uygulanabilir olması

YBSK' nin uygulanabileceği maddelere örnek vermek gerekirse pestisitler, proteinler, nükleik asitler, antibiyotikler , karbonhidratlar, , amino asitler,

hidrokarbonlar, terpenoidler, steroidler, metal organik türevler ve çeşitli inorganik bileşikler gösterilebilir [68].

2.10.2. Kütle spektrometrisi (MS)

Kütle spektrometrisi, uzun yıllardır kullanımı bulunan analitik yöntemler arasında uygulama alanı en geniş olanıdır.

- Maddelerin bileşiminin elementel olarak belirlenmesinde
- Organik, inorganik ve biyolojik moleküllerin yapılarının belirlenmesinde
- Karmaşık yapıya sahip karışımların kantitatif ve kalitatif analizlerinde
- Katı yüzeylerinin bileşimlerinin ve yapılarının belirlenmesi
- Bir numunedeki atomların izotopik oranlarının bulunmasında oldukça kullanılan bir yöntemdir [68].

Esas olarak; düşük basınçtan, gaz haline dönüşen madde moleküller arası çarpışmalar en alt düzeyde olacak şekilde bir tüpten geçirilir. Bu moleküller enerji düzeyi ayarlanmış elektronlar tarafından bombardımana tutulur. Bu enerji molekülün iyonizasyon potansiyelini geçtiğinde molekülden 1 elektron ayrılır ve “+” yüklü (m^+ : molekül oluşur moleküler iyon; radikal halinde bir iyondur ve mol ağırlığı molekülün kendisiyle aynıdır.). Bombardıman enerjisi büyüdükçe bu iyonlardaki aşırı (+) enerji bağlara ulaşır ve bağ kopararak yeni bir “+” yüklü iyon (m_1 ve yüksüz bir molekül (m_2) açığa çıkarır. Temel anlamda, spektrometresi, analize konu kütle maddeyi elektronlarla bombardıman eder ve sonucu, kütle/yük(/z) oranlarına göre, m/z pozitif iyon parçaları halinde kantitatif olarak kaydeder. Bu kayda da kütle spektrumu denir [67,68,70]. Ek olarak günümüzde birçok iyon kaynağı negatif iyon üretebilmektedir [71].

Kütle Spektrometreleri başlıca su kısımlardan oluşur:

- Kütle Ayrıcı
- İyon Kaynağı (İyonlaştırıcı)
- Örnek girişi
- Kaydedici Sistem
- Dedektör

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyal

Cistus creticus L. bitkisi Haziran 2019 da Tekirdağ Kumbağ - uçmaktedere mevkiinde (mürefte barbaros yolu) 10 ila 20. Km leri arasındaki alandan toplanmıştır. Bitki örneği İstanbul Üniversitesi Herbariyumu ve Marmara Üniversitesi Herbariyumu yardımı ile teşhis tayini yapılmıştır.

Cistus laurifolius L bitkisi ise Haziran 2019 da Manisa Demirci/ Durhasan Köyü mevkiinden toplanmıştır. Bitki örneği İstanbul Üniversitesi Herbariyumu ve Marmara Üniversitesi Herbariyumu yardımı ile teşhis tayini yapılmıştır.

Her iki bitkide açık havada ve gölgede kurutulmuştur. Bitkinin toprak üstü kısımları kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekstrelerde total flavonoit miktarının belirlenmesi

3.2.1.1. Ekstrelerin eldesi

Toz haline getirilmiş *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* yaprak ve toprak üstü kısımlarından yaklaşık 20'şer gr alınarak farklı polaritedeki çözücüler kullanılarak ısıtıcılı karıştırıcıda 40 ° sıcaklıkta 4 saat ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Ekstraksiyon çözücülerini etanol (EtOH), Etanol:su (EtOH:H₂O), Aseton (C₃H₆O), izopropil alkol (C₃H₈O), Etilasetat (C₄H₈O₂), Hekzan (C₆H₁₄) ve Su (H₂O) olarak belirlenmiştir.

Hazırlanan her ekstrenin yaklaşık 10 mg'ı çözücülerini ile ultrasonik banyoda 30 dakika tutularak çözülmeye bırakıldı. Ekstrelerin tam çözülmemiş ve çözünmeyen parçacıkları 0,45µ membran filtreden

geçirilerek ayrılmıştır. Ekstrelerden bu yolla hazırlanan çözeltiler total fenolik madde tayini için kullanılmıştır.

Toz haline getirilmiş *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* yaprak ve toprak üstü kısımlarından yaklaşık 20'şer gr alınarak farklı polaritedeki çözücüler kullanılarak ısıtıcılı karıştırıcıda 40 ° sıcaklıkta 4 saat ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Ekstraksiyon çözücülerini etanol (EtOH), Etanol:su (EtOH:H₂O), Aseton (C₃H₆O), izopropil alkol (C₃H₈O), Etilasetat (C₄H₈O₂), Hekzan (C₆H₁₄) ve Su (H₂O) olarak belirlenmiştir. Verimle ilgili yüzdelikler Tablo 3.1 ve 3.2.de gösterilmiştir.

Tablo 3.1: *Cistus creticus* ekstrelerinin verimleri.

Çözücüler	Toz Drog	Elde Edilen Ekstre	Verim (%)
EtOH	20	2,1	10,5
EtOH:H ₂ O	20	2,9	14,6
EtOH:H ₂ O	20	3,9	19,7
EtOH:H ₂ O	20	3,7	18,7
Su	20	1,9	9,8
Aseton	20	0,37	1,85
İzopropil Alkol	20	0,60	3
Etilasetat	20	0,72	3,6
Hekzan	20	0,26	1,3

Tablo 3.2: *Cistus laurifolius* ekstrelerinin verimleri.

Çözücüler	Toz Drog	Elde Edilen Ekstre	Verim (%)
EtOH	20	1,9	9,5
EtOH:H2O	20	2,6	12,8
EtOH:H2O	20	2,8	14,1
EtOH:H2O	20	3,1	15,7
Su	20	1,2	6,2
Aseton	20	0,52	2,6
İzopropil Alkol	20	0,36	1,8
Etilasetat	20	0,83	4,1
Hekzan	20	0,49	2,4

3.2.1.2. Tayin yöntemi

Total flavonoit miktarı spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Ölçümler UV-VIS kullanılarak plakta yapılmıştır. Total flavonoit miktarının tayini kersetin kalibrasyon denklemi ile yapılmıştır. 1 ml örnek 4 ml çözücü ile 1:5 oranında seyreltme yapılmıştır. 40 µl 1M amonyum asetat (CH₃COONH₄) ve 6 µl %10 luk alüminyum klorür (AlCl₃) ilave edildi. 10 dakika beklendi. UV-VIS spektrofotometresinde 425 nm de absorbans ölçümü yapıldı. Örneklerin absorbans değerlerine denk gelen kersetin miktarları standart grafik denklemi kullanılarak tespit edildi. Sonuçlar kersetin eşdeğeri olarak yüzde cinsinden hesaplandı.

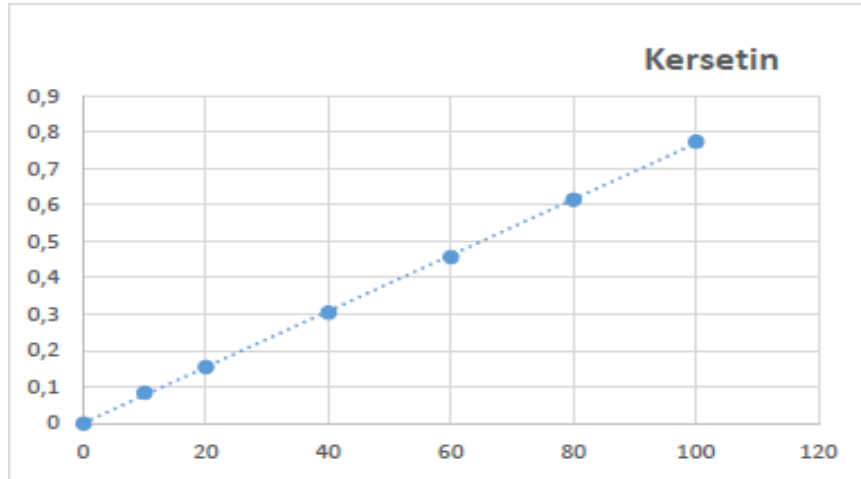
Hazırlanan her ekstrenin yaklaşık 10 mg'ı çözücüleri ile ultrasonik banyoda 30 dakika tutularak çözülmeye bırakıldı. Ekstrelerin tam çözülmemiş ve çözünmeyen parçacıkları 0,45 µm membran filtreden geçirilerek ayrılmıştır. Ekstrelerden bu yolla hazırlanan çözeltiler total fenolik madde tayini için kullanılmıştır.

Alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi

Kalibrasyon aralığı belirleme

Standart flavonoid bileşik olarak kersetin baz alındı. 1000 ppm lik kersetin stok çözeltilerinden farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı. Absorbans ölçümlerinden sonra kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Standart grafik denklemi belirlendi.

Uygulama öncesinde yöntem üzerinde bazı modifikasyonlar yapıldı. 20 µl örnek alındı, 134 µl saf su ile seyreltildi. Sırayla 40 µl 1M amonyum asetat (CH₃COONH₄) ve 6 µl % 10 luk alüminyum klorür (AlCl₃) ilave edildi. 10 dakika beklenildi. UV- VİS spektrofotometresinde 425 nm de absorbans ölçümü yapıldı. Örneklerin absorbans değerlerine denk gelen kersetin miktarları standart grafik denklemi kullanılarak tespit edildi. Sonuçlar kersetin eşdeğeri olarak yüzde cinsinden hesaplandı Şekil 3.1 de gösterilmiştir.



Şekil 3.1: Kersetin kalibrasyon eğrisi grafiği.

$$y = 0,0077x + 0,001 \quad (3.1)$$
$$R^2 = 0,9998$$

3.2.2. Ekstrelerde total fenolik madde miktarının belirlenmesi

3.2.2.1. Ekstrelerin eldesi

Toz haline getirilmiş *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* yaprak ve toprak üstü kısımlarından yaklaşık 20'şer gr alınarak farklı polaritedeki çözücüler kullanılarak ısıtıcılı karıştırıcıda 40 ° sıcaklıkta 4 saat ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Ekstraksiyon çözücülerini etanol (EtOH), Etanol:su (EtOH:H₂O), Aseton (C₃H₆O), izopropil alkol (C₃H₈O), Etilasetat (C₄H₈O₂), Hekzan (C₆H₁₄) ve Su (H₂O) olarak belirlenmiştir.

Hazırlanan her ekstrenin yaklaşık 10 mg'ı çözücülerini ile ultrasonik banyoda 30 dakika tutularak çözülmeye bırakıldı. Ekstrelerin tam çözülmemiş parçacıkları 0,45 µ membran filtreden geçirilerek süzüldü. Ekstrelerden hazırlanan çözeltiler total fenolik madde tayini için kullanılmıştır. Kullanılan çözücü sistemleri Tablo 3.3 de gösterilmiştir.

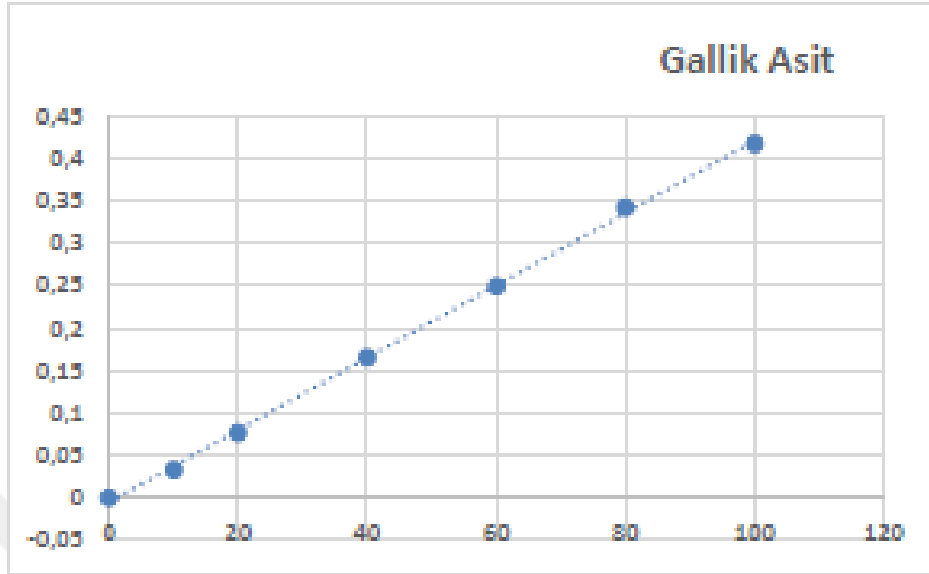
Tablo 3.3: Kullanılan Çözücü sistemleri.

1	2	3	4	5	6	7
Hekzan	İzopropil alkol	EtOH: H ₂ O	EtOH	H ₂ O	Aseton	Etil Asetat
		(%25)				
		(%50)				
		(%75)				

3.2.2.2. Tayin yöntemi

Total fenolik madde miktarı spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Ölçümler UV-VIS kullanılarak plakta yapılmıştır. 1 ml örnek 4 ml çözücü ile 1:5 oranında seyreltme yapılmıştır. Ardından 8µl Folin Ciocalteau Reaktif (FCR) ilave edildi. 5 dakika beklendikten sonra 80µl %10'luk sodyum karbonat (Na₂CO₃) ilave edildi. 90 dakika karanlık ortamda bekletildi. UV-VIS spektrofotometresinde 725 nm ölçümleri alındı. Örneklerin absorbans değerlerine denk gelen gallik asit miktarları standart grafik denklemi kullanılarak tespit edildi. Sonuçlar gallik asit eş değeri olarak yüzde cinsinden

hesaplanmıştır. Total fenolik madde miktarının tayini gallik asit kalibrasyon denklemi ile yapılmıştır. Şekil 3.2’de gösteriştir.



Şekil 3.2: Gallik asit kalibrasyon eğrisi grafiği.

$$y = 0,0043x - 0,0054 \quad (3.2)$$
$$R^2 = 0,9992$$

Folin-Ciocalteu yöntemi

Kalibrasyon aralığı belirleme

Standart fenolik bileşik olarak gallik asit baz alındı. 1000 ppm lik gallik asit stok çözeltisinden farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı. Absorbans ölçümlerinden sonra kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Standart grafik denklemi belirlendi.

Uygulama öncesinde yöntem üzerinde bazı modifikasyonlar yapıldı. 8 µl örnek, 104 µl saf su ile seyreltildi. Ardından 8 µl Folin Ciocalteu Reaktifi (FCR) ilave edildi. 5 dakika beklenildi. Süre tamamlanınca 80 µl %10luk sodyum karbonat (Na₂Co₃) ilave edildi. 90 dakika karanlıkta bekletildi. UV-VIS spektrofotometresinde 725nm ölçümleri alındı. Örneklerin absorbans değerlerine denk gelen gallik asit miktarları standart bir grafik denklemi kullanılarak tespit edildi. Sonuçlar ise gallik asit eşdeğeri olarak yüzde cinsinden hesaplandı.

3.3. Creticus ve Laurifolius Ekstrelerinde Fenolik ve Saponin Bileşen Tayini

3.3.1 HPLC yöntemi

3.3.1.1. Ekstrelerin eldesi

Bitki ekstraları 25 mL lik balon jodede MeOH ile tamamlanır ve 15dk boyunca ultrasonik banyoda bekletilir. Sonrasında 5 dk santrifuj edilir ve üst faz alınarak 100 mg/L'lik internal standart çözeltisinden nihai derişimi 3 ppm olacak şekilde numune üzerine eklenir. Numune 0.45 µ filtreden geçirilerek cihaza enjekte edilmek üzere vialde alınır [86].

Toz haline getirilmiş *C.creticus* ve *C.laurifolius* toprak üstü kısımlarından yaklaşık 30'ar g alınarak değişik 300 ml %50'lik Etanol su (EtOH:H₂O) karışımı kullanarak 4 saat manyetik karıştırıcıda ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Ekstrenin seyreltme işlemi için metanol kullanılmıştır. Hazırlanan örnekler 0,45µ membran filtreden geçirilerek analiz işlemi için viyallere aktarılmıştır.Tablo 3.4. de HPLC şartları gösterilmiştir.

3.3.1.2. Analiz yöntemi

HPLC şartları

Mobil Faz A: % 1 Formik Asit - H₂O

Mobil Faz B: % 1 Formik Asit - MeOH

Kolon: Troyasil C18 HS – 150 x 3 mm 5 µ

Tablo 3.4: HPLC Gradient time.

Gradient	Time	Flow(mL/min)	(%)
	0.00	0.35	50
	1.00	0.35	50
	3.00	0.35	100
	6.00	0.35	100
	7.00	0.35	50
	15.00	0.35	50

3.3.1.3. MS yöntemi

MS yönteminin şartları

Sistem: Thermo ORBİTRAP Q-EXACTIVE

İyon Kaynağı: ESI

Kütle Tarama Aralığı: 100-900 *m/z*

Sheath gas flow rate : 45

Aux gas flow rate : 10

Sprey voltage (kV) : 3.80

Capillary temp. (°C) : 320

Aux gas heater temp (°C) : 320

S-lens RF level : 50.0

Tanımlamalar: İLMER Kütüphanesi

Çevre Şartları (*Environmental Conditions*)

Sıcaklık : (22,0 ± 5,0) °C

Bağıl Nem : (50 ± 15) % rh

3.3.1.4. HPLC yöntemi

Ekstrelerin eldesi

Bitki ekstreleri 25 mL lik balon jodede MeOH ile tamamlanır ve 15dk boyunca ultrasonik banyoda bekletilir. Sonrasında 5 dk santrifuj edilir ve üst faz alınarak 100 mg/L'lik internal standart çözeltisinden nihai derişimi 3 ppm olacak şekilde numune üzerine eklenir. Numune 0.45 µ filtreden geçirilerek cihaza enjekte edilmek üzere vialerle alınır [86].

Toz haline getirilmiş *C.creticus* ve *C.laurifolius* toprak üstü kısımlarından yaklaşık 20'şer g alınarak farklı polaritelerde çözücüler ve çözücü karışımları kullanılarak 4 saat manyetik karıştırıcıda ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Ekstraksiyon çözücülerini Etanol, Etanol:su, su, hekzan, etil asetat, aseton,

izopropil alkol olarak belirlenmiştir. Ekstrelerin seyreltme işlemleri için metanol kullanılmıştır. Hazırlanan örnekler 0,45µ membran filtreden geçirilerek analiz için viyallere aktarılmıştır. Tablo 3.5 de HPLC şartları gösterilmiştir.

3.3.1.5. Analiz yöntemi

HPLC şartları

Mobil Faz A: %1 Formik Asit -

H₂O **Mobil Faz B:** %1 Formik

Asit - MeOH **Kolon** 3µm Fortis

C18 – 150 x 3.0 mm

Tablo 3.5: HPLC Gradient time.

Gradient	Time	Flow(mL/min)	(%)
	0.00	0.35	50
	1.00	0.35	50
	3.00	0.35	100
	6.00	0.35	100
	7.00	0.35	50
	10.0	0.35	50

MS (Kütle spektrometresi)

MS şartları

Sistem: Thermo ORBITRAP Q-EXACTIVE

İyon Kaynağı: ESI

Kütle Tarama Aralığı: 85-1500 *m/z*

Çevre Şartları

Sıcaklık (22,0 ± 5,0) °C

Bağıl Nem: (50 ± 15) % rh

3.3.2.Ekstrelerde antioksidan aktivitenin belirlenmesi

3.3.2.1.DPPH yöntemi

3.4.1.1.Çözeltilerin hazırlanması

Antioksidan kapasite belirlemek için yapılan analizlerde toplam 6 farklı çözücü sistemi kullanılmıştır. İdeal sürede ideal ekstraksiyon ortamında ekstratlar hazırlandı. Sulu halde kullanılan ekstratlar gerekli seyreltme işlemleri yapılarak kullanıldı.

Kullanılan çözücü sistemleri Tablo 3.6 da gösterilmiştir.

Tablo 3.6: Kullanılan Çözücü Sistemleri.

1	2	3	4	5	6
Propilen	İzopropil	EtOH:	EtOH	H ₂ O	Gliserin:H ₂ O
Glikol	alkol	H ₂ O			
		(%50)			

Kullanılan çözücü sistemleri

- H₂O (%100) kullanılarak hazırlanan ekstre: 20 gr kurutulmuş toz haldeki ve *Cistus laurifolius* bitkilerinin toprak üstü kısımlarına 300 ml H₂O ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 4 saat bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Elde edilen sulu ekstre antioksidan kapasite değerlendirmesinde ana ekstre olarak kullanıldı.
- EtOH (%100) kullanılarak hazırlanan ekstre: 20 gr kurutulmuş toz haldeki *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* bitkilerinin toprak üstü kısımlarına 300 ml EtOH ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 4 saat bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Elde edilen sulu ekstre antioksidan kapasite değerlendirmesinde ana ekstre olarak kullanıldı.
- H₂O+EtOH (%50) kullanılarak hazırlanan ekstre: 20 gr kurutulmuş toz haldeki *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* bitkilerinin toprak üstü

kisimlarına 300 ml H₂O+ EtOH ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 4 saat bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Elde edilen sulu ekstre antioksidan kapasite değerlendirmesinde ana ekstre olarak kullanıldı.

- Propilen glikol (%100) kullanılarak hazırlanan ekstre: 20 gr kurutulmuş toz haldeki *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* bitkilerinin toprak üstü kısımlarına
300 ml propilen glikol ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 4 saat bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Elde edilen sulu ekstre antioksidan kapasite değerlendirmesinde ana ekstre olarak kullanıldı.
- İzopropil alkol (%100) kullanılarak hazırlanan ekstre: 20 gr kurutulmuş toz haldeki *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* bitkilerinin toprak üstü kısımlarına
300 ml izopropil alkol ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 4 saat bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Elde edilen sulu ekstre antioksidan kapasite değerlendirmesinde ana ekstre olarak kullanıldı.
- Gly+H₂O (1:1) kullanılarak hazırlanan ekstre: 20 gr kurutulmuş toz haldeki *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius* bitkilerinin toprak üstü kısımlarına 300 ml Gly+H₂O ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak ısıtma ortamında 4 saat bekletildi. Süresi tamamlanan ekstre fitre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Elde edilen sulu ekstre antioksidan kapasite değerlendirmesinde ana ekstre olarak kullanıldı.

DPPH çözeltilisinin hazırlanması

0,1 mM DPPH çözeltilisi hazırlanmalıdır. Bunun için 4 mg 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil standardı 100 mL etanolde çözülür. 30 dk balık yardımı ile karıştırılır. Işık almıyor olmasına dikkat edilir [79].

BHT ve BHA çözeltilerinin hazırlanması

1000 ppm lik BHT ve BHA çözeltileri hazırlanmalıdır. Bunun için 10 mg BHT ve BHA 10 mL etanolde çözülür [79].

- EtOH kontrol çözeltisi olarak kullanıldı.

Örneklerin hazırlanması

1000 ppm stok çözelti hazırlanmalıdır. Bunun için 10 mg örnek 10 mL etanolde çözülür. Hazırlanan BHT ve BHA çözeltileri ile örnek stok çözeltisi 100,50,25 ve 10 ppm derişimlerine etanol ile seyreltilir. Seyreltme plate üzerinde yapılır. Örneğin 100 ppm lik çözelti hazırlamak istedik; 1000 ppm lik çözeltiden 20 mikrolitre alınır üzerine 20 mikrolitre etanol ilave edilerek toplamda 40 mikrolitre hacim tamamlanmış olur. Ardından 160 mikrolitre DPPH çözeltisi ilave edilir. 200 mikrolitre lik küvet hacmi tamamlanmış olur. Kontrol olarak kullanmak için 40 mikrolitre etanol üzerine 160 mikrolitre DPPH çözeltisi ilave edilir [79].

Tayin yöntemi

Cistus creticus bitkisinden hazırlanan ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkileri ölçülmüştür. DPPH radikali (2,2 -difenil- 1- pikrilhidrazill) 517 nm'de absorpsiyonu olan kararlı serbest bir radikaldir. DPPH antioksidan mekanizma tepkimesinde görüldüğü gibi DPPH'nin 517 nm'deki soğurum pikinin şiddetindeki azalmayla orantılı olarak antioksidan aktivitenin varlığı nicel ve nitel olarak belirlenir. Serbest radikal giderim aktivitesi % inhibisyonu aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanır. Radikal süpürücü aktivite, test edilen ekstre ve maddelerin absorbanslarının kontrol çözeltisinin (kontrol çözeltisi içerik) absorbansı ile karşılaştırılması sonucunda belirlenmiştir. Tüm ekstreler için deney üç tekrarlı şekilde uygulanmıştır.

Stok çözeltilerinden farklı derişimlerde hazırlanan numunelerden 40 µL alındı. Üzerine 0,1 mM DPPH çözeltisinden 160 µL ilave edildi. Aynı işlem standart maddelere de uygulandı. Kontrol olarak 200 µL etanol kullanılmıştır. Oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra 517 nm'de absorbans ölçümü yapıldı. Örneklerin absorbans değerleri kontrolle karşılaştırılarak değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı. Tablo 3.7 de gösterilmiştir.

$$DPPH \text{ Aktivitesi (\% Inhibisyon) } = \frac{(A_{kontrol} - A_{örnek})}{A_{kontrol}} * 100 \quad (3.3)$$

Tablo 3.7: DPPH Yönteminin formülünde kullanılan birimle.

Değer	Açıklama
Akontrol	Kontrolün Absorbansı
Aörnek	Örneğin Absorbansı



Şekil 3.3: Viyallerin Genel Görünümü

4. BULGULAR

4.1. HPLC Bulguları

Tablo 4.1: Bitki ekstralarında tayin edilen bileşikler ve miktarları (mg/L).

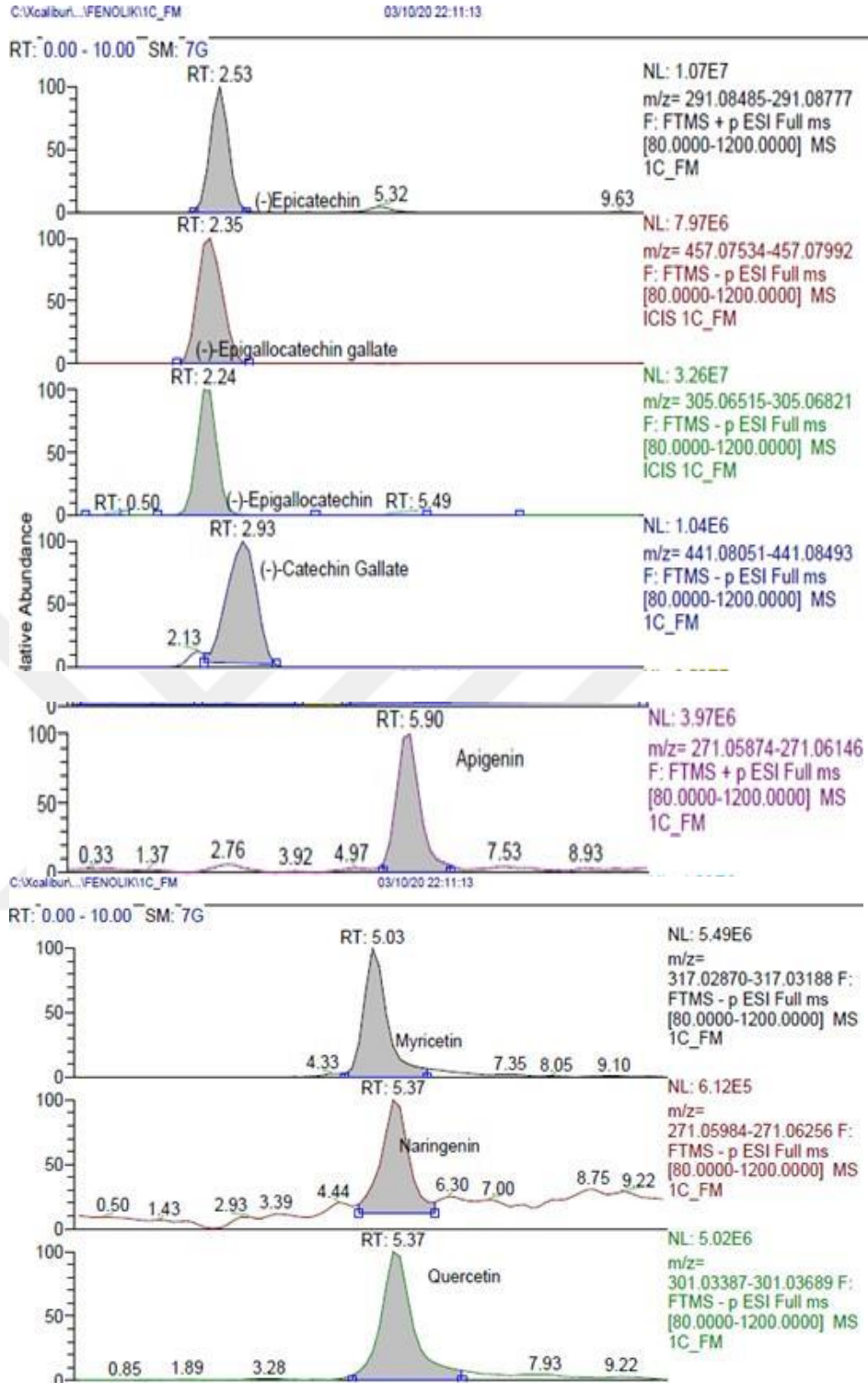
Bileşikler						
Madde Adı	1-C	1-L	2-C	2-L	3-C	3-L
(-)-Catechin Gallate	1.82	1.85	1.98	0.79	3.89	0.31
(-)-Epicatechin	27.53	5.56	8.70	3.24	58.75	4.60
(-)-Epigallocatechin gallate	38.26	416.26	64.77	224.41	103.66	106.54
(-)-Epigallocatechin	47.94	340.07	243.66	309.14	395.56	187.81
3-o-MethylQuercetin	<LOD	1411.11	19.29	194.12	<LOD	89.60
Apigenin 7-Glucoside	<LOD	6.11	5.30	4.51	6.67	4.02
Apigenin	0.82	64.14	15.70	11.52	6.14	1.70
Caffeic Acid	0.01	5.54	0.64	2.61	1.12	4.58
Dihydrokaempferol	3.99	53.36	37.41	13.63	19.30	10.61
Ellagic Acid	74.57	183.39	87.97	39.35	79.49	31.15
Fumaric Acid	19.36	180.65	5.25	102.64	11.63	25.13
Myricetin	6.15	25.99	4.18	3.39	14.21	1.09
Naringenin	0.86	58.63	9.13	11.41	4.03	5.19
Quercetin	2.86	655.76	9.62	54.53	7.69	9.21
Rutin	15.00	64.79	17.25	39.72	28.85	25.27

Tablo 4.1(devam): Bitki ekstralarında tayin edilen bileşikler ve miktarları(mg/L).

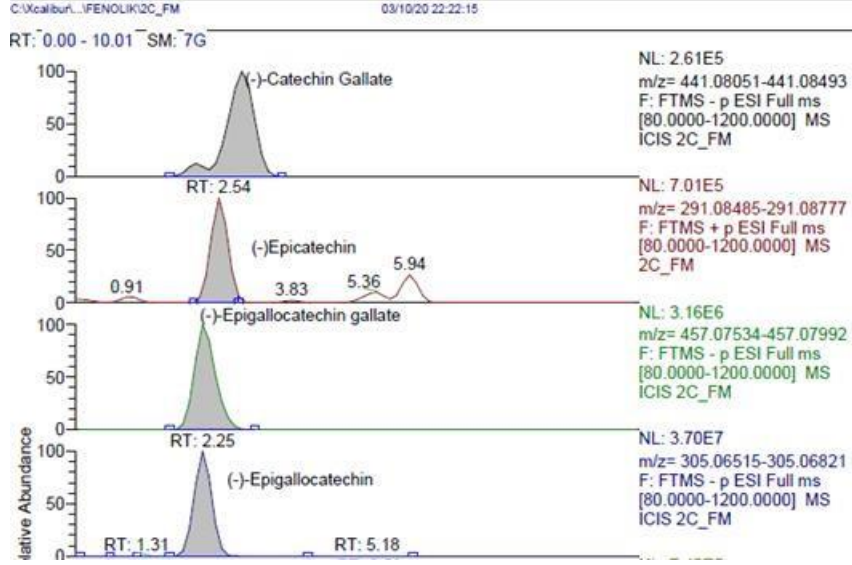
Bileşikler						
Madde Adı	4-C	4-L	5-C	5-L	6-C	6-L
(-)-Catechin Gallate	2.99	1.69	0.01	0.70	0.34	0.76
(-)-Epicatechin	58.81	6.06	*	16.37	*	6.48
(-)-Epigallocatechin gallate	89.36	513.49	0.48	208.28	2.51	342.77
(-)-Epigallocatechin	129.8	528.16	1.16	268.71	2.32	509.02
3-o-MethylQuercetin	*	1244.6	*	2982.4	*	1790.9
Apigenin 7-Glucoside	1.75	7.23	3.85	10.09	3.31	5.75
Apigenin	2.48	87.58	10.89	266.22	7.07	85.88
Caffeic Acid	0.48	5.83	1.74	15.31	0.24	9.79
Dihydrokaempferol	12.31	55.17	16.24	141.40	9.67	91.64
Ellagic Acid	87.10	175.98	59.56	99.71	13.88	151.78
Fumaric Acid	26.75	205.63	*	10.36	*	90.49
Myricetin	14.77	27.76	*	48.85	1.80	33.57
Naringenin	1.88	59.20	2.65	151.56	1.84	72.86
Quercetin	9.48	644.43	0.91	1849.0	1.17	877.26
Rutin	21.15	76.42	14.33	132.21	2.99	62.99

Tablo 4.1(devam): Bitki ekstralarında tayin edilen bileşikler ve miktarları (mg/L).

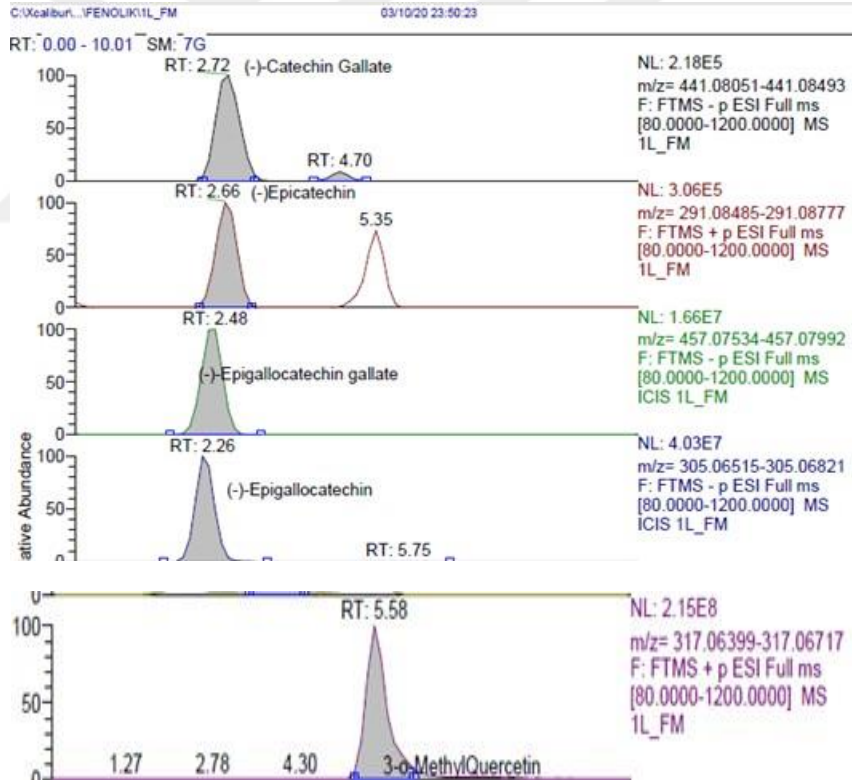
Bileşikler						
Madde Adı	7-C	7-L	8-C	8-L	9-C	9-L
(-)-Catechin Gallate	0.10	0.78	0.70	<LOD	<LOD	<LOD
(-)-Epicatechin	78.06	6.44	62.41	0.75	<LOD	0.15
(-)-Epigallocatechin gallate	2.35	228.58	14.95	14.05	<LOD	<LOD
(-)-Epigallocatechin	50.92	347.79	56.65	34.42	0.07	0.16
3-o-MethylQuercetin	<LOD	2020.4	<LOD	3481.28	<LOD	<LOD
Apigenin 7-Glucoside	1.19	6.35	2.81	0.75	<LOD	<LOD
Apigenin	0.16	124.52	1.14	295.60	<LOD	<LOD
Caffeic Acid	2.84	11.73	1.05	11.10	<LOD	<LOD
Dihydrokaempferol	9.08	122.76	13.33	177.74	<LOD	<LOD
Ellagic Acid	72.93	105.91	57.40	14.48	<LOD	<LOD
Fumaric Acid	42.20	58.84	32.28	8.60	<LOD	<LOD
Myricetin	4.01	30.85	13.95	19.88	0.18	<LOD
Naringenin	0.94	95.14	1.68	204.47	<LOD	<LOD
Quercetin	2.74	1041.8	10.19	1976.59	0.07	15.77
Rutin	6.85	90.87	8.66	10.40	<LOD	<LOD



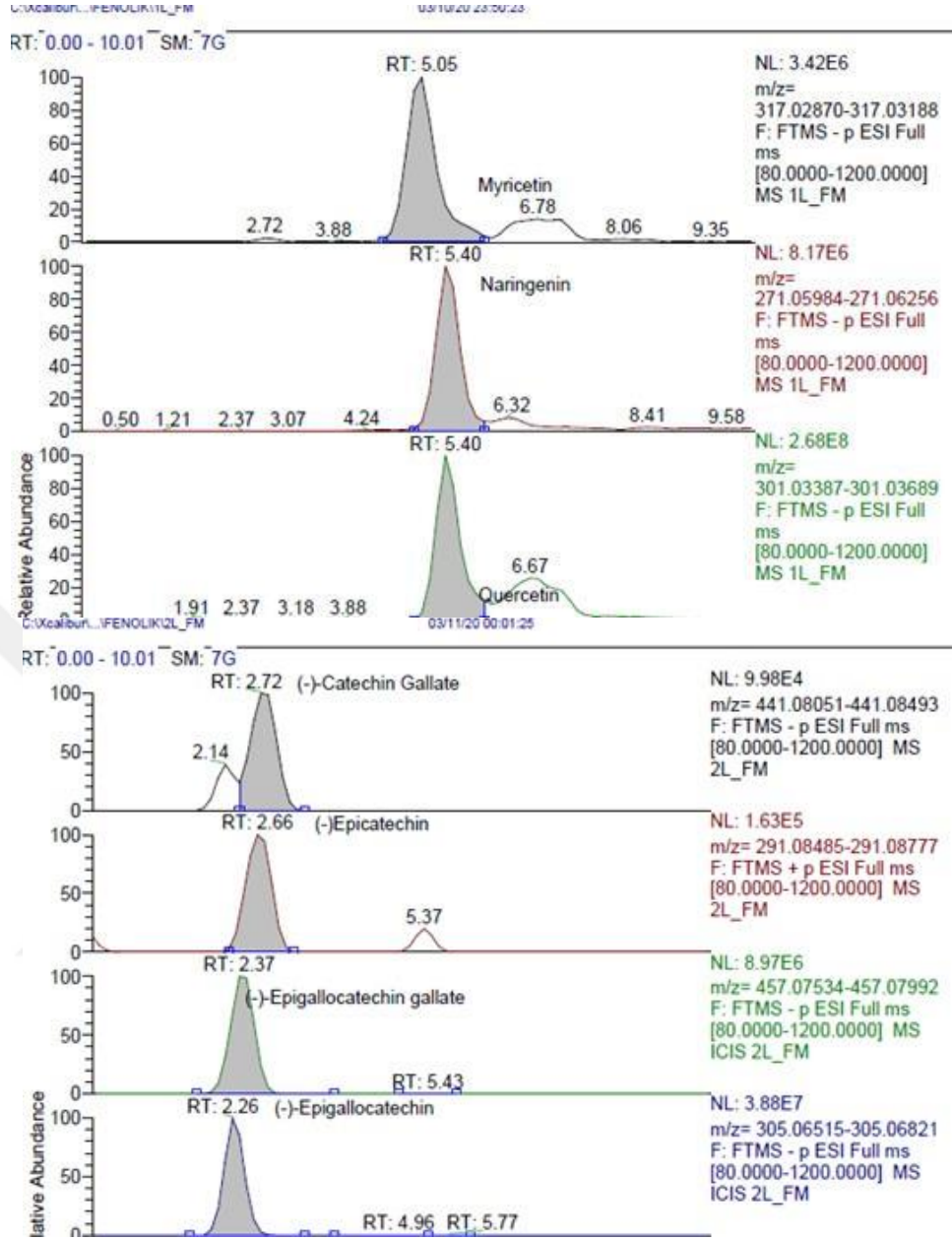
Şekil 4.1: *Cistus creticus*'a Ait Kromatogramlar.



Şekil 4.1 (devam): *Cistus creticus* ait kromatogramlar.



Şekil 4.2: *Cistus laurifolius* Ait Kromatogramlar.



Şekil 4.2(devam): *Cistus laurifolius* ait kromatogramlar.

4.2. Total Fenol ve Flavonoit İçeriğine Ait Bulgular

Kalibrasyon aralığını belirleyebilmek için standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanılmıştır. 10.000 ppm olarak hazırlandı çözeltiler. Daha sonra uygun seyreltmeler

yaşıldı. Her çözelti için 725 nm de 3 tekrarlı şekilde absorbans ölçümleri yapıldı ve ortalama değerler üzerinden kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

Flavonoid miktar tayinin de ise kalibrasyon aralığını belirlemek için standart olarak kersetin baz alınmıştır. 10.000 ppm olarak hazırlandı çözeltiler. Daha sonra uygun seyreltmeler yapıldı. Her çözelti 425 nm de yapılan 3 tekrarlı absorbans ölçümlerinden sonra ortalama değerleri üzerinden kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Tablo 4.2 ve Tablo 4.3 de total fenolik madde miktarı ve flavanoit içeriği gösterilmiştir.

Tablo 4.2: *C.creticus* bitkisinde Total Poli Fenol ve Total Flavanoit Bulguları.

Bitki	Ekstre	Total Poli Fenol İçeriği (%)±STD	Total Flavanoit İçeriği (%)±STD
<i>C.creticus</i>	Hekzan	19,9 ± 0,5	14,6 ± 0,12
	İzopropil alkol	3,9 ± 0,1	0,8 ± 0,3
	EtOH:H2O (%25)	19,2 ± 0,09	0,3 ± 0,02
	EtOH:H2O(%50)	22,4 ± 0,5	1,6 ± 0,5
	EtOH:H2O(%75)	20,7 ± 0,8	3,2± 0,2
	EtOH	19,7 ± 0,6	3,1± 0,2
	Aseton	10,6 ± 0,4	4,7 ± 0,1
	Etil Asetat	4,4 ± 0,3	1,1 ± 0,2
	Su	14,6 ± 0,12	1,1 ± 0,3

Tablo 4.3: *C.laurifolius* bitkisinde Total Poli Fenol içeriği ve Total Flavanoit içeriği Bulguları.

Bitki	Ekstre	Total Poli Fenol İçeriği (%)±STD	Total Flavanoit İçeriği (%)±STD
<i>C.laurifolius</i>	Hekzan	17,5 ± 0,4	4,6 ± 0,4
	İzopropil alkol	6,9 ± 0,6	4,9 ± 0,4
	EtOH:H2O (%25)	15,0 ± 0,5	1,5 ± 0,2
	EtOH:H2O(%50)	11,4 ± 0,5	1,6 ± 0,3
	EtOH:H2O(%75)	11,7 ± 0,4	2,6± 0,5
	EtOH	8,9 ± 0,5	9,7± 0,5
	Aseton	6,7 ± 0,1	8,0 ± 0,4
	Etil Asetat	4,7 ± 0,3	7,8 ± 0,04
	Su	11,3 ± 0,5	1,7 ± 0,2

4.3. Antioksidan Aktiviteye Ait Bulgular

Eksteler metot kısmında yer alan ilaveler yapıldıktan sonra 517 nm de Eliza cihazında absorbans ölçümleri yapıldı. İşlem toplamda 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Elde edilen ortalama absorbanslar kullanılarak DPPH aktivitesi hesaplanmıştır. Sonuçlar Tablo 4.4 ve Tablo 4.5 de gösterilmiştir.

Tablo 4.4: *C.creticus* için DPPH % İnhibisyon.

Örnek	Seyreltme	ABS	ABS	% inhibisyon	STD
		Ort	Kontrol		
Su	5 kat	0,137	0,482	71,51	0,02
EtOH	10 kat	0,071	0,482	85,27	0,002
EtOH:H2O (%50)	5 kat	0,126	0,482	73,79	0,002
Propilen glikol	10 kat	0,095	0,482	80,22	0,001
İzopropil alkol	10 kat	0,075	0,482	84,51	0,001
Gliserin:H2O	5 kat	0,179	0,482	62,86	0,002
BHA				72,5	
BHT				75,9	
Kontrol			0,482		

Tablo 4.5: *C.laurifolius* için DPPH % İnhibisyon.

Örnek	Seyreltme	ABS	ABS	% inhibisyon	STD
		Ort	Kontrol		
Su	5 kat	0,248	0,482	48,48	0,02
EtOH	10 kat	0,083	0,482	82,71	0,002
EtOH:H2O (%50)	5 kat	0,157	0,482	67,50	0,002
Propilen glikol	10 kat	0,197	0,482	59,20	0,001
İzopropil alkol	10 kat	0,160	0,482	66,80	0,001
Gliserin:H2O	5 kat	0,189	0,482	60,86	0,002
BHA				72,5	
BHT				75,9	
Kontrol			0,42		

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Cistus L. cinsi dünyada 21 Türkiye’de doğal olarak toplamda 5 tür ile temsil edilmektedir. Çeşitli *Cistus L.* türleri halk arasında ülser, diyare, yüksek ateş, kısırlık ve deri hastalıklarının yanında romatizmal hastalıklar, idrar yolları enfeksiyonları, anti-spazmatik, antidiyabetik ve anti enflamatuvar olarak kullanışları bulunmaktadır [7,10,11,32,33].

Genel olarak *Cistus L.* türlerinde yapılan çalışmalar bitki içerisindeki madde gruplarındaki değişkenliklere bağlı olarak antioksidan, antifungal, analjezik, antiviral, antibakteriyel, kan dolaşımı düzenleyici, antiülser etkilere sahip oldukları görülmüştür. *C.creticus* ve *C.laurifolius* bitkilerinin total fenolik madde, total flavanoid miktar tayinleri için toplamda 9 farklı çözücüsü sisteminde ekstratlar hazırlanırken, DPPH aktivitesi ve Fenolik Ve Saponin Bileşen Tayini içinse toplamda 6 farklı çözücü sisteminde ekstratlar hazırlanmıştır.

C.creticus ve *C.laurifolius* türlerinde en belirgin bulunan bileşik epigallokateşin gallat olarak görülmüştür. Bu sonuç diğer yapılan çalışmalarda bulunan %2 lik oranında açıklamaktadır [87]. Bunun yanında bu çalışmada *C.creticus* ve *C.laurifolius* bitkilerinin epigallokateşin gallat, epigallokateşin, apigenin, myricetin ve kersetin görülmektedir. Bulunan bu fenolikler yapılan diğer çalışmalardaki bileşiklerle uygunluk sağlamıştır.

Bileşiklere bakıldığında, polar fazda yoğun olarak flavonoit iskeletine sahip maddelerin bulunduğu ve bu flavonoitlerin de flavonol temel yapısına sahip; kemferol, kersetin ve mirsetin aglikonları ile bu aglikonların glikozitleri, daha çok serbest radikal süpürücü özellikleri ile hücrel oksido-redüksiyonunda düzenleme özelliklerine bağlı gösterdikleri antioksidan özellikleri ile ilgili çok fazla yapılmış araştırma mevcuttur. Bu etkilerini reaktif oksijen türleri olarak adlandırılan peroksi, alkil peroksi, hidroksi, süperoksit radikallerini

süpürücü mekanizma gösterdikleri bilinmektedir. Flavonoitlerin ksantin oksidaz, myeloperoksidaz gibi RNS/ROS üretiminden sorumlu enzimleri inhibe ettiği de yapılan araştırmalarda görülmüştür.

Yapılan bir çok çalışmada flavanotilerin antioksidan etkisi kanıtlanmıştır. Kersetinin fareler üzerinde oral yoldan iki farklı dozajı ile uygulanması sonucu kanda bulunan metabolitleri incelenmiştir. Yüksek ve tek doz uygulanan major plazma konjugatları, flavonoitin 5 ve 7 numaralı konumlarından glukronat ve sülfoglukronat şeklinde gerçekleşirken, B halkasındaki *o*-dihidroksi grupları serbest kalmıştır; ancak uzun süreli dozlamada plazmada görülen temel konjugasyon flavonoitin B halkasındaki OH gruplarının metilasyonu ile gerçekleşmiştir. Bu da flavonoitin antioksidan aktivitesini yüksek ölçüde düşürmüştür [91]. Bu çalışmada hem uygulama şeklinin önemini hem de flavanoitlerin vücuda alındıktan sonra emilim göstermeden de etkisini gösterebileceklerini düşündürmüştür. Böylece gastrointestinal yollarda oksidatif hasarı engelleyerek gelişebilecek kanserleride engelleyebileceği düşünülmüştür [91].

Yapılan farklı bir çalışmada ise özellikle gribal enfeksiyonlar üzerinde belirtilerin ilk hissedildiği andan itibaren kullanılması durumunda virüsler ve bakterilerin gelişimini önlediğine dair bulgular verilmiştir (nöraminidaz inhibitörü). Virüsler üzerindeki etkisi oseltamivir grubu grip ilaçları ile aynı mekanizmaya sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca ağızda yer alan bakterilerin ağız mukozasına yapışmasını ve gelişmesini engellemek için bir biyofilm oluşmasını engeller buda pastil formunun kullanımını açıklamaktadır. Grip virüsüne karşı (influenza) ile ilgili en önemli çalışma mekanizmasının ise polifenollerin virüsün hemaglutinine bağlanarak, onu aglutine ederek virüsün hücre yüzeyine bağlanma yeteneğini düşürmeye yönelik etki ettiği düşüncesidir [88]. Öyleki *Cistus L.* pantentli olarak üst solunum yolları hastalıklarında da kullanılan formülasyonda bulunmaktadır [42].

Literatürde belgelendiği gibi, bitkinin antikanser aktivitesi polifenoller çeşitli mekanizmaları içerir ve nihayet hücre büyümesinin engellenmesine, protein kinaz aktiviteleri, apoptozun indüksiyonu, MMP sekresyonunun inhibisyonu, tümör hücresinin zayıflamasında ve hücrelerin yayılmasında etkili olduğu görülmüştür. Bu çalışmaya dayanarak kanser tedavisinde tedaviye yardımcı olarak kullanılabilir [90]. Özellikle *Cistus creticus* ve *Cistus laurifolius*

türlerinde bulunan mirsetinin fareler üzerinde yapılan çalışmalarında kanser ilerlemesini durdurucu etkisiyle beraber, deri tümörlerine karşı da koruyucu etki gösterdiği ve akciğer kanser hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiği de yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır [93,94].

Flavonoitlerin in-vitro antiinflamatuvar etkilerinin görülmesiyle birlikte yapılan çok sayıda in-vivo çalışmada mirsetin ve kersetinin farklı enflamasyon modellerinde oral/intraperitoneal/lokal uygulamalarda iyi antiinflamatuvar sonuçlar verdiği de yine bulunmuştur [92]. Yapılan çalışmalar flavonoitlerin sadece güçlü antioksidan etkileri nedeniyle karsinojenler veya serbest radikallerce indüklenen DNA hasarını engellemeleri değil; tek başlarına da enflamasyondan sorumlu olmayan, hücre çoğalması ve apoptozis üzerinde etkili olan COX-2 enzimi inhibisyonunu da yapmaları ve kanser hücrelerinin çoğalması, kanser ilerlemesi üzerinde durdurucu etkiler gösterebileceklerini düşündürmüştür.

Bu bilgiler ışığında *C.creticus* ve *C.laurifolius* bitkilerinin içerdiği flavonoitler sebebiyle yüksek radikal süpürücü etkinliğe ve antiinflamatuvar etkinliğe sahip oluşu bitkilerin halk arasında üst solunum yolu enfeksiyonlarında kullanılmasını açıklayabilir. *C.creticus* ve *C.laurifolius* bitkilerinin flavanoit içeriği nedeniyle idrar yolu enfeksiyonlarında, peptik ülser, romatizma gibi hastalıklarda kullanımının doğru olduğu düşünülmektedir

Geniş yayılım alanı gösteren ve doğal olarak yetişen bu iki tür zengin fenolik içeriği nedeniyle ilaç adayı moleküllerin elde edilmesinde potansiyel olarak kaynak olabileceği düşünülebilir. Günümüzde tıbbi ve ekonomik anlamda değeri günden güne artan *Cistus L.* türlerinin ülkemizde yetişebiliyor olması çok önemli bir nokta. *C.creticus* ve *C. laurifolius* bitkileri Avrupada olduğu gibi Türkiye’de de ekonomik anlamda ve endüstriyel olarak öneme sahip bitkiler arasında olmaya aday türlerdir.

US09173912B2			
US009173912B2			
United States Patent	(10)	Patent No.:	US 9,173,912 B2
Feistel et al.	(45)	Date of Patent:	Nov. 3, 2015

CISTUS EXTRACT CONTAINING ENRICHED SECONDARY PLANT INGREDIENTS

Inventors: **Bjoern Feistel**, Andernach (DE);
Bernd Walbroel, Koenigswinter (DE)

Assignee: **Finzelberg GmbH & Co. KG**, Andernach (DE), Type: Foreign Company

Notice: Subject to any disclaimer, the term of this patent is extended or adjusted under 35 U.S.C. 154(b) by 126 days.

Appl. No.: **12/990,878**

PCT Filed: **May 6, 2009**

PCT No.: **PCT/EP2009/055487**

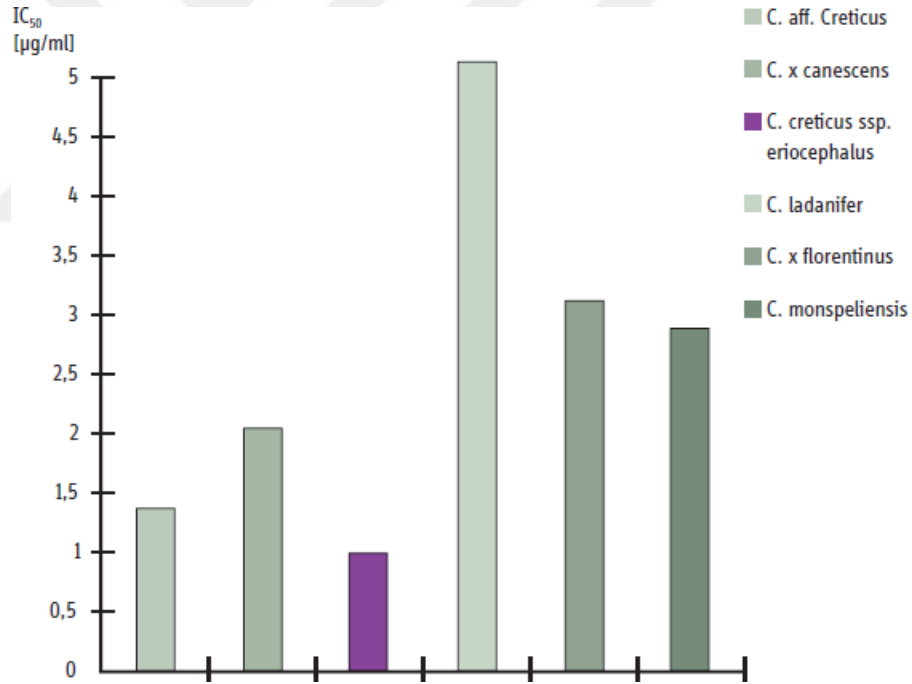
§ 371 (c)(1), (2), (4) Date: **Nov. 18, 2010**

PCT Pub. No.: **WO20/09/135880**

PCT Pub. Date: **Nov. 12, 2009**

Prior Publication Data
US 2011/0059190 A1 Mar. 10, 2011

Şekil 5.1: *Cistus L.* ait patent örneği (Finzelberg).



Şekil 5.2 : *Cistus L.* türlerinin DPPH süpürücü özellikleri.

Cistus L. türleri için antioksidan, antibakteriyel ve antimikrobiyal etkinliğine dayanarak tablet, kapsül, pastil, hazır içecekler, kremler, boğaz spreyleri ve burun spreyleri preperatları ülkemizde yapılabilir..

Tablo 5.1: Alman Finzelberg firmasının patentli *Cistus L.* hammaddesi.

	%20 lik Ekstre	%60 lik ekstre
Ekstraksiyonun solventi	H2O	EtOH:H2O
	Min. % 95	Min. % 95
Parçacık boyutu	<0,315 mm (toz)	<0,315 mm (toz)
Min. 20 Dakika. % 60	Min. 20 %	Min. 60 %
Gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak		

Yapılan bu çalışmalar *Cistus L.* türlerinin özellikle antiinflamatuvar özelliğinin ve anti-viral potansiyelinin çok yüksek olduğunu göstermektedir. Polifenol açısından en yüksek içeriğe sahip olan tür ise *Cistus creticus* olarak değerlendirilmiştir.(Finzelberg GmbH & Co. KG Koblenzer Strase 48–56 56626 Andernach Germany). Avrupada polifenollere en yüksek şekilde ulaşabilmek için çay formunun kullanımı oldukça yaygındır. Bu nedenle %60 polifenol içeriğine sahip patentli hammaddeleri yurt dışında satışı yapılmaktadır (patent numarası W02009135880).(Finzelberg

GmbH & Co. KG Koblenzer Strase 48–56 56626 Andernach Germany). Üst solunum yolları ve antiviral, antibakteriyel etkinliği sayesinde yurt dışında yaygın olarak ağız çalkalama suyu formunda bulunmaktadır. Nitekim *Cistus L.* açısından hayli zengin olan ülkemizde bu tür preperatların kazandırılması ekonomimizi de olumlu etkileyecektir. Doğal olarak yetişmesi nedeniyle hem maliyetsiz olması hemde yüksek antioksidan özelliği önemlidir. Bunun yanında antibakteriyel etkinliği sayesinde antibiyotikler gibi vücudun direnç gelişimi söz

konusu olmamaktadır [89].

Özellikle Almanya gibi çay formunda kullanımı oldukça yaygın kullanıldığı ülkelerde bunun yanında immün sistem desteği olarak kapsül formlarında bulunmaktadır. Bunun antioksidan süpürücü etkinliğinin yüksek olması nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Labdanum ismi verilen reçinesinin yara iyileştirici özelliği nedeniyle krem formlarında bulunmaktadır.

Özellikle Akdeniz ve Kıyı Ege'de geniş bir yayılıma sahip olan *Cistus L.* zengin fenolik içeriği sebebiyle ilaç adayı moleküllerin elde edilmesinde potansiyel bir kaynak olarak düşünülebilir.

C. creticus ve *C.laurifolius* bitkileri Avrupa' da olduğu gibi Türkiye'de de ekonomik ve endüstriyel öneme sahip bitkiler arasında olmaya aday bir türdür.

KAYNAKLAR

- [1] **Diplock, A.** 1998. Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59 p.,Belgium.
- [2] **Kaur, C.** and Kapoor, H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *Int. J. Food Sci. Tech.* 36; 703-725.
- [3] **Dilas SM,** Čanadanović-Brunet JM. Antioxidants in Food. *Chemistry & Industry.*2012;56 (3):105-112.
- [4] **Chinou, I.,** Demetzos, C., Harvala, C., Roussakis, C. ve Verbist, J. F. (1994). Cytotoxic and Antibacterial Labdane-Type Diterpenes from the AerialParts of *Cistus incanus* subsp *creticus*. *Planta Medica*, 60(1), 34-36.
- [5] **Demetzos, C., Dimas, K.,** Hatziantoniou, S., Anastasaki, T. ve Angelopoulou, D.(2001). Cytotoxic and anti-inflammatory activity of labdane and cis- clerodane type diterpenes. *Planta Medica*, 67(7), 614-618.
- [6] **Demetzos, C., Mitaku, S.,** Couladis, M., Harvala, C. ve Kokkinopoulos, D. (1994). Natural Metabolites of ent-13-epi-Manoyl Oxide and Other Cytotoxic Diterpenes from the Resin "LADANO" of *Cistus creticus*. *Planta Medica*, 60(6), 590-591.
- [7] **Guvenc, A., Yildiz, S., Ozkan, A.M.,** Erdurak, C.S., Coskun, M., Yilmaz, G. ve diğ erleri. (2005). Antimicrobiological studies on Turkish *Cistus* species. *Pharmaceutical Biology*, 43(2), 178-183.
- [8] **Yesilada, E., Gurbuz, I.** ve Shibata, H. (1999). Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-*Helicobacter pylori* activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 66(3), 289-293.
- [9] **Yesilada, E., Gurbuz, I.** ve Ergun, E. (1997). Effects of *Cistus laurifolius* L flowers on gastric and duodenal lesions. *Journal of Ethnopharmacology*, 55(3), 201-211.
- [10] **Coode, M.J.E. (1965-1985).** Cistaceae. P. Davis (Ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (c. 1, s. 506-523). Edinburgh: Edinburgh University Press

- [11] **Coode, M.J.E. (1988).** Cistaceae. P. Davis, Mill, R., Tan, K. (Ed.). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. (c. 10, s. 61). Edinburgh: Edinburgh University Press
- [12] **De Pascual Teresa, J.,** Urones, J. G., Basabe, P., Lianos, A. ve Sanches, I. (1979). Flavonoids from Cistaceae. III. *Halimium umbellatum* (L.) Spach, *Cistus laurifolius* L. and *C. monspeliensis* L. *Anales de Quimica*, 75(2), 168-171.
- [13] **Petereit, F., Kolodziej, H.** ve Nahrstedt, A. (1992). Proanthocyanidins and Biogenetically Related Dihydroflavonols from *Cistus incanus* L. *Plant Polyphenols : Synthesis, Properties, Significance*, 59, 729-737.
- [14] **Demetzos, C., Harvala, C.,** Philianos, S. M. ve Skaltsounis, A. L. (1990). A New Labdane-Type Diterpene and Other Compounds from the Leaves of *Cistus incanus* ssp *creticus*. *Journal of Natural Products*, 53(5), 1365-1368.
- [15] **Sadhu, S.K., Okuyama, E.,** Fujimoto, H., Ishibashi, M. ve Yesilada, E. (2006). Prostaglandin inhibitory and antioxidant components of *Cistus laurifolius*, a Turkish medicinal plant. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(3), 371-378.
- [16] **Demetzos, C., Mitaku, S.,** Hotellier, F. ve Harvala, A. (1989). Polyphenolic glycosides from *Cistus creticus* L. leaves. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 47(5), 314-318.
- [17] **Ustun, O., Ozcelik, B.,** Akyon, Y., Abbasoglu, U. ve Yesilada, E. (2006). Flavonoids with *anti-Helicobacter pylori* activity from *Cistus laurifolius* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(3), 457-461.
- [18] **Vogt, T., Gülz, P.G.** ve Wray, V. (1988). Epicuticular 5-O-methyl flavonols from *Cistus laurifolius*. *Phytochemistry*, 27(11), 3712-3713.
- [19] **Petereit, F., Kolodziej, H.** ve Nahrstedt, A. (1991). Flavan-3-Ols and Proanthocyanidins from *Cistus incanus*. *Phytochemistry*, 30(3), 981-985.
- [20] **Petereit, F., Kolodziej, H.** ve Nahrstedt, A. (1992). Proanthocyanidins and Biogenetically Related Dihydroflavonols from *Cistus incanus* L. *Plant Polyphenols : Synthesis, Properties, Significance*, 59, 729-737.
- [21] **Danne, A., Petereit, F.** ve Nahrstedt, A. (1993). Proanthocyanidins from *Cistus incanus*. *Phytochemistry*, 34(4), 1129-1133.

- [22] **Demetzos, C., Mitaku, S., Skaltsounis, A. L., Harvala, M. C. C. ve Libot, F.** (1994). Diterpene Esters of Malonic-Acid from the Resin Ladano of *Cistus creticus*. *Phytochemistry*, 35(4), 979-981.
- [23] **Dimas, K., Demetzos, C., Marsellos, M., Sotiriadou, R., Malamas, M. ve Kokkinopoulos, D.** (1998). Cytotoxic activity of labdane type diterpenes against human leukemic cell lines in vitro. *Planta Medica*, 64(3), 208-211.
- [24] **Ogutveren, M. ve Tetik, S.S. (2004).** Composition of the essential oil of *Cistus laurifolius* L. from Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 16(1), 24-25.
- [25] **De Pascual Teresa, J., Urones, J. G. ve Bermejogonzalez, F.** (1978). Constituents of *Cistus laurifolius* L .1. Acetyllaurifolic Acid. *Anales De Quimica*, 74(12), 1540-1543.
- [26] **De Pascual Teresa, J., Urones, J. G., Marcos, I. S., Bermejo, F. ve Basabe, P.** (1983). A rearranged labdane: Salmantic acid from *Cistus laurifolius*. *Phytochemistry*, 22(12), 2783-2785.
- [27] **Anastasaki, T., Demetzos, C., Perdetzoglou, D., Gazouli, M., Loukis, A. ve Harvala, C.** (1999). Analysis of labdane-type diterpenes from *Cistus creticus* (subsp. creticus and subsp. eriocephalus), by GC and GC-MS. *Planta Medica*, 65(8), 735-739.
- [28] **De Pascual Teresa, J., Urones, J.G., Marcos, I.S., Barcala, P. B. ve Garrido, N.M.** (1986). Diterpenoid and other components of *Cistus laurifolius*. *Phytochemistry*, 25(5), 1185-1187.
- [29] **Kalpoutzakis, E., Chinou, I., Mitaku, S., Skaltsounis, A.L. ve Harvala, C.** (1998). Antibacterial labdane-type diterpenes from the resin "ladano" of *Cistus creticus* subsp. creticus. *Natural Product Letters*, 11(3), 173-179.
- [30] **Demetzos, C., Loukis, A., Spiliotis, V., Zoakis, N., Stratigakis, N. ve Katerinopoulos, H. E.** (1995). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cistus creticus* L. *Journal of Essential Oil Research*, 7(4), 407- 410.
- [31] **Demetzos, C., Stahl, B., Anastassaki, T., Gazouli, M., Tzouvelekis, L. S. ve Rallis, M.** (1999). Chemical analysis and antimicrobial activity of the resin Ladano, of its essential oil and of the isolated compounds. *Planta Medica*, 65(1), 76-78.

- [32] **Attaguile, G., Perticone, G.,** Mania, G., Savoca, F., Pennisi, G. ve Salomone, S. (2004). *Cistus incanus* and *Cistus monspeliensis* inhibit the contractile response in isolated rat smooth muscle. *Journal of Ethnopharmacology*, 92(2- 3), 245-250.
- [33] **Yesilada, E., Ustun, O., Sezik, E.,** Takaishi, Y., Ono, Y. ve Honda, G. (1997). Inhibitory effects of Turkish folk remedies on inflammatory cytokines: interleukin-1alpha, interleukin-1beta and tumor necrosis factor alpha. *Journal of Ethnopharmacology*, 58(1), 59-73.
- [34] **Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E.,** Tabata, M., Fujita, T., Tanaka, T., Takeda, Y. ve Takaishi, Y. (1995). Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of Ethnopharmacology*, 46, 133-152
- [35] **De Andres, A.I., Gomez-Serranillos, M.P.,** Iglesias, I. ve Villar, A.M. (1999). Effects of extract of *Cistus populifolius* L. on the central nervous system. *Phytotherapy Research*, 13(7), 575-579.
- [36] **Demetzos, C., Katerinopoulos, H.,** Kouvarakis, A., Stratigakis, N., Loukis, A., Ekonomakis, C., Spiliotis, V. ve Tsaknis, J. (1997). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cistus creticus subsp. eriocephalus*. *Planta Medica*, 63(5), 477-479.
- [37] **Dimas, K., Demetzos, C., Mitaku, S.,** Vaos, B., Marselos, M., Tzavaras, T. ve Kokkinopoulos, D. (1999). Cytotoxic activity and antiproliferative effects of a new semi-synthetic derivative of ent-3 beta-hydroxy-13-epi-manoyl oxide on human leukemic cell lines. *Anticancer Research*, 19(5B), 4065-4072.
- [38] **Droebner, K., Ehrhardt, C., Poetter, A.,** Ludwig, S. ve Planz, O. (2007). CYSTUS052, a polyphenol-rich plant extract, exerts anti-influenza virus activity in mice. *Antiviral Research*, 76(1), 1-10.
- [39] **Ehrhardt, C., Hrincius, E. R., Korte, V.,** Mazur, I., Droebner, K., Poetter, A., Dreschers, S., Schmolke, M., Planz, O. ve Ludwig, S. (2007). A polyphenol rich plant extract, CYSTUS052, exerts anti influenza virus activity in cell culture without toxic side effects or the tendency to induce viral resistance. *Antiviral Research*, 76(1), 38-47.
- [40] **Kalus, U., Grigorov, A., Kadecki, O.,** Jansen, J.P., Kiesewetter, H. ve Radtke,

- H. (2009). *Cistus incanus* (CYSTUS052) for treating patients with infection of the upper respiratory tract A prospective, randomised, placebo-controlled clinical study. *Antiviral Research*, 84(3), 267-271.
- [41] **Kalus, U., Kiesewetter, H.** ve Radtke, H. (2010). Effect of CYSTUS052 (R) and Green Tea on Subjective Symptoms in Patients with Infection of the Upper Respiratory Tract. *Phytotherapy Research*, 24(1), 96-100.
- [42] **Detlef Schierstedt, S.A.** (2010). *Cistus* Extracts, USA Patent No. United States Patent Application Publication.
- [43] **Baytop, T.** (1999). Türkiye'de Bitkiler Ėle Tedavi (GeçmiĖte ve Bugün). Ėstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
- [44] **Honda, G., Yesilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Takaishi, Y. ve Tanaka, T.** (1996). Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, MuĖla, Aydin provinces. *Journal of Ethnopharmacology*, 53(2), 75-87.
- [45] **KoçyiĖit, M. ve Özhatay, N.** (2006). Wild Plants Used as Medicinal Purpose in Yalova (Northwest Turkey). *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(2), 91-103.,
- [46] Tuzlaci, E. ve Aymaz, P. E. (2001). Turkish folk medicinal plants, Part IV: Gönen (Balıkesir). *Fitoterapia*, 72(4), 323-343.
- [47] **KargioĖlu, M., Cenkcı, S., Serteser, A., EvliyaoĖlu, N., Konuk, M., Kök, M.Ė. ve Bağcı, Y.** (2008). An Ethnobotanical Survey of Inner-West Anatolia, Turkey. *Human Ecology*, 36, 763-777.
- [48] **Lendeckel, U., Arndt, M., Wolke, C., Reinhold, D., Kahne, T. ve Ansorge, S.** (2002). Inhibition of human leukocyte function, alanyl aminopeptidase (APN, CD13) and dipeptidylpeptidase IV (DP IV, CD26) enzymatic activities by aqueous extracts of *Cistus incanus* L. ssp *incanus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(2), 221-227.
- [49] **Hatziantoniou, S., Dimas, K., Georgopoulos, A., Sotiriadou, N. ve Demetzos, C.** (2006). Cytotoxic and antitumor activity of liposome-incorporated sclareol against cancer cell lines and human colon cancer xenografts. *Pharmacological Research*, 53(1), 80-87.
- [50] **Dimas, K., Hatziantoniou, S., Tseleni, S., Khan, H., Georgopoulos, A., Alevizopoulos, K., Wyche, J., Pantazis, P. ve Demetzos, C.** (2007). Sclareol induces apoptosis in human HCT116 colon cancer cells ; in vitro and

- suppression of HCT116 tumor growth in immunodeficient mice. *Apoptosis*, 12(4), 685-694.
- [51] **Dimas, K., Kokkinopoulos, D., Demetzos, C., Vaos, B., Marselos, M., Malamas, M. ve Tzavaras, T.** (1999). The effect of sclareol on growth and cell cycle progression of human leukemic cell lines. *Leukemia Research*, 23(3), 217-234.
- [52] **Dimas, K., Papadaki, M., Tsimplouli, C., Hatziantoniou, S., Alevizopoulos, K., Pantazis, P. ve Demetzos, C.** (2006). Labd-14-ene-8,13-diol (sclareol) induces cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells and enhances the activity of anticancer drugs. *Biomedecine & Pharmacotherapy*, 60(3), 127-133.
- [53] **Hannig, C., Sorg, J., Spitzmuller, B., Hannig, M. ve Al-Ahmad, A.** (2009). Polyphenolic beverages reduce initial bacterial adherence to enamel in situ. *Journal of Dentistry*, 37(7), 560-566.
- [54] **Hannig, C., Spitzmuller, B., Al-Ahmad, A. ve Hannig, M.** (2008). Effects of *Cistus*-tea on bacterial colonization and enzyme activities of the in situ pellicle. *Journal of Dentistry*, 36(7), 540-545.
- [55] **Kalpoutzakis, E., Aligiannis, N., Mitaku, S., Chinou, I., Harvala, C. ve Skaltsounis, A.L.** (2001). New semisynthetic antimicrobial labdane-type diterpenoids derived from the resin "Ladano" of *Cistus creticus*. *Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences*, 56(1-2), 49-52.
- [56] **Ustun, O., Ozcelik, B., Akyon, Y., Abbasoglu, U. ve Yesilada, E.** (2006). Flavonoids with anti-*Helicobacter pylori* activity from *Cistus laurifolius* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(3), 457-461.
- [57] **Kupeli, E., Orhan, D.D. ve Yesilada, E.** (2006). Effect of *Cistus laurifolius* L. leaf extracts and flavonoids on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(3), 455-460.
- [58] **Ark, M., Ustun, O. ve Yesilada, E.** (2004). Analgesic activity of *Cistus laurifolius* in mice. *Pharmaceutical Biology*, 42(2), 176-178.
- [59] **Kupeli, E. ve Yesilada, E.** (2007). Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures. *Journal of Ethnopharmacology*, 112(3), 524-530.
- [60] **Enomoto, S., Okada, Y., Guvenc, A., Erdurak, C. S., Coskun, M. ve Okuyama, T.** (2004). Inhibitory effect of traditional Turkish folk medicines

on aldose reductase (AR) and hematological activity, and on AR inhibitory activity of quercetin-3-O-methyl ether isolated from *Cistus laurifolius* L. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 27(7), 1140-1143.

- [61] **Papaefthimiou, D.**, Papanikolaou, A., Falara V., Givanoudi S., Kostas S., K.Kanellis A. (2014). Genus *Cistus*: a model for exploring labdane type diterpenes' biosynthesis and a natural source of high value products with biological, aromatic, and pharmacological properties. *Frontiers in chemistry*, doi: 10.3389/fchem.2014.00035
- [62] **Arrington, J. M., and Kubitzki, K.** (2003). "Cistaceae," in *Flowering Plants Dicotyledons: Capparales, Malvales and Non-Betalain Caryophyllales*, ed K. Kubitzki (Berlin: Springer), 62–70.
- [63] Tubives, 2014b. Erişim Tarihi: 14.12.2014. http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=1097
- [64] **Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M.** (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 152-178.
- [65] **Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., Chern, J. C.** (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- [66] **Lin, J. and Tang, C.** (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food chemistry*, 101(1), 140-147.
- [67] **WILLORD, H.H., MERRITT, L., JR., DEAN, J.A., SETTLE, F.A.** (1981). *Instrumental Methods of Analysis*, 6th Ed. New York: D. Van Nostrand Company
- [68] **SKOOG, D.A., HOLLER, F.C., NIEMAN, T.A.** (1998). *Principles of Instrumental Analysis* 5th Ed. Philadelphia: Saunders College Publishers (Çeviri Ed. Esmâ Kılıç, Ankara: Bilim Yayıncılık)
- [69] **MEYER, V.R.** (1999). *Practical High-Performance Liquid Chromatography*, 3rd Ed. New York: John Wiley and Sons Ltd.
- [70] **GÜNDÜZ T.** (1999). *Enstrümental Analiz*, 5. Baskı. Ankara: Gazi Kitabevi
- [71] **ARDREY, R.E.** (2003). *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An Introduction*. The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex, England: John Wiley and Sons Ltd.

- [72] **Seyid Ahmet Sargın1** , Selami Selvi2 , Mikail Açar3, Türkiye' de Yayılış Gösteren *Cistus* L. (Cistaceae) Cinsi Üzerinde Taksonomik ve Morfolojik Araştırmalar, ULUSAL BOTANİK BİTKİ BİLİMİ KONGRESİ
- [73] **AZIZ, M., TAB, N., KARIM, A., MEKHFI, H., BNOUHAM, M., ZIYYAT, A., MELHAOUI, A., LEGSSYER, A.** (2006). Relaxant effect of aqueous extract of *Cistus ladaniferus* on rodent intestinal contractions. *Fitoterapia*, 77: 425-428.
- [74] **Coode, M.J.E. (1988). Cistaceae.** P. Davis, Mill, R., Tan, K. (Ed.). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. (c. 10, s. 61). Edinburgh: Edinburgh University Press
- [75] **Balasundram, N., Sundram, K., Saman, S.,** 2006. Phenolic compounds in plants agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191- 203
- [76] **Bravo, L.,** 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56: 317- 333.
- [77] **Meral, R., Doğan, İ.S.,** 2006. Buğdayda bulunan antioksidan maddeler. Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongresi, 7-8 Eylül 2006, Gaziantep.
- [78] **Öztürk, N., Tunaher, Z.,** 2002. Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler. Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
- [79] **Turkoglu, A., Kivrak, I., Mercan, N., Duru, M. E., Gezer, K. Ve Turkoglu, H.** (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of *Morchella conica* Pers, *African Journal of Biotechnology*, 5, (11), 1146-1150.
- [80] **Dai, J., and Mumper, R. J. (2010).** Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352
- [81] **Kiyama, R. (2016).** Biological effects induced by estrogenic activity of lignans. *Trends in Food Science & Technology*, 54, pp. 186-196.
- [82] **Guzmán, B. & Vargas, P. (2005),** "Systematics, character evolution, and biogeography of *Cistus* L. (Cistaceae) based on ITS, trnL-trnF, and matK sequences", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37: 644–660, doi:10.1016/j.ympev.2005.04.026, PMID 16055353, p. 646
- [83] "*Cistus creticus* subsp. *eriocephalus*", The Plant List, retrieved 2015-03-01
- [84] "*Cistus creticus*", The Plant List, retrieved 2015-03-01
- [85] Laden (ogm.gov.tr) OGM BİYOD Veritabanı
- [86] *Food and Chemical Toxicology* 48 (8-9), 2227-2238

- [87] **Droebner, K., vd. 2007.** "CYSTUS052, a polyphenol-rich plant extract, exerts anti-influenza virus activity in mice", *Antiviral Research*, 76, 1-10.
- [88] **Nakayama, M., vd. 1993.** "Inhibition of the infectivity of influenza virus by tea polyphenols", *Antiviral research*, 21, 289-99.
- [89] **Ehrhardt, C., vd. 2007.** "A polyphenol rich plant extract, CYSTUS052, exerts anti influenza virus activity in cell culture without toxic side effects or the tendency to induce viral resistance", *Antiviral research*, 76, 38-47.
- [90] **Kanadaswami C., Lee L.T., Lee P.P.H., Hwang J.J., Ke F.C. et al.:** In Vivo (Brooklyn) 19, 895 (2005).
- [91] **Santos, M.R., Rodriguez-Gomez, M.J., Justino, G.C., Charro, N., Florencio, M.H. ve Mira, L. (2008).** Influence of the metabolic profile on the in vivo antioxidant activity 226 of quercetin under a low dosage oral regimen in rats. *British journal of pharmacology*, 153(8), 1750-1761.
- [92] **Gomes, A., Fernandes, E., Lima, J.L.F.C., Mira, L. ve Corvo, M.L. (2008).** Molecular Mechanisms of Anti-Inflammatory Activity Mediated by Flavonoids. *Current Medicinal Chemistry*, 15, 1586-1605.
- [93] **Garcia, B.O., Castillo, J., Alcaraz, M., Vicente, V., Rio, D.J.A. ve Ortuno, A. (2007).** Beneficial Action of Citrus Flavonoids on Multiple Cancer-Related Biological Pathways. *Current Cancer Drug Targets*, 7, 795-809.
- [94] **He, S., Sun, C. ve Pan, Y. (2008).** Red wine polyphenols for cancer prevention. *International Journal of Molecular Sciences*, 9(5), 842-853.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Kübra Erduğan

Doğum Tarihi ve Yeri :

E-posta :

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2015, Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat Fak, Biyoloji

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2015 İstanbul Üni. Çapa Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı/Biyolog
- 2017-2019 Zade Vital İlaç Firması / Medikal Uzman
- 2019- Halen Novanutrica Doğal Yaşam Ürünleri / Ürün Sorumlusu