

**TÜRKİYE'DE YETİŞEN
SAMBUCUS NIGRA
MEYVELERİ ÜZERİNDE
ÖN KİMYASAL ARAŞTIRMALAR**

Hale Gamze Duymuş

Yüksek Lisans Tezi

**TÜRKİYE'DE YETİŞEN *SAMBUCUS NIGRA*
MEYVELERİ ÜZERİNDE ÖN KİMYASAL
ARAŞTIRMALAR**

Hale Gamze Duymuş

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalı

Eskişehir, Ağustos 2010

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Kemal Hüsnü Can BAŞER

ÖNSÖZ

Tez çalışmamızda Türkiye’de yaygın bir alanda yetişen *Sambucus nigra* L. (mürver) meyvelerinin kimyasal yapısını hem aroma maddelerince hem de antosiyaninler açısından değerlendirerek belirlemeyi amaçladık. Çalışmamızın daha sonra yapılacak olan çalışmalara rehber olacağı ümidini taşımaktayız.

Eczacılık mesleğine adım attığım ilk günden bu yana hem lisans hem de yüksek lisans eğitimim süresince, bilim yolunda bana ışık tutan ve bu yolda ilerlemem konusunda beni teşvik eden çok değerli danışman hocam Prof. Dr. K. Hüsnü Can Başer’e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Mesleki çalışmamı akademik hayatta ilerleyerek sürdürmem konusunda beni destekleyen ve iyi bir akademisyen olma yolunda örnek olan, sonsuz sabrı ve anlayışı ile her zaman yanımda olan sayın hocam Prof. Dr. Neşe Kırimer’e,

Tez çalışmam süresince, kompozisyon analizlerinde bilgi ve tecrübelerini paylaşan, tez çalışmalarına vakit ayırma mütevazılığını gösteren ve sabırla takip eden değerli hocam Prof. Dr. Betül Demirci’ye,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve görüşlerini paylaşarak vizyonumu genişleten değerli hocam Prof. Dr. Fatih Demirci’ye, mesleğe ilk adımı atmamda beni yöreklendiren değerli hocam Yard. Doç. Dr. Ayhan Altıntaş’a,

Tez çalışmalarım süresince deneysel aşamalarda her türlü yardımı esirgemeyen ve emek harcayan, bilgilerini paylaşan değerli ağabeyim Uzm. Fatih Göger’e, bu süreçte manevi desteğini hissettiğim sevgili arkadaşım Araş. Gör. H. Tuba Kıyan’a ve Farmakognozi Anabilim Dalı üyelerine teşekkürlerimi sunuyorum.

Bilim yolunda adım atan genç insanları, kültürel ve bilimsel anlamda destekleyen ve her zaman takdire layık olan TÜBİTAK’a; Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB)-2210 Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı ile yüksek lisans eğitimim süresince maddi olarak desteklediği için teşekkürü bir borç bilirim.

Bilgiye ve eğitime verdikleri değeri bizlere her zaman hissettiren ve aşıl原因an, hayatlarımı bu yolda adanmış olan değerli eğitimciler babam ve anneme; onların yaktığı bu ışıkla, akademik hayatta ilerleyen ve bana örnek olan değerli ablam ve ağabeyime sonsuz sabır ve destekleri için minnettarım.

Araş. Gör. Hale Gamze Duymuş

TÜRKİYE'DE YETİŞEN *SAMBUCUS NIGRA* MEYVELERİ ÜZERİNDE ÖN KİMYASAL ARAŞTIRMALAR

ÖZET

Türkiye'de özellikle Karadeniz Bölgesi'nde yayılış gösteren *Sambucus nigra* L. (mürver) Caprifoliaceae familyasına ait, çalı veya küçük ağaç formunda bir bitkidir. *S. nigra*'nın Avrupa'da yaygın bir kullanımı bulunmaktadır. Bitkinin meyve ve çiçeklerinin tıbbi çay olarak öksürük, soğuk algınlığı, grip gibi şikâyetlerde kullanıldığı; ayrıca meyvelerden renk verici özelliğinden dolayı meyve suyu, şarap, reçel, marmelat gibi ürünlerin hazırlanmasında da yararlanıldığı bilinmektedir. Antosiyaninlerce zengin olan siyahımsı mor meyvelerin antioksidan, antiviral, antikarsinojenik, antienflamatuvar etki gibi çeşitli biyolojik etkilerinin olduğu literatür bilgileri ile desteklenmektedir. Ancak Türkiye'de *S. nigra* meyveleri üzerine yapılan çalışmalar yetersizdir.

Bu çalışmada *S. nigra* meyvelerinin ekstraları çeşitli polaritelere sahip çözücülerle maserasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Ayrıca halkın kullanımına uygun meyve çayı hazırlanarak liyofilize edilmiştir. Hazırlanan ekstralarda kromatografik ve spektrofotometrik analizler ile kimyasal bileşim çalışmaları yapılmıştır. Meyve çekirdeklerinin n-hekzanla Soxhlet ekstraksiyonu sonucu elde edilen sabit yağının yağ asidi bileşiminin belirlenmesi amacıyla yağ asitlerinin metil esterleri oluşturulmuş ve GC ve GC/MS analizleri yapılmıştır. İlk defa bu tez kapsamında meyvelerin mikrodistilasyon ile uçucu bileşiklerinin eldesi ve meyvede glikozidik bağlı uçucu bileşiklerin elde edilerek GC ve GC-MS analizleri gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonunda %70 etanol ekstresinin diğer ekstralara kıyasla antosiyaninlerce zengin olduğu ve siyanidin-3-glikozit miktarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Meyve çekirdeklerinin ise yağ asidi kompozisyonu incelendiğinde, çekirdek yağının linoleik asit (% 42.3) ve linolenik asit (% 38) gibi doymamış yağ asitlerince zengin olduğu belirlenmiştir.

Mikrodistilasyon ile meyvede uçucuların % 86.1'ne karşılık gelen 34 bileşik tanımlanmıştır. Aldehit yapısındaki iki bileşik başlıca bileşenler olarak belirlenmiştir: Fenilasetaldehit (% 32.8) ve benzaldehit (% 7.9). Meyvelerden su distilasyonu ile hazırlanan örnek ise daha çok yağ asitlerince zengin olup ana bileşikleri heksadekanoik asit (% 55.3) ile tetradekanoik asit (% 11.4) olarak belirlenmiştir. Meyvelerde enzimatik hidroliz sonrası gerçekleştirilen su distilasyonunda ise, örnekte heksadekanoik asit (% 36.1), etil linoleat (% 11.6) ve etil heksadekanoat (% 10) olarak belirlenmiştir. Meyvelerin uçucu bileşik kompozisyonu incelendiğinde, yağ asitleri, yağ asidi esterleri, aldehit, alkol ve terpenik yapıda bileşiklerce zengin olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Sambucus nigra*, antosiyanin, sabit yağ, uçucu yağ, GC ve GC/MS

PRELIMINARY CHEMICAL STUDIES ON *SAMBUCUS NIGRA* FRUITS GROWING IN TURKEY

ABSTRACT:

Sambucus nigra L. (Caprifoliaceae) is shrub or small tree which is distributed in the Black Sea Region of Turkey. It is widely used in Europe. Both fruits and inflorescences are used as herbal tea for cough, colds and flu. The fruits are also used as a natural dye in fruit juices, wines and jams. Anthocyanin rich fruits have various biological effects such as antiinflammatory, antioxidant, anticancer and antiviral. Studies on *S. nigra* in Turkey are quite insufficient.

In this present study, the fruits were macerated using different solvents and the fruits tea was prepared according to folk use. All extracts were subjected to chromatographic and spectrophotometric analyses for their chemical compositions. The fruit seeds were extracted with n-hexane using a Soxhlet apparatus. The methyl esters of fatty acids prepared from fixed oil were analyzed by GC and GC/MS, simultaneously. The volatile compounds obtained by microdistillation of dried fruits and the glycosidic bound volatiles obtained by enzymatic hydrolysis were analyzed by GC and GC/MS, simultaneously.

In conclusion, the 70% ethanol extract was found to be rich in anthocyanins and cyanidin-3-glycoside when compared with other extracts.

Linoleic acid (42.3%) and linolenic acid (38%) were major fatty acids of the fixed oil obtained from seeds.

Microdistilled oil yielded 34 volatile constituents comprising 86.1% of the sample with phenylacetaldehyde (32.8%) and benzaldehyde (7.9%) as major compounds.

The sample obtained by hydrodistillation were found to be rich in fatty acids such as hexadecanoic acid (36.1%) and tetradecanoic acid (11.4%). Hydrodistilled oil of the fruits after enzymatic hydrolysis comprised hexadecanoic acid (36.1%), ethyl linoleate (11.6%) and ethyl hexadecanoate (10%) as major compounds. These results showed that aroma composition of the fruits comprised fatty acids, fatty acid esters, aldehydes, alcohols and terpenes.

Key Words: *Sambucus nigra*, anthocyanin, fixed oil, essential oil, GC and GC/MS

İÇİNDEKİLER

| | SAYFA |
|--|-------|
| ÖZGEÇMİŞ | i |
| ÖNSÖZ | iv |
| ÖZET | v |
| ABSTRACT | vi |
| İÇİNDEKİLER | vii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | x |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xi |
| SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ | xiii |
| GİRİŞ ve AMAÇ | 1 |
| KAYNAK BİLGİSİ | 2 |
| Botanik Özellikler | 2 |
| Farmakopelerde Kayıtlı <i>Sambucus</i> Türleri | 3 |
| <i>Sambucus</i> Türlerinin Kullanım Alanları | 4 |
| <i>Sambucus</i> Türlerinin Türkiye’de Etnofarmakognozideki Yeri | 4 |
| <i>Sambucus nigra</i> Meyveleri Üzerine Yapılmış Kimyasal Çalışmalar | 5 |
| <i>Sambucus nigra</i> meyvelerinde tanımlanan fenolik maddeler ve proteinler | 5 |
| <i>Antosiyaninler</i> | 5 |
| <i>Flavonoitler</i> | 8 |
| <i>Protein Türevleri</i> | 9 |
| <i>Sambucus nigra</i> meyvelerinin uçucu bileşikleri | 10 |
| <i>Sambucus nigra</i> Meyvelerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları | 11 |

| | |
|--|----|
| GEREÇLER ve YÖNTEMLER | 19 |
| Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Materyaller, Kimyasal Madde ve Gereçler | 19 |
| <i>Bitkisel materyal</i> | 19 |
| <i>Kullanılan kimyasallar</i> | 19 |
| <i>Kullanılan cihaz ve apareyler</i> | 20 |
| Deneysel Çalışmalar | 21 |
| <i>Meyvelerden Çeşitli Numunelerin Hazırlanması</i> | 21 |
| <i>Meyve ekstralarının hazırlanışı</i> | 21 |
| <i>Meyve çayının hazırlanışı</i> | 21 |
| <i>Meyve çekirdeklerinden yağ asitlerinin eldesi</i> | 21 |
| <i>Meyvelerden mikrodistilasyon yoluyla uçucu bileşiklerin eldesi</i> | 22 |
| <i>Meyvelerden su distilasyonu ile uçucu yağ eldesi</i> | 23 |
| <i>Meyvelerden glikozidik bağlı uçucu bileşiklerin eldesi</i> | 23 |
| Ekstrelerin Analizleri | 24 |
| <i>Toplam fenol miktar tayini</i> | 24 |
| <i>Toplam monomerik antosiyanin miktar tayini</i> | 24 |
| <i>HPTLC ile ekstralarda siyanidin-3-glikozit teşhisi</i> | 25 |
| <i>HPLC analizi ile ekstralarda siyanidin-3-glikozit miktar tayini</i> | 25 |
| GC ve GC/MS analizi ile uçucu bileşiklerin belirlenmesi | 27 |
| BULGULAR ve TARTIŞMA | 28 |
| Ekstrelerin Hazırlanışı, Spektrofotometrik ve Kromatografik Bileşim Analizler, Miktar Tayinleri | 28 |
| <i>Ekstrelerin hazırlanışı</i> | 28 |
| <i>Toplam monomerik antosiyanin miktar tayini</i> | 28 |
| <i>Toplam fenol miktar tayini</i> | 29 |

| | |
|---|----|
| <i>Ekstrelerde yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi kullanılarak siyanidin-3-glikozit teşhisi</i> | 29 |
| <i>Ekstrelerde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile siyanidin-3-glikozit miktar tayini</i> | 31 |
| Meyve Çekirdeklerinden Yağ Asidi Eldesi ve Yağ Asidi Bileşiminin GC ve GC/MS ile Analizi | 37 |
| Meyvelerin Serbest ve Glikozidik Bağlı Uçucu Bileşiklerin Eldesi ve GC ve GC/MS Analizleri | 39 |
| <i>Mikrodistilasyon ile uçucu bileşiklerin eldesi ve GC ve GC/MS analizi</i> | 39 |
| <i>Meyvelerin su distilasyonu ve uçucu yağının GC ve GC/MS analizi</i> | 41 |
| <i>Meyvelerden glikozidik bağlı uçucu bileşiklerin eldesi ve GC ve GC/MS analizi</i> | 42 |
| SONUÇ ve ÖNERİLER | 46 |
| KAYNAKLAR | 50 |
| EKLER | 58 |
| EK 1. <i>Sambucus nigra</i>'nın Çiçek, Meyve, Yaprak ve Tohumunun Genel Görüntüsü | 62 |
| EK 2. <i>Sambucus nigra</i> Meyvelerinden Hazırlanan ve Tezde Adı Geçen Preparatlar | 63 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| ÇİZELGE ADI VE NO | SAYFA | |
|-------------------|---|----|
| Çizelge 1 | <i>Sambucus nigra</i> Meyvelerinde Tanımlanan Antosiyaninler | 7 |
| Çizelge 2 | <i>Sambucus nigra</i> Meyvelerinde Tanımlanan Flavonoidler | 9 |
| Çizelge 3 | <i>Sambucus nigra</i> Meyvelerinden İzole Edilen Proteinler | 10 |
| Çizelge 4 | Deneylerde Kullanılan Kimyasallar | 19 |
| Çizelge 5 | Deneylerde Kullanılan Cihaz ve Apeyler | 20 |
| Çizelge 6 | <i>Sambucus nigra</i> Meyvelerinden Elde Edilen Ekstre Verimleri | 28 |
| Çizelge 7 | <i>Sambucus nigra</i> Meyve Ekstrelerinin Toplam Fenol ve Toplam Monomerik Antosiyanin Miktarları | 29 |
| Çizelge 8 | HPLC Analizinde Standarta Ait Kalibrasyon Denklemine İlişkin Veriler | 31 |
| Çizelge 9 | Ekstrelerdeki Siyanidin-3-glikozit Miktarları | 31 |
| Çizelge 10 | <i>Sambucus nigra</i> Meyve Çekirdeğinin Yağ Asidi Bileşimi | 37 |
| Çizelge 11 | <i>Sambucus nigra</i> Meyvelerinin Uçucu Bileşikleri | 39 |
| Çizelge 12 | <i>Sambucus nigra</i> Meyve Uçucu Yağının Bileşimi | 41 |
| Çizelge 13 | <i>Sambucus nigra</i> Meyvelerinin Hidroliz Sonrası Uçucu Bileşikleri | 43 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| ŞEKİL NO ve ADI | SAYFA | |
|-----------------|--|----|
| Şekil 1 | <i>Sambucus nigra</i> 'nın Dünyada Yayılışı | 3 |
| Şekil 2 | Yaygın Halde Bulunan Antosiyanidinlerin Kimyasal Yapıları | 6 |
| Şekil 3 | Antosiyaninlerin Çeşitli pH'larda Transformasyonları | 6 |
| Şekil 4 | Basit Flavonoit Yapısı | 8 |
| Şekil 5 | <i>Sambucus nigra</i> Meyvelerinde Tanımlanan Uçucu Bileşikler | 11 |
| Şekil 6 | Ekstrelerin Hazırlanışı | 21 |
| Şekil 7 | Soxhlet Apareyi | 22 |
| Şekil 8 | Geri Çeviren Soğutucu | 22 |
| Şekil 9 | Mikrodistilasyon Cihazının Şematik Gösterimi | 22 |
| Şekil 10 | Clevenger Apareyi ile Su Distilasyonu | 23 |
| Şekil 11 | HPTLC Sistemi | 25 |
| Şekil 12 | HPLC Sistemi | 26 |
| Şekil 13 | GC ve GC/MS Sistemi | 27 |
| Şekil 14 | Ekstrede Sırasıyla pH 1.0 ve pH 4.5 Tamponlarında Renk Değişimi | 28 |
| Şekil 15 | Çeşitli Konsantrasyonlarda Hazırlanan Gallik Asitin Folin-Ciocalteau Reaktifini ile Reaksiyonu | 29 |
| Şekil 16 | Ekstrelerin ve Standardın Beyaz Işıktaki İTK Plâğında Görüntüleri | 30 |
| Şekil 17 | HPTLC Sisteminde 520 nm'de Plâğın Taranması ile Elde Edilen Grafik | 30 |
| Şekil 18 | Siyanidin-3-glikozit'in HPLC Kromatogramı | 32 |

| ŞEKİL NO ve ADI | SAYFA |
|--|--------------|
| Şekil 19 Ekstre ile Siyanidin-3-glikozit'ten Elde Edilen Kromatogramların Karşılaştırılması | 32 |
| Şekil 20 Su Ekstresinin HPLC Kromatogramı | 33 |
| Şekil 21 % 70 Etanol Ekstresinin HPLC Kromatogramı | 33 |
| Şekil 22 Etanol Ekstresinin HPLC Kromatogramı | 34 |
| Şekil 23 % 70 Aseton Ekstresinin HPLC Kromatogramı | 34 |
| Şekil 24 Metanol Ekstresinin HPLC Kromatogramı | 35 |
| Şekil 25 Asitlendirilmiş Metanol Ekstresinin HPLC Kromatogramı | 35 |
| Şekil 26 Meyve Çayı Ekstresinin HPLC Kromatogramı | 36 |
| Şekil 27 Ekstrelerde Tanımlanan Siyanidin-3-glikozit Yapısı | 36 |
| Şekil 28 Meyve Çekirdeğinden Elde Edilen Yağ Asiti Metil Esterlerinin GC Kromatogramı | 37 |
| Şekil 29 Çekirdekte Tanımlanan Başlıca Yağ Asitleri | 38 |
| Şekil 30 <i>Sambucus nigra</i> Meyvelerinin Mikrodistilasyon Sonrası GC Kromatogramı | 39 |
| Şekil 31 Mikrodistilasyon ile Elde Edilen Örnekte Tanımlanan Başlıca Uçucu Bileşikler | 40 |
| Şekil 32 <i>Sambucus nigra</i> Meyve Uçucu Yağının GC Kromatogramı | 41 |
| Şekil 33 Uçucu Yağda Tanımlanan Başlıca Bileşikler | 42 |
| Şekil 34 <i>Sambucus nigra</i> Meyvelerinin Hidroliz Sonrası GC Kromatogramı | 42 |
| Şekil 35 Hidroliz Sonrası Elde Edilen Örnekte Tanımlanan Başlıca Bileşikler | 45 |

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|---------------|--|
| μg | : Mikrogram |
| μL | : Mikrolitre |
| μM | : Mikromolar |
| μm | : Mikrometre |
| cm: | : Santimetre |
| g | : Gram |
| kg | : Kilogram |
| mL | : Mililitre |
| mm | : Milimetre |
| nm | : Nanometre |
| pH | : Hidrojen iyonu konsantrasyonunun negatif logaritması |
| AAPH | : 2,2'-Azobis-(2-amidinpropan)-dihidroklörür |
| AIDS | : Kazanılmış Bağışıklık Eksikliği Sendromu |
| BHA | : Butilhidroksianisol |
| BHT | : Butilhidroksitoluen |
| DNA | : Deoksiribonükleik asit |
| DPPH | : 1,1-Difenil-2-pikril hidrazil radikali |
| ELISA | : Enzim Bağlantılı İmmün Test |
| EPR | : Elektron Paramanyetik Rezonans |
| ESI | : Elektron Sprey İyonizasyon |

| | |
|-------------------------------|--|
| FID | : Alev İyonlaşma Dedektörü |
| GAE | : Gallik Asite Eşdeğer |
| GC | : Gaz Kromatografisi |
| H ₂ O ₂ | : Hidrojen peroksit |
| HPLC | : Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi |
| HPTLC | : Yüksek Performans İnce Tabaka Kromatografisi |
| IL | : İnterlökin |
| İTK | : İnce Tabaka Kromatografisi |
| LC/MS | : Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi |
| LDL | : Düşük Yoğunluklu Protein |
| MS | : Kütle Spektrometresi |
| PDA | : Photodiode Array Dedektör |
| RİP | : Ribozom İnaktive Edici Protein |
| RRI | : Relatif Tutunma İndisi |
| rRNA | : Ribozomal Ribonükleik asit |
| SGE | : Siyanidin-3-glikozite Eşdeğer |
| SNA | : <i>Sambucus nigra</i> Aglutinin |
| TNF α | : Tümör Nekroz Faktör Alfa |
| UV | : Ultra Viyole (Mor Ötesi Işık) |
| VEGF | : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü |

GİRİŞ ve AMAÇ

Antosiyaninler özellikle meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan, suda çözünebilen pigmentlerdir. Antosiyaninlerin ve antosiyaninlerce zengin ürünlerin yüksek oranda antioksidan etki göstererek insan sağlığını korumaya ve iyileştirmeye yardımcı olduğu yapılan araştırmalarla desteklenmektedir. Ayrıca antosiyaninlerce zengin meyvelerin yaşa bağlı meydana gelen nöronal hasar oluşumunu önlediği, kognitif davranışlar üzerine olumlu etki gösterdiği bildirilmektedir. Bu nedenle yüksek oranda antosiyanin gibi fenolik maddelerce zengin içeceklerin tüketilmesi tavsiye edilmektedir.

Sambucus nigra L. (mürver), Avrupa'da yaygın bir kullanıma sahiptir. Antosiyaninlerce zengin meyvelerinin antioksidan, antiinflamatuvar, antikarsinogenik gibi etkilerinin belirlenmesi ve özellikle gribe karşı etkinliğinin bulunması nedeniyle araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Bunun yanı sıra meyvelerden hazırlanan meyve suyu, çay, şarap, marmelat, reçel gibi ürünler Avrupa'da yaygın şekilde tüketilmektedir. Türkiye'de genellikle Karadeniz bölgesinde yayılış gösteren bitkinin değeri nispeten daha az bilinmektedir. Ülkemizde *S. nigra* üzerine yapılan araştırmalar yetersizdir.

Hem eczacılık alanında hem de gıda alanında kullanılması nedeniyle meyvelerin aroma bileşiklerinin çeşitliliği kimyasal yapısına paralel olarak, ürün kalitesi açısından önem taşımaktadır. Özellikle gıda alanında çeşitli ürünlerinin bulunması nedeniyle koku ve renk kalitesinin belirlenmesi gerekmektedir.

Bu amaçla tez kapsamında meyvelerin kimyasal yapısının hem aroma maddelerince hem de antosiyaninler açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Öncelikle çeşitli ekstratlar üzerinde bileşim belirleme çalışmalarının farklı kromatografik yöntemler ile yapılması ve antosiyaninlerce zengin ekstratların belirlenmesi hedeflenmiştir. Ayrıca ilk defa bu tez kapsamında mikrodistilasyon yöntemi kullanılarak meyvelerin uçucu bileşikleri ile glikozidik bağlı uçucu bileşiklerinin elde edilmesi ve yağ asitlerinin tanımlanabilmesi için GC ve GC/MS analizlerinin yapılması planlanmıştır.

KAYNAK BİLGİSİ

Bu bölümde *Sambucus* cinsi ile ilgili botanik, kimyasal, etnofarmakognozok ve farmakolojik araştırmalar özetlenmektedir. Botanik bilgiler için Türkiye Florası (Davis, 1972) temel alınmış, diğer bölümler ise Endnote, Scifinder, Napralert gibi çeşitli veri tabanları, literatür bilgileri ve internet kullanılarak derlenmiştir.

Botanik Özellikler

Caprifoliaceae (Hanımeliğiller) familyası

Familya adı, yapraklarının keçi ayağına benzemesinden gelmektedir. Kuzey yarıkürede yayılış gösteren, basit veya parçalı yaprakları dekuzat dizilişli odunlu bitkilerdir. Bazıları tırmanıcı çalılar veya nadiren otsular. Yapraklar karşılıklı, genellikle basit veya birleşik, stipula yok veya çok küçük. Çiçekler simoz durumda, erdişi, ışınsal veya zigomorf simetridir. Sepaller 5, birleşik, petaller 5, birleşik, rotat. Stamenler 5-4, petallere bağlı. Pistil 1, ovaryum alt durumlu, 1-5 lokuluslu, genellikle 3-5 karpelli, ovüller her lokulusta genellikle 1 tane, plasantasyon eksensel. Meyve bakka veya drupa. Türkiye’de ise meyveler drupa veya az tohumlu üzümü; tohumlar etli endospermli (Zeybek ve Zeybek, 1994; Seçmen ve ark, 1995; Davis, 1972). Çoğunluğu kuzey yarıkürede yayılış gösteren, yaklaşık 18 cins ve 275 tür içerir. Ülkemizde 3 cins ve 13 türü bulunur (Seçmen ve ark, 1995).

- | | |
|---|--------------------|
| 1. Yapraklar pennat | 1. <i>Sambucus</i> |
| 1. Yapraklar basit | |
| 2. Çiçekler birleşik simozlarda | 2. <i>Viburnum</i> |
| 2. Çiçekler ikili, baş ya da halkalar halinde | 3. <i>Lonicera</i> |

Sambucus cinsi

Geniş öz bölgesi olan ot veya çalılar. Yapraklar imparipennat, karşılıklı; stipulalar var veya yok. Çiçekler çok çiçekli birleşik umbellalar şeklinde ya da panikulat simozlar halinde, genellikle 5 parçalı; korolla tam, rotat; ovaryum 3-5 hücreli; stigmalar 3-5. Meyve drupadır. Ülkemizde 2 tür ile temsil edilmektedir.

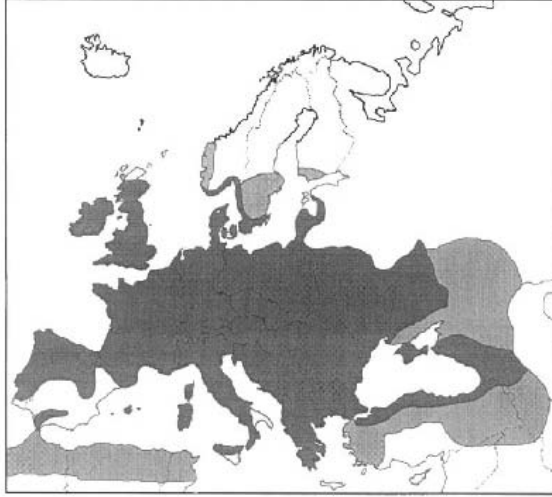
- | | |
|--|------------------|
| 1. Otlar; stipulalar ovat, 8-30 mm | 1. <i>ebulus</i> |
| 2. Çalı veya küçük ağaçlar; stipula yok veya subulat, c. 4mm | 2. <i>nigra</i> |

Sambucus ebulus L.

‘Cüce mürver, bodur mürver’ olarak bilinen bu tür 60-200 cm yükseklikte, beyaz çiçekli bazen de pembe renkli, glabroz ve çok yıllık otsu bir bitkidir. Rizom oluşturur ve yeni bitkiler rizomlardan meydana gelir. Yaprakçıklar 3-6 parçalı, serrat, stipulalar ovat, 8-30 mm. Çiçek durumu genellikle 3 parçalı ışınsal, tepesi düz. Meyveler küremsi şekilli, siyah ve parlak renklidir. Türkiye’de yaygın bir türdür. Özellikle tarla ve hendek kenarlarında yetişir. Yaz ortasından sonra çiçeklenmeye başlar. Türkiye’de çoğunlukla kuzey kesimlerde nadir olarak da güney ve batı kesimlerde yetişir. Ayrıca Avrupa, Suriye, Kuzey Irak, Batı Irak ve Lübnan’da da yetişmektedir (Davis, 1972; Baytop, 1999).

***Sambucus nigra* L.**

Çalı veya küçük ağaç formunda, 4-10 m. Yapraklar ovat-lanseolattan ovat-eliptiğe kadar, (1-)2-3(-4) parçalı, 3-12x3-6 cm, kenarda serrat, alt yüzde damarlar üzerinde seyrek tüylü ya da glabroz (tüysüz); stipula yok ya da subulat, c. 4 mm. Çiçek durumu genellikle 5 parçalı ışınsal, tepesi düz, 10-20 cm çapında. Çiçekler krem, c. 5 mm; anterler krem. Meyveler drupa yuvarlak, 6-8 mm, siyahımsı-mor renkli. Çoğunlukla Kuzey Anadolu'da, nadiren Batı ve Doğu Anadolu'da; Dünyada Avrupa, Batı Suriye, Kuzey Irak ve Batı İran'da yetişir.



Şekil 1. *Sambucus nigra*'nın Dünyada Yayılışı (Atkinson ve Atkinson, 2005)

Sambucus nigra'nın Avrupa'da yaygın bir kullanılışı bulunmaktadır. Özellikle meyvelerin renk verme özelliğinden dolayı meyve suyu, şarap, reçel ve marmelat yapımında kullanılmaktadır (Inami ve ark., 2006). Bitkinin çiçekleri tıbbi çay olarak kullanılmakta, ayrıca öksürük, grip, boğaz iltihabı gibi solunum yolları rahatsızlıklarında kullanılmak üzere gargara halinde preparatları bulunmaktadır. Meyvelerin kullanımı daha çok boya verici özelliğinden dolayı tekstil alanında olsa da, antosiyaninlerce zengin oluşu ve yüksek antioksidan etki göstermesi ile dikkat çekmiştir. Meyvelerden hazırlanan çay da yine soğuk algınlığı başta olmak üzere çiçek çayı ile benzer şikâyetlerin giderilmesinde kullanılmaktadır. 10 g kadar olgun ve kurutulmuş meyve üzerine soğuk su ilave edildikten sonra bir süre bekletilmekte, sonra yavaşça kaynatılmakta ve kaynadıktan kısa bir süre sonra 5-10 dakika bekletilmekte, süzülükten sonra günde birkaç defa içilmektedir (Davis, 1972; Charlebois, 2007; Roxas ve Jurenka, 2007; Vulić ve ark., 2008; Vlachoianins ve ark., 2010).

Farmakopelerde Yer Alan *Sambucus* Türleri

Çeşitli farmakopelerde *Sambucus nigra* L.'nin izokersitrozit üzerinden hesaplanmış ve en az % 0.8 flavonoit içeren kurutulmuş çiçeklerinin 'Sambuci flos' adı ile kayıtlı olduğu görülmektedir. Sambuci flos, British Farmakope (BP) 1998 ve 2009 baskılarında, Avrupa Farmakopesi'nin (EP) 5. ve 6. baskılarında yer almaktadır. Ayrıca çiçeklerin soğuk algınlığına karşı kullanımı Komisyon E monograflarında yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü monografları arasında da

kayıtlıdır (British Pharmacopoeia, 1998 ve 2009; WHO, 1999; European Pharmacopoeia, 2005 ve 2008; Vlachoianins ve ark., 2010).

***Sambucus* Türlerinin Kullanım Alanları**

Sambucus türlerinin tıbbi çay olarak kullanımı yaygın olmakla birlikte son yıllarda meyvelerinin sadece boya verici olarak tekstil alanında değil aynı zamanda tıbbi amaçlarla kullanımının da yaygınlaştığı görülmektedir. Türkiye’de *Sambucus*’a ait her iki türün de toprak üstü kısımları, yaprakları, çiçekleri ve meyveleri kullanılmaktadır. Her iki türün halk arasında hemoroit, romatizma ağrıları, yaralar, soğuk algınlığı, yüksek ateş ve yılan sokmalarına karşı kullanıldığı belirtilmektedir (Yeşilada ve ark., 1997; Süntar ve ark., 2010). *Sambucus* türlerinin Türkiye’de kullanımıyla ilgili detaylı bilgi aşağıda verilmektedir.

***Sambucus* Türlerinin Türkiye’de Etnofarmakognozideki Yeri**

***Sambucus nigra* L.:**

Sezik ve ark. (1997) Doğu Anadolu bölgesinde, Erzincan, Sularbaşı yöresinde “patırık” olarak isimlendirilen bitkinin yapraklarının haricen apseleri olgunlaştırmak için kullanıldığını; aynı bölgede çiçeklerinden hazırlanan infüzyonun ise diyabete karşı içildiğini belirtmişlerdir. Yeşilada ve ark. (1997) bitkinin yapraklarının haricen romatizma ve abselerde, dahilen ise prostata karşı kullanıldığını, ayrıca meyvelerinin de dahilen hemoroite karşı kullanıldığını bildirmişlerdir. Şimşek ve ark.’nın (2002) yaptığı çalışmada Tunceli yöresinde ‘patpatik ağacı’ ismiyle bilindiği, gövdenin iç kısmının kabuktan ayrılarak sabun içine konulduğu ve dövülüp, macun halinde çıban üzerine sürüldüğü belirtilmiştir.

Çatalca yöresinde, bitkinin çiçek dekoksionun diyabete ve prostatik hipertrofiye karşı ayrıca diüretik etkisinden dolayı dahilen kullanıldığını; yapraklarının haricen hayvanlarda yaralara karşı; köklerinden hazırlanan dekoksionun haricen romatizmaya karşı; toprak üstü kısımların yine haricen şişmeye karşı kullanıldığı belirtilmiştir (Genç ve Özhatay, 2006). Manavgat yöresinde ise yaprak ve taze sürgünlerinden dövülerek hazırlanan lapanın macun şeklinde çıban üzerine sarıldığı; meyvelerin dahilen çok fazla tüketiminin zehirli ve müshil etki yaptığı belirtilmiştir (Bulut, 2006). Kırklareli yöresinde yapılan bir çalışmada ‘mürver, mülver’ olarak adlandırılan bitkinin meyvelerinin reçel, çiçeklerinin de çay olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Kültür, 2008).

İzmir yöresinde ‘kara mürver, mürver’ isimleriyle bilinen bitkinin yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan infüzyonların 6 gün boyunca günde 3 defa birer fincan halinde diüretik, ekspektoran, sedatif ve laksatif etkilerinden dolayı; 4-5 gün boyunca benzer şekilde tüketilerek soğuk algınlığı, gribe karşı kullanıldığı, ayrıca gövde kabuklarından hazırlanan dekoksionun laksatif, diüretik ve antiemetik olarak tüketildiği bildirilmiştir (Ugulu ve ark., 2009). Mürver ağacı çiçeklerinden hazırlanan dekoksionlar dahilen antihelmentik, antidiyabetik, antitüsif olarak ayrıca karın ağrılarına karşı Lalapaşa (Edirne) yöresinde kullanılmaktadır (Tuzlacı ve ark., 2010).

Sambucus ebulus L.:

Sezik ve arkadaşlarının Kastamonu yöresinde yaptığı çalışmada, ‘hekimana’ olarak bilinen bitkide, meyveler ile olgunlaşmadan önce toplanan taze yapraklardan hazırlanan dekoksionun günde 1 bardak mide ağrılarına karşı içildiği ya da taze yapraklardan sütle pişirilerek hazırlanan lapanın haricen yara iyileştirici olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Sezik ve ark., 1992). Kocaeli (Kandıra) yöresinde ‘buzka’ olarak bilinen bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan dekoksionu ılıkken banyo halinde romatizma ağrılarının giderilmesinde; olgun siyah meyveleri ise 4 gün boyunca her sabah aç karna yutulması hemoroite karşı kullanılmaktadır. Ayrıca yine Kocaeli yöresinde ‘yivdin’ ismiyle bilinen bitkinin tomurcuklarının kaynatılıp ezildiği ve süzgeçten geçirilerek elde edilen siyah boyanın yün boyamada kullanıldığı belirtilmiştir (Yeşilada ve ark., 1999; Şimşek ve ark., 2002).

‘Buzka, sultan otu, yiğden, yılğın, yir otu, bezirgan’ isimleriyle de bilinen bitkinin meyve ve yaprak dekoksionlarının hemoroite karşı İçel, Gönen, Kocaeli, Samsun, Zonguldak gibi çeşitli yörelerde kullanıldığı bilinmektedir (Gürhan ve Ezer, 2004). Manavgat yöresinde ‘ayı otu, mürver’ olarak bilinen bitkinin yapraklarının dövülerek elde edilen lapası macun halinde çıban üzerine sarılarak kullanılmaktadır. Ayrıca bacakta yel, omurga kemiklerinde rahatsızlık, baş ağrısı gibi rahatsızlıklarda bitkinin toprak üstü kısımlarının kullanıldığı bildirilmektedir (Bulut, 2006). Yalova yöresinde ‘şahmelik, sultanotu, bazeotu’ denilen bitkinin yaprak ve köklerinin ezilerek akrep ve arı sokmalarına karşı; olgun meyvelerin dahilen antihemoroidal olarak kullanıldığı belirtilmiştir (Koçyiğit ve Özhatay, 2006). Lalapaşa (Edirne) yöresinde ‘sultanotu’ olarak bilinmekte, toprak üstü kısımları tavuk kümeslerine serpilerek kenelere karşı kullanılırken; tohumları ise dahilen konstipasyona karşı kullanılmaktadır (Tuzlacı ve ark., 2010).

***Sambucus nigra* Meyveleri Üzerinde Yapılmış Kimyasal Çalışmalar**

Meyve üzerine yapılmış kimyasal çalışmalar fenolik maddeler, proteinler gibi madde grupları ile meyvede tanımlanan uçucu maddeler olmak üzere 2 grup altında incelenecektir.

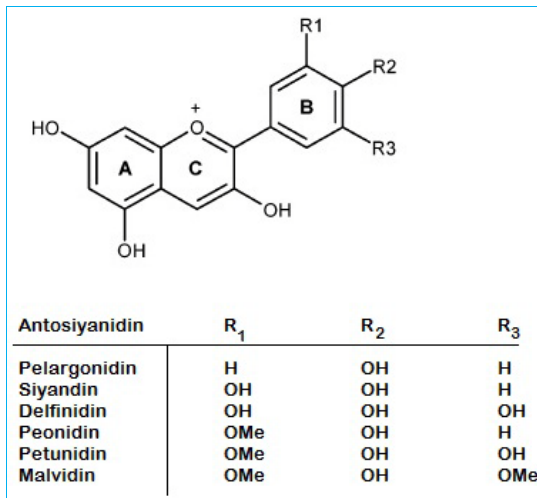
Meyvelerin taze halde malik asit, sitrik asit, fumarik asit, şikimik asit gibi organik asitlerce zengin olduğu, ayrıca B₂, B₆, C vitaminleri, pantotenik asit, biotin, β-karoten, nikotinik asit amit gibi önemli bileşikler taşıdığı da bildirilmiştir (Veberic ve ark., 2009; Vlachojuannins ve ark., 2010).

***Sambucus nigra* meyvelerinde tanımlanan fenolik maddeler ve proteinler**

Antosiyaninler

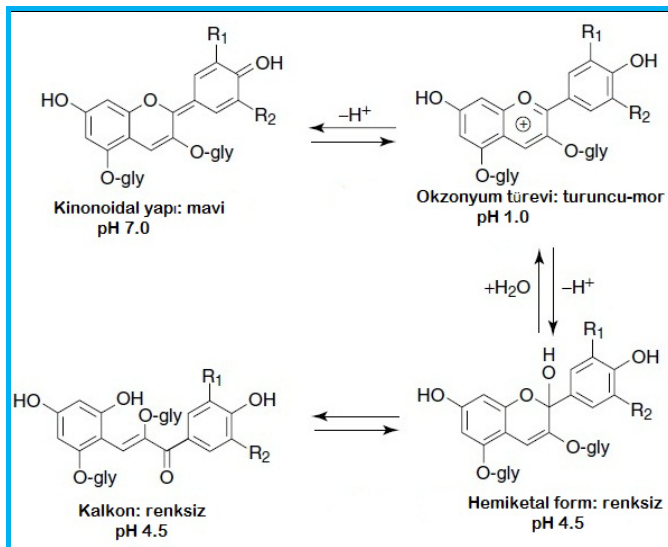
Antosiyanin terimi Yunanca ‘antos-çiçek’ ve ‘cyanos-lacivert’ anlamına gelen iki kelimeden oluşmaktadır. Antosiyaninler, meyve, yaprak, çiçek, gövde gibi kısımlara renk veren, gözle görülebilen flavonoit türevi maddelerdir. Genellikle epidermal ve subepidermal hücrelerin vakuollerinde depolanırlar. Kırmızı, turuncu, mor, lacivert gibi renklerden sorumlu olan ve suda çözünebilen doğal pigmentlerdir. Bu özelliklerinden dolayı sentetik boya maddelerine karşı iyi birer

alternatiftir (Andersen, 1985; Bridle ve Timberlake, 1997; Espin ve ark., 2000; Lohachoopol ve ark., 2004; Mateus ve ark., 2004; Wang ve Stoner, 2008; Motohashi ve Sakagami, 2009). Antosiyaninler, antosiyanidinlerin glikozitleri olup flavilyum katyonunun türevidirler. Flavilyum katyonu, benzopiril çekirdeğinden ve fenil halkasından oluşan bir yapıya sahiptir (Goto ve Kondo, 1991). Antosiyaninler, aglikon çekirdeğine glikoz, arabinoz, ramnoz, galaktoz, ksiloz gibi şekerlerin bağlanması ile oluşmaktadır. Diğer flavonoidlerin aksine antosiyaninler, asidik çözeltilerde pozitif yük taşırlar. Suda çözünürler, ortamın pH değeri ve kelat oluşturan metal iyonlarının bulunmasına göre bitkiye yoğun olarak kırmızı, mor veya lacivert renk verirler. Antosiyaninlerin, aglikon kısmına antosiyanidin adı verilir. Yaygın olarak bilinen antosiyanidin iskeletleri pelargonidin, siyanidin, delfinidin, peonidin, petunidin ve malvidin'dir (Hou ve ark., 2004; Wang ve Stoner, 2008).



Şekil 2. Yaygın Halde Bulunan Antosiyanidinlerin Kimyasal Yapıları

Antosiyaninlerin çeşitliliği bulunan substitüentlerin tür ve konumuna, şeker kalıntılarının türüne ve aglikona bağlanma konfigürasyonlarından kaynaklanır.



Şekil 3. Antosiyaninlerin Çeşitli pH'larda Transformasyonları

Siyanidin, delphinidin ve pelargonidin gibi antosiyanidinler ile çeşitli pentoz ve heksozlar, di-, tri- ve oligosakkaritler içeren antosiyaninler de doğada daha yaygın bulunurlar. Antosiyaninler, ortamın pH'sına göre renk değiştiren maddelerdir; pH'nın değişmesi ile yapılarında geri dönebilir transformasyonlar meydana gelir. pH 1.0 ortamında renkli okzonyum türevleri baskın iken; pH 4.5' da renksiz hemiketal formlarına dönüşürler (**Şekil 3**).

Antosiyaninler sekonder metabolitlerdir, 1 molekül 4-kumarat koenzim A ve 3 molekül malonil koenzim A'dan hareketle ve kalkon sentaz enzim katalizörlüğünde 2',4',6',4-tetrahidroksikalkon sentezlenir, bu maddeden hareketle de antosiyaninlerin biyosentezi gerçekleşir. Antosiyaninler özellikle angiospermlerdeki çiçek renklerinin temelini oluşturur ve tozlaşma için sineklerin ve hayvanların ilgisini çekmek amacıyla sentezlendiği belirtilmektedir (Harborne ve Williams, 2000; Gould, 2004). Yapraklarda antosiyaninlerin varlığı ise ışığı absorplama kapasitesini arttırmaktadır. Ayrıca yaprağı yüksek oranda ışığa karşı korumaktadır, optik bir filtre gibi davranarak yüksek enerjili ışığı doymuş fotosentetik elektron taşıma zinciri haline çevirir, bu sayede DNA hasarını engellemekte, ayrıca UV radyasyonundan korunmaya katkı sağlamaktadır (Gould, 2004). Ayrıca bitki patojenlerine karşı savunma amacıyla antosiyanin miktarlarının da arttığı bildirilmektedir (Simmonds, 2003; Horbowicz ve ark., 2008).

Antosiyaninler, yüksek oranda antioksidan maddelerdir, ayrıca insan sağlığı üzerine çeşitli yararları bulunmaktadır (Wang ve ark., 1997; Kahkonen ve Heinonen, 2003; Einbond ve ark., 2004; Lila, 2004; Horbowicz ve ark., 2008). Polifenollerce zengin özellikle yüksek miktarda antosiyanin içeren meyvelerin, yaşa bağlı olarak ortaya çıkan nöronal hasarları önlediği ve kognitif davranışlar üzerine olumlu etki göstererek *antiaging* (yaşlanmaya karşı) özellik gösterdiği belirtilmiştir (Galli ve ark., 2003). Ayrıca antialerjik, antienflamatuvar, antiviral, antikarsinojenik, antimikrobiyal, antidiyabetik, antiproliferatif aktivite, kardiyovasküler sistem üzerine ve görme fonksiyonları üzerine olumlu etkileri de kaydedilmiştir (Meiers ve ark, 2001; Seeram ve ark, 2001; Kong ve ark., 2003; Olsson ve ark., 2004; Xia ve ark., 2005; Bell ve Gochenaur, 2006; Ghosh ve Konishi, 2007).

Çizelge 1. Sambucus nigra Meyvelerinde Tanımlanan Antosiyaninler

| Bileşik | Kaynak | Yöntem | Referans |
|-------------------------------------|-----------|---|------------------------|
| Siyanidin-3-glikozit (Krizantemin) | Japonya | %0.1 HCl içeren Metanol ekstresi, HPLC | Inami ve ark., 1996 |
| Siyanidin-3-sambubiyozit | Japonya | Ticari meyve suyu, LC/PDA/ESI-MS | Nakajima ve ark., 2004 |
| Siyanidin-3-sambubiyozit-5-glikozit | Danimarka | Meyve suyu, HPLC | Kaack ve Austed, 1998 |
| Siyanidin-3,5-diglikozit | Amerika | Asitlendirilmiş metanol-su ekstresi, HPLC-MS-MS | Wu ve ark., 2004 |

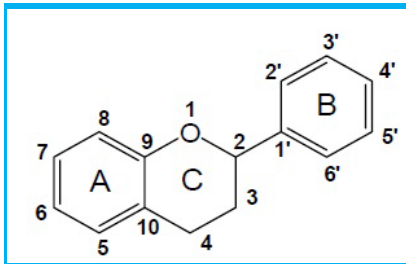
Çizelge 1 (devam). *Sambucus nigra* Meyvelerinde Tanımlanan Antosiyaninler

| Bileşik | Kaynak | Yöntem | Referans |
|-----------------------------|----------|---|-----------------------|
| Siyanidin -3-rutinozit | Slovenya | % 1 HCl içeren metanol ekstresi, HPLC analizi | Veberic ve ark., 2009 |
| Siyanidin | Amerika | %2 HCl içeren Metanol ekstresi-HPLC | Chandra ve ark., 2001 |
| Pelargonidin-3-glikozit | Amerika | Asitlendirilmiş metanol-su ekstresi, HPLC-MS-MS | Wu ve ark., 2004 |
| Pelargonidin-3-sambubiyozit | Amerika | Asitlendirilmiş metanol-su ekstresi, HPLC-MS-MS | Wu ve ark., 2004 |

Sambucus nigra meyveleri, siyanidin glikozitlerince zengindir. Meyve suyu ve çeşitli meyve ekstralarında yapılan analizlerde, siyanidin glikozitlerinden siyanidin-3-sambubiyozit, siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3,5-diglikozit ve siyanidin-3-sambubiyozit-5-glikozit en çok tanımlanan antosiyaninlerdir (Bronnum-Hansen ve Flink, 1985; Bridle ve Garcia-Viguera, 1997; Chandra ve ark., 2001; Schwarz ve ark., 2003; Lee ve Finn, 2007; Seabra ve ark., 2008; Vlachojannis ve ark., 2010).

Flavonoitler

Flavonoitler, çeşitli bitkilerde sentezlenen fenolik pigmentlerdir ve bitkilerden 8150'i aşkın farklı yapıda flavonoit izole edilmiştir (Andersen ve Markham, 2006). Flavonoitler bitkide antioksidan, antimikrobiyal, fotoreseptör olarak rol oynamaktadır (Pieatta, 2000). Temel olarak flavan çekirdeğinden meydana gelen flavonoitler, C₆-C₃-C₆ iskeleti taşıyan maddelerdir. Bitkilerde flavonoitlere çoğunlukla mono-glikozitleri halinde rastlanır. Ancak di- ve trisakkaritlerle glikozillenmiş flavonoitler de doğada yaygındır.



Şekil 4. Basit Flavonoit Yapısı

Flavonoitler, antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser, antialerjik, yara iyileştirici etki, vazodilatasyon gibi çeşitli biyolojik aktiviteye sahip önemli bir madde grubudur (Nagai ve ark., 1990; Kawasaki ve ark., 1994; Nijveldt ve ark., 2001; Havsteen, 2002; Ren ve ark., 2003; Lyu ve ark., 2005; Rocha ve ark., 2005; Hamalainen ve ark., 2007; Dong ve ark., 2010).

Çizelge 2. *Sambucus nigra* Meyvelerinde Tanımlanan Flavonoitler

| Bileşik | Kaynak | Yöntem | Referans |
|----------------------------------|-----------|---|----------------------------|
| Astragalın (Kemferol-3-glikozit) | Polonya | %80 alkol ekstresi, HPLC | Dawidowicz ve ark., 2006 |
| Hiperozit | Amerika | Meyve | Vlachojannis ve ark., 2009 |
| İzokersitrin | Polonya | % 80 alkol ekstresi, HPLC | Dawidowicz ve ark., 2006 |
| | Avusturya | % 80 metanol ekstresi, HPLC | Rieger ve ark., 2008 |
| Kersetin | Danimarka | Meyve suyu, YBSK, LC-MS, ESI-MS; | Kaack ve Austed, 1998 |
| | Amerika | %70 aseton ekstresi, LC-MS | Thole ve ark., 2006 |
| | Slovenya | Asitlendirilmiş metanol ekstresi, HPLC | Veberic ve ark., 2009 |
| Rutin (Kersetin-3-rutinozit) | Amerika | Asitlendirilmiş metanol ekstresi, HPLC-DAD/ESI-MS/MS; | Lee ve Finn, 2007; |
| | Avusturya | %80 metanol ekstresi, HPLC-PDA | Rieger ve ark., 2008 |

Sambucus nigra meyveleri ayrıca prokateşik asit, klorojenik asit, ferulik asit, kafeik asit gibi fenolik maddelerce de zengindir (Nagl ve ark., 2006; Sadilova ve ark., 2007; Lee ve Finn, 2007; Jakobek ve ark., 2008).

Protein Türevleri

Mürver meyvelerinde ayrıca proteinler de tanımlanmıştır. Bu proteinler, “lektinler” ve “ribozom-inaktive edici proteinler” (RİP) olmak üzere iki tiptir. “Aglutinin” olarak da bilinen lektinler, kimyasal yapılarında herhangi bir değişime uğramadan spesifik ve geri dönebilir şekilde karbohidratlara bağlanabilen heterojenik bitki proteinleridir. Ribozom inaktive edici proteinler ise rRNA N-glikozidaz enzimine spesifik olup, ribozomlardaki protein sentezini inhibe eden homojenik bitki proteinleridir. Ribozom inaktive edici proteinler 2 alt tipe ayrılırlar: Tip 1 RİP ve Tip 2 RİP. Tip 1 RİP, bir tane enzimatik polipeptit zinciri taşıırken; tip 2 RİP ise disülfid bağları ile birbirine bağlanmış iki polipeptit zincirinden oluşmaktadır (Citores ve ark., 1996; Van Damme ve ark., 1997).

Mürver meyvelerinde sentezlenen bu proteinlerin, özellikle memelilerde protein sentezini inhibe edici, bitkiyi virüs, fungus gibi patojenlere karşı koruyucu etkilerinin olduğu düşünülmektedir. Ayrıca mürver meyvesinin antiviral ve

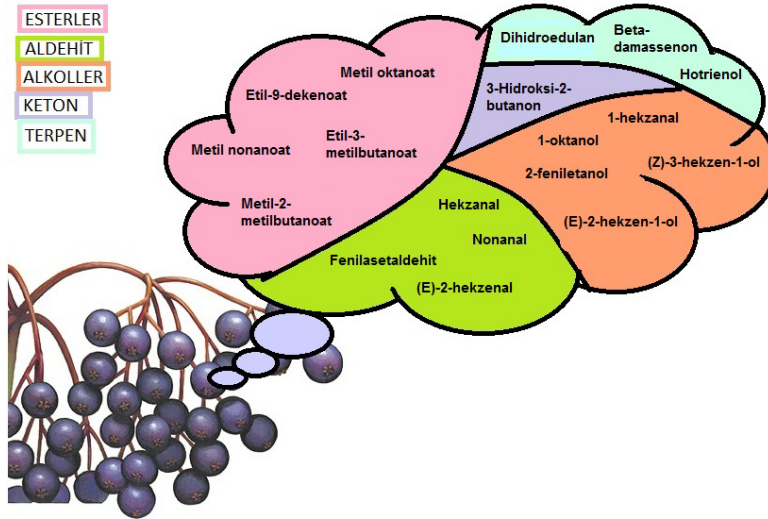
antikarsinojenik etkisinde bu proteinlerin de rolü olabileceği düşünülmektedir (Citores ve ark., 1996; De Benito ve ark., 1998; Van Damme ve ark., 1999; Citores ve ark., 2002).

Çizelge 3. *Sambucus nigra* Meyvelerinden İzole Edilen Proteinler

| Bileşik | Kaynak | Yöntem | Referans |
|---|-----------|--|-------------------------|
| <i>Sambucus nigra</i> aglutinin-III (SNA-III) (Lektin) | Avusturya | Jel geçirgenliği kromatografisi | Mach ve ark., 1991 |
| SNA IVf (Lektin) | Belçika | Jel geçirgenliği kromatografisi | Van Damme ve ark., 1997 |
| Nigrin f (Tip 2 RİP) | İspanya | SDS-poliakrilamit jel elektroforezi | Citores ve ark., 1996 |
| Nigritin f1 ve f2 (Tip 1 RİP) | İspanya | İyon değişim kromatografisi, jel geçirgenliği kromatografisi | De Benito ve ark., 1998 |
| SN-HLPf (<i>Sambucus nigra</i> hevein-benzeri meyve proteini) (Lektin) | Belçika | Jel geçirgenliği kromatografisi | Van Damme ve ark., 1999 |
| Tomatin benzeri protein (Patojen-ilişkili protein) | Belçika | Jel geçirgenliği kromatografisi | Van Damme ve ark., 2002 |
| SNA If (Tip 2 RİP) | Belçika | Jel geçirgenliği kromatografisi | Chen ve ark., 2002 |

***Sambucus nigra* meyvelerinin uçucu bileşikleri**

Sambucus nigra meyvelerinden elde edilen çay, meyve suyu, şarap, reçel ve marmelat gibi ürünlerin Avrupa’da kullanımı yaygındır. Tıbbi etkilerinin yanı sıra gıda olarak da tüketilen bir meyve olması dolayısıyla, meyvelerden elde edilen ürünlerin renk ve koku kalitesi bakımından kimyasal yapısı yani antosiyanin miktarı ve aroma bileşikleri önem taşımaktadır. Meyvelerin karakteristik kokusu (E)- β -damassenon, dihidroedulan, etil-9-dekenoat, 2-fenil etanol, fenilasetaldehit ve nonanalden kaynaklanmaktadır. Ancak meyvelerde daha çok (E)- β -damassenon, dihidroedulan ve nonanal tanımlanmaktadır. Meyvemsi-tatlı kokusu özellikle meyve suyu ve diğer ürünlerde, etil-2-metilbutanoat, etil-3-metilbutanoat, metil heptanoat, metil oktanoat, metil nonanat gibi alifatik esterlerden kaynaklanmaktadır, ayrıca 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol ve 3-metil-1-butanol gibi alkol yapısında maddeler taşımaktadır. Yine meyvelerde pentanal, heptanal, oktanal bileşikleri kokuya katkı sağlayan aldehit yapısındaki maddelerdir. Meyvelerdeki çiçeksi koku ise hotrienol ve nonanal’den kaynaklanmaktadır (Jensen ve ark., 2000; Kaack ve ark., 2005; Christensen ve ark., 2007; Kaack, 2008).



Şekil 5. *Sambucus nigra* Meyvelerinde Tanımlanan Uçucu Bileşikler

Sambucus nigra Meyveleri İle İlgili Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Antioksidan aktivite:

Püskürtülerek kurutulmuş mürver meyve suyundan elde edilen ekstre ile yapılan bir çalışmada, $4\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda hem peroksit radikallerin olumsuz etkilerine karşı hem de bakır-indüklü LDL oksidasyonuna karşı etki gösterdiği bulunmuştur (Abuja ve ark., 1998). Antosiyaninlerce zengin mürver meyvesinden hazırlanan konsantre meyve suyunun, antioksidan etkisinin incelenmesi amacıyla demiri indirgeyebilme özelliği *in vitro* olarak araştırılmış ve güçlü etki gösterdiği belirtilmiştir (Pool-Zobel ve ark., 1999).

Mürver antosiyaninlerinin oksidatif strese karşı aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, steril koşullarda hazırlanan mürver ekstresi, steril koşullarda hazırlanmış olan bovin aortik endotelial hücre kültürüne 0.05, 0.1, 0.5 mg.mL^{-1} konsantrasyonlarında 4 saat uygulandıktan sonra, endotelial hücreler 2 saat boyunca oksidatif strese maruz bırakılmıştır. Ekstre uygulanmayan kontrol gruplarında doza-bağlı olarak çeşitli oksidatif faktörler nedeniyle sitotoksitenin arttığı görülmüştür. Mürver ekstresi uygulanan hücrelerde H_2O_2 'nin uygulanan tüm konsantrasyonlarına (75, 150 ve 300 μM) karşı önemli ölçüde koruma sağladığı ve sitotoksiteyi % 20-40 oranlarında azalttığı bulunmuştur. FeSO_4 /askorbik asite maruz bırakılan endotelial hücrelerde sitotoksitenin artarken; 0.1 ve 0.5 mg.mL^{-1} konsantrasyonlarda mürver ekstresi, $250/15 \mu\text{M}$ konsantrasyondaki FeSO_4 /askorbik asite karşı koruyucu etki göstermiştir. Fakat mürver ekstresi, AAPH'ye [(2,2'-azobis-(2-amidinopropan)-dihidroklorür] karşı protektif etki göstermemiş, yalnızca 16 μM ve 8 μM konsantrasyondaki AAPH'nin sitotoksik etkinliğini önemli ölçüde azaltmıştır (Youdim ve ark., 2000). Ticari mürver konsantrasyonunun radikal süpürücü etkisinin doğal (- tokoferol) ve sentetik antioksidanlar (BHT, BHA) ile kıyaslandığında bu standart antioksidanlardan daha az olmakla beraber antiradikal etki gösterdiği belirtilmiştir (Espin ve ark., 2000).

Frank ve arkadaşlarının (2002) yaptıkları bir çalışmada, siyanidin-3-glikozit, *Ribes nigrum* ve *Sambucus nigra*'nın plazma ve dokulardaki - tokoferol, γ -

tokoferol ve kolesterolün konsantrasyonu aynı zamanda da karaciğer yağındaki yağ asidi bileşimi üzerine etkilerini büyümekte olan erkek sıçanlarda araştırmışlardır. 4 hafta boyunca hayvanlar yarı-sentetik olarak 2 g/kg konsantrasyonda siyanidin-3-glikozit, *R. nigrum* veya *S. nigra* ile beslenmiştir. Deney sonunda, diyetel antosiyaninlerin organ ve vücut ağırlıklarını veya yem alımını etkilemediği görülmüştür. Siyanidin-3-glikozit, karaciğer ve akciğerlerdeki tokoferol seviyelerini artırırken, her üç beslenme şeklinde de, plazma ve karaciğerdeki kolesterol seviyelerinde herhangi bir değişiklik olmamıştır. Siyanidin-3-glikozit ve *R. nigrum* konsantresi ile beslenen sıçanlarda doymuş yağ asitleri seviyesi azalmıştır. Deney sonuçlarına bakıldığı zaman antosiyanidinlerin redoks özelliğinden dolayı, Vitamin C ile sinerjik olarak antioksidan olarak kullanılabilceği görülmüştür. Ancak yüksek dozlarda mürver tüketiminin (günlük 4 g antosiyanidin tüketimi) postprandiyal serum lipitlerinde azalmaya neden olmuştur (Murkovic ve ark., 2004). Ticari alkollü ve alkolsüz içeceklerin antioksidan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, mürver meyve suyunun toplam fenol miktarının fazla olduğu ayrıca DPPH radikali varlığında yüksek oranda hidrojen iyonu verebilme kapasitesinin olduğu belirtilmiştir (Lugasi ve Hovari, 2003).

Çeşitli üzüksü meyvelerdeki antosiyaninlerin radikal süpürücü etkisi ve LC/PDA/ESI-MS profillerinin incelendiği bir çalışmada, *S. nigra* meyve suyu ekstresinde siyanidin-3-sambubiyozit ve siyanidin-3-glikozit tespit edilmiştir. Ekstreler DPPH ile muamele edilmiş ve ekstrelerin radikal süpürücü etkinliği araştırılmıştır. Vitamin E analogu Trolox ile karşılaştırıldığında her bir ekstrenin Trolox'dan daha az olmak üzere, radikal süpürücü etki gösterdiği, çeşitli antosiyaninler arasında siyanidin-3-glikozitin kuvvetli antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir (Nakajima ve ark., 2004). Dokuz farklı kırmızı meyveden hazırlanan ticari meyve sularının, DPPH radikali süpürücü etki ve Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasiteleri araştırılmış, *S. nigra*, *Aronia melanocarpa*, *R. nigrum* meyve sularının yüksek oranda antioksidan olduklarını ve fenolik bileşiklerce zengin olmalarından dolayı etki gösterdikleri belirtilmiştir (Bermudez-Soto ve Tomas-Barberan, 2004).

Bagchi ve arkadaşları (2004) mürver meyve ekstresini de içeren altı farklı üzüksü meyveden hazırlanan Optiberry® isimli preparat ile çalışmışlar ve bu preparatın oksijen-radikalini absorplama kapasitesinin yüksek oranda olduğunu ve bu etkinin sinerjik etkiden kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. Avrupa'da yaygın olarak tüketilen mürver meyve suyu da dahil çeşitli meyve ve sebze sularının toplam oksidan süpürücü etkileri peroksil, hidroksil ve peroksinitrit gibi reaktif oksijen türlerine karşı araştırılmış, kırmızı yaban mersini meyve suyunun etkisinin diğerlerine oranla daha dikkat çekici olduğu belirtilmiştir (Lichtenthaler ve Marx, 2005). Optiberry®'nin *in vivo* sıçan ve fare deneyleri ile de antioksidan etki çalışmaları yapılmış, hiperbarik oksijene maruz bırakılan hayvanlarda elektron paramanyetik rezonans sistemi (EPR) ile tüm vücut dokularındaki glutatyon redüksiyonu görüntülenmiştir. 8 hafta boyunca Optiberry® ile beslenen vitamin E'den yoksun sıçanların karaciğer ve akciğerlerinde hiperbarik oksijenin neden olduğu glutatyon oksidasyonunun ciddi oranda engellendiği; farelerde ise tüm vücut dokularında antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (Baghci ve ark., 2006). Mürver meyve, çiçek ve yapraklardan hazırlanan alkollü ekstrelerin DPPH

radikali ve β -karoten/linoleik asit yöntemleri kullanılarak antioksidan etki profilleri karşılaştırılmış, her ekstrede DPPH radikal süpürücü etki ile β -karoten ve linoleik asitin oksidasyonunu inhibe edici etki gözlenmiştir. En fazla etkiye ise yaprak ekstresinde rastlanmıştır (Dawidowicz, 2006). Mürverden hazırlanan farklı ürünlerin (meyve suyu, çiçek infüzyonu, çiçekten hazırlanan şurup) radikal süpürücü (DPPH) etkileri karşılaştırılmış, bu ürünlerde antiradikal etki bulunmuş ancak şurupta belirlenen etkinin diğerlerine göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Cejpek ve ark., 2009).

Antiviral Aktivite:

Çeşitli insan grip virüsleri (Tip A ve Tip B) ile domuz ve hindi gibi hayvan grip virüslerinin *in vitro* ortamda standardize mürver meyve ekstresi 'Sambucol' ile muamele edilmiş, çalışma sonunda Sambucol'un grip virüsünün hemaglutinasyonunu ve replikasyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir. Ayrıca Sambucol ile tedavi edilen kişilerde 2-3 gün içinde kontrol grubuna göre % 90 oranında ateş dahil semptomları iyileştirdiği belirlenmiştir (Zakay-Rones ve ark., 1995). Şempanzeler üzerinde yapılan *in vivo* bir deneyde, Sambucol'un grip-benzeri semptomları iyileştirdiği hem de gribe karşı profilaktik etki göstererek sağlığı koruduğu bulunmuştur (Burge ve ark., 1999).

Sambucus nigra'dan elde edilen şurup ile klinik çalışma, yaşları 18 ile 54 arasında olan 48 saat veya daha az süredir grip benzeri semptomlar taşıyan 60 hastada plasebo kontrollü olarak 1999-2000 yılları arasında Norveç'te denenmiştir. 5 gün boyunca günde 4 defa mürver şurubu (15 mL) ya da mürver içermeyen şurup hastalara uygulanmış, semptomlar kaydedilmiştir. Semptomların 3-4 gün içinde azaldığı, bu süre boyunca hiçbir hastada advers reaksiyona rastlanmamıştır. Mürver ekstresinin güvenli ve etkin olduğu belirtilmiştir. Bu etkinin mürverin yüksek oranda içerdiği flavonoidlerin immün sistemi stimüle etmesi ve sitokin salımının artması sonucu olabileceği, buna ek olarak da mürverin grip virüsünün hemaglutinasyonunu engellediği vurgulanmıştır (Zakay-Rones et al, 2004). Mürverin antiviral etkisi yine bazı çalışmalarda da vurgulanmıştır (Bergner, 2005; Manganelli ve ark., 2005).

Roschek ve ark. (2009) mürver meyve ekstresinde bulunan antiviral etkili bileşiklerin herhangi bir kromatografik teknik kullanmadan tanımlanması amacıyla yürüttükleri bir çalışmada, mürverde bulunan bazı flavonoidlerin direkt olarak H1N1 virionlarına bağlandığını ve bu sayede virionların konak hücreye bağlanmalarını engellediğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada kütle spektroskopisi iyonizasyon tekniği kullanılmıştır. Virüs partikülleri ile mürver ekstresi önce inkübe edilmiş, ardından yıkanarak virüse bağlanmayan partiküllerin uzaklaştırılması ile hazırlanan örnek, kütle spektroskopisi tekniği ile analiz edilerek virüslere bağlanan bileşiklerin yapıları aydınlatılmıştır. Bu yöntem ile 2 bileşik; 5,7,3',4'-tetra-O-metilkeretin ve dihidromirisetin tanımlanmış ve bu bileşiklerin virionlara bağlanarak, virüs partiküllerinin konak hücreye bağlanmasını ve enfekte etmesini engellediği belirtilmiştir. Bu çalışma sonucunda mürver flavonoidlerinin oseltamivir ve amantadin gibi ilaç etken maddeleri ile kıyaslanabilir ölçüde *in vitro* antiviral etki gösterdikleri vurgulanmıştır.

2009 yılında yapılan klinik bir çalışmada, 16-60 yaş arası ve ateş, baş ağrısı, kas ağrısı, öksürük, nazal konjesyon gibi grip semptomlarından en az üçünü 24 saatten daha az süredir taşıyan 64 hastaya, 175 mg mürver meyve ekstresi içeren pastillerden günde 4 defa uygulanmış ve 2 günün sonunda değerlendirme yapılmıştır. Mürver meyve ekstresi içeren pastil kullanan hastalarda hem sistemik hem de nazal semptomların 24 saat içinde önemli ölçüde azaldığı, ancak öksürük ve nazal mukoza akıntısı 48 saatte iyileşme göstermiştir. Daha önceki yapılan çalışmalara göre kıyaslandığında mürver ekstresinin grip tedavisi için etkin olduğu, bu etkinin de tedavide kullanılan antiviral ilaçlarla kıyaslanabilir düzeyde olduğu belirtilmiştir (Kong, 2009).

İmmün Sistem Üzerine Etki:

Sambucus nigra'dan hazırlanan ve standardize mürver ekstresi içeren çeşitli Sambucol® preparatlarının (Sambucol Black Elderberry Extract®, Sambucol Black Elderberry Syrup®, Sambucol Active Defense®, Sambucol for Kids®) immün sistemi üzerine etkileri araştırılmış, bu amaçla 12 sağlıklı insan donöründen alınan kan monositlerinin enflamatuvar sitokinlerinin üretimi incelenmiştir. Sambucol Black Elderberry Extract® ile enflamatuvar sitokinlerinin (IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8) üretiminin monosit aktivatörü olarak bilinen lipopolisakkarit ile kıyaslanabilir ölçüde arttığı bildirilmiştir. TNF α üretimindeki artışın diğer sitokinlere oranla daha yüksek olduğu, ayrıca lipopolisakkarit ile preparatın birlikte sinerjik etki gösterdikleri kaydedilmiştir (Barak ve ark., 2001). Bu çalışmaya benzer bir çalışma daha yapılmış, Sambucol® preparatlarının enflamatuvar veya antienflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırarak immün sistemi aktive ettiği, bu sayede grip hastalarının, immün sistemi baskılanmış AIDS hastaları veya kemoterapi alan hastaların Sambucol®'ü kullanabileceği vurgulanmıştır (Barak ve ark., 2002). Mürver meyve ekstresinin lenfosit stimülasyon indeksini önemli ölçüde arttırdığı, herhangi bir mitojenik etki göstermeden immün sistemi aktive ettiği belirtilmiştir (Bratu ve ark., 2003). Wakinine-Grinberg ve ark. (2009) insan kan mononükleer hücre kültürlerine Sambucol ilave etmişler ve sitokin seviyelerini ELISA ile değerlendirerek Sambucol'un sitokinlerin üretimi üzerine etkilerini, Barak ve ark. (2001) elde ettiği bulgulara benzer şekilde belirtmişlerdir. Bu çalışmada, *in vitro* antilayşmanyal etki göstermeyen Sambucol®'ün, Leishmania türleri tarafından enfekte edilen farelerde ise enfeksiyonun gelişmesini yavaşlattığını bu etkinin de Sambucol®'ün immünomodülatör etkisi sonucu oluştuğunu gözlemlemişlerdir.

Antianjiyojenik ve Antikarsinojenik etki:

Roy ve ark. (2002) mürver meyvesi de dahil olmak üzere yenilebilir 6 üzüksü meyve ekstresi ile üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstresinin antianjiyojenik etkisi araştırmış, insan keratinosit hücrelerine karşı üzüm çekirdeği proantosiyanin ekstresi sitotoksik etki gösterirken, diğer üzüksü meyve ekstrelerinde hiçbir sitotoksik etkiye rastlanmamıştır. Üzüksü meyve ekstresinin *in vitro* anjiyojenezi önlediği, bu nedenle de anjiyojeneze bağlı kanser, enflamasyon gibi patolojilerin önlenmesinde kullanılabileceği vurgulanmıştır.

Meyveden izole edilen “tip 2 ribozom inaktive edici proteinler” olarak bilinen nigrin b ve ebulin 1 proteinleri risinden çok daha (10⁴ kat daha düşük) az oranda

hem hücrel hem de *in vivo* sitotoksik etki göstermektedirler. Bu proteinlerin kanser hücrelerinde aşırı üretimi yapılan transferin reseptörleri ile konjugat oluşturdıkları, bu sayede kanser hücrelerinin proliferasyonunu azalttığı belirtilmiştir (Citores ve ark., 2002).

Mürver meyve ekstresini de içeren altı farklı üzüksü meyveden hazırlanan Optiberry® ile yapılan bir çalışmada Optiberry®'nin potansiyel antianjiyojenik etki gösterdiği belirtilmiştir. Bu etki için *in vitro* Matrijel yöntemi kullanılmış, insan deri mikrovasküler endotel hücreler ile muamele edildiğinde Optiberry®'nin önemli ölçüde anjiyojenezi engellediği gözlenmiştir. Tümör hücrelerinden yeni damar oluşumunda vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) önemli rol oynamaktadır. Optiberry®'nin, H₂O₂ ve TNF α tarafından indüklenen VEGF'nin insan keratinositlerinden salımını yüksek oranda inhibe etmiştir. Aynı çalışmada *in vivo* anjiyojenez modeli kullanılmış, Optiberry®'nin monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) ve nükleer faktör- κ B (NF- κ B) transkripsiyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir (Baghei ve ark., 2004).

Thole ve arkadaşları (2006) *S. nigra* meyvelerinden hazırladıkları %70'lik aseton ekstraktlarından fraksiyonlama yaparak bu fraksiyonlar üzerine antikanser etki çalışmaları yapmışlardır. Bu çalışmada, ekstrelerin Siklooksijenaz 1 (COX 1), Siklooksijenaz 2 (COX 2), Kinon redüktaz (QR) ve Ornitin dekarboksilaz (ODC) enzimleri arasındaki ilişkiyi inceleyerek antikanser etkilerini ortaya koymaya çalışmışlardır. Deney sonunda meyve ekstresinin karsinogenezin başlangıç ve ilerleme evrelerinde inhibe edici rolü olduğu görülmüştür. Meyvelerin bu tıbbi etkilerinde, yüksek oranda antosiyanin içermesi ile ilişkilendirilmektedir. Diğer yandan, antikanser etkinlikte sadece kersetin, kersetin monoglikozit, proantosiyanidinler ve epigallokateşin gibi fenolik maddelerden değil aynı zamanda fenolik olmayan iridoit monoteren glikozitler, seskiterpenler, fitosterollerden de kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Antosiyaninlerce zengin çeşitli ekstraktların kolon kanser hücrelerinin büyümesi üzerine inhibisyonu üzerine yapılan bir çalışmada, mürver meyve ekstresinin diğer ekstraktlardan daha düşük oranda antikanser etki gösterdiği bildirilmiştir (Jing ve ark., 2008).

Antidiyabetik etki:

Mürver ekstresinin de yer aldığı 16 antosiyanin ekstresinin diyabetle ilişkili olan α -glikozidaz enziminin *in vitro* inhibisyonları araştırılmış, mürver ekstresi dahil 12 ekstrelerin potansiyel α -glikozidaz inhibitörü olduğu, mürver ekstresinin 0.5 mg.mL⁻¹ konsantrasyonda % 20-30 oranında inhibisyon yaptığı ancak sükröz aktivitesini inhibe etmediği gözlenmiştir (Matsui ve ark., 2001).

Diyet üzerine olumlu etki:

80 gönüllünün katıldığı klinik bir çalışmada, kilo verdirici diyetlere yardımcı gıda desteklerinin diyeteye olan katkısı araştırılmış, çiçek ekstresi ile zenginleştirilen mürver meyve suyu ve çiçek ekstresi ile meyve tozu içeren tablet (günlük 1 mg toplam antosiyanin, 370 mg flavonol glikoziti, 150 mg hidrokisinnamat içeren diyet) ve *Asparagus officinalis* preparatları gönüllülerin günlük diyetlerine ilave

edilmiştir. Diyet sonrası gönüllülerde kilo, kan basıncı, fiziksel ve duygusal olarak kendini iyi hissetme ve yaşam kalitesinde önemli ölçüde iyileşme, ayrıca diyetin etkinliği ve tolere edilebilirliği yüksek olarak değerlendirilmiştir (Chrubasik ve ark., 2008).

Kolite karşı koruyucu etki:

In vivo hayvan deneyinde, asetik asitin neden olduğu kolitli sıçanlarda, mürver ekstresi içeren diyetle (% 4 oranında ekstre içeren yem) beslenen sıçanlarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde makroskopik hasarın azaldığı ayrıca miyeloperoksidaz aktivitesinin de % 50 oranında düştüğü bildirilmiştir (Bobek ve ark., 2001). Zeman ve arkadaşlarının (2001) yaptıkları çalışmada ise, plöran (*Pleurotus ostreatus*'dan izole edilen β -glukan) ve mürver ekstresi içeren diyetle beslenen sıçanlarda akut kolitin gelişimi en az 4 hafta boyunca izlenmiş, makroskopik kolonik hasarın sırasıyla % 67.4 ve % 46.5 oranında azaldığı belirtilmiştir. Mürver ekstresinin bu etkisinde yüksek oranda antioksidan etkinliğinin doku hasarını azalttığı ve savunmayı arttırdığı şeklinde yorumlanmıştır.

Helicobacter pylori'ye karşı etki:

Gastrik hasarlara neden olan 87 kDa sitotoksin ürettiği bilinen patojenik *H. pylori* (ATCC 49503) üzerine bazı üzüksü meyve ekstralarının (*Rubus idaeus* L., *Vaccinium macrocarpon* Aiton, *V. corymbosum* L., *V. myrtillus* L., *S. nigra*, *Fragaria ananassa* Duch. ve Optiberry®) etkilerine bakılmıştır. *H. pylori*'nin inhibisyonu için CLO® testi kullanılmıştır (Bu test gastrik mukozada *H. pylori*'nin ürettiği ureaz enzimlerini belirleyici bir testtir). Deney sonuçları değerlendirildiğinde test edilen tüm konsantrasyonlarda bütün ekstraların, kontrol (Klaritromisin) ile karşılaştırıldığında *H. pylori*'nin gelişmesini inhibe ettiği görülmüştür. En düşük konsantrasyonda (% 0.25) en yüksek inhibisyonu Optiberry®'nin sağladığı (% 62), *S. nigra* ekstresinin ise % 30 inhibisyon sağladığı belirtilmiştir. Her bir ekstreye klaritromisin ilavesinin ise bakterisidal etkinliği önemli ölçüde arttığı bulunmuştur (Chatterjee ve ark., 2004).

Analjezik ve hipnotik etki:

Mürver meyve ve çiçeklerinin sulu ekstralarının, sıçanlarla yapılan bir çalışmada analjezik ve hipnotik etkileri araştırılmış, her iki ekstrenin de analjezik etkisine rastlanmamıştır. Ancak morfin uygulanan sıçanlara bu ekstralar uygulandıktan 90 dk sonra ciddi oranda morfinin analjezik etkisini arttırmışlardır. Ayrıca fenobarbiton verilen sıçanlara yine ekstraların uygulanması sonucu sıçanların uykuya geçiş süreleri kısalmışken, uyku sürelerinde önemli ölçüde artış olmuştur (Jakovljevic ve ark., 2001).

Vazodilatör etki:

Mürver meyve ekstresi de dahil antosiyaninlerce zengin 3 ekstrenin (*S. nigra*, *Vaccinium myrtillus*, *Aronia melanocarpa*) izole edilmiş domuz koroner arter halkası üzerinde vazodilatör etkisi araştırılmış ve mürver ekstresinin vazodilatör

etkisine rastlanmazken, en yüksek etkiye *A. melanocarpa* ekstresinde rastlanmıştır (Bell ve Gochenaur, 2006).

Heterosiklik aminlerin formasyonu üzerine etki:

Heterosiklik aminler, balık ve etlerde çok düşük miktarlarda bulunmakta ve bu ürünlerin ısıtılması sırasında zaman ve sıcaklığa bağlı olarak genotoksik bileşiklere dönüşmektedirler. Etlerin uzun süre ve yüksek ısıda pişirilmesi sonucu oluşan bu genotoksik maddeler ise özellikle kolon olmak üzere çeşitli kanser hastalıklarının oluşmasına neden olmaktadır. Mürver, elma, ananas ve üzüm çekirdeği ile muamele edilen etlerin yüksek oranlarda ısıtılması sonucunda, mürver ekstresi ile muamele edilen etlerde genotoksik maddelerin oluşumu % 45 oranında azalma gösterirken, en yüksek inhibisyonun üzüm çekirdeği ve elma ile elde edildiği belirtilmiştir (Cheng ve ark., 2007).

Farmakokinetik çalışmalar:

Siyanidin-3-glikozit ve siyanidin-3,5-diglikozitin memeli gastrointestinal sisteminde absorpsiyonundan sonra plazma ve karaciğerde glikozit formunda kaldıkları tespit edilmiş, herhangi bir konjuge ya da metilli türevlerine rastlanmamıştır (Miyazawa ve ark., 1999). Antosiyaninlerce zengin mürver meyve suyunun günlük olarak tüketilmesi tavsiye edilmektedir. Mürver meyve suyunun tüketilmesi ile serum düzeylerindeki antosiyanin miktarları analiz edilmiş, antosiyaninlerin düşük biyoyararlanımlarına karşın, siyanidin-3-glikozit ile siyanidin-3-sambubiyozite yüksek oranda, az oranda da siyanidin diglikozitlere rastlanmıştır. Püskürtülerek kurutulmuş meyve suyunun alımından 30 dakika sonra plazmada antosiyaninlere rastlanmış, maksimum konsantrasyona ise 1 saat sonunda ulaşılmıştır. 200 mg antosiyaninden 60 µg düzeyinde plazmada rastlanmıştır. Antosiyaninlerin sindirimden hemen sonra degradasyona uğraması veya çok hızlı bir şekilde atıldığı düşünülmektedir (Murkovic ve ark., 2000). Mülleder ve ark. (2001) bir gün sulandırılmış mürver konsantresi (1.9 g antosiyanin içerir), ertesi gün sakkaroz uyguladıkları 16 gönüllünün idrar örneklerini sindirimden 1 saat sonra ve belli aralıklarla analiz ettiklerinde siyanidin-3-glikozit ile siyanidin-3-sambubiyozitin değişmeden idrarla elimine edildiğini, ayrıca sakkarozun antosiyanin atılımını azalttığını belirlemişlerdir. Günlük 720 mg mürver meyve ekstresi alan yaşlı bayanlarda, antosiyaninler plazma ve idrarda glikozit olarak gözlemlenirken, çoğu antosiyaninin alımdan 4 saat içinde idrarla atıldığını belirtmişlerdir (Cao ve Prior, 1999; Cao ve ark., 2001; Milbury ve ark., 2002). Bir başka çalışmada, insan ve sıçan idrarlarında antosiyaninlerin değişime uğramadan atıldığı belirtilmiştir (McGhie ve ark., 2003). Etanolün, siyanidin-3-glikozitinin intestinal sistemden absorpsiyonu üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada ise, etanolün absorpsiyon üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Andlauer, 2003). 6 bayan ve 1 erkeğin katıldığı pilot ölçekli bir çalışmada, 150 mL mürver meyve konsantresi (3.57 g toplam antosiyanin içeren) tüketen kişilerin 5 saat boyunca belli aralıklarla alınan idrar örneklerinde siyanidinlerin glikozit formunda idrarda teşhis edilirken, çok düşük bir miktarının ise siyanidin glikuronit formlarında atıldığı belirtilmiştir (Bitsch ve ark., 2004). Mürver konsantresinin idrarda elektrolit dengesi üzerine etkisini incelemek üzere, 7 gün boyunca mürver konsantresini diyetine ilave eden

11 kişide diyet öncesi ve diyet sonrası elektrolit düzeyleri araştırılmış ve pH değerlerinde herhangi bir farklılık gözlenmemekle birlikte hidrojen iyonu konsantrasyonu, hidrojen iyon atılımı ve kiloda kayıp değerleri hesaplanmıştır. Bu deneyde mürver konsantrasyonunun tüketiminin idiyopatik nefrolitiazisli hastalarda güvenli olarak kullanılabilmesi vurgulanmıştır (Walz ve Chrubasik, 2008).

Sitotoksik ve alerjik etki:

Sambucus nigra aglutinin (SNA) insan bazofillerinden IL-4 salımını indükler, ayrıca histamin ve IL-13 salımına da neden olur (Haas ve ark., 1999). Mürver çiçekleriyle ve meyve suyu ile temas edilmesi veya inhalasyonu sonucu bazı kişilerde rinokonjunktivitis ve astım semptomlarının geliştiği görülmüştür. Förster-Waldl ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada 3668 hastadan yaklaşık %1'nin alerji testlerine (deri prick testi veya radioallergosorbent testi) pozitif sonuç vermiştir. Ayrıca meyve suyu tüketen 9 hastada, üst solunum yollarında obstrüksiyon ve ses kısıklığı görülmüştür. Bu duruma da ribozom inaktive edici proteinlerin neden olduğu belirtilmiştir. Bağcı ve ark. (2006) çalışmalarında Optiberry®'nin olası toksik etkilerini (akut oral toksisite, akut dermal toksisite, primer deri irritasyonu, primer göz irritasyonu) araştırmışlar, deri üzerinde çok az da iritan etkisine rastlamışlardır. Ayrıca tavşan gözünde de minimum düzeyde irritasyon gözlemlenmişler, ancak iritan etkinin tolere edilebilir düzeyde olmasından dolayı Optiberry®'nin güvenli olduğunu vurgulamışlardır.

Fazla miktarda meyvenin tüketiminin çocuk ve yetişkinlerde bulantı ve kusmaya yol açabileceği bildirilmektedir (Vlachojannis ve ark, 2010).

GEREÇLER ve YÖNTEMLER

Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Materyaller, Kimyasal Madde ve Gereçler

Bitkisel Materyal

Sambucus nigra'nın olgun ve kurutulmuş meyveleri, Yalova-Evçay Firması'ndan 2009 yılında temin edilmiştir, kullanılmadan önce meyve saplarından ayrılmıştır.

Kullanılan kimyasallar

Deneysel aşamalarda kullanılan kimyasal maddeler ile ilgili bilgiler **Çizelge 4**'de verilmiştir.

Çizelge 4. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

| Çözücüler | Firma ve Ülke |
|--|----------------------------|
| Asetik asit | Carlo-Erba, İtalya |
| Aseton | Carlo-Erba, İtalya |
| Asetonitril | DOP Organik Kimya, Türkiye |
| BF ₃ / Metanol (% 14) | Sigma, Almanya |
| Etanol | Merck, Almanya |
| Etil asetat | Riedel-de Haen |
| Folin-Ciocalteu reaktifi | Merck, Almanya |
| Formik asit | Merck, Almanya |
| Fosforik asit | Sigma, Almanya |
| Hidroklorik asit | Carlo-Erba, İtalya |
| Metanol | Sigma-Aldrich, Amerika |
| Saf su (Bidistile su) | |
| <i>n</i> -Hekzan | Carlo Erba, İtalya |
| Tetrahidrofur | Merck, Almanya |
| Katı Kimyasallar | Firma ve Ülke |
| β-glikozidaz (Beta-glycosidase from almonds, lyophilized powder, ≥ 2 U/mg solid) | Sigma, Almanya |
| Gallik asit | Sigma, Almanya |
| Potasyum klorür (KCl) | Carlo-Erba, İtalya |

Çizelge 4 (devam). Deneyleerde Kullanılan Kimyasalların Listesi

| Katı Kimyasallar | Firma ve Ülke |
|--|-------------------------|
| Siyanidin-3-glikozit klorür | EDQM, Strasburg |
| Sodyum asetat | Merck, Almanya |
| Sodyum hidroksit (NaOH) | Kimetsan, Türkiye |
| Sodyum klorür (NaCl) | Merck, Almanya |
| Sodyum sülfat, anhidr (Na ₂ SO ₄) | Riedel-de-Haen, Almanya |

Kullanılan cihaz ve apareyler

Deneyleerde kullanılan cihaz ve apareylere ilişkin bilgiler **Çizelge 5**'de verilmiştir.

Çizelge 5. Deneyleerde Kullanılan Cihaz ve Apareyler

| Cihaz ve aparey | Firma |
|--|---------------------|
| Clevenger apareyi | İldam |
| Çalkalayıcı | IKA KS 260 Basic |
| Elmasonic karıştırıcı | Elma® S 100 H |
| GC Sistem (Gaz Kromatografisi) | Agilent 6890 N GC |
| GC/MS Sistem (Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi) | Agilent 5975 GC-MSD |
| HPLC Sistem (Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi) | Shimadzu |
| HPTLC (Yüksek Performans İnce Tabaka Kromatografisi) | CAMAG |
| Isıtıcılı manyetik karıştırıcı | Heidolph MR 3001 |
| Liyofilizatör | Vir Tis |
| Mikrodistiller | Eppendorf |
| Rotavapor | Heidolph |
| Soxhlet apareyi | İldam |
| Su banyosu | GFL® 1086 |
| UV-Spektrofotometre | Shimadzu |
| Vortex | Heidolph |
| pH metre | WTW- Inolab pH 720 |

Deneysel Çalışmalar

Meyvelerden çeşitli numunelerin hazırlanması

Meyve ekstralarının hazırlanışı:

Havanda kaba toz edilmiş meyveler, su, % 70 etanol, % 70 aseton, etanol, metanol çözücüleri ile 3 kere ekstraksiyon işlemi tekrarlamak üzere toplam 5 gün boyunca oda sıcaklığında karanlıkta hareketli maserasyona bırakıldı. Asitlendirilmiş metanol ekstresi ise, % 25 HCl:Metanol (1:9) çözücü karışımıyla oda sıcaklığında ve ultrasonik banyoda 30 dk. 3 kere ekstre edildi. Elde edilen ekstralar ya rotavapor (< 40°C) kullanılarak ya da liyofilizatör kullanılarak kurutuldu. Analiz anına kadar ekstralar -18°C'de koyu renkli şişede saklandı.



Şekil 6. Ekstrelerin Hazırlanışı

Meyve çayının hazırlanışı:

10 g olgun meyve, 100 mL su ile bir süre bekletildi, sonra yavaş yavaş ısıtılarak kısa bir süre kaynatıldı, yaklaşık 10 dakika bekletildikten sonra süzülde, liyofilizatörde kurutuldu ve analiz anına kadar -18°C'de koyu renkli şişede saklandı.

Meyve çekirdeklerinden yağ asitlerinin eldesi:

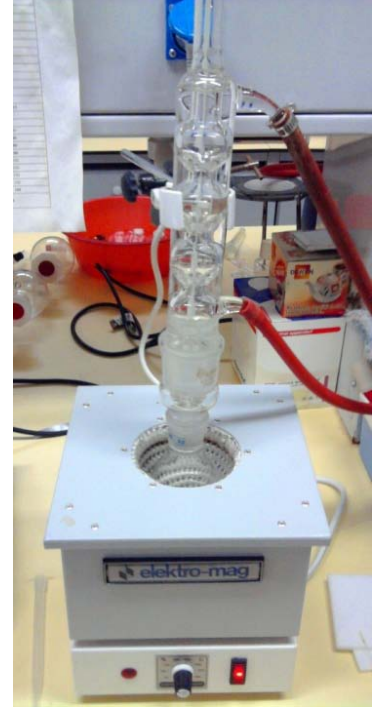
Pulpadan kurtarılan çekirdekler, aynı miktar susuz sodyum sülfat ile karıştırılarak havanda toz edildi, *n*-hekzan ile 6 saat boyunca Soxhlet apareyi kullanılarak ekstre edildi. Elde edilen hekzan ekstresi rotavaporda (< 40°C) yoğunlaştırıldı.

Yağ numunesi balona alınarak 0.5 N NaOH (Metanolde) ile 10 dk boyunca geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Kaynama bitince numune %14'lük BF₃/MeOH çözelitisi ile 2 dk daha kaynatıldı. 2 dakikanın sonunda *n*-hekzan ile karışım tekrar 1 dk kaynatıldı. Kaynama bitince balon ile birlikte soğutuldu, 25 mL'lik balon jöjeye alınan numuneye doymuş tuz çözelitisi ilave edilerek balon

joje 15 kere ters-düz edildi. İşlem sonunda faz ayrımının gerçekleşmesi sonrası üst faz alınarak viyale aktarıldı.



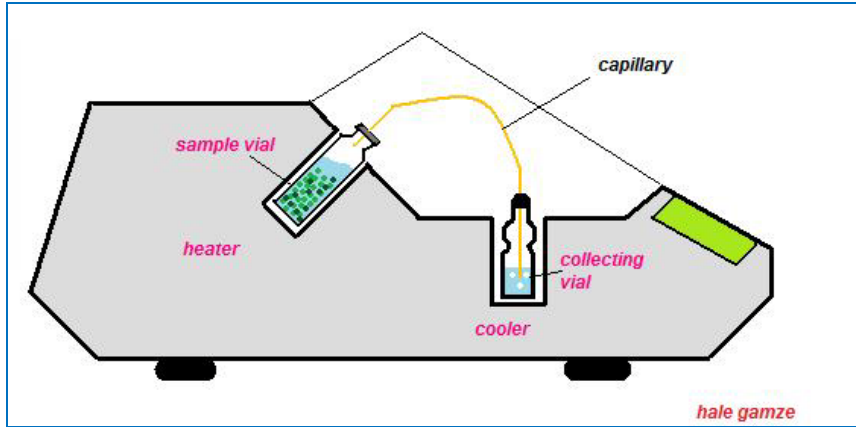
Şekil 7. Soxhlet Aparayı



Şekil 8. Geri Çeviren Soğutucu

Meyvelerden mikrodistilasyon yoluyla uçucu bileşiklerin eldesi:

Havanda kaba toz edilmiş meyveler mikrodistilasyon işlemine tabi tutuldu, elde edilen hekzanlı numuneler viyale aktarıldı.



Şekil 9. Mikrodistilasyon Cihazının Şematik Gösterimi

Mikrodistilasyon analizinde 0.6 g havanda toz edilmiş meyve üzerine 10 mL su konularak örnek viyaline yerleştirildi. Örnek viyali $20^{\circ}\text{C}.\text{dk}^{-1}$ oranında 108°C sıcaklığa ısıtıldı ve bu sıcaklıkta 90 dakika tutuldu, sonrasında yine dakikada 20°C olacak şekilde 112°C 'ye ısıtıldı ve 30 dk boyunca bu şartlarda tutuldu. Örnek viyali son olarak 2 dk daha post-run analizi olarak aynı şartlarda tutuldu. Toplama

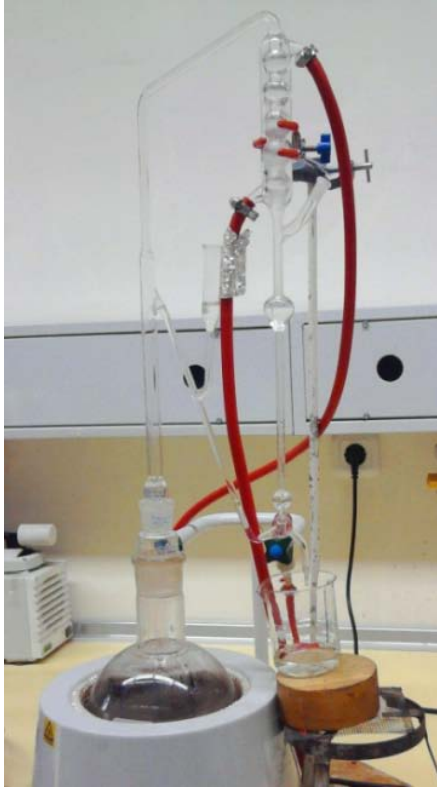
viyaline ise, 2.5 g NaCl konuldu, 0.5 mL su ile ıslatıldı. 350 μ L *n*-hekzan eklendi ve toplama viyali distilasyon boyunca -5°C’de tutuldu. Distilasyon sonrası hekzanlı kısım viyale aktarıldı.

Meyvelerden su distilasyonu ile uçucu yağ eldesi:

Havanda kaba toz edilmiş meyveler, Clevenger apareyi (**Şekil 10**) kullanılarak 3 saat boyunca su distilasyonuna tabi tutuldu (European Pharmacopoeia, 2005). Eser miktarda elde edilen numune *n*-hekzanla alınarak viyale aktarıldı.

Meyvelerde glikozidik bağlı uçucu bileşiklerin eldesi:

Havanda kaba toz edilen meyveler ve β -glikozidaz enzimi ile sulu ortamda 37°C’de su banyosunda 48 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında karışım Clevenger apareyi ile 3 saat boyunca su distilasyonuna tabi tutuldu, distilasyon sonrası elde edilen *n*-hekzanlı numune viyale aktarıldı.



Şekil 10. Clevenger Apareyi ile Su Distilasyonu

Ekstrelerin Analizleri

Toplam fenol miktar tayini

Ekstrelerin içerdikleri toplam fenol miktarları gallik asite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteau yöntemi (Singleton ve ark, 1999) kullanılarak hesaplandı. 6 mL distile su içeren 10 mL ölçekli kap içerisine 100 µL numune çözeltisi ve 500 µL Folin-Ciocalteau reaktifi ilave edildi. 1 dakika sonra 1.5 mL'lik % 20'lik sulu Na₂CO₃ ilave edilip 10 mL'ye su ile tamamlandı. Kontrol olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı kullanıldı. 2 saat oda sıcaklığında (25 °C) karanlıkta inkübe edildikten sonra sonra absorbans 760 nm'de ölçüldü ve gallik asit kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırıldı. Toplam fenolik madde miktarı gallik asite eşdeğer olarak hesaplandı. Üç paralel deney yapılarak sonuçlar ortalama değerler olarak verildi.

Toplam monomerik antosiyanin miktar tayini

Ekstrelerde toplam monomerik antosiyanin miktarı 'pH differansiyel yöntemi' ile hesaplandı (Giusti ve Wrolsdad, 2000). Ekstreler uygun bir çözücü ile çözüldükten sonra hazırlanan bu stok çözeltiden, KCl tamponu (pH 1.0 ± 0.1) ile spektrofotometrede lineer bir oran elde edilinceye kadar seyreltildi. Örneğin son hacminin ilk hacme bölünmesiyle seyreltme faktörü belirlendi. Spektrofotometre, 510 ve 700 nm dalga boylarında distile suya karşı sıfırlandı. Örnek çözeltilerinden hem pH 1.0 hem de pH 4.5 tampon çözeltileri ile aynı seyreltme oranında numuneler hazırlandı ve 15 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda iki örneğin 510 ve 700 nm dalga boylarında absorbans değerleri ölçüldü. Ekstrelerdeki monomerik antosiyanin miktarları, denklem 1 ve 2 kullanılarak siyanidin-3-glikozit üzerinden hesaplandı, deneyler 3 paralel çalışılarak sonuçlar ortalama değer olarak, 100 g ekstrede mg cinsinden verildi.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4.5} \quad (1)$$

$$\text{Monomerik antosiyanin miktarı (mg.L}^{-1}\text{)} = \frac{A \times MA \times SF \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (2)$$

A: Absorbans

MA: Siyanidin-3-glikozitin molekül ağırlığı (449.2 g.mol⁻¹)

SF: Seyreltme Faktörü

ε: Siyanidin-3-glikozit için pH 1.0 ortamında ve 510 nm deki molar absorpsiyon sabiti

l: Küvet genişliği (1 cm)

Yüksek Performans İnce Tabaka Kromatografisi (HPTLC) ile ekstrelerde siyanidin-3-glikozit teşhisi

HPTLC ile çalışma şartları:

Cihaz: CAMAG Sistem

Sabit faz: Silikajel GF 254 kaplı alüminyum plak (20x10 cm)

Hareketli faz: Etil asetat: Formik asit: Asetik asit: Su (100:11:11:26)

Standart: 1 mg.mL⁻¹ konsantrasyonda hazırlanmış Siyanidin-3-glikozit klorür

Numuneler: 10 mg.mL⁻¹ konsantrasyonda hazırlanmış ekstreler

Uygulama: Her bir bant genişliği 10 mm olacak şekilde, 1 µL standart çözeltisi, 10 µL numuneler otomatik örnek uygulayıcı kullanılarak Silikajel kaplı alüminyum plağa uygulandı ve uygun mobil fazda developpe edildi. Ekstreler beyaz ışıkta karşılaştırıldı, UV tarayıcı kullanılarak 520 nm’de plaktaki standart ve ekstrelerdeki siyanidin-3-glikozit spektrumları alındı.



Şekil 11. HPTLC Sistemi

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile ekstrelerdeki siyanidin-3-glikozit miktar tayini

HPLC ile çalışma şartları:

Cihaz: Shimadzu Prominence HPLC Sistemi

Dedektör: Shimadzu UV-Vis Spektrofotometre

Kolon: Oktadesilil Silikajel (1: 250 mm, Ø: 4.6 mm, 5µm)

Sıcaklık: 40°C

Akış hızı: 0.4 mL.dk⁻¹

Hareketli fazlar:

Hareketli faz A: Formik asit: Su (8.5: 91.5)

Hareketli faz B: Tetrahidrofuran: Formik asit: Asetonitril: Metanol: Su
(5: 8.5: 22.5: 22.5: 41.5)

Gradyent akış programı:

| Süre (dakika) | Mobil faz B konsantrasyonu |
|------------------|-------------------------------|
| 0---10 | 15---30 |
| 10---20 | 30---40 |
| 20---25 | 40---100 |
| 25---30 | 100---15 |

Numune: 20 mg.mL⁻¹ konsantrasyondaki örnekler asitlendirilmiş metanol ortamında hazırlanarak 0.45 µm gözenek çapına sahip filtreden süzüldü.

HPLC ile analizde, siyanidin-3-glikozit klorür, eksternal standart olarak kullanıldı. Her bir ekstrede ayrılan bileşiklerin tutunma zamanları ve UV-spektrumları standart ile karşılaştırıldı. Siyanidin-3-glikozit klorür'ün 0.5-0.001 mg.L⁻¹ konsantrasyonları hazırlandı ve her biri 3 kere analiz edilerek kalibrasyon denklemi hesaplandı. Her ekstre için hazırlanan numuneler 3 kere analiz edilerek, her bir ekstrede bulunun siyanidin-3-glikozit miktarları ortalama değer olarak 100 g ekstrede mg cinsinden verildi.



Şekil 12. HPLC Sistemi

Gaz Kromatografisi (GC/FID) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC/MS) ile uçucu bileşiklerin analizi

GC Analiz Koşulları:

Sistem : Agilent 6890N GC
Kolon : HP-Innowax (60m x 0.25mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)
Taşıyıcı Gaz : Helyum (0.8 mL.dk⁻¹)

Sıcaklıklar

Enjeksiyon : 250 °C
Kolon : 60 °C'de 10 dk, 4 °C.dk⁻¹ artışla 220 °C'ye, 220 °C'de 10 dk,
1 °C.dk⁻¹ artışla 240 °C'ye
Detektör : 300 °C, FID (Flame Ionization Detector)

GC/MS Analiz Koşulları:

Sistem : Agilent 5975 GC-MSD
Kolon : HP-Innowax (60m x 0.25mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)
Taşıyıcı Gaz : Helyum (0.8 mL.dk⁻¹)

Sıcaklıklar

Enjeksiyon : 250 °C
Kolon : 60 °C'de 10 dk, 4 °C.dk⁻¹ artışla 220 °C'ye, 220 °C'de 10 dak,
1 °C.dk⁻¹ artışla 240 °C'ye

Split Oranı : 40:1

Elektron Enerjisi : 70 eV

Kütle Aralığı : 35-450 m/z

Numunelerde eş zamanlı olarak GC ve GC/MS analizleri yapıldı. Değerlendirme işlemleri "Başer Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi"nin yanı sıra Wiley GC/MS, Adams ve MassFinder 3.1 Kütüphane Tarama Yazılımları kullanılarak yapıldı (McLafferty ve Stauffer, 1989; Adams, 2001; Koenig ve ark., 2004).



Şekil 13. GC ve GC/MS Sistemi

BULGULAR ve TARTIŞMA

Ekstrelerin Hazırlanışı, Spektrofotometrik ve Kromatografik Bileşim Analizleri, Miktar Tayinleri

Ekstrelerin hazırlanışı

Sambucus nigra'nın olgun ve kuru meyvelerinden su, %70 etanol, %70 aseton, etanol, metanol, asitlendirilmiş metanol ile ekstreler hazırlandı. Ayrıca halk arasındaki kullanımına uygun olarak hazırlanan meyve çayı liyofilize edildi. Bütün ekstrelerde bileşimlerini belirlemek için analizler yapıldı. Ekstre verimleri **Çizelge 6** 'da verildi.

Çizelge 6. *Sambucus nigra* Meyvelerinden Elde Edilen Ekstre Verimleri

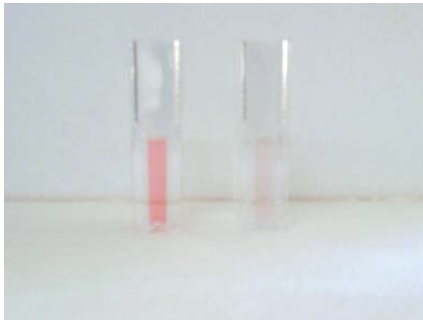
| Ekstre | Verim |
|-----------------------------|-------|
| Su (A) | 260* |
| %70 Etanol (B) | 432 |
| Etanol (C) | 292 |
| Metanol (D) | 404 |
| %70 Aseton (E) | 328 |
| Asitlendirilmiş metanol (F) | 602 |
| Meyve çayı (G) | 161 |

***mg ekstre/100g meyve**

Çizelge 6'da görüldüğü gibi ekstre verimi en yüksek olan asitlendirilmiş metanol (602 mg.g⁻¹) ekstresi olmuştur. En düşük ekstre verimi ise liyofilize edilmiş meyve çayında görülmektedir.

Toplam monomerik antosiyanin miktarı

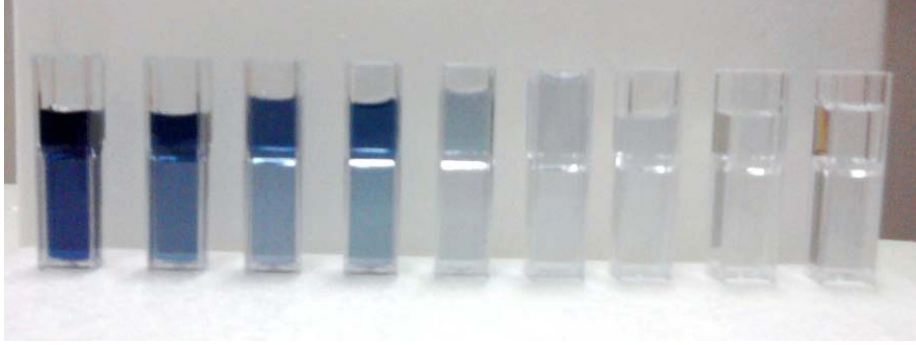
Ekstrelerde toplam monomerik antosiyanin miktarı 'pH differansiyel yöntemi' ile hesaplandı. Antosiyaninlerde, pH'ın değişmesi ile yapılarında geri çevrilebilir transformasyonlar meydana gelmekte ve bu değişim absorbans değerlerinde göze çarpıcı farklılıkların gözlenmesine neden olmaktadır. Renkli okzonyum türevleri pH 1.0'de baskın iken; pH 4.5'da renksiz hemiketal formlarına dönüştüğü bilinmektedir (Giusti ve Wrolstad, 2000). Bu farklılıktan yararlanılarak pH değişimine bağlı olarak ekstrelerde absorbans değerleri kaydedildi ve toplam monomerik antosiyanin miktarı, siyanidin-3-glikozite eşdeğer olarak hesaplandı. **Çizelge 7**'de sonuçlar verildi.



Şekil 14. Ekstrede Sırasıyla pH 1.0 ve pH 4.5 Tamponlarında Renk Değişimi

Toplam fenol miktar tayini

Ekstrelerde toplam fenol miktarlarının hesaplanmasında Folin-Ciocalteu yöntemi kullanıldı. Gallik asitin 3-0.01 mg.mL⁻¹ konsantrasyon aralığında farklı çözeltileri hazırlandı, 760 nm’de absorbans değerleri kaydedildi, gallik asitin konsantrasyon-absorbans grafiği çizilerek kalibrasyon denklemi belirlendi.



Şekil 15. Çeşitli Konsantrasyonlarda Hazırlanan Gallik Asitin Folin-Ciocalteu Reaktifi ile Reaksiyonu

$y=1.08364x-0.00656$ ($r^2:0.9996$) kullanılarak numunelerdeki toplam fenol miktarları gallik asite eşdeğer olarak hesaplandı. Sonuçlar **Çizelge 7**’de verildi.

Çizelge 7. Sambucus nigra Meyve Ekstrelerinin Toplam Fenol ve Toplam Monomerik Antosiyanin Miktarları

| Ekstre | Toplam fenol^a | Toplam monomerik antosiyanin^b |
|---------------|---------------------------------|---|
| A | 8974 ± 37 | 878.5 ± 15 |
| B | 7594 ± 3 | 1066.6 ± 55 |
| C | 3175 ± 12 | 435.9 ± 34 |
| D | 4917 ± 63 | 408.6 ± 85 |
| E | 8206 ± 167 | 651.1 ± 26 |
| F | 6399 ± 80 | 600 ± 16 |
| G | 6715 ± 21 | 734.2 ± 33 |

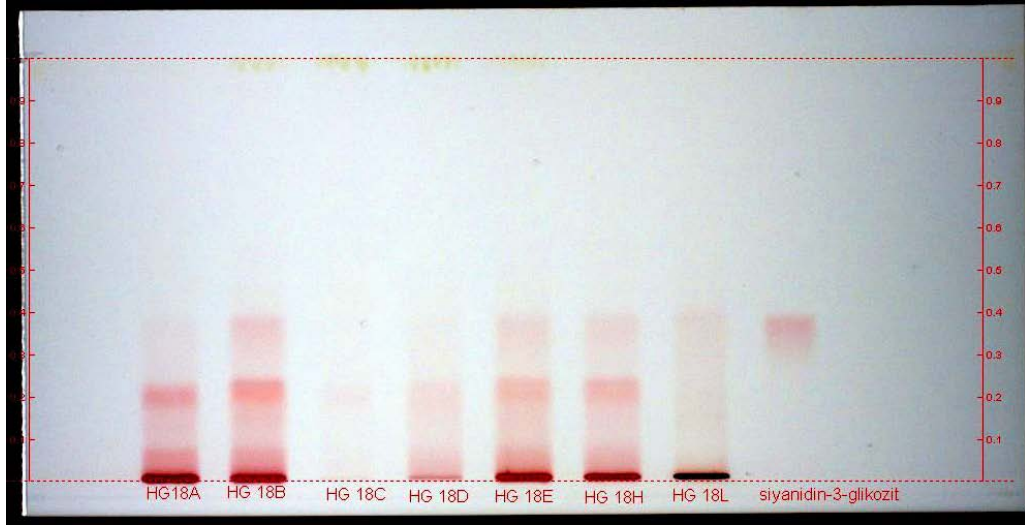
^amg_{GAE}/g_{ekstre}; ^bmg_{SGE}/g_{ekstre}; (A): su, (B): %70 etanol, (C): etanol, (D): metanol, (E): %70 aseton; (F): asitlen. metanol, (G): meyve çayı

Çizelge 7’de de gösterildiği gibi su ekstresinin fenolik bileşiklerce daha zengin olmasına karşın, toplam monomerik antosiyaninlerin % 70 etanol ekstresinde daha yüksek olduğu görülmektedir. Meyve çayı, maserasyon ile hazırlanan ekstre ile karşılaştırıldığında ise maserasyonla hazırlanan ekstrenin hem fenolik bileşiklerce hem de monomerik antosiyanin bakımından daha zengin olduğu görülmektedir.

Ekstrelerde HPTLC yöntemi kullanılarak siyanidin-3-glikozit teşhisi

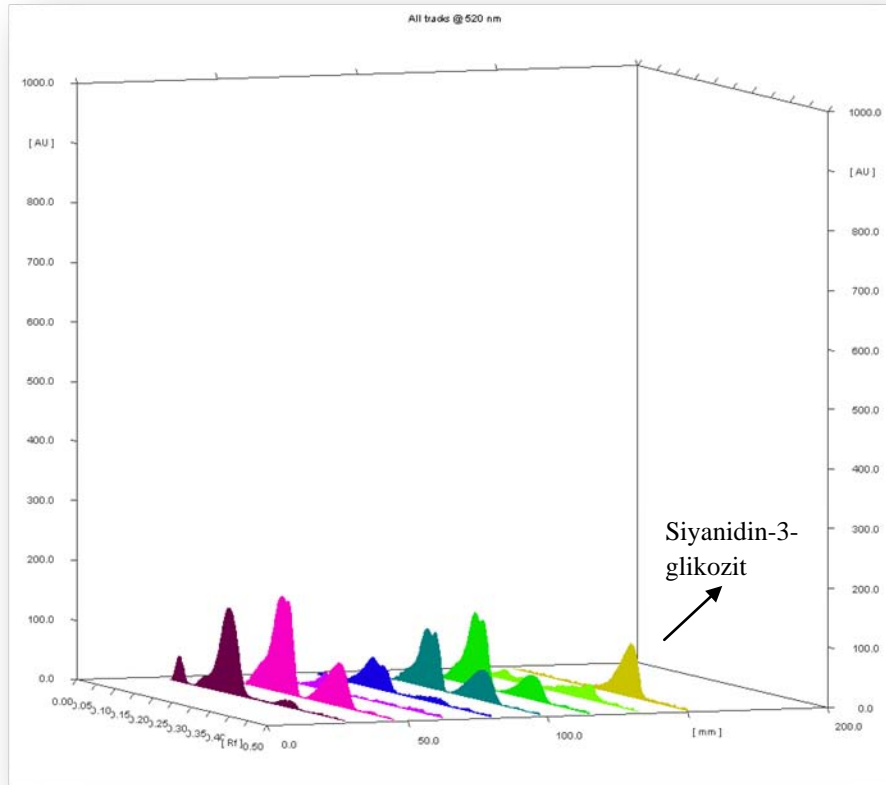
Ekstrelerdeki siyanidin-3-glikozit teşhisi için HPTLC sistemi ile çalışılmış, ekstreler ve standart deneysel kısımda anlatıldığı gibi (syf 25) analiz koşullarında developpe edilmiştir. Antosiyaninlerin renkli pigmentler olması dolayısıyla developpe işleminin ardından plak gün ışığında incelenmiş, ayrıca HPTLC sistemde İTK-tarayıcı kullanılarak plak, 520 nm’de taranmış, standart ile

ekstrelerdeki siyanidin-3-glikozitin UV-Spektrumları da kaydedilmiştir. Ekstrelerde siyanidin-3-glikozitinin teşhisi ile bilgiler aşağıda verilmiştir.



HG 18A: Su, HG 18B: %70 Etanol, HG 18C: Etanol, HG 18D: Metanol, HG 18E: % 70 Aseton, HG 18H: Meyve Çayı, HG 18L: Asitl. Metanol Ekstreleri

Şekil 16. Ekstrelerin ve Standardın Beyaz Işıktaki İTK Plağında Görüntüleri



Şekil 17. HPTLC Sistemde 520 nm'de Plağın Taranması ile Elde Edilen Grafik

Ekstrelerde Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile siyanidin-3-glikozit miktar tayini

Ekstrelerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile analizinde UV-Spektrofotometre kullanılmış ve miktar tayininde siyanidin-3-glikozit için 520 nm dalga boyu kullanılmıştır. Siyanidin-3-glikozitin 0.5-0.001 mg.mL⁻¹ aralığında çeşitli konsantrasyonlarındaki standart çözeltileri hazırlanmış ve konsantrasyon alan verilerine göre kalibrasyon eğrisi ve denklemi belirlenmiştir (**Çizelge 8**). Ekstrelerdeki siyanidin-3-glikozitin tanınması için, standart ile tutunma zamanları ve UV spektrumları karşılaştırılmıştır.

Çizelge 8. HPLC Analizinde Standarta Ait Kalibrasyon Denklemine İlişkin Veriler

| Kalibrasyon denklemi (y= ax+b) | Korelasyon katsayısı | SD (Standart deviasyon) |
|---|-----------------------------|--------------------------------|
| y= 2319754x + 132546.6 | 0.999 | 008 |

Çizelge 8'de belirtilen kalibrasyon denklemine göre ekstrelerdeki siyanidin-3-glikozit miktarları 100 g ekstrede mg olarak **Çizelge 9**'da verilmiştir.

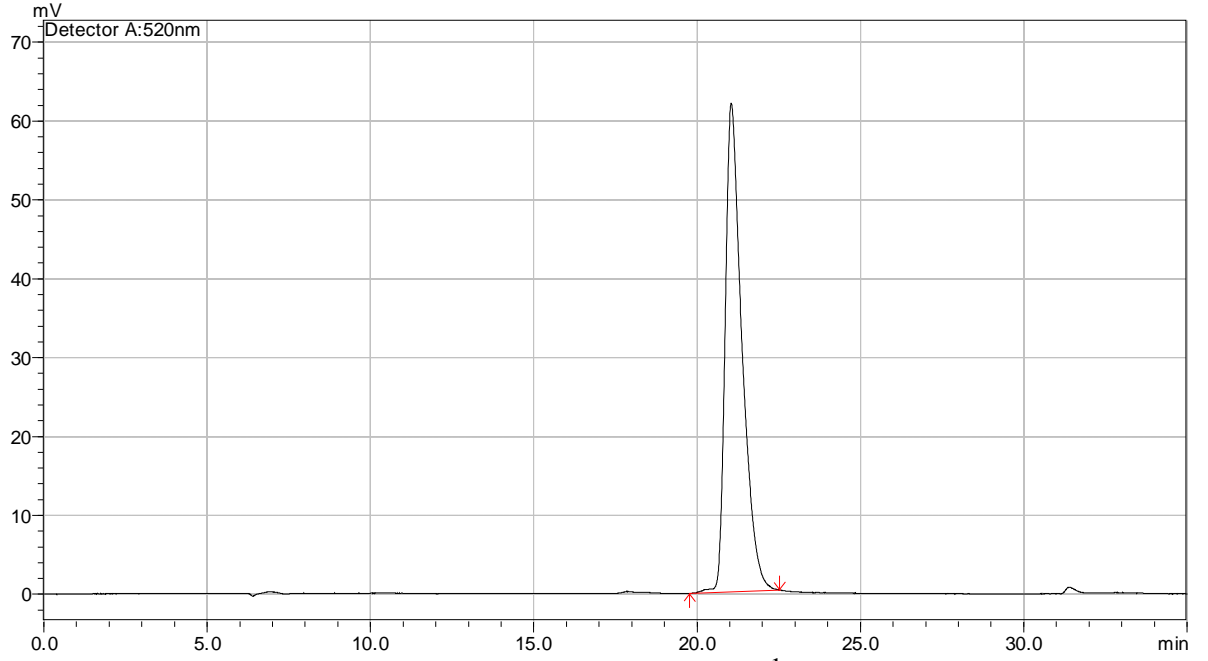
Çizelge 9. Ekstrelerdeki Siyanidin-3-glikozit Miktarları

| Ekstre | Siyanidin-3-glikozit miktarı* |
|---------------|--------------------------------------|
| A | 100.5 ± 0.72 |
| B | 254.3 ± 5.03 |
| C | 16.3 ± 0.05 |
| D | 42.4 ± 0.02 |
| E | 175.4 ± 0.63 |
| F | 68.1 ± 0.07 |
| G | 202.9 ± 1.87 |

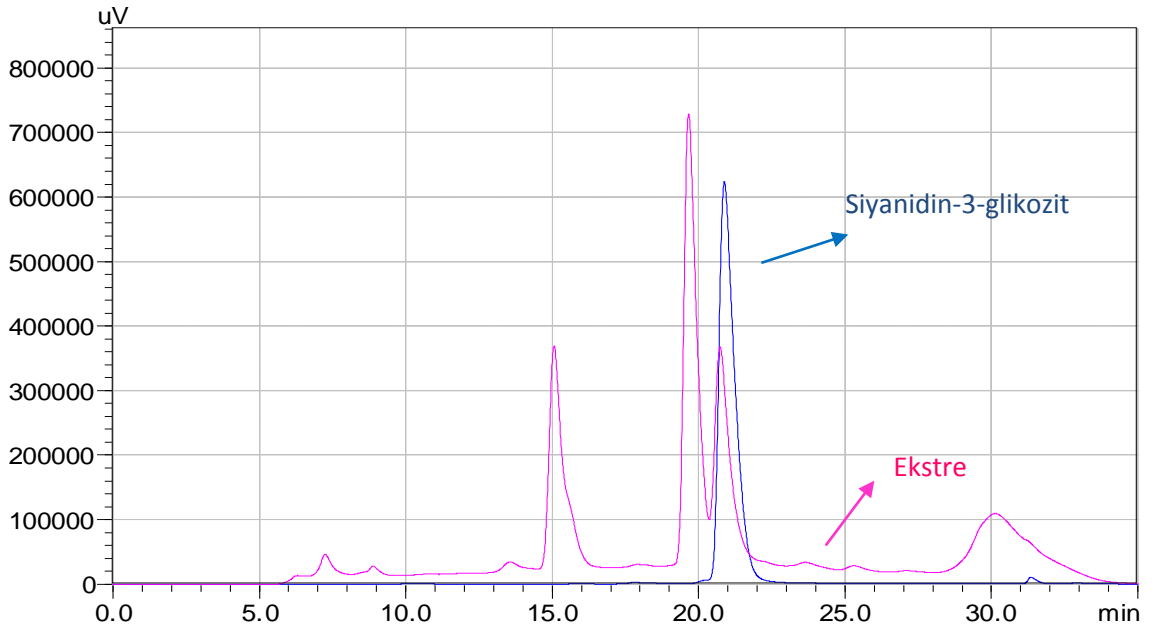
* 100g ekstrede mg madde miktarı; (A): su, (B): %70 etanol, (C): etanol, (D): metanol, (E): %70 aseton; (F): asitlendirilmiş metanol, (G): meyve çayı

Ekstrelerin siyanidin-3-glikozit miktarları karşılaştırıldığında %70 etanol> meyve çayı> %70 aseton> su ekstresi> asitlendirilmiş metanol> metanol> etanol ekstreleri şeklinde sıralanmaktadır.

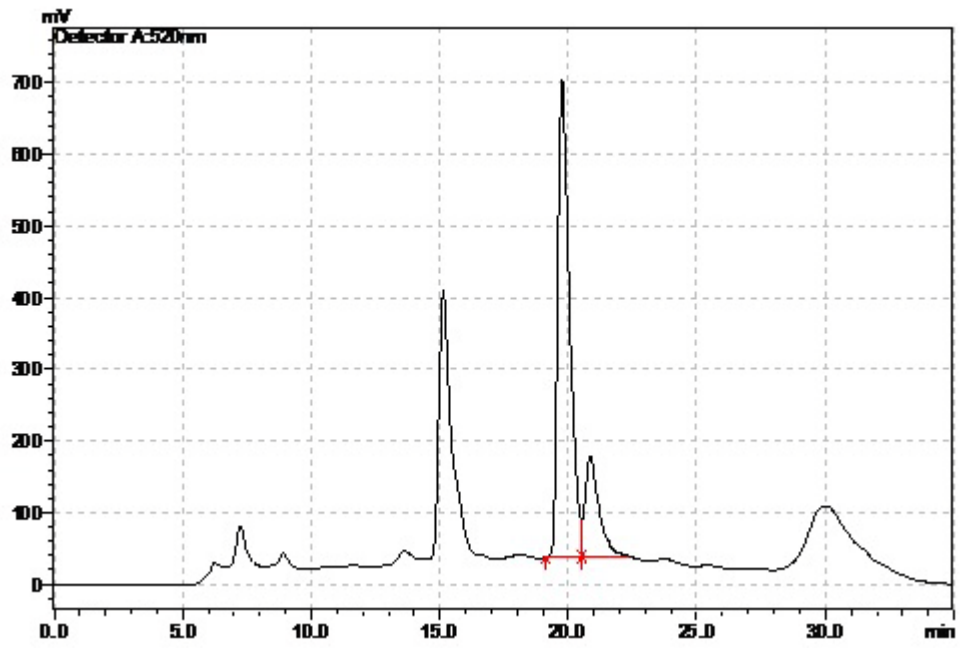
HPLC analizi ile standart ve ekstrelerden elde edilen kromatogramlar **Şekil 18-26** arasında verilmiştir.



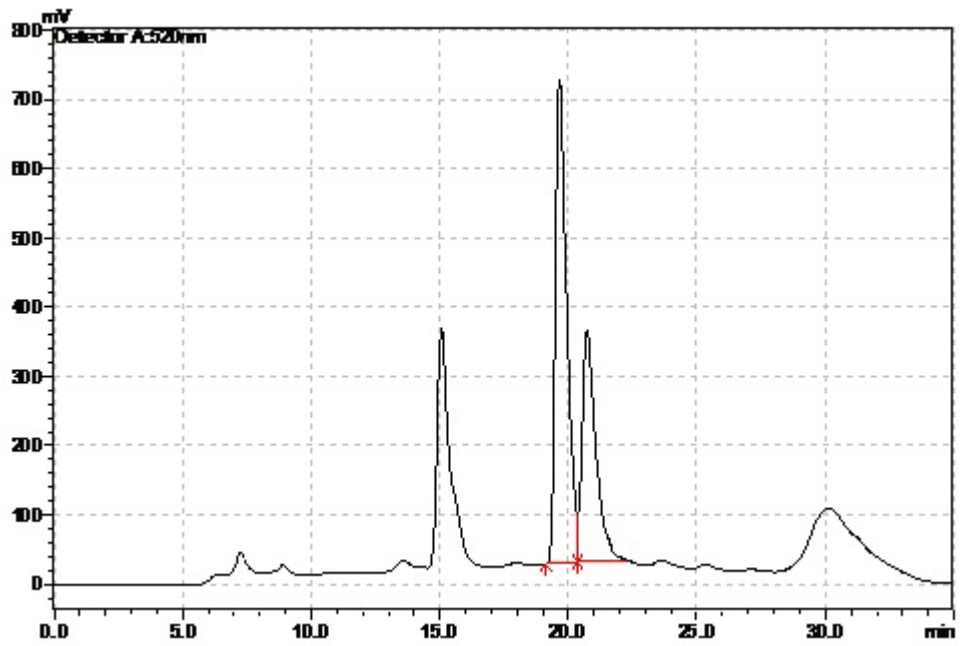
Şekil 18. Siyanidin-3-glikozitin HPLC Kromatogramı (0.01 mg.mL^{-1})



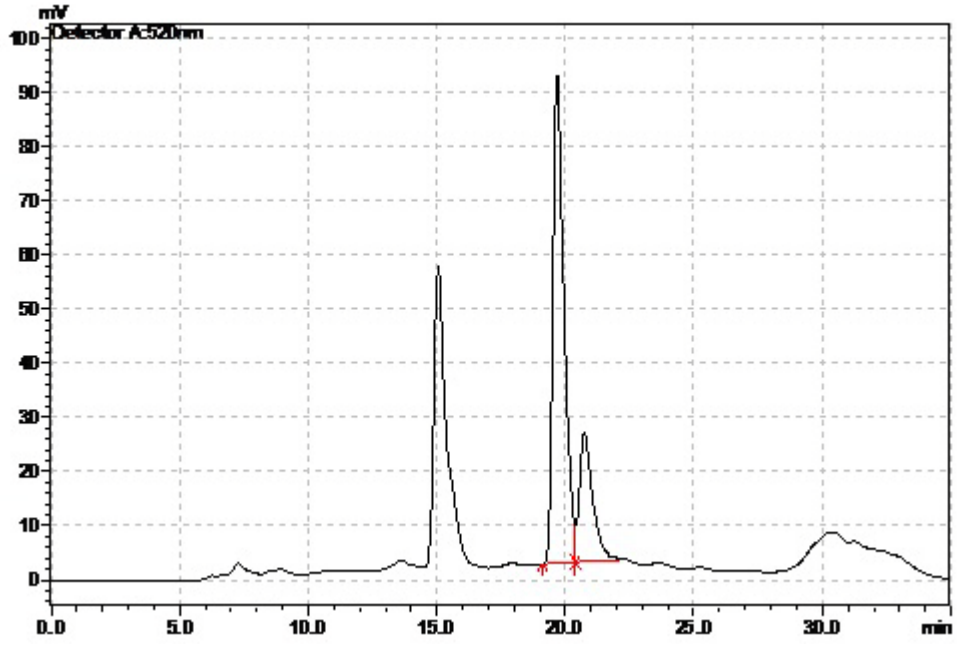
Şekil 19. Ekstre ile Siyanidin-3-glikozit'ten Elde Edilen Kromatogramların Karşılaştırılması



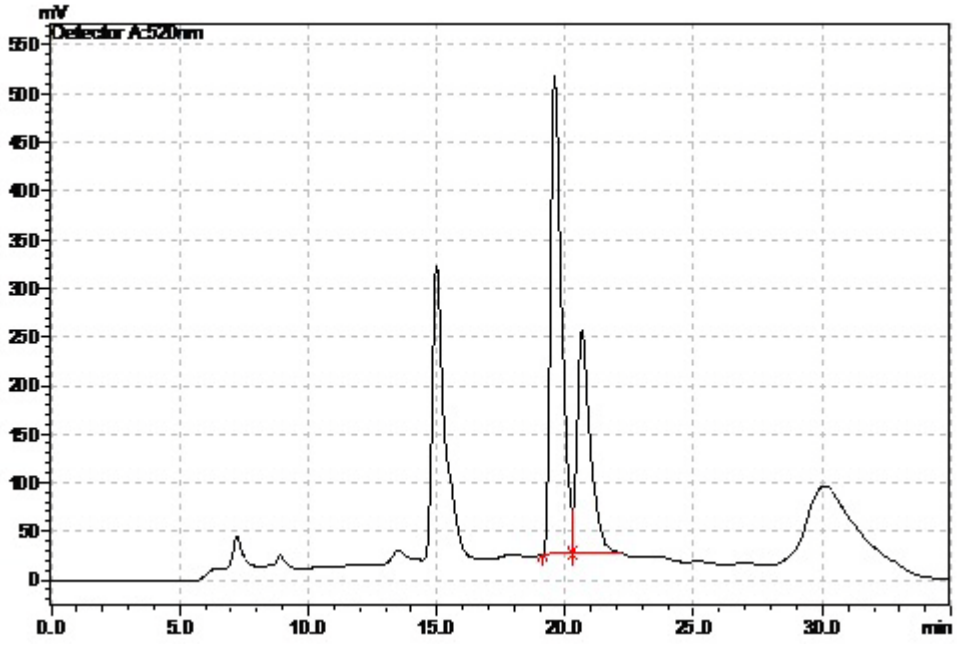
Şekil 20. Su Ekstresinin HPLC Kromatogramı



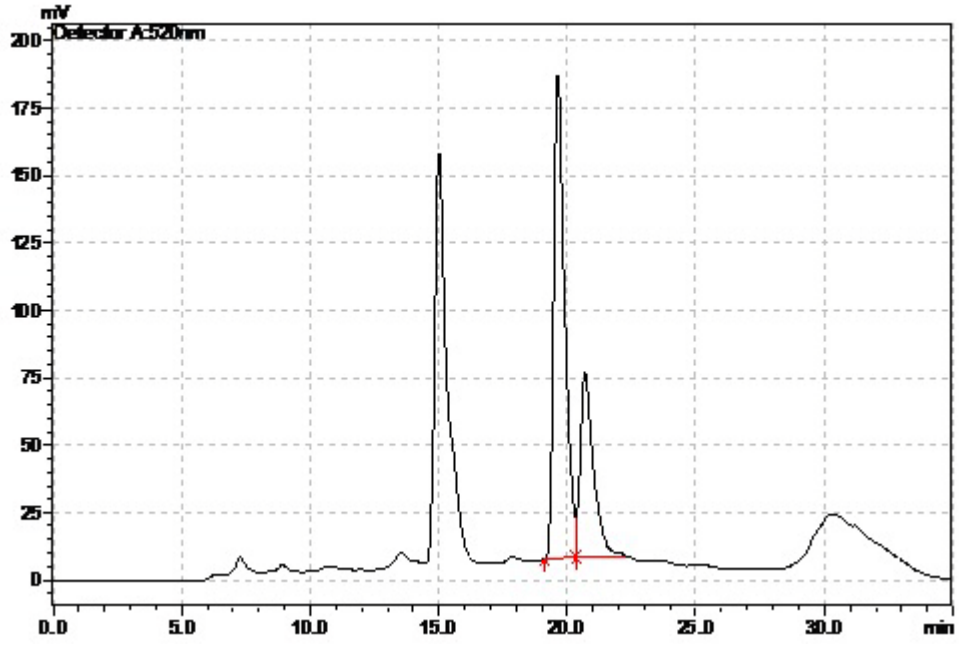
Şekil 21. % 70 Etanol Ekstresinin HPLC Kromatogramı



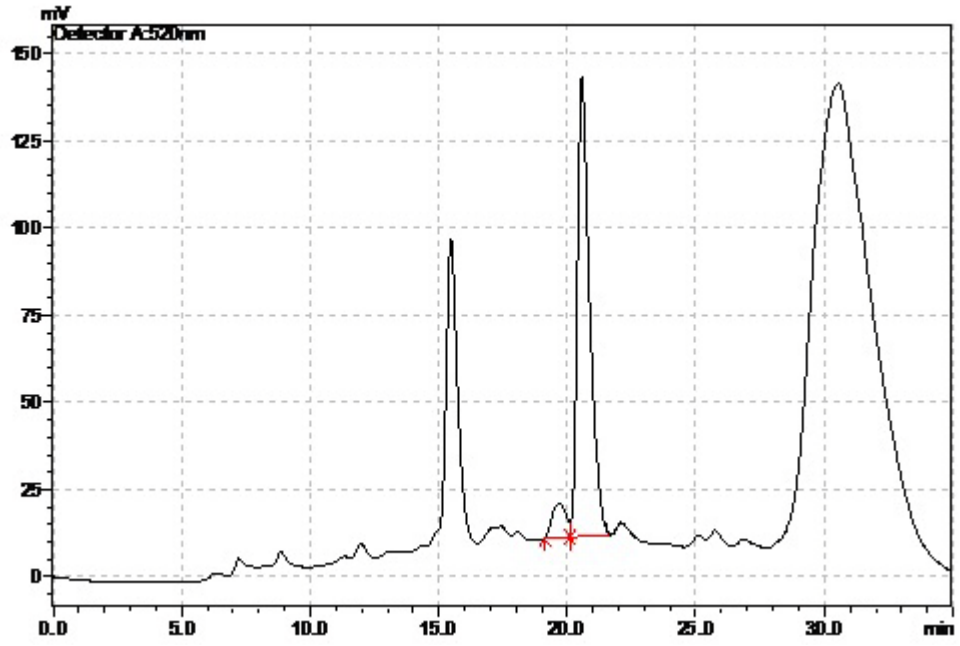
Şekil 22. Etanol Ekstresinin HPLC Kromatogramı



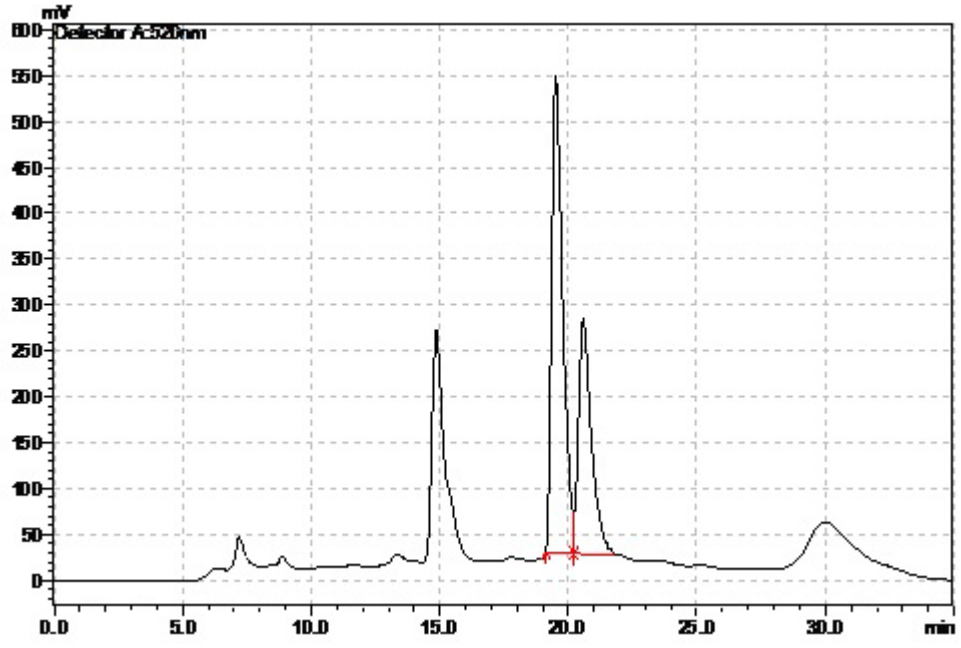
Şekil 23. % 70 Aseton Ekstresinin HPLC Kromatogramı



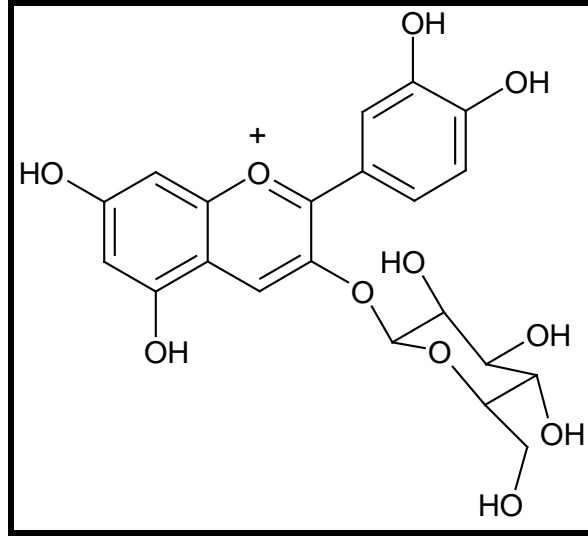
Şekil 24. Metanol Ekstresinin HPLC Kromatogramı



Şekil 25. Asitlendirilmiş Metanol Ekstresinin HPLC Kromatogramı



Şekil 26. Meyve Çayı Ekstresinin HPLC Kromatogramı

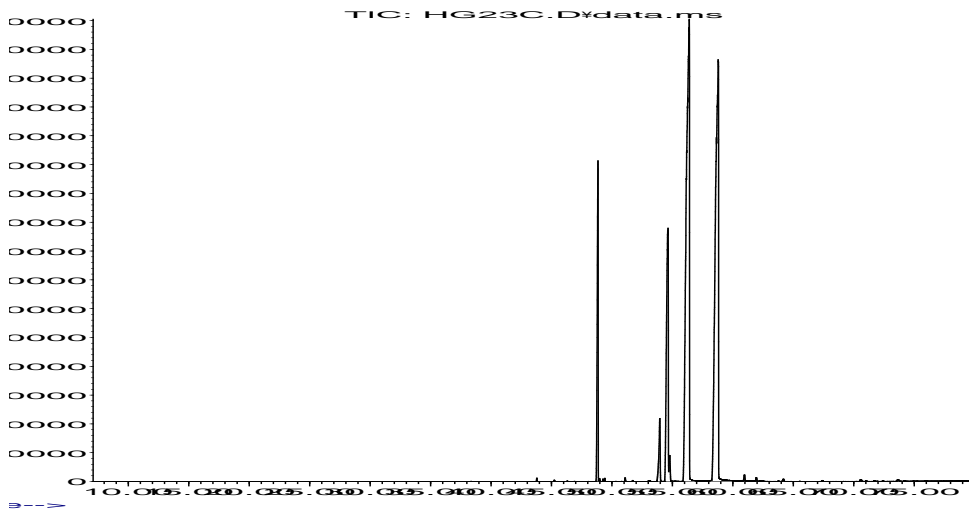


Şekil 27. Ekstrelerde Tanımlanan Siyanidin-3-glikozit Yapısı

Meyve Çekirdeklerinden Yağ Asitlerinin Eldesi ve Yağ Asidi Bileşiminin GC ve GC/MS ile Analizi

Pulpadan kurtarılan çekirdekler Soxhlet aпаратыnde *n*-hekzan ile %16 verimle ekstre edildi. Sabit yağdaki yağ asitlerinin tanımlanması için BF₃/MeOH ile metil esterleri oluşturuldu. Elde edilen hekzanlı numune eş zamanlı olarak GC ve GC-MS analizleri yapıldı. Yağ asitlerinin metil esterlerinin tanımlanmasında, maddelerin tutunma zamanları ve kütle spektroskopi verileri karşılaştırılarak "Başer Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi"nin yanı sıra Wiley GC/MS, Adams ve MassFinder 3.1 Kütüphane Tarama Yazılımları kullanılarak yapıldı.

GC ve GC/MS analizleri ile numunenin %99'una karşılık gelen 14 adet yağ asiti tanımlanmıştır. Yağ asiti kompozisyonu **Çizelge 10**'da gösterilmiştir. Linoleik asit (%42.3) ve linolenik asit (%38) başlıca yağ asitleri olarak belirlenmiştir.



Şekil 28. Çekirdekten Elde Edilen Yağ Asiti Metil Esterlerinin GC Kromatogramı

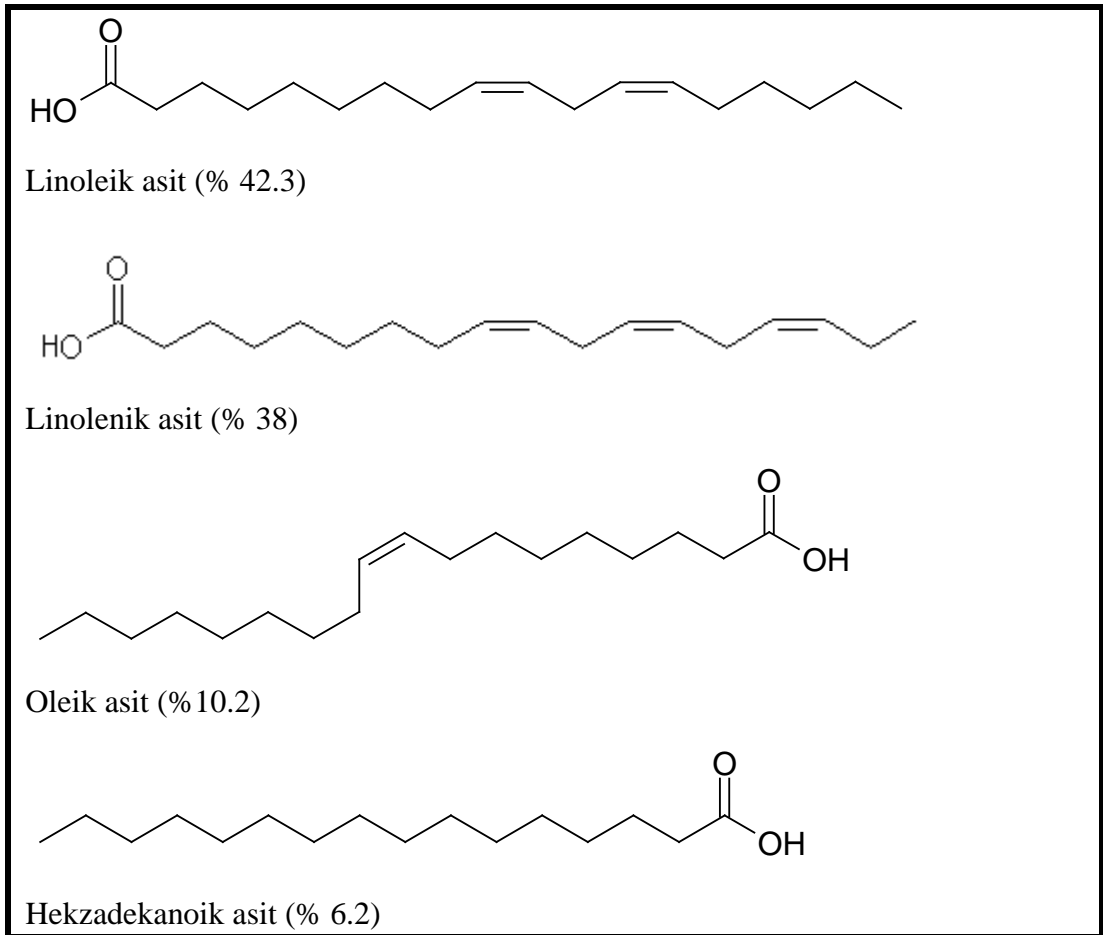
Çizelge 10. *Sambucus nigra* Çekirdeğinin Yağ Asidi Bileşimi

| Bileşik | % |
|------------------------------------|------|
| Tetradekanoik asit (Miristik asit) | e |
| Hekzadekanoik asit | 6.2 |
| (Z)-7-hekzadekanoik asit | e |
| (Z)-9-hekzadekanoik asit | e |
| Heptadekanoik asit | e |
| Stearik asit (Oktadekanoik asit) | 1.4 |
| Oleik asit | 10.2 |

Çizelge 10 (devamı). *Sambucus nigra* Çekirdeğinin Yağ Asiti Bileşimi

| Bileşik | % |
|---------------------------------|-------------|
| Elaidik asit | 0.8 |
| Linoleik asit | 42.3 |
| Linolenik asit | 38.0 |
| Araşidik asit | 0.1 |
| 11-eikosenoik asit | e |
| Behenik asit (Dokasonoik asit) | e |
| Lignoserik asit | e |
| TOPLAM | 99.0 |

% FID verilerine göre hesaplanmıştır; e: Eser miktar (< % 0,1).

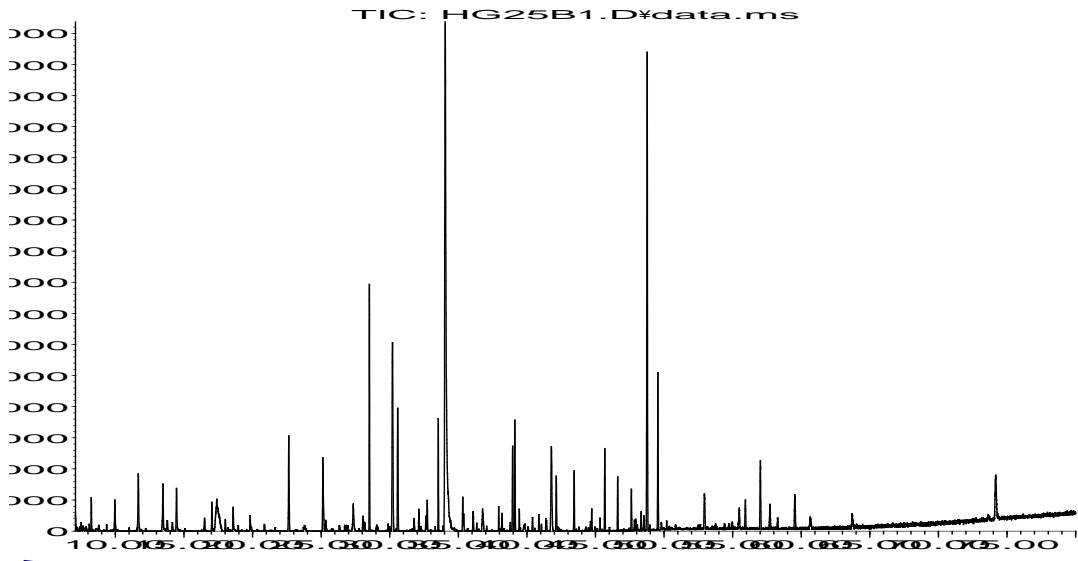


Şekil 29. Çekirdekte Tanımlanan Başlıca Yağ Asitleri

***Sambucus nigra* Meyvelerinin Serbest ve Glikozidik Bağlı Uçucu Bileşiklerin Eldesi ve GC ve GC/MS Analizi**

Mikrodistilasyon ile uçucu bileşiklerin eldesi ve GC ve GC/MS analizi

Havanda kaba toz edilen (0.6 g) meyveler, mikrodistilasyona tabi tutuldu. Mikrodistilasyon sonrası toplama kabındaki hekzanlı faz alınarak eş zamanlı olarak GC ve GC/MS analizi yapıldı. Numunede % 86.1'ne karşılık gelen 34 bileşik tanımlandı (**Çizelge 11**). Fenilasetaldehit (% 32.8) ve benzaldehit (% 7.9) ana bileşenler olarak belirlendi.



Şekil 30. *Sambucus nigra* Meyvelerinin Mikrodistilasyon Sonrası GC Kromatogramı

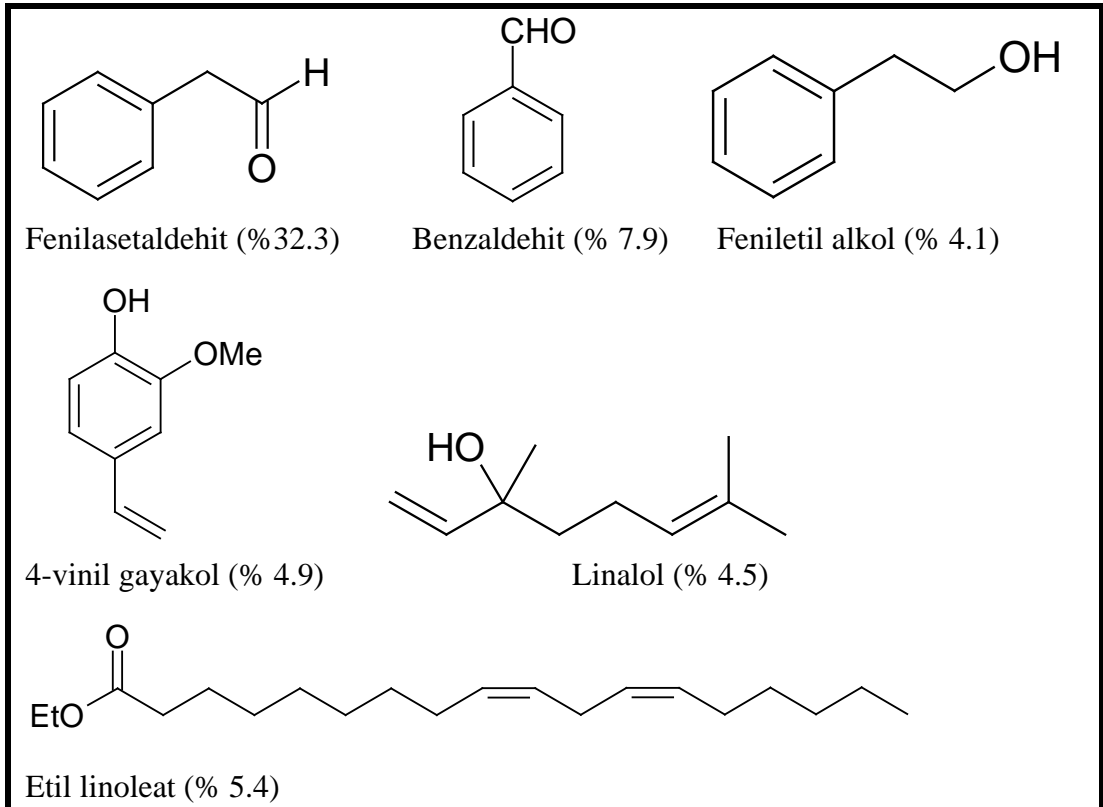
Çizelge 11. *Sambucus nigra* Meyvelerinin Uçucu Bileşikleri

| RRI | Bileşik | % |
|-------------|-----------------------------|-------------|
| 1000 | Dekan | 2.5 |
| 1093 | Hekzanal | 1.4 |
| 1136 | İzoamil asetat | 1.4 |
| 1203 | Limonen | 1.0 |
| 1212 | İzoamil alkol | e |
| 1244 | 2-pentil furan (Amil furan) | 0.5 |
| 1398 | 2-nonanon | 3.0 |
| 1400 | Nonanal | 1.2 |
| 1479 | Furfural | e |
| 1541 | Benzaldehit | 7.9 |
| 1553 | Linalol | 4.5 |
| 1585 | 5-metil furfural | 0.5 |
| 1590 | Bornil asetat | 1.0 |
| 1610 | Kalaren | 0.9 |
| 1616 | Hotrienol | 0.6 |
| 1663 | Fenil asetaldehit | 32.3 |
| 1700 | Heptadekan | 1.1 |

Çizelge 11 (devamı). *Sambucus nigra* Meyvelerinin Uçucu Bileşikleri

| RRI | Bileşik | % |
|------|---|-------------|
| 1750 | <i>cis</i> -linalol oksit (piranoit) | e |
| 1800 | Oktadekan | e |
| 1838 | 2-Fenil etil asetat | 1.6 |
| 1838 | (<i>E</i>)- β -Damassenon | 2.5 |
| 1853 | Etil dodekanoat | 0.6 |
| 1937 | Fenil etil alkol | 4.1 |
| 2131 | Hekzahidrofarnesil aseton | 1.1 |
| 2179 | 3,4-Dimetil-5-pentiliden-2-(5H)-Furanon | 0.5 |
| 2218 | 4-Vinil gayakol | 4.9 |
| 2226 | Metil hegzadekanoat (metil palmitat) | 2.0 |
| 2239 | Karvakrol | e |
| 2262 | Etil hegzadekanoat | 1.9 |
| 2509 | Etil linoleat | 5.4 |
| 2538 | Metil linoleat | e |
| 2583 | Metil linolenat | 1.1 |
| 2613 | Etil linolenat | e |
| 2931 | Hekzadekanoik asit | 0.6 |
| | TOPLAM | 86.1 |

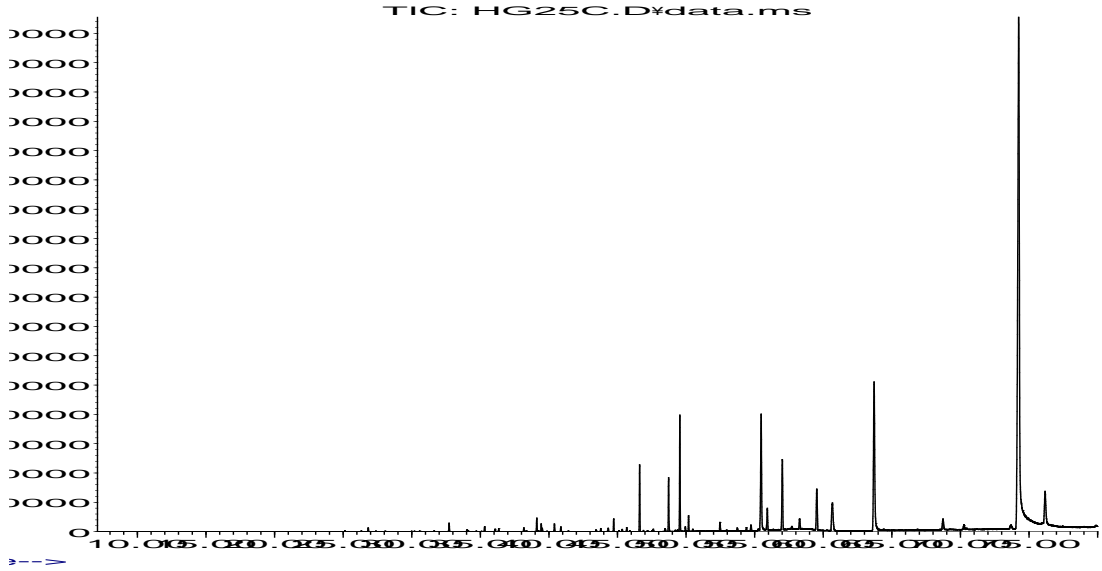
RRI: Relatif tutunma zamanı indisi *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır; % FID verilerine göre hesaplanmıştır; e: Eser miktar (< % 0,1).



Şekil 31. Mikrodıstılayon ile Elde Edılen Örnekte Tanımlanan Başlıca Uçucu Bıleşıkler

Meyvelerin su distilasyonu ve uçucu yağın GC ve GC/MS analizi

Meyveler havanda kaba toz edildikten sonra Clevenger apareyi kullanılarak 3 saat boyunca su distilasyonuna tabi tutuldu. Distilasyon sonrası elde edilen numune heksanla alınarak eş zamanlı olarak GC ve GC/MS analizleri yapıldı. Örnekte % 96.1'e karşılık gelen 18 bileşik tanımlandı (**Çizelge 12**). Örneğin yağ asitleri ve esterlerince zengin olduğu belirlendi. Hekzadekanoik asit (% 55.3) ve tetradekanoik asit (% 11.4) başlıca bileşikler olarak belirlendi.

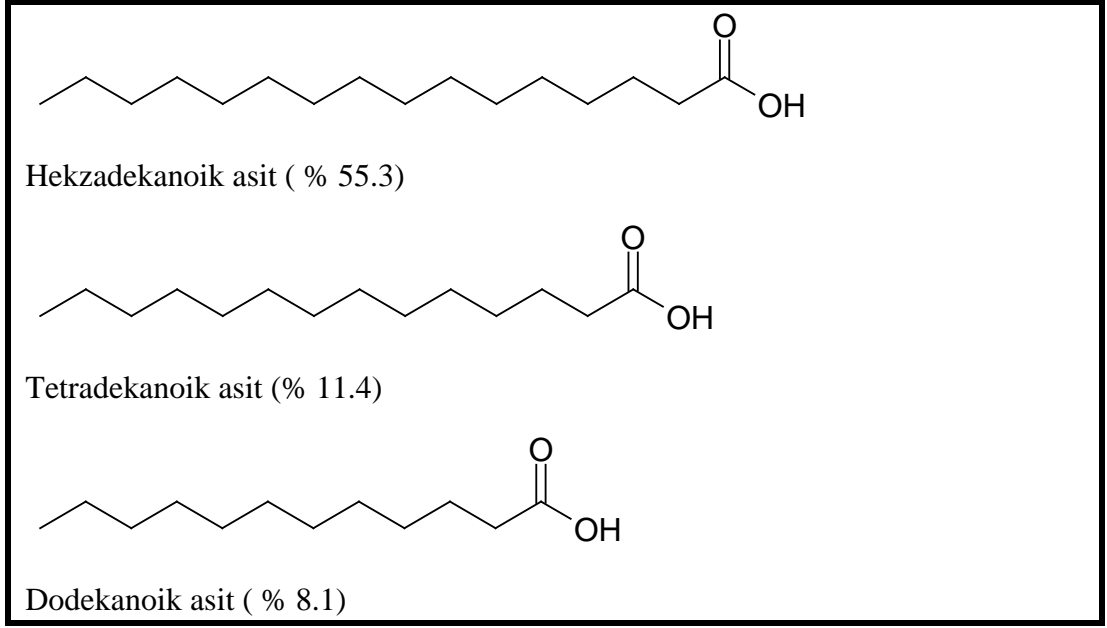


Şekil 32. *Sambucus nigra* Meyve Uçucu Yağının GC Kromatogramı

Çizelge 12. *Sambucus nigra* Meyve Uçucu Yağının Bileşimi

| RRI | Bileşik | % |
|-------------|---|-------------|
| 1610 | Kalaren | 0.5 |
| 1700 | Heptadekan | 0.5 |
| 1800 | Oktadekan | 0.3 |
| 1838 | (<i>E</i>)- β -Damassenon | 0.7 |
| 1900 | Nonadekan | 0.4 |
| 2056 | Etil tetradekanoat (etil miristat) | 0.4 |
| 2131 | Hekzahidrofarnesil aseton | 2.9 |
| 2226 | Metil hegzadekanoat (metil palmitat) | 1.4 |
| 2262 | Etil hegzadekanoat (etil palmitat) | 2.8 |
| 2400 | Undekanoik asit | 0.6 |
| 2503 | Dodekanoik asit | 8.1 |
| 2509 | Metil linoleat | 1.3 |
| 2538 | Etil linoleat | 3.3 |
| 2583 | Metil linolenat | 0.7 |
| 2613 | Etil linolenat | 2.3 |
| 2622 | Fitol | 3.2 |
| 2670 | Tetradekanoik asit (miristik asit) | 11.4 |
| 2931 | Hekzadekanoik asit | 55.3 |
| | Toplam | 96.1 |

RRI: Relatif tutunma zamanı indisi *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır; % FID verilerine göre hesaplanmıştır; e: Eser miktar (< % 0,1).

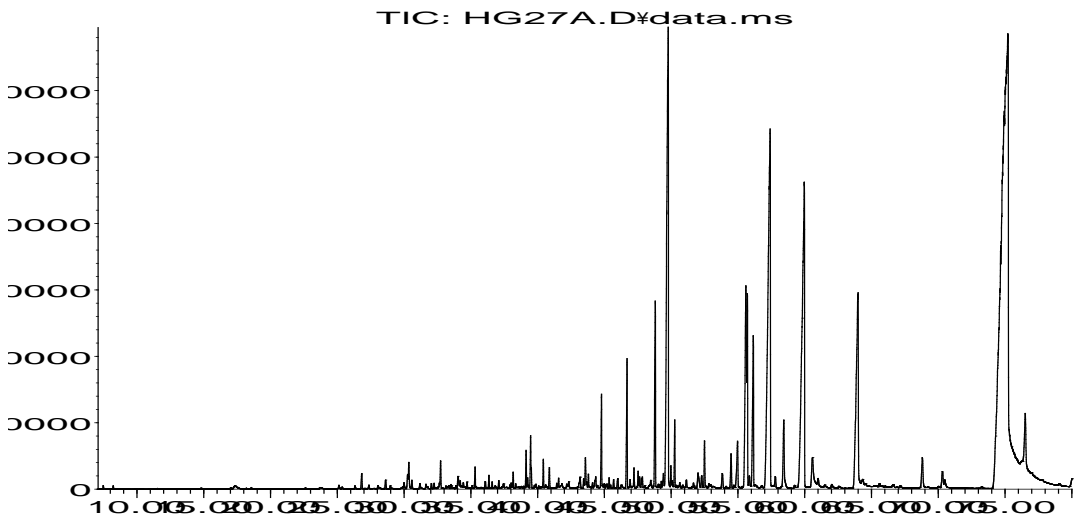


Şekil 33. Uçucu Yağda Tanımlanan Başlıca Bileşikler

Meyvelerden glikozidik bağlı uçucu bileşiklerin eldesi ve GC ve GC/MS analizi

Meyveler havanda kaba toz edildikten sonra sulu ortamda β -glikozidaz enzimi ile 37°C'de 48 saat boyunca su banyosunda inkübasyona bırakılarak glikozidik bağlı uçucu bileşiklerin hidrolizi gerçekleştirildi. İnkübasyon sonunda karışım, 3 saat boyunca su distilasyonuna tabi tutuldu. Distilasyon sonrası elde edilen heksanlı örnekte eş zamanlı olarak GC ve GC/MS analizleri gerçekleştirildi.

Analiz sonucunda örnekte % 74.8'ine karşılık gelen 62 tane uçucu bileşen kaydedildi (Çizelge 13). Hexadecanoik asit (% 36.1), etil linoleat (% 11.6) ve etil heksadecanoat (% 10) major bileşikler olarak belirlendi.



Şekil 34. *Sambucus nigra* Meyvelerinin Hidroliz Sonrası GC Kromatogramı

Çizelge 13. Sambucus nigra Meyvelerinin Hidroliz Sonrası Uçucu Bileşikleri

| RRI | Bileşik | % |
|------------|--|-------------|
| 1000 | Dekan | e |
| 1212 | İzoamil alkol | 0.8 |
| 1398 | 2-Nonanon | e |
| 1443 | Dimetil tetradekan* | 0.3 |
| 1478 | Furfural | 0.1 |
| 1500 | Pentadekan | 0.1 |
| 1535 | Dihidroedulan 1 | e |
| 1542 | Vitispiran | 0.2 |
| 1553 | Epi-vitispiran | 0.4 |
| 1553 | Linalol | e |
| 1600 | Hekzadekan | e |
| 1616 | Hotrienol | e |
| 1647 | Etil dekanoat | e |
| 1663 | Fenilasetaldehit | 0.2 |
| 1668 | (Z)- β - Farnesen | e |
| 1700 | Heptadekan | 0.3 |
| 1741 | β -Bisabolen | 0.2 |
| 1766 | 1-Dekanol | e |
| 1798 | Metil salisilat | e |
| 1800 | Oktadekan | 0.3 |
| 1815 | Metil dodekanoat | e |
| 1838 | (E)- β -Damassenon | 0.4 |
| 1853 | Etil dodekanoat | 0.6 |
| 1857 | Geraniol | e |
| 1868 | (E)-Geranil aseton | e |
| 1900 | Nonadekan | 0.3 |
| 1941 | α -karakoren | e |
| 1992 | Neofitadien | 0.2 |
| 2022 | Metil tetradekanoat | 0.2 |
| 2036 | 2-Pentadekanon | 0.2 |
| 2041 | Pentadekanal | e |
| 2050 | (E)-Nerolidol | e |
| 2056 | Etil tetradekanoat | 1.0 |
| 2048 | Oktanoik asit | e |
| 2100 | Hereikosan | 0.2 |
| 2131 | Hekzahidrofarnesil aseton | 1.7 |
| 2157 | Etil pentadekanoat | 0.1 |
| 2174 | Fokienol | 0.2 |
| 2179 | 3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)- Furanon | 0.3 |
| 2226 | Metil hekzadekanoat | 1.7 |
| 2255 | Metil palmitoaleat | e |
| 2260 | Etil hekzadekanoat | 10.0 |
| 2298 | Dekanoik asit | 0.6 |
| 2300 | Trikosan | e |
| 2369 | (2E,6E)-Farnesol | e |

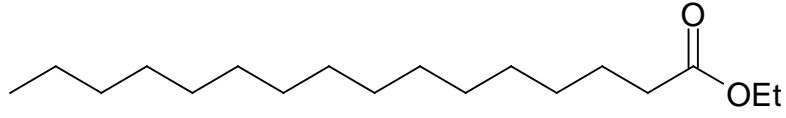
Çizelge 13 (devamı). *Sambucus nigra* Meyvelerinin Hidroliz Sonrası Uçucu Bileşikleri

| RRI | Bileşik | % |
|------------|---------------------------|-------------|
| 2400 | Undekanoik asit | 0.6 |
| 2431 | Metil oktadekanoat | 0.3 |
| 2456 | Metil oleat | 0.3 |
| 2458 | Metil elaidat | e |
| 2478 | Etil oktadekanoat | 0.8 |
| 2503 | Dodekanoik asit | 2.0 |
| 2504 | Etil oleat | 2.4 |
| 2509 | Etil elaidat | e |
| 2509 | Metil linoleat | 1.4 |
| 2538 | Etil linoleat | 12.4 |
| 2583 | Metil linolenat | 1.4 |
| 2613 | Etil linolenat | 11.6 |
| 2622 | Fitol | 1.8 |
| 2670 | Tetradekanoik asit | 4.0 |
| 2822 | Pentadekanoik asit | 0.1 |
| 2931 | Hekzadekanoik asit | 36.1 |
| 2983 | Palmitoleik asit | 0.9 |
| | TOPLAM | 74.8 |

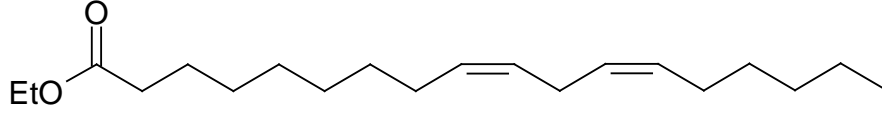
*Sadece kütle spektrumu benzerliğinden tanımlanmıştır.

RRI: Relatif tutunma zamanı indisi *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır; % FID verilerine göre hesaplanmıştır; e: Eser miktar (< % 0,1).

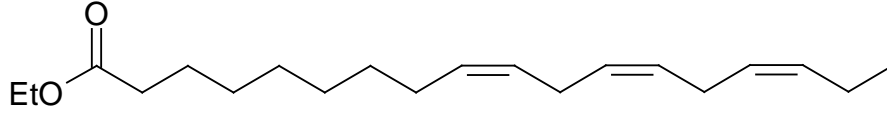
Meyvelerin su distilasyonu ile elde edilen uçucu bileşikleri ile enzimatik hidroliz sonrası örneğin su distilasyonu ile elde edilen glikozidik bağlı uçucu bileşiklerinin Gaz kromatografisi analizi sonrası kromatogramları karşılaştırıldığındaβ - glikozidaz enziminin glikozidik bağları kopararak uçucu bileşiklerin serbest hale geçmesini sağladığı ayrıca örnekte koku karakteristiğinin de değişmesine neden olduğu görülmektedir.



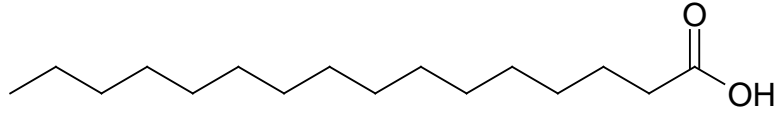
Etil hegzadekanoat (% 10.0)



Etil linoleat (% 12.4)



Etil linolenat (% 11.6)



Hekzadekanoik asit (% 36.1)

Şekil 35. Hidroliz Sonrası Elde Edilen Örnekte Tanımlanan Başlıca Bileşikler

SONUÇ VE ÖNERİLER

Sambucus nigra meyvelerinden hazırlanan ürünlerin özellikle antioksidan etkilerinin yüksek olması nedeniyle Avrupa’da yaygın kullanımı bulunmaktadır. Ayrıca meyvelerden hazırlanan tıbbi çay soğuk algınlığı ve grip gibi hastalıklardan korunmak amacıyla sıklıkla tüketilmektedir. Son yıllarda dünya çapında salgın haline gelen başta domuz gribi, kuş gribi gibi virüs kaynaklı hastalıkların insanlarda da görülme insidansının artması bu tür hastalıklarda mücadelede yeni antiviral etkili maddelerin bulunması yönündeki çalışmaları arttırmıştır. Bu alanda, *Sambucus nigra* meyvelerinin insan ve hayvanlarda görülen virüs kaynaklı hastalıklardan korunmada hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalar ile etkili olduğunun bulunması, bu meyve üzerinde yapılan çalışmaların artmasına neden olmuştur. Özellikle antosiyaninlerce zengin oluşu ve bu madde grubunun da çeşitli biyolojik etkilerinin belirlenmesi dolayısıyla meyvelerdeki antosiyaninlerin teşhisi ve miktar tayinleri ile ilgili çalışmalar da literatürde karşımıza çıkmaktadır.

Tez kapsamında *Sambucus nigra* meyvelerinden hazırlanan çeşitli ekstrelerde toplam fenol ve toplam monomerik antosiyanin miktar tayini yapılmıştır. Ekstrelerde siyanidin-3-glikozit varlığı HPTLC yöntemi kullanılarak belirlenmiş, ardından HPLC yöntemi ile siyanidin-3-glikozit miktar tayini yapılmıştır. Böylece antosiyaninlerce zengin ekstrenin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmalara paralel olarak meyvelerin aroma bileşikleri eş zamanlı olarak GC ve GC/MS analizleri yapılarak belirlenmiştir. Bu kapsamda, *S. nigra* meyvelerinin aromatik bileşikleri mikrodistilasyon yöntemi kullanılarak veβ -glikozidaz enzim hidrolizi yapılarak glikozidik bağlı uçucu bileşiklerin eldesi ve teşhisi gerçekleştirilmiştir. Çekirdeklerden Soxhlet apareyinde hekzan ile sabit yağ elde edilmiş ve yağın bileşiminin belirlenmesi için yağ asitlerinin metil esterleri oluşturularak GC ve GC/MS analizleri yapılmıştır.

Sambucus nigra’nın olgun ve kuru meyvelerinden su, %70 etanol, %70 aseton, etanol, metanol ve asitlendirilmiş metanol ekstreleri hazırlanmış, ayrıca halkın kullanımına uygun olarak meyve çayı hazırlanarak liyofilize edilmiştir. Ekstre verimleri asitlendirilmiş metanol> %70 etanol> metanol> %70 aseton> etanol> su> meyve çayı şeklinde sıralanmaktadır. Ekstrelerdeki toplam fenol miktarlarını 100 g ekstredeki mg miktar olarak karşılaştırıldığında ise su bazlı ekstrelerde toplam fenol miktarlarının daha yüksek olduğu görülmekte ve sıralama şu şekilde olmaktadır: su> % 70 aseton> %70 etanol> meyve çayı> asitlendirilmiş metanol> metanol>etanol.

Toplam monomerik antosiyanin miktarları pH diferansiyel metoduna göre ve siyanidin-3-glikozite eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Monomerik antosiyanin

miktarları ise %70 etanol> su> meyve çayı> %70 aseton> asitlendirilmiş metanol > etanol > metanol ekstreleri şeklinde sıralanmaktadır. Türkiye’de Yenen ve Özgen (1997) *Sambucus nigra* meyvelerinde toplam antosiyanin miktarını, Fuleki ve Francis (1968) tarafından geliştirilen pH diferansiyel metoduna göre hesaplamışlardır. Deneyde kullanılan yöntem incelendiğinde pH 4.5 tampon çözeltisinin hazırlanışında etanol kullanılarak spektrofotometrik ölçüm sırasında etanol kör olarak kullanılmıştır. Ayrıca absorbands ölçümleri 535 nm’de yapılmıştır. Tez kapsamında ise toplam antosiyanin miktarı Giusti ve Wrolsdal (2000) önerdiği yönteme göre uygulanmıştır. Deneyde hazırlanan tampon çözeltiler su bazlı olup, deneyde kör olarak su kullanılarak 510 nm’de çalışılmıştır. Deney sonunda monomerik antosiyanin bakımından en zengin, % 70 etanol ekstresinde 10 g ekstrede 106.7 mg olarak belirlenmiştir. Yenen ve Özgen ise deney sonunda 10 g ekstrede 155 mg toplam antosiyanin miktarını belirlemişlerdir. Yenen ve Özgen çalışmalarında, asitlendirilmiş etanol ekstraksiyonunu soğuk ortamda yaptıkları ve 1 gece beklettiklerini belirtmişlerdir, tez kapsamında ise % 70 etanol ekstresi oda sıcaklığında 5 gün boyunca maserasyona bırakılmıştır. Ekstraksiyonun soğuk ve asidik ortamda yapılmasının antosiyaninlerin daha stabil formda kalmalarını sağlamış olabileceği düşünülmektedir. Tez kapsamında hazırlanan asitlendirilmiş metanol ekstresinde ise hesaplanan toplam antosiyanin miktarları da 10 g ekstrede 60 mg olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, antosiyaninlerin ekstraksiyonunda ortamın pH’sı ile sıcaklığının etkisini ortaya koymaktadır. Antosiyaninler kuvvetli asidik pH’larda (pH 2’nin altında) flavilyum katyonu halinde stabil kaldıkları, bu nedenle de asitlendirilmiş alkol ekstralarında daha yüksek verimle elde edilmiştir. Ekstraksiyonun soğuk ortamda yapılması da ekstraksiyon verimini artırdığı düşünülmektedir.

Sambucus nigra meyve ekstrelerindeki siyanidin-3-glikozit miktarları HPLC analizi ile belirlenmiş olup, dedektör olarak UV-spektrofotometre tercih edilmiştir. Siyanidin-3-glikozit için 520 nm dalga boyunda UV ışık kaynağı kullanılmıştır. Ekstreler analiz öncesi asidik ortamda çözülmüştür. Siyanidin-3-glikoziti eksternal standart olarak kullanılmış, çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltisine göre kalibrasyon denklemi hesaplanmış ve ekstrelerdeki siyanidin-3-glikozit miktarları bu denkleme göre bulunmuştur. 100g ekstredeki mg cinsinden siyanidin-3-glikozit sonuçları değerlendirildiğinde %70 etanol> meyve çayı> %70 aseton> su> asitlendirilmiş metanol>metanol ve etanol şeklinde sıralanmaktadır. Monomerik antosiyanin ve siyanidin-3-glikozit miktarları açısından % 70 etanol ekstresinin diğerlerine oranla daha zengin olduğu belirlenmiştir.

Çekirdeklerin yağ asidi bileşimi incelendiğinde, çekirdek yağının linoleik asit (% 42.3) ve linolenik asit (% 38) bakımından zengin olduğu, ayrıca eser miktar da olsa araşidik asit içerdiği yapılan analizde belirlenmiştir. Tanımlanan yağ

asitlerinden % 91.3'lük kısmın doymamış yağ asitleri olduğu; % 7.7'ye karşılık gelen kısmın ise doymuş yağ asitleri olduğu görülmektedir. Linoleik asit doğada bol bulunan en önemli besleyici temel yağ asiti olup polietilenik yağ asitleri sınıfına girmektedir. Keten (% 35) ve kenevir (% 45-50) tohumlarında bulunmaktadır. Linoleik asit bitkisel yağların karakteristik kokusunu bozar, bu nedenle kısmi hidrojenasyon ile oranının azaltılması tavsiye edilmektedir. Mürver çekirdek yağında bu oran, keten tohumuna kıyasla daha yüksektir. Linolenik asit ise birçok doymamış bitkisel yağda ana bileşen olarak yaygındır. Linolenik asit miktarının % 35'e yaklaşması yağın yenilebilir durumda olduğunu göstermektedir. Linolenik asit kanola yağı (% 8.8) ve soya yağında (% 7.8) oranlarında bulunmaktadır. Bu açıdan mürver çekirdeği yağı linolenik asitçe zengindir ayrıca yağın gıda olarak yenilebilir olduğunu göstermektedir. Mürver çekirdek yağında oleik asit miktarı da % 10'dan fazla bulunmuştur. Oleik asit tüm yağ asitlerinde çok yaygın olup hem bitkisel hem de hayvansal yağlarda bulunmaktadır. Yüksek oranda oleik aside sahip yağların iyi bir aromaya sahip olduğu kabul edilmektedir. %1'den az oranda belirlenen elaidik asit ise oleik asidin *trans* izomeridir. Doğada nadir bulunan 11-eikosenoik asit, çekirdekte eser miktarda tanımlanan doymamış yağ asitidir. Çekirdek yağında doymuş yağ asitlerine de rastlanmaktadır. % 6.2 oranında hegzadekanoik asit (palmitik asit) belirlenmiştir. Hekzadekanoik asit en yaygın doymuş yağ asiti olup tüm hayvan, bitki ve deniz hayvanlarının yağlarında en az % 5 oranında bulunmaktadır. Stearik asit (oktadekanoik asit) ise % 1.4 oranında tanımlanmıştır. Stearik asit de bitkisel yağlarda % 1-5 oranında yaygın olarak bulunmakta ayrıca hayvansal yağların bileşiminde de yer almaktadır. Eser miktarda belirlenen heptadekanoik asit ise hayvansal yağlarda bulunan doymuş yağ asitlerindedir. Yüksek karbonlu yağ asitlerinden araşidik asit, behenik asit ve lignoserik yağ asitleri de çekirdek yağında % 1 ve daha az oranda bulunan diğer önemli yağ asitleridir (Bailey, 1996; Sarıçoban, 2001). Meyve suyu hazırlanması işlemlerinde çekirdeklerin atılması yerine, yağ asiti kaynağı olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir.

Sambucus nigra meyvelerinden elde edilen ürünlerin kalitesinin kıyaslanmasında antosiyanin içerikleri kadar, aroma bileşikleri önem taşımaktadır. Özellikle meyve suyu, meyve çayı, şarap ve diğer gıda ürünlerinde hem renk kalitesinin hem de aroma kalitesinin belirlenmesi önemlidir. Bu nedenle tez çalışması kapsamında meyvelerin uçucu bileşikleri elde edilerek gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi analizler ile belirlenmiştir.

Mikrodistilasyon ile elde edilen örnekte toplam % 86.1'e karşılık gelen 34 bileşik tanımlanmıştır. Örnekte aldehit yapısındaki iki bileşen ana bileşik olarak belirlenmiştir: Fenilasetaldehit (% 32.8) ve benzaldehit (% 7.9). Örnekte ayrıca linalol (terpen), 4-vinil gayakol (fenolik aromatik bileşik), etil linoleat (yağ asiti esteri) bileşikleri de % 5'den yüksek oranda bulunmaktadır. Örneğin aldehit,

keton, alkol, ester, terpen ve yağ asidi yapısında bileşiklerce zengin olduğu görülmektedir.

Meyvelerden su distilasyonu ile hazırlanan örnek ise daha çok yağ asitlerince zengin olup ana bileşikleri hegzadekanoik asit (% 55.3) ile tetradekanoik asit (% 11.4) olarak belirlenmiştir. Ayrıca dodekanoik asit (8.1%) de yüksek oranda bulunmaktadır. Uçucu yağın bileşiminin daha çok yağ asiti ve esterlerince zengin olduğu görülse de (*E*)- β -damassenon ve fitol gibi terpenik bileşikler de tanımlanmıştır. Meyvelerde enzimatik hidroliz sonrası gerçekleştirilen su distilasyonunda ise, örnekte hegzadekanoik asit (% 36.1), etil linoleat (% 11.6) ve etil hegzadekanoat (% 10) olarak belirlenmiştir. Hidroliz edilen örnekte 62 bileşik tanımlanırken; hidroliz edilmeyen örnekte 18 uçucu bileşik tanımlanmıştır. Bu bulgular ise, bitkinin özellikle yağ asitlerince ve yağ asidi esterlerince zengin olduğu göstermektedir. Ayrıca distilasyon sonrası yapılan analizlerde (*E*)- β -damassenon, hotrienol, dihidroedulan gibi terpenik bileşikler de tanımlanmıştır.

Meyvelerden mikrodistilasyon, su distilasyonu ve hidroliz sonrası su distilasyonu ile elde edilen örneklerde (*E*)- β -damassenon, metil hegzadekanoat, metil linoleat, etil linoleat, metil linolenat, etil linolenat ve hegzadekanoik asit ortak bileşikler olarak tanımlanmıştır. Meyvelerin uçucu bileşikleri kompozisyonu incelendiğinde, yağ asitleri, yağ asidi esterleri, aldehit, alkol ve terpenik yapıda bileşiklerce zengin olduğu görülmektedir. Bu bilgiler literatür bilgileri ile de uyumludur (Jensen ve ark., 2000; Kaack ve ark., 2005; Christensen ve ark., 2007; Kaack, 2008).

Ayrıca meyvedeki uçucu bileşiklerin, glikozidik bağlanarak uçucu özelliklerini kaybettikleri, suda çözünür formda, kokusuz halde depolandıkları ve meyvede aroma prekürsörü olarak kullanıldıkları düşünülmektedir. Glikozidik bağlı uçucu bileşikler aroma kaynağı olarak gıda ve parfüm sanayisi açısından önem taşımaktadır (Ly ve ark., 2002; Maric ve ark., 2007; Radonic ve Mastelic., 2008).

Yapılan çalışmalar sonucu *Sambucus nigra* meyvelerinin antosiyanin kaynağı olarak kullanılabilceği, ayrıca aroma bakımında da zengin olduğu görülmektedir. Meyveler üzerinde kimyasal çalışmaların yapılması, ileride yapılması planlanan antiviral etki başta olmak üzere çeşitli biyolojik aktivite çalışmaları için zemin hazırlamaktadır. Bu bilgiler doğrultusunda yapılacak olan aktivite çalışmalarında biyolojik aktivitelerin belirlenmesi durumunda etkili bileşiklerin izolasyonuna katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abuja, P.M., Murkovic, M., Pfannhauser, W., Antioxidant and Prooxidant Activities of Elderberry (*Sambucus nigra*) Extract in Low-Density Lipoprotein Oxidation, *J. Agric. Food Chem.*, 46, 4091-4096 (1998).

Adams, R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy, Allured Publishing Corporation, 362 South Schmale Road, Carol Stream, Illinois, USA, syf 455 (2001).

Andersen, Ø.M., Chromatographic Separation of Anthocyanins in Cowberry (Lingonberry) *Vaccinium vitis-idaea* L., *J. Food Sci.*, 50, 1230-1232 (1985).

Andersen, Ø.M., Markham, K.R., Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications, CRC Press, Boca Raton, syf 5 (2006).

Andlauer, W., Stumpf, C., Frank, K., Fürst, P., Absorption and metabolism of anthocyanin cyanidin-3-glucoside in the isolated rat small intestine is not influenced by ethanol, *Eur. J. Nutr.*, 42, 217–223 (2003).

Atkinson, M.D., Atkinson, E., *Sambucus nigra* L., *J. Ecol.*, 90(5), 895-923 (2002).

Baghci, D., Roy, S., Patel, V., He, G., Khanna, S., Ojha, N., Phillips, C., Ghosh, S., Baghci, M., Sen, C.K., Safety and whole-body antioxidant potential of a novel anthocyanin-rich formulation of edible berries, *Mol. Cell. Biochem.*, 281, 197–209 (2006).

Baghci, D., Sen, C.K., Baghci, M., Atalay, E., Anti-angiogenic, Antioxidant, and Anti-carcinogenic Properties of a Novel Anthocyanin-Rich Berry Extract Formula, *Biochem. (Moscow)*, 69(1), 75-80 (2004).

Bailey, A., E., Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 5th Ed., Ed. (Y.H. Hui), Wiley, New York, 16-43 (1996).

Barak, V., Birkenfeld, S., Halperin, T., and Kalickman, I., The Effect of Herbal Remedies on the Production of Human Inflammatory and Anti-inflammatory Cytokines, *IMAJ*, 4 (Suppl.), 919-922 (2002).

Barak, V., Halperin, T., Kalickman, I., The Effect of Sambucol, a black elderberry-based, natural product, on the production of human cytokines: 1. Inflammatory cytokines, *Eur. Cytokine Netw.*, 12(2), 290-296 (2001).

Bell, D.R., Gochenaur, K., Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts, *J. Appl. Physiol.*, 100, 1164–1170 (2006).

Bergner, P., Antiviral Botanicals in Herbal Medicine, *Medical Herbalism*, 14(3), 1-12 (2005).

- Bermudez-Soto, M.J., Thomas-Barberan F.A., Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices, *Eur. Food Res. Technol.*, 219, 133–141 (2004).
- Bitsch, R., Netzel, M., Sonntag, S., Strass, G., Frank, T., Bitsch I., Urinary Excretion of Cyanidin Glucosides and Glucuronides in Healthy Humans After Elderberry Juice Ingestion, *J. Biomed. Biotechnol.*, 2004(5), 343–345 (2004).
- Bobek P., Nosámová V., and Èern S., Influence of diet containing extract of black elder (*Sambucus nigra*) on colitis in rats, *Biologia, Bratislava*, 56(6), 643-648 (2001).
- Bratu, M.M., Guiu, L., Samarineanu, M., Gaidargiu, I., Porta, S., Fruit Extract of *Sambucus nigra* L. (Caprifoliaceae) leads to co–stimulation of the Immune System, *Ovidius University Annals of Medical Science – Pharmacy*, 1(1), 35 (2003).
- Bridle, P., Timberlake, C.F., Anthocyanins as natural food colours-selected aspects, *Food Chem.*, 58(1-2), 103-109 (1997).
- Bridle, P., Garcia-Viguera, C., Analysis of anthocyanins in strawberries and elderberries. A comparison of capillary zone electrophoresis and HPLC, *Food Chem.*, 59(2), 299-304 (1997).
- British Pharmacopoeia, British Pharmacopoeia Commission, Stationary Office, London, Vol I, 522-523 (1998).
- British Pharmacopoeia, British Pharmacopoeia Commission, Stationary Office, London, Vol. III, 6950-6952 (2009).
- Bronnum-Hansen, K., Flink, J.M., Anthocyanin colourants from elderberry (*Sambucus nigra* L.). 2. Process considerations for production of a freeze dried product, *J. Food Technol.*, 20, 713-723 (1985).
- Bulut, Y., Manavgat (Antalya) Yöresinin Faydalı Bitkileri, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Türkiye (2006).
- Burge, B., Mumcuoglu, M., and Simmons, T., The effect of Sambucol on flu-like symptoms in chimpanzees: Prophylactic and symptom-dependent treatment, *International Zoo News*, 46 (1), 16-19 (1999).
- Cao, G., and Prior, R.L., Anthocyanin are detected in human plasma after oral administration of an elderberry extract, *Clin. Chem.*, 45, 574-576 (1999).
- Cao, G., Muccitelli, H.U., Sanchez-Moreno, C., Prior, R.L., Anthocyanins are absorbed in glycosylated forms in elderly women: a pharmacokinetic study¹⁻⁴, *Am. J. Clin. Nutr.*, 73, 920–926 (2001).
- Cejpek K., Maloušková I., Konečný M., and Velíšek J., Antioxidant Activity in Various Prepared Elderberry Foods and Supplements, *Czech J. Food Sci.*, 27, 12-28 (2009).

- Chandra, A., Rana, J., Li, Y., Separation, Identification, Quantification, and Method Validation of Anthocyanins in Botanical Supplement Raw Materials by HPLC and HPLC-MS, *J. Agric. Food Chem.*, 49, 3515-3521 (2001).
- Charlebois, D., Elderberry as a medicinal plant. Issues in new crops and new uses, J. Janik and A. Whipkey (Eds.). ASHS Press, Alexandria, VA., 284-292 (2007).
- Chatterjee, A., Yasmin, T., Bagchi, D., and Stohs, S. J., Inhibition of *Helicobacter pylori* *in vitro* by various berry extracts, with enhanced susceptibility to clarithromycin, *Mol. Cell. Biochem.*, 265, 19–26 (2004).
- Chen, Y., Vandenbussche, F., Rouge, P., Proost, P., Peumans, W.J., Van Damme, E.J.M., A complex fruit-specific type-2 ribosome-inactivating protein from elderberry (*Sambucus nigra*) is correctly processed and assembled in transgenic tobacco plants, *Eur. J. Biochem.*, 269, 2897–2906 (2002).
- Cheng K., Wu Q., Zheng P. Z., Peng X., Simon J. E., Chen F., Wang M., Inhibitory Effect of Fruit Extracts on the Formation of Heterocyclic Amines, *J. Agric. Food Chem.*, 55, 10359–10365 (2007).
- Christensen, L.P., Edelenbos, M., Kreutzmann, S., Fruits and Vegetables of Moderate Climate: In Flavours and Fragrance-Chemistry, Bioprocessing and Sustainability, R.B. Berger (Ed.), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, 164-165 (2007).
- Chrubasik, C., Maier, T., Dawid, C., Torda, T., Schieber, A., Hofmann, T., Chrubasik, S., An Observational Study and Quantification of the Actives in a Supplement with *Sambucus nigra* and *Asparagus officinalis* used for Weight Reduction, *Phytother. Res.*, 22, 913–918 (2008).
- Citores, L., De Benito, F.M., Iglesias, R., Ferreras, J.M., Jimenez, P., Argüeso, P., Farias, G., Mendez, E., Girbes, T., Isolation and characterization of a new non-toxic two-chain ribosome-inactivating protein from fruits of elder (*Sambucus nigra* L.), *J. Exp. Bot.*, 47(303), 1577-1585 (1996).
- Citores, L., Ferreras, J.M., Munoz, R., Benitez, J., Jimenez, P., Girbes, T., Targeting cancer cells with transferrin conjugates containing the non-toxic type 2 ribosome-inactivating proteins nigrin b or ebulin I, *Cancer Lett.*, 184, 29–35 (2002).
- Davis, P.H., Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol 4, Edinburgh, University Press, 541-543 (1972).
- Dawidowicz, A.L., Wianowska, D., Baraniak, B., The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra* L. (antioxidant properties of extracts), *LWT*, 39, 308–315 (2006).
- De Benito, F.M., Iglesia, R., Ferreras, J.M., Citores, L., Camafeita, E., Mendez, E., Girbes, T., Constitutive and inducible type 1 ribosome-inactivating proteins (RIPs) in elderberry (*Sambucus nigra* L.), *FEBS Lett.*, 428, 75-79 (1998).

- Dong, H., Lin, W., Wu, J., Chen, T., Flavonoids activate pregnane \times receptor-mediated CYP3A4 gene expression by inhibiting cyclin-dependent kinases in HepG2 liver carcinoma cells, *BMC Biochem.*, 11(23), 1-9 (2010).
- Einbond, L.S., Reynertson, K.A., Luo, X., Basile M.J., Kennelly, E.J., Anthocyanin antioxidants from edible fruits, *Food Chem.*, 84, 23–28 (2004).
- Espin J.C., Soler-Rivas, C., Wichers, H.J., Garcia-Viguera, C., Anthocyanin-Based Natural Colorants: A New Source of Antiradical Activity for Foodstuff, *J. Agric. Food Chem.*, 48, 1588-1592 (2000).
- European Pharmacopoeia, Council of Europe, 2004, 5th Ed. Strasbourg, 1, 217 (2005).
- European Pharmacopoeia, Council of Europe, 6th Ed., Strasbourg, 2, 1776-1777 (2008).
- Förster-Waldl, E., Marchetti, M., Schöll, I., Focke, M., Radauer, C., Kinaciyan, T., Nentwich, I., Jager, S., Schmit, E.R., Boltz-Nitulescu, G., Scheiner, O., Jensen-Jarolim, E., Type I allergy to elderberry (*Sambucus nigra*) is elicited by a 33.2 kDa allergen with significant homology to ribosomal inactivating proteins, *Clin. Exp. Allergy*, 33, 1703–1710 (2003).
- Frank J., Kamal-Eldin A., Lundh T., Maatta K., Törrönen R., Vessby B., Effects of Dietary Anthocyanins on Tocopherols and Lipids in Rats, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 7226-7230 (2002).
- Fuleki, T., Francis, F.J., Quantitative Methods for anthocyanins 2. Determination of total anthocyanins and degradation index for cranberry juice, *J. Food Sci.*, 33, 78-83 (1968).
- Galli, R.L., Shukitt-Hale, B., Youdim, K.A., Joseph, J.A., Fruit Polyphenolics and Brain Aging- Nutritional Interventions Targeting Age-related Neuronal and Behavioral Deficits, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 959, 128–132 (2002).
- Genç, G.E., ve Özhatay, N., An Ethnobotanical Study in Çatalca (European Part of İstanbul) II, *Turkish J. Pharm. Sci.*, 3 (2), 73-89 (2006).
- Giusti, M.M., Wrolstad, R.E., Anthocyanins: Characterization and Measurement with UV–visible Spectroscopy, In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry.*, In: Wrolstad, R.E. (Ed.), John Wiley & Sons, New York, NY, Unit F1.2., 1-13 (2000).
- Ghosh, D., Konishi, T., Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function, *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 16(2), 200-208 (2007).
- Goto, T., Kondo, T., Structure and Molecular Stacking of Anthocyanins- Flower Color Variation, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 30, 17-33 (1991).
- Gould, K.S., Nature's Swiss Army Knife: The Diverse Protective Roles of Anthocyanins in Leaves, *J. Biomed. Biotechnol.*, 2004(5), 314–320 (2004).

Gürhan, G., ve Ezer, N., Halk Arasında Hemoroit Tedavisinde Kullanılan Bitkiler-I, Hacettepe Üni. Ecz. Fak. Dergisi, 24(1), 37-55 (2004).

Haas H., Falcone, F.H., Schramm, G., Haisch, K., Gibbs B.F., Klaucke, J., Pöppelmann, M., Becker, W., Gabius, H., Schlaak, M., Dietary lectins can induce *in vitro* release of IL-4 and IL-13 from human basophils, Eur. J. Immunol., 29, 918–927 (1999).

Hamalainen, M., Nieminen, R., Vuorela, P., Heinonen, M., Moilanen E., Anti-Inflammatory Effects of Flavonoids: Genistein, Kaempferol, Quercetin, and Daidzein Inhibit STAT-1 and NF- κ B Activations, Whereas Flavone, Isorhamnetin, Naringenin, and Pelargonidin Inhibit only NF- κ B Activation along with Their Inhibitory Effect on iNOS Expression and NO Production in Activated Macrophages, Mediators Inflamm., 1, 1-10 (2007).

Harborne, J.B., Williams, C.A., Advances in flavonoid research since 1992, Phytochem., 55, 481-504 (2000).

Havsteen, B.H., The biochemistry and medical significance of the flavonoids, Pharmacol. Ther., 96, 67– 202 (2002).

Horbowicz, M., Kosson, R., Grzesiuk, A., Debski, H., Anthocyanins of fruits and vegetables- their occurrence, analysis and role in human nutrition, Veget. Crops Res. Bull., 68, 5-22 (2008).

Hou, D.X., Fujii, M., Terahara, N., Yoshimoto, M., Molecular Mechanisms Behind the Chemopreventive Effects of Anthocyanidins, J. Biomed. Biotechnol., 2004(5), 321–325 (2004).

Inami, O., Tamura, I., Kikuzaki, H., Nakatani, N., Stability of Anthocyanins of *Sambucus canadensis* and *Sambucus nigra*, J. Agric. Food Chem., 44, 3090-3096 (1996).

Jakobek, L., Šeruga, M., Novak, I., Medvidovic-Kosanovic, M., Šeruga, B., DPPH radical inhibition kinetic and antiradical activity of polyphenols from chokeberry and elderberry fruits, Pomologia Croatica, 14(2), 101-118 (2008).

Jakovljevic, V., Popovic, M., Mimica-Duvij, N., and Sabo, J., Interaction of *Sambucus nigra* Flower and Berry Decoctions with the Actions of Centrally Acting Drugs in Rats, Pharm. Biol., 39(2), 142–145 (2001).

Jensen, K., Christensen, L.P., Hansen, M., Jorgensen, U., Kaack, K., Olfactory and quantitative analysis of volatiles in elderberry (*Sambucus nigra* L.) juice processed from seven cultivars, J. Sci. Food Agric., 81, 237-244 (2000).

Jing, P., Bomser, J.A., Schwartz, S.J., He, J., Magnuson, B.A., Giusti, M.M., Structure-Function Relationships of Anthocyanins from Various Anthocyanin-Rich Extracts on the Inhibition of Colon Cancer Cell Growth, J. Agric. Food Chem., 56, 9391–9398 (2008).

- Kaack K., Austed, T., Interaction of vitamin C and flavonoids in elderberry (*Sambucus nigra* L.) during juice processing, *Plant Foods Hum. Nutr.*, 52, 187–198 (1998).
- Kaack, K., Aroma composition and sensory quality of fruit juices processed from cultivars of elderberry (*Sambucus nigra* L.), *Eur. Food Res. Technol.*, 227, 45–56 (2008).
- Kaack, K., Christensen, L.P., Hughes, M., Eder, R., The relationship between sensory quality and volatile compounds in raw juice processed from elderberries (*Sambucus nigra* L.), *Eur. Food Res. Technol.*, 221, 244–254 (2005).
- Kahkonen, M.P., Heinonen, M., Antioxidant Activity of Anthocyanins and Their Aglycons, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 628-633 (2003).
- Kawasaki, M., Toyoda, M., Teshima, R., Sawada, J., Hayashi, T., Arisawa, M., Shimizu, M., Morita, N., Inoue, S., Saito, Y., *In vitro* antiallergic activity of flavonoids in histamine release assay using rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells, *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 35(5), 497-503 (1994).
- Koçyiğit, M., ve Özhatay, N., Wild Plants Used as Medicinal Purpose in Yalova (Northwest Turkey), *Turkish J. Pharm. Sci.*, 3 (2), 91-103 (2006).
- Koenig, W.A., Joulain, D., Hochmuth, D.H., Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils., *MassFinder 3.*, Hamburg, Germany (2004).
- Kong, F., Pilot Clinical Study on a Proprietary Elderberry Extract: Efficacy in Addressing Influenza Symptoms, *Online J. Pharm. Pharmacokin.*, 5, 32-43 (2009).
- Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F., Broulliard, R., Analysis and biological activities of anthocyanins, *Phytochem.*, 64, 923–933 (2003).
- Kültür, Ş., An Ethnobotanical Study of Kırklareli (Turkey), *Phytologica Balcanica*, 14(2), 279-289 (2008).
- Lee, J., Finn, C.E., Anthocyanins and other polyphenolics in American elderberry (*Sambucus canadensis*) and European elderberry (*S. nigra*) cultivars, *Sci. Food Agric.*, 87, 2665–2675 (2007).
- Lichtenthaler, R., Marx, F., Total Oxidant Scavenging Capacities of Common European Fruit and Vegetable Juices, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 103-110 (2005).
- Lila, M.A., Anthocyanins and Human Health: An *in vitro* Investigative Approach, *J. Biomed. Biotechnol.*, 2004(5), 306–313 (2004).
- Lohachoompol, V., Szrednicki, G., Craske, J., The Change of Total Anthocyanins in Blueberries and Their Antioxidant Effect After Drying and Freezing, *J. Biomed. Biotechnol.*, 2004(5), 248–252 (2004).
- Lugasi, A., Hovari J., Antioxidant properties of commercial alcoholic and nonalcoholic beverages, *Nahrung/Food*, 47(2), 79–86 (2003).

- Ly, T.N., Yamauchi, R., Shimoyamada, M., Kato, K., Isolation and Structural Elucidation of Some Glycosides from the Rhizomes of Smaller Galanga (*Alpinia officinarum* Hance), *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4919-4924 (2002).
- Lyu S.Y., Rhim, J.Y., Park, W.B., Antiherpetic Activities of Flavonoids against Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV-1) and Type 2 (HSV-2) *In Vitro*, *Arch. Pharm. Res. Vol.*, 28(11), 1293-1301 (2005).
- Mach, L., Scheref, W., Ammann, M., Poetsch, J., Bertsch, W., Marz, L., Glossl, J., Purification and partial characterization of a novel lectin from elder (*Sambucus nigra* L.) fruit, *Biochem. J.*, 278, 667-671 (1991).
- Manganelli, U.R.E., Zaccaro L., Tomei P.E., Antiviral activity *in vitro* of *Urtica dioica* L., *Parietaria diffusa* M. et K. and *Sambucus nigra* L., *J. Ethnopharmacol.*, 98, 323–327 (2005).
- Maric, S., Jukic, M., Katalinic, V., Milos, M., Comparison of Chemical Composition and Free Radical Scavenging Ability of Glycosidically Bound and Free Volatiles from Bosnian Pine (*Pinus heldreichii* Christ. var. *leucodermis*), *Molecules*, 12, 283-289 (2007).
- Mateus, N., Oliveira, J., Haettich-Motta, M., Freitas, V., New Family of Bluish Pyranoanthocyanins, *J. Biomed. Biotechnol.*, 2004(5), 299-305 (2004).
- Matsui, T., Ueda, T., Oki, T., Sugita, K., Terahara, N., Matsumoto, K., α -Glucosidase Inhibitory Action of Natural Acylated Anthocyanins. 1. Survey of Natural Pigments with Potent Inhibitory Activity, *J. Agric. Food Chem.*, 49, 1948-1951 (2001).
- McGhie, T.K., Ainge, G.D., Barnett, L.E., Cooney, J.M., Jensen, D.J., Anthocyanin Glycosides from Berry Fruit Are Absorbed and Excreted Unmetabolized by Both Humans and Rats, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 4539-4548 (2003).
- McLafferty, F.W., Stauffer, D.B., *The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data*, J. Wiley and Sons, New York (1989).
- Meiers, S., Kemeny, M., Weyand, U., Gastpar, R., Angerer E., Marko, D., The Anthocyanidins Cyanidin and Delphinidin Are Potent Inhibitors of the Epidermal Growth-Factor Receptor, *J. Agric. Food Chem.*, 49, 958-962 (2001).
- Milbury, P.E., Cao, G., Prior, R.L., Blumberg, J., Bioavailability of elderberry anthocyanins, *Mech. Ageing Dev.*, 123, 997–1006 (2002).
- Miyazawa, T., Nakagawa, K., Kudo, M., Muraishi, K., Someya, K., Direct Intestinal Absorption of Red Fruit Anthocyanins, Cyanidin-3-glucoside and Cyanidin-3,5-diglucoside, into Rats and Humans, *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1083-1091 (1999).
- Motohashi, N., Sakagami, H., Anthocyanins as Functional Food Colors, *Top Heterocycl. Chem.*, 16, 1–40 (2009).

- Murkovic, M., Abuja, P.M., Bergmann, A.R., Zirngast A., Adam, U., Winklhofer-Roob B.M., Toplak H., Effects of elderberry juice on fasting and postprandial serum lipids and low-density lipoprotein oxidation in healthy volunteers: a randomized, double-blind, placebo-controlled study, *Eur. J. Clin. Nutr.*, 58, 244–249 (2004).
- Murkovic, M., Adam, U., Pfannhauser, W., Analysis of anthocyan glycosides in human serum, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 366, 379–381 (2000).
- Mülleder, U., Murkovic, M., Pfannhauser, W., Urinary excretion of cyanidin glycosides, *J. Biochem. Biophys. Methods*, 53, 61–66 (2002).
- Nagai, T., Miyaichi, Y., Tomimori, T., Suzuki, Y., Yamada, H., Inhibition of Influenza Virus Sialidase and Anti-Influenza Virus Activity of Plant Flavonoids, *Chem. Pharm. Bull.*, 38(5), 1329-1332 (1990).
- Nagl, M., Eder, R., Wendelin, S., Reich, G., Sontag, G., Qualitative and quantitative analysis of phenolic constituents in elderberry juices, *Ernahrung/Nutrition*, 30(10), 409-415 (2006).
- Nakajima J., Tanaka I., Seo S., Yamazaki M., Saito K., LC/PDA/ESI-MS Profiling and Radical Scavenging Activity of Anthocyanins in Various Berries, *J. Biomed. Biotechnol.*, 2004(5), 241–247 (2004).
- Nijveldt, R.J., Nood, E., Hoorn D., Boelens, P.G., Norren, K., Leeuwen, P., Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications *Am. J. Clin. Nutr.*, 74, 418-425 (2001).
- Olsson, M.E., Gustavsson, K-E., Andersson, S., Nilsson, A., Duan, R-D., Inhibition of Cancer Cell Proliferation *in vitro* by Fruit and Berry Extracts and Correlations with Antioxidant Levels, *J. Agric. Food Chem.*, 52, 7264-7271 (2004).
- Peşin-Süntar, İ., Akkol-Küpelı, E., Yalçın, F.N., Koca, U., Keleş, H., Yeşilada, E., Wound healing potential of *Sambucus ebulus* L. leaves and isolation of an active component, quercetin 3-O-glucoside, *J. Ethnopharmacol.*, 129, 106–114 (2010).
- Pieatta, G.P., Flavonoids as Antioxidants, *J. Nat. Prod.*, 63, 1035-1042 (2000).
- Pool-Zobel, B.L., Bub, A., Schröder, N., Rechkemmer, G., Anthocyanins are potent antioxidants in model systems but do not reduce endogenous oxidative DNA damage in human colon cells, *Eur. J. Nutr.*, 38, 227–234 (1999).
- Radonic, A., Mastelic, J., Essential Oil and Glycosidically Bound Volatiles of *Thymus pulegioides* L. growing Wild in Croatia, *Croat. Chem. Acta*, 81(4) 599-606 (2008).
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L., Flavonoids: Promising anticancer agents, *Med. Res. Rev.*, 23(4), 519–534 (2003).
- Rieger, G., Müller, M., Guttenberger, H., Bucar, F., Influence of Altitudinal Variation on the Content of Phenolic Compounds in Wild Populations of *Calluna*

vulgaris, *Sambucus nigra*, and *Vaccinium myrtillus*, J. Agric. Food Chem., 56, 9080–9086 (2008).

Rocha, L.G., Almeida, J.R.G.S., Macedo, R.O., Barbosa-Filho, J.M., A review of natural products with antileishmanial activity, Phytomed., 12, 514–535 (2005).

Roschek B. Jr. , Fink R.C., McMichael M. D., Li D., Alberte R. S., Elderberry flavonoids bind to and prevent H1N1 infection *in vitro*, Phytochemistry, 70, 1255–1261 (2009).

Roxas, M., Jurenka, J., Colds and Influenza: A Review of Diagnosis and Conventional, Botanical, and Nutritional Considerations, Altern. Med. Rev., 12(1), 25-48 (2007).

Roy, S., Khanna, S., Alessio, H.M., Vider, J., Baghci, D., Baghci, M., Sen, C.K., Anti-angiogenic Property of Edible Berries, Free Radic. Res., 36(9), 1023–1031 (2002).

Sadilova, E., Carle, R., Stintzing, F.C., Thermal degradation of anthocyanins and its impact on color and *in vitro* antioxidant capacity, Mol. Nutr. Food Res., 51, 1461 – 1471 (2007).

Sarıçoban, Ş., *Ebenus* L. türlerinin tohum yağlarının yağlarının yağ asitlerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye, 2001.

Schwarz, M., Hillebrand, S., Habben, S., Degenhardt, A., Winterhalter, P., Application of high-speed countercurrent chromatography to the large-scale isolation of anthocyanins, Biochem. Eng. J., 14, 179–189 (2003).

Seabra, I.J., Braga, M.E.M., Batista, M.T.P., De Sousa, H.C., Fractioned high pressure extraction of anthocyanins from elderberry (*Sambucus nigra* L.) pomace, Food Bioprocess Technol., 3(5), 674-683 (2008).

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici E, Tohumlu Bitki Sistematiği, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 116, 4. baskı, İzmir, syf. 293 (1995).

Seeram, N.P., Momin, R.A., Nair, M.G., Bourquin, L.D., Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant cyanidin glycosides in cherries and berries, Phytomed., 8(5), 362-369 (2001).

Sezik, E., Yeşilada, E., Tabata, M., Honda, G., Takaishi, Y., Fujita, T., Tanaka, T., Takeda, Y., Traditional Medicine in Turkey VIII. Folk Medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağrı, Kars, Iğdır Provinces, Econ. Bot., 51(3), 95-211 (1997).

Sezik, E., Zor, M., Yeşilada, E., Traditional Medicine in Turkey II. Folk Medicine in Kastamonu, Pharm. Biol., 30 (3), 233-239 (1992).

Simmonds, M.S.J., Flavonoid–insect interactions: recent advances in our knowledge, *Phytochemistry*, 64, 21–30 (2003).

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. In *Methods in Enzymology*, Packer, L. (Ed.), Vol. 299, syf. 152-315, Academic Press, San Diego, CA (1999).

Şimşek, I., Aytekin, F., Yeşilada, E., Yıldırım Ş., Anadolu’da Halk Arasında Bitkilerin Kullanılış Amaçları Üzerinde Etnobotanik Bir Çalışma, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, (Eds. K.H.C. Başer ve N. Kırimer), 14. BİHAT, 29-31 Mayıs, Eskişehir, 434-457 (2002).

Thole J. M., Kraft T. F. B., Sueiro L. A., Kang Y.H, Gills J. J., Cuendet M., Pezzuto J. M., Seigler D. S., and Lila M. A., A Comparative Evaluation of the Anticancer Properties of European and American Elderberry Fruits, *J. Med. Food*, 9(4), 498–504 (2006).

Thole, J.M., Kraft, T.F.B., Sueiro, L.A., Kang, Y., Gills, J.J., Cuendet, M., Pezzuto, J.M., Seigler, D.S., Lila, M.A., A Comparative Evaluation of the Anticancer Properties of European and American Elderberry Fruits, *J. Med. Food*, 9(4), 498–504 (2006).

Tuzlacı, E., İşbilen Alparslan D.F., Bulut, G., Turkish Folk Medicinal Plants, VIII: Lalapaşa (Edirne), *Marmara Pharm. J.*, 14, 47-52 (2010).

Ugulu, I., Baslar, S., Yorek, N., Dogan, Y., The investigation and quantitative ethnobotanical evaluation of medicinal plants used around Izmir province, Turkey, *J. Med. Plant. Res.*, 3(5), 345-367 (2009).

Van Damme, E.J.M., Charels, D., Menu-Bouaouiche, L., Proost, P., Baree, A., Rouge, P., Peumans, W.J., Biochemical, molecular and structural analysis of multiple thaumatin-like proteins from the elderberry tree (*Sambucus nigra* L.), *Planta*, 214, 853-862 (2002).

Van Damme, E.J.M., Charels, D., Roy, S., Tierens, K., Baree, A., Martins, J., Rouge, P., Van Leuven, F., Does, M., Peumans, W.J., A Gene Encoding a Hevein-Like Protein from Elderberry Fruits Is Homologous to PR-4 and Class V Chitinase Genes, *Plant Physiol.*, 119, 1547–1556 (1999).

Van Damme, E.J.M., Roy, S., Barre, A., Rouge, P., Van Leuven, F.V., Peumans, W.J., The major elderberry (*Sambucus nigra*), fruit protein is a lectin derived from a truncated type 2 ribosome-inactivating protein, *Plant J.*, 12(6), 1251-1260 (1997).

Veberic, R., Jakopic, J., Stampar, F., Schmitzer, V., European elderberry (*Sambucus nigra* L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols, *Food Chem.*, 114, 511–515 (2009).

Vlachojannis, J.E., Cameron, M., Chrubasik, S., A Systematic Review on the Sambuci fructus Effect and Efficacy Profiles, *Phytother. Res.*, 24, 1-8 (2010).

Vulić, J.J., Vračar L.O., Šumić, Z.M. Chemical characteristics of cultivated elderberry fruit, *Acta Periodica Technologica*, 39, 85-90 (2008).

Waknine-Grinberg, J.H., El-On, J., Barak, V., Barenholz, Y., Golenser, J., The Immunomodulatory Effect of Sambucol on Leishmanial and Malarial Infections, *Planta Med.*, 75, 581–586 (2009).

Walz, B., Chrubasik, S., Impact of a proprietary concentrate of *Sambucus nigra* L. on urinary pH, *Phytother Res.*, 22, 977-978 (2008).

Wang, H., Cao, G., Prior, R.L., Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins, *J. Agric. Food Chem.*, 45, 304-309 (1997).

Wang, L., & Stoner, G.D., Anthocyanins and their role in cancer prevention, *Cancer Lett.*, 269, 281–290 (2008).

WHO Monographs on Selected Medicinal Plants, World Health Organization, Geneva, Vol. 1, 269-275 (1999).

Wu, X., Gu, L., Prior, R.L., McKay, S., Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Some Cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and Their Antioxidant Capacity, *J. Agric. Food Chem.*, 52, 7846-7856 (2004).

Xia, M., Hou, M., Zhu, M., Ma, J., Tang, Z., Wang, Q., Li, Y., Chi, D., Yu, X., Zhao, T., Han, P., Xia, X., Ling, W., Anthocyanins Induce Cholesterol Efflux from Mouse Peritoneal Macrophages: The role of the peroxisome proliferator-activated receptor γ -liver X receptor α -ABCA1 pathway, *J. Biol. Chem.*, 280(44), 36792–36801 (2005).

Yeşilada, E., Sezik, E., Honda, G., Takaishi Y., Takeda, Y., Tanaka T., Traditional medicine in Turkey IX: Folk medicine in north-west Anatolia, *J. Ethnopharmacol.*, 64, 195–210 (1999).

Yenen, M., Özgen, U., Türkiye'de Yetişen *Sambucus* Türlerinin Meyvalarında Antosiyanozit Teşhisi ve Miktar tayini, *Ankara Üniv. Ecz. Fak. Derg.*, 26(2), 83-88 (1997).

Yeşilada, E., Üstün, O., Sezik, E., Takaishi, Y., Ono, Y., Honda, G., Inhibitory Effects of Turkish Folk Remedies on Inflammatory Cytokines: interleukin-1 α , interleukin-1 β , and tumor necrosis factor α , *J. Ethnopharmacol.*, 58, 59-73 (1997).

Youdim A. K., Martin, A., Joseph, J.A., Incorporation of the elderberry anthocyanins by endothelial cells increases protection against oxidative stress, *Free Radic. Biol. Med.*, 29 (1), 51-60 (2000).

Zakay-Rones Z., Thom, E., Wollan, T., and Wadstein, J., Randomized Study of the Efficacy and Safety of Oral Elderberry Extract in the treatment of Influenza A and B Virus Infections, *J. Int. Med. Res.*, 32, 132-140 (2004).

Zakay-Rones, Z., Varsano, R., Zlotnik, M., Manor, O., Regev, L., Schlesinger, M., Mumcuoglu, M., Inhibition of several strains of influenza virus *in vitro* and reduction of symptoms by an elderberry extract (*Sambucus nigra* L.) during an

outbreak of influenza B Panama, J. Altern. Complement. Med., 1(4), 361-369 (1995).

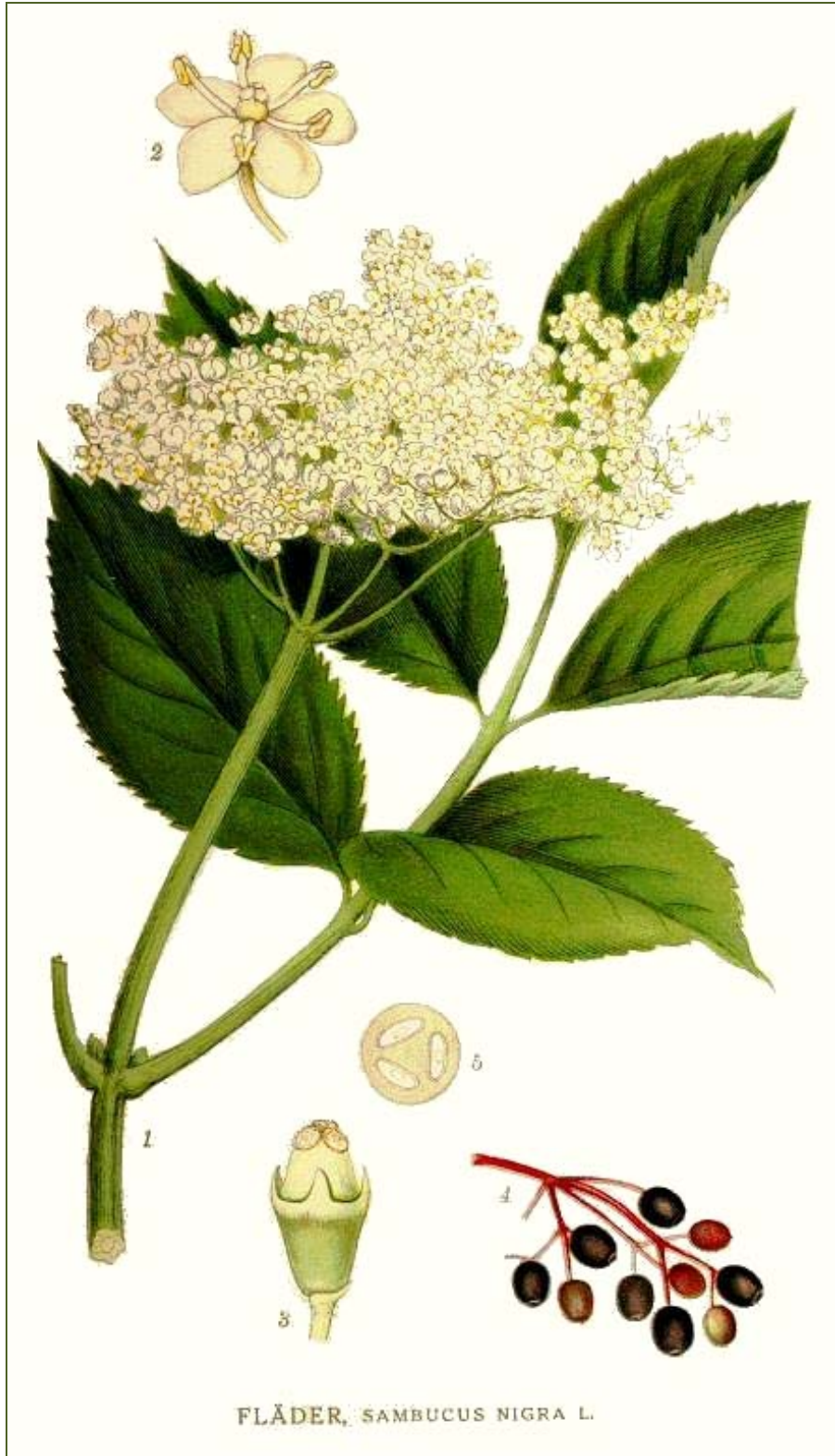
Zeman, M., Nosalova, V., Bobek, P., Zakalova, M., Cerna, S., Changes of endogenous melatonin and protective effect of diet containing pleuran and extract of black elder in colonic inflammation in rats, Biologia, 56(6), 695-701 (2001).

Zeybek N., Zeybek U., Farmasötik Botanik, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 2, 2. baskı, İzmir (1994).

http-1: <http://wszystkoziol.pl/slowniczek/bez> (10.08.2010)

EKLER:

EK 1. *Sambucus nigra* L.'nin Çiçek, Meyve, Yaprak ve Tohumunun Genel Görüntüsü



(Kaynak: <http://wszystkozioi.pl/slowniczek/bez> (10.08.2010))

Ek 2. *Sambucus nigra* Meyvelerinden Hazırlanan ve Tezde Adı Geçen Preparatlar

Optiberry®

InterHealth firması tarafından gıda desteği olarak üretilmiştir. İçeriği incelendiği zaman *Vaccinium angustifolium* (meyve), *V. macrocarpon* (meyve), *V. myrtillus* (meyve), *Fragaria chiloensis* (meyve), *Sambucus nigra* (meyve) ve *Rubus ideaeus* (çekirdek) ekstralarını içeren antosiyaninlerce zengin bir karışım olduğu görülmektedir. Optiberry ile antioksidan, antianjiyojenik etki ve *Helicobacter pylori*'ye karşı etki gibi çeşitli biyolojik aktivite çalışmalarının olduğu görülmektedir (Roy ve ark., 2002; Chatterjee ve ark., 2004; Bagchi ve ark., 2004 ve 2006).



Sambucol®

PharmaCare firması tarafından üretilen Sambucol preparatları (Sambucol Black Elderberry Extract®, Sambucol Black Elderberry Syrup®, Sambucol Active Defense®, Sambucol for Kids®) standardize mürver ekstresi içermektedir. Sambucol ile yapılan çalışmalar daha çok antiviral aktivite ve immün sistem üzerine etki çalışmaları olarak dikkat çekmektedir (Zakay-Rones ve ark., 1995; Burge ve ark., 1999; Barak ve ark., 2001; Barak ve ark., 2002; Waknine-Grinberg ve ark., 2009).

