



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI KARAYOSUNU TÜRLERİ ÜZERİNDE FİTOKİMYASAL
VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI:
PLAGIOMNIUM ELLIPTICUM (BRID.) T. KOP. VE
ANTITRICHIA CALIFORNICA SULL. IN LESQ.**

Aybala YILDIZ

**Farmakognozi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Alev ÖNDER**

**ANKARA
2021**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI KARAYOSUNU TÜRLERİ ÜZERİNDE FİTOKİMYASAL
VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI:
PLAGIOMNIUM ELLIPTICUM (BRID.) T. KOP. VE
ANTITRICHIA CALIFORNICA SULL. IN LESQ.**

Aybala YILDIZ

Farmakognozi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

DANIŞMAN
Prof. Dr. Alev ÖNDER

ANKARA
2021

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Bazı Karayosunu Türleri Üzerinde Fitokimyasal ve Biyoaktivite Çalışmaları: *Plagiomnium ellipticum* (Brid.) T. Kop. ve *Antitrichia californica* Sull. In Lesq” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Aybala YILDIZ

Tarih:

İmza:

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	ix
Çizelgeler	xii
1. GİRİŞ	13
1.1. Botanik Bilgiler	16
1.1.1. Bryophyte ve Özellikleri	16
1.1.2. <i>Antitrcihia californica</i> Türünün Botanik Bilgileri	18
1.1.3. <i>Plagiomnium ellipticum</i> Türünün Botanik Bilgileri	19
1.2. Karayosunları Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	21
1.2.1. Terpenler	21
1.2.2. Steroitler ve Triterpenler	24
1.2.3. Aromatik Bileşikler	26
1.2.4. Kumarinler	28
1.2.5. Benzonaftoksantenonlar	29
1.2.6. Azot İçeren Bileşikler	30
1.2.7. Kromon Türevleri	30
1.2.8. Flavonoitler	31
1.2.9. Asetogeninler ve Lipitler	36

1.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	38
1.3.1. Antimikrobiyal Aktivite	39
1.3.2. Antioksidan Aktivite	40
1.3.3. Sitotoksik Aktivite	41
2. GEREÇ VE YÖNTEM	42
2.1. Gereç	42
2.2. Yöntem	42
2.2.1. Ekstrelerin Hazırlanışı	42
2.2.2. Kromatografik Yöntemler	43
2.2.3. Spektroskopik Yöntemler	44
2.2.4. Fitokimyasal Analizler	44
2.2.5. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	45
2.2.5.1. Antioksidan Etki Çalışmaları	45
2.2.5.2. Enzim İnhibisyon Testleri	48
3. BULGULAR	51
3.1. Ekstraksiyon Çalışması Bulguları	51
3.2. Kromatografi Çalışması Bulguları	51
3.3. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini Bulguları	57
3.4. Fitokimyasal Analiz Bulguları	62
3.5. Biyolojik Aktivite Deneyleri Bulguları	63
3.5.1. Antioksidan Etki Bulguları	63
3.5.2. Enzim Deneyleri Bulguları	64

4. TARTIŞMA	65
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	68
ÖZET	71
SUMMARY	72
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	80



ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında, *Antitrichia californica* ve *Plagiomnium ellipticum* isimli iki karayosunu türü üzerinde çeşitli fitokimyasal ve biyolojik aktiviteye yönelik çalışmalar yapılmıştır. Hem Farmakognozi anabilim dalında yapılan bazı deneyler sonucunda, hem de literatüre dayalı, türler hakkında yeni bilgiler kazandırılması hedeflenmiştir. Tüm bu süreçte bize destek olan tüm birimlere teşekkürlerimizi iletiriz.

Öncelikle, lisansüstü eğitimim boyunca desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi birikimi ile rehberlik eden saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Alev ÖNDER'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bitkimin toplanmasında yardımları bulunan, Doç. Dr. Hatice ÖZENOĞLU'na, aktivite çalışmalarında emeklerini ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Gökhan ZENGİN'e teşekkürlerimizi iletiriz. Yardımları ile bana destek olan sevgili arkadaşım, Uzm. Ecz. Ahsen Sevde ÇINAR'a da teşekkürlerimi bir borç bilirim. Ayrıca Farmakognozi Anabilim dalındaki tüm hocalarımıza ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma da teşekkür ederim.

Bu süreçte maddi ve manevi her zaman yanımda olan sevgili aileme ve sevgili arkadaşlarım Ecz. Mehmet COŞKUN, Uzm. Ecz. Işıl YÜCEİLYAS'a teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

1D	One dimensional
2D	Two dimensional
α	Alfa
°C	Santigrat derece
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
β	Beta
^{13}C -NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
COSY	Correlated Spectroscopy
DAD	Diode Array Dedector
ED ₅₀	Yüzde elli oranında etki gösteren doz
EtOAc	Etilasetat
FNA	Flora of North America Comittee
FT-NMR	Fourier Transform- Nuclear Magnetic Resonance
g	Gram
GC	Gas Chromatography
GC/MS	Gas Chromatography/Mass Spectrometry
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
^1H -NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
kg	Kilogram
L	Litre
μ	Mikro
μm	Mikrometre
mg	Miligram
mm	Milimetre
ml	Mililitre
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NO	Nitrik oksit

nm	Nanometre
UV	Ultraviole



ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Bryophytelerin sınıflandırılması	17
Şekil 1.2. <i>Antitrichia californica</i>	19
Şekil 1.3. <i>Plagiomnium ellipticum</i>	20
Şekil 1.4. Momilakton A	21
Şekil 1.5. Momilakton B	21
Şekil 1.6. Manool	22
Şekil 1.7. Siklositral	23
Şekil 1.8. (+)-dolabella-3,7-dien-18-ol	23
Şekil 1.9. 4,4''-dihidroksi-1,1':4',1''-terpenil-2',3',5',6'-tetraol tetrakis	24
Şekil 1.10. 7 α -hidroksisitosterol	24
Şekil 1.11. β -Sitosterol	24
Şekil 1.12. Dammara-(17Z),21-dien	25
Şekil 1.13. Polipoda-7,13,17,21-tetraen	25
Şekil 1.14. 7 β -asetoksihopan-22-ol	25
Şekil 1.15. 3 β -metoksiserrat-14-en-21-on	26
Şekil 1.16. 3 α -metoksiserrat-14-en-21 β -ol	26
Şekil 1.17. β -tokoferol	26
Şekil 1.18. Atrak asit	27
Şekil 1.19. Benzil benzoat	27
Şekil 1.20. 4-O-kafeoilkinik asit	27

Şekil 1.21. Ferulik asit	27
Şekil 1.22. Pallidisetin A	28
Şekil 1.23. Pallidisetin B	28
Şekil 1.24. Dimetil ftalat	28
Şekil 1.25. Dimetil terftalat	28
Şekil 1.26. 5-hidroksi-6-metoksi kumarin-7- β -O-glukopiranozit	29
Şekil 1.27. Ohioensin A	29
Şekil 1.28. Fontinalin	30
Şekil 1.29. Harmol	30
Şekil 1.30. 5-hidroksi-7-metoksikromon	31
Şekil 1.31. Apigenin	31
Şekil 1.32. Luteolin	31
Şekil 1.33. Viteksin	32
Şekil 1.34. Saponarin	32
Şekil 1.35. Bartramiaflavon	32
Şekil 1.36. Hipnumbiflavonoit A	32
Şekil 1.37. Hipnum asit	32
Şekil 1.38. Lusenin-2	33
Şekil 1.39. Hipnogenol B1	33
Şekil 1.40. Kemferol	34
Şekil 1.41. 5',3'''-dihidroksiamentoflavon	34
Şekil 1.42. 5',3'-dihidroksirobustaflavon	35

Şekil 1.43. Aulacomniumbiaureusidin	35
Şekil 1.44. Aulacomniumtriluteolin	35
Şekil 1.45. 3,4,5-trimetil-5-pentil-5H-furan-2-on	36
Şekil 1.46. 3,4-dimetil-5-pentil-5H-furan-2-on	36
Şekil 3.1. <i>Plagiomnium ellipticum</i> (K1) ve <i>Antitrichia californica</i> (K2)'nin eter ekstrelerine ait İTK plakları (soldan sağa sırasıyla; Gün ışığı, UV ışığı 366 nm ve 254 nm, Godin reaktif+ ısı ile gün ışığı, Godin reaktif+ ısı ile UV 366 nm'de)	52
Şekil 3.2. <i>Antitrichia californica</i> eter ekstresine ait reaktif ve ısı uygulamasından sonra İTK plağı (Reaktif ve ısı uygulandıktan sonra gün ışığı, UV ışığı 366 nm ve 254 nm)	52
Şekil 3.3. Kolon kromatografisi ile fraksiyonlama	54
Şekil 3.4. <i>Antitrichia californica</i> 'nın eter ekstresiyle yapılan kolon kromatografisinden alınan fraksiyonların İTK uygulaması (UV ışığı 366 nm)	55
Şekil 3.5. Fraksiyon 2'nin kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlarına İTK uygulaması (UV ışığı 366 nm)	55
Şekil 3.6. Fraksiyon 2'ye uygulanan kolon kromatografisi ile elde edilen Fraksiyon 2.1.'in preparatif İTK sonucu (A1F kodlu bileşik) (UV 366 nm)	56
Şekil 3.7. Fraksiyon 2'ye uygulanan kolon kromatografisi ile elde edilen Fraksiyon 2.5'in preparatif İTK sonucu (A5.3 kodlu bileşik) (Reaktif: Sülfürik asit-vanilin çözeltisi)	57
Şekil 3.8. A1F kodlu bileşiğin ¹ H-NMR spekturumu	58
Şekil 3.9. İzole edilen bileşiğin yapısı-A1F 1.2 benzendikarboksilik asit bis (2-etilhekzil) ester	59
Şekil 3.10. A6.3 kodlu bileşiğin ¹ H-NMR spekturumu	60
Şekil 3.11. İzole edilen bileşiğin yapısı- A6.3 β-Sitosterol	60

ÇİZELGELER

Çizelge 3.1. A1F kodlu bileşiğin ¹ H-NMR analizine ait spektral değerlendirilme	58
Çizelge 3.2. A6.3 kodlu bileşiğin ¹ H-NMR analizine ait spektral değerlendirilme	61
Çizelge 3.3. <i>Plagiomnium ellipticum</i> ve <i>Antitrichia californica</i> toplam fenolik ve flavonoit içeriği	62
Çizelge 3.4. <i>Plagiomnium ellipticum</i> ve <i>Antitrichia californica</i> 'ya ait antioksidan özellikleri	63
Çizelge 3.5. <i>Plagiomnium ellipticum</i> ve <i>Antitrichia californica</i> enzim inhibisyon etkileri	64

1. GİRİŞ

Karayosunları, bitkiler aleminin Bryophyte bölümüne bağlı Bryophyta sınıfında yer alan gelişmemiş bitkilerdir. Dünyada yaklaşık olarak 13.000 türü olduğu kayıtlarda geçmektedir. Bu miktar dünyadaki bitkilerin yaklaşık %5.5 gibi büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Filogenetik olarak algler ve pteridofitler arasında bulunmaktadır (Asakawa ve ark., 2013). Karayosunlarının kimyasal içerikleri; morfolojik olarak küçük olmaları, yüksek miktarda saf olarak toplanmasının zorluğu ve mikroskop altında bile zor teşhis edilebilmeleri nedeniyle uzun süre göz ardı edilmiş ve incelenememiştir (Asakawa ve ark., 2018). Aslında sadece karayosunlarının değil, genelde tüm alçak bitkilerin aynı nedenlerden dolayı araştırma olanakları oldukça kısıtlıdır. Bunun yanında, yapılan fitokimyasal çalışmalarda karayosunlarının biyolojik olarak önemli aktivitelere sahip fenolik bileşikler (flavonoitler, bibenzil türevleri), glikozitler, yağ asitleri, terpenik bileşikler ve bazı yaygın olmayan aromatik yapılara sahip olduğu görülmüştür (Zinsmeister ve ark., 1991; Sabovljevic ve ark., 2009; Sabovljevic ve ark., 2010).

Karayosunları, bizim bitki zenginliğimiz içinde en yüksek çeşitliliğe sahip Bryophyte bölümünde, 53 familya içerisinde 183 cins, bu cinslere ait 660 tür ve 34 varyete ile temsil edilmektedir. Hatta sporlu bitkilerde endemizm son derece düşük olmasına rağmen bazı *Cinclidotus* ve *Orthotrichum* türleri Türkiye’de endemiktir. Yapılan araştırmalar başlangıçtan itibaren incelenirse, Türkiye’de karayosunu dağılımının Batı Anadolu ve kısmen Karadeniz’de olduğu görülmektedir. Fakat karayosunlarının pek çok ortamda yetişmeye elverişli bitkiler olması, ancak yukarıda belirttiğimiz bazı nedenlerden dolayı çalışma olanaklarının zorluğu, mevcut çalışmaların yetersiz olmasına neden olmuştur (Güner ve Ekim , 2014).

Az sayıda çalışmanın olması, karayosunlarının potansiyel olarak etkili bileşiklere kaynak olup olmayacağı merakını uyandırmaktadır. Çünkü benzer bitkilerden oldukça yüksek farmakolojik etkilere sahip bileşiklerin izole edildiği

kayıtlıdır. Günümüzde; karayosunları üzerinde ülkemizde yapılan bazı çalışmalara rastlanmaktadır. Yapılan bu çalışmalar genellikle; tür tayini ve yayılışı üzerine olup (botanik özelliklere dayalı), kimyasal ve biyolojik aktivite üzerinde yapılmış olan çalışmalar oldukça kısıtlı düzeydedir.

Biyolojik aktivite araştırmalarının öneminden bahsetmek gerekirse bitkiler, oksijen ve fotonların neden olduğu oksidatif stresi önlemektedirler. Günümüzde antioksidan bileşenlere olan ilgi giderek artmakta ve antioksidanlarca zengin gıdaların çeşitli dejeneratif hastalıklardan koruduğu bilinmektedir. Antioksidanlar enzimatik olanlar (endojen) ve olmayanlar (eksojen) olarak ikiye ayrılmakta ve enzimatik olmayanlar aslında pek çok besinde yaygın olan polifenolik bileşenler olarak tespit edilmiştir (Okan ve ark., 2013). Antioksidanlar etkilerini serbest radikalleri temizleyerek ve hücre hasarını engelleyerek gerçekleştirirler. Antioksidanlar insanlarda vücut tarafından doğal olarak üretildiği gibi dışarıdan takviye olarak da alınabilir, normal hücre metabolizmasının toksik yan ürünleri olan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek koruyucu etki gösterirler (Karabulut ve Gülay, 2016). En yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlar, BHA (bütillenmiş hidroksi anisol), BHT (bütillenmiş hidroksi toluen), PG (propil gallat), TBHQ (tersiyer bütıl hidrokinon)'dur. Ancak bu sentetik antioksidanlar sağlığa zararlı etkilerinden dolayı yasaklanmış ve yerini doğal antioksidanlar almıştır. Bitkilerden elde edilen ekstraler ve izole edilen bileşikler antioksidan aktiviteye sahiptir ve bu bileşenlerin ya da ekstralerin antioksidan aktiviteleri araştırılmaktadır (Güzel ve ark., 2013).

Sonuç olarak, karayosunlarının bu zamana kadar çoğu araştırmacı tarafından göz ardı edilmesi ve son yıllarda yapılan çalışmalarda önemli biyoaktivitelere sahip olduğunun fark edilmesi bilim insanlarının bu çalışmalara daha fazla ilgi duymasına neden olmuştur. Karayosunlarının fitokimyasına ve biyolojik aktivitelerine yönelik bazı çalışmalar, araştırmacılar tarafından sürdürülmektedir. Türkiye'de de karayosunlarının dağılımı ve botanik özellikleri ile ilgili çalışmalar devam etse de, bu bitkilerin fitokimyasal analizleri ve biyoaktivite çalışmaları yeterli düzeyde değildir.

Bu çalışma ile Türkiye’de yetişen *Antitrichia californica* Sull. in Lesq. ve *Plagiomnium ellipticum* Brid T. Kop. Gibi geniş yayılış gösteren karayosunu türleri ele alınmış olup, bu iki tür üzerinde fitokimyasal ve biyolojik aktiviteye ait çalışmalar planlanmış ve gerçekleştirilmiştir.

Karayosunları ile yapılmış az sayıda çalışmanın olması ve bu türlerin kimyasal içerikleri, antioksidan kapasiteleri ve enzim inhibisyon yeteneklerinin incelenmesine yönelik bir çalışmanın daha önce yapılmamış olması çalışmamızın özgünlüğünü ortaya koymaktadır. Ayrıca, bu çalışmaya başlarken, ilginç bileşikler içeren karayosunları ile çalışmanın da önemli olabileceği düşünülmüştür.



1.1. Botanik Bilgiler

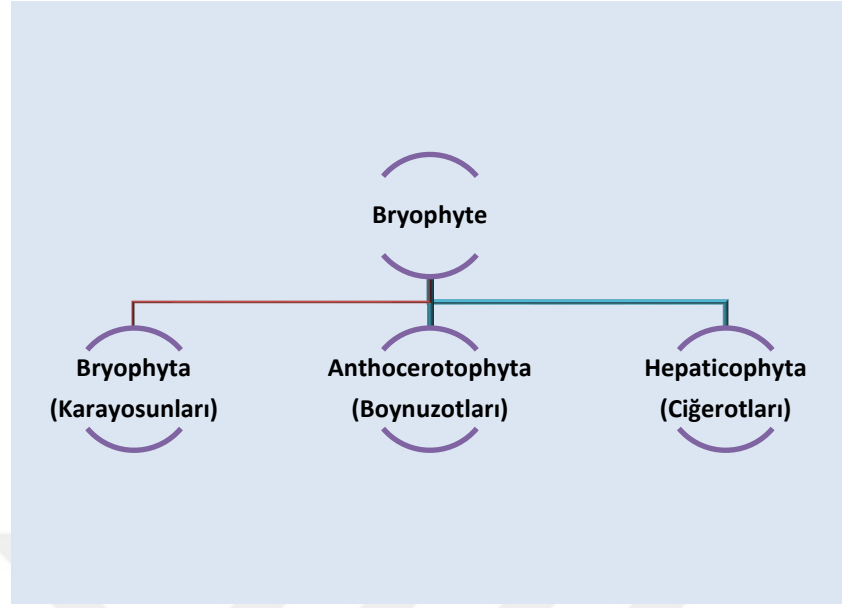
1.1.1. Bryophyte ve Özellikleri

“Bryophyte” terimi, orijini Yunan diline ait olup, su alarak şişen bitkiler anlamında kullanılmıştır. Aslında Bryophyte, yaşam döngüsünde haploid ve diploid nesilleri bulunan ve gametofit evresinin baskınlığıyla karakterize edilen bitkilere verilen genel bir isimdir (Vanderpoorten ve Goffinet, 2009).

Bryophyteler 18. yüzyılın sonlarına kadar bilim insanları ve çoğu kişi tarafından küçük çiçekli bitkiler olarak kabul edilmiştir. Bu bitkilerin farklılığı ilk olarak 1851 yılında Wilhelm Hofmeister tarafından Bryophytelerin yaşam döngüsünün yıllar boyu araştırılması neticesinde ortaya çıkmış ve net olarak kabul görmüştür (Taylor ve ark., 2009).

Bryophyteler, ciğerotları (Marchantiophyta), yapraklı karayosunları (Bryophyta) ve boynuz otları (Anthocerotophyta) sınıflarını kapsayan, Angiospermilerden sonra karada yetişen en geniş bitki grubunu oluşturmaktadır. Denizler dahil dünyanın her yerinde yetişebilmektedir. Antarktika’da dahi ağaç, toprak, göl ve nehirlerde yetiştiği tespit edilmiştir. Bryophyteler, gelişmişlik olarak algler ve pteridofitler arasında bulunmaktadır ve yaklaşık 24.000 türü bulunmaktadır (Asakawa ve ark., 2013).

Bryophytelerde sporofit ve gametofit evre olmak üzere 2 farklı yaşam evresi vardır. Yaşam döngüsü, çimlenen sporun alglerdeki benzer ipliksi dallanmış bir yapı oluşturmasıyla başlar. Bu ipliksi sistemin bir bölümü renksiz, diğer kısmı ise yeşildir. Renksiz olan kısma "rizoid" denir. Rizoidler, toprağa tutunmayı sağlayan kökümsü yapılardır. Yeşil olan kısma “kloronema” adı verilir. Kloronema, fotosentez yapan kısımdır. Bütün bu ipliksi sistemin her ikisine birden “protonema” denir. Protonema uzun süre bağımsız yaşadıktan sonra, kloronema üzerinde tomurcuklar belirmeye başlar.



Şekil 1.1. Bryophytelerin sınıflandırılması

Tomurcuklardaki hücrelerin apikal bölümlerinde üç sıralı bir eksen ortaya çıkar. Gençken yaprak sıraları düz olan bu yapı, gametofit nesli oluşturur. Yaşlandıkça yaprak sıraları sarmal bir durum alır (Shaw ve ark., 2011).

Gametofitlerin bazı türleri monoik, bazıları da dioik tip türlerdir. Monoik bazı türlerde erkek ve dişi organlar aynı bitkilerde fakat, farklı düzeylerde ya da yan yana veya uçta bulunabilirler. Sporofit yapı, gametofitlerin üzerinde oldukça küçülmüş olarak bulunur. Bryophyteler’de gametofit evre baskındır (Budke ve ark., 2018).

1.1.2. *Antitrichia californica* Türünün Botanik Bilgileri

Antitrichia californica Sull. in Lesq türüne ait taksonomik liste ITIS'e (Integrated Taxonomic Information System) göre aşağıdaki şekildedir:

Alem	: Plantae
Bölüm	: Bryophyte
Sınıf	: Bryopsida
Takım	: Hypnales
Familya	: Leucodontaceae
Cins	: <i>Antitrichia</i>
Tür	: <i>Antitrichia californica</i> Sull. in Lesq

Bitkinin sinonimleri *Antitrichia curtispindula* var. *californica* (Sull. in Lesq.) Braithwaite, *Cryphaea californica* (Sull. in Lesq.) Kindberg, *Macouniella californica* (Sull. in Lesq.) Kindberg olarak bilinmektedir.

Türün dahil olduğu, Leucodontaceae familyası, 181 tür ile temsil edilmektedir. Taksonların çoğu Kuzey Amerika'da bulunmaktadır (Kuzey Amerika Flora Komitesi, 2014a). Familyaya ait türler genellikle orta veya büyük boyutlarda ve düzensiz dallanma göstermektedir. Yapraklar kuru halde imbrikat, nemli ise ovat veya ovat-lanseolat; yaprak kenarları düz, serrat ya da serrulat; yaprak uçları aküminat veya akut şekildedir. Dioik bitkilerdir. Seta, ince ve kısa; kapsül ince ve uzun; kaliptra kukullat, çıplak veya tüylüdür (Kuzey Amerika Flora Komitesi, 2014b).

Bu tür, Plörokarp yapıda, yani sporofitlerin gövde yanlarından geliştiği türlerdendir (Vitt ve ark., 1988). Yanlara doğru büyüme gösterir. Kuruyken parlak ve koyu yeşil renkte, ıslakken açık yeşil veya sarı/kahverengi renkte görünmektedir (FNA, 2014a; Lawton, 1971). Sekonder dallar yaklaşık 10 cm uzunluğunda pinnat biçimde, yan dallar yaklaşık 1,5 cm uzunluğunda kamçı biçimindedir (FNA, 2014a).



Şekil 1.2. *Antitrichia californica* (<http://nathistoc.bio.uci.edu>, Erişim tarihi: 13.09.2020)

1.1.3. *Plagiomnium ellipticum* Türünün Botanik Bilgileri

Plagiomnium ellipticum (Brid.) T. Kop. türüne ait taksonomik liste de ITIS'e (Integrated Taxonomic Information System) göre aşağıdaki şekildedir.

Alem	: Plantae
Bölüm	: Bryophyte
Sınıf	: Bryopsida
Takım	: Bryales
Familya	: Mniaceae
Cins	: <i>Plagiomnium</i>
Tür:	: <i>Plagiomnium ellipticum</i> (Brid.) T. Kop.

Bitkinin sinonimleri, *Mnium ellipticum* Bridel; *M. affine* var. *rugicum* (Laurer) Bruch & Schimper; *Plagiomnium rugicum* (Laurer) T. J. Koponen, olarak bilinmektedir (FNA, 2014b).

Plagiomnium ellipticum, nemli toprakları seven, güneşli ya da yarı gölgeli bölgeleri tercih eden bir türdür. Özellikle, ormanlık alanlar ve çayırda rastlanmaktadır. Sulak alanlarda, yana doğru yayılmalı büyüme gösterir. Morfolojik olarak yaprak kenar şekilleri ve boyutları bitkiden bitkiye değişkenlik göstermektedir. Yaygın olarak, “Marsh thyme moss, Marsh magnificent moss, göz yışılcalı” olarak anılmaktadır. Bu tür, genellikle dik bazen kıvrık olan stemplere sahiptir. Sürgünler ise 9 cm uzunluğundadır. Yapraklar yeşil-sarımsıyeşil, 5 ila 6 mm uzunluğundadır. Nadiren kapsüllere rastlanır, bu kapsüller silindirik veya oblong-silindiriktir. Seta sarı-kırmızımsı kahverengi, 1,8-4,5 cm uzunluğundadır. Kapsüller bahar aylarının sonlarına doğru olgunlaşır (FNA, 2014b).

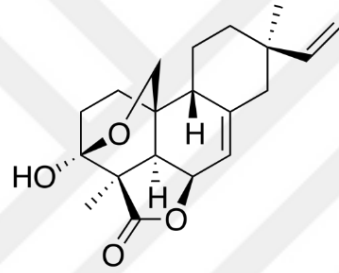


Şekil 1.3. *Plagiomnium ellipticum* (<https://plants.usda.gov>, Erişim tarihi: 13.09.2020)

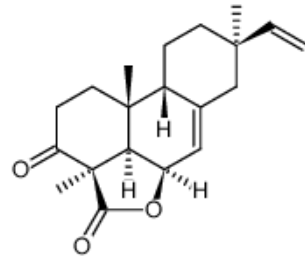
1.2. Karayosunları Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

1.2.1. Terpenler

Sphagnum cinsinden sadece bazı monoterpen hidrokarbonlar (α -felladren, β -felladren, Δ^3 -karen ve α -pinen) tespit edilmiştir. Karayosunlarında sadece bazı diterpenlerden; *ent*-16 β -hidroksiküran, momilakton A (Şekil 1.4) ve B (Şekil 1.5) ile, kamesidin bulunmuştur. 1995'ten bu yana, pek çok monoterpen, trinorseskiterpen, seskiterpen, diterpen ve triterpenin karayosunlarından izole edildiği rapor edilmiştir (Asakawa ve ark, 2013).



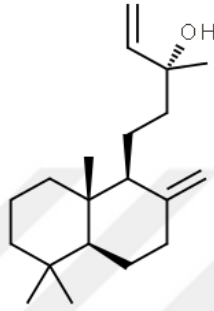
Şekil 1.4. Momilakton A



Şekil 1.5. Momilakton B

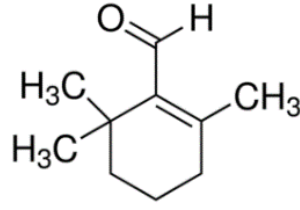
Homalia trichomanoides, *Mnium marginatum* ve *Plagiomnium undulatum* türlerinden elde edilen uçucu yağlarda ise, 16-küran ve manool (Şekil 1.6) tespit edilmiştir (Sarıtış ve ark., 1998). Daha sonra yapılan çalışmalarda, *Homalia trichomanioides*, *Minium marginatum*, *Plagiomnium undulatum* ve *Plagiothecium undulatum* uçucu yağları, GC/MS (Gaz kromatografisi/Mas Spektrometresi) yöntemiyle analiz edilmiş ve çeşitli monoterpenleri içerdiği tespit edilmiştir. Bunların arasında, siklositral (Şekil 1.7), karayosunlarında bulunan yaygın bir bileşen olarak belirlenmiştir. Bunlardan başka, monoterpen hidrokarbonlar; mirsen, α -pinen, β -pinen ve kamfen ile oksijenli monoterpenler, terpinen-4-ol, α -terpineol, α -terpinil asetat, borneol, bornil asetat ve kafur bileşenleri de tespit edilmiştir. *Plagiothecium undulatum*'un uçucu yağı, GC/MS tekniğiyle analiz edildiğinde, 4,8a-dimetil-1,2,3,4,6,7,8,8a-oktalin ve (+)-(4S,4aS,5R,8aS)-4a,5-epoksidedekalin tespit

edilmiştir. *Homalia trichomanioides* ve *Plagiomnium undulatum*'un, *Streptomyces* türleri tarafından üretilen geosmin bileşimini içerdiği anlaşılmıştır. *H. trichomanioides*'in uçucu yağında, α -ionon, *Plagiomnium undulatum* ve *P. undulatum*'un uçucu yağında ise, β -ionon belirlenmiştir. Seskiterpen hidrokarbon yapısı olan, (+)-10-*epi*-muurola-4,11-dien, (-)-1,2-dihidro- α -kuparenon ve dauka-8,11-dien *Mnium hornum* ve *Plagiomnium undulatum*'un uçucu yağında bulunan bileşiklerdir (Saritaş ve ark., 2001).



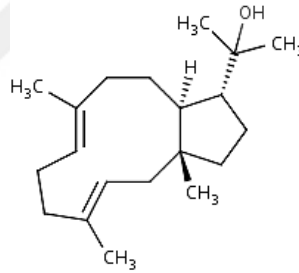
Şekil 1.6. Manool

Başka bir çalışmada da, *Plagiomnium acutum* eter ekstresinin GC ile incelenmesi sonucunda α -akoradien, α -sedren ve β -sedren bileşiklerinin varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca α -sedren ve β -sedren, *Mnium marginatum*, *Plagiomnium undulatum* ve *Homalia trichomanoides* türlerinde de bulunmuştur. Bu bitkilerin hepsinde β -barbaten varlığı tespit edilmiştir. Bazı diterpen bileşiklerinden, *Plagiomnium acutum*'un eter ile ekstre edilmesi sonucu, sadece *ent*-sedrenler, aynı zamanda bir dolabellan diterpen olan (+)-dolabella-3,7-dien-18-ol (Şekil 1.8) izole edilmiştir. Böylece, bir dolabellan diterpenin, yosunlardan ilk defa izole edildiği bildirilmiştir (Toyota ve ark., 1998). *H. trichomanoides*'te, *Plagiochila peculiaris*'ten de izole edilen nadir bir seskiterpen olan peküliaroksit bulunmuştur. *Mnium hornum*'un eter ile ekstre edilmesi sonucu elde edilen uçucu fraksiyonda, *ar*-kurkumin (Saritaş ve ark., 2001) ve β -akoradien molekülü de tayin edilmiştir (Suire ve ark., 2000)



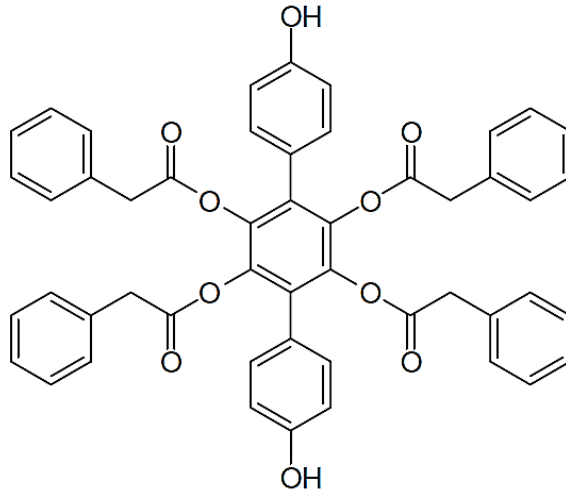
Şekil 1.7. Siklositral

Daha önce, pirinçte fitoaleksin olarak tanımlanan iki diterpen momilakton A ve B, *Hypnum plumaeforme* yosunundan izole edilmiştir. *H. plumaeforme*'den elde edilenler, pirinç kabuğundan elde edilenlere (~500 mg/kg) kıyasla nispeten yüksek miktarlarda momilakton içermektedir (Nozaki ve ark., 2007). Ayrıca *Physcomitrella patens* türünün, *ent-16 β* -hidroksiküran ve *ent*-küran sentaz bileşiklerini içerdiği gözlenmiştir (Hayashi ve ark., 2006).



Şekil 1.8. (+)-dolabella-3,7-dien-18-ol

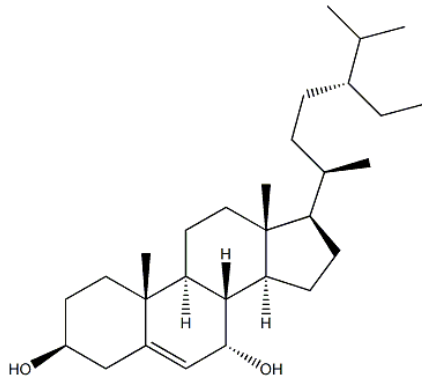
Homalia trichomanoides'in eterli ekstresinin fraksiyonlanması ve fraksiyonların 2D-NMR ve X ışını kristalografisi ile analiz edilmesi neticesinde *p*-terpenil türevi olarak bilinen, 4,4"-dihidroksi-1,1':4',1"-terpenil-2',3',5',6'-tetraol tetrakis (fenilasetat) (Şekil 1.9) izole edilmiştir. Bu, birçok yenmeyen mantar türünde bulunan terpenil türevlerinin yosunlardan ilk izolasyonudur (Wang ve ark., 2005).



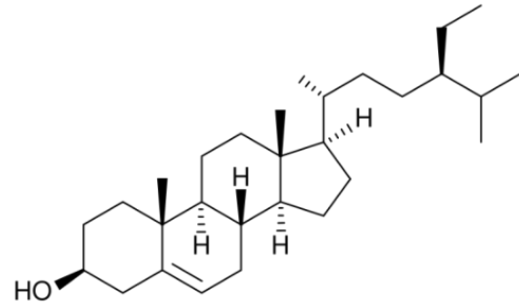
Şekil 1.9. 4,4''-dihidroksi-1,1':4',1''-terpenil-2',3',5',6'-tetraol tetrakis

1.2.2. Steroitler ve Triterpenler

Polytrichum commune türü aseton ile ekstre edilerek 7 α -hidroksisitosterol (Şekil 1.10), ergosterol ve β -sitosterol (Şekil 1.11) izole edilmiştir (Fu ve ark., 2009).

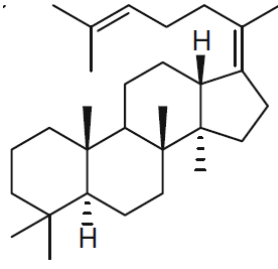


Şekil 1.10. 7 α -hidroksisitosterol

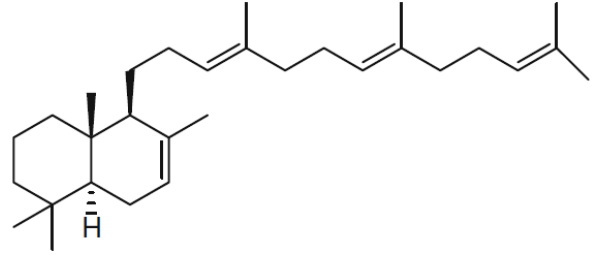


Şekil 1.11. β -Sitosterol

Floribundaria aure subsp. *nipponica* eterle ekstre edildikten sonra yeni bir dammaran triterpen hidrokarbon olan, dammara-(17Z),21-dien (Şekil 1.12) ile birlikte polipoda-7,13,17,21-tetraen (Şekil 1.13) ve diplopten bileşikleri elde edilmiştir (Toyota ve ark., 1998).

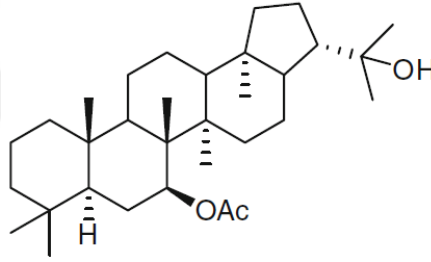


Şekil 1.12. Dammara-(17Z),21-dien



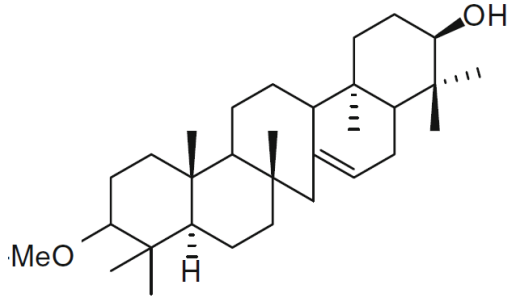
Şekil 1.13. Polipoda-7,13,17,21-tetraen

Weymouthia mollis'in eterli ekstresinde bulunan bileşikler prep-HPLC yöntemi ile saflaştırılarak, bazı ciğerotları ve likenlerde bulunan 7 β -asetoksihopan-22-ol (Şekil 1.14) bileşiği izole edilmiştir (Omatsu ve ark., 2004).

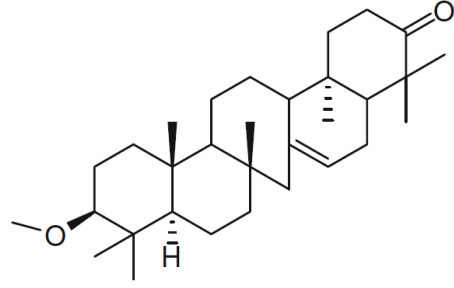


Şekil 1.14. 7 β -asetoksihopan-22-ol

Homalia trichomanoides, eterli ekstresi silikajel ve Sephadex LH-20 ile kolon kromatografisine uygulanarak 3 α -metoksiserrat-14-en-21 β -ol (Şekil 1.16), 3 β -metoksiserrat-14-en-21 β -ol ve 3 β -metoksiserrat-14-en-21-on (Şekil 1.15.) triterpenik bileşikler elde edilmiştir (Wang ve ark., 2005).



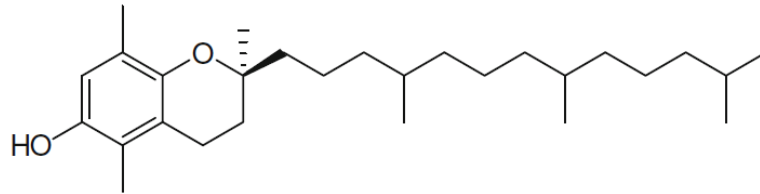
Şekil 1.15. 3β-metoksiserrat-14-en-21-on



Şekil 1.16. 3α-metoksiserrat-14-en-21β-ol

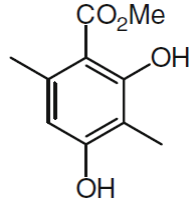
1.2.3. Aromatik Bileşikler

Mnium ve *Plagiomnium*'a ait türlerin GC/MS analizi sonucunda, α-tokoferol (Şekil 1.17) varlığı doğrulanmıştır (Waller, 1972). β-tokoferol varlığı ise sadece *Plagiomnium* cinslerinde saptanmıştır (Suire ve ark., 2000).

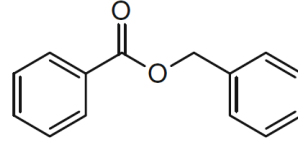


Şekil 1.17. β-tokoferol

Atraik asit (Şekil 1.18) ve atranorin, *Homalia trichomanoides*'in eter ekstresinden saflaştırılmıştır (Wang ve ark., 2005). Benzil benzoat (Şekil 1.19) ve metil 4- hidroksibenzoata, Mısır yosunu olarak bilinen *Eucladium verticillatum*'un (Pottiaceae) eterli ekstresinde rastlanmıştır. Dünyada binlerce türü olmasına rağmen, bu izolasyon basit aromatik bileşiklerin bir karayosunundan ilk izolasyonudur (Aboutabl ve ark., 1999).

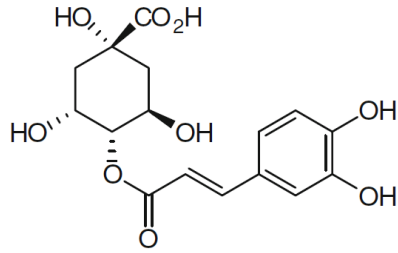


Şekil 1.18. Atrak asit

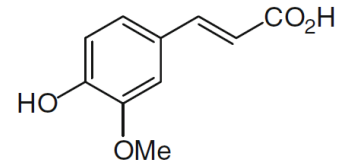


Şekil.1.19. Benzil benzoat

Ayrıca *Brachyteciastrum velutinum*'un (Brachyteciaceae) metanollü ekstresinde de elajik asit (Jackovic ve ark., 2008); HPLC-DAD ile *Brachyteciastrum velutinum* ve *Kindbergia praelonga*'nın metanol ekstrelerinde de, 4-*O*-kafeoilkinik asit (Şekil 1.20), 5-*O*-kafeoilkinik asit ve kafeik asit tespit edilmiştir. *Kindbergia praelonga*'da ayrıca *p*-kumarik asit ve ferulik asit (Şekil 1.21) de bulunmuştur (Jackovic ve ark., 2008).

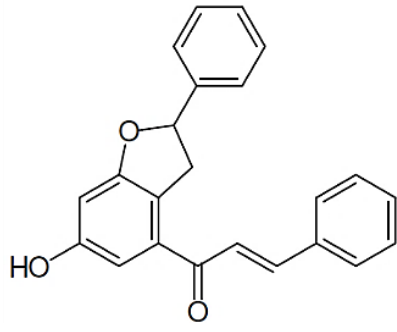


Şekil. 1.20. 4-*O*-kafeoilkinik asit

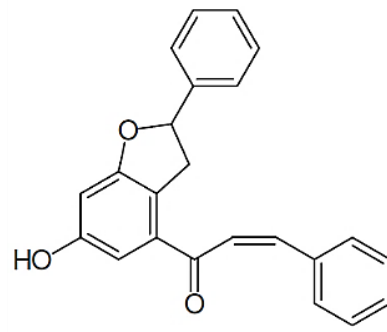


Şekil 1.21. Ferulik asit

Amerikan yosunu olarak bilinen *Polytrichum pallidisetum*'un etanollü ekstresinin biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlanması ile iki yeni sinnamoil bibenzil türevi olan pallidisetin A (Şekil 1.22) ve B (Şekil 1.23) izole edilmiştir (Zheng ve ark., 1994).

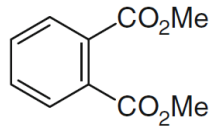


Şekil 1.22. Pallidisetin A

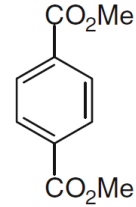


Şekil 1.23. Pallidisetin B

Ftalik asit türevleri Bryophytelerde görülmemekle beraber, dimetil ftalat (Şekil 1.24) ve dimetil terftalat (Şekil 1.25) gibi aromatik yapı gösteren bazı bileşikler de, *Eucladium verticillatum*'un eterli ekstresinden izole edilebilmiştir. Dimetildimetoksiftalatlar, *Dowsonia*, *Dendroligotrichum*, *Polytrichadelphus* ve *Polytrichum* cinsindeki beş karayosunu türlerinin, oksidatif ve metillenmiş ürünleri arasında tanımlanmış olmasına rağmen; bu çalışma, basit ftalatların karayosunlarından ilk izolasyonu olması bakımından önemli kabul edilebilir (Aboutabl, 1999).



Şekil 1.24. Dimetil ftalat

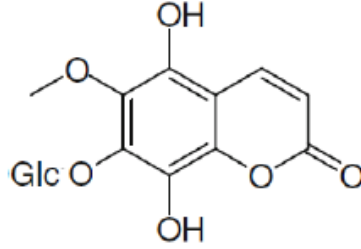


Şekil 1.25. Dimetil terftalat

1.2.4. Kumarinler

Yosunlarda kumarin türevlerinin varlığına, *Atrichum undulatum* ve *Polytrichum formosum* türlerinde rastlanmıştır (Jung ve ark., 1994). *Tetraphis pellucida* sulu-metanollü ekstresi orta basınçlı sıvı kromatografisi (MPLC) ile yapılan izolasyon çalışması sonucunda, farklı tri- ve tetrahidroksi kumarin türevleri

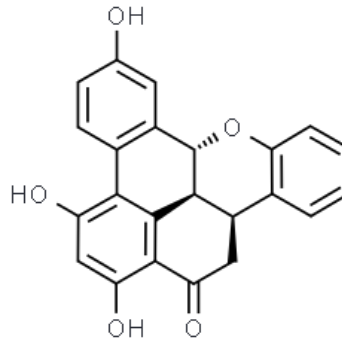
elde edilmiştir. Bunlar, 5-hidroksi-6-metoksikumarin-7- β -O-glukopiranozit (Şekil 1.26), 5,6,7,8-tetrahidroksikumarin -5- β -(6-O-malonil-glukopiranosid) molekülleridir (Jung ve ark., 1995).



Şekil 1.26. 5-hidroksi-6-metoksi kumarin-7- β -O-glukopiranozit

1.2.5. Benzonaftoksantenonlar

ABD Ulusal Kanser Enstitüsü'nün Bryophytelerde antitümör bileşik araştırma programı kapsamında *Polytrichum ohioense* ve *P. pallidisetum* türlerinden yeni bir benzonaftoksantenon iskeletine sahip ohioensin A (Şekil 1.27) ve E'yi izole etmiştir (Zheng ve ark., 1989; Zheng ve ark., 1993, Asakawa ve ark., 1995).

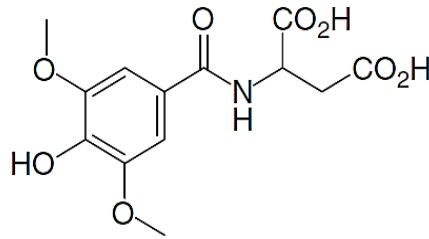


Şekil 1.27. Ohioensin A

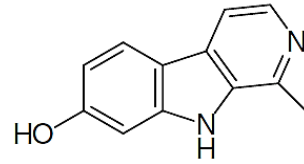
1.2.6. Azot İçeren Bileşikler

Bryophytelerde azot içeren metabolitler nadir görülmektedir. Prenil indol, pirolidin ve indol bileşikleri bazı ciğerotları ve *Splachnum rubrum* karayosunundan izole edilmiştir (Asakawa ve ark., 1995). *Dicranum scoparium* türünde ise siyanojenik glikozit bulunmuştur (Zinsmeister ve ark., 1991).

Fontinalaceae familyasına ait *Fontinalis squamosa* türünün diklorometanlı ekstresinin metanolde çözünür fraksiyonu orta basınçlı sıvı kromatografisi ile saflaştırılmış, fontinalin (Şekil 1.28), harmol (Şekil 1.29), harmol propiyonik asit esteri ve harman alkaloidi olan 7-hidroksi harman izole edilmiştir. Fontinalinin yapısı, ^1H -, ^{13}C -NMR ve ^1H - ^1H COSY yöntemleri ile ortaya çıkarılmıştır (Salm ve ark., 1998).



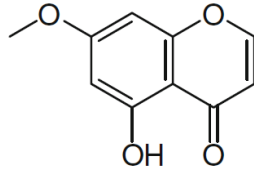
Şekil 1.28. Fontinalin



Şekil 1.29. Harmol

1.2.7. Kromon Türevleri

Polytrichum commune türünün asetonlu ekstresinden, daha önce yüksek bir bitki olan *Artemisia campestris* subsp. *maritima* türünden izole edilen 5-hidroksi-7-metoksikromon (Şekil 1.30) izole edilmiş ve yapısı aydınlatılmıştır (Vasconcelos ve ark., 1998).

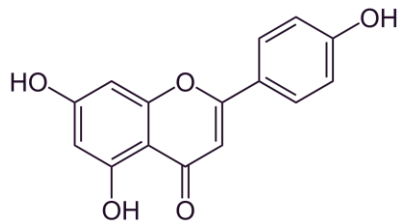


Şekil 1.30. 5-hidroksi-7-metoksikromon

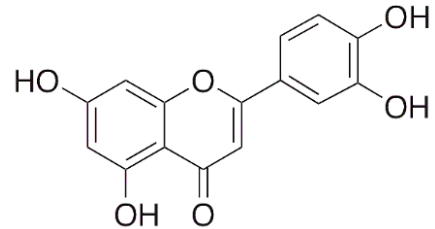
1.2.8. Flavonoitler

Çeşitli karayosunu familyalarından alınan 300 tür karayosunu üzerinde yapılan incelemeler sonucunda, biflavonoitlerin yosunlarda en yaygın bulunan flavonoit türü olduğu tespit edilmiştir. Biflavonoitler, incelenen türlerin üçte ikisinden fazlasında tespit edilmiştir. Buna karşılık flavonoit glikozitler karayosunlarında nadir görülmüş, incelenen türlerin yaklaşık dörtte birinde tespit edilmiştir (Geiger ve ark., 1997).

Brachythechiastrum velutinum ve *Kindbergia praelonga*'nın metanollü ekstreleri HPLC/DAD ile analiz edildikten sonra; çeşitli kromatografik yöntemlerle, luteolin (Şekil 1.32), apigenin (Şekil 1.31) ve apigenin 7-O-glukozit gibi bileşikler izole edilmiştir (Jackovic ve ark., 2008).



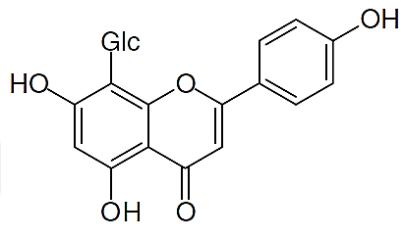
Şekil 1.31. Apigenin



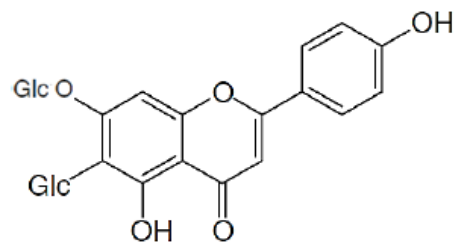
Şekil 1.32. Luteolin

Plagiomium affine, *P. cuspidatum*, *Bartramia promiformis*, *Hedwigia ciliata* ve *Dicranum scoparium*'un metanol-aseton (4:1) ekstresi kolon kromatografisinde

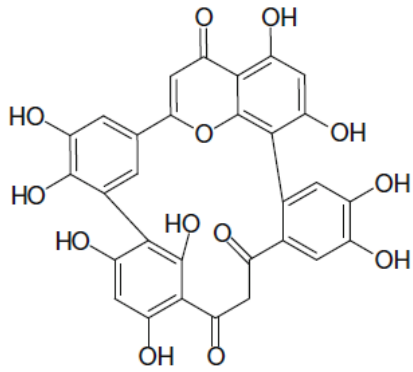
Sephadex LH-20 ile saflaştırılmıştır. *P. affine*'den apigenin ve viteksin (Şekil 1.33), *P. cuspidatum*'dan saponarin (Şekil 1.34.), *B. promiformis*'ten bartramiaflavon (Şekil 1.35), *H. ciliata*'dan lusenin-2 (Şekil 1.38) ve *D. scoparium*'dan apigenin-7-O-triglikozit, luteolin-7-O-neohesperidozit izole edilmiştir. Ayrıca *D. scoparium*'dan izole edilen viteksin bileşiği, bu çalışma ile karayosunlarından ilk defa izole edilmesi ile önemlidir (Basile ve ark., 1999).



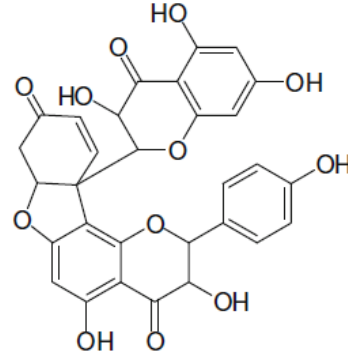
Şekil 1.33. Viteksin



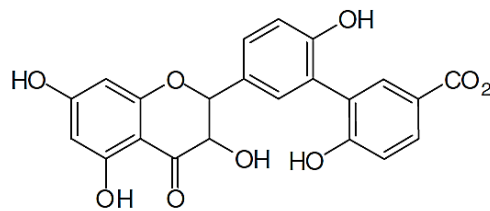
Şekil 1.34. Saponarin



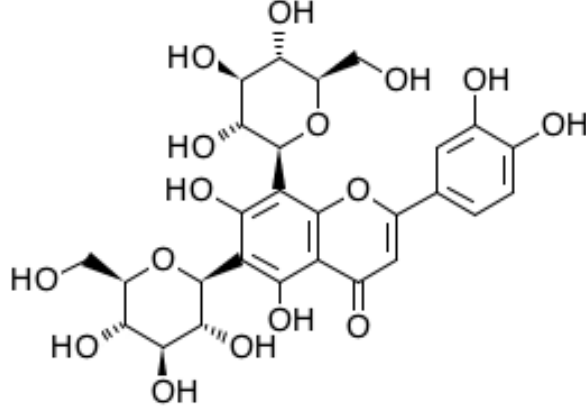
Şekil 1.35. Bartramiaflavon



Şekil 1.36. Hipnumbiflavonoit A

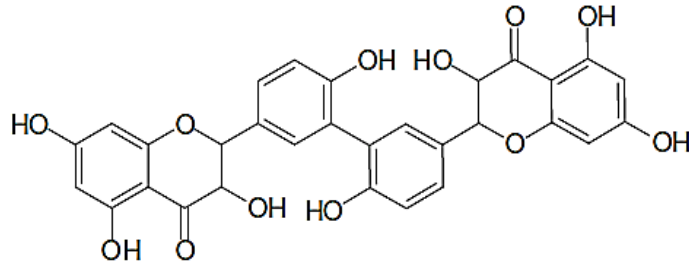


Şekil 1.37. Hipnum asit

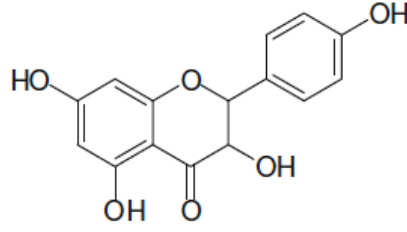


Şekil 1.38. Lusenin-2

Hypnum cupressiforme türünün metanollü ekstresinin fraksiyonlanması ve fraksiyonların NMR spektroskopisiyle daha önce bilinen bileşiklerle karşılaştırılması neticesinde biflavonoit yapıda beş bileşik; hipnogenol B1 (Şekil 1.39), hipnumbiflavonoit A (Şekil 1.36), hipnumasitmetileter, hipnumasit (Şekil 1.37), kemferol (Şekil 1.40) ve 3'-fenilaromadendrin bileşikleri izole edilmiştir. Bu çalışma ile karayosunlarından ilk defa flavon aglikon izole edildiği kayda girmiştir (Sievers ve ark., 1992).

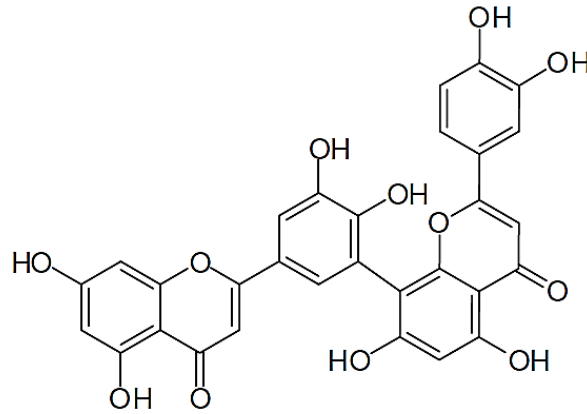


Şekil 1.39. Hipnogenol B1

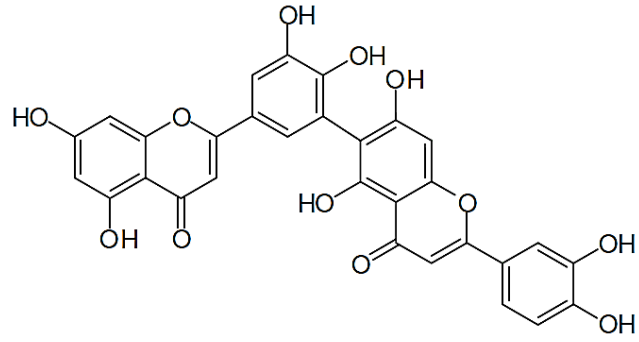


Şekil 1.40. Kemferol

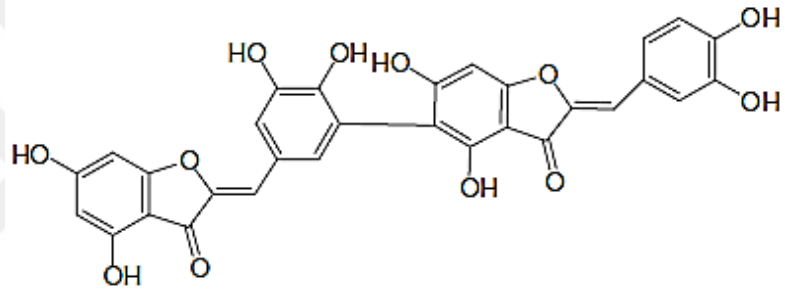
Aulacomnium palustre'nin sulu-aseton ekstresinin Sephadex LH-20 ile fraksiyonlanması ve orta basınçlı sıvı kromatografisi ile içindeki bileşiklerin elde edilmesi sonucunda, biflavon yapısı [5',3'''-dihidroksiamentoflavon (Şekil 1.41), 5',3'-dihidroksirobustaflavon (Şekil 1.42), 2,3-dihidro-5',3'''-dihidroksiamentoflavon ve dikranolomin], ve biauron yapısı aulacomniumbiaureusidin (Şekil 1.43), ayrıca bir triflavon yapısı olan aulacomniumtriluteolin (Şekil 1.44) izole edilmiştir. Yapı tayinleri daha önce yapılan çalışmalarda bilgilerin de yararlıları ve NMR değerleri ile karşılaştırma yapılarak ortaya konmuştur (Anhut ve ark., 1989; Geiger ve ark., 1993).



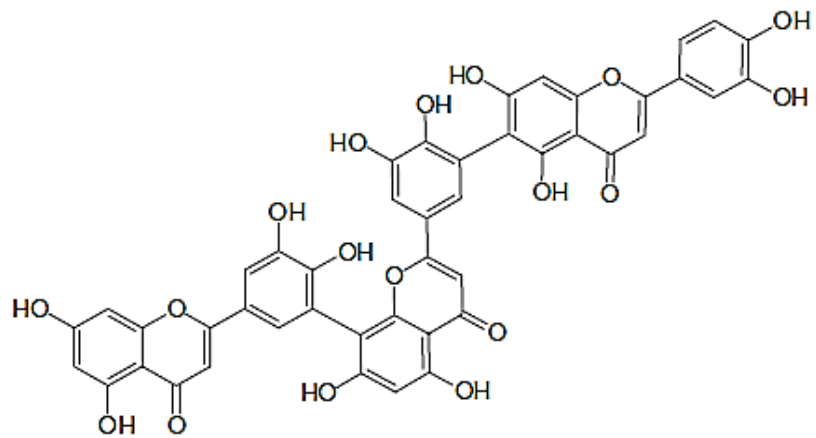
Şekil 1.41. 5',3'''-dihidroksiamentoflavon



Şekil 1.42. 5',3'-dihidroksirobustaflovon



Şekil 1.43. Aulacomniumbiaureusidin

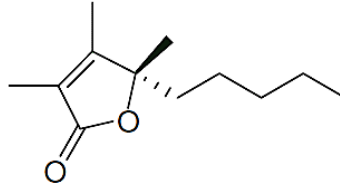


Şekil 1.44. Aulacomniumtriluteolin

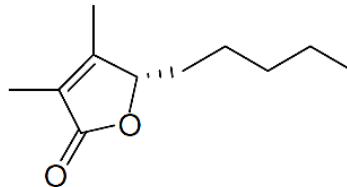
Önceki çalışmalarda *Plagiomnium undulatum*'dan yalnızca flavon C- ve flavon O-glukozitleri izole edilebilmiş olup (Osterdahl, 1979), daha sonradan *Plagiomnium undulatum*'un %80'lik metanollü ekstresinin fraksiyonlanması sonucunda bis-flavon molekülü (3'''-desoksidikranolomin, 2,3-dihidro-3'''-desoksidikranolomin, 2,3-dihidro-5',3'''-dihidroksirobustaflavon) ve bilinen biflavon molekülleri (2,3-dihidro-5'-hidroksirobustaflavon ve 2,3-dihidro-5'-hidroksiamentoflavon) izole edilmiş, ¹H ve ¹³C-NMR teknikleriyle yapıları aydınlatılmıştır (Rampendahl, 1996).

1.2.9. Asetojeninler ve Lipitler

Plagiomnium undulatum'un hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağında, butenolit (+)-3,4,5-trimetil-5-pentil-5H-furan-2-on (Şekil 1.45) ve 3,4-dimetil-5-pentil-5H-furan-2-on (Şekil 1.46) yapısında bazı bileşikler tespit edilmiştir. Prep-gaz kromatografisi ile izole edildiklerinde, NMR tekniklerinin birlikte kullanılması sonucunda, yapıları tayin edilmiştir (Saritaş ve ark., 2001).



Şekil 1.45. 3,4,5-trimetil-5-pentil-5H-furan-2-on



Şekil 1.46. 3,4-dimetil-5-pentil-5H-furan-2-on

Calliergon cordifolium, *Drepanocladus lycopodioides* ve *Fontinalis antipyretica* türleri üzerinde total lipitteki yağ asitleri, triağılglicerol, diağılglicerilmetilhomoserin ve fosfolipitler bulunmuştur. *Calliergon cordifolium*, *Drepanocladus lycopodioides* ve *Fontinalis antipyretica*'nın sırasıyla %20.5, %24.2, %29.6 oranında total lipitte doymuş yağ asiti, %23.0, %30.6, %8.3 oranında trigliserol, ürettiğı anlaşılmıştır (Dembitsky ve Rezanka, 1995).

Homalia trichomanoides, *Mnium hornum*, *M. marginatum*, *M. stellare*, *Plagiomnium undulatum*, *Plagiothecium undulatum* ve *Taxiphyllum wisgrillii*'nin uçucu yağında, çoğı yosunda bulunan çeşitli alifatik aldehytler [*n*-heptanal, *n*-nonanal, (2*E*,4*E*)-dekadienal, fenilasetaldehyt], alifatik alkoller (1-oktanol, 1-okten-3-ol) ve alifatik asitler, 12 ve18 karbonlu doymuş ve doymamış asitler ve araşidonik asit de tespit edilmiştir (Sarıtış ve ark., 2001).

1.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Bryophytelerin eczacılık dışında da önemli kullanım alanları bulunmaktadır. Bryophyteler, doğada ekolojik indikatörler olarak görülmektedir. Erozyon kontrolünde, hava kirliliğinde ağır metallerin biyoindikatörü, radyoaktivite indikatörü, sucul biyoindikatör olarak kullanılmaktadır. Ayrıca tohum yatağı (tohumların ekildiği toprak ortamı), yakıt, ilaç, gıda kaynağı, pestisit olarak değerlendirilirler. Yosun bahçeciliği, atıkların işlenmesi, inşaat, giyim, mobilya, paketlenme ve genetik mühendisliğinde toprak iyileştirilmesi ve kültür oluşturulması gibi yerler, kullanıldığı diğer sektörlerdir (Saxena ve Hariner, 2004). Bryophyteler yıllar boyu Çin, Hindistan, Amerika ve dünyanın çeşitli bölgelerinde geleneksel-tıbbi amaçlarla kullanılmıştır. Saçkıran, karaciğer rahatsızlıkları, kalp rahatsızlıkları, akciğer hastalıkları, kadın hastalıkları, sindirim rahatsızlıkları, ateş, üriner sistem rahatsızlıkları, enfeksiyon, cilt rahatsızlıklarını tedavi amacı ile kullanılmıştır (Glime, 2017).

Farklı familyalardan alınan bitki örnekleri üzerinde yapılan biyoaktivite çalışmalarında Bryophytelerde antioksidan, antifungal, antimikrobiyal, antibakteriyel, antiviral, antikanser, antiproliferatif, sitotoksik, insektisit, DNA polimeraz β inhibitörü, süperoksit salınım inhibitörü, 5-lipoksijenaz, kalmodulin, hiyalüronidaz, siklooksijenaz inhibitörü ve NO inhibitörü, nörotrofik, kas gevşetici, kathepsin B ve L inhibitörü, kardiyotonik ve vazopressin antagonist, antiobezite aktivite çalışmaları görülmüştür (Asakawa, 2007; Asakawa, 2008; Aruna ve ark., 2018; Williams ve ark., 2016; Karim ve ark., 2014; Klavina ve ark., 2015; Aslanbaba ve ark., 2017). Bazı karayosunları üzerinde yapılan aktivite çalışmaları da aşağıda özetlenmiştir.

1.3.1. Antimikrobiyal Aktivite

Pogonatum microstomum'un petrol eteri, kloroform ve metanoldeki ekstrelerinin, insan ve bitkilerdeki patojenik bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. *Pogonatum microstomum* ekstresinin antibakteriyel aktivitesi, farklı konsantrasyonlarda farklı sonuçlar göstermiştir. Test edilen bakteriler arasında kloroform ekstresi içerisinde *Streptomyces pneumoniae* ve *Klebsiella pneumoniae* 18 mm, *Escherichia coli* 17 mm, *Pseudomonas aeruginosa* 16 mm, *Staphylococcus aureus* 16 mm ve *Agrobacterium tumefaciens* 16 mm inhibisyon alanı oluşturmuştur. Metanol ekstresinde ise, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Agrobacterium tumefaciens* 12 mm, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* ve *Pseudomonas syringae* 11 mm inhibisyon alanı oluşturmuştur. Petrol eteri ekstresinde, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Agrobacterium tumefaciens* 12 mm, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptomyces pneumoniae*, *Xanthomonas campestris* 11 mm, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* 10 mm inhibisyon alanı tespit edilmiştir. Tüm bu sonuçların gözden geçirilmesiyle, karayosunlarının insanlardaki patojenik bakterilere ve dermatofitik mantarlara karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Antifungal aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, *Pogonatum microstomum* ekstresinin antifungal aktivitesi, farklı konsantrasyonlarda, farklı sonuçlar göstermiştir. Test edilen mantarlar arasında petrol eteri ekstresinde, *Candida albicans* 13 mm, *Trichophyton rubrum* 8 mm inhibisyon alanı oluşturmuştur. Kloroform ekstresinde, *T. rubrum* 10 mm, *C. albicans* 8 mm inhibisyon alanı oluşturmuştur. Metanol ekstresinde test edilen dört mantarın hiçbirine karşı inhibisyon bölgesi oluşmamıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda karayosunlarının antifungal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir (Aruna ve ark., 2018).

Grimmia pulvinata, *Tortula subulata*, *Weisia controversa*, *Leucodon sciuroides*, *Hypnum cupressiforme*, *Homalothecium sericium*, *Neckera complanata*, *Mnium undulatum* türlerinin metanollü ekstresinde yapılan çalışmada bitkilerin Gram (+) and Gram (-) bakterilere karşı orta şiddette antimikrobiyal aktivite gösterdiği

görülmüştür. En duyarlı bakterilerin *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* olduğu gözlenmiştir (Dülger ve ark., 2005).

Çeşitli karayosunu türlerinde yapılan bir çalışmada, bitkilerin tüm kısımlarından hazırlanan %80 metanollü ekstreleri ve %80 metanollü ekstrenin fraksiyonları kullanılmıştır. Sonuç olarak; Gram (+) bakterilere karşı aktivite görülmüş, ancak Gram (-) bakterilerin hiçbirine karşı aktivite görülmediği tespit edilmiştir. Böylece, *L. acanthoneuron* ve *H. splendens* türleri diğer türlere göre *Staphylococcus*'lara karşı daha yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Kang ve ark., 2007).

Sphagnum junghuhnianum, *Barbula javanica*, *Barbula arcuata*, *Brachythecium populeum*, *Brachythecium rutabulum*, *Mnium marginatum* türlerinin etanollü ekstrelerinin çalışılan tüm organizmalara karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışma, bulaşıcı hastalıklar ve cilt hastalıklarını tedavi etmek amacıyla karayosunlarının geleneksel kullanımını haklı çıkarmaktadır (Singh ve ark., 2007).

1.3.2. Antioksidan Aktivite

Fenolik bileşiklerin serbest radikalleri ve reaktif oksijen türlerini temizleyici özelliklerinden dolayı antioksidan özellikleri bulunduğu bilinmektedir.

Ceratodon purpureus, *Dicranum polysetum*, *Dicranum scoparium*, *Leucobryum glaucum*, *Mnium marginatum* türlerinin etanollü ekstreleri üzerinde yapılan çalışmada; türlerin kafeik asite kıyasla radikal süpürücü ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Türlerin, kafeik asite karşı daha düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *C. purpureus* ve *D. polysetum* ekstrelerinin incelenen konsantrasyon aralığında, bölgeye özgü olmayan hidroksil radikali aracılı 2-deoksi-D-riboz yıkımı üzerinde hiçbir etkisi olmadığı görülmüştür. Ayrıca, çalışılan karayosunu

ekstrelerinin etkileri toplam fenolik içerikle anlamlı bir korelasyon göstermediği anlaşılmıştır (Chobot ve ark., 2006).

1.3.3. Sitotoksik Aktivite

Hypnum plumaeforme'den izole edilen momilakton B molekülü üzerinde yapılan çalışmalarda doza bağlı olarak insan kolon kanseri HT-29 ve SW620 hücrelerine karşı sitotoksositeye sahip olduğu anlaşılmıştır (Kim ve ark., 2007). *Polytrichum pallidisetum*'dan elde izole edilen pallidisetin A ve pallidisetin B, insan melanom hücreleri (RPMI-7951) ve insan glioblastoma multiform (U-251 MG) hücrelerine karşı sitotoksosite göstermiştir (Sırasıyla; ED₅₀: 1.0 ve 1.0 µg/mL; 2.0 ve 2.0 µg/mL) (Zheng ve ark., 1994). Ayrıca yine *P. pallidisetum*'dan sitotoksik etkili 1-O-metil ohioensin B, 1-O-metildihidro ohioensin B ve 1,14-di-O-metildihidro ohioensin B molekülleri izole edilmiş, 1-O-metil ohioensin B bileşiğinin insan kolon adenokarsinoma (HT-29), insan melanoma (RPMI-7951) ve insan glioblastoma multiform (U-251 MG) hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterdiği kanıtlanmıştır (ED₅₀: 1.0, 1.0, and 2.0 µg/mL). 1-O-metildihidro ohioensin B bileşiğinin yalnızca U-251 hücrelerine karşı inhibitör etkisi olmasına rağmen (ED₅₀ 0.8 µg/mL) 1,14-di-O-metildihidro ohioensin B bileşiği akciğer karsinomu (A549) ve RPMI-7951 melanom hücre dizilerinin büyümesini inhibe ettiği kaydedilmiştir (ED₅₀ 1.0 µg/ml ve 1.0 µg/mL) (Zheng ve ark., 1994).

Ayrıca, seçilmiş bazı karayosunu türlerinin %80'lik metanol ekstreleri üzerinde yapılan biyolojik etki araştırmaları sonucunda; *P. cirratum* subsp. *fuscatum* türünün yumurtalık karsinom hücrelerine (CaOV₃) ve *Spaghnum cuspidatum* türünün karaciğer kanser hücrelerine (HepG2) karşı antiproliferatif etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Karim ve ark., 2014).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

Antitrichia californica Sull in Lesq.ve *Plagiomnium ellipticum* (Brid.) T. Kop., Koçarlı-Mersinbelen/Aydın, vadiden dereye yakın nemli kaya yüzeylerinden 05/05/2017 yılında toplandı. Türlerin teşhisi, Doç. Dr. Hatice Özenoğlu (Adnan Menderes Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen bilimleri Eğitimi Bölümü, Fen Eğitimi) tarafından yapıldı. Örneklerin tayini için, esas olarak morfoloji, yaprak yapısı, kosta varlığı veya yokluğu, tabandaki hücrelerin özelliği, orta ve terminal kısmı, yaprak özellikleri, kloroplastın düzeni, dağılım vb. karakterlerden yararlanıldı. Örnekler, C11/293; C11/294 kodları ile Adnan Menderes Üniversitesine ait herbaryumda saklanmaktadır. Laboratuvar şartlarında, uygun koşullarda (gölgede ve serin bir yerde) kurutulup, tüm bitki kısımları orta boy elek kullanılarak değirmende toz edildi, çalışmaya hazır hale getirildi. *Plagiomnium ellipticum* (Brid.) T. Kop. (84.65 g) ve *Antitrichia californica* Sull. Lesq. (326.01 g) örnekleri tartılarak ağırlıkları belirlendi.

2.2. Yöntem

2.2.1. Ekstrelerin Hazırlanışı

Toz edilmiş karayosunlarının, 500 mL eter ile ara sıra çalkalanmak suretiyle, maserasyon yapılarak ekstreleri elde edildi. Ekstreler, rotavapor (BUCHI Rotavapor R-200) kullanılarak 30°C'yi geçmeyecek şekilde düşük bir sıcaklık kullanılarak, çözücünden uzaklaştırıldı Ekstreler hazırlandıktan sonra örnekler bir sonraki işlem için hazır hale getirildi.

2.2.2. Kromatografik Yöntemler

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

İTK için; Silikajel 60 F₂₅₄ (Merck, 5554 20x20) hazır kaplı plaklar kullanıldı. Toz halde bulunan karayosunlarından elde edilen eterli ekstreler, belirtilen plak üzerine tatbik edildi. Ekstre için uygun hekzan:EtOAc sistemi belirlenerek tank develope edildi. Ayrımı tamamlayan plak işlem görmeden önce 254 ve 366 nm dalga boyundaki UV ışığı altında incelendi. Daha sonra plağa belirteç olarak Godin reaktifi püskürtüldü (Reaktifin hazırlanışı: Godin A ve Godin B 1:1 oranında hazırlanır ve karıştırılır. Godin A: 1 g vanilin+ 100 ml etanol, Godin B: 5 ml HClO₄+ 95 ml distile su). Plaklara ısı (~100°C) uygulanarak lekelerin belirginleşmesi sağlandı ve bir kez daha 254 ve 366 nm’lerdeki UV ışığı altında incelendi.

Kolon Kromatografisi

İTK çalışmalarından çıkan sonuçlara göre kolon kromatografisi ile bir ön ayırımın yapılmasına karar verildi. Kolon kromatografisi için pore size 60 Å, 70-230 mesh, 63-200 µm silikajel (Sigma 7734) adsorbanı kullanıldı. Kolona tatbik edilen ekstre, hekzan:EtOAc’ın farklı polariteleri ile elüe edilerek fraksiyonlar elde edildi. Kolondan elde edilen fraksiyonlar ayrı ayrı İTK ile incelendi. İnceleme sonucunda seçilen bazı fraksiyonlara tekrar kolon kromatografisi uygulanarak içerik saflaştırılmaya çalışıldı. Bu fraksiyonlar da İTK ile incelendi ve izolasyon yapılması gereken fraksiyonlara karar verildi.

Preparatif İTK

Yapılan kolon kromatografisi uygulamalarından sonra elde edilen 8 fraksiyondan Fraksiyon 2.1 (55.8 mg), Fraksiyon 2.5 (121.7 mg) ve Fraksiyon 2.6’ya (386.4 mg) preparatif İTK uygulanmasına karar verildi. Preparatif İTK için; her bir fraksiyona Silikajel 60 F₂₅₄ (Merck, 5554 20x20) hazır kaplı 2 adet plak kullanıldı. Plaklar 4’e bölündü, fraksiyonların tümü çizgi şeklinde plaklara tatbik edildi ve uygun hekzan:EtOAc sistemi belirlenerek tank develope edildi. Ayrımı tamamlayan plak işlem görmeden 254 ve 366 nm dalga boyundaki UV ışığı altında incelendi.

Belirlenen bantlar plaklardan ayrılarak 2 gün boyunca 8:2 hekzan:EtOAc solvan sisteminde maserasyona bırakıldı, ultrasonik su banyosunda 5 dk bekletilerek süzgeç kağıdından süzüldü. Aynı işlem beklenmeden 2 kere daha hekzan:EtOAc 8:2 eklenerek yapıldı ve süzüldü. Aynı işlem eter kullanılarak 2 defa daha yapıldı. Süzüntü çeker ocak altında bırakılarak çözücünden uzaklaştırmaya bırakıldı.

2.2.3. Spektroskopik Yöntemler

Nükleer Manyetik Rezonans (NMR)

Antitrichia californica'dan elde edilen bileşiklerin yapısı aydınlatılırken, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları, çözücü olarak dötoro kloroform (CDCl₃) kullanılarak, çalışma frekansı 500 MHz (¹H) olan Agilent FT-NMR ve Bruker NMR spektrometresinde kaydedildi.

2.2.4. Fitokimyasal Analizler

Toplam Fenolik Madde ve Flavonoit İçeriği

Kolorimetrik reaksiyonlar spektrofotometrik yöntemlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Uygulaması kolay, hızlı ve laboratuvar kullanımında uygulanabilir düşük maliyetli yöntemlerdir. Folin Ciocalteu Reaktifi Yöntemi, bitki ekstresindeki fenolik hidroksil gruplarının toplam konsantrasyon ölçümü yapılır. Bitki ekstresindeki polifenoller, Folin-Ciocalteu reaktifiyile reaksiyona girerek görünür ışık spektrofotometrisinde mavi bir kromofor oluşturur. Burada kromoforların maksimum absorpsiyonu, alkali çözeltiye ve fenolik bileşiklerin konsantrasyonuna bağlıdır (Blainsky ve ark., 2013).

Toplam fenolik ve flavonoit içeriği, daha önce tarif edildiği gibi tüm ham ekstrelerde (Bahadori ve ark., 2017; Grochowski ve ark., 2017) değerlendirildi. Toplam fenolik içerik için 0.25 mL örnek çözeltisi (1 mg/mL) seyreltilmiş (1: 9, v/v) Folin-Ciocalteu reaktif maddesi (1 mL) ile karıştırıldı. 3 dakika sonra 0.75 mL Na₂CO₃ çözeltisi (% 1) ilave edildi ve daha sonra örnek absorbansı, oda sıcaklığında 2 saat inkübasyondan sonra 760 nm'de okundu. Toplam flavonoit içeriği için, 1 mL numune çözeltisi (1 mg/mL), metanol içinde eşit hacimde alüminyum klorür (% 2) çözeltisi ile karıştırıldı ve absorbans, oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyondan sonra 415 nm'de okundu. Toplam fenolik bileşenlerin sonuçları, gallik asit eşdeğerleri (mg GAE/g ekstresi) olarak rapor edilirken, toplam flavonoit bileşenlerinin sonuçları, rutin eşdeğerleri (mg RE/g ekstresi) olarak kaydedildi.

2.2.5. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.2.5.1. Antioksidan Etki Çalışmaları

Oksidatif stres, çeşitli hastalıkların oluşması ve ilerlemesinin ana nedeni olarak görülmektedir. Eksojen antioksidanların takviye edilmesi veya endojen antioksidan savunmasının güçlendirilmesi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) sebep olduğu oksidatif hasarın kötü etkileriyle mücadele etmenin en etkili yolu olarak görülmektedir. Bitkiler, ROS ile indüklenen oksidatif hasarı hafifletebilen antioksidanları sentezleme konusunda oldukça başarılıdır. Dünyadaki bitki türlerinin üçte ikisinin tıbbi öneme sahip olduğuna ve bunların neredeyse tamamının antioksidan potansiyele sahip olduğuna inanılmaktadır. Bitkileri antioksidan potansiyelleri açısından incelemek için çeşitli *in vivo* ve *in vitro* yöntemler kullanılmıştır. Reaksiyon mekanizmalarına göre; antioksidan kapasite tayini, hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar (HAT) ve tek elektron transferine dayanan reaksiyonlar (SET) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Kasote ve ark., 2015).

Deneylerimizde kullandığımız antioksidan kapasite tayini deneyleri genellikle SET mekanizmasına sahiptir. Bununla birlikte, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve [2,2'-azinobis- (3-etil-benzotiazolin-6-sülfonik asit)] (ABTS) gibi bazı yöntemler, hem HAT hem de SET mekanizmalarını içermektedir.

Antioksidan aktiviteye ait deneyler Grochowski ve ark. (2017) vb. literatürden yararlanılarak yapıldı (Grochowski ve diğerleri, 2017).

Serbest Radikal Süpürme Aktivitesi (DPPH)

Basit, hızlı ve birçok numunenin radikal süpürme aktivitesini izlemek için farklı numunelerin çözünürlüklerine elverişli bir metot olarak tarif edilir. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürme kapasitesi analiz yöntemleri bitki ekstraktlarının antioksidan kapasitesini ölçmede sık kullanılan bir metottur (Mot ve ark., 2011).

Bu yöntemde temel olarak antioksidan tarafından DPPH serbest radikale proton transferi reaksiyonu 517 nm'de absorbansın azalmasına neden olur. Etki mekanizması, görünür alanda spektrofotometre ile absorbans sabitlenene kadar takip edilmesine dayanmaktadır (Albayrak, 2010).

DPPH çözeltisine (0.267 mM 4 mL,% 0.004 metanol çözeltisi) 1 mL numune çözeltisi ilave edildi ve 30 dakikalık inkübasyondan sonra, absorbans 517 nm'de kaydedildi. Her bir gram kuru ekstre için miligram Trolox eşdeğeri (TEs / g ekstresi) ölçüm birimidir.

ABTS Radikal Katyon Temizleme Etkinliği

Bu metotta; ABTS [2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)], ABTS^{•+} radikal katyonları oluşturarak, peroksit veya diğer oksitleyici ajanlara oksitlenir. ABTS radikal katyonunun oldukça yoğun bir rengi vardır. Numune, ABTS^{•+} radikal katyonu ile direkt olarak reaksiyona girdiğinde renk şiddetinde azalma görülür. Bu

renk şiddetindeki azalmanın ölçümü neticesinde numunenin antioksidan kapasitesi belirlenir (Huang ve ark., 2005).

7 mM ABTS çözeltisi ile 2.45 mM potasyum persülfat arasındaki reaksiyonu takiben ABTS + radikal katyonu elde edildi. 1 mL test çözeltisi, 2 mL ABTS çözeltisi ile karıştırıldı ve 30 dakika sonra, absorbans 734 nm'de kaydedildi. Sonuçlar, her bir kuru ekstre (TEs / g ekstresi) başına miligram Trolox eşdeğeri olarak ifade edildi.

Fosfomolibden Yöntemi

Bu yöntem, Mo(VI)'nın antioksidan bileşikler tarafından indirgenmesiyle asidik ortamda yeşil renkli fosfat Mo (V) bileşiğinin oluşması prensibine dayanmaktadır (Prieto ve ark., 1999). Bu yöntemle, 0.3 mL numune çözeltileri, 3 mL reaktif çözeltisi (0.6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat) ile karıştırıldı ve 90 dakika sonra absorbans, 695 nm'de kaydedildi. Ölçüm birimi, gram kuru ekstrakt başına TEM / g ekstresi başına milimol Trolox eşdeğeri idi.

Kuprik İyon İndirgeme (CUPRAC) Yöntemi

Bu yöntemde; kromojenik ajan bis(neokuproin) Cu (II) şelatıdır. Polifenollerin oksidasyonu sonucunda Cu (II)- neokuproin şelatı 450 nm'de maksimumu absorbans verir ve Cu (I)-neokuproin şelatına indirgenir. Bu indirgeme sırasındaki renk değişimi şiddetinin ölçümü yöntemin prensibini oluşturur (Apak ve ark., 2004). Daha sonra, 0.5 mL numune çözeltileri [CuCl₂ (1 mL, 10 mM)], neocuproin (1 mL, 7.5 mM), NH₄Ac tamponu (1 mL, 1 M, pH 7.0)] ile karıştırıldı ve 30 dakika sonra absorbans kaydedildi (450 nm'de). Her bir gram kuru ekstre için miligram Trolox eşdeğeri (TEs / g ekstresi) ölçüm birimidir.

Ferrik İyon İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi (FRAP)

Bu yöntem, fenolik bileşiklerin Fe⁺³'ü Fe⁺²'ye indirgeme kapasitesi kullanılarak numunelerin antioksidan özelliğinin belirlenmesine dayalı bir metottur.

Fe (III) ile tripiridiltiazin (TPTZ)'in reaksiyonu neticesinde numunenin antioksidan kapasitesine bağlı olarak 593 nm'de maksimum absorbans gösteren koyu mavi renkli Fe (II) tripiridiltiazin kompleksi oluşmaktadır (Benzei ve Strain, 1996).

Asetat tamponu (0.3 M, pH 3.6), 2,4,6-tris (2-piridil) -s-triazin (TPTZ) (10 mM) içinde 0.1 mL örnek çözeltisi reaktife (2 mL) 40 ° C sıcaklıkta ilave edildi. 10: 1 (v / v / v) nihai oranda mM HCl ve ferrik klorür (20 mM) ve absorbans 593 nm, 30 dakikada kaydedildi. Her bir gram kuru ekstre için miligram Trolox eşdeğeri (TEs / g ekstresi) ölçüm birimidir.

Demirli İyonlarda Metal Şelat Aktivitesi

Metal şelatlama aktivitesi, otamdaki Fe⁺² iyonlarının inhibisyonuna dayanır. Şelatlayıcıların demir iyonlarını şelatlaması sonucu 562 nm'de görünen kırmızı rengin şiddetinin azalma miktarının hesaplanması prensibine dayanır (Mathew ve Abrahams, 2006).

0.05 mL FeCl₂ (2 mM) çözeltisine 2.0 mL numune çözeltisi ilave edildi, daha sonra reaksiyon, 0.2 mL ferrozin (5 mM) kullanılarak başlatıldı. 10 dakika sonra, absorbans 562 nm'de kaydedildi ve sonuçlar, gram kuru ekstre (EDTAEs / g ekstresi) başına miligram EDTA eşdeğeri olarak ifade edildi.

2.2.5.2. Enzim İnhibisyon Testleri

Asetilkolinesteraz (AChE), butirilkolinesteraz (BChE), tirozinaz ve α -amilaz'a karşı bitki ekstraktlarının olası enzim önleme kapasitesi, daha önceki standart *in vitro* biyo-analizler kullanılarak araştırılmıştır (Grochowski ve ark., 2017).

Kolinesteraz

Alzheimer hastalığı kronik, ilerleme gösteren ve yaşlılarda demansın en yaygın şeklidir. Hastalık, öğrenme kapasitesinde gerileme ve hafızadaki bozukluklar ile karakterizedir. Hastalığın gelişiminde kolinerjik nörotransmitterlerin azalması en

önemli etken olarak görülmektedir (Vera ve ark., 2020). Asetilkolin yetersizliği, hastalığın ilerlemesinde tetikleyici temel faktör olarak görülmektedir. Asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz enzimleri kolinerjik (BChE) iletimde önemli rol oynamaktadır (Greig ve ark.,2002). Kolinesteraz inhibisyonu, enzimlerin aktivitesini durdurarak sinaptik bölgede asetilkolin seviyesini artırmaktadır. Bu sebeple tıbbi bitkilerin kognitif bozukluklar ve nörodejeneratif hastalıkları tedavi etme potansiyeli araştırılmaktadır (Thompson ve ark., 2004).

Tris-HCl tamponunda (pH 8.0) numune çözeltisi (50 μ L), DTNB (3 mM 125 μ L) ve enzim çözeltisi (0.265 μ / mL AChE veya 0.026 μ / mL BChE) çözeltisi (25 μ L) ile oluşan reaksiyon karışımı substratlara [asetiltiyokolin iyodür (15 mM ATCI) veya butiritiyokolin klorür (1.5 mM BTC1, 25 μ L)] ilave edildi. 15 dakikalık inkübasyondan sonra, absorbans 405 nm'de kaydedildi ve sonuçlar gram kuru ekstre başına miligram galantamin eşdeğeri (GALAEs / g ekstresi) olarak ifade edildi.

α -Amilaz

Glisemik kontrol; diabetes mellitus (DM), özellikle insülin bağımlı olmayan DM tedavisi için etkili bir tedavi olarak kabul edilir (Dehghan ve ark., 2018). Bu kontrolde, glikoz emilim oranını düşürmek için Tip 2 DM hastalarına genellikle uzun süreli karbonhidrat sindirimi önerilir (Hu ve ark., 2017). Glisemik kontrol, sindirim sistemindeki α -1,4-glikozit bağlantılarını hidroliz ederek nişastanın sindirimini katalize eden iki anahtar enzim olan α -amilaz ve α -glukozidazı inhibe ederek elde edilebilir (Xu ve ark., 2018).

25 μ L numune çözeltisi ve 50 μ L α -amilaz çözeltisi (10 u / mL) ile fosfat tamponu (6 mM sodyum klorür ile pH 6.9) 50 μ L nişasta çözeltisine (% 0.05) ilave edildi ve reaksiyon 25 μ L HCl (1 M) ilavesiyle durduruldu. Daha sonra 100 μ L iyot-potasyum iyodür çözeltisi ilave edildi. 10 dakikalık inkübasyondan sonra, absorbans 630 nm'de kaydedildi ve sonuçlar, gram kuru ekstre (ACAE / g ekstresi) başına milimol akarboz eşdeğeri olarak ifade edildi.

Tirozinaz

Melaninin biyolojik önemi her organizmada değişken olmakla birlikte çoğunlukla UV ışığından ve pigmentasyondan korunmakla alakalıdır. İnsanlarda melanin göz, saç ve cilt renginin korunmasının yanı sıra nöral pigmentasyondan da sorumludur (Polacheck ve Chung, 1988). Biyosentezi; bitki, mantar ve memeliler dahil olmak üzere birçok canlı türünde meydana gelmektedir. Melanojenezdeki sınırlayıcı aşama, L-tirozin ve L-DOPA'yı DOPA-kinona oksitleyen, tirozinaz tarafından kontrol edilmektedir (Halaouli ve ark., 2005).

96 µL mikropipet içinde 40 µL tirozinaz solüsyonuna (200 µL/mL, 40 mL) ve fosfat tamponuna (40 mM, 100 uL, pH 6.8) 25 µL numune solüsyonu ilave edildi ve 25°C'de 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra reaksiyon, L-DOPA (10 mM, 40 uL) ilave edilerek başlatıldı. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyondan sonra, absorbans 492 nm'de kaydedildi ve sonuçlar, gram kuru ekstre (KAE/g ekstresi) başına miligram kojik asit eşdeğeri olarak ifade edildi.

3. BULGULAR

3.1. Ekstraksiyon Çalışması Bulguları

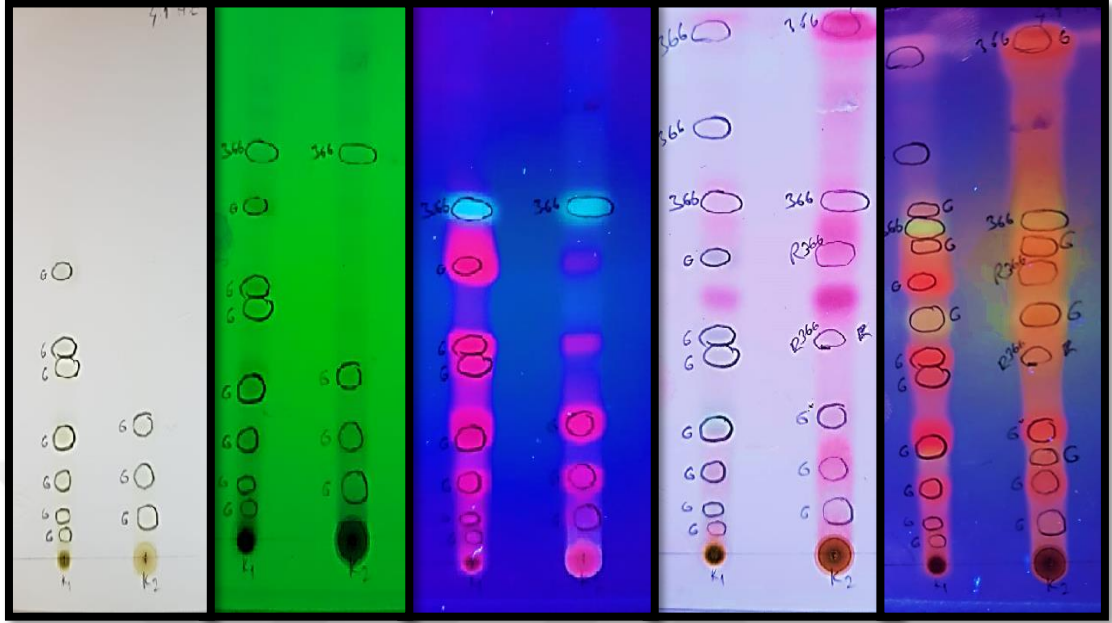
Antitrichia californica Sull in Lesq. ve *Plagiomnium ellipticum* (Brid.) T. Kop., örneklerinin, toz edilmiş bütün kısımlarından elde edilen materyal maserasyon yolu ile ekstre edildi. *Antitrichi californica* türünün 326,01 g toz edilmiş örneğinin eter ile 1 ay boyunca ara sıra çalkalanarak yapılan ekstraksiyonu sonucunda 8.10 g eterli ekstresi elde edilmiştir. *Plagiomnium ellipticum* türünün 84,65 g toz edilmiş örneğinin eter ile 1 ay boyunca ara sıra çalkalanarak yapılan maserasyonu sonucunda 5.19 g eterli ekstre elde edilmiştir.

3.2. Kromatografi Çalışması Bulguları

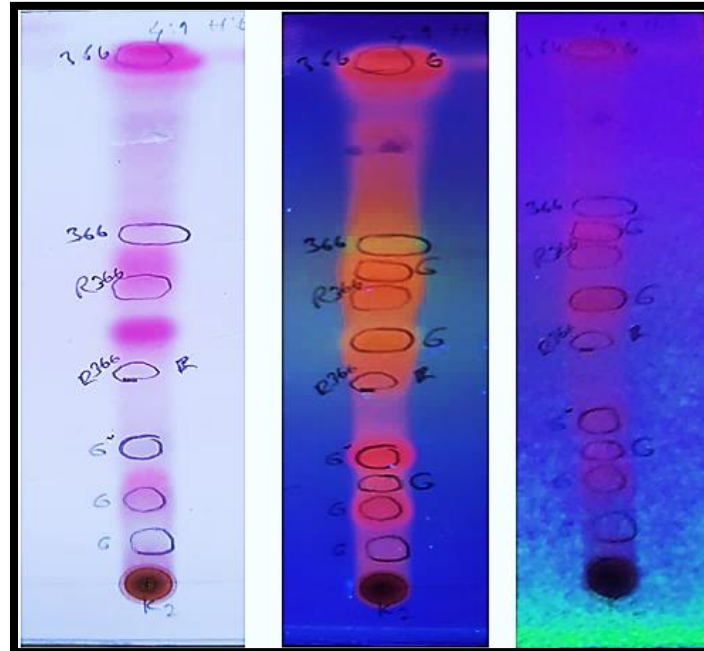
İnce Tabaka Kromatografisine Ait Bulgular

Yapılan ekstraksiyon sonucunda, *A. californica* türünden elde edilen ekstrenin fazla olması, hem de ilk İTK çalışmalarının sonucunda içeriklerinin birbirine çok benzediği düşüncesi nedeniyle, diğer çalışmalara bu tür üzerinden devam edilmiştir.

Antitrichia californica'dan hazırlanan eterli ekstresinin, ince tabaka kromatografisinde en iyi ayrımı veren, hekzan:EtOAc'ın farklı konsantrasyonlardaki karışımları kullanılarak, plak üzerinde ayrımı sağlandı. Plak üzerinde bulunan lekeler önce gün ışığında, daha sonra 254 nm ve 366 nm dalga boylarında, daha sonra da reaktif ve ısı uygulanarak, yine UV ışığı altında incelendi. Böylelikle ekstremizin içerisindeki maddeler hakkında genel bir fikir elde edildi ve kolon kromatografisi ile fraksiyonlarına ayrılmasına karar verildi.



Şekil 3.1. *Plagiomnium ellipticum* (K1) ve *Antitrichia californica* (K2)'nin eterli ekstrelerine ait İTK plakları (soldan sağa sırasıyla; Gün ışığı, UV 254 nm, UV 366 nm, Godin reaktifi+ ısı ile gün ışığı, Godin reaktifi+ ısı ile UV 366 nm'de)

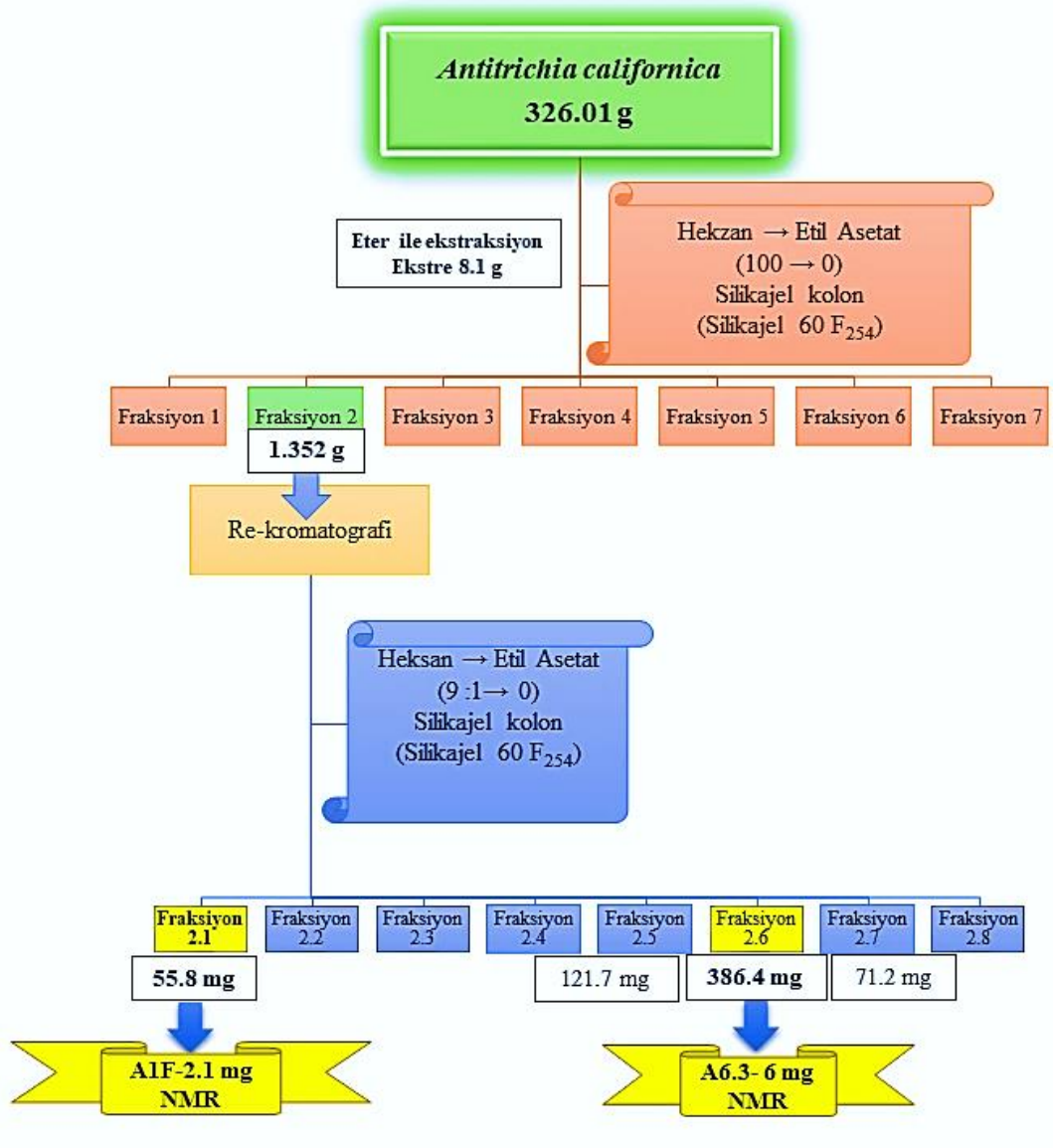


Şekil 3.2. *Antitrichia californica* (K2) eter ekstresine ait reaktif ve ısı uygulamasından sonra İTK plağı (Reaktif ve ısı uygulandıktan sonra gün ışığı, UV ışığı 366 nm ve 254 nm)

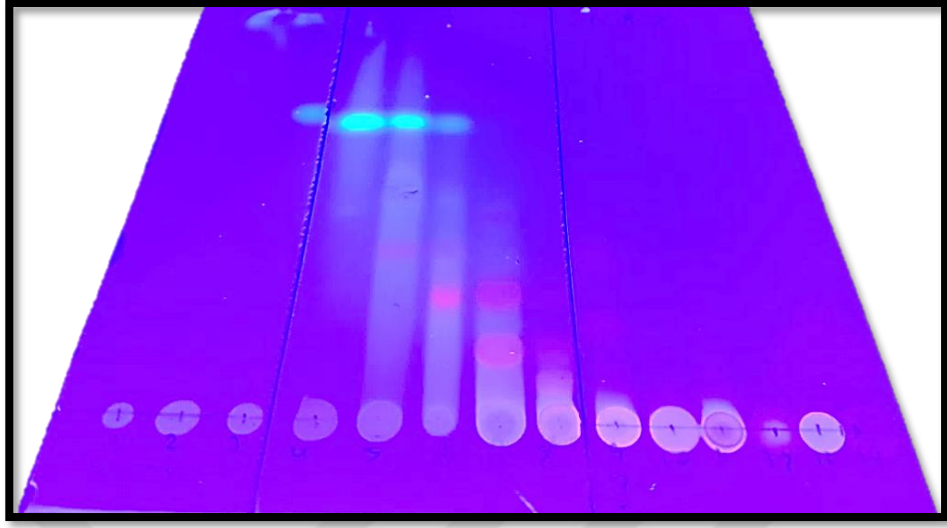
Kolon Kromatografisi Bulguları

Antitrichia californica bitkisine ait eterli ekstre, silikajel kolon ile artan polaritede hekzan:EtOAc karışımları kullanılarak elüe edildi (Şekil 3.3). Kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonlar İTK ile incelendi ve benzer yürüme gösteren fraksiyonlar birleştirilerek toplamda 14 fraksiyon elde edildi. Yapılan incelemeler sonucu bazı fraksiyonlar tekrar birleştirilerek fraksiyon adedi 7'ye düşürüldü ve fraksiyon 2'ye (1.352 g) artan polaritede n-hekzan: etil asetat karışımı kullanılarak küçük çaplı bir kolon kromatografisi uygulandı (Şekil 3.3).

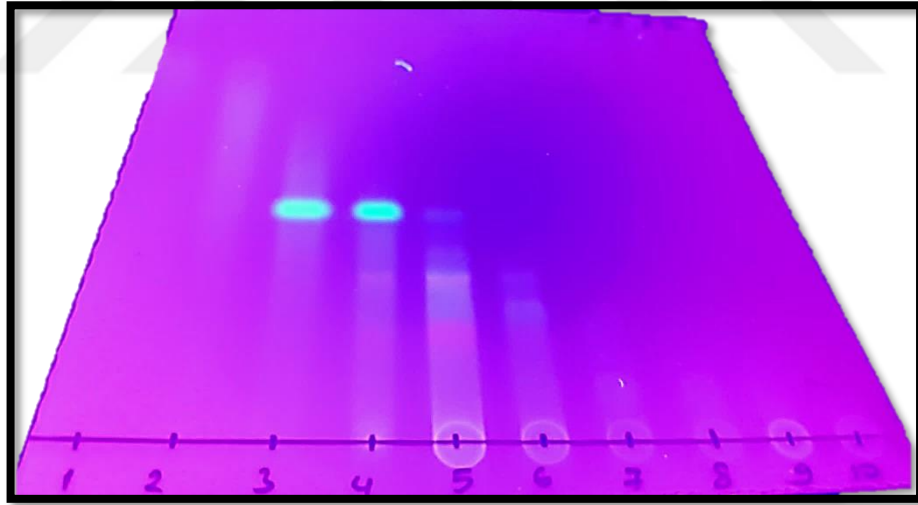
Fraksiyon 2'ye uygulanan kolon kromatografisi uygulamasından elde edilen 10 fraksiyona İTK uygulandı ve fraksiyon sayısı 8'e indirildi (Şekil 3.5). Elde edilen fraksiyonlara yapılan İTK incelemesi neticesinde; fraksiyon 2.1 (55.8 mg) floresans veren olası saf bileşenleri elde etmek için ve fraksiyon 2.4 (121.7 mg), 2.5 (386.4 mg) ve 2.7 (71.2 mg), mor renkli lekelerle görülebilen olası saf bileşenleri elde etmek için değerlendirildi. Şekil 3.4 ve 3.5'de görülen floresans veren lekeler izolasyon aşamasında dekompoze oldukları için izole edilemediler. Daha sonra, diğer fraksiyonlar seçildi, preparatif-İTK uygulandı ve saf olduğu düşünülen lekeye NMR teknikleri uygulanarak ve literatür araştırması yapılarak yapısı aydınlatıldı (Şekil 3.6 ve Şekil 3.7).



Şekil 3.3. Kolon kromatografisi ile fraksiyonlama



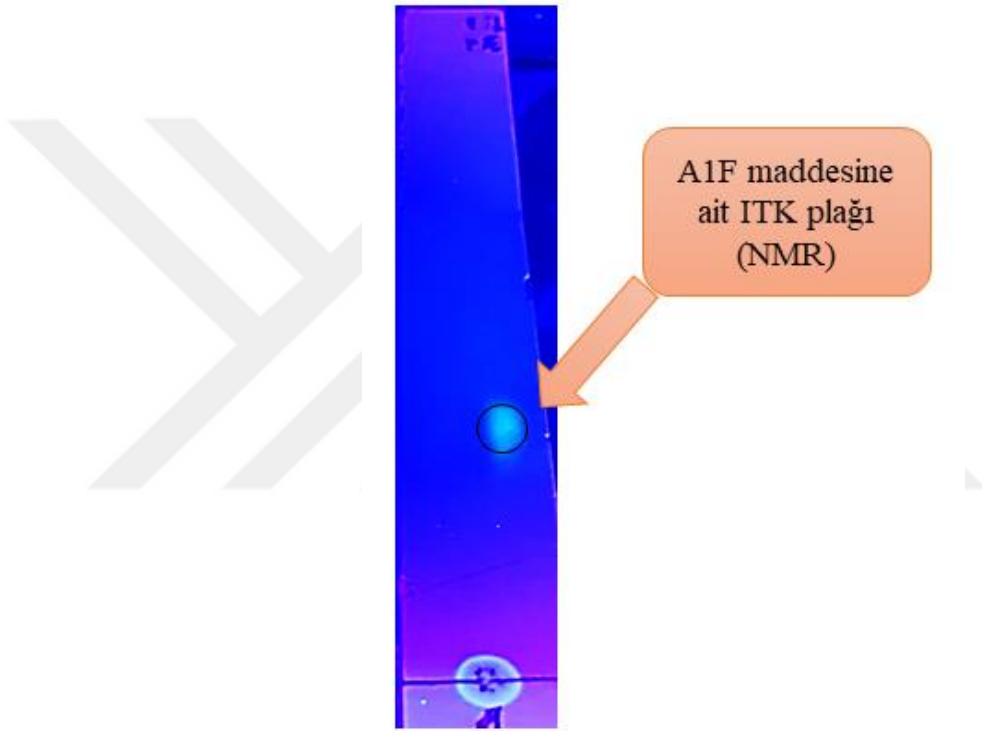
Şekil 3.4. *Antitrichia californica*'nın eter ekstresiyle yapılan kolon kromatografisinden alınan fraksiyonların İTK uygulaması (UV ışığı 366 nm)



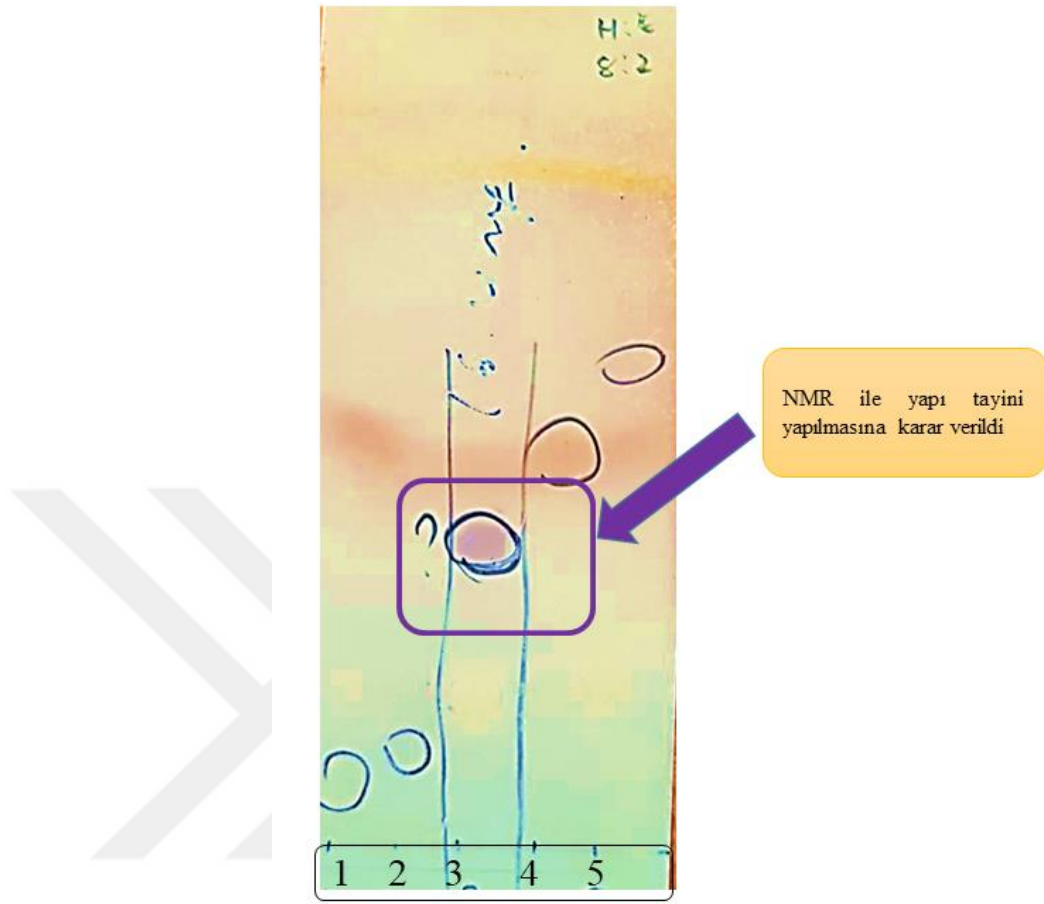
Şekil 3.5. Fraksiyon 2'nin kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlarına İTK uygulaması (UV ışığı 366 nm)

Preparatif İTK Bulguları

Saf maddelerin elde edilmesi için kolon kromatografisinden sonra preparatif İTK uygulaması yapıldı. Plağı develope etmek için hekzan:EtOAc (8:2) karışımı kullanılarak Fraksiyon 2.5'ten elde edilen A5.3 (16 mg) maddesi saf olarak izole edilemedi. Fraksiyon 2.1'den elde edilen A1.F (2.3 mg) ve Fraksiyon 2.6'dan elde edilen A6.3 (6 mg) maddelerinin ise ^1H -NMR değerlerine göre yapısı aydınlatıldı.



Şekil 3.6. Fraksiyon 2'ye uygulanan kolon kromatografisi ile elde edilen Fraksiyon 2.1'in preparatif İTK sonucu, UV 366 nm)



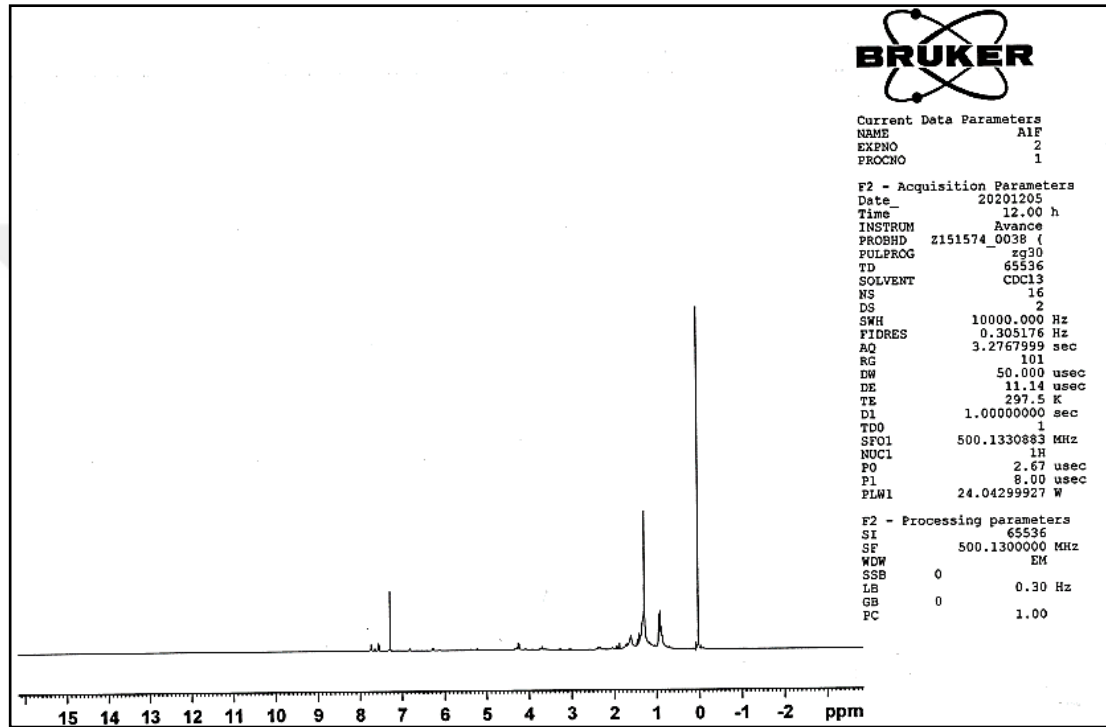
Şekil 3.7. Kromatografi ile elde edilen Fraksiyon 2.5'in preparatif İTK sonucu
(A5.3 kodlu bileşik) (Reaktif: Sülfürik asit-vanilin çözeltisi)

3.3. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini Bulguları

A1F Kodlu Bileşik

Fraksiyon 2.1'den (55.8 mg) preparatif İTK ile elde edilen, A1F kodlu maddenin yapısını aydınlatmak için, ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumlarından yararlanıldı. Madde miktarı çok az olduğu için ^1H -NMR değerleri incelendi (Şekil 3.8), daha önceki veriler incelendiğinde benzer bileşiklere ulaşıldı ve literatür

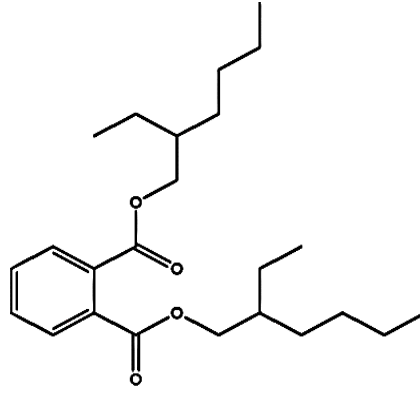
yardımı (Save ve ark., 2015) ile mümkün olabilecek yapısı aydınlatıldı. Daha önce yine karayosunlarından ftalat türevi bileşiklerin izole edildiği kayıtları da bulunmaktadır (Aboutabl, 1999). İzole edilen 1,2-benzendikarboksilik asit bis(2-etilhekzil) ester bileşiğine ait spektral bilgiler ile literatürde kayıtlı bileşiğe ait spektral veriler karşılaştırmalı olarak tabloda verilmiştir (Çizelge 3.1.).



Şekil 3.8. A1F kodlu bileşiğin ¹H-NMR spekturumu

Çizelge 3.1. A1F kodlu bileşiğin ¹H-NMR analizine ait spektral değerlendirilme

H	Kimyasal kayma (A1F)	Kimyasal kayma (Kaynak: Save ve ark., 2015)
Aromatik proton (-CH) x 2	7.73 2 H, m tipi d	7.72 2 H, d
Aromatik proton (-CH) x 2	7.55 2 H, m tipi d	7.54 2 H, d
2 x -OCH ₂	4.23 4 H, dd benzeri	4.26-4.18 3 H, m
2 x CH	1.72 2 H, t	1.70-1.65 2 H, q
8 x CH ₂	1.48-1.27 m, 16 H	1.48-1.27 m, 20 H
4 x CH ₃	0.90-0.86 m, 12 H	0.90-0.86 m, 9 H

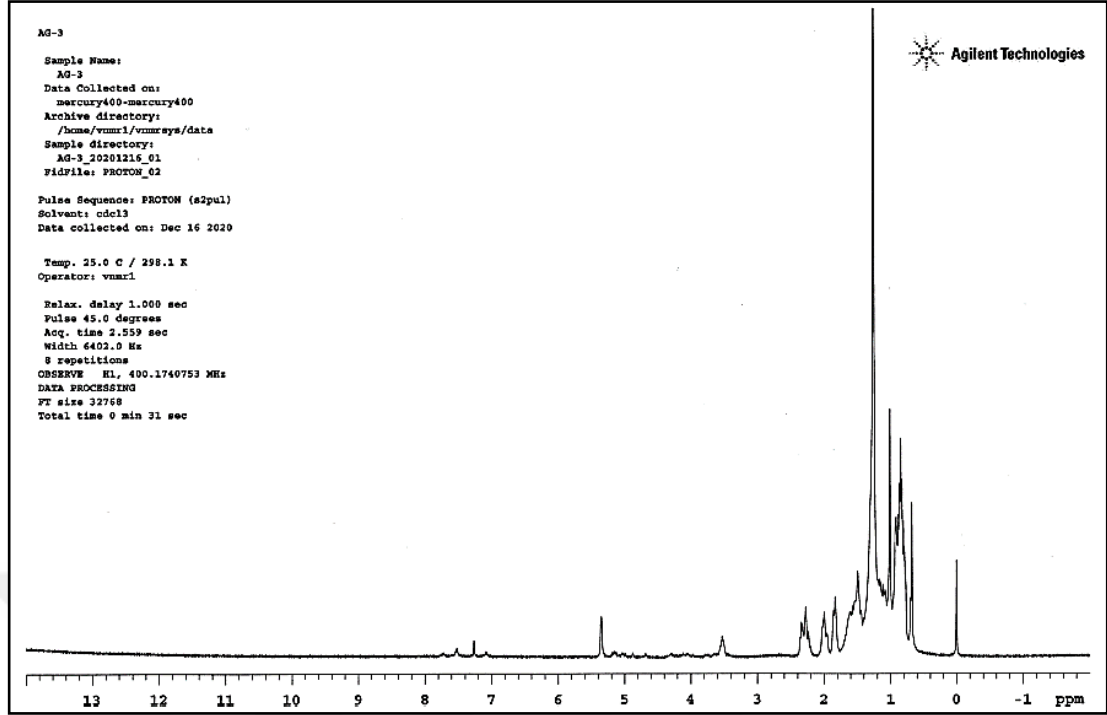


Şekil 3.9. İzole edilen bileşiğin yapısı-A1F
1,2 benzendikarboksilik asit bis (2-etilhekzil) ester

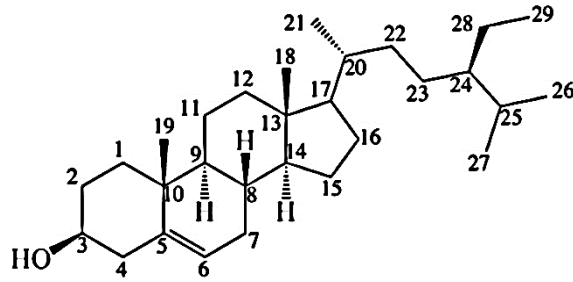
A6.3 Kodlu Bileşik

Daha önce, Polytrichaceae familyasından *Polytrichum commune* türünün asetonlu ekstresinden 7 α -hidroksisitosterol, ergosterol ve β -sitosterol gibi steroidlerin izole edildiğinden bahsedilmiştir (Fu ve ark., 2009).

İzole edilen bileşiğin, ^1H NMR spektrumunun (Şekil 3.10) değerlendirilmesi ile, 50 hidrojen atomunun varlığı saptanmıştır. Protonlar, 6 CH_3 , 11 CH_2 , 9 CH ve 1 OH grubunun protonu olarak belirlenmiştir. Çizelge 3.2 de ayrıntılı olarak ve literatür bilgisi ile karşılaştırmalı olarak bu bileşiğin β -sitosterol (Şekil 3.11) olduğuna karar verilmiştir. ^{13}C NMR spektrumu ise 29 karbon atomu sinyali ile verileri doğrulamıştır.



Şekil 3.10. A6.3 kodlu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu



Şekil 3.11. İzole edilen bileşiğin yapısı
 β -Sitosterol

Çizelge 3.2’de bileşiğe ait ^1H NMR bulguları Ododo ve ark.’nın yaptığı çalışmada izole ettikleri β -sitosterol ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Ododo ve ark., 2016).

Çizelge 3.2. A6.3 kodlu bileşiğin ^1H -NMR analizine ait spektral değerlendirilme

H	Kimyasal kayma (A6.3)	Kimyasal kayma (Kaynak: Ododo ve ark., 2016)
1 CH ₂	1.45 m	1.46 (m)
2 CH ₂	1.56 m	1.56 (m)
3 CH(OH)	3.53 m	3.54 (m)
4 CH ₂	2.32 m	2.32 (m)
5 qC=	-----	-----
6 C=	5.35 overlapping s	5.37 (örtüşen, t)
7 CH ₂	1.99 m	2.04 (m)
8 CH	1.61 m	1.69 (m)
9 CH	1.56 m	1.55 (m)
10 qC=	-----	-----
11 CH ₂	1.51 m	1.52 (m)
12 CH ₂	1.50 m	1.51 (m)
13 qC	-----	-----
14 CH	1.49 m	1.50 (m)
15 CH ₂	1.59 m	1.58 (m)
16 CH ₂	1.86 m	1.85 (m)
17 CH	1.45 m	1.45 (m)
18 CH ₃	0.70 s	0.70 (s)
19 CH ₃	1.01 s	1.03 (s)
20 CH	1.60 m	1.60 (m)
21 CH ₃	0.93 d	0.94 (örtüşen, d)
22 CH ₂	0.91 m	0.93 (m)
23 CH ₂	1.16 m	1.15 (m)
24 CH	1.38 m	1.38 (m)
25 CH	1.57 m	1.57 (m)
26 CH ₃	0.84 d gibi	0.84 (örtüşen, d)
27 CH ₃	0.86 d	0.86 (d)
28 CH ₂	1.11 m	1.10 (m)
29 CH ₃	0.83 t	0.82 (örtüşen, t)
-OH	1.99 s	1.98 (s)

3.4. Fitokimyasal Analiz Bulguları

Toplam fenolik ve flavonoit içeriği, daha önce tarif edildiği gibi tüm ham ekstrelerde (Bahadori ve ark., 2017; Grochowski ve ark., 2017) değerlendirildi. Toplam fenolik bileşenlerin sonuçları, gallik asit eşdeğerleri (mg GAE/g ekstresi) olarak rapor edilirken, toplam flavonoit bileşenlerinin sonuçları rutin eşdeğerleri (mg RE/g ekstresi) olarak kaydedildi.

Çizelge 3.3. *Plagiomnium ellipticum* ve *Antitrichia californica* toplam fenolik ve flavonoit içeriği

Bitki ekstreleri	Toplam fenolik içerik (mg GAE/g ekstre)	Total flavonoit içerik (mg RE/g ekstre)
K1: <i>Plagiomnium ellipticum</i>	18.36±0.03	52.41±0.53
K2: <i>Antitrichia californica</i>	25.84±0.23	25.80±0.40

Ortalama ± standart sapmalı üç tekrardan elde edilen veriler

GAE: gallik asit eşdeğeri; RE: rutin eşdeğeri.

Fenolik seviyenin belirlenmesi, bitki ekstrelerinin kalitesinin değerlendirilmesi için önemli bir parametredir. Bu çalışmada, iki yosunun toplam fenolik ve flavonoit içerikleri kolorimetrik yöntemlerle belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 3.3'te gösterilmiştir. *Antitrichia californica* (25.84 mg GAE / g), *Plagiomnium ellipticum*'a kıyasla daha yüksek bir toplam fenolik seviyesine sahiptir (18.36 mg GAE / g). Bununla birlikte, *P. ellipticum*'un toplam flavonoit seviyesi (52.41 mg RE / g), *A. californica*'dan (25.80 mg RE / g) daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

3.5. Biyolojik Aktivite Deneyleri Bulguları

3.5.1. Antioksidan Etki Bulguları

Çizelge 3.4. *Plagiomnium ellipticum* ve *Antitrichia californica*'ya ait antioksidan özellikleri

Bitki ekstresi	DPPH (mg TE/g ekstre)	ABTS (mg TE/g ekstre)	FRAP (mg TE/g ekstre)	CUPRAC (mg TE/g ekstre)	Fosfomolibden (mg TE/g ekstre)	Metal şelatlama (mg EDTAE/g ekstre)
K1	10.13±0.74	6.60±0.40	47.62±1.23	143.11±1.12	2.32±0.13	38.34±0.53
K2	10.35±0.93	na	53.38±0.13	124.68±2.49	2.32±0.16	51.46±0.26

* TE: troloks eşdeğeri; EDTAE: EDTA eşdeğeri.

İfade edilen tüm değerler ortalama ± SS'dir. üç paralel ölçümden; na: aktif değil

K1: *Plagiomnium ellipticum*

K2: *Antitrichia californica*

DPPH radikal süpürme testinde, iki bitki ekstresi benzer yetenekler gösterirken, *Antitrichia californica* ABTS radikali üzerinde aktif bulunmamıştır. CUPRAC ve FRAP deneyleri, test edilen ekstrelerin elektron bağışlama yeteneklerini saptamak için gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.4'te de belirtildiği gibi *Plagiomnium ellipticum*, CUPRAC testinde en yüksek aktiviteyi sergilerken, *Antitrichia californica*, FRAP testinde *Plagiomnium ellipticum*'dan daha aktif çıkmıştır.

Bu çalışmada metal şelasyon yeteneği (toplam antioksidan yöntemi olarak) ferrozin yöntemi ile araştırılmıştır. *Antitrichia californica*'nın (51.46 mg EDTAE/g) *Plagiomnium ellipticum*'dan (38.34 mg EDTAE/g) daha yüksek metal şelasyon kapasitesine sahip olduğu gözlenmiştir. Çalışmada, yosun ekstrelerimiz fosfomolibden testinde benzer yetenekler sergilemiştir (Çizelge 3.4).

3.5.2. Enzim Deneyleri Bulguları

Çizelge 3.5. *Plagiomnium ellipticum* ve *Antitrichia californica* enzim inhibisyon etkileri

Bitki ekstresi	AChE (mg GALAE/g ekstre)	BChE (mg GALAE/g ekstre)	α -Amilaz (mmol ACAE/g extract)	Tirozinaz (mg KAE/g extract)
K1	4.47 $\pm$ 0.23	3.05 $\pm$ 0.04	0.82 $\pm$ 0.02	48.64 $\pm$ 1.02
K2	4.24 $\pm$ 0.07	3.72 $\pm$ 0.48	0.80 $\pm$ 0.02	38.70 $\pm$ 0.30

* İfade edilen değerler $\pm$ S.D. üç paralel ölçümden oluşur.

GALAE: Galatamin eşdeğeri; KAE: Kojik asit eşdeğeri; ACAE: Akarboz eşdeğeri; na: aktif değil

K1: *Plagiomnium ellipticum*

K2: *Antitrichia californica*

Kolinesteraz inhibisyonu ile ilgili olarak, en iyi AChE inhibisyonunu *Plagiomnium ellipticum* türü gösterirken, *Antitrichia californica* *Plagiomnium ellipticum*'dan daha güçlü BChE inhibisyon yeteneği sergilemiştir. *Plagiomnium ellipticum* ayrıca tirozinaz üzerinde *Antitrichia californica*'dan daha aktif olarak bulunmuştur. α -amilaz enzim inhibisyon deneyinde, yosun ekstreleri benzer sonuçlar vermiştir (Çizelge 3.5).

4. TARTIŞMA

İncelenen tüm literatür ve kaynaklardan yapılan çıkarımlar doğrultusunda, karayosunlarının çeşitli toprak tiplerinde yetismeye elverişli olan bitkiler grubundan olduğu ve uzun yıllar geleneksel olarak, tedavi edici amaçlarla karaciğer rahatsızlıkları, kalp rahatsızlıkları, akciğer hastalıkları, kadın hastalıkları, sindirim rahatsızlıkları, ateş, üriner sistem rahatsızlıkları, enfeksiyon, cilt rahatsızlıklarını tedavi amacı ile kullanıldığı anlaşılmaktadır. Türkiye’de karayosunları üzerinde yeterli çalışma bulunmamasına karşılık, bu grup 660’a yakın tür ile temsil edilmektedir. Türkiye’de karayosunları ile ilgili olan çalışmalar genellikle flora ve yayılış üzerine yoğunlaşmakta, biyolojik etki ve fitokimyasına yönelik çok az çalışma bulunmaktadır. Özellikle üzerinde çalıştığımız *Antitrichia californica* ve *Plagiomnium ellipticum* türleri ile ilgili fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmalarına rastlanamamıştır. Bu çalışmada; *Antitrichia californica* bitkisinden hazırlanan eter ekstresinin kolon kromatografisi ve preparatif İTK yöntemleri ile izolasyon ve saflaştırma işlemlerinin yapılması ve içerdiği bileşiklerin görüntüleme çalışmalarının gerçekleştirilmesi, *Antitrichia californica* ve *Plagiomnium ellipticum*’un antioksidan aktivite deneyleri ve enzim inhibisyon testlerinin yapılması amaçlanmıştır. Bu çalışma, bu türler ile yapılmış ilk çalışma olması bakımından, özgünlük taşımaktadır.

Çalıştığımız karayosunu türleri üzerinde yeterli fitokimyasal ve biyoaktivite yönünden çalışma bulunmamasına rağmen, diğer karayosunu türlerinde yapılan bazı çalışmalar bize bu bitkilerin aslında önemli aktivitelere sahip önemli sekonder bileşikleri içerdiğini göstermiştir. Araştırmalar, farklı karayosunu türlerinin antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Antioksidan etkiyi sağlayan sekonder metabolitlerin ise, çoğunlukla fenolik bileşikler, terpenler ve flavonoidler olduğu bilinmektedir. Fenolik yapıdaki bileşiklerle ilgili yapılan bilimsel araştırmalar günden güne artmakta, özellikle flavonoidlerin antioksidan ve antienflamatuar etkiye sahip olmaları araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Yapılan daha önceki çalışmalar değerlendirildiğinde, karayosunu türlerinin flavonoid içeriği açısından geniş bir çeşitliliğe sahip olduğu

görülmektedir. Hatta karayosunlarından *Hypnum cupressiforme* türünden izole edilen aglikon yapıda kemferol tespit edilmiştir. *Polytrichum pallidisetum* türünden izole edilen fenolik yapıda pallidisetin A ve B, ilk defa keşfedilen sinnamoil bibenzil türevleridir. Yapılan sitotoksik aktivite çalışmalarına göre, bu iki bileşiğin de insan melanom hücreleri (RPMI-7951) ve glioblastoma multiform (U251) insan tümör hücrelerine karşı etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca karayosunlarında, fenolik yapıda olan tri- ve tetrahidtoksi kumarinlere *Atrichum undulatum* ve *Polytrichum formosum*'da rastlanmıştır. Bunlardan bazıları doğal kaynaklardan izole edilen bileşikler olarak bilinmektedir.

Antibakteriyel, antioksidan ve antitümör etkileri olduğu bilinen terpenlerin karayosunlarında varlığı, araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir. Monoterpenik ve diterpenik yapılar az olmasına rağmen, *Sphagnum* cinsinden bazı monoterpen hidrokarbon yapılar tespit edilmiştir. İlginç bir örnek de, *Homalia trichomanioides* ve *Plagiomnium undulatum*'un *Streptomyces* türleri tarafından üretilen geosmin bileşiğini içermesidir. Terpenik ve fenolik yapıda bileşikler dışında karayosunlarında; steroidal yapıda, kumarin, benzonaftoksantenon, asetogenin, lipit ve azot içeren bileşiklerin de bulunduğu tespit edilmiştir. Tüm bu bileşiklerin antioksidan aktivite üzerine etkileri olabileceği düşünülmektedir.

Pogonatum microstomum üzerinde yapılan aktivite çalışmasında, türün farklı bakterilere karşı inhibisyon alanı oluşturduğu görülmüş ve antibakteriyel etkisi kanıtlanmış, ayrıca dermatofitik mantarlara karşı antifungal etki gösterdiği anlaşılmıştır. *Ceratodon purpureus*, *Ceratodon purpureus*, *Dicranum polysetum*, *Dicranum scoparium*, *Leucobryum glaucum*, *Mnium marginatum* türlerinin etanollü ekstratlarında yapılan çalışmada, radikal süpürücü ve antioksidan aktiviteleri araştırılmış ve kafeik asite kıyasla daha düşük aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Son yıllarda, pek çok sekonder bileşikte olduğu gibi özellikle fenolik bileşiklere oksidatif stres ve neden olduğu rahatsızlıkların önlenmesinde ilgi giderek artmaktadır. Fenolik bileşiklerce zengin meyve ve sebzelerin tüketilmesi ile kanser,

diyabet veya kardiyovasküler hastalıkların azalması sağlanabilmektedir. Ayrıca bitkilerde bulunan bazı bileşikler, vücutta bazı enzimlerin inhibisyonuna sağlayarak kognitif ve nörodejeneratif bozuklukların oluşmasını veya ilerlemesini engellemektedir. Diyabetes Mellitus, Alzheimer gibi önemli rahatsızlıkların önlenmesinde bitkilerin enzim inhibisyon yeteneklerinin araştırılması önemlidir.

Yapılan çalışmalar, uzun yıllar gözardı edilen karayosunlarının aslında önemli biyoaktivitelere sahip bileşikleri içerdiği ve üzerinde daha fazla çalışmalar yapılması gerektiğini göstermektedir.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, Aydın çevresinden toplanan 2 karayosunun türünden *Antitrichia californica* karayosunu örneğinin miktarı daha fazla olduğu için, eterli ekstresi hazırlanmış olup, içerdiği fitokimyasallar çeşitli kromatografik yöntemlerle tayin edilmiş ve saflaştırılmaya çalışılmıştır. Ayrıca, ekstreler üzerinde bazı biyolojik aktivite deneyleri de tamamlanmıştır.

- Tez çalışmamızda ilk olarak, karayosunu türlerinin taşıdıkları etken maddeler ve gösterdikleri farmakolojik aktivitelerle ilgili kapsamlı literatür taraması yapılmış ve elde edilen veriler özetlenmiştir.
- Literatür verilerine göre, fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmalarının genellikle bazı karayosunları üzerinde yoğunlaştığı saptanmıştır. Ülkemizde de bu tür çalışmalar görülmesine rağmen çalışmalar genellikle karayosunları türlerinin botanik özellikleri üzerindedir.
- Ülkemizde ve diğer ülkelerde, bizim çalışma materyalimiz olan ve geniş bir dağılım gösteren, *Antitrichia californica* ve *Plagiomnium ellipticum* bitkileri üzerine yapılan çalışmalara çok fazla rastlanamamıştır.
- Çalıştığımız iki bitki türünün ekstreleri az miktarda olduğu ve yapılan İTK çalışmasıyla iki türün de benzer bileşikler içerebileceğinin düşündürmesi nedeniyle ekstre miktarı daha fazla olan *Antitrichia californica*'nın eterli ekstresinde yapılan izolasyon çalışmaları ile yeni veriler elde edilmiştir.
- Oksidatif strese neden olan serbest radikallerin sebep olduğu DNA kırılmaları, DNA mutasyonları, hücre zarı kalınlaşması ve programlanandan fazla oranda hücre ölümü gibi önemli olayların yaşanmasını önlemek amacıyla

antioksidanlar vücutta üretilmekte ya da dışarıdan takviye olarak alınmaktadır. Antioksidanlara ilgi, araştırmacıları bitki veya bitki ekstralarında antioksidan etkinin incelenmesinde ilgiyi artırmıştır.

- *Antitrichia californica* ve *Plagiomnium ellipticum*'un eterli ekstraları üzerinde antioksidan etki çalışmaları yapılmış ve bunun için total fenol ve flavonit içeriği incelendikten sonra, serbest radikal süpürme aktivitesi (DPPH), radikal katyon temizleme etkinliği (ABTS), fosfomolibden, kuprik iyon indirgeme (CUPRAC), ferrik iyon indirgeyici antioksidan güç (FRAP), metal şelat aktivitesi yöntemleri kullanılmıştır. Aktivite çalışmaları antioksidan etkinin iki bitki türünde de orta düzeyde olduğu sonucuna ulaştırmıştır.

- Bitkilerde bulunan bileşikler, insan vücudunda bazı enzimlerin inhibisyonunu sağladığı için hastalıkların kognitif ve nörodejeneratif bozukluklarının önlenmesini sağlamaktadır. Bu açıdan bitkilerin enzim inhibisyon yeteneklerinin incelenmesi büyük önem taşımaktadır.

- *Antitrichia californica* ve *Plagiomnium ellipticum*'un eterli ekstralarının kolinesteraz, α -amilaz ve tirozinaz enzim inhibitör aktivite testleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan testlerle bitkilerin antikolinergik, antidiyabetik ve hiperpigmentasyon aktivite potansiyeli incelenmiştir. Aktivite çalışmaları etkilerin orta düzeyde olduğu sonucuna ulaştırmıştır.

- *Plagiomnium ellipticum* türü diğer türe göre daha kuvvetli aktivite göstermiştir.

- *Antitrichia californica* türünden bir ftalat türevi bileşik ile birde β -sitosterol izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır.

Doğal ürünlere olan yüksek ilgi ve yapılan araştırmalar gün geçtikçe daha da artmaktadır. Alçak bitkiler üzerinde de yapılan çalışmaların çok da azımsanmayacak düzeyde olduğu ancak karayosunları ile olan çalışmaların daha az olduğu literatür verilerinden anlaşılmıştır.

Bu çalışma ile, Türkiye’de bulunan 2 farklı ancak birbirine yakın yerlerde yetişen karayosunu türünün fitokimyasal olarak içeriklerinin karşılaştırılması, antioksidan kapasiteleri ve enzim inhibisyon yeteneklerinin belirlenmiştir. Bunun yanında, bitkiler üzerinde yapılmış deneysel çalışmaların bulunmaması çalışmamızın gelecekte planlanan çalışmalara bir temel oluşturacağı düşünülmektedir. Karayosunları bakımından da zengin olan Türkiye florasını değerlendirmek adına proje destekli daha geniş ve detaylı çalışmaların yapılması gerekmekte ve önerilmektedir.

ÖZET

Bazı Karayosunu Türleri Üzerinde Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları: *Plagiomnium ellipticum* (Brid.) T. Kop. Ve *Antitrichia californica* Sull. In Lesq.

Bu çalışmada öncelikle, çalışma materyali olarak kullandığımız, *Antitrichia californica* ve *Plagiomnium ellipticum*'un eterli ekstreleri hazırlanmış, üzerlerinde çeşitli kromatografik çalışmalar yapılmıştır. Bu ekstreler üzerinde, karşılaştırmalı olarak çeşitli aktivite deneyleri de gerçekleştirilmiştir. Bunun için total fenol ve flavonoid içeriği, serbest radikal süpürme aktivitesi (DPPH), radikal katyon temizleme etkinliği (ABTS), fosfomolibden, kuprik iyon indirgeme (CUPRAC), ferrik iyon indirgeyici antioksidan güç (FRAP), metal şelatlama aktivitesi gibi yöntemler kullanılmıştır. Ayrıca, yine eterli ekstreler üzerinde, kolinesteraz, α -amilaz ve tirozinaz enzim inhibitör aktivite testleri de gerçekleştirilmiştir. Böylece, yapılan testlerle bitkilerin antikolinerjik, antidiyabetik ve hiperpigmentasyon aktivite potansiyelleri incelenmiş, ve çok kuvvetli olmayan etkiler tespit edilmiştir. Ayrıca izolasyon çalışmaları sonucunda, 1,2-benzendikarboksilik asit bis(2-etilhekzil) ester ile β -sitosterol de izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Bu çalışma ile, karayosunları üzerinde bir değerlendirme çalışması gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda, bu çalışma ile hem gelecekte yapılacak çalışmalara ışık tutulacak, hem de Türkiye florasından bazı karayosunu türlerinin araştırılmasına ve tanınmasına olanak sağlanacaktır.

Anahtar Sözcükler: Antioksidan aktivite, *Antitrichia californica*, Enzim inhibitör aktivite, *Plagiomnium ellipticum*

SUMMARY

Phytochemical and Biological Activity Studies of Some Moss Species: *Plagiomnium ellipticum* (Brid.) T. Kop. ve *Antitrichia californica* Sull. in Lesq.

In this study, firstly, ethereal extracts of *Antitrichia californica* and *Plagiomnium ellipticum*, which we used as research materials, were subjected to various chromatographic studies. Some activity experiments were also performed comparatively on these extracts of each moss species. For this, total phenol and flavonoid content, free radical scavenging activity (DPPH), radical cation scavenging activity (ABTS), phosphomolybdenum, cupric ion reduction (CUPRAC), ferric ion reducing antioxidant power (FRAP), metal chelate activity were used as methods. Also, cholinesterase, α -amylase, and tyrosinase enzyme inhibitory activity tests were performed on ethereal extracts to compare each other. Thus, the anticholinergic, antidiabetic, and hyperpigmentation activity potentials of the plants were examined, and not very strong effects were determined. Besides, as a result of the isolation studies, β -sitosterol was isolated along with a phthalate derivative and its structures were elucidated. With this study, an evaluation study has been carried out on mosses. At the same time, this study will be a basic study for future studies. Moreover, it will be provided for the investigation of some moss species of flora and recognition from Turkey.

Keywords: Antioxidant activity, *Antitrichia californica*, Enzyme inhibitory activity *Plagiomnium ellipticum*

KAYNAKLAR

- ABOUTABL E, AFIFI M, GHANEM N, YOKOYAMA R, FUKUYAMA Y, ASAKAWA Y (1999). Aromatic compounds from the Egyptian moss *Eucladium verticillatum* (Brid.). *The Journal of Hattori Botanical Laboratory*, **86**: 175-178.
- ALBAYRAK S, SAĞDIÇ O, AKSOY A (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **26**(4): 401-409.
- ANHUT S, SEEGER T, ZINSMEISTER HD, GEIGER H (1989). New dihydrobiflavones from the moss *Plagiomnium cuspidatum*. *Z. Naturforsch*, **44**: 189-192.
- APAK R, GÜÇLÜ K, ÖZYÜREK M, KARADEMİR SE (2004). A novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols, vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**: 7970-7981.
- ARUNA KB, KRISHNAPPA M (2018). Phytochemistry and antimicrobial activities of *Pogonatum microstomum* (R. Br. ex Schwägr.) Brid. (Bryophyta; Musci: Polytrichaceae). *International Journal of Botany Studies*, **3**: 120-125.
- ASAKAWA Y (2007). Biologically active compounds from Bryophytes. *Pure and Applied Chemistry*, **79**(4): 557-580.
- ASAKAWA Y (2008). Liverworts potential source of medicinal compounds. *Current Pharmaceutical Design*, **14**(29): 3067-3088.
- ASAKAWA Y, LUDWICZUK A, NAGASHIMA F (2013). Chemical Constituents of the Bryophytes. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, pp.: 563-605.
- ASAKAWA Y, LUDWICZUK A, NAGASHIMA F (2013). Phytochemical and biological studies of bryophytes. *Phytochemistry*, **91**: 52-80.
- ASAKAWA Y, LUDWICZUK A (2018). Chemical constituents of Bryophytes: structures and biological activity. *Journal of Natural Products*, **81**: 641-660.
- ASLANBABA B, YILMAZ S, YAYINTAŞ ÖT, ÖZYURT D, ÖZTÜRK BD (2017). Total phenol content and antioxidant activity of mosses from Yenice Forest (Ida Mountain), *Journal of Scientific Perspectives*, **1**(1): 1-12.
- AZUELO AG, SARIANA LG, PABUALAN MP (2011). Some medicinal bryophytes: their ethnobotanical uses and morphology. *Asian Journal of Biodiversity*, **2**: 50-80.

- BAHADORI MB, DINPARAST L, ZENGİN G, SARIKÜRKÇÜ C, BAHADORI S, ASGHARI B, MOVAHHEDIN N (2017). Functional components, antidiabetic, anti-Alzheimer's disease, and antioxidant activities of *Salvia syriaca* L. *Int. J. Food Prop.*, **20**: 1761–1772.
- BASILE A, GIORDANO S, LOPEZ-SAEZ JA, CASTALDO COBIANCHI R (1999). Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. *Phytochemistry*, **52**(8): 1479-1482.
- BENZEI IF, STRAIN JJ (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, **239**(1): 70-76.
- BLAINSKY A, LOPES GS, MELLO JCP (2013). Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules Journal*, **18**: 6852-6865.
- BUDKE JM, BERNARD EC, GRAY DJ, HUTTUNEN S, PIECHULLA B, TRIGIANO RN (2018). Introduction to the special issue on Bryophytes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **37**: 102-112.
- CHANDRA S, CHANDRA D, BARH A, PANKAJ, PANDEY RK, SHARMA IP (2017). Bryophytes: hoard of remedies, an ethno-medicinal review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, **7**: 94-98.
- DEMBITSKY VM, REZANKA T (1995). Distribution of acetylenic acids and polar lipids in some aquatic bryophytes. *Phytochemistry*, **40**: 93-97.
- DEHGHAN H, SALEHI P, AMIRI MS (2018). Bioassay-guided purification of α -amylase, α -glucosidase inhibitors and DPPH radical scavengers from roots of *Rheum turkestanicum*. *Industrial Crops and Products*, **117**: 303-309.
- DING H (1982). Medicinal spore-bearing plants of China, *Science and Technology Press*, Shanghai, s.: 409.
- EZER T (2017). Contributions to the bryophyte flora of Turkey. *Acta Biologica Turcica*, **30**(4): 128-133.
- FLORA OF NORTH AMERICA EDITORIAL COMMITTEE (2014a). Flora of North America North of Mexico. Volume 28: Bryophytes: Mosses, Part 2. Oxford University Press, pp.: 702.
- FLORA OF NORTH AMERICA EDITORIAL COMMITTEE (2014b). Flora of North America North of Mexico. Volume 28: Bryophytes: Mosses, Part 2. Oxford University Press, pp.: 590.

- FU P, LIN S, SHAN L, SHEN Y-H, TANG J, LIU R-H, ZHANG X, ZHU R-L, ZHANG W-D (2009). Constituents of the moss *Polytrichum commune*, *Journal of Natural Products*, **72**(7): 1335-1337.
- GEIGER H, SEEGER T, HAHN H, ZINSMEISTER HD, MARKHAM KR, WONG H (1993). ¹H-NMR assignments in biflavonoid spectra by proton-detected C-H correlation. *Z. Naturforsch*, **48c**: 821-826.
- GEIGER H, SEEGER T, ZINSMEISTER HD, FRAHM J-P (1997). The occurrence of flavonoids in arthrodontous mosses – an account of the present knowledge. *The Journal of Hattori Botanical Laboratory*, **83**: 273-308.
- GREIG LH, LAHIRI DK, SAMBAMURTI K (2002). Butyrylcholinesterase: an important new target in Alzheimer's disease therapy. *International Psychogeriatrics*, **14**(1): 77-91.
- GROCHOWSKI DM, UYSAL S, AKTÜMSEK A, GRANICA S, ZENGİN G, CEYLAN R, LOCATELLI M, TOMCZYK M (2017). *In vitro* enzyme inhibitory properties, antioxidant activities, and phytochemical profile of *Potentilla thuringiac*. *Phytochemistry Letters*, **20**: 365-372.
- GULABANI A (1974). Bryophytes as economic plants. *Botanica*, **14**: 73-75.
- GÜNER A, Resimli Türkiye Florası Cilt I, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları, İstanbul, s: 155-156.
- GÜZEL E, BOĞA R, BURSAL E (2013). Çiriş otunun (*Asphodelus aestivus*) antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, **1**(1): 17-25.
- HALAOULI M, ASTHER K, KRUUS L, GUO M, HAMDİ M, SIGOILLOT JC, ASTHER M, LOMASCOLO A (2005). Characterization of a new tyrosinase from *Pycnopus* species with high potential for food technological applications. *Journal of Applied Microbiology*, **98**: 332-343.
- HARRIS ES (2008). Ethnobotany: traditional uses and folk classification of bryophytes. *The Bryologist*, **111**: 69-217.
- https://plants.usda.gov/java/largeImage?imageID=plel2_004_ahp.jpg Erişim tarihi: 13.09.2020
- <http://nathistoc.bio.uci.edu/Mosses/Antitrichia%20californica/index.html> Erişim tarihi: 13.09.2020
- HU P, LI DH, JIA CC, LIU Q, WANG XF, LI ZL, HUA HM (2017). Bioactive constituents from *Vitex negundo* var. *heterophylla* and their antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities. *Journal of Functional Foods*, **35**: 236-244.

- HUANG D, OU B, PRIOR RL (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 1841-1856.
- JACKOVIC N, ANDRADE PB, VALENTAO P, SOBOVLJEVIC M (2008). HPLC-DAD of phenolics in bryophytes *Lunularia cruciata*, *Brachytheciastrum velutinum* and *Kindbergia praelonga*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, **73**(12): 1161-1167.
- JUNG M, ZINSMEISTER HD, GEIGER H (1994). New three- and tetraoxygenated coumarin glucosides from the mosses *Atrichum undulatum* and *Polytrichum formosum*. *Z. Naturforsch*, **49c**: 697-702.
- KARABULUT H, GÜLAY MŞ (2016). Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **1**(1): 65-76.
- KARIM FA, SULEIMAN M, RAHMAT A, BAKAR MF (2014). Phytochemicals, antioxidant and antiproliferative properties of five moss species from Sabah-Malaysia. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **6**(10): 292-297.
- KASOTE DM, KATYARE SS, HEGDE MV, BAE H (2015). Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International Journal of Biological Sciences*, **11**(8): 982-991.
- KIM SJ, PARK HR, PARK E, LEE SC (2007). Cytotoxic and antitumor activity of momilactone B from rice hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**: 1702-1706.
- KLAVINA L, SPRINGE G, NIKOLAJEVA V, MARTSINKEVICH I, NAKURTE I, DZABIJEVA D, STEINBERGA I (2015). Chemical composition analysis, antimicrobial activity and cytotoxicity screening of moss extracts (moss phytochemistry). *Molecules Journal*, **20**(9): 17221-17243.
- KUMAR K, NATH V, ASTHANA AK (2007). Concept of bryophytes in classical text of Indian ethnobotanical perspective, current trends in Bryology. Bishen Singh Mahendra Pal Singh. Dehra Dun, India, pp.: 215-220.
- LAWTON E (1971). Moss Flora of the Pacific Northwest. *Hattori Botanical Laboratory*, pp.: 362.
- LICHTENTHALER HK (1968). Verbreitung und relative konzentration der lipophilen plastidenchinone in grünen pflanzen. *Planta*, **81**: 140-152.
- MATHEW S, ABRAHAM TE (2006). Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various *in vitro* models. *Food Chemistry*, **94**: 520-528.

- MOT CA, DUMITRESCU SR, SARBU C (2011). Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles FT-IR and UV-VIS spectroscopic data. *Journal of Food Composite and Analysis*, **24**: 516-522.
- ODODO MM, CHOUDHURY MK, DEKEBO AH (2016). Structure elucidation of β -sitosterol with antibacterial activity from the root bark of *Malva parviflora*. *SpringerPlus*, **5**: 1210.
- OKAN OT, VARLIBAŞ H, ÖZ M, DENİZ İ (2013). Antioksidan analiz yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir odun dışı bazı bitkisel ürünler. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, **13**(1): 48-59.
- OSTERDAHL B (1979). Chemical studies on Bryophytes. 22. flavonoid C-glycosides of *Mnium undulatum*. *Acta Chemica Scandinavica B*, **33**(6): 400-404.
- NOZAKI H, HAYASHI K-I, NISHIMURA N, KAWAIDE H, MATSUO A, TAKAOKA D (2007). Momilactone A and B as allelochemicals from moss *Hypnum plumaeforme*: first occurrence in Bryophytes. *Biosci Biotechnol Biochem*, **71**: 3127-3130.
- PANT GP (1998). Medicinal uses of bryophytes, Topics in Bryology, Allied Publisher Limited, New Delhi, 1998, pp.: 112-124.
- POLACHEK I, KWON-CHUNG KJ (1988). Melanogenesis in *Cryptococcus neoformans*. *Journal of General Microbiology*, **134**: 1037-1041.
- PRIETO P, PINEDA M, AGUILAR M (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum complex: specific application to determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, **269**(2): 337-341.
- RAMPENDAHL C, SEEGER T, GEIGER H, ZINSMEISTER HD (1996). The biflavonoids from *Plagiomnium undulatum*. *Phytochemistry*, **41**(6): 1621-1624.
- SABOVLJEVIC A, SABOVLJEVIC M, JOCKOVIC N (2009). In vitro culture and secondary metabolite isolation in Bryophytes. *Methods in Molecular Biology*, **547**: 117-128.
- SABOVLJEVIC A, SOKOVIC MILAN J, SABOVLJEVIC M (2010). Comparison of extract bio-activities of in situ and in vitro grown selected bryophyte species. *African Journal of Microbiology Research*, **4**(9): 808-812.
- SALM RF, ZINSMEISTER HD, EICHER T (1998). Nitrogen-containing compounds from the moss *Fontinalis squamosa*. *Phytochemistry*, **49**: 887-892.
- SARITAŞ Y, MEKEM SONWA M, IZNAGUEN H, KONIG WA, MUHLE H, MUES R (2001). Volatile constituents in mosses (Musci), *Phytochemistry*, **57**: 443-457.

- SAXENA DK, HARINDER (2004). Uses of Bryophytes. *Resonance*, **9**: 56-65.
- SAVE SA, LOKHANDE RS, CHOWDHARY AS (2015). Determination of 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis (2-ethylhexyl) ester from the twigs of *Thevetia peruviana* as a Colwell Biomarker. *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, **2**(3): 349-362.
- SHAW AJ, SZOVÉNYI P, SHAW B (2011). Bryophyte diversity and evolution: windows into the early evolution of land plants. *American Journal of Botany*, **98**: 1-18.
- SIEVERS H, BURKHARDT G, BECKER H, ZINSMEISTER HD (1992). Hypnogenols and other dihydroflavonols from the moss *Hypnum cupressiforme*. *Phytochemistry*, **31**: 3233-3237.
- SUIRE C, BOURGEOIS G, KOPONEN T (2000). Some chemical constituents of thirteen mosses from the traditional Mniaceae family. *The Journal of Hattori Botanical Laboratory*, **89**: 233-246.
- THOMPSON S, LANCTÔT KL, HERRMANN N (2004). The benefits and risks associated with cholinesterase inhibitor therapy in Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Drug Safety*, **3**(5): 425-440.
- TOSUN G, YAYLI B, TURAN Ö, BATAN N, YAYLI N, ALPAY Ş (2014). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from *Tortella inclinata* var. *densa*, *T. tortusa* and *Pleurochaete squarrosa*. *Asian Journal of Chemistry*, **26**(7): 2001-2004.
- TOYOTA M, KIMURA K, ASAKAWA Y (1998). Occurrence of *ent*-sesquiterpene in the Japanese moss-*Plagiomnium acutum*: first isolation and identification of *ent*-sesqui- and dolabellane-type diterpenoids from the musci. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **46**: 1488-1489.
- TOYOTA M, MASUDA K, ASAKAWA Y (1998). Triterpenoid constituents of the moss *Floribundaria aurea* subsp. *nipponica*. *Phytochemistry*, **48**: 297-299.
- ÜLGER TG, AYHAN YABANCI N (2020). Bitki sekonder metabolitlerinin sağlık üzerine fonksiyonel etkileri. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **11**(3): 384-390.
- VANDERPOORTEN A ve GOFINET B (2009). *Introduction to Bryophytes*. Cambridge, pp.: 303.
- VASCONCELOS MJM, SILVA AMS, CAVALEIRO JAS (1998). Chromones and flavanones from *Artemisia campestris* subsp. *maritima*. *Phytochemistry*, **49**: 1421-1424.

- ROJAS-VERA JDC, DIAZ AA, POSSAMAI LM, TIMMERS LFSM, TALLINI LR, BASTIDA J (2020). Alkaloid profile and cholinesterase inhibition activity of five species of Amaryllidaceae family collected from Merida state-Venezuela. *South African Journal of Botany*, **10**: 39.
- WANG X-N, YU W-T, LOU H-X (2004). Antifungal constituents from the Chinese moss *Homalia trichomanoides*. *Chemistry & Biodiversity*, **2**: 139-145.
- VITT DH, MARSH JE, BOVEY RB (1988). Mosses, Lichens & Ferns of Northwest North America. Seattle, WA. *University of Washington Press*, pp.: 296.
- WILDERMAN PR, XU M, JIN Y, COATES RM, PETER RJ (2004). Identification of syn-pimara- 7,15-diene synthase reveals functional clustering of terpene synthases involved in rice phytoalexin/allelochemicals biosynthesis. *Plant Physiology*, **135**(4): 2098- 2105.
- XU J, CAO J, YUE J, ZHANG X, ZHAO Y (2018). New triterpenoids from acorns of *Quercus liaotungensis* and their inhibitory activity against α -glucosidase, α -amylase and protein-tyrosine phosphatase 1B. *Journal of Functional Foods*, **14**: 232-239.
- ZHENG GQ, CHANG CJ, STOUT TJ, CLARDY J, CASSADY JM (1989) Ohioensin-A: a novel benzonaphthoxanthene from *Polytrichum ohioense*. *Journal of the American Chemical Society*, **111**(14): 5500-5501.
- ZHENG GQ, HO DK, ELDER PJ, STEPHENS RE, COTTRELL CE, CASSADY JM (1994). Ohioensins and pallidisetins: novel cytotoxic agents from the moss *Polytrichum pallidisetum*. *Journal of Natural Products*, **57**(1): 32-41.
- ZINSMEISTER HD, BECKER H, EICHER T (1991). Mosses, a source of biologically active natural products. *Angewandte Chemie*, **103**: 134-151.