

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOĞNOZİ ANABİLİMDALI**

***TANACETUM ZAHLBRUCKNERİ* (NÁB.) GRIERSON
BİTKİSİ ÜZERİNE FARMAKOĞNOZİK
ARAŞTIRMALAR**

**Hazırlayan
Bio. Duygu EROĞLU**

**Danışman
Yrd. Doç. Dr. Perihan GÜRBÜZ**

**Yrd. Danışman
Yrd. Doç. Dr. Ş. Dilem DOĞAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Nisan 2016
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOĞNOZİ ANABİLİMDALİ**

***TANACETUM ZAHLBRUCKNERİ* (NÁB.) GRIERSON
BİTKİSİ ÜZERİNE FARMAKOĞNOZİK
ARAŞTIRMALAR**

**Hazırlayan
Bio. Duygu EROĞLU**

**Danışman
Yrd. Doç. Dr. Perihan GÜRBÜZ**

**Yrd. Danışman
Yrd. Doç. Dr. Ş. Dilem DOĞAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TYL-2014-5558 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Nisan 2016
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Bio. Duygu EROĞLU

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“*Tanacetum zahlbruckneri* (Náb.) Grierson Bitkisi Üzerine Farmakognozik Araştırmalar”
adlı **Yüksek Lisanstezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma
Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan**Bio. Duygu EROĞLU****İmza****Danışman****Yrd. Doç Dr. Perihan GÜRBÜZ****İmza****Yardımcı Danışman****Yrd. Doç Dr. Ş. Dilem DOĞAN****İmza****Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı****Prof. Dr. Müberra KOŞAR****İmza**

Yrd. Doç. Dr. Perihan GÜRBÜZ ve **Yrd. Doç. Dr. Ş. Dilem Doğan** danışmanlığında **Bio. Duygu EROĞLU** tarafından hazırlanan ‘*Tanacetum zahlbruckneri* (Náb.) Grierson Bitkisi Üzerine Farmakognozik Araştırmalar’’ adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Farmakognozi** Anabilim Dalı **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

...../...../2016

JÜRİ

İmza

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Perihan GÜRBÜZ (Farmakognozi ABD)

Üye : Prof. Dr. Müberra KOŞAR (Farmakognozi ABD)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Gülin RENDA (Farmakognozi ABD)

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun/...../..... tarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../2016

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Aykut Özarendeli

TEŞEKKÜR

Eğitimim ve tez çalışmam süresince bana bilgi ve deneyimleri ile yardımcı olan, sabrını ve hoşgörüsünü eksik etmeyen tez danışmanlarım Yrd. Doç. Dr. Perihan GÜRBÜZ ve Yrd. Doç. Dr. Ş. Dilem DOĞAN'a,

Desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, değerli vaktini bana ayırıp her zaman yardımcı olan Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Müberra KOŞAR'a,

Laboratuvar çalışmalarım benden yardımlarını esirgemeyen, yol gösteren ve desteğini hep arkamda hissettiğim hocam Yrd. Doç. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK'a

Maddelerin UV spektrumlarının çekilmesinde yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Çiğdem YÜCEL'e,

Bitkilerin toplanmasını ve teşhisini gerçekleştiren Yrd. Doç. Dr. M. Yavuz PAKSOY'a,

Manevi desteğini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan laboratuvar çalışmalarında desteklerini gördüğüm arkadaşlarım Öğ. Gör. Leyla PAŞAYEVA, Arş. Gör. Esra KÖNGÜL'e

Tezin yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Öğ. Gör. Hanifa FATULLAYEV, Arş. Gör. Meryem TAŞCI, Ecz. Meltem TANBAY, Bio. Neslihan GÖKŞEN, Arş. Gör. Elçin ÖZGER, Arş. Gör. Kübra UZUN, Arş. Gör. Furkan KONCA, Arş. Gör. Sedat ÜNAL'a,

Tez çalışmamı TYL-2014-5558 kodlu proje ile finansal olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Her zaman yanımda olan maddi ve manevi her türlü desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen anneme, babama, kardeşlerime

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Duygu Eroğlu

***TANACETUM ZAHLBRUCKNERİ* (Náb.) GRIERSON BİTKİSİ ÜZERİNE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Duygu EROĞLU

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakognozi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı**

Yüksek Lisans Tezi, Nisan 2016

Danışmanlar: Yrd. Doç. Dr. Perihan GÜRBÜZ

Yrd. Doç. Dr. Ş. Dilem DOĞAN

ÖZET

Bu çalışmada dünya üzerinde 161, Türkiye florasında 47 türle temsil edilen *Tanacetum* cinsine ait *Tanacetum zahlbruckneri* (Náb.) Grierson bitkisi üzerinde Farmakognozik araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Bitkinin topraküstü kısımları metanol ile ekstre edilmiştir. Hazırlanan metanol ekstresinin önce toplam fenol, flavonoid ve flavonol miktarları analiz edilmiştir. Daha sonra metanol ekstresi su ile süspansiyon edilerek sırası ile *n*-hekzan, dietil eter, diklorometan ve *n*-butanol ile partisyona tabi tutulmuştur. *n*-BuOH ekstresinden, bir fenolik asit (klorojenik asit= TZ-1), bir flavonoid glikoziti (rutin= TZ-2) ve bir primer metabolit olan conduritol F (TZ-3) olmak üzere üç bileşik izole edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler (UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR, MS) kullanılarak aydınlatılmıştır. *T. zahlbruckneri*'nin metanol ekstresi ve izole edilen bileşiklerin kalitatif ve kantitatif saflık analizleri ters faz Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) ile yapılmıştır. Klorojenik asit ve rutin ekstredeki miktarları hesaplanmıştır. Metanol ekstresi ve izole edilen saf bileşiklerin antioksidan aktivitelerini tanımlamak için 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH[•]) radikali, β -karoten-linoleik asitle oksidasyon ve 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) (ABTS^{•+}) radikal süpürücü etki yöntemleri kullanılmıştır. Klorojenik asitin aktivitesi, rutin ve ekstrelerden daha yüksek bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Tanacetum zahlbruckneri*, Asteraceae, Flavonoid, NMR, YBSK, DPPH[•], ABTS^{•+}

**RESEARCHS PHARMACOGNOSIC ON *TANACETUM ZAHLBRUCKNERI*
(NÁB.) GRIERSON**

Duygu EROĞLU

Erciyes University, Graduate Institute of Health Science

Department of Pharmacognosy

MS Thesis, April 2016

Advisors: Asist. Prof. Dr. Perihan GÜRBÜZ

Asist. Prof. Dr. Ş. Dilem DOĞAN

ABSTRACT

In this study, pharmacognostical investigations have been carried out on *Tanacetum zahlbruckneri*, belonging to *Tanacetum* genus, represented by 161 species on worldwide and 47 species in Turkish flora. The aerial parts of the plant material were extracted with methanol. Total phenol, flavonoid and flavonol amounts of methanol extract were investigated. After that MeOH extract was suspended with water and was subjected to partition with hexane, diethyl ether, dichloromethane, and *n*-butanol respectively. Three compounds including one phenolic compound (chlorogenic acid=TZ-1), one flavonoid (Rutin= TZ-2), and one primer metabolite (conduritol F=TZ-3) were isolated from *n*-butanol extract of *T. zahlbruckneri* using various chromatographic methods. The structure determination of the compounds achieved by spectral methods such as ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR, MS. Qualitative-quantitative compositional analyses and purity data of MeOH extract and isolated pure compounds of *T. zahlbruckneri* were performed with reversed-phase High Pressure Liquid Chromatography (HPLC). The amounts of isolated chlorogenic acid and rutin in the MeOH extract were calculated. To determine the antioxidant activity of the MeOH extract and isolated pure compounds, 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazyl (DPPH[•]) and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS⁺•) radical scavenging effect, oxidation with β -carotene-linoleic acid effects were used. The activity of chlorogenic acid was found to be higher than rutin and extracts.

Keywords: *Tanacetum zahlbruckneri*, Asteraceae, flavonoids, NMR, HPLC, DPPH[•], ABTS⁺•

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	iii
ONAY	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
TABLO LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. BOTANİK BİLGİLER.....	3
2.1.1. Asteraceae Familyası	3
2.1.2 Tribus Sınıflandırması	4
2.1.3. Anthemideae Tribusu.....	4
2.1.4. <i>Tanacetum</i> L. Türlerinin Botanik Özellikleri	5
2.1.5. <i>Tanacetum zahlbruckneri</i> (Náb.) Grierson Bitkisinin Özellikleri	5
2.1.6. <i>Tacetum zahlbruckneri</i> (Náb.) Grierson Türünün Bitki Sistematikindeki Yeri	6
2.2. <i>TANACETUM</i> TÜRLERİ ÜZERİNDE YAPILAN ÇALIŞMALAR	7
2.2.1. <i>Tanacetum</i> Türleri Üzerinde Fitokimyasal Çalışmalar.....	7
2.2.1.1. Fenolik Bileşikler	7
2.2.1.1 1. Fenolik Asitler	7

2.2.1.1.2. Flavonoitler	8
2.2.1.2. Terpenler	14
i) Monoterpenler	14
ii) Seskiterpenler.....	16
iii) Seskiterpen Laktonlar	16
iv)Triterpenler	24
2.2.2. <i>Tanacetum</i> Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Aktiviteleri	28
Antioksidan Aktivite	28
Antienflamatuvar Aktivite	29
Multiple sklerosis (MS) Üzerine Etkisi	30
Kardiyovasküler Sisteme Etkisi	30
Sitotoksik Aktivite	30
Antimikrobiyal Aktivite	31
Antiülser Aktivite.....	32
İnsektisit ve Antifeedant Aktivite	32
Antiviral Aktivite	32
Antimigren Aktivite	32
Antikoagulan ve Antifibrinolitik Aktivite.....	33
Diğer Aktiviteler	33
2.3. ANTİOKSİDANLAR	34
2.3.1. Oksidatif Stres, Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma	34
2.3.1.1. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Bileşikleri.....	35
2.3.1.2. Reaktif Oksijen Bileşiklerinin Kaynakları	36
2.3.1.3. Oksidatif Hasar ve Sonuçları	36
2.3.1.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	40

3.1. FİTOKİMYASAL ÇALIŞMALAR	40
3.1.1. Bitkisel Materyal.....	40
3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Aletler	40
3.1.3. Kromatografik Yöntemler.....	42
3.1.4. Ekstraksiyon.....	45
3.1.5. Kimyasal Kompozisyon Analizleri.....	47
3.1.5.1. Toplam Fenol Miktar Tayini.....	47
3.1.5.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayini.....	47
3.1.5.3. Toplam Flavonol Miktar Tayini.....	47
3.1.6. İzolasyon Çalışmaları	48
3.2. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ÇALIŞMALARI	51
3.2.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH [•]) Radikalini Süpürücü Etki Tayini	51
3.2.2. 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolin-6- sülfonik asit) (ABTS ⁺ •) Radikalini Süpürücü Etki Tayini	51
3.2.3. β -karoten / linoleik asit Birlikte Oksidasyonunu İnhibe Edici Etki Tayini ...	51
4. BULGULAR.....	53
4.1. FİTOKİMYASAL ÇALIŞMALARA AİT BULGULAR.....	53
4.1.1. Kompozisyon Analizleri	53
4.1.2. İzolasyon Çalışmaları	53
4.1.2.1. Fenolik Asitler.....	54
4.1.2.2. Flavonoitler (Flavonol)	59
4.1.2.3. Conduritol F	68
4.1.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Analizi	74
4.2. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ÇALIŞMALARI	78
4.2.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH [•]) Radikalini Süpürücü Etki Tayini	78

4.2.2. 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolin-6- sulfonik asit) (ABTS ⁺ •) Radikalini Süpürücü Etki Tayini	79
4.2.3. β -Karoten/linoleik Asit Birlikte Oksidasyonunu İnhibe Edici Etki Tayini ...	80
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	81

SİMGELER VE KISALTMALAR

Abs	Absorbans
ABTS ⁺ •	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6- sulfonik asit)
AlCl ₃	Alüminyum triklorür
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
CAT	Katalaz
CD ₃ OD	Metanol- <i>d</i> ₄ (Dötero metanol)
(CD ₃) ₂ SO	DMSO- <i>d</i> ₆ (Dötero dimetilsülfoksi)
CE	Kateşin'e eşdeğer
CH ₂ Cl ₂	Diklorometan
CHCl ₃	Kloroform
¹³ C- NMR	¹³ C- Nükleer Manyetik Rezonans
COSY	Correlation Spectroscopy
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH [•]	1,1-difenil-2-pikrihidrazil radikali
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetikasit
EtOAc	Etil asetat
Et ₂ O	Dietil eter
FR	Fraksiyon
FRAP	Ferrik İyonu İndirgeme Antioksidan Gücü
GA	Gallik asit
GAE	Gallik asit'e eşdeğer
GC	Gaz Kromatografisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi–Kütle spektroskopisi
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz

HMBC	Heteronuclear multiple-bond correlations spectroscopy
^1H -NMR	^1H - Nükleer Manyetik Rezonans
HSQC	Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu
H_2O_2	Hidrojen peroksit
IC_{50}	Yüzde ellisini inhibe eden konsantrasyon
IR	İnfrared spektroskopisi
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$	Potasyum peroksidisülfat
K562	Lösemi hücre hattı
M	Molar
MDA	Malondialdehit
MeOH	Metanol
Mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
N	Normal
Na_2CO_3	Sodyum karbonat
NaNO_2	Sodyum nitrit
NaOH	Sodyum hidroksit
NMR	Nükleer manyetik rezonans
NO	Nitrik oksit
<i>n</i> - BuOH	<i>n</i> -Butanol
OBSK	Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi
OH	Hidroksil
PDA	Photodiode arrays
RE	Rutin'e eşdeğer
RNS	Reaktif Azot Türleri

ROB	Reaktif Oksijen Bileşikleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
Sigel	Silika jel
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBARS	Tiyobarbütirik asit reaktif türleri
TEAC	Troloks'a eşdeğer
Trolox	6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametil kromon-2-karboksilik asit
UV	Ultraviyole
Van/H ₂ SO ₄	Vanilin sülfürik asit
YBSK	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
Mmol	Mikromolar
μM	Mikromol
μL	Mikrolitre

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Hidroksisinnamik ve Hidroksibenzoik Asitler	8
Tablo 2.2. Bazı <i>Tanacetum</i> Türlerinde Bulunan Flavonlar	12
Tablo 2.3. <i>Tanacetum</i> Türlerinde Bulunan Flavonoller.....	13
Tablo 2.4. <i>Tanacetum</i> Türlerinden Elde Edilen Bazı Monoterpenler	15
Tablo 2.5. Seskiterpen Laktonların Ana İskelet Yapıları.....	16
Tablo 2.6. <i>Tanacetum</i> Türlerinde Bulunan Germakranolitler.....	18
Tablo 2.7. <i>Tanacetum</i> Türlerinde Bulunan Gayanolitler	21
Tablo 2.8. <i>Tanacetum</i> Türlerinde Bulunan Ödesmanolitler.....	23
Tablo 2.9. <i>Tanacetum</i> Türlerinden Elde Edilen Ana Triterpenler	26
Tablo 2.10. Reaktif Türler	35
Tablo 3.1. Kromatografik Çalışmalarda Kullanılan Adsorbanlar	40
Tablo 3.2. Kromatografik Çalışmalarda Kullanılan Çözücü Sistemleri	41
Tablo 3.3. YBSK Gradient Akış Tablosu	45
Tablo 4.1. Ekstre Verimleri, Toplam Fenol, Toplam Flavonoit ve Toplam Flavonol Miktarları.....	53
Tablo 4.2. <i>Tanacetum zahlbruckneri</i> ' den Elde Edilen Bileşiklerin R _f değerleri ^a	53
Tablo 4.3. Klorojenik asit (TZ-1) Bileşiği için ¹ H-NMR (400 MHz, CD ₃ SO),.....	56
DEPT ve ¹³ C-NMR (100 MHz, CD ₃ SO) Değerleri	56
Tablo 4.4. Rutin (TZ-2) Bileşiği için ¹ H-NMR (400 MHz, CD ₃ OD), DEPT ve	61
¹³ C-NMR (100 MHz, CD ₃ OD) Değerleri	61
Tablo 4.5. Conduritol F (TZ-3)'un ¹³ C ve ¹ H NMR Spektroskopik Değerleri.....	69
(CD ₃) ₂ SO, (¹³ C: 100 MHz; ¹ H: 400 MHz).....	69
Tablo 4.6. <i>Tanacetum zahlbruckneri</i> Ekstre ve Saf maddelerinin YBSK Sonuçları (mg/g).....	74
Tablo 4.7. Standartlara ait Kalibrasyon Denklemleri ve Korelasyon Katsayıları.....	74

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Flavonoitlerin Benzoil (A) ve Sınnaoil (B) Halkası	8
Şekil 2.2. Flavonoitlerin Biyosentezi	11
Şekil 2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması (SOD= Süperoksit dismutaz; GSH-Px= Glutasyon peroksidaz, EGCG= Epigallokateşingallat)	39
Şekil 3.1. <i>T. zahlbruckneri</i> Bitkisinin Ekstraksiyon Şeması.....	46
Şekil 3.2. <i>T. zahlbruckneri</i> Topraküstü <i>n</i> -BuOH Ekstresi İzolasyon Şeması	50
Şekil 4.1. Klorojenik asit (5- <i>O</i> -kafeoilkinik asit) (TZ-1)'in ¹ H-NMR Spektrumu (¹ H: 400 MHz, (CD ₃) ₂ SO)	57
Şekil 4.2. Klorojenik asit (5- <i>O</i> - kafeoilkinik asit) (TZ-1)'in ¹³ C- NMR Spektrumu (¹³ C:100 MHz, (CD ₃) ₂ SO)	58
Şekil 4. 3. Rutin (Kersetin-3-ramnoglucozid) (TZ-2)'nın ¹ H Spektrumu (¹ H: 400 MHz, CD ₃ OD).....	62
Şekil 4.4. Rutin (Kersetin-3-ramnoglucozid) (TZ-2)'nın ¹³ C NMR Spektrumu (¹³ C: 100 Hz, CD ₃ OD).....	63
Şekil 4. 5. Rutin (Kersetin-3-ramnoglucozid) (TZ-2)'nın DEPT 90 Spektrumu (¹³ C:100MHz, CD ₃ OD).....	64
Şekil 4. 6. Rutin (Kersetin-3-ramnoglucozid) (TZ-2)'nın DEPT 135 Spektrumu (¹³ C:100MHz, CD ₃ OD).....	65
Şekil 4.7. Rutin (Kersetin-3-ramnoglucozid) (TZ-2)'nın ¹ H- ¹³ C-Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu (HSQC)	66
Şekil 4. 8. Rutin (Kersetin-3-ramnoglucozid) (TZ-2)'nın ¹ H- ¹³ C-Heteronükleer Korelasyonu (uzak mesafe) NMR spektrumu (HMBC)	67
Şekil 4. 9. Conditurol F (Lökantemitol) (TZ-3)'ün ¹ H- NMR spektrumu (¹ H: 400 MHz, (CD ₃) ₂ SO)	70
Şekil 4.10. Conditurol F (Lökantemitol) (TZ-3)'ün ¹³ C- NMR spektrumu (¹³ C: 100MHz, (CD ₃) ₂ SO)).....	71
Şekil 4.11. Conditurol F (Lökantemitol) (TZ-2)'un DEPT 90 Spektrumu (¹³ C: 100MHz, (CD ₃) ₂ SO)	72
Şekil 4.12. Conditurol F (Lökantemitol) (TZ-2)'un ¹ H- ¹³ C-Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR (HSQC)	73

Şekil 4.13. Standart Klorojenik Asit'e ait YBSK Kromatogramı,	75
Şekil 4.14. Standart Rutin'e ait YBSK Kromatogramı	75
Şekil 4.15. İzole edilen TZ-1 Kodlu Saf Maddesine (klorojenik asit) ait YBSK Kromatogramı	76
Şekil 4.16. İzole edilen TZ-2 (=TZ-11) Kodlu Saf Maddesine (rutin) ait YBSK kromatogramı	76
Şekil 4.17. <i>T. zahlbruckneri</i> Metanol Ekstresine ait YBSK Kromatogramı.....	77
Şekil 4.18. <i>T. zahlbruckneri</i> Ekstrelerinin ve İzole Saf Maddelerinin DPPH● Radikali Süpürücü Etkileri.	78
Şekil 4.19. <i>T. zahlbruckneri</i> Ekstrelerinin ve İzole Saf Maddelerinin ABTS+● Radikalini Süpürücü Etkileri.....	79
Şekil 4.20. <i>T. zahlbruckneri</i> Ekstrelerinin ve İzole Saf Maddelerinin β -Karoten-linoleik asit Peroksidasyonuna Etkileri	80
Şekil 5.1. <i>T. zahlbruckneri</i> 'den Elde Edilen Maddeler	82

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Doğal bileşikler, canlı organizmalardan çeşitli fiziksel, biyolojik ve kimyasal yöntemler kullanılarak elde edilen organik maddelerdir. Temel kaynakları arasında bitkiler, deniz canlıları, mikroorganizmalar ve diğer bazı hayvansal organizmalar en önemli yeri almaktadır. Çeşitli tekniklerle bu canlıların üretmiş oldukları organik maddeler izole edilmekte, yapıları aydınlatılmakta ve farklı amaçlara yönelik olarak kullanılmaktadır.

Bilimin ilerlemesi ve eczacılık tekniklerine bağlı olarak 19. ve 20. yüzyıllarda bitkilerin tedavi edici etken maddelerinin saflaştırılması sağlanmış ve bunların çoğu sentetik yollarla elde edilmiştir. Son zamanlarda sentetik ilaçlarda meydana gelebilen ciddi yan etkilerin yol açtığı tıbbi ve ekonomik sorunlar ve sanayileşmiş ülkelerdeki çevre kirliliğinin arttırdığı ekolojik kirlilikler, tedavileri henüz mümkün olmayan pek çok hastalığın oluşturduğu tehdit, doğal olması ve yan etkilere yol açmadığı düşüncesi gibi pek çok faktöre bağlı olarak bitkilerle tedavi tekrar popüler hale gelmeye başlamıştır.

Bu çalışmada dünya genelinde insektisit, balsam, boya, kozmetik endüstrisinde öneme sahip *Tanacetum* türlerinden biri olan ve ülkemizde endemik olarak yetişen *Tanacetum zahlbruckneri* bitkisi üzerinde Farmakognozik araştırmalar yapılması planlanmıştır. *Tanacetum* cinsi Dünyada 161, Türkiye’de ise doğal olarak yetişen 47 türle temsil edilmektedir (1, 2). *Tanacetum* türleri halk arasında, kuvvet verici, iştah açıcı, kurt düşürücü, idrar arttırıcı, gaz söktürücü, midevi ve safra kesesi taşlarını düşürücü olarak kullanılmaktadır (3). Ayrıca, artritite, emanogog (4) ve kolagog olarak kullanılmaktadır (5).

Tanacetum türleri üzerinde yapılan çok sayıda farmakolojik çalışmayla bu türlerin başta migren tedavisinde olmak üzere, antitümör, antienflamatuvar (6), antihistaminik, antimikrobiyal, antifungal, insektisit (7), sitotoksik (8), antiprotozoal, antihelminetik (9, 10), antiülser (11) gibi birçok etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Yapılan literatür taramasında teze konu olan *T. zahlbruckneri*'nin halk arasında kullanımına rastlanmamıştır.

Tanacetum türleri seskiterpenlakton (germakranolit, ödesmanolit, gayanolit) flavonoit ve uçucu yağ bakımından zengindir. Ayrıca nadiren de olsa, kumarin türevi maddeler ve fenolik asitleri içermektedir (12-15). *T. zahlbruckneri* üzerinde bugüne kadar uçucu yağ çalışması dışında yapılmış ayrıntılı izolasyon ve aktivite çalışmaları bulunmamaktadır.

Tez çalışmamızda:

1. Bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan MeOH ekstresinin spektral yöntemlerle toplam fenol, flavonoit, flavonol içeriklerinin belirlenmesi,
2. MeOH ekstresinden hazırlanan *n*-BuOH ekstresinden kromatografik çalışmalarla, sekonder metabolitlerin izolasyonu,
3. İzole edilen bileşiklerin yapılarının spektroskopik (UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR, Kütle spektrometresi) yöntemlerle aydınlatılması ve yapısı aydınlatılan bileşiklerin, MeOH ekstresindeki miktar tayinlerin gerçekleştirilerek, ekstre ve saf maddelerin aktivitelerinin tayini amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BOTANİK BİLGİLER

2.1.1. Asteraceae Familyası

Asteraceae (Compositae) familyası, yaklaşık 23.000 türle, dünyada en fazla türüolan familyadır. Asteraceae familyası, yurdumuzda Asteroideae (Tubuliflorae) ve Cichorioidae (Liguliflorae) isimli iki alt familya ile temsil edilir ve *Tanacetum* L. cinsi Asteroideae alt familyasına girmektedir.

Asteraceae familyasına ait *Tanacetum* L. cinsi yeryüzünde kuzey yarım kürede yayılış göstermekte olup, Türkiye’de Doğu Anadolu başta olmak üzere, İç ve Güney Anadolu’da oldukça geniş yayılış göstermektedir. Ülkemizde 19’u endemik olmak üzere 47 tür ile doğal yayılış göstermektedir (1).

Familya bitkileri tek, iki veya çok yıllık otsu bitkilerdir. Bazen çalı formundadırlar, lateks taşıyanları vardır. Yapraklar ya alternan ya da opozit dizilişli, çoğunlukla stipulasızdır; lamina tam kenarlı, dişli veya değişik şekillerde parçalıdır. Çiçekler nadiren tek, genellikle çok sayıda, sapsız ve kapitulum durumundadır. Kapitulum tabanında bir ya da çok sıralı braktelerden oluşan bir involukrum bulunur. Kapitulumlar bazen ikincil olarak kapitulum benzer başka (psödokapitulum) bir kapitulum oluştururlar. Reseptakulum çıplaktır veya palea adı verilen pullar ya da uzun tüyler veya sert kıllar taşır. Çiçekler epigin; hermafrodit veya tek eşeyli ya da sterildir; aktinomorf veya zigomorftur. Kaliks ya ovaryumun tepesinde tüy, sert kıl, pul veya diken şeklinde (meyva halinde genişleyen) bir papus ya da parçalanmamış bir taç şeklindedir, bazen de yoktur. Korolla gamopetal, tüpsü, dilsli, ipliksi veya nadiren bilabiattır, genellikle 3 veya 5 dişlidir, nadiren eksiktir. Stamen (4-) 5 tane, filamentler genellikle serbesttir; anterlerisestilus etrafında bir silindir şeklinde birleşmiştir (singenezik stamenler), nadiren serbesttir. Anterler içeriye doğru açılır. Ovaryum alt durumlu, 1-gözlü, anatrop

1-ovüllüdür. Meyva aken tipinde olup tepesinde genellikle kalıcı veya düşücü bir papus taşır (16).

2.1.2 Tribus Sınıflandırması

Asteraceae familyası Davistarafından Anthemideae, Aretoteae, Astereae, Calenduleae, Cardueae, Eupatoriae, Heliantheae, Inuleae, Mutisieae, Lactuceae ve Senecioneae olmak üzere 11 tribusa ayrılmıştır (16).

2.1.3. Anthemideae Tribusu

Çoğunlukla aromatik otsu bitkiler veya çalılardır. Yapraklar alternan dizilişli ve çoğunlukla pennattır. Kapitulum heterogam, radiat veya homogam, diskoiddir. involukrum az çok pulsu; involukrumu oluşturan brakteler 3 ya da daha fazla sıradan oluşmuş ve imbrikattır, genellikle pulsu kenarlıdır. Reseptakulum palea adı verilen pullarla kaplı veya çıplak. Dilsî çiçekler sarı veya beyaz nadiren erguvani, tüpsü çiçekler sarıdır. Anterler tabanda genellikle obtus. Stilus trunkat veya rotundat dallanır. Akenler köşeli, yuvarlak veya boyuna basık olup gagasızdır. Papus çoğunlukla yoktur ya da korona şekline indirgenmiştir. Bu tribustaki bitkiler daha çok Akdeniz çevresi ülkelerde ve Güney Afrika'da yayılış gösterir. Birçok tıbbi bitkinin yer aldığı bir tribusdur (16).

2.1.4. *Tanacetum* L. Türlerinin Botanik Özellikleri

Tanacetum taksonları genellikle rizomlu, kısa veya uzun, dik veya yükselici gövdeli, otsu bazen yarı çalimsıdır. Taksonlar çıplak veya tüylü; tüyler basit veya ikiye çatallanmış olabilir. Yapraklar basit, kenarı dişli, bazen pinnatifit veya 1-3 pinnatisekt olabilir. Kapitulum heterogam veya homogam, tek veya genellikle gevşek dizilişli sık korimbus halindedir. İnvolukrum yarı küremsi veya çan şeklinde; involukrumu oluşturan brakteler imbrikat, 3-4 sıralı, lanseolat veya oblong, genellikle kenarları ve tepesi zarımsıdır. Çiçek tablası düz ve çıplaktır. Dilsî çiçeklerin petalleri (=ligula) beyaz, sarı veya pembe, involukrumdan az çok uzun 3-lopludur. Dilsî çiçekler bazen eksiktir. Tüpsü çiçekler 5 loplu ve sarıdır. Akenler hemen hemen silindirik veya çomak şeklinde, 5-10 boyuna oluklu çoğu kez salgı tüylü veya çıplaktır. Korona kısa veya eksik, genellikle kaba dişli veya loplu, bazen tek taraflı ve sadece arkadaki yüzde bulunur (16).

1. Kapitulum heterogam; kenarlarda bulunan dişî çiçekler, dilsî fakat bazen belirgin değildirler ve nadiren tüpsü çiçeklerden uzundurlar.

2. Dişî çiçekler beyaz, soluk kükürt sarısı veya pembemsi kırmızı, her zaman belirgin dilsî şeklinde. **A Grubu**

2. Dişî çiçekler parlak veya koyu sarı, ligulalar bazen belirgin değil **B Grubu**

1. Kapitulum homogam, diskoit; dişî çiçekler tamamıyla eksik. **C Grubu**

Bu tezde çalışılan endemik *T.zahlbruckneri* bu tayin anahtarında A Grubunda yer almaktadır (16).

2.1.5. *Tanacetum zahlbruckneri* (Náb.) Grierson Bitkisinin Özellikleri

Tanacetum zahlbruckneri 30 cm boyunda çok yıllık otsu bir türdür. Kök yaprakları pinnatisekt; dar linear, akuminat loblu, glandular; sap yaprakları küçük benzer ve sapsız. Kapitulumlar 8-15 cm boyundaki pedunkul üzerine genellikle 2-4 tane. İnvolukrum 1,5 cm genişliktedir. Dıştaki braktelerin kenarları kahverengimsi veya siyah, zarımsı olup ovat-lanseolat şekilli, içtekiler ise şeritsi-ters lanseolat ve 5-7 x 3 mm' dir. Dilsî çiçekler beyaz veya yeşilimsi-sarı, ligula 9-15 x 5-6 mm olup tepeleri genellikle çeltiklidir. Tüpsü çiçekler 3 mm uzunluğundadır. Akenler kahverengi ve 2.5 mm boyunda olup tepede 5 çıkıntıya sahiptir. Akenin üst ucundaki taç kısmı 0.2 mm uzunluğunda olup bazen eksik ya da tamdır (17).

Yayılış

Doğu Anadolu **A8** Trabzon: Erzurum, Bayburt, 1500 m, 6167 **B7** Erzincan: 40 km Erzincan, 1300 m, 1959:1659 **B9** Bitlis: Kambos, Hürmüz üstünde 2135 m, 23387 Van: Şuşanı Dağı, Van'ın üstünde 2350-2400 m, 9014 **C9** Hakkari: Elkiyayla, Beytuşşabap, 2400-2550 m, 45349 **C10** Hakkari: Sat Dağı, 2300-2600 m, 45513

Tip örnek : [Türkiye C9 Hakkari] mons Maidanoke supra pagum Hasitha (Aşutka), 1700-1800 m, *Nábêlek* 3598.

Habitat

Taşlık yamaçlarda, 1300-3000 m yükseklikte yetişir (16).

2.1.6. *Tanacetum zahlbruckneri* (Náb.) Grierson Türünün Bitki Sistematikindeki Yeri

Bölüm: Spermatophyta

Alt Bölüm: Angiospermae

Sınıf: Dikotyledonae

Takım: Asterales

Familya: Asteraceae (Compositae)

Alt Familya: Asteroideae (Tubuliflorae)

Tribus: Anthemideae

Cins: *Tanacetum* L.

Tür: *Tanacetum zahlbruckneri* (Náb.) Grierson

2.2. TANACETUM TÜRLERİ ÜZERİNDE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Tanacetum türleri üzerinde bugüne kadar yapılmış olan çalışmalar “*Tanacetum* Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Çalışmalar” ve “*Tanacetum* Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Aktiviteleri”, başlıkları altında derlenerek iki bölümde verilmiştir.

Bu tezde fitokimyasal çalışmalar başlığı adı altında Gören ve arkadaşlarının (Gören, 2002) yaptığı derleme dikkate alınarak, bu yıldan günümüze kadar (2002-2015) olan çalışmalar derlenerek sunulmuştur.

2.2.1. *Tanacetum* Türleri Üzerinde Fitokimyasal Çalışmalar

Tanacetum türleri üzerinde yapılmış olan fitokimyasal çalışmalar sonucunda elde edilmiş olan bileşikler, kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmış; fenolik bileşikler, (flavonoitler ve fenolik asitler), terpenler (monoterpen, seskiterpen, triterpen) ve seskiterpenlaktonlar (germakranolitler, gayanolitler, ödesmanolitler), başlıkları altında toplanmıştır.

2.2.1.1. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoitler olmak üzere iki ana başlıkta incelenmektedir.

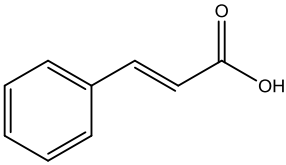
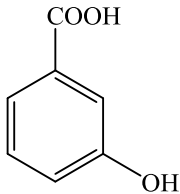
2.2.1.1 1. Fenolik Asitler

Fenolik asitler; **hidroksisinnamik asitler** ve **hidroksibenzoik asitler** olmak üzere iki grupta incelenirler.

Fenolik asitler genel olarak serbest halde bulunmazlar. Karboksil grupları karbohidratlar, glikozitler, aminoasitler veya proteinlerle reaksiyona girebilirler ve alkollerle fenol esterler, amino bileşikleri ile de amitleri oluştururlar.

Fenolik asitlerin, fenol halkasına bağlı hidroksil grupları da çok aktif olup, şekerlerle birleşerek glikozitleri oluştururlar.

Tablo 2.1. Hidroksisinnamik ve Hidroksibenzoik Asitler

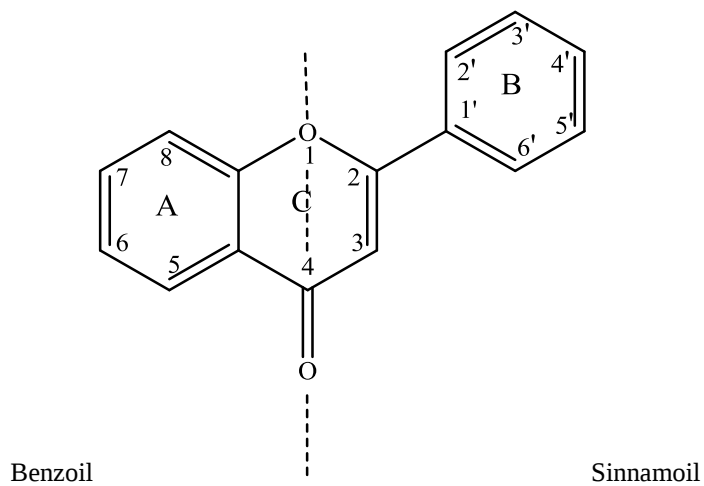
Hidroksisinnamik asitler	Hidroksibenzoik asitler
	
Ferulik asit, Kafeik asit, o-Kumarik asit	Gallik asit Vanilik asit

4-hidroksi-3-metoksibenzoik asit, 3,4-dimetoksibenzoik asit ve 4-hidroksi asetofenon fenolik asitleri *T. sinaicum*'dan izole edilmiştir (18).

2.2.1.1.2. Flavonoitler

Flavonoitler fenilalaninden türevlenir ve fenolik bileşiklerin en büyük sınıfını oluştururlar. Yani iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan difenil propan ($C_6-C_3-C_6$) yapısındaki fenolik bileşiklerdir.

Kimyasal bakımdan flavonoitler 2-fenilbenzopiran yapısı göstermektedirler (Şekil 2.1) (19).

**Şekil 2.1.** Flavonoitlerin Benzoil (A) ve Sinamoil (B) Halkası

Flavon yapılarındaki aromatik halkalar A ve B, heterohalka ise C ile gösterilmektedir. A ve C halkalarındaki (benzopiran çekirdeğinde) karbon atomları oksijen atomundan başlayarak numaralandırılırken, B halkasındaki atomlar ise (') rakamlarla numaralandırılmaktadır.

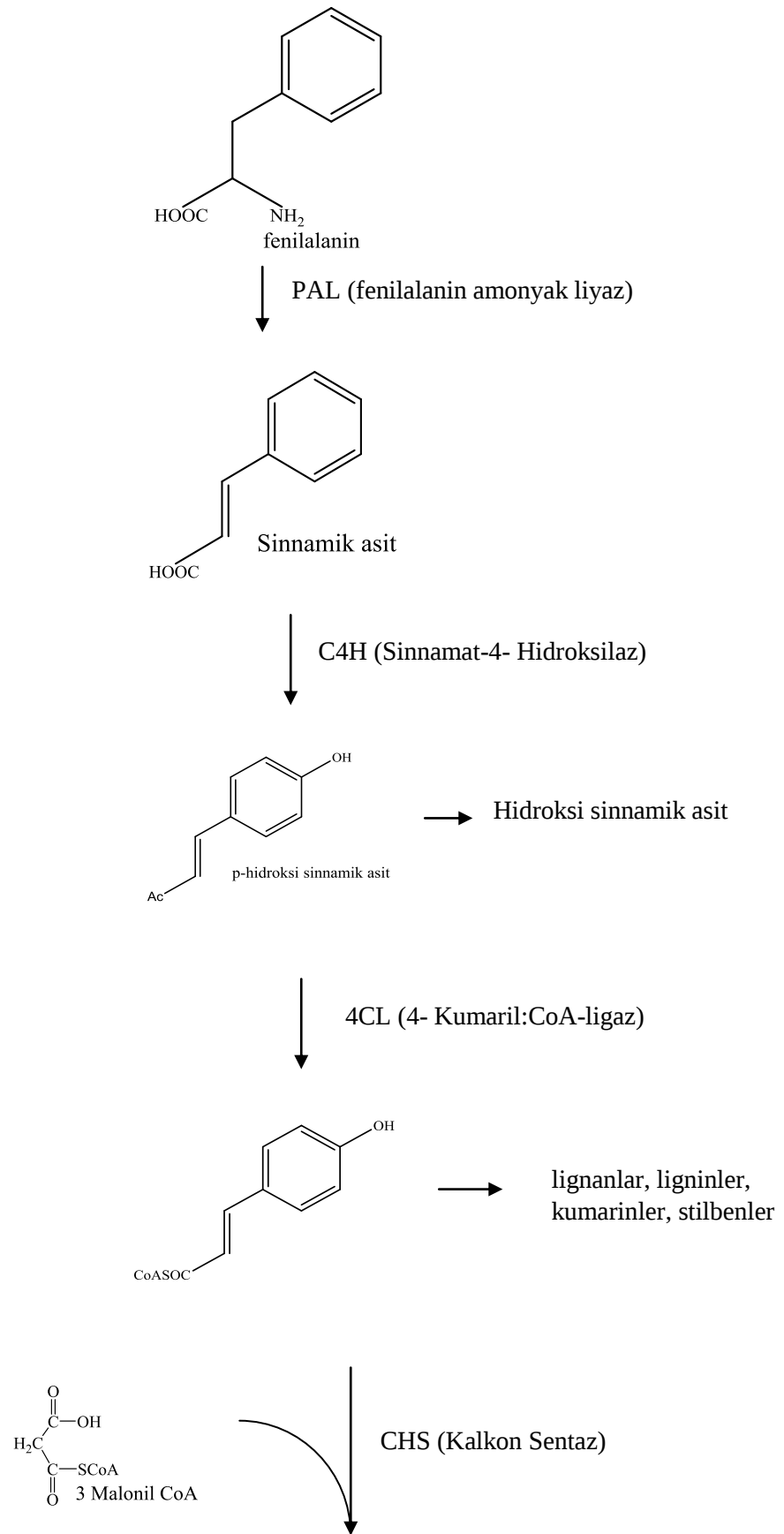
Flavonoidlerin Biyosentezi

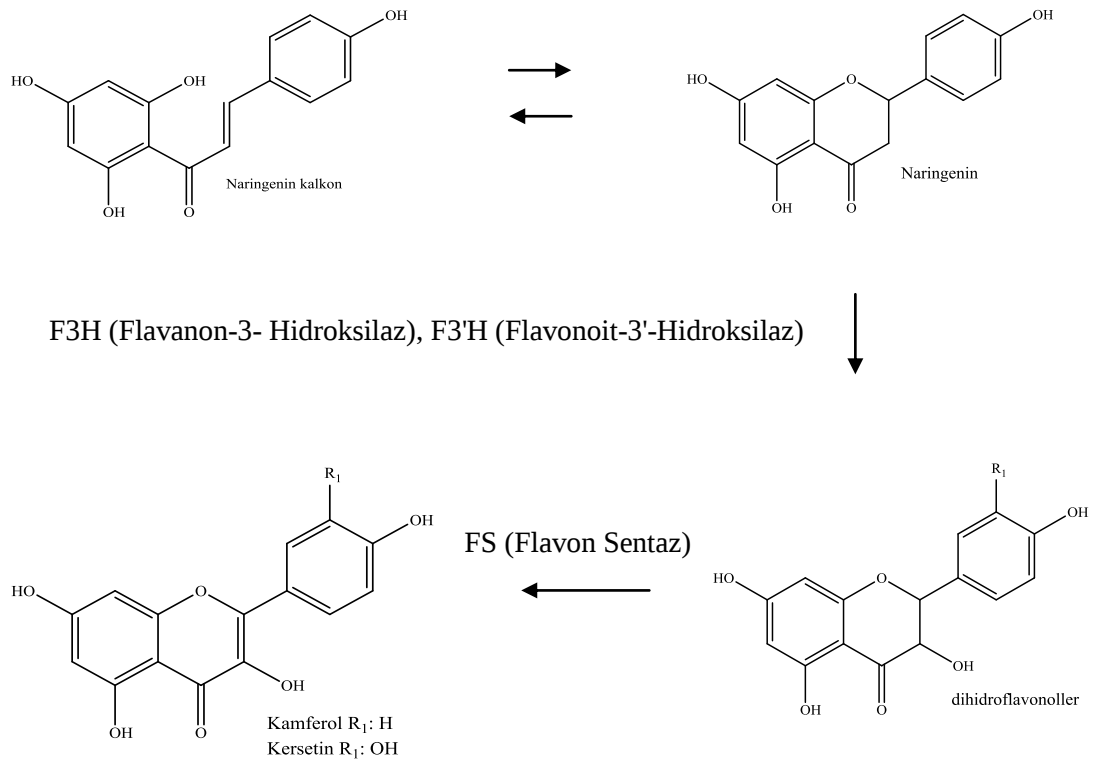
Bitkilerin sekonder metabolitleri arasında yer alan flavonoidler, fotosentez sonucu meydana gelen karbohidrat, aminoasit gibi primer metabolitlerden oluşmaktadırlar (Şekil 2.2) (20).

Flavonoidlerin biyosentez araştırmaları sonucunda elde edilen verilere göre, fenilalanin gibi aminoasitlerin enzimatik deaminasyonundan oluşan sinamik asit türevlerinin, asetil CoA ile kondensasyonundan ya da malonil CoA kondenzasyonundan oluştukları tespit edilmiştir (21).

Malonil koenzim A'dan gelen kısım benzoil (A) halkasını oluştururken, sinamik asitten gelen kısım da sinamoil (B) halkasını meydana getirmektedir (Şekil 2.2).

Flavonoidlerin biyosentezi sırasında kalkon/flavon izomerizasyonu, oksidasyonu, çevrilme, alkilasyon ve glikozillenme gibi pek çok ara reaksiyonlar da meydana gelmektedir.



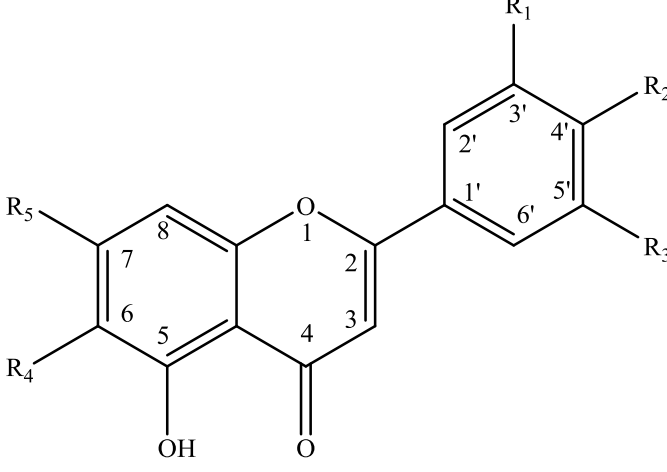


Şekil 2.2. Flavonoitlerin Biyosentezi (21)

Flavonoitler farklı iskelet yapılarına göre flavon, flavonol, flavanon, izoflavon, kalkon, ksanton ve biflavoniller olmak üzere 7 gruba ayrılmışlardır. Bu gruplardan doğada en yaygın olarak bulunanlar, flavonlar ve flavonollerdir.

i) Flavonlar

Tablo 2.2. Bazı *Tanacetum* Türlerinde Bulunan Flavonlar

							
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Tür	Kaynak
Apigenin	H	OH	H	H	OH	<i>T. parthenium</i> , <i>T. vulgare</i> var. <i>boreale</i> , <i>T. microphyllum</i>	(22, 23), (24)
Asasetin	H	OCH ₃	H	H	OH	<i>T. vulgare</i>	(5)
Luteolin	OH	OH	H	H	OH	<i>T. parthenium</i> , <i>T. vulgare</i> var. <i>boreale</i>	(22, 23)
6- hidroksiluteolin 6,3',4' trimetil eter	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃	OH	<i>T. chilliophyllum</i> var. <i>chilliophyllum</i>	(25)
Hispidulin	H	OH	H	OCH ₃	OH	<i>T. vulgare</i> var. <i>boreale</i>	(23)
Jaseosidin	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH	<i>T. vulgare</i> var. <i>boreale</i>	(23)
Krizoeriyol	OCH ₃	OH	H	H	OH	<i>T. parthenium</i>	(24)
Pektolinarigenin	H	OCH ₃	H	OCH ₃	OH	<i>T. vulgare</i> var. <i>boreale</i>	(23)
Nepetin	H	OH	OH	OCH ₃	OH	<i>T. vulgare</i> var. <i>boreale</i>	(23)
Tilianin	H	OCH ₃	H	H	O-glu	<i>T. vulgare</i>	(5)

ii) Flavonoller

Tablo 2.3. Bazı *Tanacetum* Türlerinde Bulunan Flavonoller

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Tür	Kaynak
Aksillarin	OH	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH	<i>T. vulgare</i> var. <i>boreale</i>	(23)
Ermanin	H	OCH ₃	OCH ₃	H	OH	<i>T. microphyllum</i>	(24)
Jaseidin	OCH ₃	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH	<i>T. parthenium</i> , <i>T. sinaicum</i>	(18, 26)
Kemferol	H	OH	OH	H	OH	<i>T. parthenium</i>	(24)
Kirsilenol	OCH ₃	OH	H	OCH ₃	OCH ₃	<i>T. sinaicum</i>	(18)
Krizosplenetin	OCH ₃	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	<i>T. sinaicum</i>	(18)
6- hidroksikemferol 3,6- dimetileter	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH	<i>T. cadmeum</i> ssp. <i>cadmeum</i> , <i>T. parthenium</i>	(6, 27)
Kersetagetin- 3,6,7- trimetil eter	OH	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	<i>T. chilliophyllum</i> var. <i>chilliophyllum</i>	(25)
Kersetagetin 3,6 dimetil eter	H	H	OCH ₃	OCH ₃	OH	<i>T. parthenium</i>	(6)
5- hidroksi6,7,4' trimetoksiflavon	H	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	<i>T. canescens</i>	(28)
5,3'- dihidroksi6,7,4' trimetoksiflavon	OH	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	<i>T. canescens</i>	(28)
Santin	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OH	<i>T. parthenium</i> , <i>T. microphyllum</i>	(24, 26)
Sentoreidin	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OH	<i>T. parthenium</i>	(26)
Tanetin	H	OCH ₃	OCH ₃	OH	OCH ₃	<i>T. cadmeum</i> ssp. <i>cadmeum</i>	(27)
Viteksikarpin	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	<i>T. sinaicum</i>	(18)
5,4'-dihidroksi- 3,6,7- trimetoksiflavon	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	<i>T. artemisioides</i>	(29)
5-hidroksi-3,6,7,4'- tetrametilhidroavon	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	<i>T. artemisioides</i>	(29)

2.2.1.2. Terpenler

Terpenler, bu sınıfa dahil olan 30.000'den fazla molekül içermesi nedeniyle sekonder metabolitlerin içerisinde en çok yayılış gösteren gruptur. Terpenler bitki dokularında çoğunlukla serbest olarak, bazıları glikozitleri ya da organik asit esterleri halinde ya da proteinlerle birleşmiş olarak bulunmaktadır.

İzoprenoitler olarak da adlandırılan terpenler, taşıdıkları izopren ünitelerinin sayısına bağlı olarak, mono-, seski-, di-, triterpen ve tetraterpenler olarak sınıflandırılırlar (30).

Tanacetum türlerinin taşıdığı terpen türevi bileşikler, cinste bulunma sıklığı göz önünde bulundurularak mono, seskiterpen lakton ve triterpenler olarak derlenmiştir.

i) Monoterpenler

Tanacetum türlerinin uçucu yağları incelendiğinde; Dünyada ve Türkiye' de uçucu yağlarının bileşimi ve aktiviteleri konusunda çeşitli çalışmalar yapılmış olan türlerden en dikkati çekenler *T. parthenium*, *T. argenteum*, *T. praeteritum*, *T. chiliophyllum*, *T. balsamita* ve *T. densum*'dur (31). Bu türlerden elde edilen uçucu yağlar, daha çok asiklik, monosiklik ve bisiklik yapıdaki monoterpenlerle seskiterpen yapısındaki maddelerden meydana gelmiş en az 30 farklı madde içeren karışımlardır. Bu bileşenler ve miktarları, türden türe göre farklılık göstermektedir.

T. argyrophllum var. *argyrophllum*'un uçucu yağ analizinde, 22-23 bileşik tespit edilmiş ve bu bileşiklerden miktarca en fazla olanlar, *cis*-tuyon, *trans*-tuyon ve 1,8-sineol olarak belirlenmiştir (32).

T. balsamita subsp. *balsamita*'nın uçucu yağlarının anabileşenleri, *trans*-krizantenol, krizantenil asetat, linalool oksit, *T. chiliophyllum* var. *chiliophyllum*'un ise borneol, karveol, izobornil propiyonat, kamfen, kamfor, 1,8-sineoldür (2).

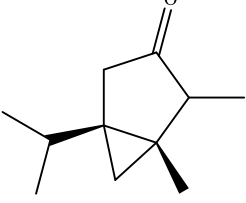
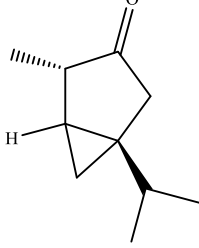
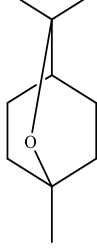
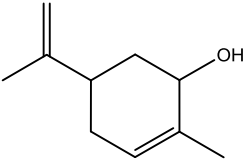
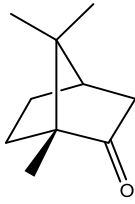
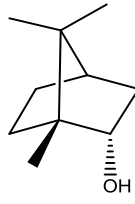
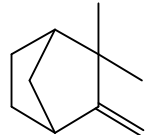
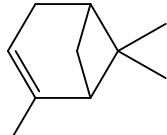
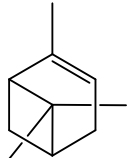
Uçucu yağının etkileri bakımından önemli olan türlerden biri de “gümüş düğme (feverfew)” isimleriyle de bilinen *T. parthenium*’dur. Uçucu yağının ana bileşenleri, kamfor ve krizantenil asetat’tır (13).

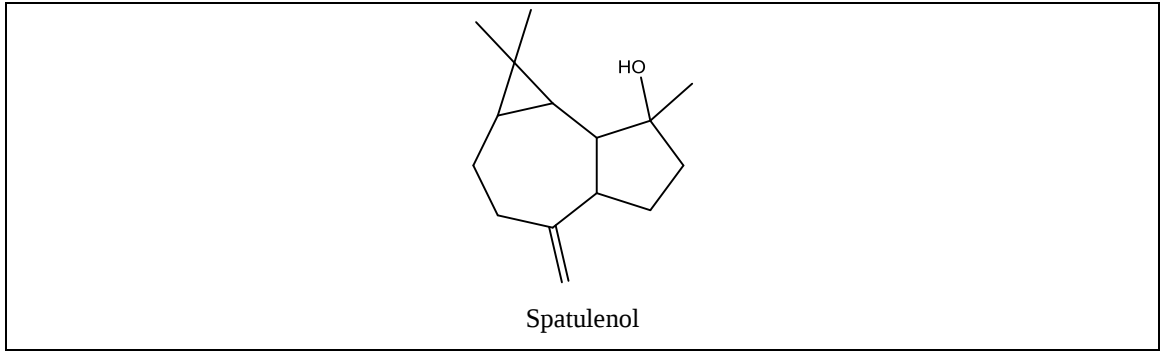
T. argenteum ssp. *argenteum* ve *T. nitens*’in uçucu yağlarının anabileşenleri, α -pinen, β -pinen, 1,8-sineol, spatulenol, *T. larvatum* ve *T. vulgare*’nin ise, *trans*-sabinil asetat, β -pinen, kamfor, β -tuyon ve germakren D gibi monoterpen ve seskiterpen yapısında bileşiklerdir (33-36).

T. dumosum’da miktarca en fazla fragranol ve fragranil asetat, *T. audibertii*’ de ise artemisia keton, *trans*-linalil oksit asetat, 1,8-sineol olarak belirlenmiştir (10, 37).

Diğer önemlibir tür ise *T. zahlbruckneri*’dir. Bitkinin uçucu yağında başlıca seskiterpen yapısında germakren D ve spatulenol bulunur (31).

Tablo 2.4. *Tanacetum* Türlerinden Elde Edilen Bazı Monoterpenler

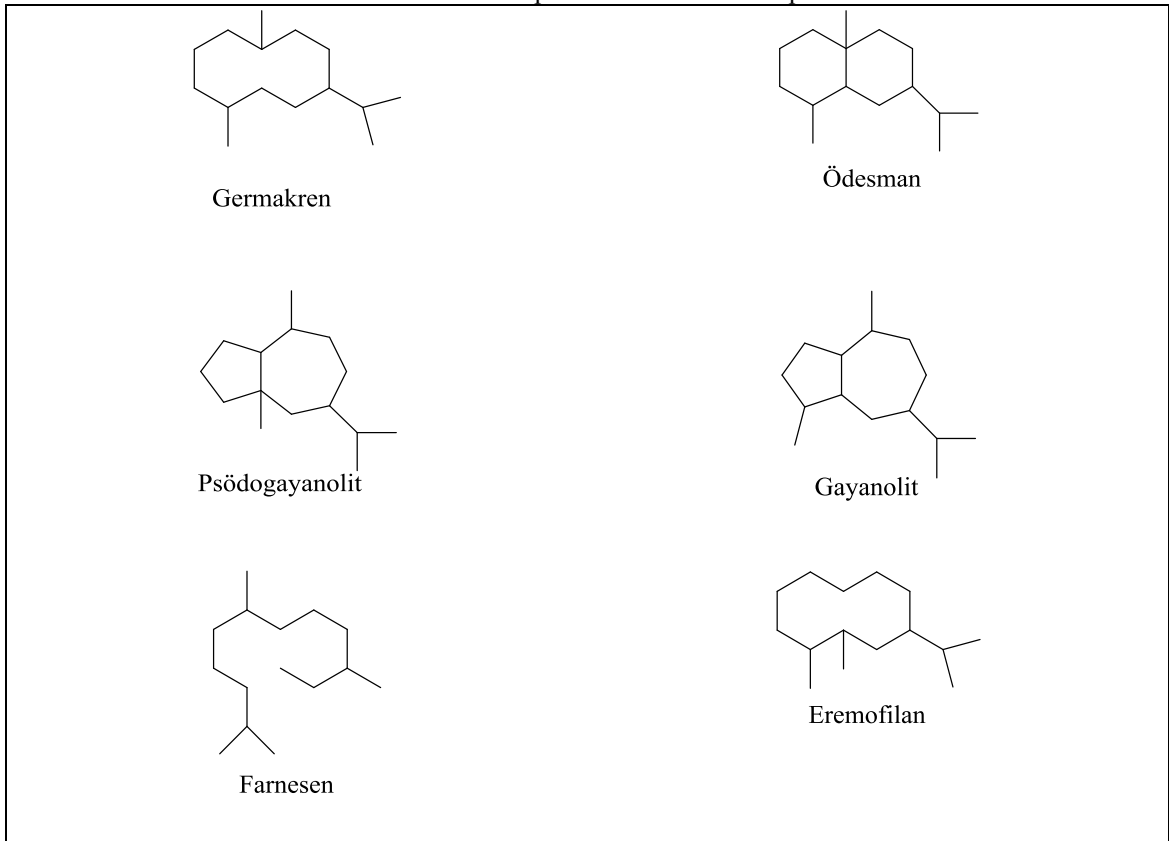
		
cis- tuyon	trans- tuyon	1,8- sineol
		
Karveol	Kamfor	borneol
		
Kamfen	α - pinen	β - pinen



ii) Seskiterpenler

Tanacetum zahlbruckneri bitkisinden germakren D (38), *T. balsamita*'dan balsamiton (39), *T. santolinoides*'den tanasetonik asit (40), *T. tanacetoides*'den izohumulen ve bisiklogermakren (41), *T. longifolium*'dan tanaseten (42) seskiterpenleri izole edilmiştir.

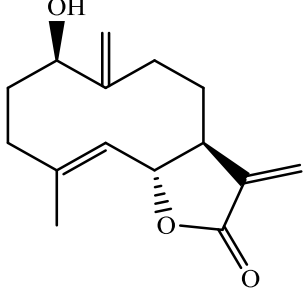
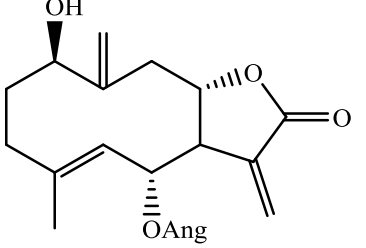
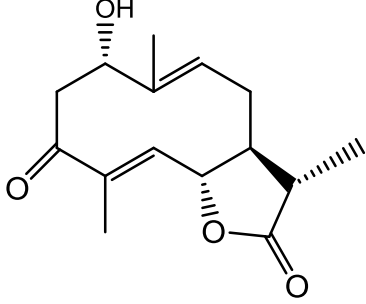
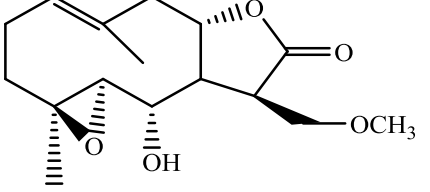
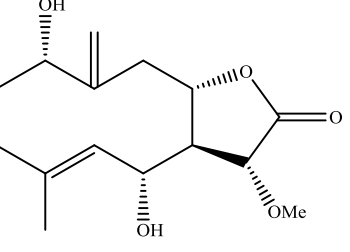
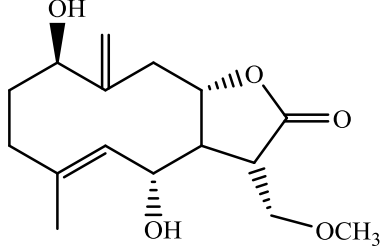
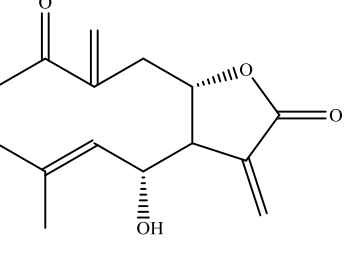
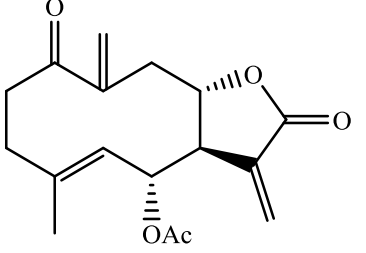
Tablo 2.5. Seskiterpenlerin Ana İskelet Yapıları



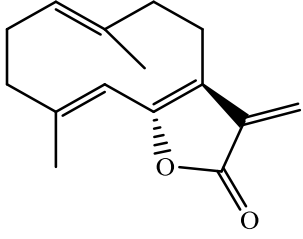
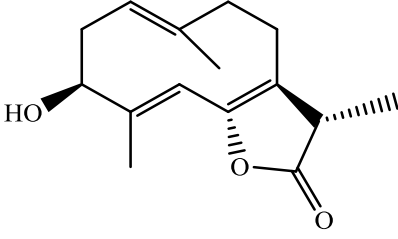
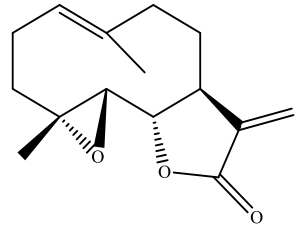
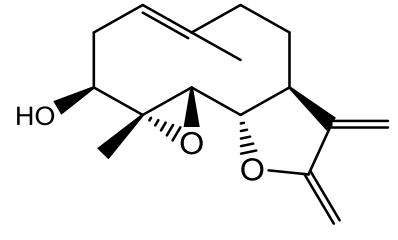
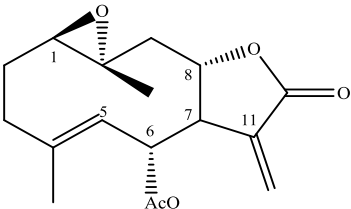
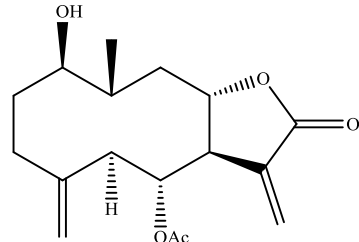
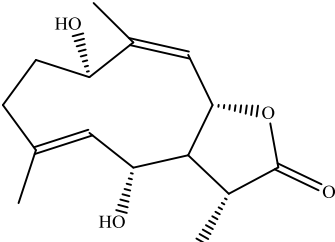
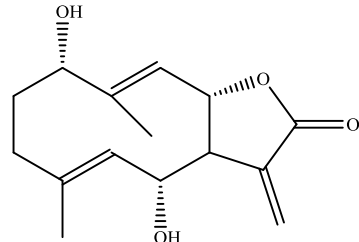
iii) Seskiterpen Laktonlar

Seskiterpen laktonlar bitkinin özellikle yaprak ve çiçeklerinde olmak üzere tüm kısımlarında bulunan, Asteraceae familyasının karakteristik aktif biyolojik ögelerdir fakat aynı zamanda diğer angiosperm ailelerinde de bulunmaktadır. Bu acı tadı olan maddeler ana yapısal özellik olarak α , β -doymamış- γ - lakton içerirler ve bu yapının antitümör, sitotoksik, antimikrobiyal, fitotoksik, antihelminitik, antifungal, diüretik, antiülser ve allerjik aktivite ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu bileşikler uygun bir nükleofilin Michael- addition reaksiyonu ile güçlü alkilleyici ajanlar olarak düşünülebilir. Bu alkilasyon reaksiyonlarının biyolojik aktivitenin açıklaması olduğu düşünülmektedir ve aslında çifte bağ veya karbonil grubu kimyasal olarak kaybedildiğinde aktivite tipik olarak kaybedilmektedir. Seskiterpen laktonların insanlarda kontakt dermatite sebep olduğu ve çiftlik hayvanlarını zehirledikleri bilinmektedir. Seskiterpen laktonlar kemotaksonomik markırlar olmaları nedeniyle de oldukça önemlidir; yapıları familya içerisindeki yerleri ile ilişkilidir (43).

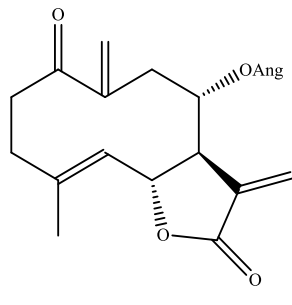
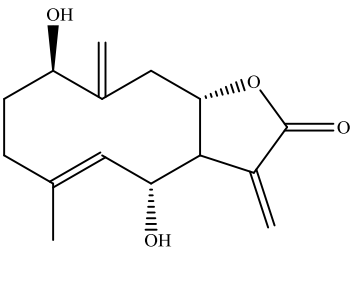
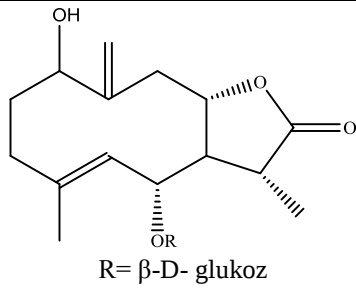
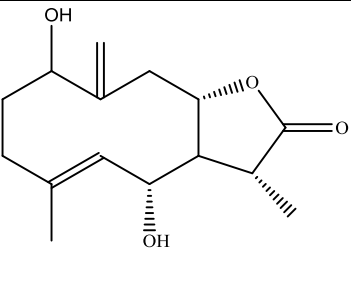
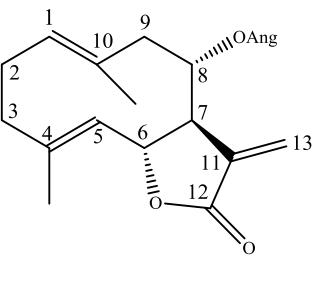
Tablo 2.6. *Tanacetum* Türlerinde Bulunan Germakranolitler

	
Artemorin <i>T. parthenium</i> (44, 45)	1β-Hidroksi-6α angeloiloksigermakra-4(5),10(14),11(13)-trien-8,12-olit <i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i> (46)
	
1α-hidroksi-3-okso-7α,11βH-germakra-4Z,9Z-dien-12,6α-olit <i>T. santolinoides</i> (47)	Heimerlein <i>T. chiliophyllum</i> var. <i>heimerlei</i> (48)
	
1-epi-kiliofillin <i>T. chiliophyllum</i> var. <i>monocephalum</i> (48)	Kiliofillin <i>T. chiliophyllum</i> var. <i>heimerlei</i> (48)
	
Tamirin <i>T. cadmeum</i> ssp. <i>cadmeum</i> (27, 49)	Krizanolit <i>T. cinerarifolium</i> (49)

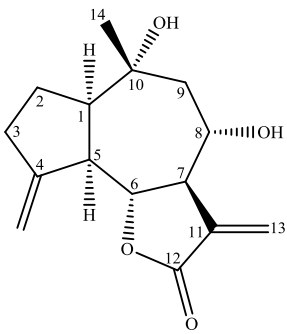
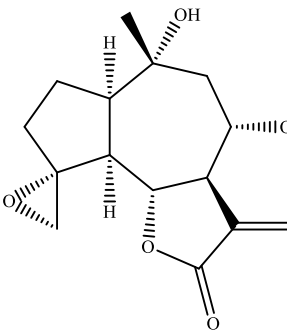
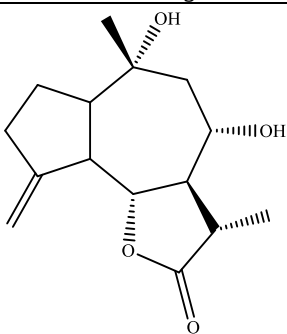
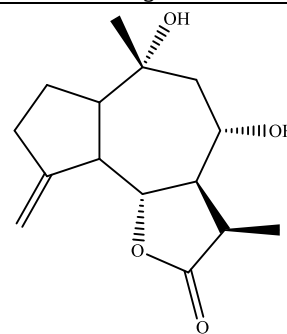
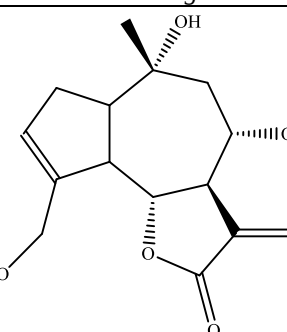
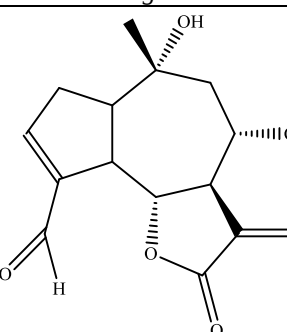
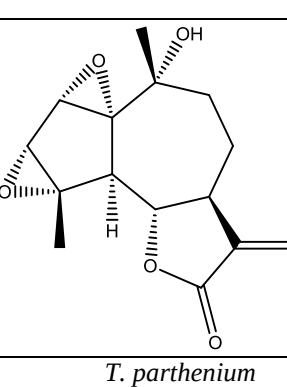
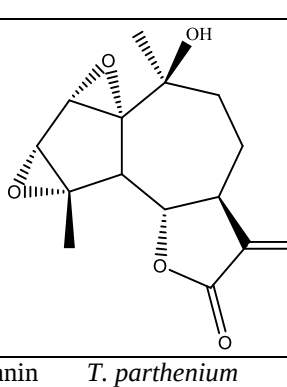
Tablo 2.6.(devam) *Tanacetum* Türlerinde Bulunan Germakranolitler

	
Kostunolit <i>T. parthenium</i> (44)	3β-hydrosikostunolit <i>T. parthenium</i> (44, 45, 50)
	
Partenolit <i>T. parthenium</i> , <i>T. vulgare</i> , <i>T. larvatum</i> (22, 33, 50, 51, 52, 53)	3β-hidroksipartenolit <i>T. parthenium</i> (44, 45, 50)
	
Piretrosin <i>T. cinerariifolium</i> (49)	β-siklopiretrosin <i>T. cinerariifolium</i> (49)
	
(11R)-11,13-dihidrotatridin A <i>T. cinerariifolium</i> (49)	Tatridin A = Tavulin <i>T. cinerariifolium</i> , <i>T. cadmeum</i> <i>ssp. cadmeum</i> (27, 49)

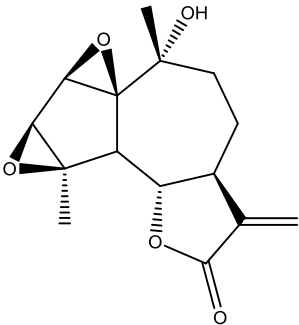
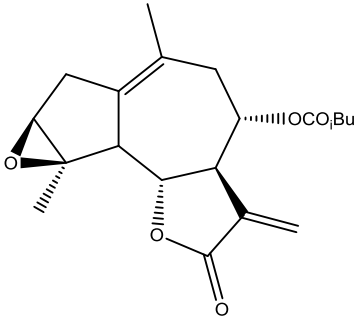
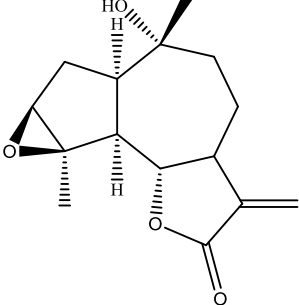
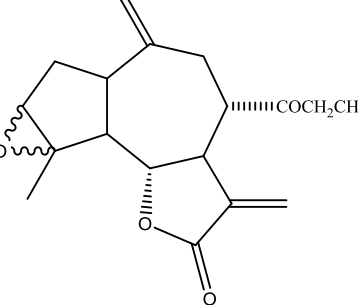
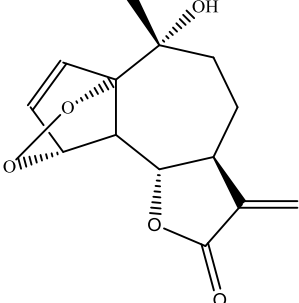
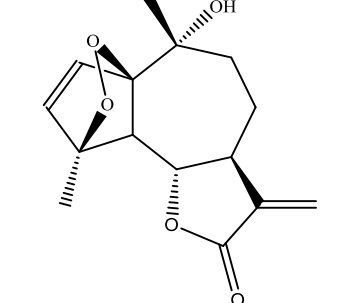
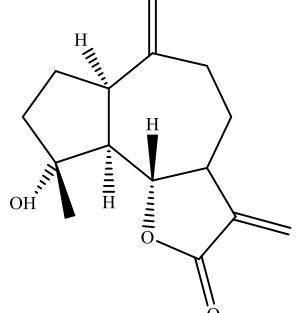
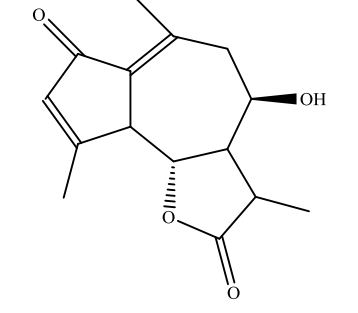
Tablo 2.6.(devam) *Tanacetum* Türlerinde Bulunan Germakranolitler

	
8α-angeloiloksianhidroverlitorin <i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i> (46)	Tatrudin B <i>T. cinerariifolium</i> (49)
 R= β-D- glukoz	
(11R)-6-O-β-D-glukozil-11,13-dihidrotatrudin B <i>T. cinerariifolium</i> (49)	(11R)-11,13-dihidrotatrudin B <i>T. cinerariifolium</i> (49)
 8α-angeloiloksikostunolit <i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i>(46)	

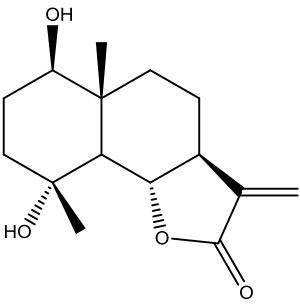
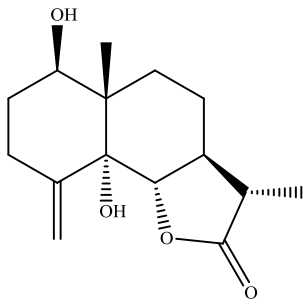
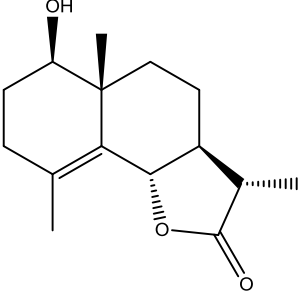
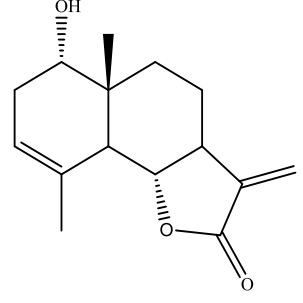
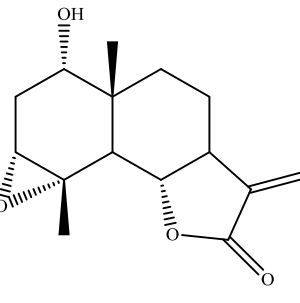
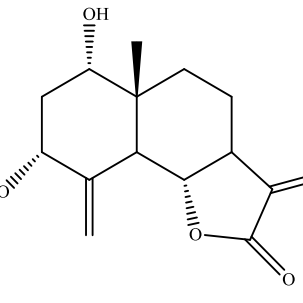
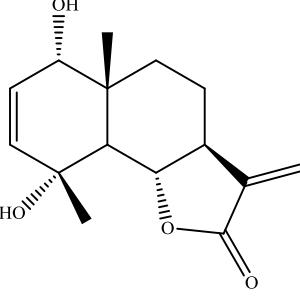
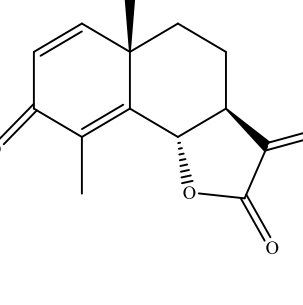
Tablo 2.7. *Tanacetum* Türlerinde Bulunan Gayanolitler

	
Flabellin <i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i> (46)	Epoksiflabellin <i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i> (46)
	
11α-dihydroflabellin <i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i> (46)	11β-dihydroflabellin <i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i> (46)
	
Δ³⁽⁴⁾-15-hidroksidihydroflabellin <i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i> (46)	Δ³⁽⁴⁾-15-okso-flabellin <i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i> (46)
	
Kanin <i>T. parthenium</i> (44, 50, 51)	10-epi-kanin <i>T. parthenium</i> (44)

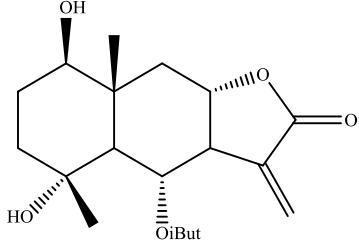
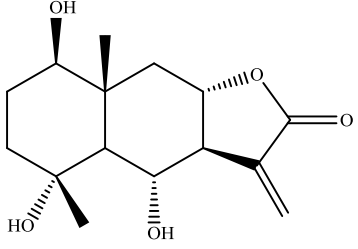
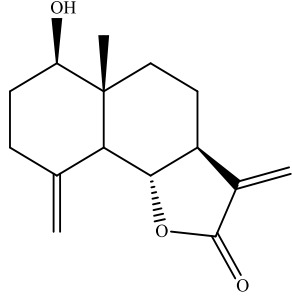
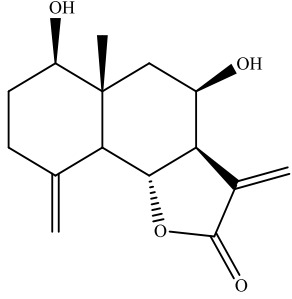
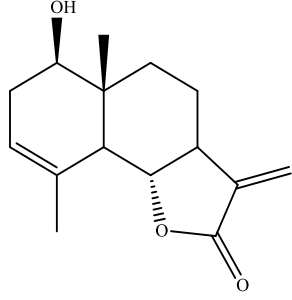
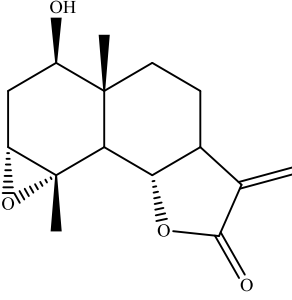
Tablo 2.7.(devam) *Tanacetum* Türlerinde Bulunan Gayanolitler

	
Artekanin <i>T. parthenium</i> (44, 45)	Karlaolit <i>T. fruticosum</i> (54)
	
3,4-β-epoksi-8-deoksikumambrin B <i>T. parthenium</i> (44)	Piretrin <i>T. cinerariifolium</i> (55)
	
Tanapartin-α-peroksit <i>T. parthenium</i> (50)	Tanapartin-β-peroksit <i>T. parthenium</i> (50)
	
11,13-dehidrokompresanolit <i>T. parthenium</i> (56, 57)	8β-hidroksiaşillin <i>T. microphyllum</i> (58)

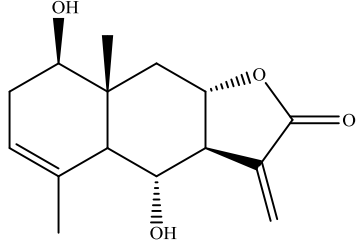
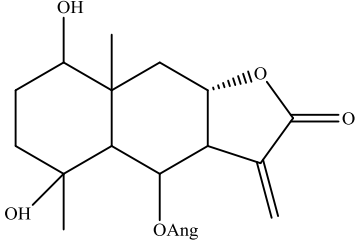
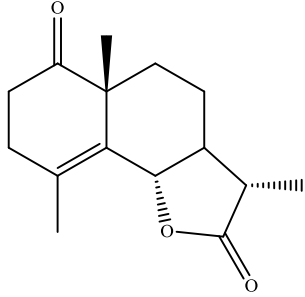
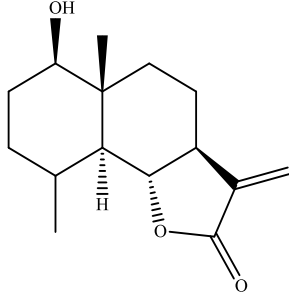
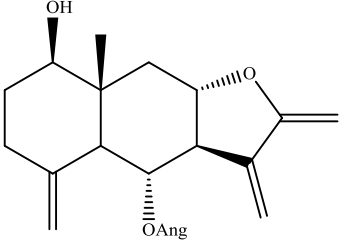
Tablo 2.8. *Tanacetum* Türlerinde Bulunan Ödesmanolitler

	
1β-hidroksiarbusculin A <i>T. parthenium</i> (44)	Artemin <i>T. cadmeum</i> ssp <i>cadmeum</i> (27, 59)
	
Artesin <i>T. cadmeum</i> ssp <i>cadmeum</i> (27, 59)	Doglanin <i>T. vulgare</i> (60)
	
Ludovisin A <i>T. vulgare</i> (60)	Ludovisin B <i>T. vulgare</i> (60)
	
1α-hidroksi-1-deoksoarglanin <i>T. vulgare</i> (61)	11,13-dehidrosantonin <i>T. vulgare</i> (61)

Tablo 2.8. (devam) *Tanacetum* Türlerinde Bulunan Ödesmanolitler

	
1β,4α-Dihidroksi- 6α- izobutiloksiödesm- 11(13)-en-8,12-olit <i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i> (46)	1β,4α,6α- Trihidroksiödesm-11- en-8α,12-olit <i>T. densum</i> ssp. <i>amani</i>, <i>T. densum</i> ssp. <i>Osivasicum</i> (62)
	
Reynosin <i>T. parthenium</i> (44, 45)	8β- hidroksireynosin <i>T. parthenium</i> (44)
	
Santamarin <i>T. parthenium</i> (22, 44, 45, 51)	Epoksisantamarin <i>T. parthenium</i> (44)

Tablo 2.8. (devam) *Tanacetum* Türlerinde Bulunan Ödesmanolitler

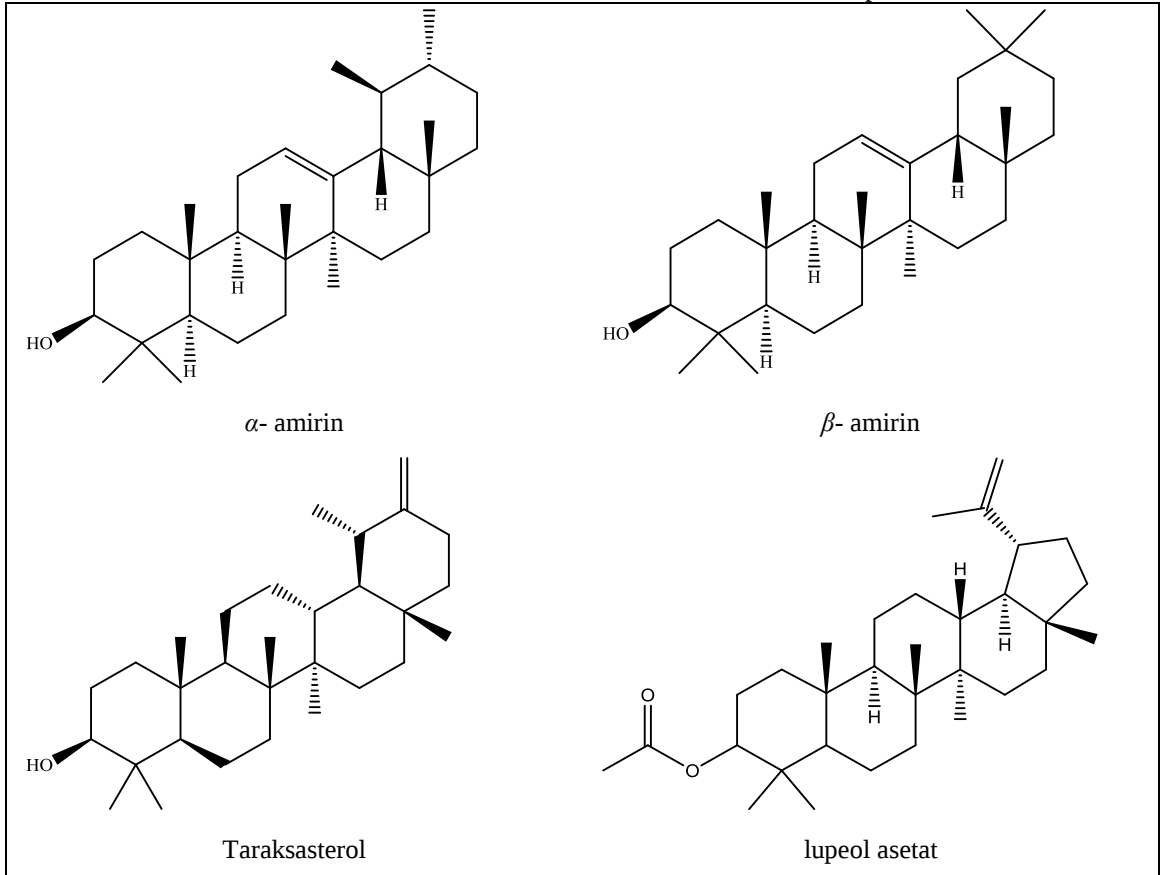
	
Sivasinolit <i>T. densum</i> ssp. <i>amani</i> , <i>T. densum</i> ssp. <i>sivasicum</i> (25)	Tanapsin <i>T. oshanahanii</i> (63)
	
Taurin <i>T. cadmeum</i> ssp. <i>cadmeum</i> (59)	Magnolialit <i>T. parthenium</i> (44)
 Krizanin <i>T. cinerariaefolium</i>(49)	

iv) Triterpenler

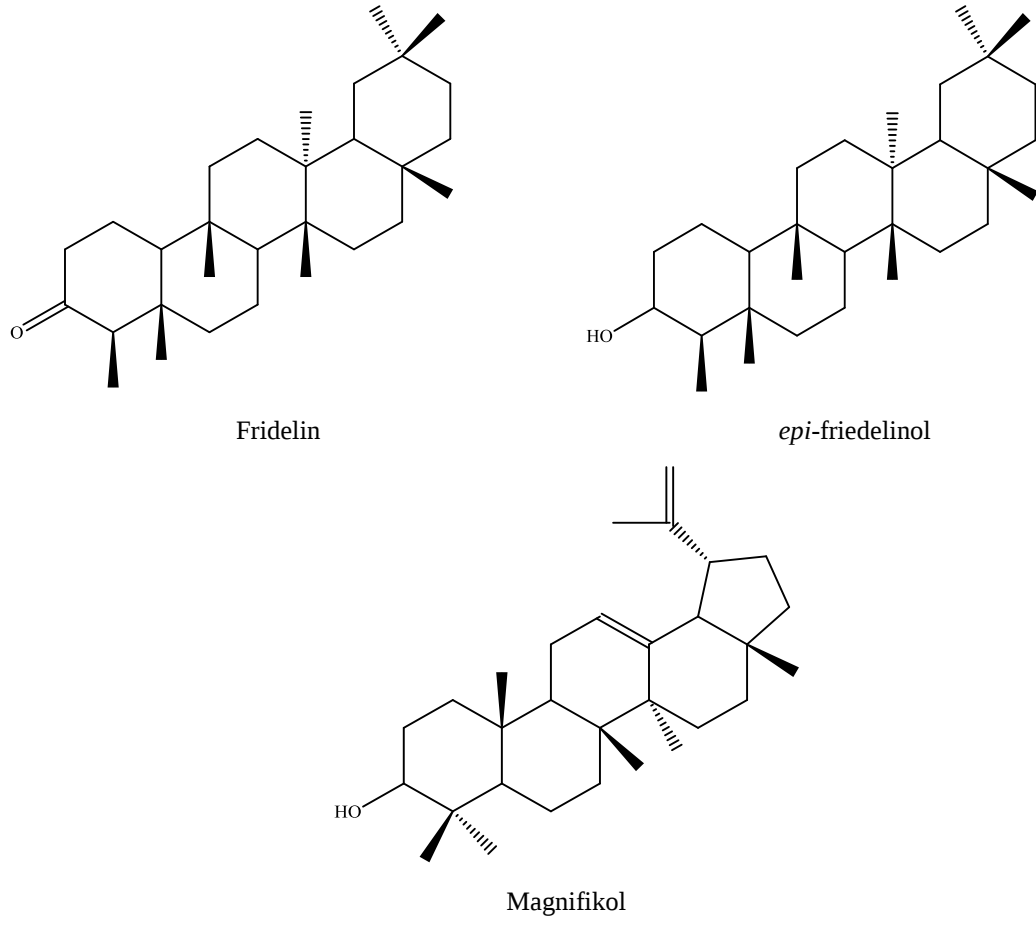
β -Sitosterol ve stigmasterol *Tanacetum* cinsinde bulunan yaygın steroidlerdir. *Tanacetum* türleri üzerinde bugüne kadar yapılan çalışmalarda çoğunlukla fridelin, *epi*-fridelinol, α -amirin, β -amirin, α -amirin asetat, taraksasterol, lupeol asetat, magnifikol gibi çok çeşitli biyolojik aktiviteler gösteren triterpen bileşikler izole edilmiştir.

Çalışmaları kısaca özetleyecek olursak; *T. densum* ssp. *eginense* ve *T. argentum* ssp. *flabellifolium* bitkilerinden α -amirin ve β -amirin; *T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum*'dan α -amirin asetat; *T. albipannosum*'dan fridelin, *epi*-fridelinol; *T. densum* ssp. *sivasicum*'dan *epi*-fridelinol ve magnifikol; *T. heterotomum*'dan *epi*-fridelinol, lupeol asetat ve taraksasterol; *T. sinacium*'dan 3β -asetoksimalabarikan-14(26),17*E*,21-trien ve 3-okso-malabarika-14(26),17*E*,21-trien; *T. cinerarifolium*'dan taraksasterol ve son olarakda *T. polycephalum* türünden lupeol (3β - Hidroksilup-20(29)-en) triterpenleri izole edilmiştir (41, 64).

Tablo 2.9. *Tanacetum* Türlerinden Elde Edilen Ana Triterpenler



Tablo 2.9. (devam) *Tanacetum* Türlerinden Elde Edilen Ana Triterpenler



2.2.2. *Tanacetum* Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Aktiviteleri

Tanacetum türlerinin Türkiye’de halk arasında çeşitli kullanımları mevcuttur. *T. coccineum* çiçekleri, toz halinde (oltu tozu) böcek öldürücü, *T. vulgare* herbasından hazırlanan %1’lik infüzyon kuvvet verici, iştah açıcı ve kurt düşürücü, *T. balsamita*’nın çiçekli dallarından hazırlanan %2’lik infüzyon idrar arttırıcı, gaz söktürücü, midevi ve safra kesesi taşlarını düşürücü olarak kullanılmaktadır (3). Ayrıca *T. parthenium* çiçek durumlarından hazırlanan %2-5’lik dekoksasyon kuvvet verici, uyarıcı, ateş düşürücü, adet söktürücü ve böcek öldürücü olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda bu türün taze yaprakları Avrupa ülkelerinde migrene karşı kullanılmaktadır (65).

Tanacetum türlerinin ana bileşenlerinden biri olan seskiterpenler, sitotoksik, antimikrobiyal, insektisit, antimigren, antienflamatuvar, antitümör aktivite göstermektedirler (6, 8, 9).

Bu türler üzerinde yapılan farmakolojik çalışmalar antioksidan, antienflamatuvar, sitotoksik, antimikrobiyal, antiülser, insektisit, antifeedant, antimigren, antikoagülan ve antifibrinolitik aktiviteler başlıkları altında derlenerek sunulmuştur.

Antioksidan Aktivite

Altı *Tanacetum* türünün (*T. budjnurdense*, *T. hololeucum*, *T. chiliophyllum*, *T. sonboli*, *T. tabrisianum*, *T. kotschy*) etanollü ekstrelerinin antioksidan aktivitesi DPPH ve β -karoten/linoleik asityöntemleriyle incelenmiştir. *T. hololeucum* ekstresinin diğer ekstrelerden 2 ya da 3 kat daha fazla aktif olduğu görülmüştür. Spektrofotometre ile bu türlerde toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid miktarları tayin edilmiştir. Tüm bitki ekstrelerinde antioksidan aktivitenin toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid miktarları ile doğru orantılı olarak artış gösterdiği saptanmıştır. Bütün türlerde ana fenolik bileşiklerin kafeik asit, ferulik asit, luteolin, apigenin ve rutin olduğu saptanmıştır. K562 (lösemi hücre hattı) hücreleri üzerinde gerçekleştirilen antioksidan aktivite tayininde *Tanacetum* türlerinin hücre oksidasyonuna karşı önemlölçüde koruyucu etkileri olabileceği vurgulanmıştır (66).

T. vulgare bitkisinin topraküstü kısımlarının metanollü ekstresi antioksidan aktivite yönünden incelenmiş. DPPH radikal süpürücü etkiden, ekstreden izole edilen 3,5-dikafeoilkinik asit, aksillarin ve luteolinin sorumlu olduğu, ana bileşik olan 3,5-dikafeoilkinik asitin kersetinin aktivitesiyle kıyaslanabilecek antioksidan aktivite gösterdiği açıklanmıştır (67).

T.densum bitkisinin 3 farklı alt türünün metanollü ekstresinin antioksidan aktivitesi DPPH radikal süpürücü ve β -karoten/linoleik asit yöntemleriyle incelenmiştir. Buna göre DPPH yönteminde *T. densum* subsp. *amani* bitkisi, β -karoten/linoleik asit yönteminde ise *T. densum* subsp. *sivasicum* bitkisinin daha güçlü antioksidan aktivitesi olduğu görülmüştür (68).

Antienflamatuvar Aktivite

T. parthenium yapraklarının ekstresi insan kan plateletleri ve polimorfonükleer lökositlerden salınan granulleri inhibe etmiştir. *T. parthenium* (feverfew) antiplatelet aktivitesini fosfolipazı inhibe edip prostaglandin ve lökotrien prekürsörü olan araşidonik asit salımını önleyerek gösterir. Bitkinin antienflamatuvar aktivitesinden platelet agregasyonunu engellemesi, makrofajlardan siklooksijenaz-2 salımını azaltması ve nükleer transkripsiyon faktör κ B üzerine etkisi nedeniyle partenolitin sorumlu olduğu belirtilmiştir (24).

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada oral yolla verilen *T. larvatum* kloroformlu ekstresinin doza bağımlı olarak artan antienflamatuvar aktivite gösterdiği ve indometazin ile birlikte verildiğinde de indometazinin antienflamatuvar etkisinin arttığı ve gastrointestinal sistemdeki yan etkilerinin ise belirgin şekilde azaldığı görülmüştür (11).

T. artemisioides türünden izole edilen flavonoidlerin (5,4'-dihidroksi-3,6,7-trimetoksiflavon, 5-hidroksi-3,6,7,4'-tetrametoksiflavon) antienflamatuvar ve analjezik etkili olduğu belirtilmiştir (29).

Multiple sklerosis (MS) Üzerine Etkisi

Partenolit'in indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) sentezi ve nitrik oksit (NO) salımı üzerine etkisi araştırılmış ve partenolit'in iNOS/NO sentezi inhibitörü olduğu bulunmuştur. Mekanizma araştırmaları neticesinde partenolit'in p42/44 mitojen-aktive eden protein kinaz (MAPK)'ın aktivitesini inhibe ettiği belirlenmiş ve partenolit'in MS gibi santral sinir sistemi hastalıklarında kullanılabileceği düşünülmüştür (69).

Kardiyovasküler Sisteme Etkisi

T. parthenium'un kloroformlu ekstresinden izole edilen partenolit ile yapılan bir çalışmada, bu bileşiğin kan damarlarında, hem kontraktıl hem de relaksan mekanizmaları bloke ettiği, bu aktivitesinden taşıdığı α -metilenbütirolakton fonksiyonel grubunun sorumlu olduğu ve bu fonksiyonel grup bloke edildiğinde aktivitenin ortadan kaybolduğu gösterilmiştir (70, 71).

Sitotoksik Aktivite

T. parthenium ekstreleri Hs605T, MCF-7 ve SiHa kanser hücreleri üzerinde denenmiştir. Söz konusu çalışmanın sonucunda apigenin ve luteolinin kanser hücresi büyümesinin inhibisyonu üzerinde partenolit ile sinerjistik etki gösterebileceği ortaya konmuştur (6).

Partenolit, bir yandan hücre içinde apoptoz için reaktif oksijen türlerini stimüle ederken diğer yandan hücre dışında apoptoz için TNF- α 'yı indüklemektedir. Böylece tümör hücreleri için spesifik bir antitümör ajan olmaktadır (72).

Yapılan bir çalışmada partenolit'in pre-B akut lenfoblastik lösemi hücrelerinde apoptozu ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu indüklediği belirtilmiştir (73).

Başka bir çalışmada partenolit'in stres sinyal proteinlerinin fosforilasyonunu indükleyerek hücre ölümünü sağladığı için akut lenfoblastik lösemide terapötik ajan olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (74).

Antimikrobiyal Aktivite

T. parthenium'un iki etanollü ekstresinin 14 bakteri ve 5 mantara karşı antibakteriyal ve anitifungal aktivitesi agar difüzyon ve broth dilüsyon metotları ile araştırılmıştır. Bu çalışma etanollü ekstrelerin uygulandığı tüm Gram pozitif bakteriler (*Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Sarcina flava*), bazı Gram negatif bakteriler (*Echerichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus morganii*, *Proteus rettgeri* ve *Serratia* sp.) ve bazı mantarlar (*Candida albicans*, *C. kruzeri*, *C. tropicalis*) üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (41).

T. argenteum ssp. *argenteum* bitkisinin %36.7 α -pinen, %27.5 β -pinen ve % 9.8 oranında 1,8-sineol taşıyan uçucu yağı ve *T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum* bitkisinin gövdesinden su distilasyonu ile elde edilen ve % 26.6 kafur, % 17.5 1,8-sineol, % 15.0 borneol taşıyan uçucu yağı mikrodilüsyon yöntemi ile 5 Gram-pozitif ve 5 Gram-negatif bakteri üzerinde antibakteriyel etkisi yönünden değerlendirilmiş ve her iki uçucu yağda da *Bacillus cereus* üzerinde kontrol grubu olan kloramfenikol ile aynı oranda antibakteriyel etki görülmüştür (46, 75).

T. santolinoides 'denelde edilen uçucu yağ *Echerichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *Candida albicans* 'a karşı kuvvetli antimikrobiyal aktivite göstermiştir (76).

T. argenteum subsp. *flabellifolium* uçucu yağının *Candida albicans* mantarı ve *Staphylococcus aureus* bakterisi üzerinde antimikrobiyal etkili olduğu tespit edilmiştir (77).

T. aucheranum ve *T. chiliophyllum* var. *chiliophyllum* bitkilerinin uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi 30 farklı fitopatojen mantar ve 33 farklı bakteri üzerinde incelenmiş ve bu patojenlere karşı etki gösterdiği bulunmuştur (78).

T. polycephalum'dan elde edilen uçucu yağ Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir (28).

Antiülser Aktivite

T. larvatum'un kloroform ekstresinin sıçanlarda gastrik ülser üzerine etkisi araştırılmış ve ekstrenin gastrik mukoza üzerine koruyucu etkisi olduğu saptanmıştır (11).

İnsektisit ve Antifeedant Aktivite

T. cinerariaefolium'un insektisit olarak kullanıldığı, bitkide bulunan piretrin-I ve piretrin-II'nin yanı sıra jasmolin-I ve jasmolin-II'nin ester formlarının da insektisidal etkili olduğu bildirilmiştir (55).

T. cadmeum ssp. *cadmeum* ve *T. parthenium*, *T. corymbosum* ssp. *cinereum* *T. chiliophyllum* var. *chiliophyllum*, *T. kotschy* ve *T. cadmeum* ssp. *orientale* bitkilerinin metanollü ekstrelerinin *Spodoptera littoralis*'in larvaları üzerinde beslenmelerine karşı oldukları belirlenmiştir (27).

T. vulgare'den elde edilen uçucu yağ ve uçucu yağda bulunan bileşiklerden α -terpineol, 4-terpineol, α -tuyon, β -tuyon, 1,8-sineol, verbanol ve verbenon'un repellent (böcek uzaklaştırıcı) etki gösterdiği saptanmıştır (79).

Antiviral Aktivite

T. vulgare'nin etil asetat ekstresi ve izole edilen bileşiği partenolit Vero hücrelerini *Herpes simplex* virus enfeksiyonuna karşı koruduğu ve etkinin hangi safhada olduğunu belirlemek için saf partenolit ile yapılan çalışmada partenolit, penetrasyon safhasından sonra virüsün replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (80).

T. vulgare ile yapılan başka bir çalışmada, bu bitkiden izole edilen flavonoidler ve 3,5-dikafoilkinik asit ile birlikte *Herpes simplex* virüsüne (HS-1 ve HS-2) karşı antiviral etki gösterdiği bulunmuştur (60).

Antimigren Aktivite

Feverfew yaprakları çok eski tarihlerden bu yana analjezik ve antipiretik olarak kullanılmaktadır. Ancak 1970'lerin sonuna doğru İngiltere'de gazetelerin migren şikayeti olanların migren ataklarını önlemek veya şiddetini azaltmak için bitki

yapraklarının az bir miktarını çiğnediklerini açıklamasıyla bitkiye ilgi yeniden artmıştır (81). *Tanacetum* türlerinden *T. parthenium* migren ve artrite karşı profilaktik olarak kullanılan preparatları bulunan tıbbi bir bitkidir. Migren ataklarının sıklığını ve şiddetini azalttığı klinik çalışmalarla gösterilmiştir (82, 83).

Randomize, çift kör, plasebo kontrollü, çaprazlama bir klinik çalışmada, 24-72 yaş arasındaki 76 gönüllü plasebonun (kurutulmuş lahana yaprağı) 1 ay süresince verildiği bir dönemden sonra iki gruba ayrılmıştır. İlk gruptaki her hasta 4 ay boyunca feverfew sonra 4 ay boyunca plasebo, ikinci gruptaki her hasta ise önce 4 ay boyunca plasebo, sonra 4 ay boyunca feverfew almıştır. Çalışmayı 60 hasta tamamlayabilmiştir. Feverfew tedavisi sırasında plasebo fazına göre migren ataklarının sayısında %24'lük azalma görülmüş, ancak atak süresi üzerinde anlamlı değişiklik olmamış, ataklar sırasında bulantı ve kusmada ise anlamlı azalma görülmüştür. Global değerlendirmeler feverfew'in plaseboya göre anlamlı derecede üstün olduğunu göstermektedir. Kapsül hazırlamadan önce kullanılan feverfew yapraklarının serotonin salımını inhibe edici etkileri kontrol edilmiştir. Çalışmada feverfew grubuna her gün ortalama 82 mg yaprak tozu içeren 1 kapsül (0.54 mg partenolit) verilmiştir (83).

Antikoagülan ve Antifibrinolitik Aktivite

T. cilicium, *T. corymbosum*, *T. macrophyllum* bitkilerinin kloroformlu, sulu ekstraktları ve uçucu yağlarının; protrombin zamanı (PT), trombin zamanı (TT) ve kısmi tromboplastin zamanı (PTT) testleri ile antikoagülan aktiviteleri ve öglobulin lizis zamanı (ELT) testi ile de antifibrinolitik aktiviteleri araştırılmıştır. Tüm ekstraktlarda belirgin antikoagülan ve antifibrinolitik aktivite görülmüştür. Bu ekstraktların antikoagülan ve antifibrinolitik aktivite göstermiş olması *Tanacetum* türlerinin antienflamatuvar aktivitede olduğu ileri sürülmüştür (41).

Diğer Aktiviteler

T. parthenium'dan elde edilen partenolit gibi seskiterpenler önemli derecede antiprotozoal aktivite göstermektedir (9, 84).

2.3. ANTİOKSİDANLAR

Vücudumuzda oksidatif stresi önleyen, enzimler ve endojen maddeler bulunur. Fakat bazen oksidanlar belirli bir düzeyin üzerine çıkar veya antioksidanlar yetersiz olup, denge bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipit, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar. Bu zararlı etkilerin bütünü oksidatif stres olarak adlandırılır. Bu nedenle vücuda dışardan koruyucu, engelleyici, iyileştirici özelliklere sahip antioksidanların alınması gerekir.

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipit, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidan, bu olaya da antioksidan savunma denir. Belirli bir düzeye kadar olan oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Son yıllarda antioksidanlar üzerine yapılan çalışmalarda antioksidanların kanser, solunum yolu hastalıkları, kalp-damar hastalıkları vb. üzerinde iyileştirici özellikleri görülmüştür (85).

2.3.1. Oksidatif Stres, Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma

Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine kayması ve potansiyel olarak hasarla sonuçlanabilecek olayların meydana gelmesi olarak tanımlanır (86). Bu tanımlamaya göre oksidatif stres, oksidanlara maruziyetin artması ve/veya oksidanlara karşı savunma mekanizmasının azalmasından kaynaklanabilir (87). Diyetle alınan antioksidanların (E, C, D vitaminleri, flavonoid ve karotenoidler v.b.) azalması, antioksidan enzimlerin işlevlerini devam ettirebilmeleri için gerekli olan eser elementlerin (demir, bakır, çinko ve selenyum v.b.) tükenmesi veya antioksidan gen ifadesinde meydana gelen hatalar, oksidatif hasara yol açan prooksidanların (serbest radikal veya reaktif oksijen bileşikleri) birikmesine neden olur. Oksidatif stres sonucu, oksidatif hasar olarak adlandırılan lipit, protein ve DNA yapısında değişiklikler meydana gelir (88), oksidatif stresin belirli kanserler (89, 90), ateroskleroz, iskemik kalp hastalığı, hipertansiyon, kardiyomiyopati, kardiyak hipertrofi ve konjestif kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklar (91), iskemi/reperfüzyon (92), romatoid artrit (93) ile Alzheimer (94), ve Parkinson (95) gibi santral sinir sistemini etkileyen hastalıklar ile yaşlanma sürecinde (96) de rol aldığı gösterilmiştir.

2.3.1.1. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Bileşikleri

Serbest radikaller atomik veya moleküler yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran molekül veya molekül parçaları olarak tanımlanır. Bu eşlenmemiş elektron serbest radikale önemli derecede reaktivite kazandırır (97, 98). Oksijen kaynaklı radikaller, canlı sistemler için en önemli radikal grubunu meydana getirir. Oksijen türevi serbest radikallere süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil ($OH^{\bullet-}$), peroksil, alkoksil ve hidroperoksil radikalleri örnek olarak verilebilir. Nitrik oksit ve nitrojen dioksit ise azot içeren serbest radikallere örnektir. Oksijen ve azot serbest radikalleri; hidrojen peroksit, hipokloröz asit, hipobromöz asit ve peroksinitrit gibi radikal olmayan reaktif bileşiklere dönüşebilir (99).

Tablo 2.10. Reaktif Türler (100, 101)
REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ (ROS)

Süperoksit	$O_2^{\bullet-}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil	$OH^{\bullet-}$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	$ROO^{\bullet}$	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksi	$RO^{\bullet}$	Singlet oksijen	1O_2
Hidroperoksi	$HO_2^{\bullet-}$	Ozon	O_3
REAKTİF AZOT TÜRLERİ (RNS)			
Azot Oksit	$NO^{\bullet-}$	Nitröz asit	HNO_2
Azot Dioksit	$NO_2^{\bullet-}$	Diazot trioksit	N_2O_3
		Peroksinitrit	$ONOO-$
		Alkil peroksinitrit	$LOONO$

2.3.1.2. Reaktif Oksijen Bileşiklerinin Kaynakları

Reaktif oksijen bileşikleri (ROB) endojen ve eksojen kaynaklı olabilir. Mitokondri, sitokrom P450 metabolizması ve enflamatuvar hücrelerin aktivasyonu endojen kaynaklar arasında sayılır. Mitokondri, süperoksit ve hidrojen peroksitin olduğu ana kaynaklardan bir tanesidir (102, 103). Mitokondrinin dışında, ksantin oksidaz enziminin hücresel kaynaklı oksijen türevi serbest radikal oluşturması ($O_2^{\bullet-}$, $OH^{\bullet}$) da önemli bir mekanizmadır (104). Nötrofiller, eozinofiller, monositler ve makrofajlar da hücresel ROB'nin olduğu endojen kaynaklar arasında yer alır. Makrofajların uyarılmasıyla $O_2^{\bullet-}$, $NO^{\bullet}$ ve H_2O_2 gibi çeşitli ROB'nin üretiminde artış meydana gelir (105). Mikrozom ve peroksizomlar da ROB kaynakları arasında yer alır (102).

Reaktif oksijen bileşikleri eksojen kaynaklı da olabilir. Klorlu bileşikler, metal iyonları, radyasyon, sigara dumanı ile barbitürat, parakuat, parasetamol, doksorubisin ve sisplatin gibi çeşitli ilaçlar, ozon ve azot dioksit gibi atmosferik kirleticiler eksojen kaynaklı ROB arasında sayılabilir (88, 102, 106).

2.3.1.3. Oksidatif Hasar ve Sonuçları

Oksidatif hasar ROB'nin canlı organizmanın bileşenlerine saldırısı sonucu ortaya çıkan biyomoleküler hasar olarak tanımlanır (107). Yüksek konsantrasyonda ROB, hücrelerde yer alan lipit, nükleik asit ve proteinlere önemli ölçüde zarar verir (102).

Lipit Peroksidasyonu

Hücre membranları çoklu doymamış yağ asiti içerir ve bu yağ asitleri lipit peroksidasyonuna uğrama riskine sahiptir (108). Lipit peroksidasyonun başlayabilmesi için lipit molekülünden (LH) bir H atomunun $OH^{\bullet}$ gibi bir ROB tarafından koparılması gerekir (Eşitlik 1). bu reaksiyonun sonucunda oluşan lipit radikali ($L^{\bullet}$) moleküler olarak tekrar düzenlemeye uğrayarak konjüge diene dönüşür ve hızlı bir şekilde oksijen molekülüyle birleşerek peroksil radikaline ($LOO^{\bullet}$) (Eşitlik 2) çevrilir. Oluşan $LOO^{\bullet}$, diğer herhangi bir sağlam lipit molekülünden H atomunu kopartabilecek güce sahiptir.

LOO•, H atomuyla birleşerek lipit hidroperoksit (LOOH) ve L•'ne dönüşür (Eşitlik 3). Oluşan L•, lipit peroksidasyon reaksiyon zincirinin oluşmasına sebep olur. Böylece tek bir OH•, yüzlerce yağ asiti molekülünün lipit hidroperoksitlere dönüşmesine neden olur. Geçiş metallerinin de lipit peroksidasyonunu başlattığı bilinmektedir. Normalde membranlarda kararlı halde bulunan lipit hidroperoksitler, geçiş metalleriyle reaksiyona girerek lipit peroksidasyonu başlatabilir. Fe⁺² iyonu LOOH ile birleşerek alkoksi radikali (LO•) (Eşitlik 5) dönüşür. Reaksiyonlar sonucu oluşan bu iki radikal de lipit peroksidasyon zincirini başlatabilir (109).

Eşitlik 1-5

LH + OH•	→	L• + H ₂ O	(1)
L• + O ₂	→	LOO•	(2)
LOO• + LH	→	LOOH + L•	(3)
LOOH + Fe ⁺²	→	Fe ⁺³ + OH ⁻ + LO•	(4)
LOOH + Fe ⁺³	→	Fe ⁺² + H ⁺ + LOO•	(5)

Bu zincir reaksiyonlar ve LOOH'nin membranlarda birikmesi protein oksidasyonuna, membranların yapısının ve fonksiyonlarının bozulmasına ve çeşitli aldehitlerin oluşmasına neden olur (108-110). Hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozu gibi süreçlerde önemli fizyolojik rolleri olan bu aldehitler aynı zamanda güçlü birer karsinojendir (108, 111).

Lipit peroksidasyon zincir reaksiyonunun sonlanabilmesi için E vitamini ve bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) gibi sentetik antioksidanların varlığına ihtiyaç duyulur. Bu antioksidanlar LOO•'ya bir H atomu vererek, ilgili antioksidan radikallerine dönüşür. Bu radikalde başka bir LOO• ile reaksiyona girerek radikal olmayan bir maddeye dönüşerek zinciri sonlandırır. Bu nedenle, bu lipofilik antioksidanlar zincir kırıcı antioksidanlar olarak adlandırılır (88).

Lipit peroksidasyonunun ölçülmesi, lipit peroksitler, izoprostanlar, dien konjugatları ve lipit parçalama ürünlerinin (malondialdehit, etan, pentan gibi) analiz edilmesiyle gerçekleştirilir. Bunlar arasında malondialdehit, lipit peroksidasyonunun güvenilir bir

göstergesi olarak kullanılmaktadır (99). Lipitperoksidasyonu, tiyobarbitürik asit reaktif bileşiklerinin (TBARS) ölçülmesi yoluyla değerlendirilir. Bu yöntemle, oksidatif stresin neden olduğu lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeyi ölçülebilir (112). TBARS yönteminin özgünlüğü ile ilgili çeşitli tartışmalar olmakla birlikte, bu yöntem ucuz ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (113).

2.3.1.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

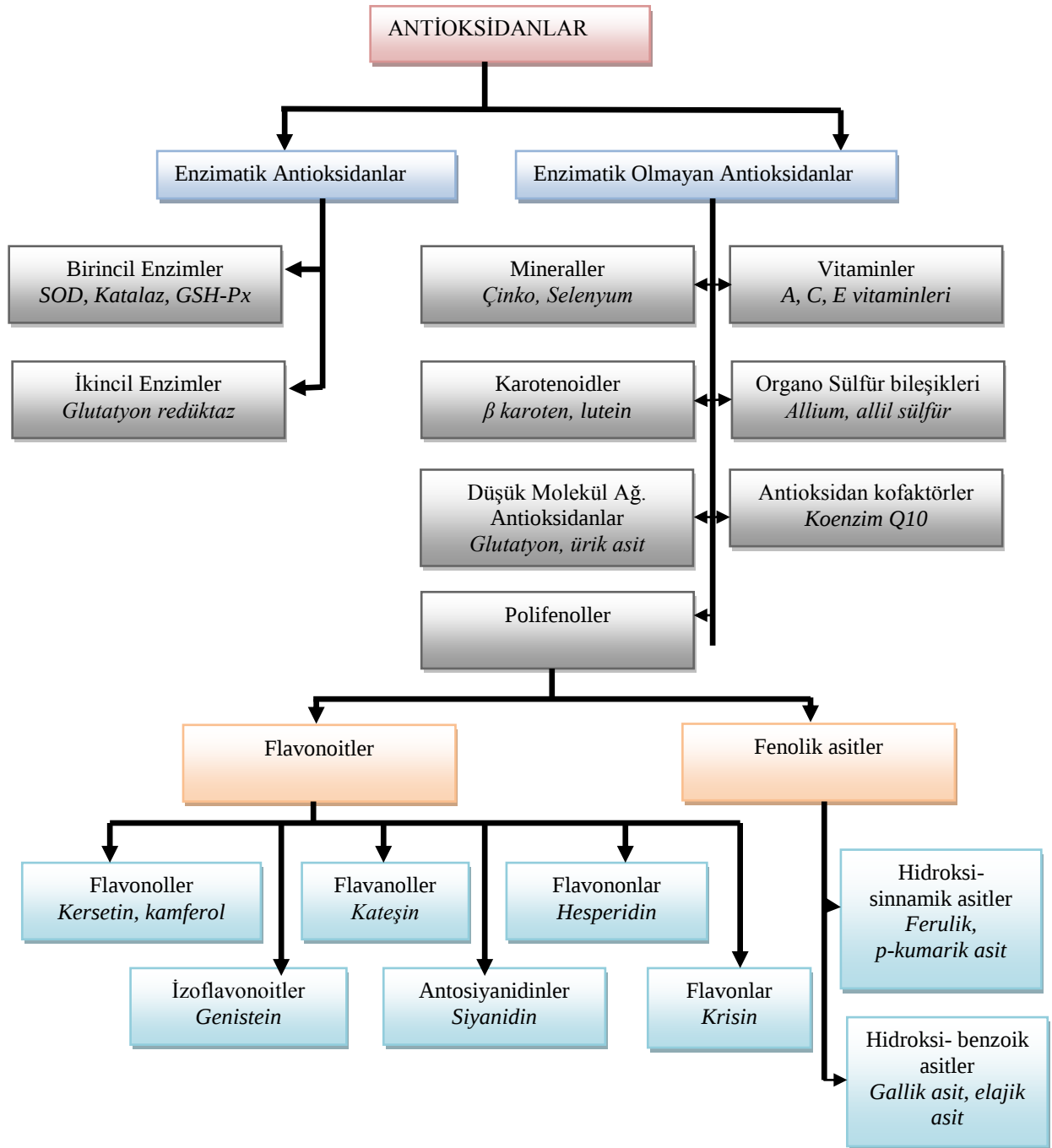
Antioksidanlar, okside olabilen substratlara oranla daha düşük konsantrasyonda oldukları halde, bu substratların oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren ya da engelleyen maddelerdir (114). Antioksidanlar etkilerini oksidatif sürecin farklı aşamalarında gösterebilir. Örneğin, lipit peroksidasyonuna karşı etkilerini; ortamdaki O_2 konsantrasyonunu düşürerek, $OH^\bullet$ ve singlet O_2 gibi radikalleri süpürerek, metal iyonlarını bağlayarak, peroksitleri alkol gibi radikal olmayan maddelere dönüştürerek veya zincir reaksiyon başlatabilen radikallere karşı zincir kırıcı etki meydana getirerek gösterirler (114).

İyi bir antioksidan aşağıda belirtilen özelliklere sahip olmalıdır (102):

1. Özgün olarak serbest radikalleri baskılamalı,
2. Yükseltgen metallerle şelat oluşturmali,
3. Diğer antioksidanlarla ilişki içinde olmalı ve onları yenebilmeli,
4. Gen ifadesinde olumlu etkileri olmalı,
5. Kolaylıkla absorbe olabilmeli,
6. Dokularda ve biyolojik sıvılarda fizyolojik olarak uygun düzeylerde bulunmalı,
7. Hem membranda hem de sıvı ortamlarda etkilerini gösterebilmelidir.

ROB' nin oluşturduğu etkiler enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlarla dengelenir. SOD (süperoksit dismutaz), CAT (katalaz) ve GP_x (glutatyon peroksidaz) en etkili enzimatik antioksidanlar sınıfında yer alır (112). C ve E vitamini ile karotenoidler ise enzimatik olmayan antioksidanlara örnek olarak verilebilir (102, 113). Antioksidanlar ayrıca antioksidan enzimler, zincir kırıcı antioksidanlar ve geçiş metali bağlayıcı proteinler olarakda sınıflandırılabilir (98). Zincir kırıcı antioksidanlar radikallerden elektron alarak veya radikallere elektron vererek kararlı yan ürün

oluşturan küçük moleküllerdir. Zincir kırıcı antioksidanlara E vitamini, karotenoidler, flavonoidler, ubikinol-10, C vitamini ve glutatyon örnek olarak verilebilir (101, 106). Geçiş metali bağlayan proteinlere örnek olarak da ferritin, transferrin, laktoferrin ve serüloplazmin verilebilir (106).



Şekil 2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması (SOD= Süperoksit dismutaz; GSH-Px= Glutasyon peroksidaz, EGCG= Epigallokateşingallat) (115).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. FİTOKİMYASAL ÇALIŞMALAR

3.1.1. Bitkisel Materyal

T. zahlbruckneri bitkisi 1-5 Haziran 2013 ve 1 Haziran 2014 tarihlerinde Van'ın Bahcesaray ilçesinden, Kavuşşahap dağlarından, Varikrapit geçidinden, 2400 m yükseklikten toplanmıştır. Toplayıcı No: Paksoy 1503. Bitki örnekleri Yrd. Doç. Dr. Mehmet Yavuz Paksoy tarafından teşhis edilmiştir. Bitkiye ait herbaryum örneği Elazığ (FUH) Herbaryumu'nda saklanmaktadır.

Çalışmalarımızda, bitkilerin gölgede kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımları kullanılmıştır.

3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Aletler

Kimyasal Katı Maddeler: Vanilin (Merck).

Çözücüler: *n*-hekzan, dietil eter, diklorometan, etilasetat, *n*-butanol, kloroform, metanol, sülfürik asit (Merck, Carlo Erba)

Adsorbanlar: Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kromatografik Çalışmalarda Kullanılan Adsorbanlar

Yöntem	Adsorban
İTK	Normal faz silika jel (Hazır alüminyum plak, Kieselgel 60 F ₂₅₄ 0,2 mm, Merck 5554) Ters faz silika jel (Hazır alüminyum plak, RP-18, 0,2 mm, Merck 5559)
KK	Normal faz silika jel (Kieselgel 60, 0,063-0,2 mm, Merck 7734) (Sephadex LH-20, Fluka)
Prep. OBSK	Normal faz silika jel (Sepacore 120g, Buchi)
YBSK	Ters faz silika jel (Teknokroma C18, 25cm x 0,46 5µm partikülçapı)

Revelatör: Vanilin / H₂SO₄ (Vanilin'in derişik sülfürik asit içindeki % 1'lik çözeltisi). FeCl₃ (FeCl₃'ün MeOH içindeki %1'lik çözeltisi). Püskürtmeden sonra 110°C'de birkaç dakika ısıtılır,

Çözücü Sistemleri: Kromatografik çalışmalarda kullanılan çözücü sistemleri Tablo 3.2.'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Kromatografik Çalışmalarda Kullanılan Çözücü Sistemleri

Çözücü Sistemi	Kromatografik Yöntem
CHCl ₃ - MeOH-H ₂ O (90 : 10 : 1)	Prep. OBSK (SK)
CHCl ₃ - MeOH-H ₂ O (80 : 20 : 2)	
CHCl ₃ - MeOH-H ₂ O (65:45:12)	İTK, SK
CHCl ₃ - MeOH-H ₂ O (61 : 32 : 7)	Prep. OBSK, İTK, SK
CH ₂ Cl ₂ – MeOH (1:1)	SFK
EtOAc- MeOH- H ₂ O (100:17:13)	SK, İTK
EtOAc- MeOH- H ₂ O (100:30:13)	SK, İTK
EtOAc- MeOH- FA- H ₂ O (100:13,5:2,5:10)	İTK
H ₂ O	Prep. OBSK (RP)
H ₂ O- ACN (80:20)	Prep. OBSK (RP)
H ₂ O- ACN (70:30)	Prep. OBSK (RP)
MeOH-H ₂ O-CH ₃ COOH (10:88:2)	YBSK
MeOH-H ₂ O-CH ₃ COOH (90:8:2)	YBSK
MeOH	YBSK

İTK: Normal faz silika jel ince tabaka kromatografisi, **Prep. OBSK:** Preparatif orta basınçlı sıvı kromatografisi, **SK:** Silika jel kolon kromatografisi, **SFK:** Sephadex LH-20 kolon kromatografisi, **RP:** Ters faz kolon kromatografisi

Cihazlar:

IR Spektrofotometresi:	Perkin Elmer 400 FT-IR/FT-FIR Spectrometer Spotlight 400 İmaging System
Kütle Spektrometresi:	Agilent 6224 Accurate-Mass TOF LC/MS
UV Spektrofotometresi:	Shimadzu UV-1800
NMR Spektrometresi:	Bruker 400
Liyofilizatör:	Labconco Freeze
Rotavapor:	Büchi
UV Lambası:	Camag (Tip: 29000)
Kromatografi Tankı:	Camag (cam küvet, 22 x 23 x 8 cm)
Orta Basınçlı Sıvı	
Kromatografisi Cihazı:	Büchi C-620
Ultrasonik Banyo:	Wiseclean WUC- DOGH/DIOH/D22H
Etüv:	Memmert Expertsin Thermostatics
Vorteks karıştırıcı:	Velp scientifica

pH metre:	Inolab pH 720 WTW
Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Cihazı:	Agilent Technologies 1200 Series
Spektrofotometre:	Shimadzu UV-1800
Mikroplaka okuyucu:	Biotek Synergy HT

3.1.3. Kromatografik Yöntemler

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Kolon kromatografisi çalışmalarında toplanan fraksiyonların izlenmesinde ve bileşiklerin şahit maddeler ile karşılaştırılmasında, normal faz ve ters faz silika jel kaplı hazır alüminyum plaklar kullanılmıştır.

Numune Tatbiki: Numuneler bir cam kapiler pipet yardımıyla, plağın alt ucunun 1 cm yukarisından ve 0,6 cm aralıklarla tatbik edilmiştir. Kromatografi tankına konulan plaklar 4,5 cm mesafe boyunca sürüklenmiştir.

Lekelerin Belirlenmesi: UV lambası ile 254 ve 366 nm'de; Vanilin'in derişik sülfürik asit içindeki % 1'lik çözeltisi püskürtüldükten sonra 105-110°C'de birkaç dakika ısıtılması ile belirlenmiştir.

Açık Kolon Kromatografisi

Çalışmalarımızda adsorban olarak ön fraksiyonlama için silika jel, saflaştırma için silika jel ve sephadex LH-20 kullanılmış olan açık kolon kromatografisi yönteminden yararlanılmıştır. Fraksiyonlar ön fraksiyonlamada 100' er mL, saflaştırılma aşamalarında ise 5-10 mL toplanmış ve kontrolleri İTK ile yapılmıştır. Aynı Rf değerine sahip olan ve revelasyon sonucunda benzer görünen fraksiyonlar bir araya toplanmıştır.

Kolonun Hazırlanması

Normal faz silika jel kolon kromatografisi (SK):

İstenilen miktarda tartılan silika jel yeterli miktarda çözücü sistemi ile süspansiyon haline getirilmiştir ve karışım alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan cam kolona aktarılmıştır. Kolondan yeterli miktarda çözücü sistemi geçirilerek adsorbanın yerleşmesi sağlanmıştır. Adsorban üzerinde 2-3 mm çözücü kalıncaya kadar beklenmiş ve çözücü sisteminde çözülmüş olan numune kolona tatbik edilmiştir.

Sephadex LH-20 kolon kromatografisi (SFK):

İstenilen miktarda tartılan sephadex LH-20, yeterli miktarda metanol ile karıştırılmıştır. Karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan cam kolona doldurulmuş ve adsorban tamamen yerleşinceye kadar kolondan metanol geçirilmiştir. Adsorbanın üzerinde 1 - 2 mm çözücü kalınca MeOH'da çözülen numune kolona tatbik edilmiştir.

İstenilen miktarda tartılan sephadex LH-20, yeterli miktarda diklorometan- metanol (1:1) ile karıştırılmıştır. Karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan cam kolona doldurulmuş ve adsorban tamamen yerleşinceye kadar kolondan diklorometan- metanol geçirilmiştir. Adsorbanın üzerinde 1-2 mm çözücü kalınca diklorometan- metanol'de çözülen numune kolona tatbik edilmiştir.

Kolon Kromatografisi İçin Numune Tatbiki

A. Çözücü yardımı ile tatbik: Numune yeterli miktarda çözücü/çözücü sistemi içinde tamamı çözüldükten sonra, bir pastör pipeti yardımı ile kolona tatbik edilmiştir. Kolon musluğu açılarak numune adsorbana emdirilmiştir. Kolonun üzerine, adsorban yüzeyinin bozulmasını engellemek için pamuk yerleştirilmiş ve kolona yeterli miktarda çözücü sistemi eklenerek elüsyona başlanmıştır.

B. Kuru tatbik: Numune 1-2 mL çok iyi çözündüğü bir çözücü içinde çözülmüştür. Çözelti, kolondaki adsorban ve tatbik edilecek numune miktarları da göz önünde tutularak, yeterli miktarda adsorban ile karıştırılmıştır. Adsorbanın çözeltiyi iyice adsorbe etmesi ve tam kuruması sağlanmıştır. Daha önce hazırlanan ve üzerinde 1 - 3 cm çözücü bırakılan kolona kuru olarak aktarılmıştır. Kolonun üzerine, adsorban yüzeyinin bozulmasını engellemek için pamuk yerleştirilmiş ve kolona yeterli miktarda çözücü sistemi eklenerek elüsyona başlanmıştır.

Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi (OBSK)

Adsorban	: Sepacore Silika Flaş Kartuş 120 g, Büchi
Kolon	: Büchi, 3,7 x 47 cm
Peristaltik Pompa	: Büchi C-601
Çözücü Sistemi	: CHCl ₃ -MeOH-H ₂ O (90:10:1, 80:20:2, 61:32:7)
Akış Hızı	: 40 mL/dak
Basınç	: 4-5 bar
Fraksiyon Hacmi	: 20 mL
Fraksiyon Toplayıcı	: Büchi C-660

OBSK Kolonunun Hazırlanması : Yeterli miktarda adsorban kuru sistemle kolona doldurularak basınç altında ve bir vibratör yardımıyla sıkıştırılmış, kolondan yeterli miktarda metanol geçirilerek adsorbanın doygunluğu sağlanmıştır. Kolon, yeterli miktarda elüsyona başlanacak çözücü sistemi geçirilerek şartlandırılmıştır (CHCl₃-MeOH-H₂O, 90:10:1). Sonra diğer çözücü sistemi geçirilerek elüsyona devam edilmiştir (CHCl₃-MeOH-H₂O, 80:20:2). En son olarakta (CHCl₃-MeOH-H₂O, 61:32:7) çözücü sistemi geçirilerek elüsyona son verilmiştir. Numune, 1 - 2 mL çözücü sistemi içinde çözülerek bir enjektör yardımıyla kolona enjekte edilmiştir.

Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) Analizi

Cihaz	: Agilent 1100 sıvı kromatografisi sistemi
Dedektör	: PDA dedektör (200-500 nm arası)
Kolon	: C18 analitik kolon (250 x 4.6 mm, 5 µm partikül çapı)
Sıcaklık	: 22 °C
Akış hızı	: 1 mL/dak
Hareketli faz	: A) metanol/su/asetik asit (10:88:2, h/h/h) B) metanol/su/asetik asit (90:8:2, h/h/h) C) methanol

Tablo 3.3. YBSK Gradient Akış Tablosu

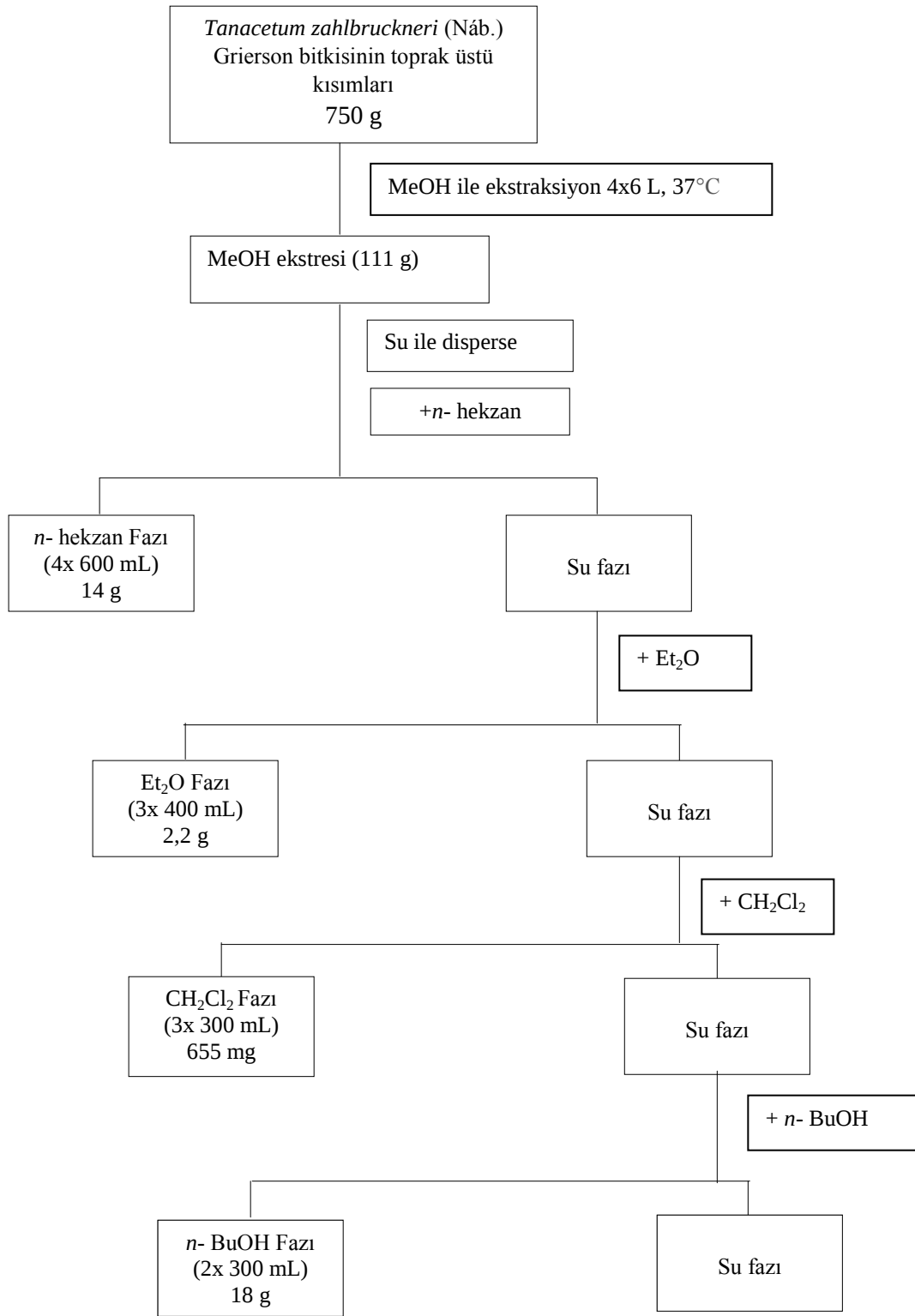
zaman (dak)	hareketli faz A (%)	hareketli faz B (%)	hareketli faz C (%)
0	85	15	0
15	70	30	0
18	60	40	0
30	60	40	0
35	100	0	0
37	85	0	15
48	70	0	30
50	85	15	0

YBSK’da ayrılan bileşikler tutunma zamanları ve UV spektrumları standartlarla karşılaştırılarak tanımlanmıştır. Bütün standart ve örnek çözeltiler üçer kere analiz edilerek ortalama değerler verilmiştir (116).

3.1.4. Ekstraksiyon

Gölgede kurutulmuş, toz edilmiş bitkisel materyal (750 g) metanol (4 x 1.5L) ile 37°C’de rotavaporda döndürülerek ekstre edilmiştir. Ekstreler süzgeç kağıdından süzölmüş ve süzöntüler birleştirilmiştir. Birleştirilen süzöntülerin, rotavaporda, düşük ısıda ve düşük basınç altında kuruluğa kadar çözücüsü uzaklaştırılmıştır (Metanol ekstresi, 112 g, % 15 verim).

Ham metanol ekstresi 300 mL suda disperse edildikten sonra bir ayırma hunisine alınmış, sırasıyla *n*-hekzan (4 x 600 mL), Et₂O (3x 400 mL), CH₂Cl₂ (3 x 300 mL), EtOAc (3 x 300) ve *n*-BuOH (2 x 300) ile ekstre edilmiştir. Ekstreler rotavaporda, 40 °C’de ve düşük basınç altında kuruluğa kadar çözücüsü uzaklaştırılmış ve liyofilize edilmiştir (Hekzan ekstresi: 14 g, Et₂O ekstresi: 2.2 g, CH₂Cl₂ ekstresi: 655 mg, *n*-BuOH ekstresi: 18 g, Su ekstresi 65 g).



Şekil 3.1. *T. zahlbruckneri* Bitkisinin Ekstraksiyon Şeması

3.1.5. Kimyasal Kompozisyon Analizleri

Bitkisel materyallerden elde edilen ekstreler fenolik bileşikler bakımından spektrofotometrik ve kromatografik olarak incelendi.

3.1.5.1. Toplam Fenol Miktar Tayini

Ekstrelerin içerdikleri toplam fenol miktarı gallik asite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır (117). 3 mL distile su içeren 10 mL'lik kap içerisine 50 μ L örnek çözeltisi ve 250 μ L Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiştir. Bir dakika sonra 750 μ L %20'lik sulu Na_2CO_3 ilave edilip 4mL'ye su ile tamamlanmıştır. Kontrol olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı kullanılmıştır. 25 °C'de 2 saat inkübe edildikten sonra 760 nm'de absorbansı ölçülmüş ve gallik asit kalibrasyon eğrisi kullanılarak değerlendirilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Deneyler üç paralel olacak şekilde yapılmış ve sonuçlar ortalama değerler olarak verilmiştir.

3.1.5.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayini

Ekstrelerin toplam flavonoit analizi Zhishen ve ark (1999)'nın çalışmalarında kullandıkları metot modifiye edilerek yapılmıştır (118). Buna göre 250 μ L ekstre t=0. dakikada 75 μ L % 5'lik NaNO_2 çözeltisi ile karıştırılmış, t=5. dakika'da 75 μ L % 10'luk $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi ilavesinden sonra, t=6. dakika'da 500 μ L 1 M NaOH çözeltisi eklendi ve 750 μ L su ilave edilerek karıştırılmıştır. 510 nm'de köre karşı absorbans ölçüldü. Ekstrelerin içerdikleri toplam flavonoit miktarları kateşine eşdeğer olarak mg $\text{CE/g}_{\text{ekstre}}$ olarak hesaplanmıştır. Kateşinin kalibrasyon eğrisi aynı şekilde etanol kullanılarak hazırlanmıştır. Bütün ölçümler 3 paralel olacak şekilde yapılmış ve ortalama değerler alınmıştır.

3.1.5.3. Toplam Flavonol Miktar Tayini

Ekstrelerin içerdikleri toplam flavonol miktarları rutine eşdeğer olarak (RE) mg $\text{RE/g}_{\text{ekstre}}$ olarak hesaplanmıştır (119). 250 μ L Bitki ekstresi (2.5 mg/mL) 250 μ L etanolik alüminyum triklorit (30 mg/mL) ve 750 μ L sodyum asetat (50 mg/mL) karıştırıldıktan sonra 20 °C de 2.5 saat bekletilmiş ve 440 nm'de ölçüm yapılmıştır. Aynı işlemler

kalibrasyon eğrisi hazırlamak üzere 0.5-0.3-0.1-0.05-0.03-0.01 mg/mL konsantrasyonlardaki etanolik rutin çözeltileri ile gerçekleştirilmiştir. Bütün ölçümler üç paralel olarak yapılmış ve ortalama değerler kullanılmıştır.

3.1.6. İzolasyon Çalışmaları

n-BuOH Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları

18 g *n*-BuOH ekstresi yeterli miktar metanolde çözülerek Sigel [70 x 5 cm] cam kolona tatbik edilmiştir. Elüsyonda çözücü sistemi olarak EtOAc-MeOH-H₂O, (100:17:13→100:30:13) kullanılmıştır. Kolondan 10'ar mL toplanan fraksiyonlar İTK ile kontrol edilerek 4 ana fraksiyonda (Fr. 1-4) toplanmış ve çözücüleri uzaklaştırılmıştır. **FR.1:** 482 mg, **FR. 2:** 5 g, **FR. 3:** 3 g, **FR. 4:** 4.61 g.

TZ kodlu bileşiklerin izolasyonu

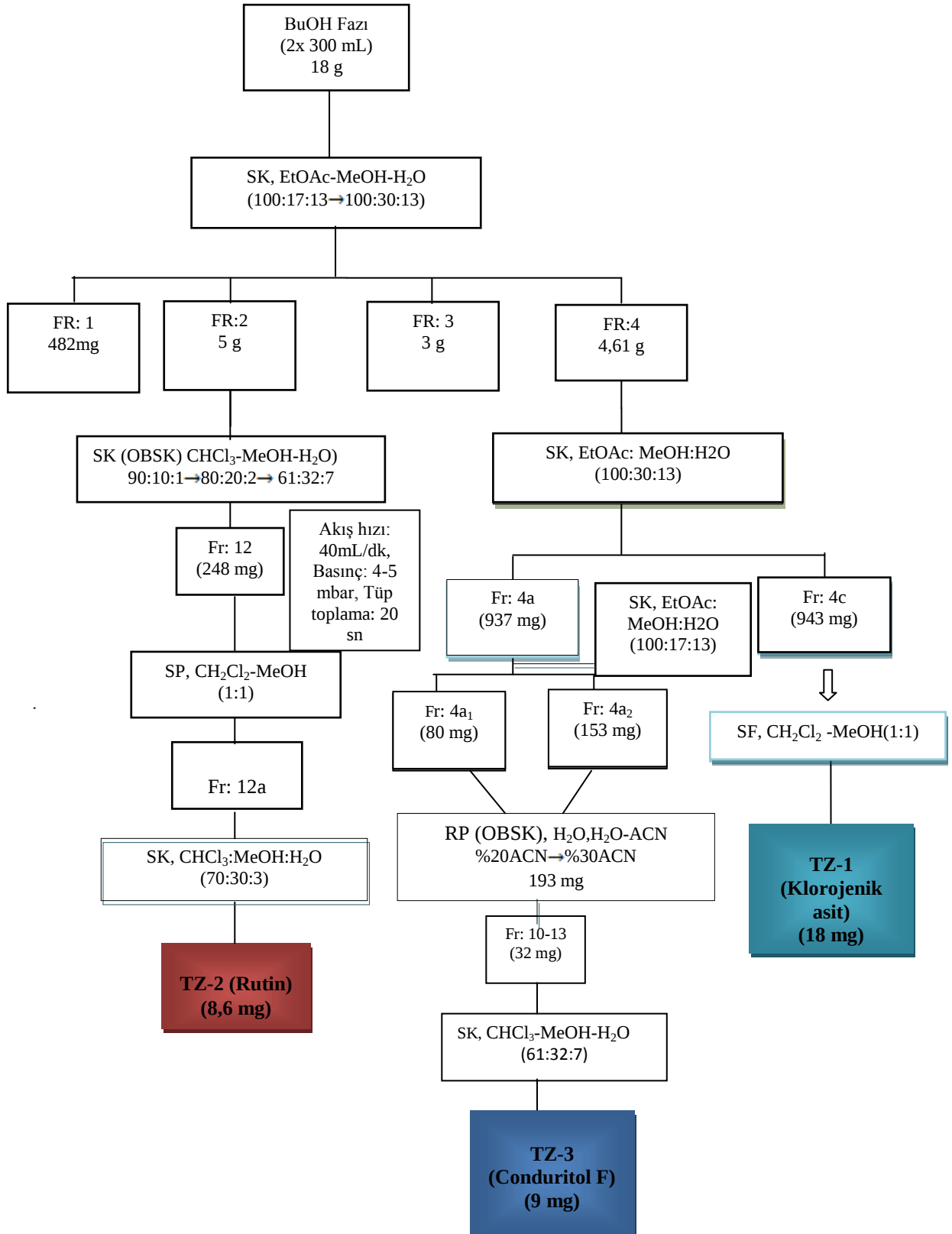
FR. 4 (4,61 g), Sigel kolon kromatografisi sistemine uygulanarak, CHCl₃-MeOH-H₂O (61:32:7) ve EtOAc- MeOH- H₂O (100:30:13) çözücü sistemi ile fraksiyonlanmış ve 4 ana fraksiyon (Fr. 4a→4d) toplanmıştır.

Fr.4c (943 mg) yeterli miktar CH₂Cl₂: MeOH (1:1) çözücü sistemiyle çözülmüş ve sephadex LH-20 kolon kromatografisine tatbik edilmiş, aynı çözücü sistemiyle fraksiyonlanmıştır. Bu fraksiyonlar İTK ile kontrol edildikten sonra 5 alt fraksiyonda toplanmış ve yoğunlaştırılmışlardır. Dördüncü fraksiyondan **TZ-1** (18 mg) elde edilmiştir.

Fr.4a (937 mg) EtOAc:MeOH:H₂O (100:17:13) çözücü sistemiyle hazırlanan silika jel kolona, aynı çözücü sistemiyle çözülerek tatbik edilmiştir. Fraksiyonlamaya CHCl₃:MeOH:H₂O (65:45:12) çözücü sistemiyle devam edilmiştir. İTK ile kontrolleri yapılan fraksiyonlardan benzer olanlar birleştirilmiş ve 7 alt fraksiyon elde edilmiştir. Bu fraksiyonlardan ilk ikisi (4a₁→ 4a₂) (193 mg) OBSK sistemine uygulanarak, H₂O-ACN (% H₂O →80:20 →70:30 20'şer dakika) çözücü sistemi ile fraksiyonlanmış ve 3 ana fraksiyon elde edilmiştir. İlk fraksiyon CHCl₃:MeOH:H₂O (61:32:7) çözücü sistemiyle hazırlanan silika jel kolona, aynı çözücü sistemiyle çözülerek tatbik edilmiştir. 11-13 fraksiyonu **TZ-3** (9 mg) saf maddesi olarak tespit edilmiştir.

FR. 2 (906 mg), OBSK sistemine uygulanarak, $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (90:10:1→61:32:7) çözücü sistemleri ile elüe edilerek fraksiyonlanmış ve 16 ana fraksiyon (**Fr. 1→16**) toplanmıştır.

Fr. 2.12 (248 mg) Sephadex LH-20 kolona tatbik edilerek, elüsyon $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ (1:1) çözücü sistemi ile yapılmıştır. İTK ile kontrolleri yapılan fraksiyonlardan benzer olanlar birleştirilmiş ve 2 alt fraksiyon elde edilmiştir. Bu alt fraksiyonlardan birincisi $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (70:30:3) çözücü sistemiyle hazırlanan silika jel kolona, aynı çözücü sistemiyle çözülerek tatbik edilerek fraksiyonlanmıştır. İTK ile kontrolleri yapılan fraksiyonlardan benzer olanlar birleştirilmiş ve 3 alt fraksiyon elde edilmiştir. İkinci fraksiyon **TZ-2** (8,6 mg) olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.2. *T. zahlbruckneri* Topraküstü *n*-BuOH Ekstresi İzolasyon Şeması

3.2. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

3.2.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH[•]) Radikalini Süpürücü Etki Tayini

Ekstrelerin DPPH[•] radikalini süpürücü etkileri Gyamfi ve ark.'nın metoduna göre yapılmıştır (120). Tris-HCl tamponu (50 mM, pH 7,4) ve 1 mL 0,1 mM metanolde hazırlanmış 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil çözeltisi (DPPH[•]) ile karıştırılıp, kontrol olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı ve pozitif kontrol olarak BHA kullanılmıştır. Metanol ve *n*-butanol ekstraları ile bu ekstralardan elde edilen TZ kodlu maddelerde aktiviteleri bakımından incelenmiştir. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildikten sonra absorbanslar 517 nm'de okunmuştur. İnhibisyon yüzdesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır. IC₅₀ değerleri nonlinear regresyon eğrileri kullanılarak (Sigma Plot 2001 versiyon 7.0, SPSS Inc., Chicago IL) hesaplandı. Analizler 3 paralel olarak yapılmış ve ortalama değerler kullanılmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(Abs_{\text{kontrol}} - Abs_{\text{örnek}}) / Abs_{\text{kontrol}}] \times 100$$

3.2.2. 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolin-6- sülfonik asit) (ABTS^{•+}) Radikalini Süpürücü Etki Tayini

MeOH ve *n*-BuOH ekstralarının ABTS^{•+} radikalini süpürücü etkileri incelenmiştir (121). ABTS^{•+} radikali (7 mM) ABTS'in sulu çözeltisi ile K₂S₂O₈ (2,45 mM, son konsantrasyon)' un karanlıkta 12-16 saat bekletilmesiyle meydana getirilip ve absorbansı oda sıcaklığında 734 nm'de 0.700 (± 0.030) olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan radikal çözeltisi (990 µL) ile ekstre çözeltileri (10 µL) karıştırılıp 734 nm'de 1 dakikalık aralıklarla 30 dakika süresince reaksiyon kinetiği ölçülmüştür. Konsantrasyona karşı ölçülen inhibisyon yüzdeleri Troloks'a eşdeğer olarak (TEAC) hesaplanmıştır. Deneyler üç paralel olarak yapılmış ve ortalama değerleri hesaplanmıştır.

3.2.3.β-karoten / linoleik asit Birlikte Oksidasyonunu İnhibe Edici Etki Tayini

Ekstrelerin ve saf maddelerin antioksidan aktivitesi β-karoten soldurma deneyine göre yapılmıştır (122, 123). Tween 20 (120 mg) ve linoleik asit (120 mg) tartılıp kloroformla yıkanarak bir kaba alındı. Daha sonra bu kaba 1.2 mL β-karoten (1mg/mL kloroform içerisinde) eklenmiş ve karışımdaki kloroform rotavaporda uçurularak uzaklaştırılmıştır. 300 mL distile su eklenerek yavaşça karıştırılmıştır. Kontrol, standart ve örnekler

konulmadan aynı prosedürle hazırlanmıştır. Kontrol ve örneklerin şahitleri ise aynı şekilde β -karotensiz olarak ayrıca hazırlanmıştır. Ekstreler, standartlar ve kontroller hazırlanan emülsiyonlarla beraber plate kuyucuklarına aktarılmış ve 470 nm’de spektrofotometrede ölçümleri alınmıştır. Daha sonra örnekler otooksidasyon için 50 °C’de 120 dakika cihazda bekletilmiş ve her 15 dakikada bir ölçüm yapılarak solma derecesi izlenmiştir. Deneyler üç paralel olarak tekrarlanmış ve ortalama değerleri hesaplanmıştır.

$$AA\% = [1 - (Abs^0_{\text{örnek}} - Abs^{105}_{\text{örnek}}) / (Abs^0_{\text{kontrol}} - Abs^{105}_{\text{kontrol}})] \times 100$$

4. BULGULAR

4.1. FİTOKİMYASAL ÇALIŞMALARA AİT BULGULAR

4.1.1. Kompozisyon Analizleri

Toplam fenol, flavonoit ve flavonol miktar tayinleri

Metanol ekstresinin toplam fenol, toplam flavonoit ve toplam flavonol miktar tayinleri deneysel kısımda verilen yöntemler kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlendi. Toplam fenol miktarı gallik asite, toplam flavonoit miktarı kateşine, toplam flavonol miktarı ise rutine eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1.Ekstre Verimleri, Toplam Fenol, Toplam Flavonoit ve Toplam Flavonol Miktarları

Ekstreler	Verim [%]	Toplam Fenolikler [mg _{GAE} /g _{ekstre}]	Toplam Flavonoitler [mg _{CA} /g _{ekstre}]	Toplam Flavonoller [mg _{RE} /g _{ekstre}]
Metanol Ekstresi	%15	63.45±2.32*	51.93±1.36	29.06±4.23

*ortalama ± SD

4.1.2. İzolasyon Çalışmaları

T. zahlbruckneri’ nin toprak üstü kısımlarından hazırlanan *n*-BuOH ekstresi üzerinde yürütülen kromatografik çalışmalar sonucunda, bitkiden bir tane hidroksisinnamik asit (fenolik asit), bir tane flavonoit glikoziti ve bir tane de primer metabolit türevi madde elde edildi. Bileşiklerin yapıları spektroskopik (UV, IR, 1D- ve 2D- NMR ve Kütle spektr.) yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır.

Tablo 4.2. *Tanacetum zahlbruckneri*’ den Elde Edilen Bileşiklerin R_f değerleri^a

Bileşik	Sistem 1	Sistem 2
Klorojenik asit (TZ-1)	0.76	0.71
Rutin (TZ-2)	0.80	0.77
Conduritol F (TZ-3)	0.43	0.40

^aR_f değerleri oda ısısında (20 °C) gerçekleştirilen İTK çalışması ile belirlenmiştir.

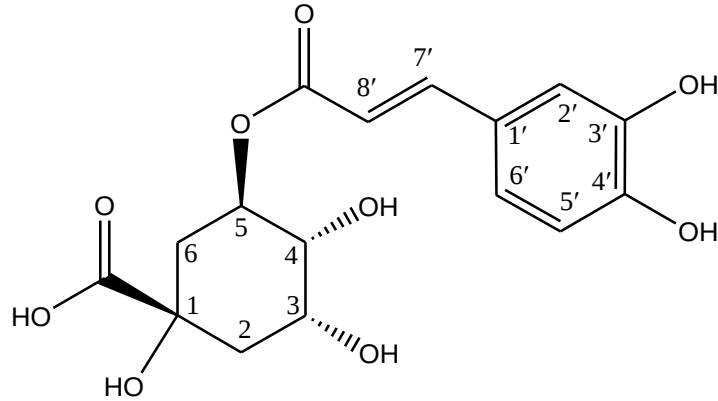
Çözücü Sistemleri	1	EtOAc: MeOH: H ₂ O (100:17:13)
	2	CHCl ₃ : MeOH: H ₂ O (61:32:7)

Lekelerin belirlenmesi: Lekeler UV lambası (254 ve 366 nm) ve vanilin/H₂SO₄, FeCl₃ reaktifi kullanılarak belirlendi.

4.1.2.1. Fenolik Asitler

Klorojenik asit

5-O-kafeoil kinik asit (TZ-1)



C₁₆H₁₈O₉ (Mol. Ağ. 354)

UV λ_{max} (MeOH) nm	IR $\nu_{\text{maks. cm}^{-1}}$
329	C=C (Ar, 1149) C=O (1650) R-OH (3267)

ESI- MS (m/z)	:355 [M+H ⁺]
¹ H- NMR Spektrumu (CD ₃) ₂ SO, 400 MHz)	: Şekil 4.1
	: Tablo 4.2
¹³ C- NMR Spektrumu (CD ₃ OD, 100 MHz)	: Şekil 4.2
	: Tablo 4.2

Klorojenik Asit

TZ-1 bileşiği, beyaz renkli, amorf bir toz şeklinde elde edilmiştir. Bileşiğin İTK analizinde, FeCl₃ reaktifi ile 105°C’de 1-2 dakika ısıtılması sonrasında yeşil, Vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile muamele edildikten sonra ise açık pembe renklenme gözlenmiştir.

Bileşiğin UV spektrumu (λ_{maks} . 244-329 nm), hidroksisinnamik asit türevi bir yapının varlığını göstermiştir. IR spektrumunda 3267cm⁻¹’ de hidroksil gruplarına, 1149cm⁻¹’ aromatik çifte bağa ve 1650cm⁻¹’ da karbonil gruplarına ait bantlar gözlenmiştir.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumuna bakıldığında δ_H 7.44 (1H, d, $J=15.9$ Hz H-7') ve 6.23 (1H, d, $J=15.9$ 8') ppm’ de AB sistemi veren çift bağ sinyalleri yapıda α , β -doymamış karbonil grubunun varlığını göstermektedir. Bu sistemin kenetlenme sabitinin 15.9 Hz olması çifte bağın *trans* olduğunu göstermektedir. Bu protonlara ait karbon sinyalleri sırasıyla δ_C 145.02 (C-7') ve 115.10 (C-8')’dur. Bu sinyallerle birlikte spektrumda δ_H 7.04 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-2'), 6.97 (1H, dd, $J=8.3/1.9$ Hz, H-6') ve 6.74 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-5')’ te gözlenen aromatik protonlar yapıda kafeik asit grubu bulunduğunu göstermiştir. Aromatik halkaya ait 146.08 (C-3') ve 148.84 (C-4')’ te gözlenen katerner karbonlar ve 121.68 (C-6'), 115.16 (C-5') ve 116.21 (C-2') ppm’de gözlemlenen aromatik CH karbonları yapının *trans* kafeoil grubu taşıdığını doğrulamıştır.

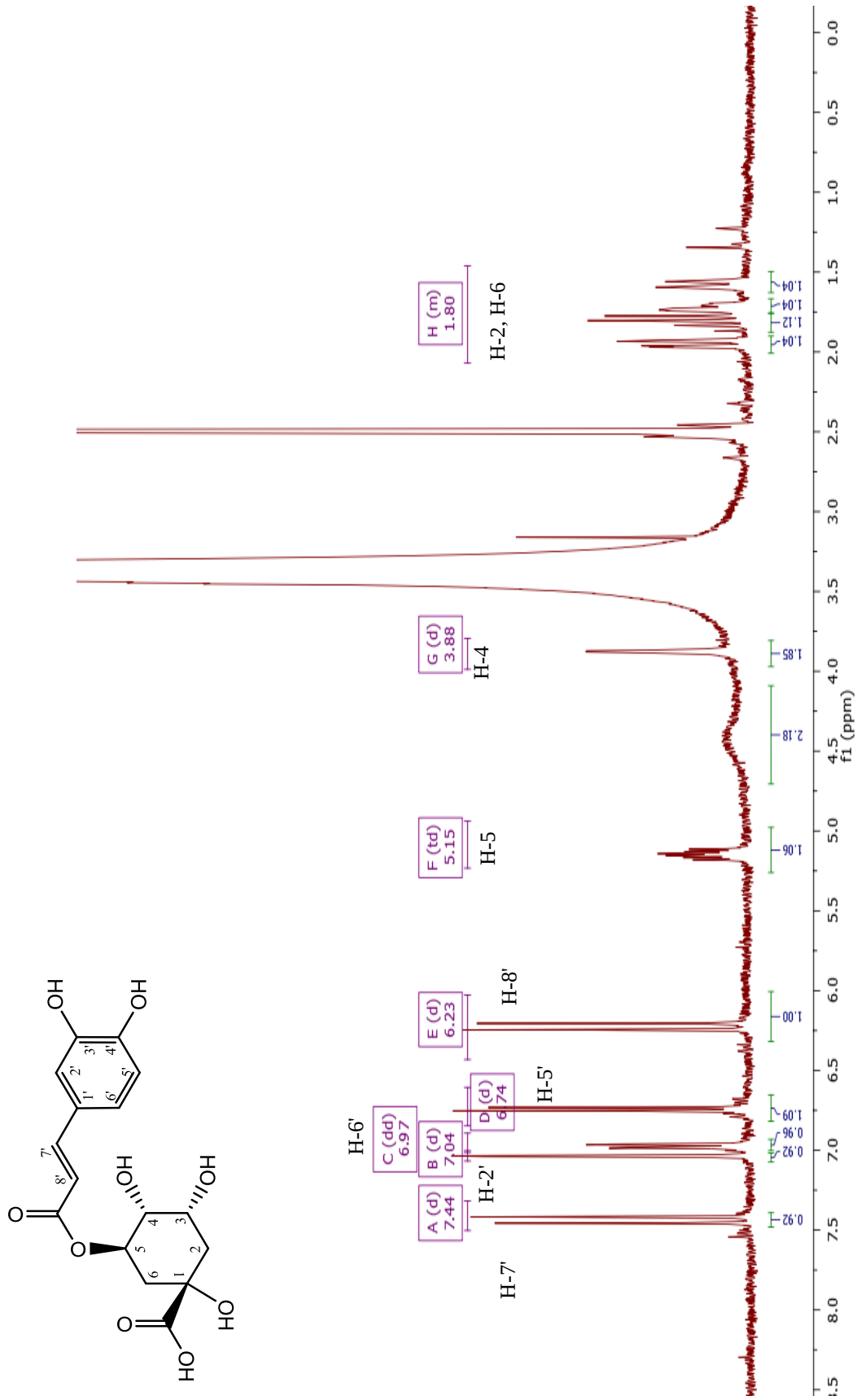
Bileşiğe ait kinik asit protonlarından CH₂-2 ve CH₂-6 δ_H 1.44-1.99 ppm’de multipler, H-5 protonu 5.15 ppm’de karakteristik (td, $J=11.0$ ve 5.1 Hz, 1H), H-4 protonu 3.88 ppm’de (d, $J=2.8$, 1H)’de gözlendi. ¹³C-NMR spektrumuna bakıldığında kinik asitin 5 numaralı karbonundan bağlı kafeik asite ait karbonil grubuna ait sinyal 166.81 ppm’de ve kinik asite karbonil sinyali de 176.46 ppm’de gözlendi. Kinik asit karbonları da δ_C 75.71 (C-1), 38.55 (C-2), 72.23 (C-3), 72.02 (C-4), 73.87 (C-5), 39.24 (C-6) ppm’de gözlemlenmiştir.

Bileşiğin ESI-MS spektrumunda m/z 355 [M+H]⁺ moleküler iyon piki, ¹H NMR spektrumu ve ¹³C NMR spektrumu yardımıyla bileşiğin kapalı formülü C₁₆H₁₈O₉ olarak bulundu. Elde edilen spektroskopik bulgular ve literatür eşliğinde **TZ-1** kodlu bileşiğin yapısı **Klorojenik asit** olarak kesinleştirilmiştir (124-126).

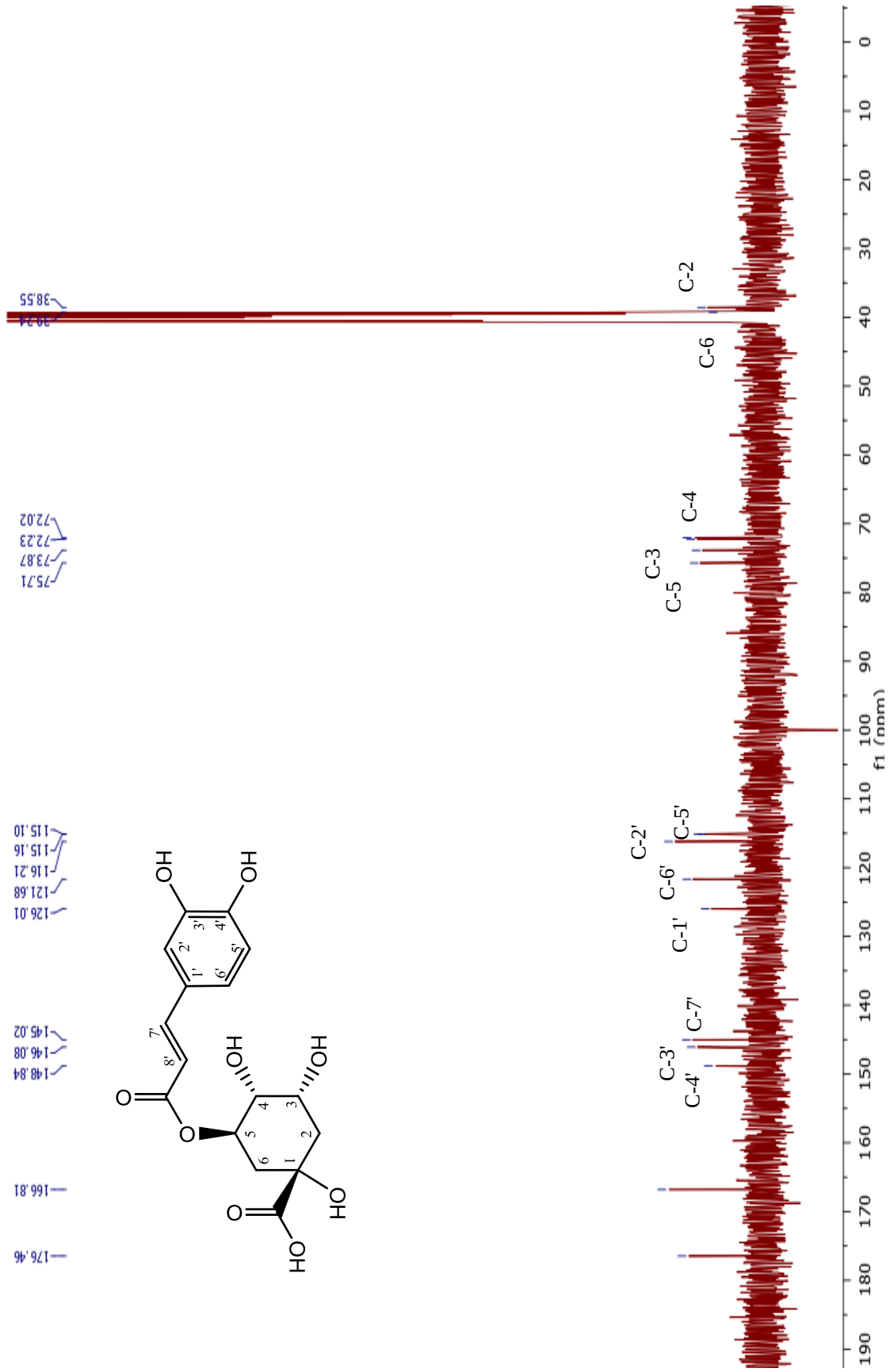
Tablo 4.3. Klorojenik asit (TZ-1) Bileşigi için ^1H -NMR (400 MHz, CD_3SO), DEPT ve ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3SO) Değerleri

C/H	DEPT	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm), J (Hz)
1	C	176.46	
2	CH_2	38.55	1.44-1.99,m
3	CH	72.23	*
4	CH	72.02	3.88, d, $J=2.3$
5	CH	73.87	5.15,td, $J= 11.0/5.1$
6	CH_2	39.24	1.44-1.99, m
1'	C	126.01	
2'	CH	116.21	7.04, d, $J=1.9$
3'	C	146.08	
4'	C	148.84	
5'	CH	115.16	6.74, d, $J= 8.2$
6'	CH	121.68	6.97, dd, $J= 8.3/1.9$
7'	CH	145.02	7.44, d, $J= 15.9$
8'	CH	115.10	6.23, d, $J= 15.9$

* Çözücü sinyalinin altında



Şekil 4.1. Klorojenik asit (5-O-kafeoilkinik asit) (TZ-1)'in ¹H-NMR Spektumu (¹H: 400 MHz, (CD₃)₂SO)



Şekil 4.2. Klorojenik asit (5-O- kafeoilkinik asit) (TZ-1)'in ¹³C- NMR Spektrumu (¹³C:100 MHz, (CD₃)₂SO)

Rutin

Sarı renkli amorf bir madde olarak elde edilen bileşiğin İTK analizinde, gün ışığında sarı, UV₂₅₄' te siyah ve UV₃₆₆' da açık sarı renk gözlemlendi. Vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile muamele sonucunda, maddeye ait lekede koyu sarı bir renklenme gözlemlenmesi ve püskürtme işleminden sonra UV₃₆₆' da görülen lekelere ait parlak sarı renk flavonoit yapısında bir bileşik olduğunu düşündürmüştür.

IR spektrumunda 3332 cm⁻¹'de hidroksil bantlarının görülmesi, 1601 cm⁻¹'de aromatik halkaya ait karbon bantları, MeOH ile çekilmiş UV spektrumunda 359 nm' de görülen sinnamoil grubuna ait Bant I ve 274 nm' de görülen benzoil grubuna ait bant II, bir flavonol olduğunu göstermektedir.

¹H NMR spektrumunda δ_H 6.20 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6) ve 6.38 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8)' de meta etkileşim gösteren sinyaller 5,7-disüstitüe A halkasının varlığına işaret etmektedir. ¹H NMR spektrumunda kersetinin B halkası için karakteristik olan ABX sistem şeklindeki δ_H 6.87 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 7.61 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-2') ve 7.65 (1H, dd, $J=2.2/8.4$ Hz, H-6') sinyallerin varlığı, aglikon iskeletinin kersetin olduğunu göstermektedir.

¹H NMR spektrumunda oz ünitesine ait protonlara bakıldığında δ_H 5.09 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1'')' de görülen bir ve iki numaralı protonlar arasındaki diaksiyal kenetlenme sabiti (J) 7.6 Hz olarak hesaplanmış anomerik proton sinyali, yapıda bir oz bulunduğunu ve ozun yapıya β bağlı olduğunu göstermiştir. DQF-COSY ve HSQC spektrumu yorumlanmasıyla oz karbonlarına ait sinyallerin δ_C 103.28 (C-1''), 74.30 (C-2''), 76.77 (C-3''), 69.97 (C-4''), 75.80 (C-5''), 67.13 (C-6'')' de ortaya çıktığı tespit edilmiştir.

Ozun 6 numarasına ait protonların, anomerik protondan sonra en düşük alanda geliyor olması ve literatür verileri eşliğinde ozun bir glukopiranoz olduğu anlaşılmıştır. HMBC spektrumunda glukopiranozun anomerik protonu H-1'' (5.09 ppm) ile kersetin C-3 (134.27 ppm) rezonansı arasında gözlemlenen korelasyon ozun aglikona 3. konumdan bağlandığını doğrulamıştır.

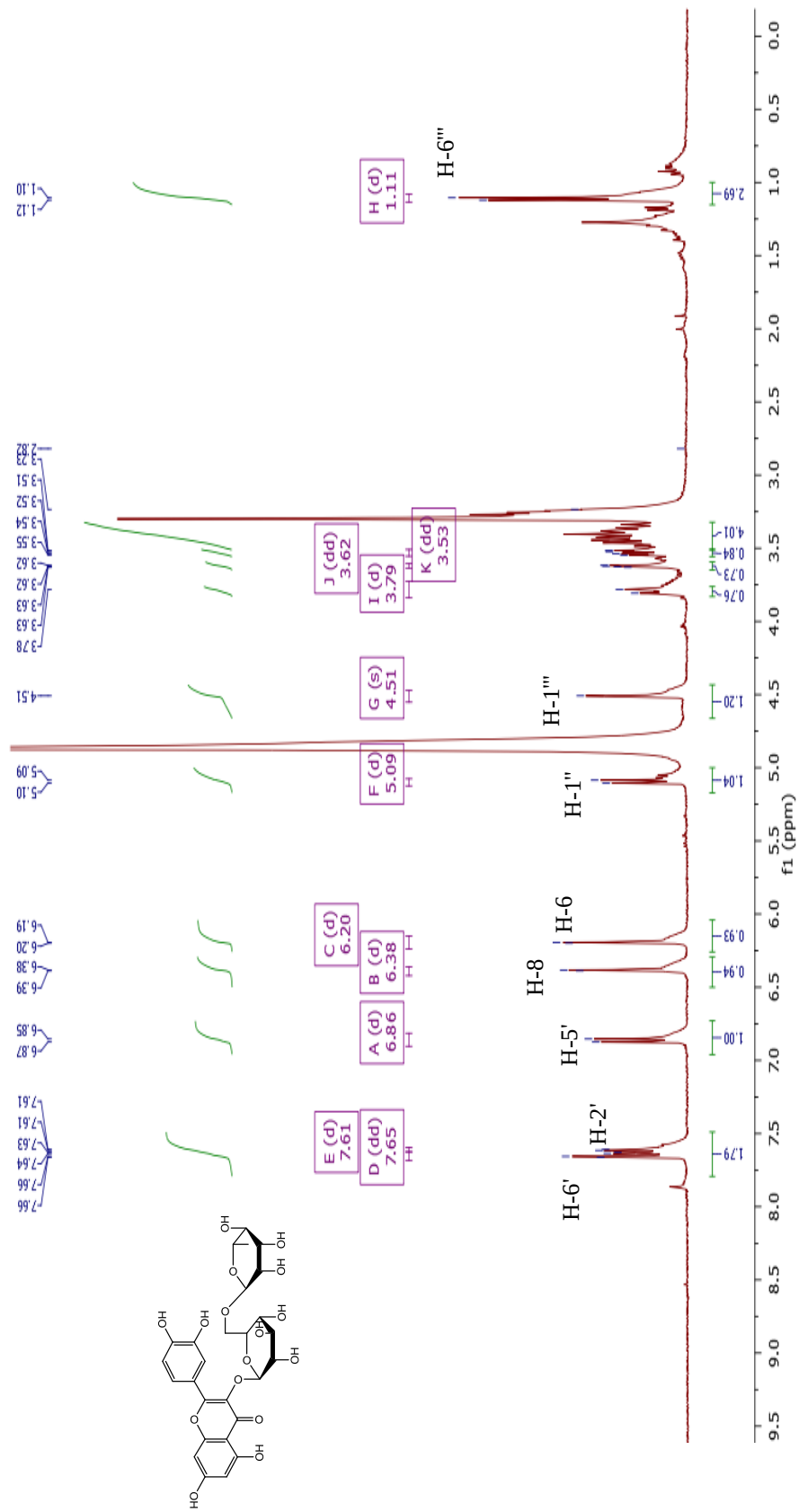
¹H NMR spektrumunda ikinci bir anomerik protona ait sinyal gözlemlenmesi ve 3-4 ppm arasında glukoz protonları dışında kalan sinyallerin varlığı yapıya ikinci bir ozun bağlı

olduğunu göstermiştir. Buna göre δ_H 4.52 (H-1''')' de bir CH ve 1.11 (H-6''')' de yer alan bir CH₃ sinyali yapının ramnoz olabileceğini düşündürmüştür. Proton spektrumunda yer alan diğer sinyaller de 3.62 (H-2'''), 3.53 (H-3'''), 3.49-3.23 (H-5''') göz önünde bulundurulduğunda ikinci oz ünitesinin bir ramnopiranoz olduğu anlaşılmıştır. HMBC spektrumuna bakıldığında bu oz ünitesinin glukoza 6. konumdan bağlı olduğu anlaşılmıştır. ESI kütle spektrumunda m/z 611 $[M+H]^+$ iyon piki, elde edilen spektroskopik bulgular ve literatür eşliğinde **TZ-2** kodlu bileşiğin yapısı **Kersetin-3-ramnoglikozit** olarak kesinleştirilmiştir (127, 128).

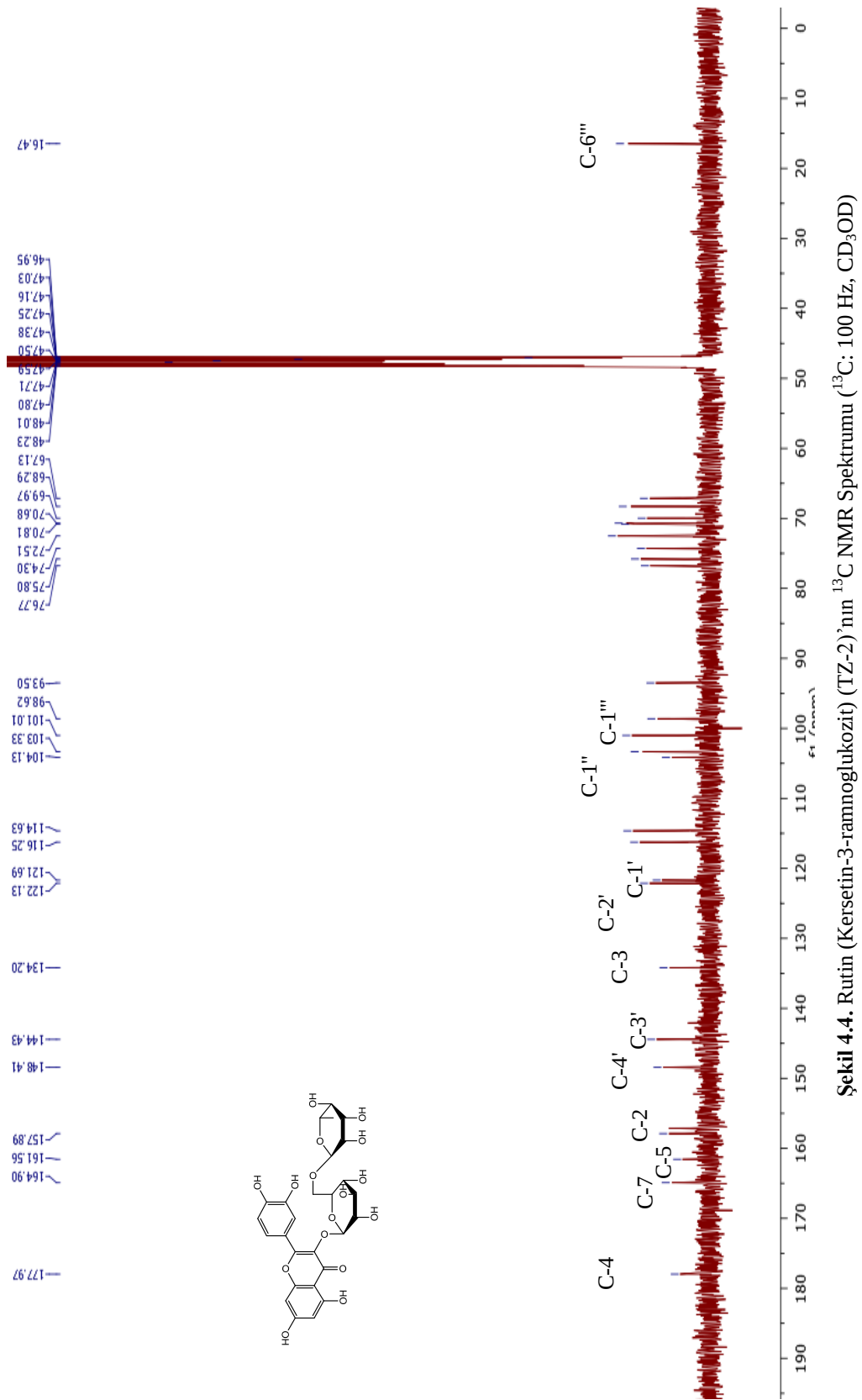
Tablo 4.4. Rutin (TZ-2) Bileşiği için ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD), DEPT ve ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) Değerleri

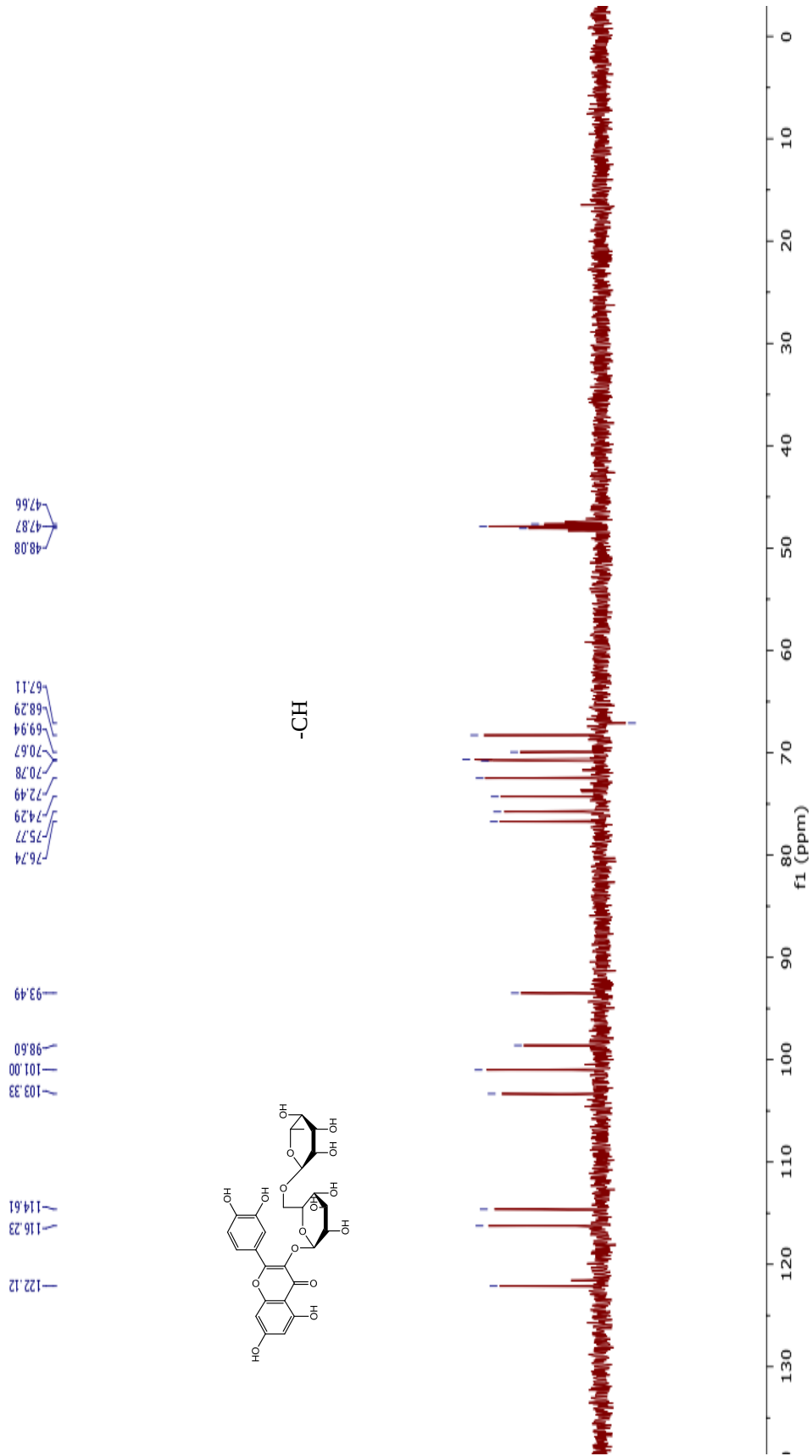
C/H	DEPT	δ_C (ppm)	δ_H (ppm), J (Hz)
1	-	-	-
2	C	157.70	-
3	C	134.27	-
4	C	177.89	-
5	C	161.25	-
6	CH	98.53	6.20, d, $J= 2.1$
7	C	164.86	-
8	CH	93.50	6.38, d, $J= 2.1$
9	C	157.28	-
10	C	103.95	-
1'	C	121.31	-
2'	CH	121.89	7.61, d, $J=2.2$
3'	C	144.50	-
4'	C	148.41	-
5'	CH	114.57	6.87, d, $J= 8.4$
6'	CH	115.88	7.65, dd, $J= 10.4/2.1$
Glukoz			
1''	CH	103.28	5.09, d, $J= 7.6$
2''	C	74.30	3.49-3.23 m
3''	C	76.77	3.49-3.23 m
4''	C	69.97	*
5''	C	75.80	3.49-3.23 m
6''	CH ₂	67.13	3.79, d, $J= 10.7$
Ramnoz			
1'''	CH	100.89	4.52, S, $J= 1$
2'''	CH	70.81	3.62, dd, $J= 3.3/1.6$
3'''	CH	70.68	3.53, dd, $J= 9.4/3.5$
4'''	CH	72.51	*
5'''	CH	68.29	3.49-3.23 m
6'''	C	16.52	1.11, d, $J= 6.2$

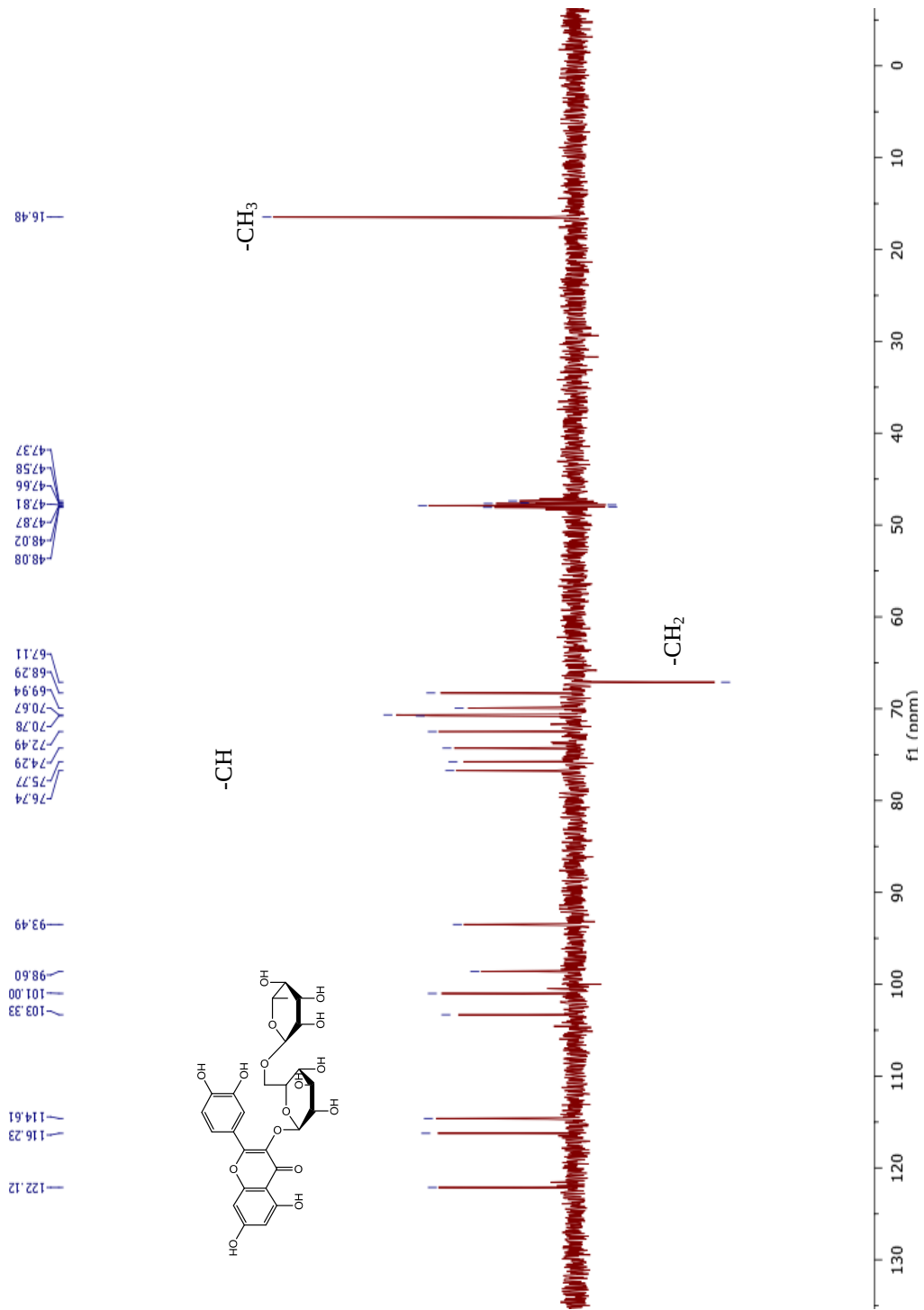
*CD₃OD sinyal altında



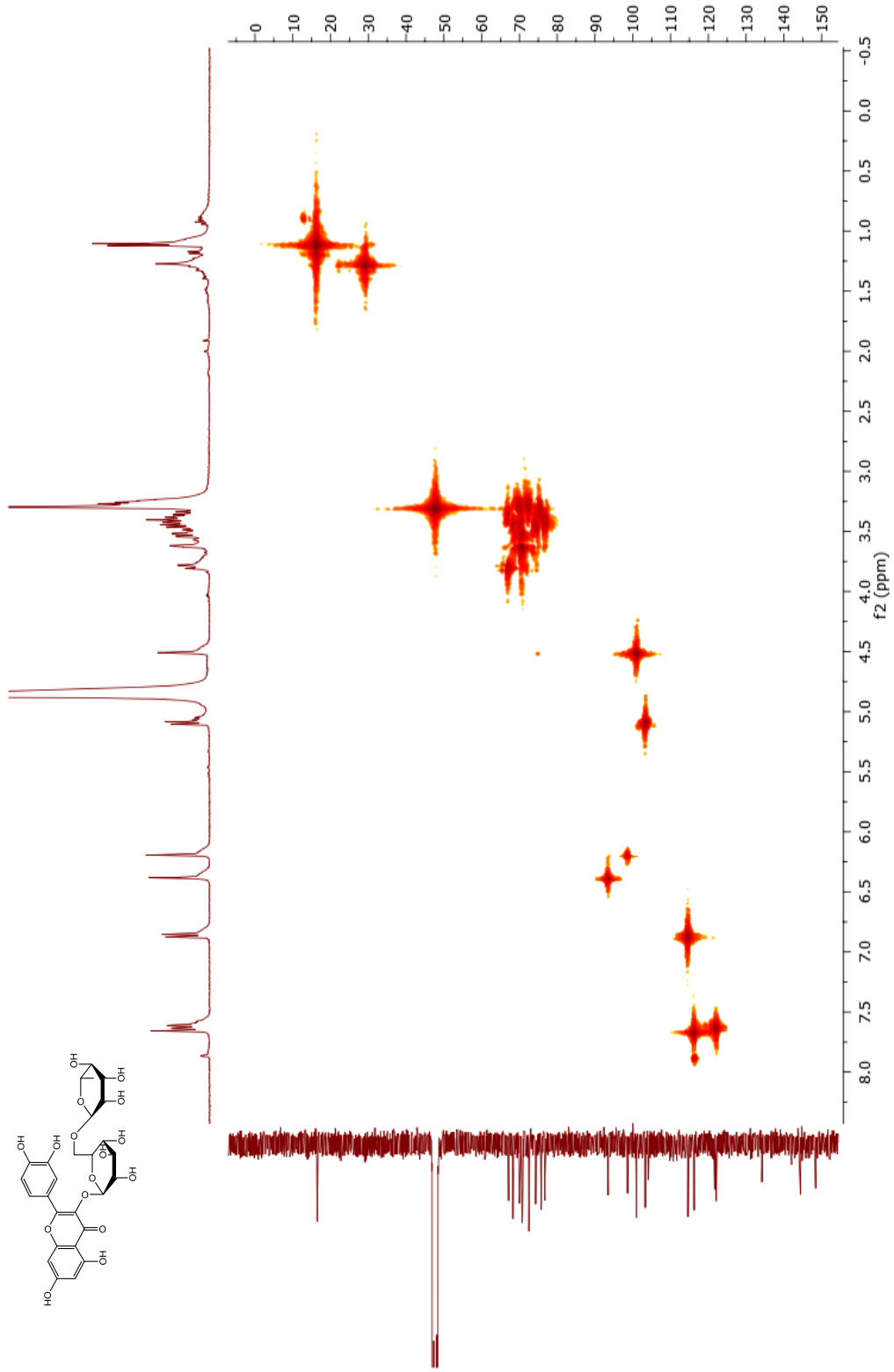
Şekil 4. 3. Rutin (Kersetin-3-ramnoglukozit) (TZ-2)'nin ¹H Spektumu (¹H: 400 MHz, CD₃OD)



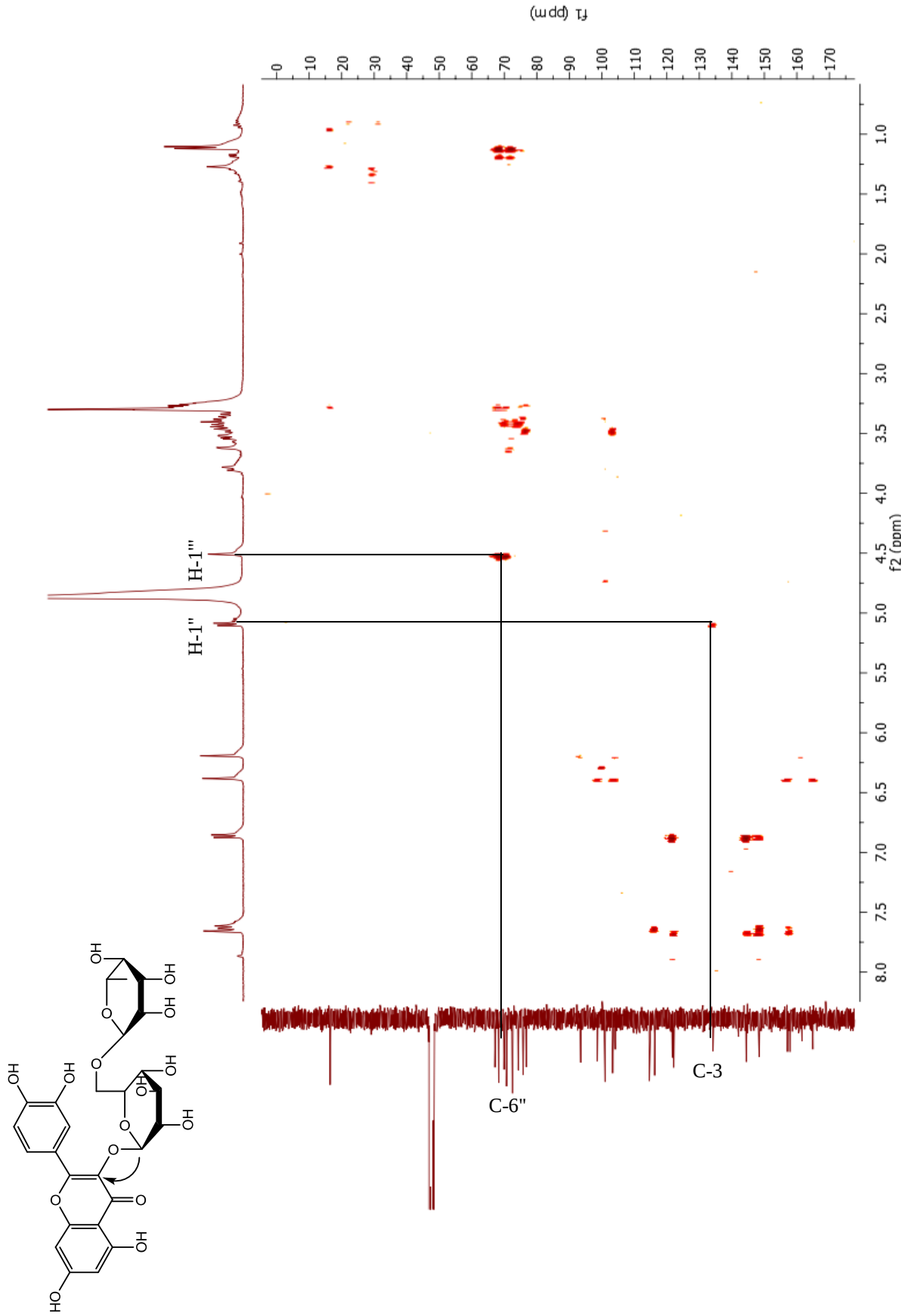




Şekil 4. 6. Rutin (Kersetin-3-ramnoglukozit) (TZ-2)'nin DEPT 135 Spektumu (¹³C:100MHz, CD₃OD)



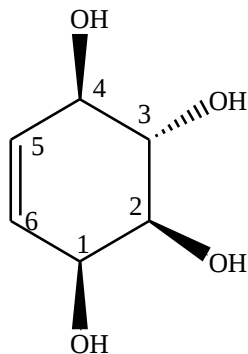
Şekil 4.7. Rutin (Kersetin-3-ramnoglukozit) (TZ-2)'nin ^1H - ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR Spektrumu (HSQC)



Şekil 4. 8. Rutin (Kerşetin-3-ramnoglukozit) (TZ-2)'nin ^1H - ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonu (uzak mesafe) NMR Spektrumu (HMBC)

4.1.2.3. Conduritol F

Lökantemitol (TZ-3)



$C_6H_{10}O_4$ (Mol. Ağı. 146)

UV $\lambda_{maks.}$ (DMSO) nm	IR V_{maks} cm^{-1}
282	C=C (1617) R-OH (3432)

ESI-MS (m/z)	: 147 $[M+H]^+$
1H - NMR Spektrumu ($(CD_3)_2SO$ 400 MHz)	: Şekil 4.9 : Tablo 4.4
^{13}C - NMR Spektrumu ($(CD_3)_2SO$, 100 MHz)	: Şekil 4.10 : Tablo 4.4
DEPT 90 Spektrumu ($(CD_3)_2SO$, 100 MHz)	: Şekil 4.11
HSQC Spektrumu	: Şekil 4.12

Conduritol F

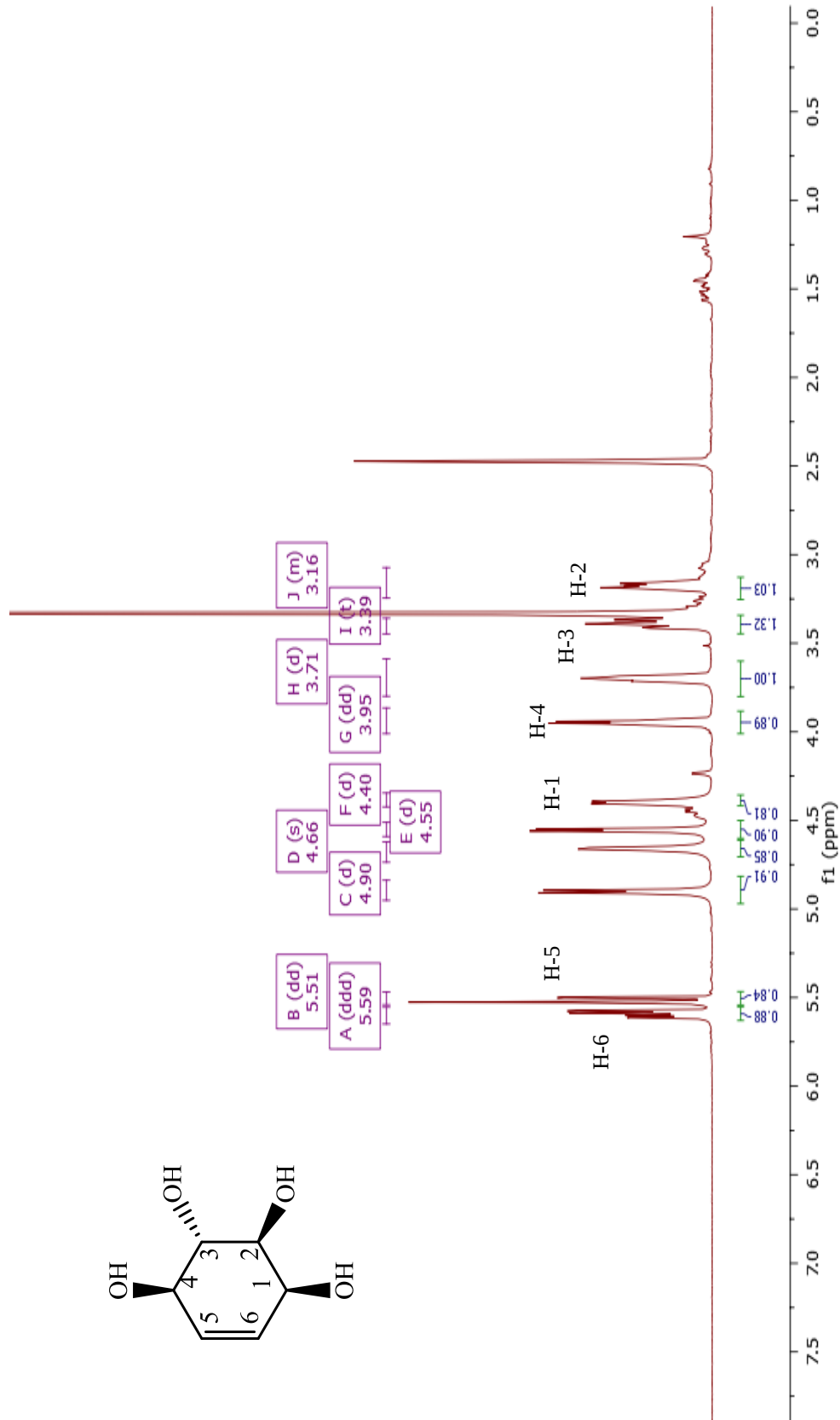
Renksiz, viskoz bir madde olarak elde edilen TZ-3'ün İTK analizinde gün ışığında görünmeyen, UV₂₅₄'te reaktif kullanmadan önce koyu mor, UV₃₆₆'da reaktif püskürtülmeden önce mavi,%1 (a/h)' lik Vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile 105 °C'de 1-2 dakika ısıtılma sonucunda plakta gün ışığında maddeye ait lekede koyu mor, UV₃₆₆' da fosforlu mavi bir renklenme gözlemlendi.

IR spektrumunda 3432 cm⁻¹'de hidroksil gruplarına, 16417 cm⁻¹'de çifte bağlara ait bantlar gözlemlendi.

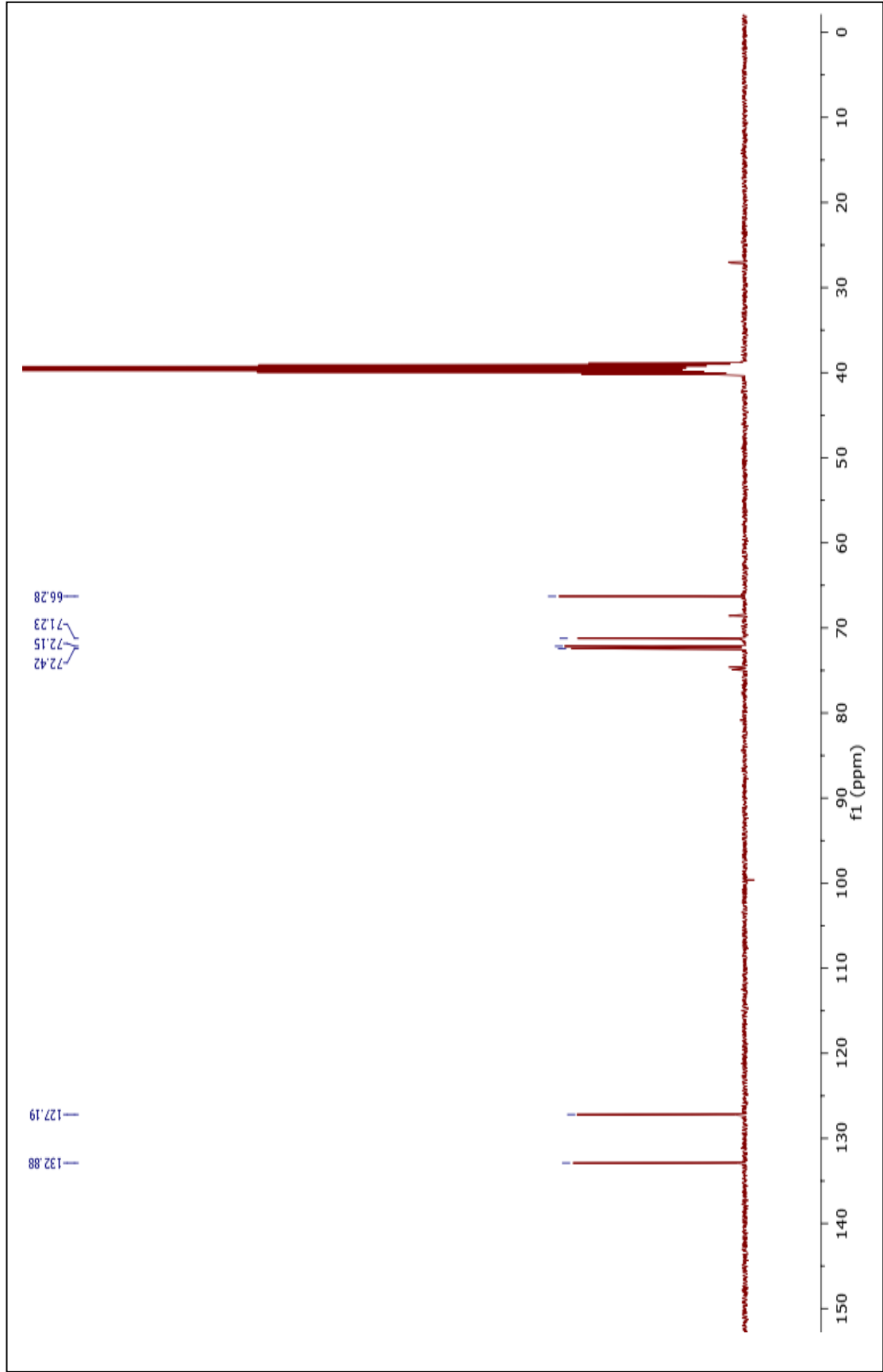
¹³C NMR spektrumuna bakıldığında 2'si çifte bağ bölgesinde olmak üzere aşağı alanda toplam 6 adet karbon sinyali gözlemlenmiştir. DEPT 135 spektrumunda bu sinyallerin tamamının CH olduğu görülmüştür. HSQC spektrumu yardımıyla karbon atomlarının konumunun " $-\text{CH}_{(6)}=\text{CH}_{(5)}-\text{CH}_{(4)}\text{OH}-\text{CH}_{(3)}(\text{OH})-\text{CH}_{(2)}(\text{OH})-\text{CH}_{(1)}(\text{OH})-\text{CH}_{(6)}=$ " şeklinde olduğu görülmüştür. Bileşiğin ESI-MS spektrumunda m/z 147 [M+H]⁺ olarak gözlenen pozitif iyon piki ve spektroskopik bulgular birlikte değerlendirildiğinde kapalı formülünün C₆H₁₀O₄ olduğu anlaşılmıştır. Bu bilgilerle birlikte literatür bilgileri de değerlendirildiğinde maddenin **Conduritol F** olduğu doğrulanmıştır (129).

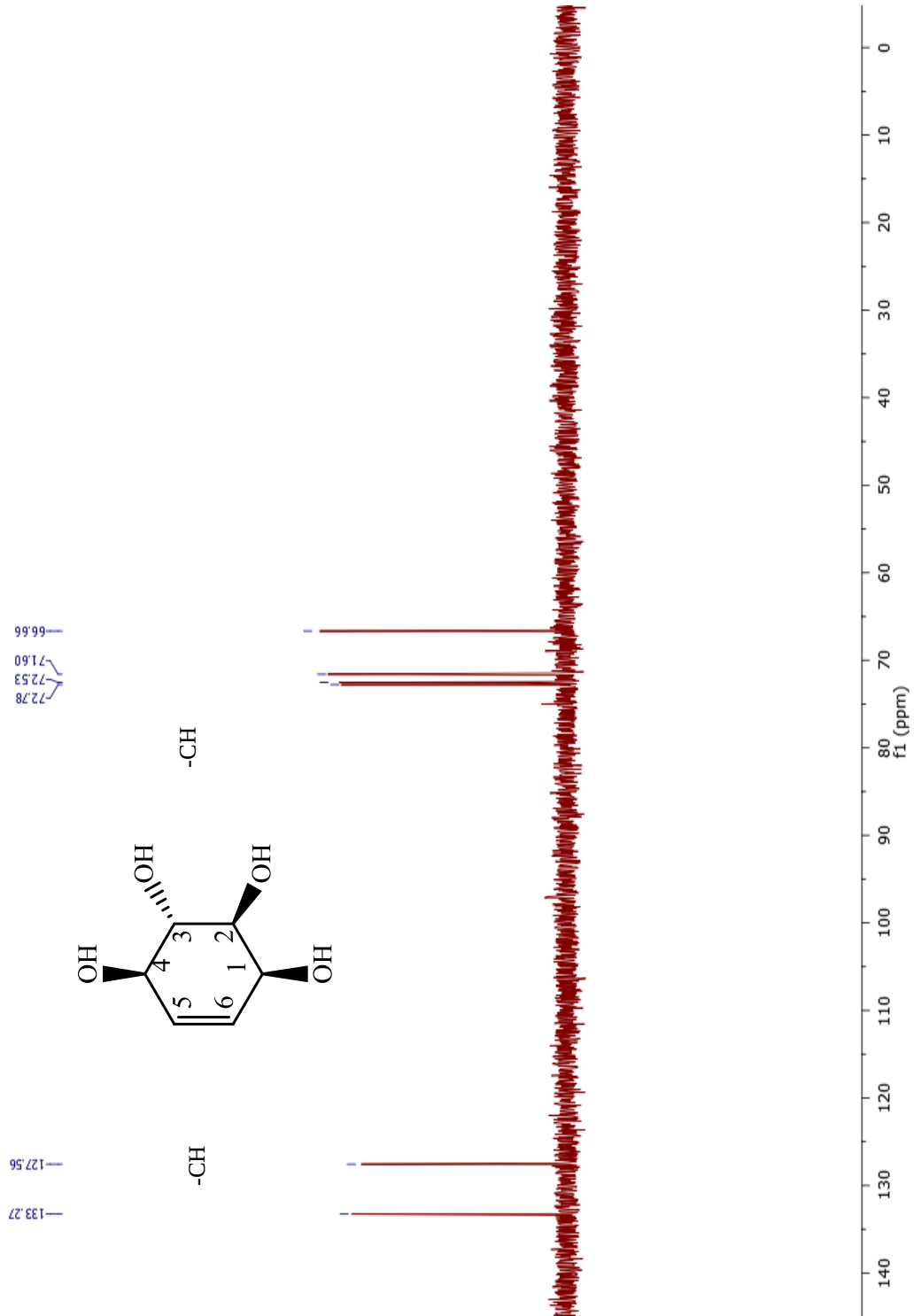
Tablo 4.5. Conduritol F (TZ-3)'ün ¹³C ve ¹H NMR Spektroskopik Değerleri (CD₃)₂SO, (¹³C: 100 MHz; ¹H: 400 MHz)

C/H	DEPT	δ _C (ppm)	δ _H (ppm), J (Hz)
1	CH	66.66	3.95, dd, J=8.5/4.2
2	CH	71.61	3.19, dd, J=13.4/8.9
3	CH	72.79	3.40, dd, J=16.5/7.7
4	CH	72.53	3.73, d, J=6.5
5	CH	133.26	5.53, dd, J=10.0/2
6	CH	127.56	5.61, ddd, J=9.9/4.8/2.0

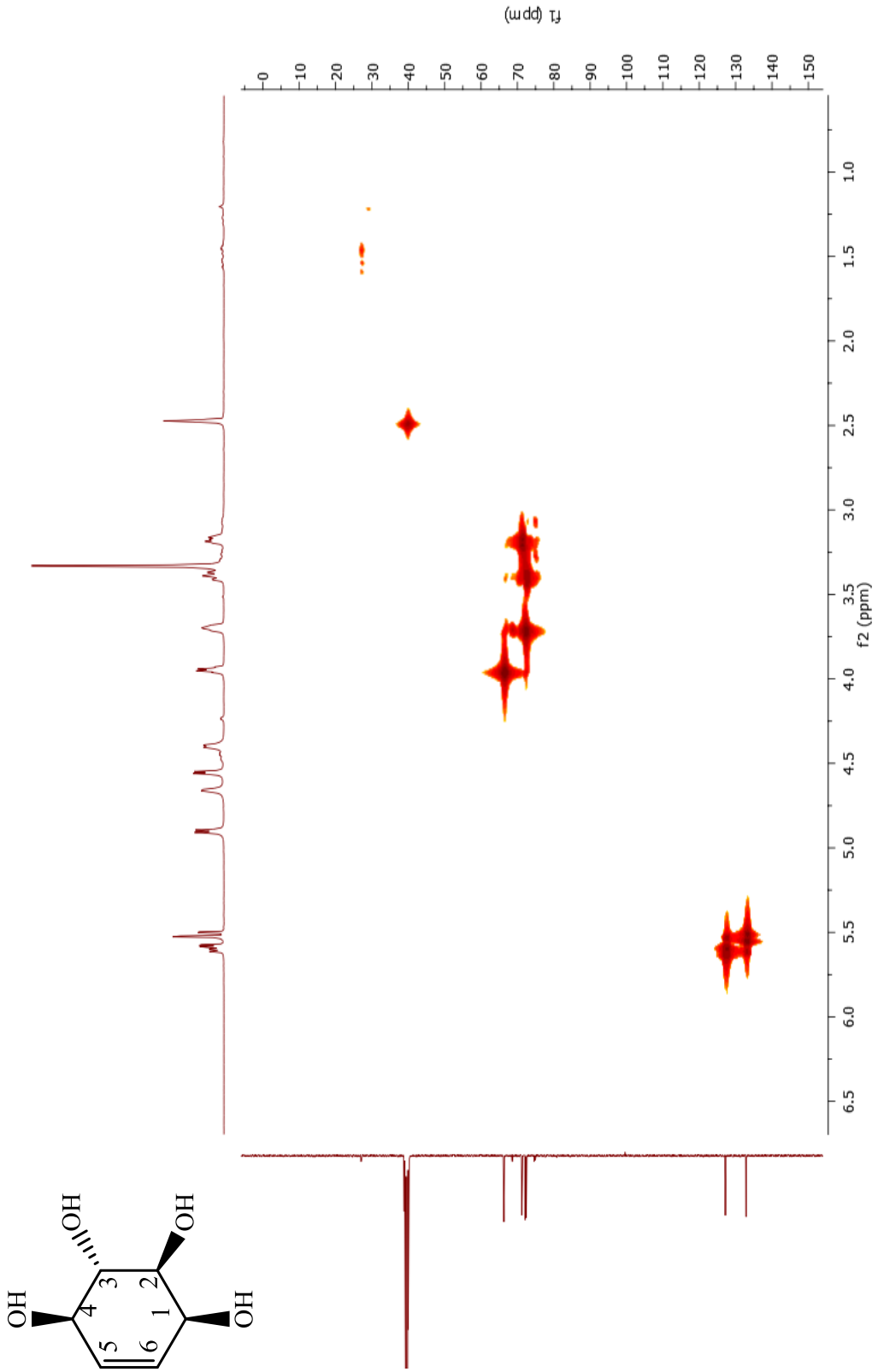


Şekil 4. 9. Conditurol F (Lökantemitol) (TZ-3)'ün ^1H -NMR Spektrumu (^1H : 400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)





Şekil 4.11. Conduritol F (Lökantemitol) (TZ-2)'un DEPT 90 Spektrumu (^{13}C : 100MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)



Şekil 4.12. Conduritol F (Lökantemitol) (TZ-2)'un ^1H - ^{13}C -Heteronükleer Korelasyonlu (yakın mesafe) NMR (HSQC)

4.1.3.Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Analizi

Ekstre ve saf maddelerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) sistemi ile yapılan analizlerinde PDA dedektör kullanılmış ve miktar tayinleri, hidroksisinnamik asit türevleri için 320 nm’de ve flavonoidler için ise 360 nm’de yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.6’da verilmiştir.

İzole edilen klorojenik asit ve rutin metanol ekstresi içinde gerçek madde miktarları kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiştir. Klorojenik asit 320 nm’de; rutin 360 nm’de analiz edilmiştir. Ekstrelerin içerisinde tanımlanan bu bileşiklerin miktarları standart maddelerden hazırlanan kalibrasyon eğrileri kullanılarak belirlenmiştir (Tablo 4.7). Maddelerin tanımlanmasında hem tutunma zamanları hem de UV spektrumları kullanılmıştır.

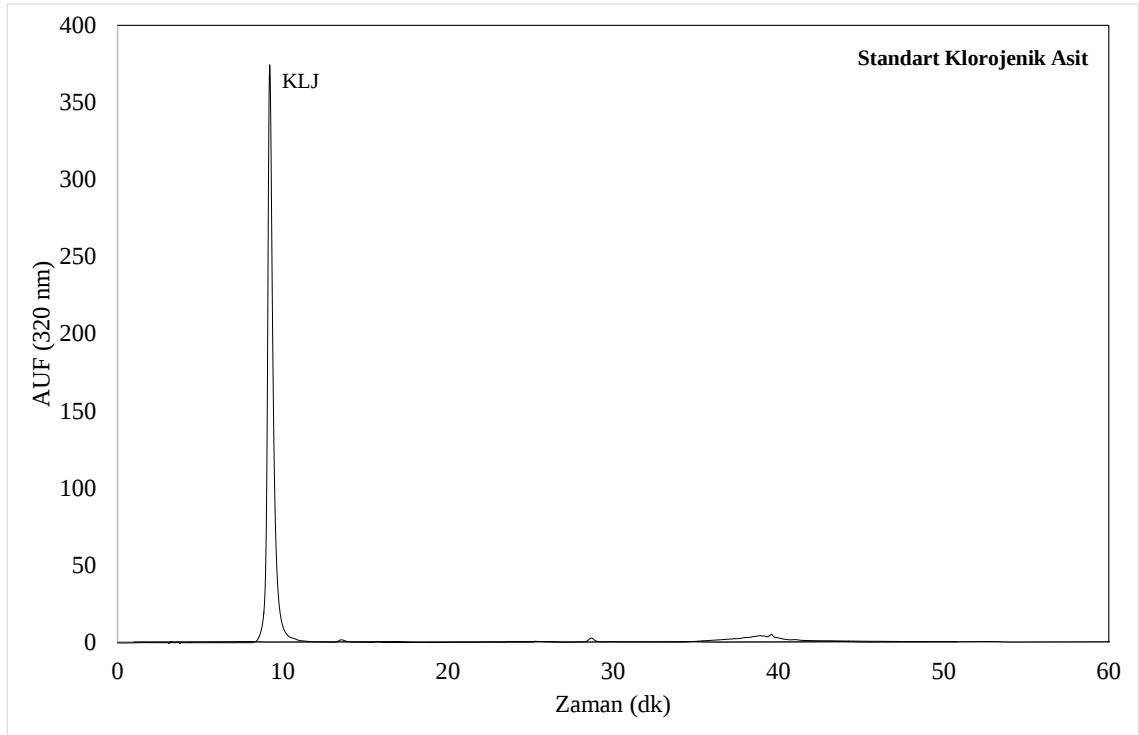
Tablo 4.6. *Tanacetum zahlbruckneri* Ekstre ve Saf Maddelerinin YBSK Sonuçları (mg/g)

Numune	Klorojenik asit	Rutin	Hidroksisinnamik asit türevi**
TZME	3.133 ± 0.014*	4.058 ± 0.016	2.136 ± 0.006
TZ-1	39.723 ± 0.034		
TZ-2		37.597 ± 0.031	

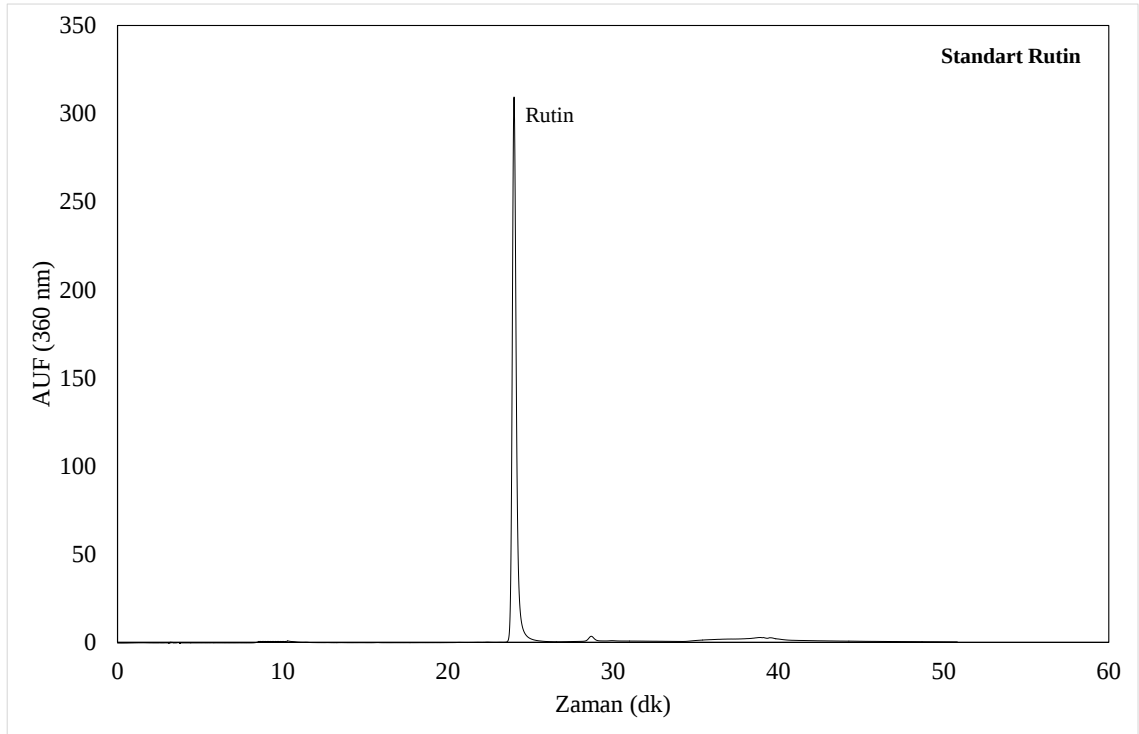
*ekstre içerisindeki % miktar, ort ± STD; ** klorojenik asit üzerinden hesaplanmıştır; TZME, metanol ekstresi; TZ-1, izole edilen klorojenik asit; TZ-2, izole edilen rutin

Tablo 4.7. Standartlara Ait Kalibrasyon Denklemleri ve Korelasyon Katsayıları

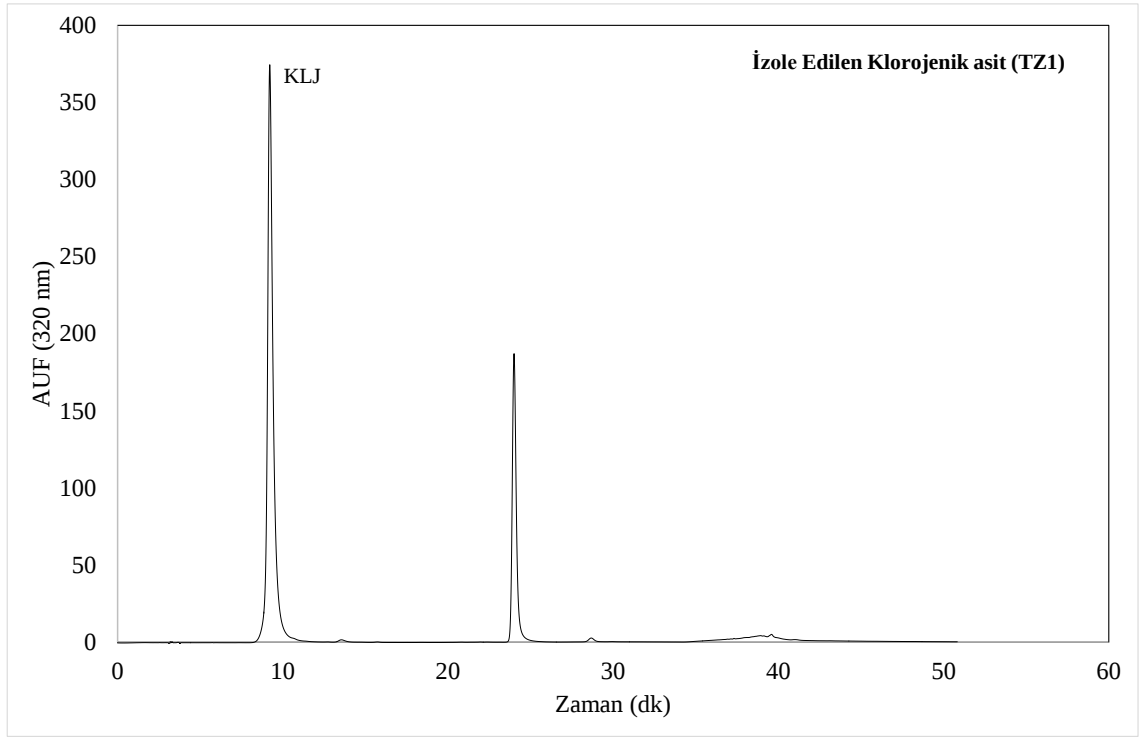
Madde	Tutunma Zamanı (dk)	Kalibrasyon Denklemi (y=ax + b)	Korelasyon Katsayısı (r ²)
Klorojenik asit	9.2	y = 33910x – 537.52	0.9967
Rutin	24.1	y = 17429x – 66.617	0.9980



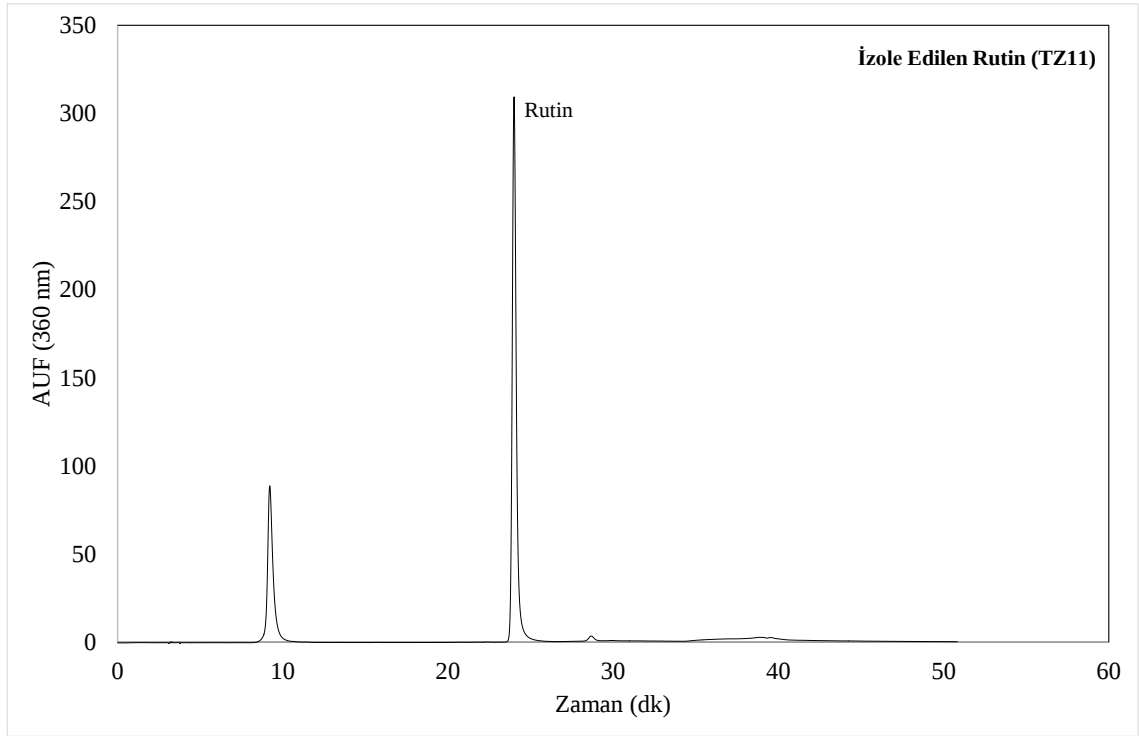
Şekil 4.13. Standart Klorojenik Asit'e ait YBSK kromatogramı, **KLJ:** Klorojenik Asit



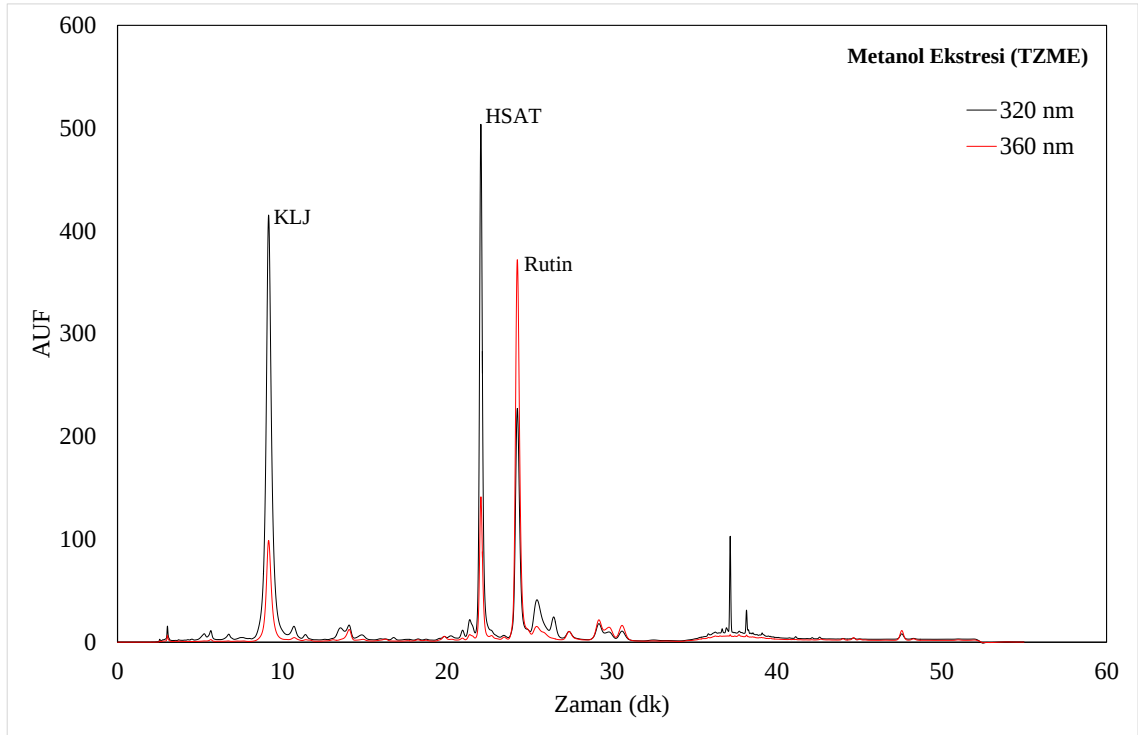
Şekil 4.14. Standart Rutin'e ait YBSK Kromatogramı



Şekil 4.15. İzole Edilen TZ-1 Kodlu Saf Maddesine (klorojenik asit) Ait YBSK Kromatogramı, **KLJ:** Klorojenik Asit



Şekil 4.16. İzole edilen TZ-2 (=TZ-11) kodlu saf maddesine (rutin) ait YBSK kromatogramı

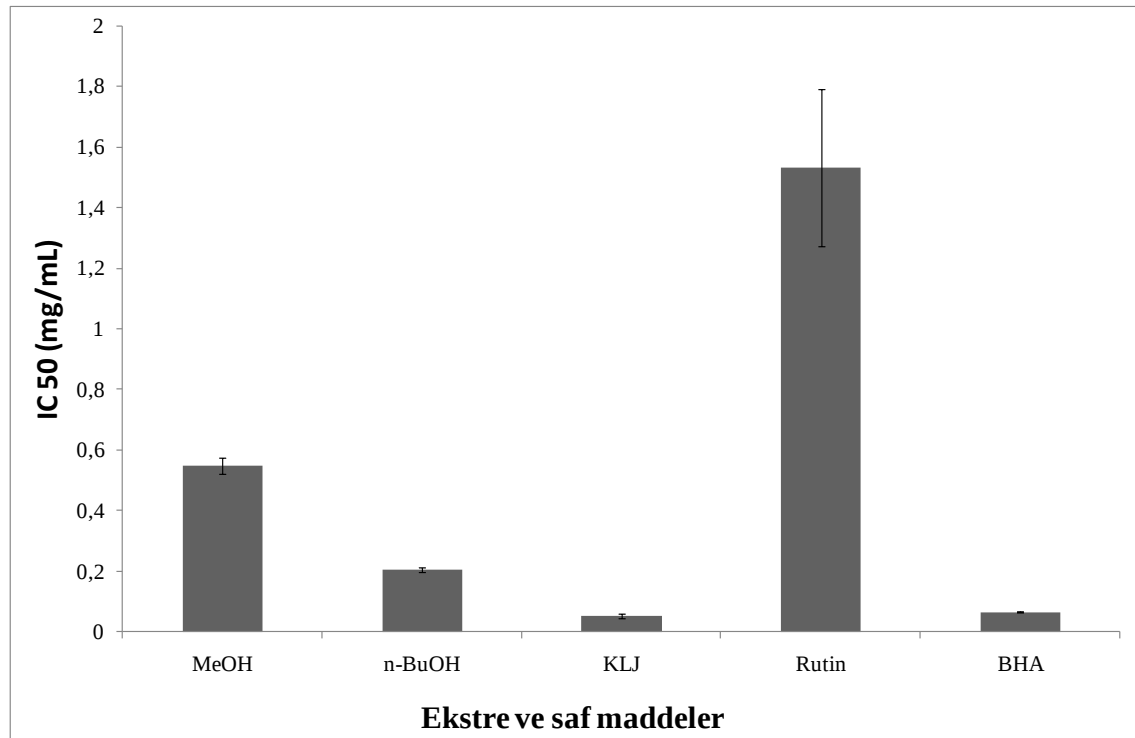


Şekil 4.17. *T. zahlbruckneri* Metanol Ekstresine ait YBSK Kromatogramı, **HSAT**: Hidroksisinnamik asit türevi, **KLJ**: Klorojenik asit

4.2. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

4.2.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH[•]) Radikalini Süpürücü Etki Tayini

Vücuttan zararlı ve hastalık yapıcı radikallerin uzaklaştırılması oldukça önemlidir. Bu amaçla azot merkezli stabil bir radikal olan DPPH[•] radikali kullanılmıştır. Her iki ekstre DPPH[•] radikalini fizyolojik pH'da konsantrasyona bağlı olarak süpürmüşlerdir. IC₅₀ değerleri, radikalın %50'sini süpürebilecek gerekli konsantrasyon olarak tanımlanır. Ekstrelerin IC₅₀ değerleri hazırlanan doğrusal olmayan eğriler kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar Şekil 4.18'de verilmiştir.

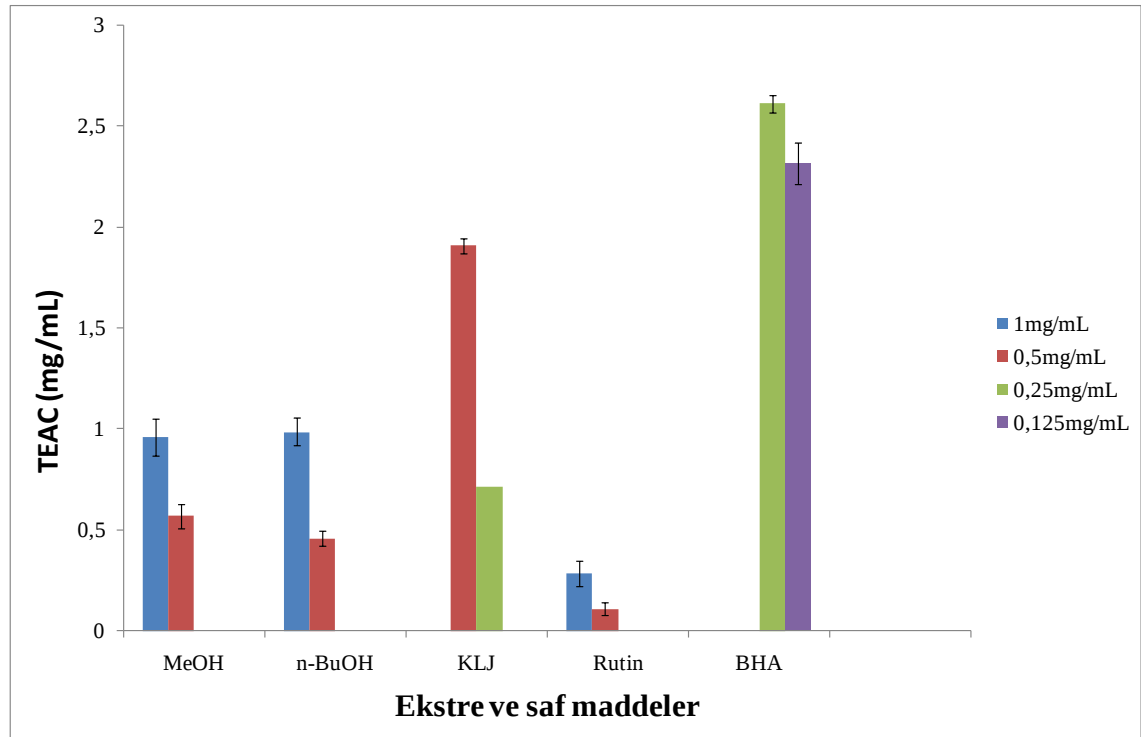


Şekil 4.18. *T. zahlbruckneri* Ekstrelerinin ve İzole Saf Maddelerinin DPPH[•] Radikali Süpürücü Etkileri. [Ortalama olarak verilen değerler $\pm$ %95 güven aralığında belirtilmiştir.] **BHA:** Bütil hidroksi anizol, **MeOH** : metanol ekstresi, **n-BuOH:** *n*- butanol ekstresi, **KLJ:** klorojenik asit (TZ-1), **Rutin**=TZ-2

Şekil 4.18'e göre *T. zahlbruckneri* *n*-butanol (*n*-BuOH) ekstresi metanol (MeOH) ekstresine göre daha aktif, TZ-2 (rutin) aktivitesi ise düşük bulunmuştur. Ekstrelerin bileşiminde bulunan klorojenik asitin IC₅₀ değeri ise 0.052 $\pm$ 0.007 mg/mL bulunmuştur.

4.2.2. 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolin-6- sulfonik asit) (ABTS⁺•) Radikalini Süpürücü Etki Tayini

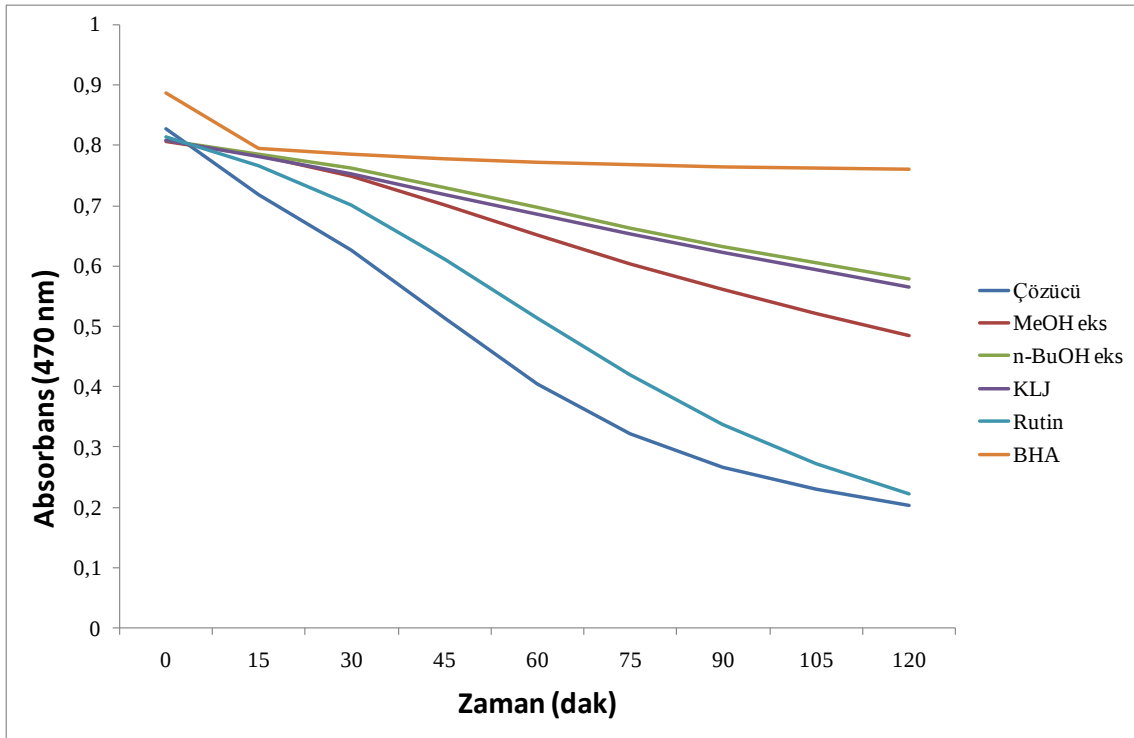
Bu yöntem mavi/yeşil renkli bir bileşik olan ABTS⁺• radikali katyonu tarafından antioksidatif maddelerin miktarının spektroskopik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Bu yöntem ile flavonoidler, hidrosisinnamik asitler, karetenoidler gibi hidrofilik ve lipofilik antioksidanlar ölçülebilmektedir. Tüm ekstraktların ABTS⁺• radikali süpürücü etkileri değerlendirilmiş ve sonuçlar Şekil 4.19'da verilmiştir. En yüksek aktiviteyi klorojenik asit gözlenirken metanol ve butanol ekstraktlarının aktivitesi yaklaşık aynı olduğu gözlenmiştir, rutin aktivitesinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ekstraktların pozitif kontroller kadar yüksek aktivite göstermediği belirlenmiştir.



Şekil 4.19. *T. zahlbruckneri* Ekstrelerinin ve İzole Saf Maddelerinin ABTS⁺• Radikalini Süpürücü Etkileri. **BHA:** Bütil hidroksi anizol, **KLJ:** klorojenik asit (TZ-1), **Rutin:** TZ-2 **MeOH:** Metanol ekstresi, **n-BuOH:** Butanol ekstresi

4.2.3. β -Karoten/linoleik Asit Birlikte Oksidasyonunu İnhibe Edici Etki Tayini

Gıda lipitleri ve hücre membranları oksidatif ajanlarla kolaylıkla okside olabilen doymamış yağ asitleri, linoleik ve araşidonik asitleri içerirler. Bu nedenle doymamış yağ asitleri üzerinden yapılan oksidasyon deneyleri önem taşımaktadır. Beta-karoten/linoleik asit soldurma deneyi özellikle hücre duvarındaki ve gıdalardaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunun tanımlanmasında sıklıkla kullanılır. *T. zahlbruckneri* ekstrelerinin ve izole edilen saf maddelerinin β -karoten/linoleik asit oksidasyonunu engelleme dereceleri Şekil 4.20 'de verilmiştir. Şekil 4.20 'de görülebileceği gibi elde edilen ekstreler belli oranlarda inhibitör aktivite göstermiştir. Metanol ekstresi (MeOH), butanol ekstresi (*n*-BuOH) ve klorojenik asit yakın etki gösterirken rutin düşük etki göstermiştir. Ekstre ve saf maddelerin aktivitesi zamana bağlı olarak değişim göstermemiştir.



Şekil 4.20. *T. zahlbruckneri* Ekstrelerinin ve İzole Saf Maddelerinin β -karoten-linoleik asit Peroksidasyonuna Etkileri. **BHA**: Bütil hidroksi anizol, **MeOH**: Metanol ekstresi, **n-BuOH**:Butanol ekstresi, **KLJ**: Klorojenik asit (TZ-1), **Rutin**=TZ-2

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemizde endemik olarak yetişen Asteraceae familyasının, Anthemideae tribusunda bulunan *Tanacetum* cinsi Dünya’ da 161, Türkiye’de ise doğal olarak yetişen 47 türle temsil edilmektedir (1). *Tanacetum* türlerinin Türkiye’de halk arasında çeşitli kullanımları mevcuttur. *T. coccineum* çiçekleri, toz halinde (oltu tozu) böcek öldürücü, *T. vulgare* herbasından hazırlanan %1’lik infüzyon kuvvet verici, iştah açıcı ve kurt düşürücü, *T. balsamita*’nın çiçekli dallarından hazırlanan %2’lik infüzyon idrar arttırıcı, gaz söktürücü, midevi ve safra kesesi taşlarını düşürücü olarak kullanılmaktadır (3). Ayrıca *T. parthenium* çiçek durumlarından hazırlanan %2-5’lik dekoksasyon kuvvet verici, uyarıcı, ateş düşürücü, adet getirici ve böcek öldürücü olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda bu türün taze yaprakları Avrupa ülkelerinde migrene karşı kullanılmaktadır (65).

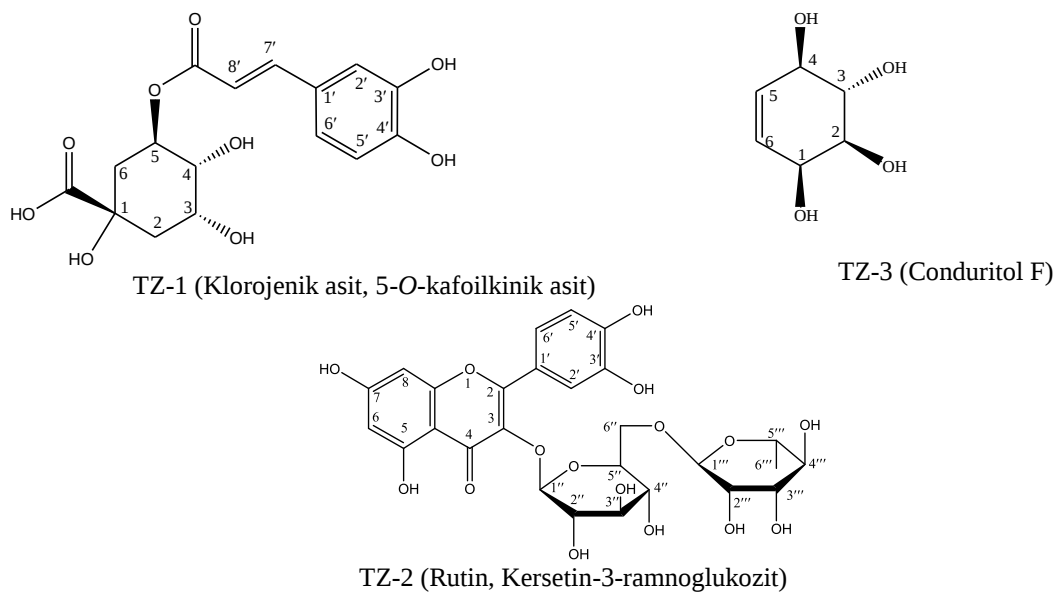
Tanacetum türleri üzerinde yapılan farmakolojik çalışmalarla bu türlerin başta migren olmak üzere, antihistaminik, antienflamatuvar, antimikrobiyal, antifungal, insektisit(7), sitotoksik, antitümör (8), antiprotozoal, antihelmintik (9, 10), antiülser gibi birçok farmakolojik özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir (11).

Yapılan literatür taramasında teze konu olan *T. zahlbruckneri*’nin halk arasında kullanılışına rastlanmamıştır.

Tez çalışmamızda *T. zahlbruckneri*’nin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresi üzerinde öncelikle spektroskopik ölçüme dayalı toplam fenol, flavonoit ve flavonol miktar tayini deneyleri gerçekleştirilmiştir. Toplam fenol miktarı $63.45 \pm 2.32 \text{ mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{ekstre}}$, toplam flavonoit miktarı $51.93 \pm 1.36 \text{ mg}_{\text{CA}}/\text{g}$, flavonol miktarı ise $29.06 \pm 4.23 \text{ mg}_{\text{RE}}/\text{g}$ olarak bulunmuştur (Tablo 4.1).

Bitkinin metanol ekstresinden sırasıyla artan polaritelerde *n*-Hekzan, Et₂O, CH₂Cl₂, *n*-BuOH ekstraktları hazırlanmış, izolasyon çalışmalarına *n*-BuOH ekstresi üzerinden devam edilmiştir.

n-BuOH ekstresi(18g) üzerinde gerçekleştirilen izolasyon çalışmaları sonucunda fenolik asit yapısında bir bileşik olan klorojenik asit (**TZ-1**, 18 mg), flavonoit yapısında bir bileşik olan rutin (**TZ-2**, 9 mg) ve siklitol yapısında bir bileşik olan conduritol F (**TZ-3**, 9 mg) izole edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler (UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D NMR, kütle spektr.) kullanılarak aydınlatılmıştır. İzolasyonu yapılan maddelere ait formüller Şekil 5.1’de gösterilmiştir.



Şekil 5.1. *T. zahlbruckneri*’den Elde Edilen Maddeler

Bitkinin metanol ekstresi üzerinde, izole edilen saf bileşiklerin gerçek miktarlarını belirlemek amacıyla yapılan YBSK analizleri sonucunda, ekstrede tanımlanan bileşenler içerisinde ana madde olarak klorojenik asit ve rutin tespit edilmiştir. Buna göre klorojenik asit ve rutin miktarı metanol ekstresinde sırasıyla 3,133 ve 4,058 mg/g olarak bulunmuştur (Tablo 4.6). Ayrıca ekstrede hidroksisinnamik asit iskeletine sahip maddelerin toplam miktarı da 2.136 mg/g olarak belirlenmiştir.

MeOHve *n*-BuOH ekstreleri ile bu alt ekstreden elde edilen saf maddelerin radikal süpürücü etkinliklerini belirlemek amacıyla farklı antioksidan aktivite tayin yöntemleri uygulanmıştır. Bu sebeple azot merkezli stabil bir radikal olan DPPH[•] radikalini süpürme kapasiteleri fizyolojik pH da incelenmiş ve sonuçlar IC₅₀ değerleri olarak (mg/mL) verilmiştir. Metanol, *n*- BuOH ekstreleri, TZ-1 (klorojenik asit) ve TZ-2

(rutin) maddelerinin DPPH[•] radikalini süpürücü etkilerinin IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.54, 0.20, 0.05 ve 1.53 mg/mL olarak bulunmuştur (Şekil 4.18).

Serbest radikal süpürücü etki testlerinde genellikle DPPH[•] radikali kullanılmaktadır. Fakat bazen çözünürlük ve benzer spektral girişimler nedeniyle aynı radikal kullanılamamaktadır. Alternatif bir radikal olan ABTS^{+•} azot merkezli oldukça stabil bir radikaldir. Bu nedenle ekstrelerin radikal süpürücü etkilerini doğrulamak için ABTS^{+•} radikal süpürücü etki testi de yapılmış ve sonuçlar Trolox'a eşdeğer olarak Şekil 4.19' da verilmiştir. Ekstre ve saf maddeler iki farklı dozda analiz edilmiştir. Şekil 4.19'e göre klorojenik asit 0.5 mg/mL konsantrasyonda diğerlerine göre daha aktif bulunmuştur.

Hücre membranlarında bulunan lipitler linoleik asit ve araşidonik asit gibi oksidasyona oldukça müsait doymamış yağ asitleri bakımından zengindirler (130). Bu nedenle, bu tez kapsamında incelenen ekstrelerin antioksidan etkileri taranırken lipitlerin oksidasyonuna ait deney ortamlarının kullanılması önemlidir. Bu amaçla en çok kullanılan deney modellerinden birisi β -karoten-linoleik asit soldurma testidir. Linoleik asitin diallilik metilen gruplarından hidrojen eksilmesiyle peroksil serbest radikalleri oluşarak doymamış β -karoteni oksitler. Ekstrelerin bileşiminde bulunan antioksidan yapılar β -karotenin hidroperoksit tarafından oksidasyonunu minimize ederler. β -karotenin degradasyon hızı ekstrelerin antioksidan kapasitesine bağlıdır (131).

Tüm ekstre ve saf maddelerde etki, konsantrasyonla doğru orantılı bir şekilde artış göstermiştir. Klorojenik asit diğer saf madde ve ekstrele göre daha aktif olmasına rağmen BHA ile karşılaştırıldığında düşük aktivite göstermiştir. (Şekil 4.20)

Literatürlerde *T. zahlbruckneri* ile yapılmış kimyasal bileşim analizi ve kromatografik çalışma bulunmamakla birlikte farklı *Tanacetum* türleri üzerinde yapılmış bitkilerin toplam fenol, flavonoit ve flavonol içeriklerini saptamaya yönelik çalışmalar mevcuttur.

T. vulgare bitkisinin yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan MeOH, EtOH ve su ekstrelerinin toplam fenol miktarları birbirleri ile kıyaslandığında; 62.7 mg GAE/g ile yaprak MeOH ekstresinin toplam fenolik madde içeriğinin en yüksek olduğu görülmüştür. Toplam flavonoit miktarı ise yaprak su ekstresinde en fazla (18.2 mg

CE/g) bulunmuştur (132). Diğer bir çalışmada ise *T. sonbolii*'nin hekzan, etil asetat, metanol, *n*-butanol, kloroform ve su ekstraktları hazırlanmış ve toplam fenol miktarının etil asetat ekstresinde, toplam flavonoid miktarının ise hekzan ekstresinde en yüksek olduğu bildirilmiştir. Metanol ekstresinin ise toplam fenol miktarının 70.0 ± 0.1 mg_{GAE}/g_{ekstre} olduğu belirtilmiştir (133).

T. parthenium ile yapılan bir çalışmada ise %70 EtOH'le hazırlanan tohum ekstraktlarından hiperozid, kersetin, hiperforin, %50 EtOH'le hazırlanan çiçek ve yaprak ekstraktlarında YBSK ile gerçekleştirilen bir çalışmada klorojenik asit türevi maddeler ve apigenin, tespit edilmiştir (134).

Tanacetum türlerinde ana bileşenler olarak fenolik bileşikler ve flavonoidlerin bulunması elde ettiğimiz sonuçlarla da uyum göstermektedir. Bitkiden izole edilen bileşiklere bakıldığında birer sekonder metabolit olan klorojenik asit ve rutin, bir diğer bileşik, siklitol türevi bir primer metabolit olan conduritol F'dir ve daha önce *Tanacetum* türlerinden izole edilen bileşiklere bakıldığında kaydının olmadığı gözlenmektedir. İlk kez *T. zahlbruckneri*'den siklitol yapısında bir bileşik olan Conduritol F izole edilmiştir.

Conduritol F siklitol (tetrahidroksisikloheksan) yapısında bir moleküldür. İki ila 6 (A→F) arasında değişen izomeri vardır, izomerler sentezle elde edilen fakat doğal olarak bulunmayan moleküllerdir. Çalışmamıza konu olan Conduritol F bitkilerde düşük miktarlarda bulunmaktadır. Özellikle spesifik tropikal bitki familyalarıyla sınırlıdır. *Gymenia sylvestre*'den izole edilen bu bileşik şurup olarak Asya ve Hindistan'da diyabet tedavisinde 2000 yıldır kullanılmaktadır.

Bazı conduritol türevli maddeler antibiyotik, büyüme düzenleme ve diyabet gibi hastalıkların dışında viral enfeksiyon (HIV dahil), kanser hastalıklarının tedavisinde kullanılmak üzere bisiklik-trisiklik birçok analog ve çeşitli yapıları sentezlenmiştir. Bunların biyolojik aktiviteleri değerlendirildiğinde özellikle α -glukozidaz enzim inhibisyon aktivitesi yeni ilaçların keşfedilmesinde temel rol oynamaktadır (135-137).

Klorojenik asitler (3,4,5- Kafeoil kinik asit, dikafeoilkinik asit, vs), sinnamik asit olarak bilinen fenolik bileşikler ve kinik asit arasında oluşan esterler sınıfına girerler. Klorojenik asit antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antienfalamatuvar, antihipertansif gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Klorojenik asit içecek, kozmetik, çay ürünleri ve besinlerde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (138, 139). Ayrıca kan şekerini düşürmedeki etkisi ve kansere karşı korunmada etkili olması gibi bazı aktivitelerinden dolayı klorojenik asitin geleneksel tıpta faydalı bir bileşik olduğu düşünülmektedir. Tez çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz ve kahvede en çok bulunan klorojenik asit, 5-O-kafeoilkinik asittir (140). Bitkisel kaynaklı besinler az ya da çok miktarda fenolik madde içermektedir. Özellikle meyve ve sebzelerin rengi, lezzeti ve dayanıklılığı üzerine etkili olan fenolik maddeler, antioksidan özelliklerine bağlı olarak antikanserojen, antimutajen ve antimikrobiyal aktivite göstermeleri bakımından da insan sağlığı ile yakından ilişkilidir. Bu bileşiklerden biri de klorojenik asittir. Bu sebeptendir ki; dişbudak yaprağı (*Fraxinus excelsior*), enginar yaprağı (*Cynara scolymus*), yeşil kahve çekirdeği, japon hanımeli çiçeği (*Lonicera japonica*) ve Ekomya yaprak ve kabuk (*Eucammia ulmoides*) gibi birçok bitki ekstraları klorojenik asit kaynağı olarak geleneksel tıpta yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (141-143).

Rutin, kersetin-3-O-ramnoglikozit yapısında, flavonol tipinde bir flavonoittir. Rutin, diğer flavonoiTLere göre oksitlenmemesi ve toksik olmaması ile avantajlara sahip kuvvetli bir antioksidan moleküldür. Ayrıca antienfalamatuvar, antiplatelet, antitrombotik, antihemorajik ve kan damarı koruma gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir (66, 144, 145, 146).

Literatürlerde *T. zahlbruckneri* ile yapılmış antioksidan çalışma bulunmamakla birlikte diğer *Tanacetum* türleri üzerinde yapılmış antioksidan aktivite çalışmaları mevcuttur.

Yapılan bir çalışmada altı *Tanacetum* türünün (*T. budjnurdense*, *T. hololeucum*, *T. chiliophyllum*, *T. sonboli*, *T. tabrisianum*, *T. kotschyi*) etanollü ekstresi üzerinde toplam fenol, flavonoit, flavonol miktar tayini, antioksidan aktivite çalışması ve sitotoksik testleri yapılmıştır. *T. hololeucum* ekstresinin diğer ekstralardan 2-3 kat daha fazla aktif olduğu görülmüştür. Tüm bitki ekstralarında antioksidan aktivitenin toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoit miktarları ile doğru orantılı olarak artış gösterdiği saptanmıştır. Bütün türlerde ana fenolik bileşik olarak kafeik asit, ferulik asit, luteolin,

apigenin ve rutin bulunduğu görülmüştür. K562 (lösemi hücre hattı) hücreleri üzerinde denenmiş ve sonuç olarak *Tanacetum* türlerinin hücre oksidasyonuna karşı önemli ölçüde koruyucu etkileri olabileceği vurgulanmıştır (66).

T.vulgare bitkisinin topraküstü kısımlarının metanollü ekstresi antioksidan aktivite yönünden incelenmiştir DPPH radikal süpürücü etkiden ekstreden izole edilen 3,5-dikafeoilkinik asit, aksillarin ve luteolinin sorumlu olduğu, ana bileşik olan 3,5-dikafeoilkinik asitin kersetinin aktivitesiyle kıyaslanabilecek antioksidan aktivite gösterdiği açıklanmıştır (67).

Tanacetum cinsine ait çeşitli türlerle yapılan bir çalışmada (*T. budjnurdense*, *T. hololeucum*, *T. chiliophyllum*, *T. sonboli*, *T. tabrisianum*, *T. kotschyi*) toprak üstü kısmının etanol ekstresinin DPPH[•] radikalini süpürücü etkisi IC₅₀ değeri 0.05-0.15 mg/mL arasında değişmektedir (66). 3 farklı *Tanacetum* alttürü (*T.densum* (Lab.) Schultz Bip. subsp. *sivasicum* Hub-Mor and Grierson, *T. densum* (Lab.) Schultz Bip. subsp. *eginense* Heywood ve *T. densum* (Lab.) Schultz Bip. subsp. *amani* Heywood) metanolik ekstreleriyle yapılan bir çalışmada DPPH[•] radikalini süpürücü etkisi aralarında en yüksek *T.densum*. subsp. *amani* bitkisi olarak tespit edilmiş ve IC₅₀ değeri 0.06 mg/mL olarak hesaplanmıştır (68).

Farklı türlerle yapılan antioksidan aktivite çalışmalarına bakıldığında *Tanacetum* türleri içerdikleri fenolik yapıli bileşiklerden dolayı güçlü antioksidan aktiviteye sahip oldukları görülmektedir.

Yapılan bir çalışmada *T. vulgare*'den klorojenik asit elde edilmiş, mono- ve di- kafeoilkinik asitin radikal süpürücü etkiye katkıda bulunduğu bildirilmiştir (142).

T. parthenium' un sulu ve etanolik ekstreleri ile partenolitin ABTS⁺ radikalini süpürücü aktiviteleri karşılaştırılan bir çalışmada ise su ekstresi etanol ekstresinden daha aktif bulunmuştur (147). *T. vulgare* bitkisinin yaprak ve çiçeklerinin MeOH, EtOH ve su ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri karşılaştırılan bir çalışmada en yüksek aktiviteyi çiçek ve yaprak MeOH ekstresi göstermiştir ve ABTS⁺ radikalini süpürücü etkileri sırasıyla 41.2±0.5 ve 27.6±0.5 mg TE/g olarak hesaplanmıştır. Ayrıca yaprak MeOH ekstresi, çiçek MeOH ekstresinden daha aktif bulunmuştur (132).

Bahsi geçen fenolik bileşiklerden özellikle flavonoidler ve fenolik asit türevi maddelerin aktiviteden sorumlu olduğu tespit edilmiştir. Teze konu olan *T. zahlbruckneri* bitkisinden hazırlanan MeOH ve *n*-BuOH ekstraktları ve saf maddelerle yapılan radikal süpürücü etki tayini ve oksidasyon deneylerine bakıldığında, literatürde yapılan çalışmalarla uyum göstermekle birlikte, özellikle saf maddeler üzerinde yapılan testlerin standart rutin ve klorojenik asit kadar aktif olmadığı gözlenmiştir. Bunun sebebinin maddelerin izolasyon prosedüründen kaynaklanan küçük safsızlıklar olduğu düşünülmektedir. Çalışılan endemik türün, literatürde, üzerinde farklı aktivite ve kimyasal içerik çalışmaları bulunan *Tanacetum* türleri kadar aktif olmadığı ve bununda bitkinin içerdiği zayıf fenolik kompozisyona bağlı olduğu görülmüştür.

Bitki üzerinde gerçekleştirilen aktivite ve kimyasal bileşik aydınlatmaya yönelik olan bu çalışmalar, literatür açısından bir ilk olmakla birlikte, daha önce bu bitkinin kimyasını konu alan Prof. Dr. Nezhun Gören'in tezi ile karşılaştırıldığında, tezde izole edilen (α -amirin, 1β -6 α -dihidroksiödesm-4(15)-en) maddelere (148), bizim çalışmamızda rastlanmamıştır. Bunun nedeninin, bitkinin toplama zamanı farklılığı ve/veya ekstraksiyon sürecinin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Gerek daha önce gerçekleştirilen tezde, gerek bu çalışmada diğer *Tanacetum* türlerinde bol miktarda bulunduğu bilinen seskiterpen lakton ve farklı flavonoidal bileşiklerin bitkiden izole edilememesi bu türün diğer *Tanacetum* türlerinin içerikleriyle uyumlu olmadığını göstermiştir. Bitkinin genetik, morfolojik özelliklerinin ileri çalışmalarla aydınlatılması ve diğer *Tanacetum* türleriyle ilişkisinin ortaya koyulması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Korkmaz M, Kandemir A, Ilhan V, Dogan NY. *Tanacetum erzincanense* (Asteraceae), a new species from Erzincan, Turkey. Turk J Bot. 2015;39(1):96-104.
2. Bagci E, Kursat M, Kocak A, Gur S. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Tanacetum balsamita* L. subsp *balsamita* and *T. chiliophyllum* (Fisch et Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* (Asteraceae) from Turkey. J Essent Oil Bear Pl. 2008;11(5):476-84.
3. Baytop T. Türkiyede bitkiler ile tedavi (geçmişte ve bugün). Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul 1999; ss 317-18.
4. Tournier H, Schinella G, De Balsa EM, Buschiazzi H. Effect of the chloroform extract of *Tanacetum vulgare* and one of its active principles, parthenolide, on experimental gastric ulcer in rats. J Pharm Pharmacol. 1999;51(2):215-9.
5. Kurkina AV, Khusainova AI, Daeva ED, Kadentsev VI. Flavonoids from *Tanacetumvulgare* Flowers. Chem Nat Compd+. 2011;47(2):284-5.
6. Wu CQ, Chen F, Rushing JW, et al. Antiproliferative activities of parthenolide and golden feverfew extract against three human cancer cell lines. J Med Food. 2006;9(1):55-61.
7. Ozek G, Ozek T, Iscan G, et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Tanacetum cadmeum* (Boiss.) heywood subsp *orientale* grierson. J Essent Oil Res. 2007;19(4):392-5.
8. Datta S, Saxena DB. Pesticidal properties of parthenin (from *Parthenium hysterophorus*) and related compounds. Pest management science. 2001;57(1):95-101.
9. Sulsen VP, Cazorla SI, Frank FM, et al. Natural Terpenoids from Ambrosia Species Are Active In Vitro and In Vivo against Human Pathogenic Trypanosomatids. Plos Neglect Trop D. 2013;7(10).

10. Maxia A, Sanna C, Piras A, et al. Chemical composition and biological activity of *Tanacetum audibertii* (Req.) DC. (Asteraceae), an endemic species of Sardinia Island, Italy. *Ind Crop Prod*. 2015;65:472-6.
11. Petrovic SD, Dobric S, Bokonjic DB, et al. Evaluation of *Tanacetum larvatum* for an anti-inflammatory activity and for the protection against indomethacin-induced ulcerogenesis in rats. *J Ethnopharmacol*. 2003;87(1):109-13.
12. Rustaiyan A, Sedaghat S, editors. Two New Guaianolides from *Tanacetum fruticosum* Ledeb. III WOCMAP Congress on Medicinal and Aromatic Plants-Volume 3: Perspectives in Natural Product Chemistry 677; 2003.
13. Mostafa E. M. Rateb A-NAME-G, Seham S. El-Hawary and Ali M. El-Shamy. Phytochemical and biological investigation of *Tanacetum parthenium* (L.) cultivated in Egypt. *J Med Plants Res*. 2007;1 (1):018-26.
14. Móricz ÁM, Häbe TT, Böszörményi A, Ott PG, Morlock GE. Tracking and identification of antibacterial components in the essential oil of *Tanacetum vulgare* L. by the combination of high-performance thin-layer chromatography with direct bioautography and mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2015;1422:310-7.
15. Sinha S, Amin H, Nayak D, et al. Assessment of microtubule depolymerization property of flavonoids isolated from *Tanacetum gracile* in breast cancer cells by biochemical and molecular docking approach. *Chemico-biological interactions*. 2015;239:1-11.
16. AJC. G. *Tanacetum* L. Flora of Turkey and the East the Aegean Islands Edinburgh University press. In: PH D, editor. Flora of Turkey and East Aegean Islands. Edinburgh1975. p. 256-92.
17. Djavadi S. Three New Records of *Tanacetum* for the Flora of Iran. *Rostaniha*. 2008;9 (1):23-32.
18. Marzouk MM, Mohamed TA, Elkhateeb A, El-toumy SA, Hegazy MEF. Phenolics from *Tanacetum sinaicum* (Fresen.) Delile ex Bremer & Humphries (Asteraceae). *Biochem Syst Ecol*. 2016;65:143-6.
19. Thomas M. The systematic identification of flavonoids. 1970.
20. Burbulis IE, Iacobucci M, Shirley BW. A null mutation in the first enzyme of flavonoid biosynthesis does not affect male fertility in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*. 1996;8(6):1013-25.

21. Dewick PM. Medicinal natural products: a biosynthetic approach: John Wiley & Sons; 2002.
22. Besharati-Seidani A, Jabbari A, Yamini Y, Saharkhiz MJ. Rapid extraction and analysis of volatile organic compounds of Iranian feverfew (*Tanacetum parthenium*) using headspace solvent gas chromatography/mass microextraction (HSME), and spectrometry. *Flavour Frag J*. 2006; 21(3): 502-9.
23. Uehara A, Akiyama S, Iwashina T. Foliar flavonoids from *Tanacetum vulgare* var. *boreale* and their geographical variation. *Nat Prod Commun*. 2015;10(3): 403-5.
24. Sur R, Martin K, Liebel F, et al. Anti-inflammatory activity of parthenolide-depleted Feverfew (*Tanacetum parthenium*). *Inflammopharmacology*. 2009;17(1): 42-9.
25. Polatoglu K, Demirci B, Demirci F, Goren N, Baser KHC. Biological activity and essential oil composition of two new *Tanacetum chiliophyllum* (Fisch & Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* chemotypes from Turkey. *Ind Crop Prod*. 2012; 39: 97-105.
26. Long C, Sauleau P, David B, et al. Bioactive flavonoids of *Tanacetum parthenium* revisited. *Phytochemistry*. 2003; 64(2): 567-9.
27. Susurluk H, Caliskan Z, Gurkan O, Kirmizigul S, Goren N. Antifeedant activity of some *Tanacetum* species and bioassay guided isolation of the secondary metabolites of *Tanacetum cadmeum* ssp *cadmeum* (Compositae). *Ind Crop Prod*. 2007;26(2):220-8.
28. Rezazadeh F, Mahdavi M, Motavalizadehkakhky A, et al. Essential Oil Composition of Three Population of *Tanacetum polycephalum* from Iran and their Antimicrobial Activity. *J Essent Oil Bear Pl*. 2014; 17(2): 317-30.
29. Bukhari IA, Khan RA, Gilani AH, et al. The analgesic, anti-inflammatory and calcium antagonist potential of *Tanacetum artemisioides*. *Arch Pharm Res*. 2007; 30(3): 303-12.
30. Breitmaier E. Terpenes: Importance, general structure, and biosynthesis. *Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones*. 2006:1-9.
31. Polatoglu K, Demirci B, Goren N, Baser KH. Essential oil composition of endemic *Tanacetum zahlbruckneri* (Nab.) and *Tanacetum tabrisianum* (Boiss.) Sosn. and Takht. from Turkey. *Nat Prod Res*. 2011; 25(6): 576-84.
32. Akpulat HA, Tepe B, Sokmen A, Daferera D, Polissiou M. Composition of the essential oils of *Tanacetum argyrophyllum* (C. Koch) Tvzel. var. *argyrophyllum* and *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. (Asteraceae) from Turkey. *Biochem Syst Ecol*. 2005; 33(5): 511-6.

33. Bagci E, Kocak A. Essential oil composition of two endemic *Tanacetum* (*T. nitens* (Boiss.&Noe) Grierson and *T. argenteum* (Lam.) Willd. subsp *argenteum*) (Asteraceae) taxa, growing wild in Turkey. *Ind Crop Prod*. 2010; 31(3): 542-5.
34. Ali A, Tabanca N, Kurkcuoglu M, et al. Chemical composition, larvicidal, and biting deterrent activity of essential oils of two subspecies of *Tanacetum argenteum* (Asterales: Asteraceae) and individual constituents against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*. 2014; 51(4): 824-30.
35. Bulatovic VM, Vajs VE, Aljancic IT, et al. Chemical composition of *Tanacetum larvatum* essential oil. *J Essent Oil Res*. 2006;18(2):126-8.
36. Godinho LS, Aleixo de Carvalho LS, Barbosa de Castro CC, et al. Anthelmintic activity of crude extract and essential oil of *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) against adult worms of *Schistosoma mansoni*. *TheScientific World Journal*. 2014;2014:460342.
37. Jassbi AR, Asadollahi M, Reisnejadian S, Miri R. Essential oil of *Tanacetum dumosum* as a new source of fragranol. *Chem Nat Compd+*. 2013; 49(2): 360-1.
38. Polatoglu K, Demirci B, Goren N, Baser KHC. Essential oil composition of endemic *Tanacetum zahlbruckneri* (Nab.) and *Tanacetum tabrisianum* (Boiss.) Sosn. and Takht. from Turkey. *Nat Prod Res*. 2011; 25(6): 576-84.
39. Baser KHC, Demirci B, Tabanca N, Ozek T, Goren N. Composition of the essential oils of *Tanacetum armenum* (DC.) Schultz Bip., *T. balsamita* L., *T. chiliophyllum* (Fisch & Mey.) Schultz Bip, var. *chiliophyllum* and *T. haradjani* (Rech. fil.) Grierson and the enantiomeric distribution of camphor and carvone. *Flavour Frag J*. 2001; 16(3): 195-200.
40. Ibrahim SR, Badr JM, El Sayed KA, Youssef DT. A new cytotoxic sesquiterpene and three anti-inflammatory flavonoids of the Egyptian *Tanacetum santolinoides*. *Nat Prod Commun*. 2007;2:1071-4.
41. Gören N, et al. Chemical Characterization and Biological Activities of the Genus *Tanacetum* (COMPOSITAE). *Natural Products Chemistry*. 2002;27:547-658.
42. Mahmood U, Kaul VK, Singh B. Sesquiterpene and long chain ester from *Tanacetum longifolium*. *Phytochemistry*. 2002;61(8):913-7.

43. Rodríguez E, Epstein W, Mitchell J. The role of sesquiterpene lactones in contact hypersensitivity to some North and South American species of feverfew (*Parthenium-Compositae*). *Contact Dermatitis*. 1977;3(3):155-62.
44. Pareek A, Suthar M, Rathore GS, Bansal V. Feverfew (*Tanacetum parthenium* L.): A systematic review. *Pharmacognosy reviews*. 2011; 5(9): 103-10.
45. Fishedick JT, Standiford M, Johnson DA, et al. Activation of antioxidant response element in mouse primary cortical cultures with sesquiterpene lactones isolated from *Tanacetum parthenium*. *Planta Med*. 2012; 78(16): 1725-30.
46. Polatoglu K, Demirci F, Demirci B, Goren N, Baser KHC. Essential Oil Composition and Antibacterial Activity of *Tanacetum argenteum* (Lam.) Willd. ssp *argenteum* and *T. densum* (Lab.) Schultz Bip. ssp *amani* Heywood from Turkey. *J Oleo Sci*. 2010; 59(7): 361-7.
47. Mahmoud § AA, Al-Omair MA, Iinuma M. A new germacranolide-type sesquiterpene lactone from *Tanacetumsantolinoides*. *Nat Prod Res*. 2007;21(2):156-60.
48. Polatoglu K, Karakoc OC, Gokce A, Goren N. Insecticidal activity of *Tanacetumchiliophyllum* (Fisch & Mey.) var. *monocephalum* grierson extracts and a new sesquiterpene lactone. *Phytochem Lett*. 2011;4(4):432-5.
49. Ramirez AM, Saillard N, Yang T, et al. Biosynthesis of sesquiterpene lactones in pyrethrum (*Tanacetumcinerariifolium*). *Plos One*. 2013;8(5): e65030.
50. Kaplan M, Simmonds MR, Davidson G. Comparison of Supercritical fluid and solvent extraction of feverfew (*Tanacetum parthenium*). *Turk J Chem*. 2002; 26(4): 473-80.
51. Mirjalili MH, Salehi P, Sonboli A, Vala MM. Essential oil composition of feverfew (*Tanacetum parthenium*) in wild and cultivated populations from Iran. *Chem Nat Compd+*. 2007; 43(2): 218-20.
52. Aljancic I, Vajs V, Bulatovic V, Menkovic N, Milosavljevic S. Parthenolide from the aerial parts of *Tanacetum larvatum*. *Biochemical systematics and ecology*. 2001; 29(6): 655-7.
53. Onozato T, Nakamura CV, Cortez DA, Dias Filho BP, Ueda-Nakamura T. *Tanacetumvulgare*: antiherpes virus activity of crude extract and the purified compound parthenolide. *Phytotherapy research : PTR*. 2009; 23(6): 791-6.
54. Rustaiyan A, Sedaghat S. Two new gualianolides from *Tanacetum fruticosum* Ledeb. *WOCMAP III: Perspectives in Natural Product Chemistry*. 2005 (677): 65-9.

55. Yang T, Stoopen G, Wiegers G, et al. Pyrethrins Protect Pyrethrum Leaves Against Attack by Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis*. *J Chem Ecol.* 2012; 38(4): 370-7.
56. da Silva BP, Cortez DA, Violin TY, et al. Antileishmanial activity of a guaianolide from *Tanacetum parthenium* (L) Schultz Bip. *Parasitol Int.* 2010; 59(4): 643-6.
57. Cogo J, Caleare AD, Ueda-Nakamura T, et al. Trypanocidal activity of guaianolide obtained from *Tanacetum parthenium* (L.). Schultz-Bip. and its combinational effect with benznidazole. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology.* 2012 Dec 15;20(1):59-66.
58. Abad MJ, Bermejo P, Alvarez M, et al. Flavonoids and a sesquiterpene lactone from *Tanacetum microphyllum* inhibit anti-inflammatory mediators in LPS-stimulated mouse peritoneal macrophages. *Planta Med.* 2004;70(1):34-8.
59. Caliskan Z, Goren N, Watson WH. Isolation and structures of eudesmanolides from *Tanacetum cadmeum* ssp *cadmeum*. *J Chem Crystallogr.* 2004; 34(5): 307-10.
60. Rosselli S, Bruno M, Raimondo FM, et al. Cytotoxic effect of eudesmanolides isolated from flowers of *Tanacetum vulgare* ssp. *siculum*. *Molecules.* 2012;17(7):8186-95.
61. Rosselli S, Bruno M, Raimondo FM, et al. Cytotoxic Effect of Eudesmanolides Isolated from Flowers of *Tanacetum vulgare* ssp *siculum*. *Molecules.* 2012; 17(7): 8186-95.
62. Polatoglu K, Demirci B, Demirci F, Goren N, Baser KHC. The Essential Oil Composition of *Tanacetum densum* (Labill.) Heywood ssp *eginense* Heywood from Turkey. *Rec Nat Prod.* 2012; 6(4): 402-6.
63. Negrín G, Rubio S, Marrero MT, et al. The eudesmanolide tanapsin from *Tanacetum oshanahanii* and its acetate induce cell death in human tumor cells through a mechanism dependent on reactive oxygen species. *Phytomedicine.* 2015;22(3):385-93.
64. Choudhary MI. Compounds isolated from *Tannacetum polycephalum*. *Turk J Chem.* 2008;32(2):201-4.
65. Ertaş M, Kaval İ, Sadullahoğlu C, et al. Doğu Anadolu Bölgesinde (Van-Hakkari) Tıbbi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi.* 2012;17(2):104-7.

66. Esmaeili MA, Sonboli A, Noushabadi MA. Antioxidant and protective properties of six *Tanacetum* species against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in K562 cell line: A comparative study. *Food Chem.* 2010;121(1):148-55.
67. Juan-Badaturuge M, Habtemariam S, Jackson C, Thomas MJ. Antioxidant principles of *Tanacetum vulgare* L. aerial parts. *Nat Prod Commun.* 2009; 4(11): 1561-4.
68. Tepe B, Sokmen A. Screening of the antioxidative properties and total phenolic contents of three endemic *Tanacetum* subspecies from Turkish flora. *Bioresource Technol.* 2007;98(16):3076-9.
69. Fiebich BL, Lieb K, Engels S, Heinrich M. Inhibition of LPS-induced p42/44 MAP kinase activation and iNOS/NO synthesis by parthenolide in rat primary microglial cells. *J Neuroimmunol.* 2002; 132(1-2): 18-24.
70. Barsby RW, Salan U, Knight DW, Hoult JR. Feverfew extracts and parthenolide irreversibly inhibit vascular responses of the rabbit aorta. *J Pharm Pharmacol.* 1992; 44(9): 737-40.
71. Barsby RWJ, Knight DW, Mcfadzean I. A Chloroform Extract of the Herb Feverfew Blocks Voltage-Dependent Potassium Currents Recorded from Single Smooth-Muscle Cells. *J Pharm Pharmacol.* 1993; 45(7): 641-5.
72. Pajak B, Gajkowska B, Orzechowski A. Molecular basis of parthenolide-dependent proapoptotic activity in cancer cells. *Folia histochemica et cytobiologica / Polish Academy of Sciences, Polish Histochemical and Cytochemical Society.* 2008; 46(2): 129-35.
73. Zunino SJ, Ducore JM, Storms DH. Parthenolide induces significant apoptosis and production of reactive oxygen species in high-risk pre-B leukemia cells. *Cancer letters.* 2007; 254(1): 119-27.
74. Zunino SJ, Storms DH, Ducore JM. Parthenolide treatment activates stress signaling proteins in high-risk acute lymphoblastic leukemia cells with chromosomal translocation t (4; 11). *Int J Oncol.* 2010;37(5):1307-13.
75. Polatoglu K, Demirci F, Demirci B, Goreni N, Baser KHC. Antimicrobial Activity and Essential Oil Composition of a New *T. argyrophyllum* (C. Koch) Tvetzel var. *argyrophyllum* Chemotype. *J Oleo Sci.* 2010; 59(6): 307-13.

76. El-Shazly A, Dorai G, Wink M. Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil and Hexane-Ether Extract of *Tanacetum santolinoides* (DC.) Feinbr. and Fertig. Zeitschrift für Naturforschung C. 2002;57(7-8):620-3.
77. Tabanca N, Demirci F, Demirci B, Wedge DE, Baser KHC. Composition, enantiomeric distribution, and antimicrobial activity of *Tanacetum argenteum* subsp *flabellifolium* essential oil. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 2007; 45(5): 714-9.
78. Salamci E, Kordali S, Kotan R, Cakir A, Kaya Y. Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Turkish *Tanacetum maucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum*. Biochem Syst Ecol. 2007 Sep;35(9):569-81.
79. Palsson K, Jaenson TG, Baeckstrom P, Borg-Karlson AK. Tick repellent substances in the essential oil of *Tanacetum vulgare*. J Med Entomol. 2008;45(1):88-93.
80. Onozato T, Nakamura CV, Cortez DAG, Dias BP, Ueda-Nakamura T. *Tanacetum vulgare*: Antiherpes Virus Activity of Crude Extract and the Purified Compound Parthenolide. Phytother Res. 2009; 23(6): 791-6.
81. Schultz V, Hänsel R, Tyler VE. Rational phytotherapy: a physician's guide to herbal medicine: Psychology Press; 2001.
82. Johnson E, Kadam N, Hylands D, Hylands P. Efficacy of feverfew as prophylactic treatment of migraine. BMJ. 1985;291(6495):569-73.
83. Murphy J, Heptinstall S, Mitchell J. Randomised double-blind placebo-controlled trial of feverfew in migraine prevention. The Lancet. 1988;332(8604):189-92.
84. Tiuman TS, Ueda-Nakamura T, Garcia Cortez DA, et al. Antileishmanial activity of parthenolide, a sesquiterpene lactone isolated from *Tanacetum parthenium*. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49(1): 176-82.
85. Özel GSK, Birdane YO. Antioksidanlar. Kocatepe Veterinary Journal 2014;7 (2):41-52.
86. Sies H, editor Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Journal of Physiology-London; 1996: Cambridge Univ Press 40 West 20th Street, New York, NY 10011-4211.
87. Davies KJ. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. IUBMB life. 2000;50(4-5):279-89.

88. Kalyanaraman B. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox biology*. 2013;1(1):244-57.
89. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and cellular biochemistry*. 2004;266(1-2):37-56.
90. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2007;39(1):44-84.
91. Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *Journal of hypertension*. 2000;18(6):655-73.
92. Granger D, Stokes K, Shigematsu T, et al. Splanchnic ischaemia–reperfusion injury: mechanistic insights provided by mutant mice. *Acta physiologica scandinavica*. 2001;173(1):83-91.
93. Maurice MM, Nakamura H, Van Der Voort E, et al. Evidence for the role of an altered redox state in hyporesponsiveness of synovial T cells in rheumatoid arthritis. *The Journal of Immunology*. 1997;158(3):1458-65.
94. Butterfield DA, Castegna A, Lauderback CM, Drake J. Evidence that amyloid beta-peptide-induced lipid peroxidation and its sequelae in Alzheimer's disease brain contribute to neuronal death. *Neurobiology of aging*. 2002;23(5):655-64.
95. Jenner P. Oxidative stress in Parkinson's disease. *Annals of neurology*. 2003;53(S3):S26-S38.
96. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. 1955.
97. Buettner GR, Schafer FQ. Free radicals, oxidants, and antioxidants. *Teratology*. 2000; 62(4): 234.
98. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine*: Oxford university press Oxford; 1999.
99. Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. 2002;18(10):872-9.
100. Darley-Usmar V, Wiseman H, Halliwell B. Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *Febs Lett*. 1995;369(2):131-5.
101. Halliwell B, editor *How to characterize an antioxidant: an update*. *Biochem Soc Symp*; 1995.

102. Valko M, Rhodes C, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*. 2006;160(1):1-40.
103. Inoue M, Sato EF, Nishikawa M, et al. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Current medicinal chemistry*. 2003;10(23):2495-505.
104. Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2002;282(2):C227-C41.
105. Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition*. 1996;12(4):274-7.
106. Young I, Woodside J. Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*. 2001;54(3):176-86.
107. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*. 2007;35(5):1147-50.
108. Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *Apmis*. 2007;115(2):81-103.
109. Halliwell B, Gutteridge J. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical journal*. 1984;219(1):1.
110. Halliwell B. Tell me about free radicals, doctor: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 1989;82(12):747.
111. Rice-Evans C, Burdon R. Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Progress in lipid research*. 1993;32(1):71-110.
112. MatÉs JM, Pérez-Gómez C, De Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical biochemistry*. 1999;32(8):595-603.
113. McCall MR, Frei B. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radical Biology and Medicine*. 1999;26(7):1034-53.
114. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*. 1990;280(1):1-8.
115. Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar MNVR. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*. 2006;113(3):189-207.

116. Koşar M, Dorman D, Başer K, Hiltunen R. An improved HPLC post-column methodology for the identification of free radical scavenging phytochemicals in complex mixtures. *Chromatographia*. 2004;60(11-12):635-8.
117. Asami DK, Hong Y-J, Barrett DM, Mitchell AE. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *J Agr Food Chem*. 2003;51(5):1237-41.
118. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*. 1999;64(4):555-9.
119. Miliuskas G, Venskutonis PR, van Beek TA. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem*. 2004;85(2):231-7.
120. Gyamfi MA, Yonamine M, Aniya Y. Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana: *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. *General Pharmacology: The Vascular System*. 1999;32(6):661-7.
121. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. 1999;26(9):1231-7.
122. Oomah BD, Mazza G. Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. *J Agr Food Chem*. 1996;44(7):1746-50.
123. Velioglu Y, Mazza G, Gao L, Oomah B. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agr Food Chem*. 1998;46(10):4113-7.
124. Nakatani N, Kayano S-i, Kikuzaki H, et al. Identification, Quantitative Determination, and Antioxidative Activities of Chlorogenic Acid Isomers in Prune (*Prunus domestica* L.). *J Agr Food Chem*. 2000;48(11):5512-6.
125. Sprogøe K, Stærk D, Jäger AK, et al. Targeted natural product isolation guided by HPLC–SPE–NMR: constituents of *Hubertia* species. *J Nat Prod*. 2007;70(9):1472-7.
126. Jin U-H, Lee J-Y, Kang S-K, et al. A phenolic compound, 5-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid), is a new type and strong matrix metalloproteinase-9 inhibitor: isolation and identification from methanol extract of *Euonymus alatus*. *Life Sci*. 2005;77(22):2760-9.
127. Xiao Z, Wu H, Wu T, et al. Kaempferol and quercetin flavonoids from *Rosa rugosa*. *Chem Nat Compd+*. 2006;42(6):736-7.

128. de Bruyn A, Anteunis M, de Gussem R, Dutton GG. ^1H -Nmr study of l-rhamnose, methyl α -l-rhamnopyranoside, and 4-O- β -d-galactopyranosyl-l-rhamnose in deuterium oxide. Carbohydr Res. 1976;47(1):158-63.
129. Papaioannou P, Lazari D, Karioti A, et al. Phenolic compounds with antioxidant activity from *Anthemis tinctoria* L.(Asteraceae). Zeitschrift für Naturforschung C. 2007;62(5-6):326-30.
130. Ashvell R. N, Moyo M., Staden V. S. . Natural Antioxidants: Fascinating or Mythical Biomolecules. Molecules. 2010;15:6905-30.
131. Gaamoune S, Harzallah D, Kada S, Dahamna S. The comparison of two tannin extraction methods from *Galium tunetanum* Poiret and their antioxidant capacities. J Der Pharm Lett. 2014;6:114-9.
132. Stojković MB, Mitić SS, Pavlović JL, Stojanović BT, Paunović DĐ. Antioxidant potential of *Tanacetum vulgare* L. extracts. Biologica Nyssana. 2014;5(1).
133. Firozy M, Talebpour Z, Sonboli A. Essential oil composition and antioxidant activities of the various extracts of *Tanacetum sonbolii* Mozaff.(Asteraceae) from Iran. Nat Prod Res. 2012;26(23):2204-7.
134. Galeotti N, Maidecchi A, Mattoli L, Burico M, Ghelardini C. St. John's Wort seed and feverfew flower extracts relieve painful diabetic neuropathy in a rat model of diabetes. Fitoterapia. 2014;92:23-33.
135. Milić D, Kop T, Juranić Z, et al. Synthesis and antiproliferative activity of A-ring aromatised and conduritol-like steroidal compounds. Steroids. 2005;70(14):922-32.
136. Orsini F, Sello G, Bernasconi S, Fallacara G. Chemoenzymatic synthesis of conduritol analogues. Tetrahedron Lett. 2004;45(50):9253-5.
137. de Melo EB, da Silveira Gomes A, Carvalho I. α - and β -Glucosidase inhibitors: chemical structure and biological activity. Tetrahedron. 2006;62(44):10277-302.
138. Hao Y, Gao R, Liu D, et al. Selective extraction and determination of chlorogenic acid in fruit juices using hydrophilic magnetic imprinted nanoparticles. Food Chem. 2016;200:215-22.
139. Shi H, Shi A, Dong L, et al. Chlorogenic acid protects against liver fibrosis in vivo and in vitro through inhibition of oxidative stress. Clinical Nutrition.
140. Liu B, Dong B, Yuan X, et al. Enrichment and separation of chlorogenic acid from the extract of *Eupatorium adenophorum* Spreng by macroporous resin. Journal of Chromatography B. 2016;1008:58-64.

141. Feng Y, Sun C, Yuan Y, et al. Enhanced oral bioavailability and in vivo antioxidant activity of chlorogenic acid via liposomal formulation. *International journal of pharmaceutics*. 2016;501(1):342-9.
142. Baranauskienė R, Kazernavičiūtė R, Pukalskienė M, Maždzierienė R, Venskutonis PR. Agrorefinery of *Tanacetum vulgare* L. into valuable products and evaluation of their antioxidant properties and phytochemical composition. *Ind Crop Prod*. 2014;60:113-22.
143. Olthof MR, Hollman PC, Buijsman MN, van Amelsvoort JM, Katan MB. Chlorogenic acid, quercetin-3-rutinoside and black tea phenols are extensively metabolized in humans. *The Journal of nutrition*. 2003;133(6):1806-14.
144. Baumgertel A, Grimm R, Eisenbeiß W, Kreis W. Purification and characterization of a flavonol 3-O- β -heterodisaccharidase from the dried herb of *Fagopyrum esculentum* Moench. *Phytochemistry*. 2003;64(2):411-8.
145. Ölschläger C, Regos I, Zeller FJ, Treutter D. Identification of galloylated propelargonidins and procyanidins in buckwheat grain and quantification of rutin and flavanols from homostylous hybrids originating from *F. esculentum* $\times$ *F. homotropicum*. *Phytochemistry*. 2008;69(6):1389-97.
146. Diniz TC, Silva JC, Lima-Saraiva SRGd, et al. The Role of Flavonoids on Oxidative Stress in Epilepsy. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015.
147. Prashanth S, Pooja S, Suchetha K, Vidya V. Radical scavenging and antioxidant activities of ethanolic and aqueous extract from the leaves of feverfew (*Tanacetum parthenium* L.) and asynthetic compound parthenolide. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2015;4(1).
148. Gören N. *Tanacetum zahlbruckneri* (Nâb.) Grierson Bitkisi Üzerinde Fitokimyasal Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2007.

ÖZ GEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Duygu EROĞLU

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 7 Ekim 1990, Adana

Medeni Durumu: Bekar

Email: duygueroğlu1990@gmail.com

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi ABD,
Talas/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2012
Lise	Türkan İrfan Akün Ç.P.L, Pozantı/ADANA	2007

YABANCI DİL

İngilizce