

**EGE ÜNİVERSİTESİ ARAŞTIRMA FONU
PROJE RAPORU**

**EGE UNIVERSITY RESEARCH FUND
PROJECT FINAL REPORT**

Proje No: 2001 / ECZ/ 009

***Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L.,
Pistacia lentiscus var. *chia*
(Anacardiaceae) Türlerinden Hazırlanan Folia Pistaciae
Droglarının Kalite Kontrolü ve E Vitamini
Açısından Değerlendirilmesi
Proje Yürütücüsü:
Arş.Gör. Selma AKAY
Proje Danışmanı:
Prof. Dr. Bijen KIVÇAK**

**The Quality Control Studies and Determination of the Vitamin E on Folia
Pistaciae Prepared from *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L.,
Pistacia lentiscus var. *chia* (Anacardiaceae)**

Eczacılık Fakültesi Meslek Bilimleri Bölümü

**Fac. of Pharm., Dept. of Pharmaceutical Sciences
Bornova- İZMİR
2003**

Bu çalışmayı değerli bilgi ve yardımlarıyla yöneten danışman hocam Sayın Prof. Dr. Bijen KIVÇAK'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Antibakteriyel aktivite tayinlerindeki yardımları için, Ege Üniversitesi Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Araştırma Görevlilerinden H. Tansel ztrk'e, uçucu yağ analiz çalışmalarındaki yardımları için Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi (TBAM) Müdürü Sayın Prof. Dr. Kemal Hsn Can Başer ve Yrd. Doç. Dr. Betül Demirci'ye ve araştırma projesi olarak bu çalışmaya verdiği maddi desteği için Ege Üniversitesi Araştırma Fonuna teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım süresince beni her türlü yardımlarıyla destekleyen aileme ve çalışma arkadaşlarıma da sonsuz sevgi ve teşekkürlerimle.

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ.....	1
II. BOTANİK BÖLÜM.....	7
1. <i>Pistacia terebinthus</i> , <i>Pistacia lentiscus</i> , <i>Pistacia lentiscus</i> var. <i>chia</i> Üzerinde Botanik İncelemeler.....	7
A. TEORİK KISIM.....	7
a. <i>Pistacia</i> genusu.....	7
b. <i>Pistacia terebinthus</i> L.	8
c. <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	10
d. <i>Pistacia lentiscus</i> var. <i>chia</i>	11
e. Folia Pistaciae	12
B. PRATİK KISIM.....	12
1. MATERYAL VE METOT.....	12
2. BULGULAR.....	12
a. Folia Pistaciae Droglarının Makroskopik İncelemesine Ait Bulgular.....	12
-Folia Pistaciae terebinthus.....	12
-Folia Pistaciae lentiscus.....	13
-Folia Pistaciae lentiscus var. chia.....	13
b. Folia Pistaciae Droglarının Anatomik İncelenmesine Ait Bulgular.....	13
-Folia Pistaciae terebinthus.....	13
-Folia Pistaciae lentiscus.....	19
-Folia Pistaciae lentiscus var. chia.....	25
3. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	31
III. KİMYASAL BÖLÜM.....	32
1. Folia Pistaciae Drogları Üzerinde Kalite Kontrol Çalışmaları.....	32
A. TEORİK KISIM.....	32
B. PRATİK KISIM.....	33
1. MATERYAL VE METOT.....	33
a. Nem Miktar Tayini.....	33
b. Total Kül Miktar Tayini.....	33

c. Sülfat Külü Miktar Tayini.....	34
2. BULGULAR.....	34
3. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	38
2. Folia Pistaciae Droglarında Vitamin E Miktar Tayini.....	39
A. TEORİK KISIM.....	39
B. PRATİK KISIM.....	41
1. MATERYAL VE METOT.....	41
a. Ekstrelerin Hazırlanması.....	41
b. Ekstrelerde Bulunan Vitamin E'nin Teşhis ve Kontrolü.....	42
1. A. Folia Pistaciae Droglarında Vitamin E'nin Kolorimetrik Bir Yöntem ile Miktar Tayini.....	43
a. Vitamin E ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi.....	43
b. Folia Pistaciae Droglarında Bulunan Vitamin E'nin Miktar Tayini.....	43
1. B. Folia Pistaciae Droglarında Vitamin E'nin Optik Dansitometrik Bir Yöntem ile Miktar Tayini.....	44
a. Vitamin E ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi.....	44
b. Folia Pistaciae Droglarında Bulunan Vitamin E'nin Miktar Tayini.....	45
2. BULGULAR.....	46
a. Folia Pistaciae Droglarından Elde Edilen Ekstre Miktarları.....	46
b. Ekstrelerde Bulunan Vitamin E'nin Teşhis ve Kontrolü.....	46
1. A. Folia Pistaciae Droglarında Vitamin E'nin Kolorimetrik Bir Yöntem ile Miktar Tayini.....	48
a. Vitamin E ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi	48
(Saf vitamin E ile Yapılan Alan Taraması).....	48
b. Folia Pistaciae Droglarında Bulunan Vitamin E'nin Miktar Tayini.....	56
- Folia Pistaciae terebinthus Ekstresindeki Vitamin E'nin Kolorimetrik Miktar Tayinine Ait Sonuçlar.....	56
- Folia Pistaciae lentiscus Ekstresindeki Vitamin E'nin Kolorimetrik Miktar Tayinine Ait Sonuçlar.....	57
- Folia Pistaciae lentiscus var. chia Ekstresindeki Vitamin E'nin Kolorimetrik Miktar Tayinine Ait Sonuçlar.....	58
1. B. Folia Pistaciae Droglarında Vitamin E'nin Optik Dansitometrik Bir Yöntem ile Miktar Tayini.....	59

a. Vitamin E ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi.....	59
b. Folia Pistaciae Droğunda Bulunan Vitamin E'nin Miktar Tayini.....	62
- Folia Pistaciae terebinthus Ekstresindeki Vitamin E'nin Optik Dansitometrik Miktar Tayinine Ait Sonuçlar.....	62
- Folia Pistaciae lentiscus Ekstresindeki Vitamin E'nin Optik Dansitometrik Miktar Tayinine Ait Sonuçlar.....	63
- Folia Pistaciae lentiscus var. chia Ekstresindeki Vitamin E'nin Optik Dansitometrik Miktar Tayinine Ait Sonuçlar.....	64
3. Sonuçların İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	65
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	69
IV. Folia Pistaciae Droğları Üzerinde Biyolojik Aktivite Tayinleri.....	72
1. Folia Pistaciae Droğlarında Sitotoksik Aktivite Tayini.....	72
A. TEORİK KISIM.....	72
B. PRATİK KISIM.....	72
1. MATERYAL VE METOT.....	72
a. Folia Pistaciae Etanol, Metanol ve Etilasetat Ekstresinin Hazırlanışı.....	73
b. Folia Pistaciae n -Hegzan Ekstresinin Hazırlanışı.....	73
c. Folia Pistaciae İnfüzyonunun Hazırlanışı.....	73
1.a. <i>Artemia Salina</i> (Brine shrimp).....	74
1.b. <i>Artemia Salina</i> Metodu.....	75
1.c. Folia Pistaciae Droğları Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Analizler.....	76
Kullanılan Yöntemler.....	76
2. BULGULAR.....	78
a. Folia Pistaciae Droğlarından Hazırlanan Ekstrelerin Sitotoksik Aktivite Tayin Sonuçları.....	78
b. Folia Pistaciae Droğlarının Fitokimyasal Analiz Sonuçları.....	79
3. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	79
2. Folia Pistaciae Droğlarında Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	81
A. TEORİK KISIM.....	81
B. PRATİK KISIM.....	82
1. MATERYAL VE METOT.....	82
a. Disk Diffüzyon Metodu.....	82

b. Besi Yeri.....	82
c. Müeller Hinton Agarın Hazırlanması.....	83
d. Besi Yerinin İnokulasyonu.....	83
e. Disklerin Yerleştirilmesi.....	83
f. Kullanılan Bakteriler ve Oluşturdukları Enfeksiyonlar.....	84
2. BULGULAR.....	86
3.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	88
V. Folia Pistaciae Droglarında Uçucu Bileşiklerin Saptanması ve İzolasyonu.....	91
A.TEORİK KISIM.....	91
B. PRATİK KISIM.....	91
1. MATERYAL VE METOT.....	91
a. Bitkisel Materyal.....	91
b. Deneysel Çalışma.....	92
c. Analitik Çalışma.....	93
2. BULGULAR.....	93
3. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	98
ÖZET	99
SUMMARY	100
KAYNAKLAR	101
ÖZGEÇMİŞ	107

I. GİRİŞ

Anacardiaceae familyasının bir türü olan *Pistacia lentiscus* L. Akdeniz ikliminin hakim olduğu bölgeler olan İspanya, Portekiz, İtalya ve Türkiye’de yaygın olarak bulunmaktadır (1,2). Ülkemizde ise Trakya ve Anadolu’nun bilhassa batı ve güney kısımlarında daha fazla yayılış gösterdiği bitki sistematikçileri tarafından bildirilmektedir (2,3).

Pistacia lentiscus L., herdem yeşil, 1-3(-5) m boyunda maki formasyonu içinde yer alan bir bitki türüdür (2).

Latince ismi *Pistacia lentiscus* L. olan bu bitkinin dünyada bilinen diğer isimleri mastic tree, lentisk, lentico, mastixbaum, lentisco verda deiro, almacegueira, daro, daroeira, aroeira da praia’dır. Ülkemizde de bitki çitlenbik ve yabani sakız ağacı adlarıyla tanınmaktadır (1,4).

Avrupa’da geniş çapta yayılış gösteren *Pistacia lentiscus* L. yurdumuzda da yabani olarak yetişmektedir. Yaprakların tanence zengin olması göz önünde tutularak sanayide tanen kaynağı olarak kullanımı adına bazı çalışmalar yapılmıştır (5). Bitkinin yapraklarından hazırlanan sulu ekstrenin önemli diüretik etki gösterdiği, dolayısıyla bitkinin antihipertansif etkiden sorumlu olduğu saptanmıştır (6). Bitkinin yaprak ve genç sürgünlerinden hazırlanan drog halk hekimliğinde, haricen solunum yolları rahatsızlıklarında, egzema tedavisinde;

dahilen astrenjan, antienflamatuar, antipiretik, boğaz enfeksiyonları, diyare ve böbrek taşı tedavisinde, antispazmotik, mide ağrıları ve sarılık tedavisinde kullanılmaktadır (7). İsrail’de yapılan bir çalışmada **Folia Pistaciae lentiscus** droğunun bazı mantarlar üzerinde antifungal aktiviteye sahip olduğu görülmektedir (8).

Folia Pistaciae lentiscus droğunun içerdği ana maddeler gallokateşol tip tanen başta olmak üzere gallotanen, gallik asit ve triterpenik asitlerdir (9). Droğun lupeol, sikloartenol, sterol ve β -sitosterol; palmitik, stearik, oleik, linoleik asit esterleri; flavanoid bileşenleri, reçine, uçucu yağ ve E vitamini içerdği de bilinmektedir (10-12).

Ülkemizde İzmir Çeşme’de ve Yunanistan’ın Sakız Adası’nda bu bitkinin bir varyetesi olan *Pistacia lentiscus* var. *chia* yetiştirilmektedir (4). Bu tür 10 m kadar yükselebilen ve kışın yapraklarını dökmeyen bir ağaçtır (12). Bu ağaçların yaşlı dal ve gövdesine açılan yarıklardan akan reçineye Mastix T.K.(sakız) adı verilir (4). Bu reçine ülkemizde damlasakızı, mezeke sakızı, mesteki ve sakızlak gibi isimlerle bilinmektedir (12).

Bir kültür bitkisi olan *Pistacia lentiscus* var. *chia*’dan elde edilen sakız *Helicobacter pylori* üzerinde antibakteriyal etkiye sahiptir (13). Reçine ve yaprak uçucu yağlarının ana etkili bileşik olarak α -pinen, mirsen, trans-karyofillen ve karyofillen içerdği bulunmuş ve bu bileşenlerin bazı bakteri ve mantarlar üzerinde antibakteriyal ve antifungal etkiye sahip olduğu gözlenmiştir (14).

Bitkiden elde edilen reçine halk arasında stomaşik, dişetlerini kuvvetlendirmek ve ağız kokusunu yok etmek amacıyla kullanılır (12).

Yoğun olarak rezin ve uçucu yağ taşıyan bitkide, sakız içinde uçucu yağ, mastisik asit, mastisin ve acı madde bulunmaktadır. Uçucu yağ bilhassa d- α -pinence zengindir (14).

Anacardiaceae familyasının bir diğer üyesi olan *Pistacia terebinthus* L. ise yine Akdeniz ikliminin hakim olduğu Kuzey Avrupa, Afrika, Hindistan ve Türkiye’de yayılım göstermektedir (2). Ülkemizde ise İstanbul, Bursa, Adana, Mersin ve İskenderun çevresinde lokalize şekilde dağılmaktadır (3). Latince ismi *Pistacia terebinthus* L. olan bitki 5-6 m yükseklikte, kışın yapraklarını döken dioik bir ağaçtır (12).

Pistacia terebinthus L. bitkisinin dünyada bilinen diğer isimleri cyprus turpentine, turpentine tree, terebinth, terebinto, fedigueira ve cornalheira’dır (15). Bitki ülkemizde menengiç, çitlenbik ağacı, çitlangıç ağacı, terebentin sakız ağacı isimleri ile bilinmektedir (12).

Bitki yapraklarında *Pemphigus corniculatus* Pass. isimli böcek tarafından meydana getirilen mazi, yüksek oranda tanen taşır (3). Yapılan çalışmalar bu mazıdan izole edilen oleanonik asitin lökrin sentezini inhibe ettiği ve antienflamatuar aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (16). Bitkinin yaprakları halk hekimliğinde, güneş yanıklarının tedavisinde; reçinesi, mide ağrıları ve peptik ülserin tedavisinde; meyvaları ise ezilmek suretiyle astım tedavisinde kullanılmaktadır (17,18). Aynı zamanda meyvaların menengiç kahvesi olarak veya yağ eldesi için kullanımında rastlanmaktadır (19). Yapılan klinik çalışmalar, bitkinin kronik ve akut enflamasyonda etkili olduğunu ve antienflamatuar bir ajan olan lanostan için bir kaynak oluşturabileceğini göstermektedir (20).

Droğun içerdđi ana etkili madde tanendir. Bunun yanında drog rezin, uçucu yağ ve sabit yağ ihtiva etmektedir. Bu yağlar palmitik, stearik, oleik, linoleik asitlerin trigliseritleridir. Ayrıca sakkaroz, protein ve vitamin E kaydadeğer diğer etken bileşenlerdir (3,5,21).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, vitamin E'nin, kanser oluşumunda ve ilerlemesinde rolü olan aktif oksijen radikallerini nötralize ederek, bağışıklık sistemini güçlendirdiği ve bu hastalığın önlenmesinde veya tedavisinde de etkili olabileceği bildirilmektedir (22,23). Yine E vitamininin *in vitro* deneylerde yüksek konsantrasyon düzeylerinde trombosit agregasyonunu inhibe ettiği saptanmıştır (24,25). Ayrıca, gerçekleştirilen epidemiyolojik çalışmalar, vitamin E'nin günlük alınan miktarı ile kronik kalp hastalığına yakalanma ve buna bağlı ölümler arasında ters bir ilişki olduğunu göstermektedir (26-28).

Günümüzün en ölümcül ve en sık rastlanan hastalıklarında etkili olduğunu gördüğümüz E vitaminine ait çalışmaların büyük çoğunluğu, insan kan serumunda yapılmaktadır (29,30).

Bunun yanında bitkiler üzerinde yapılan çalışmalar da mevcuttur. Örneğin *Gallesia gorazema* yapraklarında, soya fasülyesi yağında, ayçiçek yağında, hurma ağacı yapraklarında ve bazı Akdeniz bitkilerinin yapraklarında, E vitamini analizlerinin yapıldığı bilinmektedir (31-34). Ayrıca, yurdumuzda *Arbutus unedo* L. yapraklarında E vitamini miktar tayini yapıldığıda saptanmıştır (35).

Çalışmalarımızda E vitamini içerdiğini saptadığımız **Folia Pistaciae terebinthus**, **Folia Pistaciae lentiscus** ve **Folia Pistaciae lentiscus var. chia** drogları üzerinde mevcut detaylı bir anatomik çalışmaya rastlanmamakla birlikte, yine yapığımız literatür çalışmasında gördük ki, Avrupa ülkelerinde ve Türkiye’de yetişen *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L., *Pistacia lentiscus* var *chia* yapraklarından hazırlanmış droglar üzerinde, kalite kontrollerine yönelik, yeterli nitelik ve kapsamda bilimsel bir araştırma mevcut değildir. Aynı şekilde ülkemizde, E vitamini ile ilgili olarak, bu bitkiler üzerinde yapılmış bir çalışma yoktur.

Bu gerçekler dikkate alınarak, *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkileri üzerinde, aşağıda belirtilen çalışmaları yapmayı planladık.

1. Yurdumuzda yabani olarak yetişen *Pistacia terebinthus* L. ve *Pistacia lentiscus* L. bitkileri ile yine ülkemizde kültürü yapılan *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkisinin yaprakları üzerinde, makroskobik ve mikroskobik çalışmalar yapılarak, bu drogların anatomik yapısı saptanmıştır.

2. Drogların kalite kontrolüne yönelik çalışmalar, ilk kez tarafımızdan yapılmıştır.

3. Türkiye’de yabani olarak yetişen *Pistacia terebinthus* L. ve *Pistacia lentiscus* L. bitkileri ile yine ülkemizde kültürü yapılan *Pistacia lentiscus* var *chia* bitkisinden hazırlanan **Folia Pistaciae** droglarında bulunan, vitamin E (α - tokoferol) miktarı, optik dansitometrik (TLC) ve kolorimetrik yöntemlerle, ilk kez tarafımızdan saptanmıştır.

4. Drog üzerinde biyolojik aktivite tayinleri yapılmıştır.

a. Folia Pistaciae droglarının farklı ekstrelerinin sitotoksik aktivitesi, Brine shrimp yöntemiyle ilk kez tarafımızdan tayin edilmiştir.

b. İlk kez tarafımızdan drogların farklı ekstreleri üzerinde, antimikrobiyal aktivite analizleri, Disk Diffüzyon Yöntemi'yle gerçekleştirilmiştir.

5. Folia Pistaciae drogları üzerinde uçucu yağ analiz çalışmaları GC/MS Analiz Yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Elde ettiğimiz sonuçların, hem ülkemizde yaygın bir şekilde bulunan bu bitkiler hakkında kapsamlı bilgilere ulaşmak, hem de bundan sonra, bu bitkilerle yapılacak çalışmalara ışık tutmak açısından önemli olduğu kanısına varılmıştır.

II. BOTANİK BÖLÜM

1. *PISTACIA TEREBINTHUS* L., *PISTACIA LENTISCUS* L. VE *PISTACIA LENTISCUS* VAR. *CHIA* ÜZERİNDE BOTANİK İNCELEMELER

A. TEORİK KISIM

Pistacia genusundan Türkiye’de yabani olarak yetişen *Pistacia lentiscus* L., *Pistacia atlantica* Desf., *Pistacia eurycarpa* Yalt., *Pistacia khinjuk* Stocks in Hook., *Pistacia vera* L. ve *Pistacia terebinthus* L. bitkileri olup, **Anacardiaceae** familyasından, maki vejetasyonunda yer alan çalı formunda ağaçlardır (2). Araştırmamıza konu olan *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinin tanımına ait olarak verilen bilgiler, başta “Flora of Turkey” olmak üzere, ilgili bazı kaynaklardan hiçbir katkıda bulunmaksızın, dilimize çevrilmek suretiyle derlenmiştir.

a) *Pistacia* genusu

Herdem yeşil veya belirli mevsimlerde yapraklarını döken dioik formda ağaç veya makilerdir. Yapraklar alternan (alternus), pennat ve nadir olarak trifoliat veya basittir. Çiçeklenme panikula veya salkım şeklindedir. Çiçekler 2-7 brakteol ve 1-3 küçük brakte tarafından taşınan yapraksız veya yalın tek tiptir.

Erkek çiçekler, disk arasından geçen 4-5 anterli, dişi çiçekler 3-kısa stillidir. Meyve 1 tohumlu eğik drupadır (2).

-Pistacia terebinthus L.

Sap ve yaprakçıkların kenarları düz; yaprakçıklar geniş, sivri veya akuminat, genellikle mukronat ve de terminal yapraklar yan yapraklardan daha geniş değildir (2).

-Pistacia lentiscus L.

Yaprak sapları açıktadır ve dardır. Yapraklar, herdem yeşil paripennat, yaprakçıklar mukronat ve çiçekler salkım durumundadır (2).

-Pistacia lentiscus var. chia

Yapraklar, herdem yeşil imparipennat, yaprakçıklar sivridir. Çiçekler kısa sürgünlerin üzerinde salkım şeklindedir (2).

b) *Pistacia terebinthus L. subsp. palaestina*

Syn: *Pistacia terebinthus L. subsp. palaestina* (Boiss) Engler

-Pistacia terebinthus L.

6 m'ye ulaşan küçük bir ağaç veya 2-3 m boyunda üzerinde mazi bulunan maki formunda bir bitkidir. Belirli mevsimlerde dökülen yapraklar imparipennat veya paripennattır. Yaprakçıklar (1-)2-4(-6) sivri, ovat-oblong veya oblong-lanseolat, 3-7(-8)x1,8-3(-4) cm, geniş, akut veya akuminat, mukronat ve düzdür. Üst yapraklar koyu yeşil, alt açık renktedir. Terminal yaprakçıklar, yan yaprakçıklardan daha geniş değildir. Sap kısmı tüysüz ve açıktadır. Meyva panikula, küre veya genellikle obovat şeklindedir. Bitkinin Türkiye'de yetişen 2 alt türü bulunmaktadır. Bunlar *Pistacia terebinthus* subsp. *terebinthus* ve

Pistacia terebinthus subsp. *palaestina*'dır. *Pistacia terebinthus* subsp. *terebinthus* Akdeniz bitkisi olup genellikle Marmara Bölgesi'nde yaygındır. Araştırmamıza konu olan *Pistacia terebinthus* subsp. *palaestina* türüne ise yurdumuzun diğer tüm yörelerinde rastlanmaktadır (2).

- *Pistacia terebinthus* subsp. *terebinthus*

Yapraklar tek tüysü (imparipennat). Orta yaprakların son yaprakçığı (pinna) yanlardaki yaprakçıkların genişliğinde, yan yaprakçıklar oval, uzunca, küt uçlu (2).

- *Pistacia terebinthus* subsp. *palaestina*

Yapraklar çift tüysü (paripennat) veya tek tüysü (imparipennat) olanlarda orta yaprakların uç yaprakçığı yan yaprakçıklardan daha küçük veya mahmuzlu. Yan yaprakçıklar oblong-lanseolat, sivri uçlu (2).

c) *Pistacia lentiscus* L.

Herdem yeşil maki formunda 1-3(-5) m boyunda küçük ağaçcıklardır. Sert ve paripennat yapraklara sahiptir. Yaprakçıklar 2-4(5-7) çifttir. Bu yaprakçıklar oblong veya oblong-lanseolat, 1.5-3.5x0.6-1.5 cm, geniş, mukronat ve tüsüzdür. Sap kısımları bağımsız ve açıktır. Folioller 4-10 tane, oval şekilli, uçları dikenli, üst yüzeyleri parlak, alt yüzeyleri ise donuk yeşil renkli, derimsi görünümlüdür. Erkek çiçekte çiçek örtüsü 5 parçalı (bazen 4-3), stamenler 5 tane, filamentler serbest ve kısa. Anterler büyük ve tepallerden daha uzun. Dişi çiçekte çiçek örtüsü üstte ve tek meskenli. Stilus çok kısa, stigma 3 parçalı, parçalar dışa doğru kıvrık, etli ve geniş. Meyva ufak, yuvarlak, biraz eğilmiş, önce kırmızı ve sonra siyah renk alan bir drupadır (2,3).

d) *Pistacia lentiscus* var. *chia*

Syn: *Pistacia lentiscus* var. *chia* Duham.

Pistacia lentiscus var *chia*, *Pistacia lentiscus* L'un kültüre alınmış bir varyetesidir. Herdem yeşil bu tür 10 m kadar yükselebilen aēaē veya aēaēcık formunda dioik bir bitkidir. Yapraklar ēift tüysü ve 2-4 ēift yaprakēıklıdır (12). Yaprakēıkların kenarları tam, tüysüz, deri gibi sert ve üst yüzü parlak, yeşil, alt yüzü mattır. ēiēekler kısa sürgünlerin üzerinde salkım şeklindeyir. Meyva yuvarlakēa ve sivri uēludur. Bařlangıēta kırmızı sonra siyah renk alır (36). Bitki sivri yaprakēıklar, imparipennat yapraklar ve panikulat ēiēek durumu ile *Pistacia lentiscus* L.'dan farklılık gösterir (2).

e) Folia Pistaciae

Pistacia terebinthus L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var *chia* bitkilerinden toplanan yaprakların, uygun koşullarda kurutulmasıyla hazırlanan drogtur. Drog, Türk Farmakopesi'nde, Alman Farmakopesi'nde, Amerikan Farmakopesi'nde ve Avrupa Farmakopesi'nde yer almamaktadır (37-40).

B. PRATİK KISIM

1. MATERYAL VE METOT

Araştırma materyalimiz olan *Pistacia terebinthus* L.'un yaprakları İzmir Buca – Kaynaklar mevkiinden 05-05-2001 yılında toplanıp, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumu'nda no:1269 ile kayıtlıdır. Yine aynı şekilde 18-02-2001'de ēeřme-Ardıē mevkiinden toplanan *Pistacia lentiscus* L. ve ēeřme-Alaēatı yöresinden toplanan *Pistacia lentiscus* var. *chia*'nın yaprakları Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumu'nda 1267 ve 1268 no ile saklanmaktadır.

Anatomik incelemeler için ayrılan yaprak örnekleri 70°C'lik etanol içinde saklanmıştır. Bitkinin yapraklarından alınan kesitler ve yaprak tozundan hazırlanan preparatlar, sartur ve kloralhidrat reaktifi (41) içinde incelenerek, bitkinin yapraklarına ait sabit ve karakteristik özellikler, Carl Zeiss Jena mikrofotografisi cihazı kullanılarak saptanmıştır.

2. BULGULAR

a. Folia Pistaciae Droglarının Makroskopik İncelemesine Ait Bulgular:

-Folia Pistaciae terebinthus: Yapraklar 4-5 cm boyunda ve oval şekillidir. Lamina tepesi sivri, tabanıysa simetrik. Lamina yüzeyi tüysüz ve yaprak kenarları ise düzdür.

-Folia Pistaciae lentiscus: Yapraklar 2-3 cm boyunda ve mızraksı bir görünümündedir. Lamina tepesi sivri, tabanı ise simetrik. Lamina yüzeyi tüysüz, kenarları ise düzdür.

-Folia Pistaciae lentiscus var. chia: Yapraklar 3-4 cm boyundadır. Geniş olan yaprak tepelerinde küçük bir girinti bulunmaktadır. Yaprak tabanı simetrik, yaprak kenarı düz ve lamina yüzeyi tüysüzdür.

b. Folia Pistaciae Droglarının Anatomik İncelenmesine Ait Bulgular:

Pistacia terebinthus L. (**Anacardiaceae**) bitkisinin yaprak ayalarının orta damar bölgelerinden alınan enine kesitlerde, epidermis hücrelerinin, yağ damlacığı içermediği ancak dorsal çeperinin kutinize olduğu görülmektedir. Kütikulanın hemen altında, üst ve alt epidermisin iç kısmında 2-3 sıralı kollenkima yer almaktadır. Damar parenkiması hücreleri kalın çeperli ve düzgün

dairesel şekillidir. Üst epidermiste nadir olarak tek sap, çok baş hücreli salgı tüylerine rastlanmaktadır. Nişasta kın hücreleri olan droğun sklerankima etrafında yoğun olarak basit prizmatik billur ve az miktarda druz kristali taşıdığı görülmektedir. Yaprak bifasialdır ve 2-3 hücre sıralı uzun ve sıkışık dizilişli palizat parenkiması ile hava boşlukları bulunan gevşek bir sünger parenkiması içermektedir. Alt epidermiste bulunan stoma mezofilik tiptir. Yapraktan alınan yüzeyel kesitlerde üst epidermisin stoma taşımadığı, alt epidermisin ise 5-8 komşu hücreye sahip anamositik tip stoma taşıdığı belirlenmiştir. Toz drogda yapılan incelemelerde iletim demetleri etrafında basit prizmatik billurlar görülmektedir.

Pistacia lentiscus L. (**Anacardiaceae**) bitkisinin yaprak ayalarının orta damar bölgelerinden alınan enine kesitlerde, sartur reaktifi ile turuncu renge boyanan düz bir kütikula ile örtülü, üst ve alt epidermis hücrelerinin, dorsal çeperinin kalın ve yağ damlacıklı olduğu görülmektedir. Alınan kesitlerde sklerankimayı çevreleyen damar parenkiması hücrelerinde kalınlaşmalar görülmektedir. Damar parenkiması ve floem hücreleri arasında sklerankima demetleri ve basit prizmatik billurlara rastlanmaktadır. Yaprak bifasiyal, palisat parenkiması hücreleri uzun ve sıkışık, sünger parenkiması ise gevşektir. Ayrıca iletim demetleri çevresinde ve alt epidermise yakın sünger parenkiması içerisinde druzlar görülmektedir. Alt epidermiste yer alan stoma mezofitik tipte ve stoma açıklığı ne olduğunu tanımlıyamadığımız, dış yüzeye doğru konik, bir madde ile kapatılmıştır. Yapraktan alınan alt ve üst yüzeyel kesitlerde, üst epidermisin stoma içermeyen düzgün hücrelerden, alt epidermisin ise bol miktarda 7-8 komşu hücrelerine sahip anamositik tipte stoma taşıyan hücrelerden

oluştugu saptanmiştir. Toz drogda yapılan incelemelerde iletim demetleri etrafında basit prizmatik billurlar görölmektedir.

Pistacia lentiscus var. *chia* bitkisinin yaprak ayalarının orta damar bölgelerinden alınan enine kesitlerde alt ve üst epidermis dorsal çeperinin kalın ve kütinize olduğu görölmektedir. Epidermisin hemen altında 2-3 sıra halinde kollenkima yer almaktadır. Damar parenkiması hücre çeperleri kalındır . Bitkinin iletim demeti çevresinde nadiren druz genellikle basit prizmatik billur taşıdığı saptanmıştır. Epidermis hücreleri içinde yağ damlacıkları görülen bitkinin palisat hücreleri sıkışık ve uzundur. Yaprak bifasialdır ve mezofilik tip stoma taşır. Yapraktan alınan alt ve üst yüzeyel kesitlerde, üst epidermisin stoma içermeyen düzgün hücrelerden oluştuğu görölmektedir. Alt epidermiste ise bol miktarda 7-10 komşu hücrelerine sahip anamositik tip stoma bulunmaktadır.

Her 3 bitki içinde yapılan toz drog incelemelerinde de iletim demetleri etrafında basit prizmatik billur ve daha az miktarda druz kristallerine rastlanmaktadır.

3. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan literatür çalışmalarında ölkemizde yabani olarak yetişen *Pistacia terebinthus* L. ve *Pistacia lentiscus* L. bitkileri ile bir kültür bitkisi olan *Pistacia lentiscus* var. *chia*'nın herhangi bir farmakope ve T.F'ne kayıtlı olmadığını görmekteyiz (36-39).

Bu nedenle ileride yazılacak Türk Farmakopesi'nde yer alması gerektiğine inandığımız **Folia Pistaciae**'nin muhtemel monografında bulunması

gereken makroskobik, anatomik ve mikroskobik tarifine kaynak oluşturmak amacıyla İzmir ili Buca ve Çeşme mevkiinden topladığımız drog örnekleri üzerinde bazı makroskobik ve mikroskobik araştırmalar gerçekleştirilmiştir.

Yapılan mikroskobik çalışmalarda; *Pistacia terebinthus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinde sklerankima çevresinde taş hücresi kümeleri görülmesine rağmen *Pistacia lentiscus* L. da aynı bulguya rastlanmamıştır. Yine aynı şekilde bitki yaprak ayalarının orta damar bölgelerinden alınan enine kesitte yalnızca *Pistacia terebinthus* L. bitkisinde tek sap, çok baş hücreli salgı tüyüne rastlanmaktadır. Enine kesitte karakteristik olarak görülen bir diğer fark ise, *Pistacia lentiscus* L. bitkisinin stoması üzerinde meydana getirdiği kapaktır. Ayrıca yapılan toz drog incelemelerinde stoma komşu hücre sayısı *Pistacia terebinthus* L.'de 5-8, *Pistacia lentiscus* L.'de 7-8, *Pistacia lentiscus* var. *chia*'da 7-10 olarak görülmektedir.

Yukarıda saptanan bu hususlar yurdumuzun farklı bölgelerinde yetişen *Pistacia lentiscus* L., *Pistacia terebinthus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinden toplanarak hazırlanacak **Folia Pistaciae** örnekleri üzerinde yapılacak makroskobik ve mikroskobik araştırmalar ile de teyid edilebilir.

III. KİMYASAL BÖLÜM

1. FOLIA PISTACIAE DROGLARI ÜZERİNDE KALİTE KONTROL ÇALIŞMALARI

A.TEORİK KISIM

Araştırma materyalimiz olan **Folia Pistaciae** drogları üzerinde yapılan araştırmalarda, bu drogların 10. Alman Farmakopesi'nde, Avrupa Farmakopesi'nde, Amerikan Farmakopesi'nde ve Türk Farmakopesi'nde yer almadığını gördük (37-40). Yine yaptığımız literatür araştırmasında, drogların kalite kontrolüne yönelik de, hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, ileride yazılacak Türk Farmakopesi'nde yer alması gerektiğine inandığımız,

yurdumuzda yabani olarak yaygın şekilde yetişen, **Folia Pistaciae** drogları üzerinde, kaynak oluşturmak amacıyla, bir takım kalite kontrol çalışmaları yapmayı uygun gördük. Bu amaçla **Folia Pistaciae** drogları üzerinde, nem miktar tayini, total kül miktar tayini ve sülfat külü miktar tayini denemelerini uyguladık.

B. PRATİK KISIM

1. MATERYAL VE METOT

Toplanan *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinin yaprakları gölgede ve oda ısısında, sık sık karıştırmak suretiyle kurutulduktan sonra toz edildi (elek çapı=1mm). **Folia Pistaciae terebinthus**, **Foliae Pistaciae lentiscus** ve **Folia Pistaciae lentiscus** var. *chia* tozları üzerinde gerçekleştirilen kalite kontrol işlemlerinde, 10. Alman Farmakopesi'nin genel kısmında yer alan ana yöntemler esas olarak alınmıştır(38).

a. Nem Miktar Tayini

Sabit vezne getirilen cam tartım kabına, 1 g civarında toz drog konur ve tam olarak tartılır. Cam tartım kabındaki drog 105 °C'ye ayarlanmış etüvde 1 saat ısıtıldıktan sonra, desikatöre alınıp soğutulmasını takiben tartılır. Aynı şekilde bu işleme son iki tartım arasındaki fark 0,5 mg'dan az oluncaya kadar

devam edilir. Alınan sonuçlara göre droğun içerdiği yüzde nem miktarı hesaplanır.

b. Total Kül Miktar Tayini

Sabit ağırlığa getirilen bir porselen kroze içinde, 1 g civarında toz drog tartılır. Drog içeren kroze, sıcaklığı 600 °C civarında olan Heraeus marka yakma fırınında 1 saat yakılır, süre sonunda desikatöre alınıp 1 saat oda ısısında tutulduktan sonra tartılır. Aynı şekilde işleme son iki tartım arasındaki fark 0,5 mg'dan az oluncaya kadar devam edilir. Alınan sonuçlara göre, droğun içerdiği yüzde total kül miktarı hesaplanır.

c. Sülfat Külü Miktar Tayini

Sabit ağırlığa getirilen bir porselen kroze içinde, 1 g civarı toz drog tartılır ve üzerine 2 ml %10'luk sülfürik asit çözeltisinden damla damla ilave edilir. Kroze, su banyosu üzerinde tutulup, droğun sülfürik asitle tamamen temas etmesi sağlandıktan sonra açık alevde gri beyaz bir kül bırakıncaya kadar yakılır ve son olarak sıcaklığı 600 °C civarında olan yakma fırınında 1 saat yakılır. Desikatörde, 1 saat oda ısısında soğutulduktan sonra, birkaç damla %10'luk sülfürik asit çözeltisinden ilave edilip, yine 1 saat yakma fırınında tutulur. Desikatörde, 1 saat oda ısısında tutulduktan sonra, krozeye birkaç damla %15,8'lik amonyum karbonat çözeltisi ilave edilir. Bundan sonra kroze sabit vezne gelinceye kadar 1'er saat yakma fırınında tutulup,

1'er saat de desikatörde soğumasını takiben tartılır. Alınan sonuçlara göre droğun içerdığı, yüzde sülfat külü miktarı hesaplanır.

2. BULGULAR

Alman Farmakopesi (DAB 10)'nun genel kısmında belirtilen kalite kontrol yöntemleri esas alınarak örnekler üzerinde 3 paralel deneme yapılmıştır. Bu denemelere ait bulgular tablolar halinde aşağıda verilmiştir.

Drog Miktarı (g)	% Nem Miktarı
0.9966	6.3215
1.0066	6.4375
1.0016	6.3798
Ortalama %Nem Miktarı: 6.3796	

Tablo 1. Folia Pistaciae terebinthus Droğunda % Nem Miktarı Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
1.0016	4.2532
1.0014	4.2041
1.0323	4.2042
Ortalama %Total Kül Miktarı: 4.2205	

Tablo 2. Folia Pistaciae terebinthus Droğunda % Total Kül Miktarı Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
1.0029	6.7903
1.0030	6.7996
1.0015	6.7299
Ortalama % Sülfat Kül Miktarı: 6.7732	

Tablo 3. Folia Pistaciae terebinthus Droğunda %Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Nem Miktarı
0.9947	5.9515
0.9796	5.9922
0.9994	5.9836
Ortalama %Nem Miktarı: 5.9758	

Tablo 4. Folia Pistaciae lentiscus Droğunda % Nem Miktarı Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
1.0020	4.0818
1.0001	4.0696
0.9983	4.1170
Ortalama %Total Kül Miktarı: 4.0895	

Tablo 5. Folia Pistaciae lentiscus Droğunda % Total Kül Miktarı Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
1.0085	8.2201
1.0051	8.2778
1.0052	8.2372
Ortalama % Sülfat Kül Miktarı: 8.2450	

Tablo 6. Folia Pistaciae lentiscus Droğunda % Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Nem Miktarı
1.0020	6.3972
1.0024	6.3049
1.0029	6.3316
Ortalama % Nem Miktarı: 6.3446	

Tablo 7. Folia Pistaciae lentiscus var. chia Droğunda % Nem Miktarı Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
1.0013	4.0947
1.0023	4.0806
1.0015	4.0839
Ortalama % Total Kül Miktarı: 4.0864	

Tablo 8. Folia Pistaciae lentiscus var. chia Droğunda % Total Kül Miktarı Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
1.0010	7.6024
1.0015	7.6286
1.0026	7.6900
Ortalama % Sülfat Kül Miktarı: 7.6403	

Tablo 9. Folia Pistaciae lentiscus var. chia Droğunda %Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları

3. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tezimizin ilk projesini oluşturan botanik bölümünde anatomik özelliklerini incelediğimiz , İzmir ili Çeşme-Alaçatı mevkiinde yabani olarak yetişen *Pistacia lentiscus* L, aynı yörede kültürü yapılan *Pistacia lentiscus* var. *chia* ve yine İzmir ili Buca–Kaynaklar mevkiinde yabani olarak yetişen *Pistacia terebinthus* L. bitkilerinden hazırladığımız örnekler üzerinde, DAB 10'nun genel kısmında yer alan bazı kalite kontrol denemeleri gerçekleştirilmiştir.

Halk arasında çeşitli nedenlerle kullanılan **Folia Pistaciae** drogları Farmakopelerde yer almayan droglardır. Bu drogların kalitesi hakkında bilgi sahibi olmak ve ileriki çalışmalara kaynak olmak amacıyla, droglardaki nem miktarı, total kül miktarı ve sülfat külü miktarı tayin edilmiştir.

Nem miktar tayini denemeleri sonucunda **Folia Pistaciae terebinthus** droğunda ortalama %6.3796, **Folia Pistaciae lentiscus** droğunda %5.9758 ve **Folia Pistaciae lentiscus var. chia** droğunda %6.3446 oranında nem olduğu saptanmıştır. Yine uygulanan total kül miktarı denemelerinin sonucunda bulduğumuz ortalama değer **Folia Pistaciae terebinthus** droğunda %4.2205, **Folia Pistaciae lentiscus** droğunda %4.0895 ve **Folia Pistaciae lentiscus var. chia** droğunda %4.0864'dür. Araştırmamızda total kül miktar tayinine kıyasla daha sabit sonuçlar verdiği görülen sülfat külü miktar tayini denemeleri sonucunda **Folia Pistaciae terebinthus** droğunun ortalama %6.7732, **Folia Pistaciae lentiscus** droğunun %8.2450 ve **Folia Pistaciae lentiscus var. chia** droğunun %7.6403 oranında sülfat külü içerdiğide saptanmıştır.

2. FOLIA PISTACIAE DROGLARINDA VİTAMİN E

MİKTAR TAYİNİ

A.TEORİK KISIM

Yaptığımız literatür araştırmasında gördük ki, bazı bitkiler (özellikle Akdeniz bitkileri) E vitamini içermektedir. Bu konuyla ilgili, ilk olarak İngiltere’de 1963 yılında V.H. Booth bazı bitki hücrelerinde, UV spektrofotometresi kullanarak α -tokoferol miktarını tayin etmiştir (42). Aynı kişi 1964 yılında da hayvan yemlerindeki α -tokoferol içeriğini çift boyutlu kağıt kromatografisi yöntemiyle incelemiştir (43).

Yine 1979 yılında A.P. Carpenter adlı bilim adamı, soya fasülyesi, safran, ayçiçek, pamuk çekirdeği, mısır, yer fıstığı ve zeytin yağlarında α -tokoferol miktarını HPLC yöntemi kullanarak tespit etmiştir (32).

Aynı şekilde Ab. Gabor ve arkadaşları, Malezya’da 1986 yılında hurma yağının α -tokoferol içeriğini HPLC yöntemiyle araştırmışlardır (33).

Konuyla ilgili olarak Fransız bilim adamlarından S. Chevolleau ve arkadaşları ise *Pistacia lentiscus*’un da dahil olduğu, bazı Akdeniz bitkilerinin (*Centranthus ruber* DC., *Coronilla juncea* L., *Erica multiflora* L., *Eucalyptus globulus* Labill., *Globularia alypum* L., *Laurus nobilis* L., *Lonicera implexa* Ait., *Myrtus communis* L., *Phyllyrea angustifolia* L., *Pinus halepensis* Mill., *Pistacia lentiscus* L., *Quercus ilex* L., *Rhamnus alaternatus* L., *Thymus vulgaris* L., *Viburnum tinus* L., *Arbutus unedo* L.) yapraklarından elde ettikleri, yüksek

oranda α -tokoferol içeren bir ekstreyi kullanarak hazırladıkları preparatla, 1992 yılında patent almışlardır (11).

Yine S. Chevolleau ve arkadaşları, 1993 yılında, 16 Akdeniz bitkisinin (*Centranthus ruber* D.C., *Cistus albidus* L., *Conium maculatum* L., *Eucalyptus globulus* L., *Ferula communis* L., *Globularia alypum* L., *Hedera helix* L., *Myrtus communis* L., *Phillyrea angustifolia* L., *Pinus halephensis* Mill., *Quercus ilex* L., *Rhamnus alaternus* L., *Smilax aspera* L., *Stachelina dubia* L.) yapraklarındaki α -tokoferol içeriğini gaz kromatografisi kullanarak incelemiştir (34).

Aynı şekilde Brezilya'dan L.C.A. Barbosa ve arkadaşları, 1997 yılında yaptıkları bir çalışmada, *Gallesia gorazema* yapraklarında vitamin E içeriğini GAS-MASS kullanarak incelemişlerdir (31).

Türkiye'de ise Vitamin E, *Arbutus unedo* L. yapraklarında TLC ve kolorimetrik olarak incelenmiştir (35).

Sentetik E vitamini, bir çok uygulamada, doğal E vitamininin yerini alsada, doğal E vitaminine her zaman ihtiyaç duyulmaktadır. Ama bu ihtiyaç şimdilik bu maddenin çok pahalı olmasından dolayı karşılanamamaktadır. Kullanımı yalnızca kozmetik ve farmasötik alanlarla sınırlandırılmış olan doğal kaynaklı vitamin E'nin önemi, insanların bitkisel kaynaklı maddelere olan ilgisi de göz önüne alındığında iyice artmaktadır (11).

Ülkemizde E vitamini ile ilgili olarak, *Pistacia* türleri üzerinde yapılmış bir araştırma mevcut değildir. Bu sebeple biz, ülkemizde yabani olarak yaygın bir şekilde yetişen ve halk arasında yaygın kullanıma sahip olan *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var *chia* bitkilerine ait E vitamini miktarını tayin etmeyi amaçladık.

B. PRATİK KISIM

1. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada **Folia Pistaciae** droglarından hazırlanan *n*-hegzan ekstrelerinde mevcut vitamin E miktarı, optik dansitometrik (TLC-dansitometrik) yöntemle ve ultraviyole spektrofotometresi (UV-kolorimetrik) yöntemiyle tespit edilmiştir. Çalışmalarımız sırasında, gerek kromotografik çalışmalarda şahit madde olarak ve gerekse miktar tayini çalışmalarında, ölçü eğrilerinin hazırlanmasında, saf α -tokoferol (Sigma T 3251) kullanılmıştır.

a. Ekstrelerin Hazırlanması: Toz edilmiş 100 g **Folia Pistaciae** droğu üzerine 600 ml *n*-hegzan ilave edilip, mekanik karıştırıcıda 5 saat katı-sıvı ekstraksiyona tabi tutuldu. 589¹ Black ribbon tipi süzgeç kağıdından, nuçe yardımıyla süzülen ekstreden arta kalan katı kısım üzerine, tekrar 600 ml *n*-hegzan ilave edilip, 8 saat daha mekanik karıştırıcıda, katı-sıvı ekstraksiyon işlemine devam edildi. Bakiye üzerine yine 600 ml *n*-hegzan koyularak, son kez olarak 8 saat mekanik karıştırıcıda katı-sıvı ekstraksiyona bırakıldı. Toplanan *n*-hegzanlı ekstreler, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu (11). Bu işlem, toplanan 3 farklı türün yapraklarına uygulanarak, **Folia Pistaciae** droglarının *n*-hegzan ekstreleri elde edildi. Elde edilen ekstre miktarı Tablo 10'da verilmiştir.

b. Ekstrelerde Bulunan Vitamin E'nin Teşhisi ve Kontrolü

Laboratuvar çalışmalarımızda kullandığımız hazır plağın (Silica gel 60 F₂₅₄ Merck 5744), kloroform:metanol (1:1) oranında içeren mobil fazda boş olarak yürütülerek doyması sağlandı. Kurumasını takiben 100 °C'ye ayarlanmış etüvde 10 dakika aktive edildi. Plaklar bu şekilde madde uygulamaya hazır hale getirildi (44). 10 mg **Folia Pistaciae** ekstresi, 2 ml kloroformda çözülüp, plağa bant şeklinde uygulandı. Yanına yine saf α - tokoferolün kloroformdaki stok çözeltisinden (10g/l) şahit olarak bant şeklinde uygulandıktan sonra, plak araştırmamız sonucunda, en uygun çözücü sistemi olduğu saptanan sikloheksan:dietileter (80:20) çözücü sisteminde develope edildi. Vitamin E bandının yeri, 254 nm boyundaki ultraviyole ışık altında, test örneği ile karşılaştırılarak, ekstrede bulunan vitamin E bandının yeri belirlendi ve kazındı (Resim 27-29). Kazınan bant 40'ar ml kloroformla tüketilerek, organik solvan kuruluğa kadar alçak basınç altında uçuruldu. Bakiye kloroform ile çözülerek 5 ml'ye tamamlanıp, UV ve IR spektrumları çekildi (Spektrum 1-8). Saf vitamin E'nin ve ekstrelerimizden İTK yöntemiyle saflaştırdığımız vitamin E'nin UV ve IR spektrumları ayrı ayrı karşılaştırıldı. Spektrumların değerlendirilmesi sonucunda elüe edilen maddenin vitamin E olduğu saptandı.

1. A. FOLIA PISTACIAE DROGLARINDA VİTAMİN E'NİN KOLORİMETRİK BİR YÖNTEM İLE MİKTAR TAYİNİ

a. Vitamin E ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi

Yaptığımız alan taraması sonucunda, 2,2'-dipiridil ve FeCl₃ belirteçleri ile renklendirilerek yapılan ölçümlerde, gerek saf vitamin E'nin, gerekse **Folia Pistaciae** droglarında bulunan vitamin E'nin, absorpsiyonunun 522 nm'de maksimuma ulaştığı saptanmıştır. Bu bilgiler doğrultusunda, regresyon eğrisinin çizilmesi için, saf vitamin E'nin, kloroform içinde 10 g/l'lik stok çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden 10, 15, 20 ve 25 µl'lik miktarlar, hamilton enjektörü yardımıyla alınarak, ayrı ayrı kloroform ile 8 ml'ye seyreltildiler. Üzerine 1 ml *2,2'-dipiridil ajanı ilave edildi. Alette okumaya geçilmeden hemen önce de 1 ml **FeCl₃ ajanı koyularak 10 ml'ye tamamlandı (45). Çözeltilerin UV absorpsiyonları, 50 saniye içinde Shimadzu UV 160 A spektrofotometresinde ölçüldü. Alınan sonuçlarla çizilen regresyon eğrisi Şema 1'de görülmektedir.

b. Folia Pistaciae Droglarında Bulunan Vitamin E'nin Miktar Tayini

Pistacia terebinthus L., *Pistacia lentiscus* L., *Pistacia lentiscus* var *chia* bitkilerine ait **Folia Pistaciae terebinthus**, **Folia Pistaciae lentiscus** ve **Folia Pistaciae lentiscus** var. *chia* droglarından hazırlanan *n*-hegzan ekstraktlarından

*2,2'-dipiridil ajanı: 0,125 g madde, 25 ml absolü etanolde çözülür. Karanlıkta ve 4-5 °C arasında saklanır (45).

**FeCl₃ ajanı: 0,2 g madde 10 ml absolü etanolde çözülür. Karanlıkta ve 4-8 °C arasında saklanır (45).

ayrı ayrı 10mg, 20mg, 30mg ve 40mg tartıldı. Bunlar 8 ml'ye kloroformla tamamlandıktan sonra, üzerine 1 ml 2,2'-dipiridil ajanı ve ölçümden hemen önce 1 ml FeCl₃ ajanı ilave edilerek analiz çözeltisi hazırlandı. Mukayese çözeltisi için ise 8 ml kloroform üzerine 1ml 2,2'-dipiridil ajanı ve ölçümden hemen önce de 1 ml FeCl₃ ajanı ilave edildi. Mukayese çözeltisine karşı analiz çözeltisinin 522 nm dalga boyuna ait absorpsiyonları ölçüldü. Okunan absorpsiyon değerleri, vitamin E ölçü eğrisine yerleştirilerek, konsantrasyonları bulundu. Sonuçlar kuru materyal ağırlığı üzerinden, yüzde gram miktarı olarak hesaplandı.

1. B. FOLIA PISTACIAE DROGLARINDA VİTAMİN E'NİN

OPTİK DENSİTOMETRİK BİR YÖNTEM İLE MİKTAR TAYİNİ

a. Vitamin E ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi

Kullanılacak olan (Silca gel F₂₅₄ 5715) hazır plaklar, kloroform:metanol (1:1) çözücü sisteminde boş olarak yürütüldü. Çözücü sistemini emen plaklar, 100 °C'ye ayarlanmış etüvde 10 dakika bekletilerek aktive edildi (44). Soğumasını takiben saf vitamin E'nin kloroformdaki 10 g/l'lik çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden ön denemeler sonucu Thin Layer Scanner (TLC) aletinde okunabilen değerler bakımından en uygun miktarlar olarak saptanan 2, 4, 6 ve 8 µl'lik porsiyonlar, hamilton enjektörü yardımıyla, aktive edilmiş hazır plaklara seri halinde tatbik edildi. Plaklar denemelerimiz sonucu en uygun çözücü sistemi olduğu görülen sikloheksan:dietileter (8:2) çözücü sisteminde yürütüldükten sonra havada kurutulup, *Bakırsülfat-Fosforik asit belirteci püskürtüldü. Ajanla tamamen ıslatılan plaklar, 190 °C'ye ayarlanmış etüvde 15

dakika bekletildikten sonra çıkarıldığında E vitamininin belirgin siyah lekeler haline dönüştüğü görüldü (44) (Resim 30).

Bu lekelerin alan değerleri, Shimadzu CS 920 Thin Layer Scanner aletinde 350 nm'de D₂ lambası kullanılarak okundu ve elde edilen değerlere göre regresyon eğrisi çizildi (Şema 2).

b. Folia Pistaciae Droglarında Vitamin E Miktar Tayini

Pistacia terebinthus L., *Pistacia lentiscus* L., *Pistacia lentiscus* var. *chia*'dan elde edilen **Folia Pistaciae lentiscus**, **Folia Pistaciae terebinthus** ve **Folia Pistaciae lentiscus** var. *chia* droglarından hazırlanan *n*-hegzan ekstrelerinden daha önce uygun tartımlar olduklar saptanan, 20, 30, 40, 50 ve 60 mg'lık tartımlar alındı. Bunların her biri 2 ml kloroformda çözüldü. Hazırlanan bu çözeltilerden hamilton enjektörü yardımıyla alınan 20µl'lik miktarlar, daha önce anlatılan şekilde aktive edilen plaklara nokta şeklinde uygulandı. Siklohegzan:dietileter (8:2) sisteminde yürütülen plaklar, kurutulduktan sonra

* Bakırsülfat-Fosforik asit belirteci püskürtülmesini takiben 190 °C'lik etüvde 10 dakika bekletildi. Ekstrelerde bulunan vitamin E'nin oluşturduğu lekelerin (Resim 31-33) alan değerleri, CS 920 Thin Layer Scanner aletinde 350 nm'de D₂ lambası kullanılarak okundu. Sonuçlar regresyon eğrisi yardımıyla, kuru materyal ağırlığı üzerinden yüzde gram miktarı olarak hesaplandı.

***%10 CuSO₄ -%8 H₃PO₄ reaktifi:** 1 kısım %10'luk Bakır II sülfat çözeltisi + 1 kısım %8'lik Fosforik asit çözeltisi (44).

2. BULGULAR

a. Folia Pistaciae Droglarından Elde Edilen Ekstre Miktarı

Bitki	Drog Miktarı (g)	Ekstre Miktarı (g)
<i>Pistacia terebinthus</i> L.	100	5.1379
<i>Pistacia lentiscus</i> L.	100	5.2124
<i>Pistacia lentiscus</i> var. <i>chia</i>	100	5.8030

Tablo 10. Bitkilerden elde edilen ekstre miktarları

b. Ekstrelerde Bulunan Vitamin E'nin Teşhis ve Kontrolü

Ekstrelerde bulunan vitamin E'nin saflaştırılması amacıyla, daha önce de anlatılan şekilde aktive edilen plağa uygulanan **Folia Pistaciae** ekstrelerinin ve saf α -tokoferolün, starttan itibaren 15 cm olacak şekilde yükseltildikten sonra, ölçülen R_f değerleri Tablo 11'de verilmiştir.

	R_f (cm)
Saf α -tokoferol	8.2cm- R_f =0.547
Folia Pistaciae terebinthus ekstresindeki α -tokoferol	8cm- R_f =0.533
Folia Pistaciae lentiscus ekstresindeki α -tokoferol	8.1cm- R_f =0.540
Folia Pistaciae lentiscus var. <i>chia</i> ekstresindeki α -tokoferol	8cm- R_f =0.533

Tablo 11. Saf α -Tokoferol ve **Folia Pistaciae** ekstrelerinde bulunan α -tokoferolün R_f değerlerinin karşılaştırılması

Plak üzerinde, gün ışığında ve 366 nm'de hiçbir leke görülmemektedir. 254 nm UV ışık altında çekilen fotoğraflar ise Resim 27-29'da görülmektedir.

Ekstrelerden preparatif TLC yöntemi ile izole edilen α -tokoferolün ve saf α -tokoferolün UV ve IR spektrumları çekilip ayrı ayrı birbiriyle karşılaştırıldığında aynı madde oldukları görülmüştür. Çekilen spektrumlar Spektrum 1-4 ve Spektrum 5-8’de verilmiştir.

1. A. FOLIA PISTACIAE DROGLARINDA VİTAMİN E’NİN KOLORİMETRİK BİR YÖNTEM İLE MİKTAR TAYİNİ

a. Vitamin E ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi

-Saf Vitamin E ile Yapılan Alan Taraması-

Saf vitamin E’nin kloroformdaki 10g/l’lik stok çözeltisinden 10, 15, 20 ve 25 μ l’lik miktarlar alındı. Alınan miktarlar ile maddenin verdiği maksimum pikin dalga boyunu tespit etmek için 520-523 nm arasında ölçülen absorbans değerleri Tablo 12’de verilmiştir.

λ (nm)	Örnek Miktarları (μ l)			
	10	15	20	25
520	0.458	0.709	0.953	1.195
520,5	0.459	0.709	0.954	1.195
521	0.459	0.710	0.954	1.195
521,5	0.460	0.710	0.955	1.195
522	0.461	0.711	0.955	1.196
522,5	0.460	0.709	0.954	1.195
523	0.460	0.709	0.954	1.194

Tablo 12. Saf vitamin E ile yapılan alan taraması sonuçları ve saf vitamin E’nin kolorimetrik miktar tayini için ölçü eğrisi alan değerleri

Folia Pistaciae droglarında kolorimetrik yöntemle yapılan vitamin E miktar tayinine ait sonuçlar Tablo 13-15’de verilmiştir.

Ekstre miktarı (mg)	522 nm Absorbansı	% Vitamin E
10,5	0.328	0.003418
10,5	0.320	0.003336
10	0.310	0.003396
20	0.598	0.003240
20	0.643	0.003481
20	0.617	0.003341
30	0.917	0.003298
30	0.931	0.003348
30	0.971	0.003491
40	1.236	0.003328
40	1.252	0.003370
40	1.279	0.003443

Tablo 13. Folia Pistaciae terebinthus droğundan hazırlanan ekstredeki vitamin E’nin kolorimetrik miktar tayini sonuçları

.

Ekstre miktarı (mg)	522 nm Absorbansı	% Vitamin E
10	0.357	0.004404
10.2	0.365	0.004413
10	0.363	0.004476
20	0.719	0.004391
20	0.711	0.004343
20	0.723	0.004415
30	1.022	0.004149
30	1.049	0.004258
30	1.034	0.004197
40	1.416	0.004303
40	1.414	0.004297
40	1.435	0.004360

Tablo 14. Folia Pistaciae lentiscus droğundan hazırlanan ekstredeki vitamin

E'nin kolorimetrik miktar tayini sonuçları

Ekstre miktarı (mg)	522 nm Absorbansı	% Vitamin E
10	0.484	0.005335
10.3	0.491	0.005254
10.3	0.495	0.005296
20	0.969	0.005302
20.2	0.987	0.005346
20.4	1.006	0.005395
30	1.413	0.005143
30	1.413	0.005143
30	1.434	0.005219
40	1.950	0.005315
40.3	2.020	0.005465
40.5	2.036	0.005480

Tablo 15. Folia Pistaciae lentiscus var. chia droğundan hazırlanan ekstredeki vitamin E'nin kolorimetrik miktar tayini sonuçları

1. B. FOLIA PISTACIAE DROGLARINDA VİTAMİN E’NİN

OPTİK DANSİTOMETRİK BİR YÖNTEM İLE MİKTAR TAYİNİ

a. Vitamin E ile Standart Seri Hazırlanması ve Ölçü Eğrisi Çizimi

Saf vitamin E ile hazırlanan standart serinin verdiği alan değerleri ve bu alan değerleri ile çizilen ölçü eğrisi ve regresyon denklemi Tablo 16 ve Şema 2’de verilmiştir.

Tatbik Hacmi (µl)	Alan
0.00	0.000
2.00	27937
4.00	54061
6.00	82512
8.00	109386

Tablo 16. Saf vitamin E’nin optik dansitometrik miktar tayinin için ölçü eğrisi alan değerleri

b. Folia Pistaciae Droğlarında Bulunan Vitamin E'nin Miktar Tayini

Folia Pistaciae droğlarında optik dansitometrik yöntemle yapılan vitamin E miktar tayinine ait sonuçlar Tablo 17-19'da verilmiştir.

Ekstre Konsantrasyon	Uygulama Hacmi	Alan	% Vitamin E
20 mg/2ml	20µl	1955	0.003468
		1880	0.003327
		1961	0.003480
30 mg/2ml	20µl	2605	0.003127
		2615	0.003139
		2713	0.003262
40 mg/2ml	20µl	3576	0.003258
		3768	0.003438
		3736	0.003408
50 mg/2ml	20µl	4283	0.003138
		4499	0.003300
		4455	0.003267
60 mg/2ml	20µl	5185	0.003180
		4910	0.003008
		5987	0.003682

Tablo 17. Folia Pistaciae terebinthus droğundan hazırlanan ekstrelerdeki vitamin E'nin optik dansitometrik miktar tayini sonuçları

Ekstre Konsantrasyonu	Uygulama Hacmi	Alan	% Vitamin E
20 mg/2ml	20µl	2313	0.004677
		2186	0.004408
		2156	0.004344
30 mg/2ml	20µl	3155	0.004310
		3091	0.004219
		3189	0.004358
40 mg/2ml	20µl	4381	0.004534
		4352	0.004503
		4445	0.004602
50 mg/2ml	20µl	4894	0.004063
		4712	0.003908
		4523	0.003748
60 mg/2ml	20µl	6551	0.004558
		6408	0.004457
		6457	0.004492

Tablo 18. Folia Pistaciae lentiscus droğundan hazırlanan ekstrelerdeki vitamin E'nin optik dansitometrik miktar tayini sonuçları

Ekstre Konsantrasyonu	Uygulama Hacmi	Alan	% Vitamin E
20 mg/2ml	20µl	2820	0.005168
		3076	0.005656
		2809	0.005147
30 mg/2ml	20µl	4057	0.005018
		4357	0.005399
		4109	0.005084
40 mg/2ml	20µl	5682	0.005313
		5372	0.005017
		5339	0.004986
50 mg/2ml	20µl	6831	0.005126
		6777	0.005086
		7030	0.005279
60 mg/2ml	20µl	8161	0.005118
		9119	0.005727
		8032	0.005036

Tablo 19. Folia Pistaciae lentiscus var. chia droğundan hazırlanan ekstrelerdeki vitamin E'nin optik dansitometrik miktar tayini sonuçları

3. SONUÇLARIN İSTATİSTİKSEL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Tablo 20. Folia Pistaciae terebinthus, Folia Pistaciae lentiscus, Folia Pistaciae lentiscus var. chia Droğlarından Hazırlanan Hegzan Ekstresindeki Vitamin E'nin Kolorimetrik Miktar Tayini Sonuçları

Bitkiler	N	Mean	Med	St.Dev.	Min	Max	Q ₁	Q ₃
A	12	0.003374	0.003359	0.000075	0.00324	0.003491	0.003334	0.003424
B	12	0.004334	0.004352	0.000097	0.004149	0.004476	0.004287	0.004406
C	12	0.005308	0.005309	0.000108	0.005143	0.005480	0.005245	0.005358

A: *Pistacia terebinthus* L., **B:** *Pistacia lentiscus* L., **C:** *Pistacia lentiscus* var chia

Tablo 21. Folia Pistaciae terebinthus , Folia Pistaciae lentiscus, Folia Pistaciae lentiscus var. chia Droğlarından Hazırlanan Hegzan Ekstresindeki Vitamin E'nin Optik Dansitometrik Miktar Tayini Sonuçları

Bitkiler	N	Mean	Med	St.Dev.	Min	Max	Q ₁	Q ₃
A	15	0.003299	0.003267	0.000174	0.003008	0.003682	0.003160	0.003423
B	15	0.004345	0.004408	0.000262	0.003748	0.004677	0.004265	0.004519
C	15	0.005211	0.005126	0.000227	0.004986	0.005727	0.005060	0.005296

A: *Pistacia terebinthus* L., **B:** *Pistacia lentiscus* L., **C:** *Pistacia lentiscus* var chia

Tablo 22. Folia Pistaciae terebinthus droğundan hazırlanan hegzan ekstresindeki vitamin E'nin kolorimetrik miktar tayini sonuçlarının istatistiksel olarak değeriendirilmesi

Ekstre miktarı	10 mg	20 mg	30 mg	40 mg
N	3	3	3	3
Ortalama	0.003383	0.003354	0.003379	0.003380
ST.Dev.	0.000042	0.000121	0.000100	0.000058
Min	0.003336	0.003240	0.003298	0.003328
Max	0.003418	0.003481	0.003491	0.003443

Tablo 23. Folia Pistaciae lentiscus droğundan hazırlanan hegzan ekstresindeki vitamin E'nin kolorimetrik miktar tayini sonuçlarının istatistiksel olarak değeriendirilmesi

Ekstre miktarı	10 mg	20 mg	30 mg	40 mg
N	3	3	3	3
Ortalama	0.004431	0.004383	0.004201	0.004320
ST.Dev.	0.000039	0.000037	0.000055	0.000035
Min	0.004404	0.004343	0.004149	0.004297
Max	0.004476	0.004415	0.004258	0.004360

Tablo 24. Folia Pistaciae lentiscus var. chia droğundan hazırlanan hegzan ekstresindeki vitamin E'nin kolorimetrik miktar tayini sonuçlarının istatistiksel olarak değeriendirilmesi

Ekstre miktarı	10 mg	20 mg	30 mg	40 mg
N	3	3	3	3
Ortalama	0.005295	0.005348	0.005168	0.005420
ST.Dev.	0.000041	0.000047	0.000044	0.000091
Min	0.005254	0.005302	0.005143	0.005315
Max	0.005335	0.005395	0.005219	0.005480

Tablo 25. Folia Pistaciae terebinthus droğundan hazırlanan hegzan ekstresindeki vitamin E'nin optik dansitometrik miktar tayini sonuçlarının istatistiksel olarak değeriendirilmesi

Ekstre konsantrasyonları	20 mg/2 ml	30 mg/2 ml	40 mg/2 ml	50 mg/2 ml	60 mg/2 ml
N	3	3	3	3	3
Ortalama	0.003425	0.003176	0.003368	0.003235	0.003290
ST. Dev	0.000085	0.000075	0.000096	0.000086	0.000350
Min	0.003327	0.003127	0.003258	0.003138	0.003008
Max	0.003480	0.003262	0.003438	0.003300	0.003682

Tablo 26. Folia Pistaciae lentiscus droğundan hazırlanan hegzan ekstresindeki vitamin E'nin optik danmsitometrik miktar tayini sonuçlarının istatistiksel olarak değ erlendirilmesi

Ekstre konsantrasyonları	20 mg/2 ml	30 mg/2 ml	40 mg/2 ml	50 mg/2 ml	60 mg/2 ml
N	3	3	3	3	3
Ortalama	0.004476	0.004296	0.004546	0.003906	0.004502
ST. Dev	0.000177	0.000071	0.000051	0.000158	0.000051
Min	0.004344	0.004219	0.004503	0.003748	0.004457
Max	0.004677	0.004358	0.004602	0.004063	0.004558

Tablo 27. Folia Pistaciae lentiscus var. chia droğundan hazırlanan hegzan ekstresindeki vitamin E'nin optik dansitometrik miktar tayini sonuçlarının istatistiksel olarak değ erlendirilmesi

Ekstre konsantrasyonları	20 mg/2 ml	30 mg/2 ml	40 mg/2 ml	50 mg/2 ml	60 mg/2 ml
N	3	3	3	3	3
Ortalama	0.005324	0.005167	0.005105	0.005164	0.005294
ST. Dev	0.000288	0.000204	0.000181	0.000102	0.000378
Min	0.005147	0.005018	0.004986	0.005086	0.005036
Max	0.005656	0.005399	0.005313	0.005279	0.005727

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmamıza konu olan *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinde bulunan E vitamini miktarını saptamak amacıyla, örneklerle kolorimetrik ve optik dansitometrik yöntemler uygulanmıştır. Bu iki farklı yöntemle elde edilen % vitamin E değerleri ve bu değerlere ilişkin tamamlayıcı istatistiksel veriler Tablo 28 ve Tablo 29'da verilmiştir.

Bitkiler	Vitamin E %	Min vit E %	Max vit E %	St. Dev.
A	0.003374	0.003240	0.003491	0.000075
B	0.004334	0.004149	0.004476	0.000097
C	0.005308	0.005143	0.005480	0.000108

A: *Pistacia terebinthus* L., B: *Pistacia lentiscus* L., C: *Pistacia lentiscus* var. *chia*

Tablo 28. Folia Pistaciae droglarında kolorimetrik esaslı vitamin E miktar tayini sonuçlarına ait istatistiksel veriler

Bitkiler	Vitamin E %	Min vit E %	Max vit E %	St. Dev.
A	0.003299	0.003008	0.003682	0.000174
B	0.004345	0.003748	0.004677	0.000262
C	0.005211	0.004986	0.005727	0.000227

A: *Pistacia terebinthus* L., B: *Pistacia lentiscus* L., C: *Pistacia lentiscus* var. *chia*

Tablo 29. Folia Pistaciae droglarında optik dansitometrik esaslı vitamin E miktar tayini sonuçlarına ait istatistiksel veriler

Droglarda bulunan vitamin E miktarını saptamak amacıyla iki yöntem kullanılmıştır. Optik dansitometrik ve kolorimetrik miktar tayini yöntemleri. Bu iki yöntemden elde edilen sonuçlarla çizilen histogramda (Şema 3) açıkça görüleceği gibi **Folia Pistaciae terebinthus** droğundan, iki yöntemle elde edilen % vitamin E değerleri % 0,002-0.004 aralığındadır.

Folia Pistaciae lentiscus droğunda ise yine iki yöntemle elde edilen % vitamin E sonuçları % 0.003 ve % 0.005 aralığındadır. **Folia Pistaciae lentiscus var. chia** droğundan elde edilen sonuçlarda ise kaydadeğer bir artış gözlenmekte ve % 0.004-0.006 aralığında yer almaktadır.

Verilen tablolarda (Tablo 28-29) ve histogramda (Şema 3) görüldüğü gibi, **Folia Pistaciae terebinthus**, **Folia Pistaciae lentiscus** ve **Folia Pistaciae lentiscus var. chia** droğlarının vitamin E miktarını tespit etmek için uygulanan spektrofotometrik (kolorimetrik) ve optik dansitometrik yöntem, birbiriyle aynı sonuçları vermektedir.

IV. FOLIA PISTACIAE DROGLARI ÜZERİNDE BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNLERİ

1. FOLIA PISTACIAE DROGLARINDA SİTOTOKSİK AKTİVİTE TAYİNİ

A.TEORİK KISIM

Çeşitli Akdeniz ülkelerinde ve yurdumuzda yabani olarak geniş bir yayılım gösteren *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinin yapraklarından hazırlanan **Folia Pistaciae terebinthus**, **Folia Pistaciae lentiscus** ve **Folia Pistaciae lentiscus var. chia** halk hekimliğinde kullanılan droglardır (7,12,17,18). Buna rağmen yaptığımız araştırmalarda, bu drogların, hiçbir sitotoksik aktivite çalışmasına konu olmadığını gördük. Bunun üzerine bu çalışmamızda, bu drogların sitotoksik aktivitelerini araştırmayı planladık. Bu amaçla drogların etanol, metanol, etilasetat ve *n*-hegzan ekstraktları ile droglardan hazırladığımız infüzyona *Artemia salina* (Brine shrimp) metodu uygulanmıştır (46).

B. PRATİK KISIM

1. MATERYAL VE METOT

Pistacia terebinthus L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinin toplanan yaprakları, açık havada, oda ısısında, ara sıra karıştırmak suretiyle kurutuldu ve toz edildi. Etanol, metanol, etilasetat ve *n*-hegzan ekstreleri hazırlandı. Ayrıca drogların suyla infüzyonu da hazırlandı. Hazırlanan bu ekstrelere ve infüzyona *Artemia salina* (Brine-shrimp) metodu uygulandı (46).

a. Folia Pistaciae Etanol Ekstresinin Hazırlanışı

Toz edilmiş 20 g **Folia Pistaciae** droğu üzerine 120 ml etanol ilave edilip, manyetik karıştırıcıda ısıtmaksızın 5 saat tutuldu. Süre sonunda droglar muamele olan çözücü süzüldü. Bakiye üzerine tekrar 120 ml etanol ilave edilip manyetik karıştırıcıda ekstraksiyon işlemine 8 saat daha devam edildi. Çözücü süzülüp bakiye üzerine son kez, 120 ml etanol ilave edilip, son kez 8 saat manyetik karıştırıcıda bırakıldı. Süre sonunda birleştirilen etanollü ekstreler, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Etanol ekstrelesinin hazırlanmasında kullanılan yöntem ile metanol ve etilasetat ekstreleri de aynı şekilde hazırlanmıştır.

b. Folia Pistaciae Hegzan Ekstresinin Hazırlanışı

Folia Pistaciae droglarında vitamin E miktar tayini kısmında anlatılmıştır.

c. Folia Pistaciae İnfüzyonunun Hazırlanışı

10 g toz drog tartıldı. 100 ml kaynar distile su ilave edilerek, kaynar su banyosu üzerinde 5 dakika bekletildi. Oda sıcaklığına gelmesinden sonra süzülen infüzyon, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu.

1. a. *Artemia Salina* (Brine shrimp)

Brine shrimp hakkındaki ilk yazılı kayıtlar 1755 yılına dayanmaktadır. Canlının diğ er isimleri, brine worn, salztierchen, sofereg, bahar el dud, fezzanwurm'dur. *Artemia* tuzlu sularda, özellikle tuzlu g llerde, geniş populasyonlar halinde yaşayan bir canlıdır. Bu canlılar zorlu doğa koşullarında, hatta tuzluluğun 300 g tuz/ l su'ya kadar çıktığı durumlarda bile yaşayabilirler. Zaten böyle sular, ancak bazı bakteri ve alg populasyonlarını barındırdığı için, kırmızı, mavi veya yeşil renkte g r len sulardır. Brine shrimp (*Artemia*), bu zorlu doğa şartlarına adapte olmuş az sayıdaki omurgasız hayvanlardan biridir.

Artemia yumurtaları ilk başta g l kenarlarında, su yüzeylerinde, yüzen k    k partiküller (200-300  m çapında) halinde tabakalar oluşturacak şekilde toplanırlar. Sonunda da rüzgarla ve dalgalarla kıyıya atılırlar. Bunlar *Artemia*'ların görünüşte hareketsiz (faaliyetsiz) inaktif kuru kistler olduğu dönemdir. Bu kuru kistler zamanla deniz yüzeyinde dibe batınca ıslanır, şişerek küre şekliini alır. Bu haldeyken kabuğun içinde embriyonun metabolizması aktifleşmiştir. Birkaç saat içinde kistin dış membranı patlar ve embriyo görünür. Etrafı bir membranla kuşatılır. Bunu takip eden saatlerde embriyo kist kabuğunu terk eder.  izgili membranın içinde, yeni farklılaşmış olan antenler ve çene hareket etmeye başlar. Bizim *Artemia*'yı deneylerimizde kullandığımız hali budur. Brine shrimp (*Artemia*) günümüzde, laboratuarda biyolojik aktivite deneylerinde kullanılan bir canlıdır (47). Biz laboratuvar şartlarında steril yapay deniz suyu hazırlayarak, özel olarak hazırlanmış küvetlerde ortam yaratmaktayız. Böylece yumurtalardan, *Artemia* larvalarını çoğaltıp, serbestçe yüzebilir hale geldiğinde, deneylerimizde kullanmaktayız.

1. b. Metod:

1. 3.8 g deniz tuzu (Sigma-9883), 100 ml distile suda çözülür.
2. Tuzlu su tanka konur ve üzerine Brine-shrimp yumurtaları eklenir.
3. Devamlı ışık altında bırakılan yumurtalardan, 2 gün içinde larvalar çıkar.
4. Maddelerden, 1000,100,10 ppm olmak üzere 3 ayrı konsantrasyonda hazırlanır.

1000 ppm olarak hazırlamak için 20 mg madde 2 ml çözücünde çözündürülür. 3 ayrı flakona 0,5 ml konur. 100 ppm konsantrasyonda hazırlamak için, geriye kalan 0,5 ml'den alınan 0,2 ml çözelti 1,8 ml çözücü eklenerek seyreltilir ve bundan alınan 0,5 ml'lik miktarlar 3 ayrı flakona konur. Geriye kalan ekstreye aynı yöntem uygulanarak 10 ppm'lik konsantrasyonlar hazırlanır ve 3 ayrı flakona 0,5'er ml konur. 1 flakona da kontrol amacıyla sadece 0,5 ml çözücü konur. Çözücüler uçurulur.

5. 2 gün sonra Brine shrimp larvaları yumurtadan çıkıp, hazır hale gelince her flakona 5 ml deniz tuzu çözeltisi eklenir ve 10 larva sayılarak konur.
6. 24 saat sonra yaşayan Brina shrimp larvaları sayılır ve kaydedilir.
7. Veriler bilgisayar yardımıyla değerlendirilir ve LC_{50} olarak hesaplanır.

Artemia salina metodunu uygulamak için **Folia Pistaciae** droglarının *n*-hegzan, metanol, etanol, etilasetat kuru ekstreleri ve suyu uçurulan infüzyonlarından 20'şer mg tartılıp, 2 ml kloroformda çözüldü. Maddeler 1000,100,10 ppm'lik konsantrasyonlarda hazırlandı. Her konsantrasyon için , 3 ayrı flakona 0,5 ml'er ml konuldu. Çözücüler uçuruldu. Larvalar hazır olunca yine her bir flakona 5'er ml deniz tuzu çözeltisi ilave edilip, 10'ar tane larva sayılıp, eklendi. 24 saat yaşayan Brine shrimp larvaları sayılarak, veriler bilgisayarda değerlendirildi. Sonuçlar LC_{50} olarak saptandı (Tablo 30).

1. c. Folia Pistaciae Drogları Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Analizler

-Kullanılan Yöntemler-

Yapılan teşhis denemeleri; **Folia Pistaciae terebinthus**, **Folia Pistaciae lentiscus** ve **Folia Pistaciae lentiscus var. chia** droglarından hazırlanan *n*-hegzan, etanol, etilasetat ve metanol ekstreleri ile infuzyonları için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir.

- **Tanen teşhisi:** 1 g ekstere 2 ml suda çözülerek, üzerine 1-2 damla %5'lik FeCl₃ çözeltisi ilave edildiğinde oluşan mavi renkli çökelti tanen varlığını gösterir (48).

- **Flavonozitler (Shibata teşhis reaksiyonu):** 30 mg ekstre üzerine 3 ml metanol ve 0,2 mg magnezyum tozu ilave edildikten sonra %10'luk etanollü HCl asit damla damla ilave edilir. Flavon glizokozitleri varlığında numunede mor-turuncu arasında değişen bir renklenme gözlenir (48).

- **Alkaloit teşhisi:** Elde edilen ekstrelerin herbiri kendi ekstraksiyon solvanlarında çözülür. Çözeltinin * Dragendorf Reaktifi ile turuncu bir çökelek ve ** Mayer Reaktifi ile beyaz renkli bir çökelti oluşturması alkaloit varlığını gösterir (48).

* **Dragendorf Reaktifi:** 5 g Bi₂(CO₃)₃, 10 ml derişik HCl, 25 g KI, H₂O q.s.p. 100 ml.

** **Mayer Reaktifi:** 36 g HgCl₂, 25 g KI, 100 ml H₂O.

- **Steroid al sapogenoler (Salkowski Deneyi):** 20 mg ekstre %10'luk H_2SO_4 ile hidroliz edilir, süzölür ve süzüntüye eşit hacimde kloroform ilave edilerek çalkalanır. Kloroformlu tabaka alınır ve 1 ml kloroformlu kısım 1-2 damla derişik H_2SO_4 ile tabakalandırılır. Sarı, ardından kan kırmızısı renk alan halka steroid al saponin varlığını gösterir. Steroid al saponinler için yapılan bir diğ er teş his denemesi **Lieberman Burchard Deneyi**'dir: Salkowski Deneyi için hazırlanan kloroformlu kısmın 1 ml'si su banyosunda kuruluğ a kadar uçurulur. Bakiye 1 ml glasiyel asetik asit ilave edilerek çözölür. Bu çözelti 1-2 damla derişik H_2SO_4 ile tabakalandırılır. İki tabakanın değ me yüzeyinde önce mor sonra mavi bir halka varlığını deneme sonucunun olumlu çıktığını gösterir.

- **Triterpenik saponozitler (Anisaldehit-Sülfürük asit deneyi):** Bir kapsüle konan 1-2 mg ekstre üzerine *** Anisaldehit-Sülfürük asit reaktifi damlatıldığında pembeden mora kadar renk değ iş imi gözlenir (48).

- **Nişasta:** 1 mg ekstre 1 ml su ile karış tırılır, 1 dakika kaynatılır. Soğ umasının ardından süzölüp, süzüntü üzerine 1 damla %1'lik iyot çözeltisi ilavesi ile meydana gelen mavi renk nişasta varlığını gösterir (49).

Folia Pistaciae drogları üzerinde yaptığımız biyolojik aktivite sonuçlarının yapı-etki ilişkisiyle desteklenmesi amacıyla gerçekleştirilen fitokimyasal analiz sonuçları Tablo 31'de belirtilmektedir. Yapılan analiz sonuçları **Folia Pistaciae terebinthus**, **Folia Pistaciae lentiscus** ve **Folia Pistaciae lentiscus var. chia** droglarından hazırlanan *n*-hegzan, metanol, etanol ve etilasetat ekstreleri ile infuzyonlarını kapsamaktadır.

*** **Anisaldehit-Sülfürük asit reaktifi:** 0,5 ml anisaldehit, 10 ml glasiyel asetik asit, 85 ml metanol, 5 ml derişik H_2SO_4 .

2. BULGULAR

a.

Bitki	Ekstreler	ppm	LC ₅₀
Pistacia terebinthus	<i>n</i> -Hegzan	1000:100:10	593.5121
	Etanol	1000:100:10	269.6858
	Metanol	1000:100:10	269.6858
	Etilasetat	1000:100:10	>1000
	Su	1000:100:10	>1000
Pistacia lentiscus	<i>n</i> -Hegzan	1000:100:10	764.3084
	Etanol	1000:100:10	122.4134
	Metanol	1000:100:10	269.6858
	Etilasetat	1000:100:10	>1000
	Su	1000:100:10	>1000
<i>Pistacia lentiscus</i> <i>var.chia</i>	<i>n</i> -Hegzan	1000:100:10	693.3019
	Etanol	1000:100:10	221.5384
	Metanol	1000:100:10	196.4852
	Etilasetat	1000:100:10	>1000
	Su	1000:100:10	>1000

Tablo 30. Folia Pistaciae droglarından hazırlanan hegzan, etanol, metanol, etilasetat ekstrlerinin ve infüzyonlarının sitotoksik aktivite tayin sonuçları

b.

Bitkiler	Ekstreler (%) verim	Tanen	Flavanoid	Alkaloid	Saponin Triterpenik-seteroidal	Nişasta
<i>Pistacia terebinthus</i> L.	<i>n</i> -hegzan 5,1379 g	+	-	-	++;+	+
	etilasetat 6,8440 g	+	+	-	++;-	+
	metanol 6,2616 g	+	+	-	-;+	+
	etanol 12,3848 g	+	+	-	++;+	+
	infuzyon 7,4624 g	+	+	-	-;+	+
<i>Pistacia lentiscus</i> L.	<i>n</i> -hegzan 5,2124 g	+	-	-	++;+	+
	etilasetat 4,8464 g	+	+	-	++;-	+
	metanol 7,1512 g	+	+	-	-;+	+
	etanol 14,2248 g	+	+	-	-;+	+
	infuzyon 10,0068 g	+	+	-	-;+	+
<i>Pistacia lentiscus</i> var. <i>chia</i>	<i>n</i> -hegzan 5,8030 g	+	-	-	++;+	+
	etilasetat 7,8812 g	+	+	-	++;-	+
	metanol 7,8912 g	+	+	-	-;+	+
	etanol 12,0056 g	+	+	-	-;+	+
	İnfuzyon 12,5728 g	+	+	-	-;+	+

Tablo 31. Folia Pistaciae droglarının fitokimyasal analiz sonuçları

3.TARTIşMA VE SONUÇ

Elde edilen sonuçlara göre (Tablo 30), *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* *n*-hegzan, etanol ve metanol ekstrelerinin

sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bunun yanında infüzyonlarında ve de etilasetat ekstrelerinde sitotoksik aktivite gözlenmemiştir. Bunun nedenlerinden biri ise; fitokimyasal analiz sonuçlarında da görüldüğü üzere, ekstraların kullanılan ekstraksiyon solvanına göre içerik değişimi göstermeleridir. Dolayısıyla bu değişim drogların sitotoksik aktivite sonuçlarına da yansımaktadır. Bu bitkisel droglar halk hekimliğinde özellikle infüzyon şeklinde kullanıldığı için sitotoksik aktivite sonuçlarının olumsuz çıkması, drogların halk hekimliğinde kullanımı açısından önemli bir sonuçtur. Ancak halk hekimliğinde çeşitli kullanımları olan *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia*'nın *n*-hegzan, etanol ve metanol ekstrelerinde sitotoksik aktivite gözlenmesi, daha ileri sitotoksik aktivite deneylerinin yapılmasının uygun olacağını göstermektedir.

2. FOLIA PISTACIAE DROGLARINDA ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE TAYİNİ

A. TEORİK KISIM

Pistacia terebinthus L., yaprakları özellikle halk hekimliğinde haricen güneş yanıklarının tedavisinde kullanılan **Anacardiaceae** familyasına ait bir bitkidir. Ayrıca bu bitkinin reçinesinin mide ağrıları ve peptik ülserin tedavisinde de kullanıldığını görmekteyiz (17,18). Halk arasında kahve yapımı ve yağ eldesinde kullanılan bu drog hakkında herhangi bir antimikrobiyal çalışmaya rastlanmamıştır (19).

Anacardiaceae familyasının diğer üyelerinden olan *Pistacia lentiscus* L. ve bir kültür bitkisi olan *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinin de halk arasında yaygın olarak stomaşik ve haricen bazı deri rahatsızlıklarının tedavisinde kullanıldığı belirtilmektedir (7,12). Bu iki drog üzerinde yapılan literatür çalışmalarında ise yalnızca *Pistacia lentiscus* L.'un su ekstresi üzerinde antifungal (8) ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkisinin reçineden izole edilen uçucu yağında antimikrobiyal aktivite çalışmalarına rastlanmıştır (14).

Bu sebeple, bu çalışmada *Pistacia lentiscus* L., *Pistacia lentiscus* var. *chia* ve *Pistacia terebinthus* L. bitkilerinin yapraklarından hazırlanan *n*-hegzan, etanol, metanol, etilasetat ve su ekstralarının antimikrobiyal etkileri Disk Diffüzyon Yöntemi'yle incelenmiştir (50).

B. PRATİK KISIM

1. MATERYAL VE METOT

Pistacia terebinthus L. bitkisinin yaprakları 05-05-2001 tarihinde Buca-Kaynaklar Köyü'nden, *Pistacia lentiscus* L. bitkisinin yaprakları 18-02-2001 tarihinde Çeşme-Ardıç mevkiinden ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkisinin yaprakları 18-02-2001 tarihinde Çeşme-Alaçatı yöresinden toplandı. Yapraklar sık sık karıştırmak suretiyle, gölgede, oda ısısında kurutulmuştur. Bu şekilde hazırlanan droglar toz edilmiştir. Drog tozundan hazırlanan *n*-hegzan, etanol, metanol, etilasetat ekstreleri ve infüzyonu 60 µg/disk olacak şekilde DMSO (dimetilsülfoksit)'de çözündürülmüştür. Bu şekilde hazırlanan ekstrelere Disk Diffüzyon Metodu uygulanmıştır (50).

a. Disk Diffüzyon Metodu

Ülkemizde, klinik mikrobiyoloji laboratuarlarında, antibiyotik duyarlılıklarının saptanmasında rutin olarak kullanılan yöntem disk diffüzyon yöntemidir. Bu test, diske emdirilen antibiyotiğin, duyarlılığı araştırılan organizmanın inoküle edildiği besi yerine diffüze olması temeline dayanmaktadır (51).

b. Besi Yeri

Testlerimizde NCCLS (Performance Standarts for Antimicrobial Disk Suspectibility Tests Approved Standart)'ın önerdiği besi yeri olan Müeller Hinton Agar kullanılmıştır. Bu besi yeri daha tekrarlanabilir sonuçlar vermesi, bir çok patojenin üremesi için yeterli olması ve hakkında bir çok veri bulunması gibi özelliklerinden dolayı tercih edilen bir besi yeridir (51).

c. Müeller Hilton Agarın Hazırlanması

- Müeller Hinton Agar, ticari olarak satılan preparatından üreticinin tavsiyesine uyularak hazırlanır.
- Otoklavdan çıktıktan sonra su banyosunda 45-50 °C'ye kadar soğutulur.
- Besi yeri, cam veya plastik petrilere derinliği 4 mm olacak şekilde dökülür. Besi yerinin döküldüğü petrilerin düzgün bir yüzeyde olmasına dikkat edilmelidir.
- Agar oda ısısına gelince kullanılabilir.
- Besi yeri kullanılmadan önce seçilen bir tanesi 35 °C'de 24 saat inkübe edilerek sterilit kontrolü yapılmalıdır (51).

d. Besi Yerinin İnokulasyonu

Agar kültüründen 4 yada 5 koloni alınır. Koloniler buyyon veya serum fizyolojiğe konarak 0,5 McFarland bulanıklığına (10^8 cfu/bakteri yoğunluğuna eşittir) ayarlanır ve ilk 15 dakika içinde, süspansiyon içine pamuklu eküvyon batırılıp tüpün kenarından eküvyonun sıkılması ile fazla sıvı bırakılır. Eküvyon Müeller Hinton Agar'ın tüm yüzeyine sürülerek inokulum yayılır (51).

e. Disklerin Yerleştirilmesi

Ekstre miktarı DMSO'da 60 µg/disk olacak şekilde ayarlanmıştır. Testlerimiz sırasında 6 mm çapında diskler (Oxoid antibakteriyel susceptibility blank tests disc) kullanılmıştır. Diskler steril bir pens yardımıyla tutularak ekstreye batırılır. Ekstreyi emen diskler agar yüzeyine yerleştirilir ve üzerine hafifçe bastırılarak besiyerine tamamen temas etmesi sağlanır. Disklerin merkezden merkeze birbirinden en az 24 mm ara ile konulması gereklidir. Maddenin bir kısmı anında diffüze olduğundan, agar yüzeyine koyulduktan sonra disk bir daha kaldırılmamalıdır (51).

Disklerin yerleştirilmesinden sonra petriler, 37°C'lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Yalnızca *Enterobacter cloaceae* için 30 °C ve 24 saat inkübasyon süresi ve sıcaklığı ayarlanmıştır.

Bir gecelik inkübasyondan sonra, ekstrelerin oluşturduğu inhibisyon zon çapları ölçölmüştür.

f. Kullanılan Bakteriler ve Oluşturdukları Enfeksiyonlar

***Staphylococcus aureus*:** Bakteri en çok deri ve mukoza enfeksiyonlarına sebep olur. Abseler, fronkül (sivilce), sikoze (sakal ve kıl köklerinin yangısı), kan çıbanı (carbuncle), penaris (dolama), hidroademit (ter bezlerinin yangısı), gözkapadı iltihabı (blerafit), arpacık, en sık görölen deri ve mukoza enfeksiyonlarındandır. Bakteri ayrıca, orta kulak iltihabı (otitis media), menenjit, çeşitli iç organ abseleri, sinüzit, bronşit, daha nadir olarak idrar yolları enfeksiyonlarına da neden olur. Belli bir odakta yerleşen stafilokoklar, kan yolu ile yayılarak ağır bir klinik tablo veren sepsise bile neden olabilirler. Yine *Staphylococcus aureus'un* pasta, süt, krema ve benzeri yiyeceklerde üremesi, besin zehirlenmelerine sebebiyet vermektedir (52).

***Staphylococcus epidermidis*:** Yara ve konjonktiva enfeksiyonlarına neden olur. Ayrıca genel düşkünlük ve vücut direncinin azaldığı hallerde bazı idrar yolları enfeksiyonlarından ve bazı bakteriyel endokardit olgularından sorumludur (52).

***Enterobacter cloaceae*:** İdrar yolları enfeksiyonları, üst solunum yolu enfeksiyonları, nadiren plörezi, menenjit, sepsis ve çeşitli organ hastalıkları yapabilirler. Yine hastane enfeksiyonları üzerinde yapılan araştırmalarda, gittikçe artan oranlarda bu bakteriye rastlanmaktadır (52).

***Escherichia coli*:** İnsanların, memeli hayvanların ve kuşların normal bağırsak florasında bulunan ve burada diğer flora bakterileri ve organizma ile bir denge altında kaldığı sürece hastalık yapmayan bir bakteridir. Ancak sayılarındaki artış veya bağırsaktan dışarı çıkmaları hastalık nedenidir. Bu şekilde insan ve hayvan bağırsaklarında yaygın ve sürgün şeklinde ortaya çıkan bağırsak hastalıklarına neden olur. Yine diğer organlara yerleşmeleri, özellikle yeni doğan ve yaşlılarda önemli enfeksiyon hastalıklarına sebep olur (52).

***Enterococcus faecalis*:** Çeşitli ürogenital enfeksiyonlar ve endokarditlere neden olur (52).

***Salmonella thyphimurium*:** Genel enfeksiyonlara sebep olur. Farelerde barınan bir bakteri olması nedeniyle, bu hayvanların çıkartılarıyla bulaşan besin maddeleri yoluyla zehirlenmelere ve enfeksiyonlara yol açar (52).

***Pseudomonas aeruginosa*:** Bağışıklık sistemi sağlıklı olan kişilerde *Pseudomonas* enfeksiyonlarına çok az rastlanır. Enfeksiyonların klinik olarak ortaya çıkmasının ön koşulu, savunma sisteminde defektlerin var olmasıdır. En önemli enfeksiyonlar: Solunum yetmezliği olan hastalarda pnömoni, yanık yara enfeksiyonları, ameliyat sonrası yara enfeksiyonları ve ilaç bağımlılarında endokardittir. Hastane enfeksiyonlarında izolasyon sıklığına göre *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*'den sonra, ikinci sırada yer almaktadır (53).

***Candida albicans*:** İnsan ve hayvanlarda mukozalarda kommensal olarak bulunur. Bu nedenle, *Candida* enfeksiyonları, endojen enfeksiyonlar olarak kabul edilir. *Candida*, sıklıkla, direnci zayıflamış, özellikle hücresel bağışıklık sistemi tahrip olmuş hastalarda görülür. En sık olarak mukozalarda tutulur, nadiren deri, iç organlarda da yerleşme olur (53).

2.BULGULAR

Antimikrobiyal etki deneyleri sonucunda, **Folia Pistaciae** droglarının *n*-hegzan, etanol, metanol, etilasetat ve su ekstrelerinin ayrıca kontrol grubu antibiyotik olarak kullanılan Seftazidim'in, 10 farklı bakteri ve Nistatin'in *Candida albicans* üzerinde oluşturmuş olduğu inhibisyon zonlarının çapı Tablo 32-34'de verilmiştir.

inhibisyon çapı (mm)								
Mikroorganizmalar	A	B	C	D	E	F	G	H
<i>Escherichia coli</i> ATCC 29998	8	-	-	8	8	15	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	7	9	-	-	14	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11230	7	-	9	8	7	18	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	7	-	-	7	8	12	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	8	-	-	7	8	13	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	7	-	-	-	9	12	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> CCM 5445	7	-	-	-	-	14	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	7	-	10	-	-	13	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-	-	8	-	-	11	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	8	7	22	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10239	8	-	-	-	-	-	18	-

A: Etanol ekstresi; **B:** *n*- Hegzan ekstresi; **C:** Etilasetat ekstresi; **D:** Metanol ekstresi; **E:** Su ekstresi; **F:** Seftazidim; **G:** Nistatin; **H:** Kontrol (DMSO)

Tablo 32. *Pistacia lentiscus* L. ekstrelerinin Antimikrobiyal aktiviteleri.

inhibisyon çapı(mm)

Mikroorganizmalar	A	B	C	D	E	F	G	H
<i>Escherichia coli</i> ATCC 29998	-	-	-	-	7	15	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7	8	9	-	-	14	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11230	8	7	7	8	8	18	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	7	-	-	7	-	12	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	7	-	-	10	8	13	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	7	-	-	11	9	12	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> CCM 5445	7	-	-	9	-	14	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	8	9	9	-	-	13	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-	-	9	-	-	11	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	7	8	22	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10239	8	8	-	-	-	-	18	-

A: Etanol ekstresi; **B:** *n*- Hegzan ekstresi; **C:** Etilasetat ekstresi; **D:** Metanol ekstresi; **E:** Su ekstresi; **F:** Seftazidim; **G:** Nistatin; **H:** Kontrol (DMSO)

Tablo 33. *Pistacia lentiscus* var. *chia* ekstrelerinin Antimikrobiyal aktiviteleri

inhibisyon çapı (mm)

Mikroorganizmalar	A	B	C	D	E	F	G	H
<i>Escherichia coli</i> ATCC 29998	-	-	-	8	9	15	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	9	10	12	-	-	14	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11230	9	10	8	8	8	18	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	-	-	-	8	8	12	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	-	-	8	7	8	13	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	8	-	-	7	11	12	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> CCM 5445	-	-	-	7	8	14	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	-	-	11	-	-	13	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-	-	12	-	-	11	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	7	9	22	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10239	-	-	-	-	-	-	18	-

A: Etanol ekstresi; **B:** *n*- Hegzan ekstresi; **C:** Etilasetat ekstresi; **D:** Metanol ekstresi; **E:** Su ekstresi; **F:** Seftazidim; **G:** Nistatin; **H:** Kontrol (DMSO)

Tablo 34. *Pistacia terebinthus* ekstrelerinin Antimikrobiyal aktiviteleri.

3. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan incelemelerde görüldüğü üzere, *Pistacia terebinthus* L.'un etanol ekstresi, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 11230 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerinde antibakteriyal aktivite göstermiştir. *n*-Hegzan ekstresi incelenen bakteriler içinde sadece *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Escherichia coli* ATCC 11230'nin büyümesini inhibe etmiştir. Etilasetat ekstresinin ise *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 11230 , *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212'in büyümesini inhibe ettiği saptanmıştır. Metanol ve su ekstreleri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 dışındaki incelenen tüm bakterilere etkilidir. Hatta su ekstresinin *Staphylococcus epidermidis* ATCC 122282'ye karşı saptanan antibakteriyal aktivitesi Seftazidim'e oldukça yakındır. *Pistacia terebinthus* L.'un incelenen tüm ekstreleri *Candida albicans* ATCC 10239'a karşı aktif değildir.

Pistacia lentiscus L.'un etanol ekstresinin, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dışında tüm bakterileri inhibe ettiği saptanmıştır. *n*-Hegzan ekstresi ise sadece *Escherichia coli* ATCC25922'ye etkili olmuştur. *Pistacia lentiscus* L.'un etilasetat ekstresi, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Enterobacter cloacae* ATCC 13047'nin büyümesini inhibe etmiştir. Metanol ekstresi *Escherichia coli* ATCC 29998, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P,

Staphylococcus aureus ATCC 29213 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853'yı inhibe etmiştir. Su ekstresinin de, metanol ekstresinin inhibe ettiği tüm bakterileri inhibe ettiği ayrıca *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228'inde büyümesini inhibe ettiği saptanmıştır.

Pistacia lentiscus var. *chia*'nın etanol ekstresi incelen bakteriler içinde *Escherichia coli* ATCC 29998, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 hariç tüm bakterileri ve *Candida albicans*'ı inhibe etmiştir. *n*-Hegzan ekstresi, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 ve *Candida albicans* ATCC 10239'u inhibe etmiştir. Etilasetat ekstresinin, incelenen bakteriler içinde sadece *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212'in büyümesini inhibe ettiği saptanmıştır. Metanol ekstresi *Escherichia coli* ATCC 11230, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Salmonella thyphimurium* CCM 5445 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 278532'nin büyümesini inhibe etmiştir. Hatta metanol ekstresinin, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerindeki antibakteriyal aktivitesi Seftazidim'e yakındır. Su ekstresi ise *Escherichia coli* ATCC 29998, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853'nin büyümesini inhibe etmektedir.

Antibakteriyel ajan olarak kullanılan Seftazidim bütün bakterileri inhibe etmesine karşı, *Candida albicans*'ın gelişiminde etkisizdir. Yine antifungal ajan olarak kullanılan Nistatin, *Candida albicans* gelişiminde inhibitördür, fakat hiçbir

bakteri üzerinde etkisi yoktur. Çözücü olarak kullanılan DMSO'in testlerde kullanılan hiçbir mikroorganizma üzerinde inhibitör etkisi yoktur.

Yapılan antimikrobiyal aktivite tayininde görüldüğü üzere, aynı bitkinin farklı ekstrelerinde bile mikroorganizma inhibisyon çapında değişimler gözlenmektedir. Bunun bir nedeni de fitokimyasal analiz sonuçlarından da anlaşılacağı üzere, bitkinin farklı ekstrelerindeki etken madde içeriğinin değişimidir.

Sonuç olarak, söylenebilir ki, bütün bu ekstreler , bazı durumlarda bakteri ve mantarlara karşı koruyucu olarak kullanılabilir. Ayrıca bu araştırma ekstrelerde ki, asıl etkili antimikrobiyal madde izolasyonu için de bir ön çalışma olmaktadır.

V. FOLIA PISTACIAE DROGLARINDA UÇUCU BİLEŞİKLERİN SAPTANMASI VE İZOLASYONU

A. TEORİK KISIM

Araştırmamıza konu olan *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* yapraklarında yoğun olarak uçucu yağ ihtiva eden bitkilerdir. Yapılan araştırmalar uçucu yağ taşıyan bitkilerin yaygın bir şekilde halk ilacı olarak kullanıldıklarını göstermektedir. Özellikle halk arasında yaygın bir şekilde kullanılan sakız uçucu yağı üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmaları, bu yağın antimikrobiyal olduğunu göstermektedir (14). Bu bölümde yine aynı şekilde araştırmamıza konu olan ve yaptığımız çalışmalar sonucu bazı bakteriler üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini saptadığımız *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinde uçucu yağ analiz çalışmaları GC/MS analiz yöntemiyle gerçekleştirilmiştir.

B. PRATİK KISIM

1. MATERYAL VE METOT

a. Bitkisel Materyal

İzmir-Çeşme yöresinden toplanan *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkileri ile Ege Üniversitesi Kampüs Alanı'ndan toplanan *Pistacia terebinthus* L. bitkileri, toplanmalarının hemen ardından yaprak ve

sürgün kısımlarına ayrılarak, distilasyon işlemine uygun olacak şekilde parçalara ayrılmıştır.

b. Deneysel Çalışma

Materyalin Distilasyon İşlemine Hazırlanması

Pistacia terebinthus L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var *chia* bitkilerinin yaprak ve sürgünleri ayrılarak distilasyon işlemine hazır hale getirildi.

Distilasyon İşlemi: Bitkisel materyallerden uçucu yağın elde edilmesi işlemi su distilasyonu yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla USP (294) de tarif edilen bir düzenekten yararlanılmıştır. Buna göre USP’de tarif edilen uçucu yağ tayin cihazının yerli olarak imal edilmiş bir benzerinde bitkisel materyal yaklaşık 100’er g’lık porsiyonlar halinde ve 2 litrelik distilasyon balonuna doldurulduktan sonra 10 katı kadar distile su ilave edildikere 8 saat süreyle distilasyon işlemine tabi tutuldu. Elde edilen uçucu yağ toplandı. Yağ uçucu bileşenlerin tayini için GC/MS sistemine uygun miktarlarda enjekte edildi.

Su Miktar Tayini: Distilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağ verimini kuru baz üzerinden hesaplamak amacıyla distilasyon işleminden önce bitkisel materyalin içerdiği su miktarı volumetrik yöntemle belirlendi. Su miktar tayini için volumetrik (azeotropik) su tayin apareyi kullanıldı (40).

10 g materyal tam olarak tartılıp, 250 ml’lik bir balona konuldu ve üzerine drog miktarının 10 katı kadar ksilol ilave edilip, su miktarı sabit kalıncaya kadar geri çeviren soğutucu altında elektrikli ısıtıcıda kaynatıldı. Apereyin büret kısmındaki su miktarı sabit olduğunda işleme son verildi. Dereceli tüpte toplanan ksilol+su karışımı tamamen ayrıldıktan sonra dip kısmında toplanan su miktarı okunup materyalin içerdiği su miktarı yüzde cinsinden hesaplandı. Buna

göre bitkilerin taşıdığı su miktarları; *Pistacia terebinthus* L. (yaprak) %18, (sürgün) %45; *Pistacia lentiscus* L. (yaprak) %10, (sürgün) %15 ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* (yaprak) %18, (sürgün) %15'dir.

c. Analitik Çalışma

Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektrofotometresi Sistemi (GC/MS)

Uçucu yağ içindeki bileşenler gaz kromatografisi kolonunda ayrıldıktan sonra, dedektör görevi yapan kütle spektrofotometresinde her birinin kütle spektrumları alındı. Değerlendirmeler "TBAM Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi" ve Wiley GC/MS Kütüphane Tarama Yazılımları kullanılarak yapıldı.

GC/MS Analiz Koşulları

Sistem: Hewlett Packard G 1800 A GCD

Kolon: Innowax FSC (60 m x 0.25 mm ø, 0.25 µm film kalınlığı)

Taşıyıcı Gaz: Helyum

Sıcaklıklar: Enjeksiyon: 250 °C; Kolon: 60 °C'de 10 dak // 220 °C'ye 4 °C dak // 220 °C'de 10 dak // 240 °C'ye 1 °C/dak

Split Oranı: 50:1

MS Koşulları: Elektron enerjisi: 70 eV; Kütle aralığı: m/z 35-425

2. BULGULAR

Pistacia terebinthus L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinden elde edilen uçucu yağın bileşimi, alıkonma indeksleri ve yüzde miktarları Tablo 35,36'da verilmiştir.

RRI	Compound	A	B	C	D
1032	α -Pinen	19.4	0.5	0.5	-
1035	α -Tujen	0.6	-	-	-
1076	Kamfen	0.3	-	-	-
1118	β -Pinen	2.8	1.1	0.1	-
1132	Sabinen	23.2	1.8	-	-
1174	Mirsen	2.2	0.2	27.4	13.9
1176	α -Fellandren	2.3	-	-	-
1183	<i>p</i> -Mentha-1,7(8)-diene (=Pseudolimonen)	0.1	-	-	-
1188	α -Terpinen	1.1	-	-	-
1203	Limonen	6.9	1.3	0.7	1.0
1218	β -Fellandren	6.5	0.4	0.8	0.6
1241	Butil-2-metilbutirat				
1246	(Z)- β –Osimen	-	-	-	0.1
1255	γ -Terpinen	1.8	-	-	0.2
1266	(E)- β –Ocimen	-	-	-	0.4
1275	2-Metilbutil butirat	0.3	-	-	0.4
1280	<i>p</i> -Simen	0.3	7.1	-	0.2
1285	Izoamil izovalerat	-	0.1	-	-
1290	Terpinolen	0.5	-	-	0.3
1299	2-Metilbutil izovalerat	0.1	0.3	-	0.2
1398	2-Nonanon	-	0.3	0.3	0.4
1466	α -Kubeben	-	-	0.4	-
1468	3-Metil butil hezanoat (=Izoamil hezanoat)	0.4	1.8		0.9
1471	2-Nonil asetat	-	-		
1482	(Z)-3-Hezenil-2-metil butirat	-	0.1	-	-
1493	α –Ylangen	-	0.1	-	-
1497	α –Kopaen	0.6	1.3	1.3	0.9
1521	2-Nonanol	-	0.2	-	0.2
1535	β -Burbonen	-	0.4	-	0.1
1549	β -Kubeben	0.3	0.7	0.9	0.5
1571	<i>Trans-p</i> -Menth-2-en-1-ol	0.1	0.6	-	-
1589	β -Ylangen	-	-	0.1	0.1
1597	Bornil asetat	0.1	1.4	-	-
1600	β -Elemen	0.8	1.5	1.2	0.9
1604	2-Undekanon	-	2.8	0.9	1.9
1611	Terpinen-4-ol	5.7	29.2	-	-
1612	β -Karyofillen			7.2	10.8
1638	<i>Cis-p</i> -Menth-2-en-1-ol	-	0.4	-	-
1641	<i>Cis</i> - β -Terpinol	-	-	-	0.2
1661	Alloaromadendren	0.5	1.0	1.0	0.9
1662	(Z)-3-Hezenil hezanoat	-	0.1	-	-
1664	Izoamil oktonat	-	0.7	-	0.2
1677	<i>Epi</i> -Zonaren	0.1	-	0.4	0.4
1687	α -Humulen	1.3	2.4	3.3	3.4
1690	Kripton	-	0.8	-	-
1704	γ –Muurolen	0.8	2.7	1.3	1.7
1706	α -Terpinol	0.4	3.5	-	3.3
1709	α –Terpinil asetat	0.3	-	1.4	4.8
1719	Borneol	-	0.3	-	-
1722	2-Undekanol	-	0.1	-	-
1726	Germakren D	14.1	0.7	21.7	20.1
1740	α –Muurolen	0.6	1.8	2.3	1.4
1755	Bisiklogermakren	0.4	-	0.9	0.5

1758	Cis-Piperitol	-	0.4	-	-
1758	(E,E)- α -Farnesen	-	-	-	0.2
1773	δ -Kadinen	1.7	0.4	3.9	4.2
1776	γ -Kadinen	0.1	0.6	0.3	0.4
1797	p-Metil asetofenon	-	0.3	-	-
1799	Kadina-1,4-diene (=Kubenen)	-	-	0.3	0.3
1804	Mirtenol	-	0.2	-	-
1810	3,7-Guaidien	-	0.1	-	0.1
1815	2-Tridekanon	-	0.1	-	0.1
1853	Cis-Kalamenen	-	0.8	0.3	0.4
1854	Germakren-B	0.1	-	-	-
1864	p-Simen-8-ol	-	0.5	-	-
1868	(E)-Geranil aseton	-	0.6	-	-
1900	Epi-Kubebol	0.2	0.2	0.8	0.2
1929	2-Metil butil benzoat	-	0.2	-	-
1932	Izoamilbenzoat	-	1.0	0.1	0.4
1945	1,5-Epoksi-salvial(4)14-ene	-	0.2	-	-
1957	Kubebol	0.6	0.3	1.7	0.4
1973	Dodekanol	-	-	-	0.1
2001	Izokaryofillen oksit	-	0.7	0.1	-
2008	Karyofillen oksit	0.3	3.3	0.5	0.3
2050	(E)-Nerolidol	-	-	-	0.3
2051	Gleenol	-	0.2	-	-
2069	1,6-Germakradien-5 β -ol (=Germakren D-4 β -ol)	0.4	-	0.6	0.2
2071	Humulen epoksit-II	-	1.2	-	-
2080	Kubenol	-	0.7	0.6	0.7
2088	1-epi-Kubenol	0.2	1.2	1.1	1.3
2096	Elemol	0.2	0.2	0.8	0.6
2144	Spatulenol	-	0.5	0.1	0.1
2148	(Z)-3-Hezen-1-il benzoat	-	0.2	-	0.2
2149	Dimirsen I-a	-	-	0.2	0.1
2174	Dimirsen I-b	-	-	0.3	0.1
2179	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	-	-	-	0.2
2186	Mint sülfid	-	-	-	1.8
2187	T-Kadinol	0.2	-	0.8	
2209	T-Murolol	0.3	1.7	1.2	1.8
2219	δ -Kadinol (=alfa-murolol)	0.1	0.8	0.6	0.9
2219	Dimirsen II-a	-	-	3.1	1.8
2245	Elemisin	-	-	-	0.2
2250	α -Eudesmol	-	-	0.4	0.5
2255	α -Kadinol	0.6	3.0	2.2	3.3
2269	Dimirsen II-b	-	-	1.3	0.6
2273	Selin-11-en-4 α -ol	-	-	-	0.2
2503	Dodekanoik asit	-	-	0.1	0.3
2655	Benzil benzoat	-	-	-	0.4
2670	Tetradekanoik asit (= Miristik asit)	-	-	0.1	0.2
2931	Hezadekanoik asit	-	0.4	0.1	0.5
Total		99.9	89.9	95.8	94.3

Tablo 35. *Pistacia lentiscus* L., *Pistacia lentiscus* var. *chia* Bitkilerinin Uçucu Yağ Bileşenleri

A: *Pistacia lentiscus* L. –sürgün uçucu yağı; **B:** *Pistacia lentiscus* L.–yaprak uçucu yağı

C: *Pistacia lentiscus* var. *chia* –sürgün uçucu yağı; **D:** *Pistacia lentiscus* var. *chia* –yaprak uçucu yağı

RRI	Compound	E (%)	F (%)
1014	Trisislen	e	0.2
1032	α -Pinen	0.2	2.9
1076	Kamfen	0.1	1.0
1118	β -Pinen	0.1	7.5
1132	Sabinen	-	0.1
1176	α -Fellandren	0.2	1.8
1188	α -Terpinen	e	e
1203	Limonen	0.4	3.3
1218	β -Fellandren	0.1	1.2
1225	(Z)-3-Hezenal		
1244	Amil furan (2-Pentil furan)	e	0.1
1246	(Z)- β -Osimen	0.4	0.4
1255	γ -Terpinen	0.1	0.2
1266	(E)- β -Osimen	0.1	0.1
1280	<i>p</i> -Simen	0.3	2.3
1290	Terpinolen	0.2	0.3
1319	(E)-2,6-Dimetil-1,3,7-nonatren	0.1	-
1360	Hekzanol	E	-
1382	<i>cis</i> -Alloosimen	E	e
1400	Nonanal	0.6	0.3
1429	Perillen	-	e
1439	γ -Kamfolen aldehit	-	e
1450	<i>Trans</i> -Linalool oksit (<i>Furanoit</i>)	0.2	-
1452	α , <i>p</i> -Dimetilstiren	0.2	0.1
1466	α -Kubeben	1.5	5.9
1478	<i>cis</i> -Linalool oksit (<i>Furanoid</i>)	0.1	-
1494	(Z)-3-Hezenil 3-metilbutirat (=Z)-3-hezenil izovalerat)	e	-
1497	α -Kopaen	0.8	1.8
1528	α -Burbonen	0.1	-
1535	β -Burbonen	0.8	0.2
1549	β -Kubeben	-	2.7
1571	<i>trans-p</i> -Menth-2-en-1-ol	0.1	-
1586	Pinokarvon	0.3	1.8
1590	Bornil asetat	4.4	6.0
1611	Terpinen-4-ol	1.4	1.5
1612	β -Karyofillen		
1637	<i>p</i> -Menth-1-en-9-al	0.6	-
1639	<i>trans-p</i> -Mentha-2,8-dien-1-ol	-	0.1
1648	Mirtenal	1.1	4.1
1661	Alloaromadendren	0.3	3.0
1670	<i>trans</i> -Pinokarvol	0.8	
1677	<i>epi</i> -Zonaren	1.4	0.5
1687	α -Humulen	0.3	1.5
1706	α -Terpineol	5.0	2.6
1726	Germakren D	3.1	10.0
1751	Karvon	-	0.6
1758	(E,E)- α -Farnesen	2.2	-
1773	δ -Kadinen	5.1	2.9
1799	Kadina-1,4-diene (=Kubenen)	1.6	-
1804	Mirtenol	-	3.7
1823	<i>p</i> -Mentha-1(7),5-dien-2-ol	-	0.2
1827	(E,E)-2,4-Dekadienal	-	0.1

1845	<i>Trans</i> -Karvol	0.2	0.4
1853	<i>cis</i> -Kalamenen	3.6	2.9
1882	<i>cis</i> -Karvol	-	0.1
1898	1,11-Oksidokalamenen	0.2	-
1900	<i>epi</i> -Kubebol	-	1.2
1918	β -Kalakoren	0.2	-
1941	α -Kalakoren	1.4	0.2
1945	1,5-Epoksi-Salvial(4)14-ene	-	0.1
1957	Kubebol	-	5.4
1984	γ -Kalakoren	0.3	0.1
2008	Karyofillen oksit	0.5	0.7
2037	Salvial-4(14)-en-1-one	0.7	0.4
2050	(<i>E</i>)-Nerolidol	1.0	-
2051	Gleenol	0.9	-
2071	Humulen epoksit-II	-	0.9
2080	Kubenol	1.6	0.7
2088	1- <i>epi</i> -Kubenol	3.3	2.4
2100	Henikosan	0.3	-
2144	Spatulenol	1.4	1.2
2209	T-Muurolol	1.8	0.3
2219	γ -Kadinol (=alfa-muurolol)	1.4	0.2
2239	Karvakrol	1.0	0.3
2255	α -Kadinol	6.9	2.3
2264	4,7-Dimetil-1-tetralon	0.5	0.3
2296	İzofitol	0.3	-
2400	Tetrakosan	0.8	-
2495	14-Okso-kalamenen	0.3	-
2500	Pentakosan	2.6	0.6
2551	Geranil linalool	1.6	-
2567	14-Hidroksi-α-muurolen	0.3	-
2607	14-Hidroksi- δ -kadinen	0.5	-
2622	Fitol	5.4	-
2655	Benzil benzoat	0.5	-
2670	Tetradekanoik asit (= <i>Miristik asit</i>)	1.4	-
2700	Heptakosan	1.2	-
2740	Antrasen	0.1	-
2822	Penadekanoik asit	0.2	-
2900	Nonakosan	0.6	-
2931	Hekzadekanoik asit	1.2	-
	Total	78.5	91.7

Tablo 36. *Pistacia terebinthus* L. Bitkisinin Uçucu Yağ Bileşenleri

E : *Pistacia terebinthus* L.- yaprak uçucu yağı

F : *Pistacia terebinthus* L.- sürgün uçucu yağı

e: eser (Trace) (< 0.1 %) **RRI:** Relative retention indices (alıkonma indeksi)

3.TARTIŞMA VE SONUÇ

Pistacia terebinthus L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinden izole edilen uçucu bileşenler, GC/MS sistemi yardımıyla ayrıldı. Elde edilen veriler, TBAM Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi ve Wiley GC/MS Kütüphane Tarama Yazılımları kullanılarak değerlendirildi.

Bitkilerden su distilasyonu ile izole edilen uçucu yağlarda *Pistacia terebinthus* L. için doksan bir, *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* için toplam yüz bileşik saptanmıştır. Bunlardan *Pistacia terebinthus* L. sürgün uçucu yağı için β -pinen (%7.5), bornil asetat (%6.0), yaprak uçucu yağı için α -kadinol (%6.9); *Pistacia lentiscus* L. sürgün uçucu yağı için, sabinen (%23.2) ve α -pinen (%19.4), yaprak uçucu yağı için terpinen-4-ol ve β -karyofillen (%29.2) ; *Pistacia lentiscus* var. *chia* sürgün uçucu yağı için mirsen (%27.4), germakren D (%21.7), yaprak uçucu yağı için germakren D (%20.1) ana bileşenler olarak görülmektedir.

ÖZET

Bu çalışmada İzmir ili Buca-Kaynaklar yöresinde yabani olarak yetişen, *Pistacia terebinthus* L. ve yine Çeşme-Ardıç mevkiinde yabani olarak yetişen *Pistacia lentiscus* L. bitkileri ile Çeşme-Alaçatı'da kültürü yapılan *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkisinin yaprakları üzerinde, beş ayrı proje halinde çeşitli araştırmalar yapılmıştır.

Birinci projede, **Folia Pistaciae** drogları üzerinde, çeşitli makroskopik ve mikroskopik araştırmalar yapıp, drogların makroskopik ve mikroskopik özellikleri tanıtılmıştır.

İkinci olarak droglar üzerinde, DAB 10'daki yöntemler esas alınarak, çeşitli kalite kontrol denemeleri yapılmıştır. Bu denemeler sonucunda, drogların nem, total kül ve sülfat külü miktar tayinleri saptanmıştır.

Diğer bir projemizde ise, **Folia Pistaciae** droglarında bulunan E vitamini'nin (α - tokoferol) miktarı, kolorimetrik ve optik dansitometrik esaslı yöntemlerle tayin edilmiştir.

Bunlara ek olarak *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L. ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinin uçucu bileşenlerinin tayini GC/MS sistemi vasıtasıyla yapılmıştır.

Beşinci ve son projemizde ise, *Brine shrimp* yöntemi ile drogların sitotoksik aktivitesi ve Disk Diffüzyon Yöntemi'yle de antimikrobiyal aktivitesi tayin edilmiştir.

SUMMARY

In this study, *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* and *Pistacia lentiscus* var. *chia* leaves were collected from west Anatolia in İzmir-Buca, Çeşme.

As the first project, the anatomical and microscobical investigations on **Folia Pistaciae** have been carried out.

As the second project of our study, its quality control determinations have been conducted according to DAB 10. In this concept, determination of vitamin E by TLC and assays for ash, humidity.

As the third project of our study, the content of α -tocopherol, has been quantitatively determined by two different methods based on colorimetry and optical densitometry.

In addition to this study, the volatile compounds of *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia lentiscus* var. *chia* were analyzed by GC/MS system.

As the last project of our study, the biological activity of **Folia Pistaciae** has been studied by using two different methods:

- a. Antimicrobial activity by Disk Diffusion Tecnique
- b. Cytotoxicity evaluated by the Brine shrimp Lethality bioassay.

KAYNAKLAR

1. Zeybek, N., “Farmasötik Botanik”, Ege Üniversitesi Basımevi, No:1, (1985), 200.
2. Cullen, J., “Flora of Turkey and the East Aegean Islands”, Ed. Davis P. H., Universty Press, Edinburg, (1965), 100.
3. Baytop, T., “Türkiye’nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri”, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, İsmail Akgün Matbaası, İstanbul, (1963), 301.
4. Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M., “Farmasötik Botanik”, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:78, (1998), 321.
5. Sanna, A., “How the Lenticle Plant (*Pistacia lentiscus* L.) Can Be Utilized Indutrially”, *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **5**, (1930), 155-60; Chem. Abst., 1930, 24.
6. Sanz, M.J., Terencio, M.C., Paya, M., “ Pharmacological Actions of a New Procyanidin Polymer from *Pistacia lentiscus* L.” *Pharmazie*, **48**, 2, (1993), 152-153.
7. Ali-Shtayeh, M.S., Yaghmour, M.R., Faidi, Y.R., Salem, K., Al- Nuri, M.A., “Antimicrobial Activity of 20 Plants Used in Folkloric Medicine in the Palestinian Area”, *Journal of Ethnopharmacology*, **60**, (1998), 265-271.
8. Ali-Shtayeh, M.S., Ghdeib, S.I.A., “Antifungal Activity of Plant Extract Against Dermatophytes”, *Mycoses*, **42**, 11-12, (1999), 665-672.
9. Murko, D., Djokovic, G., “Contribution to a Better Understanding of *Pistacia* Tannin Materials”, *Glas. Hem. Tehnol. Bosne Hercegovine*, **101**, (1983),109-13; Chem. Abst., 1984,101:3969n.

- 10.** Tabacik-Wlotzka, C., Imbert, J.L., Pistre, P., “*Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia terebinthus* L. Comparative Study of the Compounds Extracted with Petroleum Ether”, *Acad. Sci., Paris, Ser. D*, **265**, 9, (1967), 708-710; Chem. Abst., 1968, 68:19523y.
- 11.** Chevolleau, S., Georges, C., “Extraction of d- α -Tocopherol from Plant Leaves” Fr. Demande, (1992), Patent No:FR 2669032.
- 12.** Baytop, T., “Türkiye’de Bitkilerle Tedavi Geçmişte ve Bugün”, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:3255, (1984), 274.
- 13.** Bona, S.G., Bono, L., Daghetta, L., Marone, P., “Bactericidal Activity *Pistacia lentiscus* Gum Againsts *Helicobacter pylori*”, *AJG*, **152**, (2001), 49.
- 14.** Magiatis, P., Melliou, E., Skaltsounis, A.-L., Chinou I.B., Mitaku, S., “Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils *Pistacia lentiscus* var. *chia*”, *Planta Medica*, **65**, 8, (1999), 749-752.
- 15.** Mell, C.D., “Dyes and Tannin from Pistachio trees”, *Textile Colorist*, **50**, (1928), 683-4; Che. Abst., 1929, 23.
- 16.** Giner-Larza, E.M., Manez, S., Carmen, M., Giner, R.M., Prieto, J.M., Cerda-Nicolas, M., “ Oleanonic acid, a 3-oxotriterpene from *Pistacia*, Inhibits Leukotriene Synthesis and Has Anti-inflammatory Activity”, *European Journal of Pharmacology*, **428**, (2001), 137-143.
- 17.** Tuzlacı, E., Aymaz, P., “ Turkish Folk Medicinal Plants, Part IV: Gönen (Balıkesir), *Fitoterapia*, **72**, (2001), 323-343.
- 18.** Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Fujita, T., Tanaka, T., “Traditional Medicine in Turkey. V. Folk Medicine in the Taurus Mountains”, *Journal of Ethnopharmacology*, **46**, (1995), 133-152.

19. Ayranca, E., Dalgıç, A.C., “Moisture Sorption of *Pistacia terebinthus* L. and Its Protein Isolate”, *Lebensm-Wiss. u. –Technol.*, **25**, (1992), 482-483.

20. Giner-Larza, E.V., Manez, S., Giner-Pons, R.M., Recio, C.M., Rios, J.L., “ On the Anti-inflammatory and Anti-phospholipase A₂ Activity of Extracts from Lanostane-Rich Species”, *Jouranal of Ethnopharmacology*, **73**, (2000), 61-69.

21. Demo, A., Petrakis, C., Kefalas, P., Boskou, D., “Nutrient Antioxidants in Some Herbs and Mediterranean Plant Leaves”, *Food Research International*, **31**, 5, (1998), 351-354.

22. Brenner, S.A., “The Effect of Vitamin E and Beta Carotene on the Incidence of Lung Cancer and Other Cancers in Male Smokers”, *N. Engl. J. Med .*, **330**, 15, (1994), 1029-1035.

23. Packers, L., “Protective Role of Vitamin E in Biological Systems.” *Am. J. Clin. Nutr*, **53**, (1991), 1050-1055.

24. Freedman, J.E., Farhat, J.H., Loscabo, J., Keaney, J.F., “α-tocopherol Inhibits Agregation of Human Platelets by a Proteinkinase C-Depent Mechanizm”, *Circ*, **94**, (1996), 2434-2440.

25. Polette, A., Blache, D., “Effect of Vitamin E an Accute Iron Load Potentiated Agregation, Secretion, Calcium Uptake and Thromboxane Biosynthesis in Rat Platelets”, *Atherosclerosis*, **96**, (1992), 717-179.

26. Enstrom, J.E., Kanim, L.E., Klein, M.A., “Vitamin C Intake and Mortality Among a Sample of the United States Population”, *Epidemiology*, **3**, (1992), 194-202.

27. Riemersma, R.A., Wood, D.A., Macintyre, C.C.A., Elton, R.A., Gey, K.F., Oliver, M.F., "Risk of Angina Pectoris and Plasma Concentrations of Vitamins A, C, E and Carotene", *Lancet*, **337**, (1991), 1-5.

28. Stampfer, M.J., Henneken, S.C.H., Manson, J.E., Colditz, G.A., Rosner, B., Willet, W.C., "Vitamin E Consumption and the Risk of Coronary Disease in Women", *N. Engl. J. Med.*, **328**, (1993), 1444-1449.

29. Milne, D.B., Botnen, J., "Retinol α -Tocopherol, Lycopene and β -Carotene Simultaneously Determined in Plazma by Isocratic Liquid Chromatography", *Clin. Chem.*, **32**, 5, (1986), 874-876.

30. Hanif, S., Turgan, N., Özmen, D., Bayındır, O., "Determination of Vitamin E in Serum A Comparison of Colorimetry and HPLC", *Türk J. Med. Sci.*, **26**, (1996), 277-279.

31. Barbosa, L.C.A., Teixeira, R.R., Demuner, A.J., "Vitamin E and Other Chemical Constituents of the Leaves of *Gallesia gorazema*", *Fitoterapia* LXVIII, No:6, (1997), 515-519.

32. Carpenter, A.P., Jr. "Determination of Tocopherol in Vegetable Oils", *Journal of the American Oil Chemistry Society*, **56**, (1979), 668-671.

33. Gapor, A.B., Kato, A., Ong, A.S.H., " α -Tocopherol Content in Palm Leaflet", *JAOCS.*, **63**, 3, (1986), 330-331.

34. Chevolleau, S., Mallet, J.F., Debal, A., Uccani, E., "Antioxidant Activity of Mediterranean Plant Leaves: Occurrence and Antioxidative Importance of α -Tocopherol", *American Oil Chemistry Society*, **70**, 8, (1993), 807-809.

- 35.** Kivak, B., Mert, T., “Quantitative Determination of α -Tocopherol in *Arbutus unedo* by TLC-Densitometry and Colorimetry”, *Fitoterapia*, **72**, (2001), 656-661.
- 36.** Tmen, G., Başer, K.H.C., Kırimer, N., “Türk sakızı uucu yağ bileşenleri”, XI. Bitkisel İla Hammaddeleri Toplantısı, Bildiri Kitabı, (1997), 122-129.
- 37.** Türk Farmakopesi, 1974.
- 38.** Deutsches Arzneibuch 10., 1997.
- 39.** U.S. Pharmacopeia, U.S.P. 1985.
- 40.** European Pharmacopoeia, 1997.
- 41.** elebioğlu, S., Baytop, T., “Bitkisel Tozların Tetkiki İçin Yeni Bir Reaktif”, Farmakognozi Enstits Yayınları, No:10., Farmakolog, (1949), 19, 301.
- 42.** Booth, V.H., “Determination of Tocopherol in Plant Tissue”, *Analyts*, **88**, 1049, (1963), 627-632; Chem. Abst., 1963, 59:13357 h.
- 43.** Booth, V.H., “ α -Tocopherol Content of Forage Crops”, *J. Sci. Food Agr.*, **15**, 5, (1964), 342-344; Chem. Abstr., 1964, 61:7622 b.
- 44.** Ruggeri, B.A., Watkins, T.R., Gray, R.J.H., Tomlins, R.I., “Comparative Analysis of Tocopherols by Thin Layer Chromotography”, *Journal of Chromotography*, **291**, (1984), 377-383.
- 45.** Benjamin, D., Wamble, Cecil A., “Vitamin E Analytical Procedure for Cottonseed and Its Products”, *The Journal of The American Oil Chemists Society*, **31**, (1954), 284-287.

46. Mc Laughlin, J. L., Chang, C. J., Smith, D. L., “Bench-Top Bioassays for the Discovery of Bioactive Natural Products: An update”, *Natural Products Chemistry*, **9**, (1991), 383-397.

47. Sorgeloos, P., “Zur Ontogenie und Morphogolie von *Artemia Salina* L. Zool” *Jb. Anat.*, **86**, (1969), 307-458.

48. Sakar, K., Tanker M., “Fitokimyasal Analizler” Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:67, (1991).

49. Çubukçu, B., “ Analitik Farmakognozi”, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:24, (1976).

50. NCCLS: Performance Standarts for Antimicrobial Disk Suspectibility Tests Approved Standard NCCLS Publication M₂-A₅, Villanova, PA, USA, 1999.

51. Akalın, E., Arıkan, A.Ö., Gür, D., Havrat, M., Özkuyumcu, C., Ünal, S., “Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri”, 1992, 45-49.

52. Bilgehan, H., “Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları”, Bilgehan Basımevi, (1983).

53. Kayser, F.H., Bienz, K.A, Eckert, J., Lindenmann, J., “Tıbbi Mikrobiyoloji”, Nobel Kitabevi, (1997), 291.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında İzmir’de doğdum. Temel eğitimimi Karşıyaka Lisesi’nde tamamladıktan sonra, 1995 yılında Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’ne girdim. 1999 yılında mezun oldum, Kasım 2000 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. 2000 yılında Yüksek Lisans öğrenimime başladım. Halen Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Bekarım.

